



T.C.
RİZE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ANİ SICAKLIK ŞOKU UYGULANMIŞ KARADENİZ
ALABALIĞI (*Salmo trutta labrax* Pallas, 1811)'NDA
FİZYOLOJİK STRES CEVABIN BELİRLENMESİ**

Zeynep DENGİZ BALTA

YÜKSEK LİSANS TEZİ
SU ÜRÜNLERİ ANABİLİM DALI

RİZE 2010

T.C.
RİZE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ANİ SICAKLIK ŞOKU UYGULANMIŞ KARADENİZ
ALABALIĞI (*Salmo trutta labrax* Pallas, 1811)'NDA
FİZYOLOJİK STRES CEVABIN BELİRLENMESİ**

Zeynep DENGİZ BALTA

Tez Danışmanı: Yrd. Doç. Dr. Süleyman AKHAN

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
SU ÜRÜNLERİ ANABİLİM DALI**

RİZE 2010

T.C.
RİZE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
SU ÜRÜNLERİ ANABİLİM DALI

ANI SICAKLIK ŞOKU UYGULANMIŞ KARADENİZ ALABALIĞI
(*Salmo trutta labrax* Pallas, 1811)'NDA FİZYOLOJİK STRES CEVABIN
BELİRLENMESİ

Zeynep DENGİZ BALTA

Rize Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsünde
"Su Ürünleri Yüksek Mühendisi"
Ünvanı Verilmesi İçin Kabul Edilen Tezdir.

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 04.01.2010

Tezin Sözlü Savunma Tarihi : 28.01.2010

Tez danışmanı: Yrd. Doç. Dr. Süleyman AKHAN

Jüri Üyesi : Yrd. Doç. Dr. Nadir BAŞÇINAR

Jüri Üyesi : Yrd. Doç. Dr. İlker Zeki KURTOĞLU

Enstitü Müdürü: Doç. Dr. Kerim SERBEST



RİZE-2010

ÖNSÖZ

Bu tez çalışması, Rize Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Su Ürünleri Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programında tamamlanmıştır. Ani Sıcaklık Şoku Uygulanmış Karadeniz Alabalığı (*Salmo trutta labrax* Pallas, 1811)'nda Fizyolojik Strese Karşı Cevabın Belirlenmesi adlı bu çalışmanın deneysel çalışmaları Rize Üniversitesi, İyidere Su Ürünleri Araştırma Merkezi'nde yapılmış ve stres indikatörlerine ait bazı kan parametreleri de Rize Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi laboratuvarlarında çalışılmıştır.

Bölgemize ait bir alttür olan Karadeniz Alabalığı (*Salmo trutta labrax* Pallas,1811)'nın stokları her gecen gün giderek azalmaktadır. Bazı özel işletmeler, fakülteler ve araştırma enstitüsü bu türün biyoekolojik özellikleri ve yetiştiriciliği ile ilgili çalışmalar yürütmektedir. Bu çalışmada ise alabalık yetiştiriciliğinde önemli bir çevresel stresör olan ani su sıcaklığı değişimi ve son yıllarda sıkça gündeme gelen küresel ısınmanın balık refahı üzerine etkisi üzerine ani su sıcaklığı artışına karşı porsiyonluk boydaki Karadeniz alabalığında meydana gelen fizyolojik strese cevabın değişim ve yaşam oranına etkileri araştırılmıştır.

Yüksek lisans öğrenciliğim esnasında tez konumun seçiminde yol gösteren değerli bilgilerinden ve engin fikirlerinden yararlandığım ilk danışmanım rahmetli hocam Prof. Dr. İbrahim OKUMUŞ'a, tez çalışması esnasında yardımlarını esirgemeyen tez danışmanım Yrd. Doç. Dr. Süleyman AKHAN hocama, tez çalışması süresince ve tez yazımı esnasında desteklerini esirgemeyen değerli eşim Yrd. Doç. Dr. Fikri BALTA'ya, tez deneme çalışmaları ve laboratuvar çalışmalarında her zaman yanımda olan fedakâr biricik kızım Nazende BALTA'ya ve manevi desteklerini esirgemeyen aileme teşekkür ederim. Laboratuvar çalışmasında yardımcı olan Arş. Gör. Ertuğrul TERZİ'e, çalışma yapılana kadar balıkların bakımı ve beslenmesini sağlayan, tez çalışma esnasında yardımlarını esirgemeyen Uzman Özay KÖSE'ye teşekkür ederim. Ayrıca bu tez çalışmasında kullanılan Karadeniz alabalıklarının temin edilmesinde yardımcı olan Şeremet Alabalık çiftliği sahibi ve çalışanlarına da teşekkür ederim.

Rize, 2010

Zeynep DENGİZ BALTA

İÇİNDEKİLER

| | <u>Sayfa No</u> |
|--|-----------------|
| ÖNSÖZ | II |
| İÇİNDEKİLER..... | III |
| TÜRKÇE ÖZET..... | V |
| İNGİLİZCE ÖZET..... | VI |
| SEMBOLLER VE KISALTMALAR DİZİNİ..... | VII |
| ŞEKİLLER DİZİNİ..... | VIII |
| TABLolar DİZİNİ..... | IX |
| 1. GENEL BİLGİLER..... | 1 |
| 1.1. Giriş..... | 1 |
| 1.2. Karadeniz Alabalığının Sistematikteki Yeri ve Morfolojisi..... | 3 |
| 1.3. Dağılımı ve Biyo-Ekolojik Özellikleri..... | 4 |
| 1.4. Balık Refahı, Çevre ile İlişkisi ve Stres Mekanizması..... | 6 |
| 1.4.1. Balık refahı | 6 |
| 1.4.2. Olumsuz çevresel faktörlerin balık refahı üzerine etkisi | 7 |
| 1.4.3. Balıklarda stres ve stresin sonuçları..... | 8 |
| 1.4.3.1. Balıklarda strese karşı oluşan cevabın tepki mekanizması..... | 10 |
| 1.4.3.2. Yetiştiricilikte stres yapıcı faktörler..... | 12 |
| 1.4.3.3. Balıklarda stres ve stresin hastalık oluşum mekanizmasına etkisi..... | 14 |
| 1.4.3.4. Yetiştiricilik ortamındaki stres indirgeyicileri..... | 17 |
| 1.5. Önceki Çalışmalar..... | 19 |
| 1.6. Çalışmanın Gerekçesi ve Amacı..... | 20 |
| 2. YAPILAN ÇALIŞMALAR..... | 21 |
| 2.1. Materyal..... | 21 |
| 2.1.1. Deney balıkların tedarik edilmesi..... | 21 |
| 2.2. Metot | 21 |
| 2.2.1. Balıkların adaptasyonu..... | 21 |
| 2.2.2. Deneme düzeneği ve ani sıcaklık şoku uygulaması..... | 21 |
| 2.2.3. Balıklardan kan örneklerinin alınması..... | 23 |
| 2.2.4. Serum lizozim aktivitesinin belirlenmesi..... | 25 |

| | | |
|--------|---|----|
| 2.2.5. | Serum kortizol miktarının belirlenmesi..... | 26 |
| 2.2.6. | Kan serumu parametrelerinin biyokimyasal analizlerin yapılması..... | 28 |
| 2.2.7. | İstatistiksel analizler..... | 28 |
| 3. | BULGULAR..... | 29 |
| 4. | TARTIŞMA..... | 36 |
| 5. | SONUÇ ve ÖNERİLER..... | 40 |
| | KAYNAKLAR..... | 43 |
| | ÖZGEÇMİŞ..... | 48 |

ÖZET

Bu çalışmada, kültürü yapılan Karadeniz alabalığı (*Salmo trutta labrax*)'nda ani sıcaklık stres cevabın belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu amaç için özel bir alabalık işletmesinden temin edilen $184,22 \pm 10$ g Karadeniz alabalıkları kullanılmıştır. Ana stok tanklarına alınarak 15 gün adaptasyona tabii tutulan balıklardan 500 litrelik bir kare tanka 85 adet balık yerleştirilmiştir ve bir hafta ortama alıştırmak için beklenilmiştir. Araştırmanın başlatılmasından hemen önce balıklardan 5 âdeti nazikçe yakalanarak bayıltılmadan kanları alınmıştır. Deneme grubu için 40 adet balık, mini soğutucu-ısıtıcı cihaz yardımıyla önceden su sıcaklığı 25°C 'ye ayarlanmış 500 litrelik fiberglas tanka alınarak 30 dk. bekletilmiştir. Örneklemeler, ani sıcaklık şoku uygulaması sonrasında 1., 3., 6., 12., 24., 36., 48. ve 72. saatlerde yapılmıştır. Her gruptan rastgele 5 adet balık örneği nazik bir şekilde ağ ile yakalanmıştır. Balıkların kuyruk sapı bir neşter yardımı ile kesilerek kuyruk venası yoluyla her bireyden yaklaşık olarak 3 ml kan sağlanmıştır. Toplanan kanlardan serum çıkarılmış ve biyokimyasal analizler yapılana kadar -20°C 'de stoklanmıştır. Ani sıcaklık şokuna maruz kalan Karadeniz alabalığında serum kortizol, lizozim aktivitesi, glikoz, total protein, Ca, Na, Cl, K ve P seviyeleri belirlenmiş ve sonuçlar ani sıcaklık şoku uygulanmamış kontrol grubu balıklarıyla karşılaştırılmıştır.

Ani sıcaklık şokuna maruz kalan Karadeniz alabalığında serum kortizol ve glikoz miktarı önemli derecede artış göstermiştir ($p < 0.005$). Fakat lizozim aktivitesinde önemli derecede azalma tespit edilmiştir ($p < 0.005$). Serum total protein, Ca, Na, Cl, K ve P düzeyleri kontrol grubuyla karşılaştırıldığında etkilenmediği görülmüştür. Sıcaklık şoku uygulaması sonrası 1. saatte kortizol seviyesi, kontrol grubunda (3.57 ± 0.54 $\mu\text{g/dl}$), deneme grubuna göre (30.19 ± 1.17 $\mu\text{g/dl}$) daha düşük bulunmuştur. Uygulama sonrası 3. saatte, kontrol grubu balıklarda lizozim aktivitesi 515.77 ± 21 Unit/ml bulunurken, deneme grubunda ise ortalama 201.11 ± 72.67 Unit/ml olduğu tespit edilmiştir. Uygulama sonrası 1. saatte, kontrol grubunda serum glikoz düzeyi 12.80 ± 1.2 mg/dl, stresli balıklardan (61.8 ± 2.55 mg/dl) daha düşük miktarlarda olduğu saptanmıştır.

Bu fizyolojik parametreler, kültür ortamında akut sıcaklık şokuna maruz kalan Karadeniz alabalığının strese karşı duyarlı olduğunu göstermiştir.

Anahtar kelimeler: Karadeniz alabalığı, stres, sıcaklık şoku, kortizol, lizozim, glikoz.

SUMMARY

Determination of the Physiological Stress Response in Black Sea Trout (*Salmo trutta labrax* Pallas, 1811) Subjected to Acute Thermal Shock

In this study, the physiological effects of stress response of cultured Black Sea Trout (*Salmo trutta labrax*) to acute thermal shock were investigated. For this purposes, domesticated Black Sea trout (184,22±10 g) that was provided from private trout farm was used. Fish were stocked in square fiberglass tanks (500 L) in order to adapt research center conditions and had been waited for 15 days. 85 fish randomly were chosen and put in square tank. After one week later 5 fish were netted and captured gently. After that, 40 fish were transferred to separate fiberglass tank which was water temperature adjusted to 25 °C. Fish had been threatened for 30 minute. After treatments, fish were sampled at 1st, 3rd, 6th, 12th, 24th, 36th, 48th and 72nd hours after acute thermal shock treatment. A random sample of five fish per group was gently netted. Approximately 3 milliliter blood was obtained by cutting caudal peduncle per individual. The serum was removed from blood collected and was stored at -20°C for biochemical analyses. Serum cortisol, lysosime activity, glucose, total protein, Ca, Na, Cl, K and P were determined in Black Sea Trout exposed to acute thermal shock and compared with those of unstressed (control) fish.

Serum cortisol and glucose levels were significantly increased in stressed in Black Sea Trout ($p<0.05$). But lysozime activity was significantly reduced ($p<0.05$). Serum total protein levels, Ca, Na, Cl, K and P were not affected (compared of to control). After experiment, Cortisol levels in the unstressed fish (average 3.57±0.54 µg/dl) were lower than those in stressed fish (average 30.19±1.17 µg/dl) at 1st hours. Lysozime activity in the unstressed fish (515.77±21 Unit/ml) was higher than those in stressed fish (201.11±72.67 Unit/ml) at 3rd hours after thermal challenge. The serum glucose levels in the control group (12.80±1.2 mg/dl) was lower than those in stressed fish (61.8±2.55mg/dl) at 1st hour after treatment.

These physiological parameters indicated that Black Sea Trout are sensitive to by exposing to acute thermal shock in an aquaculture system.

Keywords: Black Sea trout, stress, thermal shock, cortisol, lysozyme, glucose.

SEMBOLELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

| | | |
|--------------|---|--|
| g | : | Gram |
| cm | : | Santimetre |
| L | : | Litre |
| ml | : | Mililitre |
| mg | : | Miligram |
| μ l | : | Mikrolitre |
| M | : | Molar |
| $^{\circ}$ C | : | Santigrat derece |
| I^{125} | : | Radyo aktif olarak işaretlenmiş iyot 125 atomu |
| RIA | : | Radio Immuno Assay |
| nm | : | Nanometre |
| μ g | : | Mikrogram |
| dl | : | Desilitre |
| UV | : | Ultra viole |
| mmol/L | : | Milimol/Litre |
| mg/dl | : | Miligram/Desilitre |

ŞEKİLLER DİZİNİ

| | <u>Sayfa No</u> |
|---|-----------------|
| Şekil 1. Avrupa’da kahverengi alabalığın yayılım alanı..... | 4 |
| Şekil 2. Karadeniz alabalığının ülkemizdeki doğal yayılım alanları..... | 6 |
| Şekil 3. Balıklarda çevresel stresörlere karşı tepki olarak oluşan GAS..... | 10 |
| Şekil 4. Balıklarda doğal şartların değişmesi ile oluşan tepki ve denge bozukluğu eşikleri | 11 |
| Şekil 5. Çevresel faktörlerden sıcaklığın değişmesiyle oluşan denge bozukluğu ve stres eşikleri..... | 14 |
| Şekil 6. Çevre, balık ve patojen arasındaki hastalık oluşabilme ilişkisi..... | 15 |
| Şekil 7. Balıklarda stresten kaynaklanan birincil ve ikincil etkiler..... | 16 |
| Şekil 8. Deneme balıklarının içinde tutulduğu fiberglas tankların görünümü..... | 22 |
| Şekil 9. Suyun ısıtılması ve soğutulmasında kullanılan Frigotek marka soğutucular..... | 22 |
| Şekil 10. Kuyrukları bisturi yardımı ile kesilen balıklardan kan alınmasının görünümü..... | 24 |
| Şekil 11. Kortizol RIA DSL-2100 test kiti etiketi, kortizol standart tüpleri ve test tüpleri..... | 26 |
| Şekil 12. Kortizol ölçümünde kullanılan Gamma 1 Counter cihazı..... | 27 |
| Şekil 13. Kontrol ve deneme grubuna ait kan serumundaki kortizol düzeyinde belirlenen değişim..... | 30 |
| Şekil 14. Kontrol ve deneme grubuna ait kan serumundaki lizozim aktivitesinde belirlenen değişim..... | 31 |
| Şekil 15. Kontrol ve deneme grubuna ait kan serumundaki glikoz düzeyinde belirlenen değişim..... | 32 |

TABLolar DİZİNİ

| | <u>Sayfa No</u> |
|--|-----------------|
| Tablo 1 Kontrol ve deneme grubu balıklarına ait örnekleme sayısı, zamanı ve grupları..... | 23 |
| Tablo 2 Örnekleme zamanlarında ölçülen bazı su kalite kriterlerinin değerleri..... | 25 |
| Tablo 3 Ani sıcaklık şoku uygulanmış deneme grubu ve kontrol grubu kan serumuna ait kortizol miktarında, lizozim aktivitesinde ve glikoz düzeyinde belirlenen değişim..... | 29 |
| Tablo 4 Deneme ve kontrol grubu kan serumuna ait total protein, Cl ve Ca düzeyinde belirlenen değişim..... | 33 |
| Tablo 5 Deneme ve kontrol grubu kan serumuna ait K, Na ve P düzeyinde belirlenen değişim..... | 34 |

1.GENEL BİLGİLER

1.1. Giriş

Dünyada ve ülkemizde teknolojinin hızla gelişmesine paralel olarak, şehirleşme, derelerde yürütülen ıslah çalışmaları, dereler boyunca yapılan yol çalışmaları, çevre kirliliği, sahillerde dolgu yapılması gibi faaliyetlerle birlikte yasa dışı aşırı avcılık nedeniyle doğal su kaynakları olumsuz etkilenmektedir. Su canlılarının sayısı, doğal yaşam alanlarının endüstrileşmeye bağlı olarak bozulması, kirlenmesi ve aşırı avcılıkla beraber hızla azalmaktadır. Doğal kaynakların hızla azalmasına karşın dünyadaki insan nüfusunun hızla artması, insanoğlunun kültür seviyesinin artması ve toplumdaki beslenme bilincinin gelişmesi, balık etine olan talebi artırmaktadır. İnsan gıdalarının temelini bitkisel ve hayvansal proteinler oluşturur. Özellikle hayvansal proteinler, beyinsel ve vücutsal gelişimi için gerekli olan essansiyel amino asitlerce zengin olması nedeni ile insanın beslenmesinde önemli yer tutar. Bu nedenle hayvansal proteinler yönünden ise su ürünlerinin önemi tartışılmazdır. Çünkü balık etinde yüksek miktarda protein bulunmasının yanı sıra fosfor, iyot, demir, flor, kalsiyum gibi çeşitli mineral maddeler ve özellikle A ve D vitaminleri olmak üzere, vitaminler açısından da zengin bir gıda maddesidir. Ayrıca, balık eti diğer etlere göre, bağ dokusunun az olması ve yağlarının kimyasal yapısı yönünden bol miktarda omega yağ asitlerini içermektedir. Bu özellik yağın kalitesini artırdığı gibi sindirilme oranının da daha yüksek olması nedeniyle insan beslenmesinde haklı olarak önem kazanmıştır. Balık etinin beslenmedeki önemi anlaşılmaya başlanmasıyla bilimsel çalışmaların büyük bir kısmı beslenme üzerine olmuştur.

Su kirliliğinin boyutlarının artması, iç sulardaki ve denizlerdeki stokların bilinçsiz bir şekilde avlanılmasından dolayı avcılığa ek olarak denizlerde ve iç sularda su ürünleri üretimine başlanmıştır. Doğal ortamda bulunan balık türleri bilimsel çalışmalarla kültür altında yetiştirilmeye başlanmıştır. Kültürü yapılan ve kültüre elverişli yeni türlerin kültüre alınma çalışmaları hız kazanırken doğal stokların takviyesi amacıyla balıklandırma çalışmaları da giderek artmaktadır.

Dünyanın 2005 yılı balıkçılık ve yetiştiricilik üretimine göre toplam su ürünleri üretimi yaklaşık 141 milyon ton olup, bu üretimin 93 milyon tonu avcılıktan, 48 milyon tonu ise yetiştiricilikten elde edilmektedir (FAO, 2007). Üretimin büyük bir kısmı avcılık

yoluyla olmasına rağmen FAO tarafından dünyanın en hızlı gelişen gıda sektörü su ürünleri sektörü olarak belirlenmiştir.

