

**KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BALIKÇILIK TEKNOLOJİSİ MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**

**HAMSI (*Engraulis encrasicolus*) ve İSTAVRIT (*Trachurus mediterraneus*)  
BALIKLARININ ERKEN LARVAL DÖNEMDE BESLENME DURUMLARININ  
NÜKLEİK ASİT İNDEKSLERİYLE BELİRLENMESİ**

**DOKTORA TEZİ**

**Bal. Tek. Yük. Müh. İlhan YANDI**

**NİSAN 2011  
TRABZON**

**KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ**

**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BALIKÇILIK TEKNOLOJİSİ MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**

**HAMSİ (*Engraulis encrasicolus*) VE İSTAVRİT (*Trachurus mediterraneus*)  
BALIKLARININ ERKEN LARVAL DÖNEMDE BESLENME DURUMLARININ  
NÜKLEİK ASİT İNDEKSLERİYLE BELİRLENMESİ**

**Balıkçılık Teknolojisi Yüksek Mühendisi İlhan YANDI**

**Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsünde  
"DOKTOR (BALIKÇILIK TEKNOLOJİSİ MÜHENDİSLİĞİ)"  
Unvanı Verilmesi İçin Kabul Edilen Tezdir.**

**Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 13.04.2011  
Tezin Savunma Tarihi : 25.05.2011**

**Tez Danışmanı : Doç. Dr. İlhan ALTINOK**

**Trabzon 2011**

**Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü**  
**Balıkçılık Teknolojisi Mühendisliği Ana Bilim Dalında**  
**İlhan YANDI Tarafından Hazırlanan**

**HAMSİ (*Engraulis encrasicolus*) VE İSTAVRİT (*Trachurus mediterraneus*)  
BALIKLARININ ERKEN LARVAL DÖNEMDE BESLENME DURUMLARININ  
NÜKLEİK ASİT İNDEKSLERİYLE BELİRLENMESİ**

**Başlıklı bu çalışma, Enstitü Yönetim Kurulunun 19 / 04 / 2011 gün ve 1401 sayılı  
kararıyla oluşturulan jüri tarafından 25 / 05 / 2011 tarihinde yapılan sınavda**

**DOKTORA TEZİ**  
**olarak kabul edilmiştir.**

**Jüri Üyeleri**

**Başkan : Prof. Dr. Telat YANIK**



**Üye : Doç. Dr. İlhan ALTINOK**



**Üye : Doç. Dr. Bilal KUTRUP**



**Üye : Yrd. Doç. Dr. Nadir BAŞÇINAR**



**Üye : Yrd. Doç. Dr. Erol ÇAPKIN**



**Prof. Dr. Sadettin KORKMAZ**  
**Enstitü Müdürü**

## ÖNSÖZ

Bu çalışma, Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Balıkçılık Teknolojisi Mühendisliği Anabilim Dalı'nda Doktora Tezi olarak hazırlanmış ve TÜBİTAK (Proje no: 110O050) tarafından desteklenmiştir.

Hamsi ve istavrit Karadeniz'in en önemli ekonomik pelajik türleri olup stoklar yıllara göre dalgalanmalar göstermektedir. Pelajik deniz türlerinin erken larval safhalarındaki beslenme problemleri hayatta kalma ve yetiştin stoğa katılımda en önemli faktördür. Denizel ortamda larvaların beslenme durumu belirlenebilirse söz konusu larvaların hayatta kalabilme potansiyeli ortaya konabilir. Bu konuda en güvenilir yöntem nükleik asitleri temel alan indekslerdir. Bu amaçla, her iki tür için laboratuvar şartlarında farklı açlık seviyelerini içeren deneme serileri tasarlanmış ve elde edilen kritik değerler denizden toplanan larvaların kondisyon durumunu ortaya koymak için kullanılmıştır. Sonuçları çoklu parametrelerle değerlendirmek amacıyla fitoplankton ve zooplankton yoğunluğu ve temel fizikokimyasal parametrelere de yer verilmiştir.

Doktora tez konusunun belirlenmesinde, çalışmaların yürütülmesinde ve sonuçların yorumlanmasında yardımlarını esirgemeyen danışman hocam sayın Doç.Dr. İlhan ALTINOK'a, laboratuvar uygulamalarında katkıları ve desteklerinden dolayı Yrd.Doç.Dr. Erol ÇAPKIN, Arş.Gör. Halis BORAN ve Arş.Gör. Ertuğrul TERZİ'ye, denizden toplanan fitoplankton ve zooplanktonların tür teşhisini yapan Doç.Dr. Muzaffer FEYZİOĞLU ve Dr. İlknur YILDIZ'a, arazi çalışmalarındaki teknik desteklerinden dolayı Arş.Gör. Ahmet ŞAHİN'e, özellikle özverili katkılarından dolayı Arş.Gör. Recep PARLAK, Arş.Gör. Kenan GEDİK ve araştırma teknesindeki tüm teknik personele teşekkür ederim.

Her konuda desteğini hissettiğim eşim, kızım ve aileme şükranlarımı sunarım.

İlhan YANDI  
Trabzon 2011

## TEZ BEYANNAMESİ

Doktora Tezi olarak sunduğum ‘‘Hamsi (*Engraulis encrasicolus*) ve İstavrit (*Trachurus mediterraneus*) Balıklarının Erken Larval Dönemde Beslenme Durumlarının Nükleik Asit İndeksleriyle Belirlenmesi’’ başlıklı bu çalışmayı baştan sona kadar danışmanım Doç.Dr. İlhan ALTINOK’un sorumluluğunda tamamladığımı, verileri/örnekleri kendim topladığımı, deneyleri/analizleri ilgili laboratuarlarda yaptığımı/yaptırdığımı, başka kaynaklardan aldığım bilgileri metinde ve kaynakçada eksiksiz olarak gösterdiğimi, çalışma sürecinde bilimsel araştırma ve etik kurallara uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul ettiğimi beyan ederim. 13/04/2011



İlhan YANDI

# İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
ÖNSÖZ .....	III
TEZ BEYANNAMESİ.....	IV
İÇİNDEKİLER.....	V
ÖZET .....	VIII
SUMMARY .....	IX
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	X
TABLolar DİZİNİ.....	XII
1.GENEL BİLGİLER.....	2
1.1. Giriş .....	2
1.2. Denizel Ortamda Larvanın Hayatta Kalmasını Etkileyen Faktörler.....	2
1.2.1. Abiyotik Faktörler .....	2
1.2.2. Biyotik Faktörler .....	4
1.3. Kondisyon İndeksleri.....	6
1.3.1. Organizma Seviyesinde Kondisyon İndeksleri .....	6
1.3.2. Doku Seviyesinde Kondisyon İndeksleri .....	7
1.3.3. Hücre Seviyesinde Kondisyon İndeksleri .....	8
1.4. Nükleik Asitlere Dayalı Kondisyon İndeksleri.....	10
1.5. Çalışma Kapsamındaki Türlerin Bazı Biyoekolojik Özellikleri.....	16
1.5.1. Hamsi ( <i>Engraulis encrasicolus</i> ).....	16
1.5.2. İstavrit ( <i>Trachurus mediterraneus</i> ) .....	18
1.6. Önceki Çalışmalar.....	19
1.7. Çalışmanın Gerekçesi ve Amacı.....	22
2. YAPILAN ÇALIŞMALAR .....	23
2.1. Örneklem Sahası .....	23
2.2. Yumurta ve Larvaların Toplanması.....	24
2.2.1. Yumurtaların Seleksiyonu.....	25
2.2.2. Yumurtaların İnkübasyonu.....	25
2.2.3. Göz Pigmentasyonu ve Ağzın Açılması.....	26
2.3. Larvalara Verilen Canlı Yemler ve Üretimi.....	27
2.4. Larvaların Stoklandığı Ortam ve Besleme .....	27

2.5.	Plankton Çekimleri ve Denizdeki Fizikokimyasal Parametreler .....	28
2.6.	Deneme Serilerinin Dizayını.....	29
2.7.	Günlük Yaşama Oranı.....	30
2.8.	NotokordUzunluğu .....	30
2.9.	Nükleik Asitler ve Proteinin Fluorometrik Analizi .....	30
2.10.	Geri Dönüşü Olmayan Kritik RNA/DNA .....	31
2.11.	Denizden Örneklenen Larvaların Beslenme Kondisyonu.....	32
2.12.	İstatistiksel Analiz ve Veri Sunumu .....	32
3.	BULGULAR .....	34
3.1.	İstavrit Çalışmasına Ait Bulgular .....	34
3.1.1.	Göz pigmentasyonu, Ağzın Açılması ve İlk Beslenme Davranışları.....	34
3.1.2.	Açlığa Tolerans ve Yaşama Oranı.....	38
3.1.3.	NotokordBoyusu .....	39
3.1.4.	Biyokimyasal İndeksler .....	40
3.1.5.	Protein ve Proteince Büyüme .....	45
3.1.6.	Doğadan Toplanan Larvalarda Nükleik Asitler .....	46
3.2.	Hamsi Çalışmasına Ait Bulgular .....	47
3.2.1.	Göz pigmentasyonu, Ağzın Açılması ve İlk Beslenme Davranışları.....	47
3.2.2.	Açlığa Tolerans ve Yaşama Oranı.....	48
3.2.3.	Notokord Boyusu.....	49
3.2.4.	Biyokimyasal İndeksler .....	50
3.2.5.	Protein ve Proteince Büyüme .....	51
3.2.6.	Doğadan Toplanan larvalarda Nükleik Asitler.....	53
3.3.	Larva Örnekleme Sahasındaki Fitoplankton ve Zooplankton Yoğunluğu .....	53
3.4.	Zooplankton Yoğunluğu ve Örneklenen Larvalarda Nükleik Asit Oranları .....	54
3.5.	Su Kalite Parametreleri .....	56
4.	TARTIŞMA.....	57
4.1.	Nükleik Asit Analizleri .....	57
4.2.	Larvalarda Açlığa Tolerans.....	59
4.3.	Denizden Yakalanan Larvaların Besinsel Durumu.....	63
5.	SONUÇLAR .....	66
6.	ÖNERİLER .....	69

7. KAYNAKLAR.....	71
ÖZGEÇMİŞ	



Doktora Tezi

ÖZET

HAMSİ (*Engraulis encrasicolus*) VE İSTAVRİT (*Trachurus mediterraneus*)  
BALIKLARININ ERKEN LARVAL DÖNEMDE BESLENME DURUMLARININ  
NÜKLEİK ASİT İNDEKSLERİYLE BELİRLENMESİ

İlhan YANDI

Karadeniz Teknik Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Balıkçılık Teknolojisi Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. İlhan ALTINOK  
2011, 84 Sayfa

Hamsi ve istavrit larvalarında nükleik asitlere dayalı beslenme kondisyonu belirlenmiştir. Bu amaçla, denizden toplanan gözlenmiş yumurtalar laboratuvarında inkübe edildi, çıkan larvalar beş farklı besleme rejimine [Sürekli besleme (Sb), bir gün geciktirmeli (1A), iki gün geciktirmeli (2A), üç gün geciktirmeli (3A) ve tamamen aç (Ta)] tabi tutuldu. Yeni yumurtadan çıkmış hamsi ve istavrit larvalarının notokort boyu sırasıyla  $3,25\pm 0,04$  ve  $2,27\pm 0,04$  mm ölçüldü. Her iki türde göz pigmentasyonu, ağzın açılması ve ilk beslenme inkübasyonu takiben üçüncü günde gerçekleşti. Ta grubundaki hamsi larvalarının tümü altıncı günde istavrit larvalarının tümü ise sekizinci günde öldü. Ta grubundaki hamsi larvalarının yaşama oranları geciktirmeli beslenenlerle benzerlik gösterdi. Buna karşılık 3A grubundaki istavrit larvalarında Ta grubundakilere kıyasla daha yüksek yaşama oranı bulundu ( $p<0,01$ ). Hamsi larvalarında geri dönüşümü olmayan nokta (GDON) birinci gün, kritik RNA/DNA  $1,022\pm 0,2$ . İstavrit larvalarında GDON üçüncü gün, kritik RNA/DNA  $1,05\pm 0,08$ . Hamsi larvalarında en yüksek proteince büyüme altıncı günde %43,45, istavrit larvalarında en yüksek yedinci günde %41,78 olarak kaydedildi. Denizden toplanan hamsi larvalarının %9'u GDON, %19'u kritik eşik aralığında (KEA) bulundu. İstavritte %10'u GDON, %10'u KEA'dır. Elde edilen verilere göre hamsi ve istavrit larvalarının beslenme kondisyonlarının iyi olduğu söylenebilir.

**Anahtar Kelimeler:** İstavrit, hamsi, larva, RNA/DNA, protein, açlık, nükleik asitler

PhD. Thesis

SUMMARY

DETERMINATION OF EARLY LARVAL FEEDING STATUS OF ANCHOVY  
(*Encraulis encrasicolus*) AND HORSE MACKEREL (*Trachurus mediterraneus*) BY  
USING THE INDICES BASED ON NUCLEIC ACIDS

İlhan YANDI

Karadeniz Technical University  
The Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Fisheries Technology Engineering Graduate Program  
Supervisor: Assoc. Prof. İlhan ALTINOK  
2011, 84 Pages

Larval condition based on nucleic acids for anchovy and horse mackerel were determined. For this purpose, genoblast eggs were collected from the sea and incubated in laboratory and hatched larvae were fed with five different feeding regimes [Continuous feeding (Sb), 1 day delayed (1A), 2 days delayed (2A), 3 days delayed (3A) and starving (Ta)]. Newly hatched larvae of anchovy and horse mackerel had mean notochord lengths  $3,25\pm 0,04$  and  $2,27\pm 0,04$  mm, respectively. Eye pigmentation, mouth opening and first feeding occurred on the third day after hatching for both species. All anchovy larvae in Ta group dead on the sixth day while all horse mackerel larvae dead on eighth day. Survival rate of anchovy larvae in Ta group was similar to the other delayed groups. On the contrary, horse mackerel larvae in 3A group had a higher survival rate than those in Ta group ( $p < 0,01$ ). No Return Point (NRP) was on the first day after eye pigmentation (DAEP) for anchovy and the critical RNA/DNA ratio was  $1,022\pm 0,20$ . NRP in horse mackerel larvae was on 3 DAEP, the critical RNA/DNA ratio was  $1,05\pm 0,08$ . The highest growth rates in protein for anchovy and horse mackerel were on the 6 DAEP with 43.45% and on the 7 DAEP with 41.78%, respectively. The rate of NRP and critical level range (CLR) of sampled anchovy larvae were 9% and 19%, respectively. NRP and CLR for horse mackerel larvae were 10% and 10%, respectively. Based on the results obtained from current study, it can be concluded that anchovy and horse mackerel larvae had a high nutritional condition.

**Key Words:** Horse mackerel, anchovy, larvae, RNA/DNA, protein, starving, nucleic acids

## ŞEKİLLER DİZİNİ

### Sayfa No

Şekil 1. Bu çalışma kapsamında balık yumurta ve larvalarının toplandığı örnekleme sahası.....	23
Şekil 2. Yumurta ve larvalar denizden toplanırken uygulanan çekim planı.....	25
Şekil 3. Yumurta ve larva süzme düzeneği .....	26
Şekil 4. Larvaların stoklandığı deneme dizaynı .....	28
Şekil 5. Deneme serileri.....	29
Şekil 6. Nükleik asitlerin ekstraksiyon ve ölçümünde kullanılan protokol.....	33
Şekil 7. İstavrit yumurtaların ilk açılma anı .....	35
Şekil 8. Larvaların çıkıştan sonraki zamana bağlı gelişimi .....	36
Şekil 9. Aktif beslenmeye geçmiş olan istavrit larvaları .....	37
Şekil 10. 10 günlük istavrit larvası .....	38
Şekil 11. Deneme serilerindeki yaşama oranları .....	39
Şekil 12. İstavrit larvalarında kaydedilen notokorduzunlukları .....	40
Şekil 13. Tamamen aç bırakılan ve sürekli beslenen istavrit larvalarında RNA/DNA oranındaki değişimler.....	41
Şekil 14. Tamamen aç bırakılan ve 1 güç geciktirilerek beslenen larvalarda RNA/DNA oranındaki değişimler.....	42
Şekil 15. Tamamen aç bırakılan ve iki gün geciktirilerek beslenen larvalarda RNA/DNA oranındaki değişimler.....	42
Şekil 16. Tamamen aç bırakılan ve üç gün geciktirilerek beslenen larvalarda RNA/DNA oranındaki değişimler.....	43
Şekil 17. Sürekli beslenen (a) ve tamamen aç bırakılan (b) larvalarda RNA ve DNA miktarındaki değişimler .....	44
Şekil 18. Sürekli beslenen ve tamamen aç bırakılan gruplardaki protein miktarındaki değişim .....	45
Şekil 19. Doğadan toplanan istavrit larvalarının RNA/DNA oranına göre geri dönüşü olmayan noktaGDON ve kritik eşik aralığında, KEA olma durumu (n=76).....	46
Şekil 20. Yumurta kabuğu içerisinde hapsolan ve gelişimini burada sürdüren hamsi larvaları .....	48
Şekil 21. Hamsi larvalarında kuyruk anormalliği.....	48
Şekil 22. Sürekli beslenen (SB) ve tamamen aç (TA) bırakılan hamsi larvalarında yaşama oranları .....	49
Şekil 23. Hamsi larvalarında notokorduzunluğundaki değişimler .....	50

Şekil 24. Tamamen aç bırakılan ve sürekli beslenen hamsi larvalarında RNA/DNA oranındaki değişimler.....	51
Şekil 25. Sürekli beslenen ve tamamen aç bırakılan hamsi larvalarının protein miktarındaki değişimler.....	52
Şekil 26. Doğadan toplanan hamsi larvalarının RNA/DNA oranına göre geri dönüşü olmayan nokta .....	53
Şekil 27. Larvalarda besin kondisyonu ve ortamdaki zooplankton yoğunluğu.....	55
Şekil 28. Örnekleme zamanları ve buna karşılık zooplankton yoğunluğu ve istavrit larvalarında RNA/DNA oranı .....	55

## TABLolar DİZİNİ

### Sayfa No

Tablo 1. Tamamen aç bırakılan ve sürekli beslenen larvalarda günde ortalama proteince % büyüme oranları (n=8-15) .....	46
Tablo 2. Hamsi larvalarında günde % proteince büyüme (n=6-15) .....	52
Tablo 3. Örnekleme sahasında Temmuz ve Ağustos aylarında fitoplankton yoğunluğu (hücre/L).....	54
Tablo 4. Örnekleme sahasında Temmuz-Eylül ayları arasında türlere göre zooplankton yoğunluğu (adet/m <sup>3</sup> ) .....	54
Tablo 5. Su kalite parametreleri .....	56

## **1.GENEL BİLGİLER**

### **1.1. Giriş**

Su ürünleri üretiminin büyük bir kısmı pelajik balıkların avlanmasıyla elde edilmektedir. Özellikle avlanan küçük pelajik türlerin (hamsi, çaça, sardalya, istavrit vs.) bir kısmı doğrudan insan tüketiminde kullanılırken önemli bir kısmı da balık yeminin hammaddesi olan balık unu yapımında kullanılmaktadır (FAO, 2010). Söz konusu balık stokları aynı zamanda diğer deniz türlerinin belirli yaşam evlerinden sonraki temel besinlerini oluşturmaktadır. Dünya genelinde sardalya, çaça ve hamsi gibi pelajik türlerin stoklarının biyomaslarında ciddi düzeyde dalgalanmalar görülmektedir (Kono vd., 2003). Bunun önemli sebeplerinden birisi larval dönemdeki problemlerdir. Pelajik balık stoklarındaki dalgalanmalar doğrudan avcılık verimini etkilediği gibi dolaylı yoldan yetiştiricilik maliyetlerini de etkileyebilmektedir. Bu dalgalanmaları etkileyen nedenler ise biyotik (beslenme, predasyon ve hastalık) ve abiyotik (su sıcaklığı, oksijen tuzluluk, akıntı ve tabakalaşma) faktörler olarak tanımlanmaktadır. Tüm bu faktörlere göre balık popülasyonlarındaki dalgalanmaları tahmin etmek ve kesin olarak belirlemek ise son derece zordur (Koslow, 1992). Bu faktörler esasen stok biyomasına katılacak olan genç birey sayısını ve dolayısıyla yetişkin popülasyon verimi de etkilenmektedir. Pek çok balık türünde, doğal şartlarda kuluçkalanan yavruların nihai olarak yalnızca %0,01'i hayatta kalmayı başararak yetişkinliğe ulaşabilmektedir (Catalán, 2003). Bu yüzden balıkların erken safhalarındaki ölümlerinde meydana gelen küçük dalgalanmalar bile verimde önemli oranda değişkenliğe neden olabilmektedir. Bu nedenle doğal popülasyonlardaki larvaların beslenme yönünden kondisyonunun belirlenmesi stoğa katılım potansiyeli açısından önemli bir veri kaynağıdır. Öncelikle larvaların kondisyonunu değerlendirebilmek için larvalar üzerinde farklı açlık seviyelerini kapsayan bir dizi laboratuvar çalışmasına da ihtiyaç vardır.

## 1.2. Denizel Ortamda Larvanın Hayatta Kalmasını Etkileyen Faktörler

Genel olarak deniz balıkları pelajik yumurtalar bırakır, inkübe olan yumurtadan metaforfozu tamamlamamış larvalar çıkar ve bu larvaların enerji kaynağı, planktonik organizmalarla beslenebilecek morfolojik, davranışsal ve fizyolojik yeterliliğe ulaşmaya kadar maternal orijinli besin kaynağı yani yumurta kesesi ve bazen yağ damlalarıdır. Bu gelişim aşamasındaki önemli olaylar ağzın açılması, yüzme kesesinin şişirilmesi, yüzgeçlerin oluşumu ve fonksiyonel sindirim sisteminin gelişmesidir. Optimal çevresel şartlarda, metamorfoz olarak adlandırılan tedrici süreçten sonra larvalar juvenil formulaşmaya kadar çok hızlı bir gelişim gösterirler. Böylelikle larvalar ergin bireylerin sahip olduğu morfolojik ve fizyolojik karakterlere (yüzgeçler, kemik yapısı, pul oluşumu vb.) kavuşurlar.

Larvanın nihai hayatta kalabilmesini belirleyen faktörler (ve muhtemel stoğa katılım) çok yönlüdür ve karmaşık bir yolla birbiriyle etkileşim gösterirler. Muhtemel mortalite kaynakları daha önce belirtilen biyotik yada abiyotik olsun her ne kadar birbiriyle yakın etkileşimde olsa da tanımlama açısından bunların ayrı ele alınması gerekir. Her bir faktörün sahip olduğu değişen zorluk derecesine göre yapılacak çalışmalar hem gerek duyulan teknoloji açısından ciddi bir emek gerektirmekte hem de ciddi finansal kaynağa ihtiyaç duyulmaktadır (Catalán, 2003).

### 1.2.1. Abiyotik Faktörler

Abiyotik faktörler su sıcaklığı, tuzluluk başta olmak üzere akıntı, tabakalaşma, rüzgârlar, girdaplar ve benzeri birçok hidrodinamik etkileri kapsamaktadır. Bunlar arasında su sıcaklığı, tuzluluk ve ışık gibi faktörler direkt olarak gelişim oranlarını (Frank ve Leggett, 1981; Frank ve Leggett, 1982; Miranda vd., 1990; Koumoundouros vd., 2001; Sawant vd. 2001), gelişim paternlerini (Johnston vd., 2001), olgun bireyin fekantitesini (Mcgurk, 2000), yada yumurtlama zamanını (Sánchez-Velasco vd., 2002) etkilemek suretiyle larval bireyin yaşama şansını değiştirebilmektedir. Doğal ortamda sıcaklık ve tuzluluk büyük oranda korunmaktadır ve su ortamları larvanın içerisinde bulunduğu ortamı tanımlayacak şekilde entegre olmuştur. Genel ve yaygın kaniya göre; farklı ölçeklerde ve zamanlarda su kolonundaki suyun hareketine ve yapısına etki eden fiziksel olayların ve

süreçlerin nihai larval yaşam üzerine nispeten daha büyük etkisi vardır. Bu yüzden larval yaşamı etkileyen bu faktörlerin açıklanması ve yorumlanması gerekir. Bir metre derinlikten bir kilometreye kadar varan ölçekteki hidrodinamikler hayatta kalmayı belirleyebilir. Olumsuz larval taşınımın, stoğa katılım değişkenliğini etkileyen önemli sebeplerden biri olduğu Hjort'un (1914) çalışmasında bildirilmiştir. Örneğin upwelling bölgelerinde, Ekman Taşınımı'ndan dolayı larvalar açık denizdeki daha az verimli zonlara taşınmaktadırlar (Parrish vd., 1981; Olivar ve Shelton, 1993). Diğer taraftan larval gelişimleri belirli dalyan alanlarına (larvalar ve juvenillerin yaşama oranını arttıran acısu bölgeleri gibi alanlar) başarılı taşınımına bağlı olan türlerde rüzgar gücü yada basınç tabakalaşmalarıyla bağlantılı uygun advectif (yatay taşınım) süreçler son derece önemli olabilir (Govoni ve Pietrafesa, 1994).

Larvaları, nispeten sınırlı bölgelerde yada yüksek mezoskal (denizdeki akıntıların niteliği) değişkenliği gösteren yerlerde gelişen türlerde hayatta kalma fiziksel faktörlerle ve metrelerden kilometrelere ve günlerden haftalara kadar uzanan özelliklerle bağlantılı olabilir. Bunlar arasında, belirgin piknoklin (termoklin) olması, frontal zonlar (kıyı eğiminin yapıları), upwelling ve girdapların etkisi larvaların konsantrasyonuna ve hayatta kalmayı teşvik eden preyelerinin toplanmasına katkı sağlayabilir. İki su kütesinin fiziksel özelliklerinin yüzeyde belirginleşmesinde keskin bir tabakalaşma olduğu düşünülen frontal zonlarda, planktonik organizmaların konsantrasyonu artar. Planktonların toplanması horizontal hidrodinamik yaklaşmayla meydana gelen birikime yol açar (Kingsford, 1990). Maksimum larva konsantrasyonu kıta sahanlığının ön bölgelerinde yada nehir ağızlarında ortaya çıkabileceği kanıtlanmış olmasına rağmen (Govoni ve Pietrafesa, 1994), frontal zonların larval yaşamı doğrudan etkilediği ve üretimi arttırmasıyla da nihai larval hayatta kalmayı sağladığı görülür (Kjørboe vd., 1988). Upwelling sayesinde yüzeyin besinlerle zenginleşmesi de çoğunlukla larval yaşamıyla bağlantılı olan verimlilik artışına katkı sağlamaktadır (Cushing, 1990; Bakun, 1998). Rüzgâr stresi bu yapıları bozabilir ve Lasker (1981) tarafından "Stabil Okyanus" hipotezinde bildirilen, larvaların ve preyelerinin dağılmasına yol açarak yaşama olasılıklarını düşürür. Aynı zamanda rüzgar stresi, larvaların beslenme yada su kolonundaki konumunu korumak için daha fazla enerjiye gereksinim duyacağı son derece yüksek dinamik şartlar oluşturabilir, buda fizyolojik olarak daha yüksek mortalite potansiyeli olan zayıf larvaların meydana gelmesine neden olur (Gallego vd., 1996; Kloppmann vd., 2002). Küçük ölçekte rüzgar tarafından



oluşturulan türbülans kuvvetleri burada hayati rol oynar ve doğrudan bireyin beslenme başarısıyla ilişkilidir.

### 1.2.2. Biyotik Faktörler

Larval yaşamı etkileyen pek çok biyotik faktör vardır, bunlar arasında en önemlileri beslenme başarısı ve predasyon olarak telakki edilmektedir. Beslenme başarısı, içgüdüsel bir kavram olsa da, larva ve preyin düzensiz dağılımı, turbulans kuvvetleri, yoğunluğa bağlı mekanizmalar, davranışsal yönler, yaş ve büyüklük, prey kompozisyonu ve benzer faktörler arasındaki karmaşık ilişkileri kapsamaktadır (Leggett ve DeBlois, 1994). Eğer hedeflenen çalışma hipotezi, stoğa katılımdaki değişkenliği belirlemekse, beslenme başarısı ile besin bolluğu ayırt edilmelidir [Hjort'un (1914) "Kritik Periyot" hipotezi ve Cushing (1975)'in "Eşleşme-Eşleşememe" hipotezi]. Larvalar ve preyları ortamda bulunma açısından birbiriyle eşleşmektedir ve bu durum suyun vertikal yapısı, aktif vertikal yüzme vb. gibi durumlardan etkilenmektedir (Mckenzie vd., 1991). Larvalar, türe özgü paternlere bağlı olarak, beslenme başarısını maksimize etmek ve predatörlerinden kurtulmak için aktif vertikal göç yaparlar (Neilson ve Perry, 1990). Beslenme başarısı aynı zamanda rüzgârla oluşan türbülansla da desteklenir. Belli değerler içerisinde, küçük ölçekteki türbülans kuvvetlerinin kubbe biçimindeki bir yapı oluşturarak larvalar ve besin unsurları arasındaki rastlaşma oranını düzenlediği bilinmektedir (Rothschild ve Osborn, 1988; Mackenzie vd., 1994). Son yıllarda, "Türbülans-kurtulma" hipotezi, larva prey eşleşmesindeki artışı ve beslenme başarısını düzenleyen alternatif bir mekanizma olarak geliştirilmiştir (Franks, 2001). Bu hipotez, hem larvanın hem de preyin olumsuz türbülans karışımından uzaklaşmak için daha durgun sulara vertikal olarak göç yaptığını ileri sürmektedir. Aynı zamanda, birey düzeyinde; gelişim, predatörlük kapasiteleri ve prey yoğunluğu arasındaki etkileşimlerde önemli rol oynayabilmektedir (Laurel vd., 2001; Puvanendran vd., 2002). Mevcut geçerli görüşe göre; beslenme başarısının genç pre-fleksiyon aşamasındaki larvaların yaşamasında daha belirleyici bir etkisi olabilir, çünkü bu aşamada yetersiz beslenen yada sınırlı enerji kaynaklarından dolayı çok fazla enerji harcamış olanlar dayanamazlar. Besin keseli veya biraz daha olgun larvalar açısından predasyona uğrama yaygın olan mortalite sebebidir. Yinede, beslenme başarısının önemini ve bunu yöneten mekanizmaları tam olarak anlamak için saha çalışmalarındaki çoklu

parametrelerin birlikte değerlendirilmesi gerekir (Werner vd., 2001). Balık yumurta ve larvalarının predasyona uğraması çoğu mortalitenin belki de nihai nedeni olabileceği düşünülmektedir ve sayısız organizma tarafından predasyon gerçekleştirilebilmektedir (Bailey ve Houde, 1989). Larva büyüklüğü (Pepin vd., 1992), yaş (Litvak ve Leggett, 1992), açlık seviyesi (Green ve Mckormick, 1999), predatör yoğunluğu (Steele ve Forrester, 2002), ontogeni (Sheperd vd., 2000), sıcaklık (Elliott ve Leggett, 1997) ve gelişmişlik oranı (Houde, 1987) gibi faktörleri kapsayan ve predasyonu etkileyen sayısız faktör bulunmaktadır. Larvaların predasyon yoluyla kaybına neden olan mekanizmalar predatörlere karşı savunmasızlık çerçevesinde anlaşılmaktadır. Savunmasızlık küçük larvalarda ve daha yavaş gelişim gösteren larvalarda artmaktadır. Bu mekanizmalar karşılıklı olarak birbirinden bağımsız değildir ve daha geniş çerçevede “gelişim-mortalite hipotezi” içerisinde yer almaktadır. Literatür sonuçları zaman zaman çelişkili olsa da daha hızlı gelişen ve/veya daha büyük larva yüksek yaşama oranları sergiler görüşünü destekleyen çalışmaların sayısında artış söz konusudur (Hare ve Cowen, 1997). Suthers (1998) gelişim-mortalite hipotezi “daha büyük olan daha iyimidir?” kapsamında yer alan kondisyon çalışmalarının elverişliliğini analiz etmiştir. Söz konusu araştırmacı şu sonuca varmıştır; daha iyi vücut kondisyonuna sahip olmanın yalnızca hızlı büyüme ile bağlantılı bir avantajı vardır. Bunun yanı sıra optimal düzeyin altında beslenen larvalar yüzerlilik kontrollerini yitirebilirler, böylece uygun olmayan advektif transporta karşı daha savunmasız hale gelebilirler (Neilson vd., 1986; Sclafani vd., 1993; Sclafani vd., 2000).

