

**ANKARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**KUZEY KIBRIS DENİZLERİNDE YAŞAYAN BENEKLİ BALON BALIĞI
(*Lagocephalus sceleratus* (Gmelin 1789))'NİN ÇEŞİTLİ DOKULARINDA
BULUNAN TETRODOTOKSİN (TTX) DÜZEYLERİNİN BELİRLENMESİ**

Hasan Deniz AKBORA

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**ANKARA
2018**

Her hakkı saklıdır.

TEZ ONAYI

Hasan Deniz AKBORA tarafından hazırlanan “Kuzey Kıbrıs Denizlerinde Yaşayan Benekli Balon Balığı (*Lagocephalus sceleratus* (Gmelin, 1789))’nın Çeşitli Dokularında Bulunan Tetradotoksin (TTX) Düzeylerinin Belirlenmesi” adlı tez çalışması 17/04/2018 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı’nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman : Dr. Öğretim Üyesi S. Cevher ÖZEREN
Ankara Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalı

Eş Danışman : Yrd. Doç. Dr. Burak Ali ÇİÇEK
Doğu Akdeniz Üniversitesi

Fen-Edebiyat Fakültesi Biyolojik Bilimler Bölümü

Jüri Üyeleri:

Başkan: Prof. Dr. Aydın AKBULUT
Hacettepe Üniversitesi Biyoloji Eğitimi Anabilim Dalı

Üye : Doç. Dr. M. Borga ERGÖNÜL,
Ankara Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalı

Üye : Dr. Öğretim Üyesi S. Cevher ÖZEREN
Ankara Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalı

Yukarıdaki sonucu onaylarım.

Prof. Dr. Atila YETİŞEMİYEN
Enstitü Müdürü

ETİK

Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez içindeki bütün bilgilerin doğru ve tam olduğunu, bilgilerin üretilmesi aşamasında bilimsel etiğe uygun davrandığımı, yararlandığım bütün kaynakları atıf yaparak belirttiğimi beyan ederim.

17.04.2018



Hasan Deniz AKBORA

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

KUZEY KIBRIS DENİZLERİNDE YAŞAYAN BENEKLİ BALON BALIĞI (*Lagocephalus sceleratus* (Gmelin 1789))'NİN ÇEŞİTLİ DOKULARINDA BULUNAN TETRODOTOKSİN (TTX) DÜZEYLERİNİN BELİRLENMESİ

Hasan Deniz AKBORA

Ankara Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Dr. Öğretim Üyesi Saniye Cevher ÖZEREN

Eş Danışman: Yrd. Doç. Dr. Burak Ali ÇİÇEK

Kuzey Kıbrıs denizlerinde ilk kez 2000’li yılların başında tespit edilen *Lagocephalus sceleratus* (Gmelin 1789), kısa bir sürede ekosisteme uyum göstererek baskın türler arasına girmiştir. Ekosistem içerisindeki dengeleri değiştirmesinin yanı sıra geleneksel yöntemlerle yapılan kıyı balıkçılığını; etinin zehirli olması, balıkçılık av, araç ve gereçlerine verdiği zarar ile olumsuz etkilemiştir. Kuzey Kıbrıs denizlerinde balıkçılar tarafından avlanan *L. sceleratus* balığının mevsimlik olarak deri, kas, bağırsak, gonadlar ve karaciğer gibi çeşitli dokularındaki tetrodotoksin seviyeleri, TTX ELISA Test Kit kullanılarak, İndirekt Yarışmalı Enzim Bağlı İmmünoassay Yöntemi ve standart eğri yardımı ile belirlenmiştir. Tetrodotoksin seviyeleri mevsimlere göre dokular arasında farklılıklar göstermekle birlikte, yaz mevsimi haricinde gonadın en zehirli doku olduğu tespit edilmiştir. Bütün mevsimler dikkate alındığında en zehirli 3 doku sırasıyla; Gonad (0,22 µg/g), karaciğer (0,19 µg/g) ve bağırsak (0,18 µg/g) olarak belirlenmiştir. Bu çalışmada tetrodotoksin seviyeleri, Akdeniz’deki diğer çalışmalarda örneklenen balon balıklarında belirlenen tetrodotoksin seviyelerinden farklı bulunmuştur. Kıbrıs Adası’nın Kızıl Deniz kökenli Tetrodotoksin vektörlerinden doğrudan etkilenen ana karadan, derin deniz bariyeri ile izole olmasının, bu farkın nedeni olabileceği düşünülmektedir.

Nisan 2018, 50 sayfa

Anahtar Kelimeler: Tetrodotoksin, *Lagocephalus sceleratus*, benekli balon balığı, Kuzey Kıbrıs, ELİSA.

ABSTRACT

Master Thesis

DETERMINATION OF TETRODOTOXIN(TTX) LEVELS IN VARIOUS TISSUES OF THE SILVER CHEEKED PUFFER FISH (*Lagocephalus sceleratus* (Gmelin, 1789)) FOUND IN SEAS OF NORTHERN CYPRUS

Hasan Deniz AKBORA

Ankara University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biology

Supervisor: Asst. Prof. Dr. Saniye Cevher ÖZEREN
Co-supervisor: Asst. Prof. Dr. Burak Ali ÇİÇEK

Lagocephalus sceleratus (Gmelin 1789), first seen in the seas of Northern Cyprus in early 2000s. After a short period of time they adopted to the ecosystem and become one of the dominant species. In addition to changing the balance within the ecosystem; coastal fishing activities using traditional methods are also adversely affected primarily due to inedibility with toxic flesh and due to damage caused to tools and equipment used in fishing. In this study; while attempting to understand the tetrodotoxin levels in various tissues of *L. sceleratus* caught in the seas of Northern Cyprus at different seasons; the research identified the tetrodotoxin levels in skin, muscle, intestine, gonads and liver using TTX ELISA Test Kit with Indirect Competitive Enzyme-Labelled Immunoassay Method and standard curve in species caught by fishermen. The levels of tetrodotoxin vary among tissues in different seasons. Gonads have become the most toxic tissue other than the summer season. When all seasons are taken into consideration, the three most toxic tissues are determined as: Gonads (0,22 µg/g), liver (0,19 µg/g) and intestine (0,18 µg/g). In this study; tetrodotoxin levels were found differ from the levels of tetrodotoxin in *L. sceleratus* which are researched in other studies in the Mediterranean. The lack of direct terrestrial linkage of the island of Cyprus from the main land which is directly affected by the Red Sea; and deep sea barriers, may inhibit the passage of tetrodotoxin vectors. This could be the reason of the difference in toxicity.

April 2018, 50 pages

Key Words: Tetrodotoxin, *Lagocephalus sceleratus*, Silver Cheeked Pufferfish, North Cyprus, ELISA.

ÖNSÖZ ve TEŞEKKÜR

Çalışma konusunun belirlenmesi, alan çalışmalarının yürütülmesi ve yazım aşamalarında her türlü desteği sağlayan tez danışmanım Dr. Öğr. Üyesi S. Cevher ÖZEREN ve eş danışman hocam olan Doğu Akdeniz Üniversitesi Biyolojik Bilimler Bölümü öğretim üyesi Yrd. Doç. Dr. Burak Ali ÇİÇEK'e teşekkürü borç bilirim.

Tez çalışmalarım için gerekli izinlerle birlikte manevi olarak destek veren, Doğu Akdeniz Üniversitesi Biyolojik Bilimler Bölüm Başkanı Prof. Dr. Bahar TANERİ'ye ve Kuzey Kıbrıs Hayvancılık Dairesi Müdürü Burcu VUDALI'ya, çalışmanın metodunun belirlenmesinde ve laboratuvar çalışmalarının sürdürülmesinde büyük katkı koyan; Eczacılık Fakültesi Dekan Yardımcısı Doç. Dr. Hayrettin Ozan GÜLCAN'a ve öğretim üyesi Yrd. Doç. Dr. İmge KUNTER'e, laboratuvar çalışmalarında, sonuçların yorumlanması ve bilimsel etiğe uygun yazımında her daim destek veren Yrd. Doç. Dr. İmge KUNTER'e, laboratuvar çalışmalarının yürütülmesi sırasında destek olan Eczacılık Fakültesi öğretim üyesi Yrd. Doç. Dr. Tuğba ERÇETİN ve Ali Murat ELAGÖZ'e, tezin yazım aşamasında değerli yorumlarını katan ve vakit ayıran Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi öğretim üyesi Prof. Dr. Halit FİLİZ'e ve Doğu Akdeniz Üniversitesi Eczacılık Fakültesi öğretim üyesi Yrd. Doç. Dr. İmge KUNTER'e, verilerin istatistikî açıdan değerlendirilmesindeki yardımlarından dolayı Mersin Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi öğretim üyesi Doç. Dr. Deniz AYAS'a, tez yazım aşamasında İngilizce gerektiren kısımlarda düzenlemeler yapan Cem ÇİÇEK'e, Lefke bölgesinden yakalanan balıkların temini ve saklanması konusunda desteğini esirgemeyen Caner ASPAVA'ya, Girne bölgesinden yakalanan balıkların temin edilmesi ve muhafazasında yardımcı olan Hüseyin DOLMACI'ya, Mağusa bölgesinde yakalanan balıkların temininde yardımlarını esirgemeyen Erhan AKBORA ve Firuz DENYALI'ya, bu çalışmanın yürütülmesinde desteğini esirgemeyen Hayvancılık Dairesi Müdürü Burcu VUDALI ve personelden Uğur SENCER ve Hüseyin DOLMACI'ya,

Hayatımda olduğu gibi; yüksek lisansım boyunca manevi olarak yanımda olan ve moral veren eşim Mahmure AKBORA'ya teşekkür ederim.

Bu tez çalışmasında; DAÜ Fen ve Edebiyat Fakültesi Biyolojik Bilimler Bölümü ile Eczacılık Fakültesi laboratuvarları ve sarf malzemesi kullanılmıştır. Ayrıca, TTX ELISA Test Kitleri Kuzey Kıbrıs Hayvancılık Dairesi tarafından finanse edilmiştir.

Hasan Deniz AKBORA
Ankara, Nisan 2018

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAY SAYFASI	
ETİK.....	i
ÖZET.....	ii
ABSTRACT	iii
ÖNSÖZ ve TEŞEKKÜR.....	iv
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ	ix
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ	4
2.1 <i>Lagocephalus sceleratus</i> 'un Biyolojik Özellikleri.....	4
2.1.1 Morfoloji	4
2.1.2 Yaşam alanı ve beslenme alışkanlıkları	6
2.1.3 <i>Lagocephalus sceleratus</i> 'ta büyüme ve üreme dönemleri.....	8
2.1.4 <i>Lagocephalus sceleratus</i> 'ta tetrodotoksin.....	9
2.2 <i>Lagocephalus sceleratus</i> İstilasının Akdeniz'deki Güncel Durumu	12
2.2.1 Akdeniz'de bulunan balon balığı türleri.....	14
2.3 ELİSA Tekniği	16
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	20
3.1 Örneklem Bölgesi	20
3.2 Örneklerin Toplanması.....	20
3.3 Laboratuvarda Dondurulan Balıklardan Dokuların Alınması ve Gonadosomatik İndeksin (GSİ) Hesaplanması	21
3.4 Dokuların Homojenize Edilmesi ve Tetrodotoksin Ekstraksiyonu	22
3.5 ELİSA Prosedürü.....	23
3.5.1 Örneklerin ELİSA prosedürü için hazırlanması	24
3.6 Verilerin İstatistiksel Açısından Değerlendirilmesi	26
4. ARAŞTIRMA BULGULARI.....	27
4.1 Gonadosomatik İndeks (GSİ)	27
4.2 <i>Lagocephalus sceleratus</i> 'ta Mide İçeriği.....	29
4.3 <i>Lagocephalus sceleratus</i> 'ta Mevsimsel Toksikite Seviyeleri	31
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	37
KAYNAKLAR.....	43
ÖZGEÇMİŞ	50

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

€	Euro para birim
mm	Milimetre
cm	Santimetre
nm	Nanometre
mg	Miligram
µg	Mikrogram
ml	Mililitre
µl	Mikrolitre
gr	Gram
kg	Kilogram
MU	Fare birimi (Mouse unit)
Ppb	Milyarda bir kısım
Rpm	Dakikada devir
B	Ortalama absorbans
B ₀	Minimum ortalama absorbans
%	Yüzde
R ²	Regresyon
°C	Santigrat derece
♂	Erkek cinsiyet sembolü
♀	Dişi cinsiyet sembolü
P	Olasılık (Probability)

Kısaltmalar

DAÜ	Doğu Akdeniz Üniversitesi
EİA	Enzim İmmünoassay
ELİSA	Enzim Bağlantılı İmmünoorbant Assay
GC-MS	Gaz kromatografisi-Kütle Spektroskopisi
GSİ	Gonadosomatik İndeks
LC-MS	Sıvı kromatografisi-Kütle Spektroskopisi
MBA	Fare Biyo-assay
TTX	Tetrodotoksin
$\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$	Ortalama \pm standart hata

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1	<i>Lagocephalus sceleratus</i> 'un yukarıdan ve yandan görünüşü	4
Şekil 2.2	Orfoz balığı saldırısına karşı balon balığı savunması.....	5
Şekil 2.3	<i>L. sceleratus</i> 'un midesinden çıkan ahtapot parçaları.....	6
Şekil 2.4	<i>L. sceleratus</i> midesinden çıkarılan olta iğneleri.....	7
Şekil 2.5	<i>L. sceleratus</i> midesinden çıkarılan ağ ve balık parçaları	7
Şekil 2.6	Tetrodotoksin molekülünün yapısı	9
Şekil 2.7	<i>L. sceleratus</i> İstilasının Akdeniz'deki Kayıtları.....	13
Şekil 2.8	<i>Lagocephalus spadiceus</i>	14
Şekil 2.9	<i>Lagocephalus suzensis</i>	14
Şekil 2.10	<i>Sphoeroides pachygaster</i>	15
Şekil 2.11	<i>Lagocephalus lagocephalus</i>	15
Şekil 2.12	<i>Ephippion guttifer</i>	15
Şekil 2.13	<i>Torquigener flavimaculatus</i>	15
Şekil 2.14	<i>Tylerius spinosissimus</i>	15
Şekil 2.15	Direkt, İndirekt ve Sandviç ELİSA yöntemleri.....	17
Şekil 2.16	İndirekt Yarışmalı ELİSA'nın şematik özeti	19
Şekil 3.1	Kuzey Kıbrıs denizlerini temsilen örnekleme bölgeleri	20
Şekil 3.2	<i>L. sceleratus</i> türü balon balıklarının spin yöntemi ile yakalanması ve laboratuvara taşınmasında kullanılan buz dolu kap	21
Şekil 3.3	Balık örneklemelerinin yapıldığı çeker ocak ve diseksiyon	21
Şekil 3.4	Her bir dokudan 2'şer gramlık örnekler ve homojenizatör cihazı.....	23
Şekil 3.5	Santrifüj edildikten sonra süpernatant kısımlarının görünümü ve -18°C'ta 2ml'lik ependorf tüplerde saklandıkları kutu.....	23
Şekil 3.6	ELİSA plakasının durma çözeltisi eklerken ve ekledikten sonraki görünümü	25
Şekil 4.1	<i>L. sceleratus</i> 'un boy-ağırlık ilişkisi	27
Şekil 4.2	<i>L. sceleratus</i> 'ta mevsimsel olarak hesaplanan ortalama GSİ değerleri	29
Şekil 4.3	<i>L. sceleratus</i> 'un mide içeriklerinin % dağılımları.....	30
Şekil 4.4	Sonbahar – Kış Dönemine ait verilerin hesaplanmasında kullanılan standart grafik.....	31
Şekil 4.5	İlkbahar – Yaz Dönemine ait verilerin hesaplanmasında kullanılan Standart Grafik	31
Şekil 4.6	<i>L. sceleratus</i> 'ta genel TTX dağılımı.....	34

Şekil 4.7	<i>L. sceleratus</i> 'ta sonbahar dönemi TTX dağılımı.....	34
Şekil 4.8	<i>L. sceleratus</i> 'ta kış dönemi TTX dağılımı	35
Şekil 4.9	<i>L. sceleratus</i> 'ta ilkbahar dönemi TTX dağılımı	35
Şekil 4.10	<i>L. sceleratus</i> 'ta yaz dönemi TTX dağılımı	36
Şekil 4.11	<i>L. sceleratus</i> 'ta dokulardaki TTX seviyelerinin mevsimsel değişimi.....	36



ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1	Balon balıkları dışında vücutlarında TTX bulunduran bazı canlılar	11
Çizelge 2.2	Direkt ve İndirekt ELİSA tekniklerinin karşılaştırılması	18
Çizelge 4.1	<i>L. sceleratus</i> 'un yaşlara göre GSİ değerleri (%)	28
Çizelge 4.2	<i>L. sceleratus</i> 'un mevsimlere göre GSİ değerleri (%).....	28
Çizelge 4.3	İncelenen <i>L. sceleratus</i> bireylerinin mide içerikleri	30
Çizelge 4.4	<i>L. sceleratus</i> 'ta Mevsimsel TTX seviyelerinin µg/g biriminde değerleri	32
Çizelge 4.5	<i>L. sceleratus</i> 'un çeşitli dokularında mevsimlere göre tespit edilen TTX seviyelerinin istatistiksel değerlendirilmesi	33
Çizelge 4.6	<i>L. sceleratus</i> 'un çeşitli dokularında yaşlara göre tespit edilen TTX seviyelerinin istatistiksel değerlendirilmesi	33
Çizelge 5.1	Mevsimsel GSİ (%) değerlerinin önceki çalışmalarla karşılaştırılması	37
Çizelge 5.2	<i>L. sceleratus</i> 'ta mide içeriklerinin literatürle karşılaştırılması	38
Çizelge 5.3	<i>L. sceleratus</i> 'ta TTX miktarlarının literatürle karşılaştırılması	38

1. GİRİŞ

Süveyş Kanalı 1869 yılında Asya ile Avrupa arasında yapılan ticareti kolaylaştırmak için Fransız mühendis Ferdinand Marie de Lesseps'in yönetiminde açılmıştır. Kanal karşılıklı ticareti kolaylaştırmakla birlikte Kızıl Deniz ile Akdeniz arasında da biyolojik bir köprü oluşturmuştur. 1869 yılından itibaren çoğunlukla Kızıl Deniz'den Akdeniz'e olmak üzere, birçok tür karşılıklı olarak geçiş yapmıştır. Kızıl Deniz'den Akdeniz'e 300 den fazla tür göç etmiştir. Bu göçe Lessepsli Göç (Lessepsiyen Göç) denmektedir ve adını Süveyş Kanalı'nın yapımından sorumlu mühendisten almıştır (Bentur vd. 2008, Schøyen ve Bråthen 2011).

