

Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences

www.egejfas.org

ISSN 1300 - 1590

EgeJFAS

Su Ürünleri Dergisi

Volume 30 Number 3

2013



Ege University Faculty of Fisheries



Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences

Scope of the Journal

Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences (EgeJFAS) is an open access, international, peer-reviewed journal publishing original research articles, short communications, technical notes, reports and reviews in all aspects of fisheries and aquatic sciences including biology, ecology, biogeography, inland, marine and crustacean aquaculture, fish nutrition, disease and treatment, capture fisheries, fishing technology, management and economics, seafood processing, chemistry, microbiology, algal biotechnology, protection of organisms living in marine, brackish and freshwater habitats, pollution studies.

Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences (EgeJFAS) is published quarterly by Ege University Faculty of Fisheries since 1984.

Submission of Manuscripts

Please read these instructions carefully and follow them strictly to ensure that the review and publication of your paper is as efficient and quick as possible. The Editors reserve the right to return manuscripts that are not in accordance with these instructions. All manuscripts will be peer-reviewed by at least two referees.

Submission of manuscripts to this journal should be presented in electronic form via online submission system at <http://www.egejfas.org>. If your submission is not successful via online system, you can send the file via e-mail. The correspondence regarding editorial matters should be sent to editor@egejfas.org.

Please prepare your manuscript according to the instructions below. Work submitted for publication must be previously unpublished, not under consideration for publication elsewhere and, if accepted, it should not then be published elsewhere.

Preparation of Manuscripts

Papers must be clearly written in Turkish or English. Manuscripts should be typed double spaced on A4 size paper in 12-point Times New Roman font including the references, table headings and figure captions with standard margins (25 mm) all around. The author's name should appear centred under the title. Numbered (1) note should give the author's institutional address and an asterisked (*) note should indicate the correspondence author's e-mail address. Degrees and qualifications should not be included. Please prepare your typescript text using a word-processing package (save in .doc or .docx).

The complete manuscript should be in a single file containing full text, references, figures and tables. Figures and tables should be at the end of the manuscript file and the locations should be indicated in the text.

- Research papers and reviews must not exceed 25 manuscript pages including tables and figures.
- Short communications, technical notes and reports which are results of brief but significant work, must not exceed 10 manuscript pages including tables and figures.

Title page

The title must be short and concise. The first name and surname of each author should be followed by department, institution, city with postcode, and country. The e-mail address of the corresponding author should also be provided. It is editorial policy to list only one author for correspondence.

It is important that authors ensure the following: (i) all names have the correct spelling and are in the correct order (first name and family name). Occasionally, the distinction between surnames and forenames can be ambiguous, and this is to ensure that the authors' full surnames and forenames are tagged correctly, for accurate indexing online.

Abstract

English and Turkish abstracts (contributors who are not native Turkish speakers may submit their manuscripts with an English abstract only) of maximum of 300 words should be included in all submissions. The Abstract should be comprehensible to readers before they have read the paper, and reference citations must be avoided. It is essential that the Abstract clearly states the legal importance of the work described in the paper. A list of keywords (maximum six) must be proposed.

Following pages

These should contain the rest of the paper and should be organized into an Introduction, Material and methods, Results, Discussion, Acknowledgements and References. Short communication and technical notes both should follow the same layout, without the abstract. In writing of systematic papers, the International Codes of Zoological and Botanical Nomenclature must be strictly followed. The first mention in the text of any taxon must be followed by its authority including the year. The names of genera and species should be given in *italics*.

Acknowledgements

Acknowledgements should be kept brief and placed before the reference section.

References

Full references should be provided in accordance with the style of *EgeJFAS*.

The in-text citation to the references should be formatted as name(s) of the author(s) and the year of publication: (Kocataş, 1978 or Geldiay and Ergen, 1972-in Turkish article 'Geldiay ve Ergen, 1972'). For citations with more than two authors, only the first author's name should be given, followed by "et al." -in Turkish article 'vd.'- and the date. If the cited reference is the subject of a sentence, only the date should be given in parentheses, i.e., Kocataş (1978), Geldiay et al. (1971). References should be listed alphabetically at the end of the text, and journal names should be written in full and in *italics*.

The citation of journals, books, multi-author books and articles published online should conform to the following examples:

Journal Articles

Öztürk, B., 2010. Scaphopod species (Mollusca) of the Turkish Levantine and Aegean seas. *Turkish Journal of Zoology*, 35(2):199-211. doi:10.3906/zoo-0904-23

Gürkan, Ş., Taşkavak, E., 2011. Seasonal condition factors of Syngnathid species from Aegean Sea coasts (in Turkish with English abstract). *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 28(1):21-24.

Books

Parsons, T.R., Matia, Y., Lalli, C.M., 1984. *A manual of chemical and biological methods for seawater analysis*. Pergamon Press, New York.

Chapter in Books

Gollasch, S., 2007. Is ballast water a major dispersal mechanism for marine organisms? In: *Biological Invasions*, W. Nentwig (Ed.), Springer, Berlin, pp 29-57.

Proceedings

Soultsos, N., Lossilidou, E., Lazou, T., Sergedilis, D., 2010. Prevalence and antibiotic susceptibility of *Listeria monocytogenes* isolated from RTE seafoods in Thessaloniki (Northern Greece). In: *West European Fish Technologists Association Annual Meeting 2010, İzmir, Proceedings Book*, Ş. Çaklı, U. Çelik, C. Altınelataman (Eds.), pp 94-98.

Online Articles

Andrews, T., 2010. What vitamins are found in fish? <<http://www.livestrong.com/article/292999-what-vitamins-are-found-in-fish/>> (27.11.2012).

Tables and Figures

All illustrations, except tables, should be labeled 'Figure' and numbered in consecutive Arabic numbers, and referred to as Table 1, Figure 1...in the text, unless there is only one table or one figure. Each table and figure, with a concise heading or with a descriptive statement written in English -and Turkish- (only contributors who are native Turkish speakers) should be given at the end of the manuscript. Tables need not to exceed 175 x 227 mm. Figures, which are recommended for electronic formats such as JPEG, TIFF (min. 300 dpi) should be also arranged in available dimensions. When it is necessary, the original copies of the figures will be asked from author(s) as separate files, after the reviewing process being concluded.

Copyright and License

Upon receipt of accepted manuscripts at EgeJFAS, authors will be invited to complete a copyright license to publish form.

Please note that by submitting an article for publication you confirm that you are the corresponding/submitting author and that EgeJFAS may retain your email address for the purpose of communicating with you about the article. If your article is accepted for publication, EgeJFAS will contact you using the email address you have used in the registration process.

Proof Sheets and Offprints

Page proofs will be sent to the corresponding authors. These should be checked immediately and corrections, as well as answers to any queries, returned to the Editorial Office via e-mail within 3 working days (further details are supplied with the proof). It is the author's responsibility to check proofs thoroughly. No changes or additions to the edited manuscript will be allowed at this stage. The journal provides free access to the papers.

Page Charges and Reprints

No page charges are collected. Corresponding authors will receive one hardcopy of the journal. All authors/readers have free access to all papers.

Indexes

EgeJFAS is indexed in ASFA, BIOSIS, CABI, FishLIT and ULAKBIM.

Corresponding Address

Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences
Ege University Faculty of Fisheries
35100 Bornova-Izmir, Turkey
Phone: +90 232 311 3838
Fax: +90 232 388 3685
E-mail: editor@egejfas.org

ISSN

1300-1590 (Print)
2148-3140 (Online)

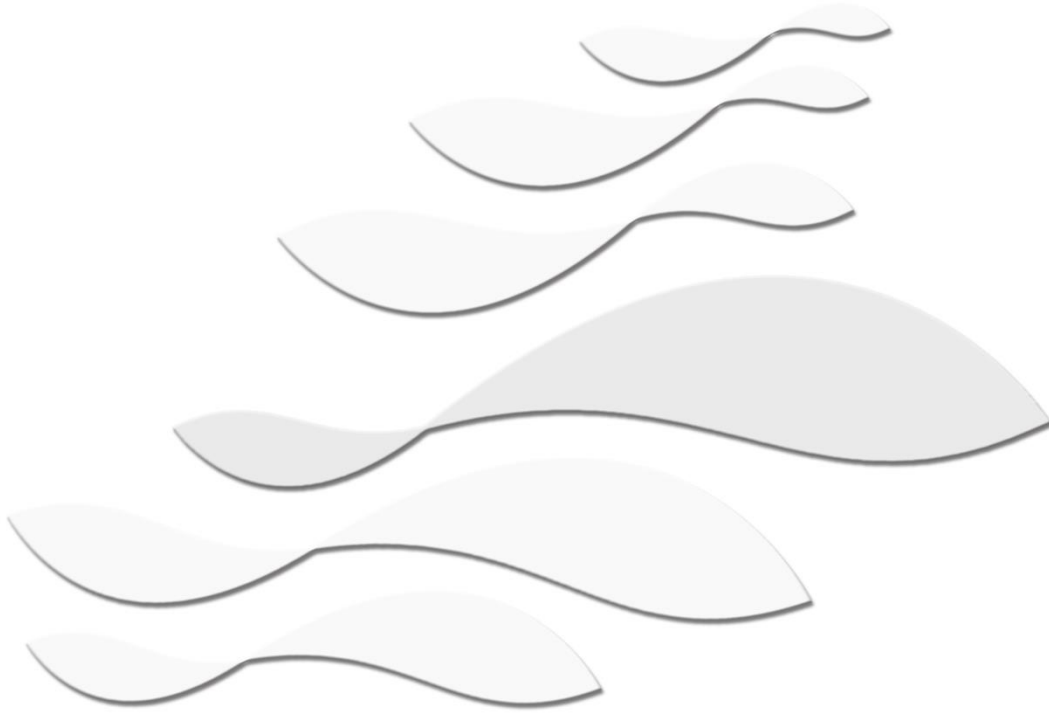
Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences

Volume 30 Number 3

ISSN 1300 - 1590

EgeJFAS

www.egejfas.org



Published by

Ege University Faculty of Fisheries, İzmir, Turkey



Su Ürünleri Dergisi
Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences

Sahibi Director

Ertan TAŞKAVAK **Dekan Dean**
Ege Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Ege University Faculty of Fisheries

Yazı İşleri Müdürü Editor-in-Chief

Ufuk ÇELİK

Yazı İşleri Müdür Yardımcıları Co-Editors-in-Chief

Gürel TÜRKMEN Hasan M. SARI

Yardımcı Editörler Associate Editors

Okan AKYOL Osman ÖZDEN
Bilal ÖZTÜRK Haşmet ÇAĞIRGAN
Tufan KORAY Zafer TOSUNOĞLU
Vahdet ÜNAL

Yayın Kurulu Editorial Board

Meriç ALBAY İstanbul University, Turkey
M.Lütfi AVSEVER İzmir Vet. Cont. Inst., Turkey
Serap BİRİNCİOĞLU Adnan Menderes University, Turkey
Javier BORDERÍAS ICTAN-CSIC, Spain
Kurt BUCHMANN University of Copenhagen, Denmark
İbrahim CENGİZLER Çukurova University, Turkey
Semra CİRİK Ege University, Turkey
Şükran ÇAKLI Ege University, Turkey
Melih Ertan ÇINAR Ege University, Turkey
Yılmaz ÇİFTÇİ Ordu University, Turkey
M.Cengiz DEVAL Akdeniz University, Turkey
Mark DIMECH FAO Fish. Aqua. Dept., Greece
Özdemir EGEMEN Ege University, Turkey
Bella GALİL Nat. Inst. Ocean., Israel
Ercüment GENÇ Ankara University, Turkey
Ana GORDOA CEAB-CSIC, Spain
Nalan GÖKOĞLU Akdeniz University, Turkey
Arif GÖNÜLÖL Ondokuz Mayıs University, Turkey
Gertrud HAIDVOGL Uni. Nat. Res. Life Sci., Austria
Chiaki IMADA Tokyo Uni. Marine Sci. Tech., Japan
F.Saadet KARAKULAK İstanbul University, Turkey
Süphan KARAYTUĞ Mersin University, Turkey
Tuncer KATAĞAN Ege University, Turkey
Murat KAYA Ege University, Turkey
Nilgün KAZANCI Hacettepe University, Turkey
Ferah KOÇAK Dokuz Eylül University, Turkey
Metin KURLU Çukurova University, Turkey
Okan KÜLKÖYLÜOĞLU Abant İzzet Baysal University, Turkey
Marcelo de Castro LEAL University of Lavras, Brazil
Aynur LÖK Ege University, Turkey
K.Karal MARX Fisheries College and Research Institute, India
Jörg OEHLenschLÄGER Seafood Consultant, Germany
Hüseyin ÖZBİLGİN Mersin University, Turkey
Müfit ÖZULUĞ İstanbul University, Turkey
Giuliana PARISI University of Florence, Italy
Şahin SAKA Ege University, Turkey
Hülya SAYGI Ege University, Turkey
Radu SUCIU Danube Delta National Institute, Romania
Cüneyt SÜZER Ege University, Turkey
Tamás SZABÓ Szent István University, Hungary
William W. TAYLOR Michigan State University, USA
Mümtaz TIRAŞIN Dokuz Eylül University, Turkey
Adnan TOKAÇ Ege University, Turkey
Sühendan Mol TOKAY İstanbul University, Turkey
M. Ruşen USTAOĞLU Ege University, Turkey
Hijran YAVUZCAN Ankara University, Turkey
Argyro ZENETOS Hellenic Centre for Marine Research, Greece

Yayın Ofisi Editorial Office

Levent YURGA Halise KUŞÇU

Tarandığı indeksler Indexed by ASFA, BIOSIS, CABI, FishLIT, TUBITAK-ULAKBIM

Su Ürünleri Dergisi yılda dört sayı olarak yayınlanır. Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences is published in four issues annually.

T.C. Kültür ve Turizm Bakanlığı Sertifika No: 18679
Ministry of Culture and Tourism Certificate No:18679

Basım Printing

Ege Üniversitesi Basımevi, Bornova, İzmir. Ege University Press, Bornova, İzmir.

Basım Tarihi Printing Date

2014

İletişim Contact

Ege Üni. Su Ürünleri Fakültesi, 35100, Bornova, İzmir Ege Üni. Faculty of Fisheries, 35100, Bornova, Izmir, Turkey
Tel: +90 232 311 3838 Fax: +90 232 388 3685 <http://www.egejfas.org> info@egejfas.org

Karadeniz'in Sinop kıyılarından yakalanan bazı deniz balıklarının metazoan parazitleri

Metazoan parasites of some marine fish species collected at the Sinop coasts of the Black Sea

Ahmet Özer* • Ahmet Murat Olguner

Sinop Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi, 57000, Sinop, Türkiye
*Corresponding author: aozer@sinop.edu.tr

Abstract: In the present study that was conducted between the period October 2006 – April 2007, fish species of whiting (*Merlangius merlangus* Nordmann, 1840), twaite shad (*Alosa immaculata* Bennett, 1835), turbot (*Psetta maxima* L., 1758) and picarel (*Spicara smaris* L., 1758) were collected from Sinop coasts of the Black Sea and investigated for metazoan parasites. At the end of this research study, it was determined that whiting, twaite shad and picarel had *Hysterothylacium aduncum* (Rudolphi, 1802), turbot had *Bothriocephalus scorpii* (Müller, 1776) and twaite shad had *Livoneca punctata* (Uljanin, 1872). Infestation/Infection prevalence (%) and mean intensity values according to host fish species were also determined and discussed.

Keywords: Whiting, turbot, twaite shad, picarel, metazoan parasites.

Özet: Ekim 2006- Eylül 2007 tarihleri arasında yürütülen bu çalışmada, Karadeniz'in Sinop kıyılarından yakalanan mezgit (*Merlangius merlangus* Nordmann, 1840), tirsi (*Alosa immaculata* Bennett, 1835), kalkan (*Psetta maxima* L., 1758) ve izmarit (*Spicara smaris* L., 1758) balıkları metazoan parazitler yönünden incelenmiştir. Araştırma sonunda, mezgit, tirsi ve izmarit balıklarında *Hysterothylacium aduncum* (Rudolphi, 1802), kalkan balığında *Bothriocephalus scorpii* (Müller, 1776) ve tirsi balığında *Livoneca punctata* (Uljanin, 1872) türlerinin varlığı belirlenmiştir. Bu türlere ait enfestasyon/enfeksiyon oranları (%) ve enfeste/enfekte balık başına ortalama sayılarının konakçı balık türlerine göre dağılımları da hesaplanmış ve tartışılmıştır.

Anahtar kelimeler: Mezgit, kalkan, tirsi, izmarit, metazoan parazitler.

GİRİŞ

Karadeniz'de gerçekleştirilen balıkçılık faaliyetlerinde ekonomik önemi olan balık türleri pelajik, demersal ve anadrom yaşam sürenlerden oluşmaktadır. Ekonomik önemlerinin yüksekliğiyle avcılık açısından hedef türler olan mezgit (*Merlangius merlangus* L., 1758) ve kalkan (*Psetta maxima* L., 1758) balıkları demersal, tirsi balığı da (*Alosa immaculata* Bennett, 1835) pelajik anadrom yaşam sürerler. İzmarit balığı (*Spicara smaris* L., 1758) ise demersal olarak yaşayan ancak ekonomik değeri çok yüksek olmayan dolayısıyla da avcılık açısından yan ürün olarak değerlendirilen bir türdür. Bu balıklar, sahip oldukları et kalitelerinin ve lezzetlerinin yüksekliği ile insan gıdası olarak sıklıkla tüketilmektedirler. Ancak, gerek ülkemiz denizleri gerekse de dünya denizleri göz önüne alındığında mezgit balıklarında nispeten daha fazla olmakla beraber, tirsi, izmarit ve kalkan balıklarının metazoan parazitleri üzerine yapılan araştırma sayısı oldukça sınırlıdır (Çetindağ, 1993; İşmen ve Bingel, 1999; Özer vd. 2000; Özer, 2002; Özer vd. 2007). Dolayısıyla, ekonomik değeri olan ve insan gıdası olarak sıklıkla tüketilen mezgit, tirsi, izmarit ve kalkan balıklarına ait parazitler üzerine çeşitli araştırmaların yapılması gereği açıkça görülmektedir. Araştırmamızda bu balıklarda varlığını

belirlediğimiz 3 farklı metazoan parazitin sadece türleri değil, konakçı balıklardaki enfestasyon/enfeksiyon oranları ve enfeste/enfekte balık başına ortalama sayıları da verilmektedir.

MATERYAL VE YÖNTEM

Ekim 2006-Nisan 2007 tarihleri arasında yürütülen bu araştırmada, balık örnekleri farklı göz açıklığındaki (mezgit 17-18 mm; tirsi 30 mm; izmarit 17 mm; kalkan 160 mm) uzatma ağlarından yakalanan ve Sinop'ta ticari olarak balıkçılık faaliyeti yürüten firmalardan temin edildi. Araştırma süresince 229 adet tirsi (*Alosa immaculata* Bennett, 1835), 87 adet mezgit (*Merlangius merlangus* L., 1758), 71 adet izmarit (*Spicara smaris* L., 1758) ve 12 adet kalkan (*Psetta maxima* L., 1758) balığı incelendi. Balıklar ağız ve karın boşluğu, solungaçlar ve iç organlar olmak üzere parazitler yönünden incelendi. Parazit türlerinin enfestasyon/enfeksiyon oranları ve enfeste/enfekte balık başına ortalama parazit sayıları Bush vd. (1997) tarafından belirtildiği gibi değerlendirildi. Parazitlerden nematod ve sestod örnekleri AFA (alkol-formol-asetik asit) solüsyonunda, isopod örnekleri ise % 5 lik formolde fiske

edildi. Nematod türünün tanımlanmasında Möller ve Anders (1986), Petter ve Maillard (1988), Berland (1991), Koie (1993), Moravec (1994); sestod türünün tanımlanmasında Akmirza (2002), Akmirza (2004), Tınar vd. (2006), Keser vd. (2007) ve isopod türünün tanımlanmasında ise Trilles (1968), Colorni vd. (1997) ve Bruce (1986)'dan yararlanıldı.

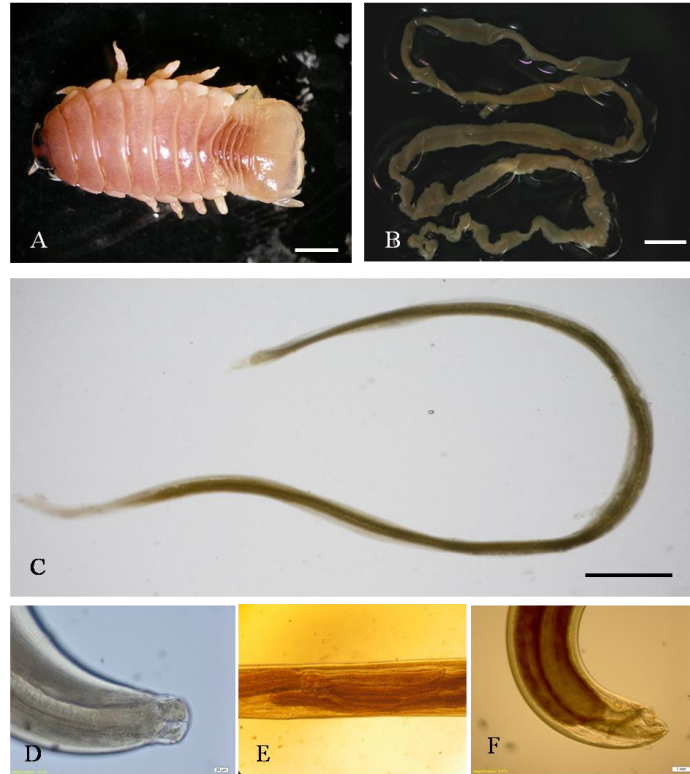
BULGULAR

Karadeniz'in Sinop ili kıyılarından ticari olarak yakalanan tirsi, mezgit, izmarit ve kalkan balıklarının metazoan parazitlerinin belirlenmesi amacıyla Ekim 2006 - Nisan 2007 tarihleri arasında gerçekleştirilen bu çalışmada Arthropoda alemine ait Cymothoidae ailesinden *Livoneca punctata* Uljanin, 1872 (Şekil 1A), Platyhelminthes alemine ait

Bothriocephalidae ailesinden *Bothriocephalus scorpii* Müller, 1776 (Şekil 1B) ve Nematelminthes alemine ait Anisakidae ailesinden *Hysterothylacium aduncum* (Rudolphi, 1802) (Şekil 1C-E), olmak üzere 3 farklı parazit türünün varlığı belirlendi. İncelenen tirsi balığının hem *Hysterothylacium aduncum* hem de *Livoneca punctata* ile enfekte olduğu belirlenirken, kalkan balığının sadece *Bothriocephalus scorpii*, mezgit ile izmarit balıklarının ise sadece *Hysterothylacium aduncum* türü parazit ile enfeste/enfekte oldukları belirlendi. Tanımlanan parazitlerin konakçı balıklardaki enfestasyon/enfeksiyon oranları (%) ve enfeste/enfekte balık başına ortalama parazit sayıları Tablo 1'de verildi.

Tablo 1. Parazit türlerinin konakçı balık türlerindeki mikrohabitatları, enfeksiyon oranları (%) ve enfekte balık başına ortalama sayıları
Table 1. Microhabitats, infection prevalences (%) and mean intensities of parasite species in different host species

Parazit türü	Konakçı	Mikrohabitat	İncelenen Balık Sayısı	Enfeksiyon Oranı (%)	Enfekte Balık Başına Ortalama Parazit Sayısı ± S.H	Toplam Parazit Sayısı
<i>Hysterothylacium aduncum</i>	Tirsi	Bağırsak	229	95.2	14.08 ± 1.10	3227
	İzmarit	Bağırsak	71	98.6	11.47 ± 1.22	803
	Mezgit	Bağırsak	87	88.5	7.48 ± 0.97	576
<i>Bothriocephalus scorpii</i>	Kalkan	Bağırsak	12	33.3	1.50 ± 0.23	6
<i>Livoneca punctata</i>	Tirsi	Solungaç	229	10.9	1.00 ± 0.00	25



Şekil 1. Araştırmamızda tanımlanan parazit türleri. A. *Livoneca punctata* (Skala: 200 µm), B. *Bothriocephalus scorpii* (Skala: 250 µm), C. *Hysterothylacium aduncum* larvası (Skala: 100 µm), D. Ergin *Hysterothylacium aduncum* baş bölgesi, E. *Hysterothylacium aduncum* özefagal ve barsak sekumları bölgesi, F. Ergin *Hysterothylacium aduncum* kuyruk bölgesi

Figure 1. Identified parasite species in the present study. A. *Livoneca punctata* (Scale: 200 µm), B. *Bothriocephalus scorpii* (Scale: 250 µm), C. *Hysterothylacium aduncum* larvae (Scale: 100 µm), D. Head of mature *Hysterothylacium aduncum*, E. Oesophageal and intestinal caecum of *Hysterothylacium aduncum*, F. Tail of mature *Hysterothylacium aduncum*

TARTIŞMA VE SONUÇ

Karadeniz'in Sinop kıyılarında aktif olarak avcılığı yapılan ve ekonomik değeri yüksek olan balıklarında belirlenen metazoan parazitlerden *Hysterothylacium aduncum* ve *Bothriocephalus scorpii* türleri, gelişme ve üremeleri için bir veya birden fazla ara konakçıya ihtiyaç duyan parazitlerdir. Diğer yandan *Livoneca punctata* ise ara konakçı kullanmaksızın direkt yaşam döngüsüne sahip bir parazittir. Ara konakçıya ihtiyaç duyan parazitlerin gelişme ve üremeleri üzerine parazitin yaşadığı konakçının beslenme alışkanlığı ve konakçı balık ile aynı ortamda bulunan ara konakçılar doğrudan etkili iken, ara konakçıya ihtiyaç duymayan ve direkt yaşam döngüsüne sahip parazitlerin gelişme ve üremelerine ise su ortamının fiziko-kimyasal özellikleri ve balık popülasyon yoğunluğu doğrudan etkilidir (Öztürk, 2005).

Deniz ve tatlısudaki pek çok balık türünün yaygın nematodu olarak bildirilen *H. aduncum* türünün ilk ara konakçı olarak çeşitli planktonik ve bentik poliket, amfipod, kopepod ve ketognat gibi organizmaları kullandığı bilinmektedir (Moravec, 1994). Tirsi balığı pelajik bir balık olup, üreme dönemleri tatlısulara, büyümeleri de denizlerde gerçekleşmektedir. Boyca büyüdüklerinde ise omurgasızları ve küçük balıkları besin olarak tüketirler. Mezgit balığı bentik yaşayan bir tür olup, hamsi, sardalya ve çaça gibi balıkları avlamak için üst tabakalara da çıkarlar. Dipte ise demersal balık yumurtaları, yengeç ve kurt yavruları, böcek, karides gibi canlılarla beslenir. İzmarit balıkları da yarı demersal yaşayan balıklar olup, dipteki canlılarla da beslenirler (Whitehead, 1985; Demirsoy, 1998).

Hysterothylacium aduncum türü parazitin incelenen tirsi, mezgit ve izmarit balıklarındaki belirlenen enfeksiyon oranları sırasıyla %95.2, %88.5 ve %98.6 olarak gerçekleşmişken, enfekte balık başına ortalama parazit sayıları da sırasıyla 14.08 ± 1.10 , 7.48 ± 0.97 ve 11.47 ± 1.22 olarak belirlenmiştir. *Hysterothylacium aduncum* türü parazite ait enfeksiyon oranı ve enfekte balık başına ortalama parazit sayısı tüm Karadeniz boyunca mezgit balığında yapılan araştırmada balık boy gruplarına göre %32.7 ile %90 arasında (İşmen ve Bingel, 1999); Sinop kıyılarından yakalanan mezgit balığında ergin nematodlarda %31.97 ve 1.37 iken, larval nematodlarda %100 ve 12.82 (Özer vd. 2000); Sinop'taki Sarıkum lagün gölündeki pisi balıklarında %10.47 ve 1.26 ± 0.16 (Öztürk, 2005); Sinop'taki Sarıkum lagününden yakalanan dişli sazancık balıklarında %12.77 ve 1.69 ± 0.14 (Öztürk, 2005); Çanakkale Boğazı'ndan yakalanan dil, lüfer, istavrit, kefal, çipura ve hamsi balıklarında sırasıyla %5 ve 1.0 ± 0.0 , %14.6 ve 1.3 ± 0.8 , %21.4 ve 3.5 ± 2.4 , %35 ve 2.1 ± 2.2 , %8.3 ve 1.0 ± 0.0 (Keser vd. 2007); Kuzey Denizi'ndeki mezgit balıklarında %100 ve 16.1 (Klimpel ve Rückert, 2005); İspanya'nın Kuzeybatısındaki mavi mezgit balıklarında %11 ve 1.7 ± 3.5 (Fernandez vd. 2005); İtalya'nın Palermo Körfezi'nden yakalanan tekir balıklarında %10.7 ve 1.0 ± 0.0 (Hristovski vd. 1989); Baltık Denizi'ndeki pisi balıklarında %28-44 arasında değiştiği (Koie, 1999); Greenland ve İrminger denizinde *Macrourus berglax* balığında %28.6 ve 2.2 (Klimpel vd. 2006); İrminger

Denizi'nden yakalanan aynı balık türünde 2001, 2002, 2003 yıllarında sırasıyla %48.6, %28.6, %60 ve 1.5, 2.2, 4.2 (Palm ve Klimpel, 2008); Kuzey Denizi'nde *Aganus cataphractus*, *Buglossidium luteum*, *Callionymus lyra* ve *Rhinonemus cimbricus* balıklarında sırasıyla %100 ve 10, %74.3 ve 4.2, %67 ve 1.5, %100 ve 8.5 (Klimpel vd. 2003); Portekiz kıyılarındaki *Microchirus azeiva* ve *Solea lascaris* türü balıklarda %1.2 ve %0.6 (Marques vd. 2006); Baltık Denizi'nden yakalanan *Neogobius melanostomus* balığında %2.8 ve 1.3 ± 0.6 (Kvach ve Skora, 2007) olarak bildirilmiştir. Yukarıda bildirilen değerlere bakıldığında bazı değerlerin yapılan bu araştırmada elde edilen değerlerden oldukça düşük, bazı değerlerin ise yüksek olduğu görülmüştür. *Hysterothylacium aduncum* türünün yaşam döngüsünde ara konakçılar, çeşitli omurgasızlar ve küçük balıklardır. Enfeksiyonun oluşması, ikinci ve/veya üçüncü gelişim aşamasındaki (L2-L3) larval nematodun ya direkt olarak ya da bunlar ile enfekte omurgasızın tüketilmesiyle gerçekleşir (Anderson, 2000; Öztürk, 2005). Doğal olarak enfekte olmuş deniz omurgasızlarındaki enfektif *H. aduncum* larvalarının ara konakçı olarak poliket, amfipod, kopepod ve ketognat türlerinin yer aldığı bildirilmektedir (Moravec, 1994; Anderson, 2000; Öztürk, 2005). Diğer taraftan, bu parazit türü mezgit ve tirs balıklarında hem larval hem de ergin birey olarak yaşamaktadırlar. Bu parazite dair bu araştırmada belirlenen ve literatürde bildirilen enfeksiyon değerlerindeki farklılıkların, üzerinde çalışılan balık türlerinin farklılığından, yakalanma zamanı ve mevsimsel farklılıklardan, incelenen balık miktarındaki farklılıklardan, ekolojik ortam koşullarının benzer yada farklı olmasından, balıkların besin tercihlerinden yada balıkların besinini oluşturan *H. aduncum* ile enfekte ilk yada ikinci ara konakçı canlıların araştırma ortamında bulunuşları ve miktarından kaynaklandığı düşünülebilir.

Araştırma süresince belirlenen *Livoneca punctata* türü parazit yalnızca tirs balığının solungaçlarında bulunmuş olup, enfestasyon oranı %10.9 ve enfeste balık başına ortalama parazit sayısı da 1.0 ± 0.0 olarak belirlenmiştir. Bugüne kadar farklı isopod türleriyle ilgili yapılan çalışmalarda enfestasyon oranı ve enfeste balık başına ortalama sayıları Sinop sahilinden yakalanan gümüş balığında (*Atherina boyeri*) bulunan *Mothocya epimerica* türü için %5 ve 1.18 (Özer, 2002); Eilat Körfezi'nin Kuzeyinde *Atherinomorus lacunosus* türü balıktaki *Livoneca* sp. türü için %3.6 (Colorni vd. 1997); Şili kıyılarındaki toplam 6 istasyondan yakalanan *Engraulis ringens* balıklarındaki *Livoneca* sp. türü için %2 ve 1.0 ± 0.0 , %15 ve 1.1 ± 0.3 , %3 ve 1.0 ± 0.0 , %15 ve 1.1 ± 0.3 , %10 ve 1.0 ± 0.0 ve %0 (Valdivia vd. 2007); Kızıl Denizde *Scarus ferrugineus* balıklarında bulunan *Aega spora* türü için %20 (Bakhrebah, 2006); Gökçeada çevresinde *Diplodus annularis*, *dipodus vulgaris*, *Smaris smarıs*, *Diplodus sargus*, *Scomber japonicus*, *Boops boops* balıklarında yapılan bir çalışmada *Anilocra physodes* türü için sırasıyla %1.72, %2.63, %5.88, %20, %1.31, %2.51 (Akmırza, 2002) olarak bildirilmiştir. Bu çalışmadaki bulgularla karşılaştırıldığında enfestasyon

oranlarının diğer araştırmalardan biraz daha yüksek oldukları görülmektedir. Farklı bölgelerde gerçekleştirilen yukarıdaki çalışmalarda ortaya çıkan enfeksiyon değerlerindeki farklılıkların hem coğrafi alan hem de konakçı balık türlerindeki farklılıkların ve de bu çalışmalardaki isopod türünün farklılığının sonucu olduğu düşünülebilir.

Araştırma süresince tanımlanan *Bothriocephalus scorpii* türü parazit yalnızca kalkan balığında bulunmuş olup, enfeksiyon oranı ve enfekte balık başına ortalama parazit sayıları sırasıyla %33.3 ve 1.5 ± 0.23 olarak belirlenmiştir. *Bothriocephalus scorpii* türü ile ilgili yapılan çalışmalarda enfeksiyon oranı ve enfekte balık başına ortalama sayıları Gökçeada civarında *Trachinus draco* üzerine yapılan bir araştırmada %5.75 (Akmırza, 2004); Çanakale Boğazı'ndan yakalanan dil, lüfer, istavrit, kefal, çipura ve hamsi balıklarından sadece dil balığında %5 ve 5.0 ± 0.0 (Keser vd. 2007); Gökçeada civarında yapılan bir başka araştırmadaki *Scorpaena porcus*, *Scorpaena scrofa* ve *Scorpaena notata* balıklarında sırasıyla %6.5, %7.3 ve %1.7 (Şenol, 2004); Gökçeada civarından yakalanan 28 tür balıktan sadece *Solea nasuta*, *Scorpaena porcus* ve *Scorpaena scrofa* balıklarında sırasıyla %27.7, %7.89 ve %12.50 (Akmırza, 2002); Kuzey Denizinden yakalanan dört balık türünden yalnızca *Agonus cataphractus* ve *Rhinonemus cimbrius* türlerinde %15.7 ve 2.5 ve %21.4 ve 1.7 (Klimpel vd. 2003); Kuzey Denizinden yakalanan iki kalkan balığından ergin *Rhombus maximus* türünde %100 ve 44.5, *Scophthalmus rhombus* türünde ise %50 den az ve 1.8 (Davey ve Peachey, 1968); Portekiz kıyılarından yakalanan Soleidae familyasına ait 7 balıktan sadece *Dicologlossa cuneata* ve *Solea senegalensis* türlerinin her ikisinde %0.6 (Marques vd. 2006) olarak belirlenmiştir. Bu

çalışmadaki bulgularla karşılaştırıldığında, diğer enfeksiyon oranlarının Davey ve Peachey (1968) hariç bu araştırmadaki bulgudan daha az oldukları görülmektedir. *Bothriocephalus scorpii* kozmopolit bir parazit olup, Avrupa, Pasifik okyanusu, Amerika, Kanada'nın kıyı sularındaki 50'den fazla deniz balığı türünde bildirilmiştir (Cooper, 1919). Bu türün yaşam döngüsünde birinci ara konakçı olarak krustase ve ikinci ara konak olarak ta kaya balığı (*Gobius minutus*) gibi türler yer almaktadır (Markowski, 1935). Davey ve Peachey (1968) *B. scorpii* türü ile enfekte iki kalkan balığı türündeki enfeksiyon oranı ve yoğunluğundaki farkları histolojik olarak ortaya koymuş ve bu parazitin yaşam alanı olarak seçtiği sindirim sisteminin her iki balık türündeki farklılığının sonucu olduğunu bildirmiştir. Araştırmamızda elde ettiğimiz bulgular ile literatürdeki bulgular arasındaki farkların özellikle konakçı balık farkından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Bu çalışmada Karadeniz'in Sinop kıyılarından ticari olarak yakalanan tirsi, mezgit, izmarit ve kalkan balıklarının metazoan parazitleri Ekim 2006 - Nisan 2007 tarihleri arasında araştırılmış, *Hysterothylacium aduncum* Rudolphi, 1802 (Nematoda), *Bothriocephalus scorpii* Müller, 1776 (Cestoda) ve *Livoneca punctata* Uljanin, 1872 (Arthropoda) olmak üzere 3 farklı parazit türü tanımlanmıştır. Tirsi balığının hem *Hysterothylacium aduncum* hem de *Livoneca punctata* ile enfekte iken, kalkan balığının sadece *Bothriocephalus scorpii* ve mezgit ile izmarit balıklarının ise sadece *Hysterothylacium aduncum* ile enfekte oldukları belirlenmiştir. Bu çalışma ile ülkemizde ekonomik öneme sahip balık türlerinde var olan parazitlere dair detaylı veriler sunulmuş ve bu alandaki mevcut çalışmalara katkı yapılması hedeflenmiştir.

KAYNAKLAR

- Akmırza, A., 2001. The samples from metazoan parasites detected in fish around Gökçeada. (In Turkish) In: *National Meeting on Aegean Sea Islands 2001, Proceedings Book*, B. Öztürk, V. Aysel (Eds), pp. 85-96.
- Akmırza, A., 2002. Parasites of the Acanthocephala and Cestoda species found in fishes caught near Gökçeada. (In Turkish). *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, 26(1): 93-98.
- Akmırza, A., 2004. Parasite Fauna of Greater Weever (*Trachinus draco* Linnaeus, 1758) *Acta Adriatica*, 45(1): 35-41.
- Anderson, R.C., 2000. Nematode parasites of vertebrates their development and transmission. 2nd edition. CABI Publishing, Wallingford Oxon (UK). doi: [10.1079/9780851994215.0000](https://doi.org/10.1079/9780851994215.0000)
- Bakhrebah, A.O., 2006. Description of the Isopoda *Aega spora* (Linnaeus, 1758) Infesting the Red Sea Parrotfish "*Scarus ferrugineus*" in Jeddah, Saudi Arabia. *Egyptian Journal of Aquatic Research*, 32(1): 450-456.
- Berland, B., 1991. *Hysterothylacium aduncum* (Nematoda) in fish. *International council for the exploration of the sea*, Leaflet No. 44: 1-4.
- Bruce, N.L., 1986. Revision of the isopod crustacean genus *Mothocya* Costa, in Hope, 1851 (Cymothoidae: Flabellifera), parasitic on marine fishes. *Journal of Natural History*, 20(5): 1089-1192. doi: [10.1080/00222938600770781](https://doi.org/10.1080/00222938600770781)
- Bush, A.O., Lafferty, K.D., Lotz, J.M., Shostak, A.W., 1997. Parasitology meets ecology on its own terms; Margolis et al. Revisited. *Journal of Parasitology*, 83(4): 575-583. doi: [10.2307/3284227](https://doi.org/10.2307/3284227)
- Colomi, A., Trilles, J.P., Golani, D., 1997. *Livoneca* sp. (Flabellifera:Cymothoidae), an isopod parasite in the oral and branchial cavities of the Red Sea silverside *Atherinomorus lacunosus* (Perciformes, Atherinidae). *Diseases of Aquatic Organisms*, 31: 65-71. doi: [10.3354/dao031065](https://doi.org/10.3354/dao031065)
- Cooper, R.A., 1919. North American Pseudophyllidean cestodes from fishes. *Illinois Biological Monographs*, 4: 288-541.
- Çetindağ, M., 1993. Karadeniz'de avlanan tirsi balığında (*Alosa fallax*) yeni bir trematod bulgusu: *Pronoprymna ventricosa* (Rudolphi, 1819). *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 40(2): 311 - 317.
- Davey, J.T., Peachey, J.E., 1968. *Bothriocephalus scorpii* (Cestoda: Pseudophyllidea) in turbot and brill from British coastal waters. *Journal of Marine Biology Association*, 48: 335-340. doi: [10.1017/S0025315400034524](https://doi.org/10.1017/S0025315400034524)
- Demirsoy, A., 1998. *Basic Rules of Life. Vertebrates / Anamniotes*, (In Turkish) Ser-III, Section-I, 4th Edition, Meteksan Yayınları, Ankara.
- Fernandez, M., Aznar, F.J., Montero, F.E., Raga, J.A., 2005. Endoparasites of the blue whiting, *Micromesistius poutassou* from North-West Spain. *Journal of Helminthology*, 79: 15-21. doi: [10.1079/JOH2004269](https://doi.org/10.1079/JOH2004269)
- Hristovski, N.D., Arculeo, M., Riggio, S., 1989. Helminth parasite fauna of *Mullus surmuletus* L. (Pisces, Mullidae) in the Bay of Palermo (Sicily-Italy). *Institutza Oceanografiju Iribarstvo - Split Sfrjugoslavija* No: 75.

