

T.C.
RECEP TAYYİP ERDOĞAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
SU ÜRÜNLERİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**ALABALIK İŞLETMELERİNİN KULUÇKA SİSTEMLERİNDEN
İZOLE EDİLEN BAZI BAKTERİLERİN YUMURTA KULUÇKA
PERFORMANSINA ETKİLERİ**

Engin PİRANLIOĞLU

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Şevki KAYIŞ

JÜRİ ÜYELERİ

Doç. Dr. İlker Zeki KURTOĞLU

Doç. Dr. Ertuğrul TERZİ

RİZE-2020

Her Hakkı Saklıdır

T.C.
RECEP TAYYIP ERDOĞAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ALABALIK İŞLETMELERİNİN KULUÇKA SİSTEMLERİNDEN İZOLE
EDİLEN BAZI BAKTERİLERİN YUMURTA KULUÇKA PERFORMANSINA
ETKİLERİ**

Prof. Dr. Şevki KAYIŞ danışmanlığında Engin PİRANLIOĞLU tarafından hazırlanan bu çalışma, Enstitü Yönetim Kurulu kararıyla oluşturulan jüri tarafından 24.01.2020 tarihinde Su Ürünleri Anabilim Dalı'nda **YÜKSEK LİSANS** tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

Unvanı Adı Soyadı

İmzası

Başkan

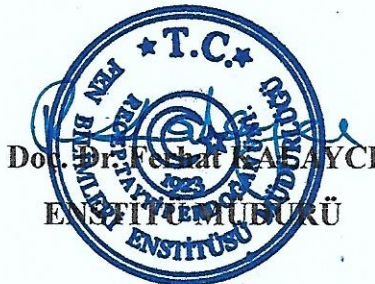
: Prof. Dr. Şevki KAYIŞ

Üye

: Doç. Dr. İlker Zeki KURTOĞLU

Üye

: Doç. Dr. Ertuğrul TERZİ



ÖNSÖZ

Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Su Ürünleri Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans Tezi olarak hazırlanan bu çalışmada; alabalık kuluçka sistemlerinde izole edilen bazı bakterilerin yumurta kuluçka performansına etkileri araştırılmıştır.

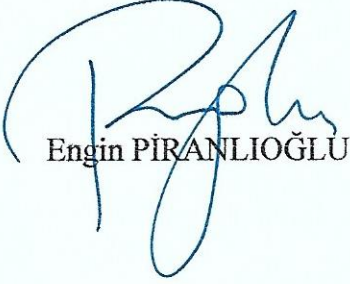
Tezin gerçekleştirilmesi aşamasının her anında önerileri ve paylaşımlarıyla yardımını ve desteğini esirgemeyen çok değerli danışman hocam sayın Prof. Dr. Şevki KAYIŞ'a, laboratuvar uygulamalarında kıymetli katkılarından dolayı Arş. Gör. Akif ER'e ve tez çalışmamda her türlü desteği sağlayan Çamlıhemşin İlçe Tarım ve Orman Müdürü Sabri SAYMAZ'a teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Hayatımın her aşamasında yanımda olan, verdiğim kararlarda desteklerini her zaman arkamda hissettiğim maddi ve manevi her konuda yanımda olan ve ideallerimi gerçekleştirmemi sağlayan değerli aileme yürekten teşekkürü bir borç bilirim.

Engin PİRANLIOĞLU

TEZ ETİK BEYANNAMESİ

Tarafımdan hazırlanan ‘‘Alabalık İşletmelerinin Kuluçka Sistemlerinde İzole Edilen Bazı Bakterilerin Yumurta Kuluçka Performansına Etkileri’’ başlıklı bu tezi, Yükseköğretim Kurulu Bilimsel Araştırma ve Yayın Etięi Yönergesindeki hususlara uygun olarak hazırladığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal işlemi kabul ettiğimi beyan ederim. 24/01/2020


Engin PİRANLIOğLU

Uyarı: Bu tezde kullanılan özgün ve/veya başka kaynaklardan sunulan içeriğin kaynak olarak kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖZET

ALABALIK İŞLETMELERİNİN KULUÇKA SİSTEMLERİNDEN İZOLE EDİLEN BAZI BAKTERİLERİN YUMURTA KULUÇKA PERFORMANSINA ETKİLERİ

Engin PİRANLIOĞLU

Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Su Ürünleri Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi
Danışmanı: Prof. Dr. Şevki KAYIŞ

Bu tez çalışmasında, Doğu Karadeniz Bölgesi'nde bulunan alabalık işletmelerinin kuluçka sistemlerinden izole edilen *Lactococcus lactis*, *Bacillus* sp., *Arthrobacter* sp. ve *Aeromonas encheleia* bakterilerinin alabalık yumurtalarında kuluçka performansına etkilerini gözlemek amaçlanmıştır. Bu amaç için akar ve statik olmak üzere iki ayrı düzenek kurulmuştur. Her bir sistemde inkübasyon hunilerine 20'şer adet olmak üzere toplam 400 adet gözlenmiş gökkuşağı alabalığı yumurtası konulmuş, denemeler iki tekerrür şeklinde planlanmıştır. Çalışmada *Bacillus* sp. ve *L. lactis* ile kontamine edilen gruplarda, kontrol grubuna nazaran yüksek yaşama oranı gözlemlenmiştir. Yumurtalar üzerinde yapılan denemeler sonrası bakterilerin diğer patojenik bakterilere karşı in vitro şartlarda inhibe edici özellikleri araştırılmıştır. Alabalıklar için patojen olan *A. hydrophila*, *Yersinia ruckeri*, *L. garvieae* ve *Pseudomonas putida* bakterilerine karşı inhibe özelliğe olabileceği düşünülen bakterilerin bu özelliğe olmadığı belirlenmiştir. Yine *A. hydrophila* ile enfekte edilen yumurtalarda bahsi geçen bakterilerin yaşama oranına etkilerinin olmadığı sonucuna ulaşılmıştır.

2019, 24 sayfa

Anahtar Kelimeler: Alabalık Kuluçka Sistemleri, Probiyotik, Bakteri

ABSTRACT

THE EFFECTS OF SOME BACTERIAS WHICH ARE ISOLATED FROM HATCHERY SYSTEMS ON EGG HATCHERY PERFORMANCE

Engin PİRANLIOĞLU

Recep Tayyip Erdogan University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Fisheries
Master Thesis
Supervisor: Prof. Dr. Şevki KAYIŞ

In this thesis, we aim to determine the effect of *Lactococcus lactis*, *Bacillus* sp., *Arthrobacter* sp. and *Aeromonas encheleia*, which are isolated from hatchery systems of trout farms in the Eastern Black Sea Region, on the hatchery performance of trout eggs. For this purpose, we set up two systems as of statics and flowing system. In each system, 20 rainbow trout eggs were added into each incubation funnels and a total of 400 eyed rainbow trout eggs were utilized. We did each experiment in duplicate. Compared to control, the eggs infected with *Bacillus* sp. or *L. lactis* showed higher survival rates. After these experiments with eggs, we examine the inhibiting properties of these bacteria on other pathogenic bacteria *in vitro*. The results showed that these bacteria did not have any inhibitory effect on trout pathogenic bacteria, including *A. hydrophila*, *Yersinia ruckeri*, *L. garvieae* and *Pseudomonas putida*. Moreover, these pathogenic bacteria were shown to have no effect on survival rate of eggs that were infected with *A. hydrophila*.

2019, 24 pages

Key Words: Trout Hatchery Systems, Probiotic, Bacteria

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ.....	I
TEZ ETİK BEYANNAMESİ	II
ÖZET.....	III
ABSTRACT.....	IV
İÇİNDEKİLER.....	V
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VII
TABLolar DİZİNİ	VIII
SEMBOLLER ve KISALTMALAR DİZİNİ	IX
1. GENEL BİLGİLER.....	1
1.1. Giriş	1
1.2. Türkiye’de Balıklardan Rapor Edilen Bazı Bakteriler	2
1.3. Alabalık Kuluçka Sistemlerinde Bakterilerin Varlığı	3
1.4. Kuluçka Sistemlerinde Bakteriler İle Mücadele.....	5
1.4.1. Kimyasallar.....	5
1.4.2. Ozon ve UV uygulamaları.....	5
1.4.3. Probiyotikler	6
1.5. Çalışmada kullanılan bakteriler	7
1.5.1. <i>Bacillus</i> sp.	7
1.5.2. <i>Lactococcus lactis</i>	7
1.5.3. <i>Arthrobacter</i> sp.....	8
1.5.4. <i>Aeromonas encheleia</i>	8
2. YAPILAN ÇALIŞMALAR.....	9
2.1. Materyal.....	9
2.1.1. Çalışma Alanı ve Bazı Su Kriterleri	9
2.1.2. Kullanılan Malzemeler	9
2.1.3. Alabalık Yumurta Temini.....	9
2.1.4. Kullanılan Bakteriler	10
2.2. Metot.....	10
2.2.1. Deneme Düzenegi	10
2.2.2. Bakterilerin Yumurtalara Kontaminasyonu	11