Bir tür, alttür veya alt takson; doğal dağılım gösterdiği yaşam alanından çıkıp yeni bir bölgeye girdiğinde, bu bölge içinde "Yabancı tür" olarak adlandırılır (Katsanevakis vd. 2009). Yabancı türler 6 kategoride sınıflandırılmaktadır. Bunlar: Yerleşik (Established), Rastlantısal (Casual), Şüpheli (Questionable), Kriptojenik (Cryptogenic), İstisnai (Excluded) ve İstilacı (Invasive) türlerdir. *Lagocephalus sceleratus* (Gmelin 1789) türü balon balıkları CIESM (Commission Internationale pour l'Exploration Scientifique de la Méditerranée) 2005 kongresinde Rastlantısal Yabancı Türler kategorisinde rapor edilmiş, daha sonraki çalışmalarda Yerleşik Yabancı türler arasında yerini almıştır (Zenetos vd. 2005). Güncel olarak, Bilge ve arkadaşları (2017) Doğu Akdeniz'de dağılım gösteren 45 Lessepsiyen balık türü için risk analizi gerçekleştirmiş ve türler için ayrı ayrı hesaplanan Temel Risk Değerlendirme (TRD) skorları yardımı ile 18.5 eşik değerini rapor etmişlerdir. Balon balıkları ise Akdeniz'deki Hint-Pasifik kökenli türler arasında "yüksek risk" (TRD>18.5) grubunda olup, özellikle *L. sceleratus* türü 40.0 olarak hesaplanan TRD skoru ile istila gücü yüksek türlerden biri olarak rapor edilmiştir (Filiz vd. 2017).

L. sceleratus ve diğer göçmen balon balığı türleri Kızıl Deniz kökenli olduklarından Kızıl Deniz'de av-avcı ilişkisi içerisinde ekolojik dengede bulunmaktaydılar. Ancak Süveyş Kanalı'nın açılması ile göç ettikleri Akdeniz'de balon balıklarını tüketebilecek bir avcı tür bulunmadığından ekolojik denge bozulmuş ve sayıları hızlıca artmıştır (Eastmed 2010).

Balon balıkları kıta sahanlığına¹ kadar olan derinliklerde yaşadıklarından, büyük yırtıcılar ile karşılaşma ihtimalleri oldukça düşüktür. Kıta sahanlığı bölgesinde yaşayan yırtıcılar ise Akdeniz'deki en yaygın tür olan *L. sceleratus* türünü iki sebepten dolayı avlayamamaktadırlar.

Birincisi balon balıklarının tehlike anında kendileri su veya hava ile şişirmeleridir ki bu özellikleri yutulmalarını zorlaştırmaktadır. İkinci ve en ciddi sebep ise balon balıklarının vücutlarında tetrodotoksin adı verilen bir zehir bulundurmalarıdır. Bu zehir protein yapıda olmayan, sıcaklığa karşı dirençli ve siyanürden 1200 kat daha kuvvetli olan bir nörotoksindir (Boustany vd. 2015). Tetraodontidae ailesine ait bütün türlerde bulunabilen bu zehir nedeniyle Akdeniz'de yaşayan yırtıcı balıklar balon balıklarını tüketememektedirler. Bunun sonucunda ise balon balıkları hızla çoğalarak yerel türlerle rekabet içerisine girmektedirler.

Yerleşik yabancı türler; bazı durumlarda; ortamdaki biyotik ve abiyotik engelleri aşip hızlıca çoğalarak, yerel türlerle rekabete girebilmekte, ekosisteme bağlı ekonomik faaliyetleri ve insan sağlığını tehdit edebilmektedir. Bu gibi durumlarda ise bu türler "İstilacı" olarak anılmaktadır (Katsanevakis vd. 2009). Her ne kadar yabancı ve istilacı türler birçok bilimsel araştırma sonucunda sınıflandırılmış olsalar da bir türün istilacı olduğunun geniş insan toplulukları arasında (Bilim insanları dışındaki topluluk dahil) duyulması için; o türün ekolojik olduğu kadar, ekonomik olarak da zararlı olması gerekmektedir.

Kıbrıs Adası örnek olarak gösterildiğinde; *Siganus rivulatus* veya halk arasında Sokan balığı, Kızıl Deniz orijinli olup, yerel otçul türler ile rekabet eden ve hızla çoğalan istilacı bir türdür. Ayrıca bu tür yerel halk tarafında sevilerek tüketilmektedir. Özellikle Güney Kıbrıs'taki pazar değerinin 45 €/kg civarında olduğu bilinmektedir. Sokan balıklarının ekonomik değerleri bulunduğundan, istilacı veya zararlı oldukları çok az insan tarafından bilinmektedir.

¹ Kıta sahanlığı ortalama 40-150 metre arası derinlikteki kıyıya paralel deniz kısımlarıdır (Feely vd. 2008).

L. sceleratus türü diğler bir istilacı tür olup, popölasyonu dengeleyecek bir yırtıcı bulunmadığından hem ekolojik hem de ekonomik açıdan zararlı türler arasında yer almaktadır. Bu balıkların ekonomik açıdan da zararlı kabul edilmesinde, gaga benzeri keskin dişleri ve onları destekleyen çok güçlü çene kasları sayesinde balıkçı ağıları, olta iğneleri ve misinalar dâhil olmak üzere birçok balıkçı malzemelerine zarar verebilmeleri ve tüketilmemeleridir.

Balon balıkları balıkçılar tarafından tutulan ve halk tarafından tüketilen diğler balıkları avladıklarından, mevcut tüketilebilir balık miktarında azalmaya sebebiyet vermektedirler. Ayrıca ekonomik olarak değerli türlerden; kalamar, sipyra, ahtapot ve istakoz gibi birçok tür başlıca besinlerini oluşturmaktadır (Khalaf vd. 2014). Balon balıkları balıkçılar tarafından çok miktarlarda yakalanmakta ve vücutlarındaki tetrodotoksin nedeni ile satışa sunulamamakta ve besin olarak da tüketilememektedirler. Tüm uyarılara rağmen bilinçsizce tüketildiğı ve bazı durumlarda zehirlenme vakalarının da görüldüğü bilinmektedir.

Kuzey ve Güney Kıbrıs'ta balon balığı sayısını azaltmak için her yıl çeşitli bölgelerde "Balon Balığı Yakalama Yarışması" yapılmaktadır. Ayrıca KKTC Hayvancılık Dairesi ve Güney Kıbrıs Rum Yönetimi tarafından profesyonel balıkçılar balon balığı yakalamaya teşvik etmek için; kuyruğı başına ödeme yaptığı bilinmektedir (Ulman vd. 2014).

Bu çalışmada Kuzey Kıbrıs denizlerinde yaşayan *L. sceleratus* türünden mevsimsel ve bölgesel olarak avlama yapılmış ve deri, kas, gonadlar, karaciğer ile bağırsaklarından örnek alınmıştır. Bu örnekler ELİSA yöntemi ile analiz edilmiş ve Tetrodotoksin miktarları ölçülmüştür.

Bu tez çalışmasının amacı; çıkan sonuçlar ve bilimsel kanıtlar ışığında yerel halk ve balıkçıların bilgilendirilmesi, olası zehirlenme vakalarının önüne geçilmesidir. Ayrıca sonuçlara bağılı olarak *L. sceleratus* türü balon balıklarının ekonomik olarak değerlendirilebilme durumu da gözden geçirilmiştir.

2. KAYNAK ÖZETLERİ VE KURAMSAL TEMELLER

2.1 *Lagocephalus sceleratus*'un Biyolojik Özellikleri

2.1.1 Morfoloji

Sınıflandırmadaki yeri (Özbay, T 2015):

Benekli Balon Balığı (*Lagocephalus sceleratus*)

Alem : Animalia

Şube : Chordata

Üst Sınıf : Pisces

Sınıf : Actinopterygii

Ordo : Tetraodontiformes

Aile : Tetraodontidae

Cins : *Lagocephalus*

Tür : *Lagocephalus sceleratus* (Gmelin 1789)

Vücutları uzun ince torpil şeklinde olup, yanlardan ve karından hafifçe basıktır. Grimsi-kahverengi renkteki sırt bölgesinde düzenli olarak dağılım gösteren, eşit boyutlarda siyah noktacıklar mevcuttur. Lateral bölgede ağızdan kuyruk yüzgecine kadar uzanan gümüş renkli bir bant bulunur. Karın bölgesi beyaz renkte ve pürüklüdür. Gözlerin ön kısmında gümüş renkte bir leke vardır. Pektoral yüzgeç tabanı siyahtır. Dorsal ve anal yüzgeçler vücudun posteriorunda paralel olarak konumlanmış olup kısa tabanlıdır. Kuyruk yüzgeci yarım ay şeklindedir (Şekil 2.1) (Kasapidis vd. 2007, Jribi vd. 2012, Farrag 2015, Boustany vd. 2015).



Şekil 2.1 *Lagocephalus sceleratus*'un yukarıdan ve yandan görünüşü

Pektoral yüzgeç; geniş tabanlı ve yuvarlak kenarlı olup, önünde tek bir solungaç açıklığı bulunur. Vücutları pullarla örtülü değildir. Bunun yerine karın ve dorsal bölgede küçük spiküller mevcuttur. Karın bölgesindeki spiküller kloak açıklığına kadar uzanmazlar. Dorsal ve anal yüzgeçlerde dikenli ışınlar bulunmamaktadır. 10 adet anal yüzgeç ışınına ve 18 adet pektoral yüzgeç ışınına sahip olmakla birlikte pelvik yüzgeç ışınları bulunmamaktadır (Milazzo vd. 2012).

Tüm balon balıklarında olduğu gibi *L. sceleratus* türü de tehlike anında su yutarak vücudunu şişirebilmektedir (Şekil 2.3). Bu özellikleri onları yırtıcılar karşısında iri göstermekte ve yutulmalarını zorlaştırmaktadır (Khalaf vd. 2014). Takeda'da (1996) *L. sceleratus* türünün 110 cm uzunluğa kadar ulaşabildikleri bilgisi verilmiştir (Boustany vd. 2015).



Şekil 2.2 Orfoz balığı saldırısına karşı balon balığı savunması (<https://www.youtube.com,> 2009)

Çok güçlü çene kasları ile desteklenen her çenede; bir çift çok keskin ve sağlam diş bulunur. Bu dişler sayesinde balon balıkları; balıkçı ağları, misinalar ve iğneleri kolaylıkla kesebilmektedir (Khalaf vd. 2014). Ayrıca ıstakoz gibi sert kabuklu deniz canlılarını da kolaylıkla tüketebilmektedirler.

2.1.2 Yaşam alanı ve beslenme alışkanlıkları

L. sceleratus türü; Hint-Pasifik kökenli olup tropik suları tercih ederler. Süveyş Kanalı'nın açılması ile birlikte zaman içerisinde tüm Akdeniz'e yayılmışlardır.

Çoğunlukla 100 metre derinliklere kadar olan sığ mercan resifleri yakınındaki kumlu-çamurlu deniz diplerinde yaşarlar (Yağlıoğlu vd. 2011). Kızıldeniz orijinli bu balıkların 250 metre derinliklere kadar bulunabildikleri görülmüştür (EastMed 2010). Yaz aylarında 5-6 cm civarındaki juvenil bireyler kumlu zeminlerde görülürken, nispeten daha büyük olan yaklaşık 30-40 cm büyüklüğündeki bireyler ise *Posidonia oceanica* habitatlarını tercih etmektedirler. Sonbaharda aynı habitatlarda 40-60 cm arası bireyler görülürken, kış ve bahar aylarında 15-27 cm arası bireyler kumluk gölgelerde görülür (Kalogirou 2013).

Başlıca besinlerini çoğunlukla ticari türler olan; karides, yengeç, kendi türlerine ait bireyler de dâhil olan balıklar, kalamar, sipyra gibi türler oluşturur (Aydın 2011, Boustany vd. 2015). Ayrıca yaralanmış olan her türden balık ve balıkçı ağına yakalanmış balıklar dâhil her türlü beslenme fırsatından yararlanmaktadırlar.

Şekil 2.3'te Kuzey Kıbrıs Güney-Doğu bölgesinde 47 metre derinlikten spin tekniği ile yakalanan *L. sceleratus* türünün midyesinden çıkan yarı sindirilmiş ahtapot parçaları görülmektedir.



Şekil 2.3 *L. sceleratus*'un midyesinden çıkan ahtapot parçaları

Beslenme alışkanlıkları ve balıkçılık sektörüne verdikleri zararlardan ötürü, günümüzde *L. sceleratus* Akdeniz kıyılarında yaşayan en kötü istilacı tür unvanına sahiptir (Streftaris ve Zenetos 2006, EastMed 2010, Kalogirou vd. 2010, Aydın 2011, Nader vd. 2012, Filiz vd. 2017).

Şekil 2.4'te Kuzey Kıbrıs'ın Kuzey-Batısında paragat yöntemi ile yakalanan bir *L. sceleratus* türünün midesinden çıkan 8 adet olta iğnesi gösterilmektedir.



Şekil 2.4. *L. sceleratus* midesinden çıkarılan olta iğneleri

Şekil 2.5'te Kuzey Kıbrıs'ın Güney-Doğusunda ağa yakalanmış olan balon balığının midesinden çıkarılan ağ ve balık parçaları gösterilmiştir.



Şekil 2.5. *L. sceleratus* midesinden çıkarılan ağ ve balık parçaları.

Şekil 2.4 - 2.5'e bakıldığında, balon balıklarının önlerine çıkan her türlü yemek fırsatını değerlendirdiği açıkça görülmektedir. Ayrıca midelerinden çıkan balıkçı ağları ve olta iğnelere bakıldığında ise çenelerinin ne kadar güçlü, dişlerinin ne kadar keskin olabildiği açıkça görülmektedir. Balık avının yapılabildiği tüm mevsimlerde balıkçıların bolca yakaladığı ve satamadığı bu balıklar, balıkçı ağlarına zarar vermekte ve balıkçıları ekonomik olarak zorlamaktadır.

2003 yılında yapılan çalışmalara göre; Kıbrıs Adası'nda bir yıl boyunca profesyonel balıkçılar tarafından yakalanan *L. sceleratus* türü, yıllık toplam yakalanan balık ağırlığının %5'ini oluştururken, 2008 yılında elde edilen verilerde bu oran %50'ye ulaşmıştır (Ulman vd. 2014).

2.1.3 *Lagocephalus sceleratus*'ta büyüme ve üreme dönemleri

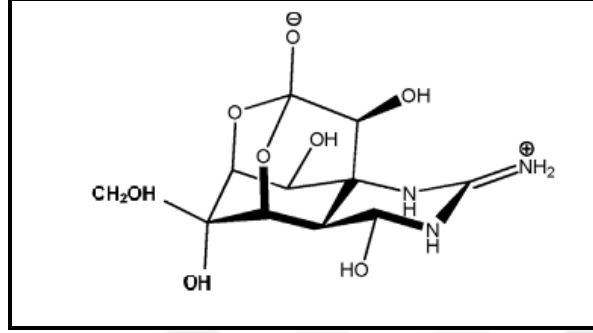
L. sceleratus türünde gelişim dönemleri; uzunlukları göz önünde bulundurularak 6 kısımda incelenmektedir (Khalaf vd. 2014).

