

Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences

www.egejfas.org

E-ISSN 2418-3140

EgeJFAS

Su Ürünleri Dergisi

Volume 37 Number 2

2020



Ege University Faculty of Fisheries



Instructions for Authors

Scope of the Journal

Su Ürünleri Dergisi (Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences) is an open access, international, double blind 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.

Su Ürünleri Dergisi (EgeJFAS) is published quarterly (March, June, September and December) 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Work submitted for publication must be previously unpublished, not under consideration for publication elsewhere and, if accepted, it should not then be published elsewhere.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 centered under the title. Numbered (!) 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 (except checklists).
- 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 content 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 APA style. The usage of reference managers as Mendeley @or Endnote @or an online reference manager as Citefast (<http://www.citefast.com/>) with the output style of APA 6th edition is advised in organizing the reference list.

All references must be written in English. The in-text citation to the references should be formatted as surname(s) of the author(s) and the year of publication: (Kocataş, 1978) or (Geldiy and Ergen, 1972); in Turkish article (Geldiy 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), Geldiy et al. (1971). There should be no parentheses for the citations that the year of the citation is given in the beginning of the sentence, i.e. "In 1978, Kocataş's study of freshwater ecology showed that..."

When its needed to cite two or more works together, in-text citations should be arranged alphabetically in the same order in which they appear in the reference list, i.e. (Geldiy and Ergen, 1972; Kocataş, 1978; Thury, 1987) or (Kocataş, 1978, 1979, 1981) or (Geldiy and Ergen, 1972a, 1972b)

All citations should be listed in the reference list, with the exception of personal communications. References should be listed alphabetically ordered by the author's surname, or first author's surname if there is more than one author at the end of the text.

Hanging indent paragraph style should be used. The year of the reference should be in parentheses after the author name(s). The correct arrangement of the reference list elements should be in order as "Author surname, first letter of the name(s). (publication date). Title of work. Publication data. DOI

Article title should be in sentence case and the journal title should be in title case. Journal titles in the Reference List must be italicized and spelled out fully; **do not abbreviate titles** e.g., *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, not *Ege J Fish Aqua Sci*. Article titles are not italicized. If the journal is paginated by issue the issue number should be in parentheses.

DOI information (if available) should be placed at the end of the reference as in the example. The DOI information for the reference list can be retrieved from CrossRef@Simple Text Query Form (<http://www.crossref.org/SimpleTextQuery/>) by just pasting the reference list into the query box.

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

Özbek, M. & Ulutürk, E. (2017). First record of *Spongilla lacustris* Porifera: Demospongiae) from the Eastern Black Sea (Uzungöl Lake, Trabzon) (*in Turkish with English abstract*). *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 34(3), 341-346. DOI: 10.12714/egejfas.2017.34.3.14

Books

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

Chapter in Books

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

Proceedings

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

Online Articles

Andrews, T. (2010). What vitamins are found in fish? Retrieved from <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 placed inside the manuscript in proper places. 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. All authors/readers have free access to all papers.

Plagiarism Detection

In accordance with its publishing policies EgeJFAS requires plagiarism check for each study that has undergone the "Review Process". The iThenticate plagiarism checker software is used for plagiarism detection.

Indexes

EgeJFAS is indexed in TUBITAK ULAKBIM TR Dizin, ESCI (Clarivate Analytics), Zoological Record (Clarivate Analytics), EBSCO, CABI, ProQuest, DOAJ, ASFA

Corresponding Address Su Ürünleri Dergisi Ege University Faculty of Fisheries 35100 Bornova-Izmir, Turkey Phone: +90 232 311 3838 Fax: +90 232 388 3685 E-mail: editor@egejfas.org	E- ISSN 2148-3140
---	--------------------------

Su Ürünleri Dergisi

Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences

Volume 37 Number 2

E-ISSN 2418-3140

İÇİNDEKİLER CONTENTS

ARAŞTIRMA MAKALELERİ RESEARCH ARTICLES

- Optimization of hydrolyzation procedure for amino acid analysis in fish meat with HPLC-DAD by Response Surface Methodology (RSM)
Balık etinde HPLC-DAD ile yapılan amino asit analizi hidrolizasyon prosedürünün Yanıt Yüzey Metodu (RSM) ile optimizasyonu
Ekrem Cem Çankırılıgil, Nermin Berik, Esen Alp Erbay.....113-123
- İstanbul Boğazı'nda kurulan son dalyanlar: Av kompozisyonu birim av gücü ve bazı ekolojik indeksler
Last dalyans (stationary uncovered pound nets) deployed in the Istanbul Strait: Catch composition, catch per unit effort, and ecological indexes
Dorukhan Biçer, Taner Yıldız, Uğur Uzer, F. Saadet Karakulak.....125-133
- Effect of different protein sources on protease activity of northern pike, *Esox lucius* Linnaeus 1758, juvenile
Farklı protein kaynaklarının turna, *Esox lucius* Linnaeus 1758, juvenillerinin proteaz aktivitesi üzerine etkisi
Kaya Gökçek, Tamás Szabó, Cüneyt Suzer.....135-138
- Ege Denizi'nde kıyı balıkçılığı ve deniz kuşları arasındaki bazı etkileşimler
Some interactions between coastal fisheries and sea birds in the Aegean Sea
Tevfik Ceyhan, Okan Akyol.....139-147
- Sponge species from ports of the inner and middle parts of İzmir Bay (Aegean Sea, Eastern Mediterranean)
İzmir iç ve orta körfezi limanlarından sünger türleri (Ege Denizi, Doğu Akdeniz)
Alper Evcen, Melih Ertan Çınar.....149-155
- İzmir Körfezi'nden izole edilen *Cylindrotheca closterium* (Ehrenberg) Reimann & J. Lewin, 1964 türünün büyümesi üzerine ışık, sıcaklık, nütrient ve tuzluluğun etkileri
Effects of light, temperature, nutrients and salinity on the growth of *Cylindrotheca closterium* (Ehrenberg) Reimann & J. Lewin, 1964 species isolated from İzmir Bay
Merve Betül Üstün, Hasan Baha Büyüksık.....157-166
- Antibacterial activity of some essential oils againsts *Vagococcus salmoninarum*
Vagococcus salmoninarum'a karşı bazı uçucu yağların antibakteriyel aktivitesi
Seçil Metin, Zühre Işıl Biçer.....167-173
- Banyo yoluyla oksitetrasiklin uygulanan pullu sazan (*Cyprinus carpio*)' da paraoksonaz ve arylesteraz enzim aktivitelerindeki değişimlerin araştırılması
Investigation of changes in paraoxonase and arylesterase enzyme activities in scaly carp (*Cyprinus carpio*) applied oxytetracycline by bath
Ufuk Aker, Serpil Mişe Yonar.....175-180
- Paraonis fulgens* (Annelida: Paraonidae), a new species record for the marine fauna of Turkey
Paraonis fulgens (Annelida: Paraonidae), Türkiye deniz faunası için yeni bir tür kaydı
Deniz Erdoğan Dereli, Melih Ertan Çınar.....181-185
- Effects of depth and season on catch volume of bottom gillnets employed along the Fatsa coasts of the South-eastern Black Sea
Güneydoğu Karadeniz'in Fatsa kıyılarında kullanılan dip uzatma ağılarıyla yakalanan avın miktarı üzerine derinlik ve mevsimin etkileri
İsmet Balık.....187-194
- Effects of myo-inositol concentration on growth and pigments of *Nannochloropsis oculata* culture
Myo-inositol konsantrasyonunun *Nannochloropsis oculata* kültüründe büyüme ve pigmentleri üzerine etkileri
Gökhan Çaçatay Erbil, Yaşar Durmaz.....195-199

DERLEMELER REVIEWS

- Bakır ve kadmiyuma maruz bırakılan Sarıağz balığının (*Argyrosomus regius*) bazı dokularındaki metal birikimi
Metal accumulation in some tissues of Meagre (*Argyrosomus regius*) exposed to copper and cadmium
Mehmet Rüştü Özen, Faruk Pak.....201-206



Published by
Ege University Faculty of Fisheries, İzmir, Turkey



Su Ürünleri Dergisi
Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences

Sahibi Director
Uğur SUNLU **Dekan Dean**
Ege University Faculty of Fisheries, İzmir, Turkey

Yazı İşleri Müdürü Editor-in-Chief
Ufuk ÇELİK
Ege University Faculty of Fisheries, İzmir, Turkey

Yazı İşleri Müdür Yardımcıları Co-Editors-in-Chief
Gürel TÜRKMEN Ege University Faculty of Fisheries, İzmir, Turkey
Hasan M. SARI Ege University Faculty of Fisheries, İzmir, Turkey

Yardımcı Editörler Associate Editors
Okan AKYOL Ege University Faculty of Fisheries, İzmir, Turkey
Mehmet Alp SALMAN Ege University Faculty of Fisheries, İzmir, Turkey
Cüneyt SUZER Ege University Faculty of Fisheries, İzmir, Turkey
Vahdet ÜNAL Ege University Faculty of Fisheries, İzmir, Turkey

Teknik Editör Technical Editor
M. Tolga TOLON Ege University Faculty of Fisheries, İzmir, Turkey

İstatistik Editörü Statistical Editor
Hülya SAYGI Ege University Faculty of Fisheries, İzmir, Turkey

Yabancı Dil Editörü Foreign Language Editor
Eren ALKAN Ege University School of Foreign Languages, İzmir, Turkey

Yayın Kurulu Editorial Board

Ela ATIŞ Ege University, İzmir, Turkey
Aslı BAŞARAN Ege University, İzmir, Turkey
Levent BAŞ Sinop University, Sinop, Turkey
Javier BORDERÍAS ICTAN-CSIC, Madrid, Spain
Kurt BUCHMANN University of Copenhagen, Copenhagen, Denmark
Melih Ertan ÇINAR Ege University, İzmir, Turkey
Yılmaz ÇİFTÇİ Ordu University, Ordu, Turkey
Deniz ÇOBAN Adnan Menderes University, Aydın, Turkey
Mark DIMECH FAO Fish. Aqua. Dept., Rome, Italy
M. Tolga DİNÇER Ege University, İzmir, Turkey
Ertuğ DÜZGÜNEŞ Karadeniz Technical University, Trabzon, Turkey
Ercüment GENÇ Ankara University, Ankara, Turkey
Ana GORDOA CEAB-CSIC, Madrid, Spain
Gertrud HAIDVOGL Uni. Nat. Res. Life Sci., Vienna, Austria
Chiaki IMADA Tokyo Uni. Marine Sci. Tech., Tokyo, Japan
Bilge KARAHAN Ege University, İzmir, Turkey
F. Saadet KARAKULAK İstanbul University, İstanbul, Turkey
Marcelo de Castro LEAL University of Lavras, Lavras, Brazil
Aynur LÖK Ege University, İzmir, Turkey

K. Karal MARX Fisheries College and Research Institute, Thoothukudi, India
Jörg OEHLenschläGER Seafood Consultant, Hamburg, Germany
Rahime ORAL Ege University, İzmir, Turkey
M. Bahadır ÖNSOY Muğla Sıtkı Koçman University, Muğla, Turkey
Murat ÖZBEK Ege University, İzmir, Turkey
Hüseyin ÖZBİLGİN Mersin University, Mersin, Turkey
Müfit ÖZULUĞ İstanbul University, İstanbul, Turkey
Giuliana PARISI University of Florence, Florence, Italy
Fatih PERÇİN Ege University, İzmir, Turkey
Şahin SAKA Ege University, İzmir, Turkey
Haşim SÖMEK İzmir Katip Çelebi University, İzmir, Turkey
Radu SUCIU Danube Delta National Institute, Tulcea, Romania
Tamás SZABÓ Szent István University, Gödöllő, Hungary
William TAYLOR Michigan State University, East Lansing, USA
E. Mümtaz TIRAŞIN Dokuz Eylül University, İzmir, Turkey
Adnan TOKAÇ Ege University, İzmir, Turkey
Sühendan Mol TOKAY İstanbul University, İstanbul, Turkey
Mustafa ÜNLÜSAYIN Akdeniz University, Antalya, Turkey
Argyro ZENETOS Hellenic Centre for Marine Research, Anávyssos, Greece

Yayın Ofisi Editorial Office
Halise KUŞÇU Ege University Faculty of Fisheries, İzmir, Turkey

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

Yayınlanma Tarihi Publishing Date
15 Haziran June 15th, 2020

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

Optimization of hydrolyzation procedure for amino acid analysis in fish meat with HPLC-DAD by Response Surface Methodology (RSM)

Balık etinde HPLC-DAD ile yapılan amino asit analizi hidrolizasyon prosedürünün Yanıt Yüzey Metodu (RSM) ile optimizasyonu

Ekrem Cem Çankırılıgil¹ • Nermin Berik^{2*} • Esen Alp Erbay³

¹Central Fisheries Research Institute, Department of Aquaculture, 61100, Trabzon, Turkey

<https://orcid.org/0000-0001-5898-4469>

²Faculty of Marine Sciences and Technology, Department of Fisheries and Processing Technology, Çanakkale Onsekiz Mart University, 17100, Çanakkale, Turkey

<https://orcid.org/0000-0003-3015-8688>

³Central Fisheries Research Institute, Department of Food Technology, 61100, Trabzon, Turkey

<https://orcid.org/0000-0001-5486-7425>

Corresponding author: nberik@yahoo.com

Received date: 23.06.2019

Accepted date: 20.11.2019

How to cite this paper:

Çankırılıgil, E.C., Berik, N. & Erbay, E.A. (2020). Optimization of hydrolyzation procedure for amino acid analysis in fish meat with HPLC-DAD by Response Surface Methodology (RSM). *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 37(2), 113-123. DOI: [10.12714/egejfas.37.2.01](https://doi.org/10.12714/egejfas.37.2.01)

Abstract: In this research, with the aim of maximizing amino acid content by different hydrolyzation procedures of fish meat were carried out and analysed with high performance liquid chromatography (HPLC) equipped with diode array detector (DAD). Response surface methodology (RSM) was used to determine factors that used in the experiments. The RSM suggested 16 different hydrolyzation trials between the ranges of normality as 3 N - 8 N, temperature as 90°C-110°C and duration as 12-24 hours were run. In the following, hydrolysed samples were analysed with HPLC-DAD and obtained data were evaluated with Box-Behnken method in RSM. Our results show that, the most effective experiment was found as hydrolysing by 3.79 N at 110°C in 24 hours for total amino acid content as well as maximized essential amino acids with 0.981 desirability. For sensitive ones, hydrolysing in 3.42 N at 106.8°C in 12.02 hours was found as most effective with maximized Asn, Gln and Trp with 0.849 desirability.

Keywords: Amino acid, Box-Behnken, seafood, pre-treatment, response surface methodology, hydrolyzation

Öz: Bu çalışmada; diyet dedektörü (DAD) donanımlı yüksek performanslı likit kromatografi (HPLC) ile balık etinde gerçekleştirilen amino asit analizinde, amino asit miktarını maksimize etmek için farklı hidrolizasyon prosedürleri gerçekleştirilmiştir. Deneylerde kullanılan faktörleri belirlemek için yanıt yüzey metodu (RSM) kullanılmıştır 16 adet farklı hidrolizasyon deneyi RSM ile kurulmuş olup, 3N-8N arasındaki normalite değerleri, 90°C-110°C arasındaki sıcaklık değerleri ve 12-24 saat arasındaki süre değerleri dikkate alınmıştır. Elde edilen hidrolizatlar HPLC-DAD ile analiz edilmiş olup elde edilen veri RSM'deki Box-Behnken metoduna göre değerlendirilmiştir. Sonuçlara göre; toplam ve esansiyel amino asitler için en efektif hidrolizasyon metodu 3,29 normalitede, 110°C sıcaklıkta, 24 saat olarak belirlenmiş olup istenilebilirlik değeri 0,981 olarak tespit edilmiştir. Hassas amino asitler için ise; 3,42 normalitede, 106,8°C sıcaklıkta, 12,02 saat süre Asn, Gln ve Trp için maksimum değerleri vermiş olup istenilebilirlik değeri 0,849 olarak tespit edilmiştir.

Anahtar kelimeler: Amino asit, Box-Behnken, su ürünleri, ön işlem, yanıt yüzey metodu, hidrolizasyon

INTRODUCTION

Fish and other seafood are ideal food sources for a healthy diet (Hosomi et al., 2012) with high composition of omega 3 fatty acids (Musarskaya et al., 2018), some beneficial nutrients (Biesalski, 2005) low carbohydrate content (Krzynowek & Murphy, 1987) and high quality proteins (Tahergorabi & Hosseini, 2018). That protein content has biologically important (Köksal & Özel, 2008) and well-balanced amino acid composition (Lund, 2013) as well as rich in terms of essential amino acids (Çankırılıgil & Berik, 2017) which are fundamental for humans (Hou et al., 2015). Essential amino acids are plays such roles in metabolism just as protein synthesis, hormonal secretions, gene expression and cell signalling (Wu, 2009). Besides, non-essentials also contribute to body growth and health (Wu et al., 2013) along with essentials ones.

Considering these benefits, several studies that carried out on amino acid composition of various fish species. Thus, determination techniques of amino acids had gained importance parallel with such studies with the aim of getting more concise results. Despite the fact that, developing several well-designed analyse methods as rapid and accurate, these methods can be as good as the applied hydrolyzation procedure of samples scarcely due to severe conditions of hydrolyzation that caused degradation of amino acid content. Conventional hydrolyzation procedures are based on the digesting of fish meat with hydrochloric acid having high normality at high temperature for hours in drying oven. However, these factors affects each amino acids with different ways and some of them can be degraded and should be well-optimized.

The optimization of experimental design is very important when the analytical procedures are developed and validated (Vera et al., 2014). Response surface methodology (RSM) as an optimization tool for analytical methods (Bezerra et al., 2008) and using for optimization of all chemical and biochemical processes (Baş & Boyacı, 2007). RSM is using an empirical model building with considering relationships between independent variables and data that obtained by mathematical and statistical techniques from conducted experiments (Alvarez, 2000; Said Mohamad & Mohamed Amin, 2015) which is much more time saving than conventional designing methods (Widyaningsih et al., 2018). In this research, RSM was used to specify optimum conditions for pre-treatment of amino acid analysis. Before the applying RSM, the experimental design should be specified by choosing the factors that directly affect to responses (Hwang et al., 2016).

The aim of this study is to maximize essential amino acids and reducing losses of non-essential amino acids with applying different ranges of normality, temperature and duration times in the hydrolyzation procedure of fish meat. Furthermore, the composition of some vulnerable amino acids such as tryptophan (Trp), glutamine (Gln), asparagine (Asn) are decrease more than others when they exposed to high temperature and low pH (Varlik et al., 2004) whereas causing an increase on aspartic acid and glutamic acid (Dong et al., 2005), inversely. Also, the optimum conditions for aforementioned amino acids were determined. Ultimately, two suggested hydrolyzation conditions by the RSM were performed as pre-treatment for both essential amino acids and vulnerable ones.

MATERIAL AND METHODS

Chemical, solutions and consumables

Hydrochloric acid fuming %37 (HCl), sodium phosphate dibasic solution (Na₂HPO₄), sodium hydroxide (NaOH), methanol (MeOH; GC grade) and acetonitrile (ACN; GC grade) were purchased from Merck. Borate buffer, o-phthalaldehyde reagent (OPA), 9-fluorenylmethyl chloroformate reagent (FMOC), amino acid standard solutions (mix of L-alanine, L-arginine, L-aspartic acid, L-cystine, L-glutamic acid, glycine, L-histidine hydrochloride monohydrate, L-isoleucine, L-leucine, L-lysine hydrochloride, L-methionine, L-phenylalanine, L-proline, L-serine, L-threonine, L-tyrosine, L-valine stored in 0.1N HCl with different dosages as 1nmol, 250pmol, 100pmol, 25pmol and 10pmol) and extended amino acid standards for sensitive ones such as L-glutamine, L-asparagine, L-tryptophan and L-4-hydroxyprolin in the form of powder were obtained from Agilent Technologies. Water purified (18.1 megaohm purity) with Thermo Scientific Nanopure. Amino acid column for HPLC system (Zorbax clip AAA, 5µm, 4.6x150m), 1.5ml amber vials with politetrafluoroetilen caps (PTFE) and syringe filters (0.45µm) were also purchased from Agilent Technologies.

Fish material

In this research, rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) was preferred as fish material for the purpose of the amino acid studies carried out with this species are very common and discussion were done considering such studies. Trout were obtained from Central Fisheries Research Institute operated in Trabzon, Turkey and 50 individuals which are 250 g each were used. Firstly, trout were washed and deskinning. Fillets were homogenized with Stomacher 400 Circulator in 300 rpm and samples were stored in +2°C for further stages.

Experimental design

In this study, the effects of three independent variables such as normality, temperature and time on amino acid content of fish meat were evaluated. Thus, the Box-Behnken analysis of response surface methodology (RSM) was used for experimental design. In this method, the most effective values of factors affecting responses were determined for selected responses. The maximum and minimum values of these factors were determined according to preliminary results and upper or lower values of these factors caused some false and irregularities in amino acid analysis due to excessive or insufficient hydrolysing. The values were coded as -1, 0 and +1 for minimum values, mean values and maximum values, respectively (Table 1). In the values ranging 1 N- 3 N, 70°C-90°C and 8-12 hours samples were not completely digested. Above the 8 N, 110°C and 24 hours caused losses of some amino acids completely. For this reason, the factors were selected as normality ranging from 3 N to 8 N, temperature ranging from 90°C to 110°C and duration ranging from 12 to 24 hours. Besides, content of total amino acids (TAA), total essential amino acids (TEAA), threonine (Thr), valine (Val), methionine (Met), phenylalanine (Phe), isoleucine (Iso), leucine (Leu), lysine (Lys), tryptophan (Trp), asparagine (Asn), aspartic acid (Asp), glutamine (Gln), glutamic acid (Glu), serine (Ser), glycine (Gly), histidine (His), alanine (Ala), tyrosine (Tyr), cysteine (Cys), hydroxyproline (Hyp) were selected as responses individually. Thus, according to Box-Behnken design, 16 experiments having differences in the combination of these factors were determined. In the following, 1 gram of homogenised fish meat and 10ml HCl which have different normalities put on autoclave bottle enduring high temperature and pressure were digested in drying oven in varied temperatures and duration time in accordance with design matrix. Box-Behnken design matrix of the dependent variables was shown in Table 1. All experiments were replicated 3 times (n=3).

Table 1. Box-Behnken design matrix of pre-treatment of fish meat for amino acid analyses

Design Order	Temperature (°C) X^1	Normality (N) X^2	Duration (hour) X^3	Responses Y
1	-1	-1	0	-
2	1	-1	0	-
3	-1	1	0	-
4	1	1	0	-
5	-1	0	-1	-
6	1	0	-1	-
7	-1	0	1	-
8	1	0	1	-
9	0	-1	-1	-
10	0	1	-1	-
11	0	-1	1	-
12	0	1	1	-
13	0	0	0	-
14	0	0	0	-
15	-1	-1	-1	-
16	1	1	1	-

*TAA, TEAA, Ala, Asn, Asp, Cys, Gln, Glu, Gly, His, Hyp, Ile, Leu, Lys, Met, Phe, Ser, Thr, Trp, Tyr, Val were selected as responses, individually.

Amino acid analyses

Subsequent to hydrolysing procedure, obtained samples were filtered by syringe filter (0.45µm), diluted as 10⁻¹ with purified water and finally they stored in 1.5ml amber vials equipped with PTFE caps for the amino acid analysis. Amino acid analyses were carried out with Agilent HPLC Infinity II system equipped with diode array detector (DAD) and auto-sampler. Amino acid analyses were done according to the method of Henderson et al. (2000). In this method, 0.5µL sample was drawn from vial with an automatic sampler and it was derivatized with borate buffer, OPA and FMOC reagents. Subsequent to derivatization, samples were injected to the system individually. Separation of amino acids was carried out by Zorbax Eclipse AAA amino acid column at 40°C in gradual mobile phase which are mix of 40mM Na₂HPO₄ (A) adjusted to 7.8 pH with 10N NaOH and MeOH:ACN:H₂O (B) in the ratio of 45%:45%:10% with 2mL/min flow rate, approximately for 26 minutes. Gradient stages of mobile phase were applied as A:100%, B:0%; A:43%, B:57%; A:0%, B:100%; A:0%, B:100%; A:100%, B:0% in 1.9min, 18.1min, 18.6min, 22.3min, 23.2min, respectively. Detection was done in two different wavelengths in 338nm, 10nm bandwidth for OPA-amino acids and 262nm, 16nm bandwidth for FMOC-amino acids. All samples were analysed for 3 times (n=3). Obtained results were calibrated automatically and expressed as g/100g.

Data evaluation

Obtained results from amino acid analysis were written in response column in Box-Behnken design matrix and evaluated with Design Expert 7.16 software. All models were formulated in compliance with results along with the significance of models and lack of fit which were evaluated for all responses as TAA, TEAA, Ala, Asn, Asp, Cys, Gln, Glu, Gly, His, Hyp, Ile, Leu, Lys, Met, Phe, Ser, Thr, Trp, Tyr and Val. Besides, along with responses of TAA and TEAA, they were also evaluated with the sum of mentioned amino acids. Finally, optimum values for to get maximal total amino acid content as well as essential amino acids and maximized vulnerable amino acids were determined considering the results of 16 experiments. The used functions of models were given below.

$$y = \beta_0 + \sum \beta_i X_i \quad (\text{Linear model})$$

$$y = \beta_0 + \sum \beta_i X_i + \sum \beta_{ij} X_i X_j \quad (\text{Two factor interaction model})$$

$$y = \beta_0 + \sum \beta_i X_i + \sum \beta_{ij} X_i X_j + \sum \beta_{ii} X_i^2 \quad (\text{Quadratic model})$$

Where y is one of the responses, β_0 is the regression intercept, X symbols are independent variables, β_i is coefficient of the linear parameters, β_{ij} is coefficient of interaction between factors, and β_{ii} is the coefficient of the quadratic parameters (Davarnajad et al., 2018; Nadarajan et al., 2018).

Differences among amino acid composition of all experiments were determined by one-way analysis of variance one-way ANOVA in SPSS 12 after testing the homogeneity of the data (Levene test). Results were expressed as mean ±SD (n=9) and significance level was set as P≤0.05 (Zar, 1999).

Achieved optimum values of factors for both total amino acids and vulnerable ones were expressed as optimization 1 (O₁) and optimization 2 (O₂), respectively. In the evaluation of O₁, the essential amino acids except tryptophan were selected as for getting maximum along with other amino acids. In the second one (O₂), an additional optimization procedure was carried out for getting maximized some special amino acids that show variations in quantity with high temperature and low pH such as Trp, Asn, Gln. With these extreme conditions, Asn and Gln can be transformed to Asp and Glu, respectively. Therefore; Asp, Asn, Gln and Glu were evaluated separately along with Trp which is amongst most vulnerable ones. Ultimately, these two optimization procedures were applied as 17th and 18th experiments and amino acid composition of these experiments was determined and compared to previous runs.

RESULTS AND DISCUSSION

According to experiments, linear model was applied for TAA, TEAA, Glu, Ser, Gly, Thr, Tyr, Val, Met, Trp, Iso, Leu; two factor interaction (2FI) model was applied for Asp, Asn, Gln,

His, Ala, Lys; and quadratic model was applied Cys and Hyp. The final equations of coded factors for models are;

$$\begin{aligned}
 TAA &= 11.76 + 3.14A - 0.66B + 0.49C \\
 TEAA &= 4.52 + 1.43A - 0.2B + 0.29C \\
 Asp &= 1.03 + 0.34A - 0.4B + 0.036C - 0.29AB - 0.045AC \\
 &\quad + 0.21BC \\
 Glu &= 1.64 + 0.47A - 0.14B + 0.1C \\
 Asn &= 0.46 + 0.14A - 0.064B + 0.016C - 0.092AB - 0.039AC + 0.049BC \\
 Ser &= 1.08 + 0.19A + 0.013B + 0.014C \\
 Gln &= 0.44 + 0.21A - 0.065B + 0.040C - 0.12AB - 0.054AC + 0.048BC \\
 His &= 0.38 + 0.03A - 0.06B + 0.009C - 0.033AB + 0.042AC + 0.042BC \\
 Gly &= 0.42 + 0.11A + 0.012B + 0.026C \\
 Thr &= 1.14 + 0.27A - 0.09B + 0.033C \\
 Ala &= 0.19 + 0.071A - 0.024B + 0.012C - 0.043AB - 0.019AC \\
 &\quad + 0.021BC \\
 Tyr &= 0.34 + 0.013A + 0.12B + 0.041C \\
 Cys &= 0.082 - 0.0064A - 0.0006B + 0.005C - 0.0005AB + 0.011AC \\
 &\quad + 0.015BC - 0.013A^2 - 0.018B^2 - 0.0052C^2 \\
 Val &= 0.46 + 0.2A + 0.0011B + 0.063C \\
 Met &= 0.41 + 0.15A - 0.014B + 0.031C \\
 Trp &= 0.28 - 0.045A - 0.05B - 0.056C \\
 Phe &= 0.51 + 0.19A - 0.0032B + 0.05C \\
 Iso &= 0.35 + 0.19A + 0.0036B + 0.068C \\
 Leu &= 0.93 + 0.32A - 0.039B + 0.055C \\
 Lys &= 0.084 + 0.33A - 0.16B + 0.031C - 0.18AB - 0.097AC + 0.092BC \\
 Hyp &= 0.41 - 0.012A + 0.06B + 0.021C + 0.06AB + 0.026BC - 0.13A^2 \\
 &\quad - 0.039B^2 - 0.068C^2
 \end{aligned}$$

Among these models, linear models of TAA and TEAA were found significant with a very low pure error. Analysis of variance for the responses of total amino acids and essential amino acids were shown in Table 2. The response surface models of amino acids and essential amino acids were also shown in Figure 1.

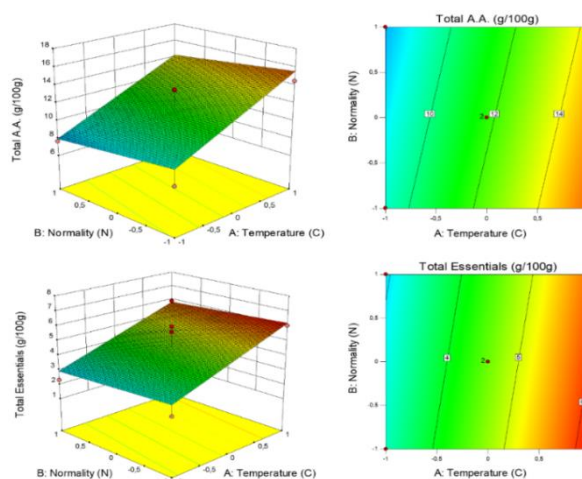


Figure 1. Response surface plots for total amino acids and essential amino acids

Table 2. Analysis of variance for models of total amino acids and essential amino acids

Total A.A.	SS	df	MS	F Value	p-value	
Linear Model	115.02	3	38.34	5.03	0.0143	significant
A:Temperature	112.54	1	112.54	14.76	0.0018	
B:Normality	4.87	1	4.87	0.64	0.4377	
C:Time	2.79	1	2.79	0.37	0.5552	
Residual	106.75	14	7.63			
Lack of Fit	106.75	13	8.21	2830.61	0.0147	significant
Pure Error	0.0029	1	0.00			
Total E.A.A.	SS	df	MS	F Value	p-value	
Linear Model	24.38	3	8.13	5.59	0.0099	significant
A:Temperature	23.42	1	23.42	16.1	0.0013	
B:Normality	0.44	1	0.44	0.3	0.5906	
C:Time	0.95	1	0.95	0.65	0.4329	
Residual	20.37	14	1.45			
Lack of Fit	20.37	13	1.57	7340.16	0.0091	significant
Pure Error	0.0002	1	0.0002			

*SS: Sum of squares, df: Degrees of freedom, MS: Mean squares.

**Tryptophan was evaluated separately apart from the essential amino acids due to sensitive high temperature and low pH. (A.A.: Amino acids, E.A.A.: Essential amino acids).

When the essential amino acids evaluated individually, all models except tryptophan were found significant. The linear model of methionine was determined as significant, in spite of

the model's lack of fit was found as not significant. Analysis of variance for the responses of some amino acids were shown in Table 3.

Table 3. Analysis of variance for some models of amino acids

Response	SS	df	MS	F Value	p-value	
THR (Linear model)	0.86	3	0.29	3.41	0.0474	significant
Lack of Fit	1.17	13	0.090	296.10	0.0455	significant
VAL (Linear model)	0.51	3	0.17	7.99	0.0024	significant
Lack of Fit	0.30	13	0.023	348.25	0.0419	significant
MET (Linear model)	0.28	3	0.095	6.37	0.0060	significant
Lack of Fit	0.21	13	0.016	100.82	0.0778	not significant
PHE (Linear model)	0.45	3	0.15	5.62	0.0097	significant
Lack of Fit	0.37	13	0.029	306.86	0.0447	significant
ISO (Linear model)	0.51	3	0.17	9.46	0.0011	significant
Lack of Fit	0.25	13	0.019	714.55	0.0293	significant
LEU (Linear model)	1.20	3	0.40	4.96	0.0150	significant
Lack of Fit	1.13	13	0.087	493.23	0.0352	significant
LYS (2FI model)	1.52	6	0.25	6.40	0.0042	significant
Lack of Fit	0.43	10	0.043	4074.21	0.0122	significant
ASP (2FI model)	2.91	6	0.49	6.58	0.0037	significant
Lack of Fit	0.81	10	0.081	25311.75	0.0049	significant
GLU (Linear model)	4.20	3	1.40	4.56	0.0198	significant
Lack of Fit	4.29	13	0.33	32.86	0.1358	not significant

* SS: Sum of squares, df: Degrees of freedom, MS: Mean squares

The most appropriate model was selected as 2FI model via Box-Behnken design matrix in Design Expert 7.16 software for asparagine and glutamine. According to models, the lack of fit parameters were found not significant instead of models found as significant same as glutamic acid (Table 3). As we mentioned before, asparagine and glutamine are sensitive to high temperature and they can transform to aspartic acid and glutamic acid in the presence of heat and low pH (Dong et al., 2005).

However; Asp, Glu, Asn and Gln are increasing together with the heat and pH in spite of this transforming process. Our results show that, asparagine and glutamine are increasing till the some point due to degradation of proteins to amino acids by digestion process. That's the reason why the models have shown similarities for independent variables contrary to expectations. Analysis of variance for the responses of asparagine and glutamine shown in Table 4. The response surface models of Gln and Asn were shown in Figure 2.

Table 4. Analyses of variance for models of asparagine and glutamine

ASN	SS	df	MS	F Value	p-value	
2FI Model	0.28	6	0.047	4.66	0.0135	significant
A:Temperature	0.2	1	0.2	20.17	0.0009	
B:Normality	0.042	1	0.042	4.17	0.0658	
C:Time	0.0026	1	0.0026	0.26	0.6185	
AB	0.058	1	0.058	5.75	0.0354	
AC	0.0094	1	0.0094	0.94	0.3542	
BC	0.016	1	0.016	1.63	0.2276	
Residual	0.11	11	0.01			
Lack of Fit	0.11	10	0.011	191.02	0.0563	not significant
Pure Error	0.0001	1	0.0001			
GLN	SS	df	MS	F Value	p-value	
2FI Model	0.59	6	0.099	6.29	0.0045	significant
A:Temperature	0.46	1	0.46	29.25	0.0002	
B:Normality	0.044	1	0.044	2.8	0.1224	
C:Time	0.017	1	0.017	1.11	0.3154	
AB	0.099	1	0.099	6.27	0.0293	
AC	0.019	1	0.019	1.18	0.3012	
BC	0.016	1	0.016	0.99	0.3414	
Residual	0.17	11	0.016			
Lack of Fit	0.17	10	0.017	33.74	0.1333	not significant
Pure Error	0.0005	1	0.0005			

* SS: Sum of squares, df: Degrees of freedom, MS: Mean squares

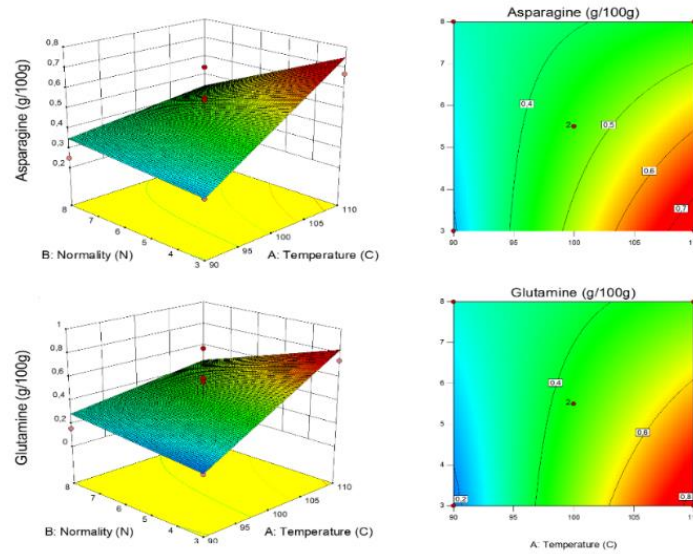


Figure 2. Response surface plots for asparagine and glutamine

Tryptophan is vulnerable for high temperatures and low pH (Marinho et al., 2015; Varlık et al., 2004) and the most intense losses occur at 100°C in the pH ranging 2 to 7 (Cuq & Firedman, 1989). Thus, it can be easily degraded during any pre-treatment based on digestion with the acidic environment at high temperatures. So, with the aim of more concise results, tryptophan was evaluated separately from the others due to this unique structure.

Linear model was applied for tryptophan which is determined via Box-Behnken design matrix. According to results, neither model nor lack of fit parameters found significant. According to our results, its severe conditions that directly changes the composition of tryptophan have an effect on the model. Analysis of variance for the response and surface response plot of tryptophan were shown in Table 5 and Figure 3.

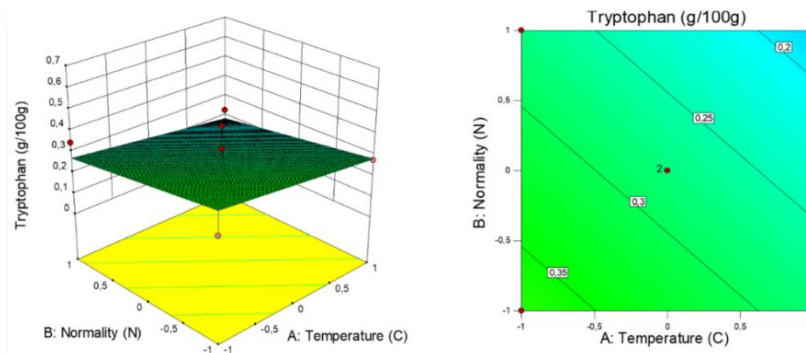


Figure 3. Response surface plot of tryptophan

Table 5. Analysis of variance for the model of tryptophan

TRP	SS	df	MS	F Value	p-value	
Linear Model	0.11	3	0.037	1.32	0.3062	not significant
A:Temperature	0.023	1	0.023	0.82	0.3818	
B:Normality	0.028	1	0.028	1	0.3341	
C:Time	0.036	1	0.036	1.28	0.2768	
Residual	0.4	14	0.028			
Lack of Fit	0.39	13	0.03	5.29	0.3292	not significant
Pure Error	0.0057	1	0.0057			

* SS: Sum of squares, df: Degrees of freedom, MS: Mean squares

The obtained results were evaluated with numerical optimization option in Design Expert 7.16 software. In numerical optimization, responses of all amino acids which is amino acid content (y) in our study can be selected as "maximum", "minimum", "in the range" and "exclude". With this selection, the amounts of amino acids can be maximized or minimized with regard to factors (X¹, X² and X³) which are values of normality, temperature and duration in this study. In optimization one (O₁), essential amino acids except tryptophan were selected as "maximum" and the rest of them selected as "in the range" choice with the aim of getting maximum of essential amino acids along with moderate non-essential amino acids. According to results, the most reliable solution having the highest desirability (0.981) specified as hydrolysing in 3.79N at 110°C in 23.98 hours. Desirability ramp for optimization procedure 1 shown in Figure 4.

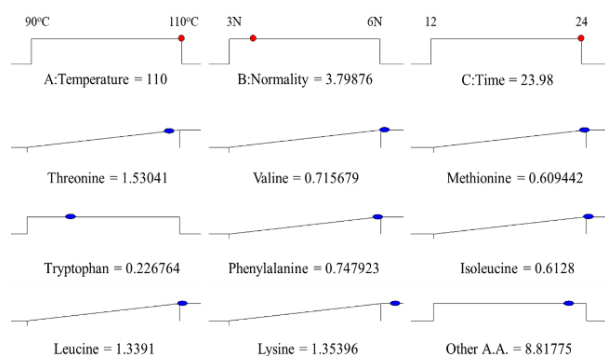


Figure 4. Optimized hydrolyzation procedure for essential amino acids. All essential amino acids except of tryptophan were selected as "maximum", the sum of remain amino acids and tryptophan selected as "in the range"

In optimization two (O₂), tryptophan, asparagine and glutamine were selected as "maximum" and aspartic acid and glutamic acid selected as "in the range" choice with the aim of getting maximum of sensitive ones along with moderate Asp-Glu. According to results, the most convenient solution having the highest desirability (0.849) specified as hydrolysing in 3.42 N at 106.8°C in 12.02 hours. Desirability ramp for optimization procedure 2 shown in Figure 5.

After the optimization, achieved two optimizations procedure were applied and compared to previous runs. According to results; glutamine, serine, histidine, threonine, tyrosine, valine, phenylalanine, isoleucine, leucine, lysine and total amino acids were found highest statistically in the optimization 1 (O₁) among all experiments.

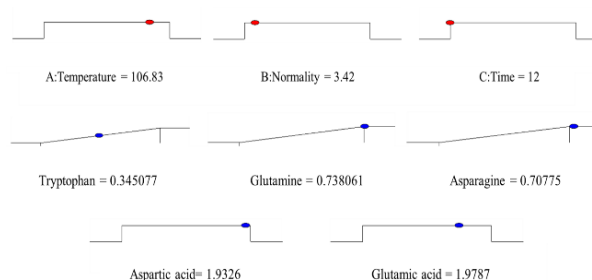


Figure 5. Optimized digestion procedure for sensitive amino acids. While tryptophan, asparagine and glutamine were selected as maximum, aspartic acid and glutamic acid were selected as in the range

Only methionine was detected as the second highest in O₁ consonant with their model. Considering the importance of the essential amino acids along with non-essentials which are supports growth and maintaining health (Hou et al., 2015; Lund, 2013; Wu, 2009; Wu et al., 2013), the hydrolyzation procedure 1 (O₁) can be suggested as a pre-treatment for amino acid analyses in the fish meat.

Asparagine and glutamine are vulnerable to high temperature and they can transform to aspartic and glutamic acids by high temperature. Several researchers are either not analysed asparagine and glutamine (Chen et al., 2007; Kang et al., 2014; Mohanty et al., 2014; Unusan, 2007) or they stated that asparagine and glutamine are very low or none in the fish meat (Boonyoung et al., 2012; Dong et al., 2005; Rebolé et al., 2015; Sarma et al., 2013) contrary to aspartic acid and glutamic acid which are found highest amino acids, often (Özden, 2005; Park et al., 2006). Reason for this, asparagine and glutamine are directly affected by the severe conditions of the digestion process. In this research, after the optimization 2 (O₂), the highest asparagine and glutamine were detected with moderate aspartic acid and glutamic acid.

Tryptophan is also not detected in most of the studies related to various fish species (Boonyoung et al., 2012; Galla et al., 2012; Joshi et al., 2017; Oluwaniyi et al., 2010). Despite the fact that the tryptophan model is not significant, the second pre-treatment suggestion (O₂) is more successful than other experiments. In this research, one of the main aims is to determine the rapid and precise digestion procedure for amino acid analysis aforementioned before. For this reason, optimization 2 can be used for total determination of sensitive amino acids just like tryptophan, asparagine, glutamine along with aspartic acid and glutamic acid.

For more concise and precise results for tryptophan individually, other digestion procedures based on alkaline digestion methods (Bech-Andersen, 1991; Nielsen & Hurrell, 1984) or enzymatic hydrolysis (Kurozawa et al., 2008; Nilsang et al., 2005) can be used. The obtained amino acid results of the experiments were shown in Table 6.

Table 6. Amino acid composition of fish meat according to conducted experiments (g/100g)

D.O.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	O ₁	O ₂
ASP	1.04 ^e	1.93 ^a	0.35 ^h	0.98 ^e	0.63 ^a	1.15 ^e	0.79 ^f	1.19 ^e	1.79 ^b	0.41 ^h	1.66 ^c	0.73 ^f	1.14 ^e	1.14 ^e	0.74 ^f	0.81 ^f	1.41 ^d	1.02 ^a
(±SE)	±0.06	±0.06	±0.08	±0.04	±0.02	±0.05	±0.03	±0.05	±0.17	±0.05	±0.08	±0.04	±0.13	±0.05	±0.06	±0.08	±0.06	±0.05
GLU	1.04 ^f	2.54 ^a	0.68 ^g	2.01 ^c	1.08 ^f	2.18 ^b	1.18 ^f	2.24 ^{ab}	2.51 ^a	0.92 ^g	2.65 ^a	1.07 ^f	2.02 ^c	2.16 ^b	0.79 ^g	1.76 ^d	2.53 ^a	1.51 ^e
(±SE)	±0.03	±0.22	±0.02	±0.06	±0.05	±0.04	±0.06	±0.10	±0.26	±0.12	±0.15	±0.11	±0.22	±0.06	±0.06	±0.13	±0.04	±0.04
ASN	0.29 ^f	0.67 ^{ab}	0.25 ^f	0.54 ^c	0.35 ^e	0.56 ^c	0.38 ^e	0.52 ^c	0.62 ^b	0.27 ^f	0.60 ^b	0.36 ^e	0.55 ^c	0.54 ^c	0.21 ^g	0.45 ^d	0.61 ^b	0.77 ^a
(±SE)	±0.01	±0.03	±0.01	±0.02	±0.01	±0.01	±0.04	±0.03	±0.07	±0.03	±0.02	±0.05	±0.03	±0.02	±0.01	±0.01	±0.02	±0.02
SER	0.84 ^{ef}	1.17 ^{cd}	0.79 ^f	1.35 ^b	0.87 ^e	1.24 ^c	0.70 ^g	1.12 ^{cd}	1.33 ^b	0.93 ^e	1.28 ^c	1.08 ^d	1.22 ^c	1.17 ^{cd}	0.71 ^g	1.23 ^c	1.64 ^a	1.12 ^{cd}
(±SE)	±0.01	±0.02	±0.02	±0.21	±0.11	±0.13	±0.04	±0.19	±0.16	±0.01	±0.02	±0.02	±0.03	±0.02	±0.03	±0.14	±0.02	±0.02
GLN	0.17 ^h	0.74 ^b	0.16 ^h	0.57 ^d	0.17 ^h	0.59 ^d	0.24 ^g	0.56 ^d	0.54 ^d	0.25 ^g	0.66 ^c	0.35 ^f	0.59 ^d	0.56 ^d	0.11 ⁱ	0.46 ^e	0.44 ^e	0.81 ^a
(±SE)	±0.01	±0.02	±0.03	±0.02	±0.01	±0.01	±0.02	±0.03	±0.06	±0.03	±0.01	±0.06	±0.05	±0.00	±0.01	±0.02	±0.01	±0.03
HIS	0.41 ^b	0.49 ^{ab}	0.27 ^d	0.42 ^b	0.39 ^c	0.27 ^d	0.33 ^{cd}	0.43 ^b	0.56 ^a	0.29 ^{cd}	0.49 ^{ab}	0.33 ^{cd}	0.43 ^b	0.40 ^c	0.41 ^b	0.39 ^c	0.55 ^a	0.43 ^b
(±SE)	±0.02	±0.02	±0.01	±0.04	±0.02	±0.01	±0.01	±0.02	±0.07	±0.02	±0.04	±0.03	±0.01	±0.01	±0.02	±0.03	±0.02	±0.01
GLY	0.24 ^{de}	0.55 ^a	0.26 ^{de}	0.56 ^a	0.29 ^d	0.50 ^a	0.29 ^d	0.49 ^a	0.48 ^a	0.35 ^c	0.51 ^a	0.43 ^b	0.50 ^a	0.53 ^a	0.19 ^e	0.51 ^a	0.40 ^b	0.35 ^c
(±SE)	±0.01	±0.02	±0.01	±0.01	±0.02	±0.03	±0.03	±0.03	±0.05	±0.02	±0.01	±0.03	±0.02	±0.04	±0.01	±0.04	±0.08	±0.01
THR	0.87 ^e	1.42 ^{bc}	0.61 ^f	1.36 ^c	0.93 ^e	1.38 ^c	0.94 ^e	1.35 ^c	1.62 ^a	0.72 ^f	1.52 ^b	0.91 ^e	1.36 ^c	1.34 ^c	0.68 ^f	1.18 ^d	1.63 ^a	1.41 ^{bc}
(±SE)	±0.03	±0.08	±0.09	±0.04	±0.01	±0.03	±0.08	±0.06	±0.17	±0.07	±0.02	±0.13	±0.09	±0.02	±0.03	±0.02	±0.12	±0.08
ALA	0.08 ^c	0.28 ^a	0.08 ^c	0.24 ^a	0.11 ^c	0.24 ^a	0.13 ^{bc}	0.24 ^a	0.23 ^a	0.11 ^c	0.27 ^a	0.14 ^{bc}	0.25 ^a	0.24 ^a	0.08 ^c	0.18 ^b	0.18 ^b	0.20 ^{ab}
(±SE)	±0.01	±0.01	±0.01	±0.01	±0.01	±0.02	±0.01	±0.01	±0.03	±0.01	±0.01	±0.03	±0.03	±0.01	±0.01	±0.01	±0.02	±0.02
TYR	0.17 ^{de}	0.17 ^{de}	0.41 ^c	0.39 ^c	0.27 ^{cd}	0.24 ^d	0.23 ^d	0.34 ^c	0.28 ^{cd}	0.56 ^{ab}	0.23 ^d	0.59 ^a	0.34 ^c	0.37 ^c	0.14 ^e	0.65 ^a	0.62 ^a	0.53 ^b
(±SE)	±0.00	±0.02	±0.05	±0.02	±0.02	±0.01	±0.02	±0.03	±0.04	±0.06	±0.01	±0.04	±0.04	±0.03	±0.01	±0.07	±0.03	±0.03

Optimization of hydrolyzation procedure for amino acid analysis in fish meat with HPLC-DAD by Response Surface Methodology (RSM)

CYS	0.08 ^a	0.03 ^c	0.04 ^c	0.04 ^c	0.07 ^{ab}	0.04 ^c	0.04 ^c	0.09 ^a	0.07 ^{ab}	0.04 ^c	0.05 ^{bc}	0.06 ^{abc}	0.09 ^a	0.08 ^a	0.07 ^{ab}	0.07 ^{ab}	0.05 ^{bc}	0.06 ^{abc}
(±SE)	±0.01	±0.01	±0.01	±0.01	±0.01	±0.01	±0.01	±0.01	±0.01	±0.01	±0.01	±0.01	±0.01	±0.01	±0.01	±0.01	±0.01	±0.01
VAL	0.19 ^f	0.71 ^a	0.17 ^g	0.66 ^a	0.23 ^e	0.59 ^b	0.21 ^e	0.67 ^a	0.46 ^c	0.29 ^d	0.63 ^{ab}	0.43 ^c	0.61 ^{ab}	0.59 ^b	0.15 ^g	0.57 ^b	0.68 ^a	0.65 ^a
(±SE)	±0.01	±0.02	±0.02	±0.02	±0.01	±0.02	±0.02	±0.02	±0.04	±0.02	±0.02	±0.07	±0.06	±0.01	±0.01	±0.02	±0.02	±0.02
MET	0.19 ^g	0.61 ^{bc}	0.17 ^g	0.55 ^c	0.24 ^f	0.52 ^c	0.26 ^f	0.54 ^c	0.52 ^c	0.29 ^f	0.57 ^c	0.36 ^e	0.52 ^c	0.52 ^c	0.14 ^h	0.46 ^d	0.67 ^b	0.76 ^a
(±SE)	±0.01	±0.02	±0.02	±0.02	±0.01	±0.02	±0.03	±0.02	±0.05	±0.03	±0.03	±0.05	±0.04	±0.01	±0.01	±0.02	±0.02	±0.06
TRP	0.26 ^e	0.28 ^e	0.35 ^d	0.23 ^f	0.61 ^b	0.17 ^f	0.06 ^h	0.15 ^g	0.64 ^b	0.09 ^h	0.15 ^g	0.27 ^e	0.32 ^{de}	0.43 ^c	0.17 ^f	0.12 ^g	0.10 ^h	0.89 ^a
(±SE)	±0.01	±0.01	±0.01	±0.01	±0.05	±0.01	±0.01	±0.01	±0.02	±0.01	±0.01	±0.01	±0.02	±0.04	±0.01	±0.01	±0.01	±0.04
PHE	0.23 ^e	0.76 ^a	0.22 ^e	0.76 ^a	0.28 ^d	0.65 ^b	0.31 ^d	0.63 ^b	0.61 ^b	0.29 ^d	0.68 ^{ab}	0.45 ^c	0.64 ^b	0.63 ^b	0.16 ^f	0.59 ^b	0.74 ^a	0.49 ^c
(±SE)	±0.01	±0.02	±0.04	±0.03	±0.01	±0.01	±0.03	±0.05	±0.06	±0.04	±0.03	±0.07	±0.08	±0.01	±0.02	±0.03	±0.02	±0.02
ISO	0.06 ^{hi}	0.57 ^c	0.08 ^h	0.48 ^d	0.08 ^h	0.52 ^{cd}	0.12 ^g	0.61 ^c	0.34 ^e	0.22 ^f	0.53 ^{cd}	0.35 ^e	0.51 ^{cd}	0.52 ^{cd}	0.04 ⁱ	0.49 ^d	0.96 ^a	0.81 ^b
(±SE)	±0.01	±0.02	±0.02	±0.03	±0.01	±0.03	±0.01	±0.03	±0.04	±0.04	±0.03	±0.08	±0.08	±0.02	±0.01	±0.04	±0.05	±0.09
LEU	0.63 ^f	1.32 ^b	0.52 ^g	1.31 ^b	0.63 ^f	1.22 ^c	0.58 ^g	1.18 ^{cd}	1.13 ^d	0.54 ^g	1.28 ^b	0.62 ^f	1.18 ^{cd}	1.16 ^{cd}	0.29 ^h	1.04 ^e	1.40 ^a	1.28 ^b
(±SE)	±0.07	±0.07	±0.08	±0.02	±0.02	±0.05	±0.06	±0.06	±0.10	±0.07	±0.04	±0.06	±0.10	±0.02	±0.02	±0.02	±0.07	±0.04
LYS	0.48 ^h	1.27 ^c	0.38 ⁱ	1.06 ^d	0.49 ^h	1.21 ^c	0.53 ^h	1.14 ^{cd}	1.19 ^c	0.46 ^h	1.25 ^c	0.63 ^g	0.89 ^e	0.92 ^e	0.39 ⁱ	0.74 ^f	1.52 ^a	1.36 ^b
(±SE)	±0.04	±0.04	±0.06	±0.03	±0.02	±0.10	±0.02	±0.02	±0.11	±0.01	±0.08	±0.03	±0.02	±0.04	±0.02	±0.09	±0.08	±0.07
HYP	0.13 ^d	0.06 ^e	0.33 ^c	0.33 ^c	0.28 ^c	0.31 ^c	0.29 ^c	0.42 ^{ab}	0.40 ^b	0.43 ^{ab}	0.39 ^b	0.43 ^{ab}	0.47 ^{ab}	0.49 ^{ab}	0.45 ^{ab}	0.54 ^a	0.46 ^{ab}	0.39 ^b
(±SE)	±0.01	±0.01	±0.02	±0.02	±0.01	±0.02	±0.01	±0.03	±0.03	±0.02	±0.02	±0.04	±0.04	±0.03	±0.02	±0.05	±0.04	±0.02
TAA	7.52 ⁱ	14.45 ^c	7.66 ⁱ	13.9 ^d	7.52 ⁱ	13.61 ^{de}	7.70 ⁱ	15.76 ^b	16.57 ^a	10.03 ^g	16.40 ^a	9.38 ^h	13.48 ^e	13.53 ^{de}	6.13 ⁱ	12.15 ^f	16.45 ^a	13.40 ^e
(±SE)	±0.33	±0.04	±0.27	±0.17	±0.09	±0.37	±0.49	±0.32	±0.48	±0.22	±0.12	±0.84	±0.78	±0.45	±0.12	±0.51	±0.24	±0.23

*Superscripts with different letters in a row are significantly different 0.05 (DO:Design order, TAA:Total Amino acids),

** Optimization procedures suggested by the RSM were performed and obtained data given in O₁ and O₂

CONCLUSION

In the view of the results, two different hydrolysing procedures were suggested for amino acid analysis in fish meat. Our results were also corrected by the RSM models. According to models, the first procedure was suggested as hydrolysing in 3.79 N at 110°C in 24 hours to get maximum total and essential amino acid contents. The second one was suggested as 3.42 N at 106.8°C in 12.02 hours for maximizing Trp-Asn-Gln which are degraded conventional digestion procedures, often. Besides, despite the acidic hydrolyzation procedure with HCl is cheap, it can be uneconomic in long-standing processes due to an increasing amount of HCl and operational costs such as electricity by virtue of constant heating. Leastwise, aforementioned costs were lessened with optimization in the study. In conclusion, the mentioned

hydrolyzation procedures are reliable as well as accurate and they can be used in amino acid analysis by HPLC-DAD as pre-treatment in fish meat.

ACKNOWLEDGMENT

All authors have contributed equally to the article. The data used in this research were obtained from a project which name is "A Research on Possibilities of Using Some Phytobiotic Containing Diets in Black Sea Trout (*Salmo trutta labrax* PALLAS, 1814) nutrition" supported by General Directorate of Agricultural Research and Policies (TAGEM), Ministry of Agriculture and Forestry, Republic of Turkey. Also authors would like to thank Oytun Ortaylı for technical assistance on Agilent Infinity II HPLC system

REFERENCES

- Alvarez, L.V. (2000). *Design optimization based on genetic programming*. Department of Civil and Environmental Engineering University of Bradford, UK.
- Baş, D. & Boyacı, I. H. (2007). Modeling and optimization I: Usability of response surface methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry. *Journal of Food Engineering*, 78(3), 836–845. DOI: [10.1016/j.foodeng.2005.11.024](https://doi.org/10.1016/j.foodeng.2005.11.024)
- Bech-Andersen, S. (1991). Determination of tryptophan with HPLC after alkaline hydrolysis in autoclave using α -methyl-tryptophan as internal standard. *Acta Agriculturae Scandinavica*, 41, 305–309. DOI: [10.1080/00015129109439913](https://doi.org/10.1080/00015129109439913)
- Bezerra, M.A., Santelli, R.E., Oliveira, E.P., Villar, L.S. & Escalera, L.A. (2008). Response surface methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry. *Talanta*, 76, 965–977. DOI: [10.1016/j.talanta.2008.05.019](https://doi.org/10.1016/j.talanta.2008.05.019)
- Biesalski, H.K. (2005). Meat as a component of a healthy diet – are there any risks or benefits if meat is avoided in the diet?. *Meat Science*, 70(3), 509–524. DOI: [10.1016/j.meatsci.2004.07.017](https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2004.07.017)
- Boonyoung, S., Haga, Y. & Satoh, S. (2012). Preliminary study on effects of methionine hydroxy analog and taurine supplementation in a soy protein concentrate-based diet on the biological performance and amino acid composition of rainbow trout [*Oncorhynchus mykiss* (Walbaum)]. *Aquaculture Research*, 1–9. DOI: [10.1111/j.1365-2109.2012.03138.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2012.03138.x)
- Çankırılıgil, E. C. & Berik, N. (2017). Effects of deep-frying to sardine croquettes' chemical composition. *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 34(3), 293–302. DOI: [10.12714/egejfas.2017.34.3.08](https://doi.org/10.12714/egejfas.2017.34.3.08)
- Chen, Y.C., Tou, J.C. & Jaczynski, J. (2007). Amino Acid, fatty acid, and mineral profiles of materials recovered from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) processing by-products using isoelectric solubilization/precipitation. *Food Chemistry and Toxicology*, 72(9), 528–536. DOI: [10.1111/j.1750-3841.2007.00522.x](https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2007.00522.x)
- Cuq, J.-L. & Firedman, M. (1989). Effect of heat on tryptophan in food: Chemistry, toxicology, and nutritional consequences. In M. Friedman (Ed.), *Absorption and utilization of amino acids* (Volume 3, pp. 103–128). Boca Raton: Taylor & Francis. DOI: [10.1201/9781351069441-7](https://doi.org/10.1201/9781351069441-7)
- Davarnejad, R., Keshavarz Moraveji, M. & Havaie, M. (2018). Integral technique for evaluation and optimization of Ni (II) ions adsorption onto regenerated cellulose using response surface methodology. *Arabian Journal of Chemistry*, 11(3), 370–379. DOI: [10.1016/j.arabjc.2015.05.022](https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2015.05.022)
- Dong, Y., Sheng, G., Fu, J. & Wen, K. (2005). Chemical characterization and anti-anaemia activity of fish protein hydrolysate from *Saurida elongata*. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85(June), 2033–2039. DOI: [10.1002/jsfa.2219](https://doi.org/10.1002/jsfa.2219)
- Galla, N. R., Karakala, B., Akula, S. & Pamidighantam, P.R. (2012). Physico-chemical, amino acid composition, functional and antioxidant properties of roe protein concentrates obtained from *Channa striatus* and *Lates calcarifer*. *Food Chemistry*, 132(3), 1171–1176. DOI: [10.1016/j.foodchem.2011.11.055](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.11.055)
- Henderson, J.W., Ricker, R.D., Bidlingmeyer, B.A. & Woodward, C. (2000). *Rapid, accurate, sensitive, and reproducible HPLC analysis of amino acids*. U.S.A.
- Hosomi, R., Yoshida, M. & Fukunaga, K. (2012). Seafood consumption and components for health. *Global Journal of Health Sciences*, 4(3), 72–86. DOI: [10.5539/gjhs.v4n3p72](https://doi.org/10.5539/gjhs.v4n3p72)
- Hou, Y., Yin, Y. & Wu, G. (2015). Dietary essentiality of "nutritionally non-essential amino acids" for animals and humans. *Experimental Biology and Medicine*, 240, 997–1007. DOI: [10.1177/1535370215587913](https://doi.org/10.1177/1535370215587913)
- Hwang, S.H., Kwon, S.H., Wang, Z., Kim, T.H., Kang, Y.H., Lee, J.Y. & Lim, S. S. (2016). Optimization of extraction parameters of PTP1 β (protein tyrosine phosphatase 1 β), inhibitory polyphenols, and anthocyanins from *Zea mays* L. using response surface methodology (RSM). *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 16(317), 1–10. DOI: [10.1186/s12906-016-1296-5](https://doi.org/10.1186/s12906-016-1296-5)
- Joshi, V., Prakash, M.S.A. & Deepjyoti, S. (2017). Protein and amino acid composition of Indian Himalayan snow trout and their dietary significance. *Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences*, 1–6. DOI: [10.1007/s40011-017-0889-1](https://doi.org/10.1007/s40011-017-0889-1)
- Kang, S.I., Kim, K.H., Lee, J.K., Kim, Y.J., Park, S., Kim, M.W., Choi, B.D., Kim, D. & Kim, J. (2014). Comparison of the food quality of freshwater rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* cultured in different regions. *Korean Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 47(April), 103–113. DOI: [10.5657/KFAS.2014.0103](https://doi.org/10.5657/KFAS.2014.0103)
- Köksal, G. & Özel, H.G. (2008). Sağlık Bakanlığı Yayın No: 726, Şubat 2008, Ankara. Erişim tarihi 19 Ağustos 2016. Retrieved from: <http://www.saglik.gov.tr/TR/dosya/1-36430/h/a-8- bebek-beslenmesi.pdf> (in Turkish).
- Krzynowek, J. & Murphy, J. (1987). Proximate composition, energy, fatty acid, sodium, and cholesterol content of finfish, shellfish, and their products. *NOAA Technical Report NMFS*, 55(July), 53. Retrieved from <http://spo.nmfs.noaa.gov/tr55opt.pdf>
- Kurozawa, L.E., Park, K.J. & Hubiner, M.D. (2008). Optimization of the enzymatic hydrolysis of chicken meat using response surface methodology. *Journal of Food Science*, 73(5), 405–412. DOI: [10.1111/j.1750-3841.2008.00765.x](https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2008.00765.x)
- Lund, E.K. (2013). Health benefits of seafood; Is it just the fatty acids? *Food Chemistry*, 140(3), 413–420. DOI: [10.1016/j.foodchem.2013.01.034](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.01.034)
- Marinho, G.S., Holdt, S. L. & Angelidaki, I. (2015). Seasonal variations in the amino acid profile and protein nutritional value of *Saccharina latissima*

- cultivated in a commercial IMTA system. *Journal of Applied Phycology*, 27(5), 1991–2000. DOI: [10.1007/s10811-015-0546-0](https://doi.org/10.1007/s10811-015-0546-0)
- Mohanty, B., Mahanty, A., Ganguly, S., Sankar, T.V., Chakraborty, K., Rangasamy, A., Paul, B., Sarma, D., Mathew, S., Asha, K. K., Behera, B., Debnath, D., Vijayagopal, P., Sridhar, N., Akhtar, M.S., Sahi, N., Mitra, T., Banerjee, S., Paria, P., Das, D., Das, P., Vijayan, K.K., Laxmanan, P. T. & Sharma, A. P. (2014). Amino acid compositions of 27 food fishes and their importance in clinical nutrition. *Journal of Amino Acids*, 2014, 1–7. DOI: [10.1155/2014/269797](https://doi.org/10.1155/2014/269797)
- Musarskaya, M., Birch, D. & Memery, J. (2018). To eat or not to eat: Seafood consumption habit formation. *Journal of International Food & Agribusiness Marketing*, 30(3), 227–235. DOI: [10.1080/08974438.2017.1412376](https://doi.org/10.1080/08974438.2017.1412376)
- Nadarajan, R., Azelee, W., Abu, W., Ali, R. & Ismail, R. (2018). Photocatalytic degradation of 1,2-dichlorobenzene using immobilized TiO₂/SnO₂/WO₃ photocatalyst under visible light: Application of response surface methodology. *Arabian Journal of Chemistry*, 11(1), 34–47. DOI: [10.1016/j.arabjc.2016.03.006](https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2016.03.006)
- Nielsen, H.K. & Hurrell, R.F. (1984). Tryptophan determination of food proteins by h.p.l.c. after alkaline hydrolysis. *Journal of Science Food and Agriculture*, 36, 893–907. DOI: [10.1002/jsfa.2740360920](https://doi.org/10.1002/jsfa.2740360920)
- Nilsang, S., Lertsiri, S., Suphantharika, M. & Assavanig, A (2005). Optimization of enzymatic hydrolysis of fish soluble concentrate by commercial proteases. *Journal of Food Engineering*, 70, 571–578. DOI: [10.1016/j.jfoodeng.2004.10.011](https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2004.10.011)
- Oluwaniyi, O.O., Dosumu, O.O. & Awolola, G.V. (2010). Effect of local processing methods (boiling, frying and roasting) on the amino acid composition of four marine fishes commonly consumed in Nigeria. *Food Chemistry*, 123(4), 1000–1006. DOI: [10.1016/j.foodchem.2010.05.051](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.05.051)
- Özden, Ö. (2005). Changes in amino acid and fatty acid composition during shelf-life of marinated fish. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85(12), 2015–2020. DOI: [10.1002/jsfa.2207](https://doi.org/10.1002/jsfa.2207)
- Park, E.Y., Brekke, C.J. & Branen, A.L. (2006). Use of Pacific hake (*Merluccius products*) in a Frankfurt formulation. *Journal of Food Science*, 43(6), 1637–1640. DOI: [10.1111/j.1365-2621.1978.tb07376.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1978.tb07376.x)
- Rebolé, A., Velasco, S., Rodríguez, M.L., Treviño, J., Alzueta, C., Tejedor, J.L., & Ortiz, L.T. (2015). Nutrient content in the muscle and skin of fillets from farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Food Chemistry*, 174, 614–620. DOI: [10.1016/j.foodchem.2014.11.072](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.11.072)
- Said Mohamad, K.A. & Mohamed Amin, M.A. (2015). Overview on the response surface methodology (RSM) in extraction processes. *Journal of Applied Science & Process Engineering*, 2(1), 8–17. DOI: [10.33736/jaspe.161.2015](https://doi.org/10.33736/jaspe.161.2015)
- Sarma, D., Akhtar, M.S., Das, P., Das, P., Shani, N., Ciji, A., Mahanta, P.C., Yengkokpam, S. & Debnath, D. (2013). Nutritional quality in terms of amino acid and fatty acid of five coldwater fish species: Implications to human health. *National Academy Science Letters*, 36(4), 385–391. DOI: [10.1007/s40009-013-0151-1](https://doi.org/10.1007/s40009-013-0151-1)
- Taherogorabi, R. & Hosseini, S. V. (2018). Importance of fish consumption in disease prevention. *Journal of Birjand University of Medical Sciences*, 25(1), 1–9.
- Unusan, N. (2007). Change in proximate, amino acid and fatty acid contents in muscle tissue of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) after cooking. *International Journal of Food Science and Technology*, 42, 1087–1093. DOI: [10.1111/j.1365-2621.2006.01354.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2006.01354.x)
- Varlık, C., Erkan, N., Özden, Ö., Mol, S. & Baygar, T. (2004). *Su ürünleri işleme teknolojisi*. İstanbul: İstanbul Üniversitesi Yayın No 4465 Su Ürünleri Fak. No 7.
- Vera, L., Zan, M.M. De, Cámara, M.S. & Goicoechea, C. (2014). Experimental design and multiple response optimization. Using the desirability function in analytical methods development. *Talanta*, 124, 123–138. DOI: [10.1016/j.talanta.2014.01.034](https://doi.org/10.1016/j.talanta.2014.01.034)
- Widyaningsih, T.D., Widjanarko, S.B., Waziroh, E., Wijayanti, N. & Maslukhah, Y.L. (2018). Pilot plant scale extraction of black cincau (*Mesona palustris* BL) using historical-data response surface methodology. *International Food Research Journal*, 25(2), 712–719.
- Wu, G. (2009). Amino acids: metabolism, functions, and nutrition. *Amino Acids* (2009), 37, 1–17. DOI: [10.1007/s00726-009-0269-0](https://doi.org/10.1007/s00726-009-0269-0)
- Wu, G., Wu, Z., Dai, Z., Yang, Y., Wang, W., Liu, C., Wang, B., Wang, J. & Yin, Y. (2013). Dietary requirements of “ nutritionally non-essential amino acids ” by animals and humans. *Amino Acids* (2013), 44, 1107–1113. DOI: [10.1007/s00726-012-1444-2](https://doi.org/10.1007/s00726-012-1444-2)
- Zar, j. H. (1999). *Biostatistical analysis* (4th ed). New Jersey, Prentice-Hall.

