

**KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

BALIKÇILIK TEKNOLOJİSİ MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

**VİRAL HEMORAJİK SEPTİSEMİ (VHS) VİRÜSÜNÜN TRABZON, YOMRA
KOYUNDA MEZGİT (*Merlangius merlangus euxinus*) POPULASYONUNDA
YAYILIMI, MEVSİMSİLLİĞİ VE KÜLTÜR BALIKÇILIĞINA ETKİSİNİN
BELİRLENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Bal. Tek. Müh. Cemil ALTUNTAŞ

Enstitü Müdür Vekili: Doç. Dr. Salih TERZİOĞLU

TEMMUZ 2008

TRABZON

**KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

BALIKÇILIK TEKNOLOJİSİ MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

**VİRAL HEMORAJİK SEPTİSEMİ (VHS) VİRÜSÜNÜN TRABZON, YOMRA
KOYUNDA MEZGİT (*Merlangius merlangus euxinus*) POPULASYONUNDA
YAYILIMI, MEVSİMSİLLİĞİ VE KÜLTÜR BALIKÇILIĞINA ETKİSİNİN
BELİRLENMESİ**

Bal. Tek. Müh. Cemil ALTUNTAŞ

**Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsünce
“Balıkçılık Teknolojisi Yüksek Mühendisi”
Unvanı Verilmesi İçin Kabul Edilen Tezdir.**

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih: 26.06.2008

Tezin Savunma Tarihi : 31.07.2008

Tez Danışmanı : Doç. Dr. Hamdi ÖĞÜT

Jüri Üyesi : Prof. Dr. İbrahim OKUMUŞ

Jüri Üyesi : Prof. Dr. Zihni DEMİRBAĞ

Enstitü Müdür Vekili: Doç. Dr. Salih TERZİOĞLU

Trabzon 2008

ÖNSÖZ

“Viral Hemorajik Septisemi (VHS) Virüsünün Trabzon, Yomra Koyunda Mezgit (*Merlangius merlangus euxinus*) Popülasyonunda Yayılımı, Mevsimselliği ve Kültür Balıkçılığına Etkisinin Belirlenmesi” adlı bu çalışma, K.T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Balıkçılık Teknolojisi Mühendisliği Anabilim Dalı’nda Yüksek Lisans tezi olarak hazırlanmış ve K.T.Ü. Bilimsel Araştırma Fonu tarafından 2005.117.001.4. numaralı proje ile desteklenmiştir. Çalışmanın yürütülebilmesi için gerekli malzemelerin temininde gösterdiği desteklerden dolayı K.T.Ü. Bilimsel Araştırma Fonu’na teşekkürlerimi sunarım. Çalışmanın deneysel aşamaları K.T.Ü. Sürmene Deniz Bilimleri Fakültesi Balık Hastalıkları laboratuvarlarında gerçekleştirilmiştir.

Yüksek Lisans tez danışmanlığımı üstlenerek konu seçiminde, çalışmada kullanılan balıkların temin edilmesinde, su kalitesi ölçümlerinin yapılmasında, Viral ekimler için gerekli laboratuvar altyapısının hazırlanmasında ve daha birçok konuda yardımlarını esirgemeyen değerli hocam Doç. Dr. Hamdi ÖĞÜT’e sonsuz teşekkürlerimi sunmayı bir borç bilirim.

Çalışma boyunca kullanılan gökkuşağı alabalıklarının temininde her türlü imkânı sağlayan ve yardımlarını esirgemeyen Karadeniz Kültür Balıkçılığı A. Ş. (KARSUSAN) ve Doğu Karadeniz Kültür Balıkçılığı A. Ş. (DOKABAŞ) işletmeleri sahipleri ve çalışanlarına, mezgit balıklarının temininde yardımlarını esirgemeyen Yomra limanı balıkçılarına, özellikle Ömer DOĞAN ve Osman Kurt’a teşekkür ederim.

Laboratuvar çalışmalarım sırasında yardımcı olan Sürmene Deniz Bilimleri Fakültesi Laboratuvar teknisyenleri Şener AKTAŞ ve Turgut TATLI, Yüksek Lisans öğrencisi Temel DOĞAN ve Arş. Gör. Bekir TUFAN’a teşekkür ederim.

Ayrıca doğduğum günden bu yaşıma kadar gerek maddi gerek manevi desteğini esirgemeyen aileme sonsuz teşekkür ederim.

Cemil ALTUNTAŞ

Trabzon 2008

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
ÖNSÖZ.....	II
İÇİNDEKİLER.....	III
ÖZET	V
SUMMARY	VI
ŞEKİLLER DİZİNİ	VII
TABLolar DİZİNİ.....	VIII
1. GENEL BİLGİLER.....	1
1.1. Viral Hemorajik Septisemi Virüsü.....	1
1.1.1. Sınıflandırması ve Morfolojisi	2
1.1.2. Genotipleri.....	3
1.1.3. Epidemiyolojisi	3
1.1.4. Klinik Belirtileri	5
1.1.5. Teşhisi	6
1.1.6. Kontrolü ve Tedavisi	7
1.2. Çalışmada Kullanılan Balıklar Hakkında Genel Bilgiler	9
1.2.1. Mezgıt (<i>Merlangius merlangus euxinus</i> , Nordmann, 1840)	9
1.2.2. Gökkuşığı Alabalığı (<i>Onchornychus mykiss</i>)	10
1.3. Çalışmanın Amacı	12
2. YAPILAN ÇALIŞMALAR	13
2.1. Çalışmanın Yapıldığı Yer.....	13
2.2. Su Kalitesi Kriterleri	14
2.3. Materyal.....	14
2.4. Metot	17
2.4.1. Viral Örnekleme	17
3. BULGULAR	19
3.1. Mezgıt (<i>Merlangius merlangus euxinus</i>) Örnekleme Sonuçları	19
3.2. Gökkuşığı Alabalığı (<i>Onchornychus mykiss</i>) Örnekleme Sonuçları	21
3.3. Su Kalitesi Kriterleri	21
4. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	22

5.	ÖNERİLER	25
6.	KAYNAKLAR.....	26
ÖZGEÇMİŞ		

ÖZET

Bu çalışma, 2007–2008 yılları arasında Trabzon ili Yomra koyunda Viral Hemorajik Septisemi (VHS) virüsünün mezgıt (*Merlangius merlangus euxinus*) popülasyonunda yayılımını, mevsimselliğini ve kültür balıkçılığına herhangi bir etkisinin olup olmadığını belirlemek amacıyla yapılmıştır. Çalışma boyunca Yomra koyunda kurulmuş iki farklı işletmeden toplam 439 adet gökkuşığı alabalığı (*Onchornychus mykiss*), ortalama 7 balık 1 grup olacak şekilde, toplam 69 grupta incelenmiştir. Bu işletmelerin etrafından toplam 864 adet mezgıt dip ağları ile yakalanarak, 5–7 balık 1 grup olacak şekilde, toplam 71 grupta incelenmiştir. Balıkların karaciğer, böbrek ve dalaklarından örnekler alınarak CHSE–214 hücre kültürüne ekim yapılmış ve 15°C’de inkübe edilmiştir. Ekim yapıldıktan sonraki üçüncü günden itibaren 14 gün boyunca inverted mikroskop ile sitopatik etki (CPE) oluşumu izlenmiştir.

Gökkuşığı alabalıklarından alınan örneklerde CHSE–214 hücre kültüründe herhangi bir CPE görülmezken mezgıt balıklarında Mart-Nisan 2007 ve Şubat-Mart 2008 aylarında alınan örneklerde VHS virüsü için karakteristik olan CPE benzeri bir CPE oluşumu görülmüştür. Çalışmanın yapıldığı bölgede, VHS virüsünün Ocak-Nisan ayları arasında mezgıt stoklarında yayılım gösterdiği belirlenmiştir. Mezgıt balıkları ile kültürü yapılan gökkuşığı alabalıkları arasında VHS virüsünün transferine rastlanmamıştır. Bu çalışma ile Türkiye’de mezgıt balıklarından VHS virüsü ilk kez rapor edilmektedir.

Anahtar Kelimeler: Karadeniz, Viral Hemorajik Septisemi, Mezgıt, Gökkuşığı Alabalığı

SUMMARY

Determining Occurrence of Viral Hemorrhagic Septicemia Virus (VHSV) in Whiting (*Merlangius merlangus euxinus*) Population and Its Impacts on Farmed Fish in Yomra Bay

This study was aimed to determine the seasonal occurrence of Viral Hemorrhagic Septicemia Virus (VHSV) in whiting (*Merlangius merlangus euxinus*) stocks and its impacts on aquaculture in Yomra coast of Trabzon in The Eastern Black Sea. Totally 439 rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) (69 pools) were sampled from two commercial marine fish farms located off the Yomra bay. At the same period, around the cage site totally 864 whiting (*M. merlangus euxinus*) (71 pools) were captured with deep nets. Pooled samples of internal organs (kidney, spleen and liver) from trout and whiting were examined for the presence of VHSV by inoculation on CHSE-214 cells and incubated at 15°C. After third day of inoculation, inoculated cell cultures were examined daily with inverted microscope for the development of a cytopathic effect (CPE). VHSV related CPE was not observed in any of the samples taken from rainbow trout. However, whiting sampled March through April 2007 and February through March 2008 showed characteristic CPE for VHS virus on the CHSE-214 cells. No evidence of virus transfer between whiting and cultured rainbow trout was observed during the study. This is the first study reporting VHS virus from whiting in Turkey.

Key Words: Black Sea, Viral Hemorrhagic Septicemia (VHS), Whiting, Rainbow trout

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No:

Şekil 1. RNA virüsleri.....	2
Şekil 2. VHS virüsünün morfolojisi.....	2
Şekil 3. 2000-2006 yılları arasındaki mezgit üretiminin bölgelere göre dağılımı.....	10
Şekil 4. Çalışmanın yapıldığı yer.....	13
Şekil 5. VHS virüsünün CHSE-214 ve BF-2 hücre hatlarında inokulasyondan sonraki beşinci günde sergilediği sitopatik etkiler.....	19
Şekil 6. Aylara göre, örneklenen mezgitlerin toplam grup sayısı ile VHS pozitif olan grupsayısı.....	20
Şekil 7. Mezgit balıklarının aylık ortalama kondisyon faktörü değerleri ortalaması.....	20
Şekil 8. Yüzey sularından ölçülen sıcaklık, çözünmüş oksijen ve pH değerleri.....	21

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa No

Tablo 1. Bazı sıcaklıklarda VHS virüsünün hayatta kalma süreleri.....	8
Tablo 2. 2000-2006 yılları arasında denizlerden avlanan toplam balık miktarları ve ve mezigidin bu üretimdeki katkısı (ton/yıl).....	10
Tablo 3. 2000-2006 yılları Türkiye’de yetiştiricilik yoluyla üretilen balık miktarları.....	11
Tablo 4. A işletmesinden alınan alabalıkların adet, boy, ağırlık ve kondisyon faktörü değerleri.....	15
Tablo 5. B işletmesinden alınan alabalıkların adet, boy, ağırlık ve kondisyon faktörü değerleri.....	16
Tablo 6. Mezigit balıklarında ait örnekleme bilgileri.....	17

1. GENEL BİLGİLER

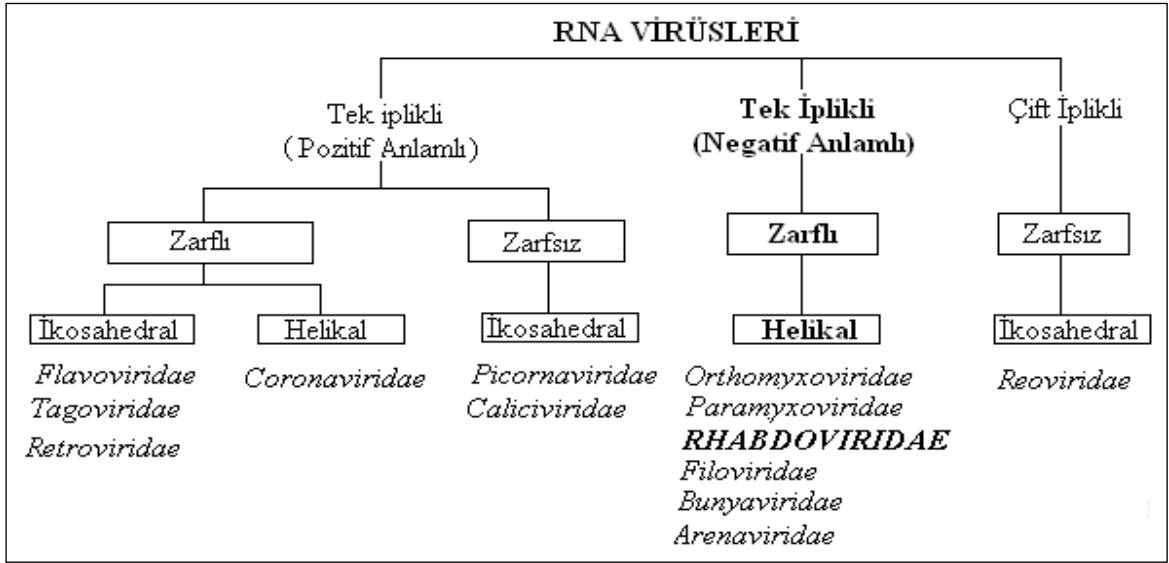
1.1. Viral Hemorajik Septisemi Virüsü

Viral Hemorajik Septisemi hastalığına sebep olan Viral Hemorajik Septisemi Virüsü deniz balıklarından ilk kez 1979 yılında Yeni Zelanda'nın güney kıyı sularında Atlantik morinası (Atlantic cod, *Gadus morhua*) (Jensen ve ark., 1979; Jørgensen ve Olesen, 1987), daha sonra 1993 ve 1995 yıllarında İskoçya'nın batı kıyı sularında morina (*Melanogrammus aeglefinus*) balıklarından izole edildi (Smail, 1995,2000). 1988 yılında Amerika'da coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) balıklarının ovaryum sıvılarında bulunmasıyla bu virüs Avrupa dışında ilk kez rapor edildi (Brunson ve ark., 1989; Hopper, 1989). Bu durum araştırmacılarda bu virüsün daha geniş bir coğrafik alana yayılım göstermiş olabileceği fikrini uyandırdı. Nitekim son yıllarda yapılan çalışmalarda, VHS virüsünün ABD, Kanada, Japonya, Kore ve Avrupa'yı da içine alan kuzey yarım kürede en az 48 farklı balık türünde mevcut olduğu ortaya çıkmıştır (Skall ve ark., 2005). Türkiye'de ilk kez 2004 yılında Karadeniz'den Trabzon Su Ürünleri Merkez Araştırma Enstitüsü (SÜMAE) tarafından üretilen kalkan (*Psetta maxima*) balıklarından izole edilmiştir (Kalaycı ve ark., 2006). VHS virüsü Kuzey Amerika Pasifik bölgesinden 18, Kuzey Amerika Atlantik bölgesinden 3, Japonya'dan 2 ve Kuzey Avrupa'dan 15 balık türünden izole edilmiştir. Ayrıca, yetiştiriciliği yapılan 5 deniz balığı ve 7 tatlı su balığı türünden izole edilmiştir. Yapılan deneysel çalışmalarda 11 balık türünün de bu virüse karşı dayanıksız olduğu görülmüştür (López- vazques ve ark., 2003). Ek-1'de Viral Hemorajik Septisemi virüsünün izole edildiği ve deneysel olarak enfekte ettiği balık türleri verilmiştir.