Hastalık ve parazitizmin larval yaşamı etkileyen önemli biotik faktörler olup elverişsiz larvaları arttırabileceği düşünülmektedir. *Clupeoidler* (ringa balıkları) üzerindeki son çalışmalar juvenil ve yetişkin bireylerde hastalıktan dolayı yoğun mortalitenin yüksek olabileceği ispatlanmış olmasına rağmen (Gaughan vd., 2000; Ward vd., 2001) hastalık ve doğal popülasyonlar üzerindeki etkisi konusunda yeterli bilgi yoktur. Diğer taraftan, parazitlerin yumurtaları ve larvaları etkilediği (Crespo vd., 2001) ve potansiyel mortalite kaynağı olabildiği bilinmesine rağmen, genellikle saha çalışmalarında hesaba katılmamaktadır.

### 1.3. Kondisyon İndeksleri

Larvaların hayatta kalabilmesi, uygun hidrodinamik şartlar, düşük predasyon, yüksek beslenme başarısı ve daha belirsiz olmakla birlikte hastalık oluşumu gibi faktörlerin bir neticesi olduğu düşünülmektedir.

Kondisyon indeksleri; hassasiyet, tepki süresi, büyüklük ve yaş özelliği, saha ile laboratuvar tahminlerinin karşılaştırması, işlem süresi, maliyetleri ve gereksinim duyulanlar ve güvenilirliğine göre Ferron ve Leggett (1994) tarafından ayrıntılı olarak değerlendirilmiştir. Kondisyon indekslerini organizasyon seviyesine göre üç ana kategoriye ayırmışlardır: organizma, doku ve hücre seviyesi. Bu indeksler farklı zaman skalalarını düzenlemektedir. Tipik olarak indeksin organizasyon seviyesi ne kadar yüksek olursa (türün belirli gelişim safhası için çalışma esnasındaki çevresel şartlar ve bireyin spesifik beslenme durumu) çevresel değişime (örneğin besin, türbülans karışım oranı vs.) verilen tepki de o kadar uzun zaman almaktadır. Bazı indeksler doğrudan mortaliteyi (tipik olarak nekrotik dokular, örneğin McFadzen vd., 1997) tahmin etmeye yardımcı olabilirken diğerleri büyüme yada anlık beslenme durumunu (örneğin bazı biyokimyasal indeksler) gösterirler. Ferron ve Leggett (1994) tek başına bir indeksin “en iyi indeks” olamayacağı sonucuna varmışlar ve belirli bir soruya cevap verebilmek için genellikle spesifik bir kombinasyonun seçilmesi gerektiğini bildirmişlerdir.

#### 1.3.1. Organizma Seviyesinde Kondisyon İndeksleri

Organizma seviyesindeki kondisyon indeksleri tipik olarak bütünleyici karakterinden dolayı morfometrik yolla çalışılmaktadır. Balık larvalarında, morfometri yıllardır optimal düzeyin altındaki beslenmenin etkilerini belirlemek için kullanılmaktadır (Shelbourne 1957; Theilacker 1978). Bu indekslerin kullanımı, besin yetersizliğine tepki olarak vücut derinliği gibi bazı vücut kısımlarının) açlığa daha hassas vücut kısımlarına (örneğin göz çapı ve uzunluk) göre modifiye edilmesi temeline dayanmaktadır. Bu indekslerin çoğunun başarısı kısa işlem sürelerine, düşük maliyetli oluşuna ve kolay sonuç elde edilebilir olmasına dayanmaktadır. Bazı tip morfometrik ölçümlerle besinsel durumun ölçümünde mevsimler, alanlar ve yıllar arasında farklılıklar bulunmasına rağmen (Ferron ve Leggett, 1994) upwelling ve benzeri gibi kısa dönemli olaylara (bir haftadan daha az) karşı daha az

hassasiyetli olmalarından dolayı eleştirilmektedir. Diğer eleştiriler koruyucu maddelerden ve plankton kepçesiyle toplama hızından kaynaklanan canlının büzüşmesi, büyüklük ve yaşa bağlı hassasiyete dayanan, doğal örneklere karşılık kalibrasyon verisi arasındaki yüksek farklılıklar yada yüksek türe özgünlük olmasıdır.

### **1.3.2. Doku Seviyesinde Kondisyon İndeksleri**

Histolojik indekslerin hem laboratuarda hem de doğal ortamda kondisyonu belirleyebilme özelliği vardır (McFadzen vd., 1997; Sieg, 1998). Histolojik indekslerin başarısı kısmen, bu bilim adamlarının çalışmalarından elde edilebilen önemli bilgilere (uzun süren çalışmalar) atfedilmektedir ve yalnızca bunların doğru açlık indeksleri olduğu düşünülmektedir (Suthers, 1998).

Teknik, genellikle hücre ve organların incelenmesi ve bir derecelendirme sistemi kurulmasıyla oluşur. Her organ incelenir ve bir larvanın genel bir kondisyon ölçümünü belirlemek için hücresel yönü yada dokusal kohezyonu değerlendirilir. Çoklu derecelendirmeye histolojik indekslerin ölçümünün en önemli avantajı nispeten büyüklükten ve bir ölçüde de türden bağımsız olmasıdır (Ferron ve Leggett, 1994).

Yinede, daha ileri düzeyde laboratuvar araştırmasına gerek duyulan bazı sorunlar vardır. Bunlardan biri doku derecelendirme için objektif metotlara ihtiyaç duyulmasıdır. Gerçekten, çalışmaların büyük bir kısmı kalitatif yada yarı kalitatif ölçümleri kullanmaktadır (O'Connell, 1976; Sieg, 1992; McFadzen vd., 1997). Bağırsak ve karaciğer gibi bazı dokuların hücre yüksekliklerinin ölçümüyle sınırlandırılmış kantitatif veriler bazı türlerin erken larval aşamalarında kullanılmaktadır (Theilacker ve Porter, 1995; Catalán ve Olivar, 2002). Bununla birlikte bu ölçümlerden bazıları yalnızca uzamış sindirim kanalı bulunan türlerden elde edilebilmektedir (Theilacker ve Watanabe, 1989), ya da belli larval aşamalarla sınırlandırılmıştır. Son olarak, kas hücresi ve kas lifinin gelişim paternlerinin bazı karakteristikleri muhtemel kondisyon indikatörleri olarak ortaya konulmuştur. Bazı bilim adamları, sıcaklığın hipertropik yada hiperplazik kas gelişim paternlerini modifiye edebileceğini ortaya koymuşlardır (Johnston vd., 1995). Bununla birlikte besinin etkisi hiç test edilmemiş ve yalnızca bir saha çalışmasında kas gelişim paternlerinde muhtemel bir varyasyon kaynağı olduğu bildirilmiştir (Temple vd., 2000).

### 1.3.3. Hücre Seviyesinde Kondisyon İndeksleri

Bugüne kadar, balık larvalarında optimal düzeyin altında beslenme sırasında biyomoleküllerin genel bir hareket paternini ortaya koyan genel bir çerçeve ortaya konulamamıştır. İncelenen makalelerden elde edilen bilgilere göre; optimal düzeyin altında beslenen genç larvaların kısa sürede karaciğer glikojen depolarını (Govoni, 1980) ve endojen lipidleri (Hakanson, 1989) tükettiği ve bunun ardından canlının kas proteinlerinin katabolizmasına muhtaç olduğu, kas proteinleri de aç durumdaki larvaların temel enerji kaynağı (Pedersen vd., 1990) olduğu görülmektedir. Larva büyüdükçe lipid ve glikojen kaynakları, kas proteinleri kullanılmadan önce uzun süre açlıkla baş edebilmektedir. Yaşı bilinmeyen (tipik olarak doğadan yakalanan) bireylerde biyokimyasal kondisyon indeksi oluştururken (beslenmeden ziyade belirli geniş değişken kaynaklar) belirli bir açlığa hassas değişkenin daha az hassas değişkenle ilişkilendiren başka bir değişkene ihtiyaç duyulmaktadır.

Son yıllarda, moleküler düzeydeki kondisyon ölçümleri oldukça önemli derecede başarılı olmuştur (Ferron ve Leggett, 1994; Suthers, 1998). Bunun nedeni ise moleküler tekniklerin artması ve ölçüm maliyetlerinin azalmasıdır.

Balık larvalarındaki çalışmalarda kullanılan en popüler kondisyon indekslerinden biri RNA/DNA oranıdır, bu oran proteinin sentetik potansiyelini yansıtmaktadır (Buckley vd., 1999). Balığın büyümesi protein senteziyle birlikte gerçekleşmektedir (Love, 1970). Bu ise toplam kuru ağırlığın %50'sine kadar varan kısmını oluşturabilmektedir. Hücre başına RNA miktarı protein sentezi miktarına göre değişmektedir, fakat hücredeki DNA nispeten sabittir, RNA genellikle DNA ile standardize edilmektedir (Clemmesen, 1987). RNA/DNA balık larvalarında büyüme ve kondisyonun göstergesi olarak başarılı bir şekilde kullanılmaktadır (Clemmesen, 1996).

RNA/DNA kullanımına yönelik laboratuvar çalışmalarında (gelişim aşaması, büyüklük, doku, sıcaklık yada analitik metoda bağlı olarak) bazı problemler tespit edilmesine rağmen son derlemelerde (Bergeron, 1997; Buckley vd., 1999), saha çalışmaları için RNA/DNA'nın kullanımı hala tavsiye edilmektedir.

Yukarıda ifade edilen derlemelerden saha çalışmaları için bazı tavsiyeler çıkartılabilir: 1) maternal rezervlere bağımlı olmayan larvaların analizi için en uygun metot RNA/DNA'dır ve erken evrelerde, ontogenetik etkiler besin rasyonunun etkisiyle karmaşık

hale gelebilir. 2) değişkenliği azaltmak için tek dokunun (tercihen kas, en bol miktardaki doku olduğu için nispeten iyi bir kondisyon indeksidir) kullanımı tavsiye edilmektedir. 3) yalnızca aynı büyüklük aralığı ve sıcaklıklar karşılaştırılmalıdır. 4) analitik metotlar, RNA belirlemede hatalara karşı minimize edilmeye çalışılmalıdır. Bu kontrol dışı değişkenliği düşürme ihtiyacı Houde'dan (1989) sonra ortaya çıkmıştır. Houde (1989) günlük larval büyümede, yalnızca %5'lik bir azalmanın (RNA belirlemedeki değişkenlikten) larval safha boyunca bireylerin hayatta kalma ölçüsünü düşürebileceğini ortaya koymuştur.

Diğer tip biyokimyasal kondisyon indeksleri bazı metabolik enzimlerin aktivitesiyle ilişkili olanlardır. Juvenil ve yetişkin balıklarda açlığın ve azalan büyüme oranlarının bazı metabolik enzimlerin aktivitesiyle ortaya çıkabildiğini gösteren çalışmaları vardır (Lowery vd., 1987; Yang ve Somero, 1993; Mathers vd., 1992; Couture vd., 1998). Balık larvalarında yaygın olarak anaerobik glikolizis döngüsünden gelen laktat dehidrojenaz (LDH) ve Krebs döngüsünden gelen sitrat sintaz (CS) enzimleri kullanılmaktadır.

Laktat dehidrojenaz başlıca anaerobik katabolizma ile birlikte ortaya çıkarken, CS beslenmeyle uyarılan aerobik metabolizmanın göstergesidir (Sullivan ve Somero, 1980). Her iki enzimin aktiviteleri genellikle birim protein ile standardize edilmektedir. Laktat dehidrojenaz, düşük oksijen seviyesinin bulunduğu ortamlarda (tipik olarak kaslarda) pirüvatı enerji üretmek amacıyla laktata dönüőtürür. LDH'nin *Sciaenops ocellatus* ve *Lutjanus synagris* türlerinde besin kalitesi ve miktarıyla pozitif korelasyon gösterdiği (Clarke vd., 1992) ve *Brevoortia tyrannus* türünde ise optimal düzeyin altındaki rejimde beslenenlerde yüzmeye kabiliyetiyle negatif ilişkili olduğu bulunmuştur (Fiedler vd., 1998).

Sitrat sentezi oksaloasetatı krebs çemberindeki sitrata dönüőtürür. Bu tümüyle aerobik olan yolun hücre metabolizmasında temel rol oynadığı için daha korunmuş olduğu düşünülür. CS aktivitesi beslenen larvalara kıyasla aç larvalarda daha düşük olduğu belirlenmektedir, fakat farklı oranlarda beslenen larvalar buna dahil değildir (Mathers vd., 1992).

Her iki enzimin kullanımındaki genel düşünce canlının büyüklüğüne son derece bağlı olmasıdır. Nispi enzim aktiviteleri büyük larvalarda büyüklüğe bağlı olarak artmaktadır (Overnell ve Batty, 2000). Büyüklüğe göre metabolik derecelendirme erken larval safhada pek çalışılmamıştır ve bireyler arasında karşılaştırmalarda dar aralıklarla sınırlandırılması önerilmektedir (Brightman vd., 1997).

Flow Sitometre kullanarak hücre çoğalma oranlarıyla hesaplamaya dayanan biyokimyasal kondisyon indeksleri de kullanılmaktadır (Bromhead vd., 2000; Theilacker ve Shen, 2001). Bu metodun güvendiği/dayandığı hipotez ise büyümenin hücre bölünme oranlarının artmasıyla bağlantılı olduğudur. Normal ökaryotik hücre döngüsünde, DNA sentezine başlayan hücreler süreç tamamlanana kadar DNA miktarını artıracaktır. Flow sitometre kullanmak suretiyle her hücrenin DNA-spesifik florasan ölçümü yapılarak bölünen hücreler bölünmeyen hücrelerden ayırt edilebilmektedir. In vitro hücre kültür çalışmaları, G1 safhasında normal gelişen hücrelerin besin yetersizliği gibi hücre dışı faktörlerle pasifize hale geldiğini göstermiştir (Alberts vd., 1994).

Flow sitometre kullanarak balık larvalarının beyin ya da kas dokusundaki hücre çoğalma oranlarının belirlendiği az sayıda çalışma mevcuttur. Bu iki doku hücrelerinin, balıklarda çoğunlukla hayat döngüsü boyunca bölündüğü bilinmektedir (Greer-Walker, 1970; Bierse vd., 1980). Kas büyümesinin çevresel değişikliklere tepki olarak son derece yüksek esneklik gösterir (Weatherley, 1990; Johnston, 1999), buda kas dokusunu bu tip çalışmalarda iyi bir aday haline getirmektedir. Balık larvalarının beyin hücrelerinde yapılan çalışmalar, DNA sentetik aktivitesinin beslenme durumu yada çevre sıcaklığı gibi çeşitli faktörlere karşı hassasiyet gösterdiğini ortaya çıkarmıştır (Theilacker ve Shen, 1993ab; Bromhead vd., 2000). Olumlu sonuçlar elde edilmiş olmasına rağmen, bütün araştırmacılar bölünen hücre fraksiyonunun larval büyüme ve kondisyonda indikatör olarak kullanımı için daha kapsamlı çalışma yapılması gerektiği fikrinde hemfikirdirler.

#### **1.4. Nükleik Asitlere Dayalı Kondisyon İndeksleri**

Deniz ekolojisinde, denizel organizmalar ve toplulukların bulunduğu doğal ortamdaki fizyolojik durumlarının belirlenmesi başlıca zorluklar arasında yer almaktadır. Bu yüzden fizyolojiyi, besinsel etkileşimleri ve akuatik ekosistemlerin kompozisyonlarındaki değişimleri ve yapıyı daha iyi anlayabilmek için, yeni ve doğrudan ölçülebilen metotların geliştirilmesine ihtiyaç duyulmuştur. Metabolik aktivite ölçümleri denizel organizmalardaki çalışmalarda kondisyon indeksi olarak önemlidir ve grupların sahadaki metabolik oranlarının doğru olarak belirlenmesi ise zordur (Dahlhoff, 2004). Nükleik asitlerden türetilen indekslere dayanan moleküler metotlar (Bergeron, 1997) ve polimeraz zincir reaksiyonu son zamanlarda, bu alanda önemli bir araç haline gelmiştir (Nejstgaard

vd., 2003). Kavramsal olarak doğrulanmış pek çok biyokimyasal ölçüm ortaya konulmuştur, fakat bunların uygulanması çoğunlukla analitik karmaşıklıklardan ve örnekleme problemleri, kalibrasyon ve yorumlama sorunlarından dolayı sıkıntılar oluşturmuştur (Berdalet vd., 2005ab). Deniz ekolojisinde en yaygın kullanılan nükleik asit indekslerinden biri RNA/DNA oranıdır. RNA:DNA oranı, doğal ortamdaki akuatik organizmaların fizyolojik ve beslenme durumunu gösteren biyokimyasal indikatör olarak ilk kez 38 yıl önce ileri sürülmüş (Holm-Hansen vd., 1968) ve sürekli olarak da araştırılmıştır (Bulow, 1970; Chícharo ve Chícharo, 1995; Bulow, 1987; Clemmesen, 1994; Chícharo vd., 1998; Berdalet vd., 2005ab).

Bu indeksler, deniz biyolojisinde mikrobiyal topluluklarda (Dortch vd., 1983), omurgasızlarda ve balıklarda başarıyla uygulanmaktadır (Chícharo vd., 2001; Garcia vd., 2003; Garcia vd., 2006). Tüm bu bilgiler, denizel ortamda yakalanmış bir organizmanın yaşama potansiyelinin belirlenmesinde uygulanabilir. Bu bilgiyle, hedef türün popülasyon büyüklüğü denizin korunması ya da deniz balıklarının verim çalışmalarına katkı sağlayacak şekilde tahmin yapılabilir. Larval aşamalarda yüksek oranda mortalite olduğu ve bunun doğrudan açlıkla yada olumsuz beslenme şartlarından kaynaklanabileceği, bunun da larval gelişimi düşürdüğü ve potansiyel predatörlere yem olma süresini arttırdığı anlaşılmıştır (Pepin, 1989; Pepin vd., 1999). Aynı zamanda, RNA/DNA oranı, kıyısız oşinografik süreçlerle (örneğin upwelling) bentik kayalık kıyı ekosistemleri arasındaki sıkı bağlantıları göstermek amacıyla “nutrient verimlilik” modellerini test etmek için de kullanılmaktadır (Dahlhoff, 2004). Güvenilir ve doğru besinsel kondisyon ve büyüme indeksleri için yapılan araştırmalar sürekli geliştirilmektedir. Son yapılan çoğu araştırmanın objesi biyokimyasal araçlar olup, bunların başında nükleik asit indeksleri gelmektedir. Özellikle 1990’dan sonra başlıca RNA/DNA oranı gibi nükleik asit indekslerini ele alan makalelerin sayısında bir hayli artış vardır.

Larvalar ve kopepodlar gibi küçük denizel organizmalarda, bireysel düzeyde ölçüme olanak sağlayan florometrik tekniklerin uygulanmasıyla ilgili analitik metotların hassasiyeti önemli ölçüde artmıştır. Bunlar özellikle RNA/DNA oranının daha fazla kullanıldığı bu tür indekslerin bulunduğu ordolar (takımlar) arasında yer almaktadır (Buckley, 1984; Robinson ve Ware, 1988).

Chícharo ve Chícharo (2008) deniz ekolojisinde en sık kullanılan nükleik asit indekslerini şu şekilde karakterize etmiştir:



- Organizma seviyesinde indeksler; RNA/DNA oranları, DNA/kuru ağırlık ve RNA/protein.
- Populasyon seviyesinde; büyüme oranı, açlığın etkisi ve buna bağlı çalışmalar.
- Kommunité seviyesinde; besinsel etkileşimler, ekserji (kullanılabilir enerji) indeksleri ve prey tanımlama

Bütün bu indekslerin avantajları ve sınırlayıcı tarafları vardır (Chícharo ve Chícharo, 2008). Günümüzde, denizel organizmaların kondisyonunu belirlemede en yaygın kullanılan biyokimyasal indeks RNA/DNA oranı olup, belirli bir çevresel koşul altında bir eko-fizyolojik aktivite (büyüme, üreme, salgı vs.) indeksidir (Lucas ve Beninger, 1985). Bu indeks hücrenin sentetik kapasitesini verir ve genellikle canlının besinsel durumuyla korelasyon göstermektedir (Buckley vd., 1999). RNA/DNA oranı, başlıca genetik bilginin taşıyıcısı olan DNA'nın, türün somatik hücreleri içerisinde değişen çevresel şartlar altında miktar olarak stabil yada sabitken, RNA miktarının doğrudan protein senteziyle ilgili olduğu ve yaş, hayat evresi, organizma büyüklüğü, hastalık durumu ve değişen çevresel şartlara göre değiştiği varsayımına dayanmaktadır (Bulow, 1970). Bu yüzden iyi durumdaki organizma zayıf durumdaki organizmaya kıyasla daha yüksek RNA/DNA oranına sahip olma eğilimindedir (Bulow, 1987; Robinson ve Ware, 1988). RNA:DNA oranları; fitoplankton (Dortch vd., 1983), zooplankton (Ikeda vd., 2007), balık larvaları (Caldarone vd., 2003), juvenil ve yetişkin balıklar (Bulow, 1970; Thorpe vd., 1982), bivalveler (Chícharo vd., 2001;), cephalopodlar (Sykes vd., 2004) ve kabuklu su ürünleri (Chícharo vd., 2007) gibi geniş bir aralıktaki deniz organizmalarında kullanılmaktadır. RNA/DNA oranı bütün bu canlılarda besinsel durumu ortaya koymakta ve canlıların bulunduğu ortamdaki fizyolojik durumlarını izlemede faydalı olabilmektedir (Chícharo ve Chícharo, 2008)

Bazı çalışmalar, kullanılan tekniklerin esası bakımından RNA/DNA oranlarının kullanımına dikkat edilmesi gerektiğini savunmuştur (Grémare ve Vétion, 1994). Bununla birlikte, Caldarone vd. (2006)'nin larvalar ve juvenil balıklarda RNA/DNA oranlarının ölçümünde kullanılan dört spektrofotometrik protokolün interkalibrasyon çalışması, standart eğrilerle oran eğimlerinin oluşturulduğu taktirde bu problemin de çözülebileceğini göstermiştir. Bu sayede farklı spektrofotometrik metotları kullanan laboratuvarlar arasında RNA:DNA oranı değerlerinin karşılaştırılabilirliği ve interkalibrasyonu kolaylaşacaktır. Üstelik Berdalet vd. (2005ab) tespit sınırı DNA için 1 ng gibi oldukça düşük seviyeleri

belirleyebilen detaylı ve net bir protokol ortaya koymuştur ve bu protokol mikroalgler ve denizel metazoanlarda da kullanılabilir.

Diğer araştırmacılar ise balıklarda yaşa bağlı olarak RNA/DNA oranlarının değişeceğini tartışmışlardır. Yaşa bağlı olan bu sorundan kurtulmak için, RNA içeriğinden gelen bir “rezidual based” indeksin kullanılması ve allometrik etki büyüklüğünü [ln (standart boy) daki ln (RNA+1) in basit regresyonu] ortadan kaldırmak için standart boy yada kuru ağırlık gibi bağımsız bir değişkenin kullanılması tavsiye edilebilir (Chícharo vd., 1998; Suthers, 1996).

RNA/DNA oranı bazı balık larvalarında gün içinde değişim göstermektedir. Örnekleme yapılırken bu farklılığında dikkate alınması gerekmektedir (Chícharo ve Chícharo 2008). *Sardina pilchardus* türünde, Chícharo vd. (1998) alacakaranlıkta ve akşamın erken saatlerinde RNA/DNA değerlerinin önemli ölçüde yüksek olduğunu ortaya koymuştur. Rooker ve Holt (1996) ‘ta *Sciaenops ocellatus* larvalarının da RNA/DNA oranlarının gün içi farklılıklar gösterdiğini bulmuştur. Bu durum canlının endojen ritminden kaynaklanabilir. Örneğin, aydınlık/karanlık rejimi ile uyarılan endokrin aktiviteki yirmidört saatlik periyotlar, belli saatler süresinde balık larvalarındaki RNA konsantrasyonunu arttırmaktadır (Chícharo vd., 1998). Benzer günlük patern bivalvelerde de (*Ruditapes decussatus* ve *Cerastoderma edule*) gözlenmiştir (Chícharo vd., 2001). Bu problemin üstesinden gelmek için, organizmaların günün aynı periyodunda toplanması gerekmektedir.

Nükleik aside dayalı indekslerde cinsiyetin etkisinin de dikkate alınması gerekir. Chícharo vd. (2007) balık (*Pomatoschistus microps*), kabuklu (*Crangon crangon*) ve bivalve (*Ruditapes decussatus*) türlerinin erkek ve dişi bireyleri arasında RNA/DNA oranlarındaki farklılıkları ve nükleik asit konsantrasyonlarına bağlı diğer indeksleri hesaplamayı amaçladığı çalışmalarında bu durumu ortaya koymuşlardır. Söz konusu çalışmada, bu üç türün yumurtlama sezonunda erkek ve dişileri arasında nükleik asit konsantrasyonlarına dayalı indekslerinde önemli farklılıklar belirlenmiştir. Dişilerde birim kuru ağırlık başına daha yüksek RNA miktarı, erkeklerde ise birim kuru ağırlık başına daha yüksek DNA miktarı bulunmasından dolayı, dişi bireylerin RNA:DNA oranları erkeklerinkinden daha yüksek çıkmıştır. Seksüel dimorfizm, erkekler ve dişiler arasındaki fizyolojik ve davranış farklılıkları bu sonuçlar konusunda açıklayıcı olabilir. Eğer sonuçların elde edildiği örnekteki cinsiyet oranı söz konusu örneği temsil etmiyorsa

nükleik asit konsantrasyonlarındaki cinsiyetin etkisinden dolayı sonuçlar sapma gösterebileceği için ergin organizmaların RNA/DNA oranları dikkatle yorumlanmalıdır. Şayet erkekler alınan örnekte aşırı temsil oluşturuyor ve aşırı olduğu tahmin ediliyorsa yada dişiler aşırı bir temsil oluşturuyorsa, RNA:DNA oranları yanlış değerlendirilebilir (Chícharo ve Chícharo, 2008).

Farklı dokular yada vücut kısımları farklı RNA yada DNA doku ilişkilerine sahip olabileceğinden nükleik asit konsantrasyonlarını yada oranlarını belirlemek amacıyla farklı doku türleri seçilirken özel dikkat gösterilmesi gerekmektedir (Houlihan vd., 1988). RNA/DNA oranlarına dayanan bazı rutin larval kondisyon çalışmalarında, ileri yaştaki canlılar veya beslenme analizlerinde canlının baş kısımları ve/veya sindirim sistemiyle ilgili kısımları atılır (Chícharo ve Chícharo, 2008). Bu prosedürün sonuçlara etkisini belirlemek için ön çalışmaların yapılması gerekir (Chícharo ve Chícharo, 2008). Eğer literatürde belirtilen çalışma bütün larva kullanılarak yapılmışsa, benzer bir karşılaştırma yapabilmek için yine bütün larvanın kullanılacak olmasına dikkat edilmelidir (Chícharo ve Chícharo, 2008).

RNA miktarında, dolayısıyla RNA/DNA oranındaki en yüksek değişkenlik, yumurta keseli ve ilk beslenme aşamasındaki larvalardan ziyade ileri larval aşamada ortaya çıkmaktadır (Bergeron, 1997). Bu sebeple aynı araştırmacı DNA/Kuru ağırlığa (KA) dayanan bir alternatif ileri sürmüştü, bu oranın söz konusu larval safhalarda açlığa karşı daha hassas ve daha stabil olduğunu bildirmiştir. Bu paternin tutarlılığı, beslenmeyle dokuların ve özellikle beyaz kasların ribozomal RNA miktarındaki düzenli veri bulgularıyla kuvvetli bir şekilde desteklenmektedir (Chícharo ve Chícharo, 2008). Açlık sırasında DNA konsantrasyonu stabilitesini sürdürürken hücre ağırlığı azaldığı için diğer nükleik asitle türetilen indekslerden DNA/KA (Bergeron, 1997) ve DNA/Karbon (Bergeron, 2000)'da besinsel duruma yönelik hassastır (Chícharo ve Chícharo, 2008). Bu DNA indeksi, kondisyon azaldıkça artmaktadır, çünkü aynı ağırlıktaki dokuda daha fazla hücre bulunmaktadır (Chícharo ve Chícharo, 2008). Kısaca özetlenecek olursa, özellikle büyük larvalarda RNA/DNA oranı besinsel durumu belirlemede hassas değildir (Bergeron, 1997).

Son on yıldır RNA/DNA oranları yaygın olarak besinsel durum indeksi olarak, kısmen de büyüme oranı tahmininde kullanılmaktadır. Ne var ki bu konuda yapılan ilk çalışmalar, bazı kopepod ve kabuklu su ürünleri türlerinde (Dagg ve Littlepage, 1972; Sutcliffe, 1965) ve aynı zamanda balık larvalarında (Buckley, 1984) büyüme oranlarının

RNA konsantrasyonuyla ilişkili olduğunu ileri sürmüştür (Chícharo ve Chícharo, 2008). Denizel organizmalarda, dokudaki RNA'nın DNA'ya oranı nihai büyümenin güvenilir bir tahminini ortaya koyduğu ispatlanmıştır. Bir hücredeki RNA miktarı oran bakımından protein sentezine göre değişirken, DNA konsantrasyonları açlık durumunda bile oldukça sabit kalmaktadır. Bu yüzden RNA/DNA oranı bir hücrenin protein sentezleme potansiyelinin bir indikatörü yada göstergesidir (Buckley vd., 1999).

Denizel organizmalarda büyüme oranlarının tahmininde yaygın olarak kullanılan yalnızca birkaç yaklaşım vardır, bunlar arasında popülasyon grubunun (cohort) boylamsal örneklenmesi, otolit mikro-yapı analizi ve RNA/DNA oranı yer almaktadır. Arazide (doğal ortamda) popülasyon grubu analizinin üstesinden gelmek çoğunlukla zor bir iştir, otolit mikro-yapısının laboratuvar ölçümleri ise çok zahmetli bir tekniktir fakat her bir larvanın büyüme geçmişini detaylı bir biçimde ortaya koyabilmektedir. Hovenkamp (1990), otolitler ve nükleik asit oranları kullanılarak elde edilen büyüme hızlarının larvanın durumuyla ilgili tutarlı ölçümler verdiğini göstermiştir. Chícharo ve Chícharo (2008) ise bu bilgiye dayanarak larval bireyin yakalandığı andaki kondisyonunun canlının geçmişini belirlemeye yarayan bir ölçüm vereceğini bildirmiştir. RNA/DNA oranı, canlının bir gün kadar kısa bir sürede olabileceği gibi bir haftaya kadarki periyotlarda büyüme hızını tahmin etmeye yarayabilir (Bulow, 1987). Bu kısa zaman süreci, örnekleme anında çevresel şartlara bağlı büyüme ve yaşama değişkenliğini belirleme imkânı sağlayabilir. Büyüklüğe bağlı mortalite hipotezinde belirtildiği gibi; şayet büyüme hayatta kalmayı etkilediyse, yaşama oranları zaman geçtikçe artmıştır, hassas bireyler ve yavaş gelişen bireyler elimine olmuştur (Peterson ve Wroblewski, 1984). Pepin vd. (1999)'e göre en küçük bireylerin kondisyonu zayıf dağılım göstermekte olup maksimum değerlere yakındır. Öte yandan diğer yazarlar, örneğin sardalyada olduğu gibi metamorfoza kadar olan gelişim aşamasında dağılımın düştüğünü bulmuşlardır (Chícharo, 1998). Farklı türlerde RNA/DNA oranları ve büyüklük dağılımı arasında farklı ilişkiler bulunmuştur (Chícharo ve Chícharo, 2008).

Ayrıca, canlının boyca büyümesiyle birlikte RNA/DNA oranında genellikle bir artış paterni kaydedilmiştir (Bulow, 1987; Rooker ve Holt, 1996; Malzahn vd., 2003). Buna örnek olarak sardalya için erken larval safha (Chícharo, 1998) yada hamsiler için eşik larval büyüklüğün (4-15 mm) elde edilmesinden sonraki (Díaz vd., 2008) asimptotik RNA/DNA oranı verilebilir. Bunun tersi bir patern, balık büyüklüğünün artmasıyla

RNA/DNA oranının azalması ise dilbalığı juvenillerinde (Fonseca vd., 2006; Vinagre vd., 2008) gözlenmiştir. Canlıının gelişimi esnasında nükleik asit konsantrasyonunun düşmesi Buckley ve Bulow (1987), Mathers vd. (1994) ve Buckley vd. (1999), tarafından da tespit edilmiştir. Bu çalışmalara göre, söz konusu durum, küçük balıklarda daha yüksek hiperplasia oranına karşılık daha büyük balıklarda hipertropinin daha yüksek fraksiyonu oluşturmasından kaynaklanmaktadır.

