

T.C.
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI

**FARKLI BAKTERİYEL HASTALIK ETKENLERİNE MARUZ KALMIŞ
GÖKKUŞAĞI ALABALIKLARINDA OLUŞAN DNA HASARI VE ANTIOKSİDAN
DÜZEYLERİNDEKİ DEĞİŞİMLERİN İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HAZIRLAYAN: Fatih KURT
DANIŞMAN: Doç. Dr. Aslı ÇİLİNGİR YELTEKİN

VAN-2020

T.C.
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI

**FARKLI BAKTERİYEL HASTALIK ETKENLERİNE MARUZ KALMIŞ
GÖKKUŞAĞI ALABALIKLARINDA OLUŞAN DNA HASARI VE
ANTIOKSİDAN DÜZEYLERİNDEKİ DEĞİŞİMLERİN İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HAZIRLAYAN: FATİH KURT

Bu çalışma YYÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı tarafından FYL-2019-8202 No'lu proje olarak desteklenmiştir.

VAN-2020

KABUL VE ONAY SAYFASI

Kimya Anabilim Dalı'nda Doç. Dr. Aslı ÇİLİNGİR YELTEKİN danışmanlığında, Fatih KURT tarafından sunulan "**Farklı Bakteriyel Hastalık Etkenlerine Maruz Kalmış Gökkuşuğu Alabalıklarında Oluşan DNA Hasarı ve Antioksidan Düzeylerindeki Değişimlerin İncelenmesi**" isimli bu çalışma Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili hükümleri gereğince 27/12/2019 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği / oy çokluğu ile başarılı bulunmuş ve yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan: Prof. Dr. Vedat TÜRKÖĞLU

İmza:

Üye: Doç. Dr. Ayşe Dilek ÖZŞAHİN KİREÇÇİ

İmza:

Üye: Doç. Dr. Aslı ÇİLİNGİR YELTEKİN

İmza:

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 24.01.2020 tarih ve 2020/6-I sayılı kararı ile onaylanmıştır.

İmza
Enstitü Müdürü

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

Fatih KURT



ÖZET

FARKLI BAKTERİYEL HASTALIK ETKENLERİNE MARUZ KALMIŞ GÖKKUŞAĞI ALABALIKLARINDA OLUŞAN DNA HASARI VE ANTIOKSİDAN DÜZEYLERİNDEKİ DEĞİŞİMLERİN İNCELENMESİ

KURT, Fatih

Yüksek Lisans Tezi, Kimya Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Aslı ÇİLİNGİR YELTEKİN

Ocak 2020, 77 sayfa

Dünya nüfusunda ki artış ve sağlık konusunda yapılan araştırmalar balık ve diğer su ürünlerinin, insan besin maddeleri arasındaki önemini arttırmıştır. Balık yetiştiriciliğinde artan üretime paralel olarak hastalık problemleri sıklıkla yaşanmaktadır. Yüksek stoklama yoğunluğu, bakteriyel hastalıkların yaygın olarak görülmesine neden olmakta balık ölümlerinden ve büyümenin yavaşlamasından dolayı büyük ekonomik kayıplara neden olabilmektedir. Farklı bakteriyel etmenler balıklarda DNA hasarına ve vücut fonksiyonlarında zarara sebep olması nedeniyle ciddi sorunlar yaşatmaktadır. Bu nedenle bu çalışmada; ilimizde bulunan alabalık çiftliklerinde enfeksiyon oluşturan başlıca bakteriyel ajanların bulunduğu gökkuşağı alabalıkları tespit edilmiş ve PCR ile bu bakteri türleri (*Staphylococcus epidermidis*, *Lactococcus garvieae* ve *Bacillus subtilis*) belirlenmiştir. Bakterili oldukları belirlenen alabalıkların beyin, karaciğer, böbrek ve kas dokularında antioksidan enzim düzeyleri (Süperoksit dismutaz (SOD), Katalaz (CAT), Glutasyon peroksidaz (GSH-Px)), lipid peroksidasyonları (Malondialdehit (MDA)) ve DNA'larında meydana gelen hasarın (8-Hidroksi-2-deoksiguanozin (8-OHdG)) sağlıklı balıklara göre nasıl değişim gösterdiği araştırılmıştır. Her üç bakteri türünde de antioksidan savunma sistemi enzim seviyelerinin genel olarak her dokuda azaldığı, lipid peroksidasyonunun ve 8-OHdG düzeylerinin ise arttığı tespit edilmiştir.