Ülkemiz için yetiştiricilik açısından yeni tür olarak değerlendirilen türler arasında Karadeniz alabalığı (*Salmo trutta labrax* Pallas, 1811)'da bulunmaktadır. Türün biyoekolojik özelliklerinin tespiti ve kültüre alınabilirliği araştırılmış ve başarılı sonuçlar elde edilmiştir.

Ülkemize ait endemik bir alttür olan Karadeniz alabalığının yetiştiriciliği özel çiftliklerde amatör olarak yapılmaktadır. Yetiştiriciler Karadeniz alabalığını doğadan, Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı'na ait Su Ürünleri Araştırma Enstitülerinden veya diğer çiftliklerden elde ederek kendileri az miktarda yetiştiriciliğini yapmaktadır.

Kahverengi alabalıklar (*Salmo trutta* sp.) Avrupa'da ilk kültüre alınan alabalık türüdür. Sportif balıkçılık ve doğal ortamın balıklandırılması amacıyla hala kullanılmaktadır. Gökkuşluğu alabalığına göre kültürünün ve ticari üretiminin yeterince gelişmeme sebebi yavaş büyüme oranı, yapay besinleri az kullanabilmesi ve iyi su kalitesine gereksinim göstermesi nedeniyle olmuştur (Aksungur, 2002). İlk kuluçka 1841 yılında Boccius tarafından Britanya Hammersmith'de yapılmıştır. 1850 yılında Coste tarafından optimum yapay üreme sağlanmıştır. Daha sonra kahverengi alabalık yaygın bir şekilde Avrupa'da üretilmiştir ve diğer kıtalarda da ortaya çıkmıştır, fakat kahverengi alabalık kültüründeki amaç her zaman doğal sulara yeniden stoklamak olduğu için besin olarak balık üretimine özgü bir evcilleştirme yapılmamıştır. Kısaca 1980 yıllarının sonuna kadar Britanya'da ki Fransız sularında deniz kafeslerindeki kahverengi alabalık kültürü salmon üretimine alternatif olarak düşünülmüştür. Bu hızlı büyüme için seçilen kahverengi alabalık ırklarının gelişimine neden olmuştur (Vandeputte, 2008).

Bu çalışmada, ani su sıcaklığı yükselmesinin Karadeniz alabalığı refahına etkisi araştırılmıştır. Bu amaçla ani su sıcaklığı değişikliğine tabi tutulan balıkların kan parametrelerinde stres indikatörü parametrelerden serum kortizol seviyesi, lizozim aktivitesi, glikoz düzeyi ve bazı kan parametrelerinin ölçümü yapılarak stres cevap belirlenmiştir.

1.2. Karadeniz Alabalığının Sistematikteki Yeri ve Morfolojisi

| | |
|--------------------|---|
| Filum | : <i>Chordata</i> |
| Alt filum | : <i>Vertebrata</i> |
| Sınıf | : <i>Chondrostei</i> |
| Ordo | : <i>Salmoniformes</i> |
| Familya | : <i>Salmonidae</i> |
| Alt familya | : <i>Salmoninae</i> |
| Genus | : <i>Salmo</i> |
| Species | : <i>Salmo trutta labrax</i> (Pallas, 1811) |

Kahverengi alabalık, tatlısu ve deniz (daha ziyade acısu) arasında fırsatçı göç davranışına sahip Salmonidae familyasına ait bir türüdür. Farklı çevre şartlarına yüksek adaptasyon kabiliyetine sahiptirler. Bu özellikleri, tür içerisindeki önemli ölçüde çok şekilliliğin kaynağı olarak gösterilmektedir. Bundan dolayı farklı bilimsel isimlerle adlandırılmaktadırlar. Alabalıklarda çok şekilliliğin oluşumu kısmen genetik farklılıklardan oluştuğu Krieg (1984) tarafından bildirilmekteyse de, Linnaeus'un ortaya attığı, "*Salmo trutta* tek bir türdür" tezi en muhtemel olanıdır (Çakmak ve ark. 2004).

Türkiye'de yayılım gösteren alabalıkların hepsi *Salmo* cinsi ve *trutta* türünden olup, bu da dört alttüre ayrılarak incelenmektedir. Fakat bu konuda ki bulgular genetik çalışmalarla desteklenmediği için ırk, fenotip, genotip, ekotip gibi kavramlarla yapılan bu ayrımlar tartışma konusu olmaktadır. Çünkü ayrı ırklar olarak kabul edildikleri halde bazı sulara her iki ırka ait bireyleri bir arada görme olasılığı vardır. Bu bakımdan Türkiye alabalıklarının alt tür seviyesindeki taksonomik durumu henüz kesinlik kazanmış değildir. Fakat ülkemizde de yapılmaya başlayan gelişmiş genetik metotlarla desteklenen çalışmalarla ırkların kesin olarak ayrımı sağlanabilecektir (Tabak ve ark. 2001).

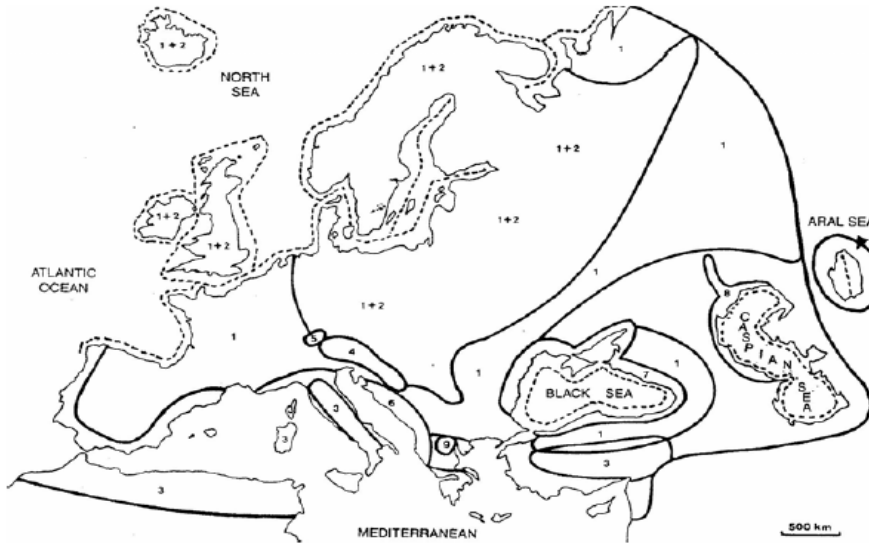
Karadeniz alabalığının anatomik vücut yapıları mekik şeklinde olup yanlardan hafifçe yassılaştırmıştır. Vücudun lateral çizgisi boyunca pul sayısı 115–135 arasında değişmektedir. Ağız terminal konumlu olup, geniş yarıklıdır. Dişler sadece çenelerde değil aynı zamanda dilde, vomer ve palatin kemikleri üzerinde de bulunur. Birinci dorsal yüzgeç daima ventrallerin başlangıcının önünden çıkar. Kaudal yüzgeç iki çatallıdır ve lopları arasında hafif bir girinti bulunur. Anal yüzgeçte en fazla 10 tane dallanmış ışın vardır. Başlıca besinlerini Tricoptera larva ve erginleri, küçük krustaseler ve balık yavruları

oluşturur. Eşeyssel olgunluğa 2-4 yaşlarında ulaşırlar. Üreme periyodu ise eylül- aralık ayları arasındadır (Geldiay ve Balık, 1996).

1.3. Dağılımı ve Biyo-Ekolojik Özellikleri

Kahverengi alabalıklar Avrasya'nın endemik değişken türleridir. Derelere yumurta bırakırlar. Göl ve denizlerde bulunabilirler veya bütün yaşamlarını nehirlerde geçirebilirler. Yaşam süreçleri, vücut şekilleri, büyüklükleri ve renklerindeki değişkenlikler bunların farklı tür ve alt türlerinin olduğunu belirtmektedir. Ekolojik adaptasyonları sonucu birçok farklı formu gelişmiştir, halen hepsinin aynı tür ekotipler olduğu düşünülmektedir. Anadrom formları deniz alabalığı olarak adlandırılır. Kahverengi alabalık dere, göl ve deniz (anadrom) olmak üzere başlıca üç ekolojik formu bulunmaktadır. Vücut şekli, büyüklüğü, rengi ve yaşam özelliklerinin ayrıntıları çeşitliliklerini gösterir (Groot, 1996).

Kahverengi alabalık, Avrupa kıtasında birçok farklı formda mevcuttur. Dağılımının kuzey sınırı İzlanda'dan Rusya'nın kuzeyine (Volga'nın kuzeyi), İskandinavya'nın kuzey sınırı olarak belirlenmiştir. Güney sınır ise, Sicilya ve Sardunya adaları dâhil, Atlas Dağları'dır (Fas, Cezayir). Kahverengi alabalık, Avrupa'nın Atlantik önlerinden Hazar denizi ve Aral denizini içine alan Himalaya'nın eteklerine kadar yayılım gösterir (Şekil 1) (Tabak ve ark. 2001).



Şekil 1. Avrupa'da kahverengi alabalığın yayılım alanı (Tabak ve ark. 2001).

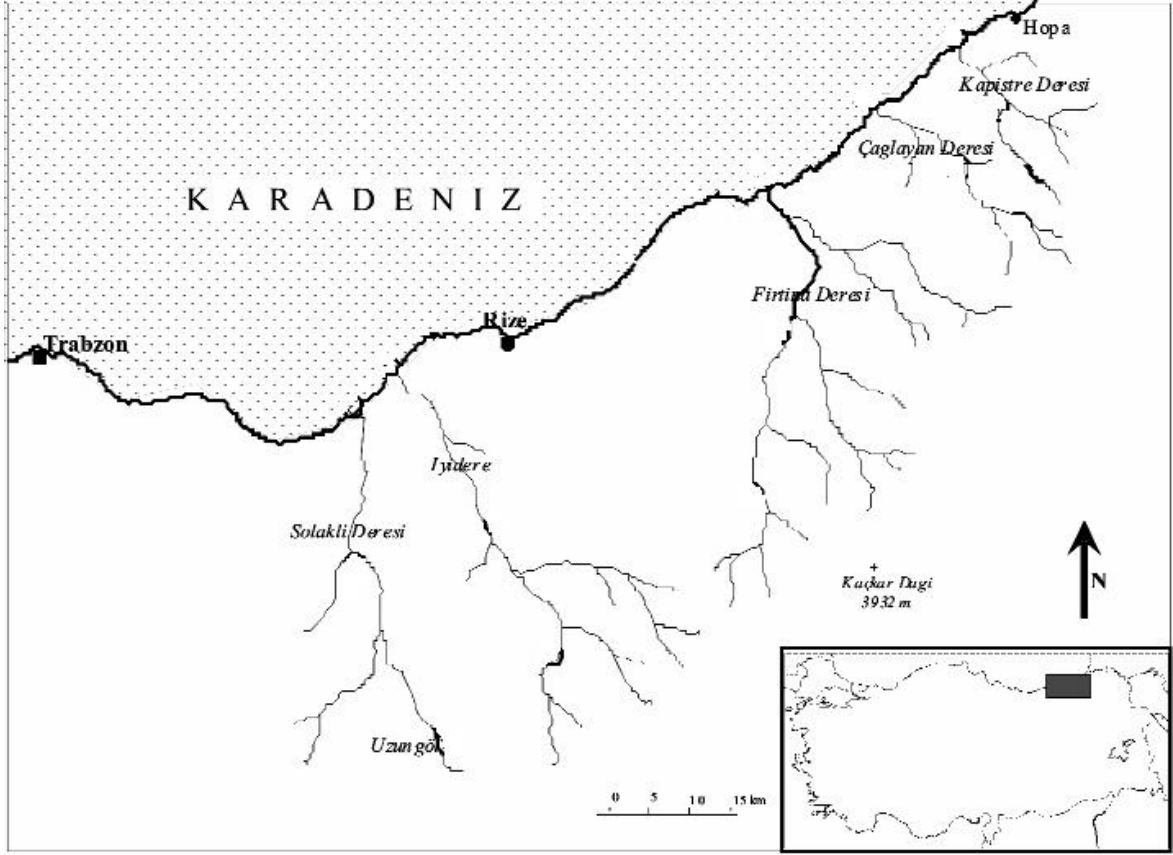
Anadrom form, beslendikleri Beyaz Deniz, Ceskaya Körfezi, Baltık Denizi, Kuzey Denizi, İrlanda Denizi, İngiliz Kanalı, Atlantik Okyanusu, Biskay Koyuna kadar, Karadeniz, Hazar Denizi ve Aral Denizi'nde yerleşmişlerdir. Deniz alabalığı Akdeniz'de bulunmaz. Göl formu Alp Dağları, İskandinavya, Büyük Britanya ve Orta Avrupa'da birçok gölde mevcuttur (Çakmak ve ark. 2004).

Aynı popülasyon bireyleri arasında renk ve desen yönünden birçok farklılıklar vardır. Çünkü bu türün bireyleri cinsiyete, yaşa, alınan besine ve yaşama ortamına göre büyük değişiklikler gösterir. Bu tür araştırmacılara göre büyük önem taşıdığı halde bugüne kadar yapılan çalışmalarla mevcut alt türler hakkında bir durum ortaya konulmuş değildir. Buna karşın metrik ve meristik özelliklerine dayanılarak gerçekleştirilen son araştırmaların verdiği sonuca göre; Türkiye'deki bütün alabalıkların tek bir türde (*Salmo trutta*) birleşebileceği ve bunun da birçok coğrafik ırklarının olabileceği ileri sürülmektedir (Geldiay ve Balık, 1996).

Ülkemizde dağ alabalığı diye adlandırılan ve büyük lekeli balık olarak bilenen *Salmo trutta macrostigma* Dummeril, 1858 türü ülkemizin Güney, Güneybatı, Batı, Kuzeybatı ve Trakya'daki birçok akarsularımızda mevcuttur. Ülkemizde sadece Abant Gölü ve etrafındaki kaynaklarda yaşayan *Salmo trutta abanticus* Tortonese, 1954 endemik bir formdur. Ülkemizin Kuzeydoğu ve Doğu Anadolu Bölgelerinin su kaynaklarında özellikle Aras havzasında, Kars, Ardahan'da ise *Salmo trutta caspius* Kesler, 1877 türü bulunmaktadır. Ülkemizde Kuzey ve Kuzeydoğu Anadolu'daki akarsularımızda ise *Salmo trutta labrax* Pallas, 1811 türü bulunur (Emre ve Kürüm, 2007).

Karadeniz alası (*Salmo trutta labrax* Palas, 1811) hayatlarının büyük bir kısmını ve özellikle beslenme periyodunu içeren zamanı denizde geçirmektedirler. Üreme zamanlarında ise Karadeniz'e akan nehirlerimize girerek kış aylarında çakıllı olan derelere yumurtalarını bırakırlar (Geldiay ve Balık, 1996).

Karadeniz alabalığı Gürcistan, Kafkasya, Kırım, Azak denizi, Romanya ve Bulgaristan yoluyla bütün Karadeniz sahilinde mevcuttur. Türkiye'de yayılım alanları kuzey- doğudaki Trabzon'un 40km doğusundaki Sürmene'de başlar ve Çoruh nehri yoluyla Gürcistan sınırlarına ulaşır. Fırtına, Çağlayan, Çoruh, Kapistre, Fındıklı, Taşlıdere, İyidere, Baltacı ve Solaklı önemli nehirleridir (Şekil 2). Karadeniz kıyı sularına ilaveten, aşağıda sözü edilen Türkiye'de ki göl ve nehirlerde de bildirilmiştir: Çoruh, Aras nehri, Tortum nehri, Çıldır gölü (Ardahan) (Okumuş ve ark. 2004).



Şekil 2. Karadeniz alabalığının ülkemizdeki doğal yayılım alanları (Okumuş ve ark. 2004).

Karadeniz'in Türkiye bölümünde deniz alabalıklarında beslenme smoltların dere ağızlarında ve denizlerdeki besinlerini başlıca böcekler oluşturmaktadır. Denizlerde hamsi, küçük balıklar ve krustasealar, göl ve nehirlerde yoğun olarak sucul böcekler ve detritustaki bazı hayvansal kalıntılar oluşturur. Anadrom türler sıcak ve soğuk aylar boyunca beslenemezken bir yerde olan formlar aktif olarak daima beslenirler. İlk büyüme dönemi sonunda nehirlerdeki juveniller 9.5–16.5 cm boya ve 13–50 g ağırlığa ulaşırlar. Balıklar 2. yaşında 16–36 cm, 3. yaşta 42.5-57.0 cm boya ulaşırlar (Okumuş ve ark. 2004).

1.4. Balık Refahı, Çevre ile İlişkisi ve Stres Mekanizması

1.4.1. Balık refahı

Yaşamın sınırları, organizma ile çevre arasındaki ilişkiler tarafından belirlenmektedir. Hem içsel hem de dışsal değişken faktörler bireye kendine özgü homeostatik dengesini aramayı dayatmaktadır (Saroglia, 1986).

Balığın yaşadığı ortam olan su, onun çevresini oluşturmaktadır. Bu sucul çevre, insan aktiviteleri sonucu baskı altına alındığında, kararlı durumunu yitirerek kararsız bir hal

almakta, fauna ve flora baskı altına alınarak ekolojik denge bozulmakta, kararsızlaşan bu ortamdaki suyun kalitesi bozulmaktadır. (Edmondson, 1991).

Su kalitesi balıklarda davranış ve fonksiyonel bozukluklara sebep olabilmektedir. Düşük kaliteli sular balık üzerinde toksik etki yapmasının yanında stres oluşturmasından dolayı da önem arz etmektedir. Balık, oluşan strese bağlı olarak enfeksiyonlara karşı hassaslaşır, iştahı azalır, gıda çevrimi ve gelişimi yavaşlar, üreme potansiyeli olumsuz etkilenir. Toksik etki ve oluşan hastalıklar sonucunda toplu ölümler ortaya çıkar (Edmondson, 1991). Kontrolsüz ve bilinçsiz olarak hızlı bir seyir takip eden yetiştiricilik aktiviteleri de su kalitesi unsurları ile kombinasyonlar oluşturarak, balık salığı için çözümü güç olan önemli problemler doğurmaktadır. Sonuçta balığın sağlığı bozulmakta ve yaygın ağır hastalık tabloları ortaya çıkmaktadır.

Balıklardaki “Stres” mekanizmasına açıklık getirerek, yetiştiricilikteki yoğun stoklanan balıklarda hastalıkların ortaya çıkması ile çevresel faktörlerin ilişkisini açıklığa kavuşturucu bildirimlerde bulunmuşlardır (Sinderman, 1984; Saroglia, 1986; Edmondson, 1991). Yine bu konuda birçok araştırmacının yapmış olduğu araştırmalarla çevresel faktörlerin stres yapıcı etkisi ile balık salığı arasındaki ilişkileri ortaya konulmuştur.

Yoğun üretim şartlarında hastalıklardan korunmak için iyi bir program uygulanması gerektiğini ve bu programda en azından şu dört maddeyi içermesi gerektiği bildirilmiştir (Sinderman, 1984).

- Balık girişi ve transferinin kontrolü;
- Kemoprofilaksi ve kemoterapinin kontrolü;
- Koruyucu bağışıklık oluşturma (aşılama);
- Stresin kontrolü;

Özellikle çeşitli olumsuz çevresel faktörlerin balıklarda oluşturduğu “stres” ve bunun sonucunda balık refahının bozulmasını açıklayan “stres mekanizması” üzerinde durulacaktır.

