

**KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BALIKÇILIK TEKNOLOJİSİ MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**

**DOĞU KARADENİZ'DE DENİZ LEVREĞİ'NDE (*Dicentrarchus labrax*)  
ÖLÜMLERE SEBEP OLAN BAKTERİYEL HASTALIKLAR VE  
MEVSİMSELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Biyolog Ecren UZUN**

**NİSAN 2013  
TRABZON**

**KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BALIKÇILIK TEKNOLOJİSİ MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**

**DOĞU KARADENİZ'DE DENİZ LEVREĞİ'NDE (*Dicentrarchus labrax*)**  
**ÖLÜMLERE SEBEP OLAN BAKTERİYEL HASTALIKLAR VE**  
**MEVSİMSELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ**

**Biyolog Ecren UZUN**

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

**Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 01.04.2013**  
**Tezin Savunma Tarihi : 26.04.2013**

**Tez Danışmanı : Prof. Dr. Hamdi ÖĞÜT**

**Trabzon 2013**

**Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü**  
**Balıkçılık Teknolojisi Mühendisliği Anabilim Dalında**  
**Ecren UZUN tarafından hazırlanan**

**DOĞU KARADENİZ'DE DENİZ LEVREĞİ'NDE (*Dicentrarchus labrax*)**  
**ÖLÜMLERE SEBEP OLAN BAKTERİYEL HASTALIKLAR VE**  
**MEVSİMSELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ**

**başlıklı bu çalışma, Enstitü Yönetim Kurulunun 02.04.2013 gün ve 1500/03 sayılı**  
**kararıyla oluşturulan jüri tarafından yapılan sınavda**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**olarak kabul edilmiştir.**

**Jüri Üyeleri**

**Başkan : Prof. Dr. Hamdi ÖĞÜT** .....

**Üye : Prof. Dr. Hikmet KARAÇAM** .....

**Üye : Prof. Dr. Zihni DEMİRBAĞ** .....

**Prof. Dr. Sadettin KORKMAZ**

**Enstitü Müdürü**

## ÖNSÖZ

Hastalıklar, balık ölümlerine neden olmaları yanında ürün kalitesini düşürerek üretim maliyetini arttırmaları bakımından da önemlidirler. Hem mevcut kayıpları en aza indirmek hem de üretimin giderek yoğunlaşmasından kaynaklanabilecek yeni kayıpları engellemek için hastalıklarla mücadele büyük önem arz etmektedir. Yetiştiricilik yolu ile balık üretiminin artmasında en önemli sınırlayıcı faktör olan hastalıkların neden olduğu kayıpların en aza indirilmesi için hastalıklarla etkin mücadele edilmesi gerekmektedir. Sunulan çalışmada bakteriyel balık patojenlerinin çeşitliliğini ve varsa parazit yoğunluğu ile ilişkisini belirleme amaçlanmıştır. Çalışma, etken kontrol stratejileri oluşturulmasına katkı sağlayabilecektir.

Bu çalışma, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Balıkçılık Teknolojisi Mühendisliği Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans tezi olarak hazırlanmış ve K.T.Ü. Bilimsel Araştırma Fonu tarafından 2010.117.001.2. numaralı proje ile desteklenmiştir. Çalışmanın deneysel aşamaları Sürmene Deniz Bilimleri Fakültesi Balık Hastalıkları Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

Çalışmanın yürütülebilmesi için gerekli malzemelerin temininde sağladığı desteklerden dolayı KTÜ Bilimsel Araştırma Fonu'na; yüksek lisans tez danışmanlığımı üstlenerek, gerek konu seçimi ve çalışma materyallerinin temininde, gerekse çalışmaların yönlendirilmesi ve değerlendirilmesinde ilgi ve yardımını esirgemeyen değerli hocam Prof. Dr. Hamdi ÖĞÜT'e; çalışmalarım esnasında desteklerini esirgemeyen Recep PARLAK, Cemil ALTUNTAŞ, Nihat GÜNDÜZ, Turgut TATLI, Şener AKTAŞ ve diğer tüm arkadaşlarıma teşekkürü borç bilirim.

Eğitim ve öğretim süresi içerisinde maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen Sevinç BAKİ ve Murat YAYLACI'ya sonsuz teşekkürü bir borç bilirim.

Ecren UZUN  
Trabzon 2013

## TEZ BEYANNAMESİ

Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “Doğu Karadeniz’de Deniz Levreği’nde (*Dicentrarchus labrax*) Ölümlere Sebep Olan Bakteriyel Hastalıklar ve Mevsimselliklerinin Belirlenmesi ” başlıklı bu çalışmayı baştan sona kadar danışmanım Prof. Dr. Hamdi ÖĞÜT’ün sorumluluğunda tamamladığımı, verileri/örnekleri kendim topladığımı, deneyleri/analizleri ilgili laboratuvarlarda yaptığımı/yaptırdığımı, başka kaynaklardan aldığım bilgileri metinde ve kaynakçada eksiksiz olarak gösterdiğimi, çalışma sürecinde bilimsel araştırma ve etik kurallara uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul ettiğimi beyan ederim.  
01/04/2013

**Ecren UZUN**

## İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
ÖNSÖZ .....	III
TEZ BEYANNAMESİ.....	IV
İÇİNDEKİLER.....	V
ÖZET .....	VIII
SUMMARY .....	IX
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	X
TABLOLAR DİZİNİ.....	XI
KISALTMALAR VE SEMBOLLER DİZİNİ .....	XII
1. GENEL BİLGİLER.....	1
1.1. Giriş.....	1
1.2. Deniz Levreği ve Kültürü.....	2
1.3. Levreklerde Ölümlere Neden Olan Yaygın Bakteriyel Balık Hastalıkları .....	2
1.3.1. Vibriozis .....	3
1.3.1.1. Coğrafik Dağılımı.....	3
1.3.1.2. Klinik ve Otopsi Bulguları .....	5
1.3.1.3. Bakteri Karakteristiği .....	6
1.3.1.4. Epizootiyolojisi .....	8
1.3.1.5. Patojenite ve Virülansı .....	10
1.3.1.6. Kontrol ve Tedavi.....	11
1.3.2. Photobacteriosis (Pasteurellosis) .....	12
1.3.2.1. Coğrafik Dağılımı.....	13
1.3.2.2. Klinik ve Otopsi Bulguları .....	13
1.3.2.3. Bakteri Karakteristiği .....	14
1.3.2.4. Epizootiyolojisi .....	16
1.3.2.5. Patojenite ve Virülansı .....	17
1.3.2.6. Kontrol ve Tedavi.....	17
1.3.3. Hareketli Aeromonas Enfeksiyonları .....	18
1.3.3.1. Coğrafik Dağılımı.....	18
1.3.3.2. Klinik ve Otopsi Bulguları .....	19

1.3.3.3. Bakteri Karakteristiği .....	19
1.3.3.4. Epizootiyolojisi .....	20
1.3.3.5. Patojenite ve Virölansı .....	21
1.3.3.6. Kontrol ve Tedavi.....	22
1.3.4. Levreklerde Görülen Diğer Bakteriyel Hastalıklar .....	22
1.3.5. Levreklerde Görülen Parazitel Hastalıklar .....	25
2. YAPILAN ÇALIŞMALAR .....	28
2.1. Çalışmanın Yapıldığı Yer.....	28
2.2. Balık Materyali.....	29
2.3. Hasta Balıklardan Bakteri İzolasyonu.....	30
2.4. Bakterilerin Morfolojik, Fizyolojik ve Biyokimyasal Özelliklerinin Belirlenmesi.....	30
2.5. Biyokimyasal Testler.....	30
2.6. <i>Diplectanum aequans</i> Parazitinin Örnekleme .....	34
2.7. Genetik Analizler .....	34
2.7.1. Total DNA İzolasyonu .....	34
2.7.2. PCR Şartları, Görüntüleme ve DNA Analizi .....	35
2.7.3. PCR Ürününün Saflaştırılması .....	36
2.8. Su Kalitesi Kriterleri .....	36
3. BULGULAR .....	37
3.1. Hasta Balıkların Klinik ve Otopsi Bulguları .....	37
3.2. İzole Edilen Bakteri Suşları.....	40
3.3. Biyokimyasal Testler.....	44
3.4. Antibiyogram Testleri .....	51
3.5. Moleküler Analizler .....	57
3.6. <i>Diplectanum aequans</i> Parazitinin Özellikleri.....	60
3.7. Parazit Yoğunluğunun Balık Performansına Etkisi.....	62
3.8. Parazit-Bakteri İlişkisi .....	63
3.9. Su Kalitesi Parametreleri.....	64
4. TARTIŞMA VE SONUÇLAR .....	66
4.1. Klinik Belirtiler .....	66
4.2. <i>Aeromonas veronii</i> .....	67
4.3. <i>Photobacterium damsela</i> subsp. <i>damsela</i> .....	69

4.4.	<i>Vibriozis</i> .....	71
4.5.	<i>Diplectanum aequans</i> ve Bakteri İlişkisi.....	74
4.6.	Kirlilik .....	74
5.	ÖNERİLER .....	75
6.	KAYNAKLAR.....	76
7.	EKLER .....	95
	ÖZGEÇMİŞ	



## Yüksek Lisans Tezi

### ÖZET

# DOĞU KARADENİZ’DE DENİZ LEVREĞİ’NDE (*Dicentrarchus labrax*) ÖLÜMLERE SEBEP OLAN BAKTERİYEL HASTALIKLAR VE MEVSİMSELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

Ecrcn UZUN

Karadeniz Teknik Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Balıkçılık Teknolojisi Mühendisliği Anabilim Dalı  
Danışman: Prof. Dr. Hamdi ÖĞÜT  
2012, 94 Sayfa, 2 Ek Sayfa

Karadeniz’de levreğin (*Dicentrarchus labrax*) yetiştirme evresini kapsayacak şekilde, Haziran-Aralık arası aylık olarak Perşembe ve Yomra İşletmeleri’nden dörtyüz yetmiş altı balığın böbrek ve dalaklarından bakteriyel izolasyon yapılmış ve buna paralel olarak aynı balıkların sağ birinci solungaç arkları parazit sayısını belirleme amaçlı örneklenmiştir. Toplamda izole edilen 137 bakterinin tamamına biyokimyasal testler uygulanmış ve antibiyogram profilleri çıkarılmıştır. Ayrıca 16S rDNA dizi analizi ile türleri belirlenmiştir. İzole edilen 24 bakteri türünden bölgemizde sıkça, balık patojeni olarak *Aeromonas veronii* (%47,6), *Photobacterium damsela* subsp. *damsela* (%14), *Vibrio vulnificus* (%5), *Vibrio rotiferianus* (%3,3) ve *Vibrio harveyi* (%3,3) izole edilmiştir. Bu bakterilerin oluşturduğu 12 adet çoklu enfeksiyon belirlenmiştir. Ayrıca *Listonella anguillarum*, *Vibrio ponticus*, *Vibrio furnissii* ve *Vibrio parahaemolyticus* çalışmada izole edilen diğer balık patojeni bakteri türleridir. *Diplectanum aequans* çalışmanın gerçekleştirildiği işletmelerde yüksek prevalense (%92’lere varan) sahip tek parazit türü olarak tespit edilmiştir. Parazitin sayısı arttıkça aynı zamanda bakteri izole etme olasılığının arttığı gözlemlenmiştir. Çalışmamızda, balık patojeni olmayan zootonik patojenlerin (*Bacillus thuringiensis*, *Bacillus anthracis* strain Ames, *Staphylococcus haemolyticus*) ve *Bacillus safensis* FO-036b gibi türlerin beklenmeyen bir şekilde birden fazla izole edilmeleri işletmelerin yoğun olarak tarımsal ve evsel atıkların etkisi altında kaldığını göstermektedir. İzole edilen bakteri türleri Karadeniz’de ilk kez balık patojeni olarak tespit edilmiş olup bu rapor bir ilk niteliği taşımaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** *Aeromonas veronii*, *Photobacterium damsela* subsp. *damsela*, Vibriosiz, *Diplectanum aequans*, Levrek (*Dicentrarchus labrax*), Karadeniz

Master Thesis

SUMMARY

BACTERIAL PATHOGENS CAUSING MORTALITIES IN THE SEA BASS  
(*Dicentrarchus labrax*) AND DETERMINATION OF SEASONAL OCCURRENCE IN  
THE EASTERN BLACK SEA

Ecren UZUN

Karadeniz Technical University  
The Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Fisheries Technology Engineering Graduate Program  
Supervisor: Prof. Hamdi ÖĞÜT  
2013, 94 Pages, Appendix 2 Pages

In Black Sea, bacterial sampling of kidney and spleen of 476 sea bass (*Dicentrarchus labrax*) carried out monthly, from June and December, from Perşembe and Yomra growout farms. The first gill arc of each sampled fish was also sampled to determine the number of gill parasite of the isolated 137 bacteria were characterized biochemically tests, including antibiogram profiles. Besides their family and species were identified by the help of 16s rDNA sequence analysis. Of the isolated 24 bacteria species, the most frequently isolated bacteria that are pathogenic to fish were *Aeromonas veronii* (47,6%), *Photobacterium damsela* subsp. *damsela* (14%), *Vibrio vulnificus* (5%), *Vibrio rotiferianus* (3,3%) and *Vibrio harveyi* (3,3%). Twelve cases of mix infections involving up to three bacteria and gill parasite, were also detected. Moreover *Listonella anguillarum*, *Vibrio ponticus*, *Vibrio furnissii* and *Vibrio parahaemolyticus* were the other pathogenic bacteria rarely detected. *Diplectanum aequans* was the only parasite with high prevalence (up to %92). It is observed that the more the numbers of the bacteria increases, the more possibility of isolation of the bacteria increases. In our study surprisingly zoonotic pathogens (*Bacillus thuringiensis*, *Bacillus anthracis* strain Ames, *Staphylococcus haemolyticus*) and *Bacillus safensis* FO-036b were frequently isolated indicating that farms were under the influence of domestic and agricultural effluents. These isolated bacterial fish pathogens characterised in this study were the first detected and report in this study for the region.

**Key Words:** *Aeromonas veronii*, *Photobacterium damsela* subsp. *damsela*, Vibriosis, *Diplectanum aequans*, Sea Bass (*Dicentrarchus labrax*), Blacksea

## ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 1. Çalışmanın yapıldığı yerler, Yomra ve Perşembe İşletmeleri.....	28
Şekil 2. Levrek balığı ( <i>Dicentrarchus labrax</i> ) .....	29
Şekil 3. Hasta balıklara ait klinik ve otopsi belirtileri a) Deride ülseratif lezyonlar, b) Deride hemoraji, c)Ekzoftalmus, d) Böbrekte nodüller e) Dalakta nodüller, bağırsakta sarı sıvı ve solgun karaciğer f) Damakta hemoraji.....	38
Şekil 4. a) Hasta balıklardan izole edilen patojen bakterilerin aylara bağlı olarak dağılımları b) 2010 yılına ait hasta balıklardan izole edilen patojen bakterilerin aylara bağlı .....	41
Şekil 5. İzole edilen bakterilere uygulanan biyokimyasal test örnekleri .....	46
Şekil 6. Perşembe İşletmesi'nden, 2009, 2010 ve 2011 yıllarına ait balıklardan örneklenen <i>D. aequans</i> parazitinin mean intensity ve perevalans değerlerinin aylara göre dağılımı .....	61
Şekil 7. Yomra İşletmesi'nden, 2009, 2010 ve 2011 yıllarına ait balıklardan örneklenen <i>D. aequans</i> parazitinin mean intensity ve perevalans değerlerinin aylara göre dağılımı.....	62
Şekil 8. Perşembe İşletmesi'nden örneklenen balıkların kondisyon faktörünün parazit gruplarıyla ilişkisi. A, B ve C; parazit yoğunluğu.....	63
Şekil 9. Perşembe İşletmesi'nden örneklenen balıklarda bakteri var veya yok olmasıyla parazit grupları arasındaki ilişki .....	64
Şekil 10. Perşembe ve Yomra İşletmeleri'ne ait aylık sıcaklık, pH ve çözünmüş oksijen değerleri.....	65

## TABLULAR DİZİNİ

### Sayfa No

Tablo 1. <i>Vibrio</i> türlerinin karakteristik özellikleri .....	7
Tablo 2. Bakteriyel balık hastalıklarının kontrolünde kullanılan metodlar.....	11
Tablo 3. Vibriosis'e karşı kullanılan antimikrobiyal maddeler ve kullanım yöntemi .....	12
Tablo 4. <i>Ph. damsela</i> subsp. <i>piscicida</i> ve <i>Ph. damsela</i> subsp. <i>damsela</i> 'nın karakteristik özellikleri .....	15
Tablo 5. Hareketli Aeromodların ayırım çizelgesi .....	20
Tablo 6. Tanımlamada kullanılan şeker diskleri .....	31
Tablo 7. Tanımlamada kullanılan antibiyogram diskleri ve miktarları.....	33
Tablo 8. PCR karışımının bileşenleri ve miktarları.....	35
Tablo 9. Yomra ve Perşembe İşletmeleri'nde kültürü yapılan levrek balıklarında gözlemlenen hastalık belirtileri ve aylara göre dağılımı .....	39
Tablo 10. Çalışma süresince Yomra ve Perşembe İşletmesi'nden örneklenen hasta balıklardan izole edilen bakterilerin 16S rDNA analizine göre belirlenen türleri, sayıları, toplam bakteri türü içindeki yüzde değerleri, izole edildikleri istasyonlardaki yüzde değerleri, izole edildikleri organlardaki yüzde değerleri ve balık için patojen olup olmama durumları .....	42
Tablo 11. Perşembe İşletmesi'nden izole edilen bakteri türlerinin kafeslere ve aylara göre dağılımı .....	43
Tablo 12. Yomra ve Perşembe İşletmeleri'nden örneklenen hasta balıklardan izole edilen türlere ait biyokimyasal testlerin yüzde (%) olarak sonuçları .....	47
Tablo 13. Yomra ve Perşembe İşletmeleri'nden örneklenen hasta balıklardan izole edilen türlere ait biyokimyasal test sonuçlarının devamı.....	49
Tablo 14. İzole edilen bakterilerin antibiyogram değerleri .....	53
Tablo 15. DNA dizi analizi sonuçlarının gen bankası (www.ncbi.nlm.nih.gov) adresinde yer alan Nucleotide Blast (blastn) programı kullanılarak belirlenen maksimum identifikasyon değerleri .....	58
Tablo 16. <i>Ph. damsela</i> subsp. <i>damsela</i> suşları ile referans suşunun MEGA (versiyon 5) programında hesaplanan evrimsel uzaklıkları.....	59
Tablo 17. <i>V. rotiferianus</i> suşları ile referans suşunun MEGA (versiyon 5) programında hesaplanan evrimsel uzaklıkları .....	60
Tablo 18. <i>V. vulnificus</i> suşları ile referans suşunun MEGA (versiyon 5) programında hesaplanan evrimsel uzaklıkları .....	60

## KISALTMALAR VE SEMBOLLER DİZİNİ

- BHIA : Brain Heart Infusion Agar  
CF : Kondisyon faktörü  
CFU : Colony Forming Unit  
dNTP : Deoksiribonükleosid trifosfat  
EPC : Hücre dışı ürünler  
LD : Öldürücü dozaj  
MEGA: Molecular Evolutionary Genetics Analysis  
MH : Mueller Hinton  
ppt : Binde bir  
rpm : Dakikada devir  
TAE : Tris Asetat EDTA  
TCBS : Thiosulfate Citrate Bile Salts  
TSA : Tryptic Soy Agar  
TSB : Tryptic Soy Buyyon  
 $\chi^2$  : Ki kare

## 1. GENEL BİLGİLER

### 1.1. Giriş

Su ürünleri yetiştiriciliği, dünya balıkçılık üretiminin yaklaşık %36'sını karşılamakta ve yılda %10'dan daha fazla artarak büyümektedir (Davenport vd., 2003). Ülkemizde, 2011 yılında yaklaşık 469 bin tonu avcılıkla, 188 bin tonu yetiştiricilikle olmak üzere toplam 657 bin ton su ürünleri üretilmiştir (TÜİK, 2011).

Karadeniz Bölgesi'nde bulunan çiftliklerde levrek (*Dicentrarchus labrax*, Linnaeus, 1758) üretimi, ülkemizdeki toplam levrek üretiminin % 3,2'sine eşittir (TÜİK, 2011). Ancak Karadeniz Bölgesi hali hazırda kullanılan üzerinde üretim kapasitesi mevcuttur. Olası potansiyel üretim artışı çeşitli sebeplerle kısıtlanmış halde olup, balık hastalıkları en önemli sınırlayıcı problemdir.

Hastalıklar, balık ölümlerine neden olmaları yanında ürün kalitesini düşürmeleri ve üretim maliyetini arttırmaları bakımından önemlidirler. Hem mevcut kayıpları en aza indirmek hem de üretimin giderek yoğunlaşmasından kaynaklanabilecek yeni kayıpları engellemek için hastalıklarla mücadele büyük önem arz etmektedir. Yetiştiricilik yolu ile balık üretiminin artmasında en önemli sınırlayıcı faktör olan hastalıkların neden olduğu kayıpların en aza indirilmesi için hastalıklarla etkin mücadele edilmesi gerekmektedir.

Bölgemizde levrek yetiştiriciliğinde daha önce bakteriyel balık hastalıklar kısmen de olsa ele alınmıştır. Fakat herhangi bir çözüm üretilenmiş hatta bazı işletmeciler levrek üretimi yapamaz duruma gelmiştir. Oğut ve Uzun (2012) bölgede yapılan çalışmada levreklerde çok yaygın olan *Diplectanum aequans* parazitinin ölüme sebep olmadığını fakat balığın kondisyon faktörüne negatif etkisi olduğunu ortaya koymuşlardır. Aynı zamanda kondisyon faktöründeki düşmenin balığın bağışıklık sistemini zayıflatarak ikincil enfeksiyonlara açık hale getirebileceğini tavsiye etmişlerdir. Benzer tavsiyeler başka balık hastalıkları için de geçerlidir. Dolayısı ile bu çalışmada bakteriyel balık patojenlerinin çeşitliliğini ve varsa parazit yoğunluğu ile ilişkisini belirleme amaçlanmıştır. Çalışma, etken kontrol stratejileri oluşturulmasına katkı sağlayabilecektir.

## 1.2. Deniz Levreği ve Kültürü

Karadeniz’de yetiştiriciliği yapılan levrek balığı teleost bir balık olup Serranidae familyasının *Dicentrarchus* genusuna mensuptur. Levrekler Karadeniz’den Atlantik ve Baltık Denizi’ne hatta Kuzey Denizi’ne kadar yayılım gösterirler. En yoğun olarak Akdeniz ve Atlantik Okyanusu’nun İspanya, Portekiz ve Fas kıyılarında bulunurlar. Ülkemizi çeviren tüm deniz sularında bulunur (Uçal ve Benli, 1993; Çelikkale vd, 1999).

Levrek balığı deniz fenogramlarının bulunduğu kumlu, çamurlu-sığ biyotoplarda, sıcaklığa ve tuzluluğa karşı gösterdiği toleransı ile nehir ağızlarında ve lagüner bölgede yaşayan bir littoral bölge balığıdır. Havaaların soğuması ile birlikte kışlamak için derin sulara göç ederler. Levrek balıkları karnivor türlerdir ve genellikle küçük balık yavrularını, karides, teke ve diğer canlıları tüketirler (Barnabe, 1990). Kültür ortamında ise %45-55 hayvansal kaynaklı proteinli pelet yem ile beslenmektedirler. Doğada genelde 1-3 kg arasında bulunan levrekler yetiştiricilikte 200 gram ve üstünde pazara sürülmektedir.

Levrekler 5-28°C arası sulara yaşayabilirler fakat optimum büyüme sıcaklığı 20-25°C derecedir (Moretti vd., 1999). 12-14°C derece arasında yumurta bırakırlar. Doğal ortamda 1 kg’lık bir dişinin 293.000-358.000 adet yumurta bırakabildikleri bildirilmiştir (Kennedy ve Fitzmaurice, 1972). Tuzluluk değişimlerine karşı dayanıklı olup, ‰3 tuzluluktan ‰50 tuzluluğa kadar yayılım gösterirler. Kültürde ideal çözünmüş oksijen değeri 5-8 mg/lit olmalıdır.

## 1.3. Levreklerde Ölümlere Neden Olan Yaygın Bakteriyel Balık Hastalıkları

Levrek dünyada en yaygın yetiştiriciliği yapılan balık türü olup, yetiştiriciliğinde hastalıklar önemli kısıtlayıcı faktördür. Aynı zamanda uzun süredir yetiştiriciliğinin yapılması nedeniyle hastalıklar açısından en fazla çalışılan deniz balığı türüdür. Günümüze kadar levreklerde rapor edilen önemli bakteriyel hastalık patojenleri; *Aeromonas hydrophila* subsp. *hydrophila*, *Mycobacterium marinum*, *Photobacterium damsela* subsp. *piscicida*, *Pseudomonas anguilliseptica*, *Streptococcus iniae*, *Tenacibaculum maritimum*, *Vibrio harveyi*, *Vibrio ordalii*, paraziter hastalık patojenleri; *Amyloodinium ocellatum*, *Caligus minimus*, *Cryptocaryon irritans*, *Ceratomyxa oestroides*, *Diplectanum aequans*, *Diplectanum lauberi*, *Gyrodactylus* spp., *Sphaerospora testicularis*, *Sphaerospora*

*dicentrarchi*, *Trichodina* sp., viral hastalık patojenleri; VHSV (Viral Hemorajik Septisemik Virüsü) ve IPNV (Infeksiyöz Pankreatik Nekrozu Virüsü)' dir (Dokuas vd., 1998; Aronson, 1926; Candan vd., 1996; Domenech vd., 1999).

### 1.3.1. Vibriozis

Vibriozis, Vibrinioceae familyasından *Vibrio* cinsi bakterilerin neden olduğu, deniz ve acı su balıklarının sistemik bakteriyel bir enfeksiyonu olmasına rağmen ara sıra tatlı su balıklarında da gözlenir (Ghitto vd.,1977). Hastalık birçok literatürde tuzlu su frunkulozisi (Rucker, 1963) ülser hastalığı (Kubota ve Takakuva, 1963) ve boil disease (Bagge ve Bagge, 1956) gibi isimlerle ifade edilmişse de birçok araştırmacı vibriozis deyimini tercih etmiştir (Colwell ve Grimes, 1984).

Farklı *Vibrio* türleri her yaştaki levrek balıklarında hastalık oluşturabilir (Paperna, 1984). Bütün deniz balığı türleri *Vibrio* 'nun en az bir türüne karşı hassasiyet gösterebilir (Noga, 1996). Balık patojeni olarak bildirilen altı *Vibrio* türü vardır, bunlar; *Vibrio anguillarum*, *V. ordalii*, *V. alginolyticus*, *V.harveyi*, *V. cholerae* non-01 ve *V.vulnificus*'tur (Vera vd., 1991; Christofilogiannis, 1993; Balebona vd., 1998).

#### 1.3.1.1. Coğrafik Dağılımı

Türkiye'de ilk kez Candan (1993) tarafından Ege Bölgesi'nde kafeslerde kültürü yapılan çipura balıklarında bildirilmiş ve daha sonra Karadeniz'de üretimi yapılan Atlantik salmonunda yoğun ölümlere neden olduğu rapor edilmiştir (Candan, 2000). Muğla ili çevresinde yapılan çalışmada vibriozis hastalığı belirtileri gösteren, kültür levrek balıkları ve kafeslerin etrafında bulunan kefal balıklarından *V. anguillarum* izole edilmiştir (Demircan ve Candan, 2006). Yurdumuz Ege kıyılarındaki işletmelerde yetiştirilen ve vibriozisin klinik belirtilerini taşıyan kültür levrek balıklarından *V. anguillarum* ve *V. ordalii* (Cagırgan ve Yureklitürk, 1996), yine bu bölgelerdeki işletmelerde yetiştirilen çipura balıklarından *V. anguillarum*, *V. ordalii* ve *V. alginolyticus* (Candan, 1993; Cagırgan ve Yureklitürk, 1996; Akaylı, 2001; Timur vd., 2004) ve 1991-1992 yıllarında Karadeniz'de yetiştirilen, Atlantik salmon (*Salmon salar*) balıklarından *V. anguillarum* izole edilmiştir (Candan, 2000).



*V. anguillarum* ilk kez Canestrini (1893) tarafından yılan balıklarından kızıl veba hastalığı etkeni olarak izole edilmiştir. 1985 yılında McDowell ve Colwell adlı araştırmacıların yaptığı rRNA filogenetik çalışmaları sonucunda *Listonella anguillarum* olarak isimlendirilmiş olsa da, birçok araştırmacı bu bakterinin *V. anguillarum* olarak *Vibrio* cinsi içinde yer almasını uygun bulmaktadır (Actis vd., 1999; Austin ve Austin, 2007).

*V. anguillarum* denizde yetiştiriciliği yapılan, aralarında levrek, çipura ve somon balıklarının da (Trust, 1986) bulunduğu ekonomik değeri olan 50'den fazla balıkta, kabuklularda (Çağırğan, 1993; Toranzo ve Barja, 1990) ve tatlı su alabalıklarında görülen epizootiklerden izole edilmiştir (Muroga, 1986; Giorgetti vd., 1981).

*V. harveyi* hastalık etkeni olarak ilk defa 1982 yılında büyük camgöz köpek balığından (*Carcharhinus plumbeus*) izole edilmiştir (Grimes vd., 1984). İspanya'da yapılan bir çalışmada kültür levrek ve çipura balıklarından izole ettikleri *V. harveyi*'nin özellikle levrek balıklarında daha baskın olduğu rapor edilmiştir (Pujalte vd., 2003). Türkiye'de *Ceratothoa oestroides* ile enfeste kültür levrek balıklarının iç organlarından sekonder bakteriyel hastalık olgusu olarak *V. harveyi* izole edilmiştir (Korun ve Akaylı, 2004). Korun ve Timur (2008) kültür levrek balıklarından Vibriozis etkeni olarak bu bakteriyi izole etmişlerdir.

*V. ordalii*, *V. anguillarum*'un Biyotip 2'si olarak sınıflandırılmıştır (Schiewe, 1981). Daha sonra biyotipler arasındaki morfolojik farklılıklar, biyokimyasal özellikleri ve DNA homolojileri incelenmiş, *V. anguillarum* Biyotip 2 yeni bir tür olarak kabul edilmiş ve Erling J. Ordal onuruna *V. ordalii* olarak isimlendirilmiştir (Actis vd., 1999). *V. ordalii* patojen olarak ilk kez Japonya'da (Mugora vd., 1986) ve Amerika'nın kuzeybatı Pasifik kıyılarında kültürü yapılan salmon balıklarında rapor edilmiştir. Bu türün ülkemizde kültür levrek ve çipura balıklarından izole edildiği farklı araştırmacılar tarafından bildirilmiştir (Candan, 1993; Çağırğan ve Yureklitürk, 1996; Akaylı, 2001).

*V. alginolyticus* deniz balığı yetiştirilen tanklardaki sulardan izole edilmiştir, bu nedenle enfeksiyonun ortaya çıkmasında kontamine suyun büyük önem taşıdığı bildirilmiştir (Gilmour, 1977). *V. alginolyticus*'un sebep olduğu hastalık tipik bir bakteriyel septisemi olarak tanımlanmıştır (Colorni vd., 1981). *V. alginolyticus* Kızıl Deniz'deki çipura balıkları ile pelet yem hazırlamak için kullanılan balık unundan izole edilmiştir (Sanders ve Fryer, 1988). *V. alginolyticus* yoğun stres altında kalan çipura, kefal gibi deniz

balıklarında hastalık oluşturabilmektedir (Noga, 1996). *V. alginolyticus*' un, Hong Kong'da silver sea bream (*Sparus sarba*)'de yüksek mortaliteye sebep olduğunu bildirilmiştir (Woo vd., 1995). Balebona vd. (1998) patojeni İspanya'daki çipura balıklarında görülen hastalıkla ilişkilendirmiştir.

*Vibrio cholerae* (non-O1) 1977 yılının yaz aylarında Japonya'da Amano Nehri'ndeki ayu balıklarında epizootik oluşturmuş ve hastalık etkeni olarak izole edilmiştir (Muroga vd., 1979; Kiiyukia vd., 1992). *V. cholerae* ile enfekte olmuş japon balıklarında Reddcliff vd. (1993) tarafından septisemi rapor edilmiştir.

*Vibrio vulnificus* 1975–1977 yılları arasında Japonya'da altı ayrı bölgede ortaya çıkmış ve kültürü yapılan yılan balıklarında ciddi sorunlara neden olmuştur (Muroga vd., 1976a, b; Nishibuchi ve Muroga, 1977, 1980). Hastalık hızlı bir şekilde Avrupa'ya yayılmış ve İspanya'da (Biosca vd., 1991; Amaro vd., 1992) vakalar ortaya çıkmıştır.

*Vibrio ponticus* ilk kez Macián vd. (2004) tarafından deniz suyundan, midyeden ve hasta çipura balıklarından (*Sparus aurata*) izole edilmiştir. Çin'de yetiştiriciliği yapılan Japon levrek balıklarında (*Lateolabrax japonicus*) ölümlere neden olduğu rapor edilmiştir (Xie vd., 2007).

### 1.3.1.2. Klinik ve Otopsi Bulguları

*Vibrio* enfeksiyonlarında en yaygın gözlenen semptomlar; deride kızarıklık, hemoraji ve anemidir (Bullock, 1977). Dışardan bakıldığında hasta balıklarda deride koyulaşma, solungaçlarda solma, ağız etrafında ve yüzgeç diplerinde hemoraji, ülserleşen deri lezyonları, pullar ve yüzgeçlerde yıpranma ve göz çevresinde nekrotik lezyonlar gözlenir (Toranzo vd., 2005; Zorrilla vd., 2003).

Otopside, vücudun iç yüzeyinde peteşi, intestinal kanal, karaciğer, yüzme kesesi ve peritonda konjesyon saptanır. Hasta balıklarda anemi, safra kesesinde büyüme, bağırsakta şişlik ve açık renkli bir sıvı birikimi gözlenir (Colorni vd., 1981). Böbreklerde nekroz, glomerulus ve böbrek tübüllerine hatta endokrin hücrelerine kadar ilerleyebilir (Roberts, 2012). Kronik vakalarda *Vibrio*'ların oluşturduğu litik toksinler ağır hemolitik anemiye neden olur.

### 1.3.1.3. Bakteri Karakteristiği

*Vibrio*, Gram negatif, düz ya da hafif kıvrık 0,5-0,8 µm genişliğinde; 1,4-2,6 µm uzunluğunda çomak şekilli bakterileri içer ve endospor ya da mikrokist oluşturmazlar. Sıvı besiyerlerinde tek ya da çok polar flagella ile hareketli olup katı besiyerlerinde çok sayıda lateral flagellayı sentezleyebilirler (Baumann ve Schubert, 1984; Bumann ve Furniss, 1994). Büyüme ve gelişmeleri için sodyuma (Na<sup>+</sup>) ihtiyaç duyarlar (Sanders ve Fryer, 1988). Bu nedenle optimum üreme için %1-3 NaCl ve 20-30°C'lik inkübasyon sıcaklığı gereklidir (Evelyn, 1971). *Vibrio* türleri aerobik veya fakültatif anaerobik olup hepsi Oksidasyon/Fermentasyon testinde fermentatif tepki verirler (asit oluşturur fakat gaz oluşturmazlar). O/129 (150 µg disk<sup>-1</sup>) vibriostat testine ve novobiyosine hassastırlar (Baumann vd., 1984; Post, 1987). *Vibrio* türlerinin her biri Beyin Kalp İnfüzyon Agar (BHIA) ya da Tryptone Soy Agar (TSA) gibi bakteriyolojik besiyerleri kullanılarak balıkların vücut yüzeylerinden ya da başlıca böbrek olmak üzere iç organlarından izole edilebilirler (Sanders ve Fryer, 1988). Patojen *Vibrio* türlerinin biyokimyasal özellikleri Tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 1. *Vibrio* türlerinin karakteristik özellikleri (Baumann vd., 1984; Balebona vd., 1998; Austin ve Austin, 2007).