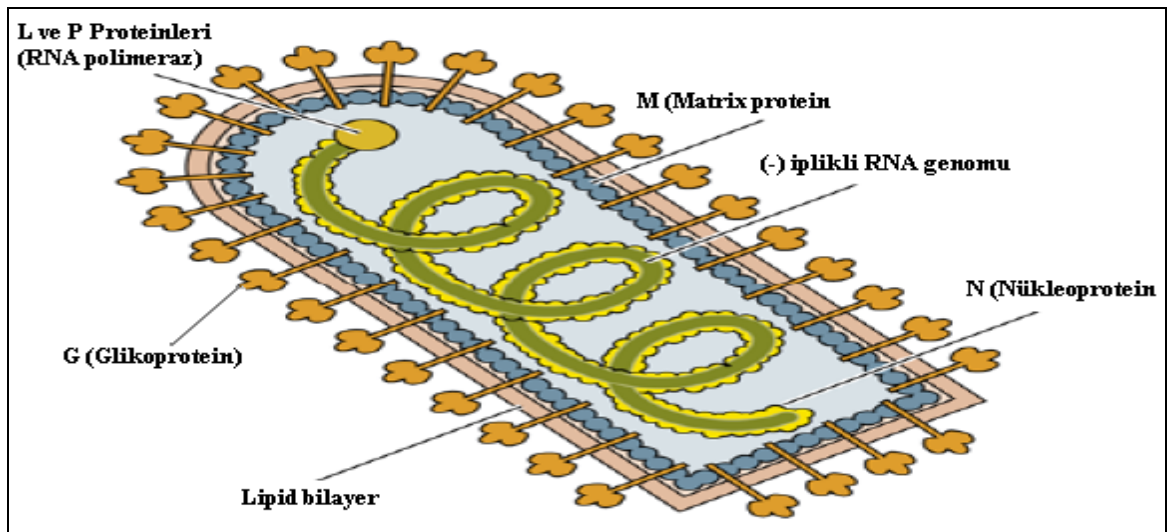
Viral Hemorajik Septisemi hastalığı ilk kez 1938 yılında "Böbrek Şişkinliği" adı ile tarif edilmiştir (Schäperclaus, 1938). 1946 yılında Polonya'nın güneyinde ve 1950'li yılların başında Danimarka'da görülen bu hastalık "Egtved Hastalığı" (Schäperclaus, 1954; Rasmussen, 1965), Fransa'da ise "Bulaşıcı Anemi" (Besse, 1955) olarak isimlendirilmiştir. 1963 yılında Jensen tarafından bu virüsün alabalık hücre kültüründe ilk kez izolasyonunun yapılmasıyla viral etiyojisi hakkında bilgi edinilmeye başlanmıştır. Aynı yıl yapılan uluslararası balık patolojileri toplantısında bu hastalığa "Viral Hemorajik Septisemi Hastalığı (VHS)" adı verilmiştir.

1.1.1. Sınıflandırması ve Morfolojisi

Viral Hemorajik Septisemi Virüsü (VHSV) *Mononegavirales* takımında *Rhabdoviridae* ailesinin *Novirhabdovirus* genusuna ait olup zarflı ve negatif sarmallı bir RNA virüsüdür (ICTV, 2000). 180 nm uzunluğunda, 60 nm çapında ve mermi şeklindedir. Tek iplikçikli RNA içerir (de Kinkelin ve Scherrer, 1970; McAllister, 1979).



Şekil 1. RNA virüsleri



Şekil 2. VHS Virüsün Morfolojisi

VHSV genomu yaklaşık olarak 11.200 nükleotid içerir ve 3'-N-P-M-G-Nv-L-5' düzeninde kodlanmış beşi yapısal olan (Nükleoprotein (N), Fosfoprotein (F), Matrixprotein (M), Glikoprotein (G), RNA polimeraz (L)) ve biri henüz fonksiyonu tam olarak bilinmeyen yapısal olmayan (Nv Protein) altı proteinden oluşur (Schutze ve ark., 1999).

1.1.2. Genotipleri

Nükleoprotein ve Glikoprotein sekans analizine dayalı olarak VHS virüsünün 4 genotipi olduğu bildirilmiştir (Snow ve ark., 1999). Genotiplerdeki farklılıklar virüsün izole edildiği yıl veya etkilediği türden daha ziyade coğrafik bölgeyle alakalıdır.

Genotip I: Avrupa tatlı su izolatları ve Baltık denizi izolatlarının bir kısmını içerir ve 5 alt gruba ayrılır.

a) Avrupa tatlı su balıkları izolatları

b) Baltık denizi, Skagerrak, Kattegat, İngiliz kanalı ve Kuzey denizi izolatlarının bir kısmı

c) Danimarka tatlı su izolatlarının bir kısmı

d) Norveç ve Finlandiya izolatları

e) Karadeniz izolatları

Genotip II: Baltık denizinde Gotland havzası izolatları

Genotip III: Kuzey denizi izolatlarının bir kısmı (İngiltere ve İrlanda kıyı sularından, Fransa'da yılan balıklarından elde edilen izolatlar)

Genotip IV: Kuzey Amerika ve Asya (Kore ve Japonya) izolatlarını içermektedir (Einer-Jensen ve ark., 2004).

1.1.3. Epidemiyolojisi

VHS salgınları hem deniz hem de tatlı su ortamında görülebilir. VHS salgınlarında su sıcaklığı önemli bir çevresel faktördür. Su sıcaklığına bağlı olarak 7–15 günlük bir inkübasyon süresi vardır. Replikasyon için optimum su sıcaklığı 14–15°C ve optimum pH 7,4–7,8 dir. Replikasyon 6°C de çok azdır ve 20°C de hiç yoktur (de Kinkelin ve ark., 1980; Bernard ve ark., 1983; McAllister, 1990). VHS salgınları her mevsim görülebilir fakat daha çok su sıcaklığının yükselmeye başladığı ve dalgalanma gösterdiği ilkbahar aylarında görülür.

Balık ölümleri 3–12°C arasında görülmektedir. 15°C üzerindeki su sıcaklıklarında ölümler nadiren görülür (McAllister, 1990). VHS virüsüne dayanıklılık her balık türünde aynı değildir. Enfeksiyon her yaş grubunda görülebilir fakat genç balıklar yetişkin balıklara göre enfeksiyona daha duyarlıdır. Çevre koşullarına bağlı olarak balık ölümleri %20'den %80'lere kadar çıkabilir, hatta alabalık larvalarında %100 ölümler de görülebilir (CFSPH, 2003).

VHS virüsü tüm yaş gruplarına kolaylıkla bulaşabilir ve hayatta kalan balıklar ömür boyu taşıyıcı hale gelerek üreme sıvısı ve idrar yoluyla virüsü çevreye saçarlar. Virüs ikinci solungaç lamelleri ve vücuttaki yaralar vasıtasıyla balığa bulaşır. Yumurtlamadan 3–4 saat sonra yumurtalardan virüs izole edilmesine rağmen bu virüsün yumurta ile vertikal bulaşması henüz kanıtlanamamıştır (Jørgensen, 1980; de Kinkelin ve Castric, 1982; Castric ve de Kinkelin, 1984).

Hem tatlı su hem deniz ortamında virüs taşıyıcısı olan doğal balık türleri üzerinde yapılan çalışmalarda elde edilen bulgular viral popülasyonların doğada kendi varlıklarını sürdürebileceği ve kültür balıkları için bir enfeksiyon kaynağı gibi hareket edebileceği konusunda güçlü bir kanıt ortaya koymaktadır. Aynı şekilde, doğal balık türleri de enfekte olmuş kültür balıklarından yayılan virüslere karşı hassastır. Doğal balıklar ile kültür balıkları arasındaki bu çift yönlü virüs transferi viral popülasyonların doğada kendi varlıklarını sürdürebilmelerinde önemli bir rol oynamaktadır (Enzmann ve Konrad, 1985; Jørgensen, 1982; Meier ve ark., 1994).

VHS virüsünün Great-Lakes-st. Lawrence (ABD) nehir sistemine girişi ve yayılımı üzerine yapılan çalışmalar bu virüsün, balast suları ya da göçmen balıklar vasıtasıyla (Elyasad ve ark., 2006), akuakültür aktiviteleri (Skall ve ark., 2005; FRS, 2006), balık yemleri (Goodwin ve ark., 2004) ve su kuşları vasıtasıyla (Peters ve Neukirch, 1986) nehir sistemine girmiş ve yayılmış olabileceğini göstermektedir.

Olta balıkçılığı için önemli miktarda doğadan elde edilmiş yem amaçlı kullanılan balıklar canlı veya donmuş olarak sağlık durumlarına bakılmaksızın ticari amaçla alınıp satılmakta ve uzun mesafedeki yeni bölgelere taşınmaktadır. Bu yemler virüsün endemik olduğu bir bölgeden yeni bir bölgeye taşınmasında bir potansiyele sahiptir (Goodwin ve ark., 2004). Dondurulmuş Pasifik ringa (*Clupea harengus pallasi*) balıklarından (yem olarak kullanılan) izole edilmiş VHS virüsünün Kuzey Amerika hattı, balıklar iki kez dondurulup çözündürüldükten sonra bile hücre kültüründe izole edilebilmiştir (Meyers ve ark., 1994).

Kuluçkahane atık sularının deşarj edildiği yerlerdeki cansız objelerden VHS virüsünün izole edilmesi ve hatta bu virüsün su içerisinde birkaç gün canlı kalabilmesi kuluçkahanelerin virüsün yayılmasında önemli bir rol oynadığını göstermektedir (de Kinkelin ve Scherrer, 1970).

Stres, birçok hastalıkta olduğu gibi VHS hastalığının epizootiğinde de önemli rol oynamaktadır. Özellikle yüksek stok yoğunluğu, kötü beslenme, yetiştiricilik faaliyetleri, balık transferi vs. gibi durumlara maruz kalan balıklarda VHS virüsünün yoğunluğu ve hastalığın derecesi artabilir ve bunun sonucunda da önemli miktarda balık ölümleri meydana gelebilir. Optimum yetiştiricilik şartlarında, stres oluşuncaya kadar çok az balık hastalığın belirtilerini gösterir (Jørgensen, 1974; Hershberger ve ark., 1999).

1.1.4. Klinik Belirtileri

Viral Hemorajik Septisemi hastalığında, hastalığın şiddetine göre akut, kronik ve latent (taşıyıcı) olmak üzere 3 durumdan herhangi birisi görülebilir ve her bir hastalık tipinde farklı klinik belirtiler görülebilir (Yasutake, 1970; Wolf, 1988). Akut tipte, tipik olarak ani ve yoğun ölümler görülür. Balıklarda uyuşukluk, renkte koyulaşma, ekzoftalmus ve kanlılık görülebilir. Gözlerde, deride, solungaçlarda ve yüzgeç kaidelerinde kanamalar görülebilir. İnternal olarak, göz çevresinde, iskelet kaslarında ve iç organlarda nokta şeklinde kanamalar görülebilir. Karaciğerde yer yer renk farklılaşmaları ile birlikte şişkinlik ve kan toplanması vardır. Böbrekler kırmızı renkte ve incelmıştır. Kronik olarak enfekte olmuş balıklarda önemli derecede yoğun ölümler görülür fakat ölümler akut tipe göre daha uzun zamana yayılmıştır. Balıklarda uyuşukluk, renkte koyulaşma, ekzoftalmus ve şiddetli kanlılık görülebilir. Hemoraj (kanama) da görülebilir fakat şiddetli değildir. Karaciğer, dalak ve böbreğin ödemeine bağlı olarak karın şişkindir. Karaciğer soluk ve petek şeklinde kızarıklıklar vardır. Latent enfeksiyonda ölüm düşüktür ve balık normal görünümündedir fakat hiperaktif olabilir (McAllister, 1990).

