

**REAL-TIME PCR KULLANILARAK BEYŞEHİR GÖLÜ ve  
ÇEVRESİNDE İKİ AMFİBİ PATOJENİNİN  
(*Batrachochytrium dendrobatidis* ve Ranavirüs)  
YAYGINLIĞININ İLK KEZ SAPTANMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Pınar AĞYAR

DANIŞMAN

Doç. Dr. Uğur Cengiz ERİŞMİŞ

MOLEKÜLER BİYOLOJİ ve GENETİK ANABİLİM DALI

Kasım, 2014

Bu tez çalışması 13.FEN.BİL.02 numaralı proje ile AKÜ BAP tarafından desteklenmiştir.

**AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**REAL- TIME PCR KULLANILARAK BEYŞEHİR GÖLÜ ve**  
**ÇEVRESİNDE İKİ AMFİBİ PATOJENİNİN (*Batrachochytrium***  
***dendrobatidis* ve Ranavirüs) YAYGINLIĞININ İL KEZ**  
**SAPTANMASI**

**Pınar AĞYAR**

**DANIŞMAN**

**Doç. Dr. Uğur Cengiz ERİŞMİŞ**

**MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI**

**Kasım, 2014**

## TEZ ONAY SAYFASI

Pınar AĞYAR tarafından hazırlanan “Real-Time PCR Kullanılarak Beyşehir Gölü ve Çevresinde İki Amfibi Patojeninin (*Batrachochytrium dendrobatidis* ve Ranavirüs) Yaygınlığının İlk Kez Saptanması” adlı tez çalışması lisansüstü eğitim ve öğretim yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca 10/11/2014 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı’nda YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

**Danışman** : Doç. Dr. Uğur Cengiz ERİŞMİŞ

**Başkan** : Doç. Dr. Uğur Cengiz ERİŞMİŞ  
Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi

**Üye** : Doç. Dr. Safiye Elif KORCAN  
Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi

**Üye** : Doç. Dr. Emine Hesna KANDIR  
Afyon Kocatepe Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi

Afyon Kocatepe Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu’nun  
...../...../..... tarih ve  
..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

.....  
Prof. Dr. İbrahim EROL  
Enstitü Müdürü

**BİLİMSEL ETİK BİLDİRİM SAYFASI**  
**Afyon Kocatepe Üniversitesi**

**Fen Bilimleri Enstitüsü, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;**

- Tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
- Atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
- Ve bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı

**beyan ederim.**

**04.07.2014**

**İmza**  
**Pınar AĞYAR**

## ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

### REAL-TIME PCR KULLANILARAK BEYŞEHİR GÖLÜ ve ÇEVRESİNDE İKİ AMFİBİ PATOJİNİNİN (*Batrachochytrium dendrobatidis* ve Ranavirüs) YAYGINLIĞININ İLK KEZ SAPTANMASI

Pınar AĞYAR

Afyon Kocatepe Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı

**Danışman:** Doç. Dr. Uğur Cengiz ERİŞMİŞ

Bu araştırmada, Türkiye'nin en büyük tatlı su gölü olan Beyşehir Göl'ünde IUCN kriterlerine göre Kırmızı Liste'de (Red List) "Nesli tehlike altında bulunan hayvanlar" kategorisinde yer alan ve azalmakta olduğu ifade edilen endemik anur türü *Pelophylax caralitanus* üzerinde Real-time PCR tekniği ile ölümcül hastalıklarla bağlantılı olduğu bilinen amfibi patojenleri *Batrachochytrium dendrobatidis* ve poikilotherm hayvanlara kolaylıkla bulaşabilen Ranavirus [Frog virus (FV-3)] genom equivalentlerine ait primerler kullanılarak varlığı veya yokluğu üzerine ilk kez çalışılmıştır.

Beyşehir Göl'ünde 2012 ve 2013 yıllarında yapılan araziden 4 farklı lokalite olmak üzere toplanan endemik Anadolu bataklık kurbağası ya da Beyşehir kurbağası (*Pelophylax caralitanus*) üzerinde yapılan çalışmada *Batrachochytrium dendrobatidis* patojen fungusuna ait toplam ~%54,23 pozitif, Ranavirüs [Frog virus (FV-3)]'e ait ~%30,23 pozitif örnek tespit edilmiştir.

Araştırma sonucu amfibi türlerinin yok olmasından sorumlu kabul edilen bu iki önemli patojen; *Batrachochytrium dendrobatidis* (Bd) fungusu ve Ranavirus (*Iridoviridae*)'ün ülkemizde özellikle ekonomik ve ekolojik öneme sahip türlerin ve dolayısı ile biyoçeşitliliği oluşturan türlerin yok olma tehlikesiyle karşı karşıya olduğunu ortaya koymaktadır.

**2014, ix + 76 sayfa**

**Anahtar Kelimeler:** *Batrachochytrium dendrobatidis*, Ranavirüs, Chytridiomycosis

**ABSTRACT**  
M.Sc Thesis

FIRST DETERMINATION BY REAL-TIME ASSAY OF PREVALENCE OF TWO AMPHIBIANAN PATHOGENS (*Batrachochytrium dendrobatidis* and Ranavirus) IN BEYŞEHİR LAKE and ITS SURROUNDINGS

Pınar AĞYAR

Afyon Kocatepe University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Molecular Biology and Genetics

**Supervisor:** Associate Professor Uğur Cengiz ERİŞMİŞ

In this thesis, two amphibian pathogens were identified on endemic *Pelophylax caralitanus*, which is located in Beyşehir Lake in Beyşehir, Konya and listed as Near Threatened (NT) on Red List by IUCN and also known as to be decreasing, using the Real – Time PCR (quantitative PCR, qPCR) technique. Beyşehir Lake is the biggest freshwater lake in Turkey. That two amphibian pathotogens are *Batrachochytrium dendrobatidis* and Ranavirus [Frog virüs, (FV-3)]. *Batrachochytrium dendrobatidis* causes Chytridiomycosis and Ranavirus causes Red–Leg deadly disases. In Beyşehir Lake, presence or absence of that pathogen organisms was determined for the first time using qPCR technique with specific primers.

Anatolian marsh frogs (*Pelophylax caralitanus*) were collected from 4 different localities of Beyşehir lake in 2012 and 2013 years. End of the laboratuary studies, results of *Batrachochytrium dendrobatidis* detection experiment were nearly 54,23 of percentage positively and results of Ranavirüs [Frog virus (FV-3)] were 30,23 of percentage positively.

As a result, that two important pathogens which responsible extinction of amphibians; *Batrachochytrium dendrobatidis* (Bd) fungi and Ranavirus (*Iridoviridae*) are threat to economical and ecological important species and biodiversity.

**2014, ix + 76 pages**

**Key Words:** *Batrachochytrium dendrobatidis*, Ranavirus, Chytridiomycosis

## TEŞEKKÜR

Bu araştırmanın konusu, deneysel çalışmaların yönlendirilmesi, sonuçların değerlendirilmesi ve yazımı aşamasında yapmış olduğu büyük katkılarından dolayı ailemden biri gibi olan tez danışmanım Sayın Doç. Dr. Uğur Cengiz ERİŞMİŞ'e sonsuz teşekkür ederim.

Ayrıca Biyoloji Bölüm Başkanlığına ve bu tez çalışmasını 13.FEN.BİL.02 nolu proje ile destekleyen Afyon Kocatepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimine ve 113Z139 nolu proje ile katkılarından dolayı TÜBİTAK' a teşekkür ederim.

Araştırmalarım, arazi çalışmalarım ve laboratuvar çalışmaları sürecinde yardım ve desteklerini esirgemeyen yüksek lisans ğrencisi Taner YOLDAŞ'a teşekkür ederim.

Lisansüstü eğitimim boyunca maddi ve manevi tüm desteklerinden dolayı canımdan çok sevdiğim Semra AğYAR ve Mehmet AğYAR'a tüm kalbimle teşekkür ederim.

Pınar AğYAR

AFYONKARAHİSAR, 2014

# İÇİNDEKİLER DİZİNİ

Sayfa

ÖZET .....	i
ABSTRACT .....	ii
TEŞEKKÜR .....	iii
İÇİNDEKİLER DİZİNİ.....	iv
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ .....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	viii
RESİMLER DİZİNİ .....	ix
1. GİRİŞ.....	1
2. LİTERATÜR BİLGİLERİ .....	4
2.1 Chytridiomycosis ve <i>Batrachochytrium dendrobatidis</i> .....	4
2.1.1 <i>Batrachochytrium dendrobatidis</i> 'in Familya (Aile).....	7
2.1.2 <i>Batrachochytrium dendrobatidis</i> 'in Yaşam Döngüsü.....	8
2.1.3 <i>Batrachochytrium dendrobatidis</i> 'in Kökeni.....	9
2.1.4 <i>Batrachochytrium dendrobatidis</i> 'in Batı Avrupa Türlerinde Tespiti.....	11
2.2 Ranavirüs (Iridovirüs).....	17
2.2.1 Genus Ranavirus.....	17
2.2.2 Virion Yapısı ve Sitopatolojisi .....	18
2.2.3 Ranavirüslerin Genomik Özellikleri.....	22
2.2.4 Epidemiyolojisi ve Konak Özgüllüğü .....	24
2.3 Beyşehir Gölü .....	27
2.3.1 Tarihçesi .....	31
2.3.2 Beslenme ve Boşalması .....	32
2.3.3 Göl Ürünleri.....	32
2.3.4 Göl İklimi .....	33
2.4 <i>Pelophylax caralitanus</i> (Arikan, 1988) .....	34
3. MATERYAL ve METOT .....	38
3.1 Arazi Çalışmaları ve Örnekleme.....	38
3.2 Laboratuvar Analizleri .....	41
3.2.1 <i>B. dendrobatidis</i> için DNA İzolasyonu .....	41
3.2.2 Ranavirus için DNA İzolasyonu.....	41
3.2.3 Elektroforez İşlemi .....	42



3.2.4 Qbit Ölçümleri.....	42
3.3 Real Time PCR İşlemi .....	42
3.3.1 Bd Tespiti için Real Time PCR İşlemi .....	42
3.3.2 Ranavirus (FV-3) Tespiti için Real Time PCR İşlemi .....	45
4. BULGULAR .....	47
5. TARTIŞMA ve SONUÇ .....	51
6. KAYNAKLAR.....	55
ÖZGEÇMİŞ.....	73

## SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

### Simgeler

---

dH <sub>2</sub> O	Distile su
EDTA	Etilen Diamin Tetra Asetik Asit
Tris-HCL	Tris Hidroklorik Asit
HCl	Hidroklorik asit
TAE	Tris Asetat Edta
NaCl	Sodyum Klorür
TNE	Tris Sodyum EDTA
Ct	Cycle Treshold
SDS	Sodyum Dodesil Sülfat
°C	Santigrat Derece
mRNA	Mesajcı Ribonükleik Asit
miRNA	Mikro Ribonükleik Asit
DNA	Deoksiribonükleik Asit
DNaz	Deoksiribonükleaz
mL	Militre
cm <sup>2</sup>	Santimetre kare
µL	Mikrolitre
M	Molar
mM	Mili Molar
ng	Nanogram
Km	Kilometre
µg	Mikrogram

### Kısaltmalar

---

Bd	Batrachochytrium dendrobatidis
rpm	Rotation per minute
ITS1-3	ITS1-3 gen bölgesi
FV-3	Frog virüs 3
MCP	Major Capsid Protein
IE	Immediate early
NPH	Yeni patojen hipotezi-new pathoge hypothesis
BIV	Bohle iridovirüs
ECV	European catfish virüs
TFV	Tiger frog virus
EHNV	Epizootic haematopoietic necrosis virus
ATV	Ambystoma tigrinum virüs
SCRV	Santee-Cooper ranavirüs
ICTV	Uluslararası virüs taksonomi topluluğu
SGIV	Singapore grouper iridovirus
RNA POL II	Ribonükleik asit polimeraz II enzimi
UV	Ultra Viyole Işık
STIV	Soff-Shelled Turtle Iridovirus
IUCN	International Union for Conservation of Nature
qPCR	Quantative Polimeraz Zincir Reaksiyonu

---

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 2.1 Bulaşıcı ve sesil büyüme aşamalarını gösteren <i>B. dendrobatidis</i> in yaşam döngüsü .....	9
Şekil 2.2 Zarflı ve zarfsız ranavirüs virion yapısı .....	19
Şekil 3.1 Ranavirüslerin replikasyon döngüsünün özeti .....	21

## ÇİZELGELER DİZİNİ

### Sayfa

<b>Çizelge 2.1</b> Ranavirüs enfeksiyonunun bilinen durumlarının küresel dağılımı ve çiftlik ve vahşi amfibi topluluklarında mortalite.....	13
<b>Çizelge 2.2</b> Ranavirus cinsine ait türler ve izolatlar.....	18
<b>Çizelge 2.3</b> Ranavirüslerdeki kodlanan protein örnekleri ve onların tahmin edilen görevleri.....	23
<b>Çizelge 2.4</b> Pelophylax caralitanus'un taksonomik hiyerarşisi.....	34
<b>Çizelge 3.1</b> Standart örneklerin hazırlanması.....	43
<b>Çizelge 3.2</b> <i>B. dendrobatidis</i> türüne özgü primerler .....	43
<b>Çizelge 3.3</b> Bd tespiti için yapılan qPCR'da kullanılan malzemeler ve miktarı.....	44
<b>Çizelge 3.4</b> Bd tespiti için yapılan qPCR Amplifikasyon Protokolü .....	44
<b>Çizelge 3.5</b> Ranavirus türüne özgü MCP (Major Capsid Protein) ve IE (immediately early) primerleri .....	45
<b>Çizelge 3.6</b> Ranavirüs tespiti için yapılan qPCR'da kullanılan malzemeler ve miktarı	46
<b>Çizelge 3.7</b> Ranavirüs tespiti için yapılan qPCR Amplifikasyon Protokolü.....	46
<b>Çizelge 4.1</b> <i>Batrachochytrium dendrobatidis</i> İstatistikleri .....	49
<b>Çizelge 4.2</b> Ranavirus MCP primer İstatistikleri .....	50
<b>Çizelge 4.3</b> Ranavirus IE primer İstatistikleri .....	50
<b>Çizelge 4.4</b> Ranavirus MCP + IE primer İstatistikleri .....	50

## RESİMLER DİZİNİ

	Sayfa
<b>Resim 2.1</b> <i>Batrachochytrium dendrobatidis</i> patojenin yıllara bağlı olarak global dağılım haritası.....	5
<b>Resim 2.2</b> <i>Batrachochytrium dendrobatidis</i> patojenin global dağılım haritası .....	5
<b>Resim 2.3</b> <i>B.dendrobatidis</i> için öngörülen temel ekolojik niş haritası .....	6
<b>Resim 2.4</b> <i>Pelophylax caralitanus</i> .....	35
<b>Resim 2.5</b> <i>Pelophylax caralitanus</i> .....	35
<b>Resim 2.6</b> <i>Pelophylax caralitanus</i> yayılış alanı.....	36
<b>Resim 3.1</b> Beyşehir gölüne ait görüntü .....	38
<b>Resim 3.2</b> Beyşehir Gölü ve arazi çalışmalarına ait fotoğraflar .....	40
<b>Resim 3.3</b> Swaplama işlemlerine ait fotoğraflar .....	40
<b>Resim 4.1</b> Hastalık belirtileri taşıyan <i>Pelophylax caralitanus</i> .....	47
<b>Resim 4.2</b> Hastalık belirtileri taşıyan <i>Pelophylax caralitanus</i> .....	48
<b>Resim 4.3</b> qPCR sonrası Bd zoosporlar miktar tayininde kullanılan standart eğri.....	49

## 1. GİRİŞ

Asya, Avrupa ve Afrika kıtalarının kesişme noktası olan Anadolu jeolojik, jeomorfolojik ve iklimsel yapısı doğudan batıya 8, güneyden kuzeye 7 farklı ekosisteme sahip olmasıyla hayvanlar için besin bulma, barınma ve göç yolları gibi hayatsal işlevlerine uygun ekosistem varlığıyla birleşince çok zengin biyoçeşitliliği ortaya çıkarır. Türkiye biyoçeşitliliğin en zengin olarak temsil edildiği bölgesel ölçekte alanlardan biridir. Neredeyse tüm Avrupa'nın toplamından daha yüksek tür çeşitliliğine ve endemizme sahip olmaktadır. Farklı zoocoğrafik ve fitocoğrafik bölgelerin kesişim noktasında bulunması itibariyle küresel ölçekte de son derece önemli bir konumda bulunmaktadır (Aydın *et al.* 2006).

Türkiye'de ki var olan ekosistemlerin çeşitliliğinin sağladığı devamlılık ve stabilite, insan faaliyetlerinin etkisiyle giderek daha fazla tehdit altına girmektedir. Doğal kaynaklarımız ve biyolojik çeşitliliğimiz Bozulma, Azalma ve Yok Olma aşamalarından oluşan dramatik bir süreç içindedir. Bu sürecin temel nedenleri nüfusun hızlı artışı, küresel ısınmanın sebep olduğu iklimsel değişiklikler, pestisit kullanımı, ormansızlaşma, fosil yakıt kullanımı, bilinçsiz avlanma ve doğal kaynaklarımızın akılcı olmayan bir biçimde ve bilinçsizce kullanılması gibi antropojenik etkilerdir.

Dünya çapında birçok amfibi türünün ciddi boyutta azalışı 30 yıl kadar önce başlamıştır. Son zamanlarda ki küresel değerlendirmelere göre 1/3'ü ya da dünyadaki 6593 amfibi türünün %32'si büyük tehlike altındadır (İnt.Kyn.1). 1980'den beri 122 amfibi türü yok olma tehlikesiyle karşı karşıya olup ve popülasyon büyüklükleri %43 oranında azalmıştır. Bu azalışın birçok sebebi vardır. Bu sebepler arasında habitatların yok olması, kirlilik ya da avcı türlerin ortama girmesi bunun yanında iklim değişiklikleri, UV-b artışı, kimyasal kontaminantlar ve enfeksiyon hastalıklar sayılabilir.

Ekolojik dengenin bozulması ve iklimik etkiler birçok patojenin dünyada dağılış alanlarının genişlemesine neden olmuştur ve amfibi azalışlarına ek olarak Dünya Sağlık Örgütü'nün, Yaban Hayat Organizasyonu (World Organisation for Animal Health 2008) tarafından yaban hayat hastalıkları listesinde Ranavirus ve *B. dendrobatidis*'in etken olduğu hastalıklar yer almış ve ölümcül salgın hastalıklar sınıfına dahil edilmiştir.

Amfibi türlerinin yok olmasından sorumlu kabul edilen bu iki önemli patojen; *Batrachochytrium dendrobatidis* (Bd) fungusu ve Ranavirus (*Iridoviridae*) hakkında ülkemizde detaylı hiçbir çalışma bulunmamaktadır. Özellikle ekonomik ve ekolojik öneme sahip türlerin ekopatolojisi üzerine Türkiye’de yapılmış çalışmalara sık rastlanmaması bu biyoçeşitliliği oluşturan türlerin yok olma tehlikesiyle karşı karşıya olup olmadığının tespitinin yapılması gerekliliğini ortaya koymaktadır.

Amfibi patojeni olarak bilinen *Batrachochytrium dendrobatidis*, Chytridiomycosis olarak adlandırılan enfeksiyona neden olur. Birçok amfibi türünün azalmasına neden olan istilacı bir fungal tür olup ilk kez yerkürenin güney bölgelerinde ortaya çıkmış ve dağılım göstermiştir. Ancak iklim değişikliği etkisiyle yerkürenin kuzey bölgesine dağılım yayılımı hızlanmıştır. Söz konusu patojen mantarı dünya üzerinde 200’ün üzerinde amfibi türünün azalmalarına neden olduğu da bilinmektedir (Berger *et al.* 1998). Chytridiomycosis hastalığının sebebi olan *Batrachochytrium dendrobatidis* fungusu ilk olarak Panama ve Avustralya’da amfibilerdeki ani azalış neticesinde belirlenmiştir. Ayrıca bu patojen fungusun kökeninin Güney Afrika Cape Town Müzesindeki (SAMZR 18927) 1938 yılı kayıtlı *Xenopus leavis* müze örneklerinin incelenmesiyle anlaşılmıştır (Weldon 2004). Bu patojenin yayılmasında en önemli etken olarak birçok araştırmacı başta iklim değişikliği olmak üzere dünya çapında yapılan kurbağa ticaretlerini göstermiştir ve Afrika, Güney Amerika, Orta Amerika, Kuzey Amerika, Avrupa, Asya ve Yeni Zelanda’da 287 amfibi türünde ve 25 familyasında *B. dendrobatidis* tespit edilmiştir (Lips *et al.* 2008, Bosch *et al.* 2007, Skerratt *et al.* 2007, Laurance 2008, Rohr *et al.* 2008, Kriger and Hero 2009).

Diğer bir istilacı ve amfibi patojeni olan Ranavirüs 2008 yılında Dünya Sağlık Örgütü’nün Yaban Hayat Organizasyonu (World Organisation for Animal Health, 2008) tarafından Yaban Hayat Hastalıkları Listesine yerleştirilmiştir. Ranaviral hastalıkları bulaştıran Ranavirüs türleri, *Iridoviridae* familyasına dahildir ve çift zincirli DNA genomuna sahip olan, Ranavirus tipleri [*Frog virus* (FV-3), *Bohle virus* (BIV), *Epizootic haematopoietic necrosis virus* (EHNV)] özellikle ektotermik hayvanları (balık, kaplumbağa, kertenkele, yılan gibi) kolaylıkla enfekte ederek azalmalarına neden olmaktadır.

Bu tez çalışmasında ülkemizin en büyük tatlı su gölü olan Beyşehir Gölü'ndeki endemik türler arasında yer alan ve International Union for Conservation of Nature (IUCN) (Doğa Koruma Uluslararası Birliği) kriterlerine göre Kırmızı Liste'de (Red List) "Nesli tehlike altında bulunan hayvanlar (Near Threatened, NT)" kategorisinde olan *Pelophylax caralitanus* (Beyşehir Kurbağası)'un Bd ve Ranavirüs patojenleri tarafından enfekte edilip edilmediği araştırılmıştır (İnt.Kyn.2).

Beyşehir gölünde yapılan arazi çalışmaları gölün tüm çevresi dolaşarak 4 farklı lokaliteden iki amfibi patojeni için özellikle morfolojik görüntü itibariyle hastalık taşıdığı düşünülen hayvanlar üzerinden, uygun koşullarla yakalanarak örnekleme yapılmıştır. Alınan örnekler soğuk zincir ile en kısa sürede laboratuvara taşınmıştır. Mümkün olan en kısa süre zarfında DNA ekstraksiyon işlemleri yapılarak tespit ve miktar tayini için günümüzde en güvenilir yöntemlerinden biri olan Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Real-Time PCR) ile deneysel çalışmalar yapılmıştır.



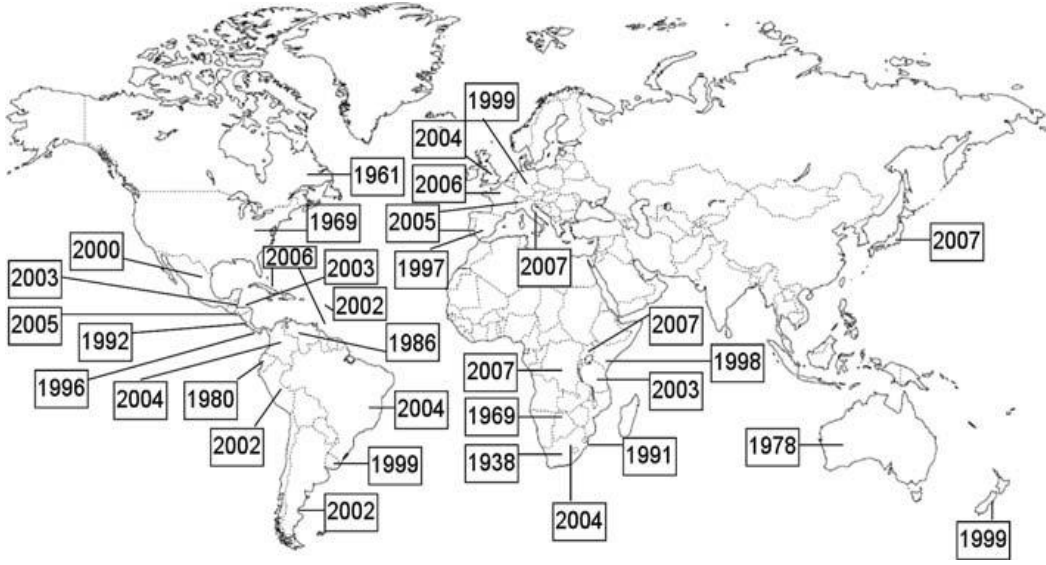
## 2. LİTERATÜR BİLGİLERİ

### 2.1 Chytridiomycosis ve *Batrachochytrium dendrobatidis* (Longcore, Pessier ve Nichols 1999)

Organizmaların coğrafik dağılışı üzerinde değişen iklim koşullarının önemli etkileri mevcuttur. Özellikle sanayi devrimi ile birlikte ekolojik dengedeki bozulma iklim değişiklikleri ile hız kazanmış olup bu durumun olumsuz etkileri organizmaların nesillerinin tükenme noktasına getirmiştir. Bunun yanı sıra ekolojik dengenin bozulması ile iklimik etkiler birçok patojenin dünyada dağılış alanlarının genişlemesine sebep olmuştur.