1- Olgunlaşmamış (Immature)	: 0-10 cm
2- Gelişmekte olan (Developing)	: 10,1-20 cm
3- Üreyebilen (Spawning capable/Mature)	: 20,1-30 cm
4- Gerileyen (Regressing)	: 30,1-40 cm
5- Yenilenen (Regenerating)	: 40,1-50 cm
6- Olgun (Mature)	: 50,1-60 cm

L. sceleratus türü ömürlerinin üçüncü yılına doğru üreme olgunluğuna erişirler. 4. yıldan sonra büyümeleri yavaşlar (Aydın vd. 2011, Kalogirou vd. 2012, Khalaf vd. 2014). Üreme dönemleri ilkbahar sonundan yaz başına kadar olan aylar içerisinde (Aydın 2011). Bu dönemlerde gonad büyüklüklerinde gözle görülebilir bir artış gözlenir. Eylül ayında ise gonadlar küçülmeye başlar (Boustany vd. 2015). Akdeniz genelinde yapılan çalışmalarda ortalama dişi-erkek oranının 1:1'e çok yakın olduğu bulunmuştur (Khalaf vd. 2014).

2.1.4 *Lagocephalus sceleratus*'ta tetrodotoksin

Tetrodotoksin (TTX), protein yapıda olmayan organik bir bileşiktir (Sabrah 2006).



Şekil 2.6 Tetrodotoksin molekülünün yapısı (Pratheepa ve Vasconcelos 2013)

Moleküler formülü C₁₁H₁₇O₈N₃ olan ve 10'dan fazla analogu bulunan TTX; üç azot, bir pirimidin halkası içeren bir adet guadinyum grubu ve 6 hidroksil grubundan meydana gelir. Sıcaklığa karşı dirençli bir toksindir. Voltaj kapılı sodyum kanallarının dış yüzeyine bağlanan bu molekül; sinirsel iletiyi bozmakta, felç ve ölüme sebebiyet verebilmektedir.

TTX ilk olarak 1909 yılında Dr. Yoshizumi Tahora tarafından kirpi balığının gonadlarında keşfedilmiştir. Karasal ve denizel canlılarda bulunabilen bu toksinin, insanlar için Siyanürden 1000 kattan daha güçlü olduğu bilinmektedir. TTX'in bilinen bir antidotu bulunmamaktadır. TTX balon balığının yanı sıra; gastropodlar, semender, yengeçler, kurbağalar, deniz salyangozu, denizyıldızı, mavi halkalı ahtapot, kurdele solucanı ve bakterilerde de bulunabilir.

Balon balıkları TTX içeren besinleri tükettiklerinde; toksin ilk olarak karaciğere, oradan erkeklerde deriye, dişilerde gonadlara ve vücudun diğer kısımlarına difüzyon ile aktarılır. TTX'in biyolojik bozulumunun en yavaş olduğu organ gonadlardır. Gonadların diğer dokulardan daha toksik olmasının nedeninin gonadların bu özelliğinden kaynaklandığı düşünülmektedir (Bane vd. 2014).

TTX seyreltik asetik asetik içerisinde iyi bir şekilde; su, eter ve etanolde az miktarda çözülebilmektedir. Güçlü asit ve bazlar içerisinde ise yapısı bozulmaktadır (M.H. Evans 1969).

Mosher ve Fuhrman (1984)'e göre TTX bulunduran tüm organizmalar; vücutlarında simbiyotik olarak yaşayan ve TTX üreten mikroorganizmalar tarafından enfekte olmuşlardır. Bu durumda balon balığı gibi birçok TTX bulunduran canlılar toksini kendileri üretmemekte, besin zinciri yoluyla vücutlarına almaktadırlar.

Noguchi vd. (1986a,b)'de belirtildiği gibi; 1986 yılına gelinmeden *Atergatis floridus* isimli yengecin bağırsaklarından TTX üreten *Vibrio* cinsine ait 4 suş bakteri izole edilmiştir. Bunu takiben Yasumoto vd. (1986)'ya göre *Jania sp.* isimli denizel bir kırmızı alg türünden TTX üreten *Pseudomonas* türüne ait bakteriler izole edilmiştir. Bu türler ilk TTX üreten bakteriler olarak kayıtlara geçmiştir (Yu vd. 2004).

Vücutlarında TTX bulunduran canlılardan izole edilen, TTX üretiminden sorumlu bazı bakterilerin isimleri aşağıda verilmiştir:

Vibrio alginolyticus, *Vibrio parathaemolyticus*, *Pseudomonas sp.*, *Shewanella putrefaciens*, *Alteromonas sp.*, *Bacillus sp.*, *Acinetobacter sp.*, *Aeromonas sp.*, *Alcaligenes sp.*, *Flavobacterium sp.*, *Micrococcus sp.*, *Moraxella sp.*, *Actinomyces sp.*, *Caulobacter sp.*, *Plesiomonas sp.*, *Microbacterium arabinogactanolyticum*, *Serratia marcescens* (Yu vd. 2004),

Balon balıklarına ek olarak vücutlarında TTX bulunduran bazı canlılar çizelge 2.1'de verilmiştir.

Çizelge 2.1 Balon balıkları dışında vücutlarında TTX bulunduran bazı canlılar

Sınıf veya Şube	Tür
Gastropoda	<i>Charonia sauliae</i> , <i>Niotha clathrata</i> (Yu vd. 2004).
Amphibia	<i>Atergatis germaini</i> , <i>Brachycephalus ephippium</i> , <i>B. nodoterya</i> , <i>B. pernix</i> , <i>Notophtalmus viridescens</i> , <i>Cynops ensicauda popei</i> , <i>C. Pyrrhogaster</i> , <i>Triturus alpestris</i> , <i>Atelopus chriqueiensis</i> , <i>Polypedates sp.</i> (Bane vd. 2014).
Malacostraca	<i>Laphozozymus incisus</i> , <i>L. pictor</i> , <i>Demania cultripes</i> , <i>D. toxica</i> , <i>D. reynaudi</i> (Bane vd. 2014), <i>Atergatis floridus</i> (Yu vd. 2004).
Cephalopoda	<i>Hapalochlaena maculosa</i> (Yu vd. 2004), <i>Hapalochlaena fasciata</i> (Bane vd. 2014).
Merostostomata	<i>Carcinoscorpus rotundicauda</i> (Yu vd. 2004).
Florideophyceae	<i>Jania sp.</i> (Yu vd. 2004).
Echinoidea	<i>Meoma ventricosa</i> (Yu vd. 2004).
Asteroidea	<i>Astropecten polyacanthus</i> (Yu vd. 2004).
Pisces	<i>Yongeichthys criniger</i> , <i>Atelopus sp.</i> (Yu vd. 2004).
Chaetognatha	Ok solucanları (Yu vd. 2004).

Güçlü bir nörotoksin olan bu molekül; ısıtmaya karşı dirençli, suda çözülebilen bir moleküldür. Besin olarak tüketilmesi durumunda ciddi zehirlenme ve ölüm vakaları görülmektedir

Zehirlenme belirtileri:

- Dil ve dudaklarda uyuşma,
- Yüzde ve dudaklarda karıncalanma,
- Hafif baş dönmesi,
- Baş ve mide ağrısı,
- Mide bulantısı ve kusma,
- Bilinç kaybı,
- Solunumun durması ve kasılmalarıdır (Pratheepa ve Vasconcelos 2013).

Vücutlarında TTX bulunduran organizmalarda bu toksine karşı direnç gösterebilmelerini sağlayan mekanizmalar bulunmaktadır. Bunlar;

- Sodyum kanallarında bulunan birinci domain kısmının p-loop bölgesindeki aromatik aminoasit zincirinin, aromatik olmayan aminoasit zinciri ile yer değiştirmesi sonucu, sodyum kanallarının bloke olması engellenmektedir (Bane vd. 2014).

- Bu organizmalarda bulunan TTX bağlayıcı proteinin, TTX molekülüne bağlanması sonucu organizma toksinden etkilenmemektedir (Nagashima vd. 2002).

Tetrodoksın alım miktarına göre toksik seviyeler

Tetrodoksın zehirlenmeleri; vücuda alınan toksin miktarı ve kişinin vücut ağırlığı gibi faktörlere bağlı olarak değişiklik gösterebilmektedir. Fare Biyo-assayı ile yapılan çalışmalara göre toksin miktarları zehirlenme durumlarına göre sınıflara ayrılmıştır. Buna göre:

<10 MU/g toksik olmayan

≥10-99 MU/g Az derecede toksik

≥100-999 MU/g Orta derecede toksik

≥1000 MU/g Güçlü derecede toksik olarak belirlenmiştir.

Burada MU: Fare birimi (Mouse unit) olarak ifade edilmekte, 30 dakika içerisinde bir fareyi öldürebilecek zehir miktarını göstermektedir (Sabrah vd. 2006).

Ayrıca 50 kg ağırlığında bir insan için ölümcül olabilecek Tetrodotoksın miktarının 0,2 mg ile 2 mg arasında bir değer olduğu belirlenmiştir. Bu değerlere göre 0,2 mg, 1000 MU' ya denk gelmektedir (Katikou vd. 2009).

2.2 *Lagocephalus sceleratus* İstilasının Akdeniz'deki Güncel Durumu

L. sceleratus balıklarının Akdeniz'deki kayıtları şekil 2.7'de gösterilmiştir.



Şekil 2.7 *L. sceleratus* istilasının Akdeniz'deki kayıtları (Harita Google Earth'ten uyarlanmıştır)

- *L. sceleratus* Akdeniz'de ilk kez 2003 yılında Ege Denizinin Güney Doğu sahilinde Gökova Körfezi'nde, 15 metre derinlikte 45,9 cm uzunluğunda tek birey olarak görüldü (Filiz ve Er 2004, Akyol vd. 2005).
- Daha sonra 2004 yılı Eylül ayında Kemer/Antalya Körfezinde; 1 adet (Bilecenoglu vd. 2006), Ekim ayında aynı mevkide 38,9 cm uzunluğunda 1 adet birey görüldü (Golany ve Levy 2005).
- 2004 Kasım ve Şubat ayında Yafa/İsrail kıyısında 1'er adet (Golany ve Levy 2005),
- 2005 Mart ayında Bodrum'da, Mayıs ayında Adrasan (Antalya)'da olmak üzere 2'şer adet (Bilecenoglu vd. 2006), Haziran ayında Lübnan kıyılarında (Carpentireri vd. 2009),
- 2005 Temmuz ayında Girit (Heraklion)'de 9 metre derinlikte 1 adet (Kasapidis vd. 2007), Eylül ayında Rodos'ta (Corsini vd. 2006), Ekim ayında Kaş (Antalya)'da 1 adet (Bilecenoglu vd. 2006), Aralık ayında Girit (Georgiopolis)'de 30 metre derinlikte 1 adet (Kasapidis vd. 2006),
- 2006 Nisan ayında İzmir'de 1 adet (Bilecenoglu vd. 2006), Aralık ayında Girit (Elounda)'de 8 metre derinlikte 1 adet (Peristeraki vd. 2006)
- 2007 Şubat ayında 17 gün ara ile; Girit (Hersonissos)'de 9 metrede ve Midilli (Lesvos)'de olmak üzere 1'er adet, Mart ayında Girit'de 8 farklı bölgede; ortalama 20 metre derinlikte toplam 33 adet, Nisan ayında Ege denizi (Folegandros) ve Girit (Palaikostro Lasithiou)'de 1 adet (Peristeraki vd. 2007),

- 2008 Temmuz ayında Edremit körfezi (Behramkale) (Cakır vd. 2009),
- 2009 Aralık ayında Kuzey Ege’de (Minos vd. 2010),
- 2010 Aralık ayında Tunus (Gabes)’ta (Jribi ve Bradai 2012),
- 2012 Ekim ayında Jakljan Adası’nda (Dulcic vd. 2014),
- 2013 Mart ayında Tribinje’de (Dulcic vd. 2014), Ekim ayında İtalya (Lampedusa Adası)’da 20 metre derinlikte (Azurro vd. 2014), Aralık ayında Cezayir (El Kala)’de (Kara vd. 2015),
- 2014 Ocak ayında; Avola (Güney doğu İyon Denizi) (Kapiris vd. 2014) ve Annaba’da (Kara vd. 2015) olmak üzere kaydedilmiş ve günümüzde tüm Akdeniz kıyılarında görülmektedir.

2.2.1 Akdeniz’de bulunan balon balığı türleri

Akdeniz’de Tetraodontidae ailesine ait *L. sceleratus* dâhil olmak üzere, 8 adet balon balığı türü bulunmaktadır. Bunlar: *Lagocephalus spadiceus*, *Lagocephalus suzensis* (Katsanevakis vd. 2009), *Sphoeroides pachygaster* (Zenetos vd. 2005), *Lagocephalus lagocephalus*, *Ephippion guttifer*, *Torquigener flavimaculatus*, *Tylerius spinosissimus* (Goffredo ve Dubinsky 2013) türleridir.



Şekil 2.8 *Lagocephalus spadiceus* (Anonymous 2012)



Şekil 2.9 *Lagocephalus suzensis* (Anonymous 1997)



Şekil 2.10 *Sphoeroides pachygaster* (Anonymous 2009a)



Şekil 2.11 *Lagocephalus lagocephalus* (Anonymous 2009b)



Şekil 2.12 *Ehippion guttifer* (Anonymous 2011)



Şekil 2.13 *Torquigener flavimaculatus*



Şekil 2.14 *Tylerius spinosissimus* (Anonymous 1985)

2.3 ELİSA Tekniği

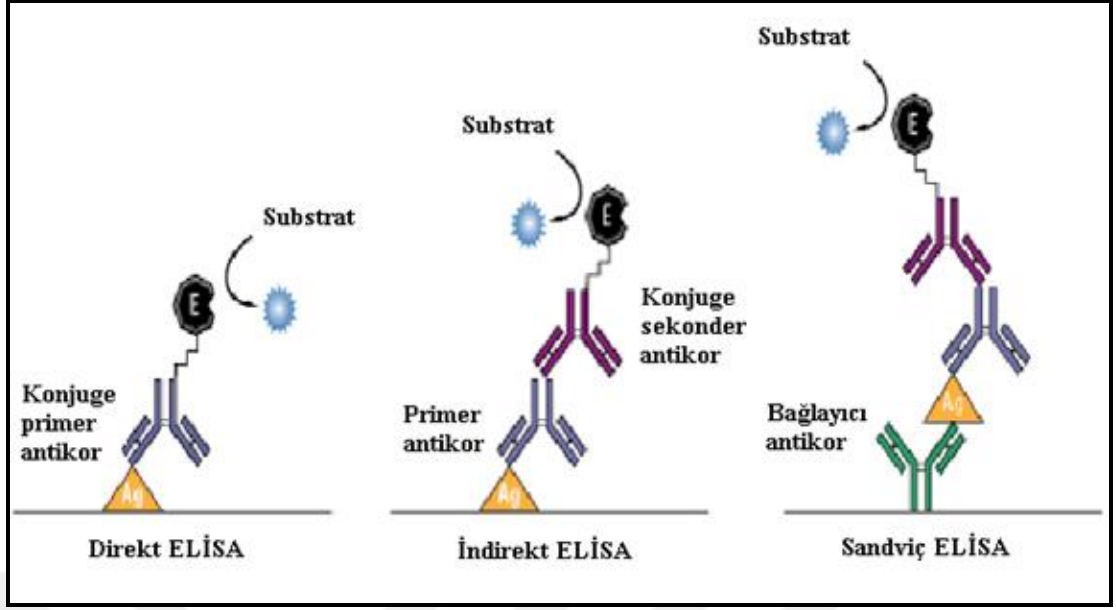
Enzim bağlı immünosorbent yöntemi (ELİSA); temelde immünolojik çalışma prensiplerine dayanmasına rağmen, birçok moleküler diyagnostik ve araştırma alanında kullanılan, bir örnek içerisindeki; antijen, antikor, protein, peptit veya hormonun varlığını belirlemek için kullanılan biyokimyasal bir tekniktir. Enzim immunoassay (EİA) olarak da bilinen bu teknik; tıp, bitki patolojisi ve gıda endüstrisi gibi birçok endüstride kullanılabilen bir teşhis yöntemidir.

ELİSA tekniğinin temel çalışma prensibi aşağıda verilmiştir:

Miktarı bilinmeyen bir antijen, kuyucuk denilen bir yzeeye yapıştırılır. Bunu takiben antijene özel bir antikor aynı yzeeye uygulanarak antijene bağlanması sağlanır. Bu antikor bir enzime bağlanır ve son aşamada substrat eklenerek sayılabilir bir ürün elde edilir. Bu rn genellikle substrat eklendikten sonra oluşan bir renk değişimidir ve bu renk değişimi spektrofotometre, fluometre, lminometre gibi cihazlarla ölçülür.