- İşmen, A., Bingel, F., 1999. Nematoda infection in the whiting *Merlangius merlangus euxinus* off Turkish coast of the Black Sea. *Fisheries Research*, 42: 183-189. doi: [10.1016/S0165-7836\(99\)00022-3](https://doi.org/10.1016/S0165-7836(99)00022-3)
- Keser, R., Bray, R.A., Oğuz, M.C., Çelen, S., Erdoğan, S., Doğutürk, S., Akınoğlu, G., Martı, B., 2007. Helminth parasites of digestive tract of some teleost fish caught in the Dardanelles at Çanakkale, Turkey. *Helminthologia*, 44(4): 217-221. doi: [10.2478/s11687-007-0035-3](https://doi.org/10.2478/s11687-007-0035-3)
- Klimpel, S., Seehagen, A., Palm, H.W., 2003. Metazoan parasites and feeding behaviour of four small-sized fish species from the central North Sea. *Parasitology Research*, 91: 290-297. doi: [10.1007/s00436-003-0957-8](https://doi.org/10.1007/s00436-003-0957-8)
- Klimpel, S., Rückert, S., 2005. Life cycle strategy of *Hysterothylacium aduncum* to become the most abundant anisakid fish nematoda in the North Sea. *Parasitology Research*, 97: 141-149. doi: [10.1007/s00436-005-1407-6](https://doi.org/10.1007/s00436-005-1407-6)
- Klimpel, S., Palm, H.W., Busch, M.W., Kellermanns, E., Rückert, S., 2006. Fish parasites in the Arctic deep-sea vs. heavy parasite load in a demersal fish. *Deep-Sea Research I*, 53: 1167-1181. doi: [10.1016/j.dsr.2006.05.009](https://doi.org/10.1016/j.dsr.2006.05.009)
- Koie, M., 1993. Aspects of the life cycle and morphology of *Hysterothylacium aduncum* (Rudolphi, 1802) (Nematoda, Ascaridoidea, Anisakidae). *Canadian Journal of Zoology*, 71: 1289-1296. doi: [10.1139/z93-178](https://doi.org/10.1139/z93-178)
- Koie, M., 1999. Metazoan parasites of flounder *Platichthys flesus* (L.) along a transect from the southwestern to the Northeastern Baltic Sea, *ICES Journal of Marine Science*, 56:157-163. doi: [10.1006/jmsc.1999.0463](https://doi.org/10.1006/jmsc.1999.0463)
- Kvach, Y., Skora, K.E., 2007. Metazoa parasites of the invasive round goby *Apollonia melanostoma* (*Neogobius melanostomus*) (Pallas) (Gobiidae: Osteichthyes) in the Gulf of Gdansk, Baltic Sea, Poland: A comparison with the Black Sea. *Parasitology Research*, 100: 767-774. doi: [10.1007/s00436-006-0311-z](https://doi.org/10.1007/s00436-006-0311-z)
- Marques, J.F., Santos, M.J., Cabral, H.N., 2006. Soleidae macroparasites along the Portuguese coast: Latitudinal variation and host-parasite associations. *Marine Biology*, 150: 285-298. doi: [10.1007/s00227-006-0339-8](https://doi.org/10.1007/s00227-006-0339-8)
- Moravec, F., 1994. *Parasitic nematodes of freshwater fishes to Europe*. Kluwer Academic Publishers, London.
- Markowski, S., 1935. Über den Entwicklungszyklus von *Bothriocephalus scorpii* Muller, 1776. *Bulletin International de l'Academie Cracovie (BII)*: 1-17.
- Möller, H., Anders, K., 1986. Disease and parasites of marine fishes. Verlag Möller, Kiel. 365 p.
- Özer, A., 2002. An epizootiological study on *Mothocya epimerica* Costa, 1851 (Flabellifera: Cymothoidae) infestations in Sand smelt, *Atherina boyeri* Risso, 1810 (Perciformes: Atherinidae) Found in the Sinop coasts of the Black Sea. *Turkish Journal of Marine Science*, 8: 9-16.
- Özer, A., Sezgin, T., Erdem, O., 2000. A research study on *Hysterothylacium aduncum* (Nematoda: Anisakidae) in whiting (*Merlangius merlangus euxinus*). (In Turkish). *National Fisheries Symposium 2000, Sinop, Proceedings and Abstract Book*, pp. 632-641.
- Özer, A., Ünsal, G., Olguner, A.M., 2007. *Hysterothylacium aduncum* (Rudolphi, 1802) and *Livoneca punctata* (Uljanin, 1872) infections in *Alosa pontica* Eichwald, 1838, collected from Sinop coasts of Turkey. (In Turkish). XIV. *National Fisheries Symposium 2007, Muğla, Proceedings and Abstract Book*, p.380 (Abstract only).
- Öztürk, T., 2005. Determination of parasite fauna of flounder *Platichthys flesus* L., 1758 and toothcarp *Aphanius chantrei* Gaillard, 1895 living in Sarıkuş Lagoon (Sinop, Türkiye). (In Turkish). Ph.D. Thesis. Ondokuz Mayıs University, Institute of Science. 255 p.
- Palm, H.W., Klimpel, S., 2008. Metazoan fish parasites of *Macrourus berglax* Lacepede, 1801 and other macrourids of the North Atlantic: Invasion of the deep sea from the continental shelf. *Deep-Sea Research II*, 55: 236-242. doi: [10.1016/j.dsr2.2007.09.010](https://doi.org/10.1016/j.dsr2.2007.09.010)
- Petter, A., Maillard, C., 1988. Larves d'ascarides parasites de poissons en Méditerranée occidentale. *Bulletin du Museum National d'Histoire Naturelle, Paris, 4e ser.*, 10(Section A): 347-369.
- Şenol, A.U., 2004. Digestive tract helminths of some fish belonging to Scorpaenidae. (In Turkish). M.Sc. Thesis. İstanbul University, Institute of Science, 40 p.
- Tınar, R., Umur, Ş., Köroğlu, E., Güçlü, F., Ayaz, E., Şenlik, B., Muz, M.N., 2006. *Helminthology, 1st edition*, R. Tınar (Ed.). Nobel Basımevi, Ankara, 588 p.
- Trilles, J.P., 1968. Recherches sur les isopodes Cymothoidae des cotes Françaises. Ph.D. Thesis. Université De Montpellier Faculte Des Sciences, pp.181.
- Valdivia, M.I., Chavez, R.A., Oliva, M.E., 2007. Metazoan parasites of *Engraulis ringens* as tools for stock discrimination along the Chilean coast. *Journal of Fish Biology*, 70: 1504-1511. doi: [10.1111/j.1095-8649.2007.01429.x](https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2007.01429.x)
- Whitehead, P.J.P., 1985. FAO Species Catalogue. Clupeoid Fishes of the World (suborder Clupeoidei). An Annotated and Illustrated Catalogue of the Herrings, Sardines, Pilchards, Sprats, Anchovies and Wolfherrings. Part 1: Chirocentridae, Clupeidae and Pristigasteridae. *FAO Fisheries Synopsis*, Rome. No.125, Vol.7, 303 p.

Benefits of artificial reefs in Altınoluk (Northern Aegean), Turkey: Assessment of potential users' opinions via fuzzy pair wise comparison approach

Altınoluk'da (Kuzey Ege) yapay resiflerin faydaları: Bulanık eşli karşılaştırma yaklaşımı ile potansiyel kullanıcıların görüşlerinin değerlendirilmesi

Sezgin Tunca^{*1} • Bülent Miran² • Vahdet Ünal³

¹Department of Marine Sciences and Applied Biology, University of Alicante, 03080, Alicante, Spain

²Ege University, Faculty of Agriculture, Department of Agricultural Economics, 35100, Bornova, İzmir, Turkey

³Ege University, Faculty of Fisheries, Department of Fishery and Fish Processing Technology, 35100, Bornova, İzmir, Turkey

*Corresponding author: sezgin.tunca@gmail.com

Özet: Yapay resifler, kıyıya sahip birçok ülkede balıkçılık yönetimi aracı olarak kullanılmaktadır. Bu çalışmanın amacı, kullanıcı gruplarının yapay resiflerden faydalarını değerlendirmektir. Altınoluk'da (Edremit Körfezi, Türkiye'nin Kuzey Ege Kıyısı) kullanıcıların temel potansiyel faydalarını ortaya koymak üzere Bulanık Eşli Karşılaştırma (BEK) Yöntemi kullanıldı. Sosyal, biyolojik ve ekonomik faydaları kapsayan yapay resiflerin 3 faydası ticari balıkçılar, rekreasyonel balıkçılar ve yöre sakinlerine sunuldu. Ardından, faydaların ağırlıkları BEK Yöntemi'nde ikili kıyaslamalar ile hesaplandı. Araştırma verisi ticari ve rekreasyonel balıkçılar ile yöre sakinlerini kapsayan potansiyel kullanıcılar ile soru formu kullanarak yüz yüze görüşmeler yoluyla toplandı. BEK Yöntemi'nden elde edilen sonuçlara göre, ticari balıkçılar yapay resiflerin ekonomik faydasını en yüksek düzeyde seçerken, rekreasyonel balıkçılar ve yöre sakinleri yapay resiflerin biyolojik faydasını daha yüksek düzeyde seçmiştir. Sonuç olarak, kullanıcıların algısını ölçmeden gerçekleştirilen yapay resif uygulamaları hedefleri karşılamayabilir. Yapay resiflerin ilgili gruplarının algısını ölçmeyi amaçlayan çalışmalar planlama sürecinde karar vericilere yol gösterici olur.

Anahtar kelimeler: Yapay resifler, sosyal ve biyolojik faydalar, ekonomik faydalar, bulanık eşli karşılaştırma, tobit regresyon analizi.

Abstract: Artificial Reefs (ARs) are used in many coastal countries, mainly for fisheries management purposes. The aim of this study is to assess user's benefits from artificial reefs. Fuzzy Pair-Wise Comparison (FC) Method was used to introduce users' opinions on main potential benefits of ARs in Altınoluk (Edremit Bay, North Aegean Coast of Turkey). Three benefits of artificial reefs including social, biological and economic were represented to commercial fishermen, recreational fishermen and local residents. Then, the weights of the benefits were calculated by pair-wise comparisons in the FC Method. Survey data was obtained by face-to-face interviews using questionnaire forms with potential users including commercial fishermen, recreational fishermen and local residents. According to the results gathered from the FC Method, commercial fishermen ranked economic benefits of artificial reefs as highest whereas recreational fishermen and local residents were agreed on biological benefits. In conclusion, ARs deployments without measuring perception of users may not meet the objectives. Studies aiming to measure the perception of AR related groups guide decision makers during the process of planning.

Keywords: Artificial reefs, social and biological benefits, economic benefits, fuzzy pair-wise comparison, tobit regression analysis.

INTRODUCTION

There is a general lack of reports or studies about the demand for artificial reefs and the socioeconomic efficacy of these projects. Most studies that have been conducted focus on areas with the greatest reef-building activity (Milon *et al.* 2000). Existing scientific literature regarding biological aspects of artificial reefs (ARs) is also not sufficient to understand AR deployments (Lök, 1995), moreover; there are limited number of studies concerning social and economic aspects of ARs of which majority conducted in United States.

As there are limited number of biological and socioeconomic studies in the world, AR practices in Turkey have increased in recent years, during which considerable

attention has been paid to the limited biological and technical research that exists (Lök, 1995; Düzbastılar and Tokaç 2003; Lök and Gül, 2005; Ulaş, 2007).

Additionally, the first economic study for ARs deployments in Turkey was conducted to analyze investment in AR projects (Tiryakioğlu, 2008). This first socioeconomic study was conducted more than a decade after Lök (1995), and recently, a study of socioeconomic and management assessments of ARs including its economic value has been concluded (Tunca, 2011; Tunca *et al.*, 2012).

Although there have been 38 artificial reef projects planned in Turkey, to date, only 26 of these projects have

been completed. The main objectives of those projects were: (1) to support small-scale and traditional fisheries, (2) to create new sites for recreational fishing and diving, (3) to protect biodiversity, especially in the littoral zone, (4) to protect fish-spawning and nursery areas (e.g., Posidonia meadows) from illegal trawling. There is no long term monitoring/data collection for studies on ARs in Turkey except limited research efforts of several universities (Lök, 2012).

While conducting stakeholder's assessment via socioeconomic researches, it is significant to identify stakeholders' opinions on ARs. Evaluation of different stakeholders' opinions covering objectives is supportive to constitute future AR policy. Besides, attitudes and perceptions of relevance groups are other considerable points to identify economic and social behaviors.

The main purpose of this study is to determine stakeholders' opinions about possible benefits of ARs. Additionally, respondents' socioeconomic dimensions affecting the selection of 3 alternatives; social benefits (SS), biological benefits (BB) and economic benefits (EB) were analyzed. This study is generally aimed to contribute improvement of future AR deployments as well as provide fundamental information for decision makers.

MATERIALS AND METHOD

Study site

The research was carried out in Altinoluk which is fishing and tourism district with the 13,800 population located at northern Aegean coast of Turkey (TSI, 2011). Small-scale fishery dominates fishing activity and 95% (N=55) of fishers are organized under the Altinoluk Fishery Cooperative in the region. Altinoluk Fishery Cooperative was established in 2006 with the support and leadership of an extraordinary and innovator local fisher. The cooperative keeps 7 employees permanently during the whole year and 20 employees temporarily during the summer time due to it also runs cafe, restaurant and aquarium (Ünal et al., 2009).

In the Altinoluk region, 6,680 concrete blocks were proposed for deployment as a pilot project under the National Artificial Reef Program. Ministry of Food, Agriculture and Livestock allocated 5 Million TL (Turkish Lira) (1 TL = €0.4) for the two-year project of ARs deployment in Altinoluk located in North Aegean coast in Turkey. Enhancements of habitats, commercial fishing, recreational fishing and diving tourism are the main purposes of the project. Commercial fishing is identified as important economic activity in the region because fishermen's livelihood depends on the marine resources.

Data collection and analysis

Field studies were conducted to collect data from target survey groups. Target survey groups were found as 20 CF

(N=55) who are the members of The Altinoluk Fishery Cooperative, 58 RF (N=400) who participate recreational fishing on shore or on a boat, and 67 (N=13,800) LR who live in the site for pilot project of National AR Project called Altinoluk. Proportional sampling size formula was used to determine sampling sizes for each group with the following formulation (Equation 1):

$$n = \frac{Np(1 - p)}{(N - 1)\sigma_{px}^2 + p(1 - p)} \quad \text{(Equation 1)}$$

Where n is the sample size, N is the population of each target group (CF, RF and LR), p is the contribution ratio to ARs (0.50 is fitted to reach the maximum sample size), and σ_{px}^2 is the variance.

Face-to-face interviews were conducted to collect data from each group via specific questionnaires. Representative sample size was calculated for each group according to 95% confidence interval and 5% tolerances (Miran, 2003).

Fuzzy Pair-Wise Comparison Methodology

With the Fuzzy Pair-Wise Comparison (FC) Methodology, it was aimed to put forward results on users' priorities about effects of ARs by making pair-wise comparisons among three benefits including social, biological and economic. FC Method shows similarity with the simple pair-wise comparison. For each of them, two alternatives are compared by respondents. In addition, priority levels of one alternative over another are put forward with FC methodology.

In this method, unlike numerical size estimation method, numerical value of each aim is based on compared objectives' cluster. Partial membership is central concept of fuzzy set theory. In the standard membership theory, a cluster is accepted well-described only if each element of universal set is element (1) or is not element (0) of set in question. In partial membership, fuzzy set is take part in [0,1] closed interval. Therefore, one element of cluster is given a value between 0 and 1. Fuzzy set theory is based on uncertain preferences. In this method, first stage is to gather data. In the data gathering phase the diagram is used below in Figure 1 (Günden and Miran, 2007).

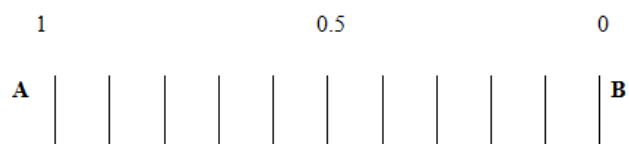


Figure 1. Fuzzy pairing approach used for comparison between A and B

Alternatives A and B are placed points on opposite sides of line. Respondents are required to put 'X' sign on line for the purpose of state self preference. While comparing alternatives; if which alternative is close to 'X' signal, it can be said that alternative close to 'X' is preferred to other alternative. Preference level of A to B, RAB, is measured distance from 'X' to A. Total distance from A to B is 1.

- If $RAB < 0.5$ $B > A$
- If $RAB = 0.5$ $A \approx B$
- If $RAB > 0.5$ $A > B$

In the case of certain preferences $RAB=1$ or $RAB=0$

Number of paired comparisons concerning alternatives, K, is defined as:

$$K = n * (n - 1) / 2 \quad \text{(Equation 2)}$$

Here, n states number of objectives. For each paired comparison R_{ij} ($i \neq j$) is obtained. Measurement of preference level of j according to i: $R_{ji} = 1 - R_{ij}$.

Second stage is to compose fuzzy preference matrix. After data is gathered and operated through stages above, fuzzy preference matrix of respondents can be composed. For this below explanations are useful:

$$R_{ij} = \begin{cases} 0 & \text{eger } i = j \forall i, j = 1, \dots, n \\ r_{ij} & \text{eger } i \neq j \forall i, j = 1, \dots, n \end{cases}$$

This method can be expressed by $i \times j$ dimensional fuzzy preference matrix (R).

$$R = \begin{bmatrix} 0 & r_{12} & r_{13} & \dots & \dots & r_{1j} \\ r_{21} & 0 & r_{23} & \dots & \dots & r_{2j} \\ r_{31} & r_{32} & \dots & \dots & \dots & \dots \\ \dots & \dots & \dots & \dots & \dots & \dots \\ \dots & \dots & \dots & \dots & 0 & r_{i-1j} \\ r_{i1} & r_{i2} & \dots & \dots & r_{ij-1} & 0 \end{bmatrix}$$

Third stage of method is to measure fuzzy weights. It is possible to calculate preference level (i) concerning each alternative from respondents' preference matrix. Following formula is used for measurement of preference density of each alternative separately.

$$I_j = 1 - \left(\sum_{i=1}^n R_{ij}^2 / (n-1) \right)^{1/2}$$

Last stage is to arrange alternatives. I_j values vary between 0 and 1. It is important to know how much the value close to 1, because preference density becomes bigger if it becomes close to 1. After ' I_j 's are gathered, alternatives are put in order from most effective to least effective (Günden and Miran, 2007; Günden et al., 2008).

Tobit model

TREG model is an extension of probit regression (PREG) model. It is placed among limited dependent variable models (Gujarati, 2008). In this model, dependent variable, Y holds an asymmetry between positive and negative or 0 values (Ramanathan, 1998). Common formulation of TREG model, as is PREG model, is given based on an index function below (Greene, 2003).

$$Y_i^* = \beta'x_i + u_i, \text{ If } Y_i^* \leq 0, Y_i = 0; \text{ If } Y_i^* > 0, Y_i^* = 0$$

As is in PREG model, estimators in PREG model are calculated by maximum likelihood method (Gujarati, 2008).

RESULTS

Main possible effects of ARs

Priorities for SB, BB and EB given by CF were found as 0.26, 0.45 and 0.62, orderly. CF was found to have high tendency to choose EB preference which may be expressed by livelihood of CF in the region is depended on fisheries. RF gave higher priority to BB (0.60) compared to SB and EB which were weighted as nearly equal priorities (0.40 and 0.35, orderly). Lastly, like in the case of RF, LR also indicated that ARs have higher BB compared to SB and EB. According to these results, ARs are perceived mostly as biological tools by RF and LR whereas, CF is perceived ARs as an economic tool (Table 1).

Table 1. Priorities of alternatives given by CF, RF and LR

	Alternatives	Mean	SD	Min	Max
CF	SB	0.26	0.21	0	0.65
	BB	0.45	0.29	0	1.00
	EB	0.62	0.25	0.29	1.00
RF	SB	0.40	0.24	0.05	1.00
	BB	0.60	0.31	0	1.00
	EB	0.35	0.28	0	1.00
LR	SB	0.34	0.19	0	1.00
	BB	0.65	0.24	0.10	1.00
	EB	0.38	0.21	0	0.90

Number of observations: 67
SD, Standard Deviation; Min, Minimum; Max, Maximum

Tobit Regression Analysis

TREG analysis was used to find out respondents' characteristics affecting preference of compared variables; SB, BB or EB of ARs. Dependent and independent variables used in the TREG model were defined in table 2. Age variable signifies different age groups of respondents as 1: Under 25, 2: Between 26-45, 3: Between 46-60, 4: Higher than 61. Edu variable describes respondents' level of education in four groups as 1: 1-5 years, 2: 6-8 years, 3: 9-11 years, 4: 12 years and higher. SocSec, as a dummy variable, represents the ownership of a social security of respondents by close-ended Yes/No answers. Inc variable indicates the respondents' monthly income by eight different groups as 1: Lower than 500 TL, 2: Between 501-1,000 TL, 3: Between 1,001-1,500 TL, 4: Between 1,501-2,000 TL, 5: Between 2,001-2,500 TL, 6: Between 2,501-3,000 TL, 7: Between 3,001-3,500 TL, 8: Higher than 3,500 TL. While ResInd variable exhibits the number of individuals that the respondents are responsible to take care of, FamPop demonstrates the total family population of respondents. Other dummy variables including OwnHouse; respondents' house ownership status, HeardReef; Respondents' status of knowledge about AR concept and HeardPro; Respondents'

status of knowledge about national AR project are assessed by close ended Yes/No options. NEP shows respondents' environmental attitudes calculated by New Environmental (NEP) Paradigm Scale, with 1-5 scale, 1 is Absolutely non-environmentalist; 5: Absolutely environmentalist. TotRecDay and AfReef, respectively, shows the current number of days in a year that respondents attend to a recreational activity and the number of future visits that stated to be conducted by respondents' after AR deployment. Lastly, three dependent variables which were also compared in FC method, LR_SB, LR_BB and LR_EB indicates weighted score given by LR for SB, BB and EB of ARs by 0-10 scale of pair-wise comparison (Table 2).

Descriptive statistics of dependent and independent variables used for TREG models were demonstrated in table 3. Most of respondents are included in ages between 26 and 45, whereas average education level is 9-11 years of education. 81% of respondents have social security and monthly incomes of respondents are averagely between 500-1,000 TL. The number of individuals that the respondents are responsible to take care of and the total number of family population of respondents are found as below 1.

Table 2. Dependent and independent variables used for TREG models

	Variable	Definition
Independent Variables	Age	Respondents' age (1: ≤25, 2: 26-45, 3: 46-60, 4:61≤)
	Edu	Respondents' education level (1:1-5, 2:6-8, 3:9-11, 4:12≤)
	SocSec	Social security status of respondents (1:Yes; 0:No)
	Inc	Respondents' monthly income (1: ≤"500, 2: "501-1,000, 3: "1,001-1,500, 4: "1,501-2,000, 5: "2,001-2,500, 6: "2,501-3,000, 7: "3,001-3,500, 8: "3,500≤)
	ResInd	The number of individuals that the respondents are responsible to take care of
	FamPop	Respondents' total family population
	OwnHouse	Respondents' house ownership status (1:Yes; 0:No)
	HeardReef	Respondents' status of knowledge about AR concept (1:Yes; 0:No)
	HeardPro	Respondents' status of knowledge about national AR project (1:Yes; 0:No)
	NEP	Respondents' Environmental attitudes under New Environmental Paradigm (NEP) (1:Absolutely non-environmentalist; 5:Absolutely environmentalist; 1-5 scale)
	TotRecDay	Respondents' total number of recreational days in one year (trip, scuba diving or recreational fishing)
AfReef	Number of visits that respondents are willing to attend after reef deployment	
Dependent Variables	LR_SB	Weighted score for social benefits of ARs given by LR (0-10 Scale)
	LR_BB	Weighted score for biological benefits of ARs given by LR (0-10 Scale)
	LR_EB	Weighted score for economic benefits of ARs given by LR (0-10 Scale)

55% of respondents have house, while 46% of them heard AR concept before, 91% do not have any idea about proposed AR project. Respondents are found to be mildly environmentalist via New Environmental Paradigm Scale. The yearly total recreational days of respondents are represented as 41.37±66.98, 18.18±22.65. Lastly, respondents gave highest

priority to the BB with 0.65 in 0-1 scale while EB and SB got 0.38 and 0.34 values, orderly (Table 3).

Only CF was accounted to put forward the relevance of variables affecting rating for social, biological and economic dimensions. Therefore, in Table 4, three Tobit model were calculated to represent relationship between dependent and

independent variables. First, variables affecting selection of LR_Soc variable was found as positively correlated with SocSec variable. Positive relationship was also found between *AfReef* and *LR_Bio* variables. Lastly, *LR_Econ* variable is negatively correlated with *ResInd* variable and positively correlated with *FamPop* variable. Lastly, for commercial fishing as a source of livelihood, as expected, CF gave first place to economic benefits alternative; however, RF and LR ranked firstly biologic benefits alternatives of AR. (Table 4).

Table 3. Descriptive statistics of dependent and independent variables used for tobit models

Variable	Mean	SD	Min	Max
Age	2.25	0.70	1	4
Edu	2.84	0.96	1	4
SocSec	0.81	0.40	0	1
Inc	1.52	0.59	0	3
ResInd	0.22	0.42	0	1
FamPop	0.48	0.50	0	1
OwnHouse	0.55	0.50	0	1
HeardReef	0.46	0.50	0	1
HeardPro	0.09	0.29	0	1
NEP	3.89	0.46	2.77	4.69
TRA	41.37	66.98	0	300
AfReef	18.18	22.65	0	1045
LR_Soc	0.34	0.19	0	1.00
LR_Bio	0.65	0.24	0.10	1.00
LR_Econ	0.38	0.21	0	0.90

Number of observations: 67

SD, Standard Deviation; Min, Minimum; Max, Maximum

DISCUSSION AND CONCLUSION

This study is mainly aimed to explore users' possible benefits from ARs using FC method in Altınoluk, Turkey.

Besides, the factors affecting perception of the benefits of ARs are regressed for LR via TREG analysis.

EB of ARs was ranked as first by CF which explains CF's dependence on the marine resources as a source of livelihood as one of the benefits of ARs is considered as fisheries enhancement. However, RF gave higher priority to BB (0.60) compared to SB and EB which were weighted as nearly equal priorities (0.40 and 0.35, orderly). According to this result, RF who are both not attending a commercial fishing activity and also the second top visitor to the AR site in question were supposed to give the most objective priority on benefits of ARs. Lastly, LR also indicated that ARs have higher BB (0.65) compared to SB (0.34) and EB (0.38).

LR who has a social security ranked the SB of ARs, mostly. In addition, positive relationship was also found between the numbers of visits that LR is willing to attend after AR deployment and priority given for BB variables by LR. Moreover, priority given for EB of ARs was found as negatively correlated with the number of individuals that LR responsible for and positively correlated with the total family population of respondent. In conclusion, under the FC method, commercial fishing as a source of livelihood for CF, EB of ARs got first choice by CF, however; RF and LR ranked BB of AR on the top.

In conclusion, understanding the stakeholders of ARs before and after reef deployment by using methods like FC is supportive to reach the objectives of ARs. This study proved the possibility of using FC method to analyze benefits of ARs through better decision making process for the management of ARs.

Table 4. TREG results of variables.

Dependent Variables	LR_Soc		LR_Bio		LR_Econ	
	Coeff	SE	Coeff	SE	Coeff	SE
Independent Variables						
Age	-0.03	0.04	0.09	0.06	0.00	0.04
Education	0.02	0.03	-0.02	0.04	0.01	0.03
SocSec	0.19***	0.07	-0.15	0.09	-0.06	0.07
Income	-0.00	0.05	0.01	0.07	0.03	0.05
ResInd	-0.07	0.08	-0.16	0.11	0.19**	0.08
Fampop	0.08	0.06	0.09	0.09	-0.18***	0.07
OwnHouse	-0.01	0.05	0.13	0.08	-0.09	0.06
HeardReef	-0.04	0.06	0.05	0.09	-0.05	0.07
HeardPro	0.01	0.09	0.03	0.13	-0.03	0.09
NEP	0.02	0.06	0.08	0.09	-0.11	0.06
TRA	-0.00	0.00	0.00	0.00	0.00*	0.00
AfReef	0.00	0.00	0.00*	0.00	0.00	0.00
Constant	0.14	0.27	0.25	0.37	0.85	0.28
Sigma	10.19	0.02	0.26	0.03	0.19	0.02
Logarithmic Likelihood		9.64		-16.37		7.65
Likelihood Ratio Chi-Squared		12.44		9.66		16.76
Probability > Chi-Squared		0.41		0.65		0.16

*** Coefficient significant at $P \leq 0.05$ or better. ** Coefficient significant at $P \leq 0.05$ or better.

* Coefficient significant at $P \leq 0.10$ or better. Number of observations: 67; SE, Standard Error; Coeff, Coefficient.

REFERENCES

- Bell, F.W., Bonn, M.A., Leeworthy, V.R., 1998. Economic Impact and Importance of Artificial Reefs in Northwest Florida. NOAA Paper Contract Number MR235 Office of Fisheries Management and Assistance Service, Florida Department of Environmental Administration, Tallahassee, FL. 476 pp.
- Ditton, R.B., T.L. Baker, 1999. Demographics, Attitudes, Management Preferences, and Economic Impacts of Sport Divers using Artificial Reefs in Offshore Texas Waters. *Report prepared for the Texas Parks and Wildlife Department through a research contract with Texas A&M University*. 44 pp.
- Ditton, R. B., Thailing, C.E. Riechers, R., H. Osburn, 2001. The Economic impacts of sport divers using Artificial Reefs in Texas Offshore Waters. In: *53rd Annual Gulf and Caribbean Fisheries Institute Meeting, Proceedings Book*, 54: 349-360.
- Ditton R.B., Osburn, H.R., Baker, T.L., Thailing C.E., 2002. Demographics, attitudes, and reef management preferences of sport divers in offshore Texas waters. *ICES Journal of Marine Science*, 59: 186–S191. doi: [10.1006/jmsc.2002.1188](https://doi.org/10.1006/jmsc.2002.1188)
- Düzbastılar, F.O., Tokaç, A., 2003. Determination of effects of artificial reef size on local scouring phenomena resulting from wave action *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Science*, 20 (3-4): 373 – 381.
- Greene, W., 2003. *Econometric Analysis*. 5th ed. Prentice Hall, New Jersey. 206p.
- Gujarati, N.D., 2008. *Basic Econometrics*. 5th ed. McGraw-Hill, USA. 944p.
- Günden, C., Miran, B., 2007. A Research on the Determination of Farmers' Objectives Hierarchy Using Fuzzy Pairwise Comparison. *Akdeniz University Journal of Agricultural Faculty*, 20 (2), 183-191.
- Günden, C., Miran, B., Uysal Ö.K., Bektaş Z.K., 2008. An Analysis of Consumer Preferences for Information Sources on Food Safety by using Fuzzy Pair-Wise Comparison. *Southern Agricultural Economics Association Annual Meeting*, Dallas, TX, 17 p.
- Lök, A., 1995. *Yapay resiflerin uygulanabilirliği üzerine bir araştırma*. Doctor of Philosophy Dissertation. *Ege University Press* Bornova, İzmir, 55 p.
- Lök, A., Gül, B., 2005. Evaluation of fish fauna associated with experimental artificial reefs in Hekim Island in İzmir Bay (Aegean Sea, Turkey). *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 22 (1-2): 109-114.
- Lök A., 2012. Artificial reef applications in Turkey. *Report of the 12th Session of the Sub-Committee on Marine Environment and Ecosystems (SCMEE), GFCM, FAO HQs, Rome, Italy, 23-26 January 2012*, 23 p.
- Milon, J.W., Holland, S.M., Whitmarsh, D.J., 2000. Social and Economic Evaluation Methods, In: *Artificial Reef Evaluation with Application to Natural Marine Habitats*, W.Jr. Seaman (Ed.), CRC Press LLC, Florida, pp. 165-194.
- Miran B., 2003. *Basic Statistics*. Ege University Press, ISBN 975-9308800, Bornova, İzmir, 297 p.
- Morgana, O.A., Massey, D.M., Huth, W.L., Hall, R., 2009. Demand for Diving on Large Ship Artificial Reefs. *Marine Resource Economics*, 24: 43-59.
- Oh, C, Ditton, R.B., Stoll, J.R., 2008. The Economic Value of Scuba-Diving Use of Natural and Artificial Reef Habitats. *Society & Natural Resources*, 21: 455-468. doi: [10.1080/08941920701681953](https://doi.org/10.1080/08941920701681953)
- Pendleton, L.H., 2004. Creating Underwater Value: The Economic Value of Artificial Reefs for Recreational Diving, California Artificial Reef Enhancement Program. *Prepared for: The San Diego Oceans Foundation*. 11p.
- Ramanathan, R., 1998. *Introductory Econometrics with Applications*. The Dryden Press, USA, 664p.
- Tiryakioğlu, F.Ö., 2008. Socio-Economic Evaluation Of Artificial Reefs In Aegean Sea, Turkey. *University of Portsmouth Business School, Master of Science Dissertation*, Portsmouth, UK, 41 p.
- Tunca, 2011. Assessing Socio-Economic Effects of Artificial Reef Deployments in the Northern Aegean Sea: Altınoluk Case. *Ege University Graduate School of Natural and Applied Sciences, Department of Agricultural Economics, Master of Science Thesis*, 172 p.
- Tunca, S., Miran, B., Ünal, V., 2012. Decisions of Stakeholders for the Proposed Artificial Reef Deployment: Analytic Hierarchy Process Approach. *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Science*, 29 (1). doi: [10.12714/egejfas.2012.29.1.04](https://doi.org/10.12714/egejfas.2012.29.1.04)
- Turkish Statistical Institute (TSI), 2011. The Results of Address Based Population Registration System. www.tuik.gov.tr.
- Ulaş, A., 2007. A pre-study for determining of efficiency of fish sampling methods on artificial reefs. *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 24(3-4): 287–293.
- Ünal, V., Göncüoğlu, H., Yercan, M., 2009. Fishery Cooperatives along the Aegean Sea Coast (in Turkish with English summary), *Publication of SÜRKOOP-Central Union of Fishery Cooperative Associations*. No: 1, Ankara, 131p.

Sübye [*Sepia officinalis* (Linneaus, 1758)]'nin iç kabuk gelişimi

The cuttlebone development of common cuttlefish [*Sepia officinalis* (Linneaus, 1758)]

Halil Şen

Ege Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Yetiştiricilik Bölümü, 35440, Urla, İzmir, Türkiye
*Corresponding author: halil.sen@ege.edu.tr

Abstract: The cuttlebone development of *Sepia officinalis*, which is an important criterion for its embryonic development, was redefined as detail during the 30 stages of embryonic development. At stage 24+(XIV), the cuttlebone begins to be formed and the calcareous site can be seen. At stage 26(XV-XVI), first camber can be seen on the cuttlebone, but there is no air in it. At stage 27(XVI-XVII), the first camber is completed, and at the inside instead of its gelatinous-fluid contents, some gas appears in the form of irregular bubble squeezed. At stage 30(XX), newly hatchling has got 7-8 air cambers on the cuttlebone.

Keywords: Cuttlefish, *Sepia officinalis*, embryonic development, cuttlebone.

Özet: *Sepia officinalis*'in önemli embriyonik gelişim kriterlerinden biri olan iç kabuk gelişimi 30 safhalık embriyonik gelişim sürecinde detaylı olarak yeniden tanımlanmıştır. Safha 24+(XIV)'da sübye kemiği oluşumu başlamıştır ve kalsiyum karbonattan oluşan kalkerli yapı görülebilmektedir. Safha 26(XV-XVI)'da sübye kemiğinde ilk bölme görülebilir, ancak henüz hava ile dolmamıştır. Safha 27(XVI-XVII)'de ilk bölme tam olarak oluşmuştur, jelatinimsi akışkan yerini hava kabarcıklarına bırakmıştır. Safha 30(XX)'da yumurtadan yeni çıkmış juvenil 7-8 arasında bölme içeren iç kabuğa sahiptir.

Anahtar kelimeler: Sübye, *Sepia officinalis*, embriyonik gelişim, iç kabuk.

GİRİŞ

İç kabuk, hem yüzerliği sağlayan hem de iskelet görevi gören bir yapı olması itibarı ile sübye [*Sepia officinalis* (Linneaus, 1758)] için hayati öneme sahiptir (Denton ve Gilpin-Brown, 1961a; Denton ve Gilpin-Brown, 1961b; Denton ve Taylor, 1964; Boletzky, 1974, 1983; Le Goff vd., 1998; Almonacid-Riosecol vd., 2009). Sübyede kalsiyum karbonattan oluşan bir iç kabuk hayvanın sırt bölgesinde arkadan öne doğru konumlanmıştır ve hacimsel olarak sübyenin yaklaşık %10'u kadardır (Denton ve Gilpin-Brown, 1961a). İç kabuk, iç kabuk kesesi olarak adlandırılan, epitel doku ile kaplıdır. Kemiğin üzeri dorsalde deri tabakasıyla kaplıken ventralde iç organlardan ayıran bir bağdoku bulunur (Tompsett, 1939). İç kabuk epiteli, kendisini çevreleyen hücre dışı ortamdan iyonik ve proteinli bileşenleri kalsiyum karbonatlı bölüme taşır (Appellöf, 1893; Wendling, 1987). İç kabuk, dorsal bir kabuk ve ventral bir bölümden oluşur. Kabuk, 3 sert tabaka ve ince bir kalsiyum karbonat ihtiva eder; dışta "periostracum", ortada "ostracum" ve içte yani organlara en yakın yerde "hyostracum" yer alır (Naef, 1928). Bölme (phragmacone) gelişim boyunca biriken kalkerli katmanlardan oluşur. Ventral bölme yumuşak alandır (phragmacone'un sırt kısmının son bölümüdür) ve bir çizgili alan ya da dairesel bölge ve bir boşlukla sınırlı iki ardışık katmandan meydana gelir. Son bölme oluştuğunda ilk oluşan bölme, canlıının posteriorunda yer alır ve sadece sıvı içerir. Orta bölmede, boşluklar çoğunlukla nitrojen gazı ile doludur (Denton ve

Taylor, 1964). Bu gaz bölmelerinin ve diğerlerinin arasında dairesel epitelyum ile bağlantılı olan gaz ve sıvı içeren ara bölmeler vardır. Osmotik mekanizmayla, kemikte bulunan sıvı içeri ve dışarı içsel gaz basıncında değişim olmaksızın hareket ederek, canlıının yüzerliğini balıklardaki hava kesesinin yaptığı gibi ayarlamaktadır. Kemikteki her bir odacık birbirinden bağımsızdır ve böylece bir bölmedeki gaz ve sıvı serbestçe hareket edebilir. Kemiğin %93'ü boşluklu bir yapı içerir ki bunun sebebi canlıının hem yüzerliğini sağlayacak kadar hafifleyebilmesine olanak vermek hem de artan derinliklerdeki basınca dirençli olabilmektir (Birchall ve Thomas, 1983). Denton ve Gilpin-Brown (1961c) yaptıkları çalışmayla iç kabuğun 20 atm. basınca dayanabildiğini göstermişlerdir. Bu veri yetişkin sübyelerin yaklaşık 200 m derinliğe kadar inebileceğini gösterse de 150 m derinliğe kadar olan dağılımlarını açıklamaktadır (Ward ve Boletzky, 1984; Neige ve Boletzky, 1997).

Son yıllarda yapılan çalışmalara bakıldığında, kafadanbacaklıların embriyonik gelişimleri hakkında ayrıntılı bilgilere ulaşmak için embriyonik gelişimleri 30 safhada incelenmeye başlanmıştır (Arnold, 1965; Lemaire, 1970; Segawa, 1987; Blackburn vd., 1998; Şen, 2003, 2004, 2005, 2009). Böylece birbirine karışan safha geçişlerinin daha ayrıntılı ve doğru tanımlanması sağlanmıştır. Naef (1928), *S. officinalis*'in embriyonik gelişimi süresince iç kabuk gelişimini

ayrıntılı olarak 20 safhaya ayırmıştır. Lemaire (1970) ise *S. officinalis*'in embriyonik gelişimini 30 safhalık gelişim serisi içerisinde vermiş, fakat iç kabuk gelişimine değinmemiştir. Bu çalışma, *S. officinalis* için iç kabuk gelişimini 30 safhada inceleyerek, tür için hayati önemi olan bu organın embriyonik gelişim sürecinde nasıl oluştuğunu anlamak için yapılmıştır.

MATERYAL VE YÖNTEM

Çalışma, Nisan-Mayıs 2011 tarihinde Urla Limanı (İzmir) civarından uzatma ağları ile yakalanan 22 olgun (manto boyu 9-15.6 cm ve ağırlığı 150-320 gr arasında olan 10 erkek sübye; manto boyu 10.6-14.8 cm ve ağırlığı 210-360 gr arasında olan 12 dişi sübye) *S. officinalis* bireyinden elde edilen yumurtalar ile yapılmıştır. Yumurtlama periyodu boyunca aydınlatma, tankın merkezinde bulunan 1 adet 40 W beyaz flüoresan lamba ile doğal fotoperiyotta yapılmıştır. Tanktaki deniz suyunun ortalama sıcaklığı $17.4 \pm 1.1^\circ\text{C}$ ve ortalama tuzluluğu $\%37 \pm 0.2$ olarak ölçülmüştür. Bu dönemde sübyeler, taze cansız sardalye (*Sardina pilchardus*), ve hamsi (*Engraulis encrasicolus*) ile beslenmiştir. Yenmeyen yemler ve artıklar ortamdaki uzaklaştırılmıştır.