Sonuç olarak; *Staphylococcus epidermidis*, *Lactococcus garvieae* ve *Bacillus subtilis* bakterilerinin, alabalık beyin, karaciğer, böbrek ve kas dokularında antioksidan enzim düzeylerinde, lipid peroksidasyonunun ve 8-OHdG düzeyinde değişimine sebep olduğu belirlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Antioksidanlar, Bakteriyel hastalıklar, DNA hasarı, Gökkuşağı alabalığı, MDA



ABSTRACT

INVESTIGATION OF CHANGES IN DNA DAMAGE AND ANTIOXIDANT LEVELS IN RAINBOW TROUT EXPOSED TO DIFFERENT BACTERIAL DISEASES

KURT, Fatih

M. Sc. Thesis, Chemistry

Supervisor : Assoc. Prof. Dr. Aslı ÇİLİNGİR YELTEKİN

January 2020, 77 pages

The increase in the world population and health research have increased the importance of fish and other aquaculture among human nutrients. Disease problems are frequently experienced in parallel with increasing production in fish farming. High stockpiling density causes widespread bacterial diseases and can cause big economic losses due to fish deaths and slow growth. Different bacterial factors cause serious damage due to DNA damage in fish and damage to body functions. Therefore, in this study; rainbow trout, which contains the main bacterial agents causing infection in trout farms in our province, was determined by PCR and these bacterial species (*Staphylococcus epidermidis*, *Lactococcus garvieae* and *Bacillus subtilis*) were determined. Antioxidant enzyme levels (Superoxide dismutase (SOD), Catalase (CAT), Glutathione peroxidase (GSH-Px)), lipid peroxidations (Malondialdehyde (MDA)) and DNA in damage (8-Hydroxy-2-deoxyguanosine (8-OHdG)) compared to healthy fish was investigated. Antioxidant defense system enzyme levels were decreased in all tissues and lipid peroxidation and 8-OHdG levels were increased in all three bacterial species.

As a result; *Staphylococcus epidermidis*, *Lactococcus garvieae* and *Bacillus subtilis* bacteria were found to cause antioxidant enzyme levels, lipid peroxidation and 8-OHdG levels in trout brain, liver, kidney and muscle tissues.

Keywords: Antioxidants, Bacterial diseases, DNA damage, MDA, Rainbow trout



ÖN SÖZ

Yüksek lisans tezimi yöneten, tez konumun belirlenmesinden başlayarak çalışmamın her aşamasında yakın ilgi ve yardımlarını gördüğüm, saygıdeğer danışman hocam Sayın Doç. Dr. Aslı Çilingir Yeltekin'e, sonsuz şükranlarımı sunarım. Balıkların temin edilmesi ve bakteriyel analizlerin yapılmasını sağlayan Sayın Dr. Öğret. Üyesi Şükrü Önalın'a laboratuvar çalışmalarımın yapılması sürecinde destek olan Sayın Dr. Öğret. Üyesi Çiğdem Öter'e, ve mali destek sağlayan Yüzüncü Yıl Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığına, teşekkürlerimi sunmayı bir borç bilirim.

Çalışmalarım esnasında beni her zaman destekleyen değerli eşime ve aileme çok teşekkür ederim.

