

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

**BALIKÇILIK TEKNOLOJİSİ MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**

**KAHVERENGİ ALABALIKLARIN BAZI BAKTERİYEL BALIK  
HASTALIKLARINA KARŞI DİRENCİNİN BELİRLENMESİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Su Ürünleri Müh. Didem ÇETİNDEMİR**

**HAZİRAN 2016**  
**TRABZON**



**KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BALIKÇILIK TEKNOLOJİSİ MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**

**KAHVERENGİ ALABALIKLARIN BAZI BAKTERİYEL BALIK  
HASTALIKLARINA KARŞI DİRENCİNİN BELİRLENMESİ**

**Su Ürünleri Müh. Didem ÇETİNDEMİR**

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

**Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 24.05.2016  
Tezin Savunma Tarihi : 13.06.2016**

**Tez Danışmanı : Prof. Dr. İlhan ALTINOK**

**Trabzon 2016**

**KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**Balıkçılık Teknolojisi Mühendisliği Anabilim Dalında**

**Didem ÇETİNDEMİR Tarafından Hazırlanan**

**KAHVERENGİ ALABALIKLARIN BAZI BAKTERİYEL BALIK  
HASTALIKLARINA KARŞI DİRENCİNİN BELİRLENMESİ**

**başlıklı bu çalışma, Enstitü Yönetim Kurulunun 24/05/2016 gün ve 1654 sayılı  
kararıyla oluşturulan jüri tarafından yapılan sınavda  
YÜKSEK LİSANS TEZİ  
olarak kabul edilmiştir.**

**Jüri Üyeleri**

**Başkan : Prof. Dr. İlhan ALTINOK .....**

**Üye : Doç. Dr. Erol ÇAPKIN .....**

**Üye : Doç. Dr. Şevki KAYIŞ .....**

**Prof. Dr. Sadettin KORKMAZ**

**Enstitü Müdürü**

## ÖNSÖZ

Bu çalışma Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Balıkçılık Teknolojisi Mühendisliği Ana Bilim Dalı'nda yürütülmüştür. "Kahverengi alabalıkların bazı bakteriyel balık hastalıklarına karşı direncinin belirlenmesi" adlı çalışma KTÜ, Deniz Bilimleri Fakültesi, Moleküler Biyoloji Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiş olup, bu çalışma TÜBİTAK tarafından desteklenmiş ve TÜBİTAK 214O595 nolu projenin iş paketinin bir parçasıdır.

Dünyada ilk defa 1950'li yıllarda Amerika'nın Idaho eyaletinde, ülkemizde ise ilk defa 1991 yılında Denizli yöresinde ortaya çıkan *Yersinia ruckeri*, ülkemizde ve dünyada geniş bir yayılım göstermektedir. *Y. ruckeri*, yersiniosis hastalığına neden olmaktadır. *Listonella anguillarum* gram negatif bakterilerden oluşan bir bakteri türüdür. *Lactococcus garvieae* gram pozitif bir bakteri olup özellikle Uzak Doğu'da tuzlu su balıklarını etkilediği bilinen bir balık patojenidir. Bu araştırmayla kahverengi alabalıkların *Y. ruckeri*, *L. anguillarum* ve *L. garvieae* bakterilerine karşı direnci belirlenmiştir.

Tez danışmanlığımı üstlenerek bilgi ve desteklerini esirgemeyen değerli hocam Sayın Prof. Dr. İlhan ALTINOK'a teşekkürlerimi bir borç bilirim. Tez çalışmamın laboratuvar çalışmalarında benden yardımlarını esirgemeyen sayın hocalarım Doç. Dr. Erol ÇAPKIN'a, Arş. Gör. Rafet Çağrı ÖZTÜRK'e ve Arş.Gör.Gökhan KALAYCI'ya teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Bütün hayatım boyunca benden maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen aileme de teşekkürlerimi borç bilirim.

Didem ÇETİNDEMİR  
Trabzon, 2016

## **TEZ ETİK BEYANNAMESİ**

Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “Kahverengi Alabalıkların Bazı Bakteriyel Balık Hastalıklarına Karşı Dirençinin Belirlenmesi” başlıklı bu çalışmayı baştan sona kadar danışmanım Prof. Dr. İlhan ALTINOK’un sorumluluğunda tamamladığımı, verileri kendim topladığımı, analizleri ilgili laboratuvarlarda yaptığımı, 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. 13/06/2016

Didem ÇETİNDEMİR

## İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
ÖNSÖZ.....	III
TEZ ETİK BEYANNAMESİ.....	IV
İÇİNDEKİLER.....	V
ÖZET .....	VII
SUMMARY .....	VIII
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	IX
TABLolar DİZİNİ.....	X
SEMBOLLER DİZİNİ .....	XI
1. GENEL BİLGİLER.....	1
1.1. Giriş.....	1
1.2. Kahverengi Alabalıklar .....	2
1.2.1. <i>Salmo t. labrax</i> .....	3
1.2.2. <i>Salmo t. caspius</i> .....	3
1.2.3. <i>Salmo t. abanticus</i> .....	4
1.3. Bakteriyel Balık Hastalıkları .....	4
1.4. Enfeksiyon Metotları .....	6
1.4.1. İmmersiyon Yöntemi.....	6
1.4.2. Cohabitation Yöntemi .....	6
1.4.3. Enjeksiyon Yöntemi .....	7
1.5. Çalışmanın Amacı ve Önemi .....	7
1.6. Önceki Çalışmalar .....	8
2. YAPILAN ÇALIŞMALAR .....	10
2.1. Materyal.....	10
2.1.1. Kahverengi Alabalıklar ve Bakteriler.....	10
2.2. Metot .....	11
2.2.1. Balıkların Bakterilerle Enfeksiyonu .....	11
2.2.1.1. Balıkların <i>Yersinia ruckeri</i> 'ye Karşı Dirençliliklerinin Belirlenmesi .....	11
2.2.1.2. Balıkların <i>Lactococcus garvieae</i> 'ye Karşı Direncinin Belirlenmesi.....	12
2.2.1.3. Balıkların <i>Listonella anguillarum</i> 'a Karşı Direncinin Belirlenmesi.....	12
2.2.2. Biyokimyasal Analiz .....	12
2.2.3. İstatistik .....	13

3.	BULGULAR .....	14
3.1.	Deneme Çalışma Bulguları .....	14
4.	TARTIŞMA.....	20
5.	SONUÇLAR .....	22
6.	ÖNERİLER .....	24
7.	KAYNAKLAR.....	25

ÖZGEÇMİŞ



Yüksek Lisans Tezi

ÖZET

KAHVERENGİ ALABALIKLARIN BAZI BAKTERİYEL BALIK HASTALIKLARINA KARŞI  
DİRENCİNİN BELİRLENMESİ

Didem ÇETİNDEMİR

Karadeniz Teknik Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Balıkçılık Teknolojisi Mühendisliği Anabilim Dalı  
Danışman: Prof. Dr. İlhan ALTINOK  
2016, 27 Sayfa

Bu araştırmada, kahverengi alabalıklardan *Salmo t. labrax*, *Salmo t. caspius* ve *Salmo t. abanticus* ile bunların birbirleriyle çaprazlanmasından elde edilen hibritlerin salmonidlerde yaygın olarak görülen *Yersinia ruckeri*'nin sebep olduğu yersiniosis, *Lactococcus garvieae*'nin sebep olduğu laktokokkosis ve *Listonella anguillarum*'un sebep olduğu vibriosis'e karşı dirençleri belirlenerek hangi grubun bu hastalıklara daha dirençli ve hangilerinin daha hassas oldukları belirlenmeye çalışılmıştır. Çalışmada bakteri enfeksiyonunda her bir grup için 180 adet balık kullanılmıştır. Bakterilerin LD<sub>50</sub> değerini belirlemek için 1x10<sup>10</sup>, 1x10<sup>8</sup>, 1x10<sup>6</sup>, 1x10<sup>4</sup>, 10<sup>2</sup> CFU bakteri balıkların karın boşluğuna enjekte edilmiştir. Enfekte edilen balıklar 30 gün boyunca izlenmiştir. *Yersinia ruckeri* enfeksiyonunda LD<sub>50</sub> değeri 1x10<sup>4,234</sup> - 1x10<sup>7,574</sup> CFU/balık arasında değişirken, *L. garvieae* için 1x10<sup>6,795</sup> - 1x10<sup>8,561</sup> CFU/balık arasında ve *Listonella anguillarum* için LD<sub>50</sub> değeri 1x10<sup>3,773</sup> - 1x10<sup>5,325</sup> CFU/balık aralığında bulunmuştur. Hastalık denemelerinde *Y. ruckeri*, *L. garvieae* ve *L. anguillarum* enfeksiyonlarında gruplar arası önemli istatistiksel farklılıklar tespit edilmiştir. *Yersinia ruckeri*'ye karşı en dayanıklı grup *Salmo t. labrax* x *Salmo t. labrax* iken *L. garvieae*'ya karşı *S. t. labrax* x *S. t. abanticus* ve *L. anguillarum*'a karşıda *S. t. labrax* x *S. t. labrax* ve *S. t. caspius* x *S. t. abanticus* grupları bulunmuştur. *Yersinia ruckeri*'ye karşı en hassas grup ise *S. t. caspius* x *S. t. abanticus* ve *S. t. abanticus* x *S. t. abanticus*, *L. garvieae*'ya karşı *S. t. caspius* x *S. t. abanticus* ve *L. anguillarum*'a karşıda da *S. t. caspius* x *S. t. labrax* ve *S. t. abanticus* x *S. t. abanticus* grupları bulunmuştur. Sonuç olarak, bazı hibritler hastalıklara karşı ebeveynlerinden daha dirençli olduklarından yetiştiricilikte kullanılabilir.

**Anahtar Kelimeler:** *Yersinia ruckeri*, *Lactococcus garvieae*, *Listonella anguillarum*, Kahverengi Alabalık, Hibrit, LD<sub>50</sub>.