İstanbul Boğazı'nda kurulan son dalyanlar: Av kompozisyonu birim av gücü ve bazı ekolojik indeksler

Last dalyans (stationary uncovered pound nets) deployed in the Istanbul Strait: Catch composition, catch per unit effort, and ecological indexes

Dorukhan Biçer¹ • Taner Yıldız^{2*} • Uğur Uzer³ • F. Saadet Karakulak⁴

¹ İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 34116, Vezneciler, İstanbul

<https://orcid.org/0000-0003-3700-6193>

² İstanbul Üniversitesi, Su Bilimleri Fakültesi, 34134, Laleli, İstanbul

<https://orcid.org/0000-0003-3140-5118>

³ İstanbul Üniversitesi, Su Bilimleri Fakültesi, 34134, Laleli, İstanbul

<https://orcid.org/0000-0002-7038-6469>

⁴ İstanbul Üniversitesi, Su Bilimleri Fakültesi, 34134, Laleli, İstanbul

<https://orcid.org/0000-0002-6053-5256>

Corresponding author: tnryldz@istanbul.edu.tr

Received date: 26.06.2019

Accepted date: 20.11.2019

How to cite this paper:

Biçer, D., Yıldız, T., Uzer U. & Karakulak, F.S. (2020). Last dalyans (stationary uncovered pound nets) deployed in the Istanbul Strait: Catch composition, catch per unit effort, and ecological indexes. *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 37(2), 125-133. DOI: [10.12714/egejfas.37.2.02](https://doi.org/10.12714/egejfas.37.2.02)

Öz: Bu çalışmada, İstanbul Boğazı kıyılarında faaliyet gösteren son dalyanlarda balık avcılığı hakkında bazı bilgileri güncellemektedir. Veriler haftalık olarak doğrudan dalyanların sahiplerinden alınmıştır. Dalyanlar, göçleri sırasında göçmen pelajik balıkları hedef alsalar da, demersal türler de avlanmıştır. Çalışma süresince toplam 12 familyaya ait 15 balık türü yakalanmıştır. Balıkçılık gün sayısı 24 ile 37 arasında ve birim çabadaki av miktarı 163,08 kg/gün ile 456,39 kg/gün arasında değişmektedir. Sonuç olarak, bu çalışma dalyan balıkçılığının izlenmesi ve yönetimi ile ilgili gelecekteki çalışmalar için güncel referans bulguları içermektedir.

Anahtar kelimeler: Dalyan, av kompozisyonu, birim çabadaki av miktarı, İstanbul Boğazı

Abstract: This paper updates some information on fish catches from the last dalyans (stationary uncovered pound nets) operating off the coast of Istanbul Strait. The data were collected on the weekly basis directly from the owners of the traps. Although the traps have been targeting migratory pelagic fishes during their migration, demersal species have been caught as well. Totally, 15 fish species belonging to 12 families were caught during the study period. While the number of fishing days ranged from 24 to 37, the catch per unit effort ranged from 163.08 kg/day to 456.39 kg/day. As a conclusion, this study provides recent reference for the future studies dealing with monitoring and managing dalyan fishery.

Keywords: Dalyan, catch composition, catch per unit effort, İstanbul Strait

GİRİŞ

Dalyanlar, dünyanın en eski balıkçılık metotlarından birisidir. Bu avcılık metodu, Akdeniz ve Cebelitarık Boğazı boyunca kullanılmış ve bu bölgedeki ilk sanayi balıkçılığını oluşturmuştur. Sicilyalılar ton balığı avlamak için kurdukları dalyan tekniklerini olasılıkla dokuzuncu ve onuncu yüzyıllarda adayı işgal eden Araplardan öğrenmişlerdir. Fakat Arap işgalinden önce de Fenikelilerin İspanya kıyısında bir ton balığı dalyanı kurduklarına dair kayıtlar da bulunmaktadır (Bradford, 1971). 16. ve 19. yüzyıllar arasında, orkinos dalyan avcılığı daha da gelişmiştir (Doumenge, 1998; Ravier ve Fromentin, 2001). 20. yüzyılın başında ise deniz kıyılarında insan nüfusunun artışı, kıyı trafiği, gürültü ve deniz kirliliğinin artması nedeniyle dalyanların av etkinliği azalmıştır (Addis vd., 1997; Karakulak, 2000; Addis vd., 2009; Ravier ve Fromentin, 2001). Buna rağmen günümüzde İtalya (Addis vd., 2009), İspanya (Ortiz de Urbina vd., 2013), Portekiz (Lino vd., 2018), Tunus

(Hattour vd., 2002) ve Fas'da (Abid vd., 2015) hala aktif orkinos dalyanları bulunmaktadır.

Türkiye'de çok eski yıllardan beri kullanılan ağ dalyanlarda, özellikle Marmara Denizi, İstanbul ve Çanakkale Boğazı ile Karadeniz kıyılarında kurularak avcılık yapılmıştır (Devedjian, 1926; Sara, 1964; Tekin, 1996). İstanbul Boğazı'nda kurulan dalyanların tarihçesi Bizans dönemine dayanır (von Brandt, 1984). Dalyan balıkçılığı X yüzyılın Konstantinopolis'te başkentin değerli balık arzının ana kaynağıydı (Maniatis, 2000). Bizans'tan sonra Osmanlı İmparatorluğu'nda da balık avı genellikle dalyan veya ağ kullanılarak yapıldı (Doğan, 2011). Her ne kadar dalyan balıkçılığı hem Bizans'ta (Dagron, 2002) hem de Osmanlı'da (Ertuğ, 2015) daha karlı olmasına rağmen, pahalı bir balıkçı ekibi gerektiriyordu. Dalyanlardan elde edilen gelir, işlenmiş topraktan elde edilen gelire yakın bir değer olduğundan ve sayıları da çoğaldığından, Bizans devleti 9.yüzyılda yasal bir düzenleme ile iki dalyan arasındaki

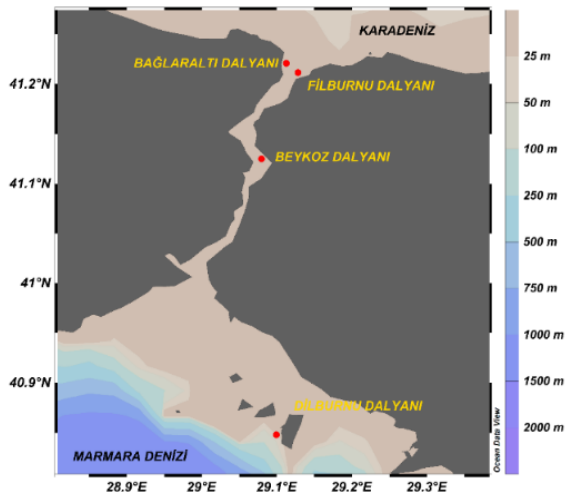
mesafenin en az 700 m olma kuralını getirmiştir (Dagron, 1994; Dagron, 1995; Bursa, 2007). Bu uygulama, Osmanlı Devleti de devam etmekle birlikte iki dalyan arası mesafe 2500 adım olarak belirlenmiştir (Doğan, 2011). 17. yüzyılın önde gelen gezginlerinden Evliya Çelebi Seyahatnamesinde; İstanbul'da dalyan sayısını 300, çalışan balıkçı sayısını 700 ve baş dalyanın Beykoz İskelesi'nde kurulduğunu belirtmiştir. Bu dalyanlarda özellikle kılıç ve orkinos balığı avcılığının yapıldığını ayrıca uskumru, palamut, kefal, istavrit, kolyoz, hamsi, tekir, iskorpit, kaya, gümüş, tirsi, lüfer balıklarının da avlandığını bildirmiştir (Dağlı ve Kahraman, 2014)

Devedjian (1926), 1900'ü yılların başında İstanbul Boğazı'nda 52 adet ağ dalyanının yaz ve kış dalyanı olarak kurulduğunu belirtmiştir. Boğaz'da aktif dalyan sayısı 1960 yılında 17 adede (Yazıcı ve Öker, 1960a) ve 2000 yılında 8 adede (Karakulak, 2000) düşmüştür. İstanbul Boğazı'nda deniz trafiğinin artması, şehirleşme, deniz kirliliği ve balıkçılık teknolojisinin gelişmesine bağlı olarak dalyan sayılarında azalma olmuştur (Karakulak, 2000). Balıkçılık teknolojisinin gelişmediği dönemlerde önemli olan dalyan balıkçılığı, günümüzde eski önemini kaybetmiştir. Buna rağmen, İstanbul Boğazı'nda hala aktif olarak kurulan dört ağ dalyanı (Dilburnu, Beykoz, Filburnu ve Bağlaraltı Dalyanı) bulunmaktadır (Yıldız ve Karakulak, 2016).

Bu çalışmada, 2016 yılı balıkçılık sezonunda İstanbul Boğazı'nda kurulan Dilburnu, Beykoz ve Filburnu dalyanlarının av kompozisyonu, tür çeşitliliği ve birim çabadaki av miktarlarının belirlenmesi amaçlanmıştır. Ayrıca, sürdürülebilir balıkçılık için mükemmel bir biyo-ekonomik örnek teşkil eden dalyan balıkçılığının korunması ve yönetilmesinde gerekli bazı bilgilerin elde edilmesi sağlanmıştır.

MATERYAL VE METOT

Ağ dalyanları genellikle yaz dalyanı olarak kurulmaktadır. İstanbul Boğazı'nda incelenen periyot boyunca 4 noktada dalyan kurulmuştur (Şekil 1).

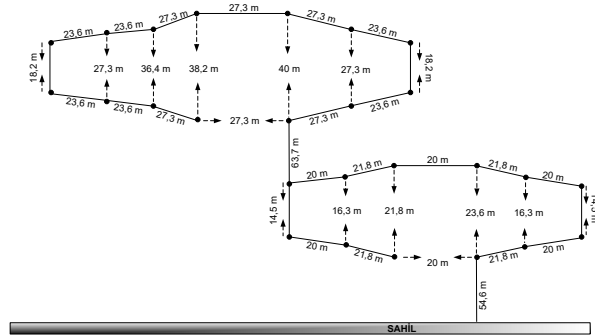


Şekil 1. İstanbul Boğazı'nda kurulan dalyanlar
Figure 1. Stationary uncovered pound nets in the İstanbul Strait

Bu çalışmada, 2016 yılında İstanbul Boğazı'nda kurulan üç dalyan 18 Nisan ve 23 Haziran tarihleri arasında (balıkçılık sezonu boyunca) haftalık düzenli olarak ziyaret edilmiş ve av miktarları ağırlık olarak kaydedilen av kayıt defterlerinden alınmıştır. Tür teşhisleri için Mater vd. (2002) ve Froese ve Pauly (2019)'den yararlanılmıştır. Bilimsel adlandırmalar Eschmeyer (2019)'a göre düzenlenmiştir.

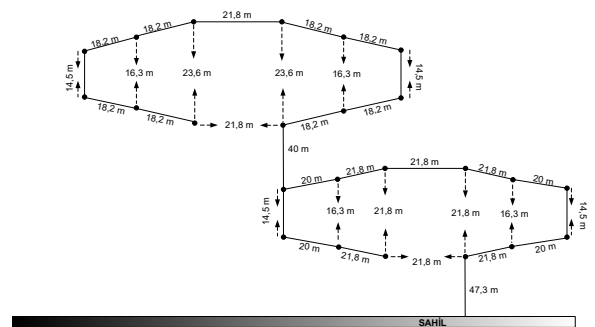
İncelenen dalyanların teknik özellikleri aşağıda verilmiştir:

Beykoz Dalyanı: Beykoz ilçesinde, Yalıköy mevkiinde kurulan bu dalyan iki adet kısağzı dalyanından oluşmaktadır. Su derinliği kıyı dalyanında 18,2 m, deniz dalyanında 34,5 m'dir (Şekil 2).



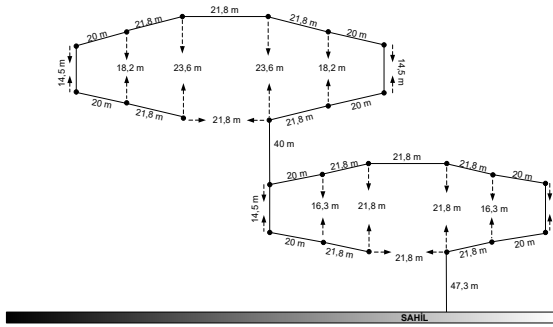
Şekil 2. Beykoz dalyanının teknik özellikleri
Figure 2. Technical characteristics of Beykoz dalyan

Dilburnu Dalyanı: Büyükada, Dilburnu koyunda bulunmaktadır. İki adet kısağzı dalyanından oluşur. Su derinliği 12 m'dir (Şekil 3).



Şekil 3. Dilburnu dalyanının teknik özellikleri
Figure 3. Technical characteristics of Dilburnu dalyan

Filburnu Dalyanı: Beykoz ilçesi, Anadolu Kavağının üst tarafında Filburnu ile Çayır ağzı arasında bulunan bu dalyan da su derinliği 12,7 m'dir (Şekil 4).



Şekil 4. Filburnu dalyanın teknik özellikleri
Figure 4. Technical characteristics of Filburnu dalian

Dalyan avcılığının verimliliğindeki mekânsal değişimi değerlendirmek amacıyla, avlanan türlerin birim çabadaki av miktarı (CPUE) kullanılmıştır. Bir dalyanın CPUE'si, toplam av miktarının, balıkçılık gün sayısına bölünmesiyle hesaplanmıştır: $CPUE = \Sigma Wn / \Sigma Gün$. Formülde ΣWn : n'inci operasyonda yakalanan balıkların toplam ağırlığı ve $\Sigma Gün$: ise ilgili balıkçılık gün sayısıdır. Tüm sonuçlar aylık olarak değerlendirilmeye alınmıştır. CPUE değerleri standart hata değerleri ile birlikte verilmiştir. Toplam av kompozisyonu ile CPUE arasındaki farklar Student t testleriyle belirlenmiştir (Zar, 1984). Anlamlı farklılık $P < 0,05$ olarak kabul edilmiştir.

Dalyanlarda avlanan türler bakımından benzerlik, CPUE verileri Bray-Curtis Benzerlik Matrisi ile kümelenecek ve Cluster analizi ile karşılaştırılmıştır (Everitt, 1980). Aralarında fark olduğu belirlenen dalyanlar arasında farklılığa sebep olan türlerin tespiti için "Benzerlik Ortalamaları (SIMPER)" testi uygulanmıştır (Quinn ve Keough, 2002). Her bir dalyanda aylık/günlük olarak tür sayısı (S), tür zenginliği (d), tür çeşitliliği Shannon-Weaver çeşitlilik indeksi ($H' \log_2$), Pielou'nun eşitlik indeksi (J') ve Simpson Baskınlık-Çeşitlilik indeksi ($1-\lambda$) bolluk kullanılarak hesaplanmıştır. Çok değişkenli analizler PRIMER v6.0 (Clarke ve Warwick, 2001) kullanılarak yapılmıştır.

BULGULAR

Balıkçılık sezonu

Dilburnu Dalyanında avcılık 21 Nisan - 26 Mayıs 2016 tarihleri arasında, Beykoz Dalyanında 08 - 31 Mayıs 2016 tarihleri arasında, Filburnu Dalyanında ise 18 Nisan - 08 Mayıs ile 08 - 23 Haziran 2016 tarihleri arasında gerçekleşmiştir. Toplam balıkçılık gün sayısı Dilburnu Dalyanında 36 gün, Beykoz Dalyanında 24 gün, Filburnu dalyanında ise 37 gündür. Hava muhalefeti ve akıntı gibi nedenlerden dolayı bazı günler avcılık yapılamamıştır (Tablo 1).

Tablo 1. İstanbul ağ dalyanlarının açılış ve kapanış tarihleri, balıkçılık gün sayısı, toplam av miktarı ve CPUE değerleri

Table 1. Opening and closing dates, number of fishing days, total catch and CPUE values of dalians set in the Istanbul Strait

	Dilburnu Dalyanı	Beykoz Dalyanı	Filburnu Dalyanı
Açılış tarihi	21 Nisan 2016	08 Mayıs 2016	18 Nisan 2016
Kapanış tarihi	26 Mayıs 2016	31 Mayıs 2016	08 Mayıs 2016 23 Haziran 2016
Balıkçılık gün sayısı	36	24	37
Toplam av (kg)	8803	3914	16.886,5
CPUE (kg/gün)	244,52±24,61	163,08±17,14	456,39±49,50

Dalyana balık girişleri gündüz saatlerinde olduğu gibi geceleri de takip edilmekte belli aralıklarla hazne (kuzuluk) kontrol edilmektedir

Avlanan türler ve av miktarları

Üç ağ dalyanında avlanan 12 familyaya ait toplam 15 balık türü Tablo 2'de verilmiştir.

Tablo 2. 2016 balıkçılık sezonunda İstanbul Boğazı'nda kurulan üç ağ dalyanında yakalanan türler, av miktarları (kg) ve oranları

Table 2. Species, catch amounts (kg), and catch rates of taxas caught in the three dalians in the Istanbul Strait during the 2016 fishing season

Tür	Dilburnu Dalyanı	Beykoz Dalyanı	Filburnu Dalyanı	TOPLAM	%
<i>A. boyeri</i>	7833	576	3948	12357	41,74
<i>Trachurus sp.</i>	203	168	4480	4851	16,39
<i>P. saltatrix</i>	17	1183	1911,5	3111,5	10,51
<i>M. cephalus</i>	-	613	1906	2519	8,51
<i>S. pilchardus</i>	518	833	770	2121	7,16
<i>S. sprattus</i>	-	-	1561	1561	5,27
<i>B. belone</i>	124	132	421	677	2,29
<i>D. vulgaris</i>	42	397	806	1245	4,21
<i>L. mormyrus</i>	31	12	-	43	0,15
<i>Spicara sp.</i>	28	-	127	155	0,52
<i>E. encrasicolus</i>	7	-	322	329	1,11
<i>S. umbra</i>	-	-	330	330	1,11
<i>M. surmuletus</i>	-	-	252	252	0,85
<i>S. maximus</i>	-	-	48	48	0,16
<i>P. flesus</i>	-	-	4	4	0,01
TOPLAM	8803	3914	16886,5	29603,5	

Avlanan tür sayısının en fazla olduğu dalyan Filburnu Dalyanıdır. Filburnu Dalyanında avlanan tür sayısı 14, Dilburnu Dalyanında 9 tür ve Beykoz Dalyanında ise 8 türdür. Üç dalyanda en sık avlanan 6 tür (*Atherina boyeri*, *Belone belone*, *Diplodus vulgaris*, *Pomatomus saltatrix*, *Sardina pilchardus* ve *Trachurus sp.*) bulunmaktadır. Filburnu Dalyanında avlanan diğer dalyanlarda avlanmayan 5 tür (*Mullus surmuletus*, *Platichthys flesus*, *Sciaena umbra*, *Scophthalmus maximus* ve *Sprattus sprattus*), diğer dalyanlarda avlanan Filburnu Dalyanında avlanmayan bir tür (*Lithognathus mormyrus*) mevcuttur. *A. boyeri*, *Trachurus sp.*, *P. saltatrix* ve *M. cephalus* tüm dalyanlarda avcılık sezonu boyunca avlanan miktarın yaklaşık %78'ini oluşturmaktadır. *A. boyeri* en çok Dilburnu Dalyanında avlanırken, *Trachurus sp.* ve *P. saltatrix* en çok Filburnu Dalyanında avlanmıştır.

CPUE

Dilburnu Dalyanının toplam av miktarı 8803 kg/yıl, Beykoz Dalyanının 3914 kg/yıl ve Filburnu Dalyanının ise 16.886,5 kg/yıl'dır. Birim çabadaki av miktarı en fazla Filburnu Dalyanında 456,39±49,50 kg/gün olmuştur. Dilburnu Dalyanının birim çabadaki av miktarı 244,52±24,61 kg/gün ve Beykoz Dalyanının 163,08±17,14 kg/gündür (Tablo 1).

Dalyanlarda avlanan türlerin CPUE değerleri Tablo 3'de verilmiştir. En yüksek CPUE değeri Dilburnu Dalyanında *A. boyeri* için (211,70±20,70 kg/gün), Beykoz Dalyanında *P. saltatrix* için (56,33±6,95 kg/gün) ve Filburnu Dalyanında ise *A. boyeri* için (112,80±29,54 kg/gün) belirlenmiştir. Üç dalyanda avlanan türlerin CPUE değerleri karşılaştırıldığında, farklılıktestine göre istatistiksel olarak anlamlıdır.

Tablo 3. İstanbul Boğazı'nda kurulan üç ağ dalyanında avlanan türlerin CPUE değerleri (kg/gün)

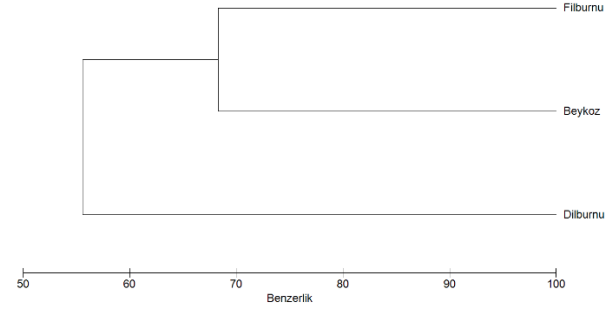
Table 3. CPUE values (kg / day) of the species caught in three dalyans set in the Istanbul Strait

Tür	Dilburnu	Beykoz	Filburnu
<i>Atherina boyeri</i>	217,58	24,0	106,70
<i>Belone belone</i>	3,44	5,50	11,37
<i>Diplodus vulgaris</i>	1,16	16,54	21,78
<i>Engraulis encrasicolus</i>	0,19	0,0	8,70
<i>Lithognathus mormyrus</i>	0,86	0,50	0,00
<i>Mugil cephalus</i>	0,00	25,54	51,51
<i>Mullus surmuletus</i>	0,00	0,00	6,81
<i>Platichthys flesus</i>	0,00	0,00	0,10
<i>Pomatomus saltatrix</i>	0,47	49,29	51,66
<i>Sardina pilchardus</i>	14,38	34,70	20,81
<i>Sciaena umbra</i>	0,00	0,00	8,91
<i>Scophthalmus maximus</i>	0,00	0,00	1,29
<i>Spicara sp.</i>	0,77	0,00	3,43
<i>Sprattus sprattus</i>	0,00	0,00	42,18
<i>Trachurus sp.</i>	5,63	7,00	121,08

Av kompozisyonundaki benzerlik

Üç dalyanda avlanan türler bakımından benzerliğin olup olmadığı Bray-Curtis benzerlik indeksi kullanılarak hem tüm balıkçılık sezonu için (Nisan-Haziran) hem de aylık olarak ayrı değerlendirilmiştir.

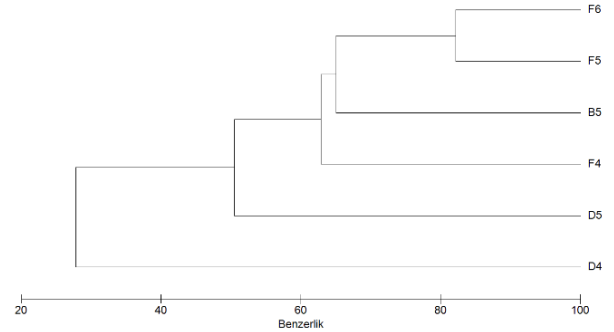
Elde edilen sonuçlara göre, Dilburnu Dalyanı tek başına bir grup oluştururken Filburnu Dalyanı ile Beykoz Dalyanı ayrı bir grup oluşturmaktadır (Şekil 5).



Şekil 5. Dalyanlarda avlanan balık türlerinin Bray-Curtis benzerlik analizine dayalı kümeleme dendrogram

Figure 5. Clustering dendrogram based on Bray-Curtis similarity analysis of fish species caught in Dalians

Filburnu ve Beykoz Dalyanı %70 civarında benzerlik gösterdiği görülmektedir. Aylık olarak incelediğimizde, Dilburnu Dalyanında Nisan ayında avlanan türler tek başına ayrı bir grup oluştururken diğer dalyanlarda Nisan, Mayıs ve Haziran ayında avlanan türler ayrı bir grup oluşturmuştur (Şekil 6).



Şekil 6. Dalyanlarda avlanan balık türlerinin aylara göre Bray-Curtis Benzerlik analizine dayalı kümeleme dendrogramı

Figure 6. Clustering dendrogram based on Bray-Curtis Similarity analysis of fish species caught by months in Dalians

Dalyanlar arası farklılığa katkısı olan türler SIMPER analizi ile incelenmiştir. Ortalama farklılığa bakıldığında, en büyük fark Dilburnu ve Filburnu dalyanlarında (ortalama benzemezlik = 65,90) meydana getirmiştir. Farklılığa katkı yapan türler ve katkı oranları Tablo 4'de gösterilmiştir.

Tablo 4. Dalyanlar arası farklılığa katkısı en az % 1 olan türler ve dalyanlar arası ortalama benzemezlik oranları**Table 4.** The average dissimilarity rates between the dalians and the species which have at least 1% contribution to the difference between dalians

Beykoz & Dilburnu (Ortalama Benzemezlik = 55,33)						
Tür	Beykoz Ort. Av	Dilburnu Ort. Av	Ort. Fark	SD	Katkı%	%Küm.
<i>Pomatomus saltatrix</i>	4,05	0,25	12,19	3,04	22,03	22,03
<i>Mugil cephalus</i>	3,41	0,00	10,82	4,18	19,55	41,58
<i>Diplodus vulgaris</i>	2,99	0,48	8,23	2,03	14,87	56,46
<i>Sardina pilchardus</i>	3,71	1,52	7,75	0,91	14,01	70,47
<i>Atherina boyeri</i>	3,35	5,21	5,70	14,35	10,30	80,77
<i>Trachurus sp.</i>	2,20	1,09	4,11	0,72	7,42	88,19
<i>Belone belone</i>	1,99	0,88	4,00	0,84	7,22	95,41
Beykoz & Filburnu (Ortalama Benzemezlik = 36,21)						
Tür	Beykoz Ort. Av	Filburnu Ort. Av	Ort. Fark	SD	Katkı%	%Küm.
<i>Sprattus sprattus</i>	0,00	3,72	7,10	2,72	19,60	19,60
<i>Sardina pilchardus</i>	3,71	1,32	5,09	1,22	14,06	33,67
<i>Trachurus sp.</i>	2,20	4,24	3,42	1,16	9,46	43,12
<i>Mullus surmuletus</i>	0,00	1,85	3,22	2,23	8,90	52,02
<i>Sciaena umbra</i>	0,00	1,83	3,06	1,15	8,46	60,48
<i>Atherina boyeri</i>	3,35	4,08	2,45	1,05	6,76	67,25
<i>Pomatomus saltatrix</i>	4,05	3,52	2,21	0,82	6,10	73,34
<i>Mugil cephalus</i>	3,41	3,78	1,79	2,93	4,95	78,29
<i>Engraulis encrasicolus</i>	0,00	1,04	1,65	0,58	4,55	82,84
<i>Scophthalmus maximus</i>	0,00	0,82	1,50	6,20	4,15	86,99
<i>Diplodus vulgaris</i>	2,99	2,97	1,44	1,51	3,97	90,95
Dilburnu & Filburnu (Ortalama Benzemezlik = 65,90)						
Tür	Dilburnu Ort. Av	Filburnu Ort. Av	Ort. Fark	SD	%Katkı	%Küm.
<i>Sprattus sprattus</i>	0,00	3,72	9,44	2,38	14,33	14,33
<i>Mugil cephalus</i>	0,00	3,78	8,91	4,76	13,53	27,85
<i>Pomatomus saltatrix</i>	0,25	3,52	7,54	2,60	11,44	39,29
<i>Trachurus sp.</i>	1,09	4,24	7,44	1,58	11,30	50,59
<i>Diplodus vulgaris</i>	0,48	2,97	5,93	2,46	9,01	59,59
<i>Belone belone</i>	0,88	2,56	4,46	1,35	6,77	66,37
<i>Mullus surmuletus</i>	0,00	1,85	4,15	2,53	6,30	72,66
<i>Sardina pilchardus</i>	1,52	1,32	4,05	1,02	6,15	78,81
<i>Sciaena umbra</i>	0,00	1,83	3,88	1,25	5,88	84,69
<i>Atherina boyeri</i>	5,21	4,08	3,08	1,65	4,68	89,37
<i>Engraulis encrasicolus</i>	0,12	1,04	2,16	0,72	3,28	92,65

Tablo 5. İstanbul Boğazı'nda kurulan üç dalyan için aylık ekolojik indeks değerleri (ortalama±std.sapma)**Table 5.** Monthly ecological index values (mean ± std. deviation) for the three dalians set in the Istanbul Strait

	Dilburnu Dalyanı		Beykoz Dalyanı	Filburnu Dalyanı		
	Nisan	Mayıs		Nisan	Mayıs	Haziran
S	1	3±2	5±1	4±1	6±1	7±2
H'	-	0,35±0,34	1,48±0,26	0,67±0,39	1,38±0,27	1,54±0,28
J	-	0,30±0,24	0,90±0,07	0,51±0,27	0,80±0,12	0,81±0,11
d	-	0,38±0,37	0,82±0,18	0,46±0,24	0,75±0,18	1,01±0,25
1-λ	-	0,19±0,19	0,73±0,09	0,36±0,22	0,69±0,09	0,73±0,10

S: Tür Sayısı (S), d (Tür zenginliği), J' (Düzenlilik indeksi), H' (Shannon-Wiener Tür çeşitliliği indeksi), 1-λ (Simpson Baskınlık-Çeşitlilik indeksi).(ortalama±std.sapma)

Ekolojik indexler

Üç dalyanda aylık olarak ekolojik indeks değerlerini incelediğimizde, en yüksek tür sayısı Haziran ayında Filburnu Dalyanı'nda, en yüksek tür çeşitlik indeksi Haziran ayında Filburnu Dalyanı'nda, en yüksek düzenlilik indeksi Mayıs ayında Beykoz Dalyanı'nda, en yüksek tür zenginliği Mayıs ayında Beykoz Dalyanı'nda ve en yüksek baskınlık-çeşitlilik

indeksi Mayıs ayında Beykoz Dalyanı ve Haziran ayında Filburnu Dalyanı'nda görülmektedir (Tablo 5).

Nisan, Mayıs ve Haziran aylarında avcılık yapılan Filburnu Dalyanı'nın aylık ekolojik indeks değerlerine baktığımızda; tür sayısı, tür çeşitlilik indeksi, düzenlilik indeksi, tür zenginliği ve baskınlık-çeşitlilik indeksinin Nisan ayında en düşük iken Haziran ayına doğru gittikçe arttığı gözlenmiştir (Tablo 5).

TARTIŞMA VE SONUÇ

Balık tuzakları içinde yer alan dalyanlar, özellikle Güneydoğu Asya ülkelerinde bulunmakta ve yerel topluluklarda önemli bir rol oynamaktadır. Ayrıca, dalyan balıkçılığının eski zamanlardan bugüne sürdürülebilir bir balıkçılık yöntemi olduğu kanıtlanmıştır (Suzuki ve Kai, 2012). Konstantinopolis'te özel bir "Türk" balıkçılık varyasyonu olan dalyan balıkçılığı, Knudsen'e (2009) göre hem önemli hem de yaygın bir tekniktir. Akdeniz bölgesinde, bu av aracı eski orkinos balıkçılığı ile gelişmiştir. Doğu Akdeniz'de Türkler ve Bulgarlar tarafından kullanılmaktadır. Ayrıca Rus balıkçılığında ve Yugoslav kıyılarında da kullanıldığı bilinmektedir (Gabriel vd., 2005). Türkiye'de kurulan ağ dalyanları ile Batı Akdeniz (İspanya ve İtalya'da) ve Japonya'da kurulan dalyanlar arasında yapısal bakımdan çok büyük farklılıklar vardır. İstanbul Boğazı'nda kurulan ağ dalyanları, deniz dibine kazık çakmak ve bunların arasına ağlar germek suretiyle kurulurken, Batı Akdeniz ve Japonya'da dalyanlar geniş ağlara mantarlar koymak ve böylelikle su yüzeyinde tutma tekniğini kullanmaktadırlar (Sarıkaya, 1980; Tokaç vd., 1991). Bu çalışma süresince, İstanbul'da kurulan ağ dalyanlarında kazıkların hala kullandıkları gözlenmiştir. İstanbul Boğazı kıyılarına uygun modern ağ dalyanlarının geliştirilmesine yönelik çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Yazıcı ve Öker (1960a), Beykoz dalyanının bir sıra dalyanı olduğunu ve Beykoz deniz kulübü ile Yalıköy su iskelesine kadar uzandığını belirtmiştir. Bir diğer yayında, Yazıcı ve Öker (1960b) Fil Burnu dalyanının Anadolu Kavağının üst tarafında bulunan Fil Burnu ile Çayır Ağızı arasında Sarıkaya'dan Sandal limanına kadar olan kısımda kurulduğunu ve bir dönem kurtağzı dalyanı iken 1960 yılında 2 kurtağzı dalyanı ve 1 sıra dalyanı olarak faaliyet gösterdiğini vurgulamıştır. Karakulak (2000), Filburnu dalyanının 2 kurtağzı, Beykoz dalyanının 1 kurtağzı ve 1 sıra, Dilburnu dalyanının 1 sıra dalyanından oluştuğunu bildirmiştir. Günümüzde ise bu dalyanların tamamının kurtağzı dalyanı olarak kurulduğu görülmektedir. Boğazın en verimli dalyanı olan Beykoz Dalyanı eskiden bir adet sıra ve bir adet kurtağzı dalyanı olarak kurulmasına rağmen (Mengi, 1977; Bök, 1991; Karakulak, 2000), 2000 yılından sonra Bakanlık izni ile kurulmuş dalyanların sıra dalyanı olarak kullanılması ve işletilmesi yasaklanmıştır (Anonim, 2000).

Deveciyan (1926), Beykoz Dalyanı'nın Mart ayından Ağustos sonuna kadar, Filburnu Dalyanı'nın ise yazın Mart ayından Haziran sonuna kışın ise Ekim ayının ortasından Ocak'a kadar kurulduğunu bildirmiştir. Yazıcı ve Öker (1960a)'e göre ise Beykoz dalyanı yaz aylarında 25 Mart - 15 Eylül arasında faaliyet gösterir. Karakulak (2000), 2000 yılında Filburnu Dalyanının 12 Haziran-3 Temmuz arasında, Beykoz dalyanının 14 Nisan-26 Haziran arasında ve Dilburnu dalyanının 1 Mart-1 Ağustos tarihleri arasında kurulduğunu ve yıllık çalışma periyodunun 65-126 gün arasında değiştiği saptanmıştır (Filburnu ve Gürpınar dalyanı hariç). Bu çalışma sonuçlarına göre dalyanların balıkçılık gün sayıları 24 il 37 arasında değişmiştir. Dalyanlarda balıkçılık gün sayısının

giderek azaldığı dikkat çekmektedir. Ayrıca, bu çalışmanın sonrasında 4/1 numaralı ticari amaçlı su ürünleri avcılığını düzenleyen tebliğde (2016/35) dalyan balıkçılığı ile ilgili bir zamansal kısıtlama düzenlemesi yapılmıştır. Bu düzenlemeye göre İstanbul ve Çanakkale Boğazlarındaki dalyanların 15 Nisan-15 Mayıs tarihleri arasında ağlarının takılması ve faaliyette bulunması yasaklanmıştır. Bu düzenleme sadece 2017 yılında uygulanmıştır. Kurulduğu bölgenin kültürel yapısına katkıda bulunan ve yaz aylarında açılan bu dalyanların korunması açısından zaman yasağı kaldırılmıştır.

Deveciyan (1926) her iki dalyanda da bütün balık türlerinin avlanabileceğini söylemiştir. Yazıcı ve Öker (1960a) Beykoz dalyanı için; mevkiinin balık avı için çok müsait durumda oluşu yüzünden Boğazın en fazla av veren bir dalyanı olmakla da isim yaptığını iddia etmiş ve orkinos, kılıç, palamut, lüfer, uskumru ve lipari balıklarının avlandığı rapor etmiştir. Yazıcı ve Öker (1960b) Filburnu dalyanında orkinos, palamut, kılıç, hamsi, istavrit, uskumru, lüfer, gümüş ve zargana balıklarının avlandığını tespit etmiştir. Karakulak (2000) ise Boğaziçi dalyanlarında gümüş, istavrit, lüfer, palamut, hamsi, kefal, zargana, sardalya, çaça, kolyoz, karagöz, eşkina, ispari, izmarit, minekop, tekir, barbunya, iskorpit ve kaya balıklarının avlandığını belirlemiştir. Yakalanan balıklar incelendiğinde tarihsel olarak göç eden pelajik balıkların avlanması amacıyla kurulan bu dalyanlarda demersal balıkların da avlandığı görülmektedir. Bu çalışmada, İstanbul Boğazı'nda kurulan dalyanlarda avlanan 12 familyaya ait toplam 15 balık türü tespit edilmiştir. Söz konusu dalyanlardaki avcılığın daha çok küçük pelajik balık üzerine yapıldığı, eskiden avcılığı yapılan orkinos, kılıç ve uskumrunun (Dağlı ve Kahraman, 2014; Devedjian, 1926) artık avlanmadığı tespit edilmiştir. Beykoz Dalyanında en son orkinos avcılığı 1986 yılında gerçekleşmiştir (Bök, 1991). Aşırı avcılık, orkinosun yemini oluşturan uskumrunun azalması, deniz kirliliği gibi sebeplerden dolayı orkinos balığı artık Karadeniz'e doğru göç etmemesi neticesinde, İstanbul Boğazı'nda dalyan ile orkinos avcılığı sona ermiştir (Yıldız ve Karakulak, 2016).

Diğer araştırmaları incelediğimizde; Saroz Körfezi'nde kurulan ağ dalyanlarında 22 familyaya ait 37 balık türü (Çolakoğlu vd., 2015), Sarı ve Bohai Denizlerinde 126 tür (102 balık, 17 crustacea, 5 cephalopod ve 2 meduz türü) (Chen vd., 1997), Kuveyt Körfezi'nde 36 familyaya ait 76 tür (Abou-Seedo, 1992) ve Tayvan kıyılarında 13 familyaya ait 26 tür (Jenq, 2010) yakalandığı rapor edilmiştir. Bölgelere göre yakalanan tür sayısı değişmekle birlikte, dalyan yapısı, şekli ve bulunduğu derinlikte avcılıkta etkili olmaktadır.

Bu çalışmada, tüm dalyanlar için Shannon-Wiener tür çeşitlilik indeksi 0 – 1,54 ve düzenlilik indeksi 0-0,90 arasında hesaplanmıştır. Saroz Körfezi'nde kurulan dalyanlarda tür çeşitlilik indeksi 0 – 1,566 ve düzenlilik indeksi 0-0,999 (Çolakoğlu vd., 2015), Tayvan'ın doğu kıyılarında tür çeşitlilik indeksi 1,16 – 1,63 ve düzenlilik indeksi 1,20-1,63 arasında olduğu tespit edilmiştir (Jenq, 2010). Dalyanların av miktarları ve türlerin bolluğu yıllara ve aylara göre farklılık göstermektedir.

2016 yılında İstanbul Boğazı'nda kurulan ağ dalyanlarında balıkçılık sezonu Nisan-Haziran ayları arasında gerçekleşmiş olup, Dilburnu Dalyanının toplam av miktarı 8.803 kg/yıl, Beykoz Dalyanının 3.914 kg/yıl ve Filburnu Dalyanının ise 16.886,5 kg/yıl'dır. 2010-2012 yılları arasında Saroz Körfezi'nde kurulan dört ağ dalyanında avcılık sezonu Nisan-Ağustos aylarında olup, toplam av miktarı 248-14.453 kg/yıl arasında, her bir dalyanın ortalama av miktarı ise 1453-7.246 kg/yıl arasında değişmiştir (Çolakoğlu vd., 2015). Her bir dalyanın av miktarı bölgelere ve yıllara göre değişiklik göstermektedir. Bu çalışmada incelenen dalyanlar coğrafik olarak birbirine yakın konumda bulunmalarına rağmen av kompozisyonu ve av miktarlarında belirgin farklılıklar görülmektedir. Farklılığa etki eden türler arasında lüfer, çaça ve gümüş katkısı en çok olan türlerdir. Dilburnu ve Filburnu dalyanları yaklaşık 12 m derinlikte sularda kurulmuş iken Beykoz'da deniz dalyanı yaklaşık 34 m derinliklerde kurulmuştur. Dalyan gibi pasif olarak kullanılan av araçlarında su derinliği türlerin avcılık miktarlarına etki etmektedir. Dalyanlar arasında Dilburnu dalyanı uzun yılların getirdiği deneyim sonucu neredeyse sadece gümüş balığı avcılığı için kullanılmaktadır. Bunun dışında, Dilburnu dalyanının kurulduğu saha lüfer gibi İstanbul Boğazını göç sırasında etkin kullanan pelajik balıkların göç yollarının biraz dışında kaldığı için bu türler az miktarda avlanmıştır. Bunun aksine, İstanbul Boğazı dar bir su yolu olduğundan Beykoz ve Filburnu dalyanları bu dar saha da lüfer göç yolu üzerinde kurulduğu için lüfer av miktarları bu dalyanlarda yüksektir. Çaça balığı ise sadece en kuzeyde İstanbul Boğazı'nın Karadeniz çıkışında kurulan Filburnu dalyanında avlanmıştır. Çaça balığı Karadeniz'de son yıllarda pelajik trollerle avlanacak kadar giderek önem kazanmış ve avcılığı hızlı bir şekilde yaygınlaşmaya başlamıştır (Zengin, 2019). Bu türün çalışma sahasında yalnızca bu dalyanda avlanması coğrafik pozisyonu nedeniyle açıklanabilir.

Saroz Körfezi'nde kurulan ağ dalyanlarında en yüksek CPUE değeri Ece Limanında *T.mediterraneus* için (10,75 kg/gün), Koyun Limanında *T.mediterraneus* için (4,35 kg/gün), Mersinlik'de *S. aurita* için (12,47 kg/gün) ve Manda Limanında *S. pilchardus* için (10,16 kg/gün) bildirilmiştir (Çolakoğlu vd., 2015). Bu çalışmada, birim çabadaki av miktarı Filburnu Dalyanında 456,39±49,50 kg/gün, Dilburnu Dalyanında 237,92±24,61 kg/gün ve Beykoz Dalyanının 163,08±17,14 kg/gün olarak bulunmuştur. En yüksek CPUE değeri Dilburnu Dalyanında *A. boyeri* için (211,70±20,70 kg/gün), Beykoz Dalyanında *P. saltatrix* için (56,33±6,95 kg/gün) ve Filburnu Dalyanında ise *A. boyeri* için (112,80±29,54 kg/gün) belirlenmiştir. İstanbul Boğazı'nda kurulan kurtağzı tipi

dalyanların birim çabadaki av miktarı bakımından Saroz Körfezi'nde kurulan kırma-kepasti tipi dalyanlardan daha verimli olduğu anlaşılmaktadır.

Deniz kıyılarında deniz trafiğinin yoğunlaşması ve insan kaynaklı diğer faaliyetler dalyan avcılığını negatif etkilediği, yerel topluluklarının en önemli kültür unsurları olan dalyan balıkçılığın risk altında olduğu ve ihtiyatlı tedbirler uygulanmadığı sürece kaybolabileceği belirtilmektedir (Addis vd., 2009). Aynı şekilde, İstanbul Boğazı'nda kurulan dalyanlarda deniz trafiği, deniz kirliliği ve aşırı avcılık nedeniyle av miktarlarında önemli düşme olduğu rapor edilmiştir (Bök, 1991; Karakulak, 2000). Açık bir şekilde, İstanbul Boğazı dalyan balıkçılığı için ekonomik, kültürel, kalkınma ve kaynak koruma sektörleri arasında bir paradoks olduğu söylenebilir.

Osmanlı zamanında dalyan sahiplerine, dalyan ve voli yerleri için tapular verilerek bu yerler üzerinde balık avlama hakkı verilmiştir. Medeni kanunun kabulünden sonra, 864 sayılı "Kanunu medeninini sureti meriyet ve şekli tatbiki hakkında kanunun" 18.maddesi ile bu haklar, eski ve kazanılmış haklar olarak benimsenmiştir. Bununla birlikte, Medeni Yasanın yürürlüğe girmesinden sonra yeni dalyanların kurulması yasaklanmıştır (Berki, 1953; Bertan, 1976). 1380 sayılı "Su ürünleri kanunun" 12.maddesi ile özel mülkiyetteki dalyan ve voli yerleri sahipleri tarafından bizzat veya kiraya verilmek suretiyle devamlı olarak 5 sene işletilmediği veya terk edildiği takdirde kamulaştırılması belirtilmektedir. Son yıllarda, İstanbul Boğazı'nda özel mülkiyetteki dalyan ve voli yerleri için mahkemelerde kamulaştırma davaları açılmıştır (Dalyan balıkçısı Mustafa Kılıç-kişisel görüşme, 2018).

Akdeniz'deki dalyanlar "Dünya Gıda ve Tarım Örgütü" tarafından geleneksel balıkçılık yöntemleri olarak tanımlanmakta olup en son 2002 yılında yapılan "Dünya Sürdürülebilir Kalkınma Zirvesinde" bu tür geleneksel av yöntemlerinin kültürel ekolojisinin bir parçası olduğu kabul edilerek teşvik edilmesi ve geliştirilmesi üzerinde durulmuştur. Ayrıca, dalyanlar, mekanik ekipmanlar kullanmadıkları için yakıt tasarrufu sağlar ve karbon salınımını azaltır (Addis vd., 2012). Bu anlamda, bu avcılık yönteminin korunması oldukça önemlidir. Ayrıca, Akdeniz geleneksel dalyanların, orkinosların üreme davranışlarının en iyi gözlemlendiği yerler olarak önemi vurgulanmakta ve hala aktif olan dalyanların ortak bir izleme ağının oluşturulması önerilmektedir (Addis vd., 2008). Sonuç olarak, bu çalışmada elde edilen veriler ile İstanbul Boğazı'nda kurulan son dalyanların korunmasına, izlenmesine ve sürdürülebilirliğinin sağlanmasına katkı sağlayacaktır

KAYNAKÇA

- Abid, N., Benchoucha, S., Malouli, M., El Arraf, S., El Fanichi, C., Bensbai, J. & Ben Mhamed, A. (2015). Standardized CPUE of bluefin tuna (*Thunnus thynnus*) caught by Moroccan traps for the period 1986-2014. *Collective Volumes of Scientific Papers ICCAT*, 71(4), 1632-1638.
- Abou-Seedo, F.S. (1992). The abundance of fish caught by stake-traps (hadrah) in the intertidal zone in Doha, Kuwait Bay. *Kuwait Journal of Science*, 19(1), 91-99.
- Addis, P., Cau, A., Davini, M.A., Secci, E. & Scibaldi, G. (1997). Collection of tuna data catches by trap-nets in Sardinia: historical (1825-1980) and recent catches (1992-1995). *Collective Volumes of Scientific Papers ICCAT*, 46, 132-139.
- Addis, P., Dean, J.M., Pesci, P., Locci, I., Cannas, R., Corrias, S. & Cau, A. (2008). Effects of local scale perturbations in the Atlantic bluefin tuna (*Thunnus thynnus* L.) trap fishery of Sardinia (W. Mediterranean). *Fisheries Research*, 92(2-3), 242-254. DOI: [10.1016/j.fishres.2008.01.021](https://doi.org/10.1016/j.fishres.2008.01.021)
- Addis, P., Locci, I. & Cau, A. (2009). Anthropogenic impacts on the bluefin tuna (*Thunnus thynnus* L.) trap fishery of Sardinia (Western Mediterranean). *Collective Volumes of Scientific Papers ICCAT*, 63, 174-185.
- Addis, P., Secci, M., Locci, I., Cannas, R., Greco, G., Dean, J.M. & Cau, A. (2012). Social, cultural and basic economic analysis of the trap fishery of Sardinia: first step towards parameterization. *Collective Volumes of Scientific Papers ICCAT*, 67(1), 380-389.
- Anonim (2000). Denizlerde ve İçsularda Ticari Amaçlı Su Ürünleri Avcılığını Düzenleyen 2000- 2002 Av Dönemine ait 34/1 Numaralı Sirküler, T.C. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, Koruma ve Kontrol Genel Müdürlüğü, Ankara.
- Berki, A.H. (1953). *Tasarıf hukuku bakımından dalyan ve voli*, İdeal matbaası, İstanbul.
- Bertan, S. (1976). *Aynî Haklar*. Medeni kanununun 618-764üncü maddelerinin şerhi (Bu maddelerle ilgili kanunlar ve eski hükümler), Cilt 2, M.K. 702-764, Balkan Basım Yayın, Ankara.
- Bök, T. (1991). *Beykoz Dalyanı'nın İşleyişi ve Avcılığı Üzerine Araştırmalar*, İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, s. 61, İstanbul.
- Bradford, E. 1971, Mediterranean: portrait of a sea, Penguin, 573p, ISBN: 9780151585847
- Bursa, P. (2007). *Antikçağ'da Anadolu'da Balık ve Balıkçılık*, İÜ Sosyal Bilimler Enstitüsü, Doktora Tezi, s. 271, İstanbul.
- Chen, D., Liu, Q., Zeng, X. & Su, Z. (1997). Catch composition and seasonal variation of setnet fisheries in the Yellow and Bohai Sea. *Fisheries Research*, 32, 61-68. DOI: [10.1016/S0165-7836\(97\)00043-X](https://doi.org/10.1016/S0165-7836(97)00043-X)
- Clarke, K.R. & Warwick, R.M. (2001). *Change in marine com m unities: an approach to statistical analysis and interpretation*, 2nd edition. PRIMER-E: Plymouth.
- Çolakoğlu, S., Tokaç, A., İşmen, A. & Yurdusev, H. (2015). Catch composition of set net (fixed stake trap) fisheries in the coastal waters of Saros Bay, North Aegean Sea. *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 32(2), 53-58. DOI: [10.12714/egejfas.2015.32.2.01](https://doi.org/10.12714/egejfas.2015.32.2.01)
- Dağlı, Y. & Kahraman, S.A. (2014). *Günümüz Türkçesiyle Evliya Çelebi Seyahatnamesi: İstanbul*. Yapı Kredi Yayınları, 765.
- Dagron, G. (1994). *Lawful Society and Legitimate Power*. Law and Society in Byzantium: Ninth-Twelfth Centuries, Ed., Angeliki E. Laiou, Dieter Simon, Washington, 27-51.
- Dagron, G. (1995). *Poissons, pêcheurs et poissonniers de Constantinople*. Constantinople and its Hinterland, Ed., C. Mango, G. Dagron, Oxford, 57-73.
- Dagron, G. (2002). *The Urban Economy, Seventh-Twelfth Centuries*. The Economic History of Byzantium: From the Seventh through the Fifteenth Century, Vol II A.E. Laiou (Ed.), Washington, 393-461 pp.
- Devedjian, K. (1926). *Pêche et Pêcheries en Turquie*, Imprimerie de l'Administration de la Dette Publique Ottomane. İstanbul, 480 pp.
- Doğan, F. (2011). Osmanlı'da Boğaziçi'nde Balıkçılık (18.Yüzyıl-20.Yüzyıl). *Tarih Okulu*, Mayıs-Ağustos Sayı X: 39-57.
- Doumenge, F. (1998). L'histoire des pêches thonières. *Collective Volumes of Scientific Papers ICCAT*, 50(2): 753- 803.
- Ertuğ, N. (2015). *İstanbul fishermen in Ottoman period*, (in Turkish). Çalış Ofset. İstanbul. 202 pp.
- Eschmeyer, W.N. (2019). Catalog of Fishes (online), California, California Academy of Sciences, http://researcharchive.calacademy.org/research/ichthyology/catalog/fish_cat_main.asp [Ziyaret Tarihi: 20 Nisan 2019].
- Everitt, B. (1980). *Cluster Analysis, Second Editon*. Halsted Press, New York NY, 1980
- Froese, R. & Pauly, D. (2019). Fishbase (www database). World Wide Web Electronic Publication. URL: <http://www.fishbase.org>, Ocak 2019.
- Gabriel O., Lange K., Dahm E. & Wendt, T. (2005). *Fish Catching Methods of the World*, Fourth Edition. Blackwell Publishing Ltd. ISBN:9780852382806. 523 pp. DOI: [10.1002/9780470995648](https://doi.org/10.1002/9780470995648)
- Hattour A., Ortiz de Urbina, J.M. & de la Serna, J.M. (2002). Preliminary standardized catch rates for bluefin tuna (*Thunnus thynnus*) from the trap fishery in Tunisia. *Collective Volumes of Scientific Papers ICCAT*, 54(2), 531-537.
- Jenç, H.Y. (2010). Studies on the variation of fishing condition at Chiafong set-net fishing company. *Bulletin of National Kaohsiung Marine University*, 24, 43-66.
- Karakulak, F.S. (2000). *İstanbul Boğazı ve civarındaki ağ dalyanları*, Öztürk, B., Kadioğlu, M., Öztürk, H. (Eds.), "Marmara Denizi 2000" Sempozyumu, 11-12 Kasım 2000, Türk Deniz Araştırma Vakfı Yayınları No. 5, s. 426-435, İstanbul.
- Knudsen, S. (2009). *Fishers and Scientists in Modern Turkey. The management of natural Resources, knowledge and identity on the eastern Black Sea coast*. Studies in environmental anthropology and ethnobiology. Berghahn Books. New York. 290 p.
- Lino P.G., Rosa D. & Coelho, R. (2018). Update on the bluefin tuna catches from the tuna trap fishery off southern Portugal (NE Atlantic) between 1998 and 2016, with a preliminary CPUE standardization. *Collective Volumes of Scientific Papers ICCAT*, 74(6), 2719-2733.
- Maniatis, C.G. (2000). The organizational setup and functioning of the fish market in tenthcentury Constantinople. Dumbarton Oaks Research Library and Collection, No:54. Washington. DOI: [10.2307/1291831](https://doi.org/10.2307/1291831)
- Mater, S., Kaya, M., Bilecenoğlu, M., (2002). Türkiye Deniz Balıkları Atlası, Ege Üniversitesi Basım Evi, Ege Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Yayınları No :68, Yardımcı Ders Kitapları Dizini NO: 11, Bornova, İzmir.
- Mengi, T. (1977). *Balıkçılık Tekniği*, Met/Er Matbaası, 286 pp., İstanbul.
- Ortiz de Urbina, J., Rodríguez-Marín, E., de la Serna, J.M., Macías, D., Rioja, P. & Saber, S. (2013). Updated standardized CPUE of bluefin tuna (*Thunnus thynnus*) caught by Spanish traps for the period 1981-2011. *Collective Volumes of Scientific Papers ICCAT*, 69(1), 287-291.
- Ravier, C. & Fromentin, J.M. (2001). Long-term fluctuations in the Eastern Atlantic and Mediterranean bluefin tuna population. *ICES Journal of Marine Science*, 58, 1299-1317. DOI: [10.1006/jmsc.2001.1119](https://doi.org/10.1006/jmsc.2001.1119)
- Quinn, G.P. & Keough, M.J. (2002). *Experimental Design and Data Analysis for Biologists*. Cambridge University Press, New York, 978-0-511-07812-5. DOI: [10.1017/CBO9780511806384](https://doi.org/10.1017/CBO9780511806384)
- Sara, R. (1964). Données, Observations et Commentaires sur La Présence, Le Comportement, Les Caractéristiques et Les Migrations des Thons en Méditerranée. *Proceedings | General Fisheries Commission for the Mediterranean*, 7, 371-388.
- Sankaya, S. (1980). *Su Ürünleri Avcılığı ve Av Teknolojisi*. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, Su Ürünleri Genel Müdürlüğü, Başbakanlık Basımevi, s. 65-103, Ankara.

- Suzuki, Z. & Kai, M. (2012). General information on Japanese trap fisheries catching Pacific bluefin tuna (*Thunnus orientalis*): Fishery and socio economics. *Collective Volumes of Scientific Papers ICCAT*, 67(1), 361-371.
- Tekin, O. (1996). The Pelamydes of Byzantium and the Golden Horn. *Anadolu Araştırmaları*, XIV: 469-478.
- Tokaç, A., Gurbet, R. & Albaz, A. (1991). Modern ađ dalyanların Türkiye'de uygulanabilirliği üzerine bir ön çalışma. *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 8, 29-30.
- von Brandt, A. (1984). Fish catching methods of the world, Fishing News Books Ltd., Farnham, Surrey, England, 418 pp.
- Yazıcı, S.A. & Öker, A. (1960a). Boğaziçi ve Cıvarı Dalyanları Hakkında Tetkikler (Kısım I). *Balık ve Balıkçılık Dergisi*, VIII(7), 19-22.
- Yazıcı, S.A. & Öker, A. (1960b). Boğaziçi ve Cıvarı Dalyanları Hakkında Tetkikler (Kısım II). *Balık ve Balıkçılık Dergisi*. VIII (8), 14-17.
- Yıldız, T. & Karakulak, F.S. (2016). *Traditional Fishing in the Marmara Sea. The Sea of Marmara; Marine Biodiversity, Fisheries, Conservation and Governance*, Özsoy, E., Çağatay, M.N., Balkıs, N., Balkıs, N., Öztürk, B. (Eds.) Turkish Marine Research Foundation (TUDAV), Publication No: 42, pp. 697-709, ISBN 978-975-8825-34-9, Istanbul.
- Zar, J.H. (1984). *Biostatistical analysis*, 4th edition. New Jersey, Prentice Hall. USA, ISBN: 978- 0321656865, 663 p.
- Zengin, M. (2019). Karadeniz Türk Balıkçılığının Yüz Yıllık Tarihine Genel Bir Bakış. *Karadeniz Araştırmaları Enstitüsü Dergisi*, 5(7), 31-67. DOI: [10.31765/karen.584037](https://doi.org/10.31765/karen.584037)

Effect of different protein sources on protease activity of northern pike, *Esox lucius* Linneaus 1758, juvenile

Farklı protein kaynaklarının turna, *Esox lucius* Linneaus 1758, juvenillerinin proteaz aktivitesi üzerine etkisi

Kaya Gökçek^{1*} • Tamás Szabó² • Cüneyt Suzer³

¹ Animal Sciences Department, Hatay Mustafa Kemal University, Hatay, Turkey

<https://orcid.org/0000-0002-7837-8009>

² Department of Aquaculture, Szent Istvan University, Gödöllő, Hungary

<https://orcid.org/0000-0002-3843-4811>

³ Ege University Faculty of Fisheries, Department of Aquaculture, İzmir Turkey

<https://orcid.org/0000-0003-3535-2236>

Corresponding author: kayagokcek@yahoo.com

Received date: 30.10.2019

Accepted date: 29.11.2019

How to cite this paper:

Gökçek, K., Szabó, T. & Cüneyt, S. (2020). Effect of different protein sources on protease activity of northern pike, *Esox lucius* Linneaus 1758, juvenile. *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 37(2), 135-138. DOI: 10.12714/egejfas.37.2.03

Abstract: The aim of the study is to determine the inhibitory effect of different protein sources on protease activity of Northern pike, *E. lucius*, during larval ontogeny. For this purpose, Northern pike were fed from yolk sac absorption until 21 days after hatching (DAH). At that point, larvae were sampled on 7, 14 and 21 DAH days and the activity of enzyme was analyzed in vitro. In the study, two different fish meal, chicken meal, krill meal, corn gluten, soybean protein concentrate, soybean meal and dried distillers grains with solubles were tested. Fish meal-I showed the lowest effect (7.53 %) on 7 DAH larvae. Moreover, chicken meal has the highest inhibitory effect on the proteases in the first week (68.27%). In the following period (DAH 14), although the inhibition ratio dramatically increased in all ingredients, fish meal-I has still the lowest effect on proteolytic activity (55.66%). In the same period, the highest effect was obtained from krill (82.28 %) and chicken meals (86.73 %), respectively. Then, there was no statistical difference between fish meal-I, fish meal-II and corn gluten in the 21 DAH and relatively lower than the others ($p>0.05$). Additionally, chicken meal again has the highest effect on juveniles with the ratio 89.27 %. As a result, the increase of proteolytic activity was notably increased in 7-14-21 DAH, however, it is concluded that feeding larvae and juveniles with live prey is still suggested to get better result for such a carnivorous species culture.

Keywords: Northern pike, protease activity, protein sources, inhibition effect

Öz: Bu çalışmanın amacı, farklı protein kaynaklarının turna balığının larval gelişimi sırasında sindirim enzimlerinden proteaz enzimlerini inhibe edici etkisinin tespit edilmesidir. Bu amaçla, Turna balığı, *E. lucius*, larvaları yumurtadan çıkıştan itibaren 21. günün sonuna kadar beslenmişlerdir. Bu noktada, besleme yapılan larvalardan 7, 14 ve 21. günlerde örnekler alınarak in vitro enzim aktiviteleri tespit edilmiştir. Çalışmada, protein kaynağı olarak iki farklı balık unu, tavuk unu, krill unu, mısır gluteni, soya protein konsantresi, soya unu ve damıtılmış tahıl test edilmiştir. Yedinci günde, en düşük etki balık unu-I grubunda tespit edilmiştir (% 7,53). Ayrıca, tavuk unu ilk hafta en yüksek durdurucu etkiyi göstermiştir (% 68,27). Bunu takip eden dönemde (14. gün), tüm hammaddelerin durdurucu etkisi dramatik bir şekilde artmış olsa da, proteolitik aktivite üzerindeki en düşük etki yine balık unu-I grubunda görülmüştür (% 55,66). Aynı dönem içerisinde, en yüksek etki krill ve tavuk ununda tespit edilmiştir (sırasıyla, %82,28 ve 86,73). Ardından, 21. günde ise balık unu-I, balık unu-II ve mısır gluteni arasında herhangi bir istatistiksel fark bulunmamıştır ($p>0.05$). Bunun yanında, tavuk unu bu dönemde de enzim aktivitesini durdurucu en yüksek etkiye sahip olmuştur (% 89,27). Sonuç olarak, 7- 14 ve 21. günlerde proteolitik aktivitenin belirgin artış göstermesi ile birlikte, bu türden kamivor balıkların larva ve juvenil boylarının beslenmesi sırasında canlı yemlerin kullanılmasının daha başarılı gelişim sonuçlarını ortaya koyacağı düşünülmektedir.

Anahtar kelimeler: Turna, proteaz aktivitesi, protein kaynakları, durdurucu etki

INTRODUCTION

Northern pike is one of the most popular and valuable carnivore freshwater fish species in northern hemisphere. In restaurants and fish markets, the price is almost the same as European catfish (*Silurus glanis*) and pike perch (*Sander lucioperca*), in the meantime higher than common carp (*Cyprinus carpio*) and trout (*Oncorhynchus mykiss*). Due to being effective bio-meliorator in earthen ponds, it is stocked to polyculture systems to prevent involuntary increase of Prussian carp, *Carassius gibelio*, especially mid-Europe. The constraining point of its commercial production is high

cannibalism ratio which starts at very early larvae stage (Kucska et al., 2006).

