

Acta Aquatica Turcica

Türk Su Bilimleri Dergisi



2019

Vol :15 Number :4 | Cilt :15 Sayı :4

e-ISSN: 2651-5474

**ACTA AQUATICA TURCICA
TÜRK SU BİLİMLERİ DERGİSİ
(YIL 2019 – CILT: 15 – SAYI 4)**

Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi
Adına Sahibi /
Owner of Behalf of Isparta University of Applied Sciences, Eğirdir Fisheries Faculty

Ayşegül KUBİLAY

Baş Editör / Editor in Chief

Yunus Ömer BOYACI

Editörler / Editors

Şengül BİLGİN
Seval BAHADIR KOCA
Seçil METİN

Mizanpaj Editörleri / Layout Editors

Salim Serkan GÜÇLÜ
Ufuk Gürkan YILDIRIM

İngilizce Editörü / English Editor

Arda ÖZEN

İletişim / Contact

Acta Aquatica Turcica
Yayın Komisyonu Başkanlığı,
32260 Doğu Yerleşkesi-ISPARTA
Tel: 0 246 2118661 Faks: 0 246 2118697
<http://dergipark.gov.tr/actaquatr>
E-Posta: actaquatr@isparta.edu.tr

E-ISSN: 2651-5474

ACTA AQUATICA TURCICA
(YIL 2019 – CİLT: 15 – SAYI: 4)

YAYIN KURULU / EDITORIAL BOARD*

Altan LÖK	Ege University, TÜRKİYE
Doru Stelian BĂNĂDUC	Lucian Blaga” University of Sibiu, ROMANIA
Ercüment GENÇ	Ankara University, TÜRKİYE
Erdoğan ÇİÇEK	Nevşehir Hacı Bektaş Veli University, TÜRKİYE
Erik JEPPESEN	Aarhus University, DENMARK
Eugenia BEZİRTZOGLU	Democritus University of Thrace, GREECE
Hamid Reza ESMAEILI	Shiraz University IRAN
Karim ERZINI	University of Algarve, PORTUGAL
Magdolna Müllerne TRENOVSZKI	Szent Istvan University, HUNGARY
Özkan ÖZDEN	İstanbul University, TÜRKİYE
Pavel KOZAK	University of South Bohemia, CZECHIA
Stamatis ZOGARIS	Hellenic Centre for Marine Reseaech, GREECE
Stefan BERGLEITER	Naturland, GERMANY
Süheyla KARATAŞ STEINUM	İstanbul University, TÜRKİYE
Tom WİKLUND	Åbo Akademi University, FINLAND
Vladimir PESIC	University of Montenegro, MONTENEGRÖ
Yazdan KEIVANY	Isfahan University of Technology, IRAN

* Liste akademik unvan ve isme göre alfabetik sırayla hazırlanmıştır.

İÇİNDEKİLER / CONTENTS

ARASTIRMA MAKALESI / RESEARCH PAPERS:

Length-Weight, Length-Length Relationships and Condition Factor of Grey Mullet Species From Köyceğiz Lagoon in Turkey İsmail REİS, Celal ATEŞ	411-417
New Data on Trichodinid Ectoparasites (Ciliophora: Peritrichida) of <i>Mullus barbatus ponticus</i> (Mullidae) in the Black Sea Türkay ÖZTÜRK, Ali YEŞİL	418-424
Biology of Shortfin Mako Shark (<i>Isurus oxyrinchus</i> Rafinesque, 1810) from the Eastern Mediterranean Elizabeth Grace Tunka BENGİL, Meryem AKALIN, İnci TÜNEY KIZILKAYA, Fethi BENGİL	425-432
Length-Weight and Length-Length Relationships of Red Scorpionfish (<i>Scorpaena scrofa</i> L. 1758) from İzmir Bay (Aegean Sea) Selin ARSLAN, Derya BOSTANCI	433-439
Antibacterial Activity of Thyme, Laurel, Rosemary and Parsley Essential Oils Against Some Bacterial Fish Pathogen Serpil TURAL, Yüksel DURMAZ, Eda URÇAR, Sadettin TURHAN	440-447
Damsa Baraj Gölü (Nevşehir, Türkiye) Oligochaeta Faunası ve Bazı Fizikokimyasal Parametrelere İlişkisi Özlem FINDIK, Ebru AKIN, Seval ARAS	448-457
Evaluation of Sugar Beet Leave Extracts in Goldfish (<i>Carassius auratus</i>) Diets: Effects on Blood and Semen Parameters Burak Evren İNANAN, Ümit ACAR	458-468
Distribution of Ciliates in Relation to Environmental Parameters in Two Gulfs of Kapıdağı Peninsula (The Sea of Marmara) Neslihan BALKIS-OZDELICE, Benin TOKLU-ALICLI, Turgay DURMUS	469-480
Hatching Success of Koi Carp (<i>Cyprinus carpio</i>) Embryos Following Short-Term Storage of Unfertilized Eggs Yusuf BOZKURT	481-486
Isparta Deresi'nin Su Kalitesinin Fizikokimyasal Parametrelere ve Simuliidae Faunasına Göre Belirlenmesi Bahadır ÖZEL, Tuba Elif YAY, Selda TEKİN-ÖZAN	487-498
Abant Gölü'nde Biyolojik Kalite Elementlerinden Sucul Makrofitler Tolga COŞKUN, Ayşe Nilsun DEMİR	499-506
Otolith Shape Analysis of Bluefish, <i>Pomatomus saltatrix</i> (Linnaeus, 1766) in the Black Sea Region (Samsun, Turkey) Melek OZPICAK, Semra SAYGIN, Nazmi POLAT	507-516
Fethiye Yörerinde Yetiştirilen Gökkuşağı Alabalıklarının (<i>Oncorhynchus mykiss</i> , Walbaum 1792) Doğal Radyoaktivite Düzeyleri Süleyman Fatih ÖZMEN, Mesut YILMAZ	517-523
Yeni Bir Maya ile <i>Cystoseira barbata</i> (Stackhouse) C. Agardh, 1820 Taksonundan Biyoetanol Üretimi Aylin ÇAĞMAN, Hüseyin ERDUĞAN	524-534
Su Ürünlerinde Halofilik Bakteriler ve Endüstriyel Alanda Kullanımları Berna KILINÇ	535-545

Length-Weight, Length-Length Relationships and Condition Factor of Grey Mullet Species From Köyceğiz Lagoon in Turkey

İsmail REİS^{ID*}, Celal ATEŞ^{ID}

Muğla Sıtkı Koçman University, Faculty of Fisheries, Department of Fishing Technology, Menteşe/Muğla, Turkey

*Corresponding Author: ismailreis@mu.edu.tr

Research Article

Received 16 March 2019; Accepted 09 April 2019; Release date 15 December 2019.

How to Cite: Reis, İ., & Ateş, C. (2019). Length-weight, length-length relationships and condition factor of grey mullet species from Köyceğiz Lagoon in Turkey. *Acta Aquatica Turcica*, 15(4), 411-417. <https://doi.org/10.22392/actaquatr.540983>

Abstract

The relationships between length-weight, length-length parameters and condition factor were given for four grey mullet species that caught in Köyceğiz Lagoon area between January 2017 and December 2017. Total length and weight ranged from 6.2-39.3 cm and 2.34-508.38 g for *Chelon auratus*, 8.9-47.6 cm and 8.61-1006.5 g for *Mugil cephalus*, 5.0-37.7 cm and 1.62-478.90 g for *Chelon labrosus* and 3.8-35.2 cm and 0.52-462.88 g for *Chelon saliens*. The length-weight relationships were determined for *C. auratus*, *M. cephalus*, *C. labrosus* and *C. saliens* as $W=0.0087L^{2.96}$, $W=0.0106L^{2.95}$, $W=0.0073L^{3.06}$ and $W=0.0067L^{3.04}$ respectively. All the fish species showed isometric growth ($b=3$). It was observed that there were strong correlations between total length, fork length and standard length of 4 fish species ($P<0.001$). Also, the condition factor values range between 0.56-1.30 for *C. auratus*, 0.66-1.22 for *M. cephalus*, 0.64-1.30 for *C. labrosus*, 0.57-1.06 for *C. saliens*.

Keywords: Köyceğiz Lagoon, Fish barrier, grey mullet, growth

Köyceğiz Lagünü’nden (Türkiye) Avlanan Kefal Türlerinin Boy-Ağırlık, Boy-Boy İlişkileri ve Kondüsyon Faktörü

Özet

Ocak 2017-Aralık 2017 tarihleri arasında Köyceğiz Lagününden avlanan dört farklı kefal türünün boy-ağırlık, boy-boy parametreleri ve kondüsyon faktörü değerleri verilmiştir. Total boy ve ağırlık değerleri *Chelon auratus* için 6,2-39,3 cm ve 2,34-508,38 g, *Mugil cephalus* için 8,9-47,6 cm ve 8,61-1006,5 g, *Chelon labrosus* için 5,0-37,7 cm ve 1,62-478,90 g, *Chelon saliens* için 3,8-35,2 cm ve 0,52-462,88 g olarak değişim göstermiştir. Boy-ağırlık ilişkisi denklemleri *C. auratus*, *M. cephalus*, *C. labrosus* ve *C. saliens* için sırasıyla $W=0,0087L^{2.96}$, $W=0,0106L^{2.95}$, $W=0,0073L^{3.06}$ ve $W=0,0067L^{3.04}$ olarak tespit edilmiştir. Tüm balık türleri izometrik büyümeye göstermiştir ($b=3$). Total boy, çatal boy ve standart boy arasında bu dört balık türü için güçlü bir ilişki olduğu gözlemlenmiştir ($P<0,001$). Ayrıca, kondüsyon faktörü değerleri *C. auratus* için 0,56-1,30, *M. cephalus* için 0,66-1,22, *C. labrosus* için 0,64-1,30, *C. saliens* için 0,57-1,06 arasında değişim göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: Köyceğiz Lagünü, dalyan, kefal, büyümeye

INTRODUCTION

Köyceğiz Lagoon system covers 5400 hectares lake area and quagmire outlook 1150 hectares delta area and is connected to the sea via a 14 km long canal. The width of the canal varies between 5-70 meters and the depth between 1-6 meters (Buhan, 1998). Fishing activities are carried by DALKO (Dalyan Fisheries Cooperative) in the lagoon system. The lagoon area consists of four main sections; Lake Köyceğiz, lagoon canal, Lake Sülüngür and Lake İztuzu.

Köyceğiz Lagoon is one of the most important active lagoon fishery areas in Turkey (Sağlam et al., 2015). DALKO operates Turkish wooden dalyan which set up in this area. Besides being an active lagoon fisherycooperative, they also prepare and sell grey mullet caviar.

Due to the high economic value of this product, it increases the significance of this area and grey mullet species. A great economic return comes out with both roe and fresh mullet flesh. These features are enough to think about the sustainability of lagoon fishery. As it is known by all fishery managers, fishery should be managed for food and economic sustainability.

The length-weight relationships (LWR) are one of the most useful parameters for fishery management and have importance in fisheries science. The LWR is used for prediction the weight corresponding to a given length and to allow for the comparison of fish growth in different regions or localities (Bagenal and Tesch, 1978; Moutopoulos and Stergiou, 2002; Tsoumani et al., 2006). LWR may also useful to determine whether somatic growth is isometric or allometric (Ricker, 1975).

Condition factor gives knowledge when comparing two populations in living different regions, climate and other conditions (Weatherly and Gills, 1987). Therefore, condition factor of fish species is important for understanding its life cycle.

This study aims to contribute to the knowledge of LWR, LLR and condition factor data for commercial grey mullet species, *Chelon auratus* (Risso, 1810), *Mugil cephalus* (Linnaeus, 1758), *Chelon labrosus* (Risso, 1827) and *Chelon saliens* (Risso, 1810), in Köyceğiz Lagoon.

MATERIALS and METHODS

Samples were collected monthly periods with Turkish wooden dalyan, trammel net, beach seine and cast-net between January 2017 and December 2017 in the Köyceğiz Lagoon, Turkey (Figure 1). The fish samples were brought to the laboratory and were taxonomically identified according to Thomson (1997); FAO (1999) and Geldiay and Balık (2009). Total length (TL), fork length (FL) and standard length (SL) were recorded to the nearest centimetre (0.1 cm), and bodyweight (W) was measured with precision balance (0.01 g).

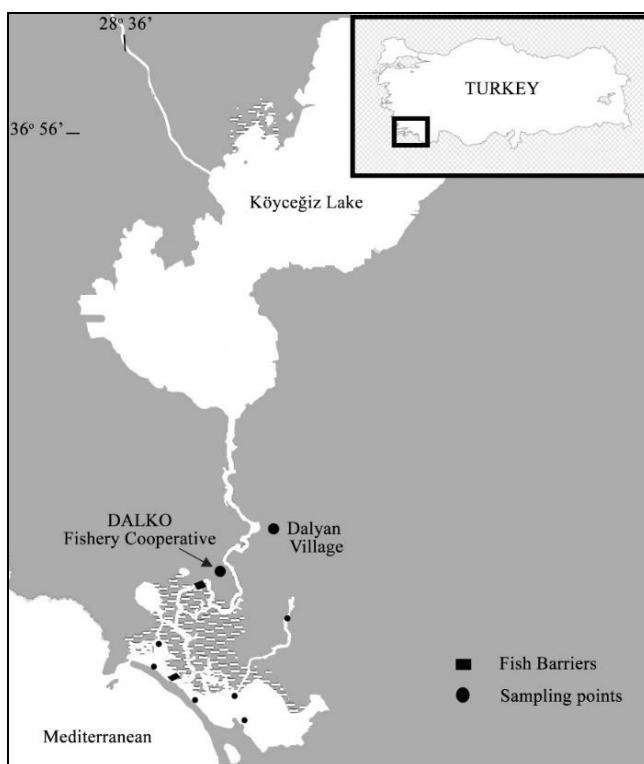


Figure 1. The study area

The length-weight relationships were established using the equation; $W=aL^b$, where W is weight (g), L is length (cm), a is the intercept and b is the slope of the linear regressions. The significance of the b-values for each species was tested by t-test to confirm that it was significantly different from the predictions for isometric growth ($b=3$) (Pauly, 1993).

The length-length relationship was estimated by linear regression analysis: $TL = a + bSL$; $FL = a + bSL$ and $SL = a + bFL$, where a is the intercept and b is the slope of the linear regression.

Fulton's condition factor (K) was calculated using the equation; $K=(W/L^3)*100$ where W is the total weight (g), L is the total length (cm).

The Microsoft Office Excel software (version 2016) was used for all calculations.

RESULTS

Overall, 1195 samples from 4 fish species *C. auratus*, *M. cephalus*, *C. labrosus* and *C. saliens* were examined in the Köyceğiz Lagoon in Turkey. *C. auratus* (476) was found the most abundant fish species.

Table 1. Parameters of the LWR and condition factor for four grey mullet species from the Köyceğiz Lagoon (Turkey)

Species	N	$K_{\min}-K_{\max}$	$L_{\min}-L_{\max}$	$W_{\min}-W_{\max}$	Parameters of LWR					
					a	b	SE(b)	CI(b)	r^2	GT
<i>C. auratus</i>	476	0.56-1.30	6.2-39.3	2.34-508.38	0.0087	2.96	0.052	2.931-2.988	0.989	Isometric
<i>M. cephalus</i>	291	0.66-1.22	8.9-47.6	8.61-1006.5	0.0106	2.95	0.042	2.914-2.983	0.989	Isometric
<i>C. labrosus</i>	279	0.64-1.30	5.0-37.7	1.62-478.9	0.0073	3.065	0.058	3.027-3.103	0.989	Isometric
<i>C. saliens</i>	149	0.57-1.06	3.8-35.2	0.52-462.88	0.0067	3.045	0.057	2.996-3.094	0.991	Isometric

In this study, b values were calculated between 2.95 (*M. cephalus*) and 3.065 (*C. labrosus*) (Table 1). In this experiment when the values of b are examined, it was found that an isometric growth for all fish species. The K values significantly ($P<0.001$) range between 0.53-1.01 for *C. auratus*, 0.70-1.05 for *M. cephalus*, 0.73-1.13 for *C. labrosus* and for *C. saliens* 0.57-1.06. The condition factor and LWR parameters of the four grey mullet species are shown in Table 1.

Length - weight relationship of *C. auratus*, *M. cephalus*, *C. labrosus* and *C. saliens* are found $W=0.0087L^{2.96}$, $W=0.0106L^{2.95}$, $W=0.0073L^{3.06}$ and $W=0.0067L^{3.04}$ respectively (Figure 2).

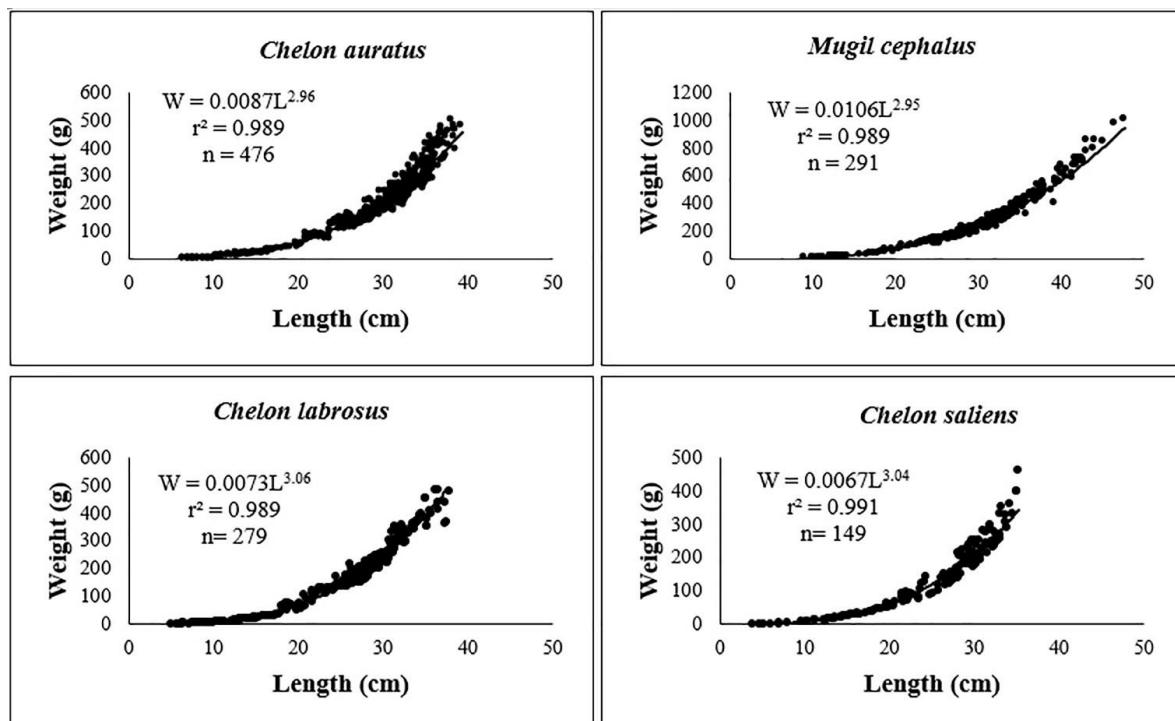


Figure 2. Length-weight relationships ($W=aL^b$) for *C. auratus*, *M. cephalus*, *C. labrosus* and *C. saliens* from the Köyceğiz Lagoon in Turkey.

Relations between TL-FL, FL-SL and SL-TL of *C. auratus*, *M. cephalus*, *C. labrosus* and *C. saliens* living in Köyceğiz lagoon are given in Table 2. Significant relationships were found between different lengths of each fish species ($P<0.001$).

Table 2. Length-length relationships parameters of *C. auratus*, *M. cephalus*, *C. labrosus* and *C. saliens* from the Köyceğiz Lagoon in Turkey

Species	N	Equation	a	b	SE(b)	CI(b)	r ²
<i>C. auratus</i>	476	TL = a + bFL	0.149	0.897	0.292	0.895-0.900	0.998
		FL = a + bSL	-0.490	0.870	0.361	0.866-0.874	0.996
		SL = a + bTL	-0.349	0.780	0.485	0.776-0.785	0.993
<i>M. cephalus</i>	291	TL = a + bFL	0.115	0.899	0.314	0.896-0.903	0.999
		FL = a + bSL	-0.283	0.864	0.243	0.861-0.867	0.999
		SL = a + bTL	-0.182	0.778	0.378	0.773-0.782	0.998
<i>C. labrosus</i>	279	TL = a + bFL	0.226	0.888	0.271	0.884-0.892	0.998
		FL = a + bSL	-0.127	0.861	0.307	0.855-0.866	0.997
		SL = a + bTL	0.061	0.764	0.352	0.759-0.770	0.996
<i>C. saliens</i>	149	TL = a + bFL	0.171	0.892	0.311	0.885-0.899	0.999
		FL = a + bSL	-0.157	0.861	0.259	0.854-0.868	0.999
		SL = a + bTL	-0.012	0.769	0.359	0.760-0.777	0.998

DISCUSSION

The *b* values in LWR identify the growth type of the fish species. In a fish population, *b* = 3 isometric growth and fish transform into more robust with an increase in length (Bagenal and Tesch, 1978), *b* ≠ 3 allometric growth and fish becomes thinner with increasing length (King, 1996). The results of this study show that the growth of the *C. auratus*, *M. cephalus*, *C. labrosus* and *C. saliens* was isometric. In this study, the similarity and differences were observed in the length - weight relationship parameters compared to the results of other researchers (Table 3). Nikolsky (1963) stated that the environmental conditions in the fish habitat have positive or negative effects on growth. This may explain that same fish species in different habitats can show different growth types.

In the present research, the condition factor values were similar when compared to the other researcher's results (Egemen et al., 1999; Buhan, 1998; Hoşsucu, 2001). In contrast, Bilgin et al., 2006; Acarlı, 2007; Komolu-Johnson and Ndimele, 2010; Yılmaz and Polat, 2011; Kasımoğlu and Yılmaz, 2011 reported different condition factor values. These differences may be due to the nutrient capacity of the environment, population density, sampling time, sample size and age.

In conclusion, results of the present study provide basic information on the LWR, LLR, and condition of four grey mullet species. These results showed that grey mullet species in Köyceğiz Lagoon are well-developed and nutritional capacity of the environment is sufficient when they are considered in terms of their length-weight and condition. In this respect, we have considered that our results will contribute positively to the management of lagoon fisheries and to related studies to be carried out in the future.

In the present research, the condition factor values were similar when compared to the other researcher's results (Egemen et al., 1999; Buhan, 1998; Hoşsucu, 2001). In contrast, Bilgin et al., 2006; Acarlı, 2007; Komolu-Johnson and Ndimele, 2010; Yılmaz and Polat, 2011; Kasımoğlu and Yılmaz, 2011 reported different condition factor values. These differences may be due to the nutrient capacity of the environment, population density, sampling time, sample size and age.

Table 3. Comparison of growth parameters of grey mullet species reported by different studies

Species	Habitat	n	a	b	r ²	Growth type	References
<i>Chelon auratus</i>	Köyceğiz Lagoon	406	0.005	3.193	0.98	I	Buhan, 1998
	Mar Menor Lagoon	2955	0.0073	3.18	0.99	+A	Verdiel-Cubedo et al., 2006
	Homa Lagoon	119	0.0100	2.99	0.98	I	Acarlı et al., 2014
	Gediz Estuary	81	0.0091	3.035	0.99	+A	Kara et al., 2017
	Middle BlackSea	255	0.044	2.52	0.87	I	Samsun et al., 2017
	Köyceğiz Lagoon	476	0.0087	2.96	0.99	I	This study
<i>Mugil cephalus</i>	Köyceğiz Lagoon	284	0.0012	2.95	0.95	I	Buhan, 1998
	Strymon Lagoon	290	0.0128	2.779	0.81	-A	Koutrakis and Tsikliras, 2003
	Vellar, Pakistan	390	0.0232	2.76	0.99	-A	Murugan et al., 2012
	Persian Gulf	37	0.0234	2.91	0.96	-A	Khayyami et al., 2014
	Okrika Gulfs	30	-	2.86	0.96	I	Ogunola and Onada, 2017
	Köyceğiz Lagoon	291	0.0106	2.95	0.99	I	This study
<i>Chelon labrosus</i>	Köyceğiz Lagoon	65	0.0013	2.931	0.99	I	Buhan, 1998
	Güllük Lagoon		0.0001	3.084	0.98	I	Egemen et al., 1999
	Rihios Lagoon	88	0.0106	2.993	0.96	I	Koutrakis and Tsikliras, 2003
	Homa Lagoon	68	0.0080	3.061	0.83	I	Acarlı et al., 2014
	Gediz Estuary	113	0.0083	3.090	0.99	+A	Kara et al., 2017
	Köyceğiz Lagoon	279	0.0073	3.06	0.99	I	This study
<i>Chelon sanguineus</i>	Köyceğiz Lagoon	257	0.010	2.95	0.96	I	Buhan, 1998
	Erdek Gulf	57	0.0092	3.008	0.98	I	Keskin and Gaygusuz, 2010
	Beymelek Lagoon	1248	0.0099	2.95	0.97	I	Balık et al., 2011
	Gediz Estuary	91	0.0098	2.988	0.99	I	Kara et al., 2017
	Homa Lagoon	177	0.0018	3.489	0.95	+A	Acarlı et al., 2014
	Köyceğiz Lagoon	149	0.0067	3.04	0.99	I	This study

In conclusion, the results of the present study provide basic information on the LWR, LLR, and condition of four grey mullet species. These results showed that grey mullet species in Köyceğiz Lagoon are well-developed and nutritional capacity of the environment is enough when they are considered in terms of their length-weight and condition. In this respect, we have considered that our results will contribute positively to the management of lagoon fisheries and to related studies to be carried out in the future.

Acknowledgements: This study was funded by Muğla Sıtkı Koçman University, Scientific Research Project Office with project number 17/119.

REFERENCES

- Acarlı, D. (2007). *Studies on fisheries and improving its fishery in Homa lagoon* [PhD thesis]. Ege University Institute of Science and Technology, İzmir, Turkey 153 s.
- Acarlı, D., Kara, A., & Bayhan, B. (2014). Length-weight relations for 29 fish species from Homa Lagoon, Aegean Sea, Turkey. *Acta Ichthyologica et Piscatoria*, 44(3), 249–257. doi: 10.3750/AIP2014.44.3.09
- Bagenal, T. B., & Tesch, F. W. (1978). Age and growth. In: Methods for assessment of fish production in fresh waters. IBP Handbook No. 3. T. Bagenal (Ed.). Blackwell Scientific Publications, Oxford, pp.101–136.
- Balık, S., Emre, Y., Sümer, C., & Teksam, İ. (2011). Population structure, growth and reproduction of leaping grey mullet (*Liza saliens* Risso, 1810) in Beymelek Lagoon, Turkey, *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 10, 218-229.
- Bilgin, S., Bircan, R., Sümer, Ç., Özdemir, S., Çelik, E.Ş., Ak, O., Satılmış, H.H., & Bayraklı, B. (2006). Population features and reproduction biology of golden grey mullet *Liza aurata* (Risso, 1810) (Pisces: Mugilidae) in the Middle Black Sea (Sinop-Samsun Regions). *Science and Engineering Journal of Firat University*, 18, 49-62.
- Blackwell, B. G., Brown, M. L., & Willis, D. W. (2000). Relative Weight (Wr) Status and Current Use in Fisheries Assessment and Management. *Reviews in Fisheries Science*, 8, 1–44. doi:10.1080/10641260091129161
- Buhan, E. (1998). Development of Lagoon Management of Köyceğiz Lagoon System by Researching Present Situtation and Grey Mullet Populations. Aquaculture Research Institute of Ministry of Agriculture, Bodrum. Serial B, 3, 1-347.
- Egemen, Ö., Gökpınar, Ş., Önen, M., Büyükkışık, B., Hoşsucu, B., Sunlu, U., & Cirik, S. (1999). Güllük Lagoon (Aegean Sea, Turkey) Ecosystems. *Turkish Journal of Zoology*, 23, 927-947.
- FAO, (1999). FAO species identification guide for fishery purposes. The living marine resources of the Western Central Pacific. 4 (2), 2069-2790.
- Geldiay, R., & Balık, S. (2009). *Freshwater fish in Turkey*. Ege University, Faculty of Fisheries Textbook, Series:46, VI. Press, Izmir, pp 648.
- Hoşsucu, B. (2001). Some growth parameters of mullet species (Mugil spp.) living in Güllük Lagoon (Aegean Sea). *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Science*, 18, 421-435.
- Kara, A., Sağlam, C., Acarlı, D., & Cengiz Ö. (2017). Length-weight relationships for 48 fish species of the Gediz estuary, in İzmir Bay (Central Aegean Sea, Turkey). *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 98, 879-884. doi:10.1017/S0025315416001879
- Kasimoğlu, C., & Yılmaz, F. (2011). Growth and Reproduction Characteristics of the Striped Mullet (*Mugil cephalus* L., 1758) Inhabiting in the Gökova Bay (Mugla). *Firat University Journal of Science*, 23, 47-55.
- Keskin, Ç., & Gaygusuz, Ö. (2010). Length-weight relationships of fishes in shallow waters of Erdek Bay (Sea of Marmara, Turkey). *IUFS Journal of Biology*, 69 (2), 87-94.
- Khayyami, H., Movahedinia, A., Zolgharnein, H., & Salamat, N. (2014). Length-weight relationship of Mugil cephalus (Linnaeus, 1758) from Bandar Abbas Port and Qeshm Island in northeastern Persian Gulf. *Applied Science Research*, 5(5), 19-23.
- King, R. P. (1996). Length-weight relationship of Nigeria freshwater fishes. *Naga ICLARM Quarterly*, 19, 49-52.
- Koutrakis, E.T., & Tsikliras, A.C. (2003). Length-weight relationships of fishes from three northern Aegean estuarine systems (Greece). *Journal of Applied Ichthyology*, 19, 258-260. doi:10.1046/j.1439-0426.2003.00456.x
- Kumolu-Johnson, C.A., & Ndimele, P.E. (2010). Length-weight relationships and condition factors of twenty-one fish species in Olobe Lagoon, Lagos, Nigeria. *Asian Journal of Agricultural Sciences*, 2(4), 174-179.
- Moutopoulos, D. K., & Stergiou, K. I. (2002). Length-weight and length-length relationships of fish species from Aegean Sea (Greece). *Journal of Applied Ichthyology*, 18, 200-203. doi:10.1046/j.1439-0426.2002.00281.x
- Murugan, S., Ajmal Khan, S., Lyla, P.S., Prasanna Kumar, C., Jalal, K.C.A., Kamaruzzaman, B.Y., & Akbar John, B. (2012). Length-weight relationship of Mugil cephalus (Linnaeus, 1758) in Vellar estuary, Southeast coast of India. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 15(12), 595-599. doi: 10.3923/pjbs.2012.595.599.
- Nikolsky, G.V. (1963). *The ecology of fishes*. Academic Press, London.
- Ogunola, O. S., & Onada, O. A. (2017). Preliminary investigation of length-weight relationships and condition factors of two commercially important fish species (Mullet, *Mugil cephalus* (Linnaeus 1758) and Sardine, *Sardinella maderensis* (Lowe 1838)) in Okrika creeks (Niger-Delta) of Nigeria. *Regional Studies in Marine Science*, 13, 54–58.
- Pauly, D. (1993). Fishbyte section editorial. *Naga. ICLARM Quarterly*, 16, 26.

- Ricker, W. E. (1975). Computation and interpretation of biological statistics of fish populations. *Bulletin of the Fisheries Research Board of Canada*, 191, 1-382.
- Sağlam, C., Akyol, O., & Ceyhan, T. (2015). Fisheries in Güllük Lagoon. *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Science*, 32, 145-149. doi: 10.12714/egejfas.2015.32.3.04.
- Samsun, O., Akyol, O., Ceyhan, T., & Erdem, Y. (2017). Length-weight relationships for 11 fish species from the central Black Sea, Turkey. *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 34 (4), 455-458. doi: 10.12714/egejfas.2017.34.4.13
- Thomson, J.M. (1997). The Mugilidae of the world. Mem. Queensland Mus. 41, 457-562
- Tsoumani, M., Liasko, R., Moutsaki, P., Kagalou, I., & Leonardos, I. (2006). Length-weight relationships of an invasive cyprinid fish (*Carassius gibelio*) from 12 Greek lakes in relation to their trophic states. *Journal of Applied Ichthyology*, 22, 281–284. doi:10.1111/j.1439-0426.2006.00768.x
- Verdiell-Cubedo, D., Oliva-Paterna, F.J., & Torralva, M. (2006). Length weight relationships for 22 fish species of the Mar Menor coastal lagoon (western Mediterranean Sea). *Journal of Applied Ichthyology*, 22, 293–294. doi:10.1111/j.1439-0426.2006.00738.x
- Weatherly, A.H., & Gill, H.S. (1987). *The biology of fish growth*. London, academic Press. 433-443.
- Yılmaz, S., & Polat, N. (2011). Age and Growth Properties of Striped Mullet, *Mugil cephalus* L., 1758 Inhabiting Bafra Fish Lakes, Samsun, Turkey. *The Black Sea Journal of Sciences*, 1, 1-19.

New Data on Trichodinid Ectoparasites (Ciliophora: Peritrichida) of *Mullus barbatus ponticus* (Mullidae) in the Black Sea

Türkay ÖZTÜRK^{1,*} , Ali YEŞİL^{1,2} 

¹Faculty of Fisheries and Aquatic Sciences, Sinop University, Sinop, Turkey

²Graduate School of Natural and Applied Sciences, Sinop University, Sinop, Turkey

*Correspondence: turkay.ozturk@gmail.com

Research Article

Received 26 March 2019; Accepted 21 May 2019; Release date 15 December 2019.

How to Cite: Öztürk, T., & Yeşil, A. (2019) New data on trichodinid ectoparasites (Ciliophora: Peritrichida) of *Mullus barbatus ponticus* (Mullidae) in the Black Sea. *Acta Aquatica Turcica*, 15(4), 418-424 <https://doi.org/10.22392/actaquatr.545083>

Abstract

The red mullet, *Mullus barbatus ponticus* Essipov, 1927 inhabiting the Black Sea was examined for presence of trichodinid ectoparasites. A total of three species of trichodinids belonging to *Trichodina* and *Paratrichodina* genera, were identified: *Trichodina domerguei* Wallengren, 1897, *T. ovonucleata* Raabe, 1958 and *Paratrichodina obliqua* Lom 1963. Photomicrographs and morphometric data were presented for each species. The existence of trichodinid parasites in relation to size and the sex of the red mullet as well as their seasonal occurrences were also investigated and determined. This paper is the first report on the trichodinid ectoparasites on the red mullet in Turkey. *Trichodina ovonucleata* and *P. obliqua* are new records for Turkish fish parasite fauna, while *P. obliqua* and *T. domerguei* are new parasite records for *M. barbatus ponticus*. The number of hosts of these trichodinid species is increased based on the results of this study in addition to the previously published data.

Keywords: *Trichodina*, *Paratrichodina*, ectoparasite, red mullet, Black Sea

Karadeniz'deki *Mullus barbatus ponticus* (Mullidae) balığının Trichodinid Ektoparazitleri (Ciliophora: Peritrichida) İle İlgili Yeni Veriler

Özet

Karadeniz'de bulunan barbunya, *Mullus barbatus ponticus*, balığı trichodinid ektoparazitlerin varlığı açısından incelendi. *Trichodina* ve *Paratrichodina* cinslerine ait toplam üç trichodinid türü tanımlandı: *Trichodina domerguei* Wallengren, 1897, *T. ovonucleata* Raabe, 1958 ve *Paratrichodina obliqua* Lom 1963. Trichodinid parazitlerin barbunya balığının cinsiyet ve büyülüğünün yanı sıra mevsimsel bulunuşları da araştırılmış ve belirlenmiştir. Bu makale, Türkiye'deki barbunya balığının trichodinid ektoparazitleri hakkında ilk rapordur. *Paratrichodina obliqua* ve *T. domerguei*, *M. barbatus ponticus* için yeni parazit kayıtları iken, *T. ovonucleata* ve *P. obliqua*, Türkiye parazit faunası için yeni kayıtlardır. Bu çalışmanın sonuçlarına göre, bu trichodinid türlerinin konak sayısı, daha önce yayınlanmış verilere ek olarak artmıştır.

Anahtar Kelimeler: *Trichodina*, *Paratrichodina*, ektoparazit, barbunya balığı, Karadeniz

INTRODUCTION

The family Mullidae Rafinesque, 1815 known as red mullets or goatfishes are widely distributed in many areas of the world and some of their species are economically important. In the Black Sea, the genus *Mullus* Linnaeus, 1758 is represented by two species, *M. barbatus* Linnaeus, 1758 and *M. surmuletus* Linnaeus, 1758 (Ivanova et al., 2014). In addition to these two species, *M. barbatus ponticus* Essipov, 1927, a subspecies of *M. barbatus* which lives only in the Black Sea, has also been reported among members of this genus (Hureau et al., 1986; Turan, 2006). However, the taxonomic status of *M. barbatus ponticus* as a subspecies has not been proven by a molecular and karyological database (Keskin and Can, 2009; Vasileva, 2012).

The validity of *Mullus barbatus ponticus* is uncertain. *Mullus barbatus* is characterized by having a very steep (almost vertical) snout, relatively short barbels that are no longer than pectoral fins, presence of three suborbital scales, short head (approximately 20% of total length), and the absence of spots and stripes on the body and fins. Whereas, *M. barbatus ponticus* is characterized by having a curved head and presence of four suborbital scales. It can be distinguished from *M. barbatus* by maxilla which is reaching beyond anterior eye margin in adults and having only three suborbital scales. The red mullet has a high commercial value and is the main target species of many demersal fisheries operating in the Black Sea, and annual catch was 1406 tonnes in 2017 according to "Turkish Statistical Institute" (TÜİK, 2018) in Turkey.

The red mullet is not only one of the most consumed fish but also a bio indicator species utilizing to evaluate the biological effects of chemical pollutants in marine organism (Mathieu et al., 1991; Benedicto et al., 2005). Despite their economic and ecological importance in aquatic ecosystems, the number of studies on the ecto-and endo parasites of the red mullet is limited. Trichodinids are commonly found as ectoparasites or ectocommensals on aquatic invertebrates and vertebrates. They are one of the largest groups of ectoparasites in marine and freshwater fish (Lom and Dykova, 1992). Four genera of the family Trichodinidae Claus, 1951, that is, *Trichodina* Ehrenberg, 1830, *Dipartiella* Stein, 1961, *Trichodinella* Srámek-Husek, 1953 and *Paratrichodina* Lom, 1963, were found to occur on marine fishes (Xu et al., 2002). To our knowledge, about 400 valid species of trichodinids have been reported from both freshwater and marine environments in the world (Wang et al., 2017). Many studies have been conducted on helminth parasite fauna of *M. barbatus* (Essafi et al., 1983; Ovcharenko and Yurahno, 2006; Carreras-Aubets et al., 2012; Debenedetti et al., 2013; Öztürk and Yeşil, 2018). However, studies on the trichodinid parasites of red mullet are limited (Raabe, 1958; Zaika 1966; Gaevskaya et al., 1975). This paper is the first report of the trichodinid parasites on *M. barbatus ponticus* captured from the Black Sea waters, off Sinop, Turkey and provide information on the presence of trichodinid ectoparasites in relation to fish size, sex, and season.

MATERIALS and METHODS

Fish specimens were collected throughout a one-year period from commercial fishing vessels on Sinop coast of the Black Sea ($42^{\circ}00'05''$ N, $35^{\circ}08'59''$ E). In total, 330 fish specimens were sampled as monthly throughout a one-year period between June 2012 and July 2013 and investigated for trichodinid ectoparasites. At necropsy, the total lengths were measured and their sex was determined. During the investigation period, wet smears of gills, fins and skin were prepared and examined in order to detect the existence of trichodinids. Air-dried smears were stained with a 2% aqueous solution of silver nitrate for 10 min, rinsed in distilled water, and exposed to ultraviolet light for 20–25 min (Lom and Dykova, 1992). Morphological diagnostic features of the adhesive disc and the denticle were identified under Olympus phase-contrast microscope at 100x magnification. The photomicrographs of trichodinid specimens were taken with a light microscope equipped with a digital camera and drawings were made with camera lucida attachment. The measurements of adhesive disk and denticule elements were carried out as described by Van As and Basson (1989). All measurements are given in micrometers and based on 20 trichodinid specimens. Prevalence (P, %) and mean intensity (MI) values of the trichodinids were determined according to Bush et al. (1997). The standard error (SE) of the mean intensity was calculated. The infestation values of three trichodinids were given for pooled data rather than by each trichodinid species. The normal distribution of the data was tested by using Kolmogorov-Simirnow test. While the differences in the mean intensity values of trichodinids for seasonal and fish size were tested by Kruskal-Wallis test (Nonparametric ANOVA), the difference between trichodinids loading on female and male fish was tested by the Mann-Whitney U-test. Some physicochemical parameters including water temperature ($^{\circ}$ C), salinity (ppt), and pH values of sampling area were obtained from Sinop Meteorology General Directorate and the obtained data were pooled seasonally for each physicochemical parameter.

RESULTS

During the present study, three trichodinid species, *T. domerguei* Wallengren, 1897 (Figure 1A-2A), *T. ovonucleata* Raabe, 1958 (Figure 1B-2B) and *P. obliqua* Lom, 1963 (Figure 1C-2C) were identified

on the gills of *M. barbatus ponticus*. The morphometrical data of the silver-impregnated specimens of all three species are submitted in Table 1.

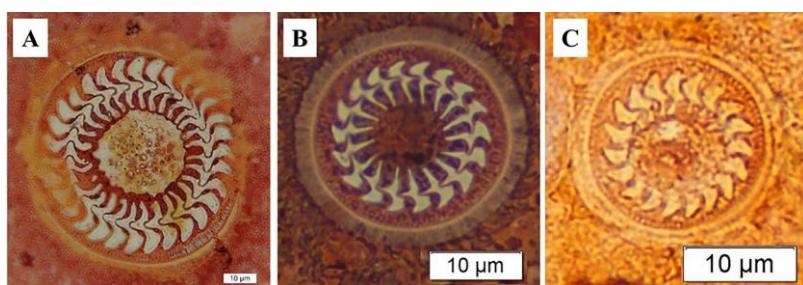


Figure 1. Photomicrographs of trichodinid ectoparasites identified on *M. barbatus ponticus* **A.** *T. domerguei* Wallengren, 1897; **B.** *T. ovonucleata* Raabe, 1958; **C.** *P. obliqua* Lom 1963. Specimens stained with silver-nitrate.

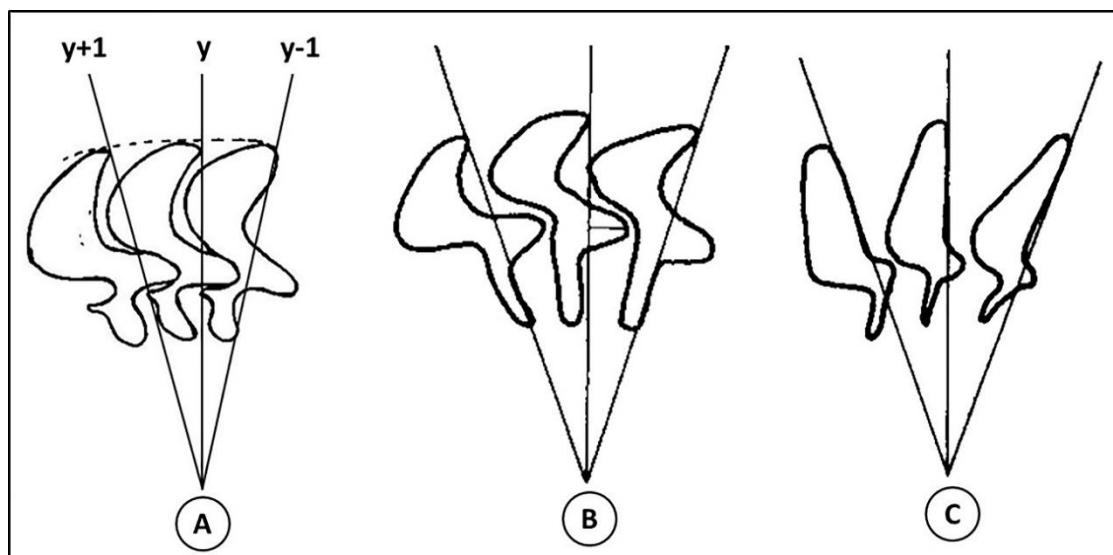


Figure 2. Diagrammatic drawings of the denticles of trichodinids identified in this study: **A.** *T. domerguei*, **B.** *T. ovonucleata*, **C.** *P. obliqua*. (y+1, y, y-1. Y axes).

Table 1. Morphometrical data of *T. domerguei*, *T. ovonucleata* and *P. obliqua* from *M. barbatus ponticus* (n: number of measured specimens) (range with arithmetic mean and standard error in parentheses) (all measurements in µm).

	<i>Trichodina domerguei</i> (n: 20)	<i>Trichodina ovonucleata</i> (n: 20)	<i>Paratrichodina obliqua</i> (n: 20)
Body diameter	71-80 (76.2 ± 1.4)	24-32 (29.5 ± 1.9)	18-20 (19.5±0.4)
Adhesive dics diameter	52-69 (60.1 ± 1.7)	18-24 (22.3 ± 2.5)	15-18 (16.50±0.4)
Denticule ring diameter	37-47 (40.9 ± 0.8)	10-14 (12.2 ± 1.2)	8-10 (9.10±0.6)
Denticle number	28-31	18-20	22-23
Number radial pins/denticle	9-11	5-6	5
Blade length	6.0-8.0 (7.1 ± 0.3)	1.5-2.5 (2.0 ± 0.22)	3.0-3.5 (3.25±0.4)
Ray length	4.0-5.0 (4.5 ± 0.2)	2.0-3.0 (2.7 ± 0.3)	1.0-1.5 (1.1±0.2)
Span of denticle	15-18 (17.5 ± 0.5)	4.0-6.0 (5.0 ± 0.6)	4.0-4.8 (4.3±0.20)
Central part width	2.5-3.1 (2.7 ±0.2)	1.0-1.5 (1.2 ± 0.1)	0.5-1.0 (0.7 ±0.05)
Border membrane width	4.5-5.0 (4.7 ± 0.2)	1.5-2.5 (2.0± 0.3)	1.4-2.0 (1.9±0.08)

The prevalence and mean intensity values of *T. domerguei*, *T. ovonucleata* and *P. obliqua* were given as trichodinids for pooled data rather than by each trichodinid species. The proportion of trichodinids in stained slides were determined as 50: 40: 10 (*T. ovonucleata*: *P. obliqua*: *T. domerguei*) and *T. ovonucleata* was found commonly. Infestation incides of trichodinids infesting *M. barbatus ponticus* are reported in Table 2.

Table 2. Combined infestation prevalence (%) and mean intensity levels of trichodinid ectoparasites (*T. domerguei*, *T. ovonucleata* and *P. obliqua*) on the *M. barbatus ponticus* (SE: Standard Error, n: Infected/Examined fish number)

	n (infec./exam.)	Prevalence (%)	Mean intensity ± S.E.	Statistical test used
Seasons				Kruskal-Wallis P<0.05
Winter	25/90	27.78	105.28 ± 55.02 ^a	
Spring	19/78	24.36	123.21 ± 90.61 ^a	Dunn's
Summer	0/82	0.0	0.0 ^b	
Autumn	0/80	0.0	0.0 ^b	
Length classes of fish (cm)				Kruskal-Wallis P>0.05
<13	7/60	11.67	25.14 ± 14.28	
13-15	25/193	12.95	94.64 ± 68.21	
>15	12/77	15.58	202.58 ± 112.41	
Fish sex				Mann-Whitney P>0.05
Female	36/266	13.53	126.25 ± 60.13	
Male	8/64	12.50	53.50 ± 25.83	
Overall	44/330	13.33	113.02 ± 49.45	

The overall infestation prevalence (%) and mean intensity values recorded from 330 fish specimens were 13.33% and 113.02 ± 49.45 trichodinids per infested fish, respectively. Both infestation values were also recorded for seasons as well as the sex and length classes of the red mullet (Table 2). The maximum infestation prevalence and mean intensity values were recorded in winter and spring. No trichodinids were observed in summer and autumn. Statistically significant differences were determined in the seasonal mean intensity values and are showed in Table 2. Trichodinid ectoparasites were found in all size classes. The infection prevalence and intensities in larger fishes was detected higher than in small fishes (Table 2). However, no statistically significant differences were determined in relation to the fish size. Both infection prevalence and mean intensity values of trichodinids according to fish sex, in general, were found slightly lower in males but statistically significant difference wasn't determined (P>0.05) (Table 2).

Some water physicochemical parameters was recorded monthly; while the highest water temperature values was in August (26.6°C), it was the lowest in January (8.3°C). During the study period, salinity varied from 15.55‰ to 18.01‰. The salinity was at its minimum in May (15.55‰) and maximum in August (18.01‰). Seasonal water parameters including temperature (°C), salinity (ppt), and pH values are presented in Table 3.

Table 3. Seasonal water temperature (°C), salinity (ppt), and pH values in the sampling area

Seasons	Temperature (°C)	Salinity (ppt)	pH
Winter	8.65	17.63	7.59
Spring	13.63	16.49	7.20
Summer	23.31	16.88	7.52
Autumn	17.70	17.82	7.81

DISCUSSION

A total of 9 *Trichodina* species (including 7 species and 2 genus level) have been reported from the red mullet in the Black Sea, so far. These are *T. gobii* Raabe, 1959, *T. jadranica* Raabe, 1958, *T. ovonucleata* Raabe, 1958, *T. inversa* Dogiel, 1948, *T. lepsii* Lom, 1952, *T. micromaculata* Stein, 1975, *T. rectuncinata* Raabe, 1958, *Trichodina* sp1. (Gaevskaya et al., 1975) and *Trichodina* sp2. (Zaika, 1966). *Trichodina ovonucleata* has been reported from a variety of fish hosts in the Black Sea (Lom, 1963; 1970; Zaika, 1966; Gaevskaya et al., 1975; Grupcheva et al., 1989). Although *T. ovonucleata* has previously been reported from the red mullet in the Black Sea coast of Russia (Gaevskaya et al., 1975), this is the first record of this species in the Black Sea coast of Turkey.

Paratrichodina obliqua was originally described by Lom (1963) from many fish species in the Black Sea. Since then, it has been reported from *Trachurus mediterraneus ponticus* Aleev, 1956, *Ophidion rochei* Muller, 1845, *Atherina mochon pontica* Eichwald, 1831 and *Syngnathus typhle* Linnaeus, 1758 in the Black Sea (Grupcheva et al., 1989) and *Paralichthys olivaceus* (Temminck & Schlegel, 1846) in the Yellow Sea (Xu et al., 2001). This is the first record of *P. obliqua* occurring on the red mullet in Turkey and this also constitutes a new host record for *P. obliqua*. The results of the study reveal new records of the occurrence of *T. ovonucleata* and *P. obliqua*, in Turkey. *Trichodina domerguei* (Wallengren, 1897) is one of the most widely distributed trichodinid species and it has been reported from variety of fish hosts living in freshwater, brackish and marine habitats (Lom and Stein, 1966; Lom, 1970; Xu et al., 1999; Özer and Öztürk, 2015) but the present work confirms that it can also infest the red mullet.

Some investigators have reported that seasonal changes in the presence of trichodinids and their infestation indices are usually due to water temperature (Öğüt and Palm, 2005; Yemmen et al., 2010). The highest mean intensity levels in the present study were 123.21 ± 90.61 and 105.28 ± 55.02 trichodinids per infested fish in spring and winter respectively (Table 2). Various authors have reported that trichodinid infestation was the maximum level in spring and winter seasons (Öğüt and Palm, 2005; Yemmen et al., 2010). In this study, we noted that while no trichodinid recorded in summer and autumn season, the highest prevalence and mean intensity level of trichodinids are recorded in spring, which corresponds to the multiplication season for trichodinids (Table 2). Similarly, Majumder et al. (2015) determined a decrease in infection prevalence of trichodinids in the fishes in summer and autumn seasons similar to our data. This can probably happen because that the high temperatures of water detected in summer and autumn seasons (Table 3) prevents the proliferation of trichodinids. It seems that the average temperatures of water in spring and winter seasons favours the multiplication of three trichodinids identified in the present study. Thus, it can be stated that the high-level prevalence and mean intensities values of trichodinids observed in spring and winter seasons were probably due to the similar temperature needs of three trichodinid species in the present study. In other words, the presence of these trichodinids in both spring and winter seasons indicates that these species prefer low water temperatures ($8.65 - 13.63^{\circ}\text{C}$).

Infestation prevalence (%) and mean intensity values were found higher in the largest length class and female of fish. However, no statistically significant differences were determined in relation to the sex and size of fish as shown in Table 2. In other words, the size and sex of the red mullet were not factors affecting the number of trichodinids in the present study.

In conclusion, this paper is the first report on the trichodinid ectoparasite fauna of the red mullet, *M. barbatus ponticus* in Turkey. We report *T. ovonucleata* and *P. obliqua* to be new records for Turkish parasite fauna, and *M. barbatus ponticus* is also a new host record for *T. domerguei* and *P. obliqua*. Moreover, this study provides some new and valuable information on the presence of trichodinid parasites both related with host factors (host size and sex), and environmental factors such as seasons and water temperature.

REFERENCES

- Benedicto, J., Martínez-Gómez, C., & Campillo, J. (2005). Induction of metallothioneins in *Mullus barbatus* as specific biomarker of metal contamination: A field study in the western Mediterranean. *Ciencias Marinas*, 31, 265–274. doi.org/10.7773/cm.v31i12.89
- Bush, A.O., Lafferty, K.D., Lotz, J.M., & Shostak, A.W. (1997). Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis et al. revisited. *The Journal of Parasitology*, 83(4), 575–583.
- Carreras-Aubets, M., Montero, F.E., Kostadinova, A., & Carrasson, M. (2012). Parasite communities in the red mullet, *Mullus barbatus* L., respond to small-scale variation in the levels of polychlorinated biphenyls in the Western Mediterranean. *Marine Pollution Bulletin*, 64(9), 1853–1860. doi.org/10.1016/j.marpolbul.2012.06.008
- Debenedetti, A.L., Madrid, E., & Fuentes, M.V. (2013). Study of helminth parasites in the red mullet, *Mullus barbatus*, from the Mediterranean Sea and acquired in greater València, Spain. *Revista Ibero-Latinoamericana de Parasitología*, 72(2), 118–123.
- Essafi, K., Raibaut, A., & Boudaoud-Krissat, K. (1983). *Colobomatus steenstrupi* (Richiardi, 1876) and *Colobomatus mulli* n. sp. (Copepoda: Philichthyidae), parasitic on fish of the genus *Mullus* (Mullidae) in the western Mediterranean. *Systematic Parasitology*, 5(2), 135–142.

- Gaevskaya, A.V., Gusev, A.V., Delyamure, S.L., Donets, Z.S., Iskova, N.I., Kornyushin, V.V., Kovaleva, A.A., Margaritov, N.M., Markevich, A.P., Mordvinova, T.N., Naidenova, N.N., Nikolaeva, V.M., Parukhin, A.M., Pogoreltseva, T.P., Smogorzhevskaya, L.A., Solonchenko, A.I., Stein, G.A., & Shulman, S.S. (1975): *Key to the parasites of vertebrates of the Black and Azov Seas*. Naukova Dumka, Kiev, 552 pp.
- Grupcheva, G., Lom, J., & Dykova, I. (1989). Trichodinids (Ciliata: Urceolariidae) from gills of some marine fishes with the description of *Trichodina zaika* sp. n. *Folia Parasitologica*, 36, 193–207.
- Hureau, J.C. (1986). Mullidae. Pp. 955–956. In: Whitehead, P.J., Bauchot, M.L., Hureau, J.C., Nielsen, J. & Tortonese, E. (eds): *Fishes of the North-Eastern Atlantic and the Mediterranean*. – UNESCO, Paris.
- Ivanova, P.P., Dobrovolov, I.S., & Tsekov, A.G. (2014). Genetic Differentiation between *Mullus barbatus* from the Western Part of the Black Sea and *Mullus surmuletus* (Pisces, Mullidae) from the Mediterranean Sea. *Ecologica Balcanica*, 6, 37–44.
- Keskin, E., & Can, A. (2009). Phylogenetic relationships among four species and sub-species of Mullidae (Actinopterygii, Perciformes) based on mitochondrial cytochrome B, 12 rRNA and cytochrome oxidase II genes. *Biochemical Systematics and Ecology*, 37(5), 653–661. doi:10.1016/j.bse.2009.10.001
- Lom, J. (1963). The ciliates of the family Urceolariidae inhabiting gills of fishes (the *Trichodinella*-group). *Vestnik Ceskoslovenske Spolecnosti Zoologicke*, 27, 7–19.
- Lom, J. (1970). Trichodinid ciliates (Peritrichida: Urceolariidae) from some marine fishes. *Folia Parasitologica*, 17, 113–125.
- Lom, J., & Stein, G.A. (1966). Trichodinids from sticklebacks and remarks on the taxonomic position of *Trichodina domerguei* (Wall.). *Vestnik Ceskoslovenske Spolecnosti Zoologicke*, 30, 39–48.
- Lom, J., & Dykova, I. (1992). *Protozoan parasites of fishes*. - Elsevier Science Publishers, Amsterdam, 315 pp.
- Majumder, S., Panda, S., & Bandyopadhyay, P.K. (2015). Effect of temperature on the prevalence of different parasites in *Cirrhinus mrigala* Hamilton of West Bengal. *Journal of Parasitic Disease*, 39(1), 110–112. doi:[10.1007/s12639-013-0295-4](https://doi.org/10.1007/s12639-013-0295-4)
- Mathieu, A., Lemaire, P., Carriere, S., Drai, P., Giudicelli, J., & Lafaurie, M. (1991). Seasonal and sex-linked variations in hepatic and extrahepatic biotransformation activities in striped mullet (*Mullus barbatus*). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 22(1), 45–57.
- Ovcharenko, M.O., & Yurahno, V.M. (2006). First Registration of *Loma* (Microsporidia, Glugeidae) Belonging Microsporidia in Black Sea Fish. *Vestnik Zoologii*, 40, 291–296.
- Öğüt, H., & Palm, H.W. (2005). Seasonal dynamics of *Trichodina* spp. on whiting (*Merlangius merlangus*) in relation to organic pollution on the eastern Black Sea coast of Turkey. *Parasitology Research*, 96(3), 149–153.
- Özer, A., & Öztürk, T. (2015). Trichodinid fauna of freshwater fishes with infestation indices in the Lower Kızılırmak Delta in Turkey and a checklist of trichodinids (Ciliophora: Trichodinidae) in Turkish waters. *Turkish Journal of Zoology*, 39(5), 749–761.
- Öztürk, T., & Yeşil, A. (2018). Metazoan Parasite Fauna of the Red Mullet, *Mullus barbatus ponticus* Essipov, 1927 in the Sinop Coasts of the Black Sea. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 18(1), 153–160.
- Raabé, Z. (1958). On some species of *Trichodina* (Ciliata – Peritrichia) of gills of Adriatic fishes. *Acta Parasitologica Polonica*, 6, 355–361.
- Turan, C. (2006). Phylogenetic relationships of Mediterranean Mullidae species (Perciformes) inferred from genetic and morphologic data. *Scientia Marina*, 70(2), 311–318.
- TÜİK (2018). Turkish Statistical Institute web page. Fishery statistics <https://tukik.gov.tr>. Accessed at: 2018.11.20.
- Van As, J.G., & Basson, L. (1989). Further contribution to the taxonomy of the Trichodinidae (Ciliophora: Peritrichida) and a review of the taxonomic status of some fish ectoparasitic trichodinids. *Systematic Parasitology*, 14, 157–179.
- Vasileva, E.D. (2012). Morphological divergence of goatfishes (Genus *Mullus*, Mullidae, Perciformes) of the Black and Mediterranean Seas and the problem of assessment of their taxonomic relationships. *Journal of Ichthyology*, 52(8), 485–491.
- Wang, Z., Zhou, T., & Gu, Z. (2017). New data of two trichodinid ectoparasites (Ciliophora: Trichodinidae) from farmed freshwater fishes in Hubei, China. *European Journal of Protistology*, 60, 50–59.
- Xu, K., Song, W., & Warren, A. (1999). Trichodinid ectoparasites (Ciliophora: Peritrichida) from the gills of cultured marine fishes in China, with the description of *Trichodinella lomi* n. sp. *Systematic Parasitology*, 42(3), 219–227.
- Xu, K., Song, W., Warren, A., & Choi, J.K. (2001). Trichodinid ectoparasites (Ciliophora: Peritrichida) of some marine fishes from coastal regions of the Yellow Sea and Bohai Sea. *Systematic Parasitology*, 50(1), 69–79.

- Xu, K., Song, W., & Warren, A. (2002). Taxonomy of trichodinids from the gills of marine fishes in coastal regions of the Yellow Sea, with descriptions of two new species of *Trichodina* Ehrenberg, 1830 (Protozoa: Ciliophora: Peritrichia). *Systematic Parasitology*, 51(2), 107–120.
- Yemmen, C., Quilichini, Y., Katari, M.H., Marchand, B., & Bahri, S. (2010). Morphological, ecological and histopathological studies of *Trichodina gobii* Raabe, 1959 (Ciliophora: Peritrichida) infecting the gills of *Solea aegyptiaca*. *Protistology*, 6(4), 258–263.
- Zaika, V.E. (1966): On the fauna of protozoan parasites of fishes of the Black Sea. Pp. 13-31. In Vodianys'kyi, V.O. (eds): *Gelmintofauna Shivot Zhivot*. Publishing House of Naukai Dumka, Kiev.

Biology of Shortfin Mako Shark (*Isurus oxyrinchus* Rafinesque, 1810) from the Eastern Mediterranean

Elizabeth Grace Tunka BENGİL^{1,4*}, Meryem AKALIN², İnci TÜNEY KIZILKAYA^{3,4}, Fethi BENGİL¹

¹Girne American University, Marine School, Girne, TRNC via Turkey

²Ege University, Faculty of Fisheries, Department of Fisheries Biology 35100, Bornova, Izmir, Turkey

³Ege University, Faculty of Science, Department of Biology, 35100, Bornova, Izmir, Turkey

⁴Mediterranean Conservation Society, Kazımidirik Mah. No:8 Folkart Time 1. Blok Kat:8 No: 807 Bornova, Izmir, Turkey

*Corresponding author: elizabetheronat@gau.edu.tr

Research Article

Received 28 March 2019; Accepted 21 June 2019; Release date 15 December 2019.

How to Cite: Bengil, E. G. T., Akalın, M., Tüney Kızılıkaya, İ., & Bengil, F. (2019). Biology of Shortfin Mako Shark (*Isurus oxyrinchus* Rafinesque, 1810) from the Eastern Mediterranean *Acta Aquatica Turcica*, 15(4), 425-432 <https://doi.org/10.22392/actaquatr.545997>

Abstract

Shortfin mako, *Isurus oxyrinchus* Rafinesque, 1810, is one of the commercially and recreationally important shark species in the world. Still knowledge on its biology and status is limited in the eastern Mediterranean. Three individuals were caught from Turkish waters. Two individuals (one female and one male) stomach contents, morphological measurements and female' gonad histology were studied. According to the results from macroscopic examination and gonad histology, the female was a Stage 1-immature, and smallest female ever recorded from Turkish waters. In addition, phylogenetic network of mitochondrial haplotypes was constructed for all three individuals. The phylogenetic network analysis supported that the species having a metapopulation as mentioned in previous studies. Since every information is critical for development of conservation actions aiming endangered species, we believe that our study will contribute to the limited knowledge on *I. oxyrinchus* biology and reproduction habits in Eastern Mediterranean

Key words: *Isurus oxyrinchus*, conservation biology, ecology, Eastern Mediterranean.

Doğu Akdeniz'den Kısa Yüzgeçli Mako Köpekbalığı'nın (*Isurus oxyrinchus* Rafinesque, 1810) Biyolojisi

Özet

Kısa yüzgeçli mako köpekbalığı, *Isurus oxyrinchus* Rafinesque, 1810, dünyadaki ticari ve sportif açıdan önemli olan köpekbalığı türlerinden biridir. Türün, Doğu Akdeniz'deki biyolojisi ve durumu konusundaki bilgiler hala sınırlıdır. Çalışmada, Türkiye kıyılarından üç birey yakalanmıştır. Yakalanan iki bireyin (bir dişi ve bir erkek) morfolojik ölçümleri yapılmış, mide içeriği ve dişi gonad histolojisi incelenmiştir. Makroskopik inceleme ve gonad histolojisi sonuçlarına göre; dişi birey, aşama-1 (olgunlaşmamış) safhasında ve şimdiye kadar Türk sularından kaydedilen en küçük dişi bireydir. Ayrıca, her üç birey için filogenetik mitokondriyal haplotip ağ oluşturulmuştur. Yapılan bu filogenetik ağ analizi, önceki çalışmalarda belirtildiği gibi bir metapoplasyona sahip türlerin desteklendiğini göstermektedir. Her bilgi, nesli tükenmeye olan türlerle yönelik koruma eylemlerinin geliştirilmesi için kritik öneme sahiptir. Çalışmamızın, Doğu Akdeniz'deki *I. oxyrinchus* biyolojisi ve üreme alışkanlıklarını sınırlı bilgiye katkı yapacağına inanmaktayız.

Anahtar kelimeler: *Isurus oxyrinchus*, koruma biyoloji, ekoloji, Doğu Akdeniz

INTRODUCTION

Shortfin mako *Isurus oxyrinchus* Rafinesque, 1810 is an important target species, a bycatch in tuna and billfish longline and driftnet fisheries, particularly in high-seas fisheries, and is an important coastal recreational species around.

Even though it is a target species in the world it has no commercial value in Turkish waters. The species is widely distributed in most tropical and temperate seas from 50° N (up to 60° N Eastern North Atlantic) to 50° S. Eastern North Atlantic: occasional records from Norway (from about 60° N) and British Isles; more common further south, including Bay of Biscay, Spain, Portugal, the Azores, and off Northwest Africa, including the Mediterranean Sea. Western North Atlantic: Newfoundland, Canada, south along the Atlantic coast to Florida, U.S.A., and the Gulf of Mexico. It is a common, coastal to offshore, oceanic, epipelagic shark that occurs from the surface to at least 600 m deep. The species is viviparous with oophagy, but much of their reproductive cycle remains unknown. Litter size is between four and 25, with a gestation period of 15 to 18 months, followed by a resting period, making the overall time between birthing events as long as three years. Litter size increases with size of the female. Birth usually occurs in the spring and summer, but nursery grounds are poorly known other than they appear to be located close to coastal areas (Ebert and Stehmann, 2013). It is known that the species inhabits Turkish waters except the Black Sea (Bilecenoglu et al., 2014) but is not a common species of Turkey's coasts (Kabasakal, 2015) or a common catch (Bengil and Başusta, 2018). There are some studies on their occurrence but there is no study on their biology besides their length-weight relationship in the eastern Mediterranean Aim of this study is to obtain and report as much information as possible on a critically endangered IUCN redlist species (Malak, 2011), from two neonates (one female, one male) and one tissue sample, to contribute to its current state and future conservation status in the eastern Mediterranean.

MATERIALS and METHODS

Samples of three *I. oxyrinchus* were obtained, one being only a tissue sample two being whole individuals. First individual (Sample #1) was caught by gillnet at 4 m in depth from Izmir Bay (Kırdeniz, Foça, Central Aegean Sea) on May 2015. The second individual (Sample #2) was caught by longline from Gökova Bay (Akyaka, South Aegean Sea) on February 2016. Both individuals were dead before they were removed from the fishing gear and individual from Izmir Bay was freshly brought to the laboratory and other individual from Gökova Bay was preserved frozen by the fisherman till brought to the laboratory for further examinations. The third (Sample #3) was obtained from Fethiye Bay May 2017 and was sent to the laboratory as a tissue sample. Before dissection of the whole individuals the length measurements were made by using a measuring board with a sensitivity of 1 mm and a digital caliper, weight measurements were made with an electronic scale with a sensitivity of 0.01 g. The stomach contents were identified to the smallest taxon possible, recorded and weight with an electronic scale with a sensitivity of 0.001 g. The whole individual's liver and total gonad weights were also recorded.

Tissue samples weighting ±10 g were taken from ventral part of the individuals underneath the skin for the DNA barcoding of the species and were stored at -20°C until the DNA extraction. Also, as part of the first project, from freshly brought individual, a part of the gonad was taken and preserved in 4% formaldehyde solution to examine the reproduction biology more detailed. Histological preparation procedures were conducted by first embedding the gonad part to a paraffin block, slicing the block to 6 µm thickness and then staining with Mallory's hematoxylin and eosin. The slides were examined using a CX-31 phase contrast microscope and photographed with an Olympus DP-20 digital camera.

DNA isolation was performed with Tissue and Cell DNA Purification kit (GeneMark, Taiwan) according to manufacturer's instructions. DNA quality and quantity were measured with NanoDrop spectrophotometer (Nanodrop, Thermo Fisher Scientific, USA). All the DNAs were found suitable for PCR (Polymerase Chain Reaction) analysis after quality measurement. Cytochrome c oxidase subunit I (COI) gene (~700 bp) was amplified by PCR analysis with primers LCO1490: 5'-GGT CAA CCAA ATC ATA AAG ATA TTG G-3' and HCO2198: 5'-TAA ACT TCA GGG TGA CCA AAA AAT CA-3' (Folmer et al., 1994). PCR reactions were performed in 25 µL total volume of reaction buffer containing 2.5 mM dNTPs (Thermo Scientific), 20 µM of each primer, 0.4 µL Dream Taq DNA polymerase, (Thermo Scientific), 10 × Buffer, and 2 ng template DNA. PCR analysis was performed by Biorad Thermal Cycler (USA). PCR conditions for both primer pairs were started with initial denaturation step at 95°C for 2 minutes, which was followed by 30 cycles of DNA denaturation at 95°C for 30 seconds, primer annealing for a min at 48°C, DNA strand extension at

72°C for another 1 min, and a final extension step at 72°C for 10 min. The PCR products were separated on 1.5% agarose gel electrophoresis, stained with SafeView Stain (ABM) and visualized by image analyzer. Sequence analysis of PCR amplicons was performed at Ankara University Evolutionary Genetics Laboratory. Forward and reverse sequencing were performed, and results were edited in Sequencher 5.0.1 DNA sequence analysis software. Obtained sequences were compared to those from GenBank and BOLD systems using the BLAST algorithm. After sequence alignment Kimura 2-parameter (K2) model (Kimura, 1980) was found to be the most suited model for our data set and BIC and AICc results are given in Table 2. The sequences alignment, Neighbor Joining (NJ) and Maximum likelihood (ML) algorithm were done using MEGA 7 software (Kumar et al., 2015) and for the haplotype network analysis Network 5.0 were used (Polzin and Daneschmand, 2003) and was mapped using MapViewer 8.0.

Table 2. BIC and AICc values of the most suitable models

Model	K2+G	K2	T92+G	JC+G	K2+G+I	HKY+G	T92	JC	K2+I	HKY
BIC	4582.1	4585.3	4590.8	4592.1	4592.9	4593.9	4594.0	4595.2	4595.6	4597.3
AICc	2483.6	2495.8	2483.3	2502.6	2485.4	2468.4	2495.6	2514.7	2497.1	2480.8

RESULTS

The morphometric measurements and their ratio to total length of the individuals are given in Table 1. The photos from anterior, dorsal, lateral and ventral of the individuals from Izmir Bay (female) and Gökova Bay (male), can be seen in Figure 1.

When stomach contents were examined, in female's stomach a piece of wood was found. The wood piece was measured to be 102 mm in length and 4.66 g in weight. In male individual's stomach, remains of a bony fish (*Chlopsis bicolor* Rafinesque, 1810), remains of two cephalopod, an isopod and a nematode were found, and weight of these prey items were measured to be 15.76 g, 130 g, 0.37 g and 0.13 g, respectively. Regarding histological examinations, since the male individual was preserved frozen by the fisherman until it was brought to the laboratory and histological investigations were only conducted on female individual. As macroscopically identified and verified histologically the individual was a "Stage 1-immature" according to ICES (2013) report (Figure 2).

Table 1. The measurements of the two individuals (F: female, M: male, LW: Liver weight, GW: gonad weight, TL: Total length, TW: Total weight, TrH: Trunk height, TrW: Trunk width, LJ: Lower jaw, UJ: Upper jaw).

Measurements	Female	Male	Unit	Measurements	Female	Male	Unit
LW	115.86	426.5	g	1st dorsal-fin height	64	75	mm
GW	17.87	46.22	g	1st dorsal-fin length	77	101	mm
TL	7650	9430	mm	2nd dorsal-fin base	7	4	mm
TW	2750	5980	g	2nd dorsal-fin height	8	5	mm
TrH	103	128	mm	2nd dorsal-fin length	21	23	mm
TrW	92	115	mm	Mouth length	61	66	mm
Interdorsal space	177	248	mm	Pre-mouth lenght	54	70	mm
Internarial space	36	31	mm	UJ 1st row teeth count	22	21	
Interorbital space	52	71	mm	UJ 2nd row teeth count	15	20	
Interpectoral space	80	75	mm	LJ 1st row teeth count	21	4+4 broken teeth	
Left eye height	17	15	mm	LJ 2nd row teeth count	22	13+2 broken teeth	
Left eye length	18	15	mm	LJ 3rd row teeth count	8	2	
Right eye height	16	15	mm	Anal-fin base	9	3	mm
Right eye length	17	16	mm	Anal-fin height	12	5	mm
Preorbital length	60	75	mm	Anal-fin length	25	24	mm
Prenarial length	41	45.9	mm	Anal opening caudal-fin space	130	81	mm
1st gill slit height	64	55	mm	Pelvic-fin anal-fin space	80	108	mm

2nd gill slit height	54	60	mm	Pectoral-fin pelvic-fin space	171	240	mm
3rd gill slit height	49	60	mm	Preventral caudal-fin margin	112	133	mm
4th gill slit height	40	62	mm	Upper postventral caudal-fin margin	115	186	mm
5th gill slit height	46	62	mm	Lower postventral caudal-fin margin	75	98	mm
1st dorsal-fin base	63	83	mm	Dorsal caudal-fin margin	157	186	mm

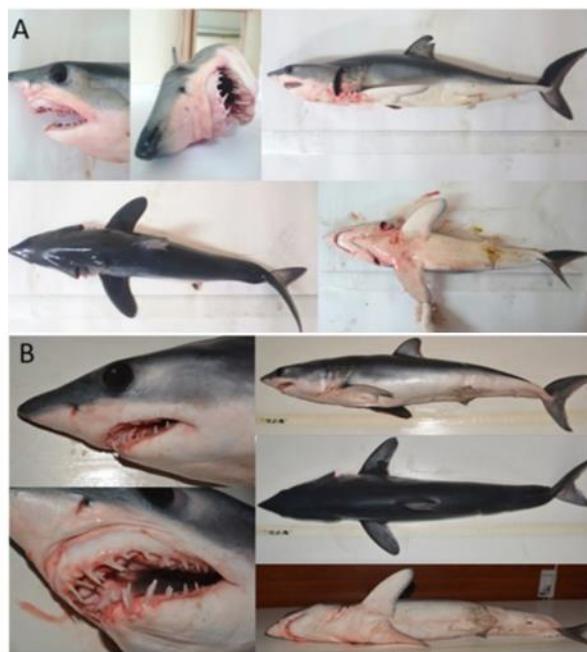


Figure 1. The photos of female (A) and male (B) individuals

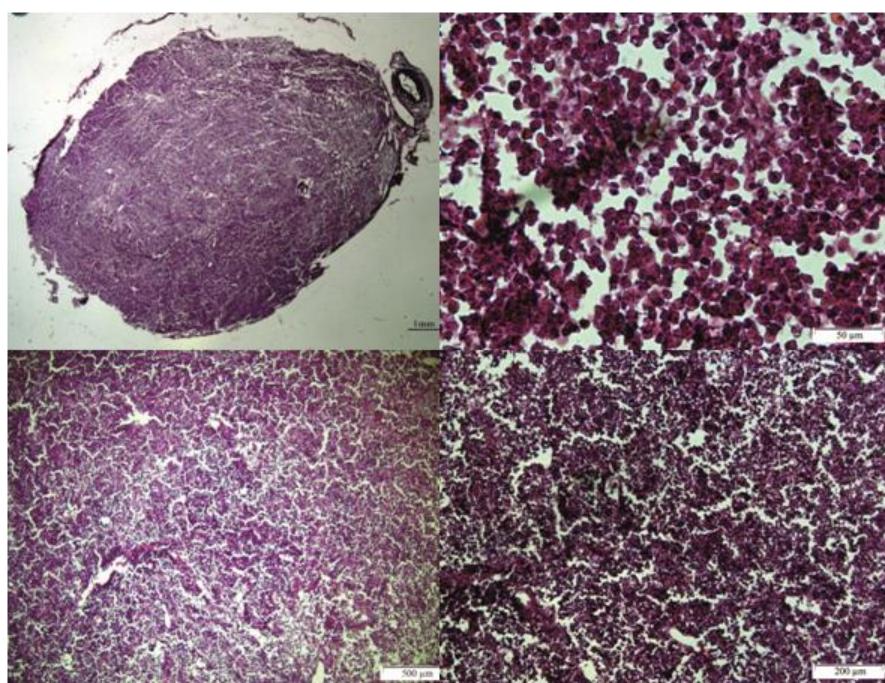


Figure 2. Ovarian follicle of *I. oxyrinchus*.

The DNA samples extracted from each individual were identified as *I. oxyrinchus*, as the morphological identification suggested for the whole individuals. COI sequence of the Sample #1 and Sample #2 submitted GenBank with accession number KY290584 and MG214784, respectively. All the obtained sequences were compared with 116 other sequences from BOLD and GenBank systems. According to this model a Neighbor-Joining tree was prepared (Figure 3). Besides Neighbor-Joining tree, Network analysis was also conducted to identify the individual's origins as well as the relation between populations and 27 haplotypes were identified. All the individuals from this study was found to be from different haplotypes, and Sample #2 and Sample #3 were found to be sharing the same haplotype as the Sample #1 (Figure 3, Figure 4). These results indicate that, *I. oxyrinchus* do not have geographical boundaries.

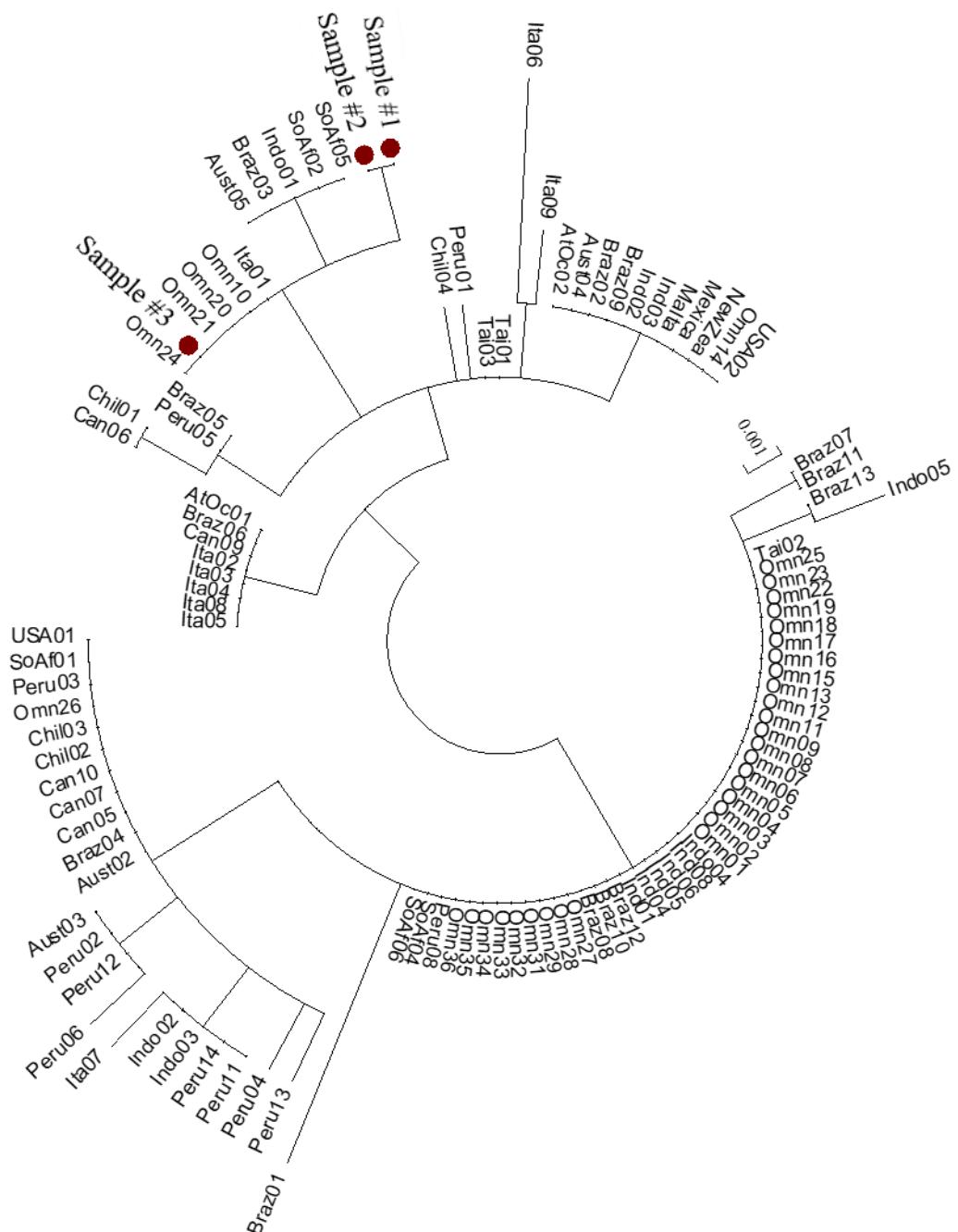


Figure 3. Neighbor-Joining tree made from the sequence existed with in BOLD and GenBank systems. The sequences from this study are shown in red (AUST: Australia; ATOC: Atlantic Ocean; BRAZ: Brazil;

CAN: Canada; CHIL: Chili; IND: India; INDO: Indonesia; ITA: Italy, MALTA: Malta; MEXICA: Mexica; NEWZEA: New Zealand; OMN: Oman; PERU: Peru; SOAF: South Africa; TAI: Taiwan; USA: United State of America).