Master Thesis

SUMMARY

DETERMINATION OF BROWN TROUT RESISTANCE AGAINST SOME OF THE  
BACTERIAL FISH DISEASES

Didem ÇETİNDEMİR

Karadeniz Technical University  
The Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Fisheries Technology Engineering Graduate Program  
Supervisor: Prof. Dr. İlhan ALTINOK  
2016, 27 Pages

In this study, brown trout species such as *Salmon t. labrax*, *Salmon t. caspius* and *Salmo t. abanticus* and their hybrids derived from the each other crossed were challenged with common bacterial fish diseases agents found in salmonids. The aim of the study was to determine resistant and susceptible brown trout species or their hybrids against yersiniosis caused *Yersinia ruckeri*, lactococcosis caused by *Lactococcus garvieae* and vibriosis caused by *Listonella anguillarum*. In the study, 180 fish were used for each group of each bacterial infections. To determine the LD<sub>50</sub> of bacteria, 1x10<sup>10</sup>, 1x10<sup>8</sup>, 1x10<sup>6</sup>, 1x10<sup>4</sup>, 10<sup>2</sup> CFU of the bacteria were injected into the abdominal cavity of the fish. The infected fish were observed for 30 days. LD<sub>50</sub> values of *Y. ruckeri* exposed fish were ranged between 1x10<sup>4,234</sup> and 1x10<sup>7,574</sup> CFU/fish, while they were ranged between 1x10<sup>6,795</sup> and 10<sup>8,561</sup> CFU/fish for *L. garvieae* and 1x10<sup>3,773</sup> and 1x10<sup>5,325</sup> CFU/fish for *L. anguillarum*. There were significant differences in terms of survival among challenged fish groups for *L. garvieae*, *L. anguillarum* and *Y. ruckeri*. The most resistant species for *Y. ruckeri*, *L. garvieae* and *L. anguillarum* were *Salmo t. labrax* x *Salmo t. labrax*, and *S. t. caspius* x *S. t. abanticus* and *S. t. labrax* x *S. t. labrax* and *S. t. caspius* x *S. t. abanticus*, respectively. The most susceptible species against *Y. ruckeri* were *S. t. caspius* x *S. t. abanticus* and *S. t. abanticus* x *S. t. abanticus*, against *L. anguillarum* were *S. t. caspius* x *S. t. labrax* and *S. t. abanticus* x *S. t. abanticus* and against *L. garvieae* were *S. t. caspius* x *S. t. abanticus*. In conclusion some of the hybrid such as *S. t. caspius* x *S. t. abanticus* were more resistant than their parent to some diseases; therefore, they can be used in aquaculture.

**Key Words:** *Yersinia ruckeri*, *Lactococcus garvieae*, *Listonella anguillarum*, Brown trout, Hybrid, LD<sub>50</sub>.

## ŞEKİLLER DİZİNİ

	<b><u>Sayfa No</u></b>
Şekil 1. <i>Yersinia ruckeri</i> ile enfekte edilen <i>Salmo trutta labrax</i> 'da iç organlarda meydana gelen kaba patolojik değişimler.....	15
Şekil 2. <i>Y. ruckeri</i> ile enfekte edilen <i>Salmo trutta labrax</i> 'ın akvaryumdaki görünümü .....	16
Şekil 3. <i>Salmo trutta labrax</i> ve <i>S. trutta abanticus</i> hibritlerinin <i>Y. ruckeri</i> ile enjekte edildikten sonraki ağız ve solungaçlardaki hemorajiler .....	16
Şekil 4. <i>Lactococcus garvieae</i> enfekte edilen (LA)'da iç organlarda gözükten değişiklikler ve yapıları bozulan organlar .....	17
Şekil 5. <i>L. anguillarum</i> ile enfekte edilen balıkta görülen kanamalar.....	19

## TABLolar DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 1. <i>S. trutta labrax</i> (L), <i>S. trutta abanticus</i> (A) ve <i>S. trutta caspius</i> (C) türlerinin çaprazlanması ile elde edilen hibrit bireyler.....	10
Tablo 2. <i>Y. ruckeri</i> , <i>L. anguillarum</i> ve <i>L. garvieae</i> enfeksiyonunda kullanılan hibrit ve hibrit olmayan balıkların boy ve ağırlık değerleri .....	11
Tablo 3. Hibrit ve hibrit olmayan balıkların <i>Y. ruckeri</i> enfeksiyonu sonunda %50'sinin ölümüne neden olan bakteri miktarı .....	14
Tablo 4. Farklı sayılardaki <i>Yersinia ruckeri</i> , <i>L. anguillarum</i> ve <i>L. garvieae</i> ile enfekte edilen balıkların LD <sub>50</sub> değerlerine göre yapılan yaşama oranı analiz testi ve Cox-Mantel testi sonucuna göre gruplar arasındaki istatistiksel farklar. <i>P</i> değeri 0,05 den büyük olduğu gruplarda (-) işareti kullanılmıştır .....	15
Tablo 5. Kahverengi alabalıkların <i>L. garvieae</i> enfeksiyonu sonunda balıkların %50'sinin ölümüne neden olan bakteri miktarı .....	18
Tablo 6. Kahverengi Alabalıkların <i>L. anguillarum</i> enfeksiyonu sonunda balıkların %50'sinin ölümüne neden olan bakteri miktarı .....	19

## SEMBOLLER DİZİNİ

<b>g</b>	: Gram
<b>cm</b>	: Santimetre
<b>TSA</b>	: Triptik soy agar
<b>°C</b>	: Derece santigrat
<b>CFU</b>	: Koloni oluşturan birim
<b>LD<sub>50</sub></b>	: Canlıların %50'sini öldüren letal doz
<b><i>Y. ruckeri</i></b>	: <i>Yersina ruckeri</i>
<b><i>L. garvieae</i></b>	: <i>Lactococcus garvieae</i>
<b><i>L. anguillarum</i></b>	: <i>L. anguillarum</i>
<b>mg/lt</b>	: Miligram/litre
<b>H<sub>2</sub>S</b>	: Hidrojen sülfür
<b>API</b>	: Analytical profile index
<b>PBS</b>	: Phosphate buffered saline

## 1. GENEL BİLGİLER

### 1.1. Giriş

Su ürünleri yetiştiriciliği, dünya besin gereksiniminin önemli bir kısmını karşılayan temel bir endüstri olmakla birlikte Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) tarafından dünyada en hızlı büyüyen gıda sektörü olarak bildirilmiştir. Su ürünleri yetiştiriciliği, dünya balıkçılık üretiminin yaklaşık %30'unu karşılamakta (Davenport vd., 2003) ve her yıl %10'dan daha fazla artarak büyümektedir.

Su ürünleri yetiştiriciliğini başlatan Çin'de 2001 yılında toplam 34,21 milyon ton üretim yapılmıştır. Bu değer küresel üretimin yaklaşık (48,41milyon ton) %70'ni oluşturmaktadır. Su ürünleri yetiştiriciliğinin liderliğini çeken Çin'i, yine Uzakdoğu ülkeleri olan Hindistan, Endonezya, Japonya ve Tayland izlemektedir (FAO, 2004).

Dünyada yetiştirilen balık, kabuklu ve yumuşakçaların tür sayıları, balıklarda 151, kabuklularda 39 ve yumuşakçalarda ise 72 olmak üzere toplam 262 olarak bildirilmektedir (Garibaldi, 1996). Ancak, yetiştiricilik miktarları dikkate alındığında ilk 30 türün üretim toplamı (30,55 milyon ton) ve toplam yetiştiriciliğin %80,7'sini oluşturmaktadır (FAO, 2004).

Türkiye, su ürünlerine elverişli üretim sahaları yönünden küçümsenmeyecek bir potansiyele ve kapasiteye sahiptir. Ülkemizin sahip olduğu kıyı uzunluğu 8333 km'dir. Söz konusu kıyılar Akdeniz, Ege, Marmara ve Karadeniz bölgelerini kapsamakta olup, birbirlerinden farklı ekolojik özellikler göstermektedir. Tüm denizlerimizden yapılan su ürünleri üretimi 2014 yılında denizlerde ve iç sularda olmak üzere toplamda 537,345 ton olarak belirlenmiştir (TUİK ).

Su ürünleri yetiştiriciliği yapılan türlerden biri olan kahverengi alabalıklar (*Salmo trutta*) özellikle doğal olarak Orta ve Batı Avrupa dağ akarsularında yaşar ve kırmızı benekleri belirgindir. Alabalıklar 0-25°C'de yaşayabilen, minimum 5,5 mg/l doymuş oksijen gereksinimi olan optimum gelişme sıcaklığı olarak 15-16°C'deki su ortamlarını tercih eden türlerdir (Roberts ve Shepherd,1997; Kayış, 2009).

Su ürünleri sektöründe karşılaşılan en önemli sorunlardan birisi de hastalıklardır. Yersiniosis ve vibriosis bakteriyel kökenli hastalıklar olup, su ürünleri yetiştiriciliği yapan işletmelerde ciddi ölümlere sebep olmaktadır (Lasee, 1995; Timur ve Timur, 2003).

Hastalıkları önlemede bilinçsiz olarak kullanılan ilaçlar hem ekonomik kayıplara ve hem de çevre kirliliğine neden olmaktadır. Bu nedenle hastalıkları önlemede öldürücü dozun bilinmesi, tedavide etkili olarak olumsuz etkileri azalmaktadır. Bu çalışmada, *Yersinia ruckeri*, *Listonella (Vibrio) anguillarum* ve *Lactococcus garvieae* bakterilerinin farklı dozlarına karşı *Salmo trutta labrax*, *Salmo t. caspius*, *Salmo t. abanticus* ve bunların birbirleriyle çaprazlanmasından elde edilen hibritlerin göstermiş olduğu hayatta kalma oranları araştırılmıştır.

## 1.2. Kahverengi Alabalıklar

Kahverengi alabalıklar, paleoarktik bölgenin doğasında en fazla bulunan tatlı su balıklarıdır. Doğal olarak çok farklı ve uzak formları Avrupa, Orta Asya, Batı Asya ve Kuzey Afrika'nın bir kısmında gözlenir. Dünyanın birçok bölgesine götürülerek aşılama yapılmıştır. Günümüzde Afrika'nın çoğu kısmında sahil alanları, göller ve nehirlerde bulunur. Kahverengi alabalıklar diğer Salmonidlere nazaran daha fazla güvenli alanları seçtiklerinden yakalanmaları oldukça zordur. Kahverengi alabalıklar su sıcaklığının 12-19°C arasında olduğu gölleri ve soğuk ve temiz yerleri tercih ederler. Bu balıkların üreme sezonu Eylül ayından Aralık ayının sonuna kadar devam eder (Tabak vd., 2001).

Kahverengi alabalıklar (*Salmo trutta* spp.)'ın günümüzde Avrupa'da beş ülkede ticari olarak ve Avrupa dışında 24 ülkede balıklandırma, rekreasyon ve yetiştiricilik amaçlı olarak üretim ve kültür çalışmaları yapılmaktadır. Kahverengi veya yerli alabalık (*Salmo trutta*) Türkiye sularının doğal ihtiyofaunasının üyeleridir. Kahverengi alabalıklar morfolojik ve meristik özelliklere dayanılarak çeşitli alt türlere tanımlanmıştır. Renk, form, beneklenme ve smoltlaşma durumuna göre farklı görünümde olmakla birlikte aynı havza içerisinde farklı formlarda bireyler örneklenebilir. Adapte oldukları ortam veya coğrafi bölgeye göre dere alası, denizalası, gölhalası gibi ekotipleri mevcuttur. Bunlar; Karadeniz Alabalığı (*Salmo trutta labrax*), Kafkas alabalığı (*Salmo trutta caspius*) ve Abant alabalığı (*Salmo trutta abanticus*), Anadolu alabalığı (*S. t. macrostigma*), Hazar alası (*S. t. caspius*) ve *S. t. platycephalus* şeklinde sıralanabilir (Turan vd., 2009).