1.4.2. Olumsuz çevresel faktörlerin balık refahı üzerine etkisi

Birçok sucul ortamda kültürü yapılan balıklarda hastalıkların ortaya çıkma ihtimalini artıran olumsuz çevresel faktörler hakkında oldukça iyi bir bilgi birikimi vardır. Bununla birlikte, çevresel şartların ne olduğunu tanımlamak ve kısa vadede ortaya çıkan etkileri ile uzun vadede ortaya çıkan etkilerini ayırmak çok zordur.

Balıklar soğuk kanlı canlılardır ve bu nedenle uygun olmayan şartlarda vücut sıcaklığını ve dengesini kolayca düzenleyemezler.

Sucul hayvanların normal yaşamı için neye ihtiyaç duyduklarını anlamak zordur. Zira sucul ortamda meydana gelen olumsuz çevresel değişiklikleri ve bu değişikliklere karşı oluşan tepkileri izlemek de kolay değildir (örneğin, amonyağın solungaç yapısı üzerindeki etkisi uzun sürede açığa çıkabilir, amonyak ve oksijenin seviyelerindeki uygun olmayan değişimlerin kombinasyonu balıkta stres yaratarak, solungaç üzerinde gaz değişimi için kullanılan bölgeyi daraltabilir). Bu kombine etki çeşitleri ile balıklar hayatları süresince sürekli karşılaşmalarına rağmen, dikkate alınması gereken bu kompleks problem henüz çözülememiştir.

Toksisite çalışmalarında kısa süreli toksik etkiler hakkında oldukça iyi bilgiler olmasına rağmen uzun sürede toksik etkiler henüz tanımlanamamaktadır. Kısa süreli etkilerden uzun süreli etkileri tahmin etmek, yetiştiricilikte kompleks kombine faktörlerin çokluluğu sebebiyle çok zordur. Yetiştiricilikte çevrenin değişkenliği problem olmasına rağmen uzun vadede, bir balık geniş dalgalanmalara adapte olabilir. Fakat günlük değişiklikler çok kritik olabilir (oksijen ve pH değişimi gibi). Bu durumlar organizmaların erken hayat devrelerinde daha büyük öneme sahiptirler.

Su ürünleri yetiştiriciliği, su kirliliği parametreleri, balık hastalıkları, stok yoğunluğu aktiviteleri ve tüketilen yem miktarı arasında ilişkiler dikkate alınmalıdır. Bu parametrelerin normal olmayan değerleri balıklarda “fazla miktarda mukus salgısı, solungaçlarda renk değişimi ve tahribat, kan değerlerinde değişimler, sperm ve yumurta miktarında değişiklikler, bağırsak yangıları, iç kanamalar, karaciğer ve böbrek gibi organların hücrelerinde patolojik bozuklukların yanında davranış bozuklukları (ani kaçış, korkma, huzursuzluk, uyuşukluk.)” oluşturabilir.

1.4.3. Balıklarda stres ve stresin sonuçları

Balıklar ihtiyaç duydukları sucul ortamlarda olumsuz çevresel faktörlerin altında bakılıp beslendikleri zaman strese girerler. Stres; organizmanın olumsuz dış uyarılara karşı vermiş olduğu bir tepkidir.

Balıklarda tepki oluşturan herhangi bir etkenin stres faktörü olarak kabul edilmesi gerekmektedir. Bu faktörün derecesinin veya süresinin bağlı olarak balıkların kendilerini adapte etmiş oldukları normal rutin ortam koşullarını aştığında veya birden fazla stres faktörünün aynı anda mevcut olduğu durumlarda balıklar stres altında şeklinde tanımlanır.

Biyolojik stresin birçok tanımı vardır; fakat tanımlayıcıların çoğu “bir biyolojik sistem üzerine uyarıcı bir etki ve bunu takiben sistemin tepkisi” tanımında birleşmektedirler. Stres akut veya kronik olabilir. Akut stres (süreli), belli bir süre içindeki

stres olarak tanımlanmaktadır (dakika veya saat olarak). Bu süre, fizyolojik tepki süresinden bir hayli kısadır (tepki süresi birkaç gün, bazen haftalar olabilir). Kronik stres (sürekli), genellikle atlatılamayan, tepkileri etkisiz olan daha da tehlikeli strestir. Hayvan canlı kalabilmek için performans kapasitesini düşürerek yeni şartlara (strese) alışmak zorundadır.

Akut stresler, balıkla temas (taşımaya, yakalama, boylama) ve hastalık tedavisini kapsar ki her ikisi birden sadece birkaç dakika veya saattir. Keza su kalitesindeki şiddetli dalgalanmalar da akut strese sebep olabilir (örneğin, amonyak stresinin tipik yükselişinden birkaç saat sonra yem almada düşme ve reddetme görülür).

Kronik stresler, aşırı stoklama ve düşük su kalitesini kapsar.

Kültür balıklarında akut ve kronik stresin yüksek seviyelerde seyredebilmektedir. Stresin her ikisine birden genellikle yüksek yoğunluktaki sistemlerde rastlanır.

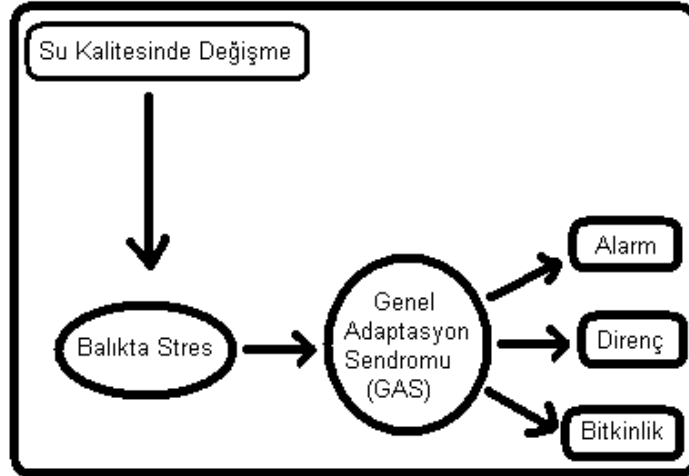
Akut stres esnasında meydana gelen hormonal değişiklikler solunum, dolaşım ve boşaltım sistemlerindeki esasen fizyolojik değişikliklere aracılık ederler. Stresin en acil sonuçları solunum sistemindedir. Örneğin, çiftlik gökkuşağı alabalıklarında oksijen tüketimi balıklar sağıldıktan sonra bile bir günde %50 kadar yükselmektedir. Yüksek su sıcaklıklarında metabolizma için balıkların gereksinimleri arttığı zaman suyun oksijen bağlama kapasitesi azalırken oksijene olan talebin artmasından dolayı problemler daha da kötüleşir. Ekstrem şartlarda, örneğin, yüksek stok yoğunluklarındaki nakillerde, solunum stresi mortalite için direkt olarak sorumlu olabilir. Hatta çözülmüş oksijen miktarı yeterli olduğu zaman, yüksek stok yoğunluğunda toksik metabolik ürünler, örneğin; amonyak ve CO₂, birikebilir ve solunum stresine katkıda bulunabilir.

Stresli balıklarda bozulan solunum düzeni sonucu tuz ya da iyon dengesizliğine yol açabilir. Tuzlar deniz suyunda tuzların içeriye bir akışı varken tatlı su balıkları tarafından tuz kaybedilir. Bu dengesizlikler osmoregulator sistemdeki basınca neden olur ve balıklardaki osmoregular başarısızlık yüzünden ölümle sonuçlanabilir.

Değişiklikler stres esnasında savunma mekanizmasında da meydana gelir. Kronik stres şartlarında balığın savunma sisteminde bir bozulmaya neden olabilir. Alabalıklarda normalde hastalık etkeni olmayan hastalık ajanlarına (örneğin; *Aeromonas hydrophila*) karşı dirençsizlikte bir artışa sebep olabilir. Spesifik bağışık cevap stresli şartlar tarafından baskılandırıldığı için stres bir aşılama programının etkinliğini de azaltabilir. Bu yüzden, aşılama öncesi, esnasında ve sonrasında stresi minimize (azaltmak) etmek önemlidir (Bruno ve Ellis, 1996).

1.4.3.1. Balıklarda strese karşı oluşan cevabın tepki mekanizması

Balıklar alışık oldukları ortam şartlarında meydana gelen dengesizlikleri algıladıkları zaman strese karşı cevap olarak oluşan değişikliklere genel adaptasyon sendromu (GAS) adı verilmektedir. Genel Adaptasyon Sendromu olarak bilinen dengesizlikler balıklar tarafından algıladıkları zaman bir seri tepki meydana geldiği Şekil 3’de gösterilmektedir. Bu organizmadan gelen ve genel bir alarm durumu ile bir adaptif tepki veya direnç girişimi aralığındaki tepkiler silsilesini içermektedir. Adaptasyon başarısız olduğunda ve değişen koşullar aynen kaldığında bireyin bitkinleşmesi kaçınılmaz olur ve bu yüzden de üretimde bir düşme kaydedilir.



Şekil 3. Balıklarda çevresel stresörlere karşı tepki olarak oluşan GAS.

Stres, sucul çevredeki bir değişime karşı organizmanın verdiği tepkisel bir cevaptır. Bu cevap çevre ile ilişkili organizmaların “normalleşme”nin sağlam durumunun geri getirildiği zaman fonksiyoneldir. Böylece, çevredeki meydana gelen bir değişikliğe karşı adapte olmak için balık strese cevap verir. Fakat, bütün cevaplarda, metabolik olarak oldukça zordur ve bu cevap zamanın belli bir periyodu için sadece sürdürülebilir. Eğer normalleşme bu periyot içinde başarısız ise organizmanın sağlığı tehlikeye girdiği için bozulmalar başlar ve olumsuz metabolik işlemler devam eder.

Balıklarda bu genel adaptasyon sendromuna fizyolojik, biyokimyasal ve tabiatında olmak üzere strese karşı cevap meydana gelmektedir. Strese maruz kalan balıklarda homeostazı sağlamak için meydana gelen bu cevaba ait fiziksel, metabolik, biyokimyasal ve sinirsel uyarılara karşı oluşan reaksiyon ve tepkiler aşağıdaki üç safhada açıklanmaya çalışılmıştır.

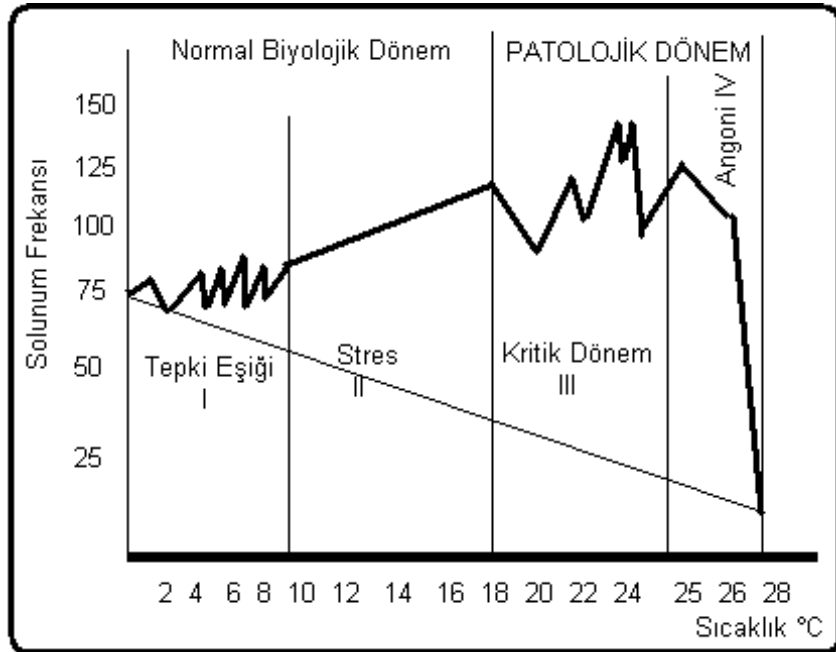
a) **Alarm reaksiyonu:** Metabolik ve fizyolojik faktörlerin harekete geçirildiği zamanı,

b) **Direneme safhası:** Organizmanın fizyolojik durumu çevre ile sürdürülebilir bir ilişkinin tepkisini takiben normale geri döndüğü zamanı,

c) **Bitkinlik safhası:** Cevapların fizyolojik homeostazın bir durumunun başarılmadığı zaman ve bedensel fonksiyonlar tehlikeye atıldığı zamanı ifade etmektedir.

GAS esnasında oluşan değişiklikler sinirsel ve hormonal reaksiyonlar tarafından aracılık edilir, genellikle hipofizden adrenocorticotropic hormon (ACTH) salınması ki kortikosteroid hormonun, salmonidlerin böbreklerarası dokusundan, başlıca kortisol, salınmasına sebep olur. Alarm reaksiyonundaki sinirsel cevaplar da salmonidlerin anterior (ön) böbreklerine lokalize olmuş kromafin dokularından kateşolaminlerin salınmasını (örneğin, adrenaline) uyarır (Bruno ve Ellis, 1996).

Bir balığın doğal şartları değiştikçe göstereceği davranış özellikleri, doğal şartların sınırları, bu sınırların ötesinde oluşacak tepki ve denge bozukluğu eşikleri, patolojik dönemi, kritik dönemin başlaması ve sonunda ölüm eşiği Şekil 4’de gösterilmiştir (Erençin ve Köksal, 1981).



Şekil 4. Balıklarda doğal şartların değişmesi ile oluşan tepki ve denge bozukluğu eşikleri (Erençin ve Köksal, 1981).

Toksik elementlerden başka beslenme durumuna çevre şartlarına sıcaklığa ve çözünmüş oksijen miktarına ilişkin yaşam bozukluklarını da bu şekilde değerlendirmek mümkündür.

Strese tepki olarak oluşan en son durum ölümlerle sonuçlanır. Fakat bu seviyeye ulaşmadan önce birçok değişik tepkiler oluşabilir.

1. Davranışta (tankın altına saklanma, suyun girişinde yüzme) ve görünüşte (deride koyulaşma veya açılma) değişiklikler görülebilmektedir.

2. İştah, gıda çevrimi ve gelişmede düşme görülmektedir.

3. Üreme potansiyelinde düşme ortaya çıkmaktadır.

4. Hastalıklara karşı toleransta düşmektedir.

5. İlave strese karşı toleransta düşmelerde şekillenmektedir.

1.4.3.2. Yetiştiricilikte stres yapıcı faktörler

Kültürü yapılan balıklar için bazı yaygın stres yapıcılar şu başlıklar altında sıralanmaktadır.

1. Yanlış besleme stratejisi,

2. Aşırı stoklama,

3. Büyüklük dengesizliği,

4. Balıkla temas (balık nakli, boylama, kepçeyle veya ağ ile yakalama vb.)

5. Hastalıklar için kullanılan kimyasallar, antibiyotikler ve dezenfektanlar,

6. Kötü bakım şartları ve hijyen yetersizliği,

7. *Uygun olmayan su sıcaklığı ve ani su sıcaklık değişiklikleri,*

8. Yemlerde bozulma (ekşime ve mantarlaşma),

9. Debisi çok yüksek suyun havuzlara verilmesi,

10. Düşük su kalitesi (sıcaklık, tuzluluk, toplam gaz basıncı, çözünmüş oksijen miktarı, amonyak, nitritler, karbondioksit, su kirliliği vs.)

11. Patojen mikroorganizmalar, toksik planktonlar, yoğun plankton, makro organizmalar, iç ve dış mikroorganizmalar.

Bu bağlamda kültür çevresindeki stresörlerin anahtarı olarak aşağıdaki kriterler oldukça önemlidir.

a) Su kalitesi: Salmonidler yüksek oksijen gereksinimlerine sahiptirler ve yüksek sıcaklık veya mikrobiyel üreme gibi sudaki mevcut oksijen miktarını azaltan şartlar solunum stresine neden olmaktadır.

b) Kalabalık: Kalabalık balık popülasyonu sudaki amonyak gibi toksik atık ürünleri artırarak ve oksijeni azaltarak su kalitesini etkiler. Yüzgeçlerde erime ve saldırganlık tehlikeleri yoğun yetiştiricilikte yaygın stresörlerden birdir.

c) Elleme: Balıkları ellemenin çeşitli tipleri (ağla tutmak, boylama, sağım, damgalamak, nakletmek) fiziksel stresörlerdendir.

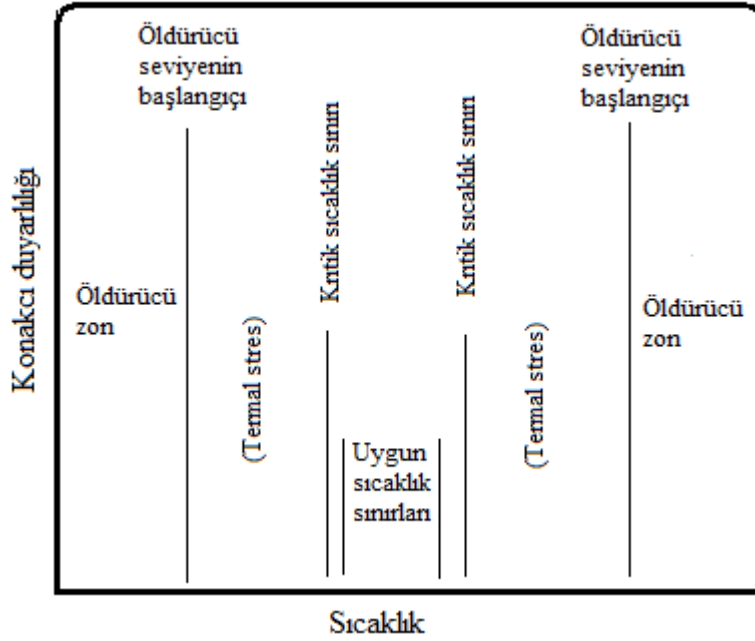
d) Rahatsızlık: Balıkları rahatsız eden fok ve balıkçıl gibi etçiller veya çiftlik işçileri Atlantik salmon gibi türlerde “sinirsel” strese sebep olabilirler. Ayrıca levrek balıklarını yemleyen işçilerin değişikliğinde bile strese neden olmaktadır.

e) Beslenme: Uygun beslenme iyi sağlık için önemlidir. Problemler özellikle gıdaların kötü bir şekilde stoklandığı zaman, E ve C vitamini gibi belli vitamin eksikliğine rastlanabilmektedir.

f) Hiyerarşik Etkiler: Saldırganlık tehlikelerine yol gösteren farklı büyüklüklerdeki balıklar arasında veya belli popülasyon yoğunluklarında gelişebilir.

g) Kimyasallar; Çeşitli dezenfektanlar ile deri ve solungaç parazit enfestasyonlarına karşı banyo tarzında yapılan dezenfeksiyon uygulamaları ve banyoların çok sık tekrarlanması yanı sıra antibiyotik uygulamaları da balıklarda önemli stresörlerden bir olarak sayılabilir.

Yaşayan tüm organizmalar çevresel parametreler için belli düzeylerde toleransa sahiptirler. Çevresel faktörlerin değişmesiyle balıklarda oluşan denge bozukluğu ve stres eşikleri Şekil 5’de gösterildiği gibi bu durum su sıcaklığı için şematize edilmiş olup, diğer parametreler için de aynı durum geçerlidir.



