

T.C.
RECEP TAYYİP ERDOĞAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BAZI BAKTERİYEL BALIK PATOJENLERİNİN ALABALIK
KULUÇKA SİSTEMLERİNDE ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

CANSU YILMAZ

TEZ DANIŞMANI
DOÇ.DR. ŞEVKİ KAYIŞ
TEZ JÜRİLERİ
PROF. DR. İLHAN ALTINOK
DOÇ. DR. FİKRİ BALTA

YÜKSEK LİSANS TEZİ
SU ÜRÜNLERİ ANABİLİM DALI



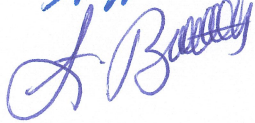
RİZE-2016

Her Hakkı Saklıdır

T.C.
RECEP TAYYIP ERDOĞAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BAZI BAKTERİYEL BALIK PATOJENLERİNİN ALABALIK KULUÇKA
SİSTEMLERİNDE ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

Doç. Dr. Şevki KAYIŞ danışmanlığında Cansu YILMAZ tarafından hazırlanan bu çalışma, Enstitü Yönetim Kurulu kararıyla oluşturulan jüri tarafından 08/12/2016 tarihinde Su Ürünleri Anabilim Dalı'nda YÜKSEK LİSANS tezi olarak kabul edilmiştir.

| Jüri Üyeleri | Ünvanı Adı Soyadı | İmzası |
|--------------|---------------------------|---|
| Başkan | : Prof. Dr. İlhan ALTINOK |  |
| Üye | : Doç. Dr. Şevki KAYIŞ |  |
| Üye | : Doç. Dr. Fikri BALTA |  |


Doç. Dr. Ferhat KALAYCI
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRÜ



ÖNSÖZ

Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Su Ürünleri Anabilim Dalı'nda yüksek lisans tezi olarak hazırlanan bu çalışmada; bazı bakteriyel balık patojenlerinin gözlenmiş alabalık yumurtaları üzerindeki larval aşamaya ulaşmaya kadar geçen sürede sebep olduğu problemlerinin tespitine yönelik kapsamlı bir çalışma yapılmıştır.

Bakteriyel patojenlerin alabalıklar üzerinde meydana getirdiği olumsuz etkiler genellikle larval aşamada daha çok ele alınmakta ve rapor edilmektedir. Yumurta evresinde bakteriyel patojenlerin yumurta deformasyonları, çıkış oranı ve suni yeme geçiş dönemlerindeki etkileri tam olarak irdelenmemektedir. Bu çalışmada farklı iki alabalık türünde, Doğu Karadeniz Bölgesi'nde balıklarda patojen olan bazı bakterilerin yumurtalar üzerindeki etkileri araştırılmıştır.

Tezin gerçekleştirilmesi aşamasının her anında önerileri ve paylaşımlarıyla yardımını ve desteğini esirgemeyen çok değerli danışman hocam sayın Doç. Dr. Şevki KAYIŞ'a teşekkürlerimi bir borç bilirim. Yapılan çalışmalarda her zaman yardımlarını esirgemeyen Yrd. Doç. Dr. İlker Zeki KURTOĞLU, Arş. Gör. Akif ER ve Uzman Özay KÖSE'ye yetim kalbimle teşekkür ederim.

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.

Hazırlanan bu Yüksek lisans tezi R.T.E.Ü. BAP tarafından 2011.103.02.3 nolu proje ile desteklenmiştir.

Cansu YILMAZ

TEZ ETİK BEYANNAMESİ

Tarafımdan hazırlanan “Bazı Bakteriyel Balık Patojenlerinin Alabalık Kuluçka Sistemlerinde Etkilerinin İncelenmesi” başlıklı bu tezin, Yükseköğretim Kurulu Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiği Yönergesindeki hususlara uygun olarak hazırladığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal işlemi kabul ettiğimi beyan ederim.06/12/2016



Cansu YILMAZ

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

ÖZET

BAZI BAKTERİYEL BALIK PATOJENLERİNİN ALABALIK KULUÇKA SİSTEMLERİNDE ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

Cansu YILMAZ

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

Bakteriyel patojenlerin alabalıklar üzerinde meydana getirdiği olumsuz etkiler genellikle larval aşama ve sonrasında daha çok ele alınmakta ve rapor edilmektedir. Yumurta evresinde bakteriyel patojenlerin yumurta kayıpları, çıkış oranı ve suni yeme geçiş dönemlerindeki etkileri tam olarak irdelenmemektedir. Bu çalışmada farklı iki alabalık türünde (*Oncorhynchus mykiss* ve *Salmo coruhensis*), balıklarda patojen olan bazı bakterilerin (*Aeromonas hydrophila*, *Lactococcus garvieae*, *Pseudomonas putida* ve *Yersinia ruckeri*) yumurta, alevin ve fry bireyler üzerindeki patojenik etkileri araştırılmıştır. Bu amaçla, bahsi geçen iki tür alabalığın gözlenmiş yumurtaları bakteriyel patojenler ile enfekte edilmiştir. Gözlenmiş yumurta aşamasından fry evresine kadar geçen süre sonunda kümülatif ölüm oranları *A. hydrophila* için gökkuşağı alabalığı ve kahverengi alabalıkta sırasıyla %17,66 ve %20,3 oranlarında en yüksek değerde kaydedilmiştir. Kontrol gruplarında ise bu oran yine sırasıyla %1 ve %2,6 olarak gözlemlenmiştir. Diğer bakteri gruplarında da ölüm oranları kontrol grubuna göre oldukça yüksek bulunmuştur. Bakterilerin, fry bireyler üzerinde mavi kese sendromu, omurga deformasyonları, renkte kararırma ve kanamalara sebep olduğu belirlenmiştir. Çalışmada 90. gün sonunda kontrol grubu ve bakteri enfekte edilen bireylerin canlı ağırlıkları arasında önemli farklılıklar ortaya çıkmıştır. Sunulan bu tez çalışmasıyla, alabalık kuluçka sistemlerinde bakteriyel kontaminasyonun patojenik etkileri ortaya konulmuştur.

2016, 27 sayfa

Anahtar Kelimeler: Alabalık, Yumurta, Alevin, Bakteri, Patojenik Etki

ABSTRACT

INVESTIGATION OF EFFECTS OF SOME PATOGENIC BACTERIA IN THE TROUT HATCHERY SYSTEMS

Cansu YILMAZ

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

Effects of pathogenic bacteria on trout species have been generally reported in the larval and after stages. Effects of bacteria on survival rate of eggs and artificial feeding stage of larvae were not investigated yet. Effects of some pathogenic fish bacteria such as *Aeromonas hydrophila*, *Lactococcus garvieae*, *Pseudomonas putida* and *Yersinia ruckeri* were investigated on eggs, alevines and fry of *Oncorhynchus mykiss* and *Salmo coruhensis* in the present study. For this purpose, eyed eggs were exposed with the bacteria. Highest mortality rate for *A. hydrophila* in the treatment times were observed 17.66% and 20.3% for rainbow trout and brown trout respectively. And also, the rate of control groups was recorded as 1% and 2.6% respectively. The cumulative mortality rates of the other bacterial groups were observed higher than the control groups. Blue sac fry syndrome, spine deformities, darkening on the skin color and hemorrhages were observed for bacteria exposed fish. The pathogenic effects of bacterial contamination in the trout hatchery systems were presented in the present study.

2016,27 pages

Keywords: Trout, Egg, Alevine, Bacteria, Pathogenic Effect

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. Alabalık Kuluçka Sistemlerinde Patojenik Hastalık Etmenleri..... | 3 |
| 1.2.1. Viral Patojenler..... | 3 |
| 1.2.2. Mikotik ve Paraziter Patojenler..... | 3 |
| 1.2.3. Bakteriyel Patojenler..... | 4 |
| 2. YAPILAN ÇALIŞMALAR..... | 7 |
| 2.1. Materyal..... | 7 |
| 2.1.1. Yumurta Temini..... | 7 |
| 2.1.2. Çalışmada Kullanılan Kuluçkahane Suyunun Özellikleri..... | 8 |
| 2.1.3. Deneme Ünitesi..... | 8 |
| 2.1.4. Kullanılan Bakteri Türleri..... | 9 |
| 2.1.5. Bakteriyel Çalışmalarda Kullanılan Materyaller..... | 10 |
| 2.1.6. Deneme Düzenegi..... | 10 |
| 2.1.7. Bakterilerin Yumurtalara Kontaminasyonu..... | 12 |
| 2.1.8. Deneme Süresince Yapılan Çalışmalar..... | 12 |
| 2.1.9. Günlük Yapılan İşlemler, Denemenin Sonlandırılması ve İstatistiksel Değerlendirme..... | 13 |
| 3. BULGULAR..... | 14 |
| 3.1. Kümülatif Ölüm Oranları..... | 14 |
| 3.2. Belirlenen Patolojik Semptomlar..... | 15 |
| 3.3. Canlı Ağırlık Artışı..... | 18 |
| 3.4. Yumurta Yüzeyinde Bakterilerin Varlığı..... | 18 |

| | |
|-----------------------------|----|
| 4.TARTIŞMA ve SONUÇLAR..... | 19 |
| 5. ÖNERİLER..... | 24 |
| KAYNAKLAR | 25 |
| ÖZGEÇMİŞ..... | 27 |