### 1.2.1. *Salmo t. labrax*

Akarsuların kaynağa yakın yerlerinde bulunurlar. Cinsi olgunluk yaşları 3-4 ve 40-50 cm'ye ulaşabilirler. Hızlı akan sularda olmaları nedeniyle diğer gruplara göre vücut boyutu daha küçüktür. *Salmo trutta labrax*'ın, Anadolu'nun Kuzey ve Kuzey-Doğu Bölgesindeki akarsularla, Karadeniz'e dökülen nehirlerde yaşadığı bildirilmektedir (Geldiay ve Balık, 1996). *Salmo trutta labrax* ırkının üç ekotipinde de renk yönünden farklılıklar görülür. Deniz ekotipi deniz ve tatlı su arasında göç edici bir ekotip olduğundan, genç yavrularla ergin bireyler arasında morfolojik bakımdan farklar mevcuttur. Bu ekotipin genç yavruları tatlı sularda iken vücutlarının yan taraflarında siyah benekler ve kırmızı lekeler taşırken, denize döndüklerinde bu renk ve desenlerini kaybederek gümüş beyazı bir renge dönüşür (Svetovidov, 1984). Göl ve dere ekotiplerinde yavru ve erginler arasında belirgin bir renk ve desen farkı görülmemektedir. Özellikle dere ekotipinde yavrularda çok daha karakteristik olan kırmızı benekler, büyüdüleri zamanda aynı kalmakta ve hayatları boyunca kaybolmamaktadır (Svetovidov, 1984; Çelikkale, 1994).

### 1.2.2. *Salmo t. caspius*

Aras alabalığı, Hazar alabalığı ve Kafkas alabalığı olarak adlandırılan *Salmo trutta caspius*, Hazar Denizi kökenli olup, ülkemizde Kura-Aras, Susuz akarsuları ve Çıldır Gölü civarında yaşamaktadır. Aras alabalığının vücut rengi diğer türlere nazaran çok daha koyu renkli olup, düzensiz ve farklı şekilli kırmızı benekler tüm vücudu sarmıştır. Kırmızı beneklerin etrafı çok ince beyazımsı haleyle çevrilidir. Solungaç kapağının ön tarafı üzerinde bir adet belirgin iri siyah ve birkaç ufak benek bulunmaktadır. Bu balıklar uygun şartları bulduklarında 50 kg'a kadar çıkabilmektedirler. Balıklar anadrom olmalarına rağmen ülkemiz sularında bulunanlar denizlere ulaşamadıklarından, tüm yaşamlarını tatlı suda geçirirler. Hazar Denizi'nde yaşayan bu balıklar yumurtlamak için tatlı suya göç etmektedirler. Balıkların yumurtaları sıcaklığa karşı çok hassas olmasına rağmen ergin bireyler 29°C'ye kadar yaşayabilmektedir (URL 1; Tamarin vd., 1989).

### 1.2.3. *Salmo t. abanticus*

Ülkemizde sadece Abant gölü, Yedigöller ve çevresindeki kaynaklarda yaşayan endemik bir formdur (Emre ve Kürüm, 1998). Genel özellikleri bakımından dere alabalığına benzeyen, dere alabalığının Abant gölünde izole olmuş bir varyetesidir (Çelikkale, 1994). Abant alabalığı endemik olduğu bölgede, doğal yumurtlaması yanında Çevre ve Orman Bakanlığına bağlı alabalık üretme istasyonlarında yapay üretimi de yapılmakta olup doğal popülasyon desteklenmektedir.

Vücut yanlardan basıktır. Beden üzerinde kahverengi halkalarla çevrilmiş ve açık sarı zemin üzerinde düzensiz dağılmış siyah benekler vardır. Alt ve üst çeneler genellikle birbirine eşit durumdadır. Erkeklerde alt çene öne doğru çıkıntılı bir görünüm alabilmektedir. Yan çizgi üzerinde 110 adet pul bulunur. Sırt yüzgeci IV 9–11, anal yüzgeci ise III 7–8 şeklinde ışın yapısına sahiptir. Omur sayısı 59, pilorik kese sayısı ise, 38-40'tır. Yaklaşık 1 kg canlı ağırlığına ulaşabilmektedir. Cinsel olgunluk yaşı 3'tür. Endemik olduğu bölgede doğal yumurtlaması yanında yapay üretimi de yapılarak doğal popülasyon desteklenmektedir (Emre ve Kürüm, 1998).

### 1.3. Bakteriyel Balık Hastalıkları

Balıklarda patojenik olan bakterilerin, yoğun balık yetiştiriciliği yapılan işletmelerde büyük ekonomik kayıplara neden olduğu bilinmektedir (Inglis vd., 1993; Austin ve Austin, 2007). Kültür şartlarında balıklarda hastalık meydana getiren bakteriler doğal ortamda bulunan balıkların stres koşullarından uzak olmaları nedeniyle bu vakaların nadiren ölümle sonuçlandığı bilinmektedir (Toranzo vd., 2005).

Bakteriyel patojenlerin balıklarda meydana getirdiği iç ve dış klinik semptomlar balığın yaşı, türü ve hastalığın seyri ile (akut, kronik) değişmektedir. Bakteriyel balık hastalıkları etkenlerinden olan *Y. ruckeri*, *L. anguillarum* ve *L. garvieae* salmonidlerde yüksek kayıplara neden olmaktadır.

Gram negatif enterik bir bakteri olan *Y. ruckeri*, özellikle *Salmonidae* familyasına ait balıklarda akut ve ya kronik seyir gösteren yersiniosis ya da kızılbaş hastalığına neden olur. Bu patojen mikroorganizma bugüne kadar salmonid balıkların entansif yetiştiriciliğinin yapıldığı 5 farklı kıtadaki birçok ülkeden (Avustralya, Bulgaristan,



Kanada, Şili, Danimarka, Finlandiya Fransa, Almanya Yunanistan, İran, İtalya, Yeni Zelanda, Norveç, Güney Afrika, Portekiz, İspanya, İsveç, İsviçre, Türkiye, Hırvatistan, İngiltere, Amerika Birleşik Devletleri ve Venezuela) bildirilmiş olup, hastalığın yayılım gösterdiği ülke sayısı günden güne artış göstermektedir (Austin ve Austin, 1999).

Vibriosis deniz balıklarında görülen en önemli hastalıklardan bir tanesi olup bugüne kadar *Vibrio ordalii*, *V. carchariae*, *V. alginolyticus*, *V. fischeri*, *V. harveyi* ve *V. splendidus* gibi diğer *Vibrio* türlerinin bildirilmesine karşın, *Listonella anguillarum* başlıca patojen olarak uzun süredir bilinmektedir (Christoflogiannis, 1993). *Listonella anguillarum* daha çok yüksek sıcaklıklarda ve oksijen yetersizliği olduğu zamanlarda görülür. Gram negatif bir bakteridir. Normal olarak balık florasında bulunur fakat sıcaklık artınca etkisini daha fazla gösterir (West ve Lee, 1982).

Diğer bir patojen tür olan *Lactococcus garvieae* ilk olarak Japonya'da sarıkuyruk balıklarında yüksek oranda mortaliteye neden olmuştur. *Lactococcus garvieae*'nin etken olduğu enfeksiyonlar (Laktokokkosis) dünyanın farklı coğrafik bölgelerindeki tatlı su ve deniz balıklarında yaygın olarak görülmektedir (Ksuda ve Salati, 1999). Laktokokkosis enfeksiyonlar ülkemizde ise, 2001 yılında Ege bölgesindeki gökkuşağı alabalığı işletmelerinde görülerek yüksek mortaliteye sebep olmuştur (Çağırğan ve Tanrıkul, 1997). *Lactococcus garvieae*, gram pozitif fakültatif anaerobik, hareketsiz, sporsuz, oksidaz ve katalaz negatif, oval kok, çift ya da kısa zincirler oluşturabilen kanlı agarda alfa hemolitik, uygun besi ortamında 4 ila 45°C arasında üreyebilen bir bakteridir (Ksuda vd., 1991; Prieta vd., 1993; Eldar vd., 1996). Optimum çoğalma sıcaklığı 30°C'de 24 saattir. Ayrıca Brain heart infizyon agar (BHIA), Triptik Soy Agar (TSA), Triptik Soy Brot (TSB), Bile agar (BA) ve Bile eskulin agar (BEA) gibi zenginleştirilmiş besi yerlerinde üreyebilir (Toranzo vd., 1994). Hastalık özellikle su sıcaklığının 16°C üzerine çıktığı yaz aylarında etkili olmakta ve birçok balık türünü etkileyerek çok önemli ekonomik kayıplara yol açmaktadır (Austin ve Austin, 1999).

## 1.4. Enfeksiyon Metotları

Bir maddenin toksisite derecesini veya mikroorganizmanın virülenliğini ifade etmek için akut toksisite letalite veya akut mortalite birimi olan LD<sub>50</sub> ifadesi kullanılır. Solunum yolu dışında diğer tüm yollarla organizmaya girerek etki gösteren katı veya sıvı haldeki kimyasal maddelerin veya mikroorganizmaların belirli koşullarda bir kez verildiğinde bir gruptaki deney hayvanlarının %50'sini öldüren dozu ifade eder ve bu değer mg/kg veya CFU olarak belirtilir. LD<sub>50</sub> değeri maddelerin toksik etki oluşturma veya mikroorganizmalar için virulent potansiyellerini karşılaştırmayı ve bu ifade ile maddenin hangi dozlarda veya mikroorganizmaların hangi sayıda etkili olduğunu belirtir.

### 1.4.1. İmmersiyon Yöntemi

Pullu balıklarda bu yolla uygulamada tedavinin etkinliği azalmaktadır. Banyo yoluyla kimyasal tedavi uygulandığında kapalı devre sistemlerinde nitrifikasyon yapan bakterilerde öldürülmüş olacağından, kapalı yöntemle sirkülasyon yapılan ünitelerde nitrit ve amonyak zehirlenmeleriyle karşılaşılabilir.

Banyo yoluyla ilaç uygulaması ya kısa süreli yüksek yoğunlukta ilaçlı suya daldırmak suretiyle veya düşük konsantrasyonda uzun süreli olmak üzere iki şekilde uygulanmaktadır. Kısa süreli uygulamadan sonuç alınıyorsa tercih edilmelidir. Çünkü hem iş yükünü ve süreyi kısaltır hem daha az ilaç uygulanır ve balıklar daha az strese maruz kalırlar (Austin 1984; Gudding vd., 1999; Romoren vd, 2002b)

### 1.4.2. Cohabitation Yöntemi

Cohabitation yöntemi birkaç yolla yapılabilir. Bunların en yaygını; test edilecek bir ya da birkaç balık türünden belirli sayıda bir tank içerisine koyulur. 10-15 gün inkübasyondan sonra tankın içine istenen bir etkenle (bakteri veya virüs) enfekte edilmiş birkaç canlı balık bırakılır. Diğer balıkların doğal yolla enfekte olması beklenir. Diğer şekli ise enfekte edilmiş balıkların içinde bulunduğu tankın suyunun sağlıklı balıkların bulunduğu tanka aktarılması şeklindedir. Doğala en yakın enfeksiyon şeklidir (Algöet vd., 2009).