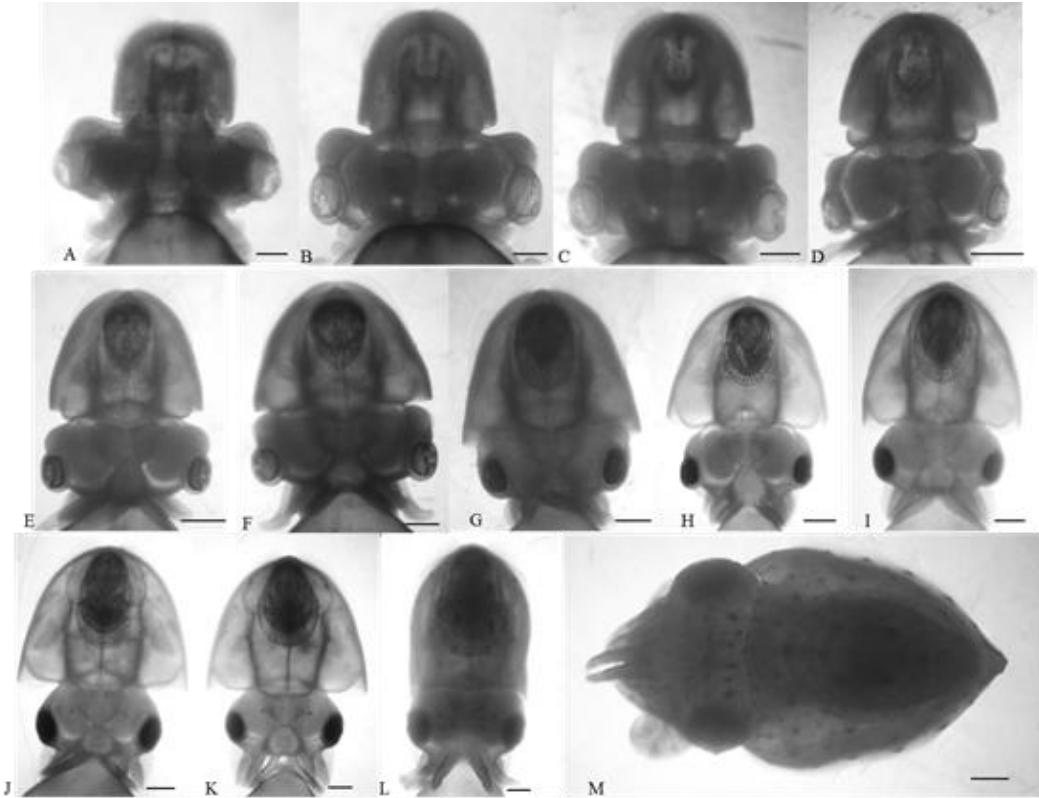
Sübye yumurtalarının embriyonik gelişimi süresince iç kabuk gelişimini saptamak için aynı gün yumurtlanmış olan yaklaşık 200 adet yumurta kullanılmıştır. Bu işlemler için

yumurtalar, filtre edilmiş sürekli su girişi sistemine ($\%80/\text{gün}$ su akışı) ve havalandırmaya sahip 430 litrelik dairesel polyester tank içine yerleştirilen ve içinde havalandırma bulunan, su giriş çıkışını sağlamak için $500 \mu\text{m}$ göz açıklığına sahip plankton bezi ile çevrili, 10 litrelik kovalara konulmuşlardır. Embriyonik gelişim boyunca ortalama su sıcaklığı $20.7 \pm 1.4^\circ\text{C}$ ve ortalama tuzluluk $\%37 \pm 0.5$ olarak ölçülmüştür. Aydınlatma tankın merkezinde bulunan 1 adet 40 W beyaz flüoresan lamba ile doğal fotoperiyot uygulanmıştır.

Yumurtaların embriyonik gelişim safhaları Naef (1928) (Roma rakamı ile gösterilmiştir) ve Lemaire (1970)'e göre tanımlanmıştır. Deneme süresince sübye iç kabuğu gelişimi safha 23(XIII)'ten itibaren yumurta kapsülünün ve koryonunun alınması ile canlı embriyolar kullanılarak, Sony DSC W5 model dijital kamerayla, binokülerden direkt fotoğraf çekim tekniği ile yapılmıştır.

SONUÇ

Sepia officinalis'in embriyonik gelişimi $20.7 \pm 1.4^\circ\text{C}$ su sıcaklığında ve ortalama $\%37 \pm 0.5$ tuzlulukta toplam 51 gün sürmüştür. Bu süreçte iç kabuk gelişimi toplam 26 günlük periyotta gerçekleşmiş ve safhalara göre aşağıda açıklanmıştır (Şekil 1).



Şekil 1. Embriyonik gelişim sürecinde *S. officinalis*'in iç kabuk gelişimi (A: Safha 23(XIII); B: Safha 24(XIII-XIV); C: Safha 24+(XIV); D: Safha 25(XIV-XV); E: Safha 26(XV-XVI); F: Safha 26+(XVI); G: Safha 27(XVI-XVII); H: Safha 27+(XVII); I: Safha 28(XVII-XVIII); J: Safha 28+(XVIII); K: Safha 29(XVIII-XIX); L: Safha 29+(XIX); M: Safha 30(XX); Ölçü: 1 mm).

Figure 1. The cuttlebone improvement of *S. officinalis* during embryonic development. (A: Stage 23(XIII); B: Stage 24(XIII-XIV); C: Stage 24+(XIV); D: Stage 25(XIV-XV); E: Stage 26(XV-XVI); F: Stage 26+(XVI); G: Stage 27(XVI-XVII); H: Stage 27+(XVII); I: Stage 28(XVII-XVIII); J: Stage 28+(XVIII); K: Stage 29(XVIII-XIX); L: Stage 29+(XIX); M: Stage 30(XX); Scale: 1 mm).

Embriyonik gelişim serisi içerisinde iç kabuk gelişimi:

Safha 23 (XIII); iç kabuk bezi oluşumu ve iç kabuğun oluşacağı yer belirginleşmeye başlar.

Safha 24(XIII-XIV); iç kabuk bezi oluşmuştur, iç kabuğun oluşacağı yer mantonun dorsalinde ve orta üst kısmında belirgindir, ancak henüz kalker yapı yoktur.

Safha 24+(XIV); iç kabuk oluşumu başlamıştır ve kalsiyum karbonattan oluşan kalkerli yapı görülebilmektedir.

Safha 25(XIV-XV); iç kabuk oluşumu belirgindir, ancak henüz ilk bölme oluşmamıştır.

Safha 26(XV-XVI); iç kabukta ilk bölme görülebilir, ancak henüz hava ile dolmamıştır.

Safha 26+(XVI); ilk bölmenin içi jelatinimsi bir akışkan ile dolar ve ikinci bölmenin gelişimi başlar.

Safha 27(XVI-XVII); ilk bölme tam olarak oluşmuştur, jelatinimsi akışkan yerini hava kabarcıklarına bırakmıştır.

Safha 27+(XVII); üçüncü bölme oluşumu başlamıştır.

Safha 28(XVII-XVIII); üçüncü bölmenin tamamlanmasıyla ikinci bölmenin de içi havayla dolmuştur.

Safha 28+(XVIII); dördüncü bölme oluşumu başlamıştır ve iç kabukta 3. bölme net olarak görülebilmektedir.

Safha 29(XVIII-XIX); beşinci bölme oluşumu başlamıştır, böylece dördüncü bölme tamamlanmıştır ve artık 4 bölmenin de içi hava ile doludur.

Safha 29+(XIX); beşinci bölme oluşmuştur ve altıncı bölme oluşumu başlamıştır.

Safha 30(XX); yumurtadan yeni çıkmış juvenil 7-8 arasında bölme içeren iç kabuğa sahiptir.

TARTIŞMA

Bu çalışmada, *S. officinalis*'in embriyogenesis sürecinde, iç kabuk gelişimi, 30 safhalık gelişim şemasına göre incelenmiştir. İç kabuğun ilk oluşumu, iç kabuk bezinin ve iç kabuğun oluşacağı yerin belirginleşmesiyle safha 23(XIII)'te başlamıştır. Safha 26(XV-XVI)'da iç kabukta ilk bölme görülebilirse de oluşumunu safha 27(XVI-XVII)'de tamamladığı tespit edilmiştir. Safha 30'da iç kabuk gelişimi tamamlanmıştır. Yumurtadan çıkan yavru sübyelerin iç kabuklarını aktif olarak kullandıkları saptanmıştır. İç kabuk gelişimi ortalama 20.7±1.4°C'de toplam 26 günde

tamamlanmıştır.

Lemaire (1970), *S. officinalis*'in embriyonik gelişimini 30 safhada tanımlamış, ancak iç kabuk gelişimine değinmemiştir; bu çalışmayla iç kabuk gelişimi safhalara göre detaylı bir şekilde tanımlanmıştır. Naef (1928) iç kabuk bezi oluşumunu ilk kez Safha XIV(24+)'te tanımlamıştır, oysa şimdiki çalışmada Safha 23(XIII)'te tanımlanmıştır. İç kabukta ilk odacık oluşumunu Naef (1928) Safha XVII(27-27+)'de tanımlamış olmasına rağmen, şimdiki çalışmada Safha 27(XVI-XVII)'de tespit edilmiştir. Bu çalışmada kullanılan 30 safhalık embriyonik gelişim şeması içerisinde tanımlanan sübye iç kabuk gelişim kronolojisi ile Naef (1928)'in bulguları, araştırmacının kullandığı 20 safhalık embriyonik gelişim şemasından dolayı ufak sapmalar olsa da, genel olarak birbirleriyle uyumlu bulunmuştur. Ayrıca, Şen (2009), iç kabukta ilk odacığın oluşmasını mürekkep kesesinde mürekkebin görüldüğü safha olan Safha 27'de olduğunu bildirmiştir. Bu sonuç ile Şen (2009)'in bulgusu ile uyumlu bulunmuştur.

Kafadanbacaklılarda embriyonik gelişim süresi sıcaklığa göre değişkenlik gösterir. Sıcaklık arttıkça süre kısılır, düştükçe süre uzar (Mangold, 1963; Boletzky, 1983, 1987, 2003; Boletzky ve diğ., 2006; Şen, 2004, 2005, 2009). Sübyenin embriyonik gelişimi 20°C'de 40-45 gün, 15°C'de 80-90 gün sürebilir (Boletzky, 1983). Mangold-Wirz (1963) bu sürenin 21.4°C'de 31 gün, 18.4°C'de 47 gün, 17.2°C'de 52 gün, 15.9°C'de 69 gün ve 15°C'de 87 gün olduğunu bildirmiştir. Domingues vd. (2003), 16.6±1.2°C'de bu sürenin 48 gün ve 18.8±0.8°C'de 34 gün olduğunu rapor etmiştir. Skyes vd. (2009), laboratuarda yetiştirilen sübyelerden elde edilen yumurtalar için embriyonik gelişimin 21.7±0.9°C'de 25 gün ve doğadan elde edilen anaçlardan temin edilen yumurtalar için 30 gün sürdüğünü belirtmiştir. Bu çalışmada elde edilen embriyonik gelişim süresi, sıcaklıklar göz önüne alındığında (20.7±1.4°C'de 51 gün), araştırmacıların bildiklerinden daha uzundur. Bunun sebebi, inkübasyon süresince embriyoların ortalama sıcaklığın altındaki değerlerde daha uzun süre kalmış olmasıdır.

Sonuç olarak, bu çalışmayla, yüksek ticari ve bilimsel değere sahip *S. officinalis*'in embriyonik gelişiminde belirleyici bir özellik olan ve bu canlılar için hayati öneme sahip iç kabuk gelişimi, 30 safhalık embriyonik gelişim serisi içinde detaylı olarak yeniden tanımlanmıştır. Böylece ileride yapılacak araştırmalar için türün embriyonik gelişimi hakkında daha ayrıntılı bilgi edinilmiştir.

KAYNAKLAR

- Almonacid-Riosecol, E., Hernandez-Garcia, V., Solari, A.P., Santana del Pino, A., Castro, J.J. 2009. Sex identification and biomass reconstruction from the cuttlebone of *Sepia officinalis*. *Marine Biodiversity Records*, 2: 1-4. doi: 10.1017/S1755267208000079
- Appellöf, A. 1893. Die Schalen von *Sepia*, *Spirula*, and *Nautilus*. Studien u'ber den Bau und das Wachstum. *Kongl Svenska Vetenskaps-Akademiens Handlingar*, 25:1-106.

- Arnold, J.M. 1965. Normal embryonic stages of the squid *Loligo pealii* (Lesueur). *Biological Bulletin*, 128: 24-32. doi: 10.2307/1539386
- Birchall, J.D., Thomas, N.L. 1983. On the architecture and function of cuttlefish bone. *Journal of Materials Science*, 18:2081-2086. doi: 10.1007/BF00555001

- Blackburn, S., Sauer, W.H.H., Lipinski, M.R. 1998. The embryonic development of the Chokka Squid *Loligo vulgaris reynaudii* d'Orbigny, 1845. *The Veliger*, 41(3): 249-258.
- Boletzky, S.v. 1974. Effects de la Sous-nutrition prolongée sur le développement de la coquille de *Sepia officinalis* L. (Mollusca, Cephalopoda). *Bulletin de la Société Zoologique de France*, 99: 667-673.
- Boletzky S.v. 1983. *Sepia officinalis*. In Cephalopod Life Cycles, Vol. I, Boyle P.E. (ed.), Academic Press, London, UK, pp. 31-53.
- Boletzky, S.v. 1987. Embryonic phase. In Cephalopod Life Cycles, Vol. II, Boyle, P.R. (ed.), Academic Press, London, UK, pp. 5-31.
- Boletzky, S.v. 2003. Biology of early life stages in cephalopod molluscs. *Advances in Marine Biology*, 44: 143-203. doi: [10.1016/S0065-2881\(03\)44003-0](https://doi.org/10.1016/S0065-2881(03)44003-0)
- Boletzky, S.v., Erlwein, B., Hofmann, D.K. 2006. The *Sepia* egg: a showcase of cephalopod embryology. *Vie et Milieu*, 56: 191-201.
- Denton, E.J., Gilpin-Brown, J.B. 1961a. The buoyancy of the cuttlefish. *Journal of the Marine Biological Association of the UK*, 41: 319-342. doi: [10.1017/S0025315400023948](https://doi.org/10.1017/S0025315400023948)
- Denton, E.J., Gilpin-Brown, J.B. 1961b. The effect of light on the buoyancy of the cuttlefish. *Journal of the Marine Biological Association of the UK*, 41: 343-351. doi: [10.1017/S002531540002395X](https://doi.org/10.1017/S002531540002395X)
- Denton, E.J., Gilpin-Brown, J.B. 1961c. The distribution of gas and liquid within the cuttlebone. *Journal of the Marine Biological Association of the UK*, 41: 352-363. doi: [10.1017/S0025315400023973](https://doi.org/10.1017/S0025315400023973)
- Denton, E.J., Taylor, W. 1964. The composition of gas in the chambers of the cuttlebone of *Sepia officinalis*. *Journal of the Marine Biological Association of the U.K.*, 44: 203-207. doi: [10.1017/S0025315400024747](https://doi.org/10.1017/S0025315400024747)
- Domingues, P., Sykes, A., Sommerfield, A., Almansa, E., Lorenzo, A., Andrade, J. 2003. Effects on feeding live or frozen prey on growth, survival and the life cycle of the cuttlefish *Sepia officinalis* (Linnaeus, 1758). *Aquaculture International*, 11:397-410. doi: [10.1023/B:AQU1.0000004195.92236.3a](https://doi.org/10.1023/B:AQU1.0000004195.92236.3a)
- Mangold, K. 1963. Biologie des cephalopodes benthiques et nectoniques de la Mer Catalane. *Vie et Milieu*, 13(suppl): 1-285.
- Le Goff R., Gauvrit E., Pinzon du Sel G., Daguzan J. 1998. Age group determination by analysis of the cuttlebone of cuttlefish *Sepia officinalis* L. in reproduction in the Bay of Biscay. *Journal of Molluscan Studies*, 64: 183-193. doi: [10.1093/mollus/64.2.183](https://doi.org/10.1093/mollus/64.2.183)
- Lemaire, J. 1970. Table de développement embryonnaire de *Sepia officinalis* L. (Mollusque Céphalopode). *Bulletin de la Société Zoologique de France*, 95: 773-782.
- Naef, A. 1928. Die Cephalopoden. Fauna und Flora Golf Neapel. 35 B: Monogr 2, p. 357.
- Neige, P., Boletzky, S.v. 1997. Morphometrics of the shell of three *Sepia* species (Mollusca: Cephalopoda): intra- and interspecific variation. *Zoologische Beiträge N. F.*, 2:137-156.
- Sykes, A.V., Almansa, E., Lorenzo, A., Andrade, J.P. 2009. Lipid characterization of both wild and cultured eggs of cuttlefish (*Sepia officinalis* L.) throughout the embryonic development. *Aquaculture Nutrition*, 15: 38-53. doi: [10.1111/j.1365-2095.2008.00566.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2095.2008.00566.x)
- Segawa, S. 1987. Life history of the oval squid *Sepioteuthis lessoniana* in Kominato and adjacent waters central Honshu, Japan, *Journal of the Tokyo University of Fisheries*, 74(2): 67-105.
- Şen, H. 2003. Kalamar (*Loligo vulgaris* Lamarck, 1798) yumurtalarının embriyonik gelişimi ve inkübasyonu. Doktora Tezi, Ege Üniv. Fen Bilimleri Enstitüsü, 101 s.
- Şen, H. 2004. Sıcaklığın kalamar (*Loligo vulgaris* Lamarck, 1798) yumurtalarının gelişimine ve inkübasyonuna etkisi. E.Ü. *Su Ürünleri Dergisi*, 21(1-2): 89-92.
- Şen, H. 2005. Temperature tolerance of Loliginid squid (*Loligo vulgaris* Lamarck, 1798) eggs in controlled conditions. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 5: 53-56.
- Şen H., Fırat, K., Saka, Ş. 2008. Kontrollü koşullarda stoklama yoğunluğunun *Loligo vulgaris* (Lamarck 1798) yumurtalarının inkübasyonuna etkisi. *Fırat Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 20 (2): 289-294.
- Şen, H. 2009. Kontrollü koşullarda sübye (*Sepia officinalis* L.)nin yumurtlaması, yumurtaların gelişimi ve inkübasyonu. *Journal of FisheriesSciences.com*, 3(3): 169-180. doi: [10.3153/jfscm.2009021](https://doi.org/10.3153/jfscm.2009021)
- Tompsett, D.H. 1939. *Sepia*. L.M.B.C. Memoirs on typical British marine plants and animals. University Press of Liverpool, 32, 200p.
- Ward, P., Boletzky, S.v. 1984. Shell implosion depth and implosion morphologies in three species of *Sepia* (Cephalopoda) from the Mediterranean Sea. *Journal of the Marine Biological Association of the U.K.*, 64:955-966. doi: [10.1017/S0025315400047366](https://doi.org/10.1017/S0025315400047366)
- Wendling J. 1987. On the buoyancy system of *Sepia officinalis* L. (Cephalopoda). Dissertation, University of Basel, Switzerland.

Some potentially toxic dinoflagellate cysts in recent sediments from İzmir Bay

İzmir Körfezi yüzey sedimentinde olası toksik dinoflagellat kistleri

Hilal Aydın* • Serdar Uzar

Celal Bayar University, Faculty of Science and Arts, Department of Biology, 45140, Manisa, Turkey
*Corresponding author: hilalaydin66@gmail.com

Özet: Ötrotifikasyon ve aşırı çoğalma olaylarıyla tanınan İzmir Körfezi'nde 2003-2011 yılları arasında potansiyel toksik dinoflagellat kistlerinin dağılımı ve bolluğu incelendi. *Lingulodinium machaerophorum*, *Operculodinium centrocarpum*, *Alexandrium affine* tip, *Alexandrium catenella/tamarense* kompleks, *Alexandrium minutum* tip potansiyel toksik kistler olarak bulundu. *Lingulodinium machaerophorum* en yüksek konsantrasyonuna (toplam 24872 kist g⁻¹ kuru ağırlık) 2008-2009 yılında ulaştı. Bu çalışma ayrıca son on yıl için İzmir Körfezi yüzey sedimentinde potansiyel toksik dinoflagellat kistlerinin dağılımı ve konsantrasyonlarının kısa bir derlemesini içermektedir.

Anahtar kelimeler: Toksik dinoflagellat kistleri, yüzey sedimenti, *Alexandrium* spp., *Lingulodinium machaerophorum*, *Operculodinium centrocarpum*.

Abstract: The distribution and abundance of potentially toxic dinoflagellate cysts were investigated from the surface sediments in İzmir Bay which is famous for red-tide and eutrophication between 2003-2011. *Lingulodinium machaerophorum*, *Operculodinium centrocarpum*, *Alexandrium affine* type, *Alexandrium catenella/tamarense* complex, *Alexandrium minutum* type were found as potentially toxic cysts. *Lingulodinium machaerophorum* reached to their highest concentrations (total 24872 cyst g⁻¹ dry weight) in 2008-2009. This study also includes a short review of distribution and concentration of potentially toxic cyst types in recent sediment of İzmir Bay for last decade.

Keywords: Toxic dinoflagellate cysts, surface sediment, *Alexandrium* spp., *Lingulodinium machaerophorum*, *Operculodinium centrocarpum*.

INTRODUCTION

Dinoflagellates contain the largest number of harmful species in phytoplankton and can be extremely toxic (Taylor, 1979; Smayda, 1990; Hallegraef, 1993). Some dinoflagellate species produce a resting cyst in their life cycle. These resistant cysts can germinate in optimal environments after a certain resting period and vegetative cells are regarded as seeds for future blooms (Anderson and Wall, 1978).

Marine microplankton and bloom events have been searched in Turkish coastal water since 1955. Moreover interspecific relations and physicochemical parameters connected with phytoplankton species have been investigated as a part of phytoplankton studies in different areas. Since red-tides and other noxious algal blooms were observed almost every year mainly due to progressive eutrophication from terrestrial inputs (Koray and Büyüksık, 1988; Koray, 1990, 1992, 1994, 2002; Koray et al., 1996). Phytoplankton check list of Turkish coastal waters was published by Koray (2001). Harmful algal bloom events according to areas for Turkish Coastal waters and potentially toxic species list were published in another study (Koray, 2004).

Recently, modern dinoflagellate cyst studies have become a very important topic for some studies such as dinoflagellate

life cycle, harmful algal bloom, aquaculture and monitoring of water quality (Uzar et al., 2010; Aydın et al., 2011). Cyst studies also help to observe distribution and abundance of dinoflagellate species. Modern dinoflagellate cyst studies are important in studies of toxic and harmful algal blooms of dinoflagellates (Orlova et al., 2004; Matsuoka et al., 2009).

The main aim of this study is to observe the distribution and concentration of potentially toxic cyst types in recent sediment of İzmir Bay from 2003 to 2011 and to discuss compared to other locations of Mediterranean Seas.

MATERIALS AND METHODS

The study area is one of the largest bays in the Eastern Mediterranean. İzmir Bay is limited freshwater inputs and has typical tropic-subtropical characteristics (Sayın, 2003). The bay is a highly disturbed environment due to the rapid increase of the population and development of industry (Kontas et al., 2004; Küçüksezgin et al., 2006).

In this study, 20 surface sediment samples were collected at different stations from İzmir Bay between 2003 and 2011 (Figure 1).

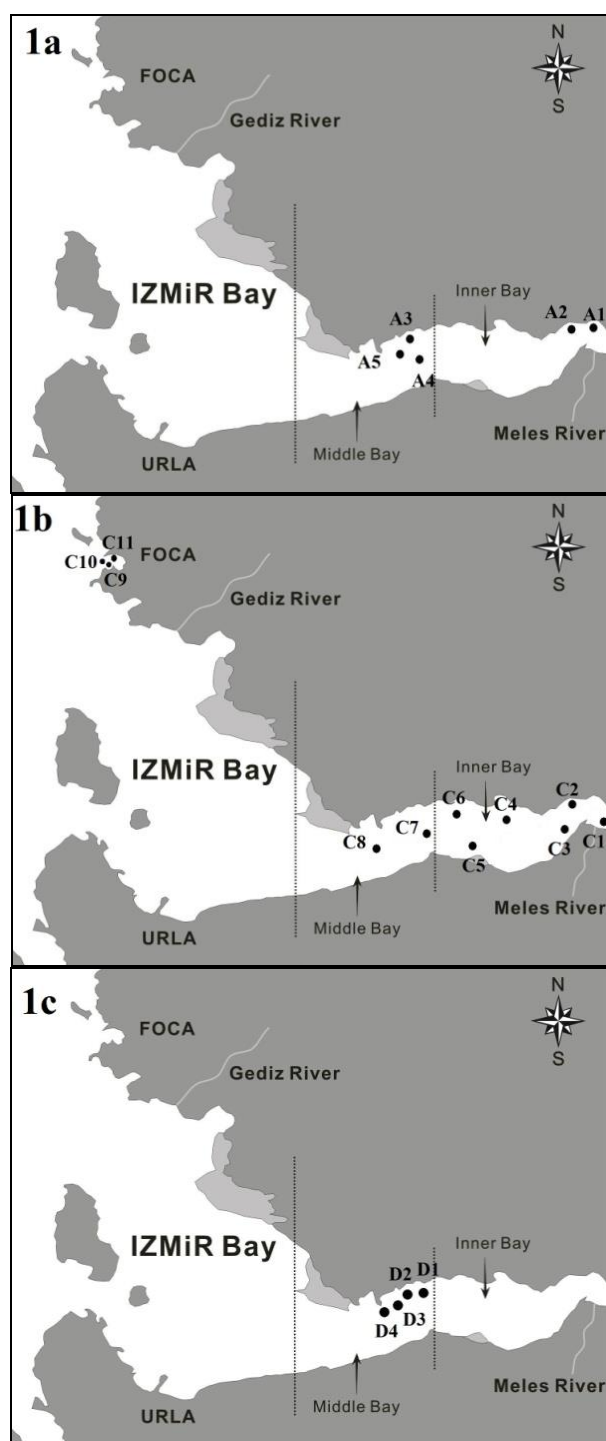


Fig. 1. Location of sampling stations in the outer, middle and inner parts of İzmir Bay, Aegean Sea (**1a.** Sampling stations in 2003, **1b.** Sampling stations in 2008-2009, **1c.** Sampling station in 2011).

Sediment samples were collected with the TFO (Tokyo University Fisheries and Oceanography Laboratory Gravity Corer) corer. The samples for dinoflagellate cyst analyses were treated using standard palynological methods (Matsuoka and Fukuyo, 2000). The upper 2 cm of cores were cut and

immediately preserved in a refrigerator in the dark at 4.00 °C to prevent cyst germination. In the palynological procedure, sediments were processed with ca. 10% HCl (Hydrochloric acid) and ca. 47% HF (Hydrofluoric acid) to remove calcium carbonate and silicate materials. The samples were then repeatedly washed with distilled water to remove acid until the pH values were almost 7.00. The chemically treated samples were sonicated for 30s and then successively sieved through two different stainless steel meshes with 125 and 20 μ m opening sizes. The sediments retained on a latter screen were transferred into a plastic tube and suspended in 10 ml distilled water and kept in a vial. Observations and counting carried out on 1-0.5 ml aliquot of processed sample with Sedgewick-Rafter chamber under an inverted microscope (Olympus IX71 with DIC) at magnifications 100, 200 and 400 times. *Alexandrium* spp. cysts were also observed with an Olympus BX51 fitted with a filter arrangement for ultraviolet excitation (330-385 nm) following primuline-staining method of Yamaguchi *et al.* (1995). Primuline-stained *Alexandrium* spp. cysts exhibit an intense yellow-green fluorescence under a fluorescence microscope with blue-light excitation. The terminology used for describing the dinoflagellate cysts essentially followed the works of Wall and Dale (1968), Matsuoka and Fukuyo (2000), Cho and Matsuoka (2001), Matsuoka *et al.* (2004), Wang *et al.* (2004), Bravo *et al.* (2006), Touzet *et al.* (2008), Satta *et al.* (2010) and Aydin *et al.* (2011). Because of the morphologically resembling species with *A. tamarense*, *A. catenella* and *A. fundyense*, they are recently grouped within *A. catenella/tamarense* species complex (Anderson *et al.*, 2012). Because of the fact that we reported these cysts as type or complex in this study. Although *Alexandrium* spp. cyst types were found in processed samples, live cyst types were also checked in row samples by sieving technique.

Cyst concentration in each sample was calculated as cysts g^{-1} dry weight of sediment. In the literature, cyst concentration is expressed as cysts per gram of dry sediment weight. Surface sediments inevitably contain large and variable water content. Calculating a cyst concentration based on sediment volume, rather than dry weight, therefore, introduced a variable factor (amount of water content) that will hinder comparison with other studies. In order to facilitate comparisons between our stations, as well as with other studies, we have presented all our results as cysts per gram dry weight.

RESULTS

Qualitative and quantitative analyses of potentially toxic cyst types in surface sediment samples collected from İzmir Bay, Eastern Aegean Sea and their descriptive statistical analyses are shown in Table 1, 2 and 3. Moreover, various photo micrographs of these toxic dinoflagellate cysts are presented in Figure 2.

Five potentially toxic cyst types were found in surface sediment samples collected from Izmir Bay. They are *Alexandrium affine* (Inoue et Fukuyo) Balech 1995 type, *Alexandrium catenella/tamarensis* complex, *Alexandrium minutum* Halim 1960 type, *Lingulodinium machaerophorum* (Defl. et Cook) Wall 1967 and *Operculodinium centrocarpum* (Defl. et Cook) Wall 1967 (Table 1 and Figure 2).

The total potentially toxic dinoflagellate cyst concentration according to sampling years is given Table 1. *A. affine* cyst type was recorded range from 0 to 156 cysts g⁻¹ dry weight sediment between 2003 and 2011. *A. catenella/tamarensis* complex concentrations were counted between 0 and 33 cysts g⁻¹ dry weight sediment between same years. *A. minutum* type

concentration was recorded between 0 and 84 cyst g⁻¹ dry weight sediment between 2003 and 2011. *L. machaerophorum* concentration was recorded from 7 to 6584 cysts g⁻¹ dry weight sediment between 2003 and 2011. Concentration of *O. centrocarpum* was ranged between 0 and 347 cysts g⁻¹ dry weight sediment between 2003 and 2011. *L. machaerophorum* concentration was highest in 2008-2009 (24872 cysts g⁻¹ dry weight sediment) compared to other cyst types and common in all stations. *O. centrocarpum* was observed in most of stations. *A. minutum*, *A. catenella/tamarensis* complex and *A. affine* type were in very lower concentrations than any other cyst types between 2003 and 2011 (Table 2).

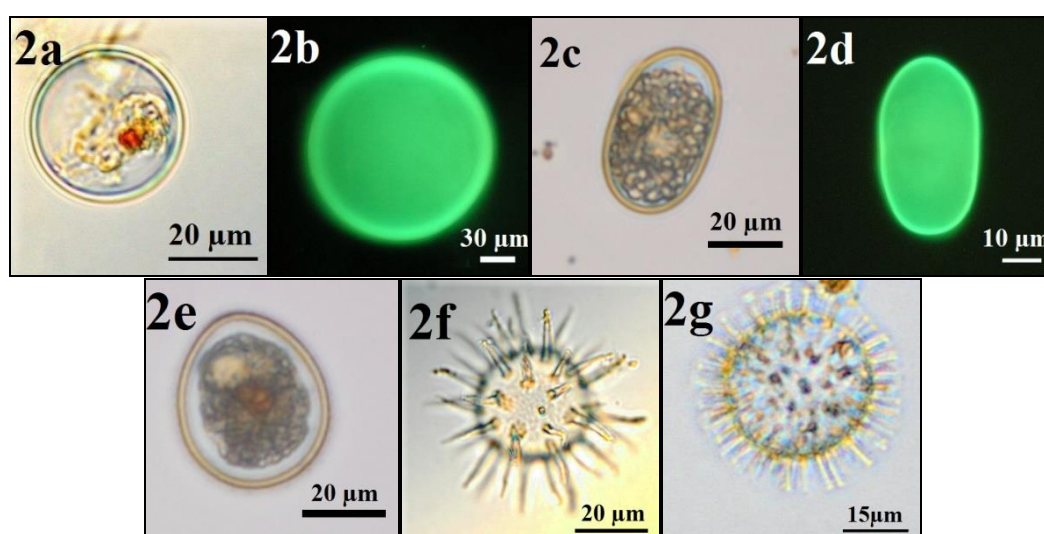


Figure 2. Photomicrographs of potentially toxic dinoflagellate cysts collected in surface sediments from the Izmir Bay, (2a: *Alexandrium affine* type cyst type under normal light, 2b. *Alexandrium affine* type cyst type under UV light, 2c. *Alexandrium catenella/tamarensis* complex under normal light, 2d. *Alexandrium catenella/tamarensis* complex under UV light 2e. *Alexandrium minutum* type cyst 2f. *Lingulodinium machaerophorum*, 2g. *Operculodinium centrocarpum*).

Table 1. Total concentration of potentially toxic cysts between 2003, 2008-2009 and 2011.

Biological Name	Paleontological Name	2003	2008-2009	2011
<i>Alexandrium affine</i> type	None	118	49	200
<i>Alexandrium catenella/tamarensis</i> complex	None	0	74	70
<i>Alexandrium minutum</i> type	None	73	9	180
<i>Lingulodinium polyedrum</i>	<i>Lingulodinium machaerophorum</i>	2633	24872	1635
<i>Protoceratium reticulatum</i>	<i>Operculodinium centrocarpum</i>	148	1025	518

Table 2. Qualitative and quantitative analyses of potentially toxic cyst types in surface sediment samples collected from Izmir Bay, eastern Aegean Sea and their descriptive statistical analyses in different periods of 2003 – 2011 (cyst g⁻¹ dry weight sediment).

	2003				2008-2009				2011			
	Min	Max	Mean	SD	Min	Max	Mean	SD	Min	Max	Mean	SD
<i>Alexandrium affine</i> type	20	42	23.60	15.96	0	28	4.49	9.00	0	156	50.00	72.21
<i>Alexandrium catenella/tamarensis</i> complex	0	0	0.00	0.00	0	33	6.73	10.41	0	25	17.50	11.79
<i>Alexandrium minutum</i> type	10	51	14.60	21.09	0	6	0.82	1.94	17	84	45.00	28.15
<i>Lingulodinium machaerophorum</i>	202	897	526.60	329.92	7	6584	2261.09	2469.31	239	529	408.75	144.18
<i>Operculodinium centrocarpum</i>	5	123	29.60	52.85	0	93.18	112.48	158.72	77	240	129.50	76.73

Table 3. Qualitative and quantitative analyses of potentially toxic cyst types in surface sediment samples collected from İzmir Bay, Eastern Aegean Sea and their descriptive statistical analyses in full study period (cyst g⁻¹ dry weight sediment).

	Min	Max	Mean	SD
<i>Alexandrium affine</i> type	0	156	18.35	35.35
<i>Alexandrium catenella/tamarensis</i> complex	0	33	7.20	10.73
<i>Alexandrium minutum</i> type	0	84	13.10	22.87
<i>Lingulodinium machaerophorum</i>	7	6584	1457.00	2017.14
<i>Operculodinium centrocarpum</i>	0	347	84.55	97.16

DISCUSSION

The results of this study showed that İzmir Bay was one of the regions in the Aegean Sea where the potentially toxic dinoflagellate cysts were accumulated. *A. minutum* and *A. catenella* are well-known Paralytic Shellfish Poisoning (PSP) toxins producers and have received increasing importance and attention in the last few decades because of the impact on aquaculture and human health (Bravo *et al.*, 2006, 2008). As is inner part of İzmir Bay, it is known that harbours are excellent sheltered habitats for at least these two *Alexandrium* species, since low dispersion aids bloom formation and cyst accumulation (Bravo *et al.*, 2008).

A. minutum is widespread along the Mediterranean coasts. This species is frequently detected year-round at low concentrations and it proliferates recurrently in some Mediterranean localities. However, *A. catenella* is currently under going a major increase in distribution (Penna *et al.*, 2005). *A. minutum* was first described species in the Mediterranean Sea forming a red water discoloration in Alexandria harbour, Egypt (Halim, 1960) and it has since then been widely reported from the Mediterranean (Koray and Buyukşik, 1988; Delgado *et al.*, 1990; Montresor *et al.*, 1990; Honsell, 1993; Giacobbe *et al.*, 1996; Forteza *et al.*, 1998; Daly Yahia-Kefi *et al.*, 2001; Vila *et al.*, 2001; Tahri-Joutei *et al.*, 2003; Koray, 2004). These *A. minutum* blooms seem to be restricted to nutrient-enriched coastal sites, particularly harbours, estuaries and lagoons (Giacobbe *et al.*, 1996; Vila *et al.*, 2005).

A. catenella had never been observed in the Mediterranean before 1983 and was reported as a rare species by Margalef and Estrada (1987). The first known bloom in the Mediterranean Sea occurred in 1994 in Valencia harbour (Spain) and from 1996 to 2000 recurrent blooms were reported more to the north, along the Catalan coast (Vila *et al.*, 2001). In the last few years, the expansion of this species has also been documented in all over the NW Mediterranean Sea, from the Thau Lagoon (France) (Lilly *et al.*, 2002), the North Lake and Channel of Tunis (Tunisia) (Turki and Balti, 2005) and Olbia harbour (Italy) (Luglie' *et al.*, 2003; Satta *et al.*, 2010). Most of these events were related to harbours or confined water areas.

In this study, potentially toxic cysts of *A. minutum*, *A. catenella/tamarensis*, *A. affine*, *L. machaerophorum*, *O. centrocarpum* were observed in the surface sediments of the İzmir Bay. Although vegetative form of *A. minutum* was

reported first time in the İzmir Bay by Koray and Buyukşik (1988) and the vegetative forms of *A. affine*, *A. catenella* or *A. tamarensis* had not previously recorded from İzmir Bay (Koray, 2001, Koray *et al.*, 1992, Sabancı and Koray, 2001, 2005, 2012). But three species were first recorded as a cyst type in the surface sediments by Uzar *et al.* (2010) and Aydın *et al.* (2011).

A. minutum type was found very limited distribution and concentration ranged between 0-84 cysts g⁻¹ dry weight concentration in sampling stations. *A. minutum* was reported ca. 278 cysts g⁻¹ dry weight in Alexandria Harbour, Egypt by Ismael and Khadr (2003). On the other hand, this cyst type was found 3270 cysts g⁻¹ dry weight from Arenys de Mar harbour in Spain (Garces *et al.*, 2004). Bravo *et al.* (2006) recorded this cyst type between 110 and 3270 cysts cm⁻³ wet weight from Western Mediterranean coast. Rubino *et al.* (2010) found *A. minutum* types ca. 207 cyst g⁻¹ dry weight in Ionian Sea, Mediterranean. Comparison of the above cyst concentrations, İzmir Bay has lower cyst concentrations than other Mediterranean ecosystems.

A. catenella/tamarensis complex concentration ranged from 0 to 33 cysts g⁻¹ dry weight from İzmir Bay stations between 2003 and 2011 while *A. tamarensis* cysts were counted as 212 cysts ml⁻¹ wet sediment from Scotland by Joyce (2004). They were counted as 130 cysts g⁻¹ dry weight by Genovesi-Giunti *et al.* (2005). However *A. catenella* cysts varied from 105 to 3480 cysts cm⁻³ wet weight in Mediterranean waters (Bravo *et al.*, 2006). *A. tamarensis* cysts were 200 cysts g⁻¹ dry weight in Irish coastal waters (Touzert *et al.*, 2008). Rubino *et al.* (2010) observed that *A. cf. tamarensis* cysts were 3 cysts g⁻¹ dry weight in Western Ionian Sea.

L. machaerophorum was recorded in very high concentration rates and varied between 7 and 6584 cysts g⁻¹ dry weight compared to other cyst types during the study (Table 1). *L. polyedrum* was very important bloom species recorded in many harmful algal bloom events (Koray *et al.*, 1992; 1996; Koray, 2004). This cyst type was found in many eutrophic areas (Dale *et al.*, 1999; Matsuoka, 1999; Marret and Zonneveld, 2003). Eutrophication of the inner bay of İzmir was a serious problem throughout the year and red tide events were common (Kontas *et al.*, 2004; Küçüksezgin *et al.*, 2006). This study showed that cyst concentration values of *L. machaerophorum* increased for last decades in İzmir Bay.

Protoceratium reticulatum (Claparade & Lachmann) Butschli, 1885 (vegetative form of *O. centrocarpum* cyst) was recorded in many studies from the sampling area (Koray *et al.*, 1992, 1996; Koray, 2001, 2004; Sabancı and Koray, 2001). *P. reticulatum* is known to produce yessotoxins (Satake *et al.*, 1997). *O. centrocarpum* has a cosmopolitan distribution and very broad tolerance in temperature and salinity (Marret and Zonneveld, 2003). This study showed that the *O. centrocarpum* had a widely distribution in İzmir bay between 2003 and 2011.

