

FORMALDEHİT (CH₂O)'İN FARKLI KONSANTRASYONLARININ GÖKKUŞAĞI ALABALIKLARINDA (*Oncorhynchus mykiss*) KORTİZOL, SERUM GLİKOZ ve LİZOZİM AKTİVİTESİ ÜZERİNE ETKİLERİ**Cafer Bulut^{1*}, Ayşegül Kubilay², Ufuk Akçimen¹, Mustafa Ceylan¹**¹Akdeniz Su Ürünleri Araştırma Üretme ve Eğitim ve Eğitim Enstitüsü Müdürlüğü Eğirdir Birimi, 32500, Eğirdir/Isparta²Süleyman Demirel Üniversitesi Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi Yetiştiricilik Bölümü, 32500, Eğirdir/Isparta**Özet:**

Bu çalışmada balık hastalıklarında profilaktif ve tedavi amacıyla yaygın bir şekilde kullanılan formaldehit (CH₂O)'in gökkuşağı alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) kortizol, glikoz ve lizozim aktivitesi üzerine etkileri incelenmiştir. Araştırma Ekim-Kasım 2009 tarihleri arasında gerçekleştirilmiş olup yaklaşık 180 g ağırlığında 60 adet gökkuşağı alabalığı kullanılmıştır. Tekerrürlü gerçekleştirilen denemede formaldehitin 250 mg/L (60 dakika), 500 mg/L (45 dakika) konsantrasyonları uygulanmıştır. Her grup için 20 adet balık, kortizol, serum glikoz ve lizozim aktivitesi ölçümleri için kullanılmıştır. Kortizol analizleri ECLIA (Elektro Kemilüminesans Immun Assay) yöntemiyle, lizozim aktivitesi diffüzyon agar (agar plate, lysoplate) metoduyla ve glikoz analizleri spektrofotometrik yöntemle tayin edilmiştir. Denemelerde elde edilen verilerin istatistiki değerlendirilmesi SPSS paket programı kullanılarak bütün verilere varyans analizi (ANOVA) uygulanmış ve grup ortalaması arasındaki farklılıklar JMP LS Means Student's T testi ile çoklu karşılaştırma testine göre önem seviyesi p<0,05 olarak belirlenmiştir. Kortizol verilerinde en düşük ortalama değer ile kontrol grubunda (90,11±10,68 nmol), en yüksek ortalama değer ise 500 mg/L formaldehit grubunda (280.30 ±42.78 nmol) görülmüştür. Glikoz verilerinde en düşük ortalama değer kontrol grubunda (55.00 ±2.22 mg/dL), en yüksek ortalama değer ise 250 mg/L formaldehit grubunda (115.10 ±7.3 mg/dL) görülmüştür. Lizozim aktivitelerinde en düşük ortalama değer ile 500 mg/L formaldehit grubunda (1.937 ±0.50 mg/mL), en yüksek ortalama değer ise kontrol grubunda (2.114 ±0.34 mg/mL) görülmüştür. Sonuç olarak formaldehit uygulanan balıklarda kortizol ve glikoz seviyesinde istatistiki olarak önemli bir artış tespit edilirken, lizozim aktivitesi seviyesinde ise istatistiki olarak düşüş tespit edilmiştir (p<0.05). Serumdaki bu değerlerin kontrol grubuna göre istatistiksel değişimlerinin stres oluşumundan kaynaklandığı belirlenerek gökkuşağı alabalıkları için formaldehit kullanımının yetiştiricilik sistemlerinde bilinçli ve yalnızca gerekli hallerde kullanılması gerektiği sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: *Oncorhynchus mykiss*, Formaldehit, Kortizol, Glikoz, Lizozim aktivitesi*** Correspondence to:**

Cafer BULUT, Akdeniz Su Ürünleri Araştırma Üretme ve Eğitim ve Eğitim Enstitüsü Müdürlüğü Eğirdir Birimi, 32500, Eğirdir Isparta-TÜRKİYE

Tel: (+90 246) 313 34 60 – 121**Fax:** (+90 246) 313 34 63**E-mail:** caferbulut@gmail.com

Abstract: The Effects on Cortisol, Glucose and Lysozyme Activity in Different Concentration of Formaldehyde in Rainbow Trout

In this study fish diseases and therapeutic purposes prophylactic widely used formalin (CH₂O)'s in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) cortisol, glucose and their effects on lysozyme activity were examined. October-November 2009 the researches have been carried out among the 60 rainbow trout weighing approximately 180 g were used. Replications in the experiment conducted of formalin 250 mg/L (60 minutes), 500 mg/L (45 minutes) concentrations were applied. For each group of 20 fish, cortisol, serum glucose and lysozyme activity was used for measurements. Cortisol analysis ECLIA (Electro chemiluminescence Immun Assay) method, lysozyme activity diffusion agar (agar plate, lysoplate) with the method of analysis and glucose were determined by spectrophotometric methods. The data obtained in the experiment of the SPSS package statistical program to evaluate all the data using analysis of variance (ANOVA) was applied and the group mean differences between LS Means JMP Student's T test multiple comparison test with significance level according to $p < 0.05$ was set. With the lowest average value of cortisol data in the control group (90.11 ± 10.68 nmol), with the highest average value of 500 mg/L formalin group (280.30 ± 42.78 nmol) was observed. Lowest average value of data in the control group in glucose (55.00 ± 2.22 mg/dL), the highest average value of 250 mg/L formalin group (115.10 ± 7.3 mg/dL) was observed. With the lowest average value of lysozyme activity 500 mg/L formalin group (1.937 ± 0.50 mg/mL), the highest average value in the control group (2.114 ± 0.34 mg/mL) was observed. Formalin applied cortisol and glucose levels in fish in a statistically significant increase is detected, the lysozyme level as a decrease was statistically ($p < 0.05$). In serum than the control group these values of the statistical difference was due to stress by determining the formation of formalin use for rainbow trout farming systems should be used consciously been concluded.