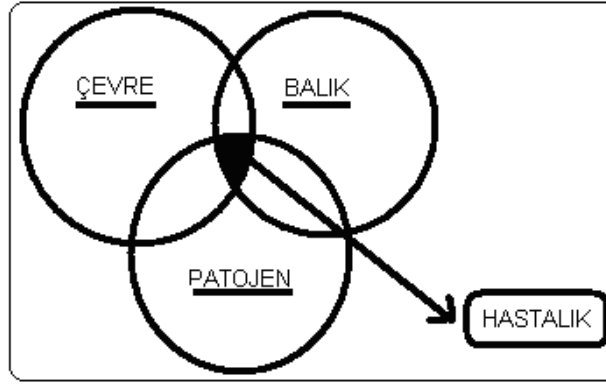
Şekil 5 Çevresel faktörlerden sıcaklığın değişmesiyle oluşan denge bozukluğu ve stres eşikleri (Edmondson, 1991).

Burada stres zonunun dışında optimum sınırlar vardır. Öldürücü seviyenin başlangıcı olarak adlandırılan sınırların hayvanlar tarafından aşılması hızlı ölümlere yol açar. Bu sınırlar türler için spesifik olmakla birlikte, belirli ölçüler içinde ve bazı faktörlere bağlı olarak değişebilmektedir. Şöyleki;

1. Yaş
2. Geçmişteki hasarlar
3. Genetik yapı
4. Diğer çevresel parametreler
5. Diğer faktörler (örneğin, beslenme durumu)

1.4.3.3. Balıklarda stres ve stresin hastalık oluşum mekanizmasına etkisi

Kültür ortamlarında olumsuz çevresel faktörlerin hastalıklar üzerine etkisi, doğal ortamlara nazaran daha baskındır. Kültürü yapılan balıklar, içinde buldukları ortam şartları gereği çok hassastırlar. Çevresel faktörlerin olumsuzluğu ve patojenin varlığı durumu hastalığın ortaya çıkmasına sebep olur. Bir balık popülasyonunda hastalıkların oluşabilmesi için Şekil 6'da gösterilen üç faktörün, yani konakçı, patojen ve çevre arasındaki ilişki bozulması gerekmektedir.



Şekil 6. Çevre, balık ve patojen arasındaki hastalık oluşabilme ilişkisi.

Bu dengede en önemli faktör çevredir. Çevresel faktörler şu şekilde sınıflandırılabilir.

a) Balığın içinde yaşadığı suyun fiziksel özellikleri (sıcaklık, suyun bulanması, ışık).

b) Kimyasal özellikleri (suda erimiş oksijen, karbondioksit, azot vb. gazlar, pH, amonyak, amonyum, nitrat, nitrit, inorganik fosfat, suyun sertliği ve tuzluluğu gibi).

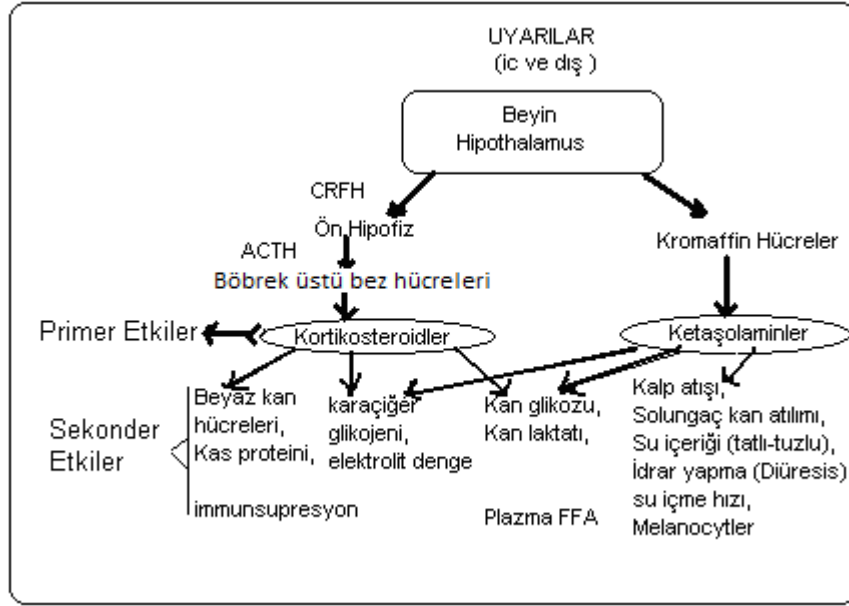
c) Biyolojik özellikleri (patojen ve apatojen mikroorganizmalar, toksik planktonlar ve plankton yoğunluğu, makro organizmalar, iç ve dış parazitler, populasyon yoğunluğu).

d) Balığa yapılan işlemler (elleme, kafeslerin sürüklenmesi, yemleme, hastalık tedavisi amacıyla kullanılan kemoterapotik maddeler).

Hastalığın oluşmasında rol oynayan çevresel faktörlerin biri veya birkaçının bozulması durumunda balık stres içine girer, vücutta alarm reaksiyonları başlar. Bu durumda balıkta yeni şartlara uyum için bir takım biyokimyasal, hormonal değişiklikler meydana gelerek ortama adapte olmaya çalışır. Adapte olamayanlar ölürken, adapte olanlar ise strese girerler (Mazeaud ve Mazeaud, 1981).

Stres bir balığı enfeksiyon hastalıklar için şu durumlarda daha hassas yapabilir.

1. Strese, fizyolojik tepki olarak anabolik statüden, katabolik statüye doğru bir seri metabolizma değişiklikleri ortaya çıkar. Olağan tepkiler “ani kaçış ve korkma”dır. Bir önemli unsur Beynin hipotalamusu-ön hipofiz ile böbrek arası hücrelerinin aktivasyonları sonucunda kana kortisol salgılanmaktadır. Bu olayın mekanizması Şekil 7’de gösterildiği gibi meydana gelmektedir (Mazeaud ve Mazeaud, 1981).



Şekil 7. Balıklarda stresten kaynaklanan birincil ve ikincil etkiler (Mazeaud ve Mazeaud, 1981).

Balıklar içinde yaşadıkları sucul ortamdaki stres faktörleri nedeni ile beyne gelen iç ve dış uyarımlar hipotalamustan kortikotropin bırakıcı faktör hormonu (Corticotrophin Releasing Faktör Hormonunun=CRFH) salgılanmasına neden olur. CRFH'nu ise hipofizin ön loupundan adrenokortikotropik hormon (Adrenokortikotropik Hormon=ACTH) salgılanmasına, bu da böbrekler arası bezi hücrelerinden kortikosteroidlerin salgılanmasına yol açar. Diğer taraftan da bu hormonun uyarımı ile kromoffin hücreleri etkileyerek ketaşolaminlerin salgılanmasına yol açar. Stresin birincil (primer) etkisi olarak da isimlendirilen bu değişiklikler sonucunda oluşan kortikosteroidler ve ketaşolaminler bir dizi biyokimyasal, fizyopatolojik ve davranışla ilgili değişikliklere yol açar ki buda stresin ikincil (sekonder) etkisini oluşturduğunu göstermektedir. Bu durumun ciddiyetine bağlı olarak balıklar normal davranış şartları altında akut ya da kronik bir stres içinde bulunabilirler (Mazeaud ve Mazeaud, 1981).

Balıklarda stres sonucunda ketaşolaminler ve kortikosteroidler kanın vücuttaki dağılımı üzerine etki ederler. Dalaktaki kan miktarı azalır, solunum ve kalbin atış sayısı artar, kanın pıhtılaşma süresi azalır. Na^+ , Cl^- salınımı baskılanırken, K^+ iyonlarının salınımı ise artar.

Stres sonucunda adrenokortikotropik hormon etkisi ile karaciğer glikojeninin parçalanması ile glikojenesis başlar ve kandaki glikoz miktarı artar. Kandaki laktik asit miktarı artar ve asidoz (pH'nın artması) şekillenir. Kandaki lökosit değerleri ve lökositteki

büyük granulosit değerleri artar. Kanın kortizol değeri artar. Akut streslerde interrenal dokuda hipertrofi, kronik streste ise dejenerasyon meydana gelir. İnterrenal dokuda E ve C vitaminleri içeriği düşer. Sonuçta; vücudun sıvı-elektrolit dengesi bozulur. Balıklarda asidoz ve immünosupresyon meydana gelir. Balıklar bu zor şartlara ya adapte olurlar yada ölürler. Adapte olan balıklarda bağışıklık sistemi baskılandığından dolayı balıklar her türlü enfeksiyona açık hale gelmişlerdir.

Kortizol bir steroid olup metabolizmada değişiklikler oluşturan birçok fizyolojik etkiye sahiptir ve balığın enerji stokunu kullanılmasına izin vermez. Kandaki kortizol seviyesindeki değişiklikler birkaç dakika ile birkaç saat içinde ortaya çıkabilir. Bu durumda metabolizmada değişiklikler meydana gelir ve balığın savunma sistemi zorunlu elamanları kan içinde bulunur ve lenfosit sayısında bir düşme meydana gelir. Bu durum hastalık ile stres arasında bir ilişki olduğu görüşünü desteklemektedir. Stres kronik ise kan içindeki kortizolün bulunma süresi uzar ve balığın bağışıklık sistemi baskılanır ki bu da aynı görüşü destekleyici bir durumdur. Hastalıklara karşı duyarlılık ve popülasyona yönelik tüm somut sonuçlar ile ekonomik kayıplar stresin üçüncül etkisi olduğu bildirilmektedir.

2. Balıkların metabolizmasındaki düşüş, sonuçta birçok biyolojik sistemlerde randımanın düşmesine sebep olur.

3. Davranıştaki değişiklik sonucunda, balık kendi kendine zarar vererek, ikincil enfeksiyonlar için duyarlılık kazanır.

4. Ozmotik stres veya toksinler biyokimyasal değişikliklere sebep olur ve bağışıklık sisteminin etkisini azaltır.

Stres tepkilerinden ikisi özel bir öneme sahiptir.

- Balık hastalığı, öldürücü olmayan fakat stres yaratan herhangi bir çevresel değişiklikten sonra ortaya çıkabilir.

- İki veya daha fazla olumsuz çevresel faktörün kombinasyonu (örneğin, yüksek amonyak ve balıkla temas) sinerjik olarak etkileyeceğinden bir tek faktörden çok daha fazla zarar verici olabilir.

1.4.3.4. Yetiştiricilik ortamındaki stres indirgeyicileri

Balıklarının ellenmesi (kepçeleme, sınıflandırma, nakil) bir işletmede kaçınılması mümkün olmayan bir durum olduğu için kültürü yapılan alabalıklarda strese neden olduğu bilinen bütün prosedürleri elimine etmek mümkün değildir. Fakat bu stresörlerin etkilerini minimize etmek mümkündür. Aşırı kalabalık ve değişken su kalitesinde olduğu gibi

diğerleri de önlenmesi gerekmektedir. Üreticiler, alabalık kültürü için stok yoğunluğu, su akışı ve yemleme oranlarını iyi bilmesi gereklidir. Normal sınırları aşanlar bu faktörler şiddetli stres meydana getiren sonuçlar iyi takip edilmesi gerekir. Stres yapıcılar kaçınılmaz olduğu durumda, belirli stratejiler stresin etkilerini minimize etmek için üreticiler tarafından iyi bilinmesi gerekmektedir.

a) İyileşmeye izin vermek; Genellikle iyileşme periyodunun süresi, stresörlerin etki süresiyle orantılıdır. Bu yüzden, yakalama, boylama ve nakil süresini azaltma, balıkların bu stres yapıcıların etkisinden kurtulup daha kısa bir zaman içinde iyileşmeyle sonuçlanacaktır. Yine de iyileşmenin oldukça uzun bir zaman alacağı asla unutulmamalıdır. Örneğin, 30 saniyelik bir elleme stresinin ikincil etkileri bir kaç gün sürebilir ve iki haftalık iyileşme periyodu alabalıklar için tavsiye edilmektedir.

b) Çok yönlü stresörlerden kaçınmak; Çoklu stresörlerin etkileri daha etkili olabilir ya da hatta sinerjik etkisi olabilir, örneğin; akut elleme stresinde aside maruz kalmış gökkuşuğu alabalıklarında maruz kalmamış balıklardan iki kat da etkili bulunmuştur. Ani sıcaklık değişikliklerinden nakil esnasında ve sonrasında kaçınılması gerekir. Birbirinden ayrı üç saatlik tekrarlanan elleme stresi balıkların stres cevabında önemli bir kümülatif etkiye sahip olabilir.

c) Yüksek sıcaklıktaki stresörlerden kaçınmak; Sudaki ani sıcaklık değişikliklerinde balıklara muamele edilmemelidir. Çünkü ölüme neden olan stres yüksek su sıcaklığında artmaktadır. Bu yüzden düşük su sıcaklığında yakalama, boylama ve nakil işlemlerini uygulamak daha güvenlidir.

d) Elleme öncesi yemi bırakmak; Alabalıkların oksijen gereksinimi, yem alımını takiben sindirim için gerekli olan enerji talebini sağlamak için artar. O nedenle, ellemenin iki veya üç gün öncesinden yemlemeyi bırakmak, solunumla ilgili stresi minimize edecektir. Böylece yemin kusularak geri çıkarılması ve fekal materyal ile suyun kirletilmesinin de önüne geçilmiştir.

e) Ozmotik stresi azaltmak; Tatlı sularda, nakil esnasında taşıma tanklarındaki suya tuz ilave edilerek yapılması balıklarda iyon kaybını sınırladığı ve stresle ilişkili ölümleri önemli bir şekilde azalttığı bilinmektedir.

f) Anestezikleri kullanmak; Anestezilerin kendileri balıkların fizyolojilerini altüst etmesine rağmen, hafif anesteziler elleme uygulamaları esnasında balıklarda sakinleştirici bir etkiye sahip olabilir ve onların kendilerinden gelen stresi azaltabilir.

g) Doğal çevreyi taklit etmek; Yavru alabalıkların havuzlarının üzerini kapamak, özellikle kış ayları esnasında önemli bir unsurdur. Atlantik salmon parr'larında büyüme oranı iki katına çıkmak, muhtemel S1 smoltlarının büyüme oranını artırmak, stresin hematolojik belirtilerini minimize etmek ve ilk kışlama esnasında muhtemel S2 smoltlarının ölüm oranı yarıya indirmek için havuzların üzerinin tamamen kapatılması faydalı olduğu bildirilmektedir.

h) Islah amaçlı selektif yetiştirme; Alabalıklarda strese karşı duyarlılığın kalıtsal boyutu da vardır. Strese daha hoşgörülü alabalık hatlarının seleksiyon yapılarak yetiştirilmesi mümkündür. Evcilleştirmenin bu metodunda pazar için yetiştirilen balıkların sağlık durumu, hayatta kalma ve üretim verimliliğini artırmada faydalı sonuçlar elde edilmesi gerekmektedir. Yetiştiricilikte, stresörlere daha toleranslı yeni nesiller üretmek için kalıtsal açısından ıslah çalışmalarının yapılması gerektiği rapor edilmektedir (Bruno ve Ellis, 1996).

1.5. Önceki Çalışmalar

Karadeniz alabalığı Türkiye'nin Kuzey-Doğu Karadeniz sahillerini, Karadeniz, Azak Denizi ve Hazar Denizi havzasını içine alan, Avrupa'ya geniş bir şekilde dağılmış, ekolojik ve ticari değeri yüksek olan anadrom salmonid türüdür. Türkiye'deki nehirlerde ve Karadeniz'e sahili olan diğer yerlerde bulunur. Bu yüzden Türk yazarlar tarafından Karadeniz alabalığı ve diğer Karadeniz ülkelerinde ise Karadeniz salmonu olarak adlandırılır (Okumuş ve ark. 2004).

Ülkemizde Karadeniz alabalığının (*S. trutta labrax*) alt türü üzerine yapılmış çalışmaların büyük bir kısmı sistematik çalışmalar yönünde olmuştur (Aydın ve Yandı, 2002). Bu çalışmaların dışında Tarım ve Köyişleri Bakanlığına bağlı Trabzon Merkez Su Ürünleri Araştırma Enstitüsü tarafından Karadeniz alabalığının biyoekolojik özelliklerinin belirlenmesi ve kültüre alınabilirliği üzerine başarılı çalışmalar yapılmıştır.

Bu bağlamda doğal ve kültür ortamlarda yetiştiriciliği yapılan Karadeniz alabalığı (*Salmo trutta labrax* Pallas, 1811)'nda olumsuz çevresel faktörlerin etkisi ile meydana gelen akut stressin balıklarda meydana getirdiği değişiklikler ve bunların yaşama oranına etkisi üzerine herhangi bir araştırma çalışmasına rastlanılmamıştır. Diğer balık türlerinde sıcaklığın, balık nakillerinin, çeşitli kimyasal maddeler, antibiyotikler ve dezenfektan uygulamaları sonucu balıklarda meydana gelen stresin etkileri çalışılmıştır. Wedemeyer, (1971)'de balık hastalıklarının tedavisinde kullanılan kimyasalların stres meydana

getirdiğini; Strange ve Schreck, (1978)'de balıklarda anestezi kullanımı ve ellemeden kaynaklanan stresin kortisol konsantrasyonunu yükselterek yaşama oranını düşürdüğünü; Scarano ve ark. (1984)'de balıklarda stres faktörlerinin hemoglobin azalmasına ve ölümlere sebep olduğunu; Bejerano, (1984)'de balıklarda stresin su kaybına neden olduğunu; Peters ve Hong, (1985)'de balıklarda strese bağlı olarak mide ve bağırsak çeperlerinde incelleme ve şeffaflaşma oluştuğunu, solungaçların yapısında ve kan elektrolitinde değişiklikler meydana geldiğini; Pickering ve Pottinger, (1985)'de balıklarda strese bağlı olarak kortisol seviyesindeki artışın enfeksiyon hastalıklarına karşı duyarlılık oluşturduğunu rapor etmişlerdir.

1.6. Çalışmanın Gerekçesi ve Amacı

Karadeniz alabalığı ülkemiz doğal sularında bulunan endemik bir alttürdür. *Salmo trutta* üyeleri dünya genelinde geniş bir yayılım alanına sahiptir ve bu balık türüyle ilgili birçok çalışma yapılmasına rağmen ülkemizde bu tür üzerinde çok az sayıda çalışma yapılabilmektedir. Bu çalışmada çoğunluğu balığın biyolojik özellikleri ve yetiştiriciliği üzerine yoğunlaşmıştır.

Karadeniz’de beton havuzlarda, baraj göllerinde ve denizel ortamda ağ kafeslerde kültürü yapılan gökkuşuğu alabalıkları ile aynı ortam şartlarında kültüre alınan Karadeniz alabalığında yaz döneminde 25°C’ye kadar yükselen su sıcaklık artışına bağlı olarak meydana gelen ölümler yetiştiriciliği sınırlandırmaktadır. Karadeniz bölgesinin doğal balık türü olan Karadeniz alabalığının anadrom bir balık türü olması nedeni ile denizel ortama adaptasyonunun daha kolay olmasının yanı sıra hastalıklara karşı da daha dirençli bir balıktır. Bu özellikler Karadeniz alabalığının ağ kafeslerde kültürün yapılabilmesini kolaylaştırmaktadır. Fakat yaz mevsimlerinde meydana gelen ani sıcaklık artışına bağlı meydana gelen ölümleri tolere edebilmesinin mümkün olup olamayacağı düşüncesinden hareketle bu çalışmanın yapılması düşünülmüştür. Ayrıca küresel ısınma sonucunda tatlı su ve denizel ortamda meydana gelen ani su sıcaklığı değişimlerine karşı balıkların vereceği tepkinin ne olacağı ayrı bir merak konusudur. Küresel ısınmaya bağlı su kaynaklarındaki ani aşırı yükselmeler Karadeniz alabalığı nesli üzerinde meydana getireceği etkiler daha ayrıntılı bir şekilde çalışılması için bu çalışmanın gelecek araştırmalara öncülük edeceği kanısındayız.

