



**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



Yüksek Lisans Tezi

**BARAJ GÖLÜ KÜLTÜR GÖKKUŞAĞI ALABALIKLARINDAKİ
(*O. mykiss*, W.) PATOJEN BAKTERİLERE PROBİYOTİKLERİN
ANTAGONİSTİK ETKİSİ**

Dilek ÖKMEN

Su Ürünleri Yetiştiriciliği ve Hastalıkları Anabilim Dalı

Su Ürünleri Hastalıkları Programı

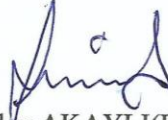
**DANIŞMAN
Prof. Dr. Tülay AKAYLI**

TEMMUZ, 2019

İSTANBUL

Bu çalışma, 11.07.2019 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Su Ürünleri Yetiştiriciliğı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Su Ürünleri Hastalıkları Programında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Jürisi



Prof. Dr. Tülay AKAYLI(Danışman)
İstanbul Üniversitesi
Su Bilimleri Fakültesi



Prof. Dr. Jale KORUN
Akdeniz Üniversitesi
Su Ürünleri Fakültesi



Doç. Dr. Hafize Sibel ÖZESEN ÇOLAK
İstanbul Üniversitesi
Su Bilimleri Fakültesi



20.04.2016 tarihli Resmi Gazete’de yayımlanan Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin 9/2 ve 22/2 maddeleri gereğince; Bu Lisansüstü teze, İstanbul Üniversitesi’nin aboneli olduğu intihal yazılım programı kullanılarak Fen Bilimleri Enstitüsü’nün belirlemiş olduğu ölçütlere uygun rapor alınmıştır.

Bu tez, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yürütücü Sekreterliğinin FBA-2018-28476 numaralı projesi ile desteklenmiştir.

ÖNSÖZ

Lisans ve yüksek lisans öğrenimim sırasında ve tez çalışmalarım boyunca gösterdiği her türlü sabır, destek ve yardımlarından dolayı çok değerli hocam Sn. Prof. Dr. Tülay AKAYLI'ya en içten dileklerle teşekkür ederim. Çalışmaya katkılarından dolayı değerli jüri üyesi hocalarım Sn. Prof. Dr. Jale KORUN ve Sn. Doç. Dr. H. Sibel ÖZESEN ÇOLAK'a teşekkür ederim.

Bu çalışma esnasında kullandığım hasta balık örneklerinin temin edildiği Kuzey Su Ürünleri San. ve Tic. Ltd. Şti.'nin müdürü Sezgin ARSLAN ve çalışanlarına; İstanbul Üniversitesi Su Bilimleri Fakültesi Su Ürünleri Yetiştiriciliği ve Hastalıkları Bölümü'nden yardımlarını benden esirgemeyen değerli hocalarım Dr. Öğr. üyesi Remziye Eda YARDIMCI, Arş. Gör. Dr. Çiğdem ÜRKÜ, Arş. Gör. Dr. Özgür ÇANAK ve Arş. Gör. Dr. Emre TUGAY'a; Fakültemdeki tüm hocalarıma ve çalışma arkadaşlarıma; çalışmalarım sırasında yardımlarına minnettar kaldığım arkadaşlarıma, eğitimim ve tezimin gerçekleşmesi boyunca her daim sabırla yanımda olan ve yardımlarını benden esirgemeyen en değerli varlıklarım olan aileme teşekkürü bir borç bilirim.

Temmuz 2019

Dilek ÖKMEN

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖNSÖZ.....	iv
İÇİNDEKİLER	v
ŞEKİL LİSTESİ.....	vii
TABLO LİSTESİ.....	x
SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ	xi
ÖZET.....	xii
SUMMARY.....	xiv
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL KISIMLAR	4
2.1 GÖKKUŞAĞI ALABALIĞININ (<i>ONCORHYNCHUS MYKISS</i> W.) MORFOLOJİK VE BİYOLOJİK ÖZELLİKLERİ	4
2.2. GÖKKUŞAĞI ALABALIĞININ YURDUMUZDAKİ YETİŞTİRİCİLİĞİ.....	5
2.3. BARAJ GÖLLERİNDE GÖKKUŞAĞI ALABALIĞI YETİŞTİRİCİLİĞİ.....	6
2.4. GÖKKUŞAĞI ALABALIĞINDA HASTALIĞA NEDEN PATOJEN BAKTERİLER.....	7
2.4.1. <i>Lactococcus garvieae</i>	8
2.4.2. <i>Bacillus gibsonii</i>	10
2.4.3. <i>Frigoribacterium faeni</i>	11
2.4.4. <i>Citrobacter freundii</i>	12
2.4.5. <i>Hafnia alvei</i>	14
2.4.6. <i>Sphingomonas echinoides</i>	15
2.4.7. <i>Yersinia ruckeri</i>	16
2.4.8. <i>Aeromonas</i> Enfeksiyonu	16
2.4.9. <i>Vibrio</i> Enfeksiyonu.....	17
2.4.10. Flavobacteriosis.....	18
2.4.11. <i>Pseudomonas</i> enfeksiyonları.....	19
2.5. BALIKLARINDA GÖRÜLEN BAKTERİYEL HASTALIKLARIN TEŞHİSİ.....	19
2.5.1. Rutin Bakteriyolojik Yöntemler.....	20
2.5.2. Hızlı Tanı Kitleri	20
2.5.3. Moleküler Teknikler	21

2.5.4. Serolojik Yöntemler	21
2.6. BAKTERİYEL HASTALIKLARIN KONTROLÜNDE PROBİYOTİKLERİN KULLANIMI.....	22
2.6.1. <i>Bacillus subtilis</i>	23
2.6.2. <i>Lactobacillus rhamnosus</i>	25
2.7. ANTAGONİSTİK ETKİ.....	26
3. MALZEME VE YÖNTEM.....	28
3.1. MALZEME	28
3.1.1. Araştırmanın Yapıldığı Yer	28
3.1.2. Hasta Balık Materyali Temini.....	28
3.1.3. Çalışmada Kullanılan Referans Bakteri Suşları.....	30
3.1.4. Araştırmada Kullanılan Bakteriyojik Besiyerleri.....	30
3.1.5. Araştırmada Kullanılan Kimyasal Maddeler	31
3.2. YÖNTEM.....	31
3.2.1. Hasta Balıkların Klinik ve Nekropsi Muayenesi	31
3.2.2. Bakterilerin Biyokimyasal Özelliklerine Göre İdentifikasyonu	32
3.2.3. Bakterilerin DNA İzolasyonu, PZR ile Çoğaltımı ve İdentifikasyonu.....	32
3.2.4. Referans Bakterilerin Patojenlere Karşı Antagonistik Etkisinin Belirlenmesi	34
4. BULGULAR.....	35
4.1. HASTA BALIKLARA AİT KLİNİK VE NEKROPSİ BULGULARI.....	35
4.1.1. Nisan Ayı Örneklemesine İlişkin Klinik ve Nekropsi Bulguları	35
4.1.2. Haziran Ayı Örneklemesine İlişkin Klinik ve Nekropsi Bulguları.....	36
4.1.3. Ağustos Ayı Örneklemesine İlişkin Klinik ve Nekropsi Bulguları.....	37
4.1.4. Eylül Ayı Örneklemesine İlişkin Klinik ve Nekropsi Bulguları.....	38
4.1.5. Ekim Ayı Örneklemesine İlişkin Klinik ve Nekropsi Bulguları.....	39
4.2. BAKTERİYOLOJİK BULGULAR.....	40
4.2.1. Konvansiyonel Bakteriyojik Bulgular	40
4.3. PZR İLE İLGİLİ BULGULAR	46
4.4. ANTAGONİSTİK ETKİ İLE İLGİLİ BULGULAR.....	48
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	54
KAYNAKLAR.....	60
EKLER.....	76
ÖZGEÇMİŞ	77

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 2.1: Gökkuşığı alabalığının morfolojik görüntüsü (FAO, 2018).	4
Şekil 3.1: Saha örneklemesinin gerçekleştirildiği Derbent Baraj Gölü'nün haritası (https://www.google.com/maps/@41.408288,35.7144691,10.36z)	29
Şekil 3.2: Saha örneklemesinin gerçekleştirildiği işletmenin uydu görüntüsü (https://www.google.com/maps/@41.408288,35.7144691,71581m/data=!3m1!1e3).	29
Şekil 3.3: Alabalık işletmesindeki ağkafeslerin genel görünümü.	30
Şekil 4.1: 2017 yılı Nisan örneklemesinde 100 g ağırlığındaki hasta gökkuşığı alabalığı örneğinde vücut renginde koyulaşma, ekzoftalmus, dorsal yüzgeçte erime, karında şişkinlik.	35
Şekil 4.2: Nisan 2017 örneklemesinde 100 g ağırlığındaki hasta gökkuşığı alabalığı örneğinde karaciğerde lezyon ve büyüme, iç organlarda yağlanma.	35
Şekil 4.3: 2017 yılı Haziran örneklemesinde 150 g ağırlığındaki hasta gökkuşığı alabalığının dorsal yüzgeçte erime, pullarda yer yer dökülme ve karında şişkinlik.	36
Şekil 4.4: 2017 yılı Haziran örneklemesinde 150 g ağırlığındaki hasta gökkuşığı alabalığının iç organlarda yağlanma ve kanama.	36
Şekil 4.5: 2017 yılı Ağustos örneklemesinde 150 g ağırlığındaki hasta gökkuşığı alabalığı örneğinde dorsal yüzgeçte erime, karın bölgesinde şişkinlik.	37
Şekil 4.6: 2017 yılı Ağustos örneklemesinde 150 g ağırlığındaki hasta gökkuşığı alabalığı örneğinde iç organlarda yağlanma ve kanlanma.	37
Şekil 4.7: 2017 yılı Eylül örneklemesinde 250 g ağırlığındaki hasta gökkuşığı alabalığı örneğinde dorsal yüzgeçte erime ve karın bölgesinde şişkinlik.	38
Şekil 4.8: 2017 yılı Eylül örneklemesinde 250 g ağırlığındaki hasta gökkuşığı alabalığı örneğinde dalakta büyüme ve iç organlarda yağlanma.	38
Şekil 4.9: 2017 yılı Ekim örneklemesinde 150 g ağırlığındaki hasta gökkuşığı alabalığı örneğinde vücut renginde koyulaşma, göz kaybı.	39
Şekil 4.10: 2017 yılı Ekim örneklemesinde 150 g ağırlığındaki hasta gökkuşığı alabalığı örneğinde iç organlarda yağlanma ve kanama.	39

Şekil 4.11: a) TSA besiyerinde 22°C’de 48 saat inkübasyondan sonra küçük krem renkli koloni üreten 1 numaralı <i>L. garvieae</i> izolatı b) Gram-pozitif, ikili ve küçük gruplar halinde kok şekilli 1 numaralı <i>L. garvieae</i> bakteri hücreleri.	40
Şekil 4.12: 1 numaralı <i>L. garvieae</i> izolatı a) MR test sonucu pozitif b) VP test sonucu negatif c) OF test sonucu Fermantatif.	41
Şekil 4.13: a) TSA besiyerinde 22°C’de 48 saat inkübasyondan sonra krem renkli koloni üreten 3 numaralı <i>C. freundii</i> izolatı b) Gram-negatif, ikili ve küçük gruplar halinde basil şekilli 3 numaralı <i>C. freundii</i> bakteri hücreleri.	41
Şekil 4.14: 3 numaralı <i>C. freundii</i> izolatı a) MR test sonucu pozitif b) VP test sonucu negatif.	42
Şekil 4.15: a) TSA besiyerinde 22°C’de 48 saat inkübasyondan sonra krem renkli koloni üreten 12 numaralı <i>H. alvei</i> izolatı b) Gram-negatif, ikili ve küçük gruplar halinde basil şekilli 12 numaralı <i>H. alvei</i> bakteri hücreleri.	42
Şekil 4.16: a) TSA besiyerinde 22°C’de 48 saat inkübasyondan sonra sarı renkli koloni üreten 13 numaralı <i>B. gibsonii</i> izolatı b) Gram-pozitif, ikili ve küçük gruplar halinde basil şekilli 13 numaralı <i>B. gibsonii</i> bakteri hücreleri.	43
Şekil 4.17: 13 numaralı <i>B. gibsonii</i> izolatı a) MR test sonucu negatif b) VP test sonucu negatif.	43
Şekil 4.18: a) TSA besiyerinde 22°C’de 48 saat inkübasyondan sonra sarı renkli koloni üreten 2 numaralı <i>Frigoribacterium sp.</i> izolatı b) Gram-pozitif, ikili ve küçük gruplar halinde kok şekilli 2 numaralı <i>Frigoribacterium sp.</i> bakteri hücreleri.	44
Şekil 4.19: a) TSA besiyerinde 22°C’de 48 saat inkübasyondan sonra sarı renkli koloni üreten 15 numaralı <i>Sphingomonas sp.</i> izolatı b) Gram-pozitif, ikili ve küçük gruplar halinde kok şekilli 15 numaralı <i>Sphingomonas sp.</i> bakteri hücreleri.	45
Şekil 4.20: <i>L. garvieae</i> ’ya özgü spesifik PZR.	46
Şekil 4.21: Universal primer ile yapılan PZR sonucu elde edilen 880 bp’lik bant.	47
Şekil 4.22: Farklı türlere ait seçilmiş izolatların BioEdit işlemi.	48
Şekil 4.23: a) <i>B. subtilis</i> ’in 1 numaralı <i>L. garvieae</i> izolatına karşı pozitif antagonistik etkisi b) <i>L. rhamnosus</i> ’un 1 numaralı <i>L. garvieae</i> izolatına karşı negatif antagonistik etkisi.	49
Şekil 4.24: a) <i>B. subtilis</i> ’in 11 numaralı <i>L. garvieae</i> izolatına karşı pozitif antagonistik etkisi b) <i>L. rhamnosus</i> ’un 11 numaralı <i>L. garvieae</i> izolatına karşı negatif antagonistik etkisi.	49
Şekil 4.25: a) <i>B. subtilis</i> ’in 32 numaralı <i>L. garvieae</i> izolatına karşı kuvvetli pozitif antagonistik etkisi b) <i>L. rhamnosus</i> ’un 32 numaralı <i>L. garvieae</i> izolatına karşı negatif antagonistik etkisi.	50

Şekil 4.26: a) <i>B. subtilis</i> 'in 34 numaralı <i>L. garvieae</i> izolatına karşı kuvvetli pozitif antagonistik etkisi b) <i>L. rhamnosus</i> 'un 34 numaralı <i>L. garvieae</i> izolatına karşı negatif antagonistik etkisi.....	50
Şekil 4.27: <i>B. subtilis</i> 'in 2 numaralı <i>F. faeni</i> izolatına karşı zayıf pozitif antagonistik etkisi.....	51
Şekil 4.28: a) <i>B. subtilis</i> 'in 13 numaralı <i>B. gibsonii</i> izolatına karşı zayıf pozitif antagonistik etkisi b) <i>L. rhamnosus</i> 'un 13 numaralı <i>B. gibsonii</i> izolatına karşı negatif antagonistik etkisi.....	51
Şekil 4.29: a) <i>B. subtilis</i> 'in 15 numaralı <i>S. echinoides</i> izolatına karşı zayıf pozitif antagonistik etkisi b) <i>L. rhamnosus</i> 'un 15 numaralı <i>S. echinoides</i> izolatına karşı negatif antagonistik etkisi.....	52
Şekil 4.30: a) <i>B. subtilis</i> ve b) <i>L. rhamnosus</i> 'un 12 numaralı <i>H. alvei</i> izolatına karşı negatif antagonistik etkisi.....	52
Şekil 4.31: (a) <i>C. freundii</i> olarak adlandırılan 46 numaralı izolat ile yapılan antagonistik test sonucunda hem <i>B. subtilis</i> ile hem de <i>L. rhamnosus</i> ile zon oluşturmadığı gözlemlenmiştir (b).....	53

TABLO LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 2.1: <i>Lactococcus</i> genusuna ait bakteri türleri (Teuber, 2009; Odamaki ve diğ., 2011; Austin ve Austin, 2016).....	9
Tablo 2.2: <i>L. garvieae</i> ve <i>L. piscium</i> ' un biyokimyasal özellikleri (Buller, 2004; Teuber, 2009).....	10
Tablo 2.3: <i>Bacillus gibsonii</i> ' nin biyokimyasal özellikleri (Borchert ve diğ., 2007; Logan ve De Vos, 2009).....	11
Tablo 2.4: <i>Frigoribacterium faeni</i> 'nin biyokimyasal özellikleri (Kampfer ve diğ., 2000).....	12
Tablo 2.5: <i>Citrobacter freundii</i> ve <i>C. diversus</i> 'un biyokimyasal özellikleri (Janda ve diğ., 1994; Buller, 2004).	13
Tablo 2.6: <i>Hafnia alvei</i> 'nin biyokimyasal özellikleri (Rodriguez ve diğ., 1998).....	14
Tablo 2.7: <i>Sphingomonas echinoides</i> 'ın biyokimyasal özellikleri (Denner ve diğ., 1999).....	15
Tablo 2.8: Balıklarda kullanılan bazı probiyotikler, etkiledikleri türler ve etki parametreleri.	24
Tablo 3.1: 16S / 23S geninin çoğaltılmasını hedef alan PZR yönteminde kullanılan primerler ve PZR amplifikasyon basamakları	33
Tablo 3.2: 16S geninin <i>L. garvieae</i> patojen bakterisinde çoğaltılmasını hedef alan PZR yönteminde kullanılan primerler ve PZR amplifikasyon basamakları.....	34
Tablo 4.1: Hasta kültür gökkuşağı alabalıklarından izole edilen bakterilerin fenotipik ve biyokimyasal özellikleri.....	45
Tablo 4.2: İzolatların Gen Bankası nükleotid blast işlemi ile tespit edilen en yakın türler ve benzerlik oranları.....	48

SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ

Simgeler Açıklama

%	: Yüzde
°C	: Derece santigrat
µg/ml	: Mikrogram / Mililitre
sn	: Saniye
ml/L	: Mililitre / Litre
gr	: Gram
µm	: Mikrometre
µl	: Mikrolitre
V	: Volt

Kısaltmalar Açıklama

BHI	: Brain Heart Infusion Agar
DNA	: Deoksiribonükleik asit
ELISA	: Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
EtBr₂	: Etidyum bromür
FAT	: Floresan Antikor Tekniği
MR	: Metil Red
O/F	: Oksidasyon / Fermantasyon
ONPG	: Orto-nitrofenil-β-galaktosidaz
PZR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RNA	: Ribonükleik asit
TAE	: Tris /Asetik Asit /EDTA
TSA	: Tryptic Soy Agar
TSI	: Triple Sugar Iron
VP	: Voges- Prousker
PCR	: Polymerase Chain Reaction

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BARAJ GÖLÜ KÜLTÜR GÖKKUŞAĞI ALABALIKLARINDA (*O. mykiss*, W.) PATOJEN BAKTERİLERE PROBİYOTİKLERİN ANTAGONİSTİK ETKİSİ

Dilek ÖKMEN

İstanbul Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Su Ürünleri Yetiştiriciliği ve Hastalıkları Anabilim Dalı

Danışman : Prof. Dr. Tülay AKAYLI

Gökkuşığı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) yetiştiriciliği yurdumuzda ve dünyada karadaki akarsular üzerine kurulan balık çiftliklerinin yanı sıra baraj göllerinde ve denizdeki kafes ünitelerinde yoğun olarak gerçekleştirilmekte olan önemli bir faaliyet koludur. Ancak yoğun üretim, stres ve yetersiz ortam koşulları nedeniyle bu balıklarda görülen bakteriyel hastalıklar zaman zaman ciddi ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Patojen bakterilerin direnç kazanması nedeniyle bu hastalıkların kontrolünde ve tedavisinde antibiyotikler yerine probiyotik kullanımı gittikçe önem kazanmaktadır.

Bu yüksek lisans tez çalışmasında, Samsun ili Derbent Baraj Gölü'nde ağ kafeslerde yetiştiriciliği yapılan gökkuşığı alabalıklarında görülen patojen bakterilerin biyokimyasal özelliklerinin konvansiyonel bakteriyolojik yöntemlerle tespitinin yanısıra izole edilen bakterilerin DNA izolasyonu ve PZR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu) tekniğiyle moleküler düzeyde teşhisinin yapılması amaçlanmıştır. Ayrıca bu çalışma kapsamında; probiyotik olarak kullanılan *Bacillus subtilis* ve *Lactobacillus rhamnosus* patojen bakterilere karşı *in-vitro* koşullardaki antagonistik etkisi de araştırılmıştır.

2017 yılı nisan-ekim ayları arasında gerçekleştirilen 5 adet saha örnekleme çalışmasında çeşitli hastalık belirtileri gösteren 25 adet gökkuşığı alabalığı incelenmiş olup, bu balıkların karaciğer,

böbrek ve dalak gibi iç organlarından TSA besiyerine bakteriyolojik ekimler yapılmıştır. İzole edilen bakteriler rutin biyokimyasal testler, hızlı tanı kitleri, 16S RNA dizileme ve türe özgü PZR yöntemleri ile identifiye edilmiştir. Çalışma boyunca hasta balıkların iç organlarından, 47 adet *Lactococcus garvieae* izolatı, 10 adet *Citrobacter freundii* izolatı, 8 adet *Hafnia alvei* izolatı, 2 adet *Bacillus gibsonii* izolatı, 1 adet *Frigoribacterium faeni* izolatı ve 1 adet *Sphingomonas echinoides* izolatı izole ve identifiye edilmiştir.

Çalışmada patojenlere karşı antagonistik etkisi incelenen bakterilerden *B. subtilis*'in saha örneklerinden izole edilen *L. garvieae*, *F. faeni*, *B. gibsonii* ve *S. echinoides* üzerinde etkili olduğu gözlenirken, *C. freundii* ve *H. alvei* üzerinde ise etkili olmadığı tespit edilmiştir. Buna karşın, diğer bir probiyotik bakteri olan *L. rhamnosus* suşunun ise hasta balıklardan izole edilen patojen bakterilerden hiçbirine karşı antagonistik etkisinin olmadığı tespit edilmiştir.

Sonuç olarak; bu çalışma ile ülkemizdeki gökkuşacağı alabalıklarından izole edilen patojen bakterilerin tanısında moleküler yöntemlerin rutin biyokimyasal yöntemlere kıyasla daha duyarlı oldukları bir kez daha ortaya çıkarılmıştır. Elde edilen veriler sonucunda, *B. subtilis* gibi probiyotik bakterilerin alabalıklardaki patojen bakterilere karşı etkisi ortaya konmuş olup, uygun probiyotik kullanımının hastalıkların önlenmesi ve mücadelede etkili olduğu bir kez daha gösterilmiştir. Bu tip uygulamaların artması ile yetiştiricilik sektöründeki bilinçsiz antibiyotik kullanımının azaltılmasına bağlı olarak da balık, insan ve çevre sağlığına olumlu katkıda bulunulacağını öngörmekteyiz.

Temmuz 2019, 92 sayfa.

Anahtar kelimeler: Gökkuşacağı alabalığı, Bakteriyel balık hastalıkları, Antagonistik etki

SUMMARY

M.Sc. THESIS

ANTAGONISTIC EFFECT OF PROBIOTIC ON PATHOGENIC BACTERIA IN RAINBOW TROUT (*O. mykiss*, W) OF DAM LAKE

Dilek ÖKMEN

İstanbul University

Institute of Graduate Studies in Sciences

Department of Aquaculture and Fish Diseases

Supervisor : Prof. Dr. Tülay AKAYLI

Co-Supervisor : Academic Title Name SURNAME

Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) culture is an important business line conducted in fish farms on rivers, dam lakes and marine cages in our country and in the world. But bacterial diseases of this fish due to mass production, stress and unsuitable environmental conditions can sometimes cause serious economic losses. As bacterial pathogens gain resistance, the use of probiotics instead of antibiotics in the control of these diseases gain importance.

The aim of this MSc. thesis study is to determine the biochemical characteristics of pathogen bacteria by using conventional bacteriological methods recovered from rainbow trout cultured in Derbent Dam Lake, Samsun and molecular identification of these isolates with DNA isolation and PCR (Polymerase Chain Reaction) techniques. Also, in-vitro antagonistic effect of the probiotic bacteria *Bacillus subtilis* and *Lactobacillus rhamnosus* against pathogenic bacteria.

During the 5 field sampling studies carried out between April and October 2017, 25 moribund rainbow trout samples were examined and bacteriological inoculations from their visceral organs such as liver, kidney and spleen were streaked onto TSA. Recovered bacteria were identified by using routine biochemical tests, rapid identification kits, 16S RNA sequencing

and species-specific PCR methods. During the study, 47 *Lactococcus garvieae*, 10 *Citrobacter freundii*, 8 *Hafnia alvei*, 2 *Bacillus gibsonii*, 1 *Frigoribacterium faeni* and 1 *Sphingomonas echinoides* isolates were recovered and identified from the internal organs of moribund fish samples.

Among the probiotic bacteria, *B. subtilis* showed antagonism against field isolate pathogenic bacteria namely *L. garvieae*, *F. faeni*, *B. gibsonii* and *S. echinoides*, but did not show antagonism against *C. freundii* and *H. alvei*. On the other hand, it was determined that the other probiotic *L. rhamnosus* has no antagonism against any of the pathogenic bacteria recovered from moribund fish samples.

As a result, it was one more time revealed that the molecular methods are more sensitive than the routine biochemical methods in the identification of pathogens recovered from rainbow trouts cultured in our country. With these results, the effects of probiotic bacteria such as *B. subtilis* on the pathogens of rainbow trout were revealed and the effect of the use of suitable probiotics on the disease prevention and control one more time. We predict that the increase in such applications, due to the decrease in the unconscious use of antibiotics in aquaculture sector, positive contribution on the fish, human and environment health will be provided.

July 2019, 92 pages.

Keywords: Rainbow trout, Bacterial fish diseases, Antagonistic effect

1. GİRİŞ

Yurdumuzun Karadeniz Bölgesinde gerçekleştirilen kıyı ve kıyı ötesi balık avcılığı ülke ekonomisi için oldukça önemlidir. Bölge, avcılık dışında deniz ve içsularda yapılan su ürünleri yetiştiriciliği sektörü açısından da önemli bir potansiyele sahiptir (Çelikkale ve diğ., 1999; Alpbaz, 2005; Okumuş ve Deniz, 2007). Bu sektör, bölgede ilk olarak 1970'li yıllarda yatırım şansı bulmuştur (Alpbaz, 2005; Emre ve diğ., 2007). İçsulardaki su ürünleri yetiştiriciliği daha çok Doğu Karadeniz Bölgesi'nde yaygın olup, bölge genelinde üretimi yapılan en yaygın balık türü ise gökkuşağı alabalığıdır (*Oncorhynchus mykiss*, W.) (Emre ve diğ., 2007). Bu türün yetiştiriciliği karadaki akarsular üzerine kurulan balık çiftlikleri yanı sıra baraj göllerinde ve denizdeki kafes ünitelerinde yoğun olarak gerçekleştirilmektedir (Emre ve diğ., 2007). Samsun ilimizde bulunan Derbent Baraj Gölü'ndeki ağ kafes işletmelerinde de bu balık türünün yetiştiriciliği 1995 yılından beri başarılı bir şekilde yapılmaktadır (Akbulut ve diğ., 2009).

Yetiştiriciliği yapılan kültür gökkuşağı alabalıklarının üretiminde, karşılaşılan en önemli problemlerden birisi bakteriyel hastalıklardır. Balıkların yaşadığı sucul ekosistemde bulunan fırsatçı ve patojen bakteriler; düşük oksijen seviyesi, yetersiz beslenme, su kirliliği ve stres gibi olumsuz faktörleri içeren ortam şartlarında balıklarda enfeksiyöz hastalıklara neden olmaktadır (Austin ve Austin, 2016). Ciddi ekonomik kayıplara neden olan bu hastalıklardan korunma ve tedavi amacıyla antibiyotik ve kimyasal maddelerin bilinçsiz kullanımı önemli sağlık problemlerine yol açmaktadır. Yanlış antibiyotik kullanımı, antibiyotiklerin balık dokularında birikmesine ve patojenlerinin antibiyotiklere karşı direnç kazanmasına neden olduğu için bakteriyel hastalıkların tedavisini güçleştirirken insan sağlığı ve akuatik çevre üzerinde de olumsuz etki yapmaktadır (Austin ve Austin, 2016; Akaylı ve diğ., 2013). Günümüzde bakteriyel hastalıkların kontrolü ve bu hastalıklardan korunma amacıyla probiyotik bakterilerin kullanımı gibi alternatif yöntemler tercih edilmektedir (Balcazar ve diğ., 2006; Akaylı ve diğ., 2016).

Ülkemizde yetiştiriciliği yapılan gökkuşağı alabalıklarında furunkulosis, pseuomonad enfeksiyonu, vibriosis, bakteriyel soğuk su hastalığı, hareketli *Aeromonas septisemisi* ve *Yersiniosis*, *Sphingomonas echinoides* gibi Gram-negatif bakterilerin neden olduğu hastalıkların görüldüğü ve bu hastalıkların büyük ekonomik kayıplara neden olduğu rapor

edilmektedir (Timur ve Timur, 2003; Candan ve Karataş, 2010). Gram-pozitif bakterilerden olan *Lactococcus garvieae*, *L. lactis* subsp. *lactis*, *Aerococcus viridans*, *Enterococcus durans/hirae*, *E. faecium-1* ve *Streptococcus aninosus* gibi bakterilerin de bu balık türünde hastalıklara neden olduğu ve bu bakteriler arasında *L. garvieae*'nin dünyada gökkuşağı alabalığı kültüründe görülme oranının daha fazla olduğu yapılan çalışmalarda ortaya çıkarılmıştır (Timur ve diğ., 2011; Austin ve Austin, 2016).

Probiyotikler, kültür balıklarının büyümesi ve hastalıklara karşı direnç kazanmasında etkili olan mikrobiyal besin kaynaklarıdır (Balcazar ve diğ., 2006; Austin ve Austin, 2016). Araştırmacılar balık sağlığında kullanılacak olan probiyotiklerin seçiminde farklı basamakların olduğunu ancak öncelikle probiyotik olarak kullanılacak olan bakterinin seçiminde *in-vitro* koşullarda patojen bakterilere karşı gerçekleştirilen antogonizm testinin yapılması gerektiğini bildirmektedirler (Gatesoupe, 1999; Gomez-Gil ve diğ., 2000; Akaylı ve diğ., 2016). Probiyotik bakteri olarak kullanılan *Bacillus subtilis* ve *Lactobacillus rhamnosus*'un, kültür balıklarının yemine veya ortam suyuna ilave edilmesi sonucunda yem maliyetinin ve larval dönemdeki ölüm oranını azalttığını, hastalıklara karşı direncin arttığını, büyümede artışın sağlandığını, canlı ağırlığın arttığını, suda bulunan organik veya toksik maddelerin ayrıştırılmasına bağlı olarak su kalitesinde iyileşmenin sağlandığını ve stresin olumsuz etkilerinin azalttığına dair çok sayıda rapor bildirilmektedir (Vaseeharan ve Ramasamy, 2003; Nikoskelainen ve diğ., 2001). Yurdumuzda ise balık sağlığında probiyotiklerin kullanımı ile ilgili az sayıda çalışma mevcuttur (Öztürk, 2007; Akaylı ve diğ., 2016). Baraj göllerinde bulunan su aynı zamanda insanlar tarafından içme suyu olarak da kullanıldığı için; bu barajlarda bulunan ağ kafeslerdeki balıklara yapılacak olan probiyotik uygulamalarının diğer bilim insanlarının da belirttiği gibi balıklar kafeslere taşınmadan önce, kuluçkalıktaki ilk yemleme aşamasındayken yeme ve/veya kuluçka suyuna ilave edilmesi ile daha başarılı sonuç alınacağını rapor edilmektedir (Turgut ve diğ., 2007; Özdemir ve Keleştemur, 2009). Araştırmacılar larva aşamasında probiyotik takviyesi alan balıkların kafes ortamına geçtikten sonra karşılaşılabilecekleri bakteriyel patojenlere karşı direnç kazandıklarını bildirmektedir (Gatesoupe, 1999; Pavlidis ve Mylonas, 2011).