### 1.4.3. Enjeksiyon Yöntemi

Balıklarda bazı viral ve bakteriyel hastalıklara karşı enjeksiyon uygulaması yapılmaktadır. Enjeksiyon yöntemi ile verilecek antibiyotik oranını azaltılarak bakterilerin direnç kazanmalarının önüne geçilmiş olunur. Enjeksiyon yoluyla uygulama balıklara tek tek ve intraabdominal yolla uygulanır. İşlem başlamadan önce balıklar bir anestetik solüsyon ile sakinleştirilir ve daha sonra uygulamasına geçilir. Bu yöntemle balıklara verilecek maddenin miktarı ve hacmi ayarlanarak, her bir balığa aynı miktarda verilmesi sağlanır. Farklı oranlarda verilmesinin önüne geçilir. Bu nedenle diğer metotlara göre enjeksiyon yöntemi daha etkilidir. Bu tip uygulama tekniğinde genellikle koruma süresi yüksek, birim maliyeti düşük ve pratik olarak tanımlanır (Erganiş, 2003).

### 1.5. Çalışmanın Amacı ve Önemi

Su ürünleri yetiştiriciliğinin sürdürülebilirliğini risk altında tutan ve sektörün gelişimini etkileyebilecek önemli faktörlerden biriside hastalıklardır. Balık türü, yetiştirme sistemi, çevresel koşullar ile patojen karakteristikleri balıklarda hastalıkların ortaya çıkışında etkili olmaktadır. Herhangi bir patojenin izolasyonu ve tanımlanması her zaman tedaviye başlamak için yeterli değildir. Tedaviye başlayabilmek için, hastalık etkeni bakterinin türü, ölüm oranı, tedavinin maliyeti gibi birçok faktör göz önünde bulundurularak karar verilmelidir. Ayrıca üretim çeşidi, üretimin yapıldığı ünitenin durumu, su sıcaklığı ile su kalitesi, tedavinin başarısını etkileyen en önemli diğer faktörlerdendir. Hastalıkların tedavisinde, seçilen ilaçlar büyük ölçüde yeme katılarak verilmektedir. Ancak bu durumda, su ortamına atılan ilaçlı yemin ne ölçüde balık tarafından alınacağını önceden kestirmek oldukça zordur. Kullanılan antibiyotiklere karşı bakterilerin direnç kazanması ve kazanılan direnç geninin başka bakterilere aktarılması sonucu antibiyotiklerin kullanım alanı azalmaktadır. Ayrıca antibiyotiklerin uygulamasının iş yükünü artırması ve çevreyi kirletmesinden dolayı kullanımını en aza indirilmelidir. Bu nedenle antibiyotik kullanımını azaltmak için balıklar ya aşılmalı ya da hastalıklara dirençli varyeteler elde edilmelidir. Bu bağlamda bu araştırmada kahverengi alabalıklardan *Salmo t. labrax*, *Salmo t. caspius* ve *Salmo t. abanticus* ile bunların birbirleriyle

çaprazlanmasından elde edilen hibritlerinin salmonidlerde yaygın olarak görülen *Yersina ruckeri*'nin sebep olduğu yersiniosis, *Lactococcus garvieae*'nin sebep olduğu laktokokkosis ile *Listonella anguillarum*'un sebep olduğu vibriosis'e karşı dirençleri belirlenerek hangi grubun bu hastalıklara daha dirençli ve hangilerinin daha hassas oldukları belirlenmeye çalışılmıştır.

## 1.6. Önceki Çalışmalar

Çeşitli balık türlerinin farklı bakteri ve viral etkenlere karşı duyarlılıklarını tespit etmek amacı ile deneysel enfeksiyonlara (duyarlılık testleri) son yıllarda sıklıkla başvurulmaktadır. Bu testler; tür duyarlılıklarının yanı sıra yeni izole edilen bakteri ve virüs suşlarının patojen ya da apatojen olmaları, konakçıdaki direnç gelişimi, immunojenite ve yeni üretilen aşuların denenmesi gibi daha birçok konularda bilime yardımcı olmaktadır.

Algöet vd. (2009) gökkuşağı alabalığının *L. garvieae*'ya karşı duyarlılıklarını tespit etmeye çalışmışlardır. Pulse-field gel elektroforez (PFGE) metodu ile karakterize edilen *L. garvieae* suşunun, farklı doz ve sıcaklık aralığında gökkuşağı alabalığı üzerine olan etkilerini belirlemişlerdir. İntraperitoneal (i.p.) enjeksiyon yolu ile enfekte edilen balıkların su sıcaklığının ve bakteri yoğunluğunun artışı ölüm oranını (mortalite) arttırdığını tespit etmişlerdir. Balıkların %50'sini öldüren bakteri miktarı LD<sub>50</sub> 2x10<sup>2</sup> CFU/balık olarak belirlemişlerdir. Ayrıca balıkların bir kısmından bakterinin geri izole edilebilmesi, hastalık belirtisi göstermeyen balıkların taşıyıcı olabileceği sonucuna varmışlardır.

Hosseini vd. (2011) gökkuşağı alabalıklarının *L. garvieae*'ya karşı dirençliliklerini araştırmışlardır. İmmersiyon yöntemiyle enfekte edilen balıkların LD<sub>50</sub> değeri 1 x10<sup>7</sup> CFU/balık olarak hesaplanmıştır. Benzer bir başka çalışmada ise, *L. garvieae* ile enfekte edilen Nil tilapya balıklarında (*Oreochromis niloticus*) ölümler 7 gün sürmüştü ve LD<sub>50</sub> değeri 1,41 x 10<sup>5</sup> CFU/balık olarak tespit edilmiştir (Evans vd., 2009).

*Listonella anguillarum* enfekte edilerek oluşturulan vibriosis enfeksiyonunun gökkuşağı alabalıklarında meydana getirdiği değişimler incelenmiştir. İntraperitoneal enjeksiyon ile enfekte edilen balıkların 13,04±0,22°C'de LD<sub>50</sub> değeri 2,3x10<sup>2</sup> CFU/balık olarak tespit etmişlerdir (Ceylan ve Altun, 2011).

Temprano (2005), 16°C'de 17-25 g ağırlığındaki gökkuşağı alabalıklarına intraperitoneal enjeksiyon yöntemi ile *Y. ruckeri* enfekte etmiştir. Enfeksiyondan 7 gün sonra LD<sub>50</sub> değeri 5,19 x 10<sup>7</sup> CFU/ balık olarak belirlenmiştir. Bir diğer çalışmada

*Aeromonas hydrophila*'nın Nil tilapiyası'nda LD<sub>50</sub> değeri belirlenmiştir. Farklı bakteri yoğunluğunda (10<sup>5</sup>, 10<sup>6</sup> ve 10<sup>7</sup>CFU) intraperitonel yolla enfekte edilen balıkların LD<sub>50</sub> değeri 1,9x10<sup>6</sup> CFU/balık olarak belirlenmiştir (Aldık, 2010).

Algöet vd. (2009), *L. garvieae* ile intraperitonel yolla enfekte edilen gökkuşığı alabalıklarında en yüksek ölüm oranlarının 18°C'de 7,25x 10<sup>3</sup> CFU bakteri yoğunluğunda gerçekleştiğini belirlemiştir. Balıkların LD<sub>50</sub> değeri 2,0x10<sup>2</sup> CFU/balık olarak tespit edilmiştir. Aynı çalışmada, kahverengi alabalıkların LD<sub>50</sub> değeri 6,1x10<sup>2</sup> CFU/balık olarak belirlenirken, doğrudan bulaştırma yoluyla enfekte edilen Atlantik salmonlarında (*Salmo salar*) LD<sub>50</sub> değeri 1,6 x10<sup>4</sup> CFU/balık olarak belirlenmiştir.

Türe (2015) Karadeniz alabalığı (*Salmo trutta labrax*) ile gökkuşığı alabalığının laktokokkosis'e karşı duyarlılıklarını ve direnç farklılıklarını araştırmıştır. Farklı yoğunluktaki bakterilerle (2x10<sup>4</sup>, 2x10<sup>5</sup> ve 2x10<sup>6</sup>) intraperitonel yolla enfekte edilen gökkuşığı alabalıkları 16°C'lik su sıcaklığında LD<sub>50</sub> değeri 2x10<sup>5</sup> CFU/balık olurken, Karadeniz alabalıklarının kullanılan bakteri yoğunluklarına karşı dirençli olduğu tespit edilmiştir.

## 2. YAPILAN ÇALIŞMALAR

### 2.1. Materyal

#### 2.1.1. Kahverengi Alabalıklar ve Bakteriler

Çalışmada kullanılan kahverengi alabalıklar doğadan toplanarak Karadeniz Teknik Üniversitesi, Sürmene Deniz Bilimleri Fakültesi'ne ait İbrahim Okumuş Araştırma ve Uygulama Merkezinde stoklanmıştır. Cinsi olgunluğa ulaşmış *S. trutta labrax* (L), *S. trutta abanticus* (A) ve *S. trutta caspius*'un (C) sağımları yapıp çaprazlanarak hibrit bireyler elde edilmiştir (Tablo 1). Hibrit ve hibrit olmayan balıkların her gün bakımları yapılarak deney başlangıcına kadar vücut ağırlığının %3 oranında pelet yemlerle beslenmiştir. Deney öncesi balıklar 40 litrelik akvaryumlarda 15 gün süreyle tutularak laboratuvar ortamına adaptasyonları sağlanmıştır.

Tablo 1. *S. trutta labrax* (L), *S. trutta abanticus* (A) ve *S. trutta caspius* (C) türlerinin çaprazlanması ile elde edilen hibrit bireyler. Gruplardaki ilk sıradaki balık dişi ve ikinci sıradaki balık ise erkektir.

Gruplar	Grupların Kısaltılması
<i>S. t labrax</i> X <i>S. t. labrax</i>	LL
<i>S. t. labrax</i> X <i>S. t. abanticus</i>	LA
<i>S. t. labrax</i> X <i>S. t. caspius</i>	LC
<i>S. t. abanticus</i> X <i>S. t. abanticus</i>	AA
<i>S. t. abanticus</i> X <i>S. t. labrax</i>	AL
<i>S. t. abanticus</i> X <i>S. t. caspius</i>	AC
<i>S. t. caspius</i> X <i>S. t. labrax</i>	CL
<i>S. t. caspius</i> X <i>S. t. abanticus</i>	CA
<i>S. t. caspius</i> X <i>S. caspius</i>	CC

Enfeksiyon işleminde kullanılan *Y. ruckeri*, *L. anguillarum* ve *L. garvieae* bakterileri ise yine aynı fakülteye ait Moleküler Biyoloji Laboratuvarı'ndan temin edilmiştir.