Bu çalışmada, ani sıcaklık şoku uygulanmış Karadeniz alabalığı (*Salmo trutta labrax* Pallas, 1811)’nda meydana gelen fizyolojik strese cevabın belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. YAPILAN ÇALIŞMALAR

2.1. Materyal

2.1.1. Deney balıkları ve balıkların tedarik edilmesi

Bu çalışmada kullanılan Karadeniz Alabalığı (*Salmo trutta labrax*) Trabzon ili Maçka İlçesinde üretim yapan özel bir alabalık işletmesinden temin edildi. İşletme havuzundan rastgele ortalama boyları 23.09 ± 3 cm ve ortalama ağırlıkları $184,22 \pm 10$ g. olan 1⁺ yaşındaki Karadeniz alabalıklarından 400 adet alınarak oksijen tüpleri ile havalandırılan balık taşıma tankına stoklanmıştır. Balıklar 1 saatlik nakil işlemi sonrasında Rize Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi, İyidere Araştırma ve Uygulama Ünitesi'ne getirilerek 1,1*1,1*0,5 ebatlarındaki 500 litrelik 2 adet fiberglas tanka yerleştirilmiştir.

2.2. Metot

2.2.1. Balıkların adaptasyonu

Taşıma esnasında meydana gelen stresi minimize etmek için araştırma birimine getirilen bu balıklar adaptasyona bırakıldı. Araştırma ünitesinde bulunan 1,1*1,1*0,5 ebatlarındaki 500 litrelik 2 adet fiberglas araştırma tanklarına 200'er adet balık stoklandı. Tanklara sürekli olarak 0,3 lt/sn tatlı su verilmiştir. Tanklarından balıklar atlamasını önlemek için üzeri ağlarla kapatılmıştır. Tanklara difüzörlerle sürekli havalandırma yapılmıştır. Balıklara ilk iki gün herhangi bir işlem yapılmadı. Daha sonraki günlerde balıklar günde iki kez olmak üzere 4 numara ticari alabalık yemi ile beslendi. Haftada en az bir kez olmak üzere tankların temizliği yapılarak balıkların ortama adaptasyonları sağlandı.

2.2.2. Deneme düzeneği ve ani sıcaklık şoku uygulaması

Araştırma ünitesinde 15°C su sıcaklığına sahip tanklarında tutulan ve ortam şartlarına adapte edilen balıklardan 85 adet balık rastgele seçilerek 1 tanka yerleştirilerek sakinleşmeleri için 1 hafta beklenmiştir. Araştırmanın başlatılmasından hemen önce balıklardan 5 âdeti nazikçe yakalanarak bayıltılmadan kanları alınmıştır.

Deneme grubu için 40 adet balık, mini soğutucu-ısıtıcı cihaz yardımıyla önceden su sıcaklığı 25°C'ye ayarlanmış 500 litrelik fiberglas tanka alınarak 30 dk. bekletilmiştir. Bu süre içerisinde tankın suyu difüzörlerle havalandırılmış oksijen seviyesi optimum seviyede tutulmuştur. 30 dk sonra tankın suyu yarıya kadar boşaltılarak taze su verilmeye

başlanılmış 30 dk. sonra su sıcaklığı 15°C'ye gerileyince şok sonrası ilk örnekleme yapılmıştır. Deneme balıkların içine konulduğu fiberglas tankların görünümü Şekil 8'de verilmiştir.



Şekil 8. Deneme balıklarının içinde tutulduğu fiberglas tankların görünümü.

Tankta kalan diğer 40 balık kontrol grubu için kullanılmıştır. Deneme grubundaki kepçelemeden kaynaklanan stresi, kontrol grubunda eşitlemek için kalan balıklar 1 defa kepçelenerek geriye bırakılmıştır. Bu çalışmada kullanılan mini soğutucu-ısıtıcılar Şekil 9'da gösterilmiştir.



Şekil 9. Suyun ısıtılması ve soğutulmasında kullanılan Frigotek marka soğutucular.

2.2.3. Balıklardan kan örneklerinin alınması

Her örnekleme zamanında her gruptan rastgele 5'er adet balık örneği alındı. Balıklar kepçe yardımı ile yakalandı. Araştırma süresince kontrol ve deneme grubuna ait balık örneklemler belirlenen zaman aralıklarında herhangi bir anestezi madde kullanılmaksızın yapıldı ve bu süre zarfında balık örneklemleri hariç ölüm meydana gelmedi. Çalışmanın planlandığı süre olan 0., 1., 3., 6., 12., 24., 36., 48. ve 72. saatlerde kontrol ve deneme gruplarından aynı şekilde örneklemlerin yapılmasına devam edildi. İlk örnekleme (0. saatte) ana stok tanklarından rastgele 5'er balık alındıktan sonra kontrol ve deneme grupları oluşturuldu. Bu çalışmada yapılan denemenin örnekleme sayısı, örnekleme zamanı ve balık grupları ait bilgiler Tablo-1'de verilmiştir.

Tablo 1; Kontrol ve deneme grubu balıklarına ait örnekleme sayısı, zamanı ve grupları.

| Örnekleme sayısı | Örnekleme zamanı (Saat) | Kontrol (15°C) | Deneme (25°C-30 dk.) |
|------------------|-------------------------|----------------|----------------------|
| 1. Örnekleme | 0. | Kontrol | Kontrol |
| 2. Örnekleme | 1. | Kontrol | Deneme |
| 3. Örnekleme | 3. | Kontrol | Deneme |
| 4. Örnekleme | 6. | Kontrol | Deneme |
| 5. Örnekleme | 12. | Kontrol | Deneme |
| 6. Örnekleme | 24. | Kontrol | Deneme |
| 7. Örnekleme | 36. | Kontrol | Deneme |
| 8. Örnekleme | 48. | Kontrol | Deneme |
| 9. Örnekleme | 72. | Kontrol | Deneme |

Kan alım esnasında balıkların elle tutulmasını kolaylaştırmak ve suyun kan ile temasını önlemek amacıyla balık örnekleri her defasında kâğıt havlu ile kurutuldu. Balıkların kuyruk venasından kan almak için ağız temiz ve keskin bisturi yardımıyla kuyruk sapından düzgün ve hızlı bir şekilde kesilerek balıkların gövdesi kuyruktan ayrıldı. Balık kanının yeterli miktarda alınmasını sağlamak için balıkların başı yukarıda tutuldu ve kesik olan kuyruk kısmı tüpün ağzına iyice yaklaştırıldı. Kuyruk venasından akan balık kanı 3 ml'lik antikuagulan madde içermeyen özel tüplere alındı. Özellikle kanın hemoliz (eritrositlerin parçalanması) olmamasına çok dikkat edildi. Her tüpün üzerine deneme grubunun adı, balık numarası ve zamanı gösteren gerekli kodlamalar yapıldı. Balıkların kuyruklarını bisturi yardımı ile keserek kan alınması Şekil 10'da gösterilmiştir.



Şekil 10. Kuyrukları bisturi yardımı ile kesilen balıklardan kan alınmasının görünümü.

Her örnekleme döneminde alınan kan örnekleri bir saat oda sıcaklığında tutulduktan sonra buzdolabında (+4°C'de) bir gece tutuldu. Buzdolabında bir gece pıhtılaşmak üzere tutulan balık kan örnekleri çıkartıldı ve kan serumları ayrılmak üzere 3000 devir/saniyede 3 dakika santrifüje (Elektro-mag M615) edildi. Santrifüje edilen kan örnekleri 0,0001 g hassasiyetteki Scaltec marka hassas terazide tartılarak ağırlıkları eşit olanlar karşılıklı gelecek şekilde yerleştirildi. Santrifüje edilen kan örneklerinin üste kalan berrak kan serumları 200µl'ye ayarlanmış otomatik pipet yardımıyla alındı. Yapılacak biyokimyasal testlerin her biri farklı zamanlarda birbirinden ayrı çalışılacağı düşünülerek kan örneklerine ait serumlar çözülüp tekrar donma esnasında aktivite kaybına uğramaması için 1,5ml'lik 3 ayrı ependorf tüplere en az 100 µl, 200 µl ve 1200 µl olmak üzere bölünerek ayrıldı ve üzerlerine gruplara ait gerekli bilgiler yazıldı. Daha sonra çalışılmak üzere -20°C'de derin dondurucuda stoklandı.

Denemede her bir gruba ait kanı alınan balıkların boyları ölçü tahtası yardımıyla ölçüldü ve ağırlıkları da 1 gr hassasiyetli bakkal terazisi ile tartıldı. Deneme grubuna ait su sıcaklığı, oksijen (O₂) ve pH gibi değerleri her örneklemeden sonra ölçüldü. Deneme grubuna ait su sıcaklığı ve O₂ ölçümleri dijital Oxyguard marka oksijen metre yardımı ile ölçüldü ve kaydedildi. Ayrıca her örnekleme sonrası suyun pH değerleri masa tipi dijital Hanna (211 model) marka pH metre yardımı ile ölçüldü ve kaydedildi. Ölçülen su kriterlerine ait bilgiler Tablo-2'de gösterilmiştir.

Tablo 2. Örnekleme zamanlarında ölçülen bazı su kalite kriterlerinin değerleri (su sıcaklığı, oksijen ve pH).

| Örnekleme Zamanı | Gruplar | Su Sıcaklığı (°C) | O ₂ (mg/L) | pH |
|------------------|---------|-------------------|-----------------------|-----|
| 0. Saat | Kontrol | 15,3 | 9,0 | 6,6 |
| 1. Saat | Kontrol | 15,3 | 8,4 | 6,6 |
| | Deneme | 25 | 7,3 | 6,8 |
| 3. Saat | Kontrol | 15,2 | 7,8 | 6,4 |
| | Deneme | 15,3 | 8,8 | 6,2 |
| 6. Saat | Kontrol | 14,2 | 9,1 | 6,4 |
| | Deneme | 14,2 | 9,2 | 6,4 |
| 12. Saat | Kontrol | 13,8 | 9,1 | 6,3 |
| | Deneme | 13,9 | 9,1 | 6,1 |
| 24. Saat | Kontrol | 15,9 | 8,6 | 6,5 |
| | Deneme | 15,7 | 8,4 | 6,4 |
| 36. Saat | Kontrol | 14,6 | 9,2 | 6,5 |
| | Deneme | 14,3 | 9,0 | 6,3 |
| 48. Saat | Kontrol | 16 | 9,0 | 6,6 |
| | Deneme | 15,5 | 8,8 | 6,5 |
| 72. Saat | Kontrol | 15,5 | 9,1 | 6,4 |
| | Deneme | 15,2 | 9,1 | 6,8 |

2.2.4. Serum lizozim aktivitesinin belirlenmesi

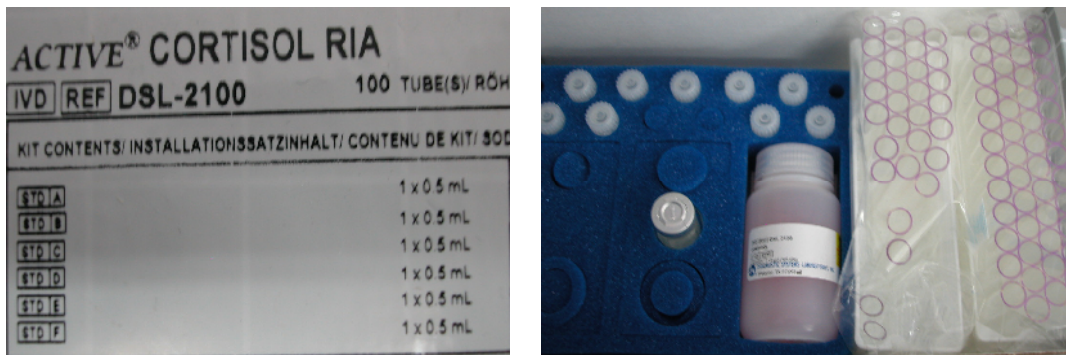
Deneme balıklarının kan serumundaki lizozim aktivitesi Engstad ve ark. (1992) tarafından tarif edilen turbidimetrik yöntem kullanılarak belirlendi. Kısaca, saf hidroklorik asitten (HCl) geçirilen iki adet 500 ml'lik erlen-mayerler iyice saf su ile yıkandı. 500 ml 0,05 M sodyum fosfat tampon solüsyonu hazırlandı ve pH'sı 6,55'e ayarlandı. Şöyle ki, ilk önce 15,6 g NaH₂PO₄, 2H₂O (Merck) hassas terazide (Precisa) tartılıp 500 ml saf suda çözülerek 0,2 M (monobazik stok) A stok solüsyonu, 14,2 g Na₂HPO₄ (Merck) hassas terazide tartılıp 500 ml saf suda çözülerek 0,2 M (dibazik stok) B stok solüsyonu hazırlandı. Her iki çözeltinin içine manyetik bar atılarak ısıtmalı manyetik karıştırıcıda homojen olana kadar çözdürüldü. Sonra 0,05 M sodyum fosfat tampon solüsyonu hazırlamak için ise 1000 ml'lik balon jöjeye A stok solüsyonundan 127,5 ml alınıp üzerine B stok solüsyonundan 122,5 ml koyup 1000 ml çizgisine kadar saf su ile dolduruldu ve pH metre (Hanna) ile pH 6,55 ayarlandı. Bu solüsyonun 300 ml'si mezür yardımı ile erlen-mayere ayrıldı. 0,05 M Sodyum fosfat tampon solüsyon içine 0,2 mg/ml olacak şekilde 60 mg *Micrococcus lysodeikticus* hassas terazide tartılarak ilave edildi. Bu süspansiyon içine

manyetik bir bar atılıp manyetik karıştırıcı ile karıştırılarak tampon solüsyon ile *Micrococcus lysodeikticus* homojen bir karışımın oluşturulması sağlandı.

Derin dondurucuda -20°C 'de stoklanan 200 μl kan serum örnekleri çıkartılıp oda ısısında çözüldü. Homojenliği sağlamak için vorteks yardımı ile karıştırıldı. Lizozim aktivitesini belirlemek için her ölçüm için 2910 μl *Micrococcus lysodeikticus* içeren süspansiyondan alındı ve üzerine her grubun kan serumu örneğinden 90 μl ilave edildi. Bu işlemden sonra 0,5. ve 4,5. dakikalarda 540 nm'ye ayarlanmış spektrofotometrede (Shimadzu UV-1208) ölçümler yapıldı. Her seferinde spektrofotometrenin kuvvetleri 0,05 M sodyum fosfat tampon solüsyonu ile yıkandı. Kör olarak kullanılan birinci küvete 0,05 M sodyum fosfat tampon solüsyonu konuldu. Bir "unit" lizozim aktivitesi için Engstad ve ark. (1992) tarafından tanımlanan absorbandsdaki 0,001/dakikalık azalmaya göre sonuçlar hesaplanarak değerlendirildi.

2.2.5. Serum kortizol miktarının belirlenmesi

Balık kan serumundaki kortizol seviyesi ticari olarak mevcut insan kortizolu ölçen radioimmunoassay kit kullanarak belirlendi. Bu amaç için Gamma 1 Counter (Genesys) cihazında Cortisol RIA (Radio Immuno Assay) DSL-2100 test kiti kullanıldı. Kortizol RIA DSL-2100 test kiti etiketi, kortizol standart tüplerin ve test tüpleri görünümü Şekil 11'de verildi.



Şekil 11. Kortizol RIA DSL-2100 test kiti etiketi, kortizol standart tüpleri ve test tüpleri.

Derin dondurucuda -20°C 'de tutulan 100 μl kan serumu çıkartılıp oda sıcaklığında çözüldürülüp vorteks yardımı ile homojenize edildi. Analizler Gamma 1 cihazı cortisol RIA test kitindeki prosedüre göre yapıldı. İlk önce Gamma 1 cihazının kalibrasyonu yapıldı. Kortizol test kiti kutusunda, iç duvarı tavşan anti-kortizol immunoglobulin ile kaplanmış 100 test tüpü ve kortizol ayracı (I^{125}) vardı. Ayrıca, kutu içinde belirli

miktarlarda kortizol bulunan A, B, C, D, E, F ve G olmak üzere 7 standart tüpü, yüksek ve düşük kortizol olduğu bilinen iki adet kontrol (K_1 ve K_2) tüpü mevcuttur. Bu standartlarda farklı miktarlarda A (0 $\mu\text{g/dl}$), B (0,5 $\mu\text{g/dl}$), C (2 $\mu\text{g/dl}$), D (4 $\mu\text{g/dl}$), E (10 $\mu\text{g/dl}$), F (20 $\mu\text{g/dl}$), G (60 $\mu\text{g/dl}$), K_1 (4 ± 1 $\mu\text{g/dl}$) ve K_2 (20 ± 5 $\mu\text{g/dl}$) kortizol bulunmaktaydı. Gamma 1 cihazının kalibrasyonu için A, B, C, D, E, F ve G standartlardan, K_1 ve K_2 'den otomatik pipet yardımı ile 25 μl alınıp anti-kortizol immunoglobulin ile işaretlenmiş plastik tüplere konuldu ve üzerine derhal 500 μl I^{125} ilave edildi. Ayrıca Total count tüpüne sadece 500 μl I^{125} ilave edildi. Tüplerin hepsi 37°C çalkalamalı su banyosunda 45 dakika inkübe edildi. Total count tüpü hariç diğer tüplerin hepsindeki radyoaktif solüsyon döküldü. Plastik tüpler kâğıt havlu üzerine vurularak iyice kurutulması sağlandı. İlk önce Total count tüpü olmak üzere sırasıyla standartlar detektördeki kuyucuğa yerleştirilerek standart grafiği oluşturularak kalibrasyon sağlandı. Ayrıca K_1 ve K_2 tüpleri okutularak kalibrasyonun doğruluğu teyit edildi. Balık kan serumundan kortizol miktarının belirlenmesinde kullanılan Gamma 1 Counter cihazı Şekil 12'de görüntülendi.



Şekil 12. Kortizol ölçümünde kullanılan Gamma 1 Counter cihazı.

Her gruba ait balık kan serumu örneklerindeki kortizol miktarını belirlemek için tavşan anti-kortizol immunoglobulin ile işaretlenmiş 5 ml plastik tüpler kullanıldı. Bu tüplerin her birine kan serum örneğinden 25 μl alınıp konuldu ve üzerine 500 μl I^{125} ilave edildi. Balık serum örneği konulan tüplerin hepsi 37°C çalkalamalı su banyosunda 45 dakika inkübe edildi. Bu süre sonunda plastik tüplerdeki sıvı kısım döküldü ve ters çevrilen plastik tüpler kâğıt havlu üzerine vurularak iyice kurutuldu. Her örnek detektördeki

kuyucuğa konulup bir dakikada okutuldu ve Gamma 1 Counter cihazı ile belirlenebilen kortisol miktarları kaydedildi.