Keywords: *Oncorhynchus mykiss*, Formalin, Cortisol, Glucose, Lysozyme activity

Giriş

Ülkemizde kültür balıkçılığının gelişmesine paralel olarak yetiştirilen balıklarda görülen hastalıklarda artış meydana gelmiştir. Bu hastalıklara karşı işletmelerde hijyenik ve profilaktif tedbirler alınması gittikçe önem kazanmaya başlamıştır. Çok aşırı kimyasal madde kullanımı sonucu özellikle de antibiyotikler ve kemoterapotik maddeler aşırı balık etinde ve çevre de istenilmeyen düzeyde kalıntı bırakarak balığın immün sistemini zaman zaman baskılayarak patojenlere karşı vücut savunmasını zayıflatabilmektedir (Grondel et al., 1985, Lunden et al., 2002; Lunden ve Bylund, 2002).

Önemli bir kültür balığı olan gökkuşuğu alabalıklarında, parazitler ve mikrobiyal infeksiyonların tedavisinde, alet ve ekipmanların dezenfeksiyonunda yoğun miktarda dezenfektan ve kemoterapotik maddeler yaygın olarak kullanılmaktadır. Ancak yaygınlaşan bu kullanım, çevresel olumsuzluklara sebep olduğu gibi uygulama yapılan balıklarda da olumsuz etkilere neden olmaktadır. Bu durum kültür balıkçılığında çok önemli bir problem

oluşturmaktadır (Björklund et al., 1991; Aoki, 1992).

Günümüzde balık yetiştiriciliğinde en yaygın olarak kullanılan kemoterapotik ilaç grupları ve dezenfektanlar; bakır sülfat (CuSO₄.5H₂O), potasyum permanganat (KMnO₄), formalin (%37'lik formaldehit solüsyonu-CH₂O), tetrasi-klin (oksitetrasiklin, klortetrasiklin, tetrasiklin, doksisisiklin), penisilin (ampisilin, amoksisilin), makrolid (eritromisin), sulfonamid (sulfomerazin, sulfamidin, sulfadimethoksin, sulfamonometoksin), güçlendirilmiş sulfonamid (tribressen, romet 30), kinolon ve fluorkinolon (oksolinik asit) ve nitrofuran (furazolidon, nitrofurantion, sulfonamidler) ve diğerleridir (Treves ve Brown, 2000).

Formalin balık hastalıklarının kontrolünde dezenfektan olarak yaygın olarak kullanılan bir kimyasal maddedir. Özellikle *Costia* ve diğer protozoonlar ve monogenetik trematodların tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Timur ve Timur, 2003). Fakat bu tip kimyasal maddeler, balıkların solungaçlarını etkilemekte ve iç or-

ganlarında fizyolojik bozukluklara sebep olduğu gibi toksik etki yapabilmektedir (Uslu ve Türkman,1987; Miyaka et al., 1998; Doyuk ve Çolakoglu, 2004).

Formalin gerek insanda gerekse balıkta mukoz membranlarda iritasyon oluşturur. Bu nedenle gerekli tedbirlerin alınması gerektiği gibi tedavi amacıyla da çok dikkatli kullanılması gerekir (Timur ve Timur, 2003). Formalin, solüsyondaki oksijeni ortadan kaldırır ve bu etki bir havuza formalin ilavesinden 24 saat sonra en üst düzeye ulaşır. Eğer balık havuzundaki suda ilaç tedavisini takiben formaldehit tamamen ortadan kaldırılmamışsa, havuz suyunun havalandırılması gerekir (Timur ve Timur, 2003). Kanserojenik karakterde olduğu ortaya konulan formalin,, sinir sistemi, solunum sistemi ve sindirim sistemi gibi birçok sistem üzerinde zararlı etkiler göstermektedir (Miyaka et al.,1998).

Balık yetiştiriciliği ile ilgili araştırmalarda, kortizol, serum glukoz ve lizozim aktivitesi stres parametreleri olarak son yıllarda araştırmacıların üzerinde önemle durdukları konulardan olmuşlardır Stres ile organizmada meydana gelen fiziksel ve kimyasal değişiklikleri doğru olarak yansıttığından, değişik yaş gruplarında ve yaşam koşullarındaki balıkların, genel metabolizmaları ile fizyolojik durumları hakkında detaylı bilgiler elde edilebilmektedir (Örün, 2004).

Kortizol, adrenal korteks tarafından üretilen, canlının strese gösterdiği tepkiyle ilişkili bir kortikosterid hormondur. Kan basıncını ve şekerini artırır ve stres durumunda bağışıklık sistemini baskılar. Herhangi bir stres vericinin bir sistem üzerinde etken olması durumunda salgılanan kortizol, enerji kullanımını düzenleyerek, su mineral dengesini sağlayarak, oksijen tedarikini ve bağışıklık sistemini etken hale getirerek ve bazı sistemleri de kısıtlayarak (örn. sindirim) organizmayı stresin negatif etkilerine karşı korumaktadır (Bonga, 1997; Mommsen et al., 1999; Ögüt, 2005). Ancak, salgılanan kortizol seviyesinin çok yüksek olması, büyümede azalmaya (McCormick et al., 1998) ve cinsi olgunluğa ulaşmada gecikmeye yol açacağından organizmaya etkisi oldukça olumsuz olacaktır (Barton and Iwama, 1991; Pickering, 1993; Ögüt, 2005).