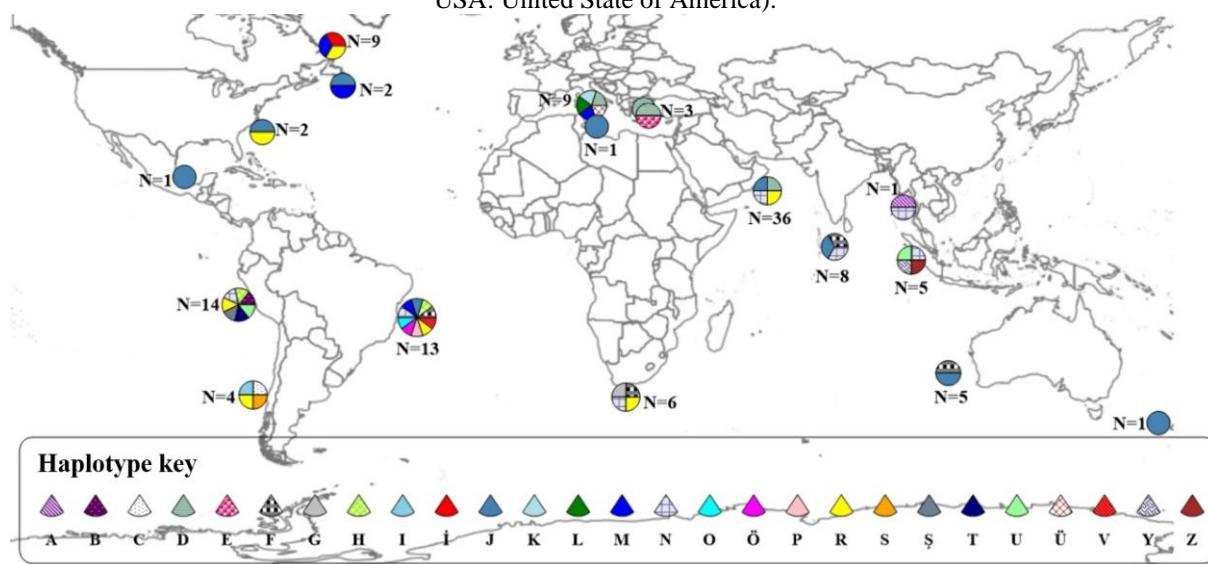


Figure 4. Number of used sequences from each countries (N) and haplotypes network

DISCUSSION

Individual caught from Izmir Bay, Sample #1, is the smallest reported female individual from Turkish coasts. Before this there was a report by Ergüden et al. (2013) on a male individual caught in 25 March 2010, with 69.8 cm TL and 2285 g total weight by a purse seine boat, from 54 m depth off the Samandag, coast of Iskenderun Bay. According to literature the parturition of *I. oxyrinchus* occurs during the spring, or summer and the pup's size at birth is between 60-70 cm (Gilmore, 1993). The both individuals reported in this study and Ergüden et al. (2013) being neonates suggests that the Mediterranean coast of Turkey is probably a new nursery ground for the mako shark since there were no reports historically.

Megalofonou et al. (2005) reported that, between 1998-2000, 321 mako sharks were caught as by-catch of tuna fisheries from the central and eastern Mediterranean. Among these individuals 313 were from the eastern Mediterranean and eight were caught from the central Mediterranean area and Levantine basin. Total and fork lengths of these individuals were recorded and reported, that most of these individuals were juveniles, with only a few large specimens from Levantine basin. These results also support the suggestion that *I. oxyrinchus* have either started or were already have been using Turkish coasts as breeding and nursery area but was not known. Another study done by Başusta (2016) reported neonate and juvenile individuals of species *Heptranchias perlo*, *Squatina aculeata* and *Etomopterus spinax* and point it out that northeastern Mediterranean was a mating, breeding and nursery area for some cartilaginous species. Histologically examined Sample #1, the female, was a "Stage 1-immature" that corresponds with Conde-Moreno and Galvan-Magana, (2006) histological observations on ovarian follicle development conducted on *I. oxyrinchus* individuals from south-western coast of Baja California, Mexico. In case of the parturition period, a study conducted on 95 mature and 35 pregnant, in total 450 *I. oxyrinchus* individuals reported that species size-at-birth is around 70 cm and parturition occur late winter (end of February)-mid spring (Mollet et al., 2000) though supports similar parturition period, since the individual caught in February 2016 did not have scarce of placenta suggests that parturition in eastern Mediterranean starts probably with the beginning of winter and continues till mid spring.

According to the Neighbor-Joining tree since Sample #1 and Sample #2 are on the same branch and Sample #3 was sharing the same haplotype as Sample #1, shows that, all individuals are related and from same origin. In addition, there were common haplotypes within the Mediterranean as well as Oman, supporting the concept of the species having a metapopulation as other studies conducted from other world seas suggests (Ward et al., 2008).

Science base information is critical for development of conservation actions aimed at endangered species. Nevertheless, using lethal sampling methodologies unfortunately is the most effective way to do (Hammerschlag and Sulikowski, 2011), though there is a growing interest towards utilizing by-catch especially for large sharks such as shortfin mako. In conclusion, since, according to IUCN, *I. oxyrinchus* is Critically Endangered species (Walls and Soldo, 2016) it is important to know and continuously update its status as well as determine breeding areas all around the world with as little impact on its populations as possible. Especially in the Mediterranean whereas in 2014, 40% of cartilaginous fish species were threatened and in two years the numbers increased to more than half of Mediterranean chondrichthyans (Dulvy et al., 2014; Dulvy et al., 2016). With this rapid downfall of these species' existence it is of the essence to obtain and/or utilize data anyway we can collect and to distribute as much information as possible for their conservation.

Acknowledgements: This work was funded by The Rufford Foundation Grant numbers 17514-1 and 20115-2

REFERENCES

- Başusta, N. (2016). New records of neonate and juvenile sharks (*Heptranchias perlo*, *Squatina aculeata*, *Emptopterus spinax*) from the North-eastern Mediterranean Sea, *Marine Biodiversity*, 46(2), 525–527, doi:10.1007/s12526-015-0391-z.
- Bengil, E.G.T., & Başusta, N. (2018). Chondrichthyan species as by-catch: A review on species inhabiting Turkish waters. *Journal of the Black Sea/Mediterranean Environment*, 24(3).
- Bilecenoglu, M., Kaya, M., Cihangir, B., & Çiçek, E. (2014). An updated checklist of the marine fishes of Turkey. *Turkish Journal of Zoology*, 38(6), 901-929.
- Conde-Moreno, M., & Galvan-Magaña, F. (2006). Reproductive biology of the mako shark *Isurus oxyrinchus* on the south-western coast of Baja California, Mexico. *Cybium*, 30(4), 75-83.
- Dulvy, N.K., Allen, D.J., Ralph, G.M., & Walls, R.H.L. (2016). The conservation status of Sharks, Rays and Chimaeras in the Mediterranean Sea [Brochure]. IUCN, Malaga, Spain.
- Dulvy, N.K., Fowler, S.L., Musick, J.A., Cavanagh, R.D., Kyne, P.M., Harrison, L.R., et al. (2014). Extinction risk and conservation of the world's sharks and rays. *eLife*, 3, doi: 10.7554/eLife.00590
- Ebert D.A., & Stehmann, M.F. (2013). *Sharks, batoids and chimaeras of the North Atlantic*. Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- Ergüden, D., Gürlek, M., & Turan, C. (2013). A young *Isurus oxyrinchus* Rafinesque, 1810 (Chondrichthyes: Lamnidae) individual captured from Iskenderun Bay, Turkey. *Mediterranean Marine Science*, 14, 463–480.
- Folmer, O., Hoeh, W.R., Black, M.B., & Vrjenhoek, R.C. (1994). Conserved primers for PCR amplification of mitochondrial DNA from different invertebrate phyla, *Molecular Marine Biology and Biotechnology*, 3, 294–299.
- Gilmore, R.G. (1993). Reproductive biology of lamnid sharks. *Environmental Biology of Fishes*, 38(1-3), 95–114.
- Hammerschlag, N., & Sulikowski, J. (2011). Killing for conservation: the need for alternatives to lethal sampling of apex predatory sharks. *Endangered Species Research*, 14(2), 135-140.
- ICES (2013). *Report of the workshop on Sexual Maturity Staging of Elasmobranchs* (WKMSEL), Lisbon, Portugal, 66 p.
- Kabasakal, H. (2015). Occurrence of shortfin mako shark, *Isurus oxyrinchus* Rafinesque, 1810, off Turkey's coast. *Marine Biodiversity Records*, 8, e134.
- Kimura, M. (1980). A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *Journal Molecular Evolution*, 16, 111-120.
- Kumar, S., Stecher, G., & Tamura, K. (2015). MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0. *Molecular Biology and Evolution*, 28, 27312739.
- Megalofonou, P., Yannopoulos, C., Damalas, D., De Metrio, G., Deflorio, M., de la Serna, J.M., & Macias D (2005). Incidental catch and estimated discards of pelagic sharks from the swordfish and tuna fisheries in the Mediterranean Sea. *Fishery Bulletin*, 103(4), 620-634.
- Mollet, H.F., Cliff, G., Pratt Jr, H.L., & Stevens, J. (2000). Reproductive biology of the female shortfin mako, *Isurus oxyrinchus* Rafinesque, 1810, with comments on the embryonic development of lamnoids. *Fishery Bulletin*, (2).
- Polzin, T., & Daneschmand, S.V. (2003). On Steiner trees and minimum spanning trees in hypergraphs. *Operations Research Letters*, 31, 12-20
- Walls, R.H.L., & Soldo, A. (2016). *Isurus oxyrinchus*. The IUCN Red List of Threatened Species 2016: e.T39341A16527941. Downloaded on 30 September 2018.

Ward, R.D., Costa, F.O., Holmes, B.H., & Steinke, D. (2008). DNA barcoding of shared fish species from the North Atlantic and Australasia: minimal divergence for most taxa, *but Zeus faber* and *Lepidopus caudatus* each probably constitute two species. *Aquatic Biology*, 3(1), 71-78.

Length-Weight and Length-Length Relationships of Red Scorpionfish (*Scorpaena scrofa* L. 1758) from İzmir Bay (Aegean Sea)

Selin ARSLAN^{id}, Derya BOSTANCI^{*}^{id}

Department of Molecular Biology and Genetics, Faculty of Arts and Sciences, Ordu University, Ordu, Turkey

*Corresponding author: deryabostanci@gmail.com

Research Article

Received 04 April 2019; Accepted 21 June 2019; Release date 15 December 2019.

How to Cite: Arslan, S., & Bostancı, D. (2019). Length-weight and length-length relationships of Red Scorpionfish (*Scorpaena scrofa* L. 1758) from İzmir Bay (Aegean Sea) *Acta Aquatica Turcica*, 15(4), 433-439 <https://doi.org/10.22392/actaquatr.549279>

Abstract

In this study, the length-weight and length-length relationships were investigated for *Scorpaena scrofa* from İzmir Bay. All fish sample lengths and weights were recorded to the nearest 0.01 cm and to 0.01 g. The measured total length values for females, males and combined sexes were 16.00-30.20 cm; 17.70-28.00 cm and 16.00-30.20 cm respectively. The weight values for females, males and combined sexes were 73.20-441.00 g; 89.80-378.00 g and 73.20-441.00 g respectively. According to t test results, there were no statistically significant differences for *S. scrofa* species ($P>0.05$); therefore, female and male samples were evaluated together. The length-weight relationship equations as $W=0.016TL^{2.993}$ ($r^2=0.914$) for all specimens. The 'b' value of LWR was not significantly different from 3.0 and their growth type was isometric. Total length-standard length relationship equation was determined as $TL=1.287SL+0.112$ ($r^2=0.970$). This study is helpful in providing information about length-weight and length-length relationships and the current study can be useful to compare stocks of the species in the different habitats

Key words: Red scorpionfish, *Scorpaena scrofa*, length-weight relationships, length-length relationships, Aegean Sea

İzmir Körfezi (Ege Denizi)'nden Lipsoz (*Scorpaena scrofa* L. 1758)'un Boy-Ağırlık ve Boy-Boy İlişkisi

Özet

Bu çalışmada, İzmir Körfezi'nden *Scorpaena scrofa*'nın boy-ağırlık ve boy-boy ilişkisi incelenmiştir. Tüm örneklerin boyları ve ağırlıkları 0.01cm ve 0.01 g hassasiyetle ölçülmüştür. Dişi, erkek ve tüm bireylerde ölçülen total boy değerleri sırasıyla 16,00-30,20 cm; 17,70-28,00 cm ve 16,00-30,20 cm'dir. Ağırlık değerleri ise 73,20-441,00 g; 89,80-378,00 g and 73,20-441,00 g'dır. *S. scrofa* türü için, t-test sonuçlarına göre önemli bir farklılık olmadığından dişi ve erkek örnekler birlikte değerlendirilmiştir. Tüm bireyler için boy-ağırlık ilişki denklemi $W=0,016TL^{2,993}$ ($r^2=0,914$) olarak hesaplanmıştır. Boy-ağırlık ilişkisinin 'b' değeri, 3'den önemli derecede farklı değildir, ve türün büyümesi izometriktir. Total boy standart boy ilişkisi denklemi $TL=1,287SL+0,112$ ($r^2=0,970$) olarak belirlenmiştir. Bu çalışma, boy-ağırlık ve boy-boy ilişkileri hakkında bilgi sağlamada faydalıdır ve mevcut çalışma, türlerin farklı habitatlardaki stoklarını karşılaştırmak için kullanılmış olabilir.

Anahtar kelimeler: Lipsoz, *Scorpaena scrofa*, boy-ağırlık ilişkisi, boy-boy ilişkisi, Ege Denizi

INTRODUCTION

Red Scorpionfish, *Scorpaena scrofa* L., 1758 (Scorpaenidae) is a demersal fish species. The species are widely distributed in the British Isles to Senegal including the Canary Islands, Madeira, and Cape Verde, and throughout the Mediterranean except Black Sea. They found on the solitary and sedentary over rocky, sandy or muddy bottoms from 20 to 200 m. They feed on fishes, crustaceans and mollusks (Hureau and Litvinenko, 1986). The conservation status of *S. scrofa* is "LC" according to the IUCN Red List (Froese and Pauly, 2019). This fish species is economically important and there are several studies such as embryonic and larval development (Dulcic et al., 2007), reproduction (Muñoz et al., 2013), age and growth (Matić-Skoko et al., 2015).

Length weight relationship (LWRs) studies have an important role in estimating population biomass, growth rate determination, determining the stock status of fishes and in many other subjects (Petrakis and Stergiou, 1995). Length-weight relationships (LWRs) are needed to estimate weight from length because direct weight measurements can be time-consuming in the field (Koutrakis and Tsikliras, 2003); these parameters are important in fish biology and can provide information on the stock condition (Bagenal and Tesch, 1978).

Comparison of the relationships between different length types (LLRs) in fisheries is especially important in terms of growth studies (Froese and Pauly, 1998). In some cases, the caudal fin deformation of fish can be observed and this makes it difficult to measure the total length accurately. Knowing the standard length/ fork length of a fish allows the determination of the total length of this fish.

In fisheries biology, LWRs and LLRs results can be useful in comparing the stocks of the same species in different habitats. These are useful tools when evaluating fish species living in both freshwater and marine habitats (Moutopoulos et al., 2013; Cengiz, 2013). There are several studies were conducted about length-length and length-weight relationships marine and freshwater species (Karachle et al., 2015; Tsagarakis et al., 2015; Yilmaz et al., 2015; Bostancı et al., 2017; Saygin et al., 2018; Yedier et al., 2019a, 2019b). In this study, we aimed to determine the LWRs and LLRs of red scorpionfish which sampled from İzmir Bay (Aegean Sea). The present study has provided baseline information on LLRs and LWRs analysis which could be useful for subsequent bioecological and population-based studies on *S. scrofa*.

MATERIALS and METHODS

In the current study, 199 red scorpionfish samples were obtained from commercial anglers in GÜZELBAHÇE district (İzmir Bay) in May 2016 (Figure 1). Fish samples were transported to the hydrobiology laboratory in Ordu University. In the laboratory, each fish was cleaned, and then their body weight (nearest the 0.01 g), total length (TL) and standard length (SL) (nearest the 0.01 cm) were recorded. Sex was determined by macroscopic examination of the gonads.

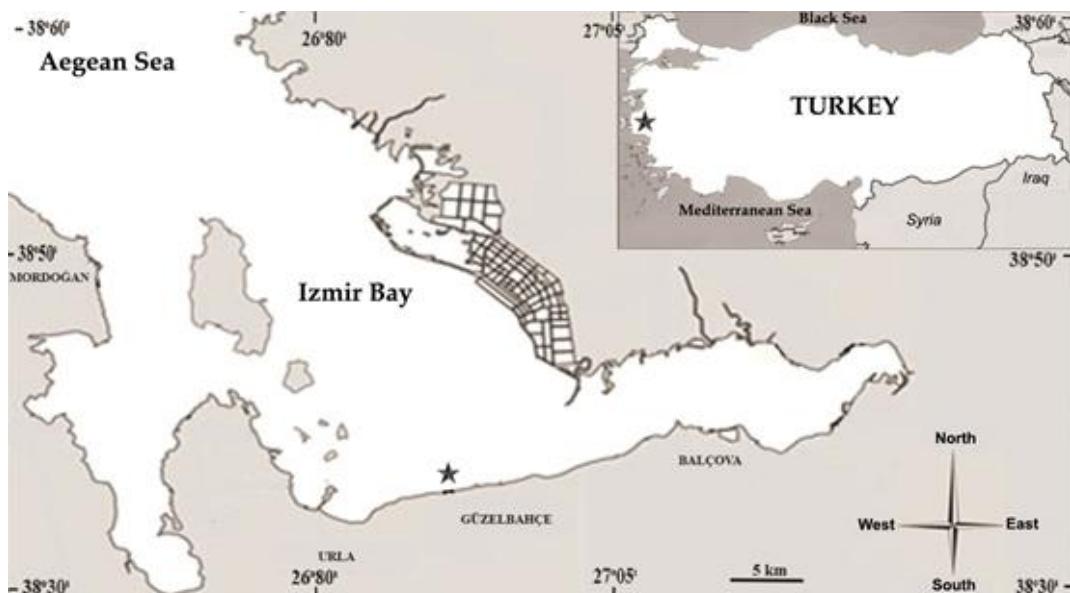


Figure 1. Sampling area.

Length-weight relationships were calculated using the equation $W=aL^b$, where L is the total length (cm), W is the total weight of the fish (g), a and b are the parameters of the equation (Bagenal and Tesch, 1978). The t-test was used to test whether the slopes (b) were significantly different from 3. There are three different growth types. The growth types are; negative allometric ($b<3$), positive allometric ($b>3$) and isometric ($b=3$). Analysis of variance (ANOVA) was employed to test differences length-weight relationship b values between sexes. In addition, length-length relationships were computed using linear regression analysis for the species. Statistical analyses were

tested at the 0.05 significance level. SPSS 20 and Minitab 15.0. Excel software was utilized in the evaluation of the data.

RESULTS and DISCUSSION

The descriptive statistics of red scorpionfish samples were presented in Table 1. There were no statistically significant differences in terms of TL or W between sex ($P>0.05$). Therefore, population was evaluated female and male samples together for further analyses. The length-frequency and weight-frequency distribution of all individuals was determined (Figure 2).

Table 1. Descriptive statistics of *S. scrofa* samples from the Aegean Sea.

	Total Length (cm)			Weight (g)		
	♀	♂	♀♂	♀	♂	♀♂
Mean±S.E.	23.22±0.27	23.19±0.26	23.22±2.64	215.69±7.66	212.62±7.47	214.4±76.25
Min.	16.00	17.70	16.00	73.20	89.80	73.20
Max.	30.20	28.00	30.20	441.00	378.00	441.00
	P>0.05			P>0.05		

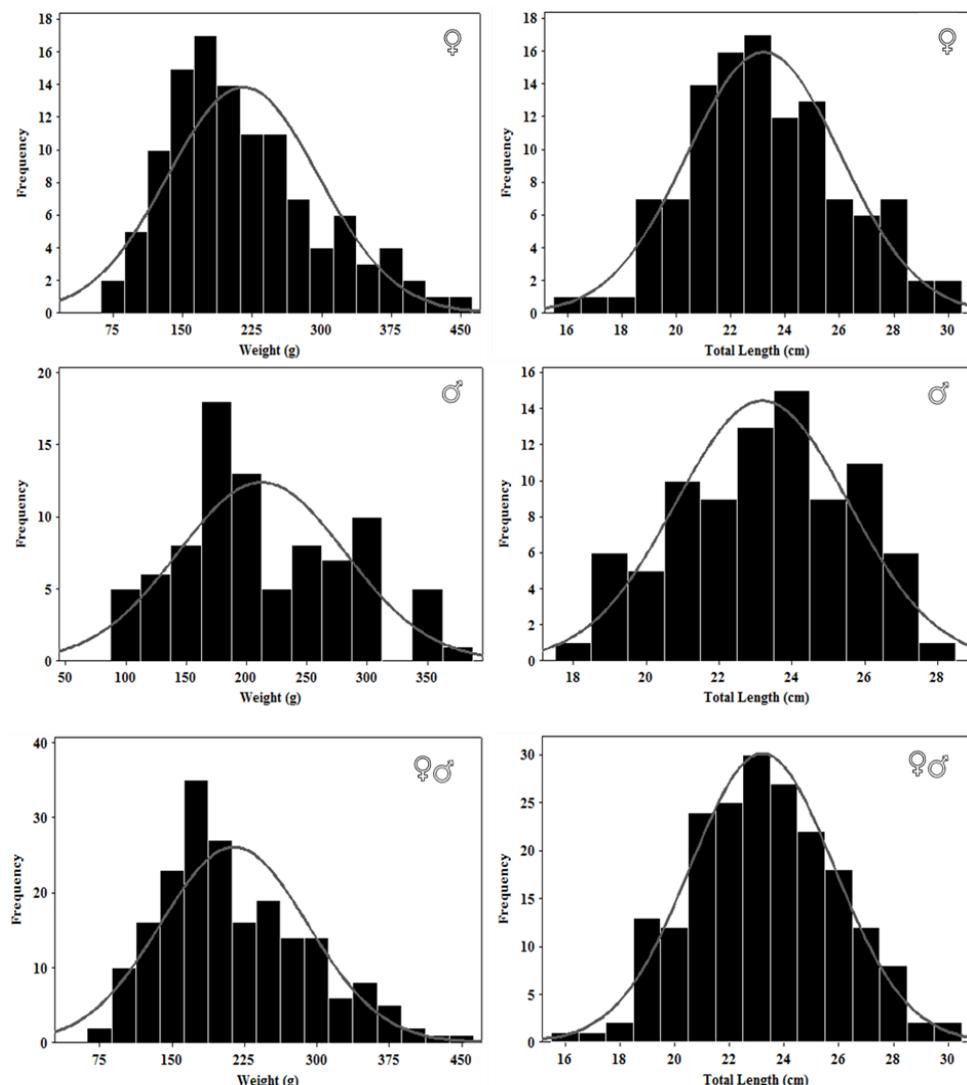


Figure 2. The weight-frequency and length-frequency distribution graphs for females, males and all individuals of *S. scrofa* from Izmir Bay.

The mean value of total length and weight were 23.22 ± 1.88 cm and 214.37 ± 5.41 g for all individuals. The length and weight distributions were 16.00-30.20 cm and 73.20-441.00 g for all individuals, respectively (Figure 2).

The length-weight relationship equation was determined as $W=0.016L^{2.993}$ ($r^2=0.914$) for all specimens (Figure 3). The “*b*” value was determined as 2.993 (95% Confidence Interval: 2.987-2.997) (Figure 3). The value was found within the expected range of 2.5-3.5 which was described by Froese (2006). The ‘*b*’ value of LWR was found not to be significantly different from 3.0 in red scorpionfish ($P>0.05$) and the growth type was isometric for all sex according to results of this study. *S. scrofa* total length-standard length relationship equations and their coefficient of determinations were presented for all individuals in figure 4. In fish with caudal fin deformation, it is possible to calculate the total length from the standard length.

When the literature was reviewed, a limited study was recorded about the *S. scrofa* length-length relationship. In Aegean Sea, *S. scrofa* length-length relationship equation was reported as $SL=0.1+0.800TL$ for 37 samples (Moutopoulos and Stergiou 2002). In the current study, the length-length relationship equation was determined as $TL=1.287SL+0.112$ for 199 *S. scrofa*.

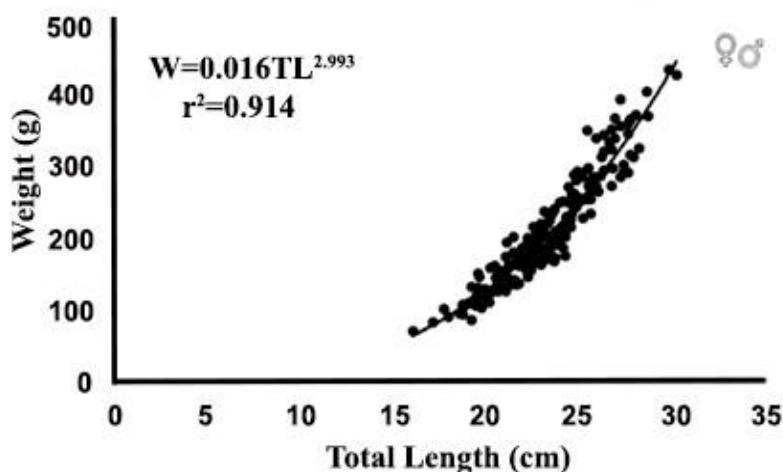


Figure 3. The length-weight relationship for all individuals of *S. scrofa* from İzmir Bay.

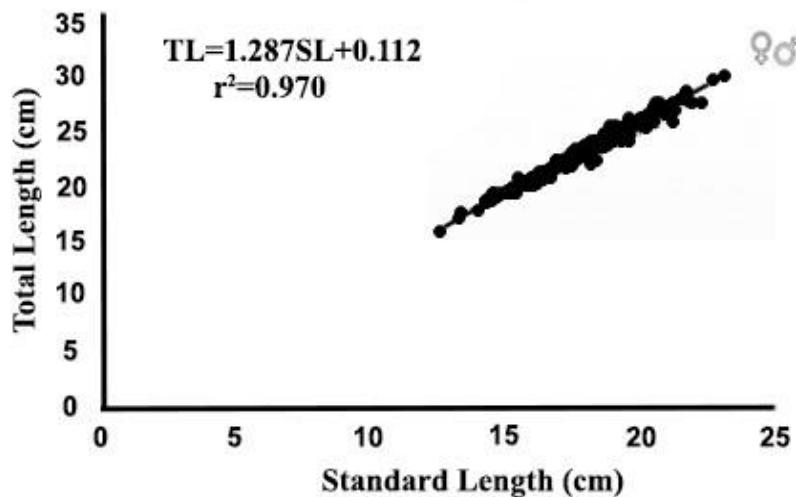


Figure 4. The length-length relationship for all individuals of *S. scrofa* from İzmir Bay.

When the b values of the *S. scrofa* living in different seas of the world are compared (Table 2), it is seen that b value is between 2.686 and 3.298. Özaydın et al (2007) calculated b value as a 2.686 for the same species from İzmir Bay. However, in the current study, the b value was calculated as a 2.993 for the *S. scrofa* from Güzelbahçe district in the İzmir Bay. Although these two studies were examined almost the same habitat and the same species, two different b values were determined. The main reasons can be differences in the sample sizes and numbers. Because Özaydın et al. (2007) worked with 12 samples whose total size distribution was 10.5 -28.3, we examined with 199 individuals whose total size distribution was 16.00-30.2. Moreover, the minimum and maximum length ranges of the specimens especially number of fish samples affect the parameters. Digestion or undigestion of fish stomach content affects the body weight of the fish and changes the length-weight relationship parameters.

Table 2. Comparison of length-weight relationships of *S. scrofa* from different habitats.

References	Locality	n	Relationship equations	r ²
Dulčić and Kraljević, 1996	Eastern Adriatic (Croatian waters)	125	$W=0.0000078L^{3.2}$	0.960
Moutopoulos and Stergiou, 2002	Cyclades; coastal waters off Naxos Island, Greece	37	$W=0.01692L^{2.999}$	0.980
Morey et al., 2003	Iberian Peninsula (Western Mediterranean)	359	$W=0.022L^{2.942}$	0.981
Valle et al., 2003	East coast of Spain	23	$W=0.03134L^{2.803}$	0.986
Mendes et al., 2004	Portuguese west coast	22	$W=0.0121L^{3.124}$	0.966
Karakulak et al., 2006	Gökçeada Island (Northern Aegean Sea), Turkey	15	$W=0.0180 L^{3.005}$	0.985
Özaydın et al., 2007	İzmir Bay (Central Aegean Sea), Turkey	12	$W=0.0448 L^{2.686}$	0.983
Ferreira et al., 2008	Madeira Archipelago (Eastern-central Atlantic)	12	$W=0.01526L^{3.039}$	0.974
Crec'hriou et al., 2012	French Catalan coast	32	$W=0.330L^{2.89}$	0.990
Cengiz, 2013	Gallipoli Peninsula and Dardanelles (Northeastern Mediterranean)	134	$W=0.0221 L^{2.96}$	0.980
Moutopoulos et al., 2013	Korinthiakos Gulf (Central Greece)	53	$W=0.0169L^{3.002}$	0.981
Altın et al., 2015	Gökçeada, Northern Aegean Sea, Turkey	16	$W=0.012 L^{3.135}$	0.983
Matić-Skoko et al., 2015	Costal middle Adriatic	1700	$W=0.0013L^{3.068}$	0.978
Öztekin et al., 2016	Gallipoli Peninsula, Turkey (Northern Aegean Sea)	12	$W=0.0337 L^{2.794}$	0.990
This study	Güzelbahçe, İzmir Bay, Turkey	199	$W=0.0016TL^{2.993}$	0.914

It is known that stomach fullness, environmental condition, disease and parasite loads, geographic location can affect length-weight relationship (Bagenal and Tesch, 1978). Therefore, “ b ” values of most of the studies could be different from each other especially between regions. In many fish studies, fish length is often more rapidly and easily measured than weight. Thus, knowing the length-weight relationship makes it more convenient to determine weight where only the length is known (Froese and Pauly, 1998).

Acknowledgements: The current study is a part of the master's thesis. The authors thank Ordu University Scientific Research Projects Coordination Unit (BAP, TF-1442). The authors thank two anonymous reviewers for their comments and suggestions.

REFERENCES

- Altin, A., Ayyıldız, H., Kale, S., & Alver, C. (2015). Length-weight relationships of forty-nine fish species from shallow waters of Gökçeada Island, northern Aegean Sea. *Turkish Journal of Zoology*, 39, 971-975.
- Bagenal, T.B., & Tesch, F.W. (1978). Age and Growth. In T. Bagenal (Ed), Methods for assessment of fish production in fresh waters, 3rd ed: IBP Handbook No.3, Blackwell Science Publications, Oxford.
- Bostancı, D., Yedier, S., Kontaş, S., Kurucu, G., & Polat, N. (2017). Length-weight, length-length relationships and condition factors of some fish species in Yalıköy Stream (Ordu-Turkey). *Aquaculture Studies*, 17, 375-383.
- Cengiz, Ö. (2013). Length-weight relationships of 22 fish species from the Gallipoli Peninsula and Dardanelles (Northeastern Mediterranean, Turkey). *Turkish Journal of Zoology*, 37, 419-422.
- Crec'hriou, R., Neveu, R., & Lenfant, P. (2012). Length-weight relationship of main commercial fishes from the French Catalan coast. *Journal of Applied Ichthyology*, 28, 861-862.
- Dulcic J., Jug-Dujakovic, J., Bartulovic, V., Glamuzina, B., Haskovic, E., & Skaramuca, B. (2007). Embryonic and larval development of largescaled scorpionfish *Scorpaena scrofa* (Scorpaenidae). *Cybium*, 31(4), 465-470.
- Dulčić, J., & Kraljević, M. (1996). Weight-length relationships for 40 fish species in the eastern Adriatic (Croatian waters). *Fisheries Research*, 28, 243-251.
- Ferreira, S., Sousa, R., Delgado, J., Carvalho, D., & Chada, T. (2008). Weight-length relationships for demersal fish species caught off the Madeira archipelago (eastern-central Atlantic). *Journal of Applied Ichthyology*, 24, 93-95.
- Froese, R., & Pauly, D. (1998). Fishbase 1998: concepts, design and data sources. ICLARM, Manila.
- Froese, R. (2006). Cube law, condition factor and weight-length relationships: History, meta analysis and recommendations. *Journal of Applied Ichthyology*, 22, 241-253.
- Froese, R., & Pauly, D. (2019). Fishbase. World Wide Web Electronic Publication, www.fishbase.org. Accessed 12 February 2019.
- Hureau, J.C., & Litvinenko, N.I. (1986). Scorpaenidae. In: P.J.P. Whitehead, M.L. Bauchot, J.C. Hureau, J. Nielsen and E. Tortonese (eds.): Fishes of the North-eastern Atlantic and the Mediterranean, Vol. III, pp. 1211-1229. UNESCO, Paris.
- Karachle, P.K., Başusta, A., Başusta, N., Bostancı, D., Buz, K., Girgin, H., Chater, I., Kokokiris, L., Kontaş, S., Ktari, M.-H., Maravelias, C.T., Minos, G., Özer, E.I., Romdhani, A., Tiralongo, F., Tibullo, D., Tserpes, G., & Vasilakopoulos, P. (2015). New fisheries-related data from the Mediterranean Sea (April, 2015). *Mediterranean Marine Science*, 16, 285-293.
- Karakulak, F.S., Erk, H., & Bilgin, B. (2006). Length-weight relationships for 47 coastal fish species from the Northern Aegean Sea, (Turkey). *Journal of Applied Ichthyology*, 22, 274-278.
- Koutrakis, E.T., & Tsikliras, A.C. (2003). Length-weight relationships of fishes from three northern Aegean estuarine systems (Greece). *Journal of Applied Ichthyology*, 19, 258-260.
- Matić-Skoko, S., Kraljević, M., Stagličić, N., Kraljević, M., Pallaoro, A., & Dulčić J. (2015). The biological traits of the large red scorpionfish, *Scorpaena scrofa*: Temporal and Ontogenetic Dynamics. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 152, 91-99.
- Mendes, B., Fonseca, P., & Campos, A. (2004). Weight-length relationships for 46 fish species of the Portuguese west coast. *Journal of Applied Ichthyology*, 20, 355-361.
- Morey, G., Moranta, J., Massut'I, E., Grau, A., Linde, M., Riera, F., & Morales-Nin, B. (2003). Weight length relationships of littoral to lower slope fishes from the western Mediterranean. *Fisheries Research*, 62, 89-96.
- Moutopoulos, D.K., Ramfos, A., Mouka, A., & Katselis, G. (2013). Length-weight relations of 34 fish species caught by small-scale fishery in Korinthiakos Gulf (Central Greece). *Acta Ichthyologica Et Piscatoria*, 43(1), 57-64.
- Moutopoulos, D.K., & Stergiou, K.I. (2002). Length-weight and length-length relationships of fish species from the Aegean Sea (Greece). *Journal of Applied Ichthyology*, 18(3), 200-203.
- Muñoz, M., Lloret, J., & Vila, S. (2013). Effects of artisanal fisheries on the scorpaenids (*Scorpaena spp.*) reproduction in the marine protected area of Cap de Creus (NW Mediterranean). *Fisheries Research*, 138, 146-151.
- Özaydin, O., Uçkun, D., Akalin, S., Leblebici, S., & Tosunoğlu Z. (2007). Length-weight relationships of fishes captured from İzmir Bay Central Aegean Sea. *Journal of Applied Ichthyology*, 23, 695-696.
- Öztekin, A., Özekinci, U., & Daban, İ.B. (2016). Length-weight relationships of 26 fish species caught by longline from the Gallipoli peninsula, Turkey (northern Aegean Sea). *Cahiers de Biologie Marine*, 57, 335-342.
- Petrakis, G., & Stergiou, K. (1995). Weight-length relationships for 33 fish species in Greek waters. *Fisheries Research*, 21 (3), 465-469.

- Saygın, S., Özpiçak, M., Aydin, A., Hançer, E., Yılmaz, S., & Polat, N. (2018). Length-weight and length-length relationships of the European bitterling, *Rhodeus amarus* (Bloch, 1782) inhabiting inland waters of Samsun Province. *Journal of Balikesir University Institute of Science and Technology*, 20(2), 201-210.
- Tsagarakis, K., Başusta, A., Başusta, N., Biandolino, F., Bostancı, D., Buz, K., Djodjo, Z., Dulcie, J., Gökoğlu, M., Gücü, A.C., Machias, A., Mara-velias, C.D., Özvarol, Y., Polat, N., Prato, E., Vasilakopoulos, P., & Yedier, S. (2015). Length-weight and length-length relationships of three *Alburnus* species from different inland waters in Turkey. Collective Article B, In: New Fisheries-related data from the Mediterranean Sea (October 2015). *Mediterranean Marine Science*, 16(3), 703-713.
- Valle, C., Bayle, J.T., & Ramos, A.A. (2003). Weight-length relationships for selected fish species of the western Mediterranean Sea. *Journal of Applied Ichthyology*, 19, 261-262.
- Yedier, S., Bostancı, D., & Kontaş, S. (2019a). Marmara Denizi'nde yaşayan *Pagellus acarne* (Risso, 1827)'nin kondisyon faktörü, boy-boy ve boy-ağırlık ilişkileri. *Journal of Anatolian Environmental and Animal Sciences*, (in Press).
- Yedier, S., Bostancı, D., & Kontaş, S. (2019b). Length-length and length-weight relationships of lessepsian *Saurida undosquamis* from the İskenderun Bay, Turkey (Eastern Mediterranean). *Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, (in Press).
- Yılmaz, S., Yazıcıoğlu, O., Yazıcı, R., & Polat, N. (2015). Age, growth and reproductive period of white bream, *Blicca bjoerkna* (L., 1758) in Lake Ladik, Turkey. *Journal of Limnology and Freshwater Fisheries Research*, 1(1), 9 – 18.

Antibacterial Activity of Thyme, Laurel, Rosemary and Parsley Essential Oils Against Some Bacterial Fish Pathogen

Serpil TURAL¹, Yüksel DURMAZ¹, Eda URÇAR¹, Sadettin TURHAN^{2*}

¹Veterinary Control Institute, Ministry of Agriculture and Forestry, Samsun, Turkey

²Department of Food Engineering, Engineering Faculty, Ondokuz Mayıs University, Samsun, Turkey

*Corresponding author: sturhan@omu.edu.tr

Research Article

Received 04 April 2019; Accepted 25 June 2019; Release date 15 December 2019.

How to Cite: Tural, S., Durmaz, Y., Urçar, E., & Turhan S. (2019). Antibacterial activity of thyme, laurel, rosemary and parsley essential oils against some bacterial fish pathogen *Acta Aquatica Turcica*, 15(4), 440-447. <https://doi.org/10.22392/actaquatr.549380>

Abstract

In this study, the antibacterial activities of the essential oils of thyme (*Thymus vulgaris* L.) (TEO), laurel (*Laurus nobilis* L.) (LEO), rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) (REO) and parsley (*Petroselinum crispum* L.) (PEO) against different fish pathogens such as *Yersinia ruckeri* two strains (a & b), *Lactococcus garvieae*, *Pseudomonas fluorescens*, *Aeromonas sobria*, *Aeromonas salmonicida* and *Aeromonas veronii* were investigated. The essential oils had been extracted by hydro-distillation using a Clevenger apparatus, and their antibacterial activities were measured by paper disk diffusion method. The antibacterial activities of essential oils showed significant differences depending on the plant source and on bacterial strain. All essential oils showed inhibitory effect against bacterial fish pathogens (except PEO against *Y. ruckeri* (b)), and the inhibition zones ranged from 6.00 to 36.00 mm. The highest antibacterial activity against all tested bacteria was determined in TEO with a diameter of inhibition zone ranging from 26.50 to 36.0 mm, while LEO and REO showed a moderate activity with a diameter of inhibition zone ranging from 9.50 to 18.50 mm. The PEO illustrated the lowest diameter of inhibition zone against all the test bacteria. Among the tested bacteria, *A. veronii* was the most sensitive to the inhibitory activity of TEO, LEO and REO, while *P. fluorescens* was the most resistant. The results suggested that essential oils from thyme, laurel and rosemary can be used as natural antibacterial agents against bacterial fish pathogens.

Key words: Köyceğiz Lagoon, Turkish wooden dalyan, grey mullet, growth

Kekik, Defne, Biberiye ve Maydanoz Uçucu Yağlarının Bazı Bakteriyel Balık Patojenlerine Karşı Antibakteriyel Aktivitesi

Özet

Bu çalışmada, kekik (*Thymus vulgaris* L.) (KUY), defne (*Laurus nobilis* L.) (DUY), biberiye (*Rosmarinus officinalis* L.) (BUY) ve maydanoz (*Petroselinum crispum* L.) uçucu yağlarının (MUY) *Yersinia ruckeri* (a ve b), *Lactococcus garvieae*, *Pseudomonas fluorescens*, *Aeromonas sobria*, *Aeromonas salmonicida* and *Aeromonas veronii* gibi farklı balık patojenlerine karşı antibakteriyel aktiviteleri incelenmiştir. Uçucu yağlar Clevenger cihazı kullanılarak hidro-destilasyon yöntemi ile elde edilmiş ve antibakteriyel aktiviteleri kâğıt disk difüzyon metodu ile belirlenmiştir. Uçucu yağların antibakteriyel aktivitesi, bitki kaynağı ve bakteri türüne bağlı olarak önemli farklılıklar göstermiştir. Tüm uçucu yağlar balık patojen bakterilerine (*Y. ruckeri* (b)'ye karşı MUY hariç) karşı inhibitör etki göstermiş ve inhibisyon zonları 6,00 ile 36,00 mm arasında değişmiştir. Test edilen tüm bakterilere karşı en yüksek antibakteriyel aktivite, 26,50 ile 36,0 mm arasında değişen bir inhibisyon zon çapı ile KUY'da belirlenirken, DUY ve BUY, 9,50 ile 18,50 mm arasında değişen inhibisyon zon çapı ile orta düzeyde bir aktivite göstermiştir. MUY, tüm test bakterilerine karşı en düşük inhibisyon zon çapı sergilemiştir. Test edilen bakteriler arasında, *A. veronii*, KUY, DUY ve BUY'un inhibitör aktivitesine en duyarlı bakteri olurken, *P. fluorescens*, en dirençli bakteri olmuştur. Bu sonuçlar kekik, defne ve biberiyeden elde edilen uçucu yağların bakteriyel balık patojenlerine karşı doğal antibakteriyel ajan olarak kullanılabilceğini ortaya koymuştur.

Anahtar Kelimeler: Antibakteriyel aktivite, uçucu yağ, bakteriyel balık patojenleri

INTRODUCTION

Fish are exposed to numerous pathogen microorganisms due to contact with the aquatic environment (Stratev et al., 2018). Fish pathogens are responsible for serious diseases with heavy mortality and high economic losses in wild and cultured fish. Antibiotics are widely used for the control of pathogen microorganisms (Serrano, 2005), but their use can cause serious environmental problems due to their rapid spread in water (Soltani et al., 2009). Various problems, such as solubility, taste, toxicity and cost, limit antibiotics that can be used especially in food culture (Choudhury et al., 2005). Furthermore, bacterial resistance against antibiotics increases over time and consequently decreases the effectiveness of antibiotics (Choudhury et al., 2005; Dubber and Harder, 2008; Stratev et al., 2018). There is, therefore, a growing interest in the identification of effective, new antibacterial agents that would serve as a new agent to use preventing bacterial diseases in aquaculture (Bansemir et al., 2004; Dubber and Harder, 2008; Bulfon et al., 2014).

Essential oils have become increasingly more popular as an alternative to synthetic preservative agents (Wong and Kitts, 2006). They are produced from different parts of plants such as flower, leave, bud, root, seed, stem, fruit (Ghabraie et al., 2016) as plant secondary metabolites (Zaouali et al., 2010). Essential oils are obtained from plant parts by distillation, extraction, fermentation or expression, but the most common method is distillation (Burt, 2004). Essential oils can inhibit or slow the growth of bacteria, yeast and molds (Nazzaro et al., 2013) and some of them have been used for their anti-inflammatory, antiviral, antitumor, anti-hyperglycemic and anti-carcinogenic activities (Wei and Shibamoto, 2007). The Efficiency of essential oils is related to presence of their bioactive components (Toroğlu and Çenet, 2006). Harvesting season, type and part of plant, geographical structure and climate of the region where it is cultivated and extraction method are effect on the quantity and composition of essential oils (Burt, 2004). There are various studies on the use of antimicrobial agents derived from natural materials in aquaculture (Park et al., 2016; Metin et al., 2017). Components of essential oils affect the membrane and cytoplasm of bacterial cell, and alter their morphology, increase of permeability and leakage of vital intracellular constituents (Nazzaro et al., 2013). This effect leads to lysis and death when exceeds a limit (Vergis et al., 2015). Generally, antibacterial effect of essential oils against Gram positive bacteria is greater than Gram negative bacteria (Omonijo et al., 2018), because outer membrane coating the cell wall restrict the entrance of lipophilic compounds through the lipopolysaccharide structures (Vergis et al., 2015).

Thyme (*Thymus vulgaris* L.), laurel (*Laurus nobilis* L.), rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) and parsley (*Petroselinum crispum* L.) naturally grow in Turkey and are commonly used in traditional medicines (Önenç and Açıkgöz, 2005; Altunbaş and Türel, 2009). Thyme, belonging to the Labiateae family (Önenç and Açıkgöz, 2005), is known as carminative, antiseptic, antioxidant, antimicrobial and antifungal (Bozin et al., 2006; Gibriel et al., 2013) and is used in food, cosmetic and pharmaceutical industries (Nabavi et al., 2015). Laurel, a plant of the Lauraceae family, is an evergreen tree or shrub (Yilmaz et al., 2013) native to Mediterranean region (Ramos et al., 2012). Quantitatively, major components of thyme essential oil (TEO) are thymol and carvacrol (Teixeira et al., 2013), while laurel essential oil (LEO) contains 1,8-cineole, α -terpinene, sabinene, α -pinene, β -pinene (Ghabraie et al., 2016). TEO also contains p-cymene, β -myrcene, γ -terpinene and linalool (Jouki et al., 2014). It is reported that LEO has antimicrobial activity against food spoilage and pathogenic bacteria isolated from fish and shellfish (Ramos et al., 2012; Snuossi et al., 2016). Rosemary, a herb of the Lamiaceae family (Perez et al., 2007), is used as fresh, dried or essential oil (Özcan and Chalchat, 2008), and is also known as natural antimicrobial agent (Genena et al., 2008; Zaouali et al., 2010). Rosemary contains flavones, steroids, diterpenes and triterpenes, and its main compounds, responsible for antimicrobial activity, are 1,8-cineole, α -pinene, bornyl acetate and camphor (Genena et al., 2008). Parsley (*Petroselinum crispum* L.), belonging to the Apiaceae family, is a medicinal and food plant (Kurowska and Gałzka, 2006). Fresh and dried leaves of parsley are used as flavoring agent, condiment, garnish and food additives (Zhang et al., 2006; Altunbaş and Türel, 2009). Parsley essential oil (PEO) can be extracted from seed and leaves (Zhang et al., 2006), and it has been investigated as antimicrobial agents in previous studies (Wong and Kitts, 2006; Teixeira et al., 2013).

There is some information about antibacterial activity of essential oils obtained from different plants against some fish pathogens in the literature. In this study, we aimed at determining the inhibitory effect on *Yersinia ruckeri* (a and b), *Lactococcus garvieae*, *Pseudomonas fluorescens*,

Aeromonas sobria, *A. salmonicida* and *A. veronii* of essential oils obtained from thyme, laurel, rosemary leaves and parsley seed.

MATERIALS and METHODS

Plant materials

Dried thyme (*Thymus vulgaris* L.), laurel (*Laurus nobilis* L.) and rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) leaves, and parsley (*Petroselinum crispum* L.) seeds were purchased from a local market (Samsun, Turkey), powdered by using a grinder (Sinbo, 2909 model, Istanbul, Turkey) and kept in bottles under cool condition until use.

Bacterial strains

In total 7 bacteria, *Yersinia ruckeri* strains (a & b), *Lactococcus garvieae*, *Pseudomonas fluorescens*, *Aeromonas sobria*, *A. salmonicida* and *A. veronii* strains were used as test organism. These were isolated from sick fish caught in The Black Sea Region of Turkey (Table 1) and identified with conventional culture methods and VITEK 2 automated system in Fish Diseases Laboratory (Veterinary Control Institute, Samsun, Turkey).

Table 1. The bacterial strains and origins used in the study

Bacteria	Origin
<i>Yersinia ruckeri</i> (a)	Rainbow trout (<i>Oncorhynchus mykiss</i>), Black Sea Region, Yakakent, Samsun (saltwater fish)
<i>Yersinia ruckeri</i> (b)	Rainbow trout (<i>O. mykiss</i>), Black Sea Region, Gür gentepe, Ordu (freshwater fish)
<i>Lactococcus garvieae</i>	Rainbow trout (<i>O. mykiss</i>), Black Sea Region, Gür gentepe, Ordu (freshwater fish)
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	Rainbow trout (<i>O. mykiss</i>), Black Sea Region, Bafra, Samsun (freshwater fish)
<i>Aeromonas sobria</i>	Common carp (<i>Cyprinus carpio</i>), Black Sea Region, Tokat (freshwater fish)
<i>Aeromonas salmonicida</i>	Rainbow trout (<i>O. mykiss</i>), Black Sea Region, Bafra, Samsun (freshwater fish)
<i>Aeromonas veronii</i>	Common carp (<i>C. carpio</i>), Black Sea Region, Kavak, Samsun (freshwater fish)

Essential oil extraction

The essential oils used in the present study were extracted by hydro-distillation using a Clevenger apparatus (Sesim Kimya Laboratuvar, Ankara, Turkey). For this purpose, 50 g sample of each plant powder was mixed with 500 mL distilled water and distilled for 3 h. The extracted essential oils were dehydrated with anhydrous sodium sulphate, and then stored in the dark glass bottles at +4 °C until used.

Determination of antibacterial activity

The antibacterial activity of essential oils was measured by paper disc diffusion method according to Zaouali et al. (2010). The sterile filter paper discs (6 mm diameter) were individually impregnated with 15 µL of each essential oil, placed onto the Mueller Hinton agar plates containing test bacteria organisms and incubated at 18 °C for 48 h. Four different antibiotics (gentamicin, 30 µg for *Y. ruckeri* (a) and (b), cefoperazone, 75 µg for *L. garvieae*, *A. salmonicida* and *A. veronii*, kanamycin, 30 µg for *P. fluorescens* and florfenicol, 30 µg for *A. sobria*) were used as a positive control and distilled water was used as negative control. After incubation, a diameter of inhibition zones around the disk was measured as mm, including the disk. All tests were performed in duplicate and results are expressed as average values of zone diameter.

Statistical analysis

Data were subjected to analysis of variance (ANOVA) and the mean comparisons were determined by Duncan's multiple range test. The data were expressed as mean ± standard deviation. Analysis was

performed using the SPSS statistical package program (SPSS 17.0 for windows, SPSS Inc., Chicago, IL, USA). A significance level of 0.05 was chosen.

RESULTS and DISCUSSION

The antibacterial activity of thyme (TEO), laurel (LEO), rosemary (REO) and parsley essential oils (PEO) is presented in Table 2. The antibacterial activity of essential oils showed significant differences depending on plant source and on bacterial strain. There were no inhibition zones in the negative controls (distilled water), while the positive controls showed strong antibacterial activity against test microorganisms. All essential oils showed an inhibitory effect against fish pathogenic bacteria (except PEO against *Y. ruckeri* (b)), and the inhibition zones ranged from 6.00 to 36.00 mm. The highest antibacterial activity against all test bacteria was determined in TEO, and LEO and REO showed a moderate activity against all tested bacteria with a diameter of inhibition zone ranging from 9.50 to 18.50 mm. The PEO illustrated the lowest diameter of inhibition zone against all tested bacteria. The differences in diameter of inhibition zone could be attributed to the chemical components of these essential oils which could be able to disrupt and penetrate the lipid structure of the bacteria cell membrane, leading to its destruction (Peng and Li, 2014). Novak et al. (2012) and Miladi et al. (2013) reported that the antimicrobial activity efficiency of essential oil components is in the following order: phenols > aldehydes > ketones > alcohols > ethers > hydrocarbons. The main component of TEO is thymol, a monoterpane with phenolic ring (Novak et al., 2012; Miladi et al., 2013), while the main component of LEO and REO is 1,8-cineole belonging to ethers group (Celikel and Kavas, 2008; Ekren et al., 2013). However, the main component of PEO is α -pinene belonging to terpene class (Altunbaş and Türel, 2009). According to this, results of our study are in accordance with these reports, and similar results were also reported by various researchers. For example, Birinci Yıldırım and Türker (2018) reported that essential oil of parsley (*Petroselinum sativum*) leaves had weaker antibacterial activity against *A. solmanicida*, *Y. ruckeri* and *L. garvieae* than that of thyme, rosemary and laurel essential oils. In addition, thyme essential oil exhibited stronger antimicrobial effect against studied bacteria than the other essential oils. The antimicrobial activity of twelve natural extracts against two fish spoilage bacteria (*Pseudomonas fluorescens*, *Aeromonas hydrophila/caviae*) was tested by Iturriaga et al. (2012) with paper disc diffusion method, and diameters of inhibition zone of REO against *P. fluorescens* and *A. hydrophila/caviae* were determined as 1.0 and 16.0 mm, while diameters of inhibition zone of TEO against same microorganisms were determined as 5.3 and 33.0 mm, respectively. However, PEO showed 3.3 mm diameter of inhibition zone against *A. hydrophila/caviae* and showed no inhibition zone against *P. fluorescens*. Some plant ethanolic extracts were screened for antibacterial activity against some fish pathogens (*Listonella anguillarum*, *Photobacterium damsela* subsp. *piscicida*, *Yersinia ruckeri*, *Lactococcus garvieae*), and *Rosmarinus officinalis* indicated weak antimicrobial activity with inhibition zones 0.3 and 4.3 mm against *Y. ruckeri* and *L. garvieae*, respectively. But, *Thymus vulgaris* showed no inhibitory activity against *L. garvieae*, and demonstrated inhibition zone with 0.5 mm on growth of *Y. ruckeri* (Bulfon et al., 2014). In the study used the disk diffusion method, Starliper et al. (2015) reported that the diameters of inhibition zone of 20% emulsions of TEO and REO against *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida* was 42.0 and 10.7 mm, respectively. *L. nobilis* (LEO), *A. graveolens* and *Z. officinale* essential oils were tested against several bacterial strains (*A. hydrophila*, *E. cloacae*, *K. ornithinolytica*, *K. oxytoca*, *S. lentus*, *S. lugdunensis*, *S. odorifera*, *S. sciuri*, *S. xylosus*, *V. alginolyticus*) isolated from fish and shellfish, and *L. nobilis* essential oil possesses the highest antibacterial activity (mean= 14.25 mm, including disc diameter) against all tested bacteria (Snuossi et al., 2016). Tural and Turhan (2017) investigated the antimicrobial activity of TEO, REO, LEO and their mixtures, and reported that the highest activity against *S. aureus*, *E. coli* O157:H7 and *L. monocytogenes* was determined in TEO with zone diameters of 39.33, 28.00 and 30.67 mm, respectively. Similar results were also reported by Saricaoglu and Turhan (2018).

Table 2. Antibacterial activity of thyme (TEO), laurel (LEO), rosemary (REO) and parsley essential oils (PEO) against some fish pathogens by paper disc diffusion method

Essential oils	Diameter of inhibition zone (mm)						
	<i>Y. ruckeri</i> (a)	<i>Y. ruckeri</i> (b)	<i>L. garvieae</i>	<i>P. fluorescens</i>	<i>A. sobria</i>	<i>A. salmonicida</i>	<i>A. veronii</i>
TEO	31.50±0.5 ^{a,B}	29.50±0.5 ^{a,C}	29.50±0.5 ^{b,C}	26.50±0.5 ^{b,D}	31.50±0.5 ^{b,B}	30.00±1.0 ^{a,BC}	36.00±2.0 ^{b,A}
LEO	11.50±0.5 ^{c,D}	11.50±0.5 ^{c,D}	18.50±0.5 ^{c,A}	9.50±0.5 ^{c,E}	15.00±1.0 ^{d,B}	13.00±1.0 ^{d,C}	18.50±0.5 ^{c,A}
REO	10.00±1.0 ^{d,D}	10.50±0.5 ^{d,D}	13.00±1.0 ^{d,C}	10.00±1.0 ^{c,D}	17.00±1.0 ^{c,A}	14.50±0.5 ^{c,B}	17.50±0.5 ^{c,A}
PEO	7.00±0.0 ^{e,AB}	0±0.0 ^{e,D}	6.00±0.0 ^{e,C}	6.50±0.5 ^{d,B}	7.00±0.0 ^{e,AB}	7.50±0.5 ^{e,A}	7.00±0.0 ^{d,AB}
Negative control ¹	0±0.0 ^f	0±0.0 ^e	0±0.0 ^f	0±0.0 ^f	0±0.0 ^f	0±0.0 ^f	0±0.0 ^e
Positive control	14±1.0 ^{b,2}	18.0±0.0 ^{b,2}	32.5±0.5 ^{a,3}	28.5±0.5 ^{a,4}	37.5±1.5 ^{a,5}	21.5±0.5 ^{b,3}	40.5±1.5 ^{a,3}

All values are mean ± SD of duplicate.

Means with different superscripts in column wise (lower case alphabet) and a row wise (upper case alphabet) differ significantly ($p < 0.05$).

¹Distilled water

²Gentamicin (30 µg)

³Cefoperazone (75 µg)

⁴Kanamycin (30 µg)

⁵Florfenicol (30 µg)

As seen in Table 2, among the tested bacteria, *A. veronii* was the most sensitive to the inhibitory activity of TEO, LEO and REO, while *P. fluorescens* was the most resistant. Similar to *P. fluorescens*, the growth of *Y. ruckeri* (a) and (b) was weakly inhibited by REO. However, the growth of *L. garvieae* and *A. sobria* was strongly inhibited by LEO and REO, respectively. *Y. ruckeri* (a), *L. garvieae*, *P. fluorescens*, *A. sobria*, *A. salmonicida* and *A. veronii* showed weak sensitivity to PEO, but *Y. ruckeri* (b) did not show any sensitivity. The results of our study are consistent with the available literature reporting that the antibacterial activity of essential oils depends on bacterial strain. Similar to our results, *L. garvieae* was found to more sensitive to the inhibitory activity of laurel essential oil than *Y. ruckeri* and *A. salmonicida* (Birinci Yıldırım and Türker, 2018). The antimicrobial activity of forty-six native Brazilian plant methanol extracts against fish pathogenic bacteria (*Streptococcus agalactiae*, *Flavobacterium columnare*, *Aeromonas hydrophila*) using the agar diffusion method was evaluated by Castro et al. (2008), and thirty-one extracts of them showed antimicrobial activity for at least one strain tested in the study. *Flavobacterium columnare* was determined as the most susceptible microorganism to major of the extracts used the study. Iturriaga et al. (2012) tested the antimicrobial activity of various naturel extracts against *P. fluorescens* and *A. hydrophila/caviae*) and reported that *P. fluorescens* was the most resistant strain. Bulfon et al. (2014), some plant ethanolic extracts were screened for antibacterial activity against some fish pathogens (*Listonella anguillarum*, *Photobacterium damsela* subsp. *piscicida*, *Yersinia ruckeri*, *Lactococcus garvieae*), and *Y. ruckeri* was determined as the most resistant bacteria for these extracts. Essential oils of clove, peppermint and lavender were tested for the inhibition effect against *L. garvieae*, *Y. ruckeri* and *A. sobria*, and *A. sobria* was the most sensitive bacteria to the inhibitory activity of all the test essential oils (Metin et al., 2017). Previous studies showed that gram-negative bacteria are more resistant to hydrophobic antibacterial agents than gram-positive bacteria (Wong and Kitts, 2006; Omonijo et al., 2018). This mainly attributed to entrapment of hydrophobic agents at the outer lipopolysaccharide layer, or delaying the adverse effect of hydrophobic agents on the cell membrane (Wong and Kitts, 2006). The results obtained from our study showed that among the essential oils, the highest antimicrobial activity was determined in thyme essential oil, and it inhibited the growth of both Gram negative and Gram positive bacteria.

CONCLUSION

The present study showed that TEO exhibited the highest antibacterial activity against the bacterial fish pathogen, and LEO and REO exhibited a moderate antibacterial activity, whereas PEO illustrated the lowest diameter of inhibition zone against all the test bacteria. The results suggested that essential oils from thyme, laurel and rosemary can be a natural and cheaper alternative treatment for controlling bacterial diseases in aquaculture.

REFERENCES

- Altunbaş, M., & Türel, İ. (2009). *Petroselinum crispum* (maydanoz) tohumu uçucu yağ özütünün letal doz düzeyleri ve antienflamatuar aktivitesinin deney hayvanları üzerinde araştırılması. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 20, 21-25.
- Bansemir, A., Just, N., Michalik, M., Lindequist, U., & Laik, M. (2004). Extracts and sesquiterpene derivatives from the red alga *Laurencia chondrioides* with antibacterial activity against fish and human pathogenic bacteria. *Chemistry & Biodiversity*, 1, 463-467.
- Birinci Yıldırım, A.B., & Türker, H. (2018). Antibacterial activity of some aromatic plant essential oils against fish pathogenic bacteria. *Journal of Limnology and Freshwater Fisheries Research*, 4, 67-74.
- Bozin, B., Mimica-Dukic, N., Simin, N., & Anackov, G. (2006). Characterization of the volatile composition of essential oils of some Lamiaceae spices and the antimicrobial and antioxidant activities of the entire oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 1822-1828.
- Bulfon, C., Volpatti, D., & Galeotti, M. (2014). In vitro antibacterial activity of plant ethanolic extracts against fish pathogens. *Journal of the World Aquaculture Society*, 45, 545-557.
- Burt, S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods-a review. *International Journal of Food Microbiology*, 94, 223-253.
- Castro, S.B.R., Leal, C.A.G., Freire, F.R., Carvalho, D.A., Oliveira, D.F., & Figueiredo, H.C.P. (2008). Antibacterial activity of plant extracts from Brazil against fish pathogenic bacteria. *Brazilian Journal of Microbiology*, 39, 756-760.

- Celikel, N., & Kavas, G. (2008). Antimicrobial properties of some essential oils against some pathogenic microorganisms. *Czech Journal of Food Sciences*, 26, 174-181.
- Choudhury, S., Sree, A., Mukherjee, S.C., Pattnaik, P., & Bapuji, M. (2005). In vitro antibacterial activity of extracts of selected marine algae and mangroves against fish pathogens. *Asian Fisheries Science*, 18, 285-294.
- Dubber, D., & Harder, T. (2008). Extracts of *Ceramium rubrum*, *Mastocarpus stellatus* and *Laminaria digitata* inhibit growth of marine and fish pathogenic bacteria at ecologically realistic concentrations. *Aquaculture*, 274, 196-200.
- Ekren, S., Yerlikaya, O., Tokul, H.E., Akpinar, A., & Açu, M. (2013). Chemical composition, antimicrobial activity and antioxidant capacity of some medicinal and aromatic plant extracts. *African Journal of Microbiology Research*, 7, 383-388.
- Genena, A.K., Hense, H., Smania Junior, A., & Souza, S.M.D. (2008). Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) - a study of the composition, antioxidant and antimicrobial activities of extracts obtained with supercritical carbon dioxide. *Ciencia e Tecnologia de Alimentos*, 28, 463-469.
- Ghabraie, M., Vu, K.D., Tata, L., Salmieri, S., & Lacroix, M. (2016). Antimicrobial effect of essential oils in combinations against five bacteria and their effect on sensorial quality of ground meat. *LWT-Food Science and Technology*, 66, 332-339.
- Gibriel, A.Y., Al-Sayed, H.M.A., Rady, A.H., & Abdelaleem, M.A. (2013). Synergistic antibacterial activity of irradiated and nonirradiated cumin, thyme and rosemary essential oils. *Journal of Food Safety*, 33, 222-228.
- Iturriaga, L., Olabarrieta, I., & de Maranon, I. M. (2012). Antimicrobial assays of natural extracts and their inhibitory effect against *Listeria innocua* and fish spoilage bacteria, after incorporation into biopolymer edible films. *International Journal of Food Microbiology*, 158, 58-64.
- Jouki, M., Mortazavi, S.A., Yazdi, F.T., & Koocheki, A. (2014). Characterization of antioxidant-antibacterial quince seed mucilage films containing thyme essential oil. *Carbohydrate Polymers*, 99, 537-546.
- Kurowska, A., & Gałażka, I. (2006). Essential oil composition of the parsley seed of cultivars marketed in Poland. *Flavour and Fragrance Journal*, 21, 143-147.
- Metin, S., Didinen, B.I., Mercimek, E.B., & Ersoy, A.T. (2017). Bazı bakteriyel balık patojenlerine karşı bazı bitkisel uçucu yağlarının antibakteriyel aktivitesi. *Yunus Araştırma Bülteni*, 1, 59-69.
- Miladi, H., Slama, R.B., Mili, D., Zouari, S., Bakhrouf, A., & Ammar, E. (2013). Essential oil of *Thymus vulgaris* L. and *Rosmarinus officinalis* L.: Gas chromatography-mass spectrometry analysis, cytotoxicity and antioxidant properties and antibacterial activities against foodborne pathogens. *Natural Science*, 5, 729-739.
- Nabavi, S.M., Marchese, A., Izadi, M., Curti, V., Daglia, M., & Nabavi, S.F. (2015). Plants belonging to the genus Thymus as antibacterial agents: From farm to pharmacy. *Food Chemistry*, 173, 339-347.
- Nazzaro, F., Fratianni, F., De Martino, L., Coppola, R., & de Feo, V. (2013). Effect of essential oils on pathogenic bacteria. *Pharmaceuticals*, 6, 1451-1474.
- Nowak, A., Kalember, D., Krala, L., Piotrowska, M., & Czyzowska, A. (2012). The effects of thyme (*Thymus vulgaris*) and rosemary (*Rosmarinus officinalis*) essential oils on *Brochothrix thermosphacta* and on the shelf life of beef packaged in high-oxygen modified atmosphere. *Food Microbiology*, 32, 212-216.
- Omonijo, F.A., Ni, L., Gong, J., Wang, Q., Lahaye, L., & Yang, C. (2018). Essential oils as alternatives to antibiotics in swine production. *Animal Nutrition*, 4, 126-136.
- Önenç, S.S., & Açıkgöz, Z. (2005). Aromatik bitkilerin hayvansal ürünlerde antioksidan etkileri. *Hayvansal Üretim*, 46, 50-55.
- Özcan, M.M., & Chalchat, J.C. (2008). Chemical composition and antifungal activity of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) oil from Turkey. *International Journal of Food Science and Nutrition*, 59, 691-698.
- Park, J.W., Wendt, M., & Heo, G.J. (2016). Antimicrobial activity of essential oil of *Eucalyptus globulus* against fish pathogenic bacteria. *Laboratory Animal Research*, 32, 87-90.
- Peng, Y., & Li, Y. (2014). Combined effects of two kinds of essential oils on physical, mechanical and structural properties of chitosan films. *Food Hydrocolloids*, 36, 287-293.
- Perez, M.B., Calderon, N.L., & Croci, C.A. (2007). Radiation-induced enhancement of antioxidant activity in extracts of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.). *Food Chemistry*, 104, 585-592.
- Ramos, C., Teixeira, B., Batista, I., Matos, O., Serrano, C., Neng, N.R., Nogueira, J.M.F., Nunes, M.L., & Marques, A. (2012). Antioxidant and antibacterial activity of essential oil and extracts of bay laurel *Laurus nobilis* Linnaeus (Lauraceae) from Portugal. *Natural Product Research*, 26, 518-529.
- Saricaoglu, F.T., & Turhan, S. (2018). Antimicrobial activity and antioxidant capacity of thyme, rosemary and clove essential oils and their mixtures. *Journal of Innovative Science and Engineering*, 2, 25-33.
- Serrano, P.H. (2005). Responsible use of antibiotics in aquaculture. *Food and Agriculture Organization of the United Nations*, Rome, 469 pp.

- Snuossi, M., Trabelsi, N., Ben Taleb, S., Dehmeni, A., Flamini, G., & De Feo, V. (2016). *Laurus nobilis*, *Zingiber officinale* and *Anethum graveolens* essential oils: composition, antioxidant and antibacterial activities against bacteria isolated from fish and shellfish. *Molecules*, 21, 1-20.
- Soltani, M., Ghodratnema, M., Ahari, H., Ebrahimzadeh Mousavi, H.A., Atee, M., Dastmalchi, F., & Rahmany, J. (2009). The inhibitory effect of silver nanoparticles on the bacterial fish pathogens, *Streptococcus iniae*, *Lactococcus garvieae*, *Yersinia ruckeri* and *Aeromonas hydrophila*. *International Journal of Veterinary Research*, 3, 137-142.
- Starliper, C.E., Ketola, H.G., Noyes, A.D., Schill, W.B., Henson, F.G., Chalupnicki, M.A., & Dittman, D.E. (2015). An investigation of the bactericidal activity of selected essential oils to *Aeromonas* spp. *Journal of Advanced Research*, 6, 89-97.
- Stratev, D., Zhelyazkov, G., Noundou, X.S., & Krause, R.W.M. (2018). Beneficial effects of medicinal plants in fish diseases. *Aquaculture International*, 26, 289-308.
- Teixeira, B., Marques, A., Ramos, C., Neng, N.R., Nogueira, J.M., Saraiva, J.A., & Nunes, M.L. (2013). Chemical composition and antibacterial and antioxidant properties of commercial essential oils. *Industrial Crops and Products*, 43, 587-595.
- Toroğlu, S., & Çenet, M. (2006). Tedavi amaçlı kullanılan bazı bitkilerin kullanım alanları ve antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesi için kullanılan metodlar. *KSÜ Fen ve Mühendislik Dergisi*, 9, 12-20.
- Tural, S., & Turhan, S. (2017). Antimicrobial and antioxidant properties of thyme (*Thymus vulgaris* L.), rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) and laurel (*Lauris nobilis* L.) essential oils and their mixtures. *Gida*, 42, 588-596.
- Vergis, J., Gokulakrishnan, P., Agarwal, R.K., & Kumar, A. (2015). Essential oils as natural food antimicrobial agents: a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 55, 1320-1323.
- Wei, A., & Shibamoto, T. (2007). Antioxidant activities and volatile constituents of various essential oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 1737-1742.
- Wong, P.Y.Y., & Kitts, D.D. (2006). Studies on the dual antioxidant and antibacterial properties of parsley (*Petroselinum crispum*) and cilantro (*Coriandrum sativum*) extracts. *Food Chemistry*, 97, 505-515.
- Yilmaz, E.S., Timur, M., & Aslim, B. (2013). Antimicrobial, antioxidant activity of the essential oil of bay laurel from Hatay, Turkey. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 16, 108-116.
- Zaouali, Y., Bouzaine, T., & Boussaid, M. (2010). Essential oils composition in two *Rosmarinus officinalis* L. varieties and incidence for antimicrobial and antioxidant activities. *Food and Chemical Toxicology*, 48, 3144-3152.
- Zhang, H., Chen, F., Wang, X., & Yao, H.Y. (2006). Evaluation of antioxidant activity of parsley (*Petroselinum crispum*) essential oil and identification of its antioxidant constituents. *Food Research International*, 39, 833-839.

Damsa Baraj Gölü (Nevşehir, Türkiye) Oligochaeta Faunası ve Bazı Fizikokimyasal Parametrelerle İlişkisi

Özlem FINDIK¹, Ebru AKIN^{2*}, Seval ARAS³

¹Nevşehir Hacı Bektaş Veli Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Moleküller Biyoloji ve Genetik Bölümü, Nevşehir, Türkiye.

²Nevşehir Hacı Bektaş Veli Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Nevşehir, Türkiye.

³Nevşehir Hacı Bektaş Veli Üniversitesi, Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi, Çevre Mühendisliği Bölümü, Nevşehir, Türkiye.

*Sorumlu Yazar: ebruakin284@gmail.com

Araştırma Makalesi

Geliş 16 Nisan 2019; Kabul 19 Eylül 2019; Basım 15 Aralık 2019.

Alıntılama: Findık, Ö., Akın, E., & Aras, S. (2019). Damsa Baraj Gölü (Nevşehir, Türkiye) Oligochaeta faunası ve bazı fizikokimyasal parametrelerle ilişkisi *Acta Aquatica Turcica*, 15(4), 448-457. <https://doi.org/10.22392/actaquatr.554425>

Özet

Damsa Baraj Gölü Oligochaeta faunasını belirlemek amacıyla Nisan 2014-Nisan 2016 tarihleri arasında 5 istasyonda mevsimsel olarak örneklem yapılmıştır. Çalışma sonucunda 453 birey incelenmiş ve 13 taksa tanımlanmıştır. Çalışma süresince gölde *Stylaria lacustris* Linnaeus, 1767 (%19,64) ve *Limnodrilus hoffmeisteri* Claparéde, 1862 (%18,76) türlerinin baskın olduğu, *Nais elinguis* Müller, 1774 (%0,22) türünün ise en az sayıda olduğu gözlenmiştir. En fazla bireye 174 birey/m² ile littoral (0,5 m) istasyon olan 3. istasyonda rastlanmıştır. Ayrıca Oligochaeta örneklerinin alındığı noktalardaki suyun bazı fiziko-kimyasal değerleri (Sıcaklık, derinlik, çözünmüş oksijen, iletkenlik pH, PO₄, NH₄, NO₃, NO₂ ve kimyasal oksijen ihtiyacı) ölçülmüştür. m²deki birey sayıları ile fiziko-kimyasal parametreler arasındaki ilişkiyi anlamak amacıyla korelasyon analizi yapılmıştır. *Stylaria lacustris* ve *Limnodrilus* spp. türlerinin sıcaklık ile pozitif ilişkili oldukları (0.494* ve 0.474*; p>0,05), toplam olarak oligochaeta bireylerinin ise kimyasal oksijen ihtiyacı ile pozitif ilişkili olduğu (0,488*; p<0,05) saptanmıştır. Şimdiye kadar Damsa Baraj Gölü'nde Oligochaeta faunasıyla ilgili herhangi bir çalışma yapılmamıştır.

Anahtar kelimeler Oligochaeta, Damsa Baraj Gölü, bentik fauna, makroomurgasız, su kalitesi

Oligochaeta Fauna of Damsa Dam Lake (Nevşehir, Turkey) and Its Relationship with Some Physicochemical Parameters

Abstract

The study was carried out seasonally at 5 stations between April 2014 and April 2016 in order to determine the Oligochaeta fauna of the Damsa Dam Lake. In the results of the study, 453 individuals were examined in the lake and 13 taxa were identified. During the study, it was observed that *Stylaria lacustris* Linnaeus, 1767 (19.64%) and *Limnodrilus hoffmeisteri* Claparéde, 1862 (18.76%) were dominant in the lake, whereas *Nais elinguis* Müller, 1774 (0.22%) was few in number. The highest number of individuals was found in the 3rd station, which is a littoral (0.5 m) station with 174 individuals/m². In addition, some physico-chemical values (temperature, depth, dissolved oxygen, conductivity, pH, PO₄, NH₄, NO₃, NO₂ and chemical oxygen demand) of the water where Oligochaeta samples were taken were measured. Correlation analysis was performed to understand the relationship between the number of individuals in m² and physico-chemical parameters. *Stylaria lacustris* and *Limnodrilus* sp. were found to be positively related to temperature (0.494 * and 0.474 *; p>0,05)). Totally oligochaeta individuals were positively related to chemical oxygen demand (0.488*; p<0,05). So far, no studies have been conducted on oligochaeta fauna in Damsa Dam Lake.

Key words: Damsa dams lake, benthic fauna, makroinvertebrates, water quality

GİRİŞ

Suçul ekosistemlerde hem su kalitesini belirlemek hem de bölgenin biyolojik zenginliğini ortaya koymak için çok sayıda çalışma yapılmaktadır. Yapılan çalışmalar, canlıların hem kendi aralarındaki ilişkilerini hem de ortamla fiziksel ve kimyasal ilişkilerini belirlemeye büyük önem taşımaktadır (Kırgız, 1984).

Bentik omurgasızlar su kalitesini belirlemek için çoğu kez çalışmalara dahil edilmişlerdir. Bentik omurgasızlarının kazandığı bu önemle birçok Avrupa ülkesi bu canlı grubuna yönelik çalışmalarını hızlandırmıştır (Kazancı vd., 1997). Bentik omurgasızlarının ekosistemdeki bulunma oranlarının dışında, bazı özellikleri de ekosistemin ekolojik yapısı hakkında bilgi vermektedir. Bazı türler ise sedimentin havalandması, mineralleşmeyi etkilemesi ve organik madde üretimi için kaynak sağlanması aracılığıyla artırmaktadır (Şahin Y. , 1984).

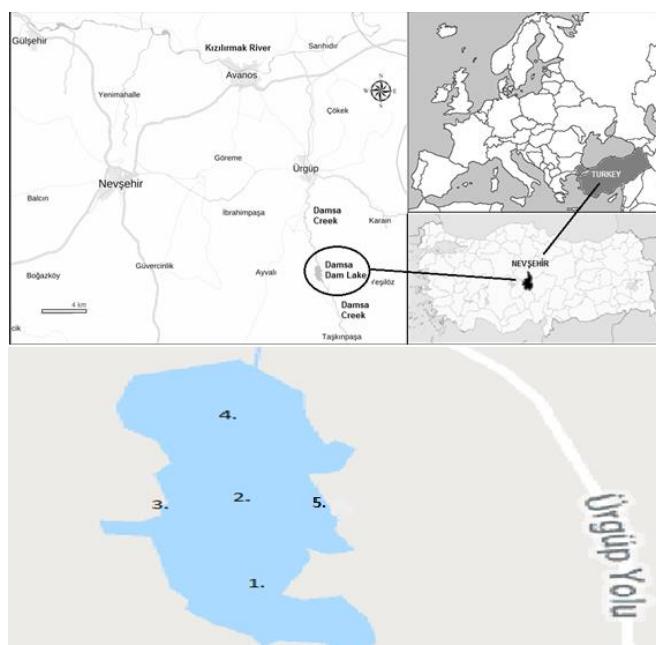
Bentik faunanın önemli bir kısmını oligochaeta türleri oluştururlar. Annelidae filumuna ait oligoketler dünyada geniş dağılıma sahiptir (Jamieson ve Brinkhurst, 1971). Genellikle su tabanında serbest yaşamakla birlikte bazı türleri vejetasyon içinde, organik atıklarda ya da yaprak aralarında bulunurlar. Sucul oligochaeta türlerinin çoğu su tabanından çok miktarda kum-çamuru, aynı zamanda bakteri ve diğer mikroorganizmaları da yiyerek sindirir ve ortama geri verir. Böylece dip çamurunun temizlenmesini ve havalandmasını sağlarlar (Arslan ve Ahiska, 2004). Oligoketler bentik organizmalarla birlikte biyoçeşitlilik, kirlilik, çevresel değerlendirme çalışmalarında sıkılıkla kullanılmaktadırlar (Şahin ve Yıldız, 2011).

