

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLER ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Özgür UÇAŞ

**DIYETSEL GÜMÜŞ NANOPARTİKÜLÜN GÖKKUŞAĞI
ALABALIĞININ (*Onchorhyncus mykiss*) YETİŞTİRİCİLİK
PARAMETRELERİ VE YÜKSEK SICAKLIK TOLERANSINA
ETKİSİ**

SU ÜRÜNLERİ YETİŞTİRİCİLİĞİ ANABİLİM DALI

ADANA, 2021

ÖZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**DİYETSEL GÜMÜŞ NANOPARTİKÜLÜN GÖKKUŞAĞI ALABALIĞININ
(*Onchorhyncus mykiss*) YETİŞTİRİCİLİK PARAMETRELERİ VE YÜKSEK
SICAKLIK TOLERANSINA ETKİSİ**

Özgür UÇAŞ

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
SU ÜRÜNLERİ YETİŞTİRİCİLİK ANABİLİM DALI**

Danışman : Prof. Dr. O. Tufan EROLDOĞAN
Yıl: 2021, Sayfa: 51
Jüri : Prof. Dr. O. Tufan EROLDOĞAN
: Prof. Dr. Mahmut YANAR
: Doç. Dr. Hüseyin SEVGİLİ

Bu tez çalışmasında yemlere ilave edilen gümüş nanopartikülün (Nano-Ag) Gökkuşığı alabalığı'nın büyüme, yem alımı, tüm vücut besinsel kompozisyonu ile kritik termal maksima değeri üzerine olan etkileri araştırılmıştır. Denemede 3 farklı dozda (0, 0.2 ve 2 mg/kg) Nano-Ag içeren yem hazırlanmıştır ve balıklar bu yemler ile 60 gün süresince günde iki defa olacak şekilde beslenmişlerdir. Her bir deneme grubunu temsilen üç tank kullanılmış ve balıkların başlangıç bireysel ağırlıkları alınarak tanklara stoklanmışlardır. Deneme sonunda grupların büyüme performansları (ağırlık kazancı, spesifik büyüme oranı) ve yem alımı arasında istatistiki bir farklılık gözlenmemiştir ($P>0.05$). Deneme sonunda gerçekleştirilen kritik termal maksima (CT_{Max}) denemesinde yemlere ilave edilen Nano-Ag'nin önemli düzeyde istatistiki bir etkisinin olmadığı gözlenmesine karşın yüksek Nano-Ag'nin termal toleransı kısmende olsa artırdığı gözlenmiştir ($P>0.05$). 0 (kontrol), 0.2 ve 2 mg/kg grubu bireylerinin ortalama CT_{Max} değerleri $27.0^{\circ}C$, $27.2^{\circ}C$ ve $27.8^{\circ}C$.

Anahtar Kelimeler: Yem alımı, Yem Katkı Maddeleri, Nanoteknoloji, Termal tolerans.

ABSTRACT

MASTER OF SCIENCE THESIS

EFFECT OF DIETARY SILVER NANOPARTICULE ON CULTURE PARAMETERS AND TOLERANCE OF HIGH TEMPERATURE IN RAINBOW TROUT (*Onchorhynchus mykiss*)

Özgür UÇAŞ

ÇUKUROVA UNIVERSITY
INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCE
DEPARTMENT OF AQUACULTURE

Supervisor : Prof. Dr. O. Tufan EROLDOĞAN
Year: 2021, Page: 51
Jury : Prof. Dr. O. Tufan EROLDOĞAN
: Prof. Dr. Mahmut YANAR
: Assoc.Dr. Hüseyin SEVGİLİ

In this thesis study, the effects of silver nanoparticle (Nano- Ag) added to feeds on growth, feed intake, whole body nutritional composition and critical thermal maxima value of Rainbow trout were investigated. In the trial, 3 different doses (0, 0.2 and 2 mg / kg) of Nano- Ag feed were prepared and the fish were fed with these feeds twice a day throughout 60 days. Three tanks were used to represent each experimental group and the initial weights of the fish were individually taken and stocked in the tanks. At the end of the experiment, no statistical difference was observed among the growth performance (weight gain, specific growth rate) and feed intake ($P > 0.05$). In the critical thermal maxima (CT_{Max}) trial carried out at the end of the trial exhibited that Nano-Ag added to feeds did not have a significant statistical effect although it was observed that high Nano-Ag increased thermal tolerance partially ($P > 0.05$). Mean CT_{Max} values of individuals in the 0 (control), 0.2 and 2 mg / kg groups 27.0 ° C, 27.2 ° C, and 27.8 ° C.

Key Words: Feed intake, Feed Additives, Nanotechnology, Thermal tolerans.

GENİŞLETİLMİŞ ÖZET

Son yıllarda balık yemlerinde kullanılan balık unlarının yerine bitkisel protein kaynaklarının kullanılması ile birlikte balıklar için esansiyel olan mikro elementlerin (çinko, bakır, selenyum, demir, vb.) yem içerisindeki miktarları da oransal olarak azalmıştır. Bu sebeple, kritik seviyelerde kullanılması gereken bu mikro besinlerin (mikro elementler ve mikro metaller) nanopartikül formlarının, özellikle soğuk iklim balıklarından kullanımının araştırılması önem arz etmektedir.

Bu çalışmada üç farklı dozda (0, 0.2 ve 2 mg/kg) nanopartikül gümüş (Nano-Ag) hazırlanmış yemlerle beslenen ortalama başlangıç ağırlığı 41 g olan gökkuşağı alabalıklarının gelişim performansları, yem alımları, tüm vücut besin madde bileşenleri ile bu yemlerin balıkların yüksek termal limitine (CT_{Max}) olan etkileri araştırılmıştır. Sonuç olarak, bu tez çalışması ile birlikte özellikle su sıcaklığının yükseldiği veya değişim gösterdiği dönemlerde gökkuşağı alabalığı yemlerine ilave edilecek Nano-Ag'nin balığın su sıcaklığı değişimlerine toleransının artırılmasıyla balık ölümlerinin önüne geçilip geçilemeyeceğinin araştırılması planlanmıştır. Bu amaçla, ticari bir firmadan satın alınan alabalık bireyleri, fakültemizde bulunan tesis koşullarına alıştırdıktan sonra her bir deneme grubu için 3 tekerrürlü olacak şekilde kapalı devre bir sisteme bağlı tanklara 30 adet balık/tank olacak şekilde dağıtılmıştır. Deneme süresince balıklar doyana kadar beslenmişlerdir. Deneme 60 gün sürdürülmüş ve deneme sonunda her bir tanktan 3'er adet balık tüm vücut örnekleri için alınmıştır.

Gümüş nanopartikül içeren yemler ile beslenen gökkuşağı alabalıklarının CT_{Max} verilerinin ölçülmesi amacıyla deneme sonunda geriye kalan balıklar tekrar kendi tanklarına yerleştirilmiştir. Test yemleri ile 1 hafta daha aynı yemlerle beslenmişler ve ardından CT_{Max} ölçümlerinden önce bir gün aç bırakılmıştır. Bu sürenin ardından, her tanktan rastgele 3 adet balık seçilerek anestezi uygulaması yapılmadan, üç yüzeyi siyah film ile kaplı bir akvaryuma (20 x 30 x 40 cm)

koyulmuştur. Akvaryum deneme tanklarından alınan 15°C'de tatlı su ile doldurulmuştur. Akvaryum üç hava taşı yardımı ile sürekli havalandırılmış ve ölçümler esnasında oksijen seviyesi ve su sıcaklığı anlık olarak kontrol edilmiştir. Kısa bir süre balıkların sakinleşmesi beklendikten sonra, sürekli havalandırılmalı akvaryumda su sıcaklık artışı 0.3°C / dakika olacak şekilde sıcak su eklenerek sağlanmıştır. Her sıcaklık artırılma aşamasında (başlangıçta) kronometre ile süre takibi başlatılmış ve sıcak su akvaryuma homojen şekilde bir piset yardımıyla dağıtılmıştır. Eşik su sıcaklığı değerine yaklaşırken gözlem ekibi balıkların sıcaklık artışına karşı verdikleri ilk tepkileri teyit ettikten sonra kayıt altına almışlardır.

Deneme sonunda alabalıkların final ağırlıkları gruplara göre kontrol, 0.2 ve 2 mg/kg gruplarında sırasıyla 115.6±2.89, 118.94±5.81 ve 112.96±5.40 olarak bulunmuştur ve gruplar arasında istatistiki önemli bir farklılık görünmemiştir (P>0.05). Canlı ağırlık kazancı açısından da final ağırlığa benzer şekilde gruplar arasında istatistiksel olarak önemli bir farklılık bulunmamıştır (P>0.05). Deneme grupları arasında vücut ağırlıkları açısından bir farklılık bulunmazken bu değer 1.19 g/gün - 1.29 g/gün arasında değişmiştir(P>0.05).

Deneme yemlerinin balıkların yem tüketimlerine olan etkileri istatistiki olarak önemli düzeyde farklılık göstermemiştir (P>0.05). FCR verileri 1.46-1.75 arasında değişim gösterirken, her ne kadar istatistiki olarak bir farklılık görünmesine karşın FCR verisi açısından en yüksek değer 2 mg/kg grubunda hesaplanmıştır. Büyüme verileri de dikkate alındığında bu yem içerisindeki gümüş nanopartiküller balığın gelişimine olumlu etki yaratmadığı izlenimini yaratmıştır. Balıklarda hesaplanan visero somatik indeks (VSI) ve visceral yağ indeks verileri sırasıyla %10.13-10.58 ve %2.39-2.84 arasında değişim göstermiştir. Gruplar arasında önemli bir farklılık bulunmamıştır (P>0.05). Kontrol, 0.2 mg/kg ve 2 mg/kg gruplarında analiz edilen ham protein verileri sırasıyla %16.3, 16.1 ve 16.2 arasında değişmiş, istatistiki önemli bir farklılık gözlenmemiştir (P>0.05). Tüm vücut lipid değerleri %11.4-12.2 arasında değişim göstermiştir.

Deneme sonunda gerçekleştirilen kritik termal maksima (CT_{Max}) denemesinde yemlere ilave edilen Nano-Ag'nin 3nemli d3zeyde istatistiki bir etkisinin olmadığı g3zlenmesine karşın, y3ksek Nano-Ag'nin termal toleransı kısmende olsa rakamsal olarak artırdığı g3zlenmiştir. Kontrol, 0.2 mg/kg ve 2 mg/kg grubu bireyelerinin ortalama CT_{Max} değerleri 27.0°C, 27.2°C ve 27.8°C olarak kaydedilmiştir. Yemlere ilave edilen Nano-Ag'nin CT_{Max} 3zerine bir etkisi olmamasına karşın, 2 mg/kg Nano-Ag'nin CT_{Max} 'ı %3 artırdığı g3zlenmiştir.

Sonuç olarak, yemlere ilave edilen Nano-Ag'nin 41 gr'lık g3kkuşağı alabalıklarında b3y3me perfomans verilerine ve yem alımına etkisinin olmadığı g3zlenmiştir.



TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın planlaması ve kurgulanmasından son aşamasına kadar yardımlarını esirgemeyen, yönlendirici fikirleri ile bana daima yol gösteren ve özellikle bilimsel anlamdaki tecrübelerini benimle paylaşan danışman hocam Sayın Prof. Dr. O. Tufan EROLDOĞAN'a sonsuz teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım. Tezimin her aşamasında ve laboratuvar çalışmalarında yardımlarını hiç esirgemeyen, bana her türlü konuda yol gösterip desteğini esirgemeyen sayın Arş. Gör. Ece EVLİYAOĞLU'na, denemede kullanılan yemleri ücretsiz şekilde gönderen Muğla Gümüşdoğa Yem A.Ş'ne, ayrıca yemlerde kullanılan Gümüş Nanopartükülü ücretsiz şekilde gönderen Antalya NANOEN A.Ş'ne ve denemede kullanılan yemlerin ve Gümüş Nanopartüküllerin tedarikini sağlayan yemlerin hazırlanmasından, Gümüş Nanopartüküllerin yemlere uygulanmasına kadar her türlü desteği ve katkıyı veren Sayın Doç. Dr. Hüseyin SEVGİLİ'ye teşekkürü bir borç bilirim.

Çalışmam boyunca manevi desteğini ve yardımlarını esirgemeyen Adana Devlet Tiyatrosu Tiyatro Müdür Yardımcısı sayın Mustafa Kazım ÖZTÜRK'e ve hayatımın her döneminde bana inanıp destekleyen ayrıca her zaman yanımda olan eşim Zekiye UÇAŞ'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca, bu çalışma zor şartlarda beni büyüten, okutan Annem Sultan UÇAŞ ve Babam Mehmet UÇAŞ'a adanmıştır.

İÇİNDEKİLER	SAYFA
ÖZ	I
ABSTRACT.....	II
GENİŞLETİLMİŞ ÖZET	III
TEŞEKKÜR.....	VII
İÇİNDEKİLER SAYFA.....	VIII
ÇİZELGELER DİZİNİ SAYFA	X
ŞEKİLLER DİZİNİ SAYFA	XII
1. GİRİŞ	1
2. LİTERATÜR ÖZETİ.....	7
2.1. Dünyada ve Ülkemizde Su Ürünleri Üretimi.....	7
2.2. Mikro-Mineraller ve İz Metaller	9
2.3. Nanopartüküllerin Su Ürünlerinde Kullanımı.....	10
2.4. İz metaller ve Termal Tolerans	13
3. MATERYAL VE METOD	17
3.1. Deneme Materyali ve Dizaynı	17
3.2. Deneme Dizaynı ve Deneme Yemleri	17
3.3. Gümüş Nanopartikülün Sentezlenmesi ve Karakterizasyonu	19
3.4. CTMax Çalışması	20
3.5. Örneklemeler.....	21
3.6. Analizler.....	21
3.6.1. Kuru Madde ve Ham Kül Analizi.....	21
3.6.2. Protein Analizi	22
3.6.3. Yağ Analizi	22
3.7. Hesaplamalar.....	23
3.8. İstatistikî Hesaplamalar.....	24
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	25

4.1. Çevresel Parametreler	25
4.2. Büyüme Performansı ve Yem Alımı.....	25
Deneme Grupları	26
4.3. Tüm Vücut Besin Madde Bileşenleri.....	27
4.4. Kritik Termal Maksima (CT _{max}).....	28
4.5. Tartışma	32
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	39
KAYNAKLAR	41
ÖZGEÇMİŞ	51

ÇİZELGELER DİZİNİ

SAYFA

Tablo 4.1. Altmış gün süresince deneme yemleri ile beslenen alabalıkların büyüme performans verileri ile yem alımı ve vücut indeks verileri	26
Tablo 4.2. Farklı dozlarda NanoAg ilave edilmiş yemlerle beslenen alabalıkların tüm vücut yüzdesel besinsel kompozisyon seviyeleri	28
Tablo 4.3. Deneme sonunda ölçülen Kritik termal maksima ($CT_{Max, °C}$) değerleri .	28





ŞEKİLLER DİZİNİ

SAYFA

Şekil 2.1. Dünya genelinde 1950-2018 yılları arasında avcılık ve su ürünleri yetiştiriciliği üretimi (FAO, 2020).....	7
Şekil 2.2. Nanopartiküllerin Su Ürünlerinde kullanım alanları.	11
Şekil 3.1. Denemede kullanılan Nano-Ag'nin partikül büyüklüğü.....	19
Şekil 4.1. Farklı dozlarda Nano-Ag ilave edilmiş yemlerle beslenen alabalıkların final canlı ağırlık ortalamaları.....	27
Şekil 4.2. Kontrol grubu bireylerinde örneklenen balıkların ağırlık ve bu balıkların CT_{Max} verileri arasındaki ilişki.....	30
Şekil 4.3. 0.2 mg/kg grubu bireylerinde örneklenen balıkların ağırlık ve bu balıkların CT_{Max} verileri arasındaki ilişki.....	31
Şekil 4.4. 2 mg/kg grubu bireylerinde örneklene balıkların ağırlık ve bu balıkların CT_{Max} verileri arasındaki ilişki.....	32



1. GİRİŞ

Dünya’da su ürünleri yetiştiricilik (balık, sucul canlılar vb.) endüstrisi, insan beslenmesinde protein talebini karşılamak için son zamanlarda diğer tüm gıda üretim sektörlerinden çok daha hızlı gelişme göstermiştir (De la Cruz-Cervantes ve ark., 2018). Bu yetiştiricilik endüstrisinde en önemli konuların başında yer alan balık yemleri ve yemlerin besinsel içerikleri, hem balık sağlığı hem de sürdürülebilir su ürünleri üretimi için önem arz etmektedir. Kültür balıkçılığı, dünya çapında toplam balık üretiminin yaklaşık %44’ünü teşkil etmiş 2030 yılına kadar küresel üretimin %60’ın üzerinde bir oranda karşılayacağı öngörülmektedir (FAO, 2020). Benzer şekilde, Cottrell ve ark. (2020) da bu öngörüye benzer şekilde kültür balıkçılığının 2030 senaryolarına göre artacağını belirtilmişlerdir.