Glikoz, organizmanın stres durumunu belirleyen en hassas indekslerden biri olup yüksek konsantrasyonları balığın stres altında olduğunu ve yoğun bir şekilde enerji kaynaklarını

kullandığını (örneğin kaslardaki ve karaciğerdeki glikojen) gösterir (Timur ve Timur, 2003; Çelik, 2005).

Lizozim ise *Micrococcus lysodeiaticus* hücrelerinin de lizisine sebep olan, kitinle kaplanmış selüloz tarafından hazır bir şekilde absorbe edilen, düşük moleküler ağırlıklı bir protein olup (Glynn,1969; Neeman et al., 1974) yüksek sıcaklığa, asidik pH'a dayanıklı olabilen fakat alkali koşullarda inaktive olan bir enzimdir ve bakteriyel enfeksiyonlara karşı balıkların savunma sisteminde önemli rol oynamaktadır (Hjelmeland et al., 1983, Yano,1996). Lizozim enzimi, balıkların fizyolojik durumlarının belirlenmesinde ve sağlık durumlarının kontrolünde yaygın olarak kullanılmaktadır.

Bu çalışmada, gökkuşuğu alabalığı (*Onchorhynchus mykiss*) yetiştiriciliğinde; enfeksiyonların, tedavisinde ve dezenfektan olarak kullanılan formalinin farklı konsantrasyonlarının, balıklarda kortizol, serum glikoz ve lizozim aktivitesi üzerine etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

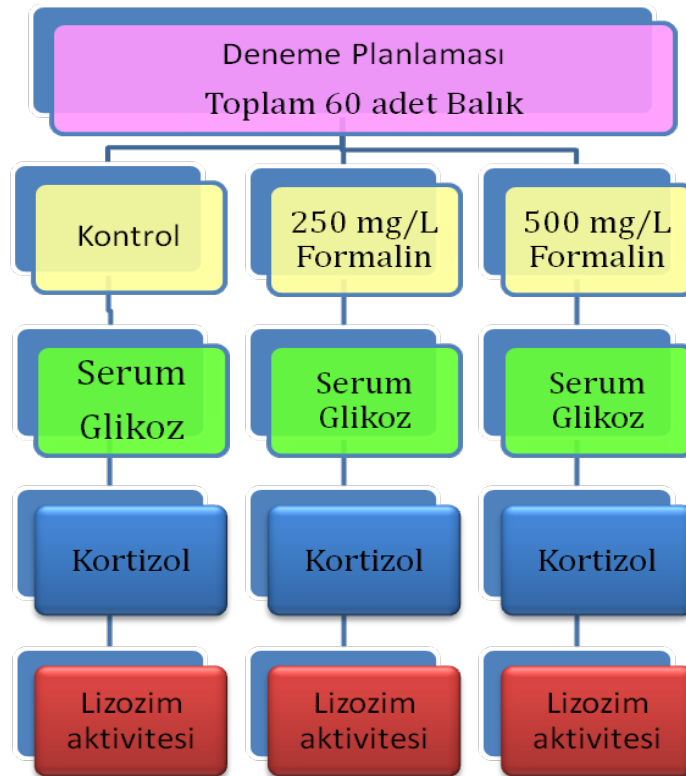
Materyal ve Metot

Çalışma Ekim-Kasım 2009 tarihleri arasında Süleyman Demirel Üniversitesi Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi Balık Üretim Tesisi'nde gerçekleştirilmiştir. Araştırmada kullanılan gökkuşuğu alabalıkları Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi Yetiştiricilik Ünitesinden temin edilmiştir. Deneme süresince balıklar vücut ağırlığının % 2'si oranında ticari pelet yemle beslenmiştir. Araştırmada her iki denemede toplam 6 adet 0.6 m³ hacimli, 400 L su bulunan yuvarlak fiberglas tanklar kullanılmıştır. Araştırmada; debisi 12 L/dk, ortalama sıcaklığı 12°C, pH'sı 7.2 ve çözülmüş oksijeni 7.4 mg/L olan artezyen suyu kullanılmıştır.

Deneme grupları her biri 20 şer adet balıktan oluşan gruplara ayrılarak tekerrürlü çalışılmak suretiyle yuvarlak tanklara konulmuştur. Çalışmada ortalama 180 g ağırlığında 60 adet balık kullanılmıştır. Denemede kullanılan balık tankları Şekil 1. de ve denemede kullanılan balıkların planlaması Tablo 1. de verilmiştir.

Tablo 1. Denemede kullanılan balıkların planlaması

kullanılan balıkların

Table 1. Planning of fishes used in the experiment**Şekil 1.** Denemede kullanılan balık tankları**Figure 1.** Fish tanks used in the experiment

Denemenin Uygulanması

Deneme grupları oluşturularak tanklara yerleştirilen balıklar 15 günlük adaptasyon dönemi sonrasında gerekli incelemeler yapılmıştır. Araştırmada gökkuşluğu alabalıkları 250 mL/L formaldehit ile 60 dk. ve 500 mL/L formaldehit ile 45 dk. muamele edilmişlerdir.