Türkiye'de baraj göllerinde Oligochaeta faunasını belirlemek amacıyla yapılmış çalışmalar mevcuttur ((Balık vd., 1996); (Fındık, 2000); (Arslan vd., 2003); (Balık vd., 2004); (Yıldız ve Balık, 2006); (Yıldız vd., 2008)). Damsa baraj gölü İç Anadolu'nun özellikle Nevşehir çevresinin önemli iç su kaynaklarından biridir. Sulama, içme suyu ve rekreatif açılarından bölge için önemi yüksektir.

Bu çalışmada Damsa Baraj Gölü'nün oligochaeta türlerini ve dağılımlarını tespit etmek ve bazı fiziko-kimyasal parametrelerle ilişkisini belirlemek amaçlanmıştır.

MATERIAL ve YÖNTEM

Çalışma alanı olarak belirlenen Damsa Baraj Gölü, İç Anadolu Bölgesi'nin Nevşehir İli'nde karasal iklimde sahip ve ortalama su yüksekliği 32,50 metredir. Damsa Barajı Gölü Nevşehir İli'nde Ürgüp İlçesi'nde Damsa Çayı üzerinde sulama amacı ile 1965-1971 yılları arasında inşa edilmiştir. Toprak gövde dolgu tipi olan barajın gövde hacmi 862000 m³, normal su kotunda göl hacmi 7,12 hm³, normal su kotunda göl alanı 0,82 km²'dir. Baraj 1390 hektarlık bir alana sulama hizmeti vermekle birlikte yılda 1 hm³ içme-kullanma suyu sağlamaktadır. Aynı zamanda baraj, görünümü ve ağaçlandırılmış çevresiyle piknik alanı olarak da kullanılmaktadır. İl merkezine uzaklığı 30 km, ilçe merkezine ise (Ürgüp) 9 km uzaklığındadır (Bağdatlı vd., 2015).



Sekil 1. Damsa Baraj Gölü ve çalışma istasyonları

Örneklerin Toplanması

Damsa Baraj Gölü'nden 2014-2016 tarihleri arasında 5 istasyondan oligochaeta ve su örnekleri alınmıştır. İstasyonlara ait bilgiler Tablo 1'de verilmiştir. Oligochaeta örnekleri 250 µm göz açıklığındaki el kepçesi ve Ekman kepçesi (15x15 cm, Hidrobios marka) ile alınan çamur örneklerinin elenmesiyle toplanmıştır. Arazide %4'lük formalde fikse edilen bentik örnekler laboratuarda yikanıp ayıklandıktan sonra %70'lik alkolde saklanmıştır. Göl suyuna ait fiziko-kimyasal parametrelerden sıcaklık, PH, iletkenlik, derinlik, çözünmüş oksijen ölçümleri Hach Lange marka arazi tipi multi parametre ölçüm cihazı (HQ40D) ile arazide ölçülmüştür. Yapılacak diğer analizler için su örnekleri 1 L'lik plastik şişlere alınmış ve soğutucu kaplarda laboratuara getirilmiştir.

Tablo 1. Damsa Baraj Gölü'nün örnekleme istasyonlarına ait bilgiler

İstasyon	Koordinatlar	Substrate (Taban yapısı)	Mkarofit	Derinlik (Ortalama m)
1	38°54'52''K 34°92'48''D	- Çamur	-	5,50
2	38°54'71''K 34°92'72''D	- Çamur	-	8,3
3	38°54'79''K 34°92'22''D	- İnce kum ve çamur	+	0,5
4	38°54'93''K 34°92'43''D	- Çamur	-	13,3
5	38°55'27''K 34°92'35''D	- İnce kum ve çamur	+	0,5

Laboratuvar Çalışmaları

Laboratuvara getirilen bentik omurgasız örneklerinden Oligochaeta bireyleri stero mikroskopta ayıklanmış ve % 70'lik alkol bulunan tüplere aktarılmıştır. Tüplerin üzerine toplanma tarihi, toplandığı istasyon ve bulunduğu istasyon adının yazılı olduğu etiket yapıştırılmıştır. Örneklerin teşhisinde ışık mikroskopundan yararlanılmıştır. Daimi ve geçici preparatlar hazırlanmıştır. Geçici preparasyonlar 1/5 oranında gliserin-su karışımı ile daimi preparatlar ise polivinil laktofenol ile hazırlanmıştır. Örneklerin teşhisinde; Brinkhurst&Jamieson (1971), Brinkhurst(1971), Brinkhurst (1978), Brinkhurst & Wetzel (1984), Kathman & Brinkhurst (1998), Milligan (1997), Sperber (1948, 1950), Timm (1999)'den yararlanılmıştır. Su örneklerinde nitrit azotu ($\text{NO}_2\text{-N}$), nitrat azotu ($\text{NO}_3\text{-N}$), amonyum azotu ($\text{NH}_4\text{-N}$), fosfat ($\text{PO}_4\text{-P}$) ve KOI Hach Lange marka spektrofotometre (DR 3900) ile ölçülmüştür.

İstatistiksel Analizler

Fiziko-kimyasal parametrelerin istasyonlara göre ortalama, standart hata değerleri Tablo 3'te verilmiştir. Oligochaeta ve fiziko-kimyasal parametreler arasındaki ilişkiyi belirlemek amacıyla korelasyon analizi yapılmış ve tüm analizler için SPSS 19.0 programı kullanılmıştır

BULGULAR

Çalışma sonucunda toplam 453 oligochaeta bireyi incelenmiş ve toplamda 13 taksa saptanmıştır. Bunlardan 13'ü Naididae (4'ü Tubificinae alt familyası, 8'i Naidinae alt familyası) ve 1'i Lumbriculidae familyasına aittir. Tespit edilen türlerin sistematik olarak dağılımı aşağıda verildiği gibidir (ICZN, 2007) .

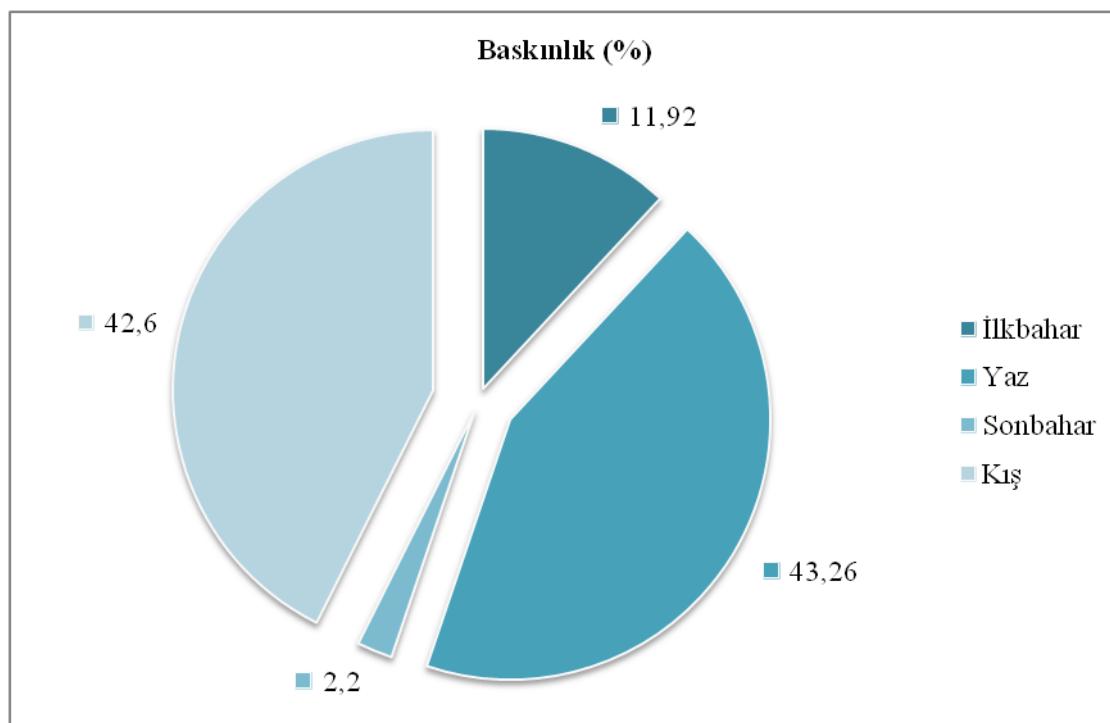
Phylum: Annelida**Classis: Clitellata****Subclassis: Oligochaeta****Order: Tubificida****Family: Naididae****Subfamily: Tubificinae***Limnodrilus hoffmeisteri* Claparéde, 1862*Psammoryctides* spp.*Limnodrilus* spp. (Juvenil)*Tubificinae* spp. (Kıl setali)**Subfamily: Naidinae***Nais variabilis* Piguet, 1906*Chaetogaster langi* Bretscher, 1896*Dero digitata* Müller, 1774*Nais stolci* Hrabé, 1981*Nais elinguis* Müller, 1774*Nais communis* Piguet, 1906*Ophidonaïs serpentina* Müller, 1774*Stylaria lacustris* Linnaeus, 1767**Order: Lumbriculida****Familya: Lumbriculidae** Vejdovsky, 1884

Tespit edilen oligochaeta türlerinin istasyonlara göre mevsimsel ortalamaları Tablo 2.'de verilmiştir. Bu tablo dikkate alındığında en fazla takson littoral istasyon olan 3 ve 5. istasyonlarda (8'er taksa) tespit edilmiştir. Çalışma süresince en fazla bulunan türler *Limnodrilus hoffmeisteri*, *Limnodrilus* spp., *Tubificane* (kıl setali), *Nais variabilis*, *Dero digitata* ve *Lumbriculidae* türleridir (3 istasyon). *Nais elinguis*, *Ophidonaïs serpentina*, *Psammoryctides* spp. türleri ise sadece 1.istasyonda gözlemlenmiştir. En fazla bireye 5. istasyonda (108 birey/m²), en az bireye ise 4. istasyonda (19 birey/m²) rastlanılmıştır.

Tablo 2. Tespit edilen Oligochaeta türlerinin istasyonlara göre (mevsimsel ortalama) birey sayısı/m²

Türler	İstasyonlar				
	1	2	3	4	5
<i>Limnodrilus hoffmeisteri</i>	10	-	31	4	-
<i>Psammoryctides</i> spp	-	-	4	-	-
<i>Limnodrilus</i> spp.	-	4	16	-	1
<i>Tubificinae</i> spp. (Kıl setali)	5	33	2	-	-
<i>Nais variabilis</i>	-	-	4	2	1
<i>Chaetogaster langi</i>	-	-	1	-	11
<i>Dero digitata</i>	-	9	-	1	1
<i>Nais stolci</i>	2	-	-	-	15
<i>Nais elinguis</i>	-	-	-	-	1
<i>Nais communis</i>	2	-	3	-	-
<i>Ophidonaïs serpentina</i>	7	-	-	-	-
<i>Stylaria lacustris</i>	-	-	-	15	74
<i>Lumbriculidae</i>	-	-	31	1	4

oligochaeta bireylerinin mevsimlere göre baskınlık oranları Şekil 2.'de gösterilmiştir. Buna göre yaz mevsiminin en baskın mevsim olduğu (%43,26) gözlenmiştir. Baraj gölünde oligochaeta türlerinin mevsimlere göre dağılışlarında en fazla bireye (8 tür, 196 birey/m²) ile yaz mevsiminde rastlanırken en az bireye (5 tür, 10 birey/m²) ile sonbahar mevsiminde rastlanılmıştır. Çalışmada dominant türler % 20 ile *Stylaria lacustris* ve % 19 ile *Limnodrilus hoffmeisteri* olarak tespit edilmiştir (Şekil 3). İstasyonlar Kita içi su kaynaklarının sınıflandırılmasında kullanılan kalite kriterlerine (Anonim, 2016) göre değerlendirilmiştir. oligochaeta örnekleri bulunan istasyonlardan 1. istasyonda sıcaklık, NO₃-N, PO₄-P, kimyasal oksijen ihtiyacı ve çözünmüş oksijen bakımından suyun kalite sınıfı I. sınıf iken NH₄-N, NO₂-N ve iletkenlik bakımından II. sınıfda değerlendirilmiştir. 2. istasyonda sıcaklık, NO₃-N, PO₄-P, kimyasal oksijen ihtiyacı ve çözünmüş oksijen bakımından suyun kalite sınıfı I. sınıf iken NH₄-N, NO₂-N ve iletkenlik bakımından II. sınıfda değerlendirilmiştir. 3. istasyonda sıcaklık, NO₃-N, PO₄-P, kimyasal oksijen ihtiyacı ve çözünmüş oksijen bakımından suyun kalite sınıfı I iken NH₄-N, NO₂-N ve iletkenlik bakımından II. sınıfda değerlendirilmiştir. 4. istasyonda sıcaklık, NO₃-N, kimyasal oksijen ihtiyacı ve çözünmüş oksijen bakımından suyun kalite sınıfı I iken PO₄-P, NO₂-N, NH₄-N ve iletkenlik bakımından II. sınıfda değerlendirilmiştir. 5. istasyonda sıcaklık, NO₃-N, kimyasal oksijen ihtiyacı ve çözünmüş oksijen bakımından suyun kalite sınıfı I iken PO₄-P, NO₂-N, NH₄-N ve iletkenlik bakımından II. sınıfda değerlendirilmiştir. Çalışılan tüm istasyonlar nihai olarak II. sınıf su kalite sınıfında yer almaktadırlar (Tablo 3).



Şekil 2. Baraj Gölü'nde Oligochaeta bireylerinin mevsimlere göre baskınlık oranları

Oligochaeta ve ait olan tüm türlerin m²deki birey sayıları ile fiziko-kimyasal parametreler arasında yapılan korelasyon analizi Tablo 4'te verilmiştir.

Tablo 3.Fiziko-kimyasal parametre değerlerinin istasyonlara göre dağılımları

İstasyonlar	Sıcaklık (°C)	NH ₄ -N (mg/l)	NO ₂ -N (mg/l)	NO ₃ -N (mg/l)	PO ₄ -P (mg/l)	KOI (mg/l)	Derinlik (m)	pH	İletkenlik (μs/cm)	ÇO (mg/l)	Nihai Sınıf
1	ort±SD	14.13±3.8	0.409±0.22	0.051±0.007	2.30±0.49	0.041±0.02	12.37±1.8	5.50±1.04	8.57±0.8	422.75±10.94	10.02±0.8
		I	II	II	I	I	I	-	-	II	I II
2	ort±SD	15.38±4.1	0.555±0.18	0.059±0.001	2.227±0.43	0.042±0.02	6.42±3.14	8.333±1.45	8.44±0.8	420.50±10.41	9.98±0.49
		I	II	II	I	I	I	-	-	II	I II
3	ort±SD	15.15±3.7	0.401±0.22	0.048±0.009	2.085±0.36	0.049±0.06	9.22±2.97	0.500±0.00	8.60±0.8	421.25±10.16	9.99±0.81
		I	II	II	I	I	I	-	-	II	I II
4	ort±SD	14.23±4.1	0.358±0.18	0.058±0.001	2.157±0.46	0.064±0.04	7.54±4.04	13.33±1.45	8.63±0.8	423.75±12.80	10.08±0.5
		I	II	II	I	II	I	-	-	II	I II
5	ort±SD	16.45±4.2	0.389±0.22	0.058±0.003	2.120±0.41	0.068±0.05	10.56±1.9	0.500±0.00	8.61±0.8	422.75±11.48	10.12±0.6
		I	II	II	I	II	I	-	-	II	I II

Tablo 4. Parametreler ve türler arasındaki korelasyon değerleri

Türler	Parametreler											
	Mevsimler	İstasyon	Sıcaklık	pH	CO	İletkenlik	PO	NH4	NO3	NO2	KOI	Derinlik
<i>Limnodrilus hoffmeisteri</i>	-0.234	-0.226	-0.226	0.105	-0.322	0.229	-0.069	-0.207	-0.207	0.248	0.019	-0.239
<i>Psammoryctides spp.</i>	-0.308	0	-0.299	0.179	0.338	-0.319	0.300	0.060	-0.338	-0.240	0.201	-0.081
<i>Limnodrilus</i> spp.	-0.022	0.057	0.474*	-0.033	0.038	0.082	-0.245	-0.267	0.042	0.180	0.140	0.032
Tubificinae spp. (Kıl setali)	-0.538*	-0.360	-0.236	-0.068	0.391	-0.490*	0.237	0.214	-0.384	-0.321	0.327	0.240
<i>Nais variabilis</i>	0.158	0.294	0.390	-0.023	-0.085	0.152	0.048	-0.318	-0.001	0.057	0.012	0.097
<i>Chaetogaster langi</i>	0.062	0.414	0.404	0.246	0.126	0.086	0.086	-0.397	0.016	0.407	0.139	-0.148
<i>Dero digitata</i>	0.031	0.173	-0.056	0.201	-0.022	0.075	0.232	0.117	0.038	-0.125	-0.319	0.070
<i>Nais stolci</i>	0.050	0.237	0.329	0.165	0.135	0.234	-0.075	-0.315	0.039	0.409	0.249	-0.004
<i>Nais elinguis</i>	0.103	0.324	0.179	0.358	0.099	0.259	-0.080	-0.179	0.020	0.359	-0.020	-0.081
<i>Nais communis</i>	0.069	-0.188	-0.141	0.177	0.146	0.050	-0.002	0.0130	0.095	-0.149	-0.079	-0.196
<i>Ophidonaïs serpentina</i>	-0.308	-0.324	-0.339	0.100	0.378	-0.219	0.220	0.100	-0.179	-0.180	0.281	0.061
<i>Stylaria lacustris</i>	-0.149	0.359	0.494*	-0.417	-0.089	-0.233	0.134	-0.458*	0.284	0.017	0.453*	0.204
Lumbriculidae	-0.153	0.519*	-0.013	0.324	0.377	-0.180	0.367	-0.144	-0.254	0.102	0.082	-0.163
Toplam Oligohaeta	-0.485*	0.198	0.218	-0.050	0.361	-0.408	0.259	-0.198	-0.461	-0.189	0.488*	0.047

TARTIŞMA ve SONUÇ

Çalışma sonucunda 2 familyaya ait toplamda 13 taksa tanımlanmıştır. Benzer baraj göllerinde yapılan bazı çalışmalarla; Tahtalı baraj gölünde Tubificidae (şimdi Tubificinae) ve Lumbricidae familyalarına ait olmak üzere 2 taksa rapor edilmiştir (Balık vd., 1996). Aslantaş Baraj Gölü'nde Naididae familyasına ait *Dero digitata*; Tubificidae (Tubificinae alt familyası) familyasına ait *Tubifex tubifex*, *Potamothrrix bavaricus* ve *Limnodrilus hoffmeisteri* türleri olmak üzere 4 tür (Findik, 2000), Buldan Baraj Gölü'nde 6 taksa (Balık vd., 2004), Musaözü Baraj Gölü'nde yapılan çalışmada 19 taksa (Arslan vd., 2007), Kemer Baraj Gölü'nde 10 taksa (Yıldız vd., 2008). Topçam Baraj Gölü'nde 11 taksa (Yıldız & Balık, 2006) bildirilmiştir.

Çalışma sonucunda en fazla birey sayısı ve çeşitliliğinin littoral bölgelerde olduğu görülmüştür. Littoral ve derinlikleri aynı olan 3. ve 5. istasyonlarda mevsimsel dağılış açısından birey sayıları farklılık gösterse de kıyı istasyonu olmaları, fazla bireye sahip olmalarında etkili olmuştur. Doğal ve baraj göllerinin littoralinde bentik makroomurgasız taksa çeşitliliği ve bolluğunun daha yüksek olup, bunun derinlik artışıyla azaldığı bildirilmektedir (Olson vd., 1994). Ayrıca, her iki istasyonda makrofit (*Pragmites australis* ve *Polygonum amphibium*) gözlemlenmiştir. Genel olarak göllerde, gözlemlenen gelişmiş makrofit komuniteleri daha fazla zooplankton, bentoz ve balık taksa çeşitliliği ve birey sayısı ile karakterize edilmektedirler (Timms ve Moss, 1984). Özellikle oligoketlerden Naidid türlerinin dağılım ve bolluklarının değerlendirilmesinde ana faktörlerden biri vejetasyon çeşitliliğinin varlığıdır (Yıldız ve Ustaoğlu, 2016). Çalışmamızda 3. ve 5. istasyonlarda gözlemlenen oligoket bolluk ve çeşitliliği, hem littoral istasyon olmaları dolayısıyla hem de her iki istasyonda mevcut makrofit varlığıyla açıklanabilir.

Çalışmamızda tespit edilen türlerin mevsimsel dağılışında, en fazla birey yaz mevsiminde gözlemlenmiştir. Bu sonucun Topçam Baraj Gölü ile benzerlik gösterdiği (en fazla bireye Haziran ayında, en az bireye Şubat ayı, (Yıldız ve Balık, 2006)) ancak Aslantaş Baraj Gölü ile uyuşmadığı (en fazla sonbahar mevsiminde, en az ise ilkbaharda; (Findik, 2000)) görülmektedir.

Çalışmamızda dominant tür olarak rastlanan *Stylaria lacustris* (%19,64 oranla) türünün göl ve gölcüklerde çoğu kez sucul bitkilerle birlikte bulunduğu bildirilmiştir (Timm ve Zanten, 2002). (Jamieson ve Brinkhurst, 1971). Bizim çalışmamızda da türe en fazla makrofit bulunan 5. istasyonda rastlanılmıştır. Dominant olarak rastlanan diğer tür %18,76 oranla *Limnodrilus hofmeisteri* türüdür. Tür kozmopolittir, yaygın bir tür olarak birçok habitatta ve kirli bölgelerde bulunur. Damsa Baraj Gölü'nde hem derin (1.istasyon) hem de kıyı istasyonunda (3. istasyon) rastlanılmıştır. Kirli sularda çoğunlukla *Tubifex tubifex* türü ile birlikte yoğun olarak bulunur (Zeybek vd., 2018). Çalışmamızda baraj gölünde *Tubifex tubifex* türüne rastlanılmamıştır.

Çalışmamızda tespit edilen ikinci ordo Lumbriculida ordosudur. Genellikle soğuk göllerin littoral bölgelerinde populasyon oluştururlar (Timm, 1980). Damsa Baraj Gölü'nde kiş mevsiminde ve littoral istasyon olan 3. ve 5. istasyonda tespit edilmiştir.

İstasyonlardaki su kalite parametreleriyle türler arasındaki ilişkiye baktığımızda, *Tubificinae* spp. iletkenlikle (-0,490*) negatif ilişki içinde olduğu görülmüştür. *Stylaria lacustris*'in kimyasal oksijen ihtiyacı (0,453*) ve sıcaklıkla (0,494*) pozitif; amonyum (0,548*) ile negatif ilişki içinde olduğu gözlemlenmiştir. *Limnodrilus* spp.'nin sıcaklıkla (0,474*) pozitif ilişki içinde olduğu gözlemlenmiştir. Bafa Gölü'nde oligochaeta üyelerinin sıcaklık, tuzluluk, pH ve ÇO ile pozitif ilişki içinde olduğu bildirilmekte (Hepsögütlü, 2010) ike Aslantaş Baraj Gölü'nde oligochaeta bireylerinin sıcaklıkla pozitif (0,43), pH (-0,15) ve çözünmüş oksijen (-0,37) ile negatif ilişki içinde olduğu belirtilmiştir (Findik, 2000).

Çalışılan tüm istasyonların nihai sınıflandırmada II. sınıf su kalitesine sahip olduğu görülmektedir. Çalışmada 5 istasyondan tespit edilen toplam 453 adet oligochaeta bireyinin sayıca az olduğu ve Oligoketlerin dağılımında ana faktörün taban yapısı olduğu gerçeği göz önüne alınarak Damsa Baraj Gölü'nün taban yapısının bunda etkin olabileceği düşünülmektedir. Damsa Baraj Gölü bölge açısından rekreatif ve balıkçılık, aynı zamanda da sulama yönüyle değerli bir su kütlesidir. Bu yönyle sürekli izlenmesi gerekliliği görülmektedir. Yapılan çalışma baraj gölünde ilk olmasından dolayı yapılacak sonraki çalışmalara kaynak ve ışık olacak niteliktedir.

Teşekkür: Bu çalışma yüksek lisans tezinden özetlenmiştir. Çalışma, Nevşehir Hacı Bektaş Veli Üniversitesi BAP birimi tarafından NEÜBAP14F7 numaralı proje içerisinde yürütülmüştür.

KAYNAKLAR

- Anonim. (2016). <http://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2016/08/20160810-9-1.pdf>.
- Arslan, N., & Ahiska, S. (2004). Manyas Gölü Oligochaeta (Annelida) Faunasının Taksonomik Açıdan Belirlenmesine Yönelik Bir Ön Araştırma. *Turk Sucul Yaşam Dergisi*, 278-285.
- Arslan, N., & Şahin, Y. (2006). A Preliminary Study on the Identification of the Littoral Oligochaete (Annelida) and Chironomidae (Diptera) Fauna of Lake Kovada, a National Park in Turkey. *Turkish Journal of Zoology*, 30(1), 67-72.
- Arslan, N., İlhan, S., Şahin, Y., Filik, C., Yılmaz, V., & Öntürk, T. (2003). Diversity of Invertebrate Fauna in Littoral of Shallow Musaözü Dam Lake in Comparison with Environmental Parameters. *Journal of Applied Biological Sciences*, (3), 67-75.
- Bağdatlı, M. C., Savcı, S., Uçak, A. B., & Gökdoğan, O. (2015). Evaluation of Agricultural Drought with GIS in Some Irrigation Areas: The Sample of Nevşehir Province in Turkey. *International Conference on Civil and Environmental Engineering*, (s. 1978-1976). Nevşehir.
- Balık, S., Ustaoğlu, M. R., & Sarı, H. M. (1996). Tahtalı Baraj Havzasındaki (Gümüldür – Izmir) Akvatik Faunanın İncelenmesi. *Ege Üniversitesi Aras Fonu No:92/FEN/035*, 53.
- Balık, S., Ustaoğlu, M. R., Özbel, M., Taşdemir, A., & Yıldız, S. (2004). Buldan Baraj Gölü'nün (Denizli, Türkiye) Bentik Faunası. *E.U.Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 21(1-2), 139-141.
- Boyacı, Y. Ö., & Akbaba, G. (2015). Işıklı Gölü (Denizli) Makrobentik Faunasının Mevsimsel Değişimi. *Süleyman Demirel Üniversitesi Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi Dergisi*, 11(2), 8-19.
- Brinkhurst, R. O. (1971). A Guide for the Identification of British Aquatic Oligochaeta. *Freshwater Biological Association Scientific Publication No:22*, Pp:55.
- Brinkhurst, R. O. (1978). *Limnofauna Europaea*. stuttgart: Gustav Fischer Verlag.
- Brinkhurst, R. O., & Wetzel, M. (1984). Aquatic Oligochaeta of the world : supplement - a catalogue of new freshwater species, descriptions, and revisions. Canada.
- Fındık, Ö. (2000). Aslantaş Baraj Gölü (Osmaniye) Bentik Faunası. *Cukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Su Ürünleri Anabilim Dalı Doktora Tezi*, Adana.
- Hepsögütlü, D. (2010). Bafa Gölü'nün Makrobentik Organizmaları ve Bazı Fizikokimyasal Değişkenleri. *Dokuz Eylül Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans TeziDeniz Bilimleri ve Teknoloji Enstitüsü, Canlı Deniz Kaynakları Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi*, İzmir, s. 71 s.
- ICZN, N. I. (2007). Opinion 2167 (Case 3305). Naididae Ehrenberg, 1828 (Annelida, Clitellata): Precedence over Tubificidae Vejdovský, 1876 maintained. *Bulletin of Zoological Nomenclature*, 64, 71-72.
- Jamieson, B. G., & Brinkhurst, R. O. (1971). Aquatic Oligochaeta of the World. *Univ. of Toronto*, Pp: 860.
- Kathman, R. D., & Brinkhurst, R. O. (1998). *Guide to the freshwater oligochaetes of North America*. Tennessee: Aquatic Resources Center.
- Kazancı, N., Girgin, S., Dügel, M., & Oğuzkurt, D. (1997). *Akarsuların Çevre Kalitesi Yönünden Değerlendirilmesinde ve İzlenmesinde Biyotik İndeks Yöntemi*. Ankara: İmaj Yayıncılık.
- Kırgız, T. (1984). Baraj Gölü Bentik Hayvansal Organizmaları ve Bunların Nitel ve Nicel Dağılımları”, 1984. *Cukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Ensütüsü, Biyoloji Anabilim Dalı Doktora Tezi*, Adana.
- Kökçü, C. A. (2016). Sapanca Gölü Ekolojik Kalitesinin Makroomurgasızlara Dayalı Olarak Su Çerçeve Direktifi (SÇD) Doğrultusunda Değerlendirilmesi. *Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü, Biyoloji Anabilim Dalı, Hidrobiyoloji Bilim Dalında Doktora Tezi*, s. 197.
- Milligan, M. R. (1997). *Identification Manual for the Aquatic Oligochaeta of Florida Volume I. Freshwater Oligochaetes*. Florida: Florida Dept. of Environmental Protection; Reprint Edition edition.
- Olson, R. K., Forsberg, H., & Wise, B. (1994). Genes, Environment, and the Development of Orthographic Skills. *The Varieties of Orthographic Knowledge*, 27-71.
- Smiljkov, S., Slavevska-Stamenković, V., Prelik, D., & Paunović, M. (2008). Distribution of benthic macroinvertebrates in Mantovo Reservoir (South-East part of the R. Macedonia). *Cyril and Methodius University, Institute for Biological Research "Siniša Stanković" University of Belgrade*.
- Sperber, C. (1948). A taxonomic study of the Naididae. *Zoologiska bidrag från Uppsala*, 45-78.
- Sperber, C. (1950). A Guide for the Determination of European Naididae. *Zoologiska bidrag från Uppsala*, 45-78.
- Şahin, S. K., & Yıldız, S. (2011). Species Distribution of Oligochaeta Related to Environmental Parameters in Lake Sapanca (Marmara Region, Turkey). *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, (11), 359-366.
- Şahin, Y. (1984). Doğu ve Güneydoğu Anadolu Bölgeleri Akarsu ve Göllerindeki Chironomidae (Diptera) Larvalarının Teşhisini ve Dağılışlarını. *Anadolu Üniversitesi, Yayınları*, No:57, *Fen Edebiyat Fakültesi Yayıncılık*, No:2, Eskişehir.

- Şahin, Y. (1991). Türkiye Chironomidae Potamofaunası. *TUBİTAK, TBAG-869 no'lu Proje*, 88.
- Timm, T. (1980). Distribution of Aquatic Oligochaetes. In Oligochaete Biology. Brinkhurst, R.O. and Cook, D.G. (ed). *Plenum Publishing Corporation. N.Y.*, s. 55-77.
- Timm, T. (1999). A Guide to the Estonian Academy Publishers. *Estonian Academy Publishers*, 208.
- Timm, T., & Zanten, H. H. (2002). Freshwater Oligochaeta of North-West Europe. *World Biodiversity Database CD-ROM Series. Expert Center for Taxonomic Identification, University of Amsterdam*.
- Timms, R. M., & Moss, B. (1984). Prevention of growth of potentially dense phytoplankton populations by zooplankton grazing, in the presence of zooplanktivorous fish, in a shallow wetland ecosystem. *Limnology and Oceanography*, 29(3), 472-486.
- www.mevzuat.gov.tr/MevzuatMetin/yonetmelik/7.5.16806-ek.docx. (2016).
- Yıldız, S., & Balık, S. (1999). The Oligochaeta (Annelida) Fauna of the Inland Waters in the Lake District (Turkey). *Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi*, 22 (1-2), 165-172.
- Yıldız, S., & Balık, S. (2006). The Oligochaeta (Annelida) Fauna of Topçam Dam Lake (Aydın, Turkey). *Turkish Journal of Zoology*, 30, 83-89.
- Yıldız, S., & Şahin, S. K. (2009). Species Distribution of Oligochaetes Related to Environmental Parameters in Lake Sapanca (Marmara Region, Turkey). *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 11, 359-366.
- Yıldız, S., & Ustaoglu, M. (2016). Denizli'deki Dağ Göllerinin Oligochaeta(Annelida) Faunusu Üzerine Gözlemler. *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 2 (33), 89-96.
- Yıldız, S., Taşdemir, A., Balık, S., & Ustaoglu, M. R. (2008). Kemer Baraj Gölü'nün (Aydın) Makrobentik (Oligochaeta, Chironomidae) Faunası. *Journal of Fisheries Sciences.com*, 2 (3), 457-465.
- Zeybek, M., Şahin, S. K., & Yıldız, S. (2018). The Aquatic Oligochaeta (Annelida) Fauna of the Karasu Stream. *Hournal of Limnology and Freshwater Fisheries Research*, 1 (4), 30-35.

Evaluation of Sugar Beet Leave Extracts in Goldfish (*Carassius auratus*) Diets: Effects on Blood and Semen Parameters**Burak Evren İNANAN^{1*}, Ümit ACAR²**¹Aksaray University, Eskil Vocational School, Department of Veterinary Science, 68800, Aksaray Turkey.²Çanakkale Onsekiz Mart University, Bayramiç Vocational School, Department of Forestry, Çanakkale Turkey.

*Corresponding Author: burakinanan@aksaray.edu.tr

Research Article

Received 22 April 2019; Accepted 30 July 2019; Release date 15 December 2019.

How to Cite: İnanan, B. E., & Acar, Ü. (2019). Evaluation of sugar beet leave extracts in goldfish (*Carassius auratus*) diets: Effects on blood and semen parameters *Acta Aquatica Turcica*, 15(4), 458-468. <https://doi.org/10.22392/actaquatr.556299>**Abstract**

Sugar beet (*Beta vulgaris* L.) is one of the common agricultural crops in the world. After harvesting of its roots, sugar beet leaves (SBL) become waste in the field. SBL could cause some inflammation problems in the digestive tract of cattle and decrease tasty of feed. This study was carried out to determine the effects of three different extracts from SBL on hematological and blood serum biochemical parameters, and semen quality of goldfish *Carassius auratus*. These extracts contained proteins, essential oils and carbohydrates from SBL were added to fish feed at ratios of 5 and 20 %. The serum total protein, glucose and albumin values increased while cholesterol and liver enzymes activities decreased in all SBL extract groups. Also, the highest hemoglobin values were found in the groups fed with the supplementations of the essential oils extract. Moreover, the lowest lipid peroxidation and the highest catalase activity levels of seminal plasma were found in these groups. The supplementations of the essential oils extract which contains phytol and vitamin E improved blood parameters and increased the motility parameters as well.

Keywords: *Carassius auratus*, sugar beet leaves, blood, semen.**Japon Balığı (*Carassius auratus*) Yemindeki Şeker Pancarı Yaprağı Özütlerinin Kan ve Semen Parametrelerine Etkileri****Özet**

Şeker pancarı (*Beta vulgaris* L.), dünyadaki en önemli tarım bitkilerinden biridir. Kök kısmının hasadından sonra, şeker pancarı yaprakları tarlada atıl hale gelmektedir. Bu yapraklar, büyükbaş hayvanlarda yem olarak kullanıldığından sindirim sistemi rahatsızlıklarına ve yem tadında bozulmaya neden olabilmektedir. Bu çalışma, şeker pancarı yapraklarından üç farklı şekilde elde edilmiş özütlerin, japon balığı *Carassius auratus* hematolojik ve kan serumu biyokimyasal parametrelerine, semen kalitesine etkilerini tayin etmemi amaçlamıştır. Yapraklardaki proteinleri, esansiyel yağları ve karbonhidratları içeren bu özütler balık yemlerine % 5 ve % 20 oranlarında ilave edilmiştir. Yemlerine yaprak özütü eklenen tüm gruptarda serum toplam protein, glikoz ve albümün değerleri yükselmişken, kolesterol ve karaciğer enzimlerinin aktivite değerlerinde düşüşler gözlemlenmiştir. Ayrıca, en yüksek hemoglobin değerleri, yemine ucuju yağları içeren özüt ilave edilmiş grupta bulunmuştur. Bu gruptarda, en düşük lipid peroksidasyon ve en yüksek katalaz aktivitesi değerleri saptanmıştır. Fitol ve E vitamini açısından zengin olan esansiyel yağ özütünün, kan parametrelerini iyileştirmiş ve sperm kalite değerlerini artırdığı belirlenmiştir.

Anahtar kelimeler: *Carassius auratus*, şeker pancarı yaprağı, kan, semen.**INTRODUCTION**

Aquaculture industry, as one of the fastest growing production industries, significantly provides animal protein source of human food, and this support is increasing from year to year. In the last decade, the global aquaculture produces around 80 million tons of fish per year, and its average growth rate is almost 10% per year (FAO, 2018). This huge production of the aquaculture industry creates a need for fish feed reflectively. Therefore, different ingredients which could offer the better both health conditions and growth rate have been studied.

For instance, some chemicals such as antibiotics, hormones have been considered as fish feed additives to increase fish production and reduce mortality caused by bacterial or fungal infections (Alderman and Hastings, 1998). Due to possible negative effects of these chemicals such as residue in fish tissues, accumulation in the aquatic ecosystem, herb and plant extracts or their essential oils evaluated as options for them (Rhodes et al., 2000; Acar et al., 2015). Moreover, in recent years, there has been an increasing amount of literature on the finding alternatives for proteins and lipids sources of fish feed from some terrestrial plant products instead of fishmeal and fishoil. Many common agricultural crops such as soybean, barley, canola, corn, pea, lupin, and wheat have been considered for inclusion in fish feed. However, no data was found on the utilization of sugar beet (*Beta vulgaris* L.) products in fish feed in reviewing the literature.

Sugar beet (SB) belonged to Chenopodiaceae family is cultivated in Europe, Asia, America, and Africa, provides around 16% of the total sugar production in the world. The main producers of SB are France, United States of America, Germany, Russian Federation, Ukraine, and Turkey (FAO, 2018). SB reaches about 2 feet high and is a succulent plant with large, fleshy, glossy leaves, angular stems and numerous leafy spikes of green flowers (Lange et al., 1999). Roots and leaves of SB are used in traditional medicine as a cure for liver and spleen diseases (Khare, 2007). Also, SB leaves are good sources of natural antioxidants such as betains, flavonoids, polyphenols, vitamin and folic acid (Lee et al., 2009).

After SB roots are harvested, a great part of its leaves become waste in the field even though they are restrictively used for animal feed (especially for cattle) or fertilizers. Usually, this by-product has not been valorized (Rabetafika et al., 2008) and no economic return. Moreover, like other plants, sugar beet leaves (SBL) could cause some inflammation problems in the digestive tract of cattle and decrease tasty of feed (Henry et al., 2015). To avoid any possible negative effects of SBL, proteins, essential oils and carbohydrates extractions of SBL (SBLE) were added to fish feed in this study. The aim of the current study was to determine the effects of dietary of three different SBLE on hematological and serum biochemical parameters, and semen quality of goldfish *Carassius auratus*, associating with the main components of the extracts.

MATERIAL and METHODS

Fish and Feed preparation

The study was approved by the local ethical committee of Bahri Dagdas International Agricultural Research Institute (ref. 2016/57-3822). 252 male goldfish (6.02 ± 0.40 g) were obtained from at the Central Fisheries Research Institute, Antalya, Turkey. After an adaptation period of 14 days, the fish were transferred into 21 tanks (50 L) as 12 for each group in triplicate and then fed with experimental diets for 60 days. During the experiment, the average parameters of water were recorded once a week by a multimeter (YSI 556MPS, YSI Inc., Ohio, USA) and dissolved oxygen, temperature, and pH were measured as 7.5 ± 0.2 mg L⁻¹, $17 \pm 1^\circ\text{C}$, and 7.9 ± 0.5 respectively. During experimental and adaptation periods, fish were offered the experimental diets to apparent satiation twice daily at 09:00 and 17:00. The fish were fed with the control diet during the adaptation period. The diet formulations are given in Table 1. The basal diet was maintained as the control diet therefore it was not supplemented with SBLE. The experimental diets were prepared using the basal diet supplemented with 5 and 20% SBLE obtained by three different methods. A laboratory food mixer was used to mix the dry ingredients for the diet preparation. The mixtures were primed with tap water to yield an applicable pulp. 1-mm pellets were fabricated using the wet ingredients, which were later dried at 40°C in a drying cabinet, and stored at -20°C until feeding.

Table 1. Composition of experimental feeds used in the feeding groups

	Control	P5	E5	C5	P20	E20	C20
Dietary ingredient (%)							
Fish meal	23.00	23.00	23.00	23.00	23.00	23.00	23.00
Soybean meal	37.00	37.00	37.00	37.00	37.00	37.00	37.00
Wheat meal	12.00	12.00	12.00	12.00	12.00	12.00	12.00
Fish oil	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00
Mineral/vitamin premix^{1,2}	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00
Starch	19.00	18.50	18.50	18.50	17.00	17.00	17.00
SBLE³	0	0.50	0.50	0.50	2.00	2.00	2.00
Total	100	100	100	100	100	100	100
Chemical analyses (Dry matter. %)							
Protein	35.17	35.59	35.22	35.18	35.47	35.17	35.63
Lipid	7.21	7.32	7.19	7.40	7.15	7.33	7.25
Ash	5.63	5.74	5.68	5.36	5.19	5.22	5.61

P5, feed with 5 % protein extract; P20, feed with 20 % protein extract; E5, feed with 5 % essential oil extract; E20, feed with 20 % essential oil extract; C5, feed with 5 % carbohydrate extract; C20, feed with 20 % carbohydrate extract.

¹Vitamin Mix: Vit. A, 18000 IU; Vit. D3, 2500 IU; Vit. E, 250 mg/kg; Vit. K3, 12 mg/kg; Vit. B1, 25 mg; Vit. B2, 50 mg; Vit. B3, 270 mg; Vit. B6, 20 mg; Vit. B12, 0.06 mg; Vit. C, 200 mg; Folic acid, 10 mg; Calcium d-pantothenate, 50 mg; Biotin, 1 mg; Inositol, 120 mg; Choline chloride, 2000 mg.

²Mineral Mix: Fe, 75.3 mg; Cu, 12.2 mg; Mn, 206 mg; Zn, 85 mg; I, 3 mg; Se, 0.350 mg; Co, 1 mg

³SBLE; Sugar beet leaf extract

Extraction methods of sugar beet leaves and determination of their contents

The extraction methods were used for the extractions of proteins, carbohydrates and essential oils from SBL. To extract proteins (P extract), 100 g SBL were cut into pieces in a blender with 200 ml sodium phosphate buffer (100 mM, pH 7.5) containing 3 mM EDTA. The extract was stirred for 2 h at 4°C, then centrifuged at 14.000 rpm for 10 min and the supernatant was obtained (Rabetafika et al., 2008). For the extraction of essential oils (E extract), 100 g SBL was homogenized in 150 ml ether, and then the extract was centrifuged (14.000 rpm, 10 min, at 4 °C). The clear supernatant was collected, and evaporated. The residue was resolved in 80% aqueous methanol, and centrifuged to obtain the supernatant (Kähkönen et al., 1999). For the extraction of carbohydrates (C extract), 100 g SBL powdered in liquid N₂ and extracted three times in 100 ml deionized water at 95 °C. The extract was centrifuged at 14.000 rpm for 10 min and the supernatants were taken (Sévenier et al., 1998).

The total protein in the protein extract was determined by Bradford assay (Bradford, 1976). The essential oil extract was analyzed by Shimadzu GCMS-QP 2010 Ultra (Kyoto, Japan) coupled with Rtx-5MS capillary column (30m; 0.25 mm; 0.25 µm). The column temperature was 40°C while ejection temperature adjusted to 250°C using with helium as the carrier gas. The sample injection was 1µL, and the analysis was taken 78 min at 100 kPa pressure. Main sugars (glucose, fructose, and saccharose) of the carbohydrates extract were analyzed by Shimadzu LC20A Prominence HPLC (Kyoto, Japan) equipped with Inertsil ODS-3 (5µm-25x4,6mm) column and a refractive index detector (RID). Acetonitrile /H₂O mobile phase was 40/60 while its flow rate was 1.3 mL/min.

Blood sampling and analyses

At the end of the 60-day feeding trial, blood was taken from the fish (12.01±0.52 gr) as a total of 9 fish for each treatment (3 individuals from each replicate). After the fish were caught randomly from

the tanks, they were anesthetized with clove oil ($50 \mu\text{L L}^{-1}$) as soon as possible (Woody et al., 2002). After the anesthesia, immediately the anal region of the fish was cleaned with ethanol in order to prevent blood samples from contamination with mucous membrane. The blood was taken from the caudal vein of the fish by plastic syringes. A 1.5 ml volume of blood was collected from each fish. Hematological and serum biochemical analyzes were carried out by dividing blood samples into K3EDTA and cellular serum tubes. For serum analysis, the blood samples were centrifuged at 10500 g 5 min. The separated serum was stored at -80°C until analyzed.

Red blood cells (RBC, 10^6 mm^3), hematocrit (Hct, %) and hemoglobin (Hb, g dL^{-1}) was determined by using the method of Blaxhall and Daisley (1973). RBC was counted with a Thoma hemocytometer with the usage of Dacie's diluting fluid. Hct was determined by using a capillary hematocrit tube. Hb concentration was determined with spectrophotometry (540 nm) by using the cyanmethemoglobin method. Mean corpuscular volume (MCV), mean corpuscular haemoglobin (MCH) and mean corpuscular haemoglobin concentration (MCHC) were calculated by using the following equations (Bain et al., 2006): $\text{MCV} (\mu\text{m}^3) = [(\text{Hct}, \%) \times 10] / (\text{RBC}, \times 10^6 \text{ per mm}^3)$, $\text{MCH} (\text{pg}) = [(\text{Hb}, \text{g/dL}) \times 10] / (\text{RBC}, \times 10^6 \text{ per mm}^3)$, $\text{MCHC} (\%) = [(\text{Hb}, \text{g/dL}) \times 100] / (\text{Hct}, \%)$.

Serum biochemical indices such as glucose (GLU), total protein (TP), albumin (ALB) triglyceride (TRI), cholesterol (COL), alkaline phosphatase (ALP), glutamic oxaloacetic transaminase (AST), and lactate dehydrogenase (LDH) were analyzed using bioanalytical test kits (Bioanalytic Diagnostic Industry, Co) and measured by a Shimadzu spectrophotometer (PG Instruments, UK).

Semen sampling and evaluation

After the blood sampling, the temperature of water in the tanks raised gradually to $22 \pm 0.3^\circ\text{C}$ within a few days and the nine fish for each replicate were used for semen sampling. These fish received an intramuscular injection of human chorionic gonadotropin (Sigma-Aldrich, Schnelldorf, Germany) solved in Ringer's solution (150 mM NaCl, 3 mM KCl, 3.5 mM MgCl₂, 5 mM CaCl₂, 10 mM HEPES, pH 7.4) to induce spermiation at the ratio of 1 UI/g fish body weight (Goto-Kazeto et al., 2006). After overnight, the sperm samples were taken by abdominal massage with a micropipette avoiding any contamination. During semen collection, the anal fins of the fish were dried and the sample of each fish in a replicate was collected into the same Eppendorf tube. In this way, a pooled semen sample for each replicate which was sufficient to motility and seminal plasma analyses was constituted and stored on ice until ready for use.

Fresh spermatozoa samples were immediately counted hemocytometrically and motility of spermatozoa was recorded with a Leica DM750 (Leica Microsystems, Switzerland) microscope with a phase contrast attachment mounted a Leica MC190 HD camera. Duration of motility was determined by subjectively as the times until forward movement stopped and circular movement began. The evaluation of motility parameters was performed mainly according to Boryshpolets et al., (2013). The video recordings were saved in AVI format by using a microscope software platform (Leica Application Suite), and then processed using Virtual Dub software (<http://virtualdub.org>). The video recordings were evaluated by ImageJ which is open source software available with a specific CASA plug-in (Wilson-Leedy and Ingemann, 2007; Schneider et al., 2012). According to the video records, percentage of motility (%), curvilinear velocity (VCL, $\mu\text{m/s}$) in the 15th-second record were determined with the CASA plug-in of ImageJ software. A spermatozoa activation solution (50 mM NaCl, 20 mM Tris, pH 8.5, Zadmajid et al., 2013) containing 0.5% bovine serum albumin (BSA) was used for triggering the motility, and a non-activating solution (95 mM NaCl, 48 mM KCl 1.7 mM CaCl₂, 25 mM NaHCO₃, pH 8.5, Ravinder et al., 1997), when needed. For seminal plasma analyses, the semen samples were centrifuged 10 minutes at 12000 rpm and 4°C two times. According to Bradford 1976, protein concentrations of seminal plasma samples were determined by the Bradford method, using calibration curve based on different BSA concentrations. Catalase activity (CAT) and lipid peroxidation level (LPO) in seminal plasma were measured spectrophotometrically. CAT was determined by hydrogen peroxide and ammonium molybdate ((NH₄)₆Mo₇O₂₄) complex at 405 nm (Goth, 1991) while LPO was detected by thiobarbituric acid reactive substance assay that monitors malondialdehyde production (Buege and Aust, 1978).

Statistical analysis

Kolmogorov-Smirnov test and Levene's test were used to reveal normality and homogeneity of variance of each variable, respectively. A log transformation or *arcsin* transformation for the percentage data was performed on data. Mean values of blood and semen parameters were given with the standard error of the mean (SEM) for a parameter of all treatments and its *P* value to become more comprehensible. Each parameter was analyzed using ANOVA followed by Tukey's HSD test. Statistical analysis was performed using SPSS 17.0 software (SPSS Inc., Chicago, USA). *P* < 0.05 was set as statistical significance for all data.

RESULTS

The sugar beet extractions content

The main chemical constituents of three different SBLE which added to the feed were determined. The aerial parts of the E extract essential oils are given in Table 2. The major constituent of this extract was phytol. The other common essential oils are pentacosane, neophytadiene, hexatriacontane, diethyl phthalate, cycloheptasiloxane, tetradecamethyl, and vitamin E. Total protein in the P extract was found as 6.82 ± 0.92 mg g⁻¹ wet weight. Glucose and fructose concentrations of the C extract were 2.19 ± 0.23 µg g⁻¹ wet weight and 26.88 ± 2.42 µg g⁻¹ wet weight, respectively while sucrose was not detected.

Table 2. Chemical composition of the aerial parts of sugar beet leaves essential oils (%)

Compounds	Composition %
Phytol	56.28
Phytol, trimethylsilyl ether	1.50
Phytene-2	1.80
Diethyl phthalate	3.02
Neophytadiene	4.54
Pentacosane	5.43
Hexatriacontane	4.49
Tetracontane	1.74
Eicosane	0.37
Nonacosane	0.35
Eicosamethylcyclodecasiloxane	0.37
Cycloheptasiloxane, tetradecamethyl-	2.70
Cyclooctasiloxane, hexadecamethyl-	1.76
Cyclononasiloxane, octadecamethyl-	1.39
Cyclohexasiloxane, dodecamethyl-	0.88
Silicone oil	0.38
Vitamin E	2.66
Tetracosamethylcyclododecasiloxane	2.33
Methyl linolenate	1.59
Ethyl linolenate	0.46
Squalene	1.09
2-Nonadecanone	0.53
Palmitic acid, trimethylsilyl ester	0.41
4,8,12,16-Tetramethylheptadecan-4-olid	0.30
Total	96.36

Effects of the sugar beet extractions on blood characteristics of goldfish

The fish hematology and their blood serum biochemical values are shown in Table 3. TP amounts were found to increase in the experimental groups compared to the control group. The highest value was observed in the P20 group (*P* < 0.05). Similarly, ALB results found in the highest amount in the group fed with the P20 extract supplementation and found statistically different from the control group (*P* < 0.05). GLU were lower in the control, the P5 and the E5 groups and found statistically different from the other groups (*P* < 0.05) at the end of 60 days feeding period. CHO levels showed a reducing trend in the E extract supplemented diet groups. The lowest CHO value obtained in the E20 group and found

statistically different from control ($P < 0.05$). TRIG values showed no significant differences between experimental groups ($P > 0.05$). AST activities were found lower in the E5, P20 and E20 groups and statistically different than the control group ($P < 0.05$). AST activities were tented to lower in all SBLE groups that the control however, there were statistically differences between the E extract supplemented diet groups and the control ($P < 0.05$). Similarly, LDH values were increasing in the E extract supplemented diet groups. Hematological blood parameters are similar in all experimental groups in terms of RBC. However, the lowest RBC value obtained in P20 group. The highest Hb values were determined in E5, E20 and C20 groups comparing to the control ($P < 0.05$). The significantly lowest Hct values were obtained in the P5 and P20 groups ($P < 0.05$). Other SBLE supplemented groups showed the similarities regarding to Hct. Also, the highest MCV, MCH, MCHC were calculated in the C20 group.

Table 3. Effect of dietary sugar beet extractions on the blood parameters of goldfish

Item	Control	P5	E5	C5	P20	E20	C20	SEM	P value
TP	6.57 ^a	6.78 ^a	7.69 ^{bc}	7.46 ^b	9.84 ^d	8.10 ^c	8.07 ^c	0.16	<0.01
GLU	51.26 ^a	53.73 ^a	58.54 ^b	68.62 ^a	62.21 ^b	67.07 ^c	74.47 ^d	1.27	<0.01
ALB	0.07 ^a	0.11 ^b	0.10 ^b	0.12 ^b	0.18 ^c	0.12 ^b	0.10 ^b	0.01	<0.01
CHO	179.68 ^{ab}	161.95 ^{abc}	140.97 ^{bc}	212.77 ^a	197.95 ^a	120.20 ^c	170.08 ^{abc}	6.18	<0.01
TRIG	76.15	90.75	130.19	101.22	107.27	90.79	91.46	4.88	0.09
AST	21.44 ^a	18.69 ^{ab}	15.85 ^b	16.07 ^{ab}	14.95 ^b	14.82 ^b	19.37 ^{ab}	0.57	<0.01
ALT	1.12 ^{abc}	1.24 ^{bc}	1.11 ^{abc}	1.30 ^c	0.81 ^a	1.04 ^{abc}	0.85 ^{ab}	0.04	<0.01
LDH	131.73 ^{ab}	138.35 ^{ab}	123.25 ^{ab}	169.84 ^a	130.39 ^{ab}	106.95 ^{ab}	134.47 ^b	4.89	0.03
RBC	2.21 ^{ab}	2.26 ^{ab}	2.39 ^b	2.34 ^b	2.05 ^a	2.32 ^b	2.28 ^b	0.02	<0.01
Hb	9.00 ^{abc}	8.50 ^a	10.44 ^{de}	9.68 ^{bcd}	8.83 ^{ab}	10.03 ^{cde}	10.80 ^e	0.15	<0.01
Hct	27.29 ^{ab}	17.20 ^c	27.75 ^a	26.28 ^{ab}	22.53 ^e	24.17 ^{de}	25.63 ^{bd}	0.55	<0.01
MCV	108.30 ^a	119.20 ^b	121.01 ^b	114.50 ^c	110.73 ^{ac}	119.97 ^b	136.87 ^d	1.39	<0.01
MCH	40.90 ^a	42.63 ^{ab}	44.34 ^{bc}	43.62 ^b	43.92 ^b	42.83 ^b	46.23 ^c	0.28	<0.01
MCHC	36.67 ^a	37.45 ^a	36.66 ^a	38.50 ^{abc}	40.46 ^c	39.28 ^{bc}	40.50 ^c	0.29	<0.01

P5, feed with 5 % protein extract; P20, feed with 20 % protein extract; E5, feed with 5 % essential oil extract; E20, feed with 20 % essential oil extract; C5, feed with 5 % carbohydrate extract; C20, feed with 20 % carbohydrate extract.

TP(g/L), total protein; GLU(mg/dL), glucose; ALB(g/dL), albumin; CHO(mg/dL), cholesterol; TRIG(mg/dL), triglycerides; AST(U/g protein), aspartate aminotransferase; ALT(U/g protein), alanine aminotransferase; LDH(U/g protein), lactate dehydrogenase; RBC($\times 10^6/\mu\text{L}$), red blood cells; Hb(g/dL), haemoglobin concentration; Hct (%), haematocrit; MCV(fL), mean corpuscular volume; MCH(pg/cell), mean corpuscular haemoglobin; MCHC(%), mean corpuscular haemoglobin concentration.

Data within each row of dietary groups with no common superscript differ significantly at $P < 0.05$. The standard error of the mean (SEM) for each parameter are given.

Effects of the sugar beet extractions on sperm characteristics of goldfish

Parameters of sperm motility and seminal plasma in different groups are presented in Table 4. In general, the motility increased in the treatment supplemented with SBLE, especially the E extract supplementations. Similarly, durations of sperm motility and sperm densities in the E20, E5, and C20 groups in descending order were higher than those in the control ($P < 0.05$). The fish fed diets with SBLE were found to have higher levels of protein concentrations their seminal plasma. Significant decreases in LPO levels and significant increases in CAT of the seminal plasma samples obtained from the E20 and C20 extract groups were measured ($P < 0.05$).

Table 4. Effect of dietary sugar beet extractions on the semen parameters of goldfish

	Control	P5	E5	C5	P20	E20	C20	SEM	P value
VCL 15 th s	130.47 ^a	128.94 ^a	152.37 ^b	131.56 ^a	130.02 ^a	157.66 ^c	143.85 ^d	0.80	<0.01
% 30 th s	59	56	61	57	59	66	62	0.92	0.06
Duration(s)	91 ^a	90 ^a	119 ^b	101 ^c	89 ^a	124 ^d	106 ^c	2.92	<0.01
Sperm density (x10 ⁹ /ml)	6.30 ^a	6.85 ^a	10.65 ^b	8.06 ^c	6.57 ^a	12.31 ^d	8.33 ^c	0.47	<0.01
Protein (g/l)	1.24 ^a	1.27 ^a	1.34 ^a	1.37 ^a	1.88 ^b	1.82 ^b	1.46 ^a	0.04	<0.01
LPO (nmol/mg protein)	0.37 ^a	0.39 ^a	0.36 ^{ab}	0.37 ^a	0.35 ^{ab}	0.25 ^c	0.30 ^{bc}	0.01	<0.01
CAT (U/mg protein)	9.76 ^a	9.25 ^a	11.13 ^a	10.57 ^a	11.75 ^a	16.74 ^b	16.07 ^b	0.49	<0.01

P5, feed with 5 % protein extract; P20, feed with 20 % protein extract; E5, feed with 5 % essential oil extract; E20, feed with 20 % essential oil extract; C5, feed with 5 % carbohydrate extract; C20, feed with 20 % carbohydrate extract.

VCL(μm/s) curvilinear velocity; LPO, lipid peroxidation level; CAT, catalase activity.

Data within each row of dietary groups with no common superscript differ significantly at $P < 0.05$. The standard error of the mean (SEM) for each parameter are given.

DISCUSSION

Plant extracts and their essential oils are frequently considered to have less side effects fish in comparison with chemical ones used in fish diets to improve health status of fish (Nya and Austin, 2009; Acar et al., 2015). Besides, increasing aquaculture production has been generated a rising demand of fish feed. Thus, alternative ingredients for it are attracting research interest. SB, as one of the common agricultural crops in the world, is needed to study its chemical and biological effects in animals. Furthermore, after harvesting of SB, a great majority of its leaves remains as a waste product while its roots have actual economic value. Also, each country has regional systems that link between harvesting of sugar beet from the field to sugar factories. These systems make plenty of SBL easily obtain without expense or at small expense. This study evaluated the effect of SBLE obtained by different methods on the blood hematological and serum biochemical profiles and sperm characteristics of goldfish.

Application of natural products in aquaculture should be continued to find suitable plant-derived feed additives to maximize growth and health status, sexual stimulation, hepatoprotective effects in fish (Citarasu et al., 2003). In the present study, the evident effect of SBLE used different levels in diets has been determined in serum biochemical profiles and hematological parameters of goldfish. Blood functions are related with particularly the transportation of nutrients and oxygen in the fish. Therefore, blood parameters are useful to determine fish health status response to dietary feed supplements (Lin et al., 2015). In the present study, serum TP values were found the higher in all groups fed with different level of SBLE than those in the control. Similarly, the increases in serum TP of hybrid grouper and crucian carp (*Carassius carassius*) caused by ginkgo leaves extract added to feed have been reported (Tan et al., 2018). The increase of serum TP levels in fish is related to a strong immune response (Wiegertjes et al., 1996). It may be explained by the fact that various immunostimulant originating from herbs do not induce to osmoregulatory dysfunction and any damage in tissues and blood vessels in fish. Moreover, serum GLU values of fish are affected by daily feeding (Kenari et al., 2011). In the present study, the serum GLU values were found highest in C5 and C20 groups. In this study, the high glucose and fructose concentrations in the C extracts were determined, and this could be the main reason for the high GLU values of these treatments. On the contrary, some plant products such as *Aloysia triphylla* and *Citrus sinensis* extracts in feed reduced GLU levels in fish (Acar et al., 2015; Gressler, 2014). Also, different fish species could give different response to saponins and flavonoids contents of used extracts in diets. ALB in fish blood performs the transportation of lipids and helps general metabolism of fish (Andreeva, 1999). This study showed that dietary SBLE increased serum ALB levels among the experimental groups compared to the control group. In the present study, serum CHO levels were found the lowest in the E20 group. Lowering effects of herbal extracts on CHO are well known and reported in Mozambique tilapia fed with the essential oils of ginger and orange peel (Immanuel et al., 2009; Acar et al., 2015). In the present study, phytol content of E extract was 56.28%. Rinchard et al. (2003) reported that the presence of phytosterols could be the main reason for the decrease of serum CHO levels. The

present study showed that dietary SBLE caused decreases in serum ALP, ALT and LDH values in the experimental groups compared to the control. The administrated SBLE in appropriate doses showed the positive effects of fish liver tissue if added diet with an appropriate extraction method. SBL have been used as phytotherapeutic in human for a long time due to their healing effects on liver (Ninfali and Angeino, 2013). Biochemical changes in hepatic enzymes activities are indicator for liver function (Abdel-Wahhab et al., 1999). Similar to our results, decreases in the liver enzymes activities were observed in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed with olive leaf extract (Baba et al., 2018). The haematological parameters such as RBC, Hb, Hct, MCV, MCH, and MCHC in blood indicate the health status of fish and their viscera when determining any abnormality occurring owing to the use of immunostimulants in diets (Tewary and Patra, 2011). There were no significant differences in RBC between treatment groups. Also, Hct values of treatment groups showed similar trend however, only P5 groups showed lower Hct values. Also, the dietary administration of SBLE did not cause any adverse effects on Hb content in all experimental groups. Moreover, the significantly higher Hb contents were obtained in the E groups fed with the E extracts supplemented feeds. A decrease in the amount of Hb reduces the transport capacity of oxygen in fish, even cause to reduce growth performance (Wells et al., 2005). Gabor et al. (2012) reported that anemia characterized by decreases Hct and RBC in common carp fed with 1% ginger powder for 93 days. This could be due to the prolonged time of this treatment. Therefore, it is necessary to adjust the dose of herbal supplement and the period of supply to avoid toxic effects in fish. It could be made an inference that any dietary SBLE do not cause anemia in the experimental fish for 60 days of feeding period.

Some factors such as photoperiod, feeding, stress, age, and diseases has been shown to affect the sperm quality in cultured fish (Rurangwa et al., 2004). Enrichment in nutrition of fish considerably improves the sperm quality and sperm production as well (Izquierdo et al., 2001). In this study, all measured semen parameters have been significantly affected by the feed with the addition of different SBLE. Sperm VCL values were improved by the feed added the E extracts. Also, the C20 extract had positive effects on sperm motility. Moreover, the lowest LPO level and the highest CAT were found in the E20 extract groups. The most remarkable difference was found in sperm density that the density values obtained from the E20 extract group were almost two times higher than those in the control. Tizkar et al. (2015) reported that dietary supplementations of astaxanthin and β -carotene improved sperm motility and increased sperm density almost two times higher than the control. The SBLE caused increases in protein levels of seminal plasma. Additionally, LPO levels increased while CAT decreased in the seminal plasma of the fish fed with supplementation of the E20 extract compared to the seminal plasma of the fish in the control. Some substances like polyunsaturated fatty acids and vitamins like vitamin C and E in feed enhance reproductive performance of fish. Lipids in feed could change the composition of sperm membrane, which is a very critical factor for sperm quality (Labbé et al., 1995; Labbé and Maisse, 1996). Also, vitamin E has a role in the control of cell membrane permeability and stability (Lucy, 1972). Improvement on the sperm quality by dietary vitamin E has been shown in rainbow trout (Canuryurt and Akhan, 2008). Vitamin E like Vitamin C could have a capacity to reduce lipid peroxidation, thus protects sperm cells (Dabrowski and Ciereszko, 1996). The E extract contains %2.66 of Vitamin E, this may be a reason for improvement in sperm quality. Moreover, phytol as a precursor for the production of tocopherol could be associated with this (Valentin and Qi, 2005). Herbal products are not always favorable for fish gametes. For instance, gossypol from cotton seeds prevented reproductive performance in female and reduced sperm motility whereas it had no effect on fish growth and mortality (Rurangwa et al., 2004).

The dietary supplementation of SBLE have positive effects on serum biochemical profiles, particularly the E extract which contains the essential oils improves semen quality parameters. This could be used especially for male broodstock nutrition, should test for female broodstock. Also, these extract could be a part of fish feeding as feed additives in further studies.

Acknowledgments: This study was supported by Aksaray University Research Fund (Grant number: BAP 2017/009).

REFERENCES

- Abdel-Wahhab, M.A., Nada, S.A., & Khalik F.A. (1999). Physiological and toxicological responses in rats fed aflatoxin-contaminated diet with or without sorbent materials. *Animal Feed Science and Technology*, 97, 209-219.
- Acar, Ü., Kesbiç, O.S., Yılmaz, S., Gültepe, N., & Türker, A. (2015). Evaluation of the effects of essential oil extracted from sweet orange peel (*Citrus sinensis*) on growth rate of tilapia (*Oreochromis mossambicus*) and possible disease resistance against *Streptococcus iniae*. *Aquaculture*, 437, 282-286.
- Alderman, D.J., & Hastings, T.S. (1998). Antibiotic use in aquaculture: development of antibiotic resistance-potential for consumer health risk. *International Journal of Food Science & Technology*, 33, 139-155.
- Andreeva, A.M. (1999). Structural and functional organization of the blood albumin system in fish. *Vopr Ikhtiyologii*, 39, 825-832.
- Baba, E., Acar, Ü., Yılmaz, S., Zemheri, F., & Ergün, S. (2018). Dietary olive leaf (*Olea europaea* L.) extract alters some immune gene expression levels and disease resistance to *Yersinia ruckeri* infection in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Fish and Shellfish Immunology*, 79, 28-33.
- Bain, B.J., Lewis, S.M., & Bates, I. (2006). Basic hematological techniques.. In M. Lewis, Bain, B.J. & I. Bates (Eds.), *Practical hematology* (pp. 26-54). Churchill Livingstone, USA: Elsevier.
- Blaxhall, P.C., & Daisley, K.W. (1973). Routine hematological methods for use with fish blood. *Journal of Fish Biology*, 5, 771-781. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.1973.tb04510.x>
- Boryshpolets, S., Kowalski, R.K., Dietrich, G.J., Dzyuba, B., & Ciereszko, A. (2013). Different computer-assisted sperm analysis (CASA) systems highly influence sperm motility parameters. *Theriogenology*, 80, 758-765. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2013.06.019>
- Bradford, M.M. (1976). Rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72, 248-254. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3)
- Buege, J.A., & Aust, S.T. (1978). Microsomal lipid peroxidation. *Methods in Enzymology*, 52, 302-310. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(78\)52032-6](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(78)52032-6)
- Canuryurt, M.A., & Akhan, S. (2008). Effect of dietary vitamin E on the sperm quality of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture Research*, 39, 1014-1018. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2008.01952.x>
- Citarasu, T., Venkatramalingam, K., Babu, M., Sekar, R.R., & Petermarian, M. (2003). Influence of the antibacterial herbs, *Solanum trilobatum*, *Androgra phispaniculata* and *Psoralea corylifolia* on the survival, growth and bacterial load of Penaeus monodon post larvae. *Aquaculture International*, 11, 581-595. <https://doi.org/10.1023/B:AQUI.0000013322.53358.53>
- Dabrowski, K., & Ciereszko, A. (1996). Ascorbic acid protects against male infertility in teleost fish. *Experientia*, 52, 97-100. <https://doi.org/10.1007/BF01923351>
- FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations), (2018, November 1). Crops production statistics 1970-2016. Retrieved from <http://www.fao.org/faostat>
- Gabor, E.F., Sara, A., & Barbu, A. (2010). The effects of some phytoadditives on growth, health and meat quality on different species of fish. *Animal Science and Biotechnologies*, 43, 61-65.
- Goth, L. (1991). A simple method for determination of serum catalase activity and revision of reference range. *Clinica Chimica Acta*, 196, 143-152. [https://doi.org/10.1016/0009-8981\(91\)90067-M](https://doi.org/10.1016/0009-8981(91)90067-M)
- Goto-Kazeto, R., Abe, Y., Masai, K., Yamaha, E., Adachi, S., & Yamauchi, K. (2006). Temperature-dependent sex differentiation in goldfish: Establishing the temperature-sensitive period and effect of constant and fluctuating water temperatures. *Aquaculture*, 254, 617-624. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2005.10.009>
- Gressler, L.T., Riffel, A.P.K., & Parodi, T.V. (2014). Silver catfish Rhamdia quelen immersion anaesthesia with essential oil of *Aloysia triphylla* (L'Herit) britton or tricaine methanesulfonate: effect on stress response and antioxidant status. *Aquaculture Research*, 45, 1061-1072. <https://doi.org/10.1111/are.12043>
- Henry, M., Gasco, L., Piccolo, G., & Fountoulaki, E. (2015). Review on the use of insects in the diet of farmed fish: Past and future. *Animal Feed Science and Technology*, 203, 1-22. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2015.03.001>
- Immanuel, G., Uma, R.P., Iyapparaj, P., Citarasu, T., Peter, S.M., Babu, M.M., & Palavesam, A. (2009). Dietary medicinal plant extracts improve growth, immune activity and survival of tilapia *Oreochromis mossambicus*. *Journal of Fish Biology*, 74, 1462-1475. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2009.02212.x>
- Izquierdo, M.S., Fernandez-Palacios, H., & Tacon, A.G.J. (2001). Effect of broodstock nutrition on reproductive performance of fish. *Aquaculture*, 197, 25-42. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(01\)00581-6](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(01)00581-6)
- Kähkönen, M.P., Hopia, A.I., & Vuorela, H.J. (1999). Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 3954-3962. <https://doi.org/10.1021/jf9901461>
- Kenari, A.A., Mozanzadeh, M.T., & Pourgholam, R. (2011). Effects of total fish oil replacement to vegetable oils at two dietary lipid levels on the growth, body composition, haemato-immunological and serum

- biochemical parameters in Caspian Brown trout (*Salmo truttacaspis* Kessler, 1877). *Aquaculture Research*, 42, 1131-1144. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2010.02701.x>
- Khare, C.P. (2007). *Indian medicinal plants: An Illustrated Dictionary*. New York, USA: Springer Science and Business Media LLC.
- Labbé, C., & Maisse, G. (1996). Influence of rainbow trout thermal acclimation on sperm cryopreservation: relation to change in the lipid composition of the plasma membrane. *Aquaculture*, 145, 281-294. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(96\)01354-3](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(96)01354-3)
- Labbé, C., Maisse, G., Muller, K., Zachowski, A., Kaushik, S., & Loir, M. (1995). Thermal acclimation and dietary lipids alter the composition, but not fluidity, of trout sperm plasma membrane. *Lipids*, 30, 23-33. <https://doi.org/10.1007/BF02537038>
- Lange, W., Brandenburg, W.A., & De Bock, T.S.M. (1999). Taxonomy and cultonomy of beet (*Beta vulgaris* L.). *Botanical Journal of the Linnean Society*, 130, 81-96. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8339.1999.tb00785.x>
- Lee, J.H., Son, C., & Kim, W. (2009). Red beet (*Beta vulgaris* L.) leaf supplementation improves antioxidant status in C57BL/6J mice fed high fat high cholesterol diet. *Nutrition Research and Practice*, 3(2), 114-121. <https://doi.org/10.4162/nrp.2009.3.2.114>
- Lin, H., Tan, X., & Zhou, C. (2015). Effect of dietary arginine levels on the growth performance, feed utilization, non-specific immune response and disease resistance of juvenile golden pompano *Trachinotus ovatus*. *Aquaculture*, 437, 382-389. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2014.12.025>
- Lucy, J.A. (1972). Functional and structural aspects of biological membranes: a suggested structural role for vitamin e in the control of membrane permeability and stability. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 203 (1), 4-11. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1972.tb27849.x>
- Ninfali, P., & Angelino, D. (2013). Nutritional and functional potential of *Beta vulgaris cicla* and *rubra*. *Fitoterapia*, 89, 188-199. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2013.06.004>
- Nya, E.J., & Austin, B. (2009). Use of garlic, *Allium sativum*, to control *Aeromonas hydrophila* infection in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Journal of Fish Diseases*, 32, 963-970. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2761.2009.01100.x>
- Rabetafika, H.N., Gigot, C., Fauconnier, M., Ongena, M., Destain, J., Jardin, P., Wathélet, J.P., & Thonart, P. (2008). Sugar beet leaves as new source of hydroperoxide lyase in a bioprocess producing green-note aldehydes. *Biotechnology Letters*, 30, 1115-1119. <https://doi.org/10.1007/s10529-008-9652-2>
- Ravinder, K., Nasaruddin, K., Majumdar, K.C., & Shivaji, S. (1997). Computerized analysis of motility, motility patterns and motility parameters of spermatozoa of carp following short-term storage of semen. *Journal of Fish Biology*, 50, 1309-1328. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.1997.tb01655.x>
- Rhodes, G., Huys, G., Swings, J., McGann, P., Hiney, M., Smith, P., & Pickup, R.W. (2000). Distribution of oxytetracycline resistance plasmids between aeromonads in hospital and aquaculture environments: implication of Tn1721 in dissemination of the tetracycline resistance determinant Tet A. *Applied and Environmental Microbiology*, 66, 3883-3890. <https://doi.org/10.1128/AEM.66.9.3883-3890.2000>
- Rinchard, J., Lee, K.J., Dabrowski, K., Ciereszko, A., Blom, J.H., & Ottobre, J.S. (2003). Influence of gossypol from dietary cottonseed meal on haematology, reproductive steroids and tissue gossypol enantiomer concentrations in male rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture Nutrition*, 9, 275-282. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2095.2003.00253.x>
- 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. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2003.12.006>
- Schneider, C.A., Rasband, W.S., & Eliceiri, K.W. (2012). NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nature Methods*, 9, 671-675. <https://doi.org/10.1038/nmeth.2089>
- Sévenier, R., Hal, R.D., Meer, I.M.V.D., Hakkert, H.J., Tunen, A.J.V., & Koops, A.J. (1998). High level fructan accumulation in a transgenic sugar beet. *Nature Biotechnology*, 16(9), 843-846. <https://doi.org/10.1038/nbt0998-843>
- Tan, X., Sun, Z., Liu, Q., Ye, H., Zou, C., Ye, C., Wang, A., & Lin, H. (2018). Effects of dietary *Ginkgo biloba* leaf extract on growth performance, plasma biochemical parameters, fish composition, immune responses, liver histology, and immune and apoptosis-related genes expression of hybrid grouper (*Epinephelus lanceolatus*♂ × *Epinephelus fuscoguttatus*♀) fed high lipid diets. *Fish and Shellfish Immunology*, 72, 399-409. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2017.10.022>
- Tewary, A., & Patra, B.C. (2011). Oral administration of baker's yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) acts as a growth promoter and immunomodulator in *Labeo rohita* (Ham.). *Journal of Aquaculture Research and Development*, 2(1), 1-7. <https://doi.org/10.4172/2155-9546.1000109>
- Tizkar, B., Kazemi, R., Alipour, A., Seidavi, A., Naseralavi, G., & Ponce-Palafox, J.T. (2015). Effects of dietary supplementation with astaxanthin and b-carotene on the semen quality of goldfish (*Carassius auratus*). *Theriogenology*, 84, 1111-1117. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2015.06.011>

- Valentin, H.E., & Qi, Q. (2005). Biotechnological production and application of vitamin E: current state and prospects. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 68, 436-444. <https://doi.org/10.1007/s00253-005-0017-7>
- Wells, R.M.G., Baldwins, J., Seymour, R.S., Christian, K., & Brittain, T. (2005). Red blood cell function and haematology in two tropical freshwater fishes from Australia. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 141, 87-93. <https://doi.org/10.1016/j.cbpb.2005.04.005>
- Wiegertjes, G.F., Stet, R.J., Parmentier, H.K., & Muiswinkel, W.B.V. (1996). Immunogenetics of disease resistance in fish: a comparative approach. *Developmental & Comparative Immunology*, 20(6), 365-381. [https://doi.org/10.1016/S0145-305X\(96\)00032-8](https://doi.org/10.1016/S0145-305X(96)00032-8)
- Wilson-Leedy, J.G., & Ingermann, R.L. (2007). Development of a novel CASA system based on open source software for characterization of zebrafish sperm motility parameters. *Theriogenology*, 67, 661-672. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2006.10.003>
- Woody, C.A., Nelson, J., & Ramstad, K. (2002). Clove oil as an anaesthetic for adult Sockeye Salmon: field trials. *Journal of Fish Biology*, 60, 340-347. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2002.tb00284.x>
- Zadmajid, V., Imanpoor, M.R., Shabani, A., & Baharlouei A. (2013). Evaluation of sperm characteristics and plasma testosterone in the goldfish (*Carassius auratus*) during four consecutive seasons. *Comparative Clinical Pathology*, 22, 703-711. <https://doi.org/10.1007/s00580-012-1470-1>

Distribution of Ciliates in Relation to Environmental Parameters in Two Gulfs of Kapıdağ Peninsula (The Sea of Marmara)**Neslihan BALKIS-OZDELICE^{1*} , Benin TOKLU-ALICLI¹ , Turgay DURMUS² **¹Istanbul University, Faculty of Science, Department of Biology, Istanbul, Turkey.²Istanbul University, Institute of Science, Istanbul, Turkey.

*Corresponding Author: neslbalk@istanbul.edu.tr

Research Article

Received 22 April 2019; Accepted 19 June 2019; Release date 15 December 2019.

How to Cite: Balkı Özdelice, N., Toklu Aliçli, B., & Durmuş, T. (2019). Distribution of Ciliates in Relation to Environmental Parameters in two Gulfs of Kapıdağ Peninsula (The Sea of Marmara). *Acta Aquatica Turcica*, 15(4), 469-480. <https://doi.org/10.22392/actaquatr.556846>**Abstract**

This study was carried out seasonally in order to determine the environmental variables affecting the ciliate species and their distribution in Gulfs of Erdek and Bandırma by using three stations in each gulf between 2006 and 2008. A total of 14 ciliates taxa were identified, three of them were the genus level. *Epiplocyloides* sp., *Propectella ovata*, *Laboea strobila* and *Tiarina fusus* species identified are the new records for the Sea of Marmara. The maximum number of species belonged to the Choreotrichida ordo with 11 taxa. The Choreotrichida ordo showed the highest diversity in summer season. The ecological data used in this study were obtained from the previous study concurrently conducted in the same region. According to the Spearman's rank-correlation, it was determined that the salinity, dissolved oxygen (DO), chlorophyll-a (Chl-a) and NO₃+NO₂-N levels affected the distribution of the ciliates and the salinity was increased and species abundance was decreased based on the rise in depth. The highest similarity between the stations was observed in stations 2 and 3 in the Gulf of Bandırma at a depth of 0.5 m (96.5%) and all the depths of the stations were found to be 23.6% similar.