Tüm bu üretimin sürdürülebilirliği endüstriyel ticari yemlerin üretim ile mümkün olmaktadır. Ticari yemler, balık üretim sürecinde toplam işletme maliyetinin %50-60’ını oluşturduğundan, karlı bir yetiştiricilikte yem ve yem hammaddelerinin ekonomikliği önemli rol almaktadır (FAO, 2020). Balık beslenme uzmanları, son 20 yıldan bu yana çiftlik balıklarının sağlığını ve üretkenliğini artırabilmek amacıyla alternatif ve sürdürülebilir hammaddeler üzerinde çalışmalar yürütmektedir. Balık yetiştiriciliğinde yemleme yönetimi, ekonomik etkisinin yanı sıra balık sağlığı üzerindeki etkisi nedeniyle de önemlidir (Luis ve ark., 2017).

Balıkların besin madde ihtiyaçlarını karşılayabilecek dengeli yemlerin (tezin bundan sonraki bölümlerinde “formulasyon” olarak belirtilecektir) ve etkin beslenme stratejileri su ürünleri yetiştiriciliğinde en önemli gerekliliklerden ilkidir. Yemlerin besinsel yetersizliği, canlının büyüme performansına olumsuz etkileyerek yetiştiriciliğin karlılığını azaltabilir (Halves, 2002). Öte yandan, tüm temel besinleri uygun oranda içeren dengeli yemler sadece daha yüksek üretim sağlamakla kalmaz, aynı zamanda canlının hastalıklara olan toleransını artırır veya balığın çevresel stres faktörlerinin etkilerinin üstesinden gelmesine yardımcı olur. Sonuç olarak, balık

beslenme uzmanları, balık sağlığını ve verimliliğini artırabilecek zararsız yem katkı maddeleri bulmak için çaba sarf etmektedir (Al-Sagheer ve ark., 2018). Bu nedenle, su ürünleri yetiştiriciliği alanında yem kullanımının iyileştirilmesi ve üretkenliğin artırılması için çeşitli büyüme destekleyici yem katkıları benimsenmiştir.

Ticari balık yemlerinde kullanılan mısır glütenu, soya fasulyesi küspesi, buğday glütenu, bezelye proteini konsantresi vb. ürünler son yıllarda üretilen yem formülasyonlarının %60-70'lik bölümünü oluşturmaktadır. Ancak, bilindiği üzere, bu ham madde kaynakları mineral ve diğer esansiyel besin maddeleri açısından dengesiz bir yapıya sahiptirler. Bu yüzden, son yıllarda yapılan araştırmalarda göstermiştir ki yemlerde artan orandaki bitkisel yem hammaddeleri canlıların ihtiyacı olan mineralleri ve iz elementleri sağlayamamakta ve balıklarda ciddi bağışıklık sorunları meydana getirmektedir (Antony Jesu Prabhu ve ark., 2019; Wischunes ve ark., 2020, Figueiredo-Silva, 2020). Nitekim, NRC (2011) büyümeyi ve balık sağlığını iyileştirmek için balığın mikro besinleri, özellikle mineral ihtiyacının yeniden değerlendirilmesi gerektiği sonucuna varmıştır.

Bilindiği üzere, mikro besinler esansiyel olan iz elementleri (çinko, demir, bakır) ve esansiyel olmayanları (civa ve gümüş gibi) kapsamaktadır (Shaw ve Handy, 2011). Balıklarda iz elementlerin (demir, çinko, bakır, gümüş vb.) canlılar üzerindeki fizyolojik etkileri ile ilgili bilgiler oldukça eskiye dayanmaktadır. İz elementlerin özellikle balığın optimum (uygun) konfor alanından çıktığı ve çevresel strese maruz kaldığı ortamlarda yemlerinde kullanılması gerekmektedir (Kamunde ve Wood, 2004; Shaw ve Handy, 2011). Su ortamında başlıca çevresel stres kaynaklarından ilki sıcaklıktır. Doğal şartlarda balıklar, vücut ısını çevresel sıcaklık değişikliklerine göre dengeleyebilirler ya da dengelemek amacıyla optimum su sıcaklığının olduğu bölgelere göç edebilirler (Cossins ark., 2006; Eissa ve Wang, 2016). Ancak, kültür koşullarında (kafes veya tanklarda) tutulan balıkların ortam su sıcaklığından başka seçenekleri bulunmamaktadır. Su ürünleri kültür ortam koşulları dikkate alındığında, özellikle balıklarda ilkbahardan yaz ve / veya sonbahardan kışa

geçişteki çevre sıcaklıklarının optimumun üstündeki veya altında etkilerinin bilinmesi önemlidir. Diğer taraftan, küresel iklim değişimi gibi iklimleri etkileyen sıcaklık değişimleri sadece karasal yetiştiriciliği değil sucul ortamdaki kültür koşullarını da etkilemektedir. Axenov-Gribanov ve ark. (2016) optimum üzerindeki su sıcaklığı değişimlerinin balıklarda termal stresi tetiklediği ve balığın yem alımını ve büyüme performansını geriye düşürdüğünü bildirmiştir.

Kemikli balıklarda sıcaklık toleransı birçok fizyolojik ve biyokimyasal mekanizmanın etkisi altındadır (Kumar ve ark., 2018). Optimal su sıcaklığının dışındaki sıcaklıklarda balığın oksijen taşıma kapasitesi düşer ve canlının ihtiyaç duyduğu oksijenin dokulara ulaşması sekteye uğrar (Morley ve ark., 2012; Tripp-Valdez ve ark., 2017; Kumar ve ark., 2018). Su sıcaklığındaki bu olumsuz değişimler ile balıkların başa çıkması için, başvurulacak yollardan biri sıcaklık toleransı yüksek hatların ıslah edilmesi ve beslenmelerinde kullanılan yemlere bu amaçla ilave edilebilecek katkı maddeleri olabilir. Bu sebeple araştırmacılar, yüksek su sıcaklıklarında (iklim değişikliği) canlının bu ortama adaptasyonu, yaşama oranının artırılması ve sonuç olarak doğal yaşam ortamlarındaki gibi en iyi performansı göstermesi üzerine odaklanmışlardır.

Son yıllarda, yenilikçi kimyasal mühendislik teknikleri nanomateryallerin üretimini mümkün kılmış, iz elementlerin daha etkin şekilde kullanımına olanak vermiştir. Nanopartiküller birçok farklı fiziksel formlardan oluştuğu ancak bu materyal formlarının bazen negatif etkilerinin olduğu da gözlenmiştir (Smith ve ark., 2007). Balıklarda bazı minerallerin nanopartikül formları yem ham maddeleri içerisinde kullanılmaktadır (Kumar ve ark., 2018). Ancak, son yıllarda ticari balık yemlerindeki balık unu %10-15 seviyelerinde kullanımı, yemlerdeki mineral kompozisyonu olumsuz şekilde etkilemiştir. Sonuç olarak, düşük balık unu ve yüksek bitkisel protein kaynakları içeren yemlerdeki mineral dengesi balığın ihtiyacını karşılar nitelikte değildir (Antony Jesu Prabhu, 2015; Domínguez ve ark., 2020). Özellikle organik iz elementler (selenyum, çinko, demir vb.) ticari olarak

yemlerde kullanılmaya başlanmış, hatta mineral nanopartiküllerinin balık yemlerinde değerlendirilmesi gittikçe terveh edilmektedir (Wijnhoven ve ark., 2009; Gagné ve ark., 2012; Kumar ve ark., 2018). Bunun en önemli sebeplerinden birisi balıkların ihtiyacı olan mikro elementlerin yemlerle karşılanmasının yanı sıra su sıcaklığı ve yüksek, stoklama yoğunluğu gibi stress faktörlerine karşı direncin de artırılmasıdır.

Balıkların da dahil olduğu sucul canlıların termal toleransı sıcaklık stresine olan dayanıklılıklarını belirlemede önemli bir kriterdir. Bazı çalışmalar termal toleransın oksijen tutma kapasitesini artıran mikro elementler ile artırılabilirliğini gösterirken, genel kanaat oksijen tutma kapasitesinin balıklarda termal toleransı artırmadığı yönündedir (Brijs ve ark., 2015). Ancak, sucul canlıların artan su sıcaklığı karşısında nasıl adapte oldukları, nasıl yaşamlarını devam ettirdikleri ve sıcaklığa karşın nasıl direndiklerini araştırmak bilim insanlarının önemle üzerinde durdukları konularında başında gelmiştir (Kumar ve ark., 2018). Bazı iz elementlerin nanopartikül şeklinde yemlerde kullanımı belki de balıkların artan su sıcaklıklarına olan toleransı artırabilecektir.

Gökkuşığı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*), Türkiye'de yetiştiriciliği en çok yapılan türlerden biri olup, ekonomik önemi büyük bir türdür. Bu türün ülkemizdeki toplam üretimi 127.905 tondur (TÜİK, 2020). Her ne kadar alabalık üretimi her geçen yıl artsa da özellikle bazı mevsim geçişlerinde su sıcaklığının etkisi ile ciddi ölümler (toplam biyokütle kaybının %60'ından fazlasının olduğu düşünülmektedir) meydana gelmektedir. İklim değişikliğinin beraberinde gelen beklenmedik su sıcaklığı dalgalanmaları da doğal popülasyonlarda ciddi kayıplara sebep olmaktadır. Bu kayıplar, yükleme, nakliye, yemler ve esas olarak kültür koşullarında yüksek sıcaklıklara maruz kalma dâhil olmak üzere çok katmanlı stres faktörlerine atfedilmiştir (Kumar ve ark., 2018; Galappaththi ve ark., 2020; Dawit Moges ve ark., 2020).

Bu tez çalışmasının amacı, gökkuşığı alabalığı yemlerine farklı dozlarda (0,

0.2 ve 2 mg/kg) yeme ilave edilen gümüş nano partiküllerin (Nano-Ag) balık büyüme performansına ve besin madde bileşenlerine olan etkilerini araştırmaktır. Diğer taraftan, deneme sonunda alabalıkların termal toleransının kritik termal tolerans (CT_{Max}) verileri ölçülerek Nano-Ag'ün su sıcaklık değişimindeki etkileri ilk defa incelenmiş olacaktır. Sonuç olarak, bu tez çalışması ile birlikte özellikle su sıcaklığının yükseldiği veya değişim gösterdiği dönemlerde gökkuşaağı alabalığı yemlerine ilave edilecek Nano-Ag'ün balığın su sıcaklığı değişimlerine toleransının artırılmasıyla balık ölümlerinin önüne geçilmesi planlanmaktadır.

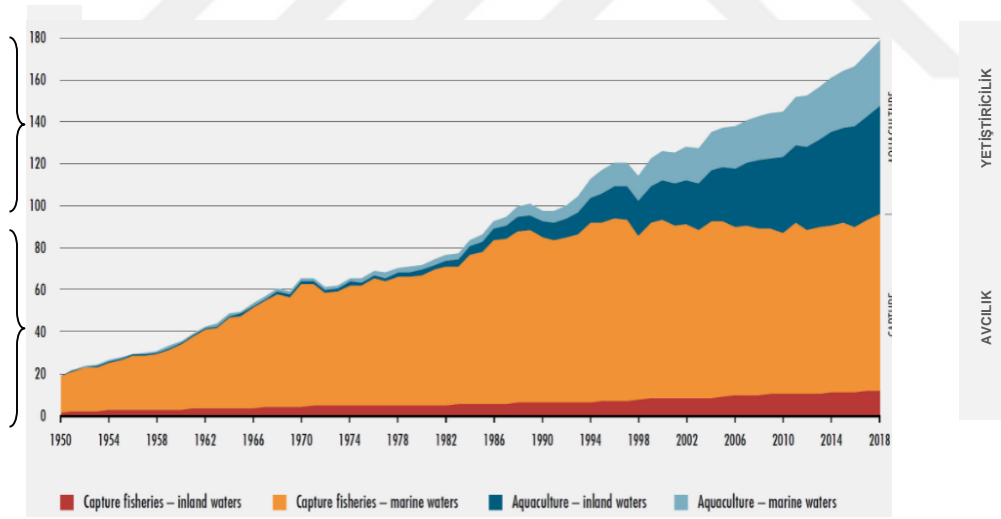




2. LİTERATÜR ÖZETİ

2.1. Dünyada ve Ülkemizde Su Ürünleri Üretimi

Dünyada su ürünleri üretimi (avcılık + su ürünleri yetiştiriciliği) miktarı 2018 yılı istatistiklerine göre 179 milyon ton ve 401 milyar dolar (250 milyar doları yetiştiricilikten gelmektedir) olarak açıklanmıştır (FAO, 2020). Şekil 2.1.'de görüleceği gibi hem iç sularda hem de denizlerde yapılan kültür balıkçılığı ciddi bir artış içerisindedir. Dünyada toplam balık üretiminin 156 milyon tonu insan tüketimine giderken, 22 milyon tonluk tüketilmeyen balıklar ise su ürünleri yetiştiriciliğinde kullanılan ticari yemlerde kullanılan balık unu ve balık yağı üretiminde kullanılmaktadır. Cottrell ve ark. (2020) ve FAO (2020) su ürünleri yetiştiriciliği dünyadaki toplam üretimin %44'nün üzerine çıkmış ve 2030 yılında bu oranın %60'larda olacağını rapor etmişlerdir.



Şekil 2.1. Dünya genelinde 1950-2018 yılları arasında avcılık ve su ürünleri yetiştiriciliği üretimi (FAO 2020).

Ülkemiz, su ürünleri ve balıkçılığa elverişli üretim sahaları yönünden önemli bir potansiyele sahiptir. Balıkçılık Su Ürünleri Genel Müdürlüğü'nün 2020 yılında açıkladığı su ürünleri üretim verilerine bakıldığında, 2019 yılı itibariyle toplan üretimimiz (avcılık + yetiştiricilik) 836.524 tondur (TÜİK, 2019). Denizlerden ve iç sulardan elde edilen üretim miktarı ise sırasıyla 254.440 ton ve 233.419 ton, toplamda 487.859 tondur.

Ülkemizde ilk olarak 1970'li yıllarda üretimine başlanan gökkuşuğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) iç sularda yapılan su ürünleri üretiminde lider bir tür konumuna gelmiştir. 2020 yılında yapılan toplam üretim 127.905 tondur (TÜİK, 2020). Özellikle denizlerde yapılan Türk somonu yetiştiriciliği son yıllarda ivmelenerek artışını devam ettirmektedir (Eroldoğan ve ark., 2020).