Histopatolojik değişiklikler genellikle karaciğer, böbrek, dalak ve iskelet kaslarında görülür (Ghittino, 1965; Yasutake, 1970; Amlacher ve ark., 1980; Wolf, 1988). Akut olarak etkilenen balıklarda karaciğer sinüzoidleri kan ile doludur, hepatositlerde odakal veya yaygın nekrobiyotik değişiklikler, sitoplazmik vokueller, piknozis, karyolizis, lenfositik invazyon görülebilir. Benzer değişiklikler böbrek ve dalakta da görülebilir. İskelet kaslarında, kaslarda ve liflerde eritrosit yığılmalarına rastlanır fakat dokularda çok

az hasar meydana gelir. Kronik olarak enfekte olmuş balıklarda karaciğer sinüzoidler genişlemiştir ve pıhtılaşmış plazma içerir. Böbrek ve dalak hematopoietik dokular ve mononükleer lenf hücreleri hiperplastiktir. Taşıyıcı olan balıklarda hiçbir belirti görülmediği gibi histopatolojik değişiklikler de saptanamayabilir (McAllister, 1990).

1.1.5. Teşhisi

VHS virüsünün standart teşhisi virüsün hücre kültüründe izolasyonu ile yapılır. VHS virüsü BF-2 (Bluegill Fry: Wolf ve ark., 1966), CHSE-214 (Chinook Salmon Embryo: Lannan ve ark., 1984), RSBK-2 (Red Sea Bream Kidney: Kusuda ve Kawarasaki, 1993), EPC (Epithelioma Populosum Cyprini: Tomasek ve Fijan, 1971), FHM (Fathead Minnow: Gravell ve Malsburger, 1965), RTG-2 (Rainbow Trout Gonad : Wolf ve Quimby, 1962) gibi çeşitli balık hücre hatlarında ve levrek (*Dicentrarchus labrax*) ve sazangillerin yumurtalarında çoğaltılabilir (McAllister, 1979; de Kinkelin, 1983). Virüsün hücre kültüründe replikasyonu için optimum sıcaklık 14–15°C'dir (de Kinkelin ve Scherrer, 1970). Hidrojen iyon konsantrasyonu replikasyonu oldukça etkiler ve pH 7,4–7,8 şartları teşhis için mutlaka sağlanmalıdır (Campbell ve Wolf, 1969; Wolf ve Quimby, 1973).

Dünya Hayvan Sağlığı Örgütü (OİE) ve Avrupa Topluluğu (2001/183/EC) VHS virüsünün teşhis ve teyidi için örnekleme planları ve teşhis yöntemleri hakkında direktifler yayımlamıştır (OİE,2006; EC, 2001). Buna göre, viral örnekleme, 2,5 cm boyunda veya daha küçük balıklarda varsa yumurta kesesi çıkarılır ve balığın tamamı kullanılır. 2,5–4 cm boyundaki balıklarda baş ve kuyruk çıkarılır, 4–7 cm boyundaki balıklarda tüm iç organlar kullanılır ve 7 cm den büyük balıklarda böbrek, dalak ve/veya beyin kullanılır. Damızlık dişi balıklarda böbrek, dalak ve ovaryum sıvısı kullanılırken erkeklerde böbrek ve dalağın kullanılma imkânı olmadığına sperm sıvısı kullanılabilir (NWFHS, 2001). Her bir havuzdan 1–5 balık alınarak içerisinde taşıma sıvısı (Earl's Minimal Essential Medium, Earl's Balanced Salt Solution, Tris-Buffer, NaHCO₃, L-glutamin, Gentamicin) bulunan steril plastik tüplere konulur. Steril plastik tüplerin üzerine örnek miktarı, örneğin alındığı yer, örnek tipi, tarih, balık türü vb. bilgiler yazılır. Örnekler, yalıtılmış bir kutu (saklama kabı, strafor gibi) içerisinde ve soğuk muhafaza edilerek en kısa zamanda laboratuvara ulaştırılmalıdır. Taşıma sırasında örneklerin donmamasına, ısınmamasına (>10°C) ve güneş ışığından korunmasına dikkat edilmelidir. Örnekleme yapıldıktan sonra en geç 48 saat içerisinde örnekler hücre kültürüne ekilmelidir.

Laboratuvara ulaştıktan sonra örnekler homojenize edilir ve 2000xg–20 dakika–4°C’de santrifüj edilir. Santrifüj sonucu oluşan süpernetant yeni bir mikrosantrifüj tüpüne aktarılır ve buradan da inokulum hacmi ile hücre kültürü medyumunu arasındaki oran 1:10 olacak şekilde 24 saatte %90 kaplanmış hücrelere virüs ekimi yapılır. Hücre kültürüne inokülasyondan sonra 7–10 gün boyunca her gün ya da iki günde bir faz kontrast mikroskobu ile 40–150 büyütmede sitopatik etki (CPE) oluşumu gözlemlenir. Eğer hücre kültüründe CPE oluşmuşsa identifikasyon aşamasına geçilebilir, eğer CPE oluşmamışsa subkültivasyonla taze hücre kültürleri kullanılarak inokülasyon işlemi tekrarlanır ve 7–10 günlük inkübasyon süresi sonucunda hala CPE oluşmamışsa sonuç negatif denilebilir.

Sitopatik etki, viral enfeksiyona bağlı olarak doku kültürü hücrelerinde metabolik ve morfolojik değişiklikler olarak tanımlanır ve CHSE–214 hücre hattında üzüm salkımı gibi yuvarlak tanecikler şeklindeki bir görünüş VHS virüsü için karakteristiktir.

VHS virüsünün identifikasyonu için Nötralizasyon, Florasan Antikor, Komplement Fiksasyon, İmmun Presipitasyon, Counter Current İmmun Elektroforez, İmmunblot, ELİSA, Elektron Mikroskobu ve Polimer Zincir Reaksiyonu (PZR) gibi çeşitli yöntemler kullanılabilir (Ahne, 1981; de Kinkelin, 1983; McAllister ve Schill, 1986; Way ve Dixon, 1988; Zwillenberg ve ark., 1965). İnoküle edilmiş hücre kültürlerinde viral antijenin tespiti İndirek Florasan Antikor (IFAT) ve İmmun Peroksidaz (IP) boyama yöntemleriyle yapılabilir (Meier ve Jørgensen, 1975; Faisal ve Ahne, 1980).

1.1.6. Kontrolü ve Tedavisi

Virüsler, konaklarının hücresel mekanizmalarını kullanarak çoğaldıkları için konağı öldürmeden onları yok etmek henüz mümkün değildir. VHS hastalığının henüz bilinen bir tedavisi yoktur ve hastalıktan kaçınma (virüs ile konakçı arasındaki temasın önlenmesi) hastalığın kontrolünde en etkili yöntemdir (Ghittino, 1965). Hücre ortamı dışında eter, gliserol, formaldehit, kloroform, sodyum hipoklorit, sodyum hidroksit, iyodofor gibi dezenfektanlarla etkisiz hale getirilebilirler (McAllister, 1990).

Kuluçkahane dezenfeksiyonu ve bununla birlikte patojen içermediği bilinen yumurta veya balıklarla yeniden stok oluşturma hastalığın önlenmesinde başarılı olmuştur (Kehlet, 1973; Jørgensen, 1974a, 1980). Kuluçkahane giriş suyunun kontrolü hastalık etmeni olan mikroorganizmaların kuluçkahaneye girişini minimuma indirmede önemli rol oynamaktadır. Bu kontrolü sağlamak için birçok yöntem kullanılabilir fakat kısa dalga

boylu ultraviyole ışıklar gerek tek başına gerekse diğer dezenfektanlarla birlikte en çok kullanılan yöntemdir. Ultraviyole ışıklar dalga boylarına göre UVA (320–400 nm), UVB (280–320 nm) ve UVC (200–280 nm) olmak üzere 3'e ayrılır ve bunlardan UVC en antiseptik etkiye sahip olanıdır. UVC kullanımının şimdiye kadar bilinen bir yan etkisi yoktur ve bakteri ve virüslerin inaktivasyonunda oldukça etkili bir yöntemdir (Kurth ve ark., 1999). Temel olarak UVC, DNA ve RNA üzerinde biyolojik bir etkiye sahiptir. Aralarında VHS virüsünün de bulunduğu bazı RNA virüslerinde genomlarda kırılmalara ya da mutasyona neden olarak urasil ünitelerinin dimerizasyonuna yol açarlar ve böylece bu virüslerin inaktivasyonu gerçekleşir (Smirnov ve ark., 1991).

Su sıcaklığında yapılan manipülasyonlarla hastalığın etmeni olan VHS virüsü etkisiz hale getirilebilir. Roberts (2001) tarafından Avrupa tatlı su suşları için çeşitli sıcaklık koşullarında hayatta kalma süreleri Tablo 1'de gösterilmektedir. Sıcaklık manipülasyonlarının yanı sıra pH'nın <2,5 ve >12,2 değerlerinde VHS virüsü etkisiz hale gelmektedir (CFSPH, 2003).

Virüs belirlenen kaynaklardaki tüm yumurtaların imha edilmesi, şüpheli ve enfekte kaynaklardan balık ve yumurta alınmaması ve bu kaynaklarda yetiştiricilik yapılmaması, yetiştiricilikten kaynaklanan stresin azaltılması, sıkı kontrol politikaları ve hijyen tedbirlerinin uygulanması viral hastalıklarla mücadelede önemlidir.

Tablo 1. Bazı sıcaklıklarda VHS virüsünün hayatta kalma süreleri

Sıcaklık(°C)	Süre
70	1 Dakika
50	10 Dakika
30	24 Saat
20	4 Hafta
14 (Suda)	> 24 saat
4	Birkaç ay
-20	Birkaç yıl

1.2. Çalışmada Kullanılan Balıklar Hakkında Genel Bilgiler

1.2.1. Mezgıt (*Merlangius merlangus euxinus*, Nordmann, 1840)

Ülkemizde bulunan mezgıt türü (*Merlangius merlangus euxinus*, Nordmann, 1840) *Gadidae* familyasının *Merlangius* cinsine dahildir (Slastenenko, 1956). Çok çeşitli formları ile ılık denizlerden oldukça soğuk denizlere kadar yayılabilen bu familya üyeleri çeşitli formlarının biyolojik isteklerine göre sahillerden 3–4 m derinliğindeki en sığ ve hatta nehir ağızlarındaki acısu bölgelerinden kıta sahanlığı üzerinde genellikle 100 m derinliklere kadar uzanan sazlı, kumlu, çakıllı, taşlı ve diplerin yumuşak çamurlu bölgelerine kadar dip ve dibe yakın alanlarda yaşamaktadırlar (Akşiray, 1987).

Mezgıt balıklarında vücut yanlardan hafifçe basık ve fusiform şeklindedir. Pullar küçük olup sikloid tipindedir. Sırttaki 3 dorsal yüzgeç birbirinden çok küçük aralıklarla ayrılmıştır. İki adet olan anal yüzgeçler birbirlerinden ayrılmamış ve ventral yüzgeç pelvik yüzgeçten daha önde yer almaktadır. Yüzgeç ışınlarının tamamı yumuşak olup yüzgeç formülü; D1 (14-17), D2 (16-19), D3(18-22), A1 (28-32), A2 (19-22), P (19-20) şeklindedir ve omur sayısı 51-54 adet arasındadır (Whitehead ve ark., 1986). Mezgıt balığının burun kısmı uzun ve sivricidir. Üst çene alt çeneden belirgin bir şekilde uzun olup çenelerde çok sayıda küçük ve sivri dişler mevcuttur. Bu alt tür, pektoral yüzgecin vücut boyuna oranla daha uzun olması ve alt çene altında küçük bir sakal mevcudiyeti ile *Gadus merlangus* alt türünden ayrılır. Renk değişken olup kirli sarı ve gri ile karışık kurşunidir. Karın beyaz olup pektoral yüzgeç tabanında siyah bir leke vardır. Maksimum boy 50 cm olabilmektedir (Wheeler,1968).

Gündüzleri mümkün olduğunca derin sularda geçirdikten sonra geceleri hamsi, sardalya, uskumru, kolyoz gibi sürüler halinde gezen balıklarla beslenmek üzere yüzeysel sulara kadar çıkarlar. Sahillerin oldukça sığ olan yosunlu, kumlu, taşlı veya çamurlu diplerindeki yengeç, kurt vb. omurgasız dip canlılarından başka demersal balık yumurtaları, küçük balıklar, karides gibi canlılarla beslenmektedirler (Akşiray, 1987).

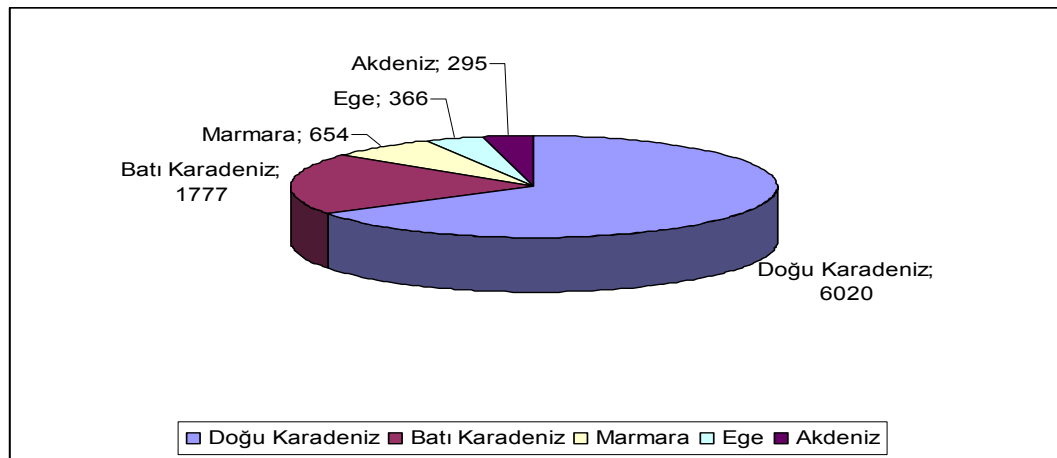
Bu familya üyeleri birinci yaşında cinsel olgunluğa ulaşırlar ve sonbahar aylarından itibaren, gonadlarının olgunlaşmaya başlaması ile açık ve derin sulardan sahillere doğru üreme göçüne başlamaktadırlar (Akşiray, 1987; Şahin ve Akbulut, 1997). Üremeleri yıl boyu devam etmektedir fakat en yoğun üreme yaz aylarında görülür (Çiloğlu ve ark., 2001). Yumurta ve larvalar pelajiktir. İlk zamanlar yaşamlarını pelajik olarak sürdüren

larvalar plankton ile beslenirler ve sonbahara doğru yüzey sularından daha derin sulara doğru çekilmeye başlarlar (Akşiray, 1987).

Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK) verilerine göre 2006 yılında, Türkiye’de toplam 662 000 ton su ürünleri üretimi gerçekleştirilmiştir. Bunun 533 000 tonluk kısmı avcılık yoluyla, 129 000 tonluk kısmı ise yetiştiricilik yoluyla elde edilmiştir. Denizlerden avcılık yoluyla 409 945 ton balık üretimi gerçekleştirilmiştir. Bu üretimin 9 112 tonluk kısmını mezgıt oluşturmaktadır. Bunun yaklaşık %66’lık kısmı (6020 ton) Doğu Karadeniz bölgesinden elde edilmiştir (Tablo 2 ve Şekil 3).

Tablo 2. 2000–2006 yılları arasında denizlerden avlanan toplam balık miktarları ve mezgidin bu üretimdeki katkısı (ton/yıl)

	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006
Mezgıt	18 000	10 000	8 808	8 000	8 205	8 309	9 112
Toplam	441 690	465 180	493 446	416 126	456 752	334 248	409 945



Şekil 3. 2000–2006 Yılları arasındaki mezgıt üretiminin bölgelere göre dağılımı

1.2.2. Gökkuşığı Alabalığı (*Onchornychus mykiss*)

Alabalıklar, balıklar aleminin *Salmoniformes* takımının *Salmonidae* familyasına mensuptur. Morfolojik olarak en önemli özellikleri, sırt yüzgeci ile kuyruk yüzgeci arasında ışsızsız bir yağ yüzgeci (adipoz yüzgeç) denilen bir çıkıntının bulunması ve

yaşamış oldukları suların özelliklerine göre değişebilen çeşitli renk ve beneklerle kaplı olmasıdır (Güner ve ark., 2007).

Gökkuşuğu alabalığı ilk defa 1836 yılında Richardson tarafından Kolombiya ırmağında saptanmış ve çelikbaş alabalık (*Salmo gairdneri*) olarak isimlendirilmiştir. 1988 yılında “Amerikan Balıkçılar Derneği Balık İsimleri Komitesi” tarafından Pasifik kökenli alabalık ve salmonları Atlantik kökenli alabalık ve salmonlardan ayırt etmek için “*Onchornychus*” cins isminin kullanılmasına karar verilmiştir. Ayrıca, gökkuşuğu alabalığının (*Salmo gairdneri*) Kamchatka alabalığı (*Salmo mykiss*) ile aynı biyolojik tür olduğunun belirlenmesiyle birlikte *gairdneri* tür adı yerine *mykiss* tür adının kullanılması benimsenmiştir. Bu değişiklikler tüm uluslararası bilim çevrelerinde kabul edilmiş ve böylece gökkuşuğu alabalığı ve onun tüm formları *Onchornychus mykiss* olarak adlandırılmıştır (Kendall, 1988; Gall ve de Groot, 1990; USFWS, 1994).

Doğada 5 ya da 6 yıl yaşarlar, fakat 18 yıldan daha fazla da yaşadıkları görülmüştür. Genellikle 1–2 kg arasında olup maksimum 24 kg ağırlık ve 120 cm boya ulaştıkları bildirilmektedir. Yetiştiricilik için larva ve yavru döneminde ideal su sıcaklığı 8–13 °C, büyütme evresinde ise 12–18 °C dir (Bristow, 1992; Çelikkale, 1994).

Doğal ortamlarda akuatik böceklerin larvaları, zooplankton, yumuşakça ve küçük balıklarla beslenirler (Bristow, 1992). Kültür şartlarında doğal ortamdan aldıkları besinlerin yanında farklı içerik ve özelliklere sahip yapay yemlerle beslenirler.

2006 yılında yetiştiricilik yoluyla iç sularda 56 026 ton ve denizlerde ise 1633 ton alabalık üretimi gerçekleştirilmiştir. Trabzon’un bu üretimdeki payı iç sularda 1861 ton ve denizlerde 602 ton olmak üzere toplam 2463 tondur (TÜİK, 2006) (Tablo 3).

Tablo 3. 2000–2006 yılları Türkiye’de yetiştiricilik yoluyla üretilen alabalık miktarları

	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006
İç su	42 572	36 827	33 707	39 674	43 432	48 033	56 026
Deniz	1 961	1 240	846	1 194	1 650	1 249	1 633

1.3. Çalışmanın Amacı

VHS virüsü Türkiye’de ve bölgemizde ilk kez 2005 yılında Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı Trabzon Su Ürünleri Merkez Araştırma Enstitüsü (SUMAE) tarafından kültürü yapılan ve doğadan yakalanan kalkan balıklarında tespit edilmiştir (Kalaycı, 2006; Nishizawa ve ark., 2006). Bu virüsün doğal kalkan stoklarında mevcut olması kalkan balıklarının doğal besinlerinden biri olan ve aynı derinliklerde yaşayan mezigit balıklarında da mevcut olabileceği fikrini uyandırmıştır. Bu çalışma Karadeniz ekosistemi için anahtar bir tür olan mezigit balıklarında VHS virüsünün var olup olmadığı, eğer varsa hangi dönemlerde ortaya çıktığının belirlenmesi ve bölgede deniz kafeslerinde yetiştiriciliği yapılan gökkuşuğu alabalıkları ile mezigit balıkları arasında virüs transferi olup olmadığının belirlenmesi hedeflenmiştir.

2. YAPILAN ÇALIŞMALAR

2.1. Çalışmanın Yapıldığı Yer

Yomra koyu (40° 57' 58" ve 40° 57' 49" Kuzey, 39° 51' 37" ve 39° 53' 44" Doğu), Trabzon'da denizde kafeslerde kültür balıkçılığının en yaygın olarak yapıldığı bir koydur. Bu koyda uzun bir zamandan beri kafeslerde alabalık yetiştiriciliği yapan 1000 ton/yıl'lık bir işletme (A işletmesi), 2004 yılında kurulmuş 1000 ton/yıl'lık bir işletme (B işletmesi) ve 2007 yılında kurulmuş 1200 ton/yıl'lık bir işletme mevcut bulunmaktadır. Bu işletmeler her geçen yıl kapasitelerini artırmaktadırlar ve bunların yanında aynı bölgede yeni işletmeler kurulma aşamasındadır. Ayrıca bölgede gökkuşuğu alabalığının yanında levrek (*Dicentrarchus labrax*) yetiştiriciliğine başlanmış ve farklı türlerin yetiştiriciliği için deneme çalışmaları yapılmaktadır.



Şekil 1. Çalışmanın yapıldığı yer

2.2. Su Kalitesi Kriterleri

Ocak-Aralık 2007 tarihleri arasında, aylık olarak YSI 556 Multiprobe System cihazı ile kafeslerin etrafındaki yüzey suyundan sıcaklık, oksijen ve pH ölçümleri yapıldı.

2.3. Materyal

Viral Hemorajik Septisemi virüsünün yetiştiriciliği yapılan gökkuşağı alabalıklarında mevsimsel dağılımını ve prevalansını belirlemek amacıyla, Trabzon ilinin Yomra ilçesinde kurulmuş kafeslerde alabalık yetiştiriciliği yapan iki farklı işletmeden toplam 439 adet gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) temin edildi. Bu iki işletmeden birincisinden (A işletmesi) Ocak-Mayıs 2007 tarihleri arasında yapılan 5 ayrı örnekleme sonucunda boyları 12–57,5 cm ve ağırlıkları 70–2470 gr arasında değişen toplam 178 adet (28 grup), ikinci işletmeden (B işletmesi) ise Şubat, Mart, Nisan, Mayıs, Aralık 2007 ve Ocak, Şubat, Mart 2008 tarihleri arasında 8 ayrı örnekleme sonucunda boyları 15,7–43,5 cm ve ağırlıkları 38,74–1382,36 gr arasında değişen toplam 261 adet (41 grup) gökkuşağı alabalığı temin edildi. Bu işletmelerden temin edilen balıklar rastgele seçilen kafeslerin her birinden ortalama 7 balık kepçe ile yakalanarak ayrı ayrı kovalarda ya da poşetlerde karaya çıkarıldı. Karaya çıkarılan balıklar, içerisine buz konulmuş strafolar ile soğuk muhafaza edilerek laboratuvara ulaştırıldı. Gökkuşağı alabalıklarına ait örnekleme bilgileri Tablo 4 ve Tablo 5’te gösterilmiştir.

Bu işletmelerin etrafında her mevsim bulunabilen ve göç etmeyen bir balık türü olan mezzit (*Merlangius merlangus euxinus*) ile gökkuşağı alabalığı arasında VHS virüsünün herhangi bir transferi olup olmadığını tespit etmek amacıyla kafeslerin etrafından Mart, Nisan, Mayıs, Eylül, Aralık 2007 ve Ocak, Şubat, Mart 2008 tarihleri arasında yapılan 11 ayrı örnekleme sonucunda, boyları 11,0–19,6 cm ve ağırlıkları 8,55–54,13 gr arasında değişen toplam 864 adet (71 grup) mezzit, 16–18 mm ağ gözü açıklığına sahip dip ağlarıyla ile avlanarak viral yönden incelendi.

Mezzit örnekleme Mart 2007, Nisan 2007 ve Şubat 2008 aylarında 15 günlük periyotlarla ayda 2 kez yapılmış ve toplam örneklenen grup sayısı ile bu gruplardan VHS pozitif olan grup sayısı Şekil 6’da ve mezzit balıklarına ait örnekleme bilgileri Tablo 6’da gösterilmiştir. Kondisyon faktörü $K = (W/L^3) \times 100$ formülü ile hesaplanmıştır (Ricker, 1975).

Tablo 1. A İşletmesinden alınan alabalıkların adet, boy, ağırlık ve kondisyon faktörü değerleri

AYLAR	N(adet)	BOY(cm)	AĞIRLIK(gr)	Kondisyon Faktörü
OCAK 2007	7	21,7±2,3	—	—
	7	21,9±2,2	—	—
	7	15,9±2,1	—	—
	7	23,2±2,0	—	—
	8	28,3±2,0	—	—
ŞUBAT 2007	7	25,1±1,7	184,3±34,9	1,17
	7	24,4±1,8	180,0±40,9	1,22
	4	18,8±0,7	81,3±10,3	1,22
	7	26,3±1,7	210,7±51,8	1,14
	7	24,6±2,4	178,6±66,8	1,16
MART 2007	7	27,5±1,7	232,5±34,9	1,12
	7	24,1±1,6	158,2±30,7	1,12
	7	27,3±4,4	270,9±112,5	1,26
	7	25,8±1,3	190,4±35,3	1,10
	7	32,5±1,6	433,5±56,0	1,25
NİSAN 2007	7	30,8±1,7	372,9±114,9	1,26
	7	29,3±2,1	333,6±52,8	1,32
	7	26,5±1,4	215,0±53,2	1,14
	6	38,8±2,1	531,7±93,3	1,23
	5	29,9±4,4	344,2±151,4	1,24
	5	53,5±3,0	2020,0±338,5	1,31
MAYIS 2007	5	33,3±2,4	449,0±123,0	1,19
	5	32,3±2,3	406,0±125,0	1,17
	6	35,5±1,1	555,0±82,4	1,24
	5	30,0±1,6	310,0±55,1	1,14
	4	37,6±2,0	792,5±194,5	1,47
	6	36,4±1,8	735,0±174,3	1,25
	6	34,6±1,6	571,0±79,3	1,14

Tablo 2. B İşletmesinden alınan alabalıkların adet, boy, ağırlık ve kondisyon faktörü değerleri

AYLAR	N (adet)	BOY(cm)	AĞIRLIK (gr)	Kondisyon Faktörü
ŞUBAT 2007	6	34,4±1,7	602,6±64,3	1,49
	5	35,5±0,8	729,0±62,7	1,49
	7	32,9±1,4	547,0±67,7	1,72
	2	32,5±2,1	610,0±261,6	1,54
	3	16,3±0,9	50,5±13,9	1,15
MART 2007	7	37,3±2,2	863,7±243,4	1,63
	8	31,0±2,5	425,1±117,9	1,40
	7	31,5±3,3	423,8±169,7	1,30
	6	32,0±2,9	517,9±128,3	1,55
	7	20,9±1,3	112,3±20,6	1,18
NİSAN 2007	7	30,8±1,5	378,4±79,3	1,28
	7	37,5±1,1	770,8±74,5	1,46
	7	24,5±2,1	213,1±47,5	1,37
	7	22,9±1,9	154,9±37,7	1,28
	7	22,5±1,9	153,2±39,1	1,32
MAYIS 2007	6	40,4±3,7	1084,8±258,7	1,62
	5	36,4±3,4	815,4±253,2	1,64
	6	35,3±2,4	714,0±190,0	1,59
	6	37,6±5,0	1102,4±265,2	2,20
	8	27,4±3,6	307,6±155,8	1,43
ARALIK 2007	7	20,1±2,5	110,4±44,1	1,29
	5	22,9±1,7	167,0±41,8	1,37
	6	23,3±2,9	170,0±59,5	1,30
	6	22,7±2,5	172,8±47,4	1,45
	OCAK 2008	7	31,7±2,3	550,2±144,2
7		29,3±1,1	378,1±20,4	1,52
7		31,1±2,6	461,5±139,4	1,50
7		29,5±4,7	394,1±119,8	1,53
7		27,5±1,8	335,6±80,1	1,59
ŞUBAT 2008	8	28,1±3,9	356,0±158,8	1,50
	4	29,3±1,0	382,4±83,7	1,51
	7	26,8±1,5	282,7±48,3	1,47
	8	26,9±2,3	316,1±113,8	1,56
	4	29,5±2,2	381,5±110,4	1,47
MART 2008	7	26,4±1,2	260,0±28,9	1,41
	7	28,6±2,0	401,8±124,1	1,69
	7	32,2±1,7	499,9±85,3	1,49
	4	29,9±1,9	395,3±159,7	1,45
	8	25,2±4,4	211,8±100,3	1,24
	7	32,4±2,5	531,3±123,5	1,54
	7	30,7±2,8	434,0±148,9	1,46