REFERENCES

- Anderson, D.M., Wall, D., 1978. Potential importance of benthic cysts of *Gonyaulax tamarensis* and *G. excavata* in initiating toxic dinoflagellate blooms. *Journal of Phycology*, 14: 224–234. doi: [10.1111/j.1529-8817.1978.tb02452.x](https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.1978.tb02452.x)
- Anderson, D.M., Alpermann, T.J., Cembella, A.D., Collos, Y., Masseret, E., Montresor, M., 2012. The globally distributed genus *Alexandrium*: Multifaced roles in marine ecosystems and impacts on human health. *Harmful Algae* 14: 10–35. doi: [10.1016/j.hal.2011.10.012](https://doi.org/10.1016/j.hal.2011.10.012)
- Aydın, H., Matsuoka, K., Minareci, E., 2011. Distribution of dinoflagellate cysts in recent sediments from İzmir Bay (Aegean Sea, Eastern Mediterranean). *Marine Micropaleontology*, 80(1-2): 44-52. doi: [10.1016/j.mamicro.2011.03.004](https://doi.org/10.1016/j.mamicro.2011.03.004)
- Bravo, I., Garcés, E., Diogéné, J., Fraga, S., Sampedro, N., Figueroa, R.I., 2006. Resting cysts of toxigenic dinoflagellate genus *Alexandrium* in recent sediments from the Western Mediterranean coast, including the first description of cysts of *A. kutnerae* and *A. peruvianum*. *European Journal of Phycology*. 41(3): 293-302. doi: [10.1080/09670260600810360](https://doi.org/10.1080/09670260600810360)
- Bravo, I., Vila, M., Maso, M., Figueroa, R.I., Ramilo, I., 2008. *Alexandrium catenella* and *Alexandrium minutum* blooms in the Mediterranean Sea: toward the identification of ecological niches. *Harmful Algae*, 7: 515-522.
- Cho, H.J., Matsuoka, K., 2001. Distribution of dinoflagellate cysts in surface sediments from the Yellow sea and East China Sea. *Marine Micropaleontology*, 42: 103-123. doi: [10.1016/S0377-8398\(01\)00016-0](https://doi.org/10.1016/S0377-8398(01)00016-0)
- Dale, B., Thorson, T.A., Fjellsa, A., 1999. Dinoflagellate cysts as indicators of cultural eutrophication in the Oslofjord, Norway. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 48: 371-382. doi: [10.1006/ecss.1999.0427](https://doi.org/10.1006/ecss.1999.0427)
- Daly Yahia-Kefi, O., Nezan, E., Daly Yahia, M.N., 2001. On the presence of the genus *Alexandrium* Halim (dinoflagellate) in the bay of Tunis (Tunisia). *Oceanologica Acta*, 24: 17-25. doi: [10.1016/S0399-1784\(01\)00076-7](https://doi.org/10.1016/S0399-1784(01)00076-7)
- Delgado, M., Estrade, M., Camp, J., Fernandez, J.V., Santmarti, M., Lleti, C., 1990. Development of a toxic *Alexandrium minutum* Halim (Dinophyceae) bloom in the harbour of Sant Carles de la Rapita (Ebro Delta, northwestern Mediterranean). *Scientia Marina*, 54: 1-7.
- Forteza, V., Quetglas, G., Delgado, M., Reyero, I., Fraga, S., Franco, J.M., Cacho, E., 1998. Toxic *Alexandrium minutum* Bloom in Palma de Mallorca harbour, (Balearic Island, western Mediterranean). In: *Harmful algae*, B. Reguera, J. Blanco, M.L. Fernandez, T. Wyatt, T. (Eds.) 58-59. *Xunta de Galicia and IOC of UNESCO, Santiago de Compostela*, Spain.
- Garcés, E., Bravo, I., Vila, M., Figueroa, R.I., Masó, M., Sampedro, N., 2004. Relationship between vegetative cells and cyst production during *Alexandrium minutum* bloom in Arenys de Mar harbour (NW Mediterranean). *Journal of Plankton Research*, 26: 637-645. doi: [10.1093/plankt/fbh065](https://doi.org/10.1093/plankt/fbh065)
- Genovesi-Giunti, B., Mouillot, D., Vaquer, A., Laabir M., Pastoureaud, A., Laugier, T., 2005. The resting cysts of *Alexandrium catenella* in a Mediterranean lagoon: sampling strategy and qualification. 19-24. ASLO summer meeting 2005, June 2005, Santiago de Compostela, Spain.
- Giacobbe, M.G., Oliva, F.D., Maimone, G., 1996. Environmental factors and seasonal occurrence of the dinoflagellate *Alexandrium minutum*, a PSP potential producer, in a Mediterranean lagoon. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 42: 539-549. doi: [10.1006/ecss.1996.0035](https://doi.org/10.1006/ecss.1996.0035)
- Halim, Y., 1960. *Alexandrium minutum* nov.g.nov.sp. dinoflagellé provocant des 'eaux rouges'. *Vie Milieu*, 11: 102-105.
- Hallegraeaf, G.M., 1993. A review of harmful algal blooms and apparent global increase. *Phycologia*, 32: 79-99. doi: [10.2216/i0031-8884-32-2-79.1](https://doi.org/10.2216/i0031-8884-32-2-79.1)
- Honsell, G., 1993. First report of *Alexandrium minutum* in northern Adriatic Sea (Mediterranean Sea). In: *Toxic Phytoplankton Blooms in the Sea* T.J. Smayda, Y. Shimizu (Eds.), Elsevier, Amsterdam. pp. 127-132.
- Ismael, A.A., Khadr, A.M., 2003. *Alexandrium minutum* cysts in sediment cores from the eastern harbour of Alexandria, Egypt. *Oceanologia*, 45: 721-731.
- Joyce L.B., 2004. Dinoflagellate cysts in recent marine sediments from Scapa Flow, Orkney, Scotland. *Botanica Marina*, 47: 173-183. doi: [10.1515/BOT.2004.018](https://doi.org/10.1515/BOT.2004.018)
- Kontas, A., Kucuksezgin, F., Altay, O., Uluturhan, E., 2004. Monitoring of Eutrophication and Nutrient Limitation in the İzmir Bay (Turkey) Before and After Wastewater Treatment Plant. *Environmental International*, 29: 1057-1062. doi: [10.1016/S0160-4120\(03\)00098-9](https://doi.org/10.1016/S0160-4120(03)00098-9)
- Koray, T., 1990. Planktonic protista associated with color-tides in İzmir Bay (Aegean Sea), Rapport du Congrès de la Commission Internationale pour l'Exploration Scientifique de la Mer Méditerranée, 32, p. 212.
- Koray, T., 1992. Noxious blooms in the Bay of İzmir, Aegean Sea. *UNESCO IOC Newsletter on Toxic Algae and Algal Blooms*, 63, pp. 1-2.
- Koray, T., 1994. The nuisance bloom algae in aquatic ecosystems and monitoring strategies. *E.U. Journal of Faculty of Science*, B(16): 242-329.
- Koray, T., 2001. A checklist for phytoplankton of Turkish seas (in Turkish with English abstract). *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 18(1-2): 1-23.
- Koray, T., 2002. Toxic and harmful phytoplanktonic species in Aegean Sea (including Dardanelles) and northeastern Mediterranean coastline. In: *Workshop on Lessepsian Migration Proceedings*, B. Ozturk, N. Basusta (Eds.). *Turkish Marine Research Foundation*, Istanbul, pp. 40-45.
- Koray, T., 2004. Potentially Toxic and Harmful Phytoplankton Species Along the Coast of Turkish Seas, K.A. Steidinger, J.H. Lansberg, C.R. Tomas, G.A. Vargo (Eds.), *Harmful Algae*, 2002, Biogeography and Regional events sessions. Florida Fish and Wildlife Conversation Commission, Florida Institute of Oceanography and Intergovernmental Oceanographic Commission of UNESCO, 335-337.
- Koray, T., Büyükişik, B., 1988. Toxic Dinoflagellate Blooms in the Harbour Region of İzmir Bay, Aegean Sea, *Review of International Oceanography*, 91-92: 25-42.
- Koray, T., Büyükişik, B., Parlak, H., Gökpinar, Ş., 1992. Unicellular organism which is affecting seawater quality in İzmir Bay: Red-tide and other Algal Blooms (in Turkish with English abstract), *Turkish Journal of Biology*, 16: 135-157.

- Koray, T., Büyükişık, B., Parlak, H., Gökpınar, S., 1996. Eutrophication processes and algal blooms (red tides) in Izmir Bay. *UNEP MAP Technical Reports Series*, 104: 1-26.
- Küçüksezgin, F., Kontas, A., Altay, O., Uluturhan, E., Darılmaz, E., 2006. Assessment of Marine Pollution in İzmir Bay: Nutrient, Heavy Metal and total Hydrocarbon Concentrations. *Environmental International*, 32: 41-51. doi: [10.1016/j.envint.2005.04.007](https://doi.org/10.1016/j.envint.2005.04.007)
- Lilly, E.L., Kulis, D.M., Gentien, P., Anderson, D.M., 2002. Paralytic shellfish poisoning toxins in France linked to a human-introduced strain of *Alexandrium catenella* from Western Pacific: Evidence from DNA and toxin analysis. *Journal of Plankton Research*, 24: 443-452. doi: [10.1093/plankt/24.5.443](https://doi.org/10.1093/plankt/24.5.443)
- Luglié, A., Giscobbe, M.G., Sannio, A., Fiocca, F., Sechi, N., 2003. The geographical distribution of *Alexandrium catenella* (Whedon & Kofoid) Balech (Dinophyta), a potential producer of paralytic shellfish poisoning, in Italian waters (Sardinia, Tyrrhenian Sea). *Bocconea* 16: 1045-1052.
- Margalef, R., Estrada, M., 1987. Synoptic distribution of summer microplankton (Algae and Protozoa) across the principal front in the western Mediterranean. *Investigación Pesquera*, 51: 121-140.
- Marret, F., Zonneveld, K.A.F., 2003. Atlas of Organic-Walled Dinoflagellate Cyst Distribution. *Review of Palaeobotany and Palynology*, 125: 1-200. doi: [10.1016/S0034-6667\(02\)00229-4](https://doi.org/10.1016/S0034-6667(02)00229-4)
- Matsouka, K., 1999. Eutrophication process recorded in dinoflagellate cyst assemblage—a case of Yokohama Port, Tokyo Bay, Japan. *The Science of Total Environment*. 231: 17-35. doi: [10.1016/S0048-9697\(99\)00087-X](https://doi.org/10.1016/S0048-9697(99)00087-X)
- Matsuoka, K., Fukuyo, Y., 2000. Technical Guide for Modern Dinoflagellate Cyst Study. WESTPAC-HAB/WESTPAC/IOC, *Japan Society of the Promotion Science*, Tokyo p. 29.
- Matsuoka, K., Mizushima, K., Fuji, R., 2004. Atlas of Modern Dinoflagellate cysts for “Dinoflagellate cyst mapping”, WESTPAC/IOC, Nagasaki University.
- Matsuoka, K., Kawami, H., Nagai, S., Iwataki, M., Takayama, H., 2009. Re-examination of cyst–motile relationships of *Polykrikos kofoidii* Chatton and *Polykrikos schwartzii* Bütschli (Gymnodiniales, Dinophyceae). *Review of Palaeobotany and Palynology*, 154: 79-90. doi: [10.1016/j.revpalbo.2008.12.013](https://doi.org/10.1016/j.revpalbo.2008.12.013)
- Montresor, M., Marino, D., Zingone, A., Dafnis, G., 1990. Three *Alexandrium* species from coastal Tyrrhenian waters (Mediterranean Sea). In: *Toxic Marine Phytoplankton*, E. Graneli, B. Sundström, L., Edler, D.M. Anderson (Eds.), Elsevier, New York, pp. 82-87.
- Orlova, T.Y., Morozova, T.V., Gribble, K.E., Kulis, D.M., Anderson, D.M., 2004. Dinoflagellate Cysts in recent marine sediments from the East Coast of Russia. *Botanica Marina*, 47: 184-201. doi: [10.1515/BOT.2004.019](https://doi.org/10.1515/BOT.2004.019)
- Penna, A., Garcés, E., Vila, M., Giacobbe, M.G., Fraga, S., Luglié, A., Bravo, I., Bertozzini, E., Vernesi, C., 2005. *Alexandrium catenella* (Dinophyceae), a toxic ribotype expanding in the NW Mediterranean Sea. *Marine Biology*. 148: 19-23. doi: [10.1007/s00227-005-0067-5](https://doi.org/10.1007/s00227-005-0067-5)
- Rubino, F., Belmonte, M., Caroppo, C., Giacobbe, M., 2010. Dinoflagellate cysts from surface sediments of Syracuse Bay (Western Ionian Sea, Mediterranean). *Deep sea Research II*, 57: 243-247. doi: [10.1016/j.dsr2.2009.09.011](https://doi.org/10.1016/j.dsr2.2009.09.011)
- Sabancı, F.Ç., Koray, T., 2001. The impact of pollution on the vertical and horizontal distribution of microplankton in Izmir Bay (Aegean Sea) (in Turkish with English abstract). *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 18: 187-202.
- Sabancı, F.Ç., Koray, T., 2005. The planktonic species diversity variations in the Bay of Izmir between the years: 1998-2001 (in Turkish with English abstract). *Ege Journal of Fisheries Aquatic Sciences*, 22: 273-280.
- Sabancı, F.Ç., Koray, T., 2012. The dinoflagellate species distributed in Izmir bay (Aegean Sea) and the seasonal changes of species diversity. *Review of Hydrobiology*. 5(2): 71-84.
- Satake, M., Mackenzie, L., Yasumoto, T., 1997. Identification of *Protoceratium reticulatum* as the biogenic origin of yessotoxin. *Natural Toxins*, 5: 164-167. doi: [10.1002/19970504NT7](https://doi.org/10.1002/19970504NT7)
- Satta, C.T., Angles, S., Garces, E., Luglie, A., Padedda, B.M., Sechi, N., 2010. Dinoflagellate cysts in recent sediments from two semi-enclosed areas of the western Mediterranean Sea subject to high human impact. *Deep Sea Research II*, 57: 256-267. doi: [10.1016/j.dsr2.2009.09.013](https://doi.org/10.1016/j.dsr2.2009.09.013)
- Sayın, E., 2003. Physical Features of the Izmir Bay. *Continental Shelf Research*, 23: 957-970. doi: [10.1016/S0278-4343\(03\)00083-9](https://doi.org/10.1016/S0278-4343(03)00083-9)
- Smayda T.J., 1990. Novel and nuisance phytoplankton blooms in the sea: evidence for a global epidemic. In: *Toxic Marine Phytoplankton*, E Graneli, B. Sundstrom, L. Edler and D.M. Anderson (Eds.), Elsevier Science Publishing Co, New York., pp. 29-40.
- Tahri-Joutei, L., Maghraoui, M., Boutoïb, R., 2003. Toxic phytoplankton and phycotoxins in the Mediterranean coast of Morocco from 1994 to 2000. In: *Molluscan shellfish safety*, A. Villalba, B. Reguera, J.L. Ronalde, R. Beiras (Eds), Xunta de Galicia and CIO of UNESCO, Santiago de Compostela, pp. 187-195.
- Taylor, F.J.R., 1979. The toxigenic Gonyaulocoid dinoflagellates In: *Toxic Dinoflagellate blooms*, D.L. Taylor, H.H. Seliger (Eds.), Elsevier North Holland, N.Y., pp. 45-56.
- Touzet, N., Franco, J.M., Raine, R., 2008. Morphogenetic diversity and biotoxin composition of *Alexandrium* (Dinophyceae) in Irish Coastal Waters. *Harmful algae*, 7: 782-797. doi: [10.1016/j.hal.2008.04.001](https://doi.org/10.1016/j.hal.2008.04.001)
- Turki, S., Balti, N., 2005. Detection of toxic *Alexandrium catenella* (Whedon&Kofoid) Balech in clam production zone of North Lake and Channel, Tunisia. *Harmful Algae News*, 28: 1-2.
- Uzar, S., Aydın, H., Minareci, E., 2010. Dinoflagellate cyst assemblages in the surface sediments from Izmir Bay, Aegean sea, Eastern Mediterranean. *Scientific Research and Essays*, 5(3): 285-295.
- Vila, M., Garcés, E., Maso, M., Camp, J., 2001. Is the distribution of the toxic dinoflagellate *Alexandrium catenella* expanding along the NW Mediterranean coast? *Marine Ecology Progress Series*, 23: 497-514.
- Vila, M., Giacobbe, M.G., Maso, M., Gangemi, E., Penna, A., Sampedro, N., Azzaro, F., Camp, J., Galluzzi, L., 2005. A comparative study on recurrent blooms of *Alexandrium minutum* in two Mediterranean coastal areas. *Harmful Algae*, 4: 673-695. doi: [10.1016/j.hal.2004.07.006](https://doi.org/10.1016/j.hal.2004.07.006)
- Wall, D., Dale, B., 1968. Modern Dinoflagellate Cysts and Evolution of the Peridinales. *Micropaleontology*, 14: 265-304. doi: [10.2307/1484690](https://doi.org/10.2307/1484690)
- Wang, Z., Matsuoka, K., Qi, Y., Chen, J., 2004. Dinoflagellate Cysts in Recent Sediments from Chinese Coastal Waters. *Marine Ecology*, 25(4): 289-311. doi: [10.1111/j.1439-0485.2004.00035.x](https://doi.org/10.1111/j.1439-0485.2004.00035.x)
- Yamaguchi, M., Itakura, S., Imai, I., Ishida, Y., 1995. A rapid and precise technique for enumeration of resting cysts of *Alexandrium* spp. (Dinophyceae) in natural sediment. *Phycologia*, 34: 207-214. doi: [10.2216/i0031-8884-34-3-207.1](https://doi.org/10.2216/i0031-8884-34-3-207.1)

Dioktil adipat (DOA) 'ın *Sparus aurata* (Çipura) karaciğer ve solungaç histolojisi üzerine etkileri

The effects of dioctyl adipate (DOA) on liver and gill histology of *Sparus aurata* (Sea bream)

Melih Üreten* • Sema İşısağ Üçüncü

¹Ege Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Zooloji Anabilim Dalı, Bornova, 35100, İzmir, Türkiye

*Corresponding author: yasamaorgani@gmail.com

Abstract: Although it is used widely as a second plasticizer in the polymer manufacturing process, the ecotoxicological effects of dioctyl adipate (DOA) was not investigated in detail. The aim of this research was to determine the histopathological changes in the gills and liver of male sea bream, *Sparus aurata* exposed to 250, 500 and 750 ppm DOA for 15 days, with light microscopy. When compared with control, remarkable histopathological changes as vacuolation, dilatation of the central vein, and a striking fusion were observed in the gills of experimental fish. It was also noted hypertrophy and hyperplasia in the epithelial, pillar, mucoid and mitochondria-rich cells of the gills. The examining of livers from DOA-exposed specimens revealed a series of hepatocellular changes, including steatosis, necrosis and fibrosis. In addition to haemorrhage, the parenchymatic sinusoids and the central veins of hepatopancreas were widened. The study demonstrated that the exposure to DOA results in multiple histological changes in both of the tissue investigated; moreover, all of the changes were associated with increasing concentration of the chemical that exposed. Consequently, it was emphasized that DOA needs to be taken into more consideration as being an aquatic ecotoxicant.

Keywords: *Sparus aurata*, dioctyl adipate, gill, liver, ecotoxicology.

Özet: Polimer üretim süreçlerinde ikincil plastikleştirici olarak çok yaygın kullanılan dioktil adipat (DOA) 'ın ekotoksikolojik etkileri ayrıntılı olarak araştırılmamıştır. Bu çalışmanın amacı 15 gün süreyle 250, 500 ve 750 ppm DOA'ya maruz bırakılan erkek çipura balıklarının (*Sparus aurata*) solungaç ve karaciğerlerindeki histopatolojik değişimlerin ışık mikroskobu ile belirlenmesidir. Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, deneme grubu örneklerinin solungaçlarında vakuolizasyon, merkezi venada genişleme ve çarpıcı füzyon olarak ayırt edilen önemli histopatolojik değişimler gözlenmiştir. Ayrıca solungacın epitel, pillar mukus ve mitokondri zengini hücrelerinde belirgin hipertrofi ve hiperplazi de not edilmiştir. DOA'ya maruz bırakılan balıkların karaciğerlerinin incelenmesi yağlanma, fibrozis ve nekrozis olarak bir dizi hepatosellüler değişim ortaya koymuştur. Kanamaya ek olarak parankimatik sinüzoidler ve hepatopankreasın merkezi venleri genişlemiştir. Çalışma, DOA etkisinin araştırılan her iki dokuda da çoklu histolojik değişimlere yol açtığını, üstelik bu değişimlerin hepsinin uygulanan kimyasalın artan konsantrasyonuyla bağlantılı olduğunu göstermektedir. Sonuçta DOA'nın bir sucül kirlenici olarak daha fazla dikkate alınması gerektiği vurgulanmıştır.

Anahtar kelimeler: *Sparus aurata*, dioktil adipat, solungaç, karaciğer, ekotoksikoloji.

GİRİŞ

Plastikler ilk kez 20. Yüzyılın başında üretilmiş ve kullanımı hızla yaygınlaşmıştır. Gıda ambalajlarındaki kullanımları da hızla artan plastiklerin çevresel etkilerinin önemle değerlendirilmesi gerekir. Plastiklerin ısı ve basınçla biçimlendirmesini kolaylaştırmak, esnekliğini artırıp kırılabilirliğini azaltmak amacıyla kullanılan plastikleştiriciler hareket halindeki küçük moleküllü katkı maddeleridir ve dış ortama, özellikle de temas halinde oldukları besinlere geçebilirler (Vural, 1977).

İkincil plastikleştiriciler olan adipatlardan en yaygın kullanılanı dioktil adipat (DOA), özellikle ülkemizde polivinil klorür (PVC) üretiminin esas girdilerinden biridir. DOA'nın buzdolabı sıcaklığında 4°C'da bile besinlere geçebildiği (Goulas ve Kontominas, 1996) ve geçişimin sıcaklıkla arttığı bildirilmiştir (Fouad vd., 1999). DOA, bazı deney hayvanlarının üreme sisteminde baskılanmaya; insanlarda ise solunum

problemlerine, göğüs kanseri ve infertiliteye neden olabilmektedir (Anonymous, 1999).

Plastik üretim atıkları doğrudan ya da dolaylı olarak denize deşarj edilip besin zincirine girebilir. Bu çalışmada, özellikle sucül ortamda yaşayan canlılara etkisi neredeyse bilinmeyen DOA'nın, hem deniz balıkçılığında, hem de kültür balıkçılığında çok büyük ekonomik değer taşıyan çipurada (*Sparus aurata*) ilk etkileşim alanlarından biri olarak solungaçlar ve başlıca intoksikasyon merkezi olarak da karaciğer üzerindeki etkilerinin histolojik olarak araştırılması amaçlanmıştır.

MATERYAL VE YÖNTEM

Araştırma, Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi tarafından hazırlanan Deney Hayvanları İçin Etik Kurul Kararlarına göre ve Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Hayvan Deneyleti Etik

Kurulunun 2008-49 Sayılı Raporu uyarınca yürütülmüştür. Denemeler Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Histoloji Laboratuvarında, Haziran-Temmuz aylarında 8 hafta süreyle gerçekleştirilmiştir. Seferihisar-Sığacık'daki ticari çiftliklerden temin edilen 20 adet, ortalama 50±5 gram ağırlığındaki erkek *S. aurata* örnekleri rastgele seçilerek her biri 100 litre hacmindeki dört adet deniz akvaryumuna eşit sayıda konulup bir hafta süreyle ortama alıştırmıştır.

Her biri kafa motoru, Haqos marka aktif karbonlu dış filtre ve protein temizleyici ile donatılan akvaryumların suyu Sığacık'tan getirilmek suretiyle haftada bir kez yenilenmiştir. Deneme doğal fotoperiyotta yapılmış, su sıcaklığı 24±2 °C olarak düzenlenmiş, balıklar Kılıç Deniz Yem Fabrikası'ndan temin edilen ticari yem ile beslenmiştir.

Kontrol grubuna hiçbir uygulama yapılmamış, üç deneme grubu akvaryumuna, kısa yarı ömrü dikkate alınarak üç günde bir tamamlanmak suretiyle ve sudaki maksimum çözünürlüğü göz önünde bulundurularak sırasıyla 250, 500 ve 750 ppm DOA eklenmiştir. 15 günlük deneme süresi sonunda tüm balık örnekleri MS222 ile bayıltılarak çıkartılan solungaç ve karaciğer dokuları Bouin fiksatifinde 24 saat süreyle tespit edilmiş, artan alkol serilerinden geçirilip şeffaflaştırılarak parafine gömülmüştür. Baird-Tatlock mikrotomla 5 µm kalınlığında alınan kesitler Hematoksilin-Eosin ile boyanıp Olympus BX51 marka ışık mikroskopunda incelenerek fotoğrafları çekilmiştir.

BULGULAR

Genel Değerlendirme

Deneme ve kontrol gruplarında hiçbir ölüm vakası olmamıştır. Genel görünümünde herhangi bir farklılık izlenmeyen örneklerde uygulama sırasında ve uygulamayı izleyen günlerde ani hareketlenme, saldırgan davranışlar ve dış uyarılara karşı aşırı duyarlılık not edilmiştir.

Kontrol Grubu

Bağ ve kıkırdak doku ile desteklenen merkezi konumdaki primer lamellerden ayrılan sekonder lamellerden oluşurlar (Şekil 1). Primer lamellerin ortasında merkezi vena sinüzoidi yer alır (Şekil 1). Sekonder lamellerin dış yüzeyi örtü epiteli ve aralarındaki salgı hücreleriyle kaplıdır (Şekil 1). Aralarda iri nükleuslu, açık renkli destek hücreleri (pillar hücreleri) ile yine açık renkli ve iri görünümüleriyle mitokondri zengini hücreler ayırt edilir (Şekil 1).

250 ppm Deneme Grubu

Merkezi venada genişleme, solungaç lamelleri arasında vakuolizasyon ve sekonder lamellerde düzensizleşme (Şekil 2); epitel hücrelerinde hiperplazi ve deskuamasyon (Şekil 3); mukus ve pillar hücrelerinde hipertrofi; mitokondri zengini hücrelerde hiperplazi izlenmiştir (Şekil 4).

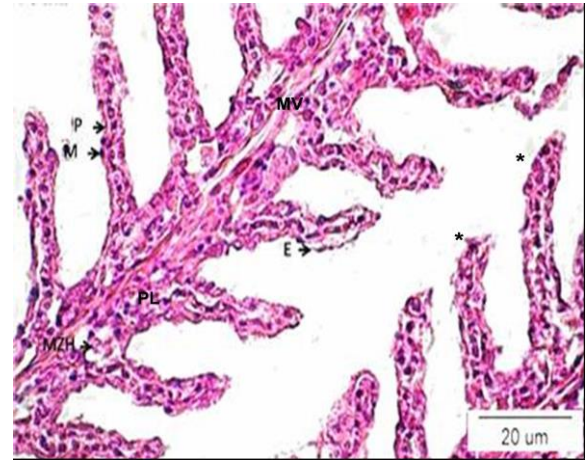
500 ppm Deneme Grubu

Artan konsantrasyon paralelinde merkezi venadaki

genişleme çarpıcı biçimde artmıştır, lamellerde vakuolizasyon sürmektedir (Şekil 5). Sekonder lameller bazen tamamen birleşmiş haldedir (Şekil 6). Epitel hücrelerinde deskuamasyon sürmektedir, mukus ve pillar hücrelerinde hipertrofi artmıştır (Şekil 7). Mitokondri zengini hücreler yine hiperplaziktir (Şekil 7).

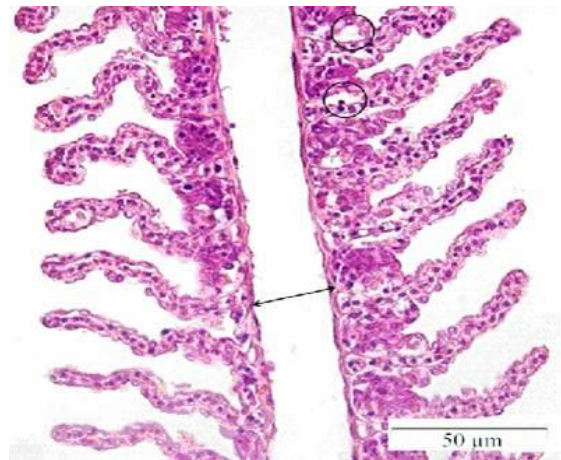
750 ppm Deneme Grubu

Vakuolizasyon artmış, nekrotik alanlar oluşmuştur (Şekil 8). Epitel hücreleri hiperplazik (Şekil 8) ve hipertroftir (Şekil 9). Mukus hücrelerinde hiperplazi ve salgı artışını düşündüren hipertrofi izlenmiştir (Şekil 9). Hem bu hücrelerde, hem de pillar hücrelerindeki belirgin hiperplaziyle lameller kalınlaşmıştır (Şekil 9).



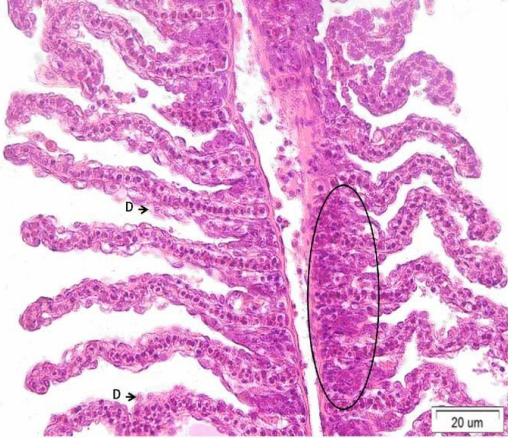
Şekil 1. Kontrol grubu. Primer lamel (PL), sekonder lamel (*), merkezi vena (MV), mukus hücresi (M), epitel hücresi (E), pillar hücresi (P), mitokondri zengini hücre (MZH).

Figure 1. Control group. Primary lamellae (PL), secondary lamellae (*), central vein (MV), mucous cell (M), epithelia (E), pillar cell (P), mitochondria-rich cell (MZH).



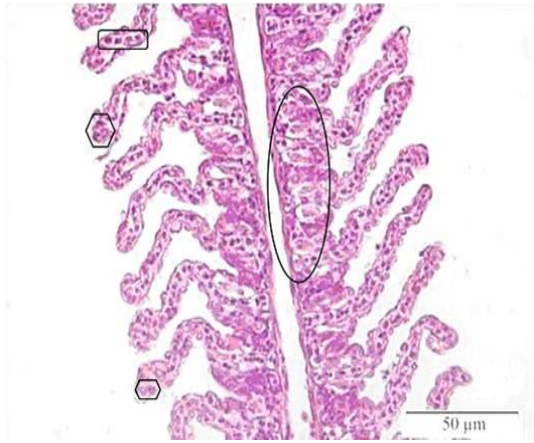
Şekil 2. 250 ppm deneme grubu. Genişleyen merkezi vena (↔) ve lamellerde vakuolizasyon (daire).

Figure 2. 250 ppm exposed group. Extended central vein (↔) and vacuolization at lamellae (circle).



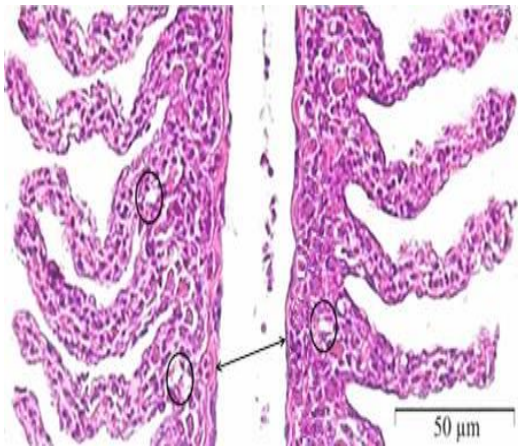
Şekil 3. 250 ppm deneme grubu. Epitel hücrelerinde hiperplazi (daire) ve deskuamasyon (D).

Figure 3. 250 ppm exposed group. Hyperplasia in epithelia (circle) and desquamation (D).



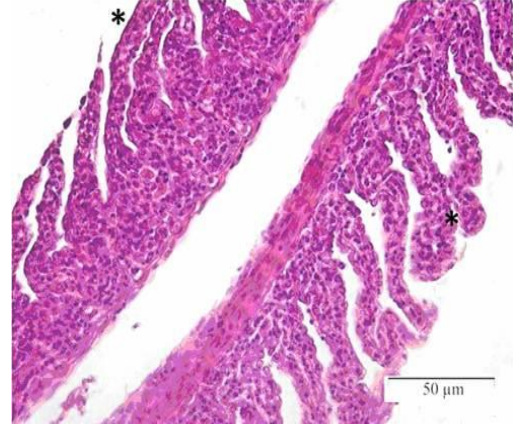
Şekil 4. 250 ppm deneme grubu. Mukus hücrelerinde hipertrofi (altgen içerisinde), pillar hücrelerinde hipertrofi (yuvarlatılmış dikdörtgen), mitokondri zengini hücrelerde hiperplazi (daire).

Figure 4. 250 ppm exposed group. Hypertrophy in mucous (in the hexagon), and pillar cells (rectangle), hyperplasia in mitochondria-rich cells (circle).



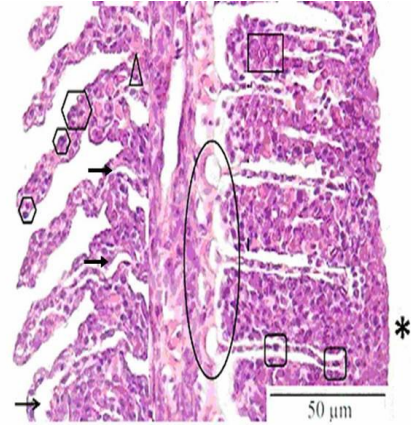
Şekil 5. 500 ppm deneme grubu. Merkezi venada artan genişleme (↔) lamellerde vakuolizasyon (daire).

Figure 5. 500 ppm exposed group. Advanced expansion in central vein (↔), vacuolization at lamellae (circle).



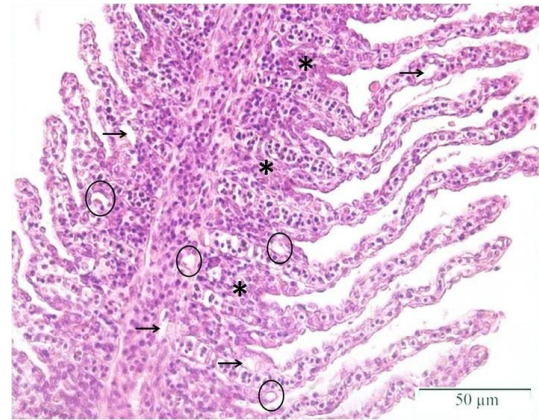
Şekil 6. 500 ppm deneme grubu. Sekonder lamellerde füzyon başlangıcı (*).

Figure 6. 500 ppm exposed group. Early fusion at secondary lamellae (*).



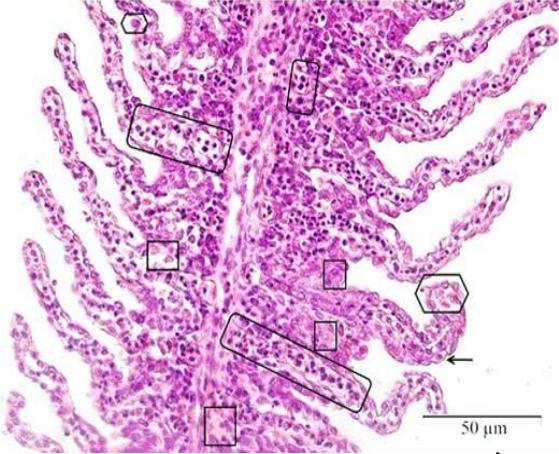
Şekil 7. 500 ppm deneme grubu. Sekonder lamellerde füzyon (*), vakuolizasyon (elipse), epitel hücrelerinde ayrışma (→), mukus hücrelerinde hipertrofi (altgen), pillar hücrelerinde hipertrofi (yuvarlatılmış kare), mitokondri zengini hücrelerde hiperplazi (dikdörtgen) ve hipertrofi (üçgen).

Figure 7. 500 ppm exposed group. Fusion at secondary lamellae (*), vacuolization (ellipse), separation in epithelial cells (→), hypertrophy in mucous cells (hexagon), hypertrophy in pillar cells (square), hyperplasia (rectangle) and hypertrophy (triangle) in mitochondria-rich cells.



Şekil 8. 750 ppm deneme grubu. Epitel hücrelerinde hiperplazi (*), sekonder lamellerde vakuolizasyon (daire) ve nekroz (⊃).

Figure 8. 750 ppm exposed group. Hyperplasia in epithelia (*), vacuolization and necrosis (⊃) at secondary lamellae (circle).



Şekil 9. 750 ppm deneme grubu. Epitel hücrelerinde hipertrofi (→), mukus hücrelerinde hiperplazi ve hipertrofi (altıgen), pillar hücrelerinde hiperplazi ve hipertrofi (yuvarlatılmış dikdörtgen), mitokondri zengini hücrelerde hipertrofi (kare).

Figure 9. 750 ppm exposed group. Hypertrophy in epithelia (→), hyperplasia and hypertrophy in mucous cells (hexagon), hyperplasia and hypertrophy in pillar cells (rectangle), hypertrophy in mitochondrium-rich cells (square).

Karaciğer

Kontrol Grubu

Yığınlar halinde gözlenen çokgen şekilli ve belirgin nükleuslu hepatositlerden oluşan parankimada sinüzoidler ve şekilsiz bir merkezi venayı çevreleyen koyu boyanmış alveoller halinde hepatopankreas yer alır (Şekil 10).

250 ppm Deneme Grubu

Az miktarda yağlanma sonucu vakuolizasyon ve bazı sinüzoidlerde hafif kanlanma (Şekil 11); diğer bazılarında ise hafif dilatasyon izlenmiştir (Şekil 12). Aralarda küçük nekrotik alanlar oluşmuştur (Şekil 12).

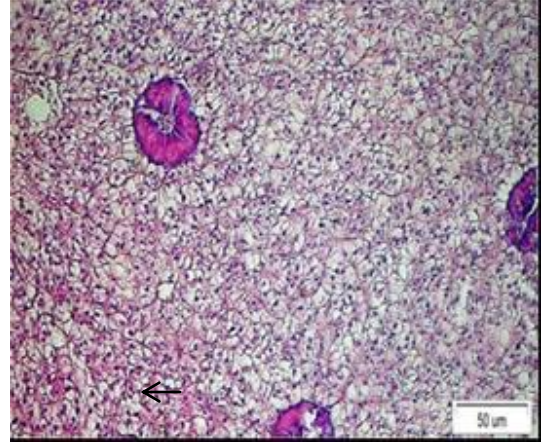
500 ppm Deneme Grubu

Hücre sınırları seçilememekte, merkezi vena endotel hücrelerindeki displaziye sinüzoidlerdeki kanama eşlik etmektedir (Şekil 13). Hepatositlerde yağ birikimiyle nükleuslar periferite itilmiş, parankimada iri yağ hücrelerinden oluşan adacıklar gözlenmiştir (Şekil 14). Hepatopankreas çevresinde melanomakrofaj birikimleri vardır (Şekil 15). Genişleyen yağ hücrelerinin, hepatopankreas çevresinde de yer alması ilginçtir (Şekil 15). Geniş alanlara yayılmış fibröz doku ve nekroz da görülmektedir (Şekil 15).

750 ppm Deneme Grubu

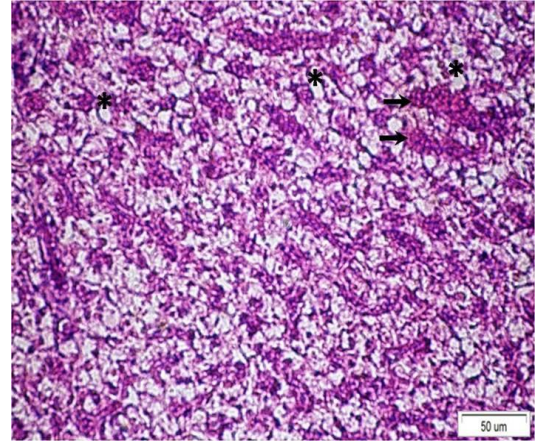
Hepatopankreas alveollerinin sayıları artmış ve kapladıkları alan kontrol grubuna göre oldukça genişlemiştir. Çevrelerinde yaygın yağ dokusu yığılımı ve nekrotik alanlar bulunmaktadır, merkezi vena kanama düşündürecek biçimde boyanmıştır (Şekil 16). Hepatopankreasta kırılma, parçalanma gibi ciddi deformasyonlar vardır (Şekil 16). Parankimada yer yer kanama ve sinüzoidlerde dilatasyon devam etmektedir (Şekil 17). Fibröz doku iyice yayılmıştır (Şekil 17). Hepatopankreas çevresinde melanomakrofaj birikimleri görülmektedir (Şekil 17). Hepatosit sınırları seçilemez

durumdadır ve hücreler arasında nekrotik bölgeler genişlemektedir (Şekil 17).



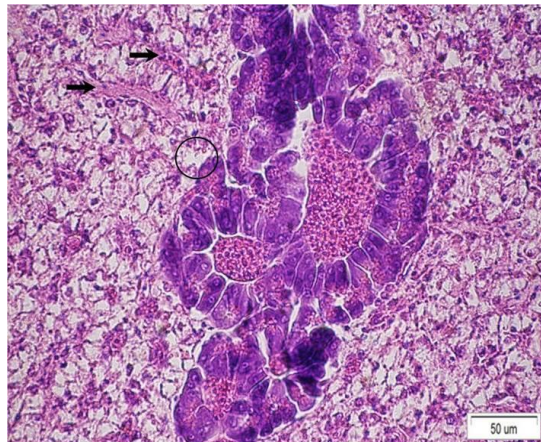
Şekil 10. Karaciğer parankimasında hepatositler arasındaki sinüzoidler ve hepatopankreas (HP) alveolleri.

Figure 10. Hepatocytes between sinusoids and hepatopankreatic alveoli (HP) in the liver parenchyma.



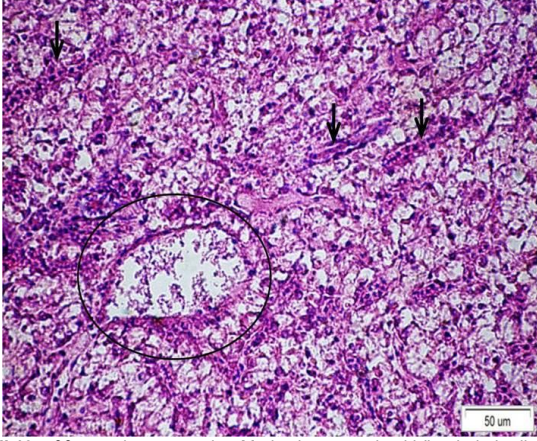
Şekil 11. 250 ppm deneme grubu. Parankimada vakuoler görünümüyle karakterize yağlanma (*), sinüzoidlerde kanlanma (oklar).

Figure 11. 250 ppm exposed group. Vacuolar steatosis (*), congestion of sinusoids (arrows).



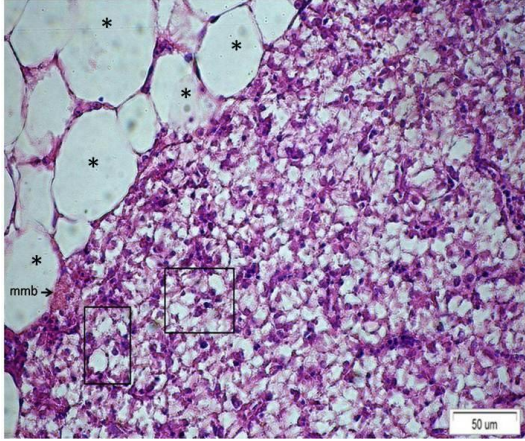
Şekil 12. 250 ppm deneme grubu. Sinüzoidlerde dilatasyon (D), hafif nekroz (daire).

Figure 12. 250 ppm exposed group. Dilatation of sinusoids (D), slight necrosis (circle).