Bu tez çalışması ile öncelikle Samsun İli'nde bulunan Derbent Baraj Gölü'nde yetiştiriciliği yapılan kültür gökkuşağı alabalıklarında bakteriyel hastalıklara neden olan patojen bakterilerin izolasyonu için bir yıllık sürede örnekleme çalışmaları gerçekleştirilmiş olup; izole edilen bakterilerin rutin bakteriyolojik yöntemler yanı sıra moleküler yöntemlerden olan Polimeraz

Zincir Reaksiyonu (PZR) ile teşhisi yapılması amaçlanmıştır. Daha sonra; yurt dışından ticari bir firmadan temin edilen ve probiyotik özelliği olan *Bacillus subtilis* ve *Lactobacillus rhamnosus* suşlarının hasta balıklardan elde edilen bakteri izolatlarına karşı *in-vitro* koşullarda antagonistik etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

Bu çalışmasının başarıyla tamamlanması sonucunda; yurdumuzda baraj göllerinde yetiştiriciliği yapılan gökkuşuğu alabalığında hastalığa neden olan patojen bakterilerin bakteriyolojik ve moleküler düzeyde teşhisi yapılacak ve patojen bakterilerin mevsimsel olarak dağılımı ortaya çıkarılacaktır. Çalışmadan izole edilen patojen bakterilere karşı balık sağlığında yaygın olarak kullanılan *Bacillus subtilis* ve *L. rhamnosus* bakterilerinin *in-vitro* koşullardaki antagonistik etkilerinin tespiti ile enfekte gökkuşuğu alabalıklarından elde edilen izolatlara karşı etkili olan probiyotik bakteri türünün tespiti ile yurdumuzdaki baraj göllerinde yapılan gökkuşuğu alabalığı yetiştiriciliğinin gelişmesine katkıda bulunulmasının yanı sıra bilinçsiz antibiyotik ve kimyasal maddelerin kullanımının önlenmesine bağlı olarak sucul ekosistemin korunması yanı sıra kayıp ürün miktarının azaltılması ile üretimde artış ve kalitenin yükseltilmesine bağlı olarak sektör adına olumlu bir adım atılması hedeflenmektedir.

2. GENEL KISIMLAR

2.1 GÖKKUŞAĞI ALABALIĞININ (*ONCORHYNCHUS MYKISS* W.) MORFOLOJİK VE BİYOLOJİK ÖZELLİKLERİ

Gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss* W.) Salmonidae familyasından *Oncorhynchus* genusuna ait olan Amerika kökenli bir balıktır (Frose ve Pauly, 2019). Salmonid balıkların vücutları ince uzun olurken ışınlı dorsal yüzgeci ve kuyruk yüzgeci arasında ışsızsız adipoz yüzgeci bulunur. Sırt yüzgeci 10-12, anal yüzgeç ise 8-12 yumuşak ışına sahiptir. Pulları küçüktür. Kafanın üst kısmı ve arkası mavi-yeşil, sarı-yeşil ve kahverengidir (Şekil 2.1). Vücutlarının yan tarafları gümüşü, beyaz ya da soluk sarı-yeşile eğilimli olan bir renktedir. Vücutlarının yan tarafında pembe veya maviye yakın renkte bant ile çok sayıda küçük lekeler bulunur (Atay, 1987; Çelikkale ve diğ., 1999). Gökkuşağı alabalıkları cinsi olgunluğa 2-3 yılda ulaşabilirler. Erkek bireylerde renkler daha parlak olurken dişi bireylerde karın kısmı oldukça şişkindir ve genişlemiş olan anüs kırmızı renktedir (Atay, 1987; Çelikkale ve diğ., 1999; Çağiltay, 2007). Yumurtlama akarsuyun kumlu ve çakıllı tabanında olur. Yumurtalar küresel şekilli ve 4-6 mm çapındadır. Döllenen yumurtaların gelişimi suyun sıcaklığına bağlıdır. Gökkuşağı alabalıklarında kuluçka ve yavru çıkış dönemleri 7-12 °C, larva-yavru büyüme 8-13 °C, fingerling döneminde 12-18 °C ve damızlıkların beslenmesinde kullanılan ideal su sıcaklığı 7-13 °C olarak bildirilmektedir. Karnivor olan bu balıklar özellikle hayvansal gıdalarda beslenirler. Alabalık fryları göl ve nehirlerde zooplanktonlarla beslenirken olgunlaştıklarında böcek, krustase ve diğer balıklarla beslenirler (Alpbaz, 2005; Çelikkale ve diğ., 1999; Çağiltay, 2007).



Şekil 2.1: Gökkuşağı alabalığının morfolojik görüntüsü (FAO, 2018).

Gökkuşığı alabalığının (*O. mykiss*) bilimsel sınıflandırması (Froese ve Pauly, 2019)

Alem: Animalia

Şube: Chordata

Sınıf: Actinopterygii

Takım: Salmoniformes

Familya: Salmonidae

Genus: *Oncorhynchus*

Tür: *O. mykiss* (Walbaum, 1792).

2.2. GÖKKUŞAĞI ALABALIĞININ YURDUMUZDAKİ YETİŞTİRİCİLİĞİ

Su ürünleri; insanlar için gerekli olan hayvansal protein ihtiyacının karşılanmasında ucuz maliyet ve yüksek protein içermesi nedeniyle önemli bir besin kaynağıdır. Dünyada ve yurdumuzda son yıllarda su ürünleri yetiştiriciliği oldukça hızlı gelişme göstermiş ve önemli bir endüstri kolu haline gelmiştir (Alpbaz, 2005; Emre ve diğ., 2007). Ancak aşırı avlanma, bilinçsizce yapılan avcılığın doğal ortamı zarar vermesi ve su kirliliği gibi nedenlerden dolayı doğadaki balık stokları büyük ölçüde azalmış ve her geçen gün artan dünya nüfusunun hayvansal protein ihtiyacını karşılamakta yetersiz kalmıştır. Bu olumsuz gelişmeler sonucunda; su ürünleri yetiştiriciliği dünyada ve yurdumuzda gün geçtikçe daha hızlı tırmanışa geçmiş ve önemi giderek artan bir sektör haline gelmiştir (Öz, 2004; Alpbaz, 2005; Emre ve diğ., 2007).

Su ürünleri yetiştiriciliği, dünya balıkçılık üretiminin yaklaşık %30' unu karşılamakta ve yılda %10' dan fazla büyüme gösterdiği araştırmalar sonucunda bulunmuştur (FAO, 2018). Dünyada olduğu gibi yurdumuzda da su ürünleri yetiştiriciliği, öncelikle tatlı sularda yetiştiriciliği yapılan sazan ve alabalık gibi balık türleri üzerindeki çalışmalarla başlamıştır. Günümüzde ise gökkuşığı alabalığının yurdumuzdaki karadaki beton havuzlar yanısıra deniz ve tatlı sudaki ağ kafeslerde yetiştiriciliği başarıyla yapılmaktadır (Çelikkale ve diğ., 1999; Alpbaz, 2005; Emre ve diğ., 2007).

Türkiye, zengin su potansiyeline ve su ürünleri üretim alanı konusunda avantajlara sahip olan bir ülkedir. Karadeniz, Ege ve Akdeniz yanında iç sularda, göl ve barajlarda önemli balık potansiyeline sahiptir. Su ürünleri üretimi genellikle avlanma yoluyla denizlerde yapılmaktadır. Ancak son yıllarda iç sularda hem avcılık hem de yetiştiricilik giderek artmaktadır (Emre ve diğ., 2007). Türkiye İstatistik Kurumu'nun (TÜİK) raporlarına göre yurdumuzdaki içsularda ve

denizlerdeki bu balık türünün yetiştiriciliği yıllara göre artış göstermektedir. İçsularda bu türün yetiştiriciliği 2017 yılında 101.761 ton/yıl iken; denizde gökkuşağı alabalığı yetiştiriciliği 2017 yılında 4.972 ton/yıl olarak rapor edilmiştir (TÜİK, 2019). Bu türün üretimi baraj göllerinde gün geçtikçe artmaktadır.

Ülkemizin su ürünleri üretiminin büyük bir kısmının elde edildiği Karadeniz Bölgesi'nde gerçekleştirilen kıyı ve kıyı ötesi balık avcılığı ülke ekonomisi için oldukça önemlidir. Ancak bölge avcılık dışında deniz ve içsularda gerçekleştirilen su ürünleri yetiştiriciliği açısından da önemli bir potansiyele sahiptir (Çelikkale ve diğ., 1999; Öz, 2004). Karadeniz, kendisini besleyen çok sayıda akarsu ile yetiştiricilik açısından zengin bir denizdir (Çelikkale ve diğ., 1999; Emre ve diğ., 2007). Su ürünleri yetiştiriciliği sektörü, bu bölgede 1970'li yıllarda yatırım şansı bulmuştur (Emre ve diğ., 2007). Bu bölgenin içsularında su ürünleri yetiştiriciliği daha çok Doğu Karadeniz Bölgesi'nde yaygın olup, üretimi yapılan en yaygın balık türü gökkuşağı alabalığıdır (Çelikkale ve diğ., 1999; Alpbaz, 2005; Emre ve diğ., 2007).

2.3. BARAJ GÖLLERİNDE GÖKKUŞAĞI ALABALIĞI YETİŞTİRİCİLİĞİ

Ağ kafeslerde balık yetiştiriciliği genel olarak; denizler ve tatlı sulardan göller, baraj gölleri, göletlerde uygun yerlere yerleştirilen ağ kafesler içinde, balıkların kontrollü bir şekilde bakılıp beslenmesiyle yapılan yetiştiricilik yöntemidir. Bu yöntemde balıkların büyüme hızının yüksek olması, su kaynaklarının ekonomik olarak değerlendirilmesi, maliyetin düşük olması ve yöntemin basit oluşu nedeniyle tatlısu ve deniz balıkları yetiştiricileri tarafından son yıllarda yaygın olarak tercih edilmesi nedeniyle, günümüzde ağ kafeslerde gökkuşağı alabalığı yetiştiriciliği önemli bir sektör haline gelmiştir. Yurdumuzda ise doğal göller ve baraj gölleri yanısıra denizlerimizdeki ağ kafeslerde kontrollü bir şekilde yapılan balık üretimi günden güne önem kazanmaktadır (Akbulut ve diğ., 2009; Pulatsü ve Kaya, 2016).

Kafes yetiştiriciliğinin esası, balık besinine dayanmaktadır. Bu amaçla 20-30 gr. ağırlığındaki yavru alabalıklar ağ kafeslere yerleştirilir ve 5-6 ay gibi bir sürede bu balıkların kontrollü bir şekilde bakımı ve beslenmesi yapılarak balıklar porsiyonluk yani 200-250 gr. ağırlığına ulaştırılarak pazarlanır (Çelikkale ve diğ., 1999; Emre ve diğ., 2007).

Günümüzde kafes yetiştiriciliği, rağbet gören bir iş kolu halini almıştır. Balık tüketiminin artması, bazı balık stoklarında görülen azalma, kafeste balık üretimine olan ilgiyi arttırmıştır. Kafes yetiştiriciliği aynı zamanda, sınırlı kullanım imkânı sunan su kaynaklarının

değerlendirilmesi şansını vermektedir (Emre ve Kürüm, 1990; Özdemir, 1993; Çelikkale ve diğ., 1999; Akbulut ve diğ., 2009; Pulatsü ve Kaya, 2016). Doğal göller, büyük baraj göllerinde yapılan akuakültür çalışmalarında özellikle gökkuşacağı alabalığının önemi oldukça yüksektir ve üretim miktarı gün geçtikçe artmaktadır. Bu türün yetiştiricilikte tercih edilmesinin bazı sebepleri; yüksek adaptasyon ve yemden yararlanma yeteneği; belirli düzeyde hastalıklara karşı dayanıklı olması olarak özetlenebilir (Emre, 2004).

Karadeniz Bölgesi'nde çoğunluğu içsu balıkları yetiştiriciliği olmak üzere çok sayıda çiftlik bulunmaktadır. Bu çiftliklerin büyük çoğunluğunda gökkuşacağı alabalığı yetiştirilmektedir (Akbulut ve diğ., 2009). Yurdumuzda 677 adet baraj gölü bulunmaktadır ve bunların 250 adedinde bulunan ağ kafes işletmelerinde yaklaşık 30.000 ton/yıl gökkuşacağı alabalığı üretilmektedir. Bu türün yetiştiriciliği karada; akarsular üzerine kurulan balık çiftlikleri yanısıra Derbent, Almus, Demirözü, Koruluk ve Kürtün gibi baraj göllerinde ve denizdeki ağ kafeslerde başarılı bir şekilde yürütülmekte ve bölgenin kültür balıkçılığı potansiyelinin geliştirilmesinde önemli katkı sağlanmaktadır (Yıldırım, 2016). Karadeniz Bölgesi'ndeki göl ve baraj gölleri incelendiğinde, Samsun ilindeki Derbent Baraj Gölü'nde üretim miktarının fazla olduğu görülmektedir (Üstündağ, 2000; Taş, 2006; Akbulut ve diğ., 2009). İkamet ettiğim yere yakın olduğundan dolayı çalışma için seçtiğim Derbent baraj Gölü'nde gökkuşacağı alabalığı yetiştiriciliği yapan işletmelerin, Samsun Gıda Tarım ve Hayvancılık İl Müdürlüğü ile yapılan görüşmeler sonucu 2017 yılındaki üretim miktarının yaklaşık 3.600 ton/yıl olduğu öğrenilmiştir.

2.4. GÖKKUŞAĞI ALABALIĞINDA HASTALIĞA NEDEN PATOJEN BAKTERİLER

Kültür balıkçılığında görülen hızlı gelişmelere paralel olarak yoğun stoklamanın yanı sıra olumsuz çevre şartlarından kaynaklanan bakteriyel enfeksiyonların neden olduğu sorunlar sektörde ciddi ekonomik kayıplara neden olmaktadır (Timur ve Timur, 2003; Roberts, 2012; Austin ve Austin, 2016). Bakteriyel balık hastalıklarının akut, kronik ve subakut safhada olmasına göre ölüm oranlarında değişiklik görülmektedir. Bazı enfeksiyonlar, balıklarda akut etki gösterir ve yüksek oranda ölümlere neden olurken, bazıları ise kronik olarak gelişir ve balıklarda düşük seviyede kayıplara yol açar. Kronik seyreden bakteriyel enfeksiyonların bir kısmı balıklarda dış görünüşte hoş olmayan görüntülere neden olur ve bu tip enfeksiyonlar balıkların pazarlama aşamasında olumsuzluğa yol açmaktadır. Az sayıda klinik belirti gösteren

subakut enfeksiyonlarda ise yüksek oranda ölümler görülmektedir (Timur ve Timur, 2003; Roberts, 2012; Austin ve Austin, 2016).

Yurdumuzdaki tatlı sulardaki havuz ve ağ kafeslerde yetiştiriciliği gerçekleştirilen gökkuşağı alabalıklarında; su sıcaklığının arttığı dönemlerde daha çok *Lactococcus garvieae* (Akşit ve Kum, 2008; Timur ve diğ., 2011) ve *Yersinia ruckeri*'nin (Timur ve Timur, 1991; Altun ve Diler, 1999; Akşit ve Kum, 2008; Akaylı ve diğ., 2013; Akaylı ve diğ., 2015a) su sıcaklığının düşük olduğu kış aylarında *Flavobacterium psychrophilum*'un (Timur ve Timur, 2003; Roberts, 2012; Austin ve Austin, 2016); su sıcaklığının hızlı artış gösterdiği ilkbahar aylarında (Şubat-Nisan ayları) ise *Aeromonas salmonicida* ve *Vibrio anguillarum*'un daha yüksek oranda hastalığa neden olduğu (Kırkan ve diğ., 2003; Akşit ve Kum, 2008; Akaylı ve diğ., 2013; Akaylı ve diğ., 2014; Akaylı ve diğ., 2015b) rapor edilmektedir.

Baraj göllerimizdeki gökkuşağı alabalığı üretimi ile ilgili çalışmalara bakıldığında; çoğu araştırmacılar bu türün daha çok yetiştiriciliği (Akyurt ve Aras, 1991; Öz, 2004; Ağgön, 2016), beslenmesi (Çelikkale ve diğ. 1981; Saygun ve Bircan, 1998; Ustaoglu ve Bircan, 1998) ve su kalitesi üzerine çalışmalar yapmışlardır (Akgün, 2005). Ancak bu baraj göllerindeki bakteriyel hastalıklarla ilgili çalışmalara bakıldığında Muz ve diğ. (1995) hasta balıklardan hareketli *Aeromonas* türlerini izole ederken, Kan ve Sarıeyyüpoğlu (2008) enfekte balıklarda streptokokkus enfeksiyonuna neden olan *Streptococcus faecalis* adlı bakteriyi rapor ederken, Türe ve Altınok (2012) ise *L. garvieae*'nin neden olduğu lactococcosis üzerinde çalışmışlardır. Bu çalışmalardan farklı olarak Altunay ve Yavuzcan (2008) ise baraj göllerindeki balıklardaki *Trichodina* sp., *Epistylis* sp., *Chilodonella* sp., *Costia* sp., *Apiosoma* sp. ve *Tripartiella* sp. adlı ektoparazitlerin neden olduğu parazitik enfestasyon üzerinde çalışma yapmışlardır.

2.4.1. *Lactococcus garvieae*

Streptococcaceae familyası *Streptococcus*, *Lactococcus* ve *Enterococcus* genuslarına ait pek çok bakteri türünü içermektedir (Deibel ve Seeley, 2009). *Lactococcus* genusuna ait olan *L. garvieae* Gram-pozitif kok şeklinde ve kısa zincirler oluşturan, hareketsiz, oksidaz ve katalaz testlerinde negatif reaksiyon veren, sporsuz ve aside dirençli olmayan bir bakteri türüdür (Austin ve Austin, 2016). Bu patojen bakteri balıklarda bir çeşit Streptococcal enfeksiyon olan Lactococcosis adlı önemli bir bakteriyel hastalığa neden olmaktadır (Austin ve Austin, 2016). Bu etken; daha çok gökkuşağı alabalıklarında su sıcaklığının yükseldiği dönemlerde

hastalıklara neden olmaktadır (Barnes ve diğ., 2002; Vendrell ve diğ., 2006; Sanchez ve diğ., 2011; Türe ve Altınok, 2012). Lactococcosis enfeksiyonu, balıklarda hemorojik septisemi ile karakterize edilen bir enfeksiyondur (Ksuda ve Salati, 1999; Austin ve Austin, 2016). Gökkuşığı alabalıklarında bu patojenin klinik belirtileri; tek veya iki taraflı ekzoftalmus, operkulumda kuyruk yüzgeci bölgesinde hemorajiler, koyulaşmış bir deri ve karın bölgesinde şişlik ile karakterize olmuştur (Vendrell ve diğ., 2006, Özer ve diğ., 2008; Timur ve diğ., 2011; Austin ve Austin, 2016).

Lactococcus genusu Tablo 2.1’de görüldüğü gibi *L. garvieae*, *L. fujiensis*, *L. piscium*, *L. chungangensis*, *L. plantarum*, *L. raffinolactis* ve *L. lactis* gibi 7 farklı türü kapsar (Teuber, 2009; Cai ve diğ., 2011; Austin ve Austin, 2016). Bu genusun üyelerinden *L. garvieae* ve *L. piscium* balıklarda görülen önemli patojenlerdir ve bu patojenlerin bazı biyokimyasal özelliklerinde farklılıklar bildirilmektedir (Tablo 2.2.). *L. garvieae* sıcak su bakterisi olarak 15 °C’nin üzerindeki sıcaklıklarda ölümlere neden olurken; *L. piscium* ise soğuk su bakterisi olarak 15 °C’nin altındaki sıcaklıklarda balıklarda kayıplara neden olmaktadır (Domenech ve diğ., 1996; Austin ve Austin, 2016).

Tablo 2.1: *Lactococcus* genusuna ait bakteri türleri (Teuber, 2009; Odamaki ve diğ., 2011; Austin ve Austin, 2016).

Türler	Alt Türler
<i>Lactococcus garvieae</i>	-
<i>L. piscium</i>	-
<i>L. raffinolactis</i>	-
<i>L. plantarum</i>	-
<i>L. chungangensis</i>	-
<i>L. fujiensis</i>	-
<i>L. lactis</i>	<i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> <i>L. lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> <i>L. lactis</i> subsp. <i>hordniae</i> <i>L. lactis</i> subsp. <i>tructae</i>

Tablo 2.2: *L. garvieae* ve *L. piscium*' un biyokimyasal özellikleri (Buller, 2004; Teuber, 2009).

Biyokimyasal Özellikler	<i>L. garvieae</i>	<i>L. piscium</i>
Gram Boyama	+	+
Hücre Şekli	Uzun kok	Kok (uzun çubuk/kokobasil)
Hareket	-	-
Oksidaz	-	-
Katalaz	-	-
O/F	F	B
MR	+	B
VP	+	+
Indol	-	B
Nitrat	-	B
Sitrat	-	B
Eskulin	+	+
Nişasta	-	-
Arjinin dihidrolaz	+	-
Lizin dekarboksilaz	-	B
Ornitin dekarboksilaz	-	B
Arabinoz	-	+/-
Glikoz	+	+
Laktoz	-	+
Sukroz	+	+
Mannitol	+	+
Fruktoz	+	+
Sorbitol	-	-
Maltoz	+	+
Galaktoz	+	+
10°C de üreme	+	B
30°C de üreme	+	B
45°C de üreme	+	B
%0 NaCl	+	B

+ : Pozitif reaksiyon, - : Negatif reaksiyon, +/- : Değişken, **F**: Fermantatif **B**: bildirilmemiştir

2.4.2. *Bacillus gibsonii*

Bacillaceae familyası, bilim insanlarının yapmış oldukları 16S rRNA gen dizilerinin filogenetik analiz sonuçlarına göre *Bacillus* genusu dâhil yaklaşık 19 adet farklı genusu içermektedir. Bu gruba ait bakterilerin çoğu Gram-pozitif olup aerobik veya fakültatif anaerobik basillerdir. Bu familyaya ait türler yaygın olarak Gram-pozitif olmalarına rağmen, familyanın birçok türü Gram özellik olarak değişkenlik göstermektedir (Logan ve De Vos, 2009) (Tablo 2.3). Nielsen ve diğ. (1995), filogenetik ve fenotipik karakteristik özelliklere göre alkali koşullarda optimum gelişim gösteren *Bacillus* türlerinin sınıflandırılması ile ilgili çalışma yapmışlardır. Yapılan bu çalışmaya göre *B. clausii*, *B. gibsonii*, *B. horikoshii*, *B. pseudoalkaliphilus*, *B. pseudofirmus*, *B.*

agaradhaerens, *B. clarkii*, *B. halmopalus* ve *B. halodurans* olmak üzere 9 adet yeni alkali koşullarda optimum gelişim gösterebilen *Bacillus* türü ve önceden bilinenlere ek olarak *B. alcalophilus* ve *B. cohnii* türleri ileri sürülmüştür. Li ve diğ. (2005) yaptığı çalışmada *B. gibsonii* suşunun tanımlanmasını ve bu suşun katı hal fermantasyonunun şeker pancarı küspesi kullanılarak alkalik pektinaz üretimi için kullanıldığını rapor etmişlerdir. Yapılan araştırmalarda *B. gibsonii* bakterisinin balıklarda patojen bakteri olarak bulunmasıyla ilgili çalışmalara rastlanılmamıştır.

Tablo 2.3: *Bacillus gibsonii*' nin biyokimyasal özellikleri (Borchert ve diğ., 2007; Logan ve De Vos, 2009).

Biyokimyasal özellikler	<i>Bacillus gibsonii</i>
Gram Boyama	+
Sitokrom oksidaz	+/-
Katalaz	+
Hareket	+
O/F	F
Indol	-
MR	-
VP	-
Nitrat	+/-
Sitrat	-
Arjinin dihidrolaz	+/-
Lizin dekarboksilaz	-
Ornitin dekarboksilaz	-
Galaktoz	+/-
Laktoz	+
Ramnoz	+/-
Sukroz	+
Maltoz	+
Sorbitol	-
Mannitol	+
Inositol	-
Fruktoz	-
Glikoz	+
%0 NaCl	+

+: Pozitif reaksiyon, -: Negatif reaksiyon, +/-: Değişken, F: Fermantatif

2.4.3. *Frigoribacterium faeni*

Gram-pozitif karakterdeki bakterilerden oluşan *Microbacteriaceae* familyası *Agromyces*, *Aureobacterium*, *Clavibacter*, *Curtobacterium* ve *Microbacterium* genuslarını içermektedir (Park ve diğ. 1993). Stackebrandt ve diğ., (1997) ise yaptıkları 16S rRNA sekans analizlerinden

elde ettiği verilere göre, *Agrococcus* ve *Rathayibacter* genuslarını da bu bakteri familyasına ilave etmişlerdir. Bununla birlikte; Kampfer ve diğ., (2000) yapmış olduğu çalışmada *Microbacteriaceae* familyasına ait bakterileri morfolojik, fizyolojik ve filogenetik olarak incelenmiş olup, elde edilen sonuçlara dayanarak yeni bir genusu temsil eden *Frigoribacterium* genusuna ait *Frigoribacterium faeni* bakterisinin yeni bir türü temsil ettiğini ifade etmişlerdir. *F. faeni* bakterisi Gram-pozitif bir bakteri olup, sitokrom oksidaz negatif ve katalaz testlerinde pozitif özellik gösterir (Kampfer ve diğ., 2000) (Tablo 2.4.). Carbajal-Gonalez vd. (2011)'nin yaptığı çalışmada *Frigoribacterium* sp. sağlıklı gökkuşağı alabalığında izole edilirken; Urtubia ve diğ. (2017)'nin diğ balığında (*Dissostichus eleginoides*) yaptığı çalışmada bağırsakta *Frigoribacterium* sp.'ye rastlanılmıştır. Balıklarda bu bakterinin patojen özelliği ile ilgili çalışmaya rastlanılmamıştır.

Tablo 2.4: *Frigoribacterium faeni*'nin biyokimyasal özellikleri (Kampfer ve diğ., 2000).

Biyokimyasal özellikler	<i>Frigoribacterium faeni</i>
Gram boyama	+
Katalaz	+
Sitokrom oksidaz	-
Hareket	+
Indol	-
MR	-
VP	-
Sitrat	+/-
Nitrat	+/-
Ramnoz	+
Sorbitol	+
%0 NaCl	+

+: Pozitif reaksiyon, -: Negatif reaksiyon, +/-: Değişken, F: Fermantatif

2.4.4. *Citrobacter freundii*

Kültür balıklarında görülen Enterobacteriaceae familyasına ait olan bakteriler çoğunlukla *Hafnia*, *Yersinia*, *Citrobacter* ve *Edwardsiella* genuslarına aittir (Toback ve diğ., 2007; Hossain ve diğ., 2009; Austin ve Austin, 2016). *Citrobacter* genusuna dâhil olan bakteriler fakültatif anaerop ve hareketli Gram-negatif basiller olup, Tablo 2.5'te gösterildiği gibi balıklarda daha çok *C. diversus* ve *C. freundii* türleri hastalığa neden olmaktadır (Ewing ve Davis, 1972; Sanz, 1991; Türe ve Kutlu, 2018).

Citrobacter genusunun üyeleri arasında *C. freundii* in en sık rastlanılan patojen bakteri türü olup bu patojen bakterinin ilk olarak Japonya’da güneş balıklarında stres ve çevresel kirliliğe bağlı olarak hastalığa neden olduğu bildirilmiştir (Sato ve diğ., 1982). Enfekte olan alabalıklarda düzensiz yüzme, deride ve pullarda aşınma yanısıra deri yüzeyinde kanama, dalağın renginde koyulaşma, karaciğerde solgunluk ve böbrek üzerinde tümör benzeri yapıların görülebildiği rapor edilmektedir (Sato ve diğ., 1982; Sanz, 1991; Austin ve Austin, 2016). *C. freundii* biyokimyasal özellikleri ve görünüm olarak *E. coli*’yle benzerlik gösterir. Bu benzerlik indol, sitrat ve H₂S testleri ile farklılık gösterir. Türkiye’de ise ilk kez Erzurum’daki kültür gökkuşağı alabalıklarından izole edilirken (Sağlam ve diğ., 2006), ilerleyen yıllarda Trabzon’daki gökkuşağı alabalıklarından da izole edilmiştir (Kayış, 2009).

Tablo 2.5: *Citrobacter freundii* ve *C. diversus*'un biyokimyasal özellikleri (Janda ve diğ., 1994; Buller, 2004).

Biyokimyasal Özellikler	<i>C. freundii</i>	<i>C. diversus</i>
Gram Boyama	-	-
Oksidaz	-	-
Katalaz	+	+
Hareket	+	+
O/F	F	F
İndol	-	+
MR	+	+
VP	-	-
Eskulin	-	-
Üreaz	-	+
Sitrat	+	+
Arjinin dihidrolaz	+	+
Lizin dekarboksilaz	-	-
Ornitin dekarboksilaz	-	+
Laktoz	+	+
Sorbitol	+	+/-
Arabinoz	+	+
Inositol	-	-
Glikoz	+	+
Maltoz	+	+/-
Mannitol	+	+
Rhamnoz	+	+
Sakkaroz	+	-
%0 NaCl	+	B

+ : Pozitif reaksiyon, - : Negatif reaksiyon, +/- : Değişken, **F**: Fermantatif; **B**: Bildirilmemiş

2.4.5. *Hafnia alvei*

Hafnia genusuna ait olan *H. alvei*, Enterobacteriaceae familyasına ait olup çeşitli balıklardan izole edilen Gram-negatif, oksidaz negatif ve katalaz testi pozitif özellik gösteren bir bakteri türüdür (Sakazaki, 2009; Gelev ve diğ., 1990; Rodriguez ve diğ., 1998) (Tablo 2.6). *H. alvei*'nin, balıklarda patojenik bakteri olarak ilk kez görülmesi Gelev ve diğ. (1990) tarafından rapor edilmiştir ve bu bakterinin gökkuşağı alabalıklarında epizootik hemorajik sepsisemiye neden olduğu bildirilmiştir. Ayrıca japon somonlarında (*Oncorhynchus masou*) klinik olarak anormal yüzme, hemorajik sepsisemi, koyu renk vücut ve karın bölgesinde şişlik gibi belirtilere neden olduğu belirtilmiştir (Teshima ve diğ., 1992). Ancak Sakazaki ve Tamura (1992) yaptıkları çalışma ile bu bakterinin zorunlu patojen olmadığı ve fırsatçı patojen olarak kabul edilmesi gerektiğini bildirmişlerdir.

Tablo 2.6: *Hafnia alvei*'nin biyokimyasal özellikleri (Rodriguez ve diğ., 1998).

Biyokimyasal özellikler	<i>Hafnia alvei</i>
Gram boyama	-
Hareket	+
Sitokrom oksidaz	-
Katalaz	+
O/F	F
MR	+
VP	-
İndol	-
Nitrat	+
Sitrat	-
Üre	-
Arjinin dihidrolaz	-
Lizin dekarboksilaz	+
Ornitin dekarboksilaz	+
Glikoz	+
Ramnoz	+
Sorbitol	-
Sakkaroz	-
Arabinoz	+
Inositol	-
Laktoz	-
Sukroz	-
Maltoz	+
Mannitol	+
%0 NaCl	+

+: Pozitif reaksiyon, -: Negatif reaksiyon, +/-: Değişken, F: Fermantatif

2.4.6. *Sphingomonas echinoides*

Heumann (1960) tarafından yapılan çalışmada *Pseudomonas echinoides* plaka kirleticisi olarak izole edilirken; Yabuuchi ve diğ. (1990) tarafından yapılan çalışmada ise DNA-rRNA hibridizasyonu kullanılarak (Segers ve diğ., 1994) bu bakteri Alphaproteobacteria'nın Sphingomonadaceae familyasındaki *Sphingomonas* cinsinin türleriyle ilişkilendirilmiştir ve daha sonra ise *Sphingomonas*, *Sphingobium*, *Novosphingobium* ve *Sphingopyxis* olarak dört cins şeklinde sınıflandırılmıştır (Takeuchi ve diğ., 2001; Yabuuchi ve diğ., 2002). Bu suşlar arasında kemotaksonomik ve fenotipik özelliklerine göre ayrıca 16S rRNA gen sekanslarına göre dağılmış 20'den fazla bilinen türü vardır (Takeuchi ve diğ., 2001). *Sphingomonas* cinsinin üyeleri Gram-negatif, hareketli / hareketsiz, spor oluşturmeyen, çubuk şekilli bakterilerdir (Takeuchi ve diğ., 2001 (Tablo 2.7.)). *Sphingomonas* cinsine bağlı olan türler; hava, su, buz ve toprak gibi çeşitli çevresel kaynaklardan izole edilmektedir. Chen ve diğ. (2016)'nin Tayvan'da balık havuzlarında yaptıkları çalışmada havuz suyundan *Sphingomonas* sp. izole ederken; bunların dışında balıklarda hastalığa neden olduğu gözlenmemiştir.