Özellikler	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Hareket	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Gr. Boyama	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sitokrom oksidaz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Katalaz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
O/F (Leifson)	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F
Luminesans	-	-	- <sup>a</sup>	- <sup>a</sup>	.	+	-	-	-	D	.	-	-
Swarming	+	-	-	D	.	-	-	-	-	-	.	-	-
TCBS'de gelişme	+,S	+,S	+,S	+,S/Y	+,S	.	+,S	.	.	.	+,S	+,Y	+,Y
O/129 <sup>b</sup> (10µg disk <sup>1</sup> )	d	H	H	d	H	.	H	H	H	H	H	H	H
O/129 <sup>b</sup> (150µgdisk <sup>1</sup> )	H	H	H	H	H	.	H	H	H	H	H	H	H
Voges- Proskauer	+	+	+	-	.	-	-	D	-	+	-	-	+
Metil kırmızısı	+	-	+	+	.	.	-	+	.	+	.	+	+
İndol	+	D	+	+	-	-	-	D	-	-	+	-	-
Moeller arjinin	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+
Moeller lizin	+	-	+	+	.	-	-	.	-	-	+	+	-
Moeller ornitin	-	-	-	+	.	.	-	.	-	.	.	-	-
Jelatinaz üretimi	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	.	+	-
Üreaz üretimi	-	-	-	.	.	.	-	.	-	.	.	-	D
Amilaz üretimi	+	+	+	-	-	-	-	+	.	+	.	+	+
% 0 NaCl <sup>c</sup>	-	-	+	-	+	-	-	.	+	-	-	-	-
% 3 NaCl <sup>c</sup>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
% 6 NaCl <sup>c</sup>	+	D	-	+	.	.	.	.	.	.	.	D	-
% 8 NaCl <sup>c</sup>	+	-	-	D	.	.	.	.	.	.	.	-	-
% 10 NaCl <sup>c</sup>	+	-	-	D	.	.	.	.	.	.	.	-	-
D-Glukoz, gaz	-	-	-	-	.	-	-	-	-	-	.	-	+
D-Glukoz, asit	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
L-Arabinoz, asit	-	D	-	d	.	-	-	-	-	-	.	-	-
myo- İnositol, asit	-	-	-	-	.	-	-	-	-	-	.	-	-
Laktoz, asit	-	-	-	-	.	-	-	D	-	-	.	D	-
D-mannitol, asit	+	+	+	+	.	+	D	D	D	+	.	D	-
Sukroz, asit	+	+	+	D	.	-	+	D	-	D	.	-	-
4°C'de büyüme	-	-	-	-	.	+	-	D	+	D	.	-	-
22°C'de büyüme	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
37°C'de büyüme	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+	.	+	+
40°C'de büyüme	+	-	+	D	.	-	-	-	-	-	.	+	-
Simmon's sitrat	+	+	+	-	.	-	-	+	-	+	.	+	-
H <sub>2</sub> S <sup>e</sup>	-	-	-	-	.	.	-	.	-	.	.	+	-
Nitrat indirgeme	+	+	+	+	.	+	-	+	-	+	.	+	+
ONPG <sup>f</sup>	+	+	+	-	-	.	-	D	-	-	-	-	-
Kan indirgeme	+	.	+	+	.	+	.	.	-	.	.	+	.

1: *V. alginolyticus*, 2: *V. anguillarum*, 3: *V. cholera*, 4: *V. harveyi*, 5: *V. ichtyoenteri*, 6: *V. longei*, 7: *V. ordalii*, 8: *V. pelagius*, 9: *V. salmonicida*, 10: *V. splendidus*, 11: *V. trachuri*, 12: *V. vulnificus* biogrup 2, 13: *V. damsela*. +: Pozitif, -: Negatif, .: Belirtilmemiş özellik. O/F: Oksidasyon/Fermenasyon. <sup>a</sup>: Lüminöz suşları bulunmuştur, <sup>b</sup>: O/129; 2,4-diamino-6,7-diisopropylpteridine, <sup>c</sup>: % 0, 3, 6, 8, 10 NaCl'de büyüme, d: Suşların % 11-89' u pozitif bulunmuştur, <sup>e</sup>: Triple Sugar Iron Agar'da H<sub>2</sub>S üretimi, <sup>f</sup>: ONPG; o-nitrophenyl-β-D-galactopyranoside. S ve Y: Sarı ve Yeşil renkli koloni oluşumu, H: Hassas, D: Suşa ve biyotipe bağlı olarak değişebilen sonuç.

### 1.3.1.4. Epizootiyolojisi

Vibriozis, 14'den fazla ülkede yaklaşık 48 tür deniz balığında rapor edilmiştir (Austin ve Austin, 2007). 1953'e kadar Kuzey Amerika'da hastalığa rastlanmamıştır (Crosa vd., 1977). 1975 yılında hastalık Fransa'dan gelen, kontamine olmuş yılan balıklarıyla Japonya'ya kadar ulaşmıştır (Muroga vd., 1976a,b). Vibriozis, Danimarka'da yılan balıklarında % 30 oranında ölümlere sebep olmuştur (Bruun ve Heiberg, 1935). Normalde bir tuzlu su hastalığı olarak bilinen vibrioz, tatlı sularda yaşayan balıklarda da görülmeye başlanmasıyla yeni bir boyut kazanmıştır (Ghitto ve Andruetto, 1977).

*V. anguillarum* doğal olarak yaşayan ve kültürü yapılan balıklarda hastalık yapabilir fakat esas etkisi, çevresel stresin arttığı dönemlerde kültür balıklarında gözlenir. Vibriozis, su sıcaklığının yüksek ve çözünmüş oksijenin düşük olduğu yaz ayları boyunca oldukça yaygındır. Yetiştiricilik ortamlarında yoğunluğun fazla olması ya da su kalitesinin düşük olması epizootiği hızlandırır. Klinik olarak normal balıkların bağırsağından *Vibrio* sp. izole etmek mümkündür. Strese maruz kalmaları durumunda bakteriler, bağırsaktan konakçıyı istila edebilir ve konakçıda sistemik hastalık oluşturabilirler. Kültür balıkları daha fazla stres altında buldukları için doğal ortamda bulunan balıklara göre vibriozise karşı daha fazla hassastırlar (Bullock, 1977). Balıklar düşük sayıda fakat yüksek virülense sahip izolatlarla maruz kalırsa, hastalık dışsal bir stresör olmadan da ortaya çıkabilir (Horne, 1982).

*V. anguillarum* ve *V. ordalii* birçok kültürü yapılan balıkta enfeksiyon ve ölümlere sebep olabilir (Plumb, 1999). Deneysel olarak *V. anguillarum*'a maruz bırakılan Atlantik salmonlarında %100'e varan ölümler rapor edilmiştir (Sawyer vd., 1979). Kültür yavru morina balıklarından izole edilen 13 farklı izolatla su yoluyla bulaştırma deneyi yapılan Atlantik morina balıklarında %4-36 arasında ölümler gözlenmiştir (Knappskog vd., 1993).

Su sıcaklığındaki artışın, *V. anguillarum* ile enfekte alabalıklarda gözlenen ölümler üzerinde olumsuz etkisi vardır. Örneğin, gümüş sombalığında (*Oncorhynchus kisutch*), sıcaklık 18-20°C iken %58-60 arası, 15°C iken %40, 12°C iken %28 ve 6°C iken sadece %4 ölüm gözlenmiştir (Groberg vd., 1983).

Alabalıklar tuzlu suya geldiklerinde *V. anguillarum*'a karşı daha hassas olurlar. Harrell (1978) yaptığı aşılama deneyinde, sıfır yaşındaki aşılammamış kızıl somon

balıklarının %90'ının, tuzlu su kafeslerindeki ilk 50 günlerinde, *V. anguillarum* tarafından öldüğünü rapor etmiştir.

Başlangıç enfeksiyonu su kaynaklıdır ve enfeksiyon bir kere balıkta gelişince, enfekte balığın bakteri deşarjı ile horizontal olarak diğer balıklara su yolu ile yayılabilir (Bullock, 1977). Dolayısı ile bir işletmede hastalık görüldüğünde çevrede infeksiyöz partiküllerin sayısı ve buna bağlı olarak balıkların hastalanma riski artabilir (Actis vd., 1999). Grisez vd. (1996) hastalığın kalkan balıklarında kesinlikle ağız yoluyla transfer olduğunu bildirmiştir. *Artemia nauplii*, *V. anguillarum* süspansiyonu içinde inkübe edildikten sonra kalkan balıklarına yedirilmiştir ve balıklar beslendikten 24 saat sonra hastalığın klinik belirtilerini göstermiştir. Yapılan çalışmada; *V. anguillarum* ile kontamine olmuş nauplii ile beslenen bütün balıklar dört gün içinde ölmüştür ve *V. anguillarum*, immünohistokimyasal olarak incelenen bütün balıklarda tespit edilmiştir.

Etken, deri, solungaçlar ve anüs yoluyla vücuda girer (Kanno vd., 1989). *V. anguillarum*'un ilk önce endositozla bağırsak epiteline, oradan da lamina propiyaya geçtiği, böylece de kan yoluyla bütün organlara yayıldığı ve son olarak da septisemi ve ölüme neden olduğu rapor edilmiştir.

Levrek yetiştiriciliği yapılan çiftliklerde ortaya çıkan vibriosis enfeksiyonları *V. anguillarum* serotip O1'den kaynaklanmaktadır (Grisez ve Ollevier, 1995). Bazı araştırmacılara göre de üç serotipi (O1-O3) balıklarda patojeniktir (Sørensen ve Larsen, 1986).

*V. harveyi* çipura ve levrekte özellikle sıcak aylarda hastalık oluşturmaktadır (Pujalte vd., 2003). Hastalık çıkışı su sıcaklığının yanı sıra çevresel faktörlerin de etkisi altındadır. Zhang ve Austin (2000) gerçekleştirdikleri deneysel enfeksiyon çalışmasında *V. harveyi* suşlarının salmonid balıklar için de patojen olduklarını tespit etmişlerdir.

*Vibrio cholerae* deneysel olarak ayu ve japon balıklarına verildiğinde yüksek patojenite göstermiştir (Noga, 1996).

*V. vulnificus* 2005 yılı boyunca Çin'de *Ovate pompano* (*Trachinotus ovatus*) balıklarında; deride, solungaçlarda, bağırsakta ve karaciğerde hemoraji belirtileri göstermiş ve yüksek mortaliteye sebep olmuştur (Li vd., 2006). Etken organizma deniz suyu kaynaklıdır (Høi vd., 1998).

*Vibrio ponticus* 2004 yılının Nisan ayında su sıcaklıklarının artmasıyla, yetiştiriciliği yapılan Japon levrek balıklarında ortaya çıkmıştır (Xie vd., 2007). Patojenin tipik vibriozis belirtileri gösterdiği rapor edilmiştir (Xie vd., 2007).

### 1.3.1.5. Patojenite ve Virülansı

*Vibrio* türlerinin fırsatçıl patojen olduğu kanısı yaygındır. Bazı türler patojenik özellik taşır ve bir türün belli suşları patojenik iken diğerleri zararsız veya ikincil etken olarak rol oynayabilir (İnglis vd., 1993).

Vibriozis enfeksiyonunun balıkta nasıl başladığı tam olarak aydınlatılamamışsa da, etkenin konakçıda kolonize olduktan sonra penetre olduğu, balığın gastro-intestinal sisteminin posterior kısmına ve rektuma kolonizasyonu sonucunda vibriozisin başladığı belirtilmiştir (Ransom vd., 1984). *Vibrio* türlerinin patojenitesi ekzotoksin ve endotoksinlerle ilgilidir (Austin ve Austin, 2007). Hemolizinler, sitozinler, proteazlar ve diğer hücre dışı maddeler (EPC) bazı *Vibrio* türlerinde tespit edilmiştir (Bullock, 1977). Birçok toksin üretmesi nedeni ile meydana getirdiği enfeksiyonun tedavisi ve kontrolü zorlaşmaktadır (Frans vd., 2011).

Patojen olan *Vibrio* türlerinin adhezyon yetenekleri ve enfeksiyon meydana getirme oranı, sıcaklık ve tuzluluğa bağlı olarak değişmektedir (Belas ve Colwell, 1982). Tüm *Vibrio* türleri için minimal adhezyon değerleri en düşük 4°C sıcaklık ve %1 tuzlulukta, optimum 25°C'lik sıcaklıkta gerçekleşir (Larsen, 1984).

*V. harveyi*'nin virülans mekanizması ve patojenitesi proteazlar, hemolizinler, lipazlar, ekstraselüler ürünlerin salgılaması, yeterli sayıyı algılama mekanizması (quorum sensing), biyofilm oluşturma özelliği, bakteriyofaj enfeksiyonları, sukroz fermentasyonu ve demir bağlama kapasitesi gibi çeşitli faktörlere bağlanmıştır (Cano-Gomez vd., 2009).

*V.anguillarum* ve *Vibrio ordalii*'nin hastalık seyirleri arasında ince bir fark vardır (Austin ve Austin, 2007). *Vibrio ordalii* Pasifik salmonlarının, iskelet ve kalp kasında, solungaç dokusunda ve gastro-intestinal sisteminde mikro koloniler oluşturma eğilimindedir (Ransom vd., 1984). Kanda bakteri gözlenmesi *V.anguillarum*'un hastalık seyirinden çok daha sonra gerçekleşir (Austin ve Austin, 2007).

Bazı *Vibrio* türleri insanda patojenik etkiye sahiptir, özellikle deniz ürünlerinin çiğ tüketilmesi sonucu gastroenteritise neden oldukları rapor edilmiştir (İnglis vd., 1993).

*V.vulnificus* biyotip-3 insanda enfeksiyon oluştururken, *V.parahaemolyticus* besin zehirlenmesine sebep olur (Austin ve Austin, 2007).

### 1.3.1.6. Kontrol ve Tedavi

Vibriozisin kontrolü, diğer birçok bakteriyel septisemide olduğu gibi, su kalitesinin iyileştirilmesi, kaliteli yetiştiricilik ve dűřük stok yoğunluğuyla başarılabilir (Inglis vd., 1993). Bakteriyel balık hastalıklarının kontrolünde kullanılan metodlar, genel olarak *Vibrio* kontrolünde de kullanılabilir aşamaları içermektedir (Tablo 2). Fakat stabilite sağlanamaz ve hastalıklar ortaya çıkarsa, tedavi için oral olarak alınan antibiyotikler tek seçenek olabilir (Inglis vd.,1993). Vibriozise karşı kullanılan antimikrobiyal maddeler ve kullanım yontemi Tablo 3’de verilmiştir.

Tablo 2. Bakteriyel balık hastalıklarının kontrolünde kullanılan metodlar (Austin ve Austin, 2007).

Balık stođunun tűri	Kontrolűn tűri
Doğal balıklar	Kirlilik kontrolű
Kűltűr balıkları	1.Uygun iftlik koşulları 2. Genetik olarak dirençli balık kullanımı 3. Uygun besin ve gıda takviyeleri kullanımı 4. Aşı kullanımı 5. Seçici olmayan immunostimulant kullanımı 6. Antimikrobiyal ilaç kullanımı 7. Uygun su kullanımı 8. Hastalıklı stokların hareketinin engellenmesi 9.Probiyotik (biyolojik műcadele) kullanımı



Tablo 3. Vibriozis'e karşı kullanılan antibiyotik maddeler ve kullanım yöntemi (Austin ve Austin, 2007).

Antimikrobiyal madde	Uygulama yöntemi
	1L suya 10-50 mg, banyo şeklinde
Florfenikol	1 kg balığa 10 mg, 10 gün boyunca
Fosfomisin	40 kg balığa 40 mg, 5 gün boyunca
Furanase	1 kg balığa 2-4 mg, 3-5 gün boyunca ya da 1 L suya 0,5-1 mg, 5-10 dakika banyo
Furazolidon	1 kg balığa 25-75 mg, 20 gün boyunca
Kanamisin	1 kg balığa 50 mg, 7 gün boyunca
Nifurprazin hidroklorid	1kg yeme 10 mg 3-6 gün ya da 1L suya 0,01- 0,1 mg banyo şeklinde
Oxolinik asit	1 kg balığa 10 mg, 10 gün boyunca
Dozu artırılmış sülfonamid	1 kg balığa 30 mg, 10 gün boyunca

Vibriozis sıklıkla rastlanan bir hastalık problemi olduğundan hastalıktan korunmak için Türkiye'de özellikle levrek balığı yetiştiriciliğinde 1990'lı yıllardan itibaren başarıyla uygulanan ticari Vibriozis aşılıları, *Listonella anguillarum* serotip O1, *L. anguillarum* serotip O2 ve *V. ordalii*'ye ait antijenler içermektedir (Korun ve Timur, 2008).

### 1.3.2. Photobakteriozis (Pasteurellozis)

Photobakteriozis ilk defa 1963 yılında rapor edilmiş ve A.B.D. Chesapeake Körfezi'nde bulunan beyaz levrek (*Morene americanus*) ve çizgili levrek (*M. saxatilis*) doğal popülasyonlarında yoğun ölümlere neden olmuştur (Snieszko vd., 1964). Bakterinin, *Photobacterium damsela* subsp. *piscicida* ve *Photobacterium damsela* subsp. *damsela* (önceden *Vibrio damsela* olarak adlandırılmıştır) olarak bilinen iki alt türü balıklarda çok şiddetli ölümlere sebep olmaktadır (Hawke, 1996; Labella, 2010).

Photobakteriozis, *Pasteurella piscicida* olarak bilinen *Ph. damsela* subsp. *piscicida* (Magariños vd., 1996) bakterisinin ya da *Photobacterium damsela* subsp. *damsela*'nın sebep olduğu, doğal ve yetiştiriciliği yapılan deniz balıklarında gözlenen önemli bir hastalıktır. Pasteurellozis'e yakalanmış balıkların böbrek ve dalaklarında çok sayıda

beyazımsı tüberküller görüldüğünden hastalık 'pseudotüberkülozis' olarak da adlandırılır (Kubota vd., 1997).

### 1.3.2.1. Coğrafik Dağılımı

*Ph. damsela* subsp. *piscicida* photobakteriozisin (pasteurellozis) etkenidir (Bakopoulos vd., 2004). İçinde levrek balığının da bulunduğu, denizde yetiştiriciliği yapılan ve ekonomik değeri olan birçok balıkta hastalık etkeni olarak izole edilmiştir (Kusuda ve Inoue, 1976).

Hastalık 1969 yılında Japonya'nın güneybatı bölgesinde kültürü yapılan sarıkuyruk (*Seriola quinqueradiata*) (Kimura ve Kitao, 1971), sarıgöz (*Acanthopagrus schgeli*) (Muroga vd., 1977) ve mercan (*Pagrus major*) balıklarında (Yasunaga vd., 1983) ciddi sorunlara sebep olmuştur. 1990'dan itibaren İspanya (Toranzo vd., 1991), Yunanistan (Bakopoulos vd., 2005), Portekiz (Baptista vd., 1996) ve Türkiye'de (Çağırğan, 1993; Candan vd., 1996) çipura, deniz levreği, tekir ve dilbalığında ciddi ekonomik kayıplara neden olduğu rapor edilmiştir. Ayrıca Ülkemizde, Avsever vd., (2012) Ege Bölgesi'ndeki kafeslerde yaptıkları çalışmada, klinik olarak photobakteriozis semptomları gösteren 104 adet levrek balığından altı adet *Photobacterium damsela* subsp. *piscicida* bakterisi izole etmişlerdir.

*Ph. damsela* subsp. *damsela*, *Vibrio damsela* olarak, İspanya'da mercan balığından (*Sparus aurata*) (Vera vd., 1991), Japonya'da sarı kuyruk balığından (*Seriola quinqueradiata*) (Sakata vd., 1989), A.B.D.'de blacksmith (*Chromis punctipinnis*) (Love vd., 1981) ve brown shark (*Carcharhinus plumbeus*) (Grimmes vd., 1984) balıklarından ve Renault vd. (1994) tarafından ilk kez kültür juvenil levrek balıklarından izole edilmiştir.

### 1.3.2.2. Klinik ve Otopsi Bulguları

Photobakteriozis, sepsis ile seyreden bir hastalıktır (Austin ve Austin, 2007). Hastalığın patolojik bulguları, akut veya kronik formuna göre değişiklik göstermektedir. Akut vakalarda dışsal olarak sadece vücut renginin koyulaştığı, içsel olarak da böbrek ve dalakta granülamatoz lezyonlar, abdominal boşluğunda purulent madde birikimi, şişkin ve solgun görülen karaciğer ile böbrek ve dalağın her tarafına dağılmış olarak 0,5-0,1 mm

çapında, sınırları belirgin grimsi beyaz tüberküller görüldüğü bildirilmiştir (Kusuda ve Yamaoka, 1972). Bazı araştırmacılar bu tüberküllerin gerçek bir karakteristik özellik olmadığını bildirmiştir (Noga, 1996). Photobakteriozis akut ve kronik formda görülebilir ve akut epizootikler kısa sürede ağır kayıplara neden olabilir (Kitao, 1993).

Photobakteriozis'e yakalanmış çipura balıklarında ölümlerden başka belirgin klinik bulgular saptanmamış olup, balıkların bazılarında anormal deri pigmentasyonu, kafa ve solungaçlarda hafif hemorajik alanların bulunduğu, dalağın büyüdüğü ve kronik dönemde beyazımsı tüberkül benzeri oluşumların geliştiği belirtilmiştir (Toranzo vd., 1991). Hastalığın hiperakut formunda internal lezyonlar ile septiseminin olduğu bildirilmiştir (Balebona vd., 1992). Hastalığın subakut ve kronik formunda, ölmek üzere olan balıkların dalağında beyazımsı nodüller saptanmıştır (Hawke vd., 1987).

*Ph. damsela* subsp. *damsela* ile enfekte olmuş kalkan balıklarında gözlenen en belirgin klinik bulgular, abdominal bölgede şişlik, ağız, göz ve anüs çevresinde hemorajidir. Bu klinik bulgular, *Yersinia ruckeri*'nin sebep olduğu kızıl ağız hastalığıyla benzerdir (Fouz vd., 1992). Otopsi bulgularında vücut boşluğunda mukus ve kırmızımsı sıvı birikimi ve bazı durumlarda da solgun karaciğer gözlenir (Fouz vd., 1992).

### 1.3.2.3. Bakteri Karakteristiği

Hastalığın etkeni olan *Photobacterium damsela* subsp. *piscicida*, Gram-negatif, çomak şekilli, hareketsiz, kapsüllü, yaklaşık olarak 0,5-1,5 µm büyüklüğünde bir bakteri olup iki kutuplu boyanma özelliği gösterir (Austin ve Austin, 2007). BHIA ya da TSA gibi bakteriyolojik besiyerleri kullanılarak balıkların iç organlarından izole edilebilir. Bakteri 17-31°C arasında gelişir ve en az % 0,5 NaCl' ye gereksinim duyar. Besiyerine % 1,5 NaCl eklendiği zaman optimum gelişme sağlanır. Koloniler 48-72 saatte gelişir ve yuvarlak, konveks ve grimsi sarı renktedir. Patojen sitokrom oksidaz ve katalaz pozitifdir. Oksidasyon / fermentasyon testinde fermentatiftir. O/129 (150 µg disk<sup>-1</sup>) vibriostat testine hassastır (Janssen ve Surgalla, 1968; Daly, 1999). *Ph. damsela* subsp. *piscicida* ve *Ph. damsela* subsp. *damsela*'nın biyokimyasal özellikleri Tablo 4'de verilmiştir.

Tablo 4. *Ph. damsela* subsp. *piscicida* (Toranzo vd., 1991; Austin ve Austin, 2007) ve *Ph. damsela* subsp. *damselae*'nin (Renault vd., 1994; Fouz vd.,1992) karakteristik özellikleri

Özellikler	<i>Ph. damsela</i> subsp. <i>piscicida</i>	<i>Ph. damsela</i> subsp. <i>damselae</i>
Hareket	-	+
Gr. Boyama	-	-
Hücre morfolojisi	Ç <sup>a</sup>	Ç <sup>a</sup>
Sitokrom oksidaz	+	+
Katalaz	+	+
O/F (Leifson)	F <sup>b</sup>	F <sup>b</sup>
TCBS'de gelişme	-	+(Y)
O/129 <sup>c</sup> (150 µg disk <sup>-1</sup> )	H <sup>d</sup>	H <sup>d</sup>
H <sub>2</sub> S <sup>e</sup>	-	-
BHIA <sup>f</sup> 'da gelişme	+	+
5 °C'de büyüme	-	-
10 °C'de büyüme	-	-
15 °C'de büyüme	+	+
25 °C'de büyüme	+	+
37 °C'de büyüme	-	+
Metil kırmızısı	+	+
	(+)	
Voges- Proskauer	+	+
	(+)	
İndol	-	-
Thornley arjinin	+	+
Moeller arjinin	+	+
Moeller lizin	-	-
Moeller ornitin	-	-
Jelatinaz üretimi	-	-
Üreaz üretimi	-	+
Amilaz üretimi	-	+
% 0 NaCl <sup>g</sup>	-	-
% 3 NaCl <sup>g</sup>	+	+
% 5 NaCl <sup>g</sup>	-	+
ONPG <sup>h</sup>	-	-
S.sitrat	-	-
Hemoliz k.e. <sup>i</sup>	-	+
D-Glukoz, gaz	-	+
D-Glukoz, asit	+	+
L-Arabinoz, asit	-	-
myo- İnositol, asit	-	-
D-mannitol, asit	-	-

+: Pozitif, -: Negatif, (+): Zayıf pozitif reaksiyon, <sup>a</sup>: Çomak, <sup>b</sup>:Fermentatif, <sup>c</sup>: O/129; 2,4-diamino-6,7-diisopropylpteridine phosphate, <sup>d</sup>: Hassas, <sup>e</sup>: Triple Sugar Iron Agar'da H<sub>2</sub>S üretimi, <sup>f</sup>: BHIA; Beyin Kalp İnfüzyon Agar; <sup>g</sup>: % 0, 3, 5 NaCl' de büyüme, <sup>h</sup>: ONPG; o-nitrophenyl-β-D-galactopyranoside, <sup>i</sup>: k.e; koyun eritrositleri. Y; yeşil

#### 1.3.2.4. Epizootiyolojisi

*Ph. damsela*'nın ilk epizootiği, tatlı su levreğinin ve çizgili levreğin Chesapeake Körfezi'nde ölmeye başlamasıyla ortaya çıkmıştır (Snieszko vd., 1964). Epizootik Haziran ayında Potomac Nehri'nde başlamış ve Temmuz ayı boyunca Chesapeake Körfezi'ne yayılmıştır. Epizootiğin gözleendiği dönemde levrek stoklarının yoğun ve körfezdeki organik kirliliğin yüksek olmasının hastalığın ortaya çıkmasını tetiklediği tahmin edilmiştir (Sindermann, 1970). Louisiana kıyılarındaki, hibrit çizgili levrek yetiştiriciliği yapılan bazı çiftliklerde 1990 ile 1992 sonbaharı arasında, 20-30°C arası sıcaklıklarda *Ph. damsela*'nın sebep olduğu %30-80 arası oranlarda seyreden ölümler gözlenmiştir (Hawke, 1996). Hawke vd., (1987) Alabama'daki acı su göllerinde kültürü yapılan juvenil çizgili levreklerde %80'lere varan ölümlerden *Ph. damsela*'yı sorumlu tutmuşlardır.

Photobakteriozis yaz sıcaklıkları ile yakından ilgilidir. Sıcaklığın 23°C'nin üzerine çıktığı sularda doğal yaşayan ve yetiştiriciliği yapılan balıklarda büyük kayıplara sebep olabilir (Magarinos vd., 1996). Korun ve Timur (2005) Türkiye'de yetiştiriciliği yapılan deniz levreklerinin (*D.labrax*) photobakteriozise, su sıcaklığı 18-19°C'de iken yakalandığını bildirmiştir.

Patojen yağmurlu sezonda tuzluluğun 30 ppt'nin (binde bir) altına düştüğü ve su sıcaklığının optimum olduğu (25°C) dönemde sarıkuyruk balıklarında hastalığa sebep olmuştur (Matsusato, 1975). Çizgili levrek balıklarında photobakteriozis, patojen için optimum sıcaklığın gözleendiği ilkbahar ve sonbahar aylarında gözlenir (Plumb, 1999).

Janssen ve Surgalla (1968) *Ph. damsela subsp. piscicida*'nın balığı terk ettiğinde deniz suyunda uzun süre yaşayamayacağını bildirmiştir. Enfeksiyonun balıktan balığa temas ile ya da omurgasızlar aracılığı ile olduğu sanılmaktadır (Noga, 1996).

Fouz vd. (1992) İspanya'nın kuzeybatısında bulunan bir kalkan çiftliğindeki ölümlerin *Ph. damsela subsp. damsela* kaynaklı olduğunu rapor etmişlerdir. Çiftlikteki boyları 300-1500 gram arasındaki balıklarda herhangi bir yüzme bozukluğu gözlenmemesine rağmen, sıcaklığın ani olarak 18°C'den 22-24°C'ye çıkmasıyla ölümlerin başladığı gözlenmiştir. Ayrıca ölümler düşük oranda fakat salgın boyunca devam ettiği ve stoğun %5'inden azının öldüğü gözlenmiştir.

### 1.3.2.5. Patojenite ve Virülansı

Hawke'ye (1996) göre photobakteriozis, deneysel olarak enfekte edilen hibrit çizgili levreklerde genel bir septisemi olarak gözlenir. Dalak ve böbrekte histopatolojik oluşumlar gözlenirken, karaciğer hastalıktan daha az etkilenir. Solungaç, dalak ve böbreklerde nekrozis gözlenir. Ayrıca bu dokularda bakteri yüklü makrofajlarla birlikte az da olsa inflamasyonlar gözlenir (Wolke, 1975). Enfeksiyondan altı gün sonra bu organlardaki ve kandaki (mililitrede) bakteri miktarı  $10^{7.7}$  'den  $10^{9.9}$  'a çıkar. Koku lamelleri, beyin, bağırsak, kalp ve deride herhangi bir histopatolojik bulgu gözlenmez.

Doğal yaşayan levrek populasyonlarında photobakteriozisin akut seyrinde birçok değişiklik gözlenir, fakat kronik seyrine bakıldığında böbrek ve dalakta oluşan küçük nodüller karakteristiktir (Wolke, 1975). Ayrıca kronik formda nekrotik lenfoid ve periferik kan hücreleri dalakta toplanır ve karaciğerde hepatosit nekrozu oluşur.

*Ph.damselae*'nin patojenitesi tam olarak aydınlatılamamıştır fakat Nakai vd.'nin (1992) yaptıkları bir çalışmada, bakterinin sahip olduğu ECP'lerin striped jack ve mercan balıklarında patojeniteye sebep olduğu rapor edilmiştir. Bu durumu destekleyici bir çalışmada Noya vd. (1995) tarafından yapılmıştır; çipura balıklarının kırmızı kan hücrelerinde *P.damsela*'ya ait ECP'ler bulunmuştur.

### 1.3.2.6. Kontrol ve Tedavi

Aşırı stoklamadan kaçınarak ve iyi bir yönetim ile birlikte photobakteriozisin ortaya çıkışı engellenebilir (Inglis vd., 1993).

Japonya'da sarı kuyruk balıklarında, bakteriyel pseudotuberkülozisin kontrolü için; ampisilin (Kusuda ve Inoue, 1976), amoksisilin (Kitao vd., 1989), triamfenikol, florfenikol (Fukui vd., 1987; Yasunaga ve Yasumoto, 1988), okzolinik asit, flumekuin ve sodyum nifurstyrenat kullanılmaktadır. Sana vd. (1994) beş günlük fosfomisin (40 mg/kg balık) uygulaması sonucunda *Ph. damsela* subsp. *piscicida* kaynaklı mortaliteyi önlenmişlerdir.

Piyasada *Ph. damsela* subsp. *piscicida*'ya karşı birçok aşı bulunmaktadır fakat aşının etkisi balığın türüne ve boyutuna göre değişebilmektedir. Ayrıca aşının formülü ve kullanılan immüno stimulantlar aşı üzerinde etkilidir (Magariños vd., 1996).

### 1.3.3. Hareketli Aeromonas Enfeksiyonları

*Aeromonas* cinsine ait balık patojeni bakteriler hareketli ve hareketsiz olmak üzere ikiye ayrılırlar. *A. salmonicida* hareketsiz olup, önemli balık patojenlerinden biridir. Hareketli *Aeromonas* Septisemisi oluşturan bakteriler *A. hydrophila*, *A. punctata* ve *A. sobria*'dır. Bu türler içinde en çok karşılaşılan *A. hydrophila*'nın neden olduğu enfeksiyonlardır (Bisping vd., 1988).

#### 1.3.3.1. Coğrafik Dağılımı

Dünya çapında oldukça yaygın olan *Aeromonas* türleri tatlı, tuzlu yada acı sularda balık enfeksiyonlarına neden olabilmektedir. A.B.D.'de, hareketli aeromonadlar birincil olarak, sıcak su kültür balıklarından sazan balığı (*Cyprinus carpio*), kanal yayın balığı (*Ictalurus punctatus*), çizgili levrek (*Morone saxatilis*), geniş ağızlı levrek (*Micropterus salmoides*) ve tilapiyalarda (*Oreochromis niloticus*) hastalığa sebep olabilmektedir (Cipriano ve Bullock, 2001). Patojen ayrıca birçok ılık ve soğuk sularda yaşayan balık türlerinde tespit edilmekle birlikte, deniz balıklarında da enfeksiyona yol açabilir (Cipriano ve Bullock, 2001). Rahim vd. (1985) *A. hydrophila*'yı tuzlu suda yaşayan *Platosus anguillaris*, *Lates calcarifer*, *Epinephelus megachir*, *Labeo ruhita* ve *Serotherodon nilotica*' da bulunan yaralardan izole etmişlerdir.

Türkiye'de tatlı sudaki gökkuşağı alabalıklarında bu cinse ait hareketli türlerden *A. hydrophila* (Diler ve Altun, 1995), *A. caviae* ve *A. sobria*'nın (Özkök, 2005; Sağlam vd., 2006) enfeksiyonlara neden oldukları rapor edilmiştir.

*Aeromonas sobria* 1987 yılında Maryland'da tirsi balıklarından (*Dorosoma cepedianum*) (Toranzo vd., 1989) ve İsviçre'de tatlı su levreğinden (*Perca fluviatilis*) (Wahli vd., 2005) izole edilmiştir.

*Aeromonas caviae* 1991 yılında Karadeniz'de yetiştiriciliği yapılan Atlantik salmon'larda septisemi olarak kendini göstermiştir (Candan vd., 1995).

*A. caviae*, Kenya'daki gökkuşağı alabalıklarında göz hastalığı ve hemorajik septisemi ile ilişkilendirilmiştir (Ogara vd., 1998).

Hareketli *Aeromonas* enfeksiyonları kurbağalarda 'kırmızı bacak' hastalığına ve sürüngenlerde de ağır hastalıklara sebep olurlar (Shotts vd., 1972).

### 1.3.3.2. Klinik ve Otopsi Bulguları

Hastalık hemorajik septisemik karakterdedir. Kuyruk ve yüzgeçlerde erozyon, ekzoftalmus, deri üzerinde hemoraji ve ülser gözlenebilir. Otopside iç organlarda hemoraji, dalak ve böbrekte büyüme, karın boşluğunda kanla karışık asidik sıvı birikimi gözlenebilir (Llobrera ve Gacutan, 1987).

*A. hydrophila* akut, kronik ve latent enfeksiyon şeklinde olabilir. Hastalığın şiddeti; bakteriyel virülens, balık popülasyonu üzerindeki stresin türü ve derecesi, konağın direnci ve fizyolojik durumu ile ilişkilidir (Cipriano ve Bullock, 2001). *A. hydrophila*, kuyruk ve yüzgeç bozulması ve hemorajik septiseminin de içinde bulunduğu birçok farklı patolojik belirti gösterebilir (Hettiarachehi ve Cheong, 1994). Hemorajik septisemi (Hareketli *Aeromonas* Septisemisi) deride küçük lezyonlar, solungaç ve burunda lokal hemoraji, ülser, çıban, ekzoftalmus ve abdominal şişlik şeklinde ortaya çıkabilir (Austin ve Austin, 2007). Otopside, vücut boşluğunda asidik sıvı birikimi, anemi ve özellikle karaciğer ve böbrekte bozulmalar gözlenebilir (Huizinga vd., 1979). Levreklerdeki kırmızı yara hastalığı (redsore disease) *A. hydrophila* ile ilişkilendirilmiştir (Hazen vd., 1978). Hastalık epizootik duruma ulaştığında, pullarda erime ve vücudun %75'ini kaplayan hemoraji gözlenebilir. Bu durumda sıklıkla yüksek oranda ölümlerin olduğu gözlenmiştir (Austin ve Austin, 2007).

*Aeromonas sobria* ile enfekte levrek balıklarında deri lezyonu ve yüzgeç bozulması gözlenir (Austin ve Austin, 2007). Ülkemizde, Avsever vd. (2012) Ege Bölgesi'ndeki kafeslerde yaptıkları çalışmada, klinik olarak photobakteriozis semptomları gösteren 104 adet levrek balığından iki adet *Aeromonas sobria* bakterisi izole etmişlerdir.