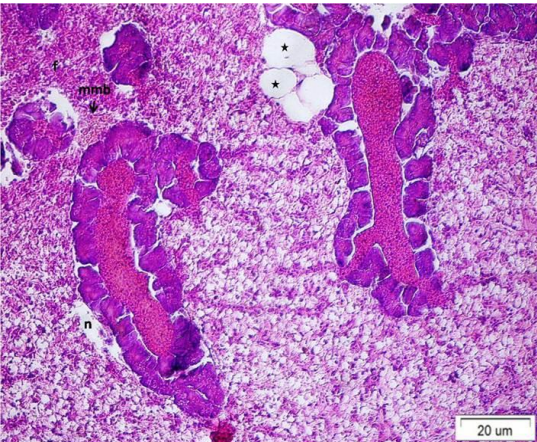
Şekil 13. 500 ppm deneme grubu. Merkezi vena endotel hücrelerinde displazi (daire) ve sinüzoidal kanama (oklar).

Figure 13. 500 ppm exposed group. Dysplasia in endothelial cells of central vein (circle) and sinusoidal congestion (arrows).



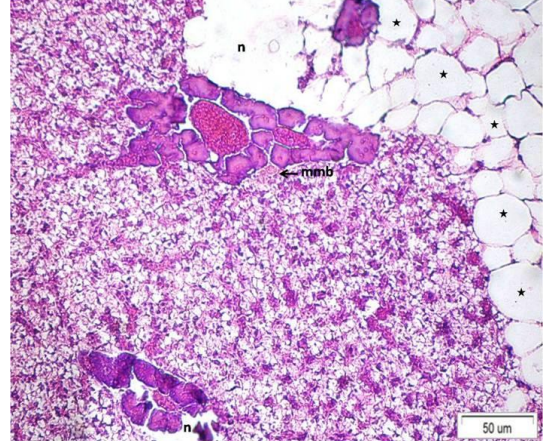
Şekil 14. 500 ppm deneme grubu. Yağlanma (dikdörtgen) ve sol yağ hücreleri, ayrıca melanomakrofaj birikimi (mmb).

Figure 14. 500 ppm exposed group. Steatosis (rectangle) and lipocytes (*), and clusters of melanomacrophages (mmb).



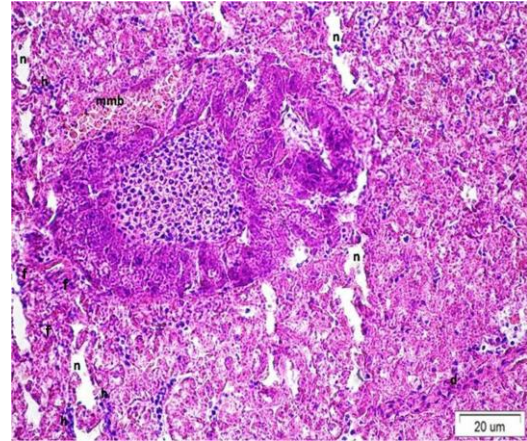
Şekil 15. 500 ppm deneme grubu. Hepatopankreas etrafında yağ hücreleri birikimi (*), fibrozis (f), nekroz (n) ve melanomakrofaj birikimi (mmb).

Figure 15. 500 ppm exposed group. Lipocytes nearby hepatopancreas (*), necrosis (n), fibrosis (f) and clusters of melanomacrophages.



Şekil 16. 750 ppm deneme grubu. Hepatopankreas alveollerinde yağ hücreleri yığılımı (*), melanomakrofaj birikimi (mmb) ve nekrotik alanlar (n).

Figure 16. 750 ppm exposed group. Lipocytes accumulation nearby extended hepatopancreatic alveoli (*), clusters of melanomacrophages; and necrotic areas (n).



Şekil 17. 750 ppm deneme grubu. Hemoraji (h), melanomakrofaj birikimi (mmb), nekrotik alanlar (n), sinüzoidlerde dilatasyon (d) ve fibröz doku oluşumu (f).

Figure 17. 750 ppm exposed group. Hemorrhage (h), clusters of melanomacrophages (mmb), necrotic areas (n), dilatation of sinusoids, and fibrosis.

TARTIŞMA VE SONUÇ

Deney süresinde hiçbir balık ölümü kaydedilmemiş, ancak uygulama gruplarının dış uyaranlara aşırı tepki ve saldırgan davranışlar gösterdikleri gözlenmiştir.

Dış ortamla doğrudan temas halinde bulunan ve solunumun yanı sıra ozmoregülasyon, asit-baz dengesinin düzenlenmesi ile azotlu atıkların boşaltılmasında da görevli olan solungaçlar çevresel değişikliklerden ve sudaki kimyasallardan deri ile birlikte öncelikle etkilenen yapılarıdır.

Özellikle ağır metaller ve pestisitler gibi çeşitli kirlenmeler; sekonder lamellerde füzyon, epitel ve destek hücreleri olan pillar hücreleri ile ozmoregülasyonda görev yapan mitokondri zengini hücrelerde hiperplazi, hipertrofi ve displazi gibi özgül olmayan; ancak ciddi histolojik değişikliklere yol açtığı

bilinmektedir (Diler ve Özen, 2002; Fanta vd., 2003; Cengiz, 2006; Velmurugan vd., 2007; Katalay vd., 2007; Indirabai vd., 2010).

Bulgularımız hem bu raporlarla büyük ölçüde örtüşmekte, hem de DOA'nın bir tatlı su balığı olan *Labidochromis caeruleus* üzerindeki etkilerinin izlendiği önceki çalışmamızın (İşisağ Üçüncü vd., 2010a) sonuçlarına büyük benzerlik göstererek bu kimyasalın deniz balıklarının da olumsuz etkilediğini ortaya koymaktadır. Solungaç epitelinde gözlenen belirgin hasar displaziyle başlamaktadır; DOA konsantrasyonu arttıkça geniş nekrotik alanlar ortaya çıkmakta ve doku düzeyindeki bozulma ciddi boyutlara ulaşmaktadır. İlerleyen hiperplazinin beklenen sonucu olan sekonder lamellar füzyon, sucul ortamdaki kimyasalın dolaşıma geçiş mesafesini artıran fiziksel bir bariyer olarak değerlendirilir (Moeller vd., 2001). Gözlemlerimiz bu düşünceyi desteklemektedir, çok iyi damarlanmış olan solunum yüzeyinin daralıp kalınlaşmasıyla çevresel kimyasalların kan dokusuna geçmesi bir ölçüde engellenebilir.

Mukus hücrelerinde hiperplazi ve hipertrofi de çeşitli kimyasallara tepki bağlamında değerlendirilen bir bulgudur (Akaishi vd., 2004; Nero vd., 2006). Artan mukus salgısı biyokimyasal bir bariyer oluşturup tüm solunum yüzeylerinde oksijen geçişini belli ölçüde engelleyebilir ve fizyolojik olumsuzluklara neden olabilir. Mitokondri zengini hücrelerde en düşük konsantrasyondan başlayarak izlenen anomaliler de bu tabloya eklendiğinde, DOA'nın çok önemli bir fizyolojik mekanizma olan ozmoregülasyonu olumsuz etkilediğini söylemek yanlış olmayacaktır.

Omurgalılarda biyodönüşüm ve zehirsizleştirme süreçlerinde görevli esas organ olarak, toksik madde etkileşiminde önemli değişimler gösterir. Yüksek konsantrasyonlardaki maruziyetlerde karaciğerin toksik bileşenleri indirgeme mekanizması bozulur. Kurşun, kadmiyum, selenyum, cıva gibi metaller; amonyum, arsenik, klor ve fenoller gibi endüstriyel atıklar; aldrin, alaklor, dikloroanilin, endrin, dieldrin, deltametrin, diazinon, karbosulfan, benomil, Folidol 600 ve propinek gibi organofosfatlı ve organoklorinli pestisitler ile petrol hidrokarbonları gibi çeşitli maddelerin etkisi ile balık karaciğerinde ortaya çıkan histopatolojik değişimler hakkında çok sayıda çalışma bulunmaktadır (Cengiz ve Ünlü, 2005; Olojo vd., 2005; Ayaş vd., 2007; van Dyk vd., 2007; de Melo vd., 2008; Ayoola ve Ajani, 2008; Miranda vd., 2008; Hinton vd., 2008; Çapkın vd., 2010; Boran vd., 2010).

Kontrol ve 250 ppm deneme grubunda görülen yağlanmanın özellikle ticari yem ile beslenen balık karaciğeri için normal seviyede olduğu söylenebilir. Çalışmamızda özellikle 500 ve 750 ppm DOA uygulanan gruplarda artan yağlanma, karaciğerde oluşan hasarın en çarpıcı göstergesidir. Hinton ve Lauren (1990) stres koşullarında sürdürülmeleri zorlaşan yaşamsal fonksiyonlar için gerekli enerjinin sağlanması sırasında hepatositlerin lipid ve glikojen içeriklerinde değişimler olduğunu öne sürerler. Pacheco ve

Santos (2002) ise artan yağlanmayı bozulan metabolizmanın oluşturduğu hasarın belirtisi olarak değerlendirirler. Çalışmamızın bulguları ilk planda Pacheco ve Santos (2002)'un yorumunu doğrular gibi görünmekle beraber diğer görüş de gerçekten ilginçtir, karaciğer stres yaratan koşullara enerji metabolizmasındaki değişimlerle tepki verebilir. Buna göre DOA'nın önce gerçekten stres yarattığı ve karaciğerin de buna yağlanma olarak nitelendirilen tepkiyi verdiği; ancak konsantrasyon yükseldikçe yağlanmanın da çok artarak dokuyu ciddi oranda bozduğu düşünülmektedir.

Tüm deneme gruplarında sinüzoidlerde ve karaciğer parankimasında izlenen kanlanma, dokudaki hasarın bir diğer belirtisi olarak daha önce bildirilenlere uygundur (Barlas, 1999; İşisağ Üçüncü vd., 2010b).

Ortam kirliliğinin bir sonucu olarak (Ayaş vd., 2007) veya pestisit uygulamalarında (Velmurugan vd., 2007) rapor edilen sinüzoid dilatasyonu, büyük olasılıkla kalp yetersizliği sonucunda kan akışının bozulması ve kanın sinüzoidlere dolmasıyla meydana gelmektedir (Anonymous, 2010). Çalışmamızda izlenen dilatasyon DOA'nın kalp-damar sistemi üzerinde de etkili olabileceğini düşündürmektedir; çünkü sinüzoid genişlemesiyle karakterize edilen dolaşım bozukluğu hepatositlerin yeterince oksijen alamamasına ve böylece nekrotik alan oluşumlarına yol açabilir. Toksik madde uygulanan birçok çalışmada tipik doku hasarı olarak nekrotik alanlar rapor edilmiştir (Peters vd., 1987; Kranz ve Dethlefsen 1990; Koehler, 2004; Hinton vd., 2008). DOA'nın *Labidochromis caeruleus* üzerindeki uygulamasında da geniş nekrotik alanlar olduğu bilinmektedir (İşisağ Üçüncü vd., 2010b).

Özellikle 500 ve 750 ppm DOA uygulanan örneklerde yine geniş alanlar halinde izlenen fibröz doku oluşumu, *Platichthys flesus*, *Gymnocephalus cernua* ve *Osmerus eperlanus* (Peters vd., 1987); *Pomatoctrus pavo* (Weismann ve Miller, 2006) ve yine *Platichthys flesus* (Koehler, 2004) türlerinde rapor edilenlere benzerdir.

Çok miktarda hidrolitik enzim ve hormon içeren hepatopankreas, sindirim sistemi ile endokrin sistemdeki işlevleri uzantısında toksik maddelerden ciddi biçimde etkilenir (Dezfuli vd., 2000). Örneğin *Danio rerio*'da dioksin uygulaması hepatopankreasta vakuolizasyona, sitoplazmik hacimde ve zimojen granüllerde azalmaya yol açar (Henry vd., 1997). Artan konsantrasyonlarda DOA uygulaması ile çevresinde yağ hücreleri yığılıları izlenen hepatopankreas yapısı büyük ölçüde bozulmuştur.

Bağıışıklık sistemi elemanları olarak sucul ekosistemdeki kirliliğin belirteçleri olan melanomakrofajların (Wolke vd., 1985) sayıları ve kapladıkları alan sadece kimyasal madde uygulamaları ile değil, enfeksiyonlar sonucunda veya dengesiz beslenmeyle de artabilir (Agius ve Roberts, 2003). Çalışmamızda artan DOA konsantrasyonlarına paralel olarak melanomakrofaj sayısının artışı, bu genel değerlendirmelerle örtüşmektedir.

Özellikle PVC üretiminde kullanılan DOA gibi ikincil plastikleştiriciler insan ve çevre sağlığı açısından dikkatle izlenmesi gereken kimyasallardır. Sunulan bulgular; sadece sudaki çözünürlüğünün düşük olmasına dayanılarak (Felder vd., 1986) DOA'nın sucul ortamdaki toksisitesinin dikkate alınamayabileceğine dair yargıya ters düşmekte; laboratuvarımızda daha önce yapılan DOA denemelerinin sonuçlarını ise önemli ölçüde doğrulamaktadır: DOA, bir tatlı su balığı olan *Labidochromis caeruleus*'daki gibi; ekonomik anlamda önemli bir deniz balığı olan *Sparus aurata*'da da solungaç ve karaciğer dokularında hasar oluşturmuştur. Solungaçlarda izlenen değişim solunum ve ozmoregülasyon mekanizmalarını etkileyebilecek düzeydedir. Karaciğerde gözlenen ve dolaşım sistemi ile ilişkilendirilen bozulmalar

genel metabolizmanın uygulamadan olumsuz etkilendiğinin kanıtlarıdır. Hepatopankreasta izlenen değişimler de, sindirim enzimleri ile endokrin işlevlerin uygulamadan etkilendiğine dair önemli işaretlerdir.

Kısaca, DOA'nın insan ve çevre sağlığı üzerindeki etkileri düşünüldüğü kadar hafif değildir ve yakın gelecekte plastikleştiricilerle ilgili bazı yönetim düzenlemelerinin yapılması gerekebilir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışmayı 2009-Fen-070 numaralı projeye destekleyen E.Ü. Rektörlüğü Araştırma Fon Saymanlığı'na teşekkür ederim.

KAYNAKLAR

- Agius, C., Roberts, R.J., 2003. Melano-macrophage Centres and Their Role in Fish Pathology: Review, *Journal of Fish Diseases*, 26:499-509. doi: [10.1046/j.1365-2761.2003.00485.x](https://doi.org/10.1046/j.1365-2761.2003.00485.x)
- Akaishi, F.M., Silva, A.H.C., Jakobi, S.C.G., Eiras, S.D.R., St-Jean, S.D., Courtenay, S.C., Lima, E.F., Wagener, A.L.R., Scofield, A.L., Oliveira, R.C.A., 2004. Morphological and Neurotoxicological Findings in Tropical Freshwater Fish (*Astyanax sp.*) After Waterborne and Acute Exposure to Water Soluble Fraction (WSF) of Crude Oil. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 46:244-253.
- Anonymous, 1999. "Plastic Wrap" www.nsc.org/ehc/minute/em990517.htm (02.09.2008)
- Anonymous, 2010. "Hepatic Pathology", The University of Utah, <http://library.med.utah.edu/WebPath/LIVEHTML/LIVER042.html> (05.07.2010)
- Ayaş, Z., Ekmekçi, G., Özmen, M., Yerli, S.V., 2007. Histopathological Changes in the Livers and Kidneys of Fish in Sariyar Reservoir, Turkey. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 23:242-249. doi: [10.1016/j.etap.2006.11.003](https://doi.org/10.1016/j.etap.2006.11.003)
- Ayoola, S.O., Ajani, E.K., 2008. Histopathological Effects of Cypermethrin on Juvenile African Catfish (*Clarias gariepinus*). *World Journal of Biological Research*, 01:2.
- Barlas, N., 1999. Histopathological Examination of Gill, Liver and Kidney Tissues of Carp (*Cyprinus carpio* L., 1758) Fish in the Upper Sakarya River Basin (in Turkish with English abstract). *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 23 (Ek Sayı 2):277-284.
- Boran, H., Altınok, İ., Çapkin, E., 2010. Histopathological Changes Induced by Maneb and Carbaryl on Some Tissues of Rainbow Trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Tissue and Cell*, 42:158-164. doi: [10.1016/j.tice.2010.03.004](https://doi.org/10.1016/j.tice.2010.03.004)
- Cengiz, E.İ., 2006. Gill and Kidney Histopathology in the Freshwater Fish (*Cyprinus carpio*) After Acute Exposure Deltamethrin. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 22(2):200-204. doi: [10.1016/j.etap.2006.03.006](https://doi.org/10.1016/j.etap.2006.03.006)
- Cengiz, E.İ., Ünlü, E., 2005. Sublethal Effect of Commercial Deltamethrin on the Structure of the Gill, Liver and Gut Tissues of Mosquitofish, *Gambusia affinis*, A Microscopic Study. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 21:246-253. doi: [10.1016/j.etap.2005.08.005](https://doi.org/10.1016/j.etap.2005.08.005)
- Çapkin, E., Terzi, E., Boran, H., Yandı, İ., Altınok, İ., 2010. Effects of Some Pesticides on the Vital Organs of Juvenile Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Tissue and Cell*, 42(6):376-382. doi: [10.1016/j.tice.2010.10.001](https://doi.org/10.1016/j.tice.2010.10.001)
- De Melo, G.C., Donattib, L., Rudnikia, C.A.M., Fanta, E., 2008. Hepatic Alterations in the Fish *Rhamdia quelen* Contaminated with Folidol 600. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 71:821-829. doi: [10.1016/j.ecoenv.2008.02.001](https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2008.02.001)
- Diler, Ö., Özen, M.R., 2002. Histopathology of the Epidermal Papilloma in Cage Cultured Mirror Carp (*Cyprinus carpio*) in Eğirdir Lake (in Turkish with English abstract). *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences* 26(6):1207-1211.
- Dezfuli, B.S., Simoni, E., Rossi, R., Manera, M., 2000. Rodlet Cells and Other Inflammatory Cells of *Phoxinus phoxinus* Infected with *Raphidascaris acus* (Nematoda). *Disease of Aquatic Organisms* 43:61-69. doi: [10.3354/dao043061](https://doi.org/10.3354/dao043061)
- Fanta, E., Rios, F.S., Romão, S., Vianna, A.C.C., Freiberger, S., 2003. Histopathology of the Fish *Corydoras paleatus* Contaminated with Sublethal Levels of Organophosphorus in Water and Food. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 54:119-130. doi: [10.1016/S0147-6513\(02\)00044-1](https://doi.org/10.1016/S0147-6513(02)00044-1)
- Felder, J.D., Adams, W.J., Saeger, V.W., 1986. Assessment of the Safety of Dioctyl Adipate in Freshwater Environments. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 5:777-784. doi: [10.1002/etc.5620050809](https://doi.org/10.1002/etc.5620050809)
- Fouad, M.M.K., El Sayed, A.M., Mahdy, A.N., 1999. Migration of DINP and DOP Plasticisers from PVC Sheets into Food. *Environmental Management and Health* 10(5):297-302. doi: [10.1108/09566169910289577](https://doi.org/10.1108/09566169910289577)
- Goulas, A.E., Kontominas, M.G., 1996. Migration of Dioctyl Adipate Plasticizer from Food-grade PVC Film into Chicken Meat Products: Effect of Gamma-radiation. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung A*, 202(3):250-255. doi: [10.1007/BF01263549](https://doi.org/10.1007/BF01263549)
- Henry, T.R., Spitsbergen, J.M., Hornung, M.W., Abnet, C.C., Peterson, R.E., 1997. Early Life Stage Toxicity of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin in Zebrafish (*Danio rerio*). *Toxicology and Applied Pharmacology*, 142: 56-68. doi: [10.1006/taap.1996.8024](https://doi.org/10.1006/taap.1996.8024)
- Hinton, D.E., Lauren, D.J., 1990. Liver Structural Alterations Accompanying Chronic Toxicity in Fishes: Potential Biomarkers of Exposure. In: *Biomarkers of Environmental Contamination*, J.F. MacCarthy, L.R. Shugart (Eds). *Lewis Publishers*, Boca Raton, Florida, p17-57.
- Hinton, D.E., Segner, H., Au, D.W.T., Kullman, S.W., Hartman, R.C., 2008. Liver Toxicity. In: *The Toxicology of Fishes*, R.T. Di Giulio, D.E. Hinton (Eds). *CRC Press Inc.*, Florida, pp. 328-352. doi: [10.1201/9780203647295.ch7](https://doi.org/10.1201/9780203647295.ch7)

- Indirabai, W.P.S., Tharani, G., Seetha, P., 2010. Impact of Sublethal Concentration of Endosulfan on Biochemicals and Histology of Organ Tissues of Freshwater Fish, *Labeo rohita* (Hamilton 1822). *The Bioscan*, 5(2): 215-218.
- İsisağ Üçüncü, S., Önen, Ö., Ergen, G., Üreten, M., Boz, E., Seferoğlu, K., Gökçe, B., 2010a. The Effects of Dioctyl Adipate (DOA) on the Gill Histology of *Labidochromis caeruleus* Fryer, 1956 (Cichlidae, Teleostei) (in Turkish with English abstract). *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 16(2):343-346.
- İsisağ Üçüncü, S., Ergen, G., Önen, Ö., Kolbaşı Tekkan, B., Üreten, M., Boz, E., Seferoğlu, K., Gökçe, B., 2010b. The Effects of Dioctyl Adipate (DOA) on The Liver Histology of *Labidochromis caeruleus* Fryer, 1956 (Cichlidae, Teleostei) (in Turkish with English abstract). *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 16(Suppl- B):197-203.
- Katalay, S., Tuğlu, İ., Minareci, E., 2007. Light Microscopic Investigation of the Possible Toxic Effect on the Gill of Black Goby (*gobius niger*) Living in Izmir Bay (in Turkish with English abstract). *Ege Tıp Dergisi*, 46(2):61 – 66.
- Koehler, A., 2004. The Gender-specific Risk to Liver Toxicity and Cancer of Flounder (*Platichthys flesus* (L.)) at the German Wadden Sea coast. *Aquatic Toxicology*, 70(4):257-276. doi: [10.1016/j.aquatox.2004.07.002](https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2004.07.002)
- Kranz, H., Dethlefsen, V., 1990. Liver Anomalies in Dab *Limanda limanda* from the Southern North Sea with Special Consideration Given to Neoplastic Lesions. *Diseases of Aquatic Organisms*, 9: 171-185. doi: [10.3354/dao009171](https://doi.org/10.3354/dao009171)
- Miranda, A.L., Roche, H., Randi, M.A.F., Menezes, M.L., Oliveira Ribeiro, C.A., 2008. Bioaccumulation of Chlorinated Pesticides and PCBs in the Tropical Freshwater Fish *Hoplias malabaricus*: Histopathological, Physiological, and Immunological Findings. *Environment International*, 34:939-949. doi: [10.1016/j.envint.2008.02.004](https://doi.org/10.1016/j.envint.2008.02.004)
- Moeller, P.D.R., Morton, S.L., Mitchell, B.A., Sivertsen, S.K., Fairey, E.R., Mikulski, T.M., Glasgow, H., Deamer-Melia, N.J., Burkholder, J.M., Ramsdell, J.S., 2001. Current Progress in Isolation and Characterization of Toxins Isolated from *Pfiesteria piscicida*. *Environmental Health Perspectives*, 109:739-743. doi: [10.2307/3454921](https://doi.org/10.2307/3454921)
- Nero, V., Farwell, A., Lister, A., Van Der Kraak, G., Lee, L.E.J., Van Meer, T., MacKinnon, M.D., Dixon, D.G., 2006. Gill and Liver Histopathological Changes in Yellow Perch (*Perca flavescens*) and Goldfish (*Carassius auratus*) Exposed to Oil Sands Process-Affected Water. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 63:365-377. doi: [10.1016/j.ecoenv.2005.04.014](https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2005.04.014)
- Olojo, E.A.A., Olurin, K.B., Mbaka, G., Oluwemimo, A.D., 2005. Histopathology of the Gill and Liver Tissues of the African Catfish *Clarias gariepinus* Exposed to Lead. *African Journal of Biotechnology*, 4(1):117-122.
- Pacheco, M., Santos, M.A., 2002. Biotransformation, Genotoxic and Histopathological Effects of Environmental Contaminants in European Eel (*Anguilla anguilla* L.). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 53:331-347. doi: [10.1016/S0147-6513\(02\)00017-9](https://doi.org/10.1016/S0147-6513(02)00017-9)
- Peters, N., Köhler, A., Kranz, H., 1987. Liver Pathology in Fishes from the Lower Elbe as a Consequence of Pollution. *Disease of Aquatic Organisms*, 2:87-97. doi: [10.3354/dao002087](https://doi.org/10.3354/dao002087)
- Van Dyk, J.C., Pieterse, G.M., Van Vuren, J.H.J., 2007. Histological Changes in the Liver of *Oreochromis mossambicus* (Cichlidae) After Exposure to Cadmium and Zinc. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 66: 432-440. doi: [10.1016/j.ecoenv.2005.10.012](https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2005.10.012)
- Velmurugan, B., Selvanayagam, M., Cengiz, E.İ., Ünlü, E., 2007. Histopathology of Lambda-cyhalothrin on Tissues (Gill, Kidney, Liver and Intestine) of *Cirrhinus mrigala*. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 24:286-291. doi: [10.1016/j.etap.2007.07.001](https://doi.org/10.1016/j.etap.2007.07.001)
- Vural, N., 1977. Toxicological Assessment of Plastic Food Containers Used in Turkey (in Turkish with English abstract). *Ankara Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 7(2):163-181.
- Weisman, J.L., Miller, D.L., 2006. Lipoid Liver Disease and Steatitis in Captive Sapphire Damsel *Pomacentrus pavo*. *Acta Ichthyol Piscator*, 36(2): 99-104.
- Wolke, R.E., George, C.J., Blazer, V.S., 1985. Pigmented Macrophage Accumulations (mmc; pmb): Possible Monitors of Fish Health, Parasitology and Pathology of Marine Organisms of the World Ocean. *NOAA Technical Report*, 93-97.

Effects of synthetic and natural steroids on the growth, sex reversal and gonadal development of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum)

Doğal ve sentetik steroidlerin Gökkuşluğu alabalığında, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum) gonadal gelişim, cinsiyet dönüşümü ve büyüme üzerine etkileri

Erdal Yılmaz • Şehriban Çek • Yavuz Mazlum*

Mustafa Kemal University, Faculty of Marine Science&Technology, Kapalı Yüzme Havuzu Yanı, İskenderun, Hatay, Turkey.
*Corresponding author: ymazlumusa@hotmail.com

Özet: Tamamı dişi salmonid stokların üretiminde sentetik cinsiyet hormonlarının kullanımına dayanan erkekleştirme uygulamaları gibi dolaylı yöntemler yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Ancak söz konusu sentetik hormonların toksik etkiler ve yüksek maliyetler gibi dezavantajları bulunmaktadır. Bu bakımdan mevcut araştırmada, doğal steroidlerin kullanımı yolu ile tamamı dişi alabalık popülasyonlarının üretimi için dolaylı yöntemlerin geliştirilmesi amaçlanmıştır. Bu çalışmada 7000 prelarval gökkuşluğu alabalığı yedi tanka eşit olarak bölünmüş ve bunlar sentetik hormonlar (3 ve 6 mg metiltestosteron -MT ve testosteron -T kg⁻¹yem) ve doğal hormonlar (50 ve 100 mg *Tribulus terrestris* -TT kg⁻¹) içeren ticari alabalık yavru yemleri (Skretting, France) ile keseli dönemden sonraki 90 gün boyunca beslenmiştir. 90 günlük ilk besleme periyodunun sonunda balıklar cinsiyetlerin makroskopik ve histolojik yöntemlerle belirlenebildiği döneme kadar hormon içermeyen ticari alabalık yemi ile beslenmiştir. Araştırma sonunda 50 ve 100 mg/kg *Tribulus terrestris* (TT) içeren yemle beslenen balıkların sıra ile %55 ve 63'ü erkek iken, 3 ve 6 mg/kg testosteron (T) içeren yemle beslenen balıkların sıra ile %51 ve 53 oranında erkek olduğu bulunmuştur. Bu durum *Tribulus terrestris*'in testostere göre alabalıkların doğrudan erkekleştirilmesinde daha etkin olduğunu fakat gruplar arasında fark bulunmamıştır. Ayrıca bu araştırma, *Tribulus terrestris* içeren (100 mg/kg mg/kg yemde) yemlerle beslenen alabalıkların diğer deneme gruplarındaki balıklara kıyasla daha yüksek canlı ağırlığa ulaştığını bildiren ilk çalışmadır. Kontrol ve deneme grupları arasında farklılaşmamış gonad yapıları bakımından önemli bir farklılık gözlenmemiştir. Sonuç olarak araştırmada, daha yüksek cinsiyet dönüşüm ve büyüme oranlarına ulaşmak için *Tribulus terrestris*'in daha yüksek konsantrasyonlarının (150, 200, 250 mg kg⁻¹) etkilerini araştırılmalıdır. Ayrıca bu konsantrasyonların gökkuşluğu alabalığında, diğer salmonid ve ticari türlerde kan testosteron seviyelerinin yanısıra gonad yapısına olan etkileri de belirlenmelidir.

Anahtar kelimeler: Testosterone, *Tribulus terrestris*, rainbow trout, histoloji, erkekleştirme, büyüme.

Abstract: Indirect methods such as masculinizing treatments by synthetic sex steroids has widely been used to produce all-female stocks in salmonids, but they have some disadvantage such as toxicity and high cost. Therefore, the main objective of this research was to develop indirect methods for the production of all-female populations of *Oncorhynchus mykiss* through the use of natural steroids. In this study seven thousand prelarval rainbow trout were divided evenly among seven tanks and fed a commercial starter trout diet supplemented with synthetic (3, 6 mg testosterone and methyltestosterone kg⁻¹ diet) and natural steroids (50 and 100 mg *Tribulus terrestris* kg⁻¹ diet) during 90 days after hatching. Fish were then further reared on a commercial trout diet until sex ratios could be determined through histological and macroscopic observations. The *Tribulus terrestris* (50 and 100 mg/kg) treatments yielded 55–63% males, while the testosterone (3 and 6 mg/kg) treatment yielded 51–53% male population. This demonstrates that *Tribulus terrestris* was effective in the direct masculinization of rainbow trout compared to testosterone, but no significant difference was observed between groups. Also, this study was the first attempt that yielding higher growth of *Oncorhynchus mykiss* fed with diets containing TT (100 mg kg⁻¹ diet) compared to other experimental groups. There were no marked differences in the structure of the undifferentiated gonads between the control group and all treatment groups. In conclusion, the effects of higher concentrations (150, 200, 250 mg kg⁻¹) of TT should be investigated to reach the higher sex reversal and growth rates, and also determined the blood testosterone levels, gonadal structure of rainbow trout and/or other salmonids, and cultivable fish species.

Keywords: Testosterone, *Tribulus terrestris*, rainbow trout, histology, masculinization, growth.

INTRODUCTION

Ingestion of synthetic steroid residues in sex reversed fish may be potentially hazardous to human consumers. According to the EU Directive 96/22/CE (29th April 1996), only the "indirect feminization" approach is authorized in European countries. This methodology requires steroid-induced functional masculinization of genetic females into so called "neomales" and their crossing with normal females to produce all-female progenies. The synthetic steroid, especially

methyltestosterone, has potential use in finfish culture due to its anabolic and also androgenic actions. Many previous efforts on the use of methyltestosterone have focused both on the effectiveness of its growth-promoting properties in various fish species (Higgs *et al.*, 1977; Yu *et al.*, 1979; Kuwaye *et al.*, 1980; Higgs *et al.*, 1982; Boney *et al.*, 1984; Degani and Dosoretz, 1986; Manzoor Ali and Satyanarayana Rao, 1989), and also on its ability to produce sex reversal when

administered to fish larvae (Nagy et al., 1981; Owuso-Frimpong and Nijhar, 1981; Rothbard et al., 1983; Solar et al., 1984; Schmelzing and Gall, 1991; Pandian and Sheela, 1995). Although it is apparent that methyltestosterone is a good argument for sex reversal in aquaculture, its human food safety has been an unresolved issue. It has been well known that higher dose exposures of methyltestosterone can cause adverse health effects such as hepatotoxicity (Lucey, 1987; Hartleb and Nowak, 1990) and fetotoxicity in humans (Wilkins et al., 1958; Grumbach and Ducharme, 1960; Wilkins, 1960; Schardein, 1980). Due to all these reasons the indirect method is preferred to direct feminization in trout culture because fish destined for market are not directly exposed to steroids. Therefore, the resulting sex reversed male broodfish must be only used for propagation and are not allowed to be sold for human consumption.

Despite indirect protocols to produce all-female populations using methyltestosterone (MT) having been published for most salmonids (Pandian and Sheela, 1995; Devlin and Nagahama, 2002), However, there is no record on the masculinisation effect of *Tribulus terrestris* (TT) in indirect sex reversal of rainbow trout instead of methyltestosterone. Gokshura, *Tribulus terrestris* (TT), is an herb that is widely distributed in China, Japan, Korea, the western part of Asia, the southern part of Europe and Africa. TT contains a number of different substances known as steroidal saponins. Protodioscin, the most dominant saponin in TT, is thought to be main substance responsible for increasing testosterone production (Ganzer et al., 2001). Protodioscin has also been found to increase the levels of non-hormonal phyto-dehydroepiandrosterone (DHEA), (Adimoelja et al., 2005) dihydrotestosterone and dehydroepiandrosteronesulphate (Gauthaman et al., 2000). It has been shown to raise testosterone levels safely and naturally in humans and is rumoured to be the secret behind the success of many top Bulgarian weightlifters (Bucci, 2000). The administration of TT to humans and animals improves the libido and spermatogenesis (Tomova et al., 1981). In humans, it has been used to treat impotence and has been found to increase testosterone levels and improve athletic performance (Adimoelja and Adaikan, 1997; Adimoelja, 2000; Adaikan et al., 2000; Bucci, 2000; Gauthaman et al., 2002). In fish, Çek et al. (2007a, b) and Turan and Çek (2007) reported the effects of TT on sex reversal, survival rate and growth performance of different fish species (*Clarias gariepinus*, *Cichlasoma nigrofasciatum* and *Poecilia reticulata*). They found successful sex reversal, spermatogenesis and better growth rates than untreated progenies.

The objective of this research was to develop an alternative method by the using TT in order to produce all-male monosex populations for the safer trout farming.

MATERIALS AND METHODS

Farming conditions

The experiments were implemented at the Tekir Trout Farm, a commercial hatchery (Kahramanmaraş, Turkey). Water was supplied from the spring of Ceyhan River, which undergoes very limited variations in water temperature between winter (10.5 °C) and summer (12.5 °C). Newly hatched seven thousands larvae used in the sex reversion trials were obtained from the commercial production involving a large number of parents (>30 females and 20 males) (Bromage et al., 1992). Broodstock and experimental fish (alevin, fry, sub adult, broodstock) were fed with commercial trout feeds during the experiments (Le Gouessant, Skretting). Broodstock reproduced naturally by hand stripping under a natural photoperiod regime without hormonal stimulation. Fries were grown in fiber glass tanks until the fry stage and were then transferred to concrete ponds for further growth. A natural spring water was continuously used to provide 80% oxygen saturation at least. Density during grow-out period did not exceed 50 kg m⁻³. Under the farm conditions, eggs began to hatch at 300 degree x days (°d) after fertilization and this was considered as the reference for the time of starting hormonal treatments.

Preparation of herbal extracts and experimental diets

The TT extract (Origin: Bulgaria) was purchased from Dietharmonie Corp. (France). The aqueous extracts of TT were prepared by boiling 50 mg of the pure and finely ground extract of TT in 250 ml distilled water for 10 minutes and 100 mg of TT in 500 ml distilled water for 20 minutes and then filtering it through a Whatman paper filter twice (Gauthaman and Adaikan, 2005; Çek et al., 2007a). The solutions were freshly prepared each time when the experimental diets finished. Diets were sprayed and mixed continuously by each concentration of the TT solution. The diets were dried at room temperature (25 °C) and stored frozen (-4°C) until their use. Methyltestosterone (MT) and testosterone (T) (Sigma, St. Louis, MO, USA) were dissolved in ethyl alcohol and sprayed into the starter trout diets at a dose 0 (control diet) or 3, 6 mg methyltestosterone and testosterone kg⁻¹ of feed. The ethyl alcohol was allowed to completely evaporate at room temperature and the diets were stored at -4°C.

Experimental design

Experiment was designed to evaluate the efficiency of oral treatments of TT compared to other synthetic hormones. Mixed sex (XX and XY) larvae were subdivided into seven groups; a control group (Group A) and six oral-treated groups receiving a diet of 3 mg testosterone kg⁻¹ diet (Group B), 6 mg T kg⁻¹ (Group C), 3 mg 17 α -methyltestosterone kg⁻¹ (Group D), 6 mg MT kg⁻¹ (Group E), 50 mg *Tribulus terrestris* kg⁻¹ (Group F) and 100 mg (TT) kg⁻¹ (Group G) delivered during 90 days from the first feeding. After the hormonal treatment, fish in all experimental groups were fed the same commercial grow-out trout feeds up to 9 months of age. At 9 months of age, 51 to 64 individuals per group were weighed and sacrificed using a lethal dose of anesthetic (2-phenoxy ethanol). The gonads were dissected and sex was determined

by visual observation of both gonads. At the termination of the experiment the number of males and females were recorded for each treatment. Gonadosomatic (GSI) and Hepatosomatic indexes (HSI) were calculated according to (Devlaminget *et al.*, 1982; Delahunty and Devlaming 1980) as follows: $GSI = (L+R) \times 100/BW$; $HSI = LW \times 100/BW$; where, LW= liver weight (g); L = left ovary weight (g); R = right ovary weight (g); BW = body weight (g). Non-parametric tests were used to determine whether the sex ratios observed were significantly different from the expected sex ratios of the rainbow trout. χ^2 tests were performed to analyze the statistical differences in the sex ratios among groups at levels of $P < 0.05$ or $P < 0.001$. The sex ratio of each experimental group was compared to a theoretical equilibrated sex ratio (50:50). Individual body weight was recorded at the time of sexing (± 0.1 g). Differences in growth within sexes among treatments were evaluated by ANOVA (Zar, 1996).

Histological procedures

One hundred forty eight specimens were sacrificed using an overdose of 2-phenoxy ethanol. After using benzocaine the artery of each fish was cut to prevent any bleeding in the body cavity. Ovaries and testes from specimens were then taken monthly during 90 days. Gonads were also dissected at the termination of the experiment and they were directly fixed in 10% neutral buffered formalin. After being, preserved in formalin for about one week, transverse sections of the central portion of the gonad samples were dehydrated in graded ethanol, embedded in paraffin, sectioned at 4-5 μm and stained with haematoxylin and eosin (MERCK) for histological examination (Çek and Yılmaz, 2009). Samples from small larvae were not decalcified but large samples were placed face down in a decalcifying for at least one hour. After histological work, all slides were examined under a light microscope (CH-2 Olympus-Japan). Sexual differentiation and developmental stages of female and male gamete cells were identified according to descriptions given by Bromage and Cumaranatunga (1988), and Çeket *et al.*, (2001). The stages of oocytes and spermatozoa development were classified on the basis of observations of changes in the nucleus, nucleoli and cytoplasm.

Table 1. Effects of synthetic and natural steroids on the growth (mean \pm standard error; weight, W, g; length, L, cm) of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) at the end of the experiment*.

Groups	Male		Female	
	W	L	W	L
A	98.80 \pm 10.74	19.02 \pm 0.75	98.80 \pm 5.86 ^b	19.83 \pm 0.49 ^b
B	105.45 \pm 7.74	19.57 \pm 0.47	72.45 \pm 7.54 ^a	17.55 \pm 0.54 ^a
C	91.64 \pm 6.40	19.42 \pm 0.59	96.27 \pm 6.07 ^b	20.05 \pm 0.63 ^b
D	103.76 \pm 3.91	19.74 \pm 0.19	**	
E	100.81 \pm 7.55	19.25 \pm 0.52	**	
F	95.06 \pm 7.45	19.67 \pm 0.54	81.24 \pm 4.79 ^{ab}	19.04 \pm 0.40 ^{ab}
G	117.09 \pm 13.37	20.54 \pm 0.73	92.14 \pm 9.49 ^{ab}	19.71 \pm 0.72 ^b

A-control group, B- lowdose of testosterone (3 mg kg⁻¹diet), C-highdose of testosterone (6 mg kg⁻¹diet), D- lowdose of methyltestosterone (3 mg kg⁻¹diet), E- highdose of methyltestosterone (6 mg kg⁻¹diet), F- lowdose of *Tribulus terrestris* (50 mg kg⁻¹diet), G- highdose of *Tribulus terrestris* (100 mg kg⁻¹diet)

*Different letters in the same columns indicate the statistical differences between groups ($P < 0.05$)

** No females were recorded

RESULTS

Effects of synthetic and natural steroids on the growth and sex ratio of *Oncorhynchus mykiss*

The current study was the first attempt that yielding higher male growth of *Oncorhynchus mykiss* fed diets containing TT (Group G, 100 mg kg⁻¹ diet) compared to other experimental groups, although females in control group had the highest weight at the end of the study ($P < 0.05$) (Table 1). Higher concentration of TT (Group G) increased the gonadosomatic index (GSI) in females. Also, higher concentrations of MT (Group E, 6 mg MT kg⁻¹ diet) and TT (Group G) elevated the HSI values of males significantly. In a similar manner, high doses of testosterone (Group C, 6 mg T kg⁻¹ diet) and TT (Group G) treatments increased HSI ratios in female rainbow trouts ($P < 0.05$) (Table 2).

The sex ratio observed in 100 fish in the control group of the experiment was nearly the expected sex ratio of 1:1 (male: female). TT treatments yielded 55–63% males, while the T treatment yielded a 51–53% male population. The sex ratio observed in the second series (Groups B and C) of the experiment was almost equal to the expected sex ratio of 1:1 (male: female). In these groups, the difference between male and female sex ratio were not statistically significant ($p > 0.001$). In the third series of the experiment, we achieved 100 and 92.59% masculinization in *O. mykiss* by oral treatment for 90 days in diet containing 6 and 3 (MT) mg kg⁻¹, respectively. Fish groups (Group F and G) treated with 50 and 100 mg kg⁻¹ doses of TT showed less masculinizing effects during the 90-day experimental period. At the termination of the experiments, MT had resulted in a statistical significant difference in the sex ratio ($p < 0.001$) compared to the other groups. MT was the most effective in terms of masculinization, resulting in a maximum male ratio of 100%. Increased concentration of TT caused an increase in the number of males produced. Testosterone was not found to be effective in producing male populations (Table 3).