The fish feed industry still searches alternative protein sources for fish diets due to the dramatic decrease of natural fish stocks used for fish meal and oil. On the other side, lack of appropriate commercial diets for new candidate species is another issue for the potential fish producers. Recently, the plant protein sources used in commercial fish feeds instead of fishmeal to reduce the pressure on natural fish populations causes relatively higher feed conversion ratios. Besides, fish farmers complain for low growth performance when fish are fed

on these ingredients. It is thought that this situation is probably caused by inadequate amino acid profiles and anti-nutritional factors of plant protein sources (Halver and Hardy, 2002).

In commercial hatcheries, pike larvae are fed with zooplankton collected from ponds for one week and there is a limited period to sell them to the other fish farms (Hazman and Gökçek, 2014). Then they are stocked to the earthen ponds for nursery (Szabo, 2008). To bypass feeding them by live prey, producers has started to feed with trout starter feeds over the last years. Although the food intake and growth performance were acceptable during this period, it is still unclear that the nutritional value met with larvae' requirements or not. Previous results concerning breeding, feeding them in artificial conditions and digestive enzymes were already presented for Northern pike (Kucska et al., 2005; Szabo, 2008; Gökçek et al., 2012; Hazman and Gökçek, 2014). However, there are still some information scarcity such as the effects of commercial feeding protocol on digestive enzyme activities, inhibitory effects on protease activity and bioavailability of different protein sources. In the present work, an *in vitro* method was carried out to assess the interaction between proteases and different protein sources to make a contribution to development of micro diets for Northern pike.

MATERIAL AND METHODS

Source of fish and sampling method

Northern pike larvae were produced from broodstock in captivity in Szeged Fish Farm Kft., Hungary. Routine artificial production procedure was applied for fertilization (Szabo, 2008). After hatching, larvae were transferred to the 350 L circular tanks in the same hatchery and stocking density was 100 larvae/L. During the experiment, the water temperature was $13 \pm 1^\circ\text{C}$. In the study, fish were fed with trout starter diet (56% CP) (Coppens, Nederland) 8 times per day. One hour after feeding activity, about 500 mg larvae were sampled daily into 3 ml Eppendorf tubes without water and then freeze stored at -20°C .

Analysis of total protease activity

Whole body homogenates of larvae were prepared to get enzyme extracts by centrifugation (12000 g, 20 min, 4°C). Casein (10 mg ml^{-1}) was used as substrate and dissolved in 50 mM Tris-HCl buffer at pH 9 (Walter, 1984). The substrate and enzyme extracts of larvae were incubated at 37°C for 1 hour. Then, 500 μl trichloroacetic acid (TCA) (12%) was used to stop the reaction. The mixture was incubated at 4°C for 10 minutes and after centrifugation (8000 g, 15 min, 4°C) the absorbance was recorded at 280 nm. One unit of enzyme activity was defined as 1 μg of tyrosine released per minute. The results were expressed as U/mg tissue (Gökçek et al., 2016). All analyses were studied triplicate.

Determination of inhibition effects of protein sources on proteolytic activity

A modified *in vitro* method of Garcia-Carreño (1996) was used to determine inhibition effects of two different fish meal (FM-1 and FM-2), corn gluten (CG), soybean protein concentrate (SPC), dried distillers grains with solubles (DDGS), krill meal (KM), chicken meal (CM) and soybean meal (SM) as protein sources on protease activity of 7-14-21 DAH. The amount of crude protein of ingredients were determined by the Kjeldahl method.

Different feed ingredients and protease enzyme extracts were pre-incubated and the residual activity was measured. The extracts (20 μL) were incubated with protein solutions (20 μL) in Tris HCl buffer (500 μL) for 60 min at 25°C (pH 9.0). In the control group, same amount of distilled water was used instead of protein solutions in the mixture. Afterwards, 100 μL casein was added and the mixture was incubated for 120 minutes at room temperature. Finally, 500 μL TCA (120 g L^{-1}) was added to stop reaction and after centrifugation (8000 g, 15 min, 4°C) the absorbance was recorded at 280 nm. TCA was added prior to casein in blanks (Alarcon et al., 1999; Gökçek et al., 2016).

Statistical methods

Results are given as mean \pm S.D. Levene's test for equality were used prior to comparison of data. A one-way ANOVA, followed by Duncan test was applied for comparisons when significant differences were found at the 0.05 level. Statistical analyses were performed with SPSS 22.0 software (Hazman and Gökçek, 2014).

RESULTS

Feeding protocol, growth performance and proteolytic activity of sampling days were presented in Figure 1. The protease activities were measured as 271.42 U/mg tissue on 7 DAH, 282.23 U/mg tissue on 14 DAH and 325.64 U/mg tissue on 21DAH.

The inhibitory degree of feed ingredients on protease activity are given in Table 1. The minimum inhibitory effect was obtained from FM-I on the 7th day-old larvae. CM has the highest inhibitory effect on the proteases in the first week. In the following period (DAH 14), although the inhibition ratio dramatically increased in all ingredients, FM-I has still the lowest effect on proteolytic activity. In the same period, the highest effect was obtained from KM and CM. There was no statistical difference between FM-I, FM-II and CG in the DAH21 and lower than the others ($p > 0.05$). CM again has the highest effect on juveniles with the ratio.

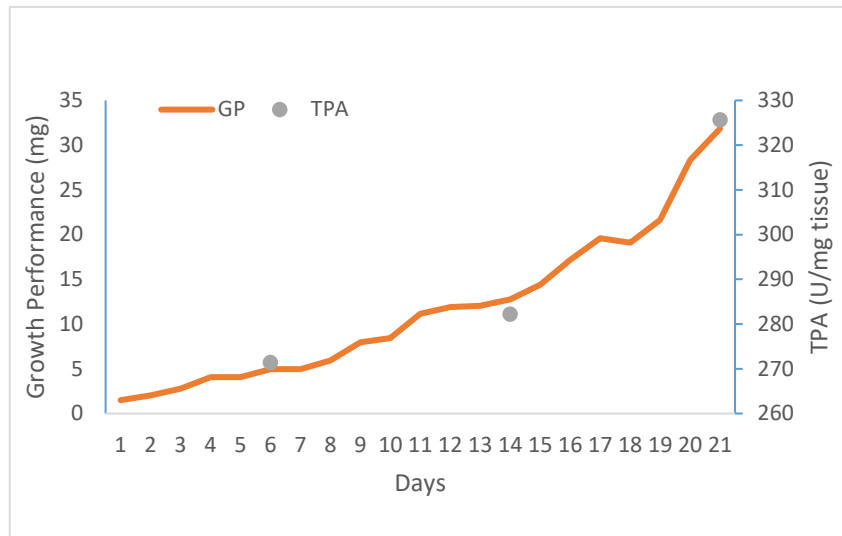


Figure 1. Growth performance and daily changes of total proteolytic activity (TPA)

Table 1. Protein sources and inhibition degree of protease activity

PROTEIN SOURCES (% CP as is)	DAH7	DAH14	DAH21
FM-1 (63.25)	7.53±0.71 ^a	55.66±1.61 ^a	62.65±3.77 ^a
FM-2 (55.26)	22.69±1.35 ^b	61.01±2.88 ^b	67.01±0.79 ^a
CG (57.50)	32.70±1.34 ^c	64.81±1.42 ^b	66.41±2.64 ^a
SPC (59.45)	50.93±10.15 ^{de}	77.90±6.10 ^{cd}	81.56±0.30 ^c
DDGS (31.23)	60.80±6.10 ^{ef}	80.50±0.67 ^d	81.40±2.33 ^c
KM (43.49)	61.88±1.16 ^e	82.28±6.26 ^{de}	84.34±0.00 ^d
CM (53.31)	68.27±2.29 ^f	86.73±0.28 ^e	89.27±1.31 ^e
SM (46.16)	40.62±4.83 ^d	70.95±1.88 ^c	76.04±0.71 ^b

Means with the same superscripts in the same column are not significantly different ($p < 0.05$)

DISCUSSION

As well known, fish feed production sector focused on developing high quality microdiet feeds to meet with the nutritional requirements of different species since the beginning of the millennium. It could be summarized that a serious distance covered on this purpose. However, there still need to study on it. Sanz et al., (2011) claimed that the total amount of enzymes measured should contain not only the enzyme produced by larvae but also the exogenous originated ones. Therefore, exogenous feeding larvae of carnivore species should be started by live prey at the beginning of the ontogeny of digestive tract. Controversially, according to some other researchers, the secretion of enzymes may be triggered by movement of beaten live prey (Zambanino Infante and Cahu, 2001), but the exogenous enzymes are unnecessary for digestion in the early larval stage (Segner and Rosch, 1998).

Töre et al., (2014) studied the inhibition effect of KM, fish hydrolysate, FM, SM, caviar meal and CG on proteases of 30 DAH northern pike juvenile. Total protease activity was 489.65

U/mg tissue in that day. Besides, the fish were fed with *Artemia* nauplii at first week just after yolk-sac absorption. The lowest inhibitory effect was gained from KM (2.30±1.26%), and the highest effect from CG (32.24±3.61%). Gökçek et al., (2016) also tested the inhibitory effects of SPC, SM, CG, blood meal and FM in 30 DAH Russian sturgeon (*Acipenser gueldenstaedtii*) juveniles. In that study, the blood meal showed extremely high inhibition effect on proteases (97.28±2.31%), while FM had almost the same ratio as those (15.44±5.59%) reported by Töre et al., (2014). According to Alptekin and Gökçek (2016), although FM and SPC had a similar effect on protease of Siberian sturgeon (*A. baerii*) juveniles (15.34±3.85 and 14.45±1.58 % respectively), SM and blood meal had relatively higher effect on proteases (63.33 and 66.67±4.71%, respectively). Kurt and Gökçek (2018) studied the effects of not only single ingredients but also their dual combinations in 29-day-old starlet (*A. ruthenus*) juveniles. SPC (38.57±10.44%) and CG (43.07±1.72%) displayed lower effects on the proteases compared with the other ingredients and their dual combinations. Interestingly, FM had higher effect

than the other ingredients (57.68±4.54%). In the present study, the minimum inhibitory effect obtained from FM-I which has the highest crude protein ratio in among all tested ingredients. Although there was a statistical difference between two different fish meal in DAH14, this difference disappeared by growing larvae in DAH21 ($p<0.05$). Also, only CG showed similar effect on proteases as like fish meals in the same period ($p<0.05$).

On the other hand, from the stand point of enzyme produced by larvae in each period, the protease activity was extremely lower compare to the Töre et al. (2014)'s results. There was a difference between present and former study in terms of feeding method i.e., because previous study tested fish species by maintaining with live prey during early digestive ontogeny. This could have probably led to better development of digestive system compared with maintained on just commercial dry diet. As mentioned before, fish appear to have solely enough and adequate digestive enzyme for live prey in their early life stage, but not for digestion of dry diets.

REFERENCES

- Alarcon, F.J., Moyano, F.J., Diaz, M., Fernandez-Diaz, C. & Yufera, M. (1999). Optimization of the protein fraction of microcapsules used in feeding of marine fish larvae using *in vitro* digestibility techniques. *Aquaculture Nutrition* (5), 107-113. DOI: [10.1046/j.1365-2095.1999.00093.x](https://doi.org/10.1046/j.1365-2095.1999.00093.x)
- Alptekin, C. & Gökçek, K. (2016). Balık yemlerinde kullanılan farklı protein kaynaklarının Sibirya mersini, *Acipenser baerii* Brandt 1869, juvenillerinin proteaz aktivitesi üzerine etkileri. *Yunus Araştırma Bülteni*, (3), 201-207. [in Turkish]
- Garcia-Carreno, F.L. (1996). Proteinase inhibitors. *Trends Food Scienci Technology*, 7, 197-204. DOI: [10.1016/0924-2244\(96\)10023-6](https://doi.org/10.1016/0924-2244(96)10023-6)
- Gökçek, K., Szabo, T., Alptekin, C., Kurt, R., Töre, Y. & Urbanyi, B. (2016). A Preliminary Study on Protease Activity of Russian Sturgeon, *Acipenser gueldenstaedtii* Brandt & Ratzenburg, 1833, at Early Life Stages. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 16, 1025-1029. DOI: [10.4194/1303-2712-v16_4_29](https://doi.org/10.4194/1303-2712-v16_4_29)
- Gökçek, K., Naz, M., Szabo, T. & Urbanyi, B. (2012). A Preliminary Study on Protease Activity of the Northern Pike (*Esox lucius* L. 1758) Larvae. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 12, 947-950. DOI: [10.4194/1303-2712-v12_4_22](https://doi.org/10.4194/1303-2712-v12_4_22)
- Halver, J.E. & Hardy, R.W. (2002). Fish Nutrition. *Academic Press*, USA, 143 pp.
- Hazman, B. & Gökçek, K. (2014). The Effect of Different First Feeds on Proteolytic Activity of the Northern Pike, *Esox lucius* Linnaeus 1758, Post-Larvae. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 14, 875-878. DOI: [10.4194/1303-2712-v14_4_04](https://doi.org/10.4194/1303-2712-v14_4_04)
- Kucska, B., Müller, T., Sar, J., Bodis, M. & Bercsenyi, M. (2005). Successful growth of pike fingerlings (*Esox lucius* L.) on pellet at artificial condition. *Aquaculture*, 246, 227-230. DOI: [10.1016/j.aquaculture.2005.01.013](https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2005.01.013)
- Kucska, B., Pal, L., Müller, T., Bodis, M., Bartos, A., Wagner, L., Husvth, F. & Bercsenyi, M. (2006). Changing of fat content and fatty acid profile of reared pike (*Esox lucius*) fed two different diets. *Aquaculture Research*, 37, 96-101. DOI: [10.1111/j.1365-2109.2005.01402.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2005.01402.x)
- Kurt, R. & Gökçek, K. (2018). Farklı Protein Kaynaklarının Çukura Mersini, *Acipenser ruthenus* Linnaeus 1758, Juvenillerinde Proteaz Aktivitesi Üzerine Etkileri. *Limnofish*, 4(1), 1-5. DOI: [10.17216/limnofish.325726](https://doi.org/10.17216/limnofish.325726)
- Segner, H. & Rosch, R. (1998). Ontogeny of digestive functions and metabolic functions in *Coregonus lauareus*. *Archive fur Hydrobiology Special Issues Adv. Limnol.*, 50, 1-14.
- Sanz, A., Llorente, J.L., Furne, M., Ostos-Garrido, V., Carmona, R., Domezain, A. & Hidalgo, M.C. (2011). Digestive enzymes during ontogeny of the sturgeon *Acipenser naccarii*: intestine and pancreas development. *Journal of Applied Ichthyology*, 27, 1139-1146. DOI: [10.1111/j.1439-0426.2011.01864.x](https://doi.org/10.1111/j.1439-0426.2011.01864.x)
- Szabo, T. (2008). Use of Carboxypol resin for carp pituitary administration improves the fertilization percentage of northern pike (*Esox lucius* L.) eggs in commercial hatcheries. *Hydrobiologia*, 601, 91-97. DOI: [10.1007/s10750-007-9269-9](https://doi.org/10.1007/s10750-007-9269-9)
- Töre, Y., Gökçek, K., Alptekin, C., Szabo, T. & Urbanyi, B. (2014). Turna, *Esox lucius* Linnaeus 1758, balığı larvalarının proteaz aktivitesi üzerine ticari yem hammaddelerinin inhibisyon etkilerinin tespiti. In H. Akgün (Eds.). *Doğu Anadolu 5. Su Ürünleri Sempozyumu* (pp. 228-229). Elazığ, Turkey, 456 pp. [in Turkish]
- Walter, H.E. (1984). Proteinases: methods with hemoglobin, casein and azocoll as sub-strates. *Methods of Enzymatic Analysis*, 5: 270-277.
- Zambonino Infante, J.L. & Cahu, C.L. (2001). Ontogeny of the gastrointestinal tract of marine fish larvae. *Comperative Biochemical Physiology. C*, 130, 477-487. DOI: [10.1016/S1532-0456\(01\)00274-5](https://doi.org/10.1016/S1532-0456(01)00274-5)

In conclusion, FM-I (63.25 %CP) in the first week; and in the second and third week both fish meals appear to be good protein sources for Northern pike. It is thought that one of the most important points is the amino acid compositions and their possible antagonistic relations have a significance in observed variations between other ingredients. To get a detailed knowledge about the effect of different feed ingredients on enzymatic activity, the determination of the degree of hydrolysis and sequential analysis of protein hydrolysis products should be examined in the future.

ACKNOWLEDGMENTS

Special thanks to Francisco Javier MOYANO for sharing enzyme analyze methods and for future project ideas. The present work was supported from Mustafa Kemal University Scientific Projects Department with the project number 16792

Ege Denizi'nde kıyı balıkçılığı ve deniz kuşları arasındaki bazı etkileşimler

Some interactions between coastal fisheries and sea birds in the Aegean Sea

Tevfik Ceyhan^{1*} • Okan Akyol²

¹ Ege Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi 35100 Bornova, İzmir

<https://orcid.org/0000-0002-4799-5709>

² Ege Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi 35100 Bornova, İzmir

<https://orcid.org/0000-0001-7738-2156>

Corresponding author: tevfik.ceyhan@ege.edu.tr

Received date: 19.09.2019

Accepted date: 11.12.2019

How to cite this paper:

Ceyhan, T. & Akyol, O. (2020). Some interactions between coastal fisheries and sea birds in the Aegean Sea. *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 37(2), 139-147. DOI: [10.12714/egejfas.37.2.04](https://doi.org/10.12714/egejfas.37.2.04)

Öz: Bu çalışmada, Ege Denizi'nde uygulanan çeşitli balıkçılık tiplerinin ikincil çekim etkileri sonucu balıkçılıkla etkileşime giren deniz kuşlarının bazı etkileşim tipleri ve sonuçlarının ortaya konması amaçlanmıştır. Araştırma kapsamında Eylül 2016 ile Aralık 2018 tarihleri arasında İzmir, Aydın ve Muğla bölgesindeki balık çiftlikleri, küçük ölçekli balıkçılar (KÖB) ve dalyanlarda çalışan 80 balıkçı ile yüz yüze görüşmeler yapılmıştır. Balık çiftlikleri ve kıyı balıkçıları ile en çok etkileşime giren kuş türleri karabatak (*Phalacrocorax carbo*), gümüş martı (*Larus michahellis*), büyük akbalıkçıl (*Ardea alba*), az sayıda yelkovan (*Puffinus yelkouan*) ve akpelikan (*Pelecanus onocrotalus*)'dır. Akuakültür işletmelerinde çalışanlar %82 oranında kışın deniz kuşları ile etkileşime girdiklerini bildirirken, KÖB %50 ile yazın en çok etkileşime girmişlerdir. Balıkçıların mevsimlere göre deniz kuşları ile etkileşime girme oranları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0,05$). Akuakültür çalışanları %33 oranında deniz kuşlarını tüm gün gördüklerini ifade etmişler; bu oran KÖB için %21,7, dalyanlar için ise %15'dir. Bununla birlikte sabah saatlerinde akuakültür ve KÖB tarafından %11, dalyan balıkçısı tarafından ise %8,3 oranında su kuşları ile etkileşim içine girildiği tespit edilmiştir.

Anahtar kelimeler: Küçük ölçekli balıkçılık, dalyan, akuakültür, deniz kuşları, etkileşim

Abstract: In this study, it is aimed to determine some interactions between various fishery types and seabirds, results of this interaction and sea bird species that have been interacting due to secondary attraction factors. A total of 80 fishermen, working in fish farms, small scale fishery (SSF) and lagoons located in İzmir, Aydın and Muğla were face-to-face interviewed between September 2016 and December 2018. The great cormorant (*Phalacrocorax carbo*), yellow-legged gull (*Larus michahellis*), great white egret (*Ardea alba*), some yelkouan shearwater (*Puffinus yelkouan*) and great white pelican (*Pelecanus onocrotalus*) are the bird species that have an interaction with coastal fishermen and sea-cage fish farms. 82% of employees in sea-cage fish farms mentioned that they have an interaction with sea birds in winter, besides %50 of SSF have an interaction with sea birds in summer. The difference between interaction rate according to seasons has been found as statistically significant ($p<0.05$). 33% of employees in fish farms expressed that they see sea birds during the day. This ratio is 21.7% and 15% for SSF and fishermen in lagoon, respectively. Furthermore, 8.3% of fishermen in lagoon, 11% of employees in fish farms and SSF mentioned that they have an interaction with seabirds especially in the morning time.

Keywords: Small scale fishery, lagoon, aquaculture, seabirds, interaction

GİRİŞ

Kuşlar, deniz ortamında en göze çarpan, en çeşitli ve kolayca çalışılabilen organizmalardır. Yaklaşık 320 deniz kuşu türü ve daha fazla sayıda kıyı kuşu ve deniz ördeği türleri, avcı (ve av) ve çöpçü olabilirler. Aynı zamanda bu kuşlar balıkçılıktan zarar görebilir veya faydalanabilirler. Balık avının kuşlar üzerindeki etkileri doğrudan veya dolaylı olabilir. Doğrudan etkilerin çoğu, olta takımıyla öldürmeyi içerir, ancak daha küçük ölçekte bazı balık tutma faaliyetleri de kuşları rahatsız edebilir (Tasker vd., 2000).

Deniz kuşu popülasyonlarının durumu, diğer kuş gruplarına göre daha hızlı bir şekilde bozulmakta ve balıkçılıktan kaynaklanan hedef dışı olarak avlanma, bu düşüşlerin temel nedenlerinden biri olarak tanımlanmaktadır (Croxall vd., 2012). IUCN kırmızı listesi incelendiğinde deniz kuşlarının, dünyada en çok tehdit altındaki kuş grupları arasında yer aldığı görülebilir. Günümüzde sağlıklı yetişkin

deniz kuşları için ölümlerin önde gelen nedeni, balıkçılıkla etkileşime bağlı olarak kazayla meydana gelen ölümlerdir. Deniz kuşları her zaman tekneleri takip etmelerine rağmen, son yıllardaki av aracı yenilikleri bu davranışı özellikle tehlikeli hale getirmiştir. Deniz kuşları ile balıkçılık arasındaki etkileşimler konusundaki endişeler, özellikle 1990'lı yıllarda av sırasında çok sayıda deniz kuşunun hedef dışı olarak avlandığının fark edilmesi nedeniyle oldukça artmıştır.

Halkın tepkisi ve koruma örgütleri ile hükümetlerin deniz kuşu ve diğer deniz canlılarının ölümleri sebebiyle yapılan baskılar, açık deniz akıntı ağları (drift-net) balıkçılığının yasaklanmasına, buna bağlı olarak paraketa kullanımında artışların ortaya çıkmasına neden olmuştur. Hedef dışı deniz kuşu avcılığında paraketa balıkçılığı da ciddi bir sorundur çünkü kuşlar beslenmek için balıkçı teknelerini takip ederler ve özellikle iğnedeki yemi almaya çalışırken yakalanır ve boğulurlar (Wiedenfeld, 2012).

Deniz kuşları, deniz mahsullerinin hasadı sürecinde birkaç farklı şekilde öldürülebilir. Paraketa gibi kanca kullanan balık avcılığında, paraketa hattı suyun yüzeyine yakın olduğunda ve kuşların almak istedikleri yemler veya küçük balıklar olduğunda kuşlar iğneye takılarak ölürler. Deniz kuşlarının paraketa avcılığında tesadüfi ölümleri ilk kez 1980'lerin başında rapor edilmiştir (Morant vd., 1983, Croxall vd., 1984). Dünyanın birçok yerinde sistematik raporlamanın olmaması ve bölgesel olarak deniz kuşlarının avlanmasının değişken olması nedeniyle sorunun ölçeğinin belirlenmesi çok zordur. Kuşlar en çok uzatma ağları ve paraketa balıkçılığı ve bir miktar da trol balıkçılığı nedeniyle telef olmaktadır. Bunun kuşlara olan maliyeti yıllık yüzbinlerce ölüm vakasıdır. Jig, sürütme veya el oltaları kullanan diğer olta balıkçılığında, genellikle bu takımlarla balıkçılık sırasında katılımcıların avda sürekli bulunmaları nedeniyle deniz kuşu avlanma oranları oldukça düşüktür. Galsama ağlarının kullanıldığı uzatma ağı balıkçılığında, genellikle dalış yapan deniz kuşları yakalanır ve boğulmayla ölüm gerçekleşir. Bazı deniz kuşları 50 m derinliğin altına bile dalabildiğinden, bu tip derinliklerdeki ağlar da deniz kuşlarını öldürebilir. Trol veya kıyı sürütme balıkçılığı genellikle deniz kuşları için kancalardan veya ağlardan daha az risk oluşturur. Trollerde, birçok kuş avcılık sırasında trol halatlarına veya (varsa) ağı sonda kablolarına çarparak yaralanır. Palamara çarpmalar sık sık yaralanmalara neden olmaz, ancak özellikle büyük deniz kuşlarında, kemiklerin kırılmasına ya da kuşun ölümüne yol açan iç yaralanmalara neden olabilir. 2005 – 2006 yılları arasında Güney Afrika bakalyaro trol balıkçılığı esnasında öldürülen 18.000 deniz kuşundan sonra trol balıkçılığının deniz kuşları için büyük bir tehdit olduğu ortaya çıkmıştır. Trolde ölüm nedenleri palamar halatına takılma (%85), ağına atılması ve toplanması esnasında dolanma (%15) şeklindedir (Watkins vd., 2008). Bazı kuşlar bu sürütme ağlarının kaldırılma esnasında balık almayı denerken ağına takılmak suretiyle de ölebilmektedir. Genellikle deniz kuşları için düşük bir risk teşkil etmesine rağmen, sığ sulara batırıldığında sepet veya tuzaklar gibi balıkçılık ekipmanları da deniz kuşlarını öldürebilir. Kuşlar sepetin içine girebilir, dolanabilir ve boğulabilirler. Yetiştiricilik çiftlikleri ise nadiren deniz kuşları için büyük bir risk oluşturmaktadır (Wiedenfeld, 2012).

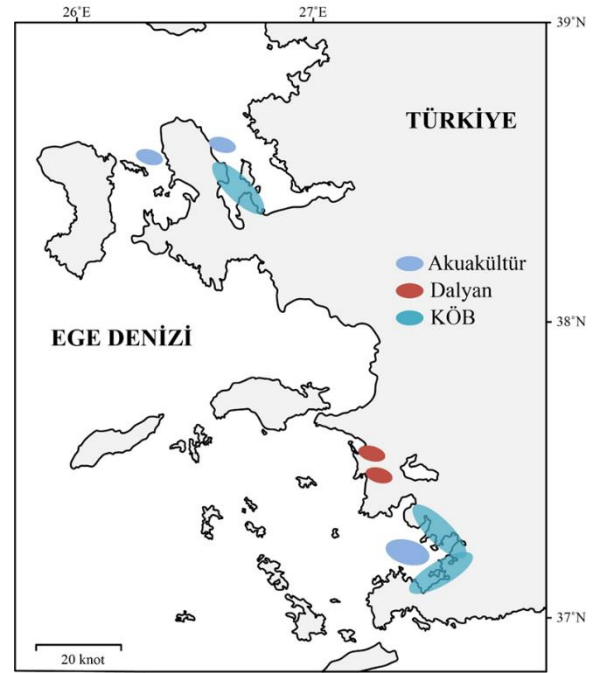
Marikültürün önemli bir unsuru olan balık çiftliklerinin bazı türleri ortamdaki uzaklaştırılmasının yanısıra bazı türler için ise kaynak olarak işlev gördüğü düşünülmektedir. Bir tür 'ekolojik tuzak' olarak görülen deniz balık çiftlikleri, vahşi hayvan popülasyonları için yeni bir ortam yaratmaktadır (Barrett vd., 2018). Bir hayvan, tercihi olarak, mevcut diğer habitatlara göre zayıf olduğu bir habitatta yaşamını sürdürmeyi tercih ettiğinde, "ekolojik tuzaka" yakalandığı söylenir (Robertson ve Hutto, 2006). Yırtıcı hayvanlar ve su ürünleri yetiştiriciliği arasındaki etkileşim ve bu etkileşimin sonuçları, kıyı ve akuakültür yönetimi için büyük önem taşımaktadır (Díaz López, 2017). Beveridge (2001), kalamar, balık, kaplumbağalar, kuşlar, memeliler gibi çok sayıda yırtıcı hayvan türünün balık çiftliklerinde bulunduğunu, ancak kuşların Akdeniz balık çiftlikleri için ana sorun olduğunu ifade etmiş, bu kuşların

balıkları öldürme veya yaralayabilmesi yanında ekipmana zarar verip balık kaçışlarına ve maddi kayıplara neden olabileceğini de belirtmiştir.

Zydelis vd. (2013) ise, Akdeniz'de uzatma ağlarından deniz kuşu yakalamasına dair çok az bilgi bulunduğunu, Ege Denizi ve Karadeniz'den ise deniz kuşu yakalanmalarıyla ilgili herhangi bir rapor bulamadıklarını ifade etmiştir. Türkiye kıyıları için de deniz kuşlarıyla balıkçılık etkileşimi üzerine hiçbir bilgiye rastlanmamaktadır. Bu ilk çalışmada, Ege Denizi'nde uygulanan çeşitli balıkçılık tiplerinin (uzatma ağları, paraketa, dalyan ve akuakültür) ikincil çekim etkileri (yani yakalanan veya av ortamında bulunan balıklara yönelme) sonucu balıkçılıkla etkileşime giren bazı kuşların türlerini ve etkileşim tipi ve sonuçlarını ortaya koymayı amaçlanmaktadır.

MATERYAL VE METOT

Bu çalışma Eylül 2016 ile Aralık 2018 tarihleri arasında İzmir, Aydın ve Muğla bölgesindeki balık çiftlikleri (akuakültür), Küçük Ölçekli Balıkçılar (KÖB) ve dalyan çalışanları ile yüz yüze görüşmelerle yapılmıştır (Şekil 1).



Şekil 1. Çalışma alanı
Figure 1. Study area

Toplamda akuakültür işletmelerinde çalışan 21 kişi, dalyanda balıkçılık yapan 18 kişi ve 21 küçük ölçekli balıkçı ile yüz yüze görüşmeler gerçekleştirilmiştir. Görüşmeler sırasında balıkçılara etkileşim içinde olabilecekleri kuş türlerinin resimleri gösterilmiş, hangileri ile etkileşim içerisinde oldukları sorulmuştur. Ayrıca, hangi kuş türleri ile hangi sezonda, günün hangi diliminde, ne yaparken etkileşime girdikleri ve kuşları zararlı bulup bulmadıkları, zararlı buluyorlarsa ne gibi önlemler aldıkları gibi bilgiler de sorulmuştur.

Elde edilen bulgular IBM SPSS Statistics Ver.20 programında X²-kare testi ile analiz edilmiştir. Bu çalışmada verilen hipotezlerin önem düzeyi $\alpha = 0,05$ olarak alınmıştır.

BULGULAR

Bu çalışmada, Ege Denizi'nde çoğunlukla beş tür deniz kuşu kıyı balıkçılığıyla doğrudan veya dolaylı olarak etkileşime girmiştir. Bunlar, karabatak (*Phalacrocorax carbo*), büyük akbalıkçıl (*Egretta alba*), gümüşü martı (*Larus michahellis*), yelkovan kuşu (*Puffinus yelkouan*) ve akpelikan (*Pelecanus onocrotalus*)'dır. Akuakültür işletmelerinde çalışanların tamamı, küçük ölçekli balıkçıların ve dalyan balıkçılarının

%72'si deniz kuşları ile etkileşimde olduklarını bildirmişlerdir. Üç balıkçılık grubu da deniz kuşları ile yoğun etkileşim halindedir ve etkileşimde bulunma açısından meslek grupları ile istatistiki bir fark bulunmamaktadır ($p>0,05$).

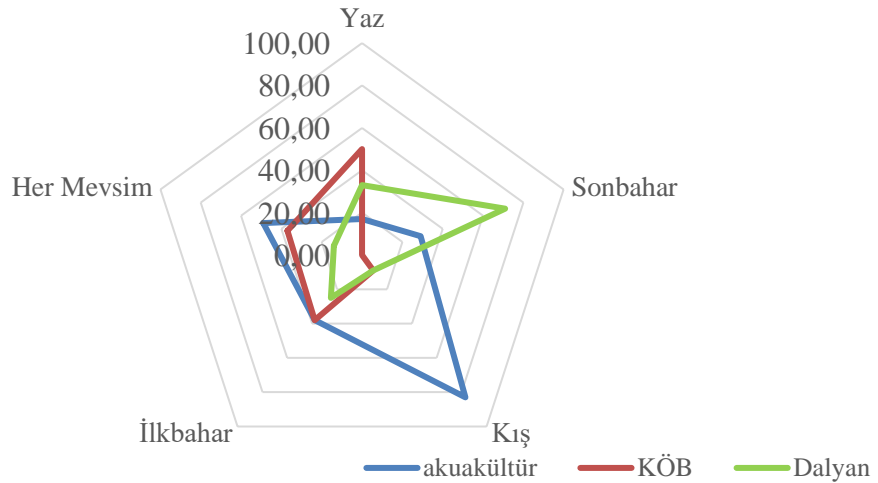
Akuakültür işletmelerindeki çalışanların tamamı karabatak ile etkileşim içerisinde olduğunu bildirmiştir; gümüşü martı ile etkileşime girme oranı ise %90,5'tir. Akuakültür büyük akbalıkçıl ile %61,9 oranında etkileşime girmekte iken, bu oran küçük ölçekli balıkçılıkta (KÖB) %19,1 seviyelerindedir (Tablo 1).

Tablo 1. Balıkçılıkla etkileşim içerisinde bulunan kuş türleri
Table 1. The bird species that interact with fishermen

	Karabatak	Akbalıkçıl	Martı	Yelkovan	Akpelikan	Diğer
Akuakültür	%100,0	%61,9	%90,5	%9,5	%9,5	%9,5
KÖB	%61,9	%19,1	%57,1	%33,3	%9,5	%0,0
Dalyan	%66,7	%22,2	%61,1	%0,0	%22,2	%16,7

Dalyan çalışanları hiç yelkovan kuşu ile etkileşime girmediklerini söylemiş; küçük ölçekli balıkçılık yapanlar bu belirtilen beş kuş türü dışında başka hiçbir tür ile etkileşimde bulunmadıklarını ifade etmişlerdir. Etkileşime girilen türlerden sadece karabatak ile çatışma grupları arasında istatistiki olarak önemli fark bulunmuştur ($p<0,05$); diğer türlerde ise istatistiki olarak önemli bir fark yoktur ($p>0,05$).

Akuakültür işletmelerinde çalışanlar kışın yaklaşık %83 oranında deniz kuşları ile etkileşime girdiklerini bildirirken, KÖB %50 ile yazın en çok etkileşime girmişlerdir. Dalyan balıkçıları etkileşime girme oranı %71,4 ile sonbahardayken aynı mevsimde bu oran KÖB için %0 olarak belirlenmiştir (Şekil 2).



Şekil 2. Mevsimlere göre balıkçı gruplarının kuşlarla etkileşime girme oranları
Figure 2. The ratio of fishermen groups, that interact with birds, according to seasons

Balıkçıların mevsimlere göre deniz kuşları ile etkileşime girme oranları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0,05$). Akuakültür işletmelerinin en çok

muzdarip olduğu karabatak kuşları, özellikle kış aylarında 1500-2000 adetlik sürüler oluşturmakta ancak akbalıkçıl 5-6 birey iken, boz yelkovan kuşları nadiren görülmektedir. Balıkçıl

kuşları genellikle yazın ve sonbaharda görülürken, yelkovan kuşları ise sadece bahar aylarında ve nadiren görülmektedir.

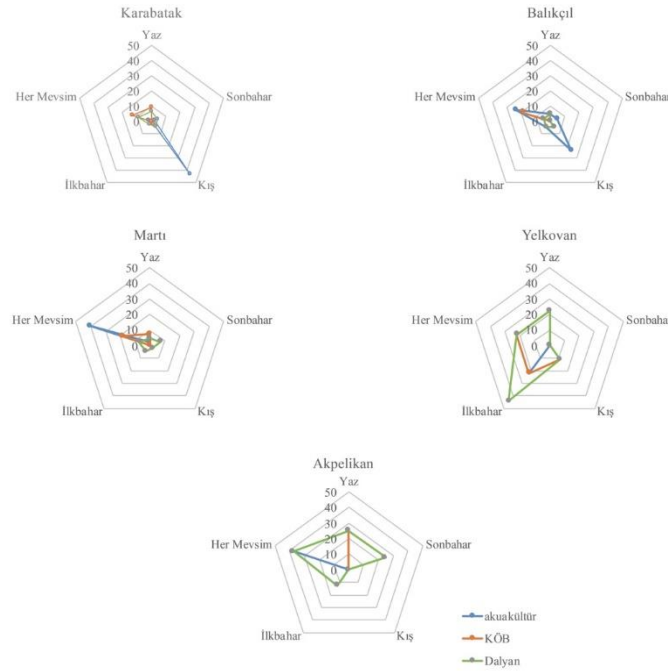
Anketlerde martıların ağ kafeslerden balık alması genellikle ölü balıkların atılması sırasında gerçekleşmiş diğer kuşların daha çok gece sakinliğinde balık alma davranışı göstermektedir. Özellikle karabatak kuşlarının kafeslerin üst örtü koruma ağları üzerine birkaç kuşun birlikte oturup bir ağırlık merkezi oluşturmak suretiyle ağları suya düşürdükten sonra gagalarıyla kafesten balık almaları ise ilginç bir ekip davranışıdır. Yine bazı karabataklar örtü ağı gagalarıyla keserek bir delik yaratmakta, sonra dalıp balık aldıktan sonra genellikle buradan çıkamadıkları için ölmektedir.

İzmir'de bir balık çiftliğinde 2016 yılında örtü ağları 3 gün açık kalınca tanesi 105 g gelen 72000 adet (7560 kg) balığın kuşlar tarafından yendiği ortaya çıkmıştır. Çiftlikler için en zararlı kuş olarak görülen bir karabatak çiftliklerde bir ağ kafese girdiği takdirde günde ortalama 200-300 adet balığı tüketebilmektedir. Bazı çiftliklerde ise karabatak girmesinin yarattığı kayıp günde 1000-2000 adede kadar çıkabilmektedir. Kafeslere giremediği takdirde ise ayda 100-200 adet balık alabilmektedirler. Bazen kafeslere sürü halinde bile girebildikleri gözlenmiştir. Ayrıca balığın boyu karabatak için fark etmemektedir; her boy balığı kapabilmektedirler. Oysa

martılar için bu balıklar oldukça büyük olduğundan kafeslerden alamamaktadırlar. Yani martıların ağ kafeslerden balık alma becerisi ancak küçük balıklar üzerinedir. Ağda yırtık varsa ya da ağ suya değişirse balıkçıların ise günde 400-500 adet balığı tüketebildikleri de ifade edilmiştir.

Karabataklar üzerine ilginç bir anekdot ise çiftlik bölgesine önce 1-2 öncü kuşun geldiği, bunlar geri dönmediği takdirde ise tüm sürünün (yüzlercesi) aynı bölgeyi işgal etmektedir. Eğer çiftlik bekçisi öncü kuşları korkutmayı başarsa diğerlerinin de önünü kesmiş olmaktadır.

KÖB tarafından karabatak %13 oranında her mevsim görünmekte iken balıkçı kuşları akuakültür çalışanları tarafından %23,8 oranında her mevsim görülmektedir (Şekil 3). Martı ise akuakültür işletmeleri tarafından %40 oranında, KÖB tarafından %20 oranında her mevsim görülmektedir. Yelkovan kuşu ise %44 oranında ilkbaharda ekseriyetle dalyan balıkçıları tarafından görülmüştür. Akpelikan ise dalyan balıkçısı ve akuakültür çalışanları tarafından %44 oranında her mevsim gözlemlenebilmektedir. Sadece karabatak kuşunun mevsimlere göre görülme oranını istatistiksel olarak farklı bulunurken ($p<0,05$); diğer türlerde istatistiksel olarak önemli bir fark tespit edilememiştir ($p>0,05$).



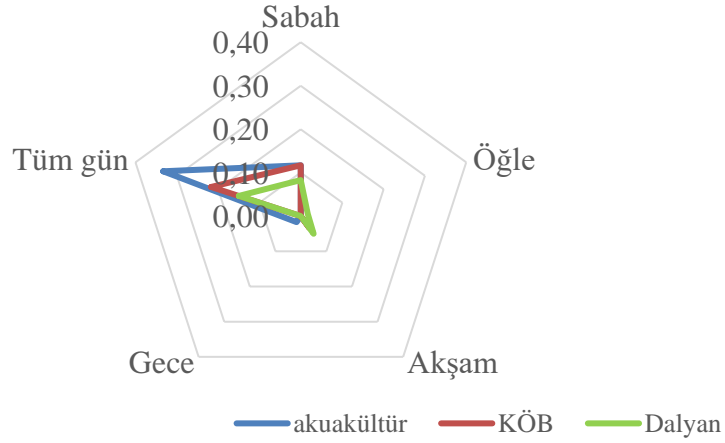
Şekil 3. Mevsimlere göre deniz kuşlarının görülme oranı
Figure 3. The rate of incidence of sea birds according to seasons

Bir dalyan olarak Bafa Gölü'nün önemli balıkçı köylerinden Serçin Köyü'nde (Söke) balıkçıların yapılan görüşmelerde en büyük etkileşimin akpelikanlarla (yörede 'saka' adı verilmektedir) olduğu ifade edilmiştir. Yıl boyu gözlenen akpelikanlar balığı uzatma ağlarının üst kısmından kolayca

alabilmektedir. Bu esnada ağlara da zarar vermektedir. Dip ağları için ise akpelikanın bir zararı söz konusu değildir. Balıkçıların ifadesine göre, 2013 yılında bölgede nadir görülen tek bir yelkovan kuşu ağa dolanmış ve balıkçı tarafından kurtarılmıştır.

Akuakültür çalışanları %33 oranında deniz kuşlarını tüm gün gördüklerini ifade etmişler; bu oran KÖB için %21,7, dalyan için ise %15'dir. Bununla birlikte sabah saatlerinde akuakültür ve KÖB tarafından %11, dalyan balıkçısı tarafından ise %8,3 oranında su kuşları ile etkileşim içine girildiği ifade edilmiştir (Şekil 4).

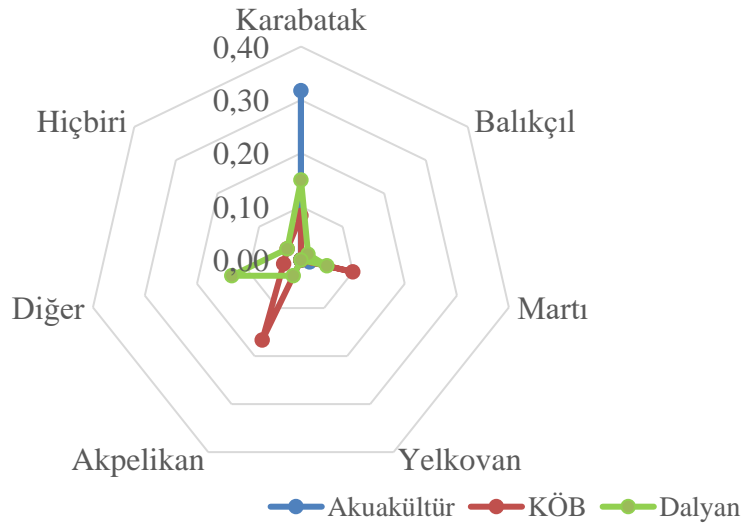
Karabataklar için %85 oranında akuakültür işletmelerinde kafeslerin üzerinin ağ ile kapatılmasını başarılı bir önlem olarak belirtmekteyken, KÖB %9,5 oranında ses ile uzaklaştırmayı, %9,5 oranında taş atarak korkutmayı tercih etmektedir. Dalyan balıkçısı ise hiçbir şekilde karabataklara karşı herhangi bir önlem almamaktadır (Şekil 6). Alınan önlemler arasında istatistiki olarak fark mevcuttur ($p<0,05$).



Şekil 4. Günlük zaman dilimine göre kuş gruplarının balıkçılıkla etkileşime girme oranları
Figure 4. The ratio of sea birds, that interact with fishermen, according to period of time of day

Karabatak kuşları akuakültür çalışanları tarafından %31,7 oranında zararlı olarak tanımlanmıştır. Martılar %10 oranında akpelikanlar ise %16,7 oranına KÖB tarafından balıkçılık faaliyetleri tarafından zararlı olarak ifade edilmiştir (Şekil 5).

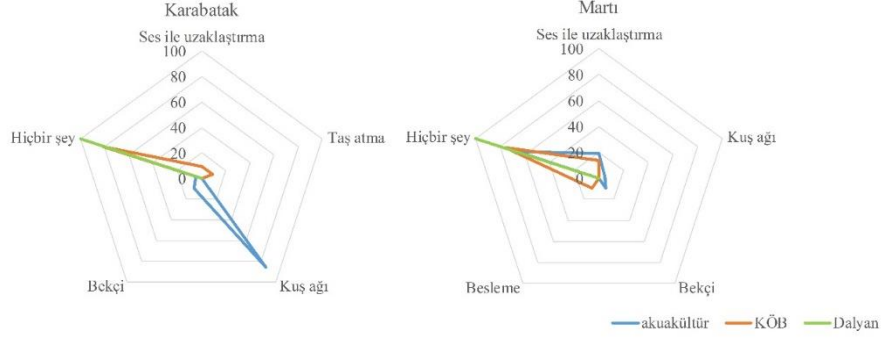
Buna karşılık akuakültür ve KÖB balıkçısının %85,7'si, dalyan balıkçısının ise %72'si kuşlar sebebi ile av araçlarının zarar görmediğini ifade etmişlerdir ($p>0,05$). Akuakültür balıkçısının tamamı ise kafeslerine giren kuşların öldüğünü ifade etmişlerdir.



Şekil 5. Balıkçı gruplarına göre kuşları zararlı bulma oranları
Figure 5. The ratio of finding harmful of sea birds according to fishermen

Martı için ses ile uzaklaştırmanın %19 oranında daha başarılı olduğu akuakültür işletmelerinde çalışanlar tarafından belirtilmiştir. Martılar bazen kuş ağlarından içeriye girebilmektedir. Ses ile uzaklaştırmada bu oran KÖB için

%14,3 olarak belirlenmiştir. Dalyan balıkçısının tamamı hiçbir önlem almadıklarını ifade ederken, KÖB %9,5 oranında martıları beraberinde getirdikleri balıkla beslediğini ifade etmiştir (Şekil 6).



Şekil 6. Karabatak ve martılara karşı alınan önlem çeşitleri
Figure 6. The variety of precaution against to the great cormorant and yellow-legged gull

Bu arada kıyıya yakın akuakültür çiftliklerinde bir karganın kafesten balık aldığı gözlenmesi ise tek vaka olması sebebiyle değerlendirmeye alınmamıştır. Güllük Körfezi'nden bildirilen olayda karga ölü balıkları toplamıştır.

Balıkçıl kuşları için sadece dalyan balıkçısı %5,5 oranında ses ile korkutmayı tercih ederken, akuakültür ile KÖB %100 oranında, dalyan balıkçısı ise %94,5 oranında hiçbir şey yapmamayı tercih etmektedir ($p>0,05$).

Balıkçıların %51,3'ü kuşları izleyerek balıkçılık yapmadığını, %48,7'si ise kuşları izleyerek balıkçılık yaptıklarını ifade etmişlerdir. KÖB'tan kuşları izleyerek balıkçılık yapanların oranı %66,7 iken, dalyan balıkçılığında bu oran %27,8'dir ($p>0,05$). Bodrum Turgutreis'li balıkçılar etrafta martı bollaşırsa su üstünde balık olduğu sonucuna vardıklarını, bu anlamda martıların kendilerine sürü bulmada katkı sağladıklarını ifade etmişlerdir. Ayrıca balıkçılar ağızdan ve sonrasında ayağından oltaya takılan martıları fark ettiklerinde martıları kurtardıklarını ifade etmişlerdir. Balıkçıların ağlarına - çok nadiren de olsa- karabatakların dolanarak öldükleri de tespit edilmiştir.

Diğer yandan Urla kıyılarında uzatma ağı kullanan bir balıkçının ağlarına Şubat 2015'te bir operasyon sırasında 12 adet karabatak, Mart 2015'te bir operasyonda sekiz adet iri karabatak ve bir adet yabani ördek takılmıştır. Aynı balıkçı bu kuşların özellikle gece avcılığında voli yöntemi kullanırken, gürültü ve ışık kullanımı sebebiyle ürküp kaçarken ağlara sıkça yakalandığından bahsetmiştir. Martıların ise mantar yaka üzerinden lüfer, lidaki, palamut gibi balıkları yediğini ancak ağlara hiç takılmadığını da sözlerine eklemiştir. Balıkçı martıların su üzerinde özellikle hamsi, sardalya için toplandığını bildiklerinden o bölgeyi voli ile çevirdiklerini; palamut ise yüzlediği zaman kuşların biriktiğini ve o bölgede sırtı avına çıktıklarını ifade etmiştir.

Bodrum Gündoğan kıyılarında paraketa balıkçılığı yapan bir balıkçı 2000 yılı başlarında başına ilk kez gelen bir olay olarak sardalya ile yemlemiş olduğu sinagrit paraketasını suya atarken 20 civarında yelkovan kuşunun paraketaya yakalanarak öldüğünü ifade etmiştir. Turgutreis'li balıkçılar paraketaya martının geldiğini ve bazen takıldığını belirtmişler; iki balıkçı ise 2002 yılında paraketalarına birer martı takıldığını ve sonra onu kurtardıklarını anlatmıştır. Paraketa balıkçıları kuşların takılmaması için önlem olarak paraketanın hızlı inmesini sağlayacak çeşitli ağırlıklar koyduklarını ifade etmişlerdir.

Fethiye'de kılıç yüzey paraketası kullanan balıkçılar, kıydan 5-10 mil açta paraketalarını kullanmaktadırlar ve bu nedenle sadece martı gördüklerini, bunların zaten paraketanın yemli iğne derinliğine (20-25 m) ulaşmadıklarını ve sadece paraketayı toplarken tekneye geldiklerinde onlara artık yemleri attıklarını ve bu nedenle takılma olayı yaşanmadığını ifade etmişlerdir. Bu balıkçılar kıyıda bazen lahos paraketası attıklarında martıların bu yemlere (kupus, sardalya, kalamar) hamle yaptığını gördüklerini sözlerine ilave etmişlerdir. Yine aynı bölgede diğer bir balıkçı, kılıç paraketasının bazen lodosla gerilerek yüzeye çıktığını, bu esnada martıların bu yemlere hamle yaptığını, ancak bütün olarak paraketaya takılan uskumru gibi balıkları taşıyamadıkları için yemi alamadıklarını ve büyük kancalara (1/0-2/0) takılmadıklarını söylemiştir. Buna mukabil, bazen yakalanan kılıç balığı yüzeye çıktığında martılar onun etinden parça kopararak delikler açtıklarını da bildirmişlerdir.

Fethiyeli kılıç paraketacıları özellikle ilkbahar aylarında "meltem kuşu" adını verdikleri yelkovan kuşlarını açık sularda gördüklerini ancak paraketaya hamle yapmadıklarını da ifade etmişlerdir.

TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışmada balık çiftlikleri ve kıyı balıkçıları ile etkileşime giren deniz kuşu türleri karabatak (*Phalacrocorax carbo*), gümüş martı (*Larus michahellis*), büyük akbalıkçıl (*Egretta alba*), yelkovan (*Puffinus yelkouan*) ve akpelikan (*Pelecanus onocrotalus*)'dır. Akuakültür işletmelerindeki su ürünleri çalışanlarının tamamı karabataklarla etkileşim içinde olduğunu söylemekteyken, gümüş martı ile etkileşime girmiş olanların oranı %90,5'tir. Büyük akbalıkçıl ile %61,9 oranında akuakültür işletmelerinde çalışanlar etkileşime girmekte iken bu oran küçük ölçekli balıkçılıkta (KÖB) %19,1 seviyelerinde kalmıştır. Karabatak kuşları akuakültür çalışanları tarafından %31,7 oranında yürütülen faaliyetler açısından zararlı olarak tanımlanmıştır. Bunun ana sebebi, deniz kuşlarının kafeslerin içine kuş koruma ağlarına rağmen beslenmek için girmesidir. Martılar %10 oranında, akpelikanlar ise %16,7 oranına KÖB tarafından balıkçılık faaliyetleri tarafından zararlı olarak addedilmiştir.

Karabatak kuşları balık çiftlikleri için diğerlerinden çok daha zararlı olarak değerlendirilmektedir. [Aguado-Giménez vd. \(2018\)](#), deniz kuşları yetiştiricilik faaliyeti ile deniz kuşları da dahil olmak üzere vahşi fauna arasındaki bu etkileşimin çoğu zaman çatışmalar içerdiğini, iktiyofag kuşların üreticilere balıkları öldürerek veya yaralayarak, ağlara zarar vererek ve kaçışlara neden olarak ciddi hasara yol açabileceğini belirtmiştir. Bu çalışmada bazı balık çiftliklerinin avcılara karşı örtü ağlarla önlem aldıklarını gözlemledik. Balık kafesleri, kuşlara karşı kafes örtü ağlarıyla kapatılmıştır. Deniz kuşlarına karşı kafes ağının örtülmesi, özellikle kış mevsiminde karabatakların ve büyük beyaz akbalıkçıların popülasyonlarını arttırdığı dönemleri kapsamaktadır.

Martılar, büyük balıkları deniz kafeslerinde tutamadıkları/taşıyamadıkları için zararsızdır. Benzer şekilde, [Aguado-Giménez vd. \(2018\)](#), deniz kuşu yoğunluğunun sonbahardan kışa arttığını, büyük karabatakların batı Akdeniz'deki sekiz çiftlik arasında en bol bulunan tür olduğunu ve ilave olarak, en soğuk mevsimlerde ve bazı çiftliklerde küçük balıkçıların sayısız olduğunu belirtmiştir. İlkbahar ve yaz aylarında ise kuş yoğunluğu belirgin şekilde azalmıştır. Öte yandan, özellikle karabataklar ve büyük akbalıkçılar, korkutmak için havaya ateş ederek ateşli silahlarla aralıklı olarak korkutulmaktadır. [Beveridge \(2001\)](#), birçok kuş ve memelinin çiftlikte kasıtlı olarak veya kazayla öldürüldüğünü gösteren kanıtlar bulunduğunu belirtmiştir. Ancak, balık çiftlikleri çalışanları tarafından kuşların öldürüldüğü hususunda herhangi bir bilgiye ulaşılmamıştır. Bununla beraber, zaman zaman örtü ağlarının üst kısmında boynu kırılarak ölmüş bazı kuşlara rastlanılmıştır. [Beveridge \(2001\)](#) balık çiftliğinde kuş predasyon çalışmalarının çoğunun Kuzey Avrupa'da yapıldığını bildirmiştir. Örneğin İskoçya'da, balık çiftliğinin %60-90'ı kuşlarla ilgili problemler yaşamakta; karabataklar (*Phalacrocorax carbo*), balıkçılar (*Ardea cinerea*) ve tepeli karabataklar (*P. aristotelis*) en büyük sorun nedeniyken, martılar (*Larus spp.*) daha az sorunlu bulunmuştur. Bu durumda, bu araştırmada hiçbir *A. cinerea* ve *P. aristotelis*

gözlemlenmemişse de kuşlarla ilgili benzer problemlerden bahsedebiliriz. Ayrıca, [Beveridge \(2001\)](#) tarafından en basit düzeyde, köpeklerin veya korkulukların ve daha karmaşık yaklaşımların varlığı gibi çeşitli caydırma ve dışlama yöntemleri arasında, yanıp sönen ışıklar veya kaydedilen tekne motorları veya yüksek patlamalar gibi sesleri kullanan korkutucu cihazların yerleştirilmesi önerilmiştir.

Bu çalışmada paraketaya takılan kimi martılardan söz edilmiştir. Paraketa balıkçılığındaki deniz kuşu ölümü kuşların beslenme ve üreme aktivitesiyle ilgili olduğundan ölüm oranlarının bölgeye ve mevsime göre değiştiği bilinmektedir ([Moreno vd., 1996](#); [Nel vd., 2002](#)). Üreme mevsimi boyunca üreme kolonileri çevresindeki avlanma alanlarının alansal ve mevsimsel kapanışları, deniz kuşu etkileşimlerinin en yoğun olduğu zamanda balıkçı teknelerinin çalışmasını engelleyebilmektedir. Bununla birlikte, üreme mevsimi boyunca Güney Atlantik'teki yiyecek arama alanlarında da yüksek yakalama oranları kaydedilmiştir ([Jiménez vd., 2009, 2010](#); [Petersen vd., 2009](#)). Buna karşın, kuş korkutma hatları (bird scaring line = BSL) paraketa avcılığında önemli işlevler görebilmektedir.

BSL düzenli aralıklarla bir beden boyunca flamaların bağlandığı yaklaşık 100 m boyunda teknenin kış üstünden çekilen hatlardır. Flamalar geminin hareketi ile dalgalanarak hem görsel hem işitsel hissettirici çıkarak kuşları ürkütmeye yarar. Falkland Adaları'ndaki BSL denemeleri sırasında kaydedilen bir ölüm vakası olmamıştır. Bölgede yapılan önceki çalışmalardan toplanılan verilere göre, hiçbir önlem almayan balıkçı teknelerinin kuş ölüm oranı 0.76/s'dir ([Sullivan vd. 2004](#)). Yine kaydedilen verilere göre toplam temas oranları BSL kullanılan teknede (1.00 temas/s); BSL kullanılan teknede (0.29 ağır temas/s); BSL kullanılmayan teknede (58.34 temas/s) ve BSL kullanılmayan teknede (17.46 ağır temas/s) olarak rapor edilmiştir ([Sullivan vd., 2004](#)). Bir BSL'nin maliyeti ise sadece 40 USD'dir. Bu nedenle kullanımı düşük maliyetlidir, çok az depolama alanı gerektirir, bakım ve onarımı, değiştirilmesi kolaydır, kullanımı basittir ve sadece suya atılacak bir şamandıra gerektirir ([Sullivan vd., 2004](#)). Bu çalışmada bazı balıkçılar paraketanın kuşlarla iletişimini önlemek için paraketaya hızlı batması için ağırlık ilave ettiklerini belirtmişlerdir. [Robertson vd. \(2003\)](#), halatlara ağırlık eklemenin batma süresini kısalttığını ve dibe yakın halatların yüzeyden gelebilecek kuş hareketlerine daha az maruz kalacağını belirtmiştir. Bu paraketaya ağırlık takma işlemi Bodrumlu balıkçılar da uygulamaktadır.

Yine paraketa için gelişmiş ülkelerde uygulanan paraketayı sualtına kaydırma olukları (setting chutes) da oldukça işlevseldir. Bu kancaların ve halatların sualtından atma-çekme işlemi sayesinde kuşların erişimi önlenmektedir. Bugüne kadar yapılan çalışmalar, deniz kuşu yakalanmasını azaltmak için sualtı ayar cihazlarının etkinliği açısından karışık sonuçlar göstermiştir. Ancak gelişme ilerledikçe, cihazların etkisi git gide güçlenmektedir ([Løkkeborg 1998](#); [Brothers vd., 1999](#); [Gilman vd., 2003](#)). Norveç'teki denemeler; su altı oluklarının kullanımının, sucul kuşların yakalanmasının önlenmesinde

etkili olduğunu göstermiştir. Standart balıkçılıktaki sucul kuşların yakalanma oranı ile su altı olukları kullanılmış bir gemide yapılan avcılıkta sucul kuşların yakalanma oranı önemli ölçüde azdır. Su altı olukları kullanılan bir teknede her 1.000 kanca için 1,75 ila 0,49 kuş oranı elde edilmiştir (Løkkeborg, 1998). Ayrıca su altından paraketa uygulamasında, Ryan ve Watkins (2002), Güney Okyanusu civarında Prens Edward Adaları kıyılarında Patagonya dişli balığı (*Dissostichus eleginoides*) balıkçılığında yapılan denemelerde albatrosların ve diğer sucul kuşların hedef dışı avlanmasının %68 oranında azaltıldığını bildirmişlerdir. Bu olukların maliyetinin 20.000 USD civarında olması, yem kaybı ve aşınma gibi nedenlerle av aracına verebileceği hasar ise dezavantajlı yanlarıdır.

Bu çalışma, Ege Denizi kıyılarında akuakültür, KÖB ve dalyan balıkçılığı ile etkileşimde olan bazı kuş türlerinin bir listesini ve olası etkileşimlerinin bazı sonuçlarını ortaya koymuştur. Ege kıyılarında deniz kuşları ile balıkçılık arasında etkileşimin boyutları henüz çok büyük boyutlarda görünmemektedir. Sadece akuakültürdeki balık kafesleri ile karabataklar arasında ciddi sayılabilecek bir etkileşim göze

çarpmaktadır. Bunun yanı sıra Türkiye'nin diğer denizlerinde ve iç sularında da benzer çalışmaların yapılması bu etkileşimin boyutlarını ve varsa yeni türleri ortaya koyabilir. Genel olarak, doğal yaşam ve antropojenik aktiviteler arasındaki ilişkiyi anlamak ve uygun koruma stratejilerini tasarlamak, çoklu yaklaşımların ve yöntemlerin paralel olarak kullanılmasını gerektirir (Le Bot vd., 2018). Bu tür çalışmaların artırılarak etkileşimlerin tüm boyutlarıyla ortaya konması sonrasında, özellikle kuş türlerinin yoğun olduğu yerlerin haritalandırılması yapılarak gelecekte artması muhtemel av baskısına karşı önlemler alınması, hatta kuşlar için özel deniz koruma alanları oluşturmaya yönelik olarak üniversite, yerel yönetimler ve ilgili bakanlıkların bir araya gelerek çalışma yapmaları sağlanmalıdır.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma Ege Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje Numarası: 16-SÜF-015. Yazarlar ayrıca görüş ve bilgilerini içtenlikle paylaşan kıyı balıkçılarına teşekkürlerini sunar.

KAYNAKÇA

- Aguado-Giménez, F., Eguía-Martínez, S., Cerezo-Valverde, J. & García-García, B. (2018). Spatio-temporal variability of ichthyophagous bird assemblage around western Mediterranean open-sea cage fish farms. *Marine Environmental Research*, 140, 126-134. DOI: [10.1016/j.marenvres.2018.06.008](https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2018.06.008)
- Barrett, L.T., Swearer, S.E. & Dempster, T. (2018). Impacts of marine and freshwater aquaculture on wildlife: a global meta-analysis. *Reviews in Aquaculture*, 1–23. DOI: [10.1111/raq.12277](https://doi.org/10.1111/raq.12277)
- Beveridge, M.C.M. (2001). Aquaculture and wildlife interactions. In: Uriarte A., Basurco B. (eds.). *Environmental impact assessment of Mediterranean aquaculture farms* (pp 57-66). Zaragoza, CHIEAM
- Brothers, N.P., Cooper, J. & Løkkeborg, S. (1999). *The Incidental Catch of Seabirds by Longline Fisheries: Worldwide Review and Technical Guidelines for Mitigation*. FAO Fisheries Circular No. 937. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- Croxall, J.P., Butchart, S.H.M., Lascelles, B., Stattersfield, A.J., Sullivan, B., Symes, A. & Taylor, P., (2012). Seabird conservation status, threats and priority actions: a global assessment. *Bird Conservation International* 22, 1–34. DOI: [10.1017/S0959270912000020](https://doi.org/10.1017/S0959270912000020)
- Croxall, J.P., Prince, J.P., Hunter, I., McInnes, S. & Copestake, P.G. (1984). The seabirds of the Antarctic Peninsula, islands of the Scotia Sea and Antarctic continent between 80°W and 20°W: their status and conservation. In: Croxall, J.P., Evans, P.G.H., Schreiber, R.W. (eds), *Status and conservation of the world's seabirds. Proceedings of the ICBP Seabird Conservation Symposium* (pp. 637-666), Cambridge, U.K.: Symposium Book.
- Díaz López, B. (2017). Temporal variability in predator presence around a fin fish farm in the Northwestern Mediterranean Sea. *Marine Ecology*, 38, e12378. DOI: [10.1111/maec.12378](https://doi.org/10.1111/maec.12378)
- Gilman, E., Boggs, C. & Brothers, N. (2003). Performance assessment of an underwater setting chute to mitigate seabird bycatch in the Hawaii pelagic longline tuna fishery. *Ocean and Coastal Management*, 46, 985–1010. DOI: [10.1016/j.ocecoaman.2003.12.001](https://doi.org/10.1016/j.ocecoaman.2003.12.001)
- Le Bot, T., Lescroël, A. & Grémillet, D. (2018). A toolkit to study seabird–fishery interactions. *ICES Journal of Marine Science*, 75, 1513–1525. DOI: [10.1093/icesjms/fsy038](https://doi.org/10.1093/icesjms/fsy038)
- Jiménez, S., Domingo, A. & Brazeiro A. (2009). Seabird bycatch in the Southwest Atlantic: interaction with the Uruguayan pelagic longline fishery. *Polar Biology*, 32, 187–196. DOI: [10.1007/s00300-008-0519-8](https://doi.org/10.1007/s00300-008-0519-8)
- Jiménez, S., Abreu, M., Pons, M., Ortiz, M. & Domingo, A., (2010). Assessing the impact of the pelagic longline fishery on albatrosses and petrels in the southwest Atlantic. *Aquatic Living Resources*, 23, 49–64. DOI: [10.1051/alr/2010002](https://doi.org/10.1051/alr/2010002)
- Løkkeborg, S. (1998). Seabird bycatch and bait loss in long-lining using different setting methods. *ICES Journal of Marine Science*, 55, 145–149. DOI: [10.1006/jmsc.1997.9997](https://doi.org/10.1006/jmsc.1997.9997)
- Morant, P.D., Brooke, R.K. & Abrams, R.W. (1983). Recoveries in Southern Africa of seabirds breeding elsewhere. *Ring and Migration*, 4, 257–268. DOI: [10.1080/03078698.1983.9673818](https://doi.org/10.1080/03078698.1983.9673818)
- Moreno, C.A., Rubilar, P.S., Marschoff, E. & Benzaquen, L. (1996). Factors affecting the incidental mortality of seabirds in the *Dissostichus eleginoides* fishery in the southwest Atlantic (Subarea 483, 1995 season). *CCAMLR Science*, 3, 79–91.
- Nel, D.E., Ryan, P.G. & Watkins, B.P. (2002) Seabird mortality in the Patagonian toothfish longline fishery around the Prince Edward Islands, 1996–2000. *Antarctic Science*, 14, 151–161. DOI: [10.1017/S0954102002000718](https://doi.org/10.1017/S0954102002000718)
- Petersen, S.L., Honig, M.B., Ryan, P.G. & Underhill, L.G. (2009). Seabird bycatch in the pelagic longline fishery off southern Africa. *African Journal of Marine Science*, 31, 191–204. DOI: [10.2989/AJMS.2009.31.2.7.879](https://doi.org/10.2989/AJMS.2009.31.2.7.879)
- Robertson, G., Moe, E., Haugen, R. & Wienecke, B. (2003) How fast do demersal longlines sink? *Fisheries Research*, 62, 385–388. DOI: [10.1016/S0165-7836\(02\)00276-X](https://doi.org/10.1016/S0165-7836(02)00276-X)
- Robertson, B.A. & Hutto, R.L. (2006) A framework for understanding ecological traps and an evaluation of existing evidence. *Ecology*, 87(5), 1075–1085. DOI: [10.1890/0012-9658\(2006\)87\[1075:AFFUET\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1890/0012-9658(2006)87[1075:AFFUET]2.0.CO;2)

- Ryan, P.G. & Watkins, B.P. (2002) Reducing incidental mortality of seabirds with an underwater setting funnel. *Biological Conservation*, 104, 127–131. DOI: [10.1016/S0006-3207\(01\)00174-4](https://doi.org/10.1016/S0006-3207(01)00174-4)
- Sullivan, B.J., Brickle, P., Reid, T.A., Bone, D.G. & Middleton, D.A.J. (2004). *Trials to test mitigate devices to reduce seabird mortality caused by warp cable strike on factory trawlers*. CCAMLR WG-FSA 04/79. Commission for the Conservation of Antarctic Marine Living Resources, Hobart, Australia. 21 p.
- Tasker, M.L., Camphuysen, C.J., Cooper, J., Garthe, S., Montevecchi, W.A. & Blaber, S.J.M. (2000). The impacts of fishing on marine birds. *ICES Journal of Marine Science*, 57: 531–547. DOI: [10.1006/jmsc.2000.0714](https://doi.org/10.1006/jmsc.2000.0714)
- Watkins, B.P. Petersen, S.L. & Ryan, P.G. (2008) Interactions between seabirds and deep-water hake trawl gear: an assessment of impacts in South African waters. *Animal Conservation*, 11, 247–254. DOI: [10.1111/j.1469-1795.2008.00192.x](https://doi.org/10.1111/j.1469-1795.2008.00192.x)
- Wiedenfeld, D.A. (2012). *Analysis of the Effects of Marine Stewardship Council Fishery Certification on the Conservation of Seabirds*. USA: American Bird Conservancy.
- Zydels, R., Small, C. & French, G. (2013). The incidental catch of seabirds in gillnet fisheries: A global review. *Biological Conservation*, 162: 76-88. DOI: [10.1016/j.biocon.2013.04.002](https://doi.org/10.1016/j.biocon.2013.04.002)

Sponge species from ports of the inner and middle parts of İzmir Bay (Aegean Sea, Eastern Mediterranean)

İzmir iç ve orta körfezi limanlarından sünger türleri (Ege Denizi, Doğu Akdeniz)

Alper Evcen^{1*} • Melih Ertan Çınar²

¹Ege University, Faculty of Fisheries, Department of Hydrobiology, 35100, Bornova, İzmir, Turkey

<https://orcid.org/0000-0003-1134-2551>

²Ege University, Faculty of Fisheries, Department of Hydrobiology, 35100, Bornova, İzmir, Turkey

<https://orcid.org/0000-0002-1802-2801>

Corresponding author: alperevcen@gmail.com

Received date: 10.10.2019

Accepted date: 06.12.2019

How to cite this paper:

Evcen, A. & Çınar, M.E. (2020). Sponge species from ports of the inner and middle parts of İzmir Bay (Aegean Sea, Eastern Mediterranean). *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 37(2), 149-155. DOI: [10.12714/egejfas.37.2.05](https://doi.org/10.12714/egejfas.37.2.05)

Abstract: Within a surveillance programme for the detection of invasive alien species, many benthic samples were randomly collected from several ports located in the inner and middle parts of İzmir Bay. A total of four sponge species (*Sycon raphanus*, *Sycon ciliatum*, *Paraleucilla magna* and *Dysidea fragilis*) were found on the artificial hard substrata. *Paraleucilla magna*, which is being newly recorded from the Aegean coast of Turkey, is an invasive alien species and very abundant almost at all ports, covering maximally 35% of surfaces sampled. The morphological and distributional features of these species are described.