Bu patojenler arasında yer alan *Batrachochytrium dendrobatidis* dünya genelinde amfibi ölümlerine neden olduğu bilinen Chytridiomycosis etkenidir (Berger *et al.* 1998, Bosch *et al.* 2001, Rachowicz *et al.* 2006). Chytridiomycosis gelişmekte olan bulaşıcı bir amfibi hastalığıdır (Daszak *et al.* 2000). Neden olan ajan ise non-hifal zoosporik patojen bir fungus olan ve konak özgülüğü düşük olan *Batrachochytrium dendrobatidis* türüdür (Daszak *et al.* 2003). Amfibilerin azalış kalıbı ve genetik çalışmalar chytrid fungusunun Orta Amerika ve Avustralya'da doğal populasyonlara bulaştığını desteklemiştir (Daszak *et al.* 1999, 2003, Morehouse *et al.* 2003). Fungusa ait çalışmalarda “yeni patojen hipotezi” ve “endemik patojen hipotezi'nin bir kombinasyonu olarak hastalığın mevcut yaygınlığı açıklanmıştır (Goka *et al.* 2009).

Berger vd. (1998), tarafından Panama ve Avustralya'da amfibi türlerindeki ani azalışın sebebinin Chytridiomycosis olduğu bildirilmiştir. Bu patojenin orijininin Güney Afrika Müzesi, Cape Town (SAMZR 18927) 1938 yılı kayıtlı *Xenopus leavis* örneklerine dayandığı anlaşılmıştır (Weldon 2004). Birçok araştırmacı bu patojenin iklim değişikliği ve dünya üzerinde yapılan kurbağa ticareti nedeniyle yayıldığını saptayarak Afrika, Güney Amerika, Orta Amerika, Kuzey Amerika, Avrupa, Asya ve Yeni Zelanda'da 287 amfibi türünde ve 25 familyasında *B. dendrobatidis* türünü tespit etmişlerdir (Lips *et al.* 2008, Bosch *et al.* 2007, Skerratt *et al.* 2007, Laurance 2008, Rohr *et al.* 2008, Kriger and Hero 2009) (Resim 2.1, Resim 2.2).

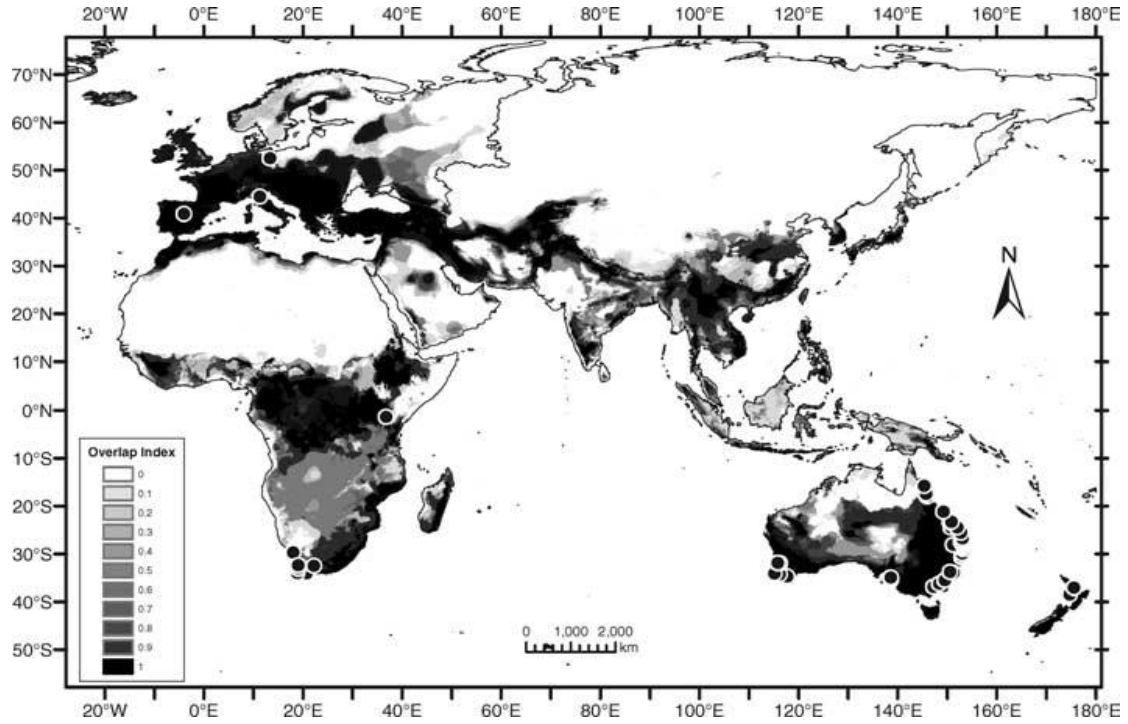


**Resim 2.1.** *B. dendrobatidis* patojenin yıllara bağlı olarak global dağılım haritası (Kriger and Hero 2009).



**Resim 2.2.** *B. dendrobatidis* patojenin global dağılım haritası (İnt.Kyn.3).

Bu çalışmalar doğrultusunda da *B.dendrobatidis* rakım olarak 400 m ve üzeri yükseltilerde sık rastlanmasının sebebi anlaşılmıştır (Berger *et al.* 2004, McDonald *et al.* 2005). İklim değişikliğinin (sıcaklık, rüzgarlar, nem ve yağış oranları gibi) etkisi ile hızla yayıldığı tespit edilmiş olup, muhtemel risk taşıyan bölgeler, ekolojik nişleri haritalandırılmıştır (Resim 2.3). Resimden de anlaşıldığı üzere Anadolu en yüksek risk altında bulunan bölgelerin başında gelmektedir.



**Resim 2.3.** *B. dendrobatidis* için öngörülen temel ekolojik niş haritası. Koyu bölgeler *B. dendrobatidis* ekolojik niş alanı için uygun olan bölgeler (Ron 2005, Kriger and Hero 2009).

Chytridiomycosis *B. dendrobatidis* tarafından sürekli olarak cildin enfeksiyonuna bağlı bir hastalıktır. Chytrid'in yeniden oluşması su ile taşınan zoosporlar ile anura larvalarının ağız parçalarının parazite olmasıyla amfibilerin post metamorfik safhada enfeksiyona maruz kalmasıyla oluşur ama bazı durumlarda larval kaudatlarda da oluştuğu bildirilmiştir (Brodman and Briggler 2008, Kriger and Hero 2007, Berger *et al.* 1998, Longcore *et al.* 1999, Marantelli *et al.* 2004). *B. dendrobatidis* enfeksiyonları patofizyolojik değişimlerle ilişkilidir ve bu değişimler hastalık durumuna (chytridiomycosis) öncülük eder ya da potansiyel olarak ölüme sebebiyet verir.

Chytridiomycosis oluştuğunda, amfibi epidermisi arasındaki elektrolit taşınımı %50'ye kadar engellenir, sodyum ve potasyumun hücre sitoplazmasındaki konsantrasyonu düşer ve asistolik kalp durması ölüme sebep olabilir (Voyles *et al.* 2007). Çünkü sağlam deri amfibi iç dengesinin korunmasında önemli bir faktördür, deri fonksiyonunu bozan, doğrudan *B. dendrobatidis*'in ürünlerinin mekanizması olduğu düşünülmekte ve filogenetik uzaklıktaki amfibilerde hastalık ve yok olma etkeni olabilir (Voyles *et al.* 2007).

*Batrachochytrium dendrobatidis* kurbağaların biyolojisini değiştirdiği gibi aynı zamanda enfekte durumunda populasyondaki bireyin büyümesini de etkilediği belirlenmiştir (Lips *et al.* 2008, Bosch *et al.* 2007, Skerratt *et al.* 2007, Laurance 2008, Rohr *et al.* 2008). Aynı zamanda amfibilerin tüm gelişim evrelerinde görülen bu etken ölümlere de neden olmaktadır. *B.dendrobatidis* zoosporlar su yolu ile bir hayvandan diğerine bulaşır ve amfibilerin derisini enfekte eder ayrıca bu zoosporlar sadece epitelyumun keratinleşmiş bölümünde büyür (Berger *et al.* 1998, Longcore *et al.* 1999, Pessier *et al.* 1999, Nichols *et al.* 2001). Bu zoosporlar 24 saat içinde hareketli forma dönüşür (Berger 2001). Zoosporlar hem yetişkin hem de iribaş safhada olan (bu safhada sadece ağız parçalarında tespit edilmiştir) kurbağaları enfekte eder (Berger *et al.* 1999, Nichols *et al.* 2001). Enfeksiyondan sonra ölüm genellikle 18-45 gün içinde gerçekleşir.

Enfekte olan amfibi bireylerinde deride kızarıklıklar ve lekelenmeler görülür aynı zamanda ülser ve nekroz oluşumu bildirilmiştir, buna ek olarak refleks kaybı gibi nörolojik etkilere de sebep olur. Doku parçalarında intraselüler zoosporların görülmesi ilk defa Berger vd. (1998) tarafından bildirilmiş olup altın standart olarak belirtilmiştir. Ancak histolojik bulgular moleküler metodlara göre daha az hassasiyete sahiptir. Özellikle subklinik enfeksiyonlarda moleküler çalışmaların önemi ortaya çıkmaktadır (Hyatt *et al.* 2007). Boyle vd. (2004) ve Hyatt vd. (2007) moleküler metodlar kullanarak amfibilerde Bd toksininin belirlenmesi için detaylı bir protokol oluşturmuşlardır ve günümüzde de bu protokol güvenilir olarak kabul edilmiş ve yaygın olarak kullanılmaktadır.

### **2.1.1 Batrachochytrium dendrobatidis'in Familyası (Aile)**

*Batrachochytrium dendrobatidis* (Bd) Chytridiomycota filumuna (şube), Chytridiomycetes clasisine (sınıf), Chytridiales ordosuna (takım) aittir (Hyatt *et al.* 2007). Chytridiomycota filumunun üyeleri kozmopolit olarak yayılış gösteren heterotrofik funguslardır (Sparrow 1960, Karling 1977). Doğada toprak ve suda bulunurlar. Organizmalar üzerinde ise kitin, keratin ve bitki tortuları gibi yüzeyleri kullanarak saprofit davranırlar. Bazı cinsleri fakültatif ya da obligat anaeroblardır. Birçoğu mantarların, alglerin, tohumlu bitkilerin, rotiferlerin, nematodların ya da böceklerin obligat parazitleridir. *Batrachochytrium dendrobatidis* Chytridiomycota

filumunun omurgalı filumunun paraziti olarak kabul edilen ilk üyesidir (Barr 1990).

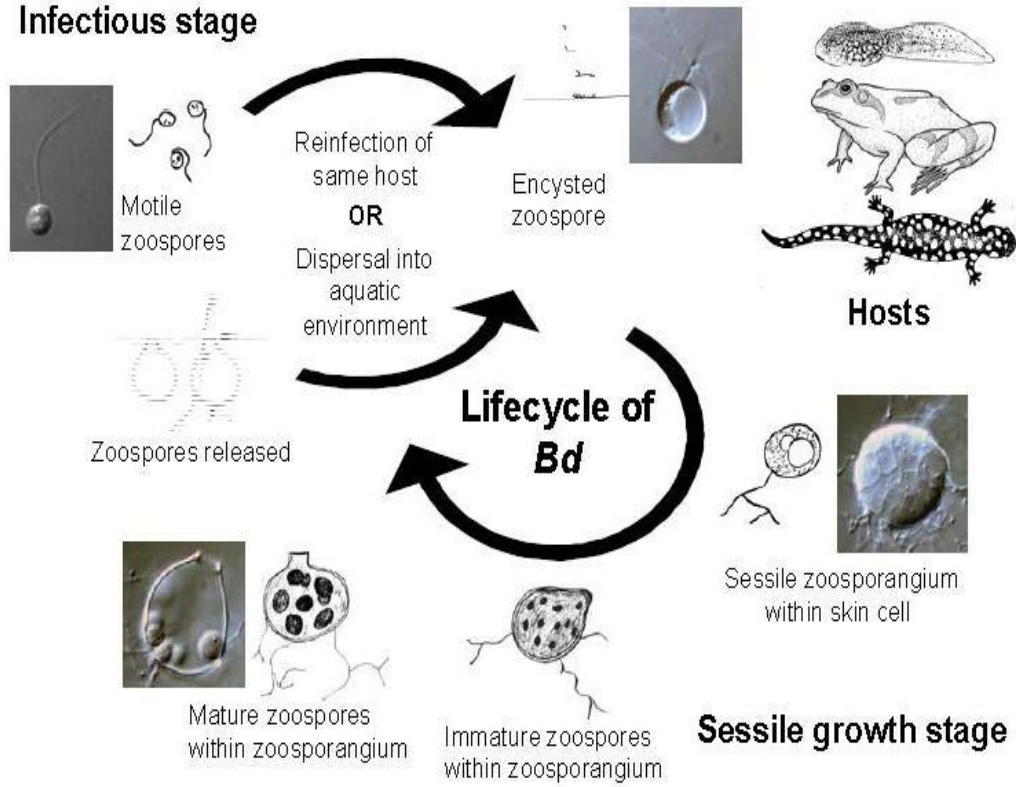
*B. dendrobatidis* Sucul Hayvan Sağlığı Standartları Komisyonu (OIE) tarafından amfibi hastalıkları grubundaki özel öneme sahip 2 patojenden biri olarak kabul edilmiştir (Diğeri ise yine bu tez çalışmasında yer alan *Iridoviridae* familyasının Ranavirus cinsidir) (OIE 2006).

### 2.1.2 Batrachochytrium dendrobatidis' in Yaşam Döngüsü

*Batrachochytrium dendrobatidis* (Bd)'in yaşam döngüsü 2 ana evreden oluşur. Bunlardan ilki hareketli safhadır ve bu safhada zoosporlar su ile taşınabilir ve yeni konaklara ulaşabilir. Ayrıca bu safhada zoosporlar kısa ömürlüdür. İkinci safha ise zoosporangium (sporangium olarak da bilinir) içinde çoğalıp gelişebildiği durağan evredir. Bu safhada eşeysiz çoğalma için monosentrik olan tallus zoosporangium içinde bulunur. *B. dendrobatidis* konağın katlanmış deri epiteline gömülerek uyum sağlar ve talli epidermis hücresi içinde yaşar. İlk olarak parazitizm birkaç tabaka derinliktedir. Ayrıca gelişme hızı hücrenin gelişim hızı ile çakışır. *B. dendrobatidis* ilk olarak canlı hücreler içinde gelişir ama *B. dendrobatidis*'lerin gelişimini talli zoosporangia olarak ölü, yüzeysel ve keratinize olmuş hücrelerde tamamlar. Zoosporangia yüzeyinde ve vücudun distal kısmında açılan bir boşaltım kapağı ile zoosporlar çevreye yayılırlar. Yetişkin ve iribaşlarda ki sporangia dağılımı; *B. dendrobatidis* parazitlik faaliyetlerine başladığında tabakalanmış ve keratinize epidermise ihtiyaç duymakta olduğunu göstermiştir (Berger *et al.* 1998). Genç sporangialara değinilecek olursak daha derinlerdeki prekeratin içeren hücreler içinde gelişebilirler. Kültür ortamında ve derideki yaşam siklusu aynıdır. İn vitro ortamdaki yaşam siklusu 22 °C de 4 ile 5 gün sürmektedir. Dirençli dinlenen sporlar bulunmamıştır yani *B. dendrobatidis* sporlarının dinlenme (uyku) fazı yoktur (Berger *et al.* 2005) (Şekil 2.1).

25°C üzerinde epidermal devir oranı artarken Bd büyüme hızı yavaşlar (Piotrowski *et al.* 2004). Böylelikle sıcaklık artışında enfeksiyon kaybolur (Berger *et al.* 2004, McDonald *et al.* 2005, Piotrowski *et al.* 2004). Bd çeşitli sıcaklık ve yağış rejimi gibi geniş aralıktaki çevre koşullarında yaşayabildiği gözlemlenmiştir (Ron 2003). Bd'in laboratuvar ortamında ki optimum gelişme sıcaklığı 17-25°C dir. 28°C de organizma

gelişimi durur ve 29°C de bir hafta içinde ölür (Longcore *et al.* 1999, Piotrowski *et al.* 2004).



**Şekil 2.1.** Bulaşıcı ve sesil büyüme aşamalarını gösteren *Batrachochytrium dendrobatidis*'in yaşam döngüsü (Rosenblum *et al.* 2010).

### 2.1.3 *Batrachochytrium dendrobatidis*'in Kökeni

*B. dendrobatidis*, yeni ve gelişmekte olan bir patojen (yayılm gösteren patojen hipotezine göre ya da yeni patojen hipotezine (NPH) göre) midir yoksa amfibilerin endemik ortakçıları mıdır? Bu, patojen konak dinamiğinde çevresel değişikliklerin etkisi ile daha da öldürücü olmuştur (endemic pathogen hypothesis (EPH) (Fisher *et al.* 2009).

NPH *B. dendrobatidis*'in parçalı yayılışlar üzerindeki gözlemler ile desteklenmiştir. Bu salgının giriş yönleri (cepheleri) Avustralya, Orta ve Güney Amerika'da tanımlanmıştır (Laurance *et al.* 1996, Berger *et al.* 1998, Lips *et al.* 2006, 2008). Ayrıca enfekte olmuş

vektör amfibiler çevrede olduğu kadar amfibi ticaretinde de tespit edilmiştir (Fisher and Garner 2007, Cunningham *et al.* 2005, Garner *et al.* 2006, Walker *et al.* 2008). EPH *B. dendrobatidis*'in on yıllar öncesinde küresel amfibi popülasyonlarının azalış başlangıcını gösteren kanıtlarla desteklenmiştir (Ouellet *et al.* 2005, Weldon *et al.* 2004).

*B. dendrobatidis* ile chytridiomycosis'in oluşması bir dereceye kadar olan çevresel farklılıklar ve küresel ısınma arasında ölçülebilir bağların olduğu belirtilmiştir (Bosch *et al.* 2007, Pounds *et al.* 2006, Reading 2007).

Chytridiomycosis'in yayılmasının 2 atasal merkezi olduğu önerilmiştir. İlk atasal merkez Afrika dışına *Xenopus* cinsinin ticaretidir (Weldon *et al.* 2004). 2'nci atasal merkez Amerika dışında Kuzey Amerikan Bullfrog (*Lithobates catesbeianus* / *Rana catesbeiana*) ticareti yapılmasıdır (Fisher and Garner 2007, Garner *et al.* 2006). Bu fungusun en eskiye dayanan varlığının tespiti Afrika'daki 697 *Xenopus* türünün incelenmesiyle *Xenopus laevis*'te yapılmıştır. Böylelikle de *B. dendrobatidis*'in Afrika orjinli olduğu hipotezini de destekleyen epidemiyolojik kanıtlar bulunmuştur. Ayrıca bu çalışma ile birlikte Afrika dışında tespit edilen ilk hastalık bulgusundan 23 yıl önce *B. dendrobatidis*'in Afrika'da var olduğuda ortaya konulmuştur (Weldon *et al.* 2004). Tüm kanıtlar incelendiğinde *B. dendrobatidis*'in güncel dağılımı bilinen ve bilinmeyen hareketi nedeni ile 20. yüzyılın ilk yarısında vektörlerin popülasyon kaynağı henüz tanımlanamamıştır (Fisher *et al.* 2009).

Morgan vd. (2007), Sierra Nevada'da amfibi azalışları üzerine yaptıkları bir araştırmada NPH tezini destekler sonuçlar buldular ve bu sonuçlar düşük çeşitlilik, amfibi konak özgüllüğü olmaması, fungal genotip ve coğrafya ile düşük korelasyon, tek bir fungal genotip ile yerli kurbağanın yok olması ve insan destekli fungus göçünün kanıtlarıdır. Ayrıca endemizm desteğinde (EPH), yerel ölçekte popülasyonların yeniden birleşmesinde bazı farklılıklar buldular. Bu nedenle amfibi azalışlarını ne hastalık salgınının nede endemizmin tek başına açıklayamayacağını belirttiler. Goka vd. (2009), Walker vd. (2010) tarafından desteklenen “yeni patojen hipotezi” ve “endemik patojen hipotezi” arasında bir kombinasyon mevcut ve bu kombinasyon salgın durumunu

açıklayan hipotezi önerdiler ve NPH *B. dendrobatidis*'in İberya'da ortaya çıkmasıyla tutarlıdır sonucuna vardılar. Bununla birlikte EPH benzeri süreçler ile hastalık girişinin populasyon düzeyindeki sonuçları açıklanmıştır ve NPH benzeri süreçlerin ifade olması (*B. dendrobatidis*'in İberya biyomlarına girişi) onun EPH benzeri çevresel şartlarına bağlı olduğu bulgularını göstermiştir (Chytridiomycosisin oluşması). Öyleyse *B. dendrobatidis*, görülmesi çevresel şartlara bağlı olan yeni bir patojendir.

#### **2.1.4 B. dendrobatidis' in Batı Avrupa Türlerinde Tespiti**

*B. dendrobatidis* Avrupa Birliğinde yaygın ama baştan savma bir şekilde dağılım göstermektedir (Garner *et al.* 2005). İspanya, İtalya, Almanya, Belçika, İngiltere, Fransa, İsviçre, Avusturya, Macaristan, Danimarka ve Portekiz'de bulunmuştur (Garner *et al.* 2006, Spitzen- van der Sluijs *et al.* 2010).

İki yaşamlıların dünya ticareti enfekte hayvanların saf populasyonla tanışmasıyla Chytridiomycosis'in ortaya çıkmasını kapsar (Fisher and Garner 2007). Kabul edilir ki; *B. dendrobatidis* İngiltere'de Amerikan bullfroglar ya da afrikalı pençeli kurbağalar ile birlikte ortaya çıkmışlardır. İngiltere'deki enfekte olmuş bullfroglar *Rana temporaria*, *Lissotriton vulgaris*, *Triturus cristatus* ve *Bufo Bufo*'nun ıslahı için kullanılan küçük göletlerde meydana gelmiştir (Cunningham *et al.* 2005). Yaygın olan kara kurbağalarının enfeksiyona duyarlı olduğu bilinmektedir ve *B. dendrobatidis*'e bağlı olarak bu türlerde azalmalar meydana gelmiştir (Bosch and Martinez-Solano 2006).

Fransada, *B. dendrobatidis* Amerikan bullfroglarında tespit edilmiştir (Garner *et al.* 2006). En az 3 iki yaşamlı türü (*Alytes obstetricans*, *Salamandra salamandra* ve *Bufo bufo*) chytridiomycosis nedeniyle İspanya'da ölümler yaşanmaktadır (Bosch *et al.* 2001, Bosch and Martinez-Solano 2006). Daha da ötesinde, *B. dendrobatidis* *B. calamita*, *Hyla arborea*, *Rana iberica*, *R. perezi*, *Triturus alpestris* ve *T. Marmoratus*'lerde de tespit edilmiştir (İnt. Kyn. 4).

İtalya'daki ilk *B. dendrobatidis* kaydı 2001 yılında *Bombina pachypus*'da tespit edilmiştir (Stagni *et al.* 2004). Bununla birlikte, chytridiomycosis *Rana latastei* ve



kuzeydeki Amerikan bullfrog populasyonunda tespit edilmiştir (Garner *et al.* 2006). Ayrıca Umbria'daki *Rana kl. esculenta* - *R. lessonae* populasyonunda ve Turin'de de tespit edilmiştir (Simoncelli *et al.* 2005, Di Rosa *et al.* 2007, Federici *et al.* 2008). Simoncelli ve arkadaşları su kurbağalarında herhangi bir ölüme rastlamamışlardır fakat tüm enfekte vakalarında yoğun insan kaynaklı baskıyı bir not olarak düşmüşlerdir. *B. dendrobatidis* ayrıca Sardinia'daki endemik *Euproctus platycephalus* populasyonlarda da tespit edilmiştir (Bovero *et al.* 2008).

Almanya'da enfekte olan *Rana arvalis*, *R. esculenta* ve *R. esculenta* synkleptonu bulunmuş ve son zamanlarda yayınlanmamış bazı çalışmalarda *B. dendrobatidis*'in Almanya'da oldukça yaygın olduğunu ortaya koymaktadır (İnt. Kyn. 4). İsviçre'de *A. obstetricans* ve Portekiz'de *Pleurodeles waltl* enfekte olmuşlardır. *B. dendrobatidis*'in Danimarka'da bulunan *R. temporaria*, *Rana kl. esculenta* kurbağalarındaki görülme sıklığı üzerine çalışmalar yapılmış ve her iki türde de funguslar tespit edilmiş ve patojenlerin tespiti için ileri aşamada çalışmalar gerekli olduğunu ortaya koymuşlardır (Scalera *et al.* 2008)

*B. dendrobatidis* pozitif iki yaşamlılar 2009'da Hollanda çevresinde de görülmüştür. İki yaşamlıların %4' üne gelen bir oranda testler *B. dendrobatidis* için pozitif çıkmıştır. Alp semenderi, yumuşak semender, ebe kurbağa ve havuz kurbağaları da *B. dendrobatidis* için pozitif çıkmış doğal türlerdir (Spitzen– van der Sluijs *et al.* 2010)

## **2.2 Ranavirus (Iridovirus)**

Ranavirüs *Iridoviridae* familyasının 5 genusundan biridir (Jancovich *et al.* 2011). Soğukkanlı hayvanları enfekte ederler ve Ranavirüsler geniş ikozohedral yapılı virüslerdir (Williams *et al.* 2005). Ranavirüsler balık, amfibi ve sürüngenlerin doğal ve kültürel populasyonlarını enfekte ederler ve ekonomik, ekolojik önem taşıyan patojenlerdir (Chinchar 2002, Chinchar *et al.* 2009).