ELİSA tekniği birden fazla modifikasyon yapılarak değişik şekillerde uygulanabilir. ELİSA uygulamalarında kilit rol oynayan ilgilenilen antijen; test yüzeyine direkt veya bağlayıcı antikor yardımıyla indirekt olarak yapıştırılabilir. İlgilenilen antijen daha sonra direkt olarak işaretli primer antikorla bağlanarak veya indirekt olarak sekonder antikorla bağlanarak tespit edilebilir.

En güçlü ELİSA yöntemleri Sandviç ELİSA isimli modifikasyonlardır. Bu prosedürlerde ilgilenilen antijen iki adet bağlayıcı antikor arasında bulunur. Bunlardan birincisi bağlayıcı, diğerisi ise algılayıcı antikordur. Sandviç ELİSA yöntemleri çok hassas ve güçlü yöntemlerdir.



Şekil 2.15 Direkt, İndirekt ve Sandviç ELİSA yöntemleri (Anonymous 2017)

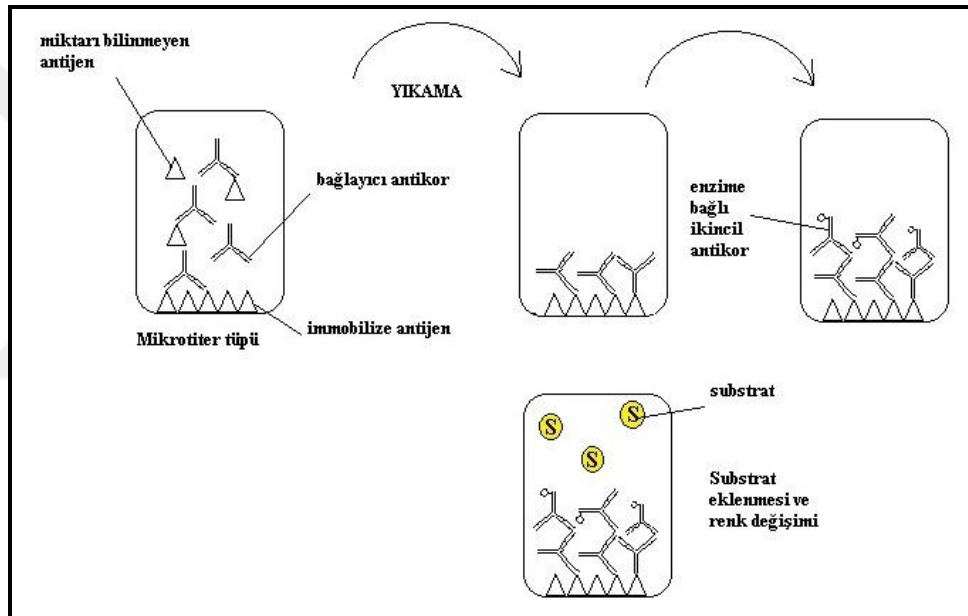
Çizelge 2.2 Direkt ve İndirekt ELİSA tekniklerinin karşılaştırılması (Anonymous 2017)

	Avantajları	Dezavantajları
Direkt ELİSA	<ul style="list-style-type: none"> • Bir antikor ve birkaç aşamadan oluştuğundan hızlıdır. • Sekonder antikor ile çapraz reaksiyon olma riski ortadan kalkmıştır. 	<ul style="list-style-type: none"> • Primer antikorun immüno-reaktivitesi, enzim bağlanırken olumsuz etkilenebilir. • Her ELİSA sistemi için primer antikorların işaretlenmesi pahalı ve zaman alıcıdır. • Primer antikorlar bir deneye özgüdür, diğer bir deney için kullanılabilme esneklikleri yoktur. • Belirleyici renk değişimi kısıtlıdır.
İndirekt ELİSA	<ul style="list-style-type: none"> • Ticari olarak temin edilebilen birçok işaretli sekonder antikor bulunmaktadır. • Bir test içerisinde birden fazla primer antikor ile tespit yapılabilir. • Primer antikor işaretli olmadığı için maksimum düzeyde immüno-reaktivite sağlanır. 	<ul style="list-style-type: none"> • Sekonder antikor ile çapraz-reaktivite sonucu hatalı sinyal oluşumu görülebilir. • İnkübasyon basamağı içerdiği için zaman alıcıdır.
İndirekt ELİSA	<ul style="list-style-type: none"> • Her primer antikorun, sekonder antikor ile bağlanabilecek birden fazla bölgesi olduğundan; belirleyici sinyalin gücü daha yüksektir. • Aynı primer antikora farklı görsel işaretleyiciler kullanılabilir. 	<ul style="list-style-type: none"> •

Antijenin boyutunun küçük olması ve bir antikor bağlama bölgesi (epitop) bulunması durumunda; ELİSA modifikasyonlarından biri olan Yarışmalı ELİSA yöntemi kullanılır. Bu yöntemde; antikor yerine saflaştırılmış işaretli antijen kullanılır. Analiz yapılan örnekten gelen işaretlenmemiş antijenler ile mevcut işaretli antijenler, bağlayıcı antikora bağlanmak için yarışır. Belirleyici renk değişimindeki azalma, analiz edilen örnek içerisindeki antijen miktarını belirler (Anonymous 2017).

Yarışmalı ELİSA yöntemi; İndirekt Yarışmalı ve Direkt Yarışmalı ELİSA olmak üzere iki modifikasyon ile çalışılmaktadır.

İndirekt yöntemde mikrotiter tüpüne önceden sabitlenmiş immobilize antijen ile analiz edilecek numunede bulunan, miktarı bilinmeyen antijenler; bu antijene spesifik bağlayıcı antikora bağlanmak için mücadele ederler. Belirli bir inkübasyon süresinden sonra yıkama işlemi yapılır ve immobilize antijene bağlanan antikörlerin haricindeki her şey sistemden uzaklaştırılır. Yıkama işleminden sonra enzime-bağlı ikincil antikor eklenir. Bağlanan antikörlerin miktarı oluşan renk değişimi ile ölçülür (Şekil 2.16).



Şekil 2.16 İndirekt Yarışmalı ELİSA'nın şematik özeti (Zhao vd. 2006)

Direkt yöntemde ise; mikrotiter tüpüne önceden sabitlenmiş immobilize antijen ile analiz edilecek numunede bulunan, miktarı bilinmeyen antijenler; ilgilenilen antijene spesifik enzim bağı antikorlara bağlanmak için rekabet ederler. substrat eklendikten sonra oluşan renk değişimi ölçülür. Burada temel fark enzim bağı antikörün sekonder bir antikora bağlanmadan direkt olarak eklenmesidir.

İki yöntemde de oluşan renk değişimi ile analiz edilen örnekteki ilgilenilen antijen miktarı ters orantılıdır (Zhao vd. 2006).

3 MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 Örnekleme Bölgeleri

Kuzey Kıbrıs denizlerini temsil edebilmek amacıyla; farklı akıntı ve dip yapısına sahip üç noktadan, mevsimsel olarak örnekleme yapılmıştır. Buna göre örnekleme bölgeleri aşağıdaki gibidir (Şekil 3.1).



Şekil 3.1 Kuzey Kıbrıs denizlerini temsilen örnekleme bölgeleri (Görüntü Google Earth'den uyarlanarak oluşturulmuştur)

3.2 Örneklerin Toplanması

Bir yıl boyunca İlkbahar, Yaz, Sonbahar ve Kış aylarında toplam 24 balık örneklenmiştir. Örneklenen balıklardan; her mevsim için dişi ve erkek balıklardan oluşmak üzere 4'er balık, toplamda 16 balık Gonadosomatik indeks hesaplama ve ELİSA testleri için seçilmiştir.

Örneklerin toplanması sırasında profesyonel ve amatör balıkçılardan yardım alınmıştır. Balıklar ağ, paragat ve spin yöntemleri ile balıkçılar tarafından yakalanmış; buz dolu

kaplar içerisinde laboratuvara getirilmiş (Şekil 3.2) ve -18°C 'ta dondurularak muhafaza edilmiştir.



Şekil 3.2 *L. sceleratus* türü balon balıklarının spin yöntemi ile yakalanması ve laboratuvara taşınmasında kullanılan buz dolu kap

3.3 Laboratuvarda Dondurulan Balıklardan Dokuların Alınması ve Gonadosomatik İndeksin (GSI) Hesaplanması

-18°C 'ta dondurulan balıklar, plastik poşetler içerisinde çeşme suyu altında bekletilmiş ve çözülmeleri sağlanmıştır. Çözdürülen her bir balık çeker ocak içerisinde alınmış, orada bulunduran 0,1 gr hassasiyetli laboratuvar terazisi ve 1 mm hassasiyetli metre ile boy-ağırlık ölçümleri yapılmıştır (Şekil 3.3).



Şekil 3.3 Balık örneklemelerinin yapıldığı çeker ocak ve diseksiyon

Boy-ağırlık ölçülerini takiben; balığın ventral bölgesinden peritona zarar vermeden, 21'lik bistüri yardımı ile çene kemiğinin altından, kloak açıklığına kadar kesi yapılmıştır. İç organların görülmesi ile birlikte dişi-erkek analizi makroskobik olarak yapılmıştır. Periton zarı iç organlara zarar vermeden açıldıktan sonra gonad, karaciğer, bağırsak, kas ve deri dokularından; her dokudan 10 gram olacak şekilde örnekleme yapılmış, 50 ml'lik falcon tüpler içerisine konulmuştur. Her bir doku için farklı bir bistüri ucu kullanılmıştır. Her tüp, balık numarası ve doku adı yazılarak kodlanmıştır. Karaciğer ve gonadların toplam ağırlıkları da ölçülmüştür. Her balık için; gonad ağırlığı ve total ağırlık verileri kullanılarak, gonadosomatik indeks ölçülmüştür. GSI olarak adlandırılan Gonadosomatik İndeks canlılarda üreme döneminin belirlenmesinde önemli rol oynamaktadır. GSI ölçümü için aşağıdaki formülden yararlanılmıştır.

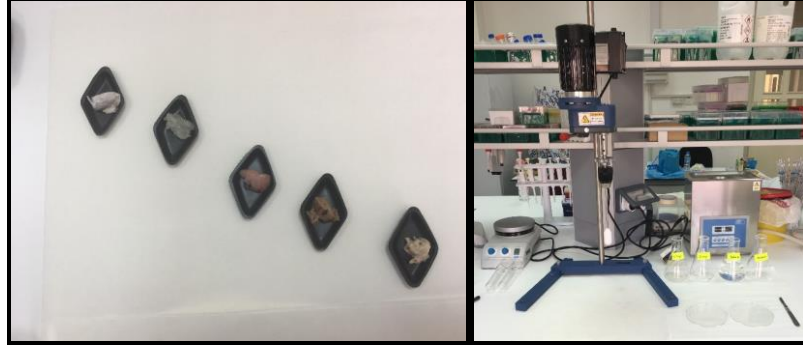
$$\%GSI = \text{Gonad ağırlığı} / \text{Vücut ağırlığı} \times 100 \quad (\text{Rousou vd. 2014})$$

GSI verilerinin hesaplanmasından sonra, Aydın (2011)'de belirtilen uzunluk-yaş verileri kullanılarak yaklaşık yaş tahminleri yapılmış ve not edilmiştir.

Mide içerikleri petri kabı içerisinde distile su ile yıkandıktan sonra makroskobik olarak incelenmiş ve sonuçlar kaydedilmiştir. Artan dokular tıbbi atık poşetlerine konulup, tıbbi atık çöpüne atılmıştır.

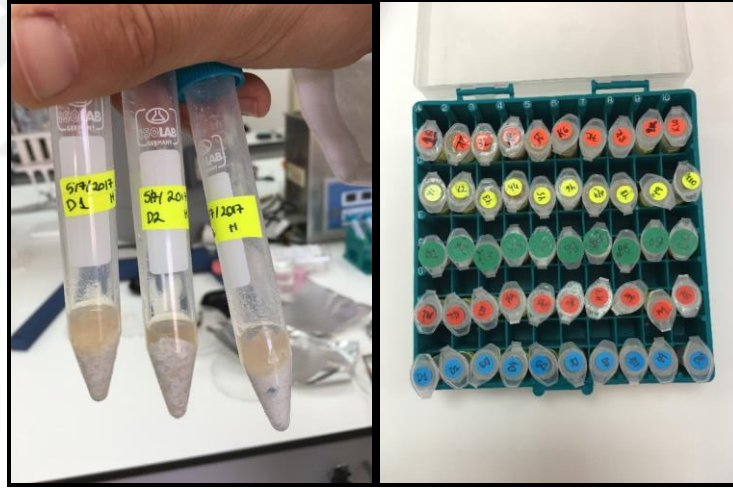
3.4 Dokuların Homojenize Edilmesi ve Tetrodotoksin Ekstraksiyonu

Hedeflenen örnek sayısına ulaşıldıktan sonra 50 ml'lik falcon tüpler içerisinde saklanan her dokudan 2'şer gram hassas terazi kullanılarak tartılmış ve bistüri yardımı ile küçük parçalara ayrılmıştır. Parçalanan her doku şekil 3.4'te gösterilen homojenizatör yardımı ile 400 rpm de homojenize edilmiş ve önceden etiketlenmiş 15 ml'lik falcon tüpler içerisine alınmıştır.



Şekil 3.4 Her bir dokudan 2'şer gramlık örnekler ve homojenizatör cihazı

15 ml'lik falcon tüpler içerisine 1'er ml distile su eklendikten sonra 3'er dakika vorteks işlemine tabi tutulmuşlardır. Vorteks işleminden sonra tüpler 10 dakika 4000 rpm hızda santrifüj edilmiş, süpernatant kısımları Şekil 3.5'teki 2 ml'lik ependorf tüplerine alınarak, -18°C sıcaklıkta saklanmıştır.



Şekil 3.5 Santrifüj edildikten sonra süpernatant kısımlarının görünümü ve -18°C 'ta 2 ml'lik ependorf tüplerde saklandıkları kutu

3.5 ELİSA Prosedürü

Dört mevsim örnekleme ve homojenizasyon prosedürleri tamamlandıktan sonra; Sonbahar-Kış Mevsimleri ve İlkbahar-Yaz Mevsimleri için toplamda iki TTX ELİSA Test Kiti kullanılmıştır.

3.5.1 Örneklerin ELİSA prosedürü için hazırlanması

-18°C sıcaklıkta saklanan homojenizatlar, oda sıcaklığında bekletilerek çözümleri sağlanmıştır. Çözülme takiben her örnekten 600 µl alınarak 1,5 ml'lik önceden etiketlenmiş ependorf tüplere aktarılmış ve üzerlerine kit içerisinde bulunan tampon solüsyondan (sample treatment buffer) 200µl eklenmiştir.

Her numune için kullanılacak olan kuyucukların konumları önceden belirlenmiş ve kaydedilmiştir.

Tüpler iyice çalkalandıktan sonra her tüpten 50 µl alınarak ELİSA plakasındaki kuyucuklara transfer edilmiştir. Her örnek için yan yana iki ayrı kuyucuk kullanılmıştır. Kit içerisinde bulunan 6 adet standart çift kuyucuk kullanılarak eklenmiştir. Tüm numuneleri kuyucuklara ekledikten sonra her kuyucuk içerisine 50 µl antikor çözeltisi (antibody solution) eklenmiştir.

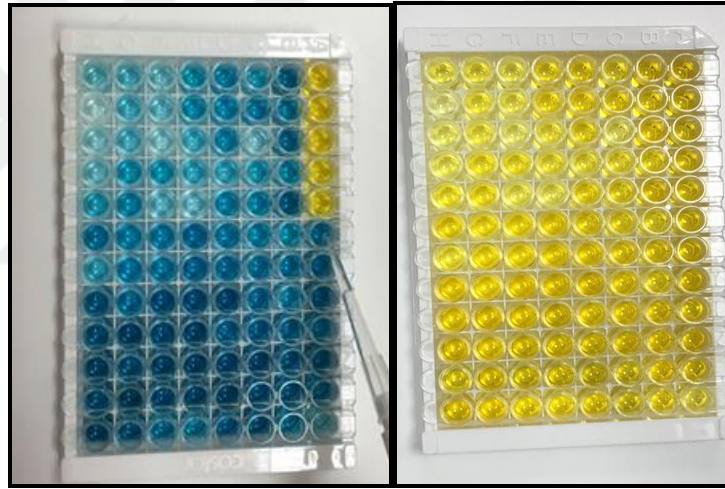
ELİSA plakası yavaşça daireler çizilerek çalkalanmış ve içeriklerin karışması sağlanmıştır. ELİSA plakası üzeri strafor ile örtülerek ışık görmeyen kuvöz içerisinde 25°C sıcaklıkta 15 dakika inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrasında ELİSA plakası atık kabı içerisine ters çevrilerek fazla içeriğin dökülmesi sağlanmıştır.

Kit içerisinde bulunan derişik yıkama solüsyonu 9:1 oranında distile su ile seyreltilmiştir. Toplamda 400 ml'lik yıkama solüsyonu hazırlanmıştır. Geniş bir kap içerisine alınan yıkama solüsyonundan, 8 uçlu mikropipet kullanılarak 250 µl çekilerek ELİSA plakasındaki kuyucuklara eklenmiştir. 10 saniye bekledikten sonra ELİSA plakası atık kabına ters çevrilerek dökülmüş ve yıkama işlemi 5 kez tekrarlanmıştır.