Kan Örneklerinin Elde Edilmesi

Balıklarda kortizol, serum glikoz ve lizozim aktivitesi tespiti için belirlenen deneme gruplarından tekerrürlü şekilde kan örnekleri alınmıştır. Balıklara önce anestezi madde olarak 15 mg/L fenoksietanol uygulanmıştır (Pennell ve Barton, 1996). Kan örnekleri, kana mukoza karışmaması amacıyla, iyice kurulanıp temizlendikten sonra plastik kaudal venadan girilerek enjektörler yardımıyla 2–2.5 mL civarında alınmıştır (Val et al., 1998). Alınan kanların muhafazasında ise EDTA'lı ve jelli kan tüpleri kullanılmıştır (Pottinger ve Carrick, 1999; Atamanalp vd., 2002).

Serum Elde Edilmesi

Alınan kan örnekleri oda sıcaklığında 1 saat ve daha sonra +4°C de bütün gece bekletilerek ve 3000 devirde 10 dk santrifüj edildikten sonra aynı gün içinde kan örnekleri SDÜ Tıp Fakültesi Biyokimya Laboratuvarı'na iletilmiş ve burada serum örneklerinde serum glukoz analizleri Japon Olympus marka 2700 otoanalizör cihazı ile spektrofotometrik yöntemle, kortizol analizleri ise Elecsys USA cihazı ile ECLIA (Elektro Kemiluminesans Immun Assay) yöntemiyle tayin edilmiştir.

Lizozim Aktivitesinin Belirlenmesi

Lizozim aktivitesini belirlemek amacı ile difüzyon agar (Agar plate, lysoplate) metodu kullanılmıştır (Ellis, 1996). PBS (Fosfat buffer saline) içine % 1 g Agar ve 0.60 mg/mL liyofilize *Micrococcus lysodeicticus* (Sigma M 3770) katılarak fosfat tamponlu salin pH'sı 6.2'ye ayarlanmıştır. Petrilere agar katıldıktan sonra 5 mm çapında çukurlar açılarak daha önceden hazırlanmış olan serum inokulatları 25 µl olacak şekilde çukurlara ilave edilmiştir. Petrilere 25°C'de 20 saat inkübe edildikten sonra çukurların etrafında oluşan zonların çapları ölçülmüştür. Test numunelerindeki lizozim miktarını belirlemek için standart olarak Hen egg white lizozim (HEWL; Merck EC) kullanılmıştır (Grinde, 1989).

İstatiksel Analizler

Denemelerde elde edilen verilerin istatistiki değerlendirilmesi SPSS paket programı kullanılarak yapılmıştır. Bütün verilere varyans analizi (ANOVA) uygulanmış ve grup ortalaması arasındaki farklılıklar JMP paket programı LS Means Student's T testi ile çoklu karşılaştırma testine göre belirlenmiştir. Önem seviyesi olarak $p < 0.05$ kullanılmıştır.

Bulgular ve Tartışma

Balıklarda stres durumlarında serum glikoz, kortizol ve lizozim aktivitesinde değişimler olmaktadır. Serum glikoz, kortizol ve lizozim balıklarda önemli stres parametreleri içinde yer almaktadır.

Glikoz, organizmanın stres durumunu belirleyen en hassas indekslerden birisi olup karbonhidrat metabolizmasının değerlendirilmesinde kullanılır. Onun yüksek konsantrasyonları balığın stres altında olduğunu ve yoğun bir şekilde enerji kaynaklarını kullandığını (örneğin kaslardaki ve karaciğerdeki glikojen) gösterir (Timur ve Timur, 2003; Çelik, 2005). Yaptığımız çalışmada serum glikoz, bütün uygulama gruplarında kontrol grubuna göre artış göstermiştir (Şekil.2 ve Tablo 2.). Elde edilen sonuçlara bakıldığında gruplar arasındaki farkın istatistiksel olarak önem arz ettiği görülmektedir ($p < 0.05$).

Chavin ve Young (2003), yaptıkları çalışmada Japon balıklarını (*Carassius auratus*) aç bırakarak serum glikoz seviyelerini ölçmüşler ve serum glikoz seviyelerinin oluşan strese bağlı olarak yükseldiğini tespit etmişlerdir. Yıldız (2006) ise yaptığı çalışmada profilaktik amaçlı LMK (Leteux-Meyer karışımı) uygulamasının, plazma lizozim seviyesi ile sekonder stres indeksine etkilerini ve sağlıklı gökkuşluğu alabalıklarında plazma glikoz değerlerindeki değişimleri izlemiş ve LMK uygulanan balıklarda plazma lizozim seviyesinin düştüğünü tespit etmiştir. Temiz suya bırakılan balıklarda ise plazma lizozim seviyesinin kontrol seviyesine dönmediğini ve LMK uygulamasının plazma glikoz değerlerinde belirgin bir artışa yol açtığını bildirmiştir. Yapılan önceki araştırmalar ile çalışmamızın bulguları benzerlik göstermektedir.