ŞEKİLLER DİZİNİ

- Şekil 1.** Denemede kullanılan gözlenmiş yumurtalar *Oncorhynchus mykiss* (A), *Salmo coruhensis* (B)..... 7
- Şekil 2.** Yumurta inkübasyonunun gerçekleştirildiği inkübatörler, yan görünüm (A), inkübatör su çıkışları ve çıkan suyun toplandığı hazne (B), yumurtaların yerleştirildiği elek kısmı (C)..... 9
- Şekil 3.** Gökkuşığı alabalığı kümülatif ölüm oranları.yumurta evresi (I), alevin evresi (II), fry evresi (III)..... 14
- Şekil 4.** Kahverengi alabalığı kümülatif ölüm oranları.yumurta evresi (I), alevin evresi (II), fry evresi (III)..... 15
- Şekil 5.** Alevin bireylerde *Aeromonas hydrophila* kaynaklı mavi kese hastalığı, gökkuşığı alabalığı (A) ve kahverengi alabalık (B). Kahverengi alabalıklarda omurga deformasyonları (C, D). 16
- Şekil 6.** Alevin bireylerde *Lactococcus garvieae* kaynaklı kanamalar, gökkuşığı alabalığı (A) ve kahverengi alabalık (B) beyaz ok ile gösterilmiştir. Gökkuşığı alabalığı ve kahverengi alabalıklarda omurga deformasyonları (C, D)..... 16
- Şekil 7.** Alevin bireylerde *Pseudomonas putida* kaynaklı besin kesesi dağılımları, gökkuşığı alabalığı (A) ve kahverengi alabalık (B). Gökkuşığı alabalığı *Yersinia ruckeri* kaynaklı mavi kese oluşumu (C) ve kahverengi alabalıklarda omurga deformasyonu (D). 17

TABLolar DİZİNİ

| | | |
|-----------------|--|----|
| Tablo 1. | Denemede kullanılan suyun fizikokimyasal özellikleri ve referans değerler | 8 |
| Tablo 2. | Çalışmada kullanılan bakteriler ve izole edildikleri balık türleri..... | 10 |
| Tablo 3. | Deneme düzeneği ve yumurta miktarları..... | 11 |
| Tablo 4. | Yumurtalara kontamine edilen bakteri miktarları ve önceki çalışmalarda yumurtalar üzerinde yapılan çalışmalardan elde edilen değerler..... | 12 |
| Tablo 5. | İki farklı balık türünde bakterilerden kaynaklı kümülatif ölüm oranları | 14 |
| Tablo 6. | Deneme gruplarında gözlemlenen patolojiler (%), G: gökkuşuğu alabalığı, K:kahverengi alabalık. | 17 |

SEMBOLLER ve KISALTMALAR DİZİNİ

| | |
|-----|--------------------------|
| °C | Derece Santigrat |
| API | Analytical Profile Index |
| FTS | Fizyolojik Tuzlu Su |
| mg | Miligram |
| ml | Mililitre |
| mm | Milimetre |
| TSA | Tryptic Soy Agar |
| TSB | Tryptic Soy Broth |

1. GENEL BİLGİLER

1.1. Giriş

Su ürünleri yetiştiriciliği açısından irdelendiğinde, Türkiye'nin 2015 yılı verilerine göre yıllık 240 bin tonluk bir üretime sahip olduğu bildirilmiştir. Üretilen türler açısından bakıldığında ise 108 bin ton ile alabalık üretimi en ön sırada gelmektedir (URL-1). Ülkemizde alabalık yetiştiriciliğinin başlangıcı 1970'li yıllara dayanmaktadır. İlk üretilen tür Kuzey Amerika kökenli olan gökkuşuğu alabalığıdır (*Oncorhynchus mykiss*). Daha sonraları ise kaynak (*Salvelinus fontinalis*) alabalığı ve kahverengi (*Salmo labrax/ Salmo coruhensis*) alabalık türleri üretime dahil olmuştur (Çelikkale vd., 1999; Turan vd., 2009).

Su ürünleri yetiştiriciliğinde başarılı bir üretimin elde edilmesinde bir çok etmenin birlikte değerlendirilmesi gerektiği bilinmektedir. Yetiştiricilik için uygun su kalite kriterleri, türe özgü yem rasyonlarının hazırlanması ve anaç olarak seçilen bireylerin kalitesinin optimum üretim için önem arz ettiği bildirilmiştir (Plump, 1999). Bu kriterlerin dışında su ürünleri yetiştiriciliğinde önem arz eden bir diğer konu da şüphesiz çeşitli hastalıkların varlığıdır. Yoğun üretim tekniklerinin uygulandığı ve stres şartları altında yetiştiriciliği yapılan su ürünlerinde, kütleli ölümlere dahi sebep olabilen çeşitli hastalıklar bir çok çalışmayla rapor edilmiştir (Woo, 2006; Austin ve Austin, 2007; Öztürk ve Altınok, 2014). Hastalıkların kaynağına bakıldığında ise patojenik olmayan (genetik, besinsel ve su kalite kriterleri) ve patojenik (bakteriyel, viral, mikotik ve paraziter) hastalıklar olarak iki ana grubun varlığı bilinmektedir (Lasee, 1995).

Patojenik balık hastalıkları ile ilgili literatür bilgilerine bakıldığında, özellikle bakteriyel, paraziter ve daha az yaygın olsa da mikotik hastalık etmenlerinin öne çıktığı görülmektedir. Bununla birlikte, teknolojik gelişmelere paralel olarak (seroloji, hücre kültürü ve elektron mikroskobu) daha sonraları viral patojenlerin varlığından da söz edilmeye başlanılmıştır (Timur ve Timur, 2003; Cengizler, 2006).

Bakteriyel balık hastalıkları konusuna daha yakından bakılacak olunursa, yaygın olarak yetiştiriciliği yapılan türler başta olmak üzere bir çok balık türünden, farklı cinslere ait balık patojeni bakteri rapor edilmiştir (Austin ve Austin, 2007). Bu bakteri türleri içerisinde kızıl ağız hastalığının etkeni olan *Yersinia ruckeri*, kok enfeksiyonlarında yaygın olarak izole edilen *Lactococcus garvieae*, denizel ortamlarda balıklarda hastalık meydana getiren *Vibrio* türleri, hemen hemen tüm sucul ortamlarda fırsatçı türler olarak yer alabilen *Aeromonas* cinsine ait bakteriler ve *Pseudomonas* türleri sıklıkla rapor edilen patojenik bakteri türleridir (Austin ve Austin, 2007).

Ülkemizde balık patojenlerinin varlığı ile ilgili çeşitli bilimsel çalışmalar mevcuttur. Bu bilimsel verilerin bir araya getirildiği ve detaylı olarak sunulduğu bir derleme çalışmasına göre, ülkemizde bakteriyel balık patojeni çeşitliliğinde 48 farklı bakterinin varlığından söz edilmektedir (Öztürk ve Altınok, 2014). Bu bakteriler içerisinde *Vibrio anguillarum* (Vibriosis), *Aeromonas salmonicida* (Furunculosis), Motile *Aeromonas* Septicemia (*Aeromonas hydrophila*, *A. sobria*), Yersiniosis (*Yersinia ruckeri*), ve Flavobacteriosis (*Flavobacterium psychrophilum*)'un rapor edildiği bildirilmiştir.

Bu raporlara bakıldığında, bakterilerin izole edildiği balıkların türlerinin, boy ve ağırlık aralıklarının genellikle alabalık (*Oncorhynchus mykiss*), levrek (*Dicentrarchus labrax*) ve çipura (*Sparus aurata*) şeklinde olduğu velarval aşamadan itibaren başlayıp anaç düzeyine kadar oldukları gözlemlenmektedir (Öztürk ve Altınok, 2014). Özellikle immün sistemin gelişmeye başladığı ve hastalıklara karşı daha hassas olunan larval aşamada kütleli ölümlerin sebebinin araştırıldığı çalışmalar dikkati çekmektedir. Bu bağlamda bakıldığında yumurta aşamasında balıkların bakteriyel hastalıklar ile ilişkilendirildiği çalışmaların oldukça az seviyede olduğu belirlenmiştir. Balık yumurtalarında patojenik hastalık etmenlerinin araştırılması ile ilgili çalışmaları öncelik genel olarak mantar enfestasyonları ve vertikal bulaşmanın olduğu viral çalışmalar oluşturmaktadır.

1.2. Alabalık Kuluçka Sistemlerinde Patojenik Hastalık Etmenleri

1.2.1. Viral Patojenler

Alabalık kuluçka sistemlerinde özellikle viral balık patojenleri vertikal bulaşma ve tedavi zorluğu nedeniyle daha önemli olarak kabul edilmiştir. Bu sistemlerdeki yüksek kayıpların önüne geçebilmek için üzerinde çalışılan önemli hastalıklardan biri Infeksiyöz Pankreatik Nekrozis (IPN) hastalığıdır. IPN *Birnaviridae* ailesinin *Aquabirnavirus* genusuna ait bir virüstür ve damızlık alabalıklardan vertikal olarak yumurtalara geçişi söz konusu olduğu için alabalık kuluçkahaneleri için önemli bir patojendir. Bu konuyla ilgili değişik çalışmalar yapılmıştır. Wolfvd. (1963), kaynak alabalıklarının (*Salvelinus fontinalis*) yumurta ve ovaryum sıvılarını inceleyecek şekilde yapmış oldukları çalışmada, IPN virüsünün varlığını her iki hedef dokuda da tespit etmişlerdir. İlerleyen yıllarda IPN virüsünün varlığının tespiti ile tedavi çalışmaları yürütülmüş ancak iodin gibi ajanların kullanımına rağmen başarılı olunamamıştır (Bullockvd., 1976). Günümüzde ise özellikle ülkemizde Doğu Karadeniz Bölgesi'nde IPN ile ilgili çalışmalar yoğunluk kazanmış ve birçok işletmede ve doğal stokta bu virüsün varlığı rapor edilmiştir (Öğüt ve Altuntaş, 2012).

Viral Hemorajik Septisemi (VHS) hastalığı olarak tanımlanan ve özellikle alabalık ve kalkan balıklarında yüksek mortaliteye sebep olan viral patojenin vertikal bulaşmasının olup olmadığı ve yumurta kontaminasyonu kesin olarak belirtilmemiştir. Ancak kuluçka sistemine anaç balıkların dışkıları ile horizontal bulaşmanın var olduğu ve bu sistemlerde fry balıklarda yoğun ölümlerin olduğu rapor edilmiştir (Anonim, 2011).