Tablo 2.7: *Sphingomonas echinoides*'m biyokimyasal özellikleri (Denner ve diğ., 1999).

Biyokimyasal özellikler	<i>Sphingomonas echinoides</i>
Gram boyama	-
Hareket	+/-
Sitokrom oksidaz	+
Katalaz	+
O/F	F
MR	-
VP	-
İndol	-
Nitrat	+
Sitrat	-
Üre	-
Arjinin dihidrolaz	-
Lizin dekarboksilaz	B
Ornitin dekarboksilaz	B
Glikoz	-
Ramnoz	-
Sorbitol	-
Sakkaroz	-
Laktoz	+/-
Sukroz	-
Maltoz	+
Mannitol	-
Fruktoz	-
%0 NaCl	+

+: Pozitif reaksiyon, -: Negatif reaksiyon, +/-: Değişken, F: Fermantatif, B: Bildirilmemiş

2.4.7. *Yersinia ruckeri*

Enterobacteriaceae familyasına ait bakteriler Gram-negatif, spor oluşturmeyen, aerobik ve fakültatif aneorob, genel olarak hareketli, katalaz pozitif, oksidaz negatif özelliklere sahiptir. Bu familyaya ait *Edwardsiella ictulari* ve *E. tarda*, *Yersinia ruckeri* ve *Citrobacter freundii* türleri balıklarda fırsatçı veya zorunlu patojen olarak hastalığa neden oldukları bildirilmiştir. (Buller, 2004; Don ve Farmer, 2009; Austin ve Austin, 2016).

Enterobacteriaceae familyasına olan ilgi, insandaki rolleri, sudaki biyolojik kirliliğin aktif üyeleri olmaları ve enzim üretimi için ticari uygulamalar dâhil olmak üzere birçok bilim dalında ilgi odağıdır. İnsanlarda hastalıklara neden olduklarından dolayı, Enterobacteriaceae familyasına ait tüm bakteriler üzerinde yoğun şekilde çalışılmaktadır (Balcazar, 2006; Austin ve Austin, 2016).

Enterobacteriaceae familyasına ait *Yersinia ruckeri* daha çok gökkuşağı alabalığı gibi Salmonidae familyasına ait balıklarda subakut, akut veya kronik seyir gösteren Yersiniosis'e (kızıl ağız hastalığına) neden olarak yüksek mortaliteye sebep olmaktadır (Timur ve Timur, 1991; Tobback ve diğ., 2007; Altun ve diğ., 2010; Akaylı ve diğ., 2015a; Austin ve Austin, 2016; Balta ve diğ., 2016). Bu türün dışında *Y. intermedia* ve *Y. pseudotuberculosis* bakterileri de balıklarda hastalığa neden olmaktadır (Austin ve Austin, 2016). *Y. ruckeri*, Gram-negatif, basil veya kokobasil görünümde olurken oksidaz testi negatif reaksiyon verirken katalaz testinde ise pozitif reaksiyon vermektedir (Don ve Farmer, 2009). *Y. ruckeri* ile enfekte alabalıklarda dış bakıda daha çok ağız boşluğu, çene etrafı, yüzgeç tabanları ve anüs çevresinde oluşan hemorajileri yanı sıra tek veya çift taraflı ekzoftalmus, deride koyulaşma ve pullarda dökülmelerin görüldüğü bildirilmiştir (Timur ve Timur, 1991; Altun ve Diler, 1999; Akaylı ve diğ., 2015a; Austin ve Austin, 2016). Bu patojen bakteri yurdumuzdaki farklı araştırmacılar tarafından kültür gökkuşağı alabalıklarından izole ve identifiye edilmiştir (Timur ve Timur 1991, Savaşer ve Diler, 1997; Altun ve Diler, 1999; Altun, 2001; Şeker ve diğ., 2012; Akaylı ve diğ., 2015a; Balta ve diğ., 2016).

2.4.8. *Aeromonas* Enfeksiyonu

Aeromonadaceae familyasına ait olan bakteriler hareketsiz olan *A. salmonicida* ve hareketli *Aeromonas* genuslarını içerir. *Aeromonas* genusundaki bakteriler, daha çok tatlı su balıklarında olmak üzere deniz balıklarında da hemorajik septisemi ile seyreden bakteriyel enfeksiyonlara

neden olurlar. Çoğunluğu fırsatçı patojenken bazıları ise zorunlu patojendir. *Aeromonas* genusu içinde *Aeromonas salmonicida* hareketsiz bir bakteri olup *Aeromonas hydrophila*, *A. caviae*, *A. sobria*, *A. media*, *A. veronii*, *A. eucrenophila*, *A. schubertii*, *A. jandaei* ve *A. trota* türleri ise hareketli bakterilerdir (Buller, 2004; Timur ve Timur, 2003; Akaylı ve diğ., 2011a; Roberts, 2012; Austin ve Austin, 2016).

A. salmonicida akuatik çevrelerde geniş ve yaygın olarak bulunan bir bakteri olup balıklarda furunkulozis hastalığına neden olmaktadır (Buller, 2004; Timur ve Timur, 2003; Roberts, 2012; Austin ve Austin, 2016). Bu bakteri Gram-negatif özellikte olup hareketsiz, basil görünümlü, fakültatif anaerob, sitokrom-oksidad testinde negatif, O/129 testine karşı dirençlidir. Tryptic Soy Agar (TSA) besiyerinde genellikle kahverengi pigment üretirler. Furunkulozis enfekte balıklarda akut, subakut ve kronik enfeksiyonlara sebep olsa da hastalığın herhangi bir belirti vermeyen asemptomatik formları da bildirilmiştir (Arda ve diğ., 2002; Timur ve Timur, 2003). Türkiye'deki balık sağlığı ile uğraşan çok sayıdaki bilim insanı *A. salmonicida*'nın gökkuşağı alabalığında oluşturduğu enfeksiyon ile ilgili çok sayıda araştırma yapmışlardır (Timur ve diğ., 1996; Kırkan ve diğ., 2000; Korun ve Timur., 2001; Arda ve diğ., 2002; Kırkan ve diğ., 2003; Timur ve Timur, 2003; Özkök, 2005; Aydoğan ve Metin, 2006; Kayış ve diğ., 2009). Yurdumuzdaki kültür gökkuşağı alabalıklarından *A. hydrophila*, *A. schubertii*, *A. sobria*, *A. caviae* gibi hareketli *Aeromonas* türleri de farklı araştırmacılar tarafından da bildirilmiştir (Muz ve diğ., 1995; Özkök, 2005; Sağlam ve diğ., 2006; Savaş ve diğ., 2006; Bulduklı ve Özer, 2007; Korun ve Toprak, 2007; Durmaz ve Türk, 2009; Aksoy, 2009; Akaylı ve diğ., 2011a).

2.4.9. *Vibrio* Enfeksiyonu

Vibrionaceae familyasında yer alan *Vibrio* genusuna ait bakteriler, doğadaki ve kültürü yapılan deniz ve tatlı su balıklarında vibriosise neden olmaktadır (Buller, 2004; Toranzo ve diğ., 2005; Austin ve Austin, 2016). Bu hastalık dünya çapında geniş bir dağılım göstermektedir. Başta denizde kültürü yapılan levrek, çipura ve salmonid türleri olmak üzere pek çok balık türünde *Vibrio* genusu üyelerinin enfeksiyonlara ve mortalitelere neden olduğu bildirilmiştir (Timur ve Timur, 2003; Austin ve Austin, 2016). Başta *Vibrio anguillarum*, olmak üzere genusun üyelerinden *V. harveyi*, *V. vulnificus*, *V. ordalii* ve *V. alginolyticus* balıklarda vibriosis hastalığı etkeni olarak izole ve identifiye edilmiştir (Timur ve Timur, 2003; Akaylı, 2001; Çanak ve Akaylı, 2018; Austin ve Austin, 2016).

Vibrio genusu üyeleri, Gram-negatif, fakültatif anaerob, spor oluşturmeyen, virgül ya da çubuk biçiminde hücrelere sahip, aktif flagella hareketi yapan, O/129'a hassas bakterilerdir (Noguerola ve Blanch, 2008). Balıklarda vibriosis enfeksiyonunun gelişmesindeki en önemli faktörlerden birisi su sıcaklığıdır ve özellikle su sıcaklığında ani değişimlerin yaşandığı ilkbahar ve sonbahar mevsimlerinde hastalığın daha çok görüldüğü bildirilmiştir (Timur ve Timur, 2003; Toranzo ve diğ., 2005; Roberts, 2012; Austin ve Austin, 2016). Farklı araştırmacılar su sıcaklığının 13-16 °C'ye ulaştığı ortamlarda hastalığın akut seyrettiğini, 9-10 °C su sıcaklığında ise hastalığın kronik seyir gösterdiğini bildirmişlerdir (Giorgetti ve Ceschia, 1982; Korun ve Timur, 2008). Hastalığın perakut formu daha çok yavru balıklarda ve enfeksiyonun şiddetli görüldüğü büyük balıklarda görülürken, akut ve kronik form ise genellikle genç ve yetişkin balıklarda hastalığa neden olmaktadır (McCarthy ve diğ., 1974; Actis ve diğ., 1999; Arda ve diğ., 2002). Ülkemizde kültür gökkuşağı alabalığı yetiştiriciliği yapan işletmelerde etkenin ciddi ekonomik kayıplara neden olduğu farklı bilim insanları tarafından da rapor edilmiştir (Ekici ve diğ., 2005; Akşit ve Kum, 2008; Korun ve Timur, 2008; Avcı, 2009; Ceylan ve Altun, 2010; Akaylı ve diğ., 2014).

2.4.10. Flavobacteriosis

Flavobacteriaceae familyasına ait olan bakteriler; *Flavobacterium*, *Flexibacter*, *Tenacibaculum* ve *Sporocytophaga* genuslarını içerir (Bernardet ve diğ., 1996). Çoğunlukla çevresel türler olup, balıklarda hastalık olgularından da izole edilmişlerdir (Austin ve Austin, 2016). Bu genusun üyelerinden *Flavobacterium columnare*, balıklarda kolumnaris hastalığına neden olurken, *F. psychrophilum* ise bakteriyel soğuk su hastalığının etkenidir (Frerich ve Roberts, 1989; Timur ve diğ., 2004; Roberts, 2012; Austin ve Austin, 2016). Genusun diğer türlerinden *F. hydati*, *F. johnsoniae* ve *F. oncorhynchi* gibi türler de zaman zaman balıklarda patojen olarak bildirilmiştir (Timur ve diğ., 2010; Karataş ve diğ., 2010; Austin ve Austin, 2016).

F. psychrophilum (sinonim *Cytophaga psychrophila*, *F. psychrophilus*) Gram-negatif özellik gösteren bir bakteridir. Patojenin özellikle salmonid balıklarda, bazen de diğer balık türlerinde görülen bakteriyel soğuk su hastalığı veya diğer bir ismiyle gökkuşağı alabalığı fry sendromuna neden olduğu bildirilmiştir (Timur ve Timur, 2003; Roberts, 2012; Austin ve Austin, 2016). Bakteriyel soğuk su hastalığı; yetiştiriciliği yapılan gökkuşağı alabalıklarının fry ve fingerling döneminde daha çok 15 °C'nin altındaki su sıcaklıklarında ağır kayıplara neden olur. Hastalığın dış bakıdaki belirtileri, balığın deri renginde koyulaşma, iştahta azalma ve ekzoftalmus iken, iç

bakıda ise iç organlarda anemilerin görüldüğü bildirilmiştir (Korun ve Timur, 2001; Diler ve diğ., 2003.; Cipriano ve Holt, 2005). *F. psychrophilum*'un gökkuşağı alabalıklarında neden olduğu hastalıkla ilgili olarak yurdumuzdaki farklı araştırmacıların çalışmaları mevcuttur (Timur ve Timur, 1991; İspir ve diğ., 2004; Ekici ve diğ., 2005; Boyacıoğlu, 2007; Kubilay ve diğ., 2009; Durmaz ve diğ., 2012). Yurdumuzda *Flavobacterium* genusuna ait olan *F. columnare* bakterisi ile ilgili çalışmalar mevcutken (Kayış, 2009); *Flavobacterium johnsoniae* bakterisinin gökkuşağı alabalıklarında (*O. mykiss*) ve mersin balıkları (*A. gueldenstaedtii*) üzerinde yapılan çalışmaları bildirilmiştir (Karataş ve diğ., 2010; Yıldırım ve Özer, 2010). Timur ve diğ.'nin (2010) *F. hydatis* ile ilgili mersin balıklarında çalışmaları bulunurken, Akaylı ve diğ., (2015b) kültür levrek balıklarının bağırsak florasında yaptıkları çalışmasında *F. xantham* izole etmiştir. Ayrıca Yıldırım ve Özer (2010), gökkuşağı alabalığı kuluçkahanelerindeki yavru balıklardan *F. aquatile*, *F. branchiophilum*, *F. columnare*, *F. johnsoniae* ve *F. saccharophilum* türlerini izole ve tanımlamışlardır.

2.4.11. *Pseudomonas* enfeksiyonları

Pseudomonadaceae familyasına ait bakteriler *Pseudomonas* genusunu içerirler. *Pseudomonas* genusundaki bakteriler, suyun mikrobiyal florasında, deniz ve tatlı su balıklarının bağırsak floralarında ve solungaçlarında yoğun olarak bulunabilen bakterilerdir (Kılıç ve diğ., 2007; Austin ve diğ., 2016). *Pseudomonaslar*, Gram-negatif, sitokrom oksidaz yanı sıra katalaz testlerinde pozitif reaksiyon veren bakterilerdir. *P. fluorescens*, *Pseudomonas* septisemisine neden olan en önemli patojendir. Ancak adı geçen bakterinin fırsatçı patojen olduğu yapılan çalışmalarda ortaya çıkarılmıştır (Muroga ve Nakajima, 1981; Prosyanyaya, 1981; Austin ve Austin, 2016). Klinik özellikleri *Aeromonas* septisemisi ile benzerlik gösterir (Türk, 2002; Austin ve Austin, 2016). Ülkemizdeki alabalıklardan bugüne kadar yapılan çalışmalarda çeşitli araştırmacılar tarafından *Pseudomonas* cinsi bakterilerden *Pseudomonas* sp. *P. anguilliseptica*, *P. aeroginasa*, *P. chloraphis*, *P. fluorescens*, *P. luteola* *P. plecoglossicida*, ve *P. putida* türleri izole ve tanımlanmıştır (Türk, 2002; Aydın ve diğ., 2005; Özkök, 2005; Ayaz, 2006; Altınok ve diğ., 2007; Mefut ve diğ., 2007; Akaylı ve diğ. 2011b).

2.5. BALIKLARINDA GÖRÜLEN BAKTERİYEL HASTALIKLARIN TEŞHİSİ

Kültür balıkçılığında hastalık kontrolü, balık türlerinin sağlıklı olarak yetiştirilmesi için önemlidir. Balık hastalıklarının gelişimi, patojen ve çevre etkileşimi sonucunda ortaya

çıkmaktadır. Balıklarda bakteriyel hastalıkların nedeni düşük ve değişken su sıcaklığı, entansif yetiştiricilik koşulları ve yetersiz beslenmeye bağlı strestir (Timur ve Timur, 2003; Roberts, 2012; Austin ve Austin, 2016). Günümüzde; balıklarda hastalığa hatta ölüme neden olan patojen bakterilerin teşhisi için rutin bakteriyolojik yöntemler, hızlı tanı kitleri yanısıra moleküler ve serolojik yöntemler yaygın olarak kullanılmaktadır (Whitman, 2004; Adams ve diğ., 2008; Roberts, 2012; Austin ve Austin, 2016).

2.5.1. Rutin Bakteriyolojik Yöntemler

Rutin bakteriyolojik yöntemler, hedef bakterinin, canlıdan veya sudan izole edilip, laboratuvar koşullarında yaşatılması ve sonrasında çeşitli biyokimyasal reaksiyonlara tepkilerinin değerlendirilerek identifikasyonun yapılması temeline dayanmaktadır. Bakterilerin kolaylıkla izole edilmesini ve yaşatılmasını sağlayan sıvı ve katı yapay besiyerleri kullanılmaktadır. Agar içeren katı besiyeri üzerinde saf halde elde edilen bakterilerin, koloni yapısı, rengi, şekli gibi fenotipik özelliklerinin tanımlanması gerçekleştirilebilmektedir (Çotuk, 2003; Whitman, 2004; Roberts, 2012; Austin ve Austin, 2016).

Bakterilerin hücre morfolojilerini belirlemek için Gram boyama yöntemi kullanılmaktadır. Balıklarda patojen olan bakterilerin Gram-negatif ve Gram-pozitif olarak genel ayrımı yapıldıktan sonra hareket testi, katalaz, sitokrom oksidaz reaksiyonu, oksidasyon/fermantasyon (O/F), O/129'a karşı hassasiyet, indol üretimi, Metil-red (MR) ve Voges-Proskauer (VP) testleri, lizin ve ornitin dekarboksilaz, arjinin dihidrolaz, eskulin, sitrat, nitrat, üreaz, β -galaktosidaz (ONPG), şeker fermentasyon testleri ve sıcaklık testleri (37 ve 44 °C) toleranslarının belirlenmesi için birçok farklı biyokimyasal test kullanılmaktadır (Çotuk, 2003; Whitman, 2004; Roberts, 2012; Austin ve Austin, 2016).

2.5.2. Hızlı Tanı Kitleri

Rutin bakteriyolojik testlerin yanı sıra balık patojenlerinin teşhisinde hızlı teşhise olanak sağlayan API hızlı tanı kitleri kullanılmaktadır (Buller, 2004; Austin ve Austin, 2016). Günümüzde patojen bakterilerin teşhisinde hızlı tanı kitleri biyokimyasal testlerden daha kısa sürede sonuç alabilmek için kullanılmaktadır. Gram-negatif ve fermentatif bakterilerin teşhisinde API 20E, API 10S, Gram-negatif ve fermentatif olmayan bakterilerin teşhisinde API 20NE, Gram-pozitif kokların teşhisinde API Staph ve API Strep hızlı tanı kitleri yaygın olarak kullanılmaktadır (Biomérieux, France).

2.5.3. Moleküler Teknikler

Moleküler teknikler; Deoksiribonükleik asit (DNA), Ribonükleik asit (RNA) ve proteinler gibi makromoleküllerin saflaştırılması, çoğaltılması, görüntülenmesi, enzimler ile kesilmesi, kalite ve kantitesinin belirlenmesinde kullanılan Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) ve bunun gibi birçok tekniği bünyesinde bulundurmaktadır (Woese ve diğ., 1985; Woese, 1987; Garrity ve Holt, 2001).

PZR tekniği balık patojenlerinin moleküler düzeyde identifikasyonunda kullanılan yaygın bir tekniktir. PZR ile balıklarda hastalığa neden olan patojen bakterilerin tespiti ve yayılımı hakkında hızlı ve güvenilir bir şekilde bilgi alınabilmektedir. Bu teknikle çoğaltılacak olan 16S rRNA geni bakterilerde ortak olarak bulunan bir gendir (Woese ve diğ., 1985; Woese, 1987). Bu gen, genetik açıdan daha uzak mesafeli ilişkilerin ortaya çıkarılmasında büyük öneme sahiptir (Garrity ve Holt, 2001). Bu nedenle bakterilerde taksonomik amaçlar için en yaygın kullanılan bu gendir (Kolbert ve Persing, 1999; Garrity ve Holt, 2001). PZR tekniği kullanarak balık sağlığıyla ilgili çalışan bilim insanları pek çok balık patojeninin moleküler düzeyde identifikasyonunu yapmışlardır (Zlotkin ve diğ., 1998; Akaylı ve diğ., 2015a; Austin ve Austin, 2016).

Yurdumuzda ise PZR tekniği kullanılarak yapılan çalışmalara bakıldığında; gökkuşağı alabalığında (*O. mykiss*) hastalığa neden olan *L. garvieae* bakterisinin identifikasyonunda farklı araştırmacılar tarafından pek çok çalışmada kullanıldığı dikkat çekmektedir (Kav ve Erganiş, 2007; Türe ve Altınok, 2012; Didinen ve diğ., 2014; Durmaz ve Kılıçoğlu, 2015). Altınok, (2011); gökkuşağı alabalıklarında 4 ana bakteriyel patojenin (*Flavobacterium psychrophilum*, *L. garvieae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *P. putida*) bulunmasında çoklu PZR yöntemlerini kullanırken Durmaz ve diğ., (2012) ise alabalık yavrularında patojen olan *F. psychrophilum* 'un varlığının tespit edilmesinde bu tekniği kullanmışlardır.

2.5.4. Serolojik Yöntemler

Balık hastalıklarına neden olan patojenlerin belirlenmesinde farklı serolojik yöntemler kullanılmaktadır (Anderson, 1974; Adams ve diğ., 2008; Austin ve Austin, 2016). Günümüzde balıklarda görülen bakteriyel, fungal, viral ve paraziter hastalıkların teşhisinde ve bağışıklık sistemi üzerindeki etkilerini değerlendirilmesinde lam aglütinasyon, FAT (Floresan Antikor

Tekniği), Western blot ve ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) gibi farklı serolojik yöntemler kullanılmaktadır (Buller, 2004; Kılıç, 2012, Austin ve Austin, 2016).

Lam aglütinasyon testi, *Yersinia ruckeri* (Kubilay ve Timur, 2001) patojeni ile immunize edilen gökkuşağı alabalıklarında aşılama sonrasında antikor varlığının araştırılmasında ve *V. anguillarum*'un serotipinin belirlenmesinde (Çanak, 2011) kullanılmışken; FAT ise gökkuşağı alabalıklarında bakteriyel soğuk su hastalığına neden olan *Flavobacterium psychrophilum*' un identifikasyonunda (Lorenzen ve Karas, 1992; Delen, 2007) kullanılmıştır. ELISA testi Lactococcus'ın teşhisinde (Ürkü, 2011), *Aeromonas salmonicida* (Austin ve diğ., 1986), *Yersinia ruckeri* (Cosnrini-Qunier, 1985), *Photobacterium damsela* subsp. *damsela*, *V. alginolyticus* ve *V. ordalii*'nin identifikasyonunda kullanılmıştır (Akaylı, 2001).

2.6. BAKTERİYEL HASTALIKLARIN KONTROLÜNDE PROBİYOTİKLERİN KULLANIMI

Probiyotikler; canlı dostu bakteriler olarak bilinirler. Probiyotikler, bağırsağın mikrobiyal dengesini koruyarak konakçı balıkta yararlı etkiler oluşturan, sindirim kanalındaki mikrofloranın ekolojik dengesini düzenleyen, balığın mikroflorasında bulunan patojen mikroorganizmaların üreyerek zararlı hale gelmelerini önleyen ve balığın yemden yararlanma oranını artırmak amacıyla yeme veya suya katılan bir grup canlı bakteri, maya kültürleri veya bu kültürleri içeren biyolojik ürünlerdir (Gomez-Gil ve diğ., 2000; Balcazar ve diğ., 2006; Vine ve diğ., 2006; Öztürk, 2007; Turgut ve diğ., 2007; Akaylı ve diğ., 2016).

Probiyotiklerin etkili olabilmesi için bazı özelliklerin göz önünde bulundurulması gerekmektedir. Probiyotik olarak kullanılan bakteriler patojenik ve toksijenik olmamalıdır (Fuller, 1989; Balcazar ve diğ., 2006). İnhibitör bileşikler üreterek, kimyasallar ya da mevcut enerji kaynakları, makro veya mikro besin kaynakları ve tutunma bölgeleri için yarışarak ya da immün yanıtı arttırarak etkili olmaktadır (Smoragiewic ve diğ., 1993). Probiyotik bakteriler ya yeme ya da kültür suyuna katılmalı ve bağırsakta kolayca koloni oluşturabilmelidir. Sindirim sisteminde salgılanan safra ile proteolitik ve hidrolitik enzimlere dayanıklı olmalı ve uzun süre canlılığını koruyabilmelidir (Fuller, 1989; Nikoskelainen ve diğ., 2001).

Günümüzde balık sağlığında Tablo 2.8' de görüldüğü gibi farklı balık türlerinde karşı yapılan çalışmalarda Gram-negatif ve/veya Gram-pozitif özellik gösteren farklı probiyotik bakteriler tercih edilmektedir (Balcazar ve diğ., 2006; Vine ve diğ., 2006; Merrifield ve diğ., 2010). Gram-

pozitif probiyotik bakterilere baktığımızda; *Bacillus circulans* (Ghosh ve diğ., 2004), *B.licheniformis* (Queiroz ve Boyd, 1998), *B. megaterium* (Queiroz ve Boyd, 1998), *B. polymyxa* (Queiroz ve Boyd, 1998), *B. subtilis* (Queiroz ve Boyd, 1998), *Carnobacterium sp.* (Gatesoupe, 1994), *C. divergens* (Gildberg ve Mikkelsen, 1998), *Enterococcus faecium* (Chang ve Liu, 2002), *Lactobacillus sp.* (Gatesoupe, 1994), *L. bulgarius* (Garcia de la Banda ve diğ., 1992), *L. rhamnosus* (Nikoskelainen ve diğ., 2001), *Micrococcus luteus* (Irianto ve Austin, 2002a; Akaylı ve diğ., 2015b; Akaylı ve diğ., 2016), *Streptococcus lactis* (Garcia de la Banda ve diğ., 1992) kullanılırken; Gram-negatif probiyotik bakteri olarak, *Aeromonas hydrophila* (Irianto ve Austin, 2002a), *Pseudomonas fluorescens* (Gram ve diğ., 1999), *Roseobacter sp.* (Hjelm ve diğ., 2004), *Vibrio alginolyticus* (Austin ve diğ., 1995), *V. fluvialis* (Irianto ve Austin, 2002b), ve *V. pelagius* gibi bakterilerin yaygın olarak kullanıldığı dikkati çekmektedir (Ringo ve Vadstein, 1998).

2.6.1. *Bacillus subtilis*

Bacillus genusuna ait bakteriler en çok tercih edilen probiyotik bakteri türlerini kapsamakta olup; bu bakteriler normalde toprakta, suda ve havada da bulunabilmektedir. Bu genusa ait *B. subtilis*, *B. cereus* ve *B. licheniformis* ve *B. toyoi* gibi türlerin gerek insan gerekse balık sağlığında beslenme üzerindeki etkisi, hastalıklara karşı gösterdiği direnç, bağışıklık sistemini uarması ve etkilemesi üzerinde olumlu etki yaptığı yapılan araştırmalar sonucunda kanıtlanmıştır (Balcazar ve diğ., 2006; Vine ve diğ., 2006; Abraham ve diğ., 2008; Vijayabaskar ve Somasundaram, 2008). Balık sağlığında kullanılan bu tip probiyotikler hem yem içine hem de balığın yaşadığı suyun içerisine ilave edilerek büyüme, hastalıklara karşı direnç ve su kalitesinin arttırılmasına katkıda bulunmaktadır (Balcazar ve diğ., 2006; Vine ve diğ., 2006; Zhou ve diğ., 2009; Agouz ve Anwer, 2011; Akaylı vd., 2015b). Probiyotik bakterilerden biri olan *B. subtilis* Gram-pozitif bir bakteri olup 25-35 °C arasında büyüyen mezofilik bir bakteri türüdür. *B. subtilis*, bilinen en eski probiyotik türleri arasında olup hayvan ve insanların bağışıklık sistemini güçlendirmek için uzun süredir kullanılmaktadır (Sonnenschein ve diğ., 1993; Andersson ve diğ., 1999; Logan ve De Vos, 2009; Cutting, 2011).

Tablo 2.8: Balıklarda kullanılan bazı probiyotikler, etkiledikleri türler ve etki parametreleri.

Probiyotik	Tür	Etki parametresi	Referans
<i>Carnobacterium inhibens</i>	Gökkuşluğu alabalığı	<i>A. salmonicida</i>	Burr G, Gathlin D., 2005.
<i>L. rhamnosus</i>	Gökkuşluğu alabalığı	<i>A. salmonicida</i>	Burr G, Gathlin D., 2005.
<i>L. rhamnosus</i>	Gökkuşluğu alabalığı	Bağıışıklık sistemi	Burr G, Gathlin D., 2005.
<i>B. subtilis</i> <i>B. licheniformis</i>	Gökkuşluğu alabalığı	<i>Y. ruckeri</i>	Raida ve diğ., 2003.
<i>Vibrio fluvialis</i>	Gökkuşluğu alabalığı	<i>Aeromonas salmonicida</i> , bağıışıklık sistemi	Burr G, Gathlin D., 2005.
<i>V. fluvialis</i>	Gökkuşluğu alabalığı	<i>Aeromonas salmonicida</i>	Irianto ve Austin, 2002b.
<i>Lactobacillus fructivorans</i> ve <i>L. plantarum</i>	Çipura (<i>Sparus aurata</i>)	Larvalarda görülen ölümlerde azalma	Carnevali ve diğ., 2004.
<i>Arnobacterium</i> sp.	Gökkuşluğu alabalığı fry	Bağıışıklık sistemi	Robertson ve diğ., 2000.
<i>Carnobacterium</i> sp.	Gökkuşluğu alabalığı fry	Pelet ye mile verildiğinde ölümlerde azalma	Joborn ve diğ., 1997.
<i>Aeromonas hydrophila</i> , <i>V. fluvialis</i> , <i>Carnobacterium</i> sp., <i>Micrococcus luteus</i>	Gökkuşluğu alabalığı	Solunum sistemi	Irianto ve Austin, 2002a.
<i>Bacillus toyoi</i> <i>Enterococcus faecium</i>	Avrupa yılanbalığı (<i>Anguilla anguilla</i>)	Edwardsiellosis hastalığından kaynaklanan ölümlerde azalma	Chang ve Liu, 2002.
<i>Carnobacterium</i> spp.	Salmonidler	Ölümlerde azalma, iştahta artış, yüzgeç ve kuyruk çürümesinde azalma	Robertson ve diğ., 2000.
<i>A. media</i>	Gökkuşluğu alabalığı	<i>V. anguillarum</i>	Lategan ve diğ., 2006.
<i>Carnobacterium divergens</i>	Atlantik salmonu	<i>V. anguillarum</i>	Gildberg ve diğ., 1997; Gildberg ve Mikkelsen, 1998.
<i>Carnobacterium</i> sp.	Atlantik salmon	<i>V. anguillarum</i> , <i>A. salmonicida</i>	Jöborn ve diğ., 1997.
<i>Carnobacterium</i> sp.	Atlantik salmon, gökkuşluğu alabalığı	<i>V. anguillarum</i> , <i>V. ordalii</i> , <i>Y. ruckeri</i> , <i>A. salmonicida</i>	Robertson ve diğ., 2000.
<i>Bacillus subtilis</i>	Dev kaplan karidesi (<i>Penaeus monodon</i>)	<i>V. harveyi</i> , <i>V. anguillarum</i> , <i>V. damsela</i>	Vaseeharan ve Ramasamy, 2003.

Bacillus türleri sucul organizmalarda patojen olarak kabul edilmediğinden dolayı su ürünleri endüstrisinde probiyotik olarak yaygın bir biçimde kullanılmaktadır. *Bacillus* türleri kendilerine özgü antibiyotik, aminoasit ve enzimler üretirler, konakçı bağıışığına tutunma yetenekleri ile de insan ve hayvanlarda bağıışıklık sistemini uyarıcı etkileri yaparlar (Sonnenschein ve diğ., 1993; Balcazar ve diğ., 2006; Cutting, 2011).