Keywords: Ciliates, tintinnids, Kapıdağ Peninsula, ecological variables, Sea of Marmara**Kapıdağ Yarımadası'nın (Marmara Denizi) İki Körfezinde Siliyatların Çevresel Parametrelere Göre Dağılımı****Özet**

Bu çalışma, Erdek ve Bandırma Körfezi'nde siliyat türlerini ve bu türlerin dağılımını etkileyen çevresel değişkenleri belirlemek amacıyla, 2006 ve 2008 yılları arasında her iki körfezde üç istasyonda mevsimsel olarak gerçekleştirilmiştir. Çalışma sonucunda üç tanesi cins düzeyinde olmak üzere toplam 14 taksa belirlenmiştir. Bulunan türlerden *Epiplocyloides* sp., *Propectella ovata*, *Laboea strobila* ve *Tiarina fusus* Marmara Denizi için yeni kayıttır. En fazla tür sayısı 11 tür ile Choretichida ordosuna aittir. Choretichida ordosunun yaz mevsiminde en fazla çeşitliliği sahip olduğu belirlenmiştir. Bu çalışmada kullanılan ekolojik veriler, aynı bölgede eş zamanlı yapılmış önceki çalışmadan alınmıştır. Spearman'ın sıra korelasyonuna göre ekolojik değişkenlerden tuzluluk, çözünmüş oksijen (CO), klorofil-a (Kl-a) ve NO₃ + NO₂-N'in siliyatların dağılımını etkilediği, derinlik artmasına bağlı olarak tuzluluğun arttığı ve tür bolluğuun azaldığı belirlenmiştir. İstasyonlar arasında en yüksek benzerlik, Bandırma Körfezi'nde 2 ve 3 nolu istasyonlarda 0,5 m derinlikte (% 96,5) gözlenmiş ve istasyonlara ait tüm derinliklerin ise % 23,6 benzer olduğu ortaya konmuştur.

Anahtar kelimeler: Siliyat, tintinnid, Kapıdağ Yarımadası, ekolojik değişkenler, Marmara Denizi**INTRODUCTION**

In terms of the food web in pelagic systems, microzooplankton have an important role in the transfer of matter and energy since they feed on pico- and nanoplankton predominantly found in the marine environment. They are also food to higher organisms (Godhantaraman and Uye, 2001; Pitta et al., 2001; Gómez, 2007; Wang et al., 2014). The members of the phylum Ciliophora are eukaryotic and unicellular protists. Also, phylum Ciliophora is composed of a group of living organisms which have lengths ranging from 10 to 4500 µm, are free-floating or sessile, have pellicular alveoli and whose bodies are totally or partially covered by cilia in at least period of their lives (Lynn, 2008). Ciliates, which show a cosmopolitan distribution in the seas and oceans, are common in the seas but also live in freshwaters.

Although studies have been carried out on the ecology of marine ciliates in the coastal waters of Turkey, these studies are generally related to tintinnids (Koray and Öznel, 1983; Koray et al., 1992; Koray et al., 1999; Türkoğlu and Koray, 2000; Polat et al., 2001; Çolak-Sabancı and Koray, 2001; Balkis, 2004; Durmus and Balkis, 2014). The number of studies in which groups other than tintinnids have been investigated is limited because of the small size, rapid movement capabilities, the fragility of external membranes of ciliates and the difficulty of laboratory culture (Koray et al., 1992; Koray et al., 1994; Zervoudaki et al., 2011; Esenoy, 2014). Previous studies showed that Gulf of Izmir (Aegean Sea) and the Sea of Marmara have been extensively studied (Acara and Nalbantoğlu, 1960; Ergen 1967; Koray and Öznel, 1983; Koray et al., 1992; Koray et al., 1999; Türkoğlu and Koray, 2000; Polat et al., 2001; Çolak-Sabancı and Koray, 2001; Balkis, 2004; Balkis and Wasik, 2005; Balkis and Toklu-Alıcılı, 2009; Toklu-Alıcılı et al., 2010; Balkis and Koray, 2014; Durmus and Balkis, 2014; Yurga, 2018). In the Sea of Marmara several studies including two checklists are available (Sorokin et al., 1995; Balkis, 2004; Göktürk, 2005; Toklu-Alıcılı et al., 2010; Durmus et al., 2011; Balkis and Koray, 2014; Durmus and Balkis, 2014; Durmus et al., 2016a, 2016b).

The Sea of Marmara is a small basin situated between Asia and European continents with a surface area of 11500 km² and a maximum depth of 1390 m (Beşiktepe et al., 1994). While the Black Sea waters with brackish water characteristics (17.6 -‰) flow towards the Sea of Marmara with an upper stream, Mediterranean waters with a salinity of about 38.5 -‰ are also transported to the Sea of Marmara by a lower stream. There is a halocline layer between these two water layers which do not join together due to the difference in density (Ullyott and Pektaş, 1952; Yüce and Türker, 1991; Ünlü et al., 2008). The oxygen entry from the oxygen-rich surface layer to the bottom layer is prevented by the density stratification in halocline and the dissolved oxygen content of the bottom layer water decreases because biogenic-origin particles at the bottom increase the oxygen consumption (Yüce and Türker, 1991; Beşiktepe et al., 2000). The Sea of Marmara, which has two different water layers, differs in terms of biodiversity for this reason..

The oceanographic properties of the Gulfs of Erdek and Bandırma situated on both sides of the Kapıdağ Peninsula are similar to the oceanographic properties of the Sea of Marmara and the water column has a two-layer structure. Gulf of Erdek is a relatively peaceful area both in terms of population density and industrial activities compared to the Gulf of Bandırma. The source of high mercury, chromium, copper and lead contents in the Gulf of Erdek is the transport from the mines that lie behind the region through rivers. Gulf of Bandırma is a gulf where industrial pollution is higher and domestic settlement is denser (Balkı and Çağatay, 2001). It has been revealed by the past studies that the surface waters of the region, which is located in the northeast Kapıdağ Peninsula and Gulf of Bandırma contain more phosphate than the other parts of the Sea of Marmara (Balkı et al., 2012). The presence of a fertilizer factory in this gulf in addition to domestic wastes triggers this increase (Koç, 2002; Balci et al., 2014).

As can be seen from the studies mentioned above, there is no comprehensive and published study, which identified the ecological variables affecting ciliates and their distribution in Kapıdağ Peninsula. The aim of this study is to represent the ciliate species seasonally in the Gulfs of Erdek and Bandırma located on both sides of the peninsula with the ecological variables and to reveal their abundance.

MATERIALS and METHODS

This study was carried out to determine the environmental variables affecting the species and the distribution of microzooplankton living in the neritic waters of the Gulfs of Erdek and Bandırma located on both sides of the Kapıdağ Peninsula, which is located to the south of the Sea of Marmara. The samples were collected from the three stations illustrated in Figure 1 on both gulfs during November 2006-August 2008 period with a fishing boat seasonally (November, February, May and August) for two years.

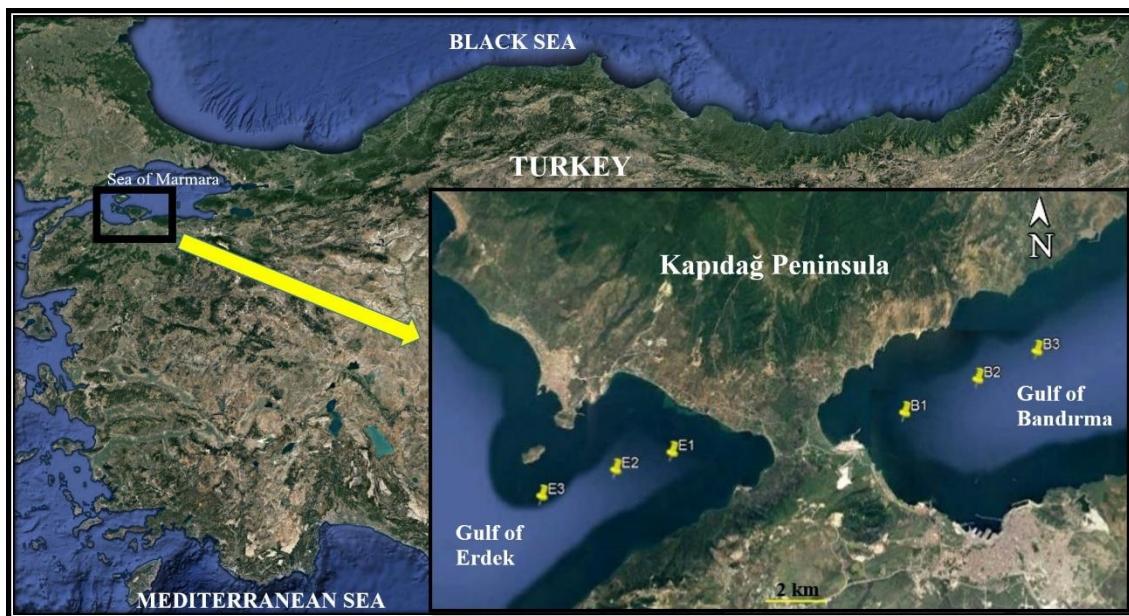


Figure 1. Stations in the Gulfs (courtesy of Google Earth).

Microzooplankton samples were obtained from horizontally (0.5 m) and vertically (30 m) with a plankton net at 40 µm length of mesh, and fixed with borax buffered formaldehyde in a way to achieve a final concentration of 2-4%. Kofoid and Campbell (1929), Tregouboff and Rose (1957), Balech (1959), Marshall (1969) and Abbooud-Abi Saab (2008) studies were used for the determination of microzooplankton species. In order to determine the quantitative distributions of microzooplankton species, samples were taken at the stations from the surface (0.5 m) and from the depths of 15 and 30 m via water samplers and fixed with Lugol. The abundance of ciliates in the precipitated samples was determined using the Sedgewick Rafter counting chamber with a capacity of 1 ml. Kocataş (1996) was taken into consideration in determining the frequency of the species identified. In addition, the ecological data used in this study were taken from the concurrently run study (Balkis et al., 2012).

Spearman's Rank-Correlation was used to determine the relationships between biotic and abiotic variables (Siegel, 1956), and Shannon-Wiener Diversity Index was used to calculate the diversity of species (Shannon and Weaver, 1964) and Bray-Curtis Similarity Index was used to determine the similarity based on the species number and abundance of the stations (Clarke and Warwick, 2001).

RESULTS

The ecological data of the Gulfs of Erdek and Bandırma were gotten from Balkis et al. (2012). The seawater temperature in the Gulf of Erdek was between 6.5 - 25.5 °C, salinity was 22.4 - 38.6 ‰, DO was between 3.78 - 14.96 mg L⁻¹, Chl-a values were between 0.10 - 2.83 µg L⁻¹, secchi depth was between 6.0 - 15.0 m, NO₃+NO₂-N values were between 0.07 - 5.41 µg-at N L⁻¹, PO₄-P values were between 0.09 - 2.11 µg-at P L⁻¹ and SiO₄-Si values were between 0.29 - 21.62 µg-at Si L⁻¹. In the Gulf of Bandırma, it was determined that the sea water temperature was between 6.5 - 26.0 °C, the salinity is between 21.4 - 38.5 ‰, the DO was between 3.50 - 15.62 mg L⁻¹, the Chl-a values were between 0.21 - 14.79 µg L⁻¹, the secchi depth was between 4.0 - 16.3 m, NO₃+NO₂-N values were between 0.08 - 6.25 µg-at N L⁻¹, PO₄-P values were between 0.18 - 8.60 µg-at P L⁻¹ and SiO₄-Si values were between 0.05 - 20.37 µg-at Si L⁻¹.

As seen in Table 1, a total of 14 ciliate taxa, three of which were at the genus level, were found in the study. Found species *Epiplocyloides* sp., *Proplectella ovata* Jörgensen, 1924, *Laboea strobila* Lohmann, 1908 and *Tiarina fusus* Bergh, 1881 are the new record taxa for the Sea of Marmara. The highest number of species belonged to the Choreotrichida ordo (Tintinnid) with 11 taxa (79%), Oligotrichida ordo was represented by two taxa (14%), while the Prorodontida ordo was represented by one species only (7%). It was determined that intendeds were represented with the highest number of species in the summer period (9 species) and the species belonging to the Oligotrichida ordo were observed in every period except summer 2008, while only one species of Prorodontida was observed in

all seasons except winter 2007 and spring 2008. Two of the species (*Favella ehrenbergii* and *Helicostomella subulata*) obtained in the study were observed only in the Gulf of Erdek, five species were observed only in the Gulf of Bandırma (*Amphorellopsis tetragona*, *Eutintinnus latus-undae*, *Metacylis jörgensenii*, *Salpingella decurtata* and *Xystonella treforti*) and seven species were recorded in both gulfs.

Table 1. Seasonal distribution and frequency (f) of Ciliophora species in the Gulf of Erdek and Bandırma.

Kingdom: Chromista	Aut' 06	Win' 07	Spr' 07	Sum' 07	Aut' 07	Win' 08	Spr' 08	Sum' 08	f f							
Phylum: Ciliophora	E	B	E	B	E	B	E	B	E	B	E	B	E	B		
Order: Choretrichida																
<i>Amphorellopsis tetragona</i> (Jörgensen) Kofoid & Campbell, 1929								+						X X		
<i>Codonellopsis schabi</i> (Brandt) Kofoid & Campbell, 1929							+	+						X X		
* <i>Epiploctyloides</i> sp.							+	+						X X		
<i>Eutintinnus latus-undae</i> (Entz, 1885)									+				+	- R		
<i>Favella ehrenbergii</i> (Claparede and Lachmann) Jörgensen, 1924												+	X -			
<i>Helicostomella subulata</i> (Ehrenberg) Jörgensen, 1924									+					X -		
<i>Metacylis jörgensenii</i> (Cleve) Kofoid & Campbell, 1929					+		+							- R		
* <i>Prolectella ovata</i> Jörgensen, 1924						+	+							X X		
<i>Salpingella decurtata</i> Jörgensen, 1924		+												- X		
<i>Tintinnopsis</i> sp.											+		+	X X		
<i>Xystonella treforti</i> (Daday, 1887)												+	-	X		
Order: Oligotrichida																
* <i>Laboea strobila</i> Lohmann, 1908	+	+	+	+	+	+			+			+		R A		
<i>Strombidium</i> sp.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		A V		
Order: Prorodontida																
* <i>Tiarina fusus</i> Bergh, 1881	+	+			+	+	+		+	+	+		+	C A		
Total number of species in the gulfs	3	4	2	2	3	4	5	6	2	4	2	2	1	2	1	4
Total number of species in seasons	4		2		4		7		5		2		3		5	

*: New record species in the Sea of Marmara. V: Very abundant, 81-100%; A: Abundant 61-80%; C: Common, 41-60%; R: Rare, 21-40%; X: Present sporadically, 1-20%.

When both gulfs are evaluated in terms of species diversity, it was determined that the overall number of species is higher in the Gulf of Bandırma. While only one species was found in the Gulf of Erdek during the spring of 2008 and summer of 2008 periods (E-2 station), no species was found in the Gulf of Bandırma at B-2 station in the same period and two species were found in each of the B-1 and B-3 stations. It was determined that the minimum number of species was found in winter and spring of 2008 period in both gulfs. It was observed that the number of species in the first year of seasonal sampling was higher than the second year.

Considering the frequencies of ciliate species found in the Gulf of Erdek, it was found that *Strombidium* sp. was abundant (75%), *Tiarina fusus* was common (50%) and *Laboea strobila* was rare (38%) and the other species seen in the gulf were identified as present sporadically (13%). For the Gulf of Bandırma, it was found that *Strombidium* sp. was very abundant (88%), *L. strobila* and *T. fusus* were abundant (63%), *Eutintinnus lusus-undae* and *Metacylis jörgensenii* were rare (25%) and other species seen in the gulf were identified as present sporadically (13%).

When the gulfs are evaluated in terms of species abundance, it was determined that the Gulf of Erdek is more dominant than the Gulf of Bandırma and the maximum abundance in the Gulf of Erdek was obtained at the depth of 0.5 m at E-1 station in autumn of 2007 (9960 ind. L⁻¹). *Strombidium* sp. played an important role in this increase. A similar increase was observed in the same type of E-2 station (6120 ind. L⁻¹). The highest abundance in the Gulf of Bandırma was observed at a depth of 0.5 m (2660 ind. L⁻¹) at the station B-1 in autumn 2006 and the *Strombidium* sp. was the most dominant species (2100 ind. L⁻¹).

The results of Shannon-Wiener Diversity Index are presented in Figure 2 separately for both gulfs. In terms of Gulf of Erdek stations, the diversity varies between 0.00 and 1.56 at E-1 station and the diversity value can be calculated only in autumn of 2006 and summer of 2007 periods. It is also seen that the diversity changed between 0.00 and 1.00 at E-2 station and the diversity was observed in the first three sampling seasons of 2007. Additionally, it was observed that the diversity varied between 0.00 and 1.75 at E-3 station and the highest diversity was achieved at this station (summer of 2007, E-3, 30 m).

According to the results of the Shannon-Wiener Diversity Index in Gulf of Bandırma, the index in B-1 station varies between 0.00 and 1.50, diversity was observed at some depths in autumn of 2006, summer of 2007, spring and summer of 2008, the index at B-2 station varies between 0.00 - 1.36 and diversity was observed in spring, summer and autumn of 2007 periods, and the index at B-3 station varied between 0.00 and 0.81 and diversity was observed in autumn of 2006, spring and autumn of 2007 periods.

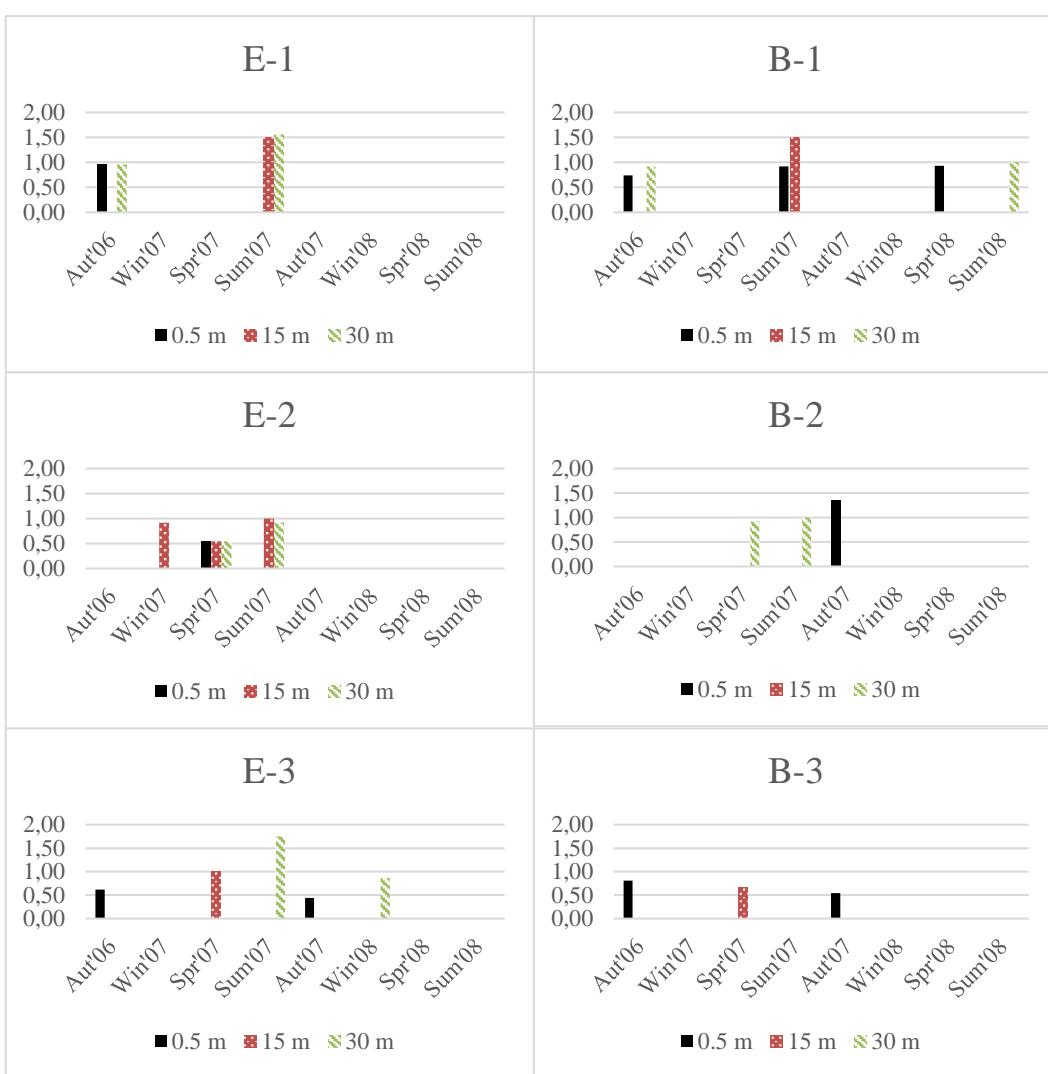
As shown in Table 2, according to Spearman's rank-correlation matrix, some relationships between ciliates and ecological variables were determined. In the matrix, it was found that ciliates had positive correlations between DO and Chl-a, and also negative with NO₃+NO₂-N ($p < 0.05$). Additionally, a negative correlation was observed between ciliate abundance and salinity ($p < 0.05$).

According to the Bray-Curtis Similarity dendrogram illustrated in Figure 3, the highest similarity was determined between surface waters of B-2 and surface waters of B-3 (96.5%), and all depths belonging to the stations were found to be 23.6% similar. It was revealed that four groups and two different depths were formed by a line drawn at 59% similarity level. 30 m depths of the B-2 and B-3 stations were separated from the other groups. While the 15 m depths of the stations located in Gulf of Erdek and 30 m depth of the E-1 station constituted the first group, the surface waters of the stations in the same gulf constituted the second group. While the 15 m of B-2 and B-3 stations and 30 m of the B-1 station constituted the third group with the surface waters located in Bandırma, 30 m of the E-2, E-3 stations, and 15 m of the B-1 station formed the fourth and the last group.

Table 2. Spearman's rank-correlation matrix to correlate ciliate assemblages and environmental variables in the study areas.

	Temp	Sal	DO	Chl-a	SD	NO₃+NO₂-N	PO₄-P	SiO₄-Si	S
Sal	-.314**								
DO	-.138	-.326**							
Chl-a	-.241	-.421**	.166						
SD	.016	.241	.393**	-.361**					
NO₃+NO₂-N	-.054	.626**	-.476**	-.428**	-.055				
PO₄-P	.042	.132	-.111	.160	-.025	.357**			
SiO₄-Si	-.181	.736**	-.262	-.443**	.219	.623**	.228		
S	-.014	-.124	.281*	.146*	.116	-.235*	-.069	.008	
N	-.060	-.199*	.286*	.192*	.091	-.296*	-.057	-.071	.919**

* p < 0.05, ** p < 0.01 (Temp: Temperature, Sal: Salinity, DO: Dissolved oxygen, Chl-a: Chlorophyll-a, SD: Secchi Disk, S: Number of species, N: Number of individuals).

**Figure 2.** Shannon-Wiener Diversity Index for each stations.

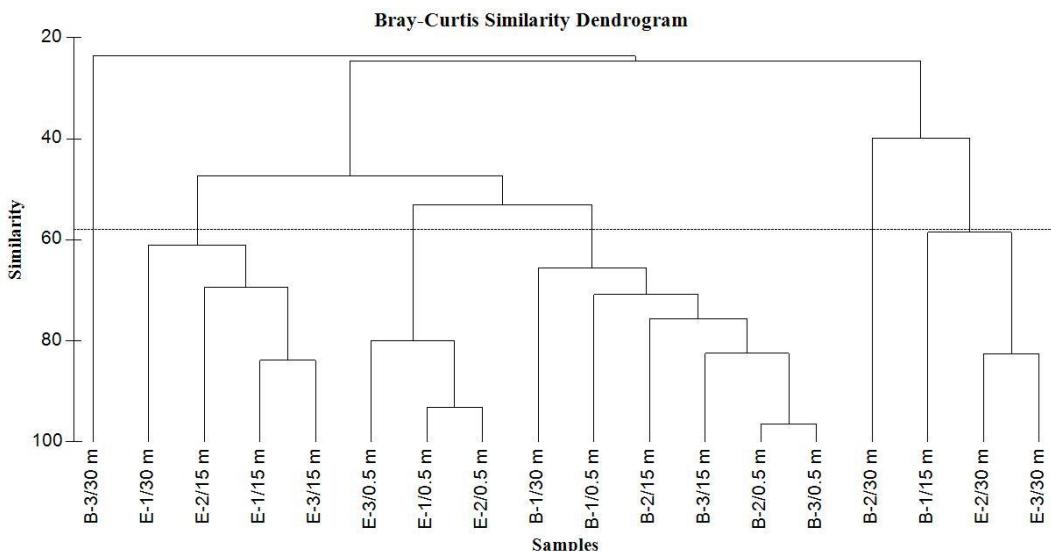


Figure 3. Bray-Curtis similarity dendrogram according to stations and depths.

DISCUSSION

From the identified species, *Epiplocyloides* sp. as genus, *Proplectella ovata*, *Laboea strobila* and *Tiarina fusus* are new records of taxa for the Sea of Marmara. 11 species (79%) belonging to the Choretotrichida ordo (Tintinnid), two species belonging to the Oligotrichida ordo (14%) and one species belonging to the Prorodontida ordo (7%) were obtained. In the tintinnid checklist study by Balkis and Koray (2014) covering the Turkish seas, they reported 109 tintinnid taxa for all Turkish coastal waters while including 15 species for the Sea of Marmara. In their study, Durmus and Balkis (2014) reported 18 new species for the Sea of Marmara, four of which (*Eutintinnus medius*, *Metacylis mediterranea*, *Tintinnopsis urnula* and *T. acuminata*) are new record tintinnid species for Turkish coastal waters, and with the addition of these species in the list, the total number of species rose to 113 for Turkey and to 33 for the Sea of Marmara (Durmus et al., 2016a). The total number of tintinnid species for the Sea of Marmara was revealed to be 35 with the addition of 2 new recorded tintinnid species obtained in this study carried out in the Kapıdağ Peninsula. Eleven Tintinnid species in the study, accounted for ~ 10% of all taxa reported for the coastal waters of Turkey, and ~ 31% of the taxa reported for the Sea of Marmara.

When studies which have obtained 35 tintinnid species so far in the Sea of Marmara including the present study are examined, it is seen that the study carried out in the north of the Sea of Marmara by Balkis (2004) reported 14 species, Göktürk (2005) reported 7 species in the ballast water of some ships in Istanbul ports, Toklu-Aliçli et al. (2010) and Durmus et al. (2011) reported one species each. Also, the study carried out by Durmus and Balkis (2014) in the southeastern part of the Sea of Marmara reported 28 species, and Durmus et al. (2016b) reported 7 species in the study they conducted in Kapıdağ Peninsula. In a different study with a sampling date covering 2011-2012 carried out in Kapıdağ Peninsula (Durmus et al., 2016b) fewer stations were investigated and *A. tetragona*, *E. lusus-undae*, *F. ehrenbergii*, *H. subulata* and *S. decurtata* species were identified as common species with their study. However, different than the findings of Durmus et al. (2016b), *C. schabi*, *Epiplocyloides* sp., *M. jörgensenii*, *P. ovata* and *X. treforti* species were only observed in this study. Thus, the total number of tintinnid species known from Kapıdağ Peninsula was determined as 12.

Epiplocyloides reticulata belonging to the genus *Epiplocyloides*, which was reported as a new record for the Sea of Marmara in this study, was reported by Polat et al. (2001) from the Eastern Mediterranean. *Proplectella ovata*, which is the first known record from Turkey territorial waters, was reported from the Aegean Sea by Koray and Kesici (1994) and also Polat et al. (2001, 2002) reported it from the eastern Mediterranean. *Laboea strobila* and *Tiarina fusus* were reported by Esenoy (2014) from Eastern Black Sea. Among these species, *L. strobila* was recorded from Aegean Sea and Mediterranean Sea outside Turkish territorial waters (Pitta and Giannakourou, 2000; Agatha et al. 2004). *Tiarina fusus* was also reported from the Eastern Mediterranean (Hannachi et al., 2008).

In this study, it was observed that tintinnids, which are represented by nine species, usually emerge during the summer periods. From the studies carried out in the Sea of Marmara, Balkis (2004) and Durmus and Balkis (2014) reported similar results while Durmus et al. (2016b) stated that the highest number of tintinnid species was seen in autumn. In this study, when both gulfs are evaluated together, the increase in *Strombidium* sp., belonging to ciliates, is of particular importance. Similarly, *L. strobila* species was found in autumn of 2006 and 2007, but the highest abundance was achieved in the spring period (840 ind. L⁻¹, 15 m depth of E-2 station in spring of 2007). In the study carried out in three seasons by Esenoy (2014) in the Eastern Black Sea, *L. strobila* was encountered in all seasons and similar to this study, it was reported that it was the most abundant spring period. Sorokin et al. (1995) and Zervoudaki et al. (2011) mentioned the existence of species belonging to the genus *Strombidium* in the Sea of Marmara. In this study, *Strombidium* sp. was reported from both gulfs. This species was encountered most abundantly in the Gulf of Erdek at surface waters of E-1 station (9960 ind. L⁻¹). In the study conducted by Esenoy (2014), it was stated that during the February period *Strombidium acutum* (196000 ind. L⁻¹) was abundant in surface waters. *Tiarina fusus* was found in both gulfs on the Kapıdağ Peninsula in all seasons except for winter of 2007 and spring of 2008 and it was determined that the highest abundance was achieved in the Gulf of Erdek in winter of 2008 and in the Gulf of Bandırma in autumn 2006. In a study they carried out in the Black Sea, Feyzioglu and Güneroglu (2011) reported that *T. fusus* was the most abundant species of ciliates. Esenoy (2014) encountered *T. fusus* in the study conducted in the Black Sea during the whole study and reported that the number of individuals reached a peak during the spring period. Bodeanu et al. (1998) reported that large organisms (> 50 µm) could be harmful when they reach 10⁵ individuals per liter; however, Dale and Dahl (1987) reported that *T. fusus* species could cause red tide by excessive proliferation (3.4×10^4 ind. L⁻¹). In this study, the maximum number of individuals belonging to the *T. fusus* species was determined as 560 ind. L⁻¹ (Gulf of Bandırma, surface waters of B-1 st.).

During the study, the highest number of tintinnid individuals were found at a depth of 15 m and the lowest number of individuals was obtained in the surface waters (0.5 m). This is attributed to the fact that the amount of Chl-a is usually high at the depths of 15 m and 30 m in the periods when intendeds are present, and therefore the food requirement can be met at these depths. According to the Spearman's rank-correlation matrix, the positive relationship between ciliate species and the number of individuals and Chl-a ($p < 0.05$) supports this situation. *C. schabi* is the species which reached the highest number of individuals among tintinnid taxa in the Gulf of Erdek in summer of 2007 (480 ind. L⁻¹, 15 m depth of E-1 st.). The tintinnid species, which reached the highest number of individuals in the Gulf of Bandırma, was *A. tetragona* in summer of 2007 (360 ind. L⁻¹, surface waters of B-1 st.). Evaluating the studies conducted in the Sea of Marmara, Balkis (2004) identified the most abundant species as *Eutintinnus fraknoi* (0.4×10^3 ind. L⁻¹). Durmus and Balkis (2014) found in their study that the species of *Tintinnopsis corniger* (=*Rhizodomus tagatzi*) was abundant in October (9×10^3 ind. L⁻¹) and Durmus et al. (2016b) reported in their study that the highest number of individuals (1.9×10^3 ind. L⁻¹) was from the genus *Tintinnopsis* in October.

Favella sp. and *H. subulata*, which are the species observed in the study, were recorded only in The Gulf of Erdek, *A. tetragona*, *E. lusus-undae*, *M. jörgensenii*, *S. decurtata* and *X. treforti* species were recorded only in the Gulf of Bandırma and seven species were recorded from both gulfs. It is reported that *E. lusus-undae* and *S. decurtata* species found in the Gulf of Bandırma are invasive species for Black Sea (Selifanova and Makarevich, 2018). It is known that the waters of the Black Sea with low salinity are effective in the upper layer of the Sea of Marmara (Yüce and Türker, 1991).

1. When the frequency of the species identified in the study was evaluated, it was found for the Gulf of Erdek that *Strombidium* sp. was abundant (75%), *T. fusus* was common (50%) and *L. strobila* was rare (38%) and other species in this gulf were determined sporadically (13%). In the Gulf of Bandırma, *Strombidium* sp. was very abundant (88%), *L. strobila* and *T. fusus* were abundant (63%), *E. lusus-undae* and *M. jörgensenii* were found rare (25%), while other species in this gulf were determined as sporadically (13%). In the study conducted by Balkis (2004) in the northern Sea of Marmara, it was reported that *E. lusus-undae*, *Favella ehrenbergii* - were common, *M. jörgensenii* - was rare, *C. schabi* and *H. subulata* - were present sporadically. In the study conducted by Durmus and Balkis (2014) in the southeast of the Sea of Marmara, they found *F. ehrenbergii* - was very abundant, *H. subulata* - was abundant, *A. tetragona*, *E. lusus-undae* and *S. decurtata* - were common, *M. jörgensenii* - was rare, *C. schabi* and *X. treforti* - were sporadically. In a study carried out in Kapıdağ Peninsula, which was

sampled later than the present study with fewer number of stations and was seasonally run in one year, seven species (*A. tetragona*, *E. lusus-undae*, *H. subulata*, *F. ehrenbergii*, *Rhizodomus tagatzi* (=*Tintinnopsis corniger*), *S. decurtata* and *Tintinnopsis radix*) were identified and it was stated that five of these species were rare, one species was common and one species was abundant. However, there was no information regarding which species these are (Durmus et al., 2016b).

2. The Shannon-Wiener Diversity Index was evaluated separately for both gulfs. In the Gulf of Erdek, nine species were observed during the study and six of these species were tintinnids. Tintinnid individuals in this gulf were never detected in autumn of 2006, winter and spring of 2007 and winter of 2008, while they were detected only at one of the depths of a station in autumn of 2007, spring and summer of 2008. Also *Strombidium* sp. - and *T. fusus* -, which are among the other species found in this gulf, are observed throughout the sampling periods and since no other species are observed and they do not have individual, Shannon-Wiener Diversity Index was generally found to be low ($H' = 0.00 - 1.75$). In the Gulf of Bandırma, 12 taxa were determined during the study. 11 of these taxa are intendeds, which are members of the Choreotrichida ordo. Tintinnids were not observed during both winter and spring of 2008 throughout the study, while they were found at only one depth of a station in autumn of 2006, spring and autumn of 2007. Similar to the other gulfs, *Strombidium* sp., *L. strobila* and *T. fusus* were seen commonly, and were found to range between $H' = 0.00$ and $H' = 1.50$ in terms of Shannon-Wiener Diversity Index.

3. The majority of the taxa determined in our study in Kapıdağ Peninsula belong to Choreotrichida ordo. There are many studies carried out in different geographic regions on tintinnids, which are members of these order and it was reported that the species and individual number of tintinnids show variation (Kamiyama and Tsujino, 1996; Dolan et al., 1999; Dolan and Gallegos, 2001; Polat et al., 2001, 2002; Balkis, 2004; Durmus and Balkis 2014). Considering these studies, it is understood that these organisms are sensitive to environmental variables. According to Spearman's rank-correlation matrix administered to determine the effects of environmental variables on ciliate species and individual numbers, the number of species and individuals showed a strongly positive ($p < 0.01$) relationship among each other, while these parameters showed a positive with relationship with DO and Chl-a ($p < 0.05$) and a negative relationship with $\text{NO}_3 + \text{NO}_2 - \text{N}$. In addition, a negative correlation between the number of individuals and salinity was determined ($p < 0.05$). Other studies have reported that tintinnid species and number of individuals have a negative correlation with salinity (Capriulo and Carpenter, 1983; Kamiyama and Tsujino, 1996; Hoffmeyer and Cao, 2007; Lee and Kim, 2010). Durmus and Balkis (2014) found similar results in their study carried out in the southeast of the Sea of Marmara, and also stated that DO is positively correlated with the number of species and individuals. As the depth increases in the Sea of Marmara, salinity and nutrient amounts increase and DO decreases. The fact that the abundance of species decreases with the increase of depth is supported by that abundance of species obtained in this study has a positive correlation with DO, whereas a negative correlation with salinity and $\text{NO}_3 + \text{NO}_2 - \text{N}$ amounts.

4. When the Bray-Curtis Similarity dendrogram is evaluated, it is seen that the 30 m depths of the other stations except for the 30 m depth of the E-1 station are separated from the surface and the waters close to the surface (15 m). The reason of this situation is the need for these organisms to be in the waters near the surface to meet the food, light and DO needs. In addition, a halocline layer is formed at a depth of 20 m between the waters of the Black Sea origin and the water body of the Mediterranean origin in the Sea of Marmara (Uysal and Ünsal, 1996), and this layer is thought to restrict the transition of the species into the deeper layers. In general, it was determined that the stations located in the Gulf of Erdek are separated from the depths of the stations located in the Gulf of Bandırma at 53% level.

5. The distribution of some ciliates (tintinnid) in the seas and oceans was investigated by Pierce and Turner (1993) and Dolan and Pierce (2014). Accordingly, from among the tintinnids found in this study, it was determined that *Amphorellopsis*, *Codonellopsis*, *Eutintinnus*, *Prolectella* and *Salpingella* were cosmopolitan, *Epiploctoides* and *Xystonella* were warm water, *Helicostomella*, *Metacylis*, *Favella* and *Tintinnopsis* were neritic genera. *Laboea*, *Strombidium* and *Tiarina* genera, which belong to other order, were reported as cosmopolitan (Hada, 1961; Agatha, 2011).

It was determined that the salinity, DO, Chl-a and $\text{NO}_3 + \text{NO}_2 - \text{N}$ from ecological variables affected the distribution of ciliates. In order to determine the distribution of ciliates and the factors affecting this distribution in the Sea of Marmara, which covers the study area, carrying out sampling at more frequent

intervals in more sampling stations will contribute to the determination of the ciliate species diversity of the region.

Acknowledgement: The authors are grateful to Prof. Dr. Hüsamettin Balkış from Istanbul University, Faculty of Science for their valuable assistance. This work was supported by the Research Fund of Istanbul University, project numbers 3834 and 541.

REFERENCES

- Abboud-Abi Saab, M. (2008). *Tintinnids of the Lebanese coastal waters (Eastern Mediterranean)*. 1st ed. CNRS-Lebanon: UNEP/MAP/RAC/SPA.
- Acara, A., & Nalbantoglu, Ü. (1960). Preliminary report on the red tide outbreak in the Gulf of Izmir. 17th C.I.E.S.M.M. 1960, Monaco, 15(3), 33-38.
- Agatha, S. (2011). Global diversity of Aloricate oligotrichaea (Protista, Ciliophora, Spirotricha) in marine and brackish sea water. *PLoS ONE*, 6(8), 1-13.
- Agatha, S., Struder-Kypke, M.C., & Beran, A. (2004). Morphologic and genetic variability in the Marine Planktonic ciliate Laboea strobila Lohmann, 1908 (Ciliophora, Oligotrichia), with notes on its ontogenesis. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 51(3), 267-281.
- Balci, M., Balkis, N., Durmus, T., & Sivri, N. (2014). Seasonal variations of nutrients and chlorophyll-a in the coastal waters of the Kapidag Peninsula (Marmara Sea). *Fresenius Environmental Bulletin*, 23, 3391-3399.
- Balech, E. (1959). Tintinnoinea del Mediterraneo. Trabajos del Instituto Espanol de Oceanografia, 28, Madrid.
- Balkis, N. (2004). Tintinnids (Protozoa: Ciliophora) of the Büyükçekmece Bay in the Sea of Marmara. *Scientia Marina*, 68, 33-44.
- Balkis, N., & Çağatay, M.N. (2001). Factors controlling metal distributions in the surface sediments of the Erdek Bay, Sea of Marmara, Turkey. *Environment International*, 27, 1-13.
- Balkis, N., & Wasik, A. (2005). Species composition of Tintinnids in the neritic water of Bozcaada Island, Aegean Sea, Turkey, *Fresenius Environmental Bulletin*, 14, 327-333.
- Balkis, N., & Toklu-Alicli, B. (2009). Tintinnid (Protozoa: Ciliophora) species in the Edremit Bay. *IUFS Journal of Biology*, 68, 47-53.
- Balkis, N., Toklu-Alicli, B., & Balci, M. (2012). Evaluation of ecological quality status with the Trophic Index (TRIX) values in the coastal waters of the Gulfs of Erdek and Bandirma in the Marmara Sea, In: Dr. Voudouris, editor. Ecological Water Quality - Water Treatment and Reuse. InTech, pp 1-22. ISBN: 978-953-51-0508-4.
- Balkis, N., & Koray, T. (2014). A check-list of Tintinnids (Protozoa: Ciliophora) in the coastal zone of Turkey. *Pakistan Journal of Zoology*, 46 (4), 1029-1038.
- Beşiktepe, Ş.T., Sur, H.İ., Özsoy, E., Latif, A., Oğuz, T., & Ünlüata, Ü. (1994). The circulation and hydrography of the Marmara Sea. *Progress in Oceanography*, 34, 285-334.
- Beşiktepe, Ş.T., Özsoy, E., Abdullatif, M.A., & Oğuz, T. (2000). Marmara Denizi'nin Hidrografisi ve Dolaşımı, Marmara Denizi 2000 Sempozyumu Bildiriler Kitabı, 11-12 November 2000, İstanbul, Turkish Marine Research Foundation (TÜDAV), 314-326 (in Turkish).
- Bodeanu, N., Moncheva, S., Ruta, G., & Popa, L. (1998). Long-term evolution of the algal blooms in Romanian and Bulgarian Black Sea waters. *Cercetări Marine - Recherches Marines Constanta*, 31, 37-55.
- Capriulo, G.M., & Carpenter, E.J. (1983). Abundance species composition and feeding impact of tintinnid microzooplankton in Central Long Island Sound. *Marine Ecology Progress Series*, 10, 277-288.
- Clarke, K.R., & Warwick, R.M. (2001). *Change in marine communities: An approach to statistical analysis and interpretation*. 2nd Edition, PRIMER-E, Ltd., Plymouth Marine Laboratory, Plymouth.
- Çolak-Sabancı, F., & Koray, T. (2001). İzmir Körfezi (Ege Denizi) Mikroplankton'unun Vertical ve Horizontal Dağılımına Kirliliğin Etkisi. *Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi*, 18, 187-202 (in Turkish).
- Dale, T., & Dahl, E. (1987). A red tide in southern Norway caused by mass occurrence of the planktonic ciliate *Tiarina fusus*. *Fauna*, 40, 98-103.
- Dolan, J.R., Vidussi, F., & Claustre, H. (1999). Planktonic ciliates in the Mediterranean Sea: Longitudinal trends. *Deep-Sea Research I*, 46, 2025-2039.
- Dolan, J.R., & Gallegos, C.L. (2001). Estuarine diversity of tintinnids (planktonic ciliates). *Journal of Plankton Research*, 23 (9), 1009-1027.
- Dolan, J.R., & Pierce, W.P. (2014). Tintinnid ciliates of the marine plankton. In: De Broyer C, Koubbi P, Griffiths HJ, Raymond B, Udekem d'Acoz C. d', et al. editors. Biogeographic Atlas of the Southeastern Ocean. Scientific Committee on Antarctic Research, Cambridge, pp. 254-259.
- Durmus, T., Balci, M., & Balkis, N. (2011). Species of Genus *Tintinnopsis* Stein, 1867 in Turkish coastal waters and new record of *Tintinnopsis corniger* Hada, 1964. *Pakistan Journal of Zoology*, 44 (2), 383-388.

- Durmus, T., & Balkis, N. (2014). Tintinnid (Protozoa: Ciliophora) species in the Gulf of Gemlik and some ecological properties of the environment. *Fresenius Environmental Bulletin*, 23 (12), 2990-2997.
- Durmus, T., Balci, M., & Balkis, N. (2016a). Microzooplankton (Tintinnids) of the Sea of Marmara: A review. In Özsoy E., Çağatay MN, Balkis N, Balkis N, Öztürk B, editors. *The Sea of Marmara Marine Biodiversity, Fisheries, Conservation and Governance*. 1st ed. İstanbul, Turkey: Turkish Marine Research Foundation (TÜDAV), pp.366-375.
- Durmus, T., Balci, M., & Balkis, N. (2016b). Kapıdağı Yarımadası'nda bulunan Tintinnid (Protozoa: Ciliophora) türleri ve bollukları ile ortamın bazı ekolojik özellikleri. In: Ak Örek Y, Tezan D, editors. *Türkiye Deniz Bilimleri Konferansı 2016; 31 Mayıs-3 Haziran 2016*; Ankara, Turkey, Orta Doğu Teknik Üniversitesi, p.317.
- Ergen, Z. (1967). İzmir Körfezinde tesbit edilen başlıca planktonik organizmalar (in Turkish). *Ege Üniversitesi Fen Fakültesi İlmi Raporlar Serisi*, 47, 1-27.
- Esensoy, F.B. (2014). Seasonal community structure of the microplankton in the Eastern Black Sea region (in Turkish). Karadeniz Technical University, Institute of Science, MSc, Trabzon, Turkey.
- Feyzioglu, A.M., & Guneroglu, A. (2011). Community structure of phytoplankton and some physical parameters of continental shelf waters of Anatolian Coast of the Black Sea. *Fresenius Environmental Bulletin*, 20 (3a), 694-703.
- Godhantaraman, N., & Uye, S. (2001). Geographical variations in abundance, biomass and trophodynamic role of microzooplankton across an inshore-offshore gradient in the Inland Sea of Japan and adjacent Pacific Ocean. *Plankton Biology and Ecology*, 48 (1), 19-27.
- Gómez, F. (2007). Trends on the distribution of ciliates in the open Pacific Ocean. *Acta Oecologica*, 32, 188-202.
- Göktürk, D. (2005). İstanbul limanlarında balast suyu örneklemeleri (in Turkish). İstanbul University, Institute of Science, MSc, İstanbul, Turkey.
- Hada, Y. (1961). The pelagic ciliate from Antarctic Waters. *Report of the Japanese Antarctic Research Expedition*, 11, 140-145.
- Hannachi, I., Drira, Z., Belhassen, M., Hamza, A., Ayadi, H. et al. (2008) Abundance and biomass of the ciliate community during a spring cruise in the Gulf of Gabes (Eastern Mediterranean Sea, Tunisia). *Acta Protozoologica*, 47, 293-305.
- Hoffmeyer, M.S., & Cao, M.S.B. (2007). Zooplankton assemblages from a tidal channel in the Bahia Blanca Estuary, Argentina. *Brazilian Journal of Oceanography*, 55 (2), 97-107.
- Kamiyama, T., & Tsujino, M. (1996). Seasonal variation in the species composition of Tintinnid ciliates in Hiroshima Bay, the Seto Inland Sea of Japan. *Journal of Plankton Research*, 18, 2313-2327.
- Kocataş, A. (1996). *Ekoloji ve Çevre Biyolojisi*. 3nd ed. İzmir, Turkey: Ege Üniversitesi Basımevi.
- Koç, T. (2002). Bandırma ilçesinde tavukçuluğun çevresel etkisi. *Ekoloji*, 11, 11-16 (in Turkish).
- Kofoid, C.A., & Campbell, A.S. (1929). A conspectus of the marine and freshwater ciliata belonging to the suborder Tintinnoinea, with descriptions of new species principally from the Agassiz expedition to the eastern Tropical Pacific 1904-1905. *University of California Publications in Zoology*, 34, 1-403.
- Koray, T., & Özel, I. (1983). İzmir Körfezi planktonundan saptanan Tintinnoinea türleri. *Ege University Journal of the Faculty of Science*, 1, 220-244.
- Koray, T., Büyükkıskık, B., Parlak, H., & Gökpınar, Ş. (1992). İzmir Körfezi'nde deniz suyu kalitesini etkileyen tek hücreli organizmalar: Red-Tide ve diğer aşırı üreme olayları. *Turkish Journal of Biology*, 16, 135-157 (in Turkish).
- Koray, T., Benli, H.A., & Sever, T.M. (1994). Gökova Körfezi (Ege Denizi)'nın fitoplankton ve protozooplankton türleri üzerine bir araştırma. *Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi*, 11 (42-43), 9-15 (in Turkish).
- Koray, T., & Kesici, U.Y. (1994). Bodrum Körfezi'nin (Ege Denizi) Fitoplankton ve Protozooplankton Tür Kompozisyonu, *Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Dergisi*, 16 (1), 971-980 (in Turkish).
- Koray, T., Gökpınar, Ş., & Yurga, L. (1999). İzmir Körfezi (Ege Denizi) Mikroplankton topluluklarının dağılımı üzerine kirliliğin etkileri. *Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi*, 16 (3-4), 421-431 (in Turkish).
- Lee, J.B., & Kim, Y.H. (2010). Distribution of tintinnids (loricate ciliates) in East Asian waters in summer. *Coastal Environmental and Ecosystem Issues of the East China Sea*, 1, 173-180.
- Lynn, D.H. (2008). The ciliated protozoa characterization, classification and guide to the literature, 3rd ed. Springer Netherland.
- Marshall, S.M. (1969). Order: Tintinnida. Conseil international pour l'explanaration de la mer. Zooplankton sheet: 117-127.
- Pierce, R.W., & Turner, J.T. (1993). Global Biogeography of Marine Tintinnids. *Marine Ecology Progress Series*, 94, 11-26.
- Pitta, P., & Giannakourou, A. (2000). Planktonic ciliates in the oligotrophic Mediterranean vertical, spatial distribution and mixotrophy. *Marine Ecology Progress Series*, 194, 269-282.

- Pitta, P., Giannakourou, A., & Christaki, U. (2001). Planktonic ciliates in the oligotrophic Mediterranean Sea: longitudinal trends of standing stocks, distributions and analysis of food vacuole contents. *Aquatic Microbial Ecology*, 24, 297-311.
- Polat, S., Toklu, B., & Piner, M.P. (2001). Babadıllimanı Koyu (Silifke-İçel) Tintinnid (Ciliata) türleri. XI. Ulusal Su Ürünleri Sempozyumu .04-06 Eylül 2001; Hatay, 504-512.
- Polat, S., Toklu, B., & Saruhan, E. (2002). Seasonal distribution of protozooplankton in İskenderun Bay (Northeastern Mediterranean), Oceanography of the Eastern Mediterranean and Black Sea Similarities and Differences of Two Interconnected Basins, 14-18 October 2002; Ankara, 839-844.
- Selifonova, Z.P., & Makarevich, P.R. (2018). Invasive alien species of tintinnid ciliates from the northeastern Black Sea, Russian and Abkhazian coast. *Protistology*, 12 (4), 185-190.
- Shannon, C.E., & Weaver, W. (1964). The mathematical theory of communication. University of Illinois Press, Urbana, 125 pp.
- Siegel, S. (1956). Nonparametric statistics for the behavioral sciences. McGraw-Hill, New York.
- Sorokin, Y.I., Tarkan, A.N., Öztürk, B., & Albay, M. (1995). Primary production, bacterioplankton and planktonic protozoa in the Marmara Sea. *Turkish Journal of Maritime and Marine Sciences*, 1, 37-55.
- Toklu-Aliçli, B., Balkis, N., Toklu, A.S., & Höbek, A. (2010). First record of *Amphorellopsis tetragona* (Protozoa: Ciliophora: Tintinnina) from the Sea of Marmara, *IUFS Journal of Biology*, 69 (1), 41-44.
- Tregouboff, G., & Rose, M. (1957). Manuel de planctonologie Méditerranéenne. Cent. Nati. Dela Res. Scient. 15, Anotole-France, 107-123.
- Türkoğlu, M., & Koray, T. (2000). Ecological and geographical distributions of the planktonic protista in the southern parts of the Black Sea (Neritic waters of Sinop Peninsula, Türkiye). *Ege University, Journal of the Faculty of Science*, 17 (1-2), 161-178.
- Ullyott, P., & Pektaş, H. (1952). Çanakkale Boğazı'ndaki yıllık temperatur ve tuzluluk değişimeleri hakkında ilk araştırmalar. *Hidrobiologi Mecmuası, Serie A*, 19-33 (in Turkish).
- Üysal, Z., & Ünsal, M. (1996). Spatial Distribution of Net Diatoms Along Adjacent Water Masses of Different Origin. *Turkish Journal of Botany*, 20, 519-525.
- Ünlü, S., Topcuoğlu, S., Alpar, B., Kirbaşoğlu, Ç., & Yılmaz, Y.Z. (2008). Heavy metal pollution in surface sediment and mussel samples in the Gulf of Gemlik. *Environmental Monitoring and Assessment*, 144, 169-178.
- Wang, Y., Zhang, W., Lin, Y., Cao, W., Zheng, L., & Yang, J. (2014). Phosphorus, nitrogen and chlorophyll-a are significant factors controlling ciliate communities in summer in the northern Beibu Gulf, South China Sea. *PLoS One*, 9 (7), 1-13.
- Yurga, L. (2018). Microzooplankton Tintinnida (Protozoa: Ciliophora) communities from the İzmir Bay, Turkey and their diversity and distribution for last 20 years. *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 35 (3), 267-277.
- Yüce, H., & Türker, A. (1991). Marmara Denizi'nin fiziksel oşinografik özellikleri ve Akdeniz suyunun Karadeniz'e girişi. Uluslararası Çevre Sorunları Sempozyumu İstanbul - Turkey: Marmara Rotary Club, 284-303 (in Turkish).
- Zervoudaki, S., Christou, E.D., Assimakopoulou, G., Örek, H., Gucu, A.C., Giannakourou, A., Pitta, P., Terbiyik, T., Yücel, N., Moutsopoulos, T., Pagou, K., Psarra, S., Özsoy, E., & Papathanassiou, E. (2011). Copepod communities, production and grazing in the Turkish Straits System and the adjacent northern Aegean Sea during spring. *Journal of Marine Systems*, 86, 45-56.

Hatching Success of Koi Carp (*Cyprinus carpio*) Embryos Following Short-Term Storage of Unfertilized Eggs

Yusuf BOZKURT 

İskenderun Technical University, Faculty of Marine Sciences and Technology, Department of Aquaculture, İskenderun, Hatay, Turkey.

Corresponding Author: yusuf.bozkurt@iste.edu.tr

Research Article

Received 23 April 2019; Accepted 17 June 2019; Release date 15 December 2019.

How to Cite: Bozkurt, Y. (2019). Hatching success of koi carp (*Cyprinus carpio*) embryos following short-term storage of unfertilized eggs. *Acta Aquatica Turcica*, 15(4), 481-486. <https://doi.org/10.22392/actaquatr.557364>

Abstract

The present study was carried out to determine effect of different mediums and storage periods on fertilization and hatching success of koi carp (*Cyprinus carpio*) embryos following short-term storage of unfertilized eggs. The batches of about 200 pooled eggs treated with 20-ml three different artificial mediums (Cognie, Kurokura, Zhang-Liu) and ovarian fluid in 15-cm petri dishes, were stored at 20 °C for 60, 120 or 180 min. Eggs were fertilized by adding 100 µl sperm in each petri dishes at the end of the each storage periods. Although there were no statistically significant differences between groups, the highest mean fertilization rate was 68% and the incubation rate was 27% in egg samples stored in the Ovarian fluid for 60 minutes. Results obtained from this study indicate that Ovarian fluid is the most suitable solution for the short-term storage (60-180 min) of koi carp eggs.

Keywords: *Cyprinus carpio*, short-term preservation, egg, embryo

Döllenmemiş Yumurtaların Kısa Süreli Muhabafasını Takiben Koi Sazanı (*Cyprinus carpio*) Embriolarının Kuluçkadan Çıkış Başarısı

Özet

Bu çalışma, farklı medyumların ve muhabafa sürelerinin, döllenmemiş yumurtaların kısa süreli muhabafasını takiben koi sazanı (*Cyprinus carpio*) embriolarının kuluçkadan çıkış başarısını belirlemek amacıyla yürütülmüştür. 200 adetlik yumurta kümeleri 15 ml'lik petri kutuları içerisinde 20 ml'lik farklı medyumlarla (Cognie, Kurokura, Zhan-Liu) ve Ovaryum sıvısı ile muamele edilerek 20 °C'de 60, 120 ve 180 dk süre ile muhabafa edilmişlerdir. Her muhabafa süresinin sonunda, her petri kutusundaki yumurtalar 100 µl sperma ile döllenmiştir. İstatistiksel olarak gruplar arasında farklılık tespit edilmemekle birlikte, ovaryum sıvısında 60 dk muhabafa edilen yumurta örneklerinde en yüksek ortalama fertilizasyon %68; kuluçka çıkış oranı ise %27 olarak belirlenmiştir. Bu çalışmadan elde sonuçlar, koi sazanı yumurtalarının 60-180 dk muhabafa edilmesinde en uygun sulandırıcının Ovaryum sıvısı olduğunu göstermiştir.

Anahtar kelimeler: *Cyprinus carpio*, kısa süreli muhabafa, yumurta, embriyo

INTRODUCTION

In spite of cryopreservation of sperm has been widely investigated for many fish species, application of the same method for the fish eggs has not yet developed with favorable results because of its large size, high water content, the mass of yolk and the permeability properties of membranes (Lubzens et al., 2005). Thus, short-term preservation protocols applying positive temperatures have been developing for the female gametes.

Short-term preservation aims increasing of post-spawning gamete longevity, improving of hatchery management and minimizing of the problems resulting from inbreeding (Bromage and Roberts, 1995). Additionally, short-term preservation is rather useful and advantageous in various hatchery operations. For instance, it is frequently applied in short-distance transports of female gametes during artificial propagation and in chromosome-set manipulations (Stoss, 1983).

On the other hand, the period for the artificial fertilization of fish eggs is limited under hatchery conditions because of continuous reduction of their quality with time. The ovulated eggs should be fertilized within a certain period following the ovulation process in order to obtain viable embryos (Hobby and Pankhurst, 1997). Because, fertility of ovulated eggs progressively decreases and then disappears when they are kept in body cavity of the female for a long time. So, prolonging of the egg viability becomes more critical in terms of fertilization success following their releasing from the gonads. From this point of view, establishing of a protocol is an important issue for the conservation of unfertilized eggs in terms of commercial aquaculture and biological conservation programs.

It is well known that there is lack of information regarding *in vitro* preservation of koi carp eggs in different artificial mediums. Therefore, the purpose of the present study was to explore effect of different storage periods and artificial mediums on fertility and hatching success of ornamental koi carp (*Cyprinus carpio*) eggs under *in vitro* conditions.

MATERIAL and METHODS

Broodstock management and collection of gametes

Mature koi carp broodfish was collected from soil ponds by seining and transported into the hatchery. Female (10) and male (4) broodfish were held separately in holding tanks supported with a water flow of 2.5 l/min at 24°C containing 6-7 mg/l O₂ in the hatchery.

Females have large and soft abdomen, red urogenital papilla and males releasing sperm with slight abdominal pressure were assumed to be ready for the hormone treatment. Commercially available carp pituitary extract (CPE) was used as spawning agent. In order to induce to spawning, CPE in Ringer solution was applied intramuscularly to the females in two portions as the priming and releasing doses (0.5 and 2.0 mg/kg body weight respectively) with a 14-h interval between doses. Males received a single dose of CPE (1.0 mg/kg body weight) intramuscularly at the time of the second dose was applied to the females.

100 mg/l quinaldine sulfate was applied to the broodfish for anesthetization and stripped via gentle abdominal massage. Eggs, ovarian fluid and sperm were collected separately from each female and male broodfish. Contamination of gametes with urine, mucus, blood or feces was avoided during collection of gametes. The ovarian fluid was separated by pouring the eggs onto a screen suspended over a plate and purified. Following collection, this fluid was used for storage purposes. Sperm samples collected from four males into 50-ml glass beakers, were checked in term of motility before fertilization. For this aim, 10 µl drop of sperm was placed on a microscope slide and 20 µl distilled water were added. Then, sperm suspension was thoroughly mixed for 3 s. The motility and motility duration of spermatozoa were immediately recorded for 1 min following activation using a CCD video camera (CMEX-5, the Netherlands) mounted on a phase-contrast microscope (100 x, Olympus BX43, Tokyo, Japan). Sperm motility was evaluated from sperm performing progressive forward movement. Samples showing more than 80% motility, were pooled in a 100-ml glass beaker.

Storage of eggs in artificial mediums and ovarian fluid

Composition of three artificial mediums used for the *in vitro* storage of unfertilized koi carp eggs are shown in Table 1. The final pH of each medium was regulated according to the natural pH of the coelomic fluid of koi carp using 1.0 N HCl and 1.0 N NaOH. In order to store eggs, a batch of 200 pooled eggs was gently placed in 15-cm diameter petri dishes. The batches of eggs were washed with their storage mediums to eliminate coelomic fluid from the eggs. Petri dishes were filled with 20-ml of their mediums and ovarian fluids and then *in vitro* stored for durations of 60, 120 and 180 min prior to fertilization inside of sterile Laminar air flow cabinet at constant temperature of 20°C.

Table 1. Composition of the artificial mediums

Artificial Mediums	Composition	Reference
Cognie Solution	0.88 g of NaCl, 1.12 g KCl, 0.36 g Tris, 150 ml with distilled H ₂ O	(Cognie et al., 1989)
Kurokura Solution	0.75 g NaCl, 0.02 g KCl, 0.02 g CaCl ₂ , 0.02 g NaHCO ₃ , 100 ml distilled H ₂ O	(Kurokura et al., 1984)
Zhang-Liu Solution	6 g glucose, 0.3 g NaCl, 0.05 g NaHCO ₃ 100 ml distilled H ₂ O	(Zhang and Liu, 1991)
Ovarian Fluid	741 mM Na ⁺ , 0.45 mM K ⁺ , 2.58 mM Mg ²⁺ 6.38 mM Ca ²⁺ , 0.35 mM Zn ²⁺	(Linhart et al., 1995)

Fertilization and Hatching

Following 60, 120 and 180 min storage periods of unfertilized eggs, the artificial mediums and ovarian fluids were removed from the petri dishes. Then, 100 µl sperm showing motility higher than 80% and containing roughly 2x10⁵ spz. was added on to the eggs for the fertilization. Fertilization process was performed in 500 ml plastic containers using activation solution containing 3 g urea and 4 g NaCl in 1 l distilled water at 24°C for five minute through slow mixing of the eggs and sperm for 30 min. Then, eggs were washed with water in order to eliminate adhesiveness and gently transferred to the labelled Zuger glass incubators with running water (24°C) where kept until eyeing (14-16 h) and hatching (3-4 d). Batches of eggs fertilized at time of "0" served as control group. Fertilization yield was determined at gastrulation stage. Dead embryos in partially or completely opaque eggs were removed during this period. The hatching rate was defined as the number of hatched eggs divided by the initial number of eggs used for fertilization. Newly hatched larvae were removed by siphoning and counted. Each treatment was performed in triplicate for each artificial medium and storage period.

Statistical analysis

Results are presented as means±SE. Differences between treatment groups were analyzed by repeated analysis of variance (ANOVA). Significant means were subjected to a multiple comparison test (Duncan) for post-hoc comparisons at level of $\alpha = 0.05$. All analyses were carried out using SPSS 17 for Windows Statistical Software Package.

RESULTS

Mean fertilization results regarding treatment groups were 64.60±4.50%, 44.60±8.08%, 24.60±8.08% for the Cognie solution, 59.60±4.04%, 40.30±5.14%, 21.60±7.09% for the Kurokura solution and 48.30±7.37%, 37.60±5.14%, 17.6±7.09% for the Zhang Liu solution respectively following 60, 120 and 180 min storage periods. On the other hand, the highest overall meaning of fertilization results were obtained as 68.00±5.29%, 49.60±7.09% and 29.60±7.09% with ovarian fluid respectively for 60, 120 and 180 min storage periods (Figure 1). Differences between mean fertilization rates within the same medium group were significant ($p<0.05$) when duration was considered.

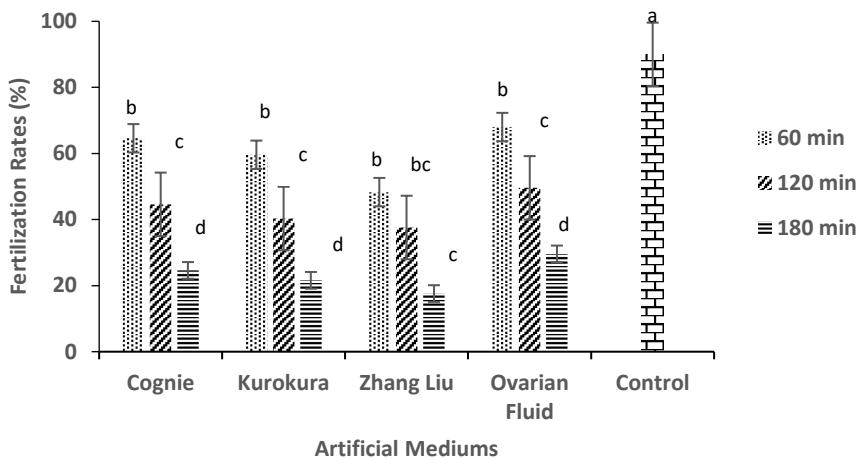


Figure 1. Fertilization rates of scaly carp eggs *in vitro* incubated in four different media for 0 (control), 60, 120 and 180 min prior to fertilization.

Mean hatching results regarding treatment groups were $18.33 \pm 2.89\%$, $10.00 \pm 2.00\%$, $5.00 \pm 1.00\%$ for the Cognie solution, $12.34 \pm 2.52\%$, $7.00 \pm 1.00\%$, 0% for the Kurokura solution and $7.34 \pm 2.52\%$, $3.67 \pm 1.52\%$, 0% for the Zhang Liu solution respectively following 60, 120 and 180 min storage periods. On the other hand, the overall meaning of the hatchings ($27.00 \pm 8.54\%$, $12.34 \pm 2.52\%$ and $7.00 \pm 1.00\%$) were also obtained as highest with the ovarian fluid respectively for 60, 120 and 180 min storage periods (Figure 2). It is interesting to note that there was no hatching with the Kurokura and Zhang-Liu artificial media for 180 min storage. Differences between mean hatching rates within the same medium group were significant ($p < 0.05$) when duration was considered.

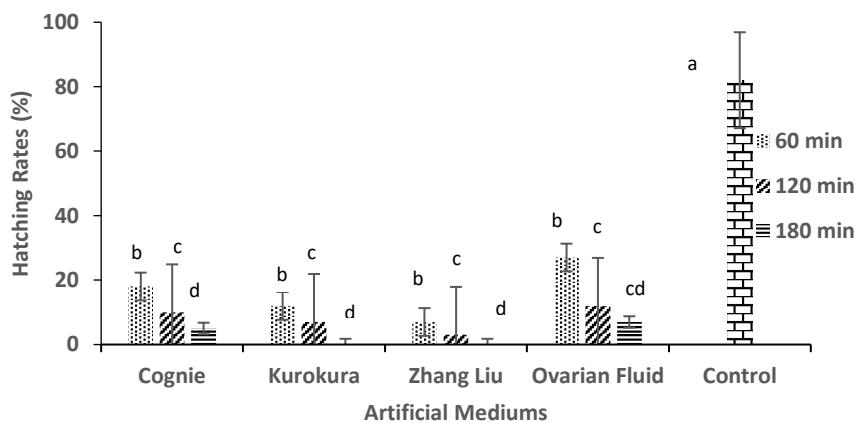


Figure 2. Hatching rates of scaly carp eggs *in vitro* incubated in four different media for 0 (control), 60, 120 and 180 min prior to fertilization.

DISCUSSION

Cryopreservation of fish eggs have been unsuccessful so far because of some difficulties such as removal of intercellular water during cooling, toxicity of cryoprotectants and also inhomogeneous freezing and thawing rates (Guan et al., 2008). Therefore, *in vitro* storage of unfertilized eggs seem the only alternative way instead of cryopreservation.

Some researchers have explored the development of eggs from fertility to eyeing stage (Lahnsteiner and Weismann, 1999; Goetz and Coffman, 2000). It is well known that less attention has been given to the survival of embryos from eyeing to the hatching stage following storage in different media for longer periods prior to fertilization.

Rothbard et al. (1996) reported that common carp (*Cyprinus carpio*) eggs can be stored for 6 h at temperature range of 20°C-24.5°C maintaining their viability and fertility. Zlabek and Linhart (1987) compared *in vitro* storage of common carp (*Cyprinus carpio*), grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) and silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) eggs at two temperature regimes (3°C-5°C and 14.5°C-18.0°C) and reported that common carp eggs exhibited better fertility and survivability of embryos than those of the Chinese carps.

On the other hand, Takano et al. (1973) reported that storing of salmonid eggs as *in vitro* in artificial mediums less effective for similar periods. According to Takano et al. (1973), chum salmon eggs could be stored for only one day in a physiological saline. It is interesting to note that Erdahl et al. (1987) indicated the possibility of short-term (5-10 min) storage of unfertilized rainbow trout eggs in physiological saline solution without loss of fertility. In another study using common carp eggs (Bercsenyi et al., 1998) and no artificial medium, a decrease in temperature had a negative effect on fertilization capacity and hatch through time. Withler (1980) reported that eggs of common carp were stored undiluted in a preliminary study at 2°C to 9°C yielding no fertilization. In addition, Leung and Jamieson (1991) reported that fish eggs stored at refrigerated temperatures have been reducing their fertilizing potential due to cold shock.

From this point of view, in order to overcome cold shock effect of low temperature, koi carp eggs incubated moderately higher temperature (20°C). It is known that mature eggs can be kept for several days in Ovarian fluid and the storage duration is related to the holding temperature (Bozkurt and Yavaş, 2012; Samarin et al., 2017; Ginatullina et al., 2018). The results of the present study demonstrated that all artificial mediums and ovarian fluid preserved koi carp eggs up to 180 min at relatively high temperature (20°C) under *in vitro* conditions. On the other hand, Cognie solution exhibited higher fertilization capacity in all cases following Ovarian fluid. This shows that Cognie solution can be used with koi carp eggs to prolong fertilizing ability.

Short-term storage of koi carp eggs offers benefits for research and breeding. For instance, eggs from different stocks (from disease-free environments) could be transported among local hatcheries. In addition, koi carp could serve as a model for other warmwater species because of their hardiness and fecundity in captivity to study the fertilizing potential of stored eggs.

This study shows that eggs can be stored in an extender at 20°C for as long as 180 min with a loss of fertilization capacity compared to fresh eggs. It is obvious that there is an decrease in terms of fertility and hatchability of the eggs depending on period especially following 60 min storage in all cases. The decrease in fertilization and hatching rates during *in vitro* storage can be attributed to the composition of the artificial mediums, timing of ovulation, gamete quality, storrage temperature and condition of the recirculating water.

It should be known that the overall success of the conservation is highly depend on the extender composition, origin of the broodfish and egg batch. Additionally, preservation of metabolic activity and maintaining of viability of the eggs may be related to the health of the brood female, time of ovulation, incubation temperature and also quality of hatchery water (Linhart and Billard, 1995). From this point of view, the results of the current study showed that the survival of eggs in various treatments strongly depends on handling and management of spawners, temperature and egg quality prior to fertilization. On the other hand, future studies should address the specific conditions such as using of antibiotics in order to prevent bacterial infection and prolong storage period under *in vitro* conditions.

Acknowledgements: The author would like to thank the staff of State Hydraulic Works Fish Production Station for their technical assistance in Adana, Turkey.

REFERENCES

- Bercsenyi, M., Magyary, I., Urbanyi, B., Orban, L., & Horvath L. (1998). Hatching out goldfish from common carp eggs: interspecific androgenesis between two cyprinid species. *Genome* 41, 573-579.
- Bozkurt, Y., & Yavaş İ. (2012). Effect of temperatures and storage periods on fertilizing capacity of short-term preserved scaly carp (*Cyprinus carpio*) eggs. *The Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgeh*, 64, 680-685.
- Bromage, N.R., & Roberts, R.J. (1995). Preservation of gametes. In: Bromage NR, Roberts RJ (Eds.), *Broodstock Management and Egg and Larval Quality*. Blackwell, Oxford. pp. 53-75.
- Erdahl, A.W., Cloud, J.G., & Graham, E.F. (1987). Fertility of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) gametes: gamete viability in artificial media. *Aquaculture*, 60, 323-332.

- Ginatullina, E., Komrakova, M., & Holtz, W. (2018). Chilled storage of unfertilized and fertilized rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) eggs in sealed polyethylene bags at different temperatures. *Aquaculture*, 484, 214-218.
- Goetz, F.W., & Coffman, M.A. (2000). Storage of unfertilized eggs of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in artificial media. *Aquaculture*, 184 (3-4), 267-276.
- Guan, M., Rawson, D.M., & Zhang, T. (2008). Cryopreservation of zebrafish (*Danio rerio*) oocytes using improved controlled slow cooling protocols. *Cryobiology*, 56 (3), 204-208.
- Hobby, A.C., & Pankhurst, N.W. (1997). Post-ovulatory egg viability in the snapper *Pagrus auratus* (Sparidae). *Marine and Freshwater Research*, 48, 385-389.
- Kurokura, H., Hirano, R., Tomita, M., & Iwahashi, M. (1984). Cryopreservation of carp sperm. *Aquaculture*, 37, 267-273.
- Lahnsteiner, F., & Weismann T. (1999). Changes in eggs of brown trout, rainbow trout and grayling during short-term storage. *North American Journal of Aquaculture*, 61(3), 213-219.
- Leung, L.K., & Jamieson, B.G.M. (1991). Live preservation of fish gametes. pp. 245- 269. In Jamieson B. G. M. Fish Evolution and Systematics: Evidence from Spermatozoa. Cambridge Univ. Press, Cambridge.
- Linhart, O., & Billard, R. (1995). Biology of gametes and artificial reproduction in common tench (*Tinca tinca* L.). A review. *Polish Archives of Hydrobiology*, 42, 37-56.
- Lubzens, Z., Rosenfeld, H., Meiri, I., Olsson, P.E., Cerda, G., Babin, P.J., Admon, A., Carnovali, O., Rawson, D., Zhang, T., Dichtl, M., & Pagelson, G. (2005). Cryopreservation of fish oocytes: achievements and prospects. In: van Stappen H, Sorgeloos W (Eds.). Larvi 05 – Fish & Shellfish larviculture Symposium, European Aquaculture Society, Special Publication, 36, 296-297.
- Rothbard, S., Rubinstein, I., & Gelman, E. (1996). Storage of common carp (*Cyprinus carpio* L.) eggs for short durations. *Aquaculture Research*, 27, 175-181.
- Samarin, A.M., Źarski, D., Palińska-Źarska, K., Krejszef, S., Blecha, M., Kucharczyk, D., & Polcar, T. (2017). *In vitro* storage of unfertilized eggs of the Eurasian perch and its effect on egg viability rates and the occurrence of larval malformations. *Animal*, 11(1), 78-83.
- Stoss, J. (1983). Fish gamete preservation and spermatozoa physiology. In: Fish Physiology (eds. W.S. Hoar, D.J. Randall and E.M. Donaldson). Vol. IX B. Academic Press, New York: 305-350.
- Takano, K., Hiroi, O., Yasukawa, M., & Shetake, T. (1973). Studies on the retention of gametes of salmonids fishes. I - On the fertility of chum salmon eggs after storage. *Scientific Reports of the Hokkaido Salmon Hatchery*, 27, 31-37.
- Withler, F.C. (1980). Chilled and cryogenic storage of gametes of Thai Carps and Cat Fishes. *Canadian Technical Report of Fisheries and Aquatic Sciences*, 948, 1-15.
- Zhang, X., & Liu, Y. (1991). Study of cryopreservation of fish spermatozoa. *Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Normalis Hunanensis*, 14, 255-259.
- Zlabek, A., & Linhart, O. (1987). Short-term storage of non-germinated and unfertilized eggs of the common carp, grass carp and silver carp. *Bulletin VURH Vodnany*, 23, 3-11.

Isparta Deresi'nin Su Kalitesinin Fizikokimyasal Parametrelere ve Simuliidae Faunasına Göre Belirlenmesi**Bahadır ÖZEL*** , **Tuba Elif YAY** , **Selda TEKİN-ÖZAN** 

Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Isparta, Türkiye.

*Sorumlu Yazar: bahadirozel32@gmail.com

Araştırma Makalesi

Geliş 26 Nisan 2019; Kabul 03 Temmuz 2019; Basım 15 Aralık 2019.

Alıntılama: Özel, B., Yay, T. E., & Tekin-Özan, S. (2019). Isparta Deresi'nin su kalitesinin fizikokimyasal parametrelere ve Simuliidae faunasına göre belirlenmesi. *Acta Aquatica Turcica*, 15(4), 487-498. <https://doi.org/10.22392/actaquatr.558391>**Özet**

Bu çalışmada, Antarktika kıtası dışında dünyadan her yerinde yayılış gösteren Diptera takımının Nematocera alt takımını içerisinde yer alan Simuliidae familyasına ait üyelerin Isparta Deresi'ne ne kadar adapte olduğu ve hangi kesimlerinde ne yoğunlukta bulunduğu bazı fizikokimyasal parametrelerle ilişkilendirilerek belirlenmiştir. Isparta ili sınırları içerisinde bulunan Isparta Deresi, Karacaören-1 Baraj Gölü'ne dökülmektedir. Isparta Deresi üzerinde toplam 6 istasyon belirlenmiş ve mevsimsel olarak arazi çalışmaları yapılmıştır. Amonyum azotu, nitrit azotu, nitrat azotu, klorür iyonu ve elektriksel iletkenlik değerlerinin 5. ve 6. İstasyonlarda, diğer istasyonlara göre yüksek olduğu saptanmıştır. Fizikokimyasal değerlere göre su kalite sınıfları değerlendirilirken YSKY kullanılmıştır. Simuliidae familyasına ait türler ile fizikokimyasal parametreler arasındaki pozitif ve negatif ilişkileri belirlemek için Pearson testi kullanılmış ve istatistiksel anlamda önemli ilişkiler olduğu belirlenmiştir. Saprobi indeksine göre, 5. ve 6. istasyonların beta-mezosaprobič, diğer istasyonların ise oligosaprobič olduğu tespit edilmiştir. Simuliidae familyasına ait *Prosimulium*, *Metacnephia* ve *Simulium* cinslerine rastlanmıştır. Bu çalışmada, *Prosimulium rufipes*, *Prosimulium* sp., *Metacnephia* sp., *Simulium angustipes*, *S. auricoma*, *S. bezzii*, *S. costatum*, *S. ornatum*, *S. pseudoequinum*, *S. trifasciatum*, *S. variegatum* ve *Simulium* sp. taksonları belirlenmiştir. En baskın taksonun *Simulium* sp. olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışmada belirlenen taksonların istasyonlar açısından farklılığını ya da benzerliğini ortaya koymak için Sørensen benzerlik ve Margalef çeşitlilik analizleri yapılmıştır.

Anahtar kelimeler: Isparta Deresi, Simuliidae, Diptera, Kirlilik, Biyolojik izleme.**Determination of Water Quality of Isparta Stream According to Physicochemical Parameters and Simuliidae Fauna****Abstract**

In this study, the adaptation of the members of the Simuliidae family, which is in the Nematocera subset of Diptera, and is spread all over the world except Antarctica, to the Isparta Stream were determined by correlating with some physicochemical parameters. However, density of this family in different parts of the stream was also determined.. Isparta Stream is within the boundaries of the province of Isparta poured into Karacaören-1 Dam Lake. 6 stations were determined in Isparta Stream and seasonal studies were conducted. Ammonium nitrogen, nitrite nitrogen, nitrate nitrogen, chloride ion and electrical conductivity values were found to be higher in the 5th and 6th stations compared to the other stations. While evaluating the water classes according to the physicochemical values YSKY was used. Pearson test was used to determine positive and negative relationships between species belonging to Simuliidae family and physicochemical parameters and statistically significant relationships were determined. According to the Saprobi index, the 5th and 6th stations were determined as beta-mesosaprobič and the other stations were oligosaprobič. *Prosimulium*, *Metacnephia* and *Simulium* genus belonging to Simuliidae family were found. In this study, *Prosimulium rufipes*, *Prosimulium* sp., *Metacnephia* sp., *Simulium angustipes*, *S. auricoma*, *S. bezzii*, *S. costatum*, *S. ornatum*, *S. pseudoequinum*, *S. trifasciatum*, *S. variegatum* and *Simulium* sp. taxons were determined. The most dominant taxa was *Simulium* sp. Sørensen similarity and Margalef diversity analyzes were performed to determine the difference or similarity of taxons in terms of stations.