### 1.5. Çalışma Kapsamındaki Türlerin Bazı Biyoeolojik Özellikleri

Karadeniz balıkçılığının Türkiye'nin canlı deniz kaynakları içerisinde özel bir yeri vardır. Karadeniz'de avlanan balıklar toplam avcılığın %82'sini oluşturmaktadır. Türkiye'nin Karadeniz'den avladığı hamsi (*Engraulis encrasicolus*), Karadeniz'deki toplam avın büyük bir kısmını oluşturmaktadır. Hamsi aynı zamanda diğer birçok türün (kalkan *Psetta maxima*, mezigit *Merlangius merlangus exinus*, istavrit *Trachurus mediterraneus*, palamut *Sarda sarda*, lüfer *Pomatomus saltator* vs.) besinini oluşturduğu için hamsi stoklarındaki artma/azalma diğer türleri de olumlu/olumsuz yönde etkilemektedir (Anonim, 2010). Benzer şekilde istavrit türü de Karadeniz balıkçılığının hamsi'den sonra gelen en önemli kaynağıdır. Karadeniz'de yaşayan istavrit türü konusunda birden fazla tür bulunduğu ve buna bağlı olarak farklı isimlendirmelerin yapıldığı kaynaklar bulunmaktadır. Fakat bu hususta en son yapılan en kapsamlı filogenetik çalışma Karadeniz'de yalnızca *Trachurus mediterraneus* türünün yayılım gösterdiği bildirilmiştir (Bektaş ve Beldüz, 2008).

#### 1.5.1. Hamsi (*Engraulis encrasicolus*)

Hamsinin yumurtlama ve beslenme alanları, Karadeniz'in Kuzeybatı bölgeleridir. Bu bölgelerde yazın beslenen ve yumurtlayan hamsiler, kışlamak için daha ılıman olan Karadeniz'in Türkiye sahillerine göç ederler. Ancak son yıllarda hamsi stoklarının özellikle geleneksel üreme alanlarında bazı değişimler olduğu ileri sürülmektedir. Niermann vd. (1994) tarafından 1991–1992 yıllarında yapılan çalışmada, hamsinin kuzeybatı Karadeniz'deki geleneksel yumurtlama alanlarını terk ederek güneydoğu

Karadeniz kıyılarını yeni yumurtlama alanları olarak seçtiği tespit edilmiştir. Güney Karadeniz'deki yumurtlama alanlarından en önemlisi Sinop kıyılarıdır, fakat Trabzon, Rize ve Artvin Kıyılarında yapılan çalışmalarda da Mayıs ayından itibaren yumurta ve larva tespit edilebilmektedir. Geleneksel yumurtlama alanları olan Ukrayna kıyılarında yapılan örnekleme yoğunlukları, Sinop kıyılarında yapılan örnekleme yoğunluklarına hemen hemen yakın bir seyir izlemektedir (Bat vd., 2007).

Genel olarak hamsi yumurta ve larvalarına Sinop kıyılarında Mayıs-Eylül aylarında rastlanmış olup (Satılmış, 2001; Satılmış, 2005), vertikal çekimlerde en yoğun yumurta ve larva Temmuz'da bulunmuş, horizontal çekimlerde ise yumurta yoğunluğuna Temmuz'da, larva yoğunluğuna ise Haziran'da rastlanmıştır (Satılmış, 2005). 24 saatlik kuluçka süresi dikkate alındığında yumurta ile larva arasında bir sıralama olmaması normal olarak tanımlanabilir. Hamsilerin yumurtlama zamanlarına ilişkin çeşitli araştırmacıların farklı sularda buldukları veriler mevcuttur. Bu verilere göre hamsilerde yumurtlama Azak Denizi'nde Mayıs, Mayıs sonu ve Haziran'da başlayıp Ağustos'ta son bulurken, Karadeniz'de Mayıs'ta başlayıp Eylül'de, Marmara ve Akdeniz'de Nisan'da başlayıp Eylül'de sona ermektedir.

Karadeniz pelajik türlerinden ekonomik olarak en önemlisi olan hamsi göçmen bir balık olup yaklaşık 3–4 yıl yaşar. Eşeyssel olgunluğa ulaşma birinci yılın sonunda olur. Yani yumurtadan çıkan hamsi larvaları 11–12 ay sonra cinsi olgunluğa erişir ve yaşam boyunca iki defa döl verir. Her yumurtlama periyodunda 13.000–40.000 civarında yumurta bırakır. Hamsi balığında üreme genel olarak su sıcaklığının 17,5–27 °C, tuzluluğun ‰12–18, pH'ın 8,3–8,4 ve derinliğin 5–10 m olduğu kıyı bölgelerinde meydana gelir (Slastenenko, 1956).

Hamsi yumurtası elipsoid şekilli olup kapsülü düzgündür. Perivitellin mesafesi dardır. Vitellüs segmentli ve yağ damlası yoktur. Yumurta içindeki embriyo uzun eksen boyunca gelişmeye baslar ve hem vitellüs hem de embriyo üzerinde pigmentasyon bulunmaz. Yumurtlama Mayıs-Eylül ayları arasında görülmektedir. Yapılan bazı çalışmalarda hamsi yumurtasının uzun ekseninin 1,05–1,55 mm, küçük ekseninin ise 0,65–0,80 mm arasında değiştiği bulunmuştur (Dekhnik, 1973).

Hamsi larvası yumurtadan çıkıştan vitellüs absorpsiyonunun sonuna kadar olan embriyonik fazda iken, preanal bölge vücudun oldukça gerisindedir. Prelarva, ince uzun olup baş hizasından anüse kadar devam eden ovoidal bir vitellüs kesesi vardır.

Pigmentasyon çok zayıftır. Anüs geride ve total boyun 3/4'ü oranında yer alır. Yumurtadan yeni çıkan prelarvaların boyu 2–2,5 mm arasındadır. Prelarval safha sonunda 3–4 mm'ye ulaşır. Postlarval safhada ise vitellüs absorpsiyonu bitmiştir. Vücut ince uzun, bağırsak düz ve vücudun 3/4'ünün biraz gerisinden dışarı açılır. Göz pigmentasyonu belirginleşmeye başlamıştır. İleri safhalarda medioventral pigmentasyona ilaveten mediolaterallerde, dorsal ve anal yüzgeçlerde pigmentasyon görülür. Vücudun orta kısmında hava kesesi oluşmuştur (Yüksek, 1993).

### 1.5.2. İstavrit (*Trachurus mediterraneus*)

*Carrangidae* familyası'nda yer alan *Trachurus* genusu Türkiye sularında üç türle temsil edilmektedir (Whitehead vd., 1986; Fischer vd., 1987); *Trachurus trachurus*, *Trachurus mediterraneus* ve *Trachurus picturatus*. *Trachurus trachurus* türü Atlantik Okyanusunun doğusundan başlayarak Akdeniz, Karadeniz, Marmara Denizi'ni de kapsayarak Atlantik'in batısına hatta Pasifik'in batısından Hint Okyanusu'da kadar uzanan bir dağılım göstermektedir. *Trachurus mediterraneus* ve *Trachurus picturatus* türleri ise daha sınırlı bir dağılım göstermektedir. *Trachurus picturatus* türünün yayılım alanı Akdeniz'deki belli alanları kapsamaktadır. *Trachurus mediterraneus* türü ise yalnızca Marmara Denizi ve Karadeniz'de yayılım göstermektedir. Türkiye sularındaki *Trachurus* türleri üzerinde en son yapılan filogenetik çalışma Karadeniz kıyılarında yalnızca *Trachurus mediterraneus* türünün yayılım gösterdiğini ortaya koymuş (Bektaş ve Beldüz, 2008) ve Karadeniz'de birden fazla istavrit türünün bulunduğu iddiasını ve bundan kaynaklanan karmaşayı da ortadan kaldırmıştır. Dolayısıyla tez kapsamında ele alınan tür *Trachurus mediterraneus*'tur.

İstavrit bütün yaşamını Karadeniz'de geçiren aşırı avcılığa bağlı olarak son 20 yılda av miktarı azalan bir türdür (Anonim, 2010). İstavrit avcılık verileri son on yıl ele alındığında dalgalanan bir seyir izlediği görülmektedir (Türkiye İstatistik Kurumu TÜİK, 2010). TÜİK kraça ve karagöz olarak belirtilen iki ayrı istavrit avcılık verisi bildirmesine rağmen yukarıda belirtilen türle ilgili yayılım alanına yönelik karmaşadan dolayı bu değerleri farklı değerlendirmek gerekebilir. Avcılığın yaklaşık %80'i Karadeniz balıkçılığında sağlandığı ve istavrit avcılığıyla ilgili bu değerlerin benzer oranda Karadeniz kaynaklı olabileceği düşünüldüğünde ve Bektaş ve Beldüz (2008) tarafından

yapılan en güncel filogenetik çalışma göz önüne alındığında bu verilerin büyük oranda *Trachurus mediterraneus* türüne ait olabileceği anlaşılmaktadır.

Pelajik ve göçmen bir balık olan istavritin yumurtaları pelajik olup bir defada bırakılmaz. Yumurtlama Mayıs ayının ikinci yarısından Ağustos ayının ilk yarısına kadar devam edip, ortalama yumurta verimi 65.000 civarındadır (Ivanov ve Beverton, 1985). Yumurtaları küresel olup vitellüsü segmentlidir. Döllenen yumurtaların 24 saat sonra çapı 0,9–1,05 mm, yağ damlası çapı ise ortalama 0,27 mm'dir (Russell, 1976). Dekhnik (1973) ise yumurta çapını 0,73–1,00 mm, yağ damlası çapının 0,19–0,25 mm arasında tespit etmiştir.

Yumurtadan yeni çıkmış bir larvanın boyu 2,5 mm uzunluğundadır. En karakteristik özelliği, segmentli olan vitellüsteki yağ damlasının anterior konumlu ve yumurta kesesinin başın ön ucundan daha da ileride olmasıdır. Prelarvalardaki pigmentasyon, melanofor ve kahverengimsi-sarı kromatoforlardan oluşur. Başlangıçta vücut üzerine düzensiz olarak yayılan melanoforlar, gelişmeye paralel olarak değişmektedir. İlk önce kuyruk bölgesi melanoforları serbest hale gelir ve birkaç melanofor dorsalde ve rektum seviyesinde ventral primerdial yüzgeç belirir.

İstavritlerin başlıca kışlama alanları Kırım, Kafkasya, Anadolu kıyılarının ılık suları ile kısmen Marmara Denizi'dir. İlkbahardaki beslenme ve yumurtlama göçü, Nisan ayının ikinci yarısında ve Mayıs ayının başında başlar. İstavrit sürüleri; İstanbul Boğazı'ndan Bulgaristan ve Romanya kıyıları boyunca kuzeye, Kırım'dan ise kuzeybatıya doğru hareket ederler. Kafkasya ve Anadolu'nun doğu kıyılarındaki istavrit sürüleri de Kerç Boğazı açıklarına göç ederler. Eylül ayından başlayan sonbahar yolculuğu Ekim-Kasım aylarında maksimuma çıkar. Besinlerini küçük balıklar ve eklembacaklılar teşkil eder (Ivanov ve Beverton, 1985).

## 1.6. Önceki Çalışmalar

Deniz balıkları larvalarının beslenme kondisyonunu belirlemeye yönelik yapılan ve bu amaçla güvenilirliği ispatlanmış olan nükleik asitleri (toplam RNA ve DNA) temel alan çalışmalar son yıllarda artış göstermektedir (Chícharo ve Chícharo, 2008). Özellikle pelajik balık stoklarını teşkil eden türlerin erken dönem beslenme durumuna yönelik ekonomik öneme sahip Atlantik ve Pasifik türlerinin yanı sıra Baltık Denizi'ndeki bazı türlere yönelik



çalışmalar yapılmıştır. Deniz balıkları larvalarının hayatta kalabilmesi için kritik RNA/DNA değeri türe özgüdür. Kritik RNA/DNA değeri açlık kriteri olarak kullanılmaktadır, bu değerin altında kalan bireylerin ilerleyen süreçlerde yaşama şansı olmazken, söz konusu değerin üzerindeki larvalar beslenme yönünde olumlu olarak değerlendirilmektedir. Yapılan çalışmaların bazıları yalnızca laboratuvarda yapılan denemelerden ya da yalnızca saha çalışmasıyla doğadaki larvaların açlık durumunu inceleyen araştırmaları kapsarken bazı çalışmalar ise hem laboratuvar çalışmasında elde edilen verileri hem de bu verilerin saha çalışmasında denizden toplanan larvalar açısından değerlendirilmesini içeren kapsamlı çalışmalardır. Örneğin, Kono vd. (2003) Japon hamsisi (*Engraulis japonicus*) larvalarının ilk beslenme dönemindeki beslenme durumlarının tespiti için RNA/DNA oranını kullanmışlardır. Bu araştırmacılar aynı zamanda aç kalan bireylerde geri dönüşü olmayan noktayı da tespit etmişlerdir. Örneklenen larvalarına 9 gün süreyle farklı besleme rejimleri uygulamış ve elde edilen sonuçlara göre RNA/DNA oranının doğal stoklara uygulanabilirliğini belirtmiştir. Bazı araştırmacılar ise daha önce laboratuvar çalışmalarında elde edilmiş diğer araştırmacıların sonuçlarına göre denizden örnekledikleri larvaların açlık durumunu analiz etmişlerdir. Kritik RNA/DNA oranına yönelik çizgili levrekte (*Morone saxatilis*; Martin vd., 1985), Atlantik morinası/mezgiti'nde (*Gadus morhua*; Lough vd., 1996), sardalyalarda (*Sardina pilchardus*; Chicharo 1996 ve 1997), Japon pisi balığında (*Paralichthys olivaceus*; Gwak ve Tanaka, 2001), Japon hamsisinde (*Engraulis japonicus*; Kono vd., 2003), Pasifik ton balığında (*Thunnus orientalis*; Tanaka vd., 2008) çalışmalar yapılmıştır.

Bu çalışmalar incelendiğinde, kritik RNA/DNA oranını, Martin vd. (1985) çizgili levrekte 2,0, Lough vd. (1996) Atlantik morinası ve Atlantik mezgiti türlerinin her ikisi için 4,1, Chicharo (1996, 1997) sardalyada 1,3, Gwak ve Tanaka (2001) Japon pisi balığında 1,08-5,36 aralığında, Tanaka vd. (2008) Pasifik ton balığında 1,5-3,0 aralığında tespit etmişlerdir. Kono vd. (2003) ise Japon hamsisinde farklı sıcaklıklarda yaptıkları çalışmada sonuçları değerlendirirken kritik RNA/DNA oranına yönelik belirgin bir değer vermekten kaçınmıştır. Fakat bu çalışmanın grafikleri detaylı incelendiğinde Japon hamsisinde ilk gün aç bırakılan larvaların kritik aşamaya girdiği görülürken bu noktadaki kritik oran yaklaşık 1,0 civarında olduğu saptanabilmektedir. Yine bu çalışma içerisinde proteine bağlı "0" büyüme, geri dönüşü olmayan nokta detaylı olarak tartışılmıştır.

Laboratuvar ortamında yapılan bu denemelerle elde edilen kritik RNA/DNA oranına göre denizde yakalanan larvaların yakalandığı andaki açlık durumu karşılaştırılarak açlık durumunda olan larvaların % oranını belirlemeye yönelik çalışmalar da rapor edilmiştir. Clemmesen ve Doan (1996) hamsi balığında (*Engraulis anchoita*) 5-6mm'lik büyüklük grubunda aç bireylerin oranını %52,4 gibi yüksek bir değerde bulmasına rağmen diğer büyüklük gruplarında %0,0-1,75 arasında bulmuştur. Kimura vd. (1996) Japon sardalyası'nda (*Sardinops melanostictus*) ilk beslenme döneminde açlık sınırındaki bireylerin oranını %0 olarak hesaplamıştır. Chícharo vd. (1998) İspanya kıyılarında sardalya (*Sardina pilchardus*) larvalarının açlık durumunu daha önce yaptığı çalışmalarda tespit ettiği (Chícharo, 1996, 1997) kritik RNA/DNA oranına göre değerlendirmiş ve yetersiz beslenen bireylerin tüm larvalara oranını %0,0-4,8 olarak hesaplanmıştır. Yine aynı araştırmacı denizden topladığı larvalarda RNA/DNA oranının %0-2,5 arasında değişim gösterdiğini belirtmiştir. Yine aynı tür üzerinde aynı araştırmacının yapmış olduğu diğer bir çalışmada bu oranı %0,0-4,8 arasında hesaplamıştır (Chícharo vd., 2003). RNA/DNA oranını Gwak ve Tanaka (2001) Japon pisi balığında %5,5, Tanaka vd. (2008) Pasifik Tuna balığında %4,35–25,77 aralığında hesaplamıştır. Kritik RNA/DNA oranı ve buna bağlı olarak aç bireylerin oranı tamamen türe özgü olduğu ve larvanın belli büyüklük grubuna göre değişiklikler gösterebildiği görülmektedir.

Nükleik asitleri temel alan diğer araştırmalara kısaca değinilecek olursa; Clarke vd. (1989) kafadanbacaklılardan mürekkep balığında (*Sepia officinalis*), Mercaldo-Allen vd. (2006) karabalıkta (*Tautoga onitis*) RNA/DNA oranı ve su sıcaklığına bağlı büyümeyi tahmin etmede bir model üzerinde çalışmışlar ve RNA/DNA oranıyla büyüme arasında pozitif bir ilişki olduğunu belirtmişlerdir. Fonseca vd. (2006) iki dil balığı türü *Solea solea* ve *Solea senegalensis* juvenillerinin büyüme farklılıklarını RNA/DNA oranlarındaki karşılaştırmayla ortaya koymuştur. Höök vd. (2008) körfez ve açık deniz habitatlarındaki Baltık Deniz'indeki çaça larvalarının ve kopepodların RNA/DNA oranları üzerinde çalışmışlardır. Tanaka vd. (2008) Pasifik ton balığında, *Thunnus orientalis*, kuluçkahanede yetiştirilen larvalar ve doğadan yakalanan larvalarda RNA/DNA oranlarıyla ilgili çalışma yapmıştır.

### 1.7. Çalışmanın Gerekçesi ve Amacı

Yukarıda literatür taramasında belirtildiği gibi nükleik asitleri temel alan çalışmalar larval kondisyonu belirlemede son derece güvenilir olup, son yıllarda bazı pelajik deniz türlerinin larvaları üzerinde bu tür çalışmalar yoğunluk kazanmıştır (Chícharo ve Chícharo, 2008). Karadeniz'in ekonomik pelajik türleriyle ilgili ihtiyoplankton sörvey çalışmaları yapılmasına rağmen bu konuda hiçbir çalışma rapor edilmemiştir ve stoklardaki dalgalanmalar farklı veriler ve hipotezlerle desteklenerek açıklanmaya çalışılmıştır.

Bu araştırma Karadeniz'in en önemli pelajik türlerinden hamsi (*Encraulis encrasicolus*) ve istavrit, (*Trachurus mediterraneus*) üzerinde yapılmıştır. Bu çalışmanın amacı 1) söz konusu türlerin doğadan toplanan gözlenmiş yumurtalarının laboratuvar şartlarında inkübe edilerek farklı besleme serileri oluşturulması, yaşama oranları, kritik açlık seviyeleri, bireysel seviyede nükleik asit (RNA/DNA) ve protein değerleri ve geri dönüşü olmayan noktanın belirlenmesi 2) doğadan bu türlerin larvalarının toplanması ve toplandığı andaki besinsel kondisyonunun birinci aşamada elde edilen verilerle karşılaştırarak açlık durumunun belirlenmesidir.

## 2. YAPILAN ÇALIŞMALAR

### 2.1. Örnekleme Sahası

Örnekleme sahası olarak, yapılan ön denemelerde yumurtaların en yoğun olarak tespit edildiği ve laboratuara en yakın bölge olan Sürmene Çamburnu Limanı yakınındaki alan seçildi. Bu bölge, koordinatları  $40^{\circ}55'04''N$ ,  $40^{\circ}10'41''E$  olan noktayı merkez alan Doğu-Batı ekseninde ve Kuzey-Güney hattında yaklaşık 2 km mesafeyi kapsayan, aynı zamanda kıyı hattına yakın alanı tarayan bölge olarak seçildi(Şekil 1). Örnekleme çalışması, KTÜ Sürmene Deniz Bilimleri Fakültesine ait olan R/V YAKAMOZ adlı araştırma teknesiyle yapıldı. Hamsi ve İstavrit yumurta örnekleme Haziran-Ağustos, larva örnekleme Temmuz-Eylül ayları süresince yapıldı. Söz konusu bölge içerisinde çekimler Doğu-Batı istikametinde ve ters istikamette yapılmış olup her örnekleme çalışmasında belirlenen süreleri aşmamak üzere ortalama 6 çekim yapıldı.



Şekil 1. Bu çalışma kapsamında balık yumurta ve larvalarının toplandığı örnekleme sahası.

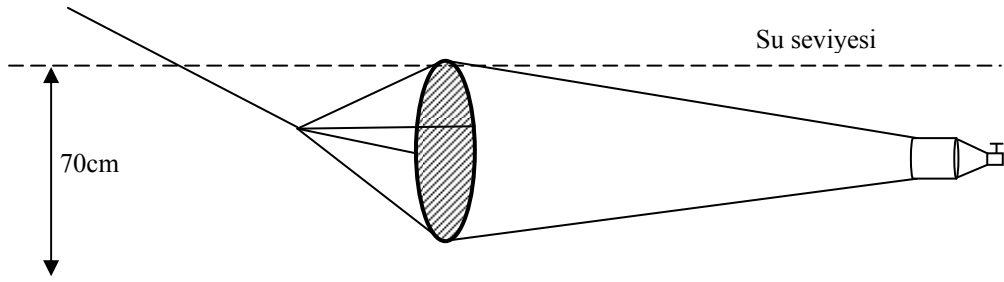
## 2.2. Yumurta ve Larvaların Toplanması

Yumurta toplamak için kepçenin uzunluğu 2,5 m, ağız çapı 50 cm, ağ göz açıklığı 500 µm olarak tasarlanmıştır. Larva toplamak için yapılan plankton kepçesinin uzunluğu 3 m, ağız çapı 65 cm, ağ göz açıklığı ise 300 µm. Her iki kepçenin ağız kısımlarına denizanası ve benzeri büyük materyallerin girmesini önlemek ve kolektörün sağlıklı çalışması için 1 cm göz açıklığında ağ yerleştirildi. Her iki kepçenin kolektör hacmi 500 ml olarak tasarlandı.

Türlere ait yumurta ve larvalar, yukarıda ayrıntıları belirtilen bölgeden sabah erken saatlerde toplandı. Yumurta ve larva örneklemeleri ayrı seferlerde yapıldı. Plankton kepçesi teknenin, denizle temasından en az etkilenen, iskele yada sancak bordasına 1 m mesafede denize doğru sarkacak şekilde sabitlendi ve çekimler yatay olarak, su yüzeyini de kapsayacak biçimde 50-70 cm derinliğe kadar olan su kolonunu tarayacak ölçekte gerçekleştirildi (Şekil 2). Çekim sırasında teknenin hızı 1-1,5 knot olarak sabitlendi, çekim süresi yumurta örneklemede en fazla 10 dakika, larva örneklemede ise 5 dakika olarak sürdürüldü. Çekim bittikten sonra kepçenin ağız kısmından kolektöre kadar olan kısım deniz suyuyla yıkanarak kolektör dışında kalan yumurta ve larvaların kolektörde toplanması sağlandı.

Bu aşamalardan sonra, yumurta örneklemesi için; kolektörde toplanan örnek 1 L hacimli taşıma kabına aktarıldı ve üzerine bir miktar deniz suyu ilave edilerek örnek seyreltilti. Örneklerin saklandığı taşıma kapları laboratuara ulaştırılincaya kadar strafor kutu içerisinde kapalı olarak muhafaza edildi. Sefer sonunda stoklanmış örnekler en fazla 3 saat içerisinde laboratuara ulaştırıldı.

Larva örneklemesi için; kolektörde toplanan materyal 300 µm göz açıklığındaki filtreden süzöldükten sonra fazla su uzaklaştırıldı ve içerisinde buz bulunan strafor kutulara yerleştirildi. Larva örnekleri 1,5 saat içerisinde laboratuara ulaştırıldı, soğuk ışık aydınlatması ve buzlu zemin kullanılarak mikroskop altında boy ölçümü için fotoğraf çekildi, bireysel olarak 0,5 ml hacimli steril ependorf tüpüne aktarılıp markalandı. Nükleik asit analizi için larvaların ellendiği tüm işlemlerde steril eldiven, ince uçlu steril pipet ve steril petriker kullanıldı. Daha sonra örnekler -70°C'de nükleik asit analizleri yapılincaya kadar stoklandı.



Şekil 2. Yumurta ve larvalar denizden toplanırken uygulanan çekim planı

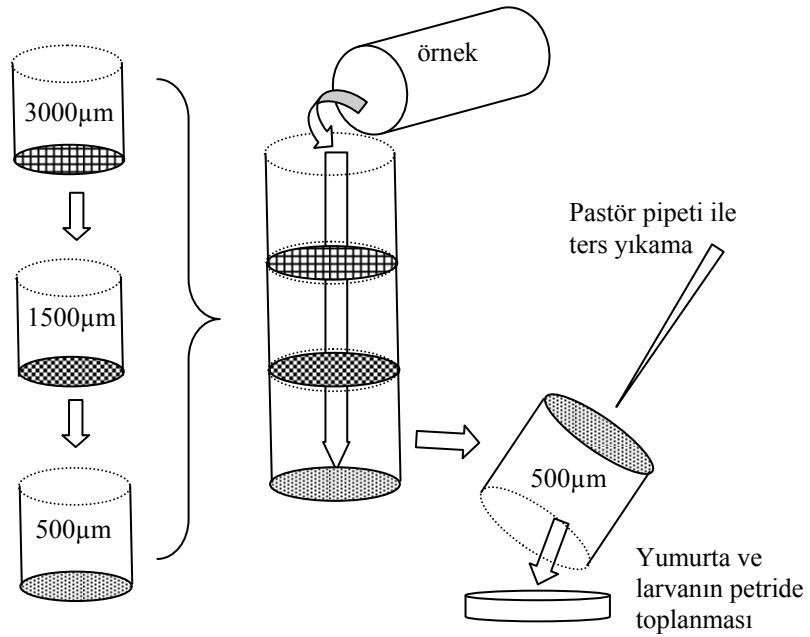
### 2.2.1. Yumurtaların Seleksiyonu

Yumurtaların seçilme işlemi “Genetik Laboratuvarı”nda yapılmıştır. Yumurtaların süzülmesi için her biri 9 cm çapında, 22 cm uzunluğunda silindirik, 500-1500-3000 $\mu$ m göz açıklığında birbirine geçmeli filtre düzenekleri kullanıldı (Şekil 3). 500  $\mu$ m göz açıklığındaki filtre yüzeyinde toplanan preparat ince uçlu plastik pastör pipeti yardımıyla ters yıkama ile petri plağında toplandı. Yıkama suyu olarak daha önce 10  $\mu$ m kartuş filtre ve UV’den geçirilmiş steril taze deniz suyu kullanıldı (Bu steril deniz suyu aynı zamanda yumurtaların inkübasyonu ve larvaların büyütülmesiyle ilgili yapılan tüm çalışmada kullanıldı). Petri’de toplanan preparatın içerisindeki yüzerliliğini muhafaza eden canlı yumurtalar stereo ve ışık mikroskobu altında pipump ile silikon hortumla bağlantılı ince uçlu cam pipet yardımıyla sifonlanarak ayrıldı. Yumurtaların tür ayrımında Arım (1957), Dekhnik (1973), Russell (1976), Moser (1983), Yüksek ve Gücü (1994), Mater ve Çoker (2002) ve Çoker’in (2003) belirledikleri sistematik tanımlamalar kullanıldı.

### 2.2.2. Yumurtaların İnkübasyonu

Yumurtaların inkübasyonu ve denemeler Plankton Üretim Laboratuvarında yapılmıştır. İnkübasyon için 1 L hacimli cam beherler kullanıldı, yumurta stoklama yoğunluğu 2000 adet/L olarak tutuldu. İnkübasyon esnasında havalandırma işlemi, çok ince hava veren ve larvalarda herhangi bir probleme sebep olmayan özel “ahşap” tipi ve deniz suyuna dayanıklı havalandırma aparatları kullanıldı. Laboratuardaki deneysel çalışma sıcaklığının kontrolü klima yardımıyla yapıldı. Sıcaklık doğrulaması için, yeterli

miktarda deniz suyu ile dolu behere yerleştirilen dijital termometre sürekli aynı ortamda açık tutularak takip edildi. Aydınlatma için 2000 lüks ışık şiddetinde ve gün ışığına eşdeğer ışığa sahip özel tip flüoresan lamba kullanıldı. Işık kaynağı su yüzeyinden 60 cm yukarıda olacak şekilde sabitlendi. Aydınlatma periyodu doğal mevsimsel şartlara uygun olarak gerçek zamanlı otomatik zamanlayıcı (LegrandTimer Systems, Germany) kullanılarak ayarlandı.



Şekil 3. Yumurta ve larva süzme düzeneği

### 2.2.3. Göz Pigmentasyonu ve Ağız Açılması

Yumurtalardan 20 adedi gözde pigmentasyon oluşumunu tespit etmek amacıyla 40 ml hacimli petri plağına tutuldu. İki farklı sıcaklıkta (21°C ve 25°C) tutulan larvalarda pigment oluşumu kaydedilinceye kadar saatlik ve dakikalık aralıklarla mikroskopta fotoğraflar çekildi.

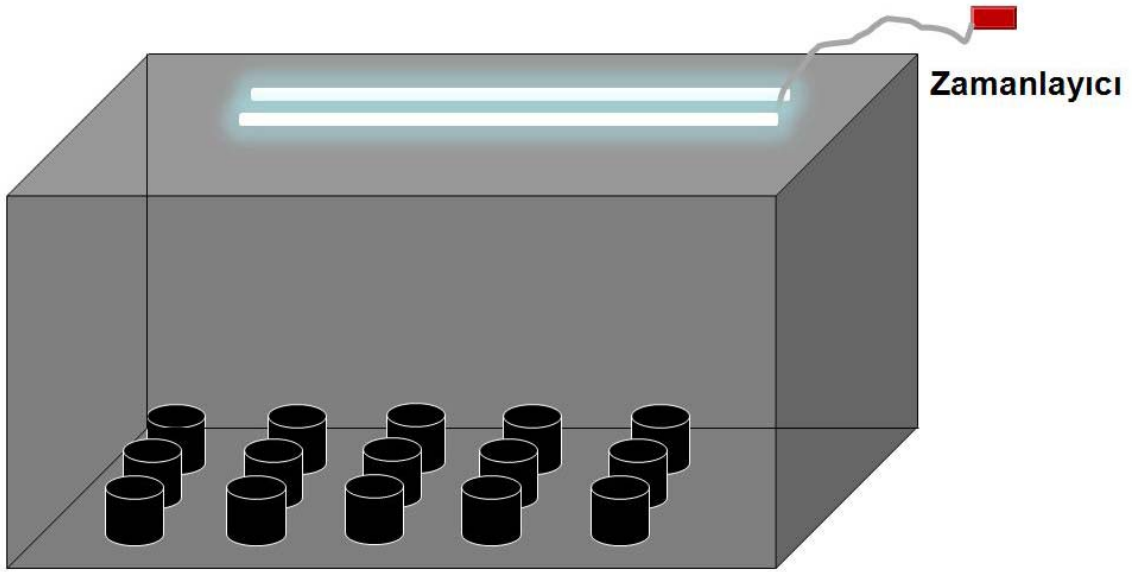
### 2.3. Larvalara Verilen Canlı Yemler ve Üretimi

Larvaların beslenmesinde “Stip” olarak tanımlanan ve larvaların rahatlıkla alabileceği uygun büyüklükteki rotifer (*Brachionus rotundiformis*) hattı kullanıldı. Rotiferin beslenmesi için yaygın mikroalg türü olan ve rotifer beslemede en yaygın kullanılan *Nannochloropsis oculata* türü kullanıldı. Mikroalgler 3 L ve 5 L hacimli cam kavanozlara ekilerek üretimi yapıldı. Mikroalg üretim ve zenginleştirme için ortam suyuna ticari vitamin karışımı (1ml/L) ve sıvı selco besiyeri (1ml/L) ilave edildi. Üretim parti kültürü şeklinde yapıldı ve yeterli konsantrasyona ulaşan mikroalg kültüründen hasat yapıldı ve günde 2-3 kez rotiferlere verildi. Buna ilaveten, rotifer beslemede konsantre edilmiş ticari mikroalglerde ( $6-7 \times 10^9$ ) kullanıldı. Konsantre mikroalg kullanım anına kadar  $-20^\circ\text{C}$ 'de muhafaza edildi ve seyreltme uygulanarak uygun konsantrasyonda rotifer kültürüne verildi. Rotifer kültürü, 1 L ve 5 L hacimli erlenmayerler içerisinde, parti kültürü tekniğiyle yapıldı (URL-1, 2011).