Keywords: Porifera, Demospongiae, Calcarea, Invasive Alien Species, biodiversity, distribution, Aegean Sea, Mediterranean Sea

Öz: İstilacı yabancı türlerin tespiti için yapılan bu çalışmada, İzmir Körfezi'nin iç ve orta kısımlarında bulunan çeşitli limanlardan birçok benthik örnek rastgele toplanmıştır. Yapay sert substrat üzerinde toplam dört sünger türü (*Sycon raphanus*, *Sycon ciliatum*, *Paraleucilla magna* ve *Dysidea fragilis*) tespit edilmiştir. Türkiye'nin Ege kıyılarından yeni kaydedilmekte olan *Paraleucilla magna*, istilacı yabancı bir türdür, örneklenen yüzeylerin maksimum % 35'ini kaplamakta olup neredeyse tüm limanlarda bol miktarda tespit edilmiştir. Bu çalışma, bu türlerin morfolojik ve dağılım özelliklerini açıklamaktadır.

Anahtar kelimeler: Porifera, Demospongiae, Calcarea, İstilacı yabancı tür, biyoçeşitlilik, dağılım, Ege Denizi, Akdeniz

INTRODUCTION

Port environments are separated from nearby coastal systems due to the artificial structures they have and continuous shipping activities (Awad et al., 2014). Such activities make the environments more prone to invasion by alien species. It is well known that one of the main pathways for the introduction of alien species is the transport by vessels, especially in ballast waters (Carlton, 1985; Galil, 2009). However, the organism transfer by hull fouling is also widespread in the world's oceans (Bax et al., 2003). The polluted environments in ports favor the establishment of alien species of wide niche breadths. For example, on polluted hard- and soft-bottoms of Alsancak and İskenderun Harbours, which are located in the eastern Mediterranean Sea, alien species (ship-mediated species in Alsancak Harbour, lessepsian invaders in İskenderun Harbour) comprised more than 70% of total zoobenthic populations (Çınar, 2006; Çınar, et al., 2006). Many alien invertebrates and fish were reported on floating docks and other artificial surfaces in ports rather than adjacent natural substrates (Glasby and Connell, 2001; Paulay et al.,

2002; Çınar et al., 2006; Perçin, 2018). Therefore, port surveys are very important for the detection and surveillance of alien species.

The Mediterranean Sea is known to be a hot spot area for the introduction of alien species as it has more than one pathway including the Suez Canal (Çınar et al., 2011). More than 900 alien species have been recorded up to date in the Mediterranean Sea (Zenetos et al., 2012). Among alien species, a total of 603 alien species have become established in the region (Zenetos et al., 2017). The majority of alien species (almost 75%) belonging to different taxonomic groups are known from the eastern part of the Mediterranean. However, there is a lack of reliable information regarding alien sponge species in the Mediterranean (Zibrowius, 2002). According to Zenetos (2010) eight alien sponge species might be considered as Lessepsian species in the Mediterranean Sea. However, the presence of these species in the Mediterranean was regarded as questionable. It is now apparent that only *Paraleucilla magna* was considered as an

established alien species in the Mediterranean, but its origin is still unknown (Longo et al., 2007; Zammit et al., 2009; Guardiola et al., 2011). This species was also previously reported on the natural substrata in the Sea of Marmara (Topaloğlu et al., 2016).

The present study aims to determine the diversity of sponge species inhabiting ports of İzmir Bay and to present their distributional and morphological features

MATERIAL AND METHODS

The sponge specimens were collected on artificial substrata (concrete surface, buoys, submerged ropes and tyres) at 0–3 m depth at 8 ports located in the inner and middle parts of İzmir Bay between March and May 2016 (Figure 1).

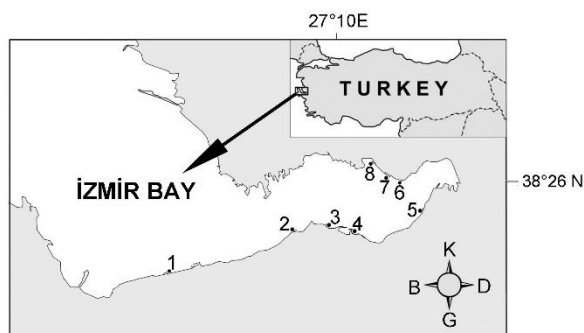


Figure 1. Locations of sampling sites: 1. Güzelbahçe Fishing Port, 2. Sahilevleri Fishing Port, 3. İnciraltı Fishing Port, 4. Levent Marina, 5. Pasaport Ferry Terminal, 6. Karşıyaka Sailing Club, 7. Karşıyaka Fishing Port, 8. Bostanlı Fishing Port

All sponges were scraped from surfaces and fixed in 4% formaldehyde. To estimate the percent coverage of *Paraleucilla magna* at ports, three-replicated quadrates (25 × 25 cm) were put randomly on surfaces sampled. In the laboratory, all sponge specimens were washed under tap water and then transferred to vials including 70% ethanol.

For the examination of skeletal structures, skeleton preparations were made by hand dissection under a stereomicroscope. Spicule slides were prepared according to the method proposed by Klautau and Valentine (2003). A minimum of 25 spicules of each type were measured with an ocular micrometer. Some specimens were dehydrated in ethanol and embedded in paraffin wax and sectioned with a microtome at various thicknesses in order to analyse the shape and size of the choanocyte chambers. The specimens identified are deposited at the Museum of the Faculty of Fisheries, Ege University (ESFM).

RESULTS

Examination of sponge specimens collected from the ports of İzmir Bay yielded a total of 4 sponge species (*Sycon raphanus*, *S. ciliatum*, *Paraleucilla magna* and *Dysidea fragilis*) belonging to 3 families (Sycettidae, Amphoriscidae and

Dysideidae) and 2 classes (Calcarea and Demospongiae). The invasive alien species *P. magna*, which is being recorded for the first time from the Aegean coast of Turkey, was found in all ports with high percent coverages.

Class: CALCAREA Bowerbank, 1864
Family: Sycettidae Dendy, 1893
***Sycon ciliatum* (Fabricius, 1780) (Figure 2)**

Sycon ciliatum Fabricius, 1780: 448.
Sycandra ciliata; Haeckel, 1870: 296, pls. 151, 58, 51.
Sycon ciliatum; Borojevic, et al., 1968: 33.

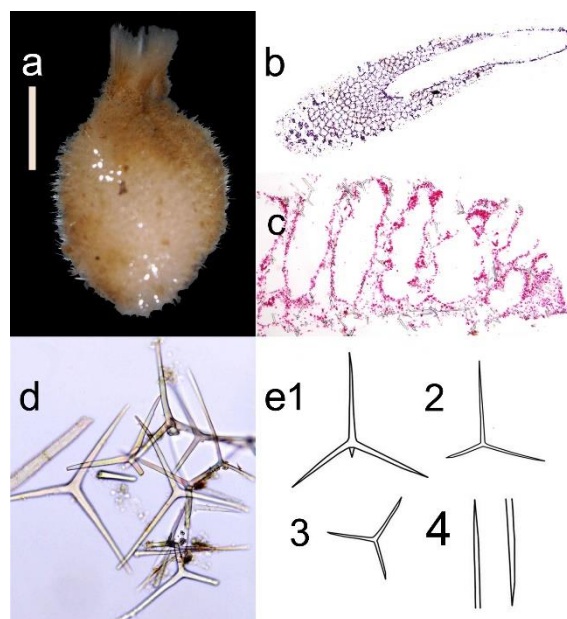


Figure 2. *Sycon ciliatum*. a. General view (scale: 3 mm) b. longitudinal median section of an entire specimen (scale: 3 mm), c. Choanocyte chambers (scale: 100 µm), d. Overview of spicules (scale: 50 µm) e1. Subregular tetractine (scale: 40 µm), e2. Large subatrial triactine (scale: 100 µm), e3. Small tubar triactine (scale: 120 µm), e4. Diactine (scale: 100µm).

Material examined: ESFM–POR/2016–1, station 1, May 2016, 0.5 m, on tyre, 8 specimens; ESFM–POR/2016–2, station 2, May 2016, 1 m, on tyre, 6 specimens; ESFM–POR/2016–3, station 3, May 2016, 0.5 m, on tyre, 18 specimens.

Description: Living members of this species have a soft consistency. The body is vase-shaped. Specimens high 2.5 cm diameter up to 0.8 cm wide. The terminal large osculum is surrounded by a fringe of long stiff diactines (Figure 2a). The surface is hairy. In addition, spicules are visible on the surface of body. Specimens have a short stalk. Specimens are usually solitary or occur in small groups. Colour is grey, white and occasionally brown in life and in ethanol. The aquiferous system is syconoid (Figure 2b). The choanocyte chambers are

partially cylindrical (100–220 μm), entirely free from each other (Figure 2c). The skeleton consists of triactines, tetractines and diactines (Figure 2d). The atrial skeleton is composed of sagittal triactines and tetractines. Subregular tetractines (basal actines: 40–80 X 8–10 μm , apical actines: 50–110 X 9–12 μm) are regularly overlapping in the atrial skeleton. Actines are slightly conical and sharp (Figure 2, e1). Subatrial skeleton consists of brushes of larger triactines. Actines are slightly conical and sharp. The paired actines are straight or slightly curved. The unpaired actine is frequently longer than the paired ones (paired actines: 100–220 X 5–12 μm , unpaired actines: 90–260 μm X 8–16 μm) (Figure 2, e2). The tubar skeleton consists of small triactines with long and thin diactines. Triactines is subregular to sagittal (paired actines: 80–120 x 4–8 μm unpaired actines: 90–140 x 5–10 μm). Diactines are sharp and slightly curved (900–2800 x 6–20 μm) (Figure 2, e3–e4).

Habitat and Distribution: It is a common species in the shallow sublittoral zone, rarely in depths of more than 150 m, in the Mediterranean, the Atlantic and the Arctic (Longo and Pronzato, 2011; Van Soest et al., 2017b; Rapp, 2013). Along the coasts of Turkey, this species was previously reported from the Sea of Marmara by Ostroumoff (1894; 1896) and Topaloğlu et al., (2016).

Sycon raphanus Schmidt, 1862 (Figure 3)

Sycon raphanus Schmidt, 1862: 14–15, pl. i, Figure 2; Burton, 1956: 115; Tsumamal, 1975: 146, Figure 4.

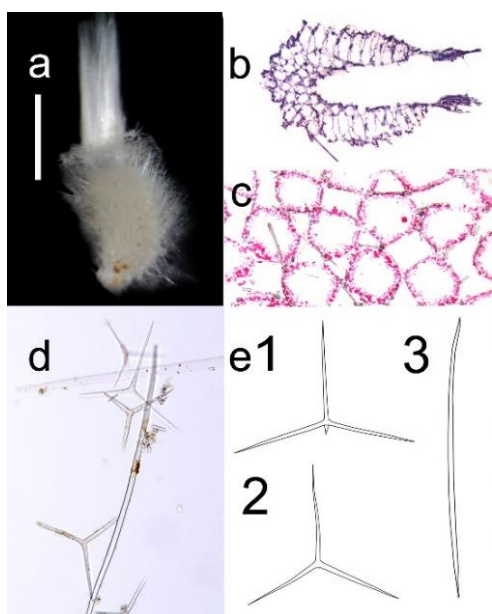


Figure 3. *Sycon raphanus*. a. General view (scale: 2 mm), b. longitudinal median section of an entire specimen (scale 2.5 mm), c. Choanocyte chambers (scale: 100 μm) d. Overview of spicules (200 μm), e1. Atrial tetractines (scale: 60 μm), e2. Tubar triactines (scale: 100 μm), e3. Diactine (scale: 300 μm)

Material examined: ESFM–POR/2016–4, station 1, May 2016, 1 m, on tyre, 8 specimens; ESFM–POR/2016–5, station 2, May 2016, 0–1 m, on tyre, 6 specimens.

Description: Alive specimens of this species have a fragile tissue. Color is white in life and in ethanol. Specimens have globular or tube in shaping up to 0.9 cm high and 0.5 cm wide with short stalk. Numerous diactines on the surface make it very hispid (Figure 3a). Specimens are usually solitary or occur in small groups. The aquiferous system is syconoid and the atrium is central (Figure 3b). The choanocyte chambers (range from 60–150 μm) are almost fused in the distal cone (Figure 3c). The skeleton consists of triactines, tetractines and diactines (Figure 3d). Tubar skeleton and distal cones are composed of triactines with slightly curved paired actines (paired actines 90–180 X 10–12 μm and unpaired actines 150–250 X 10–12 μm) and diactines. The atrial skeleton is composed of subregular to regular (rarely sagittal) tetractines and triactines. Tetractines of the atrial skeleton are similar to triactines. (apical actines 55–90 x 6–10 μm , basal actines 100–210 x 8–12 μm) (Figure 3, e1, e2). Diactines are slightly curved (900–2800 x 20–25 μm) (Figure 3e, 3).

Habitat and Distribution: This species is very common in the shallow water benthic habitats of the Mediterranean Sea and the eastern Atlantic coasts. It occasionally occurs in depths down to 300 m depth (Longo and Pronzato, 2011; Van Soest et al., 2017b). It was previously reported from the coasts of Turkey, except for the Black Sea coast (Topaloğlu and Evcen 2014).

Family: Amphoriscidae Dendy, 1893

Paraleucilla magna Klautau, Monteiro & Borojevic, 2004 (Figure 4,5)

Paraleucilla magna Klautau et al., 2004: 1–8, Figure 2 (a-c); Longo et al., 2007: 1749–1755, Figure 2-5; Topaloğlu et al., 2016: 54, Figure 3.

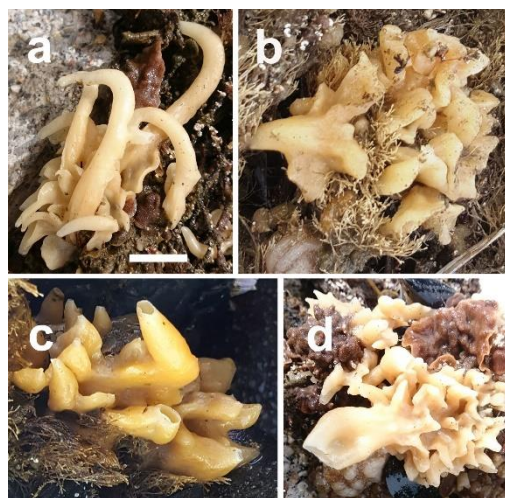


Figure 4. Different morphologies of *Paraleucilla magna* in Izmir Bay. Scale bar: a= 2 cm, b= 2.5 cm, c= 4 cm, d= 4 cm

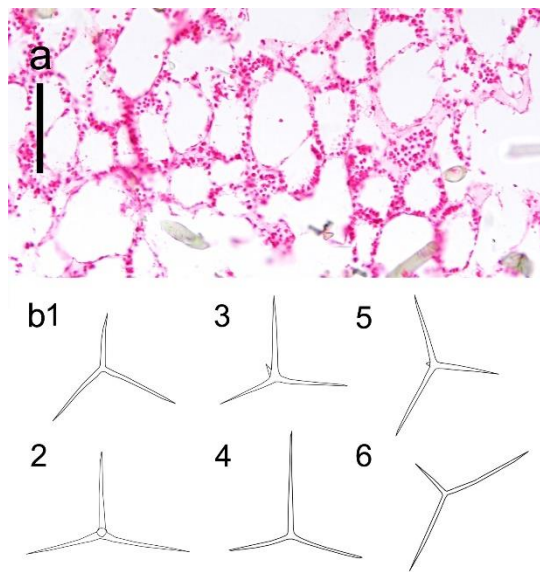


Figure 5. Cross section through the choanocyte chamber of *P. magna* (scale: 120 μ m), b. Spicules, b1. Cortical triactine (scale 300 μ m), b2, 3. Cortical tetractine (scale: 320 μ m), b4. Subatrial triactine (scale: 200 μ m), b5. Subatrial tetractine (scale: 300 μ m), b6. Atrial triactine (scale: 150 μ m).

Material examined: ESFM-POR/2016-6, station 1, March 2016, 0.3 m, on tyres, 4 specimens; ESFM-POR/2016-7, station 2, March 2016, 0.3–1 m, on tyres and concrete walls (particularly on *Mytilus galloprovincialis* Lamarck, 1819), 13 specimens; ESFM-POR/2016-8, station 3, March 2016, 0.5 m, on used tyre and buoys, 3 specimens; ESFM-POR/2016-9, station 4, March 2016, 0.3 m, on tyres, buoys and walls, 15 specimens; ESFM-POR/2016-10, station 5, March 2016, 1–3 m, on rope, 2 specimens; ESFM-POR/2016-11, station 6, April 2016, 1 m, on rope and tyres, 3 specimens; ESFM-POR/2016-12, station 7, April 2016, 0.5 m, on tyre, 2 specimens; ESFM-POR/2016-012, station 8, April 2016, 0.3 m on tyres and buoys, 3 specimens.

Additional material examined: ESFM-POR/2004-02, identified as Porifera (sp.), Izmir Bay, June 2004, 1 specimen.

Description: It is massive, thickly encrusting body. Consistency of living specimens is a friable and very fragile. Color is cream or light brown in life and white in ethanol. The specimens show different morphological features, but they are usually massive or tubular structure reaching a height of 10–15 cm (Figure 4). The oscules are terminal on erect tubes, 10–15 mm in diameter. The surface is smooth.

The aquiferous system is leuconoid and the atrium is large. Choanocyte chambers are spherical and sub-spherical, ranging from 60 to 110 μ m (Figure 5a). Skeleton is inarticulate, consisting of triactines and tetractines. Cortical triactines can be equiangular, but usually sagittal with paired and unpaired actines (cortical triactines paired actines 180–560 μ m and unpaired ones 190–580 μ m, thickness of the actine at its base 10–40 μ m (Figure 5, b1). Cortical tetractines are equiangular; their apical actin is longer than basal actines (length of the

apical actine 300–810 μ m (mean 265 μ m) and basal ones 180–600 μ m, thickness of the actine at its base 16–45 μ m (Figure 5, b2, b3). Subatrial skeleton contains different kind of triactines and tetractines. Subatrial triactines usually have unpaired actines, which are longer than other actines (length of the paired ones 200–600 μ m [mean 270.2 μ m] and unpaired one 280–690 μ m, thickness of the actine at its base 15–50 μ m (Figure 5, b4). Subatrial tetractines have apical actines shorter than others (length of the paired actines 170–600 and unpaired actine 200–610 μ m, thickness of the actine at its base 15–50 μ m (Figure 5, b5). Atrial triactines are sagittal and their unpaired actines are shorter than paired ones (length of the paired actines 180–470 μ m and unpaired ones 30–180 μ m, thickness of the actine at its base 5–20 μ m).

Habitat and Distribution: This species was found at all stations in the study area. Its highest coverage (35%) was encountered at station 2, while the lowest coverage (5-10%) at stations 4, 5 and 8.

The invasive alien sponge *Paraleucilla magna* may become very abundant in eutrophic environments and shows seasonality (Longo et al., 2007). This species was originally described from the Atlantic coast of Brazil based on the specimens collected in 2001 (Klautau et al., 2004). This species was later reported from different parts of the Mediterranean Sea with its first collection dating in the area dated back to 2001 (Longo et al., 2007). This species was especially abundant on mussel farms (on rows) and artificial substrata in Mar Piccolo and Mar Grande, Taranto (North-west Ionian Sea) (Longo et al., 2007).

In addition, it abundantly occurred on other coasts of Italy (Ionian Sea, Tyrrhenian Sea and Adriatic Sea) and on the coast of Malta (Zammit et al., 2009). It was reported to have been introduced to the region by shipping (Longo et al., 2007). It was suggested that mussel farming activities were the main reason for its regional introduction (secondary introduction) within the Mediterranean Sea (Longo et al., 2007). *Paraleucilla magna* was also observed from the different regions in the Mediterranean Sea: Spain (Frotscher et al., 2008; Guardiola et al., 2011), Adriatic Sea Ploče harbor (Cvitković et al., 2013), Brač Island in Croatia (Klautau et al., 2016), Gulf of Olbia in Italy (Baldaconi and Trainito, 2013), Portugal, Madeira and Acores (Guardiola et al., 2016), Tivat in Montenegro (Mačić et al., 2016) and Gulf of Thessaloniki (Greece), in 2014 in a mussel farm (Gerovasileiou et al., 2017) northern Cyprus, marinas of Crete and Rhodes Island (Ulman et al., 2017) and later from Marina Cap Monastir in Tunisia (Sghaier, et al., 2019).

This species was first identified as Porifera (sp. 1) along the coasts of Turkey, based on the material collected on a mussel bed (*M. galloprovincialis*) in June 2004 in the inner part of Izmir Bay (İnciraltı) (Çınar et al., 2008). It was later reported from natural substrata (rocks) at 10 m depth from the coast of Büyükada (Sea of Marmara) (Topaloğlu et al., 2016).

Class: DEMOSPONGIAE Sollas, 1885
Family: Dysideidae Gray, 1867
***Dysidea fragilis* (Montagu, 1814) (Figure 6)**

Spongia fragilis Montagu, 1814: 114

Dysidea fragilis Manconi et al., 2013: 20, 21, Figure 9(a-c).

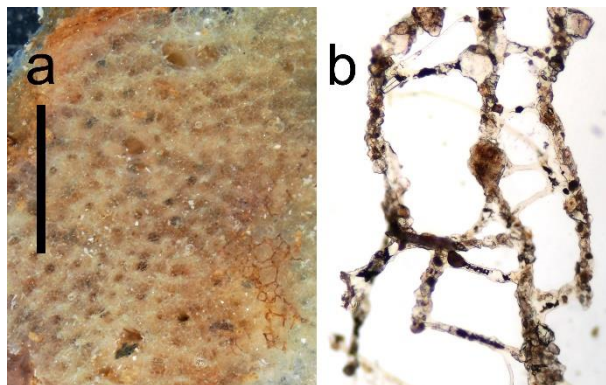


Figure 6. *Dysidea fragilis*. a General view of the specimen (scale: 0.4 cm) with conules; b. The reticulate skeletal network with scanty spongin and irregular meshes of primary and secondary fibers (scale: 200 µm).

Material examined: ESFM-POR/2016-14, station 1, March 2016, 0.3 m, on *M. galloprovincialis*, 1 specimen.

Description: Colour is grey to light brown in life and white in ethanol. Surface is smooth and conulose (Figure 6a). Oscules are scattered on the surface, which is up to 2–3 mm in length. Its consistency is fragile and soft. Inhalant apertures are 70–110 µm in diameter. Skeleton is reticulate and

extremely fragile due to scanty spongin. Primary and secondary fibers are not distinguishable from each other (50–200 µm) (Figure 6b). Spongin fibres are reticulated sometimes covered by sand grains.

Habitat and Distribution: This species is very common in the benthic habitat and Atlanto-Mediterranean taxon (Van Soest et al., 2017a). It was originally described from the British coast and was reported in various regions and biotopes of the Mediterranean Sea between 1 and 200 m depth (Manconi et al., 2013). It was also reported from the coasts of Turkey, except for the Black Sea (Topaloğlu and Evcen, 2014).

DISCUSSION

Among the species found in the present study, *Sycon ciliatum* is very similar to *S. raphanus* in terms of its external shape: both species are ovoid and hispid with apical oscula ornate by a specular fringe. In addition, the morphology of spicules in *S. raphanus* is very close to that in *S. ciliatum*. This high morphological affinity between these species has caused confusion over the years. *Sycon raphanus*, which was originally described from the Adriatic Sea by Schmidt (1862), is characterized by having a stalk and a bulb shaped body, which are the main characters that distinguish it from the closely similar species. Afterwards, Haeckel (1872) disapproved the presence of *S. ciliatum* in the Mediterranean. According to him, all specimens identified as *S. ciliatum* in the region in fact belonged to *S. raphanus* (Klautau et al., 2016). However, Longo and Pronzato (2011) postulated that the external morphology is not a good taxonomic character to separate these two species. At the present time, histological preparation is required to distinguish these species.

Table 1. Comparative data for the dimensions of spicules (means in µm) of the *Paraleucilla magna* specimens from different parts of the world

Studies	Cortical triactine (Length x wide) (mean)		Cortical tetractines (Length x wide) (mean)		Subatrial triactines (Length x wide) (mean)		Subatrial tetractines (Length x wide)		Atrial triactines (Length x wide)	
	Paired	Unpaired	Basal Ones	Apical Ones	Paired	Unpaired	Paired	Unpaired	Paired	Unpaired
Klautau et al. (2004) (holotype)	292.8 x 24.0 (n=30)	289.6 x 24.0 (n=30)	434.4 x 34.4 (n=30)	468.8 x 31.2 (n=30)	266.4 x 24.0 (n=25)	358.4 x 25.6 (n=25)	394.4 x 33.6 (n=30)	338.4 x 31.2 (n=30)	371.2 x 22.4 (n=30)	164.0x 21.6 (n=30)
Longo et al. (2007)	374.9 x 27.9 (n=25)	427.9 x 27.9 (n=25)	388.9 x 36.6 (n=25)	572.1 x 36.6 (n=25)	399.6 x 35.9 (n=25)	584.1 x 35.9 (n=25)	344.4 x 30.6 (n=25)	383.6 x 30.6 (n=25)	236.5 x 7.4 (n=25)	64.2 x 7.4 (n=25)
Zammit et al. (2009)	202.8 x 22.8 (n=25)	178.2 x 22.8 (n=25)	257.4 x 33.6 (n=25)	342.6 x 33.6 (n=25)	240 x 28.2 (n=25)	299.8 x 28.2 (n=25)	286.2 x 32.4 (n=25)	286.2 x 32.4 (n=25)	195.6 x 19.8 (n=25)	91.8 x 19.8 (n=25)
This study	224.0 x 25.0 (n=25)	240.0 x 25.0 (n=25)	265.4 x 34.0 (n=25)	350.8 x 32.8 (n=25)	270.2 x 30.0 (n=25)	320.4 x 30.2 (n=25)	310.0 x 31.2 (n=25)	302.0 x 31.2 (n=25)	200.8 x 18.0 (n=25)	120.4 x 18.0 (n=25)

According to Van Soest et al. (2017b), the important difference between these species is the degree of fusion of the

choanocyte chambers (radial tubes). In *S. raphanus*, they are almost entirely fused just up to the distal cone, while in *S.*

ciliatum, they are entirely free from each other (Van Soest et al., 2017b). Longo and Pronzato (2011) indicated that *S. raphanus* occasionally has a short stalk, but all of our specimens have short stalks. In addition, *S. ancora Klautau et al.* (2016), which was originally described from the Adriatic Sea, resembles closely to *S. raphanus* and *S. ciliatum*, but differs from them in the shapes of the atrial triactines and the presence of anchor-like tetractines at the base (Klautau et al., 2016).

The spicule lengths of *Paraleucilla magna* show a similar dimension in different places (Table 1). However, the spicule lengths of our specimens are closely related to those given by Zammit et al. (2009) from the coasts of Malta. As this species exhibits a fast growing and spread potential, monitoring studies

should be implemented to assess its impacts on the hard benthic communities prevailing inside and outside of ports in the Mediterranean Sea.

ACKNOWLEDGMENT

The authors thank Ass. Prof. Alper Doğan and Dr. Ertan Dağlı, Ms. Deniz Erdoğan-Dereli and Ms. Neslihan Türkçü, for help in collecting benthic material, and Dr. Esra Akat and Biologist İdil Yelki Öz for helping histological examination.

We also thank to Dr. Van Soest (Netherlands) and Dr. Fernanda Azevedo for their great help in providing the references and useful comments. This work is financially supported by Ege University BAP Project (Number: 16/SUF/003).

REFERENCES

- Awad, A., Haag, F., Anil, A.C. & Abdulla, A. (2014). Guidance on Port Biological Baseline Surveys. *GloBallast Monograph Series*, 22, 1-48.
- Baldacconi, R. & Trainito E.. 2013. Spugne del Mediterraneo (Mediterranean Sponges). In: IL CASTELLO (Editor), Comaredo., 128 pp.
- Bax, N., Williamson, A., Aguero, M., Gonzalez, E. & Geeves, W. (2003). Marine invasive alien species: a threat to global biodiversity. *Marine Policy*, 27, 313-323. DOI: [10.1016/S0308-597X\(03\)00041-1](https://doi.org/10.1016/S0308-597X(03)00041-1)
- Borojevic, R., Cabioch, L. & Lévi, C. (1968). Inventaire de la faune marine de Roscoff. *Spongiaires. Cahiers de Biologie Marine*, 9, 1-44.
- Bowerbank, J.S. (1864). A Monograph of the British Spongiadae. Volume 1. (Ray Society: London): i-xx, 1-290, pls I-XXXVII. Burton, M. (1936) The fishery grounds near Alexandria. IX. Sponges. *Notes and Memoirs, Fisheries Research Directorate, Cairo* 17, 1-28. DOI: [10.5962/bhl.title.56119](https://doi.org/10.5962/bhl.title.56119)
- Burton, M. (1956). The sponges of West Africa. *Atlantide Report (Scientific Results of the Danish Expedition to the Coasts of Tropical West Africa, 1945-1946, Copenhagen)*, 4, 111-147.
- Burton, M. (1963). Revision of the classification of the calcareous sponges. *British Museum (Natural History)* (pp.693). London
- Carlton, J.T. (1985). Transoceanic and interoceanic dispersal of coastal marine organisms: the biology of ballast water. *Oceanography and Marine Biology*, 23, 313-371.
- Carter, H.J. (1886). Descriptions of Sponges from the Neighbourhood of Port Phillip Heads. South Australia, continued. *Journal of Natural History*, 18, 126-149. DOI: [10.1080/00222938609459946](https://doi.org/10.1080/00222938609459946)
- Cvitković, I., M. Despalatović, I. Grubelić, V. Nikolić, B. Pleše & A. Žuljević. (2013). Occurrence of *Paraleucilla magna* (Porifera: Calcarea) in the eastern Adriatic Sea. *Acta adriatica*, 54(1), 93-99.
- Çınar, M.E. (2006). Serpulid species (Polychaeta: Serpulidae) from the Levantine coast of Turkey (eastern Mediterranean), with special emphasis on alien species. *Aquatic Invasions*, 1, 223-240. DOI: [10.3391/ai.2006.1.4.6](https://doi.org/10.3391/ai.2006.1.4.6)
- Çınar, M.E., Bilecenoglu, M., Öztürk, B. & Can, A. (2006). New records of alien species on the Levantine coast of Turkey. *Aquatic Invasions*, 1, 84-90. DOI: [10.3391/ai.2006.1.2.6](https://doi.org/10.3391/ai.2006.1.2.6)
- Çınar, M.E., Katağan, T., Koçak, F., Öztürk, B., Ergen, Z., Kocatas, A., Önen, M., Kırkim, F., Bakır, K., Kurt, G., Dağlı, E., Açıık, Ş., Doğan, A. & Özcan, T. (2008). Faunal assemblages of the mussel *Mytilus galloprovincialis* in and around Alsancak Harbour (Izmir Bay, eastern Mediterranean) with special emphasis on alien species. *Journal of Marine Systems*, 71, 1-17. DOI: [10.1016/j.jmarsys.2007.05.004](https://doi.org/10.1016/j.jmarsys.2007.05.004)
- Çınar, M.E., Bilecenoglu, M., Öztürk, B., Katağan, T., Yokeş, M.B., Aysel, V., Dağlı, E., Açıık, S., Özcan, T. & Erdoğan, H. (2011). An updated review of alien species on the coasts of Turkey. *Mediterranean Marine Science*, 12, 257-315. DOI: [10.12681/mms.34](https://doi.org/10.12681/mms.34)
- Dendy, A. (1893). Synopsis of the Australian Calcarea Heterocoela; with a proposed Classification of the Group and Descriptions of some New Genera and Species. *Proceedings of the Royal Society of Victoria (New Series)*, 5, 69-116.
- Dendy, A. (1895). Catalogue of Non-Calcareous Sponges collected by J. Bracebridge Wilson, Esq., M.A., in the neighbourhood of Port Phillip Heads. Part I. *Proceedings of the Royal Society of Victoria (New Series)*, 7, 232-260.
- Dendy, A. (1922). No. I.—Report on the Sigmatotetraxonida collected by H.M.S. "Sealark" in the Indian Ocean, *Transactions of the Linnean Society of London*. 2nd Series. Zoology, Volume 18, Issue 1, April 1922, Pages 1-164. DOI: [10.1111/j.1096-3642.1922.tb00547.x](https://doi.org/10.1111/j.1096-3642.1922.tb00547.x)
- Fabricius, O. (1780). Fauna Groenlandica: systematice sistens animalia Groenlandiae occidentalis hactenus indagata, quod nomen specificum. *Hafniae et Lipsiae: Copenhagen*, (XVI, pp 452), Denmark.
- Frotscher, P.J. & M.J. Uriz. (2008). Reproduction and life cycle of the calcarean sponge *Paraleucilla magna* in the Mediterranean Sea. In: *XV Simposio Ibérico de Estudios de Bentos Marino, Blanes, Book of Abstracts*.
- Galil, B.S. (2009). Taking stock: inventory of alien species in the Mediterranean Sea. *Biological Invasions*, 11, 359-372. DOI: [10.1007/s10530-008-9253-y](https://doi.org/10.1007/s10530-008-9253-y)
- Gerovasileiou, V., Akel, E., Akyol, O., Alongi, G., Azevedo, F., Babali, N., Bakiu, R., Bariche, M., Bennoui, A., Castriota, L., Chintiroglou, C., Crocetta, F., Deidun, A., Galinou-Mitsoudi, S., Giovos, I., Gökoğlu, M., Golemaj, A., Hadjoannou, L., Hartingerova, J., Insacco, G., Katsanevakis, S., Kleitou, P., Korun, J., Lipej, L., Michailidis, N., Mouzai Tifoura, A., Ovalis, P., Petović, S., Piraino, S., Rizkalla, S., Rousou, M., Savva, I., Şen, H., Spinelli, A., Vougioukalou, K., Xharahi, E., Zava, B., & Zenetos, A. (2017). New Mediterranean Biodiversity Records (July 2017). *Mediterranean Marine Science*, 18(2), 355-384. DOI: [10.12681/mms.13771](https://doi.org/10.12681/mms.13771)
- Glasby, T.M. & Connell, S.D. (2001). Orientation and position of substrata have large effects on epibiotic assemblages. *Marine Ecology Progress Series*, 214, 127-135. DOI: [10.3354/meps214127](https://doi.org/10.3354/meps214127)
- Gray, J.E. (1867). Notes on the Arrangement of Sponges, with the Descriptions of some New Genera. *Proceedings of the Zoological Society of London*, 2, 492-558
- Guardiola, M., Frotscher, J. & Uriz, M.J. (2011). Genetic structure and differentiation at a short-time scale of the introduced calcarean sponge *Paraleucilla magna* to the western Mediterranean. *Hydrobiologia* 687: 71-84. DOI: [10.1007/s10750-011-0948-1](https://doi.org/10.1007/s10750-011-0948-1)
- Guardiola, M., Frotscher, J., & Uriz, M. J. (2016). High genetic diversity, phenotypic plasticity, and invasive potential of a recently introduced calcareous sponge, fast spreading across the Atlanto-Mediterranean basin. *Marine biology*, 163(5), 123. DOI: [10.1007/s00227-016-2862-6](https://doi.org/10.1007/s00227-016-2862-6)

- Haeckel, E. (1870). Prodomus eines Systems der Kalkschwämme. Jenaische Zeitschrift für Medicin und Naturwissenschaft 5, 236–254 (also appeared in English as: Haeckel, E. 1870. Prodomus of a system of the Calcareous sponges. *Annals and Magazine of Natural History*, 5:176-191. DOI: [10.1080/00222937008696137](https://doi.org/10.1080/00222937008696137))
- Haeckel, E. (1872). Die Kalkschwämme: eine Monographie: in zwei Bänden. Text und einem Atlas mit 60 Tafeln Abbildungen. *Biologie der Kalkschwämme Reimer*, (1-2. 1, 484 pp, 2, pp. 418). Berlin.
- Keller, C. (1889). Die Spongienfauna des rothen Meeres (I. Hälfte). *Z wiss Zool* 48, 311-405.
- Klautau, M. & Valentine, C. (2003). Revision of the genus *Clathrina* (Porifera, Calcarea). *Zeitschrift für Wissenschaftliche Zoologie*, 139(1), 1-62. DOI: [10.1046/j.0024-4082.2003.00063.x](https://doi.org/10.1046/j.0024-4082.2003.00063.x)
- Klautau, M., Monteiro, L. & Borojevic, R. (2004). First occurrence of the genus *Paraleucilla* (Calcarea, Porifera) in the Atlantic Ocean: *P. magna* sp. nov., *Zootaxa*, 710, 1-8. DOI: [10.5281/zenodo.158320](https://doi.org/10.5281/zenodo.158320)
- Klautau, M., Imešek, M., Azevedo, F., Pleše, B., Nikolić, V. & Četković, H. (2016). Adriatic calcarean sponges (Porifera, Calcarea), with the description of six new species and a richness analysis. *European Journal of Taxonomy*, 178, 1-52. DOI: [10.5852/ejt.2016.178](https://doi.org/10.5852/ejt.2016.178)
- Lamarck, J.B.M. (1815). Suite des polypiers empâtés. *Mémoires du Musée royal d'histoire naturelle*, 1, 69-80, 162-168, 331-340.
- Lamarck J.B.M. (1819). Histoire naturelle des animaux sans vertèbres. *Tome sixième*, 1re partie. (vi, pp. 343). Available from: <http://www.biodiversitylibrary.org/item/47441>
- Longo, C. & Pronzato, R. (2011). Class Calcarea. In: *Pansini M., Manconi R. & Pronzato R. (Eds) Fauna d'Italia - Porifera I - Calcarea, Demospongiae (partim) Hexactinellida, Homoscleromorpha*. (pp. 117-244). Bologna, Calderini.
- Longo, C., Mastrototaro, F. & Corriero, G. (2007). Occurrence of *Paraleucilla magna* (Porifera: Calcarea) in the Mediterranean Sea. *Journal of the Marine Biological Association of the UK* 87, 1749–1755. DOI: [10.1017/S0025315407057748](https://doi.org/10.1017/S0025315407057748)
- Mačić, V., Petović, S. (2016) New data on the distribution of the alien sponge *Paraleucilla magna* Klautau, Monteiro & Borojević, 2004 in the Adriatic Sea. *Studia Marina* 29(1): 63-68.
- Manconi, R., Cadeddu, B., Ledda, F. & Pronzato, R. (2013). An overview of the Mediterranean cave-dwelling horny sponges (Porifera, Demospongiae). *ZooKeys*, 281, 1-68. DOI: [10.3897/zookeys.281.4171](https://doi.org/10.3897/zookeys.281.4171)
- Montagu, G. (1814). An Essay on Sponges, with Descriptions of all the Species that have been discovered on the Coast of Great Britain. *Memoirs of the Wernerian Natural History Society*. 2, 67-122, pls III–XVI.
- Ostroumoff, A. (1894). Further contributions to the natural history of the Bosphorus. *Zapisk Imperatorskoy Akademii Nauk, St. Petersburg, Supplement to*, 74(5), 1-46.
- Ostroumoff, A. (1896). Otchet o dragirovkax i planktonnyix ulovkax ekspeditsii "Selyanika". *Bull Acad Imp Sci Saint Petersb*, 5, 33-92.
- Paulay, G., Kirkendale, L., Lambert, G. & Meyer, C. (2002). Anthropogenic biotic interchange in a coral reef ecosystem: a case study from Guam. *Pacific Science*, 56, 403-422. DOI: [10.1353/psc.2002.0036](https://doi.org/10.1353/psc.2002.0036)
- Perçin, F. (2018). Bir Balıkçı Barınağı Çalışma Alanı Risk Faktörleri: Izmir İli Örneği. *Ziraat Mühendisliği*, (366), 28-38. DOI: [10.33724/zm.505580](https://doi.org/10.33724/zm.505580)
- Rapp, H. T. (2013). A monograph of the calcareous sponges (Porifera, Calcarea) of Greenland. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 95, 1395-1459. DOI: [10.1017/S0025315413001070](https://doi.org/10.1017/S0025315413001070)
- Ridley, S.O. (1884). Spongiida. *Report on the Zoological Collections made in the Indo-Pacific Ocean during the Voyage of H.M.S. 'Alert'*, 2, 366-482.
- Row, R.W.H. (1911). Reports on the Marine Biology of the Sudanese Red Sea, from Collections made by Cyril Crossland, M.A., B.Sc., F.Z.S. XIX. Report on the Sponges collected by Mr. Cyril Crossland in 1904-5. Part II. Non-Calcareous. *Journal of the Linnean Society. Zoology*, 31(208), 287-400. DOI: [10.1111/j.1096-3642.1911.tb00461.x](https://doi.org/10.1111/j.1096-3642.1911.tb00461.x)
- Schmidt, O. (1862). Die Spongien des adriatischen Meeres. *Wilhelm Engelmann*, i-viii, 1–88.
- Sghaier, Y. R., Zakhama-Sraieb, R., Hmida, A. B., & Charfi, F. (2019). An inventory of non-indigenous species (NIS) inside and outside three tourist marinas from the southern Mediterranean coast. *Journal of the Black Sea/Mediterranean Environment*, 25(1).
- Sollas, W.J. (1885). A Classification of the Sponges. *Annals and Magazine of Natural History*, 16, 395. DOI: [10.1080/00222938509459901](https://doi.org/10.1080/00222938509459901)
- Topaloğlu, B. & Evcen, A. (2014). Updated checklist of sponges (Porifera) along the coasts of Turkey. *Turkish Journal of Zoology*, 38, 665-676. DOI: [10.3906/zoo-1405-79](https://doi.org/10.3906/zoo-1405-79)
- Topaloğlu, B., Evcen, A. & Çınar, M. E. (2016). Sponge Fauna in the Sea of Marmara. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 16, 51-59. DOI: [10.4194/1303-2712-v16_1_06](https://doi.org/10.4194/1303-2712-v16_1_06)
- Tsumamal, M. (1969). Sponges of Red Sea origin on the Mediterranean coast of Israel. *Israel Journal of Zoology*, 18, 149-155.
- Tsumamal, M. (1975). The calcareous sponges of shallow habitats along the Mediterranean Coast of Israel. *Israel Journal of Zoology*, 24, 137-153.
- Ulman, A., Ferrario, J., Occhpinti-Ambrogi, A., Arvanitidis, C., Bandi, A., Bertolino, M., Bogi, C., Chatziqeorgiou, G., Çiçek, B.A., Deidun, A., Ramos-Esplá, A., Koçak, C., Lorenti, M., Martínez-Laiz, G., Merlo, G., Princisgh, E., Scribano, G. & Marchini, A. (2017). A massive update of non-indigenous species records in Mediterranean marinas. A massive update of non-indigenous species records in Mediterranean marinas. *Peer Journal*, 5, e3954. DOI: [10.7717/peerj.3954](https://doi.org/10.7717/peerj.3954)
- Vacelet, J., Bitar, G., Carteron, S., Zibrowius, H. & Perez, T. (2007). Five new sponge species (Porifera: Demospongiae) of subtropical or tropical affinities from the coast of Lebanon (eastern Mediterranean). *Journal of the Marine Biological Association of the UK*, 87 (6), 1539-1552. DOI: [10.1017/S0025315407060687](https://doi.org/10.1017/S0025315407060687)
- Van Soest, R.W.M., Boury-Esnault, N., Hooper, J.N.A., Rützler, K., de Voogd, N.J., Alvarez, B., Hajdu, E.; Pisera, A.B., Manconi, R., Schönberg, C., Klautau, M., Kelly, M.; Vacelet, J., Dohrmann, M., Diaz, M.-C., Cárdenas, P., Carballo, J.L., Ríos, P., Downey, R., Morrow, C.C. (2020). World Porifera Database. Accessed at <http://www.marinespecies.org/porifera> on 2017-02-01. DOI: [10.14284/359](https://doi.org/10.14284/359)
- Van Soest, R.W.M., Picton, B.E. & Morrow, C. (2017b). Sponges of the North East Atlantic. In: World Biodiversity Database CD-ROM Series, Windows/Mac version 1.0. (ETI, University of Amsterdam: Amsterdam). Available from http://speciesidentification.org/index.php?groep=Sponges&selectie=15&hoofdgroepen_pad=%2C1%2C15 (accessed 01.February.2017).
- Zammit, P.P., Longo, C. & Schembri, P.J. (2009). Occurrence of *Paraleucilla magna* Klautau et al., 2004 (Porifera: Calcarea) in Malta. *Mediterranean Marine Science*, 10, 135–138. DOI: [10.12681/mms.114](https://doi.org/10.12681/mms.114)
- Zenetos, A., Gofas, S., Verlaque, M., Çınar, M. E., Raso, J. G., Bianchi, C. N. & Siokou, I. (2010). Alien species in the Mediterranean Sea by 2010. A contribution to the application of European Union's Marine Strategy Framework Directive (MSFD). Part I. Spatial distribution. *Mediterranean marine science*, 11(2), 381. DOI: [10.12681/mms.87](https://doi.org/10.12681/mms.87)
- Zenetos, A., Gofas, S., Verlaque, M., Çınar, M., Garcia Raso, J., Bianchi, C. & Streftaris, N. (2011). Alien species in the Mediterranean Sea by 2010. A contribution to the application of European Union's Marine Strategy Framework Directive (MSFD). Part I. Spatial distribution. *Mediterranean Marine Science*, 12(2), 509. DOI: [10.12681/mms.49](https://doi.org/10.12681/mms.49)
- Zenetos, A., Gofas, S., Morri, C., Rosso, A., Violanti, D., Raso, J. G. & Verlaque, M. (2012). Alien species in the Mediterranean Sea by 2012. A contribution to the application of European Union's Marine Strategy Framework Directive (MSFD). Part 2. Introduction trends and pathways. *Mediterranean Marine Science*, 13, 328-352. DOI: [10.12681/mms.327](https://doi.org/10.12681/mms.327)
- Zenetos, A., Çınar, M. E., Crocetta, F., Golani, D., Rosso, A., Servello, G. & Verlaque, M. (2017). Uncertainties and validation of alien species catalogues: The Mediterranean as an example. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 191, 171-187. DOI: [10.1016/j.ecss.2017.03.031](https://doi.org/10.1016/j.ecss.2017.03.031)
- Zibrowius, H. (2002). Assessing scale and impact of ship-transported alien fauna in the Mediterranean? In: CIESM Workshop Monographs, Vol. 20, pp. 6

İzmir Körfezi'nden izole edilen *Cylindrotheca closterium* (Ehrenberg) Reimann & J. Lewin, 1964 türünün büyümesi üzerine ışık, sıcaklık, nütrient ve tuzluluğun etkileri

Effects of light, temperature, nutrients and salinity on the growth of *Cylindrotheca closterium* (Ehrenberg) Reimann & J. Lewin, 1964 species isolated from Izmir Bay

Merve Betül Üstün^{1*} • Hasan Baha Büyükişik²

¹Ege Üniversitesi, Su Ürünleri Temel Bilimler Bölümü, 35100, İzmir, Türkiye

<https://orcid.org/0000-0002-8077-406X>

²Ege Üniversitesi, Su Ürünleri Temel Bilimler Bölümü, 35100, İzmir, Türkiye

<https://orcid.org/0000-0002-5855-4300>

Corresponding author: mbustun@windowslive.com

Received date: 27.05.2019

Accepted date: 13.12.2019

How to cite this paper:

Üstün, M.B. & Büyükişik, H.B. (2020). Effects of light, temperature, nutrients and salinity on the growth of *Cylindrotheca closterium* (Ehrenberg) Reimann & J. Lewin, 1964 species isolated from Izmir Bay. *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 37(2), 157-166. DOI: [10.12714/egejfas.37.2.06](https://doi.org/10.12714/egejfas.37.2.06)

Öz: *Cylindrotheca closterium* özellikle ilkbahar ve yaz mevsimlerinde İzmir Körfezi ve Ege Denizi'nde baskın olan diatom türlerinden biridir. Bu çalışmada *C. closterium* türünün farklı sıcaklık, ışık şiddeti, nütrient konsantrasyonları ve tuzluluklar altındaki büyüme kinetikleri üzerine çalışılmıştır. Öncelikle sıcaklık-ışık deneyleri yapılmış ve türün optimum sıcaklığı 18°C olarak belirlenmiştir. 18°C'de maksimum spesifik büyüme hızı $\mu_{max} = 1.97 \pm 0.17$ gün⁻¹ ve yarı doygunluk sabiti $K_i = 0.05 \pm 0.03$ olarak elde edilmiştir. Daha sonra, optimum sıcaklıkta 0,9, 0,88, 0,74, 0,46, 0,2 ve, 0,07 *100 $\mu\text{mol foton/m}^2\text{s}$ olmak üzere altı farklı ışık şiddetinin, % 5, 10, 15, 20, 25, 30 ve 35 olmak üzere yedi farklı tuzluluğun *Cylindrotheca closterium* türünün büyüme hızı üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Optimum olarak belirlenen % 15 tuzlulukta spesifik büyüme hızı 2,012 gün⁻¹ olarak hesaplanmıştır. Farklı amonyum (NH₄⁺), nitrat (NO₃⁻), reaktif fosfat (RP) ve reaktif silis (RSi) konsantrasyonlarından yarı kesikli kültür denemesiyle ölçülen Chl a değerlerinden bulunan üstel büyüme hızları ve tekabül eden nütrient konsantrasyonlarından elde edilen istatistiksel olarak (p<0,05) geçerli Monod denkleminin ($\mu = \mu_{max} * S / (K_s + S)$) parametrelerinden biri olan μ_{max} değerleri sırasıyla 2,48±0,61 gün⁻¹, 1,92 ±0,3 gün⁻¹, 2,1± 0,05 gün⁻¹ ve 1,97± 0,2 gün⁻¹'dir. Her bir nütrient için bulunan Monod denkleminin diğer parametreleri (K_s) sırasıyla 17,84±14,4 $\mu\text{M NH}_4^+\text{-N}$, 27,3± 19,04 $\mu\text{M NO}_3^-\text{-N}$, 0,25±0,04 $\mu\text{M PO}_4\text{-P}$ ve 0,3±0,24 $\mu\text{M Si}$ 'dir. Küresel ısınmanın sonucu olarak 2100 yılında sıcaklıkların 6 °C artması beklenmektedir (Hallegraeff, 2010). Bu senaryo göz önünde bulundurularak İzmir Körfezi'nde *Cylindrotheca closterium*'un büyüme hızı üzerindeki etkileri hesaplanmıştır. Sunlu vd. (2007) tarafından yapılan bir çalışmada İzmir Körfezi'nde 52 hafta boyunca azotun büyümeyi sınırlayan tek bileşen olduğu belirlenmiştir. Sonuç olarak, türün bu süre boyunca büyüme hızı 1,5 gün⁻¹'in altına düşmemiştir.

Anahtar kelimeler: Işık, sıcaklık, tuzluluk, nütrient, *Cylindrotheca closterium*, İzmir Körfezi

Abstract: *Cylindrotheca closterium* is one of the diatom species that is dominant particularly in spring and summer in Izmir Bay and Aegean Sea. In this study, growth kinetics of *Cylindrotheca closterium* have been studied under different temperature, light intensity, nutrient concentrations and salinity conditions. Initially, temperature-light experiments were carried out and optimum temperature is determined to be 18 °C for this species. Obtained results at 18 °C are $\mu_{max} = 1.97 \pm 0.167$ d⁻¹ for the maximum specific growth rate and $K_i = 0.048 \pm 0.028$ for the half saturation constant. Then, six light intensities (0.9, 0.88, 0.74, 0.46, 0.2, 0.07 *100 $\mu\text{mol photon/m}^2\text{s}$) and seven salinity concentrations (5, 10, 15, 20, 25, 30 and 35 ‰) were investigated on the growth rate of *Cylindrotheca closterium* under optimum temperature. The specific growth rate has been calculated to be 2.012 d⁻¹ at 15 ‰ salinity which is determined to be the optimum concentration. Exponential growth rates are obtained in semi-batch culture by measuring Chl a values and corresponded nutrient concentrations which are statistically valid (p<0,05) in regard to Monod equation ($\mu = \mu_{max} * S / (K_s + S)$) and μ_{max} values, a parameter of Monod equation, are calculated for different concentrations of ammonium, nitrate, reactive phosphate and reactive silica are 2.48±0.61 d⁻¹, 1.92 ±0.3 d⁻¹, 2.1± 0.05 d⁻¹ and 1.97± 0.20 d⁻¹, respectively. K_s values, which are another parameter of Monod equation, that are obtained for each nutrient are 17.84±14.4 $\mu\text{M NH}_4^+\text{-N}$, 27.3± 19.04 $\mu\text{M NO}_3^-\text{-N}$, 0.25±0.04 $\mu\text{M PO}_4\text{-P}$ and 0.3±0.24 $\mu\text{M Si}$, respectively. As a result of global warming, temperature is expected to be risen 6 °C in 2100 (Hallegraeff, 2010). The impacts of this increase on the growth rate of *Cylindrotheca closterium* species in Izmir Bay is calculated, considering this scenario. Nitrogen is determined to be the only restricting compound that inhibits growth during 52 weeks by a study that is conducted by Sunlu vd., (2007). Consequently, the growth rate of the species didn't decline under 1.5 d⁻¹ during this period of time.

Keywords: Light, temperature, salinity, nutrient, *Cylindrotheca closterium*, Izmir Bay

GİRİŞ

Endüstriyel devrim sonrası atmosferdeki sera gazı miktarı artmaya başlamıştır ve halen artmaya devam etmektedir. Küresel ortalama sıcaklık son 30 yılda 0,55 °C artmıştır (IPCC, 2007; Erdoğan, 2016).

Atmosferdeki karbondioksit konsantrasyonu artışı küresel ısınmayı önemli ölçüde etkilemektedir. Dünya'nın ısınması bölgesel iklim değişikliklerine neden olmakta ve birçok fiziksel, biyolojik ve kimyasal süreci etkilemektedir (Walther vd., 2002,

Treydte vd., 2006). İklimdeki bu son hızlı değişimlerin tür kompozisyonları, dağılım ve biyojeokimyasal kompozisyonun değişmesi gibi büyük etkileri olabilir (Doney vd., 2012).

Diatomlar biyolojik çeşitlilik ve biyokütle söz konusu olduğunda denizel ve tatlı su ekosistemlerindeki başlıca mikroalgal bileşenlerdir. Küresel ölçüde bu ekosistemlerdeki birincil üretime katkıları oldukça önemlidir (Round vd., 1990; Ramirez vd., 2015). Diatom türleri habitattan su kalitesine kadar, bölgesel ve çevresel şartlar konusunda oldukça duyarlıdır. Her diatom türü sıcaklık, havalandırma, iletkenlik, pH, nütrient mevcudiyeti ve konsantrasyonu gibi çevresel değişkenler için spesifik tolerans aralıklarına sahiptir (Aydın ve Büyükişik, 2014). Çevresel koşullardaki değişikliklere karşı bu denli hassas olmaları nedeniyle, belirli bir zamanda belirli bir yerde bulunan bir diatom komünitesi, istatistiksel yöntemler yardımıyla su kalitesi hakkında bilgi de verebilmektedir (Kale ve Karthick, 2015).

Cylindrotheca closterium kozmopolit bir türdür ve hem tatlı sularda hem de denizel ekosistemlerde dağılım gösterir (Horner, 2002). Türün İzmir Körfezi'nde ve Ege Denizi'nde de sıklıkla rastlanan bir tür olduğu yapılan çalışmalarla gösterilmiştir. Koray vd., (1992) türün İzmir Körfezi'nde yüksek miktarda artış göstererek su kalitesini etkilediğini göstermiştir. Aydın, (1993) körfezde Mayıs ayında *Nitzschia pungens* ve *Nitzschia closterium* (*Cylindrotheca closterium*) türlerinin dominant olduğunu belirtmiştir. Çalışmada *N. closterium* için herhangi bir sınırlayıcı besin belirlenmemiştir. Tümer (2012) yaptığı çalışmada İzmir Körfezi'nde *C. closterium* türünün çoğunlukla ilkbahar-yaz mevsimleri arasında büyük artış gösterdiğini bildirmiştir. Ancak türün dört mevsimde birden gözlemlendiğini belirtmiştir. Sabancı ve Koray (2011) *C. closterium* türünün özellikle yaz mevsiminde aşırı ürediğini bildirmiştir. Ayrıca bazı çalışmalarda (Frigos ve Gotsis-Skretas, 1989; Tümer, 2012) söz konusu türe Ege Denizi'nin bilhassa ötrofik bölgelerinde rastlandığı da not edilen bilgiler arasındadır. Altı farklı pennat diatom türünün büyüme hızları ve yağ asidi profillerinin belirlenmesi amacıyla İzmir Körfezi'nden izole edildiği başka bir çalışmada (Demirel, 2016) *C. closterium* ve *Ochrosphaera* sp. türlerinin yağ içeriği diğer diatomlara kıyasla en yüksek konsantrasyonlarda bulunmuştur.

Bu çalışmanın amacı ise, İzmir Körfezi'nden izole edilen *Cylindrotheca closterium* türünün büyüme kinetiklerinin incelenerek türe ait büyüme modelini çıkarmaktır. İkincil bir amaç ise küresel ısınmanın sonucu günümüzde 407 ppm iken 2100 yılında 750-1000 ppm'e kadar artması beklenen atmosferik CO₂' in yaratacağı 6 °C sıcaklık artışının (Hallegraeff, 2010) tür üzerinde oluşturabileceği etkileri öngörmeye çalışmaktır.

MATERYAL VE METOT

Çalışma Bölgesi

İzmir Körfezi Türkiye'nin batısında yer alır ve insan popülasyonunun yoğun olduğu bir bölgede yer almaktadır.

Körfez topografik ve hidrografik özellikleri açısından İç, Orta ve Dış Körfez olmak üzere üç bölgeye ayrılır (Sunlu vd., 2006).

Tür İzolasyonu

İzmir İç Körfezi'nde 38°24'27,18"K; 27°04'07,47"D koordinatlarından (İnciraltı İskelesinden) 10 Nisan 2016 tarihinde 18°C sıcaklıkta 39 psu tuzlulukta pH 8,6 ve Chla 15 µg/L konsantrasyonda alınan deniz suyu örneğinden laboratuvarında sonsuz seyrelme tekniği ile izole edilmiştir. Deniz suyu 0,2 +0,45 µm'lik kartuş filtre ile süzülüş, Guillard (1975) 'ın f/2 ortamı ile zenginleştirilmiş ve mikroskopla en bol bulunan türler belirlenmiştir. Kültür örneği 3µm filtre kağıdından, çelik 3'lü milipor filtrasyon sistemi ile süzülerek bakteri ve virüslerden arındırılmıştır.

Nütrient Zenginleştirilmesi

Nütrient zenginleştirilmesinde kesikli kültür tekniği kullanılmıştır. Kültürler nütrient zenginleştirilmesi ve izolasyon işlemleri boyunca sabit sıcaklık (18±1 °C) ve 12 saat aydınlık/12 saat karanlık ışık periyodunda sabit sıcaklık odasında inkübe edilmiştir. Çalışmanın tamamında 40W daylight floresan lambalar kullanılmıştır. Çalışmada nütrient zenginleştirilmesi ile ışık şiddeti, sıcaklık ve tuzluluk denemelerinin yapıldığı aşamalarda azot kaynağı olarak NO₃-N kullanılmıştır. Her bir aşamada, deney tüplerinin her birine 10'ar ml (örneğin 1 ml; f/2 ortamı ile zenginleştirilmiş deniz suyundan 9 ml olacak şekilde) eklenilerek deneye başlanılmış ve eksponansiyel faza erişildiğinde birinci nesilden ikinci nesle geçilmiş, dördüncü nesle kadar bu işlem tekrarlanmıştır. Dördüncü neslin ölüm fazına erişilince deney sonlandırılmıştır. Genel olarak 0-7 gün arası yapılmış olan deneyler, büyümenin 7. gün sonunda devam etmesi durumunda büyümede azalma gözleninceye kadar devam ettirilmiştir. Çalışmada büyüme hızındaki varyasyonu azaltmak için yarı kesikli kültür sistemi kullanılmıştır.

Spesifik büyüme hızının hesaplanmasında kullanılan denklemler

Her bir deney için başlangıç klorofil a miktarı 0,5 µg/L olarak belirlenmiştir. Her gün klorofil a değerleri flourometre ile ölçülerek deney sonucunda öncelikle spesifik büyüme hızları (µ) hesaplanmış ve üstel büyüme hızlarının ışık ya da nütrient konsantrasyonları ile bağlantıları Monod denklemine en küçük kareler yöntemi ile istatistiksel olarak anlamlı ise µ_{max} ve K_s parametreleri belirlenmiştir. Böylece en iyi gelişimin hangi ışık şiddeti, sıcaklık, tuzluluk veya besin konsantrasyonlarında gerçekleştiği saptanmıştır.

Deneyde 10, 18, 26 ve 30 °C olmak üzere dört farklı sıcaklığın *C. closterium* türünün büyüme hızı üzerine etkisini ifade eden ve bir optimuma sahip olan bir denklemle ifade edilmiştir. Nutrient ve ışık şiddetleri /büyüme hızı ilişkileri için Monod denklemi (Burmester, 1979), sıcaklık ve tuzluluk için ise $Y=(X/X_{opt})e^{(1-X/X_{opt})}$ denklemi (Büyükişik vd., 1995) kullanılmıştır.

Spesifik büyüme hızı değerleri $\mu = 3,322 \cdot (1/t_2 - t_1)^{-1} \cdot \ln(N_2/N_1)$ formülü ile hesaplanmıştır (Guillard, 1973).

μ = spesifik büyüme hızı

N_1 = Üssel büyüme fazının başlangıcında elde edilen klorofil a değeri ($\mu\text{g/L}$)

N_2 = Üssel büyüme fazının sonunda elde edilen klorofil a değeri ($\mu\text{g/L}$)

t_1 = N_1 değerinin tayin edildiği zaman dilimi

t_2 = N_2 değerinin tayin edildiği zaman dilimini ifade etmektedir.

Spesifik büyüme hızı değerleri kullanılarak STATISTICA programında non-linear tahmin ve en küçük kareler yönteminden yararlanılarak maksimum büyüme hızları ve yarı doygunluk katsayıları (K_s ve K_i değerleri) hesaplanmıştır. Daha sonra büyüme hızı ile ışık, sıcaklık, tuzluluk ve besin tuzları arasındaki ilişki belirlenmeye çalışılmıştır.

Optimum sıcaklıkta 0,9, 0,88, 0,74, 0,46, 0,2, 0,07 *100 $\mu\text{mol foton/m}^2\text{s}$ olmak üzere altı farklı ışık şiddetinin, % 5, 10, 15, 20, 25, 30 ve 35 olmak üzere yedi farklı tuzluluğun *Cylindrotheca closterium* türünün büyüme hızı üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Nutrient için ise hangi nutrientin spesifik büyüme hızı belirlenecek ise diğer tüm nutrientler f/2 final konsantrasyonunda ilave edilirken, denenecek olan nutrient yaklaşık f/2, f/2/4, f/2/10, f/2/20, f/2/40, f/2/100 ve f/2/1000 oranlarında ilave edilerek (Tablo 1) büyüme hızları ve büyüme hızı-nutrient ilişkisi Monod denklemi (Burmester, 1979) ile istatistiksel olarak belirlenmiştir.