Keywords: Isparta Stream, Simuliidae, Diptera, Pollution, Biological monitoring.**GİRİŞ**

Akarsuların ve göllerin çevresinde yapılan sanayi, maden ve tarım faaliyetleri ile yerleşim yerlerinin atıkları iç sularımızın kirlenmesindeki önemli etkenlerdir. Kirlilik sonucunda bazı türler bu kirliliğe ayak uyduramayarak ortamdan yok olurken bazı türler ise yaşamlarını devam ettirebilmektedir. Kirlilikle beraber o bölgede yaşayan canlı çeşitliliği ve populasyon dinamiği değişmektedir (Kalyoncu, 1996).

Nehir ve akarsularda yaşayan hayvanlar, sahip oldukları evrimsel adaptasyonlar sayesinde akıntıyla sürüklenemeye karşı dirençlidirler. Daha küçük olanların vücutu yassı ve kayalara tutunabilirler. Birçok eklembacaklı, taşların altında ya da akıntı tarafında yaşar ve bu sayede akıntıının çalkantılı olmadığı mikro habitatattan yararlanırlar (Campbell ve Reece, 2010).

Simuliidae familyası, Diptera takımının Nematocera alt takımının içerisinde bulunmaktadır ve Antarktika kıtası dışında dünyanın her yerinde yayılış gösterir. Familya ismini tür sayısı en fazla olan *Simulium* cinsinden almıştır ve Türkçe'de "Siyah Sivrisinekler" anlamına gelmektedir (Crosskey, 1990; Rubtsov, 1990). Holometabol gelişim gösteren bu familya üyelerinin larvaları yosunlar, plankton, bakteriler ve ince detritus parçaları ile beslenirler. *Salmo trutta* (Alabalık), *Salmo gardnieri* (Gökkuşağı alası), *Squalius leuciscus* (Kefal), *Gobio gobio* (Dere kayabalığı), *Huso huso* (Morina), *Acipenser ruthenus* (Çığabalığı), *Cyprinus carpio* (Sazan) ve *Anguilla anguilla* (Avrupa Yılan balığı) gibi bazı tatlı su balık türleri, Simuliidae larvalarının önemli avcılarıdır. Su içerisindeki diğer avcıları ise; Trichoptera cinslerine ait *Rhyacophila* spp. ve *Hydropsyche* spp. larvaları olmak üzere, Coleoptera larva ve erginleri, Diptera'dan Empididae, Muscidae ve Chironomidae larvaları, Plecoptera, Ephemeroptera ve Odonata nimfleridir (Crosskey, 1990).

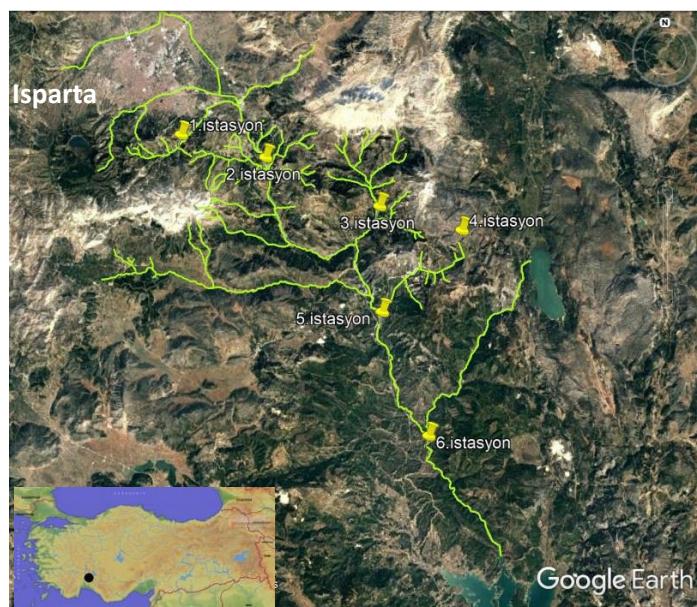
Genç larvalar deri solunumu yaparken, olgunlaşmış yaşlı larvalarda anal solungaçlarda trake sistemi gelişmiştir. Yaşlı larvalar pupa olmadan önce kokon adı verilen bir yapı örерler. Bakıldığı zaman içindeki pupa görülecek şekilde açıklığı olan bu yapının bir tarafı sağlam bir yere tutunmuştur ve açık kısmı su akıntısına doğru yönelir (Demirsoy, 2006).

Ülkemizde ve yurtdışında bazı sular ekosistemlerin hem Simuliidae faunasını belirlemeye (Şirin, 2001; Crosskey ve Zwick, 2007; Adler ve Şirin, 2014; Başören, 2015; Buitrago-Guacaneme vd., 2018; Vijayan ve Anbalagan, 2018) hem de fizikokimyasal parametrelerle göre su kalitesini saptamaya yönelik farklı çalışmalar yapılmıştır (Çiçek, 2003; Kalyoncu ve Zeybek, 2011; Tongjura vd., 2015; Şenel, 2017; Zeybek, 2017; Mutlu vd., 2018; Donald ve Blessing, 2019).

Bu çalışmada Karacaören Baraj Gölü'nu besleyen Isparta Deresi'ndeki Simuliidae familyasına ait üyelerin bu dereye ne kadar adapte olduğu ve hangi kesimlerinde ne yoğunlukta bulunduğu bazı fizikokimyasal parametrelerle ilişkilendirilerek belirlenmiştir.

MATERIAL ve YÖNTEM

Isparta Deresi, Isparta İli'nin Dere Mahallesi'nden başlar ve Karacaören Baraj Gölü'ne dökülür. Bu çalışmada, Isparta Deresi üzerinde toplam 6 istasyon belirlenmiştir. Bu istasyonlarda hem bazı fizikokimyasal parametrelerin ölçümleri yapılmış hem Simuliidae familyasına ait türler belirlenmiş hem de fizikokimyasal verilere göre su kalitesi sınıfları tespit edilmiştir. Çalışma alanının ve istasyonlarının görünümü GoogleEarth'ten alınarak Şekil 1.'de verilmiştir.



Şekil 1. Çalışma alanının ve istasyonların görünümü

Arazi çalışmaları Kış-2017, İlkbahar-2017, Yaz-2017 ve Sonbahar-2017 olmak üzere mevsimsel olarak yapılmıştır. 2. İstasyon yaz mevsiminde kuru olduğu için örnekleme yapılamamıştır. Su örnekleri, her istasyonda derenin orta kısmından alınmış ve örnekleme için 1 litrelik renkli plastik şişeler kullanılmıştır. Alınan su örneklerinin amonyum azotu ($\text{NH}_4\text{-N}$), nitrit azotu ($\text{NO}_2\text{-N}$), nitrat azotu ($\text{NO}_3\text{-N}$) fotometrik yöntemle, klorür (Cl^-) iyonu titrimetrik yöntemle Isparta Halk Sağlığı Laboratuvarı tarafından yapılmıştır. Biyolojik oksijen ihtiyacı (BO_2s) SDÜ Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Hidrobiyoloji Laboratuvarı'nda ölçülmüştür. Sıcaklık ($^{\circ}\text{C}$), çözünmüş oksijen (mg/l), pH ve elektrik iletkenliği ($\mu\text{S/cm}$) değerleri örnek alma esnasında ölçülmüştür.

Simuliidae larva ve pupaları, belirlenen 6 istasyonda dip kepçesi ve elle toplanmıştır. Akıntıının hızlı ve derin olduğu yerlerde 50x30 ebadındaki dip kepçesi ile taban kısmı ayakla karıştırılarak dip materyalinden örnekleme yapılmıştır. Akıntıının yavaş ve derinliğin sığ olduğu bölgelerde tutundukları yüzeylerden (taş, bitki, suya karışmış çeşitli materyaller vs.) ince ucu bir pens yardımıyla toplama yapılmıştır. Toplanan örnekler %80'lik alkolle muhafaza edilerek laboratuvara getirilmiş ve burada hemen incelenerek soğuk bir ortamda, %80'lik alkolde muhafaza edilmiştir.

Fizikokimyasal parametreler göre su kalitesini belirlemeye Yerüstü Su Kalitesi Yönetmeliği (YSKY) kullanılmıştır. İstatistiksel yöntemlerden baskınlık, sıklık, çeşitlilik, benzerlik analizlerinden ve Pearson Testi'nden yararlanılmıştır. Benzerlik analizi uygulanırken Sørensen benzerlik formülü (Krebs, 1989), çeşitlilik analizi için Margalef Çeşitlilik İndeksi (Margalef, 1957) kullanılmıştır.

Türler sıklık bakımından 5 basamakta incelenir. %1-20: Çok seyrek bulunan türler, %21-40: Seyrek bulunan türler, %41-60: Genellikle bulunan türler, %61-80: Coğunlukla bulunan türler, %81-100: Sürekli bulunan türler olarak değerlendirilir (Kocataş, 2014).

ARAŞTIRMA BULGULARI

Fiziksel ve Kimyasal Bulgular

Çalışma süresince, en düşük sıcaklık değeri kışın 2. istasyonda $1,19^{\circ}\text{C}$, en yüksek sıcaklık değeri ise yazın 5. istasyonda $28,94^{\circ}\text{C}$ olarak ölçülmüştür. Yıllık en düşük ortalama sıcaklık değeri 1. istasyonda $9,94^{\circ}\text{C}$, yıllık en yüksek ortalama sıcaklık değeri ise 5. istasyonda $18,12^{\circ}\text{C}$ 'dir. En düşük pH değeri (6,58) 2. istasyonda kış mevsiminde, en yüksek pH değeri (8,09) ise 5. istasyonda yaz mevsiminde tespit edilmiştir. Mevsimsel ortalama hesaplamalarına göre, en düşük pH değeri 4. istasyonda 6,90, en yüksek pH değeri ise 5. istasyonda 7,67 olarak saptanmıştır. En düşük elektriksel iletkenlik değeri (181,10 $\mu\text{S/cm}$) 4. istasyonda sonbahar mevsiminde, en yüksek elektriksel iletkenlik değeri (625,60 $\mu\text{S/cm}$) ise 5. istasyonda yaz mevsiminde tespit edilmiştir. En düşük yıllık ortalama elektriksel iletkenlik değeri 4. istasyonda 189,15 $\mu\text{S/cm}$, en yüksek yıllık ortalama elektriksel iletkenlik değeri ise 5. istasyonda 499,97 $\mu\text{S/cm}$ olarak saptanmıştır. En düşük çözünmüş oksijen değeri ($3,5 \text{ mg/l}$) 3. istasyonda ilkbahar mevsiminde, en yüksek çözünmüş oksijen değeri ($7,5 \text{ mg/l}$) ise 1. istasyonda yine ilkbahar mevsiminde tespit edilmiştir. En düşük yıllık ortalama çözünmüş oksijen değeri 5. istasyonda $4,87 \text{ mg/l}$, en yüksek yıllık ortalama çözünmüş oksijen değeri ise 1. istasyonda $6,75 \text{ mg/l}$ olarak saptanmıştır. En düşük BO_2s değeri ($0,28 \text{ mg/l}$) 2. istasyonda kış mevsiminde, en yüksek BO_2s değeri ($4,2 \text{ mg/l}$) ise 6. istasyonda yaz mevsiminde belirlenmiştir. Yıllık en düşük ortalama BO_2s değeri 2. istasyonda $0,29 \text{ mg/l}$, en yüksek ortalama BO_2s değeri ise 6. istasyonda $3,92 \text{ mg/l}$ olarak saptanmıştır. Amonyum azotu ($\text{NH}_4\text{-N}$) miktarları $0,002 \text{ mg/l}$ ve $11,400 \text{ mg/l}$ arasında değişiklik göstermiştir. Yıllık en yüksek ortalama amonyum azotu değeri 5. istasyonda ($7,202 \text{ mg/l}$), en düşük ortalama amonyum azotu değeri ise 3. istasyonda ($0,013 \text{ mg/l}$) tespit edilmiştir. Nitrit azotu ($\text{NO}_2\text{-N}$ mg/l) değerleri $0,025 \text{ mg/l}$ ve $11,800 \text{ mg/l}$ arasında değişiklik göstermiştir. Yıllık en yüksek ortalama nitrit azotu değeri 5. istasyonda ($4,168 \text{ mg/l}$), en düşük ortalama nitrit azotu değeri ise 4. istasyonda ($0,035 \text{ mg/l}$) ölçülmüştür. Nitrat azotu ($\text{NO}_3\text{-N}$ mg/l) miktarları $0,990 \text{ mg/l}$ ve $16,800 \text{ mg/l}$ arasında değişiklik göstermiştir. Yıllık en yüksek ortalama nitrat azotu değeri 6. istasyonda ($10,530 \text{ mg/l}$), en düşük ortalama nitrat azotu değeri ise 1. istasyonda ($1,405 \text{ mg/l}$) saptanmıştır. Klorür iyonu (Cl^- mg/l) miktarlarının $4,230 \text{ mg/l}$ ve 71 mg/l arasında değiştiği görülmüştür. Yıllık en yüksek ortalama klorür iyonu değeri 5. istasyonda ($65,697 \text{ mg/l}$), en düşük ortalama klorür iyonu değeri ise 4. istasyonda ($8,400 \text{ mg/l}$) belirlenmiştir. Fizikokimyasal değerlerin istasyonlara göre minimum, maksimum, ortalama değerleri ve standart sapmaları Tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 1. İstasyonların fizikokimyasal değerlerinin minimum değerleri, maksimum değerleri, ortalama değerleri ve standart sapmaları

PARAMETRELER	1. İSTASYON	2. İSTASYON	3. İSTASYON	4. İSTASYON	5. İSTASYON	6. İSTASYON
Sıçaklık	2,2-16,07	1,19-20,36	5,62-28,21	10,2-10,59	8,18-28,94	7,34-23,14
	9,94±5,83	11,47±9,66	17,99±9,77	10,35±0,18	18,12±9,29	15,32±6,81
pH	6,85-7,39	6,58-7,42	7,02-7,72	6,61-7,16	7,18-8,09	7,12-7,43
	7,11±0,24	7,14±0,48	7,40±0,29	6,9±0,25	7,67±0,38	7,26±0,14
Elektriksel İletkenlik(µS/cm)	216,9-271	223,8-297,3	243,4-292,1	181,1-197,4	425,1-625,6	411,1-577,1
	255,18±25,61	268,27±39,11	263,6±21,48	189,15±7,14	499,98±87,11	475,58±76,4
Çözünmüş Oksijen (mg/l)	6,2-7,5	5,1-7,2	3,5-6,3	4,1-7	4,2-5,9	5,4-6,6
Biyolojik Oksijen İhtiyacı (mg/l)	6,75±0,56	6,17±1,05	4,93±1,34	5,9±1,27	4,88±0,73	5,83±0,54
NH₄-N (mg/l)	0,3-0,7	0,28-0,3	0,7-1,2	1,2-1,7	3,1-4,5	3,6-4,2
NO₂-N (mg/l)	0,5±0,18	0,29±0,01	1±0,22	1,45±0,21	3,95±0,62	3,9±0,26
NO₃-N (mg/l)	0,002-0,21	0,017-0,128	0,01-0,017	0,01-0,021	1,03-11,4	0,05-4,46
Cl⁻ (mg/l)	0,07±0,1	0,06±0,06	0,01±0,00	0,01±0,00	7,20±4,43	3,15±2,10
NO₂-N (mg/l)	0,031-0,117	0,044-0,06	0,04-0,32	0,025-0,05	0,06-11,8	0,322-7,12
NO₃-N (mg/l)	0,06±0,04	0,05±0,01	0,11±0,14	0,04±0,01	4,17±5,48	2,82±3,08
Cl⁻ (mg/l)	1,1-1,95	1,69-3,05	0,99-3,03	3,13-4,43	3,5-16,4	3,38-16,8
Cl⁻ (mg/l)	1,41±0,38	2,20±0,74	2,13±0,85	3,95±0,59	9,26±6,14	10,53±7,02
Cl⁻ (mg/l)	4,23-19,3	7,5-22,8	7,04-17,1	6,11-13,4	54,05-70,97	30,02-71
Cl⁻ (mg/l)	9,41±6,74	14,02±7,90	11,09±4,30	8,4±3,36	65,7±7,88	49,58±17,34

Fizikokimyasal parametrelerin yıllık ortalama değerlerine göre su kalite sınıfları Tablo 2'de verilmiştir. YSKY'ye göre I. sınıf yüksek kaliteli su (Çok iyi), II. sınıf az kirli su (İyi), III. sınıf kirli su (Orta), IV. sınıf çok kirli su (Zayıf) olarak değerlendirilmiştir (YSKY, 2016).

Tablo 2. YSKY (2016)'ye göre istasyonların su kalite sınıfları

İSTASYON	°C	pH	E. İ.	Ç. O.	BOİ ₅	NH ₄ -N	NO ₂ -N	NO ₃ -N	Cl ⁻
1. İstasyon	I,II	I,II	I	II	I	I	III	I	I
2. İstasyon	I,II	I,II	I	II	I	I	II	I	I
3. İstasyon	I,II	I,II	I	III	I	I	III	I	I
4. İstasyon	I,II	I,II	I	III	I	I	II	II	I
5. İstasyon	I,II	I,II	II	III	I	IV	IV	II	II
6. İstasyon	I,II	I,II	II	III	I	IV	IV	III	II

Biyolojik Bulgular

Çalışma sonucunda 1 alt familyaya ait 3 cins, 5 altcins ve 12 tür tespit edilmiştir. En fazla türe sahip olan cins 9 türle *Simulium* olmuştur. Belirlenen taksonların bulunduğu istasyonlar ve bulunuş siklikları (%) Tablo 3'te verilmiştir. *Simulium* sp. 2., 5. ve 6. istasyonlarda sürekli bulunan takson olmuştur.

Çalışma süresince belirlediğimiz 12 taksonun içinde en baskın takson *Simulium* sp. olmuştur. Bunu sırası ile *Simulium pseudequinum*, *S. angustipes*, *S. variegatum*, *Metacnephia* sp., *S. ornatum*, *Prosimulium* sp., *Prosimulium rufipes*, *S. auricoma*, *S. bezzii*, *S. trifasciatum* ve *S. costatum* takip etmiştir. Kış mevsiminde en baskın takson *Metacnephia* sp. olurken, ilkbahar, yaz ve sonbahar mevsimlerinde *Simulium* sp. olmuştur.

Tablo 3. Belirlenen taksonların istasyonlara göre siklik (%) değerleri

	SIKLIK (%)					
	1. İstasyon	2. İstasyon	3. İstasyon	4. İstasyon	5. İstasyon	6. İstasyon
<i>Metacnephia</i> sp.	50	66,6	25	0	0	0
<i>Simulium angustipes</i>	25	66,6	25	0	75	50
<i>S. auricoma</i>	0	33,3	25	0	0	0
<i>S. bezzii</i>	0	0	25	0	0	0
<i>S. costatum</i>	0	0	25	0	0	0
<i>S. ornatum</i>	50	33,3	0	25	25	0
<i>S.pseudequinum</i>	25	0	25	0	75	75
<i>S.trifasciatum</i>	0	33,3	25	0	0	0
<i>S. variegatum</i>	50	33,3	25	0	25	0
<i>Simulium</i> sp.	75	100	75	25	100	100
<i>Prosimulium rufipes</i>	25	33,3	25	0	0	0
<i>Prosimulium</i> sp.	0	0	25	0	0	0

Sørensen benzerlik indeksine göre yapılan hesaplamalarda 1. ve 5. istasyonlar birbirlerine en çok benzeyen istasyonlar olurken, 3. ve 4. istasyonlar birbirlerine en az benzeyen istasyonlar olmuşlardır. Belirlenen taksonların istasyonlara göre benzerlik değerleri Tablo 4'te verilmiştir.

Tablo 4. Belirlenen taksonların istasyonlara göre benzerlik değerleri

İstasyonlar	1. İstasyon	2. İstasyon	3. İstasyon	4. İstasyon	5. İstasyon	6. İstasyon
1. İstasyon	1	0,80	0,67	0,44	0,83	0,60
2. İstasyon		1	0,73	0,40	0,61	0,36
3. İstasyon			1	0,15	0,50	0,42
4. İstasyon				1	0,57	0,40
5. İstasyon					1	0,75
6. İstasyon						1

Margalef çeşitlilik indeksine göre en fazla çeşitliliğe ilkbahar mevsiminde 2. istasyonda rastlanmıştır. Yaz mevsiminde 3. ve 4. istasyon ile sonbahar mevsiminde 4. istasyonda örneğe rastlanmamıştır. En az çeşitlilik “0” değeri ile kiş ve ilkbahar mevsiminde 4. istasyonda, yaz mevsiminde 1. istasyonda görülmüştür. Belirlenen taksonların istasyonlara göre çeşitlilik değerleri Tablo 5'te verilmiştir.

Tablo 5. Belirlenen taksonların istasyonlara göre çeşitlilik değerleri

İSTASYONLAR	KİŞ	İLKBAHAR	YAZ	SONBAHAR
1. İstasyon	1,59	1,66	0	1,53
2. İstasyon	2,09	2,99	KURU	2,09
3. İstasyon	2,41	2,73	-	0,68
4. İstasyon	0	0	-	-
5. İstasyon	2,12	2,21	0,53	0,92
6. İstasyon	0,64	1,09	0,56	1,18

Ölçümü yapılan fizikokimyasal parametreler ile dere faunasında tespit edilen *Prosimulium rufipes*, *Simulium angustipes*, *S. costatum*, *S. bezzii*, *S. ornatum*, *S. trifasciatum*, *S. variegatum*, *S. auricoma* ve *S. pseudequinum* türleri arasındaki ilişkiyi belirlemek amacıyla Pearson testi yapılmıştır (Tablo 6). Bu teste göre çözünmüş oksijen değerlerinin diğer fizikokimyasal parametrelerle negatif ilişki içerisinde olduğu görülmüştür. Bu durum çözünmüş oksijenin arttıkça diğer fizikokimyasal parametrelerin azaldığını göstermektedir. Sıcaklık, pH, elektriksel iletkenlik, BO₁₅, nitrit, nitrat, amonyum ve klorürün kendi aralarındaki ilişkinin pozitif yönde olduğu görülmüştür.

Sıcaklıkla *P. rufipes*, *S. variegatum* ve *S. auricoma* arasında negatif, *S. angustipes*, *S. ornatum*, *S. trifasciatum* ve *S. pseudequinum* arasında ise pozitif ilişki görülmüştür. pH değeri arttıkça *P. rufipes*, *S. ornatum* ve *S. auricoma* miktarının azaldığı, *S. angustipes*, *S. trifasciatum*, *S. variegatum* ve *S. pseudequinum* miktarının ise arttığı görülmüştür. Elektriksel iletkenlikle *P. rufipes*, *S. trifasciatum* ve *S. variegatum* arasında negatif ilişkiye rastlanırken, *S. angustipes*, *S. ornatum*, *S. auricoma* ve *S. pseudequinum* arasında pozitif ilişkiye rastlanmıştır. Çözünmüş oksijen değerleri ile *P. rufipes*, *S. angustipes*, *S. ornatum*, *S. variegatum*, *S. auricoma* ve *S. pseudequinum* değerleri arasında pozitif, *S. trifasciatum* değerleri arasında ise negatif ilişki olduğu saptanmıştır. BO₁₅ artarken *S. angustipes* ve *S. pseudequinum* türlerinin birey sayılarının arttığı fakat *P. rufipes*, *S. ornatum*, *S. trifasciatum*, *S. variegatum* ve *S. auricoma* türlerinin birey sayılarının azaldığı görülmüştür. Nitrit değerleriyle *P. rufipes*, *S. angustipes* ve *S. variegatum* arasında pozitif ilişki bulunurken *S. ornatum*, *S. trifasciatum*, *S. auricoma* ve *S. pseudequinum* arasında negatif ilişki bulunmuştur.

Tablo 6. Fizikokimyasal parametrelerin ve tespit edilen türlerin Pearson testine göre değerleri

	Sıcaklık	pH	E. İ.	C. O.	BOI ₅	NO ₂ -N	NO ₃ -N	NH ₄ -N	Cl ⁻	<i>P. rufipes</i>	<i>S. angustipes</i>	<i>S. costatum</i>	<i>S. bezzii</i>	<i>S. ornatum</i>	<i>S. trifasciatum</i>	<i>S. variegatum</i>	<i>S. auricoma</i>	<i>S. pseudequinum</i>
Sıcaklık	1	,796**	,422*	-0,37	0,406	,592**	,480*	0,155	0,171	-0,98	0,546	.(a)	.(a)	0,454	1,000**	-0,083	-1,000**	0,332
pH		1	,533**	-,533**	0,164	,562**	0,365	,448*	0,407	-0,038	0,434	.(a)	.(a)	-0,709	1,000**	0,155	-1,000**	0,278
E. İ.			1	-0,222	0,154	,779**	,755**	,726**	,886**	-0,852	0,001	.(a)	.(a)	0,162	-1,000**	-0,427	1,000**	0,047
C. O.				1	-0,288	-0,132	-0,049	-,443*	-0,317	0,986	0,137	.(a)	.(a)	0,172	-1,000**	0,735	1,000**	0,143
BOI ₅					1	0,38	,425*	0,183	0,204	-0,592	0,45	.(a)	.(a)	-0,145	-1,000**	-0,389	-1,000**	0,128
NO ₂ -N						1	,768**	,434*	,570**	,999*	0,262	.(a)	.(a)	-0,117	-1,000**	0,562	-1,000**	-0,023
NO ₃ -N							1	0,251	,583**	-1,000**	0,109	.(a)	.(a)	-0,441	-1,000**	-0,526	1,000**	0,407
NH ₄ -N								1	,832**	-0,795	-0,201	.(a)	.(a)	-0,104	.(a)	-0,305	1,000**	-0,438
Cl ⁻									1	-0,725	-0,134	.(a)	.(a)	-0,099	-1,000**	-0,386	1,000**	-0,125
<i>P. rufipes</i>										1	.(a)	.(a)	.(a)	-1,000**	.(a)	,997*	.(a)	.(a)
<i>S. angustipes</i>											1	.(a)	.(a)	0	.(a)	.(a)	.(a)	,908*
<i>S. costatum</i>												.(a)	.(a)	.(a)	.(a)	.(a)	.(a)	.(a)
<i>S. bezzii</i>												.(a)	.(a)	.(a)	.(a)	.(a)	.(a)	.(a)
<i>S. ornatum</i>													1	.(a)	-1,000**	.(a)	-1,000**	
<i>S. trifasciatum</i>														1	.(a)	.(a)	.(a)	
<i>S. variegatum</i>															1	.(a)	.(a)	
<i>S. auricoma</i>																1	.(a)	
<i>S. pseudequinum</i>																	1	

** 0,01 düzeyinde önemli

* 0,05 düzeyinde önemli

(a) Değişkenlerden en az biri sabit olduğu için hesaplanamamıştır

Nitratla *P. rufipes*, *S. ornatum*, *S. trifasciatum* ve *S. variegatum* arasında negatif, *S. angustipes*, *S. auricoma* ve *S. pseudoequinum* arasında pozitif ilişki görülmüştür. Amonyumun artışı ile *P. rufipes*, *S. angustipes*, *S. ornatum*, *S. variegatum* ve *S. pseudoequinum*'un birey sayısının azaldığı, *S. auricoma*'nın birey sayısının arttığı görülmüştür. Klorür, *P. rufipes*, *S. angustipes*, *S. ornatum*, *S. trifasciatum*, *S. variegatum* ve *S. pseudoequinum* ile negatif ilişki gösterirken *S. auricoma* ile pozitif ilişki göstermiştir.

Sıcaklık ile pH, nitrit, *S. trifasciatum*, *S. auricoma* arasında ($<0,01$), sıcaklık ile elektriksel iletkenlik, nitrat arasında ($<0,05$), pH ile elektriksel iletkenlik, çözünmüş oksijen, nitrit, *S. trifasciatum*, *S. auricoma* arasında ($<0,01$), pH ile amonyum arasında ($<0,05$), elektriksel iletkenlik ile nitrit, nitrat, amonyum, klorür, *S. trifasciatum*, *S. auricoma* arasında ($<0,01$), çözünmüş oksijen ile *S. trifasciatum*, *S. auricoma* arasında ($<0,01$), çözünmüş oksijen ile amonyum arasında ($<0,05$), BO \bar{I}_5 ile *S. trifasciatum*, *S. auricoma* arasında ($<0,01$), BO \bar{I}_5 ile nitrat arasında ($<0,05$), nitrit ile nitrat, klorür, *S. trifasciatum*, *S. auricoma* arasında ($<0,01$), nitrit ile amonyum, *P. rufipes* arasında ($<0,05$), nitrat ile klorür, *P. rufipes*, *S. trifasciatum*, *S. auricoma* arasında ($<0,01$), amonyum ile klorür, *S. trifasciatum* arasında ($<0,01$), klorür ile *S. trifasciatum*, *S. auricoma* arasında ($<0,01$), *P. rufipes* ile *S. ornatum* arasında ($<0,01$), *P. rufipes* ile *S. variegatum* arasında ($<0,05$), *S. angustipes* ile *S. pseudoequinum* arasında ($<0,05$), *S. ornatum* ile *S. variegatum*, *S. pseudoequinum* arasında ($<0,01$) istatistik açıdan önemli farklılıklar belirlenmiştir.

TARTIŞMA ve SONUÇ

Isparta Deresi'nde Kış-2017 - Sonbahar-2017 tarihleri arasında yürütülen bu çalışmada suyun fizikokimyasal parametreleri ile Simuliidae familyasına ait bulunan türler arasındaki ilişkiler belirlenerek su kalitesi tespit edilmeye çalışılmıştır.

Yıllık su sıcaklık ortalaması 9,94°C ile 18,12°C arasında değişmiştir. En düşük su sıcaklığı kış mevsiminde 2. istasyonda (1,19°C) ölçülüken en yüksek su sıcaklığı ise yaz mevsiminde 5. istasyonda (28,94°C) ölçülmüştür. Yapılan diğer çalışmalar da benzer sonuçlar elde edilmiştir (Kalyoncu, 1996; Bernotiene, 2006; Tekin-Özan vd., 2008; Kalyoncu ve Zeybek, 2009; Çiçek, 2011; Özcan, 2016). Sıcaklık ile pH ve nitrit arasında $<0,01$ düzeyinde ayrıca sıcaklık ile elektriksel iletkenlik ve nitrat arasında $<0,05$ düzeyinde önemli farklılık belirlenmiştir.

Yıllık ortalama pH değerleri 6,9 ile 7,67 arasında değişmiştir. En düşük pH değerine 6,58 ile kış mevsiminde 2. istasyonda, en yüksek pH değerine ise 8,09 ile yaz mevsiminde 5. istasyonda rastlanmıştır. Karakaş (2018), Karpuz Çayı'nda ortalama pH değerlerini 7,94 ile 8,27 aralığında gözlemlemiştir. pH ile elektriksel iletkenlik, çözünmüş oksijen ve nitrit arasında $<0,01$ düzeyinde, pH ile amonyumla arasında $<0,05$ düzeyinde önemli farklılık bulunmuştur.

Elektriksel iletkenlik değerleri yıllık ortalamaları 189,15 $\mu\text{S}/\text{cm}$ ile 499,97 $\mu\text{S}/\text{cm}$ arasında değişiklik göstermiştir. 4. istasyonda sonbahar mevsiminde 181,1 $\mu\text{S}/\text{cm}$ ile en düşük, 5. istasyonda yaz mevsiminde 625,6 $\mu\text{S}/\text{cm}$ ile en yüksek elektriksel iletkenlik değeri ölçülmüştür. Gülcü-Gür ve Tekin-Özan (2017), Işıklı Gölü'nde yaptıkları çalışmada elektriksel iletkenliği 262,33 $\mu\text{S}/\text{cm}$ ile 385,2 $\mu\text{S}/\text{cm}$ aralığında ölçmüştür. Pearson testine göre elektriksel iletkenlik ile nitrit, nitrat, amonyum ve klorür arasında ($<0,01$) önemli farklılığa rastlanmıştır.

Yıllık ortalama çözünmüş oksijen değerleri 4,87 mg/l ile 6,75 mg/l arasında saptanmıştır. En düşük çözünmüş oksijen değeri 3. istasyonda ilkbahar mevsiminde 3,5 mg/l ölçülüken, en yüksek çözünmüş oksijen değeri 1. istasyonda ilkbahar mevsiminde 7,5 mg/l olarak ölçülmüştür. Yapılan bazı çalışmalar da benzer sonuçlara rastlanmıştır (Çiçek, 2003; İpek ve Saler, 2008; Başyigit ve Tekin-Özan, 2013; Buitrago-Guacaneme vd., 2018). Pearson testine göre çözünmüş oksijen ile diğer fizikokimyasal parametreler arasında negatif bir ilişki gözlenmiş ve çözünmüş oksijen ile amonyum arasında $<0,05$ düzeyinde önemli farklılık görülmüştür.

BO \bar{I}_5 değerlerinin yıllık en yüksek ortalaması 3,9 mg/l olarak belirlenirken en düşük ortalaması ise 0,29 mg/l olarak hesaplanmıştır. En düşük değer kış mevsiminde 2. istasyonda 0,28 mg/l, en yüksek değer ise yaz mevsiminde 6. istasyonda 4,2 mg/l olmuştur. Karakaş (2018), Karpuz Çayı (Antalya)'nda ortalama BO \bar{I}_5 değerini en düşük 0,42 mg/l, en yüksek 1,12 mg/l olarak bildirmiştir. BO \bar{I}_5 ile nitrat arasında $<0,05$ düzeyinde istatistik açıdan önemli farklılığa rastlanmıştır. BO \bar{I}_5 değerlerine göre 1., 2., 3., ve 4. istasyonların oligosaprobiik bölge, 5. ve 6. istasyonların beta-mezosaprobiik bölge olduğu belirlenmiştir.

Yapılan çalışmada yıllık ortalama amonyum azotu 0,013 mg/l ile 7,202 mg/l arasında değişmiştir. En düşük değere yaz mevsiminde 0,002 mg/l ile 1. istasyonda, en yüksek değere ilkbahar mevsiminde 11,4 mg/l ile 5. istasyonda rastlanmıştır. 5. ve 6. istasyonlarda amonyum azotu miktarının diğer istasyonlara göre çok fazla olduğu gözlenmiştir. Bunun sebebi 5. istasyon öncesinde çevrede bulunan köylerin atık sularının ve tarım arazilerinde kullanılan gübrelerin bir şekilde dereye karışması olabilir. Ay (2017), Mudurnu Nehri’nde amonyum azotu değerlerini 0,006 mg/l ile 0,74 mg/l arasında gözlemlemiştir. Amonyum ile klorür arasında ($<0,01$) istatistikî açıdan önemli farklılık bulunmuştur.

Yıllık ortalama nitrit miktarı 0,035 mg/l ile 4,168 mg/l arasında değişiklik göstermiştir. Nitrit azotu en az (0,025 mg/l) 4. istasyonda ilkbahar mevsiminde, en çok (11,8 mg/l) 5. istasyonda yaz mevsiminde bulunmuştur. Özellikle yaz mevsiminde 5. istasyonda olan aşırı nitrit yükselmesi 6. istasyonda da gözlenmiş ve sonbahar mevsiminde de etkisini devam ettirmiştir. Bu artışın sebebi, 5. istasyondan önce bulunan köylerin lağım sularının bu dereye karışması olabilir. Verep vd. (2017), Derepazarı Deresi (Rize’de nitrit değerlerini 0,002 mg/l ile 0,02 mg/l arasında saptamışlardır. Nitritin, nitrat ve klorürle arasında $<0,01$ düzeyinde, amonyumla arasında $<0,05$ düzeyinde önemli istatistikî farklılık görülmüştür.

Bu çalışmada yıllık ortalama nitrat azotu değerleri 1,405 mg/l ile 10,530 mg/l arasında değişmiştir. En düşük değere sonbahar mevsiminde 0,99 mg/l ile 3. istasyonda, en yüksek değere yine sonbahar mevsiminde 16,8 mg/l ile 6. istasyonda rastlanmıştır. Erdoğan ve Ertan (2016), Köprüçay Nehri’nde nitrat değerlerini 0,04 mg/l ile 1,24 mg/l arasında bulmuşlardır. Nitrat miktarının 5. ve 6. istasyonda yazın ve sonbaharda ölçüde arttığı görülmüştür. Chapman ve Kimstach (1996)’e göre sularındaki nitrat azotunun 5 mg/l’nin üzerinde olması tarımsal etkinliklerden ya da evsel atıklardan kaynaklanmaktadır. 5. ve 6. istasyondaki artış buna bağlanabilir. Nitrat ile klorür arasında ($<0,01$) önemli istatistikî farklılığa rastlanmıştır.

Klorür iyonunun yıllık ortalamasının 8,4 mg/l ile 65,697 mg/l arasında olduğu gözlenmiştir. En düşük klorür iyonuna 1. istasyonda (4,23 mg/l) yaz mevsiminde, en yüksek klorür iyonuna 6. istasyonda (71 mg/l) kiş mevsiminde rastlanmıştır. Özén (2018), Ulupınar Çayı’nda yaptığı çalışmada klorür değerlerini en az 5,15 mg/l ve en çok 19,95 mg/l olarak belirlemiştir.

Bu çalışmada Simuliidae familyasına ait Simuliinae alt familyasından *Prosimulium*, *Metacnephia* ve *Simulium* cinslerine rastlanmıştır. Ayrıca *Simulium* cinsine ait *Eusimulium*, *Nevermannia*, *Simulium*, *Trichodagmia*, *Wilhelmia* altcinsleri tespit edilmiştir.

Bu çalışmada *Metacnephia* sp., kiş ve ilkbahar mevsiminde görülürken diğer mevsimlerde bu taksona rastlanmamıştır. *Simulium* sp.’ye dört mevsimde de rastlanmıştır. Genel baskınlık bakımından en baskın taksondur. Belirlenen bütün *Simulium* sp. bireyleri genç larva niteliğindedir. *Simulium angustipes* türü yaz mevsimi hariç tüm mevsimlerde gözlenmiştir. Bu türe en fazla sonbahar mevsiminde rastlanmıştır. Sonbaharda 4. istasyon haricinde her istasyonda görülmüştür. Bu türe yoğun olarak beta-mezosaprobiik bölgelerde rastlanılmasının yanı sıra bu tür alfa-mezosaprobiik ve oligosaprobiik bölgelerde görülebilmiştir (Car vd., 1995). Bu çalışmada bu türün bulunduğu istasyonların beta-mezosaprobiik ve oligosaprobiik özelliklere sahip olduğu görülmüştür. *Simulium auricoma* türü sadece kiş mevsiminde 2. ve 3. istasyonda görülmüştür. Scheder (2004)’e göre bu tür genellikle hızlı akıntılı, yüksek bölgelerde yer alan soğuk dağ sularında bulunmaktadır. Ksenosaprobiik ve beta-mezosaprobiik ortamlarda bulunabilen bu tür genellikle oligosaprobiik bölgeleri tercih etmektedir (Car vd., 1995). Bu çalışmada da bu türün bulunduğu dere hızlı akıntıdır ve oligosaprobiik bölgelerde rastlanmıştır. *Simulium bezzii*, sadece kiş mevsiminde ve 3. istasyonda tespit edilmiştir. Seitz (1994), bu türün hızlı akan sularda 2000 metre yüksekliğe kadar bulunabileceğini bildirmiştir. Beta-mezosaprobiik ve oligosaprobiik bölgeler bu türün sıklıkla bulunduğu bölgelerdir (CSN, 1998). Bu çalışmada da bu türe oligosaprobiik bölgede rastlanmıştır. *Simulium costatum* türü sadece ilkbahar mevsiminde 3. istasyonda görülmüş olup sadece 1 tane bireye rastlanmıştır. Başören (2015), yaptığı çalışmada bu türe ait alfa-mezosaprobiik bölgede yaşayan 1 bireye rastlamış ve yaşaması için uygun olan habitat koşullarının dönemsel olarak değişmesinden dolayı türün bölgeyi terk etmek zorunda kalmış olabileceğini bildirmiştir. Bu çalışmada da bu türe ait tek bireye rastlanmasının sebebi bu olabilir. *Simulium ornatum*, yaz mevsimi dışında her mevsimde bulunmuştur. *S. ornatum* larvalarının yoğunluğu için en önemli faktör pH’tır. Düşük pH’ta küçük ve temiz sularda sıklıkla bulunur. (Bernotiene, 2006). Bu çalışmada da *S. ornatum*’un rastlandığı istasyonlardaki pH değeri düşüktür. *Simulium pseudequinum*, her mevsim rastlanan bir tür olmuştur. Yaz ve sonbahar mevsiminde en baskın ikinci tür, kiş ve ilkbahar mevsiminde en baskın üçüncü türdür. Yüksek sıcaklıkta bile hayatı kalabilen bu türe genellikle akıntısı yavaş sularda rastlanır (Car vd., 1995; Kazancı, 2006). 5. ve 6. istasyonlarda yaz mevsiminde görülmlesi de bu

bilgiyi desteklemektedir. En fazla beta-mezosaprobičk bölgelerde görülen bu türde nadiren de olsa alfa-mezosaprobičk bölgelerde rastlanır (Car vd., 1995). Bu çalışmada *S. pseudequinum* türünün tüm mevsimlerde beta-mezosaprobičk özelliklere uygun bölgelerde gözlemlenmesinin yanısıra sonbahar mevsiminde az birey sayısında oligosaprobičk bölgede de belirlenmiştir. Bu sonuca göre bu türün oligosaprobičk bölgelere de uyum sağlayabildiği görülmüştür. *Simulium trifasciatum*, yaz ve sonbaharda belirlenmemiştir. Kış mevsiminde sadece 3. istasyonda, ilkbaharda ise sadece 2. istasyonda tespit edilebilmiştir. Bernotiene (2006), yaptığı çalışmada *S. trifasciatum* larvalarının düşük organik kirliliğe sahip nehirleri ve yumuşak sertlikteki suları tercih ettiği sonucuna varmıştır. Bu tür genellikle beta-mezosaprobičk ve oligosaprobičk bölgeleri tercih etmektedir (Car vd., 1995). Başören (2015), çalışmاسında bu tür ait bir bireyin alfa-mezosaprobičk bölgede yaşadığıını görmüştür. Bu çalışmada ise bu tür oligosaprobičk bölgelerde rastlanmıştır. *Simulium variegatum* türüne kişi ve ilkbahar mevsiminde rastlanırken, diğer mevsimlerde görülmemiştir. Bu türün larva ve pupalarına genellikle dağlık ve dağlık alanların alt kısımlarındaki dereeler ile orta genişlikteki nehirlerde ve bitkilerin üzerinde rastlanır. Hızlı akıntıya sahip soğuk ve oksijen zengin dağ sularında yaşarlar (Rubtsov, 1990). Bu tür en fazla oligosaprobičk bölgelerde rastlanır. Ancak beta-mezosaprobičk bölgelerde ve nadiren de olsa alfa-mezosaprobičk ve ksenosaprobičk bölgelerde de görülebilir (Car vd., 1995). Bu çalışmada bu tür genellikle oligosaprobičk bölgelerde rastlanırken beta-mezosaprobičk bölgede de 1 bireyine ulaşılmıştır. *Prosimulium* sp. yalnızca ilkbahar mevsiminde 3. istasyonda görülmüştür. İlkbahar mevsiminin bu istasyonunun en baskın taksonu olmuştur. *Prosimulium rufipes* türü sadece ilkbahar mevsiminde tespit edilmiştir. Genellikle bu tür, akarsuların yukarı bölgelerinde hızlı akan sularda görülmektedir (Illéšová vd., 2008). En sık bulunduğu ortam oligosaprobičk bölgelerdir. Beta-mezosaprobičk ve ksenosaprobičk bölgelerde de nadiren bulunur (Car vd., 1995). Bu çalışmada da bu tür oligosaprobičk bölgelerde rastlanarak bu bilgilerle uyumlu olduğu görülmüştür.

Bu çalışma sonucunda, Isparta Deresi'nin Karacaoren Baraj Gölü'ne yoğun bir kirlilik yükü taşıdığı kanısına varılmıştır. Bu durumun engellenmesine yardımcı olacak çalışmaların yapılması gerektiği düşünülmektedir.

Teşekkür: Bu çalışma Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi Başkanlığı (Proje no: 4827-YL1-16) tarafından desteklenmiştir. Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi Başkanlığına teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

- Adler, P. H., & Şirin, Ü. D. (2014). Cytotaxonomy of the Prosimulium (Diptera: Simuliidae) of Western Asia. *Zoological Journal of the Linnean Society*, 171(4), 753-768.
- Ay, S. (2017). Mudurnu Nehri'nde Su Kalitesinin Kimyasal Parametrelerle Belirlenmesi. Sakarya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 138s, Sakarya.
- Başören, Ö. (2015). Doğu Karadeniz Bölgesi Simuliidae (Insecta, Diptera) Faunasının ve Türlerin Habitat Kalitelerinin Avrupa Birliği Su Çerçeve Direktifi'ne Göre Belirlenmesi Üzerine Bir Araştırma. Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 190s, Ankara.
- Başıyigit, B., & Tekin-Özan, S. (2013). Concentrations of Some Heavy Metals in Water, Sediment, and Tissues of Pikeperch (Sander lucioperca) from Karataş Lake Related to Physico-Chemical Parameters, Fish Size and Seasons. *Polish Journal of Environmental Studies*, 22(3), 633-644.
- Bernotiene, R. (2006). On The Distribution of Black Fly Larvae in Small Lowland Rivers in Lithuania. *Acta Entomologica Serbica*, 11, 115-125.
- Buitrago-Guacaneme, A., Sotelo-Londoño, A., Pinilla-Agudelo, G. A., García-García, A., Moncada, L. I., & Adler, P. H. (2018). Abundance and Diversity of Black Flies (Diptera: Simuliidae) in Rivers of the Andean Eastern Hills of Bogotá (Colombia), and Its Relationship with Water Stream Physicochemical Variables. *Universitas Scientiarum*, 23(2), 291-317.
- Campbell, N., & Reece, J.B. (2010). *Biyoloji*. Çev. Gündüz E., Demirsoy A., Türkân İ. Palme Yayıncılık, 1247s, Ankara.
- Car, M., Mohrig, W., Moog, O., Oosterbroek, P., Reusch, H., Wagner, R., & Zwick, P. (1995). *Diptera (Except Chironomidae)(Authors Depending on Family)*. Fauna Aquatica Austriaca, Lieferungen, 2002p, Wien.
- Chapman, D., & Kimstach, V. (1996). *Selection of Water Quality Variables. In: Water Quality Assessments - A Guide Touse of Biota, Sediment Sand Water İn Environmental Monitoring*. (Chapman, D.) University Press, 651p, Cambridge.
- Crosskey, R. W. (1990). *The Natural History of Blackflies*. John Wiley and Sons, 771s, Chichester.

- Crosskey, R. W., & Zwick, H. (2007). New Faunal Records, with Taxonomic Annotations, for the Blackflies of Turkey (Diptera, Simuliidae). *Aquatic Insects*, 29(1), 21-48.
- CSN, 75 7716, (1998). Water quality, biological analysis, determination of saprobic index. Czech Technical State Standard, Prague.
- Çiçek, N. L. (2003). Darıören ve Isparta Derelerinin Epilitik Algeleri ve Su Kalitesi Üzerine Bir Araştırma. Selçuk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 124s, Konya.
- Çiçek, N. L. (2011). Köprüçay Nehri (Antalya) Su Kalitesinin Fizikokimyasal Değerlere Ve Bentik Algeler Göre Belirlenmesi. Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 173s, Isparta.
- Demirsoy, A. (2006). *Yaşamın Temel Kuralları Entomoloji Cilt II/Kısım II*. Meteksan A.Ş., 941s, Ankara.
- Donald, A. E., & Blessing, U. A., (2019). Index Approach to Water Quality Assessment of a South Eastern Nigerian River. *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies*, 7(1), 153-159.
- Erdoğan, Ö., & Ertan, Ö. O. (2016). Köprüçay Nehri Nehirağzı Bölgesinin Bazı Su Kalitesi Parametrelerinin İncelenmesi. *Yalvaç Akademi Dergisi*, 1(1), 58-66.
- Gülçü-Gür, B., & Tekin-Özan, S. (2017). The Investigation of Heavy Metal Levels in Water and Sediment from Işıklı Lake (Turkey) in Relation to Seasons and Physico-Chemical Parameters. *Journal of Aquaculture Engineering and Fisheries Research*, 3(2), 87-96.
- Illéšová, D., Halgoš, J., & Krno, I. J. (2008). Blackfly Assemblages (Diptera, Simuliidae) of the Carpathian River: Habitat Characteristics, Longitudinal Zonation and Eutrophication. *Hydrobiologia*, 598(1), 163-174.
- İpek, N., & Saler, S. (2008). Seli Çayı (Elazığ-Türkiye) Rotifer Faunası ve Bazı Biyoçeşitlilik İndeksleri ile Analizi. *Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi*, 25(3), 211-215.
- Kalyoncu, H. (1996). Isparta Çayı Algeleri Üzerine Bir Araştırma. Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 110s, Isparta.
- Kalyoncu, H., & Zeybek, M. (2009). Ağlasun ve Isparta Derelerinin Bentik Faunası ve Su Kalitesinin Fizikokimyasal Parametrelerle ve Belçika Biyotik İndeksine Göre Belirlenmesi. *Biyoloji Bilimleri Araştırma Dergisi*, 2(1), 41-48.
- Kalyoncu, H., & Zeybek, M. (2011). An Application Of Different Biotic And Diversity Indices For Assessing Water Quality: A Case Study In The Rivers Çukurca And Isparta (Turkey). *African Journal Agricultural Research*, 6(1), 19-27.
- Karakaş, B. (2018). Karpuz Çayı'ının Trichoptera Faunası ve Su Kalitesi ile İlişkisi. Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 110s, Isparta.
- Kazancı, N. (2006). Ordination of Simuliidae and Climate Change Impact. *Acta Entomologica Serbica*, 771(560), 69-76.
- Kocataş, A. (2014). *Ekoloji ve Çevre Biyolojisi* (13. Baskı), Dora Yayıncılık, 597s, Bursa.
- Krebs, C. J. (1989). *Ecological Methodology*. Harper Collins Publishers, 654p, New York.
- Margalef, R. (1957). La Teoria de la Informacion en Ecología. *Memorias de la Real Academia de Ciencias y Artes de Barcelona*, 32(13), Barcelona.
- Mutlu, E., Kutlu, B., Demir, T., & Yanık, T. (2018). Assessment of Metal Concentrations and Physicochemical Parameters in the Waters of Lake Tecer. Kastamonu Üniversitesi, *Orman Fakültesi Dergisi*, 18(1), 1-10.
- Özan, C. (2016). Isparta Deresi'nin Su ve Sedimentindeki Ağır Metal Birikiminin İncelenmesi. Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 75s, Isparta.
- Özen, A. (2018). Ulupınar Çayı (Antalya)'nın Trichoptera Faunası ve Su Kalitesi ile İlişkisi Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 107s, Isparta.
- Rubtsov, I. A. (1990). *Blackflies (Simuliidae)* (Second Edition), Volume 6, Part 6. E. J. Brill Publishing Company, 1042p, Leiden.
- Scheder, C. (2004). The National Park Kalkalpen as a Refuge Area for Rare Species : *Simulium (Obuchovia) auricoma* – Recorded for the First Time in Upper Austria. *Acta Zoologica Universitatis Comenianae*, 45(1), 31-37.
- Seitz, G. (1994). Neue und Bemerkenswerte Kriebelmückenfunde (Diptera: Simuliidae) fur die Deutsche Fauna. *Lauterbornia*, 15, 101-109.
- Şenel, M. S. (2017). Antalya Boğazı'nda Kirlilik Düzeyi ve Su Kalitesinin Belirlenmesi. Akdeniz Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 72s, Antalya.
- Şirin, Ü. D. (2001). Yukarı Sakarya Nehir Sistemi Simuliidae Faunasının Tespiti. Osmangazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 136s, Eskişehir.
- Tekin-Özan, S., Kır, I., Ayvaz, Y., & Barlas, M. (2008). Influence of Seasons on Heavy Metal Levels in Carp (*Cyprinus carpio* L.) Tissues from Kovada Lake (Turkey). *Advances in Food Sciences*, 30(3), 140-144.
- Tongjura, J. D. C., Amuga, G. A., Mafuyai, H. B., Matur, B. M., & Olatunwa, J. O. (2015). Influence of Some Water Physicochemical Parameters on the Distribution of Black Fly (Diptera, Simuliidae) in Some Rivers in Nasarawa State, Nigeria. *Advances in Entomology*, 3, 101-110.

- Verep, B., Mutlu, T., Çakır, V., & Aydin, G. (2017). Derepazari Deresinin (Rize-TÜRKİYE) Fiziko-Kimyasal Su Kalitesinin Belirlenmesi ve Bazı Su Kalite Standartlarına Göre Değerlendirilmesi. *Anadolu Çevre ve Hayvancılık Bilimleri Dergisi*, 2(1), 19-22.
- Vijayan, S., & Anbalagan, S. (2018). Assemblage Pattern and Seasonality of Larval Black Flies (Simuliidae: Diptera) in a Stream of Southern Eastern Ghats. *International Journal of Current Trends in Science and Technology*, 8(3), 20187-20196.
- YSKY, (2016). Yerüstü Su Kalitesi Yönetmeliğinde Değişiklik Yapılmasına Dair Yönetmelik. Resmi Gazete, Sayı: 29797, Tarih: 10.08.2016, Ankara
- Zeybek, M. (2017). Macroinvertebrate-based biotic indices for evaluating the water quality of Kargı Stream (Antalya, Turkey). *Turkish Journal of Zoology*, 41(3), 476-486. doi: 10.3906/zoo-1602-10

Abant Gölü’nde Biyolojik Kalite Elementlerinden Sucul Makrofitler**Tolga COŞKUN*** **Ayşe Nilsun DEMİR**

Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Su Ürünleri Mühendisliği Bölümü Dışkapı, Ankara, Türkiye

*Sorumlu yazar: tolga.coskun@yahoo.com.tr

Araştırma Makalesi

Geliş 30 Nisan 2019; Kabul 11 Haziran 2019; Basım 15 Aralık 2019.

Alıntılama: Coşkun, T., & Demir, N. (2019). Abant Gölü’nde biyolojik kalite elementlerinden sucul makrofitler *Acta Aquatica Turcica*, 15(4), 499-506. <https://doi.org/10.22392/actaquatr.559270>**Özet**

Bu çalışmada, Abant Gölü’nde biyolojik kalite unsurlarından sucul makrofitlere göre ekolojik kalitenin tahmin edilmesi amaçlanmıştır. Makrofitler, 6 istasyonda Nisan, Haziran, Eylül ve Aralık 2015 tarihlerinde incelenmiştir. Gölün litorali kısmen *Phragmites australis* (Cav.) Trin. ex Steud, *Schoenoplectus lacustris* L. Palla türlerinin oluşturduğu bir kemer ile çevrilidir. Yüzen yapraklı makrofitlerden *Nuphar lutea* L. Sm. ve *Nymphaea alba* L. komüniteleri bulunmaktadır. Ayrıca gölde *Potamogeton natans* L., *Myriophyllum spicatum* L., *Lemna minor* L., *Juncus articulatus* L. ve *M. verticillatum* L. türleri belirlenmiştir. Gölde *P. australis*, *S. lacustris*, *N. lutea* ve *N. alba* türlerinin dağılımı yaz ve sonbahar dönemlerinde artış göstermiştir. PCA analizine göre makrofit bolluğu, su sıcaklığı, çözünmüş oksijen, iletkenlik, alkalinitet, pH, askida katı madde, ortofosfat ve toplam fosfor derişimi ile ilişkili olduğu belirlenmiştir. Abant Gölü’nde makrofit indeksi 2,85 Referans İndekse göre hesaplanan Ekolojik Kalite Oranı ise 0,52 olarak belirlenmiştir. Buna göre Abant Gölü’nde ekolojik kalitenin **iyi** ve besin zenginleşmesinin orta düzeyde olduğu tahmin edilmiştir.

Anahtar kelimeler: Ekolojik kalite, Su Çerçeve Direktifi, Makrofit İndeksi**Aquatic Macrophytes as a Biological Quality Element in Lake Abant****Abstract**

In this study, it was aimed to estimate ecological status of the Lake Abant by using aquatic macrophytes which are one of the biological quality elements,. Macrophytes were investigated in April, June, September and December 2015 at six stations. The littoral region of the lake was surrounded partially by the reed belt of *Phragmites australis* (Cav.) Trin. ex Steud and *Schoenoplectus lacustris* L. Palla. There were floating-leaved macrophyte communities such as *Nuphar lutea* L. Sm. and *Nymphaea alba* L. in the lake. *Potamogeton natans* L., *Myriophyllum spicatum* L., *Lemna minor* L., *Juncus articulatus* L. and *M. verticillatum* L. were also identified. The abundance of *P. australis*, *S. lacustris*, *N. lutea* and *N. alba* increased during summer and autumn. The abundance of macrophytes were related with water temperature, dissolved oxygen, conductivity, alkalinity, pH, suspended solids, orthophosphate and total phosphorus concentration according to PCA. Macrophyte index and ecological quality ratio calculated from Reference Index were found as 2.85 and 0.52 respectively. The ecological quality was estimated as good while the degree of nutrient enrichment was moderate in Lake Abant.

Keywords: Ecological quality, Water Framework Directive, Macrophyte Index**GİRİŞ**

Makrofitler, sucul ekosistemde bir denge unsurudur. Sucul makrofitler, canlıların beslenmesi ve barınması sağlar, balıkların yumurtlama alanlarını oluştururlar. Sucul ortamın sürdürülebilir kullanımı, yönetimi ve restorasyonu açısından su bitkilerinin önemi büyektür. Makrofitlerin tatlı su ve deniz ekosistemlerinde varlığı; su kalitesinin iyileştirilmesinde, bulanıklık ve sedimentin karışımının önlenmesinde temel görev sahiptir (Madson vd., 2001). Ancak su bitkilerinin bazı dezavantajları da bulunmaktadır. Aşırı çoğaldıklarında ölme ve çürümeleri sonucu su ünitelerinde organik madde artışına yol açarlar, parçalandıklarında veya gece solunumla oksijen tüketirler ve çözünmüş oksijenin azalmasına neden olurlar. Su yüzeyini kaplayarak ışığın geçişini azaltır, alg fotosentezini sınırlayabilirler. İç sularda aşırı çoğalan su bitkileri sulama kanalları, toprak balık havuzları, içme su kaynakları, göl, akarsu ve göletlerde sorunlar oluştururlar, balık yetiştirciliği, avcılığı yansır rekreatif açıdan da problem oluşturabilirler (Atay, 1984).

Bu bitkilerin aşırı gelişmeleri su kütlelerinin kullanımlarını sınırlayabilir veya bozabilir (Cooke vd., 1993). Zayıf tamponlanmış sularda sucul bitkiler, gün içinde önemli bir pH değişimine neden olabilirler. Bu da ortamdaki organizmaları olumsuz yönde etkileyebilir (Cirik vd., 2007). Göllerin ekolojik durumunun izlenmesinde temel biyolojik elementlerden birisi sucul makrofitlerdir. Makrofitler nutrientler, tuzluluk, metaller, herbisitler, kirlenticiler, ışık, bulanıklık ve su seviyesi değişimleri gibi etkenlere karşı, kompozisyonu ve yoğunluğu yönünden yanıt vermesinden dolayı su kütlelerinin genel ekolojik durumunun belirlenmesi ve/veya incelenmesinde kullanılan iyi indikatörlerdir (Directive, 2003; Haury vd., 2006; Bakır, 2015). Ayrıca, su kalitesini ve canlı kompozisyonunu doğrudan etkiler (Birk vd., 2006). Göllerin kıyı bölgelerindeki sucul makrofitler değişen besin konsantrasyonlarına bakteri ve mikroalgerin aksine, yavaş yavaş ve/veya kademeli olarak birkaç yıl süreyle tepki göstermektedirler. Bu nedenle, uzun vadeli göstergeler olarak kullanılabilirler (Drake ve Heaney, 1987; Dave, 1992; Melzer, 1999).

Avrupa Birliği’nde, su kirliliğini azaltmak ve sürdürülebilir kullanımını sağlamak için 23 Ekim 2000 tarihli ve 2000/60/EC sayılı Su Çerçeve Direktifi (SCD) yürürlüğe girmiştir. SCD’ne göre, ekolojik kalite indikatörü olarak sucul organizmaların (fitoplankton, fitobentoz, makrofitler, makroomurgasızlar ve balık) kullanılması gerekmektedir (Directive, 2000). Türkiye’de yüzey sularının izlenmesine yönelik mevzuat direktife göre uyumlandırılmaktadır. Özellikle sığ göllerde ve/veya litorali geniş, bitkice zengin derin göllerde makrofitler önemli bir kalite elementi olarak izlenmelidir.

Akarsu ve göllerde sucul makrofitler, çevresel etkiler ve ötrofikasyonun izlenmesinde indikatör olarak kullanılmakta ve çeşitli ülkelerde makrofitlere yönelik izleme programları geliştirilmektedir (Birk vd., 2006). Bu kapsamında ekolojik kalitesinin belirlenmesinde uygulanan birçok makrofit indeksi bulunurken, indekslerin hesaplanması tür kompozisyonu ve bulunuş yoğunlıklarına göre yapılmaktadır (Søndergaard vd., 2010; Portielje vd., 2014; Poikane vd., 2015). En yaygın olanları; Referans Indeks (RI), LEAFPACS ve Makrofit Ekolojik Durum İndeksidir (ESMI) (Willby vd., 2009; Portielje vd., 2014; Ciecińska ve Kolada, 2014).

Abant Gölü’nde Karakaya vd. (2015) tarafından göl metabolizması, Atıcı ve Tokatlı (2014) tarafından gölün su kalitesi ve Algal Species Pollution (ASPI) indeksine göre değerlendirilmesi, Doğan ve Kızılıkaya (2010) ve Karakaya vd. (2011) tarafından su kirliliği göstergeleri, Obalı vd. (2002), Atıcı vd. (2005), Çelekli ve Kulköyoglu (2006), Çelekli vd. (2007) tarafından fitoplankton komünitesi, Duman (2005) tarafından sucul makrofitlerdeki ağır metal derişimleri, Kulköylüoğlu vd. (2005) tarafından su kalitesi ve alg potansiyelinin karşılaştırılması, Kulköylüoğlu vd. (2003) ve Dügel vd. (2008) tarafından ostracod çeşitliliği ve gölün trofik durumu, Atıcı ve Obalı (2002) tarafından fitoplanktonun mevsimsel değişimi ve klorofil *a* derişimi ve Altındağ (1999) tarafından rotifer faunasının araştırılması gibi su kalitesi, fitoplankton, makrofit, zooplankton ve limnolojik özelliklerini üzerine çok sayıda araştırma bulunmaktadır. Gölün sucul makrofitleri Seçmen ve Leblebici (1997) tarafından bildirilmiştir. Ayrıca, Türkler ve Güner (2003), Abant Tabiat Parkının damarlı bitki florasını araştırmış, 84 familyaya ait 332 cins, 664 tür tespit etmişlerdir. Göl, ötrofikasyon açısından Hassas Alan ilan edilmiştir (Anonim, 2015).

Abant Gölü ve çevresi bir Tabiat parkıdır. Bu nedenle gölde ekolojik kalitenin izlenmesi büyük önem taşımaktadır. Bu araştırmada, Abant Gölü’nde sucul makrofitler ile ekolojik durumun tahmin edilmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL ve YÖNTEM

Batı Karadeniz bölgesinde Bolu İlinin 30 km Güneybatısında bulunan Abant Gölü oluşum bakımından bir heyelan set gölüdür. Göl, deniz seviyesinden 1345 m yükseklikte bulunmaktadır, maksimum derinliği 18 m ve yüzey alanı 125 ha'dır. Abant Gölü, 9 Ağustos 1983 tarih ve 2873 sayılı Milli Parklar Kanunu'nun 23. maddesinin II. fıkrası ile 21 Ekim 1988'de koruma altına alınarak 'Tabiat Parkı' olarak ilan edilmiştir (Atıcı ve Obalı, 2002; Müderrisoğlu vd., 2005).

Bu araştırmada, makrofit türlerinin dağılımı Nisan, Haziran, Eylül ve Aralık 2015 tarihlerinde gölün litoral bölgesinde seçilen 6 istasyonda incelenmiştir (Şekil 1). Örneklemeye noktalarında su sıcaklığı, çözünmüş oksijen, pH, elektriksel iletkenlik YSI-Proplus marka multiparametre cihazıyla belirlenirken, toplam fosfor, ortofosfat, alkalinité ve askıda katı maddenin hesaplanmasında APHA (1995) tarafından belirtilen yöntemler kullanılmıştır.



Şekil 1. Abant Gölü ve istasyonlar

İstasyonlardaki makrofit yoğunluğu üç transekt üzerinde kıyıdan derine doğru botun iki tarafından belirlenmiştir. Makrofit örnekleri sığ noktalarda tırmık, derin noktalarda Ekman grab ile alınmıştır (TS EN 15460; Westlake, 1986). Makrofitler; Casper ve Krausch (1980; 1981), Davis (1965-1985), Davis vd. (1988), Seçmen ve Leblebici (1997), Güner vd. (2012)'ye göre teşhis edilmiştir. Teşhiste bitkinin tam ve eksiksiz olmasına, kök-gövde-yaprak ve çiçek-tohum-meyve gibi karakteristik ve ayırt edici kısımlarına dikkat edilmiştir.

Seçilen transektler üzerinde türlerin bulunduğu 1-5 arasında değişen (1=çok nadir, 2=nadir, 3=yaygın, 4=sık, 5=baskın) Kohler (1978) skalasına göre değerlendirilmiştir. Değerler, ($y=x^3$) eşitliği kullanılarak niceliksel değerlere dönüştürülmüştür (Melzer, 1999). Abant Gölü'nde ekolojik kalitenin tahmininde Makrofit İndeksi (MI) ve Referans indeksi (RI) kullanılmıştır (Melzer, 1999; Stelzer, 2003). Referans indeks değerlerinden Stelzer (2003) ve Portielje vd. (2014)'ne göre Ekolojik Kalite Oranı (EKO) belirlenmiştir. Makrofitlere yönelik olarak EKO'da sınır değerleri 0 ile 1 arasında değişirken, 0 en kötü ve 1 en iyi durumu belirtmektedir. Gölde maksimum kolonizasyon derinliği Sondergaard vd. (2005)'ne göre değerlendirilmiştir.

Cevresel parametreler ile makrofit bolluğu arasındaki ilişkinin belirlenmesi için Temel Bileşen Analizi (PCA) kovaryans matrisine göre XLSTAT programında uygulanmıştır. Burada, çevresel parametreler ile makrofit türlerine ait bolluk değerleri arasındaki standartizasyonun sağlanması ve veri aralığının yakın tutulması için logaritmik ($\log X+1$) transformasyon modeli kullanılmıştır (Ter Braak, 1988).

BULGULAR

Abant Gölü'nde sucul makrofitlerden; *Juncus articulatus* L. (Camışotu), *Lemna minor* L. (Su mercimeği), *Phragmites australis* (Cav.) Trin. ex Steud (Kamış), *Schoenoplectus lacustris* L. Palla (Semerotu), *Nuphar lutea* L. Sm. (Sarı Nilüfer), *Nymphaea alba* L. (Nilüfer), *Potamogeton natans* L. (Suotu), *Myriophyllum spicatum* L. (Sucivanperçemi) ve *M. verticillatum* L. (Halkalı sucivanperçemi) türleri teşhis edilmiştir. Göldeki makrofit türlerinin dağılımları örnekleme dönemlerine göre incelendiğinde; Haziran ve Eylül döneminde Kuzey, Batı ve Doğu kesiminde, *P. australis*, *S. lacustris*, *N. lutea* ve *N. alba* ve Güney kesiminde ise *P. australis*, *S. lacustris* ve *N. lutea* türlerinin yoğunluğunun arttığı tespit edilmiştir. *P. australis* ve *S. lacustris* türlerinin yer yer oluşturduğu kemerlerin gölü çevrelediği belirlenmiştir. Ayrıca, *M. verticillatum* ve *J. articulatus* türlerinin istasyonlarda bulunmuş yoğunlıklarının çok düşük olduğu saptanmıştır.

Araştırmada, ortalama su sıcaklığı $11,49 \pm 6,47^{\circ}\text{C}$, çözünmüş oksijen $8,84 \pm 1,96 \text{ mg/L}$, pH $7,99 \pm 0,19$, iletkenlik $269,60 \pm 9,20 \mu\text{S/cm}$, toplam fosfor $0,0266 \pm 0,0175 \text{ mg/L}$, ortofosfat $0,0029 \pm 0,0013 \text{ mg/L}$, alkalinité $158,04 \pm 18,36 \text{ mg/L}$ ve askıda katı madde $1,73 \pm 0,88 \text{ mg/L}$ olarak belirlenmiştir. Buna ek olarak, gölde sucul makrofitlerin maksimum kolonizasyon derinliğinin 5,1 m olduğu saptanmıştır.

Abant Gölü'ndeki türlerinin bolluk değerlerinden MI indeksi 2,85 olarak hesaplanmıştır. Bu da gölün besin tuzları bakımından **orta** düzeyde zenginleşmiş olduğunu göstermektedir (Tablo 1). MI, Nisan örneklemesinde hava şartlarının uygun olmayışından dolayı hesaplanamamıştır. Haziran ve Eylül dönemlerinde özellikle *L. minor*, *N. lutea*, *N. alba*, *P. natans* ve *S. lacustris* türlerinin yoğunluğunun artış göstermesi indeks sonucunda etkili olmuştur. Ayrıca, bu türlerin artışının ötrofikasyon göstergesi olması nedeniyle gölün besin maddeleri açısından etkilendiği söylenebilir.

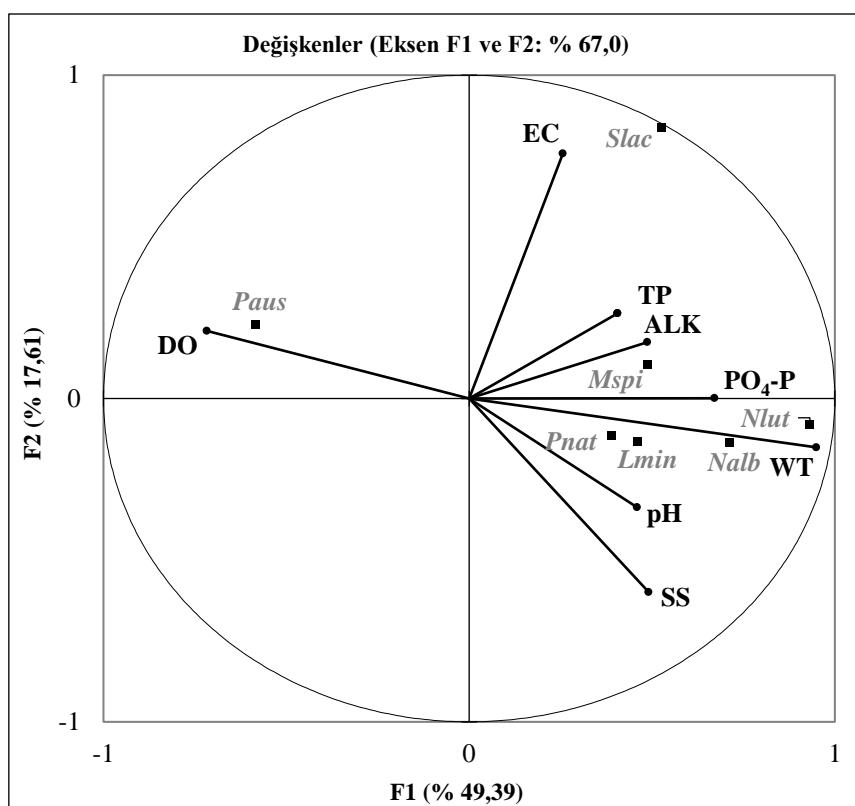
Abant Gölü'nün ekolojik durumunun belirlenmesinde Almanya'da uygulanan Referans indeksi (RI) kullanılmıştır. Gölün RI değerinin ortalama 4,49 olduğu belirlenirken, RI indeksinden elde edilen sonuçlara göre gölün EKO 0,52 olarak hesaplanmış ve ekolojik durumun **iyi** olduğu tahmin edilmiştir (Tablo 1).

Tablo 1. Abant Gölü'nde hesaplanan Makrofit İndeksi (MI) ve Referans İndeksine göre hesaplanan Ekolojik Kalite Oranı (EKO)

İndeksler	Skala	Nisan	Haziran	Eylül	Aralık	Ortalama
MI (Besin Düzeyi)	1,00 (Düşük) – 5,00 (Yüksek)	-	2,79 (Orta)	2,76 (Orta)	3,00 (Zengin)	2,85 (Orta)
EKO (Ekolojik Durum)	0 (Çok Kötü) – 1 (Çok İyi)	-	0,53 (İyi)	0,52 (İyi)	0,50 (Orta)	0,52 (İyi)

Abant Gölü'nde tespit edilen türlere ilişkin bolluk değerlerinin lineer modele uygun olduğu Eğimsiz Uyum Analizi (DCA)'nde tespit edilmiştir. Elde edilen bu sonuca göre göldeki makrofit türlerine ait bolluk değerleri ile çevresel parametreler arasındaki ilişkinin belirlenmesi için Temel Bileşen Analizi (PCA) uygulanmıştır. PCA analizi sonucunda, toplam varyasyon %67,0 olarak hesaplanırken, ilk eksenin toplam varyasyonun %49,39'unu açıkladığı ve ikinci eksende ise %17,61 olduğu belirlenmiştir (Şekil 2).

PCA analizine göre çözünmüş oksijen derişiminin sadece *P. australis* türü ile ilişkili olduğu görülmüşken, askıda katı madde, ortofosfat, pH ve su sıcaklığının *L. minor*, *N. lutea*, *N. alba* ve *P. natans* dağılımıyla ilişkili olduğu belirlenmiştir. Buna ek olarak, *M. spicatum* ve *S. lacustris* türlerinin dağılımı üzerinde elektriksel iletkenlik, alkalinité ve toplam fosforun etkili olduğu görülmektedir. Ayrıca çevresel parametrelerden askıda katı madde, su sıcaklığı, pH ve ortofosfat derişiminin çözünmüş oksijen ile negatif yönde ilişkili olduğu saptanırken, türlerin büyük kısmının besin derişimiyle pozitif yönde ilişkili olduğu belirlenmiştir.



Şekil 2. Abant Gölü’nde, çevresel parametreler ve makrofit bolluğu ilişkini PCA grafiği
WT: Su Sıcaklığı, **ALK:** Alkalinité, **EC:** Elektriksel İletkenlik, **TP:** Toplam Fosfor, **PO₄-P:** Ortofosfat, **SS:** Askıda Katı Madde, **Lmin:** *Lemna minor*, **Mspī:** *Myriophyllum spicatum*, **Nlut:** *Nuphar lutea*, **Nalb:** *Nymphaea alba*, **Paus:** *Phragmites australis*, **Pnat:** *Potamogeton natans*, **Slac:** *Schoenoplectus lacustris*

TARTIŞMA ve SONUÇ

Abant Gölü’nde bulunan makrofitlerden *S. lacustris*, *P. australis*, *N. lutea*, *M. spicatum* ve *P. natans* türlerinin hassas veya toleranslı olarak sınıflandırılamayan (farksız) türler olduğu bildirilmiştir (Toivonen ve Huttunen, 1995; Portielje vd., 2014). Ayrıca *L. minor*, *S. lacustris*, *P. natans*, *N. alba*, *N. lutea*, *M. spicatum*, *M. verticillatum* ve *J. articulatus* türlerinin çoğunlukla mezo-ötrofik sularda bulunan türler olduğu ve nilüfer türlerinin yoğunluğundaki artışın ötrofikasyonun bir göstergesi olabileceği belirtilmektedir (Toivonen ve Huttunen, 1995; Seçmen ve Leblebici, 1997; Melzer 1999). Gölde uzun dönemde nilüferlerin artışı dikkat çekicidir ve gölde antropojenik ötrofikasyon göstergesi olduğu düşünülmektedir. Caffrey (1987), *L. minor*, *N. lutea*, *M. spicatum* ve *P. natans* türlerinin çevresel koşullara karşı dayanıklı (toleranslı) ve Penning vd. (2008), *M. verticillatum*, *L. minor* türlerinin toleranslı türler olduğunu bildirmiştir. Bolat vd. (2015), Eğirdir Gölü’nde 4 – 4,5 m derinliğe kadar kıyısal bölgede daha yoğun olmak üzere *Chara* sp. türü bitkilerin zemini yer yer kapladığını ve derinlik arttıkça *Potamogeton*, *Myriophyllum* ve *Ceratophyllum* türü bitkilerin yoğunlaştığını saptamış, bunun göl üzerindeki antropojenik etkiden kaynakladığını belirtmişlerdir.

Abant Gölü’nde uygulanan PCA analizine göre makrofit türlerine ait bolluk değerlerinin su sıcaklığı, pH, ortofosfat, çözünmüş oksijen ve elektriksel iletkenlik ile ilişki olduğu belirlenmiştir. Ayrıca, çevresel parametrelerden çözünmüş oksijen ile su sıcaklığı, pH, ortofosfat, askıda katı madde arasında negatif yönlü bir ilişkinin olduğu saptanmıştır. Toivonen ve Huttunen (1995) iletkenlik ve pH’ın tür çeşitliği ve yoğunluğu üzerinde etkili parametreler olduğunu ve Grasmück vd. (1995) ise ortofosfat fosfor ile çözünmüş oksijen derişimi arasında ters ilişki olduğunu bildirmiştir. Gecheva vd. (2013) sucul biryofit ve vasküler bitki komüniteleriyle dört çevresel değişken arasında ilişki olduğunu saptamışlardır. Bolat vd. (2015) tarafından makrofit türlerinin biyomasındaki dönemsel değişimlerin incelendiği çalışmada; sıcaklık artışı ile su derinliğinin azaldığı Temmuz ayında bitki yoğunluğunun hızla arttığı belirlenmiştir. Bulgularımızın bu çalışmalarda verilen sonuçlar ile uyumlu olduğu söylenebilir.

Abant Gölü, sıg bir göl değildir (en yüksek derinlik 16,6 m). Gölde bulunan yüzen yapraklı ve yarı batık su bitkilerinin litoral bölgede geniş bir alan kapladığı, özellikle yaz ve sonbahar dönemlerinde *P. australis*, *S. lacustris*, *N. lutea* ve *N. alba* türlerinin kapladığı alanın arttığı belirlenmiştir. Gölde sualtı makrofitlerin maksimum kolonizasyon derinliği 5,1 m olarak tespit edilmiştir. Maksimum kolonizasyon derinliği Sondergaard vd. (2005)'e göre değerlendirildiğinde Abant Gölü'nün iyi durumda olduğu görülmektedir.

MI indeksinin Melzer (1999)'de belirtildiği üzere 2,50 – 2,99 arasında olması Abant Gölü'nde besin zenginleşmesinin orta düzeyde olduğunu göstermektedir. Sıg bir göl olan Mogan Gölü'nde Şanal vd. (2015) tarafından, 2003 ve 2015 yıllarında MI sırasıyla; 3,90 ile 4,50 olarak belirlenirken, besin maddesi artışının ağır olduğu ve gölün ekolojik durumunun mezotrofikten ötrofije doğru değiştiği bildirilmiştir. Ayrıca, Lirika vd. (2013) tarafından maksimum derinliği 288 m (ortalama 155 m) olan Ohrid Gölü'nde Makrofit indeksinin 2,48 – 3,01 arasında değiştiği ve gölün besin düzeyinin orta – yüksek olduğu belirtilmiştir. Taş vd. (2018) Ulugöl'de Makrofit İndeks Sistemi (MIS)'ne göre indikatör makrofit türlerini ve duyarlılıklarını incelerken, gölün mezotrofikten ötrofik yapıya doğru ilerlediğini belirlemiştir. Ayrıca, gölün litoral bölgesinde dominant ve yaygın olarak *M. spicatum* ve *P. natans* türlerinin bulunduğu ve su kalite sınıfının 3 – 4 yani orta-iyi düzeyde olduğunu bildirmiştir.

Abant Gölü'nde hesaplanan RI (4,49) indeksinin Portielje vd. (2014)'de belirtildiği gibi <10 ve maksimum kolonizasyon derinliğinin 5 m $< x < 8$ m (5,1 m) olduğu belirlenmiştir. Buna ek olarak, gölün sucul makrofitlere göre EKO'ı 0,50 – 0,53 (ortalama 0,52) arasında değişirken, ekolojik durumun iyi olduğu belirlenmiştir. Gölün ekolojik durumuna yönelik yapılmış çalışmalar incelendiğinde; fitoplankton ve zooplankton açısından Altındağ (1999), Kulköylüoğlu vd. (2003), Kulköylüoğlu vd. (2005), Dügel vd. (2008), Karakaya vd. (2011) gölün oligotrofikten mezotrofije doğru geçiş eğiliminde olduğunu bildirmiştir. Obalı vd. (2002) fitoplankton yönünden gölün mezotrofik karakterde olduğunu, Atıcı vd. (2005) göl çevresinde organik atıkların etkisinin olduğunu ve bunun *N. alba*, *N. lutea* gibi nilüfer türlerinin artışına neden olacağını bildirmiştir. Atıcı ve Obalı (2002), Atıcı ve Tokatlı (2014) ile Anonim (2015)'e göre ise eğer önleme alınmazsa ötrofikasyon gözleneceği ve gölün hassas alan özelliği taşıdığı belirtilmiştir. Sonuç olarak, sucul makrofitler açısından sonuçların benzerlik gösterdiği söyleyebilir.