Bilim insanları probiyotik özelliği olan farklı *Bacillus* türlerinin balık ve kabuklu su ürünlerinde görülen bakteriyel hastalıklar üzerindeki etkisini araştırmıştır (Tablo 2.5). Sugita ve diğ., (1996); *Bacillus* sp.'yi gökkuşluğu alabalığında *V. anguillarum*'un neden olduğu Vibriosisin kontrolünde kullanılırken, Raida ve diğ., (2003) ise Yersiniosis'e karşı ise *B. subtilis*'i tercih etmiştir. Vaseeharan ve Ramasamy (2003) *B. subtilis*'nin *V. anguillarum*, *V. damsela* and *V.*

harveyi gibi patojen *Vibrio* türlerine karşı etkili olduğunu bildirilmişlerdir. Ayrıca *B. toyoi*'nin de Avrupa yılan balıklarında (*Anguilla anguilla*) görülen *Edwarsiella tarda* ve *E. ictaluri* patojenlerinin neden olduğu Edwarsiellosis hastalığından kaynaklanan ölümleri azalttığı rapor edilmektedir (Chang ve Liu, 2002).

2.6.2. *Lactobacillus rhamnosus*

Balıklar üzerinde yapılan araştırmalarda laktik asit bakterilerinden olan *Lactobacillus acidophilus*, *L. rhamnosus* ve *L. plantarum* gibi farklı probiyotik bakteri türleri de yaygın olarak tercih edilmektedir (Vine ve diğ., 2006; Castex ve diğ., 2008). Laktik asit bakterileri Gram-bakterilerdir (Ringo ve Gatesoupe, 1998; Castex ve diğ., 2008; Hammes ve Hertel, 2009).

Laktik asit bakterileri probiyotik olarak pek çok özelliğe sahiptir; canlılığın gelişimi uyarırlar, zararlı bakterilere karşı etkilidirler ve organizmanın doğal savunma mekanizmasını güçlendirirler (Villamil ve diğ., 2002). Dolayısıyla probiyotik bakteri kullanımı, hastalıklara cevap vererek su ürünleri yetiştiriciliğinde önemli bir rol oynamaktadır (Verschuere ve diğ. 2000). *Lactobacillus* türleri mide pH'sına dayanıklı olduğu ve sindirim kanalından geçişi sırasında canlılıklarını koruyabildikleri bildirilmiştir (Yalçın ve diğ., 1996).

Lactobacillus' ların; *V. anguillarum*, *V. salmonicida* ve *A. hydrophila* gibi balık patojenlerinin gelişimini engelleyen maddeler üretebildiği ve bundan dolayı balık sağlığı için önemli olduğu araştırmalarla kanıtlanmıştır (Gomez-Gil ve diğ., 2000; Ashraf, 2000; Katırcıoğlu, 2001). Laktik asit bakterilerinden biri olan *L. rhamnosus* probiyotik olarak kullanılarak gökkuşacağı alabalığı ve kalkan balıklarında *A. salmonicida*, *V. anguillarum* ve *Flavobacterium psychrophilum* gelişimini inhibe ettiği araştırmalar sonucunda bildirilmiştir (Nikoskelainen ve diğ., 2001). *L. plantarum* (Gildberg ve diğ., 1995) balıklarda görülen *Aeromonas* enfeksiyonlarına karşı kullanılırken, aynı zamanda *Rotifer* kültüründe görülen *A. salmonicida*'nin büyümesi engellediği rapor edilmektedir (Gatesoupe, 1991); *L. rhamnosus*; Flavobacteriosis'e karşı (Nikoskelainen ve diğ., 2001), *L. fructivorans* ise çipura balıklarının (*Sparus aurata*) larvalarında görülen ölümleri azaltırken (Carnevali ve diğ., 2004); *L. plantarum*'un *Vibrio sp.* ile enfekte kalkan balığında (*Psetta maxima*) yaşama oranında artışa neden olduğu bildirilmektedir (Gatesoupe, 1994). *L. rhamnosus* ilave edilen yemlerle beslenen gökkuşacağı alabalıklarında ölüm oranında azalma görüldüğü de Nikoskelainen ve diğ., (2001) tarafından ortaya çıkarılmıştır.

Ülkemizde balık sağlığıyla ilgili araştırmalar yapan uzman kişilerin çalışmaları incelendiğinde probiyotiklerle ilgili pekçok sayıda araştırmaya rastlanılmaktadır (Turgut ve diğ., 2007; Alak ve Atamanalp, 2012). Çapkın ve Altınok (2009), gökkuşuğu alabalığında görülen Yersiniosis hastalığının önlenmesi ve tedavisinde diyetle alınan *Enterobacter cloacae* ve *Bacillus mojavensis* adlı probiyotiklerin etkisini araştırırken, Katırcıoğlu (2001), gökkuşuğu alabalığı ve aynalı sazandan izole edilen laktik asit bakterilerinin metabolik ve antimikrobiyal aktivitelerinin incelemiştir, Süzer ve diğ., (2008), çipura balığı larvalarında probiyotik olarak *Lactobacillus* spp. bakterilerinin, büyüme performansı ve sindirim enzimi aktiviteleri üzerine etkilerini araştırırken, Didinen ve diğ., (2013) gökkuşuğu alabalıklarında *V. anguillarum*' un kontrolünde aday probiyotik bakterilerin etkisini araştırmışlardır. Akaylı ve diğ. (2016) *Micrococcus luteus*'un hasta gökkuşuğu alabalıklarından izole edilen bazı Gram-pozitif balık patojenlerine karşı etkisinin olmadığını bildirmişlerdir. Aynı araştırmacılar (2015b) sağlıklı kültür sınırlı balıklarının (*D. dentex*) bağırsak floralarından ve sudan izole ettikleri *B. marisflavi* adlı bakterinin *V. anguillarum*'a karşı etkili olduğunu da tespit etmişlerdir.

2.7. ANTAGONİSTİK ETKİ

Probiyotik bakterilerin konakçı bağırsak sisteminde ürettikleri inhibitör maddelerin varlığı fırsatçı patojenlerin çoğalmasını engelleyen önemli bir bariyerdir. Genellikle, bakterilerin antibakteriyel etkisi, antibiyotik, bakteriyosin, siderophor, lizozim ve proteaz gibi enzimler yanı sıra hidrojen peroksit üretimi sonucu gerçekleşmektedir. Bunun dışında organik asit üretimi ile pH değerinde meydana gelen değişimler, amonyak ve diasetil formasyonu da antibakteriyel etki göstermektedir (Vanderbergh, 1993; Sugita ve diğ., 1997).

Probiyotik bakterilerin özelliklerinden birisi patojenlere karşı antagonizmdir. Probiyotik bakteriler, bağırsak epitel hücrelerinde çoğalarak, koloni oluşturmakta ve atılmaya karşı direnç gösteren patojen bakterilere karşı antagonistik etki meydana getirmektedirler. (Özdemir ve Keleştemur, 2009). Akuakültür sistemlerinde *in-vitro* koşullarda antagonistik etkiye sahip probiyotik bakterilerin kullanılmasına bağlı olarak bakteriyel hastalıkların önlenmesi mümkün olmaktadır. Probiyotikler, patojen mikroorganizmalar üzerine direkt antagonistik etki yaparak, patojen bakterilerin üremesini engelleyen yukarıda belirtildiği gibi inhibitör antimikrobiyal peptid (mikrosin, bakteriyosin) üretirler (Fuller, 1989; Ashraf, 2000). Probiyotik bakteriler, bağırsak epitel hücrelerinde yerleşerek çoğalmakta, tabaka oluşturarak bağırsak epitelinde kolonize olmakta ve atılmaya karşı direnç gösteren patojen bakterilere karşı antagonist etki

meydana getirmektedirler. Konakçı bağırsak sisteminde bakteriler tarafından üretilen inhibitör maddelerin varlığı fırsatçı patojenlerin çoğalmasını engelleyen önemli bir bariyerdir. Bakteriosinlerde geniş spektrumlu antimikrobiyal aktivite göstermektedir (Haddadin ve diğ., 1996).

Akuakültür sistemlerinde antagonistik etkiye sahip probiyotik bakterilerin seçiminde özellikle suyun ve balığın doğal florasında bulunan suşlar tercih edilmektedir (Abd-El Rahman ve diğ., 2009; Chantharasophon ve diğ., 2011; Didinen ve diğ., 2013). Bu tez çalışmasında kullanılacak olan *B. subtilis* ve diğer *Bacillus* türleri, genel olarak balık ve kabuklu deniz canlıları da dahil olmak üzere diğer mikroorganizmalara karşı antagonistiktir (Gatesoupe, 1999; Rengipipat ve diğ., 2000). *Bacillus subtilis* de *Y. ruckeri*, *V. harveyi*, *V. anguillarum* ve *V. damsela* gibi balık patojenlerine karşı antagonistik etki gösterdiği için probiyotik bakteri olarak kullanılmaktadır (Raida ve diğ., 2003; Vaseeharan ve Ramasamy, 2003). Das ve diğ. (2014)'nin yaptığı çalışmaya göre *B. subtilis*'in *Staphylococcus aureus*, *Flavobacterium columnare*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Vibrio parahaemolyticus* ve *Edwardsiella tarda* gibi balık patojenlerine, Sugita ve diğ. (1998) ise *Vibrio* ve *Aeromonas* türleri üzerinde antagonistik etki gösterdiğini bildirilmişlerdir. Farklı bilim insanları da ise *B. subtilis*'in *E. tarda*, *E. seriolicida* ve *Pasterula piscicida* gibi patojenlere karşı antagonistik etki gösterdiğini rapor etmişlerdir (Austin ve diğ., 1995; Ruiz ve diğ., 1996; Sugita ve diğ., 1996; Gibson ve diğ., 1998).

Probiyotik özelliği olan *Lactobacillus sp.*'nin, bakteriyel patojenlere antagonistik etki yapan bakteriosin benzeri maddeleri ürettiği çalışmalarla ortaya konulmuştur (Haddadin ve d., 1996; Katırcıoğlu, 2001). *Lactobacillus sp.* gibi laktik asit bakterilerinin de *Y. ruckeri*, *P. piscicida*, *Vibrio* ve *Aeromonas spp.*'ye karşı *in-vitro* çalışmalarla antagonistik etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir (Ringo ve Gatesoupe, 1998). Öztürk (2007)'ün yaptığı çalışmada *L. rhamnosus*'un levrek balıklarında bulunan patojen bakterilere karşı antagonistik etkisi olduğu bildirirken; Burr ve Gathlin (2005)'in yaptığı çalışmada *L. rhamnosus*'un balıklarda bulunan patojen balıklara karşı antagonistik etkisini bildirmişlerdir.

3. MALZEME VE YÖNTEM

3.1. MALZEME

3.1.1. Araştırmanın Yapıldığı Yer

Bu tez çalışmasının saha örnekleme çalışmaları Samsun ili Derbent Baraj gölündeki bir ticari alabalık işletmesinden gerçekleştirilmiştir. Rutin bakteriyolojik ve *in-vitro* koşullarda gerçekleştirilen antagonistik etki çalışmaları İstanbul Üniversitesi Su Bilimleri Fakültesi Su Ürünleri Yetiştiriciliği ve Hastalıkları Bölümü Su Ürünleri Hastalıkları Anabilim Dalına ait “Balık Hastalıkları Mikrobiyoloji” laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. Hasta balık örneklerinden izole edilen bakterilerin moleküler düzeyde analizi ise yine aynı anabilim dalına ait “İmmunoloji Laboratuvarında” yürütülmüştür.

3.1.2. Hasta Balık Materyali Temini

Bu tez çalışması ile, 2017 yılında Samsun İli’ndeki Derbent Baraj Gölü’nde (Şekil 3.1) bulunan özel bir işletmenin kafes ünitesinden (Şekil 3.2) bir yıllık periyotta (Nisan, Haziran, Ağustos, Eylül ve Ekim aylarında) hasta gökkuşuğu alabalıklarından örnekleme çalışması yapılmıştır. Ayrıca hastalık etkisi göstermeyen sağlıklı balıklardan da kontrol ekimleri yapılmıştır. Bu amaçla mevsimsel olarak yapılacak olan her bir örneklemede yaklaşık 4-7 adet hasta balık örneği temin edilmiştir. Çalışma süresince toplamda yaklaşık olarak 25 adet balık incelenmiştir. İncelenen balıkların ağırlıkları 100-300 gr arasında değişmektedir. İşletmede örnekleme yapmadan önce işletme sahibinden anemnez ve yetiştiricilik koşulları ile ilgili bilgiler alınmıştır (Şekil 3.3).



Şekil 3.1: Saha örneklemesinin gerçekleştirildiği Derbent Baraj Gölü'nün haritası
(<https://www.google.com/maps/@41.408288,35.7144691,10.36z>)



Şekil 3.2: Saha örneklemesinin gerçekleştirildiği işletmenin uydu görüntüsü
(<https://www.google.com/maps/@41.408288,35.7144691,71581m/data=!3m1!1e3>).



Şekil 3.3: Alabalık işletmesindeki ağkafeslerin genel görünümü.

3.1.3. Çalışmada Kullanılan Referans Bakteri Suşları

Bu proje kapsamında, antagonistik etki belirleme çalışmalarında ticari olarak liyofilize halde temin edilen ATCC 6633TM kodlu *Bacillus subtilis* subsp. *spizizenii* ve ATCC 7469TM kodlu *Lactobacillus rhamnosus* suşları kullanılmıştır. Liyofilize halde temin edilen bakteri suşlarının canlandırılıp çoğaltılması için Tyriptic Soy Agar (TSA) besiyerine ekimleri yapılarak 22 °C 'de 24-48 saat inkübe edilmiştir (Austin and Austin, 2016).

3.1.4. Araştırmada Kullanılan Bakteriyolojik Besiyerleri

Bu tez çalışmasında bakteriyolojik ekimler yapılırken; ticari olarak temin edilen Tyriptic Soy Agar (TSA) (Merck, 1.05458) ve Brain Heart Infusion Agar (BHIA) (Bioline, 4012352), besiyerleri, Waltman & Shotss selektif besiyerleri yanısıra Nutrient Broth (Merck 105443), Oksidasyon/Fermentasyon Hugh Leifson bazal besi yeri (Merck 110280), Agar Agar (Merck 101613), Methyl Red/Voges Proskauer (HiMedia, M070), L-arjinin-monohidroklorit (Merck 1015440), D-mannitol (Merck 5980), laktoz monohidrat (Merck, 1.07657), D-fruktoz (Merck, 1.05323), mannoz (Merck, 105984), d-galaktoz (Merck, 104061), d-sorbitol (Doğa ilaç), sukroz (Merck, 107687) ve maltoz (Merck, 1.05910) besiyerleri kullanılmıştır.

3.1.5. Araştırmada Kullanılan Kimyasal Maddeler

Balıklar 2-phenoxyethanol (Fluka, 10832) ile anestezi edilirken, bakteri izolatlarının identifikasyonu için gerçekleştirilen laboratuvar çalışmalarında Gram boyama, asılı damla ile hareket muayenesi, sitokrom-oksidad ve katalaz, O/129'a duyarlılık testi, metil kırmızısı (Merck 106076), Kovac's indol ayıracı (GBL 0525) ve ONPG diskleri (Oxoid DD013A) kullanılmıştır.

DNA izolasyonu için "GeneJET Genomic DNA Purification Kit" (Thermo Scientific, K0721) kiti içeriğinde Gram-negatif bakterilerden DNA izolasyonu için kullanılan sindirim tamponu (Digestion Buffer), Proteinase K, RNase A, liziz bağlama tamponu (Lysis/Binding Buffer), etanol, yıkama tamponu 1 (Wash Buffer 1), yıkama tamponu 2 (Wash Buffer 2), elüsyon tamponu (Elution Buffer) kullanılmıştır. Gram-pozitif bakterilerden DNA izolasyonu için ise kit içeriğindeki lizozim sindirim tamponu (Lysozyme Digestion Buffer), Proteinase K, liziz bağlama tamponu (Lysis/Binding Buffer), etanol, yıkama tamponu 1 (Wash Buffer 1), yıkama tamponu 2 (Wash Buffer 2), elüsyon tamponu (Elution Buffer) kullanılmıştır. PZR oğaltımı için High Pure PCR Template Preparation Kit (Roche, İsviçre), elektroforez jelinin hazırlanması için ise kullanıma hazır Tris Asetat Edta tamponu (Sigma Aldrich, T-6025), Agaroz (Sigma Aldrich, A5093) ve etidyum bromür (Fluka, 46067) kimyasalları kullanılmıştır.

3.2. YÖNTEM

3.2.1. Hasta Balıkların Klinik ve Nekropsi Muayenesi

Bu tez çalışmasında, işletme yetkilileri ile gürüşülüp balıklar hakkında anemnez bilgileri alınmış, daha sonra hastalık belirtileri gsteren balık numuneleri kafeslerden seçilmiştir. Dış bakı muayenesini yapılan balık numuneleri 0,1 ml/L oranında 2-phenoxyethanol kullanılarak anestezi işlemine tabii tutulmuştur (Austin ve Austin, 2016). Sonrasında steril şartlarda nekropsi işlemleri gerçekleştirilmiştir Hasta balıkların i organlarından (karaciğer, dalak ve bbbrek gibi) Tryptic Soy Agar (TSA) besiyerine bakteriyolojik ekimler yapılmıştır (Roberts, 2012; Austin ve Austin, 2016).

3.2.2. Bakterilerin Biyokimyasal Özelliklerine Göre İdentifikasyonu

Hastalık bulgusu gösteren balıklardan yapılan bakteriyolojik ekimler 48 saat 21 °C'de inkübe edilmiştir. Saf halde izole edilen bakteri kolonilerinin tanımlanmasında rutin bakteriyolojik testler uygulanmıştır (Buller, 2004; Austin ve Austin, 2016). Bu amaçla; Gram boyama, asılı damla ile hareket muayenesi, sitokrom-oksidad ve katalaz, oksidasyon/fermentasyon (O/F), O/129'a duyarlılık testi, ONPG (β -galactosidase), indol, üre, metil-red (MR), Voges-Proskauer (VP), jelatin, sitrat, nitrat, Triple Sugar Iron (TSI) agarda üreme ve gaz oluşumu, amilaz, eskülin, arjinin dihidrolaz, ornitin ve lizin dekarboksilaz, glukoz, arabinoz, mannitol, mannoz, maltoz, sakkaroz, inositol, sorbitol ve galaktoz testleri yapılmıştır. Rutin biyokimyasal testlerin yanı sıra API 20E (Biomerieux, Fransa) ve API Strep (Biomerieux, Fransa) hızlı tanı kitleri de üretici firmanın talimatları doğrultusunda kullanılmıştır.

3.2.3. Bakterilerin DNA İzolasyonu, PZR ile Çoğaltımı ve İdentifikasyonu

Hasta gökkuşağı alabalıklarından izole edilen bakterilerin yukarıda bahsedilen rutin biyokimyasal identifikasyonu yanısıra moleküler olarak konfirmasyonu amacıyla PZR tekniği kullanılmıştır. Hasta balıklardan izole edilen saf bakteri kolonilerinden DNA izolasyonu için daha önceki proje çalışmaları kapsamında temin edilen High Pure PZR Template Preparation (Roche, İsviçre) adlı kit, üretici firmanın tavsiyeleri doğrultusunda kullanılmıştır. PZR çoğaltımı için ise Master Mix (2X) (Fermantas, K0171) adlı ticari kit tercih edilmiştir. Reaksiyonda 16S / 23S genine ait bir kısmı çoğaltmaya yarayan 27F isimli 5'-AGA GTT TGA TCM TGG CTC AG-3' ve 907R isimli 5'-CCG TCA ATT CMT TTR AGT TT-3' universal primerler tercih edilmiştir (Lane, 1991). *L. garvieae*'yı tanımlamak için ise pLG-1 5'-CATAACAATGAGAATCGC-3' ve pLG-2 5'-GCACCCTCGCGGGTTG-3' *L. garvieae* spesifik primerler kullanılmıştır (Zlotkin ve diğ., 1998).

Çalışmada hasta balıklardan izole ve identifiye edilen 12 izolata ait DNA örneklerinin PZR çoğaltımı için PZR karışımı (50 μ l); yaklaşık 50 ng kalıp DNA, her bir primerden 0,4 μ M, PZR Master Mix (2X) (Thermo Scientific) ve nükleaz içermeyen su (Thermo Scientific) içerecek şekilde termal döngü cihazında (Biometra, TPersonal); ilk denatürasyon 94 °C 2 dk., 35 döngü olarak 94 °C 45 sn., 48 °C 45 sn., 72 °C 2 dk. ve son uzatma adımı 72 °C 8 dk. olacak şekilde programlanmıştır (Lane, 1991) (Tablo 3.1.). PZR ürünleri, amplifikasyon sonunda TAE (Tris/Asetik Asit/EDTA) ile hazırlanmış ve 0,5 μ g/ml etidyum bromür içeren %1,5'lik (w/v)

agaroz jelde 40 dakika 90 V'luk akım altında elektroforeze tabi tutularak PZR ürünlerinin UV transillüminatör cihazında görüntülenmesi sağlanmış ve GeneRuler™ 100 bp DNA Ladder (Thermo Scientific) ile bantların yaklaşık uzunlukları hesaplanmıştır.

Hasta balıklardan izole ve identifiye edilen *L. garvieae* izolatları arasından seçilen 4 adet izolat için pLG-1 (5'-CATAACAATG AGAATCGC-3') ve pLG-2 (5'-GCACCCTCGCGGGTTG-3') spesifik primer çifti kullanılarak PZR karışımı (50 µl); yaklaşık 50 ng kalıp DNA, her bir primerden 0,4 µM, PZR Master Mix (2X) (Thermo Scientific) ve nükleaz içermeyen su (Thermo Scientific) içerecek şekilde termal döngü cihazında (Biometra, TPersonal); ilk denatürasyon 94°C 3 dk., 35 döngü olarak 94°C 1 dk., 55 °C 1 dk., 72 °C 1,5 dk. ve son uzatma adımı 72 °C 10 dk. olacak şekilde programlanmıştır (Zlotkin ve diğ., 1998) (Tablo 3.2.). PZR ürünleri, amplifikasyon sonunda TAE (Tris/Asetik Asit/EDTA) ile hazırlanmış ve 0,5 µg/ml etidyum bromür içeren %1,5'lik (w/v) agaroz jelde 90 dakika 90 V'luk akım altında elektroforeze tabi tutularak PZR ürünlerinin UV transillüminatör cihazında görüntülenmesi sağlanmıştır. 16S rRNA gen bölgesini hedef alan 1100 bp' lik universal primer seti kullanılarak amplifikasyon ürünlerinin görüntüsü alınmıştır. Bu tez çalışmasında PZR ürünlerinin saflaştırılmasından sonra yaklaşık 1 adet bakterinin moleküler düzeydeki adlandırılması için yapılacak olan 16s RNA dizi analizi hizmet alımı kapsamında İstanbul'da bulunan ticari bir firma (Medsantek) tarafından karşılanmıştır. Daha sonra elde edilen diziler Bioedit v7.0.0 (Hall, 1999) yazılımı ile ClustalX 2.1 (Larkin ve diğ., 2007) ve BLASTN 2.2.20 (Zhang ve diğ., 2000) algoritması kullanılarak analiz edilmiştir.

Tablo 3.1: 16S / 23S geninin çoğaltılmasını hedef alan PZR yönteminde kullanılan primerler ve PZR amplifikasyon basamakları

16S /23S - PZR		
27F	5'-AGA GTT TGA TCM TGG CTC AG-3'	
907R	5'-CCG TCA ATT CMT TTR AGT TT-3'	
Başlangıç denatürasyonu	94 °C	2 dakika
Denatürasyon	94 °C	45 saniye
Annealing	48 °C	45 saniye
Uzatma	72 °C	2 dakika
Final uzatma	72 °C	8 dakika

35 döngü

Tablo 3.2: 16S geninin *L. garvieae* patojen bakterisinde çoğaltılmasını hedef alan PZR yönteminde kullanılan primerler ve PZR amplifikasyon basamakları

16S - PZR		
pLG-1	5'-CAT AAC AAT GAG AAT CGC-3'	
pLG-2	5'-GCA CCC TCG CGG GTT G-3')	
Başlangıç denatürasyonu	94 °C	3 dakika
Denatürasyon	94 °C	1 dakika
Annealing	55 °C	1 dakika
Uzatma	72 °C	1,5 dakika
Final uzatma	72 °C	10 dakika

35 döngü

3.2.4. Referans Bakterilerin Patojenlere Karşı Antagonistik Etkisinin Belirlenmesi

Bu çalışmada yeniden canlandırma ve çoğaltma işlemleri tamamlanan *B. subtilis* ve *L. rhamnosus* suşlarının enfekte gökkuşağı alabalıklarından izole edilen bakterilere karşı *in-vitro* koşullardaki antagonistik etkisini incelemek için Bhunia ve diğ. (1988) tarafından modifiye edilen Kirby-Bauer disk diffüzyon yöntemi kullanılmıştır. Bunun için kullanılacak probiyotik ve patojen bakteriler Tryptic Soy Agar (TSA)'a yoğun bir şekilde ekilip 21 °C'de 24 saat inkübe edilerek taze koloniler elde edilmiştir. Taze koloniler yoğun şekilde alınıp Nutrient Broth sıvı besiyerine (NB) ekilmiş ve 21 °C'de 24 saat inkübe edilmiştir. Sıvı besiyerinde üretilen patojen bakteri izolatlarından 200µl alınarak ayrı ayrı TSA besiyeri üzerine ekim yapılmış ve eküvyon çubuğu yardımıyla tüm besiyeri yüzeyine yayılmaları sağlanmıştır. Taze üretilmiş sıvı probiyotik bakteri süspansiyonu emdirilmiş steril kâğıt diskler patojen bakteri izolatlarının ekildiği petri kutularının ortasına yerleştirilmiş ve 21 °C'de 48 saat inkübe edilmiştir. Bu süre sonunda her bir kâğıt disk etrafında inhibisyon zonu oluşumu takip edilmiş ve oluşan zonların çapları cetvel yardımıyla ölçülmüştür. Bu işlem her izolat için 3'er tekrarlı olarak gerçekleştirilmiş ve sonuçların ortalaması alınmıştır.

4. BULGULAR

4.1. HASTA BALIKLARA AİT KLİNİK VE NEKROPSİ BULGULARI

4.1.1. Nisan Ayı Örneklemesine İlişkin Klinik ve Nekropsi Bulguları

2017 yılı Nisan ayında yapılan 1. saha örnekleme çalışmasında incelenen 100-250 g arasındaki 7 adet gökkuşacağı alabalığı örneğinde dış bakı incelemesinde vücut renginde koyulaşma, ekzoftalmus, dorsal yüzgeçte erime, karında şişkinlik görülürken (Şekil 4.1), bu balıkların iç bakı incelemesinde karaciğerde lezyon ve büyüme, iç organlarda yağlanma görülmüştür (Şekil 4.2).



Şekil 4.1: 2017 yılı Nisan örneklemesinde 100 g ağırlığındaki hasta gökkuşacağı alabalığı örneğinde vücut renginde koyulaşma, ekzoftalmus, dorsal yüzgeçte erime, karında şişkinlik.



Şekil 4.2: Nisan 2017 örneklemesinde 100 g ağırlığındaki hasta gökkuşacağı alabalığı örneğinde karaciğerde lezyon ve büyüme, iç organlarda yağlanma.

4.1.2. Haziran Ayı Örneklemesine İlişkin Klinik ve Nekropsi Bulguları

2017 yılı Haziran ayında yapılan 2. saha örnekleme çalışmasında incelenen 150-200 gr arasındaki 6 adet gökkuşuğu alabalığı örneğinde dış bakı incelenmesinde genelde karın bölgesinde şişkinlik, vücut renginde solgunluk, dorsal yüzgeçte erime ve pullarda yer yer dökülme görülürken (Şekil 4.3), bu balıkların iç bakısında ise incelenmesinde dalakta küçülme, iç organlarda yağlanma ve ciddi kanama görülmüştür (Şekil 4.4).



Şekil 4.3: 2017 yılı Haziran örneklemesinde 150 g ağırlığındaki hasta gökkuşuğu alabalığının dorsal yüzgeçte erime, pullarda yer yer dökülme ve karında şişkinlik.



Şekil 4.4: 2017 yılı Haziran örneklemesinde 150 g ağırlığındaki hasta gökkuşuğu alabalığının iç organlarda yağlanma ve kanama.

4.1.3. Ağustos Ayı Örneklemesine İlişkin Klinik ve Nekropsi Bulguları

2017 yılı Ağustos ayında yapılan 3. saha örnekleme çalışmasında incelenen 150-300 gr arasındaki 4 adet gökkuşaağı alabalığı örneğinde dış bakı incelenmesinde karın bölgesinde şişkinlik ve kanama, gözlerde ekzoftalmus, dorsal yüzgeçte erime ve gözlerde kanama görülürken (Şekil 4.5), bu balıkların iç bakı incelenmesinde dalakta küçülme, iç organlarda yağlanma ve kanlanma görülmüştür (Şekil 4.6).



Şekil 4.5: 2017 yılı Ağustos örneklemesinde 150 g ağırlığındaki hasta gökkuşaağı alabalığı örneğinde dorsal yüzgeçte erime, karın bölgesinde şişkinlik.



Şekil 4.6: 2017 yılı Ağustos örneklemesinde 150 g ağırlığındaki hasta gökkuşaağı alabalığı örneğinde iç organlarda yağlanma ve kanlanma.

4.1.4. Eylül Ayı Örneklemesine İlişkin Klinik ve Nekropsi Bulguları

2017 yılı Eylül ayında yapılan 4. saha örnekleme çalışmasında incelenen 150-300 gr arasındaki 4 adet gökkuşaağı alabalığı örneğinde dış bakı incelenmesinde gözlerde kanama ve ezoftalmus, karın bölgesinde aşırı şişkinlik ve pullarda dökülme görülürken (Şekil 4.7), bu balıkların iç bakısında ise karaciğerde kanama, dalakta büyüme ve iç organlarda yağlanma dikkati çekmiştir (Şekil 4.8).



Şekil 4.7: 2017 yılı Eylül örneklemesinde 250 g ağırlığındaki hasta gökkuşaağı alabalığı örneğinde dorsal yüzgeçte erime ve karın bölgesinde şişkinlik.



Şekil 4.8: 2017 yılı Eylül örneklemesinde 250 g ağırlığındaki hasta gökkuşaağı alabalığı örneğinde dalakta büyüme ve iç organlarda yağlanma.

4.1.5. Ekim Ayı Örneklemesine İlişkin Klinik ve Nekropsi Bulguları

2017 yılı Ekim ayında yapılan 5. saha örnekleme çalışmasında incelenen 100-250 gr arasındaki 4 adet gökkuşacağı alabalığı örneğinde dış bakı incelenmesinde vücut renginde koyulaşma, vücut pullarında dökülme, göz kaybı, solungaçlarda leke, dorsal yüzgeçte erime görülürken (Şekil 4.9), bu balıkların iç bakı incelemesinde ise karaciğerde solgunluk, dalakta büyüme ve iç organlarda yağlanma ve bağırsakta kanama görülmüştür (Şekil 4.10).



Şekil 4.9: 2017 yılı Ekim örneklemesinde 150 g ağırlığındaki hasta gökkuşacağı alabalığı örneğinde vücut renginde koyulaşma, göz kaybı.