*Aeromonas caviae* ile enfekte balıklarda belirtiler; vücutta hemoraji, bağırsakta kanlı sıvı, büyümüş böbrek ve dalak ve bozulmuş karaciğer şeklinde ortaya çıkar (Austin ve Austin, 2007).

### 1.3.3.3. Bakteri Karakteristiği

*Aeromonas* cinsi Gram negatif, sitokrom oksidaz pozitif, oksidasyon/fermentasyon testinde fermentatif ve vibriostat O/129 testine dirençlidir. *Aeromonas*'lar TSA'da



üreyerek kolaylıkla izole edilebilirler. Hareketli aeromodların biyokimyasal özellikleri Tablo 5’de verilmiştir.

Tablo 5. Hareketli Aeromodların ayırım çizelgesi (Carnahan vd., 1991)

Özellikler	1	2	3	4	5	6	7
Eskülin hidrolizi	+	-	+	+	-	-	-
Voges- Proskauer reaksiyonu	+	+	+	-	V	+	-
Pyrazinamidaz aktivitesi	+	-	-	+	-	-	-
CAMP benzeri faktör (aerobik)	+	+	+	-	-	V	-
Arabinoz fermentasyonu	V	-	-	+	-	-	-
Mannitol fermentasyonu	+	+	+	+	-	+	+
Sukroz fermentasyonu	+	+	+	+	-	-	-
Ampisillin duyarlılığı	R	R	R	R	R	R	S
Karbenisillin duyarlılığı	R	R	R	R	R	R	S
Sefalotin duyarlılığı	R	S	S	R	S	R	R
Kolistin duyarlılığı	V	S	S	S	S	R	S
Lizin dekarboksilaz	+	+	+	-	+	+	+
Ornitin dekarboksilaz	-	-	+	-	-	-	-
Arbutin hidrolizi	+	-	+	+	-	-	V
İndol üretimi	+	+		+	-	+	+
H <sub>2</sub> S üretimi	+	+	+	-	-	+	+
Glikozdan gaz üretimi	+	+	+	-	-	+	+
Hemoliz (%5’lik koyun eritrositi içeren TSA’da)	+	+	+	V	+	+	V

1. *A. hydrophila*, 2. *A. veronii* bv. *sobria*, 3. *A. veronii* bv. *veronii*, 4. *A. caviae*, 5. *A. scubertii*, 6. *A. janddaei*, 7. *A. trota*, +: Pozitif, -: Negatif, V:Değişken, R: Dirençli, S: Duyarlı

#### 1.3.3.4. Patojenite ve Virulans

Hareketli Aeromonas Septisemisinin prevalansı üzerine yapılan bir çalışmada, kültür ve yabani Nil tilapiyalarındaki prevalans sırasıyla %10 ve %2,5 iken, aynı oran kültür ve yabani karmout yayın balıklarında sırasıyla %18,8 ve %6,3 olarak bildirilmiştir (Eissa vd., 1994). Bu çalışma salgınların kültür balıklarında daha şiddetli seyrettiğini göstermesi bakımından önemlidir.

Hareketli Aeromonadların farklı izolatları farklı virülans özelliklerine sahiptir (Cipriano vd., 1984). Kontrollü laboratuvar şartlarında yapılan bir çalışmada, hastalıklı balıklardan izole edilen hareketli aeromonad izolatlarının, gölet suyundan izole edilenlere göre kanal yayın balıklarında daha virulent olduğu bildirilmiştir (De Figueiredo ve Plumb, 1977). Gökkuşuğu alabalıklarında (*O. mykiss*) *A. hydrophila* ve *A. sobria*'nın virülenslerini karşılaştırmak için yapılan bir çalışmada; sağlıklı veya hastalıklı balıklardan elde edilen *A. hydrophila* izolatlarının virülensinin *A. sobria*'ninkinden daha yüksek olduğu belirlenmiştir (Lallier vd., 1981).

*A. hydrophila*'nın virülensi, proteolitik kazein ve elastin hidrolizi ile ilişkilendirilmiştir (Wakabayashi vd., 1980). Kanal yayın balıklarına enjekte edilen 127 *A. hydrophila* suşundan, elastaz pozitif olanların balıklarda lezyonlara hatta ölümlere sebep olduğu belirtilmiştir. Ayrıca diğer ECP'lerden olan proteazların ve hemolizinlerin de *A. hydrophila*'nın patojenik mekanizması üzerinde etkili olduğu rapor edilmiştir (Chabot ve Thune, 1991).

### 1.3.3.5. Epizootiyolojisi

Hareketli Aeromonas'lar balık patojeni olarak bilinseler de, akuatik çevreden izole edilebilir ve balıkların sindirim kanalının normal florasında bulunabilirler (Hawke, 2000). Stres altındaki balıklarda bakteriyel hemorajik septisemi hastalığına neden olmaktadır (Haley vd., 1967). Balığın maruz kaldığı çevresel ve fizyolojik stres faktörlerinin başında, su sıcaklığının artması, kalabalık barınma ve yetersiz yem alımı gelmektedir (Roberts, 2012). Bu durumda olan sazan ve alabalıklarda sıklıkla salgınların ortaya çıktığı bildirilmiştir. Kenya, Mısır, Gana, Uganda gibi Afrika ülkeleri ile Filipinler ve Japonya'da yetiştirilen tilapiyalarda da (*Oreochromis niloticus*, *Oreochromis mossambicus* ve *Tilapia zillii*) Aeromonas kaynaklı hemorajik septisemi olgularına rastlanmıştır (Paperna, 1996).

*Aeromonas* enfeksiyonları ile ilişkili balık ölümleri genellikle kronik olarak seyrederken toplu ölümlerle de kendini gösterirler (Plumb, 1999). Yüksek mortaliteye, virülensi yüksek bakteri izolatları sebep olur. Genellikle kayıplar %50'nin altındadır. *A. hydrophila*'ya bağlı epizootik genç balıklarda subakut seyrederken, yetişkin balıklarda kronik fazda ölümlere sebep olur (Plumb, 1999).

Bazı balıkların *A. hydrophila*'ya karşı olan hassasiyeti sıcaklıklar ilişkilendirilir. Groberg vd. (1978) tarafından yapılan çalışmada, *A. hydrophila*'ya maruz bırakılan gümüş ve kral somon balıkları ve alabalıklarda 18°C'de %64-100 arası mortalite gözlenirken 9,4°C'de mortalite gözlenmemiştir. Gökkuşuğu alabalıklarının, su sıcaklığı 5,5 °C'den 8-11°C'ye çıktığında *A. hydrophila*'ya olan hassasiyetleri artar (Nieto vd., 1985). Bu durum o ortamdaki *A. hydrophila* izolatının özel virülens veya patojenik özelliklerinin bulunmasından kaynaklanıyor olabilir.

Doku yüzeyine yapışma kabiliyeti, fagositoza dayanıklılık, yüzey proteinlerinin üretimi, sideroforlar, lipopolisakaritler, pilinin bulunması, S-tabakası veya membran proteinleri ve konak hücre serumunun bakteriyostatik aktivitesi patojeniteyi etkileyen diğer faktörlerdir. Ayrıca sudan izole edilen bakteriler, hasta balıktan izole edilen bakterilerden daha az patojenik ve daha az virulent olabilirler (De Figueiredo ve Plumb, 1977).

#### **1.3.3.6. Kontrol**

*A. hydrophila*'nın ampisilin, kloramfenikol, eritromisin, nitrofurantion, novobiyosin, streptomisin, sülfonamid ve tetrasiklin antimikrobiyal bileşiklerine karşı dirençli olduğu bilinmektedir (Aoki, 1988; De Paola vd., 1988). *A. hydrophila*'ya karşı birçok aşı denemeleri olmuştur fakat ticari olarak satılan herhangi bir aşı mevcut değildir. Aşı olarak inaktive edilmiş hücreler ve hücre dışı ürünlerinden hazırlanan basit karışımlar kullanılmaktadır (Schachte, 1978; Lamers ve De Haas, 1983).

#### **1.3.4. Levreklerde Görülen Diğer Bakteriyel Hastalıklar**

*Aeromonas salmonicida achromogene*, Karatas vd. (2005) yaptıkları bir çalışmada, Karadeniz'de kültürü yapılan levrek balıklarında, %20'lere varan ölümlerden *Aeromonas salmonicida achromogenes* bakterisinin sorumlu olduğunu, biyokimyasal ve histopatolojik deneyler sonucunda rapor etmişlerdir.

*Streptococcus* Septisemisi, *Streptococcus* septisemisinin birçok balık türünde etkili olduğu fakat çizgili levrek yetiştiriciliği yapılan çiftliklerde ciddi problemlere yol açtığı rapor edilmiştir (Plumb, 1999). Acı sular *Streptococcus* spp. türlerinin doğal ortamlarındandır, buralardaki doğal veya kültürü yapılan levrek popülasyonlarında belirgin

şekilde hastalık gözlenebilir (Plumb, 1999). Balık renginde koyulaşma, dengesiz hareketler sergileme, dönerek yüzmeye, vücutta eğrilik, iriste hemoraji ile beraber ekzoftalmus, yüzgeç, operkulum ve ağızda hemoraji ve ülseratif lezyonlar, bağırsakta sıvı birikimi, solgun karaciğer ve koyulaşmış ve büyümüş dalak hastalık belirtileri olarak sayılabilir (Plumb, 1999). *Streptococcus iniae*, levrek balıklarında kalp ve dalağa yerleşir ve otopside dalağın aşırı büyümesine rastlanır. Eksüdatif menenjitte ve panofitalmise sebep olur (Colorni vd., 2002).

Yoğun stoklanmış çizgili levrek kültürlerinde 25-30°C'lik su sıcaklığında mortalite gözlenebilir. Deride oluşan yaralar, pul kayıpları ve çevresel stres faktörleri hastalığın yayılmasında etkilidir (Chang ve Plumb, 1996).

*Enterococcus* Enfeksiyonları, *Enterococcus* enfeksiyonları tatlı suda yoğun olarak stoklanmış birçok çizgili levrek çiftliğinde rapor edilmiştir (Plumb, 1999). Hastalık yapıcı organizma *Enterococcus faecium*'dur. *Enterococcus* ile enfekte olmuş genç veya yetişkin levrek balıklarında pullarda hemoraji, gözlerde şişlik ve hemoraji gözlenir.

*Edwardsiella tarda* Enfeksiyonları, *Edwardsiella tarda* kültürü yapılan birçok balıkta oldukça yaygın bir patojendir (Plumb, 1999). Herman ve Bullock (1986) yaptıkları çalışmada, tatlı suda yetiştiriciliği yapılan 4-5 cm'lik juvenil çizgili levrek balıklarının *E. tarda* ile enfekte olduklarını ve patojenin su yoluyla balıklar arasında transfer olduğunu rapor etmişlerdir. Enfekte balıklarda yüzeyde yüzmeye, solungaçlarda hasar ve kafatası bölgesinde renk değişimi gözlenir. Histolojik bulgular arasında, epitel dokuda nekroz ve yüzgeçlerde kızarıklıklar, böbrekte sayısız apse ile birlikte böbrek dokusunda nekrozlar gözlenir.

*Moraxella* Enfeksiyonları, *Moraxella* cinsine ait bakteriler, çizgili levrek balıklarından izole edilen patojenik özellikte bakteriler olmasına rağmen, levreklerde çok ciddi hastalıklara sebep olmadıkları rapor edilmiştir (Baya vd., 1990). Enfekte balıkların dorso-lateral vücut yüzeylerinde büyük hemorajik lezyonlar ve pul kayıplar gözlenir. Otopsi bulgularında, büyük, solgun lekeli ve vücut iç duvarına yapışma eğiliminde karaciğer ile birlikte inflamasyonlu yüzme kesesi gözlenir. *Moraxella* cinsine ait bakterilerin çizgili levreklerde hastalık oluşturduğu konusunda şaibeler de mevcuttur. Çünkü bu bakterinin izole edildiği balıklarda çizgili levrek reovirüsü ayrıca solungaçlarda *Trichodina* ve *Ergasilus* parazitlerinin de bulunduğu rapor edilmiştir (Plumb, 1999).

*Carnobacterium piscicola* Enfeksiyonları, *Carnobacterium* benzeri organizmalar, Chesapeake Körfezi'nde, ölmek üzere olan ve ölmüş çizgili levrek balıklarından izole edilmiştir (Baya vd., 1991). Enfeksiyon öncesinde balık streslenir ve hiçbir klinik belirti göstermez. Toranzo vd.'nin (1993) yaptığı bir çalışmada çizgili levrek balıklarına *C. piscicola* enjekte edilmiştir, fakat balıklarda ölümler gözlenmemiş olup, sadece karaciğerde hemoraji ve beyin zarında enflamasyona rastlanmıştır. Başka bir çalışmada,  $4,5 \times 10^6$  bakteri hücrenin enjekte edildiği gökkuşağı alabalıklarında %35 oranında ölümler gözlenmiştir. Bu çalışmaların sonucunda *C. piscicola* bakterisinin çizgili levreklerde ölümlere sebep olmadığı sadece iç organlara orta seviyede zarar verdiği rapor edilmiştir (Plumb, 1999).

*Corynebacterium aquaticum* Enfeksiyonları, *Corynebacterium aquaticum* bakterisi, Bandin vd. (1992) tarafından, ekzoftalmus gözlenen çizgili levrek balıklarının beyinlerinden izole edilmiştir. Bakterinin çizgili levrek balıklarında LD<sub>50</sub> değeri  $1,0 \times 10^5$  CFU'dur. Deneysel olarak enfekte edilmiş balıkların iç organlarının birçoğunda, özellikle beyinde ve gözlerde hemorajiler gözlenmiştir (Plumb, 1999).

Mikobakteriozis ve Nokardiozis, Mikobakteriozis, yetiştiricilik kafeslerinde ve akvaryum ortamlarında oldukça yaygın gözlenen bir hastalık olmasına rağmen doğal yaşayan balıklarda bulunmaz (Plumb, 1999). *Mycobacterium marinum*, *Mycobacterium fortuitum* (Van Dujin, 1981) ve *Mycobacterium chelonae* (Arakawa ve Fryer, 1984) Mikobakteriozis'e sebep olan bakterilerdir. Bütün kemikli balıklar, özellikle çizgili levrek ve somon balıkları hastalığın konaklarıdır (Plumb, 1999).

Mikobakteriozis'in klinik belirtileri balık türlerine göre değişiklik gösterir (Van Dujin, 1981). *M. marinum* ile enfekte çizgili levrek balıklarında; deride letarjik koyu renk pigmentlenme ile ülser ve hemoraji gözlenirken, karının oldukça zayıf ve içeri çökmüş olduğu rapor edilmiştir (Hedrick, 1987). Enfekte balıklarda ayrıca, anoreksi, deri ülserleri, omurga ve çene kemiklerinde deformasyon ve göz kayıplarına kadar ulaşan ekzoftalmus gözlenir. Otopsi bulgularına bakıldığında; karaciğer, dalak, kalp, böbrek ve mezenterde granüller ile birlikte dalak ve karaciğerde şişlik gözlenir (Plumb, 1999).

*Nocardia* sp. enfeksiyonları Amerika, Arjantin, Almanya, Japonya ve Tayvan'da rapor edilmiştir (Post, 1987; Chen, 1992). Bilinen iki türü Nokardiozis'e sebep olur; *Nocardia asteroides* ve *Nocardia kampfachi* (Nigrelli ve Vogel, 1963; Conroy, 1964). *Nocardia* enfeksiyonları, gökkuşağı alabalığı, dere alabalığı, neon tetra balığı, sarı kuyruk,

Formosa yılanbaş balığı, dev gurami balığı ve kocaağız levrek (Snieszko vd., 1964; Chen, 1992) ile süs balıklarında rapor edilmiştir.

*Nocardia* enfeksiyonlarının klinik belirtileri Mikobakteriozis ile benzerlik gösterir (Austin ve Austin, 2007).

*Pseudomonas* Enfeksiyonları, *Pseudomonas anguilliseptica*, ilk olarak Wakabayashi ve Egusa (1972) tarafından Japon yılan balıklarında (*Anguilla japonica*) ‘red spot’ hastalığı etkeni olarak rapor edilmiştir. Patojen ayrıca, içinde baltik ringası (*Clupea harengus membras*) (Lönnström vd., 1994), çipura (Doménech vd., 1999), mandagöz mercan balığı (*Pagellus bogaraveo*) (López-Romalde vd., 2003), orange spotted grouper (*Epinephelus coioides*) (Al-Marzouk, 1999) ve morina balığının (Ferguson vd., 2004) da bulunduğu birçok balıktan da izole edilmiştir.

Ülkemizde, Avsever vd. (2012) Ege Bölgesi’ndeki kafeslerde yaptıkları çalışmada, klinik olarak photobakteriozis semptomları gösteren 104 adet levrek balığından iki adet *Pseudomonas anguilliseptica* bakterisi izole etmişlerdir.

Son yapılan çalışmalarda ‘winter disease’ sendromunun etkenlerinden birinin *Pseudomonas anguilliseptica* olduğu kanıtlanmış ve levrek balığının da bu hastalığa karşı hassas olduğu bildirilmiştir (Berthe vd., 1995). *Ps. anguilliseptica* ile enfekte balıklarda ağız etrafında, solungaç kapaklarında ve vücudun yanal kısımlarında peteşiyal hemorajiler (pembe noktalar şeklinde) meydana gelir (Austin ve Austin, 2007).

*Bacillus cereus* Enfeksiyonları, Rusya ve A.B.D.’de sazan ve çizgili levreklerde rapor edilmiştir. *Bacillus cereus* solungaçlarda çürümelere sebep olur ve buralardan izole edilebilir (Baya vd., 1992).

### 1.3.5. Levreklerde Görülen Parazitel Hastalıklar

Parazitel hastalıklar, balıkların diğer sekonder hastalıklara dayanıklılıklarını azalttığı için bakteriyel hastalıklar ile birlikte değerlendirilmelidirler (kişisel iletişim Ögüt, 2012). Balık parazitleri akuatik çeşitliliğin en önemli bileşenlerindedir ve kontrolleri balık sağlığı açısından oldukça önemlidir (Antonelli vd., 2012). Doğal ortamlarda parazitlerin enfeste etme ve konağa zarar verme oranları oldukça düşüktür fakat yetiştiricilik yapılan kafeslerdeki yoğun balık popülasyonlarına yayıldıklarında kısa sürede parazit

patlamalarına, epizootiklere ve böylelikle önemli ekonomik kayıplara sebep olurlar (Naylor vd., 2000).

Karadeniz Bölge'sindeki levreklerde endemik olarak bulunan *Diplectanum aequans* monogenean bir parazittir ve helmintlerden farklı olarak hayat döngülerinde ara konağa ihtiyaç duymaz. Yayılımları ve bolluklarını etkileyen en önemli abiyotik faktör sıcaklıktır (Oliver, 1977; Ogut ve Uzun, 2012).

Coğrafik yayılımı oldukça geniş olan *Diplectanum aequans*, levrek balıklarının en yaygın parazitidir (Paling, 1966; Oliver, 1977; Gonzalez-Lanza vd., 1991). Ülkemizde ilk olarak Tokşen (2007) tarafından Ege Denizi'nde kültürü yapılan levrek balıklarında rapor edilmiştir.

Dünyanın birçok yerinde (Cecchini 1994; Dezfuli vd., 2007) ve Türkiye'de (Toksen, 2007) balıklarda mortaliteye neden olduğu rapor edilmiştir. Ancak Stoskopf (1993) raporunda ağır monogenean enfeksiyonlarında, parazitin solungaçlara yapışması ve solungaçlardan beslenmesinden ötürü epitel dokuda histopatolojik bozulmalar meydana gelebileceğini ve dokunun ikincil fungal, bakteriyel veya viral enfeksiyonlara karşı hassaslaşabileceğini belirtmiştir. Benzer şekilde Ogut ve Uzun (2012) Doğu Karadeniz'de yaptıkları çalışmada *Diplectanum aequans*'ın (Wagener,1857) mortaliteye sebep olmadığını, balıkların kondisyon faktörünü azaltarak ikincil hastalıklara (bakteriyel) karşı zayıf düşürdüğünü rapor etmişlerdir.

Bazı mikroorganizmalar tek başlarına önemli bir hastalığa sebep olamazken diğer bir patojen ile birlikte ciddi problemlere sebep olabilirler. Bu nedenle birçok çalışmada, parazitlerin balıkları bakteri gibi ikincil bir enfeksiyona karşı daha hassas hale getirmedeki muhtemel rolü üzerinde durulmaktadır (Cusack ve Cone, 1986; Busch vd., 2003; Sitjà-Bobadilla vd., 2006; Seppälä vd., 2009). İkincil enfeksiyona duyarlılığı artırma direkt ve indirekt olabilir. Direkt rolde parazit, deride bakteriye giriş yolu olabilecek yaralanmalara sebep olabilir ya da bakteri için bir taşıyıcı vazifesi görebilir. İndirekt rolde ise parazit, canlının bağışıklık sistemini zayıflatarak, onu bakteriyel enfeksiyonlara karşı daha hassas hale getirmiş olur (Bandilla vd., 2006).

Trabzon Su Ürünleri Merkez Araştırma Enstitüsünce yapılan çalışmada (Savaş vd., 2006), çalışmamızı gerçekleştirdiğimiz alanda *Dactylogyrus* sp. paraziti rapor edilmiş olup Karadeniz'de endemik bir tür olan *D. aequans* rapor edilmemiştir. *D. aequans* larval

aşaması da göz noktacıklarına sahiptir. Muhtemelen larval *D. aequans* ile *Dactylogyrus* sp. karıştırılmıştır.

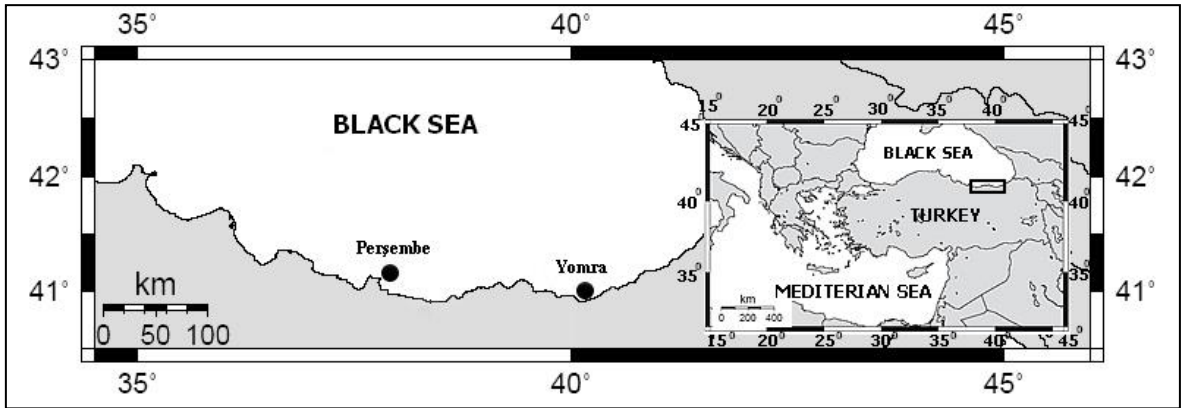
*D. aequans* dışında rapor edilen balık dış paraziti yoktur. Ancak, Karadeniz’ de levrek yetiştiriciliği yapılan çiftliklerde özellikle kış aylarında levreklerin yemlenmedikleri dönemlerde *Trichodina* paraziti yoğun olarak gözlenebilmektedir (Kişisel iletişim Öğüt, 2012).



## 2. YAPILAN ÇALIŞMALAR

### 2.1. Çalışmanın Yapıldığı Yer

Çalışmada kullanılan örnekler Ordu ve Trabzon illerindeki iki ayrı işletmeye ait kafeslerden elde edildi. Bunlardan ilki 1976 yılında kurulan, Trabzon ilinin Yomra İlçesi'ndeki Karsusan Anonim Şirketi'dir (tezde 'Yomra İşletmesi' şeklinde kısaltılarak kullanılacaktır). Bu işletmenin 57 kafesten oluşan ve 60,000 m<sup>2</sup>'lik alana sahip Yomra tesislerinde (40° 57' 58" ve 40° 57' 49" Kuzey, 39° 51' 37" ve 39° 53' 44" Doğu) yılda 1,500 ton alabalık (*Oncorhynchus mykiss*) ve 300 ton levrek (*Dicentrarchus labrax*) üretilmektedir. İkinci işletme Ordu ilinin Perşembe ilçesinde bulunan Özbek Su Ürünleri Turizm Nakliyat İnşaat Ambalaj ve Yalıtım Malzemeleri Sanayi ve Tic. Ltd. Şti.'dir (tezde 'Perşembe İşletmesi' şeklinde kısaltılarak kullanılacaktır). Bu işletme Perşembe'de iki farklı noktada ve toplamda 16,000 m<sup>2</sup>'lik alanda (Sarı burun mevki ve Kışla önü mevki) yetiştiricilik yapmaktadır. Sarı burun mevkiinde yılda 100 ton alabalık ve 100 ton levrek ve Kışla önü mevkiinde yılda 100 ton alabalık ve 100 ton levrek üretimi yapılmaktadır.



Şekil 1. Çalışmanın yapıldığı yerler. Yomra ve Perşembe İşletmeleri

## 2.2. Balık Materyali



Şekil 2. Levrek balığı (*Dicentrarchus labrax*)

Karadeniz’de yetiştiriciliği yapılan levrek balıklarında hastalıklara sebep olan bakterilerin tanımlanması ve büyütme periyodu süresince (Haziran-Aralık) ortaya çıkışlarının belirlenmesi amacıyla Yomra ve Perşembe’den toplam 476 adet levrek balığı temin edildi. Yomra İşletmesi’nden Haziran-Aralık 2011 tarihleri arasında yapılan altı ayrı örnekleme sonucunda boyları 5,6-36,9 cm ve ağırlıkları 1,46-559,6 gr arasında değişen toplam 230 adet; Perşembe İşletmesi’nden ise Haziran-Aralık 2011 tarihleri arasında yapılan altı ayrı örnekleme sonucunda boyları 6-35,5 cm ve ağırlıkları 1,48-219 gr arasında değişen toplam 246 adet levrek balığı temin edildi. İşletmelerde 2009, 2010 ve 2011 yıllarına ait levrek balıklarının bulunduğu, hastalık belirtilerinin gözlemlendiği kafeslerden, ortalama 15 adet balık kepçeyle alınıp buzlu straforlarda muhafaza edildi. İşletmelerde bireysel bakteri ve parazit örnekleme yapıldı. Her bir balığın boy ve ağırlıkları ölçüldü. Kondisyon faktörleri CF (kondisyon faktörü)=(Ağırlık/(Boy<sup>3</sup>)\*100) formülüne göre hesaplandı. Klinik belirtilere (renkte kararma, ağız etrafında, operkulum üzerinde ve anüs çevresinde lezyonlar, pelvik yüzgeç kaidesinde hemoraji ve bazılarında ekzoftalmus) sahip olanlar öncelikle tercih edilmekle beraber, klinik belirtisi olmayan balıklar kafeslerden rastgele örneklendi.

Yapılan tüm biyokimyasal ve moleküler testler Karadeniz Teknik Üniversitesi Deniz Bilimleri Fakültesi Balık Hastalıkları Laboratuvarı’nda gerçekleştirildi. Bakteri izolatlarının DNA dizi analizi ticari bir firmaya (MacroGen, Hollanda) yaptırıldı.

### 2.3. Hasta Balıklardan Bakteri İzolasyonu

Kontaminasyonu önlemek amacıyla örneklerin dış yüzeyleri %70'lik alkol ile temizlendi. Ventral ve lateral insizyonlar uygulanarak steril bir şekilde iç organlar açığa çıkarıldı (Philips, 1988). Ön böbrekten ve dalaktan steril öze ile alınan örnekler %1,5 NaCl içeren MH Besiyerinde (Mueller Hinton) (Merck; 1.05437.0500) inoküle edildi. Ekim yapılan besiyerleri laboratuvara getirilerek 22-24°C sıcaklıkta 24 saat inkübe edildi. Üreme olan besiyerlerinden saf koloniler elde edebilmek amacıyla %1,5 NaCl içeren MH Besiyerlerine seyreltme yöntemiyle yeni ekimler yapıldı.

### 2.4. Bakterilerin Morfolojik, Fizyolojik ve Biyokimyasal Özelliklerinin Belirlenmesi

İçersinde %1,5 NaCl bulunan MH Besiyerinde kültüre edilen bakterilerin koloni morfolojisi ve rengi belirlendi. İzolatlar daha sonraki işlemlere kadar %15 gliserol içeren TSB (Triptik Soy Buyyon) içerisinde - 80°C'de muhafaza edildi. Bakterilerin fenotipik özelliklerinin belirlenmesi için kullanılan tüm besiyerleri (TCBS hariç) %1,5 NaCl eklenerek hazırlandı ve izolatlar 24-25°C'de 24 saat inkübe edildi.

### 2.5. Biyokimyasal Testler

1. İndol Üretimi; Pepton water (MERCK, Kat no; 1.07228.0500) ve Kovaks kimyasalı (MERCK, Kat no; 1.09293.0100) kullanıldı. Pepton water üretici firmanın talimatlarına uygun olarak hazırlandı. Kovak kimyasalının ilavesinin ardından tüpün üst kısmında oluşan kırmızı halka pozitif sonuç olarak kabul edildi (Koneman vd., 1997).

2. MRVP (Metil Kırmızısı ve Voges-Proskauer); MR VP besiyeri (OXOID, Kat no; CM0043) kullanıldı ve üretici firmanın talimatların uygun olarak hazırlandı. Metil kırmızısı testi için metil kırmızısı, Voges-Proskauer testi için de potasyum hidroksit ve alfa naftol çözeltileri hazırlandı (alfa naftol çözeltisi; 5 gr 1-Naphtol ve 100 ml etanol ile, potasyum hidroksit çözeltisi; 40 gr Potasyum hidroksit ve 100 ml saf su ile ). MR testinde metil kırmızı ilavesinin ardından oluşan kırmızı renk oluşumu pozitif, VP testinde

potasyum hidroksit ve alfa naftol ilavesinin ardından oluşan üst kısımdaki pembe kırmızı arası renk oluşumu pozitif sonuç olarak kabul edildi (Demirbağ ve Demir, 2005).

3. Sitrata Kullanımı; Simmon's Citrate Agar (MERCK, Kat no; 1.02501.0500) kullanıldı ve üretici firmanın talimatlarına uygun olarak hazırlandı. Yeşil olan besiyeri renginin maviye dönüşmesi sitratin kullanıldığını gösterdi pozitif sonuç olarak kabul edildi (Demirbağ ve Demir, 2005).

4. Fermentasyon; OF besiyeri (HIMEDIA, Kat no; M395) kullanıldı ve üretici firmanın talimatlarına uygun olarak hazırlandı. Weyant vd. (1996) denizsel gram negatif bakteriler için ksiloz, laktoz, sukroz ve maltoz şekerlerinin kullanımını tavsiye etmişlerdir. Çalışmamızda bu şekerlere ek olarak galaktoz, arabinoz, mannoz, inositol, sorbitol ve ramnozdan da asit ve gaz üretimi testleri yapıldı. Sarı renk; asit pozitif, kabarcık oluşumu; gaz pozitifdir. Kullanılan şeker diskleri Tablo 6'da verilmiştir.

Tablo 6. Tanımlamada kullanılan şeker diskleri

Şekerler	Kısaltması	Katalog kodu
Galaktoz	Ga	Hi Media; DD016
Maltoz	Ma	Hi Media; DD005
Sukroz	Su	Hi Media; DD013
Laktoz	La	Hi Media; DD004
Ksiloz	Xy	Hi Media; DD014
Arabinoz	Ar	Hi Media; DD001
İnositol	Is	Hi Media; DD027
Mannoz	Mo	Hi Media; DD007
Sorbital	Sb	Fluka; 93998
Ramnoz	Rh	Fluka; 93999

5. Katalaz; Katalaz üretimi, kültür üzerine %3'lük H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (hidrojen peroksit) ilavesiyle tespit edildi. Katalaz üreten bakteri kolonisi üzerinde kabarcıklar oluştu. Bu durum pozitif sonuç olarak kabul edildi (Koneman vd., 1997).

6. Üreaz; Christensen's Urea Agar (MERCK, Kat no; 1.08492.0500) kullanıldı ve üretici firmanın talimatlarına uygun olarak hazırlandı. Besiyerinin pembeye dönüşmesi pozitif sonuç olarak kabul edildi (Koneman vd., 1997).

7. Nitrat; Nitrat Buyyon (FLUKA, Kat no; 101068902) kullanıldı ve üretici firmanın talimatlarına uygun olarak hazırlandı. Griess İlosvay ayırıcı (MERCK; 1.09023.0500)

eklendikten sonra pembeye dönüşen renk pozitif sonuç olarak kabul edildi (Koneman vd., 1997).

8. Sitokrom Oksidaz; Bactident Oxidase Strip (MERCK, Kat no; 1.13300.0001) kullanıldı. Sonuçlar üretici firmanın renk kartelasına göre değerlendirildi.

9. SIM (Sulfide Indole Motility); SIM Besiyeri (OXOID, Kat no; CM0435) kullanıldı ve üretici firmanın talimatlarına göre hazırlandı. Besiyerinde gözlenen bulanıklık hareket belirtisi olarak kabul edildi (Koneman vd., 1997).

10. KIA (Kligler Iron Agar); (MERCK, Kat no; 1.0391.0500) kullanıldı ve üretici firmanın talimatlarına göre hazırlandı. Kırmızı slant ve deep (alkalin) laktoz fermantasyonun olmadığını, kırmızı slant (alkalin) ve sarı deep (asit) fermantasyonun olduğunu fakat karbohidrat olarak laktoz kullanılmadığını, sarı slant ve sarı deep laktoz fermantasyonunun olduğunu ve tüpün tabınındaki siyahlık ortamda H<sub>2</sub>S oluştuğunu gösterdi (Koneman vd., 1997).

11. Sıcaklık Toleransı Testleri; 4, 22, 37 ve 40°C'de bakteriler inkübe edildi ve sıcaklık toleransları belirlendi (Austin ve Austin, 2007).

12. Tuzluluk Toleransı Testleri; %0, 3, 6, 8 ve 10 NaCl'de bakterilerin büyümeleri gözlemlendi (Koneman vd., 1997).

13. Vibriostatik Ajan Testi; O129/10µg ve 150 µg disk<sup>-1</sup> (OXOID, Kat no; DD0015T, DD0014T) vibriostat ajanına hassasiyet ve duyarlılık testi, disk difüzyon yöntemi kullanılarak yapıldı. *Vibrio* cinsine ait bakterilerin diğer gram negatif bakterilerden özellikle *Aeromonas* türlerinden ayırımında kullanıldı (Huq vd., 1992).

14. Seçici Besiyerlerinin Denenmesi; TCBS (Thiosulfate Citrate Bile Salts) (MERCK, Kat no; 1.10263.0500) kullanıldı ve üretici firmanın talimatlarına göre hazırlandı. Bakterilerin oluşturdukları renkler kayıt edildi. Bakterilerin luminesans özelliklerini incelemek için Photobacterium Buyyon (FLUKA, Kat no; 38719) kullanıldı ve üretici firmanın talimatlarına göre hazırlandı. *Aeromonas* Starch DNA Agar (Himedia; M1284) kullanıldı ve üretici firmanın talimatlarına göre hazırlandı. Büyüme özellikleri belirlendi.

15. Antibiyogram Testleri; İzolatların antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesi için Disk Difüzyon (Kirby-Bauer) yöntemi ile 23 antimikrobiyal madde denendi (Tablo 7). Bu amaç için 15 cm çaplı cam petripler içinde MH Besiyeri hazırlandı. Besiyerindeki 18-24 saatlik bakteri kolonilerinden 3-4 tanesi öze ile alınıp, içerisinde 5 ml TSB bulunan tüpe

süspanse edildi. 25°C’de iki saat inkübe edildi. İnokulumun yoğunluk standardizasyonunda Mc Farland 0,5 Standartı baz alındı. Süspansiyon kullanılmadan önce vorteksle karıştırılarak homojen olması sağlandı. Svap süspansiyonun içine daldırıldı ve iç kenarına bastırılarak çıkarıldı. Besiyerinin bir kenarından başlandı ve süspansiyon yayıldı. Besiyeri yüzeyinin kurumması için bir dakika oda sıcaklığında bekletildi. Antibiyogram diskleri (bir petride en fazla 12 adet olacak şekilde yerleştirildi) aralarında 2 cm mesafe olacak şekilde steril pens yardımıyla besiyeri üzerine yerleştirildi. Hafifçe üzerine bastırılarak besiyeriyle tam temas sağlandı. 25°C’de 24 saat inkübe edildi. Zon çapları bir cetvel yardımıyla ölçülüp kayıt edildi (Koneman vd., 1997).