2.2.3. Bakterilerin Probiyotik Özelliklerinin Araştırılması	12
2.2.4. <i>Aeromonas hydrophila</i> 'ya Karşı Bakterilerin Probiyotik Özellikleri	13
3. BULGULAR	14
3.1. Deneme Gruplarında Yaşama Oranları	14
3.2. Probiyotik Özellik Belirleme Testleri.....	16
3.3. <i>Aeromonas hydrophila</i> 'ya Karşı Baskılama Deneme Sonuçları.....	16
3.4. Patolojik Bulgular.....	16
4. TARTIŞMA ve SONUÇLAR.....	17
5. ÖNERİLER	20
KAYNAKLAR.....	21
ÖZGEÇMİŞ	24

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.	Denemede kullanılan akar sistem	13
Şekil 2.	Denemede kullanılan statik sistem	13
Şekil 3.	Gruplara göre yumurtalarda % yaşam oranları.....	16
Şekil 4.	Akar sistemde balıkların farklı evrelere göre ölüm değerleri.....	17
Şekil 5.	Statik sistemde balıkların farklı evrelere göre ölüm değerleri.....	17



TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. Çalışmada kullanılan bakteriler ve izolasyon yerleri/dokuları	12
Tablo 2. Kontaminasyon için bakteri miktarları	14



SEMBOLLER ve KISALTMALAR DİZİNİ

°C	Derece Santigrat
g	Gram
mg	Miligram
L	Litre
CO ₂	Karbondioksit
TSA	Tryptic Soy Agar
TSB	Tryptic Soy Broth
FTS	Fizyolojik Tuzlu Su
PCA	Plate Count Agar

1. GENEL BİLGİLER

1.1. Giriş

Su ürünleri yetiştiriciliği, dünya genelinde insan nüfusunun artan ihtiyaçları doğrultusunda diğer bütün talep gören üretim sektörlerinde olduğu gibi her geçen yıl artma eğilimindedir (Kayış, 2019). Yoğun üretim süreçlerinde daha fazla kar ve yeterli ürün elde etme arzusu, canlıların refahını muhafaza ile üretim miktarı arasındaki dengenin sağlanmasını zorlaştırmaktadır. Bu denge ile ilgili geçmişte yapılan uygulamalara bakıldığında üretim miktarının, canlı refahından, ekolojik dengenin korunmasından ve hem de tüketici sağlığından daha ön planda tutulduğuna şahit olmaktayız. Örneğin alabalık üretim süreçlerinde geçmişte kanserojen olan malaşit yeşili gibi kanserojen olan maddelerin kullanımı (Sirivastava vd., 2004), doğal tür olarak birçok coğrafyada yayılım göstermeyen canlıların dünya genelinde üretim amaçlı dağılımı (Polat vd., 2011), hastalıkların tedavisi amacıyla kullanılan ve doğada zararları tartışılmaz olan kimyasallar (McClain vd., 1992), sucul alanlarda taşıma kapasitesinin üzerinde yapılan üretim süreçleri (Yavuzcan vd., 2010) bu tespitin yüzeysel örnekleridir.

Günümüzde bahsi geçen olumsuzlukların çözümü ve tekrarlanmaması adına her geçen gün daha çevreci ve canlı refahını düşünen çözümler üretilmeye başlanmıştır. Bu çözümler ve uygulamalar üretim süreçlerindeki kayıpları önlemeyi amaçlarken, canlı refahını sağlamayı ve tüketici sağlığını olumlu etkileyecek çözümler olarak karşımıza çıkmaktadır. Sucul alanların yetiştiricilik açısından taşıma kapasitelerinin önceden belirlenmesi, kurulum öncesi gerekli şartların çevreci yaklaşımlara daha duyarlı hale getirilmesi ve kimyasalların kullanımı yerine aşı ve probiyotikler gibi bağışıklık sistemi uyarıcı çözümler sunulması, bu çabalara önemli örnekler olarak sunulabilir (Sommerset, 2005).

Yukarıda zikredilen uygulamalar dışında su ürünleri yetiştiriciliğinde kayıpların önlenmesi ve ilaç kullanımının azaltılması amacıyla, koruyucu/önleyici tedbirlerin alınması son yıllarda oldukça yaygın hale gelmiştir. Bu kapsamda, yem ve su kalitesi ile ilgili değerlerin iyileştirilmesi gibi tedbirler gündeme gelmiş, bunun yanı sıra patojenik kontaminasyonun önlenmesi ön plana çıkmıştır (Kayış, 2019). Bu bağlamda, bilim insanları yetiştiricilik sistemlerini tehdit eden yerleşik ve dış kaynaklı patojenlerin neler

olabileceğine yanıt aramışlardır. Bu sorunun cevabı ile ilgili yetiştiricilik sistemlerinde tarama çalışmaları yapılmış ve birçok işletme ve sucul alan için artık yerleşik patojenlerin hangileri olduğu belirlenmiştir. Özellikle ülkemiz açısından baktığımızda, viral patojenler için Infectious pancreatic necrosis virüs (IPN), Viral Hemorrhagic Septicemia (VHS), Viral Erythrocytic Necrosis (VEN), Lymphocystis ve Cyprinid Herpes Virüs (Carp Pox) olmak üzere 5 farklı patojenden söz edilmektedir (Öztürk ve Altınok, 2014). Paraziter patojenler açısından bakıldığında ise 2003 ile 2009 yılları arasında rapor edilen balık parazitlerinin sayısı 79 farklı tür olarak belirlenmiştir (Kayış vd., 2009). Daha erken dönemlere bakıldığında 1931-2003 yılları arasında sadece protozoan parazitlerin 33 tür ile rapor edildiği tespit edilmiştir (Öktener vd., 2004). Bakteriyel balık patojenleri ile ilgili çalışmalar ise çok daha detaylı ve özellikle kültür şartlarında bulunan balıklardan izole edilmiş durumdadır. Doğal stoklarda yer alan türlerde bakteriyel çeşitliliğin araştırıldığı çalışmalar daha azınlıktadır (Kayış vd., 2018). Bu tez çalışmasının konusu yetiştiricilik sistemlerinde bazı bakterilerin etkileri ile ilgili olduğundan ülkemizde balıklardan izole edilen bakteriler ve nerelerden izole edildikleri ile ilgili daha detaylı bilgi verilecektir.

1.2. Türkiye’de Balıklardan Rapor Edilen Bazı Bakteriler

Bakteriyel balık patojenlerinin ülkemizde ilk kayıtları su ürünleri yetiştiriciliğinin yaygınlaşması ve hastalıklara çözüm arayışlarıyla ortaya çıkmıştır. Bu anlamda irdelendiğinde, balık patojeni olarak önemli bir yaygınlığa ve mortaliteye sahip olan kızıl ağız hastalığı etmeni *Yersinia ruckeri* bakterisi ülkemizde ilk kez Akdeniz bölgesinde kültürü yapılan gökkuşağı alabalıklarından (*Oncorhynchus mykiss*) rapor edilmiştir (Timur ve Timur 1991). Balıklarda patojen olarak bilinen bu bakteri dışında daha önceleri balıklardan izole edilmiş ve rapor olarak sunulmuş bakteri türleri de mevcuttur. Örneğin *Aeromonas hydrophila*, 1980 yılında yine gökkuşağı alabalıklarından rapor edilen bir diğer balık patojeni bakteridir (Baran vd., 1980). Günümüzde gerek *Y. ruckeri* gerekse *A. hydrophila* ile ilgili ülkemiz genelinde farklı coğrafik bölgelerden kültürü yapılan veya doğal balıklardan birçok kayıt bulunmaktadır (Öztürk ve Altınok, 2014).

Balıklarda patojen olarak yaygınlığı olan bir diğer bakteri grubu ise *Vibrio* türleridir. Özellikle denizel ortamda yaşayan balıklardan rapor edilen bu cinse ait bakteriler içerisinde ülkemiz için en fazla *Vibrio anguillarum* öne çıkmaktadır (Timur vd.,

2011). Deniz kafes sistemlerinde yetiştiriciliği yapılan deniz levreği (*Dicentrarchus labrax*) ve çipura (*Sparus aurata*) dışında alabalıklarda da yaygın olarak rapor edilmiştir (Öztürk ve Altınok, 2014). *Pseudomonas* cinsine ait bakterilerin balıklarda yaygınlığı ve mortaliteye sebebiyet verdiği genel olarak bilinen bir gerçektir (Austin ve Austin 2010). Ülkemizde de bu cinse ait kayıtlar oldukça fazladır. Yetiştiriciliği yapılan gökkuşağı alabalığı, levrek, çipura ve bazı akvaryum balık türleri dışında doğal bazı balık türlerinde ülkemiz için kayıtlara rastlamak mümkündür (Kayış vd., 2009; Kayış vd., 2018). *Pseudomonas putida*, *P. fluorescens* ve *P. luteola* bu cinse ait patojen bakteriler arasında zikredilebilir.