Endirekt ölçümlerde, yani ölçülen değerlerden formül yardımıyla hesaplanan değerlerin üzerinde yapılan en yüksek mutlak hatayı elde etmek için $(\pm\Delta\mu = \mu \cdot ((\Delta\mu_{\max}/\mu_{\max}) + (\Delta I/I) + ((\Delta K_i + \Delta I)/(K_i + I)))$ denklemi (diferansiyel metotla) kullanılmıştır (Erdik, 1971).

Denklemden,

$\pm\Delta\mu$ = Büyüme hızında yapılan en büyük mutlak hatadır. Belirlenmesi gereken Monod denkleminden μ değerinin hesaplanmasında μ değeri üzerinde yapılan hatadır. $\pm\Delta I$ = Işık şiddetinde hata LiCor ışıkölçerinin en küçük birimi alınmıştır (1 $\mu\text{mol foton/m}^2\text{s}$). $\pm\Delta\mu_{\max}$: Monod denklemine uydurulan verilerle istatistiki olarak elde edilen %95 güven aralığıdır. $\pm\Delta K_i$ = Monod denklemine uydurulan verilerle istatistiki olarak elde edilen %95 güven aralığıdır.

Ayrıca büyüme hızının ışık şiddeti ile bağıntısı olan $\mu = \mu_{\max} S / (K_i + S)$ formülünden yararlanılarak istatistiki olarak K_i değerleri elde edilirken; büyüme hızının nutrient konsantrasyonu ile ilişkisi olan $\mu = \mu_{\max} S / (K_s + S)$ formülü kullanılarak istatistiki olarak K_s değerleri elde edilmiştir. Formülde, μ = spesifik büyüme hızı, μ_{\max} = maksimum spesifik büyüme hızı K_i ve K_s = yarı doygunluk sabitleri, S = substrat (nutrient) konsantrasyonunu temsil etmektedir. μ_{\max} , K_s ve K_i

değerlerinde \pm olarak verilen değerler %95 güven aralığını ifade etmektedir.

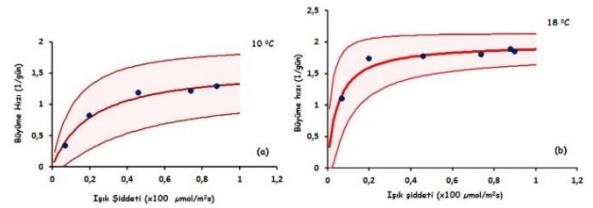
Table 1. Çalışmada kullanılan nutrient konsantrasyonları
Table 1. Nutrient concentrations that are used in the study

Nutrient	Amonyum ($\mu\text{M NH}_4^+\text{-N}$)	Nitrat ($\mu\text{M NO}_3\text{-N}$)	Reaktif Fosfat ($\mu\text{M RP}$)	Reaktif Silis ($\mu\text{M RSi}$)
Konsantrasyon	7,58	12,8	0,496	0,107
	9,58	56,95	0,64	0,535
	12,08	101,1	0,823	1,07
	19,58	233,55	1,367	2,675
	32,08	895,8	2,275	5,35
	57,08	-	4,09	10,7
	132,08	-	9,535	26,75
	507,08	-	36,76	107

BULGULAR

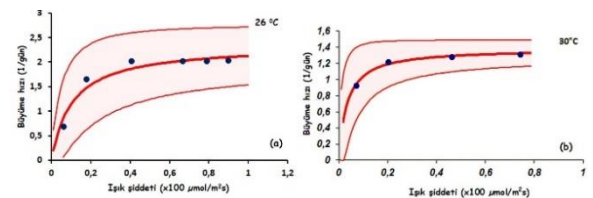
Işık Şiddeti ve Sıcaklığın Mikroalg Büyümesine Etkisi

10 °C'de elde edilen spesifik büyüme hızları yardımıyla hesaplanan istatistiksel analiz sonuçlarına göre $\mu_{\max} = 1,60 \pm 0,34 \text{ gün}^{-1}$ ve $K_i = 0,21 \pm 0,14$ olarak bulunmuştur (Şekil 1). 18 °C'de elde edilen sonuçlar ise $\mu_{\max} = 1,97 \pm 0,17 \text{ gün}^{-1}$ ve $K_i = 0,05 \pm 0,03$ 'tür (Şekil 1).



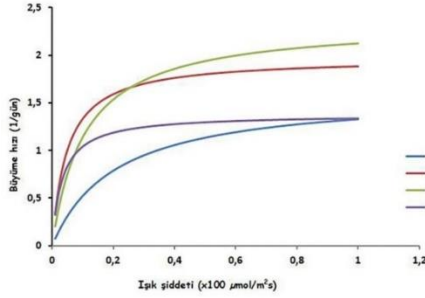
Şekil 1. *C. closterium* türünün 10 °C'de (a) ve 18 °C'de (b) farklı ışık şiddetleri altındaki spesifik büyüme hızı
Figure 1. Specific growth rates of *C. closterium* species at 10 °C (a) and 18 °C (b) under different light intensities

26 °C'de maksimum spesifik büyüme hızı $\mu_{\max} = 2,35 \pm 0,42 \text{ gün}^{-1}$ ve yarı doygunluk sabiti $K_i = 0,10 \pm 0,08$ olarak hesaplanmıştır. 30 °C'de hesaplanan değerler ise $\mu_{\max} = 1,38 \pm 0,10 \text{ gün}^{-1}$ ve $K_i = 0,03 \pm 0,02$ 'dir (Şekil 2).



Şekil 2. *C. closterium* türünün 26 °C (a) ve 30 °C'de (b) farklı ışık şiddetleri altındaki spesifik büyüme hızı
Figure 2. Specific growth rates of *C. closterium* species at 26 °C (a) and 30 °C (b) under different light intensities

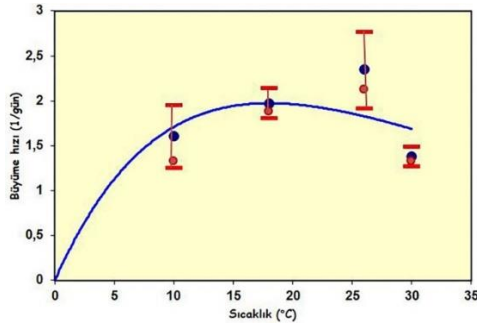
Cylindrotheca closterium türüne ait büyüme hızları bütün sıcaklıklarda genel olarak düşük ışık şiddetlerinden yüksek ışık şiddetlerine doğru artış göstermiştir (Şekil 3). 90 μmol foton/ m^2s ışık şiddetinde spesifik büyüme hızı 18 °C'den 26 °C'ye kadar artış göstermiştir. 88, 74 ve 46 μmol foton/ m^2s ışık şiddetinde spesifik büyüme hızı 10 °C'den 26 °C'ye kadar artmış ancak 30 °C'de azalmıştır. Spesifik büyüme hızı 7 ve 20 μmol foton/ m^2s ışık şiddetinde ise 10 °C'den 18 °C'ye kadar yükselmiştir. 26 °C'de ise bu iki ışık şiddetinde spesifik büyüme hızı azalış göstermiştir.



Şekil 3. *C. closterium* türünün farklı ışık şiddetleri ve sıcaklıklar altında spesifik büyüme hızlarının karşılaştırılması

Figure 3. Comparison of specific growth rates of *C. closterium* under different light intensities and temperatures

Elde edilen verilere göre bu diatom türünün 10-25 °C sıcaklık aralıklarındaki gelişimi oldukça iyidir ve İzmir Körfezi'nde bu sıcaklık aralıklarında tür gelişebilir. (Şekil 4). Sıcaklık yükseldikçe μ_{max} değeri 10 °C'den 26 °C'ye kadar artış göstermiştir. En küçük kareler yöntemi sonucu elde edilen değerler dikkate alındığında 18 ve 26 °C arasında μ_{max} değerleri açısından istatistiksel olarak belirgin bir fark yoktur. 10 ve 26 °C'de μ_{max} değerlerinde varyasyonun arttığı; 18 ve 30 °C'de ise azaldığı gözlenmiştir. 18 ve 30 °C'de varyasyonun daha az olmasından dolayı bu iki sıcaklıkta büyüme daha kararlı görünmektedir.

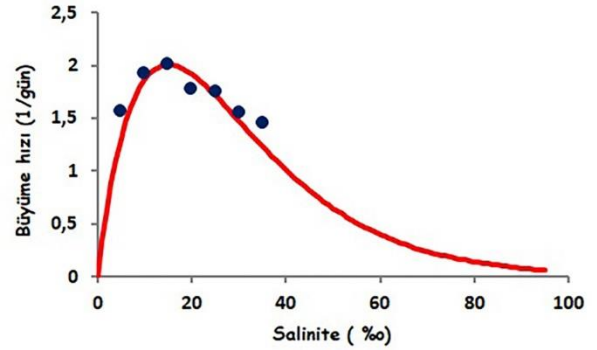


Şekil 4. *C. closterium* türünün sıcaklık ile spesifik büyüme hızlarının karşılaştırılması. •: çalışmada erişilen μ_{max} değerleri; •: istatistiksel hesaplamalar sonucu elde edilen μ_{max} değerleri ve I: Düz kırmızı çizgiler ise minimum ve maksimum mutlak hata aralığını göstermektedir.

Figure 4. Comparison of temperature vs specific growth rate for the species of *C. closterium*. •: represent achieved values of μ_{max} ; •: exhibit obtained values of μ_{max} with statistical calculations and I: minimum and maximum range of absolute error

Tuzluluğun Mikroalg Büyümesine Etkisi

Sıcaklık ve ışık şiddeti için optimum değerler elde edildikten sonra tuzluluk denemelerine geçilmiştir. Çalışmada spesifik büyüme hızları (μ); ‰ 5, 10, 15, 20, 25, 30 ve 35 tuzluluk için sırasıyla 1,56 gün^{-1} , 1,93 gün^{-1} , 2,01 gün^{-1} , 1,78 gün^{-1} , 1,75 gün^{-1} , 1,5 gün^{-1} ve 1,47 gün^{-1} olarak bulunmuştur. Büyüme hızının, diğer tuzluluklarla karşılaştırıldığında doruğa eriştiği tuzluluk değeri ‰ 15'tir (Şekil 5).

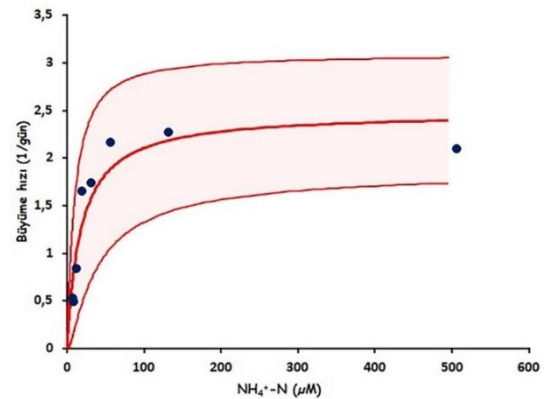


Şekil 5. Spesifik büyüme hızlarının farklı tuzluluklardaki değişimi
Figure 5. Variations of specific growth rate under various salinity levels

Büyüme hızının ‰15 tuzluktan sonra giderek azalmasının nedeni osmotik dengenin sağlanabilmesi için hücre içi bazı çözülmüş bileşenlerin dış ortama verilmesi olabilir (Egemen, 2011). Bu da hücre içi kayıplara neden olacak ve yüksek tuzlulukta spesifik büyüme hızının azalması ile sonuçlanacaktır.

Nütrientlerin Mikroalg Büyümesine Etkisi

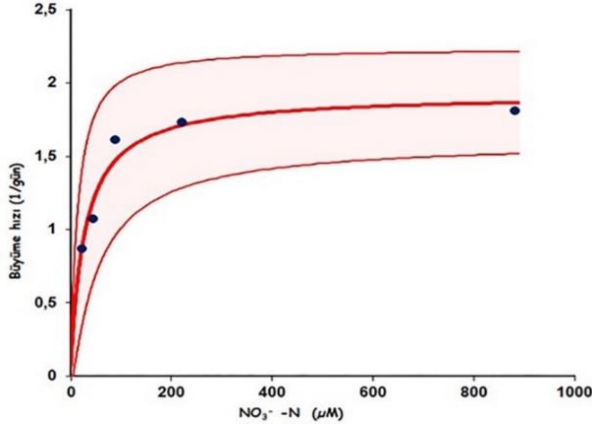
18 °C'de, 90 μmol foton/ m^2s ışık şiddetinde ve ‰15 tuzlulukta $\text{NH}_4^+\text{-N}$ için elde edilen istatistiksel analiz sonuçları şu şekildedir: $\mu_{\text{max}}=2,48\pm0,61$ gün^{-1} ve $K_s=17,84\pm14,4$ μM $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 'dir (Şekil 6).



Şekil 6. Farklı $\text{NH}_4^+\text{-N}$ konsantrasyonlarında *C. closterium* türünün büyüme hızları

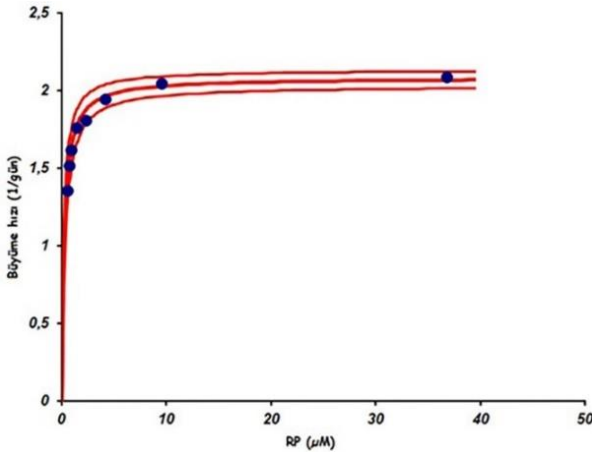
Figure 6. Growth rate of *C. closterium* under different $\text{NH}_4^+\text{-N}$ concentrations

NO₃-N için ise $\mu_{max}= 1,92 \pm 0,3 \text{ gün}^{-1}$ ve $K_S= 27,3 \pm 19,04 \text{ }\mu\text{M}$ NO₃-N olarak hesaplanmıştır (Şekil 7).



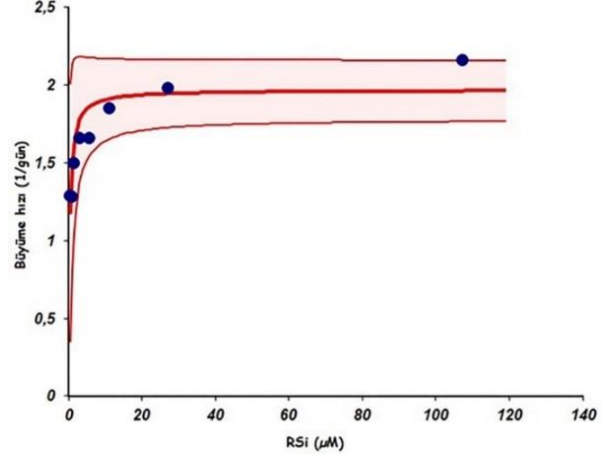
Şekil 7. Farklı NO₃-N konsantrasyonlarında *C. closterium* türünün büyüme hızları
Figure 7. Growth rate of *C. closterium* under different NO₃-N concentrations

İstatistiksel analizler sonucu reaktif fosfat için elde edilen maksimum spesifik büyüme hızı ve yarı doygunluk sabiti değerleri $\mu_{max}= 2,1 \pm 0,05 \text{ gün}^{-1}$ ve $K_S= 0,25 \pm 0,04 \text{ }\mu\text{M}$ PO₄-P olarak bulunmuştur (Şekil 8). Spesifik büyüme hızının en yüksek değeri ($2,09 \text{ gün}^{-1}$) $36,76 \text{ }\mu\text{M}$ RP konsantrasyonunda elde edilmiştir.



Şekil 8. Farklı RP konsantrasyonlarında *C. closterium* türünün büyüme hızları
Figure 8. Growth rate of *C. closterium* under different RP concentrations

Reaktif silis için istatistiksel olarak hesaplanan değerler ise $\mu_{max}= 1,97 \pm 0,20 \text{ gün}^{-1}$ ve $K_S= 0,3 \pm 0,24 \text{ }\mu\text{M}$ Si'dir (Şekil 9).



Şekil 9. Farklı RSi konsantrasyonlarında *C. closterium* türünün büyüme hızları
Figure 9. Growth rate of *C. closterium* under different RSi concentrations

TARTIŞMA

Tuzluluk, ışık yoğunluğu, sıcaklık (Ak vd., 2008), fotoperiyod ve kültür ortamındaki besin kompozisyonu gibi çevresel faktörlerin bileşiminin mikroalg büyüme hızlarını etkilediği bilinmektedir (Kitaya vd., 2008; Fakhri vd, 2015). Bu parametrelerin optimum değerleri ve mikroalglerde tolere edilebilen aralıklar türden türe değişir (Coutteau, 1996; Aydın vd, 2009; Şişman Aydın, 2012).

Tablo 2'de bu çalışmada elde edilen μ_{max} ve K_i değerleri yer almaktadır. $26 \text{ }^\circ\text{C}$ 'de varyasyonun önemli ölçüde arttığı dikkate alınarak $18 \text{ }^\circ\text{C}$ büyüme için optimum olarak belirlenmiştir. Bu değer literatürdeki diğer araştırma sonuçları (Ohgai vd., 1986; Affan vd., 2009; Harford vd., 2011) ile uyumludur. *C. closterium*'a ait farklı bölgelerden alınan suşların termal niş farklılıklarının araştırıldığı bir çalışmada (Stock vd., 2019), birçok subtropik ve tropik suşun büyüme optiması $20 \text{ }^\circ\text{C}$ 'nin üzerinde bulunmuştur. Buna karşın, kutuplardan alınan bütün suşlarda $10 \text{ }^\circ\text{C}$ civarında optimum büyüme gözlenmiştir. Çalışmada türün gelişimi için suşa özgü sıcaklık gereksinimleri olması, *C. closterium* tür kompleksinin çok sayıda genotip içermesi ve bunun da coğrafi olarak oldukça geniş habitatlarda dağılım gösteren bu türün ekolojik başarısını açıklayabileceği vurgulanmıştır.

Tablo 2. Farklı sıcaklık ve ışık şiddetlerinde elde edilen μ_{max} (gün⁻¹) ve K_1 değerleri**Table 2.** Obtained values of μ_{max} (d⁻¹) and K_1 under different light intensities and temperatures

Sıcaklık (°C)	μ_{max} (gün ⁻¹)	K_1
10	1,60±0,34	0,21±0,14
18	1,97±0,17	0,05± 0,03
26	2,35±0,42	0,10± 0,08
30	1,38±0,10	0,03±0,02

Cylindrotheca closterium türüne ait büyüme hızları bütün sıcaklıklarda genel olarak düşük ışık şiddetlerinden yüksek ışık şiddetlerine doğru artış göstermiştir. Bu da düşük ışık şiddetlerinin türün büyümesini sınırlandıracağına işaret etmektedir. Maddux ve Jones (1964) ve Stanbury (1931) de benzer sonuçlara ulaşmışlardır. Ying Du vd., (2010) *Amphora coffeaeformis* ve *C. closterium* türlerinin ışık ve sediment tane büyüklüklerinin türlerin sudaki dikey göçleri üzerindeki etkiyi anlamaya çalışmışlardır. *C. closterium* maksimum yüzey göçünü ışık şiddeti 250 $\mu\text{mol foton/m}^2\text{s}$ 'de iken göstermiştir.

Chaetoceros convulus türü ile yapılan bir çalışmada (Harrison vd., 1993) büyüme hızı 4 °C hariç bütün sıcaklıklarda ışıkla hiperbolik bir ilişki göstermiştir, en düşük ışık şiddetlerinde (10 $\mu\text{mol foton/ m}^2\text{s}$) bile hücreler μ_{max} 'a ulaşmıştır bu da bu türün düşük ışık şiddetlerinde yaşayan bir tür olduğunu göstermektedir. K_1 değeri sıcaklıkla takriben doğrusal bir şekilde artmıştır. *C. concavicornis* türünde de büyüme hızı bütün sıcaklıklarda ışıkla hiperbolik bir ilişki gözlenmiştir; ancak K_1 değeri sıcaklıkla artmamıştır (Harrison vd., 1993). Bu çalışmada ise K_1 değerleri artan sıcaklık ile artış göstermemiştir.

Tablo 3'te *C. closterium* ve başka türlerle farklı ortam koşullarında yapılmış çalışmalar ve elde edilen spesifik büyüme hızı değerleri bulunmaktadır. Görüldüğü üzere çalışmalarda elde edilen μ değerleri çalışmadan çalışmaya farklılık göstermektedir. *C. closterium* türü ile yapılan dört farklı çalışmada μ değerleri 0,82 (Affan vd., 2009), 0,171 (Ruivo vd., 2011), 0,209 (Demirel, 2016) ve 0,97 (Bergeijk vd., 2003) olarak bulunmuştur. Farklı türlerle yapılan bazı çalışmalarda ise μ değerleri *Thalassiosira allenii* (Aydın vd., 2009), *Spirulina*

platensis (Demirel vd., 2018), *Phaodactylum tricorutum* (Demirel vd., 2018), ve *Hantzchia amphioxys* (Kutlu ve Büyüksık, 2010) türleri için sırasıyla 1,29 g⁻¹, 0,2395±0,013 g⁻¹, 0,1996±0,003 g⁻¹ ve 1,711 çiftlenme/gün'dür.

Bu çalışmanın sonuçları *C. closterium* türünün örihalin bir tür olabileceğini göstermektedir, çünkü düşük tuzluluklardan yüksek tuzluluklara kadar büyüme hızı oldukça yüksek bulunmuştur. Bu sonuç, Affan vd. (2009) ve Williams (1964) 'in yaptıkları çalışma sonuçları ile de benzerdir. Bu çalışmada ise en yüksek spesifik büyüme hızı 2,01 gün⁻¹ olarak %0,15 tuzlulukta elde edilmiştir.

Çalışmada *C. closterium* türünün nitrat oranla amonyum ile daha iyi gelişim gösterdiği görülmektedir. *Chaetoceros simplex* türünün farklı nitrat, fosfat ve silikat konsantrasyonlarında gelişiminin incelendiği bir çalışmada, nitrat konsantrasyonlarının artışıyla spesifik büyüme hızında artış gözlenmiştir (Hemalatha vd., 2014). Bu çalışmada da nitrat, konsantrasyonlarının düşük konsantrasyonlarında düşük spesifik büyüme hızı değerleri gözlenmiştir. Sunlu vd. (2006), 200 μM 'dan daha düşük amonyum konsantrasyonlarında ve 5 μM 'dan daha düşük fosfat konsantrasyonlarında *C. closterium* türü için spesifik büyüme hızını yaklaşık 1 gün⁻¹ olarak elde etmişlerdir. Çalışmada analitik sonuçlar amonyum konsantrasyonlarının doğal deniz suyunda oldukça yüksek olduğunu (160,7 $\mu\text{M NH}_4^+\text{-N}$) göstermiştir. Bu nedenle türün büyüme eğrilerinde önemli ölçüde değişim olmadığı vurgulanmıştır (Sunlu vd., 2006). Bu çalışmada bulunan değerler Sunlu vd. (2006)'nin elde ettiği değerlerden yüksektir (Tablo 4).

Yarı doygunluk sabitinin sıcaklığın artması ile paralel olarak arttığı bazı araştırmacılar tarafından rapor edilmiştir (Eppley vd., 1969, Aydın vd., 2009). Ancak Aydın (1993) yaptığı çalışmada bazı türler için bu görüşe paralel olan sonuçlar elde etmiş olsa da *Nitzschia pungens* türünün yüksek sıcaklıklarda daha düşük konsantrasyonlarda silise ihtiyaç duyduğunu ve bunun K_s 'in sıcaklık artışı ile artması görüşü ile uygun düşmediğini belirtmiştir. Bu çalışmada elde edilen K_s değerleri $\text{NH}_4^+\text{-N}$ için 17,84±14,4 $\mu\text{M NH}_4^+\text{-N}$; $\mu\text{M NO}_3^-\text{-N}$ için ise 27,32± 19,04'ten daha düşük konsantrasyonlarda sınırlayıcılığın arttığını göstermektedir.

Table 3. *Cylindrotheca closterium* ve diğer mikroalg türleriyle yapılan çalışmaların ortam şartları hakkında bilgi ve elde edilen spesifik büyüme hızları (μ)**Table 3.** Obtained spesific growth rates (μ) and information of media with species of *Cylindrotheca closterium* and other microalgal species

Tür	Ortam	Işık şiddeti ($\mu\text{mol foton/m}^2\text{s}$)	Aydınlık/karanlık süresi	Sıcaklık ($^{\circ}\text{C}$)	Tuzluluk (psu)	μ (g^{-1})	Referans
<i>Cylindrotheca closterium</i>	f/2	88	12:12	18 \pm 1	35	1,47	Bu çalışma
<i>Cylindrotheca closterium</i>	f	180	14:10	20	30	0,82	Affan vd., (2009)
<i>Cylindrotheca closterium</i>	f/2	20	14:10	15 \pm 1	35	0,171	Ruivo vd., (2011)
<i>Cylindrotheca closterium</i>	f/2	40	24:0	22 \pm 2	-	0,209	Demirel, (2016)
<i>Cylindrotheca closterium</i>	Kester	35	24:0	25	22	0,97	Bergeijk vd., (2003)
<i>Thalassiosira allenii</i>	f/2	40	24:0	11	-	1,127	Aydın vd., (2009)
<i>Arthrospira (Spirulina) platensis</i>	Zarrouk ve f/2	50	24:0	22 \pm 2	-	0,2395 \pm 0,013	Demirel vd., (2018)
<i>Phaodactylum tricornutum</i>	Zarrouk ve f/2	50	24:0	22 \pm 2	-	0,1996 \pm 0,003	Demirel vd., (2018)
<i>Hantzchia amphioxys</i>	f/2	52	24:0	18	-	1,711 çiftlenme/gün	Kutlu ve Büyükişik, (2010)

Bu çalışmada reaktif fosfat için hesaplanan en yüksek μ_{max} değeri 2,1 \pm 0,05 gün⁻¹ ve K_s değeri 0,25 \pm 0,04 $\mu\text{M PO}_4\text{-P}$ olarak bulunmuştur. 0,25 \pm 0,04 $\mu\text{M PO}_4\text{-P}$ 'den daha düşük konsantrasyonlarda büyümenin sınırlanması söz konusudur. 36,76 $\mu\text{M PO}_4\text{-P}$ konsantrasyonuna kadar spesifik büyüme hızında artış gözlenmiştir. Kükrer vd., (2010) *Thalassiosira* sp. ile yaptıkları çalışmada 38,9 $\mu\text{M PO}_4\text{-P}$ konsantrasyonuna kadar en yüksek hücre konsantrasyonunun gözlemlendiğini, daha yüksek konsantrasyonlarda ise büyümenin durduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmada tür için elde edilen μ değeri 1,73 gün⁻¹ olarak bulunurken, K_s değeri 2,018 $\mu\text{M PO}_4\text{-P}$ olarak elde edilmiştir (Tablo 4).

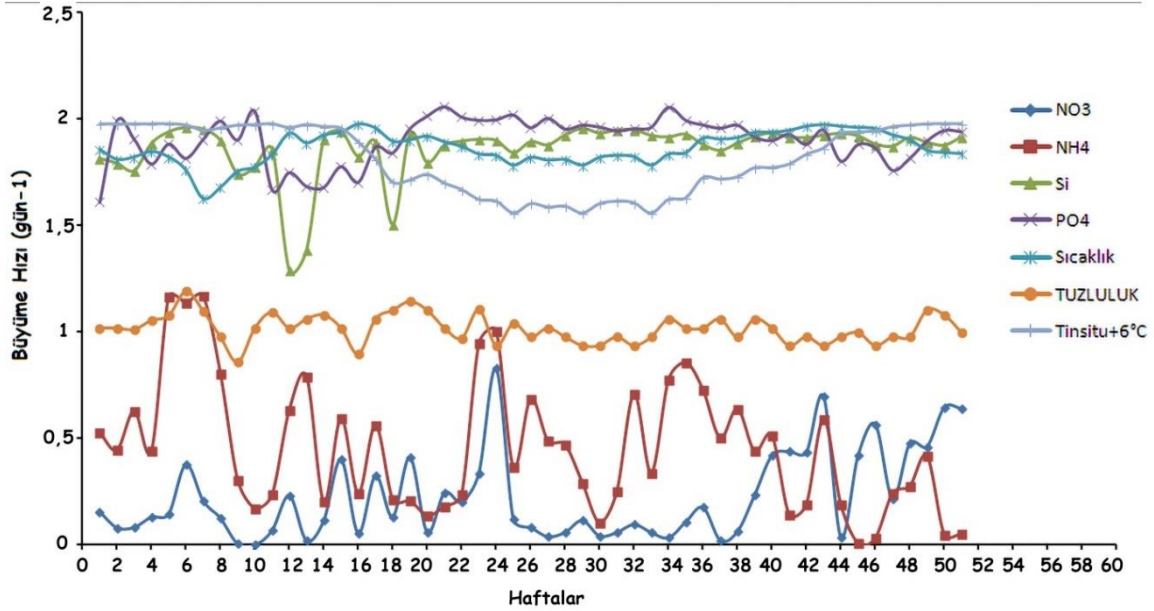
Başka bir çalışmada ise fosfat konsantrasyonlarının artışıyla *T. allenii* türünün spesifik büyüme hızında artış

gözlenmiştir (Şişman Aydın vd., 2014). *Chaetoceros simplex* türünün spesifik büyüme hızı 90,5 μM fosfat konsantrasyonuna kadar artış göstermiş ve sonrasında azalmıştır (Hemalatha vd., 2014). Ancak Sunlu vd. (2006) *C. closterium* ile yaptıkları çalışmada fosfat konsantrasyonlarının artışı ile spesifik büyüme hızında azalış gözlemlenmiştir. İzmir İç Körfezi'nde fosfat konsantrasyonu 12,86 $\mu\text{M PO}_4\text{-P}$ (Aydın Gençay ve Büyükişik, 2006) ve yıl boyunca 0,26-12 $\mu\text{M PO}_4\text{-P}$ (Tümer, 2012) aralığında ölçülmüştür.

Bu çalışmada reaktif silis için elde edilen μ_{max} (gün⁻¹) ve K_s değerleri Tablo 4'teki gibidir. 0,3 \pm 0,24 $\mu\text{M Si}$ 'den daha düşük konsantrasyonlarda sınırlayıcılığın arttığı görülmektedir. *T. allenii* türü ile yapılan bir çalışmada (Şişman Aydın vd., 2014) silikat konsantrasyonu artışı, büyüme hızının azalmasıyla sonuçlanmıştır.

Tablo 4. *Cylindrotheca closterium* ve diğer diatom türleri için bazı nütrientler için elde edilen $\mu(g^{-1})$ ve K_s değerleri
Table 4. Values of $\mu(g^{-1})$ ve K_s of *Cylindrotheca closterium* and other diatom species for some nutrients

Besin Tür	NH ₄ ⁺ -N		NO ₃ -N		RP		RSi		Referans
	μ_{max} (g ⁻¹)	K _s (μM)	μ_{max} (g ⁻¹)	K _s (μM)	μ_{max} (g ⁻¹)	K _s (μM)	μ_{max} (g ⁻¹)	K _s (μM)	
<i>Cylindrotheca closterium</i>	-	-	-	-	-	-	4,32	9,58	Sunlu vd., (2006)
<i>Cylindrotheca closterium</i>	2,48±0,61	17,84±14,4	1,92±0,3	27,3± 19,04	2,1±0,05	0,25±0,04	1,97±0,20	0,3±0,24	Bu çalışma
<i>Thalassiosira allenii</i>	1,034 (1)	0,05 (1)	0,93 (1)	0 (1)	0,972 (2)	0,544 (2)	0,989 (2)	-0,615 (2)	Şişman Aydın vd., (2013) (1); Şişman Aydın vd., (2014) (2)
<i>Skeletonema costatum</i>	1,97 (μ)	-	2,34	6,9	1,70 (μ)	-	2,06 (μ)	-	Kükrer vd., (2010)
<i>Thalassiosira</i> sp.	1,25 (μ)	-	0,97 (μ)	-	1,73	2,018	1,49 (μ)	-	Kükrer vd., 2010



Şekil 10. Büyüme hızının haftalık periyotlarla yıl boyunca değişimleri (Sıcaklık, salinite, nütrient konsantrasyonları ((Sunlu vd., (2007)'den alınmıştır)) kullanılarak büyüme hızları bu çalışma için hesaplanmıştır.)

Figure 10. Changes in growth rate throughout the year at weekly intervals (Growth rates are calculated for this research by using temperature, salinity and nutrient concentrations of Sunlu et al., (2007))

Bu çalışmada ise 107 μM Si konsantrasyonuna kadar türün spesifik büyüme hızında artış gözlenmiştir. Benzer şekilde Sunlu vd. (2006)'nin yaptıkları çalışmada *C. closterium* türünün spesifik büyüme hızları artan silikat konsantrasyonları ile artış göstermiştir. İzmir Körfezi nütrient konsantrasyonlarının yıl boyunca ölçüldüğü bir diğer çalışmada silikat konsantrasyonları en az 0,96 μM, en yüksek olarak ise 35 μM olarak ölçülmüştür (Tümer, 2012).

Şekil 10'da besin konsantrasyonları (nitrat, amonyak, silis ve fosfor), sıcaklık ve tuzluluğun haftalık değişimleri ile *Cylindrotheca closterium* türünün büyüme hızının değişimleri verilmiştir (sıcaklık, salinite ve nütrient konsantrasyonları (Sunlu vd., (2007)'den alınmıştır)) kullanılarak büyüme hızları bu çalışma için hesaplanmıştır. Yılın ilk 5 haftası ile 9, 10, 13, 16, 20, 26-28, 30-34, 37, 38, 44. haftalarında azalan nitrat ile

büyüme sınırlanıyorsa da amonyumun artışı (nitrifikasyonun sürecinin azalmasına karşın bozunma süreçleri ile amonyum temini) azot eksikliğini gidermektedir. Sadece 20 ve 30'uncu haftalarda türün büyüme hızı azalan azot temini nedeniyle aşırı düşmektedir. Bu çalışma sonuçları ortamdaki sınırlayıcı besinin azot olduğunu göstermektedir. **Kükrer vd. (2010)** İzmir Körfezi'nde *Skeletonema costatum* türü için nitratın sınırlayıcılığı; **Sunlu vd. (2006)** $>10 \mu\text{M NO}_3\text{-N}$ ve $>5 \mu\text{M RP}$ konsantrasyonlarının *C. closterium* için büyüme sınırlayıcı etki gösterdiğini; **Şişman Aydın vd. (2013)** ise amonyumun *T. allenii* türü üzerinde sınırlayıcı etkisi olduğunu bildirmiştir.

KAYNAKÇA

- Affan, A., Heo, S. J., Jeon, Y. J. & Lee, J. B. (2009). Optimal Growth Conditions and Antioxidative Activities of *Cylindrotheca closterium* (Bacillariophyceae). *Journal of Phycology*, 45(6), 1405–1415. DOI: [10.1111/j.1529-8817.2009.00763.x](https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.2009.00763.x)
- Ak, I., Cirik, S. & Goksan, T. (2008). Effect of Light Intensity, Salinity and Temperature on Growth in Camalt Strain of *Dunaliella viridis* Teodoresco from Turkey. *Journal of Biological Sciences*, 8(8), 1356-1359. DOI: [10.3923/jbs.2008.1356.1359](https://doi.org/10.3923/jbs.2008.1356.1359)
- Aydın, H. (1993). İzmir Körfezi fitoplanktonunun gelişimi üzerine sınırlayıcı faktörler [Yayımlanmamış Yüksek Lisans Tezi Ege Üniversitesi], 94 s.
- Aydın Gençay, H. & Büyüksık, B. (2006). Dem Limanında (Çandarlı Körfezi, Ege Denizi) Fitoplankton Populasyon Dinamiği Üzerine Araştırmalar. *Su Ürünleri Dergisi*, 23(1-2), 43-53.
- Aydın, G.Ş., Kocataş, A. & Büyüksık, B. (2009). Effects of light and temperature on the growth rate of potentially harmful marine diatom: *Thalassiosira allenii* Takano (Bacillariophyceae). *African Journal of Biotechnology*, Vol.8 (19): 4983-4990
- Aydın, G.Ş. & Büyüksık, B. (2014). Effects on The Species Specific Variables Nutrient Pulses: *Thalassiosira allenii* (Takano). *Journal of Tekirdag Agricultural Faculty*. 11(3): 82-90.
- Bergeijk, S.A.V., der Zee, C.V. & Stal, L.J. (2003). Uptake and Excretion of Dimethylsulphoniopropionate is Driven by Salinity Changes in the Marine Benthic Diatom *Cylindrotheca closterium*. *European Journal of Phycology*. 38, 341–349. DOI: [10.1080/09670260310001612600](https://doi.org/10.1080/09670260310001612600)
- Burmester, D.E. (1979). The Unsteady Continuous Culture of Phosphate-limited *Monochrysis lutheri* Droop: Experimental and Theoretical Analysis. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 39(2), 167-186. DOI: [10.1016/0022-0981\(79\)90012-1](https://doi.org/10.1016/0022-0981(79)90012-1)
- Büyüksık, B., Gökpinar, Ş. & Parlak, H. (1995). İzmir Körfezi Planktonunu Kontrol Eden Faktörler ve Ekolojik Modellemesi, TÜBİTAK Proje No: DEBAG 33, 97s, İzmir.
- Coutteau, P. (1996). Micro-algae. In P. Lavens, P. Sorgeloos (Eds.) *Manual on the Production and Use of Live Food for Aquaculture* (pp. 7-47). Rome, Italy: FAO Fisheries Technical Paper No. 361
- Demirel, Z. (2016). Identification and Fatty Acid Composition of Coccolithophore and Diatom Species Isolated from Aegean Sea. *Romanian Biotechnological Letters*. 21(4), 11746- 11753.
- Demirel, Z., Tok, R., İltir, I., Akyıl, S., Erdoğan, A., Koç, M., Kaymak Ertekin, F. & Conk Dalay, M. (2018). Biyokütle için Mikroalg ve Siyanobakteri'nin Büyük Ölçekli Üretimi. *Aquatic Research*, 1(2), 64-76. DOI: [10.3153/AR18008](https://doi.org/10.3153/AR18008)
- Doney, S.C., Ruckelshaus, M., Duffy, J.E., Barry, J.P., Chan, F., English, C.A., Galindo, H.M., Grebmeier, J.M., Hollowed, A.B., Knowlton, N., Polovina, J., Rabalais, N.N., Sydeman, W.J. & Talley, L.D., (2012). Climate Change Impacts on Marine Ecosystems. *Annual Reviews of Marine Science*, 4, 11-37. DOI: [10.1146/annurev-marine-041911-111611](https://doi.org/10.1146/annurev-marine-041911-111611)
- Egemen, Ö. (2011). *Su kalitesi*. İzmir: Ege Üniversitesi Basımevi. 153 s.
- Eppley, R.W., Rogers, J.N. & Maccarthy, J.J. (1969). Half-saturation Constants for Uptake of Nitrate and Ammonium by Marine Phytoplankton. *Limnology and Oceanography*, 14, 912-920. DOI: [10.4319/lo.1969.14.6.0912](https://doi.org/10.4319/lo.1969.14.6.0912)
- Erdik, E. (1971). Mekanik ve maddenin özellikleri problemleri. Ankara: Ankara Üniversitesi Basımevi. 337 s.
- Erdogan, Ş. (2016). Impacts of eutrophication and climate change on phytoplankton community structure, size diversity and phytoplankton based ecological status [Doctoral dissertation, Middle East Technical University] 176 pp. <http://etd.lib.metu.edu.tr/upload/12620592/index.pdf>
- Fakhri, M., Arifin, N.B., Budiarto, B., Yuniarti, A. & Hariati, A.M. (2015). Effect of Salinity and Photoperiod on Growth of Microalgae *Nannochloropsis* sp. and *Tetraselmis* sp.. *Nature Environment and Pollution Technology*, 14(3), 563-566.
- Firiligos, N. & Gotsis-Skretas, O. (1989). Eutrophication and Red Tide in Aegean Coastal Waters, *Toxicological and Environmental Chemistry*, 24, 171–180. DOI: [10.1080/02772248909357487](https://doi.org/10.1080/02772248909357487)
- Guillard, R.R.L. (1973). Division rates. In J.R. Stein (Ed.), *Handbook of Phycological Methods* (pp. 289–311). New York: Cambridge University Press.
- Guillard, R.R.L. (1975). Culture of phytoplankton for feeding marine invertebrates. In W. L. Smith, M. H. Chanley (Ed.), *Culture of Marine Invertebrate Animals* (pp. 29–60). New York: Plenum Press. DOI: [10.1007/978-1-4615-8714-9_3](https://doi.org/10.1007/978-1-4615-8714-9_3)
- Hallegraeff, G.M. (2010). Ocean Climate Change, Phytoplankton Community Responses, and Harmful Algal Blooms: A Formidable Predictive Challenge. *Journal of Phycology*, 46(2), 220–235. DOI: [10.1111/j.1529-8817.2010.00815.x](https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.2010.00815.x)
- Harford, A.J., Hogan, A. C., Tsang, J.J., Parry, D.L., Negri, A.P., Adams, M. S., Stauber, J. & van Dam, R.A. (2011). Effects of Alumina Refinery Wastewater and Signature Metal Constituents at the Upper Thermal Tolerance of: 1. The Tropical Diatom *Nitzschia closterium*. *Marine Pollution Bulletin*, 62(3), 466–473. DOI: [10.1016/j.marpolbul.2011.01.013](https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2011.01.013)
- Harrison, P.J., Thompson, P.A., Guo, M. & Taylor F.J.R., (1993). Effects of Light, Temperature and Salinity on the Growth Rate of Harmful Marine Diatoms, *Chaetoceros convolutus* and *C. concavicornis* that Kill Netpen Salmon, *Journal of Applied Phycology*, 5, 259-265. DOI: [10.1007/BF00004028](https://doi.org/10.1007/BF00004028)
- Hemalatha, A., Karthikeyan, P., Girija, K., Saranya, C., Anantharaman P. & Sampathkumar, P. (2014). Effect of Nutrients on the Growth and Biochemical Composition of the Marine Diatom, *Chaetoceros simplex* (Ostenfeld, 1901). *International Journal of Phytopharmacy Research*, 5(1), 30-35.
- Horner, R. A. (2002). A taxonomic guide to some common phytoplankton. Biopress Limited, The Orchard, Clanage Road, Bristol, BS3 2JX, England, 195 pp.

- IPCC, (2007). Climate change 2007: Impacts, adaptation and vulnerability. In M.L. Parry, O.F. Canziani, J.P. Palutikof, P.J. van der Linden, C.E. Hanson, (Eds.), *Contribution of Working Group II to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change* (pp. 976). Cambridge, United Kingdom: Intergovernmental Panel on Climate Change 2007. Kale, A. & Karthick, B. (2015). The Diatoms- Big Significance of Tiny Glass Houses, *Resonance*, 20(10), 919-930.
- Kale, A. & Karthick, B. (2015). The Diatoms: Big Significance of Tiny Glass Houses. *Resonance*, 20(10), 919-930. DOI: [10.1007/s12045-015-0256-6](https://doi.org/10.1007/s12045-015-0256-6)
- Kitaya Y., Xiao, L., Masuda, A., Ozawa, T., Tsuda, M. & Omasa, K. (2008). Effects of Temperature, Photosynthesis Photon Flux Density, Photoperiod and O₂ and CO₂ Concentrations on Growth Rates of the Symbiotic Dinoflagellate, *Amphidinium* sp. *Journal of Applied Phycology*, 20(5), 287-292. DOI: [10.1007/s10811-008-9331-7](https://doi.org/10.1007/s10811-008-9331-7)
- Koray, T. (1992). Noxious blooms in the Bay of Izmir, Aegean Sea. UNESCO, IOC Newsletter on Toxic Algae and Algal Blooms, Suppl. to ims Newsletter, No.63, 2, 1-2.
- Kutlu, B. & Büyükişik, H.B. (2010). İzmir Homa Dalyanı'ndan İzole Edilen *Hantzchia amphioxys* (Ehrenberg) Grunow'un Gelişimi Üzerinde Sıcaklığın Etkisi. *Journal of Fisheries Sciences.com*, 4(4), 462-468. DOI: [10.3153/jfsc.com.2010050](https://doi.org/10.3153/jfsc.com.2010050)
- Kükrer, S., Sunlu, F. S., Buyukisik, B., Aydın, H. & Sunlu, U. (2010). Growth kinetics of two diatoms *Skeletonema costatum* and *Thalassiosira* sp. from Izmir Bay (Eastern Aegean Sea /Turkey). In: CIESM 39th Congress, Venice, Italy, May 2010, *Rapp. Comm. Int. Mer Medit.* 39, 379. DOI: [10.13140/2.1.2370.5280](https://doi.org/10.13140/2.1.2370.5280)
- Maddux, W.S. & Jones, R.F. (1964). Some Interactions of Temperature, Light Intensity, and Nutrient Concentration During the Continuous Culture of *Nitzschia closterium* and *Tetraselmis* sp. *Limnology and Oceanography*, 9, 79-86. DOI: [10.4319/lo.1964.9.1.0079](https://doi.org/10.4319/lo.1964.9.1.0079)
- Ohgai, M., Iwano, H. & Hoshijima, M. (1986). The Effect of the Environmental Factors on the Growth of Diatom *Cylindrotheca closterium* (Ehrenberg) Reimann et Lewin. *Nippon Suisan Gakkaishi*. DOI: [10.2331/suisan.52.1635](https://doi.org/10.2331/suisan.52.1635)
- Özkan, E.Y. & Büyükişik, B. (2012). Examination of Reactive Phosphate Fluxes in an Eutrophicated Coastal Area. *Environmental Monitoring and Assessment*, 184(6), 3443-3454. DOI: [10.1007/s10661-011-2198-0](https://doi.org/10.1007/s10661-011-2198-0)
- Ramirez, E.E., Gonzalez, M.A., Cifuentes, A.S., Inostroza, I. & Urrutia, R.E. (2015). Culture and Growth of Two Benthic Diatoms Species Isolated from the Salar del Huasco (North of Chile, 20° S) at Different Conditions of Temperature, Light and Nutrient. *Gayana Botanica*, 72(2), 165-176. DOI: [10.4067/S0717-66432015000200001](https://doi.org/10.4067/S0717-66432015000200001)
- Round, F.E., Crawford, R.M. & Mann, D.G. (1990). *The diatoms- Biology and morphology of the genera*. New York: Cambridge University Press.
- Ruivo, M., Amorim, A. & Cartaxana, P. (2011). Effects of Growth Phase and Irradiance on Phytoplankton Pigment Ratios: Implications for Chemotaxonomy in Coastal Waters. *Journal of Plankton Research*, 33(7), 1012-1022. DOI: [10.1093/plankt/fbr019](https://doi.org/10.1093/plankt/fbr019)
- Sabancı, F.Ç. & Koray, T. (2011). Annual Variation in the Diversity, Species Richness and Composition of the Phytoplankton Assemblages in the Izmir Bay (Eastern Aegean). *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 11, 303-313. DOI: [10.4194/trjfas.2011.215](https://doi.org/10.4194/trjfas.2011.215)
- Sisman Aydın, G. (2012). Interval Nutrient Pulses Responses of Competitive Culture Experiment: *Chaetoceros* sp. *Thalassiosira allenii* (Takano), *Gomphosphaeria* sp. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 11: 799-802. DOI: [10.3923/javaa.2012.799.802](https://doi.org/10.3923/javaa.2012.799.802)
- Stanbury, F.A. (1931). The Effect of Light of Different Intensities, Reduced Selectively and Non-selectively, upon the Rate of Growth of *Nitzschia closterium*. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*. 17, 633-653. DOI: [10.1017/S0025315400051900](https://doi.org/10.1017/S0025315400051900)
- Stock, W., Vanelslander, B., Rüdiger, F., Sabbe, K., Vyverman, W. & Karsten, U. (2019). Thermal Niche Differentiation in the Benthic Diatom *Cylindrotheca closterium* (Bacillariophyceae) Complex. *Frontiers in Microbiology*. 10, 1395. DOI: [10.3389/fmicb.2019.01395](https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01395)
- Sunlu, F.S., Büyükişik, B., Koray, T. & Sunlu, U. (2006). Growth Kinetics of *Cylindrotheca closterium* (Ehrenberg) Reimann and Lewin Isolated From Aegean Sea Coastal Water (İzmir Bay/Türkiye). *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 9(1), 15-21. DOI: [10.3923/pjbs.2006.15.21](https://doi.org/10.3923/pjbs.2006.15.21)
- Sunlu, U., Büyükişik, H.B., Koray, T., Bröckel, K., Sunlu, F.S., Sever, T.M., Aydın, H.G., Aksu, M., Aydın, A. & Orçun, E. (2007). Büyük Kanal Projesinin Aktif Hale Geçirilmesinin İzmir Körfezi Sularında Alt Besinsel Seviyeler Üzerine Etkileri, TÜBİTAK Proje No: 102Y116, 253s, Ankara.
- Şişman Aydın, G., Büyükişik, B. & Kocataş, A. (2013). Farklı Azot Kaynağının (NO₃ ve NH₄) Zararlı Denizel Diyatomu *Thalassiosira allenii* Takano (Bacillariophyceae) Büyümesi Üzerine Etkisi. *Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 10(3): 90-96.
- Şişman Aydın, G., Büyükişik, B. & Kocataş, A. (2014). Fosfat ve Silikatın Zararlı Denizel Diyatom Büyümesi Üzerine Etkisi: *Thalassiosira allenii* Takano (Bacillariophyceae). *Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 11(1): 44-52.
- Treydte, K. S., Schleser, G. H., Helle, G., Frank, D. C., Winiger, M., Haug, G. H. & Esper, J. (2006). The Twentieth Century was the Wettest Period in Northern Pakistan over the Past Millennium. *Nature*, 440, 1179-1182. DOI: [10.1038/nature04743](https://doi.org/10.1038/nature04743)
- Tümer, T. (2012). Günlük fitoplankton değişimi İnciraltı, İzmir Körfezi. Dokuz Eylül Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir, 108.
- Walther, G.R., Post, E., Convey, P., Menzel, A., Parmesan, C., Beebee, T. J., Fromentin, J.M., Hoegh-Guldberg, O. & Bairlein, F. (2002). Ecological Responses to Recent Climate Change. *Nature*, 416, 389-395. DOI: [10.1038/416389a](https://doi.org/10.1038/416389a)
- Williams, R.B. (1964). Division Rates of Salt Marsh Diatoms in Relation to Salinity and Cell Size. *Ecology*, 45, 877-880. DOI: [10.2307/1934940](https://doi.org/10.2307/1934940)
- Ying Du, G., Oak, H.J., Li, H. & Chung, I.K. (2010). Effect of Light and Sediment Grain Size on the Vertical Migration of Benthic Diatoms. *Algae*. 25(3), 133-140. DOI: [10.4490/algae.2010.25.3.133](https://doi.org/10.4490/algae.2010.25.3.133)

Antibacterial activity of some essential oils against *Vagococcus salmoninarum*

Vagococcus salmoninarum'a karşı bazı uçucu yağların antibakteriyel aktivitesi

Seçil Metin^{1*} • Zühre Işıl Biçer²

¹Department of Aquaculture, Faculty of Fisheries, Isparta University of Applied Sciences, 32260 Isparta, Turkey

<https://orcid.org/0000-0002-8029-5624>

²Department of Aquaculture, Faculty of Fisheries, Isparta University of Applied Sciences, 32260 Isparta, Turkey

<https://orcid.org/0000-0003-3669-5214>

Corresponding author: secil_ekici@yahoo.com

Received date: 08.10.2019

Accepted date: 24.12.2019

How to cite this paper:

Metin, S. & Biçer, Z.I. (2020). Antibacterial activity of some essential oils against *Vagococcus salmoninarum*. *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 37(2), 167-173. DOI: [10.12714/egejfas.37.2.07](https://doi.org/10.12714/egejfas.37.2.07)

Abstract: In this study, essential oils of thyme (*Origanum vulgare*), St. John's Wort (*Hypericum perforatum*), rosemary (*Rosmarinus officinalis*), ginger (*Zingiber officinale*), clove (*Eugenia caryophyllata*), peppermint (*Menta piperita*), lavender (*Lavandula hybrida*) and black cumin (*Nigella sativa*) were screened for its chemical composition and *in vitro* antibacterial activity against *Vagococcus salmoninarum*. The composition of oils were analysed using GC/MS. Antibacterial effects of essential oils against *V. salmoninarum* were detected by agar diffusion and tube dilution assays. Thyme (125 µL ml⁻¹ MIC) and clove (500 µL ml⁻¹ MIC) essential oils were shown to possess strong antibacterial activity against *V. salmoninarum*. The main components of effective essential oils were carvacrol (63.57 %) and eugenol (85.99 %), respectively. As a result, these two plant species that tested against *V. salmoninarum* which is causative agent of vagococcosis can be used as an antibacterial agent. For this purpose, *in vivo* antibacterial activities against vagococcosis of thyme and clove essential oils should be explored in the further studies.

Keywords: Antibacterial activity, *Vagococcus salmoninarum*, essential oil, agar diffusion, minimal inhibitory concentration (MIC)

Öz: Bu çalışmada, kekik (*Origanum vulgare*), sarı kantaron (*Hypericum perforatum*), biberiye (*Rosmarinus officinalis*), zencefil (*Zingiber officinale*), karanfil (*Eugenia caryophyllata*), nane (*Menta piperita*), lavanta (*Lavandula hybrida*) ve çörek otu (*Nigella sativa*)'dan elde edilen uçucu yağların kimyasal bileşimleri ve *Vagococcus salmoninarum*'a karşı *in vitro* antibakteriyel etkileri incelenmiştir. Uçucu yağların kimyasal kompozisyonu Gaz Kromatografisi/Kütle Spektrometresi (GC/MS) ile analizlenmiştir. *Vagococcus salmoninarum*'a karşı uçucu yağların antibakteriyel etkileri agar difüzyon ve tüp dilüsyon yöntemi ile belirlenmiştir. Kekik (125 µL/ml MİK) ve karanfil (500 µL/ml MİK) uçucu yağlarının *V. salmoninarum*'a karşı güçlü antibakteriyel etkinliğe sahip olduğu görülmüştür. Etki gösteren uçucu yağlarının ana bileşenleri sırasıyla karvakrol (% 63,57) ve eugenol (% 85,99) olarak tespit edilmiştir. Sonuç olarak, vagokokkozis hastalığı etkeni *V. salmoninarum*'a karşı test edilen iki bitki türünün de antibakteriyel ajan olarak kullanılabilirliği düşünülmektedir. Bu amaçla ilerki çalışmalarda, kekik ve karanfil uçucu yağlarının vagokokkozise karşı *in vivo* antibakteriyel etkinlikleri araştırılmalıdır.

Anahtar kelimeler: Antibakteriyel aktivite, *Vagococcus salmoninarum*, uçucu yağ, agar difüzyon, minimum inhibitör konsantrasyon (MİK)

INTRODUCTION

Generically known as streptococcosis, gram-positive coccal infections are now considered as one of the main problems to aquaculture production (Ghittino et al., 2003). Vagococcosis, also called cold water streptococcosis, is pathogenic to salmonid fish at water temperatures below 12 °C, and it is less widespread in aquaculture than other streptococcal infections (Eldar and Ghittino, 1999). Vagococcosis caused by *Vagococcus salmoninarum* is an important bacterial disease in the European rainbow trout industry in sub adult or adult fish, with mortality rates of 20–50%. Outbreaks in broodstocks are usually associated with post-spawning stress (Michel et al., 1997; Ghittino et al., 1999; Ruiz Zarzuela et al., 2005; Didinen et al., 2011).

V. salmoninarum has been reported in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in many European countries and in Australia (Tasmania) (Schmidtke and Carson 1994; Michel et al., 1997; Ghittino et al., 1999, 2004; Ruiz-Zarzuela et al., 2005; Salogni et al., 2007) and in Atlantic salmon (*Salmo salar*) and brown trout (*Salmo trutta*) in Norway (Schmidtke and Carson 1994). The disease has been also recorded in rainbow trout broodstocks in Turkey (Didinen et al., 2011; Tanrikul et al., 2014).

Antibiotic treatment of vagococcosis in the field has not been effective, although *V. salmoninarum* isolates are susceptible to several drugs such as ampicillin, amoxycillin, erythromycin, oxytetracycline and doxycycline tested *in vitro* (Michel et al., 1997; Ruiz Zarzuela et al., 2005; Didinen et al.,

2011). Treatments with antibiotics were effective only for short periods (5-7 days) and continuous application was necessary to reduce mortality.

High amounts of antibiotics are used for protection against bacterial fish diseases in the aquaculture sector in Turkey. The heavy use of antibiotics leads to the presence of its residues in fish. In addition, these antibiotic applications cause emergence of resistance in fish pathogens, including zoonotic fish bacteria. Zoonotic fish bacteria that develop resistance to antibiotics are more dangerous to humans and can cause infections that are difficult to treat (Avsever et al., 2010). Thus, it is necessary to determine and develop effective alternative protection methods against bacterial fish diseases. The use of herbal products to control of fish pathogens in aquaculture is an current practice. One of the herbal products is essential oils, which are natural components from plants that are generally recognized as safe substances. Due to their antimicrobial properties, these oils may constitute alternative prophylactic and therapeutic agents in aquaculture (Romero et al., 2012).

Phytochemicals such as phenolics, polysaccharides, proteoglycans and flavonoids may play a role in preventing or controlling infectious pathogens (Citarasu, 2010). Many essential oils and plant extracts have been shown to be effective against fish pathogens (Abutbul et al., 2005; Bansemir et al., 2006; Ekici et al., 2011; Haniiffa and Kavitha, 2012; Al Laham and Al Fadel, 2014; Öntaş et al., 2016; Diler et al., 2017a,b; Metin et al., 2017). These compounds may constitute alternative prophylactic and therapeutic agents in aquaculture because of their antibacterial properties. (Turker and Birinci Yildirim, 2015).

There are few studies on antibacterial effect of different essential oils against *Vagococcus salmoninarum* (Metin et al., 2017; Özay et al., 2018). The aim of this study, essential oils of thyme (*Origanum vulgare*), St. John's Wort (*Hypericum perforatum*), rosemary oil (*Rosmarinus officinalis*), ginger (*Zingiber officinale*), clove (*Eugenia caryophyllata*), peppermint (*Menta piperita*), lavandula (*Lavandula hybrida*) and black cumin (*Nigella sativa*) were screened for its chemical composition and *in vitro* antibacterial activity against *Vagococcus salmoninarum*.

MATERIAL AND METHODS

Essential oils

Essential oils of thyme (*Origanum vulgare*), St. John's Wort (*Hypericum perforatum*), rosemary oil (*Rosmarinus officinalis*), ginger (*Zingiber officinale*), clove (*Eugenia caryophyllata*), peppermint (*Menta piperita*), lavandula (*Lavandula hybrida*) and black cumin (*Nigella sativa*) were purchased from Botalife.

Gas chromatography-mass spectroscopy analyses of essential oils

The gas chromatographic analysis of essential oils was performed with a Hewlett-Packard 6890 series gas chromatograph (Perkin Elmer (PE) Auto System XL, Alameda, CA, USA), fitted with a flame ionization detector (FID). Relative percentage amounts were calculated from chromatograms by the Turbo Crom. Navigator computer program.

In vitro antibacterial assays

Antibacterial effects of essential oils against *V. salmoninarum* were detected by agar diffusion and tube dilution assays.

Agar difusion assay

V. salmoninarum was grown in TSB for 24 h at 25 °C, and 100 µL of bacteria culture was mixed into 100 mL of melted TSA. After solidifying and drying for 15–20 minute, wells were punched (diameter = 3 mm) and 25 µL of different concentrations prepared with 96% ethanol (the test concentrations: 1000, 500, 250, 125, 62.5, 31.25, 15.62 and 7.8 µl ml⁻¹) added to wells in triplicates. Controls were prepared using 96% ethanol. Plates were incubated at 25°C for 24h and observed for clearing zones around the wells. The concentrations of essential oils causing clearing zones were determined (NCCLS, 2001).

Tube dilution assay

The minimum inhibition concentration (MIC) of essential oils were determined by using the broth dilution method. The essential oil was dissolved in 96% ethanol and serially diluted (1000–0.01 µmL⁻¹). The ethanol was used as control. *V. salmoninarum* was cultured in TSA for 24 h at 25°C then diluted to a concentration of McFarland No.0.5. Then, *V. salmoninarum* was introduced into each tube under sterile conditions and incubated for 48h at 25 °C. After incubation, MIC values were recorded as the lowest concentration of the oils that completely inhibited bacterial growth (Park et al., 2016).

Statistical analysis

One-way analysis of variance and Duncan's multiple range tests were run to evaluate the differences using the SPSS software (Version 15, SPSS Inc., Chicago, IL, USA). The means and standard errors were calculated for each treatment. The accepted level of significance was 0.05.

RESULTS

In vitro antibacterial assays

In vitro antibacterial activities of the essential oils against *V. salmoninarum* were determined by the agar diffusion and tube dilution methods. The antibacterial activities of different essential oils against *V. salmoninarum* were summarized in Table 1 and 2. The antibacterial activity of thyme (*Origanum vulgare*), St. John's Wort (*Hypericum perforatum*), rosemary oil

(*Rosmarinus officinalis*), ginger (*Zingiber officinale*) and black cumin (*Nigella sativa*) were studied for the first time. A broad variation in antimicrobial properties of the tested essential oils was observed in the study.

The essential oils of thyme and clove showed strong antimicrobial activity at different concentrations against *V.*

salmoninarum, whereas other essential oils did not show any antibacterial activity. The maximum inhibition zones and MIC values of the essential oils of thyme and clove against *V. salmoninarum* were in the range of 20.33-18 mm and 125-1000 $\mu\text{l ml}^{-1}$, 17.83-18.66 mm and 500-1000 $\mu\text{l ml}^{-1}$, respectively (Table 1, 2).

Table 1. Antibacterial activity of essential oils against *V. salmoninarum* by the agar diffusion assay (The diameter of the zone of inhibition, mm)

Concentration $\mu\text{l ml}^{-1}$	Thyme	Clove	Ginger	Peppermint	Rosemary	Lavandula
1000	18±2,0 ^{ab}	18.66±0,57 ^a	5.66 ±0,57	6.66±0,57 ^{ab}	-	-
500	20±1,0 ^a	17.83±0,76 ^a	5.66 ±0,57	6±1,0 ^{bc}	-	-
250	18±1,0 ^{ab}	11.66±1,52 ^b	5.66 ±0,57	7.83±0,28 ^a	-	-
125	20.33±1,52 ^a	11.83±0,28 ^b	6±00	6.83±0,76 ^{ab}	-	-
62.5	17±1,0 ^b	11±0 ^b	-	6.5±0,5 ^{bc}	-	-
31.25	12.66±1,52 ^c	8.66±0,57 ^c	-	5.33±0,57 ^c	-	-
15.62	10.66±1,52 ^c	7.16±0,28 ^d	-	-	-	-
7.8	8.16±0,28 ^d	5.83±0,76 ^e	-	-	-	-

Table 2. Minimum inhibitory concentration of essential oils against *V. salmoninarum* ($\mu\text{l ml}^{-1}$)

Concentration $\mu\text{l ml}^{-1}$	Thyme	Clove	Ginger	Peppermint	Rosemary	Lavandula
1000	-	-	-	-	+	+
500	-	-	+	+	+	+
250	-	+	+	+	+	+
125	-	+	+	+	+	+
62.5	+	+	+	+	+	+
31.25	+	+	+	+	+	+
15.62	+	+	+	+	+	+
7.8	+	+	+	+	+	+
3.9	+	+	+	+	+	+
1.95	+	+	+	+	+	+
0.97	+	+	+	+	+	+
0.48	+	+	+	+	+	+
0.24	+	+	+	+	+	+
0.12	+	+	+	+	+	+
0.06	+	+	+	+	+	+
0.03	+	+	+	+	+	+
0.01	+	+	+	+	+	+

GC-MS Analysis

The results of the chemical analysis of effective essential oils are presented in Table 3. Twenty one components were identified in thyme oil and the main components were carvacrol

(63.57%) and cymol (16.09%). In clove oil, only five components were detected and the main components were eugenol (85.99%) and caryophyllene (10.89%).