Tablo 7. Tanımlamada kullanılan antibiyogram diskleri ve miktarları

Antibiyogram	Kısaltması	Ağırlık (µg/disk)	Katalog kodu
Furazolidin	Fr	50	OXOID;DD28
Neomisin	N	30	OXOID; CT0033B
Kanamisin	K	30	OXOID;CT0026B
Florrenikal	FFC	30	OXOID;CT1754B
Okzolinik asit	OA	2	OXOID;CT0181B
Oksitetrasiklin	OT	30	OXOID;CT0041T
Kloramfenikol	C	30	OXOID;CT0013B
Tilmikosin	TIL	15	OXOID;CT1756B
Norfloksasin	NOR	10	OXOID;CT434B
Ofloksasin	OFX	5	OXOID;CT0446B
Penisilin-G	P	10 units	OXOID;CT0043B
Streptomisin	S	10	OXOID;CT0047B
Ampisilin	AMP	10	OXOID;CT0003B
Trimetoprim	W	1,25	OXOID;CT0057B
Nitrofurantion	F	300	OXOID;CT0036B
Enroflaksasin	ENR	5	OXOID;CT0639B
Eritromisin	E	15	OXOID;CT0020B
Vankomisin	VA	30	OXOID;CT0058B
Amoksilin	AML	10	OXOID;CT00161B
Doksisiklin	DO	30	OXOID;CT0018B
Sulfadiazin	Sz	300	HIMEDIA;SD034
Sülfametoksazol-trimetoprim	STX	25	OXOID;CT0052B
Kolistin Sülfat	CT	25	OXOID;CT0065B

## 2.6. *Diplectanum aequans* Parazitinin Örnekleme

Parazit örnekleme bakteri örnekleme yapılan bütün balıklardan yapıldı. Her bir balığın sağ solungacının ilk lameli alınarak %10'luk 1 ml formalin içeren tüplere koyuldu. Laboratuvar ortamına getirilen örneklerin lam lamel arası preparatları hazırlandı. Mikroskop altında 4x-100x büyütmede lamellerdeki monogenan parazitler sayıldı. Parazitin aylara bağlı olarak yoğunluğu, bolluğu ve yaygınlığı Oğut ve Uzun'un (2012) açıklandığı gibi belirlendi.

## 2.7. Genetik Analizler

### 2.7.1. Total DNA İzolasyonu

Balıklardan izole edilen bakterilerin total DNA izolasyonu TRI Reagent LS (Sigma-Aldrich, Kat no; T3934) kullanılarak yapıldı. Üretici firmanın talimatlarına uygun olarak işlem dört basamakta gerçekleştirildi.

1. Örneğin hazırlanması; Her  $10^6$  hücre için 0,75 ml TRI Reagent LS kullanıldı. Pipetle iyice karıştırıldıktan sonra faz ayrımı için kloroform eklendi.

2. DNA'nın çöktürülmesi; Ara fazın üzerindeki sıvı faz uzaklaştırıldı. Geride kalan DNA ve organik fazın üzerine, kullanılan her 0,75 ml TRI Reagent LS için 0,3 ml % 1' lük etanol eklendi ve 2000 x g'de 5 dakika 2-8°C'de santrifüj edildi.

3. DNA'nın yıkanması; Süpernatant uzaklaştırıldı. DNA pelleti iki kere 0,1 M trisodyum sitrat ile yıkandı ve 2000 x g'de 5 dakika 2-8°C'de santrifüj edildi. Her 1,5 ml TRI Reagent LS için 1,5-2 ml % 75' lik etanolle DNA pelleti tekrar çözündürüldü ve 2000 x g' de 5 dakika 2-8°C'de santrifüj edildi.

4. DNA' nın çözündürülmesi; Süpernatant uzaklaştırıldıktan sonra DNA pelleti 5-15 dakika oda sıcaklığında kurumaya bırakıldı. Yeteri kadar 8 mM NaOH eklenerek DNA'nın iyice çözündürüldü. 2000 x g'de 5 dakika 2-8°C'de santrifüj edildi ve süpernatant yeni tüpe transfer edildi.

PCR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu) aşaması için elde edilen DNA solüsyonuna 0,1 M 66 µl HEPES (4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazineethanesulfonicacid) (Fluka; BioChemika, Kat no; 83264) eklenerek pH 8,4'e ayarlandı.

### 2.7.2. PCR Şartları ve Görüntüleme ve Sekans Analizi

DNA'lar izole edildikten sonra ileri 16S-5F ve geri 16S-531 5'-TGGAGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3' ve 5'-TACCGCGGCTGCTGGCAC-3' universal primerleri kullanılarak 16S rDNA geni PCR ile çoğaltılmıştır.

PCR işleminde TopTaq Master Mix Kit (QIAGEN, Kat no; 200403) kullanıldı ve üretici firmanın talimatlarına uygun olarak deney gerçekleştirildi. PCR karışımın bileşenleri ve miktarları Tablo 8'de verilmiştir.

Tablo 8. PCR karışımının bileşenleri ve miktarları

PCR Bileşenleri	Miktar
TopTaq Master Mix, 2X (1,25 unit TopTaq DNA Polimeraz, 1X PCR Buffer, her bir dNTP'den 200 µl)	25µl
İleri Primer	2 µl
Geri Primer	2 µl
Rnaz/Dnaz Free Water	17 µl
DNA Template	4 µl
Toplam	50 µl

Örneklerin 16S rDNA spesifik gen bölgelerinin çoğaltılmasında Thermal Cycler (Bio Rad, MJ Mini) kullanıldı. PCR döngüleri TopTaq Master Mix Kit döngü protokolüne göre tamamlandı. İlk olarak 94°C'de üç dakikalık denatürasyon işlemi yapıldı. Ardından 94°C'de 30 saniyelik denatürasyon, 60°C'de 30 saniyelik yapışma, 72°C'de bir dakikalık uzatma işleminin ardından 72°C'de 10 dakikalık son uzatma ile işlem tamamlandı. PCR işleminden sonra örnekler 1×TAE tampon sisteminde % 1,5'lik agaroz jelde yürütüldü. Örnekler etidium bromür ile boyanarak (Doc-Print VX2, VILBER LOURMAT sisteminde) görüntü analiz edildi.



### 2.7.3. PCR Ürünü'nün Saflaştırılması

PCR ürününün saflaştırılması işleminde hazır kite ait protokol uygulandı. Protokolde DNA'nın PCR aşamasından sonra yıkanılarak saflaştırılması esas alındı. İşlem için QIAquick® PCR Purification Kit (QIAGEN, Kat no; 28104) kullanıldı. Üretici firmanın talimatlarına uygun olarak deney tamamlandı. Her 1 µl PCR ürünü için 5 µl *PB Buffer* eklendi. 75 µl *PE Buffer* ile yıkanıp 5 µl *EB Buffer* ile çözündürüldü. Ürünlerin konsantrasyonu spektrofotometrede belirlendi ve kullanılana kadar - 80°C'de muhafaza edildi.

Bakterilerin gen dizilimi direkt olarak saflaştırılmış PCR ürünü üzerinden ticari bir firmaya (Macrogen, Hollanda) yaptırıldı. Sekanslar gen bankası ([www.ncbi.nlm.nih.gov](http://www.ncbi.nlm.nih.gov)) adresinde yer alan Nucleotide Blast (blastn) programı kullanılarak karşılaştırıldı ve homolojileri belirlendi (Tablo 15).

Çalışmada en sık izole edilen *A. veronii*, *Ph. damselae* subsp. *damselae*, *V. harveyi*, *V. vulnificus* ve *V. rotiferianus* bakterilerinin filogenetik karşılaştırılması MEGA versiyon 5 (Molecular Evolutionary Genetics Analysis) paket programı kullanılarak gerçekleştirildi. Dizi analizinden elde edilen 16S rDNA gen bölgesi dizisi MUSCLE ile hizalandı. Hizalanmış dizilerin yine MEGA programında ikili olarak evrimsel uzaklıkları belirlendi (Kumar vd., 2004) (Tablo 16, 17 ve 18).

### 2.8. Su Kalitesi Kriterleri

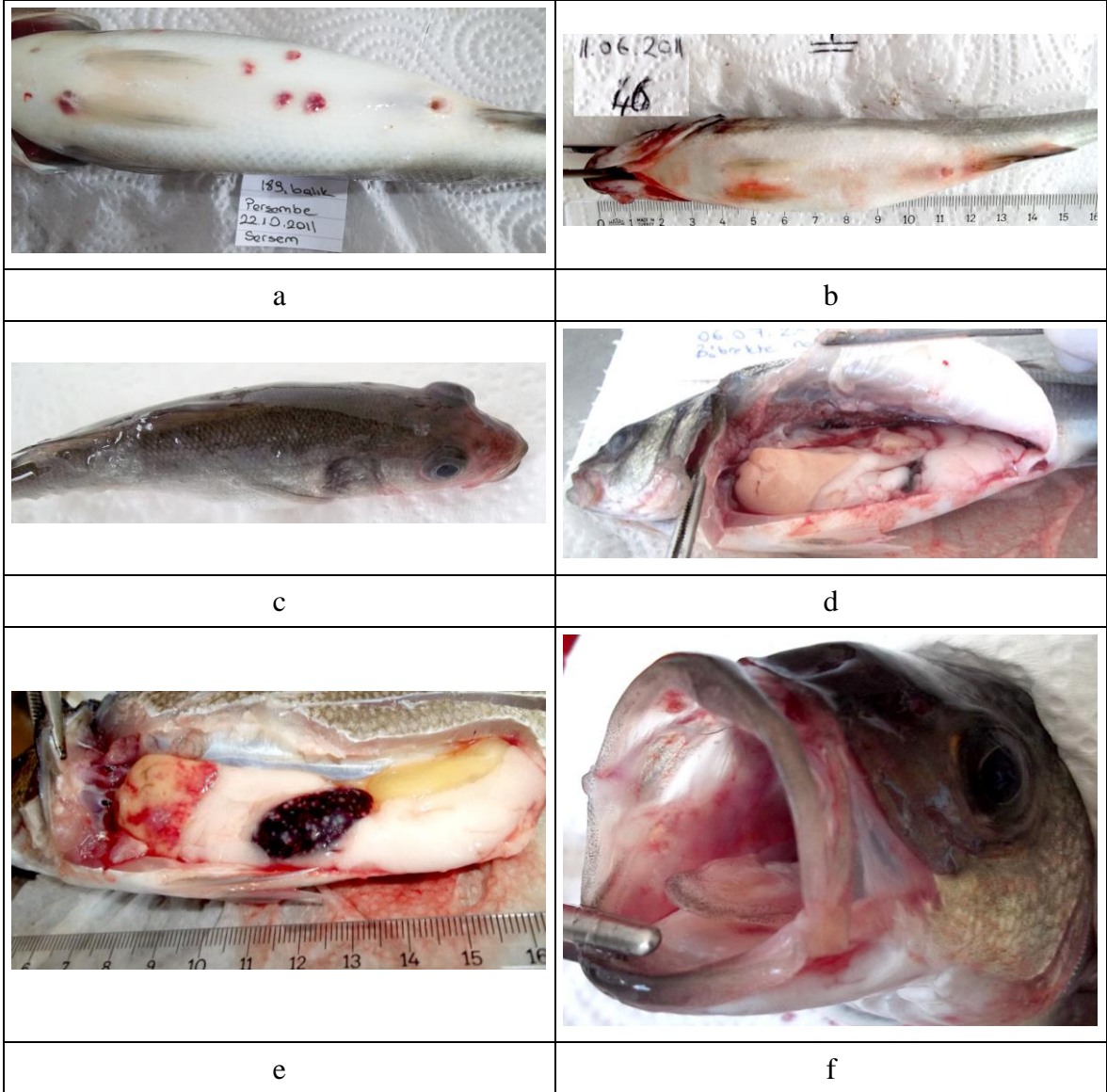
Haziran-Aralık 2011 tarihleri arasında aylık olarak YSI 556 (Yellow Springs Instruments Inc., Yellow Springs, OH, USA) probu ile kafeslerin etrafındaki yüzey suyundan sıcaklık, oksijen ve pH ölçümleri yapıldı.

### **3. BULGULAR**

#### **3.1. Hasta Balıkların Klinik ve Otopsi Bulguları**

Bakteriyal balık patojenlerinin dağılım ve çeşitliliğini belirlemek amacıyla, örneklenen 476 adet balıktan 37'sinde (Perşembe İşletmesi'nden 34 ve Yomra İşletmesi'nden üç adet) hastalık belirtisine rastlanmıştır (Tablo 9). Perşembe İşletmesi'ne ait kafeslerden alınan enfekte balıkların klinik muayenesi sonucunda; vücut yüzeyinde, yüzgeç diplerinde ve anüs etrafında hemoraji, deride ülseratif lezyonlar, karın boşluğundaki sıvıdan kaynaklı şişlik, gevşek kas dokusu, bağırsakta sarı sıvı, aşırı şişmiş öd kesesi, soluk karaciğer, böbrek ve dalakta nodüller ve gözlerde ekzoftalmus gibi belirtiler gözlemlendi (Şekil 3). Yomra İşletmesi'ne ait kafeslerden alınan balıklardan sadece üç tanesinde dalakta nodüller gözlemlendi, geri kalan balıklarda herhangi bir hastalık belirtisi tespit edilemedi.

Balığın dalak ve böbreğinde nodüllerin oluşması, hastalığın konakçıya (balığa) yerleştiğine işaret etmektedir, bu sebeple de en önemli hastalık belirtisi olarak ayrıca değerlendirilmiştir. Böbrek ve dalakta nodüller, ilk olarak Temmuz ayında Perşembe İşletmesi'nden örneklenen 2010 ve 2011 yılına ait balıklarda saptandı. Son olarak ise Ekim ayında yine Perşembe İşletmesi'nden örneklenen 2010 yılına ait balıklarda gözlemlendi. Nodüllü böbrek ve dalak hasta balıklarda en yüksek orana, Eylül ayında Perşembe İşletmesi'nden alınan 2011 yılına ait balıklarda ulaştığı tespit edildi. Perşembe İşletmesi 2009 yılına ait balıklarını Eylül, Yomra İşletmesi de Ekim ayında hasat etmiştir. Geri kalan dönemlerden sadece Ağustos ayında her iki işletmeye ait 2009 balıklarının dalaklarında nodül gözlemlendi. Ayrıca Ağustos ayı Yomra İşletmesi' ne ait balıklarda semptomların gözlemlendiği tek ay olarak belirlendi. Bir diğer hastalık belirtisi olan ekzoftalmus ilk olarak Ağustos ayında Perşembe İşletmesi'ne ait 2010 ve 2011 balıklarında gözlemlendi. Bağırsakta sarı sıvı sadece Temmuz ayında ve Perşembe İşletmesi'ne ait 2010 ve 2011 balıklarında gözlemlendi. Şiş karın Temmuz ve Ağustos aylarında Perşembe İşletmesi'ne ait 2010 balıklarında ve Ağustos ve Eylül aylarında Perşembe İşletmesi'ne ait 2011 balıklarında gözlemlendi (Tablo 9).



Şekil 3. Hasta balıklara ait klinik ve otopsi belirtileri a) Deride ülseratif lezyonlar, b) Deride hemoraji, c) Ekzoftalmus, d) Böbrekte nodüller e) Dalakta nodüller, bağırsakta sarı sıvı ve solgun karaciğer f) Damakta hemoraji

Tablo 9. Yomra ve Perşembe İşletmeleri'nde kültürü yapılan levrek balıklarında gözlemlenen hastalık belirtileri ve aylara göre dağılımları

Yıl sınıfı (*)	Haziran			Temmuz			Ağustos			Eylül			Ekim			Aralık		
	2009	2010	2011	2009	2010	2011	2009	2010	2011	2009	2010	2011	2009	2010	2011	2009	2010	2011
	A+B	A+B	A+B	A+B	A+B	A+B	A+B	A+B	A+B	A+B	A+B	A+B	A+B	A+B	A+B	A+B	A+B	A+B
Toplam balık adedi	10+12	15+21	10+20	20+10	15+19	15+15	12+12	13+15	12+15	10+1	15+15	15+18	10+H	13+16	13+24	H+H	15+12	15+21
Böbrekte nodül	-	-	-	-	0+4	0+6	-	0+3	0+6	-	-	0+13		0+1	-	-	-	-
Dalakta nodül	-	-	-	-	0+4	0+6	3+3	0+3	0+6	-	-	0+13		0+2	-	-	-	-
Solgun karaciğer	-	0+3	-	-	0+1	-	-	-	-	0+1	-	-		-	-	-	-	-
Bağırsakta sarı sıvı	-	-	-	-	0+3	0+5	-	-	-	-	-	-		-	-	-	-	-
Gevşek kas	-	-	-	-	0+1	-	-	-	-	-	-	-		-	-	-	-	-
Şiş karın	-	-	-	-	0+3	-	-	0+2	0+2	-	-	0+2		-	-	-	-	-
Deride hemoraji	-	0+1	-	-	0+1	-	-	-	-	-	0+2	-		0+2		-	-	-
Fırlakgöz	-	-	-	-	-	-	-	0+1	0+2	-	-	-		-	0+1	-	-	-
Dolu öd	-	-	-	-	0+1	-	-	-	-	-	-	-		-	-	-	-	-

(\*)2009, 2010 ve 2011: 2009, 2010 ve 2011 yıllarında işletmeye alınan balıklar, sayısal değerler; balık adedi, H: hasat edilmiş, o yıla ait balık mevcut değil, A;Yomra ve B; Perşembe İşletmesi.

### 3.2. İzole Edilen Bakteri Suşları

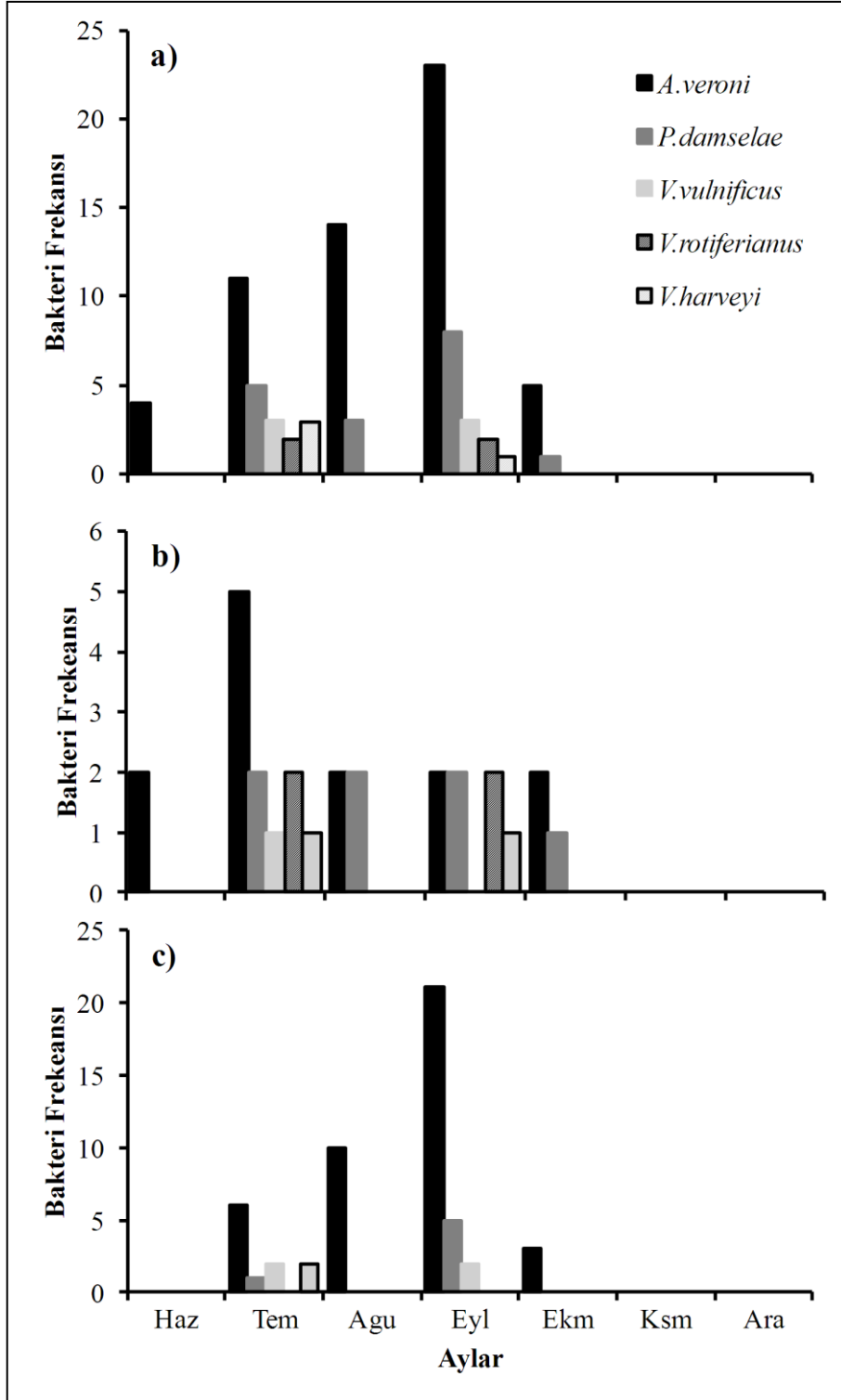
Çalışmada levrek balığının yetiştirme evresini kapsayacak şekilde, altı ay süresince Perşembe ve Yomra İşletmeleri'nden aylık örneklemeler yapıldı. Balıkların böbrek, dalak ve karaciğerden (karaciğerden sadece bir ekim yapıldı) toplam 137 bakteri izole edildi ve bunlardan 123 adedi moleküler ve biyokimyasal olarak tanımlandı. Tanımlanan türlerden 19 tanesi Yomra İşletmesi'nden, 104 tanesi Perşembe İşletmesi'nden izole edildi. Dokuz adedi balıklarda patojen olarak bilinen toplam 24 farklı bakteri türü bulundu. Bakteri en sık olarak dalaktan izole edildi. Böbrekten yapılan 449 ekimden 63 bakteri izole edilmişken, 477 dalak ekiminden 73 bakteri izole edildi ayrıca karaciğerden yapılan tek ekimden de bir bakteri izole edildi.

Yapılan örneklemeler sonucunda *Aeromonas veronii* %47,6 ile en sık izole edilen patojen bakteri olarak tespit edildi (Tablo 10). Onu %14 ile *Photobacterium damsela* subsp. *damsela*, %5 ile *Vibrio vulnificus*, %3,3 ile *Vibrio rotiferianus* ve %3,3 ile *Vibrio harveyi* izlemiştir.

*A.veronii* ve *Ph. damsela* subsp. *damsela* sıcaklığın 24,5°C olduğu Eylül ayında; *V. vulnificus*, *V. rotiferianus* ve *V. harveyi* sıcaklığın 24,5°C olduğu Eylül ve 22,3°C ile Temmuz aylarında en boldur (Şekil 4.a).

*A.veronii* bakterisi 2011 yılına ait balıklarda; *Ph. damsela* subsp. *damsela* 2010 yılına ait balıklarda; *V. vulnificus* 2011 yılına ait balıklarda; *V. rotiferianus* 2010 yılına ait balıklarda (2011 yılına ait balıklardan izole edilememiştir) ve *V. harveyi* 2011 yılına ait balıklarda en sık olarak izole edilmiştir (Şekil 4.a ve b).

Perşembe İşletmesi'nde, bir kafesten izole edilen bakteri çeşitliliğinin en fazla olduğu ay Temmuz'dur (25,2°C). Bu ayda bir kafesten en fazla sekiz farklı tür izole edildi. Bakteri çeşitliliğinin en az olduğu ay ise Haziran'dır (21,4°C). Perşembe İşletmesi'ne ait farklı kafeslerden izole edilen bakterilerin frekansları Tablo 11'de verilmiştir.



Şekil 4. a) Hasta balıklardan izole edilen patojen bakterilerin aylara bağlı olarak dağılımları b) 2010 yılına ait hasta balıklardan izole edilen patojen bakterilerin aylara bağlı olarak dağılımları c) 2011 yılına ait hasta balıklardan izole edilen patojen bakterilerin aylara bağlı olarak dağılımları. Tür teşhisleri 16S rDNA analizi ile yapılmıştır

Tablo 10. Çalışma süresince Yomra ve Perşembe İşletmesi'nden örneklenen hasta balıklardan izole edilen bakterilerin 16S rDNA sekans analizine göre belirlenen türleri, sayıları, toplam bakteri türü içindeki yüzde değerleri, izole edildikleri istasyonlardaki yüzde değerleri, izole edildikleri organlardaki yüzde değerleri ve balık için patojen olup olmama durumları

Bakteri türü	Adet	Oran	Yomra	Perşembe	Böbrek	Dalak	Karaciğer	Patojen
		(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	
<i>Aeromonas veronii</i>	58	47,6	3,5	96,5	42,1	56,1	1,8	+
<i>Photobacterium damsela</i> subsp. <i>damsela</i>	17	14	17,7	82,3	41,2	58,8	E-	+
<i>Vibrio vulnificus</i>	6	5	16,7	83,3	33,3	66,7	E-	+
<i>Vibrio rotiferianus</i>	4	3,3	-	100	50	50	E-	+
<i>Bacillus safensis</i>	4	3,3	75	25	50	50	E-	-
<i>Vibrio harveyi</i>	4	3,3	25	75	25	75	E-	+
<i>Bacillus thuringiensis</i>	3	2,5	66,7	33,3	33,3	66,7	E-	-
<i>Pseudoalteromonas aliena</i>	3	2,5	-	100	66,7	33,3	E-	-
<i>Bacillus antrachis</i>	2	1,7	-	100	100	-	E-	-
<i>Listonella anguillarum</i>	2	1,7	-	100	-	100	E-	+
<i>Vibrio ponticus</i>	2	1,7	100	-	100	-	E-	+
<i>Pseudoalteromonas mariniglutinosa</i>	2	1,7	-	100	100	-	E-	-
<i>Pseudoalteromonas prydzensis</i>	2	1,7	-	100	100	-	E-	-
<i>Pseudomonas marincola</i>	2	1,7	100	-	100	-	E-	-
<i>Psychrobacter marincola</i>	2	1,7	-	100	100	-	E-	-
<i>Actinobacter</i> sp.	2	1,7	-	100	50	50	E-	-
<i>Vibrio furnissii</i>	1	0,8	-	+	+	-	E-	+
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	1	0,8	+	+	-	-	E-	+
<i>Pseudoalteromonas byunsanensis</i>	1	0,8	-	+	-	+	E-	-
<i>Enterovibrio corali</i>	1	0,8	-	-	+	+	E-	-
<i>Enterovibrio calviensis</i>	1	0,8	-	+	+	-	E-	-
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	1	0,8	-	+	-	+	E-	-
<i>Exiguobacterium profundum</i>	1	0,8	-	-	+	+	E-	-
<i>Rheinheimera aquimaris</i>	1	0,8	+	+	-	-	E-	-
TOPLAM (sayısal değer)	123		19	104	56	67		

Yomra ve Perşembe, Böbrek, Dalak ve Karaciğer; Yomra ve Perşembe İşletmesi'nden, Böbrek, Dalak ve Karaciğer' den izole edilen bakterilerin yüzde olarak değerleri, "+" ; Pozitif sonuç, "-" ; Negatif sonuç, E-; Ekim yok

Tablo 11. Perşembe İşletmesi'nden izole edilen bakteri türlerinin kafeslere ve aylara göre dağılımı

Yıl sınıfı	Aylar	n	Bakteri Türleri																							
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
2011	Haz	20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	Tem	15	5	1	2	2	-	-	-	1	-	-	-	1	-	-	-	-	-	1	-	1	-	-	-	
	Agu	15	6	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	1	-	1	-	-	-	-	-	-	-	
	Eyl	18	14	4	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	
	Ekm	24	2	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
2010	Haz	21	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
	Tem	20	3	2	1	1	1	1	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	1	1	-	-		
	Agu	15	2	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
	Eyl	15	1	2	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
	Ekm	16	2	1	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
2009	Haz	12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
	Tem	10	-	1	-	-	-	-	-	1	-	-	1	1	-	1	-	-	-	-	-	-	-	1		
	Agu	12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
	Eyl	H																								
	Ekm	H																								

Bakteri türleri; 1: *Aeromonas veronii*, 2: *Photobacterium damsela* subsp. *damsela*, 3: *Vibrio vulnificus*, 4: *Vibrio harveyi*, 5: *Vibrio rotiferianus*, 6: *Bacillus safensis* 7: *Bacillus thuringiensis*, 8: *Pseudoalteromonas aliena*, 9: *Bacillus antrachis*, 10: *Listonella anguillarum*, 11: *Vibrio ponticus*, 12: *Pseudoalteromonas mariniglutinos*, 13: *Pseudoalteromonas prydzensis*, 14: *Pseudomonas marincola*, 15: *Psychrobacter marincola*, 16: *Actinobacter* sp., 17: *Vibrio furnissii*, 18: *Vibrio parahaemolyticus*, 19: *Pseudoalteromonas byunsanensis*, 20: *Enterovibrio coralii*, 21: *Enterovibrio calviensis*, 22: *Staphylococcus haemolyticus*, 23: *Exiguobacterium profundum*, 24: *Rheinheimera aquimaris*, H: Hasat edildi.



### 3.3. Biyokimyasal Testler

Çalışmada, elde edilen izolatların tamamına klasik biyokimyasal testler uygulandı. Bütün izolatların *Aeromonas* agarda, BHIA'da, MSA'da, 22°C'de ve %0 NaCl'de büyümelerinin pozitif; *Photobacterium* Buyyon'da büyümelerinin negatif olduğu tespit edildi (İzole edilen bakterilere uygulanan biyokimyasal test örnekleri Şekil 5'de verilmiştir).

*Aeromonas veronii* izolatlarının tamamının katalaz aktivitesi, galaktoz, mannoz ve maltozdan asit üretimi ve 37°C büyüme testleri pozitifdir. İzolatların % 89,7'sinin hareket, % 98,3'ünün oksidaz, % 81'inin TCBS'de büyüme (%81 sarı, %1,7 yeşil) ve % 98,3'ünün Metil kırmızısı testleri pozitifdir. Buna karşın *A. veronii* izolatlarının tamamının nitrat indirgeme, H<sub>2</sub>S üretimi ve inositol ile ramnozdan asit-gaz üretimi negatifdir (Tablo 12).

*Photobacterium damsela* subsp. *damsela* izolatlarının % 82,4'ünün oksidaz, % 88,3'ünün TCBS' de büyüme (%35,3'ü yeşil,%53'ü sarı) ve % 88,2'sinin Metil kırmızısı testleri pozitifdir. Şekerlerden sadece mannozdan asit üretimi vardır. İnositol, ksiloz, sorbitol, ramnoz ve laktoz şekerlerinden asit üretimi negatifdir (Tablo 12).

*Vibrio vulnificus* izolatlarının tamamının hareket, TCBS'de büyüme, Metil kırmızısı, %3 NaCl'de ve 37°C'de büyüme, galaktoz, mannoz ve maltozdan asit üretme testleri pozitifdir. % 66,7'si indol pozitifdir. Bunun yanında Voges Proskauer, sitrat kullanımı, H<sub>2</sub>S üretimi, 6, 8 ve %10 NaCl'de ve 4°C büyüme testleri negatifdir. İnositol, ksiloz ve ramnozdan asit ve gaz üretimi yoktur (Tablo 12).

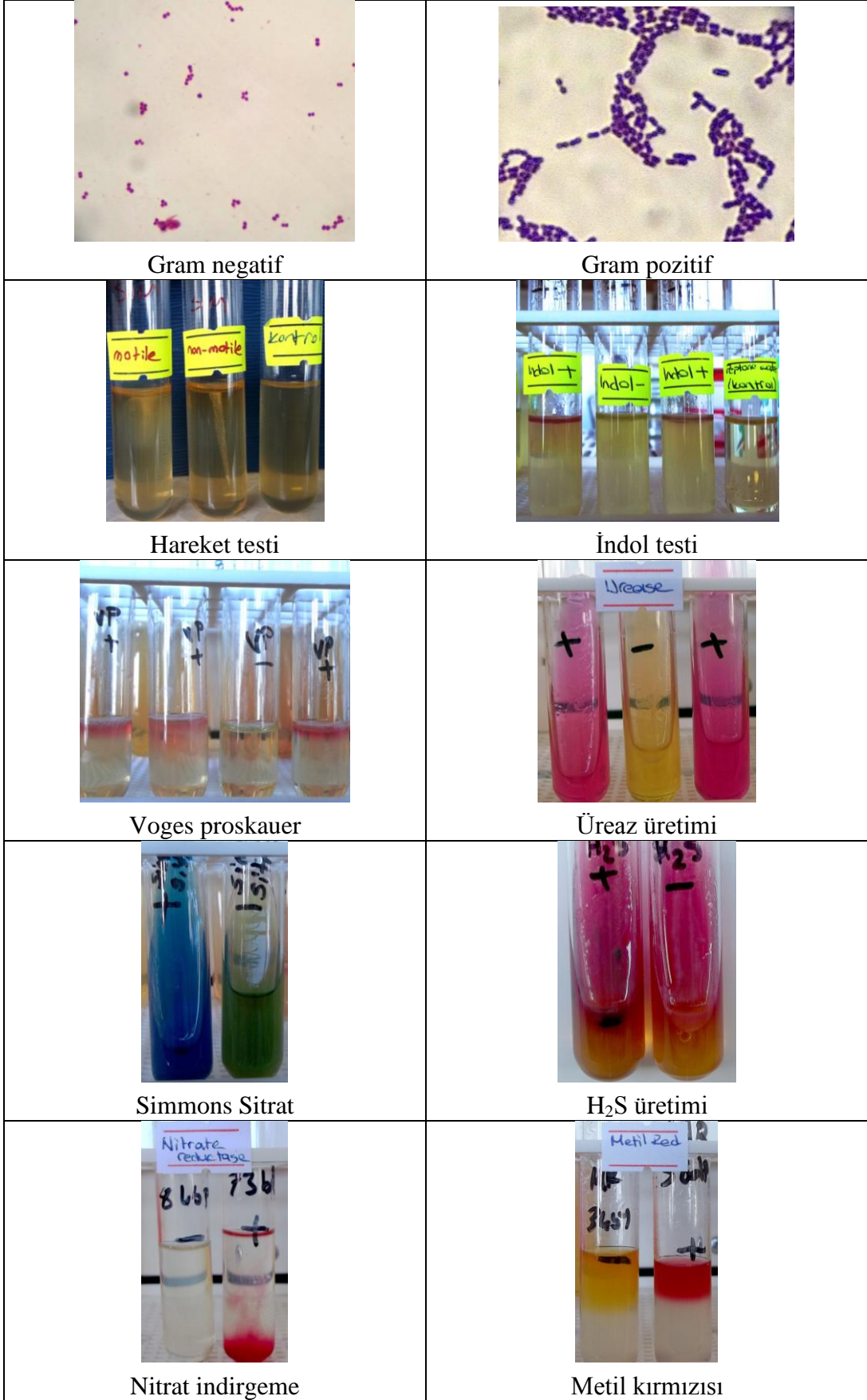
*Vibrio harveyi* izolatlarının Metil kırmızısı, 37°C büyüme, arabinoz, mannoz, sukroz ve maltozdan asit üretimi testleri pozitifdir. Bunun yanında Voges Proskauer, indol, üre kullanımı, nitrat indirgeme, %6, %8 ve %10 NaCl'de ve 4°C büyüme testleri negatifdir. % 75'inde TCBS'de büyüme (%75'i sarı) vardır. İnositol, ksiloz, ramnoz ve laktozdan asit ve gaz üretimi negatifdir (Tablo 12).

*Vibrio rotiferianus* izolatlarının oksidaz, katalaz ve 37°C büyüme ve galaktoz, mannoz, sukroz ile maltozdan asit üretmi testleri pozitifdir. İndol, H<sub>2</sub>S üretimi, 6, 8 ve %10 NaCl' de ve 40°C'de büyüme testleri negatifdir. İzolatların % 50'sinde TCBS'de büyüme (%25 yeşil, %25 sarı) vardır. Arabinoz, inositol, ksiloz, sorbitol, ramnoz ve laktozdan asit ve gaz üretimi negatifdir (Tablo 12).