Yapılan çalışmalarda Amerika, Avustralya, Avrupa ve Asya'da ki konak türlerden farklı ranavirüs izolatları izole edilmiştir (Williams *et al.* 2005). Buna ek olarak küresel amfibi populasyonlarının azalışından sorumlu ve balık ölümlerine sebep olan bir

patojen olarak geniş ölçüde rapor edilmiştir (Chinchar 2002). Dünya Hayvan Sağlığı Organizasyonu (OIE), ranavirüslerden biri olan Epizootic Hemotopoiteik Nekrozis Virüsü (EHMV)'nü bir balık patojeni olarak tanıır ve kurbağalar içinde tüm ranavirüs enfeksiyonlarını listelemiştir (OIE 2011).

Ayrıca Avrupa, Asya ve Amerika'da ranavirüs kaynaklı kitlesel amfibi ölümleri birçok araştırmacı tarafından bildirilmiştir (Fox *et al.* 2006, Ariel and Bang Jensen 2009, Une *et al.* 2009). Hatta Avusturalya'da vahşi amfibilerden de ranavirüs izole edilmiştir (Speare and Smith 1992). En fazla ölüm Kuzey Amerika'da görülmüştür. Muths vd. (2006), 2000 ve 2005 yılları arasında ranavirüs kaynaklı ölümlerin %43 olduğunu bildirmişlerdir. Benzer olarak Green vd. (2002), 1996-2001 yılları arasında İngiltere'deki ranavirüs kaynaklı mortalite oranının %57 olduğunu belirtmişlerdir. Ranavirüslerin, 14 familyada bulunan en az 72 amfibi türünü enfekte ettiği bilinmektedir (Çizelge 2.1).

**Çizelge 2.1.** Ranavirüs enfeksiyonunun bilinen durumlarının küresel dağılımı ve çiftlik ve vahşi amfibi topluluklarında mortalite (I: Ranaviral hastalığa ait brüt belirtileri ile enfeksiyon, M: Ranaviral hastalığına bağlı mortalite, W: Yabani popülasyon, C: Zoolojik ve Rana kültür tesislerinde bulunan amfibiler).

Kıta	Ulus	Aile	Bilimsel Adı
North America	Canada	Ranidae	Rana temporaria
North America	Canada	Salamandridae	Lissotriton vulgaris
North America	Canada	Ambystomatidae	Ambystoma mavortium
North America	Canada	Ambystomatidae	Ambystoma spp.
North America	Canada	Hylidae	Hyla cersicolor
North America	Canada	Hylidae	Pseudacris crucifer
North America	Canada	Hylidae	Pseudacris spp.
North America	Canada	Ranidae	Lithobates clamitans
North America	Canada	Ranidae	Lithobates pipiens
North America	Canada	Ranidae	Lithobates sylvaticus
North America	Canada	Salamandridae	Notophthalmus viridescens
North America	Costa Rica	Bufo	Bufo marinus
North America	USA	Ambystomatidae	Ambystoma jeffersonianum
North America	USA	Ambystomatidae	Ambystoma macrodactylum
North America	USA	Ambystomatidae	Ambystoma maculatum
North America	USA	Ambystomatidae	Ambystoma mavortium
North America	USA	Ambystomatidae	Ambystoma opacum
North America	USA	Ambystomatidae	Ambystoma tigrum
North America	USA	Bufo	Anaxyrus americanus
North America	USA	Bufo	Anaxyrus boreas boreas

**Çizelge 2.1.** (Devam) Ranavirüs enfeksiyonunun bilinen durumlarının küresel dağılımı ve çiftlik ve vahşi amfibi topluluklarında mortalite (I: Ranaviral hastalığa ait brüt belirtileri ile enfeksiyon, M: Ranaviral hastalığına bağlı mortalite, W: Yabani popülasyon, C: Zoolojik ve Rana kültür tesislerinde bulunan amfibiler).

<b>Kıta</b>	<b>Ulus</b>	<b>Aile</b>	<b>Bilimsel Adı</b>
Asia	China	Cryptobranchidae	Andrias davidianus
Asia	China	Ranidae	Rana dybowskii
Asia	China	Ranidae	Rana grylio
Asia	China	Ranidae	Rana tigrina
Asia	Japan	Hynobiidae	Hynobius nebulosus
Asia	Japan	Ranidae	Lithobates catesbeianus
Asia	Thailand	Ranidae	Rana tigrina
Australia	Australia	Myobatrachidae	Limnodynastes ornatus
Europe	Belgium	Salamandridae	Tylototriton kweichowensis
Europe	Croatia	Ranidae	Pelophylax esculenta
Europe	Denmark	Ranidae	Pelophylax esculenta
Europe	Israel	Bufo	Pseudepidalea viridis
Europe	Netherlands	Ranidae	Pelophylax spp.
Europe	Netherlands	Salamandridae	Lissotriton vulgaris
Europe	Portugal	Salamandridae	Triturus marmoratus
Europe	Portugal	Salamandridae	Triturus boscai
Europe	Spain	Alytidae	Alytes obstetricans
Europe	Spain	Salamandridae	Ichthyosaura alpestris
Europe	Switzerland	Ranidae	Pelophylax esculenta
Europe	Switzerland	Ranidae	Pelophylax ridibundus
Europe	UK	Alytidae	Alytes obstetricans
Europe	UK	Bufo	Bufo bufo
Europe	UK	Bufo	Hyla chrysoscelis
Europe	UK	Bufo	Hyla cinerea
Europe	UK	Bufo	Pseudacris clarkii
Europe	UK	Bufo	Pseudacris crucifer
Europe	UK	Bufo	Pseudacris feriarum
Europe	UK	Bufo	Pseudacris regilla
Europe	UK	Bufo	Pseudacris sierra
Europe	UK	Plethodontidae	Desmognathus conanti
Europe	UK	Plethodontidae	Desmognathus fuscus
Europe	UK	Plethodontidae	Desmognathus imitator
Europe	UK	Plethodontidae	Desmognathus monticola
Europe	UK	Plethodontidae	Desmognathus ocoee
Europe	UK	Plethodontidae	Desmognathus quadramaculatus
Europe	UK	Plethodontidae	Desmognathus santeetlah
Europe	UK	Plethodontidae	Desmognathus wrighti
Europe	UK	Plethodontidae	Eurycea cirrigera
Europe	UK	Plethodontidae	Eurycea longicauda
Europe	UK	Plethodontidae	Eurycea wilderae

**Çizelge 2.1.** (Devam) Ranavirüs enfeksiyonunun bilinen durumlarının küresel dağılımı ve çiftlik ve vahşi amfibi topluluklarında mortalite (I: Ranaviral hastalığa ait brüt belirtileri ile enfeksiyon, M: Ranaviral hastalığına bağlı mortalite, W: Yabani popülasyon, C: Zoolojik ve Rana kültür tesislerinde bulunan amfibiler).

Kıta	Ulus	Aile	Bilimsel Adı
Europe	UK	Plethodontidae	Gyrinophilus porphyriticus
Europe	UK	Plethodontidae	Plethodon glutinosus complex
Europe	UK	Plethodontidae	Plethodon jordani
Europe	UK	Ranidae	Lithobates blairi
Europe	UK	Ranidae	Lithobates catesbeianus
Europe	UK	Ranidae	Lithobates clamitans
Europe	UK	Ranidae	Lithobates palustris
Europe	UK	Ranidae	Lithobates septentrionalis
Europe	UK	Ranidae	Lithobates sphenoccephalus
Europe	UK	Ranidae	Lithobates sylvaticus
Europe	UK	Ranidae	Pyxicephalus adspersus
Europe	UK	Ranidae	Rana aurora
Europe	UK	Ranidae	Rana draytonii
Europe	UK	Ranidae	Rana heckscheri
Europe	UK	Ranidae	Rana luteiventris
Europe	UK	Ranidae	Rana muscosa
Europe	UK	Rhacophoridae	Rhacophorus dennysi
Europe	UK	Salamandridae	Notophthalmus viridescens
Europe	UK	Scaphiropodidae	Scaphiopus holbrookii
South America	Argentina	Leptodactylidae	Atelognathus patagonicus
South America	Brazil	Ranidae	Lithobates catesbeianus
South America	Uruguay	Ranidae	Lithobates catesbeianus
South America	Venezuela	Bufo	Bufo marinus
South America		Leptodactylidae	Leptodactylus sp.

Ranavirüs enfeksiyonuna duyarlılık türler arasında değişmektedir (7-8). Kuzey Amerika'da bu bölgede yaşayan 19 tür arasında en duyarlı türlerin ağaç kurbağası (*Lithobates sylvaticus*) ve gopher kurbağası (*Lithobates capito*) olduğu bildirilmiştir. Ayrıca doğu toprak kurbağası'da (*Scaphiopus holbrookii*) ranavirüslere yüksek duyarlılıktadır. Günümüzde dünya üzerinde ranavirüs kaynaklı ölümler her yıl görülmektedir. Bu veriler sonucunda ranavirüsün tüm dünyada görülen bir patojen olduğu ve sıklıkla amfibi ölümlerine neden olduğu düşünülmektedir. Yaygın amfibi türlerinde ranavirüs kaynaklı ölümlerin görülmesi nedeniyle amfibian apizootiler içinde ranavirüslerin önemi sık sık göz ardı edilmektedir. Oysa yaygın olmayan *Rana muscosa*, *R. aurora*, *Anaxyrus (bufo) boreas* ve *Ambystoma tigrinum stebbisi* türleri Kuzey Amerika'da koruma altına alınmıştır. İngiltere'de (UK) 1996/97 ve 2008 yılları

arasında ranavirüse bağı hastalıklar nedeniyle kurbağa ölümlerinin populasyonlarda %81 oranında azalma görülmüştür. Danimarka'da yenilebilen kurbağalarda ve kaplan semenderi populasyonlarında da azalmalar görülmüştür. Kuzey Carolina, USA'da sekiz yıllık yapılan çalışma boyunca ranavirüse bağı sebepler sonucu benekli salamandralar (*A. macidlotum*) ve odun kurbağaları neredeyse yok olmuştur. Açıkça görülmektedir ki Ranavirüsler populasyonun yok olmasına sebep olur. Nadir amfibi türlerinden sarı ayaklı dağ kurbağası (*Rana muscosa*), Kaliforniya kırmızı ayaklı kurbağa (*Rana draytonii*), batı kurbağası (*Anaxyrus boreas boreas*) ve Çin büyük semenderi (*Andrias davidianus*) türlerinde de ranavirüs kaynaklı ölüm olgularının olduğu bilinmektedir. Ranavirüs kaynaklı ölümler, populasyon yapısını ve az rastlanan türlerinde direncini etkilediği kanıtlanmıştır. Bu nedenle amfibiler üzerine ranavirüslerin populasyon düzeyindeki etkilerinin araştırılması gerekir.

Ranavirüslerin primer rezervuarları sucul ve karasal amfibilerdir. Akvatik çevrelerde larvalar, paedomorphitler ve yetişkinler rezervuardır. Bunun yanı sıra balık ve reptiller de rezervuar olabilir.

Patojenin transmisyonunu anlayabilmek için konak patojen etkileşimini anlamak şarttır. Bu sayede hastalık riski azaltılabilir. Transmisyon direk ve indirek olabilir. Ranavirüsün bulaşması enfekte olmuş bireyin direkt temas etmesiyle, kontamine olmuş suyla temas ve kontamine olmuş sedimentlerin yenmesi sonucu olmaktadır. Nekrofi ve kannibalizm ile enfekte dokuların sindirimi ise diğeri bir hastalık bulaşma yoludur. Enfekte birey ile suyun 3 saat teması transmisyona sebep olmaktadır. Virüsün doğrudan yenmesi sudan daha hızlı ölümlere sebep olur.

Ranavirüslerin küresel dağılımı ve birçok anur ve kuyruklu türlerde hastalığa yol açma yeteneği göz önüne alındığında, küresel amfibi populasyonları için bu grup önemli bir risk oluşturmaktadır. Bu hastalıklarda ki artma tüm dünya üzerinde ki doğal yaşamı etkiler ve özellikle nesli tükenmekte olan türlerin korunmasını zorunlu kılar.

Ranavirüsler geniş varyetelerinde balık ve amfibiler de hücre ölümlerine sebep olur ve tüm hayvanlarda patonejiye viral izolata, konağın yaşına ve coğrafik durumuna bağıdır (Chinchar *et al.* 2005). Ranavirüslerden bazıları konağa özgü olsa bile bazı izolatları

hem balıklarda hem de amfibilerde görülebilir (Moody and Owens 1994, Mao *et al.* 1999). Ranavirüsler konak canlıda sistematik nekrozitan enfeksiyona sebep olur ve subklinik ve kalıcı enfeksiyonlar belirli koşullar altında görülebilir (Whittington and Reddacliff 1995, Whittigton *et al.* 2010). Balıklarda ranavirüsün immün cevabı tam olarak bilinmemesine rağmen kurbağalarda ranavirüse karşılık bazı immün cevapların var olduğu yayınlanmıştır (Gantress *et al.* 2003, Maniero *et al.* 2006, Morales and Robert 2007, Morales *et al.* 2010).

Ranavirüslerin genomu doğrusal çift iplikli DNA (dsDNA) yapısında olup tekdir ayrıca yüksek derecede metillenmiştir ve terminal UA fazlılıkları içerir (Chinchar 2002, Jancovich *et al.* 2011). Günümüzde 7 farklı ranavirüs türünün tüm genom sekansı tanımlanmıştır (He *et al.* 2002, Jancovich *et al.* 2003, Song *et al.* 2004, Tan *et al.* 2004, Tsai *et al.* 2005, Huang *et al.* 2009, Jancovich *et al.* 2010). En çok çalışılan ranavirüs geni major capsid protein (MCP) genidir ve benzer ranavirüs izolatının gen sekansları genel kullanıma açıktır. MCP sekansları ranavirüslerin filogenisi, evrimi (gelişimi) ve PCR yöntemi ile MCP geni içeren bu virüs gruplarının tespitinde kullanılır (Mao *et al.* 1996, Mao *et al.* 1997, Tidona *et al.* 1998, Hyatt *et al.* 2000, Marsh *et al.* 2002).

### **2.2.1 Genus ranavirüs**

Ranavirüsler *Iridoviridae* familyasının 4 genusundan birini temsil etmektedir. Bu genuslar *Iridovirus*, *Chloriridovirus*, *Lymphocystivirus* ve *Megalocytivirus* (Jancovich *et al.* 2011). Ranavirüsün 6 resmi türü vardır; *Ambystoma tigrinum virüs* (ATV), *Bohle iridovirüs* (BIV), *Epizootic haematopoietic necrosis virüs* (EHNV), *European catfish virüs* (ECV), *Frog virüs 3* (FV3) ve *Santee-Cooper ranavirüs* (SCRV) uluslararası virüs taksonomi topluluğu (ICTV) tarafından türler içinde de izolatlar tanımlanmıştır (Çizelge 2.2). Ek olarak geçici türler henüz ICTV tarafından ranavirüs taksonomisine kabul edilmemiştir (Jancovich *et al.* 2011).

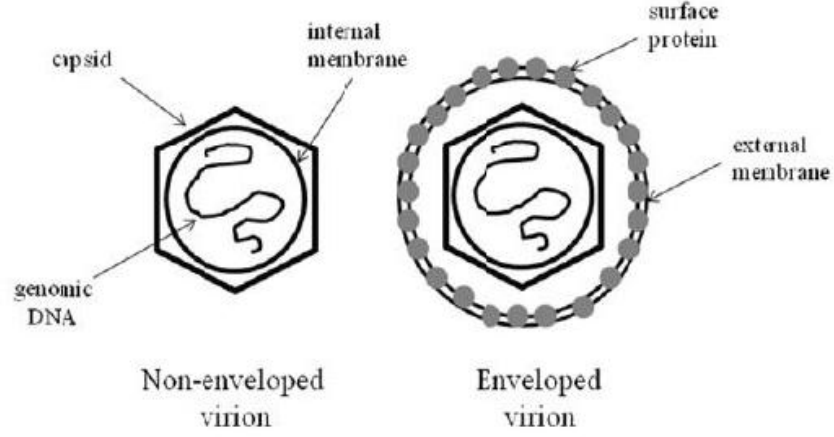
**Çizelge 2.2.** Ranavirus cinsine ait türler ve izolatlar (Jancovich *et al.* 2011).

<b>Türler</b>	<b>İzolatlar</b>
<i>Ambystoma tigrinum virüs</i>	<i>Ambystoma tigrinum virus</i> (ATV) <i>Regina ranavirus</i>
<i>Bohle iridovirus</i>	<i>Bohle iridovirus</i> (BIV)
<i>Epizootic haematopoietic necrosis virus</i>	<i>Epizootic haematopoietic necrosis virus</i> (EHNV)
<i>European catfish virus</i>	<i>European catfish virus</i> (ECV) <i>European sheatfish virus</i> (ESV)
<i>Frog virus 3</i>	<i>Frog virus 3</i> (FV3) <i>Tiger frog virus</i> (TFV)
<i>Santee-Cooper ranavirus</i>	<i>Santee-Cooper ranavirus</i> (SCRV) <i>Largemouth bass virus</i> (LMBV)
<b>Durumu Belirsiz (geçici) Türler</b>	
<i>Rana esculenta iridovirus</i> (REIR)	
<i>Singapore grouper iridovirus</i> (SGIV)	
<i>Grouper iridovirus</i> (GIV)	
<i>Testudo iridovirus</i> (ThIV)	
<i>Rana catesbeiana virus-Z</i> (RCV-Z)	

### 2.2.2 Virion Yapısı ve Sitopatolojisi

*Iridoviridae* familyasının üyeleri büyük çift iplikli DNA virüsleridir. Virionlar genellikle 120-200 nm çapındadır ve ikozohedral simetri gösterirler (Chinchar 2002). Virionun çekirdeği, tanımlayıcı kapsomerin bir kapsid bileşiği ve transmembran proteinler içeren lipid bir zar tarafından sarılan nükleoprotein filament içerir (Jancovich *et al.* 2011) (Şekil 2.2). Virionlar konak hücre membranını tomurcuklandırarak bir zara sahip olabilirler ve zarflı virionlar yüksek seviyede spesifik enfeksiyona sahip olmasına

rağmen hem zarflı hemde zarfsız virionların her ikisinde enfeksiyoneldir (Braunwald *et al.*1979).



**Şekil 2.2.** Zarflı ve zarfsız ranavirüs virion yapısı (Holopainen and Toivonen 2012).

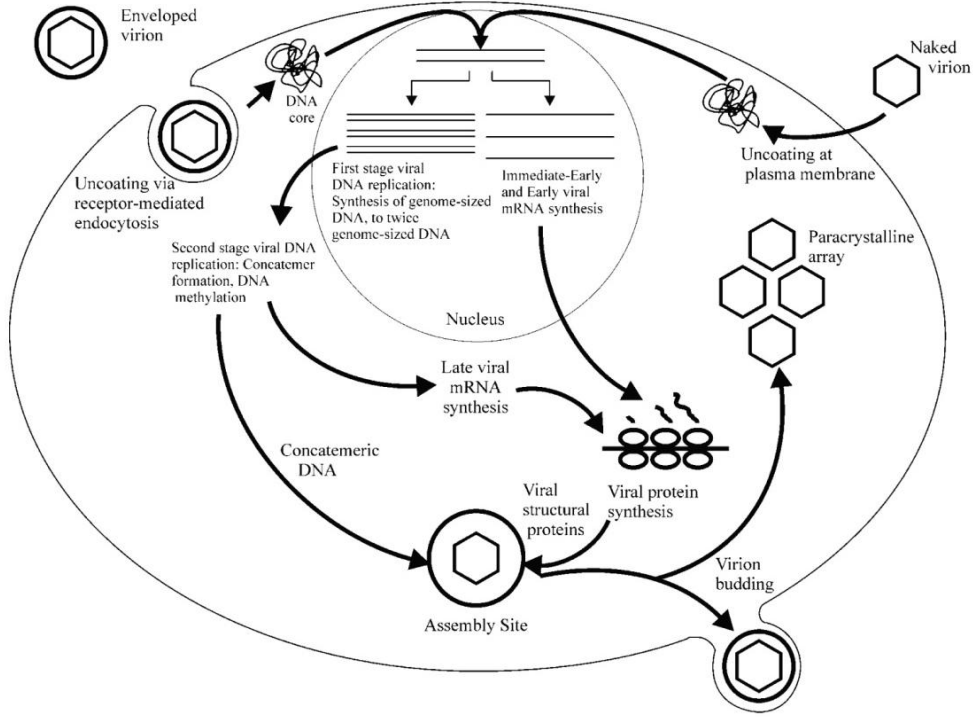
Ranavirüslerin enfeksiyon gösterdiği sürüngenler, balıklar ve amfibilere ek olarak balık, kurbağa ve memeli hücrelerini içeren omurgalı hücrelerinde geniş bir varyete de enfeksiyon yeteneği gösterebilir (Jancovich *et al.* 2011). Virüs bilinmeyen bir reseptör vasıtasıyla hücre ortamına iki rotadan biriyle girer. Bu rotalar ya endositoz ile (zar parçacıkları) ya da sadece görünümünü hücre içerisine aktararak (zarfsız partiküller) konak hücreye girer (Chinchar 2002). Zarfsız girişten sonra DNA nükleusa aktarılır ve burada immediate early (IE) ve delayed early (DE) viral transkripler hücresel RNA pol II tarafından sentezlenir (Goorha *et al.* 1978, Goorha 1982). Transkriplerden birisi viral DNA polimeraz, çekirdekde viral DNA sentezini katalizler (Goorha 1982, Chinchar 2002). Viral DNA replikasyonun 2' nci fazı sitoplazmada gerçekleşir. Yeni sentezlenen DNA taşınır ve on genomdan daha büyük boyutta konsatamerik eşit parçalı yapılara rekombine edilir yani tekrar birleştirilir (Goorha 1982). Geç viral mRNA transkripsiyonu ya sitoplazmada olur ya da viral toplanma bölgelerinde olur ve diğer DNA virüsleri ile birlikte tüm geç gen ekspresyonu viral DNA sentezine ihtiyaç duyar (Chinchar 2002). Translasyon sonrası üretimi ne geniş ölçüde glikozilasyon ne de sülfatilizasyon ya da tespit edilen ranavirüs öncül proteinlerinden ayrılma gerektirir (Chinchar *et al.* 2005).



Ranavirüs DNA'sında ki CpG gen adacıklarında yüksek seviyede metillenmiş "C" belirlenmiştir (Willis and Granoff 1980, Eaton *et al.* 2007). Viral DNA sitoplazmada virüs tarafından kodlanan sitozin DNA metil transferaz enzimi ile metillenir (Willis *et al.* 1984). Viral DNA metil transferaz enzimi FV-3 ve diğer iridovirüslerinden moleküler olarak karakterize olmuştur (Kaur *et al.* 1995, Tidona *et al.* 1996, Mao *et al.* 1996). Bu metilasyonun, viral DNA'yı virüs tarafından kodlanan endonükleazlardan koruduğu iddia edilmektedir (Goorha *et al.* 1984). Bunun yanı sıra ranavirüslerden biri olan *Singapore grouper iridovis* (SGIV) DNA metil transferaz enziminden yoksundur (Song *et al.* 2004). Bu durum viral DNA metilasyonunun başka bir rolü olduğunu göstermiştir. Metillenmemiş CpG adaları içeren bakteriyal DNA, doğuştan gelen bağışıklık akabinde reseptör 9 (TLR9) aracı gibi çalıştığı tespit edilmiştir (Bauer *et al.* 2001). Buda şunu göstermektedir ki ranavirüsler kendi genomlarına konak immün sistemini indirgemek için metilleyebilirler (Williams *et al.* 2005).

Virionun hücreye girişi viral proteinlerin giriş bölgelerine taşınmasıyla oluşur ve konsantrik viral DNA bazı mekanizmalar ile virionlar içinde paketlenir. Böylelikle halkasal permute jenerasyonlar ve terminal yedek genom oluşur (Chinchar 2002). Virionlar hücreden doğrudan plazma membranına zarf parçalarıyla ya da sitoplazma içinde geniş parakristalin dizileri şeklinde depolanarak tomurcuklanma şeklinde çıkarlar (Chinchar 2002) (Şekil 2.3).

### Ranaviruses (family *Iridoviridae*)



**Şekil 2.3** Ranavirüslerin replikasyon döngüsünün özeti Chinchar (2002) tarafından Springer Verlag Wien izni ile tekrar çizilmiştir.

FV-3 12 ile 32°C arasında replike olur ve 30 dak. 55°C den daha yüksek sıcaklıklara maruz kaldığında ya da UV iridasyonuna maruz kaldığında inaktive olur (Chinchar 2002, Jancovich *et al.* 2011). Ranavirüsler 1 yıl boyunca +4°C ya da -70°C de saklandıklarında infektivitelerini korumuşlardır (Bailey 2007). Bazı ranavirüsler kurumaya hassas iken BIV 42°C de 6 haftalık kurutma işleminden sonra infektivitesini koruduğu rapor edilmiştir (Jancovich *et al.* 2011). Hücre kültüründe ranavirüslerin replikasyonu hızlıdır. Viral makromoleküller sentezleri ve sitopatik etkileri (CPE) infeksiyondan sonraki birkaç saat içinde tespit edilebilirler (Goorha and Granoff 1974). Konak hücresinde ki fonksiyonlarda ise ranavirüs infeksiyonu konak hücresinin DNA, RNA ve protein sentezini hızlı bir şekilde inhibe eder, hücre yapısının tekrar düzenlenmesine neden olur (Murti *et al.* 1985, Willis *et al.* 1985, Chinchar 2002). Ranavirüsler konak hücrelerinde apoptozisin karakteristik septomlarınınada neden olduğu gösterilmiştir. Örneğin kromatik yoğunlaşma ve DNA parçalanması (Zhang *et al.* 2001, Essbauer and Ahne 2002, Chinchar *et al.* 2003). Viral gen ekspresyonu apoptozis tetiklenmesinde gerekli değildir ama bunun programlanmış hücre ölümünde virion

proteinleri tarafından doğrudan ya da dolaylı ilişkisi olup olmadığı henüz belirlenmemiştir (Chinchar 2003).