2020
Fatih KURT



İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	i
ABSTRACT	iii
ÖN SÖZ.....	v
İÇİNDEKİLER.....	vii
ÇİZELGELER LİSTESİ	ix
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR	xiii
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Su Kalitesi	3
1.2. Bakteriler	4
1.2.1. Bakterilerin Büyümesine Etki Eden Faktörler.....	6
1.3. Bakteriyel Hastalıklar	9
1.4. Staphylococcus Epidermidis.....	14
1.5. Bacillus Suptilis.....	15
1.5.1. Bacillusların Önemi ve Kullanımı.....	17
1.6. Lactococcus Garvieae.....	18
1.7. Lipid Peroksidasyonu (MDA)	20
1.8. Antioksidanlar	22
1.8.1. Antioksidanların Sınıflandırılması	22
1.8.2. Antioksidan Savunma Mekanizması	23
1.8.3. Antioksidan Vitaminler	25
1.8.4. Antioksidan Vitaminlerin Etki Mekanizması	25
1.8.5. Süperoksit Dismutaz (SOD)	27
1.8.6. Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px)	27
1.8.7. Katalaz (CAT)	28
2. KAYNAK BİLDİRİŞLERİ	29
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	35
3.1. Materyal.....	35

	Sayfa
3.2. Kullanılan Alet ve Cihazlar	35
3.3. Kimyasal Maddeler ve Malzemeler.....	36
3.4. Yöntem	36
3.4.1. Bakteriyel hastalıkların identifikasyonu.....	36
3.4.1.1. Örnekleme.....	36
3.4.2. Bakteri izolasyonu	38
3.4.3. Bakterilerin identifikasyonu	38
3.4.4. Numunelerin analize hazırlanması	39
3.4.5. Süperoksit dismutaz (SOD) enzim aktivitesi tayini	40
3.4.6. Katalaz (CAT) enzim aktivitesinin tayini.....	41
3.4.7. Glutasyon peroksidaz (GSH-Px) enzim aktivitesi tayini	42
3.4.8. Lipit peroksidasyonun (MDA) ölçülmesi.....	43
3.4.9. 8-Hidroksi-2-deoksiguanozin (8-OHdG) düzeyinin belirlenmesi.....	44
3.5. Verilerin istatistiksel analizi	45
4. BULGULAR	47
4.1. Real-Time PCR analizi sonuçları	47
4.2. Bakteriyel identifikasyon sonuçları	48
4.3. Antioksidan Aktivitelerinin Sonuçları.....	49
4.3.1. SOD enzim aktivitesi sonuçları	50
4.3.2. CAT enzim aktivitesi sonuçları	52
4.3.3. GSH-Px enzim aktivitesi sonuçları	55
4.3.4. MDA sonuçları	57
4.3.5. 8-OHdG sonuçları	60
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	63
KAYNAKLAR.....	67
ÖZ GEÇMİŞ.....	77

ÇİZELGELER LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 1.1. Alabalık yetiştiriciliğinde çeşitli su parametreleri sınır değerleri	4
Çizelge 3.1. Real-Time PCR aşamasında kullanılan protokol	39



ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 1.1. Gökkuşığı alabalığı salmonidae familyasından <i>Oncorhynchus mykiss</i>	2
Şekil 1.2. Hücrenin antioksidan savunma mekanizması	24
Şekil 3.1. Örnekleme esnasında toplanan balıklardan bazıları (Orijinal).....	37
Şekil 3.2. Gökkuşığı alabalığı işletmelerinden izole edilen bakteriyel hastalık	38
etkenleri (A: <i>L. garvieae</i> , B: <i>B. subtilis</i> , C: <i>S. epidermidis</i>).	
Şekil 4.1. Çalışmada izole edilen bakteriyel DNA'lar ile gerçekleştirilen Real-	47
Time PCR görüntüsü (Sigmoidal eğriler pozitif, Eşik değerinin altından kalan negatif kontrol örneği).	
Şekil 4.2. <i>Bacillus subtilis</i> 'e ait sekans sonuçları	48
Şekil 4.3. <i>Lactococcus garvieae</i> 'ye ait sekans sonuçları.....	48
Şekil 4.4. <i>Staphylococcus epidermidis</i> 'e ait sekans sonuçları.....	49
Şekil 4.5. Farklı bakterili Gökkuşığı alabalıklarının beyin dokusu SOD	50
aktivite düzeylerinin değişimi.	
Şekil 4.6. Farklı bakterili Gökkuşığı alabalıklarının karaciğer dokusu SOD	50
aktivite düzeylerinin değişimi.	
Şekil 4.7. Farklı bakterili Gökkuşığı alabalıklarının böbrek dokusu SOD.....	51
aktivite düzeylerinin değişimi.	
Şekil 4.8. Farklı bakterili Gökkuşığı alabalıklarının kas dokusu SOD.....	52
aktivite düzeylerinin değişimi.	
Şekil 4.9. Farklı bakterili Gökkuşığı alabalıklarının beyin dokusu CAT	52
aktivite düzeylerinin değişimi.	
Şekil 4.10. Farklı bakterili Gökkuşığı alabalıklarının karaciğer dokusu CAT	53
aktivite düzeylerinin değişimi.	