Balık patojeni olduğu bilinen ve çalışmada sıklıkla izole edilen *A. veronii*, *Ph. damsela* subsp. *damsela*, *V. vulnificus*, *V. harveyi* ve *V. rotiferianus* türlerinin

biyokimyasal testlere bağlı olarak tür tayininin yapılabilme olasılığı araştırıldı. Öncelikle toplamda 47 çeşit biyokimyasal test arasından en belirleyici/ayırıcı beş test, Statistica (versiyon 7) Programı'nda "Feature Selection and Variable Selection" modu kullanılarak,  $\chi^2$  (Chi-Square) testi ile belirlendi. Buna göre katalaz ( $\chi^2 = 38,3$ ;  $P < 0.05$ ), O/129 ( $10 \mu\text{g disk}^{-1}$ ) vibriostatik ajanına hassasiyet ( $\chi^2 = 24,8$ ;  $P < 0.05$ ), nitrat ( $\chi^2 = 23,3$ ;  $P < 0.05$ ), H<sub>2</sub>S üretimi ( $\chi^2 = 21,5$ ;  $P < 0.05$ ) ve indol ( $\chi^2 = 20,1$ ;  $P < 0.05$ ) testleri en etkili tür belirleyici testler olarak belirlendi. Sonra, yine Statistica Programı'nda Cluster Analizi yapılarak ilgili dendogram elde edildi (Ek 1).

İzole edilen, *Vibrio furnissii*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Pseudoalteromonas byunsanensis*, *Enterovibrio coralii*, *Enterovibrio calviensis*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Exiguobacterium profundum* ve *Rheinheimera aquimaris* türlerine ait biyokimyasal test sonuçları Tablo 13'de verilmiştir.



Şekil 5. İzole edilen bakterilere uygulanan biyokimyasal test örnekleri

Tablo 12. Yomra ve Perşembe İşletmeri'nden örneklenen hasta balıklardan izole edilen türlere ait biyokimyasal testlerin sonuçları. Bütün testlerin sonuçları 24-25°C'de 24 saat sonra değerlendirilmiştir (farklı sıcaklıklarda büyüme testleri hariç)

Özellikler	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
Hareket	89,7	41,2	100	25	50	0	33,3	0	0	0	0	50	0	50	50	100
Gr. Boyama	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-
Oksidaz	98,3	82,4	83,3	75	100	50	66,7	100	0	100	100	50	100	100	100	100
Katalaz	100	53	33,3	75	100	75	100	0	100	50	50	50	50	100	100	100
TCBS	81	88,3	100	75	50	25	100	0	100	100	100	0	0	0	50	100
Aeromonas	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
BHIA	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
Photabact.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
MSA	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
O/129-10µg	96,5 (H)	82,4 (H)	66,7 (D)	50 (H)	75 (H)	75 (D)	100 (H)	100 (H)	100 (H)	100 (H)	50 (H)	100 (H)	100 (H)	100 (H)	100 (H)	100 (H)
O/129-150µg	77,6 (H)	76,4 (H)	66,7 (D)	50 (H)	75 (H)	75 (D)	100 (H)	100 (H)	100 (H)	100 (H)	50 (H)	100 (H)	100 (H)	100 (H)	100 (H)	100 (H)
VP	12	0	0	0	0	0	33,3	33,3	0	0	0	0	0	0	0	0
MR	98,3	88,2	100	100	75	50	100	33,3	100	0	100	0	0	0	50	100
İndol	10,4	0	66,7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	50	0	50	0
Üreaz	3,5	35,3	16,7	0	50	25	0	0	0	0	0	0	0	50	50	100
Nitrat red.	0	35,3	33,3	0	25	0	0	0	0	100	0	0	0	0	0	0
Sitrat	19	17,7	0	25	50	0	0	0	0	0	50	50	100	100	50	50
H <sub>2</sub> S	0	0	0	25	0	0	0	0	0	0	50	0	0	0	0	0
%0 NaCl	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
%3 NaCl	71	94,1	100	75	75	100	100	100	100	100	100	100	100	50	100	50
%6 NaCl	10,3	17,7	0	0	0	50	33,3	100	50	100	0	100	100	50	50	0
%8 NaCl	6,9	11,8	0	0	0	50	0	33,3	0	50	0	100	50	0	50	0
%10 NaCl	3,4	0	0	0	0	50	0	0	0	0	0	50	0	0	0	0
4°C Büyüme	3,4	11,8	0	0	25	0	0	66,7	0	0	0	0	50	100	0	50
22°C Büyüme	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100

Tablo 12'nin devamı

37°C Büyüme	100	94,1	100	100	100	75	100	33,3	100	100	100	50	100	100	50	100
40°C Büyüme	55	35,3	83,3	75	0	75	66,7	0	100	0	50	0	0	50	50	100
Galaktoz asit	100	87,5	100	25	100	25	66,7	33,3	E-	100	100	0	50	0	100	100
Galaktoz gaz	87,5	68,8	33,3	0	75	25	0	0	E-	100	0	0	0	0	50	100
Arabinoz asit	6,3	25	16,6	100	0	25	0	0	E-	0	0	50	50	0	50	100
Arabinoz gaz	6,3	0	16,7	0	0	25	0	0	E-	0	0	0	0	0	0	50
Mannoz asit	100	100	100	100	100	25	100	66,7	E-	100	100	100	100	0	100	100
Mannoz gaz	100	75	50	25	75	25	33,3	33,3	E-	0	0	0	0	0	50	50
Sukroz asit	93,8	62,5	83,3	100	100	25	0	100	E-	100	0	100	100	0	100	100
Sukroz gaz	87,5	50	50	25	25	25	0	33,3	E-	0	0	0	0	0	50	100
Maltoz asit	100	93,8	100	100	100	0	100	66,7	E-	100	100	0	100	50	100	100
Maltoz gaz	100	75	33,3	25	75	25	0	33,3	E-	0	0	0	0	0	50	100
İnositol asit	0	0	0	0	0	0	0	0	E-	0	0	0	0	0	0	100
İnositol gaz	0	0	0	0	0	25	0	0	E-	0	0	0	0	0	0	0
Ksiloz asit	6,3	37,5	0	0	0	25	0	0	E-	0	0	0	0	0	50	100
Ksiloz gaz	6,3	0	0	0	0	25	0	0	E-	0	0	0	0	0	0	0
Sorbitol asit	18,8	0	16,7	75	0	0	0	0	E-	100	0	0	0	0	0	0
Sorbitol gaz	18,8	0	16,7	25	0	25	0	33,3	E-	0	0	0	0	0	0	0
Ramnoz asit	0	0	0	0	0	0	0	33,3	E-	0	0	0	0	0	0	0
Ramnoz gaz	0	0	0	0	0	25	0	33,3	E-	0	0	0	0	0	0	0
Laktoz asit	12,5	6,3	16,7	0	0	25	0	0	E-	0	0	0	0	0	50	0
Laktoz gaz	11,8	0	16,7	0	0	25	0	0	E-	0	0	0	0	0	0	0

Bakteri türleri; 1: *Aeromonas veronii*, 2: *Photobacterium damsela* subsp. *damsela*, 3: *Vibrio vulnificus*, 4: *Vibrio harveyi*, 5: *Vibrio rotiferianus*, 6: *Bacillus safensis* 7: *Bacillus thuringiensis*, 8: *Pseudoalteromonas aliena*, 9: *Bacillus antrachis*, 10: *Listonella anguillarum*, 11: *Vibrio ponticus*, 12: *Pseudoalteromonas mariniglutinosa*, 13: *Pseudoalteromonas prydzensis*, 14: *Pseudomonas marincola*, 15: *Psychrobacter marincola*, 16: *Actinobacter* sp., (H); Hassasiyet,(D); Dirençli, Oksidaz: oksidaz aktivitesi, Katalaz: Katalaz aktivitesi, TCBS: TCBS' de büyüme, Aeromonas: Aeromonas Agar'da büyüme, BHIA: BHIA' da büyüme, Photobacterium: Photobacterium Buyyon' da büyüme, MSA: Marine Salt Agar' da büyüme, O 129/10 ve O 129/150: O/129 (10 µg disk<sup>-1</sup>) ve O/129 (150 µg disk<sup>-1</sup>) vibriostatik ajanına hassasiyet, VP: Voges proskauer, MR: Metil Kırmızısı, Indol: indol aktivitesi, Üre: Üreaz aktivitesi, Nitrat red.: Nitrat indirgeme, Sitrat: Sitrat kullanımı, H<sub>2</sub>S: Hidrojen sülfür üretimi, % 0, 3, 6, 8 ve 10 NaCl' de büyüme, 4, 22, 37 ve 40 °C' de büyüme, +: Pozitif, -: Negatif, E-; Ekim yok.

Tablo 13. Yomra ve Perşembe İşletmeleri'nden örneklenen hasta balıklardan izole edilen (sadece tek izolat olanlar) türlere ait biyokimyasal test sonuçları (+ ve - olarak). Bütün testlerin sonuçları 24-25°C'de 24 saat sonra değerlendirilmiştir (farklı sıcaklıklarda büyüme testleri hariç)

Özellikler	17	18	19	20	21	22	23	24
Hareket	+	-	-	+	-	-	+	-
Gr. Boyama	-	-	-	-	-	+	+	-
Oksidaz	+	+	+	+	+	-	-	+
Katalaz	+	-	-	+	+	+	+	-
TCBS	-	+	-	+	+	+	+	-
Aeromonas	+	+	+	+	+	+	+	+
BHIA	+	+	+	+	+	+	+	+
Photabact.	-	-	-	-	-	-	-	-
MSA	+	+	+	+	+	+	+	+
O/129-10µg	(H)	(H)	(H)	(D)	(D)	(H)	(H)	(D)
O/129-150µg	(H)	(H)	(H)	(D)	(D)	(H)	(H)	(D)
VP	-	-	-	-	-	-	-	-
MR	+	+	-	-	+	-	+	-
İndol	-	-	-	+	-	-	-	-
Üreaz	-	-	-	-	+	-	-	+
Nitrat red.	-	-	-	+	+	-	-	-
Sitrat	+	-	-	-	-	-	-	-
H <sub>2</sub> S	-	-	-	-	-	-	-	-
%0 NaCl	+	+	+	+	+	+	+	+
%3 NaCl	+	+	+	+	+	+	+	+
%6 NaCl	-	-	+	-	-	+	+	-
%8 NaCl	-	-	+	-	-	-	+	-
%10 NaCl	-	-	+	-	-	-	+	-

Tablo 13'ün devamı

4°C	-	-	+	-	+	-	-	-
22°C	+	+	+	+	+	+	+	+
37°C	+	+	+	+	+	+	+	+
40°C	+	-	-	-	-	+	+	+
Galaktoz asit	+	+	-	-	-	+	+	-
Galaktoz gaz	+	+	-	-	-	-	-	-
Arabinoz asit	-	-	+	-	-	-	+	-
Arabinoz gaz	-	-	-	-	-	-	-	-
Mannoz asit	+	+	+	-	+	+	+	-
Mannoz gaz	+	+	-	-	-	+	-	-
Sukroz asit	+	-	+	-	+	+	+	-
Sukroz gaz	+	-	-	-	-	+	-	-
Maltoz asit	+	+	+	-	+	+	+	-
Maltoz gaz	+	+	-	-	-	+	-	-
İnositol asit	-	-	-	-	-	-	+	-
İnositol gaz	-	-	-	+	-	-	-	-
Ksiloz asit	-	-	-	-	-	+	-	-
Ksiloz gaz	-	-	-	-	-	-	-	-
Sorbitol asit	-	-	-	-	-	-	-	-
Sorbitol gaz	-	-	-	-	-	-	-	-
Ramnoz asit	-	-	-	-	-	-	-	-
Ramnoz gaz	-	-	-	-	-	-	-	-
Laktoz asit	-	-	-	-	-	-	-	-
Laktoz gaz	-	-	-	-	-	-	-	-

Bakteri türleri; 17: *Vibrio furnissii* ,18: *Vibrio parahaemolyticus*, 19: *Pseudoalteromonas byunsanensis* ,20: *Enterovibrio corallii*, 21: *Enterovibrio calviensis*, 22: *Staphylococcus haemolyticus*, 23: *Exiguobacterium profundum*, 24: *Rheinheimera aquimaris*, +: Pozitif, -: Negatif

### 3.4. Antibiyogram Testleri

Beklenildiği üzere türler arasında antibiyogram farklılıkları olduğu gibi tür içinde de oldukça yüksek antibiyogram farklılıkları tespit edilmiştir.

*Aeromonas veronii*'nin bütün izolatları furazolidin, florfenikol, neomisin, norfloksasin, ofloksasin, enroflaksasin, eritromisin ve doksisisikline karşı farklı oranlarda direçlilik (medyan, maksimum ve minimum değerleri sekizden büyük olan suşlar farklı oranlarda dirençli olarak kabul edildi) gösterdi. Oksitetrasiklin, amoksilin ve sülfametoksazol-trimetoprim'e karşı dirençli suşların olmasının yanında hassas (medyan, maksimum ve minimum değerleri sıfır olan suşlar hassas olarak kabul edildi) suşların da olduğu belirlendi (Tablo 14). *A.veronii* suşları penisilin-G, streptomisin, ampisilin ve amoksiline hassasiyet gösterirken, sadece dört suş bu antibiyotiklerin üçüne birden, farklı oranlarda dirençlilik gösterdi. Bu dört suştan sadece bir tanesi de penisilin-G, streptomisin, ampisilin ve amoksilinin yanında tilmikosin ve vankomisine karşı da dirençlilik gösterdi.

*Photobacterium damsela* subsp. *damsela* izolatlarının tamamı furazolidin, florfenikol, kloramfenikol, enroflaksasin, eritromisin ve nitrofurantion karşı farklı oranlarda dirençlilik gösterdi. Oksitetrasiklin, amoksilin, doksisisikline ve sülfametoksazol-trimetoprim'e karşı dirençli suşların olmasının yanında hassas suşların da olduğu belirlendi (Tablo 14). *Ph. damsela* subsp. *damsela* izolatları sülfadiazine karşı hassasiyet gösterirken sadece iki suş bu antibiyotiğe karşı farklı oranlarda dirençlilik gösterdi. Bunun yanısıra sadece bir suş diğer bütün suşların dirençlilik gösterdiği kanamisin, neomisin, norfloksasin, ofloksasin, enroflaksasin, eritromisin ve kolsitin-sülfat antibiyotiklerine karşı hassasiyet gösterdi.

*Vibrio vulnificus* izolatlarının tamamının furazolidin, sülfadiazin, kanamisin, florfenikol, neomisin, kloramfenikol, norfloksasin, ofloksasin, penisilin-G, ampisilin, amoksilin, enroflaksasin, eritromisin, nitrofurantion, doksisisiklin ve sülfametoksazol-trimetoprim'e karşı farklı oranlarda dirençlilik gösterdi. Bunun yanısıra diğer bütün suşların hassasiyet gösterdiği vankomisin antibiyotiğine karşı sadece bir suş dirençlidir (Tablo 14).

*Vibrio harveyi* izolatlarının tamamı florfenikol, neomisin, oksitetrasiklin, kloramfenikol, norfloksasin, ofloksasin, streptomisin, enroflaksasin, eritromisin ve doksisisikline karşı farklı oranlarda dirençlilik gösterdi. Bunun yanında amoksilin ve sülfametoksazol-trimetoprim ve kolitsin-sülfata karşı değişken cevaplar verdi (Tablo 14).



*V. harveyi* izolatlarının tamamı ampisilin ve amoksiline karşı hassasiyet gösterirken sadece bir suş her iki antibiyotiğe karşı farklı oranlarda direçlilik gösterdi.

*Vibrio rotiferianus* izolatlarının tamamı furazolidin, kanamisin, florfenikol, okzolinik asit, neomisin, oksitetrasiklin, norfloksasin, ofloksasin, enroflaksasin, eritromisin, nitrofurantion, doksisisiklin, sülfametoksazol-trimetoprim ve kolitsin-sülfata karşı farklı oranlarda direçlilik gösterdi. Bunun yanında amoksiline karşı değişken sonuçlar verdi. Bütün suşların vankomisine karşı dirençli olmadığı belirlendi (Tablo 14). *V. rotiferianus* izolatlarının tamamı ampisilin ve penisilin-G'ye hassasiyet gösterirken sadece bir suş her iki antibiyotiğe karşı farklı oranlarda dirençlilik gösterdi.

Yukarıda biyokimyasal testlerde olduğu gibi, çalışmada yoğun olarak izole edilen *A. veronii*, *Ph. damsela* subsp. *damsela*, *V. vulnificus*, *V. harveyi* ve *V. rotiferianus* türlerinin antibiyogram testlerine bağlı olarak tür tayininin yapılabilme olasılığı araştırıldı. Öncelikle toplamda 23 çeşit antibiyotik diski arasından en belirleyici/ayırıcı beş tanesi, Statistica (versiyon 7) Programı'nda 'Feature Selection and Variable Selection' modu kullanılarak,  $\chi^2$  testi ile belirlendi. Buna göre oksitetrasiklin ( $\chi^2 = 94,6$ ;  $P < 0.05$ ), nitrofurantion ( $\chi^2 = 84,3$ ;  $P < 0.05$ ), doksisisiklin ( $\chi^2 = 80,8$ ;  $P < 0.05$ ), okzolinik asit ( $\chi^2 = 78$ ;  $P < 0.05$ ) ve Kolistin-sülfat ( $\chi^2 = 67,8$ ;  $P < 0.05$ ) antibiyotikleri en etkili tür belirleyici antibiyotikler olarak belirlendi. Sonra, yine Statistica Programı'nda Cluster Analizi yapılarak ilgili dendogram elde edildi (Ek 2).

Tablo 14. İzole edilen bakterilerin antibiyogram değerleri. Antibiyogram testleri için % 1,5 NaCl içeren MH Agar kullanıldı. Bütün testlerin sonuçları 24-25°C’de 24 saat sonra değerlendirilmiştir

<i>Aeromonas veronii</i>																							
	Fr	Sz	K	FFC	OA	N	OT	C	TIL	NOR	OFX	P	S	AMP	W	AML	ENR	E	VA	F	DO	SXT	CT
Med	37	0	12	30	9	16	13	10	0	19	20	0	0	0	0	0	21	16	0	35	15	14	22
%25	32	0	10	27	2	15	11	9	0	18	18	0	0	0	0	0	19	15	0	33	14	10	20
%75	40	0	15	34	10	18	15	15	0	22	22	0	0	0	24	0	25	19	0	38	16	23	24
Min	21	0	0	7	0	10	0	0	0	14	16	0	0	0	0	0	0	9	0	20	11	0	0
Mak	45	30	26	48	28	30	35	37	20	33	34	35	14	34	33	33	31	28	22	45	38	40	30
n	58	57	58	58	58	58	58	58	58	58	58	58	58	58	58	58	58	58	58	58	58	58	58
<i>Photobacterium damsela</i> subsp. <i>damsela</i>																							
Med	25	0	16	20	19	17	8	19	0	27	24	16	8	20	0	19	25	14	0	25	14	0	19
%25	23	0	14	15	0	16	8	15	0	18	18	9	0	13	0	10	18	11	0	24	13	0	16
%75	32	0	18	32	25	18	26	32	8	31	28	19	10	26	24	24	27	17	0	27	20	30	21
Min	21	0	0	12	0	0	0	9	0	0	0	0	0	0	0	0	8	8	0	13	0	0	0
Mak	39	36	26	44	38	21	37	42	27	43	43	29	19	38	31	40	42	32	21	34	40	35	28
n	17	16	17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	17
<i>Vibrio vulnificus</i>																							
Med	26	32	13,5	36	28,5	13,5	31,5	39	14	33,5	33,5	14,5	3,5	17,5	12,5	18	29	23	0	30	29	30	0
%25	24,3	28	13	32	19	13	27,3	35	3,5	24,8	23,3	11,5	0	15	3	17	20,8	23	0	24,5	26,3	30	0
%75	30	36	14,8	40	32	15,5	36,5	41,5	14	34,8	37	16	7,8	23	15,3	22,8	35,8	25,3	0	31,8	32,5	30	13,5
Min	20	22	12	14	0	12	9	13	0	19	19	10	0	14	0	15	19	15	0	23	13	29	0
Mak	37	45	26	41	36	22	41	47	15	42	39	21	16	27	26	29	39	27	10	33	33	31	21
n	6	5	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
<i>Vibrio harveyi</i>																							
Med	20	0	13	30	20	17	28	28	0	20	19	0	11	0	13	0	22	17	0	18	26	25	8
%25	10	0	6,5	21	10	15	25	23,5	0	16,5	18	0	9,5	0	6,5	0	18,5	15,5	0	9	24	12,5	4
%75	25,5	11,5	17	33,5	26,5	19	33,5	34	4	29,5	26,5	16	11,5	18,5	14,5	20	29,5	17,5	6,5	23,5	29,5	28	11,5
Min	0	0	0	12	0	13	22	19	0	13	17	0	8	0	0	0	15	14	0	0	22	0	0
Mak	31	23	21	37	33	21	39	40	8	39	34	32	12	37	16	40	37	18	13	29	33	31	15
n	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3

Tablo 14'ün devamı

<i>Vibrio rotiferianus</i>																							
Med	30,5	10	18,5	30	16	17,5	13	17	0	27	22	0	4,5	0	8	5,5	22,5	19,5	0	29,5	17,5	20,5	18,5
%25	27,5	0	16	27,3	10	16,5	11	8,25	0	25,5	20,3	0	0	0	0	0	20,3	17,3	0	27	16,3	12,8	16,5
%75	35	22,3	19	31	22,5	18,8	17,8	25,3	2,5	27,8	25,3	6,3	9	7,5	19,3	15,3	25,5	21,5	0	34	19,8	26,8	22
Min	26	0	10	22	10	15	11	0	0	21	18	0	0	0	0	0	20	15	0	24	14	0	15
Mak	41	29	19	31	24	21	26	32	10	30	32	25	9	30	29	28	30	23	0	43	25	35	28
n	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
<i>Bacillus safensis</i>																							
Med	29,5	35	18,5	30	17,5	16,5	29	13	13,5	22	22,5	25	5	26	23	27	25	25	21,5	19	31,5	37,5	7,5
%25	25,3	32,5	16,3	28,5	6,8	14	25,8	7,5	11	16,5	13,5	20,8	0	23	15	23	15,8	22	20,3	16	28,3	34,5	0
%75	31,3	39,5	21,5	32	26,3	21	31,3	20,3	19,5	27	31,5	27	10	29	28	29,8	34,3	27	22,3	22,5	33,3	42,5	18
Min	17	30	14	27	0	14	22	0	11	12	12	11	0	17	0	14	15	19	18	13	23	33	0
Mak	32	44	26	34	27	27	32	33	30	30	33	30	10	35	34	35	35	27	23	27	34	50	27
n	4	3	4	3	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
<i>Bacillus thuringiensis</i>																							
Med	36	0	9	37	10	15	13	9	0	21	26	0	0	0	0	0	26	26	0	34	17	24	19
%25	32	0	4,5	34,5	5	15	12	9	0	20,5	22,5	0	0	0	0	0	24	23	0	29	15,5	18	9,5
%75	41,5	15	15	40,5	20,5	18,5	17,5	20	11,5	24,5	26,5	7,5	6,5	13,5	14	13,5	28,5	28	10	41	21,5	26,5	23,5
Min	28	0	0	32	0	15	11	9	0	20	19	0	0	0	0	0	22	20	0	24	14	12	0
Mak	47	30	21	44	31	22	22	31	23	28	27	15	13	27	28	27	31	30	20	48	26	29	28
n	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
<i>Pseudoalteromonas aliena</i>																							
Med	23	0	18	9	22	20	9	11	18	22	27	18	9	28	0	28	30	22	17	15	20	0	23
%25	21,5	0	17,5	4,5	11	20	4,5	9,5	15,5	11	13,5	17	4,5	27,5	0	27,5	20	16,5	14	14	17	0	22
%75	23	5	19	11,5	25,5	20	18	12,5	19	25	30,5	20,5	11	32	0	31,5	32,5	26	17,5	15,5	24	0	25
Min	20	0	17	0	0	20	0	8	13	0	0	16	0	27	0	27	10	11	11	13	14	0	21
Mak	23	10	20	14	29	20	27	14	20	28	34	23	13	36	0	35	35	30	18	16	28	0	27
n	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3

Tablo 14'ün devamı

<b><i>Bacillus anthracis</i></b>																							
Ort	42	0	5	31,5	0	17,5	12,5	9,5	0	19	18,5	0	0	0	0	0	19	15	0	35,5	15	12,5	23,5
Min	40	0	0	31	0	16	12	9	0	17	16	0	0	0	0	0	19	15	0	31	15	12	22
Mak	44	0	10	32	0	19	13	10	0	21	21	0	0	0	0	0	19	15	0	40	15	13	25
n	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
<b><i>Listonella anguillarum</i></b>																							
Ort	33	0	17	36,5	35,5	17	31	41,5	0	40	32,5	0	7,5	0	24,5	3,5	35,5	18,5	0	31,5	30	37,5	0
Min	32	0	17	35	35	15	30	38	0	40	32	0	7	0	21	0	33	17	0	30	29	37	0
Mak	34	0	17	38	36	19	32	45	0	40	33	0	8	0	28	7	38	20	0	33	31	38	0
n	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
<b><i>Vibrio ponticus</i></b>																							
Ort	22	0	16,5	21,5	25,5	14	11,5	21,5	8,5	30,5	25,5	4,5	12	11	12,5	5,5	29	13	0	22	22,5	16	14
Min	21	0	16	13	24	14	0	12	8	27	24	0	12	8	0	0	28	12	0	21	18	0	12
Mak	23	0	17	30	27	14	23	31	9	34	27	9	12	14	25	11	30	14	0	23	27	32	16
n	2	0	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
<b><i>Pseudoalteromonas marinoglutinosa</i></b>																							
Ort	21,5	0	15	4,5	11	16	8	5	14,5	9,5	11,5	7	5	12,5	0	17,5	18,5	25	10	9,5	17	0	22,5
Min	21	0	13	0	0	14	6	0	10	0	0	0	0	0	0	10	9	22	9	9	16	0	20
Mak	22	0	17	9	22	18	10	10	19	19	23	14	10	25	0	25	28	28	11	10	18	0	25
n	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
<b><i>Pseudoalteromonas prydzensis</i></b>																							
Ort	24	5	16	5	13,5	17	15,5	10,5	12,5	13,5	15	10	5	13	0	14	22	25,5	11	12,5	25,5	0	24,5
Min	22	0	14	0	0	17	0	7	11	0	0	0	0	0	0	0	10	23	11	10	17	0	22
Mak	26	10	18	10	27	17	31	14	14	27	30	20	10	26	0	28	34	28	11	15	34	0	27
n	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
<b><i>Pseudomonas marincola</i></b>																							
Ort	0	0	24,5	4,5	0	22,5	25	13	0	16,5	15,5	0	0	15,5	0	20,5	13	0	0	0	23,5	0	26
Min	0	0	24	0	0	22	24	12	0	16	15	0	0	15	0	19	13	0	0	0	23	0	25
Mak	0	0	25	9	0	23	26	14	0	17	16	0	0	16	0	22	13	0	0	0	24	0	27
n	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2

Tablo 14'ün devamı

<i>Psychrobacter marincola</i>																							
Ort	27	0	18	21	5	22	6	5,5	8	18,5	18	4,5	0	7,5	9,5	7	21,5	25	10,5	27,5	11	9,5	26
Min	12	0	9	0	0	16	0	0	8	12	10	0	0	0	0	0	16	24	0	18	8	0	22
Mak	42	0	27	42	10	28	12	11	8	25	26	9	0	15	19	14	27	26	21	37	14	19	30
n	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
<i>Actinobacter sp.</i>																							
Ort	35	0	6,5	30	4,5	14,5	12	12,5	0	19	24	0	0	0	0	0	18,5	15	0	38	15,5	0	21,5
Min	31	0	0	28	0	11	10	9	0	16	19	0	0	0	0	0	16	14	0	36	15	0	21
Mak	39	0	13	32	9	18	14	16	0	22	29	0	0	0	0	0	21	16	0	40	16	0	22
n	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Diğer bakteriler																							
1	24	-	15	8	18	15	25	8	0	25	18	0	0	0	0	0	22	15	0	23	21	0	17
2	24	-	13	36	20	19	23	35	0	21	17	0	8	0	17	0	22	20	0	25	24	26	18
3	30	0	17	10	27	19	31	16	15	25	26	12	10	23	0	33	30	28	12	15	32	0	25
4	24	25	27	33	38	22	41	38	11	38	37	27	19	25	11	26	36	24	11	26	40	27	24
5	24	32	22	37	39	24	34	44	19	44	43	27	14	26	15	31	45	25	13	33	35	34	30
6	19	0	18	30	11	23	26	30	28	20	25	44	11	45	28	54	27	30	25	26	32	36	10
7	27	38	21	16	25	22	32	13	20	25	28	40	11	44	0	43	31	17	23	26	34	32	9
8	29	0	17	22	0	15	29	11	9	0	10	0	0	11	0	12	15	18	0	9	37	0	25

Diğer bakteriler; 1; *Vibrio furnissii* 2; *Vibrio parahaemolyticus* 3; *Pseudoalteromonas byunsanensis* 4; *Enterovibrio coralii* 5; *Enterovibrio calviensis* 6; *Staphylococcus haemolyticus* 7; *Exiguobacterium profundum* 8; *Rheinheimera aquimaris*, Med; medyan, Min; minimum değer, Mak; maksimum değer, % 25; Birinci çeyrek, %75; Üçüncü çeyrek, n; örnek sayısı, Ort; ortalama

### 3.5. Moleküler Analizler

Çalışmada, elde edilen 137 bakteri suşundan 123 tanesi 16S rDNA analizi kullanılarak tanımlanmıştır. Diğerleri ise biyokimyasal testler yapılmasına rağmen, DNA izolasyonuna ya da dizi analizine olumsuz yanıt vermişlerdir. Sekans sonuçları gen bankası (www.ncbi.nlm.nih.gov) adresinde yer alan Nucleotide Blast (blastn) programı kullanılarak değerlendirilmiştir. Maksimum identifikasyon değerleri Tablo 15’de verilmiştir.

Tür içindeki evrimsel farklılıklar MEGA versiyon 5 programı kullanılarak araştırılmıştır. Çalışmada izole edilen *A.veronii* suşları ile kullanılan referans suşu (ref|NR\_044845.1| *Aeromonas veronii* 16S ribosomal RNA, complete sequence, U.K.) arasında 16S rDNA gen bölgesi dizilimine göre herhangi bir evrimsel farklılık yoktur. Benzer şekilde *V.harveyi* suşları ile kullanılan referans suşu (ref|NR\_043165.1| *Vibrio harveyi* strain NCIMB1280 16S ribosomal RNA partial sequence) arasında 16 rDNA gen bölgesi dizilimine göre herhangi bir evrimsel farklılık yoktur.

*Ph. damsela* subsp. *damsela* suşları ve referans suşu (ref|NR\_040831.1| *Photobacterium damsela* subsp. *damsela* strain ATCC33539 16S ribosomal RNA, complete sequence) arasında 16S rDNA gen bölgesi dizilimi incelendiğinde bir suşun (64bp suşu) diğer *Ph. damsela* subsp. *damsela* suşlarından ve referans suşundan 0,004 farklı olduğu görülmektedir (Tablo 16).

*V. rotiferianus* suşları ve referans suşu (ref|NR\_042081.1| *Vibrio rotiferianus* strain : LMG 21460 16S ribosomal RNA complete sequence) arasında 16S rDNA gen bölgesi dizilimi incelendiğinde, *V. rotiferianus* suşlarının iki gruba ayrıldığı görülmektedir. İlk grup (58bp ve 58dp) referans suşunda 0,005; ikinci grup da (147bp ve 147dp) referans suşundan 0,002 farklıdır (Tablo 17).

*V.vulnificus* suşları ile kullanılan referans suşu (ref|NR\_074889.1| *Vibrio vulnificus* CMCP6 strain CMCP6 16S ribosomal RNA complete sequence) arasında 16S rDNA gen bölgesi dizilimine göre; 164bp suşu ile referans suşu aynıdır. Ayrıca 71dp ve 78dp suşları aynıdır. 82bp1 suşu hem referans suşundan hem de diğer *V.vulnificus* suşlarından oldukça farklıdır (Tablo 18).