Table 2. Effects of synthetic and natural steroids, and their different doses on the gonadosomatic (GSI) and hepatosomatic (HSI) indexes (%) of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) at the end of 90 d*.

Groups	Male		Female	
	GSI	HSI	GSI	HSI
A	1.09±0.72	1.15±0.11 ^{ab}	0.05±0.01 ^a	0.97±0.06 ^b
B	1.62±0.98	1.16±0.08 ^{ab}	0.06±0.02 ^a	0.72±0.09 ^a
C	1.78±0.84	1.06±0.06 ^{ab}	0.06±0.02 ^a	0.99±0.03 ^b
D	0.03±0.01	1.03±0.05 ^b	**	
E	0.02±0.01	1.26±0.08 ^a	**	
F	0.15±0.07	0.93±0.07 ^{ab}	0.07±0.01 ^{ab}	0.88±0.02 ^{ab}
G	0.48±0.40	1.23±0.13 ^b	0.08±0.01 ^b	1.04±0.07 ^b

A-controlgroup, B- lowdose of testosterone (3 mg kg⁻¹diet), C-highdose of testosterone (6 mg kg⁻¹diet), D- lowdose of methyltestosterone (3 mg kg⁻¹diet), E- highdose of methyltestosterone (6 mg kg⁻¹diet), F- lowdose of *Tribulus terrestris* (50 mg kg⁻¹diet), G- highdose of *Tribulus terrestris* (100 mg kg⁻¹diet)

*Different letters in the same columns indicate the statistical differences between groups (P<0.05)

** No females were recorded

Table 3. Masculinizationeffect of thesynthetic (testosterone and 17a- methyl testosterone) and natural (*Tribulus terrestris*) steroids on the of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss**

Sex	Treatment						
	A	B	C	D	E	F	G
Male (%)	48.00	53.70	51.85	92.59	100.00	55.55	63.46
Female (%)	52.00	46.30	48.15	7.41	0.00	44.45	36.54
χ ²	0.667	0.296	0.740	39.185*	50.074*	0.667	3.769
Asymp Sig.	0.414	0.586	0.785	0.000	0.000	0.414	0.052
df	1	1	1	1	1	1	1

A-controlgroup, B- lowdose of testosterone (3 mg kg⁻¹diet), C-highdose of testosterone (6 mg kg⁻¹diet), D- lowdose of methyltestosterone (3 mg kg⁻¹diet), E- highdose of methyltestosterone (6 mg kg⁻¹diet), F- lowdose of *Tribulus terrestris* (50 mg kg⁻¹diet), G- highdose of *Tribulus terrestris* (100 mg kg⁻¹diet)

*Indicate the statistical differences from the other groups (P<0.001)

Effects of synthetic and natural steroids on sexual differentiation and gonadal development of *Oncorhynchus mykiss*

There were no marked differences in the structure of the undifferentiated gonads among the control group and all treatment groups (synthetic and TT-treated groups) (Figure 1A). Sexual differentiation first recorded in the Group E (6 mg MT kg⁻¹ diet treated group) (Figure 1B). Latest sexual differentiation was recorded in the TT-treated groups (Figure 1C). Gonadal differentiation in the control group were similar to that of TT-treated groups. It was clearly indicated that, in all treatment groups including control, the differentiation of the primordial gonad into ovary took place at an earlier stage than that of the testes (Figure 1B and C). Differentiation in the male gonads detected just before the maturation stage. The slowest testes development was observed in the control groups (Figure 2A). In Group E, 6 mg kg⁻¹ MT- treated groups, testis has an increased number of sperm ducts and only a few spermatogenic cysts (Figure 2B). These testis' showed degeneration in seminiferous tubules which were free from spermatocytes and spermatids. (Figure 2B). Histological examination of the TT-treated testes revealed no damage to the testicular structure (Figure 2C and F). All spermatogenesis stages were present in T, MT and TT-treated male testes. However, spermatogenesis was more advanced among the

TT-treated groups (Figure 2C and F) of *O. mykiss* compared to the testosterone (Group B) and methyltestosterone treated groups (Groups D and E).

It was clearly detected that the histological response of the testis particularly in Group G (100 mg kg⁻¹ TT treatment group) included an increased number of spermatogenic cysts and an abundance of the late stages of spermatogenesis (Figure 2C and F). These testes contained a preponderance of spermatozoa in the lobular lumen. All stages of spermatogenesis, including ruptured spermatozoa were detected in the sperm ducts. Lobules containing numerous spermatocytes from early stages (spermatogonia) to complete spermatogenesis (spermatocytes, spermatids and spermatozoa) were observed. In comparison in the MT and testosterone- treated groups, free spermatozoa were only occasionally recorded, and the testis contained mostly spermatogonia and spermatocytes (Figure 2B, E, D). Ovarian development in the Group F (50 mg TT kg⁻¹ diet-treated group) was similar to that of the control and Group B (3mg T kg⁻¹ diet) (Figure 3A, B, C). In the Group E (6 mg MT kg⁻¹ diet -treated group), no female ovaries were detected. All samples were belong to the males, however in the Group D (3 mg MT kg⁻¹ diet) and Group C (6 mg T kg⁻¹ diet), the development of the ovaries were defective (Figure 3D, E). Pre-vitellogenic

oocytes were commonly affected by atresia. The first sign of atresia in the previtellogenic oocytes was the shrinkage of oocytes, which was closely accompanied by the development of clear spaces in the peripheral ooplasm (Figure 3D, E). The nucleoli that were generally arranged to form a regular layer in the nuclear envelope of normal growing previtellogenic oocytes from control, T and TT- treated groups (Figure 3B, C and F) were distributed irregularly in the nucleoplasm which

was sampled from MT-and T- treated groups (Figure 3D, E). Alpha (α) stages of atretic oocytes were clearly detectable as well. On the basis of histological examination of the TT-treated ovaries, it was concluded that TT revealed no damage to the ovarian structure (Figure 3B, C and F). Up to three stages were present in control, T and TT-treated female ovaries. However oogenesis was more advanced among the TT-treated groups (Figure 3B, C and F).

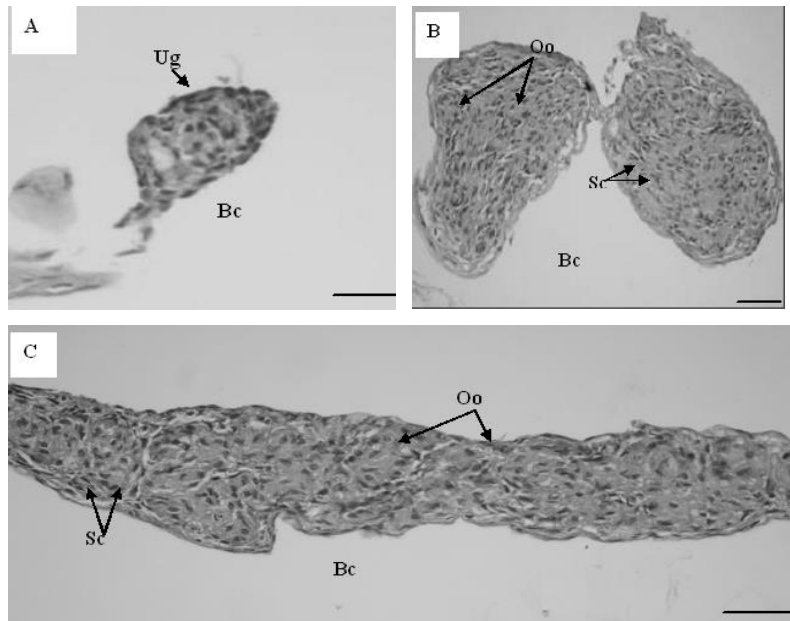


Figure 1. Transverse section of larvae, showing differentiation of the gonads in different-treatment groups. A) Transverse section of larvae, showing undifferentiated gonad, 40 day after hatching in the T- treated group, B) Transverse section of the trunk region of a 60 day old fish, taken from MT-treated group, showing the differentiated ovary within the peritoneal body cavity, C) Differentiated ovary 60 day after hatching, taken from the TT-treated group. Stained with Haematoxylin and Eosin (H&E). Oo, Oogonia, Bc, body cavity, Ug, undifferentiated gonad, Sc, somatic cells. Scale bars, A, 250 μ m, B, 50 μ m, C, 25 μ m.

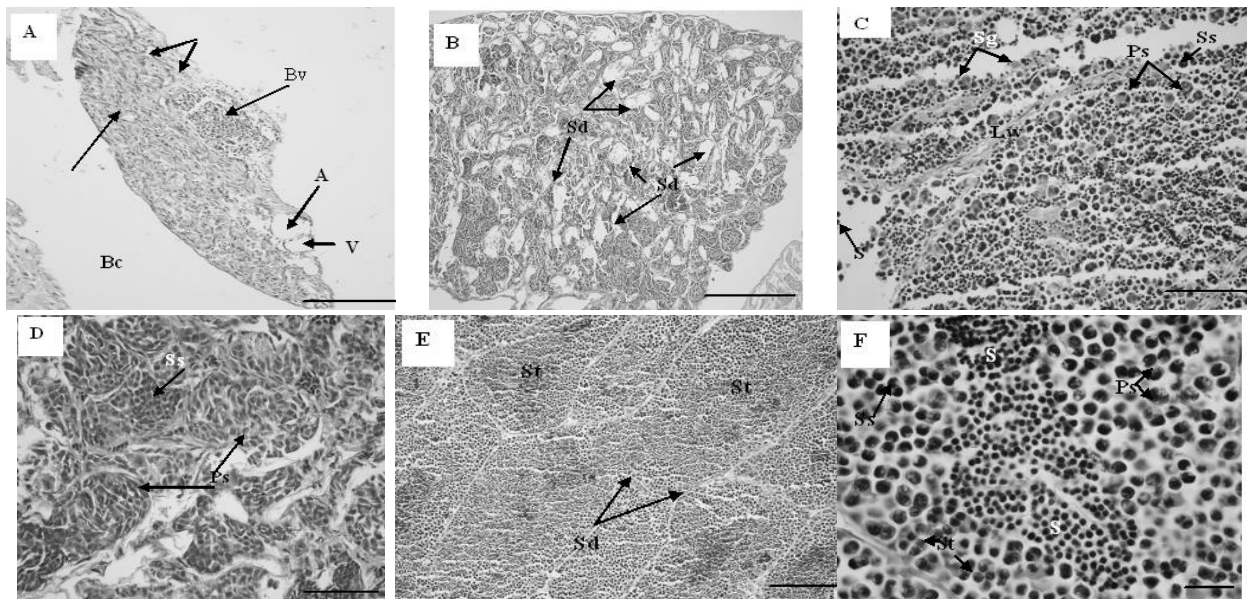


Figure 2. Comparison of histological sections from male *Oncorhynchus mykiss* testes taken from different treatment groups, at 90 days after hatching. A) Histological cross-section through a single testicular lobe that were taken from control group, B) Histological cross-section through a single testicular lobe, taken 6 mg kg⁻¹ MT-treated group, arrow shows increased number of sperm ducts. C) 50 mg kg⁻¹ TT- treated group, showing different developmental stages of spermatogenesis D) 6 mg kg⁻¹ T-treated group, showing primary and secondary spermatocytes E) 3 mg kg⁻¹ MT-treated

group, showing sperm ducts and spermatids. F) 100 mg kg⁻¹ TT- treated group, showing free sperm inside the lumen. (Stained with H&E), Bc, body cavity; Bv, blood vessel; A, artery; V, vein; S, spermatozoa; Sg, spermatogonia; Ps, primary spermatocytes; Ss, secondary spermatocytes; Lw, lobular wall; Sd, sperm duct. Scale bars, a, 250µm; b, 200 µm; d,e, 50 µm; c,f, 25 µm.

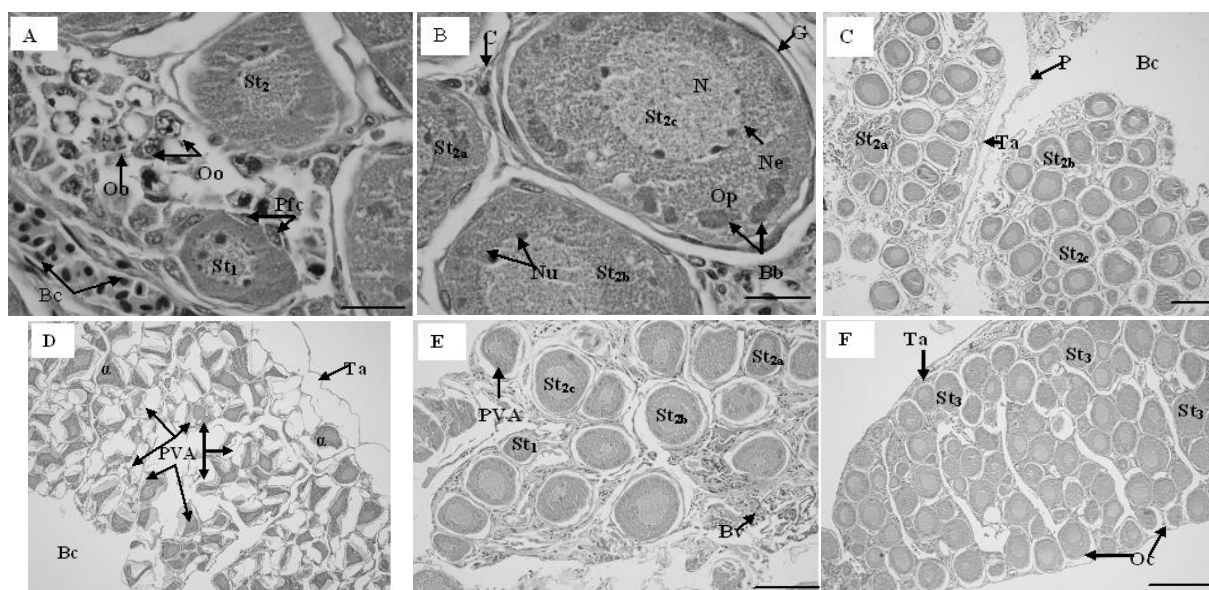


Figure 3. Comparison of histological sections from female *Oncorhynchus mykiss* ovaries taken from different treatment groups, at 90 days after hatching. A) Arrows show oogonia taken from the control group. B and C) Samples taken from 50 mg kg⁻¹ *Tribulus terrestris* (TT) treated groups. D) Sections of atreticprevitellogenic follicles that were taken from 3mg kg⁻¹ 17 α -methyltestosterone-treated groups, showing their shrinkage and disorganization as evidenced from the presence of white spaces (arrows between ooplasm and follicle wall E) Sections of atreticprevitellogenic follicle that were taken from 6 mg kg⁻¹ T -treated groups. F) Sections of normal developed ovary, showing oocytes at stage three. Sections were taken from 100 mg kg⁻¹ TT-treated groups. (Stained with H&E), PFC, pre-follicle cells; Oo, oogonia; Bv, blood vessel; St₁, stage 1 oocytes; St_{2a}, stage 2a oocytes; St_{2b}, stage 2b oocytes; St_{2c}, stage 2c oocytes; St₃, stage 3 oocytes; C, connective tissue; G, granulosa; N, nucleus; Ne, nuclear envelope; Nu, nucleoli; Op, ooplasm; Bb, balbiani bodies (yolk nuclei); Th, theca; P, peritoneum (mesovarium), Bc, body cavity; Ta, tunica albugenia, PVA, pre-vitellogenic atresia; Oc, ovarian cavity Scale bars, a,b= 25µm, c=200 µm, d,e,f= 250 µm.

DISCUSSION

The main objective of the present investigation was to improve the indirect feminization methods in rainbow trout through the use of a natural steroid (*Tribulus terrestris*, TT). TT treatment is a more effective method than the administration of synthetic hormone in terms of being more environmental friendly. In addition, the persistence and fate of synthetic hormones and hormone metabolites in fish, water and sediment may represent potential environmentally and health risks that have to be considered when using hormonal sex control technology (Contreras-Sanchez et al., 2001). Therefore fish offered to the consumer will not be treated with synthetic hormones, and producers may have an alternative method for producing monosex populations based on natural products.

To this end, we used *Tribulus terrestris* (TT) and find out that TT extract alone was effective at higher dose level (100 mg kg⁻¹) in increasing the proportion of males in the population, advancing spermatogenesis and improving the growth performance among male individuals. In respect to anabolic effect, the current study was the first and only attempt reporting the anabolic performance of TT on growth for *O. mykiss* (Table 1). In addition, the anabolic effects of synthetic MT on growth had also been reported in rainbow trout before (Ostrowski and Garling 1987). Growth promoting

effects of synthetic androgen treatments have previously been reported in teleosts, possibly due to increased appetite and enhanced food utilization and protein synthesis (Donaldson et al., 1979; Mukhopadhyay et al., 1986; Jayaprakas and Sindhu, 1996; Fagerlund and Dye, 1979; Grau, 1993). In the present study, the growth rate of fish treated with higher concentration of *Tribulus terrestris* (TT) was found to be faster than that of the controls, testosterone (T) and methyltestosterone (MT)-treated groups (Table 1). The effects of the TT extract on body weight have been studied by Çek et al. (2007a) in *Cichlasoma nigrofasciatum* and in *Poecilia reticulata* (Çek et al. 2007b) and by Turan and Çek (2007) in *Clarias gariepinus*. Çek et al., (2007) found an increase in body weight, sexual differentiation and spermatogenesis. In addition, they concluded that TT had no negative effect on the survival rate of *C. gariepinus*. In addition, in our study, TT-treated fish exhibited high survival (almost no mortality), improved spermatogenesis and masculinization. While these findings are not contradictory with the present results, there is a lack of information in the literature on the effects of a plant extract on sex-reversal, gonad differentiation and/or development, and growth performance in *O. mykiss*. We demonstrate here, for the first time, that TT- extracts are potent and able to induce a higher rate of growth in male *O. mykiss* compared to other experimental groups.

Survival rates at the termination of the present experiment, in the control were found similar to those observed in the TT-treated groups, and were almost 100%. TT was not found to be toxic to humans by Adimoelja (2000) and to rabbits by Adaikan *et al.* (2000). Tapia *et al.* (1994); Waller and Yamasaki (1996); and Aslani *et al.*, (2004) studied the toxicity of TT in livestock and concluded that the consumption of TT by livestock led to the photosensitization syndrome known as yellow thick head. In these studies, TT was not purified and it was fed to the animals ad libitum for at least 2 months. Photosensitization has not been observed in humans and is highly unlikely in fish at the recommended dosage (personal communication from A. Adimolja). Kavitha and Jagadessan (2002, 2003) studied the role of the TT extract on mercury-intoxicated mice, *Mus musculus*. In their study, a lethal dose of mercuric chloride was administered through the drinking water to female mice every day for 45 days. Its toxicity altered the histo-architecture of the large intestine. During the recovery period, the mice were dosed with a TT extract of different solvent fractions for 15 days; these mice showed a complete regeneration of the large intestine from the toxic effect of the mercury. In the present study photosensitization was not observed, and the survival ratios of the TT-treated groups of *O. mykiss* were not different than that of the control groups. However, the toxicity of TT in fish (if present) needs to be studied. We also determined in this study that TT was not harmful by inhalation and that absorption through the skin did not cause irritation. Synthetic androgens are harmful when inhaled, ingested and/or absorbed through the skin and can cause irritation.

There are few study concentrates on the masculinizing effect of *Tribulus terrestris* in fish and the other experimental animals. A previous attempt by Gauthaman *et al.* (2002) to determine the aphrodisiac properties of TT in normal and castrated rats yielded successful results. They concluded that the TT extract increases testosterone levels in rats. Also, in

earlier studies, the masculinization effect of TT was found significant in two aquarium species, convict cichlid (*Cichlasoma nigrofasciatum*) and guppy (*Poecilia reticulata*) by Çek *et al.* (2007a and 2007b) and in African catfish (*Clarias gariepinus*) by Turan and Çek (2007), respectively. Although the present research provides evidence that higher concentration of TT treatment (Group G) result in a high rate of masculinization comparing to the lower TT treated group (Group F), whether this potency is caused by increases in androgens or testosterone cannot be deduced from the present results, as we did not measure plasma testosterone level during the experiment. When compared with the other studies, masculinization rate was lower (63.46%) in the present study, this was interpreted as the level of TT was lower and/or inadequate level in the diet. However, to the best of our knowledge prior to the present research, the potency of TT/or a plant extract as a masculinizing agent in *O. mykiss* has not been reported before. Therefore, it could be advised to investigate the testosterone-releasing property and optimum concentration of TT promoting the higher sex reversal of rainbow trout, *O. mykiss*. Future researches aiming to measure the amount of testosterone levels after TT treatment in *O. mykiss* may provide more conclusive evidence in terms of the effects of TT on the sex ratio and whether it can be successfully used as an agent and/or a method in *O. mykiss* culture. Further investigations are also necessary to determine the effects of TT on the other cultivable fish species. In conclusion, the effects of higher concentrations (150, 200, 250 mg kg⁻¹) of *Tribulus terrestris* should be investigated to reach the higher sex reversal and growth rates, and also determined the blood testosterone levels, gonadal structure of rainbow trout and other salmonids, and/or cultivable fish species.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors thank to Tekir Trout Farm for its cooperation and valuable helps during the study period.

REFERENCES

- Adaikan, P.G., Gauthaman, K., Ng, R.N.V., Prasad, S.C., 2000. Proerectile pharmacological effects of *Tribulus terrestris* on the rabbit corpus cavernosum. *Annals Academy of Medicine Singapore*, 29(1): 22–26.
- Adimoelja, A., Adaikan, P.G., 1997. Protodioscin from herbal plant *Tribulus terrestris* L. improves male sexual functions possibly via DHEA. *International Journal of Impotence Research*, 9(1): 64.
- Adimoelja, A., 2000. Photochemical and the breakthrough of traditional herbs in the management of sexual dysfunctions. *International Journal of Andrology*, 23(2): 82–84. doi: 10.1046/j.1365-2605.2000.00020.x
- Adimoelja, A., Sartono, S., Soedjono, J., 2005. Phyto-DHEA treatment, an alternative option for aging men. *International Journal of Andrology*, 28(1): 25
- Aslani, M.R., Movassaghi, A.R., Mohri, M., Ebrahim-pour, V., Mohebi, A.N., 2004. Experimental *Tribulus terrestris* poisoning in goats. *Small Ruminant Resources*, 51: 261–267. doi: 10.1016/S0921-4488(03)00195-0
- Boney, S.E., Shelton, W.L., Yang, S., Wilken, L.O., 1984. Sex reversal and breeding of grass carp. *Transactions of the American Fisheries Society*, 113: 348–353. doi: 10.1577/1548-8659(1984)113<348:SRABOG>2.0.CO;2
- Bromage, N.R., Cumarantunga, P.R.T., 1988. Oocyte development in the rainbow trout with special reference to vitellogenesis and atresia. In: *3rd International Symposium Reproductive Physiology of Fish 1988*, Newfoundland, Proceedings Book, D.R. Idler, L.W. Crim, J.M. Walsh (Eds.), pp. 194.
- Bromage, N., J. Jones, C. Randall, M. Thrush, B. Davies, J. Springate, J. Duston, Barker, G., 1992. Broodstock management, fecundity, egg quality and the timing of egg production in the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 100 (1-3): 141-166. doi: 10.1016/0044-8486(92)90355-0
- Bucci, L.R., 2000. Selected herbals and human exercise performance. *American Journal of Clinical Nutrition*, 72 (2): 36-624.
- Contreras-Sanchez, W.M., Fitzpatrick, M.S., Schreck, C.B., 2001. Fate of methyl testosterone in the pond environment: detection of Mt in pond soil from a CRSP site. In: *18th Annual Tech Report 2001, Corvallis, Oregon, Oregon State University, Pond Dynamics/Aquaculture Collaborative Research Support Program*, A. Gupta, K. McElwee, D. Burke, J. Burrigot, X. Cummings, X. H. Egn (Eds.), pp. 79–82.

- Çek, Ş., Bromage, N., Randal, C., Rana, K., 2001. Oogenesis, Hepatosomatic and Gonadosomatic Indexes, and Sex Ratio in Rosy barb (*Puntiusconchonius*). *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 1(1):33-41.
- Çek, Ş., Turan, F., Atik, E., 2007a. Masculinization of convict cichlid (*Cichlasoma nigrofasciatum*) by immersion in *Tribulus terrestris* extract. *Aquaculture International*, 15(2):109-119. doi: [10.1007/s10499-006-9071-0](https://doi.org/10.1007/s10499-006-9071-0)
- Çek, Ş., Turan, F., Atik, E., 2007b. The effects of Gokshura, *Tribulus terrestris* on sex reversal of Guppy, *Poecilia reticulata*. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 10(5): 718-725. doi: [10.3923/pjbs.2007.718.725](https://doi.org/10.3923/pjbs.2007.718.725)
- Çek, Ş., Yılmaz, E., 2009. The effect of varying dietary energy on gonad development at first sexual maturity of the Sharptooth catfish (*Clarias gariepinus* Burchell, 1822) *Aquaculture International*, 17 (6): 553-563. doi: [10.1007/s10499-008-9224-4](https://doi.org/10.1007/s10499-008-9224-4)
- Degani, G., Dosoretz, C., 1986. The effect of 3,3%,5-triiodo-L-thyronine and 17 α -methyltestosterone on growth and body composition of the glass stage of the eel (*Anguilla Anguilla* L.). *Fish Physiology and Biochemistry*, 1: 145–151. doi: [10.1007/BF02290255](https://doi.org/10.1007/BF02290255)
- Delahunty, G., De Vlaming, V.L., 1980. Seasonal relationship of ovary weight, liver weight and fat stores with body weight in the goldfish, *Carassius auratus* (L.). *Journal of Fish Biology*, 16: 5-13. doi: [10.1111/j.1095-8649.1980.tb03683.x](https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.1980.tb03683.x)
- Devlaming, V., Grossman, G., Chapman, F., 1982. On the use of gonadosomatic index. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 73A: 31-39. doi: [10.1016/0300-9629\(82\)90088-3](https://doi.org/10.1016/0300-9629(82)90088-3)
- Devlin, R. H., Nagahama, Y., 2002. Sex determination and sex differentiation in fish: an overview of genetic, physiological, and environmental influences. *Aquaculture*, 208 (3-4): 191-364. doi: [10.1016/S0044-8486\(02\)00057-1](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(02)00057-1)
- Donaldson, E.M., Fagerlund, U.H.M., Higgs, D.A., McBride, J.R., 1979. Hormonal enhancement of growth. In: *Fish Physiology*, W.S Hoar, D.J. Randall, J.R. Brett (Eds.). *Academic Press*, New York, 455– 597 p.
- Fagerlund, U.H.M., Dye, H.M., 1979. Depletion of radioactivity from yearling coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) after extended ingestion of anabolically effective dose of 17 α -methyltestosterone-1,2-³H. *Aquaculture*, 18: 303–15. doi: [10.1016/0044-8486\(79\)90034-6](https://doi.org/10.1016/0044-8486(79)90034-6)
- Ganzer, M., Bedir, E., Khan, I.A., 2001. Determination of steroidal saponins in *Tribulus terrestris* by reversed-phase high-performance liquid chromatography and evaporative light scattering detection. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 90(11): 1752-1758. doi: [10.1002/jps.1124](https://doi.org/10.1002/jps.1124)
- Gauthaman, K., Adaikan, P. G., Prasad, R. N. V., Goh, V. H. H., Ng, S.C., 2000. Changes in hormonal parameters secondary to intravenous administration of *Tribulus terrestris* extract in primates. *International Journal of Impotence Research*, 12(2): 6
- Gauthaman, K., Adaikan, P.G., Prasad, R.N.V., 2002. Aphrodisiac properties of *Tribulus terrestris* extract (Protodioscin) in normal and castrated rats. *Life Science*, 71(12): 1385–1396. doi: [10.1016/S0024-3205\(02\)01858-1](https://doi.org/10.1016/S0024-3205(02)01858-1)
- Gauthaman, K., Adaikan, P.G., 2005. Effect of *Tribulus terrestris* on nicotinamide adenine dinucleotide phosphate-diaphorase activity and androgen receptors in rat brain. *Journal of Ethnopharmacology*, 96(1-2):127-132. doi: [10.1016/j.jep.2004.08.030](https://doi.org/10.1016/j.jep.2004.08.030)
- Grau, E.G., 1993. Effect of 17 α -methyltestosterone on the growth of the euryhaline tilapia, *Oreochromis mossambicus*, in fresh water and in sea water. *Aquaculture*, 113:137–52. doi: [10.1016/0044-8486\(93\)90347-2](https://doi.org/10.1016/0044-8486(93)90347-2)
- Grumbach, M.M., Ducharme, J.R., 1960. The effects of androgens on fetal sexual development: androgen-induced female pseudohermaphroditism. *Fertility and Sterility*, 11: 157–180.
- Hartleb, M., Nowak, A., 1990. Severe jaundice with destructive cholangitis after administration of methyltestosterone. *American Journal of Gastroenterology*, 85: 766–767.
- Higgs, D.A., Fagerlund, U.H.M., McBride, J.R., Dye, H.M., Donaldson, E.M., 1977. Influence of combinations of bovine growth hormone, 17 α -methyltestosterone and L-thyroxine on growth of yearling coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *Canadian Journal of Zoology*, 55: 1048–1056. doi: [10.1139/z77-133](https://doi.org/10.1139/z77-133)
- Higgs, D.A., Fagerlund, U.H.M., Eales, J.G., McBride, J.R., 1982. Application of thyroid and steroid hormones as anabolic agents in fish culture. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 73B: 143–76.
- Jayaprakas, V., Sindhu, B.S., 1996. Effect of hormones on growth and food utilization of the Indian major carp, *Cirrhinus mrigala*. *Fisheries Technology*, 33: 21–27.
- Kavitha, A.V., Jagadessan, G., 2002. In vivo studies on the role of *Tribulus terrestris* extract on mercury intoxicated mice, *Mus musculus* (Linn.) large intestine—a histological survey. *Indian Journal of Experimental Zoology*, 6(2), 213–219.
- Kavitha, A.V., Jagadessan, G., 2003. Histopathological alterations in small intestine of mercury intoxicated mice, *Mus musculus* (Linn.) in response to *Tribulus terrestris* (Zygophyllaceae) extract. *Pollen Research*, 23(3):343–347.
- Kuwaye, T.T., Okimoto, D.K., Shimoda, S.K., Howerton, R.D., Lin, H.R., Pang, P.K.T., Lone, K.P., Matty, A.J., 1980. The effect of feeding methyltestosterone on the growth and body composition of common carp (*Cyprinus carpio* L.). *General and Comparative Endocrinology*, 40: 409. doi: [10.1016/0016-6480\(80\)90004-0](https://doi.org/10.1016/0016-6480(80)90004-0)
- Lucey, M.R., 1987. Severe cholestasis associated with methyltestosterone: a case report. *American Journal of Gastroenterology*, 82: 461–462.
- Manzoor Ali, P.K.M., Satyanarayana Rao, G.P., 1989. Growth improvements in carp, *Cyprinus carpio* (Linnaeus), sterilized with 17 α -methyltestosterone. *Aquaculture*, 76: 157–167. doi: [10.1016/0044-8486\(89\)90260-3](https://doi.org/10.1016/0044-8486(89)90260-3)
- Mukhopadhyay, P.K., Venkatesh, B., Das, P., 1986. Growth and some biochemical changes in *Clarias batrachus* due to methyl testosterone. *Indian Journal of Fisheries*, 33: 262–269.
- Nagy, A., Bercsenyi, M., Csanyi, V. 1981. Sex reversal in carp (*Cyprinus carpio*) by oral administration of methyltestosterone. *Canadian Journal of Fisheries & Aquatic Sciences*, 38:725– 8. doi: [10.1139/f81-096](https://doi.org/10.1139/f81-096)
- Ostrowski, A.C., Garling, D.L. Jr., 1987. Effect of 17 α -methyltestosterone treatment and withdrawal on growth and dietary protein utilization of juvenile rainbow trout fed practical diets varying in protein level. *Journal World Aquaculture Society*, 18:71–7. doi: [10.1111/j.1749-7345.1987.tb00420.x](https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.1987.tb00420.x)
- Owusu-Frimpong, M., Nijhar, B., 1981. Induced sex reversal in *Tilapia nilotica* (Cichlidae) with methyltestosterone. *Hydrobiologia*, 78: 157-160. doi: [10.1007/BF00007590](https://doi.org/10.1007/BF00007590)
- Pandian, T., Sheela, S.G., 1995. Hormonal induction of sex reversal in fish. *Aquaculture*, 138:1-22. doi: [10.1016/0044-8486\(95\)01075-0](https://doi.org/10.1016/0044-8486(95)01075-0)
- Rothbard, S., Solink, E., Shabbath, S., Amado, R., Grabi, I., 1983. The technology of mass production of hormonally sex-inversed all male tilapia. In: *International Symposium on Tilapia in Aquaculture 1983*, Tel Aviv University, Tel Aviv, L. Fishelson, Z. Yaron (Eds.), pp. 425-434.
- Schardein, J.L., 1980. Congenital abnormalities and hormones during pregnancy: a clinical review. *Teratology*, 22: 251–270. doi: [10.1002/tera.1420220302](https://doi.org/10.1002/tera.1420220302)
- Schmelzing, O.Th., Gall, G.A.E., 1991. Use of 17 α -methyltestosterone to sex inverse gynogenic female rainbow trout. *Journal of Applied Ichthyology*, 7(2): 120-128. doi: [10.1111/j.1439-0426.1991.tb00518.x](https://doi.org/10.1111/j.1439-0426.1991.tb00518.x)
- Solar, I.I., Donaldson, E.M., Hunter, G.A., 1984. Induction of triploidy in rainbow trout (*SalmogairdneriRichardson*) by heat shock, and investigation of early growth. *Aquaculture*, 42: 57-68. doi: [10.1016/0044-8486\(84\)90313-2](https://doi.org/10.1016/0044-8486(84)90313-2)
- Tapia, M.O., Giordano, M.A., Gueper, H.G., 1994. An outbreak of hepatogenous photosensitization in sheep grazing *Tribulus terrestris* in Argentina. *Veterinary and Human Toxicology*, 36(4):311–313.

- Tomova, M., Gjulemetova, R., Zarkova, S., Peeva, S., Pangarova, T., Simova, M., 1981. Steroidal saponins from *Tribulus terrestris* L. with a stimulating action on the sexual functions. *First International Conference on Chemical Biotechnology and Biologically Active Natural Products 1981, Varna, September, Proceedings Book*, pp. 299-303.
- Turan, F., Çek, Ş., 2007. Masculinization of African Catfish (*Clarias gariepinus*) treated with Gokshura (*Tribulus terrestris*). *The Israeli Journal of Aquaculture*, 59(4): 224-229.
- Waller, G.R., Yamasaki, K., 1996. Saponins used in food and agriculture. *Advances in Experimental Medicine and Biology*. Plenum Press, New York, 381–382 p.
- Wilkins, L., Jones, H.W., Stempf, R.S., 1958. Masculinization of the female fetus associated with the administration of oral and intramuscular progestin during gestation: non-adrenal pseudohermaphroditism. *Journal of Clinical Endocrinology*, 18: 559–585. doi: [10.1210/jcem-18-6-559](https://doi.org/10.1210/jcem-18-6-559)
- Wilkins, L., 1960. Masculinization of the female fetus due to the use of orally given progestins. *Journal of American Medical Association*, 172: 1028–1032. doi: [10.1001/jama.1960.03020100036007](https://doi.org/10.1001/jama.1960.03020100036007)
- Yu, T.C., Sinnhuber, R.O., Hendricks, J.D., 1979. Effect of steroid hormones on the growth of juvenile coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *Aquaculture*, 16: 351–359. doi: [10.1016/0044-8486\(79\)90074-7](https://doi.org/10.1016/0044-8486(79)90074-7)
- Zar, J.H., 1996. *Biostatistical Analysis*. Third edition. Prentice Hall. Upper Saddle River, NJ, USA, 662p.

Fethiye yöresinde (Akdeniz) pelajik Kılıç balığı paraketalarının av verimini arttırmak için kullanılan ışık çubukları üzerine denemeler#

Light stick trials, being used for boosting catch efficiency, on pelagic longline for swordfish in Fethiye region (Mediterranean Sea)

M. Tolga Tüzen • Tevfik Ceyhan* • Okan Akyol • C. Mert Özkan

Ege Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi 35100 Bornova /İzmir
*Corresponding author: tevfikceyhan@gmail.com

Abstract: In this study, catch efficiency of light sticks on pelagic swordfish longline were studied. This study was carried out from September 20th of 2012 to December 31st of 2012 in Fethiye region and a total of 10 fishing operations were performed. All measurements were made on board. CPUE data of 50 swordfish that caught were compared in terms of total, lightened zone and dark zone. Mean CPUE was 131±22.72 kg/1000 hooks, CPUE of lightened zone was 352±61.32 kg/1000 hooks and CPUE of dark zone was 20±4.76 kg/1000 hooks. A total of 9 different species were caught during operations. The target species, *Xiphias gladius* had the highest ratio both in number (81.2%) followed by *Muraena helena*>*Coryphaena hippurus*≥*Ruvettus pretiosus*>*Carcharhinus plumbeus*≥*Lobotes surinamensis*>*Prionace glauca*≥*Alopias vulpinus* ≥ *Isurus oxyrinchus*.

Keywords: Swordfish, *Xiphias gladius*, pelagic longline, light stick

Özet Bu çalışmada, kılıç balıklarının pelajik paraketalar ile avcılığında ışık çubuklarının av verimi üzerine etkisi araştırılmıştır. 20 Eylül 2012 – 31 Aralık 2012 tarihleri arasında Fethiye bölgesinde toplamda on operasyona çıkılmış ve ölçümler tekne üzerinde yapılmıştır. Yakalanan kılıç balıklarının (n=50) genel, ışıklı bölge ve ışiksiz bölge olarak ayrı ayrı birim çaba başına düşen av verimleri (CPUE) elde edilmiş ve karşılaştırılmıştır. Genel CPUE 131±22.72 kg/1000 iğne, ışıklı kısımda CPUE 352±61.32 kg/1000 iğne ve ışiksiz kısımda CPUE 20±4.76 kg/1000 iğne olarak elde edilmiştir. Operasyonlar süresince paraketada 9 farklı tür yakalanmıştır. Birey sayısı bakımından *Xiphias gladius* (%81) en yüksek orana sahiptir ve bunu *Muraena helena*>*Coryphaena hippurus*≥*Ruvettus pretiosus*>*Carcharhinus plumbeus*≥*Lobotes surinamensis*>*Prionace glauca*≥*Alopias vulpinus* ≥ *Isurus oxyrinchus* takip etmiştir.

Anahtar kelimeler: Kılıçbalığı, *Xiphias gladius*, pelajik paraketa, ışık çubuğu
Bu çalışma, M. Tolga Tüzen'in Yüksek Lisans Tezinin bir bölümüdür.

GİRİŞ

Paraketa, deniz yüzeyinde şamandıralarla tutturulmuş bir ana bedene bağlı bir seri yemli kancalardan ibaret av araçlarıdır. Açık deniz paraketa balıkçılığı 1950'lerde başlamıştır. İlk zamanlar tülina (*Thunnus alalunga*) ve kılıç balığını (*Xiphias gladius*) hedefleyen bu av araçlarını kullanan Japon balıkçılar 1960'larda Japonya'daki *sashimi* marketleri için sarı yüzgeç orkinos (*Thunnus albacares*) ve kocağöz orkinos (*Thunnus obesus*) gibi ton balıklarını da hedeflemeye başlamışlardır (Sakagawa, 1989; Wildman, 1997). Şimdilerde dünya kılıç avının yarısından fazlası, orkinos hedefleyen bu açık deniz paraketalarıyla tesadüfi olarak yakalanmaktadır (Ward vd., 2000). Buna mukabil, Akdeniz'de pelajik paraketalar ise sadece kılıç balıklarını hedeflemektedir ve Akdeniz kılıç avının %76'sı paraketalardan elde edilmektedir (ICCAT, 2008).

Işık çubuğu (ligh-stick), iki farklı kimyasal solüsyonun karışmasıyla çeşitli renklerde uzun süreli ışık üreten ticari bir üründür (Ermoshkin vd., 2006). Işık içinde etken solüsyon bulunduğu cam tüpün kırılıp dış kısımdaki solüsyonla tepkimeye girmesi sonucu oluşur. Cam tüp içerisindeki etken solüsyonda hidrojen peroksit ve dimetil flalat çözeltisi (1,2-

benzendikarboksilik asit dimetil ester) bulunur. İkinci solüsyonda bis (2-karbopentiloksi-3,5,6-triklorofenil) oksalat [oksalik asit bis (2,4,6-triklorofenil) ester] ve dibütül flalat çözeltisinde boya solüsyonu (1,2-benzendikarboksilik asit dibütül ester) bulunur (Pedersen vd., 2003). Işık çubukları paraketa balıkçılığında yaygın bir biçimde hedef türü cezbetmek ve av verimini artırmak amacıyla köstek üzerinde kancanın yukarısına takılarak kullanılır (Witzell, 1999).

1975 yılında kılıç avcılığında ışık çubuğu kullanımı ilk kez Florida'da profesyonel kiralama tekneleri ve amatör oltaçılar tarafından denenmiştir. Av oranının yüksek olması ile birlikte paraketa tekneleri tarafından da denenilen ışık çubukları birçok yerde kılıç balıkçılığında yaygın kullanılmaya başlanmıştır (Berkeley vd., 1981). 1980'lerin sonunda ise, Şili gibi ülkelerde kılıç ağı kullanan bazı balıkçılar av oranlarını arttırmak için bu ışık çubuklarını yüzer ağlarına takmışlardır (Weidner ve Serrano, 1997).

Işık çubuklarını içeren çalışmalar genellikle bunların balıklar üzerindeki cezbedici etkisini arttırmaya yönelik yapılmaktadır (Hazin vd., 2005). Değişik bölge ve zamanlarda

yapılan bu araştırmalar sonucunda, kılıç balıklarının mavi-yeşil dalga boylarını ayırt ettikleri (Fritsches ve Warrant,2004) ve ışık çubuğu kullanımının paraketa ile avcılıkta birim çabaya düşen av veriminin artırılmasında rol oynadığı ortaya konulmuştur (Berkeley vd., 1981; Wilson, 1988; Freeman, 1989; Ito vd., 1998; Murray ve Griggs, 2003; Fritsches ve Warrant 2004; Hazin vd., 2002, 2005; Aires-da Silva vd., 2008).