Söz konusu bu artışa paralel olarak küresel yem üretiminde de paralel artış beklenmektedir. Ancak, balık yemlerinin en önemli ham madde kaynaklarından balık unu ve balık yağı üretimi kısıtlıdır. Kompozisyon bakımından ideal alternatif protein ve lipit kaynaklarının (tek hücreli canlılar, makro-mikro algler, böcekler, vb.) kitlesel üretimi halen karşılayacak düzey ve ekonomik seviyede değildir. Bu sebeple kullanılan en yaygın protein ve yağ kaynakları karasal bitkisel kaynaklardır (soya unu, mısır gluteni, buğday unu vb.). Her ne kadar bu bitkisel kaynaklar etkin şekilde balık yemlerinde kullanılsa da, bazı esansiyel amino asitler, mineraller ve çoğunlukla göz ardı edilen iz metaller (gümüş ve civa gibi) açısından düşük veya eksiktirler (NRC, 2011; Antony Jesu Prabhu ve ark., 2019; Wischunes ve ark., 2020, Figueiredo-Silva, 2020).

Dünya genelinde ve ülkemizde yem üretim maliyetleri, ham madde kaynaklarının sınırlı olması sebebiyle artış göstermektedir. Bunun en önemli sebebi sınırlı miktarda üretilen balık unu ve balık yağı sınırlılığı ve fiyatlarının her geçen gün artmasıdır (Tacon, 2018). Örneğin, ülkemizde alabalık yemlerinin fiyatları son 5 yılda %171 oranında artmıştır. Bu sebeple, alternatif ham madde kaynaklarının yanı sıra özellikle yem katkı maddelerinin ilavesiyle besin madde sindirilebilirliği

büyüme ve yemden yararlanma performansını artırmada önemli bir konu haline gelmiştir. Yemlerin makro ve mikro element seviyeleri iel bunların form ve bileşik tipleri oldukça önem arz etmektedir.

2.2. Mikro-Mineraller ve İz Metaller

Son yıllarda balık yemlerinde kullanılan balık unu yerine bitkisel protein kaynaklarının kullanılması ile birlikte balıklar için esansiyel olan mikro elementlerin (çinko, bakır, selenyum, demir vb.) yem içerisindeki miktarlarında da oransal olarak azalma olmuştur. Minimum gereksinim seviyelerinde kullanılması gereken bu mikro minerallerin önemi NRC (2011) tarafından da vurgulanmıştır. Ancak, bu kaynaktan rapor edilen gereksinim düzeylerinin son yıllarda yapılan çalışmalar göz önünde bulundurulduğunda yetersiz kaldığı belirtilmiştir (Antony Jesu Prabhu ve ark., 2014). Örneğin, NRC (2011) sadece 8 tatlı su türü ve 4 denizel orijinli kültür balığı türünün bir veya maksimum iki mineral ihtiyacını listelemiştir. Özellikle son yıllarda karnivor türlerin yemlerinde balık unu ve balık yağı toplam miktarının yem formülasyonunun sadece %20'lik bir bölümünü oluşturduğu düşünüldüğünde, balık yemlerinde ciddi bir mikro mineral ve iz metal eksikliğinin olması kaçınılmaz görünmektedir. Ancak, şu da unutulmamalıdır ki, söz konusu mikro minerallerin yemlerde artırılması canlıda ve doğada birikime de neden olabilir (Alfthan ve ark., 2015; Reis ve ark., 2017; Dominguez ve ark., 2019). Bu sebeple, birçok araştırmacı mikro-minerallerin kullanım seviyelerinin toksik seviyelerinin de dikkate alınarak kullanılması gerektiğini vurgulamışlardır (Reis ve ark., 2017; Dominguez ve ark., 2019; Dominguez ve ark., 2020).

Diğer taraftan iz metallerde balık yemlerinde kullanılacak, balık performansını artıracak mikro elementler gibi görünmektedir. Balıklarda iz metallerin ekofizyolojik ve toksikolojik çalışmaları uzun yıllardır yapılmaktadır. (Spry ve Wiener, 1991; Handy, 1996; Clearwater ve ark., 2002; Kamunde ve Wood, 2004; Handy ve ark., 2005; Shaw ve Handy, 2011). Örneğin, selenyum balıkları için

en önemli iz metallere olup balık gelişimi ve yumurta fertilizasyonuna kadar birçok fizyolojik faaliyette önemli rolleri vardır (Ashouri ve ark., 2015; Moges ve ark., 2020). Ancak, bu iz metallere nanopartikül formlarının normal formlarına göre, partiküllerinin küçük olması, yüzey alanlarının daha geniş olması sebebiyle biyoyararlanımı ve biyolojik alımlarının daha yüksek olduğu bildirilmektedir (Sahw ve Handy, 2011; Moges ve ark., 2020).

Çinko, bakır, selenyum, demir gibi esansiyel iz metallere yanında esansiyel olmayan civa ve gümüş (ve hatta altın gibi) iz metallere balık üzerine etkileri henüz çalışılmakta ancak bunların doza bağlı toksik etkileri de gözlenmektedir (Shaw ve Handy, 2011; Hegde ve ark., 2016; Verma ve ark., 2018; Moges ve ark., 2020). Ancak, esansiyel olmayan bu iz metallere balık büyümesi yanında fizyolojik faaliyetlere olan etkilerinin belirlenmesi ilerleyen dönemlerde balık yem formülasyonlarında katkı maddesi olarak kullanılmasının önünü açacaktır.

2.3. Nanopartiküllerin Su Ürünlerinde Kullanımı

Son yıllarda yeni yaklaşımlı kimya mühendislik teknikleri ile nanomateryaller üretilmiş, bu materyallerin farklı ürünler (meyve, sebze, canlı material vb.) üzerinde kullanımına ise nanoteknoloji adı verilmiştir (Shaw ve Handy, 2011). Nanoteknoloji malzeme ve yapı teknolojilerinde madde boyutunun nanometre cinsinden ölçülendirildiği tek teknoloji olup; gıda endsütrisi, sağlık hizmetleri, tarım ve endüstriyel sektörler gibi birçok alanda kullanılmaktadır (Posinasetti ve ark., 2011). Günümüzde, tarım ve gıda sektörünün bir alt kolu olan su ürünleri yetiştiriciliği, nanoteknolojinin hızlı uygulandığı bir alan haline gelmiştir (Moges ve ark., 2020). Şekil 2.2’de de görüleceği üzere; balık besleme, hastalık kontrolü ve su kalite kriterlerinin iyileştirilmesi gibi spesifik alanlarda nanopartiküllerin kullanımı son yıllarda yaygınlaşmıştır (Selvaraj ve ark., 2014; Moges ve ark., 2020).

Nanopartiküller su ürünleri yetiştiriciliğinde birçok doğrudan (besin destekleyici, nutrasötikler ve farmasötiklerde) veya dolaylı uygulamalarda (su ve atık su arıtma, havuz ve kafeslerde sterilizasyon, biyo-film ve kirlilik kontrollerinde) başarıyla kullanılmaktadır (Kheawfu ve ark., 2017). Balık besleme alanında, yemlerdeki demir, selenyum ve bakır ile çinko nanopartiküllerin yavru sazan (*Carassius auratus*) ve mersin balıklarında (*Acipenser gueldenstaedtii*) yaşama oranı, büyüme performansı ve canlılığının sağlığı ile ilgili parametreleri iyileştirdiği gözlenmiştir (Rajesh Kumar ve ark., 2008; Chris ve ark., 2018). Diğer taraftan, Can ve ark. (2011) ürün özelinde, renk ve tat elde etmek, fonksiyonel bileşenlerin biyoyararlılığını artırmak, gıda maddelerinin ayrışmasını önlemek, besin içerisindeki hassas bileşenlerin stabilizasyonu ve raf ömrünü uzatmak amacıyla da kullanıldığını belirtmişlerdir.



Şekil 2.2. Nanopartiküllerin Su Ürünlerinde kullanım alanları.

Nanopartiküllerin geniş alanda kullanımı, özellikle su ürünleri yetiştiriciliğinin artırılması: daha iyi bir besin madde absorpsiyonu, yüksek

antioksidan kapasitesi, yemin etkin kullanımı ve büyüme performansına direk etkileri yanında balıkların üreme performansı ve olgunlaşması gibi konularda katkı sağlamaktadır. Onuegbu ve ark. (2018) nanomateryallerin balık yemlerinde etkili bir katkı maddesi olarak balık gelişimine olumlu etkileri olduğunu vurgulamıştır. Nanopartiküllerin küçük malzeme yapıları ve yüksek spesifik yüzey alanları sayesinde bağlandığı maddenin daha etkin şekilde absorpsiyonuna yol açmaktadır (Moges ve ark., 2020). Örneğin, demir nanopartikülleri mersin balığı ve sazan türlerinin büyümelerinde sırasıyla %30 ve 24 oranında bir artış göstermiştir (Srinivasan ve ark., 2016). Benzer şekilde, selenyum, demir, çinko ve gümüş nanaopartiküllerin yemlere ilavesiyle balık büyüme performansının artırıldığı bir çok çiftlik uygulamasında da belirtilmiştir (Can ve ark., 2011; Huang ve ark., 2015). Güçlü ışık emici özelliği ve yüksek sıcaklıkta sinterlemeye sahip seramik malzeme ile taşıyıcı olarak yemlere eklenen Nano-863 Çin'de su ürünleri beslemede kullanılmak üzere üretilmiştir (Huang ve ark., 2015). Balık ve karideslerin enerji ve vücut aktivitesi ile iştahını artırmak amacıyla kullanılmaktadır. Bu ve benzer, nanopartikül ürünler, yemin sindirim hattından geçiş etkinliğini artırarak canlının besin maddeleri sindirimine ve büyüme performansına direk etkisini artırmaktadır (Moges ve ark., 2020). Balık büyüme performansını etkileyen ve yem formulasyonlarında son yıllarda önemle üzerinde durulan selenyumum nanopartikül formu 1 mg/kg kullanımı sonucu sazanlarda büyüme performansını ciddi oranda artırmıştır (Ashouri ve ark., 2015). Benzer şekilde selenyum nanopartikülün Crucian sazanın (*Carassius auratus giberio*) gelişimine direk etki gösterirken, indirek olarak balığın stres toleransını artırıcı etkisinin de olduğu kaydedilmiştir (Nastova ve ark., 2014; Zhou ve ark., (2009)

Yukarıdaki bölümde de belirtildiği gibi esansiyel olmayan iz metallere gümüş nanopartikülün gelişim performansı (Sarkar ve ark., 2015), antimikrobiyal etkileri (Elechiguerra ve ark., 2005; Shahverdi ve ark., 2007) ile yara ve yanma iyileşmelerine (Samuel ve Guggenbichler, 2004) olan etkileri hayvanlarda ve

insanlarda çalışılmıştır. Kumar ve ark. (2018)'de gümüş nanopartiküllerin octahedral boşluğunda bulunan oksijenin taşıyıcı olduğu ve bu yüzden canlıların oksidatif stresini azaltacağını savunmuşlardır. Özellikle, oksijen seviyesinin düştüğü yüksek sıcaklık veya stok yoğunluğu koşullarında gümüş nanopartiküllerin antioksidan enzimleri, protein ve karbohidrat enzimlerinin artırabileceği ön görülmüştür (Kumar ve ark., 2017). Bu araştırmacılar 0.5 mg/kg düzeyinde diyetel gümüş nanopartikülün Murrel (*Channa striatus*) türünün termal toleransını artırdığını belirlemişlerdir. Ancak, özellikle soğuk balıklarında iz metallerin nanopartikül formlarının termal toleransı artırıcı etkisi halen pek bilinmemektedir.

2.4. İz metaller ve Termal Tolerans

Poikiloterm canlılarda sıcaklık toleransının, küresel ısınmanın olası koşullarında dikkate alındığında, düzenlenmesi canlının yaşamı açısından önemlidir (Ineno ve ark., 2020). Termal tolerans canlının yaşı, büyüklüğü, cinsi, yaşam alanı ve cinsi olgunluk dönemlerine göre farklılık göstermektedir (Kumar ve ark., 2018). Balık büyüme performansı, ontogenisi ve metabolizması yine termal rejime bağlıdır ve ortam sıcaklığındaki değişiklikler canlının metabolizmasında değişimlere neder olur (Goncalvs ve ark., 2010, Deutsch ve ark., 2015; Kumar 2018). Sucul canlıların termal toleransının belirlenmesi, yeni habitatlara uyum sağlama yeteneklerinin sağlıklı bir şekilde gerçekleşmesine olanak sağlar (Yanar ve ark., 2019). Canlıların termal toleransı sadece biyolojik faaliyetlerin sürdürülmesi açısından değil, aynı zamanda yetiştiricilik koşullarında gelişimin optimum düzeyde sürdürülmesinde de önemlidir. Kültür koşulları dikkate alındığında, yetiştiriciliği yapılacak türün termal toleransının bilinmesi ve bu toleransı artırılması canlının gelişimi ve yeni ortam koşullarına adaptasyonu açısından önemlidir.

Subtropik/tropik iklim koşullarında yetiştiriciliği yapılan türler mevsimsel geçişlerde <8-10 °C ile 35 °C arasındaki su sıcaklığı değişimlerine maruz kalmaktadırlar (Yanar ve ark., 2019). Bu sıcaklık seviyeleri canlı için kritik seviyeler

olup, balıkların termal tolerans değerlerinin araştırılmasının değerini ortaya koymaktadır. Yüksek su sıcaklıklarında termodengenin sağlanması özellikle soğuk su balıkları için daha kritik bir süreçtir (Ineno ve ark., 2020). Bu, özellikle soğuk ortamlardaki euritermal türlerin daha yüksek sıcaklıklara maruz kalmaları durumunda büyüme performansları, çeşitli fizyolojik süreçler, üreme ile yaşama oranlarında değişikliklere yol açar. Salmonidlerin yüksek, sub-ölümcül sıcaklıklarda (22°C ve 25°C) yaşayabildiği ancak ısı şoku protein (HSP70) seviyesinin 27°C arttığı Lund ve ark. (2002) tarafından bildirilirken, bu sıcaklıkların gökkuşuğu alabalıklarının çiftlik koşullarında ciddi problemler yaratabilirler (Sadoul ve ark., 2019). Yüksek- ve düşük-sıcaklık toleranslı ırkların hibridizasyonu ile termal toleransı yüksek gökkuşuğu alabalık ırkları üretilmiştir (Jackson ve ark., 1998). Bu ırklar kendi optimum su sıcaklığı olan sıcaklıkların üzerindeki yüksek su sıcaklıklarda (20-27 °C) seyreden yaz koşullarında yetiştirilebilmektedirler (Ineno ve ark., 2005). Ancak, son yıllarda yem formülasyonlarındaki yüksek oranda bitkisel protein kullanımı iz metallerin yem içerisindeki miktarında düşmesine neden olmuştur (Antony Jesu Prabhu, 2015; Domínguez ve ark., 2020). Bu sebeple, soğuk iklim balıkları için kullanılan yüksek protein içerikli yemlerde iz metallerin eklenmesi balık sağlığı ve gelişimi açısından büyük önem arz etmektedir. Diğer taraftan, yemlere eklenecek bu tür iz elementlerin (Fe gibi) balığın oksijen tutma kapasitesini artıracığı ve sonuç olarak yüksek sıcaklıklara toleransı artıracığı düşünülebilir. Bu ön görünümün aksine Brijs ve ark. (2015)'de Avrupa tatlı su levreği (*Perca fluviatilis*) ile yaptıkları çalışmada kandaki oksijen tutma kapasitesi ile CT_{Max} arasında bir ilişkinin olmadığını bulmuşlardır. Kumar ve ark. (2018) ise gümüş nanopartikül içeren (0.5 mg/kg) yemlerle beslenen *Channa striatus* türünün termal stresi azaltığı ve CT_{Max} 'ın ise arttığını bildirmişlerdir.