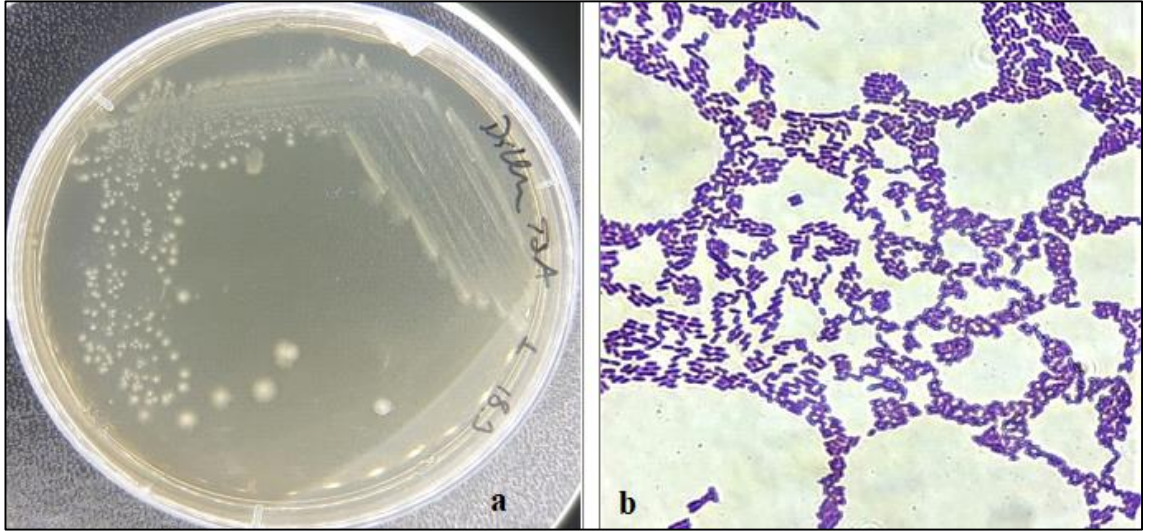
Şekil 4.10: 2017 yılı Ekim örneklemesinde 150 g ağırlığındaki hasta gökkuşacağı alabalığı örneğinde iç organlarda yağlanma ve kanama.

4.2. BAKTERİYOLOJİK BULGULAR

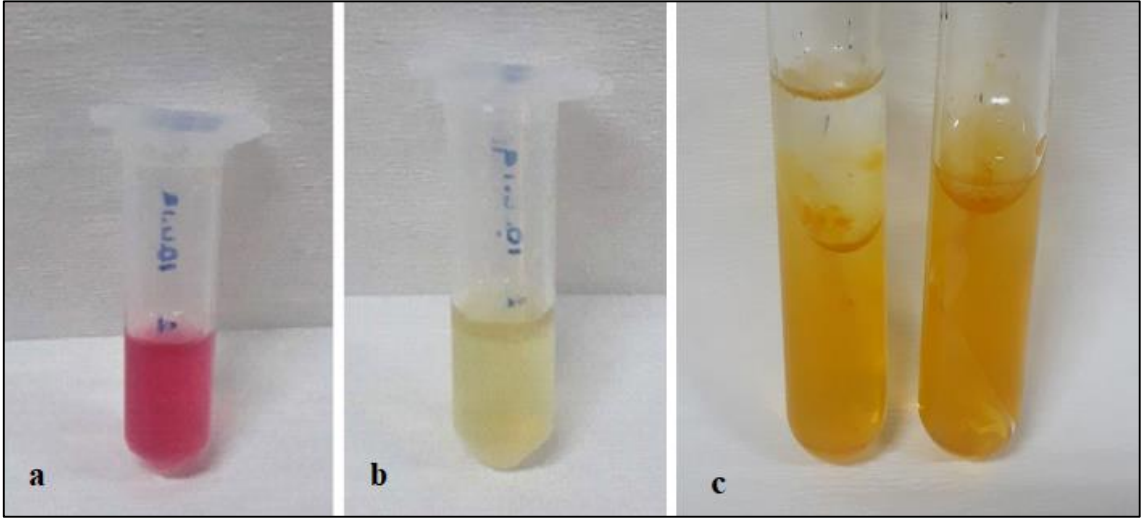
4.2.1. Konvansiyonel Bakteriyolojik Bulgular

Bu tez projesi kapsamında Samsun ili Derbent Baraj Gölü'nde kurulu olan ticari alabalık işletmesindeki hastalık bulguları gösteren gökkuşağı alabalığı numunelerinin iç organlarından; Nisan örneklemeinde 10, Haziran örneklemeinde 22, Ağustos örneklemeinde 15, Eylül örneklemeinde 21 ve Ekim örneklemeinde 4 olmak üzere toplam 72 adet bakteri izolatu bakteriyolojik olarak incelenmiştir.

Çalışmada incelenen 47 adet izolatu, TSA besiyeri üzerinde küçük krem-beyaz renkli koloni oluşturmaları (Şekil 4.11a), Gram-pozitif kok şeklinde ve kısa zincirler oluşturan (Şekil 4.11b), hareketsiz, sitokrom oksidaz ve katalaz negatif hücrelere sahip olmaları nedeniyle *Lactococcus* genusuna ait olduğu anlaşılmıştır. Bu izolatlar, MR (Şekil 4.12a) ve arjinin dihidrolaz pozitif ve VP negatif olmaları (Şekil 4.12b), laktozdan asit üretememeleri, fermantatif özellikte olmaları (Şekil 4.12c), kanlı agarda α -hemolitik aktivite göstermeleri ve Tablo 4.1'de gösterilen diğer biyokimyasal ve fenotipik özellikler nedeniyle *L. garvieae* olarak tanımlanmıştır.

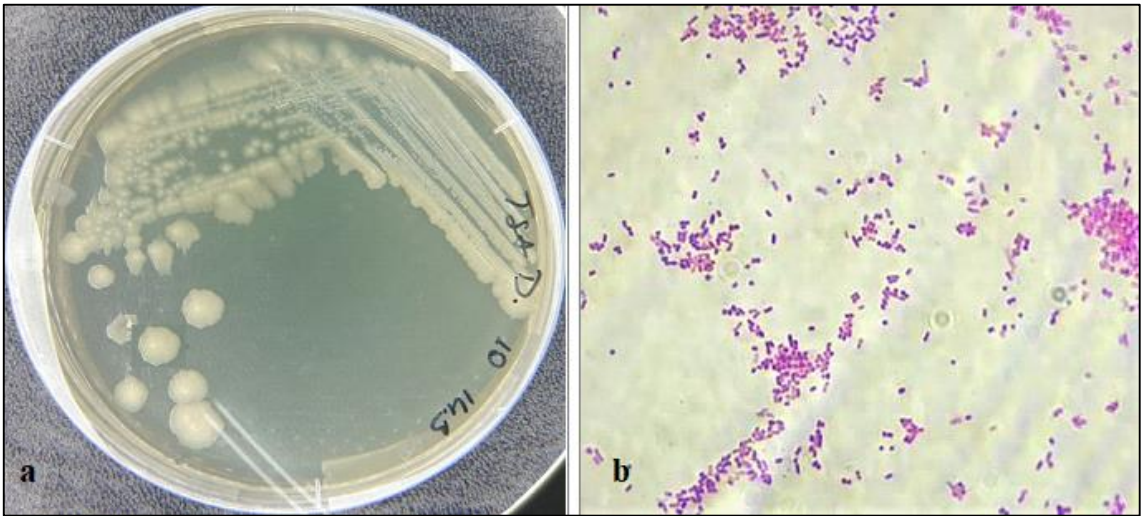


Şekil 4.11: a) TSA besiyerinde 22°C'de 48 saat inkübasyondan sonra küçük krem renkli koloni üreten 1 numaralı *L. garvieae* izolatu b) Gram-pozitif, ikili ve küçük gruplar halinde kok şekilli 1 numaralı *L. garvieae* bakteri hücreleri.

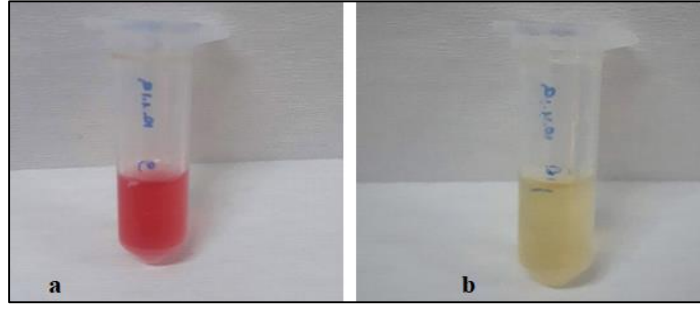


Şekil 4.12: 1 numaralı *L. garvieae* izolatu a) MR test sonucu pozitif b) VP test sonucu negatif c) OF test sonucu Fermantatif.

Çalışmada hasta kültür gökkuşağı örneklerinin iç organlarından elde edilen 10 adet izolatın, TSA besiyeri üzerinde krem renkli koloni oluşturmaları (Şekil 4.13a), Gram-negatif karakterde (Şekil 4.13b), hareketli hücrelere sahip olmaları, MR (Şekil 4.14a), arjinin dihidrolaz pozitif, sakkaroz, sorbitol, laktoz gibi şekerlerde asit oluşturmaları, sitokrom oksidaz, VP (Şekil 4.14b), lizin dikarboksilaz ve ornitin dikarboksilaz negatif olmaları nedeniyle *Citrobacter* genusuna ait oldukları tespit edilmiştir. Ayrıca adı geçen bu izolatlardan 4 tanesi, indol ve ornitin dekarboksilaz testlerinde negatif sonuç vermeleri, üreaz enzimine sahip olmamaları ve Tablo 4.1.'de gösterilen diğer özellikleri nedeniyle *C. freundii* olarak tanımlanmıştır.

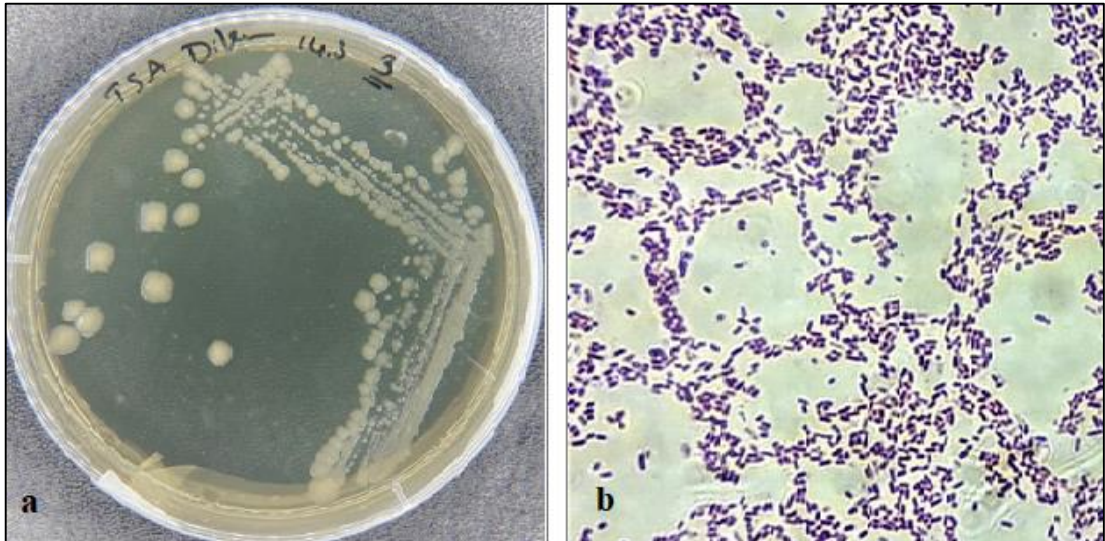


Şekil 4.13: a) TSA besiyerinde 22°C'de 48 saat inkübasyondan sonra krem renkli koloni üreten 3 numaralı *C. freundii* izolatu b) Gram-negatif, ikili ve küçük gruplar halinde basil şekilli 3 numaralı *C. freundii* bakteri hücreleri.



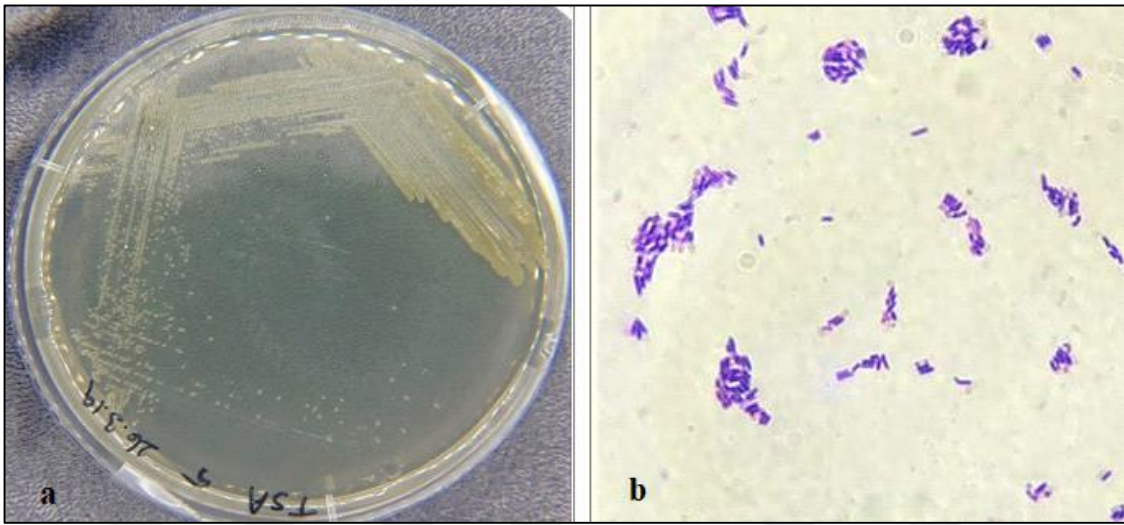
Şekil 4.14: 3 numaralı *C. freundii* izolatu a) MR test sonucu pozitif b) VP test sonucu negatif.

Aynı işletmeden alınan balık örneklerinin iç organlarından TSA besiyerine yapılan bakteriyolojik ekimler sonucunda 8 adet izolatu koloni morfolojileri, Gram-negatif karakterde (Şekil 4.15b), krem renkli (Şekil 4.15a), sitokrom oksidaz negatif, katalaz pozitif ve hareketli olmaları sebebiyle bu bakteri izolatlarının *Enterobacteriaceae* familyasına ait oldukları tespit edilmiştir. Ayrıca bu izolatların MR pozitif, indol negatif, üreaz enzimine sahip olmamalarının yanısıra, VP testinin negatif sonuç vermesi ile *Yersinia ruckeri* ile, arjinin dihidrolaz negatif, şekerlerden laktoz, sorbitol, sakkaroz asit oluşumuna negatif sonuç vermesi, koloni yapısının krem renğinde ve yaygın özellik göstermesiyle *C. freundii*' den ayırt edilmesi nedeniyle Tablo 4.1' de belirtildiği gibi 12, 14 ve 49 nolu bakteri izolatları *Hafnia alvei* olarak tanımlanmıştır. Bu izolatların API 20E test kitinde oluşturdukları 510411257 numaralı profil, kitin veritabanında *H. alvei* ile verilen profil ile benzerlik göstermiştir.

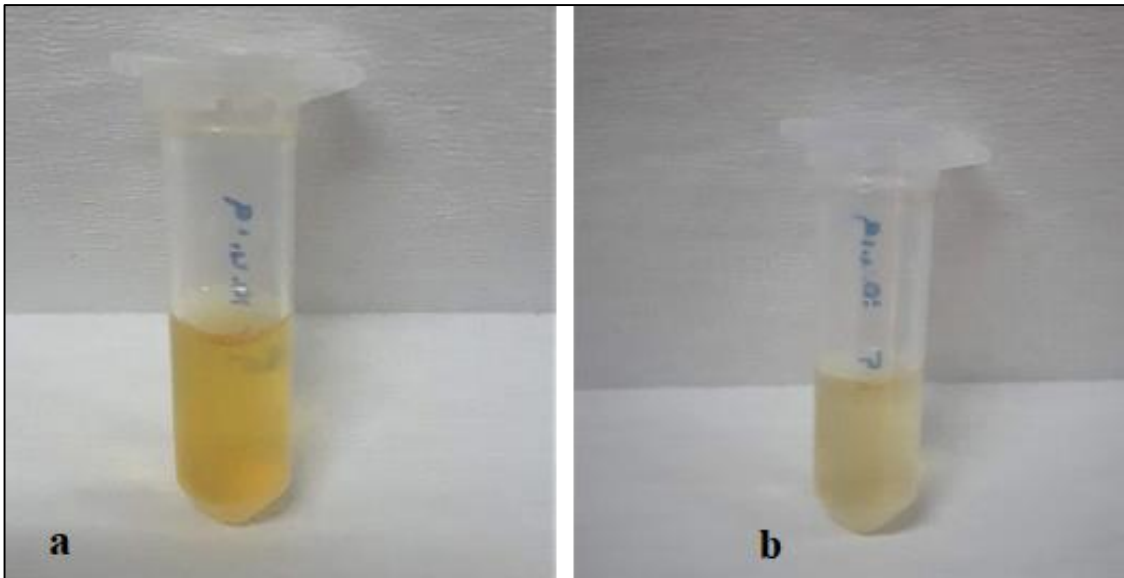


Şekil 4.15: a) TSA besiyerinde 22°C'de 48 saat inkübasyondan sonra krem renkli koloni üreten 12 numaralı *H. alvei* izolatu b) Gram-negatif, ikili ve küçük gruplar halinde basil şekilli 12 numaralı *H. alvei* bakteri hücreleri.

Aynı işletmeden alınan balık örneklerinin iç organlarından TSA besiyerine yapılan bakteriyolojik ekimler sonucunda 2 adet izolatin koloni morfolojileri, Gram-pozitif karakterde ve basil şekilli hücrelere sahip olmaları (Şekil 4.16), sarı renkli, sitokrom-oksidadaz değişken, katalaz pozitif ve hareketli, MR (Şekil 4.17a), VP negatif (Şekil 4.17), lizin dekarboksilaz negatif, ornitin dekarboksilaz negatif ve arjinin dihidrolazın değişken sonuç vermesi nedeniyle Tablo 4.1.'de belirtilen 13 nolu bakteri izolatu *Bacillus* sp. olarak izole ve identifiye edilmiştir.

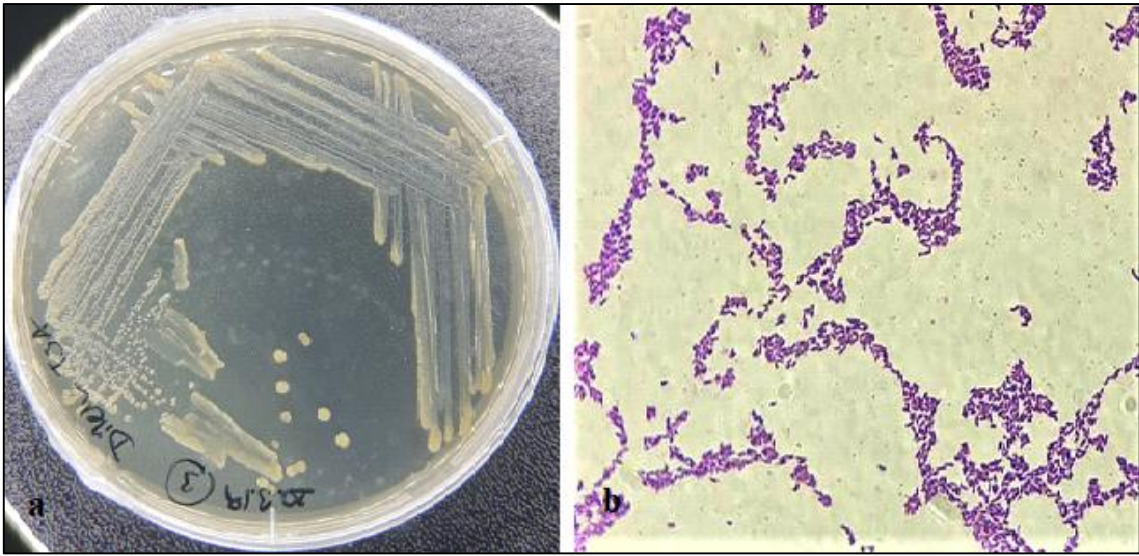


Şekil 4.16: a) TSA besiyerinde 22°C'de 48 saat inkübasyondan sonra sarı renkli koloni üreten 13 numaralı *B. gibsonii* izolatu b) Gram-pozitif, ikili ve küçük gruplar halinde basil şekilli 13 numaralı *B. gibsonii* bakteri hücreleri



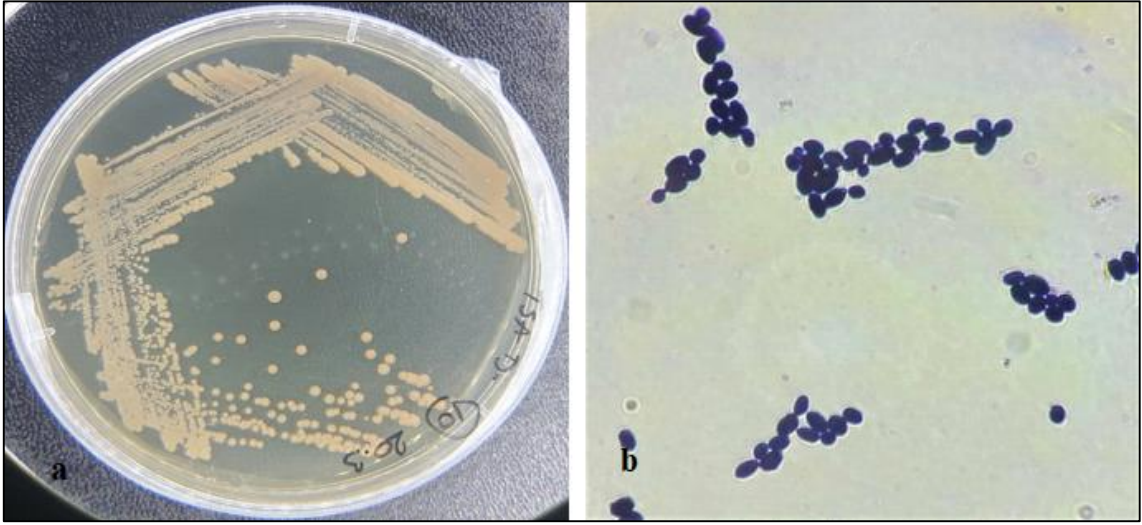
Şekil 4.17: 13 numaralı *B. gibsonii* izolatu a) MR test sonucu negatif b) VP test sonucu negatif.

Derbent Baraj Gölü'nde bulunan işletmeden alınan balık örneklerinin iç organlarından TSA besiyerine yapılan bakteriyolojik ekim sonucunda 1 adet izolatin koloni morfolojisi, Gram-pozitif karakterde, sarı renkte ve kok şekilli hücrelere sahip olmaları (Şekil 4.18), sitokrom-oksidadaz negatif, katalaz pozitif ve hareketli, MR, VP, indol negatif, sitrat ve nitratın da değişken özellik de sonuçlar vermesi nedeniyle Tablo 4.1.'de belirtilen 2 nolu bakteri izolatu *Frigoribacterium* sp. olarak izole ve identifiye edilmiştir.



Şekil 4.18: a) TSA besiyerinde 22°C'de 48 saat inkübasyondan sonra sarı renkli koloni üreten 2 numaralı *Frigoribacterium* sp. izolatu b) Gram-pozitif, ikili ve küçük gruplar halinde kok şekilli 2 numaralı *Frigoribacterium* sp. bakteri hücreleri.

Aynı işletmeden alınan balık örneklerinin iç organlarından TSA besiyerine yapılan bakteriyolojik ekimler sonucunda 1 adet bakteri izolatinın Gram-negatif (Şekil 4.19b), sarı/turuncu renkte (Şekil 4.19a), sitokrom-oksidadaz, katalaz pozitif, arjinin dihidrolaz negatif, diğer biyokimyasal test sonuçları ile Tablo 4.1.'de belirtilen 15 nolu bakteri izolatu *Sphingomonas* sp. olarak izole ve identifiye edilmiştir.



Şekil 4.19: a) TSA besiyerinde 22°C'de 48 saat inkübasyondan sonra sarı renkli koloni üreten 15 numaralı *Sphingomonas sp.* izolatu b) Gram-pozitif, ikili ve küçük gruplar halinde kok şekilli 15 numaralı *Sphingomonas sp.* bakteri hücreleri.

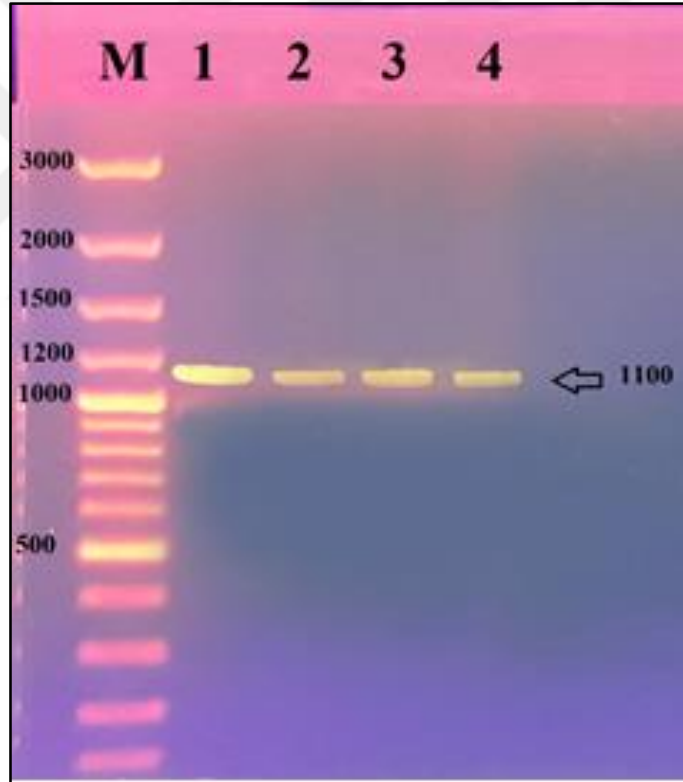
Tablo 4.1: Hasta kültür gökkuşağı alabalıklarından izole edilen bakterilerin fenotipik ve biyokimyasal özellikleri

	<i>L. garvieae</i> n=47	<i>C. freundii</i> n=10	<i>H. alvei</i> n=8	<i>B. gibsonii</i> n=2	<i>S. echinoides</i> n=1	<i>F. faeni</i> n=1
Gram	+	-	-	+	-	+
Hareket	-	+	+	+	+/-	+
O/F	F	F	F	F	F	F
Katalaz	-	+	+	+	+	+
Oksidaz	-	-	-	+/-	+	-
Indol	+/-	-	-	-	-	-
MR	+	+	+	-	-	-
VP	+/-	-	-	-	-	-
Nitrat	-	+/-	+	+/-	+	+/-
Sitrat	-	+	-	-	-	+/-
Arjinin	+	+	-	+/-		
Lizin	-	-	+	-		
Ornitin	-	-	+	-		
Şekerlerden asit üretimi						
Galaktoz	+			+/-		
Laktoz	-	+	-	+	+/-	
Ramnoz	+/-	+	+	+/-	-	+
Sukroz	+		-	+	-	
Maltoz	+	+	+	+	+	
Sorbitol	-	+	-	-	-	+
İnositol	+/-	-	-	-		
Fruktoz	+			-	-	

+: pozitif reaksiyon, -: negatif reaksiyon, F: fermantatif, +/-: Değişken

4.3. PZR İLE İLGİLİ BULGULAR

Konvansiyonel bakteriyolojik metotlar kullanılarak biyokimyasal ve fenotipik özelliklerine göre *L. garvieae* olarak tanımlanan 47 adet izolattan 4 tanesi, tanımlamanın moleküler doğrulamasının yapılması için seçilerek türe özgü primer setlerinin kullanıldığı PZR çoğaltımına tabi tutulmuştur. Bu amaçla, ilk olarak izolatlardan elde edilen DNA materyali elektroforeze tabi tutulmuş ve PZR analizlerinde kullanmaya müsait ve yeterli miktarlarda DNA izole edildiği görülmüştür. Daha sonra bu izolatların 16S rRNA gen bölgesini hedef alan primerler kullanılarak PZR çoğaltımı gerçekleştirilmiştir; PZR sonucunda agaroz jel elektroforezinde bu izolatların türe özgü 1100 bp'lik spesifik bant oluşturduğu görülmüştür (Şekil 4.20).



Şekil 4.20: *L. garvieae*'ya özgü spesifik PZR.

(M: 100 bp Plus DNA Ladder. 1: 1 numaralı izolat, 2: 11 numaralı izolat, 3: 32 numaralı izolat, 4: 34 numaralı izolat.

Çalışmada hasta kültür gökkuşağı alabalıklarından izole edilerek biyokimyasal tanımlamasını gerçekleştiren, *L. garvieae* dışındaki izolatlara ise 16S rRNA gen bölgesini hedef alan universal primer seti kullanılarak PZR çoğaltımı gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla biyokimyasal olarak *Frigoribacterium sp.* olarak tanımlanan 1 adet; *C. freundii* olarak tanımlanan

6 adet; *H. alvei* olarak tanımlanan 3 adet; *Bacillus sp.* olarak tanımlanan 1 adet ve *Sphingomonas sp.* olarak tanımlanan 1 adet izolat kullanılmıştır. Bu izolatlara ait PZR ürünlerinin jel elektroforezi sonucunda hepsinin 880 bp'lik bölgenin çoğaltımını yaptığı tespit edilmiştir (Şekil 4.21).

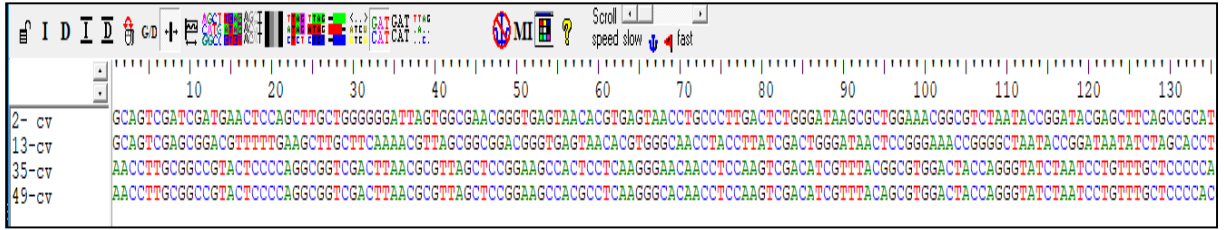


Şekil 4.21: Universal primer ile yapılan PZR sonucu elde edilen 880 bp'lik bant.

M: 100 bp Plus DNA Ladder. 1-2-3-4: *H. alvei*, 5-6: *Bacillus sp.*, 7-8-9-10: *C. freundii*, 11: *Sphingomonas sp.*, 12: *Frigoribacterium sp.*

Hasta kültür gökkuşuğu alabalıklarından izole ve tanımlanan *L. garvieae* dışındaki izolatlardan elde edilen 880 bp'lik 16S rRNA gen bölgesine ait PZR çoğaltım ürünleri, 16S RNA dizi analizi gerçekleştirmek üzere iki adet ticari firmaya (Medsantek – İstanbul; Refgen – Ankara) gönderilmiştir. Elde edilen sonuçlar Bioedit v7.0.0 (Hall, 1999) yazılımı ile ClustalX 2.1 (Larkin ve diğ., 2007) ve BLASTN 2.2.20 (Zhang ve diğ., 2000) algoritması kullanılarak analiz edilmiştir.

BioEdit programındaki işlemlerden (Şekil 4.22) sonra yapılan Gen Bankası nükleotid blastlama sonucuna göre, 2 numaralı izolat'ın *Frigoribacterium faeni*; 3, 33, 35, 46, 47 ve 48 numaralı izolatların *Citrobacter freundii*; 12, 14 ve 49 numaralı izolatların *Hafnia alvei*; 13 numaralı izolatın *Bacillus gibsonii* ve 15 numaralı izolatın *Sphingomonas echinoides* bakterisi ile %99'dan fazla genetik benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir (Tablo 4.2).



Şekil 4.22: Farklı türlere ait seçilmiş izolatların BioEdit işlemi.