1.2.2. Mikotik ve Paraziter Patojenler

Özellikle yumurta evresinde yeni döllenmiş balık yumurtalarında döllenme başarısızlığı ve diğer nedenlerle meydana gelen ölümler sonucu mantar enfestasyonları yetiştiricilik sistemlerinde sıklıkla karşılaşılan bir durumdur. Bu enfestasyonlarda öne çıkan patojen mantar türü *Saprolegnia* sp. ve *S. parasitica* olarak rapor edilmektedir (Ural vd., 2011). Alabalık yumurtalarının döllenmeden itibaren gözlenme aşamasına

kadar geçen sürede mantarlaşmadan kaynaklanan kayıpların giderilmesinde sadece kimyasal mücadele yapılabildiği, herhangi bir mekanik iyileştirme yapılamadığı bilinmektedir. Bu aşamada mantar istilalarına karşı formalin ve iyodin gibi yaygın kullanılan dezenfektan maddelerin kullanıldığı bildirilmiştir(Cengizler, 2006;Ural vd., 2011).

Alabalık kuluçka sistemlerinde yumurta evresinden hemen sonra larval aşamada özellikle protozoan parazit enfestasyonları sıklıkla rapor edilmektedir.*Ichthyophthirius multifiliis*,*Trichodina* sp.,*Ichthyobodo necator* gibi protozoan parazit türleri gökkuşağı (*Oncorhynchus mykiss*), kaynak (*Salvelinus fontinalis*) ve kahverengi (*Salmo coruhensis*) alabalıklardan rapor edilmişlerdir (Balta vd., 2008).Alabalık kuluçka sistemlerinde yumurta inkübasyonu sırasında doğal olarak parazitik enfestasyon kaydına rastlanılmamıştır. Ancak deneysel enfestasyon çalışmalarına bakıldığında, alabalıklarda “dönme hastalığı” olarak bilinen hastalık etmeni *Myxobolus cerebralis* parazitinin gökkuşağı alabalığının gözlenmiş yumurtalarına enfeste edilmesi ile ilgili çalışmada, parazitin sadece yumurta yüzeyinde bulunduğu yumurta içerisine kontamine olmadığı rapor edilmiştir (Markiw, 1991).

1.2.3. Bakteriyel Patojenler

Bakteriyel patojenler açısından bakıldığında ise alabalık kuluçkahanelerinden rapor edilen önemli bir patojen *Flavobacterium psychrophilum*'dur. Bu patojen bakteriyel soğuk su hastalığının etkeni olup, özellikle frylarda yüksek oranda kayıplara neden olmaktadır. Bakterinin alabalık kuluçkahanelerindeki etkilerini belirlemek amacıyla değişik çalışmalar yapılmıştır. Brown vd. (1997), yaptıkları çalışmada kullandıkları gökkuşağı alabalığı yumurtalarına *Flavobacterium psychrophilum* bakterisi enfekte edip gelişimlerini takip etmişlerdir. Yumurta, fry ve fingerling dönemlerinde yapılan örneklemelerde bireyler üzerinde *Flavobacterium psychrophilum* bakterisi tespit edilmiş ve fingerling döneme kadar mortalite %75 olarak belirlenmiştir. Vatsos vd. (2006), gökkuşağı alabalıklarının döllenmemiş yumurtalarına *Flavobacterium psychrophilum* enfekte ederek, yumurtaların yapısında meydana gelen değişimleri araştırmışlardır. Genel olarak bu patojenle ilgili yapılan çalışmalarda

patojenin yumurtalara enfekte olmasının sebebi olarak vertikal geçiş ve kulukahanedeki kullanılan sudan kaynaklı olabileceği dűşünülmektedir (Madsen vd., 2005).

Bakteriyel bűbrek hastalığı etkeni olan *Renibacterium salmoninarum* kuluçkahanelerde görűlen patojen bakterilerden bir diđeridir. Genel olarak bu patojenle ilgili yapılan çalıřmalarda alabalık yumurtalarından izole edilen bakterinin patojenik etkilerinin ortadan kaldırılması amaçlanmıřtır. (Evelynvd., 1988). Ancak, Gee ve Sarles (1941), yaptıkları çalıřmada bu patojenin yumurtalara hangi yollarla enfekte olabileceđini de arařtırmıřtır. Hastalığın tedavisi ile ilgili olarak 10 dakika boyunca 100 ppm iyodin banyosunun gűkkuřađı alabalığının yumurtaları üzerinde bařarılı olduđu gűrűlműřtür.

Alabalık yumurtalarında bakteriyel patojenlerin etkileri ile ilgili bir diđer deneysel alıřma *Aeromonas hydrophila* bakterisi ile gerçekleřtirilmiřtir (Kayıř vd., 2015). Bu çalıřmada iki farklı alabalık tűrűnde (*Oncorhynchus mykiss* ve *Salvelinus fontinalis*) gűzlenmiř sađlıklı yumurtalara *A. hydrophila* enfekte edilmiř ve çalıřma bireyler besin kesesini tűketinceye kadar devam ettirilmiřtir. Çalıřma sonucunda alevinlerde mavi kese hastalığı *A. hydrophila* enfeksiyonu ile iliřkilendirilmiřtir. Ayrıca enfekte bireylerde kűműlatif ۆlűm oranları gűkkuřađı alabalığı için %30, kaynak alabalığı için ise %20 olarak rapor edilmiřtir.

Balıklarda patojen olduđu bilinen *Pseudomonas putidavePseudomonas fluorescens* bakterilerinin gűkkuřađı alabalığı alevinleri üzerine etkileri ile ilgili yapılan bir diđer deneysel çalıřmada ise, bakterilerin enfekte edilmesini takiben ۆlűmlerin %11'e ulařtıđı, ilerleyen sűrelerde *P. putidagrubunda* ۆlűm oranının %51'e yűkseldiđi rapor edilmiřtir (Kayıř vd., 2014). Aynı çalıřmada alevinlerin suni yeme geçiři evresinde kontrol grubuna gűre daha hassas oldukları bildirilmiřtir.

Konu ile ilgili gerçekleştirilen diğer çalışmalarda genel olarak kulukahanelerdeki bakteriyel flora belirlenmeye çalışılmış ve farklı bűlgelerdeki kulukahanelerden ۆrnekleme yapılarak patojenler tespit edilmiştir. Bu patojenlerden bazıları ise; *Flavobacterium psychrophilum*, *Saprolegnia parasiticia*, *Aeromonas hydrophila*, *Renibacterium salmoninarum*' dur (Barker vd., 2006; ۆzer vd., 2007).

Alabalık kuluçkahanelerindeki patojenlerin etkilerini ortadan kaldırmak için çeşitli yöntemler araştırılmış ve en etkili yöntemin belirlenmesi hedeflenmiştir. Bu amaçla formalin, tuz, sirke, hidrojenperoksit, iyodin gibi kimyasallar kullanılmış ve etkinlikleri çalışılmıştır. Patojen türüne bağlı olarak kimyasalların düzenli ve etkin dozda kullanımı başarılı sonuçlanmıştır (Wagner, vd., 2008). Bu bağlamda bakıldığında öncelikle kuluçka sistemlerinde özellikle yumurta evresinde bakterilerin olumsuz etkilerini ortaya koyacak çalışmaların yapılması önem arz etmektedir. Bu tez çalışmasında balıklarda patojen olan bazı bakterilerin, yumurta aşamasından larva aşamasına kadar geçen sürede bireyler üzerinde meydana getirebileceği olası olumsuz etkiler (yumurta ölümleri, hastalık semptomları, suni yeme geçiş peryodundaki olumsuz etkiler, vs.) net olarak ortaya konulmaya çalışılmıştır.

2. YAPILAN ÇALIŞMALAR

2.1. Materyal

2.1.1. Yumurta Temini

Çalışmada kullanılan *Oncorhynchus mykiss* ve *Salmo coruhensis* yumurtaları Doğu Karadeniz Bölgesi'nde bulunan iki farklı alabalık işletmesinden gözlenmiş olarak temin edilmiştir (Şekil 1). Yumurtaların tek bir dişi ve erkek anaçtan elde edilmesine dikkat edilmiştir. Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi İyidere Su Ürünleri Araştırma ve Uygulama Merkezi tesisine getirilen yumurtalara, olası mantar ve bakteri kontaminasyonunu elimine edebilmek amacıyla formalin uygulaması (1,65 mg/l 15 dk) yapılmıştır (Barnes vd., 2001).



Şekil 1. Denemede kullanılan gözlenmiş yumurtalar, *Oncorhynchus mykiss* (A), *Salmo coruhensis* (B)