Tüm bu veriler ışığında, bu çalışmada farklı dozlarda (0, 0.2 ve 2 mg/kg) gümüş nanopartikül içeren yemlerle beslenen gökkuşuğu alabalığının (40 gr) büyüme

performansı, besin madde bileşenleri ve termal tolerans değerleri araştırılmaya çalışılmıştır.





3. MATERYAL VE METOD

3.1. Deneme Materyali ve Dizaynı

Denemede kullanılan alabalıklar Kahramanmaraş'ın Fırınz mevkiindeki Aras Alabalık tesisinden 0.75 m³'lük taşıma tankı ile Su Ürünleri Fakültesi Yetiştiricilik Ünitesine getirilmiştir. Stok balıkları karantina tanklarında 1 hafta boyunca gözetim altında tutulmuştur. Balıkların olası hastalıklardan arındırılıklarından emin olunduktan sonra, denemenin kurulacağı sisteme bağlı bulunan 1 m³'lük stok tanklarına alınmıştır. Balıklar bu tanklarda deneme koşullarına 2 hafta süresince alıştırmaya çalışılmış ve günde 2 kez, doyana kadar yemlenerek ~40 gr ağırlığa ulaştırılmaya çalışılmıştır.

3.2. Deneme Dizaynı ve Deneme Yemleri

Deneme, Çukurova Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi binasında bulunan Yetiştiricilik Ünitesindeki kapalı devre sistemde yürütülmüştür. Bu sisteme bağlı deneme tanklarının su sıcaklığı ısıtma-soğutma cihazı ile kontrol altında tutulmuştur. Balıkların aklimasyon döneminden başlayarak fotoperiyot otomatik zaman rölesi 06:30-18:30 saatleri (12A:12K) arasında ayarlanmıştır sistem aydınlatması tankların 150 cm yukarısında asılı bulunan flüoresan lambalarla yapılmıştır. Gün ışığını engellemek amacıyla seranın üstü ve yanları kapatılmıştır. Her tanka ayrı ayrı ve sürekli tatlı su girdisi verilmesi sağlanmıştır.

Deneme tanklarındaki su debisi 1-1,5 litre/dakika olarak ayarlanmış ve tank girişlerindeki su debileri günlük olarak kontrol edilmiştir. Deneme tanklarının havalandırılması bir hava motoru aracılığıyla sağlanmış ve içerisindeki havalandırma hava taşlarıyla sürekli yapılmıştır. Deneme tanklarındaki su sıcaklığı günlük olarak ölçülmüş ve kapalı devre sistemdeki su sıcaklığı soğutma sistemi ile otomatik olarak kontrol edilmiştir. Tanklara giren suyun oksijen seviyesi her gün 3 farklı tank olmak üzere düzenli olarak oksijenmetre (YSI 550A) ile ölçülerek balıklar

için en uygun ortam koşulları sağlanmaya çalışılmıştır. Deneme süresince, günlük rutin işlemlerde; tankların günlük sifonlanması, kum filtresi geri yıkama işlemi ve düzenli olarak subtankın sifonlanması ve temizliği yapılmıştır.

Denemede 3 farklı dozda (0, 0.2 ve 2 mg/kg) Nano-Ag olacak şekilde deneme yemleri hazırlanmıştır. Stok tankında bulunan balıklardan her bir tanka 30 adet balık gelecek şekilde stoklama yapılmıştır. Tüm deneme grupları 3 tekerrürlü olacak şekilde tesadüf parsellerine göre deneme ünitesindeki tanklara stoklanmıştır.

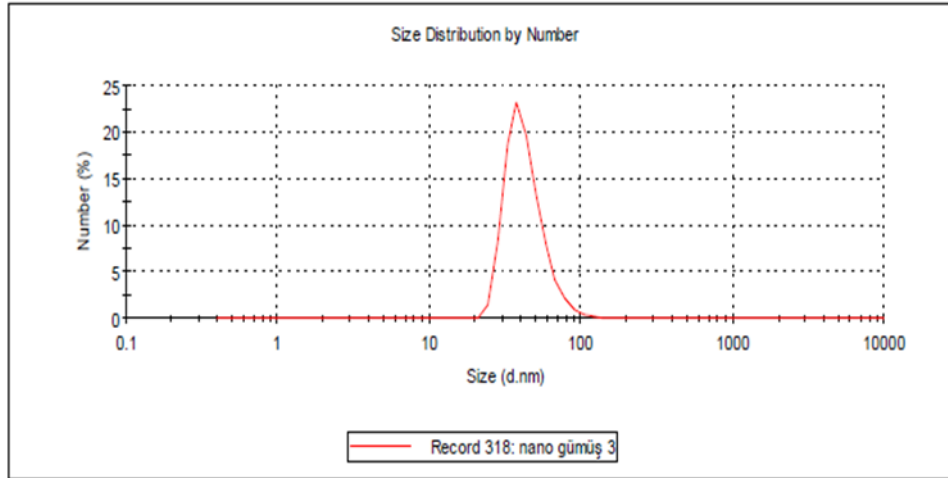
Denemede balık büyüklüklerine göre 2-3 mm'lik alabalık yemleri (Gümüşdoğa Yem A.Ş., Muğla) kullanılmıştır. Gümüş nanopartikül (Nano-Ag) NANOEN (Antalya, Türkiye) firması tarafından sağlanmıştır. Nano-Ag deiyonize su ile bir sprey yardımıyla, yemlerin üzerine püskürtülmüştür. Nano-Ag'nin yemlere homojen karışımın sağlanması amacıyla püskürtme işlemi dikkatli bir şekilde yapılmıştır. Kontrol grubu yemi ise sadece deiyonize su ile muamele edilmiştir. Tüm yemler 50 °C'de bir gece kurutulmuş, ardından 3'er kg'lık olacak şekilde parti parti hazırlanmıştır. Denemenin ilk aşamasında 2 mm daha sonra ise 3 mm'lik alabalık yemleri kullanılmıştır. Bu yemler Gümüşdoğa Yem (Muğla) firmasından tedarik edilmiştir.

Balıkların beslenmesi deneme boyunca günde iki kez saat 09:30 ve 16:30'da yapılmıştır. Denemenin ilk sekiz gününde tanklardaki toplam balık ağırlığının %2.5 oranında yemleme yapılmıştır. Denemenin daha sonraki aşamalarında ise balıklar doyana kadar beslenmişlerdir. Sabah ve akşam yemlemelerinden bir saat sonra tüketilmeyen yemler sifonlanmıştır. Deneme süresince balıklar test yemlerini iştahlı bir şekilde tüketmişler, herhangi bir iştahsızlık görülmemiştir. Deneme boyunca balıkların yem alımları görsel olarak kontrol edilmiş, her tank için verilmesi gereken yem miktarları bir gün önceden tartılarak plastik yem kaplarında karanlıkta saklanmıştır. Deneme 60 gün sürmüş, bu süre sonunda balıkların ağırlıklarının 3-4 katına ulaştırılması hedeflenmiştir. Deneme sonunda balıkların bireysel ağırlıkları alınmıştır. Tartım işlemlerinde balıkların strese girmelerini engellemek amacıyla 0.3

ml/litre 2-phenoxyethanole (Sigma, St. Loise, MO, USA) kullanılmıştır. Tüm ölçümler sabah sata 10:00'da başlatılmıştır.

3.3. Gümüş Nanopartikülün Sentezlenmesi ve Karakterizasyonu

Denemede kullanılan gümüş nanopartikül NANOEN (Antalya, Türkiye) firması tarafından ücretsiz şekilde Temin edilmiştir. Firma spesifikasyonlarına göre, Nano-Ag, gümüş nanopartikülleri içeren, yüksek oranda anti-mikrobiyal etki gösteren bir çözelti olup, zararlı olarak kabul edilen hiçbir uçucu organik bileşik, peroksit ve sağlığa zararlı herhangi bir bileşik içermez, su bazlı olup, ayrıca çeşitli antibiyotik türevleri, triklosan, paraben, benzalkanyum klorür gibi kimyasallar da içermemektedir. Firma tarafından sağlanan Nano-Ag çözeltisine ait partikül dağılım grafiği Şekil 3.1'de verilmiştir. Şekilden görüldüğü üzere homojen dağılıma sahip Nano-Ag partiküllerinin ortalama boyutu 36 nm'dir.



Şekil 3.1. Denemede kullanılan Nano-Ag'nin partikül büyüklüğü.

3.4. CTMax Çalışması

60 günlük deneme ve örneklemelerin ardından, balıklar ait oldukları tanklara tekrar yerleştirilmiştir. Balıklar test yemleri ile 1 hafta daha beslenmeye devam edilmiştir. Bu sürenin ardından CTMax ölçümleri için balıklar bir gün aç bırakıldıktan sonra her tanktan rastgele 3 adet olmak üzere (N=9) anestezi uygulaması yapılmadan, üç yüzeyi siyah film ile kaplı bir akvaryuma (20 x 30 x 40 cm) koyulmuştur. Akvaryum deneme tanklarından alınan 15 °C'de tatlı su ile doldurulmuştur. Akvaryum üç hava taşı yardımı ile sürekli havalandırılmış ve ölçümler esnasında oksijen seviyesi ve su sıcaklığı sürekli olarak kontrol edilmiştir. Kısa bir süre balıkların sakinleşmesi beklendikten sonra, sürekli havalandırmalı akvaryumun üzerine Beitinger ve ark. (2000)'nın belirttiği gibi su sıcaklık artışı 0.3°C / dakika olacak şekilde, sıcak su eklenerek su sıcaklığı arttırılmıştır. Her sıcaklık artırılma aşamasında (başlangıçta) kronometre ile süre takibi başlatılmış ve sıcak su akvaryuma homojen şekilde bir piset yardımıyla dağıtılmıştır. Tüm bu işlemlerde daha önceden tecrübeli 3 kişilik bir ekip çalışmıştır. Eşik su sıcaklığı değerine yaklaşırken gözlem ekibi balıkların sıcaklık artışına karşı verdikleri ilk tepkileri ortak bir kararla teyit ettikten sonra kayıt altına almışlardır. Yukarıda belirtildiği gibi termal tolerans, lokomotor hareketlerde düzensizlik ve balıkların dengelerini kaybederek hafif yana yatma hareketleri gözlemlendiği andaki sıcaklık ve dakika not alınarak belirlenmiştir (Dülger ve ark., 2009; Yanar ve ark., 2019). Her bir balığın termal kritik noktasının aritmetik ortalaması alınarak grubun CT_{Max} değeri hesaplanmıştır. Denge kaybı görülen balıklar hemen akvaryumdan çıkarılarak ağırlığı ölçülmüştür. Teste tabi tutulan balıklar daha sonra CT_{Max} sıcaklığından daha düşük sıcaklıktaki iyileştirme kovalarına alınmış ve lokomotif aktivitelerinin normale döndüğü gözlemlendiğinde deneme tanklarına tekrar bırakılmışlardır.

3.5. Örneklemeler

Deneme başlangıcında ve deneme sonunda tanklardaki bütün balıkların bireysel ağırlıkları büyüme performanslarının belirlenmesi için ölçülmüştür. Deneme başlangıcında 10 adet balık ana stok balıklarından olmak üzere örneklenirken deneme sonuna her tanktan 3 adet balık toplamda her bir deneme grubu için 9 balık örneklenmiştir. Örnekleme öncesinde balıklar 24 saat süreyle aç bırakılmıştır. Ölçümler esnasında, balıkların stresini azaltmak amacıyla 100-150 ppm dozunda Phenoxyethanol (Sigma-Aldrich, ABD) anestezi uygulaması yapılmıştır. Deneme sonunda örneklenen balıklar tank numaraları ve deneme gruplarına göre kilitli plastik saklama poşetlerine her bir tekerrür ayrı ayrı olacak şekilde -20°C'de saklanmıştır.

3.6. Analizler

3.6.1. Kuru Madde ve Ham Kül Analizi

Kuru madde analizi, etüvde kurutularak desikatörde oda sıcaklığında soğutulmuş ve hassas terazide darası alınarak porselen kaplara her kapta yaklaşık 1 g örnek olacak şekilde tartılmıştır. Alınan örnekler etüvde 105°C'de yaklaşık 5 saat süreyle (sabit ağırlığa kadar) kurutulmuş ve daha sonra desikatörde bekletilerek oda sıcaklığına geldikten sonra yeniden hassas terazide tartılarak ağırlıkları not edilmiştir. Ham kül analizi için aynı örnekler yakma fırınında 550°C'de 7 saat süreyle yakılmış ve daha sonra desikatörde oda sıcaklığına gelene kadar bekletilmiş ve ardından tartılmıştır. Her iki analiz sonucunda örneklere ait kuru madde (KM) (%) ve ham kül (%) oranları AOAC (1990)'nin aşağıda verilen referans formülasyonu ile hesaplanmıştır.

$$\text{KM veya HK (\%)} = 100 \times [\text{Dara} + \text{KM (g) veya HK(g)}] - \text{Dara} / \text{Örnek miktarı (g)}$$

3.6.2. Protein Analizi

Protein analizi AOAC (1990) göre yapılmıştır. Bu analiz için her bir deneme tankından 1'er grup başına 3 örnek alınmıştır. Alınan örneklerden 0.5 g'lık miktar hassas terazide tartularak Kjeldahl tüplerine yerleştirilmiş ve 2 adet tüp kör olarak hazırlanmıştır. Tüplerin içerisine 1'er adet katalizör tablet (1.5 g K₂SO₄+7,5 mg/s selenyum karışımı) ve 6 ml sülfürik asit (H₂SO₄) ve 1 ml hidrojen peroksit (H₂O₂) eklenerek çeker ocak içerisindeki yakma ünitesinde (Tecator TM Digester, Höganäs, İsveç) 420°C'de 2 saat süreyle, tüpler içindeki örnekler yeşil-sarı bir renk alıncaya kadar yakılmıştır. Yakma ünitesinden çıkartılan örnekler daha sonra oda sıcaklığına gelene kadar yine çeker ocak altında soğutulmuştur. Destilasyon işlemi için, bir gün önceden hazırlanmış, %40'luk NaOH ve %4'lük borik asit kullanılmıştır. Örnekler destilasyon cihazında (FOSS, KjeltectTM 2200 Auto Distillation Unit, Höganäs, İsveç) alkali NaOH ve borik asit solüsyonlarıyla destile edilmiştir. Destilat yakalama kısmına ise 3-4 damla indikatör (metil kırmızısı, Sigma) bulunan 250 ml'lik erlen yerleştirilmiştir. Destilasyon sırasında cam erlenlerde yaklaşık 150 ml sıvı birikinceye kadar işleme devam edilmiştir. Örnekler daha sonra 0.1 N HCl ile titre edilerek protein oranı aşağıdaki formülle yüzde olarak hesaplanmıştır. Protein (%) = (Örnek için harcanan 0.1 N HCl) – (Kör için harcanan HCl) / örnek miktarı (g) x 6.25 x 0.1 x 14 x 100

Üstteki formülde 0.1= 0.1 N HCl'yi, 14= nitrojen atomunun ağırlığını, 6.25 ise protein için kullanılan katsayıyı belirtmektedir.