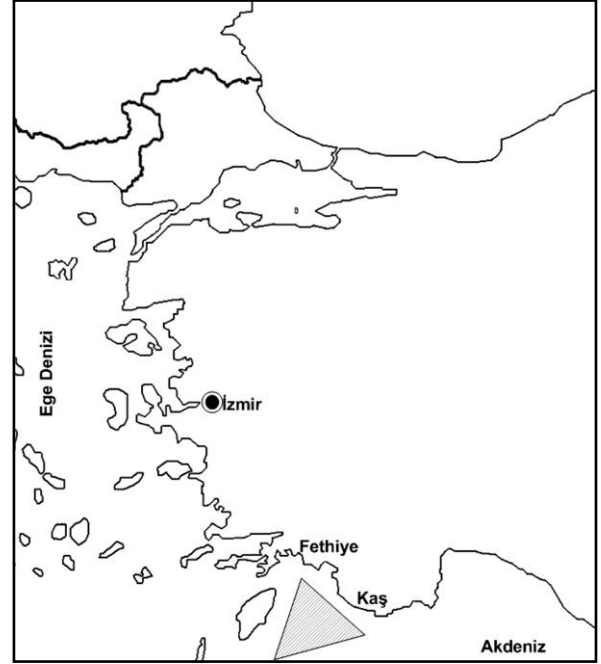
Türkiye'de ise kılıç balıkları 1900'lerin başından itibaren Marmara Denizi ve İstanbul Boğazı'nda zıpkın ve sürüklenen pelajik uzatma ağları (yüzer ağlar, drift-net) kullanılarak avlanmıştır (Deveciyan, 1926; Üner, 1968). Bu av sahalarında 1960'lara gelindiğinde zıpkının ve uzatma ağlarının yanında, paraketalar da kullanılmaya başlanmıştır (Artüz, 1964; Onat, 1970). Türkiye sularında 11 farklı tip kılıç paraketası tespit edilmiştir (Akyol ve Ceyhan, 2007).

Atlantik'te balıkçılar, geceleri 20 - 90 m derinliklerde kalamar gibi yemler kullanarak kimyasal ışık çubukları ile (Ward vd., 2000) paraketalarını kullanmaktadır. Türkiye denizlerinde ise bu tip bir uygulama bulunmamaktadır.

Türkiye'de ışık çubukları üzerine yapılan bu ilk çalışmanın amacı, Fethiye yöresinde geleneksel pelajik kılıç paraketalarına ışık çubukları eklenerek, ışıklı ve ışısız kısımlarda yakalanan kılıç balıklarının boyutlarının ve birim çabaya düşen av verilerinin ortaya konması ve çıkan hedef dişi türlerin belirlenmesidir.

MATERYAL VE YÖNTEM

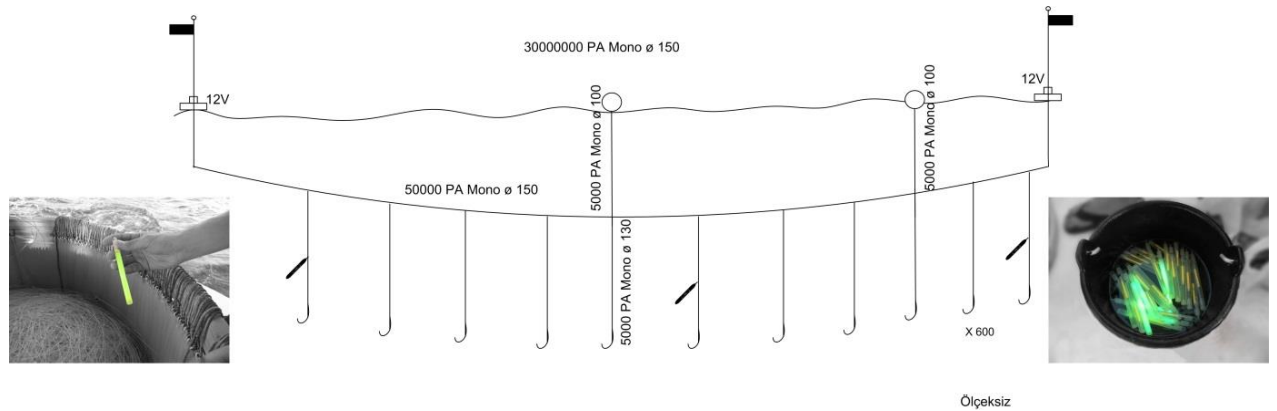
Bu araştırma, 20 Eylül 2012 – 31 Aralık 2012 tarihleri arasında Fethiye limanına bağlı 14 m uzunluğunda, 360 HP motor gücüne sahip 'Salih Reis I' teknesi ile yürütülmüştür. Araştırmanın yapıldığı av sahası, Fethiye – Rodos Adası arasındaki hattın güneydoğusuna doğru (Akdeniz) Kaş açıklarına kadar olan 1500-2000 m derinliğindeki ulusal ve uluslararası bögedir (şekil 1).



şekil 1. Araştırma sahası
Figure 1. Research area

Araştırmada 600 iğnelik toplam uzunluğu 30 km olan geleneksel bir pelajik paraketa kullanılmıştır. Paraketa, gün batımında atılmış ve gün doğmadan hemen önce toplanmıştır. Beden için 150, köstek için 130'luk misina kullanılmıştır. Köstekler arası mesafe 50 m olup, kösteklerin uzunluğu 5 m'dir. Paraketada 2 numara kanca kullanılmıştır. Takım toplamda 7 adet çakarlı büyük şamandıra içermektedir (şekil 2). Bu şamandıralar her 100 iğnede bir suya atılmaktadır. Her 5-6 iğnede bir küçük şamandıra olarak pet şişe kullanılmıştır. Pet şişelerin bağlandığı misininin uzunluğu 5 m'dir.

Her operasyonda 50 adet olmak üzere, 10 operasyon sonunda toplam 500 adet ışık çubuğu kullanılmıştır. Işık çubukları her operasyonda 600 iğnelik paraketanın ilk 200 iğnesinin bulunduğu kısımda kullanılmıştır.



şekil 2. Örneklemede kullanılan paraketa
Figure 2. The longline used in sampling

Yeşil renk veren ışık çubukları her dört iğnede bir kösteklerde kancanın 1.5 m yukarısına konumlandırılmıştır. Yem olarak, uskumru ve kalamar tercih edilmiştir. Yemler genellikle iğneye bütün olarak takılmış, fakat büyük olan bazı uskumrular ortadan ikiye çapraz biçimde kesilerek takılmıştır.

Operasyonlarda elde edilen kılıç balıklarının, alt çeneden ölçülen çatal boyları (LJFL=Lower Jaw Fork Length, ± 1 cm) ve ağırlıkları (± 10 g) ölçülmüştür.

Balıkçılık gücü (f), $f = (a'/1000) \times g$ formülüyle hesaplanmıştır (De Metro ve Megalofonou, 1988). Buna göre ($a'/1000$), denizde günlük atılan ve 1000 iğne olarak ele alınmış çabanın bir ünitesi; g, çalışılan gün sayısıdır. Birim çabaya düşen av miktarı ise adet olarak $CPUE_N = N/f$, biyokütle olarak $CPUE_B = kg/f$ 'dir.

Işıklı kısım ve ışısız kısmın ağırlıkça ve sayı olarak birim çabaya düşen av verimlerinin (CPUE) karşılaştırılmasında normalite ve eşdeğerliliği test etmek için her veri Kolmogorov-Smirnov (Zar, 1999) testi kullanılarak hesaplanmıştır. Ancak anlamlı sonuç elde edilemediği için değerlendirme student-t-testi ile $\log(CPUE)+1$ dönüşümü uygulanarak yapılmıştır. Bütün sonuçlar standart hata ($\pm SH$) ile verilmiştir.

BULGULAR

Takımının toplamda 600 olan iğne sayısı, ışıklı kısım için 200 ve ışısız kısım için ise 400 iğne olacak şekilde iki bölümde karşılaştırılmıştır. Toplam 10 operasyonun sonucu ışıklı kısımdaki 200 iğnenin CPUE 352 ± 61.32 kg/1000 iğne; ışısız kısımdaki 400 iğnenin ağırlıkça CPUE 20 ± 4.76 kg/1000 iğne olarak ve tüm operasyonların CPUE ortalaması 131 ± 71.85 kg/1000 iğne olarak hesaplanmıştır. Paraketanın ışık çubuğu kullanılan kısmı ile kullanılmayan kısmından elde edilen CPUE verileri karşılaştırıldığında aradaki fark istatistikî açıdan önemli bulunmuştur ($P < 0.05$). Birey sayısı olarak ışıklı kısımda CPUE ortalaması 17 ± 2.8 adet/1000 iğne, ışısız kısımda CPUE ortalaması 4 ± 0.66 adet/1000 iğne ve toplamda CPUE ortalaması 8.3 ± 1.26 adet/1000 iğne olarak hesaplanmıştır (Tablo 1).

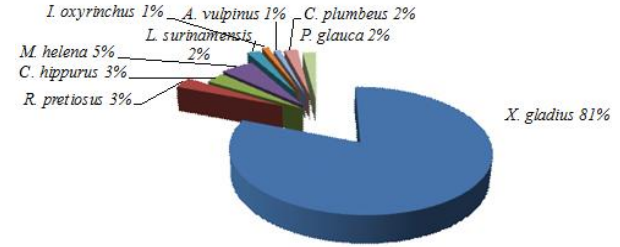
Tablo 1. Kılıç paraketasında balıkçılık çabası (f) ve Birey / Biyokütle olarak CPUE (N= sayı; B; Biyokütle; $CPUE_N$ = Birim Çabaya Düşen Av Miktarı (Birey); $CPUE_B$ = Birim Çabaya Düşen Av Miktarı (Biyokütle); SH= Standart Hata)

Table 1. Fishing effort (f) and CPUE in longline for swordfish related to number or biomass (N= Number; B= Biomass; $CPUE_N$ = Catch Per Unit Effort (Number); $CPUE_B$ = Catch Per Unit Effort (Biomass); SH= Standart Error)

Operasyon Sayısı =10	İğne Sayısı	N	B (kg)	f	$CPUE_N$	$\pm SH$	$CPUE_B$	$\pm SH$
Işıklı Kısım	200	34	703.7	0.2	17	2.8	352	61.32
Işıksız Kısım	400	16	79.6	0.4	4	0.66	20	4.76
Toplam	600	50	783.3	0.6	8.3	1.26	131	22.72

Operasyonlarda kılıç balığı dışında toplam sayısı 12 adedi bulan 8 farklı hedef dışı tür (by-catch) daha yakalanmıştır. Bunlar; 2 adet kalas balığı (*Ruvettus pretiosus*), 2 adet

lambuka (*Coryphaena hippurus*), 3 adet müren (*Muraena helena*), 1 adet üçkuyruk (*Lobotes surinamensis*), 1 adet dikburun canavar (*Isurus oxyrinchus*), 1 adet sapan balığı (*Alopias vulpinus*), 1 adet kumsal köpek balığı (*Carcharhinus plumbeus*) ve 1 adet mavi köpek balığıdır (*Prionace glauca*). Birey sayılarına göre tüm operasyonlarda kılıçbalığı %81 ile en yüksek oranda bulunmuştur (Şekil 3).



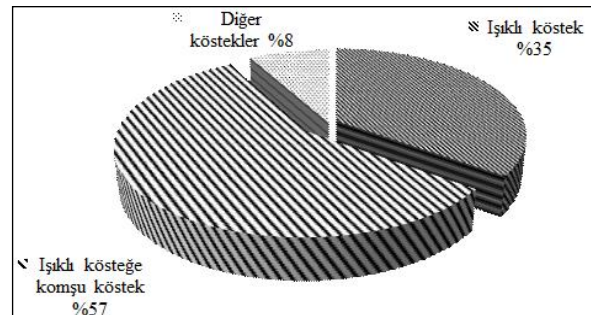
Şekil 3. Birey sayılarına göre av oranları

Figure 3. Catch rates depends on number of specimens

Işıklı kısımda yakalanan kılıçbalıklarının çatal boyları 62-152 cm ile ağırlıkları 1700-66400 g arasında değiştiği ve ortalama boyun 110.1 ± 4.28 cm, ortalama ağırlığın 20697 ± 61.32 g olduğu tespit edilmiştir. Işıksız kısımda ise kılıçbalıklarının boyları 67-113 cm ile ağırlıkları 1700-13800 g arasında değiştiği ve ortalama boyun 80.4 ± 4.39 cm, ortalama ağırlığın 4975 ± 2.8 g olduğu tespit edilmiştir.

Işık çubuğunun kullanıldığı kısımda yakalanan kılıç balıklarının ışıklı kancaya olan yakınlıkları incelenmiş ve ışıklı kancada %35.4, ışıklı kösteğin bir öncesi ya da sonrasındaki kancada %47.1 ve diğer kösteklerde %17.6 oranında kılıç balığı yakalandığı tespit edilmiştir.

Yakalanan kılıç balıklarının ışıklı kancaya olan yakınlıkları ve ağırlıkları arasındaki ilişki incelendiğinde, ışıklı kancalarda yakalanan av miktarı oranı %35, ışıklı kösteğin bir öncesi ya da sonrasındaki kancalarda yakalananların balıkların ağırlık olarak oranı %57 ve paraketanın ışıklı kısmındaki diğer kösteklerde yakalanan kılıç balıklarının toplam miktara oranı ise %8 olarak bulunmuştur (Şekil 4). Işık çubuğu takılan köstekler ve ışıklı bölgedeki diğer köstekler karşılaştırıldığında; ışıklı kancaya komşu olan kösteklerde yakalanan kılıç balıklarının oranı daha fazla bulunmuştur.



Şekil 4. Işık çubuğuna yakınlıklarına göre yakalanan kılıç balıklarının ağırlıkça oranları

Figure 4. Catch rates in weight of swordfish, caught by closeness to light sticks

TARTIŞMA VE SONUÇ

Fethiye bölgesinde yaklaşık on yıl önce yapılan bir çalışmada (Erdem ve Akyol, 2005), geleneksel pelajik kılıç paraketasının birim çabaya düşen av verimi (CPUE) 16 ± 27.8 kg/1000 iğne olarak tespit edilmiştir. Bu çalışmada ise tüm operasyonların CPUE ortalaması 131 ± 71.85 kg/1000 iğne olarak oldukça yüksek bir değerde bulunmuştur. Işıklı kısımda CPUE ortalaması 352 ± 193.91 kg/1000 iğne olarak, ışiksiz kısımda CPUE ortalaması 20 ± 15.05 kg/1000 iğne olarak bulunmuştur. Akyol vd. (2012), Ege Denizi'nde kılıç uzatma ağlarıyla yaptıkları çalışmalarda CPUE ortalamasını 38 ± 4.2 kg/1000 m ağ olarak tespit etmişlerdir. Bu bulgularla ışık çubuklarının paraketalarda kullanılması ile aynı uzunluktaki geleneksel ağ ve paraketa takımlarına göre çok daha yüksek bir av verimi sağlandığı ortaya konmuştur.

Orsi Relini vd. (2008), kuzeybatı Akdeniz'de sömürülme ve iklimsel şartların balık bolluğuna etkisini araştırdıkları çalışmalarında, 1990-2006 yılları arasındaki kılıçbalığı paraketa avcılığının CPUE'sini ortalama 116 kg/1000 iğne olarak bulmuşlardır. Ito vd. (1998), Hawaii orjinli kılıçbalığı paraketa balıkçılığında 1991-1993 yılları arasında CPUE verilerini 9-12 adet/1000 iğne olarak hesaplamışlardır. Bu çalışmada, ışık kullanılmadan elde edilen CPUE ortalaması 4 ± 0.66 adet/1000 iğne olarak Hawaii sularına göre düşük oranda bulunmuştur. Bu durum Hawaii sularında kılıç stoklarının daha verimli olduğuna işaret etmektedir.

Bu çalışmada 8 adet hedef dışı tür elde edilmiştir. Hedef dışı türlerin sayısal bazda bütün ava oranı %19'dur. Bu hedef dışı türler içerisinde ağırlıkça inceleme yapıldığında özellikle köpek balığı türleri ön plana çıkmıştır. Aires-da-Silva vd. (2008), Kuzeybatı Atlantik'teki ışık çubuklarının mavi köpek balıkları oranını arttırdığını bildirmiştir. Bu çalışmada ise yalnızca bir adet mavi köpek balığı yakalanmış olmasına rağmen, dikburun canavar, sapan balığı ve kumsal köpek balığı türlerinden de yakalanmıştır. Işık çubuklarının genel

anlamda köpek balıklarını çektiği görülmüştür; fakat örnekleme sayısı az olduğu için ön plana çıkan köpek balığı türü saptanamamıştır. Bunun yanında, pelajik kılıçbalığı paraketa avcılığında müren balığının yakalanması pek olası bir durum değildir. Bu şaşırtıcı durum, bazı operasyonlarda rüzgâr ve akıntı etkisiyle oldukça uzun olan paraketa takımının zaman zaman küçük adacıklar ve kayalıklara doğru sürüklenmiş olmasıyla açıklanabilir. Bunun sonucu olarak üç adet müren balığı, adacıkların çevresinde derinliğin çok azaldığı bölgelerden yakalanmış olmalıdır.

Sürüklenen pelajik uzatma ağlarıyla avcılığın artık yasaklanmış olması sebebiyle kılıçbalığı avcılığı ülkemizde sadece zıpkın ve paraketa ile mümkün hale gelmiştir; dolayısıyla önceki yıllara oranla av miktarlarında bir düşüş olması beklenmektedir. Bu yüzden ülkemizde kılıçbalığı avcılığının devam ettirilebilmesi için alternatif av araçlarına yönelik çalışmalar yapılması gerekmektedir. Bu çalışmalardan biri de dünyanın birçok yerinde kullanılan ışıklı cezbeticilerin av verimi üzerine olan etkisini araştırmak olmalıdır. XXI. yüzyılın başında pelajik ağların yasaklanmasından sonra, Akdeniz ülkelerinin tamamı pelajik paraketalara yönelmiş, kılıç av miktarı bakımından Akdeniz toplam avının %76'sı paraketalarla elde edilmiştir (ICCAT, 2008). Dolayısıyla ülkemizde de uzatma ağlarını bırakmak zorunda kalan filonun paraketaya geçişi için teşvik uygulanmalı ve özellikle Yunanistan'da yaygın kullanılan ve geleneksel paraketalarla karşılaştırıldığında daha kolay atıp toplanabilen, Amerikan tipi kılıç paraketaları (Tserpes ve Peristeraki, 2010) ile avcılığa geçiş için bir yönetim planı oluşturulmalıdır. Bunun yanı sıra, av verimini artırmak için ışık çubuğu kullanımı önerilebilir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın gerçekleşmesi için maddi destek sağlayan Ege Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (2012/SÜF/013 nolu Proje) Başkanlığına ve Fethiyeli kılıç balıkçılarına şükranlarımızı sunarız.

KAYNAKLAR

- Aires-da-Silva, A., Hoey, J., Gallucci, V., 2008. A historical index of abundance for the blue shark *Prionace glauca* in the western North Atlantic. *Fisheries Research*, 92: 41–52. doi: 10.1016/j.fishres.2007.12.019
- Akyol, O., Ceyhan, T., 2007. Characteristics of Three Various Types Longline for Swordfish (*Xiphias gladius* L.) in Datça-Bozburun Peninsula, Southern Aegean Sea. *The ICES/FAO Meeting of Working Group on Fishing Technology and Fish Behaviour*, 22-27 April 2007,
- Akyol, O., Ceyhan, T., Erdem, M., 2012. Turkish pelagic gillnet fishery for swordfish and incidental catches in the Aegean Sea. *J. Black Sea/Mediterranean Environment*, 18(2): 188-196.
- Artüz, M.İ., 1964. Contribution to the Knowledge of the Biology of Swordfish (*Xiphias gladius* L.) in the Sea of Marmara. *General Fisheries Council for the Mediterranean, Proceedings and Technical Papers*, No. 7, pp. 459–471.
- Berkeley, S.A., Irby, E.W., Jolly, J.W., 1981. Florida's commercial swordfish fishery: longline gear and methods. University of Miami Sea Grant Programme. *Marine Advisory Bulletin*. MAP-14, 23.
- De Metrio, G., Megalofonou, P., 1988. Catch, Size Distribution, Growth and Sex Ratio of Swordfish (*Xiphias gladius* L.) in the Gulf of Taranto. *FAO Fisheries Report*. No.394, Rome, pp. 91–102.
- Deveciyan K., 1926. Fish and Fisheries in Turkey, 2. Baskı, (*In Turkish*.) Çeviri: Erol Üyepazarcı, *Aras Yayıncılık*, Nisan 2006, İstanbul. 574 pp.
- Erdem, M., Akyol, O., 2005. A preliminary study on longlining of swordfish (*Xiphias gladius* L., 1758) in Fethiye Region (Mediterranean (*in Turkish with English abstract*)). *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 22, 201-204.
- Ermoshkin, A.A., Neckers, D.C., Federov, A.V., 2006. Photopolymerization without light. Polymerization of acrylates using oxalate esters and hydrogen peroxide. *Macromolecules* 39, 5669. doi: 10.1021/ma060905i
- Freeman, K., 1989. Lightsticks pull in swordfish despite some problems. *National Fisherman*, 70(4):54-57.
- Fritches, K., Warrant, E., 2004. Do tunas and billfish see colour?. In: *Pelagic Fisheries Research Program*, vol. 9, No. 1. University of Miami at Manoa, pp. 1–7.

- Hazin, F.H.V., Hazin, H.G., Travassos, P., 2002. Influence of the type of longline on the catch rate and size composition of swordfish, *Xiphias gladius* (Linnaeus, 1758), in the southwestern equatorial Atlantic Ocean. *Collective Volume of Scientific Papers. ICCAT*, 54 (5) : 1555-1559.
- Hazin, H.G., Hazin, F.H., Travassos, P., Erzini, K., 2005. Effect of light-sticks and electrolume attractors on surface-longline catches of swordfish (*Xiphias gladius*, Linnaeus 1959) in the southwest equatorial Atlantic. *Fisheries Resarch*. 72, 271–277. doi: [10.1016/j.fishres.2004.10.003](https://doi.org/10.1016/j.fishres.2004.10.003)
- ICCAT, 2008. Statistical Bulletin (1950–2006). Vol. 37, July 2008, pp. 194.
- Ito, R. Y., Dollar, R. A., Kawamoto, K. E., 1998. The Hawaii-based longline fishery for swordfish, *Xiphias gladius*. *U.S. Department of Commerce, NOAA Technical Report: NMFS 142*, pp. 77–88.
- Murray, T., Griggs, L. 2003. Factors affecting swordfish (*Xiphias gladius*) catch rate in the New Zealand tuna longline fishery. *Meeting of the standing committee on Tuna and Billfish*. 28p.
- Onat, S., 1970. Pelagic fishes and their catching periods (*In Turkish*). *Balık ve Balıkçılık*, EBK Yayınları, İstanbul, 18(3): 39–40.
- Orsi Relini, L., Palandri, G., Garibaldi, F., Cima, C., Lanteri, L., Relini, M., 2008. A time series of swordfish longline CPUE in the northwestern Mediterranean: Search for exploitation and/or climatic factors influencing fish abundance, *Collective Volume of Scientific Papers. ICCAT* 62(4), pp. 1097–1106.
- Pedersen, A.D., Pommer, K., Hansen, P., Feilberg, A., Vagn, N., 2003. Survey of fluorescent substances in consumer products. *Danish Technological Institute* No. 40.
- Sakagawa, G.T., 1989. Trends in Fisheries for Swordfish in the Pacific Ocean. In: *Planning the Future of Billfishes: Research and Management in the 90s and Beyond (Proceedings of the Second International Billfish Symposium, Kailua-Kona, Hawaii, 1–5 August 1988)*, R.H. Stroud, (Ed.) *National Coalition for Marine Conservation*, Savannah, pp.61–79.
- Tserpes, G. ve Peristeraki, P., 2010. Differences in the Selection Pattern of Drifting Longlines Used in the Greek Swordfish Fishery. *Collective Volume of Scientific Paper.*, ICCAT, 65(1): 302-306.
- Üner, S., 1968. Fishing and fish meal (*In Turkish*). *Say Kitap Pazarlama*, İstanbul, 143 p.
- Ward, P., Porter, J.M., Elscot, S., 2000. Broadbill Swordfish: Status of Established Fisheries and Lessons for Developing Fisheries. *Fish and Fisheries*, 1, 317-336. doi: [10.1046/j.1467-2979.2000.00026.x](https://doi.org/10.1046/j.1467-2979.2000.00026.x)
- Weidner, D.M., Serrano, J.A., 1997. South America: Pacific. Part A, Section 1 (Segments A and B) in Latin America. *Worldwide Swordfish Fisheries. An Analysis of Swordfish Fisheries, Markets and Trade Patterns, Present and Future, IV. NOAA Technical Memorandum. NMFS-F/SPO-27*, Silver Spring, pp. 843.
- Wildman, M.R., 1997. World Swordfish Fisheries: An Analysis of Swordfish Fisheries, Market Trends and Trade Patterns, Past-Present-Future, III-Asia. US Dept. of Commerce. *NOAA Technical Memorandum. NMFS-F/SPO-25*, Silver Spring, pp. 144.
- Wilson, C. A., 1988. Longlining for yellowfin tuna in the Gulf of Mexico. Center for Wetland Resources, Louisiana State University. *Louisiana Sea Grant Report LSU-G-88-002*, 15 p.
- Witzell, W.N., 1999. Distribution and relative abundance of sea turtles caught incidentally by U.S. longline fleet in the western North Atlantic, 1992–1995. *Fishery Bulletin* 97, 200.
- Zar, J.H., 1999. Biostatistical analysis. 4th edn. *Prentice-Hall*, Upper Saddle River, NJ, USA.

Kabuklu deniz hayvanlarından kaynaklanan paralitık zehirlenme

Paralytic shellfish poisoning

Yağmur Nil Demirel^{1*} • T. Haluk Çelik²

¹Afyon Kocatepe Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Besin/Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Bölümü, Afyonkarahisar

²Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Besin/Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Bölümü, Ankara

*Corresponding author: yagmurnildemirel@hotmail.com

Abstract: Paralytic shellfish poisoning death rate is the highest in the shellfish poisonings. Paralytic shellfish poisoning is very important terms of public health, because of filtration of toxins from the body through the consumption of shellfish toxin, the effect of these organisms represent a very short time and is not an effective diagnosis and treatment resulting in death within 24 hours. Toxin is determined for the first time in mussels named *Saxidomus giganteus*. Toxin is not affected by cooking, heating, freezing, steam application. In addition, dinoflagellate with toxin which are living under optimum conditions in the water, negatively affect the health of other living creatures in the waters and environmental health. In this review, we are provided information about issues related to public health and the environment such as the general properties of the toxin, toxin carrying organisms, biotransformation, analysis methods and detoxification.

Keywords: Paralytic Shellfish Poisoning, Harmful Algal Bloom, Symptoms, Analysis Methods for Toxin, Legal Regulation

Özet: Kabuklu deniz hayvanlarının tüketimine bağlı olarak gelişen zehirlenmelerin içinde en yüksek ölüm oranını paralitık kaynaklı zehirlenmesi oluşturmaktadır. Paralitık gıda zehirlenmesi, filtrasyon yoluyla toksini bünyelerine alan kabukluların tüketimiyle vücuda alınan toksinlerin etkisini çok kısa sürede göstermesi ve etkili bir tanı ve tedavi edilmezse 24 saat içinde ölümlerle sonuçlanan tablolara sebebiyet vermesinden dolayı halk sağlığı açısından oldukça önemli bir konudur. İlk kez *Saxidomus giganteus* isimli midyede belirlendiği için ismi saksitoksin olarak tanımlanmıştır. Toksinin pişirme, ısıtma, dondurma, buhar uygulaması gibi işlemlerden etkilenmemesi halk sağlığı açısından önemini artırmaktadır. Ayrıca toksin taşıyan dinoflagellatların suda yaşamaları için optimum şartlar sağlandığında sayılarını hızlı bir şekilde artırarak su ve çevre kirliliğine neden olmaktadır. İnsan sağlığı yanında çevre sağlığı ve sularda yaşayan diğer canlıların sağlığını da olumsuz etkilemektedirler. Bu noktadan yola çıkarak bu derlemede toksinin genel özellikleri, toksini taşıyan canlılar, biyotransformasyonu, analiz yöntemleri, detoksifikasyonu gibi halk ve çevre sağlığını ilgilendiren konular hakkında bilgi verilmiştir.

Anahtar kelimeler: Paralitık Gıda Zehirlenmesi, Zararlı Alg Çoğalması, Semptomlar, Toksin Analiz Yöntemleri, Yasal Düzenleme.

GİRİŞ

Dünya' da su ürünlerinin tüketimi gün geçtikçe artmakta, hayvansal protein ihtiyacının yaklaşık %16'sını karşılamaktadır. Türkiye coğrafi koşullarından dolayı kabuklu deniz hayvanları ve balık yetiştiriciliği açısından önemli bir potansiyele sahiptir (Erol, 2007). Türkiye' de avlanan kabuklu deniz hayvanı ve yumuşakça miktarı 2012 verilerine göre 80685.5 tondur. Bunların içinde istakoz 8 ton, beyaz kum midyesi 61225.4 ton, kara kılı midye ise 2093.4 ton avlanmaktayken hiç istiridye avı bulunmamaktadır. Üretilen toplam su ürünleri miktarı 644852 ton, iç tüketim miktarı 532346 ton' dur. Buna ek olarak 74006.5 ton su ürünü ihraç edilirken; 65384.1 ton su ürünü ithal edilmektedir. Kişi başına düşen su ürünleri tüketimi ise 7.1 kg' dır (Anon., 2013a).

Kabuklu deniz hayvanları ve balıklar hijyenik koşullar dikkate alınmadan elde edildiklerinde çeşitli sağlık sorunlarına sebep olmaktadır. Kabuklu deniz hayvanlarının beslenmesinde önemli bir yere sahip olan dinoflagellatlar ve çeşitli bakteriler tarafından oluşturulan toksinler bu hayvanların tüketimine bağlı olarak intoksikasyonlara yol açmaktadır. Oluşan intoksikasyonlar ölümlerle sonuçlanabilen ciddi sağlık problemleri ve büyük çaplı ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Türkiye' de bu intoksikasyonlara ilişkin

genel durumu ortaya koyacak bir veri bulunmamaktadır. İnsanlarda kabuklu kaynaklı paralitık gıda zehirlenmesine neden olan toksinler, kabuklu deniz hayvanlarında toksik etki göstermez. Ancak, toksini bünyesinde taşıyan bu kabuklu deniz hayvanlarının tüketimi insanlarda ölümlerle sonuçlanabilen zehirlenmelere sebep olduğu bilinmektedir (Erol, 2007).

Kabuklu Deniz Hayvanlarından Kaynaklanan Paralitık Zehirlenme Tanımı

Paralitık gıda zehirlenmesi (PSP), toksini oluşturan dinoflagellatlarla beslenen kabuklu deniz hayvanlarının tüketilmesi sonucu insanlarda gastrointestinal ve nörolojik semptomlara neden olan ciddi bir hastalıktır. *Alexandrium angustitabulatum*, *Alexandrium fundyense*, *Alexandrium lusitanicum*, *Alexandrium tamiyavanichii* (Gerssen vd., 2010), *Alexandrium catanella*, *Alexandrium minutum*, *Alexandrium tamarense*, *Pyrodinium bahamense* ve *Gymnodinium catenatum* adı verilen dinoflagellatların hidrofilik toksinleri PSP' ye neden olabilmektedir (Oikawa vd., 2002). Dinoflagellatların yanı sıra siyanobakterilerin de PSP toksinleri (PST) üretebildiği ortaya konmuştur (Negri, 1995). Dünya çapında algal toksinlerden kaynaklanan yıllık 50000- 500000 intoksikasyon vakası; intoksikasyona bağlı ölüm oranı ise

%1.5 olarak rapor edilmiştir. Algal toksinler insan sağlığını olumsuz etkilerken, yoğun bir şekilde balık ve epidemik olarak da deniz memelilerinin ve kuşlarının ölümüne neden olmaktadır (Wang, 2008).

TOKSİN ÖZELLİKLERİ

PSP'ye neden olan toksinlerin 30 farklı türevinin olduğu saptanmıştır (Anon., 2011). PSP toksinlerinden ilk karakterize edilmiş olan saksitoksindir. PST'ler alkaloid yapılı, suda çözünebilir ve protein yapısında olmayan toksinlerdir (Kodama ve Sato, 2000). PST'ler N-sülfokarbamil yapılı toksinler hariç asidik ortamda ısıya dirençli ve daha kararlı yapıdadır. Oda sıcaklığında alkali ortamda kararsız ve kolaylıkla okside olabilen yapıdadır (Mons vd., 1998). Su ve metanol içinde çözünebilir PST'ler, etanol ve asetik asitte kısmen çözünebilmektedir (Concon, 1988). Hidroklorik asit solüsyonunda yıllarca toksisitesini kaybetmeden saklanabilir. Saksitoksin pişirme, ısıtma (120 °C'deki suda aktivitesini korur), dondurma ve buhar uygulaması gibi işlemlerden etkilenmez fakat; gonyatoksin (2, 3) düşük pH değerlerinde ısıya oldukça duyarlıdır (Yen vd., 2006).

PST'ler hidrofilik veya hidrofobik karakterde olabilmektedir. Hidrofilik yapılı PST' ler yapısında hiç sülfat grubu içermeyen veya bir ve iki sülfat grubu içeren toksinlerdir. Hidrofobik grubu taşıyan toksinler siyanobakterilerden tanımlanmıştır. PST'ler karbamil, dekarbamil, N-sülfokarbamil ve hidroksilat saksitoksin (M1- 4) olmak üzere dört gruba ayrılır. En toksik grup olan karbamil grubunda saksitoksin (non-sülfat), neosaksitoksin (non-sülfat) ve gonyayoksin (monosülfat) bulunmaktadır. C1-4 (disülfat) ve B1 toksinleri içeren N-sülfokarbamil grup en az toksisiteye sahiptir. Dekarbamil saksitoksin, dekarbamil neosaksitoksin ve dekarbamil gonyatoksinleri (1-4) içeren dekarbamil grubudur. Dekarbamil grubu toksinlerin etkisi henüz tam olarak bilinmemektedir. Saksitoksinler perhidropurin iskeletine sahip olup yapısal farklılıkları karbamat, sülfat, hidroksil, hidroksibenzoat veya asetat grubu bulundurup bulundurmamasına göre oluşmaktadır (Wiese vd., 2010).

Saksitoksin, ilk olarak ABD'de 1950'li yıllarda izole edilerek biyolojik silah olarak kullanılmıştır (Kılıç, 2006). Saksitoksinin mermi başlıklarına yerleştirilerek test edildiğine dair çeşitli belgeler bulunmaktadır. Sıcak gaz ortamda stabil olması ve oluşan klinik tablonun yüksek mortalitesi nedeniyle önemli bir biyolojik silah ajanıdır (Yen vd., 2006).

Toksini Taşıyan Canlılar

Çift kabuklular PST ile ilgili en çok çalışılan gruptur (Lehane, 2001). Filtrasyon yoluyla beslenen yumuşakçalar, özellikle midye ve istiridyeler, PST'lerin alışılmış taşıyıcıları olmalarına rağmen, filtrasyon yoluyla beslenmeyen karından bacaklı deniz hayvanları, bazı kabuklular ve balıkların da bu toksinleri taşıdığını gösteren çalışmalar bulunmaktadır (Mons vd., 1998). Sardalyalar da toksik dinoflagellatları tüketmesi sonucu PST'leri taşırlar (Oshima, 1989). Yapılan bir çalışmada Taiwan'da yetiştirilen süt balıkları PST'leri

biyoakümüle etmediğini ortaya çıkarmıştır. Onun yerine toksinleri sindirim sistemlerinde taşırlar. Eğer bu toksinleri bünyelerinde taşırlarken avlanırsa veya satışı yapılırsa tüketicide risk oluşabilmektedir (Hallegraef, 1993). Bazı deniz memelileri ve kuşlar toksinlerin bulunduğu ortamda yaşamaya adapte olmuşlardır. Örneğin deniz samurları saksitoksinin yüksek konsantrasyonlarını belirleyebilir. Buna bağlı olarak da bu toksik kabuklu ürünleri yemekten kaçınırlar (Kvitek vd., 1991). Mavi-yeşil kanatlı martılar ise ağızlarına aldıkları toksin içeren deniz ürünlerini geri çıkartarak kendilerine özgü bir savunma tablosu gösterirler (Kvitek, 1991). İhmal edilmemesi gereken ve insan sağlığını olumsuz etkileyecek bir diğer saksitoksin taşıyıcısı sudur. Avustralya'da içme sularının %70'ini yüzey suları oluşturmaktadır. İklim değişiklikleri, tarımsal atıklar, alg birikimi gibi birçok faktör içme sularının kalitesini olumsuz etkilemektedir. Avustralya'da tatlı sularda siyanobakteriler oldukça yaygın bulunmaktadır. Buna bağlı olarak toksin birikimleri gözlenmektedir. Yapılan çalışmalar sonucu Avustralya'da bir içme suyu arıtma tesisinde su işlenmeden önce 17 µg/L, arıtma işleminden sonra ise 1 µg' dan daha az toksin içerdiği saptanmıştır (Hoeger vd., 2004).

Toksinin Kabuklu Deniz Hayvanlarında Biriktiği Organlar

Deniz taraklarında toksin sindirim bezlerinde oldukça yoğun bulunurken solungaçlarında, yumurtalıklarında ve kapanma kaslarındaki (adduktor kas) konsantrasyonu 80 µg/100 gr'dan daha azdır. Toksin istiridyelerde tüketilen tek kısım olan kapanma kaslarında kolaylıkla bulunmadığı için toksik algelere maruz kalsalar bile bu kısımlar halk sağlığı için tehlike arz etmez (Cembella vd., 1993). Ayrıca istiridyeler daha çok yosunlarla beslendiklerinden genellikle herhangi bir sorun teşkil etmemelerine rağmen İspanya'nın kuzeybatı sahillerinde istiridyelerde PST varlığı rapor edilmiştir (Bravo vd., 1999). Midyelerde yapılan bir çalışmada toksin birikiminin en çok olduğu organdan en az olduğu organa doğru hepatopankreas (eklembacaklı ve kabuklu hayvanlarda sindirim sistemi organlarından biri), iç organlar, solungaçlar, bacaklar ve kapanma kasları şeklinde sıralanmıştır (Kwong, 2006).

Toksinin Biyotransformasyonu

Saksitoksinler bir molekül formunun diğer molekül formuna dönüştüğü kimyasal transformasyon geçirebilirler (Oshima vd., 1990). Böylece toksinlerin transformasyonu bütün toksisiteyi değiştirebilir (Levin, 1992). Transformasyon dinoflagellat hücreleri veya su hayvanları tarafından gerçekleştirilir. Yapılan bir çalışmada, deniz taraklarında ve midyelerde, bazı koşullarda toksik alglerden alınan saksitoksinin transformasyona uğradığı gözlemlenmiştir (Oshima vd., 1990). Bu şekilde bir transformasyonun toksinin başlangıçtaki etkisini 11 kat azalttığı; ancak bazı koşullarda asit hidroliz yoluyla SO₃ (sülfür trioksit) grupları ayrılarak saksitoksin molekülünün toksisitesinin 6 kat artmasına neden olduğu saptanmıştır (Mons vd., 1998). Bu noktada insanlarda kabuklu deniz ürünleri tüketimi sonrası mide asit ortamında

toksinin hidrolizi gerçekleşerek toksisitesi artmakta böylece toksin daha tehlikeli duruma gelebilmektedir (Sullivan, 1988).

Dinoflagellatlardaki toksin metabolizması hakkında yeterli bilgi olmamasına rağmen, toksin transformasyonunda bazı enzimlerin görev aldığı bildirilmiştir. *Alexandrium* türlerindeki oksidaz aktivitesi ile toksinlerin oksidasyonları katalizlenir. Ancak bu enzim bu türlerin hepsinde bulunmayabilir (Oshima, 1995). Diğer taraftan *Gymnodinium* türlerinde bulunan N-sülfotransferaz enzimi ile dönüşüm gerçekleşebilmektedir (Yoshida vd., 1996). Bu enzim sistemlerinin varlığı dinoflagellat türlerinin karakteristik toksin profillerini açıklayabilir (Oshima, 1995). Aynı şekilde kabuklularda toksinlerin transformasyonunu sağlayan enzimlerin varlığı gösterilmiş; fakat enzimlerin neler olduğuna dair yeterli bilgi edinilememiştir (Shimizu ve Yoshioka, 1981). Transformasyon, enzimatik olabildiği gibi enzimatik olmayan yollarla da gerçekleşebilmektedir. Gonyatoksinlerin saksitoksinlere transformasyonunu sağlayan enzim kabuklu deniz hayvanlarında bulunamamasına rağmen, transformasyon bu hayvanlarda gerçekleşmektedir. Bu şekilde gerçekleşen transformasyon metabolik olup oldukça yavaş şekillenmektedir (Kodama, 2010).

Güney Şili'de PST'lerle kontamine kabuklu deniz ürünlerinin tüketimi sonucu ölen insanların postmortem kan ve doku analizlerinde bazı toksinlerin transformasyona uğradığı saptanmıştır. Toksinlerin transformasyonun belirlenmesinde organizmada kalış süresi önemlidir. Saksitoksinin oksidasyona uğrayarak neosaksitoksinine dönüştüğü bildirilmiştir (Garcia vd., 2004).