Tablo 15. DNA dizi analizi sonuçlarının gen bankası (www.ncbi.nlm.nih.gov) adresinde yer alan Nucleotide Blast (blastn) programı kullanılarak belirlenen maksimum identifikasyon değerleri

Türler	Maksimum İdentifikasyon	
	≥ %99	≥ %98
<i>Aeromonas veronii</i>	52	6
<i>Photobacterium damsela</i> subsp. <i>damsela</i>	17	-
<i>Vibrio vulnificus</i>	6	-
<i>Vibrio rotiferianus</i>	4	-
<i>Bacillus safensis</i>	4	-
<i>Vibrio harveyi</i>	3	-
<i>Bacillus thuringiensis</i>	2	1
<i>Pseudoalteromonas aliena</i>	2	1
<i>Bacillus anthracis</i>	2	-
<i>Listonella anguillarum</i>	-	2
<i>Vibrio ponticus</i>	1	1
<i>Pseudoalteromonas mariniglutinosa</i>	2	-
<i>Pseudoalteromonas prydzensis</i>	1	1
<i>Pseudomonas marincola</i>	2	-
<i>Psychrobacter marincola</i>	2	1
<i>Actinobacter</i> sp.	-	2
<i>Vibrio furnissii</i>	1	-
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	-	1
<i>Pseudoalteromonas byunsanensis</i>	-	1
<i>Enterovibrio corallii</i>	1	-
<i>Enterovibrio calviensis</i>	-	1
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	1	-
<i>Exiguobacterium profundum</i>	1	-
<i>Rheinheimera aquimaris</i>	1	-

Tablo 16. *Ph. damsela* subsp. *damsela* suşları ile referans suşunun MEGA (versiyon 5) programında hesaplanan evrimsel uzaklıkları

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Ref														
64bp	0,004													
70dps	0,000	0,004												
85bp	0,000	0,004	0,000											
101by	0,000	0,004	0,000	0,000										
111bp	0,000	0,004	0,000	0,000	0,000									
111dp	0,000	0,004	0,000	0,000	0,000	0,000								
125dy	0,000	0,004	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000							
144bp	0,000	0,004	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000						
154dp	0,000	0,004	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000					
156dp	0,000	0,004	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000				
158dp	0,000	0,004	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000			
162bp	0,000	0,004	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000		
164dpbuy	0,000	0,004	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	
189bp	0,000	0,004	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000

Ref: ref|NR\_040831.1| *Photobacterium damsela* subsp. *damsela* strain ATCC33539



Tablo 17. *V. rotiferianus* suşları ile referans suşunun MEGA (versiyon 5) programında hesaplanan evrimsel uzaklıkları

	1	2	3	4
Ref				
58bp	0,005			
58dp	0,005	0,000		
147bp	0,002	0,002	0,002	
147dp	0,002	0,002	0,002	0,000

Ref: ref|NR 042081.1| *Vibrio rotiferianus* strain :LMG 21460

Tablo 18. *V.vulnificus* suşları ile referans suşunun MEGA (versiyon 5) programında hesaplanan evrimsel uzaklıkları

	1	2	3	4	5
Ref					
159dpbuy	0,012				
164bp	0,000	0,012			
71dp	0,006	0,006	0,006		
78dp	0,006	0,006	0,006	0,000	
82bp1	0,043	0,043	0,043	0,037	0,037

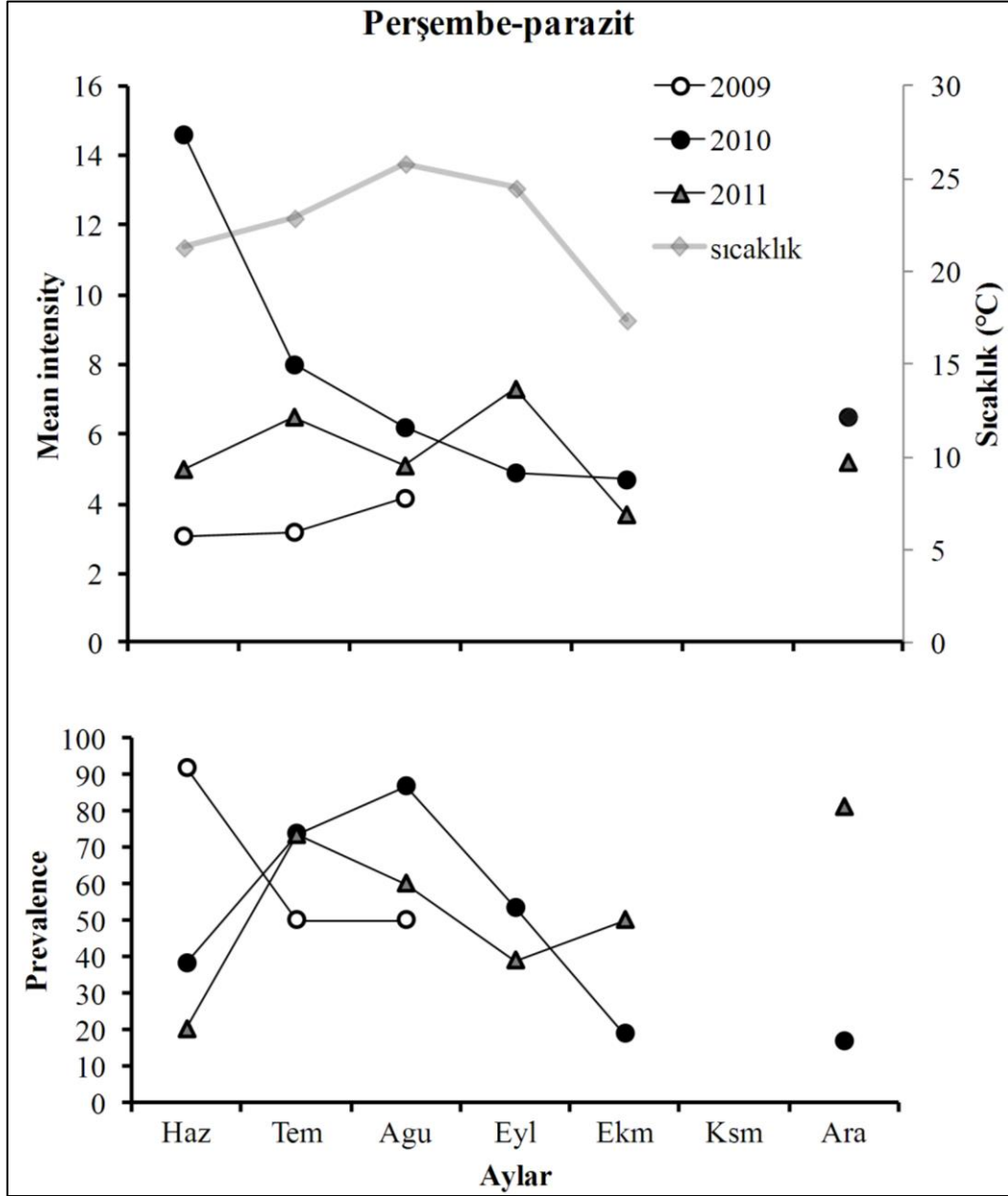
Ref: ref|NR 074889.1| *Vibrio vulnificus* CMCP6 strain CMCP6

### 3.6. *Diplectanum aequans* Paraziti

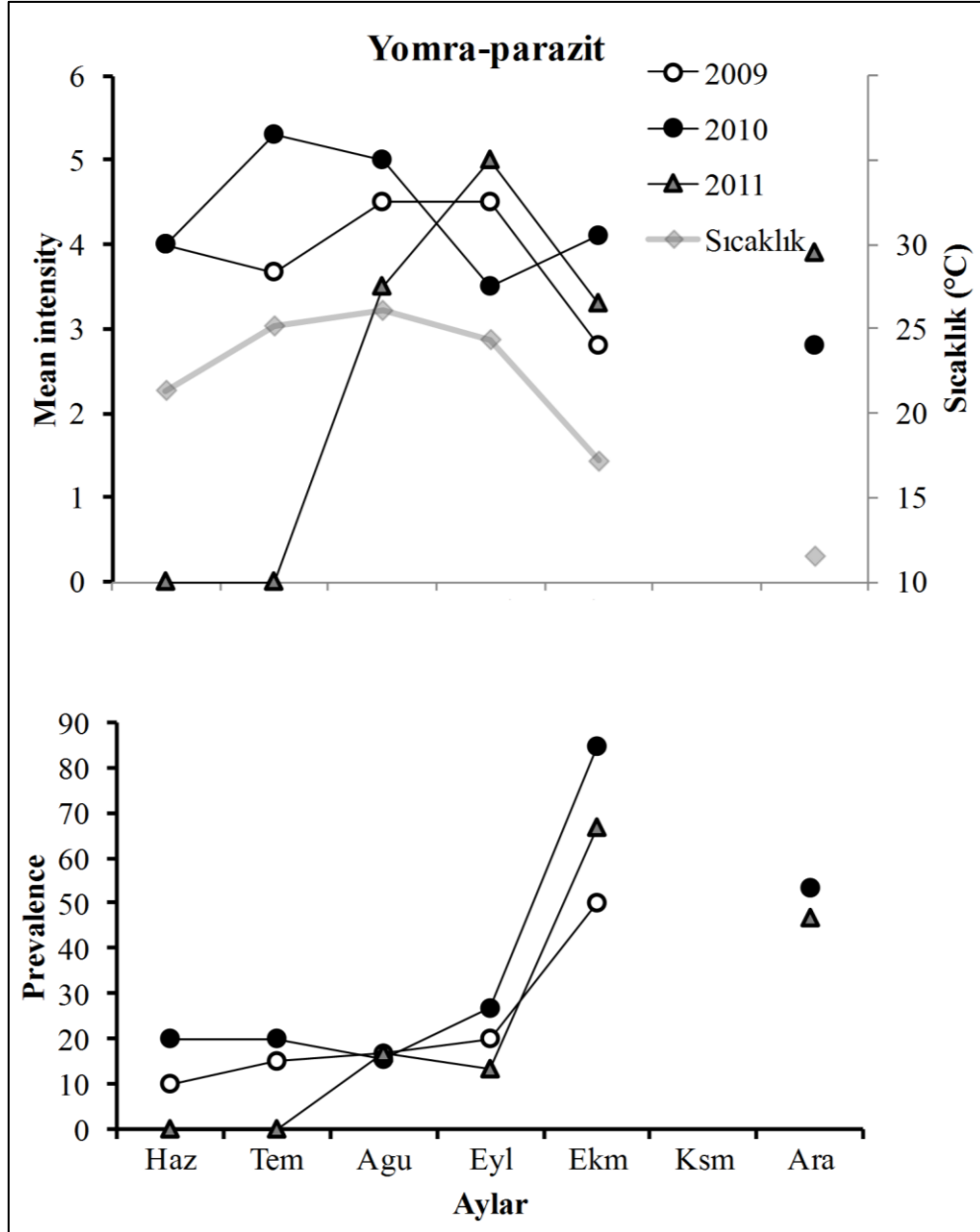
Perşembe İşletmesi'nden elde edilen örneklerde, sıcaklığın 21,3°C olduğu Haziran ayında, 2009 yılına ait balıklarda %91,7 ile en yüksek parazit prevalansı belirlendi (Şekil 6). Sıcaklığın 12,3°C olduğu Aralık ayında 2010 yılına ait balıklarda da % 16,7 ile en düşük prevalans değeri belirlendi. Ortalama yoğunluk (Mean intensity) Haziran ayında 2010 yılına ait balıklarda %14,6 ile en yüksek değeri gösterirken; aynı ayda 2009 yılına ait balıklarda %3,1 ile en düşük değeri gösterdi (Şekil 6).

Yomra İşletmesi'den elde edilen örneklerde, sıcaklığın 17,6°C olduğu Ekim ayında 2010 yılına ait balıklarda %84,6 ile en yüksek prevalans belirlendi (Şekil 22). Sıcaklığın 21,4°C olduğu Haziran ve 25,2°C olduğu Temmuz ayında 2011 yılına ait balıklarda da %0 ile en düşük prevalans değeri belirlendi. Ortalama yoğunluk (Mean intensity) Temmuz

ayında 2010 yılına ait balıklarda %5,3 ile en yüksek değeri gösterirken; yine Haziran ve Temmuz aylarında 2011 yılına ait balıklarda %0 ile en düşük değeri gösterdiği belirlendi (Şekil 7).



Şekil 6. Perşembe İşletmesi'nden, 2009, 2010 ve 2011 yıllarına ait balıklardan örneklenen *D. aequans* parazitinin mean intensity (ortalama yoğunluk) ve prevalans değerlerinin aylara göre dağılımı (Kasım ayında arazi örnekleme yapılmamıştır)



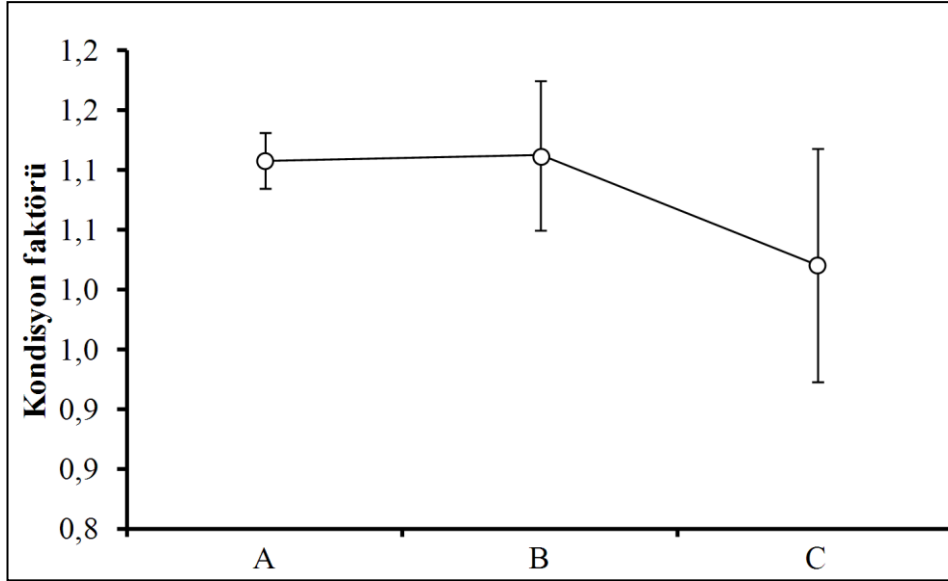
Şekil 7. Yomra İşletmesi'nden, 2009, 2010 ve 2011 yıllarına ait balıklardan örneklenen *D. aequans* parazitinin mean intensity (ortalama yoğunluk) ve prevalans değerlerinin aylara göre dağılımı (Kasım ayında arazi örnekleme yapılmamıştır)

### 3.7. Parazit Yoğunluğunun Balık Performansına Etkisi

Parazit prevalansı bazı aylarda %92'ye kadar çıkabilmektedir. Parazit yoğunluğunun balığın kondisyon faktörüne etkisinin olup olmadığının belirlenmesi için parazit yoğunluğu

ile kondisyon faktörü arasındaki ilişkiye bakıldı. Yomra İşletmesi'nde parazit yoğunluğu düşük olduğu için hesaplamalara katılmamıştır.

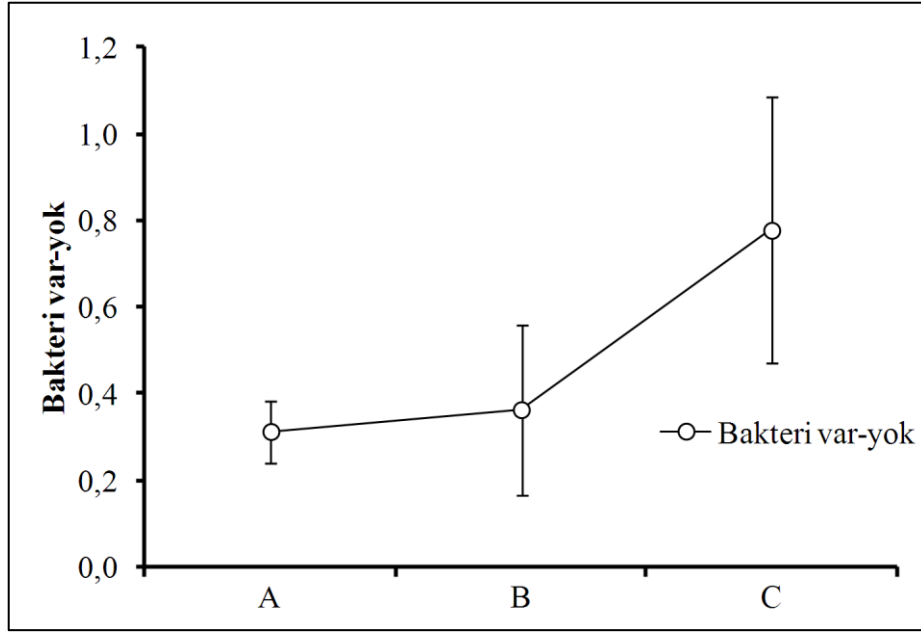
Parazit sayıları A (0-6 adet parazit), B (7-12 adet parazit), C (13 ve üzeri) olmak üzere üç farklı grupta değerlendirildi. Yapılan istatistiki analizlerde balıkta parazit sayısının altının üzerine çıkmasıyla kondisyon faktörünün düştüğü belirlendi (Şekil 8).



Şekil 8. Perşembe İşletmesi'nden örneklenen balıkların kondisyon faktörünün parazit gruplarıyla ilişkisi. A, B ve C; parazit yoğunluğu. Çubuklar % 95 güven aralığını göstermektedir.

### 3.8. Parazit- Bakteri İlişkisi

Parazit bolluğundaki artışın balığın kondisyon faktörüne etkisi gözlemlendiği için, parazit bolluğu ile bakteriyel hastalıkların gözlemlenme olasılığı ortaya kondu. Parazit sayısının artmasıyla balıktan bakteri izole edebilme olasılığı arasında istatistiki olarak önemli bir ilişki belirlendi (ANOVA testi,  $P=0.01 < 0.05$ ). Parazit sayısı arttıkça bakteri izole edebilme olasılığının da arttığı belirlendi. Parazit sayısının en az olduğu grupta (A) bakteri frekansının düşük; bunun yanında parazit sayısının en yüksek olduğu grupta (C) bakteri frekansının yüksek olduğu belirlendi (Şekil 9).

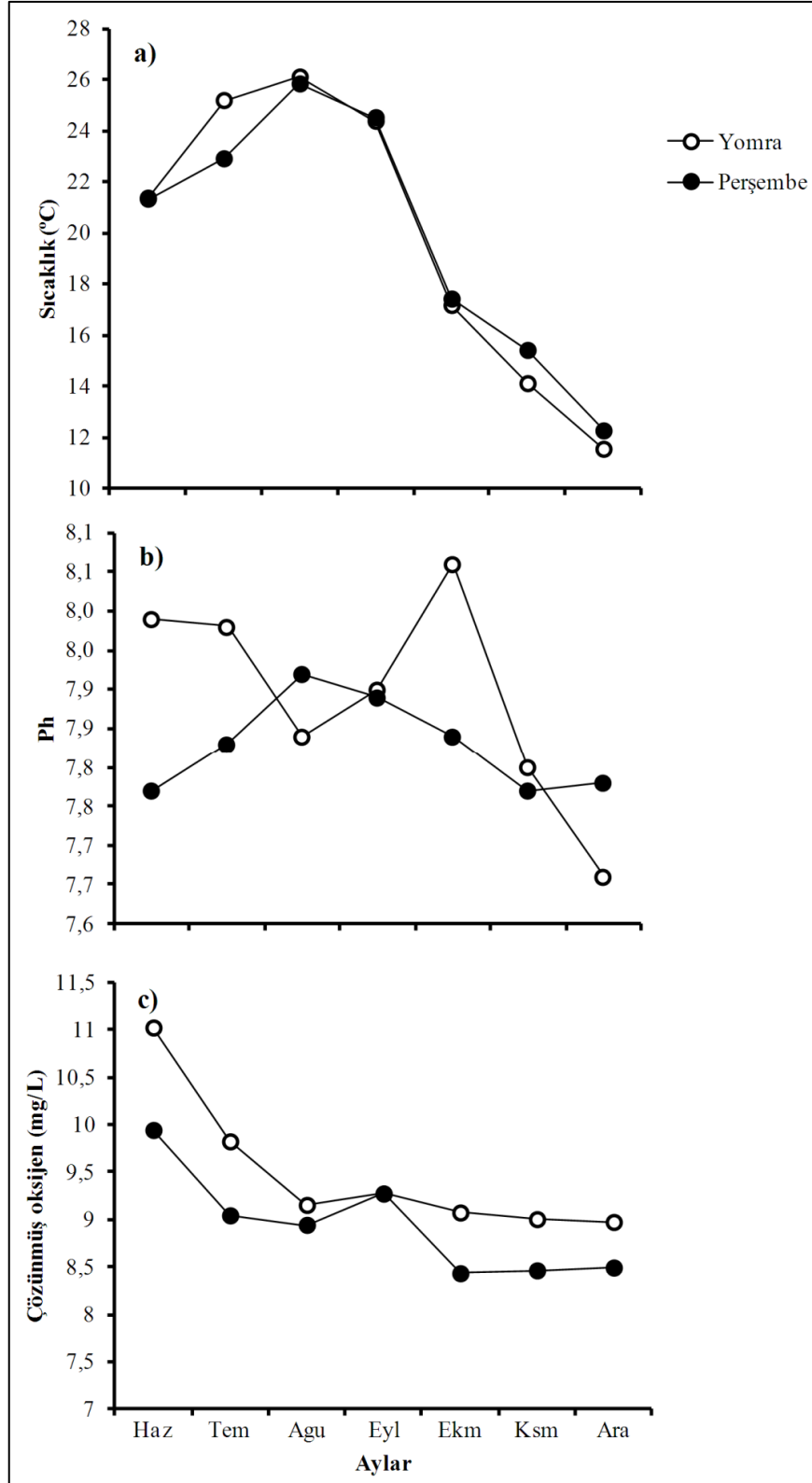


Şekil 9. Perşembe İşletmesi'nden örneklenen balıklarda bakteri var veya yok olmasıyla parazit grupları arasındaki ilişki

### 3.9. Su Kalitesi Parametreleri

Yomra İşletmesi'nde kafeslerin etrafındaki yüzey sularından (5 metre derinlikten ölçüm yapılmıştır) aylık olarak yapılan sıcaklık, pH ve çözülmüş oksijen miktarı ölçümleri sonucunda; sıcaklık en yüksek 26,1°C ile Ağustos ayında, en düşük 11,5°C olarak Aralık ayında ölçülmüştür (Şekil 10, a). Çözülmüş oksijen miktarının en yüksek 11 mg/l ile Haziran ayında, en düşük 8,9 mg/l olarak Aralık ayında ölçülmüştür (Şekil 10, b). pH değeri ise 8,6 ile en yüksek Ekim ayında, en düşük 7,7 ile Aralık ayında ölçülmüştür (Şekil 10, c).

Perşembe İşletmesi'nde de Yomra İşletmesi ile aynı şekilde kafeslerin etrafındaki yüzey sularından aylık olarak yapılan sıcaklık, pH ve çözülmüş oksijen miktarı ölçümleri sonucunda; en yüksek sıcaklık 25,8°C ile Ağustos ayında ölçülürken, en düşük 12,3°C olarak Aralık ayında ölçülmüştür (Şekil 10, a). Çözülmüş oksijen miktarı en yüksek 9,9 mg/l ile Haziran ayında ölçülürken, en düşük 8,4 mg/l olarak Ekim ayında ölçülmüştür (Şekil 10, b). pH değeri ise 7,9 ile en yüksek Ağustos ayında, en düşük 7,7 ile Kasım ve Haziran aylarında ölçülmüştür (Şekil 10, c).



Şekil 10. Perşembe ve Yomra İşletmeleri'ne ait aylık sıcaklık (a), çözülmüş oksijen (b) ve pH (c) değerleri. Ölçümler YSI 556 (Yellow Springs Instruments Inc., Yellow Springs, OH, USA) probu ile kafeslerin etrafındaki yüzey suyundan yapılmıştır

## 4. TARTIŞMA VE SONUÇLAR

Bu çalışma, Karadeniz’de yetiştiriciliği yapılan Levrek balıklarında (*Dicentrarchus labrax*, L.1758) hastalıklara sebep olan bakterilerin tanımlanması ve mevsimsel olarak ortaya çıkışlarının belirlenmesi amacıyla gerçekleştirilmiştir. İncelenen 476 adet balıkta 24 farklı bakteri türü saptanmıştır. Bunlardan *Aeromonas veronii*, *Photobacterium damsela* subsp. *damsela*, *Vibrio vulnificus*, *Vibrio harveyi*, *Vibrio rotiferianus*, *Vibrio furnissii*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio ponticus* ve *Listonella anguillarum* bilinen balık patojenlerindedir.

### 4.1. Klinik Belirtiler

Perşembe İşletmesi’nden örneklenen balıkların klinik muayenesi sonucunda saptanan vücut yüzeyinde yüzgeç diplerinde ve anüs etrafında hemoraji, deride ülseratif lezyonlar, rengin koyulaşması ve abdominal şişlik *Vibrio* sp.(Toranzo vd., 2005; Zorrilla vd., 2003), *Aeromonas* sp. (Hettiarachehi ve Cheong,1994) ve *Photobacterium* sp.(Austin ve Austin, 2007) enfeksiyonlarının klinik belirtileriyle benzerlik göstermektedir. Yapılan otopsilerde hasta balıkların bağırsaklarının sarı renkli bir sıvı ile dolu olması, böbrek ve dalakta bozulmalar, solgun karaciğer, vücut boşluğunda sıvı birikimine ek olarak özellikle *Vibrio* ve *Aeromonas* enfeksiyonlarının genel belirtisi olan gözlenen ekzoftalmus (Colorni vd., 1981; Huizinga vd., 1979) tespit edilmiştir. Perşembe İşletmesi’nde hastalık belirtisi gösteren bütün balıklardan bakteri izole edilirken, Yomra İşletmesi’nde hastalık belirtisi gösteren balıklardan bakteri izole edilememiştir. Perşembe İşletmesi’nden örneklenen hasta balıklardan 70 tanesininin, Yomra İşletmesi’nden örneklenen hasta balıklardan sadece üç tanesinin böbrek ve dalaklarında beyaz nodüller tespit edilmiştir. Bu bulgu Kuboto vd.’nin (1979) *Photobacterium* sp. enfeksiyonlarında bildirdiği semptomla benzerlik göstermektedir.

Çalışmada sonuçlar, genel manada hastalık belirtileri ile benzerlik gösterse de çoklu enfeksiyonlarla oldukça sık karşılaşıldığı için patojen ile hastalık belirtisini eşleştirmeye çalışmak Karadeniz ekosisteminde kültürü yapılan levrek balıklarında çok mantıklı görünmemektedir. Bu sebeple işletmeciler çok uzun seneler işletmecilik yapmalarına

rağmen hastalık türlerine karşı refleks geliştirememişlerdir ve gözlemlenen belirtilerine göre hastalıkları ayırt edememektedirler.

#### 4.2. *Aeromonas veronii*

*Aeromonas veronii*'nin bölgede yetiştiriciliği yapılan levrek balıklarında, özellikle sıfır yaş grubunda (2011 yılına ait) en sık karşılaşılan patojen bakteri olduğu tespit edilmiştir. *Aeromonas veronii* daha önce levrek patojeni olarak rapor edilmemiş olup bu çalışma ilk rapor niteliği taşımaktadır. Bölgemizde yetiştiriciliği yapılan levrek balıklarında Savaş vd. (2006) tarafından *A. hydrophila* ve Karatas vd. (2005) tarafından *A. salmonicida achromogenes* bakterileri rapor edilmesine rağmen ayrıntılı bir tanımlama söz konusu değildir. Çalışmamızda farklı yaşlardaki levrek balıklarında, daha önce rapor edilen patojenlerin izole edilememesi, söz konusu patojenlerin biyokimyasal testlerle tanımlanamadığına ya da yanlış tanımlandığına işaret etmektedir.

Çalışmamızda izole edilen *A. veronii* suşları genotip (16S rDNA sekans analizine göre) olarak ve biyokimyasal testler açısından oldukça homojen olmasına rağmen, antibiyogram testlerinde heterojen özellik sergilemiştir. Suşlar, daha önce Nawaz vd. (2006) tarafından kanal yayın balıklarından (*Ictalurus punctatus*) izole edilen *A. veronii* suşu ile benzerlik göstermektedir. En etkili tür belirleyici testler olarak tespit ettiğimiz; oksidaz pozitifdir (%80'den fazla izolat pozitif), O/129 10µg disk<sup>-1</sup> vibriostat ajanına karşı hassastır (%80'den fazla izolat hassas), indol, nitrat indirgeme ve H<sub>2</sub>S üretimi negatiftir (%80'den fazla izolat negatiftir). *A. veronii* hareketli olması, TCBS'de büyüme göstermesi, O/129 150µg disk<sup>-1</sup> vibriostat ajanına karşı hassas olması, mannozdan asit üretmesi ve nitrat negatif olması ile *A. salmonicida achromogenes* bakterisinden fenotipik olarak ayrılır. *A. hydrophila* ise O/129 150µg disk<sup>-1</sup> vibriostat ajanına karşı dirençli olması ve nitrat pozitif olması ile *A. veronii*'den fenotipik olarak ayrılır.

Florfenikol, oksitetrasiklin, sülfametoksazol-trimetoprim, amoksilin, doksisiklin, enroflaksasin ve eritromisin balıkçılıkta en sık kullanılan antibiyotiklerdir. Nawaz vd. (2006) tarafından izole edilen *A. veronii* suşlarının tamamı penisilin ve ampisiline karşı; altı tanesi streptomisine karşı ve altı tanesi de sülfametoksazol-trimetoprimine karşı dirençlidir. Camus vd. (1998) kanal yayın balıklarında Hareketli *Aeromonas* Enfeksiyonlarına karşı oksitetrasiklin antibiyotiğinin kullanılmasını tavsiye etmişlerdir.



Fakat birçok Hareketli *Aeromonas* İzolatı oksitetrasikline ve diğer birçok antibiyotiğe karşı dirençlilik oluşturmuştur (Shots vd., 1976; Dixon vd., 1990). A.B.D.'de oksitetrasikline dirençli *Aeromonas* izolatlarına karşı sülfametoksazol-ormetoprim kullanılmaktadır (Noga). Benzer şekilde çalışmamızda izole edilen *A. veronii* suşlarının tamamı bölgemizde balıkçılıkta sık olarak kullanılan florfenikol, eritromisin ve doksisisiklin antibiyotiklerine karşı dirençlidir fakat amoksiline karşı suşların %90'ı hassastır. Oksitetrasiklin ve enroflaksasine karşı ise sadece birer suşta hassasiyet gözlenmiştir. Buna karşın izolatların yaklaşık %85'i, balıkçılıkta sık kullanılmayan sülfadiazin, tilkomisin, penisilin, streptomisin, ampisilin ve vankomisine karşı hassasiyet göstermiştir.

Çalışmamızda hastalık epidemikleri ile ilgili bulgular Camus vd.'nin (1998) raporları ile benzerlik göstermektedir. Enfeksiyon şiddeti yaz başında Camus vd.'nde (1998) rapor edildiği gibi pik yapmış ve sonbahar sonlarına doğru tamamen sonlanmıştır. Dolayısıyla mevsimsellik gözlenmekte ancak, Camus vd.'nin (1998) raporunda olduğu gibi yıl boyunca gözlenmemektedir. Bu kesintinin sebebi Karadeniz'deki kış ve sonbahar boyu su sıcaklığı ortalamalarındaki düşüklük (<10°C) olabilir.

Hareketli *Aeromonas*'lar fırsatçı patojenlerdir, sadece zayıf balık populasyonlarında ya da ikincil patojen olarak bulaştıkları balıklarda hastalık oluştururlar (Camus vd.,1998). Hastalığın gelişmesinde çevresel stres faktörleri etkilidir. Shotss vd. (1972) tarafından yapılan bir çalışmada göllerde yetiştiriciliği yapılan kanal yayın balıklarının günlük olarak aşırı yemlenmesiyle sudaki organik yükün arttığı ve bu artış ile Hareketli *Aeromonas* enfeksiyonları arasında bağlantı olduğu rapor edilmiştir. Çalışmamızda *A. veronii* bakterisi en yoğun sıfır yaşındaki balıklarda (2011 yılına ait balıklar) gözlenmiştir. Bu gruba ait balıklar işletmede en sık ve en aktif (6kez/gün) olarak yemlenen balık grubudur. Shotss vd.'nin (1972) çalışmasına benzer şekilde yemlemedeki fazlalık sonucu çevre suyunda artan organik yük patojenin ortamda artmasına sebep olmuş olabilir. Ayrıca bu gruba ait balıklar yaz başında işletmeye transfer edildiğinden Haziran ayında patojene rastlanmamıştır. Fakat Temmuz, Ağustos ve Eylül aylarında yoğun bir şekilde enfeksiyon gözlenmiştir. Bu durumda, balığın patojeni kuluçkahaneden getirmediği Karadeniz ekosisteminden aldığı ortaya çıkmaktadır.

2010 yılına ait balıklarda yaz başından itibaren yoğun bir şekilde patojene rastlanmıştır. Bu grup işletmedeki en yoğun stoklanan balık grubudur. Pickerring ve Pottinger'in (1989) raporlarıyla benzer şekilde, balıklar yoğun stoklanmaktan kaynaklanan

su kalitesindeki kötüleşme ve aşırı kalabalıktan dolayı streslenmiş ve hastalıklara karşı hassaslaşmış olabilirler.

2009 yılına ait balıklarda ise *A. veronii* bakterisine hiç rastlanmamıştır. Bu grup, işletmede yoğunluğu en az ve kafes göz açıklığı en büyük olan balık grubudur. Bu sebeple patojen baskısı azalmış olabilir. Ayrıca yaş ilerledikçe balıklarda patojene karşı direnç oluşmuş olabilir.

*A. veronii*'nin çoklu enfeksiyonlarda (13 çoklu enfeksiyonun sekizinde) en çok rastlanan bakteri türü olduğu tespit edilmiştir. *A. veronii*'nin çoklu enfeksiyonlarda bulunabileceğine dair benzer bulgulara Camus vd.'de (1998) dikkati çekmiştir.

### 4.3. *Photobacterium damsela* subsp. *damsela*

Photobacteriosis Türkiye'de özellikle Ege Bölgesi'nde levreklerde bilinen en yaygın ve en fazla ekonomik öneme sahip balık hastalıklarından birisidir. Genellikle daha önce rapor edilen tür *Photobacterium damsela* subsp. *piscicida*'dır (Avsever vd., 2012; Korun ve Timur, 2005). Bölgemizde Savas vd. (2006) tarafından levrek balıklarında rapor edilen photobacteriosis (pasteurellozis) *Photobacterium piscicida* kaynaklıdır. Çalışmamızda bu bakteriye rastlanmamıştır. Bunun yanında photobacteriosis'in bir diğer etkeni olan *Ph. damsela* subsp. *damsela*'nın bölgemizde yetiştiriciliği yapılan levrek balıklarında, özellikle 2010 yılına ait balıklarda en sık karşılaşılan patojen bakteri olduğu tespit edilmiştir. Bölgemizde yetiştiriciliği yapılan levreklerde *Ph. damsela* subsp. *damsela* kaynaklı photobacteriosis daha önce rapor edilmemiş olup bu çalışma ilk rapor niteliğindedir.

Birçok çalışmada *Ph. damsela* subsp. *damsela* suşlarının biyokimyasal ve serolojik testlerde heterojen özellik sergilediği rapor edilmiştir (Smith vd., 1991; Fouz vd., 1992; Pedersen vd., 1997, 2009; Labella vd., 2006). Çalışmamızda izole edilen *Ph. damsela* subsp. *damsela* suşları en etkili tür belirleyici testler olarak tespit ettiğimiz; oksidaz pozitifdir (%80'den fazla izolat pozitif), O/129 10µg disk<sup>-1</sup> vibriostat ajanına karşı hassastır (%80'den fazla izolat hassastır), indol, nitrat indirgeme ve H<sub>2</sub>S üretimi negatiftir (%80'den fazla izolat negatiftir). *Ph. damsela* subsp. *damsela* suşları hareketli olması, TCBS'de yeşil renkli büyümesi ve 37°C'de büyüme göstermesi ile *Ph. damsela* subsp.

*piscicida*'dan fenotipik olarak ayrılmıştır. *Ph. damsela*e subsp. *damsela*e 37°C'de büyüyebilme özelliğinden dolayı aynı zamanda da insan patojenidir (Magarinos vd., 1996).

Çalışmamızda izole edilen *Ph. damsela*e subsp. *damsela*e suşlarının tamamı Khalil vd.'nin (2008) raporuyla benzer şekilde kloramfenikole dirençlidir. Fakat aynı çalışmada patojenin dirençli olduğu belirlenen oksitetrasiklin, okzolinik asit ve kanamisin antibiyotikleri karşı izolatlarımız değişken cevaplar vermiştir. Oksitetrasiklin; üç suş hassas, 14 suş dirençli, okzolinik asit; yedi suş hassas, 10 suş dirençli, kanamisin; bir suş hassas, 16 suş dirençli. Labella (2010) tarafından yapılan bir başka çalışmada *Ph. damsela*e subsp. *damsela*e suşlarının tamamının enroflaksasin, sülfametoksazol-trimetoprim ve nitrofurantiona karşı hassas; streptomisin, eritromisin ve amoksiline karşı dirençli olduğu olduğu rapor edilmiştir. Fakat çalışmamızdaki sonuçlar bu rapor ile de benzerlik göstermemektedir. İzolatlarımızdan enroflaksasine bir suş hassasken 16 suş dirençlidir, sülfametoksazol-trimetoprim dokuz suş hassasken sekiz suş dirençlidir, nitrofurantiona karşı da suşların tamamı dirençlidir. Streptomisine yedi suş hassasken 10 suş dirençlidir, eritromisine bir suş hassasken 16 suş dirençlidir, amoksiline de dört suş hassasken 13 suş dirençlidir.

Çalışmamızda izole edilen *Ph. damsela*e subsp. *damsela*e suşları Stephens vd.'nin (2006) raporu ile benzer şekilde sıcaklıkların 22°C'nin üzerinde olduğu Temmuz (22,9°C), Ağustos (25,8°C) ve Eylül (24,5°C) aylarında yoğun; sıcaklığın daha düşük olduğu Ekim (17,4°C) ayında yoğunluğu az bir şekilde 2010 yılına ait balıklarda izole edilmiştir (Şekil 10, b). 2011 yılına ait balıklarda da benzer şekilde Temmuz ve Eylül aylarına patojen izole edilebilmiştir (Şekil 10, c).

Fouz vd.'nin (1992) yaptığı bir çalışmada ise yaz aylarında sıcaklığın aniden 18°C'den 22-24°C'ye çıkmasıyla 300-1500 gr arası balıklarda *Ph. damsela*e subsp. *damsela*e kaynaklı ölümlerin ortaya çıktığı rapor edilmiştir. Bu raporun aksine çalışmamızda patojen, ortalama ağırlıkları 328 gr olan 2009 yılına ait levrek balıklarında gözlenmemiştir. Bu balık grubunun yoğunluğunun az ve kafes göz açıklıklarının fazla olması patojen baskısını azaltmış olabilir.

Çalışmamızda da *Ph. damsela*e subsp. *damsela*e'nin çoklu enfeksiyonları (13 çoklu enfeksiyonun dördünde) tespit edilmiştir. *Ph. damsela*e subsp. *damsela*e'nin çoklu enfeksiyonlarda bulunabileceğine dair benzer bulgulara Labella'da (2010) dikkati çekmiştir.

#### 4.4. Vibriozis

*Vibrio rotiferianus* rotifer kültürlerinde bulunan fakat yoğunluğu arttıkça rotiferlerle beslenen balık larvalarına geçebilen *Vibrio* türüdür (Munro vd., 1994). Çalışmamızda patojen, bölgede yetiştiriciliği yapılan levrek balıklarında, özellikle 2010 yılına ait balıklarda gözlenmiştir. Daha önce levreklerde patojen olarak rapor edilmemiş olup bu çalışma ilk rapor niteliği taşımaktadır.

Çalışmamızda izole edilen *Vibrio rotiferianus* (suş LMG 21460) suşları, Gomez-Gil vd.'nin (2003) bir rotifer olan *Brachionus plicatilis*'den izole ettikleri suş ile 16S rDNA sekans analizine göre aynı suştur ayrıca biyokimyasal testlerde de bu suş ile oldukça benzerlik gösterir. En etkili tür belirleyici olarak tespit ettiğimiz testler olan oksidaz testine verdikleri pozitif cevap (%80'den fazla izolat pozitifdir), O/129 10 µg disk<sup>-1</sup> vibriostatik ajan testine karşı hassasasiyet (izolatların %75'i hassastır) ve Voges proskauer, H<sub>2</sub>S oluşumu, indol, testlerine verdikleri negatif cevap (izolatların hepsi negatiftir) ile Gomez-Gil vd.'nin (2003) yaptıkları çalışmadaki sonuçlarla benzerdir. Fakat antibiyogram testlerinde farklılıklar vardır. Gomez-Gil vd.'nin (2003) yaptıkları çalışmada *V. rotiferianus*'un kloramfenikol, tetrasiklin, okzolinik asit ve oksitetrasiklin antibiyotiklerine karşı hassas, kanamisin ve streptomisine karşı ise dirençli olduğunu rapor etmişlerdir. Çalışmamızdaki *V. rotiferianus* suşları sadece kanamisine karşı dirençli olmasıyla antibiyotik testlerinde Gomez-Gil vd. (2003) ile benzerlik göstermektedir. Suşlar okzolinik asit ve oksitetrasikline karşı da dirençlidir. Ayrıca çalışmamızda izole edilen bütün *V. rotiferianus* suşları vankomisine karşı hassastır.