## 2.2. Metot

### 2.2.1. Balıkların Bakterilerle Enfeksiyonu

*Y. ruckeri*, *L. anguillarum* ve *L. garvieae* enfeksiyonunda kullanılan hibrit ve hibrit olmayan 9 farklı gruba ait balıkların boy ve ağırlık değerleri Tablo 2’de verilmiştir.

Tablo 2. *Y. ruckeri*, *L. anguillarum* ve *L. garvieae* enfeksiyonunda kullanılan hibrit ve hibrit olmayan balıkların boy ve ağırlık değerleri

Gruplar	<i>Y. ruckeri</i>		<i>L. garvieae</i>		<i>L. anguillarum</i>	
	Boy (cm)	Ağırlık (g)	Boy(cm)	Ağırlık (g)	Boy (cm)	Ağırlık (g)
LL	12,57±0,84	18,19±3,83	13,55±0,83	32,11±5,62	14,48±1,14	39,69±8,32
LA	11,58±2,27	14,96±1,15	12,0±0,71	22,95±2,94	11,3±0,802	16,81±3,54
LC	9,85±1,30	18,33±2,99	16,15±2,35	59,31±11,03	10,79±0,81	15,012±3,34
AA	7,62±0,16	16,10±2,14	12,4±1,40	16,81±3,00	13,16±1,39	30,21±9,06
AL	8,93±0,80	12,70±3,54	10,75±0,25	18,93±1,62	13,86±1,32	30,69±8,32
AC	7,19±0,87	11,04±3,34	11,8±0,71	19,62±3,37	11,82±1,32	20,09±6,46
CL	7,99±2,59	10,27±2,99	9,0±0,70	9,16±0,50	10,91±1,21	14,38±2,99
CA	11,38±2,36	19,18±5,61	13,92±1,42	28,19±8,67	10,33±1,25	15,40±3,02
CC	13,50±2,36	29,47±11,36	12,85±0,59	20,53±3,01	10,50±0,96	15,65±2,37

#### 2.2.1.1. Balıkların *Yersinia ruckeri*'ye Karşı Dirençliliklerinin Belirlenmesi

Hibrit ve hibrit olmayan balıklar 40 litrelik akvaryumlara, 10 balık/akvaryum olacak şekilde stoklanmıştır. Akarsu sistemine sahip her bir grup için 3 akvaryum kullanıldı. PBS içerisinde seyreltilerek yoğunlukları  $1 \times 10^{10}$ ,  $1 \times 10^8$ ,  $1 \times 10^6$ ,  $1 \times 10^4$ ,  $1 \times 10^2$  CFU/balık olarak ayarlanan 5 farklı bakteri konsantrasyonu oluşturuldu. Kontrol grubu dahil 6 farklı grupta 180 adet balık bir enfeksiyon denemesinde kullanılmıştır. Benzokain (0,2 ml/L) kullanılarak bayıltılmış balıklara intraperitonel enjeksiyon yöntemiyle 0,1 ml *Y. ruckeri* enjekte edildi. Kontrol grubu balıklara ise sadece 0,1 ml PBS enjekte edildi. Balıklar ilk 24 saat, iki saatlik arayla, daha sonraki günlerde gün aşırı olmak üzere toplam 30 gün gözlemlendi. Ölen balıklar akvaryumlardan hemen alınarak bakteriyolojik yönden incelenerek ölüm nedenleri tespit edilmiştir. Deney sürecinde suyun sıcaklığı ve çözülmüş oksijen değerleri sırasıyla  $11,2 \pm 1,1^\circ\text{C}$  ve  $8,10 \pm 0,6$  mg/L olarak ölçülmüştür. Balıklar enfeksiyondan 24 saat sonra yemlemeye başlanmış ve her gün günlük bakımları yapılarak deney sonuna kadar vücut ağırlığının %3 oranında pelet yemlerle beslenmişlerdir. Ayrıca

deney süresince akvaryumların çıkış sulara UV fitrelerden geçirilerek steril edildikten sonra deşarjı yapılmıştır.

### **2.2.1.2. Balıkların *Lactococcus garvieae*'ye Karşı Direncinin Belirlenmesi**

*Yersinia ruckeri*'nin enfeksiyonunda yapılan işlemler *L. garvieae* enfeksiyonu için de uygulanmıştır. Balıkların 14 günlük adaptasyon sürecinden sonra  $1 \times 10^{10}$ ,  $1 \times 10^8$ ,  $1 \times 10^6$ ,  $1 \times 10^4$ ,  $1 \times 10^2$  CFU/balık olacak şekilde deney grupları ve kontrol grubu oluşturuldu. Yine deney 3 tekrür ve her akvaryum da 10 balık olacak şekilde düzenlenerek kontrol dahil her denemede toplam 180 adet balık kullanılmıştır. Balıklara intraperitoneal enjeksiyon yöntemiyle 0,1 ml PBS'de seyreltilmiş *L. garvieae* enjekte edildi. Kontrol grubu balıklara ise sadece 0,1 ml PBS enjekte edildi. Deney sürecinde suyun sıcaklığı ve çözünmüş oksijen değerleri sırasıyla  $11,2^\circ\text{C} \pm 1,1$  ve  $8,10 \pm 0,6$  mg/L arasında ölçülmüştür.

### **2.2.1.3. Balıkların *Listonella anguillarum*'a Karşı Direncinin Belirlenmesi**

*Listonella anguillarum* enfeksiyon deneyinde de yine yukarıda belirtilen işlemler uygulanmıştır. Laboratuvar ortamına adaptasyonu sağlanmış balıkların deney ve kontrol grupları oluşturuldu. Bakteri yoğunlukları  $1 \times 10^{10}$ ,  $1 \times 10^8$ ,  $1 \times 10^6$ ,  $1 \times 10^4$ ,  $1 \times 10^2$  CFU olacak şekilde PBS kullanılarak ayarlandı. Her gruba intraperitoneal enjeksiyon yöntemiyle 0,1 ml enjekte edilirken kontrol grubu balıklarına ise sadece 0,1 ml PBS enjekte edildi. Enfeksiyon işleminde her grupta 30 adet balık kullanılmıştır.

### **2.2.2. Biyokimyasal Analiz**

*Yersina ruckeri*, *L. anguillarum* ve *L. garvieae* enfeksiyon deneyleri süresince ölmek üzere olan ya da yeni ölmüş balıklar alınıp biyokimyasal analizleri yapılarak ölüm nedenleri araştırılmıştır. Bu amaçla balık örneklerinin karaciğer, böbrek, dalaklarından, TSA'ya ekimler yapılarak inkübasyona bırakılmıştır. Balıklardan izole edilen bakteriler  $22-30^\circ\text{C}$ 'de 48 saat süreyle inkübasyona tabi tutulduktan sonra saf olmayan koloniler saflaştırılmıştır. Saf koloniler API 20E (Biomerieux, Marcy l'Etoile, Fransa) testlerinin yanı sıra aşağıdaki biyokimyasal testlerle tanımlanmıştır. Bu testler; Gram boyama,



sitokrom oksidaz, oksidasyon/fermentasyon, katalaz, lösin aminopeptidaz,  $\beta$ -galaktosidaz,  $\beta$ -glukosidaz,  $\beta$ -mannosidaz, dihidrolaz, lisin dekarboksilaz, ornitin dekarboksilaz, sitrat kullanımı, H<sub>2</sub>S üretimi, üreaz, indol üretimi, voges proskauer, jelatinaz, glukoz fermentasyonu, mannitol, inositol, sorbitol, ramnoz, amigdalin, melibioz, laktoz, metil kırmızısı ve arabinoz fermentasyon testleri şeklindedir (Frerichs, 1984; Krieg ve Holt, 1984; Lennette vd., 1985; Holt vd., 1994; Austin ve Austin, 2007).

### 2.2.3. İstatistik

Balıkların boy ve ağırlıkları ile deney suyu kalite değerlerinin hesaplanmasında Microsoft Excel programı kullanılmıştır. *Yersinia ruckeri*, *L. anguillarum*, *L. garvieae*'nin balıklar üzerine olan virülensliği ya da LD<sub>50</sub> değerleri probit analiz yöntemiyle (SPSS 2002, SPSS Chicago, IL, USA) hesaplanmıştır. Bakterilerle enfekte edilen balıklarda ve kontrol balıklarında görülen ölümler Kaplan–Meier yaşama ve ölüm zamanı analizi testi ile analiz edilmiştir. Gruplar arasında önemli fark görüldüğünde ortalamalar Cox–Mantel testi (Statistica, Statsoft, Tulsa, OK, USA) ile analiz edilmiştir.

### 3. BULGULAR

#### 3.1. Deneme Çalışma Bulguları

Denemelere başlamadan önceki adaptasyon süresince hiç bir grupta balık ölmemiştir. *Y. ruckeri* ile enfekte edilen balıklar enfeksiyonun 3. gününden sonra ölmeye başlamış ve 15. güne kadar devam etmiştir. En fazla ölüm  $1 \times 10^9$  CFU konsantrasyonunda olurken,  $1 \times 10^1$  CFU ve  $1 \times 10^3$  CFU konsantrasyonlarında hiç balık ölmemiştir. Balıkların %50 sini öldürmek için en fazla yoğunluk  $10^{7,571}$  CFU/balık LL grubu için belirlendiğinden bu hastalığa karşı da en dirençli grup LL grubudur. Diğer taraftan da *Y. ruckeri*'ye karşı en hassas olan grup da CA grubudur ( $10^{4,234}$  CFU/balık) (Tablo 3). LD<sub>50</sub> verilerine göre yapılan yaşama oranı testi ve buna bağlı olarak Cox-Mantel testi yapıldığında bazı grupların *Y. ruckeri*'ye karşı hassas bazılarının ise daha dirençli oldukları belirlenmiştir. Analiz sonucunda da CL-LL, AA-AC, AA-LL, AC-LL, AL- CL, AL-AC, AL-LL, CL-LL ve LC-LL grupları arasında istatistiki olarak önemli fark olduğu bulunmuştur (Tablo 4).