Son yıkama işleminden sonra ELİSA plakası emici kâğıt üzerine ters çevrilerek kalan yıkama solüsyonunun uzaklaştırılması sağlanmıştır.

Kit içerisinde bulunan enzim konjugatı (enzyme conjugate) çözeltisinden 100 µl alınarak her bir kuyucuk içerisine eklenmiştir. Plaka hafifçe sallandıktan sonra üzeri strafor ile örtülmüş ve 25°C sıcaklıkta kuvöz içerisinde 15 dakika inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrasında içerikler atık kutusu içerisine plaka ters çevrilerek dökülmüş ve yıkama prosedürü tekrarlanmıştır.

Substrat A ve Substrat B solüsyonlarından sırayla 50'şer µl alınıp kuyucuklara eklenmiştir. ELİSA plakası üstü örtülerek kuvöz içerisinde 25°C sıcaklıkta 20 dakika inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrasında her kuyucuk içerisine kit içerisinde bulunan durma çözeltisinden (stop solution) 50 µl eklenmiştir. Plaka yavaşça çalkalanarak içeriklerin karışması sağlanmıştır (Şekil 3.6).



Şekil 3.6 ELİSA plakasının durma çözeltisi eklerken ve ekledikten sonraki görünümü

Tüm kuyucuklara aynı işlem uygulandıktan sonra ELİSA cihazı çift dalga boyu 450/630 nm'ye ayarlanarak, plakalar okutulmuştur.

ELİSA cihazı yardımı ile plakalar okutulduktan sonra sonuçlar kaydedilmiştir. Konsantrasyonları bilinen 6 adet standardın absorbans değerleri kit prosedüründe verilen formül yardımıyla % Absorbans değerine dönüştürülmüştür.

Buna göre;

$$\% \text{ Absorbans} = B/B_0 \times 100 \text{ olarak verilmiştir.}$$

Bu formülde:

B: Standardın ortalama absorbans değeri,

B₀: 0ppb olan standardın ortalama absorbans değerini ifade etmektedir.

Standartların konsantrasyonları sırası ile 0 ppb, 2 ppb, 5 ppb, 15 ppb, 45 ppb ve 135 ppb olarak verilmiştir. Standartların konsantrasyonları ve bulunan % Absorbans değerleri kullanılarak standart eğri çizilmiştir. Standart eğrisi çizilirken konsantrasyonlar X eksenine, absorbans değerleri ise Y eksenine yazılmıştır. Standart eğri sonrasında bulunan formül, konsantrasyonu bilinmeyen diğer örneklerin absorbans değerlerine uygulanmış, çıkan sonuçlar seyreltme faktörü olan “2” ile çarpılarak konsantrasyonlar hesaplanmıştır.

Seyreltme Faktörünün Hesaplanması

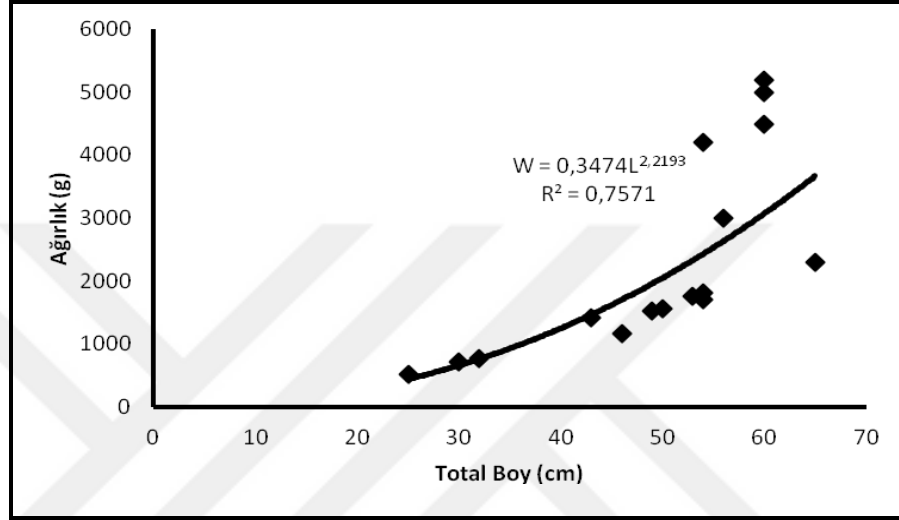
Her doku için tartılan 2 gr doku yaklaşık 2 ml’ye denk gelmektedir. Bunun üzerine 1 ml distile su eklenmiştir. Bu durumda toplam 3 ml karışım elde edilmiştir ve seyreltme faktörü 3/2 olmuştur. Daha sonra süpernatanttan alınan 600 µl üzerine 200 µl tampon çözelti eklenmiş ve seyreltme faktörü 4/3 olmuştur. Bu durumda toplam seyreltme faktörü $3/2 \times 4/3 = 2$ olarak hesaplanmıştır.

3.6 Verilerin İstatistikî Açından Değerlendirilmesi

Araştırmanın analizlerinden elde edilen veriler IBM SPSS sürüm 22 istatistik programı kullanılarak değerlendirilmiştir. Balon balıklarının dokularının TTX verilerinin değerlendirilmesi için istatistik analizi öncesinde bütün verilerin ayrılıklar yönünden kontrolü (Z değerine göre) ve varyansın homojenliği test (Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi) edilmiştir. Gruplar (yaş ve mevsim) arasındaki farklılık “Tek yönlü varyans analizi” (One-way Anova) yardımı ile belirlenmiştir.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

Yapılan çalışmada incelenen 16 adet *L. sceleratus* bireylerinin yaşları II-VI arasındadır. Bunun yanısıra incelenen bireylerde en küçük total boy 25 cm, en büyük total boy 65 cm; en düşük ve en yüksek ağırlık ise sırasıyla 518 g ile 5.200 g'dır (Şekil 4.1)



Şekil 4.1 *L. sceleratus*'un boy-ağırlık ilişkisi

Çalışmada, sonbahar, kış, ilkbahar ve yaz aylarında yakalanan tüm balıkların total boy ve ağırlıkları, gonad ağırlığı, %GSİ değerleri, mide içeriği ve kas, karaciğer, gonad, bağırsak ve deri dokularında bulunan tetrodotoksin seviyeleri belirlenmiştir.

4.1 Gonadosomatik İndeks (GSİ)

Çalışmada yaşlara ve mevsimlere göre elde edilen GSİ değerleri çizelge 4.1 - 4.2'de verilmiştir.

Çizelge 4.1 incelendiğinde en yüksek gonadosomatik indeks (GSİ) değeri erkeklerde 11,2 olarak V. yaş grubunda; dişilerde 10,8 olarak II. ve V. yaş gruplarında hesaplanmıştır.

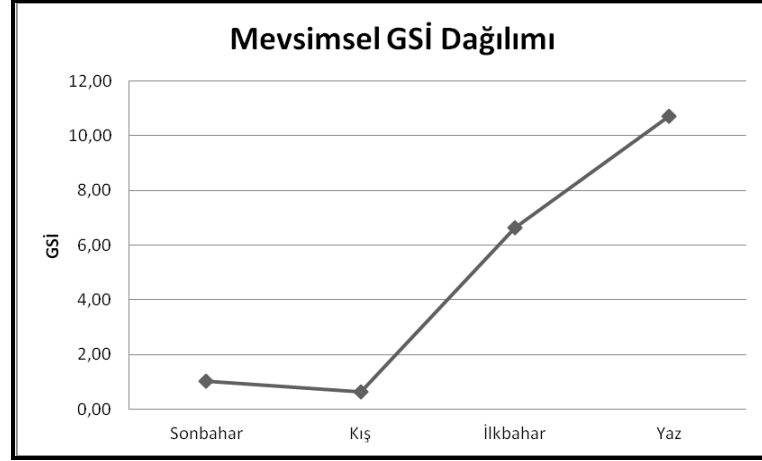
Çizelge 4.1 *L. sceleratus*'un yaşlara göre G.S.İ (%) değerleri

Yaş	Cinsiyet	Ağırlık (gr)	Gonad Ağırlığı (gr)	Gonadsız Ağırlık (gr)	%GSI
II	♀	518	7	511	1,4
II	♂	771	4,7	766,3	0,6
II	♂	720	3,7	716,3	0,5
IV	♂	1413	51	1362	3,6
IV	♀	1170	126	1044	10,8
V	♂	1697	13,5	1683,6	0,8
V	♀	1556	11,4	1544,6	0,7
V	♀	1757	169	1588	9,6
V	♀	3000	196	2804	6,5
V	♀	4200	206	3994	4,9
V	♀	1810	196	1614	10,8
V	♂	1523	170	1353	11,2
VI	♀	2300	29,8	2270,2	1,3
VI	♀	4500	39	4461	0,9
VI	♀	5000	21,9	4978,1	0,4
VI	♀	5200	300	4900	5,8

Gonadosomatik indeks değerlerinin mevsimsel değişimi incelendiğinde, en yüksek değerler yaz döneminde, en düşük değerler ise kış döneminde hesaplanmıştır (Çizelge 4.2; Şekil 4.2).

Çizelge 4.2 *L. sceleratus*'un mevsimlere göre G.S.İ (%) değerleri

Mevsim	Cinsiyet	Ağırlık (gr)	Gonad Ağırlığı (gr)	Gonadsız Ağırlık (gr)	%GSI
Sonbahar	♂	1697	13,5	1683,6	0,8
Sonbahar	♀	2300	29,8	2270,2	1,3
Sonbahar	♀	518	7	511	1,4
Sonbahar	♂	771	4,7	766,3	0,6
Kış	♀	4500	39	4461	0,9
Kış	♀	5000	21,9	4978,1	0,4
Kış	♀	1556	11,4	1544,6	0,7
Kış	♂	720	3,7	716,3	0,5
İlkbahar	♀	1757	169	1588	9,6
İlkbahar	♀	3000	196	2804	6,5
İlkbahar	♂	1413	51	1362	3,6
İlkbahar	♀	4200	206	3994	4,9
Yaz	♀	5200	300	4900	5,8
Yaz	♀	1810	196	1614	10,8
Yaz	♀	1170	126	1044	10,8
Yaz	♂	1523	170	1353	11,2



Şekil 4.2 *L. sceleratus*'da mevsimsel olarak hesaplanan ortalama GSİ değerleri

Şekil 4.2 incelendiğinde, GSİ değerlerinin İlkbahar–Yaz aylarında ciddi ölçüde arttığı görülmektedir. Bu artışın *L. sceleratus* türünün ilkbahar-yaz mevsiminde üreme döneminde olmasından kaynaklı olduğu düşünülmektedir.

4.2 *Lagocephalus sceleratus*'ta Mide İçeriği

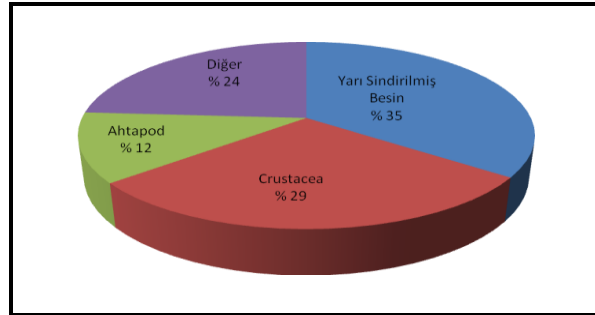
Bir yıl boyunca yakalanan toplam 24 adet *L. sceleratus* türünün tümü, dokularına ayrılmış ve mide doluluk oranlarına bakılmış. Ayrıca mide içerikleri distile su içerisinde yıkandıktan sonra diseksiyon mikroskobu altında incelenmiştir.

Çizelge 4.3'de incelenen örneklerdeki mide dolulukları ve mide içerikleri listelenmiştir. Bu verilere bakıldığında; incelenen balıkların midelerinin %58,3'ünün dolu, %41,6'sının boş olduğu görülmüştür. Dolu olan midelerin %42,8'ini “Yarı sindirilmiş balık parçaları”, %35,7'sini “Crustacea türleri”, %28,5'ini “Balıkçı malzemeleri” ve %14,2'sini “ahtapotlar” oluşturmaktadır.

Çizelge 4.3 İncelenen *L. sceleratus* bireyelerinin mide içerikleri

Balık (n)	Mide İçeriği	Yakalama Tekniği
1	Boş	Spin
2	İpek misina	Spin
3	Yarı sindirilmiş Crustacea parçaları	Spin
4	Yarı sindirilmiş Crustacea parçaları	Spin
5	Yarı sindirilmiş Crustacea parçaları	Spin
6	Ahtapot, kalamar ve denizati parçaları	Spin
7	Boş	Spin
8	Boş	Spin
9	Balık ağı ve yarı sindirilmiş balıklar	Ağ
10	Yarı sindirilmiş balık parçaları	Ağ
11	Balık ağı ve yarı sindirilmiş balıklar	Ağ
12	Denizati parçaları	Ağ
13	Boş	Spin
14	Yarı sindirilmiş balık parçaları	Paragat
15	8 adet olta iğnesi ve tavuk göğsü	Paragat
16	Boş	Ağ
17	Ahtapot parçaları	Spin
18	Boş	Spin
19	Boş	Ağ
20	Boş	Ağ
21	3 adet balık başı ve 1 adet balık omurgası	Ağ
22	Balık kuyruğu	Paragat
23	Boş	Spin
24	Boş	Spin

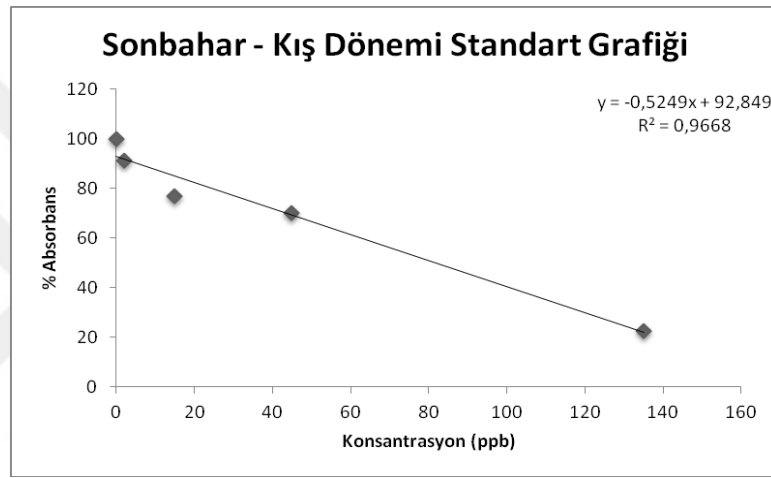
Şekil 4.3 incelendiğinde *L. sceleratus* türünün besininin büyük bir bölümünü yarı sindirilmiş balık parçalarının oluşturduğu görülmektedir. Bu balıkların büyük bir kısmı ağ içerisine sarılı olarak bulunmuştur. Diğer adı altında verilen kısım balıkçı malzemeleri ile birlikte elde edilen verileri içermektedir.



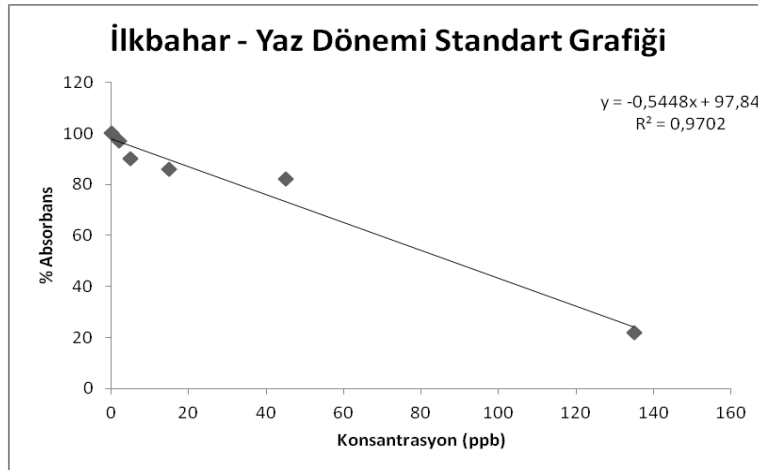
Şekil 4.3 *L. sceleratus*'un mide içeriklerinin % dağılımları

4.3 *Lagocephalus sceleratus*'ta Mevsimsel Tetrodotoksin Seviyeleri

Sonbahar, kış, ilkbahar ve yaz aylarında Kuzey Kıbrıs'ın üç farklı bölgesinden yakalanan 24 adet *L. sceleratus* bireyinin 16 adetinde tetrodotoksin seviyeleri araştırılmıştır. Bu amaçla 16 bireyin karaciğer, gonad, bağırsak, kas ve deri dokularında İndirekt Yarışmalı Enzim Bağlı İmmünoassay yöntemi ile Tetrodotoksin seviyeleri analiz edilmiştir. Sonuçların hesaplanmasında kullanılan Standart Grafikleri aşağıda verilmiştir (Şekil 4.4 - 4.5).