2: *Frigoribacterium faeni* 13: *Bacillus gibsonii* 35: *Citrobacter freundii* 49: *Hafnia alvei*

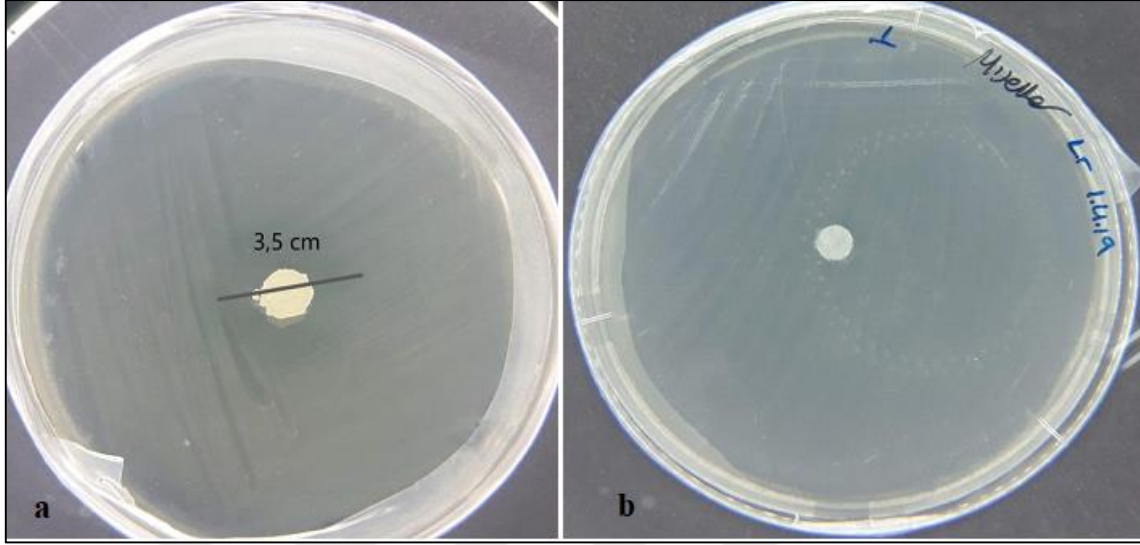
Tablo 4.2: İzolatların Gen Bankası nükleotid blast işlemi ile tespit edilen en yakın türler ve benzerlik oranları.

İzolat no	Yakın gen akrabası	Dizi benzerliği
1	<i>Lactococcus garvieae</i>	% 100
2	<i>Frigoribacterium faeni</i>	%99
3	<i>Citrobacter freundii</i>	%99
11	<i>L. garvieae</i>	% 100
12	<i>Hafnia alvei</i>	%99
13	<i>Bacillus gibsonii</i>	%99
14	<i>H. alvei</i>	%99
15	<i>Sphingomonas echinoides</i>	%99
32	<i>L. garvieae</i>	% 100
33	<i>C. freundii</i>	%99
34	<i>L. garvieae</i>	% 100
35	<i>C. freundii</i>	%99
46	<i>C. freundii</i>	%99
47	<i>C. freundii</i>	%99
48	<i>C. freundii</i>	%99
49	<i>H. alvei</i>	%99

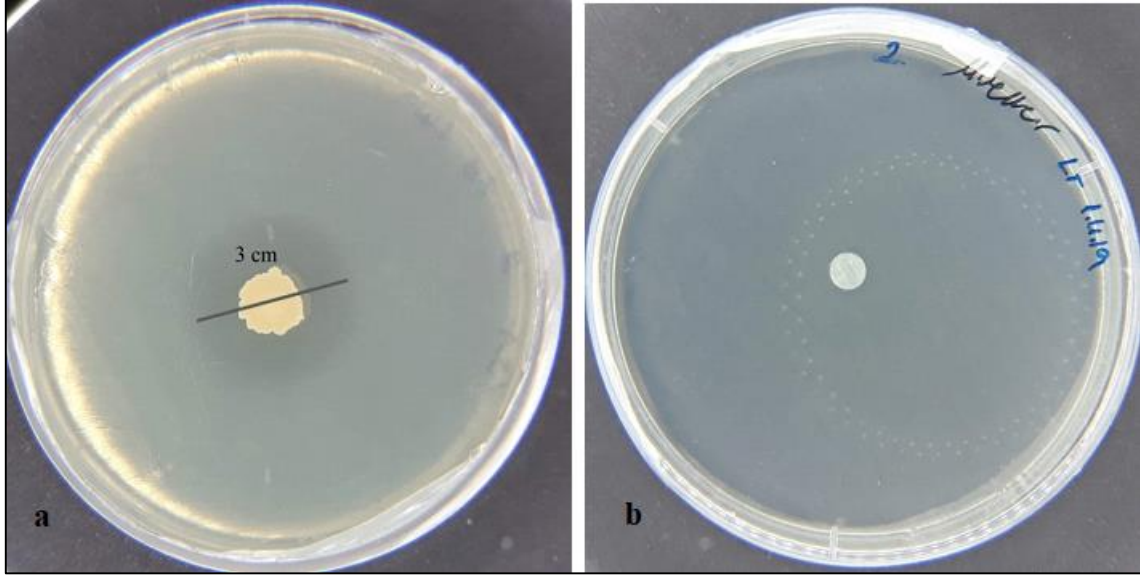
4.4. ANTAGONİSTİK ETKİ İLE İLGİLİ BULGULAR

Çalışma kapsamında temin edilen *B. subtilis* ve *L. rhamnosus* suşlarının, hasta kültür balıklarından izole ve identifiye çeşitli patojenlere karşı değişik seviyelerde *in-vitro* antagonistik etkileri tespit edilmiştir. *B. subtilis* suşunun, hasta balıklardan izole edilen *L. garvieae* izolatlarına karşı kuvvetli pozitif antagonistik etkiye sahip olduğu, elde edilen 30-43 mm arasındaki inhibisyon zon çapları ile görülmüştür (Şekil 4.23a; 4.24a; 4.25a; 4.26a). Bu bakterinin aynı zamanda, hasta balıklardan izole edilen diğer patojenlere (*F. faeni*, *B. gibsonii* ve *S. echinoides*) zayıf pozitif antagonistik etkiye sahip olduğu görülmüştür (Şekil 4.27; 4.28a; 4.29a). Buna karşın *B. subtilis* suşunun, hasta gökkuşuğu alabalıklarından izole edilen *C. freundii* ve *H. alvei* izolatlarına karşı antagonistik etkisinin olmadığı gözlemlenmiştir (Şekil 4.30a; 4.31a). Benzer şekilde, çalışmada kullanılan *L. rhamnosus* suşunun da hasta balıklardan

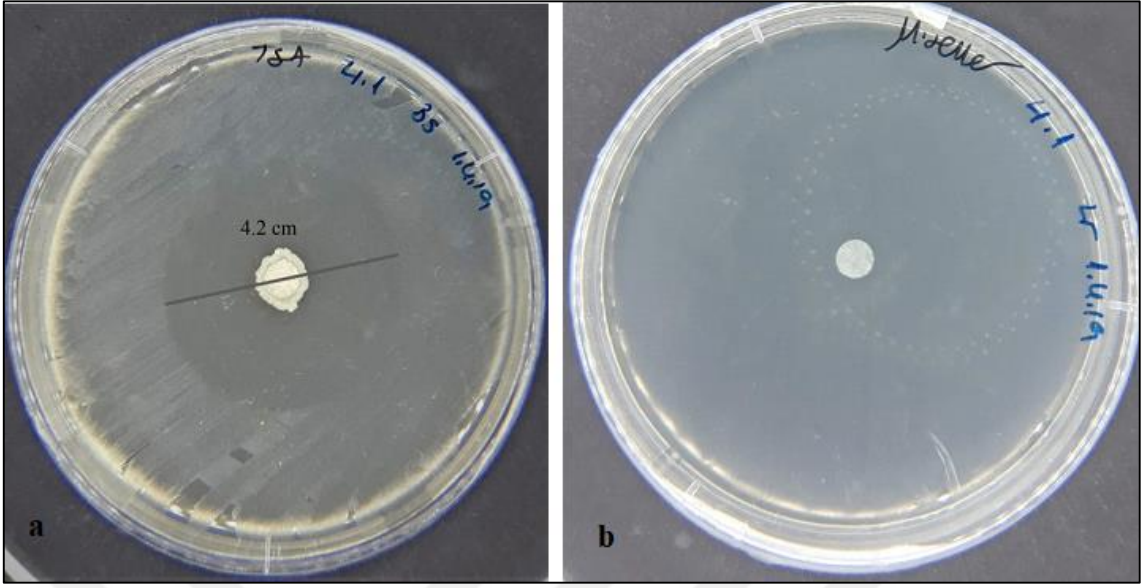
izole edilen hiçbir patojene karşı antagonistik etkisinin varlığı görülememiştir (Şekil 4.23b; 4.24b; 4.25b; 4.26b; 4.28b; 4.29b; 4.30b; 4.31b).



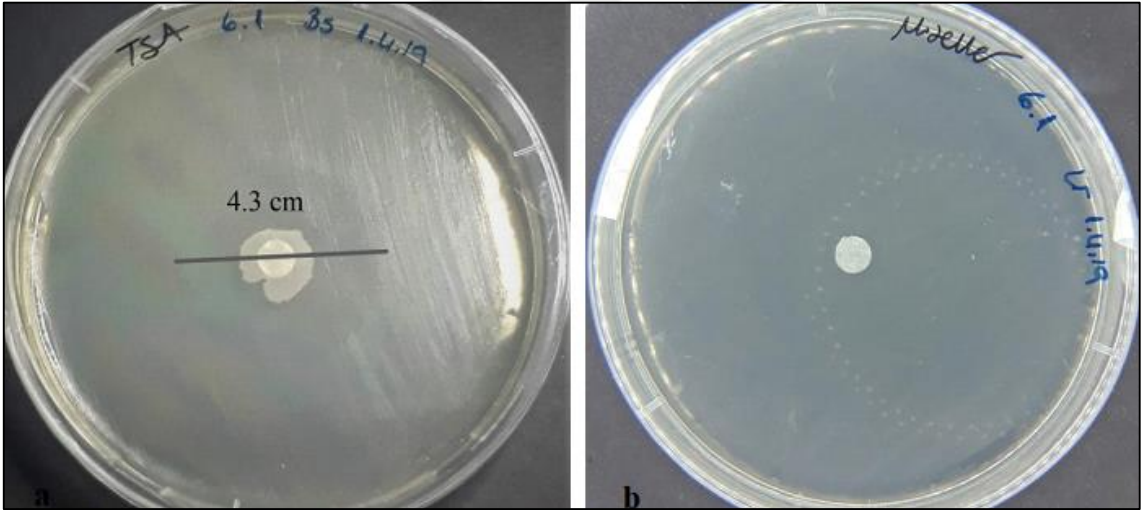
Şekil 4.23: a) *B. subtilis*'in 1 numaralı *L. garvieae* izolatına karşı pozitif antagonistik etkisi b) *L. rhamnosus*'un 1 numaralı *L. garvieae* izolatına karşı negatif antagonistik etkisi.



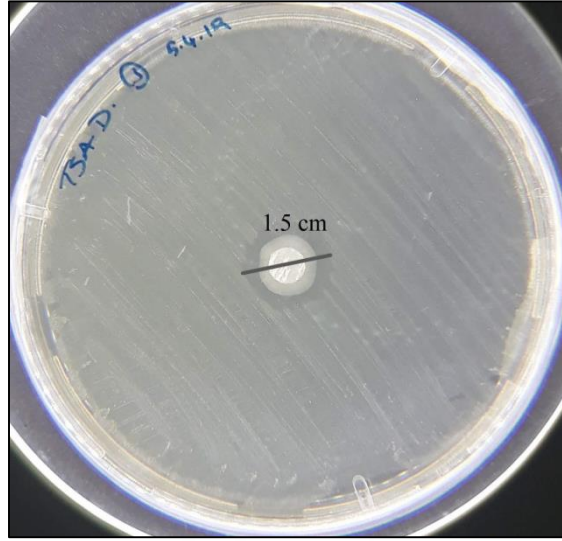
Şekil 4.24: a) *B. subtilis*'in 11 numaralı *L. garvieae* izolatına karşı pozitif antagonistik etkisi b) *L. rhamnosus*'un 11 numaralı *L. garvieae* izolatına karşı negatif antagonistik etkisi.



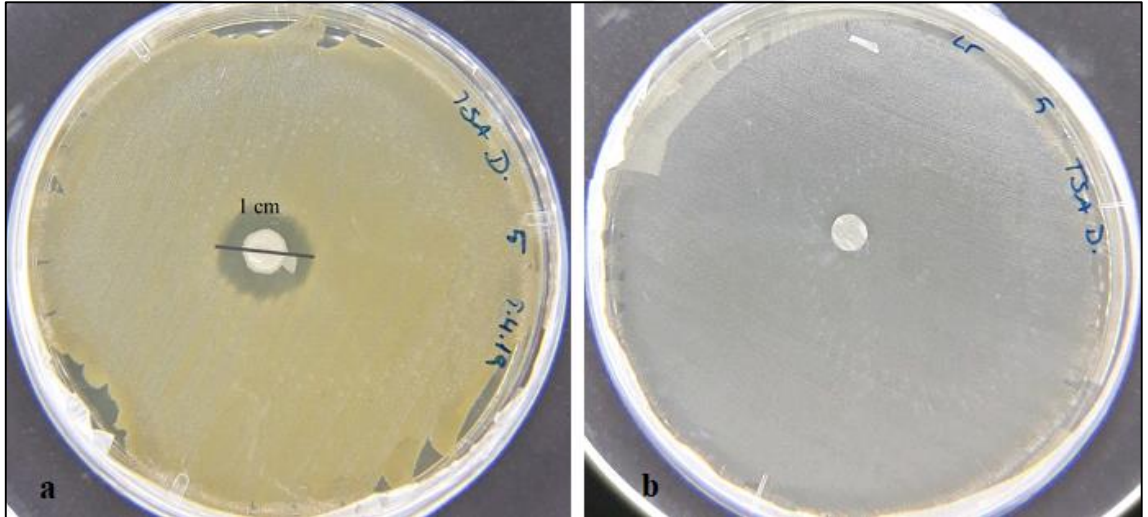
Şekil 4.25: a) *B. subtilis*'in 32 numaralı *L. garvieae* izolatına karşı kuvvetli pozitif antagonistik etkisi
b) *L. rhamnosus*'un 32 numaralı *L. garvieae* izolatına karşı negatif antagonistik etkisi.



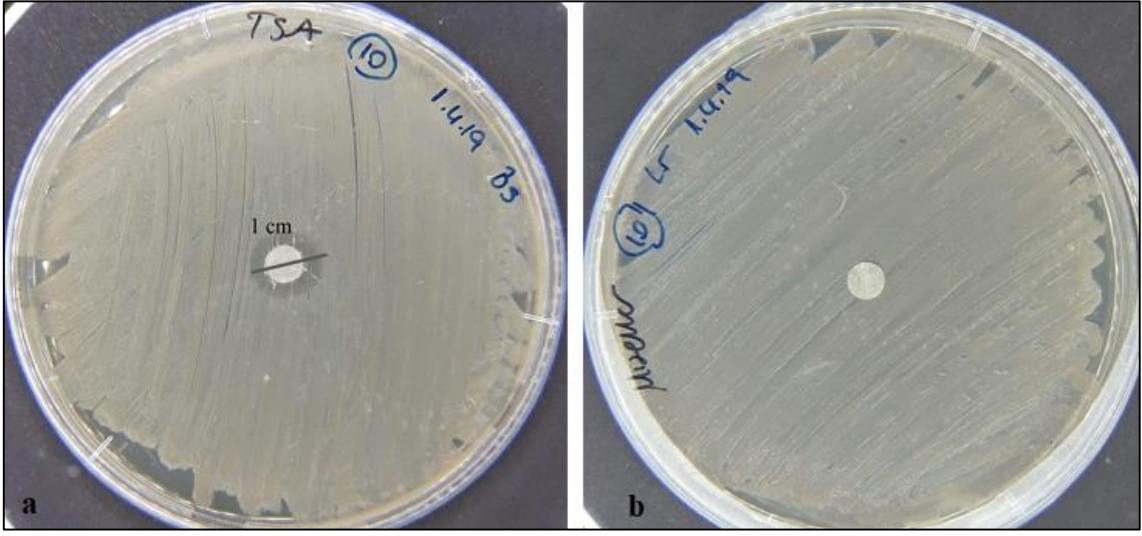
Şekil 4.26: a) *B. subtilis*'in 34 numaralı *L. garvieae* izolatına karşı kuvvetli pozitif antagonistik etkisi
b) *L. rhamnosus*'un 34 numaralı *L. garvieae* izolatına karşı negatif antagonistik etkisi.



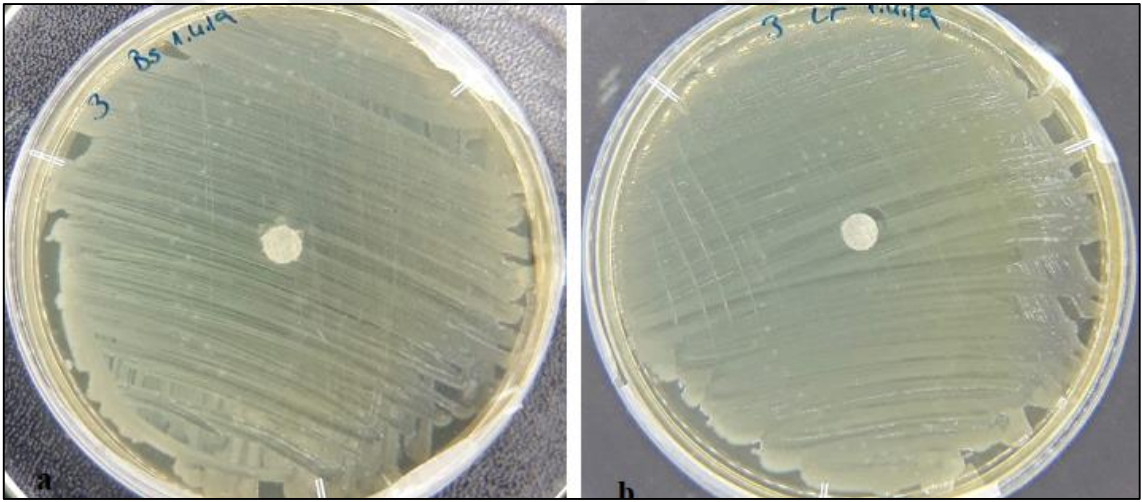
Şekil 4.27: *B. subtilis*'in 2 numaralı *F. faeni* izolatına karşı zayıf pozitif antagonistik etkisi.



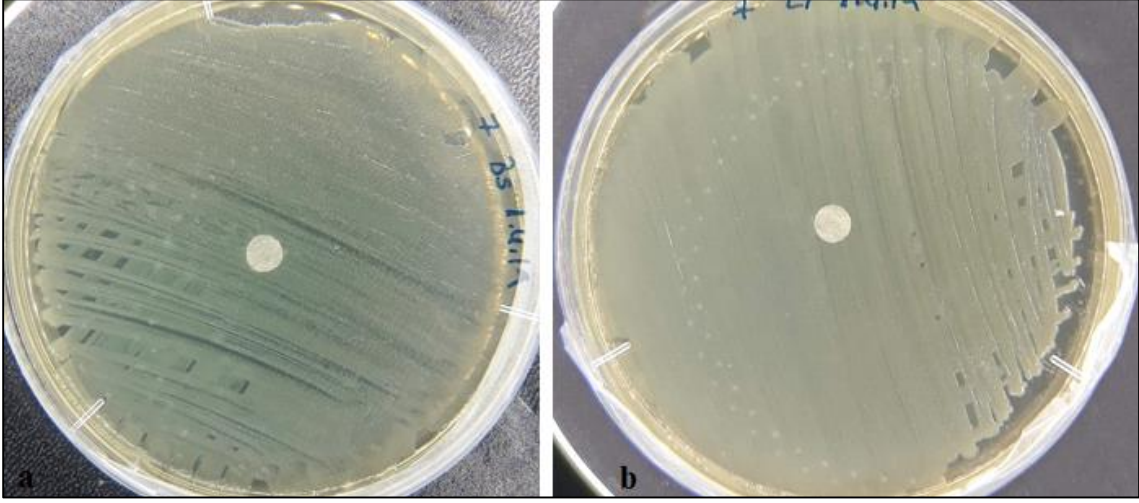
Şekil 4.28: a) *B. subtilis*'in 13 numaralı *B. gibsonii* izolatına karşı zayıf pozitif antagonistik etkisi b) *L. rhamnosus*'un 13 numaralı *B. gibsonii* izolatına karşı negatif antagonistik etkisi.



Şekil 4.29: a) *B. subtilis*'in 15 numaralı *S. echinoides* izolatına karşı zayıf pozitif antagonistik etkisi b) *L. rhamnosus*'un 15 numaralı *S. echinoides* izolatına karşı negatif antagonistik etkisi.



Şekil 4.30: a) *B. subtilis* ve b) *L. rhamnosus*'un 12 numaralı *H. alvei* izolatına karşı negatif antagonistik etkisi.



Şekil 4.31: (a) *C. freundii* olarak adlandırılan 46 numaralı izolat ile yapılan antagonistik test sonucunda hem *B. subtilis* ile hem de *L. rhamnosus* ile zon oluşturmadığı gözlemlenmiştir (b).

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Su ürünleri; insanlar için gerekli olan hayvansal protein ihtiyacının karşılanmasında ucuz maliyet ve yüksek protein içermesi nedeniyle önemli bir besin kaynağıdır. Dünyada ve yurdumuzda son yıllarda su ürünleri yetiştiriciliği oldukça hızlı gelişme göstermiş ve önemli bir endüstri kolu haline gelmiştir (Alpbaz, 2005; Emre ve diğ., 2007). Ancak aşırı avlanma, bilinçsizce yapılan avcılığın doğal ortama zarar vermesi ve su kirliliği gibi nedenlerden dolayı doğadaki balık stokları büyük ölçüde azalmış ve her geçen gün artan dünya nüfusunun hayvansal protein ihtiyacını karşılamakta yetersiz kalmıştır. Bu olumsuz gelişmeler sonucunda; su ürünleri yetiştiriciliği üretim miktarı dünyada ve yurdumuzda gün geçtikçe daha hızlı tırmanışa geçmiş ve önemi giderek artan bir sektör haline gelmiştir (Öz, 2004; Alpbaz, 2005).

Dünyada olduğu gibi yurdumuzda da su ürünleri yetiştiriciliği, öncelikle tatlı sularda yetiştiriciliği yapılan sazan ve alabalık gibi balık türleri üzerindeki çalışmalarla başlamıştır (Barnabe, 1994; Çelikkale ve diğ., 1999; Yiğit ve Aral, 1999; Aydın ve Sayılı, 2009). Ülkemizin su ürünleri üretiminin büyük bir kısmının elde edildiği Karadeniz Bölgesi'nde gerçekleştirilen kıyı ve kıyı ötesi balık avcılığı ülke ekonomisi için oldukça önemlidir. Ancak bölge, avcılık dışında deniz ve içsularda gerçekleştirilen su ürünleri yetiştiriciliği açısından da önemli bir potansiyele sahiptir (Çelikkale ve diğ., 1999; Öz, 2004). Karadeniz, kendisini besleyen çok sayıda akarsu ile yetiştiricilik açısından zengin bir iç denizimizdir (Çelikkale ve diğ., 1999; Kayış, 2009). Su ürünleri yetiştiriciliği sektörü, Karadeniz Bölgesi'nde 1970'li yıllarda yatırım şansı bulmuştur (Alpbaz, 2005; Kayış, 2009; Emre ve diğ., 2007). Bu bölgenin içsularında su ürünleri yetiştiriciliği daha çok Doğu Karadeniz Bölgesi'nde yaygın olup, üretimi yapılan en yaygın balık türü gökkuşağı alabalığıdır (*O. mykiss*, W.) (Çelikkale ve diğ., 1999; Alpbaz, 2005; Kayış, 2009; Akbulut ve diğ., 2009). Bu türün yetiştiriciliği karada; akarsular üzerine kurulan balık çiftlikleri yanı sıra Derbent, Almus, Demirözü, Koruluk ve Kürtün gibi baraj göllerinde; denizde ise kafeslerde kültür balıkçılığı açısından çok büyük bir potansiyele sahiptir (Alpbaz, 2005; Emre ve diğ., 2007; Akbulut ve diğ., 2009).

Kültür balıkçılığında görülen hızlı gelişmelere paralel olarak yoğun stoklamanın yanı sıra olumsuz çevre şartlarından kaynaklanan bakteriyel, viral, paraziter ve fungal hastalıklar ile yetersiz beslenmeden kaynaklanan enfeksiyonların neden olduğu sorunlar sektörde ciddi ekonomik kayıplara neden olmaktadır (Timur ve Timur, 2003; Austin ve Austin, 2016; Türe ve

Savaş, 2010). Bakteriyel balık hastalıkları; havuzlarda, baraj göllerinde ve kafeslerde yetiştiriciliği yapılan kültür gökkuşağı alabalıklarında yüksek mortaliteye ve ekonomik kayıplara neden olmaktadır (Timur ve Timur, 2003; Austin ve Austin, 2016). Bu hastalıklara karşı günümüzde koruyucu önlem, ölümleri azaltarak ekonomik kayıplara engel olmak ve balığın verimli bir şekilde büyümesine katkı sağlamak amacıyla günümüzde *Bacillus* spp. ve *Lactobacillus* spp. türleri gibi pek çok probiyotik yaygın olarak kullanılmaktadır. Akuakültürde antagonistik etkiye sahip probiyotik bakterilerin seçiminde özellikle suyun ve balığın florasında bulunan suşlar tercih edilmektedir (Abd-El Rahman ve diğ., 2009; Chantharasophon ve diğ., 2011).

Bir bakterinin probiyotik olarak tanımlanabilmesi için *in-vitro* ve *in-vivo* koşullarda birçok deneyin yapılması gerekmektedir (Irianto ve Austin, 2002b; Gomez-Gil ve diğ., 2000). Günümüzde balık ve kabuklu kültür sistemlerinde probiyotik olarak kullanılan bakterilerin *in-vitro* koşullarda antagonistik testlerde farklı balık patojenlerinin üremesini inhibe ettikleri bildirilmiştir (Irianto ve Austin, 2002b; Abd-El rahman ve diğ., 2009). Gökkuşağı alabalıklarında görülen hastalıkların kontrolünde kullanılacak doğru probiyotik bakteri türünün belirlenmesi için *in-vitro* koşullarda yapılacak olan antagonistik teste ihtiyaç duyulmaktadır (Özdemir ve Keleştemur, 2009; Çenit, 2015)

Bu çalışmada Samsun ilindeki Derbent Baraj Gölü'ndeki ağ kafeslerde gökkuşağı alabalığı yetiştiriciliği yapan bir işletmeden 2017 yılında bir yıl boyunca belirli aralıklarla ağırlıkları 100 g ile 300 g arasında değişen hasta balık örnekleri alınıp bakteriyolojik yöntemlerle incelenmiş ve balıklarda hastalığa neden olan farklı patojen bakteriler tespit edilmiştir. Saha örnekleme çalışmalarında incelenen hasta balık örneklerinde, daha önce diğer araştırmacılar tarafından yaygın bakteriyel enfeksiyon olgularında bildirilenle paralel olarak dış bakıda karın bölgesinde şişkinlik (Teshima ve diğ., 1992; Timur ve diğ., 2011), dorsal yüzgeçte erime, iç baki bulgularında iç organlarda yağlanma ve kanama görülürken; bazı balık örneklerinde tek veya çift taraflı ekzoftalmus, gözde görme kaybı (Timur ve diğ., 2011), vücut renginde koyulaşma (Teshima ve diğ., 1992; Buller, 2004; Vendrell ve diğ. 2006) görülmüştür.

Hasta balıkların karaciğer, dalak, böbrek gibi iç organlarından yapılan bakteriyolojik ekimler sonucunda toplamda 72 adet bakteri izolatı elde edilmiştir. Bu izolatların bakteriyolojik ve PZR analizi sonucunda *C. freundii*, *H. alvei*, *L. garvieae* olduğu tespit edilirken; biyokimyasal test sonuçlarıyla genus düzeyinde tespit edilen *Bacillus* sp., *Frigoribacterium* sp. ve *Sphingomonas*

sp., bakterileri ticari firmalarda hizmet alımı ile yaptırılan 16S RNA dizi analizi sonuçlarına göre *B. gibsoni*, *F. faeni* ve *S. echinoides* olarak izole edilmiştir.

Lactococcosis, gökkuşağı alabalıklarında sıklıkla görülen daha çok *L. garvieae* isimli Gram-pozitif bakterinin sebep olduğu önemli bir hastalıktır (Ksuda ve Salati, 1999; Vendrell ve diğ., 2006; Austin ve Austin, 2016). Bu çalışma kapsamında incelenen hasta balıkların iç organlarından izole edilen ve küçük beyaz koloniler oluşturan bakterilerin; Gram-pozitif, katalaz ve oksidaz negatif, kok şeklinde ve zincir oluşturan, hareketsiz, sporsuz ve aside karşı dirençsiz olmak gibi biyokimyasal özellikleri nedeniyle diğer araştırmacıların verileriyle benzerlik gösterdiği (Ringo ve Gatesoupe, 1998; Vendrell ve diğ., 2006; Austin ve Austin, 2016) için *L. garvieae* olarak izole ve identifiye edilmiştir. Gerçekleştirilen PZR çalışması ile bu izolatların 1100 kb bant oluşturması Kav ve Erganiş (2007)'in de belirttiği gibi moleküler düzeyde tanımlanmıştır. İncelenen hasta balıklarda görülen ekzoftalmus, koyulaşmış deri, karın bölgesindeki şişlik gibi bulgular diğer araştırmacıların *L. garvieae* ile enfekte olan balıklarda görülen klinik bulgular ile benzerlik göstermektedir (Buller, 2004; Vendrell ve diğ., 2006, Özer ve diğ., 2008).

Enterik bakterilerden olan *C. freundii* balık hastalıklarında en sık karşılaşılan patojen bakterilerden birisidir. Bu patojen balıklarda stres ve çevresel kirliliğe bağlı olarak hastalıklara neden olmaktadır (Sato ve diğ., 1982; Sanz, 1991). Bu çalışmada hasta balıklardan izole edilen ve krem rengi koloni oluşturan bakteriler; Gram-negatif, hareketli, sitokrom negatif ve katalaz pozitif reaksiyon göstermeleri ve diğer biyokimyasal özelliklerinin de bu bakteri üzerine çalışan bilim adamlarının çalışmaları sırasında elde ettikleri sonuçlarla benzer özellik göstermiştir (Sato ve diğ., 1982; Sağlam ve diğ., 2006; Austin ve Austin, 2016). Bu bakteri örneklerinin DNA izolasyonları yapıp daha sonra PZR işlemi yapılmış olup agaroz jelde görüntüsü alınmıştır. Sonrasında sekanslama yapılması için örnekler ticari firmaya gönderilmiştir. Sonuçlar blastlama yapılarak tür tayini yapılmıştır. *C. freundii* ile enfekte olan balıklarda deri yüzeyünde kanama, solgun karaciğer, koyu renkte dalak gibi klinik bulgular bu bakteri ile çalışan bilim insanlarının bulgularıyla benzerlik göstermektedir (Sato ve diğ., 1982; Buller, 2004; Austin ve Austin, 2016).

Enterobacteriaceae familyasına ait bir diğer bakteri *H. alvei* olup; bu patojen çeşitli balıklardan izole edilen Gram-negatif, oksidaz negatif bir bakteridir (Gelev ve diğ., 1990; Sharma ve diğ., 1991; Rodriguez ve diğ., 1998; Sakazaki, 2009). Bu patojen bakteri ilk kez Gelev ve diğ. (1990)

tarafından rapor edilirken; japon somonlarında (*Oncorhynchus masou*) klinik olarak anormal yüzme, koyu renk vücut ve karın bölgesinde şişlik gibi bulgulara neden olduğu belirtilmiştir (Teshima ve diğ., 1992) Gökkuşığı alabalıkları üzerinde çalışmalarda daha çok *Y. ruckeri* bulunurken (Timur ve Timur, 1991; Tobback ve diğ., 2007; Altun ve diğ., 2010; Austin ve Austin, 2016; Balta ve diğ., 2016); yaptığımız çalışma ile de yurdumuzda gökkuşığı alabalıklarından patojenik *H. alvei* ilk defa rapor edilmektedir.