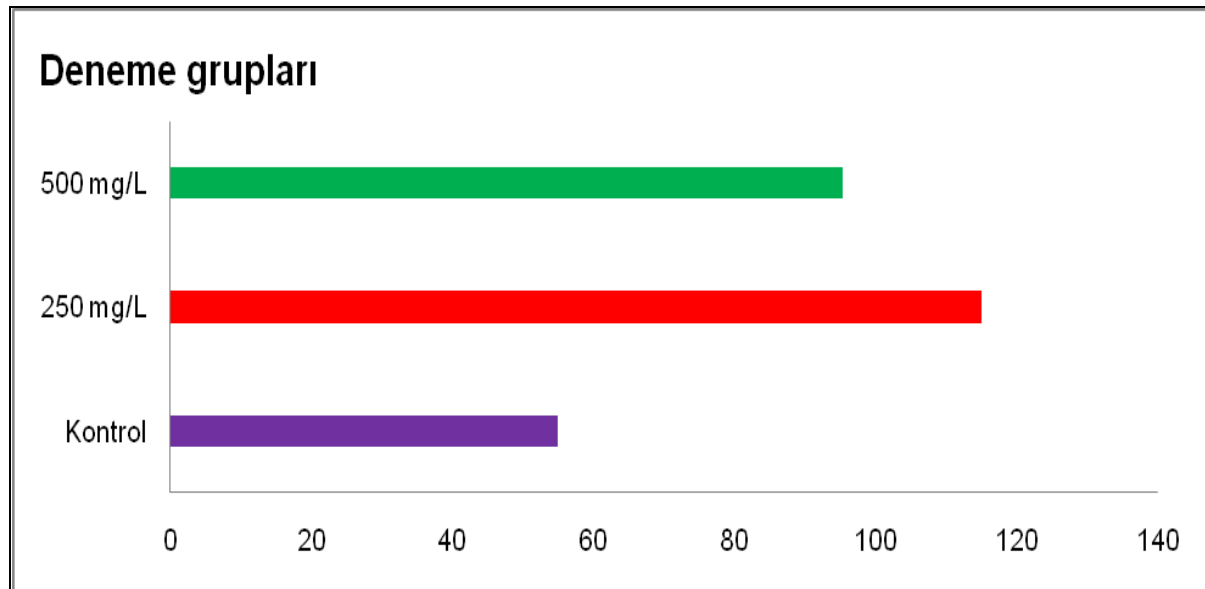
Kortizol en önemli stres göstergesi olan bir hormon olup oluşan strese göre artar ve bağışıklık sistemini baskılar (Bonga, 1997; Mommsen et al., 1999; Ögüt, 2005). Yaptığımız çalışmada da tüm deneme gruplarında kortizol

verileri kontrol grubuna göre süre ve dozlara bağlı olarak artış göstermiştir (Şekil.3 ve Tablo 3.). Elde edilen sonuçlara bakıldığında gruplar arasındaki farkın istatistiksel olarak önem arz ettiği görülmektedir ($p<0.05$).

Demers ve arkadaşları (1997), gökkuşuğu alabalıklarında stresten önce ve sonra stres hormonlarının plazma konsantrasyonlarını belirlemişler ve stresörleri takiben plazma kortizolünün belirgin bir şekilde arttığını tespit etmişlerdir. Kubilay ve Uluköy (2002), kültüre alınan gökkuşuğu alabalıklarında akut stresin (taşımacılık, balıkların yakalanması, sıkıştırılması) balıklar üzerinde oluşturduğu fizyolojik etkilerini araştırmışlar ve stres uygulanmayan

(kontrol) ve akut stresörler ile stres uygulanan gökkuşuğu alabalıklarının serum kortizol, serum glukoz düzeyleri ve lizozim aktivitelerini belirleyerek karşılaştırmışlardır. Stres uygulanan balıklarda serum kortizolünün artış gösterdiğini bildirmişlerdir.

Lizozim enzimi, balıkların fizyolojik durumlarının belirlenmesinde ve sağlık durumlarının kontrolünde yaygın olarak kullanılmaktadır. Yapmış olduğumuz çalışmada lizozim aktivitesi, bütün uygulama gruplarında kontrol grubuna göre azalma göstermiştir (Şekil.4 ve Tablo 4.). Elde edilen sonuçlara bakıldığında gruplar arasındaki farkın istatistiksel olarak önem arz ettiği görülmektedir ($p<0.05$).



Şekil 2. Deneme gruplarında serum glikoz değerlerinin karşılaştırılması

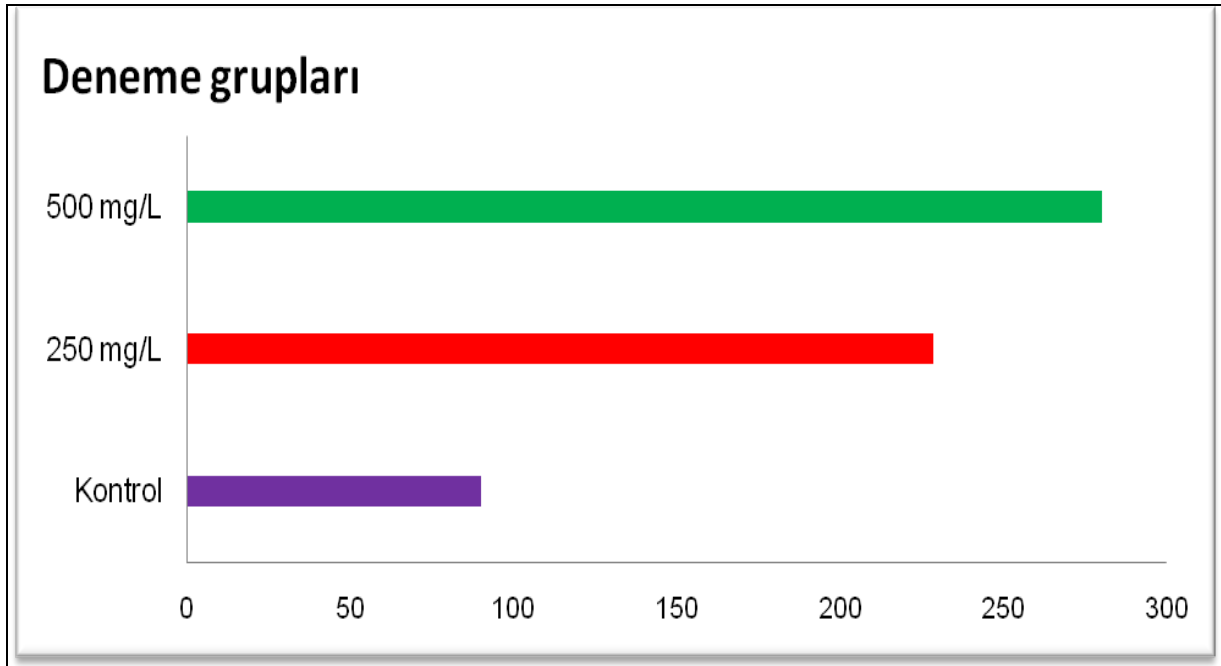
Figure 2. Compare with serum glucose values in the experiment groups.