3.6.3. Yağ Analizi

Yağ analizinde Bligh ve Dyer (1959)'ın metoduna göre gerçekleştirilmiştir. Bu analiz için homojenize edilmiş tüm vücut dokularından 3 gr örnek alınmıştır. Cam tüpler içerisine alınan örneklerin üzerine 1:2 oranlarında 100 ml metanol (CHCl₃)+kloroform (CH₃OH) karışımı eklendikten sonra cam tüpler buz üzerinde tutulacak şekilde örnek ve karışım homojenize (IKA, T18 Basic ULTRA-TURRAX,

Almanya) edilmiştir. 2-3 dakika homojenize edilen örneklerin üzerlerine 20 ml %0.4'lük CaCl₂ eklenmiş ve ardından karışım sıvı filtre kağıdından geçilerek önceden 105°C'de 2 saat kurutma dolabında bekletilip darası alınmış balon jodelere süzdürülmüştür. Süzdürme işlemi tamamlandıktan sonra örnekler bir gece karanlıkta bekletilmiştir. Bu sürenin ardından örnekler armudi ayırma tüplerine boşaltılmış ve net faz ayrımı oluşana kadar beklenmiştir. Alt faz olan kloroform+yağ fazı (üstte bulunan metanol+su fazı alınmadan) dikkatli bir şekilde 250 ml'lik balon jodelere alınmıştır. Bu alt faz 60°C'de su banyosu yardımıyla bir rotasyon evaporatör (Rotavapor R-210, BUCHI, Flawil, İsviçre) kullanılarak kloroformdan ayrışması sağlanmıştır. Ardından balon jodeler etüvde 1 saat süreyle 60 °C'de bekletilerek içerisindeki kloroform tamamen uçurularak ve bir desikatör içerisinde oda sıcaklığına kadar soğutulup hassas terazide tartılmıştır. Yağ oranının hesaplanmasında aşağıdaki formül kullanılmıştır;

$$\text{Yağ oranı (\%)} = \frac{[(\text{Balon darası (g)} + \text{yağ (g)}) - \text{Balon darası (g)}]}{\text{Örnek miktarı (g)}} \times 100$$

3.7. Hesaplamalar

Deneme başlangıcı ve sonunda tüm balıkların verileri bireysel olarak alınmıştır. Balıkların büyüme performansı, yem alımları ve vücut indekleri ile ilgili verilere aşağıdaki formülasyonlar ile hesaplanmıştır.

$$\text{Specifik Büyüme Oranı Rate (SBO, \% gün}^{-1}\text{)} = 100 \times (\ln \text{ ağırlık}_t - \ln \text{ ağırlık}_0) / \text{zaman};$$

$$\text{Ağırlık Kazancı (\%)} = 100 \times (\text{ağırlık}_t - \text{ağırlık}_0) / \text{ağırlık}_0;$$

$$\text{Günlük Ağırlık Kazancı} = (\text{ağırlık}_t - \text{ağırlık}_0) / \text{zaman};$$

$$\text{Yem Çevirim Oranı (FCR)} = (\text{Verilen yem miktarı (g)} / \text{ağırlık kazancı (g)}) \times 100$$

$$\text{Günlük yem alımı (g/balık)} = \text{tank başına tüketilen yem} / \text{balık sayısı}$$

Formülasyonlardaki kısaltmalar: ağırlık_t ve ağırlık₀'lükler sırasıyla final ve başlangıçtaki balık ağırlıklarını göstermektedir.

3.8. İstatistiki Hesaplamalar

Denemeler sonucunda elde edilen büyüme performans, yem tüketim verileri ile tüm vücut besin madde bileşenleri verileri tek yönlü varyans analizi ANOVA ile analiz edilmiştir. Deneme sonunda yemlere ilave edilen Nano-Ag ve balık ağırlıkları arasındaki iki yönlü ilişkinin kritik termal maksima (CT_{Max}) üzerine olan etkisi general linear model ile iki yönlü varyans analizi ile test edilmiştir. Önemli farkların bulunduğu durumlarda, ortalamalar Duncan (n sayıları eşit olduğu durumlarda) ya da Scheffe's (n sayıları eşit olmadığı durumlarda) çoklu karşılaştırma testleri ile karşılaştırılmıştır. Ortalamalar arasındaki farklılıklar 0,05 önem seviyesinde test edilmiştir. Sonuçlar ortalama \pm standart sapma (ort. \pm S.S.) şeklinde verilmiştir. Araştırma sonucunda elde edilen bütün veriler SPSS 15 (SPSS, Chicago,IL, Amerika) istatistik paket programında analiz edilmiştir.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Çevresel Parametreler

Deneme süresince kapalı devre sistemde oluşturulan su kalite kriterleri gökkuşağı alabalığının optimum büyümesini sağlayacak aralıklarda olmuş; su sıcaklığı, oksijen, amonyak, nitrit ve nitrat seviyelerinde herhangi olumsuz bir değişim gerçekleşmemiştir. Kapalı devre sistemdeki su sıcaklığı en düşük 14.1 °C ile en yüksek 14.5 °C arasında seyretmiş; ortalama 14.2±0.1 °C olarak kaydedilmiştir. Düzenli olarak ölçülen çözünmüş oksijen seviyesi ise deneme süresince ortalama 10.1±0.7 mg/L'dir.

4.2. Büyüme Performansı ve Yem Alımı

Altmış günlük deneme sonunda balıklarda deneme yemlerinden veya sistemden kaynaklı önemli bir ölüm gerçekleşmemiştir (Tablo 4.1.). Gruplar arasındaki yaşama oranı %98.89-100 arasında değişmiştir (P>0.05).

Deneme sonunda başlangıç ortalama ağırlıkları 41 gr olan alabalıkların final ağırlıkları gruplara göre kontrol, 0.2 mg/kg ve 2 mg/kg gruplarında sırasıyla 115.6±2.89, 118.94±5.81 ve 112.96±5.40 olarak kayıt edilmiştir (P>0.05) (Şekil 4.1.). Tek yönlü varyans analizi sonuçlarına göre gruplar arasında istatistiki önemli bir farklılık görülmezken, kontrol ve 0.2 mg/kg grubu bireyleri 2 mg/kg grubu bireylerine göre sırasıyla %2.3 ve %5.98 daha fazla ortalama canlı ağırlık değerlerine ulaşmışlardır. Canlı ağırlık kazancı açısından da deneme sonu ağırlığa benzer şekilde, gruplar arasında istatistiki olarak önemli bir farklılık görülmemiştir (P>0.05). Tablo 4.1'de de görüleceği gibi, balıklar vücut ağırlıklarına göre kontrol, 0.2 mg/kg ve 2 mg/kg gruplarında sırasıyla birey başına 1.23 g/gün, 1.29 g/gün ve 1.19 g/gün ağırlık kazanırken deneme gruplarındaki spesifik büyüme oranı 1.67 - 1.75 %/vücut ağırlığı arasından değişmiştir (P>0.05).

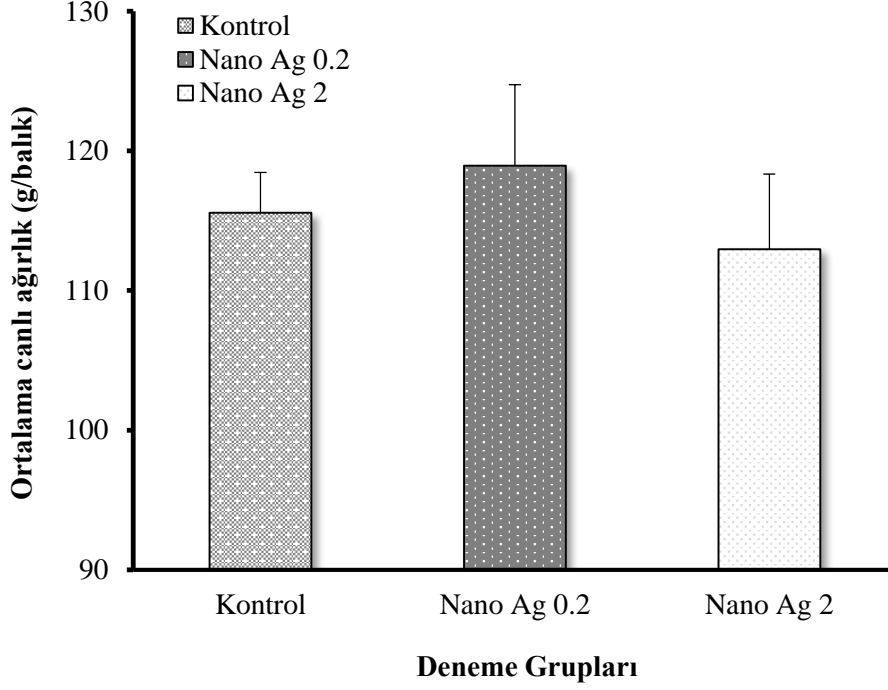
Deneme sonunda hesaplanan FCR ve yem tüketim verileri Tablo 4.1.'de verilmiştir. Deneme yemlerinin balıkların yem tüketimlerine olan etkileri istatistiki olarak önemli düzeyde farklılık göstermemiştir ($P>0.05$). FCR verileri 1.46-1.75 arasında değişim gösterirken, her ne kadar istatistiki olarak bir farklılık görülmemesine karşın, FCR verisi açısından en yüksek değer 2 mg/kg grubunda hesaplanmıştır. Büyüme verileri de dikkate alındığında, bu yem içerisindeki en yüksek gümüş nanopartikül konsantrasyonlarının balığın gelişimine olumlu etki yaratmadığı gözlenmiştir.

Balıklarda hesaplanan visero somatic indeks (VSI) verileri 10.13-10.58 (%) arasında değişim göstermiştir. Hepato somatic indeks verilerinde de benzer şekilde gruplar arasında önemli bir farklılık bulunmamıştır ($P>0.05$). Benzer şekilde visceral yağ indeksi de gruplar arasında birbirlerine yakın bir oranda seyretmiş ve kontrol, 0.2 mg/kg ve 2 mg/kg gruplarında sırasıyla %2.39, %2.54 ve %2.84 düzeylerinde gerçekleşmiş, rakamsal tek yönlü varyans analizi sonucunda önemli olmadığı gözlenmiştir ($P>0.05$) (Tablo 4.1.).

Tablo 4.1 .Altmış gün süresince deneme yemleri ile beslenen alabalıkların büyüme performans verileri ile yem alımı ve vücut indeks verileri

	Deneme Grupları		
	Kontrol (0 mg/kg)	0.2 mg/kg	2 mg/kg
Başlangıç ağırlığı (g)	41.7 ±0.43	41.4 ±0.27	41.5 ±0.24
Final ağırlık (g)	115.6 ±2.89	118.9 ±5.81	113.0 ±5.40
Ağırlık kazancı	177.2 ±5.00	186.8 ±12.15	172.2 ±14.53
Günlük ağırlık kazancı (g)	1.2 ±0.04	1.3 ±0.09	1.2 ±0.09
SBO	1.7 ±0.03	1.8 ±0.07	1.7±0.09
FCR	1.5±0.07	1.5 ±0.06	1.8 ±0.15
Yem tüketimi (g/balık)	76.2 ±1.25	76.3 ±2.22	74.7 ±2.32
VSI (%)	10.6±0.65	10.6 ±0.50	10.1 ±0.87
HSI (%)	1.00±0.13	0.96±0.08	1.00±0.03
VFI (%)	2.39±0.50	2.54±0.33	2.84±0.60

Tek yönlü varyans analizine göre gruplar arasında fark görülmemiştir ($p>0.05$).



Şekil 4.1. Farklı dozlarda Nano-Ag ilave edilmiş yemlerle beslenen alabalıkların final canlı ağırlık ortalamaları

4.3. Tüm Vücut Besin Madde Bileşenleri

Farklı dozlarda Nano-Ag ilaveli yemler ile beslenen alabalık bireylerinde deneme sonunda elde edilen besinsel kompozisyon verileri Tablo 4.2.'de verilmiştir. 0, 0.2 ve 2 mg/kg gruplarında analiz edilen ham protein verileri sırasıyla %16.3, 16.1 ve 16.2 arasında değişmiş ve görüldüğü üzere istatistiki önemli bir farklılık gözlenmemiştir ($P>0.05$). Tüm vücut lipit değerleri %11.4-12.2 arasında değişim göstermiştir. Yine aynı şekilde yemlere farklı düzeylerde ilave edilen Nano-Ag'nin balım tüm vücut lipit oranına önemli bir etkisinin olmadığı görülmüştür. Tüm vücut kuru madde ve ham kül değerleride, protein ve lipit verilerinde olduğu gruplar arasında benzerlik söz konusu olmuştur. (Tablo 4.2).

Tablo 4.2. Farklı dozlarda NanoAg ilave edilmiş yemlerle beslenen alabalıkların tüm vücut yüzdesel besinsel kompozisyon seviyeleri

	Nano-Ag seviyeleri		
	Kontrol	0.2 mg/kg	2 mg/kg
Ham protein	16.3±0.29	16.1±0.42	16.2±0.81
Lipid	12.2±1.09	11.4±1.25	12.0±0.26
Kuru Madde	28.2±4.15	28.0±4.24	28.3±3.43
Kül	2.6±0.50	2.8±0.70	3.5±0.56

Tek yönlü varyans analizine göre gruplar arasında fark görülmemiştir ($P>0.05$).

4.4. Kritik Termal Maksima (CT_{max})

Deneme sonunda gerçekleştirilen kritik termal maksima (CT_{Max}) denemesinde yemlere ilave edilen Nano-Ag'nin önemli düzeyde istatistiki bir etkisinin olmadığı gözlenmesine karşın, yüksek Nano-Ag'nin termal toleransı kısmende olsa rakamsal olarak arttırdığı gözlenmiştir. Tablo 4.3'de görüleceği gibi kontrol, 0.2 mg/kg ve 2 mg/kg grubu bireylerinin ortalama CT_{Max} değerleri $27.0^{\circ}C$, $27.2^{\circ}C$ ve $27.8^{\circ}C$. Tek yönlü varyans analizine göre gruplar arasında bir farklılık bulunamamıştır ($P>0.05$).

Tablo 4.3. Deneme sonunda ölçülen Kritik termal maksima (CT_{Max} , $^{\circ}C$) değerleri

	Nano-Ag seviyeleri		
	Kontrol	0.2 mg/kg	2 mg/kg
CT_{Max} ($^{\circ}C$)	27.0±0.85	27.2 ±0.70	27.8 ±0.25

Tek yönlü varyans analizine göre gruplar arasında fark görülmemiştir ($P>0.05$).