Şekil	Sayfa
Şekil 4.11. Farklı bakterili Gökkuşığı alabalıklarının böbrek dokusu CAT.....	54
aktivite düzeylerinin değişimi.	
Şekil 4.12. Farklı bakterili Gökkuşığı alabalıklarının kas dokusu CAT.....	54
aktivite düzeylerinin değişimi.	
Şekil 4.13. Farklı bakterili Gökkuşığı alabalıklarının beyin dokusu GSH-Px.....	55
aktivite düzeylerinin değişimi.	
Şekil 4.14. Farklı bakterili Gökkuşığı alabalıklarının karaciğer dokusu GSH-Px.....	56
aktivite düzeylerinin değişimi.	
Şekil 4.15. Farklı bakterili Gökkuşığı alabalıklarının böbrek dokusu GSH-Px	56
aktivite düzeylerinin değişimi.	
Şekil 4.16. Farklı bakterili Gökkuşığı alabalıklarının kas dokusu GSH-Px.....	57
aktivite düzeylerinin değişimi.	
Şekil 4.17. Farklı bakterili Gökkuşığı alabalıklarının beyin dokusu MDA.....	58
aktivite düzeylerinin değişimi.	
Şekil 4.18. Farklı bakterili Gökkuşığı alabalıklarının karaciğer dokusu MDA.....	58
aktivite düzeylerinin değişimi.	
Şekil 4.19. Farklı bakterili Gökkuşığı alabalıklarının böbrek dokusu MDA.....	59
aktivite düzeylerinin değişimi.	
Şekil 4.20. Farklı bakterili Gökkuşığı alabalıklarının kas dokusu MDA	60
aktivite düzeylerinin değişimi.	
Şekil 4.21. Farklı bakterili Gökkuşığı alabalıklarının beyin dokusu 8-OHdG	60
aktivite düzeylerinin değişimi.	
Şekil 4.22. Farklı bakterili Gökkuşığı alabalıklarının karaciğer dokusu 8-OHdG	61
aktivite düzeylerinin değişimi.	
Şekil 4.23. Farklı bakterili Gökkuşığı alabalıklarının böbrek dokusu 8-OHdG	62
aktivite düzeylerinin değişimi.	
Şekil 4.24. Farklı bakterili Gökkuşığı alabalıklarının kas dokusu 8-OHdG.....	62
aktivite düzeylerinin değişimi.	

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış bazı simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler

Açıklama

atm	Atmosfer basıncı
°C	Santigrat derece
g	Gram
kg	Kilogram
L	Litre
mg	Miligram
µg	Mikrogram

Kısaltmalar

Açıklama

PUFA	Poly unsaturated fatty acids Çoklu doymamış yağ asitleri.
RDA	Önerilen Diyet Ödenekleri (Recommended Dietary Allowances)
WHO	Dünya Sağlık Örgütü (World Health Organization)
TOB	Tarım Ve Orman Bakanlığı
IPN	Infectious pancreatic necrosis virus
VHS	Viral haemorrhagic septicemia virüs
KNS	Koagülaz negatif stafilokok
PHB	Polihidroksibütirat
TSA	Trypticase-soy
BHIA	Brain-heart infusion
ROO	Lipit peroksil radikali
ASS	Antioksidan savunma sistemi