Table 3. Chemical composition of thyme and clove essential oils

Essential oil	Component	Composition (%)	Retention Time (RT)
<i>Rosmarinus officinalis</i>	Thujene<alpha>	0.11	6.298
	Alpha pinene	12.85	6.566
	Camphene	5.01	7.121
	Pinene<beta>	8.48	8.160
	Beta.-Myrcene	1.31	8.585
	1-Phellandrene	0.10	9.321
	.DELTA.3-Carene	0.06	9.449
	Terpinene<alpha>	0.04	9.808
	Cymol	3.04	10.154
	Limonene	2.01	10.425
	1,8-Cineole	47.31	10.593
	Cis-Ocimene	0.05	10.712
	Gamma.-Terpinen	0.87	11.815
	Alpha.-Terpinolen	0.07	13.253
	Linalyl acetate	0.14	14.044
	Camphor	12.04	16.706
	Isoborneol	0.06	17.680
	Borneol	2.62	18.229
	Trans-4-Thujanol	0.20	18.789
	.BETA. FENCHYL ALCOHOL	2.17	19.724
Bornyl acetate	1.00	25.500	
Caryophyllene	0.47	34.107	
<i>Menta piperita</i>	Isopulegol & p-Menthen-3-ol	1.98	16.820
	Menthone	24.20	17.329
	Isomenthone (CAS) p-Menthan-3-one	9.28	17.828
	Neoisomenthol	11.35	18.199
	Isopulegone	0.77	18.473
	Menthol	44.76	18.830
	ALPHA. TERPINEOL	0.81	19.735
	Pulegone	3.91	22.428
	Piperitone	0.80	23.409
	Neomenthol acetate	2.03	25.961
	Beta.-Bourbonene	0.05	31.855
	Trans- Caryophyllene	0.05	34.109
	<i>Origanum vulgare</i>	Thujene<alpha>	1.67
.ALPHA.-PINENE, (-)-		1.88	6.549
2,4(10)-thujadien		0.14	6.869
Camphene		1.67	7.111
2-.BETA.-PINENE		0.75	8.147
.beta.-Myrcene		1.30	8.576
1-Phellandrene		0.17	9.310
.DELTA.3-Carene		0.09	9.435
.ALPHA. TERPINENE		1.28	9.792
Cymol		16.09	10.148
Limonene		0.56	10.378
EUCALYPTOL (1,8-CINEOLE)		0.87	10.508
.gamma.-Terpinene		2.65	11.808
Trans-4-Thujanol		1.36	12.394
.ALPHA.-TERPINOLENE		0.21	13.243
Borneol		2.56	18.209
Trans-Sabinene hydrate		0.84	18.780
.BETA. FENCHYL ALCOHOL		0.26	19.722
Thymol	0.24	26.050	
Carvacrol	63.57	26.715	
Caryophyllene	1.86	34.113	

<i>Zingiber officinale</i>	.ALPHA.-PINENE, (-)-	2.07	6.538
	Camphene	7.07	7.108
	BETA.-PINENE	0.22	8.133
	6-Methyl-5-hepten-2-one	0.51	8.325
	.beta.-Myrcene	0.67	8.573
	1-Phellandrene	5.05	10.434
	EUCALYPTOL (1,8-CINEOLE)	3.05	10.496
	Linaly formate	0.10	14.031
	BORNEOL L	0.94	18.204
	.BETA. FENCHYL ALCOHOL	0.39	19.697
	Copaene <alpha->	0.47	31.390
	Geranyl butyrate	0.22	31.797
	.BETA. ELEMENE	0.74	32.344
	Sesquithujene <7-epi->	0.21	33.308
	GERMACRENE-D	1.02	37.998
	Curcumene	11.65	38.229
	Alloaromadendrene	1.19	38.933
	Zingiberene	37.18	39.215
	Farnesene <(E,E)-, alpha->	4.07	39.851
	Bisabolene	7.95	39.954
Cedrene	13.50	40.898	
Patchoulene <alpha->	0.34	41.039	
	0.29	42.204	
Germacrene B	0.49	42.687	
d-Nerolidol	0.27	43.160	
.alpha.-Cedrol	0.31	46.220	
<i>Eugenia caryophyllata</i>	Chavicol\$\$\$ p-Allylphenol	0.12	23.455
	Eugenol	85.99	30.381
	Caryophyllene	10.89	34.199
	Alpha.-Humulene	2.45	36.388
	(-)-Caryophyllene oxide	0.54	44.036
<i>Lavandula hybrida</i>	Alpha-Pinene	0.26	6.551
	Camphene	0.26	7.116
	Beta-Pinene	0.21	8.149
	3-Octanone (CAS) EAK	0.93	8.373
	Beta-Myrceneethanoate	0.84	8.583
	Ethanoate <hexyl->	1.04	9.536
	Limonene	0.85	10.379
	1,8-Cineole	4.95	10.505
	Cis-Ocimene	0.95	10.699
	Trans-.beta.-Ocimene	2.30	11.224
	ALPHA.-TERPINOLEN	0.24	13.257
	Linalool	42.31	14.164
	Camphor	5.16	16.657
	Propanoic acid, 2-methyl-, hexyl ester	0.24	16.901
	BORNEOL L	1.99	18.220
	Linalool	2.40	19.698
	Linalyl acetate	32.16	23.515
	Lavandulyl acetate	1.22	25.671
	Neryl acetate	0.45	31.800
	Caryophyllene	0.87	34.114
Farnesene <(E)-, beta->	0.28	36.573	
GERMACRENE-D	0.08	37.991	

DISCUSSION

Essential oils isolated from different aromatic plants are known to have a wide spectrum of antimicrobial activity (Hammer et al., 1999; Baydar et al., 2004). This activity is strongly correlated with the chemical structure of the most abundant essential oil component. The chemical composition of essential oils depends on climatic, seasonal and geographic conditions, harvest period. The chemical components of thyme and clove essential oils have been studied in literatures. The phenolic monoterpenes (carvacrol and thymol) are the most abundant constituent of the essential of *Origanum* species. The composition of *O. vulgare* essential oil has been characterized by several authors, with carvacrol as the major components (Goliaris et al., 2003; Viuda-Martos et al., 2007; Souza et al., 2008; De Martino et al., 2009; Derwich et al., 2010; Bejaoui et al., 2013; Stojkovic et al., 2013; Diler et al., 2017b). Other components have also been reported as important essential oil components, such as p-cymene, γ -terpinene, caryophyllene, spathulenol, thymoquinone and germacrene (Milos et al., 2000; Radusiene et al., 2005; Cleff et al., 2010; Teixeira et al., 2013). In another study, the main constituents of *O. vulgare* essential oils have been reported as thymol (13.7-85.9%) and carvacrol (1.5-63.0%) (Raina and Negi, 2014). In the present study, carvacrol (63.57%) and cymol (16.09%) were detected of main components of *O. vulgare* essential oil. However, thymol content (0.24%) found to be quite low. The major component of clove oil is usually considered to be eugenol, with β -caryophyllene and lesser amounts of other components such as benzyl alcohol, but the proportions vary widely (Chaieb et al., 2007; Guan et al., 2007; Xu et al., 2016). For example,

Prashar et al. (2006) found the content of eugenol to be 78%, with 13% β -caryophyllene, whereas Chaieb et al. (2007) found that eugenol was 88.58%, with β -caryophyllene at 1.39%. In this study, similarly eugenol (85.99%) and caryophyllene (10.89%) were determined as main components of clove oil.

In this study, antimicrobial effects of thyme, black cumin, ginger, rosemary oil and St. John's Wort against *Vagococcus salmoninarum* were investigated for the first time. The essential oils of thyme and clove showed strong antimicrobial activity at different concentrations against *V. salmoninarum*. However, St. John's Wort, rosemary oil, ginger, peppermint, lavender and black cumin essential oils did not show any antibacterial activity. In another study, cyclamen L. tuber extracts had been found to have moderate antibacterial activity against *V. salmoninarum* (Özay et al., 2018). Metin et al. (2017) noted that clove essential oil was showed a strong antimicrobial activity (MIC 1000-125 μ l ml⁻¹) against *V. salmoninarum*.

In conclusion, thyme and clove essential oils displayed stronger inhibition zones against *V. salmoninarum*. This is a critical step in determining whether such essential oils are capable of reducing mortality caused by these pathogens. However, thyme and clove oil is needed further study to explore its therapeutic effects against vagococcosis

ACKNOWLEDGMENT

This study was financially supported by Suleyman Demirel University, Scientific Research Project Grant (SDU BAP 4031-YL1-14). This study is summarized from master thesis of Zühre Işıl Biçer.

REFERENCES

- Abutbul, S., Golan-Goldhirsh, A., Barazani, O., Ofir, R. & Zilberg, D. (2005). Screening of desert plants for use against bacterial pathogens in fish. *Israeli Journal of Aquaculture- Bamidgeh*, 57(2), 71-80.
- Al Laham, S. A. & Al Fadel, F. M. (2014). Antibacterial activity of various plants extracts against antibiotic-resistant *Aeromonas hydrophila*. *Jundishapur Journal of Microbiology*, 7(7), 1-7. DOI: [10.5812/jjm.11370](https://doi.org/10.5812/jjm.11370)
- Avsever, M. L., Türk, N. & Tunalıgil, S. (2010). The increase of antibiotic resistance in aquaculture and its effects on human health. *Bornova Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 32(46), 19-23.
- Bansemir, A., Blume, M., Schröder, S. & Lindequist, U. (2006). Screening of cultivated seaweeds for antibacterial activity against fish pathogenic bacteria. *Aquaculture*, 252(1), 79-84. DOI: [10.1016/j.aquaculture.2005.11.051](https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2005.11.051)
- Baydar, H., Sağdıç, O., Özkan, G. & Karadoğan, T. (2004). Antibacterial activity and composition of essential oils from *Origanum*, *Thymbra* and *Satureja* species with commercial importance in Turkey. *Food Control*, 15(3), 169-172. DOI: [10.1016/S0956-7135\(03\)00028-8](https://doi.org/10.1016/S0956-7135(03)00028-8)
- Bejaoui, A., Chaabane, H., Jemli, M., Boulila, A., & Boussaid, M. (2013). Essential oil composition and antibacterial activity of *Origanum vulgare* subsp. *glandulosum* Desf. at different phenological stages. *Journal of Medicinal Food*, 16(12), 1115-1120. DOI: [10.1089/jmf.2013.0079](https://doi.org/10.1089/jmf.2013.0079)
- Chaieb, K., Hajlaoui, H., Zmantar, T., Kahla-Nakbi, A. B., Rouabhia, M., Mahdouani, K. & Bakrouf, A. (2007). The chemical composition and biological activity of clove essential oil, *Eugenia caryophyllata* (Syzigium aromaticum L. Myrtaceae): a short review. *Phytotherapy Research*, 21(6), 501-506. DOI: [10.1002/ptr.2124](https://doi.org/10.1002/ptr.2124)
- Citarasu, T. (2010). Herbal biomedicines: a new opportunity for aquaculture industry. *Aquaculture International*, 18(3), 403-414. DOI: [10.1007/s10499-009-9253-7](https://doi.org/10.1007/s10499-009-9253-7)
- Cleff, M.B., Meinerz, A.R., Xavier, M., Schuch, L.F., Meireles, M.C.A., Rodrigues, M.R.A. & Mello, J.R.B.D. (2010). In vitro activity of *Origanum vulgare* essential oil against *Candida* species. *Brazilian Journal of Microbiology*, 41(1), 116-123. DOI: [10.1590/S1517-83822010000100018](https://doi.org/10.1590/S1517-83822010000100018)
- De Martino, L., De Feo, V., Formisano, C., Mignola, E. & Senatore, F. (2009). Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils from three chemotypes of *Origanum vulgare* L. ssp. *hirtum* (Link) Letswaart growing wild in Campania (Southern Italy). *Molecules*, 14(8), 2735-2746. DOI: [10.3390/molecules14082735](https://doi.org/10.3390/molecules14082735)
- Derwich, E., Benziane, Z., Manar, A., Boukir, A., & Taouil, R. (2010). Phytochemical analysis and in vitro antibacterial activity of the essential oil of *Origanum vulgare* from Morocco. *American-Eurasian Journal of Scientific Research*, 5(2), 120-129.
- Didinen, B. I., Kubilay, A., Diler, O., Ekici, S., Onuk, E. E. & Findik, A. (2011). First isolation of *Vagococcus salmoninarum* from cultured rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) broodstocks in Turkey. *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists*, 31(6), 235-243.
- Diler, O., Gormez, O., Diler, I. & Metin, S. (2017a). Effect of oregano (*Origanum onites* L.) essential oil on growth, lysozyme and antioxidant activity and resistance against *Lactococcus garvieae* in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Aquaculture Nutrition*, 23(4), 844-851. DOI: [10.1111/anu.12451](https://doi.org/10.1111/anu.12451)

- Diler, Ö., Görmez, Ö., Metin, S., İlhan, İ. & Diler, İ. (2017b). *Origanum vulgare* L. uçucu yağının gökkuşağı alabalıkları (*Oncorhynchus mykiss*)'nda büyüme, lizozim ve antioksidan aktivite ve *Vibrio anguillarum*'a karşı direnç üzerine etkisi. Süleyman Demirel Üniversitesi Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi Dergisi, 13(1), 42-57. DOI: 10.22392/egirdir.252029
- Ekici, S., Diler, Ö., Didinen, B.I. & Kubilay, A. (2011). Antibacterial activity of essential oils from medicinal plants against bacterial fish pathogens. Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 17(Supplement A), 47-54.
- Eldar, A. A. & Ghittino, C. (1999). *Lactococcus garvieae* and *Streptococcus iniae* infections in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*: similar, but different diseases. Diseases of aquatic organisms, 36(3), 227-231. DOI: 10.3354/dao036227
- Ghittino, C., Accornero, P., Prearo, M., Rogato, F., Zlotkin, A. & Eldar, A. (1999). Coldwater streptococcoses in salmonids, with particular reference to *Vagococcus salmoninarum* infection. Proceedings of Workshop in Fish Streptococcoses, IZS – State Veterinary Institute, Turin, Italy, 3.
- Ghittino, C., Agnetti, F., Panziera, C., Cabra, S., Colussi, S. & Prearo, M. (2004). L'infezione da *Vagococcus salmoninarum* della trota iridea in Italia. Ittiopatologia, 1, 25-33.
- Ghittino, C., Latini, M., Agnetti, F., Panziera, C., Lauro, L., Ciappelloni, R. & Petracca, G. (2003). Emerging pathologies in aquaculture: effects on production and food safety. Veterinary Research Communications, 27(1), 471-479. DOI: 10.1023/B:VERC.0000014204.37722.b6
- Goliaris, A. H., Chatzopoulou, P. S. & Katsiotis, S. T. (2003). Production of new Greek oregano clones and analysis of their essential oils. Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants, 10(1), 29-35. DOI: 10.1300/J044v10n01_04
- Guan, W., Li, S., Hou, C., Yan, R. & Ma, J. (2007). Determination and correlation of solubilities of clove oil components in supercritical carbon dioxide. Journal of Chemical Industry and Engineering, 58, 1077-1081.
- Hammer, K.A., Carson, C.F. & Riley, T.V. (1999). Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. The Journal of Applied Microbiology, 86(6): 985-990. DOI: 10.1046/j.1365-2672.1999.00780.x
- Haniffa, M.A. & Kavitha, K. (2012). Antibacterial activity of medicinal herbs against the fish pathogen *Aeromonas hydrophila*. Journal of Agricultural Technology, 8(1), 205-211.
- Kara, N. & Baydar, H. (2013). Determination of lavender and lavandin cultivars (*Lavandula* sp.) containing high quality essential oil in Isparta, Turkey. Turkish Journal of Field Crops, 18(1), 58-65.
- Kumar, P., Mishra, S., Malik, A. & Satya, S. (2011). Insecticidal properties of *Mentha* species: a review. Industrial Crops and Products, 34(1), 802-817. DOI: 10.1016/j.indcrop.2011.02.019
- Metin, S., Didinen, B.I., Mercimek, E.B. & Ersoy, A.T. (2017). Antibacterial Activity of Some Essential Plant Oils Against Some Bacterial Fish Pathogens. Aquaculture Studies, 17(1), 059-069. DOI: 10.17693/yunusae.v17i26557.280204Michel, C., Nougayrede, P., Eldar, A., Sochon, E., & De Kinkelin, P. (1997). *Vagococcus salmoninarum*, a bacterium of pathological significance in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* farming. Diseases of Aquatic Organisms, 30, 199-208. DOI: 10.3354/dao030199
- Milos, M., Mastelic, J. & Jerkovic, I. (2000). Chemical composition and antioxidant effect of glycosidically bound volatile compounds from Oregano (*Origanum vulgare* L. ssp. *hirtum*). Food Chemistry, 71, 79-83. DOI: 10.1016/S0308-8146(00)00144-8
- NCCLS, (2001). Testing; Eleventh Information Supplement. NCCLS document M100-S11 NCCLS, Pennsylvania, USA.
- Noori, S., Zeynali, F. & Almasi, H. (2018). Antimicrobial and antioxidant efficiency of nanoemulsion-based edible coating containing ginger (*Zingiber officinale*) essential oil and its effect on safety and quality attributes of chicken breast filets. Food Control, 84, 312-320. DOI: 10.1016/j.foodcont.2017.08.015
- Öntaş, C., Baba, E. & Kaplaner, E. (2016). Antibacterial activity of *Citrus limon* peel essential oil and *Argania spinosa* oil against fish pathogenic bacteria. Journal of the Faculty of Veterinary Medicine, Kafkas University, 22, 741-749. DOI: 10.9775/kvfd.2016.15311
- Özay, C., Ulukoy, G., Mammadov, R. & Sayin, Z. (2018). Radical scavenging activity and antibacterial effect of three cyclamen l. tuber extracts on some fish pathogens. SDÜ Journal of Natural and Applied Sciences, 22(2), 562-568. DOI: 10.19113/sdufbed.65047
- Park, J.W., Wendt, M. & Heo, G.J. (2016). Antimicrobial activity of essential oil of *Eucalyptus globulus* against fish pathogenic bacteria. Laboratory Animal Research, 32(2), 87-90. DOI: 10.5625/lar.2016.32.2.87
- Prashar, A., Locke, I.C. & Evans, C.S. (2006). Cytotoxicity of clove (*Syzygium aromaticum*) oil and its major components to human skin cells. Cell Proliferation, 39, 241-248. DOI: 10.1111/j.1365-2184.2006.00384.x
- Radusiene, J., Judpintenė, A., Peėiulytė, D. & Janulis, V. (2005). Chemical composition of essential oil and antimicrobial activity of *Origanum vulgare*. Biologija, 4, 53-58.
- Raina, A.P. & Negi, K.S. (2014). Chemical diversity among different accessions of *Origanum vulgare* L. ssp. *vulgare* collected from Central Himalayan region of Uttarakhand, India. Journal of Essential Oil Research, 26(6), 420-426. DOI: 10.1080/10412905.2014.948969
- Ribeiro-Santos, R., Carvalho-Costa, D., Cavaleiro, C., Costa, H.S., Albuquerque, T.G., Castilho, M.C., Ramos, F., Melo, M.R. & Sanches-Silva, A. (2015). A novel insight on an ancient aromatic plant: The rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.). Trends in Food Science & Technology, 45(2), 355-368. DOI: 10.1016/j.tifs.2015.07.015
- Romero, J., Feijóo, C. G. & Navarrete, P. (2012). Antibiotics in aquaculture—use, abuse and alternatives. Health and Environment in Aquaculture, 159-198. DOI: 10.5772/28157
- Ruiz-Zarzuela, I., De Blas, I., Girones, O., Ghittino, C. & Muzquiz, J.L. (2005). Isolation of *Vagococcus salmoninarum* in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), broodstocks: characterisation of the pathogen. Veterinary Research Communications, 29, 553-562. DOI: 10.1007/s11259-005-2493-8
- Salogni, C., Perantoni, P., Pitozzi, A., Loris, G. & Alborali, G.L. (2007). *Vagococcus salmoninarum*: descrizione di un focolaio di malattia in riproduttori di trota iridea (*Oncorhynchus mykiss*). Ittiopatologia, 4, 59-66.
- Schmidtke, L.N. & Carson, J. (1994). Characteristics of *Vagococcus salmoninarum* isolated from diseased salmonid fish. Journal of Applied Bacteriology, 77, 229-236. DOI: 10.1111/j.1365-2672.1994.tb03068.x
- Souza, E.L., Barros, J.C., Oliveira, C.E.V. & Conceicao, M.L. (2008). Influence of *Origanum vulgare* L. essential oil on enterotoxin production, membrane permeability and surface characteristics of *Staphylococcus aureus*. The International Journal of Food Microbiology, 137(2-3), 308-311. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2009.11.025
- Stojkovic, D., Glamočlija, J., Ćirić, A., Nikolić, M., Ristić, M., Šiljegović, J., & Sokovic, M. (2013). Investigation on antibacterial synergism of *Origanum vulgare* and *Thymus vulgaris* essential oils. Archives of Biological Sciences, 65(2), 639-643.
- Tanrikul, T., Avsever, M.L., Onuk, E.E. & Didinen, B.I. (2014). *Vagococcus salmoninarum*, a causative agent of disease in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) broodstocks in the aegean region of Turkey. Etlik Veterinary Microbiology Journal, 25, 11-16.
- Teixeira, B., Marques, A., Ramos, C., Serrano, C., Matos, O., Neng, N.R., Nogueira, J.M.F., Saraiva, J.A. & Nunes, M.L. (2013). Chemical composition and bioactivity of different oregano (*Origanum vulgare*) extracts and essential oil. The Journal of the Science of Food and Agriculture, 93, 2707-2714. DOI: 10.1002/jsfa.6089
- Turker, H. & Yildirim, A.B. (2015). Screening for antibacterial activity of some Turkish plants against fish pathogens: a possible alternative in the treatment of bacterial infections. Biotechnology & Biotechnological Equipment, 29(2), 281-288. DOI: 10.1080/13102818.2015.1006445
- Viuda-Martos, M., Ruiz-Navajas, Y., Fernandez-Lopez, J. & Perez-Alvarez, J.A. (2007). Chemical composition of the essential oils obtained from some spices widely used in mediterranean region. Acta Chimica Slovenica, 54, 921-926.
- Xu, J.G., Liu, T., Hu, Q.P. & Cao, X.M. (2016). Chemical composition, antibacterial properties and mechanism of action of essential oil from clove buds against *Staphylococcus aureus*. Molecules, 21(9), 1194. DOI: 10.3390/molecules21091194

Banyo yoluyla oksitetrasiklin uygulanan pullu sazan (*Cyprinus carpio*)' da paraoksonaz ve arilesteraz enzim aktivitelerindeki değişimlerin araştırılması

Investigation of changes in paraoxonase and arylesterase enzyme activities in scaly carp (*Cyprinus carpio*) applied oxytetracycline by bath

Ufuk Aker¹ • Serpil Mişe Yonar^{2*}

¹ İlçe Tarım ve Orman Müdürlüğü, Gölcük, Kocaeli

<https://orcid.org/0000-0003-4526-3966>

² Fırat Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi, 23119, Elazığ

<https://orcid.org/0000-0003-2736-5731>

Corresponding author: serpilmise@gmail.com

Received date: 12.09.2019

Accepted date: 06.01.2020

How to cite this paper:

Aker, U. & Yonar, S.M. (2020). Investigation of changes in paraoxonase and arylesterase enzyme activities in scaly carp (*Cyprinus carpio*) applied oxytetracycline by bath. *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 37(2), 175-180. DOI: [10.12714/egejfas.37.2.08](https://doi.org/10.12714/egejfas.37.2.08)

Öz: Bu çalışmada, pullu sazan (*Cyprinus carpio*)'a farklı konsantrasyonlarda uygulanan oksitetrasiklinin paraoksonaz (PON) ve arilesteraz (ARE) enzim aktivitelerine etkisinin ortaya çıkarılması amaçlandı. Bu amaçla oksitetrasiklin 50 ve 75 mg/L konsantrasyonlarında 48 saat süreyle banyo tarzında balıklara uygulandı. Oksitetrasiklin uygulamasından sonraki 7., 14. ve 21. günlerde kontrol ve deneme grubunda balıklardan karaciğer ve serum örnekleri alındı. Alınan örneklerde PON ve ARE enzim aktivitelerindeki değişimler belirlendi. Oksitetrasiklin uygulanan grupların karaciğer ve serumundaki PON ve ARE enzim aktiviteleri kontrol grubuna kıyasla azaldı. Bu azalma 7., 14. ve 21. günlerde kontrol grubundan istatistiksel olarak farklı bulundu.

Anahtar kelimeler: Arilesteraz, *Cyprinus carpio*, enzim, oksitetrasiklin, paraoksonaz

Abstract: In this study, it was aimed to reveal the effects on paraoxonase (PON) and arylesterase (ARE) enzyme activities of oxytetracycline applied in different concentrations in scaly carp (*Cyprinus carpio*). For this purpose, oxytetracycline at doses of 50 and 75 mg/L was applied by bathing for 48 hours. On the 7th, 14th and 21st days after the application of oxytetracycline, liver and serum samples were taken from the fish in the control and experimental groups. Changes in the PON and ARE enzyme activities were determined in the liver and serum samples which collected from the fish. The PON and ARE activities in the liver and serum decreased in the groups exposed to oxytetracycline compared to that of the control group. This reduction was statistically different from the control group on 7, 14 and 21 days.

Keywords: Arylesterase, *Cyprinus carpio*, enzyme, oxytetracycline, paraoxonase

GİRİŞ

Su ürünleri sektörü günümüzde önemli üretim sektörlerinden birisi olmakla birlikte entansif yetiştiricilikte balıkların yoğun stoklanması hastalık riskini ve problemlerini artırmaktadır. Hasta balıklar tedavi edilmediği takdirde balık ölümlerinden dolayı büyük ekonomik kayıplar oluşabilmektedir (Arda vd., 2005). Balık yetiştiriciliğinde hastalıklara karşı etkin tedavi yöntemlerinin belirlenmesi oldukça önemlidir. Bununla birlikte entansif yetiştiricilikte hastalık oluşuktan sonra balıkları tedavi etmek uzun ve yorucu bir çalışmayı gerektirmektedir. Ayrıca tedavide başarı da çoğunlukla mümkün olamamaktadır (Arda vd., 2005).

Balıklarda görülen ve önemli ekonomik kayıplara yol açan bu enfeksiyonların tedavisi için çok çeşitli kemoterapötik maddeler uzun yıllardan beri kullanılmaktadır. Bu kemoterapötikler arasında önemli bir yer tutan oksitetrasiklin ilk olarak 1949 yılında Finlav tarafından *Streptomyces rimosus* kültürlerinden elde edilmiş tetrasiklin türevi bir antibiyotiktir. Etki spektrumları son derece geniş olduğu için önemli yan etkileri

ve dirençli bakteri suşları ortaya çıkmış olmasına rağmen ülkemizde veteriner hekimlikte ve akuakültürde halen en çok kullanılan antibiyotikler arasındadır. Amfoter maddeler olduklarından dolayı asit ve bazlarla tuz oluşturabilirler. Tedavide asitlerle yaptıkları tuzları kullanılır ve en çok hidroklorür tuzu (terramisin) şeklinde bulunurlar. Renkleri açık sarı olup, kokusuz ve hafif acı bir tada sahiptirler (Kaya vd., 1997). Bakterilerde ribozomların 30S alt birimine bağlanan oksitetrasiklin ve diğer tetrasiklinler, aminoasit-tRNA'nın buraya bağlanmasını engelleyerek protein sentezini bozarlar. Böylece bakterinin üremesi ve gelişmesi yavaşlar ve oksitetrasiklin bakteriyostatik etki gösterir. Bunun yanı sıra hücre zarının yapısını değiştirip, nükleotit ve diğer bakteriyel yapıların hücreden dışarıya çıkmasını engelleyerek baskılayıcı etki gösterirler (Brander vd., 1982; Kayaalp., 1984; Kaya vd., 1997; Aktaş, 2016).

Geniş bir etki spektrumuna sahip olduğu için oksitetrasiklin neredeyse tüm bakteriyel balık hastalıklarının tedavisinde ilk akla gelen ve kullanılan ilaçtır. Vibriyoz, yersinyoz, furunkuloz,

streptokokkoz, mikobakterioz ve kolumnaris gibi birçok bakteriyel enfeksiyonların tedavisinde yaygın olarak kullanılan oksitetrasiklin, balıklara enjeksiyon, oral ve immersiye yöntemleriyle uygulanabilmektedir. Oral yolla genellikle 75 mg/kg balık dozunda ve 10 gün süreyle yeme karıştırılarak uygulanan oksitetrasiklin enjeksiyon yöntemiyle çoğunlukla tek doz olarak verilmektedir. Oksitetrasiklin balıklara ayrıca daldırma yöntemi ile de uygulanabilir. Bu yöntemdeki oksitetrasiklin dozu 5-120 mg/L arasındadır (Treves-Brown, 2000).

İlk olarak 1946 yılında Abraham Maruz tarafından keşfedilen paraoksonaz (PON) enzimi, 1991 yılında insan serumundan saflaştırmış ve enzimin hem PON hem de arilesteraz (ARE) aktivitesi gösterdiği belirlenmiştir (Mackness vd., 1987). PON/ARE enzim ailesinin üç formdan (paraoksonaz 1; PON1, paraoksonaz 2; PON2, paraoksonaz 3; (PON3) olduğu rapor edilmiştir (Gökçe, 2013). Kalsiyum bağımlı bir esteraz enzimi olan ve karaciğerde sentezlenen PON serumda yüksek dansiteli lipoprotein (HDL)'e bağlı olarak taşınır. Organofosfatları ve sinir gazlarını hidroliz edebilme kabiliyetindeki PON, bu özelliği nedeniyle toksikolojik çalışmalarda bir hayli değerlendirilmektedir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda PON enziminin yüksek bir antioksidan aktiviteye sahip olduğu ve HDL ile düşük dansiteli lipoproteini (LDL) ve makrofajları oksidasyondan koruyarak ateroskleroz gelişimini önlediği, bakteri endotoksinlerine karşı koruyucu etkisinin olduğu gösterilmiştir (Gan vd., 1991; Li vd., 1993; Mackness vd., 1996; Mackness vd., 1997; Azarsız ve Sönmez, 2000; Gürsu ve Özdin, 2002).

Balık hastalıklarının tedavisinde yaygın şekilde kullanılan oksitetrasiklinin balıklar üzerindeki etkileri, farklı balık türlerinde farklı parametreler kullanılarak yapılan birçok araştırmada gösterilmiştir. Bu çalışmada ise PON ve ARE enzim aktiviteleri kullanılarak oksitetrasiklinin pullu sazan (*Cyprinus carpio*)'da oluşturabileceği muhtemel toksik etkilerinin ortaya çıkarılması amaçlanmıştır.

MATERYAL VE METOT

Ortalama ağırlıkları 40 ± 5 g olan 270 adet pullu sazan (*Cyprinus carpio*) bu çalışmada kullanıldı. Balıklar Elazığ ili Keban ilçesindeki DSİ IX. Bölge Müdürlüğü Keban Su Ürünleri Şube Müdürlüğü'nden canlı olarak Fırat Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi'ne getirildi ve 540 L hacmindeki 3 farklı fiberglas tanka eşit olarak yerleştirildi. Tankaya yerleştirilmeden önce balıklar makroskopik olarak muayene edildi ve 30 dakika için 250 ppm formalinde banyo ettirildi. Tanklar denemeye başlamadan önce dezenfekte edildi. Tankların üstü balıkların kaçmasını önlemek amacıyla balık ağı kullanılarak örtüldü. Hava kompresörü yardımıyla tanklar sürekli havalandırıldı.

Canlı olarak getirilen ve makroskopik analizleri yapılan balıklar 540 L hacmindeki fiberglas tanklardan alınarak, 33 x 100 x 60 cm ebatlarında ve ayarlanabilen termostatlı ısıtıcılarla su sıcaklığı 23 ± 1 °C'ye ayarlanmış 9 adet cam akvaryuma (her bir tekrar için 3 akvaryum) yerleştirildi. Akvaryumlar hava kompresörü yardımıyla sürekli olarak havalandırıldı.

Çalışmada balıklara 750 mg oksitetrasiklin baza eşdeğer oksitetrasiklin hidroklorür uygulandı. Oksitetrasiklin veteriner ilaçları satan ticari bir firmadan (Medicavet) temin edildi. Oksitetrasiklinin kullanılan dozları Treves-Brown (2000)'a göre seçildi. Çalışma üç tekrarlı yürütüldü ve her bir tekrar için 90, toplamda ise 270 balık kullanıldı. Deneme 21 gün sürdü. Çalışma Fırat Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından onaylandı (Protokol No: 2018/41).

On beş günlük adaptasyon süresinden sonra aşağıdaki deneme grupları oluşturuldu.

K: Kontrol grubu;

D1: 50 mg/L konsantrasyonunda 48 saat süreyle banyo yoluyla oksitetrasiklin uygulanan grup;

D2: 75 mg/L konsantrasyonunda 48 saat süreyle banyo yoluyla oksitetrasiklin uygulanan grup.

Oksitetrasiklin uygulamasından sonraki 7., 14. ve 21. günlerde her bir tekrardan 10 balık alınarak 25 mg/L konsantrasyonundaki benzokain yardımıyla anestezi edildi (San ve Yonar, 2017). Anestezi altındaki balıkların pedüncül bölgesi insize edildi ve ardından kaudal venadan kan örnekleri alındı. Alınan kan örnekleri serumlarının çıkarılması için antikoagülant içermeyen jelli tüplere dolduruldu. Serumların elde edilmesi için kan örnekleri 3500 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi.

Kan örneklerinin alınmasını takiben balıkların tekrar makroskopik muayeneleri yapıldı. Daha sonra Arda vd. (2005)'in bildirdiği şekilde usulüne uygun olarak otopsi yapılan balıkların karaciğeri ayrılarak çıkarıldı. 0,5 gram olacak şekilde tartılan karaciğer örneklerinden homojenatlar hazırlandı. Bunun için karaciğer örnekleri %1,15'lik potasyum klorür (KCl) ile 1:10 oranında sulandırıldı ve daha sonra homojenize edildi. Homojenatların 3200 rpm'de +4 °C'de 10 dakika süreyle 50 ml'lik propilen tüplerdeki santrifüjünü takiben süpernatantlar alındı ve süpernatantlar enzim aktivitelerini ölçmek için kullanıldı (Mişe Yonar vd., 2014).

PON ve ARE aktiviteleri serum ve karaciğer örneklerinde spektrofotometrik olarak belirlendi. PON aktivitesini ölçmek için substrat olarak paraokson, ARE enzim aktivitesini ölçmek için ise fenilasetat kullanıldı. Enzim aktivitelerinin ölçülmesi için 100 µl substrat çözeltisi (2 mM paraokson + 2 mM koenzim CaCl₂) 850 µl Tris-HCl tamponu (100 mM, pH:8) ve 100 µl homjenat karıştırıldı. Absorbansta 1 dakika süresince meydana gelen değişim 37 °C'de 412 nm dalga boyunda okundu (Dubravka vd., 2001). Enzim aktivitelerini hesaplamak için hazırlanan standart grafikten faydalandı.

İstatistiksel analizler için SPSS 15.0 istatistik programından yararlanıldı. Grupların PON ve ARE aktiviteleri tek yönlü varyans analizi ile karşılaştırıldı. Gruplar arasındaki farklılığın belirlenmesi için ise Least Significant Difference (LSD) testi kullanıldı. Bağımlı gruplarda (günler için) istatistiksel farklılığı ortaya çıkarabilmek amacıyla tekrarlı ölçümlerde varyans analizi uygulandı.

BULGULAR

Adaptasyon ve deneme süresince balıklarda ölüm gerçekleşmedi. Balıklarda çalışma boyunca klinik olarak herhangi bir bulguya rastlanmadı. Kan alımını takiben otopsi edilen balıkların yapılan klinik muayenesinde bir bulguya karşılaşılmadı. Araştırma süresince sıcaklık, oksijen düzeyi ve pH' da önemli değişiklikler gözlemlenmedi. Bu değerler sırasıyla 23 ± 1 °C, $7,1 \pm 0,1$ ve $8,07 \pm 0,18$ mg/L olarak belirlendi. Farklı konsantrasyonlarda oksitetrasiklin uygulanan grupların karaciğer PON aktivitesinde kontrol grubuna kıyasla zamana bağlı olarak meydana gelen değişimler **Tablo 1'** de sunulmuştur.

Tablo 1. Karaciğer PON aktivitesindeki değişimler (ortalama \pm standart hata)

Table 1. Changes in the liver PON activity (mean \pm standard error)

Doku	Gruplar	Günler		
		7. gün	14. gün	21. gün
Karaciğer (U/g)	K	35,42 \pm 4,34 ^{b, A}	36,07 \pm 3,76 ^{b, A}	35,89 \pm 3,55 ^{b, A}
	D1	28,67 \pm 5,21 ^{a, A}	31,04 \pm 5,21 ^{a, B}	34,67 \pm 4,32 ^{ab, C}
	D2	27,09 \pm 5,08 ^{a, A}	30,19 \pm 4,37 ^{a, B}	33,72 \pm 4,11 ^{a, C}

a,b,c,d Aynı sütundaki farklı harfler istatistiksel olarak farkı göstermektedir (p < 0,05).
A,B,C,D Aynı satırdaki farklı harfler istatistiksel olarak farkı göstermektedir (p < 0,05).
K: Kontrol; D1: 50 mg/L oksitetrasiklin; D2: 75 mg/L oksitetrasiklin.

Kontrol grubuna göre D1 ve D2 gruplarının karaciğer PON aktivitesinin 7. günde sırasıyla %19,05 ve %23,51 oranında azaldığı ve bu azalmanın istatistiksel olarak önemli olduğu bulundu (p < 0,05). Çalışmanın 14. gününde kontrol grubuna göre D1 ve D2 gruplarında karaciğer PON aktivitesinin sırasıyla %13,94 ve %16,30 oranında azaldığı ve bu azalmanın istatistiksel olarak önemli olduğu belirlendi (p < 0,05). Denemenin 21. gününde D1 ve D2 grupları için karaciğer PON aktivitesinin kontrol grubuna göre sırasıyla %3,39 ve %6,04 oranında azaldığı gözlemlendi. Bu azalma kontrol grubuna göre D1 grubunda istatistiksel olarak önemsiz bulunurken (p > 0,05) D2 grubunda istatistiksel olarak önemli bulundu (p < 0,05).

D1 grubunda, çalışmanın 7. gününe kıyasla 14. ve 21. günlerde karaciğer PON aktivitesinin arttığı ve bu artışın sırasıyla %8,26 ve %20,98 düzeyinde gerçekleşerek istatistiksel olarak önemli olduğu bulundu (p < 0,05). D1 grubunda 14. güne kıyasla 21. günde karaciğer PON aktivitesinin %3,62 arttığı ve bu artışın istatistiksel olarak önemli olduğu belirlendi (p < 0,05). D2 grubunda da 7. gününe kıyasla 14. ve 21. günlerde karaciğer PON aktivitesinin sırasıyla %11,44 ve %24,47 düzeyinde arttığı, bu artışın istatistiksel olarak önemli olduğu görüldü (p < 0,05). D2 grubunda 21. günde karaciğer PON aktivitesinin 14. güne kıyasla %3,52 oranında arttığı ve bu artışın istatistiksel olarak önemli olduğu saptandı (p < 0,05).

Tablo 2. Serum PON aktivitesindeki değişimler (ortalama \pm standart hata)

Table 2. Changes in the serum PON activity (mean \pm standard error)

Doku	Gruplar	Günler		
		7. gün	14. gün	21. gün
Serum (U/ml)	K	33,85 \pm 2,79 ^{c, A}	33,56 \pm 2,96 ^{c, A}	34,10 \pm 3,05 ^{b, A}
	D1	25,39 \pm 3,17 ^{b, A}	29,75 \pm 4,02 ^{b, B}	32,20 \pm 2,13 ^{a, C}
	D2	21,66 \pm 3,52 ^{a, A}	26,04 \pm 2,73 ^{a, B}	31,84 \pm 3,22 ^{a, C}

a,b,c,d Aynı sütundaki farklı harfler istatistiksel olarak farkı göstermektedir (p < 0,05).
A,B,C,D Aynı satırdaki farklı harfler istatistiksel olarak farkı göstermektedir (p < 0,05).
K: Kontrol; D1: 50 mg/L oksitetrasiklin; D2: 75 mg/L oksitetrasiklin.

Kontrol grubuna kıyasla farklı konsantrasyonlarda oksitetrasiklin uygulanan grupların serum PON aktivitesinde zamana bağlı olarak meydana gelen değişimler **Tablo 2'** de gösterilmiştir.

Denemenin 7. gününde kontrol grubuna kıyasla D1 ve D2 gruplarının serum PON aktivitesinin sırasıyla %24,99 ve %36,01 oranında azaldığı ve bu azalmanın istatistiksel olarak önemli olduğu bulundu (p < 0,05). Çalışmanın 14. gününde kontrol grubunun serum PON aktivitesiyle kıyaslandığında D1 ve D2 grupları için serum PON aktivitesinin sırasıyla %11,35 ve %22,40 oranında azaldığı ve bu azalmanın istatistiksel olarak önemli olduğu belirlendi (p < 0,05). Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında D1 ve D2 grupları için serum PON aktivitesinin 21. günde sırasıyla %5,57 ve %6,62 oranında azaldığı gözlemlendi. Bu azalma kontrol grubuna göre D1 ve D2 gruplarında istatistiksel olarak önemli bulundu (p < 0,05).

D1 grubunda, çalışmanın 7. gününe kıyasla 14. ve 21. günlerde serum PON aktivitesinin arttığı ve bu artışın sırasıyla %17,17 ve %26,82 düzeyinde gerçekleşerek istatistiksel olarak önemli olduğu görüldü (p < 0,05). D1 grubunda 14. güne kıyasla 21. günde serum PON aktivitesinin %8,23 arttığı ve bu artışın istatistiksel olarak önemli olduğu belirlendi (p < 0,05). D2 grubunda da 7. gününe kıyasla 14. ve 21. günlerde serum PON aktivitesinin sırasıyla %20,22 ve %46,99 düzeyinde arttığı, bu artışın istatistiksel olarak önemli olduğu görüldü (p < 0,05). D2 grubunda 21. günde serum PON aktivitesinin 14. güne kıyasla %22,27 oranında arttığı ve bu artışın istatistiksel olarak önemli olduğu saptandı (p < 0,05).

Farklı konsantrasyonlarda oksitetrasiklin uygulanan grupların karaciğer ARE aktivitesinde kontrol grubuna kıyasla zamana bağlı olarak meydana gelen değişimler **Tablo 3'** de gösterilmiştir.

Tablo 3. Karaciğer ARE aktivitesindeki değişimler (ortalama \pm standart hata)

Table 3. Changes in the liver ARE activity (mean \pm standard error)

Doku	Gruplar	Günler		
		7. gün	14. gün	21. gün
Karaciğer (U/g)	K	140,22 \pm 12,89 ^{c, A}	143,08 \pm 10,76 ^{c, A}	141,87 \pm 11,57 ^{b, A}
	D1	115,01 \pm 9,13 ^{b, A}	124,43 \pm 10,76 ^{b, B}	132,91 \pm 13,06 ^{a, C}
	D2	104,26 \pm 13,66 ^{a, A}	118,14 \pm 10,75 ^{a, B}	130,25 \pm 12,58 ^{a, C}

a,b,c,d Aynı sütundaki farklı harfler istatistiksel olarak farkı göstermektedir (p < 0,05).
A,B,C,D Aynı satırdaki farklı harfler istatistiksel olarak farkı göstermektedir (p < 0,05).
K: Kontrol; D1: 50 mg/L oksitetrasiklin; D2: 75 mg/L oksitetrasiklin.

Çalışmanın 7. gününde kontrol grubuyla karşılaştırıldığında D1 ve D2 gruplarının karaciğer ARE aktivitesinin sırasıyla %17,97 ve %25,64 oranında azaldığı ve bu azalmanın istatistiksel olarak önemli olduğu bulundu ($p < 0,05$). Çalışmanın 14. gününde kontrol grubunun karaciğer ARE aktivitesiyle kıyaslandığında D1 ve D2 gruplarının karaciğer ARE aktivitesinin sırasıyla %13,03 ve %17,43 oranında azaldığı ve bu azalmanın istatistiksel olarak önemli olduğu belirlendi ($p < 0,05$). D1 ve D2 grupları için karaciğer ARE aktivitesinin 21. günde kontrol grubuna göre sırasıyla %6,31 ve %8,19 oranında azaldığı gözlemlendi. Bu azalma kontrol grubuna göre D1 ve D2 gruplarının her ikisinde de istatistiksel olarak önemli bulundu ($p < 0,05$).

D1 grubunda, çalışmanın 7. gününe kıyasla 14. ve 21. günlerde karaciğer ARE aktivitesinin arttığı ve bu artışın sırasıyla %8,19 ve %15,56 düzeyinde gerçekleşerek istatistiksel olarak önemli olduğu bulundu ($p < 0,05$). D1 grubunda 14. güne kıyasla 21. günde karaciğer ARE aktivitesinin %6,81 arttığı ve bu artışın istatistiksel olarak önemli olduğu belirlendi ($p < 0,05$). D2 grubunda da 7. gününe kıyasla 14. ve 21. günlerde karaciğer PON aktivitesinin sırasıyla %13,31 ve %24,93 düzeyinde arttığı, bu artışın istatistiksel olarak önemli olduğu görüldü ($p < 0,05$). D2 grubunda 21. günde karaciğer ARE aktivitesinin 14. güne kıyasla %10,25 oranında arttığı ve bu artışın istatistiksel olarak önemli olduğu saptandı ($p < 0,05$).

Farklı konsantrasyonlarda oksitetrasiklin uygulanan grupların serum ARE aktivitesinde kontrol grubuna kıyasla zamana bağlı olarak meydana gelen değişimler Tablo 4' de gösterilmiştir.

Denemenin 7. gününde kontrol grubuna kıyasla D1 ve D2 gruplarında serum ARE aktivitesinin sırasıyla %16,88 ve %22,14 oranında azaldığı ve bu azalmanın istatistiksel olarak önemli olduğu görüldü ($p < 0,05$). Çalışmanın 14. gününde kontrol grubuyla karşılaştırıldığında serum ARE aktivitesinin D1 ve D2 grupları için sırasıyla %12,62 ve %13,52 oranında azaldığı ve bu azalmanın istatistiksel olarak önemli olduğu belirlendi ($p < 0,05$). D1 ve D2 grupları için 21. günde serum ARE aktivitesinin kontrol grubuna göre sırasıyla %5,70 ve %7,37 oranında azaldığı gözlemlendi. Bu azalma istatistiksel olarak önemli bulundu ($p < 0,05$).

D1 grubunda, çalışmanın 7. gününe kıyasla 14. ve 21. günlerde serum ARE aktivitesinin arttığı ve bu artışın sırasıyla %6,58 ve %14,45 düzeyinde gerçekleşerek istatistiksel olarak önemli olduğu görüldü ($p < 0,05$). D1 grubunda 14. güne kıyasla 21. günde serum ARE aktivitesinin %7,37 arttığı ve bu artışın istatistiksel olarak önemli olduğu belirlendi ($p < 0,05$). D2 grubunda da 7. gününe kıyasla 14. ve 21. günlerde serum ARE aktivitesinin sırasıyla %12,60 ve %20,01 düzeyinde arttığı, bu artışın istatistiksel olarak önemli olduğu görüldü ($p < 0,05$). D2 grubunda 14. güne kıyasla 21. günde serum PON aktivitesinin %6,58 oranında arttığı ve bu artışın istatistiksel olarak önemli olduğu saptandı ($p < 0,05$).

Tablo 4. Serum ARE aktivitesindeki değişimler (ortalama \pm standart hata)

Table 4. Changes in the serum ARE activity (mean \pm standard error)

Doku	Gruplar	Günler		
		7. gün	14. gün	21. gün
Serum (ÜnİmL)	K	124,41 \pm 11,27 ^{c, A}	126,13 \pm 10,41 ^{c, A}	125,50 \pm 12,34 ^{b, A}
	D1	103,40 \pm 9,91 ^{b, A}	110,21 \pm 13,02 ^{b, B}	118,34 \pm 10,51 ^{a, C}
	D2	96,86 \pm 10,06 ^{a, A}	109,07 \pm 8,37 ^{a, B}	116,25 \pm 12,58 ^{a, C}

^{a, b, c, d} Aynı sütundaki farklı harfler istatistiksel olarak farkı göstermektedir ($p < 0,05$).

^{A, B, C, D} Aynı satırdaki farklı harfler istatistiksel olarak farkı göstermektedir ($p < 0,05$).

K: Kontrol; D1: 50 mg/L oksitetrasiklin; D2: 75 mg/L oksitetrasiklin

TARTIŞMA

Pullu sazan, ülkemizde yetiştiriciliği yapılan ve de doğal ortamda geniş dağılım gösteren önemli bir balık türüdür ve laboratuvar ortamına kolayca adapte olabilmektedir. Bununla birlikte bu balık türü değişik koşullara kolayca uyum gösterebilmesi, yetiştirilme ve beslenmesindeki kolaylık, doğal sularda bolca bulunması, ekonomik değerlerinin yüksek olması gibi özellikleri nedeniyle *in vivo* çalışmalarda oldukça fazla kullanılmaktadır. Bu çalışmada da PON ve ARE enzim aktivitelerindeki değişimler kullanılarak oksitetrasiklinin etkilerinin ortaya çıkarılması amacıyla Cyprinidae familyasına ait pullu sazan (*Cyprinus carpio*) tercih edilmiştir.

Çalışma süresince hem kontrol hem de deneme grubu balıklarında ölüm olayı gözlemlenmemiştir. Balıkların yem alımlarında herhangi bir olumsuzluk görülmemiştir. Oksitetrasiklin uygulaması sırasında balıklarda klinik olarak herhangi bir bulguya rastlanmamış, bu balıkların rutin davranışlar sergilediği izlenmiştir. Bu bulgular uygulanan oksitetrasiklin dozlarının herhangi bir olumsuz etkiye sebep olmadığını, güvenilir bir şekilde belirtilen doz ve sürelerde balıklarda kullanılabileceğini göstermiştir. Fakat karaciğer ve serumda PON ve ARE aktivitesinde görülen değişiklikler bu dozların balıklarda toksik etkiler oluşturduğunu göstermektedir. Nitekim elde edilen sonuçlar bu bulguyu doğrular niteliktedir.

Bu çalışmada oksitetrasiklin uygulamasından sonra PON ve ARE aktivitesindeki değişimlerin belirlenmesi için karaciğer ve serum örnekleri kullanılmıştır. Balıklarda toksik maddelerin etkilerinin araştırıldığı çalışmaların çoğunda güçlü antioksidan aktivite göstermeleri ve toksik maddelerden en fazla bu organların etkilenmesi nedeniyle karaciğer ve kan dokusu seçilmektedir (Ritola vd. 2000). Diğer taraftan PON enzimi memelilerde karaciğerde sentezlenmekte, HDL' ye bağlı olarak serumda bulunmaktadır. Bu nedenle bu çalışmada da doku olarak karaciğer ve serum seçilmiştir.

Balıklarda PON ve ARE enzimi aktivitesiyle ilgili birkaç çalışma yapılmıştır. Folly vd. (2001) PON aktivitesinin varlığını ve bu enziminin HDL ile ilişkisini *Piaractus mesopotamicus* türü balıklarda göstermişlerdir. Bastos vd. (2004) *Hypostomus punctatus*, *Piaractus mesopotamicus*, *Brycon cephalus* ve *Salminus brasiliensis* türü neotropikal balıklarda PON enzim aktivitelerini serumda sırasıyla 1,5, 6,1, 6,6 ve 35,2 nmol x min⁻¹ x ml⁻¹ olarak bulmuşlardır. Karataş ve Kocaman

(2012) normal ve albino gökkuşığı alabalıklarında serum PON aktivitesini kültür şartlarında yetiştirilenlerde daha yüksek tespit etmişlerdir. Bu farklılığın sebebi olarak da tür farklılığı, baskınlık ve büyüklük durumu gösterilmiştir. Aynı araştırmacılar başka bir çalışmada ise PON enzim aktivitesi ile PON/HDL oranını doğadan yakalananlara göre kültür altındaki kaynak alabalığı (*Salvelinus fontinalis*)'nda daha yüksek olduğunu belirlemişlerdir (Karataş ve Kocaman, 2014). Antioksidan ve immunostimulan özelliklere sahip polenin uygulandığı gökkuşığı alabalığında (*Oncorhynchus mykiss*) serum PON ve ARE aktivitesindeki değişimler araştırılmıştır (Yöntürk ve Yonar, 2018). 21 gün süreyle %1, %2 ve %4 oranında polen içeren yemlerin uygulandığı alabalıkların paraoksonaz ve arylesteraz aktivitelerinde kontrol grubuna göre istatistiksel herhangi bir farklılık görülmemiştir. PON ve ARE enzim aktivitelerinin serum ve karaciğerde tespit edildiği bu çalışmada da her iki enzimin varlığı sazanlarda belirlenmiş, serum ve karaciğerde her iki enzim düzeyinin farklı olduğu saptanmış ve yine oksitetrasiklinin uygulanmasıyla bu iki enzim aktivitesinin azaldığı tespit edilmiştir.

Balıklar için toksik oldukları bilinen metallerin PON aktivitesine etkisini araştıran çalışmalar da mevcuttur ve bu çalışmalarda PON ve ARE aktivitesindeki değişiklikler incelenerek toksik maddelerin vücutta oluşturduğu negatif etkiler belirlenmeye çalışılmıştır. Beyaztaş vd. (2007) bakır, civa, kadmiyum ve kobalt metallerinin sazanlarda PON enzim aktivitesinde farklı oranlarda inhibisyona neden olduğunu bulmuşlardır. Sayın vd. (2012) tarafından *Scyliorhinus canicula* balıklarında gerçekleştirilen ve (Ni^{2+}), (Cd^{2+}), (Hg^{2+}) ve (Cu^{2+}) metallerinin kullanıldığı başka bir çalışmada, PON enzim aktivitesine bu metallerin inhibitör etkisi *in vitro* olarak kanıtlanmış, Cu^{2+} tarafından en güçlü inhibitör etkisinin oluşturulduğu belirlenmiştir. Ayrıca adı geçen araştırmacılar yaptıkları çalışmada PON enzimini saflaştırmış, serum PON total aktivitesini 11788,8 U/ml olarak spesifik aktiviteyi ise 344,701 olarak bulmuşlardır. Çinko sülfat ($ZnSO_4$) formundaki çinkonun kullanıldığı başka bir çalışmada da 10 gün süresince 5 ve 10 mg/L konsantrasyonlarındaki çinkonun *Capoeta capoeta*'da plazma PON1 aktivitesini düşürdüğü ve PON1 aktivitesinin metallere karşı çok duyarlı olduğu belirtilmiştir (Deveci vd., 2015). Benzer bir sonuç Yonar vd. (2012) tarafından gösterilmiş 28. gün sonunda 15, 30 ve 60 ppb konsantrasyonlarındaki kromun serum PON ve ARE aktivitesini sazanlarda (*C. carpio*) düşürdüğü belirlenmiştir. Oksitetrasiklinin farklı konsantrasyonlarının uygulandığı bu çalışmada da PON ve ARE enzim aktivitesinin balıklarda oksidatif strese neden olduğu bilinen oksitetrasiklin uygulamasıyla (Yonar vd., 2011; Yonar, 2012; Mişe Yonar vd., 2014) azaldığı görülmüştür.

Metallerin yanı sıra balıklarda PON veya ARE enzim aktivitesine bazı pestisitlerin etkisini araştırıldığı çalışmalar da yapılmıştır. Örneğin; gökkuşığı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*)'nda karbosulfanın mutajenik, genotoksik ve enzim inhibitör etkisi araştırılmıştır (Altınok vd., 2012). Sonuç olarak

birinci ayda her hafta, ikinci ayda ise 15 günde bir yapılan örnekleme sonucunda plazma PON aktivitesinin $12,01 \pm 1,65$ U/L ve $9,05 \pm 0,89$ U/L arasında değiştiği, PON aktivitesindeki inhibisyonun istatistiki olarak önemsiz olduğu, inhibisyonun 1. haftada %7,36, 8. haftada ise %16,67 şeklinde gerçekleştiği belirlenmiştir. Malathion kullanılarak yapılan başka bir çalışmada ise deneme başlangıcındaki PON aktivitesinin 0,25, 0,5 ve 1 mg/L konsantrasyonundaki malathion uygulamasıyla önemli oranda azaldığı fakat bu aktivitenin deneme sonunda kontrol grubuna yakın bir değer aldığı gözlemlenmiştir. Bununla birlikte malathion uygulamasının balıklarda strese neden olduğu ifade edilmiştir (Kılıç ve Yonar, 2017). Benzer bir şekilde bu çalışmada da 50 ve 75 mg/L konsantrasyonunda oksitetrasiklin verilen grupların karaciğer ve serum PON ve ARE aktivitesinde kontrole göre istatistiksel olarak önemli bir azalma belirlenmiştir. Bu sonuç oksitetrasiklinin pullu sazanda strese neden olduğunu göstermektedir.

Oksitetrasiklinin balıklarda strese yol açtığını kanıtlayan farklı çalışmalarda yapılmıştır. Yonar vd. (2011), 14 gün boyunca 100 mg/kg balık dozunda oral yolla oksitetrasiklin uygulanan gökkuşığı alabalığında kan, karaciğer, böbrek, dalak ve kalp dokusunda oksidatif stresin bir göstergesi olan malondialdehit (MDA) düzeyinin arttığını ifade etmiştir. Oksidatif stresteki artış oksitetrasiklinin alabalığa 50 mg/L konsantrasyonunda 48 saat süreyle uygulandığı ve karaciğer, böbrek, dalak ve solungaç MDA düzeyinin yükseldiği çalışmada da görülmüştür (Mişe Yonar vd., 2014). Rat ve insanlar üzerinde son yıllarda yapılan araştırmalarda PON aktivitesiyle oksidatif stres arasında karşılıklı bir ilişki olduğu bulunmuştur (Aviram vd., 1999). Bu çalışmada da oksitetrasiklin uygulaması sonucunda PON ve ARE aktivitesindeki azalma uygulamanın oksidatif stresin artışına neden olduğunu göstermektedir. Bu durum birçok antibiyotik türünün uygulanması sırasında, hayvan deneylerinde ortaya çıkmaktadır.

Sonuç olarak; artan oksitetrasiklin konsantrasyonuna bağlı olarak PON ve ARE aktivitesinin denemenin ilk günlerinde azaldığı, denemenin 21. gününde bu enzimlerin aktivitelerinin artmasına rağmen yine de kontrol grubundan düşük olduğu belirlenmiştir. Bu sonuç oksitetrasiklinin her iki konsantrasyonunun da *C. carpio*'nun serum ve karaciğerinde toksik etki oluşturduğunu dolayısıyla oksitetrasiklinin balıklarda strese sebep olduğunu göstermiştir. Ancak denemenin 21. gününde enzim aktivitelerinde belirlenen artış, oksitetrasiklinin yol açtığı oksidatif stresi vücudun fizyolojik olarak serbest radikalleri elemine etme çabası şeklinde açıklanabilir. Ancak PON ve ARE aktivitelerinin halen daha kontrol grubundan düşük olması bunun tam olarak başarılmadığını göstermektedir. Buna göre oksitetrasiklin ve diğer kemoterapötiklerin toksisitesini belirlemede PON ve ARE aktivitesinin ölçülmesi biyobelirteç olarak kabul edilebilir. Fakat farklı balık türlerinde, farklı süre ve konsantrasyonlarda oksitetrasiklin uygulamalarının sonuçlarına ihtiyaç olduğu da görülmektedir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma; Yüksek Mühendis Ufuk AKER' in yüksek lisans tezinden özetlenmiş ve Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP)

Yönetim Birimi tarafından SÜF.18.04. nolu proje olarak desteklenmiştir.

KAYNAKÇA

- Aktaş, İ. (2016). Kilis keçilerinde geleneksel ve uzun etkili oksitetrasiklin müstahzarlarının farmakokinetiği. Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı, Ankara.
- Altınok I., Capkın, E. & Boran, H. (2012). Mutagenic, genotoxic and enzyme inhibitory effects of carbosulfan in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 102, 61-67. DOI: [10.1016/j.pestbp.2011.10.011](https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2011.10.011)
- Arda, M., Seçer, S. & Sarıyüpeoğlu, M. (2005). Balık Hastalıkları. Ankara: Medisan Yayınevi.
- Aviram, M., Rosenbalt, M., Billecke, S., Erogul, J., Sorenson, R., Bisgaier, C.L., Newton, R.S. & La Du, B. (1999). Human serum paraoxonase (PON 1) is inactivated by oxidized low density lipoprotein and preserved by antioxidants. *Free Radical Biology & Medicine*, 26, 892-904. DOI: [10.1016/S0891-5849\(98\)00272-X](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00272-X)
- Azarsız, E. & Sönmez E.Y. (2000). Paraoksonaz ve klinik önemi. *Türk Biyokimya Dergisi*, 25, 109-119.
- Bastos, V.L.F.C., Alves, M.V., Bernardino, G., Ceccarelli, P.S. & Bastos, J.C. (2004). Paraoxonase Activity in Sera of Four Neotropical Fish. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 72, 798-805. DOI: [10.1007/s00128-004-0315-2](https://doi.org/10.1007/s00128-004-0315-2)
- Beyaztaş, S., Türker, D., Sinan, S. & Arslan, O. (2007). *Cyprinus carpio* paraoksonaz enziminin bazı ağır metallerle inhibisyon etkisinin incelenmesi. 21. Ulusal Kimya Kongresi, 23-27 Ağustos, Malatya.
- Brander, G.C., Pugh, D.M. & Bywater, R.J. (1982). *Veterinary Applied Pharmacology and Therapeutics*. London: Bailliere Tindall.
- Deveci, H.A., Kaya, İ., Yılmaz, M. & Karapehlivan, M. (2015). Effect of zinc sulphate on the levels of plasma paraoxonase activity, total oxidant and high density lipoprotein of transcaucasian barb (*Capoeta capoeta* Guldenstaedt, 1773). *Fresenius Environmental Bulletin*, 24(9), 2732-2735.
- Dubravka, J., Milena, T., Branka, R., Vrea, S.R., Elsa, R. & Martin, B. (2001). Serum paraoxonase activities in the hemodialyzed uremic patients: Cohort study. *Clinical Science*, 42, 146-150.
- Folly, E., Bastos, V.L.C., Alves, M.V., Bastos, J.C. & Atella, G.C. (2001). A high density lipoprotein from *Piaractus mesopotamicus*, pacu, (Osteichthyes, Characidae), is associated with paraoxonase activity. *Biochimie*, 83, 945-951. DOI: [10.1016/S0300-9084\(01\)01342-6](https://doi.org/10.1016/S0300-9084(01)01342-6)
- Gan, N., Smolen, A., Eckerson, W. & La Du B.N. (1991). Purification of human serum paraoxonase/arylesterase, Evidence for one esterase catalyzing both activities. *Drug Metabolism and Disposition*, 19, 100-106.
- Gökçe, K. (2013). Karbazol β-laktam türevlerinin paraoksonaz enzimi üzerine etkilerinin araştırılması. Balıkesir Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Balıkesir.
- Gürsu, M.F. & Özdin, M. (2002). Sigara içenlerde serum paraoksonaz (PON1) aktiviteleri ile malondialdehit düzeylerinin araştırılması. *Fırat Tıp Dergisi*, 7, 732-737.
- Karataş, T. & Kocaman, E.M. (2012). Comparison of Paraoxonase Activity, Malondialdehyde and High-Density Lipoprotein Levels in Cultivated Normal and Albino Rainbow Trout Reared in the Same Conditions. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 18(1), 87-90. DOI: [10.9775/kvfd.2011.4971](https://doi.org/10.9775/kvfd.2011.4971)
- Karataş, T. & Kocaman, E.M. (2014). Susceptibility to oxidative damage in wild and cultured brook trout (*Salvelinus fontinalis* Mitchell, 1815). *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies*, 2(1), 180-183.
- Kayaalp, O. (1984). Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. Ankara: Ulucan Matbaası.
- Kaya, S., Piriñçi, İ. & Bilgili, A. (1997). Veteriner Uygulamalı Farmakoloji. Ankara: Medisan Yayınevi.
- Kılıç, T. & Yonar, M.E. (2017). Malathionun pullu sazan (*Cyprinus carpio*)'da paraoksonaz ve arilesteraz enzim aktivitelerine etkisinin araştırılması. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Veteriner Dergisi*, 31(2), 87-92.
- Li, W.F., Costa, L.G. & Furlong, C.E. (1993). Serum paraoxonase status: A major factor in determining resistance to organophosphates. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 40, 337-346. DOI: [10.1080/15287399309531798](https://doi.org/10.1080/15287399309531798)
- Mackness, M.I., Arrol, S.I., Mackness, B. & Durrington, P.N. (1997). Allo-enzymes of paraoxonase and effectiveness of high density lipoproteins in protecting low density lipoprotein against lipid peroxidation. *Lancet*, 349, 851-852. DOI: [10.1016/S0140-6736\(05\)61755-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(05)61755-2)
- Mackness, M.I., Mackness, B., Durrington, P.N., Connelly, P.W. & Hegele, R.A. (1996). Paraoxonase: biochemistry, genetics and relationship to plasma lipoproteins. *Current Opinion Lipidology*, 7, 69-76. DOI: [10.1097/00041433-199604000-00004](https://doi.org/10.1097/00041433-199604000-00004)
- Mackness, M.I., Walker, C.H. & Carson, L.A. (1987). Low 'A'-esterase activity in serum of patients with fish-eye disease. *Clinical Chemistry*, 3, 587-588. DOI: [10.1093/clinchem/33.4.587](https://doi.org/10.1093/clinchem/33.4.587)
- Mişe Yonar, S., Yonar, M.E., Yöntürk, Y. & Sarıyüpeoğlu, M. (2014). Oksitetrasiklinin Gökkuşluğu Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*)' nda Oksidatif Stres ve Bazı Antioksidan Parametrelere Etkisinin Araştırılması. *İstanbul Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi*, 29(1), 37-45.
- Ritola, O., Lyytikäinen, T., Pykkö, P., Mölsä, H. & Lindström-Seppä, P. (2000). Glutathione-dependent defence system and monooxygenase enzyme activities in Arctic charr *Salvelinus alpinus* (L.) exposed to ozone. *Aquaculture*, 185, 219-233. DOI: [10.1016/S0044-8486\(99\)00355-5](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(99)00355-5)
- San, A. & Yonar, M.E. (2017). Determination of oxidative stress in scaly carp (*Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758) exposed to deltamethrin in different water temperature. *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 34(3), 281-286. DOI: [10.12714/egejfas.2017.34.3.06](https://doi.org/10.12714/egejfas.2017.34.3.06)
- Sayın, D., Türker Çakır, D., Gençer, N. & Arslan, O. (2012). Effects of some metals on paraoxonase activity from shark *Scyliorhinus canicula*. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 27(4), 595-598. DOI: [10.3109/14756366.2011.604320](https://doi.org/10.3109/14756366.2011.604320)
- Treves-Brown, K.M. (2000). *Applied Fish Pharmacology*, Netherland, Dordrecht: Kluwer Academic Publisher. DOI: [10.1007/978-94-017-0761-9](https://doi.org/10.1007/978-94-017-0761-9)
- Yonar, M.E., Mişe Yonar, S. & Silici, S. (2011). Protective effect of propolis against oxidative stress and immunosuppression induced by oxytetracycline in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, W.). *Fish and Shellfish Immunology*, 31, 318-325. DOI: [10.1016/j.fsi.2011.05.019](https://doi.org/10.1016/j.fsi.2011.05.019)
- Yonar, M.E. (2012). The Effect of lycopene on oxytetracycline-induced oxidative stress and immunosuppression in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, W.). *Fish and Shellfish Immunology*, 32(6), 994-1001. DOI: [10.1016/j.fsi.2012.02.012](https://doi.org/10.1016/j.fsi.2012.02.012)
- Yonar, M.E., Mişe Yonar, S., Çoban, M.Z. & Eroğlu, M. (2012). The effect of propolis on serum paraoxonase and arylesterase enzyme activities in *Cyprinus carpio* during chromium exposure. *Fresenius Environmental Bulletin*, 21(6), 1399-1402.
- Yöntürk, Y. & Yonar, M.E. (2018). Gökkuşluğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*)' nda arı polenin paraoksonaz ve arilesteraz enzim aktivitelerine etkisinin araştırılması. *Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 30(2), 23-27.