2.1.2. Çalışmada Kullanılan Kuluçkahane Suyunun Özellikleri

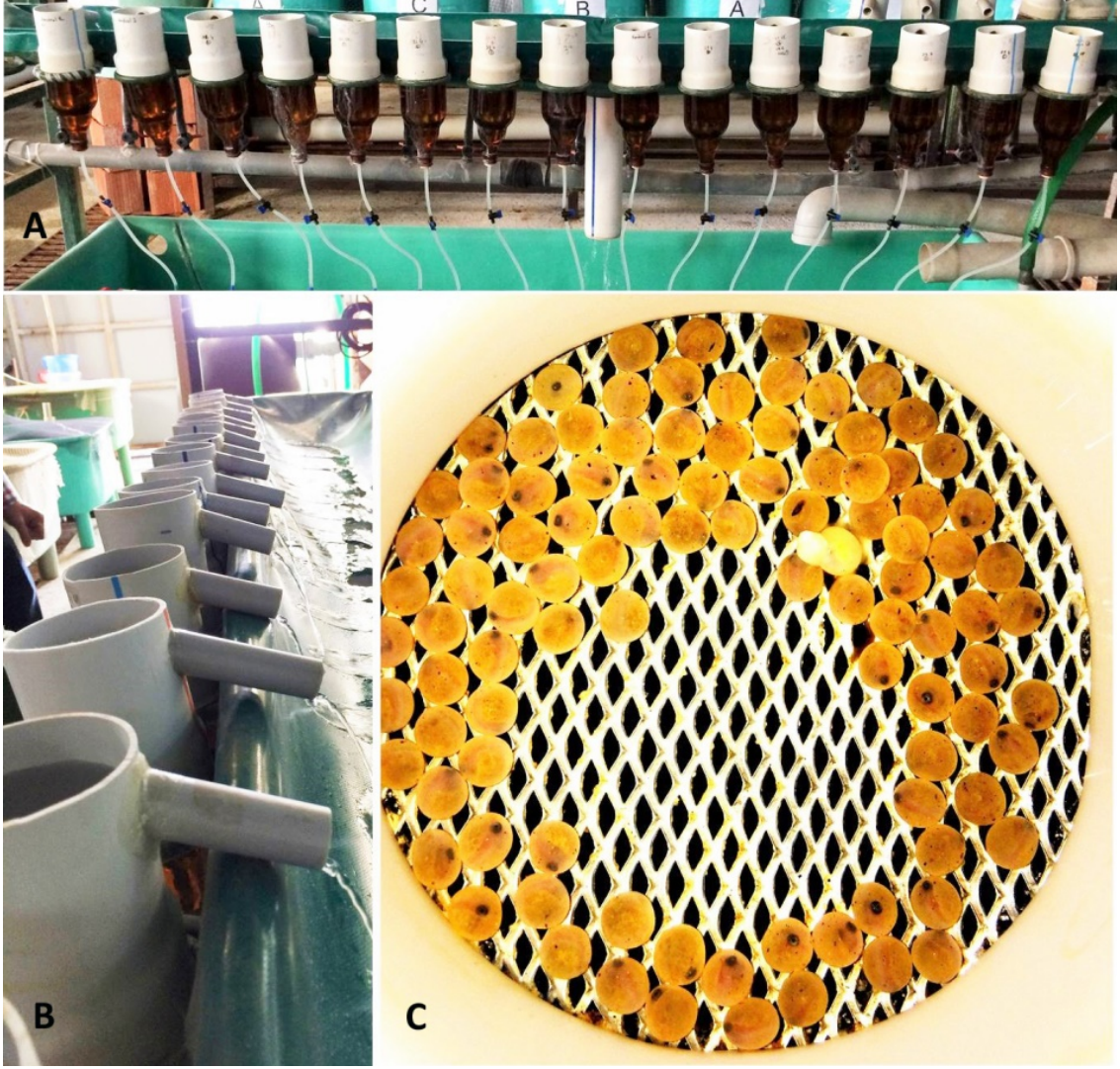
Yumurta inkübasyonu için deneme ünitesinde bulunan kaynak suyu kullanılmıştır. Kullanılan bu kaynak suyunun fizikokimyasal değerleri Tablo 1’de verilmiştir.

Tablo 1.Denemede kullanılan suyun fizikokimyasal özellikleri ve referans değerler

| Su Kalite Parametreleri | Deneme | (MacIntyre vd., 2008) |
|--------------------------------|-------------------------------|------------------------------|
| pH | 7,3 | 6,5-8,5 |
| Çözünmüş oksijen | 11,3 mg/L | >6 mg/L |
| Amonyak (İyonize olmamış) | <0,01 mg/L | <0,02 mg/L |
| Nitrit | <0,01 mg/L | <0,1 mg/L |
| Nitrat | 0,01 mg/L | <1 mg/L |
| Alkalinite | 11 mg/L (CaCO ₃) | 20 mg/L (CaCO ₃) |
| Toplam sertlik | 120 mg/L (CaCO ₃) | 75-150 |
| CO ₂ | 1,5 mg/L | <5-10 |

2.1.3. Deneme Ünitesi

Tez çalışmasının gerçekleştirilebilmesi amacıyla Su Ürünleri İyidere Uygulama ve Araştırma Merkezi’ne ait kuluçkahane ünitesinde bulunan 500 ml lik yumurta inkübasyon şişeleri (zuger) kullanılmıştır. Işık geçirgenliği olmayan, sabit ve temiz su akışının ayarlanabildiği, her bir deneme şişesine ayrı su girişinin verilebildiği bir ünite de deneyler gerçekleştirilmiştir (Şekil 2).



Şekil 2. Yumurta inkübasyonunun gerçekleştirildiği inkübatörler, yan görünüm (A), inkübatör su çıkışları ve çıkan suyun toplandığı hazne (B), yumurtaların yerleştirildiği zuger ızgarasının üstten görünümü (C).

2.1.4. Kullanılan Bakteri Türleri

Çalışmada kullanılan bakteriler Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Balık Hastalıkları Laboratuvarı'na daha önce getirilen farklı hasta balıklardan izole edilen ve saf olarak stoklanmış bakterilerden elde edilmiştir. Bu bakterilere ait bilgiler Tablo 2'de verilmiştir.

Tablo 2.Çalışmada kullanılan bakteriler ve izole edildikleri balık türleri

| Bakteri | Balık Türü | İzole edildiği Doku |
|----------------------------------|--------------------------------|---------------------|
| | Gökkuşuğu alabalığı | |
| <i>Aeromonas hydrophila</i> (D5) | (<i>Oncorhynchus mykiss</i>) | Karaciğer |
| | Gökkuşuğu alabalığı | |
| <i>Lactococcus garvieae</i> (L9) | (<i>Oncorhynchus mykiss</i>) | Dalak |
| | Japon Balığı | |
| <i>Pseudomonas putida</i> (R6) | (<i>Carassius auratus</i>) | Deri |
| | Gökkuşuğu alabalığı | |
| <i>Yersinia ruckeri</i> (G2) | (<i>Oncorhynchus mykiss</i>) | Karaciğer |

2.1.5. Bakterileriyel Çalışmalarda Kullanılan Materyaller

Saf kültür halinde elde edilmiş olan bakterilerin çoğaltılması amacıyla genel besiyeri olan Tryptic Soy Agar (TSA) ve Tryptic Soy Broth (TSB), bakterilerin yumurtalara kontaminasyonunu sağlamak amacıyla ise %9'luk fizyolojik tuzlu su (FTS)kullanılmıştır. Bakterilerin kontaminasyonu işleminin ardından bu kontaminasyonun gerçekleştirildiğini tespit edebilmek amacıyla yine TSB besi yeri kullanılmış ve tespit edilen bakteriler API (Analytical Profile Index) testlerine tabi tutulmuştur (Kayış vd., 2015).

2.1.6. Deneme Düzenegi

Materyal kısmında bahsi geçen 4 farklı balık patojeni bakterinin gözlenmiş yumurtalarda meydana getirebileceği etkileri belirlemek amacıyla inkübasyon şişelerinin herbirine iki farklı balık türü için 100 adet yumurta yerleştirilmiştir. Dört farklı bakteri için 3 tekerrür olacak şekilde 12 inkübasyon şişesi kullanılmış, yine 3 tekerrür olacak şekilde kontrol grubu oluşturulmuştur. Ayrıca, hiçbir işlem uygulanmayan, yumurtalar üzerinde FTS etkisinin varlığının olup olmadığının daha kesin kanaatine varabilmek için “negatif kontrol” ismi ile de bir grup oluşturulmuştur.

Deneme süresince her iki türe ait toplam 3600 yumurta kullanılmıştır. Deneme düzeneğini daha açık şekilde ifade den bilgiler Tablo 3’de verilmiştir.

Tablo 3.Deneme düzeneği ve yumurta miktarları.

| Gruplar | Alabalık Türleri | |
|--|---|---|
| | Gökkuşuğu alabalığı (<i>O. mykiss</i>) | Kahverengi Alabalık (<i>S. coruhensis</i>) |
| Negatif Kontrol (Hiçbir işlem uygulanmayan grup) | 100 | 100 |
| | 100 | 100 |
| | 100 | 100 |
| | 100 | 100 |
| Kontrol Grubu (Sadece FTS) | 100 | 100 |
| | 100 | 100 |
| | 100 | 100 |
| <i>Aeromonas hydrophila</i> | 100 | 100 |
| | 100 | 100 |
| | 100 | 100 |
| <i>Pseudomonas putida</i> | 100 | 100 |
| | 100 | 100 |
| | 100 | 100 |
| <i>Lactococcus garvieae</i> | 100 | 100 |
| | 100 | 100 |
| | 100 | 100 |
| <i>Yersinia ruckeri</i> | 100 | 100 |
| | 100 | 100 |
| Toplam | 1800 | 1800 |

2.1.7. Bakterilerin Yumurtalara Kontaminasyonu

Bahsi geçen bakterilerin yumurtalara kontamine edilebilmesi amacıyla immersiyon yöntemi kullanılmıştır. Bu amaçla saf halde stoklanmış bakteriler öncelikle TSA besiyerine ekilmiş ve 24 saat $20\pm 2^\circ\text{C}$ de inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası besiyerinde oluşan kolonilerden 50 ml TSB besiyerine ekimler yapılmış ve bu besiyerleri 12 saat $20\pm 2^\circ\text{C}$ 'de bekletilmiştir. Bakteri içeren sıvı besiyeri, 10000 rpm'de 5 dk santrifüj edilerek bakteriler besiyerinden ayırt edilmiştir. Bakteriler üzerine 45 ml steril FTS ileve edilerek, bu karışım vortex yardımıyla homojen bir yapı haline getirilmiştir. Bakteri içeren FTS her bir deneme şişesine (500 ml), 15 ml olacak şekilde ilave edilmiş ve bakterilerin yumurtalara kontamine olması için 15 dk su akışı olmadan bekletilmiştir. Bakterilerin miktarını belirlemek amacıyla 10^{-6} ve 10^{-7} seyreltmeye tabi tutulan (FTS ile) bakteri kültürleri Plate Count Agar (PCA) besi yerinde inoküle edilmiş ve bakteri koloni sayımları gerçekleştirilmiştir (APHA, 1998). Yapılan sayım sonucu elde edilen koloni sayıları Tablo 4'de verilmiştir.

Tablo 4. Yumurtalara kontamine edilen bakteri miktarları ve önceki çalışmalarda yumurtalar üzerinde yapılan çalışmalardan elde edilen değerler.

| Bakteri | Deneme (CFU/ml) | | Miktar | Kaynak |
|----------------------|----------------------|----------------------|--|-------------------------------------|
| | <i>O. mykiss</i> | <i>S. coruhensis</i> | Literatür Değeri <i>O. mykiss/S. trutta</i> | |
| <i>A. hydrophila</i> | $4,8 \times 10^{10}$ | 4×10^{10} | 1×10^4 *□ 2×10^8 | Barker vd., 1989 Kayış vd., 2015 |
| <i>P. putida</i> | $1,6 \times 10^{10}$ | $2,1 \times 10^{10}$ | 1×10^4 *□ | Barker vd., 1989 |
| <i>L. garvieae</i> | $1,4 \times 10^{10}$ | 3×10^{10} | - | - |
| <i>Y. ruckeri</i> | 5×10^9 | $5,5 \times 10^9$ | - | - |

* Yumurtayüzey alanında doğal kontaminasyon değerlerine aittir

□ Bu değerler Barker vd., (1989) tarafından *Aeromonas hydrophilave Pseudomonas fluorescens* için bakteri faunası olarak verilmiştir.