Bacillaceae familyası ait *Bacillus* genusundaki bakterilerin çoğu Gram-pozitif olup aerobik veya fakültatif anaerobik çubuklar olduğu belirtilmiştir (Logan ve De Vos, 2009). Bu genusdaki bakterilerin çoğunluğu balıklar için probiyotik özellik gösterirken; bazı suşlarının ise balıklarda patojen olduğu tespit edilmiştir. Goodwin ve diğ. (1994)'nin yaptığı çalışmada kanal yayın balıklarında *B. mycoides* patojen olarak bulunurken; Pychynski ve diğ. (1981)'nin yaptığı çalışmada *B. cereus* bakterisinin sazan balıklarında hastalığa neden olduğu belirtilmiştir. Ayrıca *B. thuringiensis* bakterisinin omurgasızlar için patojen olduğu bildirilmiştir (Logan ve De Vos, 2009). Orozova ve diğ. (2018)'nin sazan ve gökkuşığı alabalığı üzerine yaptıkları çalışmada *B. mycoides* ve *B. pseudomycoides* bakterilerinin gökkuşığı alabalığına karşı patojen olduklarını tespit etmiştir. Katı ve diğ. (2016)'nin yaptıkları çalışmada topraktan izole edilen *Bacillus* türleri arasında; *B. cereus*, *B. thuringiensis*, *B. megaterium*, *B. pumilus* ve *Bacillus* sp. bakterileri izole edilmiştir. Ancak *B. gibsonii*'nin balıklarda enfeksiyona neden olduğu ilk kez bu çalışmayla tespit edilmiştir.

Microbacteriaceae familyasına ait olan *Frigoribacterium* genusuna ait bakterilerin bir daha çok havadan ve topraktan izole edilen psikrofilik bir tür olduğu ileri sürülmüştür. Urtubia ve diğ. (2017)'nin Patagonya dişbalığında (*Dissostichus eleginoides*) yaptıkları çalışmada *Frigoribacterium* sp. balığın bağırsağından izole edile edilirken; Carbajal-Gonzalez ve diğ. (2011)'nin yaptığı çalışmada *Frigoribacterium* sp. sağlıklı gökkuşığı alabalığında izole edilmiştir. Bu çalışmadaki 1 adet izolatin biyokimyasal özellikleri ve 16S RNA dizi analizi sonucunda *Frigoribacterium faeni* olarak ilk kez hasta balıkların iç organlarında izole edilmiştir.

Yabuuchi ve diğ. (1990) tarafından Sphingomonadaceae familyasındaki *Sphingomonas* cinsinin türleriyle ilişkilendirilen eski adıyla *Pseudomonas echinoides*, yeni adıyla ise *Sphingomonas echinoides* hava, su, toprak gibi çeşitli çevresel kaynaklardan izole edilebilen bir bakteri türüdür (Takeuchi ve diğ., 2001). Özer ve diğ. (2008)'nin Mersin ilinde bulunan

gökkuşuğu alabalığı kuluçkahanelerinde yaptıkları çalışmada *Sphingomonas* cinsine ait olan *S. paucimobilis* bakterisi işletmedeki sudan izole edilmiştir. Bunların dışında yapılan araştırmalar sonucunda balıklarda gözlenmediği sonucuna varılmıştır. Bu bakteri izolatına yapılan biyokimyasal testlerde Gram-pozitif bir bakteri olarak görülse de moleküler düzeyde adlandırılması için PZR örneği Ankara'da bulunan ticari firmaya gönderilmiş olup daha sonra Blastlama yapılarak tür tayini yapılmıştır. Tür tayini sonucunda elde edilen bakteri ise Gram-negatif bir bakteri olan *Sphingomonas echinoides* olarak tanımlanmıştır.

PZR tekniği balık patojenlerinin moleküler düzeyde identifikasyonunda kullanılan yaygın bir tekniktir. PZR ile balıklarda hastalığa neden olan patojen bakterilerin tespiti ve yayılımı hakkında hızlı ve güvenilir bir şekilde bilgi alınabilmektedir (Türe ve Altınok, 2012; Altınok, 2011). PZR tekniğinde bir bölümü çoğaltılacak olan 16s rRNA geni bakterilerde ortak olarak bulunur (Woese ve diğ., 1985; Woese, 1987). Bu gen, genetik açıdan daha uzak mesafeli ilişkilerin ortaya çıkarılmasında büyük öneme sahiptir (Garrity ve Holt, 2001). Bu nedenle bakterilerde taksonomik amaçlar için en yaygın kullanılan bu gendir (Bottger, 1989, Kolbert ve Persing, 1999).

Su ürünlerinde balıkların büyümesinde, hastalıkların önlenmesinde ve su kalitesinin zenginleştirilmesinde *B. toyoi*, *B. megaterium*, *B. polymyxa*, *B. licheniformis* ve *B. circulans* gibi farklı *Bacillus* türleri probiyotik olarak kullanılmaktadır (Chang ve Liu, 2002; Raida ve diğ., 2003; Bairagi ve diğ. 2004; Tattersall-Sheldrake ve Miller, 2006) Bu çalışmada probiyotik olarak seçilen *B. subtilis* türünün *L. garvieae*, *B. gibsonii*, *F. faeni* ve *S. echinoides*'e karşı etkili olduğu görülürken; *C. freundii* ve *H. alvei* gibi bakterilere karşı etkisinin olmadığı görülmüştür.

Balık sağlığında *Lactobacillus* türlerini içeren laktik asit bakterileri de yaygın olarak kullanılmaktadır. *L. rhamnosus* pek çok tatlı ve deniz balıklarında görülen bakteriyel patojenlere karşı kullanılan bir probiyotik bakteridir (Gomez-Gil ve diğ., 2000; Ashraf, 2000; Katırcıoğlu, 2001). Bu çalışmada yurtdışından getirtilen *L. rhamnosus* suşunun hasta balıklardan izole edilen patojen bakterilere karşı probiyotik etkisinin varlığını araştırmak için *in-vitro* koşullarda gerçekleştirilen antagonistik etki çalışmaları yapılmıştır (Ringo ve Gatesoupe, 1998; Burr ve Gathlin 2005). Bu probiyotik bakterinin çalışmalar sonucunda bulunan patojen bakterilere karşı etkili olmadığı gözlemlenmiştir.

Sonuç olarak; bu çalışma ile yurdumuzdaki baraj göllerinde yetiştiriciliği yapılan gökkuşağı alabalıklarında karşılaşılan farklı bakteriyel hastalıkların identikasyonu yapılmış ve bu patojen bakterilerin neden olduğu hastalıkların tedavisinde antibiyotikler yerine *B. subtilis* gibi probiyotik bakterilerin kullanılabileceği görüşüne varılmıştır. Bu veriler doğrultusunda yurdumuzdaki gökkuşağı alabalığı yetiştiriciliği sektörünün gelişmesine katkı sağlanması yanı sıra bilinçsiz antibiyotik ve kimyasal maddelerin kullanımının nlenmesine bağlı olarak sucul ekosistemin korunması, kayıp ürün miktarının azaltılması ile üretimde artış ve kalitenin yükseltilmesine bağlı olarak sektör adına olumlu bir adım atılmasına katkıda bulunacağımızı düşünmekteyiz.



KAYNAKLAR

- Abd El-Rhman, A.M., Khattab, Y.A.E., Shalaby, A.M.E., 2009, *Micrococcus luteus* and *Pseudomonas* species as probiotics for promoting the growth performance and healthy of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, *Fish & Shellfish Immunology*, 27, 175-180.
- Abraham, W.R., Macedo, A.J., Lünsdorf, H., Fischer, R., Pawelczyk, s., Smit, J., Vancanneyt, M., 2008, Phylogeny by a polyphasic approach of the order *Caulobacterales*, proposal of *Caulobacter mirabilis* sp. nov., *Phenylobacterium haematophilum* sp. nov. and *Phenylobacterium conjunctum* sp. nov. and emendation of genus *Phenylobacterium*, *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 58, 1939-1949.
- Actis, L.A., Tolmasky, M.E., Crosa, J.H., 1999, *Vibriosis*, In: Woo, P.T.K., Bruno, D.W. (ed.), *Fish diseases and disorders*, vol. 3, CAB Intern, Publ., United Kingdom, 523-558.
- Adams, A., Aoki, T., Berthe, F.J., Grisez, L., Karunasagar, I., 2008, Recent technological advancements on aquatic animal health and their contributions toward reducing disease risks, *Diseases in Asian Aquaculture*, 71-88.
- Agouz, H.M., Anwer, W., 2011, Effect of biogen and myco-ad on the growth performance of common carp (*Cyprinus carpio*) fed a mycotoxin contaminated aquafeed, *Journal of Fisheries and Aquatic Science*, 6 (3), 334-345.
- Ağgön, E., 2016, *Ağ kafeslerde alabalık yetiştiriciliği (200 ton/yıl) proje tanıtım dosyası*, Erzurum ili Aziziye ilçesi Kuzgun Baraj Gölü.
- Akaylı, T., 2001, *Kültür çipura balıklarında (Sparus auratus, L. 1758) Vibriosis'in ELISA ve Bakteriyolojik yöntemlerle teşhisi*, Doktora Tezi, İ.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Akaylı T., Timur G., 2004, A diagnostic study on Vibriosis cultured gilt-head sea bream (*S.Aurata*) in The Aegean Sea coast farms of Turkey, *İstanbul Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Su Ürünleri Dergisi*, 43-54.
- Akaylı, T., Çanak, Ö., Başaran, B., 2011a, Gökkuşığı alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) görülen *Aeromonas schubertii* enfeksiyonu üzerine bir çalışma, *Biyoloji Bilimleri Araştırma Dergisi*, 4 (1), 99-106.
- Akaylı, T., Çanak, Ö., Başaran, B., 2011b, Yavru kültür gökkuşığı alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) görülen yeni bir *Pseudomonas* türü: *Pseudomonas Plecoglossicida*, *Biyoloji Bilimleri Araştırma Dergisi*, 4, 107-111,
- Akaylı, T., Ürkü, Ç., Çanak, Ö., 2013, Kültür gökkuşığı alabalıklar (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum 1792)'ndan izole edilen Gram-negatif bakterilerin antibiyotik duyarlılığı, *Biyoloji Bilimleri Araştırma Dergisi*, 6(2), 17-22.
- Akaylı, T., Aydın, S., Çanak, Ö., 2014, *Kültür gökkuşığı alabalıklarında (O. mykiss W. 1792) V. anguillarum teşhisi*, 5. Doğu Anadolu Bölgesi su ürünleri sempozyumu, 31 Mayıs - 2 Haziran 2014, Elazığ, 402-404.
- Akaylı, T., Çanak, Ö., Ürkü, Ç., 2015a, Kültür gökkuşığı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) ndan izole edilen Gram-negatif patojenlerin lipopolisakarit profilleri, *Journal of Aquaculture Engineering and Fisheries Research*, 1(2), 80-89.

- Akaylı, T., Erkan, M., Yardımcı, R.E., Çanak, Ö., Ürkü, Ç., 2015b, Interaction of gut flora and bacterial pathogens of cultured common dentex (*Dentex dentex*), *The Israeli Journal of Aquaculture*, vol.67, 1-6.
- Akaylı, T., Ürkü, Ç., Çanak, Ö., Sönmez, E., Erk, M.H., 2016, *Micrococcus luteus*' un bazı Gram-pozitif balık patojenlerine karşı etkisinin araştırılması, *Kocatepe Veterinary Journal*, 9 (2), 74-79.
- Akbulut, B., Kurtoğlu, İ.Z., Üstündağ, E., Aksungur, M., 2009, Karadeniz Bölgesi'nde balık yetiştiriciliğinin tarihsel gelişimi ve gelecek projeksiyonu, *Journal of fisheriescience.com*, 3 (2), 76-85.
- Akgün, H., 2005, *Atatürk Baraj Gölü'nde su ürünleri potansiyelinin değerlendirilmesi açısından kafeslerde gökkuşağı alabalığı (Oncorhynchus mykiss, W. 1792) yetiştiriciliği*, Tarım Bakanlığı Şanlıurfa Tarım İl Müdürlüğü Kontrol Şubesi.
- Aksoy, Ş., 2009, *Bir gökkuşağı alabalığı (Oncorhynchus mykiss) üretim tesisinde (Elazığ) görülen motil Aeromonas septisemi*, XV. Ulusal su ürünleri sempozyumu, 01-04 Temmuz, Rize.
- Akşit, D., Kum, C., 2008, Gökkuşağı alabalıkları (*Oncorhynchus mykiss*, W. 1792)nda sık görülen patojen mikroorganizmaların tespiti ve antibiyotik duyarlılık düzeylerinin belirlenmesi, *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi*, 19 (1), 1-7.
- Akyurt, İ., Aras, S., 1991, Tortum Gölü'nde kafeslerde alabalık yetiştiriciliği, *Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi*, 8, 31-32, 58-70.
- Alak, G., Atamanalp, M., 2012, Su ürünleri yetiştiriciliğinde probiyotik ve prebiyotik kullanımı, *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 22 (1), 62-68.
- Alpbaz, A., 2005, *Su ürünleri yetiştiriciliği*, Alp Yayınları, İzmir, 975-97056-1-3.
- Altınok, I., Balta, F., Capkin, E., Kayis, S., 2007, Disease of rainbow trout caused by *Pseudomonas luteola*, *Aquaculture*, 273, 393-397.
- Altınok, İ., 2011, Multiplex PCR assay for detection of four major bacterial pathogens causing rainbow trout disease, *Diseases of Aquatic Organisms*, 983, 199-206.
- Altun, S., Diler, Ö., 1999, *Yersinia ruckeri* ile infekte edilmiş gökkuşağı alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) hematolojik incelemeler, *Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 23, 301-309.
- Altun, S., 2001, *Yersinia ruckeri* suşlarının bazı antijenik ve fenotipik özelliklerinin incelenmesi. Doktora Tezi. Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Altun, S., Kubilay, A., Diler, Ö., 2010, *Yersinia ruckeri* suşlarının fenotipik ve serolojik özelliklerinin incelenmesi, *Kafkas Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi*, 16, 223-229.
- Altunay, Ş., Yavucan Yıldız, H., 2008, Kesikköprü Baraj Gölü'nde bir kafes işletmesinde yetiştirilen gökkuşağı alabalıklarının (*Oncorhynchus mykiss*) ektoparazitolojik olarak incelenmesi, *Tarım Bilimleri Dergisi*, 14 (2), 154-162.
- Anderson, D.P., 1974, *Fish Immunology*, T.F.H. Publications Inc. Ltd., 0-87666036-7.

- Arda M., Seçer, S., Sarıeyüpoğlu, M., 2002, *Balık Hastalıkları*, Medisan yayın serisi:56, Ankara
- Ashraf, A., 2000, *Probiotics in fish farming-evaluation of a candidate bacterial mixture*, Licentiate thesis, Umea.
- Atay, D., 1987, *İçsu Balıkları Üretim Tekniği*, Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Yayınları: 1035, Ders Kitabı. 300.
- Austin, B., Bishop, I., Gray, C., Watt, B., Dawes, J., 1986, Monoclonal antibody-based enzyme linked immunosorbent assays for the rapid diagnosis of clinical cases of enteric redmouth and furunculosis in fish farms, *Journal of Fish Diseases*, 9, 469–474.
- Austin, B., Stuckey, L.F., Robertson, P.A.W., Effendi, I., Griffith, D.R.W. 1995, A probiotic strain of *Vibrio alginolyticus* effective in reducing diseases caused by *Aeromonas hydrophila*, *Vibrio anguillarum* and *Vibrio ordalii*, *Journal of Fish Diseases*, 18, 93-96.
- Austin, B., Austin, D. A., 2016, *Bacterial Fish Pathogens, diseases of farmed and wild fish*, 6th edition, Springer Publishing, Dordrecht, 978-3-319-32674-0.
- Avcı, H., 2009, *Vibrio anguillarum ile enfekte edilen gökkuşacağı alabalıklarında (Oncorhynchus mykiss, 1792) morfolojik ve immunohistokimyasal incelemeler*, Doktora Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi.
- Ayaz, A. 2006, *Dominant aerobic bacterial intestinal flora of sea bass (Dicentrarchus labrax, L., 1758) larvae in culture conditions*. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi.
- Aydın, S., Gültepe, N., Çiltaş, A., 2005, Çanakkale ilindeki bir gökkuşacağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) işletmesinde *Pseudomonas* sp. enfeksiyonu, *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 36 (1), 39-43.
- Aydın, O., Sayılı, M., 2009, Samsun ilinde alabalık işletmelerinin yapısal ve ekonomik analizi, *Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 26 (2), 97-107.
- Aydoğan, A., Metin, N., 2006, *Aeromonas salmonicida* ile enfekte edilen gökkuşacağı alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) patolojik bulguların İncelenmesi, Kongre özet kitabı, III. Ulusal Veteriner Patoloji Kongresi (Uluslararası katılımlı), 06-09 Eylül 2006, Elâzığ.
- Bairagi, A., Sarkar Ghosh, K., Sen, S.K., Ray, A.K., 2004, Evaluation of the nutritive value of *Leucaena leucocephala* leaf meal, inoculated with fish intestinal bacteria *Bacillus subtilis* and *Bacillus circulans* in formulated diets for rohu, *Labeo rohita* (Hamilton) fingerlings, *Aquaculture research*, 35, 436-446.
- Balcazar, J.L., Blas, I., Ruiz-Zarzuela, I., Cunningham, D., Vendrell, D., Muzquiz, J.L., 2006, The role of probiotics in aquaculture, *Veterinary microbiology*, 114, 173-186.
- Barnes, A.C., Guyot, C., Hansen, B.G., Horne, M.T, Ellis, A.E., 2002, Antibody increases phagocytosis and killing of *Lactococcus garvieae* by rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, L.) macrophages. *Fish & shellfish immunology*, 12, 181–186.
- Balta, F., Balta, Z.D., Özgümüş, O.B., Çağırğan, H., 2016, Doğu Karadeniz Bölgesi'ndeki gökkuşacağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) çiftliklerinde *Yersinia ruckeri*'nin portörlük yönünden tetkiki ve antimikrobiyal direncin tespiti, *Journal of Anatolian Environmental and Animal Sciences*, 3, 72-76.

- Barnabe, G., 1994, *Aquaculture biology and ecology of cultured species*, Ellis Horwood Limited, Hertfordshire, ISBN 0-203-16883-6.
- Bernardet, J.F., Segers, P., Vancanneyt, M., Berthe, F., Kersters, K., Vandamme, P., 1996, Cutting gordian knot: emended classification and description of the genus *Flavobacterium*, emended description of the family *Flavobacteriaceae* and proposal of *Flavobacterium hydatis* nom. nov. (Basonym, *Cytophaga aquatilis* Strohl and Tail 1978), *International Journal of Systematic Bacteriology*, 46 (1), 128-148.
- Bhunia, A.K., Johnson, M.C., Ray, B., 1988, Purification, characterization and antimicrobial spectrum of bacteriocin produced by *Pediococcus acidilactici*, *Journal of Applied Bacteriology*, 65, 261-268.
- Borchert, M.S., Nielsen, P., Graeber, I., Kaesler, I., Szewzyk, U., Pape, T., Antranikian, G., 2007, *Bacillus plakortidis* sp. nov. and *Bacillus murimartini* sp. nov., novel alkalitolerant members of rRNA group 6, *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 57, 2888-2893.
- Bottger, E.C., 1989, Rapid determination of bacterial ribosomal RNA sequences by direct sequencing of enzymatically amplified DNA, *FEMS Microbiology Letters*, 65, 171-176.
- Boyacıoğlu, M., 2007, *Gökkuşluğu alabalıklarında (Oncorhynchus Mykiss) RTFS'ye (Rainbow trout fry syndrome) neden olan Flavobacterium psychrophilum etkeninin izolasyonu ve antibakteriyel sağaltım seçeneğinin belirlenmesi*, Doktora Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Bulduklu, P., Özer, S., 2007, Mersin' de tüketime sunulan gökkuşluğu alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) motil *Aeromonas* ların araştırılması ve mezofilik aerobik bakteri sayımı, *Ege Üniversitesi Journal of Fisheries*, 24, (1-2), 97-102.
- Buller, N., 2004, *Bacteria from Fish and other Aquatic Animals: a practical identification manual*. CABI Publishing, Oxford, U.K., 085199-738-4.
- Burr, G, Gathlin, D., 2005, Microbial ecology of the gastrointestinal tract of fish and the potential application of prebiotics and probiotics in finfish aquaculture, *Journal of the World Aquaculture Society*, 36, 425- 436.
- Cai Y., Yang J., Pang H., Kitahara M., 2011. *Lactococcus fujiensis* sp. nov, a lactic acid bacterium isolated from vegetable matter, *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 61, 1590-1594.
- Candan, A., Karataş, 2010, *Balık sağlığı*, Kamlak Ofset, İstanbul, 978-605-88665-0-8.
- Carbajal-Gonzalez, M.T., Fregeneda-Grandes, J.M., Suarez-Ramos, S., Cadenas, F.R., Aller-Gancedo, J.M., 2011, Bacterial skin flora variatiton and in-vitro inhibitory activity against *Saprolegnia parasitica* in brown and rainbow trout, *Diseases of Aquatic Organisms*, 96, 125-135.
- Carnevali, O, Zamponi, M.C., Sulpizio, R., Rollo, A., Nardi, M., Orpianesi, C., Silvi, S., Caggiano, M., Polzonetti, A.M., Cresci, A., 2004, Administration of a probiotic strain to improve sea bream wellness during development. *Aquaculture International*, 12, 377-386.
- Castex, M., Chim, L., Pham, D., Lemaire, P., Wabete, N., Nicolas, J.L., Schmidely, P., Ma riojouis, C., 2008, Probiotic *P. acidilactici* application in shrimp *Litopenaeus stylirostris* culture subject to vibriosis in New Caledonia, *Aquaculture*, 275, 182 193.

- Ceylan, M., Altun, S., 2010, *Vibrio anguillarum* ile infekte edilmiş gökkuşuğu alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) hematolojik incelemeler, *Uludağ Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi*, 29 (2), 35-42.
- Chang, C.I., Liu, W.Y., 2002, An evaluation of two probiotic bacterial strains, *Enterococcus faecium* SF68 and *Bacillus toyoi*, for reducing edwardsiellosis in cultured european eel (*Anguilla Anguilla*), *Journal of Fish Disaeses*, 25, 311-315.
- Chantharasophon, K., Warong, T., Mapatsa, P., Leelavatcharamas, V., 2011, High potential probiotic *Bacillus* species from gastrointestinal tract of nile tilapia (*Oreochromis niloticus*), *Biotechnology*, 6, 498-505.
- Chen, W.M., Li, Y.S., Sheu, S.Y., 2016, *Sphingomonas piscinae* sp. nov., isolated from a fish pond, *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 66, 5301-5308.
- Cipriano, R.C., Holt, R.A., 2005, *Flavobacterium psychrophilum*, cause of bacterial cold-water disease and rainbow trout fry syndrome, *United States Department of the interior, U.S. geological service, National fish health research laboratory, Fish Disease Leaflet No. 86*.
- Cosnrini-Qunier, M., 1985, Indirect enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) to titrate rainbow trout serum antibodies against two pathogen: *Yersinia ruckeri* and Egtved virus, *Aquaculture*, 49, 197-208.
- Cutting, S.M., 2011, *Bacillus* probiotics, *Food Microbiology*, 28, 214-220.
- Çağltay, F., 2007, *İç su balıkları yetiştiriciliği*, Nobel, Yayın No: 1217, Ankara, 978-605-011-0.
- Çanak, Ö., 2011, *Kültür çipura (Sparus aurata, L. 1758) balıklarından izole edilen bazı patojen bakterilerin protein profillerinin tespiti*, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Çanak Ö., Akayli T., 2018, Bacteria recovered from cultured gilt-head seabream (*Sparus aurata*) and their antimicrobial susceptibilities, *European Journal of Biology*, 77,11-17.
- Çapkın, E., Altınok, I., 2009, Effects of dietary probiotic supplementations on prevention/treatment of Yersiniosis disease, *Journal of Applied Microbiology*, 106, 1147-1153.
- Çelikkale, M.S., Atay, D., Büyükhatoğlu, Ş., 1981, Effect of different stocking densities on growth and food conversion rates of rainbow trout in cage in Konuklar Beşgöz Lakes, *Doğa Bilim Dergisi*, 5, 147-157.
- Çelikkale, M.S., Düzgüneş, E., Okumuş, İ., 1999, *Türkiye su ürünleri sektörü, potansiyeli, mevcut durumu, sorunları ve çözüm önerileri*, İstanbul Ticaret Odası, İstanbul Yayın No:1999-2, 414s.
- Çenit, M., 2015, *Ticari probiyotiğin, lepistes balığında (Poecilia reticulata) büyüme ve üreme performansı üzerine etkileri*, Yüksek lisans tezi, Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Çotuk, A., 2003, *Genel Mikrobiyoloji Laboratuvar Yöntemleri*, İstanbul, Nobel Tıp Kitabevleri.
- Dağtekin, M., Ak, O., 2007, *Doğu Karadeniz Bölgesi'nde su ürünleri tüketimi, ihracat ve ithalat potansiyeli*, SÜMAE yunus araştırma bülteni, 7, 3.

- Das, B.K., Neha Nidhi, R.G., Roy, P., Muduli, A.K., Swain, P., Mishra, S.S., Jayasankar, P., 2014, Antagonistic activity of cellular components of *Bacillus subtilis* AN11 against bacterial pathogens, *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 3 (5), 795-809.
- Deibel, R.M., Seeley, H.W., 2009, *Streptococcaceae*, Bergey's Manual of Determinative Bacteriology In: Buchanan, Gibbons (ed.), 8th edn. The Williams & Wilkins Co., Baltimore, 490-509.
- Delen, D., 2007, *Deneyisel olarak enfekte edilen Gökkuşluğu Alabalığı (Oncorhynchus mykiss)'nda Flavobacterium psychrophilum'un Floresan Antikor Teknikleri ile saptanması üzerine bir araştırma*, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Denner, E.B.M., Kampfer, P., Busse, H.J., Moore, E.R.B., 1999, Reclassification of *Pseudomonas echinoides* Heumann 1962, 343^{AL}, in the genus *Sphingomonas* as *Sphingomonas echinoides* comb. nov., *International Journal of Systematic Bacteriology*, 49, 1103-1109.
- Didinen, B.I., Metin, S., Çaylı, Ö., Ersoy, A.T., 2013, Screening for candidate probiotic bacteria for the control of *Vibrio anguillarum* in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, W.), *Journal of Fisheries Sciences*, 7 (4), 317-322.
- Didinen, B.I., Yardımcı, B., Onuk, E.E., Metin, S., Yıldırım, P., 2014, Naturally *Lactococcus garvieae* infection in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792): new histopathological observations, phenotypic and molecular identification. *Revue de Medecine Veterinaire*, 165, 12-19.
- Domenech A., Ferná'ndez Garayza 'bal J.F., Pascual C., Garcia J.A., Cutuli M.T., Moreno M.A., Collins M.D., Dominguez L., 1996, *Streptococcosis* in cultured turbot, *Scophthalmus maximus* (L.), associated with *Streptococcus parauberis*, *Journal Fish Disease*, 19 (1), 33-38.
- Don, J.B., Farmer III, J.J., 2009, *Enterobacteriaceae*, Bergey's manual of systematics bacteriology, In: Garrity, G.M. (ed.), Chapter 2, Springer Dordrecht Heidelberg London New York, 587-848.
- Durmaz, Y., Türk, N., 2009, Alabalık işletmelerinde motil *Aeromonas* ların izolasyonu ve antibiyotiklere duyarlılıklarının saptanması, *Kafkas Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi*, 15 (3), 357-361.
- Durmaz, Y., Onuk, E.E., Çiftçi, A., 2012, Investigation of the presence and antibiotic susceptibilities of *Flavobacterium psychrophilum* in rainbow trout farms (*Oncorhynchus mykiss* W., 1792) in The Middle and Eastern Black Sea regions of Turkey, *Ankara Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi*, 59, 141-146.
- Durmaz, Y., Kılıçoğlu, Y., 2015, Bir alabalık çiftliğinde doğal enfekte gökkuşluğu alabalıklarından (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) *Lactococcus garvieae'* nin kültür ve PCR ile saptanması ve etkenin antibiyotik duyarlılık profillerinin belirlenmesi, *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*, 10 (2), 109-115.
- Ekici, S., Diler, Ö., Altun, S., 2005, *Kültürü yapılan balıklarda görülen Vibriosis enfeksiyonları*, XIII Ulusal Su Ürünleri Sempozyumu. 01-04 Eylül, Çanakkale.
- Emre, Y., Kürüm, V., 1990, *Havuz ve kafeslerde alabalık yetiştiriciliği teknikleri*, Minpa matbaacılık, Ankara.
- Emre, Y. 2004, *Alabalık yetiştiriciliği*, <http://www.gap.gov.tr/>, [Ziyaret tarihi: 11 Kasım 2018].

- Emre, Y., Okumuş, İ., Maltaş, Ö., 2007, *Trout farming*, Marine aquaculture in Turkey, TUDAV, İstanbul, Sayfa 21-31, 978-975-8825-18-9.
- Ewing, W.H., Davis, B.R., 1972, Biochemical characterization of *Citrobacter diversus* (Burkey) Werkman and Gillen and designation of the neotype strain, *International Journal of Systematic Bacteriology*, 12-18.
- FAO, 2018, Cultured aquatic species information programme, *Oncorhynchus mykiss*, http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Oncorhynchus_mykiss/en, [Ziyaret tarihi: 18 Kasım 2018].
- Frerichs, G.N., Roberts, R. J., 1989, *The bacteriology of teleosts*, In: Roberts, J. R., (ed.), Fish Pathology 2nd edition, Bailliere Tindall, Toronto, Kanada.
- Froese, R. and Pauly, D., 2019, *FishBase Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792), <http://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=127185>, [Ziyaret tarihi: 1 Şubat 2019].
- Fuller, R., 1989, Probiotics in man and animals, *Journal of Applied Bacteriology*, 66, 365-378.
- Garrity, G.M., Holt, J.G., 2001, *The road map to the manual*, Bergey's manual of systematic bacteriology, In G. M. Garrity (ed), Springer-Verlag, New York, N.Y, 119–166.
- Garcia de la Banda, I., Chereguini, O., Rasines, I., 1992. Influencia de la adición de bacteria lácticas en el cultivo larvario del rodoballo (*Scophthalmus maximus*), *Boletim do Instituto Oceanográfico*, 8, 247-254
- Gatesoupe, F.J., 1991, The effect of three strains of lactic bacteria on the production rate of rotifers, *Brachionus plicatilis*, and their dietary value for larval turbot, *Scophthalmus maximus*, *Aquaculture*, 96. 335-342.
- Gatesoupe, F.J., 1994, Lactic acid bacteria the resistance of turbot larvae *Scophthalmus maximus* against pathogenic *Vibrio*, *Aquatic Living Resources*, 7, 277-282.
- Gatesoupe, F.J., 1999, The use of probiotics in aquaculture, *Aquaculture*, 180, 147-165.
- Gelev, I., Gelev, E., Steigerwalt, A.G., Carter, G.P., Brenner, D.J., 1990, Identification of the bacterium associated with haemorrhagic septicaemia in rainbow trout as *Hafnia alvei*, *Research in Microbiology*, 141, 573-576.
- Ghosh, K., Sen, S.K., Ray, A.K., 2004, Growth and survival of rohu *Labeo rohita* (Hamilton) spawn fed diets fermented with intestinal bacterium, *Bacillus circulans*, *Acta ichthyol piscat*, 34, 155-165.
- Gibson, L.F., Woodworth, J., George, A.M., 1998, Probiotic activity of *Aeromonas media* on the pacific oyster, *Crassostrea gigas*, when challenged with *Vibrio tubiashii*, *Aquaculture*, 169, 111-120.
- Gildberg, A., Johansen, A., Bogwald, J., 1995, Growth and survival of atlantic salmon (*S. salar*) fry given diets supplemented with fish protein hydrolysate and lactic acid bacteria during a challenge trial with *A. salmonicida*, *Aquaculture*, 138, 23-34.
- Gildberg, A., Mikkelsen, H., Sandaker, E., Ringsø, E., 1997, Probiotic effect of lactic acid bacteria in the feed on growth and survival of fry of Atlantic cod (*Gadus morhua*), *Hydrobiologia*, 352, 279–285.