Şekil 4.4 Sonbahar – Kış dönemine ait verilerin hesaplanmasında kullanılan Standart Grafik



Şekil 4.5 İlkbahar – Yaz dönemine ait verilerin hesaplanmasında kullanılan Standart Grafik

Çizelge 4.4’de Kuzey Kıbrıs denizlerinde yakalanan *L. sceleratus* türünün mevsimsel toksisite değerleri µg/g cinsinde gösterilmektedir. TTX seviyelerinin sonbahar – kış aylarında, ilkbahar – yaz aylarına oranla nispeten daha düşük olduğu görülmektedir. İlkbahar mevsiminin gelmesi ile birlikte ise TTX seviyelerinde gözle görülür bir artış saptanmıştır. Tüm organlar için toksisitenin en yüksek olduğu mevsim ise yaz mevsimi olarak belirlenmiştir.

Çizelge 4.4 *L. sceleratus*’ta mevsimsel TTX seviyelerinin µg/g biriminde değerleri

	Balık #	Cinsiyet	Karaciğer TTX	Gonad TTX	Bağırsak TTX	Kas TTX	Deri TTX
SONBAHAR	1	♂	0,03	0,13	0,06	0,00	0,00
	2	♀	0,04	0,10	0,08	0,01	0,00
	3	♀	0,07	0,13	0,10	0,04	0,00
	4	♂	0,09	0,13	0,07	0,05	0,02
KİŞ	5	♀	0,14	0,11	0,07	0,01	0,00
	6	♀	0,13	0,15	0,07	0,00	0,00
	7	♀	0,15	0,04	0,04	0,00	0,01
	8	♂	0,08	0,08	0,00	0,00	0,00
İLKBAHAR	9	♀	0,14	0,31	0,34	0,34	0,35
	10	♀	0,32	0,31	0,27	0,29	0,31
	11	♂	0,23	0,34	0,10	0,20	0,26
	12	♀	0,34	0,34	0,33	0,34	0,34
YAZ	13	♀	0,32	0,33	0,34	0,35	0,34
	14	♀	0,34	0,32	0,34	0,34	0,35
	15	♀	0,31	0,31	0,28	0,30	0,32
	16	♂	0,33	0,34	0,35	0,33	0,34

L. sceleratus’un kas, karaciğer, bağırsak, gonad ve derisindeki dokularda analiz edilen TTX seviyeleri mevsimsel olarak istatistiksel açıdan değerlendirildiğinde, ilkbahar ve yaz mevsiminde farklı dokuların TTX düzeyleri arasında istatistiksel bir farklılık bulunmazken; sonbahar ve kış mevsimlerinde elde edilen değerlerin istatistiksel açıdan önemli olduğu bulunmuştur ($p<0,05$) (Çizelge 4.5).

Çizelge 4.5. *L. sceleratus*'un çeşitli dokularında mevsimlere göre tespit edilen TTX seviyelerinin ($\mu\text{g/g}$) istatistiksel açıdan değerlendirilmesi

Mevsim	Karaciğer $\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$	Gonad $\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$	Bağırsak $\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$	Kas $\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$	Deri $\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$
İlkbahar	0.26±0.05 ^{b,x}	0.33±0.01 ^{b,x}	0.26±0.05 ^{b,x}	0.30±0.03 ^{b,x}	0.32±0.02 ^{b,x}
Yaz	0.33±0.01 ^{b,x}	0.33±0.01 ^{b,x}	0.33±0.02 ^{b,x}	0.33±0.01 ^{b,x}	0.34±0.01 ^{b,x}
Sonbahar	0.06±0.02 ^{a,xy}	0.13±0.01 ^{a,z}	0.08±0.01 ^{a,y}	0.03±0.01 ^{a,x}	0.01±0.01 ^{a,x}
Kış	0.13±0.02 ^{a,z}	0.10±0.02 ^{a,yz}	0.05±0.02 ^{a,y}	0.00±0.00 ^{a,x}	0.00±0.00 ^{a,x}

$\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$: ortalama±standart hata

L. sceleratus'un kas, karaciğer, bağırsak, gonad ve derisindeki dokularda analiz edilen TTX seviyeleri yaşlara göre istatistiksel açıdan değerlendirildiğinde, II. yaş grubu hariç diğer yaş gruplarına ait dokuların TTX düzeyleri arasında istatistiksel farklılık bulunmamaktadır ($p>0.05$). II. yaş grubunun kas ve deri dokuları ile karaciğer ve gonad dokuları arasında istatistiksel bir farklılık bulunmuştur ($p<0.05$). Farklı yaş gruplarının karaciğer, bağırsak ve kas dokularının TTX düzeyleri arasında istatistiksel farklılık bulunmamıştır ($p>0.05$). Gonad ve deri dokularının farklı yaşlardaki TTX düzeyleri arasında ise istatistiksel açıdan farklılığın önemli olduğu bulunmuştur ($p<0.05$) (Çizelge 4.6).

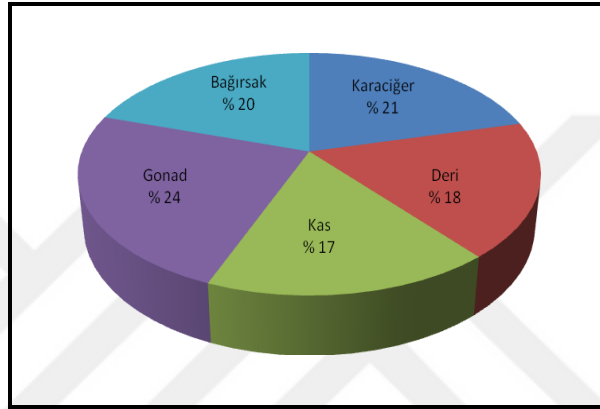
Çizelge 4.6 *L. sceleratus*'un çeşitli dokularında yaşlara göre tespit edilen TTX seviyelerinin ($\mu\text{g/g}$) istatistiksel açıdan değerlendirilmesi

Yaş	Karaciğer $\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$	Gonad $\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$	Bağırsak $\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$	Kas $\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$	Deri $\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$
II	0.08±0.01 ^{a,y}	0.11±0.02 ^{a,y}	0.06±0.03 ^{a,xy}	0.03±0.02 ^{a,x}	0.01±0.01 ^{a,x}
IV	0.27±0.04 ^{a,x}	0.33±0.02 ^{b,x}	0.19±0.09 ^{a,x}	0.25±0.05 ^{a,x}	0.29±0.03 ^{b,x}
V	0.24±0.05 ^{a,x}	0.26±0.05 ^{ab,x}	0.25±0.05 ^{a,x}	0.23±0.06 ^{a,x}	0.24±0.06 ^{ab,x}
VI	0.16±0.06 ^{a,x}	0.17±0.05 ^{ab,x}	0.14±0.07 ^{a,x}	0.09±0.09 ^{a,x}	0.09±0.09 ^{ab,x}

$\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$: ortalama±standart hata

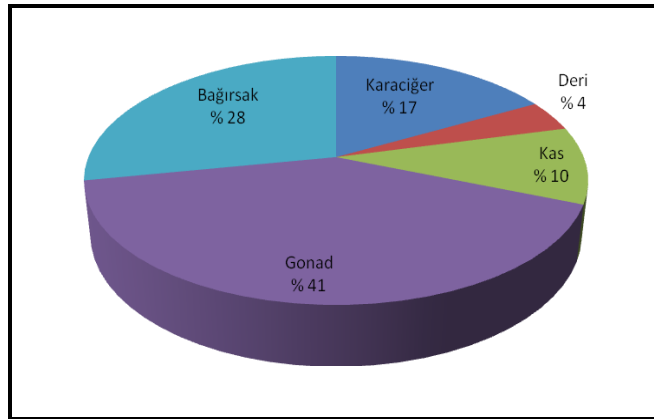
TTX seviyeleri açısından istatistiksel açıdan cinsiyete bağlı önemli farklılık bulunmamıştır.

İncelenen 16 adet bireyin her dokusu için bulunun değerlerin ortalaması alınarak tüm mevsimler genelinde TTX'in dokular arası dağılımı hesaplanmıştır (Şekil 4.6). Buna göre dokularda bulunan TTX miktarlarının sıralamasının Gonad>Karaciğer>Bağırsak>Deri>Kas şeklinde olduğu görülmektedir.



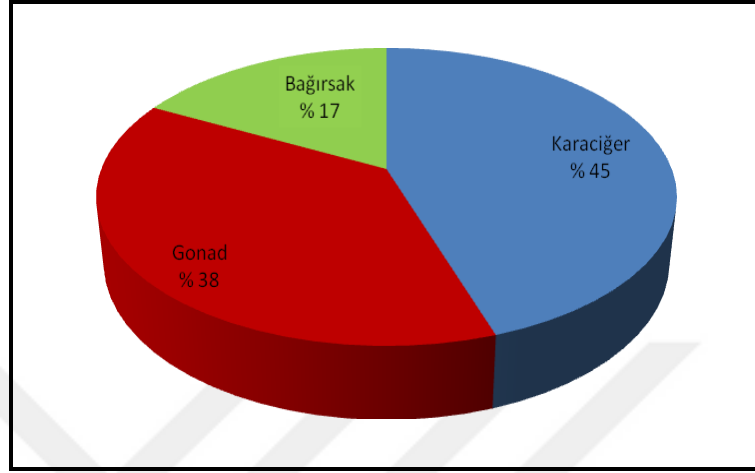
Şekil 4.6 *L. sceleratus*'ta genel TTX dağılımı

Şekil 4.7'de Sonbahar mevsimine ait TTX dağılımı verilmektedir. Bu durumda toksisitenin; Gonad>Bağırsak>Karaciğer>Kas>Deri şeklinde olduğu görülmektedir.



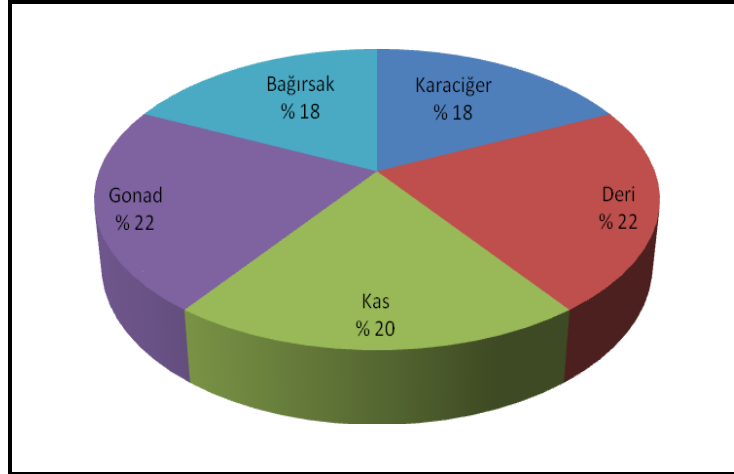
Şekil 4.7 *L. sceleratus*'ta sonbahar dönemi TTX dağılımı

Şekil 4.8’de Kış mevsimine ait TTX dağılımı verilmektedir. Toksikite dağılımının; Karaciğer>Gonad>Bağırsak>Kas=Deri şeklinde olduğu, bu mevsime ait kas ve deri dokularında TTX bulunmadığı gözlenmektedir.



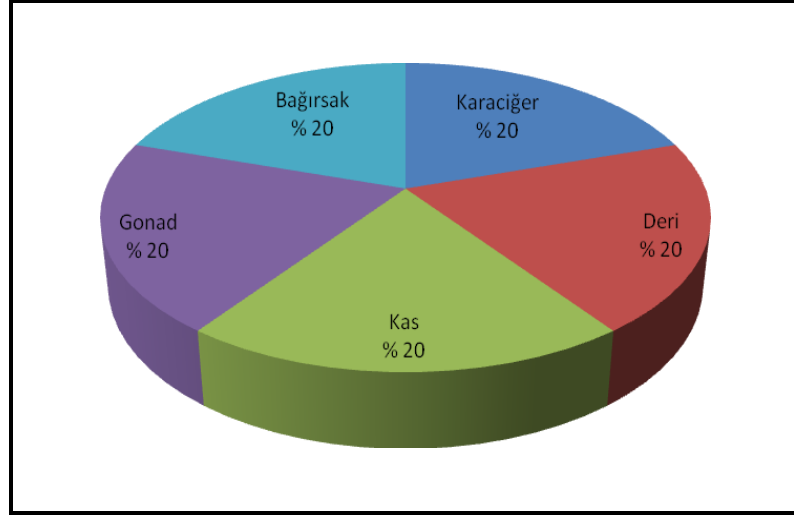
Şekil 4.8 *L. sceleratus*'ta kış dönemi TTX dağılımı

Şekil 4.9’da İlkbahar mevsimine ait TTX dağılımları verilmektedir. Toksikite dağılımının; Gonad>Deri>Kas>Karaciğer=Bağırsak şeklinde olduğu, Kış mevsimine nazaran kas ve deri dokularındaki TTX miktarının önemli ölçüde arttığı görülmektedir.



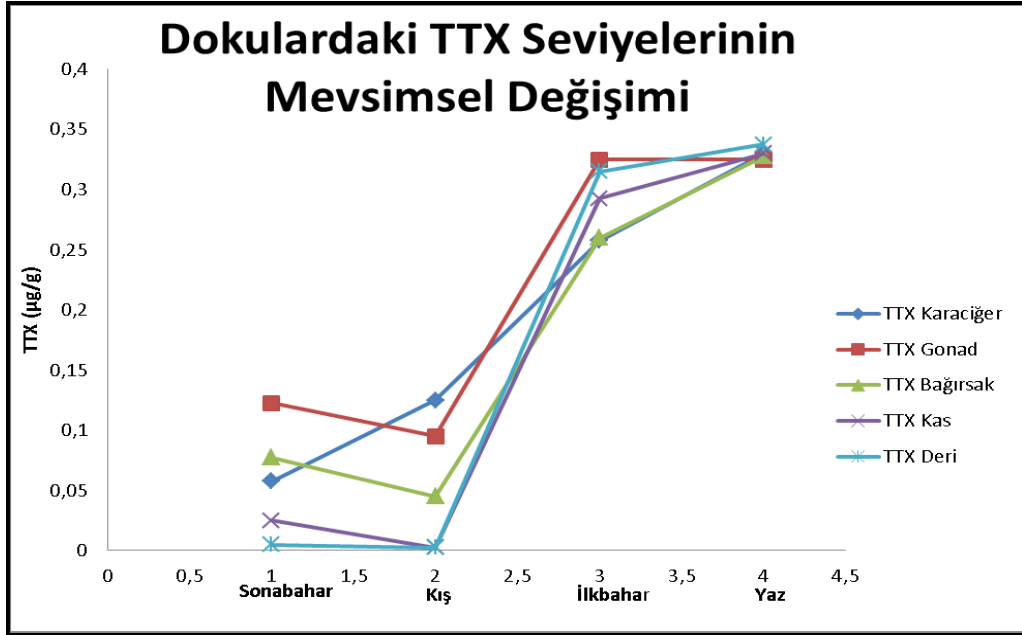
Şekil 4.9 *L. sceleratus*'ta ilkbahar dönemi TTX dağılımı

Şekil 4.10’da Yaz mevsimine ait TTX dağılımları verilmektedir. Toksikite dağılımının; Deri>Kas=Bağırsak=Gonad=Karaciğer şeklinde olduğu, tüm dokuların TTX seviyelerinin aynı seviyeye ulaştığı görülmektedir.



Şekil 4.10 *L. sceleratus*'ta yaz dönemi TTX dağılımı

L. sceleratus'un incelenen dokulardaki TTX seviyelerinin mevsimsel değişimleri incelendiğinde, karaciğer hariç tüm dokulardaki TTX seviyelerinde sonbahardan kışa doğru genel bir azalma olduğu bulunmuştur. Bununla birlikte, tüm dokulardaki TTX seviyelerinde ilkbahar döneminde hızlı bir artış olduğu tespit edilmiştir. Yaz aylarında ise gonadlardaki TTX seviyeleri aynı kalmış, ancak diğer dokulardaki TTX seviyelerinde hafif bir artış saptanmıştır (Şekil 4.11).



Şekil 4.11 *L. sceleratus*'un dokularındaki TTX seviyelerinin mevsimsel değişimi

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

1869 yılında ticaret yolunu kısaltmak ve güvence altına almak için; Kızıl Deniz ile Akdeniz arasında Süveyş Kanalı'nın açılması ile birlikte, Kızıl Deniz ve Akdeniz arasında karşılıklı olarak biyolojik bir göç yaşanmıştır. Bu göç sırasında Akdeniz'e; ekonomik değere sahip birçok türün yanı sıra, ekonomik ve ekolojik açıdan zararlı birçok tür de göç etmiştir (Schøyen ve Bråthen 2011).