2.1.8. Deneme Süresince Yapılan Çalışmalar

Bakterilerin yumurtalara enfekte edilmesini takip eden sürede yumurta yüzeyinde bakterilerin varlığını araştırmak için denemenin 5. ve 15. günlerinde her gruptan 3 yumurta örneğinden sıvı besi yerlerine (TSB) ekim yapılmış ve besiyerleri 24

saat $20\pm 2^{\circ}\text{C}$ de inkübe edilmiştir. Sıvı besiyerlerinde meydana gelen bakteriyel üreme sonrası, bakteriler TSA besiyerine aktarılmış ve mevcut patojen bakterilerin varlığı araştırılmıştır.

2.1.9. Günlük Yapılan İşlemler, Denemenin Sonlandırılması ve İstatistiksel Değerlendirme

Deneme süresince yumurtalar ve ilerleyen günlerde alevin ve larvalar her gün dikkatli bir şekilde gözlemlenmiş, ölümler ve patojenik belirtiler kayıt edilmiştir. Deneme her iki türde de 90. günde sonlandırılmıştır. Deneme sonrasında her grup için canlı ağırlıkların ortalaması alınmış, bakteri enfeksiyonunun büyümeye etkisinin olup olmadığı belirlenmiştir. Besin kesesini tüketen bireylere uygun ticari alabalık yemi verilmiştir. Elde edilen veriler arasında istatistiksel farklılığın belirlenmesi amacıyla Sigmaplot 12. istatistik programı kullanılmıştır. Verilerin normal dağılıma uygunluğu için Shapiro-Wilk testi, gruplar arası farklılık için ise Tukey testi kullanılmıştır.

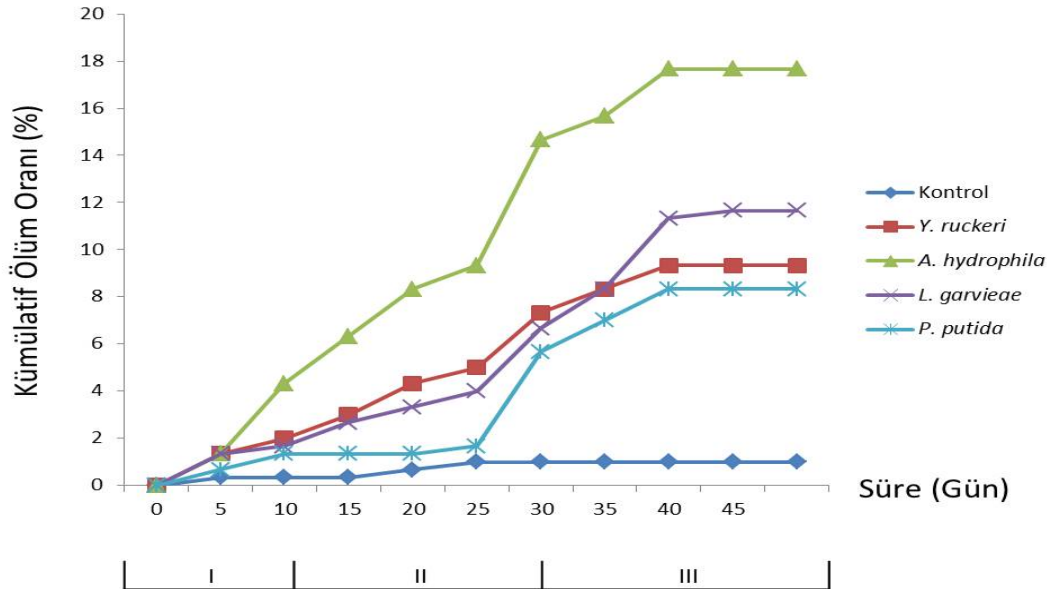
3. BULGULAR

3.1. Kümülatif Ölüm Oranları

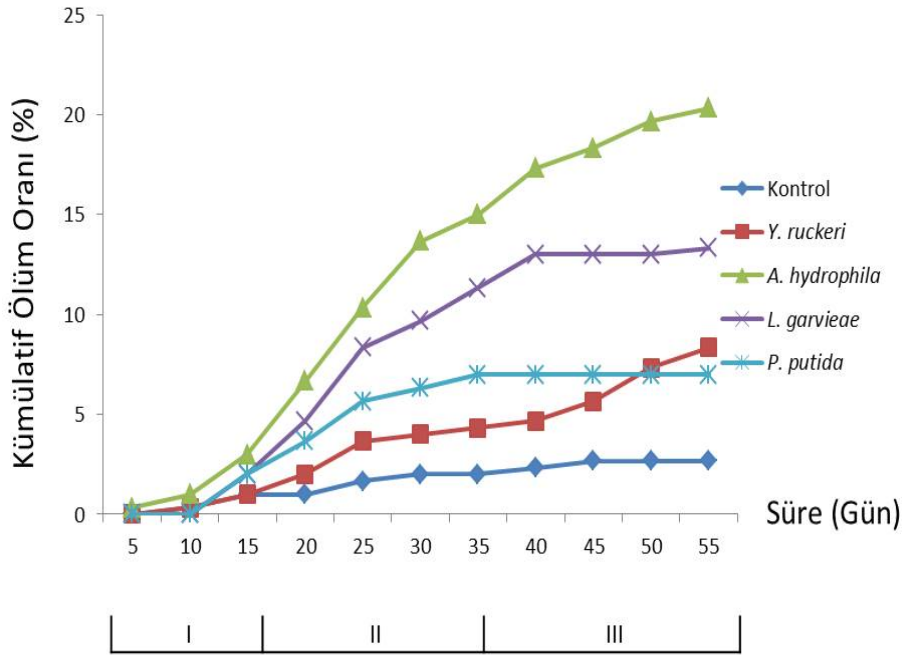
Deneme sonunda farklı balık türlerine ait yumurta, alevin ve larva evrelerine ait ölüm oranları ayrı ayrı belirlenmiştir. Bu değerleri içeren bilgiler Tablo 5 ve (Şekil 3 ve 4)'te detaylı olarak verilmiştir. Ölüm oranlarının önemli bir kısmının alevin safhasında olduğu belirlenmiştir (Şekil 3,4)

Tablo 5. İki Farklı balık türünde yumurtadan fry aşamaya kadar geçen sürede bakterilerden kaynaklı kümülatif ölüm oranları (%)

| Balık Türü | Kontrol | Bakteriler | | | |
|---|---------|----------------------|--------------------|-------------------|------------------|
| | | <i>A. hydrophila</i> | <i>L. garvieae</i> | <i>Y. ruckeri</i> | <i>P. putida</i> |
| Gökkuşığı alabalığı (<i>O. mykiss</i>) | 1 | 17,66 | 11,66 | 9,3 | 8,3 |
| Kahverengi Alabalık (<i>S. coruhensis</i>) | 2,6 | 20,3 | 13,3 | 8,3 | 7,0 |



Şekil 3. Gökkuşığı alabalığı kümülatif ölüm oranları. Yumurta evresi (I), alevin evresi (II), fry evresi (III).



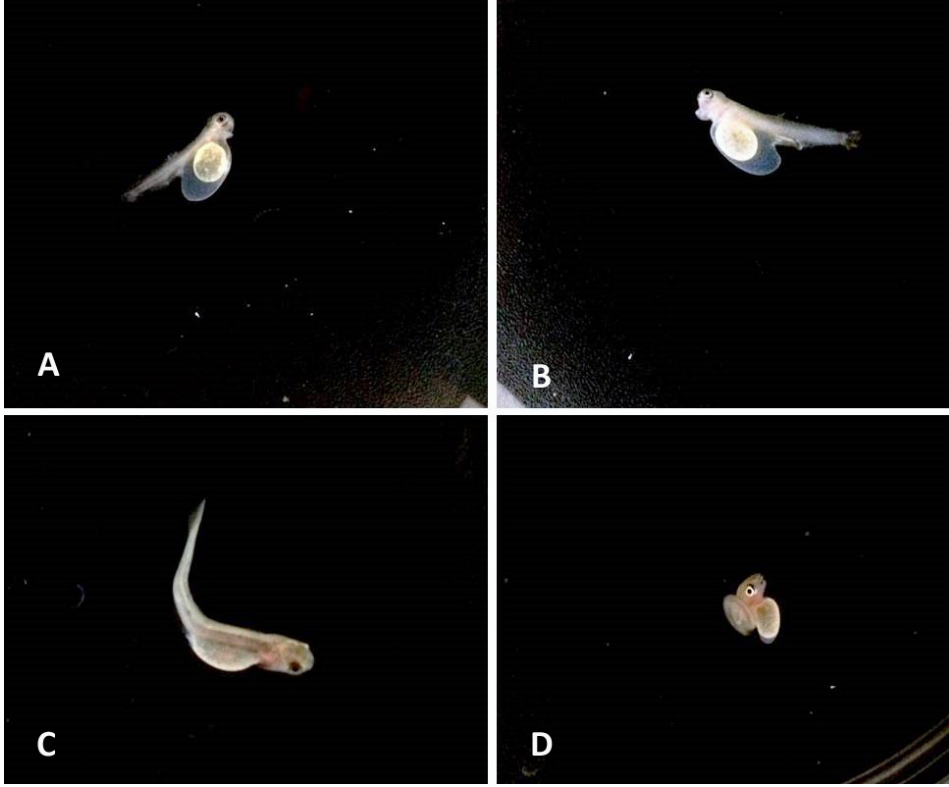
Şekil 4. Kahverengi alabalığı kümülatif ölüm oranları.Yumurta evresi (I), alevin evresi (II), fry evresi (III).