### 2.4. Larvaların Stoklandığı Ortam ve Besleme

Larvalar, mikroskop altına rahatça sığabilen ve böylece larvayı mikroskop altında inceleyerek toplamaya olanak sağlayan 80 ml hacimli plastik deneme kaplarına transfer edildi ve havalandırma uygulanmadı. Deneme kapları beyaz zeminli, etrafı siyah renkli olarak (Şekil 4) dizayn edildi (Naas, 1996; Planas ve Cunha, 1999). Larva yetiştirme suyuna, Yandi ve Altinok (2011) tarafından bildirilen litredeki deniz suyuna 60-80  $\mu\text{L}$  konsantrasyonunda tavuk yumurtası beyazı (TYB) ilave edildi. TYB uygulaması inkübasyon esnasında ve çıkıştan sonra 3 gün boyunca tüm larvalara uygulandı. Rotiferler larvalara verilmeden önce 50  $\mu\text{m}$  göz açıklığına sahip plankton kepçesinden süzülme ve taze steril deniz suyuyla 3-4 kez yıkandı. Daha sonra sayımı yapılan yoğun rotifer kitlesinden günde en az ortamda 15 adet/ml yoğunluk sağlanacak şekilde verildi. Ayrıca hem rotiferin beslenebilmesi hem de ortama doğal görünüm kazandırmak amacıyla (yeşil su tekniği) yetiştirme ortamına uygun yoğunlukta mikroalg ( $3-5 \times 10^5$  hücre/ml) eklendi. Larvaların tutulduğu kaplardaki ölü larva, rotifer ve mikroalg atıkları mikroskop altında günlük olarak cam pipetle sifonlanarak ortamdan uzaklaştırıldı.





Şekil 4. Larvaların stoklandığı deneme dizaynı

## 2.5. Plankton Çekimleri ve Denizdeki Fizikokimyasal Parametreler

Larvaların toplandığı anda eş zamanlı olarak fitoplankton ve zooplankton çekimleri yapıldı. Fitoplankton örneklemede; deniz yüzeyinden ve 50 cm derinlikten Niskin tipi nansen şişesi (Hydro-Bios model 436-305, Kiel-Holtenu, Germany) ile 1 L örnek alındı, üzerine nihai konsantrasyon%5 olacak ölçüde formaldehit ilave edildi ve floresan mikroskop altında tür teşhisi ve sayımı yapıldı. Zooplankton çekimlerinde; ağız çapı 50 cm, göz açıklığı 200 µm olan plankton kepçesi kullanıldı. Zooplankton kepçesinin ağız kısmına flowmetre (Hydro-Bios model 438-115, Kiel-Holtenu, Germany) monte edildi. Kepçeden süzülen su hacmi aşağıdaki formülle hesaplandı (Flowmetre manual).

$$\text{Süzülen su hacmi (Litre)} = FTS \times 0.3 \times A(m^2) \times 1000$$

*FTS*: Flowmetrede okunan tur sayısı

*A(m<sup>2</sup>)*: Kepçe ağız kısmının yüzey alanı ( $\pi r^2$ )

Zooplankton çekimi yüzeyden horizontal olarak 0,5 knot hızda 5 dk süreyle yapıldı. Süzülen örneklere %10 tamponlanmış formaldehit ilave edilerek laboratuvar çalışmaları için saklandı. Plankton tür ayırımı ve sayımları Plankton Laboratuvarında yapıldı. Larva örnekleme alanlarındaki sıcaklık, oksijen, tuzluluk, pH ve bulanıklık gibi suyun temel

fiziko-kimyasal parametreleri CTD prob (Idronaut, Ocean Seven; Via Monte Amiata, Brugherio, Italy) kullanılarak ölçüldü. CTD prob ile yüzey kısmın (0-10 m) fiziko-kimyasal parametreler belirlendi.

## 2.6. Deneme Serilerinin Dizaynı

Beş farklı besleme stratejisinin uygulandığı deneme düzeneğinde, açlığa toleransın belirlenmesi amacıyla ilk besleme günü; larvalarda göz pigmentasyonunun belirginleşmesi ve ağzın açılması referans alınarak belirlendi ve aşağıdaki biçimde tasarlandı (Şekil 5);

1. İlk beslenme gününden itibaren besleme (Sürekli besleme, Sb)
2. İlk beslenme gününden sonra bir gün aç bıraktıktan sonra besleme (1A)
3. İlk beslenme gününden sonra iki gün aç bıraktıktan sonra besleme (2A)
4. İlk beslenme gününden sonra üç gün aç bıraktıktan sonra besleme (3A)
5. Tamamen aç bırakma (Ta): Bu serideki larvalar tamamı ölünceye kadar aç bırakıldı.

Seriler	Sb	1A	2A	3A	Ta
Günlük yaşama oranı	100+50(2) 3 paralel	100+50(2) 3 paralel	100+50(2) 3 paralel	100+50(2) 3 paralel	100+50(2) 3 paralel
Notokord Örnekleme	≥300 adet	≥250 adet	≥200 adet	≥150 adet	≥200 adet
RNA/DNA Örnekleme	≥300 adet	≥250 adet	≥200 adet	≥150 adet	≥200 adet

Şekil 5. Deneme serileri

Dibe çöken veya ölen larvalar pipetle günlük olarak alınarak kaydedildi, oluşan organik atıklar her gün dipten sifonlanarak uzaklaştırıldı ve suyun 1/3 'i filtrelenmiş ve UV sterilizasyonu uygulanmış taze deniz suyu ile yenilendi. Serilerdeki yaşama oranları 24

saat aralıklarla belirlendi. Notokord uzunluğunun belirlenmesi amacıyla 24 saat aralıklarla her bir seriden yeterli sayıda canlı birey sifonlanarak alındı ve tamponlanmış formaldehit çözeltisinde stoklandı. Nükleik asit analizi için her bir seriden 24 saat aralıklarla 8-15 adet canlı birey sifonlanarak alındı ve ependorf tüplerine bireysel olarak transfer edildi, markalandı analizler yapıncaya kadar  $-70^{\circ}\text{C}$ 'de stoklandı.

### **2.7. Günlük Yaşama Oranı**

Yaşama oranının belirlenmesi amacıyla, 100'er adet bir seri ve 50'şer adet iki seriye 1 günlük larva sifonlanarak 80 ml hacimli deneme kaplarına transfer edildi. Böylece toplamda üç paralel oluşturuldu (Şekil 5). Bu şekilde oluşturulan serilerde göz pigmentasyonu ve ağzın açıldığı günden itibaren 24 saat aralıklarla ölü larvalar mikroskop altında sayılarak toplandı. Hayatta kalan bireyler toplam birey sayısına oranlanarak günlük yaşama oranları belirlendi.

### **2.8. Notokord Uzunluğu**

Notokord uzunluğunun belirlenmesi amacıyla 24 saat aralıklarla her bir seriden 10-15 adet canlı birey sifonlanarak alındı ve anestezi uygulandı (%4'lük Benzocaine solüsyonu). Alınan bireyler 5 ml hacimli tüplerde %10'luk tamponlanmış formaldehit çözeltisinde stoklandı. Stereo mikroskop altında uzunluğu net olarak belirlenmiş yaklaşık 1 mm uzunluğundaki ince kıl materyal referans olarak alındı. Her bir larva fotoğrafı, her defasında kalibrasyonu tekrar yapılarak uzunluğu belirlenmiş olan referans materyalle aynı fotoğraf karesinde çekildi. Daha sonra TPS-Dig (sürüm 2.12) ölçek yazılım programı kullanılarak  $\pm 0,001$  mm hassasiyetinde ölçüldü.

### **2.9. Nükleik Asitler ve Proteinin Fluorometrik Analizi**

Her bir seriden 24 saat aralıklarla alınan canlı larvalar sifonlandı ve yukarıda belirtildiği gibi bireysel olarak 0,5 ml kapasiteli ependorf tüplerine konuldu. Bu tüpler daha sonra yapılacak nükleotit analizleri için  $-70^{\circ}\text{C}$ 'de stoklandı.

Nükleik asitlerin ekstraksiyonu Clemmensen (1993)'in protokolü modifiye edilerek yapıldı ve larvaların ellendiği tüm işlemlerde steril malzemeler ve steril eldivenler kullanıldı. Daha önce -70°C'de stoklanan örnek tüpleri çıkarıldıktan sonra üzerine 200 µl Tris-SDS buffer ve larvanın tamamen parçalanması kolaylaştırmak için 2 adet steril cam boncuk eklendi ve 15 dakika kuvvetli vorteks uygulanarak larvanın tamamen parçalanması sağlandı. Bu aşama dahil olmak üzere nükleik asitlerin ekstraksiyonu tamamlanana kadar tüm işlemler soğuk ortamda ( $\leq 4^{\circ}\text{C}$ ) yapıldı. Tüm işlem protokolü Şekil 6'daki şemada detaylı olarak gösterilmektedir.

Nükleik asitler ve protein Floresan Fluorometre (Invitrogen Qubit™ Ver. 1.27, Eugene, Oregon, USA) ile ölçüldü. Ölçüm aralığı RNA-IT ve dsDNA-HS (düşük seviyedeki nükleik asitlerde yüksek hassasiyet) için 5-100 ng/ml, RNA-BR ve dsDNA-BR (normal seviyedeki nükleik asitlerde) için sırasıyla 20-1000 ng/ml ve 2-1000 ng/ml, protein için 0,25-5 µg/ml'dir. Kontrol amaçlı salmon sperm DNA'sı, maya RNA'sı ve sığır albumini (Sigma-Aldrich, Schnellendorf, Germany) TE buffer'da seyreltilerek belli konsantrasyonlarda DNA, RNA ve protein elde ederek Qubit'le okuma yapıldı ve fluorometrenin ölçüm hassasiyeti test edildi. Larvanın büyüklüğüne göre hassasiyet seviyesi seçildi ve buna uygun buffer, reaktif ve seyreltme uygulandı. Günlük proteince büyüme oranı Wootton (1998) tarafından bildirilen aşağıdaki eşitlik kullanılarak belirlendi.

$$Gp = 100(\ln W_2 - \ln W_1)/t$$

$W_1$ : larvaların başlangıç ortalama protein içeriği

$W_2$ : larvaların örnekleme anında ortalama protein içeriği

t: zaman, örnekleme zamanları arasındaki günler

## 2.10. Geri Dönüşü Olmayan Kritik RNA/DNA

Deniz balıkları larvaları metamorfuzun belli bir kısmını tamamlayabilecek düzeyde besin kesesine sahip olup çok kısa sürede ebeveyninden gelen besin kaynağı tüketilmekte ve besin aramaya başlamaktadır. Balığın türüne göre besin kesesinin tüketimi ve ilk beslenme zamanı değişmektedir. Aynı zamanda bu dönem çok kritik olup yeterli besinin olmadığı durumda aşırı ölümlerle sonuçlanabilmektedir. Yukarıda belirtilen beş farklı deneme ile yapılan günlük örnekleme ile stoklanmış olan bireylerin toplam protein, RNA/DNA, total

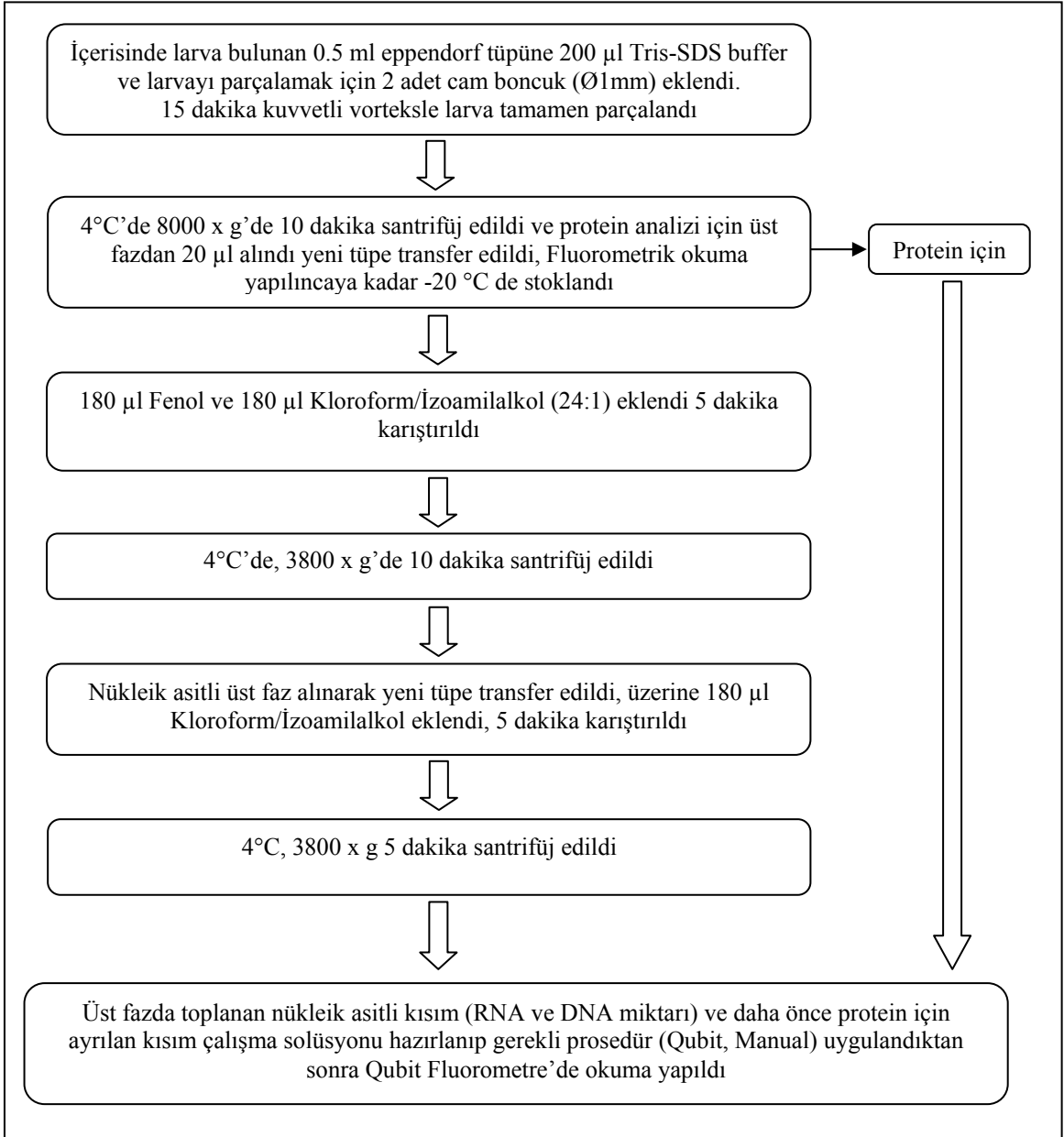
boy ve notokord uzunluğu belirlendi. Aynı zamanda bu beş denemede elde edilen günlük yaşama oranı ile diğer sonuçlar istatistiksel olarak karşılaştırılarak RNA/DNA oranına göre geri dönüşü olmayan nokta (GDON) ve kritik eşik aralığı (KEA) ortaya konuldu. GDON, belirli süre aç kalan veya besine ulaşamayan larvaların tükenme noktasına geldiği ve ortamda besin olsa bile bu besini alabilecek fiziksel kondisyonu kaybetmiş, hayata tekrar tutunma şansı olmayan bireylerin durumudur (Kono vd., 2003). KEA terimi bu çalışmada, beslenme açısından kritik aşamaya girmiş fakat ortamdaki besin kompozisyonu ve larvanın bu besine bireysel çabasıyla ulaşabilmesi açısından şansını devam ettirebildiği durum olarak tanımlanmıştır.

### **2.11. Denizden Örneklenen Larvaların Beslenme Kondisyonu**

Örnekleme bölgesinden toplanan larvalarda RNA/DNA oranı ve notokord uzunluğu belirlendi. Yukarıda belirtilen geri dönüşü olmayan ve kritik RNA/DNA oranı temel alınarak örnekleme elde edilen bireysel RNA/DNA oranına göre doğadan toplanan larvaların örneklendiği an itibariyle % olarak ne kadarının kritik aşamada veya açlık durumunda olduğu belirlendi. Açlık seviyesi bakımından kritik aşamada olmayan bireyler stoğa katılım potansiyeli bakımından olumlu olarak değerlendirildi. Aynı zamanda plankton çekimlerinden elde edilen ve doğadaki larvaların temel besinini teşkil eden zooplankton yoğunluğu ve zooplanktonun temel besini olan fitoplankton yoğunlukları belirlenerek değerlendirme yapıldı.

### **2.12. İstatistiksel Analiz ve Veri Sunumu**

Gruplar aynı yaştaki larvalarda ikili olarak karşılaştırıldı, normal dağılım gösteren ve eş varyans gösteren veriler t-testi ile karşılaştırılırken normal dağılım gösterip eş varyans göstermeyen yada normal dağılmayıp eş varyans göstermeyen verilerde Mann-Whitney-*U* testi uygulandı. Tüm istatistik analizler ve grafikler SigmaPlot (SigmaPlot 11.0, Systat Software Inc., San Jose, CA, USA) programıyla yapıldı, grafiksel şekillerde belirtilen işaret ve sembollerden; “FY” fark olmadığını, \*  $p < 0,05$  ve \*\*  $p < 0,01$  önem seviyesini göstermektedir. Veriler ortalama  $\pm$  standart sapma olarak verilmiştir.



Şekil 6. Nükleik asitlerin ekstraksiyon ve ölçümünde kullanılan protokol (ekstraksiyon kısmı Clemmesen (1994)'in protokolünden modifiye edilmiştir).

### **3. BULGULAR**

Temmuz-Eylül 2010 döneminde çalışmada öngörülen gözlenmiş yumurta sayısına ulaşana kadar çekimler yapılmış olup bu yumurtalardan laboratuvar ortamında her iki tür için 5000 adetten fazla iki günlük larva elde edildi.

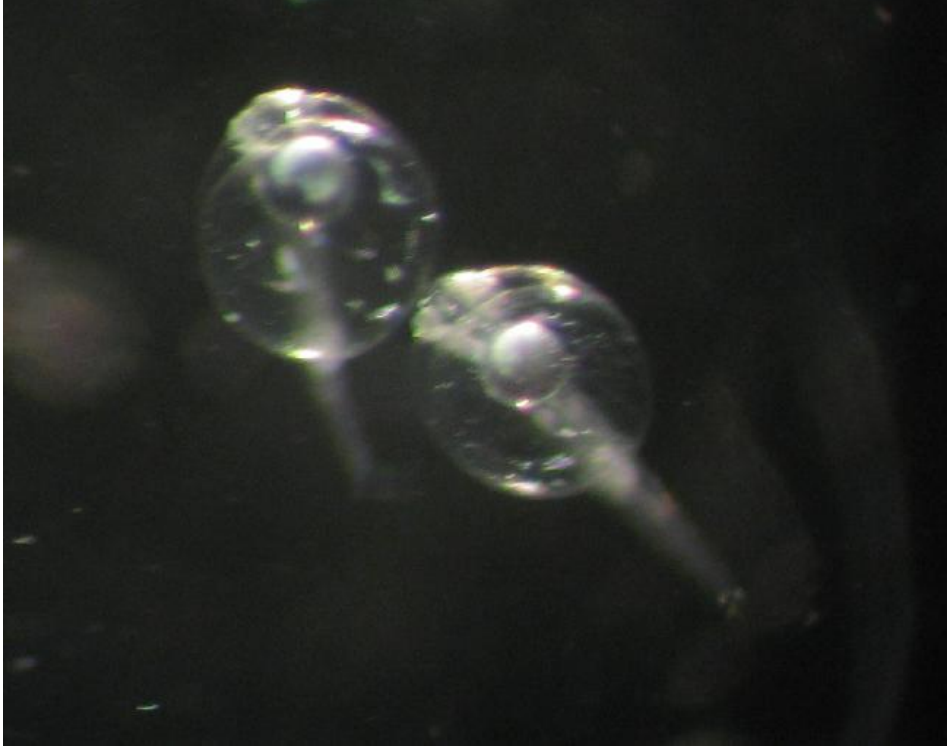
#### **3.1. İstavrit Çalışmasına Ait Bulgular**

Yumurta sayısı en fazla Temmuz ayı içerisinde yapılan örneklemelerde sağlandı. Söz konusu ay içerisinde en yüksek oranda yumurta eldesi gerçekleşmiş olup,  $21\pm 0,2^{\circ}\text{C}$ 'de (iki günlük larva olarak) %59,91 kuluçkalanma başarısı elde edildi.

##### **3.1.1. Göz pigmentasyonu, Ağzın Açılması ve İlk Beslenme Davranışları**

Gözlenmiş istavrit yumurtaları ortalama 0,78-0,90 mm çapında olup örneklemeden sonra yaklaşık 10-15 saat sonra tamamen açılmaktadır ve tek yağ damlacığına sahip yumurta su yüzeyi ve yüzeye yakın bölgelerde asılı kalmaktadır (Şekil 7). İstavritte göz pigmentasyonu yumurtadan çıkıştan sonra 54–70 saat arasında gerçekleşmektedir. Bu süre sıcaklığa bağlı olarak değişebilmektedir;  $25-26^{\circ}\text{C}$ 'de yaklaşık 52-56 saat arasında gözler pigmentasyon kazanırken,  $21-22^{\circ}\text{C}$ 'de bu süre 70 saate kadar çıkabilmektedir (Şekil 8). Ağzın açılması ve fonksiyonel beslenme ise inkübasyondan sonra üçüncü günde gerçekleşmektedir. İstavrit larvalarının çıkıştan hemen sonra yüzeyde toplanmaları muhtemelen tek yağ damlalı besin kesesinin fiziksel hacminin iriliği ve bu sebeple yüzerliliğinin fazla olmasından kaynaklanmaktadır. Yüzeyde 20-28 saat süreyle kalan larvalar daha sonra dip kısma inmektedir ve burada, çok aktif hareket etmeksizin besin kesesini tüketip göz pigmentasyonu ve ağzın açılma aşamasına gelene kadar kalmaktadırlar. Ön çalışmalarda, larvalarda en yüksek ölüm oranları yüzeyde toplandıkları ilk aşamalarda kaydedilmiştir; dipte toplanan larvalardan bazıları yüzeye ani çıkış hareketi sonucu su yüzeyine yapıştığı belirlenmiştir. Ayrıca, larvaların başta suyun yüzey film tabakasına, dip kısma ve kenarlar yapışmasından kaynaklanan kayıplar kaydedilmiştir.

Bu kayıpları önlemek için daha önce belirtilen oranlarda (60-80  $\mu\text{l/L}$ ) oranında TYB uygulaması yapılmıştır.

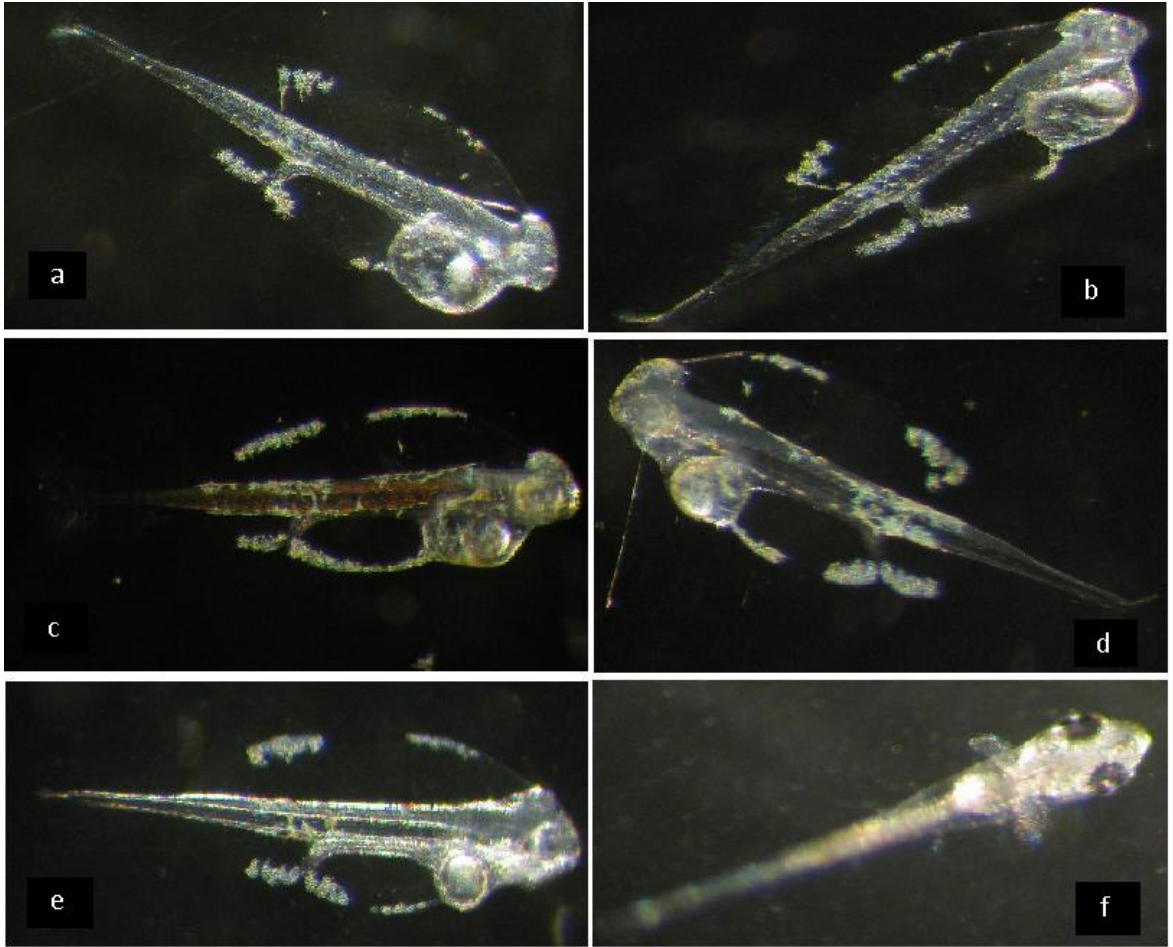


Şekil 7. İstavrit yumurtaların ilk açılma anı

Larvalar ilk beslenmeye başladıktan sonra, yağ damlası tamamen kayboluncaya kadar zaman zaman ters pozisyonda yüzmektedir. Fakat bu ters pozisyon yalnızca larvanın aktif olmadığı anlarda görülmekte olup larva canlı besine atak yaparken ergin bireyler gibi normal konuma geçebilmektedir. Larvalar kuyruk hareketiyle yumurta kabuğunu parçalayarak çıkmaktadır. Notokordda meydana gelen en belirgin deformasyon kuyruk kısmında görülmektedir. Bu durum larvanın yumurta kabuğunu kuyruk hareketiyle açmaya çalışmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Larvalar zooplanktonu yakalamak için kuyruk kısmından destek almaktadır, kuyrukta deformasyonu olan bireyler bu yüzden normal bireylerin kuyruğu yay gibi kıvrılarak besine atak yapma avantajından yoksun kalmaktadır. Notokordanormalliği görülen bireylerin devam eden süreçte bu yüzden besin alamadığı ve öldüğü kaydedilmiştir. Deneme serilerinde bu tip anormallik belirlenen larvalar kullanılmamıştır.



Yumurtadan ilk çıkışta, yağ damlası baş kısmın daha ilerisinde konumlanmıştır. Devam eden süreçte yağ damlası yavaş yavaş geriye çekilerek baş kısmın daha gerisinde konumlanmaktadır. İnkübasyonu takiben 70. saatte göz pigmentasyonu ve ağzın açılma aşaması tamamlandığında pektoral yüzgeçlerde belirginleşmeye başlamaktadır. Fakat vücutta melanafor oluşumu henüz belirginleşmemiştir. Ağız çapı 200-350  $\mu\text{m}$  arasında değişmektedir. Anüs kısmı henüz açılmamıştır. Bu aşamada uzun tüp şeklinde olan sindirim kanalı beşinci günden itibaren kıvrılmaya başlamaktadır. Larvaların anüs kısmı dördüncü günde açılmaktadır (Şekil 8).



Şekil 8. Larvaların çıkıştan sonraki zamana bağlı gelişimi. Çıkıştan 24-26 saat sonra (a), 26-28 saat sonra (b), 28-30 saat sonra (c), 32-34 saat sonra (d), 45-47 saat sonra (e), 54 ve 62 saat arasında gözde pigmentasyonun gerçekleştiği an (f)

Melanafor yapılarının oluşumu inkübasyondan sonra yedinci günde kaydedilmiştir (Şekil 9). Beslenmeyle birlikte notokord boyu uzarken göz çapı da belirgin bir şekilde

genişlemektedir. Göz pigmentasyonunun olduğu aşamada ortalama 0,13 mm civarında olan göz çapı yedinci günde ortalama  $0,160 \pm 0,005$  mm uzunluğa ulaşmaktadır.



Şekil 9. Aktif beslenmeye geçmiş olan istavrit larvaları. A, B, C sırasıyla beşinci, altıncı ve yedinci günler (Resimler, larvalar aktif halde iken çekilmiştir)

Larvalar inkübasyondan sonra onuncu günde 3,2 mm'in üzerinde notokorduzunluğuna erişmekte ve son derece aktif planktonik beslenme davranışı gösterdiği gözlenmiştir (Şekil 10). Besine atak yaparken kuyruk kısmı yarım "S" şeklinde

kıvrılmakta ve bu şekilde kuyruktan aldığı destekle ileri sıçrayarak hareketli rotiferi yakalamaktadır.

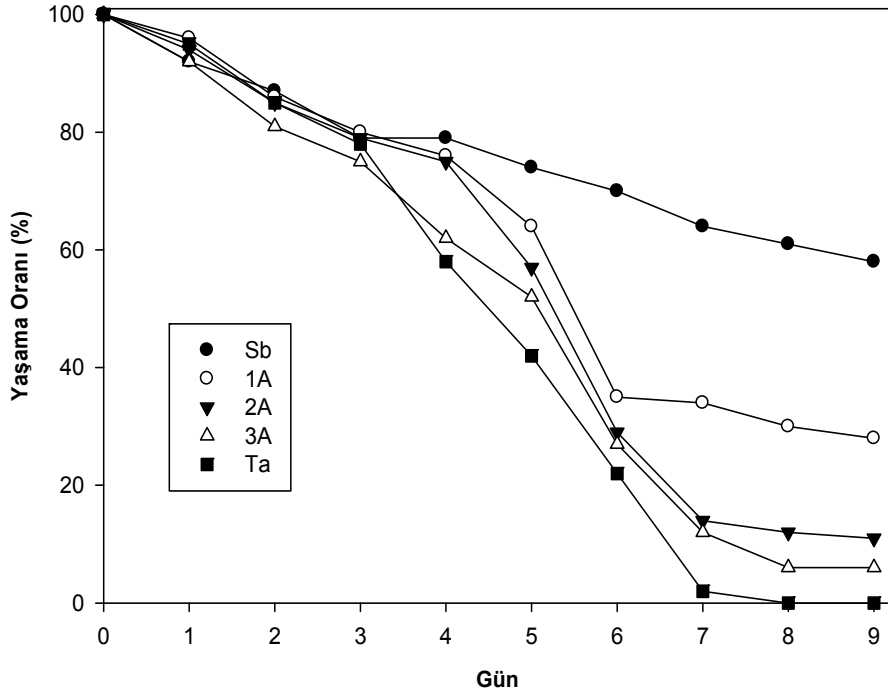
İnkübasyondan sonra onuncu günde melanaforlar iyice belirginleşmeye ve sayı bakımından da artmaya başlamaktadır. Bu aşamada larvalar oldukça aktif beslenme davranışları göstermektedir. Yine onuncu günde pektoral yüzgeç ışınları ve gözler daha belirgin hale gelirken, diğer yüzgeçler hala belirginleşmemektedir.