Tablo 3. Hibrit ve hibrit olmayan balıkların *Y. ruckeri* enfeksiyonu sonunda %50'sinin ölümüne neden olan bakteri miktarı

Gruplar	LD <sub>50</sub> (CFU/balık)
<i>S. t. labrax</i> X <i>S. t. labrax</i>	$10^{7,571(7,370-8,336)}$
<i>S. t. labrax</i> X <i>S. t. abanticus</i>	$10^{7,203(6,818-7,587)}$
<i>S. t. labrax</i> X <i>S. t. caspius</i>	$10^{6,743(6,673-7,213)}$
<i>S. t. abanticus</i> X <i>S. t. abanticus</i>	$10^{5,047(2,587-7,094)}$
<i>S. t. abanticus</i> X <i>S. t. labrax</i>	$10^{6,679(6,679-8,104)}$
<i>S. t. abanticus</i> X <i>S. t. caspius</i>	$10^{4,670(4,269-5,068)}$
<i>S. t. caspius</i> X <i>S. t. labrax</i>	$10^{6,687(6,600-9,490)}$
<i>S. t. caspius</i> X <i>S. t. caspius</i>	$10^{5,380(4,336-6,479)}$
<i>S. t. caspius</i> X <i>S. t. abanticus</i>	$10^{4,234(2,188-6,002)}$

Persistansın belirlenmesi çalışmalarında ise balıkların karaciğer, dalak ve böbreğinden *Y. ruckeri* izole edilmiştir. *Yersinia ruckeri* enfeksiyonunda ilk görülen belirti durgunluk ve iştahsızlıktır. Balık derilerinde kararma, gözde ve ağız etrafında, solungaçlarda, vücut üzerinde ve özellikle pektoral yüzgeç çevresinde hemorajiler Şekil 1, 2 ve 3'de gösterilmiştir.

Tablo 4. Farklı sayılardaki *Y. ruckeri*, *L. anguillarum* ve *L. garvieae* ile enfekte edilen balıkların LD<sub>50</sub> değerlerine göre yapılan yaşama oranı analiz testi ve Cox-Mantel testi sonucuna göre gruplar arasındaki istatistiksel farklar. *P* değeri 0,05 den büyük olduğu gruplarda (-) işareti kullanılmıştır

Gruplar	<i>Y. ruckeri</i>	<i>L. garvieae</i>	<i>L. anguillarum</i>
CL-LL	0,00	-	-
AA-AC	0,02	0,03	0,00
AA-AL	-	0,02	-
AA-CL	-	-	0,00
AA-LL	0,02	-	-
AC-LL	0,03	-	0,02
AL- CL	0,04	-	-
AL-AA	-	0,02	0,02
AL-AC	0,01	-	-
AL-LL	0,01	-	-
CL-LL	0,00	-	-
LA- AC	-	0,00	0,00
LA-AA	-	0,00	0,00
LA-AL	-	0,01	0,00
LA-CL	-	0,02	0,04
LC- CL	-	0,02	0,02
LC-AC	-	-	0,00
LC-LL	0,01	0,04	0,04
LL-AA	-	0,00	-
LL-AC	-	0,02	-



Şekil 1. *Yersinia ruckeri* enfekte edilen *Salmo trutta labrax*'ın iç organlarında meydana gelen patolojik değişimler

Klinik semptomlara bakıldığında iç organlardaki en karakteristik bulgu sarımtırak sıvı birikimi ve böbrek ve dalakta büyüme olarak belirlenmiştir. Balıklarda gözüken kararma belirtisi enfekte edildikten 2 gün sonra ortaya çıkmaya başlamıştır. Durgunluk ve iştahsızlık belirtileri bu dönemden sonra ortaya çıkmıştır.



Şekil 2. *Yersinia ruckeri* enfekte edilen *Salmo trutta labrax*'ın akvaryumdaki görünümü



Şekil 3. *Salmo trutta labrax* ve *S. trutta abanticus* hibritlerinin *Y. ruckeri* enjekte edildikten sonraki ağız ve solungaçlardaki hemorajiler

*Lactococcus garvieae* enfekte edilen denemede balıklarda 3. günden sonra ölümler başlamıştır. Balık ölümleri 11. güne kadar devam etmiştir. Ölen balıkların karaciğer, dalak ve böbreğinden *L. garvieae* izole edilmiştir. En fazla ölüm  $1 \times 10^9$  CFU/balık konsantrasyonunda olurken, en az ölüm  $1 \times 10^5$  CFU/balık konsantrasyonunda belirlenmiştir.  $10^3$  ve  $10^1$  CFU *L. garvieae*/balık gruplarında ise ölüme rastlanmamıştır. En dirençli grup olarak LA belirlenirken, en dirençsiz grup olarak CA grubu bulunmuştur (Tablo 5).

LD<sub>50</sub> verilerine göre yapılan yaşama oranı testi sonuçlarına bazı grupların *L. garvieae*'ya karşı hassas bazılarının ise daha dirençli oldukları belirlenmiştir. Analiz sonucunda da AA-AC, AA-AL, AL-AA, LA- AC, LA-AA, LA-AL, LA-CL, LC- CL, LC-LL, LL-AA ve LL-AC grupları arasında istatistiki olarak önemli fark olduğu bulunmuştur (Tablo 4).

*Lactococcus garvieae*'da ilk görünen etki durgunluk ve iştahsızlıktır. Düzensiz yüzme ve iç organlarda gözükten iltihaplı bir durum Şekil 4'de ki gibidir. Bunun yanı sıra vücut derisinde kararma yem alma sıkıntısı gözlenmiştir. Ayrıca anüste hemoraj gözükten etkenler arasındadır.



Şekil 4. *Lactococcus garvieae* enfekte edilen (LA)'da iç organlarda gözükten değişiklikler ve yapıları bozulan organlar

Tablo 5. Kahverengi alabalıkların *L. garvieae* enfeksiyonu sonunda balıkların %50'sinin ölümüne neden olan bakteri miktarı

Gruplar	LD <sub>50</sub> (CFU/balık)
<i>S. t. labrax</i> X <i>S. t. labrax</i>	10 <sup>6,935(6,067-8,587)</sup>
<i>S. t. labrax</i> X <i>S. t. abanticus</i>	10 <sup>8,561(7,410-8,916)</sup>
<i>S. t. labrax</i> X <i>S. t. caspius</i>	10 <sup>7,448(6,875-9,133)</sup>
<i>S. t. abanticus</i> X <i>S. t. abanticus</i>	10 <sup>7,775(7,057-10,691)</sup>
<i>S. t. abanticus</i> X <i>S. t. labrax</i>	10 <sup>7,473</sup>
<i>S. t. abanticus</i> X <i>S. t. caspius</i>	10 <sup>6,890(6,424-7,666)</sup>
<i>S. t. caspius</i> X <i>S. t. labrax</i>	10 <sup>7,778</sup>
<i>S. t. caspius</i> X <i>S. t. abanticus</i>	10 <sup>6,795(4,859-8,373)</sup>
<i>S. t. caspius</i> X <i>S. t. caspius</i>	10 <sup>6,837(6,258-7,454)</sup>

*Listonella anguillarum* enfekte edilen denemede balıklarda ölümler 2. günden sonra başlamıştır. En fazla ölüm 1x10<sup>9</sup> CFU/balık konsantrasyonunda olurken, 1x10<sup>3</sup> CFU /balık konsantrasyonunda hiç balık ölmemiştir. *Listonella anguillarum* enfeksiyonuna karşı en dirençli grup LL olarak belirlenmiştir. En dirençsiz grup olarak da CL belirlenmiştir (Tablo 6). Ölen Balıkların karaciğer, dalak ve böbreğinden *L. anguillarum* izole edilmiştir.

LD<sub>50</sub> verilerine göre yapılan yaşama oranı testi sonuçlarına göre bazı grupların *Listonella anguillarum* 'a karşı hassas bazılarının ise daha dirençli oldukları belirlenmiştir. Analiz sonucunda da AA-AC, AA-CL, AC-LL, AL-AA, LA- AC, LA-AA, LA-AL, LA-CL, LC- CL, LC-AC ve LC-LL grupları arasında istatistiki olarak önemli fark olduğu bulunmuştur (Tablo 4).

*Listonella anguillarum* ile enfekte edilen balıklarda görülen ilk karakteristik belirtiler karın bölgesinde peteşial kanamalar, şişlik ve mide, bağırsakta hemorajik bulgulardır. İştahsızlık, hareketsizlik, kızarmış bölgeler, balık renginde değişme, iç organlarda kanamalar görülen diğer belirtilerdir.



Şekil 5. *Listonella anguillarum* enfekte edilen balıkta görülen kanamalar

Tablo 6. Kahverengi alabalıkların *L. anguillarum* enfeksiyonu sonunda balıkların %50'sinin ölümüne neden olan bakteri miktarı

Gruplar	LD <sub>50</sub> (CFU/balık)
<i>S. t. labrax</i> X <i>S. t. labrax</i>	10 <sup>5,325</sup> (4,704-6,091)
<i>S. t. labrax</i> X <i>S. t. abanticus</i>	10 <sup>4,827</sup> (4,238-5,487)
<i>S. t. labrax</i> X <i>S. t. caspius</i>	10 <sup>5,014</sup> (4,530-5,520)
<i>S. t. abanticus</i> X <i>S. t. abanticus</i>	10 <sup>4,095</sup> (3,625-4,557)
<i>S. t. abanticus</i> X <i>S. t. labrax</i>	10 <sup>4,014</sup> (3,391-4,633)
<i>S. t. abanticus</i> X <i>S. t. caspius</i>	10 <sup>4,592</sup> (4,124-5,071)
<i>S. t. caspius</i> X <i>S. t. labrax</i>	10 <sup>3,773</sup> (2,879-4,599)
<i>S. t. caspius</i> X <i>S. t. abanticus</i>	10 <sup>5,078</sup> (4,037-6,174)
<i>S. t. caspius</i> X <i>S. t. caspius</i>	10 <sup>4,477</sup> (3,682-5,260)

#### 4. TARTIŞMA

Ülkemizde su ürünleri yetiştiriciliği sektörü son yıllarda büyük aşamalar kat etmiştir (Aydın vd., 2005). Kültür balıkçılığı ile yapılan yoğun stoklama nedeniyle çok sayıda balığın bir arada ve yakın temas halinde bulunması, doğada (dere, göl, gölet, deniz, vs) serbest yaşayan balıklara oranla, daha fazla hastalığın ortaya çıkmasına neden olmuştur. Balıkların içinde buldukları biyotik ve abiyotik yaşam koşullarının olumsuz yönde değişmesi, bunların kısa sürede düzelmemesi ve devam etmesi, bulaşıcı olmayan hastalıkların oluşumuna ve bu durumun balıkların bağışıklık sistemlerinin negatif yönde etkilenmesine neden olmaktadır. Kültür balıkçılığında hastalık oluştuktan sonra onu tedavi etmek çok zor olup, uzun ve yorucu bir çalışmayı gerektirmektedir. Balık üretimindeki hızlı gelişim, hastalıklar ve ilaç kullanımına bağlı ekonomik kayıpları da beraberinde getirmiştir. Yetiştiricilik alanındaki başarı, ancak etkili balık sağlığı yönetimi ile mümkün olmaktadır. Gelişen ilaç sanayi ve yetiştiricilik tekniklerine rağmen bakteriyel hastalıklara bağlı balık ölümleri halen en önemli yetiştiricilik problemlerindedir (Kusuda ve Kawai, 1998). Son yıllarda aynı tür içerisinde ya da farklı türler birbirleriyle çaprazlanarak çevresel koşullardaki değişimlere dayanıklı hibrit türler elde edilmiştir. Bu türler üzerinde araştırmalar yoğunlaşmaktadır.