Tablo 3. Mezgıt balıklarına ait örnekleme bilgileri

Aylar	N*	Boy (cm)	Ağırlık (gr)	Kondisyon faktörü
Mart 2007	7x12	14,58±0,84	23,82±3,9	0,76±0,02
Mart 2007	7x12	14,56±0,91	24,51±4,14	0,79±0,05
Nisan 2007	5x14	14,64±0,78	24,07±3,65	0,76±0,03
Nisan 2007	5x15	13,85±1,02	19,67±4,45	0,73±0,04
Mayıs 2007	5x15	14,86±1,09	22,58±4,34	0,69±0,03
Eylül 2007	7x10	15,35±1,00	25,65±4,74	0,72±0,04
Aralık 2007	7x12	14,84±1,29	26,26±6,52	0,79±0,04
Ocak 2008	7x10	15,53±1,11	30,39±6,85	0,80±0,03
Şubat 2008	7x12	14,59±0,81	24,61±4,17	0,79±0,02
Şubat 2008	7x12	14,59±1,27	21,53±4,67	0,69±0,04
Mart 2008	7x12	14,49±0,96	21,48±3,10	0,71±0,06

*; grup sayısı x gruptaki balık sayısı

2.4. Metot

2.4.1. Viral Örnekleme

Viral örneklemede “Dünya Hayvan Sağlığı Örgütü’nün (OİE)” tavsiye ettiği viral örnekleme yöntemi kullanıldı (OİE, 2006). Bu yöntemde göre; her bir balığın boy (1 mm hassasiyette) ve ağırlık (0,001 g hassasiyette) değerleri ölçüldükten sonra dış yüzeyi % 70’lik alkolle temizlendi. Vücut boşluğu açılarak karaciğer, böbrek ve dalaktan küçük parçalar alındı. 5–7 balığın organları 1 grup olacak şekilde, antibiyotiklerle (1000 IU/ml Penisilin, 500 µg/ml Gentamycin, 1000 µg/ml Streptomycin ve Amphotericine B) desteklenmiş 10 ml Earl’s Minimal Essential Medium (EMEM; Sigma co.) içeren plastik poşetlere konuldu. Homojenize edildikten sonra 2000 x g–20 dakika–4°C’de santrifüj edildi. Süpernetant 10⁻² seyreltildikten sonra 24 saatlik monolayer CHSE-214 hücre kültürüne viral ekim yapıldı ve 15°C’de inkübasyona bırakıldı. Takip eden 14 gün boyunca inverted mikroskop ile herhangi bir sitopatik etki (CPE) oluşup oluşmadığı gözlemlendi. CPE oluşan örnekler, oluşan CPE’nin toksisiteden kaynaklanıp kaynaklanmadığından emin olmak amacıyla inokülasyon işlemi tekrarlandı. Bu süreç sonucunda pozitif çıkan örnekler -80°C’de muhafaza edildi.

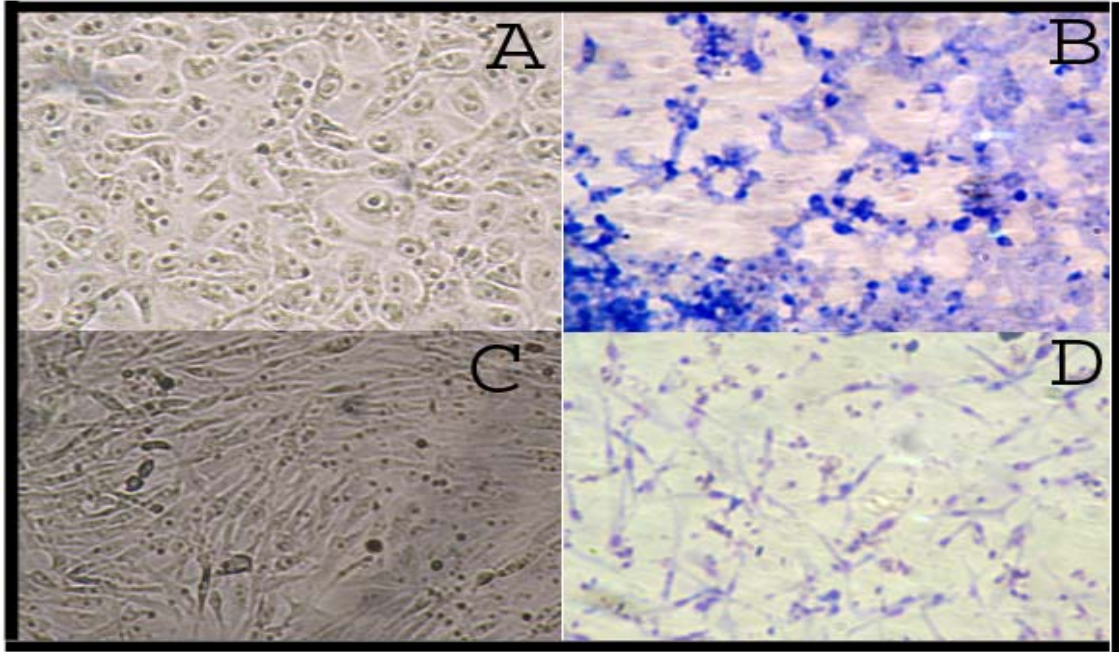
VHS pozitif olduğu tespit edilen örnekler, hücre hattında sergilediği sitopatik etkileri göstermek amacıyla, gimsa boyama (Pritchard ve Kruse, 1982) yöntemiyle boyanarak CHSE-214 ve BF-2 hücre hatlarında fotoğrafları çekildi. Bu yöntemine göre; gimsa (1 g), gliserol (40 ml) ve metil alkolden (65 ml) oluşan gimsa stok çözeltisi ve Na_2HPO_4 (0,6 g), KH_2PO_4 (0,5 g) ve distile sudan oluşan 100 ml buffer çözeltisi hazırlandı. Gimsa stok çözeltisi filtre ile süzöldükten sonra 3:97 oranında buffer çözeltisi ile karıştırılarak çalışma solüsyonu hazırlandı. VHS pozitif olduğu görölen hücrelere 0,5 ml metanol eklenerek 1 dakika boyunca fiks edildi. Üzerine gimsa çalışma solüsyonundan 0,5 ml eklendi ve 10 dakika bekletildikten sonra suyla yıkandı. Bir süre kurutulduktan sonra immersiyon yağı ilave edilerek inverted mikroskopta fotoğrafları çekildi.

3. BULGULAR

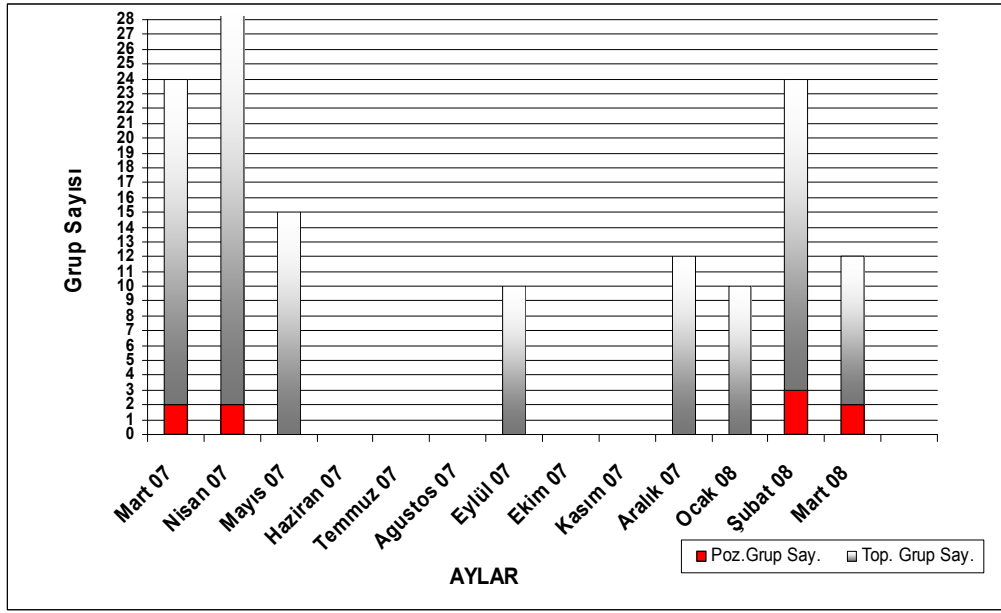
3.1. Mezgıt (*Merlangius. merlangus euxinus*) Örnekleme Sonuçları

2007 yılının Mart, Nisan, Mayıs, Eylül, Aralık ve 2008 yılının Ocak, Şubat ve Mart aylarında mezgıt balıklarından alınan doku örnekleri viral örneklenmiş ve bu örneklerin CHSE-214 hücre hattına inokülasyonu sonucunda, 2007 yılının Mart ve Nisan aylarında ve 2008 yılının Şubat ve Mart aylarında VHSV CPE'si benzeri CPE tespit edilmiştir.

VHS virüsünün CHSE-214 ve BF-2 hücre hatlarında, inokulasyondan sonraki beşinci günde sergilediği sitopatik etkiler Şekil 5'te gösterilmektedir. Şekilde A ve C ile gösterilen CHSE-214 ve BF-2 hücre hatlarına inokulasyon yapılmamıştır ve bu hücre hatlarına gimsa boyama uygulanmamıştır.

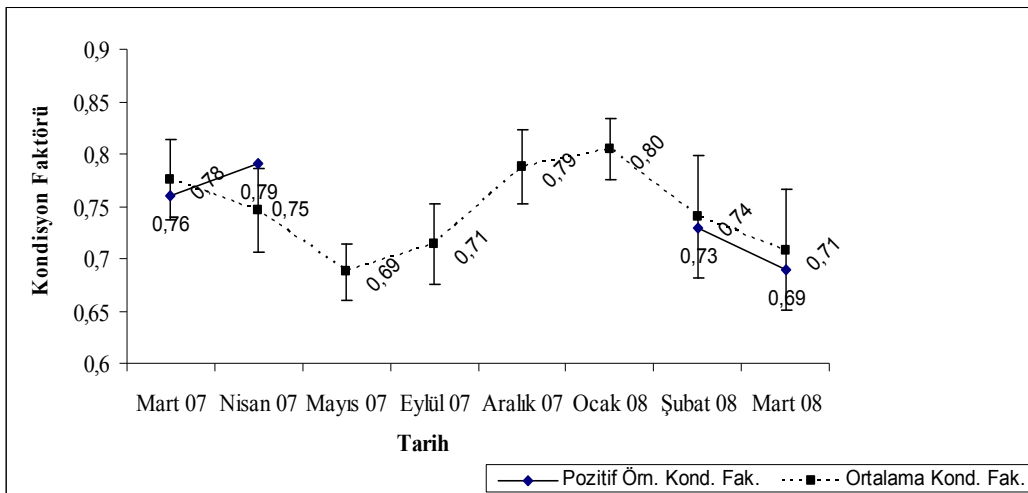


Şekil 5. VHS virüsünün inokulasyondan sonraki beşinci günde sergilediği sitopatik etkiler A) CHSE-214 hücre hattı, B) VHS pozitif CHSE-214 hücre hattı, C) BF-2 hücre hattı, D) VHS pozitif BF-2 hücre hattı



Şekil 6. Aylara göre, örneklenen mezgitlerin toplam grup sayısı ile VHS pozitif olan grup sayısı

Araştırmada kullanılan mezgit balıklarında ait aylık ortalama kondisyon faktörü değerleri ve bu balıklardan VHS pozitif olan grupların ortalama kondüsyon faktörlerinin karşılaştırılması Şekil 7’de gösterilmiştir.