Abant Gölü hem tür çeşitliliği hem de bulunan endemik türler açısından korunması gereken doğal bir hazine niteliği taşımaktadır. Gölün mevcut durumunun korunması ve/veya iyileştirilmesinde yapılacak olan izleme çalışmaları büyük önem arz etmektedir. Gölde bulunan sucul makrofit komünitesi izleme çalışmalarında kullanılmalı ve çevresel değişkenler ile birlikte değerlendirilmelidir. Bu araştırmalar ışığında gölün korunması için gerekli önlemler hızla alınmalıdır.

Teşekkür: Bu araştırma, Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 16H0759001/2017 nolu proje ile desteklenmiştir. Araştırmanın özeti, 19. Ulusal Su Ürünleri Sempozyumu Bildiri Özeti Kitabı'nda (poster) yayınlanmıştır.

KAYNAKLAR

- Altındağ, A. (1999). A taxonomical study on the rotifera fauna of Abant lake (Bolu). *Turkish Journal of Zoology*, 23(3), 211-214.
- APHA (2005). *Standard methods for the examination of water and wastewater* (Vol. 21), American Public Health Association, Washington DC.
- Anonim, (2015). Nehir havzalarında göl sularında su kalitesi, fitoplankton ve makrofit izleme, buna bağlı hassas alan tayini çalışması Batı Karadeniz ve Yeşilırmak Havzaları. T.C. Orman ve Su İşleri Bakanlığı, Su Yönetimi Genel Müdürlüğü, Ankara.
- Atay, D. (1984). *Bitkisel Su Ürünleri ve Üretim Tekniği*. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Yayın No: 905, Ankara.
- Atıcı, T., & Obalı, O. (2002). Yedigöller ve Abant (Bolu) fitoplanktonunun mevsimsel değişimi ve klorofil *a* değerlerinin karşılaştırılması. *Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi*, 19 (3/4), 281-289.
- Atıcı, T., & Tokatlı, C. (2014). Algal diversity and water quality assessment with cluster analysis of four freshwater lakes (Mogan, Abant, Karagöl and Poyrazlar) of Turkey. *Wulfenia Journal*, 21(4), 155-169.
- Atıcı, T., Obalı, O., & Elmacı, A. (2005). Abant Gölü (Bolu) bentik algleri. *Ekoloji*, 14(56), 9-15.
- Bakır, N. (2015). Su Çerçeve Direktifine göre biyolojik kalite unsuru: makrofit. T.C. Orman ve Su İşleri Bakanlığı, Uzmanlık Tezi, Ankara.

- Birk, S., Willby, N., Kelly, M. G., Bonne, W., Borja, A., Poikane, S., & Bund, W. (2013). Intercalibrating classifications of ecological status: Europe's quest for common management. *Science of the Total Environment*, 454(455), 490-499.
- Bolat, Y., Koca, H. U., Yıldırım, G. U., Özvarol, Y., Turna, İ. İ., Şener, E., Yeğen, V., Bilgin, F., & Bostan, H. (2015). Eğirdir Gölü makrofitlerinin gelişme ve yayılma özelliklerinin sualtı gözlemleri ile izlenmesi. *Journal of Limnology and Freshwater Fisheries Research*, 1(3), 103-111.
- Caffrey, J. M. (1987) Macrophytes as Biological Indicators of Organic Pollution in Irish Rivers. In: *Biological Indicators of Pollution*, Royal Irish Academy, Dublin, 77-87.
- Casper, S. J., & Krausch, H. D. (1980). *Pteridophyta und Anthophyta. 1. Teil. Lycopodiaceae bis Orchidaceae. Süßwasserflora Von Mitteleuropa*. Band 23, Gustav Fisher Verlag, Stuttgart.
- Casper, S. J., & Krausch, H. D. (1981). *Pteridophyta und Anthophyta. 2. Teil. Saururaceae bis Asteraceae. Süßwasserflora Von Mitteleuropa*. Band 24, Gustav Fisher Verlag, Stuttgart.
- Ciecińska, H., & Kolada, A. (2014). ESMI: a macrophyte index for assessing the ecological status of lakes. *Environmental Monitoring and Assessment*, 186(9), 5501-5517.
- Cırık, S., Cırık, Ş., & Conk-Dalay, M. (2007). *Su Bitkileri 2 (İçsu Bitkilerinin Biyolojisi, Ekolojisi, Yetiştirme Teknikleri)*. Ege Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi, Yayın No: 61, İzmir.
- Cooke, G. D., Welch, E. B., Peterson, S. A., & Newroth, P. R. (1993). *Restoration and Management of Lakes and Reservoirs. 2nd Edition*, Lewis Press, Florida.
- Çelekli, A., & Külköylüoğlu, O. (2006). Net planktonic diatom (Bacillariophyceae) composition of Lake Abant (Bolu). *Turkish Journal of Botany*, 30(5), 331-347.
- Çelekli, A., Obalı, O., & Külköylüoğlu, O. (2007). The phytoplankton community (except Bacillariophyceae) of lake Abant (Bolu, Turkey). *Turkish Journal of Botany*, 31(2), 109-124.
- Dave, G. (1992). Sediment toxicity and heavy metals in eleven lime reference lakes of Sweden. *Water, Air, and Soil Pollution*, 63(1-2), 187-200.
- Davis, P. H. (1965-1985). *Flora of Turkey and the East Aegean Islands-Vol: 1-9*, Edinburgh University Press, Edinburgh.
- Davis, P. H., Mill, R. R., & Tan, K. (1988). *Flora of Turkey and the East Aegean Islands-Vol 10*, Edinburgh University Press, Edinburgh.
- Directive, W. F. (2000). Directive 2000/60/EC of the European Parliament and of the Council of 23 October 2000 establishing a framework for Community action in the field of water policy. *Official Journal of the European Communities*, 22(12), 2000.
- Directive, W. F. (2003). Common implementation strategy for the water framework directive (2000/60/EC), Guidance document No. 7, Monitoring under the Water Framework Directive, WG 2.7.
- Doğan, M., & Kızılıkaya, B. (2010). Some air and water pollution indicators in and around the lake Abant, Turkey. *Journal of Black Sea/Mediterranean Environment*, 16(1), 53-74.
- Drake, J. C., & Heaney, S. I. (1987). Occurrence of phosphorus and its potential remobilization in the littoral sediments of a productive english lake. *Journal of Freshwater Biology*, 17, 513-523.
- Duman, F. (2005). Sapancı ve Abant gölü su, sediment ve sucul bitki örneklerinde ağır metal konsantrasyonlarının karşılaştırırmalı olarak incelenmesi. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Ankara.
- Dügel, M., Külköylüoğlu, O., & Kılıç, M. (2008). Species assemblages and habitat preferences of ostracoda (Crustacea) in Lake Abant (Bolu, Turkey). *Belgian Journal of Zoology*, 138, 50-59.
- Gecheva, G., Yurukova, L., & Cheshmedjiev, S. (2013). Patterns of aquatic macrophyte species composition and distribution in Bulgarian rivers. *Turkish Journal of Botany*, 37(1), 99-110.
- Güler, A., Aslan, S., Ekim, T., Vural, M., & Babaç, M. T. (2012). *Türkiye bitkileri listesi (damarlı bitkiler)* [A checklist of the flora of Turkey (vascular plants)]. Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi ve Flora Araştırmaları Derneği Yayımları, İstanbul.
- Grasmück, N., Haury, J., Léglize, L., & Muller, S. (1995). Assessment of the bio-indicator capacity of aquatic macrophytes using multivariate analysis. *Hydrobiologia*, 300(1), 115-122.
- Haury, J., Peltre, M. C., Trémolières, M., Barbe, J., Thiébaut, G., Bernez, I., Daniel, H., Chatenet, P., Haan-Archipof, G., Muller, S., Dutartre, A., Laplace-Treyture, C., Cazaubon, A., & Lambert-Servien E. (2006). A new method to assess water trophy and organic Pollution-the Macrophyte Biological Index for Rivers (IBMR): its application to different types of river and pollution. *Hydrobiologia*, 570, 153-158.
- Karakaya, N., Evrendilek, F., Aslan, G., Gungor, K., & Karakas, D. (2011). Monitoring of lake water quality along with trophic gradient using landsat data. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 8(4), 817-822.
- Karakaya, N., Evrendilek, F., Güngör, K., Önal, D., & Turan, G. S. (2015). Göl metabolizmasının diel oksijen teknigi ile belirlenmesi: Abant Gölü örneği. TÜBİTAK Proje No: 111Y059, 68 sayfa, Bolu.
- Kohler, A. (1978). Methoden der Kartierung Von Flora und Vegetation Von Süsswasserbiotopen. *Landschaft & Stadt*, 10, 73-85.

- Külköylüoğlu, O., Kılıç, M., Dügel, M., & Usta, E. (2003). Abant Gölü (Bolu) ve çevre sularında mevsime bağlı su kalitesi değişimi ve ostrakoda (Crustacea) dağılımı. TÜBİTAK- Yer Deniz ve Atmosfer Bilimleri Araştırma Grubu, Proje No; YDABAG-101Y030. 50s, Ankara.
- Külköylüoğlu, O., Obalı, O., Dügel, M., Kılıç, M., & Çelekli, A. (2005). Abant Gölü ve Gölköy Göleti arasında mevsime bağlı su kalitesi değişimi ve alg potansiyelinin karşılaştırmalı analizi. TÜBİTAK-Temel Bilimler Araştırma Grubu (TBAG), Proje No; TBAG-103T028. 67s, Ankara.
- Lirika, K., Alma, I., Magdalena, C., & Dashnor, K. (2013). Ohrid Gölündeki su kalitesinin değerlendirmesinde diatom ve makrofit endekslerinin kullanılması. *Gazi Üniversitesi Mühendislik-Mimarlık Fakültesi Dergisi*, 28(2), 393-400.
- Madson, J. D., Chambers, P. A., James, W. E., Koch, E. W., & Westlake, D. F. (2001). The interaction between water movement, sediment dynamics and submersed macrophytes. *Hydrobiologia*, 444, 71-84.
- Melzer, A. (1999). Aquatic macrophytes as tools for lake management. *The Ecological Bases for Lake and Reservoir Management*, 395/396, 181–190.
- Müderrisoğlu, H., Yerli, Ö., Turan, A. A., & Duru, N. (2005). ROS (Rekreasyonel Fırsat Dağılımı) Yöntemi ile Abant Tabiat Parkı'nda kullanıcı memnuniyetinin belirlenmesi. *Tarım Bilimleri Dergisi*, 11(4), 397-405.
- Obalı, O., Atıcı, T., & Elmacı, A. (2002). Abant Gölü (Bolu) fitoplanktonu üzerine taksonomik bir çalışma. *OT Sistematisk Botanik Dergisi*, 9, 143-151.
- Penning, W. E., Mjelde, M., Dudley, B., Hellsten, S., Hangau, J., Kolada, A., Berg, M., Poikane, S., Phillips, G., Willby, N., & Ecke, F. (2008). Classifying aquatic macrophytes as indicators of eutrophication in European lakes. *Aquatic Ecology*, 42(2), 237-251.
- Poikane, S., Birk, S., Böhmer, J., Carvalho, L., de Hoyos, C., Gassner, H., Hellsten, S., Kelly, M., Solheim, A. L., Olin, M., Pall, K., Phillips, G., Portielje, R., Ritterbusch, D., Sandin, L., Schartau, A. K., Solimini, A. G., van den Berg, M., Wolfram, G., & Bund, W. (2015). A hitchhiker's guide to European lake ecological assessment and intercalibration. *Ecological indicators*, 52, 533-544.
- Portielje, R., Bertrin, V., Denys, L., Grinberga, L., Karottki, I., Kolada, A., Krasovskiene, J., Leiputé, G., Maemets, H., Ott, I., Phillips, G., Pot, R., Schaumburg, J., Schranz, Ch., Soszka, H., Stelzer, D., Søndergaard, M., Willby, N., & Poikane, S. (Eds.), (2014). Central Baltic Lake Macrophyte ecological assessment methods. *Water Framework Directive Intercalibration Technical Report. Joint Research Centre Technical Reports*.
- Seçmen, Ö., & Leblebici, E. (1997). *Türkiye Sulak Alan Bitkileri ve Bitki Örtüsü*. Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Yayınları No:158, İzmir.
- Søndergaard, M., Jeppesen, E., Peder Jensen, J., & Lildal Amsinck, S. (2005). Water Framework Directive: ecological classification of Danish lakes. *Journal of Applied Ecology*, 42(4), 616-629.
- Stelzer, D. (2003). *Makrophyten als Bioindikatoren zur leitbildbezogenen Seenbewertung: ein Beitrag zur Umsetzung der Wasserrahmenrichtlinie in Deutschland* (Doctoral dissertation, Verlag nicht ermittelbar).
- Şanal, M., Köse, B., Coşkun, T., & Demir, N. (2015). Mogan Gölü'nde sulcul makrofitlere göre ekolojik kalitenin tahmini. *Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 5, 51-55.
- Taş, B., Şahin, H., & Yarılgaç, T. (2018). Ulugöl'de (Ulugöl Tabiat Parkı, Ordu) hidrofitlerin artışı üzerine bir ön inceleme. *Akademik Ziraat Dergisi*, 7(1), 111-120.
- Ter Braak, C. J. (1988). Canoco-A Fortran Program for Canonical Community Ordination by [partial][etrended][canonical] Correspondence Analysis, Principal Components Analysis and Redundancy Analysis (version 2.1) Technical Report: LWA-88-02, Agricultural Mathematics Group, 95 pp. Wageningen,
- Toivonen, H., & Huttunen, P. (1995). Aquatic macrophytes and ecological gradients in 57 small lakes in southern Finland. *Aquatic botany*, 51(3-4), 197-221.
- TS EN 15460, (2008). *Su Kalitesi – Gölledeki Makrofitlerin Araştırılması için Kılavuz Standard*. Ankara.
- Türker Uçar, A., & Güner A. (2003). Plant diversity in Abant Nature Park (Bolu), Turkey. *Turkish Journal of Botany*, 27, 185-221.
- Westlake, D. F. (1986). *The Direct Determination of Biomass of Aquatic Macrophytes and Measurement of Underwater Light*. Department of the Environment, Her Majesty's Stationery Office (HMSO), London.
- Willby, N., Pitt, J. A., & Phillips, G. (2009). The Ecological Classification of UK Lakes Using Aquatic Macrophytes. *Environment Agency Report*, Project No: SC010080/R2.

Otolith Shape Analysis of Bluefish, *Pomatomus saltatrix* (Linnaeus, 1766) in the Black Sea Region (Samsun, Turkey)

Melek OZPICAK^{*1}, Semra SAYGIN¹, Nazmi POLAT¹

¹Ondokuz Mayıs University, Faculty of Art and Sciences, Biology Department, Atakum, Samsun, Turkey

*Corresponding Author: melek.zengin@omu.edu.tr

Research Article

Received 02 May 2019; Accepted 13 June 2019; Release date 15 December 2019.

How to cite: Özpiçak, M., Saygın, S., & Polat, N. (2019). Otolith Shape Analysis of Bluefish, *Pomatomus saltatrix* (Linnaeus, 1766) in the Black Sea Region (Samsun, Turkey) *Acta Aquatica Turcica*, 15(4), 507-516. <https://doi.org/10.22392/actaquatr.559899>

Abstract

In this study, otolith shape indices and relationships between otolith shape and otolith length of the bluefish *Pomatomus saltatrix* (Linnaeus, 1766), which was sampled from the Samsun offshore of the Black Sea were investigated. A total of 166 samples (94♀ and 72♂) were taken from commercial fishermen in two different fishing seasons (October-December 2014 and January 2018). Sagittal otoliths of each sample were removed and six different shape index (form factor, roundness, circularity, rectangularity, ellipticity and aspect ratio) were used in analyses. The linear model is preferred for calculating the relationships between otolith shape properties and otolith length. Paired *t*-test, Wilcoxon test, Independent *t* test and Mann-Whitney U test were used for statistical analysis. The minimum and maximum total lengths and weights of the captured samples are between 13.5-24.8 cm and 22.01-161.19 g, respectively. There is no difference between female and male in terms of total length and weight. When otolith dimensions of female and male were compared, there were no differences in terms of otolith length (*OL*), otolith breadth (*OB*), otolith perimeter (*OP*) and otolith area (*OA*) ($P>0.05$). However, according to left and right otoliths comparisons, there were differences in terms of otolith breadth and otolith perimeter ($P<0.05$). Ellipticity was found to have a much stronger relationship with otolith length than the other five parameters ($r^2>0.590$).

Keywords: *Pomatomus saltatrix*, Otolith dimensions, Shape indices, Black Sea

Karadeniz Bölgesi'ndeki (Samsun, Türkiye) Lüfer Balığının, *Pomatomus saltatrix* (Linnaeus, 1766) Otolit Şekil Analizi

Özet:

Bu çalışmada Karadeniz Bölgesi'nin Samsun ili açıklarından örneklenmiş olan lüfer balığının *Pomatomus saltatrix* (Linnaeus, 1766)'in otolit özelliklerini ve otolit şeklärini otolit boyu ile olan ilişkileri araştırılmıştır. Ticari balıkçılardan iki ayrı avcılık sezonu (Ekim-Aralık 2014 ve Ocak 2018) içerisinde toplamda 166 (94♀ ve 72♂) adet örnek alınmıştır. Her bir örneğin sagittal otolitleri çıkarılmış ve analizlerde altı farklı şekeksi (şekil faktörü, yuvarlaklık, dairesellik, dikdörtgensellik, ovallik ve en-boy oranı) kullanılmıştır. Otolit şekeksi özellikleri ile otolit boyu arasındaki ilişkilerin hesaplanması için linear model tercih edilmiştir. İstatistiksel analizlerde Paired *t*-testi, Wilcoxon testi, Independent *t* testi ve Mann-Whitney U testi gibi testler kullanılmıştır. Yakalanan örneklerin minimum ve maksimum total boy ve ağırlıkları sırasıyla 13,50-24,80 cm ve 22,01-161,19 g arasında değişmektedir. Total boy ve ağırlık bakımından dişi ve erkek bireyler arasında fark bulunmamıştır. Dişi ve erkek bireylerin otolit ölçümüleri otolit eni, boyu, çevre ve alanı bakımından karşılaştırıldığında herhangi bir farklılık olmadığı belirlenmiştir ($P>0,05$). Fakat sağ-sol otolitlerin karşılaştırılmalarında otolit eni ve çevresi bakımından farklılıklar saptanmıştır ($P<0,05$). Ovallik parametresinin diğer beş parametreye göre otolit boyu ile çok daha kuvvetli bir ilişkiye sahip olduğu belirlenmiştir ($r^2>0,590$).

Anahtar Kelimeler: *Pomatomus saltatrix*, Otolit özellikler, Şekek indeksleri, Karadeniz

INTRODUCTION

Fish stocks are generally described as a random group of fishes that are essentially selfreproducing, with members of each group having similar life history features (Hilborn and Walters, 1992). In terms of fisheries management and biology, it is important to determine the phenotypic variation caused by environmental factors.

However, these differences might be associated with phenotypic plasticity in response to different environmental factors in each locality (Murta, 2000). Stock identification is a basic requirement to describe the stock status and to support better stock assessment of fishery (Cadrin et al., 2005). Otolith shape analysis is a basic method for separating fish stocks. Also there are a lot of studies about intraspecific variations of fish stocks from otolith shape (Vignon and Morat, 2010; Bostancı et al. 2015; Zengin et al., 2015; Hüssy et al., 2016; Avigliano et al., 2017; Saygin et al., 2017; Bostancı and Yedier, 2018; Song et al., 2018; Yedier et al., 2019). Otoliths are innate data archives that document information in their microstructure and chemistry at different spatial and temporal scales related to their growth and environment (Miyan et al., 2016). Otolith shape is a species specific character (L'abée-Lund, 1988; Campana and Casselman 1993), and thus partially subject to genetics and generally varies geographically within species in relation to environmental factors (Vignon and Morat, 2010). Therefore, otolith analysis has made important contributions to the understanding of fish evolution and phylogeny (Nolf, 1985; Nolf, 2013; Reichenbacher et al., 2007).

Pomatomus saltatrix (Linnaeus, 1766), Bluefish, is a migratory pelagic predators that are distributed over warm continental shelves and in estuaries of temperate waters throughout most of the world, with the exception of the northern and mid-Pacific Ocean (Briggs, 1960; Wilk, 1977; Juanes et al., 1996). Bluefish is one of the most important fish species of commercial fisheries in all Turkish seas. Bluefish are found all along the Turkish coast; migrating via the Aegean Sea northwards from the Mediterranean in spring and returning south in early autumn. They are warm water fishes and never found in temperatures lower than 14°C-16°C (at least in summer). They can tolerate temperatures of 11.8°-30.4°C, but exhibit signs of stress at both extremes (Olla and Studholme, 1972). Hence, within the Mediterranean, reproduction-related migrations have been described to take place in spring within the eastern basin, precisely in the Black Sea, while in autumn species returned the Aegean Sea (Gordina and Klimova, 1996; Turan et al. 2006; Sebastes et al. 2012). Throughout these migrations' bluefish have been highly exploited, especially in area of western Black Sea and Marmara Sea (Ceyhan and Akyol 2006). Because of the commercial importance of bluefish, most of the studies were focused on age determination (Ceyhan et al., 2007), growth parameters (Cengiz et al., 2013), length-weight relationships (Özpiçak et al., 2017; Cumplido et al., 2018), diet (Buckel et al., 2004; Lucena et al., 2006), otolith size-length relationships (Cengiz et al., 2012; Zengin et al., 2017; Bal et al., 2018a), selectivity (Acarlı et al., 2013; İlkyaz, 2018) and morphometric variation (Turan et al., 2006). On the other hand, there are limited studies about stock structure of bluefish (Graves et al., 1992). The aim of this study is to describe otolith shape and detect the relationships between otolith shape indicators and otolith length of this highly important commercial bluefish species in Turkey.

MATERIALS and METHODS

Study Area and Sampling.

Bluefish specimens were collected from commercial fishing boats operating in offshore area of Samsun Province (Black Sea) between October-December 2014 ($36^{\circ}35'30.64''E$, $41^{\circ}51'57.96''N$) and January 2018 ($36^{\circ}38'14.61''E$, $41^{\circ}48'53.80''N$), and measured to the nearest 0.1 cm for total length (TL) and weighed to the nearest 0.01 g. The sex was determined by macroscopic examination of the gonads.

Otolith Preparation for the Analysis.

Sagittal otoliths were removed by making left and right distinctions. Otoliths were weighted (OW) using precision scales (± 0.001 g). All otolith pairs were photographed on the distal side with a Leica DFC295 digital camera. Otolith morphometric measurements like otolith breadth (OB), otolith length (OL), area (OA) and perimeter (OP) (± 0.001 mm) were determined by Leica Application Suit Ver. 3.8 Imaging Software (Figure 1). Otolith shape indices such as aspect ratio, roundness, circularity, rectangularity, ellipticity, and form factor were calculated using the following formulas; Roundness (RD) = $(4\text{OA})/(\pi\text{OL}^2)$; Circularity (C) = OP^2/OA ; Form Factor (FF) = $(4\pi\text{OA})/\text{OP}^2$; Ellipticity (E) = $(\text{OL}-\text{OB})/(\text{OL}+\text{OB})$; Rectangularity (R) = $\text{OA}/(\text{OL} \times \text{OB})$ and Aspect Ratio (AR) = (OL/OB) (Tuset et al., 2003). Relationships between otolith length and shape indices were determined using linear regression equation ($y = a + bx$, where y is shape indices and x is otolith length, a and b are equation parameters) for left and right otoliths.

Statistical Analysis.

All the variables were tested for normality and homogeneity of variance using the Shapiro and Levene's test. Different tests were implemented in statistical analysis (Paired t-test, Wilcoxon test, Independent two sample t-test, Mann-Whitney U test).

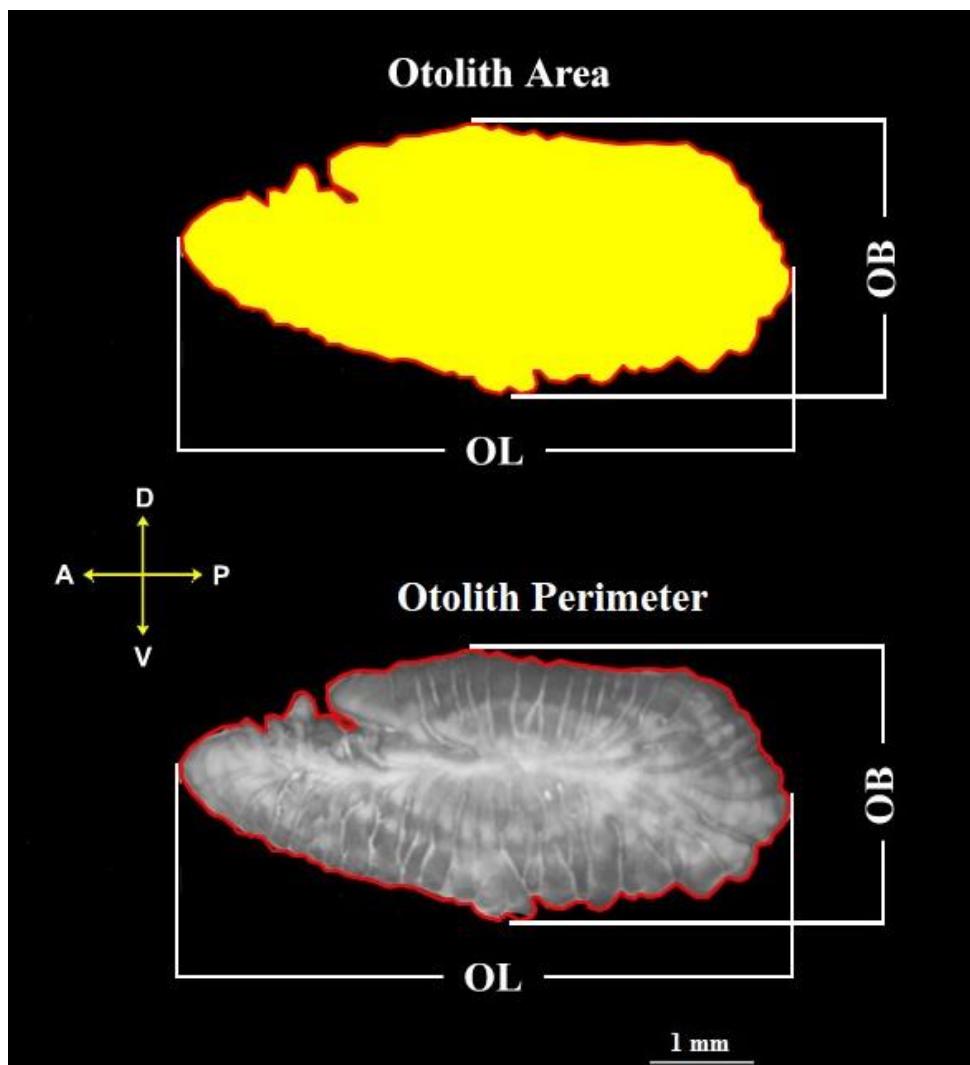


Figure 1. Otolith characteristics of sagitta (Left otolith) (OL: Otolith Length, OB: Otolith breadth, A: Otolith area (Yellow colour), P: Otolith perimeter (Red colour line)).

RESULTS

In this study, a total of 166 bluefish samples (94♀ and 72♂) were investigated in terms of otolith shape indices and total length relationships. 56.63% were females and 43.37% were males of the total individuals. The minimum- maximum total lengths and weights of the individuals varies between 13.5-24.8 cm and 22.01-161.19 g, respectively (Table 1).

Table 1. Descriptive statistics of *P.saltatrix* inhabiting Samsun region (F: Female, M: Male, N: Number of individuals, Min: Minimum, Max: Maximum, Se: Standard error, Sd: Standard Deviation)

Sex	N	Total Length (cm)					Weight (g)				
		Mean	±Se	±Sd	Min	Max	Mean	±Se	±Sd	Min	Max
F	94	19.22	0.256	2.478	13.50	23.60	73.75	2.741	26.581	22.01	161.19
M	72	19.45	0.235	2.000	14.00	24.80	76.55	2.726	23.132	25.92	146.59
F+M	166	19.32	0.177	2.279	13.50	24.80	74.83	1.948	25.101	22.01	161.19

There is no difference between female and male in terms of total length and weight (Mann-Whitney U Test, P>0.05). When sagittal otoliths of female and male were compared, there were no differences in terms of OB, OP and OA (P>0.05). However, according to left and right otoliths comparisons, there were differences in terms of OB and OP (P<0.05). Because of there were no differences between sex, entire population were used in evaluation of data in statistical analysis (Table 2- Table 3).

Table 2. Descriptives of otolith characteristics for *P.saltatrix* (OB: Otolith breadth, OL: Otolith length, OA: Otolith area, OP: Otolith perimeter)

Variable	Mean(mm)	±Se	±Sd	Min (mm)	Max (mm)	N
OB	Right	2.575	0.013	0.157	2.004	2.938
	Left	2.968	0.013	0.161	2.004	2.698
OL	Right	6.074	0.042	0.546	4.271	7.222
	Left	6.060	0.042	0.544	4.315	7.161
OA	Right	11.108	0.116	1.497	6.401	15.348
	Left	11.091	0.117	1.506	6.319	15.333
OP	Right	15.294	0.109	1.398	10.833	18.318
	Left	15.003	0.101	1.304	11.266	18.735

Table 3. Statistical comparisons for right-left otolith pairs and sex

Comparison type	Variable	Test	P
Right-left	OB	Wilcoxon Test	0.009*
	OL	Wilcoxon Test	0.055
	OA	Wilcoxon Test	0.482
	OP	Wilcoxon Test	0.000*
	ROB	Mann-Whitney U Test	0.662
Male-Female	LOB	Mann-Whitney U Test	0.456
	OL	Mann-Whitney U Test	0.586
	OA	Mann-Whitney U Test	0.591
	ROP	Mann-Whitney U Test	0.583
	LOP	Mann-Whitney U Test	0.419

*Statistically different

Shape indices were calculated both right and left otolith pairs because of statistical differences between otolith dimensions (Table 4). And also, shape indices were compared between right and left otolith pairs. Because of differences between shape indices comparisons, equations were calculated for left and right otolith separately (Wilcoxon test) (P<0.001).

Table 4. Descriptives of shape indices for right and left sagittal otolith pairs (R: Right, L: Left)

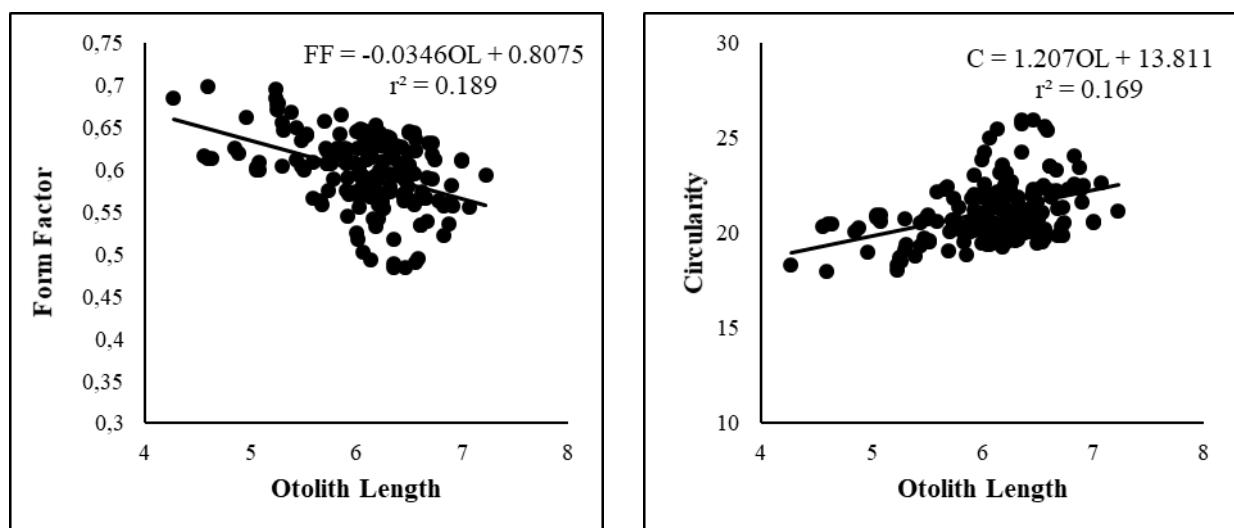
Shape Indices	Mean		Minimum		Maximum		±Se		±Sd	
	R	L	R	L	R	L	R	L	R	L
Form Factor	0.597	0.619	0.485	0.476	0.699	0.734	0.003	0.003	0.043	0.037
Circularity	21.144	20.381	17.975	17.106	25.924	26.371	0.124	0.098	1.602	1.264
Roundness	0.385	0.386	0.280	0.282	0.593	0.577	0.003	0.003	0.040	0.039
Rectangularity	0.708	0.714	0.581	0.584	0.978	0.978	0.003	0.004	0.043	0.045
Ellipticity	0.403	0.405	0.347	0.349	0.471	0.472	0.002	0.002	0.027	0.026
Aspect Ratio	2.357	2.366	2.064	2.074	2.783	2.788	0.012	0.011	0.151	0.147

Relationships between otolith length and shape indices were determined using linear regression equation for left and right otoliths (Table 5) and best fit was obtained among OL and Ellipticity both right and left otoliths ($r^2 > 0.590$).

Table 5. Equations between shape indices and otolith length both right and left otoliths

Shape Indices	(Right/ left)	Equation	a	b	r^2
Form Factor	R	FF=a+bOL	0.8075	-0.0346	0.189
	L		0.7751	0.0258	0.143
Circularity	R	C=a+bOL	13.811	1.207	0.169
	L		15.176	0.8568	0.137
Roundness	R	Ro=a+bOL	0.6789	-0.0484	0.447
	L		0.6789	-0.0484	0.447
Rectangularity	R	REC=a+bOL	0.8722	-0.027	0.117
	L		0.8486	-0.0222	0.072
Ellipticity	R	E=a+bOL	0.1763	0.0373	0.590
	L		0.2173	0.0309	0.453
Aspect Ratio	R	AR=a+bOL	1.0874	0.2091	0.574
	L		1.3164	0.1729	0.412

Since the relationships between the shape indices of the right and left otoliths were stronger in the right otoliths, the representations of the right otoliths were preferred in the graphical representation (Figure 2). FF, C, RD, R, E and AR were associated with otolith length. When otolith length increased, form factor, roundness and rectangularity values decreased; AR, C and E values increased.



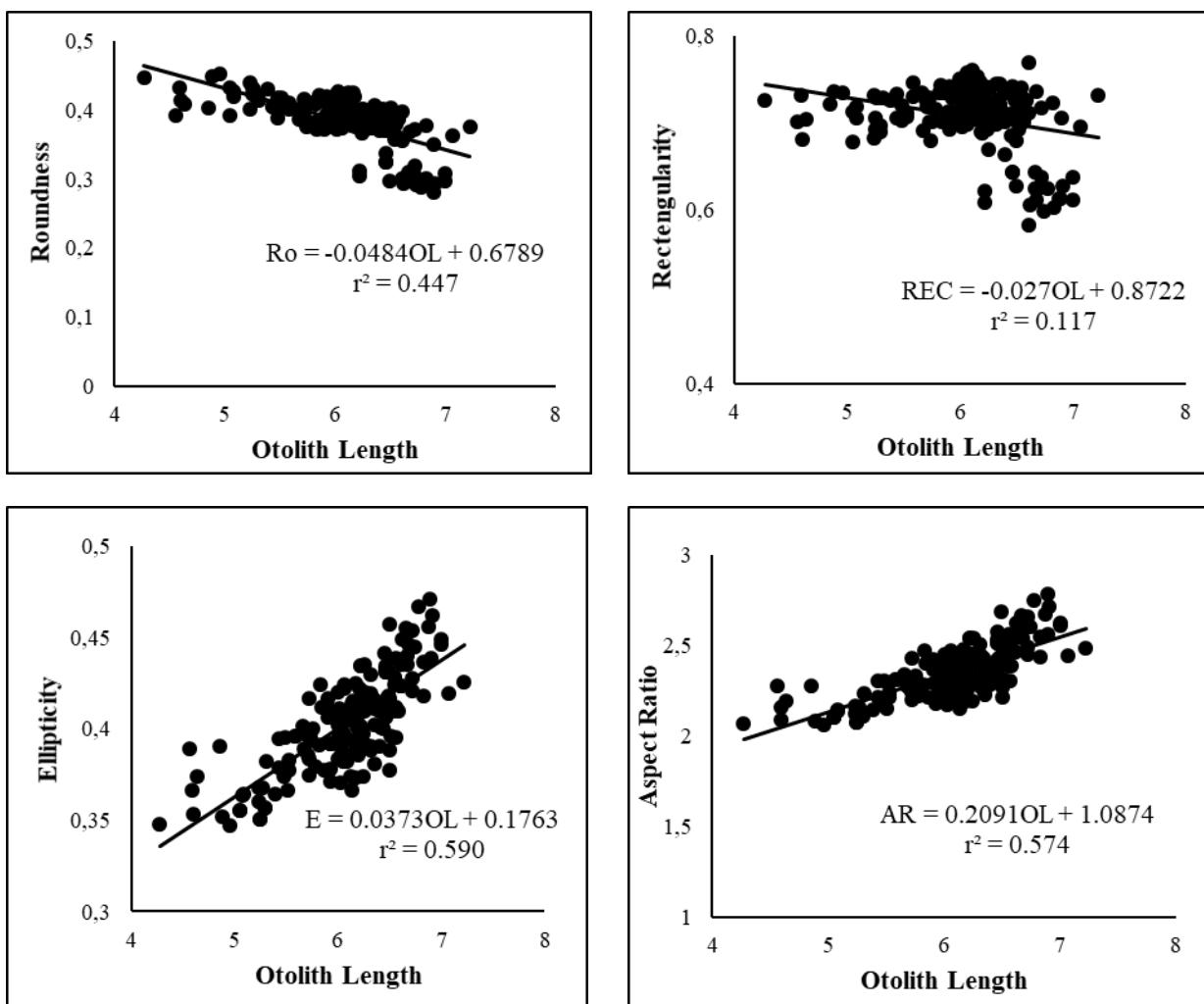


Figure 2. Relationships between otolith shape indices and otolith length

DISCUSSION

Otoliths are calcified structures involved hearing and balance system, and also they are flight recorders of fishes (Lecomte-Finiger, 1999) containing reliable fingerprints that are considered as an invaluable source of information for reconstructing a fish's entire life cycle (Campana and Thorrold, 2001). In recent years, otoliths are preferred in many studies (Short et al. 2006; Bostancı et al. 2015; Zengin et al., 2015; Pavlov 2016; Moreira et al., 2019), because otolith shape is species specific.

Otolith morphology and shape analysis are often used for stock discrimination (Campana and Casselman, 1993; Begg and Brown, 2000; Vignon and Morat, 2010; Bostancı et al. 2015; Zengin et al., 2015; Pavlov 2016; Avigliano et al., 2017; Saygın et al., 2017; Bostancı and Yedier, 2018; Song et al., 2018, Özpiçak et al., 2018; Yedier et al., 2019). The morphometrics (e.g., weight, length, breadth, perimeter, area) of otoliths are usually correlated with each other. Additionally, they are commonly correlated with fish growth and show relatively large individual variations. The shape indices are comparatively independent on otolith size (OL, OB, OA, OP). In this study OL, OB, OA and OP were calculated as 6.074 ± 0.546 , 2.575 ± 0.157 , 11.108 ± 1.197 and 15.294 ± 1.398 , respectively. Bal et al. (2018a) were investigated relationship total length -otolith length of bluefish sampled from Marmara Sea and calculated OL and OB as 6.71 ± 0.55 and 2.60 ± 0.24 . These results are similar with present study. The relationship between fish size and otolith shape reflects both effects of ontogeny and the environment on otolith shape. Zengin et al. (2017) investigated the relationships between otolith dimensions (OL, OB and OW) and total length of bluefish and found a strong relationship between TL and OW. However, Bal et al. (2018a) found a strong relationship between OL and TL. These differences can be arise from environmental differences between Marmara and Blacksea

regions. And also Bal et al. (2018a) have not examined otolith weight. The otolith shapes have been evaluated based on morphometric measurements (Short et al. 2006) and the mathematical computation of shape indices (Russ, 1990; Tuset et al., 2006).

In the present study, the shape analysis of sagittal otoliths from *Pomatomus saltatrix* samples were determined. FF, C, RD, R, E and AR for sagitta were calculated and the relationships between otolith length and shape descriptors were revealed. The usefulness of otolith shape analysis for stock identification and differentiation have already been supported for several fish species (Campana 1999; Tuset et al. 2006; Ferguson et al. 2011; Zengin et al. 2015; Renán et al. 2016; Avigliano et al. 2017; Teimori and Eslami 2017). Otolith shape can be described in some ways, one of the simplest and useful method is distance measurement. Such measurements can be used in a series of mathematical equations that calculate shape indices (Russ, 1990). FF is used to estimate the surface area irregularity, taking values of 1.0 when it is a perfect circle and <1.0 when it is irregular. RD and C give information on the similarity of various features to a perfect circle. RE describes the variations of length and breadth with respect to the area (Tuset et al., 2003). E indicates if the changes in the axes are proportional (Russ, 1990). And also, when otolith length increased, form factor, roundness and rectangularity values decreased; AR, C and E values increased. In this study the best fit was obtained among OL and Ellipticity ($r^2>0.590$).

The otolith shape analysis is becoming increasingly popular in population studies, as is evidenced by the large number of papers published. When the literature were investigated, there were a lot of study about otolith shape and morphometrics of different fish species (Torres et al., 2000; Tuset et al., 2003; Zischke et al., 2016; Afanasyev et al., 2017; Avigliano et al., 2017; Song et al., 2018; Özpiçak et al., 2018; Doustdar et al., 2019; Moreira et al., 2019; Neves et al., 2019; Yedier et al., 2019). The otolith shape analysis' major advantages is the relatively low cost of analysis as compared to genetic research. However there are limited studies about morphometrics, length-weight relationships and otolith shape of bluefish (Tuset et al., 2008; Zengin et al., 2015; Bal et al., 2018a; Bat et al., 2018b). Bal et al. (2018b) calculated FF, C, RD and AR for bluefish from Aegean Sea as 0.55 ± 0.01 , 22.21 ± 0.42 , 0.33 ± 0.009 and 2.82 ± 0.05 . The results of these studies are similar with findings of our study.

Tuset et al (2008) described the shape of bluefish otolith as rectangular, some deep and irregular indentations mainly in the posterior-ventral margin, anteriorventral margin dentate and *Sulcus acutus* is heterosulcoid, ostial, median. *Ostium* of blufish is funnel-like, shorter than the cauda. *Cauda* is tubular, curved, slightly flexed posteriorly, ending very close to the posterior margin. Furthermore Tuset et al (2008) calculated AR, C and R for bluefish as 31.0-33.4, 23.0-25.5 and 0.5, respectively. All the results are similar with present study, too. Differences in otolith morphometric and biometric variables among fish populations can occur for a number of reasons such as habitat complexity and environmental conditions as well as demographics such as sex, age, population, can influence otolith morphology (Nielsen et al., 2010; Bostancı et al., 2015).

The otolith shape analysis is becoming increasingly popular in population studies, as is evidenced by the large number of papers published. This method definitely deserves close attention. One of its major advantages is the relatively low cost of analysis as compared to genetic research. In relation to the obtained results, this research provides information for this commercially important fish species identification using sagittal otoliths in the fossils and can be used in sustainable fishery management studies. The present investigation of bluefish from middle Black Sea region population would certainly add to the knowledge of the relationships (between otolith length and otolith shape indices) and otolith shape description, and also encourage further research on the subject involving many other freshwater and marine species from different regions in the world.

REFERENCES

- Acarlı, D., Ayaz, A., Özkarci, U., & Öztek, A. (2013). Gillnet Selectivity for Bluefish (*Pomatomus saltatrix*, L. 1766) in Çanakkale Strait, Turkey. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 13, 349-353
- Afanasyeva, P. K., Orlova, A. M., & Yu Rolskye, A. (2017). Otolith shape analysis as a tool for species identification and studying the population structure of different fish species. *Fisheries Research*, 176, 39–47.

- Avigliano, E., Domanico, A., Sánchez, S., & Velpado, A.V. (2017). Otolith elemental fingerprint and scale and otolith morphometry in *Prochilodus lineatus* provide identification of natal nurseries. *Fisheries Research*, 186, 1-10.
- Bal, H., Yanik, T., & Türker, D. (2018a). Relationships between total length and otolith size of bluefish *Pomatomus saltatrix* (Linnaeus, 1766) in the Marmara Sea of Turkey. *Natural and Engineering Sciences*, 3, 38-44.
- Bal, H., Türker, D., & Zengin, K. (2018b). Morphological characteristics of otolith for four fish species in the Edremit Gulf, Aegean Sea, Turkey. *Iranian Journal of Ichthyology*, 5(4), 303-311.
- Bat, L., Sahin, F., Sezgin, M., Gonener, S., Erdem, E., & Ozsandikci U. (2018). Fishery of Sinop Coasts in the Black Sea Surveys. *European Journal of Biology*, 77(1), 18-25.
- Begg, G. A., & Brown, R. W. (2000). Stock identification of Haddock *Melanogrammus aeglefinus* on Georges Bank based on otolith shape analysis. *Transactions of American Fisheries Society*, 129, 335-345.
- Bostancı, D., & Yedier, S. (2018). Discrimination of invasive fish *Atherina boyeri* (Pisces: Atherinidae) populations by evaluating the performance of otolith morphometrics in several lentic habitats. *Fresenius Environmental Bulletin*, 27(6), 4493-4501.
- Bostancı, D., Polat N., Kurucu, G., Yedier S., Kontaş, S., & Darcin, M. (2015). Using otolith shape and morphometry to identify four *Alburnus* species (*A. chalcoides*, *A. escherichii*, *A. mossulensis* and *A. tarichi*) in Turkish inland waters. *Journal of Applied Ichthyology*, 31(6), 1013-1022.
- Briggs, J.C. (1960). Fishes of world-wide (circumtropical) distribution. *Copeia*, 3, 171-180.
- Buckel, J.A., Sharack, B.L., & Zdanowicz, V.S. (2004). Effect of diet on otolith composition in *Pomatomus saltatrix*, an estuarine piscivore. *Journal of Fish Biology*, 64, 1469-1484.
- Cadrin, S.X., Friedland, K.D., & Waldman, J.R. (Eds.) (2005). Stock Identification Methods. Elsevier Academic Press.
- Campana, S.E. (1999). Chemistry and composition of fish otoliths: pathways, mechanisms and applications. *Marine Ecology Progress Series*, 188, 263-297.
- Campana, S.E., & Thorrold, S.R. (2001). Otoliths, increments, and elements: keys to a comprehensive understanding of fish populations? *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science*, 58, 30-38.
- Campana, S. E., & Casselman, J. M. (1993). Stock discrimination using otolith shape analysis. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 50, 1062-1083.
- Cengiz, O., Ozekinci, U., & Oztekin, A. (2012). The relationships between total length-otolith length of bluefish, *Pomatomus saltatrix*, (Linnaeus, 1766) from Gallipoli Peninsula and Dardanelles (North-eastern Mediterranean, Turkey). *Journal of the Institute of Science and Technology*, 2, 31-34.
- Cengiz, O., Ozekinci, U., Oztekin, A., & Kumova, C. (2013). Growth parameters and mortality of bluefish (*Pomatomus saltatrix* Linnaeus, 1766) from Gallipoli peninsula and Dardanelles (northeastern Mediterranean, Turkey). *Marine Science Technology Bulletin*, 2(1), 1-7.
- Ceyhan, T., & Akyol, O. (2006). Age distribution and relationship between fork length and otolith length of bluefish (*Pomatomus saltatrix* L., 1766) in the Sea of Marmara (in Turkish). *E.U. Journal of Fisheries & Aquatic Sciences*, 23(1-3), 369-372.
- Ceyhan, T., Akyol, O., Ayaz, A., & Juanes, F. (2007). Age, growth, and reproductive season of bluefish (*Pomatomus saltatrix*) in the Marmara region, Turkey. *ICES Journal of Marine Science*, 64, 531-536.
- Cumplido, R., Netto, E.B.F., Rodrigues, M.T., de Melo Junior, U.G., & da Costa, P.A.S. (2018). A Review and the Length-Weight Relationship of Bluefish, *Pomatomus saltatrix* (Linnaeus, 1766), Pisces: Pomatomidae, at the Marine Extractive Reserve (RESEX-Mar) of Arraial do Cabo, Rio de Janeiro State, Brazil. *Open Access Library Journal*, 5, e4770.
- Doustdar, M., Kaymaram, F., Seifali, M., Jamili, S., & Bani, A. (2019). Stock identification of Arabian yellow fin Sea bream (*Acanthopagrus arabicus*) by using shape of otolith in the Northern Persian Gulf & Oman Sea. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 18(1), 60-70.
- Ferguson, G. J.; Ward, T. M. & Gillanders, B. M. (2011). Otolith shape and elemental composition: complementary tools for stock discrimination of mulloway (*Argyrosomus japonicus*) in southern Australia. *Fisheries Research*, 110 (1), 75-83.
- Gordina, A.D., & Klimova, T.N. (1996). On bluefish (*Pomatomus saltatrix* L.) in the Black Sea. *Marine and Freshwater Research*, 47, 315-318.
- Graves, J.E., McDowell, J.R., Beardsley, A.M., & Scoles, D.R. (1992). Stock Structure of the Bluefish *Pomatomus saltatrix* along the Mid-Atlantic Coast. *Fishery Bulletin*, 90, 703-710.
- Hilborn, R., & Walters, C.J. (1992). Quantitative Fisheries Stock Assessment: Choice, Dynamics and Uncertainty. Chapman & Hall, New York, 570 pp.
- Hüssy, C., Mosegaard, H., Albertsen, C. M., Nielsen, E. E., Hemmer-Hansen, J., & Eero, M. (2016). Evaluation of otolith shape as a tool for stock discrimination in marine fishes using Baltic Sea cod as a case study. *Fisheries Research*, 174, 210-218.

- İlkyaz, A. T. (2018). Estimating gillnet selectivity of Bluefish (*Pomatomus saltatrix*) by morphology. *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 35, 89-94.
- Juanes, F., Hare, J.A., & Miskiewicz, A.G. (1996). Comparing early life history strategies of *Pomatomus saltatrix*: a global approach. *Marine and Freshwater Research*, 47, 365-379.
- L'abee-lund, J. H. (1988). Otolith shape discriminates between juvenile Atlantic salmon, *Salmo salar* L., and brown trout, *Salmo trutta* L. *Journal of Fish Biology*, 33, 899-903.
- Lecomte-Finiger, R. (1992). The crystalline ultrastructure of otolith of the eel (*A. anguilla* L. 1758). *Journal of Fish Biology*, 40, 181–190.
- Lucena, F.M., Vaske Jr., T., Ellis, J.R. & O'Brien, C.M. (2000). Seasonal variation in the diets of bluefish, *Pomatomus saltatrix* (Pomatomidae) and striped weakfish, *Cynoscion regalis* (Sciaenidae) in Southern Brazil: implications of food partitioning. *Environmental Biology of Fishes*, 57, 423-434.
- Miyan, K., Khan, M.A., Patel, D.K., Khan, S., & Ashari, N.G. (2016). Truss morphometry and otolith microchemistry reveal stock discrimination in *Clarias batrachus* (Linnaeus, 1758) inhabiting the Gangetic river system. *Fisheries Research*, 173, 294–302.
- Moreira, C., Froufe, E., Vaz-Pires, P., & Correia, A.T. (2019). Otolith shape analysis as a tool to infer the population structure of the blue jack mackerel, *Trachurus picturatus*, in the NE Atlantic. *Fisheries Research*, 209, 40–48.
- Murta, A.G. (2000). Morphological variation of horse mackerel (*Trachurus trachurus*) in the Iberian and North African Atlantic: Implications for stock identification. *ICES Journal of Marine Science*, 57, 1240-1248.
- Nevesa, A., Vieira, A.R., Sequeira, V., Paiva, R.B., Janeiro, A.I., Gaspar, L.M., & Gordo, L.S. (2019). Otolith shape and isotopic ratio analyses as a tool to study *Spondylisoma cantharus* population structure. *Marine Environmental Research*, 143, 93–100.
- Nielsen, J. R., Methven, D. A., & Kristensen, K. (2010). A statistical discrimination method using sagittal otolith dimensions between sibling species of juvenile cod *Gadus morhua* and *Gadus ogac* from the Northwest Atlantic. *Journal of Northwest Atlantic Fishery Science*, 43, 27–45.
- Nolf, D. (1995). Studies on fossil otoliths-the state of the art. In: D.H. Secor, J.M. Dean, and S.E. Campana (eds.), *Recent Developments in Fish Otolith Research*, 513–544. University of South Carolina Press, Columbia, South Carolina.
- Nolf, D. (2013). The diversity of fish otoliths, past and present. Brussels: Royal Belgian Institute of Natural Sciences. 222 p.
- Olla, B.L., & Studholme, A. L. (1972). Daily and seasonal rhythms of activity in the bluefish *Pomatomus saltatrix*. pp. 303-326. In: Winn, H.E., Olla, B.L. (eds), *Behavior of Marine Animals: Recent Advances*: Plenum Publishing Press.
- Özpiçak, M., Saygin, S., & Polat, N. (2017). The length-weight and length-length relationships of bluefish, *Pomatomus saltatrix* (Linnaeus, 1766) from Samsun (middle Black Sea region). *Natural and Engineering Science*, 2(3), 28-36.
- Özpiçak, M., Saygin, S., Aydin, A., Hançer, E., Yilmaz, S., & Polat, N. (2018). Otolith shape analyses of the *Squalius cephalus* (L., 1758) (Actinopterygii: Cyprinidae) inhabiting a few inland waters of the Middle Black Sea Region (Turkey). *Iranian Journal of Ichthyology*, 5(4), 293-302.
- Pavlov, D.A. (2016). Differentiation of three species of the genus *Upeneus* (Mullidae) based on otolith shape analysis. *Journal of Ichthyology*, 56 (1), 37–51.
- Reichenbacher, B., Gaudant, J., & Griesemer, T.W. (2007). A late Burdigalian gobiid fish, *Gobius brevis* (AGASSIZ, 1839), in the Upper Hydrobia Beds in the middle Upper Rhine Graben (W-Germany). *Palaontologische Zeitschrift*, 81(4), 365–375.
- Renán X., Montero-Muñoz, J., Garza-Pérez, J.R. & Brulé, T. (2016). Age and stock analysis using otolith shape in Gags from the Southern Gulf of Mexico. *Transactions of the American Fisheries Society*, 145(6), 1252-1265.
- Russ, J.C. (1990). Computer-assisted microscopy: the measurement and analysis of images. Plenum Press, New York. 453 pp.
- Saygin, S., M. Ozpiçak, M. Elp, N. Polat, A.A. Atıcı, N., & Akçanal Odun N. (2017). Comparative analysis of the otolith features of tarek (*Alburnus tarichi* (Güldenstädt, 1814)) from different lakes across Van Basin (Van, Erçek, Nazik, Aygır) (Turkey). *Limnofish*, 3 (2), 91-99.
- Sebastes, A., Martín, P., & Raya, V. (2012). Changes in life-history traits in relation to climate change: bluefish (*Pomatomus saltatrix*) in northwestern Mediterranean. *ICES Journal of Marine Science*, 69 (6), 1000–1009.
- Song, J., Zhao, B., Liu, J., Cao, L., & Dou, S. (2018). Comparison of otolith shape descriptors and morphometrics for stock discrimination of yellow croaker along the Chinese coast. *Journal of Oceanology and Limnology*, 36(5), 1870-1879.

- Short, J. A., Gburski, C. M., & Kimura, D.K. (2006). Using otolith morphometrics to separate small Walleye Pollock *Theragra chalcogramma* from Arctic cod *Boreogadus saida* in mixed samples. *Alaska Fishery Research Bulletin*, 12, 147-152.
- Teimori, A., & Eslami A. (2017). Morphological-based variation of the fish populations using groupwise registration; applied to microscopic images of fish otolith using *Aphanius dispar* as a model. *Iranian Journal of Science and Technology*, 41 (4), 1083-1091.
- Torres, G. J., Lombarte, A., & Morales-Nin, B. (2000). Variability of the sulcus acusticus in the sagitta otolith of the genus *Merluccius*. *Fisheries Research* 46, 5–13.
- Turan, C., Oral, M., Öztürk, B., & Duzgunes, E. (2006). Morphometric and meristic variation between stocks of Bluefish (*Pomatomus saltatrix*) in the Black, Marmara, Aegean and northeastern Mediterranean Seas. *Fisheries Research*, 79, 139-147.
- Tuset, V.M., Lombarte A., González, J.A., Pertusa, J.F., & M. Lorente, J. (2003). Comparative morphology of the sagittal otolith in *Serranus* spp. *Journal of Fish Biology*, 6 (1), 1491-1504.
- Tuset, V. M., Lombarte, A., & Assis, C. A. (2008). Otolith atlas for the western Mediterranean, north and central eastern Atlantic. *Scientia Marina*, 72S1, 7-198.
- Vignon, M., & Morat, F. (2010). Environmental and genetic determinant of otolith shape revealed by a non-indigenous tropical fish. *Marine Ecology Progress Series*, 411(1), 231–241.
- Wilk, S. J. (1977). Biological and fisheries data on bluefish, *Pomatomus saltatrix* (Linnaeus). NMFS, NEFC, Sandy Hook Lab. Tech. Ser. Rep. No. 11, 56 p.
- Yedier, S., Bostancı, D., Kontaş, S., Kurucu, G., Apaydin Yagci, M., & Polat, N. (2019). Comparison of otolith morphology of invasive big-scale sand smelt (*Atherina boyeri*) from natural and artificial lakes in Turkey. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, DOI: 10.22092/ijfs.2018.116980 (In Press).
- Zengin, M., Saygin, S., & Polat, N. (2015). Otolith shape analysis and dimensions of the anchovy *Engraulis encrasicolus* L. in the Black and Marmara Seas. *Sains Malaysiana*, 44 (1), 657-662.
- Zengin, M., Saygin, S., & Polat, N. (2017). Relationships between otolith size and total length of bluefish, *Pomatomus saltatrix* (Linnaeus, 1766) in Black Sea (Turkey). *North-Western Journal of Zoology*, 13 (1), 169-171.
- Zischke, M.T., Litherland, L., Tilyard, B.R., Stratford, N. J., Jones E. L., & Wange, Y.G. (2016). Otolith morphology of four mackerel species (*Scomberomorus* spp.) in Australia: Species differentiation and prediction for fisheries monitoring and assessment. *Fisheries Research*, 176, 39–47.

Fethiye Yöresinde Yetiştirilen Gökkuşağı Alabalıklarının (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum 1792) Doğal Radyoaktivite Düzeyleri

Süleyman Fatih ÖZMEN¹, Mesut YILMAZ^{2*}

¹Akdeniz Üniversitesi Teknik Bilimler MYO, Elektrik ve Enerji Bölümü, 07058 Antalya- Türkiye

²Akdeniz Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi, Su Ürünleri Yetiştiriciliği Bölümü, 07058 Antalya-Türkiye

*Sorumlu Yazar: myilmaz@akdeniz.edu.tr

Araştırma Makalesi

Geliş 07 Mayıs 2019; Kabul 27 Eylül 2019; Basım 15 Aralık 2019.

Ahntılıma: Özmen, S. F., & Yılmaz, M. (2019). Fethiye yöresinde yetiştirilen gökkuşağı alabalıklarının (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum 1792) doğal radyoaktivite düzeyleri. *Acta Aquatica Turcica*, 15(4), 517-523. <https://doi.org/10.22392/actaquatr.561514>

Özet

Bu çalışmada Fethiye yöresinde yetiştirilen gökkuşağı alabalıklarının farklı dokularındaki doğal radyonüklit (^{226}Ra , ^{232}Th ve ^{40}K) konsantrasyonları belirlenmiştir. Bu amaçla 4 farklı çiftlikten yaklaşık aynı boylarda olan porsiyonluk balıklar alınarak solungaç, karaciğer, deri ve kas dokuları ayrılmıştır. İşletmelerin kullandığı porsiyonluk balık yemleri de örneklenmiştir. Numunelerin yüksek çözünürlülü germanium dedektörü ile gama spektrometrik ölçümleri gerçekleştirilmiş ve radyolojik risk faktörleri değerlendirilmiştir. Alabalık örneklerinin yenilebilen kısımlarında ^{226}Ra aktivitesinin $1,47 \pm 0,14$ - $8,26 \pm 0,78$ Bq kg $^{-1}$, ^{232}Th aktivitesinin ÖSA- 3.38 ± 0.30 Bq kg $^{-1}$ ve ^{40}K aktivitesinin 54.94 ± 2.23 - 140.86 ± 5.82 Bq kg $^{-1}$ aralığında değiştiği gözlenmiştir. Örneklerin radyum eşdeğer aktivitesi ve yıllık etkin dozu sırasıyla 6.45 - 23.94 Bq kg $^{-1}$ ve 1.87 - 4.80 μSv y $^{-1}$ olarak hesaplanmıştır. Elde edilen bulgular balık yetiştiriciliği için referans oluşturması bakımından önemlidir.

Anahtar kelimeler: Gökkuşağı alabalığı, yetiştiricilik, doğal radyoaktivite, HPGe, *Oncorhynchus mykiss*.

Natural Radioactivity Levels of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum 1792) Grown in Fethiye Region

Abstract

In this study, natural radionuclide (^{226}Ra , ^{232}Th and ^{40}K) concentrations were determined in different tissues of rainbow trout grown in Fethiye region. For this purpose, approximately the same size of portioned fish were taken from four different farms and then gill, liver, skin and muscle tissues were separated. Portion fish feeds used by enterprises are also exemplified. Gamma spectrometric measurements were performed with high purity germanium detector and radiological risk factors were evaluated. It was observed that ^{226}Ra activity in the edible parts of trout samples varied between 1.47 ± 0.14 - 8.26 ± 0.78 Bq kg $^{-1}$, ^{232}Th activity varied between BDL- 3.38 ± 0.30 Bq kg $^{-1}$ and ^{40}K activity in the range of 54.94 ± 2.23 - 140.86 ± 5.82 Bq kg $^{-1}$. The radium equivalent activity and annual effective dose of the samples were calculated as 6.45 - 23.94 Bq kg $^{-1}$ and 1.87 - 4.80 μSv year $^{-1}$, respectively. The findings are important in terms of forming a reference for fish farming.

Keywords: Rainbow trout, aquaculture, natural radioactivity, HPGe, *Oncorhynchus mykiss*.

GİRİŞ

Radyasyon doğal ortamın bir parçasıdır. Radyasyonun kaynağı kozmik ışınlar ile toprakta, suda ve havada bulunan radyonüklitlerdir. En yaygın olarak doğada bulunan doğal radyonüklitler uranyum-238 (^{238}U), toryum-232 (^{232}Th), potasyum-40 (^{40}K) ile ^{238}U ve ^{232}Th 'nin bozunum ürünleridir (Cinelli vd., 2019). Ayrıca, endüstriyel ve sivil ya da askeri nükleer operasyonlar gibi antropojenik aktiviteler de ortama radyonüklit bırakabilirler (Ojovan ve Lee, 2014). Radyonüklitlerin ortamda konsantrasyonu, yerel jeoloji, iklim ve tarım uygulamaları gibi doğal ve beseri faktörlere bağlı olarak değişir (Saleh vd., 2007; Ojovan ve Lee, 2014). Ortamda bulunan radyonüklitler ekosistemler içinde ve ekosistemler arasında sürekli dolaşım halindedir. Ortamdan bitkiler tarafından alınan bu elementler bitki bünyesinde tutulur ve biriktirilir. Benzer şekilde hayvanlar tarafından solunum ve beslenme yoluyla alınan radyonüklitler organizmada biriktirilirler (Stricht ve Kirchmann, 2001). Besin zinciri yoluyla radyonüklitler bir üst trofik düzeye aktarılırlar (IEAE, 2004).

İnsan popülasyonunun zaman içinde artan hayvansal protein talebinin karşılanması su ürünleri yetişiriciliği önemli bir yer tutmaktadır. Global su ürünleri üretimi 2016 yılında 110 milyon ton olarak gerçekleşmiştir (FAO, 2018). Türkiye'de ise aynı yıl su ürünlerini yetişiriciliği yoluyla 253395 ton üretim gerçekleştirilmiştir (TÜİK, 2019). TÜİK 2019 verilerine göre içsu balıkları üretimi yaklaşık 104010 tondur. Ülkemizde en fazla yetişiriciliği yapılan tatlısu balık türü ise 101761 ton üretim miktarı ile gökkuşağı alabalığıdır (*Oncorhynchus mykiss*).

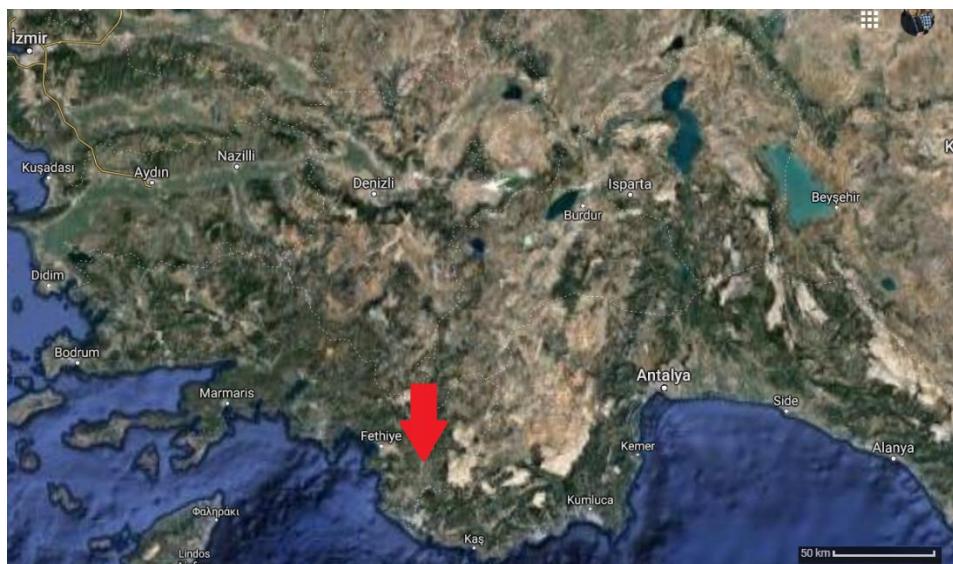
Ülkemizde kişi başına düşen su ürünleri tüketimi yıllık 5,5 kg olup (BSGM, 2019), bu kaynaktan insanlara aktarılan radyonüklit yükünün bilinmesi, insan sağlığına olası etkisinin değerlendirilmesi bakımından önemlidir. Ayrıca su ürünlerini yetişiricilik çiftlikleri üretim kalitesini artırmak için gerekli tedbirleri alabileceklerdir. Böylelikle üretim kalitesi yükseltilip uluslararası arenada rekabet gücünün artırılmasına katkı sağlanacaktır.

Sunulan çalışmada Fethiye yöresinde faaliyet gösteren çiftliklerde yetiştirilen, ihraç edilen ve iç pazarda önemli bir protein kaynağı olarak tüketilen gökkuşağı alabalıklarının farklı dokuları ile balık yemlerindeki radyonüklit yükleri araştırılmıştır. Bu radyonüklitlerden kaynaklanan radyolojik riskler değerlendirilmiştir.

MATERIAL ve YÖNTEM

Örnekleme ve numunelerin hazırlanması

Fethiye yöresinde (Şekil 1) faaliyet gösteren 4 gökkuşağı alabalığı üretim çiftliğinden porsiyonluk balık hasatı sonrasında numuneler (her işletmeden rasgele 6-8 birey olacak şekilde) ölü olarak alınmıştır. Her işletmeye ait su sıcaklık ve pH değerleri kaydedilmiştir (Tablo 1). Ayrıca her bir çiftlikten porsiyonluk balıkların beslenmesinde kullanılan 1'er kg yem örneklenmiştir. Tedarik edilen numuneler ağızı sızdırmaz poşetlere konulup etiketlenerek Akdeniz Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Yetişiricilik Laboratuvarına buzla soğutulmuş kutuda taşınmıştır.



Şekil 1. Çalışma bölgesi

Laboratuvara öğütülmüş homojenize edilen yem örnekleri 2 mm'lik elekten geçirilerek 150cc'lik silindirik kaplara doldurulmuştur. Balık numuneleri laboratuvara distile su ile yıkamış ve çatal boy-ağırlık ölçümleri yapılarak kayda geçirilmiştir (Tablo 1). Daha sonra derisiz filetoları çıkartılmış, organ ve dokuları ayrılmıştır. Filetolar ile solungaç, karaciğer ve deri örnekleri kıyılarak ayrı ayrı 150cc'lik silindirik kaplara doldurulup tartılarak etiketlenmiştir. Analizler yapıldana kadar -20°C de saklanmıştır. Örneklerin ağızları gaz sızdırmaz parafilm ile sıkıca kapatılarak ^{226}Ra - ^{222}Rn arasında radyoaktif dengenin oluşması ve Compton bölgesinin kararlı hale gelmesi için (7x3,86gün) yaklaşık 30 gün süreyle bekletilmiştir (Yaprak ve Aslani, 2010).

Tablo 1. Gökkuşağı alabalıklarının biyometrik ölçümleri* ve su parametreleri

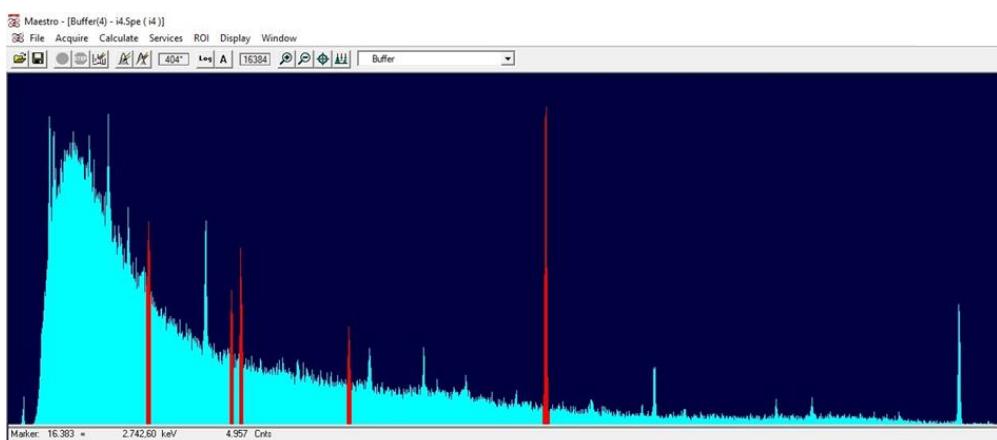
İşletme No	Ağırlık (g)	Boy (cm)	Su sıcaklığı (C°)	pH
1	204,00±7,48	24,44±0,42	14,2	7,76
2	202,40±6,91	25,30±0,30	12,4	7,97
3	176,20±3,25	24,84±0,37	13,4	7,95
4	174,60±3,96	25,00±0,27	7,8	8,62

* Ortalama±Standart Hata

Radyonüklit analizi

HPGe gama spektrometre sistemi: İncelenen materyallerin gamma spektroskopik ölçümleri A.Ü. Fen Fakültesi Fizik Bölümü Gama Spektroskopı Laboratuarında bulunan p-tipi, koaksiyel, elektrik soğutmalı, bağıl verimi %40 ve ^{57}Co için 122 keV'de 768 eV FWHM ve ^{60}Co için 1332 keV'de 1.85 keV FWHM değerlerine sahip AMETEK-ORTEC, GEM40P4 model yüksek saflikta Germanium dedektörü ile MAESTRO32 yazılımı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Çalışmada kullanılan HPGe gama spektrometre sisteminin enerji kalibrasyonu, enerjileri 47–1836 keV arasında değişen radyoizotoplar içeren, örneklerle aynı geometrideki karma kaynak ile yapılmıştır. Ölçüm sistemi hakkında detaylı bilgi Özmen vd. (2013, 2014) tarafından verilmiştir.

Spektrum analizi: Tüm numuneler dedektörün penceresine yerleştirilerek 86400 s boyunca sayılmıştır. Art ortam sayımı, numunelerin ölçümünden önce ve sonra aynı koşullar altında boş bir numune kabı ile elde edilmiştir. Örneklerin gama spektrumlarda ^{226}Ra aktivite konsantrasyonları ^{238}U bozunum serilerindeki ürün radyonüklitlerden yayımlanan ^{214}Pb ; 352 keV ve ^{214}Bi ; 609 keV enerjili pikler, ^{232}Th aktivite konsantrasyonları ^{232}Th bozunum serilerindeki ürün radyonüklitlerden yayımlanan, ^{228}Ac ; 911 keV, ^{208}Tl ; 583 ve 2615 keV enerjili pikler, ^{40}K aktivite konsantrasyonları ise 1461 keV enerjili pik kullanılarak belirlenmiştir. 4 nolu işletmeden alınan kas numunesine ait spektrum örneği Şekil 2'de verilmiştir.



Şekil 2. İşletme 4'ten alınan kas numunesine ait spektrum

Radyonüklit aktivite konsantrasyonları aşağıdaki denklem kullanılarak tayin edilmiştir.

$$A = \frac{N/t}{\varepsilon x I \gamma x m}$$

Burada A; ilgilenilen radyonüklitin aktivitesi (Bq kg^{-1}), N; ilgilenilen enerjideki toplam net sayım (Pik alanları, toplam alandan art-ortam alanı çıkarılarak elde edilmiştir), t; sayım süresi (saniye), ε ; HPGe dedektörünün ilgilenilen gama enerjisindeki verimi, I_γ ; gama işininin bolluğu ve m; örnek kültlesidir.

Radyolojik risk parametreleri

İnsanların balık tüketiminden dolayı maruz kaldıkları radyolojik tehlikeleri değerlendirmek için, radyum eşdeğer aktivitesi (Ra_{es}), yıllık etkin doz (YED) ve iç zarar indeksi (H_{in}) parametreleri hesaplanmıştır.

Radyum Eşdeğer Aktivitesi (Ra_{es}): ^{238}U , ^{232}Th ve ^{40}K in çevrede dağılımı birbirlerinden farklıdır. Farklı miktarlardaki bu spesifik aktivitelerden radyasyona maruz kalmayı standartlaştırmak için radyum eşdeğer aktivitesi (Ra_{es}) aşağıdaki ifade ile tanımlanmaktadır (Beretka ve Mathew, 1985).

$$Ra_{es} = C_U + 1,43 C_{Th} + 0,07 C_K$$

Burada C_U , C_{Th} ve C_K sırasıyla ^{238}U , ^{232}Th ve ^{40}K 'ın Bq kg^{-1} olarak spesifik aktiviteleridir.

Yıllık Etkin Doz (YED): Vücuttaki radyonüklit alımı ile ilişkili radyasyona bağlı sağlık etkilerinin tahminleri, radyonüklitlerin oluşturduğu toplam doz ile orantılıdır. Gıdalardan alınan radyasyon dozları, gıda maddelerinin içerdiği radyonüklit aktiviteleri ve bu gıdaların yıllık tüketim miktarı ile doğru orantılıdır. Gıdalarda ölçülen radyonüklitlerin aktivite konsantrasyonlarından yıllık etkin dozu hesaplamak için Uluslararası Radyolojik Koruma Komisyonu (ICRP, 2012) tarafından önerilen doz dönüşüm katsayıları kullanılır.

$$YED = \sum_i (D_i C_i) * U$$

Burada D_i ilgili radyonüklitin doz dönüşüm katsayısı (Sv Bq^{-1}), U ilgili balığın yıllık kişi başı tüketim miktarı (kg y^{-1}), C_i ise ilgili radyonüklitin Bq kg^{-1} olarak spesifik aktiviteleridir. BSGM 2018 verilerine göre Türkiye'de kişi başı alabalık tüketimi yıllık 5,5kg, ICRP (2012) tarafından önerilen doz dönüşüm katsayıları ise ^{238}U (^{226}Ra) için $2,8 \times 10^{-7}$, ^{232}Th (^{228}Ac) için $4,3 \times 10^{-10}$ ve ^{40}K için $6,2 \times 10^{-9} \text{ Sv Bq}^{-1}$ dir.

İç Zarar İndeksi (H_{in}): Radon ve kısa ömürlü bozunum ürünleri solunum organları için tehlikelidir. Radon ve bozunum ürünlerinden kaynaklanan içsel maruz kalma, Krieger (1985) tarafından tanımlanan aşağıdaki denklemde verilen iç zarar indeksi (H_{in}) ile ölçülür;

$$H_{in} = C_U/185 + C_{Th}/259 + C_K/4810$$

Burada C_U , C_{Th} ve C_K sırasıyla ^{238}U , ^{232}Th ve ^{40}K 'ın Bq kg^{-1} biriminde spesifik aktiviteleridir. Radyasyon zararının önemsiz olabilmesi için H_{in} değeri 1'den küçük olmalıdır.

BULGULAR ve TARTIŞMA

Çalışma kapsamında yöreyi temsil edecek şekilde 4 farklı işletmeden alınan gökkuşağı alabalığı ve yem örneklerinin HPGe gama spektrometre sistemi ile ölçülen ^{226}Ra , ^{232}Th ve ^{40}K radyonüklit aktivite konsantrasyonları Tablo 2'de verilmiştir. Öte yandan, Türkiye'de ve yurt dışında değişik bölgelerde yapılan çalışmalar da karşılaştırılmak üzere Tablo 3'te özetiştir.

4 farklı işletmeden tedarik edilen balık numunelerinin ^{226}Ra aktivitesinin kaslarda $3,29 \pm 0,27$ ile $8,26 \pm 0,78 \text{ Bq kg}^{-1}$ arasında, ^{232}Th aktivitesinin ÖSA- $3,38 \pm 0,30 \text{ Bq kg}^{-1}$ arasında ve ^{40}K aktivitesinin $102,69 \pm 5,22$ - $140,86 \pm 5,82$ arasında değiştiği tespit edilmiştir. Tablo 2'ye göre kas radyonüklit konsantrasyonları en yüksek olan 1 nolu işletmede yetişirilen balıkların farklı dokularındaki radyonüklit birikimleri incelendiğinde, ^{226}Ra aktivitesinin solungaçlarda $7,15 \pm 0,67 \text{ Bq kg}^{-1}$, deride $7,07 \pm 0,68 \text{ Bq kg}^{-1}$, karaciğerde $1,47 \pm 0,14 \text{ Bq kg}^{-1}$ olduğu; ^{232}Th aktivitesinin solungaçlarda $3,34 \pm 0,32 \text{ Bq kg}^{-1}$, deride $3,04 \pm 0,25 \text{ Bq kg}^{-1}$, karaciğerde ölçülebilmenin altında olduğu; ^{40}K aktivitesinin ise solungaçlarda $105,94 \pm 4,57 \text{ Bq kg}^{-1}$, deride $54,94 \pm 2,23 \text{ Bq kg}^{-1}$, karaciğerde $64,65 \pm 2,88 \text{ Bq kg}^{-1}$ olduğu tespit edilmiştir.