Glikronidasyon, yabancı maddeleri ve birçok endojen bileşenlerin polar suda çözünebilir bileşiklere dönüştüren mekanizmalardan biridir. Metabolizmanın son ürünü olan glikronitler ya idrar ya da safra yoluyla uzaklaştırılırlar (Burchell vd., 1995). Birçok yabancı madde vücuda girdiğinde direkt glikronide edilmez. Önce konjugasyon için uygun bir alıcıya verilerek transformasyonu sağlar. Glikronidasyon reaksiyonu önemli bir detoksifikasyon mekanizması olup organizmanın ürettiği ksenobiyotiklerin metabolik dönüşümünü sağlayarak idrar ve safra ile vücuttan uzaklaşmasını sağlamaktadır (Garcia vd., 2009).

Bir grup araştırmacı yaptıkları bir çalışmada β -glikronidaz enzimini kullanarak glikronik toksinlerin β -glikronidaz ile hidrolizinden sonra floresan ışık verme özelliğini ölçerek glikronidasyon oranını belirlemişlerdir. Glikronik asit, toksinin tetrahidropurin yapısındaki hidroksil karbonları ile etkileşime geçerek toksinden konjuge glukronik asit açığa çıkar. Glikronik PST kompleksinin oluşumu, insanlarda toksinlerin detoksifikasyon yolunun başlangıcıdır (Garcia vd., 2009).

Toksinin Etki Şekli

Filtrasyon yoluyla beslenen birçok deniz hayvanının sınırları ve kaslarında impuls iletimi kalsiyum kanalları ile kontrol edilmektedir. Saksitoksin ve diğer PST'ler ise sodyum kanalları vasıtasıyla aktarılan impulsları bloke etmektedir. Bu

durumdan dolayı PST'ler bu deniz hayvanlarında onlara zarar verecek toksite meydana getirmezler (Kao, 1993). Birçok algal toksinler sinirlerle kaslar arasındaki elektriksel bağlantıyı keserek insanlarda hastalığa neden olurlar. Spesifik membran reseptörlerini bağlayarak hücre içi sodyum, potasyum gibi iyonların konsantrasyonunu değiştirirler (Anderson, 1994). PST'ler uyarılabilir hücrelerde yüklü sodyum kanallarına bağlanarak sinir hücresi boyunca sodyum geçişine engel olur. Böylece gelen sinyallerin iletimi engellenir (Bricelj vd., 2005). Genellikle bütün PST'ler bu şekilde etki gösterirken neosaksitoksin, gonyatoksin gibi bazı analogları sodyum kanallarında amino asit dizilimi bakımından farklı olan, aynı ya da farklı genler tarafından kodlanan diğer bölümlerini bloke ederek etki gösterirler (Usup, 2004).

PST taşıyan dinoflagellatlardan filtrasyon yoluyla beslenen kabuklu deniz hayvanlarını tüketen kişilerde çevresel sinir sistemine etki eden toksinlerin oluşturduğu belirtiler yüzde, kollarda bacaklarda uyuşukluktan felç oluşumuna kadar gitmektedir. İlerleyen vakalarda solunun yetmezliği sonucu ölüm gerçekleşir (Rapala vd., 2005). PST'lerin çevresel sinir sistemi üzerindeki etkisinin yanında merkezi sinir sistemine de etki ettiği konusunda tartışmalar yapılmaktadır (Naseem, 1996).

Toksin Detoksifikasyonu

Toksinin su ile insanlara bulaşmasını önlemek için algal saha oluşumlarını önlemek gerekmektedir. Bu nedenle algerin gelişimini önleyici kimyasallar maddeler yardımıyla suların temiz tutulması gerekmektedir. Bakır sülfat uygulamalarının algal saha oluşumlarını önlediği bilinir. Ancak alg hücre sayısı çoksa hücreleri parçalayıp hücre içindeki toksinin dışarı çıkmasına neden olabilmektedir. Suyu karışan toksin 1-2 ay bu ortamdan uzaklaştırmak zor olduğu için hücrelerin parçalanmasına sebep olabilecek uygulamalardan kaçınılmalıdır. Buna ilave olarak ozon, klor, potasyum permanganat algal saha oluşumlarını önlemek için kullanılan diğer kimyasallardır (Newcombe vd., 2004). Kimyasal uygulamalara ilaveten toksin taşıyan kabuklu deniz hayvanlarının 120 derecede 5-60 dakika sıcaklık uygulamasından sonra toksinin %50-100 oranında detoksifiye olduğu aynı zamanda kabuklu deniz hayvanlarına uygulanan pişirme işlemi sırasında pişirme suyuna ilave edilen yemek sodasıyla 20 dakikalık bir kaynamadan sonra ise toksinin %85 oranında detoksifiye olduğu bildirilmiştir (Anon., 2012).

ZARARLI ALGAL SAHA OLUŞUMU (HAB)

Toksik dinoflagellatlar, kabuklu deniz hayvanları tarafından beslenmek için alındığında toksinleri kabuklu deniz hayvanlarında birikerek insanlar ve diğer tüketiciler için öldürücü etki yapar. Bu durum zararlı algal saha oluşumunun bir etkisi olarak ortaya çıkar (Hallegraef, 1993). Dinoflagellatlar gelişmek için ılık, düşük tuz oranlı ve bol güneş ışığı alan bölgeleri tercih ederler (Acres ve Gray, 1978). Deniz suyunun ml'sinde 20 bin hücreyi aşarlarsa algal saha oluşumu başlar. Algal sahanın rengi alg türüne göre değişebildiği gibi sahanın derinliğine ve alg konsantrasyonuna bağlı olarak da

değişebilir. Sarı, yeşil, mavi veya kahverengi olabilir (Bower, 1981). Zararsız toksik olmayan algler de suyun rengini değiştirebilir. Kabuklu deniz hayvanları alg sahası oluşumu ile hemen toksik özellik kazanmadığı gibi aynı zamanda algal saha oluşumundan uzun süre sonrasında kadar toksisitesini koruyabilir (Halstead ve Schantz, 1984).

Esasen alg popülasyonunun yoğunluğu kabuklu intoksikasyonu için bir parametre değildir. Mililitrede 200 dinoflagellat bulunması bile kabuklularda toksisiteye neden olabilmektedir (Halstead ve Schantz, 1984). Toksik olmayan algal saha oluşumları da yüksek biyokütleli sahalarda oluşumu gibi çeşitli yollarla zararlı olabilir. Bu sahalarda zamanla oksijen azalmaya başlar; dip kısımlara ışık geçişine engel olur ve genişçe bir alana etkiyerek bitkilerin ve hayvanların ölümlerine sebebiyet verir. Balıklar ve kabuklu deniz hayvanları için besin kaynağı olan sualtı bitki örtüsünün yoğunluğunun azalmasına neden olarak ekosisteme olumsuz etki yapmasının yanında kirlilik artışına da neden olmaktadır (Anderson, 2009).

Algal saha, lag fazında bulunan az sayıda toksik dinoflagellat hücreleriyle veya sedimentte bulunan kist formlarının oluşumuyla başlar (Hall, 1982). Tuzluluk oranının değişmesi, su sıcaklığının artması, besin kaynaklarının artması ve güneş ışığı gibi çevresel faktörler kistik formun vejetatif forma dönüşmesini sağlar. Saha oluşumu başladığında büyüme fazında olan dinoflagellatlar popülasyonlarını yoğun bir şekilde artırırlar. Zamanla sudaki besinlerin tükenmesi, karbondioksitin tükenmesi, çevresel faktörlerin olumsuzlaşmasına bağlı olarak büyüme oranı azalmaya başlar. Durgunluk fazına geçen popülasyon suda 'kırmızı akıntı' (red tide) oluşumuna neden olur. Devam eden kötü çevre şartları sonucu hücreler ölmeye başlar. Bu aşamada birçok dinoflagellat türler kist formuna geçerek bir sonraki algal saha oluşumu için denizin dip kısmına yerleşirler. Bu döngü sırasında yaşlı olan hücreler toksik transformasyona uğrarken en toksik hücreler üreme fazının tam orta noktasında oluşmaktadır. Toksik dinoflagellatlar ortamda nitrojen varsa daha fazla saksitoksin üretirler. Fosfor eksikliğinde ise hücreler saksitoksin üretmeye devam edeceği için dinoflagellatlar daha toksik hale gelir. Fakat azalan hücre çoğalması toksinlerin yeni üretilen hücrelere transferine engel olur (Anderson vd., 1990).

TOKSİN ANALİZ YÖNTEMLERİ

Biyolojik Denemeler

Farelerde yapılan biyolojik denemelerin en önemli avantajı PST'lerle ilişkili tüm toksinlerin belirlenebilmesidir. Elde edilen sonuçlarla insan sağlığı açısından risk değerlendirmesi yapılabilmektedir (Humpage vd., 2010).

Ağırlığı 20 gram olan farelere kabuklunun asit ekstraktından 1 ml enjekte edilmesi ile kısa zamanda öldükleri rapor edilmiştir. Toksisitesi yüksek ekstraktın seyreltilerek verilmesi sonucu ise 5-15 dakikada ölüm görülür. 20 gram ağırlığındaki fareyi 15 dakika içinde öldüren enjekte edilen

toksin miktarı bir fare ünitesi (Mouse unit: MU)'dir. Bu değer de 0.18 µg saksitoksine eş değerdir. 19-22 kg ağırlığındaki fare topluluğunun gözleminin zamanla güçleşmesi, belirlenecek limitlerin farelerin soylarına göre değişiklik göstermesi, ölüm zamanlarının toksine göre değişmesi, ölüm zamanının tam olarak belirlenememesi, işleminin yoğun bir emek istemesi, çok sayıda hayvan kullanılması sistemin dezavantajları olarak belirtilmektedir. Birçok Avrupa ülkesinde farelerin kullanımını azaltmak amacıyla denizlerde toksik alglerin varsayımsal sayımına yönelik kalitatif bazı yöntemlerde kullanılmaktadır (Mons vd., 1998).

Kromatografik teknikler

Toksinlerin belirlenmesinde en yaygın kullanılan yöntem HPLC (high performance liquid chromatography)'dir. Ancak, bazı çalışmalar algal saha oluşumu sırasında çok sayıda örnekle analiz yapılmasında güçlükler oluştuğunu, bazı toksinlerin aynı oksidasyon ürünlerinin oluşumuna neden olduğunu ve bu nedenle ekstraksiyon işleminin doğru olarak şekillenmediğini göstermiştir. Her bir toksinin kimyasal yapıları farklı olduğundan düzenli olarak toksin standartları kullanılarak sistemin kalibre edilmesi gerekmektedir. HPLC önemli bir belirleme metodu olmasına rağmen önemli derecede beceri, zaman gerektiren ve rutin olarak kontrolünün yapılması gereken bir sistemdir (Mons vd., 1998). PSP toksinleri zayıf kromofor özelliktedir. Alkali solüsyonlarda oksidasyona uğradığı zaman asit solüsyonlarda floresan veren purin formuna dönüşmektedir. Bu reaksiyon pre ve post kolon oksidasyonla gerçekleştirilerek purinlerin floresan dedektöründe gösterilmesi esasına dayanmaktadır (Kodama ve Sato, 2000). Yani floresan özelliği olan bir dedektör kullanılır. Son zamanlara kadar sadece saksitoksin standardı ticari olarak bulunmaktayken şu zamanlarda saksitoksin, neosaksitoksin ve gonyatoksin standartları ticari olarak bulunmaktadır (Mons vd., 1998). Bunların mevcudiyeti HPLC ile elde edilen verilerin kalitesini önemli ölçüde arttırmaktadır (Wright, 1995). Metodun en önemli avantajı, pozitif örneklerin kısa zaman içerisinde sonuç vermesi ve yüksek verimlilik özelliğinde olmasıdır (Etheridge, 2010).

KABUKLU KAYNAKLI PARALİTİK ZEHİRLENMELER

Saksitoksin sindirim ve solunum yoluyla alındığında zehirlenme gelişir (Concon, 1988). Toksin suda kolayca çözünebildiği için aerosol yolla da kolayca ortama yayılabilmektedir. Toksin oral yolla alındığında LD₅₀ 10 µg/kg, inhalasyon yolu ile LD₅₀ 2 µg/kg'dır (Kılıç, 2006).

Zehirlenme şiddetine bağlı olarak semptomlar değişiklik göstermektedir. Tüketilen gıdadaki PST'lerin varlığı, tüketim miktarı, toksinlerin vücuttan uzaklaştırılmasına bağlı olarak semptomlar oluşmaktadır. Tüketilen gıdadaki miktar yüksek düzeyde ise birkaç dakika içinde semptomlar ortaya çıkmaktadır (Kao, 1993).

Hafif vakalarda 30 dakika içerisinde dudaklar çevresinde karıncalanma hissi veya uyuşma hissedilmektedir. Bu etkiler toksinlerin ağızdaki muköz membran yoluyla absorbe

olmasıyla ortaya çıkmaktadır. Belirtiler yavaş yavaş yüze ve boyuna doğru ilerlemeye başlar. Ayak parmağı ve parmak uçlarında acı veren ağrı, uyuşma ile birlikte kulakta çınlama, baş ağrısı, uyku hali, boğaz ve deride kuruma, mide bulantısı, kusma, ishal gibi semptomlarla karakterizedir. Bazı zamanlarda geçici körlük gelişmektedir. Semptomlar kısa süre içerisinde görülürken iyileşme uzun zaman almaktadır. Duyu sinirleri motor sinirlerden daha ince olduğundan daima ilk önce etkilenmektedir. Bunu sonucu olarak da kas zayıflığı başlangıç semptomlarıdır (Hallegraef, 1993; Kao, 1993).

Orta şiddetli vakalarda karıncalanma hissi kol ve bacaklara doğru ilerler. Bunu takiben baş dönmesi ve konuşma bozukluğu, görme bozukluğu oluşur. Ataksi, motor inkoordinasyonlar belirir. Solunum güçlüğü boğaz sıkılıyormuş hissi ile belirmeye başlar (Hallegraef, 1993; Kao, 1993).

Şiddetli vakalarda, kaslar paraliz yaygındır ve gittikçe derinleşir. Nabız genellikle normaldir. Tüketimden 2-24 saat sonra solunum kaslarının paralizini takiben ölüm gözlenmektedir (Hallegraef, 1993; Kao, 1993).

Hastaların %100'ünde ağız çevresinde uyuşukluk, %66.6'sında vücudun alt ve üst kısımlarında uyuşukluk, %41'inde baş ağrısı, %38.2'sinde kusma, %33.35'inde yüzde uyuşukluk, %25'inde karın ağrısı, %20'sinde bilinç kaybı görülmüştür (Garcia vd., 2005).

Toksinin antidotu olmadığından hastalar acilen semptomatik ve destekleyici tedavi altına alınmalıdır (Franquelo vd., 1998). Hastalar kontamine gıdaları tükettikten hemen sonra hastaneye getirildiğinde gastrik lavajı takiben aktif kömür uygulamasıyla toksin uzaklaştırılmaya çalışılarak daha fazla emilmesine engel olunur. Alkali ve sodyum içeren solüsyonlar saksitoksinin sinir bağlantı bölgelerindeki etkisini bloke eder (Acres ve Gray, 1978). Toksinler alkali ortamda hidrolize olurlar. Böylece zehirlenme şiddeti azalır (Franquelo vd., 1998). Bunlara ek olarak da solunum desteklenir. Yapılan tedaviler sonucu ise hastaların 24 saatten daha az bir süre içerisinde durumu sabitleşir (Andrinolo vd., 2002; Andrinolo vd., 1999).

Alkol tüketiminin zehirlenme üzerindeki etkisi hala tam olarak anlaşılamamıştır. Bazı araştırmacılar zehirlenmenin yan etkilerine karşı koruyucu etkisi olduğunu söyler fakat bunun mekanizması ortaya çıkarılamamıştır. Alkol diüretik etki yaparak idrar yoluyla daha çok toksin uzaklaştırılmasını sağlayabilir. Aynı zamanda karaciğer enzimleri üzerinde uyarıcı etki yapabilir. Alaska'da 47 salgında yapılan vaka-kontrol çalışmalarında alkol tüketen kişilerde zehirlenme riskinin azaldığı belirlenirken, cinsiyet farkının zehirlenme oluşması üzerinde herhangi bir etkisinin olmadığı görülmüştür (Gessner ve Middaugh, 1995).

PARALİTİK ZEHİRLENME KAYNAKLI SALGINLAR

PSP kaynaklı ölüm oranları değişkendir. Kuzey Amerika ve doğu Avrupa'da meydana gelen salgınlarda 200 kişinin hastalığa yakalandığı bildirilmiştir. Bu vakalarda ölüm görülmemiştir. Ancak benzer salgınlar güney doğu Asya ve

Latin Amerika'da gözlenmiş %2-14 arası ölüm oranı tespit edilmiştir. Ölüm oranlarındaki bu farklılık, kentsel bölgelerdeki zehirlenme durumlarında sağlık görevlileri bu tarz zehirlenme vakalarına karşı deneyimli olmaları hastalara çok çabuk tıbbi müdahale yapılabilmelerinden kaynaklanmaktadır (Kao, 1993). Endemik olarak gözlenen zehirlenme vakaları 70'li yılların başında Kuzey Amerika, Avrupa ve Japonya'da bildirilmekteyken günümüzde Güney Amerika, Avustralya, Güney Asya, Hindistan'da görülmektedir. Kuzey Amerika'da PSP vakaları hem kuzey hem de güney sahillerinde sezonal olarak görülmektedir (Hallegraef, 1993).

Florida'da 2002 yılının Ocak ayında gemi gezisi sırasında tuttuğu balığı tüketen bir kişide zehirlenme belirtileri gözlenmiştir (Anon., 2013b). 1997 yılında Amerika'da yaşları 13-61 arasında değişen 11 vakada ölüm görülmemiştir (Gessner vd., 1997). Doğu Timor'da 2000 yılının Ocak ayında yengeç tüketen yetişkin bir erkeğin saatler içerisinde öldüğü bildirilmiştir (Llewellyn vd., 2002). Şili'de 2004 yılında 2 yetişkin erkeğin 7-9 adet midye tüketimine bağlı olarak 225 µg/kg toksine maruz kaldıktan 3-4 saat sonra ölümleri gerçekleşmiştir (Garcia vd., 2004). 2005 yılında Şili'de 4 yetişkin erkek 53 µg/kg ile solunum bozukluğu yaşamıştır (Garcia vd., 2005). 2005 yılında orta Amerika'da bulunan Nikaragua'da PSP vakaları görülmüş ancak vakalarda ölüm görülmemiştir (Anon., 2013b). En son Alaska'da 2010 yılının haziran ayında paralitik gıda zehirlenme tablosu görülmüş ve iki kişinin hastaneye kaldırılmasıyla sonuçlanmıştır (Anon., 2013c).

YASAL DÜZENLEME

853/2004/EC sayılı Hayvansal Gıdalar için Spesifik Hijyen Kuralları hükümleri ile Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığının Hayvansal Gıdalar için Özel Hijyen Kuralları Yönetmeliğinde topplayıcılar, canlı çift kabuklu yumuşakçaları Bakanlık ve uygun durumlarda gıda işletmecisi ile işbirliği içerisinde sadece yeri ve sınırları belirli olan A, B veya C olarak sınıflandırılan üretim alanlarından toplar. A sınıfı üretim alanlarından toplanan canlı çift kabuklu yumuşakçaları, insan tüketimi için başka bir muameleye tabi tutmadan piyasaya arz edebilir. B sınıfı üretim alanlarından toplanan canlı çift kabuklu yumuşakçaları, yatırdıktan veya arındırma merkezinde arındırdıktan sonra insan tüketimi için piyasaya arz eder. C sınıfı üretim alanlarından toplanan canlı çift kabuklu yumuşakçaları, en az iki ay olmak üzere yeterli süre yatırdıktan sonra, insan tüketimi için piyasaya arz eder (Anon., 2013d).

Gıda işletmecisi, insan tüketimi için piyasaya arz edilen canlı çift kabuklu yumuşakçaların Gıda Hijyeni Yönetmeliğinin gerekliliklerini karşılamak üzere mikrobiyolojik kriterlere ve aşağıda belirtilen standartlara uygun olmasını sağlar:

a) Canlı çift kabuklu yumuşakçaların kabukları kirden arı olmalı, darbelere karşı yeterli dirence, kabuklar arası sıvı miktarının normal olması da dahil olmak üzere tazelik ve canlılık ile ilgili duyu özelliklere sahip olmalıdır.

b) Tüm vücutta veya yenilebilen kısımda toplam hesaplanan deniz biyotoksinlerinden felç edici kabuklu deniz hayvanları zehiri (PSP) için, 800 µg/kg limitini geçemez. Deniz biyotoksinleri için tanımlanan test yöntemleri Bakanlıkça belirlenir. Sevkiyat merkezinden ayrılan veya diğer bir sevkiyat merkezine gelen tüm canlı çift kabuklu yumuşakçaların paketleri kapalı olmalıdır. Doğrudan perakende satışı planlanan canlı çift kabuklu yumuşakçaların paketleri, son tüketiciye arzına kadar kapalı olmalıdır. Canlı çift kabuklu yumuşakçalar, perakende satış için paketlenildikten veya sevkiyat merkezinden ayrıldıktan sonra, tekrar suya batırılmaz veya üzerlerine su püskürtülmez (Anon., 2013d).

854/2004/EC sayılı Hayvansal Gıdaların Resmi Kontrollerine İlişkin Avrupa Parlamentosu ve Konsey Tüzüğü hükümlerine paralel olarak hazırlanan Hayvansal Gıdaların Resmi Kontrollerine İlişkin Özel Kuralları Belirleyen Yönetmeliğe göre ise yumuşakçalarda toksin analizleri için numune alma sıklığı, ürün alımına izin verildiği dönemlerde genel olarak haftada bir kez yapılır. Toksinler veya bitkisel planktonlar üzerinde gerçekleştirilen risk değerlendirmesi, toksik epizotlara ilişkin düşük bir risk olduğunu gösteriyorsa, bu sıklık belirli bölgelerde veya belirli türlerdeki yumuşakçalar için azaltılabilir. Ancak bu risk değerlendirme sonucu haftalık numune alma sıklığının yetersiz olduğunu gösteriyorsa numune alma sıklığı artırılır. Bu bölgelerdeki canlı çift kabuklu yumuşakçalarda ortaya çıkan toksin riskini değerlendirmek amacıyla risk değerlendirmesi periyodik olarak gözden geçirilir (Anon., 2013d).

KAYNAKLAR

- Acres, J., Gray, J., 1978. Paralytic shellfish poisoning. *Canadian Medical Association Journal*, 119, 1195-1197.
- Anderson, D.M., Bricelj, V.M., Lee, J.H., Cembella, A.D., 1990. Uptake kinetics of paralytic shellfish toxins from the dinoflagellate *Alexandrium fundyense* in the mussel *Mytilus edulis*. *Marine Ecology Progress Series*, 63: 177-188. doi: [10.3354/meps063177](https://doi.org/10.3354/meps063177)
- Anderson D.M., 1994. Red Tides. *Scientific American*, 271(2): 52-58. doi: [10.1038/scientificamerican0894-62](https://doi.org/10.1038/scientificamerican0894-62)
- Anderson, D.M., 2009. Approaches to monitoring, control and management of harmful algal blooms. *Ocean Coastal Management*, 52(7):342. doi: [10.1016/j.ocecoaman.2009.04.006](https://doi.org/10.1016/j.ocecoaman.2009.04.006)
- Andrinolo, D., Michea, L., Lagos, N., 1999. Toxic effects, pharmacokinetics and clearance of saxitoxin, a component of paralytic shellfish poison (PSP) in cats. *Toxicon*, 37(3): 447-464. doi: [10.1016/S0041-0101\(98\)00173-1](https://doi.org/10.1016/S0041-0101(98)00173-1)
- Andrinolo, D., Iglesias, V., García C., Lagos, N., 2002. Toxicokinetics and toxicodynamics of gonyautoxins after an oral toxin dose in cats. *Toxicon*, 40 (6): 699-709. doi: [10.1016/S0041-0101\(01\)00263-X](https://doi.org/10.1016/S0041-0101(01)00263-X)
- Anonymous, 2011. Red Tide <<http://serc.carleton.edu/microbelife/topics/redtide>> (10.03.2012).
- Anonymous, 2012. Centers For Disease Control and Prevention. Paralytic shellfish outbreaks <www.cdc.gov> (26.02.2012).
- Anonymous, 2013a. T.C. Başbakanlık Türkiye İstatistik Kurumu. Avlanan deniz ürünleri miktarı <www.tuik.gov.tr> (25.07.2013).
- Anonymous, 2013b. Centers for Disease Control and Prevention. Paralytic shellfish poisoning <www.cdc.gov> (10.05.2013).
- Anonymous, 2013c. Centers For Disease Control and Prevention. Paralytic shellfish outbreaks <www.cdc.gov> (26.06.2013).
- Anonymous, 2013d. T.C. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Gıda Kontrol Genel Müdürlüğü. Hayvansal gıdaların resmi kontrollerine ilişkin özel kuralları belirleyen yönetmelik, Hayvansal gıdalar için özel hijyen kuralları yönetmeliği <www.gkgm.gov.tr> (20.06.2013).
- Bower, D.J., Hart, R.J., Matthews, P. A., Howden, M. E., 1981. Nonprotein neurotoxins. *Clinical Toxicology*, 18(7): 813-843. doi: [10.3109/15563658108990310](https://doi.org/10.3109/15563658108990310)
- Bravo, I., Reyero, M.I., Cacho, E., Franco, J.M., 1999. Paralytic shellfish poisoning in *Haliotis tuberculata* from the Galician coast: geographical distribution, toxicity by lengths and parts of the mollusc. *Aquatic Toxicology*, 46(2): 79-85. doi: [10.1016/S0166-445X\(98\)00122-2](https://doi.org/10.1016/S0166-445X(98)00122-2)
- Bricelj, V.M., Connel, L., Konoki, K., Macquarrie, S. P., Scheuer, T., Catterall, W.A., Trainer, V.L., 2005. Sodium channel mutation leading to saxitoxin resistance in clams increase risk of PSP. *Nature*, 434: 763-767. doi: [10.1038/nature03415](https://doi.org/10.1038/nature03415)
- Burchell, B., Bierley, C.H., Rance, D., 1995. Specificity of human UDP glucuronosyltransferases and xenobiotics glucuronidation. *Life Science*, 57(20): 1819-1831. doi: [10.1016/0024-3205\(95\)02073-R](https://doi.org/10.1016/0024-3205(95)02073-R)
- Cembella, A.D., Shumway, S.E., Lewis, N., 1993. Anatomical distribution and spatio temporal variation in paralytic shellfish toxin composition in two bivalve species from the gulf of Maine. *Journal of Shellfish Research*, 12: 389- 403.

SONUÇ VE ÖNERİLER

Kabuklu deniz hayvanlarından kaynaklanan kabuklu deniz ürünleri tüketimine bağlı parolitik zehirlenmelerin önüne geçebilmek için zehirlenmelere sebep olan çevre koşulları, dinoflagellat türleri, gelişme şartları ve dağılımları hakkında bilgi sahibi olmak gerekmektedir. Kabuklu deniz hayvanları temiz suların avlanması ve düzenli olarak toksin açısından incelenmelidir. Bu tür zehirlenmeye neden olan dinoflagellatlar buldukları suların renk değişikliğine neden olabileceği gibi aynı zamanda suların herhangi bir renk değişikliğine neden olmayabilir. Türkiye'nin su kaynakları açısından son derece zengin olması ve sanayide gelişmenin olmasına rağmen yaşanan su ve çevre kirlilikleri insan sağlığını tehdit etmektedir. Bu zamana kadar ülkemizde herhangi bir PSP vakası bildirişi yapılmamıştır. Ancak toksini bünyelerinde bulunduran planktonlar sağanak yağmurlar, okyanus akıntıları gibi doğa olayları veya gemilerin demirlemesi sırasında başka bölgelere taşınabilmektedir. Türkiye' de bu konu ile ilgili çalışmalar son derece kısıtlı olmasına rağmen İzmir Körfezi'nde PSP olaylarının varlığı ile ilgili belirgin deliller bulunmaktadır.

Dünya çapında saksitoksin varlığının ve aynı zamanda deniz ürünlerine talebin gün geçtikçe çoğalması bunlardan kaynaklanan zehirlenmelerin önemini arttırmaktadır. Ayrıca zehirlenmenin kısa süre içinde başlaması ve ölüme kadar giden sonuçları zehirlenmenin önemini göstermektedir. Bu konu ile ilgili hem insan sağlığıyla ilgilenen hem de gıda, tarım ve hayvancılık sektöründe çalışan ilgili kişilerin bir araya gelerek araştırmalar yapmaları ve bu araştırmalarla toplumu bilinçlendirmeleri gerekmektedir.

- Concon, J.M., 1988. Toxicology of Marine Foods In: *Food Toxicology*, M. Dekker (ed.), New York, pp. 511-542.
- Erol, I., 2007. *Gıda Hijyeni ve Mikrobiyolojisi. Pozitif matbaacılık*, Ankara, Türkiye, 227 s.
- Etheridge, S., 2010. Paralytic shellfish poisoning: Seafood safety and human health perspectives. *Toxicon*, 56: 108-122. doi: [10.1016/j.toxicon.2009.12.013](https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2009.12.013)
- Franquelo, F., Dominguez Picon, F., Cruz – Conde de boom, R., Tellez Lagos, N., 1998. Microalgal blooms: A global issue with negative impact in Chile. *Biological Research*, 31(4): 375-386.
- Garcia, C., Bravo, M.C., Lagos, M., Lagos, N., 2004. Paralytic shellfish poisoning: post mortem analysis of tissue and body fluid samples from human victims in the Patagonia fjords. *Toxicon*, 43(2): 149-158. doi: [10.1016/j.toxicon.2003.11.018](https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2003.11.018)
- Garcia, C., Lagos, M., Truan, D., Lattes, K., Véjar, O., Chamorro, B., Iglesias, V., Andrinolo, D., Lagos, N., 2005. Human intoxication with paralytic shellfish toxins: Clinical parameters and toxin analysis in plasma and urine. *Biological Research*, 38(2-3): 197-205. doi: [10.4067/S0716-97602005000200009](https://doi.org/10.4067/S0716-97602005000200009)
- Garcia, C., Rodriguez-Navarro, A., Diaz, J.C., Torres, R., Lagos, N., 2009. Evidence of in vitro glucuronidation and enzymatic transformation of paralytic shellfish toxins by healthy human liver microsomes fraction. *Toxicon*, 53(2): 206-213. doi: [10.1016/j.toxicon.2008.10.028](https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2008.10.028)
- Gerssen, A., Pol-Hofstad, I.E., Poelman, M., Mulder, P. P.J., van den Top, H.J., de Boer, J., 2010. Marine Toxins: Chemistry, Toxicity, Occurrence and Detection, with Special Reference to the Dutch Situation. *Toxins*, 2: 878-904. doi: [10.3390/toxins2040878](https://doi.org/10.3390/toxins2040878)
- Gessner, B.D., Middaugh, J.P., 1995. Paralytic shellfish poisoning in Alaska: a 20 year retrospective analysis. *American Journal of Epidemiology*, 141(8): 766-770.
- Gessner, B.D., Bell, P., Doucette, G.J., Moczydlowski, E., Poli, M.A., Dolah, F.V., Hall, S., 1997. Hypertension and identification of toxin in human urine and serum following a cluster of mussel-associated paralytic shellfish poisoning outbreaks. *Toxicon*, 35(5): 711-722. doi: [10.1016/S0041-0101\(96\)00154-7](https://doi.org/10.1016/S0041-0101(96)00154-7)
- Hall, S., 1982. Toxins and toxicity of Protogonyaulax from the northeast Pacific. Ph.D. Thesis. University of Alaska, Fairbanks, AK.
- Hallegraef, G.M., 1993. A review of harmful algal blooms and their apparent global increase. *Phycologia*, 32(2): 79-99. doi: [10.2216/0031-8884-32-2-79.1](https://doi.org/10.2216/0031-8884-32-2-79.1)
- Halstead, B.W., Schantz, E.J., 1984. Paralytic shellfish poisoning. *World health organization*, Geneva: WHO Offset publication, 79: 1-60.
- Hoeger, S., Shaw, G., Hitzfeld, B., Dietrich, D., 2004. Occurrence and elimination of cyanobacterial toxins in two Australian drinking water treatment plants. *Toxicon*, 43(6): 639-649. doi: [10.1016/j.toxicon.2004.02.019](https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2004.02.019)
- Humpage, A.R., Magalhaes, V.F., Frosco, S.M., 2010. Comparison of analytical tools and biological assays for detection of paralytic shellfish poisoning toxins. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 397(5): 1655-1671. doi: [10.1007/s00216-010-3459-4](https://doi.org/10.1007/s00216-010-3459-4)
- Kao, D.Y., 1993. Paralytic Shellfish Poisoning. In: *Algal Toxins in seafood and drinking water*, I.R. Falconer (Ed.), Academic Press, New York, 75-86. doi: [10.1016/B978-0-08-091811-2.50009-5](https://doi.org/10.1016/B978-0-08-091811-2.50009-5)
- Kılıç, S., 2006. Biyolojik silah olarak toksinler. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 63(1): 85-106.
- Kodama, M., Sato, S., 2000. *Seafood and Freshwater Toxins: Pharmacology, Physiology and Detection*. Marcel Dekker, New York, 165-175 p.
- Kodama, M., 2010. Paralytic shellfish poisoning toxins: biochemistry and origin. *Aqua- BioScience Monographs*, 3(1): 1-38. doi: [10.5047/absm.2010.00301.0001](https://doi.org/10.5047/absm.2010.00301.0001)
- Kvitek, R.G., 1991. Paralytic shellfish toxins sequestered by bivalves as a defense against siphon-nipping fish. *Marine Biology*, 11 (3): 369-374. doi: [10.1007/BF01319408](https://doi.org/10.1007/BF01319408)
- Kvitek, R.G., De gange, A.R., Beitle, M.K., 1991. Paralytic Shellfish Poisoning Toxins Mediate Feeding Behavior of Sea Otters. *Limnology and Oceanography*, 36(2): 393-404. doi: [10.4319/lo.1991.36.2.0393](https://doi.org/10.4319/lo.1991.36.2.0393)
- Kwong, R., Wang, V., Lamb, P., Yu, P., 2006. The uptake, distribution and elimination of paralytic shellfish toxins in mussels and fish exposed to toxic dinoflagellates. *Aquat. Toxicology*, 80(1): 82-91. doi: [10.1016/j.aquatox.2006.07.016](https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2006.07.016)
- Lehane, L., 2001. Paralytic shellfish poisoning: a potential public health problem. *Medical Journal of Australia*, 175(1): 29-31.
- Llewellyn, L.E., Dodd, M.J., Robertson, A., Ericson, G., Koning, C., Negri, A.P., 2002. Post-mortem analysis of samples from a human victim of a fatal poisoning caused by the xanthid crab, *Zosimus aeneus*. *Toxicon*, 40(10): 1463-1469. doi: [10.1016/S0041-0101\(02\)00164-2](https://doi.org/10.1016/S0041-0101(02)00164-2)
- Levin, R.E., 1992. Paralytic shellfish toxins: their origins, characteristics, and methods of detection: a review. *Journal of Food Biochemistry*, 15(6): 405-417. doi: [10.1111/j.1745-4514.1991.tb00425.x](https://doi.org/10.1111/j.1745-4514.1991.tb00425.x)
- Mons, M.N., Egmond, V., Speijers, G.J.A., 1998. Paralytic shellfish poisoning; A review. *National Institute of Public Health and the Environment Bilthoven, the Netherlands*, 1-47 p.
- Naseem, S.M., 1996. Toxicokinetics of [³H] Saxitoxin in Peripheral and Central Nervous System of Rats. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 141: 49-58.
- Negri, A.P., Jones, G.J., 1995. Bioaccumulation of paralytic shellfish poisoning (PSP) toxins from the cyanobacterium *Anabaena circinalis* by the freshwater mussel *Alathyria condola*. *Toxicon*, 33: 667-678. doi: [10.1016/0041-0101\(94\)00180-G](https://doi.org/10.1016/0041-0101(94)00180-G)
- Newcombe, G., Nicholson, B., 2004. Water Treatment Options For Dissolved Cyanotoxins. *Journal of water supply: research and technology*, 227-239.
- Oikawa, H., Fujita, T., Satomi, M., Suzuki, T., Kotani, Y., Yano, Y., 2002. Accumulation of paralytic shellfish poisoning toxins in the edible shore crab *Telmessus acutidens*. *Toxicon*, 40(11): 1593-1599. doi: [10.1016/S0041-0101\(02\)00176-9](https://doi.org/10.1016/S0041-0101(02)00176-9)
- Oshima, Y., Yasumoto, T., Karunasaga, R.I., 1990. A toxin profile for shellfish involved in an outbreak of paralytic shellfish poisoning in India. *Toxicon*, 28(7): 868-870.
- Oshima, Y., 1989. Toxins in *Pyrodinium bahamense* var. *compressum* and infested marine organisms. In: Hallegraef, G. M., MacLean, J. L., eds. *Biology, Epidemiology and Management of Pyrodinium Red Rides, Management and Training Workshop*. Manila: ICLARM, Bandar Seri Begawan, Brueni Darussalam, 73-79 p.
- Oshima, Y., 1995. Postcolumn derivatization liquid-chromatographic method for paralytic shellfish toxins. *Journal of AOAC International*, 78(2): 528-532.
- Rapala, J., Robertson, A., Negri, A.P., Berg, K.A., Tuomi, P., Lyra, C., Erkoma, K., Lahti, K., Hoppu, K., Lepisto, L., 2005. First Report of Saxitoxin in Finnish Lakes and Possible Associated Effects on Human Health. *Environmental Toxicology*, 20 (3): 331-340. doi: [10.1002/tox.20109](https://doi.org/10.1002/tox.20109)
- Shimizu, Y., Yoshioka, M., 1981. Transformation of paralytic shellfish toxins as demonstrated in scallop homogenates. *Science*, 212: 546-547. doi: [10.1126/science.7209548](https://doi.org/10.1126/science.7209548)
- Sullivan, J.J., 1988. Methods of analysis for DSP and PSP toxins in shellfish: a review. *Journal of Shellfish Research*, 7: 587-595.
- Usup, G., Leaw, C.P., Cheah, M.Y., Ahmad, A., Boon-Koon, N.G., 2004. Analysis of paralytic shellfish poisoning toxin congeners by a sodium channel receptor binding assay. *Toxicon*, 44(1): 37-43. doi: [10.1016/j.toxicon.2004.03.026](https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2004.03.026)
- Wang, D., 2008. Neurotoxins from Marine Dinoflagellates: A Brief Review. *Marine Drugs*, 6(2): 349-371. doi: [10.3390/md20080016](https://doi.org/10.3390/md20080016)
- Wiese, M., D'agostino, P.M., Mihalj, T.K., Moffitt, M.C., Neilan, B.A., 2010. Neurotoxic Alkaloids: Saxitoxin and Its Analogs. *Marine Drugs*, 8: 2185-2211. doi: [10.3390/md8072185](https://doi.org/10.3390/md8072185)

- Wright, J.L.C., 1995. Dealing with seafood toxins: present approaches and future options. *Food Research International*, 28: 347- 358.
doi: [10.1016/0963-9969\(95\)00001-3](https://doi.org/10.1016/0963-9969(95)00001-3)
- Yen, I.C., Astudillo, L.R., Soler, J.F., Barbera-Sanchez, A., 2006. Paralytic shellfish poisoning toxin profiles in green mussels from Trinidad and Venezuela. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19 (1): 88-94.
doi:[10.1016/j.jfca.2004.11.006](https://doi.org/10.1016/j.jfca.2004.11.006)
- Yoshida, T., Sako, Y., Uchida, A., Ishida, Y., Arakawa, O., Noguchi, T., 1996. Purification and properties of paralytic shellfish poisoning toxins sulfotransferase from toxic dinoflagellate *Gymnodinium catenatum*. *Intergovernmental Oceanographic Commission of UNESCO*, Paris, 499-502.

İÇİNDEKİLER CONTENTS

ARAŞTIRMA MAKALESİ RESEARCH ARTICLE

- Karadeniz'in Sinop kıyılarından yakalanan bazı deniz balıklarının metazoan parazitleri.
Metazoan parasites of some marine fish species collected at the Sinop Coasts of the Black Sea.
Ahmet Özer, Ahmet Murat Olguner..... 93-97
- Benefits of artificial reefs in Altınoluk (Northern Aegean), Turkey: Assessment of potential users' opinions via fuzzy pair wise comparison approach.
Altınoluk'da (Kuzey Ege) yapay resiflerin faydaları: Bulanık eşli karşılaştırma yaklaşımı ile potansiyel kullanıcıların görüşlerinin değerlendirilmesi.
Sezgin Tunca, Bülent Miran, Vahdet Ünal..... 99-104
- Sübye [*Sepia officinalis* (Linnaeus, 1758)]'nin iç kabuk gelişimi.
The cuttlebone development of Common Cuttlefish [*Sepia officinalis* (Linnaeus, 1758)].
Halil Şen..... 105-108
- Some potentially toxic dinoflagellate cysts in recent sediments from İzmir Bay.
İzmir Körfezi yüzey sedimentinde olası toksik dinoflagellat kistleri.
Hilal Aydın, Serdar Uzar..... 109-114
- Dioktil Adipat (DOA) 'ın *Sparus aurata* (Çipura) karaciğer ve solungaç histolojisi üzerine etkileri.
The effects of Dioctyl Adipate (DOA) on liver and gill histology of *Sparus aurata* (Sea Bream).
Melih Üreten, Sema İşisaj Üçüncü..... 115-122
- Effects of synthetic and natural steroids on the growth, sex reversal and gonadal development of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum).
Doğal ve sentetik steroidlerin Gökkuşaağı alabalığında, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum) gonadal gelişim, cinsiyet dönüşümü ve büyüme üzerine etkileri.
Erdal Yılmaz, Şehriban Çek, Yavuz Mazlum..... 123-131
- Fethiye yöresinde (Akdeniz) pelajik Kılıç balığı paraketalarının av verimini arttırmak için kullanılan ışık çubukları üzerine denemeler.
Light stick trials, being used for boosting catch efficiency, on pelagic longline for swordfish in Fethiye region (Mediterranean Sea).
M. Tolga Tüzen, Tevfik Ceyhan, Okan Akyol, C. Mert Özkan..... 133-137

DERLEME REVIEW

- Kabuklu deniz hayvanlarından kaynaklanan paralitik zehirlenme.
Paralytic shellfish poisoning.
Yağmur Nil Demirel, T. Haluk Çelik..... 139-146