Flavobacterium cinsi bakteriler irdelendiğinde ülkemiz için, gökkuşağı alabalıkları dışında genellikle farklı tür balıklardan raporlara rastlanılmamaktadır. Sadece mersin balıkları ile ilgili *Flavobacterium johnsoniae* (Karatat vd., 2010) ve *Flavobacterium hydatis* (Timur vd., 2011) örnek verilebilir. Bunun dışında hemen hemen tüm kayıtlar gökkuşağı alabalıklarından izole edilen *F. psychrophilum* ve *F. columnare* bakterileri ile ilgilidir (Öztürk ve Altınok, 2014).

Gram pozitif bakteriler dikkate alındığında ülkemiz için en tehdit edici türün *Lactococcus garvieae* olduğu çok net bir şekilde ortaya konulmuştur. Yetiştiriciliği yapılan birçok türde ve ülkemizin değişik bölgelerinde ölümlere sebebiyet verdiği bildirilmiştir (Öztürk ve Altınok, 2014).

Çok farklı yetiştiricilik sistemleri ve türlerden izole edilen bu bakterilerin balıklara nasıl bulaştığı ile ilgili değişik bilimsel açıklamalar mevcuttur. Bu bakterilerin sucul sistemlerde doğal türlerde ya da suda var olduğu veya yetiştiricilik faaliyetleri sonucu ülkeler arası kontaminasyon boyutu olduğu raporlar yayınlanmaktadır (Kayış vd., 2013). Bu konuda ülkemizde özellikle alabalık kuluçka sistemlerinde bakteriyel bulaşının varlığı ile ilgili sınırlı sayıda çalışmalar mevcuttur. Bu konuda yapılan çalışmalar ile ilgili bilgiler sunulan bu tez çalışmasında biraz daha detaylı irdelenecektir.

1.3. Alabalık Kuluçka Sistemlerinde Bakterilerin Varlığı

Dünya genelinde kuluçka sistemlerinde balık yumurtalarının farklı bakteriler ile kontamine olduğu bilinen bir gerçektir (Abdel Gawad ve Han Ping Wang, 2015). Buna karşın yine yaygın olan bir durum ise alabalık yetiştiriciliğinde kuluçka sistemlerinin

patojenleri ile ilgili çalışmalar genelde viral patojenler ile ilgilidir. Gerek anaçlar ile vertikal bulaşmaları ve gerekse tedavi güçlüğü nedeniyle viral patojenler daha önem arz eden gruba oluşturmuştur (Yılmaz vd., 2011). Ancak son yıllarda ülkemizde alabalık kuluçka sistemlerinde, kuluçkalama suyu, ekipman ve yumurtadan larva safhasına kadar balıklarda var olan bakteriler üzerine çalışmalar yapılmaktadır. Özellikle etkeni *Flavobacterium psychrophilum* olan bakteriyel soğuksu hastalığı, ülkemizde alabalık işletmelerinin kuluçka sistemlerinden rapor edilmiştir (İspir vd., 2004). Bu çalışmalarda daha çok 0,2–0,8 g ağırlığındaki gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) yavruları incelenmiştir. Bunun dışında alabalık yetiştiriciliği yapılan işletmelerde özellikle yetiştirme suyundan izole edilen *Aeromonas* cinsi bakterilerin varlığından söz edilmektedir. *Aeromonas hydrophila* ve *A. salmonicida* ve *A. sobria* Ülkemizin Karadeniz ve Akdeniz Bölgesi'nde yetiştirme sularından rapor edilen türlerdir (Onuk vd., 2017). Bu konuda daha detaylı ve özellikle yumurta ve larva evresine kadar geçen sürede hangi bakterilerin var olduğu ile ilgili çalışmalar yeni yeni yapılmaktadır (Soyköse, 2018). Bunun yanı sıra mevcut bazı balık patojeni bakterinin bahsi geçen bu evrelerde yumurta ve larva evresinde nasıl etkilerin olduğu çalışmalarda mevcuttur (Kayış vd., 2017). Doğu Karadeniz Bölgesinde alabalık işletmelerinin kuluçka sistemlerinde bakteriyel patojenlerin araştırıldığı bir çalışmada 11 farklı alabalık işletmesinin giriş suyu, yumurta, alevin ve larva örneklerinden elde edilen bakterilerin genellikle *Aeromonas* ve *Pseudomonas* cinslerine ait olduğu rapor edilmiştir. Bununla birlikte aynı çalışmada *Bacillus*, *Lactococcus* ve *Arthrobacter* cinslerine de yer verilmiştir (Soyköse, 2018). Balıklarda patojen olan *Yersinia ruckeri*, *A. hydrophila*, *Lactococcus garveae* ve *Pseudomonas putida* gibi bakterilerin yumurta, alevin ve larva aşamalarında balıklarda önemli patojenik etkilerinin olduğu ve büyüme performansına olumsuz etkileri detaylı olarak rapor edilmiştir (Kayış vd., 2017).

Verilen literatür bilgilerinden de anlaşıldığı üzere alabalık kuluçka sistemlerinde gerek tarama çalışmaları sonucu ve gerekse in vitro denemelerde bakteriyel kontaminasyonun varlığı ve olumsuz etkileri ortaya konulmuştur. Bu gerçek ile sürdürülebilir yetiştiricilik açısından mücadelede farklı yöntemler ortaya konulmuştur. Bunların başında hijyen tedbirleri ile kontaminasyonu önleme gelmektedir. Ayrıca, hastalıktan arı ya da dirençli yumurta kullanımı da önemli bir gerçekliktir. Aşı gibi koruyucu tedbirlerin yumurta ve fry aşamalarında etkinliğinin olmayışı yukarıda bahsi

geçen tedbirlerden daha farklı tedbirlere yönelmek gerekliliğini ortaya koymaktadır. Bu anlamda dezenfektan kullanımını işletmelerde yaygın olan uygulamadır.

1.4. Kuluçka Sistemlerinde Bakteriler İle Mücadele

1.4.1. Kimyasallar

Genel olarak bakıldığında bakteriler ile mücadelede ilk akla gelen antibiyotik kullanımıdır. Antibiyotikler bakterilere karşı farklı etki şekilleriyle mücadelede önemli bir yer tutmaktadır (Juma ve Karaman, 2015). Balık hastalıklarının tedavisinde de yaygın olarak antibiyotikler kullanılmaktadır (Baydan vd., 2012). Ancak kuluçka sistemlerinde su ve yumurtaya kontamine olmuş bakterilere karşı antibiyotik kullanımı genellikle mümkün olmamaktadır. Sadece kapalı devre sistemlerde suya antibiyotik ilavesi ile çözüm üretilebilirken, özellikle akar sistemlerde kuluçka sistemlerinde bazı dezenfektanların kullanımı yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu bağlamda bakterisit özelliği olan formalin, iodin ve sodyum klorür gibi dezenfektanlar kuluçka sistemlerinde işletmeler tarafından özellikle tercih edilmektedir (Abdel Gawad ve Han Ping Wang, 2015).

1.4.2. Ozon ve UV uygulamaları

Ozon ve ultraviyole ışın (UV) uygulamaları yetiştiricilik sistemlerinde kullanılan suyun mikrobiyolojik yönden iyileştirilmesi amacıyla oldukça yaygın olarak kullanılmaktadır. Özellikle kapalı devre yetiştiricilik sistemlerinde kaba partiküllerinden ayrıştırılmış suların tekrar sisteme verilmeden önce viral, paraziter, fungal ve bakteriyel patojenlerden kurtulması için ozon ve UV uygulamaları yapılmaktadır. Ozonlama, sistemi sterilize etmenin yanı sıra suyun rengini bozan çözünmüş organikleri ve partikülleri parçalayarak suyun berraklaşmasına katkı sağlayan bir özelliğe sahiptir (Alparslan vd., 2012).

UV sistemi, kuvars tüp veya cam içerisinde UV ışını üreten lambalardan oluşmaktadır. Sistem suyu, lambaların üzerinden geçmekte ve lambalar optimal dalga boyu 254nm yayarak hücrelere nüfuz etmektedir. Bu sayede mikroorganizmaların DNA,

RNA ve proteinleri hasara uğramaktadır (Özçelik vd., 2017). Genel olarak UV dozu Gram (-) bakteriler için asgari düzeydedir. Gr (+) bakteriler, virüsler, spor oluşturan bakteriler ve protozoalar için uygulanacak UV dozu artırılmaktadır.

1.4.3. Probiyotikler

Probiyotikler bir tanıma göre canlı vücudunda zararlı mikrobiyal floranın faydalı mikrobiyaller tarafından baskılanması olarak ifade edilmiştir (Cruz vd., 2012). Son yıllarda kullanılan dezenfektanların olumsuz etkileri nedeniyle su ürünleri yetiştiriciliğinde probiyotik ürünlerin bakteriler ile mücadelede kullanımı gündeme gelmiştir. Bu bağlamda probiyotikler, özellikle besin diyetlerine katılması ile büyüme performansının artırılması, su kalitesinin mikrobiyal olarak değiştirilmesi (iyileştirilmesi), bakteriyel yükün azaltılması (baskılanması), üreme performansının iyileştirilmesi ve stresin azaltılması gibi ana konularda kullanılmaktadır (Cruz vd., 2012).