Tablo 2. Deneme gruplarında serum glikoz değerlerine ait istatistiki analiz sonuçları ($\bar{X} \pm SH$)

Table 2. Results of serum glucose statistic analyze in the experiment groups ($\bar{X} \pm SH$)

Serum Glikoz (mg/dL)	Min.	Max.	Ort. \pm S.H.
Kontrol	40	77	55,00 \pm 2,22 ^c
Formaldehit (250 mL/L)	64	199	115,10 \pm 7,13 ^a
Formaldehit (500 mL/L)	74	122	95,45 \pm 3,38 ^b

Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen veriler arasında istatistiki fark vardır. ($p<0.05$)



Şekil 3. Deneme gruplarında kortizol değerlerinin karşılaştırılması

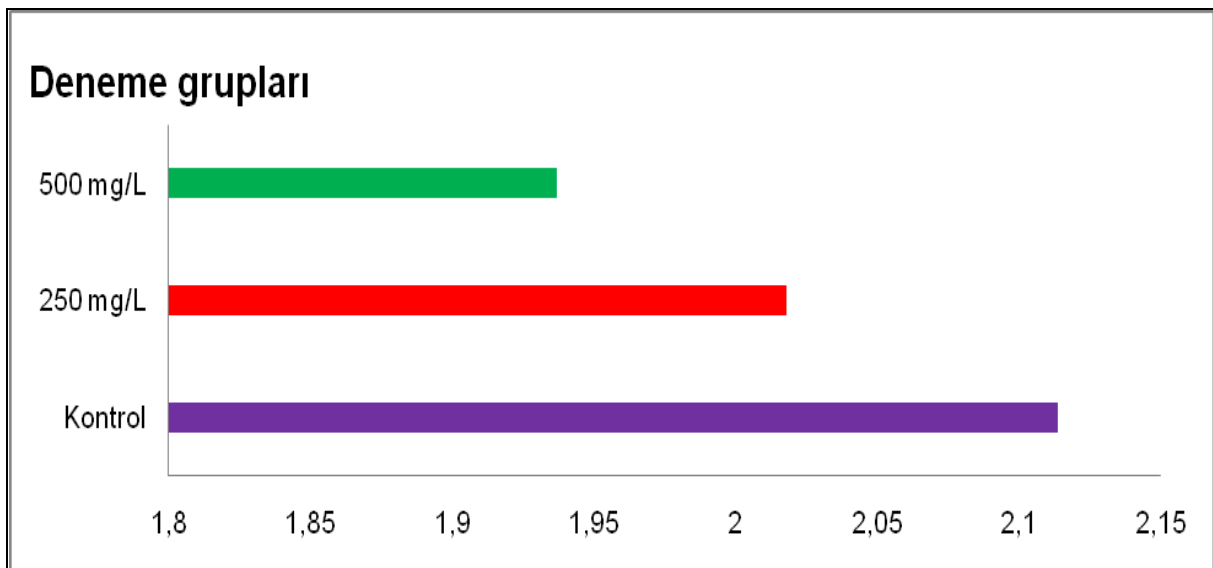
Figure 3. Compar with cortisol values in the experiment groups.

Tablo 3. Deneme gruplarında kortizol değerlerine ait istatistiki analiz sonuçları ($\bar{X} \pm SH$)

Table 3. Results of cortisol statistic analyze in the experiment groups ($\bar{X} \pm SH$)

Kortizol (nmol/L)	Min.	Max.	Ort. ± S.H.
Kontrol	24.8	189.9	90.11 ± 10.68 ^c
Formaldehit (250 mL/L)	105.3	539.8	228.78 ± 24.94 ^b
Formaldehit (500 mL/L)	103.5	884.8	280.30 ± 42.78 ^a

Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen veriler arasında istatistiki fark vardır. ($p < 0.05$)



Şekil 4. Deneme gruplarında lizozim aktivitesi değerlerinin karşılaştırılması

Figure 4. Compar with lysozyme activity values in the experiment groups.

Tablo 4. Deneme gruplarında lizozim aktivitesi değerlerine ait istatistiki analiz sonuçları ($\bar{X} \pm SH$)

Table 4. Results of lysozyme activity statistic analyze in the experiment groups ($\bar{X} \pm SH$)

Lizozim aktivitesi (mg/ml)	Min.	Max.	Ort. \pm S.H.
Kontrol	1.813	2.493	2.114 \pm 0.34 ^a
Formaldehit (250 ml/L)	1.700	2.380	2.018 \pm 0.39 ^{ab}
Formaldehit (500 ml/L)	1.564	2.437	1.937 \pm 0.50 ^{bc}

Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen veriler arasında istatistiki fark vardır. (p<0.05)

Çeşitli araştırmacılarda, gökkuşağı alabalıklarının naklinde veya atık su kirliliği tarafından oluşan strese serum lizozim seviyesinde artan ve azalan değişimler olduğunu bildirmişlerdir Roed et al. (1993), Fevolden et al. (1999), Schrock et al (2001), Caruso (2002), Kubilay ve Uluköy (2002), Yıldız (2006) .