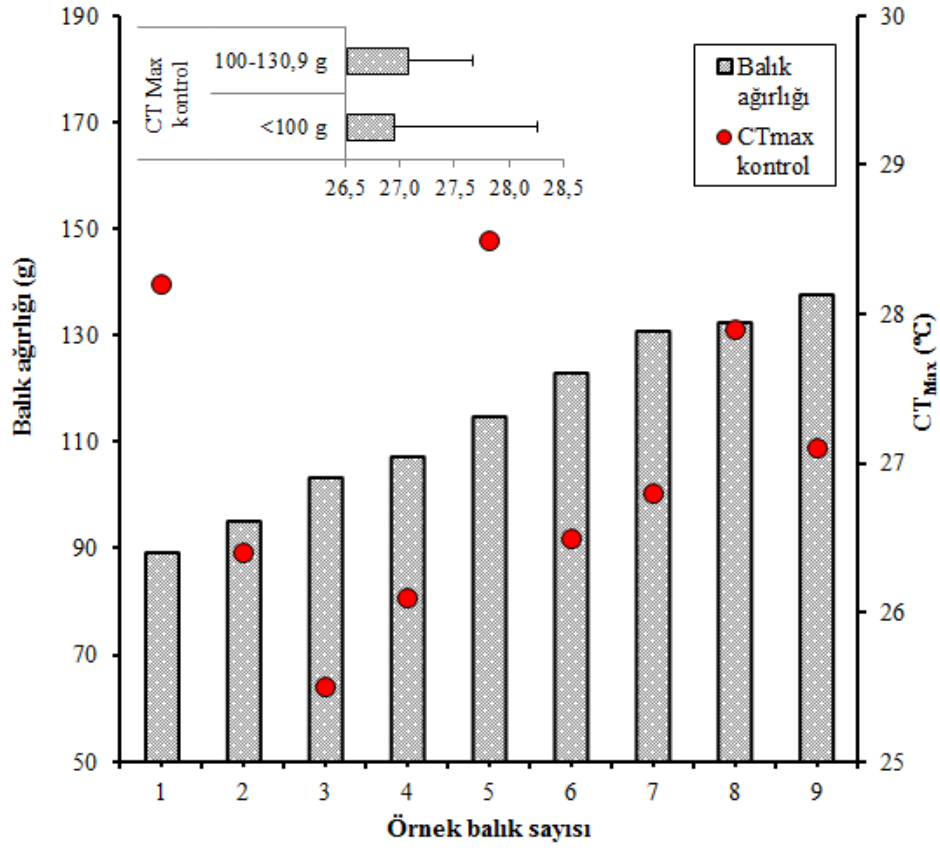
Ancak, deneme sonunda CT_{Max} ölçümleri için her deneme tankından tesadüfi olarak örneklenen 3 adet grup başına toplamda 9 adet balığın ağırlıkları ve bireysel CT_{Max} değerleri üzerine Nano-Ag ve balık büyüklüğünün bir etkisinin olup olmadığı iki yönlü varyans analizi ile analiz edilmiştir.

Buna göre, balık ağırlığı ve Nano-Ag'nin CT_{Max} üzerine bir etkisi bulunmamıştır ($P>0.05$). Ancak, veriler detaylı şekilde incelendiğinde Nano-Ag'nin termal tolerans üzerine bir etkisinin olabileceği öngörüsü oluşmuştur. Şöyle ki, tüm grupların ortalama CT_{Max} değeri $27.3^{\circ}C$ 'dir. İlginç şekilde kontrol grubu ve 0.2

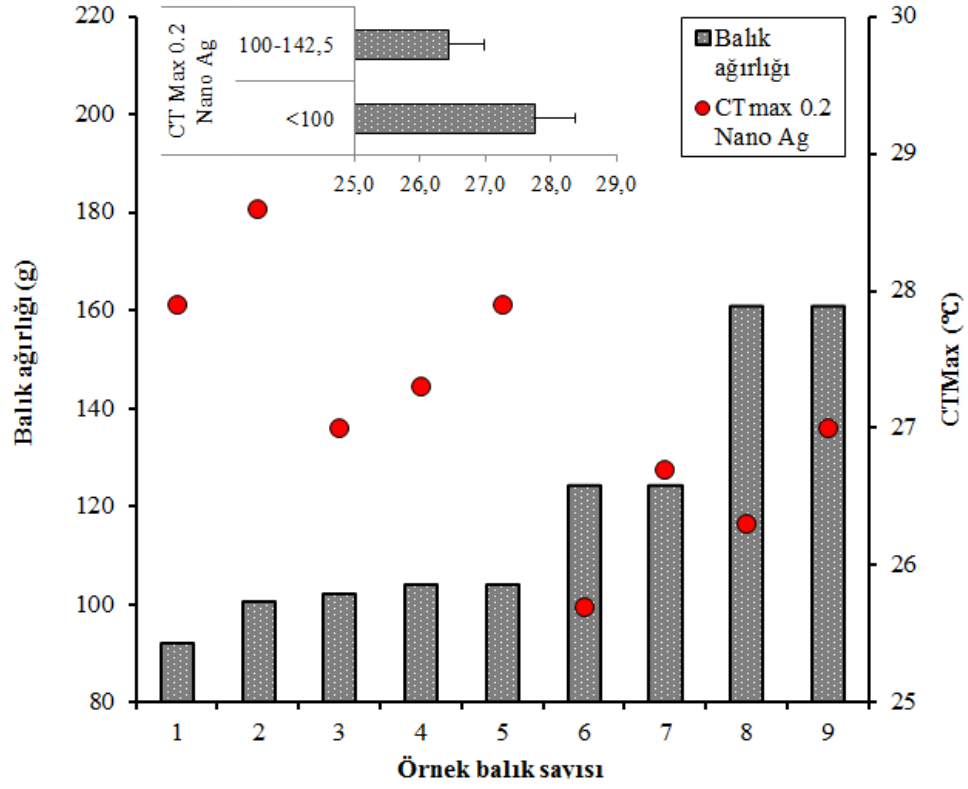
mg/kg gruplarında örneklene sadece 4 balık bu ortalamanın üzerinde bir CT_{Max} değeri gösterirken, 2 mg/kg grubunda 6 balık ortalama CT_{Max} değeri 27.3 °C'nin üzerinde bir değer göstermiştir. Bunun üzerine, her bir gruptan örneklene toplam 9 balığın ortalama ağırlıkları <100 g altı ve 100> şeklinde gruplandırıldığında, balıkların CT_{Max} değeri yatay bir bar grafik üzerinde pilotlanmıştır. Şekil 4.2. içerisinde verilen yatay bar grafikte görüleceği gibi kontrol grubundan örneklene ve ortalama ağırlıkları <100 g altı balıkların CT_{Max} değerinin yüksek olduğu gözlenmiştir. Kontrol grubunda örneklene bu küçük balıkların (<100 g) sıcaklık toleransının 100-142.5 g'lık balıklara göre daha düşük olduğu belirlenmiştir.

Şekil 4.3. grafik içerisinde yerleştirilen küçük grafikte yine görüleceği üzere küçük balıkların (<100 g) ortalama CT_{Max} değeri (27.7 °C) 100-142.5 g ağırlık aralığındaki bireylerin CT_{Max} değerine (26.4 °C) göre yüksek bulunmuştur. Bu veri 0.2 mg/kg Nano-Ag'nin küçük bireylerin sıcaklık toleransını arttırdığını göstermektedir. Diğer taraftan Nano-Ag'nin 2 mg/kg'a yükseltilmesiyle hem 100 g altındaki bireyler hem de 100-127.7 g aralığındaki bireylerin ortalama CT_{Max} değeri sırasıyla 27.7 °C ve 27.9 °C olduğu Şekil 4.4.'de görülmektedir.

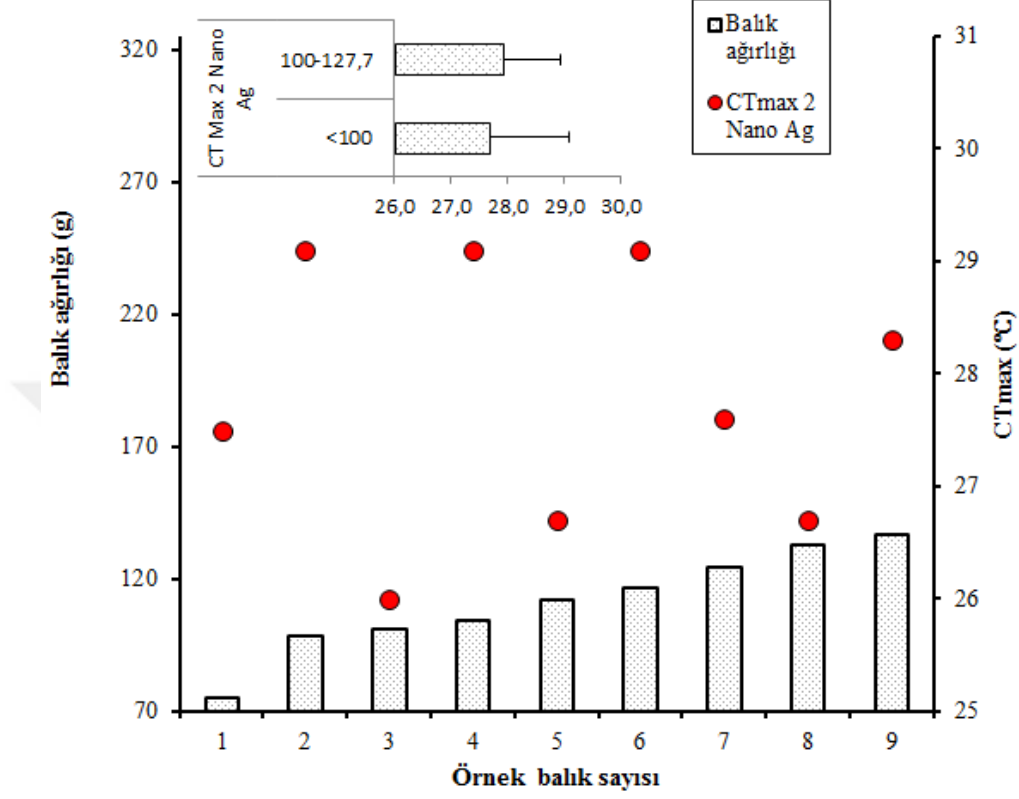
Her ne kadar CT_{Max} verileri Nano-Ag'nin denemede kullanılan gökkuşağı alabalığının sıcaklık toleransına bir etkisi olmadığı gösterse de, CT_{Max} örneklemelelerinde daha fazla balığın kullanılmasıyla önem düzeyi yüksek bir etkinin oluşabileceği söylenebilir. Bulgularımız bu konu üzerinden çalışmanın ilerleyen dönemlerde sucul canlıların CT_{Max} değerleri üzerine önemli katkıları olabileceğinin göstermektedir.



Şekil 4.2. Kontrol grubu bireylerinde örneklenen balıkların ağırlık ve bu balıkların CT_{max} verileri arasındaki ilişki.



Şekil 4.3. 0.2 mg/kg grubu bireylerinde örneklenen balıkların ağırlık ve bu balıkların CT_{Max} verileri arasındaki ilişki.



Şekil 4.4. 2 mg/kg grubu bireylerinde örneklenen balıkların ağırlık ve bu balıkların CT_{Max} verileri arasındaki ilişki.

4.5. Tartışma

Deneme sonunda elde edilen büyüme performans verileri değerlendirildiğinde, yemlere ilave edilen farklı dozlardaki Nano-Ag'nin gökkuşacağı alabalıklarında ağırlık kazancı, spesifik büyüme oranına üzerine bir etkisi bulunmamıştır. Benzer şekilde Galvez ve ark. (2001) 0.05 $\mu\text{g/g}$ (kontrol yemi) ve 3.1 $\mu\text{g/g}$ (deneme yemi) gümüş içeren yemlerle 128 gün beslenen gökkuşacağı alabalıklarında büyüme performansı ve yem alımında belirgin bir etkinin olmadığını bildirmişlerdir. Bizim çalışmamıza paralel olarak, bu denemede de balıklar başlangıç canlı ağırlıklarının 3.5 katı büyüme göstermişlerdir. Denememizde Nano-

Ag ile beslenen bireylerin canlı ağırlıkları başlangıç ile karşılaştırıldığında 2.8 kat gelişim göstermişlerdir. Buda balıkların yemden olumlu şekilde faydalandığını ve denemenin balık refahı açısından herhangi bir sorun olmadığını göstermektedir.

Çalışmamızda deneme süresince akut bir balık ölümü gerçekleşmemiştir. Bu veri bize yemlere ilave edilen Nano-Ag dozlarının toksik bir etki yaratmadığını göstermektedir. Diğer taraftan, zebra balığı ile yapılan çalışmalarda Nano-Ag'nin embriyonik gelişimde toksik etkisinin olduğuna dair bulgular bazı araştırmacılar tarafından belirlenmiştir (Asharani ve ark., 2008). Benzer şekilde, Yeo ve Kang (2008) ise Nano-Ag'ye maruz kalan zebra balıklarında embriyo gelişiminde yaşanan problemlerden dolayı yumurtaların açılma oranının düştüğünü tespit etmişlerdir. Toksikite çalışmalarında kullanılan metal iyonları ve benzeri sentetik (veya organik) partüküllerin doz seviyeleri toksisite etkisini etkilemektedir (Asharani ve ark., 2008). Gümüş nanopartüküllerin embriyo gelişimde özellikle nükleus üzerine tutunduğu ve sucul canlıların direk yaşama oranına etkili olduğu düşünülmektedir (Asharani ve ark., 2008; Yeo ve Kang, 2008; Shaw and Handy, 2011). Bizim çalışmamızda balıkların gelişimleri ve sağlıkları özelinde herhangi bir problem gözlenmemiştir. Deneme sonunda disekte edilen bireylerin iç organ indekleri (HSI, VSI ve iç organ yağ indeksi verileri) diğer birçok çalışmadakilere benzer oranlarda bulunmuştur. Bu gözlemimiz, yemlere ilave edilen Nano-Ag'nin gökkuşağı alabalıklarında, en azından test ettiğimiz dozlar düzeyinde, herhangi bir sorun yaratmadığını göstermektedir. Su içerisinde toksisiteye yol açan yüksek konsantrasyonda ki gümüşün balıklarda solungaçlarda tutunarak solunum problemi yarattığı bildirilmiştir (Shaw ve Hardy, 2011). Örneğin Griffitt ve ark. (2009) Nano-Ag'ın zebra balıklarının solungaçlarında gümüşün tutunumu artırdığını belirlemişlerdir. Bu araştırmacılar gümüş tutunumunun solungaçlar ile direk bağlantılı olduğunu gösterirken bu bulguyu Shaw ve Hardy (2011) de desteklemişlerdir. Çalışmamızda, balıkların solunum sorunu yaşadığına dair herhangi bir belirtiye rastlanmamıştır. Aksine, Nano-Ag ile beslenen bireylerin sıcaklık toleransının, kısmen de olsa arttığı

CT_{Max} denemesinde de görülmüştür. Bu veride bize Nano-Ag'li yemlerle beslenen gökkuşağı alabalıklarında solungaçlarda herhangi bir problem olmadığına dair iddiamızı güçlendirmektedir.

Büyüme verilerinin yanı sıra, yem alım verileri de değerlendirildiğinde, çalışmamızda deneme grupları arasında istatistiki bir farklılık bulunmamıştır. Yem değişim oranı 1.46 ile 1.75 arasında değişirken, balık başına düşen yem tüketimi deneme süresince ortalama 74-76 gr/balık olacak şekilde değişim göstermiştir. Galvez ve ark. (2001) gökkuşağı alabalıklarının yemlerine ilave edilen gümüşün yem çevirim etkinliğini istatistiki olarak etkilemediğini ve balıkların iştahının yemlerden kaynaklı bir olumsuzluğa neden olmadığını vurgulamışlardır. Bizim çalışmamızda da balıkların iştahı deneme süresince yüksek olduğu görülmüştür. Günlük alınan gözlem kayıtlarında özellikle 0.2 mg/kg Nano-Ag içeren yemlerle beslenen balıkların daha iştahlı olduğu gözlenmiştir. Ancak bu gözlemler, yem tüketim verilerine yansımamıştır.