Bacillus sp., *Lactobacillus acidophilus* ve *Lactococcus lactis* gibi bakteriler su ürünleri yetiştiriciliğinde özellikle patojenlerin baskılanmasında faydalı olan bakteriler arasında zikredilmektedir. Yine aynı cinse ait bakterilerin bazılarının su kalitesini iyileştirici özellikte olduğu vurgulanmaktadır (Cruz vd., 2012). Probiyotiklerin balık refahında uygulanmasında farklı yöntemler kullanılmaktadır. Bu uygulamalardan yaygın olan yöntem balıklara yem ile bakterilerin verilmesi ve patojen bakterilere karşı antogonistik etkinin izlenmesi şeklindedir. Bu konu ile ilgili gerçekleştirilen bir çalışmada, alabalıklardan izole edilen *Carnobacterium* sp.'nin gökkuşağı alabalığı ve Atlantik somonuna yem ile verilmesi sonucu *Aeromonas hydrophila*, *A. salmonicida*, *Flavobacterium psychrophilum*, *Photobacterium damsela*, ve *Vibrio* sp. türlerine karşı baskılayıcı etkilerin var olduğu belirlenmiştir (Robertson vd., 2000).

Su kalitesinin iyileştirilmesi amacıyla özellikle Gram pozitif *Bacillus* cinsine ait bakteriler yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu bakterilerin diğer türlere göre organik yükün karbondioksit gazına çevrilmesinde etkili oldukları ifade edilmektedir. Bunun yanı sıra bu bakterilerin su içerisinde fitoplanktonların varlığını da dengelediği ifade edilmektedir (Kozasa, 1986).

Yukarıda ifade edilen bu faydalı kullanımları probiyotiklerin su ürünleri yetiştiriciliğinde stres faktörlerinin elimine edilmesinde doğal olarak etkili olduğu

gerçeğini ortaya koymaktadır. Bu bağlamda bakıldığında, *Bacillus subtilis*, *Lactobacillus acidophilus*, *Clostridium butyricum*, ve *Saccharomyces cerevisiae* mikroorganizmalarının *Paralichthys olivaceus* balıklarında kontrol grubuna göre stres kriterleri incelendiğinde faydalı etkiler ortaya koyduğu ifade edilmektedir.

Tüm bu etkiler göz önünde bulundurulduğunda su ürünleri yetiştiriciliğinde canlıların farklı evrelerinde probiyotik etki yapabilme potansiyeli olan organizmaların belirlenmesi önem arz etmektedir. Bu tez çalışmasında Ülkemizin Rize İl'inde alabalık yetiştiriciliği yapılan bazı işletmelerin kuluçka sistemlerinden izole edilen farklı bakterilerin yumurta evresinde yaşama oranına olumlu etkilerinin olup olmayacağı konu edilmiştir. Bu çalışmada kullanılan bakteriler ile ilgili detaylı bilgiler aşağıda verilmiştir.

1.5. Çalışmada Kullanılan Bakteriler

1.5.1. *Bacillus* sp.

Çubuk veya çomak şeklinde, Gram pozitif ve sporlu bir bakteri cinsidir olan *Bacillus* cinsi bakterilerin sporlar formları ısıya oldukça dayanıklıdır. Vejetatif formları 0,5-1,2 µ eninde ve 2,5-10 µ boyundadır. Genellikle toprakta bulunmalarına karşın, havada, suda, tozlarda, dışkıda bulunabilirler. Büyük çoğunluğunun patojenik potansiyeli yoktur ve önemli mikrobiyolojik kullanımlara sahiptirler (antibiyotik, enzim, toksin, biyoplastik vb.). Patojenik olarak tanımlanan ve balık bağırsaklarından izole edilen *B. cereus* sporları normal pişirme işlemi sırasında canlı kalabilmektedirler. İnsanlarda; karın ağrısı ve diyare gibi belirtiler gıdanın alınmasında 8-16 saat sonra, bulantı ve kusma gibi semptomlar ise gıdanın alınımından 1-5 saat sonra ortaya çıkabilmektedir. Besin zehirlenmesi dışında insanlarda enfeksiyon oluşturmaz ancak direnci kırılmış kişilerde fırsatçı patojen olarak enfeksiyonlarına sebep olabilir (Kemmerly ve Pankey, 1993; Ahmed vd., 1995).

1.5.2. *Lactococcus lactis*

Lactococcus lactis, Gram-pozitif bir bakteri olup özellikle süt ürünlerinin fermente edilmesinde kullanılmaktadır. Tedavi amaçlı olarak genetiği değiştirilmiş ilk

organizmalardan olma özelliğine sahiptir. Bakteri genellikle kok şeklinde, üreme dönemine göre 0,5-1,5 µ uzunluğunda oval şekilli olabilir. Sporsuz ve hareketsiz olan bakteri şekerlerden laktik asit üreten homofermentatif metabolizmaya sahiptir. Ürettikleri bakteriosin sayesinde antagonistik etkiye sahiptirler.

Özellikle de tatlı su balıklarının bağırsak mikrobiyotasında bol miktarda bulunduğu bildirilmektedir (Gatesoupe, 2008). *Lactococcus* spp., *Pediococcus* spp., *Lactobacillus* spp. ve *Leuconostoc* cinsine ait laktik asit bakterilerin yararlı etkileri nedeniyle su ürünleri yetiştiriciliğinde probiyotik olarak sıklıkla kullanıldığı bildirilmiştir.(Merrifield, 2010).

1.5.3. *Arthrobacter* sp.

Toprak bakterileri arasında yaygın bir cins olan bu cinsin türleri Gram pozitif ve zorunlu aerobdur. Metabolik olarak çok yönlüdür ve pek çok farklı enzim ürettiklerinden gelişebildikleri substratlar fazladır. Bakteriler sıcaklık ve susuzluğa dirençli olabilirler. *Arthrobacter* türleri birkaç kez bağışıklık sistemi zayıflamış hasta balıklardan izole edilmiş olmakla birlikte çoğu izolatları patojenik değildir. Bu cinsin yapısındaki ayırıcı özellik gelişme sürecinde hücre şeklinin değişikliğe uğramasıdır. Tipik olarak üreme dönemde çubuk şekilli olan hücreler durağan fazda kok haline dönüşürler.

1.5.4. *Aeromonas encheleia*

Aeromonas cinsine ait birçok tür daha önceleri su, toprak ve çeşitli hayvanlardan izole edilmişken, *Aeromonas encheleia*, nadir olarak kayıt edilmiş bir bakteridir. İspanya'da bulunan Avrupa yılanbalıklarından izole edilmiş, *Aeromonas* cinsine ait hareketli ve Gram-negatif bir bakteridir. Bu bakteriler tatlı ve tuzlu su kaynaklarında, kanalizasyon sularında ve başlıca diğer alıcı su kaynaklarında yaygın olarak bulunmakta, ayrıca serbest klor miktarına ve sıcaklığa bağlı olarak değişmekle birlikte, klorlanmış ve klorlanmamış içme sularında da sıklıkta rastlanmaktadır. Özellikle midye başta olmak üzere, balık ve diğer deniz ürünleri gibi su ile direkt temas halinde olan gıdalar hareketli *Aeromonas*'ların en sık rastlanan bulaşma kaynakları arasındadır (Novakova vd., 2009).

2. YAPILAN ÇALIŞMALAR

2.1. Materyal

2.1.1. Çalışma Alanı ve Bazı Su Kriterleri

Sunulan bu tez çalışması, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi İyidere Uygulama ve Araştırma Merkezi, Üniversite Merkez kampüs alanında yer alan Su Ürünleri Uygulama Merkezi ve Fakülte Balık Hastalıkları laboratuvarı imkânları kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Deneme suyunun sıcaklık ve pH değerleri çalışma süresince kaydedilmiştir. Akıllı sistem olarak ifade edilen İyidere Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde kullanılan suyun sıcaklığı deneme süresince $11\pm 1,2$ ve pH değeri $6,8\pm 0,8$ olarak belirlenmiştir. Statik sistemdeki denemede ise daha yüksek su sıcaklığı ile deneme yapılabilmektedir. Bu denemede su sıcaklık değeri $14,5\pm 0,6$ ve pH değeri $6,5\pm 1,3$ olarak kaydedilmiştir.

2.1.2. Kullanılan Malzemeler

Çalışmada İyidere Araştırma Merkezi'nde bulunan alabalık yumurtaları için kullanılan kuluçka hunileri ve Merkezde yer alan kuluçka döneminin geçirilmesi amacıyla tasarlanmış 2 L hacimli plastik kaplar kullanılmıştır. Denemede kullanılan bakteriler için Tryptic Soy Agar (TSA) ve Tryptic Soy Broth (TSB) besiyerleri, bakterilerin yumurtalara kontaminasyonunu sağlamak amacıyla ise %9'luk fizyolojik tuzlu su (FTS) kullanılmıştır.

2.1.3. Alabalık Yumurta Temini

Denemelerde kullanılmak üzere gökkuşuğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) yumurtaları Rize İl'inde bulunan bir alabalık işletmesinden gözlenmiş evrede temin edilmiştir. Bu yumurtalarda bulunabilecek muhtemel bakteriyel ve fungal patojenlerin elimine edilebilmesi amacıyla yumurtalara 1,65 mg/l 15 dk formalin uygulaması yapılmıştır (Barnes vd., 2001).