Konak içerisinde ranavirüsler hematopoetik dokuları ve diğer organları enfekte eder. Örneğin; böbrek, karaciğer, dalak, gastrointestinal sistem gibi kanamaların yanı sıra bölgesel ya da genel nekroze sebep olur (Reddacliff and Whittington 1996, Williams *et al.* 2005). Ek olarak septomlar kanamalar, deride kararmalar, düzensiz yüzmeye, iştahsızlık, ilgisizlik ve ataksidir (Langdon 1989, Ogawa *et al.* 1990, Williams *et al.* 2005). Balık enfeksiyonunda viral parçacıklar iç organların endotelial, epitelyal ve beyaz kan hücrelerinin sitoplazmasında tespit edilebilir (Ahne *et al.* 1997).

### 2.2.3 Ranavirüslerin Genomik Özellikleri

Ranavirüs genomu tek, lineer, çift zincirli bir DNA molekülüdür. Tüm genom sekansı 7 ranavirüs izolatıyla neredeyse tamamlanmıştır. Bu izolatlar FV-3, EHNV, ATV, tiger frog virüs TFV, Soff-shelled turtle irodo virüs STIV, Grouper irodovirüs GIV ve singapore grouper irodovirüs SGIV, EHNV, SGIV ve GIV orijinal olarak balıktan izole edilmiştir (Tan *et al.* 2004, Janchovich *et al.* 2010, Jancovich *et al.* 2003, He *et al.* 2002, Huang *et al.* 2009, Song *et al.* 2004, Tsai *et al.* 2005). FV3, ATV ve TFV amfibi, STIV ise reptil orjinlidir.

Bu izolatların genom uzunluğu 105-140 kbp arasında değişim göstermektedir. GC içeriği %48-55 ve potansiyel açık okuma uçlarının sayısı (ORFs) 92-139 arasındadır. İzolatların ORFs leri 32 den 1300 aminoasit uzunluğuna kadar değişmektedir ve DNA replikasyonunda, tamirinde, transkripsiyonunda nükleotit metabolizmasında, virion yapısında, virüs konak etkileşimlerinde görev alan proteinleri kodlarlar. Ranavirüs protein örnekleri ve tahmin edilen fonksiyonları Çizelge 2.3'de gösterilmektedir. Genomların tümü tekrarlayan sekanslar içerir. Bu sekansların gen regülasyonunda, transkripsiyonunda ve virüslerin protein fonksiyonlarında rol aldığı düşünülmektedir (Kashi and King 2006). Ek olarak kodlanmayan RNA'lar örneğin mikro RNA'lar (miRNAs) STIV genomunda tanımlanmıştır (Huang *et al.* 2009). Memeli virüslerinde miRNA'lar konak immün sistemi cevabı, apoptozis viral yaşam döngüsünü ve gen

ekspresyonu düzenlenmesi tarafından oluşturulan enfeksiyonda rol oynar (Nair and Zauolan 2006, Cullen 2007).

**Çizelge 2.3.** Ranavirüslerdeki kodlanan protein örnekleri ve onların tahmin edilen görevleri (He *et al.* 2002, Tsai *et al.* 2005, Huang *et al.* 2009, Jancovich *et al.* 2010).

<b>Fonksiyon</b>	<b>Protein</b>
DNA replikasyonu ve tamiri	DNA polymerase Thymidine kinase NTPase/helicase
DNA transkripsiyonu	RNA polymerase II Transcription elongation factor IIS Ribonuclease III (RNase III)
Nukleotid metabolizması	Ribonucleotide reductase and subunit (RNR and ) Thymidylate synthase (TS) Deoxyuridine trisphosphate nucleotidohydrolase (dUTPase)
Protein yapısı	Major capsid protein (MCP)
Virüs konak etkileşimi	3-Beta-hydroxy-delta 5-C27 steroid oxidoreductase-like protein Bcl-2-like protein LPS-induced tumor necrosis factor-alpha Eukaryotic initiation factor 2 (eIF-2) like protein

Ranavirüs vironun temel yapısal bileşimi MCP'dir. MCP'nin boyutu 50 kDa ve total virion proteinlerinin % 40-45 oluşturur (Williams 1996). Familya içinde MCP geni yüksek seviyede korunmuştur ve bu aminoasit sekans kimliğini diğer viral familyayla paylaşırlar. Örneğin Asfarviridae, Ascoviridae ve Phycodnaviridae (Tidona *et al.* 1998, Chinchar 2005). MCP iridovirüslerin en çok çalışılan genlerinden biridir ve bu gen

viral gelişimi belirlenmesinde en uygun hedef gen olarak kabul edilir (Tidona *et al.* 1998). Tüm genom sekanslarının filogenetik analizlerine bağlı olarak EHNV, ATV, FV3, STIV ve TFV birbirleriyle yakın ilişkilidirler ve iridovirüslerden GIV ve SGIV'den ayrı grupturlar (Eaton *et al.* 2007, Huang *et al.* 2009, Jancovich *et al.* 2010).

#### 2.2.4 Epidemiyolojisi ve Konak Özgüllüğü

Ranavirüse bağlı ölümler ve hastalıklar dünyanın çeşitli ülkelerinde ki hem doğal hem de çiftlik balık popülasyonlarında rapor edilmiştir. Balıkları enfekte eden virüsler EHNV Dünya Hayvan Sağlığı Organizasyonu tarafından (OIE 2011), tek tür olarak kabul edilmiştir. Su kültürlerinde ve doğal sucul hayvanlardan zararlı etki gösterdikleri için Avrupa Birliği (AB) epizootic kanamalı nekrozis (EHN) listesine alınmıştır (Anonymous 2006). EHNV ilk kez kırmızı yüzgeç levrek (*Perca fulviatalis*) izole edilmiştir. Avustralya'da hastalığın salgını sırasında gökkuşağı alabalığına da bulaşmıştır (Langdon *et al.* 1986, Langdon *et al.* 1988). Daha sonra bir diğer yakın ilişkili ranavirüs izolatı olan ESV Almanya'da ki yavru yayın balığı (*Silurus glanis*) yetiştirme çiftliğinden izole edilmiştir (Ahne *et al.* 1989). Fransa ve İtalya'da Avrupa catfish (ECV) virüsü hastalıklı balıktan izole edilmiştir (Amerus meler previously *Ictalurus melas*) (Pozet *et al.* 1992, Bovo *et al.* 1993). Bir diğer ranavirüs geniş ağızlı levrek iridovirüsü (LBMV) Güney Carolina, USA'daki doğal geniş ağızlı levreklerin (*Micropterus salmoides*) kütleli ölümünü takiben izole edilmiştir (Plumb *et al.* 1996). Güney Doğu Asya'da iki ranavirüs izolatı GIV ve SGIV izolatları sarı arfoz (*Epinephelus awoara*) izole edilmiştir (Lai *et al.* 2000). Daha sonrada kahverengi benekli orfozda da (*Epinephelus tawina*) izole edilmiştir (Chua *et al.* 1994). Ek olarak ranavirüsler süs balığından da izole edilmiştir (Hedrick and Mc Dawell 1995, Paperna *et al.* 2001, Gibson and Kueh *et al.* 2003). Hastalığın yayılması için ranavirüsler görünüşte sağlıklı konaklar olan *Sander lucioperca* ve *Stizostedion lucioperca*'dan izole edilmiştir ve kısa kanatlı yılan balığından da (*Aguilla australis*) izole edilmiştir (Bang Jensen *et al.* 2009, Tapiovaara *et al.* 1998).

Dünya genelinde, amfibiler arasında ranavirüs enfeksiyonuna bağlı birçok hastalık ortaya çıkmıştır ve OIE kaydına göre tüm ranavirüsler, amfibiler için patojen olarak

bildirilmiştir (OIE 2011). Patojenik deri fungusu *B. dendrobatidis*'e ek olarak ranavirüsler dünya genelinde amfibi hastalıklarına sebep olan ajanlar olarak kabul edilir (Chinchar 2002). İzole edilen ilk ranavirüs FV3 olup tümör taşıyan bir kuzey kurbağası (*Lithobates pipiens* eskiden *Rana pipiens*)'nin böbreğinden izole edilmiştir (Granoff *et al.* 1966). 1992'de, BIV Avustralya'da süslü kazıcı kurbağa (*Limnodynastes ornatus*)'dan izole edilmiştir. İrodovirüs gibi ajanlar can çekişen yeşil kurbağa (*Rana esculenta*)'dan izole edilmiştir (Fijan *et al.* 1991) ve 1990'lar da Avrupada ki çayır kurbağası (*Rana temporaria*)'nın sıradışı ölümlerinden izole edilmiştir (Drury *et al.* 1995, Cunningham *et al.* 1996). ATV Kanada'da ki hastalıklı kaplan semenderler (*Ambystoma tigrinum diaboli*) arasından izole edildi (Bollinger *et al.* 1999). Bir FV3 benzeri ranavirüs hastalıklı domuz kurbağalarından (*Rana grylio*), ağaç kurbağalarından (*Rana sylvatica*) ve kuzey leopar kurbağalarından izole edilmiştir (Greer *et al.* 2005).

Güney Amerika'da, bir ranavirüs FV3 ve ATV ile yakından ilişkilidir ve kurbağalarda ölümlü hastalıkların sebebidir (Fox *et al.* 2006). Venezüella'da 7 farklı ranavirüs izolatu kara kurbağalarından (*Bufo marinus*) ve kurbağalardan (*Leptodactylus*) bulunmuştur (Zupanovic *et al.* 1998). Son zamanlarda Belçika ve Hollanda'da ki kırmızı kuyruklu pürtüklü semenderde (*Tylotriton kweichowensis*) ranavirüs enfeksiyonunun salgın olduğunu belirten raporlar yayınlandı (Pasmans *et al.* 2008). Ortak bir şekilde İspanyada ki ebe kurbağalar (*Alytes obstetricans*) ve alp semenderlerinde (*Mesotriton alpestris*) ve Danimarka'da ki yenilebilir kurbağalarda da (*Peolophylax kl. esculentus*) bulunmuştur (Balseiro *et al.* 2009a, Balseiro *et al.* 2009b, Ariel and Bang Jensen 2009).

Reptillerde ranavirüsler, birçok türden izole edildi. Örneğin hastalıklı yeşil pitonlarda (*Chondropython viridis*), yaprak kuyruklu kertenkeleler (*Uroplatus fimbriatus*) ve çok çeşitli kaplumbağalarda izole edildi (Hyatt *et al.* 2002, Chen *et al.* 1999, De Voe *et al.* 2004, Allender *et al.* 2006, Johnson *et al.* 2007, Johnson *et al.* 2008).

Ranavirüsler balıkları, kurbağaları ve sürüngenleri enfekte edebilir. Ama izolatu tür, yaş ve coğrafik orjinine göre konak hayvana belirlenmiş özgüllük gösterirler (Chinchar 2002, Chinchar *et al.* 2005). Ek olarak bulaşma yolu viral dozaj ve çevresel faktörler

hastalığın başlangıcında rol oynarlar (Brunner *et al.* 2005, 2007). Şimdiye kadar EHNV sadece Avustralya'da izole edilmiştir ve Avustralya'da farklı gökkuşuğu alabalığı, tatlısu levreği ve diğer doğal kemikli balık topluluklarının ölüm sebebi olmuştur (Langdon *et al.* 1988, Langdon 1989, Whittington *et al.* 1994, Whittington and Reddacliff 1995). Bununla birlikte Avrupa'da ki tatlısu balıklarının ve gökkuşuğu alabalığı türlerindeki önemli ölümler ticaret yoluyla da bulaşmış olabilir (Ariel and Bang Jensen 2009). Bu olay çayır kurbağasında (*Rana temporaria*) da görülmüştür, ranavirüs enfekte olan doğal hayvanlardan ortak su kaynaklarından taşınmış olabilir (Bailey and Feist 2011). Ayrıca bazı deneysel koşullarda EHNV turna balığında (*Esox lucius*), sudak balığı ve siyah yayın balığında patojenik olarak görülmüştür (Bang Jensen *et al.* 2009, Gobbo *et al.* 2010, Bang Jensen *et al.* 2011). ECV ve ESV'nin her ikisinde genç ve yetişkin balıklarda ölüme sebep olur (Ahne *et al.* 1990, Pozet *et al.* 1992, Bovo *et al.* 1993, Gobbo *et al.* 2010). ECV ve ESV çok yakın ilişkili olmalarına rağmen onlar konak spesifikliği gösterirler. Küvette bulunan siyah yayınlar ile yapılan çalışmalarda ECV ile ölüm ortaya çıkarken ESV ile ölüm gözlenmemiştir (Gobbo *et al.* 2010). Ek olarak ECV ve ESV periton içinde bulunduğu zaman uzun levrek'de sebep olmuştur (Bang Jensen *et al.* 2011). Oysaki turna balığı ESV'ye duyarlı olduğu ama ESV'ye duyarlı olmadığı test edilmiştir (Bang Jensen *et al.* 2009). Levrek irodovirüsü (PPIV) ve kısa Avustralya yılan balığı ranavirüsü (SERV) turna balığında ölüme sebep olurken levrekte olmaktadır (Bang Jensen *et al.* 2009, 2011). Geniş ağızlı levrek iridovirüsü (LBM) doğal ortamda yetişkin geniş ağızlı levreklerde ölüme sebep verir (Plumb *et al.* 1996). Oysaki deneysel koşullarda ölüm periton içi durumlarda gerçekleşmiştir ama oral olarak virüs verilen genç balıklarda ölüm gerçekleşmemiştir (Woodland *et al.* 2002).

Yetişkin *Xenopus laevis* bireyleri FV3 enfeksiyonuna direnç gösterebilir, oysaki izolat iribaşlar için yüksek derecede patojeniktir (Gantress *et al.* 2003, Robert *et al.* 2005). Kanada da FV3 benzeri ranavirüs izolatu iribaşları, larval semenderleri ve amfibi türlerinin sympatriği olan yetişkin semenderleri enfekte ettiği rapor edilmiştir (Duffus *et al.* 2008). BIV iribaşlar için ve birkaç amfibi türünün juvenil bireyleri için yüksek seviyede patojeniktir (Cullen and Owens 2002). Ayrıca balıklarda ölüm sebebi olarak gösterilir (Moody and Owens 1994, Ariel and Owens 1997). Balık ve kurbağaların Ranavirüs enfeksiyonlarının bir diğer örneği de Redwood Creek, USA' da rapor

edilmiştir. Burada da aynı FV3 benzeri izolat dikence balığından (*Gasterosteus aculeatus*) ve kırmızı bacak hastalıklı kurbağa larvaların (*Rana aurora*) dan bulunmuştur (Mao *et al.* 1999). Uyarı çalışmalarında amfibi ranavirüsü FV3 farklı balık konaklarında ölüme sebebiyet vermemiştir (Bang Jensen *et al.* 2009, Gobbo *et al.* 2010, Bang Jensen *et al.* 2011). Ek olarak sazan balığı (*Cyprinus carpio*) ve japon balığı (*Carassius auratus*) 8 farklı balık ve amfibi ranavirüsleri ile mücadelesinde ölümcül belirtiler göstermemiştir (Bang Jensen *et al.* 2011). Diğer bir yandan balık hiçbir hastalık belirtisi göstermemiş olmasına rağmen Picco vd. (2010) geniş ağızlı levreğin periton içine enjekte edilen tige semender ranavirüsünü izole etmeye başarmıştır.

Sıcaklık, konak türlerin ranavirüs enfeksiyonu sırasında hayatta kalmaları üzerine etkisi vardır. Whittington and Reddacliff (1995)' de su sıcaklığının artması ile kırmızı kanatlı levrek azalmasında ki EHNV enfeksiyonunun inkübasyon periyodunu göstermiştir ve 12°C altında hiçbir enfeksiyon saptamamışlardır. Düşük sıcaklıklarda enfeksiyon süresi arttırılsa bile benzer bir eğilim gökkuşuğu alabalığında görülmemiştir. Semenderler 26°C ATV'ye maruz kaldıklarında hayatta kalmışlardır. Oysaki düşük sıcaklıklarda (18-10°C) yüksek seviyede ölümleri gözlemlenmiştir (Rojas *et al.* 2005).

### **2.3 Beyşehir Gölü**

Beyşehir Gölü, Anadolu'nun en büyük kapalı havzası olan Konya Havzasının güney batısında yer almakta ve Göller Yöresinde Beyşehir ilçesinin kuzeyinde, Şarkikaraağaç ilçesinin güneyinde, Sultan Dağları ile Anamas dağları arasındaki tektonik çukurlukta yer alan Türkiye'nin en büyük tatlı su gölü ve yüzey alanı açısından üçüncü en büyük gölüdür. Yaşanan kuraklık nedeniyle Tuz Gölü'nün kayıpları, Beyşehir Gölü'nü 2. büyük göl haline getirmiştir. Birinci Derece Doğal Sit Alanı olan göl; Beyşehir ve Kızıldağ milli parklarını barındırır. Göl; doğal güzelliği, zengin biyolojik çeşitliliği ve bulunduğu bölgedeki en büyük tatlı su kaynağı olması nedeniyle ülkemizdeki önemli sulak alanlardan biridir.

Gölün oluştuğu yerde daha önce bir yerkabuğu çöküntüsü olmuşsa, göl çanağının esas bu yol ile hazırlanmış demektir. Böyle yerkabuğu kırılmaları ve bükülmeleri yoluyla oluşmuş çanaklardaki göllere tektonik göller adı verilir. Her tektonik çöküntü yerinde



göl bulunması gerekmez. Çünkü göl, birikebilecek suların bulunduğu ve bunların birikebileceği çanak biçimi şartının mevcut olduğu yerlerde oluşur. Böyle göllerin sayısı Türkiye’de çoktur (30 kadar göl böyledir). Beyşehir Gölü de oluşumu bakımından tektonik meşeyli, karstik bir göldür.

Coğrafi konumu çevredeki yeryüzü şekilleri ve barındırdığı ekosistemler nedeniyle yaban hayat açısından da üzerinde durulması gereken bir konumdur yaban hayatı doğrudan etkileyen bu özellikleri şöyle sıralamak mümkündür (Ezer, Beyşehir gölü yüzey su toplama havzası yönetim planı örneğinde ekolojik yaklaşımı, 2003/1).

1.Gölün çevresinde suların çekilmesi veya taşınma ile gelen sedimanlar nedeniyle yer yer sığlaşmış bölgeler olup buralarda oluşumlar oldukça geniş sazlık ve kamışlıklar, özellikle su kuşları için kuluçka ve barınma alanlarını oluştururlar.

2. Göl çevresindeki alanda çam, sedir, ardıç ve meşenin tek tek veya bir arada birlikler oluşturduğu bir orman ekosisteminden söz edilebildiği gibi geniş düzlüklerde otsu bitkilerin yer aldığı step ekosistemini de gözleyebiliriz. Alanın bu doğal yapısına tatlısu ekosistemi de eklendiğinde eşsiz bir ekosistemler bütünlüğü oluşmaktadır.

3. Göl içerisindeki çeşitli büyüklüklerde adalar bazı kuş türlerinin güvenle kuluçka yapmasına olanak sağlamaktadır.

Beyşehir Gölü'nün yüzey alanı, suyun en yüksek olduğu dönemde yaklaşık 73 000 hektardır ve gölün ortalama derinliği beş metredir (en derin yeri 10 metre). Denizden yüksekliği yaklaşık 1121 m, yüz ölçümü 656 km<sup>2</sup>, genişliği kuzeyinde 15 km, güneyinde 25 km, uzunluğu 45 km'dir. Çevresi, yüksekliği 2000 metreyi aşan dağlarla çevrilidir. Deniz seviyesinden yüksekliği ise 1115 metredir. Fazla gelen sular, yapılan bir kanalla doğrudan Çarşamba suyuna verilir.

Göl alanı, 1991 yılında Birinci Derece Doğal Sit Alanı ilan edilmiştir. 1993 yılında göl ve çevresindeki biyolojik çeşitlilik açısından değerli alanlar, Isparta ve Konya illerine bağlı olan Kızıldağ ve Beyşehir milli parkları sınırları içine alınmıştır. Ayrıca göl, suyunun birinci dereceden içme suyu kriterlerine uyması nedeniyle İçme ve Kullanma Suyu Koruma Sahası statüsüne de sahiptir.

Beyşehir Gölü, aynı zamanda önemli kuş alanı ve önemli bitki alanıdır. Beyşehir Gölü, endemik balık türleri açısından önemlidir. Ancak bu durum 1970' ler de göle sudak (*Stizostedion lucioperca*) balığının atılması ile değişmiş ve endemik balık türlerinin nesli gölü besleyen akarsularda rastlananların dışında tükenmiştir. Günümüzde göldeki baskın balık türleri sudak ve sazandır.

Beyşehir Gölü üzerinde ortalama olarak 33 tane irili ufaklı ada vardır ve kışlayan ve üreyen kuşlar açısından oldukça önemlidir. Gölde su seviyesine göre ada sayısı da değişmektedir. Ancak bu değişim pek önemli değildir.

Başlıca adalar şunlardır:

**Mada Adası (Kazak):** Mada kelimesi Farsça'da dişi hayvan manasında kullanılır. Beyşehir Gölü'nün en büyük adası olup, 8 220 hektar alana sahiptir. Üzerindeki Mada Köyü'nde Yörükler yaşar. Adaya 1865'te 30-40 hane kadar Kazak yerleşmiş ama daha sonra göç etmişlerdir. Bundan dolayı adaya Kazak adası da denir.

**Hacı Akif Adası:** Adını, aslen Hoyranlı olan ve Beyşehir'deki ünlü tarihi evin sahibi olarak bilinen Hacı Akif Efendi'den almıştır. Adalar kümesinin güneyindedir. Beyşehir'e uzaklığı 25 km kadardır. Sarkıt ve dikitleriyle ünlü 100 m uzunluğunda bir mağarası vardır. Roma dönemine ait tapınak kalıntıları, görülmeye değer güzelliktedir. Böcek türleri yönünden zengin olan adada, bazı hayvan türlerinin üretimi de yapılmaktadır. Milli park alanı olarak koruma altına alınmıştır.

**İğdeli Ada:** En yüksek noktası 1282 metre olan ada turistik açıdan ilgiye değer güzelliktedir. Kıyıları dik ve derin olup, geniş kumsalları vardır.

**Orta Ada:** İğdeli ve Aygır Adaları'nın 200 metre açığında yer alan bu ada 2500 dekarlık alana sahiptir. Diğer iki ada ile oluşturduğu boğaz çok güzeldir. Tepe noktası 1146 metredir. Çoğunlukla ardıç ağaçlarının oluşturduğu geniş bir bitki örtüsü vardır. Ada üzerindeki eski yapı kalıntıları da vardır.

**Kes Adaları:** İçeri ve dışarı adalar olarak da bilinir. En yüksek noktası 1134 metredir. Otlak durumunda olup 10 kadar küçük adadan oluşur.

**Aygır Adası:** Tabii açıdan ilgi çekici nitelikleri adada koy ve kumsallar oldukça güzeldir. 1055 dekarlık alanı olup en yüksek noktası 1260 metredir. Kilise kalıntıları vardır.

**Kızılada:** Eski yapı kalıntıları ve mağarası vardır. Adanın alanı 815 dekar civarındadır.

**Çeçen Adası:** Aşağığıl, Terkenli, Hacı Osman ve Gavur Adası da denir. Adada çiftlik evleri ve birçok tarihi kalıntı mevcuttur. Alanı 595 dekadır. Uzun yıllar öncesinde Rumlar'ın bulunduğu ada İstiklal savaşında gösterdikleri yararlılıklardan dolayı Çeçenler'e verilmiştir.

**Gölkaşı Adası:** Gölkaşı'na uzaklığı 500 metre civarında olup 565 dekarlık alanı vardır. Adada bol miktarda ağaç mevcuttur. En yüksek noktası 1138 metredir.

**Eşek Adası:** En yüksek noktası 1139 metre alanı 140 dekadır. Seyrek de olsa ağaçlarla kaplıdır. Selçuklular dönemine ait olduğu sanılan eski yapı kalıntıları vardır. Bu yapılar Kubadabad Sarayı ile çağdaş olmalıdır.

**Kızılada:** İkinci Kızılada olarak da bilinir. Kurucuova yakınlarındaki ada, kasaba halkı tarafından ekilmektedir. En yüksek noktası 1142 metre ve alanı 110 dekar civarındadır.

**Akburun Adası:** Ömer Çavuş adası olarak da bilinir. Eski yapı kalıntıları ve mezar taşları vardır. Alanı 60 dekar civarında olan adanın en yüksek noktası 1128 metredir.

**Kirse Adası:** Adada kilise kalıntıları vardır. Alman araştırmacı Hirschfeld'in 1878'de ziyaret ederek izlenimlerini anlattığı kalıntılar muhtemelen bunlardır. Kirse boğazı adayı Mada Adasından ayırır. Gölün en derin olduğu bölgede 18 metre ile burasıdır. Alanı 10 dekar civarında olup üzerinde kasr kalıntıları da vardır.

**Kız Kulesi:** Kubadabat sarayı'nın 3,5 km kadar kuzeydoğusunda 5 dekarlık bir adadır. En yüksek noktası 1138 metredir. Kubadabad sarayının harem dairesi olarak kullanılmıştır. İlk bakışta kalın harçlı duvarlarıyla ilgi çeker. Kayalık özelliği de taşıyan ada içinde birçok eski yapı kalıntısı vardır. Bir dönem 230 kadar kuşun barındığı ada için kuş cenneti nitelendirilmesi de yapılmıştır.