Deneme sonunda alınan karaciğer ve içorgan indeks verileri incelendiğinde, Nano-Ag'nin bu veriler üzerine bir etkisi olmadığı bulunmuştur. Ancak, yemde artan Nano-Ag ile iç organlarda yağlanmanın kısmende olsa arttığı (%2.5) gözlenmiştir. He ve ark. (2017) bir mikroalg türü olan *Scenedesmus obliquus*'un gelişimi ve lipit depolamasına yönelik yaptıkları çalışmada demir oksit (Fe₂O₃) ve magnezyum oksit (MgO) nanopartiküllerin etkin bir şekilde lipit üretimini artırdığını bulmuşlardır. Laboratuvar farelerinde yaptıkları çalışmada, Yue ve ark. (2019) Nano-Ag'nin obeziteyi artırdığını ve 2 mg/kg Nano-Ag'nin intraperitoneal kasa enjeksiyonu sonucunda lipit birikiminin önemli düzeyde arttığını bulmuşlardır. Aynı araştırmacılar, bunun sebebinin Nano-Ag'nin reaktif oksijen türü (ROS) seviyelerini artırarak mitokondriyal işlevleri bozduğunu, böylece adipöz doku oluşumunda ve tüm vücut enerji dengesini etkilediğini ileri sürmüşlerdir. Bu tez çalışmasında antioksidan enzim aktivitelerine bakılamamıştır. Ancak, elde edilen lipit birikimi verileri dikkate alındığından visceral (iç organ) bölgesindeki yağlanmanın yukarıda belirtilen

çalışmalarda olduğu gibi yem içerisinde artan Nano-Ag'den kaynaklandığı speküle edilebilir. Ancak, bunun için daha detaylı çalışmalar ihtiyaç olduğu görülmektedir. Tüm vücut lipit verileri incelendiğinde gruplar arasında istatistiki öneme sahip bir değişim gözlenmemiştir. Deneme gruplarında analiz edilen tüm vücut değerleri %11.4-%12.2 arasında değişim göstermiştir. Bu bulgu Nano-Ag'nin adipöz kas dokularında iç organlarda yağlanmayı artırdığını ancak iç organ dışındaki bölgeler de aynı şekilde lipit akümülyasyona neden olmadığı düşüncesini doğurmuştur. Bu görüşümüzü destekler nitelikte Yue ve ark. (2019) Nano-Ag'nin partikül büyüklüğünden bağımsız olarak adipogenik, mitokondrial ve termal genlerin kodlanması ile adipöz doku oluşmasına yol açtığını bulmuşlardır.

Nano-Ag'nin tüm vücut protein ve lipit içeriklerine istatistiki bir etkisinin olmadığı gözlenmiştir. Balıklarda tüm vücut yapısının önemli bileşenleri olan protein ve lipit içerikleri sırasıyla %16.1-%16.3 ve %11.4-%12.2'dir. Yukarıdaki bölümlerde de ele alındığı gibi yemlere ilave edilen Nano-Ag'nin tüm vücut protein miktarına bir etkisinin olmadığı söylenebilir. Ancak, Nano-Ag özellikle bakterilerin protein hücre membranlarına Ag⁺ formunda tutunduğu ve bakterinin hücre yapısının bozulmasına ve sonuçta ölümüne yol açtığı bildirilmiştir (Lara ve ark., 2010; Huang ve ark., 2011). Ancak, bu konularda denememizde kullanılan oranlarda veya daha yüksek oranlarda Nano-Ag kullanımının protein birikimine etkisi üzerine daha fazla çalışmanın yapılması gerektiği görülmektedir.

Bu tez çalışmasının ikinci en önemli amacı Nano-Ag'nin gökkuşağı alabalıklarının kritik termal maksima değerine CT_{Max} olan etkisidir. Her ne kadar tek yönlü varyans analizleri Nano-Ag'nin CT_{Max} üzerine istatistiki bir etkisi görünmese de, artan Nano-Ag'nin CT_{Max} değerlerini kısmen de (%3) olsa artırdığı gözlenmiştir. Özellikle sucul canlıların ölümcül su sıcaklığı koşullarında antioksidan enzimlerin devreye girmesiyle, vücuttaki serbest radikaller ile protein ve karbonhidratları metabolize eden enzimler artar (Kumar ve ark., 2017). Bu durumda canlının oksijen ihtiyacı artacaktır. Nano-Ag canlının vücut içerisindeki mevcut kullanılabilir

oksijeninin taşıyıcısı rolü oynamaktadır (Kumar ve ark., 2018). Su sıcaklığının arttığı sub-optimal koşullarda Nano-Ag'nin bu yeteğini kullanarak serbest oksijeni vücutta ihtiyaç duyulan bölgeye taşınması ve böylece serbest radikallerin seviyesini azaltması beklenebilir.

Bizim çalışmamızda, Nano-Ag 2 mg/kg grubu bireyleri 27.8 °C kadar yükseltile su sıcaklığına kadar dayanabilmişlerdir. Deneme sonunda örneklene balıkların ortalama ağırlıkları aynı olmasına karşın, CT_{Max} çalışmasında örneklene balıkların ağırlıkları ve bu balıkların CT_{Max} verileri bir grafik haline dönüştürüldüğünde (Şekil 4.1., Şekil 4.2. ve Şekil 4.3.'de görüleceği gibi), Nano-Ag 2 mg/kg grubunda örneklene balıkların (N=9) 6 adedinin CT_{Max}'nın 27.6 °C'in üzerinde olduğu görülmüştür. Aynı değerlendirme kontrol grubu bireylerinde yapıldığında sadece 4 balığın 27.0 °C'in üzerinde bir CT_{Max} gösterdiği gözlenmiştir. Ancak, bunun üzerine yapılan iki yönlü varyan analizi ile örneklene balık büyüklüğü ile CT_{Max} bir ilişkisi olmadığı tespit edilmiştir. Bilindiği üzere, balıklarda ısı değişimi vücut boyutu ve ağırlığı ile ilişkilidir (Elliott, 1981). Yani balık büyüklüğü ile CT_{Max} arasındaki ilişki, küçük balıkların balık yüzey alanına oranında büyük balıklara göre daha yüksek olduğu bu yüzden de büyük balıklara göre su sıcaklığından daha fazla etkilendiği bildirilmiştir (Recsetar ve ark., 2012). Benzer bir bulgu Ineno ve ark. (2019) tarafından gökkuşağı alabalığı içinde tespit edilmesine karşın, mavi yüzgeç balığı (*Lepomis macrochirus*) türünde bunun tam tersi ifade edilmiştir (Cox, 1974). Bizim çalışmamızda, kontrol grubu ve Nano-Ag 2 mg/kg grubu bireylerinde 100 g altındaki bireylerde benzer şekilde CT_{Max} değeri daha iri bireylere göre daha düşük çıkarken, Nano-Ag 0.2 mg/kg bireylerinde 100 g altındaki bireylerde bu durum tersine dönmüştür.

Ancak unutulmamalıdır ki, bazı yetiştiricilik bölgelerinde gökkuşağı alabalığı yaz periyodunda geçici sürelerde yüksek (>26-27 °C) su sıcaklıklarına maruz kalabilirken (Ineno ve ark., 2020), bu türün termal toleransının 24 °C olduğu bildirilmiştir (Ineno ve ark., 2005). Yukarıda belirtilen çalışmalardaki CT_{Max} üzerine

alınan farklı sonuçlar denemelerin fotoperiyotları (Elliott, 1981; Healy ve Schulte, 2012; Ineno ve ark., 2020) veya balık büyüklükleri ve türlerine göre değişiklik göstermektedir (Ineno ve ark., 2019; Ineno ve ark., 2020). Diğer taraftan, canlının sıcaklık toleransı yemlere eklenen katkı maddeleriyle de artırılabilir (Tejpal ve ark., 2014; Kumar ve ark., 2014; 2017). Kumar ve ark. (2018) 0.5 mg/kg Nano-Ag'nin tropic bir tür olan *C. Striatus* CT_{Max} toleransını artırdığını gözlemlemiştir. Bu tez çalışmasında Nano-Ag ve CT_{Max} arasındaki ilişkiyi gökkuşacağı alabalıklarında ilk defa ortaya koymuştur. Ancak, ilerleyen dönemlerde özellikle farklı dozlarda Nano-Ag ve farklı boyutlarda gökkuşacağı alabalıklarının CT_{Max} verisi üzerine araştırmaların yapılması gerektiği ortaya çıkmıştır.



5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Bu çalışmada üç farklı dozda (0, 0.2 ve 2 mg/kg) nanopartikül gümüş (Nano-Ag) ile hazırlanmış yemlerle beslenen ortalama 41 gr ağırlıktaki gökkuşacağı alabalıklarının gelişim performansları, yem alımları, tüm vücut besin madde bileşenleri ile bu yemlerin yüksek termal limitine (CT_{Max}) olan etkileri araştırılmıştır.

Deneme sonunda alabalıkların final ağırlıkları, canlı ağırlık kazançları ve spesifik büyüme oranları açısından gruplar arasında istatistiki bir farklılık görülmemiştir. Benzer şekilde balıklar vücut ağırlıklarına göre gruplar arasında bir farklılık bulunmazken, bu değer 1.19 g/gün - 1.29 g/gün arasında değişmiştir.

FCR verileri 1.46-1.75 arasında değişim gösterirken, büyüme verileri de dikkate alındığında yemlere ilave edilen Nano-Ag'nin gökkuşacağı alabalığının gelişimine net bir etki yaratmadığı gözlenmiştir. Balıklarda hesaplanan visero somatik indeks (VSI) ve visceral yağ indeks verileri sırasıyla %10.13-10.58 ve %2.39-2.84 arasında değişim göstermiştir. Gruplar arasında önemli bir farklılık bulunmamıştır.

Yemlere ilave edilen Nano-Ag'nin CT_{Max} üzerine bir etkisi olmamasına karşın, 2 mg/kg Nano-Ag'nin CT_{Max} 'ı %3 artırdığı gözlenmiştir. Ancak, balık büyüklüğünün CT_{Max} ile bir ilişkisi olabileceği yapılan değerlendirmelerde ortaya çıkmıştır. Yemlere ilave edilen Nano-Ag'nin balık büyüklüğü de dikkate alınarak değerlendirilmesinde fayda olacağı düşünülmektedir.

Bu tez çalışmasının sonuçları ışığında, ileriki çalışmalarda aşağıdaki öneriler sunulmuştur:

- Nano-Ag'nin toksik olmayan daha yüksek dozlarında gökkuşacağı alabalık yemlerinde kullanılması ve balıkların gelişim ve lipid akümülyasyonları ile ilgili moleküler düzeyde analizlerin gerçekleştirilmesi Nano-Ag'nin etkisini daha net ortaya çıkartacaktır.

- Daha yüksek oranlarda, toksik olmayan seviyede, Nano-Ag kullanımının protein birikimine etkisi üzerine daha fazla çalışmanın yapılması gerektiği görülmektedir.
- Bu tez çalışmasında Nano-Ag ve CT_{Max} arasındaki ilişkiyi gökkuşağı alabalıklarında ilk defa ortaya koymuştur. Ancak, ilerleyen dönemlerde özellikle farklı dozlarda Nano-Ag ve farklı boyutlarda gökkuşağı alabalıklarının CT_{Max} verisi üzerine araştırmaların yapılması gerektiği ortaya çıkmıştır.
- Sonuç olarak büyüme verileri dikkate alınmadan eğer balıkların sıcaklık toleransını artırılması isteniyorsa, >40 balıklarda özellikle yaz mevsimlerinde, su geçişlerinin olduğu dönemlerde Nano-Ag içeren yemlerin kullanılması önerilebilir. Ancak, yukarıda belirtilen 3 konu başlığında daha detaylı ve örnek sayısının artırıldığı çalışmaların konunun daha iyi anlaşılmasında etkili olacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- Alfthan, G., Eurola, M., Ekholm, P., Venäläinen, E. R., Root, T., Korkalainen, K., & Selenium Working Group. 2015. Effects of nationwide addition of selenium to fertilizers on foods, and animal and human health in Finland: From deficiency to optimal selenium status of the population. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 31:142-147.
- Al-Sagheer, A., Mahmoud, H., Reda, F., Mahgoub, S. and Ayyat, M., 2018. Supplementation of diets for *Oreochromis niloticus* with essential oil extracts from lemongrass (*Cymbopogon citratus*) and geranium (*Pelargonium graveolens*) and effects on growth, intestinal microbiota, antioxidant and immune activities. *Aquacult. Nutr.*, 24:1006–1014.
- AOAC, 1990. Official methods of analysis of the association of official analytical chemistry. (Helrich, K. editor) 15 th Edn. Arlington, VA. USA.
- Asharani, P. V., Wu, Y. L., Gong, Z., & Valiyaveetil, S. 2008. Toxicity of silver nanoparticles in zebrafish models. *Nanotechnology*, 19(25):255102.
- Ashouri, S., Keyvanshokoh, S., Salati, A.P., Johari, S.A., Pasha-Zanoosi, H., 2015. Effects of different levels of dietary selenium nanoparticles on growth performance, muscle composition, blood biochemical profiles and antioxidant status of common carp (*Cyprinus carpio*). *Aquaculture* 446:25–29.
- Axenov-Gribanov D., Bedulina D., Shatilina Z., Jakob L., Vereshchagina K., Lubyaga Y., 2016. Thermal preference ranges correlate with stable signals of Universal Stress Markers in Lake Baikal Endemic and Holarctic Amphipods. *PLoS ONE* 11(10):e0164226.
- Beitinger, T.L., Bennett, W.A., Mccauley, R.W., 2000. Temperature tolerances of North American freshwater fishes exposed to dynamic changes in temperature. *Environ. Biol. Fishes*, 58:237–275.

- Bligh, E.G., Dyer, W.J., 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry. Physiology*, 37:911-917
- Brijs, J., Jutfelt, F., Clark, T. D., Gräns, A., Ekström, A., Sandblom, E. 2015. Experimental manipulations of tissue oxygen supply do not affect warming tolerance of European perch. *Journal of Experimental Biology*, 218(15):2448–2454.
- Can, E., Kızak, V., Kayim, M., Can, S.S., Kutlu, B., Ates, M., Kocabas, M., Demirtaş, N., 2011. Nanotechnological applications in aquaculture-seafood industries and adverse effects of nanoparticles on environment. *J. Mater. Sci. Eng.* 5:605–609.
- Chris, U.O., Singh, N.B., Agarwal, A., 2018. Nanoparticles as feed supplement on growth behaviour of cultured catfish (*Clarias gariepinus*) fingerlings. *Materials Today: Proceedings*. 5:9076–9081.
- Clearwater, S.J., Farag A.M., Meyer J.S., 2002. Bioavailability and toxicity of dietborne copper and zinc to fish. *Comp Biochem Phys C*;132:269–313.
- Cossins, A., Fraser, J., Hughes, M., Gracey, A. 2006. Post-genomic approaches to understanding the mechanisms of environmentally induced phenotypic plasticity. *Journal of Experimental Biology*, 209(12):2328–2336.
- Cottrell, R. S., Blanchard, J. L., Halpern, B. S., Metian, M., Froehlich, H. E. 2020. Global adoption of novel aquaculture feeds could substantially reduce forage fish demand by 2030. *Nature Food*, 1(5):301-308.
- Cox, DK., 1974. Effects of three heating rates on the critical thermal maximum of bluegill (Gibbons J.W., Sharitz R.R. Editor). *Thermal Ecology Conference National Technical Information Service, Springfield*, s. 158–163.
- De La Cruz-Cervantes, J.A., Benavides-González, F., Sánchez-Martínez, J.G., Vázquez-Sauceda, M.D.L.L. and Ruiz-Urbe, A.J., 2018. Propolis in aquaculture: a review of its potential. *Rev. Fish Sci. Aquac.*, 26:337–349.