Paraonis fulgens (Annelida: Paraonidae), a new species record for the marine fauna of Turkey

Paraonis fulgens (Annelida: Paraonidae), Türkiye deniz faunası için yeni bir tür kaydı

Deniz Erdoğan Dereli^{1*} • Melih Ertan Çınar²

¹Ege University, Faculty of Fisheries, Department of Hydrobiology, 35100 Bornova, Izmir

<https://orcid.org/0000-0003-2754-8378>

²Ege University, Faculty of Fisheries, Department of Hydrobiology, 35100 Bornova, Izmir

<https://orcid.org/0000-0002-1802-2801>

Corresponding author : dnzer09@gmail.com

Received date: 20.12.2019

Accepted date: 22.01.2020

How to cite this paper:

Erdoğan Dereli, D. & Çınar, M.E. (2020). *Paraonis fulgens* (Annelida: Paraonidae), a new species record for the marine fauna of Turkey. *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 37(2), 181-185. DOI: [10.12714/egejfas.37.2.09](https://doi.org/10.12714/egejfas.37.2.09)

Abstract: The present paper deals with the occurrence of *Paraonis fulgens* on the coast of Turkey. Three specimens of this species were found at 4 m on sandy mud bottom in İskenderun Bay, north-east Levantine Sea. The morphological and distributional features of the species were given. The present study firstly described a ventral lobe on segments in the family Paraonidae.

Keywords: Polychaeta, Paraonidae, new record, *Paraonis*, Levantine Sea

Öz: Bu çalışmada, *Paraonis fulgens* türünün Türkiye kıyılarındaki varlığını ilk kez rapor etmektedir. Bu türe ait 3 birey, İskenderun Körfezi'nde (kuzey-doğu Levanten Denizi) 4 metre derinlikte kumlu çamurlu zeminde tespit edilmiştir. Bu çalışmada, türün morfolojik ve dağılım özellikleri verilmiştir. Bu çalışma Paraonidae familyasında segmentlerde ilk kez bir ventral lop tanımlamıştır.

Anahtar kelimeler: Polychaeta, Paraonidae, yeni kayıt, *Paraonis*, Levant denizi

INTRODUCTION

The family Paraonidae Cerruti, 1909 comprises six genera (*Aricidea*, *Cirrophorus*, *Levinsenia*, *Paradoneis*, *Paraonides* and *Paraonis*) and 27 species on the coast of Turkey (Çınar et al., 2014; Erdoğan-Dereli et al., 2017; Erdoğan-Dereli and Çınar, 2019). The genus *Aricidea* is represented by 11 species, *Cirrophorus* by 3 species, *Levinsenia* by 6 species, *Paradoneis* by 5 species, *Paraonides* by 1 species and *Paraonis* by 1 species.

Among these genera, the genus *Paraonis* has eight species (*P. amazonica*, *P. dubius*, *P. fulgens*, *P. paucibranchiata*, *P. pygoenigmatica*, *P. strelzovi*, *P. reductus*, and *P. pycnibranchiata*) in the world's oceans and three species (*P. paucibranchiata*, *P. tenera* and *P. fulgens*) in the Mediterranean Sea (Cerruti, 1909; Hartman, 1965; Fauchald, 1972; Blake, 2016; Riberio et al., 2018). In the eastern Mediterranean Sea, two *Paraonis* species have been reported up to date; *P. fulgens* from Greece (Faulwetter et al., 2017) and *P. tenera* from Turkey (Çınar et al., 2014). However, the later species has accepted as nomen inquirendum by Strelzov (1979), so the validity of this species requires further investigation.

The present study newly reports the presence of *P. fulgens* from the coast of Turkey, and provides the morphological and ecological features of the species.

MATERIAL AND METHODS

The specimens of *Paraonis fulgens* were collected at 4 m depth on sandy mud bottom near the crude oil jetty of Bakü-Tbilisi-Ceyhan pipeline (BTC) in İskenderun Bay (Yumurtalık) (Figure 1). The benthic sample at the station was taken by a Van-Veen Grab (sampling an area of 0.1 m²) and sieved through 0.5 mm mesh in the field. The retained material put into a plastic jar, and fixed with 4% formaldehyde and seawater solution. The material was then transferred to the Ege University Benthology Laboratory and washed on a 0.5 mm mesh with tap water. The material was sorted under a stereomicroscope and the specimens were preserved in 70% ethanol. The measurements of the specimens of *P. fulgens* (length, wide, etc.) were made by using an ocular micrometer. Photographs of the specimens were taken with a digital camera (Olympus OM-D E-M5 Mirrorless), mounted on stereo- and light microscopes. The specimens of *P. fulgens* were deposited at the Museum of Faculty of Fisheries (ESFM), Ege University, Izmir, Turkey.



Figure 1. Map of the studied area (Google Earth, 10.12.2019)

RESULTS

Phylum: Annelida Lamarck, 1809
Classis: Polychaeta Grube, 1850
Family: Paraonidae Cerruti, 1909
Genus: *Paraonis* Grube, 1873

***Paraonis fulgens* (Levinsen, 1884) (Figure 2, 3)**

Aonides fulgens Levinsen, 1884:105-106

Levinsenia fulgens, Mesnil and Caullery, 1898:128-136; 138, Plate 6-Fig. 1-9.

Paraonis fulgens, Cerruti, 1909:468-469, Figure H1, 2; Fauvel, 1927: 71-72, Figure 24G-L; Pettibone, 1963: 302, Figure 79E-F; Strelzov, 1979: 55-59, Figure 20; Gaston, 1984: 2-47, Figure 2-45, 2-46; Castelli, 1985: 268-270, Figure 2; Hartmann-Schröder, 1996: 387-388, Figure 184; Aguirrezabalaga, 2012: 272-274, Figure 124.

Material examined. ESFM-POL/2015-268, 30 June 2015, station 3, 36°52'23"N-35°55'25"E, 4 m, sandy mud, 3 specimens.

Description. Largest specimen complete, 4.06 mm long, 0.06 mm wide at chaetiger 10, with 90 chaetigers. Color in alcohol usually dull white or yellowish; red speckles present between notopodium and neuropodium, from middle branchial region to pygidium (Figures 2A; 3D). Body thin, spiralled; first three chaetigers distinctly smaller and thinner; branchial chaetigers moniliform shaped; posterior region relatively thick, tapering to pygidium (Figures 2A-D). A dense ciliary band

present on mid-dorsal transversal line of each prebranchial and branchial chaetigers (Figure 3E); ciliary bands absent from ventral side. Prostomium triangular, anterior region distinctly elongated with eversible palpode, much longer than wide (length/width: 1.16); a pair of cheek organs located posterio-laterally on prostomium; a pair of crystalline lenses located antero-laterally near intradermal eyes (Figures 2C, E). First ciliary band (cb1) located on anterior part of prostomium, just above eyes; second ciliary band (cb2) located laterally above nuchal organs; and third ciliary band (cb3) commencing lateral sides of prostomium extending to anterior margin of chaetiger 1 (Figure 3A).

A pair of nuchal organs as deep, narrow slits placed dorso-laterally on posterior part of prostomium, without pigmentation (Figure 2C). Mouth with 2 lips; one placed anteriorly and other placed posteriorly, extending to middle region of chaetiger 1. Branchiae 21 pairs, beginning on chaetiger 4 in all specimens; shorter than segment width, last three pairs shorter than others, last pair rudimentary; 167 µm long in anterior region, 197 µm long in middle region, 127 µm long in posterior region. Branchiae flattened, broadly foliaceous; posterior part of base asymmetrically enlarged towards posterior region with elongated round tips, with dense ciliary bands (Figures 2B, C; 3B); Dorsal and ventral rami of parapodia quite distinct in prebranchial and branchial regions (Figures 3B, C, F), not distinct in posterior region. Interramal lobes absent. Notopodial papillae absent. Notopodial postchaetal lobes absent in first two chaetigers, commencing on chaetiger 3, short and cirriform; longer, thin and digitiform on anterior region of branchial region; long, weakly thick with asymmetrical enlargement on base over ventral side of middle and posterior chaetigers of branchial region; long, thin and filiform on posterior region (Figures 2C; 3B-D). Neuropodial lobes commencing from chaetiger 4 extending to chaetiger 21, as rudimentary ridges (Figure 3C). Ventral lobe occurring between chaetigers 12 and 14, small, rounded, located near posterior margin of segments (Figure 3F).

Three types of chaeta: limbate, capillary and modified neurochaeta. Notopodia of anterior region carrying 6-15 limbate chaeta; those of middle region carrying 10-17 capillary chaeta; those of posterior region carrying 4-8 capillary chaeta. Neuropodia of anterior region carrying 7-18 limbate chaeta; neuropodia of middle region carrying 8-14 capillary chaeta; those of posterior region carrying 18-30 capillary chaeta and 2 modified neurochaeta. Limbate chaeta (with hirsute only on chaetigers 1-6, without hirsute on 7-21 chaetigers) present on both notopodia (chaetal length: 174 µm, in 3 rows) and neuropodia (chaetal length: 165 µm, in 3 rows) of chaetigers 1-21 (Figure 3I). Notopodial and neuropodial capillary chaeta from chaetiger 22 to pygidium, two rows on notopodia in middle region and one row on notopodia in posterior region; 2 rows on neuropodia in middle and posterior regions; 264 µm long in middle region and 243 µm long in posterior region. Modified neurochaeta commencing from chaetiger 48 to pygidium, numbering 2 in all chaetigers; 46 µm long; hook shaped, subterminally strongly curved, with a distinct hood; arista absent (Figures 3G, H).

Pygidium rounded with 3 anal cirri; two ventro-lateral cirri (thin, long, 50 µm long) and a mid-ventral cirrus (thin, short, 30 µm long); anal aperture on dorsal side (Figure 3J).

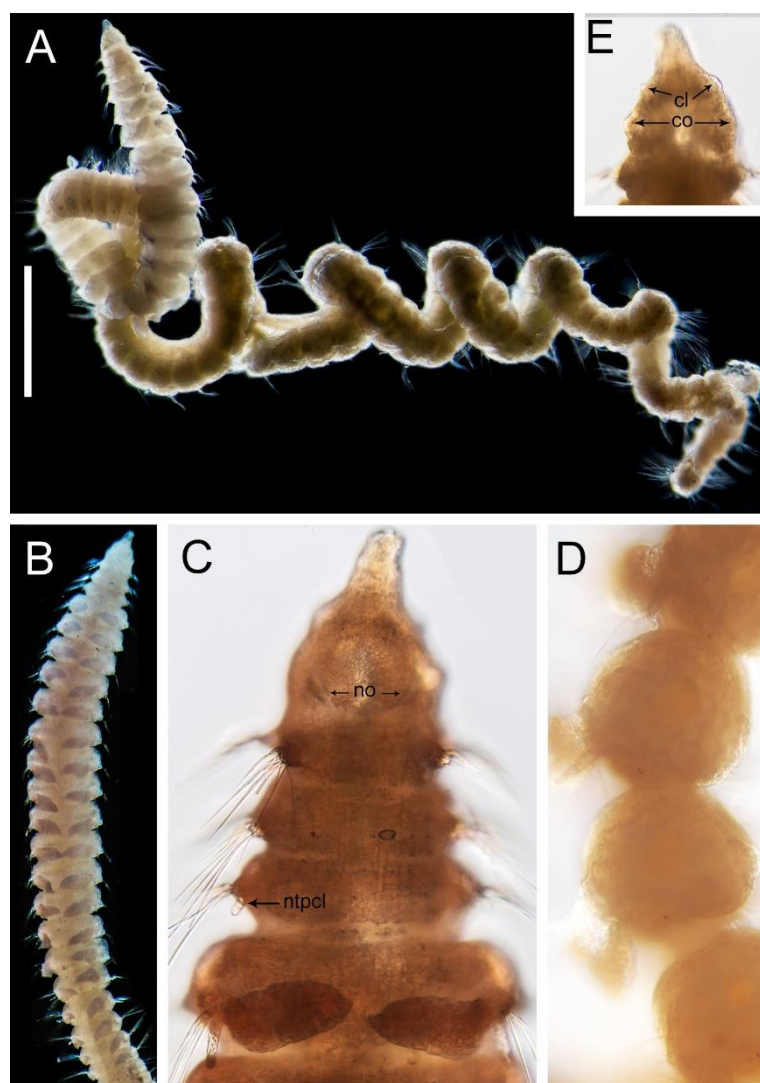


Figure 2. *Paraonis fulgens* ESFM-POL/2015-268. A, General view of specimen; B, Antero-dorsal view; C, Antero-dorsal view of first chaetigers; D, Lateral view of chaetigers in the branchial region; E, Dorsal view of prostomium. Abbreviations: cl, crystalline lens; co, cheek organ; no, nuchal organs; ntpcl, notopodial postchaetal lobe. Scale bars: A, 375 μ m; B, 673 μ m; C, 114 μ m; D, 67 μ m; E, 190 μ m.

Reproduction. All specimens of *P. fulgens* collected in June from İskenderun Bay were male; sperms were like white masses, present from the chaetigers 30-32 to the preanal region. According to the previous studies, the specimens with eggs were reported in May from Isefjord, Denmark (Rasmussen, 1973) and in August from New England, USA (Pettibone, 1963). Rasmussen (1973) reported that the number of eggs in each segment were 3-4 and that eggs had a diameter of ca. 200 μ m. Strelzov (1979) indicated that the number of eggs in segments (present from the chaetiger 34) reached up to 4 and the egg diameter reached up to 90 μ m. Like the present observation, Mesnil and Caullery (1898) also stated that the formation of sperm gametes was like masses, not like packages.

Habitat and Distribution. *Paraonis fulgens* is a shallow-water species, previously reported on soft bottom between 5 and 13 m depth from the North Sea (Levinsen, 1884), the

English Channel (Fauvel, 1927; Dauvin and Cabioch, 1988), the eastern (Mesnil and Caullery, 1898) and western (Gaston 1984, Pettibone, 1963) Atlantic Ocean, the eastern (Faulwetter et al., 2017) and western Mediterranean Sea (Cerutti, 1909, Castelli, 1988), and the Black Sea (Kurt-Şahin and Çınar 2012).

DISCUSSION

Paraonis fulgens is mainly characterized by having a triangular prostomium with the elongated anterior margin; crystalline lens located antero-laterally on the prostomium; first three chaetigers distinctly smaller and thinner than those in the rest of the body; very distinct ventral and dorsal rami; a moniliform body shape in the branchial region; asymmetrical enlargement on the base of branchiae towards posterior region and modified neurochaeta as curved hooks (no dentation).

The cheek organs and crystalline lenses in the prostomium of *Paraonis fulgens*, which were first mentioned by Mesnil and Caullery (1898), were also observed in the Levantine Sea's specimens (Figure 2E). Strelzov (1979) stated that the crystalline lenses did not exist on the specimens that he examined. However, as these lenses are located intradermally, they might be easily escaped from researcher's attentions. The cheek organ was firstly observed in some *Levinsenia* species by Strelzov (1979). He described that the *Paraonis* genus had no cheek organs. However, the present study confirmed the presence of the cheek organs in *P. fulgens*, which might be retractile or difficult to detect in contracted specimens due to fixation.

The present study firstly described a ventral lobe on the posterior parts of segments in the family Paraonidae. However, this character was also observed in some *Aricidea* species (paper in preparation). The function of this lobe is unknown.

In the Levantine Sea's specimens of *Paraonis fulgens*, the modified neurochaeta did not bear any arista on the concave side. The lack of arista on the chaeta was also mentioned by Mesnil and Caullery (1898), Cerruti (1909), Fauvel (1927), Pettibone (1963) and (Strelzov, 1979). However, Castelli (1985) reported a fragile arista on the modified neurochaeta on the specimens collected from the Tuscan coasts (western Mediterranean).

Strelzov (1979) observed four ciliary bands on the prostomium of *Paraonis fulgens*, whereas we observed only three ciliary bands on the prostomium (Figure 3A). The ciliary band 2 found in the present study seems to be similar to nncb (nuchal organ associated ciliary band) that was described for *Paradoneis* species by Erdoğan-Dereli and Çınar (2019), but at this stage it is not clear if the ciliary band 2 is associated with the nuchal organ.

Hartmann-Schröder (1996) reported that the notopodial postchaetal lobes were small on the first two chaetigers, short finger-shaped on the chaetiger 3 and were getting longer gradually towards the branchial region. She might have misinterpreted the ridges on the first two chaetigers as notopodial lobes or the specimens she examined might belong to an undescribed species. Unlike the other descriptions of the species, Fauvel (1927) stated that *P. fulgens* had no neuropodial postchaetal lobes.

ACKNOWLEDGMENTS

Authors are indebted to colleagues in the Benthology Laboratory of Ege University for their help in collecting and sorting the benthic material.

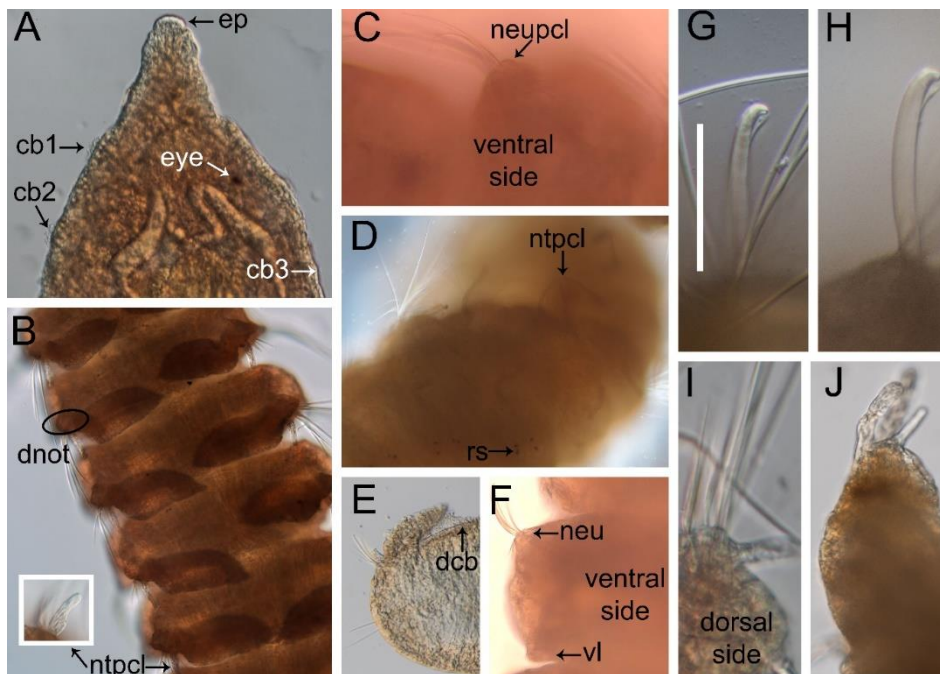


Figure 3. *Paraonis fulgens* ESFM-POL/2015-268. A, Dorsal view of prostomium; B, Dorsal view of branchial region, ellipse shape indicated the distinct dorsal rami; C, Ventral view of chaetiger 3; D, Dorsal view from posterior region; E, Cross section of chaetiger 5; F, Ventral view of chaetiger 12; G, Modified neurochaeta from chaetiger 52; H, Modified neurochaeta from chaetiger 67; I, Limbate chaeta from chaetiger 3; J, Lateral view of pygidium. Abbreviations: cb1, ciliary band 1; cb2, ciliary band 2; cb3, ciliary band 3; dcb, dorsal ciliary band; dnot, distinct notopodium; ep, eversible palpode; neu, neuropodium; neupcl, neuropodial postchaetal lobe; ntpcl, notopodial postchaetal lobe; rs, red spots; vl, ventral lobe. Scale bars: A, 100 µm; B, 87.5 µm; C, 25 µm; D, 190 µm; E, 224 µm; F, 81 µm; G, 31 µm; H, 34 µm; I, 37 µm; J, 65 µm.

REFERENCES

- Aguirrezabalaga, F. (2012). Familia Paraonidae Cerruti, 1909. In: Parapar, J., Alós, C., Núñez, J., Moreira, J., López, E., Aguirrezabalaga, F., Besteiro, C. & Martínez, A. (Eds.), *Annelida Polychaeta III. Fauna Ibérica. Vol. 36. Museo Nacional de Ciencias Naturales, CSIC, Madrid*, 160–272.
- Blake, J.A. (2016). Paraonidae Cerruti, 1909. In: Westheide, Wilfried; Purschke, Günter (eds). *Handbook of Zoology Online, Annelida: Polychaetes Edition*. pp. 29, De Gruyter, Berlin.
- Castelli, A. (1985). Paraonidae (Annelida, Polychaeta) des fonds meubles intralittoraux des cotes toscanes. *Cahiers de Biologie Marine*, 26:267–279.
- Castelli, A. (1988). Censimento dei Policheti dei Mari Italiani: Paraonidae Cerruti, 1909. *Atti della Società Toscana di Scienze Naturali Memorie* 94: 319-340.
- Cerruti, A. (1909). Contributo all'anatomia, biologia e sistematica delle Paraonidae (Levinseniidae) con particolare riguardo alle specie del golfo di Napoli. *Mitteilungen aus der Zoologischen Station zu Neapel*, 19:459–512.
- Çinar, M.E. (2005). Polychaetes from the Coast of northern Cyprus (eastern Mediterranean Sea), with two new records for the Mediterranean Sea. *Cahiers de Biologie Marine*, 46:143–161 pp.
- Çinar M.E. & Daglı E. (2013). Polychaetes (Annelida: Polychaeta) from the Aegean and Levantine coasts of Turkey, with descriptions of two new species. *Journal of Natural History*, 47:13-14, 911-947. DOI: [10.1080/00222933.2012.752543](https://doi.org/10.1080/00222933.2012.752543)
- Çinar, M.E., Dağlı, E. & Kurt-Şahin, G. (2014). Checklist of Annelida from the coasts of Turkey. *Turkish Journal of Zoology*, 38, 734–764. DOI: [10.3906/zoo-1405-72](https://doi.org/10.3906/zoo-1405-72)
- Çinar, M.E., Katağan, T., Öztürk, B., Dağlı, E., Açıık, Ş., Bitlis-Bakır, B., Bakır, K. & Doğan, A. (2012). Spatio-temporal distributions of zoobenthos in Mersin Bay (Levantine Sea, eastern Mediterranean) and the importance of alien species in benthic communities. *Marine Biology Research*, 8:954–968. DOI: [10.1080/17451000.2012.706305](https://doi.org/10.1080/17451000.2012.706305)
- Dauvin, J.C. & Cabioch, L. (1988). New species for the list of marine fauna from Roscoff: Amphipod (*Siphonocetes striatus*) and polychaete Paraonidae, and spatial distribution of *Echinocardium pennatifidum*. Nouvelles especes pour l'inventaire de la faune marine de Roscoff-crustacees amphipodes: *Siphonocetes striatus* Myers et McGrath et annelides polychetes Paraonidae et nouvelles donnees sur la repartition du spatangide *Echinocardium pennatifidum* Norman. *Cahiers de Biologie Marine*, 29(2): 215-219.
- Erdoğan-Dereli, D. & Çinar M.E. (2019). The genus *Paradoneis* (Annelida: Paraonidae) from the Sea of Marmara, with descriptions of two new species. *Zootaxa*, 4686 (4), 465-496. DOI: [10.11646/zootaxa.4686.4.2](https://doi.org/10.11646/zootaxa.4686.4.2)
- Erdoğan-Dereli, D., Çinar, M.E. & Dağlı, E. (2017). *Cirrophorus* species (Annelida: Polychaeta: Paraonidae) in the Sea of Marmara, with description of a new species. *Zootaxa*, 4347 (1), 137–150. DOI: [10.11646/zootaxa.4347.1.8](https://doi.org/10.11646/zootaxa.4347.1.8)
- Ergen, Z., Çinar, M.E. & Unsal M. (1998). Polychaetes from the Manavgat River Delta (Turkish Mediterranean coast). *Rapports et procès-verbaux des réunions Commission internationale pour l'exploration scientifique de la Mer Méditerranée*, 35:536–537.
- Fauchald, K. (1972). Benthic polychaetous annelids from deep water off western Mexico and adjacent areas in the Eastern Pacific Ocean. *Allan Hancock Monographs in Marine Biology*. 7: 1-575. DOI: [10.1080/00364827.1972.10411211](https://doi.org/10.1080/00364827.1972.10411211)
- Faulwetter S., Simbouna N., Katsiaras N., Chatzigeorgiou G. & Arvanitidis C. (2017). Polychaetes of Greece: an updated and annotated checklist. *Biodiversity Data Journal* 5: e20997. DOI: [10.3897/BDJ.5.e20997](https://doi.org/10.3897/BDJ.5.e20997)
- Fauvel, P. (1927). Polychètes sédentaires. Addenda aux errantes, Arachiannélides, Myzostomaires. *Faune de France, Paul Lechevalier. Paris*, 16, 494 p. DOI: [10.1038/113528B0](https://doi.org/10.1038/113528B0)
- Gaston G.R. (1984). Paraonidae. In: Uebelacker M, Jonhson PG, Vittor B (Eds) *Taxonomic guide to the polychaetes of the northern Gulf of Mexico* 1(2). Barry A Vittor and Associates, Inc., Louisiana, 1–53. DOI: [10.5962/bhl.title.4035](https://doi.org/10.5962/bhl.title.4035)
- Hartman, O. (1965). Deep-water benthic polychaetous annelids off New England to Bermuda and other North Atlantic areas. *Occasional Papers of the Allan Hancock Foundation*. 28: 1-384.
- Hartmann-Schröder, G. (1996). Annelida, Borstenwürmer, Polychaeta [Annelida, bristleworms, Polychaeta]. *2nd revised ed. The fauna of Germany and adjacent seas with their characteristics and ecology*, 58. *Gustav Fischer: Jena, Germany*, 58, 648 p.
- Kurt-Sahin, G. & Çinar, M.E. (2012). A check-list of polychaete species (Annelida: Polychaeta) from the Black Sea. *Journal of the Black Sea/ Mediterranean Environment*, 18:10–48 pp.
- Levinsen, G.M.R. (1884). Systematisk-geografisk Oversigt over de nordiske Annulata, Gephyrea, Chaetognathi og Balanoglossi. *Videnskabelige Meddelelser fra den naturhistoriske Forening i Kjøbenhavn*, 45:92–350. DOI: [10.5962/bhl.title.16117](https://doi.org/10.5962/bhl.title.16117)
- Mesnil, F. & Caullery, M., 1898, Études de morphologie externe chez les annélides, IV. La famille nouvelle des Leviséniens. Révision des Ariciens - affinités des deux familles, Les Apistobranchiens. *Bulletin Scientifique de la France et de la Belgique*, 31:126–151.
- Mutlu, E., Çinar, M.E. & Ergev, M.B., 2010, Distribution of softbottom polychaetes of the Levantine coast of Turkey, eastern Mediterranean Sea. *Journal of Marine Systems*, 79:23–35. DOI: [10.1016/j.jmarsys.2009.06.003](https://doi.org/10.1016/j.jmarsys.2009.06.003)
- Pettibone, M.H. (1963). Marine polychaete worms of the New England region, I. Aphroditidae through Trochochaetidae. *Bulletin of the United States National Museum*, 227:1–356. DOI: [10.5479/si.03629236.227.1](https://doi.org/10.5479/si.03629236.227.1)
- Rasmussen, E. (1973). Systematics and ecology of the Isefjord marine fauna (Denmark). *Ophelia*. 11(1): 1-507. DOI: [10.1080/00785326.1973.10430115](https://doi.org/10.1080/00785326.1973.10430115)
- Ribeiro, R.P., Alves P.R.; Almeida Z.S. & Ruta, C. (2018). A new species of *Paraonis* and an annotated checklist of polychaetes from mangroves of the Brazilian Amazon Coast (Annelida, Paraonidae). *ZooKeys*. 740: 1-34. DOI: [10.3897/zookeys.740.14640](https://doi.org/10.3897/zookeys.740.14640)
- Strelzov, V.E. (1979). Polychaete Worms of the Family Paraonidae Cerruti, 1909 (Polychaeta, Sedentaria). Amerind Publishing Co., for The Smithsonian Institution & The National Science Foundation, New Delhi, 212 pp. [English translation from Russian]

Effects of depth and season on catch volume of bottom gillnets employed along the Fatsa coasts of the South-eastern Black Sea

Güneydoğu Karadeniz'in Fatsa kıyılarında kullanılan dip uzatma ağılarıyla yakalanan avın miktarı üzerine derinlik ve mevsimin etkileri

İsmet Balık

Akdeniz University, Kemer Faculty of Maritime, Dumlupınar Bulvarı, 07058 Kampüs, Antalya

 <https://orcid.org/0000-0003-2168-8572>

ibalik@akdeniz.edu.tr

Received date: 25.10.2019

Accepted date: 22.01.2020

How to cite this paper:

Balık, İ. (2020). Effects of depth and season on catch volume of bottom gillnets employed along the Fatsa coasts of the South-eastern Black Sea. *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 37(2), 187-194. DOI: [10.12714/egejfas.37.2.10](https://doi.org/10.12714/egejfas.37.2.10)

Abstract: The study was conducted along the Fatsa coasts of the South-eastern Black Sea, to investigate the effects of depth and season on catch volume of the bottom gillnet fishery. During the study, fishing was carried out using multifilament gillnets with mesh sizes of 32, 34, 36 and 38 mm in each of the four different depth strata (0-14 m, 15-29 m, 30-49 m and ≥ 50 m) three times per month between March 2013 and February 2014 (except for July and August), with a total of 30 gillnet hauls performed. The results of the study revealed that in all seasons whiting (*Merlangius merlangus*) was caught most in the 30 m and deeper water layers. However, whiting catch increased with increasing water depth. Most red mullets (*Mullus barbatus*) were caught in the 0-14 m depth waters during spring, winter and autumn periods, while its catch was the greatest in the 15-29 m during the summer period. Catch of this species decreased gradually with increasing water depth. Another fish species was pontic shad (*Alosa immaculata*) which was caught least in the shallow waters. However, during all seasons its catch increased gradually with increasing water depth up to the 30-49 m depth strata. Nevertheless, it was determined that catch volume for this species decreased in the ≥ 50 m level again. On the other hand, Mediterranean horse mackerel (*Trachurus mediterraneus*) was mostly caught in the shallow waters (0-14 m and 15-29 m) during all seasons. Especially in the ≥ 50 m waters, no Mediterranean horse mackerel was sampled during the study. This study presents that amounts of catch for the fish species sampled were affected especially by water depth and seasons.

Keywords: Black Sea, depth, season, Catch Per Unit Effort, gillnet fishery

Öz: Bu araştırma, dip uzatma ağılarıyla avcılıkta derinlik ve mevsimin av miktarı üzerine etkisini araştırmak için Güneydoğu Karadeniz'in Fatsa kıyılarında yürütülmüştür. Araştırmada, dört farklı derinlik katmanında (0-14 m, 15-29 m, 30-49 m ve ≥ 50 m) 32, 34, 36 ve 38 mm göz açıklığında multifilament uzatma ağıları ile avcılık denemesi yapılmıştır. Avcılık denemeleri, Mart 2013 ile Şubat 2014 arasında ayda üç kez (Temmuz ve Ağustos hariç) tekrarlanmıştır. Araştırmanın sonuçları en fazla mezgit balığı (*Merlangius merlangus*)'nin yıl boyunca 30 m ve daha derin su katmanlarında yakalandığını ortaya koymuştur. Artan su derinliğiyle mezgit av miktarı da artmıştır. En fazla barbunya balığı (*Mullus barbatus*) ise ilkbahar, kış ve sonbahar mevsimlerinde 0-14 m derinlikte yakalanırken, yaz mevsiminde ise 15-29 m derinlik katmanında yakalanmıştır. Bu türün av miktarı, artan su derinliği ile kademeli olarak azalmıştır. Diğer balık türlerinden tirsi (*Alosa immaculata*) en az siğ sularında yakalanmıştır. Bu türün av miktarı yıl boyunca, siğ sularından 30-49 m derinlik tabakasına kadar artan su derinliği ile kademeli olarak artmıştır. Bununla birlikte, bu türün av miktarı 50 m daha derin sulara tekrar azalmıştır. Diğer taraftan, yıl boyunca en fazla istavrit balığı (*Trachurus mediterraneus*) siğ sularında (0-14 m ve 15-29 m) avlanmıştır. Özellikle 50 m ve daha derin sulara bu türe rastlanmamıştır. Bu araştırmanın sonuçları, avlanan balık türleri için av miktarlarının su derinliği ve mevsimlerden etkilendiğini ortaya koymuştur.

Anahtar kelimeler: Karadeniz, Derinlik, Mevsim, Birim Çaba Av Miktarı, Uzatma ağı balıkçılığı

INTRODUCTION

The Black Sea is characterized by a relatively low species diversity, high productivity and biomass, and anoxic conditions below 150-200 m depth (Knudsen et al., 2010). Especially over the last 50 years, the Black Sea ichthyofauna has undergone major changes concerning its qualitative and quantitative structure and the response of various fish populations to environmental changes.

Although the Black Sea is inhabited by approximately 187 species (Yankova et al., 2014), a few fish species are mainly caught in the commercial fishery. As indicated by Knudsen et al. (2010), whiting (*Merlangius merlangus*) is a dominant species in the littoral zone of the South-eastern Black Sea.

According to Zengin (2000), Kara et al. (1991) and Bingel et al. (1995), 65-70% of the benthic and benthopelagic fish biomass consisted of whiting in this part of the Black Sea. Since the whiting reaches reproductive maturity at two years age (İşmen, 1995; Genç, 2000), it spawns almost throughout the whole year, having the potential for rapid growth, while the stock regenerates quickly. The whiting stock is, therefore, more resilient to fishing pressure than many other species which have longer life spans and mature later (Knudsen et al., 2010). In addition, the prevalence of a cold intermediate layer (CIL, thermocline) is one of the main reasons that the biomass of whiting already mentioned is much greater in the Black Sea than in the Mediterranean (Knudsen et al., 2010). Although red

mullet (*Mullus barbatus*) is common in all Turkish waters (i.e. the Sea of Marmara, the Aegean Sea, and the Southern coasts of Turkey), subspecies *Mullus barbatus ponticus* inhabits in the Black Sea and the Sea of Azov. *Mullus barbatus ponticus* is a very commercial fish species along the coasts of Black Sea and it is mainly caught by trawls and gillnets along the Turkish coasts of the Black Sea (Yılmaz et al., 2019). The Pontic shad (*Alosa immaculata*) is anadromous fish species, belonging to the family Clupeidae. The species is native for Bulgaria, Georgia, Moldova, Romania, Russia, Serbia, Turkey and Ukraine. It occurs in Black sea and Sea of Azov and for spawning, migrates in Danube, Dnepr, Dniester, Don, Bug etc. (Rozdina et al., 2013). Since 2001, the species is established in the Sea of Marmara (Eryılmaz, 2001). Mediterranean horse mackerel (*Trachurus mediterraneus*) is a schooling species, widely distributed in Turkish waters. It is one of the most important fishery stocks, together with horse mackerel and small pelagics such as anchovy, sprat and sardine in Turkey. Despite the fact that Black Sea represents the most significant part in Turkish fishery, the main fishing area of this species is the Sea of Marmara (Demirel and Yüksek, 2013). According to Ivanov and Beverton (1985), Mediterranean horse mackerel is a migratory species distributed in the whole Black Sea basin. The main prey of the species are small fishes and zooplankton.

Continental shelf along the Turkish Black sea coast is very narrow. This situation restricts fish stocks and fishing activities. In addition, the trawl fishery has been prohibited in the South-eastern coasts of the Black Sea (Anonymous, 2016). Pelagic fish species such as anchovy (*Engraulis encrasicolus*), Mediterranean horse mackerel (*Trachurus mediterraneus*) and bonito (*Sarda sarda*) have been caught using purse seine in the Black Sea (Şahin et al., 2015), while benthic or benthopelagic fish species such as red mullet and whiting in the South-eastern Black Sea have been caught only with bottom trawls, gillnets and trammel nets in recent years. Gillnets are the most widely used net type in the small-scale fisheries, while concentrating in recent years on whiting, red mullet and Mediterranean horse mackerel using the same gillnets (Özdemir et al., 2005). Essentially, these fish species are known to live in different depths. Mediterranean horse mackerel is a pelagic fish species, although whiting is a benthopelagic and red mullet is a benthic species (Genç, 2001).

Factors affecting fishing by gillnets and trammel nets which are the most important net types for small-scale fisheries should be well known for both commercial fishing and fisheries management. Therefore, the main objective of this study was to determine the effects of different water depths and seasons on catch efficiency of this specific gillnet fishery.

MATERIAL AND METHODS

The study was conducted in the Fatsa coasts (41°01'42.67"- 41°07'42.45" N, 37°31'01.43"- 37°40'11.94" E) situated on the South-eastern Black Sea (Figure 1).



Figure 1. Map of Black Sea and study area (Google Earth, 2020)

Fishing experiments were carried out using multifilament gillnets with mesh sizes of 32, 34, 36 and 38 mm (stretched mesh) in four different depth strata (0-14 m, 15-29 m, 30-49 m and ≥ 50 m) from March 2013 to February 2014. Designs and characteristics of the nets were similar to commercial gillnets used by local fishermen. Their general characteristics are given in Table 1.

The experimental multifilament gillnets with a combination of four different mesh sizes were tied together to compose a set for each of four different depth strata. The fishing was conducted three times for each month except for July and August. In July and August, fishing could not be conducted due to maintenance requirement for fishing boats. The nets were randomly fastened each other and they were set in the afternoon and hauled the following morning. At the end of each fishing trial, all specimens were classified according to species, with or without economic value and depth. Weight of each individual (whiting, red mullet, pontic shad and Mediterranean horse mackerel) was determined to the nearest gram [total weight (W)]. All individuals belonging to the four fish species were determined by number and by biomass for each fishing experiment.

To determine the effects of water depths and seasons on catch efficiency in the gillnet fisheries, Catch Per Unit Effort (CPUE) were separately calculated for each species and each depth strata as well as for each season. For a standard series of gillnets in this study, mean CPUE was defined as the mass of fish caught during about 12 hours (one night) of fishing with a panel length of 1 m gillnet. In the calculations the height differences of gillnets (32 mm = 175 cm, 34 mm = 198 cm, 36 mm = 197 cm and 38 mm = 226 cm) were ignored. The catch data were not normally distributed (Shapiro-Wilk's test $p < 0.05$); therefore, we applied The Kruskal-Wallis test to evaluate differences among depth strata and between seasons. Mann-Whitney U test was used to compare pairwise among depth strata and seasons. Besides, in terms of CPUE of fish species relationships among depth strata and seasons were employed a Correspondence Analysis. All analyses were performed using SPSS statistical software (version 21).

Table 1. Technical characteristics of experimental gillnets by mesh sizes [Common characteristics of all mesh sizes: Diameter of the net twine = 210 d/2; panel height (70 meshes), net colour = white, PVC floats; float size = 2 no (3.1 cm diameter and 1.9 cm width) and lead ropes are made of PP; diameter of the main rope 2.5 mm; diameter of the auxiliary = 1.5 mm; lead weight 50 g]

Net yarn	32	34	36	38
Stretched mesh sizes (mm)				
Material	Multiflament	Multiflament	Multiflament	Multiflament
Diameter (Denier)	210 d/2	210 d/2	210 d/2	210 d/2
Panel height (mesh number)	70	70	70	70
Panel length (mesh number)	6250	5882	5555	5263
Colour	White	White	white	White
Bolsh twin				
Material	PA	PA	PA	PA
Diameter (Denier)	210 d/9	210 d/9	210 d/9	210 d/9
Float rope				
Material	PP	PP	PP	PP
Diameter (main rope, mm)	3.5	3.5	3.5	3.5
Diameter (auxiliary rope, mm)	1.5	1.5	1.5	1.5
Length (m)	125	112	125	105
Number bolshes	1250	1178	1389	1312
Bolsh sizes (cm)	10	9.5	9	8
N. meshes per bolsh	5	5	4	4
Hanging ratio (E)	0.625	0.56	0.625	0.526
Floats				
Material	PVC	PVC	PVC	PVC
Size	2	2	2	2
N. floats	178	168	198	188
Lead rope				
Material	PP	PP	PP	PP
Diameter (main rope, mm)	2.5	2.5	2.5	2.5
Diameter (auxiliary, mm)	1.5	1.5	1.5	1.5
Length (m)	125	112	125	105
Number bolshes	1250	1178	1389	1312
Bolsh sizes (cm)	10	9.5	9	8
N. meshes per bolsh	5	5	4	4
Lead weight (g)	50	50	50	50
N. leads	178	168	198	188
Hanging ratio (E)	0.625	0.56	0.625	0.526
Height of gillnet (cm)	175	198	197	226

RESULTS

Throughout the study, a total of 2254 individuals belonging to the whiting, red mullet, pontic shad and Mediterranean horse mackerel were caught. Numbers and total biomass of each fish species for all depth strata and seasons are summarized in Table 2.

Most catches were obtained in the 30-49 m depth strata, followed by ≥ 50 m, 15-29 m and 0-14 m depth strata, respectively. The catch of whiting caught in the 0-14 m depth strata was very small. It increased clearly in the 15-29 m depth strata and reached a maximum value in the 30-49 m depth strata. However, in the ≥ 50 m depth waters catches were similar to 30-40 m. Catches during the summer period was lower than in other seasons. Since no samples were taken during July and August, the summer catch volume consisted of data only from June. Most fish was caught in autumn. This season was followed by spring and winter, respectively.

Catch volume by depth and season

CPUE for whiting was only 0.08 g m⁻¹ for the 0-14 m depth strata, but increased with depth to 0.6 g m⁻¹ (15-29 m) and 1.21

g m⁻¹ (30-49 m). Catch volume increased about eight fold from 0-14 m to 15-29 m and two fold from 15-29 m to 30-49 m, remaining stable in greater depth. Differences between 30-49 m and ≥ 50 m strata were not statistically significant ($p > 0.05$), while those of others were $p < 0.05$.

Red mullet and Mediterranean horse mackerel were mostly caught in the shallow waters (0-14 m). As seen in Table 3, catches of both species decreased with increasing water depth. Catches of these fish species were greater in the 15-29 m than those of deeper waters. However, red mullet CPUE there were no differences ($p > 0.05$) between the 0-14 m and 15-29 m and between the 30-49 m and ≥ 50 m, while all other depth strata comparisons were significant ($p < 0.05$). For Mediterranean horse mackerel, only the 15-29 m and 30-49 m depth strata were significantly different ($p > 0.05$). Pontic shad was caught least in the shallow waters. However, catches increased gradually with increasing depth down to 30-49 m depth strata, and they decreased in the ≥ 50 m again. For this species, differences of CPUEs between the 0-14 m and 30-49 m depth strata and between the 15-29 m and 30-49 m depth strata were statistically significant ($p < 0.05$).

Table 2. Catch of four species captured by test gillnet fishing in the Fatsa area of the Southern Black Sea listed by number and biomass in relation to seasons (spring, summer, autumn and winter) and by depth strata (0-14, 15-29, 30-49 and ≥ 50 m). Data were obtained by monthly sampling (three fishing trials per month; March 2013 to February 2014) except for July and August. N = number of fish; TB = total biomass

Species	Depth (m)	Spring		Summer		Autumn		Winter		Total	
		N	TB	N	TB	N	TB	N	TB	N	TB
Whiting	0-14	25	964	0	0	9	309	0	0	34	1273
	15-29	67	3482	4	168	109	4071	62	2212	242	9933
	30-49	96	3967	37	1265	193	6872	167	6054	493	18159
	≥ 50	111	4377	37	1390	224	7977	118	4185	490	17928
	Total	299	12790	78	2823	535	19229	347	12451	1259	47293
Red mullet	0-14	102	4883	24	971	57	2092	78	2955	261	10900
	15-29	51	2136	32	1312	18	661	32	1194	133	5303
	30-49	20	826	0	0	4	151	11	410	35	1387
	≥ 50	6	234	0	0	5	175	0	0	11	409
	Total	179	8079	56	2282	84	3079	121	4558	440	17999
Pontic shad	0-14	10	1277	0	0	14	1748	0	0	24	3025
	15-29	30	3930	0	0	26	3213	21	2460	77	9602
	30-49	36	3804	5	757	57	7248	30	3767	128	15577
	$50 \geq$	30	3586	3	362	35	4501	17	2164	85	10613
	Total	106	12596	8	1120	132	16711	68	8391	314	38817
Mediterranean horse mackerel	0-14	38	1305	9	290	91	3175	34	1165	172	5935
	15-29	10	322	3	95	7	224	33	1126	53	1766
	30-49	1	35	3	363	4	130	8	269	16	796
	≥ 50	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Total	49	1662	15	748	102	3529	75	2560	241	8498
All species	0-14	175	8428	33	1261	171	7324	112	4120	491	21133
	15-29	158	9870	39	1575	160	8168	148	6992	505	26604
	30-49	153	8632	45	2385	258	14402	216	10500	672	35919
	≥ 50	147	8197	40	1753	264	12653	135	6349	586	28951
	Total	633	35127	157	6974	853	42548	611	27960	2254	112608

Table 3. CPUEs of four species captured by test gillnet fishing in the Fatsa area of the Southern Black Sea listed by biomass in relation to seasons (spring, summer, autumn and winter) and by depth strata (0-14, 15-29, 30-49 and ≥ 50 m) ($\text{g m}^{-1}\cdot\text{night}^{-1}$). Data were obtained by monthly sampling (three fishing trials per month; March 2013 to February 2014) except for July and August

Species	Depth (m)	Spring	Summer	Autumn	Winter	Mean
Whiting	0-14	0.23	0.00	0.07	0.00	0.08
	15-29	0.81	0.12	0.95	0.52	0.60
	30-49	0.93	0.89	1.60	1.41	1.21
	≥ 50	1.02	0.96	1.86	0.97	1.20
	Mean	0.75	0.49	1.12	0.72	0.77
Red mullet	0-14	1.14	0.67	0.49	0.69	0.75
	15-29	0.49	0.93	0.15	0.28	0.46
	30-49	0.19	0.00	0.03	0.09	0.08
	≥ 50	0.05	0.00	0.04	0.00	0.02
	Mean	0.47	0.40	0.18	0.27	0.33
Pontic shad	0-14	0.31	0.00	0.44	0.00	0.19
	15-29	0.97	0.00	0.78	0.58	0.58
	30-49	0.92	0.55	1.79	0.90	1.04
	$50\geq$	0.87	0.24	1.12	0.52	0.69
	Mean	0.77	0.20	1.03	0.50	0.62
Mediterranean horse mackerel	0-14	0.30	0.20	0.75	0.27	0.38
	15-29	0.07	0.06	0.05	0.26	0.11
	30-49	0.01	0.29	0.03	0.06	0.10
	≥ 50	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	Mean	0.10	0.14	0.21	0.15	0.15
All species	0-14	0.50	0.22	0.44	0.24	0.35
	15-29	0.59	0.28	0.48	0.41	0.44
	30-49	0.51	0.43	0.86	0.61	0.61
	≥ 50	0.48	0.30	0.76	0.37	0.48
	Mean	0.52	0.31	0.63	0.41	0.47

Considering the CPUE, for all four species combined (whiting, red mullet, pontic shad and Mediterranean horse mackerel) the yield was greater in autumn than in other seasons. However, for whiting and pontic shad spring, winter and summer were most effective. For Mediterranean horse mackerel yields were greatest in winter followed by summer and spring. However, differences among seasons were not significant ($p>0.05$) for CPUEs of whiting and Mediterranean horse mackerel. It was different ($p<0.05$) between the autumn and summer seasons and between the autumn and winter seasons for pontic shad. On the other hand, most red mullets were caught during spring, followed by summer, winter and autumn. For red mullet, differences of CPUEs were significant ($p<0.05$) for comparisons between summer and other seasons.

The Correspondence Analysis showed that during all seasons whiting was caught the most in the 30 m and deeper waters (Figure 2). In shallow waters (15-29 m), relatively more whiting were caught during spring, autumn and winter, but littoral zone of 0-14 m almost no whiting caught except for spring. According to the chi-square test ($\chi^2(9) = 175.630$,

$p<0.05$), however, water depths and seasons are not totally independent from each other.

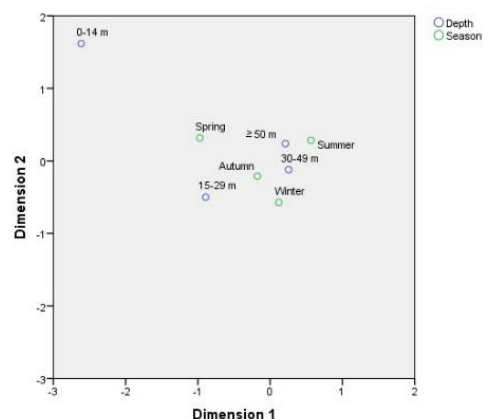


Figure 2. Correspondence Analysis executed with data from a monthly test fishing survey (March 2013- February 2014 (except July and August), using gillnets at different depth strata and seasons to determine catch biomass when fishing for whiting

During the spring, winter and autumn periods, red mullet were mostly caught in the 0-14 m depth strata, while during summer catch was the highest in the 15-29 m depth zone (Figure 3). In deeper waters especially in the ≥ 50 m zone a few red mullets were caught. Chi-square test showed that the total inertia was different from 0 ($\chi^2(9) = 140.962, p < 0.05$), indicating that red mullet catch is also affected by the relationship between water depths and seasons.

As seen in Figure 4, pontic shad were mostly caught in the 30-49 m depth strata and deeper waters during all seasons, while in the 0-14 m depth zone pontic shad catch was very small. Also here the Chi-square test ($\chi^2(9) = 168.536, p < 0.05$) indicated that the pontic shad catch was greatly affected by interactions between water depths and seasons.

It is understood from Figure 5 that in all seasons Mediterranean horse mackerel were mostly caught in the littoral zone of 0-14 m and in the 15-29 m depth strata. Especially in deeper the ≥ 50 m waters, no Mediterranean horse mackerel was caught. Total inertia value was also different from 0 ($\chi^2(9) = 136.857, p < 0.05$) for this species. Therefore, catch volume was also affected by the changes in water depths and seasons.

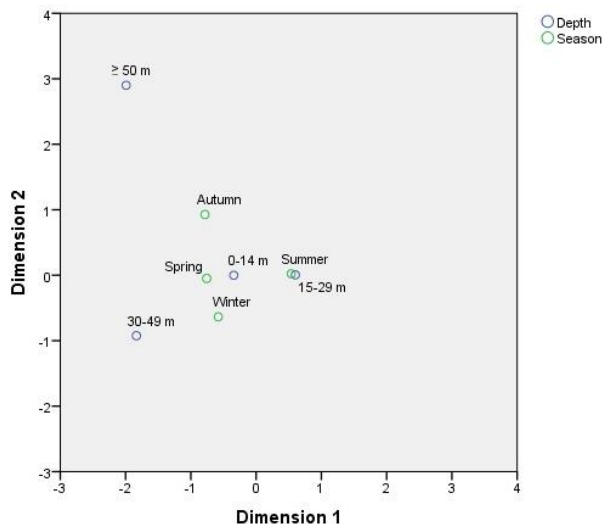


Figure 3. Correspondence Analysis executed with data from a monthly test fishing survey (March 2013- February 2014 (except July and August), using gillnets at different depth strata and seasons to determine catch biomass when fishing for red mullet

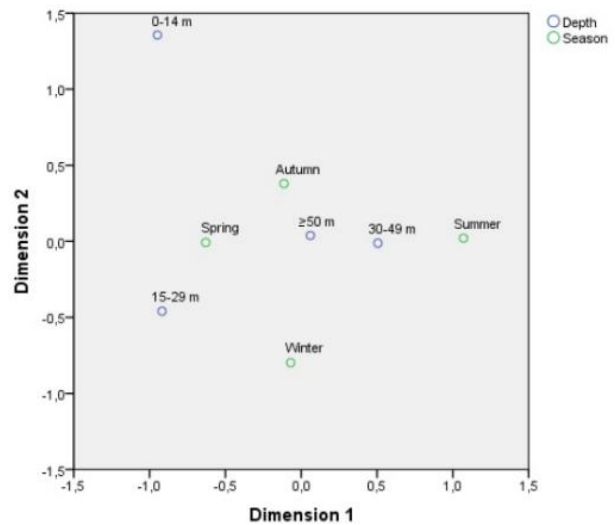


Figure 4. Correspondence Analysis executed with data from a monthly test fishing survey (March 2013- February 2014 (except July and August), using gill nets at different depth strata and seasons to determine catch biomass when fishing for pontic shad

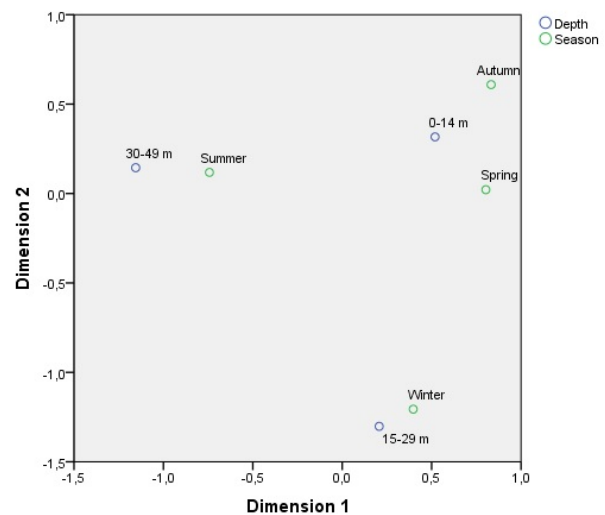


Figure 5. Correspondence Analysis executed with data from a monthly test fishing survey (March 2013- February 2014 (except July and August), using gillnets at different depth strata and seasons to determine catch biomass when fishing for Mediterranean horse mackerel

DISCUSSION

Gillnet and trammel net fisheries are very important in the South-eastern Black Sea coast of Turkey. Importance of these nets has increased particularly because of prohibition of fishing by trawl nets in this region.

The results of our study revealed that catch volume of whiting was less in waters shallower than 15 m, gradually increasing from 0-14 m to 30-49 m, and remaining stable in waters depth of ≥ 50 m. [Daskalov and Rätz \(2011\)](#) emphasized that whiting occurs all along the shelf, with dense concentrations formed by 1-3 year classes down to 150 m depth, but most often within a depth of 60-120 m. The maximum fishing depth in our study, however, was 70 m only. Catch volume estimate in deeper waters was not possible. [Kalaycı and Yeşilçiçek \(2014\)](#) found a linear correlation between the whiting catch volume and water depth. [Erdem et al. \(2007\)](#) reported that whiting catch was greater in the waters deeper than 50 m in the coasts of Samsun. [Çiloğlu et al. \(2002\)](#) reported no catches in waters of 15 m depth in the Trabzon coastal area. Thus, all studies show that whiting prefers waters deeper than 15 m.

Seasonality of whiting catch shows some trends, however firm conclusion can not be drawn because of missing data for July and August. [Kalaycı and Yeşilçiçek \(2014\)](#) reported different results from the Rize coasts of the South-eastern Black Sea reaching, the highest CPUE in spring. As indicated by [Knudsen et al. \(2010\)](#), excluding the summer period in the South-eastern Black Sea whiting yields abundant catch throughout the year. As a cold-water fish, its seasonal vertical distribution depends on the sea water temperature and during summer the fish stays mainly below the thermocline (30-40 m; ca 7.5-8.5 °C). Contrary to results of [Kalaycı and Yeşilçiçek \(2014\)](#), the results of our study agree with these informations.

Both annual catch statistics and observations on fisheries in this region showed that in recent years the small-scale fishery depends mainly on whiting, red mullet and Mediterranean horse mackerel. [Öztaş and Balık \(2012\)](#) found in 2010 in the same area a mean CPUE for the 32, 34 and 36 mm mesh-sized gillnets of 16.7 g m⁻¹. In this study, mean CPUE was 1.005 g m⁻¹ for the same mesh-sized gillnets. This difference clearly shows the decrease in the whiting stock population in the Fatsa coasts.

Red mullet was mostly caught in the shallow waters, with catches decreasing with increasing water depth. However, this is contrasted by [Kalaycı and Yeşilçiçek \(2014\)](#) finding along the Rize coasts (South-eastern Black Sea) the highest red mullet CPUE in the 55-74 m depth strata. Apparently, the depth distribution of this species may depend on the fluctuations in water temperature. From late spring and throughout the summer red mullets prefer shallow coastal waters where they reproduce. During our study, the most red mullet was caught in the spring, followed by summer, winter and autumn, respectively, whereas, [Kalaycı and Yeşilçiçek \(2014\)](#) reported the highest CPUE during the winter period. According to [Genç](#)

[et al. \(2002\)](#), red mullets migrate into shallow waters toward spring and they are caught by gillnets in this season. [Aydın and Karadurmuş \(2013\)](#) found that summer is the spawning season for this species in shallow waters of the South-eastern Black Sea. Most CPUE values for pontic shad were obtained in the depths of 30-49 m. Even, it was never caught in the depth of 0-14 m in the summer and winter periods and in the depth of 15-29 m in the summer period. [Ak et al. \(2008\)](#) reported catches in water depths between 40 and 60 m in the Trabzon area during winter and spring. Pontic shad migrate seasonally around the Black sea coastal waters but also to brackish waters and rivers to spawn ([Polat and Ergün, 2008](#)) and they are found in large schools around the river mouth and in the middle waters. In our study region, there are several rivers and two of them (Bolaman and Elekçi rivers) flow into our study area. Catch of pontic shad may be positively affected by the river flow especially during the spawning season.

Mediterranean horse mackerel is a pelagic migratory species distributed within the entire Black Sea ([Ivanov and Beverton, 1985](#)) throwing in surface waters. This species was mostly caught in waters of 0-14 m depth, catches decreasing with increasing water depth, and it was never caught in waters deeper than 50 m, preferably staying in the shelf waters above the seasonal thermocline seasonal catches were the greatest in autumn. During spring, this species migrates to the north for reproduction and feeding.

Whiting is a dominant species in the littoral zone of the South-eastern Black Sea ([Kara et al., 1991](#); [Knudsen et al., 2010](#)). The results of the study showed that small scale fisheries depend almost entirely on whiting and red mullet in the South-eastern Turkish coast of the Black Sea.

In conclusion, it was clearly shown that catch efficiency of the four species studied are related to water depth and season when fished by gillnets in the Fatsa coasts of the South-eastern Black Sea. During the year, whiting can be fished by gillnets mainly in the 30 m and deeper waters, while most red mullets can be caught in the shallow waters (0-14 m) during spring, winter and autumn periods, and during the summer in waters depth of 15-29 m. Most pontic shad can be fished in waters depth of 30-49 m throughout the year, while Mediterranean horse mackerel can be fished in waters shallower than 30 m.

ACKNOWLEDGMENTS

This study was supported by the Scientific Research Fund of Ordu University with the project his number TF-1225. I am grateful to Taner Topçu for all of his and help throughout the data collection.

REFERENCES

- Ak, O., Kutlu, S. & Aydın, İ. (2008). Trabzon kıyılarında (Doğu Karadeniz) dip trolü ile avlanan balık faunası üzerine bir araştırma (An investigation on fish fauna by bottom trawled in Trabzon coast (east Black Sea)). *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 24(1-2), 380-388.
- Anonymous, (2016). Deniz ve İçsularda Ticari Su Ürünleri Avcılığını Düzenleyen 1/4 Nolu Tebliğ, TGHB, Balıkçılık ve Su Ürünleri Genel Müdürlüğü, 1:112, Ankara.
- Aydın, M. & Karadurmuş, U. (2013). An investigation on age, growth and biological characteristics of red mullet (*Mullus barbatus ponticus*, Essipov, 1927) in the Eastern Black Sea. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 12(2), 277-288.
- Bingel, F., Gügü, A. C., Stepnovski, A., Niermann, U., Mutlu, E., Avşar, D., Kideys, A. E., Uysal, Z., İşmen, A., Y., Okur, H. & Zengin, M. (1995). Stock assessment study for Turkish Black Sea coast. Final Report, METU IMS Erdemli and FRI Trabzon, TÜBİTAK, 159 p.
- Çiloğlu, E., Şahin, C., Gözler, A. M. & Verep, B. (2002). Mezgit balığının (*Merlangius merlangus euxinus* Nordmann 1840) doğu Karadeniz sahillerinde vertikal dağılımı ve toplam av içindeki oranı (Vertical Distribution and ratio of whiting fish (*Merlangius merlangus euxinus* Nordmann, 1840) in the total catch on the Eastern Black Sea coasts). *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 19(3-4), 303-309.
- Daskalov, G. & Rätz, H.-J. (2011). Assessment of Black Sea Stocks (STECF-OWP-11-06). In G. Daskalov & H.-J. Rätz (Eds.), *Technical and Economic Committee for Fisheries (STECF)*. JRC Scientific and Technical Reports, 213 p.
- Demirel, N. & Yüksek, A. (2013). Spawning Frequency of *Trachurus mediterraneus* (Carangidae) in the Sea of Marmara. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 13, 441-446.
- Erdem, Y., Özdemir, S., Erdem, E. & Birinci Özdemir, Z. (2007). Dip trolü ile iki farklı derinlikte avlanan mezgit (*Merlangius merlangus euxinus* N. 1840) balığının av verimi ve boy kompozisyonunun değişimi (Change of catch efficiency and size composition of whiting (*Gadus merlangus euxinus* N, 1840) fishing by bottom Trawl in two different Depths). *Türk Sucul Yaşam Dergisi*, 3-4(5-8), 435-445.
- Eryılmaz, L. (2001). A study on the bony fishes caught in the south of the Sea of Marmara by bottom trawling and their morphologies. *Turk J Zool.*, 25: 323-342.
- Genç, Y. (2000). Türkiye'nin Doğu Karadeniz Kıyılarındaki Barbunya (*Mullus barbatus ponticus*, Ess. 1927) Balığının Biyolojik Özellikleri ve Popülasyon Parametreleri ((Population parameters and bioecological properties of red mullet (*Mullus barbatus ponticus*, ESS, 1927) in the east Black Sea coasts of Turkey). PhD thesis, Karadeniz Technical University, Trabzon, 183 p.
- Genç, Y. (2001). Doğu Karadeniz'deki Önemli Demersal Balıkların Üreme Özellikleri. *SÜMAE YUNUS Araştırma Bülteni*, 2, 10-12.
- Genç, Y., Mutlu, C., Zengin, M., Aydın, İ., Zengin, B. & Tabak, İ. (2002). Doğu Karadeniz'deki Av Gücünün Demersal Balık Stokları Üzerine Etkisinin Tespiti (Determination of effect of fishing effort on demersal fish stocks in the eastern Black Sea). Final report, TAGEM/İY97/17/03/006, Fisheries Central Research Institute, Trabzon, 114 p.
- İşmen, A. (1995). The biology and population parameters of the whiting (*Merlangius merlangus euxinus* Nordmann) in the Turkish coast of the Black Sea. Ph. D. thesis. Institute Marine Sciences-METU, Erdemli/İçel, 215 p. DOI: [10.1016/0165-7836\(94\)00327-S](https://doi.org/10.1016/0165-7836(94)00327-S)
- Ivanov, L. & Beverton, R. J. H. (1985). The fisheries resources of the Mediterranean. Part II, Black Sea, FAO Studies and Reviews, No. 60, 135 p.
- Kalaycı, F. & Yeşilççek, T. (2014). Effects of depth, season and mesh size on the catch and discards of whiting (*Merlangius merlangus euxinus*) gillnet fishery in the southern Black Sea, Turkey. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 14, 449-456. DOI: [10.4194/1303-2712-v14_2_15](https://doi.org/10.4194/1303-2712-v14_2_15)
- Kara, Ö. F., Kaya, M., Benli, H. A. & Mater, S. (1991). The productivity and hydrographic properties of the trawl areas of the Middle and Eastern Black Sea. In K.C. Güven (Ed.), *The Black Sea Symposium, Ecological Problems and Economical Prospects* (pp. 205-222). The Black Sea Foundation, İstanbul.
- Knudsen, S., Zengin, M. & Koçak, M.H. (2010). Identifying drivers for fishing pressure. A multidisciplinary study of trawl and sea snail fisheries in Samsun, Black Sea coast of Turkey. *Ocean and Coastal Management*, 53, 252-269. DOI: [10.1016/j.ocecoaman.2010.04.008](https://doi.org/10.1016/j.ocecoaman.2010.04.008)
- Özdemir, S., Erdem, Y. & Sümer, Ç. (2005). Farklı Yapı ve Materyale Sahip Uzatma Ağlarının Av Verimi ve Av Kompozisyonu. *F.Ü. Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi* (4), 621-627.
- Öztaş, M. & Balık, İ. (2012). Güneydoğu Karadeniz'in üç farklı kıyısal bölgesinde (Ordu- Giresun) yapılan dip uzatma ağları ile mezgit balığı (*Merlangius merlangus* (Linnaeus, 1758)) avcılığında elde edilen Cpue değerlerinin karşılaştırılması (Comparison of CPUEs for catching whiting (*Merlangius merlangus* (Linnaeus, 1758)) caught by gillnets from three different areas in the southeast Black Sea (Ordu-Giresun)). *Journal of Fisheries Sciences*, 6(4), 287-296.
- Polat, H. & Ergün, H. (2008). Karadeniz'in pelajik balıkları (Pelagic fishes of the Black Sea). *YUNUS Araştırma Bülteni (YUNUS Research Bulletin)*, 8, 1-5.
- Rozdina, D., Raikova-Petrova, G. & Mirtcheva, P. (2013). Age composition and growth rate of the spawning part of the population of pontic shad *Alosa immaculata* (Bennett, 1835) in the Bulgarian sector of Danube River. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 19 (Supplement 1) 2013, 118-125.
- Şahin, C., Ceylan, C. & Kalaycı, F. (2015). Purse Seine Fishery Discards on the Black Sea Coasts of Turkey. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 15, 81-91.
- Yankova, M., Pavlov, D., Ivanova, P., Karpova, E., Boltachev, A., Öztürk, B. & Bat, L. (2014). Marine fishes in the Black Sea: recent conservation status. *Medit. Mar. Sci.*, 15(2), 366-379. DOI: [10.12681/mms.700](https://doi.org/10.12681/mms.700)
- Yılmaz, B., Samsun, O., Akyol, O., Erdem, Y. & Ceyhan, T. (2019). Age, growth, reproduction and mortality of Red Mullet (*Mullus barbatus ponticus* Essipov, 1927) from the Turkish coasts of the Black Sea. *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 36(1), 41-47. DOI: [10.12714/egejfas.2019.36.1.05](https://doi.org/10.12714/egejfas.2019.36.1.05)
- Zengin, M. (2000). Türkiye'nin Doğu Karadeniz Kıyılarındaki Kalkan (*Scophthalmus maeoticus*, Pallas, 1811) Balığının Biyolojik Özellikleri ve Popülasyon Parametreleri (Population parameters and bioecologic properties of turbot (*Scophthalmus maeoticus* Pallas, 1811) in the Black Sea coasts of Turkey). PhD thesis, Karadeniz Technical University, Trabzon, 208 p.