1. GİRİŞ

Alabalıklar *Salmonidae* familyasına ait balıklardır. Soğuk, berrak ve bol oksijenli akarsu, kaynak suları ve göllerde yaşamaktadırlar. Genellikle ince uzun, iğne şeklinde olurlar. En karakteristik özellikleri sırt yüzgeci ve kuyruk yüzgeci arasında yağ yüzgeci (adipoz) taşımalarıdır (Çelikkale, 2002) (Şekil 1.1.). Karnivor balıklardır ve türlere göre değişen sayıda dişleri vardır (Tekelioğlu, 2005). Alabalıklar tamamen iç sularda yaşayanlar ve hayatlarının bir kısmını tatlı sularda, diğer kısmını denizlerde geçirenler (*anadrom*) olmak üzere iki grup altında toplanırlar (Çelikkale, 2002). Alabalık türleri coğrafik olarak Avrupa kökenli ve Kuzey Amerika kökenli olarak iki gruba ayrılırlar. Gökkuşaağı alabalığının kuyruk yüzgeci çatalıdır. Ağız yarığı gözün arka kısmına kadar uzanır. Renkleri değişken olup yan hat boyunca gökkuşaağı renginde bir bant bulunur. Üreme dönemlerinde bu bant iyice belirginleşir. Cinsi olgunluk 2 - 3 yaşında gerçekleşir ve üreme Mayıs - Aralık ayları arasında olur. Üreme dönemindeki alabalıklarda cinsiyet farkı kolaylıkla ayırt edilebilmektedir. Erkek bireylerde renkler daha parlak olurken daha yaşlı bireylerde üreme döneminde alt çenede bir çengel oluşumu meydana gelmektedir. Dişi bireylerde ise karın kısmı oldukça şişkindir ayrıca genişlemiş olan anüs kırmızı bir renk almaktadır. Anaçlarda yumurtlama zamanı renk çok koyu ve yanal çizgi ise çok kırmızı renk almaktadır. Karnivor olan bu balık özellikle hayvansal gıdalarla beslenir. Alabalık frayları göl ve nehirlerde zooplanktonla beslenirken daha sonra dönemlerinde böcek, krustase ve diğer balıklarla beslenir (Alpbaz, 2005). 100 yılı aşkın bir süredir yetiştiriciliği yapılmaktadır(Çelikkale 2002).

Gökkuşaağı alabalığının Türkiye’de yetiştiriciliği ise 1970’li yıllarda kamu ve özel girişimciler tarafından başlatılmıştır. Dünya genelindeki kültür balıkçılığının gelişimine koşut olarak ülkemizde de özellikle üstün yetiştirme avantajları nedeniyle Gökkuşaağı alabalığı üretimi büyük aşamalar katetmektedir. Önceleri küçük işletmeler tarafından gerçekleştirilen Gökkuşaağı alabalığı üretimi, 1990’lı yıllardan itibaren entegre üretim tesislerine dönüşmüştür. Hatta günümüzde ülkemiz Gökkuşaağı alabalığı üreticileri Avrupa’ya füme halinde işlenmiş ürün ihraç eder duruma erişmişlerdir. (Aydın, 2009)

Çevre koşullarına çok iyi uyum sağlaması, aktif yem alması sayesinde iyi gelişme göstermesi, sağım, döl alımı, yavruların yapay yemlerle beslenme işlemlerinin daha kolay olması ve bu sayede ekonomik olması bu balığın kültürünün tercih edilmesinin başlıca nedenleri olduğu söylenebilir (Çelikkale, 2002).



Şekil 1.1. Gökkuşaağı alabalığı *Salmonidae* familyasından *Oncorhynchus mykiss*.