Çalışmamızda üç farklı bakteriye karşı hibrit ve hibrit olmayan dokuz farklı balık grubunun göstermiş oldukları direnç araştırılmıştır. Bu balıklar farklı bakteri türlerine karşı farklı hassasiyetler göstermektedir. Yine de annesi labrax olan hibrit grubu diğer hibritlere oranla kullanılan bakterilere karşı daha dirençli olduğu tespit edilmiştir. Bu nedenle su kalitesindeki değişimlere bağlı olarak ortaya çıkan sağlık problemleri kaynaklı balık kayıpları bu ve buna benzer çalışmalar yapılarak elde edilen hibrit türler kullanılarak önlenabilir.

Türe (2015) gökkuşağı alabalıkları üzerinde gerçekleştirdiği çalışmada *L. garvieae*'nın LD<sub>50</sub> değerinin  $2 \times 10^5$  olduğunu tespit etmiştir. *L. garvieae*'nin kullanıldığı bir diğer çalışmada ise tilapya balıklarında LD<sub>50</sub> değeri  $1,41 \times 10^5$  CFU/balık olarak belirlenmiştir. Aynı bakteri suşunun kullanıldığı çalışmamızda ise, 9 farklı hibrit ve hibrit olmayan balık türlerinde farklı oranlarda mortaliteye sebep olması, bakteri konak ilişkisi ile açıklanabilir.



Algöet vd. (2009) yaptıkları çalışmada farklı sıcaklıklarda ve sabit dozda bakteri miktarı ile gökkuşağı alabalıklarının enfekte edildiği denemede, su sıcaklığı arttıkça ölüm oranının arttığı görülmüştür. Bakteri dozu arttırıldıkça balık ölümlerinin arttığına görüldüğü bir başka denemede ayrıca Gökkuşağı alabalığı en duyarlı tür olarak belirlenmiştir. Araştırmamızda kullanılan *Y. ruckeri*, *L. garvieae*, *L. anguillarum* bakterilerine karşı en duyarlı tür LL olurken en hassas hibrit olan tür CL olduğu tespit edilmiştir. Hibrit olanla olmayan türlerin farklı patojen bakterilere karşı gösterdikleri dirençliliklerde farklılıklar görülmektedir. Bu farklılıkların genetik faktörlerden kaynaklandığı söylenebilir.

Bu tezde uygulanan enfeksiyon metodu enjeksiyon şeklinde olup diğer yöntemlere oranla etkinliğinin daha uzun sürdüğü gözlemlenmiştir. Bir başka çalışmada gökkuşağı alabalıklarına immersiyon yöntemiyle *L. garvieae* verilerek LD<sub>50</sub> değeri  $1 \times 10^7$  olarak hesaplanmıştır (Hosseini, 2011). Araştırmamızda ise, *L. garvieae* ile enfekte edilmiş balıklarda LD<sub>50</sub> değeri  $10^6$ - $10^8$  arasında bulunmuştur. Algöet vd. (2009), *L. garvieae* kullanılarak intraperitonel yolla enfekte edilmiş çalışmada, LD<sub>50</sub> değeri gökkuşağı alabalıkları için  $2,0 \times 10^2$  CFU/balık, kahverengi alabalıkta ise LD<sub>50</sub> değeri  $6,1 \times 10^2$  CFU/balık olarak bulunmuştur. Aynı çalışmada doğrudan bulaştırma yoluyla enfekte edilmiş Atlantik salmonları ve kahverengi alabalıklarında LD<sub>50</sub> değeri sırasıyla  $1,6 \times 10^4$  ve  $1,0 \times 10^4$  olarak tespit edilmiştir. LD<sub>50</sub> değerindeki bu farklılığın oluşumuna genetik faktörlerin ve uygulanan yöntemin farklılığından kaynaklandığını söylemek mümkün olabilir. Aynı zamanda balık büyüklükleri hastalığa karşı dirençli olmalarında oldukça önemli olup LD<sub>50</sub> değeri üzerinde etkili olmaktadır. Bu nedenle farklı çalışmalarda enfekte edilen balık türlerinin ve diğer çevresel koşulların aynı olmasına rağmen büyüklüklere bağlı olarak LD<sub>50</sub> değerleri de farklılıklar gösterebilir.

Bakteriler ideal su sıcaklıklarında hızlı bir şekilde çoğalırlar ve bağışıklık sistemi zayıflamış olan balıklarda hastalıklara neden olurlar. Su sıcaklığının düşmesi ya da bakteri için optimum olmaması hastalık riskini azaltır. Çalışmamızda su sıcaklıklarının 11'den 13°C'ye çıktığı durumlarda enfekte edilmiş balıklarda ölüm oranlarının arttığı gözlemlenmiştir. Benzer bir başka çalışmada, su sıcaklığının artışına paralel olarak LD<sub>50</sub> değerinin de arttığını tespit etmişlerdir (Temprano, 2005). Aldık (2010), *Aeromonas hydrophila*'nın Nil tilapiasında da yüksek yoğunluklarda ( $10^7$ ) ölümlerin olmaması bu bakterinin düşük su sıcaklıklarında etkinliğinin az olmasından kaynaklandığı sonucuna varılmıştır.

## 5. SONUÇLAR

Türkiye’de 108,239 tonu iç sularda,126,894 tonu denizlerde olmak üzere toplamda 235,133 ton alabalık yetiştiriciliği yapılmaktadır (TUİK, 2014). Su ürünleri üretiminde karşılaşılan en büyük problemlerinden birisi de bakteriyel hastalıklardır. Yüksek stok yoğunluğu ile fiziksel, kimyasal, biyotik ve abiyotik optimal yaşam koşullarının olumsuz yönde ve uzun süreli değişmesi, özellikle bir çok hastalığın çıkmasına neden olmaktadır. Hastalıklarda ortaya çıktığında kimyasallarla tedavi edilmektedir. Kimyasalların kullanımı da hem işletme maliyetini artırmakta hem de çevreyi kirletmektedir. Özellikle antibiyotikler kullanıldığında çevreyi kirlettiği gibi bakterilerinde direnç kazanmalarını sağlamaktadır ki bu da sonraki antibiyotik tedavilerini zorlaştırmaktadır. Bu bağlamda ıslah çalışmaları yapılarak hastalıklara dirençli ekotipler belirlenmelidir. Böylece hastalıkların ortaya çıkışı engellendiğinden hem kimyasal madde kullanımı olmayacağından daha ekonomik olur hem de çevre kirletilmemiş olur. Bakteriyel balık hastalıkları biyolojik ve biyolojik olmayan nedenlere ayrılır. Biyolojik nedenlere bakterileri, biyolojik olmayan nedenler de yem, su ve genetik faktörler ile ilişkilendirilir.

Bu çalışmada alabalıklarda yaygın olarak görülen bakteriyel balık hastalıkları etkenlerinden *Y. ruckeri*, *L. garvieae*, *L. anguillarum*’a karşı, kahverengi alabalıklardan *Salmo t. labrax*, *Salmo t. caspius* ve *Salmo t. abanticus*’un kendileriyle ve birbirleriyle çaprazlanmasından elde edilen hibritlerinin dirençlilik farkları olup olmadıkları belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar aşağıdaki gibi özetlenmiştir.

- 1) Bu çalışmada LL, CC ve AA doğal alabalık türleri ile bu türlerin birbirleriyle çaprazlanması sonucu elde edilen hibritler (AC, AL, CL, LC, LA, CA) kullanılmıştır.
- 2) *Yersinia ruckeri* ile yapılan enfeksiyon çalışmasında ölümler 3. günden itibaren başlamış, 15. güne kadar devam etmiştir.15. günden sonra elde edilen LD<sub>50</sub> değerleri  $1 \times 10^{7,571 (7,370-8,336)}$  -  $1 \times 10^{4,234 (2,188-6,002)}$  CFU/balık olarak tespit edilmiştir. LL çalışmada kullanılan diğer türlere oranla daha dirençli olurken en hassas grubun CA olduğu saptanmıştır. Bu çalışmada kullanılan diğer türlerin *Y. ruckeri*’ye karşı dirençlilikleri sırasıyla LA, LC, CL, AL, CC, AA, AC şeklinde sıralanabilir.

- 3) *Listonella anguillarum* ile yapılan enfeksiyon çalışmasında ölümler 2. günden itibaren başlamış 13. güne kadar devam etmiştir. *L. anguillarum* balıkların %50sini öldürdüğü LD<sub>50</sub>değerleri  $1 \times 10^{5,325(4,704-6,091)}$   $1 \times 10^{3,773(2,879-4,599)}$  CFU/balık olarak hesaplanmıştır. LL çalışmada kullanılan diğer türlere oranla daha dirençli olurken en hassas grubun CL olduğu gözlemlenmiştir. Bu çalışmada kullanılan diğer türlerin *L. anguillarum*'a karşı dirençlilikleri sırasıyla CA, LC, LA, AC, CC, AA, AL şeklindedir.
- 4) *Lactococcus. garvieae* ile yapılan enfeksiyon çalışmasında ölümler 3. günden itibaren başlamış 11. güne kadar devam etmiştir. LD<sub>50</sub> değerleri  $1 \times 10^{8,561(7,410-8,916)}$   $1 \times 10^{6,795(4,859-8,373)}$  CFU/balık olarak bulunmuştur. LA çalışmada kullanılan diğer türlere oranla daha dirençli olurken en dirençsiz grup olarak CA olduğu saptanmıştır. Bu çalışmada kullanılan türlerin bakteriye karşı dirençlilikleri sırasıyla CL, AA, AL, LC, LL, AC, CC şeklindedir.
- 5) Sonuç olarak, *S. t. caspius* x *S. t. abanticus* gibi hibritler hastalıklara karşı ebeveynlerinden daha dirençli olduklarından yetiştiricilikte kullanılabilir.

## 6. ÖNERİLER

Hızla gelişmekte olan su ürünleri yetiştiriciliği sektöründe üretimi sınırlandıran ve ekonomik anlamda darbe vuran önemli sorunlardan biri tedavisi zor ve maliyetli olan patojenik balık hastalıklarıdır. Yapılan araştırmada *Y. ruckeri*, *L. anguillarum* ve *L. garvieae*'nin kahverengi alabalıklar üzerindeki dirençlilikleri çalışılmıştır. Çalışmada 9 farklı grup kahverengi alabalık kullanılmıştır.