Akdeniz'e Kızıl Denizden göç eden; ekonomik ve ekolojik açıdan zararlı olan türler arasında en yaygın olanı *L. sceleratus* türü olup, birçok bilimsel çalışmanın konusunu oluşturmuştur. Özellikle balıkçı malzemelerine zarar vermeleri, vücutlarında toksin bulundurmaları ve Akdeniz'e çok iyi adapte olup hızlı çoğalmaları popülaritelerinin temelini oluşturmaktadır.

L. sceleratus türünün Kuzey Kıbrıs denizlerine 2000 yılında geldiği ve 2008 yılında yakalanan toplam balık kütlelerinin %50'sini oluşturduğu; balıkçılardan alınan yıllık yakalama oranlarına bakılarak ortaya çıkmıştır (Ulman vd. 2015). Balığın toksisitesi ile ilgili devlet kuruluşları tarafından yapılan tüm uyarılara rağmen, halktan edinilen bilgilere göre; bazı yerel balıkçıların bu türü yakaladığı ve gıda olarak tükettiği bilinmektedir. Kıbrıs için birkaç zehirlenme vakası da mevcuttur (Anonymous 2016).

Kuzey Kıbrıs denizlerinde bulunan ve en yaygın balon balığı türü olan *L. sceleratus* hakkında detaylı bilgi toplanması, toksisitesinin bilinmesi ve halkın bilinçlendirilmesi bu tez çalışmasının temelini oluşturmuştur.

Çizelge 5.1'de *L. sceleratus* türüne ait mevsimsel olarak hesaplanan GSİ değerlerinin literatürdeki diğer çalışmalar ile karşılaştırılması verilmiştir. Veriler değerlendirildiğinde, balıklarda GSİ değerlerinin sonbahar-kış mevsiminde minimum, ilkbahar-yaz mevsimlerinde maksimum düzeyde olduğu belirlenmiştir. Bu durum *L. sceleratus* türünün ilkbahar-yaz mevsiminde üreme dönemine girdiğini göstermektedir. Bu sonuçların mevcut tez çalışması verileri ile uyumlu olduğu bulunmuştur.

Çizelge 5.1 Mevsimsel %GSİ değerlerinin önceki çalışmalarla karşılaştırılması

Araştırmacı	Tarih	Bölge	Minimum ortalama %GSİ aralığı	Mevsim
Sabrah vd.	2006	Süveyş	0,0-1,0	Sonbahar-Kış
			3,0-8,0	İlkbahar-Yaz
EASTMED-4	2010	Kıbrıs	0,0-1,0	Sonbahar-Kış
			4,5-7,5	İlkbahar-Yaz
Aydın M.	2011	Türkiye	0,0-1,0	Sonbahar-Kış
			1,0-1,2	İlkbahar-Yaz
Khalaf vd.	2014	Lübnan-Suriye	0,0-1,0	Sonbahar-Kış
			6,0-7,0	İlkbahar-Yaz
Rousou vd.	2014	Güney Kıbrıs	0,0-1,0	Sonbahar-Kış
			7,0-8,0	İlkbahar-Yaz
Özbay T.	2015	Mersin Körfezi	0,0-1,0	Sonbahar-Kış
			1,0-1,2	İlkbahar-Yaz
Boustany vd.	2015	Lübnan	0,0-2,0	Sonbahar-Kış
			7,0-10,0	İlkbahar-Yaz
Bu çalışma	2017	Kuzey Kıbrıs	0,0-2,0	Sonbahar-Kış
			6,5-11,0	İlkbahar-Yaz

Çizelge 5.2’de *L. sceleratus* türünün mide içerikleri literatürdeki çalışmalar ile karşılaştırıldığında, mide içeriklerinin benzer olduğu bulunmuştur. Bununla birlikte, balığın yavaş yüzen türleri avlama konusunda, diğer türlere nazaran daha baskın olduğu düşünülmektedir. Balığın biyolojik özellikleri göz önünde alındığında, bu beklenen bir durumdur.

Çizelge 5.2 *L. sceleratus*’ta mide içeriklerinin literatürle karşılaştırılması

Araştırmacı	Tarih	Bölge	Crustacea	Mollusca	Balık	Echinodermata	Balıkçı malzemesi
Sabrah vd.	2006	Süveyş	25,0%	70,0%	5,0%	0,0%	0,0%
EASTMED-4	2010	Kıbrıs	7,3%	4,5%	27,0%	0,2%	8,6%
Aydın M.	2011	Türkiye	71,0%	4,0%	14,0%	11,0%	
Boustany vd.	2015	Lübnan	15-20%	15,0%	30-40%	0,0%	10-15%
Bu çalışma	2017	Kuzey Kıbrıs	35,7%	14,2%	42,8%	0,0%	28,5%

Balıkçı malzemeleri göz önüne alındığında ise Kuzey Kıbrıs denizlerinde avlanan *L. sceleratus* türünün diğer bölgelere oranla daha baskın olduğu görülmektedir. Yapılan tez çalışmasında elde edilen balık yeme oranı %42,8 olarak bulunmuş olsa da, bunların büyük bir bölümü balıkçı ağına sarılı bir biçimde bulunmuştur. Bu da balıkçılığa verilen zararın %28,9’den daha fazla olduğunun bir göstergesidir.

Kuzey Kıbrıs denizlerinin ana karadan oldukça uzak olması ve doğal bariyerlerin yeni balık girişlerini kısıtlaması, tür çeşitliliği ve miktarını baskılamakta ve ortamda diğer bölgelere nazaran daha az besin bulunmasına sebep olmaktadır. Balon balıklarının balıkçılara diğer bölgelerden daha fazla zarar vermesinin, ortamda sınırlı miktarda besin bulunması olduğu düşünülmektedir.

Tüm bu sonuçlar; Kuzey Kıbrıs'ta mevcut tüm balon balıklarının çeşitli biyolojik, davranışsal, fiziksel parametrelerinin ve TTX miktarlarının belirlenmesinin önemini vurgulamaktadır. Bu bağlamda mevcut tez çalışması Kuzey Kıbrıs'ta bir ilk olmakla birlikte, gelecekteki çalışmaların da önünü açmıştır.

Katikou vd. (2009)'da, Ege Denizi'nde yaptıkları çalışmada ELİSA yöntemi kullanılarak; Kasım-Aralık ayları arasındaki dönemde yakalanan *L. sceleratus* türü balon balıklarında TTX düzeyleri analiz edilmiştir.

Toplamda altı balıktan beş farklı doku analiz edilmiştir. Kullanılan 3 balık üreme olgunluğuna ulaşmamış juvenil formlardır ve gonadları bulunmamaktadır. Toksin seviyelerine bakıldığında büyük balıklarda daha yüksek miktarda toksin bulunduğu görülmekte, en küçük iki balıkta ise tüm dokularındaki toksin seviyelerinin; toksik limitin² altında olduğu görülmektedir. Çalışılan dokulardaki ortalama toksin miktarları büyükten küçüğe doğru sırasıyla; Gonad=85,95 µg/g, Bağırsak=75,44 µg/g, Karaciğer=39,49 µg/g, Kas=4,79 µg/g, Deri=3,79 µg/g şeklindedir. Bu çalışma yalnızca Kasım-Aralık dönemini yansıtmakta olup, *L. sceleratus* türü balon balıklarının üreme dönemi olan İlkbahar-Yaz dönemini kapsamamaktadır. Bu da Ege Bölgesi için toksisite açısından genel bir yargıya varılmasını zorlaştırmaktadır.

Man vd. (2010)'da, Temmuz-Şubat ayları arasında Malezya'da yaptıkları çalışmada; Gaz kromatografisi-kütle spektrometresi (GC-MS) yöntemi kullanılarak *L. sceleratus* türü balon balıklarında TTX seviyeleri kontrol edilmiştir. Araştırmacılar yalnızca kas dokusu üzerinde çalışmışlardır. Kas dokusunda $1,71 \pm 0,28$ µg/g TTX bulunduğunu

² Toksik limit Sabrah vd. (2006)'da $2,2$ µg/g olarak belirlenmiştir.

tespit etmişlerdir. Bu değer önceden belirlenen toksik limitin altında olup, türün en toksik olduğu üreme dönemini kısmen kapsamaktadır. Bu durum da Malezya suları açısından genel bir vargıya varılmasını zorlaştırmaktadır.

Rodriguez vd. (2011)'de, Ekim-Aralık ayları arasında Ege Denizi'nde yaptıkları çalışmada; Sıvı Kromatografisi- Kütle Spektrometresi (LC-MS) yöntemini kullanarak *L. sceleratus* türü balon balıklarında TTX seviyelerini analiz etmişlerdir.

Toplamda altı balıktan beş doku analiz edilmiştir. Kullanılan ilk üç örnek, henüz üreme olgunluğuna ulaşmamış balıklardan oluşmakta ve bu yüzden gonadları bulunmamaktadır. Tüm dokulardaki en yüksek toksin seviyesi en büyük boyuta sahip olan örnekte bulunmuş olup değerler; gonad=46,3 µg/g, karaciğer=44,15 µg/g, bağırsak=37,6 µg/g, kas=3,47 µg/g, deri=1,4 µg/g şeklindedir. Balıkların aynı olgunlukta olmaması ve yalnızca sonbahar dönemine ait olmaları; toksisitenin dokular arası ilişkisi ve Ege Denizi'nin genel durumunu hakkında yorum yapılmasını zorlaştırmaktadır. Ayrıca mevcut verilere bakıldığında dokular arasında toksisite açısından belirgin bir ilişki de görülmemektedir.

Azman vd. (2014)'de Malezya'da yaptıkları çalışmada; LC-MS yöntemi kullanılarak *L. sceleratus*'ta tetrodotoksin miktarı analiz edilmiştir. Örneklerin hangi mevsimlerde toplandıkları hakkında bir bilgi verilmemiştir. Karaciğer, kas ve deri dokularında sırasıyla; 24,7 µg/g, 30 µg/g ve 0,51 µg/g TTX bulunmuştur. Bu sonuçlar Man vd. (2010)'da kas dokusunda buldukları 1,71 µg/g sonucu ile çelişmektedir. Kullanılan analiz yönteminin farklı olması, farklı sonuçların bulunmasında etken olabilir. Bununla birlikte Tetrodotoksin sıvı halde bulunan ve uçucu olmayan bir toksindir. Bu yüzden Gaz kromatografisi yöntemi Sıvı kromatografisi yöntemine göre daha az güvenilir sonuçlar verebilir.

Köşker vd. (2016)'da Mersin Körfezi'nde yaptıkları çalışmada, MBA (Fare biyodenyi) ve LC-MS yöntemlerini kullanarak; *L. sceleratus*'ta TTX seviyelerini belirlemişlerdir.

MBA yönteminde kas dokusunun tüm mevsimlerde toksik limitin altında olduğu görülmekte ve LC-MS sonuçları da bunu desteklemektedir. Her iki yöntem ile en toksik dokunun gonad olduğu ve en toksik dönemin sonbahar mevsimi olduğu belirlenmiştir.

Bu dönemde gonadlardaki ortalama TTX seviyesinin; MBA yönteminde 13,93 µg/g, LC-MS yönteminde ise 22,99 µg/g olduğu bulunmuştur. MBA yönteminde; Kış, İlkbahar ve Yaz aylarında erkek balıkların gonadlarının toksik limitin altında olduğu, fakat LC-MS yönteminde İlkbaharda erkek balıkların gonadlarının da toksik olduğu görülmektedir.

TTX miktarı açısından, dokular arasında tüm mevsimlerin ortalamasına bakıldığında; Gonad>Karaciğer>Bağırsak>Deri>Kas şeklinde bir ilişki görülmektedir. Bu genel dağılım tez çalışması sonuçlarını desteklemektedir.

Çizelge 5.3 *L. sceleratus*'ta TTX miktarlarının literatürle karşılaştırılması

Araştırma	Bölge	Yöntem	Mevsim	K.C TTX	G.D TTX	B.S TTX	Kas TTX	Deri TTX
Katikou vd. 2009	Ege Denizi	ELİSA	Sonbahar/ Kış	39,49 µg/g	85,95 µg/g	75,44 µg/g	4,79 µg/g	3,79 µg/g
Man vd. 2010	Malezya	GC-MS	Yaz/Kış	V.Y	V.Y	V.Y	1,71 µg/g	V.Y
Rodriguez vd. 2011	Ege Denizi	LC-MS	Sonbahar/ Kış	9,78 µg/g	16,9 µg/g	11,78 µg/g	0,96 µg/g	0,59 µg/g
Azman vd. 2014	Malezya	LC-MS	V.Y	24,7 µg/g	V.Y	V.Y	30 µg/g	0,51 µg/g
Köşker vd. 2016	Mersin Körfezi	MBA/ LC-MS	Sonbahar	0,4 µg/g	22,99 µg/g	0,7 µg/g	0,28 µg/g	1,09 µg/g
			Kış	39,77 µg/g	17,14 µg/g	2,76 µg/g	0,97 µg/g	1,36 µg/g
			İlkbahar	0,48 µg/g	3,38 µg/g	0,35 µg/g	0,22 µg/g	0,88 µg/g
			Yaz	6,52 µg/g	16,48 µg/g	2,28 µg/g	0,04 µg/g	1,16 µg/g
Bu çalışma	Kuzey Kıbrıs	ELİSA	Sonbahar	0,05 µg/g	0,12 µg/g	0,08 µg/g	0,03 µg/g	0,01 µg/g
			Kış	0,12 µg/g	0,1 µg/g	0,05 µg/g	0 µg/g	0 µg/g
			İlkbahar	0,26 µg/g	0,33 µg/g	0,26 µg/g	0,29 µg/g	0,32 µg/g
			Yaz	0,33 µg/g	0,33 µg/g	0,33 µg/g	0,33 µg/g	0,34 µg/g

K.C=Karaciğer, G.D=Gonad, B.S=Bağırsak, V.Y=Veri yok

Literatürdeki tüm çalışmalarda *L. sceleratus* türü balon balıklarında belirli dönemlerde, belirli dokuların toksik limitin üzerinde olduğu görülmektedir. Ege Denizi'nde benzer dönemlerde, aynı çeşit dokular çalışılmış ve farklı sonuçlar bulunmuştur. Bu da farklı yöntemlerin farklı sonuçlar verebildiğini göstermektedir. Ayrıca balık büyüklüğünün de toksisite miktarını etkilediği Sabrah (2006)'da verilmiştir. Güvenilir veriler elde etmek için kullanılacak balıkların ebatlarını, cinsiyetlerini ve analiz metodunu dikkatli belirlemek önem taşımaktadır.

Mevcut tez çalışmasında bazı dokuların bazı dönemlerde diğerlerinden daha toksik olduğu görülmüş olsa da, bulunan tüm değerlerin toksik limitin altında olması dikkat çekmektedir. Bölüm 2.1.4'te belirtilen TTX üretiminden sorumlu bazı bakterilerin Kuzey Kıbrıs denizlerinde bulunup bulunmadığı hakkında mevcut bir bilgi bulunmamaktadır.

Bu çalışmada bulunan TTX miktarlarının diğer çalışmalara göre oldukça düşük olmasının nedeninin; TTX üreten bakterilerin ve TTX vektörlerinin çevresel koşullar nedeni ile Kıbrıs'a göç edememiş veya uygun ortam koşulları bulamayıp Akdeniz'deki diğer bölgelerdeki yoğunluğa ulaşamamış olmaları, buna bağlı olarak da *L. sceleratus* türünün besin zinciri ile daha az TTX içeren gıda tüketmesi olduğu düşünülmektedir. Bu konunun netlik kazanabilmesi için bakteriyolojik çalışmaların yapılması önerilir.

TTX molekülü ve üretici bakteriler, deniz dibindeki sedimentlerde ve vektörlerin bağırsaklarında bulunabilmektedirler (Pratheepa ve Vasconcelos 2013). TTX üreten bakterilerin Kuzey Kıbrıs'ta bulunup bulunmadığının bakteriyel testler yapılarak anlaşılması gerekmektedir. Ayrıca Bölüm 2.1.4'te verilen *L. sceleratus* türü dâhil diğer TTX vektörlerinin de Kıbrıs sularında bulunup bulunmadığı araştırılmalıdır.

Mevcut tez çalışmasında İndirekt Yarışmalı Enzim Bağlı İmmünoassay yöntemi ile mevsimsel TTX seviyeleri belirlenmiş; mevsimler ve dokular arası farklılıklar olduğu bulunmuştur. Literatürdeki çalışmalar incelendiğinde; benzer mevsimlerde farklı yöntemler kullanıldığında farklı sonuçlara ulaşılabilirdiği görülmüştür. Kuzey Kıbrıs denizlerinde bulunan *L. sceleratus* türü balon balıklarının toksisitesi ile ilgili genel bir yargıya varılmadan önce farklı yöntemler kullanılarak sonuçların güvenilirliğinin artırılması önerilmektedir.

KAYNAKLAR

Akyol, O., Ünal, V., Ceyhan, T. and Bilecenoglu, M. 2005. First confirmed record of *Lagocephalus sceleratus* (Gmelin, 1789) in the Mediterranean Sea. *Journal of Fish Biology* 66 (4): 1183-1186. DOI: 10.1111/j.0022-1112.2005.00667.x

Anonymous. 1985. Web Sitesi:

<http://www.fishbase.org/photos/PicturesSummary.php?ID=8072&what=species>.