Tüm dünyada olduğu gibi ülkemiz su ürünleri yetiştiriciliği sektörü hızlı bir gelişim sürecine girmiş ve 2017 verilerine göre 276 bin 502 ton üretim hacmine ulaşmıştır. Bu üretim hacmi içerisinde yetiştiriciliği en fazla yapılan tür ise 109 bin 657 ton üretim ile gökkuşaağı alabalığı olmuştur (TOB, 2019).

Gökkuşaağı alabalıkları iç sularda yetiştirilmesinin yanı sıra kasım ayının ilk yarısından, haziran ayının başına kadar denizlerde mevcut kafeslerde de yetiştirilmektedir (Kurtoğlu ve Çakmak, 2007).

Alabalıklar 0-25°C’de yaşayabilen, minimum 5,5 mg/l doymuş oksijen gereksinimi olan optimum gelişme sıcaklığı olarak 15-16°C’deki su ortamlarını tercih eden türlerdir (Roberts ve Shepherd,1997; Kayış, 2009).

Dünya genelinde en çok tanınan alabalık türleri aşağıda gösterilmiştir (Bruno ve Poppe 1996).

- *Salmo salar* Linnaeus (Atlantik Salmonu)
- *Salmo trutta f.trutta* Linnaeus (Deniz alabalığı)

- *Salmo trutta f.fario Linnaeus* (Dere alabalığı)
- *Oncorhynchus mykiss Walbaum* (Gökkuşığı alabalığı)
- *Salvelinus fontinalis Mitchell* (Kaynak alabalığı)
- *Salvelinus alpinus Linnaeus* (Alp alabalığı)
- *Salvelinus namaycush Walbaum* (Göl alabalığı)

Ülkemizin yerel alabalık alt türleri ise şöyle sıralanabilir (Çelikkale 2002).

- *Salmo trutta macrostigma Dumeril* (Anadolu Dağ alabalığı)
- *Salmo trutta abanticus Tortonese* (Abant alabalığı)
- *Salmo trutta caspius Kessler* (Aras alabalığı)
- *Salmo trutta labrax Pallas* (Karadeniz alabalığı)
- *Salmo trutta f.lacustris Linnaeus* (Göl alabalığı)
- *Oncorhynchus mykiss Walbaum* (Gökkuşığı alabalığı)

Yukarıda belirtilen alabalık türleri içerisinde yetiştiriciliği en yaygın olanı Kuzey Amerika kökenli Gökkuşığı alabalığı olmuştur. Gökkuşığı alabalığı ile Kaynak alabalığı hemen hemen aynı yıllarda yaklaşık 120 yıl önce Kuzey Amerika'dan Avrupa'ya getirilmelerine karşın kültür koşullarına uygun niteliklerinden dolayı Gökkuşığı alabalığı yetiştiriciliği hızlı bir artış göstermiş ve günümüzde bir endüstri haline gelmiştir. Gökkuşığı alabalığının yetiştiriciliğe uygun özellikleri aşağıdaki başlıklar halinde belirtilebilmektedir (Steffens, 1981):

- Gökkuşığı alabalığının çevre koşullarına çok iyi uyum göstermesi yanında özellikle yüksek sıcaklıklara oransal olarak dayanıklı olması,
- Aktif yem alması nedeniyle yemlenmesinin kolay olması ve yemi değerlendirmesinin daha iyi olması yönünden iyi bir büyüme göstermesi,
- Daha yüksek ilkbahar sıcaklığında dere alabalığı ve kaynak alabalığı gibi diğer alabalık türlerine göre daha kısa süreli kuluçka dönemine sahip olması.

1.1. Su Kalitesi

Alabalık yetiştiriciliğinde ideali, yetiştirme ortamındaki balıklara düzenli bir şekilde daima aynı kalitede su temin etmektir. Aynı zamanda su miktarı ile kalite

arasındaki sıkı ilişki de göz ardı edilmemelidir. Bu bakımdan su miktarındaki ani değişimlerin suyun mevcut kalite değerlerini olumsuz veya olumlu yönde etkileyebileceği unutulmamalıdır. Alabalık yetiştiriciliğinde su kalitesine ilişkin suda incelenmesi gereken çeşitli parametrelerin sınır değerleri Çizelge 1.1’de gösterilmiştir (Horst-Emme, 1990).