Şekil 10. 10 günlük istavrit larvası

### 3.1.2. Açlığa Tolerans ve Yaşama Oranı

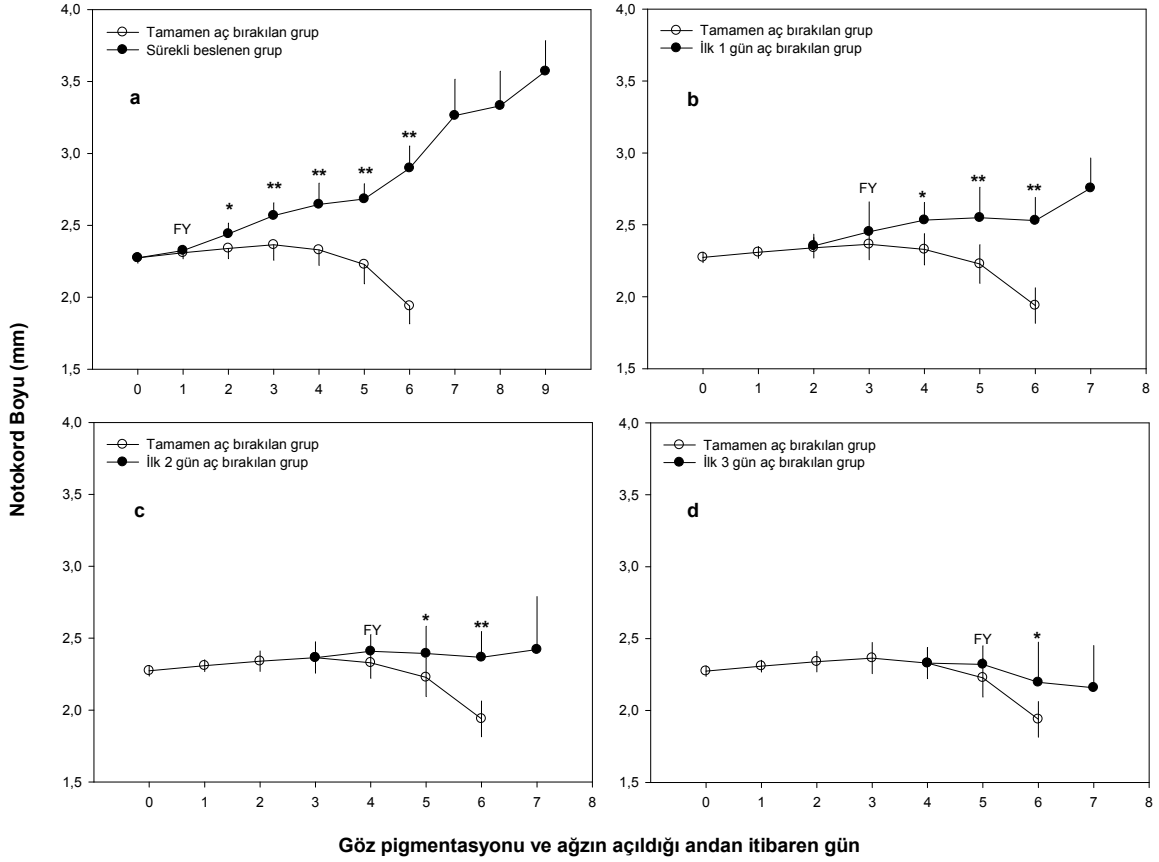
Tamamen aç bırakılan grupta sekizinci gün tüm larvalar öldü, buna karşılık sürekli beslenen grupta %61 yaşama oranı kaydedilirken, bir gün, iki gün ve üç gün gecikmeli beslenen gruplarda sırasıyla ortalama %30, %12 ve %6 yaşama oranları kaydedildi. İlk dört gün aç bırakılan grupta sekizinci gün canlı larva kalmadı (Şekil 11). Yaşama oranlarına göre ağzın açılma safhasından sonra üç gün içerisinde besin bulamayan istavrit larvaları kritik açlık eşiğine ulaşmakta ve GDON bu aşamada gerçekleşmektedir.



Şekil 11. Deneme serilerindeki yaşama oranları. Sürekli beslenen (Sb), ilk birinci gün aç bırakılan (1A), ilk iki gün aç bırakılan (2A), ilk üç gün aç bırakılan (3A) ve tamamen aç bırakılan (Ta) gruplar. Her deneme grubu üç tekerrürlü ve her bir tekerrürde ortalama 50 adet larva kullanılmış ve tekerrürlerin ortalaması alınmıştır

### 3.1.3. Notokord Boyu

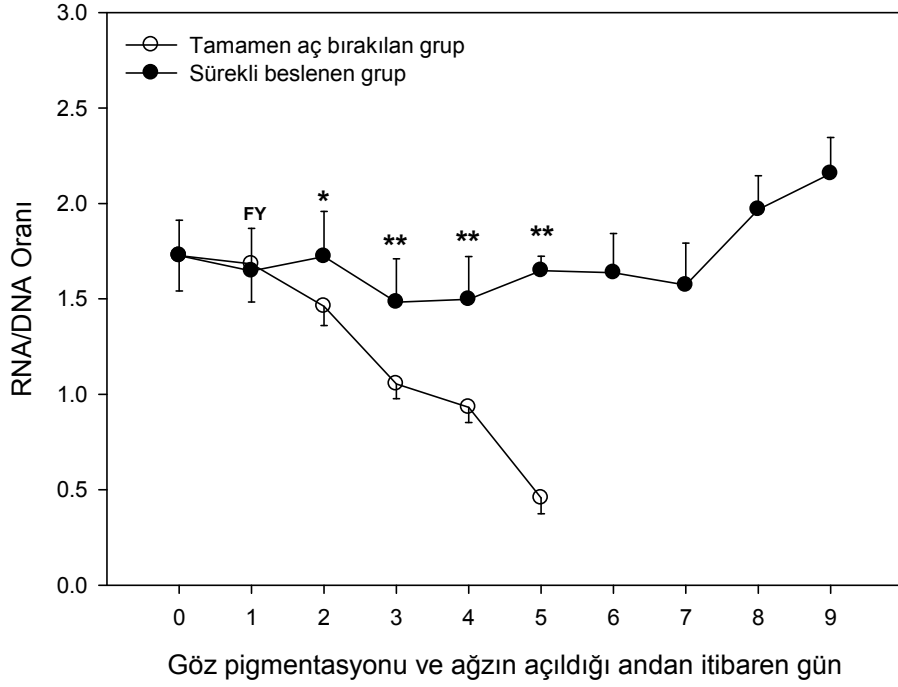
Yeni inkübe olmuş larvalarda notokorduzunluğu  $2,27 \pm 0,04$  mm, göz pigmentasyonunun gerçekleştiği üçüncü günde  $2,35 \pm 0,08$  olarak ölçülmüş, dokuzuncu günde sürekli beslenen grupta  $3,57 \pm 0,21$  mm uzunluğa ulaşmıştır. Sürekli aç bırakılan grupta ise altıncı günde  $1,93 \pm 0,12$  mm uzunluğa düşmüştür (Şekil 12). Geciktirmeli beslenen gruplarda notokorduzunlukları sürekli beslenen gruptakilere kıyasla önemli farklılıklar göstermektedir ( $p < 0,05$ , Student t-testi).



Şekil 12. İstavrit larvalarında kaydedilen notokord uzunlukları. Sürekli beslenen (a), bir gün geciktirilerek beslenen (b), iki gün geciktirilerek beslenen (c) ve üç gün geciktirilerek beslenen (d) larvalarda notokordboylarındaki değişimlerin tamamen aç bırakılan larvalarla karşılaştırılması. İstatistiksel farklılıklar t-testi ile analiz edilmiştir, FY fark olmadığını, \*  $p < 0,05$  ve \*\*  $p < 0,01$  önem derecesini göstermektedir (n= 8-15)

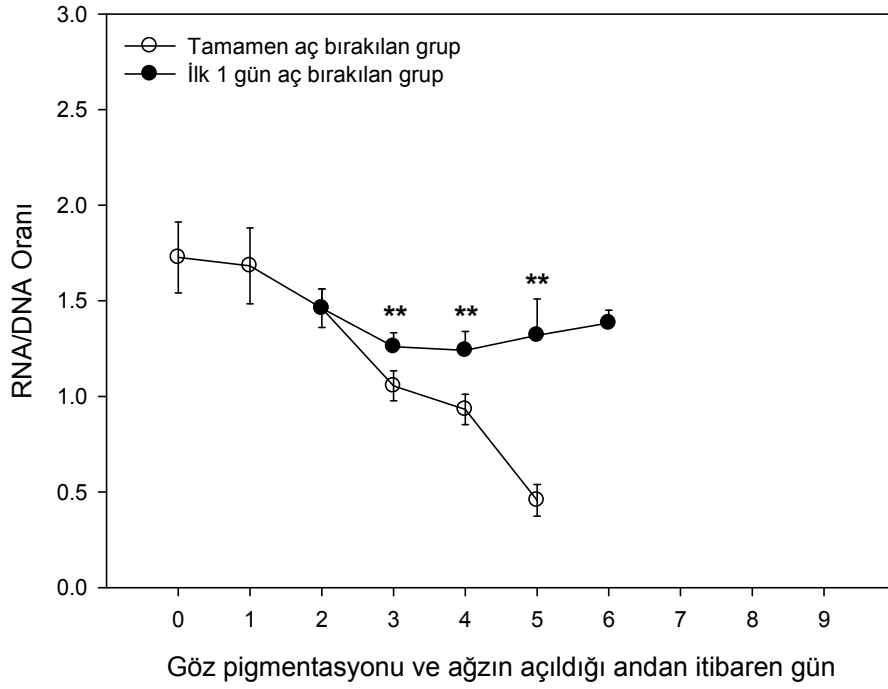
### 3.1.4. Biyokimyasal İndeksler

Larvalarda 0. günde RNA/DNA oranı ortalama  $1,73 \pm 0,19$ 'dur. Bu oran sürekli beslenen larvalarda dokuzuncu günde  $2,16 \pm 0,20$ 'ye çıkmıştır. Tamamen aç bırakılan gruptaki larvalarda bu oran 0. günden itibaren aşamalı olarak azalarak beşinci günde  $0,46 \pm 0,08$ 'e kadar düşmüştür. Aynı günde sürekli beslenen larvalar tamamen aç bırakılan larvalarla karşılaştırıldığında birinci gün dışında önemli ölçüde yüksek değerler (t-testi ve Mann-Whitney testi  $p < 0,05$  ve  $p < 0,01$ ) bulunmuştur (Şekil 13).

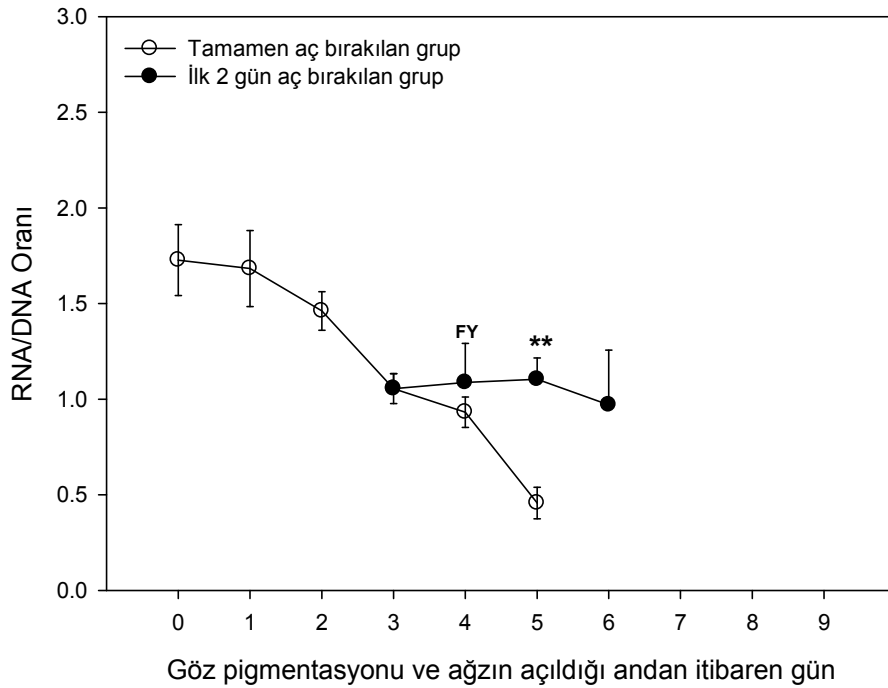


Şekil 13. Tamamen aç bırakılan ve sürekli beslenen istavrit larvalarında RNA/DNA oranındaki değişimler (t-testi ve Mann Whitney testi, FY; fark yok, \* p<0,05, \*\* p<0,01)

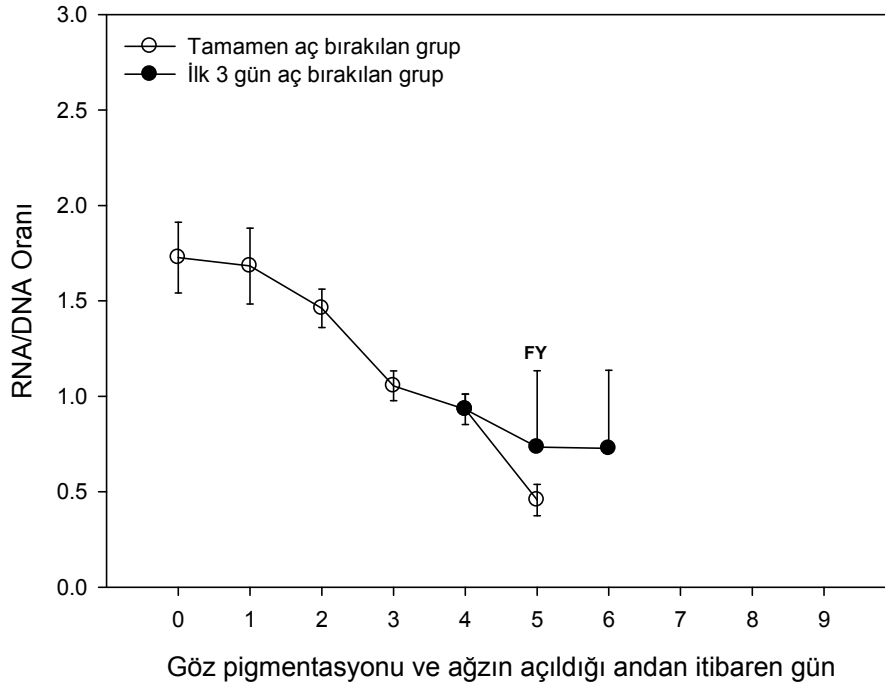
İlk gün aç bırakılan larvalar daha sonra besin verildiğinde kolayca bu besini alabildiği belirlenmiştir (Şekil 14). İlk iki gün aç bırakılan larvalar (Şekil 15) durumu zorda olsa toparlayabilirken ilk üç gün aç bırakılan larvaların (Şekil 16) yalnızca birkaç tanesi rotifer alabildiği tespit edilmiştir. Larvaların besin alabildiği mikroskopta çekilen fotoğraflarla da doğrulanmıştır. Dolayısıyla geri dönüşü olmayan nokta üçüncü gün olarak belirlenmiştir. Bu aşamadaki larvaların RNA/DNA oranı  $1,05 \pm 0,08$ 'dir.



Şekil 14. Tamamen aç bırakılan ve 1 gün geciktirilerek beslenen larvalarda RNA/DNA oranındaki değişimler (t-testi ve Mann Whitney testi, FY; fark yok, \* p<0,05, \*\* p<0,01)



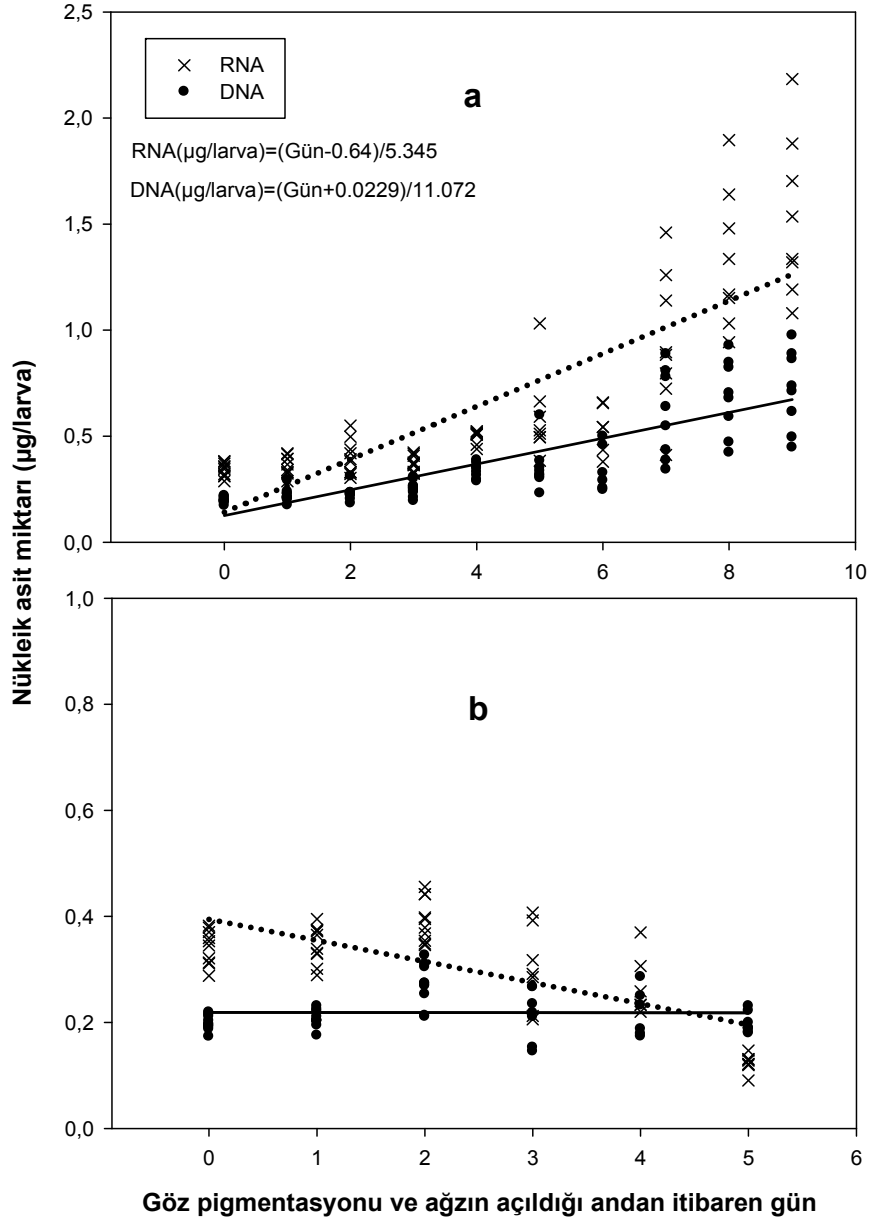
Şekil 15. Tamamen aç bırakılan ve iki gün geciktirilerek beslenen larvalarda RNA/DNA oranındaki değişimler (t-testi ve Mann Whitney testi, FY; fark yok, \* p<0,05, \*\* p<0,01)



Şekil 16. Tamamen aç bırakılan ve üç gün geciktirilerek beslenen larvalarda RNA/DNA oranındaki değişimler (t-testi ve Mann Whitney testi, FY; fark yok, \* p<0,05, \*\* p<0,01)

Larva başına ortalama RNA miktarı 0. günde  $0,342 \pm 0,032$   $\mu\text{g}/\text{larva}$  iken sürekli beslenen larvalarda dokuzuncu günde  $1,529 \pm 0,374$   $\mu\text{g}/\text{larva}$  değerine ulaştı. Tamamen aç bırakılan larvalarda bu değer beşinci günde  $0,124 \pm 0,016$   $\mu\text{g}/\text{larva}$  değerinde bulundu. DNA miktarı 0. günde  $0,199 \pm 0,014$   $\mu\text{g}/\text{larva}$  değerindeyken sürekli beslenen larvalarda dokuzuncu günde  $0,717 \pm 0,067$   $\mu\text{g}/\text{larva}$  değerine ulaştı. Tamamen aç bırakılan larvalarda DNA miktarı beşinci günde  $0,198 \pm 0,019$   $\mu\text{g}/\text{larva}$  değerinde ölçülmüştür (Şekil 17). Sürekli beslenen larvaların RNA miktarı ve DNA miktarı ile gün (0-9 gün arası) arasında güçlü bir allometrik ilişki bulunmuştur (p<0,01).

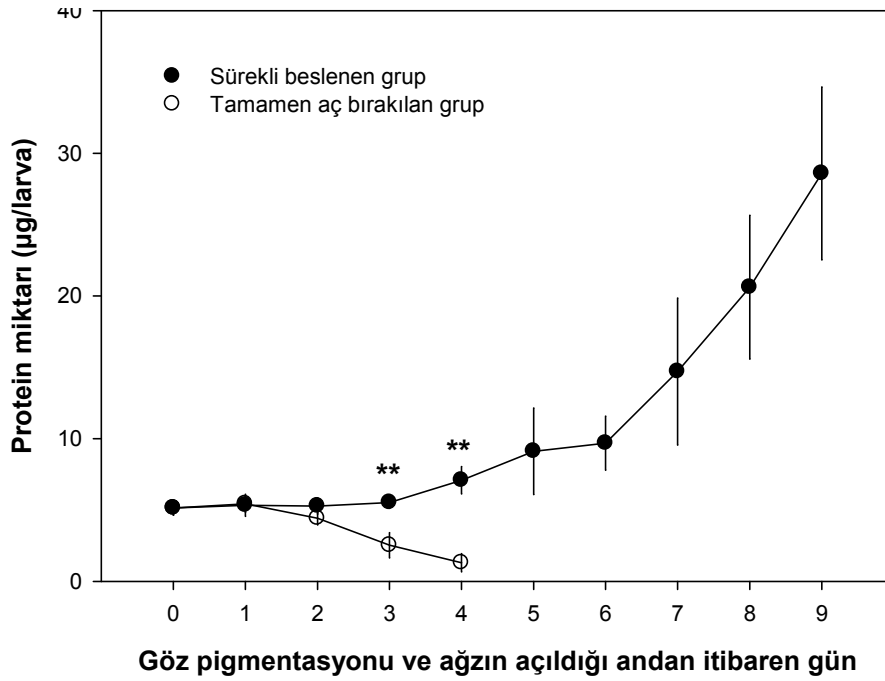




Şekil 17. Sürekli beslenen (a) ve tamamen aç bırakılan (b) larvalarda RNA ve DNA miktarındaki değişimler. Sürekli beslenen larvalarda dokuzuncu güne kadar RNA miktarı ( $R^2=0,666$ ;  $p<0,01$ ) ve DNA miktarı ( $R^2=0,672$ ;  $p<0,01$ ) ile larva yaşı arasında önemli derecede allometrik bir ilişki vardır (a)

### 3.1.5. Protein ve Proteince Büyüme

Protein miktarı 0. günde ortalama  $5,148 \pm 0,516$   $\mu\text{g/larva}$  değerinde bulundu. Tamamen aç bırakılan larvalarda protein değeri sürekli azalarak dördüncü günde ortalama  $1,300 \pm 0,644$   $\mu\text{g/larva}$  değerine düştüğü belirlendi. Sürekli beslenen larvalarda dokuzuncu günde ortalama  $28,587 \pm 6,060$   $\mu\text{g/larva}$  değerine ulaştığı belirlendi (Şekil 18).



Şekil 18. Sürekli beslenen ve tamamen aç bırakılan gruplardaki protein miktarındaki değişim (n=8-15, t-testi, \*\* p<0,01)

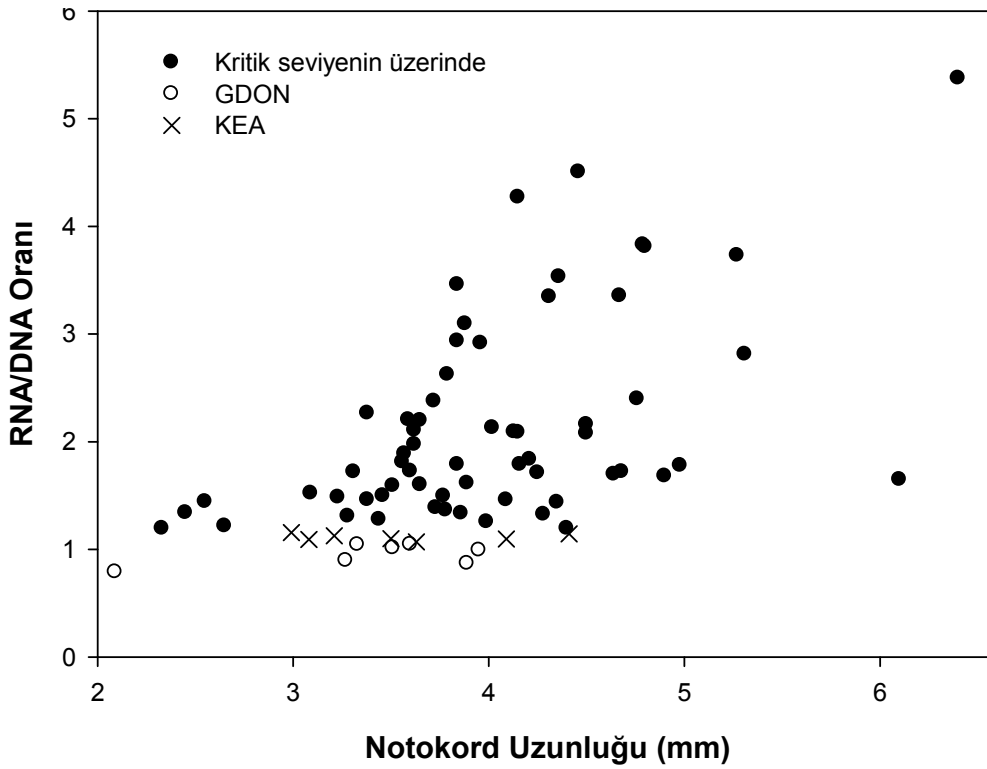
Sürekli beslenen larvalarda dokuzuncu güne kadar, tamamen aç bırakılan larvalarda ise dördüncü güne kadar günde ortalama proteince büyüme oranları % olarak Tablo 1’de verilmiştir. En yüksek proteince büyüme yedinci günde kaydedilmiştir.

Tablo 1. Tamamen aç bırakılan ve sürekli beslenen larvalarda günde ortalama proteince % büyüme oranları (n=8-15)

Gün	Tamamen aç bırakılan grup	Sürekli beslenen grup
1	5,48	3,44
2	-20,76	-0,38
3	-55,79	4,06
4	-66,59	24,85
5		25,07
6		6,07
7		41,78
8		33,79
9		32,73

### 3.1.6. Doğadan Toplanan Larvalarda Nükleik Asitler

Denizden farklı boylarda toplam 76 adet istavrit larvası toplanmıştır. Bunların yaklaşık %10'ugeri dönüşü olmayan noktada (GDON) ve %10'u ise kritik eşik aralığında (KEA) olduğu bulunmuştur (Şekil 19).



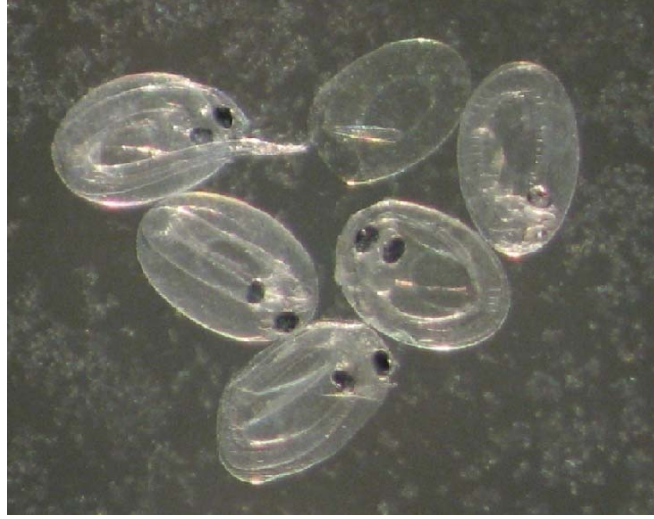
Şekil 19. Doğadan toplanan istavrit larvalarının RNA/DNA oranına göre geri dönüşü olmayan noktaGDON ve kritik eşik aralığında, KEA olma durumu (n=76)

### 3.2. Hamsi Çalışmasına Ait Bulgular

Yumurta sayısı en fazla Ağustos ayı içerisinde yapılan örneklemelerde sağlanmıştır. Toplanan gözlenmiş yumurtalarda  $21\pm 0,2^{\circ}\text{C}$ 'de, %56,05 kuluçkalanma başarıyla iki günlük larva elde edilmiştir.

#### 3.2.1. Göz pigmentasyonu, Ağız Açılması ve İlk Beslenme Davranışları

Denizden toplanan gözlenmiş yumurtalar seçilerek inkübasyon kaplarına transfer edildikten 8-15 saat arasında tamamı inkübe olmaktadır. Larvalar yumurtanın uzun çapın uç kenar kısımlarından kuyruk hareketiyle yumurtayı terk etmektedir, baş kısmı ise en son çıkmaktadır. Yeni inkübe olmuş larvaların notokord uzunluğu ortalama  $3,25 \pm 0,04$  mm'dir. Larvalarda göz pigmentasyonu ve ağız açılması  $21-22^{\circ}\text{C}$ 'de 65. saatte gerçekleşmektedir. Bazı larvalar yumurtadan çıkmayı başaramamakta ve gelişimini (göz pigmentasyonu) yumurta içerisinde sürdürmektedir. Fakat bu larvalar daha sonra yumurta kabuğu içerisinde hapsolüp ölmektedir (Şekil 20). Bazı larvalarda ise yumurtadan çıkış esnasında notokordda deformasyon olmakta (Şekil 21) ve deforme larvalar kısa süre sonra ölmektedir. Bu tip deforme larvalar deneme serilerine dahil edilmemiştir. Yeni çıkan larva son derece esnek olup vücudun tamamı "S" şeklinde kıvrılabilmektedir. Larvanın hareketi titreşim şeklindedir. Larvalar yumurtadan çıktıktan sonra üçüncü günde göz pigmentasyonu ve ağız açılma aşaması gerçekleşmektedir. Larvalar çoğunlukta ortamın dip kısmında konumlanmaktadır, nadiren yüzey kısmına hareket görülmektedir. İstavrit larvalarında olduğu gibi yüzey gerilimine bağlı ölümler yaygın olmasa da çok nadiren yüzeye yapışma kaydedilmiştir. Yine istavrit larvalarında olduğu gibi aynı konsantrasyonda TYB uygulaması hamsi larvaları içinde yapılmıştır. Beslenme sırasında larva vücudunun tamamını esneterek kendini ileri ok gibi fırlatmakta ve canlı yeme atak yapmaktadır. Aktif beslenmeye geçen larvalar bilhassa boyca uzamaktadır.



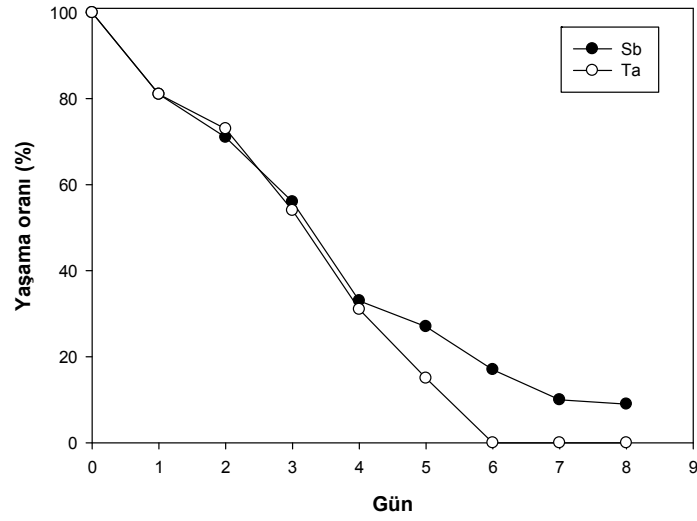
Şekil 20. Yumurta kabuğu içerisinde hapsolan ve gelişimini burada sürdüren hamsi larvaları



Şekil 21. Hamsi larvalarında kuyruk anormalliği

### 3.2.2. Açlığa Tolerans ve Yaşama Oranı

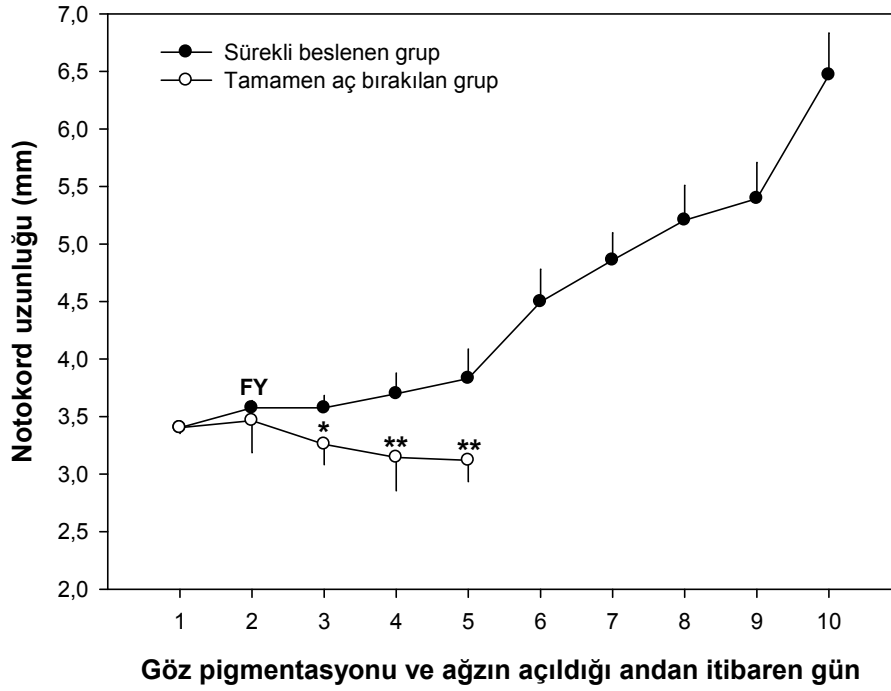
Hamsi larvalarının yaşama oranı istavrit larvalarına nazaran oldukça düşük seviyelerde bulunmuştur. Tamamen aç bırakılan larvaların tümü altıncı günde öldü. Aç bırakılan diğer deneme serilerindeki ölüm oranları tamamen aç bırakılan grupla benzer eğilim göstermekte olup yine altıncı günde tamamı öldüğü için şekil üzerinde karmaşaya yol açmaması için verilmemiştir. Sürekli beslenen larvalarda altıncı, yedinci ve sekizinci günde sırasıyla ortalama %17, %10 ve %9 olarak kaydedilmiştir (Şekil 22).