Formalin solüsyonu balık hastalıklarının tedavisinde yaygın olarak kullanıldığından kullanımı esnasında solunum problemine sebep olabilmektedir. Bu yüzden kullanırken dikkat olunmalıdır. Formalin banyosu uygulanırken özellikle bu maddenin balıklarda deri ve solunum sistemindeki etkisinin de dikkate alınarak uygulama dozuna çok dikkat edilmesi gereklidir.

Sonuç

Formalin solüsyonları balıklara uygulanırken doz ve süre çok iyi ayarlanmalıdır. Yaptığımız çalışmada 250 ve 500 mg/L dozlarının balıklarda strese neden olduğu bu yüzden de balıklar bu dozlarla banyo şeklinde tedavi ediliyorken bile sık sık kontrol edilmeleri, rahatsızlık belirtileri ve anormal hareketler görüldüğünde solüsyondan hemen çıkarılmaları gerekmektedir. Çalışma ile formalin maddesinin kullanımında çok dikkatli olunması gerektiği sonucuna varılmıştır.

Kaynakça

- Aoki, T., (1992). Chemotherapy and drug resistance in fish farm in Japan, In: Shariff, M., Subasighe R.P., Arthur J.R., Eds. Diseases in Asian Aquaculture, Vol:1, Fish Health Section, Asian Fisheries Society, Manila, Philippines, 413-426.
- Atamanalp, M., Keleş, M.S., Haliloğlu, H.İ., Aras, M.S., (2002). The effects of cypermethrin (a synthetic pyrethroid) on some biochemical parameters (Ca, P, Na and TP) of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*),

Turkish Journal Veterinary Animal Scientist, **26**: 1157-1160.

Björklund, H., Bondestam, J., Bylund, G., (1991). Residues of oxytetracycline in wild fish and sediments from fish farms, *Aquaculture*, **86**: 359-367.

doi: [10.1016/0044-8486\(91\)90281-B](https://doi.org/10.1016/0044-8486(91)90281-B)

Barton, B.A., Iwama, G.K., (1991). Physiological changes in fish from stress in aquaculture with emphasis on the response and effects of corticosteroids. *Annual Reviews of Fish Diseases*, **1**: 26.

doi: [10.1016/0959-8030\(91\)90019-G](https://doi.org/10.1016/0959-8030(91)90019-G)

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

doi: [10.1093/icb/42.3.517](https://doi.org/10.1093/icb/42.3.517)

Caruso D., Schlumberger, O., Dahm C., Proteau J.P., (2002). Plasma lysozyme levels in sheatfish *Silurus glanis* L. Subjected to stress and experimental infection with *Edwardsiella tarda*, *Aquaculture Research*, **33**(12): 999-1008.

doi: [10.1046/j.1365-2109.2002.00716.x](https://doi.org/10.1046/j.1365-2109.2002.00716.x)

Chavin, W., Young, J.E., (2003). Factors in the determination of normal serum glucose levels of goldfish (*Carassius auratus* L.), *Comparative Biochemistry and Physiology*, **33**(3): 629-653.

doi: [10.1016/0010-406X\(70\)90376-2](https://doi.org/10.1016/0010-406X(70)90376-2)

Çelik, E.Ş., (2006). Bazı Balık Türleri İçin Kan Elektrolitlerinin Standardizasyonu, *Kayseri Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, **22**(1-2): 245-255.

Demers, N.E., Bayne, C.J., (1997). The immediate effects of stress on hormones and plasma lysozyme in rainbow trout, *Developmental & Comparative Immunology*, **21**(4): 363-373.