Austin vd.'nin (2005) raporunda *V. rotiferianus*'un (LMG 21456 ve LMG 21460 suşları) gökkuşağı alabalıklarında ölümlere sebep olduğu rapor edilmiştir.

*Vibrio rotiferianus* suşları hasta balıklardan sıcaklığın 22,9°C olduğu Temmuz ve 24,5°C olduğu Eylül aylarında ve sadece çiftlikteki en yoğun stoklanan 2010 yılına ait balıklardan izole edilmiştir (Şekil 10, b).

*Vibrio harveyi* bölgede yetiştiriciliği yapılan levrek balıklarında, özellikle 2010 yılına ait balıklarda gözlenmiştir (Şekil 10, b). Daha önce bölgemizde balık hastalığı etkeni olarak rapor edilmemiş olup bu çalışma ilk rapor niteliği taşımaktadır.

Çalışmamızda izole edilen *V. harveyi* suşlarının biyokimyasal karakterleri literatürdekilerle uyuşmamaktadır. İzolatlar hemen hemen bütün testlere değişken cevaplar

vermiştir. Vahendenberghe vd.'nin (2003) raporunda akuakültür ortamlarından izole edilen *Vibrio* ların tanımlanmasına özen gösterilmesine ve biyokimyasal ve fizyolojik testlerin dikkatli yapılması gerektiğine değinilmiştir. Sonuçlarımızdaki değışkenlik uygulama farklılıklarından kaynaklanıyor olabilir. *V. harveyi* suşları, en etkili tür belirleyici testler olarak tespit ettiğimiz; oksidaz testine (izolatların %75'i pozitifdir) pozitif cevap vermişlerdir. O/129 10µg disk<sup>-1</sup> vibriostat ajanına karşı verdikleri cevaplar değışkendir (suşların %50'si dirençli, %50'si hassastır). İndol, nitrat indirgeme ve H<sub>2</sub>S üretimi negatiftir (izolatların %75'i negatiftir).

Liu vd. (1997) *V. harveyi* ile gerçekleştirdikleri antibiyogram duyarlılık testleri sonucunda bu organizmanın ampisilin, penisilin ve vankomisine karşı dirençli; kloramfenikol, siprofloksasin, doksisisiklin, nalidiksik asit, nitrofurantion, okzolinik asit, oksitetrasiklin, tetrasiklin ve sülfanomidlere karşı hassas olduğunu rapor etmişlerdir. Bu raporlardan farklı olarak çalışmamızda izole edilen *V. harveyi* suşları balıkçılıkta sıklıkla kullanılan doksisisiklin ve oksitetrasikline karşı dirençlilik göstermektedir. Ayrıca suşlar florfenikol, neomisin, kloramfenikol, norflaksasin, ofloksasin, streptomisin, enroflaksasin ve eritromisine karşı da farklı oranlarda dirençlilik göstermişlerdir. Yapılan çalışmalarda patojenin biyofilm oluşturma özelliğinden ötürü birçok antibiyotiğe karşı dirençli olduğu belirtilmiştir (Karunasagar vd., 1994).

*V. harveyi* minimal besin gereksinimleri ve hızlı büyüme özellikleriyle kirlenmiş bölgelerde yaşayabilmektedir (Ozdemir vd., 2008). *V. harveyi* enfeksiyonlarına sıcaklık ve tuzluluk değışimleri gibi çevresel faktörler etkilir (Alavandi vd., 2006). Patojenin su sıcaklığının yüksek olduğu Haziran ve Kasım ayları arasında ortaya çıkarak çipura ve levrek balıklarında hastalık oluşturduğu Pujalte vd. (2003) tarafından bildirilmiştir. Çalışmamızda izole edilen *V.harveyi* suşları hasta balıklardan sıcaklığın yüksek olduğu Temmuz (22,9°C) ve Eylül (24,5°C) aylarında izole edilmiştir (Şekil 10, a). Patojen en sık, işletmenin en yoğun stoklanmış olan 2010 yılına ait balıklarında gözlenmiştir.

Gözlenen 13 çoklu enfeksiyonun iki tanesinde *Vibrio harveyi* bakterisine rastlanmıştır. Labella (2010) çalışmasında *V. harveyi*'nin çoklu enfeksiyonlarla birlikte bulunabileceğini göstermiştir.

*Vibrio vulnificus* biyokimyasal özelliklerine göre üç alt gruba ayrılır. Biyotip 1 ve 3 insan patojeni olan izolattır ve yılan balıklarında patojenik değildir (Kim vd., 2011). Biyotip 2 ise yılan balıkları için patojen olan izolattır (Rajapandiyar vd., 2009; Tison vd.,

1982). *V. vulnificus* daha önce ülkemizde balık hastalığı etkeni olarak rapor edilmemiş olup bu çalışma ilk rapor niteliği taşımaktadır.

Çalışmamızda izole edilen *V. vulnificus* suşları hareket, Metil kırmızısı, TCBS'de büyüme, 37°C'de büyüme, mannoz ve maltozdan asit üretme testlerine verdikleri pozitif sonuçlarla (izolatların %100'ü pozitifdir) Tison vd. (1982) tarafından yılan balıklarından izole edilen biyotip 2 ile benzerlik göstermektedir. Fakat izolatların %66,7'si indol pozitif olmasıyla biyotip 1 ve 3 ile benzerlik göstermektedir (Tison vd., 1982). En etkili tür belirleyici testler olarak tespit ettiğimiz; oksidaz testine %83,3'ü, indol testine %66,7'si, nitrat indirgeme testine %33,3'ü pozitif cevap vermiştir. O/129 10µg disk<sup>-1</sup> vibriostat ajanına karşı %66,7'si dirençlidir ve H<sub>2</sub>S üretimi negatiftir. *V. vulnificus* türünün belirlenmesinde seçici ve zenginleştirilmiş besiyerleri kullanılır (Food and Drug Administration, 1998). Ayrıca türün belirlenmesinde kullanılan testlerde ek süre kullanılır (Campbell ve Wright, 2003). Çalışmamızda biyokimyasal testlere verilen değişken cevaplar *V. vulnificus* türüne özel besiyerleri kullanılmamasından ya da diğer bakteri izolatları ile aynı süre testlere tabii tutulmasından kaynaklanıyor olabilir.

Çalışmada izole edilen *V. vulnificus* suşları Khandaker vd.'nin (2011) sonuçlarına zıt olarak neomisin, kloramfenikol, eritromisin, doksisisiklin ve amoksilin antibiyotiklerine karşı farklı oranlarda dirençlilik göstermektedir. Ampisiline dirençlilik gösterme açısından Khandaker vd.'nin (2011) sonuçlarıyla benzerlik göstermektedir. Vankomsine karşı sadece tek bir suşta dirençlilik gözlenmiştir. Khandaker vd.'nin (2011) yaptığı çalışmada patojenin neomisin, kloramfenikol, eritromisin ve doksisisiklin antibiyotiklerine karşı hassas, ampisiline dirençli olduğu ayrıca amoksilin ve vankomisine karşı değişken cevaplar verdiği rapor edilmiştir. Baker-Austin vd. (2009) ise çevreden izole edilen *V. vulnificus* türlerinin birçok antibiyotiğe karşı dirençli olduğunu belirtmiştir.

Rajapandiyar vd. (2009) patojenin balıktaki prevalansının balığın beslenmesi, iklimik faktörler ve coğrafik koşullardan ötürü değişebileceğini göstermiştir. *V. vulnificus* bakterisinin genellikle 20°C'nin üzerindeki su sıcaklıklarında bulunduğu Mahmud vd. (2010) tarafından bildirilmiştir. Benzer şekilde çalışmada izole edilen *V. vulnificus* suşları hasta balıklardan, sıcaklığın 22,9°C olduğu Temmuz ve 24,5°C olduğu Eylül aylarında izole edilmiştir. Patojen en sık sıfır yaş grubu balıklardan izole edilmiştir.

Gözlenen 13 çoklu enfeksiyonun dördünde *V. vulnificus* bakterisine rastlanmıştır.

#### 4.5. *Diplectanum aequans* ve Bakteri İlişkisi

*Diplectanum aequans* Perşembe İşletmesi'nde yüksek prevalense (%92'lere varan) sahip tek parazit türü olarak tespit edilmiştir. Özellikle bir solungaç arkında parazit sayısının altıyı geçmesi durumunda, Ogut ve Uzun'un (2012) raporuna paralel olarak, balıkların kondisyon faktörlerinde azalma olduğu gözlenmiştir.

*D. aequans* sayısı arttıkça aynı zamanda bakteri izole etme olasılığının arttığı tespit edilmiştir (Şekil 9). Malesef bu konuda karşılaştırma yapabileceğimiz bir çalışma mevcut değildir. Balığın kondisyon faktörünün azalması sonucunda muhtemelen bağışıklık sistemi de zayıflamaktadır ve ileri aşamalarda sistem tolere durumuna geçerek pek çok patojenin aynı anda bulunabilmesine uygun ortam oluşturmaktadır.

#### 4.6. Kirlilik

Çalışmamızda balıklardan, karasal ve antropojen kökenli bakteriler de izole edilmiştir. Bunlar; biyolojik mücadelede böceklere karşı kullanılan *Bacillus thuringiensis*, şarbon hastalığına sebep olan *Bacillus anthracis* strain Ames, insanda deride yaralar ve enfeksiyonlara sebep olabilen *Staphylococcus haemolyticus*'tur. Ayrıca, belki de çalışmamızda en ilginç bakteriyal izolasyonlardan birisi olan, gamma ve ultraviyole ışınlarına oldukça dirençli ve daha önce Satomi vd. (2006) tarafından uzay aracı ve montaj tesisi yüzeyinden izole edilen *Bacillus safensis* FO-036b suşudur. Dört farklı balıktan bu bakterinin izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Bu bakterilerin balıklardan izole edilmesi Karadeniz'in yoğun bir şekilde evsel ve tarımsal atıklara maruz kaldığının göstergesi olabilir.

## 5. ÖNERİLER

Aynı türlere ait bakteri suşları arasında yüksek varyans olabilmektedir. Bu nedenle sadece biyokimyasal testlerle tür tayini yapmak doğru sonuçlar vermeyebilecektir. Bu nedenle moleküler testler daha doğru bir yaklaşım olabilir.

Bakteri türünü doğru teşhis etmek çok önemlidir. Yanlış teşhis hastalıkların yayılmasına ve kontrol edilemez hale gelmesine neden olacaktır.

Yanlış teşhisler, gereksiz aşı uygulamalarını önleyememiş daha fazla ölümlere neden olmuştur. Mevcut teşhisler doğru aşılama çalışmaları için bir alt yapı teşkil etmektedir.

Kültür sonuçları kesin teşhis yapamamaktadır, çoklu enfeksiyonlardan dolayı daha sofistike testlerin geliştirilmesi gerekmektedir.

Daha önce de aynı bölgede yapılan aynı amaçlı çalışmalarda 'gerçek manada' bir sonuç ortaya konulamaması yıllarca ekonomik kayıpların devam etmesine neden olduğu gibi bilgi kirliliğine neden olduğundan bilimsel gelişime de engel teşkil etmiştir. Dolayısıyla bu tür çalışmalarda üstüne konulabilir bilgilerin elde edilmesi ülke kaynaklarının heder edilmemesi açısından önemlidir.



## 6. KAYNAKLAR

- Actis, L. A., Tolmasky, M. E. ve Crosa, H. J., 1999. Vibriosis. In: Fish Diseases and Disorders, Viral, Bacterial and Fungal Infections, P. T. K. W. a. D. W. Bruno, 3, 851991947., CAB International Publication.
- Akaylı, T., 2001. Kültür Çipura Balıklarında (*Sparus aurata*) Vibriosis' in ELISA ve Bakteriyolojik Yöntemlerle Teşhisi, İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü,
- Al-Marzouk, A. E., 1999. Association of *Pseudomonas anguilliseptica* with Mortalities in Cultured Marine Orange-Spotted Grouper *Epinephelus coioides* in Kuwait, Fish Pathology, 34, 167-168.
- Alavandi, S. V., Manoranjita, V., Vijayan, K. K., Kalaimani, N. ve Santiago, T. C., 2006. Phenotypic and Molecular Typing of *Vibrio harveyi* Isolates and Their Pathogenicity to Tiger Shrimp Larvae, Letters in Applied Microbiology, 43, 5, 566-570.
- Amaro, C., Biosca, E. G., Esteve, C., Fouz, B. ve Toranzo, A. E., 1992. Comparative Study of Phenotypic and Virulence Properties in *Vibrio vulnificus* Biotype 1 and 2 Obtained From A European Eel Farm Experiencing Mortalities, Disease of Aquatic Organism, 13, 29-35.
- Antonelli, L., Quilichini, Y. ve Marchand, B., 2012. *Lernanthropus kroyeri* (Van Beneden and Hesse 1851) Parasitic Copepoda (Siphonostomatoidae, Lernanthropidae) of European Cultured Sea Bass *Dicentrarchus labrax* (Linnaeus 1758) from Corsica: Ecological and Morphological Study, Parasitology Research, 110, 5, 1959-1968.
- Aoki, T., 1988. Drug Resistant Plasmids From Fish Pathogens, Microbial Sciences, 5, 219-223.
- Arakawa, C. K. ve Fryer, J. L., 1984. Isolation and Characterization of A New Subspecies of *Mycobacterium chelonae* Infectious for Salmonid Fish, Helgoländer Meeresuntersuchungen, 37, 1-4, 329-342.
- Aronson, J. D., 1926. *Mycobacteria* in Hatchery Confined Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*, Walbaum), Journal of Fish Biology, 1, 523-528.
- Austin, B. ve Austin, D. A., 2007. Bacterial Fish Pathogens, Disease in Farmed and Wild Fish, Praxis Publishing Ltd, Chichester, UK.
- Austin, B., Austin, D., Sutherland, R., Thompson, F. ve Swings, J., 2005. Pathogenicity of Vibrios to Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) and *Artemia nauplii*, Environmental microbiology, 7, 9, 1488-1495.

- Avsever, M., Onuk, E. E., Türk, N., Tunalıgil, S., Eskiizmirli, S., İnçoğlu, Ş. ve Yabancı, M., 2012. Pasteurellosis Cases in Sea bass and Sea bream Cultured in the Aegean Region and Other Bacteria Isolated from these Cases, Bornova Vet. Bil. Derg., 34, 48, 9-16.
- Bagge, J. ve Bagge, O., 1956. *Vibrio anguillarum* Som Arşag Til Ulcusşyđdom Hos Torsk (*Gardus callarias*, Linne), Nordisk Veterinarmedicin, 8, 481-292.
- Baker-Austin, C., McArthur, J. V., Lindell, A. H., Wright, M. S., Tuckfield, R. C., Gooch, J., Warner, L., Oliver, J. ve Stepanauskas, R., 2009. Multi-site Analysis Reveals Widespread Antibiotic Resistance in the Marine Pathogen *Vibrio vulnificus*, Microbial Ecology, 57, 1, 151-159.
- Bakopoulos, V., Hanif, A., Poulos, K., Galeotti, M., Adams, A. ve Dimitriadis, G. J., 2004. The Effect of in Vivo Growth on the Cellular and Extracellular Components of the Marine Bacterial Pathogen *Photobacterium damsela* subsp. *piscicida*, Journal of Fish Diseases, 27, 1, 1-13.
- Balebona, M. C., Zorrilla, I., Moriñigo, M. A. ve Borrego, J. J., 1998. Survey of Bacterial Pathologies Affecting Farmed Gilthead Sea Bream (*Sparus aurata* L.) in Southwestern Spain from 1990 to 1996, Aquaculture, 166, 1-2, 19-35.
- Bandilla, M., Valtonen, E. T., Suomalainen, L. R., Aphalo, P. J. ve Hakalahti, T., 2006. A Link Between Ectoparasite Infection and Susceptibility to Bacterial Disease in Rainbow Trout, International Journal for Parasitology, 36, 9, 987-991.
- Bandin, I., Baya, A. M., Carnahan, A., Figueras, A., Hetrick, F. M., Lupiani, B., May, E. M. ve Toranzo, A. E., 1992. Phenotypic and Pathobiological Properties of *Corynebacterium aquaticum* Isolated from Diseased Striped Bass, Diseases of Aquatic Organisms, 126, 115-126.
- Baptista, T., Romalde, J.L. ve Toranzo, A.E., 1996. First Occurance of Pasteurellosis in Portugal Affecting Cultured Gilthead Seabream (*Sparus auratus*), Bull. Eur. Assoc. Fish Pathol, 16, 3, 92-95.
- Baran, İ., Timur, M., Aydın, N., İstanbulluoğlu, E. ve Aydınтуđ, M. K., 1981. Çifteler-Sakaryabaşı Balık Üretim ve Araştırma İstasyonu'nda Alabalıklarda (*Salmo gairdneri irideus*) Görülen Bakteriyel Hemorajik Septisemi Hastalığı Üzerine İncelemeler, Ankara Üniv Vet Fak Derg, 30, 468-473.
- Barnabe, G., 1990. Fish rearing, E. Horwood ed., 2, part 4: Rearing Bass and Gilthead Bream, London.
- Baumann, P. ve Furniss, A. L., 1994. Vibrionaceae, Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 683, 63-70, Williams and Wilkins, Baltimore.
- Baumann, P., Furniss, A. L. ve Lee, J. V., 1984. Genus I *Vibrio* Bergey's Manual of Systemic Bacteriology, 1, 683-418, 518-538, Williams and Wilkins, Baltimore.

- Baumann, P. ve Schubert, R. H. W., 1984. Family II, Vibrionaceae, Veron 1965, Bergey's Manual of Systemic Bacteriology, 1, 683-418-8, 516-517., Williams and Wilkins, Baltimore.
- Baya, A., Toranzo, A. E., Nunez, S., Barja, J. L. ve Hetrick, F. M., 1990. Association of a *Moraxella* sp. and a Reo-like Virus Eith Moralities of Striped Bass, *Morone saxatilis*, 91-99, Academic Press, New York.
- Baya, A. M., Toranzo, A. E., Lupiani, B., Li, T., Roberson, B. S. ve Hetrick, F. M., 1991. Biochemical and Serological Characterization of *Carnobacterium* spp. Isolated from Farmed and Natural Populations of Striped Bass and Catfish, Applied and Environmental Microbiology, 57, 11, 3114-3120.
- Belas, M. R. ve Colwell, R. R., 1982. Adsorption Kinetics of Laterally and Polarly Flagellated *Vibrio*, Journal of Bacteriology, 151, 3, 1568-1580.
- Berthe, F. C. J., Michel, C. ve Bernardet, J. F., 1995. Identification of *Pseudomonas anguilliseptica* Isolated from Several Fish Species in France, Diseases of Aquatic Organisms, 21, 2, 151-155.
- Biosca, E. G., Amaro, C., Esteve, C., Alcaide, E. ve Garay, E., 1991. First Record of *Vibrio vulnificus* Biotpe 2 from Diseased European Eel, *Anguilla anguilla* L., Journal of Fish Diseases, 14, 1, 103-109.
- Bisping, W. ve Amtsberg, G., 1988. Oxidase Positive and Fermentative Bacteria, 123-145, Farbalts zur Diagnose Bacterieller Infektionserreger der Tiere, Berlin.
- Botella, S., Pujalte, M. J., Macian, M. C., Ferrus, M. A., Hernandez, J. ve Garay, E., 2002. Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP) and Biochemical Typing of *Photobacterium damsela* subsp. *damsela*, J. Appl. Microbiol., 93, 4, 681-688.
- Bruun, A. F. ve Heiberg, B., 1935. Weitere Untersuchungen über die Rotseuche des Aales in den Danischen Gewässern, Zeitschrift für Fischerei und deren Hilfwissenschaften, 33, 379-382.
- Bullock, G. L., 1977. US Fish & Wildlife Publications, Department of the Interior.
- Busch, S., Dalsgaard, I. ve Buchmann, K., 2003. Concomitant Exposure of Rainbow Trout Fry to *Gyrodactylus derjavini* and *Flavobacterium psychrophilum*: Effects on Infection and Mortality of Host, Veterinary Parasitology, 117, 1-2, 117-122.
- Cagırgan, H. ve Yureklitürk, O., 1996. A Research on the Diagnosis and Treatment of Cultured Sea Bream (*Sparus aurata* L.) and Sea Bass (*Dicentrarchus labrax*), The Journal of Centre Veterinal Control and Research Institute 21, 35, 113-122.
- Campbell, M. S. ve Wright, A. C., 2003. Real-time PCR Analysis of *Vibrio vulnificus* from Oysters, Applied and Environmental Microbiology, 69, 12, 7137-7144.

- Camus, A. C., Durborow, R. M., Hemstreet, W. G., Thune, R. L. ve Hawke, J. P., 1998. Aeromonas Bacterial Infections - Motile Aeromonad Septicemia, SRAC Publication ,478.
- Candan, A., 1993. Çipura (*Sparus aurata* L. 1758) Balıklarında *Vibrio anguillarum* İnfeksiyonu Türk Mikrobiyoloji Cem. Dergisi, 23, 25-27.
- Candan, A., 2000. Türkiye' de Üretilen Atlantik Salmonu (*Salmo salar* L.)' nda Tespit Edilen İlk Vibriosis Olgusu, Türk Mikrobiyoloji Cem. Dergisi, 30, 107-108.
- Candan, A., Kucker, M. ve Karatas, S., 1996. Pasteurellosis in Cultured Sea Bass (*Dicentrarchus labrax*) in Turkey, Bulletin of European Association Of Fish Pathologists, 16, 15-153.
- Candan, A., Kucuker, M. ve Karatas, S., 1995. Motile Aeromonad Septicaemia in *Salmo salar* Cultured in the Black Sea in Turkey, Bulletin of European Association of Fish Pathologists, 15, 195-196.
- Cano-Gomez, A., Bourne, D. G., Hall, M. R., Owens, L. ve Høj, L., 2009. Molecular Identification, Typing and Tracking of *Vibrio harveyi* in Aquaculture Systems: Current Methods and Future Prospects, Aquaculture, 287, 1-2, 1-10.
- Carnahan, A. M., Behram, S. ve Joseph, S. W., 1991. Aerokey I: A Flexible Key for Identifying Clinical *Aeromonas* Species Journal of Clinical Microbiology, 29, 2843-2849.
- Cecchini, S., 1994. Influence of Temperature on The Hatching of Eggs of *Diplectanum aequans*, A Parasite of Sea Bass, Aquaculture International 2, 249-253.
- Chabot, D. J. ve Thune, R. L., 1991. Proteases of the *Aeromonas hydrophila* Complex: Identification, Characterization and Relation to Virulence in Channel Catfish, *Ictalurus punctatus* (Rafinesque), Journal of Fish Diseases, 14, 2, 171-183.
- Chang, P. H. ve Plumb, J. A., 1996. Effects of Salinity on *Streptococcus* Infection of Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*, Journal of Applied Aquaculture, 6, 1, 39-45.
- Chen, S. C., 1992. Study on the Pathogenicity of *Nocardia asteroides* to the Formosa Snakehead, *Channa maculata* (Lacepède), and Largemouth Bass, *Micropterus salmoides* (Lacepède), Journal of Fish Diseases, 15, 1, 47-53.
- Christofilogiannis, P., 1993. The Veterinary Approach to Seabass and Sebream, 1, Pergamon Press Ltd, Oxford, England.
- Cipriano, R. C. ve Bullock, G. L., 2001. Evaluation of Commercially Prepared Transport Systems for Nonlethal Detection of *Aeromonas salmonicida* in Salmonid Fish, Journal of Aquatic Animal Health, 13, 2, 96-104.

- Colorni, A., Paperna, I. ve Gordin, H., 1981. Bacterial Infections in Gilthead Sea Bream *Sparus aurata* Cultured at Elat, Aquaculture, 23, 1-4, 257-267.
- Colwell, R. R. ve Grimes, D. J., 1984. *Vibrio* Diseases of Marine Fish Populations, Helgoländer Meeresuntersuchungen, 37,1-4, 265-287.
- Conroy, D. A., 1964. Notes on the Incidence of Piscine Tuberculosis in Argentina, The Progressive Fish Culturist, 26, 2, 89-90.
- Crosa, J. H., Schiewe, M. H. ve Falkow, S., 1977. Evidence for Plasmid Contribution to the Virulence of Fish Pathogen *Vibrio anguillarum*, Infection and Immunity, 18, 2, 509-513.
- Cusack, R. ve Cone, D. K., 1986. A Review of Parasites as Vectors of Viral and Bacterial Diseases of Fish, Journal of Fish Diseases, 9, 2, 169-171.
- Çağırğan, H., 1993. The First Isolation of *Pasteurella piscicida* from Cultured Seabream (*Sparus aurata*) in Turkey, Hayvancılık Araştırma Dergisi, 32, 2, 82-83.
- Çelikkale, S., Düzgüneş, E. ve Okumuş, İ., 1999. Türkiye Su ürünleri Sektörü ve Avrupa Birliği ile Entegrasyonu, İstanbul Ticaret Odası, Yayın No: 63.
- Daly, J. G., 1999. Viral, Bacterial and Fungal Infections, P. T. K. Woo and D. W. Bruno ed., CAB International, Wallingford (United Kingdom).
- Davenport, J., K., B., Burnell, G., Cross, T., Culloty, S., Ekaratne, S., Furness, B., Mulcahy, M. ve Tretmeyer, H., 2003. Aquaculture: The Ecological Issues, 89, Blackwell Publ, USA.
- De Figueiredo, J. ve Plumb, J. A., 1977. Virulence of Different Isolates of *Aeromonas hydrophila* in Channel Catfish, Aquaculture, 11, 4, 349-354.
- Demirbağ, Z. ve Demir, İ., 2005. Genel Mikrobiyoloji Laboratuvarı, 2, Trabzon.
- Demircan, D. ve Candan, A., 2006. Identification of *Vibrio anguillarum* by PCR (rpoN GENE) Associated with Vibriosis in Marine Fish in Turkey, Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences, 3, 3, 31-35.
- DePaola, A., Flynn, P. A., McPhearson, R. M. ve Levy, S. B., 1988. Phenotypic and Genotypic Characterization of Tetracycline and Oxytetracycline Resistant *Aeromonas hydrophila* from Cultured Channel Catfish (*Ictalurus punctatus*) and Their Environments, Applied and Environmental Microbiology, 54, 7, 1861-1863.
- Dezfuli, B. S., Giari, L., Simoni, E., Menegatti, R., Shinn, A. P. ve Manera, M., 2007. Gill Histopathology of Cultured European Sea Bass, *Dicentrarchus labrax* (L.), Infected with *Diplectanum aequans* (Wagener 1857) Diesing 1958 (Diplectanidae : Monogenea), Parasitology Research, 100, 4, 707-713.

- Diler, Ö. ve Altun, S., 1985. Gökkuşığı Alabalıklarından (*Oncorhynchus Mykiss*) Hemorajik Septisemi Etkeni Olarak İzole Edilen Bazı *Aeromonas hydrophila* Suşlarının Biyokimyasal Özelliklerinin Belirlenmesi, SDÜ Eğirdir Su Ürünler Fakültesi Dergisi, 4, 169-178.
- Doménech, A., Fernández-Garayzábal, J. F., García, J. A., Cutuli, M. T., Blanco, M., Gibello, A., Moreno, M. A. ve Domínguez, L., 1999. Association of *Pseudomonas anguilliseptica* Infection with 'Winter Disease' in Sea Bream, *Sparus aurata* L., Journal of Fish Diseases, 22, 1, 69-71.
- Dorsch, M., Lane, D. ve Stackebrandt, E., 1992. Towards a Phylogeny of the Genus *Vibrio* Based on 16S rRNA Sequences, International Journal of Systematic Bacteriology, 42, 1, 58-63.
- Doukas, V., Athanassopoulou, F., Karagouni, E. ve Dotsika, E., 1998. *Aeromonas hydrophila* Infection in Cultured Sea Bass, *Dicentrarchus labrax* L., and *Puntazzo puntazzo* Cuvier from the Aegean Sea, Journal of Fish Diseases, 21, 4, 317-320.
- Eissa, I. A. M., Badran, A. F., Moustafa, M. ve Fetaih, H., 1994. Contribution to Motile *Aeromonas* Septicaemia in Some Cultured and Wild Freshwater Fish, Veterinary Medical Journal Giza, 42, 63-69.
- Evans, J. J., Klesius, P. H., Pasnik, D. J. ve Shoemaker, C. A., 2007. Influence of Natural *Trichodina* sp. Parasitism on Experimental *Streptococcus iniae* or *Streptococcus agalactiae* Infection and Survival of Young Channel Catfish *Ictalurus punctatus* (Rafinesque), Aquaculture Research, 38, 6, 664-667.
- Evelyn, T. P., 1971. First Record of Vibriosis in Pacific Salmon Cultured in Canada, and Taxonomic Studies of the Responsible Bacterium, *Vibrio anguillarum*, Journal of The Fisheries Research Board of Canada, 28, 517-525.
- Ferguson, H. W., Collins, R. O., Moore, M., Coles, M. ve MacPhee, D. D., 2004. *Pseudomonas anguilliseptica* Infection in Farmed Cod, *Gadus morhua* L., Journal of Fish Diseases, 27, 4, 249-253.
- Food and Drug Administration, 1998. Bacteriological Analytical Manual, 8th ed., AOAC International. Arlington, Va.
- Fouz, B., Larsen, J. L., Nielsen, B., Barja, J. ve Toranzo, A., 1992. Characterization of *Vibrio damsela* Strains Isolated from Turbot *Scophthalmus maximus* in Spain, Dis.Aquat. Org., 12, 155-156.
- Frans, I., Michiels, C. W., Bossier, P., Willems, K. A., Lievens, B. ve Rediers, H., 2011. *Vibrio anguillarum* as a Fish Pathogen: Virulence Factors, Diagnosis and Prevention, Journal of Fish Diseases, 34, 9, 643-661.

- Fukui, H., Fujihara, Y. ve Kano, T., 1987. In Vitro And in Vivo Antibacterial Activities of Florfenicol, A New Fluorinated Analog of Thiamphenicol, Against Fish Pathogens, Fish Pathology, 22, 201-217.
- Ghitto, P. ve Andruetto, S., 1977. Fish Vibriosis in Fresh and Salt Waters of Italy, Bulletin de l' Office International des Epizooties, 87, 483-485.
- Gilmour, A., 1977. Characteristics of Marine *Vibrios* Isolated from Fish Farm Tanks, Aquaculture, 11,1, 51-62.
- Giorgetti, G., Tomasin, A. B. ve Ceschia, G., 1981. First Italian Anti vaccination Experiments of Freshwater Farmed Rainbow Trout, Developments in Biological Standardization, 49, 455-459.
- Gomez-Gil, B., Thompson, F. L., Thompson, C. C. ve Swings, J., 2003. *Vibrio rotiferianus* sp. nov., Isolated from Cultures of the Rotifer *Brachionus plicatilis*, International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 53, 1, 239-243
- Gonzalez-Lanza, C., Alvarez-Pellitero, P. ve Sitja-Bobadilla, A., 1991. Diplectanidae (Monogenea) Infestations of Sea Bass, *Dicentrarchus labrax* (L.), from the Spanish Mediterranean Area. Histopathology and Population Dynamics Under Culture Conditions, Parasitology Research, 77, 307-314.
- Grimes, D. J., Stemmler, J., Hada, H., May, E. B., Maneval, D., Hetrick, F. M., Jones, R. T., Stoskopf, M. ve Colwell, R. R., 1984. *Vibrio* Species Associated with Mortality of Sharks Held in Captivity, Microbial Ecology, 10, 3, 271-282.
- Grisez, L., Chair, M., Sorgeloos, P. ve Ollevier, F. P., 1996. Mode of Infection and Spread of *Vibrio anguillarum* in Turbot *Scophthalmus maximus* Larvae after Oral Challenge Through Life Feed, Diseases of Aquatic Organisms, 26, 181-187.
- Grisez, L. ve Ollevier, F., 1995. Comparative Serology of the Marine Fish Pathogen *Vibrio anguillarum*, Applied and Environmental Microbiology, 61, 12, 4367-4373.
- Groberg, W. J., McCoy, R. H., Pilcher, K. S. ve Fryer, J. L., 1978. Relation of Water Temperature to Infections of Coho Salmon (*Oncorhynchus kisutch*), Chinook Salmon (*O. tshawytscha*), and Steelhead Trout (*Salmo gairdneri*) with *Aeromonas salmonicida* and *A. hydrophila*, Journal of the Fisheries Research Board of Canada, 35, 1, 1-7.
- Groberg, W. J., Rohovec, J. S. ve Fryer, J. L., 1983. The Effects of Water Temperature on Infection and Antibody Formation Induced by *Vibrio anguillarum* in Juvenile Coho Salmon (*Oncorhynchus Kisutch*), Journal of the World Mariculture Society, 14, 1-4, 240-248.
- Haley, R., Davis, S. P. ve Hyde, J. M., 1967. Environmental Stress and *Aeromonas liquefaciens* in American and Threadfin Shad Mortalities, The Progressive Fish-Culturist, 29, 4, 193-193.

- Harrell, L. W., 1978. Vibriosis and Current Salmon Vaccination Procedures in Puget Sound, Washington, Marine Fisheries Review, 40, 3, 24-25.
- Hawke, J. P., 1996. Importance of A Siderophore in The Pathogenesis and Virulence of *Photobacterium damsela* subsp. *piscicida* in Hybrid Striped Bass (*Morone saxatilis* X *Morone chrysops*), Louisiana State University,, Baton Rouge, LA.
- Hawke, J. P., 2000. Bacterial Disease Agents Encyclopedia of Aquaculture, 69-97.
- Hawke, J. P., Plakas, S. M., Minton, R. V., McPhearson, R. M., Snider, T. G. ve Guarino, A. M., 1987. Fish Pasteurellosis of Cultured Striped Bass (*Morone Saxatilis*) in Coastal Alabama, Aquaculture, 65, 3-4, 193-204.
- Hazen, T. C., Raker, M. L., Esch, G. W. ve Fliermans, C. B., 1978. Ultrastructure of Red-Sore Lesions on Largemouth Bass (*Micropterus salmoides*): Association of the Ciliate *Epistylis* sp. and the Bacterium *Aeromonas hydrophila*, Journal of Eukaryotic Microbiology, 25, 3, 351-355.
- Hedrick, R. P., McDowell, T. ve Groff, J., 1987. Mycobacteriosis in Cultured Striped Bass from California, Journal of Wildlife Diseases, 23, 3, 391-395.
- Herman, L. R. ve Bullock, G. L., 1986. Pathology Caused by the Bacterium *Edwardsiella tarda* in Striped Bass, Transactions of the American Fisheries Society, 115, 2, 232-235.
- Hettiarachehi, D. C. ve Cheong, C. H., 1994. Some Characteristics of *Aeromonas hydrophila* and *Vibrio* Species Isolated from Bacterial Disease Outbreaks in Ornamental Fish Culture in Sri Lanka, Journal of National Science Council of Sri Lanka, 22, 261-169.
- Høi, L., Larsen, J. L., Dalsgaard, I. ve Dalsgaard, A., 1998. Occurrence of *Vibrio vulnificus* Biotypes in Danish Marine Environments, Applied and Environmental Microbiology, 64,1, 7-13.
- Horne, M. T., 1982. The Pathogenicity of *Vibrio anguillarum* (Bergman), Microbial Disease of Fish, 171-189, Academic Press, London.
- Huizinga, H. W., Esch, G. W. ve Hazen, T. C., 1979. Histopathology of Red-Sore Disease (*Aeromonas hydrophila*) in Naturally and Experimentally Infected Largemouth Bass *Micropterus salmoides* (Lacepede), Journal of Fish Diseases, 2, 4, 263-277.
- Huq, A., Alam, M., Parveen, S. ve Colwell, R. R., 1992. Occurrence of Resistance to Vibriostatic Compound 0/129 in *Vibrio cholerae* 01 Isolated from Clinical and Environmental Samples in Bangladesh, Journal of Clinical Microbiology, 30, 1, 219-221.
- Inglis, V., Robets, R. J. ve Bromage, N. R., 1993. Bacterial Disease of Fish, 19-121, Blackwell Scientific Publications, London.