2.1.4. Kullanılan Bakteriler

Doğu Karadeniz Bölgesinde yer alan bazı alabalık işletmelerinin kuluçka sisteminden daha önceleri izole edilen bakteriler bu çalışmada kullanılmıştır. Bakteriler, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Balık Hastalıkları Laboratuvarı'nda daha önceden -80°C de saf olarak muhafaza edilen bakterilerdir. Bu bakteriler ve izole edildikleri yer ya da doku Tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 1. Çalışmada kullanılan bakteriler ve izolasyon yerleri/dokuları

Bakteri ve Kod	Balık Türü	İzole edildiği Doku
<i>Lactococcus lactis</i> (Y11)	Gökkuşaağı alabalığı (<i>Oncorhynchus mykiss</i>)	Alevin (besin kesesi)
<i>Bacillus</i> sp. (Y34)	Karadeniz alabalığı (<i>Salmo labrax</i>)	Fry (Karaciğer)
<i>Arthrobacter</i> sp. (Y36)	Gökkuşaağı alabalığı (<i>Oncorhynchus mykiss</i>)	Fry (Karaciğer)
<i>Aeromonas encheleia</i> (Y29)	Karadeniz alabalığı (<i>Salmo labrax</i>)	Döllenmemiş Yumurta

2.2. Metot

2.2.1. Deneme Düzenegi

Çalışma iki farklı zamanda iki farklı düzenek uygulaması şeklinde tasarlanmıştır. İlk düzenek akar sistem şeklinde tasarlanmış ikinci düzenek ise statik sistem uygulaması yapılmıştır. Akar sistemde her bir inkübasyon şişesine 20 şer adet gözlenmiş alabalık yumurtası konulmuştur. İki farklı Kontrol grubu ve 4 farklı bakteri grubu olmak üzere toplam 5 grup iki tekerrür olacak şekilde oluşturulmuştur. Bu sistemde toplam 200 adet gözlenmiş yumurta kullanılmıştır (Şekil 1).



Şekil 1. Denemede kullanılan akar sistem.

İkinci sistem ise statik sistem olarak tasarlanmıştır. Bu sistem de yine 5 gruptan oluşturulmuş ve iki tekerrürlü olarak kurulmuş olup burada da toplam 200 adet yumurta kullanılmıştır (Şekil 2).



Şekil 2. Denemede kullanılan statik sistem

2.2.2. Bakterilerin Yumurtalara Kontaminasyonu

Bakterilerin yumurtalara bulaştırılması için daldırma yöntemi kullanılmıştır. Bu amaçla saf halde bulunan bakteriler TSA besiyerine aktarılmış, 24 saat $20\pm 2^\circ\text{C}$ de inkübe edilerek üremesi sağlanmıştır. Besiyerinde oluşan kolonilerden 50 cc TSB besiyerine ekimler yapılmış ve bu besiyerleri 12 saat $20\pm 2^\circ\text{C}$ 'de bekletilmiştir. Bakteri ihtiva eden bu besiyeri, 9000 rpm'de 5 dk santrifüj edilmiş ve besiyeri bakterilerden ayırt edilmiştir.

Bakteriler üzerine 45 ml steril FTS ilave edilmiş, bu karışım vortex ile homojen hale getirilmiştir. Bakteri içeren FTS her bir deneme hunisine (500 ml), 15 ml olacak şekilde ilave edilmiş ve bakterilerin yumurtalara kontamine olması için 15 dk bekletilmiştir. Bu esnada su akışı kesilmiştir. Bakterilerin sayısını belirlemek için 10^{-6} ve 10^{-7} oranında seyreltmeye tabi tutulan bakteri kültürleri Plate Count Agar (PCA) besi yerine ekilmiş ve koloni sayımları yapılmıştır (APHA, 1998). Yapılan sayım sonucu elde edilen koloni sayıları Tablo 2’de verilmiştir (Kayış vd., 2017).

Tablo 2. Kontaminasyon için bakteri miktarları

Bakteri	Miktar (CFU/ml)	
	Akar Sistem	Statik Sistem
<i>Lactococcus lactis</i>	$4,8 \times 10^{10}$	$4,6 \times 10^{10}$
<i>Bacillus</i> sp.	$1,6 \times 10^{10}$	$1,2 \times 10^{10}$
<i>Arthrobacter</i> sp.	$1,4 \times 10^{10}$	$1,8 \times 10^{10}$
<i>Aeromonas encheleia</i>	5×10^9	$5,1 \times 10^9$

2.2.3. Bakterilerin Probiyotik Özelliklerinin Araştırılması

Yumurtalar üzerinde bakterilerin yaşama oranına etkilerinin belirlenmesi ile ilgili sonuçlara göre besiyeri ortamında bu bakterilerin probiyotik özelliklerinin olup olmadığı araştırılmıştır. Bu bağlamda *Lactococcus lactis* ve *Bacillus* sp. bakterileri 5 ml TSB besi yerinde 3 gün inkübe edilmiştir. Ardından bu besiyeri 5000 rpm 10 dakika santrüfjü edilmiştir. Elde edilen süpernatant 0,45µm’lik membran filtrede süzölmüştür (Nieto-Lozano vd., 2002). Agar Kuyu Difüzyon yöntemi ile herbir bakteriye ait süpernatantın inhibisyon etkilerinin belirlenmesi amacıyla patojen bakteriler olarak belirlenen *Aeromonas hydrophila*, *Yersinia ruckeri*, *Lactococcus garviaea* ve *Pseudomonas putida* bakterileri Müller Hinton Agar besiyerine inoküle edilmiş, ardından kuruyan besiyerine 3mm çapında kuyucuklar açılmıştır. Ardından bu kuyucuklara 100µl süpernatant ilave edilerek zon oluşumu olup olmadığı araştırılmıştır (Bonade ve ark., 2001).

2.2.4. *Aeromonas hydrophila*'ya Karşı Bakterilerin Probiyotik Özellikleri

Yumurtalar üzerinde olumlu etkileri olduğu düşünülen bakterilerden *Lactococcus lactis* ve *Bacillus* sp. bakterilerinin *Aeromonas hydrophila* bakterisinin yumurtalara vereceği muhtemel zararı önleyip önleyemeyeceği konusunu araştırmak üzere bir deneme dizayn edilmiştir. Bu amaçla 4 ayrı deneme grubu oluşturulmuştur. Statik sistem olmak üzere kontrol, *Aeromonas hydrophila* ve *Lactococcus lactis*, *A. hydrophila* ve *Bacillus* sp. ve sadece *Aeromonas hydrophila* kontamine edilen yumurtalar ile deneme yapılmıştır. Yine tüm gruplar iki tekerrür ve her deneme kabına 100 adet olacak şekilde bu denemede toplam 800 adet yumurta kullanılmıştır (Şekil 3).