- doi: [10.1016/S0145-305X\(97\)00009-8](https://doi.org/10.1016/S0145-305X(97)00009-8)
- Doyuk, S.A., Çolakoğlu, (2004). Kirleticilerin su ürünlerine etkileri. Tarımsal Çevre ve Su Kirliliği Seminer Kitabı, Ankara.
- Ellis, A.E., (1996). Lysozyme Assay. In Techniques in Fish Immunology (Eds:J.S.Stolen,T.C.Fletcher, D.P.Anderson, B.S. Roberson, W.B., Mulswink.) 101-103.
- Fevolden S.E , Roed K.H., Fjalestad K.T., Stien J., (1999). Post-stress levels of lysozyme and cortisol in adult rainbow trout: heritabilities and genetic correlations, *Journal of Fish Biology*, **54**: 900-910.
- doi: [10.1111/j.1095-8649.1999.tb02040.x](https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.1999.tb02040.x)
- Glynn, A.A., (1969). The complement lysozyme sequence in immune bacteriolysis, *Immunology*, **16**(4): 463-471
- Grinde B., (1989). Lysozyme from rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson as an antibacterial agent against fish pathogens, *Journal of Fish Diseases*, **12**: 95-104.
- doi: [10.1111/j.1365-2761.1989.tb00281.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2761.1989.tb00281.x)
- Grondel, J.L., Gloudemans, A.G.M., Van Muiswinkel, W.B., (1985). The influence of antibiotics on the immune system, immunopharmacokinetic. Investigations on the primary anti-SRBC response in carp (*Cyprinus carpio* L.) after oxytetracycline injection, *Journal of Fish Diseases*, **10**: 35-43.
- doi: [10.1111/j.1365-2761.1987.tb00716.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2761.1987.tb00716.x)
- Hjelmeland , K., Christie, M., Raa, J., (1983). Skin mucus protease from rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson, and its biological significance, *Journal of Fish Biology*, **23**: 13-22.
- doi: [10.1111/j.1095-8649.1983.tb02878.x](https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.1983.tb02878.x)
- Kubilay A., Uluköy G., (2002). Effects of Acute Stress on Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), *Turkish Journal of Zoology*, **26**: 249-254.
- Lunden T., Lilius E., Bylund, G., (2002). Respiratory burst activity of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) phagocytes is modulated by antimicrobial drugs, *Aquaculture*, **207**: 203-212.
- doi: [10.1016/S0044-8486\(01\)00760-8](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(01)00760-8)
- Lunden, T., Bylund, G., (2002). Effect of sulphadiazine and trimetoprim on the immune response of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), *Veterinary Immunology and Immunopathology*, **85**: 99-108.
- doi: [10.1016/S0165-2427\(01\)00422-6](https://doi.org/10.1016/S0165-2427(01)00422-6)
- McCormick, S.D., Shrimpton, J.M., Carey, J.B., O'Dea, M.F., Sloan, K.E, (1998). Repeated acute stress reduces growth rate of Atlantic salmon parr and alters plasma levels of growth hormone, insulin-like growth factor and cortisol, *Aquaculture*, **168**: 221-235.
- doi: [10.1016/S0044-8486\(98\)00351-2](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(98)00351-2)
- Miyaka, C.K., Alves de Souza, J.A., Torres, R.P., (1998). Effects of the administration of fish oil by gavage on activities of antioxidant enzymes of rat lymphoid organs, *Gen Pharmacology*, **30**: 759-762.
- doi: [10.1016/S0306-3623\(97\)00334-0](https://doi.org/10.1016/S0306-3623(97)00334-0)
- Mommsen, T.P., Vijayan, M.M., Moon, T.W., (1999). Cortisol in teleosts, dynamics, mechanisms of action and metabolic regulation, *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, **9**: 211- 268.
- doi: [10.1023/A:1008924418720](https://doi.org/10.1023/A:1008924418720)
- Neeman, N., Lahav, M., Ginsburg, I., (1974). The effect of leukocyte hydrolases on bacteria. II. The synergistic action of lysozyme and extracts of PMN, macrophages, lymphocytes, and platelets in bacteriolysis, *Experimental Biology and Medicine*, **146**: 1137-1145.
- doi: [10.1007/BF00918678](https://doi.org/10.1007/BF00918678)
- Öğüt, H., (2005). Balıklarda Stres. Balık Biyolojisi Araştırma Yöntemleri Kitabı. Editör: Karakaş., M., 13, 377-394.
- Örün, 2004. Su kirliliğinin balıklar üzerindeki etkileri ve teşhislerinde kullanılan bazı biyobelirteçler. Tarımsal Çevre ve Su Kirliliği Seminer Notları, Malatya Seminer Kitabı,7-13, Ankara.
- Pennell W., Barton B.A., (1996). Principles of Salmonid Culture. Developments in Aquaculture and Fisheries Science, Vol:26, The Netherlands. 1039 pp.
- Pickering, A.D., (1993). Growth and stress in fish production, *Aquaculture*, **11**: 51-63.
- doi: [10.1016/0044-8486\(93\)90024-S](https://doi.org/10.1016/0044-8486(93)90024-S)

- Pottinger, T.G., Carrick, T.R., (1999). A comparison of plasma glucose and plasma cortisol as selection markers for high and low stress-responsiveness in female rainbow trout, *Aquaculture*, **175**: 351–363.
doi: [10.1016/S0044-8486\(99\)00107-6](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(99)00107-6)
- Roed K.H., Fjalestad K.T., Stromsheim A., (1993). Genetic variation in lysozyme activity and spontaneous haemolitic activity in Atlantic salmon (*Salmo salar*), *Aquaculture*, **114**: 19-31.
doi: [10.1016/0044-8486\(93\)90247-V](https://doi.org/10.1016/0044-8486(93)90247-V)
- Schrock Robin M., Smith Stanley D., Maule Alec G. Doulos Speros K, Rockowski James J., (2001). Mucous lysozyme levels in hatchery coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) and spring chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) early in the parr-smolt transformation, *Aquaculture*, **198**: 169-177.
doi: [10.1016/S0044-8486\(00\)00585-8](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(00)00585-8)
- Timur, G., Timur M., 2003. Balık Hastalıkları, İstanbul Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi, Yayın No:5, 538, İstanbul.
- Treves, F., Brown, M., (2000). Applied Fish Pharmacology, Kluwer Academic Publication, Aquaculture Series 3, 309.
- Uslu, O., Türkman, A., 1987. Su Kirliliği ve Kontrolü. T.C. Başbakanlık Çevre Genel Müdürlüğü Yayınları, Ankara.
- Val, A.L., De Menezes, G.C., Wood, C.M., (1998). Red blood cell adrenergic responses in amazonian teleost, *Journal of Fish Biology*, **52**: 83-93
doi: [10.1111/j.1095-8649.1998.tb01554.x](https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.1998.tb01554.x)
- Yano, T., 1996. The Nonspecific Immune System: Humoral Defense. In: The Fish Immune System Organism, Pathogen and Environment. (Eds: G. Iwama and T Nakanishi) Academic Press, USA, 106-110
- Yıldız, H.Y., (2006). Plasma lysozyme levels and secondary stress response in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) after exposure to Leteux-Meyer Mixture, *Turkish Journal Veterinary Animal Scientist*, **30**: 265-269.