3.2. Belirlenen Patolojik semptomlar

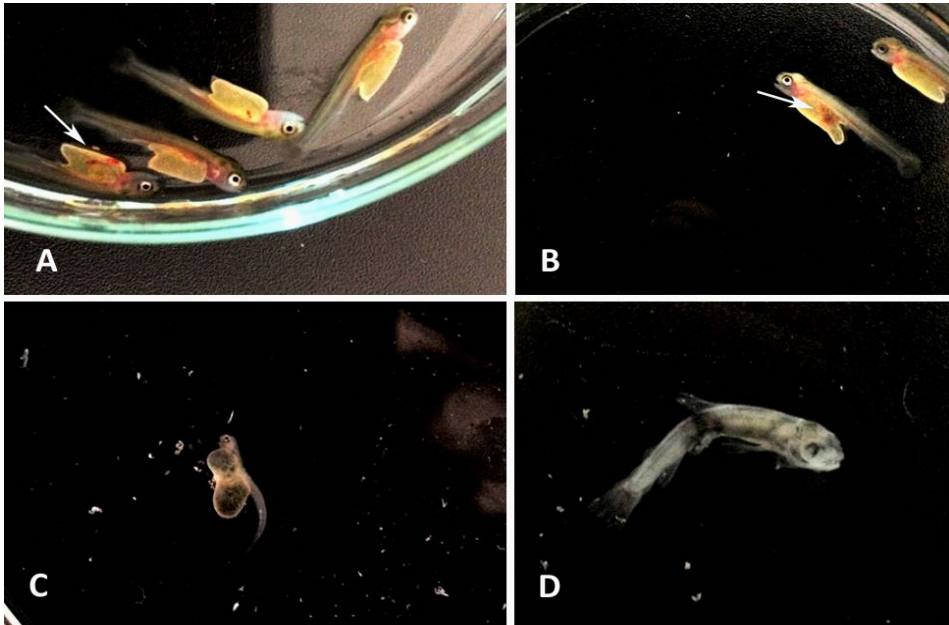
Denemede elde edilen değerlere bakıldığında, kümülatif ölüm oranında her iki tür için en yüksek değer *A. hydrophila* ile enfekte olan bireylerde olduğu gözlemlenmiştir. Yine *A. hydrophila* ile enfekte olan gruplarda her iki tür için alevin safhasında mavi kese hastalığına rastlanılmış, ayrıca kahverengi alabalıklarda alevin safhasında deforme bireylere rastlanılmıştır (Şekil 5).

Kümülatif ölüm oranında ikinci olarak ölüm oranının en yüksek olduğu grup *L. garvieae* olarak belirlenmiştir. Bu grupta meydana gelen önemli patolojiler besin kesesinde kanamalar ve şekil bozukluğu olarak kaydedilmiştir (Şekil 6).

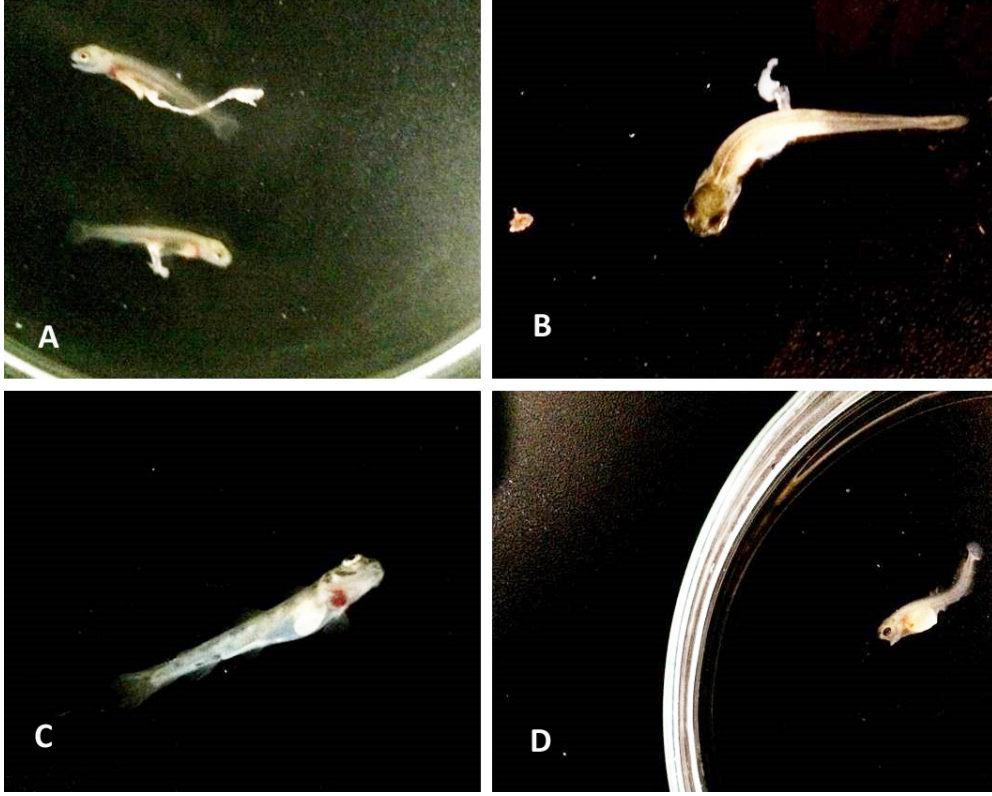
Y. ruckeri ve *P.putida* gruplarında benzer kümülatif ölüm oranları gözlemlenmiştir. Özellikle *P.putida* grubunda her iki türde de karakteristik olarak besin kesesinde dağınıklar ve renkte kararmalar kaydedilmiştir.*Y. ruckeri* grubunda ise omurga deformasyonu ve besin kesesinde mavi kese oluşumu dikkati çekmiştir(Şekil 7). Tüm gruplarda meydana gelen patolojiler Tablo 6’da verilmiştir.



Şekil 5. Alevin bireylerde *Aeromonas hydrophila* kaynaklı mavi kese hastalığı, gökkuşağı alabalığı (A) ve kahverengi alabalık (B). Kahverengi alabalıklarda omurga deformasyonları (C, D).



Şekil 6. Alevin bireylerde *Lactococcus garvieae* kaynaklı kanamalar, gökkuşağı alabalığı (A) ve kahverengi alabalık (B) beyaz ok ile gösterilmiştir. Gökkuşağı alabalığı ve kahverengi alabalıklarda omurga deformasyonları (C, D).



Şekil 7. Alevin bireylerde *Pseudomonas putida* kaynaklı besin kesesi dağılımları, gökkuşığı alabalığı (A) ve kahverengi alabalık (B). Gökkuşığı alabalığı *Yersinia ruckeri* kaynaklı mavi kese oluşumu (C) ve kahverengi alabalıklarda omurga deformasyonu (D).

Tablo 6. Deneme gruplarında gözlemlenen patolojiler (%), G: gökkuşığı alabalığı, K: kahverengi alabalık.

| Patolojiler | Deneme grupları | | | | | | | |
|---------------------------|----------------------|------|--------------------|-----|-------------------|-----|------------------|-----|
| | <i>A. hydrophila</i> | | <i>L. garvieae</i> | | <i>Y. ruckeri</i> | | <i>P. putida</i> | |
| | G | K | G | K | G | K | G | K |
| Mavi kese oluşumu | 13 | 14,3 | 4 | 5,6 | 2 | 2 | 2,6 | 1,6 |
| Omurga deformasyonları | 3 | 4,3 | 1,3 | 2,3 | 2,6 | 3 | 1,3 | 1,6 |
| Besin kesesi deformasyonu | 3 | 4 | 5 | 4,6 | 2 | 2 | 5,6 | 6 |
| Kanamalar | 4,6 | 5,6 | 3,3 | 4,3 | 6 | 6,3 | 2,3 | 2 |
| Renkte kararma | 4 | 5 | 3,3 | 4 | 2,3 | 3 | 6,3 | 6 |

3.3. Canlı Ağırlık Artışı

Yapılan deneme sonrasında 90. gün sonunda gruplarda elde edilen canlı ağırlıklar Tablo 7’de verilmiştir. Bu değerler dikkate alındığında her iki tür için de geçerli olmak kaydıyla en yüksek canlı ağırlıklar kontrol gruplarında gökkuşağı 15,1 g ve kahverengi alabalık 13,2 g olarak kaydedilmiştir.

Tablo 7. Deneme sonrası (90. gün) gruplarda kaydedilen canlı ağırlıklar.

| Balık Türü | Gruplar ve canlı ağırlıklar (g) | | | | |
|--------------------------------------|---------------------------------|----------------------|--------------------|-------------------|------------------|
| | Kontrol | <i>A. hydrophila</i> | <i>L. garvieae</i> | <i>Y. ruckeri</i> | <i>P. putida</i> |
| Gökkuşağı | | | | | |
| alabalığı (<i>O. mykiss</i>) | 15,1 | 10,9 | 13,0 | 12,1 | 12,9 |
| Kahverengi | | | | | |
| Alabalık (<i>S. coruhensis</i>) | 13,2 | 7,7 | 8,9 | 10,1 | 11,6 |

3.3. Yumurta Yüzeyinde Bakterilerin Varlığı

Yumurtaların yüzeylerinde denemenin başlamasından itibaren geçen sürede 5. ve 15. günlerde enfekte edilen bakterilerin varlığının araştırılması sonucu sıvı besiyerlerinde bakteri çoğalması gözlemlenmiştir. Bu bakterilerin saflaştırılması ve hedef bakterilerin varlığının tespiti amacıyla bu sıvı besiyerlerinden katı besi yerine (TSA) ekimler gerçekleştirilmiştir. Besiyerinde çoğalan bakteriler için tanımlayıcı testler (Gram boyama, oksidaz testi, katalaz testi, hareket muayenesi) uygulanmıştır ve her grupta belirtilen günlerde enfekte edilen bakterilerin varlığına yumurta yüzeyinde rastlanılmıştır. Kontrol grubunda ise enfekte edilmeyen ve sudan kaynaklı normal bakteri florasına ait Gram negatif basil ve hareketli bakteri çoğalması olduğu tespit edilmiştir. Diğer bakteri enfekte edilen yumurta gruplarında da bu bakteri türüne rastlanılmıştır.