Tablo 2. Gökkuşağı alabalığı dokuları ve yemlerinin ^{226}Ra , ^{232}Th , ^{40}K (Bq kg^{-1} yaş ağırlık) aktivite konsantrasyonları*

Doku	İşletme no	N	^{226}Ra	^{232}Th	^{40}K
Kas	1	8	$8,26 \pm 0,78$	$3,38 \pm 0,30$	$140,86 \pm 5,82$
	2	5	$5,50 \pm 0,52$	ÖSA	$102,69 \pm 5,22$
	3	6	$3,29 \pm 0,27$	$2,25 \pm 0,19$	$125,21 \pm 7,02$
	4	7	$3,46 \pm 0,33$	ÖSA	$118,08 \pm 7,05$
Karaciğer	1		$1,47 \pm 0,14$	ÖSA	$64,65 \pm 2,88$
Deri	1		$7,07 \pm 0,68$	$3,04 \pm 0,25$	$54,94 \pm 2,23$
Solungaç	1		$7,15 \pm 0,67$	$3,34 \pm 0,32$	$105,94 \pm 4,57$
Yem	1-2-3-4		ÖSA	$9,54 \pm 0,88$	$174,98 \pm 8,50$

ÖSA: Ölçüm sınırının altında, N: numune sayısı, * Ortalama±Standart Hata

Buna göre kültür gökkuşağı alabalığı dokularında ^{226}Ra ve ^{232}Th için radyonüklit birikiminin kas>solungaç>deri>karaciğer şeklinde sıralandığı, ^{40}K için ise karaciğerde deriye nazaran daha fazla birikimin (kas >solungaç>karaciğer>deri) olduğu görülmektedir.

Balık yemleri yetiştirciliği yapılan balığın ihtiyacını karşılayacak içerekte birçok yem hammaddesinin bir araya getirilmesi ile elde edilir. Bu durumda rasyona dahil olan hammaddelerin radyonüklit içerikleri elde edilen yemin yükünü de etkiler. Ayrıca üretilen yemin üretim prosesi yem kalitesi üzerine etkilidir. Örnekleme yapılan 4 işletmede aynı firmaya ait yemler kullanıldığı için ölçüm sonuçlarının ortalaması verilmiştir (Tablo 2). İncelenen tüm yem örneklerinde ^{226}Ra aktivitesi ölçülebilen sınırın altında kalmıştır. ^{232}Th ve ^{40}K aktiviteleri ise sırasıyla ortalama $9,54 \pm 0,88$ ve $174,98 \pm 8,50 \text{ Bq kg}^{-1}$ 'dır.

Balıklarda gözlemlenen radyonüklit konsantrasyonları yem ve içinde yaşadığı ortamdan etkilenmektedir (Stricht ve Kirchmann, 2001; IEAE, 2004). Kas dokusunda tespit edilen ^{232}Th ve ^{40}K aktivitesinin olası kaynaklarından birinin yetiştircilikte kullanılan yem olduğu Tablo 2'de verilen yemlere ait ^{232}Th ve ^{40}K aktivite konsantrasyonlarından açıkça anlaşılmaktadır. Ancak yemde tespit edilemeyen ^{226}Ra aktivitesinin kasta bulunması çevresel koşulları işaret etmektedir. Kaynağın tespiti yönünde ayrıntılı çalışmalara ihtiyaç vardır.

Tablo 3. Türkiye'de ve diğer ülkelerde balıklar üzerinde yapılan çalışmalar (Bq kg^{-1})

Ülke	^{226}Ra	^{232}Th	^{40}K	Kaynak
Amerika (Mississippi) Çiftlik	0,41	0,89	99	Billa vd., 2016
Amerika (Mississippi) Nehir	0,47	0,97	101	Billa vd., 2016
Bangladeş (Bengal Körfezi)	1,05	0,77	61,5	Ghose vd., 2000
Güney Afrika	34,6	38,7	-	Fanhof ve Louw 2001
Nijerya (Ado Ekiti)	$17,8 \pm 0,6$	$3,5 \pm 0,4$	$533,3 \pm 37,0$	Fasae ve Isinkaye 2018
Nijerya (Kainji)	37,2	94,8	618,2	Adamu vd., 2013
Nijerya (Nijer Deltası)	4,5	11,0	37,4	Bolaji vd., 2015
Nijerya (Ondo)	21,4-38,6	40,7-64,4	462-792	Ademola ve Ehiedu 2010
Oman Denizi	0,14-2,66	0,06-4,68	38-570	Goddart vd., 2003
Pakistan	1,30	1,0	90	Tahir vd., 2010
Türkiye	45,6	ÖSA	179	Topcuoglu vd., 2003
Türkiye (Van Gölü)	0,57	0,022	319	Erenturk vd., 2014
Türkiye (Trabzon)	0,76	1,03	101,72	Görür vd., 2012

ÖSA: Ölçüm sınırının altında

Balık doku ve yem örneklerinin tümünün ^{226}Ra , ^{232}Th ve ^{40}K aktivite konsantrasyonlarının Türkiye ve diğer ülke sonuçlarıyla genel olarak uyumlu, Güney Afrika Nijerya'da (Faanhof ve Louw, 2001; Fasae ve Isinkaye, 2018; Adamu vd., 2013; Ademola ve Ehiedu, 2010) yapılan çalışmalarda raporlanan sonuçların çok altında olduğu gözlenmektedir.

Çalışma kapsamında incelenen alabalık dokuları ile yem örneklerinin ^{226}Ra , ^{232}Th ve ^{40}K aktivite konsantrasyonları kullanılarak [Radyum eşdeğer aktivite (Ra_{es}), İç zarar indeksi (H_{in}) ve Yıllık etkin doz (YED)] radyolojik risk parametreleri hesaplanmış ve bulgular Tablo 4'te listelenmiştir.

Tablo 4. Gökkuşağı alabalık dokularının ve yem örneklerinin radyolojik risk parametreleri

Doku	İşletme no	$\text{Ra}_{\text{es}} (\text{Bq kg}^{-1})$	H_{in}	YED ($\mu\text{Sv y}^{-1}$)
Kas	1	23,94	0,22	4,80
	2	13,40	0,17	3,50
	3	16,15	0,21	4,27
	4	12,55	0,16	4,03
Karaciğer	1	6,45	0,23	2,20
Deri	1	15,65	0,19	1,87
Solungaç	1	20,08	0,26	3,61
Yem	1-2-3-4	27,12	0,07	5,97
Dünya ort. (UNSCEAR, 2000)		370	≤ 1	200-800 (ortalama 290)

Doku örnekleri 6,45 (karaciğer) – 23,94 (kas) Bq kg^{-1} aralığında değişen radyum eşdeğer aktiviteleri üretirken yem örneklerinin ortalama radyum eşdeğer aktivitesi 27,12 Bq kg^{-1} olarak hesaplanmıştır. Benzer şekilde ICRP (2012) dönüşüm faktörleri kullanılarak hesaplanan doku örneklerinin yıllık eşdeğer aktiviteleri 1,87 (deri) – 4,80 (kas) $\mu\text{Sv y}^{-1}$ arasında değişirken yem örneklerinin ortalama yıllık eşdeğer aktivitesi 5,97 $\mu\text{Sv y}^{-1}$ ’dir. Belirlenen radyum eşdeğer aktivitesi ve yıllık etkin doz değerleri UNSCEAR 2000’de önerilen ($\text{Ra}_{\text{es}} 370 \text{ Bq kg}^{-1}$ ve YED 290 $\mu\text{Sv y}^{-1}$) değerlerin çok altında yer almaktadır. Ayrıca tüm örneklerin iç zarar indeksi (H_{in}) değerleri 1’den küçüktür. Bu veriler yörende yetiştirilen gökkuşağı alabalığının tüketilmesinin radyolojik bakımından insan sağlığı için olumsuz bir etki yaratmayacağı göstermektedir.

SONUC

Sonuç olarak, Fethiye yöresinde yetiştirilen gökkuşağı alabalıklarının yenilebilir kısımlarında gözlenen aktivite konsantrasyonlarının tüketici sağlığı bakımından risk teşkil etmeyecek seviyelerde olduğu ortaya konmuştur. Çiftlik koşullarında yetiştirilen gökkuşağı alabalığı dokularında belirlenen ^{226}Ra , ^{232}Th ve ^{40}K aktivite konsantrasyon değerleri bu alanda literatürdeki eksikliği tamamlamakta ve yetiştirciliği yapılan diğer türlerle kıyaslanabilir nitelikte bir veri seti oluşturmaktadır. Ayrıca, balık dokularında tespit edilen doğal radyonüklitlerin yetiştircilik ortamındaki orjinlerinin tespiti ve kalitenin artırılması yönünde alınabilecek tedbirlerin araştırılacağı çalışmalarla ihtiyaç vardır.

Teşekkür : Yazarlar olarak, numunelerin gama spektrometrik ölçümleri için araştırma laboratuvarını tahsis eden Akdeniz Üniversitesi Fizik Bölümü Öğretim Üyesi Prof. Dr. İsmail BOZTOSUN'a yardım ve desteklerinden dolayı teşekkürü borç biliriz.

Sunulan çalışmada kullanılan balıklar hasat sonrası ölü olarak örneklenigidinden herhangi bir etik prosedür izlenmemiştir.

KAYNAKLAR

- Adamu, R., Zakari, Y.I., Ahmed, A.Y., Abubakar, S., & Vatsa, A.M. (2013). Analysis of activity concentrations due to natural radionuclides in the fish of Kainji Lake. *Advances in Applied Science Research*, 4(4), 283-287.

- Ademola, J.A., & Ehiedu, S.I. (2010). Radiological analysis of ^{40}K , ^{226}Ra and ^{232}Th in fish, Crustacean and sediment samples from fresh and marine water in oil exploration area of ondo state, Nigeria. *African Journal of Biomedical Research*, 13, 99-106.
- Beretka, J., & Mathew, P.J. (1985). Natural radioactivity of Australian building materials, industrial wastes and by-products. *Health Physics*, pp.48-87.
- Billa, J., Han, F., Didla, S., Yu, H., Dimpah, J., Brempong, O., & Adzanu, S. (2016). Radioactivity studies on farm raised and wild catfish produced in Mississippi, USA. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, 307(1), 203-210.
- Bolaji, B.B., Francis, D.S., & Ibitoruh, H. (2015). Human health impact of natural and artificial radioactivity levels in the sediments and fish of Bonny estuary, Niger Delta, Nigeria. *Challenges*, 6, 244-257.
- BSGM (Balıkçılık ve Su Ürünleri Genel Müdürlüğü) (2019, 6 Mayıs). T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı su ürünlerinin istatistikleri. Alındı <https://www.tarimorman.gov.tr/sgb/Belgeler/SagMenuVeriler/BSGM.pdf>.
- Cinelli, G., Tollefson, T., Bossew, P., Gruber, V., Bogucarskis, K., De Felice, L., & De Cort, M. (2019). Digital version of the European Atlas of natural radiation. *Journal of Environmental Radioactivity*, 196, 240-252.
- Erenturk, S., Yusun, S., Turkuzu, D.A., Camtakan, Z., Olgen, M.K., Aslani, M.A.A., Aytas, S., & Isik, M.A. (2014). Spatial distribution and risk assessment of radioactivity and heavy metal levels of sediment, surface water and fish samples from Lake Van, Turkey. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, 300(3), 919-931.
- Faanhof, A., & Louw, I. (2001). The measurement of natural radioactivity in fish and the impact on humans. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, 249, 227-232.
- FAO (2018). FAO Fisheries Department, Fishery Information, Data and Statistics Unit. FishStatJ, a tool for fishery statistics analysis, Release: 3.04.5, *Universal Software for Fishery Statistical Time Series*. Global aquaculture production: Quantity 1950–2016; Value 1950–2016; Global capture production: 1950–2016, 2018-03-16.
- Fasae, K.P., & Isinkaye, M.O. (2018). Radiological risks assessment of ^{238}U , ^{232}Th and ^{40}K in fish feeds and catfish samples from selected fish farms in Ado e Ekiti, Nigeria. *Journal of Radiation Research and Applied Sciences*, 11, 317-322.
- Ghose, S., Alam, M.N., & Islam, M.N. (2000). Radiation dose estimation from the analysis of radionuclides in marine fish of the Bay of Bengal. *Radiation Protection Dosimetry*, 87, 287-291.
- Goddard, C.C., Mathews, C.P., & Al Mamry, J. (2003). Baseline radionuclide concentrations in Omani Fish. *Marine Pollution Bulletin*, 46, 914-917.
- Gorur, F.K., Keser, R., Akcay, N., & Dizman, S. (2012). Radioactivity and heavy metal concentrations of some commercial fish species consumed in the Black Sea Region of Turkey. *Chemosphere* 87, 356-61.
- IAEA (International Atomic Energy Agency) (2004). Sediment distribution coefficients and concentration factors for biota in the marine organisms. *IAEA Technical report series*, No. 422, Vienna.
- ICRP (2012). Compendium of Dose Coefficients based on ICRP Publication 60. *ICRP Publication 119*, Annual ICRP 41(Suppl.).
- Krieger, R. (1985). Radioactivity of construction materials *Betonw Fertigt Technol*, 47, 468-473.
- Ojovan, M.I., & Lee, W.E. (2014). Nuclear Waste Types and Sources. In: Ojovan,M.I.,Lee, W.E. (Eds), *An Introduction to Nuclear Waste Immobilisation* (Second Edition), pp 75-97. Elsevier Ltd. Waltham, USA.
- Ozmen, S.F., Boztosun, I., Yavuz, M., & Tunc, M.R. (2013). Determination of gamma radioactivity levels and associated dose rates of soil samples of the Akkuyu/Mersin using high-resolution gamma-ray spectrometry. *Radiation Protection Dosimetry*, 158 (4), 461-465.
- Ozmen, S.F., Cesur, A., Boztosun, I., & Yavuz, M. (2014). Distribution of natural and anthropogenic radionuclides in beach sand samples from Mediterranean Coast of Turkey. *Radiation Physics and Chemistry*, 103, 37-44.
- Saleh, I.H., Hafez, A.F., Elanany, N.H., Motaweh, H.A., & Naim, M.A. (2007). Radiological Study on Soils, Foodstuff and Fertilizers in the Alexandria Region, Egypt. *Turkish Journal of Engineering and Environmental Sciences*, 31, 9-17.
- Stricht, E.V.D., & Kirchmann, R. (2001). *Radioecology, Radioactivity & Ecosystems*. Fortemps, Liège.
- Tahir, S., Alaamer, A., Ayub, M. & Khan, M. (2010). Radiometric analysis of samples of domestic fish species and radiological implications. *Health Physics*, 98(5), 741-744.
- Topcuoglu, S., Karahan, G., Güngör, N., & Kirbasoglu, C. (2003). Natural and artificial radioactivity in Emendere thermal spring area in Western Anatolia. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, 256(3), 395-398.
- TÜİK (2019, 6 Mayıs). Su ürünlerinin istatistikleri. Alındı <https://biruni.tuik.gov.tr/medas/?kn=97&locale=tr>.
- UNSCEAR (2000). *Sources and effects of ionizing radiation*. Report to General Assembly, with Scientific Annexes. United Nations Scientific Committee on the Effect of Atomic Radiation.
- Yaprak, G., & Aslani, M.A.A. (2010). External dose-rates for natural gamma emitters in soils from an agricultural land in West Anatolia. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, 283, 279-287.

Yeni Bir Maya ile *Cystoseira barbata* (Stackhouse) C. Agardh, 1820 Taksonundan Biyoetanol Üretimi

Aylin ÇAĞMAN¹, Hüseyin ERDUĞAN^{2*} 

¹Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Çanakkale, Türkiye.

²Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Çanakkale, Türkiye.

*Sorumlu Yazar: herdugan@gmail.com

Araştırma Makalesi

Geliş 14 Mayıs 2019; Kabul 15 Ağustos Eylül 2019; Basım 15 Aralık 2019.

Özetlama: Çağman, A., & Erduğan, H. (2019). Yeni bir maya ile *Cystoseira barbata* (Stackhouse) C. Agardh, 1820 taksonundan biyoetanol üretimi. *Acta Aquatica Turcica*, 15(4), 524-534. <https://doi.org/10.22392/actaquatr.564986>

Özet

Bu çalışmada Çanakkale Boğazı kıyılarından toplanan kahverengi alg'lere ait *Cystoseira barbata* taksonu kullanılarak biyoetanol eldesi araştırılmıştır. Biyoetanol yenilenebilir, ekonomik ve sürdürülebilir enerji kaynağı olması bakımından değerlidir. Ayrıca CO₂ emisyon değerlerini azalttığı da bilinmektedir. İlk olarak bu taksondan elde edilen sodyum alginat kullanılmış, sonrasında ise tallusun kendisi öğütülmüş kullanılmıştır. Maya olarak maya 1, maya 2 ve ticari maya suşları kullanılmıştır. CO₂ miktarının artışına bağlı olarak ölçümler aralığı belirlenerek dakikalık, saatlik ve günlük ölçümler yapılmıştır. Yapılan ölçümler sonucunda üç maya örneği de *C. barbata* taksonunu karbonhidrat kaynağı olarak kullanılmıştır. Fakat kullanma sürelerinde farklılık gözlemiştir. Alg örneğini en uzun sürede kullanan maya, mayal olara adlandırılan mayadır. Maya 2 olarak adlandırılan mayanın ise üçüncü günde 10000 ppm seviyesine ulaştığı belirlenmiştir. Yapılan çalışmada kullanılan mayalar içinde en verimli ve en kısa sürede etki gösteren maya 2 olarak isimlendirilen mayanın olduğu tespit edilmiştir.

Anahtar kelimeler: *Cystoseira barbata*, alg, maya, biyoetanol, CO₂.

Bioethanol Production from *Cystoseira barbata* (Stackhouse) C. Agardh, 1820 Taxa with a New Yeast.

Abstract

In this study, bioethanol production was investigated by using *Cystoseira barbata* taxa belonging to the brown algae collected from the coasts of the Dardanelles. Bioethanol is valuable as a renewable, economic and sustainable energy source. It is also known to reduce CO₂ emissions. Firstly, sodium alginate obtained from this taxon was first used, and then tallus itself was used by grinding. Yeast 1, yeast 2 and commercial yeast strains were used as yeast. Depending on the increase in the amount of CO₂, the measurement interval was determined and minute, hourly and daily measurements were made. As a result of the measurements, the three yeast samples used *C. barbata* taxa as a source of carbohydrates. However, differences in usage periods of carbohydrates source were observed. The yeast, which uses the algae sample for the longest period of time, is yeast called yeast1. Yeast, called yeast 2, is determined to reach 10000 ppm on the third day. In the study, it was found that yeast called yeast 2 which is the most efficient and has an effect in the shortest time in the yeasts used.

Keywords: *Cystoseira barbata*, algae, yeast, bioethanol, CO₂.

GİRİŞ

Algler, sụcul ekosistemin büyük bir kısmını oluşturmaktakta ve barındırdıkları metabolitler ile önemli bir ham madde kaynağı olarak kullanılmaktadır. Deniz suyu, tatlı su ve atık sular gibi değişik ortamlarda yaşayabilirler. Farklı enerji kaynaklarına yönelik ile günümüz dünyasında güneş enerjisine ilgi fazladır. Algler güneş ışığını en etkili kullanan canlılar olup birçok alg türü fotoototrofik özellik göstererek yağ üretimini gerçekleştirirler.

Fosil yakıtlar hala günümüzün en önemli yakıtlarındandır. Ancak bu yakıtların sürdürülemez bir kaynak olarak görülmesinin asıl sebebi atmosferde sera gazlarının birikmesi ve küresel ısınmaya neden olmalarıdır (Demirbaş, 2005; Searchinger vd., 2008; Gouveia ve Oliveira, 2009; Sirajunnisa ve Surendiran, 2016).

Fosil yakıtların yakılması sonucunda çevreye salınan CO₂ gazının üçte biri okyanuslar tarafından emilerek absorbe edilebilmekte ve bu da okyanuslardaki pH değerini asidik hale getirmektedir. Böylelikle mercan resiflerinin ve deniz ekosistemi biyo-çeşitliliğinin yokmasına, buna bağlı olarak

da kara ekosisteminin ciddi derecede olumsuz etkilenmesine neden olurlar (Mata vd., 2010; Hacisalihoglu vd., 2009; Sirajunnisa ve Surendiran, 2016).

Günümüz dünyasında teknolojinin hızla gelişmesi ile birlikte enerji ihtiyacı artarak devam etmektedir. Fosil yakıtlar enerji sektöründe ve küresel ekonomide başrolde olup, temel enerji ihtiyacının yaklaşık olarak %80-88'ini karşılamaktadır (Adiguzel, 2013; Sirajunnisa ve Surendiran, 2016; Saad vd., 2019). Fosil yakıt rezervlerinin tükenmeye başlaması ve olumsuz etkilerinden dolayı son yıllarda bilim insanları fosil yakıtlara alternatif olabilecek, yenilenebilir ve çevreye minimum zarar verecek alternatif yakıt kaynaklarına yönelmiştir.

Birinci nesil biyoyakıt kaynakları yaklaşık olarak otuz yıldır yok sayılmıştır (Sirajunnisa ve Surendiran, 2016). Bu nesil yakıtlar için hammadde olarak şeker kamışı, şeker pancarı, buğday, pekmez, arpa ve mısır kullanılmış ancak gıda arzı ve yakıt arasında büyük problemler oluşturmuştur (Singh vd., 2011; Sirajunnisa ve Surendiran, 2016). Biyoetanol üretmenin en basit ve kompleks olmayan yöntemi, şeker içeren hammadde stokundan direkt olarak fermente edilmesidir. Bu nesil biyoyakıt kaynaklarında, beslenme stokundan biyoetanol üretim maliyetinin düşük olmasına karşın, hammadde maliyeti fazladır (John vd., 2011; Sirajunnisa ve Surendiran, 2016).

Saccharomyces cerevisiae şeker içerikli kaynaklardan alkol üretmede kullanılan temel maya türüdür. Biyoetanol üretimi için *S. cerevisiae* kullanılmasının sebebi; yüksek etanol fermantasyon hızı, güçlü invertaz üretimi, melastaki inhibitör bileşenlerine yüksek tolerans göstermesi, kolay üreme ve korunabilir olmasıdır. Diğer bir maya türü de çok yaygın olarak kullanılmasa da *Schizosaccharomyces pombe* taksonudur (Yigitoglu vd., 2012).

Birinci nesil biyoyakıtlar ile alakalı asıl problem, tarım arazilerinden elde edilen ürünlerin sürekli ve artan bir şekilde devam eden nüfusun gıda ihtiyacının karşılanması mı yoksa biyoetanol üretimi için kullanılması mıdır? (Sirajunnisa ve Surendiran, 2016).

Brezilya, Amerika Birleşik Devletleri ve Avrupa Birliği'nde biyoetanol üretimi için hammadde stokunu oluşturan şeker kamışı, mısır ve şeker pancarının yüksek oranlarda kullanılması gıda kıtlığına ve yüksek gıda fiyatlarına yol açabileceği belirtilmiştir (Wu vd., 2014; Hong vd., 2014; John vd., 2011; Sirajunnisa ve Surendiran, 2016). Amerika Birleşik Devletleri'nde 2010 yılında yaklaşık olarak 220 trilyon litre dizel kullanılmıştır. Bu miktarın soya fasulyesi ile karşılaşabilmesi için 367 milyon hektar alan gerekmektedir. ABD'nin belirtilen ekilebilir tarım alanı ise 930 milyon hektardır (Leite vd., 2013; Başak vd., 2014). Tarım ürünlerinden yakıt elde edilmesi için çok büyük arazilere ihtiyaç duyulması, maliyetin yüksek olması ve uzun süreler gerektirmesi bu nesil için dezavantajları oluşturur.

Birinci nesil biyoenerji kaynaklarında karşılaşılan bir diğer problemde, hammadde stokunu oluşturan ürünlerin sürekli olarak ekilmesi, gubreleme ve zirai ilaçlar ile tarım alanlarının tahrif olması, erozyon, bitki biyo-çeşitliliğinin azalması, yüzey sularının kirlenmesi ile ötrofikasyona neden olmasıdır (Singh vd., 2011; John vd., 2011; Sirajunnisa ve Surendiran, 2016). Ayrıca enerji bitkilerinin yetiştirlmesi için kullanılan tarım arazilerinde çok yüksek miktarlarda suya ihtiyaç vardır (Sirajunnisa ve Surendiran, 2016; Canan ve Ceylan, 2017).

Biyoetanol yenilenebilir, ekonomik ve sürdürülebilir olması ayrıca CO₂ emisyonunu azaltması nedeniyle fosil yakıtlara alternatif olarak düşünülmektedir (Hill vd., 2006; Najafi vd., 2009; Koçtürk ve Onurbaş Avcioğlu, 2012; Altunbay vd., 2016)

Günümüz dünyasında gıda hammaddeleri ile rekabet oluşturan enerji bitkilerinden elde edilen biyoetanol yerine, gıda dışı tarım atıklarından doğaya zarar vermeyen ikinci nesil, biyoetanol üretimi tercih edilmeye başlanmıştır. Gıda biyokütlesine alternatif olarak ortaya çıkan tarımsal atıklar (mısır sapı, buğday çöpü) ile lignoselülozik (odun, çim, saman vb.) biyokültelen elde edilen etanol ikinci nesil biyokütle kavramını oluşturmaktadır. Biyoyakıt üretiminde son 20 yılda bu lignoselülozik biyokütle biyoyakıt hammmaddesi olarak dikkat çekmiştir (Ullah vd., 2015; Wu vd., 2014; Sirajunnisa ve Surendiran 2016). Enerji bitkilerine kıyasla karbonhidrat içeriğinden dolayı biyoyakıt için daha uygun bir alternatif oluştururlar (Hong vd., 2014; Özdemir vd., 2009; Sirajunnisa ve Surendiran 2016).

Polimerce zengin selüloz, hemiselüloz, lignin içeren maddeler lignoselülozik maddeler bitkisel hücre duvarını oluşturan en önemli yapısal bileşenlerdir. Dünya nüfusunun artışıyla birlikte gıda ve enerji ihtiyacını karşılayabilecek hammadde stoğunun yetersiz kalması ile lignoselülozik maddelerin kullanımı önem kazanmıştır (Ünlü ve Durmaz Hilmioğlu 2014).

Şeker moleküllerinin çeşitli enzimler yardımıyla selülozden ayrıldığında lignoselülozik etanol oluşur. Birinci nesil biyokütle kaynakları olan enerji bitkilerine kıyasla, lignoselülozik biyokütleler sera gazı emisyonlarının azaltılmasında daha etkilidirler. Fosil bir yakıt olan petrol ile karşılaşırıldığında

ise, bu nesil lignoselülozik biyoetanol sera gazı emisyonlarını %90 azaltabilir (Demain vd., 2005; Adıgüzel, 2013; Sirajunnisa ve Surendhiran 2016).

İkinci nesil biyokütle hammaddesini oluşturan nişasta ve selüloz, şeker içeren hammaddelere göre daha ucuz olsa da, bu hammaddelerin mayalanabilir şekerlere dönüşümü, yüksek maliyetli selüloza bağlı olarak genel dönüşüm süresini kısıtlamaktadır. Bu sebeple, bu hammaddelerden düşük verim ve yüksek hidroliz maliyeti günümüz teknolojileri ile büyük ölcüklerde olumsuz etkiler göstermiştir (John vd., 2011; Fu vd., 2010; Sirajunnisa ve Surendhiran 2016). Buna ek olarak selülozik atıklarda bulunan ligninin hidrofobik etkisini ortadan kaldırmak için ayrıca ön işleme gereksinim duyulur, çünkü lignin etanol üretimini olumsuz etkileyerek var olan selülozu örtmektedir. Ön işlem, biyoetanol üretimi maliyetinin artmasına sebep olur (Hong vd., 2014; Özdemir vd., 2009; Sirajunnisa ve Surendhiran 2016).

Üçüncü nesil biyoyakıtlar olarak adlandırılan algler, içeriğindeki yüksek miktarda lipit ve karbonhidratlar ile yakıt üretimi için, enerji bitkilerine alternatif olabilecek tek seçenek olarak görülmektedirler. Bazı mikroalglerin hücre duvarlarında bulunan çeşitli polisakkartitler (selüloz, mannalar, ksilanlar ve sülfatlanmış glikan vb.) basit şekerlere ayrılp etanole dönüştürülebilmektedir (Chaudhary vd., 2014; Nguyen ve Vu, 2012; Sirajunnisa ve Surendhiran 2016).

Algleri diğer biyoetanol kaynaklarından daha üstün kılan birçok neden vardır. Oksijenin temel üreticileri olmaları, enerji bitkileri gibi araziye gereksinim duymamaları, daha az su tüketmeleri, hemen hemen her ortamda yetişebilir olmaları, insan-gıda ilişkisini etkilememeleri, ticari olarak önemli ürünler üremeleri, yüksek fotosentez etkinliğine sahip olmaları ve karbondioksiti emmeleri gibi birçok neden algleri alternatiflerine göre avantajlı kılar (Adıgüzel, 2013; Sirajunnisa ve Surendhiran, 2016). Ayrıca yosunlardan elde edilen biyoyakıtın verimi daha yüksektir (Georgianna ve Mayfield, 2012).

Alg hammadde stoklarının sıvı yakıtlara ve gaz haline dönüştürülmesi de diğer bitki stoklarında olduğu gibi direkt yada çeşitli biyokimyasal veya termokimyasal dönüşüm yöntemleri ile gerçekleşir (Amin, 2009; Demirbaş, 2009; Rittmann, 2008; Pitman vd., 2011). Direkt olarak yanma ile kurutulmuş alg biyokütle enerji üretimi için kullanılabilmektedir (Kadam, 2002; Pitman vd., 2011). Gaz yada yağ bazlı yakıtların elde edilmesi ise proliz, gazlaştırma, hidrojenasyon ve alg biyokütesinin sıvılaştırılması gibi termokimyasal dönüştürme yöntemleri ile gerçekleşir (McKendry, 2002; Miao ve Wu, 2004; Pitman vd., 2011).

Biyokütenin fermantasyonu ve anaerobik sindirimini ile biyokimyasal dönüştürme işlemleri sonucunda biyoetanol ve metan elde edilmektedir (McKendry, 2002; Pitman vd., 2011). Ayrıca biyofotoliz yöntemi ile alglerden hidrojen üretilebilir (Melis, 2002; Pitman vd., 2011).

Alglerden biyoetanol üretiminin en önemli basamağı, türlerin taranması ve uygun olanların seçilmesidir.

Chlorophyceae, *Eustigmatophyceae*, *Haptophyceae* ve siyanobakterilerin suşları genel olarak biyoyakıt üretimi ve diğer endüstriyel organikleri üretmede sıkça tercih edilen gruptlardır (Larkum vd., 2011; Sirajunnisa ve Surendhiran 2016). Mikroalg grupları içerisindeki bazı türler, rezerv polimerler olarak fermentle edilebilir şekerler gibi yüksek miktarda karbonhidrat içeriğine sahiptirler. Bu türler biyoetanol üretimi için en uygun adaylardır (Nguyen ve Vu, 2012; Sirajunnisa ve Surendhiran 2016).

Biyoetanol üretiminin de makroalglerin tercih edilmesi daha uygundur. Bunun nedeni ise makroalgler yapılarında, mikroalgler gibi yüksek miktarlarda lipid içermeleri yerine, alkol bazlı yakıt üretimi için fermentle edilebilen yüksek oranlarda doğal şeker ve karbonhidratları barındırmalarıdır (FAO 2017).

Makroalglerle yapılan çalışmaların kırmızı ve kahverengi alglerde yoğunlaştığı görülmektedir. Bu konuda kırmızı alglerden etanol üretiminde *Gelidium amansii* (J.V.Lamouroux) J.V.Lamouroux (Wi vd., 2009), *Kappaphycus Alvarezii* (Doty) Doty ex P.C.Silva in P.C.Silva (Khambhaty vd., 2012; Meinita vd., 2012a,b), *Gracilaria salicornia* (C.Agardh) E.Y.Dawson (Wang vd., 2011), *Gracilaria verrucosa* (Sahoo vd., 2013; Kim vd., 2015) gibi taksonlar kullanılmıştır.

Kahverengi alglerden *Laminaria hyperborea* (Gunnerus) Foslie (Horn vd., 2000), *Saccharina latissima* (Linnaeus) C.E.Lane, C.Mayes, Druehl & G.W.Saunders (Adams vd., 2009), *Laminaria japonica* (Lee ve Lee 2012; Jang vd., 2012), *Laminaria digitata* (Hudson) J.V.Lamouroux (Gallagher vd., 2011), *Sargassum sagamianum* Yendo (Jung vd., 2011), *Sargassum spp.* C.Agardh, (Borines vd., 2013), *Undaria pinnatifida* (Harvey) Suringar (Delgenes vd., 1988; Kim vd., 2013), *Cystoseira indica* (Thivy & Doshi) Mairh ve *Scinaia hatei* (Khan vd., 2015) taksonları çalışılmıştır.

Yeşil alglerden ise *Ulva lactuca* L. (Bruhn vd., 2011; López-Contreras vd., 2013), *Cladophora* spp. (Trung vd., 2013), *Ulva reticulata* (Yoza ve Masutani, 2013), *Spirogyra*, *Cladophora* ve *Gracilaria* (Ahmed vd., 2010) taksonları çalışılmıştır.

Biyoetanol kavramı yeni bir kavram değildir. 1970'lerde dünyada başlayan yakıt sıkıntısı ile ortaya çıkan ve günümüzde de bu konu ile ilgili çalışmalar halen artarak devam etmektedir (Adigüzel, 2013; Sirajunnisa ve Surendhiran, 2016). İlk olarak ise 18. Yüzyılın sonlarında Gay-Lussac'ın (1815) fermantasyon formülünü ortaya koyması ile anlaşılmaya başlanmıştır.

Farklı hammadde kaynakları üzerinde yoğunlaşmış ancak avantajları ve dezavantajları göz önüne alındığında en uygun hammadde kaynağı ve çevreye duyarlı bir yakıt olmasından dolayı da alglerden faydalanailmaya başlanmıştır. Bu çalışmada *Cystoseira barbata* (Stackhouse) C. Agardh taksonu farklı maya suşları kullanılarak biyoetanol eldesi araştırılmıştır.

MATERYAL ve YÖNTEM

Materyal olarak Çanakkale ili Kepez ilçesi sahillerinde yayılış gösteren *Cystoseira barbata* (Stackhouse) C. Agardh taksonu ile maya 1, maya 2 ve ticari maya (yaş maya) suşları kullanılmıştır.

Örnekleme Ocak 2016 tarihinde kepez sahilinden 0-1 metre derinliklerden yapılmıştır. Kahverengi algler, bulunduğu ortamın koşullarına göre ve üreme dönemlerinde kendileri için gerekli olan polisakkartitleri daha fazla biriktirirler (Koçoğlu, 2010). Örnekler bu nedenle soğuk dönemde toplanmıştır. Kahverengi algin tercih edilmesinin sebebi yapısında lignin bulunurması nedeniyle şekerleri serbest bırakması için öğütme, ezme gibi basit bir ön işlemlerin yeterli olmasıdır. Aynı zamanda alginik asit içeriğinin yüksek olması ve Çanakkale kıyılarında bol bulunmasıdır.

Biyoetanol üretimi için kullanılan mayalar ise ÇOMÜ Biyoloji Bölümü öğretim üyesi Dr. Tülay TURGUT GENÇ'in Maya laboratuvarında test ettikleri ve henüz literatür ismini vermedikleri üreme hızına göre Maya 1 (M 1) ve Maya 2 (M 2) adlarını verdikleri maya suşları ve ticari maya seçilmiştir.

Örnekler önce musluk suyu ile yıkandıktan sonra epifitlerinden temizlenmiştir. Oda sıcaklığında 48 saat boyunca kuramaya bırakılmıştır. Alg örnekleri nem alabileceği düşünülerek 60°C'de 2 saat boyunca etüvde bekletilmiştir. Kuru örnekler ilk önce blender ile öğütülmüşür. Daha sonra havanda dövülerek toz haline getirilmiştir (Borines vd., 2013).

Kullanılan ön işlem ve ekstraksiyon basamakları Koçoğlu (2010) tarafından yapılan tez çalışmasından alınmıştır.

Ön işlem basamağında; 20 g öğütülmüş kuru örnek oda sıcaklığında 300 ml %2'lik formaldehit çözeltisi içerisinde 24 saat süre ile muamele edilmiştir. 24 saat sonrasında yosun materyali saf su ile yıkılmıştır.

Daha sonra 24 saat süre ile 0,2 N'lik 300 ml HCl çözeltisi içerisinde bekletilmiştir. Alg materyali sonrasında tekrar saf su ile yıkıp, süzülmüştür.

Ekstraksiyon basamağı; materyal 70 °C de ısı kontrolü yapılarak 400-500dev/dk hızındaki manyetik karıştırıcıda, 1000 ml'lik beherde 3 saat süre ile %3'lük Na₂CO₃ çözeltisi içinde ekstrakte edilmiştir.

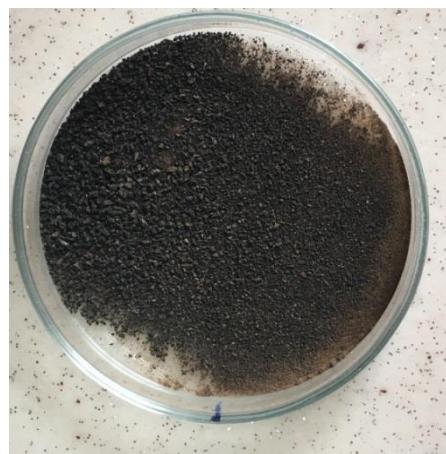
Ekstraksiyon işleminin sonrasında özüt ilk olarak tek katlı fitoplankton bezinde süzülerek, alg kalıntılarından ayrılmıştır. Daha sonra süzüntü tekrar 2 katlı fitoplankton bezi ile süzülmüştür (Şekil 1).



Şekil 1. Süzülmüş özüt.

Süzme işleminin ardından geriye kalan çözelti üzerine 600 ml etanol eklenerek sodyum alginat şeklinde çöktürülmüştür. Elde edilen jel halindeki sodyum alginat süzülerek alınmıştır. Petriye alınan

jel halindeki sodyum alginat 50°C de etüvde kurutulmuştur. Daha sonra kurumuş sodyum alginat havanda dövülerek öğütülmüştür (Şekil 2).



Şekil 2. Kurutulup, öğütülmüş Na-alginat.

Elde edilen sodyum alginat petriye eklendikten sonra M 1 ve M 2 mayalarının ekimi yapılmıştır (Şekil 3). Bunun amacı mayaların sodyum alginatı besin kaynağı olarak kullanıp kullanmayıcağını test etmektir.

Ekim için; 100 ml su, 2 gr agar ve 3 gr öğütülmüş ve toz haline getirilmiş sodyum alginat petriye dökülmüştür. Petriler 30 °C sıcaklıkta 4-5 gün inkübasyona bırakılmıştır. Geçen sürenin ardından petrilerde üreme görülmemiştir.



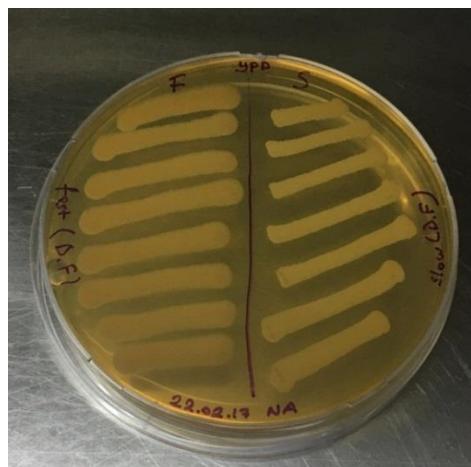
Şekil 3. Na-alginat ve M 1- M 2 mayalarının ekimi.

Petrilerde üreme olmadığı için sodyum alginat yerine direkt olarak kurutulmuş ve öğütülmüş alg örneği kullanılmıştır.

2 gr agar ve 3 gr toz halindeki alg parçaları son hacim 100 ml olacak şekilde otoklavlanmıştır. Ardından 100 ml 3 petriye eşit miktarda dağıtılarak kurumaya bırakılmıştır.

- 1.Petriye; M 1 adı verilen maya suyu özeyle ekilmiştir.
- 2.Petriye; M 2 adı verilen maya suyu özeyle ekilmiştir.
- 3.Petriye herhangi bir şey ekilmedi ve kontrol olarak bırakılmıştır.

Petriler 30°C sıcaklıkta 4-5 gün inkübasyona bırakılmıştır. Geçen sürenin ardından petrilerde üreme görülmüştür (Şekil 4).



Şekil 4. Alg ve M 1- M 2 mayalarının ekimi.

Üreyen maya hücreleri tekrardan yeni petrilere ekilerek çoğalmaya devam edip etmedikleri kontrol edilmiştir. Çoğalan M 1 ve M 2 mayaları için sıvı kültür denemeleri yapılmıştır. Sıvı kültürlerin içeriği de; 100 ml distile su ve 3gr alg örneği eklenerek yapılmıştır. Bu karışımından;

40 ml örnek çekilipli ağızlı kapaklı şişeye aktarılmıştır ve M 1 mayası eklenmiştir

40 ml örnek çekilipli ağızlı kapaklı şişeye aktarılmıştır ve M 2 mayası eklenmiştir.

Kalan 20 ml örnek ağızlı kapaklı şişeye aktarılarak maya eklenmemiştir ve kontrol için hazırlanmıştır (Şekil 5).



Şekil 5. Kontrol, M 1 ve M 2 örnekleri.

Hazırlanan kapaklı şiseler kapatıldıktan sonra parafilm ile çevresi sarılarak hava girişi engellenmiştir. 30°C sıcaklıkta 4-5 gün inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrası şiselerde üremenin olup olmadığı sadece görsel olarak belirlenmiştir. Absorbans değerleri spektrofotometrik olarak ölçülemedi. M 1 ve M 2 mayalarının olduğu şiseler, kontrol şisésine göre bulanık kahverengi bir renk olarak gözlemlenmiştir.

Toz haline getirilmiş alg parçaları aynı işlemlerden geçirilerek tekrar petrilere ekim yapıldıktan sonra 30 °C'de 4-5 gün inkübasyona bırakılmıştır. Geçen sürenin ardından petrilerde üreme görülmüştür. Üreyen M 1 ve M 2 mayaları için sıvı kültür denemeleri yapılmıştır (Şekil 6).

Sıvı kültür denemelerine başlamadan önce mayanın alg ortamına alışması için; 25mL dH₂O, maya ve 0,25 gr toz alg örneği eklenerek 24 saat oda sıcaklığında 120 rpm'de inkübe edilmiştir. 24 saat

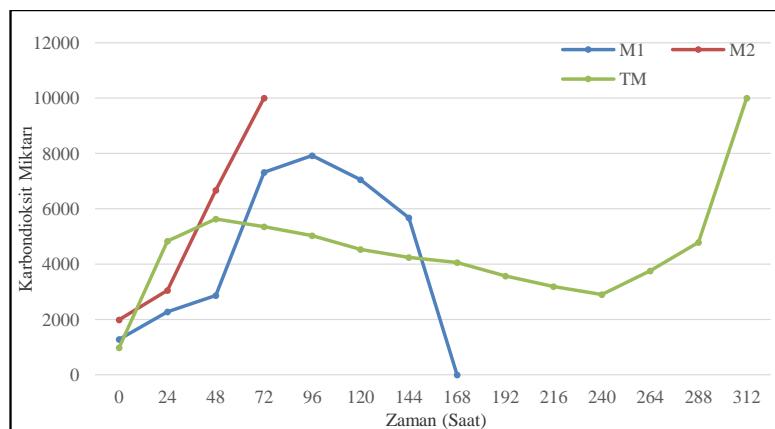
sonunda bekletilen örnekten 100 μl alg içeren örnek sıvı besiyerine aktarılmıştır. 100 mL dH₂O, 1 gr toz alg örneği üzerine eklenmiştir. 1 saat oda sıcaklığında 120 rpm çalkalayıcıda inkübasyona bırakılmıştır. Testo 535 marka CO₂ ölçüm cihazı (0-10000 ppm aralığında) flaska yerleştirilip oksijen girişi bloke edilmiştir. Yapılan bu işlemler M 1, M 2 ve ticari maya için ayrı ayrı tekrarlanmıştır. Flask, Sartorius marka CERTOMAT MO II model çalkalayıcıya yerleştirilmiştir. Cihaz oda sıcaklığında ve 90-100 rpm'de çalıştırılmıştır. CO₂ miktarının artışına bağlı olarak ölçüm aralığı belirlenerek dakikalık, saatlik ve günlük ölçümler yapılmıştır.



Şekil 6. Deney düzenegi

BULGULAR

Çalışmada kullanılan maya 1 (M1), maya 2 (M2) ve ticari mayaya (TM) ait sonuçlar şekil 7'de gösterilmiştir.



Şekil 7. M 1, M 2 ve TM mayalarının CO₂ ölçüm grafiği

Elde edilen bulgular incelendiğinde, M 1 mayası *C. barbata* taksonunu, karbonhidrat kaynağı olarak kullandığı tespit edilmiştir. 8 gün içerisinde toplam 154 ölçüm yapılmıştır. CO₂ ölçümü 1 dakika aralıklarla yapılmıştır. Toplam ölçümülerin 120 tanesi birer dakika aralıklarla alınmıştır. Ölçüm aralığının çok kısa olması ve sonuçların birbirine çok yakın çıkması nedeniyle ölçüm aralığı 10 dakikaya çıkarılmış ve 21 ölçüm alınmıştır. 10 dakikalık ölçümler sonucunda da CO₂ miktarın da büyük bir artış gözlemlenmemiş ve değerlerin oldukça yakın olduğu belirlenmiştir. Ölçüm süresi 4 saate çıkarıldığında 6 ölçüm yapılmış ve ölçüm sonuçlarının değerleri yine birbirine yakın çıkmıştır. Ölçüm aralığı 24 saate çıkarılıp 7 ölçüm daha yapılmıştır. CO₂ değeri 5. günde en yüksek seviyesine ulaşmıştır. 6., 7., ve 8. gün de CO₂ değeri düşmeye başlayıp 8. gün sonunda ölçüm alınamamıştır. Ölçüm sonuçlarında elde edilen en yüksek CO₂ değeri 7924 (5. gün) olarak tespit edilmiştir.

M 2 mayası ile yapılan ölçümlere bakıldığından, 3 gün içerisinde toplam 150 ölçüm yapılmıştır. Ölçüme 10 dakika aralıklar ile başlanmıştır. CO₂ ölçüm süresi 1 dakika olup, 103 ölçüm yapılmıştır. Yapılan ölçümlerde CO₂ değerinin artarak devam ettiği gözlenmiştir. Ölçüm aralığı 30 dakikaya çıkarılmış ve yine 1 dakika ölçüm süresi ile 15 ölçüm yapılmıştır. CO₂ değeri artmaya devam etmiş olup, ölçüm aralığı 1 saatte çıkarılmış ve 32 ölçüm yapılmıştır. CO₂ değerinde herhangi bir düşme olmadan artmaya devam etmiş ve 3. gün yapılan son ölçüm değeri 10.000 değerinin üstüne çıkmıştır. Bu durum M 2 mayasının algi hızlı bir şekilde karbonhidrat kaynağını göstermektedir.

Ticari maya ile yapılan ölçümlere bakıldığından, 13 gün içerisinde toplam 88 ölçüm yapılmıştır. Ölçümlere 10 dakika aralıklarla başlanmıştır. Yine CO₂ ölçüm süresi 1 dakika olarak ayarlanıp, 49 ölçüm yapılmıştır. CO₂ değerinin yavaş bir şekilde artmaya devam ettiği gözlenmiştir. Ölçüm aralığı 30 dakikaya çıkarılarak 10 ölçüm daha yapılmıştır. CO₂ değeri yine artmaya devam etmiş ancak hızlı bir değişim gözlenmemiştir. Daha sonra ölçüm aralığı 1 saatte çıkarılmış ve 11 ölçüm yapılmıştır. CO₂ değerindeki artışın devam ettiği görülmüştür. Ölçüm aralığı 6 saatte çıkarılıp 8 ölçüm daha yapılmıştır. CO₂ değerlerinde fazla bir değişim tespit edilememiştir. Ölçüm aralığı 24 saatte çıkarılmış ve 10 ölçüm daha yapılmıştır. 4. günde CO₂ değerinin düşmeye başladığı görülmüştür. Ancak CO₂ değerinin 12. günde tekrar artışı geçtiği belirlenmiştir. 13. gün sonunda CO₂ değeri 10.000 değerinin üzerinde olduğu için ölçüm alınamamıştır.

TARTIŞMA ve SONUÇ

Algler farklı maya ve bakteri suşları kullanılarak biyoetanol üretimi için önemli bir hammadde kaynağıdır. Kahverengi algler kullanılarak yapılan biyoetanol elde edilmesine ilişkin çalışmalar tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 1. Kahverengi algler kullanılarak yapılan çalışmalar

Alg Türü	Maya/Bakteri	Verim
<i>Saccharina latisma</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	% 45
<i>Sargassum spp.</i>	<i>S. cerevisiae</i>	% 89
<i>Saccharina japonica</i>	<i>Pichia angophore Bacillus sp. JS-1</i>	7,7 g/L
<i>Laminaria digitata</i>	<i>P. angophore</i>	167 ml
<i>Undaria pinnatifida</i>	<i>P. angophore KCTC 17547</i>	12,98 g/L
<i>Laminaria japonica</i>	<i>S. cerevisiae</i>	2,59 g/L
<i>Sargassum sagamianum</i>	<i>Pichia stipitis</i>	~9-10 g/L
<i>Sargassum japonica</i>	<i>Defluviitalea phaphyphila</i>	0,25 g/g
<i>Laminaria japonica</i>	<i>Zymobacter palmae</i>	0,38 g

Tablo 1'de verilen çalışmalarda işlem süresi 1 saat ile 200 saat arasında değişmektedir. Yaptığımız çalışmada işlem süresi M 2 örneğinde 56,5 saat, M 1 örneğinde 171,83 saat ve ticari maya örneğinde ise 312 saatte maksimum değere ulaşılmıştır. M 1 örneğinde ise 570. dakikadan itibaren 1693 ppm seviyesinden 7924 ppm seviyesine 5990. dakikada ulaştığı belirlenmiştir. Daha sonra 10310. dakika sonrasında 0 değerine ulaşmıştır.

Çalışılan maya örneklerinde her maya farklı bir sonuç yani etanol üretimi sergilemiştir. Yapılan çalışmada kullanılan mayalar içinde en verimli ve en kısa sürede iş gören M 2 olarak isimlendirilen mayadır. M 1 mayası ise 10000 ppm değere ulaşamamıştır. Ticari maya ise çok uzun zaman diliminde 10000 ppm değerine ulaşmıştır. Dolayısıyla zaman ve verimlilik açısından en kullanışlı olan maya M 2 olarak isimlendirilen mayadır.

M 2 örneğinde alg numunesi ortamın içerisinde eklendikten hemen sonra yapılan ölçümde 1973 ppm değerine ulaşmıştır. Sonrasında 1530. dakikaya kadar artan bir CO₂ verimi varken, bu dakikadan sonra hızlı bir artış göstererek 3390. dakika sonunda 10000 ppm değerinin üzerine çıkmıştır. M 2 ve ticari maya örneklerinde 10000 ppm değere ulaştıktan sonra ölçüm alınamamıştır. Bunun sebebi ölçüm yapılan cihazın maksimum ölçüm aralığının 10000 ppm olmasıdır.

Ticari mayaörneğinde hemen yapılan ölçümde CO₂ değeri 998 ppm olarak ölçülmüştür. Yaklaşık 540. dakikaya kadar 1740 ppm değerine ulaşmıştır. Bu dakikadan sonra düzenli bir artış ile 2160. dakikada 5645 ppm değerine ulaşmış ve bu dakikadan sonra CO₂ seviyesinde 17280. dakikaya kadar keskin bir düşüş görülmüştür. Bu dakikadan sonra anı bir yükseliş ile 10000 ppm değerine ulaşmıştır.

Yapılan benzer çalışmalarla iyi verim alınan bakterilerin yüksek sıcaklıklar da çalıştığı görülmektedir (Adams vd., 2011; Borines vd., 2013). Oysa bu çalışmada kullanılan M 2 mayası oda sıcaklığında maksimum performans göstermiştir.

Yapılan çalışmalar sonucunda test edilen M 1, M 2 ve ticari maya suşları *C. barbata* taksonunu iyi bir karbonhidrat kaynağı olarak kullandığı tespit edilmiştir. Üç maya için kullanma süresi ve miktarları değişiklik göstermiştir. Algı en kısa süre de parçalayıp, daha etkili kullanan maya ise M 2 olarak isimlendirilen maya olmuştur.

Alglerden biyoetanol eldesi küçük ölçeklerde başarılı olsa da ticarileşme için henüz hazır değildir. Bunun için en önemli basamağı doğru alg türlerinin belirlenmesidir. Alglerin büyük ölçeklerde yetiştirilmesi ve doğru hasat yönteminin belirlenmesi durumunda ticari anlamda yararlanma mümkün hale gelebilir. Oldukça geniş olan kıyılarımızda alg yetiştirmeye uygun alanların belirlenmesi gerekmektedir. Bunun yanında potansiyel hammadde kaynağı olan alglerin ekosisteme zarar vermeden yararlanması çalışmalarının da gerçekleştirilmesi gereklidir. Ayrıca maddi olarak etkin stratejilerin belirlenmesi, biyomühendislik yöntemlerinin geliştirilmesi ile alglerden etkili bir şekilde yararlanmak olasıdır. Alglerden biyoyakıt elde edilmesi üzerindeki çalışmalar arttıkça, petrol kaynaklı yakıtların yerini alabilirler. Aynı zamanda alglerin karbondioksiti tüketmeleri ile doğaya zarar vermeden, yenilenebilir ve sürdürülebilir bir biyolojik kaynak olarak enerji ihtiyacını karşılayabilirler. Türkiye kıyılarında bolca bulunan çok yıllık örneklerden *C. barbata* bu anlamda değerlendirilmesi mümkün olan örneklerdir. Yetiştiği ortama göre en uygun zamanda hasat edilmesi ile potansiyel bir kaynak niteliğindedir.

Teşekkür: Bu çalışma yüksek lisans tezinden özetiştir. Katkılarından dolayı Dr. Öğr. Üyesi Tülay TURGUT GENÇ'e teşekkür ederim.

KAYNAKLAR

- Amin, S. (2009). Review on biofuel oil and gas production processes from microalgae. *Energy Conversion and Management*, 50(7), 1834–1840.
- Adams, J.M., Gallagher, J.A., & Donnison, I.S. (2009). Fermentation study on *Saccharina latissima* for bioethanol production considering variable pre-treatments. *Journal of Applied Phycology*, 21(5), 569–574.
- Adams, J.M., Toop, T.A., Gallagher, J.M., & Donnison, I.S. (2011). Seasonal variation in *Laminaria digitata* and its impact on biochemical conversion routes to biofuels. *Bioresource Technology*, 102(21), 9976-9984.
- Adıgüzel, A.O., (2013). Biyoetanolün genel özellikleri ve üretimi için gerekli hammadde kaynakları. *BEÜ Fen Bilimleri Dergisi*, 2(2), 204-220.
- Ahmed, A.S., Khan, S., Hamdan, S., Rahman, R., Kalam, A., Masjuki, H.H., & Mahlia, T.M.I. (2010). Biodiesel Production from Macro Algae as a Green Fuel for Diesel Engine. *Journal of Energy & Environment*, 1 (2), 1-5.
- Altunbay, S.G., Kangal, A., & Gürel, S. (2016). Şeker pancarından biyoetanol üretimi. *Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 25(Özel sayı-2),334-339.
- Başak, S., Özgün, D., & Çınar, Ö. (2014). Alglerle Biyoyakıt Üretiminde Atıksuyun Kullanımı. *Su Ürünleri Dergisi*, 29(1), 93-102.
- Borines, M.G., de Leon, R.L., & Cuello, J.L. (2013). Bioethanol production from the macroalgae *Sargassum* spp. *Bioresource Technology*, 138, 22-29.
- Bruhn, A., Dahl, J., Nielsen, H.B., Nikolaisen, L., Rasmussen, M.B., Markager, S., Olesen, B., Arias, C., & Jensen, P.D. (2011). Bioenergy potential of *Ulva lactuca*: Biomass yield, methane production and combustion, *Bioresource Technology*, 102, 2595-2604.
- Canan, S., & Ceyhan, V., (2017). Türkiye'de biyokütle fiyatındaki değişimin biyoetanol maliyeti üzerine etkileri. *Anadolu Tarım Bilimleri Dergisi*, 32,16-22.
- Chaudhary, L., Pradhan, P., Soni, N., Singh, P., & Tiwari, A. (2014). Algae as a feed stock for bioethanol production: new entrance in biofuel world. *International Journal of Chemtech Research*, 6(2), 1381–1389.
- Delgenes, J.P., Moletta, R., & Navarro, J. (1988). Fermentation of D-xylose, D-glucose and L-arabinose mixture by *Pichia stipitis* Y 7124: Sugar tolerance. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 29(2), 155-161.
- Demain, A., Newcomb, M., & Wu, J.H.D. (2005). Cellulase, clostridia and ethanol. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 69(1), 124–154.
- Demirbaş, A. (2005). Bioethanol from cellulosic materials: a renewable motor fuel from biomass. *Energy Sources*, 27, 327-337.

- Demirbas, A. (2009). Biofuels securing the planet's future energy needs. *Energy Conversion and Management*, 50(9), 2239–2249.
- Fu, C.C., Hung, T.C., Chen, J.Y., Su, C.H., & Wu, W.T. (2010). Hydrolysis of microalgae cell walls for production of reducing sugar and lipid extraction. *Bioresource Technology*, 101(22), 8750–8754.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). (2017). Available at: <http://www.fao.org/bioenergy/aquaticbiofuels/en/>
- Gallagher, J.A., Adams, J.M.M., Toop, T.A., & Donnison, I.S. (2011). Seasonal variation in *Laminaria digitata* and its impact on biochemical conversion routes to biofuels. *Bioresource Technology*, 102(21), 9976–9984.
- Georgianna, D.R., & Mayfield, S.P. (2012). Exploiting diversity and synthetic biology for the production of algal biofuels. *Nature*, 488(7411), 329–335.
- Gouveia, L., & Oliveira A. C. (2009). Microalgae as a raw material for biofuels production, *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 36, 269-274.
- Hacisalihoglu, B., Kirtay, E., & Demirbas, A. (2009). Historical role of Turkey in petroleum between Caspian Sea Basin and the Middle East. *Society Political Economy Culturel Research*, 1, 1-25.
- Hill, J. Nelson, E., Tilman, D., Polasky, S., & Affiliations, A. (2006). Environmental, economic, and energetic costs and benefits of biodiesel and ethanol biofuels, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103(30), 11206-11210.
- Hong, I.K., Jeon, H., & Lee, S.B. (2014). Comparison of red, brown and green seaweeds on enzymatic saccharification process. *Journal of Industrial Engineering Chemistry*, 20(5), 2687–2691.
- Horn, S.J., Aasen, I.M., & Østgaard, K. (2000). Production of ethanol from mannitol by *Zymnobacter palmae*. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 24(1), 51–57.
- Jang, J.S., Cho, Y., Jeong, G.T., & Kim, S.K. (2012). Optimization of saccharification and ethanol production by simultaneous saccharification and fermentation (SSF) from seaweed, *Saccharina japonica*. *Bioprocess Biosystems Engineering*, 35(1-2), 11–18.
- John, R.P., Anisha, G.S., Nampoothiri, K.M., & Pandey, A. (2011). Micro and macro algal biomass: a Renewable source for bioethanol. *Bioresource Technology*, 102(1), 186–193.
- Jung, K.H., Ji-Hyeon, Y., Lee, S.E., Choi, W.Y., Kong, D.H., & Lee, H.Y. (2011). Repeated-Batch Operation of Surface-Aerated Fermentor for Bioethanol Production from the Hydrolysate of Seaweed *Sargassum sagamianum*. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 21(3), 323–331.
- Kadam, K.L. (2002). Environmental implications of power generation via coal– microalgae cofiring. *Energy*, 27(10), 905–922.
- Khambhaty, Y., Kaplana, M., Gandhi, M.R., Thampy, S., Maiti, P., Brahmbhatt, H., Eswaran, K., & Ghosh, P.K. (2012). *Kappaphycus alvarezii* as a source of bioethanol. *Bioresource Technology*, 103(1), 180–185.
- Khan, A.M., Obaid, M., & Sultana, R. (2015). Production of Biodiesel from Marine Algae to Mitigate Environmental Pollution. *Journal of the Chemical Society of Pakistan*, 37(03), 612-620.
- Kim, Y.J., Park, J.H., Hong, J.Y., Jang, H.C., Oh, S.G., Kim, S.H., & Yoon, J.J. (2012a). Use of *Gelidium amansii* as a promising resource for bioethanol: A practical approach for continuous dilute-acid hydrolysis and fermentation. *Bioresource Technology*, 108, 83-88.
- Kim, S.R., Ha, S.J., Wei, N., Oh, E.J., & Jin, Y.S. (2012b). Simultaneous co-fermentation of mixed sugars: A promising strategy for producing cellulosic ethanol. *Trends in Biotechnology*, 30(5), 274-282.
- Kim, S. K., Kim, H., & Ra, C.H. (2013). Ethanol Production from Seaweed (*Undaria pinnatifida*) Using Yeast Acclimated to Specific Sugars. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 18(3), 533-537.
- Kim, S. K., Ra, C.H., Kim, Y.J., Lee, S.Y., & Jeong, G.T. (2015). Effects of galactose adaptation in yeast for ethanol fermentation from red seaweed, *Gracilaria verrucosa*. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 38(9), 1715–1722.
- Koçoğlu, Z.G., 2010. Çanakkale Boğazındaki bazı kahverengi alglerde alginat miktarlarının yıllık değişimi. Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Çanakkale.
- Koçtürk, D., & Onurbas Avcıoğlu, A. (2012). Benzin motorlarında biyoetanol kullanımının çevresel etkilerinin belirlenmesi. *Ankara Üniversitesi Çevrebilimleri Dergisi*, 4(2), 65-74.
- Leite, G.B., Abdelaziz, A.E.M., & Hallenbeck, P.C. (2013). Algal biofuels: Challenges and opportunities, *Bioresource Technology*, 145, 134–141.
- Larkum, A.W., Ross, I.L., Kruse, O., & Hankamer, B. (2011). Selection, breeding and engineering of microalgae for Bioenergy and biofuel production. *Trends in Biotechnology*, 30(4), 198–205.
- Lee, J.H., & Lee, S.M. (2012). Ethanol fermentation for main sugar components of brown-algae using various yeasts. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 18(1), 16-18.
- López-Contreras, A.M., van der Wal, H., Sperber, B.L.H.M., Houweling-Tan, B., Barker, R.R.C., & Brandenburg, W. (2013). Production of acetone, butanol, and ethanol from biomass of the green seaweed *Ulva lactuca*. *Bioresource Technology*, 128, 431-437.
- Mata, T.M., Martins, A.A., & Caetano, N.S. (2010). Microalgae for biodiesel production and other applications:

- a review. *Renewable Sustainable Energy Reviews*, 14(1), 217–232.
- McKendry, P. (2002). Energy production from biomass (part 2): conversion technologies. *Bioresource Technology*, 83, 47–54.
- Miao, X.L., & Wu, Q.Y. (2004). High yield bio-oil production from fast pyrolysis by metabolic controlling of *Chlorella protothecoides*. *Journal of biotechnology*, 110(1), 85–93.
- Melis, A. (2002). Green alga hydrogen production: progress, challenges and prospects. *International Journal of Hydrogen Energy*, 27(11-12), 1217–1228.
- Meinita, M.D.N., Hong, Y.K., & Jeong, G.T. (2012a). Detoxification of acidic catalyzed hydrolysate of *Kappaphycus alvarezii* (cottonii). *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 35(1), 93–98.
- Meinita, M.D.N., Kang, J.Y., Jeong, G. T., Koo, H.M., Park, S.M., & Hong, Y.K. (2012b). Bioethanol production from the acid hydrolysate of the carrageenophyte *Kappaphycus alvarezii* (cottonii). *Journal of Applied Phycology*, 24(4), 857–862.
- Najafi, G., Ghobadian, B., Tavakoli, T., & Yusaf, T. (2009). Potential of bioethanol production from agriculture wastes in Iran, *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 13, 1418-1427.
- Nguyen, T.H.M., & Vu, H.V. (2012). Bioethanol production from marine algae biomass: prospect and troubles. *Journal of Vietnamase Environment*, 3(1), 25–29.
- Özdemir, E. D., Härdtlein, M., & Eltrop, L. (2009). Land Substitution Effects of Biofuel Side Products and its effect on the Area Requirement for EU 2020 Biofuel Targets. *Energy Policy*, 37(8), 2986-2996
- Pitman, J.K., Dean, A.P., & Osundeko, O. (2011). The potential of sustainable algal biofuel production using wastewater resources. *Bioresource Technology*, 102, 17–25.
- Rittmann, B.E. (2008). Opportunities for renewable bioenergy using microorganisms. *Biotechnology and bioengineering*, 100(2), 203–212.
- Saad, M.G., Dosoky, N.S., Zoromba, M.S., & Shafik, H.M. (2019). Algal biofuels: Current status and key challenges. *Energies*, 12, 1-22.
- Searchinger, T., Heimlich, R., Houghton, R. A., Dong, F., Elobeid, A., Fabiosa, J., Tokgoz, S., Hayes, D., & Yu, T. H. (2008). Use of U.S. croplands for biofuels increases greenhouse gases through emissions from land –Ise Change, *Science*, 319, 1238-1240.
- Sirajunnisa, A.R., & Surendhiran, D. (2016). Algae – A quintessential and positive resource of bioethanol production: A comprehensive review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 66, 248–267.
- Singh, A., Nigam, P.S., & Murphy, J.D. (2011). Renewable fuels from algae: an answer to debatable land based fuels. *Bioresource Technology*, 102, 10–16.
- Trung, V.T., Ly, B.M., Hau, L.N., & Hnag, N.T. (2013). Research to Produce Ethanol from Seaweed Biomass *Cladophora* sp. *Journal of Materials Science and Engineering B* 3, 10, 670-676.
- Ulah, K., Ahmad, M., Sofia Sharma, V.K., Lu, P., Harvey, A., Zafar, M., & Sultana S. (2015). Assessing the Potential of algal Biomass opportunities for Bioenergy industry: a review. *Fuel*, 143, 414–423.
- Ünlü, D., & Durmaz Hilmioğlu, N. (2014). Yenilenebilir Enerji Kaynağı Olarak Biyoetanol Üretiminin İncelemesi. Uluslararası Enerji ve Güvenlik Kongresi, Kocaeli Üniversitesi 23 – 24 Eylül.
- Wi, S.G., Kim, H.J., Mahadevan, S.A., Yang, D.J., & Bae, H.J. (2009). The potential value of the seaweed Ceylon moss (*Gelidium amansii*) as an alternative bioenergy resource. *Bioresource Technology*, 100, 6658–6660.
- Wu, F.C., Wu, J.Y., Liao, Y.J., Wang, M.Y., & Shih, I.L. (2014). Sequential acid and enzymatic hydrolysis in situ and bioethanol production from *Gracilaria* biomass. *Bioresource Technology*, 156, 123–31.
- Wang, G., Wang, X., & Liu, X. (2011). Two-stage hydrolysis of invasive algal feedstock for ethanol fermentation. *Journal of Integrative Plant Biology*, 53(3), 246–252.
- Yığitoğlu, M., Ünal, M., & Gökgöz, M. (2012). Alternatif Bir Enerji Kaynağı Olarak Biyoetanol. *Kırıkkale Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi, Bilimde Gelişmeler Dergisi*, 1(1), 11-22.
- Yoza, B.A., & Masutani, E.M. (2013). The analysis of macroalgae biomass found around Hawaii for bioethanol production. *Environmental Technology*, 34(13-14), 1859-1867.

Su Ürünlerinde Halofilik Bakteriler ve Endüstriyel Alanda Kullanımları

Berna KILINÇ*^{ID}

Ege Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Avlama ve İşleme Teknolojisi Bölümü, İzmir

*Sorumlu Yazar: berna.kilinc@ege.edu.tr

Derleme

Geliş 24 Mayıs 2019; Kabul 08 Ekim 2019; Basım 15 Aralık 2019.

Açıklama: Kilinç, B. (2019). Su ürünlerinde halofilik bakteriler ve endüstriyel alanda kullanımları. *Acta Aquatica Turcica*, 15(4), 535-545. <https://doi.org/10.22392/actaquatr.569765>

Özet

Halofilik bakteriler tuza ihtiyaçları açısından tuza tolerans gösteren ve aşırı tuzu seven gibi çeşitli gruplara ayrılmaktadır. Tuzu seven aşırı halofilik *Halococcus* ve *Halobacterium* cinslerine ait bakteriler tuzlanmış balık ürünlerinde gelişerek pembe renkli bozulmalara neden olabilmektedir. Halofilik bakterilerin tuzlanmış balık ürünlerinde gelişerek kalite kaybına neden olmasının engellenmesi halofilik bakterilerin işlenmiş balık ürünlerinde gelişimini engelleyecek metodların uygulanması ve sonrasında kontrol ile sağlanabilir. Üretim aşamasında kaliteli tuzların kullanılması, üretim ve depolama esnasında sıcaklık yükselmelerinden kaçınılması, balık ürünlerinin paketlenmesi, paketlenmiş balık ürünlerinin depolama esnasında hasar görmelerinin engellenmesi gibi halofilik bakterilerin balık ürünlerine bulaşma ve gelişiminin engellenmesine yönelik yöntemlerin uygulanması gerekmektedir. Aşırı tuzu seven ve tuza tolerans gösteren halofilik bakterilerin diğer bakterilere kıyasla sahip oldukları özellikleri nedeniyle çok sayıda avantajları da bulunmaktadır. Bu nedenle halofilik bakteriler endüstriyel birçok alanda (gıda, biyoteknoloji, kimya, tıp, kozmetik, tekstil, tarım, çevre vb.) kullanılmaktadır. Her geçen gün gelişen teknoloji sayesinde halofilik bakterilerin sahip oldukları avantajlardan yararlanılarak farklı alanlarda kullanımına yönelik yapılacak çalışmaların ve endüstriyel kullanım alanlarının ileride daha da artacağı düşünülmektedir. Bu nedenle derleme çalışmasında halofilik bakteri türleri, denizlerden, tuz göllerinden, tuzlardan, tuzlanmış ve fermentle balık ürünlerinden izole edilen halofilik bakteriler, tuz, tuzlanmış ve fermentle balık ürünleri tüketiminin insan sağlığına etkileri, tuzu seven ve tuza tolerans gösteren bakterilerin inhibisyonu, probiyotik etkileri, fonksiyonel yeni ürünlerin geliştirilmesinde kullanılması ve endüstriyel alanda kullanımları konularında yapılmış çeşitli çalışmaları debynmiştir.

Anahtar kelimeler: Su ürünleri, halofilik bakteriler, mikrobiyolojik kalite, endüstriyel uygulamalar

Halophilic Bacteria Species in Fishery Products and Industrial Applications

Abstract

Halophilic bacteria have been divided into different groups according to salt requirements such as halotolerant and extreme halophiles etc. This type of halophilic bacteria such as *Halococcus* ve *Halobacterium* can be caused pink spoilage on the surface of the processed salted fishery products. The growth of halophilic bacteria in processed fishery products can be prevented by using effective methods and control systems. The methods avoiding contamination and growth of bacteria are necessary to be applied such as usage of high quality salt in production, avoidance of temperaturise in production and storage periods, packaging fishery products, prevention of damage to package of fishery products in the storage. Extreme halophilic and halotolerant bacteria have some special characteristics when compared with other type of microorganisms. For this reason, halophilic bacteria can be used for different industrial applications (food, biotechnology, chemical, medicine, cosmetic, textile, agriculture, environment etc.) In accordance with the development of technology, it is believed that the studies done about usage of halophilic bacteria in different areas and industrial applications will be increased in the future. For this reason in this review; the species of halophilic bacteria, isolated halophilic bacteria from seas, salt lakes, salts, salted and fermented fishery products, the effects of salt and salty fishery products intake to the human health, the studies done about inhibiting the growth of halotolerant and extreme halophiles bacteria, probiotic effects, development of new novel products, industrial applications of these bacteria were reviewed.

Keywords: Fishery Products, halophilic bacteria, microbiological quality, industrial applications

GİRİŞ

Su ürünleri insan beslenmesinde çok önemli gıda maddeleridir. Bu nedenle su ürünlerinin kalitelerinin daha uzun süre korunması için işleme yöntemlerinin uygulanması gerekmektedir. Geleneksel tuzlama teknikleri tuzlama, kurutma ve tütsüleme işlemlerinin kombinasyonlarına dayalı olmakla birlikte gıda teknolojisinde son yıllarda yapılan gelişmeler ile de balık ve balık ürünlerinin raf ömrleri arttırmaktadır. Balık ürünlerinin büyük çeşitliliği ile bağlantılı ham materyaldeki büyük değişiklikler ve endüstride kullanılan işleme parametreleri balık

ürünlerinde farklı bozulma parametrelerini ortaya çıkarmaktadır (Leisner ve Gram, 2014). Tuzlanmış balıkların raf ömrünü mikrobiyal bozulma sınırlamaktadır. Mikrobiyal bozulma çoğunlukla da kırmızımsı halofilik bakteriler nedeniyle meydana gelmektedir (Prasad ve Seenayya, 2000). Dünyanın her tarafında aşırı tuzlu ortamlar, tuz gölleri ve güneşte kurutulan tuzların bulunduğu havuzlar tuz bileşeni (NaCl) açısından baskındır (Larsen, 1980). Aşırı halofilik Arkeler (*Halobactericeaea* familyası) baskın heterotrofik organizmalar olup tuz konsantrasyonu 250-300 gramı aşan aşırı tuzlu ortamlarda bulunmaktadır (Oren, 1994). Proteolitik halofilik ve halotolerant mikroorganizmalar tuza dayanıklı proteaz mikroorganizmalardır. Bunun yanısıra önemli miktarlarda tuzun varlığına dayanıklı proteaz mikroorganizmalar farklı koşullardaki özelliklere (alkalın pH, yüksek sıcaklık, organik çözücü gibi) de tolerans gösterebilmektedir (Mokashe vd., 2018). Halofilik mikroorganizmaların 35°C 'de hızlı bir şekilde çoğalandığı belirtilerek, bu mikroorganizmaların başlangıç mikrobiyal değerlerinin farklı ürünlerde değişiklik gösterdiği bildirilmiştir (Lorentzen vd., 2015). Yüksek tuz ortamında bulunan bakteriler yüksek tuz konsantrasyonlarıyla çevrili olduklarıdan yüksek ozmotik basınca maruz kalmaktadırlar. Halofilik mikroorganizmaların bu aşırı tuz koşullarında canlı kalabilmek ve ozmotik basıncı ayarlamak için özel stratejilere sahip oldukları belirtilmiştir (Kivistö ve Karp, 2011).

Arkelerin bu güne kadar yüksek sıcaklık, yüksek tuzluluk, uç pH değerleri gibi özel ortamlarda bulunduğu düşünülmektedir. Son yıllarda moleküler metodların gelişmesiyle geniş sıcaklık değişimlerini ve soğuk ortamları içine alan; tarım ve orman topraklarında, tatlı su göl sedimentlerinde, deniz fitoplanktonlarında ve derin deniz bölgelerinde de varlık gösterdikleri bildirilmiştir (Aravalli vd., 1998). Bunun yanısıra fermente balık ürünü olan jeotgal ürününde fermentasyon işleminde çoğunlukla bulunan mikroorganizmaların arasında *Bacillus*, *Brevibacterium*, *Micrococcus*, *Pediococcus*, *Pseudomonas*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc* ve *Halobacterium* türlerinin olduğuna deñinilmiştir (Koo vd., 2016). Tuzlu fermente balık ürününden izole edilen aşırı halofilik Arkenin potansiyel olarak enzim aktivitesinin ve histamin oluşumunun incelenmesi üzerine yapılan çalışmada histamin indirgenme aktivitesinin büyük olasılıkla tuza toleranslı ve termo-nötrofilik histamin dehidrogenaz nedeniyle gerçekleştiği belirtilmiştir (Tapingkae vd., 2010). Tuzlarda, tuz göllerinde, tuzlanmış ve fermente gibi çeşitli gıda ürünlerinde halofilik bakterilerin varlığı ile ilgili yapılmış çeşitli çalışmalar bulunmaktadır (Gram ve Huss, 1996; Vilhelsson vd., 1997; Prasad ve Seenayya, 2000; Lakshmanan vd., 2002; Binbir ve Sesal, 2003; Yasa vd., 2008; Tapingkae vd., 2010; Abriouel vd., 2011; Ciu vd., 2012; Skara vd., 2015; Khairina vd., 2016; Koo vd., 2016; Lorentzen vd., 2016; Haastrup vd., 2018; Gassem, 2019). Bunun yanı sıra halofilik *Lactobacillus* türleri kullanılarak nanokapsülasyon ile fonksiyonel balık ürünlerinin üretimi ve halofilik bakterilerin çeşitli endüstriyel alanlarda kullanımlarına yönelik yapılmış çalışmalar da bulunmaktadır (Cowan, 1992; Asker ve Ohta, 1999; Joo ve Kim, 2005; Promchai vd., 2018; Mokashe vd., 2018; Ceylan vd., 2018; Delgado-Garcia, 2019; Flores-Gallegos vd., 2019; Ceylan vd., 2019).

Bu derleme çalışmasında halofilik bakteri türleri, denizlerden, tuz göllerinden, tuzlardan, tuzlanmış ve fermentle balıklardan izole edilen halofilik bakteriler, tuz, tuzlanmış ve fermentle balık ürünleri tüketiminin insan sağlığına etkileri, tuzu seven ve tuza tolerans gösteren bakterilerin inhibisyonu, probiyotik etkileri, fonksiyonel yeni ürünlerin geliştirilmesinde kullanılması ve endüstriyel kullanımlarına yönelik yapılmış çeşitli çalışmalar araştırılmıştır.

Halofilik bakteriler

Halofilik mikroorganizmaların az, ılımlı, sınır aşırı, aşırı halofilik ve halotolerant mikroorganizmalar olmak üzere farklı gruplara ayrıldığı belirtilmiştir. Az halofilik bakterilere örnek olarak deniz bakterilerinin verildiği ve bu bakterilerin 0,2-0,5M tuza ihtiyaç gösterdiği bildirilmiştir. 0,5-2,5 M tuza ihtiyaç gösterenlere ılımlı halofilikler denildiği ve *Pseudomonas*, *Vibrio*, *Bacillus* ve *Pediococcus* türlerinin örnek olarak verildiği söylenmiştir. Aşırı halofilik mikroorganizmaların ise 2,2-5,2M tuz içeren ortamlarda üreme gösterdikleri ve *Halobacterium* ve *Holococcus* türlerinin örnek olarak gösterildiği belirtilmiştir. Halotolerant mikroorganizmalara ise *Staphylococcus aureus* türünün örnek olarak verildiği bildirilmiştir (Aksöz, 1985).

Aşırı Halofilik mikroorganizmalar Arke domainine bağlı Euryarchaeota filumuna ait Halobacteriales ordosu içerisinde toplanmıştır. Halobacteriales ordosu içerisinde *Halobactericeae* familyası içerisinde *Halobacterium*, *Haloarcula*, *Halobaculum*, *Halococcus*, *Haloferax*, *Halogeometricum*, *Halorubrum*, *Haloterrigena*, *Natriallba*, *Halosimplex*, *Halomicrobium*, *Halorhabdus*, *Halobioforma*, *Natrinema*, *Natronabacterium*, *Natronococcus*, *Natronomonas*, *Natronorubrum* cinslerinin bulunduğu belirtilmiştir (Özcan 2004). Arke grubu halofilik bakteriler doğal olarak doymaya yakın tuz konsantrasyonlarında baskın olarak bulunmaktadır. Bu bakterilerin 4 cinsi (*Halobacterium*, *Halococcus*, *Natronobacterium*, *Natronococcus*) tanınmaktadır. Halofilik bakterilerin *Halobactericeae* sınıfının çoğunlukla doğal tuz göllerinde ve güneşte kurutulan solar tuz kristalize edici havuzlarda yüksek sayıda bulunduğu vurgulanmıştır (Grant ve Ross, 1986). Tuzda pembe-kırmızı renkli karotenoid pigmentleriyle halofilik bakterilerin görünür hale geldiğine deñinmiştir (Oren, 2019). *Halobacterium* cinsi bakteriler gram negatif, çoğu türü mutlak aerobik, bazı türleri fakültatif anaerobik, hareketli veya hareketsiz

çubuk şeklinde bakterilerdir. Aşırı halofilik bakteriler olup, %15 oranında tuza ihtiyaç göstermektedirler. *Halobacterium* türleri kırmızı, pembe, turuncu pigment oluşturarak tuzlanmış balık ürünlerinde bozulmaya neden olduğu bildirilmektedir (Ünlütürk ve Turantaş, 2003). *Halobacterium salinarum* tuzu seven halofilik bakteri olup doymuşa yakın tuz konsantrasyonunda gelişim göstermektedir. İlk olarak tuzlanmış balıklardan izole edildiği bildirilmiştir (Eichler vd., 2019). *Halococcus* cinsi bakteriler ise gram negatif, mutlak aerobik, hareketsiz, kok şeklinde bakterilerdir. Turuncu ve kırmızı renkli pigment üreterek tuzlanmış balık ürünlerinde bozulmaya neden olduğu belirtilmektedir (Ünlütürk ve Turantaş, 2003). Halofilik mikroorganizmalar oldukça yüksek tuzluluk durumuna kararlı enzimlere sahiptirler (DasSarma ve DasSarma, 2015). Salamuranın mikrobiyal florasının deniz tuzu orjinli çoğunlukla tuza toleranslı veya halofilik bakteri türleri oldukları bildirilmektedir (Haastrup vd., 2018). Tuzlanarak kurutulmuş balıklar birçok ülkede karakteristik tatları ve depolamadaki kararlılıklarını nedeniyle tüketiciler tarafından oldukça fazla tercih edilmektedir. Aşırı halofilik mikroorganizmaların depolama esnasında sıcaklığı bağlı olarak tuzlanmış balık ürünlerinde kırmızı renkte bakterilerin gelişiminin meydana gelebilmesiyle raf ömrünü sınırlamaktadır. Halofilik mikroorganizmalar sıklıkla kuvvetli proteolitik olup gelişim için minimum 20 g/100g tuz konsantrasyonuna gereksinim göstermektedirler (Lorentzen vd., 2015). Halofilik bakterilerin gıdalarda gelişebileceği en düşük su aktivitesi değerinin 0,75 olduğu bildirilmektedir (Ünlütürk ve Turantaş, 2003).