Çizelge 1.1. Alabalık yetiştiriciliğinde çeşitli su parametreleri sınır değerleri

Parametre	Sınır Değeri
Sıcaklık	20 °C’a kadar
Oksijen	7 mg/lit’nin üzerinde
PH	5,5-8,5
Asit Bağlama Kapasitesi (SBV)	1,5 Vol/m ³ ’ün üstünde
Ammonium	1,0 mg/lit’e kadar
Demir, toplam	0,5 mg/lit’e kadar
Nitrit	0,2 mg/lit’e kadar
Nitrat	10 mg/lit’e kadar
Potasyumpermanganat tüketimi (KmnO ₄)	40 mg/lit’e kadar
Kimyasal oksijen gereksinimi	40 mg/lit’e kadar
Biyokimyasal oksijen gereksinimi	15 mg/lit’e kadar
Oksijen tüketimi	6 mg/lit’e kadar
Serbest CO ₂ (Larvalar için)	15 ppm/lit’nin altında
Serbest CO ₂ (Sofralık balıklar için)	30 ppm/lit’nin altında

1.2. Bakteriler

Bakteriler, ilk defa Antony Van Leeuwenhoek tarafından basit ışık mikroskobunda su damlacığı içinde gözlenmiştir. Bakterilerin temel yapısı dışta hücre duvarı ve hücre zarı, içinde de sitoplazmadan oluşur. Hücre duvarının ana bileşeni peptidoglikan adı verilen özel bir polisakarittir. Bakterilerde sitoplazmanın içeriği, ökaryot canlılarla benzerlik gösterir. Sitoplazma içinde DNA, RNA, ribozomlar, yağ

tanecikleri, glikojen, proteinler ve %90 oranında su bulunur. Bütün bakterilerde bu temel yapılar vardır. Ancak bakterilerin çeşitlerine göre sahip olduğu yapılar değişebilir (Arda, 2000). Oksijenli solunum yapan bakterilerde solunum enzimleri mezozom denilen yapılarda ve sitoplazmada bulunur. Mezozomlar hücre zarının sitoplazma içine katlanmasıyla oluşmuştur ve ökaryot canlılarda bulunan mitokondrinin görevini yapar. Fotosentez yapanlarda klorofil molekülü, aktif hareket edenlerde kamçı gibi yapılar bulunur. Aktif hareketin dışında bakteriler toz parçacıkları ve su damlacıkları ile pasif olarak uzak mesafelere taşınabilir. Bazı bakterilerde de hücre duvarının dışında polisakkaritlerden oluşmuş koruyucu bir kapsül bulunur. Bakterilerin yüzeylere ve birbirlerine tutunmak için pilus denen kısa uzantıları vardır. Piluslar aynı zamanda iki bakteri arasında DNA aktarımında rol alır. Bakteri DNA'sı zar ile çevrili değildir. Katılım maddesi sitoplazmada, çekirdek alanı denilen bölgede bulunur, halkasal bir DNA molekülünden oluşur.

Bazı bakterilerde bu DNA'nın dışında plazmit adı verilen yapılar da bulunmaktadır. Plazmitler küçük halkasal yapıya sahip, kendini eşleyebilen DNA parçacıklarıdır. Plazmitler bakterilerinin yaşaması ve çoğalmasında etkili değildir. Ancak bakterilerde bazı özelliklerle ilgili genetik bilginin bir bakteriden diğerine taşınmasında, zor koşullara karşı direnç oluşumunda avantaj sağlar. Bakteriler uygun olmayan ortam şartlarında hayatta kalabilmek için endospor oluşturur. Endosporlar olumsuz koşullara dayanıklı, metabolizması yavaşlamış yapılardır. Hücre, kromozomunu kopyalarken bir kopyasını da dayanıklı bir duvar ile çevirir ve olumsuz koşullarda hücre parçalansa bile çok dayanıklı olan endospor hayatta kalır. Yüksek ve düşük sıcaklık durumlarında meydana gelir. Bakteriler çok düşük sıcaklıklarda endospor halde uzun yıllarca var olabilirken (buzullarda binlerce yıllık bakterilere rastlanmıştır) yüksek sıcaklıklarda durum böyle değildir; belli sıcaklık değerlerinden sonra endospor korumaya devam edememektedir (Güven ve Zorba, 2013).