4. TARTIŞMA ve SONUÇLAR

Su ürünleri yetiştiriciliğinde kuluçka sistemleri her zaman hijyenik olması istenilen önemli alanlardır (Lasee, 1995). Bireylerde immün sistemin tam olarak gelişmediği, yumurtaların belli evrelerinde mekanik müdahalenin yapılamadığı ve stok yoğunluğunun üst seviyelerde olduğu bu sistemlerde kayıpların belli oranlarda olması normal kabul edilen bir durum olarak karşımıza çıkmaktadır. Gökkuşuğu alabalıkları (*Oncorhynchus mykiss*) ile yapılan bir çalışmada, sağımdan 16. güne kadar geçen sürede yumurtaların yaşama oranının %41,87 olduğu bildirilmiştir. Bu oran 120. günde %28,98 olarak rapor edilmiştir (Güner ve Tekinay, 2002). Yapılan diğer çalışmalarda ise bu oran %57 (Kurtoğlu vd., 1998) ve %81,80 (Baki ve Kalma, 2011) değerlerinde rapor edilmiştir. Genel olarak literatür bilgilerine bakılacak olursa ilk döl alımından fry aşamasına ulaşıncaya kadar geçen sürede alabalıklarda (*O. mykiss*) yaşama oranı optimum şartlarda %80 olarak kabul edilmektedir (FAO, 2011). Ortalama değerlere göre yaşama oranının bu denli farklı olması, genellikle kuluçka sistemlerinde kullanılan suyun fizikokimyasal kalitesi ve genetik faktörler olarak kabul edilmektedir (FAO, 2011).

Sunulan bu tez çalışmasında gözlenmiş yumurtalar ile ilgili yaşama oranı değerlerini değerlendirecek olursak, kontrol grubu için gökkuşuğu alabalığında neredeyse %100'e varan bir oran dikkati çekmektedir. Kaynak alabalıkları için ise %97,4'lük bir oran elde edilmiştir. Bu oranların literatür bilgilerine göre bu denli yüksek olması çalışmanın, laboratuvar şartlarında daha küçük çapta ve kontrollü bir ortamda gerçekleşmiş olması ile izah edilebilir. Ancak aynı şartlarda gerçekleştirilen ve bakteri enfekte edilen gruplarda yaşama oranının %79,7 gibi bir orana düşmesi bakteriyel kontaminasyonun negatif etkilerini ortaya koymaktadır.

Alabalık yetiştiriciliğinde kuluçka sistemlerinde besin kesesinin tüketilip suni yeme geçiş evresi, iyi ve kaliteli yemlemenin yapılması ile en az kayıp verilerek geçilebilmektedir (Emre ve Kürüm, 1998). Özellikle keseli bireylerin suni yeme geçiş evrelerinde gözlemlenen mortaliteler geçiş sürecinde normal kabul edilmektedir. Bu bağlamda gerçekleştirilen çalışmalar dikkate alındığında alevin safhasından fry evresine geçişte bireylerde meydana gelen ölüm oranlarının optimum şartlarda %10

değerinde tutulabildiği anlaşılmaktadır (FAO, 2011). Gerçekleştirdiğimiz tez çalışmasında alabalıklarda besin kesesinin tüketilmesi ve fry evreye geçiş döneminde mortalitenin kontrol gruplarında gerçekleşmediğini, bakteri verilen gruplarda ise kümülatif ölüm oranı içerisinde en yüksek ölüm oranlarının bu safhada olduğu gözlemlenmiştir. Bu durumun suni yeme alışma safhasında enfekte bireylerde yem alımında isteksizlik nedeniyle meydana gelmiş olabileceği düşünülmektedir.

Yetiştiricilik yapılan suyun ve kullanılan yemin kalitesi alabalık kuluçka sistemlerinde kaliteli bireylerin elde edilmesinde dikkat edilen hususlardır (Emre ve Kürüm, 1998). Kuluçka ve fry evrelerinde meydana gelen ölümlerde ilk şüphe uyandıran konuların başında, su ve kullanılan yem gelmektedir. Bu tez çalışmasında materyal kısmında da belirtildiği üzere su kalite kriterleri alabalık yetiştiriciliği için istenilen sınır değerler arasındadır. Bu nedenle mortalitelerin ve bazı patolojilerin su kalitesi ile ilgili olduğu söylenemez. Bakteri ile enfekte alevlerde ve fry bireylerde enfeksiyonlardan kaynaklı çeşitli patolojik semptomlar belirlenmiştir. Bu konu ile ilgili Kayış vd., (2015)'nin yapmış oldukları çalışmada, *Aeromonas hydrophila* ile enfekte edilmiş gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) ve kaynak (*Salvelinus fontinalis*) alabalığı bireylerinde mavi kese sendromunun varlığı bildirilmiştir. Bu veriye benzer olarak bu tez çalışmasında da bakterilerle enfekte tüm gruplarda alevin aşamasında mavi kese sendromu gözlemlenmiştir. Bu gözlemlere göre, *A. hydrophila* dışında diğer bakterilerin de düşük oranda olsa da her iki tür balık alevlerinde mavi kese sendromuna sebep olduğu ilk kez ortaya konulmuş olmaktadır.

Bakterilerin sebep oldukları semptomlar daha detaylı irdelendiğinde, *Aeromonas hydrophila* enfeksiyonlarında mavi kese sendromu, *Pseudomonas putida* enfeksiyonlarında besin kesesinin dağılması, *Lactococcus garvieae* enfeksiyonlarında besin kesesinde kanamalar özellikle ayırt edici semptomlar olarak ortaya çıkmaktadır. *Yersinia ruckeri* enfeksiyonlarında ise hemen her semptomun düşük oranda da olsa mevcut olduğu gözlemlenmiştir.

Alabalık yetiştiriciliğinde her evrede elde edilen canlı ağırlık artışları optimum şartlar için genellenebilmektedir. Bu bağlamda bakıldığında, 3-4,5 ay sonunda alabalıklar için ortalama canlı ağırlık 25 g olarak rapor edilmektedir (FAO,

2011).Sunulan bu tez çalışmasında 3 ay sonunda tüm gruplar içerisinde canlı ağırlığı en yüksek olan gruplar her iki tür için kontrol grupları olmuştur. Özellikle *Aeromonas hydrophila* enfeksiyonlarında canlıağırlık ortalamasının normal değerlerden çok düşük olması enfeksiyonun ne derece problem oluşturduğunu ortaya koyacak niteliktedir.

Sunulan bu tez çalışmasında yumurtalara enfekte edilen bakteriler genel olarak bir çok balık türünde hastalık meydana getiren ve önemli kayıplara sebep olan türlerdir. Kızıl ağız hastalığının etkeni olan *Yersinia ruckeri*, hareketli aeromoans enfeksiyonlarında en yaygın rastlanan ve hemen her sucul ekosistemde fırsatçı olarak yer alan *Aeromonas hydrophila*, son yıllarda yaygınlıkları daha da artan *Pseudomonas putidave* kok enfeksiyonlarında önemli yer tutan *Lactococcus garvieae*, ülkemizde sıklıklar rapor edilen patojenlerdir (Öztürk ve Altınok, 2014). Gerek ülkemizde ve gerekse dünya genelinde rapor edilen çalışmalarda dikkati çeken önemli ayrıntı, genel olarak bu bakterilerin rapor edildiği balık türlerinin boy ve ağırlık aralıklarıdır. Bildirimlerin özellikle larva aşaması ile başladığı ve muhtelif boy ve ağırlıklar ile geniş bir aralığı temsil ettiği gözlemlenmektedir. Yumurta, alevin ve fry aşamasında balık patojenleri ile ilgili raporlar genel olarak mantar enfestasyonlarını (*Saprolegnia* sp) ve viral patojenleri kapsamaktadır (Öztürk ve Altınok, 2014). Bahsi geçen bu evrelerde bakteriyel patojenlerin varlığı ve etkileri detaylı olarak irdenmemiş ve çalışılmamıştır. Alabalıklarda özellikle bu evrelerde rapor edilen en önemli ve nadir bakteriyel patojen bakteriyel soğuk su hastalığının etkeni olan *Flavobacterium psychrophilum*'dur. Bu bakterinin su sıcaklığının düşük olduğu dönemlerde, henüz larva aşamasına gelmeyen bireylerde yoğun mortaliteye sebep olması raporlarda yer almasına sebep olmuştur (Barnes ve Brown 2011). Ayrıca yapılan bazı çalışmalarda bu bakterinin alabalıklarda ovaryum sıvılarında ve yumurtalarda var olduğunu ortaya koymuştur (Madsen vd., 2005).Bu bağlamda sunulan bu tez çalışması ile bu alanda var olan eksiklik giderilmesine katkı sağlanmış, çalışılan her bir bakterinin olumsuz etkileri kuluçka sistemlerinde meydana getirebileceği kayıplar ortaya konulmuştur. Bu çalışmanın, ileride kuluçka sistemlerinde yumurta, alevin ve fry evresindeki balıkların bakteriyel patojenlerinin daha detaylı şekilde, özellikle de işletme bazında, arazi çalışmalarının yapılmasında etkin rol oynayacağı düşünülmektedir.

5. ÖNERİLER

Gerçekleştirilen bu tez çalışması ile elde edilen veriler ışığında gerek üreticilere ve gerekse bilim insanlarına yapılabilecek öneriler aşağıda ifade edilmiştir.