**Höyük Adası:** Tarıma müsait olup 20 dekarlık alanı vardır. Mezar, kemik, çanak ve çömlek kalıntıları bulunmuştur.

**Mındıras Adası:** Mağarası ve antik kalıntılarıyla dikkati çeken bir adadır.

**Kül Adası:** Alanı 10 dekar civarında olup en yüksek noktası 118 metredir. Sonradan doldurulduğu söylenen düdeni ve bu olayı anlatan efsanesiyle ünlüdür.

Bu adalara ek olarak; Taşlı ada, Kum adası, Geyik adası, Ketlaş adası, Yılan adası, Kuşkondu adası, Yapraklı ada, Camız adası ve Afrika adalarını da saymak mümkündür (İnt. Kyn. 5).

### 2.3.1 Tarihçesi

Bazı kaynaklara göre eski çağlardaki adı Karalis Lak olan Beyşehir Gölü M.Ö.1500 yıllarında taşmış ve Konya Ovası'nı sular basmıştır. Bazı kaynaklar; göllenmenin olduğu çanağın eski zamanlarda Kroşna adıyla anılan bir ova iken, bu ovanın sonradan Çukurova, Kuruova adlarını aldığını ve daha sonra da ovada göllenmenin oluştuğunu yazarlar. Bir ara da, adı Buhayrei Gurgurum olmuştur.

Yaygın Kül Adası Efsanesi, Kül Adası'nın gerçekten yığma bir ada olması ve bunu kıyı köylerine hala elde bulunan eski salma kağıtlarının doğrulaması; göl alanının sonradan genişlediği kanısını vermektedir. Yine, göl suları çekilince sular altında kalmış birçok yapı kalıntılarının ortaya çıkması ve bölgenin karstik oluşumlu olup, bu oluşumda düdenleşmenin çok yaygın oluşu bu görüşü pekiştirmektedir. Beyşehir Gölü tektonik olaylar sonunda yüzeyin çukurlaştığı ya da çöküntüye uğradığı kesimlerde oluşmuş göllerdendir.

### 2.3.2 Beslenme ve Boşalması

Göl yer üstü ve yer altı sularıyla beslenmekte, Gölçayı ile üstten ve Beyşehir-Manavgat yer altı ırmağı ile dipten boşalarak Akdenize ulaşır. Bu nedenle de suyu tatlıdır; merkez gibi bazı kıyı köyleri içme sularını gölden sağlarlar.

Karstik oluşumlu olan gölün, kuzeybatı ve güneybatısında büyük düdenler bulunur. Karstik oluşumlu göllerde toprak altı akış yolları kil ve balçıkla tıkanmış ve su emme yeteneğini yitirmiş olan karstik çukurlarında dolinler, polyeler oluştuğu için Beyşehir Gölünde; düdenler, obruk ve burgaçlar, yer altı suları yaygındır.

Bir gölün su düzeni; besleyici akarsuların düzenine, yağışa, buharlaşmaya ve sızmaya bağlı olmaktadır. 1967-1978 yılları arasında Beyşehir Gölü'nün suları oldukça kabarmış ve taşkından zarar gören arazi miktarı, 1100 hektar ile 2000 hektar arasında değişmiştir. Göl kıyısında Tolca, Gölkaşı, Çiftlik Köyleri ile bir ölçüde ilçe merkezi, taşkından zarar görmüş; taşkın, Tolca Köyü'nde can kaybına yol açmıştır. Ayrıca kanal boyunda da 500-1500 hektar arazi taşkına uğramıştır. Yine Beyşehir-Akseki yolu, karayollarının sürekli bakım ve beslenmesi ile trafiğe sürekli açık tutulabilmiştir. Taşkınım temelden çözümü, yeni sulama projesinin gerçekleştirilmesidir.

### 2.3.3 Göl Ürünleri

Beyşehir Gölü, Su Ürünleri yönünden oldukça zengin ise de yeterince yararlanılamaz. Bunun temel nedeni, göl canlılarının fazla ekonomik ve leziz bulunmayışıdır. Fakat göl, ileri yöntemlerle balıkçılık ve balıklandırma yapıldığında, Anadolu'yu besleyebilecek elverişliliktedir.

Gölde bolca tatlısu balığı ve canlıları bulunmaktadır. Çoğunluğu sazangillerden olan tatlı su balıkları; sazan, akbalık, kızılkanat, siraz, gökçe, çamurca, kaya ve yılan balıklarıdır. Ayrıca, kerevit, kaya midyesi, yengeç, kurbağa, sülük, su yılanı, su faresi, su kaplumbağası da bolca bulunur.

Gölde su hayvanları yanında; su sümbülü, binyaprak, kofaotu, yabancı nane, saz kamışı otu, tuz otu ve ayrık gibi göl bitkileri de vardır. Göl, kuşlar yönünden oldukça zenginken, bilinçsiz avlanmalarda kuş türleri azalmıştır. 1930'larda talgan kuşunun

kürkünün Avrupa'ya satıldığını bugün şaşarak öğreniyoruz. Bölgede tüfekçiliğin çok gelişmesi, kuşların azalmasına yol açmıştır. Gölün Milli Park olarak değerlendirilmesi eskiyi ve doğayı yok eden bu bilinçsiz gidişi önleyecektir. Kızkulesi Adası, bir kuş cenneti gibidir. Fakat ne yazık ki, yumurtaları toplanan kuşların türleri artık azalmaktadır.

#### **2.3.4 Gölün İklimi**

Gölün yaz mevsimi sanıldığından daha uzun ve yumuşaktır. Yağış ve nem az, ısı yeterlidir. Elverişsiz olan daraz denilen rüzgardır. Daraz yazın arada bir eser. Toz kaldıran gölde çalkantı yaratan, sert bir esintidir. Havayı serinletir, sığ kıyıları bulandırır. Sınırları kamçılayıcı etkisi varır. Ancak, daraza karşı korunabilir. Göl suyu ısısı düşmediğinden sudan çıkınca korunmak koşuluyla doya doya göle girilebilir. Özellikle bu rüzgar, gölde plaj donanımlarını zorunlu kılmaktadır.

Gölde fırtına ve dalgalar, genellikle kıştan çok yazın görülmektedir. Büyük dalgalar pek görülmez; ancak göl sularını dipten çalkalayan karayel, bazen büyük dalgalar yaratır ve gölün şişkinliği dönemine rastladığında dalgaların köprüyü ve yolunu aştığı görülür.

Beyşehir Gölü'ne yalnızca Temmuz ve Ağustos aylarında girilebileceği kanısı yalgın ise de; gerçekte Haziran başından Eylül sonuna kadar girilebilmektedir.

Göl suyu ortalama sıcaklığı; İlkbaharda 12,4, yazı 21,9, sonbaharda 11,3 ve kışın da 4 derecedir. Son 5 yıllık ortalamalara göre en soğuk ay 2,6 derece ile Ocak ayı ve en sıcak ay da 22,7 derece ile Temmuz ayıdır. Göl, 1975 ile 1976 Ocak ve Şubat aylarında donmuştur. Göl suyunun ortalama ısısı şöyledir: Ocak 2,6, Şubat 5,2, Mart 8,2, Nisan 12,1, Mayıs 17,0, Haziran 21,0, Temmuz 22,7, Ağustos 22,1, Eylül 19,1, Ekim 15,2, Kasım 9,6 ve Aralık 4,3 derecedir. Antalya'da deniz suyunun ortalama sıcaklığı yazın 27 derece olup, denizin gölden yazın yalnızca 5 derece kadar daha sıcak bulunduğu görülüyor. Havaya göre göl, Sonbahar dışında daha sıcak olmaktadır (İnt. Kyn. 6).

## 2.4 *Pelophylax caralitanus* (Arıkan 1988)

Türkiye’de güneybatı Anadolu’daki göller bölgesine endemik bir kurbağa türü olan Anadolu bataklık kurbağası (Arıkan’ın bataklık kurbağası) ya da Beyşehir kurbağası (*Pelophylax caralitanus*) Ranidae familyasının üyelerindedir (Çizelge2.4).

**Çizelge 2.4.** *Pelophylax caralitanus*’ un taksonomik hiyerarşisi

<b>Kingdom (Alem)</b>	<b>Animalia (Hayvanlar)</b>
Phylum (Şube)	Chordata (Kordalılar)
Subphylum (Alt Şube)	Vertebrata (Omurgalılar)
Class (Sınıf)	Amphibia
Order (Takım)	Anura
Suborder (Alt takım)	Neobatrachia
Family (Aile)	Ranidae (Rafinesque 1814)
Genus (Cins)	<i>Pelophylax</i> (Fitzinger 1843)
Species (Tür)	<i>Pelophylax caralitanus</i> (Arıkan 1988)

Ranidae (Gerçek Su Kurbağaları) familyasının temel özellikleri arka bacaklar uzun, diller ağız tabanına ön bölgeden bağlı, arka ucu serbest ve genellikle çatallıdır. Kulak zarı her zaman bulunur. Dünya genelinde dağılımı kozmopolittir. Çoğunlukla Afrika ve Güney Asya’da bulunurlar. Var olan dişler üst çenelerinde (Maksilla-Premaksilla) bulunur. Devamlı olarak suya bağımlı olan hayvanlardır (Budak ve Göçmen 2008) (Resim 2.4). Bu familyaya ait olan Anadolu bataklık kurbağası (Arıkanın bataklık kurbağası) ya da Beyşehir Kurbağası olarak bilinen *Pelophylax caralitanus* güneybatı Anadolu daki göller bölgesine endemiktir.



**Resim 2.4.** *Pelophylax caralitanus*' dan bir resim

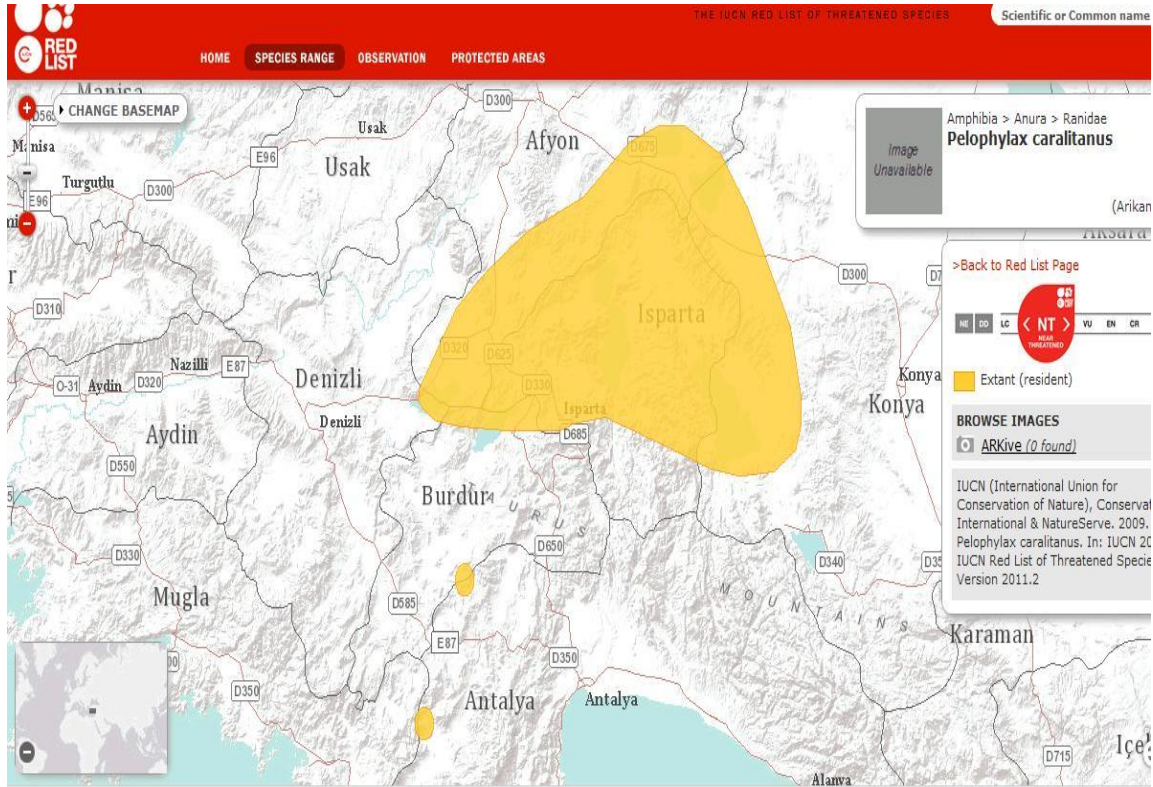
*Pelophylax caralitanus*, şakak bölgesinde koyu kahve şerit olmaması ile Türkiye'deki diğer ova kurbağası türleriyle (*P. ridibundus* ve *P. bedriagae*) benzerlik gösterse de karın ve boyun bölgelerinde turuncu, sarı ve kırmızıya çalan desenlerin varlığı ve diğerlerine oranla daha iri boyutlarda olmasından dolayı onlardan farklıdırlar (Arikan 1988) (Resim 2.5).



**Resim 2.5.** *Pelophylax caralitanus*



Konya ovasından Denizli'ye kadar yayılış gösterirler. Beyşehir Gölü, Eğirdir Gölü, Suğla Gölü, Çarşamba Deresi (Konya), Gölcük Gölü (Isparta), Hotamış Gölü, Ivriz Gölü (Ereğli/Konya), Çardak ve Çivril'de (Denizli) Işıklı Gölünde kayıtları bulunmaktadır (IUCN 2011). *P.caralitanus*'un yayılış alanları; batı 29,73-doğu 31,95, kuzey 38,71-güney 36,71 enlem ve boylamları arasında olduğu belirtilmiştir (İnt. Kyn. 2) (Resim 2.6). *P.caralitanus*' un temel besin kaynağı böcekler [Insecta (Orthoptera, Coleoptera, hemiptera, Diptera)] ve Gastropoda' lardır (Atatür *et al.* 1993).



**Resim 2.6.** *P. caralitanus* yayılış alanı (İnt. Kyn. 2).

Ekonomik ve ekolojik büyük öneme sahip olan endemik Beyşehir kurbağalarının küresel ısınma ve diğer faktörlere bağlı olarak sucul habitatların kuruması dikkate değer şekilde tür sayısının azalma sebeplerinin en başında gelmektedir. Doğal sulak alanların günden güne yok olması türlerin beslenme, barınma ve üreme alanlarını kısıtlayarak olumsuz yönde etkilemektedir. Bunlara ek olarak da günümüzün patojen hastalıkların yayılmasında etken olan en kaide değer sebeplerden biride *P. caralitanus*'un yenilebilir kurbağa türü olmasıyla bilinçsiz ve aşırı derecede toplanmasıdır. Toplanarak Fransa, İtalya ve İsviçre gibi ülkelere ticareti yapılmaktadır. Bu faaliyetler kurbağa türünün

azalmasına sebep olmakla birlikte bahsedildiği üzere patojen mikroorganizmaların taşınımı ile yayılış alanlarının genişlemesine sebep olmaktadır. Bu patojenler arasında *Batrachochytrium dendrobatidis* (Bd) fungusu ve Ranavirusler (*Iridoviridae*) amfibiler üzerinde ölümcül hastalıklara sebep olduğu bilinmektedir. Bu bilgiler de tür azalış sebepleri arasında bu iki hastalık yapıcı mikroorganizmanın da yer alması gerektiğini ortaya koymaktadır.

### 3. MATERYAL ve METOT

#### 3.1 Arazi Çalışmaları ve Örnekleme:

Çalışma alanı olan Beyşehir Gölü'ne 2012 ve 2013 yıllarında birer defa olmak üzere iki arazi çalışması yapılmıştır. Yapılan arazi çalışmasında gölün tüm çevresi dolaşmış ve hayvan yakalamak için uygun olan bölgelerden örnekleme yapılmıştır. Gölün doğu, kuzey, batı ve güney bölümlerinden yapılan örnekleme işlemleri sırasıyla lokalite I, lokalite II, lokalite III ve lokalite IV olarak gruplandırılmıştır (Resim 3.1).



**Resim 3.1.** Beyşehir gölüne ait görüntü.

Arazi çalışması yapılan bölgede 4 lokaliteden toplam 64 hayvan yakalanmıştır. Arazi çalışmasında özellikle hastalık belirtisi gösteren kurbağa örnekleri steril, tek kullanımlık kaplar kullanılarak yakalanmıştır. Kurbağaların doğal nem dengelerini korumaları açısından kaplara bir miktar doğal ortamlarından su eklenmiştir. Örnekleme işlemleri tamamlandıktan sonra hayvanlar alındığı doğal ortamlarına geri salıverildi (Resim 3.2).





**Resim 3.2.** Beyşehir Gölü ve arazi çalışmalarına ait bazı fotoğraflar.

Chytridiomycosis tanısı için örneklemeler pamuk uçlu swap (Medical Wire and quipment, MW 100-100; sourced from Biomerieux) kullanılarak hayvan üzerinden alınmıştır. Bu işlem 10 kez kurbağanın dorsal yüzeyine, 10 kez her iki koltuk altı ve kasık bölgesine, 10 kez ventral yüzeyine, 10 kez her kalçanın alt kısmına ve 10 kez ayaklarının alt yüzeyine sürülerek yapılmıştır (Resim 3.3). Swaplama tekniği yüzey alanından en fazla miktarda örneklem alınabilmesi için seçilmiştir ve negatif sonuç çıkma ihtimalini minimuma indirmektedir. Alınan swaplar 2,0 mL'lik steril endorf

tüplere alınıp arazi sırasında azot tanklarında muhafaza edilmiştir. Laboratuvar ortamına götürüldükten sonra analizler yapılmaya dek -20 °C’de saklanmıştır (Kriger et al. 2006).



**Resim 3.3.** Swaplama işlemlerine ait fotoğraflar.

Ranavirus tanısı için örneklerin konulduğu kaplar içerisinde bulunan epitel deri döküntüleri alınarak %70’ lik etanol bulunan 2,0 mL’lik ependorf tüplere konulmuştur. Ayrıca arazi sırası esnasında ölü örneklerden 0,5 cm<sup>2</sup>’lik deri ve kas parçaları da alınarak %70’ lik etanol bulunan 2,0 mL’lik ependorflara alınmıştır ve arazi sırasında azot tanklarında muhafaza edilmiştir. Laboratuvar ortamına götürüldükten sonra analizler yapılmaya dek -20 °C’de saklanmıştır.

### 3.2 Laboratuvar Analizleri

Laboratuvar çalışmalarında örneklerden DNA izolasyonu, DNA'ların izolasyon kontrolü için elektroforez ve Qbit cihaz ölçümleri, qPCR işlemleri ve sonuçların değerlendirilmesi yapılmıştır.

#### 3.2.1 *B. dendrobatidis* için DNA İzolasyonu

Arazide alınan swap örnek sayısı kadar 2,0 mL'lik vidalı kapaklı tüpler hazırlanarak etiketlendi. Etiketlenmiş her bir tüp içerisine 30-40 mg 0,5 mm çapındaki zirkonyum/silika boncuklar konuldu. Daha sonra üzerlerine 50 µL PrepMan Ultra (Applied Biosystems #4318930) eklendi ve son olarak swaplar sapları kesilerek tüplere koyuldu. Tüm bu işlemler bittikten sonra tüpler BeadBug (Benchmark) cihazı ile 45-60 sn boyunca 4000 rpm de homojenize edilerek mevcut zoosporların parçalanması sağlandı ve ardından kısa bir süre buz küvetinde soğutmak için bekletildi. Daha sonra örnekler 13 000 xg de 30 sn santrifüj yapıldıktan sonra homojenizasyon ve santrifüj işlemleri tekrarlandı. Bu işlemlerden sonra tüplerin kapakları 22-23 numara steril iğneler kullanılarak delindi. Kontaminasyon riskini ortadan kaldırmak için her bir numune için ayrı iğne kullanılmaya dikkat edildi. Kapakları delinen örnekler özel tüp tutuculara yerleştirilerek 10 dk boyunca kaynayan su banyosunda bekletildi. Su banyosundan alınan örnekler 2 dk oda sıcaklığında soğumaya bırakılmasının ardından en yüksek hızda (~13 000 xg.) 3 dk +4 °C de santrifüj edildi ve oluşan süpernatant toplanarak qPCR işlemlerinde kullanılmak üzere 1/10 oranında sulandırılmıştır (~5 ng/µL). qPCR çalışması DNA izolasyonu işleminden daha ileri bir tarihte yapıldığı durumlarda DNA örnekleri etiketlenmiş steril 0,5 mL' lik tüplerde -20 °C de saklandı (Boyle *et al.* 2004).

#### 3.2.2 Ranavirus için DNA İzolasyonu

Ranavirüs için arazi çalışması esnasında hayvanların konulduğu kaplardan epitel deri döküntüleri alınmıştır. Bu numuneler izolasyon için %95 ethanol bulunan eppendorf tüp içerisinde fikse edildi. Daha sonra üzerlerine 400 µL öğütme tamponu (0,1 M NaCl, 0,5

M Süzkroz, 0,1 M Tris, 50 mM EDTA, %0,5 SDS) eklendi ve homojenizatör yardımıyla 60-70 sn boyunca 4000 rpm'de homojenize edildi. Oluşan homejanat 30 dk, 65°C de inkübe edildi. Daha sonra 57 µL 8 M potasyum asetat eklendi ve 30 dk buz banyosunda bekletildi. Daha sonra 10 000 xg de 15 dk santrifüj yapıp süpernatant yeni bir tüpe alındı. Sonrasında her bir tüp üzerine 1ml buz soğukluğunda %100 etanol ekleerek nazikçe karıştırıldı. Daha sonra 10 000 xg de 15 dk santrifüj edilerek DNA çöktürüldü ve 50 µL TNE (6 mM Tris, 6 mM NaCl ve 0,2 mM EDTA) tamponu içerisinde çözdürülerek +4 °C ve -20°C'de saklandı (Galli *et al.* 2006).

### **3.2.3 Elektroforez İşlemi**

Bd ve Ranavirus tespiti amacıyla yapılan DNA izolasyon işlemleri sonrasında izolasyon işleminin başarıyla gerçekleşip gerçekleşmediğini kontrol amacıyla elde edilen örneklerden bir kısmı % 1'lik agaroz jelde elektroforez işlemine tabi tutulduktan sonra UV ışık altında görüntülenmesi yapıldı.

### **3.2.4 Qbit Ölçümleri**

DNA izolasyon işlemlerinden sonra elde edilen DNA miktarını ölçmek için Qbit 2.0 flourometer (invitrogen) ile yüksek hassasiyetli DNA ölçüm kiti kullanılarak (kit protokolü uygulanmıştır) ölçümler yapılmıştır.

## **3.3 Real Time PCR İşlemi**

### **3.3.1 Bd Tespiti için Real Time PCR İşlemi**

Real time PCR işlemi sırasında çalışılan örneklerdeki DNA yoğunluğunu belirlemek amacıyla oluşturulacak standart eğri için PrimerDesign (İngiltere) firmasından temin edilen Bd DNA örneği 10'ar kat sulandırılarak standart örnekler hazırlandı (Çizelge 3.1).

**Çizelge 3.1.** Standart örneklerin hazırlanması.

Dilüsyon Tüpleri	DNA Kopya Yoğunluğu
Standart 1	$2 \times 10^5 / \mu\text{L}$
Standart 2	$2 \times 10^4 / \mu\text{L}$
Standart 3	$2 \times 10^3 / \mu\text{L}$
Standart 4	$2 \times 10^2 / \mu\text{L}$
Standart 5	20 / $\mu\text{L}$
Standart 6	2 / $\mu\text{L}$

Pozitif kontrol olarak da en yüksek yoğunluğa sahip Standart 1 örneği her Rt-PCR uygulamasında kullanıldı. Negatif kontrol olarak her Rt-PCR deneyinde DNA örneği yerine DNaz-RNaz içermeyen steril su kullanıldı.

İzole edilen DNA'lar *B. dendrobatidis* türüne özgü primerler (evrensel fungus gen bölgesine ait) ITS1-3 Chytr, 5.8S Chytr primerleri ve Chytr MGB2 TaqMan probu kullanılarak gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu uygulamasına tabi tutuldu (Boyle *et al.* 2004) (Çizelge 3.2).

**Çizelge 3.2.** *B. dendrobatidis* türüne özgü primerler.

Primer adı	Nükleotid sekansı
ITS1-3 Chytr 29 baz	5'-CCTTGATATAATACAGTGTGCCATATGTC-3'
5.8S Chytr 22 baz	5'-AGCCAAGAGATCCGTTGTCAA-3'
Chytr MGB2 15 baz	5'-6FAM CGAGTCGAACAAAAT MGNFQ-3'

*B. dendrobatidis*'e ait olup olmadığı bu teknikle kolaylıkla anlaşılabilir ve eş zamanlı bilgisayar görüntüleme sistemiyle DNA miktar tayini yapılabilmektedir. Real Time PCR aşamasında DNA örneği, *B. dendrobatidis* varlığının tespiti için izole edilen DNA örnekleri Bd'ye özgü Real time PCR işleminde reaksiyonların son hacimleri 20  $\mu\text{L}$  (15  $\mu\text{L}$  Rt-PCR + 5  $\mu\text{L}$  DNA örneği) olarak ayarlandı (Çizelge 3.3).