Bu sonuçlar temelinde su ürünleri sektöründeki bilinçli üreticilere, konu ile ilgilenecek araştırmacılara ve sektörle, ilgili yasal düzenlemelere katkı sağlayabilecek öneriler şöyle sıralanabilir;

- 1) Yetiştiricilik anlamında ekonomik kayıpların önlenmesi için çalışmada uygulanan konsantrasyonlar göz önüne alınmalıdır. Bazı bakterilerde LD<sub>50</sub> değerlerinin yüksek konsantrasyonda olması bu bakterilerin düşük konsantrasyonlarının balıklarda sadece taşıyıcı olarak bulduklarını göstermektedir. Bu nedenlerle yetiştiricilik sistemlerinde hastalıklardan kaynaklanan kayıplar en aza düşürülebilir.
- 2) Uygulanan doz ve uygulanan bakterilerin farklılığı farklı letal dozların oluşumuna neden olmaktadır. Bu nedenle bu tür çalışmalarda kullanılan bakterilerin virülensliği önceden belirlenmeli.
- 3) Yine buna benzer çalışmalarla hastalığa karşı dirençli bireyler oluşturulabilir.
- 4) Bu çalışmada elde edilen LD<sub>50</sub> değerleri canlının biyolojik yapısıyla ilişkili olduğu gibi çevresel faktörlere bağlı olarak da değişmektedir. Bu nedenle LD<sub>50</sub> hesaplamalarında balık büyüklükleri birbirine yakın tutulmalıdır.

## 7. KAYNAKLAR

- Aldık, R., 2010. *Aeromonas hydrophila* İle Enfekte Edilen Tilapia (*Oreochromis niloticus*)'ların Bazı Organ Ve Dokulardaki Etkilerinin Histopatolojik İncelemeleri, Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi, Adana.
- Algöet, M., Bayley. A.E., Roberts, E.G.,Feist, S.W. Wheeler, R.W. ve Verner Jeffreys, D.W. 2009 Susceptibility of selected fresh water fish species to a UK *Lactococcus garviea* isolate Journal of Fish Diseases, 32,10, 825-834.
- Austin, B. ve Austin, D.A., 1993. Bacterial Fish Pathogens Disease in Farmed and Wild Fish.Second Edition.Ellis Norwood Ltd., New York, London, 381 p.
- Austin, B. ve Austin, D.A., 1999. Bacterial Fish Pathogens: Disease in Farmed and Wild Fish, Second edition.Ellis Horwood Limited Chichester, 457pp. U.K.
- Austin, B. ve Austin, D.A., 2007. Bacterial Fish Pathogens Disease in Farmed and Wild Fish, 4. Edition Springer Publishing, New York.
- Aydın,F., Köksal, G., Demir, N., Bekcan, S., Kırkağaç, M., Gözgözoğlu, E., Erbaş, S., Deniz, H., Maltaş, Ö. ve Arpa, H., 2005. Su Ürünleri Yetiştiriciliği ve Politikalar. Türkiye Ziraat Mühendisliği VI. Teknik Kongresi, Ocak, Ankara, Bildiriler Kitabı I:791-801.
- Ceylan, M. ve Altun, S., 2010. *Vibrio anguillarum* ile enfekte edilmiş gökkuşuğu alabalıklarında hematolojik incelemeler. Uludag Univ. J. Fac. Vet. Med. 29, 2: 35-42.
- Christofilogiannis, P., 1993. The veterinary approach to sea-bass and sea- bream, 379-385. L. Brown [ed.], Aquaculture for veterinarians: fish husbandry and medicine. Oxford, Pergamon Press.
- Çağırğan, H. ve Tanrıkul, T.T., 1997. A *Lactococcus* in a trout farm. Mediterranean Fisheries Congress. 9-11 April Izmir, Turkey, 40p.
- Çelikkale, M.S., 1992. İçsu Balıkları ve Yetiştiriciliği. K.T.Ü. Sürmene Deniz Bilimleri Fakültesi, 11-13
- Çelikkale, M.S., 1994. İç Su Balıkları Yetiştiriciliği, I, 2. Baskı, KTÜ Basımevi, Trabzon.
- Davenport, J., Black, K., Burnell, G., Cross, T., Culloty, S.,Ekaratne, S., Furness. B., Mulcahy, M. ve Tretmeyer, H., 2003. The ecological issues, Aquaculture, Blackwell Publ, USA, 89.

- Demirtaş, T.Y., 2006. Gökkuşuğu alabalıklarında Enterik Kızılağız Hastalığına Karşı *Yersinia ruckeri* Serotip I suçuna karşılık dirençliliklerinin belirlenmesi. Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Aydın.
- Eldar, A., Ghittino, C., Asanta, L., Bozzetta, E., Gorla, M., Prearo, M. ve Bercovier, H., 1996. *Enterococcus seriolicida* is a junior synonym of *Lactococcus garviea*, causative agent of septicemia and meningoencephalitis in fish. *Current Microbiology* 32, 85-88
- Emre, Y. ve Kürüm, V., 1998. Havuz ve Kafeslerde Alabalık Yetiştiriciliği Teknikleri, 4minpa Matbaacılık Tic. Ltd. Şti., Rüzgarlı Soydaşlar Sk. No:4/12 Ulus-Ankara.
- Evans, J.J., Klesius, P.H. ve Shoemaker, C.A., 2009. First isolation and characterization of *Lactococcus garviea* from Brazilian Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.), and pintado, *Pseudoplathystoma corruscans* *Journal of Fish Diseases* 25, 505-513.
- Frerichs, N.G. ve Collins, R.O., 1984. Enteric Redmouth Disease in Scotland. *Vet Rec.* 14, 45-47.
- Garibaldi, L., 1996. List of animal species used in aquaculture. *FAO Fish. Circ.* 914. 38 p.
- Geldiay, R. ve Balık, S., 1996. Türkiye Tatlısu Balıkları ders kitabı. E.Ü. Su Ür. Fak. No:46
- Holt, J.G., Krieg, N.R., Sueath, P.H.A., Satley, J.T. ve Williams, S.T., 1994. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Ninth Edition. Williams and Wilkins, A,Waverly Company,787.
- Hosseini, M.H., Akhlaghi, M. ve Moazzeni, J., 2011. *Archives of Razi Institute*, 66, 1, 51-57
- Inglis, V., Robert, R.J. ve Bromage, N.R., 1993. *Bacterial Disease of Fish*, Halsted Pres, New York.
- Kav, K. Ve Erganiş, O., 2007. Balıklarda Aşılama Teknikleri, *Vet. Bil. Derg.* 21, 2, 95-102.
- Kayış, Ş., 2009. Trabzon ve Rize İlleri'nde Bulunan Bazı Alabalık İşletmelerinde Görülen Bakteriyel Hastalıkların Tespiti ve Bazı Etkenlerinin Çoklu PCR ile Teşhisi, Doktora Tezi, K.T.Ü., Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon
- Kusuda, K., Kawai, K., Salati, F., Banner, C.R. ve Fryer, J.L., 1991. *Enterococcus seriolicida* sp. nov. a Fish Pathogen. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 41, 406-409.
- Ksuda, R. ve Salati, F., 1999. *Enterococcus seriolicida* and *Streptococcus iniae*. In (eds. Woo PTK, Bruno, D.W.) *Fish Diseases and Disorders*, 3, 303-317, Viral, Bacterial and Fungal Infections. CABI Publishing,

- Lasee, B.A., 1995. Introduction to Fish Health Management, U.S. Fish and Wildlife Service La Crosse Fish Health Center 555, Lester Avenue Onalaska, Wisconsin, 54650.
- Prieta, J., Domenech, A.M., Fernandez-Garaizabal, J.F., Collins, M.D., Rodrigues, U.M. ve Jones, D., 1993. Lactococcosis De la Trucha Arco Iris (*Oncorhynchus mykiss*). Med. Vet., 10, 367–373.
- Robert, R.J. ve Shepherd, C.J., 1997. Handbook of Trout and Salmon Disease, Third Edition, Fishing News Books, A Division of Blackwell Science LTD., 179.
- Svetovidov, A., 1984. *Salmonidae*. In P.J.P. Whitehead, M. – L. Bauchot, J.-C. Hureau, J. Nielsen and E. Tortonese (eds.) Fishes of the North-Eastern Atlantic and the Mediterranean, Unesco, Paris, 1, 373-385.
- Tamarin, E.N., Kyazimov, I.B. ve Kuliev, Z.M., 1989. Caspian Salmon. In: Caspian Sea. Ichthyofauna and Commercial Stocks. Nauka Pres, 112–118.
- Tanrikul, T. ve Gultepe, N., 2011. Mix Infections in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum): *Lactococcus garvieae* and *Vibrio anguillarum* O1. Journal of Animal and Veterinary Advances, 10, 1019-1023.
- Temprano, A., Riano, J., Yugueros, J., Gonzalez, P., Castro, L., Villena, A., Luengo, J.M. ve Naharro, G., 2005. Potential Use of A *Yersinia ruckeri* O1 Auxotrophic Aroa Mutant As A Live Attenuated Vaccine, Journal of Fish Diseases, 28, 419-427.
- Timur, M. ve Timur, G., 2003. Balık Hastalıkları Kitabı, TC. İstanbul Üniversitesi Yayınları, Rektörlük Yayın No: 4426, Su Ürünleri Yayın No:5, 238, İstanbul.
- Toranzo, A.E., Santos, Y. ve Barja, J., 1997. Immunization with bacterial antigens: *Vibrio* infections. Dev Biol Stand, 90, 93-105.
- Toranzo, A.E., Magarinos, B. ve Romalde, J.L., 2005. A Review of The Main Bacterial Fish Diseases in Mariculture Systems, Aquaculture, 246, 37-61.
- TÜİK., 2012. T.C. Türkiye İstatistik Kurumu, Su ürünleri İstatistikleri.
- Türe, M., 2015. *Lactococcus garvieae*'nin Farklı Balık Türlerinde Patojenitesinin Belirlenmesi ve Antibiyotik Dirençliliğinin Araştırılması, Doktora Tezi, K.T.Ü., Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
- URL6. <http://www.caspianenvironment.org/biodb/eng/fishes/Salmo%20trutta%20caspius/main.htm23/06/2016>

## ÖZGEÇMİŞ

1989 yılında Rize’de doğdu. İlköğrenimini Trabzon’da tamamladı. Lise eğitimini Trabzon Yunus Emre Lisesi, Fen Bilimleri bölümünü tamamlayarak, 2008 yılında girmiş olduğu Recep Tayyip Erdoğan, Su Ürünleri Fakültesi, Su Ürünleri Mühendisliği bölümünde Lisans eğitimini 2012 yılında tamamladı. Mezuniyetinden 2 yıl sonra 2014 yılında Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Balıkçılık Teknolojisi Mühendisliği Anabilim Dalı’nda Lisansüstü eğitimine başladı. Orta derecede İngilizce bilmektedir.