Şekil 7. Mezgit balıklarının aylık ortalama kondisyon faktörü değerleri

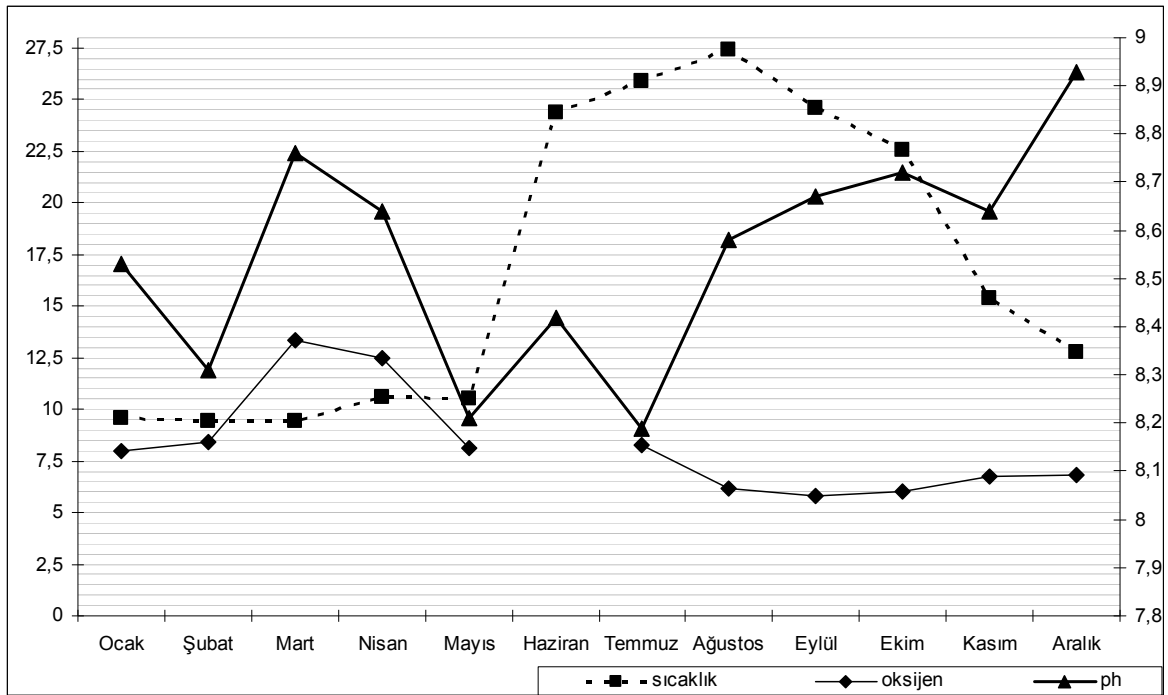
3.2. Gökkuşığı Alabalığı (*O. mykiss*) Örnekleme Sonuçları

Çalışma boyunca gerek A işletmesinden ve gerekse B işletmesinden temin edilen toplam 439 adet gökkuşığı alabalığının, karaciğer, dalak ve böbreklerinden hücre kültürüne yapılan viral ekimler sonucunda VHSV kaynaklı herhangi bir CPE oluşumu görülmemiştir.

İki işletme kondisyon faktörleri açısından karşılaştırıldığında, A işletmesinin B işletmesine göre tüm aylarda ve tüm balık gruplarında daha düşük kondisyon faktörü değerlerine sahip olduğu tespit edilmiştir.

3.3. Su Kalitesi Kriterleri

Yüzey sularından aylık olarak yapılan sıcaklık, çözülmüş oksijen miktarı ve pH ölçümleri sonucunda, en yüksek sıcaklık 27,4°C ile Ağustos ayında ölçülürken, en düşük sıcaklık 9,05°C olarak Mart ayında ölçülmüştür. Çözülmüş oksijen miktarı sıcaklık ile ters orantılı bir şekilde en yüksek 13,35 mg/l ile Mart ayında, en düşük 6,13 mg/l olarak Ağustos ayında ölçülmüştür. PH ise en yüksek 8,96 ile Aralık ayında, en düşük 8,19 olarak Temmuz ayında ölçülmüştür (Şekil 8).



Şekil 8. Yüzey sularından ölçülen sıcaklık, çözülmüş oksijen ve pH değerleri

4. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışma, Yomra koyunda Viral Hemorajik Septisemi virüsünün mezgıt stoklarında yayılımı ve kültür balıkçılığına etkisinin belirlenmesi amacıyla yapılmıştır. Çalışma boyunca kafeslerde gökkuşığı alabalığı yetiştiriciliği yapan iki farklı işletmeden toplam 439 adet alabalık 69 grupta incelenirken, kafeslerin etrafında ve bölgede her mevsim bulunabilen mezgıt balıklarından toplam 864 adet mezgıt 71 grupta incelenmiştir. Balıklardan alınan dalak, böbrek ve karaciğer örneklerinin CHSE-214 hücre kültüründe inokülasyonu sonucunda, mezgıt balıklarında 71 grubun 9'unda VHS virüsü için karakteristik olan CPE oluşumu görülürken gökkuşığı alabalıklarında VHS virüsü ile ilişkili herhangi bir CPE oluşumu görülmemiştir.

VHS salgınları her mevsim görülebilir fakat genellikle sonbahar ve ilkbahar aylarında su sıcaklığının dalgalanmalar gösterdiği dönemlerde daha yoğun olarak görülür (OİE, 2006). VHS virüsünün optimum replikasyon sıcaklığı 14–15°C'dir. Replikasyon 6°C'den daha düşük sıcaklıklarda çok düşüktür ve 20°C'den yüksek sıcaklıklarda hiç görülmeyebilir (de Kinkelin ve ark., 1980; Bernard ve ark., 1983; McAllister, 1990). Bu sıcaklık değerleri çalışmamızın yapıldığı Doğu Karadeniz Bölgesinde alabalıkların deniz kafeslerine taşındığı ve yaz aylarına kadar büyütüldüğü dönemde yüzey suyu sıcaklıklarına tekabül etmektedir. Bölgede yapılan bir çalışmada mezgıt balıklarının yaşadığı derinliklerde su sıcaklığı yıl boyu izlenmiş ve 7°C ile 17,5 °C arasında olduğu görülmüştür (Öğüt ve Palm, 2005). Bu sıcaklık aralığı VHS salgını için uygun değerlerdedir. Bu çalışmaya göre mezgıt balıklarının avlandığı derinliklerdeki su sıcaklığı Şubat ayında 12°C, Mart ayında 13,5°C ve Nisan ayında 12 °C'dir. Bu sıcaklık değerleri VHS virüsünün replikasyonu için optimal sıcaklık değerlerine tekabül etmektedir ve çalışmamızda bu aylarda alınan mezgıt örneklerinde VHS virüsüne rastlanmıştır. Öğüt ve Palm'ın (2005) Ocak-Nisan ayları arasında mezgıt balıklarını 12–13,5 °C sıcaklığındaki derinliklerdeki sulara rapor etmişlerdir. İlginç olarak, Nisan ayında mezgıt balıklarının avlandığı derinliklerdeki su sıcaklığı 12,2°C iken Mayıs ayında 8,1°C'ye gerilemiştir. Muhtemelen mezgıt balıkları bu dönemlerde daha soğuk sulara doğru göç etmişlerdir.

Mezgıt balıklarının ergin bireyleri 5–16°C suları tercih ederler, fakat genç bireyler hayatlarının ilk evrelerinde ve sıcak mevsimlerde yüzeye yakın sulara yaşarlar (Fischer, 1973). Denizlerde gökkuşığı alabalıklarının yetiştirildiği kafeslerde genellikle 15 m

derinliğe sahip ağlar kullanılmaktadır. Yani kafeslerde yetiştirilen gökkuşuğu alabalıkları yüzey sularından 15 m derinliğe kadar olan su kütlelerinde bulunurlar. Kasım-Mayıs aylarında su sıcaklığı 9–15°C arasında ölçülmüştür ve bu sıcaklık aralığı VHS virüsünün gelişmesi ve balıkları enfekte edebilmesi için uygun değerlerdedir. Gerek su sıcaklığı ve gerekse su kütlesi bazı dönemlerde her iki tür için ortaktır. Ayrıca çalışma boyunca örneklenen mezgıt balıklarının birçoğunun mide içeriğinde gökkuşuğu alabalıklarının beslenmesinde kullanılan pelet yemlere rastlanmıştır. Bu durum mezgıt ile gökkuşuğu alabalıkları arasındaki etkileşimin bariz bir göstergesidir.

Karadeniz sahillerinde kafeslerde alabalık yetiştiriciliği yapan işletmelerde gökkuşuğu alabalıkları genellikle Kasım-Aralık aylarında denizlerdeki kafeslere taşınmakta, Mayıs-Haziran aylarına kadar satışa sunulmakta ve satıştan geriye kalan balıklar ise tatlı sulardaki yetiştiricilik ünitelerine taşınmaktadır. Haziran ayında su sıcaklığı 20°C'nin üzerine çıkmaktadır ve bu sıcaklıklar alabalık yetiştiriciliğini sınırlamaktadır. Çalışma boyunca örneklenen mezgıt balıklarının tamamı kafeslere çok yakın bölgelerden temin edilmiştir. Alabalıkların transfer edildiği dönemlerde ise mezgıt balıkları örneklenmemiştir. Bu yüzden mezgıt balıklarında VHS virüsünün mevsimsel dağılımı tam olarak belirlenememiştir. Fakat sadece 2007 yılının Mart ve Nisan aylarında ve 2008 yılının Şubat ve Mart aylarında mezgıt balıklarından alınan örneklerin VHS virüsü için karakteristik olan sitopatik etki göstermesi, bu virüsün Şubat-Nisan ayları arasında mezgıt balıklarında yayılım gösterdiği ve su sıcaklığının 15°C'nin altında seyrettiği Kasım-Mayıs ayları arasında da bu virüsün bölgede bulunabileceği düşünülmektedir.

Çalışma boyunca gerek A işletmesinden (178 adet) alınan gerekse B işletmesinden alınan (261 adet) gökkuşuğu alabalıklarından alınan dalak, böbrek ve karaciğer örneklerinin CHSE-214 hücre kültürüne inokülasyonu sonucunda VHS virüsü ile ilişkili bir CPE görülmemiştir. Fakat deneysel olarak dere alası (*Salmo trutta*) ve gökkuşuğu alabalıkları çalışma boyunca mezgıt balıklarından izole edilen VHS virüsü ile enfekte edilmiş ve bu balıklar VHS hastalığının klinik belirtilerini sergilemiştir (Öğüt ve Altuntaş, yayınlanmamış veri).

Su Ürünleri Merkez Araştırma Enstitüsü-Trabzon (Nishizawa ve ark., 2006) tarafından yapılan bir çalışmada, kültürü yapılan ve doğadan yakalanan kalkan balıklarından VHS virüsü izole edilmiş ve bu virüs deneysel olarak gökkuşuğu alabalıklarına enjekte edilmiştir. Deney sonucunda gökkuşuğu alabalıklarında ölüm görülmediği gibi VHS virüsü de geri elde edilememiştir. Skall ve ark. (2004) tarafından yapılan benzer bir çalışmada, doğal

deniz balıklarından elde edilen VHS izolatlarının bazıları enjeksiyon yöntemiyle gökkuşağı alabalıklarına uygulandığında, düşük seviyede ölüm görülürken daldırma yöntemiyle enfekte edilen balıklarda ölüm gerçekleşmemiştir. Tam aksine, tatlı sulardan elde edilen VHS izolatları daldırma yöntemiyle balıklara uygulandığında önemli miktarda ölümler görülmüştür. Bu çalışmalar sonucunda araştırmacılar, doğal deniz balıklarından izole edilen VHS izolatları gökkuşağı alabalıklarına karşı genellikle ya patojen değildirler ya da çok düşük virülentlik gösterirler sonucuna varmışlardır.

VHS virüsüne dayanıklılık her balık türünde aynı değildir ve genç balıklar bu virüse karşı daha dayanıksızdır. VHS virüsü ile enfekte olmuş gökkuşağı alabalığı larvalarında %100'e varan ölümler görülürken yetişkin bireylerde hiçbir hastalık belirtisi görülemeyebilmektedir (CFSPH, 2003). Çalışmada kullanılan gökkuşağı alabalıkları Aralık-Mart ayları arasında yumurtadan çıkmakta, Eylül ayına kadar kuluçkahanede büyütüldükten sonra yaklaşık 1 yaşındayken deniz kafeslerine taşınmaktadır. Ortamda VHS virüsü mevcut olsa ve çevre şartları da enfeksiyon için uygun olsa bile bu balıklarda VHS kaynaklı bir enfeksiyon görülmeyebilir veya virüs latent (gizli) olarak bulunabilir. Bu balıkların damızlık olarak kullanılması virüsün kuluçkahanelere taşınma riskini doğurabilecek ve hatta virüsün akarsu sisteminde ve bölgedeki diğer su kaynaklarında yayılmasına neden olabilecektir.

A işletmesinin kondisyon faktörü değerleri hem aylık olarak hemde grup olarak bakıldığında B işletmesine göre daha düşüktür. Bu farkın sebebinin beslenme kaynaklı olduğu düşünülmektedir. A işletmesi ihtiyacı olan balık yemini kendisi üretirken, B işletmesi ticari yemler kullanmaktadır ve daha sağlıklı bir besleme politikası izlemektedir. Kötü beslenme, A işletmesinin viral enfeksiyona maruz kalma ihtimalini artırmaktadır, fakat bu işletmeden VHS virüsü izole edilememiştir.

Sonuç olarak, Karadeniz'de bir anahtar tür olan mezgıt balığında VHS virüsünün mevsimselliği ilk kez aylık olarak belirlenmiştir. Eş zamanlı olarak mezgıt örneklerinin avlandığı alanda kurulu olan iki işletmeden yapılan örneklemeler sonucunda mezgıt balıklarından gökkuşağı alabalıklarına virüs transferinin gerçekleşmediği tespit edilmiştir. Gökkuşağı alabalıklarına virüs transferinin gerçekleşmemesine rağmen diğer yetiştiriciliği yapılan balıklar ve doğal balıklarda da virüs transferinin gerçekleşip gerçekleşmediğinin belirlenmesi kafes balıkçılığında stratejik kararların alınmasında yararlı olacaktır.

5. ÖNERİLER

Türkiye’de bu güne kadar VHS virüsü deniz ortamında sadece Yomra koyunda rapor edilmiştir. Dolayısıyla Yomra koyu haricinde herhangi bir yerde doğal balık stoklarında bu virüsün mevcut olup olmadığı konusunda herhangi bir bilgi bulunmamaktadır. Diğer bölgelerde de bu yönde yapılacak çalışmalar VHS virüsü hakkında daha kesin bilgiler sunacaktır.

Doğal balık stoklarında VHS virüsünün prevalansının Yomra koyundaki gibi yoğun yetiştiricilik yapılan ve yapılmayan bölgelerde karşılaştırılması ile virüsün kaynağı hakkında fikir yürütülebilecektir.