**Çizelge 3.3.** Bd tespiti için yapılan qPCR’da kullanılan malzemelerin miktarları.

<b>Kullnılan Malzeme</b>	<b>Kullanılan Miktar</b>
2 x Precision™ MasterMix (PrimerDesign, İngiltere)	10 µL x örnek sayısı
B.dendrobatidis’ e özel Primer/Probe (10 pikomol) mix	1 µL x örnek sayısı
DNAz ve RNAz içermeyen steril su	4 µL x örnek sayısı
<b>Toplam</b>	<b>15 µL x örnek sayısı</b>
DNA örneği (5 ng /µL)	5 µL
<b>Reaksiyon Toplamı</b>	<b>20 µL</b>

Real-time PCR için hazırlanan örnekler 8’li 0,2 mL strip PCR tüplerine konularak üzerleri şeffaf seal bant ile kapatılarak karışımın homojenize olması ve tüplerin duvarında kalmış olabilecek damlaların dibe inmesi amacıyla bütün tüpler vorteks/spin cihazı (Bioneer, Kore) ile 2500 rpm de 5 sn “hard” seviyede çalkalama ayarında 20 sn ve 20 tekrar şeklinde vorteks/spin edildi. Daha sonra hazır olan tüpler Real-time PCR cihazının (Bioneer exicycler96, Kore) bloğu üzerindeki kuyucuklara yerleştirildikten sonra aşağıdaki protokole göre cihaz çalıştırıldı (Çizelge 3.4).

**Çizelge 3.4.** Bd tespiti için qPCR amplifikasyon protokolü (PrimerDesign, İngiltere).

<b>Döngü Sayısı</b>	<b>İşlem Basamağı</b>	<b>Süre (saat.dakika.saniye)</b>	<b>Sıcaklık</b>
1 Tekrar	Enzim Aktivasyonu	00.10.00	95 °C
	Denatürasyon	00.00.10	95 °C
50	Bağlanma - Uzama	00.01.00	60 °C
Tekrar	Verilerin Okunup Bilgisayara aktarılması	-	-
1 Tekrar	Melting	-	55 °C – 94 °C

Tüm örneklerin qPCR işlemleri 3 kez tekrarlanarak yanlış negatif ve hatalı pozitif sonuç verme ihtimalleri en aza indirilmiştir PCR işleminin ardından Ct (cycle treshold) değeri alınan örnekler %1,5 lik agaroz jel elektroforezinde DNA marker kullanılarak yürütülerek hedeflenen DNA örneği boyutunun görüntülenmesiyle sonuçların doğruluğu kontrol edildi (Annis *et al.* 2004).

### 3.3.2 Ranavirus (FV-3) Tespiti için Real Time PCR İşlemi

Ranavirus'un varlığının tespiti için izole edilen DNA'lar Ranavirus türüne özgü MCP (Major Capsid Protein) ve IE (immediately early) primerleri kullanılarak gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu uygulamasına tabi tutuldu (Çizelge 3.5).

**Çizelge 3.5.** Ranavirus türüne özgü MCP (Major Capsid Protein) ve IE (immediately early) primerleri a. Referans dizi AF192508 b. Referans dizi U15575.

Primer Adı	Genom Üzerindeki Yeri	Nucleotide sequence
MCP ileri	61–81 <sup>a</sup>	5'-TAC TTT GTC AAG GAG CAT TAC-3'
MCP geri	398–418a	5'-TCA TGT TAT AGT AGC CTA TGC-3'
IE ileri	104–22b	5'-ATG ATC CAA GCC TACCTG TGC-3'
IE geri	563–583b	5'-AAA TGT CCT AAT CTA TAC ACC-3'

Ranavirus'un varlığının tespiti için real time, quantification PCR (qPCR) uygulama işlemi, MCP (Major Capsid Protein) ve IE (immediately early) primerleri kullanılarak Çizelge 3.6'da belirtilen protokol koşulları altında reaksiyon son hacmi 25 µL olacak şekilde gerçekleştirildi. Tüm örneklerin qPCR işlemleri 3 kez tekrarlanarak yanlış negatif ve hatalı pozitif sonuç verme ihtimalleri en aza indirilmiştir. qPCR işleminin ardından Ct (cycle treshold) değeri alınan örnekler %1,5 lik agaroz jel elektroforezinde DNA marker kullanılarak yürütülerek hedeflenen DNA örneği boyutunun görüntülenmesiyle sonuçların doğruluğu kontrol edildi (Galli *et al.* 2006).

**Çizelge 3.6.** Ranavirüs tespiti için yapılan qPCR'da kullanılan malzemelerin miktarları.

Kullnılan Malzeme	Kullanılan Miktar
Applied master mix	10 µL x örnek sayısı
Ranavirüs'e özel Primer/Probe (10 pikomol) mix	1 µL x örnek sayısı
DNAz ve RNAz içermeyen steril su	4 µL x örnek sayısı
<b>Toplam</b>	<b>15 µL x örnek sayısı</b>
DNA örneği (5 ng /µL)	5 µL
<b>Reaksiyon Toplamı</b>	<b>20 µL</b>

Real-time PCR için hazırlanan örnekler 8'li 0,2 mL strip PCR tüplerine konularak üzerleri şeffaf seal bant ile kapatılarak karışımın homojenize olması ve tüplerin duvarında kalmış olabilecek damlaların dibe inmesi amacıyla bütün tüpler vorteks/spin cihazı (Bioneer, Kore) ile 2500 rpm de 5 sn, “hard” seviyede çalkalama ayarında 20 sn ve 20 tekrar şeklinde vorteks/spin edildi. Daha sonra hazır olan tüpler Real-time PCR cihazının (Bioneer exicycler96, Kore) bloğu üzerindeki kuyucuklara yerleştirildikten sonra aşağıdaki protokole göre cihaz çalıştırıldı (Çizelge 3.7).

**Çizelge 3.7.** Ranavirus (FV3) tespiti için qPCR amplifikasyon protokolü.

<b>Döngü Sayısı</b>	<b>İşlem Basamağı</b>	<b>Süre (saat.dakika.saniye)</b>	<b>Sıcaklık</b>
1 Tekrar	Enzim Aktivasyonu	00.10.00	95 °C
	Denatürasyon	00.00.20	95 °C
50	Bağlanma ve Uzama	00.00.45	55 °C
Tekrar	Verilerin Okunup Bilgisayara aktarılması	-	-
1 Tekrar	Melting	-	55 °C – 94 °C

#### 4. BULGULAR

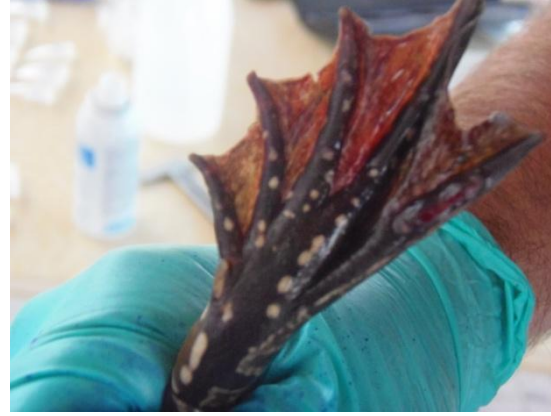
Yapılan arazi ve deneysel çalışmalar sonucunda Türkiye'nin en büyük Tatlısu gölü olan Beyşehir gölünde IUCN kriterlerine göre Kırmızı Liste'de (Red List) “Nesli tehlike altında bulunan hayvanlar” kategorilerinde yer alan ve azalmakta olduğu ifade edilen endemik anur türü *Pelophylax caralitanus* üzerinde Real-time PCR tekniği ile ölümcül hastalıklarla bağlantılı olduğu bilinen amfibi patojenleri *Batrachochytrium dendrobatidis* ve poikilotherm hayvanlara kolaylıkla bulaşabilen Ranavirus (Frog virüs-FV3)' ün varlığı tespit edilmiştir.

Beyşehir gölüne 2012 ve 2013 yıllarında yapılan arazi çalışmalarında göller yöresine endemik olan *Pelophylax caralitanus* türünün ciddi bir azalış sergilediği tespit edilmiştir. 2012 yılında yapılan arazi çalışmasında gölün çevresi dolaşmış ve ne yazık ki kurbağaların yok denecek kadar az olduğu gözlemlenmiştir. Buna nazaran sivrisinek popülasyonunun ciddi oranda arttığı görülmüştür. Bu gözlemlerde durumun ciddiyetini ortaya koymaktadır. 2013 yılında yapılan arazi çalışmasında da yine azalma göze çarpmıştır ve yine sivrisinek popülasyonunun arttığı gözlemlenmiştir.

Arazi çalışmalarında yakalanan hayvanlarda hastalığı destekleyici görsel olarak lezyonlar, doku kayıpları, kırmızılıklar tespit edilmiştir. Ayrıca ölü hayvanlara da oldukça rastlanmıştır (Resim 4.1, Resim 4.2).

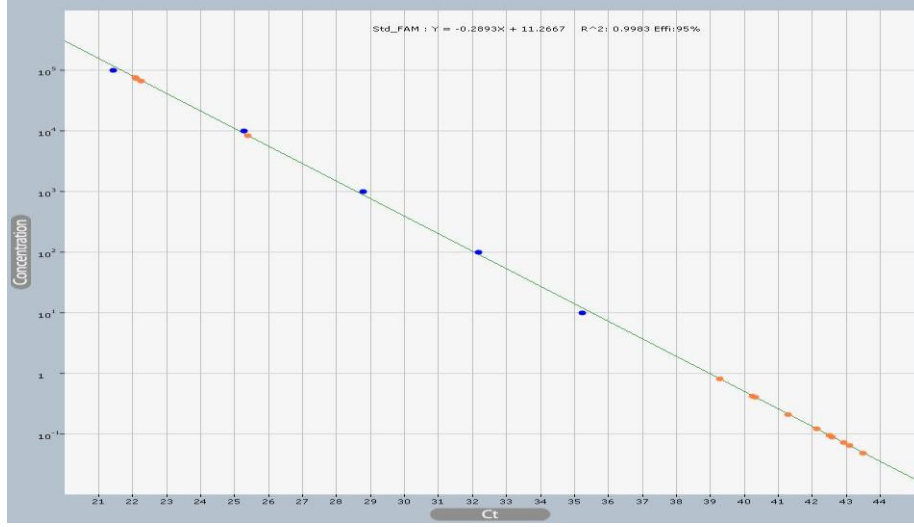


**Resim 4.1.** Hastalık belirtileri taşıyan *Pelophylax caralitanus*.



**Resim 4.2.** Hastalık belirtileri taşıyan *Pelophylax caralitanus*.

Arazi çalışmalarından sonra Beyşehir Gölünde iki amfibi patojeni olan *Batrachochytrium dendrobatidis* ve Ranavirüs için yapılan deneysel süreçte uygun metot ile DNA izolasyonu yapılmış ve *Batrachochytrium dendrobatidis*'e özgü primer dizileri kullanılarak qPCR çalışmaları yapılmıştır. Tüm örneklerin qPCR işlemleri 3 kez tekrarlanarak yanlış negatif ve hatalı pozitif sonuç verme ihtimalleri en aza indirilmiştir. Bu 3 tekrarlı çalışmaların üçünde de pozitif sonuç veren örnekler Bd pozitif olarak tanımlanmıştır. qPCR cihazının bilgisayara aktarmış olduğu Ct (cycle treshold) değerlerine bakılarak pozitif ya da negatif olarak değerlendirilmiştir. Ayrıca qPCR deneylerinde herbir çalışmada kullanılan standart pozitif örnekler ile de Bioneer Exicycler 96 analiz programında oluşturulan standart eğri yardımıyla da zoospor sayıları genomik eküvalent olarak tespit edilmiştir (Resim 4.3). qPCR cihazında yapılan Bd çalışmalarında her deneyde kullanılan standart örnekler vasıtası ile cihaz tarafından hazırlanan standart eğri referans alınarak otomatik hesaplanan genomik eküvalent değerlerinin ortalamaları 2012 yılı için 287,07 iken 2013 yılı için 1 612,47'dir.



**Resim 4.3.** qPCR sonrası Bd zoospor miktar tayininde kullanılan standart eğriye bir örnek.

*Batrachochytrium dendrobatidis* sonuçlarını değerlendirdiğimizde 2012 yılında yapılan arazi çalışmasında 27 *Pelophylax caralitanus* türünden 8 örnek pozitif sonuç vermiştir. 2013 yılında yapılan arazi çalışmasında ise 37 *Pelophylax caralitanus* türünden 26 örnek pozitif sonuç vermiştir. İki arazi sonucuna toplam bakıldığında 64 *Pelophylax caralitanus* türünden 34 örnek pozitif sonuç vermiştir (Çizelge 4.1). Sonuçlar gösteriyor ki Beyşehir gölünde endemik *Pelophylax caralitanus* türünün azalış sebepleri arasında patojen *Batrachochytrium dendrobatidis* fungusu olduğu tespit edilmiştir.

**Çizelge 4.1.** *Batrachochytrium dendrobatidis* İstatistikleri.

	<b>Çalışılan örnek sayısı</b>	<b>Pozitif örnek sayısı</b>	<b>Negatif örnek sayısı</b>	<b>Pozitiflik %</b>
<b>2012</b>	27	8	19	29,62
<b>2013</b>	37	26	9	72,27
<b>Toplam</b>	64	34	28	53,12

Ranavirüs MCP primerleri kullanılarak yapılan deneysel sonuçlara bakacak olduğumuzda 2012 yılında yapılan arazi çalışmasında 8 *Pelophylax caralitanus* türünden 0 örnek pozitif sonuç vermiştir. 2013 yılında yapılan arazi çalışmasında ise 35 *Pelophylax caralitanus* türünden 4 örnek pozitif sonuç vermiştir. İki arazi sonucuna toplam bakıldığında 43 *Pelophylax caralitanus* türünden 4 örnek pozitif sonuç vermiştir (Çizelge 4.2).

**Çizelge 4.2.** Ranavirus MCP primer İstatistikleri

<b>MCP PRİMERLERİ</b>				
	<b>Çalışılan</b>	<b>Pozitif</b>	<b>Negatif</b>	<b>Pozitiflik %</b>
	<b>Örnek Sayısı</b>	<b>Örnek Sayısı</b>	<b>Örnek Sayısı</b>	
<b>2012</b>	8	0	8	0
<b>2013</b>	35	4	31	11,4285
<b>Toplam</b>	43	4	39	9,3023

Ranavirüs IE primerleri kullanılarak yapılan deneysel sonuçlara bakacak olduğumuzda 2012 yılında yapılan arazi çalışmasında 8 *Pelophylax caralitanus* türünden 2 örnek pozitif sonuç vermiştir. 2013 yılında yapılan arazi çalışmasında ise 35 *Pelophylax caralitanus* türünden 7 örnek pozitif sonuç vermiştir. İki arazi sonucuna toplam bakıldığında 43 *Pelophylax caralitanus* türünden 9 örnek pozitif sonuç vermiştir (Çizelge 4.3).

**Çizelge 4.3** Ranavirus IE primer İstatistikleri

<b>IE PRİMERLERİ</b>				
	<b>Çalışılan</b>	<b>Pozitif</b>	<b>Negatif</b>	<b>Pozitiflik %</b>
	<b>Örnek Sayısı</b>	<b>Örnek Sayısı</b>	<b>Örnek Sayısı</b>	
<b>2012</b>	8	2	6	25
<b>2013</b>	35	7	28	20
<b>Toplam</b>	43	9	34	20,9302

Ranavirüs MCP ve IE primerleri kullanılarak yapılan deneysel sonuçlarına bakacak olduğumuzda 43 *Pelophylax caralitanus* türünden 4 örnek pozitif sonuç vermiştir (Çizelge 4.4).

**Çizelge 4.4.** Ranavirus MCP + IE primer İstatistikleri

	<b>Çalışılan</b>	<b>Pozitif</b>	<b>Negatif</b>	<b>Pozitiflik %</b>
	<b>Örnek Sayısı</b>	<b>Örnek Sayısı</b>	<b>Örnek Sayısı</b>	
<b>MCP+IE</b>	43	4	39	9,3023

## 5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Çağımızın en önemli çevresel ve ekonomik sorunları arasında ön sıralarda yer alan iklim değişikliği özellikle bulunduğumuz coğrafyada sağlıktan tarıma yaşamın her alanında olumsuz etkiler oluşturan son derece karmaşık bir sorundur. Dünya ikliminde görülen değişiklikler ne yazık ki yaşayan tüm canlıları olumsuz yönde etkilemektedir. Ancak, bu değişim tüm dünyada eşit şiddette olmadığı gibi her bireyde de farklı tepkiler vermektedir.

İklim değişiklikleri sonucu canlı sağlığına etkileri üzerine yapılan çalışmalar sonucu ortaya çıkan bulgulardan biride bazı bulaşıcı hastalıkların vektörlerinin ve dağılımının değişmesidir. Bu durum hastalığın meydana gelme olasılığı olan bölgelerin artmasına, hastalığın yayılma mevsiminin değişmesine, hastalığa bağlı olarak göçlerin artmasına ve son olarak hastalıkların görülme sıklığının artmasına yol açmaktadır. Dolayısıyla insanoğlu bilerek veya bilmeyerek iklimsel değişmelere neden olmakta bunun sonucunda ekosistemler değişmekte ve türlerin yeni alanlara girmesine sebep olmaktadır.

Küresel değerlendirmelere göre yaklaşık son 30 yıldır dünyadaki 6593 amfibi türünün %32' si büyük tehlike altındadır. 1980 yılından beri yaklaşık 122 amfibi türü yok olma tehlikesindedir. Bu durum popülasyon büyüklüklerinin %43 oranında azalmasına yol açmıştır.

Ülkemizde de 30 kurbağa (14 Urodel, 16 Anur) ve 127 (10 kaplumbağa, 62 kertenkele ve 55 yılan) sürüngen türü yaşamaktadır. Ne yazık ki ülkemizde yaşayan kurbağa türlerinin yaklaşık tamamı ve sürüngen türlerinin %67'si Dünya Tabiatı Koruma Birliği (IUCN) kırmızı listesinde yer almaktadır. Kırmızı listeye göre, ülkemizdeki kurbağaların %43'ü düşük öncelikli, %17'si tehlike altına girmeye aday, %17'si tehlike altında, %13'ü hassas ve %7'si kritik olarak tehlike altında kategorisinde yer almaktadır. %3'ü hakkında ise yeterli bilgi bulunmamaktadır. Ayrıca türlerin %80' inin popülasyonları azalmakta, %17'sinin durağan ve %3'ünün ise bilinmemektedir. Tüm Dünya da anur türlerindeki bu azalmanın en önemli nedenleri olarak Chytridiomycosis hastalığının etkeni *B. dendrobatidis* ve FV3 gösterilmektedir.



Dünya genelinde amfibilerde kütleli toplu ölümlere neden olduğu bilinen Chytridiomycosis hastalığının sebebi olan patojen fungus *Batrachochytrium dendrobatidis*' i ilk olarak Panama ve Avustralya da, Berger vd. (1998) tarafından amfibi türlerindeki ani azalışın sebebi olarak belirlenmiştir. Aynı araştırma kapsamında Güney Afrika Müzesi, Cape Town (SAMZR 18927) daki 1938 kayıtlı *Xenopus leavis* örneklerinde yapılan incelemeler sonucunda patojenle ilgili en eski kanıtlar bu örnek üzerinde bulunmuştur. Birçok araştırmacı bu patojenin başta iklim değişikliği olmak üzere dünya çapında yapılan kurbağa ticaretinin de etkisiyle yayıldığını düşünmektedir. Yapılan araştırmalarda Afrika, Güney Amerika, Orta Amerika, Kuzey Amerika, Avrupa, Asya ve Yeni Zelanda' da 287 amfibi türünde ve 25 familyasında *B. dendrobatidis* türü tespit edilmiştir (Lips *et al.* 2008, Bosch *et al.* 2007, Skerratt *et al.* 2007, Laurance 2008, Rohr *et al.* 2008, Kriger and Hero 2009).

Dünya genelinde *B. dendrobatidis* üzerine yapılan çalışmalar incelendiğinde; Rusya da çalışılan 2 örnekten, İran da 1 örnekten, Çek Cumhuriyetinde 1 örnekten, Pakistan da 8 örnekten pozitif bulunmamıştır. Bunun yanı sıra Güney Kore de 18 örnekten 5 pozitif, Çin de 446 örnekten 42 pozitif, Japonya da 1722 örnekten 243 pozitif, Macaristan da 147 örnekten 22 pozitif, İtalya da 1181 örnekten 46 pozitif, İspanya da 3012 örnekten 787 pozitif, Fransa da 903 örnekten 401 pozitif, Avusturya da 277 örnekten 43 pozitif, Almanya da 489 örnekten 56 pozitif, Hollanda da 901 örnekten 24 pozitif, Belçika da 1830 örnekten 15 pozitif, Amerika da 11593 örnekten 2259 pozitif örnek tespit edildiği ortaya çıkmıştır (İnt. Kay 3). Yüzdesel değerleri göz önüne alındığında %44,4 oran ile Fransa en yüksek enfeksiyon oranına sahiptir, 11593 örnek çalışması ile de Amerika en fazla çalışma yapılan ülke olduğu görülmektedir. Bu çalışmada ki sonuçlar ele alındığında ise yaklaşık % 31 lik pozitif sonuç oranı ülkemiz kurbağalarının büyük bir tehlike altında olduğunu göstermektedir. Bu doğrultuda enfeksiyon yaygınlığının tam anlamıyla belirlenebilmesi için ülke genelinde bulunan 30 anur türünün yayılış gösterdikleri lokalitelere göre detaylı araştırılması gerekmektedir.

*Batrachochytrium dendrobatidis*, kurbağalarda metabolizma değişikliklerine yol açtığı gibi aynı zamanda infekte popülasyondaki bireyin büyümesini de etkilediği belirlenmiştir (Lips *et al.* 2008, Bosch *et al.* 2007, Skerratt *et al.* 2007, Laurance 2008,

Rohr *et al.* 2008). *B.dendrobatidis* zoosporları suyoluyla bir hayvandan diğerine bulaşarak amfibilerin derisini infekte eder ve bu zoosporlar sadece epitelyumun keratinleşmiş bölümünde büyüme gösterirler (Berger *et al.* 1998, Longcore *et al.* 1999, Pessier *et al.* 1999, Nichols *et al.* 2001). Bu zoosporlar etrafa saçıldıktan sonra 24 saat içinde hareketli forma dönüşürler (Berger 2001). Zoosporlar hem yetişkin hem de iribaş safhasında olan (bu safhada sadece ağız parçalarında tespit edilmiştir) kurbağaları infekte eder (Berger *et al.* 1999, Nichols *et al.* 2001). Enfeksiyondan sonra ölüm genellikle 18-45 gün içinde gerçekleşir.

Ülkemizde de Göçmen (2013) tarafından yapılan bir çalışmada 12 lokalite olmak üzere 330 *Lyciasalamandra* türü, 2 *Pelophylax bedriagae* ve 1 *Pseudepidalea variabilis* ile yapılan Bd tespit çalışmasında *Lyciasalamandra* türlerinde ve *Pseudepidalea variabilis* türünden Bd negatif sonuç alınırken, *Pelophylax bedriagae*'nin 2 örneğinden 1 tanesi Bd pozitif olarak tespit edilmiştir.

Ülkemizde yapılan diğer bir çalışmada Göller bölgesi ve 26 Ağustos Milli Parkından toplanan *Pelophylax caralitanus*, *Pelobates syriacus*, *Pseudepidalea variabilis*, *Hyla orientalis*, *Triturus karelinii*, *Pelophylax ridibundus* ve *Rana macrocnemis* olmak üzere toplam 7 türe ait 228 amfibi örneğinden Bd tespiti yapılmıştır. 26 Ağustos Milli Parkından toplanan örneklerde türlere göre %8 ile % 29 oranlarında pozitif sonuç elde edilmiştir. Göller bölgesi çalışmalarında ise Beyşehir gölü %32 pozitiflik ile en yüksek enfeksiyon oranına sahip olduğu belirlenmiştir (Erismis 2014).

Bu tez çalışmasında ise toplam 59 swap örneğinin 32' sinde Bd pozitif olarak belirlenmiştir. 2012 yılında yapılan çalışmalarda yaklaşık %9 oranında pozitiflik, 2013 yılında yaklaşık %81 oranında pozitiflik saptanmıştır. Bd pozitif olarak saptanan örneklerin bir kısmında deride lekelenmeler, deri kayıpları ve kızarıklıklar saptanmışken, diğer kısmında ise hiçbir fizyolojik bulguya rastlanılmamıştır. Bu nedenle hastalığın belirli bir fizyolojik bulgusu olmasa da sonucun pozitif olabileceğini ortaya koymaktadır. Dolayısıyla morfolojik olarak hastalığın tespiti sağlıklı sonuçlar vermeyecektir. Günümüzde Bd'nin belirlenmesinde en etkin teknik qPCR yöntemi olarak kabul edilmiştir.

2008 yılında, Dünya Sağlık Örgütü'nün Yaban Hayat Organizasyonu (World Organisation for Animal Health, 2008) tarafından Yaban Hayat Hastalıklar Listesi' ne yerleştirilen ve yüksek ölümcül salgın hastalıklar sınıfına dahil edilen ranaviral hastalıkların sebebi olan Ranavirus türleri, Iridoviridae familyasına dahildir. Ranavirüs türleri amfibiler de olduğu gibi poikilotherm hayvanlarada da sistemik enfeksiyonla ölümlere neden olur. Ranaviruslerden Frog virüs 3 olarak adlandırılan ve amfibilerde sıkça rastlanan FV-3' ün en önemli özelliği genomunda major capsid protein (MCP) genini içermesidir.

1990'lar dan Ranavirus ve Chytrid fungus *Batrachochytrium dendrobatidis* yeni patojenler olarak bildirilmiş ve Dünya Sağlık Örgütü tarafından dikkat edilmesi gereken hastalıklar listesine alınmıştır.

Bu tez çalışmasında FV-3 tepiti için toplam 43 örnek hem MCP primer çiftiyle hem de IE primer çiftiyle qPCR işleminde kullanılmıştır. MCP primerleriyle yapılan çalışmalar sonucu 4 pozitif örneğe bağlı olarak %9,302 oranında FV-3 pozitif sonuç alınmıştır. IE primerleri ile yapılan çalışmalar sonucunda ise 9 pozitif sonuç alınmıştır.