2.2.6. Kan serumu parametrelerinin biyokimyasal analizlerin yapılması

Deneme balıklarından farklı zaman aralıklarından alınan ve derin dondurucuda stoklanan kan serum örneklerinde kan parametrelerinin biyokimyasal analizleri özel bir medikal firmaya ait olan Mindray-BS 400 Chemistry Analyzer cihazı kullanılarak yapıldı. Farklı gruplara ait balıkların kanından elde edilen 1200 µl serumlar -20°C'deki derin dondurucudan çıkartıldı. Serum örnekleri oda sıcaklığında çözdürüldükten ve vorteksle homojen hale getirildikten sonra Mindray-BS 400 Chemistry Analyzer cihazında biyokimyasal testleri yapıldı. Bu cihazla kan parametrelerinden kan glikozu, total protein, sodyum (Na), potasyum (K), klor (Cl), kalsiyum (Ca) ve fosfor (P) seviyelerine bakıldı. Bu çalışmada balık kanındaki yukarıda belirtilen parametrelerin testlerini yapmak için Cormay Accent 300-Glikoz, Cormay Accent 300-Total Protein, Cormay Accent 300-Ca, Clonatest Phosphorus (P) UV ve ISE Module (Na⁺, Cl⁻, K⁺) marka test kitleri kullanıldı.

2.2.7. İstatistiksel analizler

Deneyler sonucu elde edilen tüm veriler SPSS (Ver. 13.0) istatistik programı kullanılarak % 95 güven aralığında tekyönlü varyans analizine (ANOVA) tabi tutulmuştur. Farklı zaman aralıklarındaki deneme ve kontrol gruplarına ait fark Duncan çoklu karşılaştırma testine tabii tutulmuştur ve istatistiksel olarak önemli olması durumunda farklı harflerle gösterilmiştir. Veriler ortalama ± standart hata olarak verilmiştir. Ortalamalar arasındaki fark P değeri 0.05'ten küçük ise önemli kabul edilmiştir.

3. BULGULAR

Ani sıcaklık şoku uygulanmış (25°C’de 30 dakika) Karadeniz alası (*Salmo trutta labrax* Palas, 1811)’nda meydana gelen stresin belirlenmesi için farklı zaman aralıklarında (0.,1., 3., 6., 12., 24., 48. ve 72. saatlerde) alınan serum örneklerinde yapılan kortizol, lizozim aktivitesi, glikoz, total protein, klor, kalsiyum, potasyum, sodyum ve fosfor miktarları ve bu parametrelerde zamana bağlı olarak (0.-72. saatlerde) meydana gelen değişimler istatistik olarak değerlendirilmiştir. Ani sıcaklık şoku uygulanmış deneme ve kontrol grubuna ait serumda kortizol, lizozim aktivitesi ve glikoz düzeyinde belirlenen değişim sırasıyla Tablo 3’de verilmiştir.

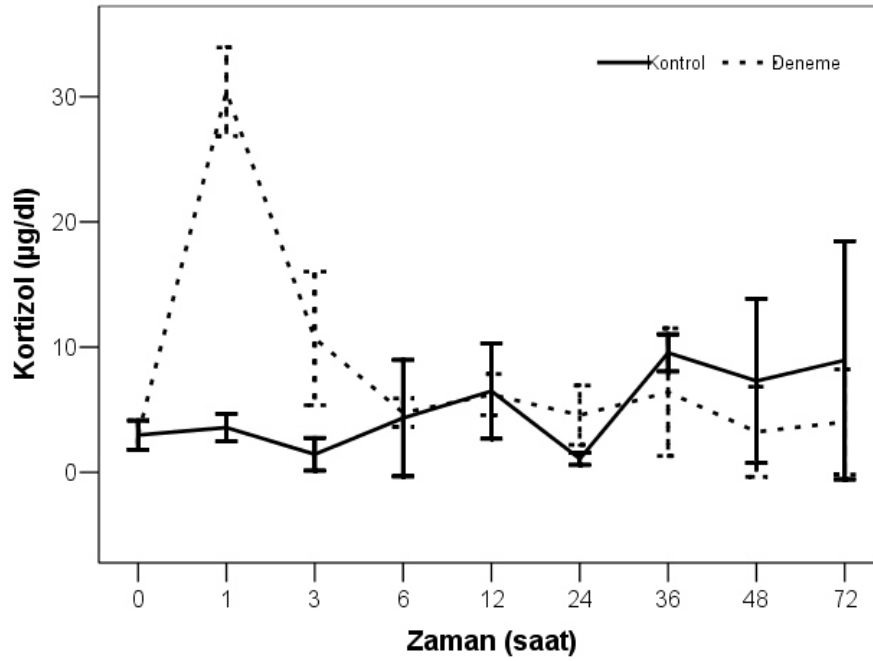
Tablo 3. Ani sıcaklık şoku uygulanmış deneme grubu ve kontrol grubu kan serumuna ait kortizol miktarında, lizozim aktivitesinde ve glikoz düzeyinde belirlenen değişim. Aynı parametrelerin gösterildiği sütunlarda farklı harflerle verilen ortalama değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir (p<0.05).

| Süre (saat) | Kortizol (µg/dl) | | Lizozim (Unit/ml) | | Glikoz (mg/dl) | |
|-------------|--------------------------|--------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|--------------------------|
| | Kontrol | Deneme | Kontrol | Deneme | Kontrol | Deneme |
| 0. | 2,97±0,58 ^{ab} | 2,97±0,58 ^{ab} | 533,33±27,38 ^a | 533,33±27,38 ^a | 12,20±0,86 ^a | 12,20±0,86 ^a |
| 1. | 3,57±0,54 ^{ab} | 30,19±1,17 ^d | 553,33±19,29 ^a | 560,00±32,46 ^a | 12,80±1,2 ^a | 61,8±2,55 ^g |
| 3. | 1,44±0,65 ^a | 10,69±2,66 ^c | 515,77±21,72 ^a | 201,11±72,67 ^b | 26,4±1,56 ^{abc} | 62,0±3,03 ^g |
| 6. | 4,32±2,32 ^{abc} | 3,68±1,19 ^{abc} | 558,88±19,61 ^a | 304,44±39,88 ^c | 19,8±4,17 ^{ab} | 56,80±7,45 ^{fg} |
| 12. | 6,48±1,90 ^{abc} | 6,20±0,82 ^{abc} | 494,22±16,66 ^a | 455,55±35,78 ^a | 25,4±5,57 ^{abc} | 55,0±8,62 ^{fg} |
| 24. | 1,07±0,24 ^a | 4,56±0,32 ^{abc} | 540,00±20,66 ^a | 532,66±36,50 ^a | 29,00±1,87 ^{bcd} | 52,8±6,62 ^{efg} |
| 36. | 9,54±0,74 ^{bc} | 6,40±0,82 ^{abc} | 488,88±18,92 ^a | 538,88±25,33 ^a | 34,00±5,67 ^{bcd} | 43,4±4,5 ^{def} |
| 48. | 7,29±3,28 ^{abc} | 3,23±1,79 ^{ab} | 510,00±14,31 ^a | 515,15±22,11 ^a | 19,6±4,35 ^{ab} | 45,2±4,97 ^{cde} |
| 72. | 8,95±4,47 ^{bc} | 4,02±2,09 ^{ab} | 501,11±20,66 ^a | 500,00±10,82 ^a | 25,2±7,84 ^{abc} | 25,4±3,86 ^{abc} |

Kontrol grubunda ortalama serum kortizol miktarı (µg/dl), en yüksek 9,54±0,74 µg/dl olarak 36. saatte, en düşük ise 1,07±0,24 µg/dl olarak 24. saatte ölçülmüştür. Kontrol grubunda ölçülen kortizol değerleri, deneme süresince 3. ve 24. saatler hariç istatistiksel olarak önemli bir değişim göstermemiştir.

Deneme grubunda belirlenen en yüksek ortalama serum kortizol seviyesi 30,19±0,89 µg/dl olarak 1. saatte, en düşük seviye ise 3,23±1,79 µg/dl olarak 48. saatte ölçülmüştür. Deneme grubunda başlangıçta ortalama 2,97±0,58 µg/dl olarak ölçülen kortizol seviyesi,

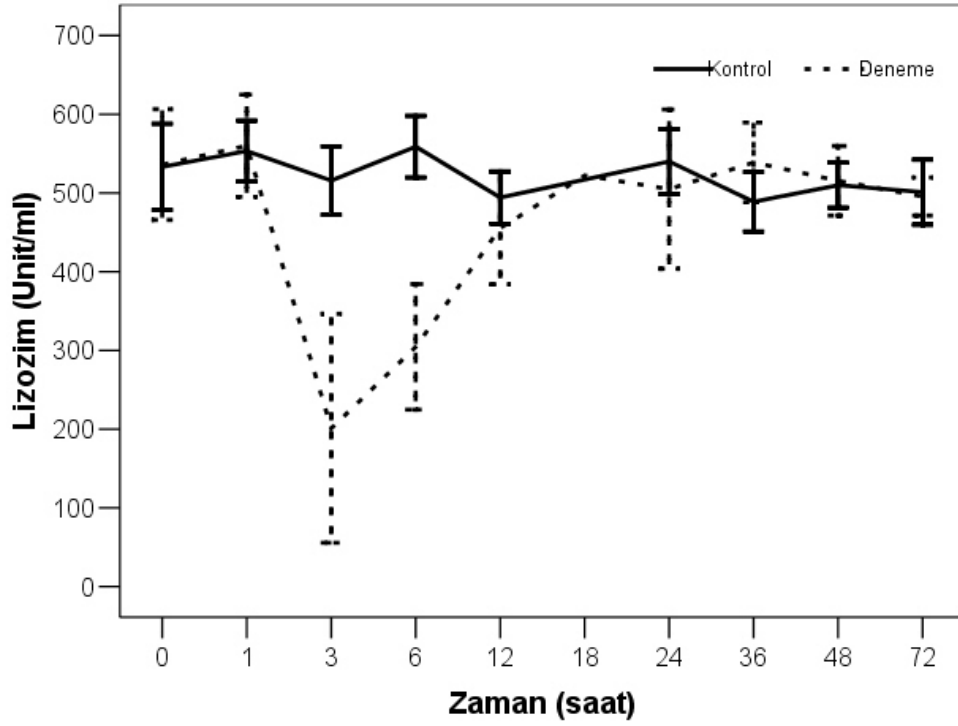
ani sıcaklık şoku uygulamasından sonraki 1. saatte yükselerek ortalama $30,19 \pm 0,89$ $\mu\text{g/dl}$ düzeyine ulaşmış, 3. saatte ise ortalama $10,69 \pm 2,66$ $\mu\text{g/dl}$ düzeyine gerilemiştir. Ölçülen bu değerlerin ortalamaları arasındaki fark istatistiksel olarak hem kontrol grubunda hem de deneme grubuna ait diğer örnekleme saatlerine göre önemli bulunmuştur ($p < 0,05$). Sonraki süreçte deneme grubunda ölçülen ortalama kortizol seviyesi $3,23$ - $6,40$ $\mu\text{g/dl}$ arasında değişim göstermiştir (Şekil 13).



Şekil 13. Kontrol ve deneme grubuna ait kan serumundaki kortizol düzeyinde belirlenen değişim. Hata çubukları standart hatayı göstermektedir.

Kontrol grubunda deneme süresince ölçülen ortalama lizozim aktivitesi $488,88 \pm 18,92$ - $558,88 \pm 19,61$ Unit/ml arasında değişim göstermiştir. Zamana bağlı olarak değişim olmasına rağmen kontrol grubu ortalamaları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır.

Deneme grubu balıklarında belirlenen ortalama serum lizozim aktivitesi $201,11 \pm 72,67$ - $560,00 \pm 32,46$ Unit/ml arasında değişim göstermiştir. Ani sıcaklık şoku uygulaması sonrası 3. saatte ($201,11 \pm 72,67$ Unit/ml) ve 6. saatte ($304,44 \pm 39,88$ Unit/ml) ölçülen lizozim aktivitesi değerleri hem kendi içinde hem de kontrol grubuna göre düşük ölçülmüştür (Şekil 14) ve bu ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p < 0,05$).

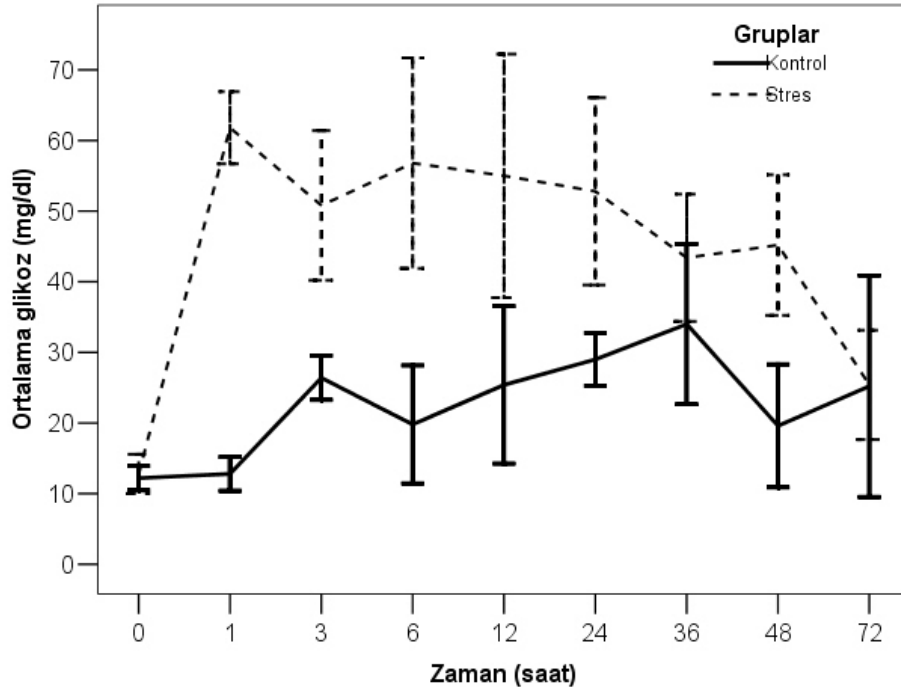


Şekil 14. Kontrol ve deneme grubuna ait kan serumundaki lizozim aktivitesinde belirlenen değişim. Hata çubukları standart hatayı göstermektedir.

Kontrol grubunda ölçülen en yüksek ortalama serum glikoz seviyesi (mg/dl) $34,00 \pm 5,67$ mg/dl olarak 36. saatte, en düşük seviye ise $12,20 \pm 0,86$ mg/dl olarak denemenin başlangıcında ölçülmüştür.

Deneme grubunda belirlenen en yüksek ortalama serum glikoz seviyesi $62,0 \pm 3,03$ mg/dl olarak 3. saatte, en düşük seviye $12,20 \pm 0,86$ mg/dl olarak denemenin başlangıcında ölçülmüştür. Deneme grubunda başlangıçta $12,20 \pm 0,86$ mg/dl olan glikoz düzeyi, ani sıcaklık şoku uygulamasından sonraki 1. saatte yükselerek $61,8 \pm 2,55$ mg/dl düzeyine ulaşmış, 3. saatte $62,0 \pm 3,03$ mg/dl seviyesine ulaşmıştır.

Deneme grubuna ait 1. ve 3. saatlerde ölçülen ortalama serum glikoz değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak hem deneme grubunun diğer örnekleme saatlerinde hem de kontrol grubunda ölçülen ortalama serum glikoz seviyesine göre önemli bulunmuştur ($p < 0,05$). Sonraki süreçte deneme grubunda ölçülen ortalama glikoz seviyelerinde sürekli bir azalma belirlenmiş ve $56,80$ - $25,40$ mg/dl değerler arasında bir değişim göstermiştir (Şekil 15).



Şekil 15. Kontrol ve deneme grubuna ait kan serumundaki glikoz düzeyinde belirlenen değişim. Hata çubukları standart hatayı göstermektedir.

Kontrol grubu ve ani sıcaklık şoku uygulanmış deneme grubuna ait balıklarına kan serumlarında tespit edilen ortalama serum total protein seviyesi (mg/dl), ortalama serum Cl seviyesi (mmol/L) ve ortalama serum Ca seviyelerine (mg/dl) ait değerler Tablo 4’de verilmiştir.

Kontrol grubuna ve ani sıcaklık şoku uygulanmış deneme grubu balıklarına ait kan serumundaki ortalama total protein, ortalama klor ve ortalama kalsiyum seviyesindeki belirlenen değişim ve aynı parametrelerin verildiği sütunlarda farklı harflerle gösterilen ortalama değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p < 0.05$).

Kontrol grubunda ölçülen en düşük ortalama serum total protein seviyesi $2,30 \pm 0,29$ mg/dl olarak denemenin 1. saatinde, en yüksek ortalama serum total protein seviyesi ise $3,88 \pm 0,20$ mg/dl olarak denemenin 24. saatinde ölçülmüştür. Deneme grubunda ölçülen en düşük ortalama serum total protein seviyesi $2,44 \pm 0,41$ mg/dl olarak denemenin başlangıcında, en yüksek ortalama serum total protein seviyesi ise $3,64 \pm 0,25$ mg/dl olarak denemenin 24. saatinde ölçülmüştür. Kontrol grubunu başlangıcındaki ortalama serum total protein seviyesi ($2,44 \pm 0,41$ mg/dl) iken 6. saatte ($3,50 \pm 0,37$ mg/dl), 24. saatte ($3,88 \pm 0,20$ mg/dl) ve 48. saatte ($3,38 \pm 0,20$ mg/dl) ölçülen ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur.

Tablo 4. Deneme ve kontrol grubu kan serumuna ait total protein, Cl ve Ca düzeyinde belirlenen değişim. Aynı parametrelerin verildiği sütunlarda farklı harflerle gösterilen ortalama değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p < 0.05$).

| Süre (saat) | Total Protein (mg/dl) | | Cl (mmol/L) | | Ca (mg/dl) | |
|----------------|----------------------------|----------------------------|------------------------------|------------------------------|----------------------------|----------------------------|
| | Kontrol | Deneme | Kontrol | Deneme | Kontrol | Deneme |
| 0. | 2,44±0,41 ^{ab} | 2,44±0,41 ^{ab} | 115,1±1,71 ^a | 115,11±1,71 ^a | 8,20±0,37 ^a | 8,20±0,37 ^a |
| 1. | 2,30±0,29 ^a | 3,20±0,29 ^{bcde} | 118,3±3,43 ^{abc} | 126,56±0,99 ^{abcde} | 7,64±0,53 ^a | 11,30±2,17 ^{abcd} |
| 3. | 3,08±0,10 ^{abcde} | 3,42±0,13 ^{cde} | 129,2±1,29 ^{cde} | 122,02±3,57 ^{abcde} | 12,02±1,30 ^{abcd} | 14,24±1,17 ^{bcd} |
| 6. | 3,50±0,37 ^{cde} | 2,72±0,16 ^{abc} | 120,36±6,03 ^{abcde} | 123,32±5,12 ^{abcde} | 12,72±1,65 ^{bcd} | 9,58±1,35 ^{ab} |
| 12. | 3,30±0,37 ^{bcde} | 3,16±0,16 ^{abcde} | 126,04±0,89 ^{abcde} | 126,26±4,02 ^{abcde} | 11,46±2,26 ^{abcd} | 13,30±0,95 ^{bcd} |
| 24. | 3,88±0,20 ^e | 3,64±0,25 ^{de} | 128,04±0,68 ^{bcde} | 131,86±0,95 ^{bc} | 13,66±1,75 ^{bcd} | 15,74±1,67 ^d |
| 36. | 3,10±0,10 ^{abcde} | 3,24±0,25 ^{bcde} | 128,64±0,88 ^{bcde} | 132,98±1,86 ^e | 11,86±1,19 ^{abcd} | 13,62±1,32 ^{bcd} |
| 48. | 3,38±0,20 ^{cde} | 2,88±0,10 ^{abcd} | 132,26±0,99 ^e | 131,56±1,26 ^{de} | 14,50±1,33 ^{cd} | 10,36±0,79 ^{abc} |
| 72. | 2,96±0,11 ^{abcd} | 3,12±0,36 ^{abcde} | 124,14±5,13 ^{abcde} | 118,90±3,47 ^{abcd} | 10,68±1,04 ^{abc} | 11,70±0,65 ^{abcd} |

Deneme grubunda ise başlangıca göre 3. saatte (3,42±0,13 mg/dl) ve 24. saatte (3,64±0,25 mg/dl) ölçülen ortalama değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. Denemenin 1. saatinde yapılan örneklemede ortalama serum total protein seviyesi kontrol grubunda 2,30±0,29 mg/dl olarak ölçülürken deneme grubunda 3,20±0,29 mg/dl olarak ölçülmüş ve ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur.