Bölgede kafeslerde alabalık yetiştiriciliğinin yanında levrek yetiştiriciliği de başlamıştır ve birçok farklı balık türünün yetiştiriciliği için ön çalışmalar yapılmaktadır. Deniz kafeslerinde her hangi bir türün yetiştiriciliğinde VHS virüsünün etkisinin belirlenmesi bu yönde girişimde bulunacak olan üreticilere ışık tutacaktır.

Mezgit balıklarından izole edilen bu VHSV suşunun farklı balık türlerinde virülenslikleri ve türler arasındaki enfeksiyon transferlerinin belirlenmesi gerek doğal balık popülasyonları ve gerekse kültür balıkçılığı açısından son derece önemlidir.

6. KAYNAKLAR

- Ahne, W., 1981. Serological Techniques Currently Used in Fish Virology, Dev. Biol. Stand., 49, 327.
- Akşiray, F., 1987. Türkiye Deniz balıkları ve Tayin Anahtarı, II. Baskı, İstanbul Üniversitesi Rektörlüğü Yayınları, İstanbul.
- Amlacher, E., Ude, J., Rudolph, C. ve Ernst, G., 1980. Direct Electron Microscopial Visualization of The Presumptive Virus of Viral Hemorrhagic Septicemia (VHS) in Rainbow Trout *Salmo gairdneri* Richardson and Additional Histopathological and Haematological Observations, Journal of Fish Diseases, 3, 55–62.
- Bernard, J., de Kinkelin, P. ve Bearzotti-Le, B. M., 1983. Viral Hemorrhagic Septisemia of Rainbow Trout: Relation Between The G Polypeptide and Antibody Production in Protection of The Fish After İnfection with The F25 Attenuated Variant, Infection and Immunity, 39, 7–14.
- Besse, P., 1955. Recherche sur L'étiologie de L'anémie Infectieuse de la Truite, Bulletin de L'Académie Vétérinaire de France, 5, 194–198.
- Bristow, P., 1992. The Illustrated Encyclopedia of Fishes, Illustrated by Kwetoslow Hisek.
- Brunson, R., True, K. ve Yancey, J., 1989. VHS Virus Isolated at Makah National Fish Hatchery, American Fisheries Society Fish Health Section Newsettler, 17, 3–4.
- Campbell, J. B. ve Wolf, K., 1969. Plaque Assay and Some Characteristics of Egtved Virus (Virus of Viral Hemorrhagic Septicemia of Rainbow Trout), Can. Journal of Microbiology, 15, 635–637.
- Castric, J. ve de Kinkelin, P., 1984. Experimental Study of The Susceptibility of Two Marine Fish Species, Sea Bass (*Dicentrarchus labrax*) and Turbot (*Scophthalmus maximus*), to Viral Haemorrhagic Septicemia, Aquaculture, 41, 203–212
- Center for Food Security and Public Health (CFSPH), 2003. Viral Hemorrhagic Septicemia, Institute for International Cooperation in Animal Biologocs and Collage of Veterinary Medicine, Iowa State University, Ames, Iowa, 3.
- Çelikkale, M. S., 1994. İç Su Balıkları Yetiştiriciliği, Cilt 1, İkinci Baskı, Karadeniz Teknik Üniversitesi Sürmene Deniz Bilimleri Fakültesi Yayınları, Trabzon.
- Çiloğlu, E., Şahin, C., Zengin, M. ve Genç, Y., 2001. Doğu Karadeniz, Trabzon-Yomra Sahillerinde Mezgıt (*Merlangius merlangus euxinus*, Nordman, 1840) Balıklarının Bazı Popülasyon Parametreleri ve Üreme Döneminin Tespiti, Turkish Journal of Vet. Anim. Sci., 25, 831-837.

- de Kinkelin, P. ve Scherrer, R., 1970. Le Virus d'Egtved I. Stabilité, Développement et Structure du Virus de la Souche Danoise F1, Annual Research Veterinary, 1, 17–30.
- de Kinkelin, P., Bearzotti-Le, B. M. ve Bernard, J., 1980. Viral Hemorrhagic Septicemia of Rainbow Trout Selection of A Thermoresistant Virus Variant and Comparison of Polypeptide Synthesis with The Wild-Type Virus Strain, Journal of Virology, 36, 652–658.
- de Kinkelin, P. ve Castrc, J., 1982. An Experimental Study of The Susceptibility of Atlantic Salmon Fry (*Salmo salar*) to Viral Hemorrhagic Septicemia, Journal of Fish Diseases, 5, 57–65.
- Einer-Jensen, K., Ahrens, P., Forsberg, R. ve Lorensen, N., 2004. Evolution of The Fish Rhabdovirus Viral Hemorrhagic Septicemia Virus, Journal of General Virology, 85, 1167–1179.
- Elsayed, E., Fiasal, M., Thomas, M. Whelan, G. Batts, W. ve Winton, J., 2006. Isolation of Viral Hemorrhagic Septicaemia Virus from Muskellunge, *Esox masquinongy* (mitchill), in Lake st. Clair, Michigan, USA Reveals A New Sublineage of The North American Genotype, Journal of Fish Diseases, 29, 611–619.
- Enzmann, P. J. ve Konrad, M., 1985. Inapparent Infections of Brown Trout with VHS-Virus, Bulletin of The European Association of Fish Pathologists, 5, 81–83.
- European Communities, 2001 (2001/183/EC.). Sampling Plans and Diagnostic Methods for The Detection and Confirmation of Viral Hemorrhagic Septicemia (VHS) and Infectious Pancreatic Necrosis (IHN), L66/66–76.
- Faisal, M. ve Ahne, W., 1980. Use of The Immunoperoxidase Technique for Detection of Fish Virus Antigens, Springer-Verlag, Berlin, 186–192.
- Fischer, W., 1973. FAO Species Identification Sheets for Fishery Purposes, Mediterranean and Black Sea, fishing area 37, Vol. 1. Roma, FAO.
- Fisheries Research Services (FRS), 2006. Risks to Wild Freshwater Fisheries from Viral Hemorrhagic Septicemia (VHS) Disease. Scottish Executive Environment and Rural Affairs Department.
- Gall, G. A. E. ve de Groot, S. J. 1990. Taxonomic names for Northern Pacific trout species, Aquaculture, 86, 1.
- Ghittino, P., 1965. Viral Hemorrhagic Septicemia (VHS) in Rainbow Trout in Italy, Annual N. Y. Academic Sciences, 126, 468–478.
- Gravell, M. ve Malsberger, R. G., 1965. A Permanent Cell Line from The Fathead Minnow (*Pimephales promelas*), Annual N. Y. Academic Sciences, 126, 555–565.

- Goodwin, E. A., Peterson, E. J., Meyers, R. ve Money, J. D., 2004. Transmission of Exotic Fish Viruses: The Relative Risks of Wild and Cultured Bait, American Fisheries Society, Fisheries, 29, 5, 19–23.
- Güner, Y., Güzel, Ş., Kayım, M., Serezli, R., Öksüz, A., Bircan, R., Atamanalp, M., Tokşen, E. ve Kocabaş, M., 2007. Doğu Anadolu Kalkınma Programı, Tarım ve Kırsal Kalkınma Bileşeni, Balık Üreticisi El Kitabı, Yüzüncü Yıl Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Proje Koordinasyon Merkezi Yayını, Van.
- Hershberger, P. K., Kocan, R. M., Elder, N. E., Meyers, T. R. ve Winton, J. R., 1999. Epizootiology of Viral Hemorrhagic Septicemia Virus in Pacific Herring from The Spawn-On-Kelp Fishery in Prince William Sound, Alaska, USA, Diseases of Aquatic Organisms, 37, 23–31.
- Hopper, K., 1989. The Isolation of VHSV from Chinook Salmon at Glenwood Springs, Orcas Island, Washington. Fisheries Society Fish Health Section Newsettler, 17, 1.
- Jensen, M. H., 1963. Preparation of Fish Tissue Cultures for Virus Research. Bulletin de L'Office International des Epizootes, 59, 131–134.
- Jensen, N. J., Bloch, B. ve Larsen, J. L., 1979. The Ulcus-Syndrom in Cod (*Gadus morhua*) III, A Preliminary Virological Report, Nordisk Veterinærmedicin, 34, 136–142.
- Jørgensen, P. E. V., 1974a. A Study of Viral Diseases in Danish Rainbow Trout, Their Diagnosis and Control, Commissioned by A/S Carl Fr. Mortensen, Blowsvej 5 C 1870 København V, Denmark, 101.
- Jørgensen, P. E. V., 1974. A Study of Viral Diseases in Danish Rainbow Trout, Their Diagnosis and Control, PhD Thesis, Danish Royal Vet. and Agri. Univ., Copenhagen, 101.
- Jørgensen, P. E. V., 1980. Egtved Virus: The Susceptibility of Brown Trout and Rainbow Trout to Eight Virus Isolates and The Significance of The Findings for The VHS Control, Pages 37 in W. Ahne, ed. Fish Diseases. Third COPRAQSession. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York.
- Jørgensen, P. E. V., 1982. Egtved Virus: Occurrence of Inapparent Infections with Virulent Virus in Free-Living Rainbow Trout, *Salmo gairdneri* Richardson, at Low Temperatures, Journal of Fish Diseases, 5, 251–255.
- Jørgensen, P. E. V. ve Olesen, N. J., 1987. Cod Ulcus Syndrom Rhabdovirus is Indistinguishable from The Egtved (VHS) Virus, Bulletin of The European Association of Fish Pathologists, 7, 73–74.
- Kalaycı, G., İncöğlü, S. ve Özkan, B., 2006. First Isolation of Viral Hemorrhagic Septicemia (VHS) Virus from Turbot (*Scophthalmus maximus*) Cultured in The Trabzon Coastal Area of The Black Sea in Turkey, Bull. Eur. Ass. Fish Path., 26, 4, 157-162.

- Kehlet, N. P., 1973. A Summary of The Rules, Methods and Results of The Danish Campaign Against Infectious Disease of Freshwater Fish, EIFAC (Eur. Inland Fish. Advis. Comm.) Tech. Pap.17, 2, 37–38.
- Kendall, R. L., 1988. Taxonomic changes in North American Trout Names, North American Journal of Fisheries Management, 8, 389.
- Kurth, J., Waldmaan, R., Heith, J., Mausebach, K. ve Burian, R., 1999. Efficient Inactivation of Viruses and Mycoplasma in Animal Sera Using UVC Irridation, Dev. Biol. Stand., 99, 111–118.
- Kusuda, R. ve Kawarasaki, A., 1993. Establishment and Charaterization of A Cell Line Derived from The Kidney of Red Sea Bream, *Pagrus major*, Suisanzoshoku, 41, 455–460.
- Lannan, C. N., Winton, J. R. ve Fryer, J. R., 1984. Fish Cell Lines: Establishment and Characterization of Nine Cell Lines from Salmonids, In Vitro, 20, 671–676.
- López- vazques, C., Bain, N., Oliveira, J. G., Snow, M., Raynard, R. S., Barja, J. L. ve Dopazo, C. P., Characterization of VHSV Isolates from Iberian Origin and from The Flemish Cap by Sequencing, 11th International Conference of The EAFP on Diseases of Fish and Shellfish, September 2002, st. Julians, Malta, Abstract Book, 138.
- McAllister, P. E., 1979. Fish Viruses and Viral Infections, Compherensive Virology, 14, 401–470.
- McAllister, P. E. ve Schill, W. B., 1986. Immunoblot Assay: A Rapid and Sensitive Method for Identification of Salmonid Fish Viruses, Journal of Wildl. Diseases, 22, 468–474.
- McAllister, P. E., 1990. Fish Disease Leaflet 83: Viral Hemorrhagic Septicemia of Fishes. US Fish and Wildlife Service. National Fisheries Research Center-Leetown. National Fish Health Research Laboratory, Kesrneysville, West Virginia.
- Meier, W. ve Jørgensen, P. E. V., 1975. A Rapid and Specific Method for The Diagnosis of Viral Hemorrhagic Septicemia (VHS) of Rainbow Trout, Riv. Ital. Piscic. Ittiop., 10, 11–15.
- Meier, W., Schmitt, M. ve Wahli, T., 1994. Viral Hemorrhagic Septicemia (VHS) of Nonsalmonids, Ann. Rev. Fish Dis., 4, 359–373.
- Meyers, T. R., Short, S., Lipson, K., Batts, W. N., Winron, J. R., Wilcock, J. ve Brown, E., 1994. Association of Viral Hemorrhagic Septicemia Virus with Epizootic Hemorrhages of The Skin Pacific Herring (*Clupea harengus pallasii*) from Prince William Sound and Kodiak Island, Alaska, USA, Disease of Aquatic Organisms, 19, 27–37.