*P. caralitanus* ekonomik ve ekolojik büyük öneme sahip olan endemik bir türdür. Arazi çalışmaları sırasında gözlemlediğimiz kadarıyla tehlike altındadır. Küresel ısınma, sucul habitatların kuruması, bilinçsiz ve aşırı derecede toplanması sayılarındaki azalışın başlıca nedeni olarak sayılmaktadır. Ancak bu türe ait daha önce Bd ve FV-3 ile yapılmış hiçbir çalışma bulunmamaktadır. Sonuç olarak çalışmamızda patojen hastalıkların yayılması (Bd ve FV-3) bu türün azalışının nedenleri arasındadır.

Bundan sonraki çalışmalar patojenin dağılımını etkileyen faktörlerin saptanması üzerine olmalıdır. Ayrıca elde edilen sonuçlar Türkiye'de ki diğer tür azalışlarında da patojenlerin etkin olup olmadığının araştırılmasını zorunlu kılmaktadır.

## 6. KAYNAKLAR

- Ahne, W., Bearzotti, M., Bremont, M. and Essbauer, S. (1998). Comparison of European systemic piscine and amphibian iridoviruses with epizootic haematopoietic necrosis virüs and frog virus 3. *Zentralbl Veterinarmed B*, **45**: 373-383.
- Ahne, W., Ogawa, M. and Schlotfeldt, H.J. (1990). Fish viruses: transmission and pathogenicity of an icosahedral cytoplasmic deoxyribovirus isolated from sheatfish (*Silurus glanis*). *Zentralbl Veterinarmed B*, **37**: 187-190.
- Ahne, W., Bremont, M., Hedrick, R.P., Hyatt, A.D. and Whittington, R.J. (1997). Special topic review: Iridoviruses associated with epizootic haematopoietic necrosis (EHNV) in aquaculture. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, **13**: 367-373.
- Ahne, W., Schlotfeldt, H.J. and Thomsen, I. (1989). Fish viruses: isolation of an icosahedral cytoplasmic deoxyribovirus from sheatfish (*Silurus glanis*). *Journal of Veterinary Medicine Series B*, **36**: 333–336.
- Allender, M.C., Fry, M.M., Irizarry, A.R., Craig, L., Johnson, A.J. and Jones, M. (2006). Intracytoplasmic inclusions in circulating leukocytes from an eastern box turtle (*Terrapene carolina carolina*) with iridoviral infection. *Journal of Wildlife Diseases*, **42**: 677-684.
- Annis, S.L., Dastoor, F.P., Ziel, H., Daszak, P., Joyce, E. and Longcore J.E., (2004). A DNA-Based assay identifies *Batrachochytrium dendrobatidis*' in amphibians. *Journal of Wildlife Diseases*, **40(3)**: 420–428.
- Anonymous. (2006) Council directive 2006/88/EC of 24 October 2006 on animal health requirements for aquaculture animals and products thereof, and on the prevention and control of certain diseases in aquatic animals. *Official Journal of the European Union L*, **328**: 14-56.
- Arikan, H. (1988). On a new form *Rana ridibunda* (Anura: Ranidae) from Turkey. *İstanbul Universitesi Fen Fakültesi Mecmuası.*, **53**: 81-87.
- Ariel, E. and Bang Jensen, B. (2009). Challenge studies of European stocks of redfin

- perch, *Perca fluviatilis* L., and rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), with epizootic haematopoietic necrosis virus. *Journal Fish Disases*, **32**: 1017-1025.
- Ariel, E. and Owens, L. (1997). Epizootic mortalities in tilapia *Oreochromis mossambicus*. *Diseases of Aquatic Organisms*, **29**: 1-6.
- Atatür, M.K., Arıkan, H., Mermer, A. (1993). A Preliminary study on the feeding biology of a *Rana ridibunda* (Anura, Ranidae) population from Beyşehir Lake. *Turkish Journal Zoology*, **17**: 127-131.
- Aydın, A., Mutlu, S., Tuncalı, T. (2006). Türkiye'nin Önemli Doğa Alanları, Doğa Derneği, Ankara. Kocaçay Deltası, **Cilt1**: 124-125.
- Bailey, A., Feist, S. (2011). Transmission of ranavirus in the common frog *Rana temporaria* by indirect cohabitation In abstracts of the 15th EAFP International Conference on Diseases of Fish and Shellfish. 12-16th September 2011, Split, p 349.
- Bailey, A.E. (2007). Stability of infectivity of systemic iridoviruses during storage at +4°C and -70°C. In the abstracts of the 7th International symposium on viruses of lower vertebrates. 22-25th April 2007, Oslo.
- Balseiro, A., Dalton, K.P., Del Cerro, A., Marquez, I., Cunningham, A.A., Parra, F., Prieto, J.M., Casais, R. (2009a). Pathology, isolation and molecular characterisation of a ranavirus from the common midwife toad *Alytes obstetricans* on the Iberian Peninsula. *Disases of Aquatic Organisms*, **84**: 95-104.
- Balseiro, A., Dalton, K.P., del Cerro, A., Marquez, I., Parra, F., Prieto, J.M., Casais, R. (2009b). Outbreak of common midwife toad virus in alpine newts (*Mesotriton alpestris cyreni*) and common midwife toads (*Alytes obstetricans*) in northern Spain: a comparative pathological study of an emerging ranavirus. *Veterinary Journal*, **186**: 256-258.
- Bang Jensen, B., Holopainen, R., Tapiovaara, H., Ariel, E. (2011). Susceptibility of pike-perch *Sander lucioperca* to a panel of ranavirus isolates. *Aquaculture*, **313**: 24-30.
- Bang Jensen, B., Ersboll, A.K., Ariel, E. (2009). Susceptibility of pike *Esox lucius* to a

- panel of Ranavirus isolates. *Diseases of Aquatic Organisms*, **83**: 169-179.
- Barr, D.J.S. (1990). Phylum chytridiomycota. In Handbook of Protoctista (eds L. Margulis, J. O. Corliss, M. Melkman & D. J. Chapman), pp. 454–466. Boston, MA: Jones & Bartlett.
- Bauer, S., Kirschning, C.J., Hacker, H., Redecke, V., Hausmann, S., Akira, S., Wagner, H., Lipford, G.B. (2001). Human TLR9 confers responsiveness to bacterial DNA via species-specific CpG motif recognition. *Proceedings National Academy of Science USA*, **98**: 9237-9242.
- Berger, L., Hyatt, A.D., Speare, R. and Longcore, J.E. (2005). Life cycle stages of the amphibian chytrid *Batrachochytrium dendrobatidis*. *Diseases of Aquatic Organisms*, **68**: 51–63.
- Berger, L.R. Speare, H., Hines, B., Marantelli, G., Hyatt, A.D., McDonald, K.R., Skerratt, L.F., Olsen, V., Clarke, J.M., Gillespie, G., Mahony, M., Sheppard, N., Williams, C., Tyler, M.J. (2004). Effect of season and temperature on mortality in amphibians due to Chytridiomycosis. *Australian Veterinary Journal*, **82** (7): 434–439.
- Berger L. Diseases in Australian Frogs [PhD thesis]. Townsville, Australia. James Cook University: Townsville. (2001).
- Berger, L., Speare, R., Hyatt, A.D. (1999). Chytrid fungi and amphibian declines: overview, implications and future directions. In: Campbell A (ed) Declines and disappearances of Australian frogs. *Environment Australia, Canberra*, p 23–33.
- Berger, L., Speare, R., Daszak, P., Green, D.E., Cunningham, A.A., Goggin, C.L., Slocombe, R., Ragan, M.A., Hyatt, A.D., McDonald, K.R., Hines, H.B., Lips, K.R., Marantelli, G., Parkes, H. (1998). Chytridiomycosis causes amphibian mortality associated with population declines in the rainforests of Australia and Central America. *Proceedings Natural Academy Science USA*, **95**: 9031–9036.
- Bollinger, T.K., Mao, J., Schock, D., Brigham, R.M., Chinchar, V.G. (1999). Pathology, isolation, and preliminary molecular characterization of a novel iridovirus from tiger salamanders in Saskatchewan. *Journal of Wildl Diseases*, **35**: 413-429.
- Bosch, J., Carrascal, L.M., Durán, L., Walker, S. and Fisher, M.C. (2007). Climate

change and outbreaks of amphibian chytridiomycosis in a montane area of Central Spain. *Proceedings of the Royal Society*, **274**: 253–260.

Bosch, J., Martínez-Solano, I. (2006). Chytrid fungus infection related to unusual mortalities of *Salamandra salamandra* and *Bufo bufo* in the Peñalara Natural Park, Spain. *Oryx*, **40**(1): 84 – 89.

Bosch, J., Martínez-Solano, I., García-París, M. (2001). Evidence of a chytrid fungus infection involved in the decline of the common midwife toad (*Alytes obstetricans*) in protected areas of central Spain. *Biological Conservation*, **97**: 331–337.

Bovero, S., Sotgiu, G., Angelini, C., Doglio, S., Gazzaniga, E., Cunningham, A.A., Garner, T.W.J. (2008). Detection of chytridiomycosis caused by *Batrachochytrium dendrobatidis* in the endangered Sardinian newt *Euproctus platycephalus* in southern Sardinia, *Italian Journal Wildlife Diseases*, **44**(3): 712 – 715.

Bovo, G., Comuzi, M., DeMas, S., Ceschia, G., Giorgetti, G., Giacometti, P., Cappelozza, E. (1993). Isolamento di un agente virale irido-like da pesce gatto (*Ictalurus melas*) d'allevamento. *Boll Soc Ital Patol Ittica*, **11**: 3-10.

Boyle, D.G., Boyle, D.B., Olsen, V., Morgan, J.A.T., Hyatt, A.D. (2004). Rapid quantitative detection of chytridiomycosis (*Batrachochytrium dendrobatidis*) in amphibian samples using Real-time Taqman PCR assay. *Diseases of Aquatic Organisms*, **60**: 141–148.

Braunwald, J., Tripier, F., Kim, A. (1979). Comparison of the properties of enveloped and naked frog virus 3 (FV3) particles. *Journal of Genetic Virology*, **45**: 673-82.

Brodman, R., Briggler, T. J. (2008). *Batrachochytrium dendrobatidis* in *Ambystoma jeffersonianum* larvae in southern Indiana. *Herpetological Review*, **39**(3): 320–321.

Brunner, J.L., Schock, D.M., Collins, J.P. (2007). Transmission dynamics of the amphibian ranavirus *Ambystoma tigrinum* virus. *Diseases of Aquatic Organisms*, **77**: 87-95.

Brunner, J.L., Richards, K., Collins, J.P. (2005). Dose and host characteristics influence

- virulence of ranavirus infections. *Oecologia*, **144**: 399-406.
- Budak, A., Göçmen, B. (2008). Herpetoloji ders kitabı Ege üniversitesi yayınları-fen fakültesi yayın no:194 Isbn 975-483-658-2.
- Chen, Z.X., Zheng, J.C., Jiang, Y.L. (1999). A new iridovirus isolated from soft-shelled turtle. *Virus Research*, **63**: 147-151.
- Chinchar, V.G., Hyatt, A., Miyazaki, T., Williams, T. (2009). Family Iridoviridae: poor viral relations no longer. *Current Topics in Microbiology and Immunology*, **328**: 123-170.
- Chinchar, V.G., Essbauer, S., He, J.G., Hyatt, A.D., Miyaki, T., Seligy, V., Williams, T. (2005). Family Iridoviridae. In: Fauguet CM, Mayo MA, Maniloff J, Desselberger U, Ball LA (eds) Virus taxonomy. Eight Report of the International Committee on the Taxonomy of Viruses. *Elsevier Academic Press*, p145-162.
- Chinchar, V.G., Bryan, L., Wang, J., Long, S., Chinchar, G.D. (2003). Induction of apoptosis in frog virus 3-infected cells. *Virology*, **306**: 303-312.
- Chinchar, V.G. (2002). Ranaviruses (family Iridoviridae): emerging cold-blooded killers. *Archives of Virology*, **147**: 447-470.
- Chua, F.H.C., Ng, M.L., Ng, K.L., Loo, J.J., Wee, J.Y. (1994). Investigation of outbreaks of a novel disease, 'sleepy grouper disease', affecting the brown-spotted grouper, *Epinephelus tauvina* Forskal. *Journal of Fish Diseases*, **17**: 417-437.
- Cullen, B.R. (2007). Immunology. Outwitted by viral RNAs. *Science*, **317**: 329-330.
- Cullen, B.R., Owens, L. (2002). Experimental challenge and clinical cases of Bohle iridovirus (BIV) in native Australian anurans. *Diseases of Aquatic Organisms*, **49**: 83-92.
- Cunningham, A.A., Garner, T.W.J., Aguilar-Sanchez, V., Banks, B., Foster, J., Sainsbury, A.W., Perkins, M., Walker, S.F., Hyatt, A.D., Fisher, M.C. (2005). Emergence of amphibian chytridiomycosis in Britain. *Veterinary Record*, **157**: 386-387.
- Cunningham, A.A., Langton, T.E., Bennett, P.M., Lewin, J.F., Drury, S.E., Gough, R.E., Macgregor, S.K. (1996). Pathological and microbiological findings from



incidents of unusual mortality of the common frog (*Rana temporaria*). *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, **351**: 1539-1557.

Daszak, P., Cunningham A.A., Hyatt, A.D. (2003). Infectious disease and amphibian population declines. *Diversity and Distributions*, **9**: 141–150.

Daszak, P., Cunningham, A.A., Hyatt, A.D. (2000). Emerging infectious diseases of wildlife threats to biodiversity and human health. *Science*, **287**: 443–449.

Daszak, P., Berger, L., Cunningham, A.A., Hyatt, A.D., Green, G.E., Speare, R. (1999). Emerging infectious diseases and amphibian population decline. *Emerging Infectious Diseases*, **5**: 735–748.

De Voe, R., Geissler, K., Elmore, S., Rotstein, D., Lewbart, G., Guy, J. (2004). Ranavirus-associated morbidity and mortality in a group of captive eastern box turtles (*Terrapene carolina carolina*). *Journal Zoo Wildlife Medicine*, **35**: 534-543.

Di Rosa, I., F. Simoncelli, A. Fagotti and R. Pascolini. 2007. The proximate cause of frog Declines. *Nature*, **447**: 7144.

Drury, S.E., Gough, R.E., Cunningham, A.A. (1995). Isolation of an iridovirus-like agent from common frogs (*Rana temporaria*). *Veterinary Record*, **137**: 72-73.

Duffus, A.L., Pauli, B.D., Wozney, K., Brunetti, C.R., Berrill, M.. (2008). Frog virus 3-like infections in aquatic amphibian communities. *Wildlife Diseases Association*, **44**: 109-120.

Eaton, H.E., Metcalf, J., Penny, E., Tcherepanov, V., Upton, C., Brunetti, C.R. (2007). Comparative genomic analysis of the family Iridoviridae: re-annotating and defining the core set of iridovirus genes. *Virology Journal*, **4**: 11.

Erismis U., Konuk M., Yoldas T., Agyar P., Yumuk D., Korcan E. (2014): Survey of Turkey's endemic frogs for amphibian chytrid fungus *Batrachochytrium dendrobatidis*. *Diseases of Aquatic Organisms*, **111(2)**:153-7.

Essbauer, S., Ahne, W. (2002). The epizootic haematopoietic necrosis virus (Iridoviridae) induces apoptosis in vitro. *Journal Veterinary Medicine B Infection Disase Veterinary Public Health*, **49**: 25-30.

- Ezer, Beyşehir gölü yüzey su toplama havzası yönetim planı örneğinde ekolojik yaklaşımı, 2003/1.
- Federici, S., Clemenzi, S., Favelli, M., Tessa, G., Andreone, F., Casiraghi, M., Crottini, A. (2008). Identification of the pathogen *Batrachochytrium dendrobatidis* in amphibian populations of a plain area in the Northwest of Italy. *Herpetology Notes*, **1**: 33- 37.
- Fijan, N., Matašin, Z., Petrincec, Z., Valpotic, I., Zwillingberg, L.O. (1991). Isolation of an iridovirus-like agent from green frog (*Rana esculenta* L.). *Veterinarski Arhiv*, **61**: 151-158.
- Fisher, M.C., Bosch, J., Yin, Z., Stead, D.A., Walker, J., Selway, L., Brown, A.J.P., Walker, L.A., Gow, N.A.R., Stajich, J.E., Garner, T.W.J. (2009). Proteomic and phenotypic profiling of the amphibian pathogen *Batrachochytrium dendrobatidis* shows that genotype is linked to virulence. *Molecular Ecology*, **18**: 415-429.
- Fisher M.C., Garner, T.W.J. (2007). The relationship between the introduction of *Batrachochytrium dendrobatidis*, the international trade in amphibians and introduced amphibian species. *Fungal Biology Reviews*, **21**: 2–9.
- Fox, S.F., Greer, A.L., Torres-Cervantes, R., Collins, J.P. (2006). First case of ranavirus-associated morbidity and mortality in natural populations of the South American frog *Atelognathus patagonicus*. *Diseases of Aquatic Organisms*, **72**: 87-92.
- Galli, L., Pereira, A., Márquez, A., Mazzoni, R. (2006). Ranavirus detection by PCR in cultured tadpoles (*Rana catesbeiana* Shaw, 1802) from South America. *Aquaculture*, **257**: 78–82.
- Gantress, J., Maniero, G.D., Cohen, N., Robert, J. (2003). Development and characterization of a model system to study amphibian immune responses to iridoviruses. *Virology*, **311**: 254-262.
- Garner, T.W.J., Perkins, M.W., Govindarajulu, P., Seglie, D., Walker, S., Cunningham A.A., Fisher, M.C. (2006). The emerging amphibian pathogen *Batrachochytrium dendrobatidis* globally infects introduced populations of the North American bullfrog, *Rana catesbeiana*. *Biology Letters*, **2**: 455 – 459.

- Garner, T. W. J., Walker, S., Bosch, J., Hyatt, A. D., Cunningham, A. A., Fisher, M. C. (2005). Chytrid fungus in Europe. *Emerging Infectious Diseases*, **11**: 1639-1641.
- Gibson-Kueh, S., Netto, P., Ngoh-Lim, G.H., Chang, S.F., Ho, L.L., Qin, Q.W., Chua, F.H., Ng, M.L., Ferguson, H.W. (2003). The pathology of systemic iridoviral disease in fish. *Journal of Comparative Pathology*, **129**: 111-119.
- Gobbo, F., Cappellozza, E., Pastore, M.R., Bovo, G. (2010). Susceptibility of black bullhead *Ameiurus melas* to a panel of ranavirus isolates. *Diseases of Aquatic Organisms*, **90**: 167-174.
- Goka, K., Yokoyama, J., Une, Y., Kuroki, T., Suzuki, K., Nakahara, M., Kobayashi, A., Inaba, S., Mizutani, T., Hyatt, A.D. (2009). Amphibian chytridiomycosis in Japan: distribution, haplotypes and possible route of entry into Japan. *Molecular Ecology*, **18(23)**: 4757-74.
- Goorha, R., Granoff, A., Willis, D.B., Murti, K.G. (1984). The role of DNA methylation in virüs replication: inhibition of frog virus 3 replication by 5-azacytidine. *Virology*, **138**: 94-102.
- Goorha, R. (1982). Frog virus 3 DNA replication occurs in two stages. *Journal of Virology*, **43**: 519-528.
- Goorha, R., Murti, G., Granoff, A. and Tirey, R. (1978). *Virology*, **84**: 32-51.
- Goorha, R., Granoff, A. (1974). Macromolecular synthesis in cells infected by frog virus 3. I. Virus-specific protein synthesis and its regulation. *Virology*, **60**: 237-250.
- Göçmen B., Veith M., Iğci N., Akman B., Godmann O., Wagner N. (2013). No Detection Of The Amphibian Pathogen *Batrachochytrium dendrobatidis* In Terrestrial Turkish Salamanders (*Lyciasalamandra*) Despite Its Occurrence In Syntopic Frogs (*Pelophylax bedriagae*). *Salamandra*, **49(1)**: 51-55
- Granoff, A., Came, P.E., Breeze, D.C. (1966). Viruses and renal carcinoma of *Rana pipiens*. I. The isolation and properties of virus from normal and tumor tissue. *Virology*, **29**: 133-148.
- Green D.E., Converse, K.A.A. Schrader, K. (2002). Epizootiology of sixty-four

amphibian morbidity and mortality events in the USA, 1996–2001. *Annals of the New York Academy of Sciences*, **969**: 323–339.

Greer, A.L, Berrill, M., Wilson, P.J. (2005). Five amphibian mortality events associated with ranavirus infection in south central Ontario, Canada. *Diseases of Aquatic Organisms*, **67**: 9-14.

He, J.G., Lu, L., Deng, M., He, H.H., Weng, S.P., Wang, X.H., Zhou, S.Y., Long, Q.X., Wang, X.Z., Chan, S.M. (2002). Sequence analysis of the complete genome of an iridovirus isolated from the tiger frog. *Virology*, **292**:185-197.

Hedrick, R.P., McDowell, T.S. (1995). Properties of iridoviruses from ornamental fish. *Veterinary Research*, **26**: 423-427.

Holopainen, M. and Toivonen, M. (2012). Weak Signals – Ansoff Today. *Futures*, **44**: 198–205.

Huang, Y., Huang, X., Liu, H., Gong, J., Ouyang, Z., Cui, H., Cao, J., Zhao, Y., Wang, X., Jiang, Y., Qin, Q. (2009). Complete sequence determination of a novel reptile iridovirus isolated from soft-shelled turtle and evolutionary analysis of Iridoviridae. *BMC Genomics*, **10**: 224.

Hyatt, A. D., Boyle, D. G., Olsen, V., Boyle, D. B., Berger, L., Obendorf, D., Dalton, A., Kriger, K., Hero, M., Hines, H., Phillott, R., Campbell, R., Marantelli, G., Gleason, F., Colling, A. (2007). Diagnostic assays and sampling protocols for the detection of *Batrachochytrium dendrobatidis*. *Diseases Of Aquatic Organisms*, **73**: 175–192.

Hyatt, A.D., Williamson, M., Coupar, B.E., Middleton, D., Hengstberger, S.G., Gould, A.R., Selleck, P., Wise, T.G., Kattenbelt, J., Cunningham, A.A., Lee, J. (2002). First identification of a ranavirus from green pythons (*Chondropython viridis*). *Journal of Wildlife Disases*, **38**: 239-252.

Hyatt, A.D., Gould, A.R., Zupanovic, Z, Cunningham, A.A., Hengstberger, S., Whittington, R.J., Kattenbelt, J., Coupar, B.E. (2000). Comparative studies of piscine and amphibian iridoviruses. *Archives of Virology*, **145**: 301-331.

Jancovich, J.K., Chinchar, V.G., Hyatt, A., Miyazaki, T., Zhang, Q.Y. (2011). Family Iridoviridae. In: King AMQ, Adams MJ, Carstens EB, Lefkowitz E (eds) *Virus*

Taxonomy: Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. Elsevier Academic Press, p193-210.

Jancovich, J.K., Bremont, M., Touchman, J.W., Jacobs, B.L. (2010). Evidence for multiple recent host species shifts among the Ranaviruses (family Iridoviridae) *Journal of Virology*, **84**: 2636-2647.

Jancovich, J.K., Mao, J., Chinchar, V.G., Wyatt, C., Case, S.T., Kumar, S., Valente, G., Subramanian, S., Davidson, E.W., Collins, J.P., Jacobs, B.L. (2003). Genomic sequence of a ranavirus (family Iridoviridae) associated with salamander mortalities in North America. *Virology*, **316**: 90-103.

Johnson, A.J., Pessier, A.P., Jacobson, E.R. (2007). Experimental transmission and induction of ranaviral disease in Western Ornate box turtles (*Terrapene ornata ornata*) and redeared sliders (*Trachemys scripta elegans*). *Veterinary Pathology*, **44**: 285-297.

Johnson, A.J., Pessier, A.P., Wellehan, J.F., Childress, A., Norton, T.M., Stedman, N.L., Bloom, D.C., Belzer, W., Titus, V.R., Wagner, R., Brooks, J.W., Spratt, J., Jacobson, E.R. (2008). Ranavirus infection of free-ranging and captive box turtles and tortoises in the United States. *Journal of Wildlife Diseases*, **44**: 851-863.

Karling, J.S. (1977). Chytridiomycetorum Iconographia: An Illustrated and Brief Descriptive Guide to the Chytridomycetous Genera with a Supplement of the Hyphochytriomycetes (Lubrecht and Cramer, Monticello, NY).

Kashi, Y., King, D.G. (2006). Simple sequence repeats as advantageous mutators in evolution. *Trends in Genetics*, **22**: 253-259.

Kaur, K., Rohozinski, J., Goorha, R. (1995). Identification and characterization of the frog virus 3 DNA methyltransferase gene. *Journal of General Virology*, **76 (8)**: 1937-1943.

Kruger, K.M. and Hero, J.M. (2009). Chytridiomycosis, Amphibian Extinctions, and Lessons for the Prevention of Future Panzootics. *Ecohealth*, **6(1)**: 6-10.

Kruger, K.M., Hero, J.M. (2007). The chytrid fungus *Batrachochytrium dendrobatidis* is nonrandomly distributed across amphibian breeding habitats. *Diversity and Distributions*, **13**: 781-788.