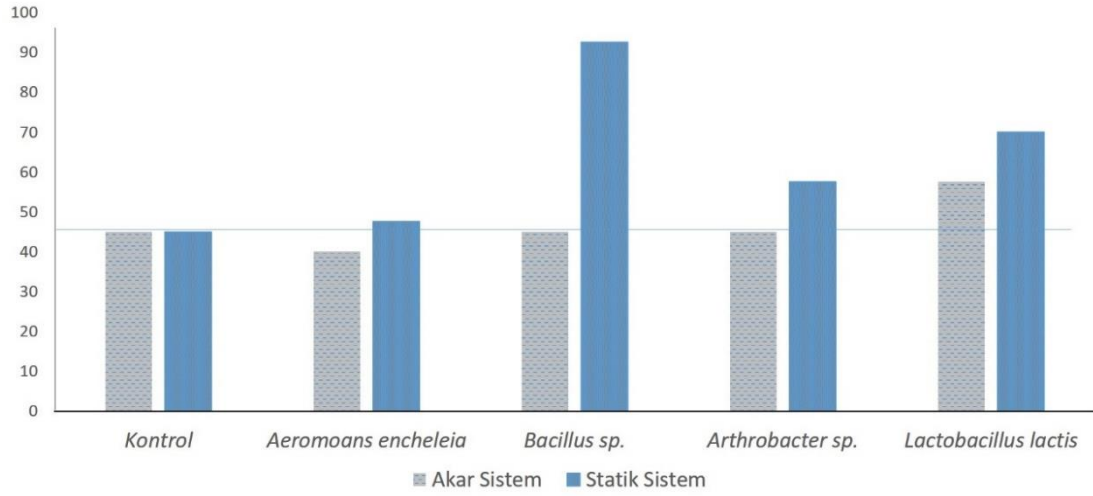


Şekil 3. *Aeromonas hydrophila*'ya karşı bakterilerin baskılama deney düzeneği

3. BULGULAR

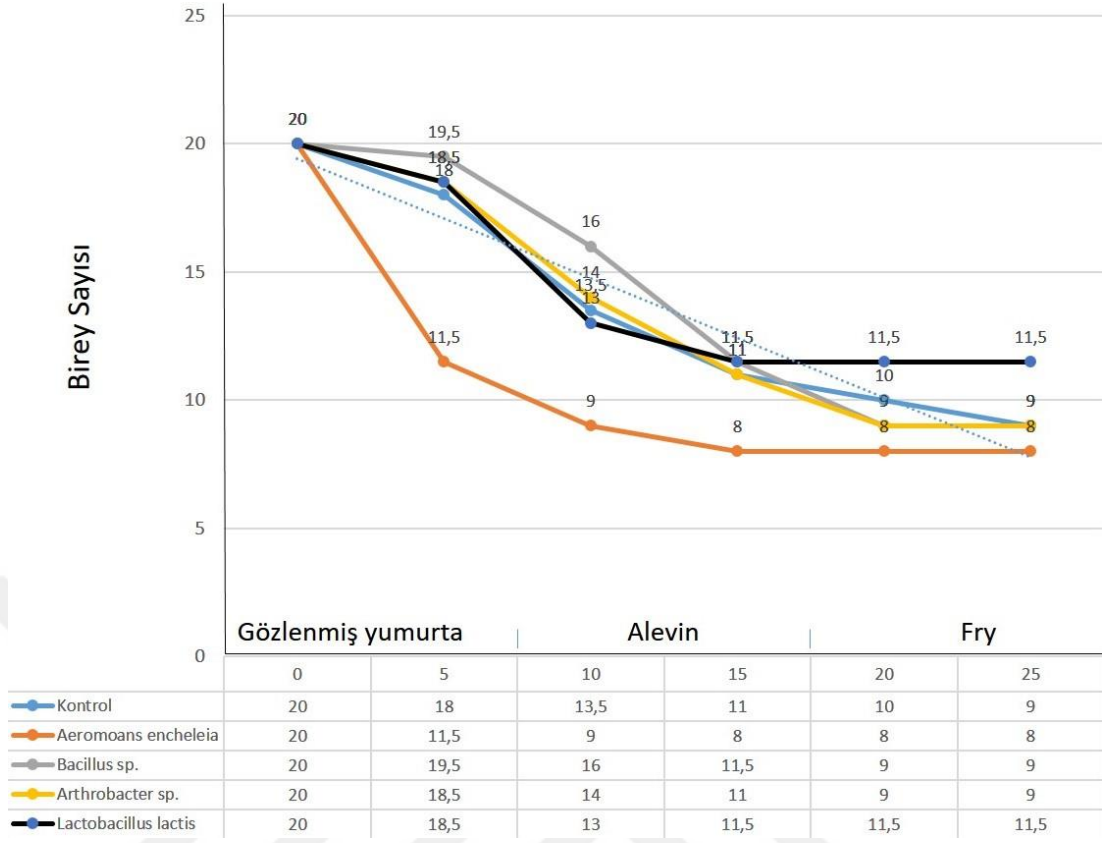
3.1. Deneme Gruplarında Yaşama Oranları

Yumurtaların larva evresine gelene kadar takip edilen deneme süresinde katlanmış ölüm oranları ve dolayısıyla yaşama oranları yüzde olarak hesaplanmıştır (Şekil 4). Buna göre, akar sistemde en yüksek yaşama oranı %57,5 ile *Lactococcus lactis* bakterisinin olduğu grupta kaydedilmiştir. Diğer gruplarda ise %40-45 değerlerinde bir yaşama oranı gözlemlenmiştir. Statik sistemde ise *Bacillus* sp. grubu %92,5'luk bir değer ile diğer gruplardan daha yüksek bir yaşama oranına sahip olarak kaydedilmiştir. Bu grubu %70 ile *L. lactis* ve %57,5 ile *Arthrobacter* sp. grupları takip etmiştir. Her iki sistemde de kontrol grubu ve *Aeromonas encheleia* grupları en düşük yaşama oranına sahip olmuşlardır.

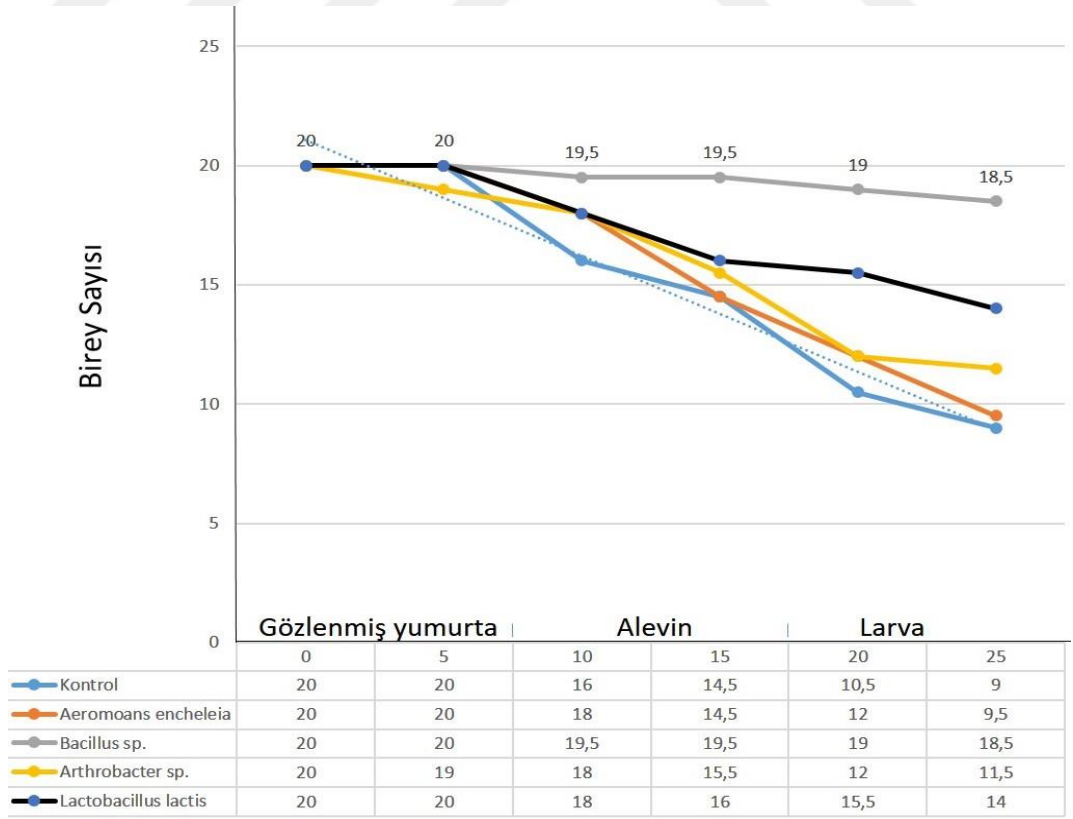


Şekil 4. Gruplara göre yumurtalarda % yaşam oranları.

Akar sistemde gruplarda önemli sayılabilecek kayıpların balıkların alevin evresinde olduğu gözlemlenmiştir (Şekil 5). Diğer gruplardan farklı olarak, *A. encheleia* grubunda ölümlerin diğer gruplara göre daha yüksek olduğu gözlemlenmiştir. Larva evresinde ölümlerin sabit bir çizgide seyrettiği belirlenmiştir. Statik sistemde de *Bacillus* sp. grubu haricinde yine ölüm oranlarının yüksek olduğu evre alevin dönemi olarak kaydedilmiştir (Şekil 6).



Şekil 5. Akar sistemde balıkların farklı evrelere göre ölüm değerleri



Şekil 6. Statik sistemde balıkların farklı evrelere göre ölüm değerleri

3.2. Probiyotik Özellik Belirleme Testleri

Gerçekleştirilen bu çalışmalar sonucunda probiyotik özelliği olabileceği düşünülen *Lactococcus lactis* ve *Bacillus* sp. bakterilerinin besi yerlerinden elde edilen sıvılarının hiçbir patojen bakteriye karşı bu özelliği taşımadığı belirlenmiştir.

3.3. *Aeromonas hydrophila*'ya Karşı Baskılama Deneme Sonuçları

Bu denemede yaşama oranları kontrol grubu %80, sadece *Aeromonas hydrophila* grubu %79, *A. hydrophila* ve *Lactococcus lactis* grubu %80 ve *A. hydrophila* ve *Bacillus* sp. grubu ise %77 olarak kaydedilmiştir. Özellikle sadece *Aeromonas hydrophila* ve *A. hydrophila* ve *Lactococcus lactis* gruplarında %3 oranında mavi kese sendromuna rastlanmıştır. Yine kontrol grubu dışında kalan diğer tüm gruplarda %4 oranında besin kesesinde berrak sıvı birikimi gözlemlenmiştir.

3.4. Patolojik Bulgular

Tüm gruplarda gözlemlenmeler sonucunda önemli bir patolojik bulguya rastlanılmamıştır. Sadece *Aeromonas encheleia* grubunda diğer gruplara göre farklı olabilecek bulgu yumurta kesesinde düşük yaygınlıkta peteşiyal hemorajiler gözlemlenmiştir.