Halofilik Laktikasit bakterileri(HLB) ise tuzu seven bakteriler olup, gelişmeleri için tuza ihtiyaç duyan ve yüksek tuz (>%18) konsantrasyonunu tolere edebilen bakteriler olarak tanımlanmışlardır. HLB özellikle *Tetragenococcus* ve *Pediococcus* türlerinin fermentasyonda baskın mikroorganizmalar oldukları bildirilmektedir. Fermente gıdalarda *Tetragenococcus halophilus*, *Tetragenococcus muriaticus*, *Pediococcus pentosaceus* ve *Lactobacillus plantarum* türlerinin yaygın olarak tespit edildiği vurgulanmıştır (Tahtacı ve Kılıç, 2015). HLB ürettiği enzimlerin lipaz, amilaz, proteaz, fibrinolitik enzimler, dekarboksilaz, pektolitik enzimler, ksilan ve ksilanazlar olduğu belirtilmiştir(Yüce vd., 2017). *T. halophilus* türünün yaygın olarak fermentasyon işlemelerinde kullanıldığı, geniş aralığa sahip tuzluluk koşullarında gelişim göstermeye olduğu ve doymuş %26.47 tuz konsantrasyonunda canlı kalabileceği belirtilmiştir (Lin vd., 2017). *T. halophilus* ve *T. muriaticus* türleri tetrad 4'lü kok şeklinde halofilik laktikasit bakterileri oldukları ve çeşitli tuzlanmış, fermente gıdaların fermentasyon işlemi esnasında bulundukları bildirilmiştir. Çalışmada diğer halofilik laktikasit koklarının tuzlanmış ve fermente gıdaların üretiminde kalite kontrolü açısından da kullanışlı olacağı vurgulanmıştır (Kuda vd., 2014). Fermente balık soslarından halofilik laktikasit bakterisi olan *T. halophilus* türünün izole edildiği, bu türün balık sos fermentasyonu esnasında uçucu bileşiklerin oluşumunda önemli rol oynadığı belirtilmiştir (Udomsil vd., 2010). *T. halophilus* türünün aşırı tuz ortamlarında geliştiği bilinmektedir. Çoğunlukla çeşitli çevresel streslerle karşılaşıldığı durumlarda fermente gıdaların üretimi esnasında mevcut bulunmaktadır. *T. halophilus* türünün asite tolerans göstermesi de bu türün endüstriyel kullanım alanının artacağını göstermektedir (He vd., 2016).

Denizlerden, tuz göllerinden ve tuzlardan izole edilen halofilik bakteriler

Türkiye'nin İç Anadolu Bölgesinde Şereflikoçhisar tuz gölünden 6 adet tuz ve 3 adet tuzlu su örneğinin incelendiği çalışmada tuz örneklerindeki aşırı halofilik bakteri sayılarının 10^4 - 10^6 kob/g, tuzlu su örneklerinde ise 10^3 - 10^5 kob/ml değerlerinde bulunduğu belirtilmiştir. Kiremit kırmızısı kolonilerin (1-2 mm. çapında, yuvarlak, konveks, parlak ve düzgün kenarlı) tuz gölünde baskın olduğu fakat kırmızı ve pembe tonlarında farklı bakteri türlerini de içerdigine degenilmiştir (Birbir ve Sesal, 2003). Türkiye'de çeşitli göllerden (Acıgöl, Salda gölü, Seyfe gölü, Tuzla gölü, Bolluk gölü) halofilik arkebakterilerin izolasyonu üzerine yapılan çalışmada toprak, su ve tuz örneklerinden 95 adet arkebakterinin izole edildiği belirtilmiştir (Özcan, 2004). Tsiamis vd. (2008), aşırı tuzlu ekosistemlerden, denizlerden, tuz göllerinden, güneşte kurutulan tuzdan, tuzlanmış balıklar gibi farklı örneklerin farklı yerlerden alınarak incelendiği çeşitli çalışmalarda *Haloarcula amylolytica*, *Halobacterium salinarum*, *Haloferax alexandrinus*, *Haloferax larsenii*, *Haloferax volcanii*, *Halococcus hamelinensis*, *Halorubrum trapanicum*, *Haloterrigena saccharevitans* ve *Halogeometricum borinquense*'lerinin izole edildiği bildirilmiştir. İzmir Çamaltı tuzlasından alınarak incelenen örneklerde halofilik bakterilerin izolasyonu üzerine yapılan çalışmada % 99 oranında *Haloferax alexandrinus*, % 99 oranında *Haloferax sp. HSC4*, % 97 *Haloferax YT228*, % 99 oranında *Halobacterium salinarum R1* ve %97 oranında *Halobacterium salinarum* olarak tanımlanlığı (Yaşa vd., 2008) bildirilmiştir. Cui vd. (2012), Çin'de Shandong bölgesinin Weihai şehri yakınlarından Gangxi deniz tuzu kurutma alanındaki tuzdan iki aşırı halofilik arke suşunun GX3T ve GX₂₆T izole edildiği bildirilmiştir. İki suşunda (*Halorubellus salinus* gen. nov., sp. nov. ve *Halorubellus litoreus* sp. nov. novel) pleomorfik, gram negatif ve kolonilerinin kırmızı pigmentli olduğu belirtilmiştir. Tuzlardan aşırı halofililik Arkelerin izole edildiği çalışmada *Halobacteriaceae* familyasından en fazla *Haloarcula*, *Halobacterium* ve *Halorubrum* cinslerinin izole edildiği bildirilmiştir. Tuzların güneşte kurutulduğu alanlarda en sıkılıkla bulunan halofilik arkelerin *Haloquadratum walsbyi* olduğu belirtilmiştir (Henriet vd., 2014). Akdeniz'in doğusunda yer alan Medee gölünden alınan tuz örneklerinden halofilik Arke türünün izole edildiği ve *Natrinema salaciae* sp.

nov. olarak adlandırıldığı çalışmadabu türün Halobactericeae familyasından *Natrinema* cinsinin üyesi olduğu bildirilmiştir (Albuquerque vd., 2012). Yapılan diğer bir çalışmada toplam 68 aerobik arke türünün tuz sedimentinden izole edildiği ve bu halofilik türlerinin *Halobacteria* sınıfı içerisinde *Haloarcula*, *Halococcus*, *Haloferax*, *Halogeometricum*, *Haloterrigena*, *Natrialba*, ve *Natrinema* olarak adlandırıldığı açıklanmıştır. Çalışmada *Haloferax* grubunun bütün incelenen örneklerde baskın olduğu (30 izolat) % 44 yüksek yoğunlukta izole edildiği bunu *Halococcus* spp. (9 izolat) %13 oranında takip ettiği söylemiştir. İzole edilen bütün türlerin aşırı halofilik oldukları, ısıya toleranslı ve 48°C'ye kadar sıcaklıklarda üreyebildikleri belirtilmiştir (Menasria vd., 2018).

Tuzlanmış balık ürünlerinden izole edilen halofilik bakteriler

Gıdaları korumanın en eski metodlarından biri de tuzlamadır. Gıdalara ilave edilen tuz su aktivitesini düşürerek mikrobiyal gelişimi inhibe etmektedir. Buna karşın, tuz bazı bakterilerin ve arkelerinde yaşam kaynağıdır (Henriet vd., 2014). Tuzlanmış balık ürünlerinde halofilik bakterilerin gelişimi nedeniyle bozulma meydana gelebilir (Gram ve Huss, 1996). *Halobactericeae* familyasına ait pembe renkli aşırı halofilik gram negatif bakterilerin (*Halobacterium salinarum*) balık ürünlerinde görünür şekilde gelişiminin bozulmaya sebep olduğu belirtilerek, kötü kalitede tuz kullanımının bu bozulmaya neden olduğu bildirilmektedir (Sperder ve Doyle, 2009). Tuzlanmış ve salamura balık ürünlerinde iki tip bozulma meydana gelmektedir. Biri aşırı halofilik bakterilerin gelişimi nedeniyle ‘pembe’ ya da ‘pink’ olarak bilinmektedir. Bu pembe renkli halofilik bakteriler (*Halococcus* ve *Halobacterium*) kuvvetli proteolitik bakteriler olup balık ürünlerinde kötü koku ve tatların oluşumuna sebep olabilmektedir (Gram ve Huss, 1996). Güçlü proteolitik özelliğe sahip olan halofilik bakteriler balıkisinin kas yapısını yumuşatarak kötü kokuların ortaya çıkmasına sebep olarak bozulmaya neden olmaktadır (Sperder ve Doyle, 2009). Diğer ise osmofilik tipteki *Sporendonema* ve *Oospora* cinslerine ait küflerin neden olduğu ‘dun’ olarak bilinmektedir (Gram ve Huss, 1996). Bu bozulmaya zorunlu aerobik olan *Wallemia sebi* adı verilen küf türünün neden olduğu bildirilmektedir. Bu bozulmada yaklaşık 1-2 mm. çapındaki kahverengi kolonilerin balık ürünlerinde gelişerek bozulmayı meydana getirdiği vurgulanmıştır (Sperder ve Doyle, 2009). İşleme esnasında tuzlanmış morina balıklarından yüksek sayıarda gram pozitif kokların izole edildiği açıklanmıştır. Tuzlanmış kurutulmuş morina balıklarında büyük olasılıkla tuza toleranslı, tuz konsantrasyonunda gelişebilen *Staphylococcus arletiae* veya *xvlosus* türünün izole edildiği bildirilmiştir (Vilhelmsson vd., 1997). Taze sardalyalarda (*Sardinella gibbosa*) halofilik amin oluşturan bakterilerin başlangıçta mikrobiyal floranın %20'sini oluşturduğu ve tuzlama işlemi esnasında, balıklarda tuz konsantrasyonu en yüksek değere ulaştığında bu bakterilerin çoğalarak mikrobiyal floranın % 84'üne ulaşlığı belirtilmiştir. Daha sonra kurutma işlemi esnasında ise bu bakteri oranının giderek azaldığına dechinmiştir. Tuzlama işlemi esnasında *Micrococcus luteus* türünün baskın olduğu bildirilirken, *Pseudomonas* ve *Alcaligenes* türlerinin ise kurutma işlemi esnasında en fazla amin oluşturan bakteriler olduğu vurgulanmıştır (Lakshmanan vd., 2002). Tayvan'da balık marketlerinde satışa sunulan 57 tuzlanmış balık ürünleri içerisinde tuzlanmış balıklar, yumuşakçalar, karides örneklerini içerdığı belirtilen çalışmada histamin ve histamin oluşturan bakteriler açısından inceleme yapılmıştır. Tuzlanmış balık örneklerinden tuza toleranslı halotolerant bakteri olan *Bacillus megaterium* izole edilmiştir (Lin vd. 2012). Tuzlanarak kurutulan morina balıkları ticari olarak önemli balık ürünleri olup Latin Amerika ve Avrupa'nın güneyindeki marketlere ihrac edilmektedir. Bu ürünler genellikle bölünmüş, kesilmiş ve paketlenmiş olarak marketlere ulaştırılmaktadır. Buna karşın birçok markette uygun soğutma koşulları bulunmamaktadır. Balık ürünleri yüksek sıcaklıklarda depolandıklarında, kırmızı veya pembe renkli aşırı halofilik bakterilerin gelişiminin meydana gelebildiği belirtilerek, bu durumda ürünlerin bozulduğu ve satılacaklığı bildirilmiştir (Lorentzen vd., 2016). Perez vd. (2018), Tuzlanarak olgunlaştırma işleminin uygulandığı hamsilerin halofilik mikrobiyal sayısının belirlendiği çalışmada taze hamsi, tuz, %15 ve %20 tuzlama işlemi uygulanan hamsilerden örnekler alınarak incelemi yapılmıştır. Taze hamsilerde halofilik bakteri belirlenmezken, tuz örneklerinde 10^3 kob/g düzeyinde bulunduğu belirtilmiştir. Tuzla olgunlaştırma aşamasının başlangıcında halofilik bakteri sayısı saptanabilir düzeyin altında belirlenirken, bir ay sonra halofilik bakteri sayısının 10^4 kob/g'a yükseldiği ve olgunlaşma işleminin sonuna kadar da bu değerin sabit kaldığına dechinmiştir. Farklı jeolojik alanlardan 6 tuz örneğinin, tuzlanmış hamsilerin (*Engraulis encrasicolus* L.) kalitesi üzerine etkisinin incelemi yapılmıştır. Tuzlanmış hamsilerin üretiminde kullanılan tuzların kimyasal ve uçucu organik bileşiklerinin kompozisyonlarındaki farklılıkların ürünlerin duyusal özellikleri üzerine önemli etkisinin bulunduğu bildirilmiştir (Alfonzo vd., 2018). Geleneksel tuzlanarak fermentte edilen balık ürününün fermentasyon işlemi esnasındaki halofilik bakteri sayılarının 3,26-5,14 log kob/g arasında değişim gösterdiği belirtilmiştir (Gassem, 2019). Halofilik bakteri sayılarının depolama esnasında ürünlerde ani yükseliş gösterdiği ve ürünlerde tuz içeriği ve düşük neme toleranslı yeni baskın halofilik mikrofloranın kurutma işlemine bağlı olarak tekrar gelişebilecegi belirtilmiştir. Ürünlerin

çevreden nem almalarıyla da halofilik bakterilerin gelişimlerinin hızlanabileceği ve depolama esnasında ürünlerin su aktivitesi değişimlerinin ürün ile çevre arasında eşitlik sağlanana kadar devam ettiği bildirilmiştir (Wawire vd., 2019).

Fermente balık ürünlerinden izole edilen halofilik bakteriler

Tetragenococcus halophilus ve *Tetragenococcus muriaticus* halofilik laktikasit bakterileri olup, çeşitli tuzlanmış ve fermente gıdaların soya sosu ve balık sosu gibi fermentasyon aşamasında bulunduğu belirtilmektedir. *T. Halophilus* türünün tuzlanmış ve fermente gıdaların en önemli bakterilerlerinden biri olduğu vurgulanmıştır (Kuda vd., 2014). Balık soslarının genel kabul edilebilirlik, glutamikasit içeriği ve uçucu bileşikleri açısından kalitesinin arttırılmasında *T. halophilus* MS33 ve *Virgibacillus sp.* SK37 her iki stater kültüründe kullanılabilceği bildirilmiştir (Udomsil vd., 2017). Güney Borneo'nun geleneksel fermente karides ezmesi olan Ronto karideslerin (*Acetes sp.*) tuz ve haşlanmış pirinç ile karşıtıldıktan sonra kapalı şişelerde anaerobik koşullarda fermente edilerek hazırlanmasına degeinilmiştir. Bütün incelenen örneklerdeki halofilik bakteri sayılarının 3,24 log kob/g ile 5,3 log kob/g arasında değişim gösterdiği belirtilmiştir (Khairina vd., 2016). Yapılan bir çalışmada balık sosundan izole edilen halotolerant *Staphylococcus carnosus* FS19 türünün balık soslarında histamin içeriğini potansiyel olarak azaltabildiğine degeinilmiştir (Zaman vd., 2014). Yapılan diğer çalışmada Kore'ye ait geleneksel fermente balık ürününde (jeotgal) baskın olan mikroorganizmaların içerisinde *Halobacterium* cinsinin olduğu belirtilmiştir (Koo vd., 2016). Diğer bir fermente balık (Saeu-jeot) ürününün karideslerin yaklaşık %25 yoğun tuzda fermentasyonu ile üretiliği bildirilerek, bu türde halofilik Arke cinslerinin *Halorubrum*, *Halolamina*, *Halobacterium*, *Haloarcula* ve *Haloplanus* bütün fermentasyon süresi boyunca baskın oldukları bildirilmiştir (Jung vd., 2013). Yapılan bir başka çalışmada tuzda fermente edilen balık örneklerinde (budu) yeni kuvvetli halofilik proteaz üretici *Halobacterium* sp. tür LBU50301'in izole edildiği açıklanmıştır (Chuprom vd., 2016). Geleneksel Kore fermente hamsi sosu (Myeolchi-Aekjeot) ürünlerinde *Halanaerobium* ve *Tetragenococcus* cinsi bakterilerin izole edildiği belirtilmiştir. Çalışmada halofilik laktikasit bakterisi olan *Tetragenococcus* cinsinin baskın olduğuna degeinilmiştir (Lee vd., 2016). Diğer çalışmada ise Halofilik laktikasit bakterisi olan *T. muriaticus* türünün balık sosundan izole edildiği bildirilmiştir (Kimura vd., 2001). Yapılan diğer bir çalışmada balık sos fermentasyonun ilk ayında *Virgibacillus sp.* SK37 türünün izole edildiği vurgulanmıştır (Sinsuwan vd., 2008). Tuzlanmış ve fermente balık olan nukazuke ürünlerinden *T. halophilus* türünün izole edildiği açıklanmıştır (Kuda vd., 2012). Tayland'da balık sosundan elde edilen *Halobacillus thailandensis* sp. nov. türünün endüstriyel balık sos üretiminde fermentasyonu geliştirmek amacıyla başarılı bir şekilde kullanılabilceğine degeinilmiştir (Chaiyanan vd. 1999). Tayland balık sosu üzerine yapılan diğer bir çalışmada ise yoğun tuzlu ortamdan *Halobacillus* sp. *Bacterium* türünün izole edildiği ve bu türün halofilik serin proteaz modeli olarak değerlendirilebileceği bildirilmiştir (Okamoto vd., 2009).

Tuz, tuzlanmış ve fermente balık ürünleri tüketiminin insan sağlığına etkileri

Ticari tuzların mikroplastiklerle kontamine olduğu ve bu partiküllere insanların potansiyel olarak uzun süre maruz kalmasının insanlarda ters etkiler yaratabileceği bildirilmiştir (Peixoto vd., 2019). Aşırı tuz tüketiminin kalp hastalıklarının, miyokardial enfaktüs, kalp krizi, kronik böbrek hastalıkları ve diyabet gibi hastalıkların yükselmesine neden olduğu belirtilmiştir (Kompanowska-Jezierska ve Olszynski, 2018). Tuzda canlı halofilik arkelerin bulunması ve yoğunluğunun önemli olabileceği belirtilen çalışmada tuzun sindirildikten sonra bu mikroorganizmaların mide barsak sistemindeki durumunun bilinmediği bildirilmiştir (Henriet vd., 2014). Yapılan bir çalışmada yüksek sodyum (Na) ve düşük potasyum (K) alımının hipertansiyon ve kalp ve damarlara ilişkin hastalıklar ile ilgili olduğu vurgulanmıştır. Sonuç olarak da sodyum ve potasyum kullanımları konusunda sağlıkla ilgili bilgilendirmelerin, alışkanlık ve davranışların eğitim yoluyla verilmesinin gerekliliği bildirilmiştir (Luta vd., 2018).

Fermente balık ürünlerinin de içinde bulunduğu fermente gıdalar birçok mikroorganizmanın ve onların metabolit ürünlerinin gelişimini engellediği için sağlık açısından (antimikrobial, antioksidant, hipertansiyona ve obeziteye karşı, kanser önleyici, kolestrolü düşürücü, fibrinolitik hareketlere karşı etkisi, bağılıklık sistemini artırıcı ve uyarıcı etkileri yanısıra probiyotik özellikleri nedeniyle) yararlı oldukları belirtilmektedir (Adewumi, 2019). Hindistan'ın kuzyey-doğu bölgesinde yaşayan insanların Utonga-kupsu adı verilen fermente balık ürününden 6 potansiyel probiyotik bakteri türü izole edildiği bildirilmiştir. Bunlar arasında *Staphylococcus* cinsine ait *Staphylococcus piscifermentans*, *S. condimenti*, *S. carnosus* türlerinin izole edildiği açıklanmıştır. Çalışmada bu tür mikroorganizmaların fermente balık ürünlerinde bulunması, probiyotiklerin (probiyotik ve antikanser özellikleri nedeniyle) potansiyel olarak fermente balık ürünlerinden sağlanması açısından kaynak olabileceği belirtilmiştir (Singh vd., 2018). Hoki (*Macruronus novaezealandiae*) balık yumurtalarının tuzlanarak ferment edilmesi ile jeotgal benzeri fermente ürün 4°C ve 25°C'lerde fermente edildikten sonra bu iki derecede de balık yumurtalarında fermentasyonla kolestrol değerlerinin azaldığı ve fermentasyonun balık yumurtalarında

kolesterol değerini düşürmek için kullanılmasının mümkün olacağı belirtilmiştir (Bekhit vd., 2018). Biyoaktif peptitlerin starter veya starter olmayan kültürlerden elde edilen hücre içi veya mikrobiyal enzimlerle fermentasyon veya olgunlaşma esnasında proteinlerden açığa çıktıığını degenilerek, bu peptitlerin kalp-damar, sinir, mide-bağırsak ve bağıışıklık sistemine olduğu kadar kemik ve yağ dokusuna da potansiyel olarak yararlar sağladığı açıklanmıştır (Martinez-Villaluenga vd., 2017). Fermente gıdalarda biyojenik aminler aminoasitlerin mikrobiyal dekarboksilasyonu sonucu olarak ortaya çıkmaktadır. Gıdalarda biyojen aminlerin (BA) yüksek miktarlarda bulunması potansiyel olarak halk sağlığını ilgilendirdiği belirtilmiştir. Bu nedenle fermente gıdalarda BA oluşumunun önlenmesi için yeni stratejilerin geliştirilmesi ve güvenlik limitlerinin belirlenmesinde yeni çalışmaların yapılmasına ihtiyaç olduğu söylemiştir (Sarkadi vd., 2017).

Tuzu seven ve tuza tolerans gösteren bakterilerin inhibisyonu, probiyotik etkileri ve fonksiyonel yeni ürünlerin geliştirilmesinde kullanılması

Halofilik bakterilerin gelişimlerinin inhibisyonu için soğan, kişniş, sarımsak, hardal gibi bitkilerin mükemmel olduğu belirtilirken, kırmızı biber, zerdeçal, zencefil, kimyon ve çemen otunun da halofilik bakterilerin gelişiminin inhibisyonunda iyi olduğu bildirilmiştir. Güneşte kurutulmuş %20 solar tuza %0,02 ve % 5 konsantrasyonlarda karanfil yağıının eklenerek 30 saniye ve 1 dakika muamelesinden sonra kırmızı halofilik bakteri *Halomonas* türlerinin tamamen elimine edildiği belirtilmiştir. Buna karşın, yapışkan oluşumlar (biyofilm) üreten halofilik bakterilerin ise 10 dakikalık muameleden sonra bile oldukça düşük yoğunlukta (0,46 log hücre) canlı kaldığı bildirilmiştir (Prasad ve Seenayya, 2000). Geleneksel fermente balık ürünlerinin üretim aşaması standardize edilmesine rağmen, elle üretimi yapılan bazı fermente ürünlerin üretim aşamasında hala sınırlı bilgiye sahip olunduguna degenilmiştir. Fermente ürünlerde enzimatik hidroliz ve fermentasyon işlemlerinin kontrolünde bakteriyel starter kültürlerin kullanımının uygulanması gerektiği tavyise edilmektedir (Skara vd., 2015). Yapılan bir çalışmada laktik kültürlerde probiyotik özelliklerinden dolayı balık ürünlerinde kullanılabileceği bildirilen çalışmada son ürünün mikrobiyal kalitesinin iyi olması ve fermentasyon süresini kısaltmak için seçilen izolatların kullanılabileceği belirtilmiştir (Speranza vd., 2017). Yapılan diğer bir çalışmada ise tuzlanmış balık ürünlerinin fermentasyonunda *B. Polymyx*a türünün starter kültür olarak fermentasyon esnasında histamin oluşumunun inhibisyonunda kullanılabileceği söylemiştir (Lee vd., 2015). *T. halophilus* MJ₄ türünün tuzlanmış balık fermentasyonunda biyojen amin oluşumunu engelleyici etkisinden dolayı starter kültür olarak kullanılmasının iyi olabileceğine degenilmiştir (Kim vd., 2019). Tuza toleranslı *T. halophilus* CGMCC 3792 türünün aflatoksin B₁'i yüksek indirmeye oranı nedeniyle fermentasyon işleminde tat ve aroma gelişimi için potansiyel olarak uygulanabileceklerinin göstergesi olduğu belirtilmiştir (Li vd., 2018). Tuzlanmış ve fermente Kore su ürünü olan jeotgal ürününden 3 adet *Pediococcus pentosaceus* türünün izole edildiği bildirilmiştir. *P. pentosaceus* F66 türünün probiyotik olduğu ve fermente gıdalarda değerlendirileceği belirtilmiştir (Lee vd. 2014). Tuzlanarak fermente edilen gıdalarda halofilik bakteri izolatının *S. aureus* mikroorganizmasına karşı inhibe edici etkisinin incelendiği çalışmada tuzlanmış balıklarda *Bacillus* cinsi bakterilerin baskın olduğu, toplam olarak 124 izolattan 37'sinin *S. aureus* üzerine inhibe edici etkisi olduğu ve bunun 6'sının *Bacillus* türü olduğu belirtilmiştir. Bu nedenle gıda güvenliği için koruyucu kültür olarak değerlendirileceği vurgulanmıştır (Chhetri vd. 2019). Fermentasyon esnasında mikrobiyal kontrolü sağlamak ve antimikrobiyal olarak da ürünlerin raf ömrünü artırmak için bakteriyosinlerde kullanılmaktadır. Biyokoruyucu olarak gıda endüstrisinde bakteriyosinlerin farklı kullanım alanları da bulunmaktadır (Preciado vd., 2016). Son yıllarda yapılan çalışmalarda probiyotik bakteri *Lactobacillus rhamnosus*) ile nanokapsüle edilmiş nano boyutta liflerin balık filetolarına uygulanması sonucunda ürünlerde mikrobiyal gelişimi geciktirdiği, bu tekniğin doğal ve yeni teknik olarak uygulanabileceği vurgulanmıştır (Ceylan vd., 2018). Yazarların yaptıkları diğer bir çalışmada laktik asit bakterileri ile zenginleştirilmiş gıdaların fonksiyonel yeni ürünlerin geliştirilmesinde kullanıldığı *Lactobacillus reuteri* E81 bakterisinin polivinil alkol içerikli nano boyutta lifler içerisinde nanokapsüle edilerek balık filetolarının yüzeyine başarılı bir şekilde uygulandığı belirtilmiştir (Ceylan vd., 2019).

Halofilik bakterilerin endüstriyel alanda kullanılması

Halofilik ve halotolerant proteolitik mikroorganizmalar yüksek tuza toleranslı proteaz mekanizmaları, proteaz üretimini etkileyen çeşitli fiziksel ve besinsel parametreleri, proteazların saflaştırma stratejileri, tuza dayanıklı proteazların özellikleri ve ticari önemi açılarından biyoteknoloji sektöründe önemli kaynaktır (Mokashe vd., 2018). Bu mikroorganizmalar diğer mikroorganizmalar tarafından üretilen kontaminasyonlara dirençlidirler. Ayrıca yüksek tuz konsantrasyonu ve alkali pH koşulları altında inokule edilen halofilik bakteriler hızlı bir şekilde büyümektedirler. Bu nedenle halofilik bakteriler çeşitli aşamalardaki birçok ürünün üretiminde kullanılmaktadır (Chen ve Jiang, 2018). Bazı halofiller yüksek pH, yüksek tuz ve yüksek sıcaklıkta bile gelişim gösterebilmektedir. Fermentasyon işleminde steril olmayan koşullarda bile kontaminasyonu önlemektedir. Aynı zamanda halofiller için genetik manipülasyon metotları da geliştirilmiştir. Son yıllarda biyoplastik polihidroksialkanoatlar (PHA),

ectoinler, enzimler, biyosürfektanların üretiminde halofiller kullanılmaktadır (Yin vd., 2015). Bu olağandışı organizmalar aşırı çevresel özelliklerine göre üç fenotipe ayrılmaktadır; termofiller, metanojenler, ve aşırı halofillerdir. Her grup benzersiz biyokimyasal özelliklere sahip olup biyoteknoloji endüstrisinde çeşitli kullanım alanları bulunmaktadır. Termofil enzimlerin aşırı moleküller kararlılığı, metanojenlerin yeni C₁ yolları, bazı halofiller tarafından organik polimerlerin sentezi gibi Arkelerin biyoteknolojide kullanımına yönelik önemli örneklerdir (Cowan, 1992). Halofilik bakteriler gıda endüstrisi yanısıra daha birçok endüstriyel alanda da kullanılmaktadır. Halofilik bakterilerin kullanımı ile atık yığınlarından metal platinumun geri kazandırılması sağlanmıştır (Maes vd., 2016). Halofilik fermentatif bakteriler kullanılarak gliserolden hidrojen üretimi yapılmıştır (Kivistö vd., 2010). Halofilik bakterilerden atıksu arıtma teknolojisinde de yararlanılmaktadır (Shi vd., 2012). Halofilik bakteriler tarafından entegre edilmiş biyo-rafineride biyopolimerlerin üretimi gerçekleştirılmıştır (Garcia-Torreiro vd., 2018). Halofilik bakterilerin fonksiyonel özelliklerinin çok olduğu bildirilen bir çalışmada halofilik bakteriler tarafından üretilen ekzopolimerlerin gıdalarda emülsiyedici ve antioksidant madde olarak kullanılabilmesi yanısıra kozmetikte ve yağ endüstrilerinde kullanılabileceği bildirilmiştir (Boujida vd., 2018). Halofilik ve halotolerant bakterilerin tekstil sektöründe kullanımına yönelik çalışmada yapılmıştır (Asad vd., 2007). Ayrıca aşırı halofilik bakterilerden kantaksantin üretimi gerçekleştirılmıştır (Asker ve Ohta, 1999). Halofilik arkelerden izole edilen halofilik aktif hidrolitik enzimlerin (Menasria vd., 2018), halofilik lipazların biyoteknolojik uygulamalarda önemli olduğu bildirilmiştir (Gutierrez-Arnillas vd., 2016). Halofilik mikroorganizmalar tarafından üretilen enzimlerin yüksek oranda aminoasit asidik kalıntılarla ve düşük değerde lisine sahip olduğu kadar yüksek değerde hidrofobik kalıntılarla, aspartik ve glutamik asit ve düşük değerde alifatik kalıntılarla sahip olduğu belirtilmiştir (Flores-Gallegos vd., 2019). Yapılan bir çalışmada halofilik proteazların endüstriyel üretim aşamalarında sert çevresel koşullarda oldukça kullanışlı olduğuna de感恩mıştır (Promchai vd., 2018). Sağlığa yararları nedeniyle balık atıklarından üretilen biyolojik olarak aktif peptitlerinde son yıllarda önem kazandığı belirtilen çalışmada halofilik mikroorganizmaların balık atıkları gibi yüksek tuz sistemlerinde aktif proteaz enzimleri nedeniyle peptitlerin elde edilmesinde oldukça önemli olduğunu düşünüldüğü bildirilmiştir (Delgado-Garcia, 2019). Halofillerin özellikle gıda endüstrisi için önemli imkanlar sağladığının vurgulandığı çalışmada ileride de proteomik araç olarak kullanılan halofilik arkelerin proteinlerin fonksiyonlarının tanımlanması ve geliştirilmesinde muazzam imkanlar sağlayacağı da öngörümektedir (Joo ve Kim, 2005).

Sonuç olarak; Halofilik bakterilerin tuzlanmış ve diğer işlenmiş balık ürünlerinde gelişerek kalite kaybına neden olmasının engellenmesi halofilik bakterilerin işlenmiş balık ürünlerde gelişimini engelleyecek metodların uygulanması ve sonrasında kontrolü ile sağlanabilir. Üretim aşamasında kaliteli tuzların kullanılması, üretim ve depolama esnasında sıcaklık yükselmelerinden kaçınılması, balık ürünlerinin paketlenmesi, paketlenmiş balık ürünlerinin depolama esnasında hasar göremelerinin engellenmesi gibi halofilik bakterilerin balık ürünlerine bulaşma ve gelişiminin engellenmesine yönelik yöntemlerin uygulanması gerekmektedir. Aşırı tuzu seven ve tuza tolerans gösteren halofilik bakterilerin diğer bakterilere kıyasla sahip oldukları özellikleri nedeniyle çok sayıda avantajları da bulunmaktadır. Bu nedenle halofilik bakteriler endüstriyel birçok alanda (gıda, biyoteknoloji, kimya, tıp, kozmetik, tekstil, tarım, çevre vb.) kullanılmaktadır. Her geçen gün gelişen teknoloji sayesinde halofilik bakterilerin sahip oldukları avantajlardan yararlanılarak farklı alanlarda kullanımına yönelik yapılacak çalışmaların ve endüstriyel kullanım alanlarının ileride daha da artacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- Abriouel, H., Benomar, N., Lucas, R., & Galvez, A. (2011). Culture-Independent Study of Diversity of Microbial Populations in Brines During Fermentation of Naturally – Fermented Alorena Green Table Olives, *International Journal of Food Microbiology*, 144, 487-496. DOI: 10.1016/j.ij.foodmicro.2010.11.006
- Adewumi, G.A. (2019). Health Promoting Fermented Foods. *Encyclopedia of Food Chemistry*, 399-418.
- Albuquerque, L., Taborda, M., Cono, V.L., Yakimov, M., & Costa, M.S. (2012). *Natrinema salaciæ* sp. nov., a Halophilic Archaeon Isolated From Deep, Hypersaline Anoxic Lake Medee in the Eastern Mediterranean Sea. *Systematic and Applied Microbiology*, 35, 368-373. DOI: dx.doi.org/10.1016/j.syamp.2012.06.005
- Alfonzo, A., Gaglio, R., Francesca, N., Barbera, M., Saiano, F., Santulli, A., Matraxia, M., Rallo, F., & Moschetti, G. (2018). Influence of Salt of Different Origin on the Microbiological Characteristics, Histamine Generation and Volatile Profile of Salted Anchovies (*Engraulis encrasiculus* L.), *Food Control*, 92, 301-311. DOI: doi.org/10.1016/j.foodcont.2018.05.003
- Aravalli, R.N., She, Q., & Garrett, R.A. (1998). Archaea and The New Age of Microorganisms. *Trends in Ecology & Evolution*, 13 (5), 190-194.
- Aksöz, N. (1985). Halofilik Bakteriler. *Mikrobiyoloji Bülteni*, 19, 161-167.
- Asad, S., Amoozegar, M.A., Pourbabae, A.A., Sarbolouki, M.N., & Dastgheib, S.M.M. (2007). Decolorization of Textile Azo Dyes by Newly Isolated Halophilic and Halotolerant Bacteria. *Bioscience Technology*, 98 (11), 2082-2088. DOI: 10.1016/j.biortech.2006.08.020

- Asker, D., & Ohta, Y. (1999). Production of Canthaxanthin by Extremely Halophilic Bacteria. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 88 (6), 617-621.
- Bekhit, A.E.A., Duncan, A., Bah, C.S.F., Ahmed, I.A.M., Al-Juhaimi, F.Y., & Amin, H.F. (2018). Impact of Fermentation Conditions on the Physicochemical Properties, Fattyacid, and Cholesterol Contents in Salted- Fermented Hoki Roe. *Food Chemistry*, 264, 73-80. DOI: doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.05.008
- Birbir, M., & Sesal, C. (2003). Extremely Halophilic Bacterial Communities in Şereflikoçhisar Salt Lake in Turkey. *Turkish Journal of Biology*, 27, 7-22.
- Boujida, N., Palau, M., Charfi, S., Moussaoui, N.E., Manresa, A., Minana-Galbis, D., Senhaji, N.S., & Abrini, J. (2018). Isolation and Characterization of Halophilic Bacteria Producing Exopolymers with Emulsifying and Antioxidant activities. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 16, 631-637. DOI: doi.org/10.1016/j.bcab.2018.10.015
- Ceylan, Z., Meral, R., Karataş, C.Y., Dertli, E., & Yılmaz, M.T. (2018). A Novel Strategy for Probiotic Bacteria: Ensuring Microbial Stability of Fish Fillets Using Characterized Probiotic Bacteria- Loaded Nanofibers. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 48, 212-218. DOI: doi.org/10.1016/j.ifset.2018.07.002.
- Ceylan, Z., Uslu, E., İspirli, H., Meral, R., Gavgali, M., Yılmaz, M. T., & Dertli, E. (2019). A Novel Perspective for *Lactobacillus reuteri*: Nanocapsulation to Obtain Functional Fish Fillets. *LWT-Food Science and Technology*, 115, 108427. DOI: doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108427
- Chaiyanan, S., Chaiyanan, S., Maugel, T., Huo, A., Robb, F.T., & Colwell, R.R. (1999). Polyphasic Taxonomy of a Novel *Halobacillus*, *Halobacillus thailandensis* sp. nov. Isolated From Fish Sauce. *Systematic and Applied Microbiology*, 22, 360-365.
- Chen, G.Q., & Jiang, X.R. (2018). Next Generation Industrial Biotechnology Based on Extremophilic Bacteria. *Current Opinion in Biotechnology*, 50, 94-100.
- Chhetri, V., Prakitchaiwattana, C., & Settachaimongkon, S. (2019). A Potential Protective Culture; Halophilic *Bacillus* Isolates with Bacteriocin Encoding Gene Against *Staphylococcus aureus* in Salt Added Foods. *Food Control*, 104, 292-299. DOI: doi.org/10.1016/j.foodcont.2019.04.043
- Chuprom, J., Bovornreungroj, P., Ahmad, M., Kantachote, D., & Dueramae, S. (2016). Aproach Toward Enhancement of Halophilic Protease Production by *Halobacterium* sp. Strain LBU50301 Using Statistical Design Response Surface Methodology. *Biotechnology Reports*, 10, 17-28. DOI: 10.1016/j.btre.2016.02.004
- Cowan, D.A. (1992). Biotechnology of Archaea. *Trends in Biotechnology*, 10, 315-323.
- Cui, H.L., Mou, Y.Z., Yang, X., Zhou, Y.G., Liu, H.C., & Zhou, P.J. (2012). *Halorubellus salinus* gen.nov., sp., nov. and *Halorubellus litoreus* sp.nov., novel Halophilic Archaea Isolated from a Marine Solar Saltern. *Systematic and Applied Microbiology*, 35, 30-34. DOI: 10.1016/j.syapm.2011.08.001
- DasSarma, S., & DasSarma, P. (2015). Halophiles and Their Enzymes : Negativity Put To Good Use. *Current Opinion in Microbiology*, 25, 120-126.
- Delgado-Garcia, M., Flores- Gallegos, A.C., Kirchmayr, M., Rodriguez, J.A., Mateos-Diaz, J.C., Aguilar, C.N., Muller, M., & Camacho-Ruiz, R.M. (2019). Bioprospection of Proteases from *Halobacillus andaensis* for Bioactive Peptide Production From Fish Muscle Protein, *Electronic Journal of Biotechnology*, 39, 52-60. DOI: doi.org/10.1016/j.ejbt.2019.03.001
- Eichler, J. (2019). *Halobacterium salinarum*. *Trends in Microbiology*, In Press.
- Flores-Gallegos, A.C., Delgado-Garcia, M., Ascacio-Valdes, J.A., Villareal-Morales, S., & Rodriguez-Herrare, R. (2019). Chapter 13:Hydrolases of Halophilic Origin With Importance for the Food Industry, *Enzymes in Food Biotechnology*, 197-219.
- Garcia- Torreiro, M., Lu-Chau, T.A., &Lema, J.M. (2018). Biopolymers Production by a Halophilic Bacteria in a Integrated Biorefinery. *Smyposium 19:Biobased Resources and Biorefineries*, 445, 551-553. DOI:doi.org/10.1016/j.nbt.2018.05.072
- Gassem, M.A. (2019). Microbiological and Chemical Quality of a Traditional Salted – Fermented Fish (Hout-Kasef) Product of a Jazan Region, Saudi Arabia. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 26 (1), DOI: 10.1016/j.sjbs.2017.04.003
- Gram, L., & Huss, H.H. (1996). Microbiological Spoilage of Fish and Fish Products, *International Journal of Food Microbiology*, 33 (1), 121-137.
- Grant, W.D., & Ross, H.N.M. (1986). The Ecology and Taxonomy of Halobacteria, *FEMS Microbiology Letters* , 39 (1-2), 9-15.
- Gutierrez-Arnillas, E., Rodriguez, A., Sanroman, M.A., & Deive, F.J. (2016). New Sources of Halophilic Lipases: Isolation of Bacteria from Spanish and Turkish Saltworks. *BiochemicalEngineeringJournal*, 109, 170-177. DOI:dx.doi.org/10.1016/j.bej.2016.01.015
- Haastrup, M.K., Johansen, P., Malskaer, A.H., Castro-Mejia, J.L., Kot, W., Krych, L., Arneborg, N., & Jespersen, L.(2018). Cheese Brines from Danish Dairies Reveal a Complex Microbiota Comprising Several Halotolerant Bacteria and Yeasts, *International Journal of Food Microbiology*, 285, 173-187. DOI: doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2018.08.015
- He, G., Wu, C., Huang, J., & Zhou, R. (2016). Acid Tolerance Response of *Tetragenococcus halophilus*: A Combined Physiological and Proteomic Anaysis. *Process Biochemistry*, 51, 213-219. DOI: dx.doi.org/10.1016/j.procbio.2015.11.035
- Henriet, O., Fourmentin, J., Delince, B., & Mahillon, J. (2014). Exploring the Diversity of Extremely Halophilic Archaea in Food- Grade Salts. *International Journal of Food Microbiology*, 191, 36-44. DOI: 10.1016/j.ij.foodmicro.2014.08.019

- Jung, J.Y., Lee, S.H., Lee, H.J., & Jeon, C.O. (2013). Microbial Succession and Metabolite Changes During Fermentation of Saeu-Jeot: Traditional Korean Salted Seafood, *Food Microbiology*, 34, 360-368. DOI: dx.doi.org/10.1016/j.fm.2013.01.009
- Joo, W.A., & Kim, C.W. (2005). Proteomics of Halophilic Archaea, *Journal of Chromatography B*, 815, 237-250. DOI:10.1016/j.jchromb.2004.10.041
- Khairina, R., Fitrial, Y., Satrio, H., & Rahmi, N. (2016). Physical, Chemical and Microbiological Properties of "Ronto" a Traditional Fermented Shrimp from South Borneo, Indonesia, *Aquatic Procedia*, 7, 214-220. DOI:10.1016/j.aqpro.2016.07.029
- Kim, K.H., Lee, S.H., Chun, B.H., Jeong, S.E., & Jeon, C.O. (2019). *Tetragenococcus halophilus* MJ4 as a Starter Culture for Repressing Biogenic Amine (Cadaverine) Formation During Saeu-Jeot (Salted Shrimp) Fermentation. *Food Microbiology*, 82, 465-473. DOI: doi.org/10.1016/j.fm.2019.02.017
- Kimura, B., Konagaya, Y., & Fujii T. (2001). Histamine Formation by *Tetragenococcus muriaticus*, a Halophilic Lactic acid Bacterium Isolated from Fish Sauce. *International Journal of Food Microbiology*, 70, 71-77.
- Kivistö, A., Santala, V., & Karp, M. (2010). Hydrogen Production from Glycerol Using Halophilic Fermentative Bacteria. *Bioresource Technology*, 101 (22), 8671-8677. DOI: 10.1016/j.biortech.2010.06.066
- Kivistö, A.T., & Karp, M.T. (2011). Halophilic Anaerobic Fermantative Bacteria. *Journal of Biotechnology*, 152, 114-124. DOI: 10.1016/j.biotec.2010.08.014
- Kompanowska-Jezierska, E., & Olszynski, K.H. (2018). Chapter 13: The Role of High Salt Intake in the Development and Progression of Diverse Diseases. *Food Quality: Balancing Health and Disease*, 395-432.
- Koo, O.K., Lee, S.J., Chung, K.R., Jang, D.J., Yang, H.J., & Kwon, D.Y. (2016). Korean Traditional Fermented Fish Products: jeotgal. *Journal of Ethnic Foods*, 3, 107-116. DOI: dx.doi.org/10.1016/j.jef.2016.06.004
- Kuda, T., Izawa, Y., Ishii, S., Takahashi, H., Torido, Y., & Kimura, B. (2012). Suppressive Effect of *Tetragenococcus halophilus*, Isolated From Fish-Nukazuke, on Histamine Accumulation in Salted and Fermented Fish. *Food Chemistry*, 130, 569-574. DOI: 10.1016/j.foodchem.2011.07.074
- Kuda, T., Izawa, Y., Yoshida, S., Koyanagi, T., Takahashi, H., & Kimura, B. (2014). Rapid Identification of *Tetragenococcus halophilus* and *Tetragenococcus muriaticus*, Importaqt Species in the Production of Salted and Fermented Foods, by Matrix-Assisted Laser Desorption Iionization-Time of Flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF-MS). *Food Control*, 35, 419-425. DOI: dx.doi.org/ 10.1016/j.foodcont.2013.07.039
- Lakshmanan, R., Shakila, R.J., & Jeyasekaran, G. (2002). Changes in Halophilic Amine Forming Bacterial Flora During Salt-Drying of Sardines (*Sardinella gibbosa*). *Food Research International*, 35, 541-546.
- Larsen, H. (1980). Chapter 3 Ecology of Hypersaline Environments. *Developments in Sedimentology*, 28, 23-39.
- Lee, K.W., Park, J.Y., Sa, H.D., Jeong, J.H., Jin, D.E., Heo, H.J., & Kim, J. H. (2014). Probiotic Properties of *Pediococcus* Strains Isolated From Jeotgals, Salted and Fermented Korean Sea-food. *Anaerob*, 28, 199-206. DOI:dx.doi.org/10.1016/j.anaerobe.2014.06.013
- Lee, Y.C., Lin, C.S., Liu, F.L., & Huang, T.C., & Tsai, Y.H. (2015). Degradation of Histamine by *Bacillus polymyxa* Isolated from Salted Fish Products. *Journal of Food and Drug Analysis*, 23, 836-844. DOI:dx.doi.org/10.1016/j.jfda.2015.02.003
- Lee, H.W., Choi, Y.J., Hwang, I.M., Hong, S.W., & Lee, M.A. (2016). Relationship between Chemical Characteristics and Bacterial Community of a Korean Salted-Fermented Anchovy Sauce. *LWT Food Science and Technology*, 73, 251-258. DOI: dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2016.06.007
- Leisner, J.J. & Gram, L. (2014). Spoilage of Fish. *Encyclopedia of Food Microbiology (Second Edition)*, 932-937.
- Li, J., Huang, J., Jin, Y., Wu, C., Shen, D., Zhang, S., & Zhou, R. (2018). Aflatoxin B₁ Degradation by Salt Tolerant *Tetragenococcus halophilus* CGMCC 3792. *Food and Chemical Toxicology*, 121, 430-436. DOI:doi.org/10.1016/j.fct.2018.08.063
- Lin, C.S., Liu, F.L., Lee, Y.C., Hwang, C.C., & Tsai, Y.H. (2012). Histamine Contents of Salted Seafood Products in Taiwan and Isolation of Halotolerant Histamine-Forming Bacteria. *Food Chemistry*, 131, 574-579. DOI:10.1016/j.foodchem.2011.09.027
- Lin, J., Liang, H., Yan, J., & Luo, L. (2017). The Molecular Mechanism and Post-Transcriptinal Regulation Characteristic of *Tetragenococcus halophilus* Acclimation to Osmotic Stress Revealed by Quantitative Proteomics. *Journal of Proteomics*, 168, 1-14. DOI: dx.doi.org/10.1016/j.jprot.2017.08.014
- Lorentzen, G., Breiland, M.S.W., Ostli, J., Wang-Andersen, J., & Olsen, R.L. (2015). Growth of Halophilic Microorganisms and Histamine Content in Dried Salt- Cured (*Gadus morhua* L.) Stored at Elevated Temperature. *LWT -Food Science and Technology*, 60, 598-602. DOI: dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2014.08.035
- Lorentzen, G., Egeness, F.A., Pleym, I.E., & Ytterstad, E. (2016). Shelf life of Packaged Loins of Dried Salt- Cured Cod (*Gadus morhua* L.) Stored at Elevated Temperatures. *Food Control*, 64, 65-69. DOI: dx.doi.org/ 10.1016/j.foodcont.2015.12.027
- Luta, X., Hayoz, S., Krause, C.G., Sommerhalder, K., Roos, E., Strazzullo, &P., Beer-Borst, S. (2018). The Relationship of Health /Food Literacy and Salt Awareness to Daily Sodium and Potassium Intake Among a Workplace Population in Switzerland. *Nutrition, Metabolism & Cardiovasculer Diseases*, 28, 270-277. DOI:doi.org/10.1016/j.numecd.2017.10.028
- Maes, S., Claus, M., Verbeken, K., Wallaert, E., Smet, R.D., Vanhaecke, F., Boon, N., & Hennebel, T. (2016). Platinum Recovery from Industrial Process Streams by Halophilic Bacteria: Influence of Salt Species and Platinum Speciation. *Water Research*, 105, 436-443. DOI: dx.doi.org/10.1016/j.watres.2016.09.023

- Martinez-Villaluenga, C., Perias, E., & Frias, J. (2017). Chapter:2: Bioactive Peptides in Fermented Foods: Production and Evidence for Health Effects. *Fermented Foods in Health and Diseases Prevention*, 23-47.
- Menasria, T., Aguilera, M., Hocine, H., Benammar, L., Ayachi, A., Bachir, A.S., Dekak, A., & Monteoliva-Sanchez, M. (2018). Diversity and Bioprospecting of Extremely Halophilic Archaea Isolated from Algerian Arid and Semi-Arid Wetland Ecosystems for Halophilic-Active Hydrolytic Enzymes. *Microbial Research*, 207, 289-298. DOI: doi.org/10.1016/j.micres.2017.12.011
- Mokashe, N., Chaudhari, B., & Patil, U. (2018). Operative Utility of Salt-Stable Proteases of Halophilic and Halotolerant Bacteria in the Biotechnology Sector. *International Journal of Biological Macromolecules*, 117, 493-522. DOI: dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.05.217
- Özcan, B. (2004). Türkiye 'den Halofilik Arkebakterilerin İzolasyonu ve Karakterizasyonu. *Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi*, 128 s.
- Okamoto, D., Kondo, M.Y., Santos, J.A.N., Nakajima, S., Hiraga, K., Oda, K., Juliano, M.A., Juliano, L., & Gouvea, I.E. (2009). Kinetic Analysis of Salting Activation of a Subtilisin-Like Halophilic Protease, *Biochimica et Biophysica Acta*, 1794, 367-373. DOI: 10.1016/j.bbapap.2008.10.017
- Oren, A. (1994). The Ecology of the Extremely Halophilic Archaea. *FEMS Microbiology Reviews*, 13 (4), 415-439.
- Oren, A. (2019). Halophilic Archaea. *Reference Module in LifeSciences*.
- Peixoto, D., Pinheiro, C., Amonim, J., Oliva-Teles, L., Guilhermino, L., & Vieira, M.N. (2019). Microplastic Pollution in Commercial Salt for Human Consumption: A Review. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 219, 161-168. DOI:doi.org/10.1016/j.ecss.2019.02.018
- Perez, S., Marina, C., Laura, P.M., Elisabet, Z.N., Elena, M.S., & Isabel, Y.M. (2018). Monitoring the Characteristics of Cultivable Halophilic Microbial Community During Salted – Ripened Anchovy (*Engraulis anchoita*) Production. *International Journal of Food Microbiology*, 286, 179-189. DOI: doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2018.08.013
- Prasad, M.M., & Seenayya, G. (2000). Effect of spices on the Growth of Red Halophilic cocci Isolated from Salt Cured Fish and Solar Salt. *Food Research International*, 33, 793-798.
- Preciado, G.M., Michel, M.M., Villarreal-Morales, S.L., Flores-Gallegos, A.C., & Rodriguez-Herrare, R. (2016). Chapter 16: Bacteriocins and Its Use for Multi-drug Resistant Bacteria Control, *Antibiotic Resistance*, 329-349.
- Promchai, R., Boonchalearn, A., Visessanguan, W., & Luxanil P. (2018). Rapid Production of Extracellular Termostable Alkaline Halophilic Protease Originating From an Extreme Haloarchaeon, *Halobacterium salinarum* by Recombinant *Bacillus subtilis*, *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 15, 192-198. DOI: doi.org/10.1016/j.bcab.2018.06.017
- Sarkadi, L.S. (2017). Chapter 27: Biogenic Amines in Fermented Foods and Health Implications. *Fermented Foods in Health and Disease Prevention*, 625-651.
- Shi, K., Zhou, W., Zhao, H., & Zhang, Y. (2012). Performance of Halophilic Marine Bacteria Inocula on Nutrient Removal from Hypersaline Wastewater in an Intermittently Aerated Biological Filter. *Bioresource Technology*, 113, 280-287. DOI: 10.1016/j.biortech.2012.01.117
- Singh, S.S., Mandal, S.D., Mathipi, V., Ghatak, S., & Kumar, N.S. (2018). Traditional Fermented Fish Harbors Bacteria with Potent Probiotic and Anticancer Properties. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 15, 283-290. DOI:doi.org/10.1016/j.bcab.2018.07.007
- Sinsuwan, S., Rodtong, S., & Yongsawatdigul, J. (2008). Characterization of Ca²⁺ Activated Cell-Bound Proteinase From *Virgibacillus* sp. Isolated From Fish Sauce Fermentation. *LWT Food Science and Technology*, 41, 2166-2174. DOI:10.1016/j.lwt.2008.02.002
- Skara, T., Axelsson, L., Stefansson, G., Exstrand, B., & Hagen, H. (2015). Fermented and Ripened Fish Products in the Northern European Countries. *Journal of Ethnic Foods*, 2, 18-24. DOI: 10.1016/j.jef.2015.02.004
- Sperber, W.H., & Doyle, M.P. (2009). Microbiological Spoilage of Fish and Seafood Products. *Compendium of the Microbiological Spoilage of Foods and Beverages*, DOI:10.1007/978-1-4419-0826-1
- Speranza, B., Racioppo, A., Beneduce, L., Bevilacqua, A., Sinigaglia, M., & Corbo, M.R. (2017). Autochthonous Lactic acid Bacteria with Probiotic Aptitudes as Starter Cultures for Fish-Based Products. *Food Microbiology*, 65, 244-253. DOI:dx.doi.org/10.1016/j.fm.2017.03.010
- Tahtacı, S., & Kılıç, G. (2015). Halofilik Laktikasit Bakterileri ve Gıda Sanayinde Kullanım Alanları. *Gıda*, 40 (6), 349-356. DOI: 10.15237/gida.GD15018
- Tapingkae, W., Tanasupawat, S., Parkin, K.L., Benjakul, S., & Visessanguan, W. (2010). Degradation of Histamine by Extremely Halophilic Archaea Isolated from High Salt- Fermented Fishery Products, *Enzyme and Microbial Technology*, 46, 92-99. DOI: 10.1016/j.enzmicter.2009.10.011
- Tsiamis, G., Katsaveli, K., Ntougias, S., Kyripides, N., Andersen, G., Piceno, Y., & Bourtzis, K. (2008). Prokaryotic Community Profiles at Different Operational Stages of a Greek Solar Saltern. *Research in Microbiology*, 159, 609-627. DOI: 10.1016/j.resmic.2008.09.007
- Udomsil, N., Rodtong, S., Tanasupawat, S., & Yongsawatdigul, J. (2010). Proteinase- Producing Halophilic Lactic acid Bacteria Isolated from Fish Sauce Fermentation and Their Ability to Produce Volatile Compounds. *International Journal of Food Microbiology*, 141, 186-194. DOI: 10.1016/j.ifoodmicro.2010.05.016
- Udomsil, N., Chen, S., Rodtong, S., & Yongsawatdigul, J. (2017). Improvemnt Fish Sauce Quality by Combined Inoculation of *Tetragenococcus halophilus* MS33 and *Virgibacillus* sp. SK37. *Food Control*, 73, 930-938. DOI:10.1016/j.foodcont.2016.10.007
- Ünlütürk, A., & Turantaş, F. (2003). Mikrobiyal Bulaşma Kaynakları. Gıda Mikrobiyolojisi. sf.45-53. Meta Basım Matbaacılık Hizmetleri, Bornova, İzmir. ISBN: 975-483-383-4.

- Vilhelsson, O., Hafstcinsson, H., & Kristjansson, J.K. (1997). Extremely Halotolerant Bacteria Characteristic of Fully Cured and Dried Cod. *International Journal of Food Microbiology*, 36, 163-170.
- Wawire, M., Tsighé, N., Mahmud, A., Abraha, B., Wainaina, I., Karimi, S., & Abdulkerim, Z. (2019). Effect of Salting and Pressing on Quality Characteristics of Spotted Sardine (*Amblygaster sirm*) During Diffrent Storage Conditions. *Journal of Food Composition and Analysis*, 79, 47-54. DOI: 10.1016/j.jfca.2019.03.008
- Yaşa, İ., Kahraman, Ö., Tekin, E., & Koçyiğit, A. (2008). Çamaltı Tuzlasından Ekstrem Halofilik Archaea İzolasyonu ve Moleküler Karakterizasyonu. *E.Ü. Journal of Fisheries & Aquatic Sciences*, 25 (2), 117-121.
- Yin, J., Chen, J.C., Wu, O., & Chen, G.Q. (2015). Halophiles, Coming Starts for Idustrial Biotechnology. *Biotechnology Advances*, 33, 1433-1442. DOI: dx.doi.org/10.1016/j.biotechadv.2014.10.008
- Yüce, S., Tahtacı, S., & Kılıç, G.B. (2017). Halofilik Laktik asit Bakterilerinin Ürettiği Hidrolitik Enzimler. *Gıda*, 42 (3), 242-251. DOI: 10.15237/gida. GD16088
- Zaman, M.Z., Bakar, F.A., Selamat, J., Bakar, J., Ang, S.S., & Chong, C.Y. (2014). Degradation of Histamine by the Halotolerant *Staphylococcus carnosus* FS19 Isolate Obtained From Fish Sauce. *Food Control*, 40, 58-63. DOI:10.1016/j.foodcont.2013.11.031

Acta Aquatica Turcica

(e-ISSN: 2651-5474)

Copyright Release Form

Manuscript Submit Date:/...../.....

Manuscript Title :
.....
.....

The author(s) warrant(s) that;

- The manuscript is original and is not being forwarded for publish and assessment to publication elsewhere after sending *Acta Aquatica Turcica* (Acta Aqua.Tr.)
- The publishing, printing and distribution of the article is belong to the legal entity under name *Acta Aquatica Turcica* (Acta Aqua.Tr.).
- The written and visual materials such as the text, tables, figures and graphics etc. of the manuscript don't contain any copyright infringement, and the all legal permissions for them have been taken by the author(s).
- The all scientific, ethic and legal responsibility of the article is belong to author(s).

Notwithstanding the above, the Contributor(s) or, if applicable the Contributor's Employer, retain(s) all proprietary rights other than copyright, such as

- ✓ The patent rights,
- ✓ The using rights of the all authors will be published in book or other work without paying fees,
- ✓ The rights to reproduce the article for their own purposes provided are not sell under the seal of secrecy of distribution rights, and in accordance with the following conditions has been accepted by us.

Full Name, Address of Corresponding Author:.....
.....
.....

E-Mail : Signature :

Full Name	Address	Signature

Acta Aquatica Turcica

Phone : +90 246 211 86 76 Fax: +90 246 211 86 97

<http://dergipark.gov.tr/actaquatr>

actaquatr@isparta.edu.tr

Yazım Kuralları

Sayfa boyutu	:A4 (21 cm x 29,7 cm) olarak ayarlanmalıdır
Kenar boşlukları	:Üst: 2,5 - Alt: 2,5 - Sol: 2,5 - Sağ: 2,5. Cilt payı: 0.
Yazı stili	:Tüm makalede Times New Roman, 11punto iki yana yaslı, satır aralığı tek, olarak ayarlanmalı. Paragraf girintisi 0,5 ayarlanmalıdır.
Adres yazımı	:Üniversite (kurum) – Fakülte – Bölüm – İl (Büyük illerde birden çok ilçede birimi bulunması durumunda veya merkez dışında ise “ilçe” ve yabancı yayınlarda “ülke” de yazılmalı)
Özet	:Özet, 250 kelimeyi geçmeyecek şekilde yapılmalıdır.
Anahtar kelimeler	:En az 3 (üç), en çok 5 (beş) kelime içermelidir.
Ondalık gösterim	:Türkçe makalelerde „,“ (virgül) İngilizce makalelerde „.” (nokta) olmalıdır.
Tablo	:Tablo özel bir tasarım uygulanmamış düz kılavuz şeklinde olmalı ve iç yazılar en çok 10 punto ve alt bilgi yazıları 8 punto olmalıdır.
Şekil	:Şekil ve şekil yazısı sayfaya ortalı yerleştirilmelidir.
Metin içi atıf yapma	:(Bilgin vd., 2006; Küçük, 2008; Ekici ve Koca, 2009; Güçlü, 2018a; Güçlü, 2018b; Anonim, 2019), Kubilay vd. (2006)'ne göre, Diler (2008)'e göre, Boyacı ve Durucan (2009)'a göre gibi.....
Kaynaklar	:“APA” standardında ve alfabetik sıralama ile yapılmalıdır. Dergi isimleri açık yazılmalıdır. Kısaltma yapılmamalıdır. APA standartları için; https://www.adelaide.edu.au/writingcentre/referencing_guides/APA_styleGuide.pdf
APA'ya göre internet kaynaklarının gösterimi	https://blog.apastyle.org/apastyle/2010/11/how-to-cite-something-you-found-on-a-website-in-apa-style.html?_ga=2.171887075.2146134039.1550653734-57712603.1550653734

ÖRNEK MAKALE

Eğirdir Gölü'nden Tatlısu İstakozu (*Astacus leptodactylus* Eschscholtz, 1823)'nun Sindirim Enzim Aktivitelerinin Mevsim, Büyüklük ve Cinsiyete Bağlı Değişimi

Esra ACAR¹, Seval BAHADIR KOCA^{1*}, Mehmet NAZ², Özgür KOŞKAN³, İlter İLHAN⁴

¹Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi, Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi, Isparta

²İskenderun Teknik Üniversitesi Deniz Bilimleri ve Teknolojisi Fakültesi, Hatay

³Süleyman Demirel Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Isparta

⁴Süleyman Demirel Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Isparta

* Sorumlu Yazar: sevalkoca@sdu.edu.tr

Özet

Bu çalışma, Eğirdir Gölü'nde yaşayan *Astacus leptodactylus* türünde mide sindirim enzim aktiviteleri üzerine (proteaz α -amilaz ve lipaz) mevsim ve eşeyin etkisini araştırmak amacıyla oluşturulmuştur. Bu amaçla kerevitler 1 yılda 4 mevsim olarak Eğirdir Gölü'nden avlandı. İlkbahar mevsiminde, kerevitlerin pinterlere girmemesi nedeniyle örneklemme yapılamadı. Bu nedenle, sonuçlar üç mevsim (sonbahar, kış, yaz) ve eşeyler üzerinden faktöriyel düzeyinde varyans analizi ile değerlendirildi. Bulgular, eşey ve mevsim faktörlerinin kerevitlerin midesindeki proteaz ve lipaz aktivitesini önemli düzeyde etkilediğini ($p<0,05$), α -amilaz aktivitesinde ise istatistiksel olarak önemli düzeyde etkili olmadığını gösterdi ($p>0,05$). Bulgular ayrıca, kerevitlerin, proteaz enzim aktivitesinin sonbahar ve kışın, lipaz enzim aktivitesinin ise kışın eşeyler arası önemli değişim gösterdiğini ortaya çıkardı ($p<0,05$).

Anahtar kelimeler: *Astacus leptodactylus*, sindirim enzim aktivitesi, lipaz, α -amilaz, proteaz.

Variation of Digestive Enzyme Activities Depending on Season, Size and Sex of Freshwater Crayfish (*Astacus leptodactylus* Eschscholtz, 1823) from Lake Eğirdir

Abstract

This study was conducted to search the effect of sex and season on digestive enzyme activities (protease, α -amylase, lipase) in *Astacus leptodactylus* species that lives in Egirdir Lake. The freshwater crayfish were caught as four seasons in a year from Egirdir Lake. The sampling was not possible for crayfish since they were not entered into trap in spring season. Therefore, the results were evaluated over three seasons and sex by factorial variance analysis. The results showed that sex and season affected to protease and lipase activities ($p<0.05$), whereas they did not affect statistically α -amylase activity in crayfish stomach ($p>0.05$). Results also indicated that protease enzyme activity in crayfish showed significant changes in autumn and winter while lipase enzyme activity showed changes in winter between sexes ($p<0.05$).

Keywords: *Astacus leptodactylus*, digestive enzyme activity, α -amylase, lipase, protease.

GİRİŞ

Astacus leptodactylus, dünyada Türk istakozu (kerevit) olarak da bilinen (Köksal, 1988) ve ülkemiz içsularında doğal olarak bulunan bir decapoda (on ayaklı) türüdür. *Astacus* ekonomik değeri yüksek kabuklu türlerinden biridir (Bolat, 2001). Kerevit 1986 yılı öncesi özellikle Eğirdir Gölü balıkçılarının başlıca gelir kaynağı iken bu türün daha sonra gerek aşırı avcılık ve gerekse hastalık nedeniyle popülasyonu azalmıştır (Köksal, 1988; Ackefors, 2000; Bolat, 2001; Harlıoğlu ve Aksu 2002; Harlıoğlu ve Mişe 2007; Bilgin vd., 2008).

Acta Aquatica Turcica

Phone : +90 246 211 86 76 Fax: +90 246 211 86 97
<http://dergipark.gov.tr/actaquat>
actaquat@isparta.edu.tr

MATERIAL ve YÖNTEM

Bu çalışmada, Ekim 2014 ile Haziran 2015 tarihleri arasında Eğirdir Gölü’nde kerevit (10-15 cm) avcılığı gerçekleştirilmiştir. Avcılıkta kerevit pinterleri kullanılmış, örneklemeler mevsimsel olarak yapılmıştır. İlkbahar mevsiminde, kerevitlerin pinterlere girmemesi nedeniyle örnekleme yapılamamıştır.

Enzim aktivite analizler

Bu çalışmada; α -amilaz, proteaz ve lipaz olmak üzere üç çeşit sindirim enzim aktivitesi araştırılmıştır. Tatlusu istakozundaki α -amilaz enzim aktivitesi, Metais ve Bieth (1968)'e göre yapılmıştır.

Istatistiksel analizler

Verilerin değerlendirilmesinde SPSS 23 istatistikî paket programından yararlanılmış ve sonuçlar, faktöriyel düzeyinde varyans analizi testi ile $P<0,05$ önem düzeyinde test edilmiştir. Faktörlerin seviye ortalamalarının arasındaki farklılıkların belirlenmesinde Tukey testi kullanılmıştır.

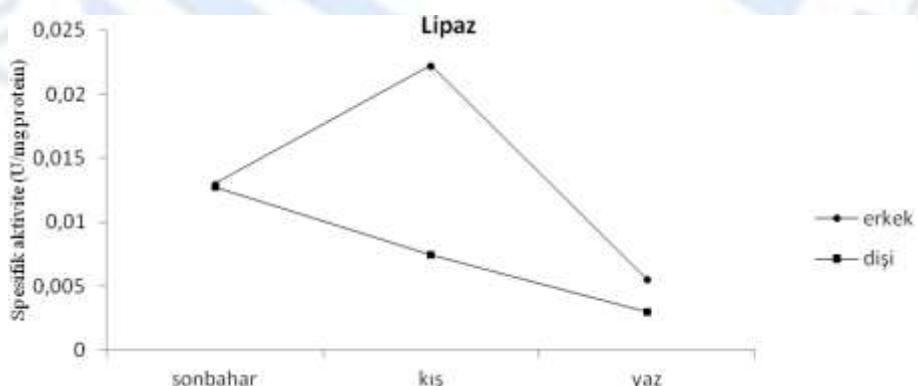
BULGULAR

Eşey ve mevsimsel farklılıkların kerevit midesindeki α -amilaz enzim aktivitesi üzerinde önemli bir etkisinin olmadığı tespit edilmiştir ($p>0,05$) (Tablo 1).

Tablo 1. Kerevit midesindeki α -amilaz aktivitesinin eşey ve mevsime göre değişimi,(Ort. \pm S.H.) (U/mgprotein)

Eşey/Mevsim	Sonbahar	Kış	Yaz
Dişi	$^{a}0,013 \pm 0,0011^a$	$^{b}0,007 \pm 0,0006^b$	$^{b}0,003 \pm 0,0010^a$
Erkek	$^{a}0,013 \pm 0,0035^a$	$^{b}0,022 \pm 0,0026a$	$^{c}0,006 \pm 0,0006^a$

Lipaz aktivitesi erkek kerevitlerde sonbahar mevsiminden kış mevsimine kadar artan ve kış mevsiminden yaz mevsimine kadar azalan bir grafik oluşturmuş, dişi bireylerde ise sonbahar mevsiminden yaz mevsimine kadar azalan bir grafik oluşmuştur (Şekil 3).



Şekil 3. Kerevit midesinde farklı mevsimlerdeki lipaz aktivitesi (U/mg protein)

TARTIŞMA ve SONUÇ

Mevcut sindirim enzimlerinin profili ve faaliyetleri başta olmak üzere sindirim sisteminde ortaya çıkan fizyolojik süreçler, türlerin geniş besin çeşitliliğinden faydalanan etkilemektedir. Farklı kabuklu türleri, farklı beslenme alışkanlıklarına ve yaşam alanlarını yansitan bir dizi sindirim enzime sahiptir (Anonim, 2017; Coccia vd., 2011).....

Ayrıca, maksimum enzim aktivitesini belirleyebilmek için; farklı pH, sıcaklık ve reaksiyon sürelerinde denemeler yapılması da önemli taşımaktadır.....

TEŞEKKÜR

Bu çalışma, yüksek lisans tezinden özetlenmiştir. (veya varsa proje desteği yazılmalı)

KAYNAKLAR

- Acar Kurt, E. (2016). Tatlısu İstakozu (*Astacus Leptodactylus* Eschscholtz, 1823)'nun sindirim enzim aktivitelerinin mevsimsel değişimi. Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Isparta.
- Ackefors, H. (2000). Freshwater crayfish farming technology in the 1990s: a European and global perspective. *Fish and Fisheries*, 1(4), 337-359.
- Adebayo-Tayo, B.C., Onilude, A.A., & Etuk, F.I. (2011). Studies on microbiological, proximate mineral and heavy metal composition of freshwater snails from Niger Delta Creek in Nigeria. *AU J.T.* 14(4), 290-298. Technical Report 290.
- Alpbaz, A. (1993). *Kabuklu ve Eklembacaklı Yetiştiriciliği*. I. Baskı, Ege Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Yayınları, İzmir.
- Bilgin, Ş., İzci L, Günlü A., & Bolat Y. (2008). Eğirdir gölü'ndeki tatlısu istakozu (*Astacus leptodactylus* Esch, 1823)'nun boy grubu ve eşeye göre bazı besin bileşenlerinin belirlenmesi. *Biyoloji Bilimleri Araştırma Dergisi*, 1(2), 63-68.
- Kolkovski, S. (1995). The mechanism of action of live food on utilization of microdiets in gilthead seabream *Sparus aurata* larvae. Ph.D.Thesis. The Hebrew University, Jerusalem, 120.
- Reynolds, J., & Souty-Grosset, C. (2011). *Management of freshwater biodiversity: Crayfish as bioindicators*. Cambridge University Press, Cambridge.

Author Guidelines

Page Size	:A4 (21 cm x 29.7 cm)
Edge Interval	:Top: 2.5, lower: 2.5, left:2.5 , right:2.5 , shrinkage: 0
Font style	:Except for these, the entire article should be set to 11punto-the first line of the paragraph starting at 0,5cm-before the line spacing-0 single line before / after the line spacing.
Address writing	:University (institution)-Faculty-Department-Province (Must be written county in foreign publications)
Abstract	:The abstract should not exceed 250 words.
Key words	:It should contain at least 3 (three), maximum 5 (five) words.
Decimal notation	:In Turkish articles, "(comma)" should be ". (Dot)" in English articles.
Table	:The table should be centered on the page.In-table scripts should be set to max 10punto. Footer, 8 point, left side of table.
Figure	:The figure and the figure should be centered on the page
Examples in-text references representation	:(Bilgin et al., 2006; Küçük, 2008; Ekici and Koca, 2009; Güçlü, 2018a; Güçlü, 2018b; Anonymus, 2019), According Kibilay et al. (2006), According Boyacı and Durucan (2009) <i>etc.....</i>
Reference	:“APA” standard should be used. Journal names should be written clearly. No abbreviation should be made. https://www.adelaide.edu.au/writingcentre/referencing_guides/APA_styleGuide.pdf
How to Cite Something You Found on a Website in APA Style	https://blog.apastyle.org/apastyle/2010/11/how-to-cite-something-you-found-on-a-website-in-apa-style.html?_ga=2.171887075.2146134039.1550653734-57712603.1550653734

Sample Article

A Taxonomic Study on Zooplankton Fauna of Kiğı Dam Lake (Bingöl-Turkey)

Hilal BULUT

Fırat University, Faculty of Fisheries, Elazığ, Turkey

*Sorumlu Yazar: hilalhaykir@gmail.com

Abstract

The present study was conducted to determine zooplankton fauna of Kiğı Dam Lake during September 2012 and August 2013 seasonally. The zooplankton samples were collected by using plankton net with the mesh size of 55µm horizontally and preserved in 4% formaldehyde. Total 22 taxa (16 Rotifera, 4 Cladocera, and 2 Copepoda) were identified in Kiğı Dam Lake.

Keywords: Kiğı Dam Lake, species distribution, zooplankton.

INTRODUCTION

The majority of zooplankton (Copepoda, Cladocera and Rotifera) transform the phytoplankton to animal protein (Cirik and Gökpınar, 1993), and they play a significant role in food chain. It was reported that some species are the indicators of water quality, and eutrophication due to their sensitivity to environmental changes and therefore zooplankton studies on lakes have acquired significant importance (Berzins and Pejler, 1987; Mikschi, 1989).

Many studies were carried on zooplankton in Turkey (Özdemir and Şen, 1994; Göksu et al., 1997, 2005; Saler and Şen, 2002; Bozkurt and Sagat, 2008; Bulut and Saler, 2013a, 2013b; 2014a, 2014b; Saler et al., 2015a, 2015b). No previous research about zooplankton of Kiğı Dam Lake has been recorded. In this study zooplankton species and their seasonal variations of Kiğı Dam Lake have been investigated.

MATERIAL and METHODS

Kiğı Dam Lake was built on Peri Stream between 1997 and 2003. The maximum water capacity is 507.55 hm³ and has surface area 8.35 km² and maximum depth of 168 m (Şimşek, 2016) (Figure.1). The species were identified according to Edmondson (1959), Flössner (1972), Ruttner- Kolisko (1974), Kiefer (1978), Koste (1978), Negrea (1983), Segers (1995), and Einsle (1996).

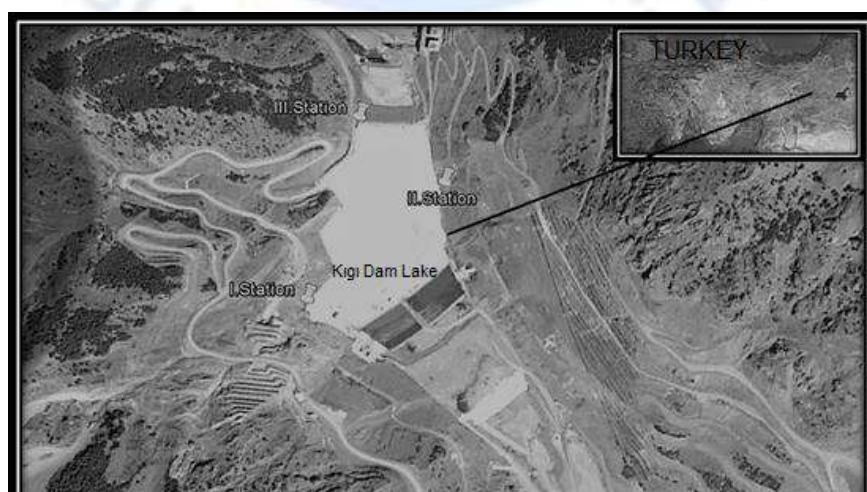


Figure1. Stations of Kiğı Dam Lake

RESULTS

A total of 22 taxa consisting of 16 Rotifera, 4 Cladocera and 2 Copepoda species were identified in the Dam Lake (Table 2).

The lowest numbers of taxa were recorded in winter at first stations (4 species). Some water quality parameters (pH, dissolved oxygen, and surface water temperature) were measured at study field (Table 3).

Table 3. Seasonal changes of water quality parameters in Kiğı Dam Lake

	Autumn	Winter	Spring	Summer
Water temperature (C)	16	7.2	17.2	22.5
pH	7.0	6.8	6.9	7.3
D.O (mgL-1)	6.2	7.3	6.0	5.2

DISCUSSION

Zooplankton is known as the indicator of trophic status of aquatic habitats. They are also used to signify the water quality in freshwater systems. *K. cochlearis* and *P. dolichoptera* from Rotifera are indicators of productive habitats, while *N. acuminata* and *N. squamula* are indicators of cold waters (Kolisko, 1974). In Kiğı Dam Lake *K. cochlearis*, *P. dolichoptera* and *N. squamula* were observed.

In Murat River (Bulut and Saler, 2014a), Kalecik Dam Lake (Bulut and Saler, 2013b), Peri Stream (Saler et al., 2011), that were located in the same region with Kiğı Dam Lake, rotifers were recorded as dominant species as to number of individuals and abundance, followed by Cladocera and Copepoda species.

ACKNOWLEDGEMENT

This research was supported by BAP of Trakya University (project number 2011-130). This work was presented as an oral presentation in the II. International Congress on Fisheries and Aquatic Research held in Nevşehir, Turkey on July 12-15, 2018 and its summary were published.

REFERENCES

- Berzins, B., & Pejler, B. (1987). Rotifer occurrence in relation to pH. *Hydrobiologia*, 147, 107-116.
- Blacher, E.C. (1984). Zooplankton trophic state relationships in North and Central Florida Lakes. *Hydrobiologia*, 109, 251-263.
- Bulut, H. & Saler, S. (2013a). Ladik Gölü (Samsun) zooplanktonu üzerine ilk gözlemler. *Su Ürünleri Mühendisleri Dergisi*, 51,74-78.
- Bulut, H., & Saler, S. (2013b). Kalecik Baraj Gölü (Elazığ- Türkiye) zooplanktonu. *Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 25 (2), 99-103.
- Cirik, S., & Gökpınar, Ş. (1993). *Plankton Bilgisi ve Kültürü*. Ege Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi. Yayınları: 19, İzmir.
- Einsle, U. (1996). *Copepoda: Cyclopoida, Genera Cyclops, Megacyclops, Acanthocyclops. Guides to the Identification of the Microinvertebrates of the Continental Waters of the World*, No.10 SPB Academic Publishing. pp 82 (in London).
- Göksu, M.Z.L., Çevik, F., Bozkurt, A., & Saruhan, E. (1997). Seyhan Nehri'nin (Adana il merkezi sınırları içindeki bölümünde) Rotifera ve Cladocera faunası. *Turkish Journal of Zoology*, 21, 439-443.