- Kruger, K.M., Hero, J.M., Ashton K.J. (2006). Cost Efficiency In The Detection Of Chytridiomycosis Using PCR Assay. *Disases of Aquatic Organisms*, **71**: 149–154.
- Lai, Y.S., Murali, S., Ju, H.Y., Wu, M.F., Guo, I.C., Chen, C., Fang, K., Chang, C.Y. (2000). Two iridovirus-susceptible cell lines established from kidney and liver of grouper, *Epinephelus awoara* (Temminck & Schlegel), and partial chracterization of grouper iridovirus. *Journal of Fish Disases*, **23**: 379-388.
- Langdon, J.S. (1989). Experimental transmission and pathogenicity of epizootic hematopietic necrosis (EHNV) in redfin perch, *Perca fluviatilis* and other 11 species of teleosts. *Journal of Fish Disases*, **12**: 295-310.
- Langdon, J.S, Humphrey, J.D., Williams, L.M. (1988). Outbreaks of an EHNV-like iridovirus in cultured rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson, in Australia. *Journal of Fish Disases*, **11**: 93-96.
- Langdon, J.S., Humphrey, J.D., Williams, L.M., Hyatt, A.D., Westbury, H.A. (1986). First virüs isolation from Australian fish: An iridovirus-like pathogen from redfin perch, *Perca fluviatilis* L. *Journal of Fish Disases*, **9**: 263-268.
- Laurance, W.F., McDonald, K.R., Speare, R. (1996). Australian rain forest frogs: support for the epidemic disease hypothesis. *Conservation Biology*, **10**: 406–413.
- Laurance, WF. (2008). Global warming and amphibian extinctions in eastern Australia. *Austral Ecology*, **33**: 1-9.
- Lips, K.R., Diffendorfer, J., Mendelson III, J.R., Sears, M.W. (2008). Riding the wave: reconciling the roles of disease and climate change in amphibian declines. *PLoS Biology*, **6 (3)**: 441–454.
- Lips, K.R., Brem, F., Brenes,R., Reeve, J.D., R.A., Alford, Voyles, J., Carey, C., Livo, L., Pessier, A.P., Collins, J.P. (2006). Emerging infectious disease and the loss of biodiversity in a neotropical amphibian community. *Proceedings of the National Academy of Science USA*, **103**: 3165–3170.
- Longcore, J.E., Pessier, A.P., Nichols, D.K. (1999). *Batrachochytrium dendrobatidis* gen. et sp. nov., a chytrid pathogenic to amphibians. *Mycologia*, **91**: 219–227.
- Maniero, G.D., Morales, H., Gantress, J., Robert, J. (2006). Generation of a long-

- lasting, protective, and neutralizing antibody response to the ranavirus FV3 by the frog *Xenopus*. *Development Comparative Immunology*, **30**: 649-657.
- Mao, J., Green, D.E., Fellers, G., Chinchar, V.G. (1999). Molecular characterization of iridoviruses isolated from sympatric amphibians and fish. *Virus Research*, **63**: 45-52.
- Mao, J., Hedrick, R.P., Chinchar, V.G. (1997). Molecular characterization, sequence analysis, and taxonomic position of newly isolated fish iridoviruses. *Virology*, **229**: 212-220.
- Mao, J., Tham, T.N., Gentry, G.A., Aubertin, A., Chinchar, V.G. (1996). Cloning, sequence analysis, and expression of the major capsid protein of the iridovirus frog virus 3. *Virology*, **216**: 431-436.
- Marantelli, G., Berger, L., Speare, R., Keegan, L. (2004). Changes in distribution of *Batrachochytrium dendrobatidis* and keratin during tadpole development leading to high mortality after metamorphosis. *Pacific Conservation Biology*, **10**: 173-179.
- Marschang, R.E., Braun, S., Becher, P. (2005). Isolation of a ranavirus from a gecko (*Uroplatus fimbriatus*). *Journal of Zoo Wildlife Medicine*, **36**: 295-300.
- Marschang, R.E., Becher, P., Posthaus, H., Wild, P., Thiel, H.J., Muller-Doblies, U., Kalet, E.F., Bacciarini, L.N. (1999). Isolation and characterization of an iridovirus from Hermann's tortoises (*Testudo hermanni*). *Archieve of Virology*, **144**: 1909-1922.
- Marsh, I.B., Whittington, R.J., O'Rourke, B., Hyatt, A.D., Chisholm, O. (2002). Rapid differentiation of Australian, European and American ranaviruses based on variation in major capsid protein gene sequence. *Molecular and Cellular Probes*, **16**: 137-151.
- McDonald, K.R., Mendez, D., Muller, R., Freeman, A.B., Speare R. (2005). Decline in the prevalence of chytridiomycosis in upland frog populations in North Queensland, Australia. *Pacific Conservation Biology*, **11(2)**: 114-120.
- Moody, N.J.G. and Owens, L. (1994). Experimental demonstration of pathogenicity of a frog virus, bohle iridovirus, for fish species, barramundi *Lates calcefer*. *Disases of*

*Aquatic Organisms*, **18**: 95-102.

- Morales, H.D., Abramowitz, L., Gertz, J., Sowa, J., Vogel, A., Robert, J. (2010). Innate immune responses and permissiveness to ranavirus infection of peritoneal leukocytes in the frog *Xenopus laevis*. *Journal of Virology*, **84**: 4912-4922.
- Morales, H.D., Robert, J. (2007). Characterization of primary and memory CD8 T-cell responses against ranavirus (FV3) in *Xenopus laevis*. *Journal of Virology*, **81**: 2240-2248.
- Morehouse, E.A., James, T.Y., Ganley, A.R.D., Vilgalys, R., Berger, L., Murphy, P.J., Longcore, J.E. (2003). Multilocus sequence typing suggests the chytrid pathogen of amphibians is a recently emerged clone. *Molecular Ecology*, **12** (2): 395–403.
- Morgan, J.A.T., Vredenburg, V.T., Rachowicz, L.J., Knapp, R.A., Stice, M.J., Tunstall, T., Bingham, R.E., Parker, J.M., Longcore, J.E., Moritz, C., Briggs, C.J., Taylor, J.W., (2007). Population genetics of the frog-killing fungus *Batrachochytrium dendrobatidis*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **104** (34): 13845–13850.
- Murti, K.G., Chen, M., Goorha, R. (1985). Interaction of frog virus 3 with the cytomatrix. III. Role of microfilaments in virus release. *Virology*, **142**: 317-325.
- Muths E, Gallant AL, Campbell EHC, Battaglin WA and others (2006) The Amphibian Research and Monitoring Initiative (ARMI): 5-year report. US Geological Survey Scientific Investigations Report 2006-5224.
- Nair, V., Zavolan, M. (2006). Virus-encoded microRNAs: novel regulators of gene expression. *Trends Microbiology Journal*, **14**: 169-175.
- Nichols, D.K., Lamirande, E.W., Pessier, A.P., and Longcore, J.E. (2001). Experimental transmission of cutaneous chytridiomycosis in dendrobatid frogs. *Journal of Wildlife Diseases*, **37**: 1-11.
- Ogawa, M., Ahne, W., Fischer-Scherl, T., Hoffmann, R.W., Schlotfeldt, H.J. (1990). Pathomorphological alterations in sheatfish fry *Silurus glanis* experimentally infected with an iridovirus-like agent. *Disases of Aquatic Organisms*, **9**: 187-191.
- OIE. (2011). Diseases listed by the OIE. In: Aquatic Animal Health Code, Chapter 1.3.



World Organisation for Animal Health

- OIE. (2006). Epizootic haematopoietic necrosis. In: Manual of Diagnostic Tests for Aquatic Animals. *World Organisation for Animal Health*, p 82-103.
- Ouellet, M., Mikaelian, I., Pauli, B.D., Rodrigue, J., Green, D.M. (2005). Historical evidence of widespread chytrid infection in North American amphibian populations. *Conservation Biology*, **19**: 1431–40.
- Paperna, I., Vilenkin, M., de Matos, A.P. (2001). Iridovirus infections in farm-reared tropical ornamental fish. *Diseases of Aquatic Organisms*, **48**: 17-25.
- Pasmans, F., Blahak, S., Martel, A., Pantchev, N., Zwart, P. (2008). Ranavirus-associated mass mortality in imported red tailed knobby newts (*Tylototriton kweichowensis*): a case report. *Journal of Veterinary*, **176**: 257-259.
- Pessier, A.P., Nichols, D.K., Longcore, J.E., Fuller, M.S. (1999). Cutaneous chytridiomycosis in poison dart frogs (*Dendrobates* spp.) and White's tree frogs (*Litoria caerulea*). *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, **11**: 194–199.
- Picco, A.M., Karam, A.P., Collins, J.P. (2010). Pathogen host switching in commercial trade with management recommendations. *Ecohealth*, **7**: 252-256.
- Piotrowski, J.S., Annis, S.L., Longcore J.E. (2004). Physiology of *Batrachochytrium dendrobatidis*, a chytrid pathogen of amphibians. *Mycologia*, **96**: 9–15.
- Plumb, J.A., Grizzle, J.M., Young, H.E., Noyes, A.D., Lamprecht, S. (1996). An iridovirus isolated from wild largemouth bass. *Journal of Aquatic Animal Health*, **8**: 265-270.
- Pounds, J.A., M.R. Bustamante, L.A. Coloma, J.A. Consuegra, M.P.L. Fogden, P.N. Foster, E. La Marca, K.L. Masters, A. Merino-Viteri, R. Puschendorf, S.R. Ron, G.A. Sánchez- Azofeifa, C.J. Still, B.E. Young. (2006). Widespread amphibian extinctions from epidemic disease driven by global warming. *Nature*, **439**:161-67.
- Pozet, F., Morand, M., Moussa, A., Torhy, C., de Kinkelin, P. (1992). Isolation and preliminary characterization of a pathogenic icosahedral deoxyribovirus from the catfish *Ictalurus melas*. *Diseases of Aquatic Organisms*, **14**: 35-42.
- Rachowicz, L.J., Knapp, R.A., J. Morgan, A.T., Stice, M.J., Vredenburg, V.T., Parker

- J.M., Briggs, C.J. (2006). Emerging infectious disease as a proximate cause of amphibian mass mortality. *Ecology*, **87**: 1671–1683.
- Reading, C.J. (2007). Linking global warming to amphibian declines through its effects on female body condition and survivorship. *Oecologia*, **151**: 125–31.
- Reddacliff, L.A., Whittington, R.J. (1996). Pathology of epizootic haematopoietic necrosis virus (EHNV) infection in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum) and redbfin perch (*Perca fluviatilis* L). *Journal of Comparative Pathology*, **115**: 103-115.
- Robert, J., Morales, H., Buck, W., Cohen, N., Marr, S., Gantress, J. (2005) Adaptive immunity and histopathology in frog virus 3-infected *Xenopus*. *Virology*, **332**: 667-675.
- Rohr, J.R., Raffel, T.R., Romansic, J.M., McCallum, H., Hudson, P.J. (2008). Evaluating the links between climate, disease spread, and amphibian declines. *Proceedings National Academy of Science USA*, **105**: 17436–17441.
- Rojas, S., Richards, K., Jancovich, J.K., Davidson, E.W. (2005) Influence of temperature on Ranavirus infection in larval salamanders *Ambystoma tigrinum*. *Diseases of Aquatic Organisms*, **63**: 95-100.
- Ron, S.R., (2005) Predicting the Distribution of the Amphibian Pathogen *Batrachochytrium dendrobatidis* in the New World. *Biotropica*, **37(2)**: 209–221.
- Ron, S.R., Duellman, W.E., Coloma, L.A. Bustamante, M.R. (2003). Population decline of the Jambato toad *Atelopus ignescens* (Anura: Bufonidae) in the Andes of Ecuador. *Journal of Herpetology*, **37(1)**: 116–126.
- Rosenblum, E.B., Römppler, H., Schöneberg, T., Hoekstra, H.E. (2010). Molecular and functional basis of phenotypic convergence in white lizards at White Sands. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **107(5)**: 2113-2117.
- Scalera, R., M. J. Adams, S. K. Galvan. (2008). Occurrence of *Batrachochytrium dendrobatidis* in amphibian populations in Denmark. *Herpetological Review*, **39(2)**: 199 – 200.
- Simoncelli, F., A. Fagotti, R. Dall’Olio, D. Vagnetti, R. Pascolini and I. Di Rosa. 2005.

- Evidence of *Batrachochytrium dendrobatidis* Infection in Water Frogs of the *Rana esculenta* Complex in Central Italy. *EcoHealth*, **2**: 307–312.
- Skerratt, L.F., Berger, L., Speare, R., Cashins, S., Mc McDonald, K.R., Phillott, A.D., Hines, H.B., Kenyon, N. (2007). Spread of Chytridiomycosis has caused the rapid global decline and extinction of frogs. *EcoHealth*, **4**: 125 – 134.
- Song, W.J., Qin, Q.W., Qiu, J., Huang, C.H., Wang, F., Hew, C.L. (2004). Functional genomics analysis of Singapore grouper iridovirus: complete sequence determination and proteomic analysis. *Journal of Virology*, **78**: 12576-12590.
- Sparrow, F.K. (1960). Aquatic Phycomycetes (The Univ. of Michigan Press, Ann Arbor, MI), pp. 16–18.
- Speare, R., Smith, J.R. (1992). An iridovirus-like agent isolated from the burrowing frog, *Lymnodynastes ornatus* in northern Australia. *Diseases of Aquatic Organisms*, **14**: 51-57.
- Spitzen- van der Sluijs, A. M. and R. Zollinger. (2010). Literature review on the American bullfrog. Stichting RAVON, Nijmegen, the Netherlands.
- Stagni, G., Dall'Olio, R., Fusini, U., Mazzotti, S., Scoccianti, C., Serra, A. (2004). Declining populations of Apennine yellowbellied toad *Bombina pachypus* in northern Apennines, Italy: is *Batrachochytrium dendrobatidis* the main cause? *Italian Journal of Zoology*, **71 (Suppl. 2)**: 5-13.
- Tan, W.G., Barkman, T.J., Gregory, C.V., Essani, K. (2004). Comparative genomic analyses of frog virus 3, type species of the genus *Ranavirus* (family Iridoviridae). *Virology*, **323**: 70-84.
- Tapiovaara, H., Olesen, N.J., Linden, J., Rimaila Parnanen, E., von Bonsdorff CH (1998). Isolation of an iridovirus from pike-perch *Stizostedion lucioperca*. *Diseases of Aquatic Organisms*, **32**: 185-193.
- Tidona, C.A., Schnitzler, P., Kehm, R., Darai, G (1998). Is the major capsid protein of iridoviruses a suitable target for the study of viral evolution. *Virus Genes*, **16**: 59-66.
- Tidona, C.A., Schnitzler, P., Kehm, R., Darai, G. (1996). Identification of the gene

encoding the DNA (cytosine-5) methyltransferase of lymphocystis disease virus. *Virus Genes*, **12**: 219-229.

Tsai, C.T., Ting, J.W., Wu, M.H., Wu, M.F., Guo, I.C., Chang, C.Y. (2005). Complete genome sequence of the grouper iridovirus and comparison of genomic organization with those of other iridoviruses. *Journal of Virology*. **79**: 2010-2023.

Une, Y., Sakuma, A., Matsueda, H., Nakai, K., and Murakami, M. (2009). "Ranavirus outbreak in North American Bullfrogs (*Rana catesbeiana*), Japan, 2008. *Emerging Infectious Diseases*, **15(7)**: 1146-1147.

Voyles, J., Berger, L., Young, S., Speare, R., Webb, R., Warner, J., Rudd, D., Campbell, R., Skerratt, L.F. (2007). Electrolyte depletion and osmotic imbalance in amphibians with Chytridiomycosis. *Diseases Of Aquatic Organisms*, **77**: 113–118.

Walker, S. F., Bosch, J., Gomez, V., Garner, T.W.J., Cunningham, A.A., Schmeller, D.S., Ninyerola, M., Henk, D., Ginestet, C., Arthur, C.P. and Fisher, M.C. (2010). Factors driving pathogenicity vs. prevalence of amphibian panzootic chytridiomycosis in Iberia. *Ecology Letters*, **13(3)**: 372-82.

Walker, S.F., Bosch, J., James, T.Y., Litvintseva, A.P., Valls, J.A.O., Piña, S., García, G., Abadie Rosa, G., Cunningham, A.A., Hole, S., Griffiths, R. and Fisher, M.C. (2008). Invasive pathogens threaten species recovery programs. *Current Biology*, **18(18)**: R853 – R854.

Weldon, C., du Preez, L.H., Hyatt, A.D., Muller, R., Speare, R. (2004). Origin of the amphibian chytrid fungus. *Emerging Infectious Diseases*, **10 (12)**: 2100–2105.

Whittington, R.J., Becker, J.A., Dennis, M.M. (2010). Iridovirus infections in finfish critical review with emphasis on ranaviruses. *Journal of Fish Diseases*, **33**: 95-122.

Whittington, R.J., Reddacliff, G.L. (1995). Influence of environmental temperature on experimental infection of redfin perch (*Perca fluviatilis*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) with epizootic haematopoietic necrosis virus, an Australian iridovirus. *Australian Veterinary*, **72**: 421-424.

Whittington, R.J., Philbey, A., Reddacliff, G.L., Macgown, A.R. (1994). Epidemiology of epizootic haematopoietic necrosis virus (EHNV) infection in farmed rainbow

- trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum): findings based on virus isolation, antigen capture ELISA and serology. *Journal Of Fish Diseases*, **17**: 205-218.
- Williams, T., Barbosa-Solomieu, V., Chinchar, V.G. (2005). A decade of advances in iridovirus research. *Advanced Virus Research*, **65**: 173-248.
- Williams, T. (1996). The iridoviruses. *Advanced Virus Research*, **46**: 345-412.
- Willis, D.B., Goorha, R., Chinchar, V.G. (1985). Macromolecular synthesis in cells infected by frog virus 3. *Current Topics in Microbiology and Immunology*, **116**: 77-106.
- Willis, D.B., Goorha, R., Granoff, A. (1984). DNA methyltransferase induced by frog virus 3. *Journal of Virology*, **49**: 86-91.
- Willis, D. B. and Granoff, A. (1980). *Virology*, **107**: 250-257.
- Woodland, J.E., Brunner, C.J., Noyes, A.D., Grizzle, J.M. (2002). Experimental oral transmission of largemouth bass virus. *Journal of Fish Diseases*, **25**: 669-672.
- Zhang, Q.Y., Xiao, F., Li, Z.Q., Gui, J.F., Mao, J., Chinchar, V.G. (2001). Characterization of an iridovirus from the cultured pig frog *Rana grylio* with lethal syndrome. *Diseases of Aquatic Organisms*, **48**: 27-36.
- Zupanovic, Z., Musso, C., Lopez, G., Louriero, C.L., Hyatt, A.D., Hengstberger, S., Robinson, A.J. (1998). Isolation and characterization of iridoviruses from the giant toad *Bufo marinus* in Venezuela. *Diseases of Aquatic Organisms*, **33**: 1-9.

## **İNTERNET KAYNAKLARI**

1. [globalamphibians.org](http://globalamphibians.org)
2. <http://www.iucnredlist.org/>
3. <http://amphibiaweb.org/declines/diseases.html>
4. <http://www.spatialepidemiology.net/B.dendrobatidis>
5. <http://lakebeysehir.com/tanitim4.php>
6. [http://www.tarimkutuphanesi.com/Beysehir\\_Golu\\_ve\\_sorunlari\\_M.Yavuz\\_Colak\\_Vet\\_eriner\\_Sag.\\_Tek.\\_00166.html](http://www.tarimkutuphanesi.com/Beysehir_Golu_ve_sorunlari_M.Yavuz_Colak_Vet_eriner_Sag._Tek._00166.html)

## ÖZGEÇMİŞ

**Adı Soyadı** : Pınar AĞYAR  
**Doğum Yeri ve Tarihi** : ANKARA/ 21.10.1987  
**Yabancı Dili** : İngilizce  
**İletişim (Telefon/e-posta)** : 0505 702 01 00 / pnr\_agyr@hotmail.com

### Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)

**Lise** : Sokullu Mehmet Paşa Lisesi (2004)  
**Lisans** : Afyon Kocatepe Üniversitesi Biyoloji Bölümü (2010)  
**Yüksek Lisans** : Afyon Kocatepe Üniversitesi Biyoloji Bölümü Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı

### Yayımları (SCI ve diğer) :

1- Erismis U., Konuk M., Yoldas T., **Agyar P.**, Yumuk D., Korcan E. (2014): **Survey of Turkey's endemic frogs for amphibian chytrid fungus *Barrachochytrium dendrobatidis*. Diseases of Aquatic Organisms**, in press - doi: 10.3354/dao02742.

2-Uğur C. Erismis, Taner Yoldaş, **Pınar Ağyar**, Serdar Mayda, Muhsin Konuk, Tanju Kaya, Anusuya Chinsamy Turan (2012): “**Antik Mitokondrial DNA Analizi**”: 21. Ulusal Biyoloji Kongresi Bildiri Kitabı, SI – 023, Ege Üniversitesi.

3-Uğur C. ERİŞMİŞ, Anusuya CHINSAMY, Semra MALKOÇ, Taner YOLDAŞ, **Pınar AĞYAR** (2014): “**Kemik Paleohistolojisi**”: 22. Ulusal Biyoloji Kongresi, Osmangazi Üniversitesi.

4-Elif KORCAN, Taner YOLDAŞ, **Pınar AĞYAR**, Fatri PAT, Uğur C. ERİŞMİŞ (2014); “**Amfibilerde Azalma Nedeni İki Patojeni (*Batrachochytrium dendrobatidis* ve *Ranavirus*)' nin Durumuyla İlgili Türkiye' de İlk Kayıtlar**”; 22. Ulusal Biyoloji Kongresi, Osmangazi Üniversitesi.

### Projeler :

1. 110Y154 nolu TÜBİTAK (EVRENA), **Orta ve Batı Anadolu Neojen faunası Equidae (Mammalia) formlarının Histomorfolojik, Moleküler ve Diyajenetik Özelliklerinin İlk İncelenmesi** (Bursiyer Araştırmacı)

2. 113Z139 nolu TÜBİTAK (1001), **İki Amfibi Patojeni *Batrachochytrium dendrobatidis* ve Ranavirus (*Iridoviridae*)' nin Quantative Real Time PCR Tekniği ile Türkiyede İlk Tespiti**

(Bursiyer Araştırmacı)

3. **Real-Time PCR Kullanılarak Beyşehir Gölü ve Çevresinde İki Amfibi Patojeninin (*Batrachochytrium dendrobatidis* ve Ranavirus) Yaygınlığının İlk Kez Saptanması** (Tez Çalışmam, Araştırmacı) (BAP, 13.FEN.BİL.02BAP)

4. **Taramalı Elektron Mikroskop ile Fosil Asya Fil (*Elephas maximus*)' nin Altçene ve Patella Kemiklerin Histomorfolojik Yapıların İlk Kez İncelenmesi** (Araştırmacı, BAP, 13.HIZ.DES.05)

5. **Göller Bölgesi Endemik Anadolu Kurbağası (*Pelophylax caralitanus*) Populasyonlarında Chytrid Mantarı *Batrachochytrium dendrobatidis*' in İlk İncelenmesi** (Araştırmacı, BAP, 12.FENED.06)

#### **Katıldığı Seminerler, Toplantılar, Paneller:**

- Afyon Kocatepe Üniversitesi “Kişisel Fark Yaratma Ve Eğitim” Semineri  
15.10.2008
- Niğde Üniversitesi 16.Ulusal Biyoloji Kongresi - Sözlü Sunum- Bir Azo-Metal Boya Olan Lanaset Brown B' Nin *Allium Cepa* L. Kök Meristem Hücreleri Üzerine Sitogenetik Etkileri  
01.07.2009
- Süleyman Demirel Üniversitesi 5. Biyoloji Günü-Poster Sunumu  
18.12.2009
- Afyon Kocatepe Üniversitesi 1. Geleneksel Biyoloji Günleri- Sözlü Sunum  
26-27.04.2012
- Biyolojik Çeşitlilik Sempozyumu-Görevli  
22-23.05.2012
- Ege Üniversitesi 21.Ulusal Biyoloji Kongresi- Sözlü Sunum- Mitokondrial Antik Dna Analizi  
3-7.09.2012
- Göller Bölgesi Etkileşim Planı 2. Bölge Çalıştayı



*12.10.2102*

- Afyonkarahisar Orman Su İşleri Genel Müdürlüğü Sulak Alanlar Komisyon Üyeliği Orman Su İşleri Bakanlığı Dünya Sulak Alanlar Günü - Sözlü Sunum

*02.01.2103*

- Abc-Medikal Bioner Exiprep Ve Excyler Eğitim

*17-18.01.2103*

- Abc- Medikal Ege Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü Li-Cor Dna Sequencing Analyzer Eğitimi

- Tübitak 2237 Proje Eğitimi Etkinliklerini Destekleme Programı ‘‘Biyoloji Ve Ekoloji: Proje Hazırlama Uygulama Eğitim Etkinliği’’ - Sekretarya

*20-22.11.2013*

- Amfibilerde Azalma Nedeni İki Patojeni (Batrachochytrium Dendrobatidis Ve Ranavirus)' Nin Durumuyla İlgili Türkiye' De İlk Kayıtlar
- Muğla Bölgesel Biyoçeşitlilik Belirlenmesi Projesi

**Staj Deneyimi** :

Türk Standartları Enstitüsü Mikrobiyoloji Lab. (18.08.2008 -19.09.2008)

**İş Deneyimi** :

- Dershanede Biyoloji Öğretmenliği
- Milli Eğitim Bakanlığı Hayat Boyu Öğrenme Genel Müdürlüğü Tetrapak İle Ortak Yürütülen ‘‘Sağlık İçin Sağlıklı Süt İçin’’ Projesi Eğitimlik
- ‘‘ Intalligent Mental- Aritmatik’’ Kurs Eğitimliği