4. TARTIŞMA ve SONUÇLAR

Tüm dünyada bakteriyel patojenler ile mücadelede en önemli tedavi edici grup antibiyotiklerdir. Ancak bakterilerin antibiyotiklere karşı direnç geliştirebilme özellikleri etkinliklerinin azalmasına ve sürekli yeni nesil antibiyotiklerin geliştirilmesi ihtiyacını ortaya koymaktadır (Juma ve Karaman, 2015). Ayrıca konak canlılar üzerinde antibiyotiklerin meydana getirdikleri olumsuz etkiler yadsınamaz derecededir.

Yukarıda bahsi geçen nedenlerle son yıllarda bilim insanları antibiyotiklere ihtiyaç duyulmasını azaltacak ve tedaviden öteye hastalanmayı önleyici tedbirlerin alınmasına yönelmektedirler. Bu amaca yönelik olarak tüm sektörlerde probiyotiklerin kullanımı öne çıkmaktadır. Yaygın balık patojenleri olan *Aeromonas hydrophila*, *A. salmonicida*, *Flavobacterium psychrophilum*, *Photobacterium damsela*, ve *Vibrio* türlerine karşı *Carnobacterium* sp.'nin baskılayıcı etkilerin var olduğu gökkuşağı alabalığı üzerinde yapılan denemelerde belirlenmiştir (Robertson vd., 2000). Yine balıkların hastalıklar adına en çok etkilendiği su kalite kriterleri için de probiyotik olabilecek bakteriler ile iyileştirme çalışmalarının varlığı dikkati çekmektedir. Bu bağlamda *Bacillus* cinsine ait bakteriler yaygın olarak kullanılmaktadır (Kozasa, 1986). Gerçekleştirilen bu tez çalışmasında bu bilimsel gerçeklerden yola çıkılarak alabalık kuluçka sistemlerinden izole edilen *Bacillus* sp., *L. lactis*, *Arthrobacter* sp. ve *Aeromonas encheleia* bakterilerinin alabalık yumurta yaşama oranına pozitif katkıları araştırılmıştır. Sonuçlara bakıldığında, özellikle statik sistemde *Bacillus* sp., *L. lactis*, bakterileri ile muamele edilen gruplarda yaşama oranının kontrol grubuna göre yüksek olduğu belirlenmiştir. Aksine *Aeromonas encheleia* grubuna ait yumurtalarda ise kontrol grubuna göre özellikle akar sistemde daha düşük bir yaşama oranı belirlenmiştir.

Bakterilerin çoğalma süresi, farklı yüzeylere tutunma özellikleri ve özellikle su kalite kriterleri gibi faktörler, onların ürettikleri maddelerin miktarını, çeşitliliğini ve aktivitesini etkilemektedir. Örneğin su sıcaklık ve pH değerleri bakteriler için oldukça önemli kriterlerdir. Gerçekleştirilen bir çalışmada *Bacillus subtilis* türünün enzim aktivasyonu için en uygun üreme sıcaklığı 37°C olarak ifade edilmektedir. Yine aynı bakteri için pH değeri ise 5,5 olarak belirlenmiştir (Khoni vd., 2017). Bir diğer çalışmada ise *Lactococcus lactis* için optimum üreme sıcaklığının 40°C olduğu ve üreme periyodu boyunca besiyerinin pH seviyelerini düşürme özelliğinde olduğu rapor edilmiştir. Bu

bilgilere karşın *Aeromonas encheleia* türünün bahsi geçen bakterilere karşın daha düşük sıcaklıkları (22-28°C) tercih ettiği bilinmektedir (Tomas, 2012). Yine *Arthrobacter* sp. için 16-25°C aralığında optimum üreme tercihi olduğu rapor edilmiştir (Ganzert vd., 2011). Bahsi geçen bu değerler denemede kaydedilen su sıcaklık değerlerine göre oldukça yüksek değerlerdir. Ancak yine de bir yakınlık kurulmaya çalışıldığında statik sistemde kaydedilen su sıcaklık değeri, tüm bakteriler için optimum su sıcaklık değerlerine daha yakındır. Bu nedenle statik sistemde bakterilerin daha etkin olduğu düşünülebilir ve yumurtalarda yaşama oranının daha yüksek oranda olması bu şekilde açıklanabilir.

Bakterilerin olumlu ya da olumsuz etkileri için önemli bir faktör de ortamın stabilitesi, tutunma yüzeylerinin özellikleri ya da sıvı ortamların hareketli olmasıdır. Örneğin sıvı besiyerlerinde bakterilerin tüm alana yayılması için besiyerinin çalkalanması en yaygın metottur. Bir diğer örnek ise su arıtma ortamlarında bakterilerin tutunabileceği bioball (yüzey artırıcı yapılar) kullanılmasıdır (Maier, 2009). Bu çalışmada bakterilerin tutunma yüzeyi olarak ana materyal yumurtalardır. Ancak akar sistemlerde bakterilerin tutunma ve sayı olarak ortamda artışı statik sisteme göre daha dez-avantajlı bir durumdur. Yumurtaların hayatta kalma oranına bu durumun da etkisinin olduğu düşünülmektedir. Bu bağlamda ilerleyen çalışmalarda özellikle bu konuya odaklı çalışmalar yapılabilir.

Alabalık yumurtaları üzerinde daha önce yapılan bakteriyel kontaminasyon denemelerinde ölüm oranlarının özellikle alevin safhalarında hızla arttığı ve pik yaptığı ifade edilmiştir (Kayış vd., 2017). Yine bu çalışmalarda hemorajiler patolojik bulgular olarak sunulmuştur. Bu çalışmada, benzer olarak yine alevin safhasında ölüm oranlarının arttığı ve daha sonraki evrede ölümlerin stabil hale gelip durma eğiliminde olduğu gözlemlenmiştir. Ancak diğer patolojik durumlar açısından karşılaştırıldığında *Aeromonas encheleia* grubu dışında kontrol grubundan farklı olarak herhangi bir patolojik bulguya rastlanılmamıştır. Bahsi geçen bu grupta sadece yumurta kesesi üzerinde gözlemlenen peteşiyal hemorajiler olmuştur.

Probiyotik özelliği olan bakterilerin diğer patojenik bakterilere karşı inhibe edici özelliklerinin incelenmesinde invitro denemeler önemli bir yer tutmaktadır. Özellikle bakterilerin ürettiği ürünlerin diğer patojen bakterilere karşı etkili olması ile ilgili denemelerden en önemlileri besiyerinde zon çaplarının oluşması ile ilgilidir. Bu bağlamda bakıldığında alabalıklar için patojen olan *Aeromonas hydrophila*, *Yersinia ruckeri*, *Lactococcus garviaea* ve *Pseudomonas putida* bakterilerine karşı probiyotik özellikte

olabileceği düşünölen bakteri ürünlerinin etkili olmadığı besiyeri üzerinde belirlenmiştir. Bunun yanı sıra aynı bakterilerin *Aeromonas hydrophila* bakterisine karşı yapılan denemelerinde de önemli bir fayda elde edilememiştir. Sadece mavi kese sendromu ile ilgili *Bacillus* sp. grubunda bu sendromun gözlemlenmemesi olumlu bir etki olarak değerlendirilebilir.



5. ÖNERİLER

Doğu Karadeniz Bölgesi su ürünleri yetiştiriciliği açısından önemli bir potansiyele sahiptir. Daha çok iç sularda yetiştiriciliği yapılan alabalık türleri son zamanlarda üretime deniz sahalarının açılmasıyla birlikte kafeslerde de üretilmeye başlanmıştır. Bu bağlamda, bölgede yetiştirilen alabalık tesislerinin, kuluçkalarından izole edilen bakterilerin, yumurta kuluçka performansına etkilerinin incelendiği bu tez çalışması bazı sonuçları ortaya koymuştur.

Bu sonuçlar ışığında, su ürünleri yetiştiriciliği yapan işletmelere, konu ile ilgili bilimsel çalışmalar yürüten araştırmacılara katkı sağlayabilecek öneriler aşağıda sıralanmıştır.

1. Bu çalışmada *Bacillus* sp., *L. lactis*, *Arthrobacter* sp., ve *A. encheleia* olmak üzere dört bakteri üzerinde çalışılmıştır. Öncelikle bu çalışma kapsamında bu bakterilerin balık yumurta ve larvalarında patojenik özellikte olmadığı söylenebilir.
2. *Bacillus* sp. ve *L. lactis* bakterilerinin yaşama oranına olumlu etkisi belirlenmiş bu bilgi ışığında bakterilerin besiyeri üzerinde in vitro çalışma sonucu patojen bakterilere inhibe edici özelliği araştırılmıştır. Ancak bu anlamda bir özellik elde edilememiştir. Yumurtalar üzerinde olumlu etkinin nelerden kaynaklanabileceği ilerleyen çalışmalarda yapılabilir.
3. Alabalık üreticilerinin yumurta evresinde kuluçka sistemlerinde yaşama oranını artırma anlamından *Bacillus* sp. ve *L. lactis* bakterilerini kullanmaları bu çalışma ile tavsiye edilebilir.
4. Alabalık kuluçka sistemlerinden izole edilen diğer bakteri türlerinin de ilerleyen çalışmalarda kullanımı sağlanabilir.