- Gildberg, A., H. Mikkelsen. 1998, Effects of supplementing the feed to Atlantic cod (*Gadus morhua*) fry with lactic acid bacteria and immuno-stimulating peptides during a challenge trial with *Vibrio anguillarum*, *Aquaculture*, 167, 103-113.
- Giorgetti, G., Ceschia, G., 1982, *Vibriosis* in rainbow trout (*Salmo gairdneri*, Richardson) in fresh water in North-eastern Italy, *Journal of Fish Diseases*, 5,125-130.
- Gomez-Gil, B., Roque, A., Turnbull, J.F., 2000, The use and selection of probiotic bacteria for use in the culture of larval aquatic organisms, *Aquaculture*, 191, 259-270.
- Goodwin, A.E., Roy, J.S., Grizzle, J.M., Goldsby, M.T., 1994, *Bacillus mycoides*: a bacterial pathogen of channel catfish, *Diseases of Aquatic Organisms*, 18, 173-179.
- Gram, L., Mechiorson, J., Spanggaard, B., Huber, I., Nielsen, T., 1999, Inhibition of *Vibrio anguillarum* by *Pseudomonas fluorescens* strain AH2, a possible probiotic treatment of fish, *Applied and Environmental Microbiology*, 65, 969-973.
- Haddadin, M.S.Y., Abdulrahim, S.M., Hashlamoun Robinson, R.K., 1996, The effect of *Lactobasillus acidophilus* on the production and chemical composition of Hen's eggs. *Poultry science*, 75,491-494.
- Hall, T.A., 1999, BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT, *Nucleic Acids Symposium Series*, 95-98.
- Heumann, W., 1960, Versuche zur rekombination sternbildender bakterien, *Naturwissenschaften*, 47, 330-331.
- Hjelm, M., Bergh, Ø., Riaza, A., Nielsen, J., Melchiorson, J., Jensen, S., Duncan, H., Ahrens, P., Birkbeck, H., Gram, L., 2004, Selection and identification of autochthonous potential probiotic bacteria from turbot larvae (*Scophthalmus maximus*) rearing units, *Systematic and Applied Microbiology*, 27, 360-371
- Hossain, M.M.M., Kawai, K., 2009, Stability of effective *Edwardsiella tarda* vaccine developed for japanese eel (*Anguilla japonica*), *Journal of Fisheries and Aquatic Science*, 4(6), 296-305.
- Irianto, A., Austin, B., 2002a, Use of probiotics to control furunculosis in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaurm), *Journal of Fish Diseases*, 25, 333-342.
- Irianto, A., Austin, B., 2002b, Probiotics in aquaculture. *Journal of Fish Diseases*, 25, 633-642.
- İspir, Ü., Şeker, E., Sağlam, N., Dörücü, M., 2004, Doğu Anadolu Bölgesi'nde bazı gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) işletmelerinde görülen *Flavobacterium psychrophilum* enfeksiyonunun araştırılması, *Fırat Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 16 (4), 718-724.
- Janda, M.J., Abbott, S.L., Cheung, W.K.W., Hanson, D.F., 1994, Biochemical identification of *Citrobacteria* in the clinical laboratory. *Journal of Clinical Microbiology*, 1850-1854.
- Joborn, A., Olsson, J.C., Westerdahl, A., Conway, P.L., Kjelleberg, S., 1997, Colonization in the fish intestinal tract and production of inhibitory substances in intestinal mucus and faecal extracts by *Carnobacterium* sp. strain K1, *Journal of Fish Diseases*, 20, 383-392.
- Kampfer, P., Rainey, F.A., Andersson, M.A., Nurmiäho Lassila, E.-L., Ulrych, U., Busse, H.- J., Weiss, N., Mikkola, R., Salkinoja-Salonen, M., 2000, *Frigoribacterium faeni* gen. nov., so. nov.,

a novel psychrophilic genus of the family *Microbacteriaceae*, *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 50, 355-363.

- Kan, N.İ., Sarıeyyüpoğlu, M., 2008, Elâzığ şehir kanalizasyonunun Keban Baraj Gölü'ne döküldüğü bölgeden yakalanan balıklarda Streptokokus'ların araştırılması, *Fırat Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 20 (2), 271-277.
- Karatas S.D., Ercan, Steinum, T.M., Turgay, E., Memis, D., Candan, A., 2010, First isolation of a *Flavobacterium johnsoniae* like bacteria from cultured Russian sturgeon in Turkey, *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 9 (14), 1943-1946.
- Katı, H., Karaca, B., Gülşen, Ş.H., 2016, Toprakta izole edilen *Bacillus* türlerinin tanımlanması ve biyolojik özelliklerinin araştırılması, *SAÜ Fen Bilimleri Dergisi*, 20 (2), 281-290.
- Katırcıoğlu, H., 2001, *Gökkuşığı alabalığı ve aynalı sazandan izole edilen laktik asit bakterilerinin metabolik ve antimikrobiyal aktivitelerinin incelenmesi*, Doktora tezi, Gazi Üniversitesi, Ankara
- Kav, K., Erganiş, O., 2007, Konya bölgesinde bulunan gökkuşığı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) çiftliklerinden *Lactococcus garvieae* izolasyonu, identifikasyonu ve fenotipik özelliklerinin belirlenmesi, *Veteriner Bilimleri Dergisi*, 23 (1), 7-17.
- Kayış, Ş., 2009, *Trabzon ve Rize illerinde bulunan bazı alabalık işletmelerinde görülen bakteriyel hastalıkların tespiti ve bazı etkenlerinin çoklu PCR ile teşhisi*, Doktora Tezi. Karadeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Kayış, Ş., Çapkın, E., Balta, F., Altınok, İ., 2009, Bacteria in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in the Southern Black Sea region of Turkey, *The Israeli Journal of Aquaculture*, 61(4), 339-344.
- Kılıç, A., Şeker, E., Özcan, M., İspir, Ü., 2007, Elazığ'daki gökkuşığı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) işletmelerinin bakteriyel yönden incelenmesi, *Fırat Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 19 (2), 129-132.
- Kılıç, İ. H., 2012, Serolojik Tanı Yöntemleri, <http://www1.gantep.edu.tr/~ikilic/wp-content/uploads/2012/12/6imnl.pptx>.
- Kırkan, Ş., Göksoy, E. Ö., Kaya, O., 2000, *The isolation of Yersinia ruckeri from rainbow trouts in Aydin region*, *Journal of Pendik Veterinary Microbiology*, 31, 27-30
- Kırkan, Ş., Göksoy, E.Ö., Kaya, O., 2003, Isolation and antimicrobial susceptibility of *Aeromonas salmonicida* in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Turkey hatchery farms, *Journal of Veterinary Medicine, series B.*, 50, 339-342.
- Kolbert, C.P., Persing, D.H., 1999, Ribosomal DNA sequencing as a tool for identification of bacterial pathogens, *Current Opinion Microbiology*, 2, 299-305.
- Korun, J., Timur, G., 2001, Gökkuşığı alabalıklarında (*O. mykiss*) fry mortalite sendromu (FMS) üzerinde bir çalışma, *İstanbul University Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 12, 15-30.
- Korun, J., Toprak, B., 2007, Japon (*Carassius auratus*) balıklarından izole ve tanımlanmış *Aeromonas hydrophila*, *A. caviae* ve *A. sobria* türlerinin antibiyotik hassasiyetleri, hemolitik aktiviteleri ve siderofor üretimleri üzerine bir çalışma, *Türk Sucul Yaşam Dergisi*, 5-8, 776-782.
- Korun, J., Timur, G., 2008, Marine vibrios associated with diseased sea bass (*Dicentrarchus labrax*) in Turkey, *Journal of fisheriessciences.com*, 2 (1), 66-76.

- Ksuda, R., Salati, F., 1999, *Enterococcus seriolicida* and *Streptococcus iniae*, Fish diseases and disorders, In: Woo P.T.K, Bruno, D.W. (ed.), Vol:3, CABI Publishin, 303-317.
- Kubilay, A., Timur, G., 2001, *Yersinia ruckeri* bakterisi ile immunize edilen gökkuşuğu alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) antikor üretiminin IFAT ve ELISA teknikleri ile saptanması, *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 25, 437-445.
- Kubilay, A., Altun, S., Didinen, B.I., Ekici, S., Diler, Ö., 2009, Gökkuşuğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) işletmelerinde *Flavobacterium psychrophilum* izalasyonu, *Kafkas Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi*, 15 (5), 709-715.
- Lane, D. J., 1991, *16S/23S rRNA sequencing*, Nucleic acid techniques in bacterial systematics, In E. Stackebrandt, & M. Goodfellow (eds.), Chichester: John Wiley & Sons, 115-148.
- Larkin, M.A., Blackshields, G., Brown, N., Chenna, R., Mcgettigan, P.A., Mcwilliam, H., Valentin, F., Wallace, I.M., Wilm, A., Lopez, R., 2007, Clustal W and Clustal X version 2.0, *Bioinformatics*, 23, 2947-2948.
- Lategan, M.J., Booth, W., Shimmon, R., Gibson, L.F., 2006, An inhibitory substance produced by *Aeromonas media* A199, an aquatic probiotic, *Aquaculture*, 254, 115-124.
- Li, Z., Bai, Z., Zhang, B., Xie, H., Hu, Q., Hao, C., Xue, W., Zhang, H., 2005, Newly isolated *Bacillus gibsonii* S-2 capable of using sugar beet pulp for alkaline pectinase productini, *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 21, 1483-1486.
- Logan, N.A., De Vos, P., 2009, *Bacillus*, Bergey's manual of systematics bacteriology, In: Parte, A.C. (ed.), Chapter 3, Springer Dordrecht Heidelberg London New York, 21-128.
- Lorenzen, E., Karas, N., 1992, Detection of *Flexibacter psychrophilus* by immunofluorescence in fish suffering from fry mortalite syndrome: a rapid diagnostic method, *Diseases of Aquatic Organisms*, 13, 231-234.
- McCarthy D.H., Stevenson J.P., Roberts M.S., 1974, Vibriosis in rainbow trout, *Journal of Wildlife Diseases*, 10, 2-7.
- Mefut, A. Y., Emre, Y., Diler, Ö., Altun, S., İnce, İ., 2007, Akdeniz bölgesindeki bazı gökkuşuğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) işletmelerinde bakteriyel balık patojenlerinin tespiti ve kontrolü, *Türk Sucul Yaşam Dergisi*, 5 (8), 9-18.
- Merrifield, D.L., Dimitroglou, A., Foey, A., Davies, S.J., Baker, R.T.M., Bogwald, J., Castex, M., Ringo, E., 2010, The current status and future focus of probiotic and prebiotic applications for salmonids, *Aquaculture*, 302,1-18.
- Muroga, K., Nakajima, K., 1981, Red spot disease of cultured eel-method for artifical infection, *Fish Pathology*, 15, 315-318.
- Muz, A., Sarıeyyüpoğlu, M., Ertaş, H.B., Şimşek, A., 1995, Keban Baraj Gölü'nden yakalanan bazı balıkların serobik ve mikroaerofilik bakteriler yönünden incelenmesi, *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 9(2), 212-219.
- Nielsen, P., Fritze, D., Priest, F.G., 1995, Phenetic diversity of alkaliphilic *Bacillus* strains: proposal for nine new species, *Microbiology*, 141, 1745-1761.

- Nikoskelainen, S., Salminen, S., Bylund, G., Ouwehand, A.C., 2001, Characterization of the properties of human- and dairy- derived probiotics for prevention of infectious diseases in fish, *Applied and Environmental Microbiology*, 2430-2435.
- Noguerola, I., Blanch, A.R., 2008, Identification of *Vibrio* spp. with a set of dichotomus keys, *Journal of Applied Microbiology*, 105 (1), 175-185.
- Odumaki, T., Yonezawa, S., Kitahara, M., Sugahara, Y., Xiao, J.Z., Yaeshima, T., Iwatsuki, K., Ohkuma, M., 2011, Novel multiplex polymerase chain reaction primer set for identification of *Lactococcus* species, *Letters in Applied Microbiology*, (52); 491-496.
- Okumuş, İ., Deniz, H., 2007, *Past, present and future of the marine aquaculture*, Marine aquaculture in Turkey, TUDAV, İstanbul, Sayfa 1-10, 978-975-8825-18-9.
- Orozova, P., Sirakov, I., Austin, D.A., Austin, B., 2018, Recovery of *Bacillus mycodes*, *Bacillus pseudomycoides* and *Aeromonas hydrophila* from common carp (*Cyprinus carpio*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) with gill disease, *Journal Fish Disease*, 41,125-129.
- Öz, Ü., 2004, Denizsuyunda ve tatlısuda ağ kafeslerde yetiştirilen gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss* W., 1792)'nın gelişme farklılıklarının karşılaştırılması, *Fırat Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 16 (2), 347-356.
- Özdemir, Y., Keleştemur, G.T., 2009, Balık beslemede yem katkı maddesi olarak probiyotik kullanımının avantajları, *E-journal of New World Sciences Academy Ecological Life Science*, 4 (1), 6-11.
- Özer S., Bulduklu P., S., Dönmez E., 2008, Mersin ilinde yetiştiriciliği yapılan gökkuşağı alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) Streptokokkozis varlığı, *Journal of fisheriessciences.com*, 2 (3), 272-283.
- Özkök, S. 2005, Gökkuşağı alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) görülen önemli bakteriyel etkenlerin tespiti ve antibiyotiklere duyarlılıklarının saptanması, *Etilik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi*, 16 (1-2),1-11.
- Öztürk, Y.F., 2007, *Levrek balıklarında (Dicentrarchus labrax) probiyotik olarak Lactobacillus rhamnosus kullanılmasının performans üzerine etkisi*, Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Park, Y.H., Suzuki, K.I., Yim, D.G., Lee, K.C., Kim, E., Yoon, J., Kim, S., Kho, Y., Goodfellow, M., Komagata, K., 1993, Suprageneric classification of peptidoglycan group B actinomycetes by nucleotide sequencing of 5S ribosomal RNA, *Antonie van Leeuwenhoek*, 64, 307-313.
- Pavlidis, M.A., Mylonas, C.C., 2011, *Sparidae: biology and aquaculture of gilthead sea bream and other species*, Chichester, ISBN: 978-1-4051-9772-4.
- Prosyanyaya, V.V., 1981, *Some pathogenic bacteria of freshwater fishes*, Fish pathogens and environment in European polyculture, In: J. Olah, K. Molnar and Z. Jeney (ed.), Szarvas, Hungary, 82-94.
- Pulatsü, S., Kaya, D., 2016, *Su ürünleri yetiştiriciliğinde balık beslemenin çevresel boyutu*, Türkiye klinikleri animal nutrition and nutritional diseases-special topics, 2(1), 33-41.
- Pychynski, T., Malanowska, T., Kozłowski, M., 1981, Bacterial flora in branchionecrosis of carp (particularly *Bacillus cereus* and *Bacillus subtilis*), *Medycyna weterynaryjna*, 37, 742-743

- Queiroz, F., Boyd, C., 1998, Effects of a bacterial inoculum in channel catfish ponds, *Journal of the World Aquaculture Society*, 29, 67-73.
- Raida, M.K., J.L. Larsen, M.E., Nielsen, K., Buchmann, 2003, Enhanced resistance of rainbow trout, (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum), against *Yersinia ruckeri* challenge following oral administration of *Bacillus subtilis* and *B. licheniformis* (BioPlus2B), *Journal of Fish Diseases*, 26, 495-498.
- Rengpipat, S., Rukpratanporn, S., Piyatiratitivorakul, S. and Menasaveta, P., 2000, Immunity enhancement in black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) by a probiont bacterium (*Bacillus* S11), *Aquaculture*, 191, 271–288.
- Ringo, E., Gatesoupe, F.J. 1998, Lactic acid bacteria in fish: a review, *Aquaculture*, 160, 177-203.
- Ringo, E., Vadstein, O., 1998, Colonization of *Vibrio pelagius* and *Aeromonas caviae* in early developing turbot (*Scophthalmus maximus*) larvae, *Journal of Applied Microbiology*, 84, 227-233.
- Robertson, P.A.W., O'Dowd, C., Burrells, C., Williams, P., Austin, B., 2000, Use of *Carnobacterium* sp. as a probiotic for Atlantic salmon (*Salmo salar*, L.) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum), *Aquaculture*, 185, 235–243.
- Roberts, R.J., 2012, *Fish Pathology*, 4th Edition, Wiley-Blackwell, UK., 978-1-4443-32827.
- Rodriguez, L.A., Gallardo, C.S., Acosta, F., Nieto, T.P, Acosta, B., Real, F., 1998, *Hafnia alvei* as an opportunistic pathogen causing mortality in brown trout, *Salmo trutta* L., *Journal of Fish Diseases* 21, 365-369.
- Ruiz, C.M., Roman, G., Sanchez, J.L. 1996, A marine bacterial strain effective in producing antagonisms of other bacteria, *Aquaculture International*, 4, 289-291.
- Sağlam, Y.S., Işık, N., Arslan, A. and Erer, H. 2006, Erzurum bölgesindeki gökkuşuğu alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss* W. 1792) *Aeromonas hydrophila* ve *Yersinia ruckeri* izolasyonu ve patolojik incelemeler, *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*, 1 (2), 6-10.
- Sakazaki, R., Tamura, K., 1992, *Hafnia*, The Prokaryotes, In: Ballows, A., Tru Èper, H. G., Dworkin, M. Harder, W., Schleifer, K. (ed.), Vol. III, 2nd edn, Springer-Verlag, Berlin, 2816-2821.
- Sakazaki, R., 2009, *Hafnia*, Bergey's manual of systematics bacteriology, In: N.R. Kreig (ed.), Vol. 1, Williams & Wilkins, Baltimore, 681-685.
- Sanchez T.P., Balcazar J.L., Merrifield D.L., Carnevali O., Gioacchini G., DeBlas I., Zarzuella I.R., 2011, Expression of immune-related genes in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) induced by probiotic bacteria during *Lactococcus garvieae* infection, *Fish & Shellfish Immunology.*, 31, 196-201.
- Sanz, F., 1991, Rainbow trout mortalities associated with a mixed infection with *Citrobacter freundii* and IPN virus, *Bulletin European Association of Fish Pathologists*, 11, 222.
- Sato, N., Yamane, N., Kawamura, T., 1982, Systemic *Citrobacter freundii* infection among sun fish *Mola mola* in Matsushima aquarium, *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 48, 1551–1557.

- Savaş, H., Yıldırım, Y., Kurtoğlu, I.Z., Bascinar, N., Alkan, A., Gürel, M., Ergun, H., Firidin, S., Kutlu, I., Serdar, S. ve Zengin, B. 2006, *Ordu ili Perşembe ilçesinde faaliyet gösteren yüzer kafes işletmelerinin çevresel etki ve su ürünleri sağlığı yönünden izlenmesi projesi*, Sonuç raporu, SUMAE, 58.
- Savaşer, S., Diler, Ö., 1997, *Enterik kızılbaş hastalığı etkeni Yersinia ruckeri suşlarının morfolojik ve biyokimyasal özellikleri üzerinde bir araştırma*, Akdeniz balıkçılık kongresi, 9-11 Nisan, İzmir, 391-405.
- Saygun, S., Bircan, R., 1998, *Farklı stok yoğunluklarının Bafra-Derbent Baraj Gölü'nde yetiştirilen gökkuşığı alabalığının (Ocorhynchus mykiss) gelişme ve yem değerlendirmesine etkisi*, Yüksek Lisans Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen bilimleri enstitüsü.
- Segers, P., Vancanneyt, M., Pot, B., Torck, U., Hoste, B., Dewettinck, D., Falsen, E., Kersters, K., De Vos, P., 1994, Classification of *Pseudomonas diminuta* Leifson and Hugh 1954 *Pseudomonas vesicularis* Büsing, Döll and Freytag 1953 in *Brevundimonas* gen. nov. as *Brevundimonas vesicularis* comb. nov., respectively, *International Journal of Systematic Bacteriology*, 499-510.
- Sharma, R.K., Boro, B.R., Borah, P., 1991, Incidence of caprine pneumonia and associated bacterial species, *Indian Journal of Animal Science*, 61, 54-55.
- Smoragiewicz, W., Bielecka, M., Babuchsmoowski, A., Boutard, A., Dubeau, H., 1993, Les probiotiques, *Canadian Journal of Microbiology*, 39, 1089-1095.
- Sonnenshein, A.L., Losick, R., Hoch, J.A., 1993, *Bacillus subtilis* and others Gram-positive bacteria: Biochemistry, physiology and molecular genetics, *American Society for Microbiology*, Washington, DC.
- Stackebrandt, E., Rainey, F., Ward-Rainey, N. L., 1997, Proposal for a new hierarchic classification system, *Actinobacteria* classis nov., *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 47, 479-491
- Sugita, H., Matsuo, N., Shibuya, K., Deguchi, Y., 1996, Production of the antibacterial substances by intestinal bacteria isolated from coastal crab and fish species, *Journal of Marine Biotechnology*, 4, 220-223.
- Sugita, H., Matsuo, N., Hirose, Y., Iwato, M., Deguchi, Y., 1997, *Vibrio* sp. strain NM10, isolated from the intestine of a Japanese coastal fish, has an inhibitory effects against *Pasteurella piscida*, *Applied and Environmental Microbiology*, 63, 4986-4989.
- Sugita, H., Hirose, Y., Matsuo, N., Deguchi, Y. 1998, Production of the antibacterial substance by *Bacillus* sp. strain NM 12, an intestinal bacterium of Japanese coastal fish, *Aquaculture*, 165, 269-280.
- Süzer, C., Çoban, D., Kamacı, O.H., Saka, S., Fırat, K., Otgucuoglu, O., Küçükşarı, H., 2008, *Lactobacillus spp.* bacteria as probiotics in gilthead sea bream (*Sparus aurata*, L.) larvae: effects on growth performance and digestive enzyme activities, *Aquaculture*, 280, 140-145.
- Şeker, E., Karahan, M., İspir, U., Cetinkaya, B., Sağlam, N. and Sarıeyyupoglu, M. 2012, Investigation of *Yersinia ruckeri* infection in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, W., 1792) farms by polymerase chain reaction (PCR) and bacteriological culture, *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 18-6, 913-916.

- Takeuchi, M., Hamana, K., Hiraishi, A., 2001, Proposal of the genus *Sphingomonas sensu stricto* and three new genera, *Sphingobium*, *Novosphingobium* and *Sphingopyxis*, on the basis of phylogenetic and chemotaxonomic analyses, *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 51, 1405–1417
- Taş, B., 2006, Derbent Baraj Gölü (Samsun) su kalitesinin incelenmesi, *Ekoloji*, 15, 61, 6-15.
- Tattersall-Sheldrake, A.R., Miller, K.M., 2006, Bacterial diversity in an marine hatchery: Balance between pathogenic and potentially probiotic bacterial strains, *Aquaculture*, 256 (1-4), 50-73.
- Teshima, C., Kudo, S., Ohtani, Y., Saito, A., 1992, Kidney pathology from the bacterium *Hafnia alvei*: experimental evidence, *Transactions of the American Fisheries Society*, 121, 599-607.
- Teuber, M., 2009, *Lactococcus*, Bergey's manual of systematics bacteriology, In: Parte, A.C (ed.), 2nd Edt., Springer Dordrecht Heidelberg London New York, 711-722.
- Timur, G., Timur, M., 1991, An outbreak of enteric redmouth disease in farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Turkey, *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists*, 11, 182-183.
- Timur G., Karataş, S., Çolak, S., Akaylı, T., 1996, *Gökkuşluğu alabalık (Oncorhynchus mykiss, W.) yavrularında görülen Furunkulosis hastalığı üzerine bir çalışma*, II. International symposium on aquatic product, Istanbul
- Timur, G., Timur, M., 2003, *Balık hastalıkları*, İstanbul Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi, yayın no: 5, İstanbul, 975-404-699-9.
- Timur, G., Timur, M., Korun, J., 2004, Türkiye'de bir alabalık (*Oncorhynchus mykiss*) kuluçkahanesinde *Flavobacterium psychrophilum* enfeksiyonunun çıkışı üzerine bir çalışma, *İstanbul Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi*.
- Timur, G., Akaylı, T., Korun, J., Yardımcı, R.E., 2010, Study on bacterial haemorrhagic septicemia in farmed Young Russian sturgeon in Turkey (*Acipenser gueldenstaedtii*), *Turkish Journal Of Fisheries and Aquatic Sciences*, 25(3), 19-27.
- Timur, G., Yardımcı, R.E., Ürkü, Ç., Çanak, Ö., 2011, Marmara Bölgesi kültür gökkuşluğu alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*, L.) Lactococcosis'in bakteriyolojik ve histopatolojik metodlarla teşhisi, *İstanbul Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi*, 26, 63-81.
- Toback, E., Decostere, A., Hermans, K., Haesebrouck, F., Chiers, K., 2007, *Yersinia ruckeri* infection in salmonid fish, *Journal Fish Diseases*, 30, 257-268.
- Toranzo, A.E., Magarinos, B., Romalde, J.L., 2005, A review of the main bacterial fish diseases in mariculture systems, *Aquaculture*, 246, 37-61.
- Turgut, E., Develi, N., Tırıl, S.U., 2007, Su ürünleri yetiştiriciliğinde probiyotiklerin kullanımı, *Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 24 (2), 13-18.
- TUİK, 2019, *Kültür balıkları üretim miktarı*, http://tuik.gov.tr/PreTablo.do?alt_id=1005, [Ziyaret tarihi: 6 Mayıs 2019].
- Türe, M., Savaş, H., 2010, Karadeniz Bölgesi' nde gökkuşluğu alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*, W.) Lactococcosis (*Lactococcus garvieae*), *YUNUS Araştırma Bülteni*, 10,3.

- Türe, M., Altınok, İ., 2012, *PFGE metodu kullanılarak Lactococcus garvieae'nin genetik çeşitliliğinin ve yayılımının belirlenmesi*, Su Ürünleri Merkez Araştırma Enstitüsü, Trabzon.
- Türe, M., Kutlu, İ., 2018, Isolation of *Citrobacter freundii* from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in freshwater cage, *Journal of Limnology and Freshwater Fisheries Research*, 4 (2), 85-89.
- Türk, N., 2002, Çipura (*Sparus aurata*) ve levrek (*Dicentrarchus labrax*) yavrularından bakteri izolasyonu ve antibiyotiklere duyarlılıklarının belirlenmesi, *Bornova Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 27, 7-14
- Urtubia, R., Gallardo, P., Cardenas, C.A., Lavin, P., Gonzalez-Aravena, M., 2017, First characterization of gastrointestinal culturable bacteria of Patagonian toothfish *Dissostichus eleginoides* (Nototheniidae), *Revista de Biología Marina y Oceanografía*, 52(2), 399-404.
- Ustaoglu, S., Bircan, R., 1998, Karadeniz'deki (Sinop) ağ kafeslerde yetiştirilen gökkuşığı alabalığının (*Oncorhynchus mykiss*) büyüme ve yem değerlendirmesine farklı yemleme oranlarının etkileri, *Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 22, 285-291.
- Ürkü, Ç., 2011, *Gökkuşığı alabalıklarında (Oncorhynchus mykiss, W.) deneysel olarak oluşturulan Lactococcosis' in bakteriyolojik ve serolojik metotlarla teşhisi*, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Üstündağ, E., 2000, *Karadeniz Bölgesi'nde su ürünleri yetiştiriciliği yapan işletmelerin yapısal analizi ve verimliliğinin belirlenmesi*. Su Ürünleri Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü.
- Vanderbergh, P., 1993, Lactic acid bacteria, their metabolic products and interference with microbial growth, *FEMS Microbiology Reviews*, 12, 221-238.
- Vaseeharan, B., Ramasamy, P., 2003, Control of pathogenic *Vibrio* spp. by *Bacillus subtilis* BT23, a possible probiotic treatment for black tiger shrimp *Penaeus monodon*, *Letters in Applied Microbiology*, 36, 83-87.
- Vendrell, D, Balcazar, J.L., Zarzuela, I.R., DeBlas, I., Girones, O., Muzquiz, J.L., 2006, *Lactococcus garvieae* in fish: A review, *Comparative immunology, microbiology & infectious diseases*, 29, 177-198
- Verschuere, L., Rombaut, G., Sorgeloos, P., Verstraete, W., 2000, Probiotic bacteria as biological control agents in aquaculture, *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 64, 4, 655-671.
- Vijayabaskar, P., Somasundaram, S.T., 2008, Isolation of bacteriocin producing Lactic acid bacteria from fish gut and probiotic activity against common freshwater fish pathogen *Aeromonas Hydrophila*, *Biotechnology*, 7 (1), 124-128.
- Villamil, L., Tafalla, C., Figueras, A., Novoa, B., 2002, Evaluation of immunomodulatory effects of lactic acid bacteria in turbot (*Scophthalmus maximus*), *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*, 9, 1318-1323.
- Vine, N.G., Winston, D.L., Horst Kaiser, 2006, *Probiotics in marine larviculture*, *FEMS Microbiology Reviews*, 30, 404-427.
- Whitman, K.A., 2004, *Finfish and shellfish bacteriology manual techniques and procedures*, A Blackwell Publishing Company, ISBN 0- 8138-1952-0.

- Woese, C.R., Stackebrandt, E., Macke, T.J., Fox, G.E., 1985, A phylogenetic definition of the major eubacterial taxa, *Systematic and Applied Microbiology*, 6, 143–151.
- Woese, C.R., 1987, Bacterial evolution, *Microbiology Reviews*, 51, 221–271.
- Yabuuchi, E., Yano, I., Oyaizu, H., Hashimoto, Y., Ezaki, T., Yamamoto, H., 1990, Proposal of *Sphingomonas paucimobilis* gen. nov. and comb. nov., *Sphingomonas parapaucimobilis* sp. nov., *Sphingomonas yanoikuyae* sp. nov. *Sphingomonas adhaesiva* sp. nov., *Sphingomonas capsulata* comb. nov. and two genospecies of the genus *Sphingomonas*, *Microbiology and Immunology*, 34 (2), 99-119.
- Yabuuchi, E., Kosako, Y., Fujiwara, N., Naka, T., Matsunaga, I., Ogura, H. & Kobayashi, K., 2002. Emendation of the genus *Sphingomonas* Yabuuchi *et al.* 1990 and junior objective synonymy of the species of three genera, *Sphingobium*, *Novosphingobium* and *Sphingopyxis*, in conjunction with *Blastomonas ursincola*, *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 52, 1485–1496.
- Yalçın, S., Çiftçi, İ., Önal, A.G., Yılmaz, A., 1996, *Tuyem*, 3. Uluslararası Yem Kongresi ve Yem Sergisi, Ankara, 30-33.
- Yıldırım, Ş., 2016, *Baraj göllerinde ağ kafeslerde balık yetiştiriciliği*, Ege Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Yetiştiricilik Bölümü.
- Yıldırım, S., Özer, S., 2010, Mersin ili Çağlarca köyündeki gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*, W., 1792) kuluçkahanelerinde *Flavobacterium spp.* varlığı, *Journal of fisheriesciences.com*, 4 (1), 112-122.
- Yiğit, M., Aral, O., 1999, Gökkuşağı alabalığının (*Oncorhynchus mykiss* W., 1792) Tatlısu ve denizsuyundaki büyüme farklılıklarının karşılaştırılması, *Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 23, 53-59.
- Zhang, Z., Schwartz, S., Wagner, L., Miller, W., 2000, A greedy algorithm for aligning DNA sequences, *Journal of Computational Biology*, 7, 203-214.
- Zhou, Q., Li, K., Jun, X., Bo, L., 2009, Role and Functions of beneficial microorganisms in sustainable aquaculture, *Bioresource Technology*, 100, 3780-3786.
- Zlotkin, A., Eldar, A., Ghittino, C., Bercovier, 1998, Identification of *Lactococcus garvieae* by PCR, *Journal of Clinical Microbiology*, 983-985.

EKLER



ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı	Dilek ÖKMEN
Doğum Yeri	Samsun
Doğum Tarihi	05.09.1989
Uyruğu	<input checked="" type="checkbox"/> T.C. <input type="checkbox"/> Diğer:
Telefon	05454357391
E-Posta Adresi	
Web Adresi	



Eğitim Bilgileri	
Lisans	
Üniversite	İstanbul Üniversitesi
Fakülte	Su Ürünleri Fakültesi
Bölümü	Su Ürünleri Mühendisliği
Mezuniyet Yılı	25.07.2014

Yüksek Lisans	
Üniversite	İstanbul Üniversitesi
Enstitü Adı	Fen Bilimleri Enstitüsü
Anabilim Dalı	Su ürünleri Hastalıkları Anabilim Dalı
Programı	Su Ürünleri Hastalıkları Programı

Doktora	
Üniversite	İstanbul Üniversitesi
Enstitü Adı	Fen Bilimleri Enstitüsü
Anabilim Dalı	Anabilim Dalı Adı
Programı	Program Adı

Makale ve Bildiriler	