Şekil 22. Sürekli beslenen (SB) ve tamamen aç (TA) bırakılan hamsi larvalarında yaşama oranları

### 3.2.3. Notokord Boyu

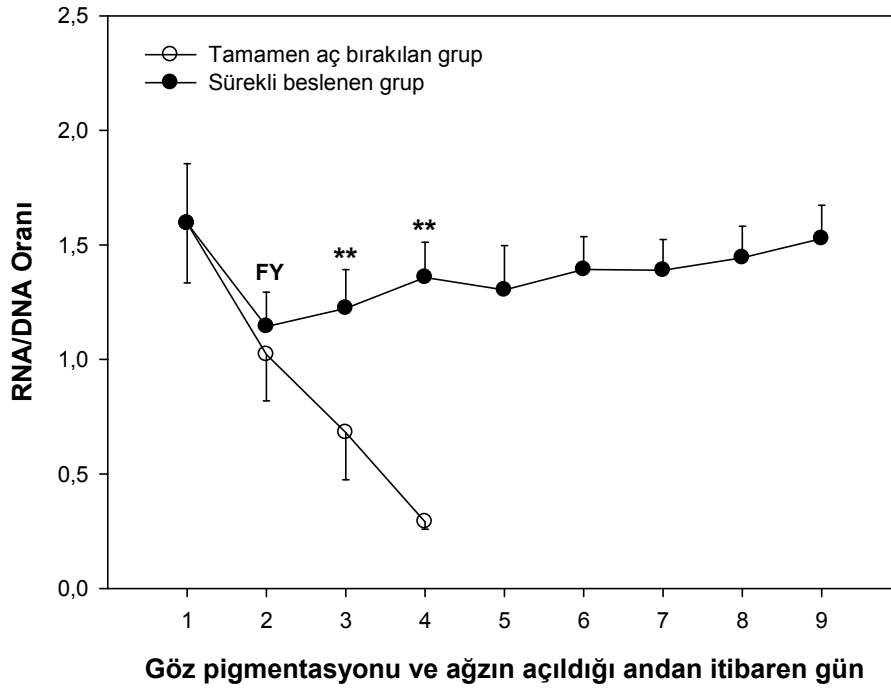
İlk besin alma aşamasına gelmiş hamsi larvalarında ortalama notokorduzunluğu  $3,40 \pm 0,05$  mm'tir. Beşinci günde, tamamen aç bırakılan larvalarda  $3,12 \pm 0,18$  mm'ye düşerken sürekli beslenen larvalarda  $3,83 \pm 0,25$  mm ölçüldü. Sürekli beslenen larvalarda notokordboyu onuncu günde  $6,46 \pm 0,36$  mm uzunluğa ulaşmıştır (Şekil 23).



Şekil 23. Hamsi larvalarında notokorduzunluğundaki değişimler (n=8-16, t-testi, \*p<0,05, \*\*p<0,01)

### 3.2.4. Biyokimyasal İndeksler

Larvalarda birinci günde RNA/DNA oranı ortalama  $1,59 \pm 0,26$ 'dır. Tamamen aç bırakılan larvalarda sürekli azalarak dördüncü günde  $0,29 \pm 0,03$ 'e düşerken aynı gün sürekli beslenen larvalarda  $1,358 \pm 0,15$  olarak ölçülmüştür. Sürekli beslenen larvalarda RNA/DNA oranı dokuzuncu günde  $1,527 \pm 0,146$ 'ya ulaşmıştır (Şekil 24). İlk gün aç bırakılan larvaların daha sonraki günlerde verilen besini alamadığı belirlendi ve bu durum ölüm oranlarıyla doğrulandı. Dolayısıyla hamsi larvalarında kritik RNA/DNA değerine ağzın açılma aşamasından itibaren 24 saat sonra ulaşılmaktadır ve bu değer ortalama  $1,022 \pm 0,2$ 'dir.

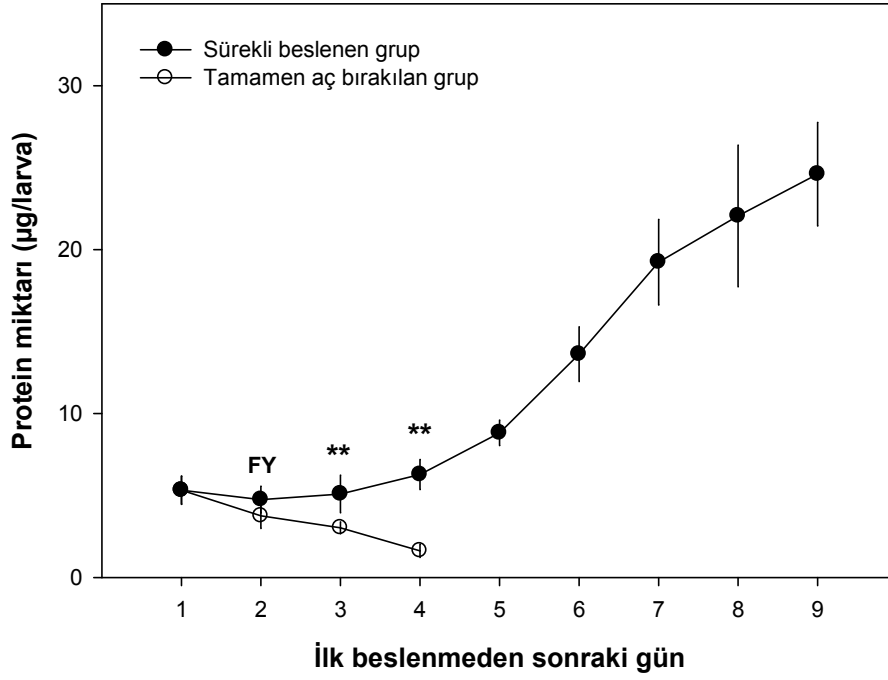


Şekil 24. Tamamen aç bırakılan ve sürekli beslenen hamsi larvalarında RNA/DNA oranındaki değişimler (n=8-12, t-testi, FY fark yok, \*\*p<0,01)

### 3.2.5. Protein ve Proteince Büyüme

Birinci gün ortalama protein miktarı  $5,32 \pm 0,85$   $\mu\text{g/larva}$  değerinde bulundu. Tamamen aç bırakılan larvalarda protein değeri sürekli olarak azalarak dördüncü gün ortalama  $1,62 \pm 0,40$   $\mu\text{g/larva}$  değerine kadar düşerken sürekli besin verilen gruptaki larvalarda aynı gün ortalama  $6,276 \pm 0,91$   $\mu\text{g/larva}$  değerine ulaştığı belirlendi. Dokuzuncu günde sürekli beslenen larvalarda ise protein miktarı ortalama  $24,60 \pm 3,16$   $\mu\text{g/larva}$  değerine kadar ulaştığı bulunmuştur (Şekil 25).





Şekil 25. Sürekli beslenen ve tamamen aç bırakılan hamsi larvalarının protein miktarındaki değişimler (n=6-15, t-testi, FY fark yok, \*\*p<0,01)

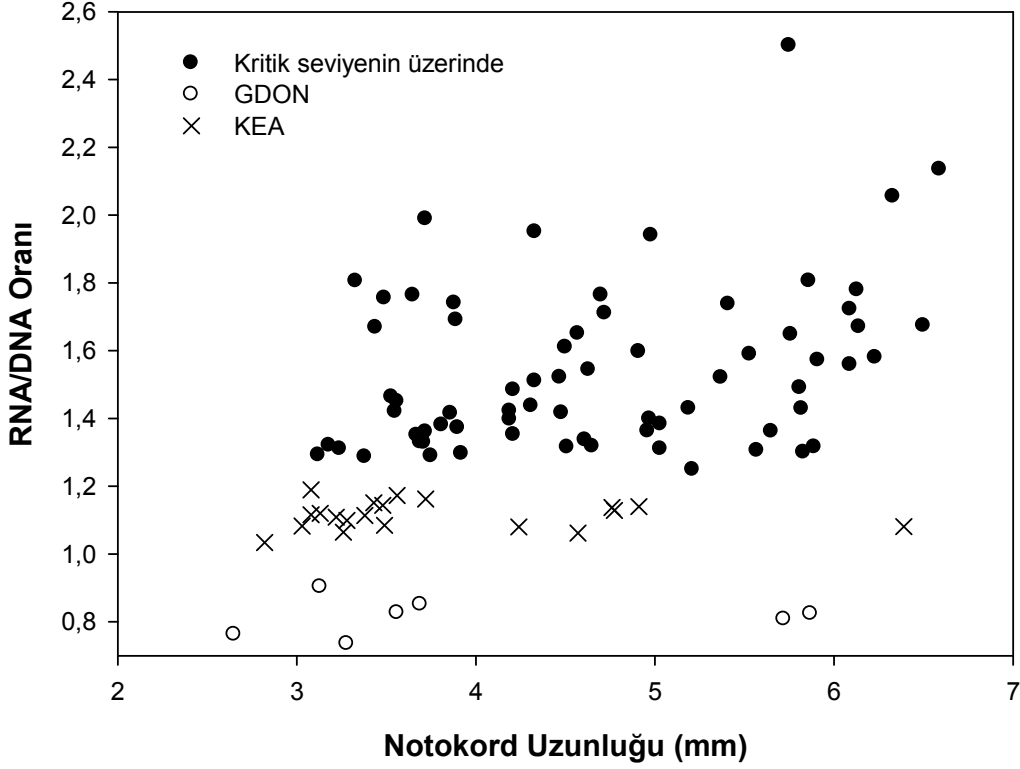
Günlük proteince büyüme %43,45 ile en yüksek altıncı günde kaydedildi. İlk gün yeme adaptasyon süreci olduğu için negatif bir değer bulundu fakat adaptasyonun ilerlemesiyle değerlerde artış kaydedildi (Tablo 2).

Tablo 2. Hamsi larvalarında günde % proteince büyüme (n=6-15)

Gün	Tamamen aç bırakılan grup	Sürekli beslenen grup
2	-34,71	-11,33
3	-21,59	6,91
4	-62,61	21,01
5		33,97
6		43,45
7		34,55
8		13,63
9		18,65

### 3.2.6. Doğadan Toplanan larvalarda Nükleik Asitler

Denizden toplam 102 adet hamsi larvası toplanmıştır ve bunların oransal olarak %9'u geri dönüşü olmayan noktanın altında, %19'u ise kritik eşik aralığındadır (Şekil 26).



Şekil 26. Doğadan toplanan hamsi larvalarının RNA/DNA oranına göre geri dönüşü olmayan nokta GDON ve kritik eşik aralığında, KEA olma durumu (n=102)

### 3.3. Larva Örnekleme Sahasındaki Fitoplankton ve Zooplankton Yoğunluğu

Temmuz ve Ağustos aylarında yapılan fitoplankton örneklemesinde hem kıyıda hem de 1,5 mil açıklardaki yüzey suyunda en fazla Diatom ve Dinoflagellat türleri bulunmuştur (Tablo3). Buna karşılık zooplanktonlardan Copepod türleri, *Cladocera*, midye larvası ve Gastropodlar her ay hem kıyıda hem de 1,5-2 mil açıklarda bol miktarda bulunmuştur (Tablo 4).

Tablo 3. Örnekleme sahasında Temmuz ve Ağustos aylarında fitoplankton yoğunluğu (hücre/L)

Ay	İstasyon	Fitoplankton Yoğunluğu (hücre/L)			
		Diatom	Dinoflagellat	Diğer	Toplam
Temmuz	Kıyı	19.150	16.700	43.800	79.650
	1,5 mil	23.600	19.200	52.500	95.300
	2,0 mil	17.600	18.120	36.300	72.020
Ağustos	Kıyı	22.190	20.100	48.400	90.690
	1,5-2 mil	41.400	24.300	40.800	106.500

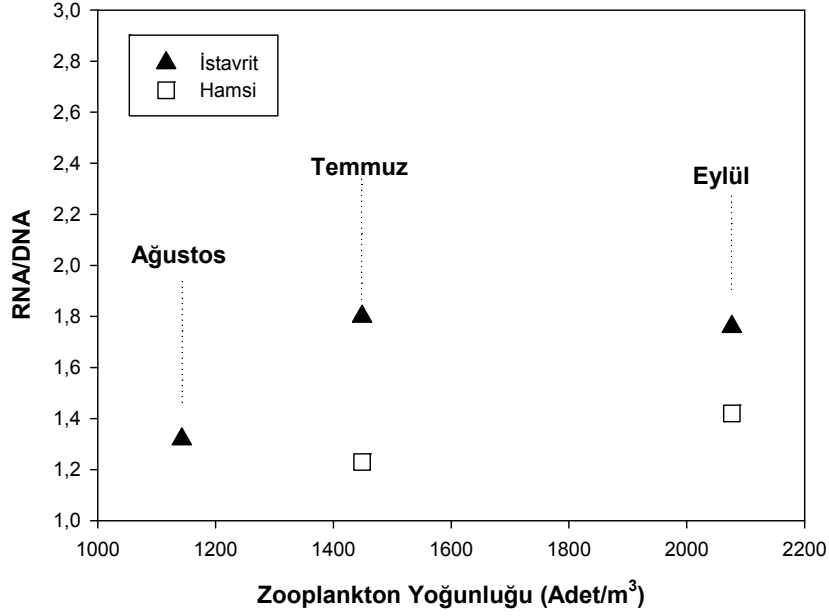
Tablo 4. Örnekleme sahasında Temmuz-Eylül ayları arasında türlere göre zooplankton yoğunluğu (adet/m<sup>3</sup>)

Örnekleme zamanı	İstasyon	Zooplankton Türleri ve Yoğunluğu (adet/m <sup>3</sup> )									
		Copepod türleri	Noctilica	Cladocera	Poliket	Sagitta	Midye larvası	Gastropod	Cirriped	Decapod	Hydrozoa
Temmuz	Kıyı	433	-	73	2	18	180	57	-	73	-
	1.5 mil	609	-	106	-	6	375	342	-	49	-
	2.0 mil	729	3	80	-	-	42	6	-	16	-
Ağustos	Kıyı	10	-	148	1	-	122	643	19	-	2
	1.5 mil	28	-	233	1	-	192	377	23	-	-
Ağustos	Kıyı	5	-	312	-	-	49	136	7	2	-
	1.5 mil	11	-	876	-	-	135	181	26	4	-
Eylül	Kıyı	80	-	1450	-	15	370	12	33	5	27
	1.5 mil	199	-	1.078	-	41	1.712	349	45	9	9

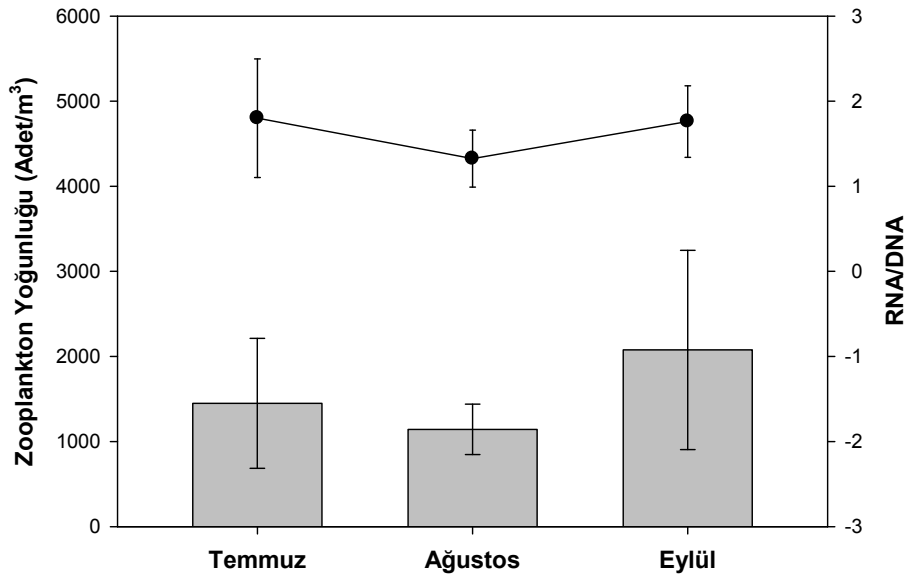
### 3.4. Zooplankton Yoğunluğu ve Örneklenen Larvalarda Nükleik Asit Oranları

En yüksek zooplankton yoğunluğu Eylül ayında kaydedildi. Zooplankton yoğunluğu ile larval kondisyonu birlikte değerlendirmek için hamsi ve istavrit larvalarının belli notokordboyundaki aralığı temsil eden bireylerinin RNA/DNA oranı kullanıldı. Hamsi larvaları için kullanılan aralık 3,5-5,5 mm, istavrit larvaları içinse 3-4 mm'dir. Ağustos ayı zooplankton örneklemeinde hamsi larvası yakalanamadığı için buradaki zooplankton yoğunluğuna karşılık gelen veri yoktur. Eldeki verilerle hamsi larvalarındaki besinsel kondisyonun zooplankton yoğunluğunun artışıyla artma eğiliminde olduğu anlaşılmaktadır. İstavrit larvalarındaki duruma bakıldığında Temmuz zooplankton örneklemeinde

Eylül'dekine göre daha düşük yoğunlukta bulunmasına rağmen larval kondisyon bakımından tersi bir durum görülmektedir (Şekil 27, 28).



Şekil 27. Larvalarda besin kondisyonu ve ortamdaki zooplankton yoğunluğu



Şekil 28. Örnekleme zamanları ve buna karşılık zooplankton yoğunluğu ve istavrit larvalarında RNA/DNA oranı

Buna rağmen Temmuz örneklemesinde elde edilen veriler göz ardı edilip yalnız Ağustos-Eylül skalasında değerlendirildiğinde zooplankton artışıyla birlikte larvaların kondisyonunda artış eğilimi olduğu düşünülebilir.

### 3.5. Su Kalite Parametreleri

Yüzeyde (0-10m) ortalama deniz suyu sıcaklığı haziran-eylül döneminde 21,7 ile 27,8 °C arasında değişim göstermiştir.

Tablo 5. Örnekleme yapılan aylara göre su kalite parametreleri

	Sıcaklık (°C)	İletkenlik (µS/cm)	Tuzluluk (ppm)	%O <sub>2</sub>	O <sub>2</sub> (ppm)	pH	Turb (ntu)
Haziran-2010	21,72	26,47	17,43	118,1	9,29	8,29	5,10
Temmuz-2010	26,57	29,45	17,58	101,8	7,34	8,43	4,89
Ağustos-2010	27,86	29,86	17,38	96,6	6,82	8,46	4,77
Eylül-2010	25,05	28,92	17,81	104,2	7,79	8,12	6,11

## 4. TARTIŞMA

### 4.1. Nükleik Asit Analizleri

Deniz balığı larvalarının kondisyonunu belirlemek amacıyla farklı pek çok indeks geliştirilmiştir. Bu indekslerin doğruluğu, elverişliliği, sürdürülebilirliği, karşılaştırılabilirliği, analiz süreleri ve maliyetleri detaylı olarak araştırılmıştır (Chícharo ve Chícharo, 2008). Özellikle son yıllarda moleküler tekniklerdeki gelişmeler ve yapılan analizlerin güvenilirliği ve hassasiyetlerinin artmasıyla nükleik asitleri baz alan indeksler pek çok denizel organizmada kullanılmaya başlanmıştır. Nükleik asitlere dayanan indekslerden, hücre başına RNA miktarının DNA miktarına oranı deniz balığı larvalarında besinsel kondisyonu belirlemek amacıyla en yaygın kullanımı olan indekstir. RNA ve DNA miktarı, önceki çalışmalarda spektrofotometre ile belirlenirken, son yıllarda flourometrik metotların gelişmesiyle fluoresan fluorometre ile daha hassas bir şekilde ölçülebilmektedir.

RNA ve DNA ekstraksiyonu bakımından, yayınlanmış pek çok makalede tam olarak birebir örtüşen protokolün kullanılmadığı görülmektedir. Bu hususta geliştirilen ilk protokol Clemmensen (1993) tarafından oluşturulmuştur. Aynı araştırmacı geliştirdiği bu protokoldeki eksiklikleri gidermek için eski protokolü modifiye etmiş ve her iki protokolü karşılaştırmıştır (Clemmensen, 1994). Daha sonraki yıllarda farklı araştırmacılar tarafından yapılan çalışmalarda kullanılan protokoller Clemmensen'in (1994) geliştirdiği protokolün belli aşamalarının modifiye edilmesine dayanmaktadır. Ekstraksiyon işlemi yapılırken larvanın tamamen parçalanması sağlanmalıdır. Eğer larva tamamen parçalanmazsa larva başına düşen nükleik asit miktarlarında hatalı sonuçlara sebep olabilirken RNA/DNA oranı değişmemektedir. Larva parçalama işlemi cam boncuk (Clemmensen, 1993, 1994; Gwak, 2002), pestle pipeti (Kono vd., 2003), soğuk sonikatör (Fonseca vd., 2006; Höök vd., 2008) veya homojenizatör (Mercaldo-Allen vd., 2006) kullanılarak yapılmaktadır. Fakat sonikatör zamanla ısı artışına sebep olduğundan RNA'da bozulmaya yol açmaktadır. Mevcut çalışmada cam boncuklar kullanıldı ve ön denemeler yapılırken sonikatörle karşılaştırma yapıldı. Sonikatörle parçalanmış örnekte daha düşük RNA değerleri elde edildi. Bu nedenle sonikatör uygulamasından vazgeçildi. Pestle pipeti kullanmanın

dezavantajı ise larva başına düşen nükleik asit miktarında hatalı sonuçlara sebep olabilmektedir. Çünkü parçalanmış larvanın bir kısmı pestle aparatlarına bulaşabilmektedir. Fakat bu durum RNA/DNA oranında hataya yol açmamaktadır. Homojenizatör ise daha büyük bireylerle çalışırken kas dokusundan alınan örneklerde kullanılabilir ve mevcut çalışmadaki larvalar bunun için uygun değildir.

Ekstraksiyon işleminin sonunda yapılan fluorometrik okuma yönünden yayınlanmış tüm makalelerde izlenen metot genel olarak ortaktır. Buna göre öncelikle ekstrakte edilen nükleik asitli üst faz eş hacimli iki kısma ayrılmaktadır. Birincisi toplam nükleik asitlerin (RNA+DNA) belirlenmesi için fluorometrik okuma yapılmaktadır. İkinci kısma ise RNase enzimi ilave edilip belli sürede inkübe edilerek RNA'nın ortamdan uzaklaşması sağlanmaktadır. Böylece buradan alınan eş hacimle tekrar fluorometrik okuma yapıp yalnız DNA belirlenmektedir. Toplam nükleik asit (RNA+DNA) miktarından DNA miktarı çıkarılarak RNA miktarı hesaplanmaktadır. Mevcut çalışmada ise daha farklı bir ekstraksiyon protokolü (Şekil 6) ve farklı fluorometrik bir metot kullanılmıştır. Fluorometrik metotla okuma yapılırken RNase ve DNase enzimleri kullanılmamıştır. Kullanılan Fluorometre RNA, DNA ve protein ölçümü için özel olarak geliştirilmiş reaktif ve bufferlar sayesinde bunları spesifik olarak ayırt edebilmektedir. Buffer'a eklenen reaktifler (Spesifik fosfoliteye sahip boyalar) Invitrogen tarafından Qubit™ için geliştirilmiş olup nükleik asitlere özel olarak tutunma özelliği göstermektedir. RNA okuması yaparken ortamda DNA'nın bulunması veya bunun tam tersi DNA okuması yaparken ortamda RNA bulunması ölçüm hassasiyetini etkilememektedir. Bunu test etmek için RNase ve DNase kullanmak suretiyle absorbans ölçümleri yapılmış ve DNA miktarı benzer absorbans verirken RNA'nın daha düşük seviyelerde absorbans verdiği (RNA'nın bir miktar bozunmasından dolayı) belirlenmiştir. Bu sayede daha önce yapılmış çalışmalara kıyasla işlem süresi daha kısa zaman almaktadır. Aynı zamanda RNA'nın bozulma riski yüksek olduğu için daha kısa işlem süresi daha doğru sonuç anlamına gelebilir. Bu metodun bir diğer avantajı ise, gerekli reaktifler eklendikten 5 dk sonra RNA ve DNA okuması yapılabilen ve absorbanslar oda sıcaklığında 3 saate kadar stabil kalabilmektedir. Proteinde ise, reaktifler eklendikten 15 dk sonra okuma yapılabilen, yine absorbans 3 saate kadar stabil kalabilmektedir. Bu metodun bir diğer avantajı ise çok az miktarda (1 µl'ye kadar) örneğe ihtiyaç duyulmasıdır.

Bu çalışmada kullanılan fluorometrik metodun dezavantajı ise RNA-iT ve dsDNA-HS gibi yüksek hassasiyetli reaktiflerle çalışırken ölçümü yapılacak örneğin nükleik asit miktarının kabaca tahminini gerektirmesidir. Fluorometrenin kalibrasyonu yapılırken, RNA ve DNA için 2 standart, proteinde ise 3 standart kullanılmaktadır. Ekstraksiyon protokolü izlenerek elde edilen proteinli kısmın veya nükleik asitli fazın ölçüm öncesinde uygun reaktiflerle 1-20 µl arasında seyreltilmesi gerekmektedir. Şayet ölçümü yapılacak örneğin söz konusu nükleik asit miktarı veya protein miktarı uygun seyreltme yapılmamışsa ve böylece ölçülen miktar standartların dışına çıkıyorsa cihaz ölçüm aralığının dışında uyarısı vermektedir. Bu dezavantajı aşmak için yalnızca ölçümü tecrübe etmek ve uygun seyreltmenin yakalanması yeterli olmaktadır. Invitrogen bu noktada RNA ve DNA için iki farklı reaktif seçeneği sunmaktadır. Birincisi daha geniş aralıktaki örneklerle çalışırken kullanılabilen RNA-BR ve dsDNA-BR reaktifleri olup, 20-1000 ng/ml aralığındaki RNA'yı ve 2-1000 ng/ml aralığındaki DNA'yı ölçebilmektedir. İkincisi ise daha dar bir aralıkta ve daha hassas örneklerle çalışırken kullanılan RNA-iT ve dsDNA-HS reaktifleri olup 5-100 ng/ml aralığında RNA'yı ve 0,2-100 ng/ml DNA'yı ölçebilmektedir. Yukarıda belirtilen dezavantaj hassas ölçüm reaktifleri kullanıldığında bazen söz konusu olabilmektedir ve uygun seyreltme yapıldığında herhangi bir sorun teşkil etmemektedir. Bu çalışmayla edindiğimiz tecrübe, deniz balığı larvalarıyla çalışırken geniş aralıktaki reaktiflerin kullanılması daha elverişlidir. Larvalarda nükleik asit miktarı yüksek olduğundan hassas reaktiflerle çalışırken daha düşük hacimde (1-5 µl) seyreltme yapılması gerekmektedir, bu sebeple pipetleme çok önemlidir. Pipetleme işleminde yapılan hata farklı sonuçların ortaya çıkmasına sebep olabileceği için bu işlemin çok titiz yapılması gerekir. Oysa geniş aralıktaki reaktiflerle çalışırken daha yüksek hacimlerde (10-20 µl) örnek kullanmaya imkân sağladığından pipetleme hatası en aza inmektedir.

#### **4.2. Larvalarda Açlığa Tolerans**

Deniz balıklarında larvanın ilk dış beslenmeye başladığı ve ilerleyen süreçlerde hayatta kalabilmesinde son derece belirleyici rol oynayan süreç ilk beslenme aşamasındaki başarılı besin alabilmesidir. Öncelikle ortamda canlı besinin olması ve larvanın da mevcut besini alabilecek fiziksel kondisyona sahip olabilmesi gerekir. İlk beslenmeye geçiş sürecinde ortamda yeterli besin olmaması durumunda larva vücutta bulunan maternal



orijinli besin kaynağını hızlı bir şekilde tüketir ve zamanla hareket kondisyonunda zayıflama olur. Bu kritik süreçte besine ulaşamayan bireyler, sonraki günlerde ortamda yeterli miktarda ve/veya çok fazla besin olsa bile, bu besini alabilecek fiziksel kondisyonu gösterememektedirler. Mevcut çalışmada bu kritik aşama “geri dönüşü olmayan nokta” (GDON) olarak tanımlanmıştır. Karadeniz’de istavrit ve hamsi türleri yaz ayları boyunca Mayıs-Eylül ayları arasında sürekli olarak kıyı alanlarına yumurta bırakmaktadır. Söz konusu aylarda yüzey suyu sıcaklığı 16-27 °C arasında değişim göstermektedir. Mevcut çalışmada istavritlerin özellikle en fazla Temmuz ayında yumurta bırakırken, hamsilerin yoğunlukla Ağustos ayı içerisinde yumurta bıraktığı tespit edilmiştir. Bu dönemlerdeki yüzey suyu sıcaklığı 23,5-26,5 °C arasında değiştiği belirlenmiştir. Saha çalışmalarında özellikle hamsi türünde sıcaklığın 25°C’ye ulaşmasından sonra çok yoğun yumurta toplanabildiği kaydedilmiştir. Karadeniz’de yumurtaların bırakıldığı bu kıyı alanları açık deniz alanlarına kıyasla besin yönünden oldukça zengin olduğu zooplanktonlar çekimleriyle anlaşılabilir. Özellikle kıyıdan uzaklaştıkça daha iri cüsseli zooplankton türlerinde artış olduğu görülmektedir.