Kontrol grubunda en düşük ortalama serum Cl seviyesi 115,1±1,71 mmol/L olarak başlangıcında, en yüksek ortalama 132,26±0,99 mmol/L olarak 48. saatte ölçülmüştür. Deneme grubunda en düşük ortalama Cl seviyesi 115,1±1,71 mmol/L olarak başlangıcında, en yüksek ortalama Cl seviyesi ise 132,98±1,86 mmol/L olarak 36. saatte ölçülmüştür. Kontrol grubu ve deneme grubuna ait ortalama Cl seviyeleri başlangıca göre 24. saat, 36. saat ve 48. saatte arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur.

Kontrol grubunda en düşük ortalama serum Ca seviyesi 7,64±0,53 mg/dl olarak 1. saatte, en yüksek ortalama 14,50±1,33 mg/dl olarak 48. saatte ölçülmüştür. Deneme grubunda en düşük ortalama Ca seviyesi 8,20±0,37 mg/dl olarak başlangıcında, en yüksek ortalama Ca seviyesi ise 15,74±1,67 mg/dl olarak 24. saatte ölçülmüştür. Kontrol grubu kendi içinde başlangıç değerlerine göre ortalama Ca seviyesi 6. saatte (12,72±1,65 mg/dl), 24. saatte (13,66±1,75 mg/dl) ve 48. saatte (14,50±1,33 mg/dl) istatistiksel olarak önemli fark bulunmuştur. Deneme grubu ise kendi içinde başlangıç değerlerine göre ortalama Ca

seviyesi 3. saatte (14,24±1,17 mg/dl), 12. saatte (13,30±0,9 mg/dl), 24. saatte (15,74±1,67 mg/dl) ve 36. saatte (13,62±1,32 mg/dl) istatistiksel olarak önemli fark bulunmuştur. Fakat kontrol grubu ve deneme grubu arasındaki ortalama Ca seviyelerinde istatistiksel olarak önemli bir fark bulunamamıştır.

Kontrol grubu ve deneme grubuna ait balıklarına kan serumlarında tespit edilen ortalama serum K seviyesi (mmol/L), ortalama serum Na seviyesi (mmol/L) ve ortalama serum P seviyesi (mg/dl) ait değerler Tablo 5’de verilmiştir.

Kontrol grubuna ve deneme grubu balıklarına ait kan serumundaki ortalama K, Na ve P seviyesindeki belirlenen değişim ve aynı parametrelerin verildiği sütunlarda farklı harflerle gösterilen ortalama değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (p<0.05).

Tablo 5. Deneme ve kontrol grubu kan serumuna ait K, Na ve P düzeyinde belirlenen değişim. Aynı parametrelerin verildiği sütunlarda farklı harflerle gösterilen ortalama değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (p<0.05).

| Süre (saat) | K (mmol/L) | | Na (mmol/L) | | P (mg/dl) | |
|----------------|-------------------------|--------------------------|-----------------------------|-----------------------------|--------------------------|--------------------------|
| | Kontrol | Deneme | Kontrol | Deneme | Kontrol | Deneme |
| 0. | 2,46±0,34 ^a | 2,46±0,34 ^a | 133,82±7,10 ^a | 133,82±7,10 ^a | 12,20±0,86 ^{ab} | 12,20±0,86 ^{ab} |
| 1. | 3,08±0,66 ^{ab} | 4,45±1,38 ^{abc} | 135,72±3,77 ^{ab} | 152,62±0,95 ^{cd} | 12,96±1,11 ^{ab} | 13,16±0,86 ^{ab} |
| 3. | 3,92±1,08 ^b | 3,94±0,93 ^b | 137,44±6,34 ^b | 142,78±6,04 ^{abcd} | 11,80±0,37 ^{ab} | 11,18±0,63 ^b |
| 6. | 3,93±1,36 ^{ab} | 3,73±1,14 ^{ab} | 144,60±2,17 ^{ab} | 146,94±4,23 ^{abc} | 12,34±0,82 ^{ab} | 11,00±0,61 ^a |
| 12. | 2,45±0,47 ^{ab} | 2,25±0,57 ^{ab} | 147,88±0,66 ^{abcd} | 155,66±2,75 ^{abcd} | 12,86±0,48 ^{ab} | 11,64±0,24 ^a |
| 24. | 1,47±0,59 ^a | 1,73±0,73 ^a | 151,32±1,16 ^{bcd} | 157,00±1,88 ^{cd} | 11,70±0,81 ^{ab} | 12,24±0,56 ^{ab} |
| 36. | 1,17±0,59 ^a | 1,73±0,73 ^a | 151,32±1,16 ^{cd} | 157,68±1,88 ^d | 11,70±0,82 ^{ab} | 12,24±0,56 ^{ab} |
| 48. | 2,36±0,35 ^a | 1,69±0,26 ^a | 156,14±1,25 ^{cd} | 155,68±1,87 ^{cd} | 15,98±0,87 ^b | 15,98±0,81 ^b |
| 72. | 2,20±0,15 ^a | 1,73±0,28 ^a | 147,00±6,67 ^{abcd} | 156,28±2,44 ^{cd} | 15,82±1,14 ^b | 12,20±0,33 ^{ab} |

Kontrol grubunda en düşük ortalama serum K seviyesi 1,17±0,59 mmol/L olarak 36. saatte, en yüksek ortalama serum K seviyesi 3,93±1,36 mmol/L olarak 6. saatte ölçülmüştür. Deneme grubunda en düşük ortalama serum K seviyesi 1,69±0,26 mmol/L olarak 48. saatte, en yüksek ortalama serum K seviyesi ise 4,45±1,38 mmol/L olarak 1. saatte ölçülmüştür. Kontrol grubu ve deneme grubu arasındaki ortalama K seviyelerinde istatistiksel olarak önemli bir fark bulunamamıştır.

Kontrol grubunda en düşük ortalama serum Na seviyesi $133,82 \pm 7,10$ mmol/L olarak başlangıçta, en yüksek ortalama serum Na seviyesi $156,14 \pm 1,25$ mmol/L olarak 48. saatte ölçülmüştür. Deneme grubunda en düşük ortalama serum Na seviyesi $133,82 \pm 7,10$ mmol/L olarak başlangıçta, en yüksek ortalama serum Na seviyesi ise $157,68 \pm 1,88$ mmol/L olarak 36. saatte ölçülmüştür. Ani sıcaklık şoku uygulamasının 1. saatinde yapılan ölçümlerinde ortalama Na seviyeleri kontrol grubu ($135,72 \pm 3,77$ mmol/L) ve deneme grubu ($152,62 \pm 0,95$ mmol/L) arasında istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmuştur.

Kontrol grubunda en düşük ortalama serum P seviyesi $11,70 \pm 0,81$ mg/dl olarak 24. saatte, en yüksek ortalama serum P seviyesi $15,98 \pm 0,87$ mg/dl olarak 48. saatte ölçülmüştür. Deneme grubunda en düşük ortalama serum P seviyesi $11,00 \pm 0,61$ mg/dl olarak 6. saatte, en yüksek ortalama serum P seviyesi ise $15,98 \pm 0,81$ mg/dl olarak 48. saatte ölçülmüştür. Kontrol grubu ve deneme grubu balıkların kan serumundan yapılan ölçümlerde ortalama serum P seviyelerinde arasında istatistiksel olarak önemli bir fark bulunamamıştır.

4. TARTIŞMA

Kortizol kemikli balıkların ön böbreklerine yerleşen interrenal (böbrek arası) doku (steroidojenik hücreler) tarafından salgılanan en önemli glikokortikoiddir (Iwama ve ark. 1999). Bazı kan plazmasına ait kimyasal parametreler balıkların sağlık ve/veya stres şartlarını değerlendirmek için yararlı vasıtalar olduğu bildirilmiştir (Sadler ve ark. 2000; Wagner ve Congleton, 2004). Strese maruz kalan balıklarda plazma kortizolü miktarında artış meydana geldiği bildirilmiştir (Pottiner ve Mosuwe, 1994; Wendelaar-Bonga, 1997; Pottinger ve ark. 2003; Haukenes ve ark. 2008). Yapılan akut stres deneylerinde, kortizol cevabın çok hızlı olduğu, fakat düzenli bir şekilde zayıfladığı veya strese maruz kaldıktan birkaç saat sonra gözden kaybolduğu bildirilmektedir (Davis Jr. ve McEntire, 2006). Balıkların çoğunda kortizol seviyesi, stres başlatıldıktan bir saat sonra en yüksek konsantrasyona ulaştığı ve 6 saat sonra normal seviyelere geri döndüğü rapor edilmiştir (Iwama ve ark. 2006). Bazı elleme işlemleri esnasında kortizol seviyesi hızlı bir şekilde arttığı, fakat 48 saat içinde esas seviyesine düştüğü bildirilmiştir (Robertson ve ark. 1987).

Bu çalışmada, ani sıcaklık şoku uygulanmış Karadeniz alabalığının kan serumundan yapılan analiz sonuçlarına göre serum kortizol seviyeleri kontrol grubuna göre 1. saatte yaklaşık olarak 10 kat arttığı, daha sonraki örneklemelerde giderek azaldığı ve 6. saat ise normal değere döndüğü tespit edilmiştir.

Bu bulgular önceki çalışmalarla paralellik göstermektedir. Ayrıca mercan (*Dentex dentex*) balıklarında elleme sonrası plazma kortizol seviyesinin derhal arttığı ve 8 saat sonra normal düzeye geri döndüğü rapor edilmiştir (Morales ve ark. 2005). Sazan balıkları (*Cyprinus carpio*) balıkçılar tarafından yakalama ağları ile tutulduğu zaman plazma kortizolünün arttığı, fakat 4 saat içinde normal seviyelere geri döndüğü bildirilmiştir (Pottinger, 1998). Balıkların kortizol seviyelerindeki artış, stres sonrası doku hasarından kaçınmak için normal seviyelere geri döndüğü ileri sürülmüştür (Wendelaar-Bonga, 1997). Bu hasar alabalıklarda kortizolün yüksek miktarları homeostatik mekanizmaların doku dejenerasyonu ve hasarı nedeniyle Pasifik salmonlarında (*Oncorhynchus spp*) ölüme neden olduğu bildirilmiştir (Stein-Behrens ve Sapolsky, 1992).

Lizozim, gram pozitif ve gram negatif bakterilerin hücre duvarında bulunan peptidoglikan tabakasını hidrolize eden bir enzimdir. Bu nedenle non-spesifik humoral bağışıklık sisteminin çok önemli bir unsurudur. Ayrıca bu özeliği sayesinde bağışıklık

sistemine ait diğer fagositik hücreler tarafından bakteri hücrelerinin daha kolay fagositozunun sağlandığı rapor edilmektedir (Yada ve ark. 2004). Non-spesifik immün sistemin bir göstergesi olarak lizozimin sıklıkla ölçülmesi gerektiği ileri sürülmüştür (Watts ve ark. 2001). Ancak stres altında kan plazması veya serumundaki lizozim aktivitesindeki değişimin sabit bir özellik göstermediği bildirilmiştir. Stresin tipine ve büyüklüğüne göre artış veya azalışlar kaydedildiği rapor edilmiştir (Caruso ve ark. 2002; Dominguez ve ark. 2005). Elleme, nakil veya yüksek amonyak seviyelerinin gökkuşağı alabalıklarında stres etkisi üzerine yapılan bir çalışmada lizozim aktivitesinin baskılandığını, 24 saat sonra normal değerlere döndüğü ileri sürülmüştür (Möck ve Peters, 1990). Pisi balıklarında (*Limanda limanda* L.) strese neden olan nakil işlemi yüzünden lizozim aktivitesinin azaldığı bildirilmiştir (Hutchinson ve Manning, 1996). Ayrıca stresin tipi ve süresine bağlı olarak lizozim konsantrasyonundaki ani ve uzun süren artışlar tarafından etkilenildiği rapor edilmiştir (Fevolden ve Roed, 1993).

Bu çalışmada serum lizozim aktivitesinin ani sıcaklık şoku uygulamasından sonra başlangıç saatinde ve 1. saatte kontrol grubu ile aynı olduğu fakat 3. saatte önemli ölçüde düştüğü, daha sonraki örneklemelerde yükseldiği ve 24. saatte kontrol grubu ile hemen hemen aynı değerlere ulaştığı saptanmıştır. Fakat gökkuşağı alabalıklarında akut stres (nakil, elleme ve sıkıştırılmaya) maruz kaldığında serum lizozim aktivitesinin arttığı bildirilmiştir (Kubilay ve Uluköy, 2002). Bu çalışmadaki araştırma sonuçları Möck ve Peters, (1990)'da; Hutchinson ve Manning, (1996)'da yaptıkları araştırma sonuçları ile paralellik göstermesine karşın, Kubilay ve Uluköy, (2002)'da akut stres üzerine yaptığı çalışma verilerine göre zıt bulunmasının izahı daha önceki çalışmalarda belirtilen unsurlar ile açıklanabilmektedir.

Glikoz; sırasıyla mekanik enerji olarak ifade edilebilen, kimyasal enerjiye (ATP) dönüşebilen, hayvanların biyoenerjistiklerinde büyük role sahip olan bir karbonhidrat olduğu rapor edilmektedir (Lucas, 1996). Optimum altı ve stresli şartlar altındaki balıklarda (iç veya dış uyarımlar) kromaffin hücreleri kan dolaşımına doğru ketaşolamin hormonlarını, adrenalin ve noradrenalin salgılanmasını sağladığı bildirilmektedir (Reid ve ark. 1998). Bu stres hormonları ile birlikte kortizol harekete geçtiği ve reaksiyon “uçuşun mücadelesi” için stresör tarafından üretilen enerji talebinin üstesinden gelmek için glikojenolisiz ve glikoneojenesiz yoluyla balıklarda glikoz üretiminin yükseltildiği bildirilmiştir (Iwama ve ark. 1999). Bu glikoz üretimine çoğunlukla kortizol etkisinin aracılık ettiği ve periferal kan sistemine şeker alınmasını durdurduğu rapor edilmiştir

(Werdemeyer ve ark. 1990). Daha sonra karaciğer ve kaslardan kan dolaşımına doğru glikoz salgılandığı ve insülinin etkisi vasıtasıyla hücre içine girdiği rapor edilmiştir (Nelson ve Cox, 2005).

Stresin bir göstergesi olarak glikozun geniş kullanımına rağmen bazı araştırmacılar (Mommsen ve ark. 1999; Flodmark ve ark. 2001) sadece indikatör olarak plazma glikozu kullanıldığı zaman kaygılanılması gerektiği vurgulamışlardır. Glikoz içeriğinin kortizolden çok daha az hassas stres göstergesi olduğu rapor edilmiştir (Wedemeyer ve ark. 1990; Pottinger, 1998). Mommsen ve ark. (1999)'da bir stres göstergesi olarak glikoz kullanımına şüpheyle yaklaşmışlar, fakat Simontacchi ve ark. (2008)'de glikoz ve kortizolün "güvenilir stres göstergeleri olarak kendilerinin düşünülemez olduğunu" ifade etmişlerdir.

Strese maruz kalan balıklarda plazma glikoz seviyesinin arttığı rapor edilmiştir (Wedemeyer ve Yasutake, 1977; David ve ark. 2005). Mercan (*Dentex dentex*) balıklarında elleme sonrası plazma glikoz düzeyinin arttığı ve 8 saatin sonunda normal seviyeye geri döndüğü tespit edilmiştir (Morales ve ark. 2005).

Bu araştırmada ani sıcaklık şoku uygulanan Karadeniz alabalıklarında ölçülen ortalama serumu glikoz seviyesi kontrol grubuna ve deneme grubuna ait 1. ve 3. saatlerdeki en yüksek düzeye ulaşmıştır. Fakat daha sonraki saatlerde yapılan ölçümlerde zamana bağlı olarak azaldığı belirlenmiştir. Deneme grubu ile kontrol grubuna ait kandaki ortalama serum glikoz değerleri 72. saatte normal düzeye indiği tespit edilmiştir. Tilapia balıkların (*Oreochromis niloticus*)'da eksternal olarak profilaktik amaçlı FMC uygulaması sonunda yapılan analizde plazma glikoz seviyesinin arttığı bildirilmiştir (Yavuzcan Yıldız ve Pulatsu, 1999). Gökkuşluğu alabalıkların (*Oncorhynchus mykiss*)'da akut stresse (nakil, eleme ve sıkıştırılmaya) maruz kaldığında serum glikoz miktarının artması (Kübilay ve Uluköy, 2002) bu çalışmayla paralel göstermektedir. Kırmızı çipuralar (*Pagrus major*)'da akut stresin plazma glikoz düzeyinde yükselme meydana getirdiğini ve 24 saat sonra normal değerlere geri döndüğü bildirilmiştir (Biswas ve ark. 2006). Fakat bu çalışmada 24 saat sonundaki glikoz düzeyi yüksek bulunmuş ancak 72 saat sonunda normal düzeye inmiştir. Başka bir araştırmada, 25 ppm'lik Leteux-Meyer karışımına 30 dakika maruz bırakılan gökkuşluğu alabalıkların (*Oncorhynchus mykiss*)'da kan örneklerine ait plazma glikoz düzeyi iyileşmeyi takiben 24 saat içinde kontrol grubu normal değerlerine indiği rapor edilmiştir (Yavuzcan Yıldız, 2006).

Daha önceki çalışmalarda Na^+ ve Cl^- iyon atılımının durdurulduğu buna karşın K^+ atılımında ise artış olduğu bildirilmiştir. Birçok araştırmada kan elementlerinde değişme olmadığı bildirilmesine karşın bazı kimyasal uygulamalara maruz kalan farklı balık türlerinde değişik sonuçlarında elde edildiği bildirilmiştir.

Kontrol grubu ve ani sıcaklık şoku uygulanan deneme grubu örneklemelerine ait serumda total protein, sodyum (Na), potasyum (K), klor (Cl), kalsiyum (Ca) ve fosfor (P) seviyelerinde önemli istatistiksel fark görülmediğinden tartışmaya gerek duyulmamıştır.

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Karadeniz alabalıklarına ani sıcaklık şoku uygulaması sonrası stres cevabın araştırıldığı bu çalışmada, kortizol, lizozim aktivitesi, serum glikoz seviyeleri Karadeniz alabalığında geçerli bir stres indikatörü olarak göze çarpmıştır. Total protein, sodyum (Na), potasyum (K), klor (Cl), kalsiyum (Ca) ve fosfor (P) seviyeleri ölçülmüş, fakat stres indikatörü olarak önemli bir değişime rastlanılmamıştır. Örneklemeler uygulamanın yapıldıktan sonraki 0., 1., 3., 6., 12., 24., 36., 48. ve 72. saatlerde olmak üzere farklı zaman aralıklarında 9 kez yapılmıştır. Primer stres yanıtının izlenmesinde en güvenilir parametrelerden biri olan kan kortizol seviyesindeki artış, sekonder olarak da plazma glikoz seviyesindeki artan değerlere ve önemli bir non-spesifik immun sistem bileşeni olan lizozim aktivitesindeki değişime bakılmıştır. Bu çalışmada, deneme grubuna ait balıkların kan serum örneklerinden yapılan biyokimyasal test sonuçları ile kontrol grubuna ait test sonuçları kıyaslandığında ani sıcaklık şoku uygulamasının Karadeniz alabalığında strese neden olduğu sonucuna varılmıştır.