- National Wild Fish Health Survey (NWFHS), 2001. Laboratory Procedures Manual-Version 1.0, Chapter 11 Virology, Ray Brunson.
- Nishizawa, T., Savaş, H., Işıdan, H., Üstündağ, C., Iwamoto, H. ve Yoshimizu, M., 2006. Genotyping and Pathogenicity of Viral Hemorrhagic Septicemia Virus from Free-Living Turbot (*Psetta maxima*) in a Turkish Coastal Area of The Black Sea, Applied and Environmental Microbiology, 72, 4, 2373–2378.
- Nordmann, A. von, 1840. Observations sur la Fauna Pontique, In: A de Démidoff, Voyage Dans la Russie Méridionale et la Crimée, Volume III, Paris, Voyage Russie Merid., 353-635.
- Öğüt, H. ve Palm, H. W., 2005. Seasonal Dynamics of *Trichodina* spp. on Whiting (*Merlangius merlangus*) in Relation to Organic Pollution on The Eastern Black Sea Coast of Turkey, Parasitology Research, 96, 149–153.
- Peters, F. ve Neukirch, M., 1986. Transmission of Some Fish Pathogenic Viruses by The Heron, *Ardea cinerea*, Journal of Fish Diseases, 9, 539–544.
- Pritchard, M. H. ve Kruse, G. O.W., The Collection and Preservation of Animal Parasites, University of Nebraska Press, Nebraska, 1982.
- Rasmussen, C. J., 1965. A Biological Study of The Egtved Disease (INUL), Annals of The New York Academy of Sciences, 126, 427–460.
- Ricker, W. E., 1975. Computation and Interpretation of Biological Statistics of Fish Populations, Bull. Fish Res. Board Can., 191, 382.
- Roberts, R. J., 2001. Fish Pathology (3rd Edition), Saunders, London.
- Schäperclaus, W., 1938. Die Schädigungen der Deutschen Fischerei Durch Fischparasiten und Fischkrankheiten, Fischerei Zeitung, 22, 1–20.
- Schäperclaus, W., 1954. Undersøgelse af Sygdom hos Ørredernei Danske ørreddambrug og Forslag til Bakæmpelse Heraf, Ferskvandsfiskeribladet, 52, 145–149.
- Schutze, H., Mundt, E. ve Mettenleiter, T. C., 1999. Complete Genomic Sequence of Viral Hemorrhagic Septicemia Virus, a Fish Rhabdovirus, Virus Genes, 19, 59–65.
- Skall, H. F., Slierendrecht, W. J., King, J. A. ve Olesen, N. J., 2004. Experimental Infection of Rainbow Trout *Oncorhynchus mykiss* with Viral Haemorrhagic Septicaemia Virus Isolates from European Marine and Farmed Fishes, Diseases of Aquatic Organisms, 58, 99-110.
- Skall, H. F., Olesen, N. J. ve Mellergaard, S., 2005. Viral Hemorrhagic Septicemia Virus in Marine Fish and Its Implications for Fish Farming- A Review, Journal of Fish Diseases, 28, 509–529.

- Slastenenko, E., 1956. Karadeniz Havzası Balıkları (Çeviren: Hanifi ALTAN), Et ve Balık Kurumu Umum Müdürlüğü Yayını, İstanbul.
- Smail, D. A., 1995. Isolation and Identification of Viral Hemorrhagic Septicemia (VHS) Virus from North Sea Cod (*Gadus morhua* L.) ICES CM 1995/F:15.
- Smail, D. A., 2000. Isolation and Identification of Viral Hemorrhagic Septicemia (VHS) Viruses from Cod (*Gadus morhua*) with The Ulcus Syndrome and from Haddock (*Melenogrammus aeglefinus*) Having Skin Hemorrhages in The North Sea, Diseases of Aquatic Organisms, 41, 231–235.
- Smirnov, Y. A., Kapitulets, S. P., Amitina, N. N., Gheuskaya, V. A. ve Kaverin, N. V., 1991. Effect of UV Irridation on Rotavirus, Acta. Virol., 35, 1–6.
- Snow, M., Cunninham, C. O., Melvin, W. T ve Kurath, G., 1999. Analyses of The Nucleoprotein Gene Identifies Dinstinct Lineages of Viral Hemorrhagic Septicemia Virus within The European Marine Environment, Virus Research, 63, 35–44.
- Şahin, T. ve Akbulut, B., 1997. Some Population Aspects of Whiting (*Merlangius merlangus euxinus*, Nordman, 1840) in The Eastern Black Sea Coast of Turkey, Tübitak, Journal of Zoology, 21, 187-193.
- Tomasec, J. ve Fijan, N., 1971. Virusne Bolestriba (Viral Diseases of Fish), Final Report on Research under A Part of Project, Nowember 1966, Zagreb.
- The Virus Species Concept (ICTV), 2000. Introduction Virus Taxonomy Online: Seventh Report of The International Committee on Taxonomy of Viruses.
- Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK), 2006. Su Ürünleri İstatistikleri.
- United States Fish&Wildlife Service (USFWS), 1994. Aquatic Species in California, Idaho, Nevada and Oregon, Issue No: 1068–0384, Portland.
- Way, K. ve Dixon, P. E., 1988. Rapid Detection of VHS and IHN Viruses by The Enzymlined Immunosorbent Assay (ELISA), Journal of Applied Ichthyology, 4, 182–189.
- Wheeler, A., 1968. The Fishes of The British Isles and North West Europe, Macmillan, London.
- Whitehead, P. J. P., Bauchot, M. L., Hureau, J. C., Nilsen, J. ve Tortonese, E., Fishes of The North Eastern Atlantik and The Mediterranean, 1-2-3, Paris, 1986.
- Wolf, K. ve Quimby, M. C., 1962. Established Eurythermic Lines of Fish Cells in Vitro, Science, 135, 1065–1066.
- Wolf, K., Gravell, M. ve Merlsberger, R. G., 1966. Lymphocystis Virus: Isolation and Propagation in Centrarchid Fish Cell Lines, Science, 151, 1004–1005.

- Wolf, K. ve Quimby, M. C., 1973. Fish Viruses Buffers and Methods for Plaquing Eight Agents Under Normal Atmosphere, Applied Microbiology, 25, 659–664.
- Wolf, K., 1988. Viral Hemorrhagic Septicemia, Fish Viruses and Fish Viral Diseases, Cornell University Press, 217–249.
- World Organisation for Animal Health (OIE), 2006. Manual and Diagnostic Tests for Aquatic Animals, Chapter 2.1.5. Viral Hemorrhagic Septicemia.
- Yasutake, W. T., 1970. Comparative Histopathology of Epizootic Salmonid Virus Diseases. A Symposium on Diseases of Fishes and Shellfishes, American Fisheries Society, 5, 341–350.
- Zwillenberg, L. O., Jensen, M. H. ve Zwillenberg, H. H. L., 1965. Electron Microscopy of The Virus of Viral Hemorrhagic Septicemia of Rainbow Trout (Egtved Virus), Archives of Virology, 17, 1, 1–19.

Ek-1

Tablo 1. Viral Hemorajik Septisemi virüsünün izole edildiği ve deneysel olarak enfekte ettiği balık türleri

Balık Türü	Yıl	Referans
Doğal Ortamlarından Yakalanan Balık Türleri		
Kuzey Amerika (Pasifik Bölgesi)		
Chinook salmon, <i>Oncorhynchus tshawytscha</i>	1988	Hopper (1989)
Coho salmon, <i>Oncorhynchus kisutch</i>	1988	Brunson ve ark. (1989)
Steelhead trout, <i>Oncorhynchus mykiss</i>	1989	Brunson ve ark. (1989)
Pacific cod, <i>Gadus macrocephalus tilesius</i>	1990	Meyers ve ark. (1992)
Pacific herring, <i>Clupea pallasii valencienses</i>	1993	Meyers ve ark. (1994)
Tube-snout, <i>Aulorhynchus flavidus gill</i>	—	Traxler ve ark. (1995)
Shiner perch, <i>Cymatogaster aggregata gibbons</i>	—	Traxler ve ark. (1995)
Pacific sandlance, <i>Ammodytes hexapterus pallasi</i>	1997	Hershberger ve ark. (1999); Kocan ve ark. (2001)
Walleye pollock, <i>Theragra chalcogramma</i>	1998	Meyers ve ark. (1999)
Tomcod, <i>Microgadus proximus</i>	1998	Meyers ve ark. (1999)
Pilchard, <i>Sardinops sagax</i>	1998/99	Traxler ve ark. (1999)
Black cod, <i>Anoplopoma fimbria</i>	1998/99	Traxler ve ark. (1999)
English sole, <i>Parophrys vetulus girard</i>	—	Hershberger ve ark. (1999)
Eulachon, <i>Thaleichthys pacificus</i>	2001	Kaufman ve Holt(2001); Hedrick ve ark.(2003)
Pacific mackerel, <i>Scomber japonicus houttuyn</i>	2001	Cox ve Hedrick (2001); Hedrick ve ark.(2003)
Surf smelt, <i>Hypomesus pretiosus</i>	—	Batts veWinton (2002); Hedrick ve ark. (2003)
Pasific hake; <i>Merliccius productus</i>	1998	Meyers ve ark. (1999)
Stickleback; <i>Gasterosteus aculeatus</i>	1997	Kent ve ark. (1998)
Kuzey Amerika (Atlantik Bölgesi)		
Greenland halibut, <i>Reinhardtius hippoglossoides</i>	1994	Bandin ve ark. (1999); Dopazo ve ark. (2002)
Three-spined stickleback, <i>Gasterosteus aculeatus</i>	2000	Anonim (2001b); Olivier (2002)
Mummichog, <i>Fundulus heteroclitus</i>	2000	Amos ve Olivier (2001); Anonim (2001b)
Japonya		
Japanese flounder, <i>Paralichthys olivaceus</i>	1999	Takano ve ark. (2000)
Pacific sand eel, <i>Ammodytes personatus</i>	2001	Watanabe ve ark. (2002)
Avrupa		
Cod, <i>Gadus morhua</i>	1979/93	Jensen ve ark. (1979); Smail (1995;2000)
Haddock, <i>Melanogrammus aeglefinus</i>	1995	Smail (2000)
Herring, <i>Clupea harengus</i>	1996	Dixon ve ark. (1997)
Sprat, <i>Sprattus sprattus</i>	1996	Mortensen ve ark. (1999a)
Four-beard rockling, <i>Enchelyopus cimbrius</i>	1996	Mortensen ve ark. (1999a)
Norway pout, <i>Trisopterus esmarkii</i>	1996	Mortensen ve ark. (1999a)
Whiting, <i>Merlangius merlangus</i>	1997	Mortensen ve ark. (1999a)
Blue whiting, <i>Micromesistius poutassou</i>	1997	Mortensen ve ark. (1999a)
Lesser argentine, <i>Argentina sphyriaena</i>	1997	Mortensen ve ark. (1999a)
Poor cod, <i>Trisopterus minutus</i>	1998	King et al. (2001b)
Plaice, <i>Pleuronectes platessa</i>	1998	Mortensen ve ark. (1999b); Skall ve ark. (2005)
Dab, <i>Limanda limanda</i>	1998	Mortensen ve ark. (1999b); Skall ve ark. (2005)
Flounder, <i>Platichthys flesus</i>	1998	Mortensen ve ark. (1999b); Skall ve ark. (2005)
Sand goby, <i>Pomatoschistus minutus</i>	2001	Skall ve ark. (2002;2005)
Sand eel, <i>Ammodytes sp.</i>	2002	Skall ve ark. (2005)
Kültürü Yapılan Deniz Balıkları		
Turbot, <i>Scophthalmus maximus</i>	1991	Schlotfeldt ve ark. (1991)
Atlantic salmon, <i>Salmo salar</i>	1986/95	Jimenez ve ark. (1988); Traxler ve ark. (1995)
Japanese flounder, <i>Paralichthys olivaceus</i>	1996	Isshiki ve ark. (2001); Kim ve ark. (2003)
Rockfish, <i>Sebastes inermis cuvier</i>	—	Isshiki ve ark. (2003)
Pacific sand eel, <i>A. personatus</i>	—	Isshiki ve ark. (2003)

Tablo 1'in devamı

Balık Türü	Yıl	Referans
Diğer Balık Türleri		
Rainbow trout, <i>Oncorhynchus mykiss</i>	1962	Jensen (1963)
Brown trout, <i>Salmo trutta</i>	1969	de Kinkelin ve le Bere(1977); Jorgensen(1980)
Pike, <i>Esox lucius</i>	1978	Meler ve Jorgensen (1979)
Grayling, <i>Thymallus thymallus</i>	1979	Wizigmann ve ark. (1980)
Whitefish, <i>Coregonus sp.</i>	1984	Ahne ve Thomsen(1985); Meier ve ark. (1986)
European eel, <i>Anguilla anguilla</i>	1987	Castric ve ark. (1992)
Largemouth bass, <i>Micropterus salmoides</i>	1998	de Kinkelin ve ark. (1999)
DeneySEL Olarak Enfekte Olan Türler		
Brook trout, <i>Salvelinus fontinalis</i>		Rasmussen (1965)
Golden trout, <i>Oncorhynchus aguabonita</i>		Ahne ve ark. (1976)
Rainbow trout X Coho salmon		Ord ve ark. (1976)
European sea bass, <i>Dicentrarchus labrax</i>		Castric ve de Kinkelin (1984)
Lake trout, <i>Salvelinus namaycush</i>		Dorson ve ark. (1991)
Atlantic halibut, <i>Hippoglossus hippoglossus</i>		Snow ve ark. (1999a); Bowden (2003)
Black sea bream, <i>Acanthopagrus schlegelii</i>		Isshiki ve ark. (2003)
Red spotted grouper, <i>Epinephelus akaara</i>		Isshiki ve ark. (2003)
Schlegel's black rockfish, <i>Sebastes schlegelii</i>		Isshiki ve ark. (2003)
Red sea bream, <i>Pagrus major</i>		Ito ve ark. (2004)
Yellowtail, <i>Seriola quinqueradiata</i>		Ito ve ark. (2004)

ÖZGEÇMİŞ

1981 yılında Trabzon'da doğdu. İlk ve orta öğrenimini Trabzon'da tamamladı. 2000–2001 eğitim öğretim yılında Karadeniz Teknik Üniversitesi Sürmene Deniz Bilimleri Fakültesi Balıkçılık Teknolojisi Mühendisliği bölümünde lisans öğrenimine başladı ve 2004 yılı Haziran ayında mezun oldu.

2004–2005 eğitim öğretim yılında KTÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Balıkçılık Teknolojisi Mühendisliği Anabilim Dalı'nda yüksek lisans öğrenimine başladı. Kasım 2005 tarihinde KTÜ Fen Bilimleri Enstitüsü 50/d kadrosuna araştırma görevlisi olarak atandı ve Sürmene Deniz Bilimleri Fakültesi Balıkçılık Teknolojisi Mühendisliği bölümünde görevlendirildi. Halen bu fakültedeki görevine devam etmektedir. Orta derecede İngilizce bilmektedir.