Mevcut çalışmada denizden toplanan döllenen yumurtalar kullanılmıştır ve güneşli periyotlarla yapılan yumurta çekimi sırasında zooplanktonların yoğun olarak yumurtalarla birlikte çıktığı gözlenmiştir. Şayet yumurta seçimi kısa sürede yapılamazsa bazı zooplankton türleri yumurtalara ciddi zararlar verebilmektedir ve zarar gören yumurtalar kullanılamamaktadır. Döllenen yumurtaların yüzerliliği yüksek olduğu için toplanan örnekteki yumurtalar özellikle su yüzeyinde veya yüzeye yakın kısımlarda yer alırken zooplanktonlar daha çok dip kısımlarda toplanmaktadır. Bu yüzden yumurta verimini arttırmak için çekimden hemen sonra üst kısım yeni bir kaba transfer edilerek zooplanktonların büyük bir kısmı ayrılmış olur. Saha çalışmalarında toplanan döllenen yumurtalar laboratuvar ortamında inkübe edildikten sonra açılığa tolerans, yaşama oranı, notokordboyu, kritik RNA/DNA ve protein değerlerinin belirlenmesi için deneme serileri oluşturulmuştur. Deneme serilerinde kullanılan kaplar 80-100 ml hacimli kenarları siyah, dip kısmı beyaz olarak tasarlanmıştır. Literatürde deniz balıkları larvalarında yapılan çalışmalar tank kenarlarının siyah, dip kısmının ise beyaz zeminli olması yaşama oranını önemli oranda arttırdığı ispatlanmış ve tavsiye edilen bir uygulamadır (Naas, 1996; Planas ve Cunha, 1999). Deniz balıkları larvalarında aydınlatmanın önemli oranda yaşama oranını etkileyebildiği bildirilmiş ve 2000 lux aydınlatma gücünün en verimli olduğu belirtilmiştir

(Naas, 1996). Bu çalışmada daha önce belirtildiği gibi gün ışığına eşdeğer 2000 lux aydınlatma uygulanmıştır. 24 saat aralıklarla ölü larvalar mikroskop altında sifonlamak suretiyle sayılarak ortamdan uzaklaştırılmıştır. Ön denemeler yapılırken özellikle istavrit larvalarında inkübasyon sonrasında çok yüksek oranda kayıplarla karşılaşmıştır. Kayıpların özellikle larvaların suyun yüzey film tabakasına yapışmasından kaynaklandığı tespit edilmiştir. Bu yapışmanın nedeni larvaların vücut yüzeyinde yüksek oranda mukus hücrelerinin oluşumu ve suyun yüksek yüzey geriliminden dolayı su yüzeyinde yapışma özelliği göstermesinden kaynaklandığı bildirilmiş ve bu tarz ölümler literatürde bazı deniz balığı larvalarıyla benzerlik göstermektedir (Yamaoka vd., 2000; Kaji vd., 2003; Tagawa vd., 2004). Literatürde belirtilmemiş olsa da, larvaların su yüzeyi dışında, tutulduğu kaptaki dip kısımlarında ve sifonlama esnasında su seviyesinin düşmesinden dolayı yan duvarlara da yapıştığı kaydedilmiştir. Yandi ve Altınok (2011) tarafından yapılan çalışmanın verilerine göre 40-80 µl/L konsantrasyonlarındaki TYB uygulamasının yaşama oranını önemli oranda arttırdığı tespit edilmiştir ve asıl deneme serileri oluşturulurken bu kayıpları önlemek için 60-80 µl/L oranında TYB uygulaması yapılmıştır. Hamsi larvalarında bu tarz yapışmalar nadiren görülmesine rağmen istavrit larvalarına uygulanan TYB uygulamasının aynısı hamsi larvaları için de uygulanmıştır.

Besin verilen serilerde dipte biriken organik atıklar ve ölü rotiferler 24 saat aralıklarla sifonlanmıştır. Her bir deneme kabındaki suyun 1/3-1/2'si taze deniz suyuyla günlük olarak yenilenmiştir. Yine besin verilen gruplarda mikroalg (*Nannochloropsis oculata*) yoğunluğu  $3-5 \times 10^5$  hücre/ml düzeyinde tutulurken, verilen s-tip rotifer (*Brachionus rotundiformis*) yoğunluğu 15-20 rotifer/ml düzeyinde tutulmuştur. Rotifer günde iki kez verilmiştir (07<sup>00</sup> ve 12<sup>00</sup>).

Bu tarz çalışmalar planlanırken larvalarda ağızın açılma anı ilk besinin verileceği dolayısıyla çalışmanın başlangıç anı için belirleyici olmaktadır. Larvalarda göz pigmentasyonunun belirginleşmesi ağızın açılma anı ile paralellik göstermekte ve bu yüzden göz pigmentasyonu çalışma başlangıcı için referans alınabilmektedir (Kono vd., 2003). Mevcut çalışmada her iki türde göz pigmentasyonu inkübasyonu takiben üçüncü gün gerçekleştiği belirlenmiş olup mikroskopta larvalar izlenmek suretiyle doğrulaması da yapılmıştır. Kono vd. (2003) Japon hamsilerinde yaptığı çalışmada bu aşamanın yine üçüncü günde gerçekleştiğini bildirmişlerdir.

Hamsi larvaları sürekli beslendiği halde yaşama oranı bakımından oldukça düşük bulunmuştur. Kono vd. (2003) Japon hamsisinde daha yüksek yaşama oranları bildirmişlerdir, bu farklılığın iki nedeni olabilir; birincisi türlerin farklı olması ikinci önemli sebebi ise bu araştırmacılar gözlenmiş hamsi yumurtalarını steril bir kuluçkahaneden kültüre alınmış hamsi popülasyonundan kontrollü bir şekilde temin etmişlerdir. Oysa mevcut çalışmada gözlenmiş yumurtalar denizden plankton kepçesi ile toplanmış olup, kepçenin yumurtalara verebileceği fiziksel hasarlar, kepçenin kolektör kısmında çekim hızı ve kepçenin gözeneklerinde oluşan tıkanmayla oluşan hidrolik kuvvetler ve kolektör kısmında çekim süresiyle birlikte yoğunlaşan zooplankton kitlesinin yumurtalara verebileceği zararlar söz konusu olabilir. İstavrit larvalarında ise oldukça yüksek yaşama oranları gözlenmiştir. Fakat kaynak taramalarında bu türün larval süreçlerine yönelik çalışma rapor edilmemiştir. Her iki türün besin kesesi ve davranışları incelendiğinde, hamsi larvalarında besin kesesinin daha kısa sürede tüketildiği ve besin keseli aşamada oldukça hızlı ve sürekli hareket halinde olduğu görülmektedir. İstavrit besin kesesini nispeten daha geç tüketmektedir ve bu esnada fazla efor sarf edecek yüzme davranışları sergilemektedirler.

Notokord, besin kesesini tüketip ağzın açılma aşamasına kadar uzamayı sürdürmektedir. Bu, maternal orijinli besin kaynağının bazı vücut kısımlarının gelişiminde kullanıldığından kaynaklanmaktadır. Erken larval aşamada büyümenin hipertropi (hücre boyutunun artması) olarak değil daha çok hiperplasi (hücre sayısının artması) şeklinde olduğu bildirilmiştir (Gwak vd., 2003). Besin kesesi tüketildikten sonra larva, besin alamadığında zamanla notokord yönünden kısalmaya başlamaktadır. Kono vd. (2003)'nin çalışmasında bu durum görülmektedir ve mevcut çalışmada da aç bırakılan larvaların notokord yönünden önemli ölçüde kısaldığı kaydedilmiştir.

Larvalarda beslenme, yaşama oranı ve bunun sonucunda ortaya çıkan nükleik asit seviyeleri birlikte değerlendirildiğinde iki önemli durum ortaya çıkmaktadır. Birincisi geri dönüşü olmayan nokta (GDON); bu noktadaki RNA/DNA oranının altındaki bireylerin, ortamda yeterince besin olsa bile hayata tutunma şansı yoktur. İkincisi ise kritik eşik aralığı (KEA); bu aralıktaki RNA/DNA oranına sahip bireylerin yaşama şansı devam edip bireysel kondüsyona bağlı olarak değişebilmektedir. Hamsi larvalarında KEA 1,03-1,28 istavrit larvalarında 1,06-1,15 aralığındadır.

RNA/DNA oranı aç bırakılan larvalarda önemli ölçüde düşmektedir. Hamsi larvaları ilk gün aç bırakıldığında kritik açlık seviyesine girmektedir ve kritik RNA/DNA oranı  $1,022 \pm 0,2$  değerinde bulunmuştur. Buna en yakın çalışma Kono vd. (2003)'nin Japon hamsileri üzerinde yaptığı çalışmadır fakat bu araştırmacılar belli bir kritik değer belirtmemişlerdir. Fakat söz konusu çalışmanın grafikleri incelendiğinde geri dönüşü olmayan noktadaki RNA/DNA oranının 1'e yakın olduğu anlaşılmaktadır. İstavrit larvalarında ise kritik aşama ilk üç gün aç bırakılan larvalarda kaydedilmiştir ve  $1,05 \pm 0,08$  değeri bulunmuştur. İstavrit larvalarıyla ilgili bu konuda literatürde herhangi bir çalışma rapor edilmemiştir. Fakat diğer türlere yönelik kritik RNA/DNA değerleri rapor edilmiştir; Martin vd. (1985) çizgili levrekte 2,0, Lough vd. (1996) Atlantik morinası ve Atlantik mezgiti türlerinin her ikisi için 4,1, Chícharo (1996, 1997) sardalyada 1,3, Gwak ve Tanaka (2001) Japon pisi balığında 1,08-5,36 aralığında, Tanaka vd. (2008) Pasifik ton balığında 1,5-3,0 aralığında tespit etmişlerdir fakat burada verilen belli aralıklar farklı boy gruplarını da kapsamaktadır.

İstavrit larvalarında GDON veya açlığa tolerans sınırı ilk beslenmeye başlamadan itibaren ikinci ve üçüncü gün arasında meydana gelirken hamsi larvalarında birinci gün kritiktir. Diğer ifadeyle hamsi larvaları ağzın açılma ve fonksiyonel beslenmenin başladığı ilk 24 saat içerisinde besine ulaşmak zorundadır, aksi takdirde sonraki günlerde larva besince zengin ortam bulsa da bu besini tüketememektedir. Tamamen aç bırakılan istavrit larvalarında RNA/DNA oranı ikinci ve üçüncü gün sırasıyla  $1,46 \pm 0,10$  ve  $1,06 \pm 0,08$  dir. Hamsi larvalarında RNA/DNA oranı, tamamen aç bırakılan grupta birinci günün sonunda  $1,595 \pm 0,26$ 'dan  $1,022 \pm 0,20$  değerine düşmektedir. Hamsi larvalarında bu düşüş çok kısa sürede ve hızla olmaktadır. Bu noktada etkili olan larvanın sahip olduğu maternal orijinli besin kesesi ve larvanın yüzme paternlerine bağlı enerji tüketim hızıdır. Hamsi larvaları nispeten daha kısa sürede besin kesesini tüketmektedir. Aynı zamanda istavrit larvalarına kıyasla daha etkin bir şekilde hareket etmektedir. İstavrit larvaları bu bakımdan hamsi larvalarına kıyasla açlığa karşı daha fazla tolerans göstermektedir.

### **4.3. Denizden Yakalanan Larvaların Besinsel Durumu**

Denizel ortamda larvalar açısından, çok farklı hidrodinamik süreçler ve besinsel etkileşimler tarafından kontrol edilen ilk beslenme aşamasındaki süreçleri tahmin etmek

son derece zordur. Bunu belirlemek için ortamda bulunan mevcut besin miktarını bilmek yeterli olmayıp larvanın mevcut besini alabilecek kondisyona sahip olup olmadığının da bilinmesi gerekir. Ayrıca Elliot ve Leggett (1998) larval kondisyonu zayıf olan larvaların predasyona karşı da daha savunmasız hale geldiğini bildirmişlerdir. Bunun en iyi ve en güvenilir göstergesi biyokimyasal kondisyon indeksi olan larvada bireysel olarak toplam RNA miktarının toplam DNA miktarına oranıdır (Chícharo ve Chícharo, 2008). Bu metodun temel prensibi; hücre başına DNA miktarı stabilken, hücre başına RNA miktarının beslenme ve buna bağlı olarak protein sentezinin artmasıyla artış eğilimi göstermesi olup özellikle son yıllarda bu indekse dayanan çalışmaların sayısında artış vardır (Bulow, 1970; Buckley, 1984; Buckley ve Bulow, 1987; Clemmessen, 1993; Chícharo, 1998; Buckley vd., 1999; Bergeron, 2000; Gwak ve Tanaka, 2001; Berdalet vd., 2005; Caldarone vd., 2006; Fonseca vd., 2006; Chícharo ve Chícharo, 2008; Höök vd., 2008). Bu amaçla doğadan toplanan larvaların yakalandığı andaki besinsel kondisyon indeksinin hesaplanarak kritik açlık sınırındaki birey sayısının toplam birey sayısına oranı hesaplanmalı ve buradan stoğa katılma potansiyeli yönünden değerlendirme yapılmalıdır.

Denizden toplanan larvalar, GDON ve KEA'ya göre değerlendirildi. Hamsi larvalarının yaklaşık %9'u GDON'a, %19 ise KEA'na girmektedir. İstavrit larvalarında ise yaklaşık %10'u GDON'a, %10'u ise KEA'dadır. GDON seviyesinin altındaki RNA/DNA değerine sahip bireylerin ortamda besin olsa bile yaşama ihtimalinin olmadığı deneme serilerinde belirlenmiştir. KEA içerisinde yer alan larvalar kondisyon yönünden zayıf olduğu için predasyona uğrama olasılığı yüksektir. Predasyona uğrama göz ardı edilecek olursa denizel ortamda larvaların yaşama olasılığını belirleyen larvanın ortamdaki besine kolay ulaşabilmesidir. Bu çalışmada KEA'daki hamsi larvalarının %5-15'inin, istavrit larvalarının ise %20-40'ının besin alabildiği stereo mikroskop altında çekilen fotoğraflarla gözlenmiştir. Denizdeki hidrodinamik şartlar ve plankton paternlerinin kontrollü deneme şartlarından farklılık göstereceği dikkate alınmalıdır.

Buna benzer çalışmalar Atlantik ve Pasifik Okyanusu ve Baltık Denizi'ndeki özellikle sardalya ve hamsi gibi küçük pelajik türlerde yapılmıştır. Clemmessen ve Doan (1996) hamsi balığında (*Engraulis anchoita*) 5-6mm'lik büyüklük grubunda aç bireylerin oranını %52,4 gibi yüksek bir değerde bulmasına rağmen diğer büyüklük gruplarında %0-1,75 arasında bulmuştur. Kimura vd. (1996) Japon sardalyası'nda (*Sardinops melanostictus*) ilk beslenme döneminde açlık sınırındaki bireylerin oranını %0 olarak

hesaplamıştır. Chícharo vd. (1998) İspanya kıyılarında sardalya (*Sardina pilchardus*) larvalarının açlık durumunu daha önce yaptığı çalışmalarda tespit ettiği (Chícharo, 1996, 1997) kritik RNA/DNA oranına göre değerlendirmiş ve yetersiz beslenen bireylerin tüm larvalara oranını %0-4,8 olarak hesaplamıştır. Yine aynı araştırmacının diğer bir çalışmasında denizden örneklediği larvalarda RNA/DNA oranının %0-2,5 arasında değişim gösterdiğini belirtmiştir (Chícharo vd., 2003). Gwak ve Tanaka (2001) açlık sınırındaki bireylerin oranını Japon pisi balığında %5,5, Tanaka vd. (2008) Pasifik Ton balığında %4,35 ile 25,77 aralığında hesaplamıştır.

Mevcut çalışmada, sağlıklı karşılaştırma yapabilmek için belli büyüklük grubundaki larvaların RNA/DNA değerleriyle ortamdaki zooplankton yoğunlu arasındaki ilişki ortaya konulmaya çalışılmıştır. Tanaka vd. (2008) Pasifik ton balığı larvalarında yaptığı çalışmada ortamdaki Copepod yoğunluğu ile aç bireylerin oranı arasında ilişki kurmuştur. Söz konusu çalışmaya göre Copepod yoğunluğu arttıkça aç birey sayısı azalmaktadır. Mevcut çalışmada ise ortamdaki zooplankton yoğunluğu (tür ayrımı yapmaksızın) ile bu konuda doğrudan bir ilişki bulunamamıştır. Bunun muhtemel nedenleri;

- Larvaların zooplankton tercihleri; mevcut çalışmada belli bir zooplankton türünün yoğunluğu ile karşılaştırma yapılmamıştır.
- Zooplankton yoğunluğundaki genel dalgalanmalar; saha çalışmalarında en göze çarpan durum zooplankton yoğunluğunun çok ciddi dalgalanmalar göstermesidir. Bu durumun, zooplanktonların kısa süreli periyotlarda (1 haftaya kadar) aşırı çoğalıp sonrasında aniden yıkımı, su kolonunda ışık ve besin durumuna göre aktif planktonik göçler veya sudaki akıntı, dalga vs gibi denizin kendi hidrodinamiklerinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir.
- Gün içerisinde zooplankton dağılımı; saha çalışmalarında zooplankton yoğunluğunun gün içerisinde bile çok büyük değişkenlikler gösterdiği belirlenmiştir.

## 5. SONUÇLAR

Karadeniz'in ekonomik değeri en yüksek pelajik türlerinden hamsi ve istavrit larvaları üzerinde, erken larval gelişim süreçlerin incelenmesinin yanı sıra kritik açlık seviyesini belirlemek amacıyla farklı açlık seviyelerinde yaşama oranı, notokordboyu, açlığa karşı tolerans, proteince büyüme ve nükleik asitleri baz alan bir dizi laboratuvar denemeleri yapılmıştır. Her iki türün gözlenmiş yumurtaları hensen tipi plankton kepçesiyle denizden toplanmış ve 5000'den fazla iki günlük larva elde edilmiştir. Deneme serilerinden her iki tür için tespit edilen kritik açlık seviyelerindeki nükleik asit değerleri doğadan toplanan larvalardaki değerlerle karşılaştırılarak doğadaki larvaların yakalandığı anda ne kadarının kritik açlık seviyesinde olduğu belirlenmiştir. Buna ilaveten doğadan larva örnekleme çalışmaları sırasında ortamdaki fitoplankton, zooplankton yoğunlukları ve deniz suyunun bazı fizikokimyasal parametreleri belirlenmiş ve değerlendirme yapılmıştır.

Denizden toplanan gözlenmiş yumurtalarda iki günlük larva olarak inkübasyon başarısı hesaplandığında,  $21\pm 0,2^{\circ}\text{C}$  sıcaklıkta hamsi yumurtalarında %56,05, istavrit larvalarında %59,91'dir. Deniz balıkları larvalarında genel olarak göz pigmentasyonu ve ağzın açılması aynı süreçte gerçekleşmektedir ve besinin ilk verileceği an bakımından önemli bir aşamadır, aynı zamanda larvanın hayatta kalması açısından belirleyici olabilmektedir. Günümüz modern deniz balıkları kuluçkahaneleri bu durumu larva açısından tolere edebilmek için ağzın gelişim sürecinden daha erken bir süreçte ortamı canlı besinle desteklemektedir. Bu aşama, hamsi larvalarında inkübasyondan sonra 65. saatte gerçekleşirken istavrit larvalarında 70. saatte gerçekleşmektedir. Dolayısıyla her iki türde inkübasyonu takiben üçüncü günde ilk besin alımına başlamaktadır. Yeni inkübe olmuş hamsi larvalarının notokorduzunluğu ortalama  $3,25\pm 0,04$  mm, istavrit larvalarının ise  $2,27\pm 0,04$  mm'dir. Notokord, besin kesesinin tüketildiği ve göz pigmentasyonun gerçekleştiği üçüncü güne kadar uzamayı sürdürmektedir. Üçüncü gün hamsi larvalarının notokorduzunluğu ortalama  $3,40\pm 0,05$  mm, istavrit larvalarının ise  $2,35\pm 0,08$  mm'dir.

Tamamen aç bırakılan hamsi larvalarının notokorduzunluğu beşinci günde  $3,12\pm 0,18$  mm'ye kadar düşerken, istavrit larvalarında altıncı günde  $1,93\pm 0,12$  mm'ye kadar gerilemiştir. Sürekli beslenen hamsi larvalarında onuncu günde  $6,46\pm 0,36$  mm'ye ulaşırken istavrit larvalarında dokuzuncu günde  $3,57\pm 0,21$  mm'ye ulaşmıştır. Hamsi larvaları bu

süreçte özellikle boyca uzarken istavrit larvaları hamsi larvalarına kıyasla daha ziyade enine büyümektedir.

Hamsi larvalarında yaşama oranı istavrit larvalarına kıyasla oldukça düşüktür. Tamamen aç bırakılan hamsi larvalarının tamamı altıncı günde ölürken istavrit larvaları sekizinci günde tamamen ölmektedir. Sürekli beslenen hamsi larvalarında altıncı, yedinci ve sekizinci günlerde yaşama oranları sırasıyla %17, %10 ve %9 oranında seyrederken istavrit larvalarında sekizinci günde %61 gibi yaşama oranı hamsilere kıyasla oldukça yüksek kaydedilmiştir. Geciktirilerek beslenen gruplardaki hamsi larvalarındaki ölüm oranları tamamen aç bırakılan gruplardakiyle benzerlik gösterip yine bu serilerdeki larvaların tamamı altıncı günde mortaliteye uğramaktadır. İstavrit larvalarının geciktirilerek beslenen serilere bakıldığında ilk üç gün aç bırakılan larvaların yaşama oranı sekizinci günde %6 olarak kaydedilmiştir. Sonuç olarak istavrit larvaları ilk üç gün açlığa tolerans gösterirken hamsi larvalarında ilk 24 saat aç kalmaya bile tolerans gösterememektedir ve larvanın ağız açıldığı gün mutlaka besine ulaşması hayata tutunabilmesi açısından çok önemlidir.

İlk beslenme aşamasındaki hamsi larvalarında RNA/DNA oranı ortalama  $1,59 \pm 0,26$ , istavrit larvalarında  $1,73 \pm 0,19$ 'dur. Tamamen aç bırakılan hamsi larvalarında bu oran kademeli olarak önemli ölçüde azaldığı ve dördüncü gün  $0,29 \pm 0,03$  değerine düştüğü belirlenmiştir. Tamamen aç bırakılan istavrit larvalarında bu düşüş hamsi larvalarına kıyasla daha yavaş ve tedrici olarak gerçekleşmekte ve beşinci günde  $0,46 \pm 0,08$  değerine düşmektedir. Sürekli beslenen hamsi larvalarında dördüncü gün ortalama  $1,358 \pm 0,15$  ölçülürken dokuzuncu gün  $1,527 \pm 0,146$  değerinde ölçülmüştür. Sürekli beslenen istavrit larvalarında dokuzuncu günde  $2,16 \pm 0,20$  değerine ulaşmaktadır. Geciktirilerek beslenen serilerdeki hamsi larvaları ile tamamen aç bırakılan larvaların değerleri benzerlik göstermektedir. Geciktirilerek beslenen istavrit larvaları tamamen aç bırakılan gruptaki larvaların değerlerinden önemli farklılıklar göstermektedir ( $p < 0,01$ ). GDON hamsi larvalarında birinci gün ve kritik RNA/DNA oranı ortalama  $1,022 \pm 0,2$ 'dir. İstavrit larvalarında GDON üçüncü gün ve kritik RNA/DNA oranı ortalama  $1,05 \pm 0,08$ 'dir.

Yeni inkübe olmuş hamsi larvalarında protein değeri ortalama  $5,32 \pm 0,85$  µg/larva, istavrit larvalarında  $5,148 \pm 0,516$  µg/larva'dır. Tamamen aç bırakılan hamsi larvalarında dördüncü gün  $1,62 \pm 0,40$  µg/larva değerine düşerken istavrit larvalarında  $1,3 \pm 0,644$



$\mu\text{g/larva}$  deęerine dūřmūřtur. Sūrekli beslenen hamsi larvalarında dokuzuncu gūnde  $24,60\pm 3,16 \mu\text{g/larva}$ , istavrit larvalarında  $28,587\pm 6,06 \mu\text{g/larva}$  deęerine ulařmıřtır.

Denizden 102 adet hamsi larvası, 72 adet istavrit larvası Őrneklenmiřtir. Hamsi larvalarının %10'u, istavrit larvalarının ise %13'ū kritik aęlık seviyesindedir. Ortamdaki zooplankton yoęunluęu ile bu larvaların nūkleik asit deęerleri arasında bir iliřki kurulamamıřtır. Őrneklemelerin yapıldıęı sūreęte yūzey suyu (0-10m) sıcaklıęı ortalama; 21,7 ile 27,8°C, O<sub>2</sub> seviyesi; 6,82-9,29, pH; 8,12-8,46 arasında Őlçūlmūřtur.

## 6. ÖNERİLER

Karadeniz balıkçılığının Türkiye balıkçılığı açısından ayrıcalıklı bir yeri vardır ve toplam üretimin %82'sini teşkil etmektedir. Karadeniz balıkçılığının sürdürülebilir olması ülkemiz açısından da son derece önemlidir. Özellikle hamsi ve istavrit popülasyonları ekonomik açıdan Karadeniz'in en önemli türleri olup söz konusu popülasyonların izlenmesi balıkçılığın geleceği ve sürdürülebilirliği açısından önem arz etmektedir. Karadeniz'de pelajik balık stoklarındaki azalma yalnızca avcılık verileriyle anlaşılmaktadır ve ülkemizde avcılık verileri reel olmaktan son derece uzaktır. Çünkü sağlıklı takip edilen avcılık verileri olmadığı gibi bu konudaki alt yapı henüz yeterli de değildir. Popülasyonlardaki dalgalanmaları etkileyen en önemli sebeplerden biri erken larval dönemdeki beslenmeye bağlı problemlerdir. Doğal popülasyonlardan örneklenen larvaların beslenme yönünden kondisyonunu ortaya koymak balıkçılığı yönlendiren otoriteler açısından önemli bir veri kaynağıdır.

Doğadan yakalanan larvalarda nükleik asit analizi yapılması tek başına bir şey ifade etmemektedir. Çünkü bunu karşılaştırabilmek ve somut bir analiz ortaya koyabilmek için temel veri niteliğinde olan larval beslenme ve buna bağlı nükleik asit değerlerindeki değişimler, yaşama oranı “kritik RNA/DNA oranı ve geri dönüşü olmayan nokta (GDON) ve kritik eşik aralığı (KEA)” gibi verilerin ortaya konulmuş olması gerekmektedir. Bu çalışma bu temel verileri hamsi ve istavrit larvaları için belirlemeyi hedeflemiştir.

Kısaca bu çalışmalardan elde edilen veriler değerlendirildiğinde;

- Larvalarda beslenmeye bağlı geri dönüşü olmayan kritik nokta,
- Türe özgü beslenmeye bağlı RNA/DNA oranı ve proteince günlük büyüme,
- Türe özgü kritik RNA/DNA oranı,
- Doğadan elde edilen larvalar içerisinde açlık sınırındaki bireylerin toplam bireye oranı,
- Doğal popülasyondaki bireylerin beslenme durumu ve ortamda mevcut canlı besinle ilişkisi, belirlenmiştir

Özellikle bundan sonra yapılacak olan doğal ortamdaki larvaların besinsel durumuyla ilgili çalışmalarda referans olarak kullanılacak temel veriler literatüre kazandırılmaya çalışılmıştır. Aynı zamanda bu çalışmada doğal larvalardaki beslenme durumu da analiz

edilmiştir. Böylece örnekleme sahasından toplanan larvalardan oransal olarak ne kadarının kritik açlık seviyesinde olduğu da ortaya konulmuştur. Bundan sonra yapılacak çalışmalarda denizden toplanan larvaların açlık seviyeleri aynı metotla takip edilmesi balıkçılık açısından faydalı olacaktır. Uzun vadede bu veriler takip edildiğinde stoktaki azalma ya da yıllara göre dalgalanmada beslenmenin etkili olup olmadığı belirlenerek av sezonu başlamadan önce avlanabilir stoğa yönelik tahmin yapmaya yardımcı olabilir. Bu sayede avcılık organizasyonu daha sağlıklı olarak planlanabilir ve stoğun korunmasına yönelik tedbirler ilgili birimler tarafından alınabilir. Böylece, Karadeniz ve dolayısıyla Ülkemiz balıkçılığının durumuna yönelik kısa ve uzun vadeli öngörüler yapılabilir.

## 7. KAYNAKLAR

- Alberts, B., Bray, D., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K. ve Watson, J.D., 1994. Molecular biology of the cell, Garland Publishing Inc., NY, USA.
- Anonim (TÜİK), 2010. Türkiye İstatistik Kurumu, Su Ürünleri 2009 Verileri, Ankara.
- Arım, N., 1957. Marmara ve Karadeniz'deki Bazı Kemikli Balıkların (Teleostların) Yumurta ve Larvalarının Morfolojileri ile Ekolojileri, Hidrobiyoloji Mecmuası, 5,7-55.
- Bailey, K.M. ve Houde, E.D., 1989. Predation on eggs and larvae of marine fishes and the recruitment problem, Adv Mar Biol, 25, 1-83.
- Bakun, A., 1998. Ocean triads and radical interdecadal stock variability: bane and boon for fishery management science, Ed., Pitcher, T.J., Hart, P.J.B. ve Pauly, D., Reinventing Fisheries management, Chapman and Hall, London, 331-358.
- Bat, L., Şahin, F., Satılmış, H.H., Üstün, F., Özdemir, Z.B., Kıdeys A.E. ve Shulman, G.E., 2007. Karadeniz'in Değişen Ekosistemi ve Hamsi Balıkçılığına Etkisi, Journal of Fisheries Sciences, 1, 191-227.
- Bektas, Y. ve Belduz, A.O., 2008. Molecular phylogeny of turkish trachurus species (perciformes : Carangidae) inferred from mitochondrial DNA analyses, Journal of Fish Biology, 73, 1228-1248.
- Berdalet, E., Roldan, C., Olivar, M.P. ve Lysnes, K., 2005a. Quantifying RNA and DNA in planktonic organisms with SYBR Green II and nucleases Part A. Optimisation of the assay, Sci Mar, 69, 1-16.
- Berdalet, E., Roldan, C. ve Olivar, M.P., 2005b. Quantifying RNA and DNA in planktonic organisms with SYBR Green II and nucleases Part B. Quantification in natural samples, Sci Mar, 69, 17-30.
- Bergeron, J.P., 2000. Effect of strong winds on the nutritional condition of anchovy (*Engraulis encrasicolus* L.) larvae in the Bay of Biscay, Northeast Atlantic, as inferred from an early field application of the DNA/C index, ICES J Mar Sci, 57, 249-255.
- Bergeron, J.P., 1997. Nucleic acids in ichthyoplankton ecology, A review, with emphasis on recent advances for new perspectives, J Fish Biol, 51, 284-302.
- Bierse, S.C., Leonard, R.B. ve Coggeshall, R.E., 1980. Neuronal increase in various areas of the nervous system of the guppy, *Lebistes*, J Comp Neurol, 194, 291-301.

- Brightman, R.I., Torres, J.J., Donnelly, J. ve Clarke, M.E., 1997. Energetics of larval red drum, *Sciaenops ocellatus*. Part II: Growth and biochemical indicators, Fish Bull, 95, 431-444.
- Bromhead, D., Kalish, J. ve Waring, P., 2000. Application of flow cytometric cell cycle analysis to the assessment of condition and growth in larvae of a freshwater teleost *Galaxias olidus*, Can J Fish Aquat Sci, 57, 732-741.
- Buckley, L., 1984. RNA:DNA ratio: an index of larval fish growth in the sea, Mar Biol, 80, 291-298.
- Buckley, L.J. ve Bulow, F.J., 1987. Techniques for estimation of RNA, DNA, and protein in fish. In Age and Growth of Fish, Ed., Summerfelt, R.C. ve Hall, G.E., Iowa State University Press, Ames IA, 345-354.
- Buckley, L.J., Caldarone, E.M. ve Ong, T.L., 1999. RNA-DNA ratio and other nucleic acid-based indicators for growth and condition of marine fishes, Hydrobiologia, 401, 265-277.
- Bulow, J.F., 1970. RNA-DNA ratios as indicators of recent growth rates of fish, J Fish Res B Canada, 27, 2343-2349.
- Bulow, J.F., 1987. RNA-DNA ratios as indicators of growth rates in fish, A review, In The age and growth of fish, Ed., Summerfelt, R.C. ve Hall, G.E., 45-64, The Iowa State University Press, Ames, Iowa.
- Caldarone, E.M., Clemmesen, M.C., Berdalet, E., Miller, T.J., Folkvord, A., Holt, G.J., Olivar, M.P. ve Suthers, I.M., 2006. Intercalibration of four spectrofluorometric protocols for measuring RNA:DNA ratios in larval and juvenile fish, Limnol Oceanogr Methods, 4, 153-163.
- Caldarone, E.M., Onge-Burns, J.M.St. ve Buckley, L.J., 2003. Relationship of RNA/DNA ratio and temperature to growth in larvae of Atlantic cod, *Gadus morhua*, Mar Ecol Prog Ser, 262, 229-421.
- Catalán, I.A. ve Olivar, M.P., 2002. Quantification of muscle condition using digital image analysis in *Dicentrarchus labrax* larvae, and relationship with survival, J Mar Biol Ass, 82, 649-654.
- Catalán, I.A., 2003. Condition Indices and Their Relationship With Environmental Factors In Fish Larvae, PhD Thesis, Universitat De Barcelona Departament D'ecologia, Barcelona, Spain.
- Chícharo, L. ve Chícharo, M.A., 1995. The RNA:DNA ratio as useful indicator of the nutritional condition in juveniles of *Ruditapes decussatus*, Sci Mar, 59, 95-101.