KAYNAKLAR

- Abd-El Gawad, EA., Shen, Z.G. and Wang, H.P. (2015). Efficacy of formalin, iodine and sodium chloride in improvement of egg hatching rate and fry survival prior to the onset of exogenous feeding in yellow perch. *Aquaculture Research*, 47(8), 1-9. <https://doi.org/10.1111/are.12694>.
- Ahmed, R., Sankar-Mistry, P., Jackson, S., Ackermann, H.W. and Kasatiya, S.S. (1995). *Bacillus cereus* phage typing as an epidemiological tool in outbreaks of food poisoning. *J Clin Microbiol*, 33, 636-640.
- Alparslan, Y., Baygar, T. and Yıldız, D. (2012). Ozone and its importance in seafood processing facilities. *Electronic Journal of Food Technologies*, 7(3), 24-31.
- Baran, I., Timur, M., Aydın, N., İstanbulluoğlu, E. ve Aydintuğ, M.K. (1980). Çifteler-Sakaryabaşı balık üretim ve araştırma istasyonunda, alabalıklarda *Salmo gairdneri irideus* görülen bakteriyel hemorajik septisemi hastalığı üzerinde incelemeler. *AÜ Veteriner Fakültesi Dergisi*, 27(3-4), 467-473. <https://doi.org/10.31797/vetbio.389966>
- Barnes, M.E., Sayler, W.A. and Cordes, R.J. (2001). Use of formalin treatments during incubation of eyed eggs of brown trout. *North American Journal of Aquaculture*, 63, 333-337. [https://doi.org/10.1577/15488454\(2001\)063<0333:UOFTDI>2.0.CO;2](https://doi.org/10.1577/15488454(2001)063<0333:UOFTDI>2.0.CO;2).
- Baydan, E., Yurdakök, B. and Aydın, F.G. (2012). Antibiotic use in fish. *Türkiye Klinikleri Journal of Veterinary Sciences*, 3, 45-52.
- Bonade, A., Murelli, F., Vescovo, M. and Scolari, G. (2001). Partial characterization of a bacteriocin produced by *Lactobacillus helveticus*. *Letters in Applied Microbiology*, 33, 153-158. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.07.022>.
- Ganzert, L., Bajerski, F., Mangelsdorf, K., Lipski, A. and Wagner, D. (2011). *Arthrobacter livingstonensis* sp. nov. and *Arthrobacter cryotolerans* sp. nov., salt-tolerant and psychrotolerant species from antarctic soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 61, 979-984. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.021022-0>.
- İspir, Ü., Şeker, E., Sağlam, N. ve Dörücü, M. (2004). Doğu anadolu bölgesinde bazı gökkuşacağı alabalığı (*oncorhynchus mykiss*) işletmelerinde görülen *Flavobacterium psychrophilum* enfeksiyonunun araştırılması. *F. Ü. Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 16(4), 718-724.
- Juma, S. and Karaman, R. (2015). *Antibiotics In Commonly Used Drugs*, 1st ed. Nova Science Publishers, Inc., ISBN: 978-1-63463-828-9, 73s., 47.
- Kayış, Ş. (2019). Analysis of fish health status in terms of sustainability of aquaculture in Turkey-a swot analysis. *Aquaculture Studies*, 19(1), 69-76. http://doi.org/10.4194/2618-6381-v19_1_07.

- Kayış, Ş., Balta, F., Serezli, R. and Er, A. (2013). Parasites on different ornamental fish species in Turkey. *Journal of Fisheries Sciences*, 7(2), 114-120. <http://doi.org/10.3153/jfscom.2013012>.
- Kayış, Ş., Düzgün, A. and Er, A. (2018). Bacterial and parasitic pathogens isolated from some wild cyprinid fishes. *El-Cezerî Journal of Science and Engineering*, 5(3), 763-772. <https://doi.org/10.31202/ecjse.422568>.
- Kemmerly, S.A. and Pankey, G.A. (1993). Oral ciprofloxacin therapy for *bacillus cereus* wound infection and bacteremia. *Clinical Infectious Diseases*, 16(1), 189. <https://doi.org/10.1093/clinids/16.1.189>.
- Kozasa, M. (1986). Toyocerin (*Bacillus toyoi*) as growth promotor for animal feeding. *Microbiologie Aliments Nutrition*, 4(2), 121-135.
- McCain, B.B., Chan, S.L, Krahn, M.M., Brown, D.W., Myers, M.S., Landahl, J.T., Pierce, S., Clark, R.C. and Varanasi, U. (1992). Chemical contamination and associated fish diseases in san diego. *Environmental Sciences Technology*, 26(4), 725-733. <https://doi.org/10.1021/es00028a009>.
- Nieto-Lozano, J.C., Raguera-Useros, J.I., Pelaez-Martinez, M.C. and De La Torre, A.H. (2002). Bacteriocinogenic activity from starter cultures used in spanish meat industry. *Meat Science*, 62, 237-243. [https://doi.org/10.1016/S0309-1740\(01\)00252-2](https://doi.org/10.1016/S0309-1740(01)00252-2).
- Novakova, D., Svec, P. and Sedlacek, I. (2009). Characterization of *Aeromonas encheleia* strains isolated from aquatic environments in the czech republic, *Letters in Applied Microbiology*, 48, 289-294. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2008.02528.x>.
- Onuk E.E., Tanrıverdi Çaycı, Y., Çoban, A.Y., Çiftçi, A., Balta, F., Didinen, B.I. ve Altun, S. (2017). Balık ve yetiştirme suyu kökenli aeromonas izolatlarının antimikrobiyal duyarlılıklarının saptanması. *Ankara Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi*, 64, 69-73.
- Öktener, A., Yalçın, M. and Koçyiğit, E. (2004). Protozoon parasites recorded in fish from Turkey. *Anadolu University Journal of Science and Technology*, 5(2), 297-305. <https://doi.org/10.3856/vol45-issue5-fulltext-10>.
- Özçelik, H., Alagöz, K. and Sönmez, A.Y. (2017). Mechanization in aquaculture. *Menba Journal of Fisheries Faculty*, 3(1-2), 24-29.
- Öztürk, R.Ç. and Altınok, I. (2014). Bacterial and viral fish diseases in Turkey. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic*, 14, 275-297. https://doi.org/10.4194/1303-2712-v14_1_30.
- Polat, N., Zengin, M. and Gümüş, A. (2011). Invasive fish species and life strategies. *The Black Sea Journal of Sciences*, 1(4), 63-86.
- Robertson, P.A.W., O'Dowd, C., Burrells, C., Williams, P. and Austin, B. (2000). Use of *carnobacterium* sp. as a probiotic for atlantic salmon (*Salmo salar l.*) and rainbow

trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 185(3-4), 235–243.
[https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(99\)00349-X](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(99)00349-X).

Sommerset, I., Krossøy, B., Biering, E. and Fros, P. (2005). Vaccines for fish in aquaculture. *Expert Reviews of Vaccines*, 4(1), 89–101.
<https://doi.org/10.1586/14760584.4.1.89>.

Soyköse, G. (2019). Rize ilindeki bazı alabalık işletmelerinin kuluçka sistemlerindeki bakteriyel patojenlerin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi. Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Rize, Türkiye, 36 s.

Srivastava, S., Sinha, R. and Roy, D. (2004). Toxicological effects of malachite green. *Aquatic toxicology*, 66(3), 319-29. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2003.09.008>.

Timur, G. and Timur, M. (1991). An outbreak of enteric red mouth disease in farmed rainbow trout (*O.mykiss*) in Turkey. *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists*, 11(5), 182.

Timur, M. (1983). An outbreak of disease of farmed eel (*Anguilla anguilla*) due to *aeromonas hydrophila* in Turkey: histopathological and bacteriological studies. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 30(3), 361-367.
https://doi.org/10.1501/Vetfak_0000000173.

Yavuzcan, H., Pulatsü, S., Demir, N., Kırkağaç, M., Bekcan, S., Topçu, A., Doğankaya, L. ve Başçınar, N. (2010). Türkiye’ de sürdürülebilir su ürünleri yetiştiriciliği. *TMMOB Ziraat Mühendisliği VII. Teknik Kongresi*, Ankara, 11-15 Ocak, 767-789.

Yılmaz, E., Yılmaz, A. ve Bilgin, B. (2011). Alabalık kuluçkahanelerinde görülen önemli hastalıklar ve tedavi yöntemleri. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 4(2), 37-39.

ÖZGEÇMİŞ

05.05.1989 yılında Malatya’da doğdu. İlkokulu Malatya Hacı İbrahim Işık İlköğretim Okulu'nda tamamladı. Ortaokulu İstanbul Ticaret Odası Ortaokulu’nda tamamladı. Liseyi İstanbul Burhan Felek Süper Lisesi'nde okudu. 2008 yılında Çukurova Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesini kazandı ve 2012 yılında mezun oldu. 2016 yılında Rize Çamlıhemşin İlçe Tarım ve Orman Müdürlüğünde göreve başladı. 2017 yılında Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Su Ürünleri Anabilim Dalı’nda yüksek lisans öğrenimine başladı. Halen Rize Çamlıhemşin İlçe Tarım ve Orman Müdürlüğünde Su Ürünleri Mühendisi olarak çalışmaktadır.