- Domínguez, D., Sarmiento, P., Sehnine, Z., Castro, P., Robaina, L., Fontanillas, R., Prabhu, P.A.J., Izquierdo, M., 2019. Effects of copper levels in diets high in plant ingredients on gilthead sea bream (*Sparus aurata*) fingerlings. *Aquaculture*, 507:466-474.
- Domínguez, D., Sehnine, Z., Castro, P., Robaina, L., Fontanillas, R., Prabhu, P. A. J., Izquierdo, M. 2020. Optimum selenium levels in diets high in plant-based feedstuffs for gilthead sea bream (*Sparus aurata*) fingerlings. *Aquaculture Nutrition*, 26(2):579–589.
- Dülger, N., Kumlu, M., Türkmen, S., Ölçülü, A., Eroldoğan, O.T., Yılmaz, H.A., Öcal, N., 2012. Thermal tolerance of European Sea Bass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles acclimated to three temperature levels. *J. Therm. Biol.* 37:79–82.
- Eissa, N., Wang, H. P., 2016. Transcriptional stress responses to environmental and husbandry stressors in aquaculture species. *Reviews in Aquaculture*, 8(1): 61–88.
- Elechiguerra, J.L., Burt, J.L., Morones, J.R., Camacho-Bragado, A., Gao, X., Lara, H.H., Yacaman, M.J., 2005. Interaction of silver nanoparticles with HIV-1. *J.Nanobiotechnol.* 3(1):1-10.
- Elliott, J.M., 1981. Some aspects of thermal stress on freshwater teleosts. (A.D. Pickering Editör) *Stress and fish*. Academic Press, London, s. 209–245.
- Eroldoğan, O. T., Arslan, M., Korkut, A. Y., Ergün, S., Güroy, D., Sevgili H., Adamcıl, H., Ilgaz, S., 2020. Yem Teknolojisi ve Hammadde Kaynakları: Türk Somonu Projesiyonu. Türk Somonu Çalıştayı Raporu. 30s
- FAO, 2020. *The State of World Fisheries and Aquaculture*. Rome, Italy, 200 p. 200.
- Gagné, F., André, C., Skirrow, R., Gélinas, M., Auclair, J., van Aggelen, G., Turcotte, P., & Gagnon, C., 2012. Toxicity of silver nanoparticles to rainbow trout: A toxicogenomic approach. *Chemosphere*, 89(5):615–622.

- Galappaththi, E. K., Ichien, S. T., Hyman, A. A., Aubrac, C. J., & Ford, J. D. 2020. Climate change adaptation in aquaculture. *Reviews in Aquaculture*, 12(4): 2160–2176.
- Galvez, F., Hogstrand, C., McGeer, J. C., & Wood, C. M. 2001. The physiological effects of a biologically incorporated silver diet on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquatic Toxicology*, 55(1–2):95–112. .
- Goncalves, R.J., Sol, S.M., Aigo, J., Modenutti, B., Balseiro, E., Villafañe, V.E., Cussac, V., Helbling, W.E., 2010. Responses of plankton and fish from temperate zones to UVR and temperature in a context of global change. *Ecol. Austral* 20:129–153.
- Griffitt, R. J., Hyndman, K., Denslow, N. D., Barber, D. S. 2009. Comparison of molecular and histological changes in zebrafish gills exposed to metallic nanoparticles. *Toxicological Sciences*, 107(2):404-415.
- Halves, J.E., 2002. The vitamins. *Fish Nutrition* (Ronald H. Editor). Academic press, New York, s. 62-141.
- He, M., Yan, Y., Pei, F., Wu, M., Gebreluel, T., Zou, S., & Wang, C. 2017. Improvement on lipid production by *Scenedesmus obliquus* triggered by low dose exposure to nanoparticles. *Scientific reports*, 7(1): 1-12.
- Healy, TM, Schulte PM. 2012. Factors affecting plasticity in whole organism thermal tolerance in common killifish (*Fundulus heteroclitus*). *J Comp Physiol B* 182:49–62
- Hegde, K., Brar, S.K., Verma, M., Surampalli, R.Y., 2016. Current understandings of toxicity, risks and regulations of engineered nanoparticles with respect to environmental microorganisms. *Nano. Environ. Eng.* 1(1):1-12.
- Huang, C. M., Chen C. H., Pornpattananangkul D., Zhang L., Chan M., Hsieh M. F., Zhang L., 2011. Eradication of drug resistant *Staphylococcus aureus* by liposomal oleic acids. *Biomaterials* 32:214–221.

- Huang, S., Wang, L., Liu, L., Hou, Y., Li, L., 2015. Nanotechnology in agriculture, livestock, and aquaculture in China. A review. *Agron. Sustain. Dev.* 35:369–400.
- Ineno, T., Tsuchida, S., Kanda, M., & Watabe, S. 2005. Thermal tolerance of a rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* strain selected by high-temperature breeding. *Fisheries Science*, 71(4):767-775.
- Ineno, T., Tamaki, K., Yamada, K., Kodama, R., Tan, E., Kinoshita, S., Watabe, S. 2019. Evaluation of the thermal tolerances of different strains of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* by measuring the effective time required for loss of equilibrium at an approximate upper lethal temperature. *Fisheries Science*, 85(5): 839-845.
- Ineno, T., Yamada, K., Tamaki, K., Kodama, R., Tan, E., Kinoshita, S., Watabe, S. 2020. Determination of thermal tolerance in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* based on effective time, and its reproducibility for a large number of fish. *Fisheries Science*, 86(5):767-774.
- Jackson, T.R., Ferguson M.M., Danzman R.G., Fishback A.G., Ihssen P.E., O'connell M., Crease T.J. 1998. Identification of two QTL influencing upper temperature tolerance in three rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) half-sib families. *Heredity* 80:143–151
- Kamunde, C., Wood, C., 2004. Environmental chemistry, physiological homeostasis, toxicology, and environmental regulation of copper, an essential element in freshwater. *Australasian Journal of Ecotoxicology*, 10(1): 1–20.
- Kheawfu, K., Pikulkaew, S., Chaisri, W., Okonogi, S., 2017. Nanoemulsion: suitable nanodelivery system of clove oil for anesthetizing Nile tilapia. *Drug Discov. Ther.* 11:181–185.
- Kumar, N., Minhas, P.S., Ambasankar, K., Krishnani, K.K., Rana, R.S., 2014. Dietary lecithin potentiates thermal tolerance and cellular stress protection of

- milk fish (*Chanos chanos*) reared under low dose endosulfan induced stress. *J. Therm. Biol.* 46:40–46.
- Kumar, N., Krishnani, K. K., Kumar, P., Singh, N. P. 2017. Zinc nanoparticles potentiates thermal tolerance and cellular stress protection of *Pangasius hypophthalmus* reared under multiple stressors. *Journal of thermal biology*, 70:61-68.
- Kumar, N., Krishnani, K. K., Kumar, P., Sharma, R., Baitha, R., Singh, D. K., & Singh, N. P., 2018. Dietary nano-silver: Does support or discourage thermal tolerance and biochemical status in air-breathing fish reared under multiple stressors? *Journal of Thermal Biology*, 77:111–121.
- Lara, H. H., Ayala-Núñez N. V., Turrent L. C. I., Padilla C. R., 2010. Bactericidal effect of silver nanoparticles against multidrug-resistant bacteria. *World J Microbiol Biotechnol* 26:615–621.
- Luis, A.I.S., Campos, E.V.R., De Oliveira, J.L. and Fraceto, L.F., 2017. Trends in aquaculture sciences: from now to use of nanotechnology for disease control. *Rev. Aquac.*, 11:119–132.
- Lund, S.G., Caissie D., Cunjak R.A., Vijayan M.M., Tuft B.L., 2002. The effects of environmental heat stress on heat shock mRNA and protein expression in Miramichi Atlantic salmon (*Salmo salar*) parr. *Can J Fish Aquat Sci* 59:1553–1562
- Moges, D., Patel, P., Parashar, S. K. S., Das, B., 2020. Mechanistic insights into diverse nano-based strategies for aquaculture enhancement: A holistic review. *Aquaculture*, 519:734770.
- Morley, S. A., Hirse, T., Thorne, M. A. S., Pörtner, H. O., Peck, L. S., 2012. Physiological plasticity, long term resistance or acclimation to temperature, in the Antarctic bivalve, *Laternula elliptica*. *Comparative Biochemistry and Physiology - A Molecular and Integrative Physiology*, 162(1):16–21.

- Nastova, R., Gjorgovska, N., Kostov, V., 2014. Selenium supplementation in fish nutrition. *Agro. Life. Sci. J.* 3(1):104-107.
- NRC (National Research Council), 2011. Nutrient requirements of fish. National Academy Press, Washington, District of Columbia, USA.
- Onuegbu, C. U., Aggarwal, A., & Singh, N. B. 2018. ZnO nanoparticles as feed supplement on growth performance of cultured African catfish fingerlings.
- Prabhu, P. A. J., Schrama, J. W., Mariojous, C., Godin, S., Fontagne-Dicharry, S., Geurden, I., Kaushik, S. J., 2014. Post-prandial changes in plasma mineral levels in rainbow trout fed a complete plant ingredient based diet and the effect of supplemental di-calcium phosphate. *Aquaculture*, 430:34-43.
- Prabhu, P. A. J., 2015. Minerals in fish: does the source matter. *Reviews in Aquaculture*, 8(2):172-219.
- Prabhu, P. A. J., Silva, M. S., Kröeckel, S., Holme, M. H., Ørnsrud, R., Amlund, H., Waagbø, R. 2019. Effect of levels and sources of dietary manganese on growth and mineral composition of post-smolt Atlantic salmon fed low fish meal, plant-based ingredient diets. *Aquaculture*, 512:734287.
- Posinasetti, N.R., Edinbarough, I., Zhang, J., 2011. Interesting Possibilities a patron at a Local Restaurant Spills Coffee.
- Rajesh Kumar, S., Ishaq Ahmed, V.P., Parameswaran, V., Sudhakaran, R., Sarath Babu, V., Sahul Hameed, A.S., 2008. Potential use of chitosan nanoparticles for oral delivery of DNA vaccine in Asian sea bass (*Lates calcarifer*) to protect from *Vibrio anguillarum* (Listonella). *Fish Shellfish Immunol.* 25:47–56.
- Recsetar, M. S., Zeigler M. P., Ward D. L., Bonar S. A., Caldwell C. A., 2012. Relationship between fish size and upper thermal tolerance. *Trans Am Fish Soc* 141:1433–1438
- Reis, A. R., El-Ramady, H., Santos, E. F., Gratão, P. L., Schomburg, L. 2017. Overview of selenium deficiency and toxicity worldwide: affected areas,

- selenium-related health issues, and case studies. (Pilon-Smits, E.A.H., Winkel, L.H.E., L,n Z-Q Editörler). Selenium in Plants. Springer, Cham. Plants, s. 209-230.
- Sadoul, B., Augustine, S., Zimmer, E., Bégout, M. L., & Vijayan, M. M. 2019. Prediction of long-term variation in offspring metabolism due to BPA in eggs in rainbow trout using the DEB model. *Journal of Sea Research*, 143: 222-230.
- Samuel, U., Guggenbichler, J.P., 2004. Prevention of Catheter-Rel the potential of a new nano silver impregnated Catheter. *Int. J. Antimic Agents* 23S1: S75–S78.
- Sarkar, B., Kumar, M., Verma, S., Rathore, R.M., 2015. Effect of dietary nanosilver on gut proteases and general performance in zebrafish (*Danio rerio*). *Int. J. Aquat. Biol.* 3(2): 60–67.
- Shahverdi, A.R., Fakhimi, A., Shahverdi, H.R., Minaian, S., 2007. Synthesis and effect of silver nanoparticles on the antibacterial activity of different antibiotics against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *Nanomedicine* 3 (2):168–171.
- Shaw, B. J., Handy, R. D. 2011. Physiological effects of nanoparticles on fish: A comparison of nanometals versus metal ions. *Environment International*, 37(6):1083–1097.
- Selvaraj, B., Subramanian, K., Gopal, S., Sampath, P., 2014. Nanotechnology as a novel tool for aquaculture industry: a review. *World. J. Pharm. Sci.* 2 (9): 1089–1096.
- Smith, C. J., Shaw, B. J., Handy, R. D., 2007. Toxicity of single walled carbon nanotubes to rainbow trout, (*Oncorhynchus mykiss*): Respiratory toxicity, organ pathologies, and other physiological effects. *Aquatic Toxicology*, 82(2):94–109.

- Spry, D. J., Wiener, J. G., 1991. Metal bioavailability and toxicity to fish in low-alkalinity lakes: a critical review. *Environmental pollution*, 71(2-4):243–304.
- Tacon, A. G. 2018. Global trends in aquaculture and compound aquafeed production. *The Magazine of the World Aquaculture Society*, 49:33–46.
- Tejpal, C.S., Sumitha, E.B., Pal, A.K., Murthy, H.S., Sahu, N.P., Siddaiah, G.M., 2014. Effect of dietary supplementation of L-tryptophan on thermal tolerance and oxygenconsumption rate in *Cirrhinus mrigala* fingerlings under varied stocking density. *J.Therm. Biol.* 41:59–64.
- Tripp-Valdez, M. A., Bock, C., Lucassen, M., Lluch-Cota, S. E., Sicard, M. T., Lannig, G., Pörtner, H. O., 2017. Metabolic response and thermal tolerance of green abalone juveniles (*Haliotis fulgens*: Gastropoda) under acute hypoxia and hypercapnia. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 497:11–18.
- TÜRKİYE İSTATİSTİK KURUMU (TUİK), Su Ürünleri İstatistikleri, 2019.
- TÜRKİYE İSTATİSTİK KURUMU (TUİK), Su Ürünleri İstatistikleri, 2020.
- Verma, S.K., Jha, E., Panda, P.K., Mishra, A., Thirumurugan, A., Das, B., Suar, M., 2018. Rapid novel facile biosynthesized silver nanoparticles from bacterial release induce biogenicity and concentration dependent in vivo cytotoxicity with embryonic zebrafish-a mechanistic insight. *Toxicol. Sci.* 161:125–138.
- Yanar, M., Erdoğan, E., Kumlu, M. 2019. Thermal tolerance of thirteen popular ornamental fish Species. *Aquaculture*, 501:382–386.
- Yeo, M. K., Kang, M. S., 2008. Effects of nanometer sized silver materials on biological toxicity during zebrafish embryogenesis. *Bulletin of the Korean Chemical Society*, 29(6): 1179–1184.
- Yue, L., Zhao, W., Wang, D., Meng, M., Zheng, Y., Li, Y., Qui., J., Yu, J., Yan Y., Sun, Y., Fu J., Wang, J., Zhang Q., Xu L., Ma, X., 2019. Silver

- nanoparticles inhibit beige fat function and promote adiposity. *Molecular metabolism*, 22:1–11.
- Zhao, L., Shi, L., Zhang, Z., Chen, J., Shi, D., Yang, J. and Tang, Z., 2011. Preparation and application of chitosan nanoparticles and nano fibers. *Aquacult. Nutr.*, 28:353–362.
- Wijnhoven, S. W. P., Peijnenburg, W. J. G. M., Herberts, C. A., Hagens, W. I., Oomen, A. G., Heugens, E. H. W., Roszek, B., Bisschops, J., Gosens, I., Van De Meent, D., Dekkers, S., De Jong, W. H., Van Zijverden, M., Sips, A. J. A. M., Geertsma, R. E., 2009. Nano-silver - A review of available data and knowledge gaps in human and environmental risk assessment. *Nanotoxicology*, 3(2):109–138.
- Wischhusen, P., Saito, T., Heraud, C., Kaushik, S. J., Fauconneau, B., Antony Jesu Prabhu, P., Skjærven, K. H., 2020. Parental Selenium Nutrition Affects the One-Carbon Metabolism and the Hepatic DNA Methylation Pattern of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) in the Progeny. *Life*, 10(8):121.

ÖZGEÇMİŞ

İlkokul, Ortaokul ve Lise Eğitimini Mardin’de tamamladı. 2005 yılında Dicle Üniversitesi Endüstriyel Elektronik Bölümünden ve 2013 yılında Anadolu Üniversitesi İşletme Fakültesi – İşletme Bölümünden mezun oldu. 2016 yılında Mersin Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Su Ürünleri Yetiştiricilik Anabilim Dalında Yüksek Lisansa başladı. 2018 yılında Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Su Ürünleri Yetiştiricilik Anabilim Dalına yatay geçiş yaptı.