Erişim Tarihi: 19.12.2017.

Anonymous. 1997. Web Sitesi:

<http://www.fishbase.org/photos/PicturesSummary.php?ID=55076&what=species>.

Erişim Tarihi: 19.12.2017.

Anonymous. 2009. Web Sitesi:

https://www.researchgate.net/figure/237812553_fig2_Figure-2-Sphoeroides-pachygaster-captured-off-the-Algerian-coast-scale-bar-50-mm.

Erişim Tarihi: 19.12.2017.

Anonymous. 2009. Web Sitesi:

<http://www.fishbase.org/photos/PicturesSummary.php?StartRow=3&ID=4292&what=species&TotRec=8>.

Erişim Tarihi: 19.12.2017.

Anonymous. 2011. Web Sitesi:

<http://www.fishbase.org/photos/ThumbnailsSummary.php?Genus=Ephippion&Species=guttifer>.

Erişim Tarihi: 19.12.2017.

Anonymous. 2012. Web Sitesi:

<http://www.fishbase.org/photos/ThumbnailsSummary.php?Genus=Lagocephalus&Species=spadiceus#>.

Erişim Tarihi: 19.12.2017.

Anonymous. 2015. Web Sitesi: <https://www.youtube.com/watch?v=mNkMCUX29co>.

Erişim Tarihi: 19.12.2017.

Anonymous. 2016. Web Sitesi: <http://cyprus-mail.com/2016/04/14/mother-son-critical-condition-eating-poisonous-fish>.

Erişim Tarihi: 19.04.2018.

- Anonymous. 2017. Web Sites: <https://www.thermofisher.com/us/en/home/life-science/protein-biology/protein-biology-learning-center/protein-biology-resource-library/pierce-protein-methods/overview-elisa.html>. Erişim Tarihi: 19.12.2017.
- Aydın, M. 2011. Growth, reproduction and diet of pufferfish (*Lagocephalus sceleratus* Gmelin, 1789) from Turkey's Mediterranean Sea coast. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 11(4).
- Azman, A. M. N., Samsur, M. and Othman, M. 2014. Distribution of tetrodotoxin among tissues of pufferfish from Sabah and Sarawak waters. *Sains Malaysiana*, 43(7), 1003-1011.
- Azzurro, E., Castriota, L., Falautano, M., Giardina, F. and Andaloro, F. 2014. The silver-cheeked toadfish *Lagocephalus sceleratus* (Gmelin, 1789) reaches Italian waters. *Journal of Applied Ichthyology* 30 (5) 1050-1052. DOI: 10.1111/jai.12471
- Bane, V., Lehane, M., Dikshit, M., O'Riordan, A. and Furey, A. 2014. Tetrodotoxin: Chemistry, toxicity, source, distribution and detection. *Toxins*, 6(2), 693-755.
- Bentur, Y., Ashkar, J., Lurie, Y., Levy, Y., Azzam, Z. S., Litmanovich, M and Eisenman, A. 2008. Lessepsian migration and tetrodotoxin poisoning due to *Lagocephalus sceleratus* in the eastern Mediterranean. *Toxicon*, 52(8), 964-968.
- Bilecenoglu, M., Kaya, M. and Akalin, S. 2006. Range expansion of silverstripe blaasop, *Lagocephalus sceleratus* (Gmelin, 1789), to the northern Aegean Sea. *Aquatic Invasions*, 1(4), 289-291.
- Bilge, G., Filiz, H., Yapıcı, S. and Tarkan, A. S. 2017. How can be decided the true invasion potential: Applying Aquatic Species Invasiveness Screening Kit (AS-ISK) for Lessepsian fishes., II. Workshop on Invasive Species – global meeting on invasive ecology', September 27–29, Oral presentation, Bodrum, Turkey.
- Boustany, L., El Indary, S. and Nader, M. 2015. Biological characteristics of the Lessepsian pufferfish *Lagocephalus sceleratus* (Gmelin, 1789) off Lebanon. *Cah. Biol. Mar*, 56, 137-142.
- Carpentieri, P., Lelli, S., Colloca, F., Mohanna, C., Bartolino, V., Moubayed, S. and Ardizzone, G. D. 2009. Incidence of lessepsian migrants on landings of the artisanal fishery of south Lebanon. *Marine Biodiversity Records*, 2.

- Corsini, M., Margies, P., Kondilatos, G. and Economidis, P. S. 2006. Three new exotic fish records from the SE Aegean Greek waters. *Scientia Marina* 70 (2): 319-323. DOI: 10.3989/scimar.2006.70n2319
- Dulcic, J., Dragicevic, B., Antolovic, N., Sulic-Sprem, J., Kozul, V. and Grgicevic, R. 2014. Additional records of *Lobotes surinamensis*, *Caranx crysos*, *Enchelycore anatina*, and *Lagocephalus sceleratus* (Actinopterygii) in the Adriatic Sea. *Acta Ichthyologica et Piscatoria* 44 (1): 71-74. DOI: 10.3750/AIP2014.44.1.09
- EastMED, F. A. O. 2010. Report of the sub-regional technical meeting the lessepsian migration and its impact on eastern Mediterranean fishery. Nicosia, Cyprus, December, 5-7.
- Evans, M. H. 1969. Mechanism of saxitoxin and tetrodotoxin poisoning. *British medical bulletin*, 25(3), 263-267.
- Farrag, M. M., Soliman, T. B., Akel, E. S. K. A., Elhaweet, A. A. and Moustafa, M. A. 2015. Molecular phylogeny and biometrics of lessepsian puffer fish *Lagocephalus sceleratus* (Gmelin, 1789) from Mediterranean and Red Seas, Egypt. *The Egyptian Journal of Aquatic Research*, 41(4), 323-335.
- Feely, R. A., Sabine, C. L., Hernandez-Ayon, J. M., Ianson, D. and Hales, B. 2008. Evidence for upwelling of corrosive "acidified" water onto the continental shelf. *science*, 320(5882), 1490-1492.
- Filiz, H. ve Er, M. 2004. Akdenizin yeni misafiri (New guests in the Mediterranean Sea). *Deniz Magazin (Istanbul)*, 68, 52-54.
- Filiz, H., Yapıcı, S. and Bilge, G. 2017. The Factors Increasing of Invasiveness Potential of Five Pufferfishes in the Eastern Mediterranean, Turkey. *Natural and Engineering Sciences*, 2(3), 22-30.
- Goffredo, S. and Dubinsky, Z. (Eds.). 2013. *The Mediterranean Sea: Its history and present challenges*. Springer Science & Business Media.
- Golani, D. and Levy, Y. 2005. New records and rare occurrences of fish species from the Mediterranean coast of Israel. *Zoology in the Middle East* 36 (1): 27-32. DOI: 10.1080/09397140.2005.10638124

- Jribi, I. and Bradai, M. N. 2012. First record of the Lessepsian migrant species *Lagocephalus sceleratus* (Gmelin, 1789)(Actinopterygii: Tetraodontidae) in the Central Mediterranean. *Bioinvasions records*, 1(1), 49-52.
- Kalogirou, S. 2013. Ecological characteristics of the invasive pufferfish *Lagocephalus sceleratus* (Gmelin, 1789) in the eastern Mediterranean Sea—a case study from Rhodes. *Mediterranean Marine Science*, 14(2), 251-260.
- Kapiris, K., Apostolidis, C., Baldaconi, R., Basusta, N., Bilecenoglu, M., Bitar, G., Bobori, D. C., Boyaci, Y. Ö., Dimitriadis, C., Djurovic M., Dulcic J., Durucan, F., Gerovasileiou, V., Gökoglu, M., Koutsoubas, D., Lefkaditou, E., Lipej, L., Markovic, O., Mavric, B., Özvarol, Y., Pesic, V., Petriki, O., Siapatis, A., Sini, M., Tibullo, D. and Tiralongo, F. 2014. New Mediterranean marine biodiversity records (April, 2014). *Mediterranean Marine Science* 15 (1): 198-212. DOI: 10.12681/mms.737
- Kara, M.H., Ben-Lamine, E. and Francour, P. 2015. Range expansion of an invasive pufferfish, *Lagocephalus sceleratus* (Actinopterygii: Tetraodontiformes: Tetraodontidae), to the south-western Mediterranean. *Acta Ichthyol. Piscat.* 45 (1): 103-108.
- Kasapidis, P., Peristeraki, P., Tserpes, G. and Magoulas, A. 2007. First record of the lessepsian migrant *Lagocephalus sceleratus* (Gmelin 1789)(Osteichthyes: Tetraodontidae) in the Cretan sea (Aegean, Greece). *Aquatic invasions*, 2(1), 71-73.
- Katikou, P., Georgantelis, D., Sinouris, N., Petsi, A. and Fotaras, T. 2009. First report on toxicity assessment of the Lessepsian migrant pufferfish *Lagocephalus sceleratus* (Gmelin, 1789) from European waters (Aegean Sea, Greece). *Toxicon*, 54(1), 50-55.
- Katsanevakis, S., Tsiamis, K., Ioannou, G., Michailidis, N. and Zenetos, A. 2009. Inventory of alien marine species of Cyprus(2009). *Mediterranean Marine Science*, 10(2), 109-133.
- Khalaf, G., Saad, A., Jemaa, S., Sabour, W., Lteif, M. and Lelli, S. 2014. Population structure and sexual maturity of the pufferfish *Lagocephalus sceleratus* (Osteichthyes, Tetraodontidae) in the Lebanese and Syrian marine waters (Eastern Mediterranean). *Journal of Earth Science and Engineering*, 4(4).

- Kosker, A. R., Özogul, F., Durmus, M., Ucar, Y., Ayas, D., Regenstein, J. M. and Özogul, Y. 2016. Tetrodotoxin levels in pufferfish (*Lagocephalus sceleratus*) caught in the Northeastern Mediterranean Sea. *Food chemistry*, 210, 332-337.
- Man, C. N., Noor, N. M., Harn, G. L., Lajis, R. and Mohamad, S. 2010. Screening of tetrodotoxin in puffers using gas chromatography–mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1217(47), 7455-7459.
- Milazzo, M., Azzurro, E. and Badalamenti, F. 2012. On the occurrence of the silverstripe blaasop *Lagocephalus sceleratus* (Gmelin, 1789) along the Libyan coast. *BioInvasions Rec*, 1(2), 125-127.
- Minos, G., Karidas, T., Corsini-Foka, M. and Economidis, P. S. 2010. New data on the geographical distribution of the invasive *Lagocephalus sceleratus* (Gmelin, 1789) in North Aegean. In: *Proceedings of the 14th Panhellenic Conference of Ichthyologists*, 6-9 May 2010, Piraeus, Greece, pp 283-286
- Mosher, H. S. and Fuhrman, F. A. 1984. Occurrence and origin of tetrodotoxin, in: Ragelis, E.P. (Ed.), *Seafood Toxins*. American Chemical Society, Washington, DC, pp. 333–344.
- Nader, M. R., Indary, S. and Boustany, L. E. 2012. The puffer fish *Lagocephalus sceleratus* (Gmelin, 1789) in the eastern Mediterranean. *EastMed Technical Documents* (FAO).
- Nagashima, Y., Yamamoto, K., Shimakura, K. and Shiomi, K. 2002. A tetrodotoxin-binding protein in the hemolymph of shore crab *Hemigrapsus sanguineus*: purification and properties. *Toxicon*, 40(6), 753-760.
- Noguchi, T., Arakawa, O., Daigo, K. and Hashimoto, K. 1986a. Local differences in toxin composition of a xanthid crab *Atergatis floridus* inhabiting Ishigaki Island, Okinawa. *Toxicon* 24, 705–711.
- Noguchi, T., Jeon, J. K., Arakawa, O., Sugita, H., Deguchi, Y., Shida, Y. and Hashimoto, K. 1986b. Occurrence of tetrodotoxin and anhydrotetrodotoxin in *Vibrio* sp. isolated from the intestines of a xanthid crab, *Atergatis floridus*. *J. Biochem.* 99, 311–314.
- Özbay, T. 2015. Mersin Körfezi'nde dağılım gösteren balon balığı, *Lagocephalus sceleratus* (Gmelin, 1789)'nın biyolojik özelliklerinin araştırılması.

- Peristeraki, P., Lazarakis, G., Skarvelis, C., Georgiadis, M. and Tserpes, G. 2006. Additional records on the occurrence of alien fish species in the eastern Mediterranean Sea. *Mediterranean Marine Science*, 7(2), 61-66.
- Pratheepa, V. and Vasconcelos, V. 2013. Microbial diversity associated with tetrodotoxin production in marine organisms. *Environmental toxicology and pharmacology*, 36(3), 1046-1054.
- Rodríguez, P., Alfonso, A., Otero, P., Katikou, P., Georgantelis, D. and Botana, L. M. 2012. Liquid chromatography–mass spectrometry method to detect Tetrodotoxin and Its analogues in the puffer fish *Lagocephalus sceleratus* (Gmelin, 1789) from European waters. *Food Chemistry*, 132(2), 1103-1111.
- Rousou, M., Ganias, K., Kletou, D., Loucaides, A. and Tsinganis, M. 2014. Maturity of the pufferfish *Lagocephalus sceleratus* in the southeastern Mediterranean Sea. *Sexuality and Early Development in Aquatic Organisms*, 1(1), 35-44.
- Sabrah, M. M., El-Ganainy, A. A. and Zaky, M. A. 2006. Biology and toxicity of the pufferfish *Lagocephalus sceleratus* (Gmelin, 1789) from the Gulf of Suez.
- Schøyen, H. and Bråthen, S. 2011. The Northern Sea Route versus the Suez Canal: cases from bulk shipping. *Journal of Transport Geography*, 19(4), 977-983.
- Streftaris, N. and Zenetos, A. 2006. Alien marine species in the Mediterranean-the 100 ‘Worst Invasives’ and their impact. *Mediterranean Marine Science*, 7(1), 87-118.
- Turker-Cakır, D., Yarmaz, A. and Balaban, C. 2009. Short communication A new record of *Lagocephalus sceleratus* (Gmelin 1789) confirming a further range extension into the northern Aegean Sea. *J. Appl. Ichthyol*, 25, 606-607.
- Ulman, A., Çiçek, B. A., Salihoglu, I., Petrou, A., Patsalidou, M., Pauly, D. and Zeller, D. 2015. Unifying the catch data of a divided island: Cyprus’s marine fisheries catches, 1950–2010. *Environment, development and sustainability*, 17(4), 801-821.
- Yaglioglu, D., Turan, C., Erguden, D. and Gurlek, M. 2011. Range expansion of silverstripe blaasop, *Lagocephalus sceleratus* (Gmelin, 1789), to the northeastern Mediterranean Sea. *Biharean Biologist*, 5(2), 159-161.

- Yasumoto, T., Yasumura, D., Yotsu, M., Michishita, T., Endo, A. and Kotaki, Y., 1986. Bacterial production of tetrodotoxin and anhydrotetrodotoxin. *Agricultural Biology of Chemistry* 50 (3), 793–795.
- Yu, C. F., Yu, P. H. F., Chan, P. L., Yan, Q. and Wong, P. K. 2004. Two novel species of tetrodotoxin-producing bacteria isolated from toxic marine puffer fishes. *Toxicon*, 44(6), 641-647.
- Zenetos, A., Çinar, M. E., Pancucci-Papadopoulou, M. A., Harmelin, J. G., Furnari, G., Andaloro, F. and Zibrowius, H. 2005. Annotated list of marine alien species in the Mediterranean with records of the worst invasive species. *Mediterranean Marine Science*, 6(2), 63-118.
- Zhao, J., Li, G., Yi, G. X., Wang, B. M., Deng, A. X., Nan, T. G. and Li, Q. X. 2006. Comparison between conventional indirect competitive enzyme-linked immunosorbent assay (icELISA) and simplified icELISA for small molecules. *Analytica Chimica Acta*, 571(1), 79-85.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Hasan Deniz AKBORA
Doğum Yeri : Gazimağusa/KKTC
Doğum Tarihi : 02.09.1986
Medeni Hali : Evli
Yabancı Dili : İngilizce

Eğitim Durumu

Lise : Türk Maarif Koleji (2003)
Lisans : Ege Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü (2007)
Yüksek Lisans : Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı
(Şubat 2015 – Haziran 2018)

Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl

Akuvatur Su Ürünleri (2007-2008)
Yakın Doğu Üniversitesi Hastanesi (2010-2013)
İskele Boğaz Balıkçıları Kalkındırma ve Dayanışma Derneği (2013-2014)
Doğu Akdeniz Üniversitesi Biyolojik Bilimler Bölümü (2014-halen)

Uluslararası Kongre Sunum

Akbora, H. D., Determination of Tetrodotoxin (Ttx) Levels in Various Tissues of The Silver Cheeked Puffer Fish (*Lagocephalus sceleratus* (Gmelin, 1789)) in Northern Cyprus Sea Bodrum (13.10.2017)