1. Alabalık yetiştiriciliğinde bakteriyel patojenlerin araştırılması sadece larval aşama ve sonrasında yoğunlaşmamalıdır. Bakteriyel patojenlerin varlığı, anaç balıklar, kuluçka suyu, alet ekipmanlar ve yumurta evresinden larval aşamaya kadar olan her evrede kontrol edilmelidir. Zira, yumurta-fry evre arasında gerçekleşen kayıpların işletmeler için önemli olduğu açıkça belirlenmiştir.
2. Her işletme kuluçka sistemlerinde var olan yerel patojenlerin tespit edilmesi amacıyla çalışmalar yapılmalıdır. Bu patojenlerin varlığının bilinmesi alınması gereken tedbirler hakkında bilgi verici olacaktır. Aynı zamanda yerel patojenlerin dışında oluşabilecek kontaminasyonlar engellenmelidir.
3. Bu tez çalışması sadece bakteriyel patojenleri ele almaktadır, viral ve mikotik patojenlerin etkileride incelenmesi, işletmelerin üretimde yaşama oranını ve yetiştiricilik performansı üzerine etkilerinin ortaya konmasına katkı sağlayacaktır.
4. Gözlenmiş yumurtalar üzerinde gerçekleşen bu çalışmada bakteriyel kaynaklı kayıplar belirlenmiştir. Yumurtaların ilk sağım aşamasından gözlenme aşamasına kadar geçen süredeki bakteriyel kaynaklı kayıpları da incelenmelidir.

KAYNAKLAR

- Anonim, 2011.** Viral haemorrhagic hepticaemia. Manual of diagnostic tests for aquatic animals.http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/aahm/2010/2.3.09.VHS.pdf.
- APHA, 1998.** American Public Health Association, American water works association, and water environment federation. Standard methods for the examination of water and wastewater, 20th edn. APHA, Washington, DC.
- Austin, B., Austin, D.A., 2007.** Bacterial fish pathogens: Diseases of farmed and wild fish, 4. Edition Springer Publishing, New York.
- Baki, B., Kalma, M., 2011.** İki farklı su kaynağında gökkuşuğu alabalıklarından (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) elde edilen yumurtaların kuluçka randımanı ve yavru bütüme özelliklerinin karşılaştırılması, Anadolu tarım bilimleri Dergisi, 26, 258-264.
- Balta, F., Kayis, S., Altinok, I., 2008.** External protozoan parasites in three trout species in the eastern Black Sea region of the Turkey: intensity, seasonality, and their treatments. Bull Eur Assoc Fish Patho. 28, 157-162.
- Barker, G.A.S., Smith, N., Bromage, N.R., 1989.** The bacterial flora of rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson, and brown trout, *Salmo trutta* L., eggs and its relationship to developmental success, Journal of Fish Diseases, 12(4), 281–293.
- Barker, G.A., Smith, S.N., Bromage, N.R., 2006.** Effect of oxolinic acid on bacterial flora and hatching success rate of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, eggs. Aquaculture, 91, 205–222.
- Barnes, M.E., Sayler, W.A., Cordes, R.J., 2001.** Use of formalin treatments during incubation of eyed eggs of brown trout, North American Journal of Aquaculture, 63, 333-337.
- Barnes, M.E., Brown, M.L., 2011.** A Review of *Flavobacterium Psychrophilum* Biology, Clinical Signs, and Bacterial Cold Water Disease Prevention and Treatment, The Open Fish Science Journal, 4, 40-48.
- Brown, L.L., Cox, W.T., Levine, R.P., 1997.** Evidence that the causal agent of bacterial cold-water disease *Flavobacterium psychrophilum* is transmitted within salmonid eggs. Journal Diseases of Aquatic Organisms 1997 Vol. 29 No. 3 pp. 213-218.
- Bullock, G.L., Rucker, R.R., Amend, D., Wolf, K., Stuckey, H.M., 1976.** Infectious Pancreatic Necrosis: Transmission with Iodine-Treated and Nontreated Eggs of Brook Trout (*Salvelinus fontinalis*). Journal of the Fisheries Research Board of Canada, 1976, 33(5): 1197-1198.

- Cengizler, İ., 2006.** Balık Hastalıkları, Nobel Kitabevi, 133s. ADANA.
- Çelikkale, M.S., Düzgüneş, E., Okumuş, İ., 1999.** Türkiye Su Ürünleri Sektörü; Potansiyeli, Mevcut Durumu, Sorunları ve Çözüm Önerileri. İTO Yay. No:1999-2, İstanbul.
- Evelyn, T.P.T., Prosperi-porta, L., Ketcheson, J.E., 1988.** Experimental intra-ovum infection of salmonid eggs with *Renibacterium salmoninarum* and vertical transmission of the pathogen with such eggs despite their treatment with erythromycin. Diseases of Aquatic Organisms, 1,197-202.
- Emre, Y., Kürüm, V., 1998.** Alabalık Yetiştiriciliği. Minpa Matbaacılık Tic. Ltd. Şti, 232s., Ankara.
- FAO, 2011.** Food and Agriculture Organisation of the United Nations, Small-scale rainbow trout farming, , Fisheries and Aquaculture Technical Paper, 561.
- Gee, L.L., Sarles, W.B., 1941.** The Disinfection of Trout Eggs Contaminated with Bacterium Salmonicida. J Bacteriol, 44(1),111–126.
- Güner, N.,Tekinay, A.A., 2002.** Ege Bölgesi'nde Ticari Bir İşletmedeki Gökkuşığı Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) Anaçlarının Yumurta Verimi ve Yavrularının Büyüme Özelliklerinin Araştırılması, E.Ü. Su Ürünleri Dergisi, 19, 359-369.
- Kayış Ş., Mihai P.S., Kurtoğlu İ., 2014.** "Experimental infections of *Pseudomonas putida* and *Pseudomonas fluorescens* in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) alevins", El-Cezerî Journal of Science and Engineering, 1, 7-11.
- Kayış, Ş., Er, A., Yılmaz, C., Düzgün, A., Köse, Ö., Kurtoğlu, I.Z., 2015.** *Aeromonas hydrophila* as a causative agent of blue sac fry syndrome in different trout species, Journal of fish diseases, 38(12), 1069-1071.
- Kurtoğlu, İ.Z., Okumuş, İ.,Çelikkale, M.S., 1998.** Doğu Karadeniz Bölgesi'nde Ticari bir İşletmedeki Gökkuşığı Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) Anaçlarının Döl Verim Özellikleri ve Yavrularının Büyüme Performansının Belirlenmesi, Tr. J. of Veterinary and Animal Sciences, 22, 489–496.
- 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.
- MacIntyre, C.M.P., Ellis, T.P., North, B.P., Turnbull, J.F., 2008.** The influences of water quality on the welfare of farmed rainbow trout: a review. Published as Chapter 10 in 'Fish Welfare'. Edward J Branson (Ed). Blackwell Publishing, UK. pp150-184.
- Madsen, L., Moller, J.D.,Dalsgaard, I., 2005.** Vatsos, I.N., Thompson, K.D., 2001. *Flavobacterium psychrophilum* in rainbow trout, *Oncorhynchus*

mykiss(Walbaum), hatcheries: studies on broodstock, eggs, fry and environment. J Fish Diseases, 2005; 28, 39-47.

Markiw, ME.,1991. Whirling disease: earliest susceptible age of rainbow trout to the triactinomyxid of *Myxobolus cerebralis*, Aquaculture, 92, 1-6.

Öğüt, H., Altuntas, C., 2012. Occurrence and prevalence of infectious pancreatic necrosis virus in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) cultured in cages in the Black Sea. Aquaculture Research, 43 (10), 1550-1556.

Özer, S., Demirel, M., Us, M., Yıldırım, S., 2007. Mersin İli Çağlarca Köyündeki Gökkuşığı Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) Kuluçkahanelerinin Mikrobiyal Florası. Journal of Fisheries.

Öztürk, R.Ç.,Altınok, İ., 2014. Bacterial and Viral Fish Diseases In Turkey, Turk J Fish Aquat Sc 14, 275-297.

Plumb, J.A., 1999. Health Maintenance and Principal Microbial Diseases of Cultured Fishes Iowa State University Press, Ames, IO, USA.

Timur, M., Timur, G., 2003. Balık Hastalıkları Kitabı, TC. İstanbul Üniversitesi Yayınları, Rektörlük Yayın No: 4426, Su Ürünleri Yayın No: 5, 238, İstanbul.

Turan, D., Kottelat, M., Engin, S., 2009. Two new species of trouts, resident and migratory, sympatric in streams of northern Anatolia (Salmoniformes: Salmonidae). Ichthyological Exploration of Freshwaters, 20 (4), 333-364.

Ural, M.Ş., Çalta, M., Celayir, M., Aydın, R., 2011. Gökkuşığı Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum 1972) Yumurtalarının Dezenfeksiyonunda Kullanılan Bazı Kimyasal Maddelerin Kuluçka Parametrelerine Etkisi. Biyoloji Bilimleri Araştırma Dergisi, 4 (1), 37-41.

URL-1. <http://www.tarim.gov.tr/BSGM>, Gıda tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, Su Ürünleri İstatistikleri, ANKARA.

Vatsos, I.N., Thompson, K.D., Adams, A., 2006.“ Colonization of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), eggs by *Flavobacterium psychrophilum*, the causative agent of rainbow trout fry syndrome ”, J. of Fish Diseases, 29(7), 441- 444.

Wagner, E.J., Arndt, R.E., Billman, E.J., Forest, A., Cavender, W., 2008. Comparison of the Efficacy of Iodine, Formalin, Salt, and Hydrogen Peroxide for Control of External Bacteria on Rainbow Trout Eggs. North American Journal of Aquaculture Volume 70(2), 118-127.

Wolf, K., Quimby, M.C., Bradford, A.D., 1963. Egg-associated transmission of IPN virus of trouts. Virology; Volume 21(3), 317-321.

Woo, P.T.K., 2006. Fish Diseases and Disorders, vol. 1: Protozoan and Metazoan Infections, 2nd ed. CABI Published., Cambridge, MA. p.50.

ÖZGEÇMİŞ

02.03.1988 yılında Zonguldak'ta doğdu. İlköğretimini Zonguldak'da Üzülmez İlköğretim Okulu'nda tamamladı. Liseyi İstanbul-Kartal'da Hacı Hatice Bayraktar Yabancı Dil Ağırlıklı Lisesi'nde okudu. 2008 yılında Marmara Üniversitesi Teknik Bilimler Meslek Yüksek Okulu Su Ürünleri bölümünü kazandı ve 2010 yılında buradan mezun oldu. 2012 yılında Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi'nde öğrenim görmeye hak kazandı ve 2014 yılında bu Fakülteden mezun oldu. Aynı yıl R.T.E.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü'nde başladığı yüksek lisans öğrenimine devam etmektedir.