Effects of myo-inositol concentration on growth and pigments of *Nannochloropsis oculata* culture

Myo-inositol konsantrasyonunun *Nannochloropsis oculata* kültüründe büyüme ve pigmentleri üzerine etkileri

Gökhan Çağatay Erbil¹ • Yaşar Durmaz^{2*}

¹Kastamonu University, Fisheries Faculty, Aquaculture Department, Kastamonu Turkey

<https://orcid.org/0000-0002-6704-5073>

²Ege University, Fisheries Faculty, Aquaculture Department, Bornova Izmir Turkey

<https://orcid.org/0000-0002-1858-5882>

Corresponding author: yaşar.durmaz@ege.edu.tr

Received date: 30.10.2019

Accepted date: 10.01.2020

How to cite this paper:

Erbil, G.Ç. & Durmaz Y. (2020). Effects of myo-inositol concentration on growth and pigments of *Nannochloropsis oculata* culture. *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 37(2), 195-199. DOI: [10.12714/egejfas.37.2.11](https://doi.org/10.12714/egejfas.37.2.11)

Abstract: Inositols are used as growth promoting agents over plants. But microalgae are different from higher plant especially photosynthetic efficiency and productivity. According to the results of this study, myo-inositol addition to the culture medium of *Nannochloropsis oculata* provides higher cell densities. 100 mg L⁻¹ myo-inositol added experimental group was reached to 1.42-fold cell mL⁻¹, while the 500 mg L⁻¹ myo-inositol added group was reached to 1.28-fold cell mL⁻¹ than the control group. Mean chlorophyll α per cell amounts were calculated for experimental groups and control groups as 0.052 pg cell⁻¹ and 0.053 pg cell⁻¹, respectively. Mean total carotene per cell amounts were calculated for all groups as 0.016 pg cell⁻¹. These results show that no difference was occurred between all groups by chlorophyll α and total carotene amounts per cell. This study shows that myo-inositol use in microalgae production may provide higher yields.

Keywords: carotene, chlorophyll, microalgae, myo-inositol, *Nannochloropsis oculata*, pigments

Öz: İnositoller, bitkilerde büyüme artırıcı olarak kullanılmaktadır. Ancak, mikroalgler yüksek bitkilerden özellikle fotosentetik etkinlik ve üretkenlik açısından farklıdır. Bu çalışmada elde edilen verilere göre *Nannochloropsis oculata* kültür ortamına myo-inositol ilave edilmesi daha yüksek hücre yoğunluğuna neden olmaktadır. 100 mg L⁻¹ myo-inositol ilave edilen grup kontrol grubuna göre 1,42 kat hücre mL⁻¹, 500 mg L⁻¹ myo-inositol ilave edilen grup ise kontrol grubuna göre 1,28 kat hücre mL⁻¹ yoğunluğa ulaşmıştır. Hücre başına ortalama klorofil α değerleri ise deneme grupları ve kontrol grubu için sırasıyla 0,052 pg hücre⁻¹ ve 0,053 pg hücre⁻¹ olarak hesaplanmıştır. Hücre başına ortalama toplam karoten miktarları ise tüm gruplar için 0,016 pg hücre⁻¹ olarak hesaplanmıştır. Bu sonuçlar gruplar arasında hücre başına klorofil α ve toplam karoten miktarlarının değişmediğini göstermektedir. Bu çalışma, mikroalg üretiminde myo-inositol kullanımının daha fazla ürün elde edilmesini sağlayabileceğini ortaya koymaktadır.

Anahtar kelimeler: karoten, klorofil, mikroalg, myo-inositol, *Nannochloropsis oculata*, pigmentler

INTRODUCTION

Microalgae are indispensable sources for biotechnological products of different industrial applications such as feed, health foods, natural colorants, pharmaceuticals and bioenergy (Chu, 2012; Dixit and Suseela, 2013; Mortensen, 2006; Pulz and Gross, 2004). Also, essential feed source for all growth stages of bivalves and for larvae of some crustaceans and fish species in aquaculture as used directly in larval tanks. In this aquaculture feed chain, important nutrients from microalgae are transferred to higher trophic levels via intermediary zooplankton (Brown et al., 1999; Vismara et al., 2003).

The microalga *Nannochloropsis oculata* is important in aquaculture due to its nutritional value. It belongs to the class Eustigmatophyceae, which species that contain a high amount of fatty acids and pigmentation (Brown et al., 1999; Otero et al.,

1997). The nutritional value of microalgae is related to their biochemical composition, especially the lipid and fatty acid compositions. Biochemical composition is alterable significantly through culture conditions, especially depending on the culture medium, temperature and light conditions (Durmaz et al., 2008; Richmond, 2004). The pigment composition of algae from the genus *Nannochloropsis* is characterized by chlorophyll α , beta-carotene, violaxanthin and vaucherixanthin as major pigments. Pigments are involved in light harvesting reaction and their amounts are differable that are associated with growth conditions, especially medium, high light intensity and high salinity (Lubian et al. 2000, Sanchez et al., 2005). Inositol is a chemical compound with formula C₆H₁₂O₆, a six-fold alcohols of cyclohexane. It exists several stereoisomers and the most prominent form is myo-inositol.

Myo-inositol and its multifunctional position in plant biochemistry and physiology have already been described (Loewus and Loewus, 1983; Morre et al., 1990). Biosynthesis and function of several phosphoinositide stereoisomers have investigated in terms of signaling and plant growth which supports the essential importance of inositol lipids in plants (Stevenson et al., 2000).

The main problems of microalgae production are low productivity, low quality, and high production cost. Main purposes of microalgae production in the aquaculture are that increment of growth rate and valuable metabolites such as pigment and fatty acids.

Present study was undertaken to examine the effect of myo-inositol on growth and pigments of *N. oculata*. Studies of the effects of different concentration of myo-inositol on pigments may give important information on species metabolism. Moreover, this knowledge is also important for optimizing the yield of marine aquaculture production. Using myo-inositol may provide to obtain more biomass and more pigments.

MATERIAL AND METHODS

Microalgae

N. oculata (CCAP 849/1) was obtained from The Culture Collection of Algae and Protozoa (CCAP), Scotland.

Culture conditions

6 L flat-bottom flasks were used in *N. oculata* experiments. Cultures were kept illuminated under fluorescent lamps (Philips Master TL-D Reflex 36W/865 1SL/25) at 116 $\mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$ irradiance level of the surface of flask with 24:0 h (L:D) photoperiod. The cultures were stirred by air without CO_2 addition. 0.2 μm Sartorius Midisart 2000 filters were used to avoid contamination by aeration. The temperature was maintained at $20 \pm 1^\circ\text{C}$ by the air-conditioner. 2-fold concentration of F/2 medium was used (Guillard, 1975). In the experiment, sterilized seawater was used with 35 g L^{-1} of salinity. All solutions except vitamin solution were autoclaved at 121°C for 20 min. The vitamin solution was sterilized with 0.2 μm filter.

Experimental Design

Myo-inositol were purchased from Sigma-Aldrich (USA). These inositol derivatives were dissolved in F/2 medium and filtered through a 0.2 μm membrane filter (Whatman Anodisc 47 mm).

100 mg L^{-1} and 500 mg L^{-1} myo-inositol concentrations with the control group were chosen in this study and experiments were done in triplicate.

Analysis

The samples of microalgae were harvested daily for cell count and analysis. Cell number was measured via Improved Neubauer hemocytom eter and at the same time, contamination was checked daily through visual observation. Specific growth rates (μ) were calculated by this equation (Durmaz and Erbil, 2017);

$$\mu = \frac{\ln(N_t) - \ln(N_0)}{t - t_0}$$

Where N_t is biomass as cell number at the time (t) and N_0 is the beginning biomass cell number at a time t_0 .

Chlorophyll a and total carotene pigments of *N. oculata* were measured by spectrophotometry. 5 mL of samples from each culture were taken and were centrifuged at 3500 rpm for 10 minutes, then supernatants were removed. After that, 5 mL of methanol and glass powder were added to the tubes then were mixed by using vortex. After homogenization with mechanical homogenizer, samples were kept in ultrasonic bath for 10 minutes at 65°C . Lastly, samples were mixed over again and were centrifuged at 3500 rpm for 10 minutes. Supernatants were taken for spectrophotometric analysis. Calculations were completed according to;

Chlorophyll a ($\mu\text{g mL}^{-1}$) = 13.9 A_{665} (Sanchez et al., 2005)

A_{665} wavelength 665 nm absorbance value

Total carotene ($\mu\text{g mL}^{-1}$) = 4.5 A_{478} (Zou and Richmond, 2000)

A_{478} wavelength 478 nm absorbance value

All of the reagents were obtained from Merck (Darmstadt, Germany) unless otherwise stated and the standards were from Sigma-Aldrich (St. Louis, USA).

The Kolmogorov-Smirnov test was used to verify the normality and homogeneity of variances. Data were analyzed using ANOVA. The sources of significant differences were determined using the Tukey test (Zar, 1999).

RESULTS

The pH of the nutrient medium was not changed after adding Myo-inositol and the pH ranges were between 7.5 and 8.5 along to culture time. The air was given in the middle of the flasks, so that the homogenous distribution of the cells and nutrient medium were fully ensured. It is observed that cells sizes were not changed (approximately 2 μm diameter).

Cell Densities

In this study, initial density of *N. oculata* trials were arranged as 25×10^6 cell mL^{-1} . After inoculation, the lag phase was not observed. The effects of myo-inositol concentration on the cell number of *N. oculata* are shown in Figure 1A. 100 mg L^{-1} and 500 mg L^{-1} concentrations of myo-inositol were used in the medium, the maximum cell densities were reached to

101.00±2.65 × 10⁶ cell mL⁻¹ at 19th day and 91.33±2.52 × 10⁶ cell mL⁻¹ at 20th day, respectively. Maximum cell number of the control group was reached to 71.12±2.60 × 10⁶ cell mL⁻¹ at 19th day. The cell growth showed no difference between 100 mg L⁻¹ and 500 mg L⁻¹ of myo-inositol added cultures ($P > 0.05$). However, the cell density of control group was recorded the lowest, and statistically difference was detected between control and both concentrations of myo-inositol groups ($P < 0.05$). The maximum specific growth rates were obtained in the first three days for all groups. Mean specific growth rates were calculated for 100 mg L⁻¹, 500 mg L⁻¹ and control group as 0.062, 0.060 and 0.046, respectively (Figure 1B).

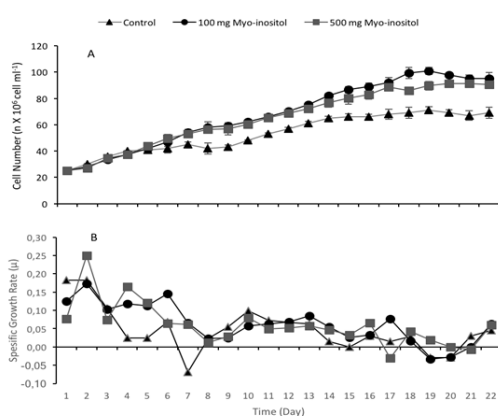


Figure 1. The cell number and specific growth rate of *N. oculata*; (A) Cell densities of experiments, (B) Specific growth rates of experiments

Chlorophyll *a* and total carotene amounts of *N. oculata*

Highest chlorophyll *a* amounts of 100 mg L⁻¹ and 500 mg L⁻¹ myo-inositol experimental groups were measured at the day 22 were 6.21±0.20 μg mL⁻¹ and 6.15±0.39 μg mL⁻¹ while highest chlorophyll *a* amount of control group was 5.31±0.92 μg mL⁻¹ (Figure 2A)

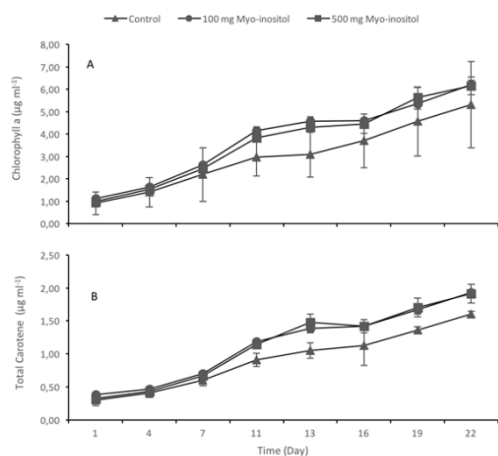


Figure 2. The chlorophyll *a* and total carotene amounts of *N. oculata*; (A) Chlorophyll *a* amounts of experiments, (B) Total carotene amounts of experiments

Mean chlorophyll *a* amounts per cell were calculated for 100 mg L⁻¹, 500 mg L⁻¹ myo-inositol and the control group as 0.052 pg cell⁻¹, 0.052 pg cell⁻¹ and 0.053 pg cell⁻¹, respectively. No significant difference was found between the control group and experimental groups statistically ($P > 0.05$).

Highest total carotene amounts were measured at the day 22 for all groups. Highest total carotene amount of 100 mg L⁻¹ experimental group was 1.93±0.04 μg mL⁻¹ and 500 mg L⁻¹ myo-inositol experimental group was 1.91±0.14 μg mL⁻¹. But total carotene amount of control group was obtained lower than myo-inositol experimental groups as 1.60±0.04 μg mL⁻¹ (Figure 2B). Mean total carotene amounts per cell were calculated for all groups as 0.016 pg cell⁻¹. No significant difference was found between the control group and experimental groups statistically ($P > 0.05$).

DISCUSSION

Many plants, yeast and fungi use inositol as growth agent and protective compounds under stress conditions. Because inositols are rather stable and less vulnerable to degradative enzymes in vivo (Vallurua and Van den Ende, 2011). According to the results of this study, myo-inositol addition to the culture medium of *N. oculata* provide higher cell densities. 100 mg L⁻¹ and 500 mg L⁻¹ myo-inositol experimental groups were reached to 1.42-fold cell mL⁻¹ and 1.28-fold cell mL⁻¹ than control group, respectively. Statistically, a significant difference was appeared between the control group and experimental groups ($P < 0.05$), while no statistically significant difference was found between 100 mg L⁻¹ myo-inositol and 500 mg L⁻¹ myo-inositol experimental groups ($P > 0.05$).

In another study, 500 mg L⁻¹ myo-inositol addition to the culture medium of *Dunaliella salina* resulted in 1.4-fold cell mL⁻¹ than the control group (Cho et al., 2015). This result shows similarity with *N. oculata* experiments of our study, which differ by effective concentration of myo-inositol. If we compare the content of myo-inositol in the medium that obtained in Cho et al. (2015), we have detected a better result for increasing growth rate of *N. oculata* using as 100 mg L⁻¹ myo-inositol in the medium. This variability might be attributed to the different species used.

In the present study, both concentration of myo-inositol similarly promoted the cell growth of *N. oculata*, high biomass production was observed with these concentrations and at 100 mg L⁻¹ maximum cell number was reached to 10.1±0.27 × 10⁷ cell mL⁻¹. Durmaz et al., (2008) showed that *N. oculata* can use NO⁻³ and NH⁺⁴ as sole nitrogen source and was obtained the maximum cell densities of 5.2±0.3 × 10⁷ cell mL⁻¹ and 4.9±0.1 × 10⁷ cell mL⁻¹, respectively. When the nitrogen concentration was increased 2 times, the cell number was increased 11.2±3.0 × 10⁷ cell mL⁻¹. So, both myo-inositol addition and increasing the nitrogen concentration in the medium will possibly increase more growth rate of this alga. Bartley et al.,

(2014) showed that *N. oculata* was reached highest cell number as $95.6 \pm 9.0 \times 10^6$ cell mL⁻¹ at pH 8 among different pH values varied from 5 to 10. In our study, pH was arranged to 7.5 at the beginning of the experiments. Maximum cell number of control group which was $71.12 \pm 2.60 \times 10^6$ is lower than Bartley et al., (2014), while 100 mg L⁻¹ myo-inositol added group was reached higher cell number than mentioned study as $101.00 \pm 2.65 \times 10^6$ cell mL⁻¹.

Mean cell number of *Nannochloropsis* sp. was given as $75.3 \pm 0.21 \times 10^6$ cell mL⁻¹ in another study, which is similar to highest cell number of the control group in our study. Also approximately 0.3 pg cell⁻¹ chlorophyll *a* content determined, which is 6 times higher than mean chlorophyll *a* content of all experiment groups in our study (Vadiveloo et al., 2015). That difference might be occurred because of species and light spectra.

Highest chlorophyll *a* amounts of 100 mg L⁻¹ myo-inositol, 500 mg L⁻¹ myo-inositol and control groups were showed the difference and measured as 6.21 ± 0.20 µg mL⁻¹, 6.15 ± 0.39 µg mL⁻¹ and 5.31 ± 0.92 µg mL⁻¹, respectively. However, mean chlorophyll *a* per cell amounts were calculated for experimental groups and control groups as 0.052 pg cell⁻¹ and 0.053 pg cell⁻¹, respectively. These results show that no difference was occurred between all groups by chlorophyll amounts per cell. Also, similar chlorophyll *a* amount per cell of *N. oculata* has been reported in another study (Volkman et al., 1993). Highest total carotene amounts of 100 mg L⁻¹ myo-inositol, 500 mg L⁻¹ myo-inositol and control groups were showed the difference and measured as 1.93 ± 0.04 µg mL⁻¹, 1.91 ± 0.14 µg mL⁻¹ and 1.60 ± 0.04 µg mL⁻¹, respectively. However, mean total carotene per cell amounts were calculated for all groups as 0.016 pg cell⁻¹. These results show that no difference was occurred between all groups by total carotene amounts per cell. Also, another study on myo-inositol addition into the culture medium of *Dunaliella salina* showed no difference in its pigment composition (Cho et al., 2015).

REFERENCES

- Bartley, M.L., Boeing, W.J., Dungan, B.N., Holguin, F.O., & Schaub, T. (2014). pH effects on growth and lipid accumulation of the biofuel microalgae *Nannochloropsis salina* and invading organisms. *Journal of applied phycology*, 26(3), 1431-1437. DOI: [10.1007/s10811-013-0177-2](https://doi.org/10.1007/s10811-013-0177-2)
- Brown, M.R., Mular, M., Miller, I., Farmer, C. & Trenerry, C. (1999). The vitamin content of microalgae used in aquaculture. *Journal of Applied Phycology*, 11(3), 247-255. DOI: [10.1023/A:1008075903578](https://doi.org/10.1023/A:1008075903578)
- Cho, K., Kim, K.N., Lim, N.L., Kim, M.S., Ha, J.C., Shin, H.H., Kim, M.K., Roh, S.W., Kim, D. & Oda, T. (2015). Enhanced biomass and lipid production by supplement of myo-inositol with oceanic microalga *Dunaliella salina*. *Biomass and Bioenergy*, 72, 1-7. DOI: [10.1016/j.biombioe.2014.11.014](https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2014.11.014)
- Chu, W.L. (2012). Biotechnological applications of microalgae, *International e-Journal of Science, Medicine & Education (IeJSME)*, 6(1), S24-S37. <https://www.crcpress.com/Biotechnological-Applications-of-Microalgae-Biodiesel-and-Value-Added/Bux/p/book/9781466515291>
- Dixit, R.B., & Suseela, M.R. (2013). Cyanobacteria: Potential candidates for drug discovery. *Antonie van Leeuwenhoek*. 103(5), 947-961. DOI: [10.1007/s10482-013-9898-0](https://doi.org/10.1007/s10482-013-9898-0)
- Durmaz, Y. & Bandarra, N.Ç.M. (2017). Fatty acids and Pigments Content of *Nannochloropsis oculata* (Eustigmatophyceae) Culture at Bag Systems Using Different Nitrogen Sources and Concentration in Medium. *Fresenius Environmental Bulletin*. 26/8, 5289-5294. https://www.prt-parlar.de/download_feb_2017/
- Durmaz, Y. & Erbil, G.Ç. (2017). Effect of Light Path Length Of Tubes On Growth Rate Of *Nannochloropsis oculata* Using Industrial Scale Tubular Photobioreactor In The Marine Hatchery. *Fresenius Environmental Bulletin*, 26(7); 4783-4789.
- Durmaz, Y., Donato, M., Monteiro, M., Gouveia, L., Nunes, M.L., Gama Pereira, T., Gokpinar, S. & Bandarra, N.M. (2008). Effect of Temperature on Growth and Biochemical Composition (Sterols, α-tocopherol, Carotenoids, Fatty Acid Profiles) of the Microalga, *Isochrysis galbana*. *The Israeli Journal of Aquaculture – Bamidgeh*, 60(3), 188-195. <http://hdl.handle.net/10524/19257>
- Guillard, R.R. (1975). Culture of phytoplankton for feeding marine invertebrates. In: *Culture of marine invertebrate animals*, pp. 29-60. Springer US. DOI: [10.1007/978-1-4615-8714-9_3](https://doi.org/10.1007/978-1-4615-8714-9_3)

Therefore, the production of pigments of *N. oculata* could probably result from nitrogen concentration in the medium. Myo-inositol did not affect the pigment accumulation of *N. oculata*. Besides, pigments level may result from variations in the growth condition (Brown et al., 1999).

DISCUSSION

N. oculata has a big importance in aquaculture hatcheries because of its properties (fatty acid composition, cell size... etc.). This study shows that myo-inositol use in microalgae production could provide higher yields of *Nannochloropsis* cultures. Additionally, at high cell densities, productivity is significantly reduced by the release of and sensitivity to growth inhibitors as reported by Zou and Richmond, (2000).

Nowadays, microalgae are produced intensely and researchers still working on optimizing the culture medium for each species. The main purpose is the increased biomass without any loss of the valuable biomolecules such as fatty acids and pigments. Although the fundamentally biological functions of myo-inositol are still far from clear in plants, in this study, results of chlorophyll *a* and total carotene measurements showed that *N. oculata* keeps those pigments at the same level when cultured in myo-inositol added medium. Yet, we have no information how myo-inositol may affect fatty acid composition of *N. oculata*. Also, optimum myo-inositol concentration should be determined by further studies.

ACKNOWLEDGMENTS

No conflicts, informed consent, human or animal rights applicable. Y. Durmaz and G.Ç. Erbil did all the experiment, analysis the data and draft this paper. All the authors agree to their authorship and agree to the submission of the manuscript for peer review.

- Loewus, F.A. & Loewus, M.W. (1983). Myo-inositol: its biosynthesis and metabolism. *Annual Review of Plant Physiology*, 34(1), 137-161. DOI: [10.1146/annurev.pp.34.060183.001033](https://doi.org/10.1146/annurev.pp.34.060183.001033)
- Lubián, L.M., Montero, O., Moreno-Garrido, I., Huertas, I.E., Sobrino, C., González del Valle, M. & Parés, G. (2000). *Nannochloropsis* (Eustigmatophyceae) as source of commercially valuable pigments. *Journal of Applied Phycology*, 12(3), 249-255. DOI: [10.1023/A:1008170915932](https://doi.org/10.1023/A:1008170915932)
- Morre, D.J., Boss, W.F. & Loewus, F.A. (Eds.) (1990). Inositol metabolism in plants (Vol. 9). New York, NY: Wiley-Liss.
- Mortensen, A. (2006). Carotenoids and other pigments as natural colorants. *Pure and Applied Chemistry*, 78(8), 1477-1491. DOI: [10.1351/pac200678081477](https://doi.org/10.1351/pac200678081477)
- Otero, A., García, D. & Fábregas, J. (1997). Factors controlling eicosapentaenoic acid production in semicontinuous cultures of marine microalgae. *Journal of applied phycology*, 9(5), 465-469. DOI: [10.1023/A:1007930804367](https://doi.org/10.1023/A:1007930804367)
- Pulz, O. & Gross, W. (2004). Valuable products from biotechnology of microalgae. *Applied microbiology and biotechnology*, 65(6), 635-648. DOI: [10.1007/s00253-004-1647-x](https://doi.org/10.1007/s00253-004-1647-x)
- Richmond, A. (2004). Principles for attaining maximal microalgal productivity in photobioreactors: an overview. *Hydrobiologia*, 512(1-3), 33-37. DOI: [10.1023/B:HYDR.0000020365.06145.36](https://doi.org/10.1023/B:HYDR.0000020365.06145.36)
- Sánchez, M.D., Mantell, C., Rodríguez, M., de La Ossa, E.M., Lubián, L.M. & Montero, O. (2005). Supercritical fluid extraction of carotenoids and chlorophyll *a* from *Nannochloropsis gaditana*. *Journal of Food Engineering*, 66(2), 245-251. DOI: [10.1016/j.jfoodeng.2004.03.021](https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2004.03.021)
- Stevenson, J. M., Perera, I. Y., Heilmann, I., Persson, S., & Boss, W. F. (2000). Inositol signaling and plant growth. *Trends in plant science*, 5(6), 252-258. DOI: [10.1016/S1360-1385\(00\)01652-6](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(00)01652-6)
- Vadiveloo, A., Moheimani, N.R., Cosgrove, J.J., Bahri, P.A., & Parlevliet, D. (2015). Effect of different light spectra on the growth and productivity of acclimated *Nannochloropsis* sp. (Eustigmatophyceae). *Algal Research*, 8, 121-127. DOI: [10.1016/j.algal.2015.02.001](https://doi.org/10.1016/j.algal.2015.02.001)
- Vallurua, R. & Van den Ende, W. (2011). Myo-inositol and beyond – Emerging networks under stress. *Plant Science*, 181, 387–400. DOI: [10.1016/j.plantsci.2011.07.009](https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2011.07.009)
- Vismara, R., Vestri, S., Kusmic, C., Barsanti, L. & Gualtieri, P. (2003). Natural vitamin E enrichment of *Artemia salina* fed freshwater and marine microalgae. *Journal of applied phycology*, 15(1), 75-80. DOI: [10.1023/A:1022942705496](https://doi.org/10.1023/A:1022942705496)
- Volkman, J.K., Brown, M.R., Dunstan, G.A. & Jeffrey, S.W., (1993). The biochemical composition of marine microalgae from the class Eustigmatophyceae. *Journal of Phycology*, 29(1), 69-78. DOI: [10.1111/j.1529-8817.1993.tb00281.x](https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.1993.tb00281.x)
- Zar, J.H. (1999). *Biostatistical Analysis*. Upper Saddle River, Prentice Hall, New Jersey, 4th Edition. cap 12, USA, 231-272. <https://trove.nla.gov.au/work/7899770>
- Zou, N. & Richmond, A. (2000). Light-path length and population density in photoacclimation of *Nannochloropsis* sp. (Eustigmatophyceae). *Journal of Applied Phycology*, 12(3-5), 349-354. DOI: [10.1023/A:1008151004317](https://doi.org/10.1023/A:1008151004317)

Bakır ve kadmiyuma maruz bırakılan Sariağız balığının (*Argyrosomus regius*) bazı dokularındaki metal birikimi

Metal accumulation in some tissues of Meagre (*Argyrosomus regius*) exposed to copper and cadmium

Mehmer Rüştü Özen¹ • Faruk Pak^{2*}

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

<https://orcid.org/0000-0003-4021-3994>

² Akdeniz Su Ürünleri Araştırma Üretim ve Eğitim Enstitüsü, Antalya

<https://orcid.org/0000-0003-4191-6173>

Corresponding author: faruk.pak@tarimorman.gov.tr

Received date: 31.07.2019

Accepted date: 11.11.2019

How to cite this paper:

Özen, M.R. & Pak, F (2020). Metal accumulation in some tissues of Meagre (*Argyrosomus regius*) exposed to copper and cadmium. *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 37(2), 201-206. DOI: [10.12714/egejfas.37.2.12](https://doi.org/10.12714/egejfas.37.2.12)

Öz: Bu çalışmada, kadmiyum ve bakır iyonlarının subletal konsantrasyonlarına 30 gün süreyle maruz bırakılan *A. regius* juvenillerinin, kas, karaciğer ve solungaç dokularındaki metal birikimleri incelenmiştir. 30 günlük zaman sürecinde ortamda bulunan metal konsantrasyonu arttıkça dokulardaki bakır ve kadmiyum birikimi de önemli oranlarda artmış ve fark anlamlı bulunmuştur. Her iki metal içinde birikim en fazla karaciğerde olmuş bunu solungaç ve kas dokusu izlemiştir. Metal birikimi bakımından dokular arasında saptanan bu ayırım, doku ve organların işlevlerindeki farklılıkla açıklanabilir.

Anahtar kelimeler: *Argyrosomus regius*, sariağız, bakır, kadmiyum, birikim, toksisite

Abstract: In this study, the metal accumulation of *A. regius* juveniles in muscle, liver and gill tissues was exposed to sublethal concentrations of cadmium and copper ions for 30 days. As the concentration of metal in the environment increased in the 30-day period, the accumulation of copper and cadmium in the tissues increased considerably and the difference was significant. The accumulation in both metals was mostly in the liver followed by gill and muscle tissue. This distinction between tissues in terms of metal deposition can be explained by the difference in the functions of tissues and organs.

Keywords: *Argyrosomus regius*, meagre, copper, cadmium, accumulation, toxicity

GİRİŞ

Sariağız, *Argyrosomus regius*, Akdeniz kıyılarında yaygın olarak yetiştirilmeye başlanmış alternatif bir türdür. Bu nedenle, sariağızdaki daha fazla üretim; insan beslenmesi için önemli olan daha fazla protein ve yağ asitleri kaynağı anlamına gelecektir. Bunun yanı sıra iz metaller de dahil olmak üzere balıklardaki biyokimyasal parametreler, beslenme ve deniz suyunun çevresel parametrelerinden etkilenebilir (Serra vd., 1996; Carpene vd., 1999). Bu bağlamda balık sağlığı ve et kalitesi kısmen deniz suyunun temel bileşimine bağlı olarak değişir. Metal kirliliği, endüstriyel faaliyetlerin sucül çevre üzerindeki en tehlikeli sonuçlarından biridir. Bakır ve kadmiyum gibi ağır metaller, insan sağlığını tehdit etmesinden dolayı uzun yıllardır bilim dünyasında büyük ilgi görmüştür. Bakır sülfat şeklindeki bakır, bir yosun öldürücü olarak ve çeşitli dış parazitler ile bakteriyel enfeksiyonlar için terapötik bir kimyasal olarak kullanılırken; kadmiyum ise evsel ve endüstriyel atıklarda çeşitli organik ve inorganik maddeler şeklinde kirliliğe önemli etkilerde bulunmaktadır (Shuhaimi-Othman vd., 2010). Kalıcı yapıları ve yavaş elimine olmaları nedeniyle, kadmiyum (Cd), çinko (Zn) ve bakır (Cu) gibi metaller en büyük ve en yaygın mikro kirlenici grupları arasındadır (Knapen vd., 2004; Minghetti vd., 2008).

Ağır metal gibi toksik elementlerin başta balık ve deniz memelileri olmak üzere, deniz ürünlerinin dokularında biyobirikim gösterdiği bilinmektedir (Cicik, 2003). Balıklar tarafından ağır metal alımı, su, besin, solungaçlar ve tüm vücut yüzeyinden absorpsiyon yolu ile olsa da dolaşım sistemi aracılığıyla karaciğer, böbrek ve dalak gibi metabolik bakımdan aktif organlara taşınarak birikmektedir. Çeşitli balık türleri ile yapılan araştırmalarda, dokulardaki metal birikiminin metalin türüne (Allen, 1995a, b), metalin ortam konsantrasyonuna (Gill vd., 1992), etkide kalma süresine (Suresh vd., 1993), canlılığın türüne (Erdem ve Kargın, 1990) ve türün gelişme evresine (Beaumont vd., 2000) bağlı olarak değişim gösterdiği gibi suyun fiziko-kimyasal özelliklerine (Pagenkopf, 1983) bağlı olarak da değiştiği söylenmiştir (Erdem vd., 2005). Ayrıca, balıkların boylarının ve toplandıkları mevsimin de ağır metal birikiminde farklılıklara neden olduğu bildirilmiştir (Katalay vd., 2005).

Çevre kirliliğinin bir göstergesi olarak canlılarda ölçülen metalik kirleniciler, özellikle su ürünlerinde ortamda bulunan konsantrasyonlarına bağlı olarak tehlikeli düzeylere erişebilmektedir. Alternatif ve stratejik bir gıda maddesi olan

sucul organizmalarda, ağır metal birikimi ve oluşturduğu hasarların araştırılması, bir taraftan ağır metallere karşı duyarlılığı yüksek olan türlerin belirlenmesini sağlarken, diğer taraftan da anılan canlıların vücut mekanizmalarındaki işleyişler ile ilgili parametrelerde oluşabilecek reaksiyonların saptanması noktasında oldukça önemli olacaktır. Doğal ortamda olması kuvvetle muhtemel etkileri yakalayabilmek ve somutlaştırabilmek için kronik subletal testlere ihtiyaç duyulmaktadır (Çetinkaya and Karataş, 2010). Bu çalışmada, kadmiyum ve bakır iyonlarının subletal konsantrasyonlarına kronik olarak maruz bırakılan *A. regius*'un kas, karaciğer ve solungaç dokularındaki metal birikimleri incelenmiştir.

MATERYAL VE METOT

Araştırmada deneme materyali olarak kullanılan juvenil sarağız balıkları (*Argyrosomus regius*) Kılıç Holding'den temin edilerek kontrollü ortam koşullarındaki laboratuvara getirilip, içerisinde %38'lik ultraviyolede geçirilmiş deniz suyu bulunan 40x60x35 cm boyutlarındaki 60 litrelik cam akvaryumlarda 15 gün bekletilerek balıkların ortam koşullarına alışmaları sağlanmıştır. Denemeler Akdeniz Su Ürünleri Araştırma Üretim ve Eğitim Enstitüsü Müdürlüğünde yürütülmüştür. Deneyler, merkezi havalandırma sistemi ile havalandırılan 20±1 °C sıcaklıklarda, 12 saat aydınlık ve 12 saat karanlık fotoperiyod uygulaması ile gerçekleştirilmiştir. Denemelerde; balıkların maruz bırakılması planlanan çözeltilerin hazırlanmasında, kadmiyum klorür monohidrat (CdCl₂.H₂O) ve bakır sülfat pentahidrat (CuSO₄.5H₂O) tuzları kullanılmıştır. Denemeler yarı statik (1/3 su değişimi/gün) biyo-deney düzeninde yapılmıştır. Balıklar, günde bir kez vücut ağırlığının %2'si kadar, ticari levrek büyüme yemi ile beslenmiştir. Deney süresince kontrol ve deney grubundaki akvaryumlarda günlük 1/3 oranında (20 L) su değişimi yapılmış ve yerine aynı konsantrasyonda su ilave edilmiştir.

Kronik toksisite denemelerinde akut toksisite denemelerinden elde edilen LC50'nin %3, %15 ve %30'u alınarak bakır ve kadmiyum için 3 farklı konsantrasyon oluşturularak kullanılmıştır. *A. regius* için 96 saat LC50 değeri Cu için 1,643 mg/L ve Cd için 6,699 mg/L olarak bildirilmiştir (Pak, 2019). Bakır için 0,05, 0,25 ve 0,50 mg/L, Kadmiyum için ise 0,2, 1 ve 2 mg/L konsantrasyonlarında 30 gün süreyle kronik toksisite denemeleri yürütülmüştür. Kontrol grubu ile birlikte toplam 7 grup olan denemeler 3 tekrarlı olarak yürütülmüştür. Bu denemelerde 9 bakır, 9 kadmiyum ve 3 kontrol grubu olacak şekilde hazırlanan akvaryumların her birine ortalama 13 cm uzunluğundaki 8 er adet balık konulmuştur. 30. gün sonunda her akvaryumdan 4 balık alınarak, balıkların solungaç, kas ve karaciğer dokularındaki Cu ve Cd birikimlerine bakılmıştır.

Denemenin her gününde akvaryumlardaki sıcaklık, pH ve oksijen doygunluğu HACH 40-d çoklu değişken ölçer ile ölçüldü. Akvaryumlardaki amonyum ve nitrit azotlarındaki konsantrasyon değişimlerini belirleyebilmek için, akvaryumlardan 0., 4., 11., 18., 25. ve 30. günlerde alınan su numunesi örneklerinde amonyum ve nitrit analizleri

gerçekleştirildi. Su değişimi sırasında sifonlama ile alınan su örnekleri, 0,45 µm'lik por çapına sahip bir membran filtre ile filtrelendikten sonra analizlerde kullanılmıştır. Nitrit analizi kolorimetrik metot kullanılarak (SM 4500B, 1995), amonyum analizi fenat metodu kullanılarak (SM 4500F, 1995) spektrofotometre ile gerçekleştirildi. Deniz suyu örneklerinde, kadmiyum ve bakır analizleri Perkin Elmer marka ICP-MS cihazında doğrudan okuma yapılarak gerçekleştirildi (SM 3120B, 1995). Doku örneklerinin ayrılmasında ve homojenizasyonunda paslanmaz çelikten yapılmış diseksiyon aletleri kullanıldı. Doku örnekleri çözünürleştirme işlemine kadar -20 °C'de muhafaza edildi. Analizler için yaklaşık 0,5 g homojenize edilmiş doku örneği örnekleme kaplarına alındıktan sonra üzerlerine 8 ml konsantre nitrik asit ve 2 ml hidrojen peroksit ilave edildi ve mikrodalga parçalama yöntemi (Berghof MWS-2) kullanılarak belirli sıcaklık ve basınç altında uygun programda çözdürüldü, sonra tüplere alındı ve deiyonize su ile 50 ml ye tamamlanarak analize hazır hale getirildi. Metal analizleri 3 tekrarlı olacak şekilde ICP-MS ile analiz edildi (EPA METHOD 3051, 1998).

BULGULAR

A. regius'da belirlenen konsantrasyon ve sürede karaciğer, kas ve solungaç dokuları için üç tekrarlı olarak saptanan metal düzeylerinin aritmetik ortalamaları ve standart sapmaları **Tablo 1**'de verilmiştir. *A. regius*'da 30 günlük zaman sürecinde artan bakır konsantrasyonuna paralel olarak dokulardaki bakır birikimi de önemli oranlarda artmıştır (**Tablo 1**). Bu artış, denenen bütün dokularda tüm konsantrasyonlar arasında istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (p<0.05). Ortam konsantrasyonunda 10 katlık bir artış 30. günde karaciğer ve solungaç dokularındaki bakır birikiminde yaklaşık 1,5 katlık bir artışa neden olmuştur. *A. regius*'da belirli bir sürede ve farklı ortam konsantrasyonunda bakır birikimi bakımından dokular arasında önemli farklılıklar bulunduğu belirlenmiş, birikim en fazla karaciğerde kaydedilmiş bunu solungaç ve kas dokusu izlemiştir. 30. gün sonunda 0,5 mg/L ortam konsantrasyonunda karaciğerde biriken bakır, incelenen dokularda biriken bakırın %96'sını oluşturmuştur (**Tablo 1**).

Tablo 1. Farklı bakır ortam konsantrasyonlarına 30 gün süreyle maruz bırakılan *A. regius*'un kas, solungaç ve karaciğer dokularındaki bakır birikimi (µg Cu/g yaş ağırlık)

Table 1. Copper accumulation in muscle, gill, and liver tissues of *A. regius* exposed to different concentrations of copper for 30 days (µg Cu/g wet weight)

Konsantrasyon	Doku		
	Kas	Solungaç	Karaciğer
Kontrol	T.S.A.	T.S.A.	1,545 ± 0,046
0,050 mg/L Cu	0,698 ± 0,045 a	4,961 ± 0,114 a	130,3 ± 11,5 a
0,250 mg/L Cu	0,813 ± 0,030 b	5,977 ± 0,132 b	156,2 ± 18,1 b
0,500 mg/L Cu	0,971 ± 0,012 c	7,485 ± 0,558 c	196,8 ± 19,9 c

Değerler aritmetik ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

a, b ve c harfleri konsantrasyonlar arası farkı belirtmek üzere kullanılmıştır.

Farklı harflerle gösterilen veriler arasında istatistik farklılık vardır (P<0.05).

T.S.A. Tayin sınırının altında

A. regius'da 30 günlük zaman sürecinde ortamda bulunan kadmiyum konsantrasyonu arttıkça doku ve organlardaki kadmiyum birikiminin arttığı saptanmıştır (Tablo 2). 30. günde denenen bütün dokularda ve tüm konsantrasyonlar arasında istatistiksel fark tespit edilmiştir ($p < 0.05$). Ortam konsantrasyonunda 10 katlık bir artış 30. gün sonunda yaklaşık karaciğerde 3,5, solungaçlarda ise 2 kat daha fazla kadmiyum birikimine neden olmuştur. *A. regius*'da belirli bir sürede ve farklı ortam konsantrasyonunda kadmiyum birikimi bakımından dokular arasında önemli farkların bulunduğu görülmüş, birikim en fazla karaciğerde kaydedilmiş bunu solungaç ve kas dokusu izlemiştir (Tablo 2).

Tablo 2. Farklı kadmiyum ortam konsantrasyonlarına 30 gün süreyle maruz bırakılan *A. regius*'un kas, solungaç ve karaciğer dokularındaki kadmiyum birikimi ($\mu\text{g Cd/g}$ yaş ağırlık)

Table 2. Cadmium accumulation in muscle, gill, and liver tissues of *A. regius* exposed to different concentrations of cadmium for 30 days ($\mu\text{g Cu/g}$ wet weight)

Konsantrasyon	Doku		
	Kas	Solungaç	Karaciğer
Kontrol	T.S.A.	T.S.A.	T.S.A.
0,2 mg/L Cd	0,817 \pm 0,024 a	8,991 \pm 0,054 a	25,14 \pm 0,777 a
1,0 mg/L Cd	1,094 \pm 0,114 b	13,68 \pm 0,801 b	50,74 \pm 3,615 b
2,0 mg/L Cd	1,347 \pm 0,207 c	18,15 \pm 0,537 c	87,21 \pm 6,054 c

Değerler aritmetik ortalama \pm standart sapma olarak verilmiştir.

a, b ve c harfleri konsantrasyonlar arası farkı belirtmek üzere kullanılmıştır.

Farklı harflerle gösterilen veriler arasında istatistik farklılık vardır ($P < 0.05$).

T.S.A. Tayin sınırının altında

TARTIŞMA VE SONUÇ

A. regius Dokularındaki Cu Birikimi

A. regius'da belirlenen süre ve ortam konsantrasyonunun etkisinde bakır birikimi en fazla karaciğerde olmuş bunu solungaç ve kas dokusu izlemiştir. Bununla birlikte, incelenen tüm dokularda artan maruz kalma konsantrasyonu ile dokularda biriken bakır miktarı da artış göstermiştir. Metal birikimi bakımından doku ve organlar arasında saptanan bu ayırım, doku ve organların işlevlerindeki farklılıkla açıklanabilir. Ayrıca, balıklarda ağır metal birikiminin, doku ve organlar arasında farklılık göstermekle birlikte genellikle metabolik bakımdan aktif doku ve organlarda yüksek konsantrasyonlarda meydana geldiğini bildirilmiştir (Cicik, 2003).

Çoğun vd. (2003), *O. niloticus*'u 0,1 ve 1 mg/L bakıra 30 gün maruz bıraktıkları çalışmada; dokulardaki birikimi karaciğer>solungaç> kas şeklinde belirlemişler ve konsantrasyon artışı ile dokulardaki birikiminde arttığını ve aynı zamanda vücut büyüklüğünün kas dokusundaki bakır birikimini etkilemediğini, ancak solungaç ile karaciğer dokularını etkilediğini bildirmiştir. Wong vd. (1999), 0,15, 0,30 ve 0,45 mg/L Cu^{+2} 'ya 30 gün süreyle maruz bıraktıkları gümüş çipura (*Sparus sarba*) fingerlingleri ve juvenillerinin kontrol grubuna

kıyasla daha fazla bakır içerdiğini hem fingerling hem de juveniller için en yüksek bakır konsantrasyonun bağırsakta bulunduğunu ve dokularda biriken bakır miktarını, bağırsak> karaciğer> gonad> solungaç> deri>kas şeklinde olduğunu bildirmiştir. Ayrıca Cicik (2003), sazan (*Cyprinus carpio*) yavrularını 0,5 ve 5 mg/L bakıra 15 gün süreyle maruz bıraktıkları çalışmada, maksimum Cu birikimini karaciğerde, minimum birikimin de kas dokusunda meydana geldiğini bildirmiştir.

Erdem ve Kargin (1990), 20 gün süreyle 0,1, 1,0 ve 10,0 mg/L konsantrasyonlarında bakırın etkisine maruz bırakılan balıkların (*Tilapia nilotica*) çalışılan doku ve organlarındaki bakır birikiminin süre ve konsantrasyon düzeyi ile orantılı olarak arttığını saptamıştır. Bakır birikimi bakımından dokular arasındaki ilişki sırası ile şöyle bulunmuştur: Dalak> Karaciğer> Bağırsak> Mide> Solungaç> Kas. Yine Kargin ve Erdem (1991), 10, 20, 30, 45 ve 60 gün süreyle 0,01, 0,10, 1,00 ve 10 mg/L bakır konsantrasyonlarına maruz bırakılan *Cyprinus carpio*'nun incelenen doku ve organlarındaki bakır birikiminin, ortam konsantrasyon düzeyi ve bekletilme süresi ile orantılı olarak arttığını bildirmiştir. Bakır birikiminin en yüksek karaciğerde, en düşük ise kasta olduğu saptanmıştır. Bakır birikimi bakımından dokular arasındaki ilişki ise şöyle bulunmuştur: Karaciğer> Dalak> Mide> Bağırsak> Solungaç> Kas. Ayrıca Kargin ve Erdem (1992), kısa süreli (96 saat) 60 mg/L bakır etkisine bırakılan *Tilapia (Tilapia nilotica)*'nın karaciğer, solungaç ve kas dokularındaki metal birikimini en yüksek karaciğerde ve takiben solungaç ve kas dokularında belirlemişlerdir. Tüm bu sonuçlar, *A. regius* dokularında elde edilen verilerle benzerlik göstermektedir.

Mazon ve Fernandes (1999), *P. scrofa* juvenillerini çeşitli konsantrasyonlarda bakıra 96 saat boyunca maruz bıraktıktan sonra solungaç, karaciğer, böbrek, kas ve bağırsak dokularındaki bakır miktarlarını araştırdıkları çalışmada, karaciğerde bakır birikimi diğer dokularla karşılaştırıldığında en fazla bulunmuş, bunu bağırsak ve böbrek izlemiştir. Karaciğer ve böbreklerin toksik maddelerin detoksifikasyonunda ve atılımında önemli bir rol oynadığı bilinmektedir. Bu da anılan organlardaki yüksek bakır birikimini açıklamaktadır. Diğer yandan, en az birikimin solungaç ve kas dokusunda olduğu bildirilmiştir. Solungaçların, özellikle su ile temas eden geniş yüzey alanına sahip olmaları nedeniyle, balıklarda bakır alımı için ana alan olduğu varsayılmaktadır. Bu durumda, solungaçlardan ve daha az yoğun bir şekilde vücut yüzeyinden metal alımının karaciğere kan akımı yoluyla taşınması, metabolize edilmesi ve daha sonra safra yoluyla atılması kabul edilir. Sudaki artan metal seviyeleri, bakıra bağlı hepatositlerde depolanan metalotiyoninler gibi metal bağlayıcı proteinlerin üretimine yol açar. Metal fazlalığı karaciğerdeki α -globuline bağlanır, seruloplazmin üretir ve böbreklerden atılır. Çok yüksek bakır seviyelerine maruz kalma meydana geldiğinde ve karaciğerin bakır bağlama kapasitesi aşıldığında, daha toksik olan bakır türleri kan dolaşımından diğer organlara taşınabilmektedir.

A. *regius* Dokularındaki Cd Birikimi

A. regius ile yürütülen bu çalışmada kadmiyumun 0,20, 1,00 ve 2,00 mg/L ortam konsantrasyonlarının 30 gün süreli etkisinde mortalite gözlenmemesi, belirlenen sürede çalışılan konsantrasyonların türün tolere edebilir sınır içerisinde olduğunu göstermektedir. Balıklarda kadmiyumun doku birikimi, ortam konsantrasyonu ve etkide kalma süresine bağlı olarak artış göstermiştir. Kadmiyumun belirlenen konsantrasyonlardaki etkisi incelenen dokulardaki metal birikimini kontrole oranla önemli düzeyde arttırmıştır. Metal birikimi bakımından incelenen dokular arasında en fazla birikimin karaciğerde, en az birikimin ise kas dokusunda olduğu saptanmıştır. Diğer deniz balıkları gibi, *A. regius* da metale maruz kaldıktan 30 gün sonra kasta düşük bir Cd konsantrasyonu göstermiştir. Bu durum, toplam balık ağırlığının büyük bir kısmını kas dokusunun oluşturması ile açıklanabilir ve böylece metal; bağırsak, karaciğer, böbrek ve solungaç gibi diğer organlarla karşılaştırıldığında, önemli miktarda beyaz kas dokusunda seyreltilmiş olmaktadır (Cao vd., 2012).

Cirillo vd. (2012), yaptıkları çalışmada, çipurayı (*Sparus aurata*) 11 gün boyunca 0,1 mg/L kadmiyuma maruz bırakarak, Cd birikim yollarını araştırdıkları çalışmada en çok metal birikiminin karaciğerlerde ve solungaçta biriktiğini ve kas dokusunda herhangi bir Cd birikiminin olmadığını bildirmiştir. Souid vd. (2013), *Sparus aurata*'nın farklı dokularında Cd (0,5 mg/L)'un kısa süreli maruz kalması (2, 4 ve 24 saat) altında birikimini araştırdıkları çalışmada, sonuçların farklı dokulardaki Cd birikiminin metale maruz kalma süresinin uzunluğuna bağlı olarak değiştiğini ve dokulardaki Cd birikimlerini büyükten küçüğe doğru; bağırsaklar, karaciğer, solungaç ve kas şeklinde olduğunu bildirmiştir. Buradan elde edilen bilgiler doğrultusunda kadmiyum birikimi bakımından sariağz (*A. regius*) için bu çalışmada elde edilen bulgular ile çipura (*S. aurata*)'nın benzer özellik gösterdiği anlaşılmaktadır.

Shukla vd. (2007), *Channa punctatus*'u 11,8 mg/L kadmiyuma 4 gün süreyle maruz bıraktıktan sonra dokulardaki metal birikimini inceledikleri çalışmada maksimum kadmiyum birikiminin solungaçlarda olduğunu bildirmiştir. Solungaçlar ortama doğrudan temas ettiğinden kısa süreli maruz bırakmalarda başlangıçta solungaçlarda birikim fazla olmakta süre uzadıkça birikimin azaldığı ifade edilmiştir. Costa vd. (2012), solungaçların metali detoksifiye eden etkili organ olduğunu bildirmiştir. Metal iyonlarına uzun süre maruz kalındığı durumlarda solungaçlarda daha az birikim olmaktadır. Çünkü solungaçların Cd birikimi için geçici bir hedef organ olduğu ve sonrasında kadmiyumun sindirim ve üreme organlarına aktarılarak burada biriktiği ifade edilmiştir (Wu vd., 2007).

Cattani vd. (1996), levrek (*D. labrax*)'ı 0,5 ve 5 µg/L kadmiyuma maruz bıraktıklarında 7 gün sonunda her iki konsantrasyon için de dokulardaki birikimi azalan sırayla böbrek, karaciğer ve solungaç şeklinde bulmuştur. Kuroshima (1992), tatlı suda 0,3 mg/L kadmiyuma sazan (*Cyprinus*

carpio)'yu ve deniz suyunda ise 10 mg/L kadmiyuma mercan (*Pagrus major*)'u, 96 saat süreyle maruz bırakmış ve dokulardaki birikimi incelemiştir. Sazanın kadmiyuma maruz kalması solungaçlarda en yüksek birikime neden olurken, ardından böbrek, bağırsak ve karaciğerde azalan sırayla birikim göstermiştir. Akut kadmiyuma maruz kalan mercanda ise en yüksek birikim karaciğerde olmuş ve ardından böbrek, bağırsak ve solungaçlara göre azalan sırayla sonuçlanmıştır. Başka bir çalışmada, *C. carpio*'da kadmiyumun 127 gün süreli etkisinde 53 µg/L ortam konsantrasyonunda, böbreklerdeki kadmiyum konsantrasyonu karaciğerden 4 kat, kasta 50 kat daha yüksek bulunmuş, 443 µg/L Cd konsantrasyonunda ise böbrek kadmiyum içeriği karaciğerden 2 kat, kasta 100 kat daha yüksek bulunmuştur. *O. mykiss*'de kadmiyum birikimi bakımından incelenen dokuların böbrek> karaciğer> solungaç> kas şeklinde sıralandığı belirlenmiştir (Melgar vd., 1997). Balıklarda kadmiyum etkisi, böbrek dokusunun yanı sıra karaciğer ve dalak gibi metabolik bakımdan aktif dokularda molekül ağırlığı düşük, metal bağlayıcı proteinlerin sentezini arttırmaktadır (Hogstrand ve Haux, 1990). Bu çalışmada en fazla kadmiyum birikiminin karaciğer dokusunda saptanması, metalin metal bağlayıcı proteinlere bağlanarak bu dokularda alınması ile açıklanabilir.

Çoğun vd. (2003), çeşitli su türleriyle yapılan çalışmalarda, karaciğerin metal birikimi için ana organ olduğunu ve aynı zamanda metallerin depolanması, yeniden dağıtılması, detoksifikasyonunda veya dönüşümünde önemli bir rol oynadığını bildirmiştir. Balıklardaki karaciğerlerin kirlenici maddeler için iyi bir biyoindikatör organ olarak uygun olduğu kabul edilmektedir. Bu, muhtemelen karaciğerin, çevrelerinden daha yüksek seviyelerde çeşitli türlerdeki kirlenicileri biriktirme eğiliminden kaynaklanmaktadır (Galindo vd., 1986). Çoğun vd. (2003), *O. niloticus* ile 0,1 ve 1 mg/L kadmiyuma 30 gün maruz bıraktıkları çalışmada dokulardaki birikimi karaciğer>solungaç> kas şeklinde belirlemişlerdir. Yeşilbudak ve Erdem (2014), *C. carpio* ve *O. niloticus*' 0,5 mg/L kadmiyuma 30 gün maruz bıraktıktan sonra böbrek, karaciğer, solungaç ve kas dokusunda Cd birikimini inceledikleri çalışmada, kadmiyum birikiminin kas dokusu dışındaki tüm dokularda maruz kalma sürelerinin artmasıyla arttığını bildirmiştir. Solungaç, böbrek ve karaciğer dokularındaki 30. günde görülen bu artış, ilk güne göre sırasıyla yaklaşık 2, 3 ve 6 kat olarak bulunmuştur. Kadmiyum birikimi, *C. carpio*'nun böbrek dokusunda en yüksek olduğu ve bunu takiben tüm maruz kalma sürelerinde karaciğer, solungaç ve kas dokularında en yüksek olduğu görülmüştür. *O. niloticus*'un dokularında Cd birikiminde belirgin artış, kas dokusu dışında uzun süreli maruz kalma sürelerinde gözlenmiştir. Solungaç kadmiyum seviyeleri 30. günde 1. güne göre dokuz kat artış göstermiştir. En yüksek Cd birikimi de böbrek dokusunda, ardından *C. carpio*'daki gibi karaciğer, solungaç ve kas dokularında saptanmıştır.

Kadmiyumun biyolojik bir işlevinin olmadığı bilinmektedir ve atılım için su ve diğer metabolik atıklarla birlikte böbreğe taşınır. Bu işlem sırasında, metalotiyoninler gibi metal bağlama

proteinlerine yeniden emilimi ve bağlanması, diğer dokularla karşılaştırıldığında böbreklerde ve karaciğerde bulunan yüksek seviyelerde kadmiyumu açıklayabilmektedir (Yeşilbudak ve Erdem, 2014).

Kadmiyum birikimi türden türe farklılık gösterir ve maruz kalma süresine bağlıdır (Velma vd., 2009). Ağır metallerin nadiren balık dokularında düzgün dağıldığı ve belirli hedef organlarla biriktiği iyi bilinmektedir. Her doku için metal metabolizmasının spesifik bir rolünün geliştirildiği kabul edilmiştir (Cinier vd., 1999). Türler arasında dokulardaki

birikimlerde meydana gelen farklılıklar osmoregülasyon ve detoksifikasyon mekanizmalarındaki farklılıklar ile açıklanabilir.

TEŞEKKÜR

Yazarlar Kılıç Holding yönetimi ve çalışanlarına teşekkürlerini sunar. Bu çalışma, Akdeniz Su Ürünleri Araştırma, Üretim ve Eğitim Enstitüsü Müdürlüğü'nün hayvan deneyleri için yerel etik kurulu tarafından onaylanmıştır (Onay numarası: 68385072-325.04-0153).

KAYNAKÇA

- Allen, P. (1995a). Chronic accumulation of cadmium in the edible tissue of *Oreochromis aureus* (Steindachner); Modification by mercury and lead. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 29(1), 8-14. DOI: [10.1007/BF00213079](https://doi.org/10.1007/BF00213079)
- Allen, P. (1995b). Soft-tissue accumulation of lead in the blue tilapia, *Oreochromis aureus* (Steindachner), and the modifying effects of cadmium and mercury. *Biological Trace Element Research*, 50(3), 193-208. DOI: [10.1007/BF02785410](https://doi.org/10.1007/BF02785410)
- Beaumont, M.W., Butler, P.J. & Taylor, E.W. (2000). Exposure of brown trout *Salmo trutta*, to a sublethal concentration of copper in soft acidic water, effects upon muscle metabolism and membrane potential. *Aquatic Toxicology*, 51, 259-272. DOI: [10.1242/jeb.00060](https://doi.org/10.1242/jeb.00060)
- Cao, L., Huang, W., Shan, X., Ye, Z. & Dou, S. (2012). Tissue-specific accumulation of cadmium and its effects on antioxidative responses in japonese flounder juveniles. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 33, 16-25. DOI: [10.1016/j.etap.2011.10.003](https://doi.org/10.1016/j.etap.2011.10.003)
- Carpene, E., Serra, R., Manera, M. & Isani, G. (1999). Seasonal changes of zinc, copper, and iron in gilthead sea bream (*Sparus aurata*) fed fortified diets. *Biological Trace Element Research*, 69, 121-139. DOI: [10.1007/BF02783864](https://doi.org/10.1007/BF02783864)
- Cattani, O., Serra, R., Isani, G., Raggi, G., Cortesi, P. & Carpene, E. (1996). Correlation Between Metallothionein and Energy Metabolism in Sea bass, *dicentrarchus labrax*, Exposed to Cadmium. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 113C(2), 193-199. DOI: [0742-8413\(95\)02087-X](https://doi.org/10.1016/0742-8413(95)02087-X).
- Cicik, B. (2003). Bakır-çinko etkileşiminin sazan (*Cyprinus Carpio*)'ın karaciğer, solungaç ve kas dokularındaki metal birikimi üzerine etkileri. *Ekoloji Çevre Dergisi*, Cilt 12, Sayı 48, 32-36
- Cinier, C.C., Petit-Ramel, M., Faure, R., Garin, D. & Bouvet, Y. (1999). Kinetics of cadmium accumulation and elimination in carp *Cyprinus carpio* tissues. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C*, 122(3), 345-352. DOI: [10.1016/S0742-8413\(98\)10132-9](https://doi.org/10.1016/S0742-8413(98)10132-9)
- Cirillo, T., Cocchieri, R.A., Fasano, E., Lucisano, A., Tafuri, S., Ferrante, M.C., Carpane, E., Andreani, G. & Isani, G. (2012). Cadmium accumulation and antioxidant responses in *Sparus aurata* exposed to waterborne cadmium. *Environmental Contamination and Toxicology*, 62, 118-126. DOI: [10.1007/s00244-011-9676-9](https://doi.org/10.1007/s00244-011-9676-9)
- Costa, P.M., Caeiro, S. & Costa, M.H. (2012). Multi-Organ histological observations on juvenile senegalese soles exposed to low concentrations of waterborne cadmium. *Fish Physiol Biochem*, 39, 143-158. DOI: [10.1007/S10695-012-9686-1](https://doi.org/10.1007/S10695-012-9686-1)
- Çetinkaya, O. & Karataş, M. 2010. Akuatik toksikoloji: Balık biyodenyeleri, Balık biyolojisi araştırma yöntemleri, 143-187.
- Çoğun, H.Y.C., Yüzereroğlu, T.A. & Kargin F. (2003). Accumulation of copper and cadmium in small and large Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 71, 1265-1271. DOI: [10.1007/s00128-003-8523-8](https://doi.org/10.1007/s00128-003-8523-8)
- EPA Method 3051, 1998. Microwave Assisted Acid Digestion of Sediments, Sludges, Soils, and Oils.
- Erdem, C. & Kargin, F. (1990). Farklı ortam derişimlerinde *Tilapia Nilotica* (L.)'nin doku ve organlarında bakır birikimi. *Turkish Journal of Zoology*, 14, 173-178.
- Erdem, C., Cicik, B., Karayakar, S., Karayakar, F. & Karaytuğ, S. (2005). *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822)'da kadmiyum'un solungaç, karaciğer, böbrek, dalak ve kas dokularındaki birikim ve artımı. *Süleyman Demirel Üniversitesi Eğitir Su Ürünleri Fakültesi Dergisi*, 1(2), 18-26.
- Galindo, L., Hardisson, A. & Montelongo, F.G. (1986). Correlation between lead, cadmium, copper, zinc and iron concentrations in frozen tuna fish. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 36, 595-599. DOI: [10.1007/BF01623556](https://doi.org/10.1007/BF01623556)
- Gill, T.S., Bianchi, C.P. & Epple, A. (1992). Tracemetal (Cu And Zn) adaptation of organ systems of the american eel *Anguilla rostrata* to external concentrations of cadmium. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C*, 102(3), 361-371. DOI: [10.1016/0742-8413\(92\)90127-S](https://doi.org/10.1016/0742-8413(92)90127-S).
- Hogstrand, C.L. & Haux, C. (1990). Metallothionein as an indicator of heavy metal exposure in two subtropical fish species. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 138, 69-84. DOI: [10.1016/0022-0981\(90\)90177-E](https://doi.org/10.1016/0022-0981(90)90177-E)
- Katalay, S., Parlak, H. & Arslan, O.C. (2005). Ege denizinde yaşayan kaya balıklarının (*Gobius niger*, L., 1758) karaciğer dokusunda bazı ağır metallerin birikimi. *Su Ürünleri Dergisi*, 22 (3-4), 385-388.
- Kargin, F. & Erdem, C. (1991). *Cyprinus carpio*'da bakırın karaciğer, dalak, mide, bağırsak, solungaç ve kas dokularındaki birikimi. *Turkish Journal of Zoology*, 15, 306-314.
- Kargin, F. & Erdem, C. (1992). Bakır-çinko etkileşiminde *Tilapia nilotica* (L.)'nin karaciğer, solungaç ve kas dokularındaki metal birikimi. *Turkish Journal of Zoology*, 16, 343-348.
- Knapen, D., Bervoets, L., Verheyen, E. & Blust, R. (2004). Resistance to water pollution in natural gudgeon (*Gobio gobio*) populations may be due to genetic adaptation. *Aquatic toxicology*, 67, 155-165. DOI: [10.1016/j.aquatox.2003.12.001](https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2003.12.001).
- Kuroshima, R. (1992). Comparison of cadmium accumulation in tissues between carp *cyprinus carpio* and red sea bream *pagrus major*. *Nihon-Suisan-Gakkai-Shi*, 58(7), 1237-1242. DOI: [10.2331/suisan.58.1237](https://doi.org/10.2331/suisan.58.1237)
- Mazon, A. F. & Fernandes, M. N. (1999). Toxicity and differential tissue accumulation of copper in the tropical freshwater fish, *Prochilodus scrofa* (Prochilodontidae). *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 63, 797-804. DOI: [10.1007/s001289901049](https://doi.org/10.1007/s001289901049)
- Melgar, M.J., Perez, M., Garcia, M.A., Alonso, J. & Miguez, B. (1997). The Toxic and accumulative effects of short term exposure to cadmium in rainbow trout (*O. mykiss*). *Veterinary and Human Toxicology*, 39(2), 79-83.
- Minghetti, M., Leaver, M.J., Carpene, E. & George, S.G. (2008). Copper transporter 1, metallothionein and glutathione reductase genes are differentially expressed in tissues of Seabream (*Sparus Aurata*) after exposure to dietary or waterborne copper. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology and Pharmacology*, 147, 450-459. DOI: [10.1016/j.cbpc.2008.01.014](https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2008.01.014).

- Pak, F. (2019). Farklı Konsantrasyonlarda Kadmiyum ve Bakır İyonlarına Maruz Bırakılan Sarıağız Balığının (*Argyrosomus regius*) Bazı Dokularındaki Antioksidant Enzim Aktivitelerinin İncelenmesi. (Doktora Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü).
- Pagenkopf, G.K. (1983). Gill surface interaction model for trace-metal toxicity to fishes: Role of complexation, pH and water hardness. *Environmental Science and Technology*, 7 (6), 342-347. DOI: [10.1021/es00112a007](https://doi.org/10.1021/es00112a007)
- Serra, S.D.; Serra, A.B.; Ichinohe, T. & Fujihara, T. (1996). Ruminant solubilization of macrominerals in selected Philippine forages. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 9 (1): 75-81
- Shuhaimi Othman, M., Nadzifah, Y. & Andahmad, A.K. (2010). Toxicity of copper and cadmium to freshwater fishes international journal of biological, biomolecular, agricultural. *Food and Biotechnological Engineering*, 4(5), 319-321.
- Shukla, V., Dhankhar, M., Prakash, J. & Sastry, K.V. (2007). Bioaccumulation of Zn, Cu and Cd in *Channa punctatus*. *Journal of Environmental Biology*, 28(2), 395-397.
- SM 3120B, 1995. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 19th Edition, Washington.
- SM 4500B, 1995. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 19th Edition, Washington.
- SM 4500F, 1995. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 19th Edition, Washington.
- Souid, G., Souayed, N., Fatmayaktiti, F. & Maaroufi, M. (2013). Effect of acute cadmium exposure on metal accumulation and oxidative stress biomarkers of *Sparus aurata*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 89, 1-7. DOI: [10.1016/j.ecoenv.2012.12.015](https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2012.12.015).
- Suresh, A., Sivaramakrishna, B. & Radhakrishnaiah, K. (1993). Patterns of cadmium accumulation in the organs of fry and fingerlings of fresh water fish *Cyprinus carpio* following cadmium exposure. *Chemosphere*, 26, 945-953. DOI: [10.1016/0045-6535\(93\)90369-G](https://doi.org/10.1016/0045-6535(93)90369-G)
- Velma, V., Vutukuru, S. & Tchounwou, P.B. (2009). Ecotoxicology of hexavalent chromium in freshwater fish: A critical review. *Rev Environ Health*, 24(2), 129-145. DOI: [10.1515/REVEH.2009.24.2.129](https://doi.org/10.1515/REVEH.2009.24.2.129)
- Wong, P.P.K., Chu, L.M. & Wang, C.K. (1999). Study of toxicity and bioaccumulation of copper in the silver sea bream *Sparus sarba*. *Environment International*, 25(4), 417-422. DOI: [10.1016/S0160-4120\(99\)00008-2](https://doi.org/10.1016/S0160-4120(99)00008-2)
- Wu, S.M., Shih, M.J. & Ho, Y.C. (2007). Toxicological stress response and cadmium distribution in hybrid tilapia (*Oreochromis* Sp.) upon cadmium exposure. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C*, 145, 218-226. DOI: [10.1016/j.cbpc.2006.12.003](https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2006.12.003).
- Yeşilbudak, B. & Erdem, C. (2014). Cadmium accumulation in gill, liver, kidney and muscle tissues of common carp, *Cyprinus carpio*, and Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 92, 546-550. DOI: [10.1007/s00128-014-1228-3](https://doi.org/10.1007/s00128-014-1228-3).