- Chícharo, M.A., 1996. Metodos de avaliacao do estado nutricional em larvas de *Sardina pilchardus* aplicados ao estudo das condicoes de sobrevivencia no meio natural (Methods for the evaluation of the nutritional state of *Sardina pilchardus* larvae applied on the study of survival conditions in nature), PhD Thesis, University Algarve.
- Chícharo, M.A., 1997. Starvation percentages in field caught *Sardina pilchardus* larvae off southern Portugal, Sci Mar, 61, 507-516.
- Chícharo, M.A., 1998. Nutritional condition and starvation in field caught *Sardina pilchardus* larvae from southern Portugal compared with some environmental factors, J Exp Mar Biol Ecol, 225, 123-137.
- Chícharo, M.A., Chícharo, L., López-Jamar, E., Valdes, L. ve Ré, P., 1998. Estimation of starvation and diel variation of the RNA/DNA ratios of field caught *Sardina pilchardus* larvae off north of Spain, Mar Ecol Prog Ser, 164, 273-283.
- Chícharo, M.A., Chicharo, L., Valdes, L., Lopez-Jamar, E. ve Ré, P., 1998. Does the nutritional condition limit survival potential of sardine *Sardina pilchardus* (Walbaum, 1792) larvae off the north coast of Spain? RNA/DNA ratios and their variability, Fish Res, 39, 43-54.
- Chícharo, L., Chícharo, M.A., Alves, F., Amaral, A., Pereira, A. ve Regala, J., 2001. Diel variation of the RNA:DNA ratios in *Crassostrea angulata* (Lamarck) and *Ruditapes decussatus* (Linnaeus 1758) (Mollusca, *Bivalvia*), J Exp Mar Biol Ecol, 259, 121-129.
- Chícharo, M.A., Esteves, E., Santos, A.M.P., dos Santos, A., Peliz, A. ve Ré, P., 2003. Are sardine larvae caught off northern Portugal in winter starving? An approach examining nutritional conditions, Mar Ecol Prog Ser, 257, 303-309.
- Chícharo, M.A., Chícharo, L., Amaral, A. ve Morais, P., 2007. Sex effect on ratios and concentrations of DNA and RNA three in marine organisms, Mar Ecol Prog Ser, 332, 241-245.
- Chícharo, M.A. ve Chícharo, L., 2008. RNA:DNA Ratio and Other Nucleic Acid Derived Indices in Marine Ecology, Int J Mol Sci, 9, 1453-1471.
- Clarke, A., Rodhouse, P.G., Holmes, L.J. ve Pascoe, P.L., 1989. Growth rate and nucleic acid ratio in cultured cuttlefish, *Sepia officinalis* (Mollusca: *Cephalopda*), J Exp Mar Biol Ecol, 133, 229-240.
- Clarke, M.E., Calvi, C., Domeier, M., Edmonds, M. ve Walsh, P.J., 1992. Effects of nutrition and temperature on metabolic enzyme activities in larval and juvenile red drum, *Sciaenops ocellatus*, and lane snapper, *Lutjanus synagris*, Mar Biol, 112, 31-36.

- Clemmesen, C., 1987. Laboratory studies on RNA-DNA ratios of starved and fed herring *Clupea harengus* and turbot *Scophthalmus maximus* larvae, J Cons Int Exp Mer, 43, 122-128.
- Clemmesen, C., 1993. Improvements in the fluorometric determination of the RNA and DNA content of individual marine fish larvae, Mar Ecol Prog Ser, 100, 177–183.
- Clemmesen, C., 1994. The effect of food availability, age or size on the RNA:DNA of individually measured herring larvae: Laboratory calibration, Mar Biol, 118, 377-382.
- Clemmesen, C., 1996. Importance and limits of RNA/DNA ratios as a measure of nutritional condition in fish larvae. In: Ed., Watanabe, Y., Yamashita, Y. ve Ooseki Y., *Survival Strategies in Early Life Stages of Marine Resources*. A.A. Balkema, Rotterdam, 67-82.
- Clemmesen, C. ve Doan, T., 1996. Does otolith structure reflect the nutritional condition of a fish larva? Comparison of otolith structure and biochemical index (RNA/DNA ratio) determined on cod larvae, Mar Ecol Prog Ser, 138, 33–39.
- Couture, P., Dutil, J.D. ve Guderley, H., 1998. Biochemical correlates of growth and condition in juvenile Atlantic cod (*Gadus morhua*) from Newfoundland, Can J Fish Aquat Sci, 55, 1591-1598.
- Crespo, S., Marín de Mateo, M., Santamaría, C.A., Sala, R., Grau, A. ve Pastor, E., 2001. Histopathological observations during larval rearing of common dentex *Dentex dentex* L. (*Sparidae*), Aquaculture, 192, 121-132.
- Cushing, D.H., 1975. *Marine ecology and fisheries*, University press, Cambridge, 277 pp.
- Cushing, D.H., 1990. Plankton production and year class strength in fish populations: an update of the match/mismatch hypothesis, Adv Mar Biol, 26, 249-293.
- Çoker, T., 2003. İzmir Körfezi'ndeki Teleost Balıkların Pelajik Yumurta ve Larvalarının Morfolojisi ve Ekolojisi, Doktora Tezi, E.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir.
- Dagg, M.J. ve Littlepage, J.L., 1972. Relationships between growth rate and RNA, DNA, protein and dry weight in *Artemia salina* and *Euchaeta elongata*, Mar Biol, 17, 162-170.
- Dahlhoff, E.P., 2004. Biochemical indicators of stress and metabolism: Applications for Marine Ecological Studies, Annu Rev Physiol, 66, 183-207.
- Dekhnik, T.V., 1973. *Ichthyoplankton of the Black Sea*, Cernova Moria Haukova, Kiev, 234.
- Díaz, E., Txurruka, J.M. ve Villate, F., 2008. Biochemical composition and condition in anchovy larvae *Engraulis encrasicolus* during growth, Mar Ecol Prog Ser, 361, 227-238.

- Dortch, Q., Roberts, T.L., Clayton, J.R.Jr. ve Ahmed, S.I., 1983. RNA/DNA ratios and DNA concentrations as indicators of growth rate and biomass in planktonic organisms, Mar Ecol Prog Ser, 13, 61-71.
- Elliott, J.K. ve Leggett, W.C., 1997. The effect of temperature on size-dependent predation by a fish (*Gasterosteus aculeatus*) and a jellyfish (*Aurelia aurita*) on larval capelin (*Mallotus villosus*), Can J Fish Aquat Sci, 54, 2759-2766.
- Elliott, J.K. ve Leggett, W.C., 1998. Larval condition and vulnerability to predation: an analysis based on mixed-prey experiments, Can J Fish Aquat Sci, 55, 626-630.
- FAO, 2010. Annual Report: The State of World Fisheries and Aquaculture 2010, Fisheries and Aquaculture Department, Part 1-4, Rome, Italy.
- Ferron, A. ve Leggett, W.C., 1994. An appraisal of condition measures for marine fish larvae, Adv Mar Biol, 30, 217-303.
- Fiedler, T.J., Clarke, M.E. ve Walsh, P.J., 1998. Condition of laboratory-reared and wild-caught larval Atlantic menhaden *Brevoortia tyrannus* as indicated by metabolic enzyme activities, Mar Ecol Prog Ser, 175, 51-66.
- Fischer, W., Schneider, M. ve Bauchou, M.L., 1987. Mediterranean Et Mer Noire. Fishes FAO D' Identification Des Espèces, II, Rome.
- Fonseca, V.F., Vinagre, C. ve Cabral, H.N., 2006. Growth variability of juvenile soles *Solea solea* and *Solea senegalensis*, and comparison with RNA:DNA ratios in the Tagus estuary, Portugal. J Fish Biol, 68, 1551-1562.
- Frank, K.T. ve Leggett, W.C., 1981. Wind regulation of emergence times and early larval survival in Capelin (*Mallotus villosus*), Can J Fish Aquat Sci, 38, 215-223.
- Frank, K.T. ve Leggett, W.C., 1982. Environmental regulation of growth rate, efficiency, and swimming performance in larval capelin (*Mallotus villosus*), and its application to the Match/Mismatch hypothesis, Can J Fish Aquat Sci, 39, 691-699.
- Franks, P.J.S., 2001. Turbulence avoidance: An alternate explanation of turbulence-enhanced ingestion rates in the field, Limnol Oceanogr, 46, 959-963.
- Gallego, A., Heath, M.R., McKenzie, E. ve Cargill, L.H., 1996. Environmentally induced short-term variability in the growth rates of larval herring, Mar Ecol Prog Ser, 137, 11-23.
- Garcia, A., Cortes, D., Ramirez, T., Giradez, A. ve Carpena, A., 2003. Contribution of larval growth rate variability to the recruitment of the Bay of Malaga anchovy (SW Mediterranean) during the 2000-2001 spawning seasons, Sci Mar, 67, 477-490.



- Garcia, A., Cortes, D., Ramirez, T., Guisande, C., Quintanilla, J., Alemany, F., Rodriguez, J.M., Alvarez, J.P. ve Carperna, A., 2006. Field comparison of sardine post-flexion larval growth and biochemical composition from three sites in the W Mediterranean (Ebro River coast, Bays of Almeria and Malaga), Sci Mar, 70, 79-91.
- Gaughan, D.J., Mitchell, R.W. ve Blight, S.J., 2000. Impact of mortality, possibly due to *Herpesvirus sp.*, on pilchard, *Sardinops sagax*, stocks along the south coast of Western Australia 1998-1999, Mar Fresh Res, 51, 601-612.
- Grémare, A. ve Vétion, G., 1994. Comparison of several spectrofluorometric methods for measuring RNA and DNA concentrations in the deposit-feeding bivalve *Abra ovata*, Comp Biochem Physiol, 107B, 297-308.
- Govoni, J.J., 1980. Morphological, histological and functional aspects of alimentary canal and associated organ development in larval *Leiostomus xanthurus*, Rev Can Biol, 39, 69-80.
- Govoni, J.J. ve Pietrafesa, L.J., 1994. Eulerian views of layered water currents, vertical distribution of some larval fishes, and inferred advective transport over the continental shelf off North Carolina, USA, in winter, Fish Oceanogr, 3, 120-132.
- Green, B.S. ve McCormick, M.I., 1999. Influence of larval feeding history on the body condition of *Amphiprion melanopus*, J Fish Biol, 55, 1273-1289.
- Greer-Walker, M.G., 1970. Growth and development of the skeletal muscle fibres of the cod (*Gadus morhua* L.), J Cons Perm Int Explor Mer, 33, 228-244.
- Grémare, A. ve Vétion, G., 1994. Comparison of several spectrofluorometric methods for measuring RNA and DNA concentrations in the deposit-feeding bivalve *Abra ovata*, Comp Biochem Physiol, 107B, 297-308.
- Gwak, W.S. ve Tanaka, M., 2001. Developmental changes in RNA:DNA ratios of fed and starved laboratory-reared Japanese flounder larvae and juveniles, and its application to assessment of nutritional condition for wild fish, J Fish Biol, 59, 902-915.
- Gwak, W.S., 2002. Diel variation in RNA/DNA ratios of Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*, J World Aquacult Soc, 33, 501-505.
- Gwak, W.S., Tsusaki, T. ve Tanaka, M., 2003. Nutritional condition, as evaluated by RNA/DNA ratios, of hatchery-reared Japanese flounder from hatch to release. Aquaculture, 219, 503-514.
- Hakanson, J.L., 1989. Analysis of lipid components for determining the condition of anchovy, *Engraulis mordax*, Mar Biol, 102, 143-151.
- Hare, J. ve Cowen, R., 1997. Size, growth, development, and survival of the planktonic larvae of *Pomatomus saltatrix* (Pisces: pomatomidae), Ecology, 78, 2415-2431.

- Hjort, J., 1914. Fluctuations in the great fisheries of northern Europe viewed in the light of biological research, Rapp P-v Réun Cons Perm, Int Explor Mer, 20, 1-228.
- Holm-Hansen, O., Sutcliffe, W.H. Jr. ve Sharp, J., 1968. Measurement of the deoxyribonucleic acid in the ocean and its ecological significance, Limnol Oceanogr, 13, 507-514.
- Houde, E.D., 1987. Fish early life dynamics and recruitment variability, Am Fish Soc Symp, 2, 17-29.
- Houde, E.D., 1989. Subtleties and episodes in the early life of fishes, J Fish Biol, 35, 29-38.
- Houlihan, D.F., Hall, S.J., Gray, C. ve Noble, B.S., 1988. Growth rates and protein turnover in Atlantic cod, *Gadus morhua*, Can J Fish Aquat Sci, 45, 951-964.
- Hovenkamp, F., 1990. Growth differences in larval plaice *Pleuronectes platessa* in the southern Bight of the North Sea as indicated by otolith increments and RNA-DNA ratios, Mar Ecol Prog Ser, 58, 205-215.
- Höök, T.O., Gorokhova, E. ve Hansson, S., 2008. RNA:DNA ratios of Baltic Sea herring larvae and copepods in embayment and open sea habitats, Estuar Coast Shelf S, 76, 29-35.
- Ikeda, T., San, F., Yamaguchi, A. ve Matsuishi, T., 2007. RNA:DNA ratios of calanoid copepods from the epipelagic through abyssopelagic zones of the North Pacific Ocean, Aquatic Biol, 1, 99-108.
- Ivanov, L. ve Beverton, R.J.H., 1985. The Fisheries Resources of the Mediterranean. Part Two: Black Sea. Etud. rev. CGPM/Stud. Rev. GFCM. FAO, Rome, 60, 135.
- Johnston, I.A., Vieira, V.L.A. ve Abercromby, M., 1995. Temperature and myogenesis in embryos of the Atlantic herring *Clupea harengus*, J Exp Biol, 198, 1389-1403.
- Johnston, I.A., 1999. Muscle development and growth: potential implications for flesh quality in fish, Aquaculture, 177, 99-115.
- Johnston, I.A., Vieira, V.L.A. ve Temple, G.K., 2001. Functional consequences and population differences in the developmental plasticity of muscle to temperature in Atlantic herring *Clupea harengus*, Mar Ecol Prog Ser, 213, 285-300.
- Kaji, T., Kodama, M., Arai, H., Tanaka, M. ve Tagawa, M., 2003. Prevention of surface death of marine fish larvae by the addition of egg white into rearing water, Aquaculture, 224, 313-322.
- Kimura, R., Sato, C. ve Nakata, K., 1996. Nutritional condition of firstfeeding larvae of sardine *Sardinops melanostictus*, Ed., Watanabe, Y., vd., Survival Strategies in Early Life Stages of Marine Resources. A. A. Balkema, Rotterdam, 105-113.

- Kingsford, M.J., 1990. Linear oceanographic features: a focus for research on recruitment processes, Aust J Ecol, 15, 391-401.
- Kjørboe, T., Munk, P., Richardson, K., Christensen, V. ve Paulsen, H., 1988. Plankton dynamics and larval herring growth, drift and survival in a frontal area, Mar Ecol Prog Ser, 44, 205-219.
- Kloppmann, M., Hillgruber, N. ve von Westernhagen, H., 2002. Wind-mixing effects on feeding success and condition of blue whiting larvae in the Porcupine Bank area, Mar Ecol Prog Ser, 235, 263-277.
- Kono, N., Tsukamoto, Y. ve Zenitani, H., 2003. RNA:DNA ratio for diagnosis of the nutritional condition of Japanese anchovy *Engraulis japonicus* larvae during the first-feeding stage, Fisheries Sci, 69, 1096-1102.
- Koslow, J.A., 1992. Fecundity and the stock-recruitment relationship, Can J Fish Aquat Sci, 49, 210-217.
- Koumoundouros, G., Divanach, P., Anezaki, L. ve Kentouri, M., 2001. Temperature-induced ontogenetic plasticity in sea bass (*Dicentrarchus labrax*), Mar Biol, 139, 817-830.
- Lasker, R., 1981. Marine fish larvae. Morphology, ecology, and relation to fisheries, University of Washington Press, Seattle, 131.
- Laurel, B.J., Brown, J.A. ve Anderson, R., 2001. Behaviour, growth and survival of redfish larvae in relation to prey availability, J Fish Biol, 59, 884-901.
- Leggett, W.C. ve DeBlois, E., 1994. Recruitment in marine fishes: Is it regulated by starvation and predation in the egg and larval stages?, Neth J Sea Res, 32, 119-134.
- Litvak, M.K. ve Leggett, W.C., 1992. Age and size-selective predation on larval fishes: the bigger is better paradigm revisited, Mar Ecol Prog Ser, 81,1-12.
- Lough, R.G., Galdarone, E.M., Rotunno, R.K., Broughton, E.A., Burns, B.R. ve Buckley, L.J., 1996. Vertical distribution of cod and haddock eggs and larvae, feeding and condition in stratified and mixed waters on southern Georges Bank, May 1992, Deep Sea Res, Part II 43, 7-8, 1875-1904.
- Love, R.M., 1970. The chemical biology of fishes, Vol.1. Academic press, New York.
- Lowery, M.S., Roberts, S.J. ve Somero, G.N., 1987. Effects of starvation on the activities and localization of glycolytic enzymes in the white muscle of the barred sand bass *Paralabrax nebulifer*, Physiol Zool, 60, 538-549.
- Lucas, A. ve Beninger, P.G., 1985. The use of physiological condition indices in marine bivalve aquaculture, Aquaculture, 44, 187-200.

- Mackenzie, B.R. ve Leggett, W.C., 1991. Quantifying the contribution of small-scale turbulence to the encounter rates between larval fish and their zooplankton prey: effects of wind and tide, Mar Ecol Prog Ser, 73, 149-160.
- Mackenzie, B.R., Miller, T.J., Cyr, S. ve Leggett, W.C., 1994. Evidence for a dome-shaped relationship between turbulence, and larval fish ingestion rates, Limnol Oceanogr, 39, 1790-1799.
- Malzahn, A.M., Clemmesen, C. ve Rosenthal, H., 2003. Temperature effects on growth and nucleic acids in laboratory-reared larval coregonid fish, Mar Ecol Prog Ser, 259, 285-293.
- Martin, F.D., Wright, D.A., Means, J.C. ve Setzler-Hamilton, E.M., 1985. Importance of food supply to nutritional state of larval striped bass in the Potomac River estuary, T Am Fish Soc, 114, 137-145.
- Mater, S. ve Çoker, T., 2002. Türkiye Denizleri İhtiyoplankton Atlası, Yardımcı Ders Kitabı, E.Ü. Su Ürünleri Fak. Yayınları, İzmir, 71, 12, 209.
- Mathers, E.M., Houlihan, D.F. ve Cunningham, M.J., 1992. Nucleic acid concentrations and enzyme activities as correlates of growth rate of the saith *Pollachius virens*: growth-rate estimates of open-sea fish, Mar Biol, 112, 363-369.
- Mathers, E.M., Houlihan, D.F. ve Burren, L.J., 1994. RNA, DNA and protein concentrations in fed and starved herring *Clupea harengus* larvae, Mar Ecol Prog Ser, 107, 223-231.
- Mcgurk, M.D., 2000. Comparison of fecundity-length-latitude relationships between nonanadromous (Kokanee) and anadromous sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*), Can J Zool, 78, 1791-1805.
- McFadzen I.R.B., Coombs, S.H. ve Halliday, N.C., 1997. Histological indices of the nutritional condition of sardine *Sardina pilchardus* (Walbaum) larvae off the north coast of Spain, J Exp Mar Biol Ecol, 212, 239-258.
- Mercaldo-Allen, R., Kuropat, C. ve Caldarone, E.M., 2006. A model to estimate growth in young-of-the-year tautog, *Tautoga onitis*, based on RNA/DNA ratio and seawater temperature, J Exp Mar Biol Ecol, 329, 187-195.
- Miranda, A., Cal, R.M. ve Iglesias, J., 1990. Effect of temperature on the development of eggs and larvae of sardine *Sardina pilchardus* Walbaum in captivity, J Exp Mar Biol Ecol, 140, 69-77.
- Moser, H.G., 1983. Ontogeny and Systematics of Fishes. In: *Carangidae: Development*, Ed., Laroche, W.A., Smith-Vaniz, W.F. ve Richardson, S.L., Special Publication Number 1 of the American Society of Ichthyologists and Herpetologists, California, USA, 510-521.

- Naas, K., Huse, I. ve Iglesias, J., 1996. Illumination in first feeding tanks for marine fish larvae, Aquacult Eng, 15, 4, 291-300.
- Neilson, J.D., Perry, R.I., Valerio, P. ve Waiwood, K.G., 1986. Condition of Atlantic cod (*Gadus morhua*) larvae after the transition to exogenous feeding: morphometrics, buoyancy and predator avoidance, Mar Ecol Prog Ser, 32, 229-235.
- Neilson, J.D. ve Perry, R.I., 1990. Diel vertical migrations of juvenile fish: an obligate or facultative process?, Adv Mar Biol, 26, 115-168.
- Nejstgaard, J.C., Frischer, M.E., Raule, C.L., Gruebel, R., Kohlberg, K.E. ve Verity, P.G., 2003. Molecular detection of algal prey in copepod guts and fecal pellets, Limnol Oceanogr-Meth, 1, 29-38.
- Niermann, U., Bingel, F., Gorban, A., Gordina, A.D., Gücü, A.C., Kideys, A.E., Konsulov, A., Radu, G., Subbotin, A.A. ve Zaika, V.E., 1994. Distribution of anchovy eggs and larvae (*Engraulis encrasicolus* Cuv.) in the Black Sea in 1991-1992, ICES Journal of Marine Science, 51, 395-406
- O'Connell, C.P., 1976. Histological criteria for diagnosing the starving condition in early post yolk sac larvae of the northern anchovy, *Engraulis mordax* Girard, J Exp Mar Biol Ecol, 25, 285-312.
- Olivar, M.P. ve Shelton, P.A., 1993. Larvae fish assemblages of the Benguela Current, Bull Mar Sci, 53, 450-474.
- Overnell, J. ve Batty, R.S., 2000. Scaling of enzyme activity in larval herring and plaice: effects of temperature and individual growth rate on aerobic and anaerobic capacity, J Fish Biol, 56, 577-589.
- Parrish, R.C., Nelson, C.S. ve Bakun, A., 1981. Transport mechanisms and reproductive success of fishes in the Californian Current, Biolog Oceanogr, 1, 175-203.
- Pedersen, B.H., Ugelstad, I. ve Hjelmeland, K., 1990. Effects of a transitory, low food supply in the early life of larval herring (*Clupea harengus*) on mortality, growth and digestive capacity, Mar Biol, 107, 61-66.
- Pepin, P., 1989. Predation and starvation of larval fish: A numeric experiment of size and growth dependent survival. Biol Oceanogr, 6, 23-44.
- Pepin, P., Shears, T.H. ve Lafontaine, Y., 1992. Significance of body size to the interaction between larval fish (*Mallotus villosus*) and a vertebrate predator (*Gasterosteus aculeatus*), Mar Ecol Prog Ser, 81, 1-12.
- Pepin, P., Evans, G.T. ve Shears, T.H., 1999. Patterns of RNA/DNA ratios in larval fish and their relationship to survival in the field, ICES J Mar Sci, 56, 697-706.
- Peterson, I. ve Wroblewski, J.S., 1984. Mortality rates of fish in the pelagic ecosystem, Can J Fish Aquat Sci, 41, 1117-1120.

- Planas, M. ve Cunha, I., 1999. Larviculture of marine fish: problems and perspectives, Aquaculture, 177, 171-190.
- Puvanendran, V., Leader, L.L. ve Brown, J.A., 2002. Foraging behaviour of Atlantic cod (*Gadus morhua*) larvae in relation to prey concentration, Can J Zool, 80, 689-699.
- Robinson, S.M. ve Ware, D., 1988. Ontogenetic development of growth rates in larval Pacific herring, *Clupea harengus pallasii*, measured with RNA/DNA ratios in the Strait of Georgia, British Columbia, Can J Fish Aquat Sci, 45, 1422-1429.
- Rooker, J.R. ve Holt, G.J., 1996. Application of RNA-DNA ratios to evaluate the condition and growth of larvae and juvenile red drum. *Sciaenops ocellatus*, Mar Freshwat Res, 4782, 283-290.
- Rothchild, B.J. ve Osborn, T.R., 1988. The effects of turbulence on planktonic contact rates, J Plankton Res, 10, 465-475.
- Russell, F.S., 1976. The Planktonic Stages of British Marine Fishes, Academic Press Inc. Ltd., London, 524.
- Satılmış, H.H., 2001. Balık Yumurta ve Larvalarının Sinop Yarımadası'nda Mevsimsel Olarak Dağılımı, Yüksek Lisans Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Samsun.
- Satılmış, H.H., 2005. Sinop Kıyılarında Küçük Pelajik Balıkların Yumurta Üretimi ile Yumurta ve Larvalarının Dağılımı. Doktora Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Samsun.
- Sánchez-Velasco, L., Valdez-Holguína, J.E., Shirasagoa, B., Cisneros-Matac, M.A. ve Zaratea, A., 2002. Changes in the Spawning Environment of *Sardinops caeruleus* in the Gulf of California during El Niño 1997-1998, Est Coast Shelf Sci, 54.
- Sawant, M.S., Zhang, S. ve Li, L., 2001. Effect of salinity on development of zebrafish, *Brachydanio rerio*, Curr Sci India, 81, 1347-1350.
- Sclafani, M., Taggart, C.T. ve Thompson, K.R., 1993. Condition, buoyancy and the distribution of larval fish: implications for vertical migration and retention, J Plankton Res, 15, 413-435.
- Sclafani, M., Stirling, G. ve Leggett, W.C., 2000. Osmotic condition, buoyancy change and mortality in larval cod *Gadus morhua*. A bioassay for assessing near-term mortality, Mar Ecol Prog Ser, 193, 157-166.
- Shepherd, T.D., Costain, K.E. ve Litvak, M.K., 2000. Effect of development rate on the swimming, escape responses, and morphology of yolk-sac stage larval American plaice, *Hippoglossoides platessoides*, Mar Biol, 137, 737-745.

- Sieg, A., 1992. A histological study on the nutritional condition of larval and metamorphosing fishes of the genus *Vinciguerria* (*Photichtidae*) sampled in two contrasting environments, J Appl Ichtyol 8, 154-163.
- Slastenenko, E., 1956. Karadeniz Havzası Balıkları, Et ve Balık Kurumu Umum Müdürlüğü Yayınları, İstanbul, 711s.
- Steele, M.A. ve Forrester, G.E., 2002. Early postsettlement predation on three reef fishes: effects on spatial patterns of recruitment, Ecology, 83, 1076-1091.
- Sullivan, K.M. ve Somero, G.N., 1980. Enzyme activities of fish skeletal muscle and brain as influenced by depth of occurrence and habits of feeding and locomotion, Mar Biol, 60, 91-99.
- Sutcliffe, W.H.Jr., 1965. Growth estimates from ribonucleic acid content in some small organisms, Limnol Oceanogr, 10, 253-258.
- Suthers, I.M., 1998. Bigger? Fatter? Or is faster growth better? Considerations on condition in larval and juvenile coral-reef fish, Aust J Ecol, 23, 265-273.
- Suthers, I.M., 1996. Spatial variability of recent otolith growth and RNA indices in pelagic juvenile *Diaphus kapalae* (*hlyctophidae*): An effect of flow disturbance near an Island?, Mar Freshwat Res, 4, 237-283.
- Sykes, A., Domingues, P. ve Andrade, J.P., 2004. Nucleic acid derived indices or instantaneous growth rate as tools to determine different nutritional condition in cuttlefish (*Sepia officinalis*, Linnaeus 1758) hatchlings, J Shell Res, 23, 585-591.
- Tagawa, M., Kaji, T., Kinoshita, M. ve Tanaka, M., 2004. Effect of stocking density and addition of proteins on larval survival in Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*, Aquaculture, 230, 517-525.
- Tanaka, Y., Satoh, K., Yamada, H., Takebe, T., Nikaido, H. ve Shiozawa, S., 2008. Assessment of the nutritional status of field-caught larval Pacific bluefin tuna by RNA/DNA ratio based on a starvation experiment of hatchery-reared fish, J Exp Mar Biol Ecol, 354, 56-64.
- Temple, G.K., Fox, C.J., Stewart, R. ve Johnston, I.A., 2000. Variability in muscle growth characteristics during the spawning season in a natural population of Atlantic herring *Clupea harengus*, Mar Ecol Prog Ser, 205, 271-281.
- Theilacker, G.H. ve Watanabe, Y., 1989. Midgut cell height defines nutritional status of laboratory raised larval northern anchovy, *Engraulis mordax*, Fish Bull, 87, 457-469.
- Theilacker, G.H. ve Shen, W., 1993a. Fish larval condition analyzed using flow cytometry. In: Ed., Walther, B.T., Fyhn, H.J., Physiological and biochemical aspects of fish development University of Bergen, Norway, 346-355.

- Theilacker, G.H. ve Shen, W., 1993b. Calibrating starvation-induced stress in larval fish using flow cytometry, Am Fish Soc Symp, 14, 85-94.
- Theilacker, G.H. ve Porter, S.M., 1995. Condition of larval walleye pollock, *Theragra chalcogramma*, assessed with histological and shrinkage indices, Fish Bull, 93, 333-344.
- Theilacker, G.H. ve Shen, W., 2001. Evaluating growth of larval walleye pollock, *Theragra chalcogramma*, using cell cycle analysis, Mar Biol, 138, 897-907.
- Thorpe, J.E., Talbot, C. ve Villarreal, C., 1982. Bimodality of growth and smolting in Atlantic salmon, *Salmo salar* L., Aquaculture, 28, 123-132.
- TÜİK, 2010. 2009 Yılı Su ürünleri istatistikleri.
- URL-1, <http://www.fao.org/docrep/005/x3980e/x3980e07.htm> Production of live feeds. 13 Nisan 2011.
- Vinagre, C., Fonseca, V. ve Cabral, H.N., 2008. Habitat specific growth rates and condition indices for the sympatric soles *Solea solea* (Linnaeus, 1758) and *Solea senegalensis* (Kaup 1858), in the Tagus estuary, Portugal, based on otolith daily increments and RNA-DNA ratio, J Appl Ichthyol, 24, 163-169.
- Ward, T., Hoedt, F., Mcleay, L., Dimmlich, W., Kinloch, M., Jackson, G., Mcgarvey, R., Rogers, P. ve Jones, K., 2001. Effects of the 1995 and 1998 mass mortality events on the spawning biomass of sardine, *Sardinops sagax*, in South Australian waters, ICES J Mar Sci, 58, 865-875.
- Weatherley, A.H., 1990. Approaches to understanding fish growth, Trans Am Fish Soc, 119, 662-672.
- Werner, F.E., Quinlan, J.A., Lough, R.G. ve Lynch, D.R., 2001. Spatially-explicit individual based modeling of marine populations: a review of the advances in the 1990s, Sarsia, 86, 411-421.
- Whitehead, P.J.P., Nelson, G.J. ve Wongratana, T., 1988. FAO Species Catalogue. 7: Clupeoid Fishes of the World (Suborder *Clupeioidi*). An Annotated and Illustrated Catalogue of the Herrings, Sardines, Pilchards, Sprats, Shads, Anchovies and Wolf-Herring. Part 2-Engraulidae. FAO Fish. 125, 7/2, 305-579.
- Wootton, R.J., 1998. Ecology of Teleost Fishes, 2nd edn. Kluwer Academic, Dordrecht.
- Yamaoka, K., Nanbu, T., Miyagawa, M., Isshiki, T. ve Kusaka, A., 2000. Water surface tension-related deaths in prelarval red-spotted grouper, Aquaculture, 189, 165-176.
- Yandi, I. ve Altinok, I., 2011. Prevention of surface death of horse mackerel (*Trachurus mediterraneus*) larvae by the addition of egg white and camphor grain into rearing water, Aquac Res, (In press).



- Yang, T-H. ve Somero, G.N., 1993. Effects of feeding and food deprivation on oxygen consumption, muscle protein concentration and activities of energy metabolism enzymes in muscle and brain of shallowliving (*Scorpaena guttata*) and deep-living (*Sebastobolus alascanus*) scorpaenid fishes, J Exp Biol, 181, 213-232.
- Yüksek, A. ve Gücü, A.C., 1994. Balık Yumurtaları Tayini için Bir Bilgisayar Yazılımı (Karadeniz Pelajik Yumurtaları), Karadeniz Eğitim-Kültür ve Çevre Koruma Vakfı Yayınları, İstanbul 51s.

## ÖZGEÇMİŞ

İlhan Yandı, 1977 yılında Karabük'te doğdu. İlköğrenim ve Liseyi aynı şehirde tamamladı. 1994 yılında KTÜ Rize Su ürünleri Fakültesini kazandı ve 1998 yılında bu fakülteden mezun oldu ve 1999 yılında aynı Fakülte'de Araştırma Görevlisi olarak çalışmaya başladı. Yüksek Lisans eğitimini 2003 yılında tamamladı, aynı yıl başladığı askerlik görevini 2004'te tamamladı. Halen aynı fakültede araştırma görevlisi olarak görevine devam etmektedir. Evli ve bir kız babası olup, iyi derecede İngilizce bilmektedir.