- Janssen, W. A. ve Surgalla, M. J., 1968. Morphology, Physiology, and Serology of a *Pasteurella* Species Pathogenic for White Perch (*Roccus americanus*), Journal of Bacteriology, 96, 5, 1606-1610.
- Kanno, T., Nakai, T. ve Muroga, K., 1989. Mode of Transmission of Vibriosis among Ayu (*Plecoglossus altivelis*), Journal of Aquatic Animal Health, 1, 1, 2-6.
- Karatas, S., Candan, A. ve Demircan, D., 2005. Atypical *Aeromonas* Infection in Cultured Sea bass in the Black Sea, Israeli Journal of Aquaculture 57, 4, 255-264.
- Karunasagar, I., Pai, R., Malathi, G. R. ve Karunasagar, I., 1994. Mass Mortality of *Penaeus monodon* Larvae due to Antibiotic Resistant *Vibrio harveyi* Infection, Aquaculture, 128, 3, 203-209.
- Kennedy, M., Fitzmaurice, P. ve Timur, G., 1972. The Biology of Sea Bass (*Dicentrarchus labrax*) in Irish Waters, Journal of Marine Biological Association of the UK, 52, 557-597.
- Khandaker, R. M., Komal, P. P. ve Monzur, M. A., 2011. Prevalence of *Vibrio* Spp. and Antibiogram of Isolates from Shrimp Rearing Ponds in Bangladesh, Journal of Advanced Scientific Research, 2, 4, 74-80.
- Kiiyukia, C., Nakajima, A., Nakai, T., Muroga, K., Kawakami, H. ve Hashimoto, H., 1992. *Vibrio cholerae* non-O1 Isolated from Ayu Fish (*Plecoglossus altivelis*) in Japan, Applied and Environmental Microbiology, 58, 9, 3078-3082.
- Kim, H. K., Kim, S. Y., Jeong, H., Kim, T. Y., Kim, J. J., Choy, H. E., Yi, K. Y., Rhee, J. H. ve Lee, S. Y., 2011. Integrative Genome-Scale Metabolic Analysis of *Vibrio vulnificus* for Drug Targeting and Discovery, Molecular Systems Biology, 7,1.
- Kimura, M. ve Kitao, T., 1971. On The Etiological Agent of 'Bacterial Tuberculoidosis' of Serolia, Fish Pathol, 6, 8-14.
- Kitao, T., 1993. Pasteurellaceae, Bacterial Diseases of Fish, 157-165.
- Kitao, T., Ruangpan, L. ve Fukudome, M., 1989. Isolation and Classification of a *Nocardia* species from Diseased Giant Gourami (*Osphronemus goramy*), Journal of Aquatic Animal Health, 1,2, 154-162.
- Knappskog, D. H., RØDseth, O. M., Slinde, E. ve Endresen, C., 1993. Immunochemical Analyses of *Vibrio anguillarum* Strains Isolated from Cod, *Gadus morhua* L., Suffering From Vibriosis, Journal of Fish Diseases, 16, 4, 327-338.
- Koneman, E. W., Allen, S. D., Jr. Dowell, V. R., Janda, W. M., Sommers, M. H. ve Jr. Winn, C. W., 1983. Color Atlas and Textbook, Diagnostic Microbiology, 3, J.B. Lippincott Company, Philadelphia.

- Korun, J. ve Akaylı, T., 2004. Kültür Levrek Balıklarında Parazitik bir Isopod: *Ceratothoa oestroides* ve Sekonder Bakteriyal Enfeksiyonlar Olgusu, İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 30, 2, 123-132.
- Korun, J. ve Timur, G., 2005. The First Pasteurellosis Case in Cultured Sea Bass (*Dicentrarchus labrax* L.) at Low Marine Water Temperatures in Turkey, Israeli Journal of Aquaculture 57, 3, 197-206.
- Korun, J. ve Timur, G., 2008. Marine Vibrios Associated with Diseased Sea Bass (*Dicentrarchus labrax*) in Turkey, Journal of Fisheries Sciences, 2, 1, 66-67.
- Kubota, S. S., Kimura, M. ve Egusa, S., 1997. Studies of Bacterial Tuberculoidosis of Yellowtail, I.Symptomatology and Histopathology, Fish Pathol., 4, 111-118.
- Kubota, S. S. ve Takakuwa, M., 1963. Studies on the Diseases of Marine Cultured Fishes, I.General Description and Preliminary Discussion of Fish Diseases in the Mie Prefecture, Journal of the Faculty of Fisheries, 6, 107-124.
- Kusuda, R. ve Inoue, K., 1976. Studies on the Application of Ampicillin for Pseudotuberculosis of Cultured Yellowtails: I. In Vitro Studies on Sensitivity, Development of Drug-Resistance and Reversion of Acquired Drug Resistance of *Pasteurella piscicida*, Bull. Jap. Scient. Fish, 42, 969-973.
- Kusuda, R. ve Yamaoka, M., 1972. Etiological Studies on Bacterial Pseudotuberculosis in Cultured Yellow Tail with *Pasteurella piscicida* as the Causative Agent, Bull. Jap. Scient. Fish, 38, 1325-1332.
- Labella, A., Sanchez-Montes, N., Berbel, C., Aparicio, M., Castro, D., Manchado, M. ve Borrego, J. J., 2010. Toxicity of *Photobacterium damsela* subsp. *damsela* Strains Isolated from New Cultured Marine Fish, Dis. Aquat. Organ., 92, 1, 31-40.
- Labella, A., Vida, M., Alonso, M. C., Infante, C., Cardenas, S., Lopez-Romalde, S., Manchado, M. ve Borrego, J. J., 2006. First Isolation of *Photobacterium damsela* ssp. *damsela* From Cultured Redbanded Seabream, *Pagrus auriga* Valenciennes, in Spain, Journal of fish diseases, 29, 3, 175-179.
- Lallier, R., Bernard, F. ve Lalonde, G., 1984. Difference in the Extracellular Products of Two Strains of *Aeromonas hydrophila* Virulent and Weakly Virulent for Fish, Canadian Journal of Microbiology, 30, 7, 900-904.
- Lamers, C. H. L. ve de Haas, M. J. M., 1983. The Development of Immunological Memory in Carp (*Cyprinus Carpio* L.) to Bacterial Antigen, Developmental and Comparative Immunology 7, 713-714.
- Larsen, J. L., 1984. *Vibrio anguillarum*: Influence of Temperature, pH, NaCl Concentration and Incubation Time on Growth, Journal of Applied Microbiology, 57, 2, 237-246.

- Laurencin, F. B. ve German, E., 1987. Experimental Infection of Rainbow Trout, *Salmo gairdneri* R., by Dipping in Suspensions of *Vibrio anguillarum* Ways of Bacterial Penetration; Influence of Temperature and Salinity, Aquaculture 67, 23-25.
- Li, G., Zhao, D., Huang, L., Sun, J., Gao, D., Wang, H., Tan, Y. ve Liang, L., 2006. Identification and Phylogenetic Analysis of *Vibrio vulnificus* Isolated from Diseased *Trachinotus ovatus* in Cage Mariculture, Aquaculture, 261, 1, 17-25.
- Liu, P. C., Lee, K. K. ve Chen, S. N., 1997. Susceptibility of Different Isolates of *Vibrio harveyi* to Antibiotics, Microbios, 91, 368-369, 175.
- Llobrera, A. T. ve Gacutan, R. Q., 1987. *Aeromonas hydrophila* Associated with Ulcerative Disease Epizootic in Laguna De Bay, Philippines, Aquaculture, 67, 3-4, 273-278.
- Love, M., Fisher, D. T., Hose, J. E., Farmer, J. J., Hickman, F. W. ve Fanning, G. R., 1981. *Vibrio damsela*, a Marine Bacterium, Causes Skin Ulcers on the Damselfish *Chromis punctipinnis*, Science (New York, NY), 214, 4525, 1139.
- López-Romalde, S., Magariños, B., Núñez, S., Toranzo, A. E. ve Romalde, J. L., 2003. Phenotypic and Genetic Characterization of *Pseudomonas anguilliseptica* Strains Isolated from Fish, Journal of Aquatic Animal Health, 15, 1, 39-47.
- Lönström, L., Wiklund, T. ve Bylund, G., 1994. *Pseudomonas anguilliseptica* Isolated from Baltic Herring *Clupea harengus* Membras with Eye Lesions, Journal of Fish Diseases, 18, 143-147.
- Macián, M. C., Garay, E., Grimont, P. A. D. ve Pujalte, M. J., 2004. *Vibrio ponticus* sp. nov., a Neighbour of *V. fluvialis*-*V. furnissii* Clade, Isolated from Gilthead Sea Bream, Mussels and Seawater, Systematic and Applied Microbiology, 27, 5, 535-540.
- Magariños, B., Couso, N., Noya, M., Merino, P., Toranzo, A. E. ve Lamas, J., 2001. Effect of Temperature on the Development of Pasteurellosis in Carrier Gilthead Seabream (*Sparus aurata*), Aquaculture, 195, 1-2, 17-21.
- Magariños, B., Toranzo, A. E. ve Romalde, J. L., 1996. Phenotypic and Pathobiological Characteristics of *Pasteurella piscicida*, Annual Review of Fish Diseases, 6, 0, 41-64.
- Mahmud, Z. H., Wright, A. C., Mandal, S. C., Dai, J., Jones, M. K., Hasan, M., Rashid, M. H., Islam, M. S., Johnson, J. A. ve Gulig, P. A., 2010. Genetic Characterization of *Vibrio vulnificus* Strains from Tilapia Aquaculture in Bangladesh, Appl. Environ. Microbiol., 76, 14, 4890-4895.

- Matsusato, T., 1975. Bacterial Tuberculoidosis of Cultured Yellowtail, Proceedings of the third US-Japan Meeting on Aquaculture at Tokyo, Japan, October 15-16, 1974: under the Aquaculture Panel, US-Japan Cooperative Program in Natural Resources (UJNR), 115.
- Munro, P. O., Barbour, A. ve Blrkbeck, T. H., 1994. Comparison of the Gut Bacterial Flora of Start Feeding Larval Turbot Reared Under Different Conditions, Journal of Applied Microbiology, 77, 5, 560-566.
- Moretti, A., Fernandez-Criado, M. P., Cittilon, G. ve Guidastrri, R., 1999. Manual on Hatchery Production of Seabass and Gilthead Seabream, FAO, Italy.
- Morris, J. G. ve Black, R. E., 1985. Cholera and Other Vibrioses in the United States, New England Journal of Medicine, 312, 6, 343-350.
- Muroga, K., 1975. Studies on *Vibrio anguillarum* and *Vibrio anguillcida* Infections, Journal of The Faculty of Fisheries and Animal Husbandry, 14, 101-105.
- Muroga, K., Iida, M., Matsumoto, H. ve Nakai, T., 1986. Detection of *Vibrio anguillarum* from Waters (Sea Waters and freshwaters), Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries, 52, 641-648.
- Muroga, K., Jo, Y. ve Nishibuchi, M., 1976a. Pathogenic *Vibrio* Isolated from Cultured Eels, I. Characteristics and Taxonomic Status Fish Pathology, 12, 147-151.
- Muroga, K., Jo, Y. ve Nishibuchi, M., 1976b. Pathogenic *Vibrio* Isolated from Cultured Eels, II. Physiological Characteristics and Taxonomic Status, Fish Pathology, 12, 141-145.
- Muroga, K., Sugiyama, T. ve Ueki, N., 1977. Pasteurellosis in Cultured Black Sea Bream, Fish Pathol., 16, 27-21.
- Muroga, K., Yamanoi, H., Nishibuchi, M. ve Takahashi, S., 1979. Non-cholera *Vibrio* Isolated from Diseased Ayu (Reshwater Fish), Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries 45, 7, 829-834.
- Nagpal, M. L., Fox, K. F. ve Fox, A., 1998. Utility of 16S–23S rRNA Spacer Region Methodology: How Similar are Interspace Regions within a Genome and Between Strains for Closely Related Organisms?, Journal of Microbiological Methods, 33, 3, 211-219.
- Nakai, T., Fujiie, N., Muroga, K., Arimoto, M., Mizuta, Y. ve Matsuoka, S., 1992. *Pasteurella piscicida* Infection in Hatchery-Reared Juvenile Striped Jack (*Pseudocaranx dentex*), Fish Pathology, 27, 103-108.
- Nawaz, M., Sung, K., Khan, S. A., Khan, A. A. ve Steele, R., 2006. Biochemical and Molecular Characterization of Tetracycline-Resistant *Aeromonas veronii* isolates from Catfish, Applied and Environmental Microbiology, 72, 10, 6461-6466.

- Naylor, R. L., Goldberg, R. J., Primavera, J. H., Kautsky, N., Beveridge, M. C. M., Clay, J., Folke, C., Lubchenco, J., Mooney, H. ve Troell, M., 2000. Effect of Aquaculture on World Fish Supplies, Nature, 405, 6790, 1017-1024.
- Nieto, T. P., Corcobado, M. J. R., Toranzo, A. E. ve Barja, J. L., 1985. Relation of Water Temperature to Infection of *Salmo gairdneri* (Rainbow trout) with Motile *Aeromonas*, Fish Pathology, 20, 99-105.
- Nigrelli, R. F. ve Vogel, H., 1963. Spontaneous Tuberculosis in Fishes and Other Cold-Blooded Vertebrates with Special Reference to *Mycobacterium fortuitum* Cruz From Fish And Human Lesions, Zoologica, 48, 130-143.
- Nishibuchi, M. ve Muroga, K., 1977. Pathogenic *Vibrio* Isolated From Cultured Eels, III. NaCl Tolerance and Flagellatio, Fish Pathology, 12, 87-97.
- Nishibuchi, M. ve Muroga, K., 1980. Pathogenic *Vibrio* Isolated From Cultured Eels, V.Serological Studies, Fish Pathology, 12, 87-97.
- Noga, E. J., 1996. Fish Diseases, Diagnosis and Treatment, 367, Mosby-Year Book, Inc.
- Noya, M., Magariños, B., Toranzo, A. E. ve Lamas, J., 1995. Sequential Pathology of Experimental Pasteurellosis in Gilthead Seabream *Sparus aurata*. A Light- and Electron-Microscopic Study, Diseases of Aquatic Organisms, 21, 3, 177-186.
- Ogara, W. O., Mbuthia, P. G., Kaburia, H. F. A., Sorum, H., Kagunya, D. K., Nduthu, D. I. ve Colquhoun, D., 1998. Motile *Aeromonads* Associated with Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) Mortality in Kenya, Bulletin of the European of Fish Pathologists, 18, 7-9.
- Ogut, H. ve Uzun, E., 2012. Incidence and Prevalence of *Diplectanum aequans* and Its Influence on the Fitness of Juvenile Sea bass (*Dicentrarchus labrax*) in the Black Sea, Aquaculture Research.
- Oliver, G., 1977. Effect Pathogène De La Fixation De *Diplectanum aequans* (Wagener, 1857) Diesing, 1858 (Monogenea, Monopisthocotylea, Diplectanidae) Sur Les Branchies De *Dicentrarchus labrax* (Linnaeus, 1758), (Pisces, Serranidae), Zeitschrift für Parasitenkunde, 53, 1, 7-11.
- Öğüt, H. 2012. Kişisel İletişim.
- Ozdemir, G., Pazarbasi, B., Kocyigit, A., Omeroglu-Ersoy, E., Yasa, I. ve Karaboz, I., 2008. Decolorization of Acid Black 210 by *Vibrio harveyi* TEMS1, a Newly Isolated Bioluminescent Bacterium from Izmir Bay, Turkey, World Journal of Microbiology and Biotechnology, 24, 8, 1375-1381.
- Özkök, S., 2005. Gökkuşluğu Alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) Görülen Önemli Bakteriyel Etkenlerin Tespiti ve Antibiyotiklere Duyarlılıklarının Saptanması, Etlık Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi, 16, 1-2, 1-11.

- Paling, J. E., 1966. The Attachment of the Monogenean *Diplectanum aequans* (Wagener) Diesing to the Gills of *Morone labrax* L., Parasitology, 56, 03, 493-503.
- Paperna, I., 1984. Review of Diseases Affecting Cultured *Sparus aurata* and *Dicentrarchus labrax*, G. B. Ed., R. Billard, IRNA Pulb., Paris.
- Paperna, I., 1996. Parasites, infections and diseases of fishes in Africa, an update, Rome, 220.
- Pedersen, K., Dalsgaard, I. ve Larsen, J. L., 1997. *Vibrio damsela* Associated with Diseased fish in Denmark, Applied and Environmental Microbiology, 63, 9, 3711-3715.
- Phillips, P. H., 1988. Post Motem Examination of Fish, Fish Disease Refresher Course for Veterinerians, University of Sydney, Journal of Fish Diseases, Sydney.
- Pickering, A. D. ve Pottinger, T. G., 1989. Stress Responses and Disease Resistance in Salmonid Fish: Effects of Chronic Elevation of Plasma Cortisol, Fish Physiology and Biochemistry, 7, 1-6, 253-258.
- Plumb, A. J., 1999. Health Maintenance Microbiology Fish Disease Laboratory Manual, Iowa State University Press, Iowa State University.
- Post, G. W., 1987. Textbook of Fish Health TFH Publications, New Jersey.
- Pujalte, M. J., Sitjà-Bobadilla, A., Macián, M. C., Belloch, C., Álvarez-Pellitero, P., Pérez-Sánchez, J., Uruburu, F. ve Garay, E., 2003. Virulence and Molecular Typing of *Vibrio harveyi* Strains Isolated from Cultured Dentex, Gilthead Sea Bream and European Sea Bass, Systematic and Applied Microbiology, 26, 2, 284-292.
- Pylkkö, P., Suomalainen, L. R., Tirola, M. ve Valtonen, E. T., 2006. Evidence of Enhanced Bacterial Invasion During *Diplostomum spathaceum* Infection in European Grayling, *Thymallus thymallus* (L.), Journal of Fish Diseases, 29, 2, 79-86.
- Rahim, Z., Aziz, K. M. S., Huq, M. I. ve Saeed, H., 1985. Isolation of *Aeromonas hydrophila* from the Wounds of Five Species of Brackish Water Fish of Bangladesh, Bangladesh Journal of Zoology, 13, 37-42.
- Rajapandiyam, S., Sudha, K. ve Arunachalam, K. D., 2009. Prevalence and Distribution of *Vibrio vulnificus* in Fishes Caught off Chennai, Indian Ocean, African Journal of Microbiology Research, 3, 10, 622-625.
- Ransom, D. P., Lannan, C. N., Rohovec, J. S. ve Fryer, J. L., 1984. Comparison of Histopathology Caused by *Vibrio anguillarum* and *Vibrio ordalii* in three Species of Pacific Salmon, Journal of Fish Diseases, 7, 2, 107-115.

- Reddacliff, G. L., Hornitzky, M., Carson, J., Petersen, R. ve Zelski, R., 1993. Mortalities of Goldfish, *Carassius auratus* (L.), Associated with *Vibrio cholerae* (non-01) Infection, Journal of Fish Diseases, 16, 5, 517-520.
- Renault, T., Haffner, P., Malfondet, C. ve Weppe, M., 1994. *Vibrio damsela* as a Pathogenic Agent Causing Mortalities in Cultured Sea bass (*Lates calcarifer*), Bulletin of the European Association of Fish Pathologists 14, 4, 117-119.
- Roberts, R. J., 2012. The Bacteriology of Teleosts, Wiley-Blackwell.
- Ruangpan, L., Kitao, T. ve Yoshida, T., 1986. Protective Efficacy of *Aeromonas hydrophila* Vaccines in Nile Tilapia Veterinary Immunology and Immunopathology, 12, 345-350.
- Rucker, R. R. 1963. Status of Fish Diseases and Relation to Production, Seattle 98-101.
- Saeed, M. O., 1995. Association of *Vibrio harveyi* with Mortalities in Cultured Marine Fish in Kuwait, Aquaculture, 136, 1, 21-29.
- Sağlam, Y. S., Işık, N., Arslan, A. ve Erer, H., 2006. Erzurum Bölgesindeki Gökkuşığı Alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss* W. 1792) *Aeromonas hydrophila* ve *Yersinia ruckerii* İzolasyonu ve Patolojik İncelemeler, Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi, 1, 1-2, 1-6-10.
- Sakata, T., Matsuura, M. ve Shimkawwa, Y., 1989. Characteristics of *Vibrio damsela* Isolated from Diseased Yellowtail *Seriola quinqueradiata*, Bulletin of the Japanese Society of Fisheries Science, 55, 135-141.
- Sanarelli, G., 1891. Über Einen Neuen Microorganismen des Wassers, Welche für Thiere mit Veraenderlicher und Konstanter Temperatur Pathogenist, Zentralblatt für Bakteriologie, Parazitenkunde, Infektionskrankheiten and Hygiene, 9, 193-228.
- Sanders, J. E. ve Fryer, J. L., 1988. Methods in Aquatic Bacteriology, John Wiley and Sons Ltd., Chichester, England.
- Sano, M., Nakano, H., Kimura, T. ve Kusuda, R., 1994. Therapeutic Effect of Fosfomycin on Experimentally Induced Pseudotuberculosis in Yellowtail, Fish Pathology, 29, 187-192.
- Satomi, M., La Duc, M. T. ve Venkateswaran, K., 2006. *Bacillus safensis* sp. nov., Isolated from Spacecraft and Assembly-facility Surfaces, International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 56, 8, 1735-1740.
- Savaş, H., Yıldırım, Y., Kurtoğlu, İ. Z., Başçınar, N., Alkan, A., Gürel, M., Ergün, H., Firidin, Ş., Kutlu, İ., Serdar, S. ve Zengin, B. 2006. Ordu İli Perşembe İlçesi'nde Faaliyet Gösteren Yüzer Kafes İşletmelerinin Çevresel Etki ve Su Ürünleri Sağlığı Yönünden İzlenmesi Projesi, Sonuç Raporu, Trabzon 13-15.

- Sawyer, E. S., Strout, R. G. ve Coutermarsh, B. A., 1979. Comparative Susceptibility of Atlantic (*Salmo salar*) and Coho (*Oncorhynchus kisutch*) Salmon to Three Strains of *Vibrio anguillarum* From The Maine – New Hampshire Coast, Journal of the Fisheries Research Board of Canada, 36, 3, 280-282.
- Schachte, J. H., 1978. Immunization of channel catfish, *Ictalurus punctatus*, Against Two Bacterial Diseases, Marine Fisheries Review, 40, 18-19.
- Schiewe, M., Trust, T. ve Crosa, J., 1981. *Vibrio ordalii* sp. nov.: A causative Agent of Vibriosis in Fish, Current Microbiology, 6, 6, 343-348.
- Schiewe, W. H., 1981. Taxonomic Status of Marine Vibrios Pathogenic for Salmonid Fish, Developments in Biological Standardization, 49, 149-158.
- Seppälä, O., Karvonen, A., Tellervo Valtonen, E. ve Jokela, J., 2009. Interactions Among Co-Infecting Parasite Species: A Mechanism Maintaining Genetic Variation in Parasites, Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences, 276, 1657, 691-697.
- Shotts, E. B., Gaines, J., Martin, L. ve Prestwood, A. K., 1972. Aeromonas-Induced Deaths Among Fish and Reptiles in an Eutrophic Inland Lake, American Veterinary Medicine Association, 161, 603-607.
- Silan, P., Birgi, E., Louis, C., Clota, F., Mathieu, A. ve Giral, L., 1996. Aquaculture and Ichthyoparasitology: In Vitro Action of Nitroxinil (Anthelmintic) *Diplectanum aequans*, Gill Ectoparasite of the Sea bass *Dicentrarchus labrax*, Recueil De Medecine Veterinaire, 172, 7-8, 401-407.
- Simidu, U. ve Egusa, S., 1972. A Re-Examination of the Fish-Pathogenic Bacterium that had been Reported as a *Pasteurella* Species, Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish 38, 803–812.
- Sindermann, C. J., 1970. Principal Diseases of Marine Fish and Shellfish.
- Sitjà-Bobadilla, A., Pujalte, M. J., Macián, M. C., Pascual, J., Alvarez-Pellitero, P. ve Garay, E., 2006. Interactions Between Bacteria and *Cryptosporidium molnari* in Gilthead Sea Bream (*Sparus aurata*) under Farm and Laboratory Conditions, Veterinary Parasitology, 142, 3–4, 248-259.
- Smith, S. K., Sutton, D. C., Fuerst, J. A. ve Reichelt, J. L., 1991. Evaluation of the Genus *Listonella* and Reassignment of *Listonella damsela* (Love et al.) MacDonell and Colwell to the Genus *Photobacterium* as *Photobacterium damsela* comb. nov. with an Emended Description, International Journal of Systematic Bacteriology, 41, 4, 529-534.
- Snieszko, S. F., Bullock, G. L., Dunbar, C. E. ve Pettijohn, L. L., 1964. Nocardial Infection in Hatchery-Reared Fingerling Rainbow Trout (*Salmo gairdneri*), Journal of Bacteriology, 88, 1809-1813.



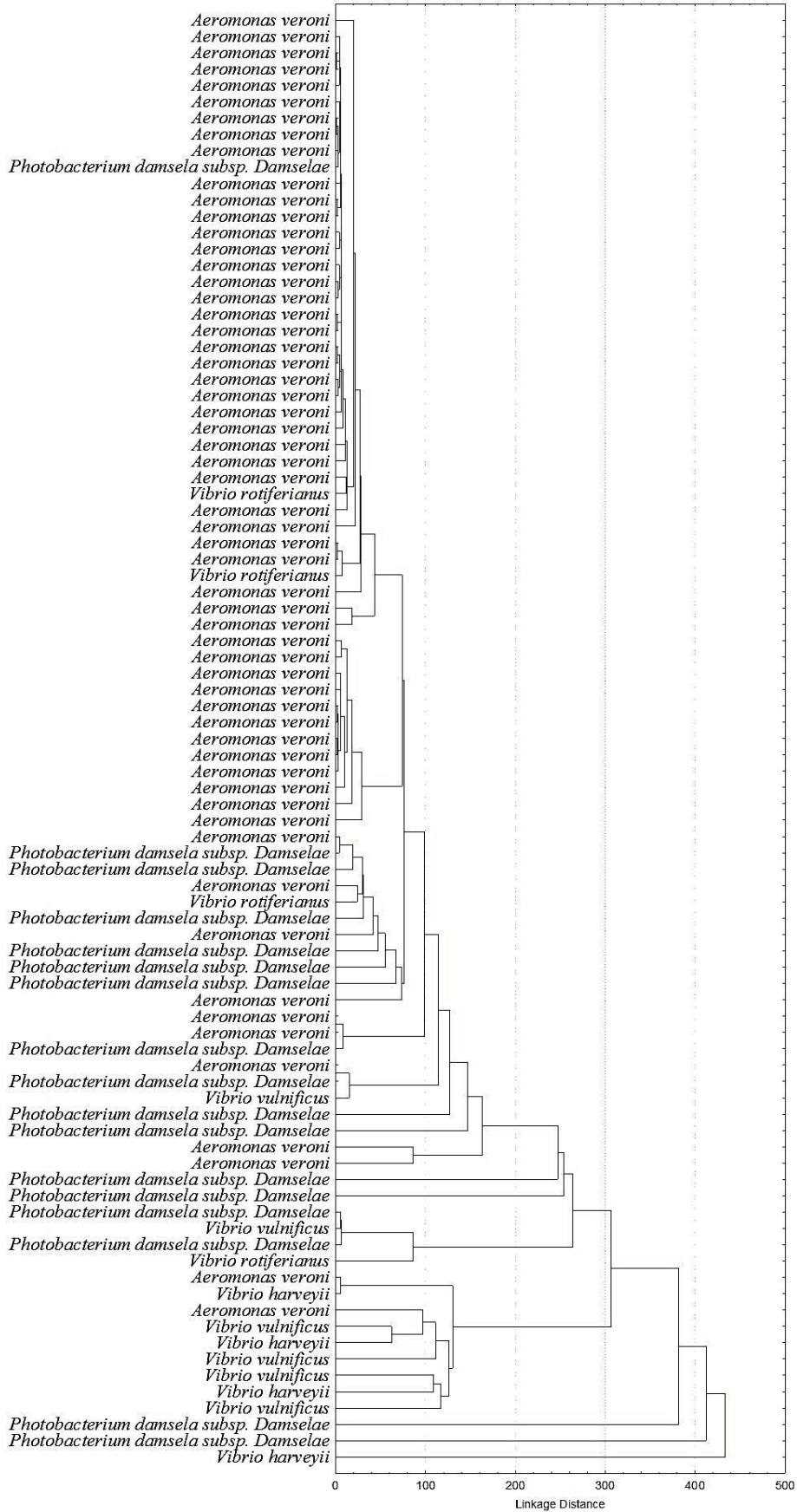
- Sørensen, U. B. ve Larsen, J. L., 1986. Serotyping of *Vibrio anguillarum*, Applied and Environmental Microbiology, 51, 3, 593-597.
- Stoskopf, M. K., 1993. Fish Medicine, 882, W.B. Saunders, Philadelphia, PA.
- Timur, G. ve Timur, M., 2003. Balık Hastalıkları, İstanbul Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi, İstanbul.
- Timur, G., Timur, M., Akaylı, T. ve Çamlıbel, U. R., 2004. Kültür Çipura (*Sparus aurata*) Balıklarında Oodiniasis, İstanbul Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi.
- Timur, G., Timur, M., Karataş, S. ve Akaylı, T., 1999. *Ichthyophonus hoferi* ile Enfekte Olmuş Kültür Levreklerinde (*Dicentrarchus labrax*) Görülen Pasteurellosis Hastalığı Üzerine Bir Çalışma, İstanbul Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi, Özel sayı, 447-453.
- Tison, D. L., Nishibuchi, M., Greenwood, J. D. ve Seidler, R. J., 1982. *Vibrio vulnificus* Biogroup 2: New Biogroup Pathogenic for Eels, Applied and Environmental Microbiology, 44, 3, 640-646.
- Toksen, E., 2007a. *Lernanthropus kroyeri* van Beneden, 1851 (Crustacea: Copepoda) Infections of Cultured Sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.), Bulletin European Association of Fish 27, 49-53.
- Toksen, E., 2007b. Treatment Trials of Gill Parasite *Diplectanum aequans* (Monogenea : Diplectanidae) of Cultured Gilthead Sea Bass (*Dicentrarchus labrax*) in Aegean Sea, Ekoloji, 16, 62, 66-71.
- Toranzo, A. E. ve Barja, J. L., 1990. Review of the Taxonomy and Seroepizootiology of *Vibrio anguillarum*, with Special Reference to Aquaculture in the Northwest of Spain, Disease of Aquatic Organism, 9, 73-82.
- Toranzo, A. E., Barreiro, S. n., Casal, J. F., Figueras, A., Magariños, B. ve Barja, J. L., 1991. Pasteurellosis In Cultured Gilthead Seabream (*Sparus aurata*): First Report in Spain, Aquaculture, 99, 1-2, 1-15.
- Toranzo, A. E., Baya, A. M., Romalde, J. L. ve Hetrick, F. M., 1989. Association of *Aeromonas sobria* with Mortalities of Adult Gizzard shad, *Dorosoma cepedianum*, Lesueur, Journal of Fish Diseases, 12, 5, 439-448.
- Toranzo, A. E., Magariños, B. ve Romalde, J. L., 2005. A Review of the Main Bacterial Fish Diseases in Mariculture Systems, Aquaculture, 246, 1-4, 37-61.
- Toranzo, A. E., Novoa, B., Baya, A. M., Hetrick, F. M., Barja, J. L. ve Figueras, A., 1993. Histopathology of Rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), and Striped bass, *Morone saxatilis* (Walbaum), Experimentally Infected with *Carnobacterium piscicola*, Journal of Fish Diseases, 16, 3, 261-267.

- Trust, T. J., 1986. Pathogenesis of Infectious-Diseases of Fish, Annual Review of Microbiology, 40, 479-502.
- TÜİK, <http://www.tuik.gov.tr/PreHaberBultenleri.do?id=6284> Su Ürünleri İstatistikleri. 11 Ocak.
- Uçal, O. ve Benli, H. A., 1993. Levrek Balığı Yetiştiriciliği ve Yetiştirme Teknikleri, T.C. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, Su Ürünleri Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Seri A, 3, 112-113.
- Van Dujin, C., 1981. Tuberculosis in Fishes, Journal of Small Animal Practices, 22, 391-411.
- Vandenbergh, J., Thompson, F. L., Gomez-Gil, B. ve Swings, J., 2003. Phenotypic Diversity Amongst *Vibrio* Isolates from Marine Aquaculture Systems, Aquaculture, 219, 1, 9-20.
- Vera, P., Navos, J. I. ve Fouz, B., 1991. First Isolation of *Vibrio damsela* from Seabream (*Sparus aurata*), Bull. Eur. Ass. Fish Pathol, 11, 3, 112-113.
- Wahli, T., Burr, S. E., Pugovkin, D., Mueller, O. ve Frey, J., 2005. *Aeromonas sobria*, a Causative Agent of Disease In Farmed Perch, *Perca fluviatilis* L., Journal of Fish Diseases, 28, 3, 141-150.
- Wakabayashi, H. ve Egusa, S., 1972. Characteristics of a *Pseudomonas* sp. from an Epizootic of Pond Cultured Eels (*Anguilla japonica*), Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries, 38, 931-936.
- Wakabayashi, H., Kanai, K., Hsu, T. C. ve Egusa, S., 1981. Pathogenic Activities of *Aeromonas hydrophila* biovar *hydrophila* (Chester) Popoff and veron, 1976 to Fishes, Fish Pathology, 15, 3, 319-325.
- Watkins, W. D., Wolke, R. E. ve Cabelli, V. J., 1981. Pathogenicity of *Vibrio anguillarum* for Juvenile Winter Flounder, *Pseudopleuronectes americanus*, Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 38, 9, 1045-1051.
- Wolke, R. E., 1975. Pathology of Bacterial and Fungal Diseases Affecting Fish, University of Wisconsin Press., Madison, Wisconsin.
- Woo, N. Y. S., Ling, J. L. M. ve Lo, K. M., 1995. Pathogenic *Vibrio* spp. in the Sea bream, *Sparus sarba*, Journal of Sun Yetsen University Supplement, 3, 192-193.
- Xie, Z. Y., Hu, C. Q., Zhang, L. P., Chen, C., Ren, C. H. ve Shen, Q., 2007. Identification and pathogenicity of *Vibrio ponticus* affecting cultured Japanese sea bass, *Lateolabrax japonicus* (Cuvier in Cuvier and Valenciennes), Letters in Applied Microbiology, 45, 1, 62-67.

- Yasuana, N., Hatai, K. ve Tsukahara, 1983. *Pasteurella piscicida* From an Epizootic of Cultured Red Sea Bream, Fish Pathology, 138, 2491-2493.
- Yasunaga, N. ve Yasumoto, S., 1988. Therapeutic Effect of Florfenicol on Experimentally Induced Pseudotuberculosis (with *Pasteurella piscicida*) in Yellowtail (*Seriola quinqueradiata*), Fish Pathology, 23, 1-5.
- Ye, J., Foo, R. W. T., Lo, K. M., Zeng, J. S., Ling, J. L. M., Woo, N. Y. S. ve Xu, H. S., 1997. Studies on the Pathogens of Vibriosis in Cultured Sea Bream (*Sparus sarba*) in Hong Kong, Journal of Marine Science.
- Zhang, X. H. ve Austin, B., 2000. Pathogenicity of *Vibrio harveyi* to Salmonids, Journal of Fish Diseases, 23, 2, 93-102.
- Zorrilla, I., Arijo, S., Chabrigon, M., Diaz, P., Martinez-Manzanares, E., Balebona, M. C. ve Moriñigo, M. A., 2003. Vibrio Species Isolated from Diseased Farmed Sole, *Solea senegalensis* (Kaup), and Evaluation of the Potential Virulence Role of Their Extracellular Products, Journal of Fish Diseases, 26, 2, 103-108.



Tree Diagram for 89 Cases  
Single Linkage  
Squared Euclidean distances



## ÖZGEÇMİŞ

1985 yılında Trabzon'da doğdu. İlk ve orta öğrenimini Trabzon'da tamamladı. 2005 yılında Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji bölümünde lisans eğitimine başladı ve 2009 yılı Haziran ayında mezun oldu.

2009–2010 eğitim öğretim yılında KTÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Balıkçılık Teknolojisi Mühendisliği Anabilim Dalı'nda yüksek lisans öğrenimine başladı. Aralık 2010 tarihinde KTÜ Fen Bilimleri Enstitüsünde 50/d kadrosuyla araştırma görevlisi olarak atandı ve Sürmene Deniz Bilimleri Fakültesi Balıkçılık Teknolojisi Mühendisliği bölümünde görevlendirildi. Halen bu Fakülte'deki görevine devam etmektedir. İyi derecede İngilizce bilmektedir.