Karadeniz alabalığında akut sıcaklık şoku uygulamasıyla elde edilen veriler doğrultusunda ani sıcaklık değişikliklerinin akut stres fizyolojisi üzerinde etkili olduğu göstermesi, yapılan bu çalışma sonuçları ile elde edilen verilerin evrensel bilime katkı sağlayacağı kaçınılmaz bir gerçektir. Bu güne kadar teorikte sıcaklığın stres üzerine etkili olduğu görüşünün Karadeniz alabalığında ispatlanması açısından ve bu anlamda önemi bir boşluğu doldurması yönüyle, araştırmada elde edilen verilerin gelecek araştırmalara öncülük edeceği kanaatindeyiz. Mevsimlere bağlı olarak meydana gelen ani sıcaklık değişimlerinde meydana gelen bazı hastalıkların neden ortaya çıktığının açıklanması açısından da balık sağlığı refahı yönünden de lizozim aktivitesinde düşme önemli bir göstergedir.

Sonuç olarak ani sıcaklık şokuna maruz kalan Karadeniz alabalığında akut stres cevabın belirlenmesinde serum kortizol seviyesi, lizozim aktivitesi ve serum glikoz değerlerine bakılarak mümkün olduğu belirlenmiştir. Balıklardaki bu kan parametrelerindeki değişimlerin 3. günün sonunda normal değerlere döndüğü belirlenmiştir. Bu da bu çalışmanın önemli bulgularından birisidir.

Stres göstergesi olarak kabul edilen kortizol, glikoz ve lizozim seviyesi önemli stres indikatörleridir. Ancak bunlara ilaveten diğer stres hormonları, kan hücrelerin sayımı (tercihen kronik deneylerde), non-invasive metotlar, herhangi bir balıkta stres durumu hakkında daha eksiksiz bir profile sahip olmak için yapılması gerekmektedir.

Kortizol sadece ani stres deneylerinde faydalı bir göstergedir. Ancak, organizmanın fizyolojik durumu standardize edilmelidir. Sudaki kortizolü ölçme gibi non-invasive metotlar anestezi maddelerin stres yapıcı etkisinden kaçmak için uygun bir seçenek olduğu bildirilmektedir.

Glikoz ölçümleri birçok tutarsızlık gösterir ve ana bir göstergeden ziyade stresin bir tamamlayıcısı olarak kullanılmaktadır. Tekrarlanan glikoz ölçümleri akut strese maruz kalması esnasında veya sonrasında yapılmalıdır. Ancak kronik deneyler esnasında örnekleme çok sık olmamalıdır. Çünkü balıkların ellenmesi ve manipülasyonlardan kaynaklanan değişimler daha sonraki ölçümlerin sonuçlarını etkileyebilmektedir.

Yoğun havuz yetiştiriciliğinde stresin minimize edilmesi konusundaki araştırmaların geliştirilmesine yönelik bazı öneriler aşağıda verilmiştir.

Stresin kontrolüne ilişkin bir araştırma programı için, besleme üzerinde incelemeler yapmak ve özellikle askorbik asit olmak üzere balığın tüm ihtiyaçları karşılayacak miktarda oligokomponentlerin yeme ilave edilmesi sağlanmalıdır. C vitamini, yapılan çalışmalarda deniz balıkları için strese karşı koruyucu olduğu bildirilmiştir.

- Balıkların ellenmesi, boylanması ve nakilleri esnasında meydana gelecek stresin etkilerinden ve zararlarından büyük oranda kaçınmak için yüksek su sıcaklıklarında balıklara müdahalelerin yapılmaması önerilmektedir.

- Yetiştiriciler, yetiştirdikleri her tür için uygun stok yoğunluğu bilmeli ve bu miktarı zorunlu kalmadıkça aşmamalıdır. Yüksek ve düşük su sıcaklıkları gibi çevresel faktörler, balıkların hayat döngüsü safhalarında hesaba katılmalıdır.

- Kültürü yapılan balık türleri için ihtiyaç duyulan su kalite standartlarının çoğu günümüzde yaygın olarak bilinmektedir. Kabul edilir işletme faaliyetleri planlanırken göz önünde bulundurulmasında gereken temel unsur suyun yeterliliğinin ve uygunluğunun kontrolüdür. Oksijen, sıcaklık, toplam gaz doygunluğu, azotlu katabolitler, pH, tuzluluk, askıda katı maddeleri ve bulanıklığa dikkat edilmelidir. Sadece değerleri kabul edilebilir aralıklar içinde tutmak zorunda olmayıp, aynı zamanda sıcaklık, pH ve tuzluluk gibi belirli parametrelerdeki hızlı değişimlerden de sakınılmalıdır.

- Balıklar yemlenmeden önce ve düşük su sıcaklıklarında ellenmelidir. Mümkin olduğunca işlemler kısa sürede tamamlanmalıdır. Balıklarda yapılacak işlemlerin mevsimsel koşullar göre en uygun şekilde yapılması planlanmalıdır.

Balık çiftliklerinin işletilmesi göz önüne alındığında, balıkların çevresel stresör faktörlerindeki küçük kabul edilebilir aralıklarda tolere edilebilmektedir. Ancak, ortam koşulları iyi olduğu halde, daha yüksek çevresel stresörler nedeniyle stres sonrası oksijen ihtiyacının artacağı bilinmelidir. Çünkü su sıcaklık artışlarında sudaki serbest O₂'de miktarında azaldığından ani sıcaklık artışı dolayı yoldan balığın strese girmesine neden olmaktadır. Böyle durumlarda balık stok yoğunluğunun düşük olması ve yemlemeden kaçınılması balık refahı açısından oldukça önemlidir.

KAYNAKLAR

Aksungur, M., 2002. Bio-ecological characteristics and culture of the Black sea trout (*Salmo trutta labrax*), CFRI Yunus Research Bulletin, 2, pp 11.

Aydın, H. ve Yandı, İ., 2002. Karadeniz Alası (*Salmo trutta labrax* Pallas, 1811)'nın Doğu Karadeniz Bölgesi'nde Yumurtlama Alanlarının Durumu, Journal Of Fisheries, 19, 501-506.

Başçınar, N., 2004. Dünyada su ürünleri yetiştiriciliği ve ülkemizin geleceğe bakışı, SÜMAE Yunus Araştırma Bülteni, 4, 6-8.

Bejerano, I., 1984. Detection and control of stres conditions in warm water aquaculture. Pp.73-92. In: Rosenthal H., Sarıg S. (eds). Research on Aquaculture. EAS.Spec.Publ. 8, Bredene, Belgium.

Biswas, A.K., Seoka, M., Takii, K., Maita, M. and Kumai, H., 2006. Stress response of red sea bream *Pagrus major* to acute handling and chronic photoperiod manipulation. Aquaculture. 252 (2-4), 566-572.

Bruno, D.W. and Ellis A.E., 1996. Salmonid disease management, Management of the host: Stress management. In principles of salmonid culture, Ed: Pennell W. and Barton B.A., Elsevier, Amsterdam, Chapter 13. pp 759-824.

Çakmak, E., Aksungur, N., Firidin, Ş. Çavdar, Y. ve Kurtoğlu, İ.Z., 2005. Doğal ve kuluçkahane kökenli Karadeniz alabalığı (*Salmo trutta labrax*, PALLAS 1811) anaçlarında üreme özelliklerinin irdelenmesi. Ulusal Su Günleri. Türk Sucul Yaşam Dergisi. 4; 515-522.

Caruso, D., Schulumberger, O., Dahm, C. and Proteau, J.P., 2002. Plasma lysozyme levels in sheatfish, *Silurus glanis* subjected to stress and experimental infection with *Edwardsiella tarda*. Aquaculture Research. 33, 999-1008.

David, M., Shivakumar, R., Mushigeri, S.B. and Kuri, R.C., 2005. Blood glucose and glycogen levels as indicators of stress in the freshwater fish, *Labeo rohita* under fenvalerate intoxication. Journal of Ecotoxicology and Environmental Monitoring, 15: 1-5.

Davis Jr, K.B. and McEntire, M.E., 2006. Comparison of the cortisol and glucose stress response to acute confinement and resting insulin-like growth factor-I concentrations among white bass, striped bass and sunshine bass. Aquaculture America Book of Abstracts, p 79.

Domimiguez, M., Takemura, A. and Tsuchiya, M., 2005. Effects of changes in environmental factors on the non-specific immune response of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* L. Aquaculture Research. 36, 391-397.

Edmondson, J., 1991. Environment and fish health water quality for aquaculture. MEDRAP II. Mediterranean regional aquaculture project basic level training course on disease, diagnosis and prevention for aquatic species. Bodrum, Turkey, 32p.

Engstad, R.E., Robertsen, B. and Frivold, E., 1992. Yeast glucan induces increase in lysozyme and complement-mediated haemolytic activity in Atlantic salmon blood. Fish and Shellfish Immunology. 2, 287-297.

Emre, Y. ve Kürüm, V., 2007. Havuz ve kafeslerde alabalık yetiştiriciliği. ISBN 975-96544-0-7, İkinci Baskı, Posta Basım.

Erençin, Z. ve Köksal, G., 1981. İç sular temel bilimleri. A.Ü. Veteriner Fakültesi Yayınları: 375, s. 1-160, Ankara.

F.A.O., 2007. The state of world fisheries and aquaculture, Food and Agriculture Organization of The United Nations, Rome, 162 s.

Fevolden, S. ve Roed, K., 1993. Cortisol and immune characteristics in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) selected for high or low tolerance to stress. Journal of Fish Biology. 43, 919-930.

Flodmark, L.E.W., Urke, H.A., Halleraer, J.H., Arnekleiv J.V., Vøllestad, L.A. and Poléo, A.B.S., 2001. Cortisol and glucose responses in juvenile brown trout subjected to a fluctuating flow regime in an artificial stream. Journal of Fish. Biology. 60, 238-248.

Geldiay, R. ve Balık, S., 1996. Türkiye tatlı su balıkları, Ege Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Yayınları No: 6, Bornova, İzmir. s, 219-229.

Groot, C., 1996. Salmonid Life Histories. In: Pennell, W. and Barton, B. B. (eds), Principles of Salmonid Culture, Developments in Aquaculture and Fisheries Science. 29, 97-229 p.

Hutchinson, T. and Manning, M., 1996. Seasonal trends in serum lysozyme activity and total protein concentration in dab (*Limanda limanda* L.) sampled from Lyme Bay, U.K. Fish and Shellfish Immunology. 6, 473-482.

Haukenes, A.H., Barton, B.A. and Bolli, H., 2008. Cortisol responses of pallid sturgeon and yellow perch following challenge with lipopolysaccharide. Journal of Fish Biology. 72, 780-784.

Iwama, G.K., Vijayan, M.M., Forsyth, R.B. and Ackerman, P.A., 1999. Heat shock proteins and physiological stress in fish. American Zoologist, 39: 901-909.

Iwama, G.K., Afonso, L.O.B. and Vijayan, M.M., 2006. Stress in fishes. In: Evans, D. H. & Claiborne, J. B. The Physiology of fishes. 319-342. Taylor and Francis, 3rd edition. USA. 601 p.

Kubilay, A. ve Uluköy, G., 2002. The effects of acute stress on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Turkish Journal of Zoology. 26, 249-254.

Lucas, A., 1996. Physical concepts of bioenergetics. *In: Lucas, A. (ed.). Bioenergetics of aquatic animals. English Edition, Taylor and Francis, France. 169 p.*

Mazeaud, M.M. and Mazeaud, F., 1981. Adrenergic responses to stress in fish, *In: Stress and Fish. (edited by Pickering, A.D.). Academic Press, London, New York, Toronto, Sydney, San Francisco. p.49-75.*

Mommsen, T.P., Vijayan, M.M. and Moon, T.W., 1999. Cortisol in teleosts: dynamics, mechanisms of action, and metabolic regulation. Reviews on Fish Biology and Fisheries, 9: 211–268.

Morales, A.E., Cardenete, G., Abellán, E. and García-Rejón, L., 2005. Stress-related physiological responses to handling in common dentex (*Dentex dentex* Linnaeus, 1758). Aquaculture Research, 36: 33-40.

Möck, A. and Peters, G., 1990. Lysozyme activity in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), stressed by handling, transport and water pollution. Journal of Fish Biology, 37: 873-885.

Nelson, D.L. and Cox, M.M (eds), 2005. Lehninger principles of biochemistry. 4th ed.; WH Freeman and Co. New York. 1013 p.

Okumuş, I., Kurtoğlu, I.Z. and Atasaral, Ş., 2004. General overview of Turkish sea trout (*Salmo trutta* L.) populations, *In: Haris, G. and Milner, N. (eds.), Sea trout: Biology, Conservation and Management, pp 115-126.*

Peters, G. and Hong, L.Q., 1985. Gill structure and blood electrolyte levels of European eels under stress. Fish and Shellfish Pathology, pp.183-198. Ellis academic Pres., London.

Pickering, A.D. and Pottinger, T.G., 1985. Cortisol can increase the susceptibility of brown trout (*Salmo trutta*, L.) to disease without reducing the white blood cell count. Journal of Fish Biology, 27 611-619.

Pottinger, T.G. and Mosuwe, E., 1994. The corticosteroidogenic response of brown and rainbow trout alevins and fry to environmental stress during a critical period. General and Comparative Endocrinology, 95: 350-362.

Pottinger, T.G., 1998. Changes in blood cortisol, glucose and lactate in carp retained in anglers' keepnets. Journal of Fish Biology, 53: 728-742.

Pottinger, T.G., Rand-Weaver, M. and Sumpter, J.P., 2003. Overwinter fasting and re-feeding in rainbow trout: plasma growth hormone and cortisol levels in relation to energy mobilization. Comparative Biochemistry and Physiology Part B, 136: 403-417.

Reid, S.D., Moon, T.W. and Perry, S.F., 1992. Rainbow trout hepatocyte beta-adrenoceptors, catecholamine responsiveness, and effects of cortisol. American Journal of Physiology, 262: 794-799.

Robertson, L., Thomas, P., Arnold, C.R. and Trant, J.M., 1987. Plasma cortisol and secondary stress responses of red drum to handling, transport, rearing density, and a disease outbreak. The Progressive Fish Culturist, 49: 1-12.

Sadler, J., Wells, R.M.G., Pankhurst, P.M. and Pankhurst, N.W., 2000. Blood oxygen transport, rheology and hematological responses to confinement stress in diploid and triploid Atlantic salmon, *Salmo salar*. Aquaculture, 184: 349-361.

Saroglia, M., 1986. Stress avoidance under intensive culture conditions efficiency in aquaculture production: Disease control. Proceeding of the 3rd International Conference on Aquafarming "AQUACULTURE 486" pp.87-107. E. Grimaldi and H. Rossental (eds). Verano -Italia, October 9. 10.1986.

Scarano, G., Saroglia, M., Gray, R.H. and Tibaldi, E., 1984. Hematological responses of sea bass (*Dicentrarchus labrax*) to a lethal concentration of nitrite exposures. Trans Am. Fish. Soc. 113: 360-364.

Sinderman, C.J., 1984. Disease in marine aquaculture. Disease of marine organisms. eds.: O. Kinne and H.P. Bulnheim. Helgolander Meeresunters. Biologische Anstalt Helgoland, Pres. Hamburg. 37: pp. 505-532.

Simontacchi, C., Poltronieri, C., Carraro, C., Bertotto, D., Xiccato, G., Trocino, A. and Radaelli, G., 2008. Alternative stress indicators in sea bass, *Dicentrarchus labrax*, L. Journal of Fish Biology. 72: 747-752.

Stein-Behrens, B.A. and Sapolsky, R.M., 1992. Stress, glucocorticoids, and aging. Aging, 4:197-210.

Strange, R.J., and Schreck, C.B., 1978. Anesthetic and handling stress on survival and cortisol concentration in yearling chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). J. Fish Res. Board Canada. 35: 345-349.

Tabak, İ., Aksungur, M., Zengin, M., Alkan, A., Zengin, B. ve Mısır, S., 2001. Karadeniz alabalığı (*Salmo trutta labrax* Pallas, 1811)'nın biyoeolojik özelliklerinin tespiti ve kültüre alınabilirliğinin araştırılması. Proje sonuç raporu, No: (TAGEM / HAYSUD /12/01/007), Su Ürünleri Araştırma Enstitüsü. Trabzon.

Vandeputte, M., 2008. Review on breeding and reproduction of European aquaculture species, Aqua Breeding, France.

Wagner, T. and Congleton, J. L., 2004. Blood chemistry correlates of nutritional condition, tissue damage, and stress in migrating juvenile chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 61: 1066-1074.

Watts, M., Munday, B.L. and Burke, C.M., 2001. Isolation and partial characterization of immunoglobulin from southern bluefin tuna, *Thunnus maccoyii*, Castelnau. Fish and Shellfish Immunology, 11 (6), 491-503.

Wedemeyer, G.A., 1971. The stress of formalin treatments in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) and coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). J. fish Res. Board Canada 28: 1899-1904.

Wedemeyer, G.A. and Yasutake, W.T., 1977. Clinical methods for the assessment of the effects of environmental stress on fish health. Tech. Pap. USFWS, no; 89.

Wedemeyer, G.A., Barton, B.A. and McLeay, D.J., 1990. Stress and acclimation. *In*: Schreck, C.B. and Moyle, P.B. (eds). *Methods for Fish Biology*. MD: American Fisheries Society, Bethesda. 491-527 p.

Wendelaar-Bonga, S.E., 1997. The stress response in fish. Physiological Reviews, 77: 591-625.

Yada, T., Muto, K., Azuma T. and Ikuta, K., 2004. Effects of prolactin and growth hormone on plasma levels of lysozyme and ceruloplasmin in rainbow trout. Comparative Biochemistry and Physiology C, 139, 57-63.

Yavuzcan Yıldız, H. and Pulatsu, S., 1999. Evaluation of the secondary stress response in healthy tilapia (*Oreochromis niloticus*) after treatment with a mixture of formaline, malachite green and methylene blue, Aquaculture Research, 30, 379-383.

Yavuzcan Yıldız, H., 2006. Plasma lysozyme and secondary stress response in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum) after exposure to Leteux-Meyer mixture, Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences, 30 (2), 265-269.

ÖZGEÇMİŞ

1982 yılında Erzurum ilinin Ilıca ilçesinde doğdu. Atatürk İlköğretim Okulunda 1996'da ilköğretim eğitimini tamamladı. 1999 yılında Ilıca Lisesinden mezun oldu. Aynı yıl ÖSYM'nin yaptığı sınavı kazanarak K.T.Ü. Rize Su Ürünleri Fakültesine kayıt yaptırdı. Lisans eğitimini 2003 yılında tamamladıktan sonra Eylül 2005'te Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Su Ürünleri Mühendisliği Anabilim Dalı'nda "Yüksek Lisans" eğitimine başladı. Evli ve bir çocuk annesi olan Zeynep DENGİZ BALTA, Rize Üniversitesi'nin 2006 yılında kurulmasıyla Yüksek Lisans kaydını Rize Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Su Ürünleri Anabilim Dalı'na nakletmiş ve halen yüksek lisans öğrenimini burada devam ettirmektedir.