1.2.1. Bakterilerin büyümesine etki eden faktörler

Mikroorganizmalar gelişmek ve çoğalabilmek için suya, enerji kaynağına, azot kaynağına, vitaminlere ve minerallere gereksinim duyarlar (Arda, 2000). Bakterilerin üremesinde fiziksel, kimyasal, biyolojik ve mekanik faktörler etkilidir.

Fiziksel faktörler

Sıcaklık: Mikroorganizmalar, gelişmiş canlıların yaşadıkları sıcaklıklarda iyi gelişirler. Ancak bazı bakteriler, gelişmiş organizmaların aksine çok düşük ve çok yüksek sıcaklıklarda bile gelişme yeteneğindedir. Mikroorganizmalar sıcaklık tercih sınırları dikkate alındığında; psikrofiller (20°C'nin altında), mezofiller (20-45°C arasında) ve termofiller (45°C'nin üstünde) olmak üzere üç gruba ayrılırlar; kendilerine has en düşük, en uygun, en yüksek gelişme sıcaklık dereceleri vardır. En düşük (minimum) gelişme sıcaklığı, cins veya türlerin gelişebildikleri en düşük sıcaklık derecesidir. En uygun (optimum) gelişme sıcaklığı, cins veya türlerin gelişebildikleri en uygun sıcaklık derecesidir. En yüksek (maksimum) gelişme sıcaklığı ise cins veya türlerin gelişebildikleri en yüksek sıcaklık derecesidir. Bazı bakteri türleri çok geniş sıcaklık sınırları içinde gelişme gösterirler. Örneğin; toprak ve bitki materyallerinden üretilen bakterilerin büyük bölümü 30-40°C'lik sıcaklık farkında bile gelişme yeteneğindedir. Toprak ve bitki materyallerinde sıcaklık, mevsimlere göre hatta günün değişik saatlerinde farklılık gösterebildiğinden, mevcut bakteriler de bu duruma uymaktadır. Eğer mikroorganizmalar çok kısa süre içinde dondurulur, kurutulur ve havası alınmış ampuller içinde saklanırsa (liyofilizasyon) uzun yıllar canlılıklarını ve aktivitesini koruyabilirler (Güven ve Zorba, 2013).

Radyasyon: Radyasyonların başlıca iki amacı vardır: Sterilizasyon/dezenfeksiyon ve mutasyon. Ultraviyole ışınları bakteride protein sentezini ve diğer mekanizmaları bozarak ölümlere neden olur. Güneş ışınları (UV-ışınları), mikroorganizmada hem mutasyonlara neden olur hem de ışınların sıcaklığından mikroorganizma etkilenir. Ses dalgaları bakteri hücrelerini parçalayabilecek niteliktedirler (Willey ve ark., 2009).

Yüzey gerilimi: Bakteriye temas eden sıvı yüzeyindeki moleküllerin oluşturduğu gerilim çok fazla olursa meydana gelen membran etkisi nedeniyle sıvı ortamdan

bakteriye gıda maddelerinin girişi çok güç olur ve bakteri beslenemez. Aksine, gerilim zayıf olursa sıvı 10 içindeki maddelerin bakteri yüzeyinde toplanmasına sebep olur. Buna bağlı olarak bakteri içinden dışarı ve dışardan içeri gıdaların akışı güçleşir ve bakteri yine beslenemez. Bu nedenlerle bakteri yüzeyi ile buna temas eden sıvı ortamın yüzeysel moleküler geriliminin dengede bulunması zorunludur (Arda, 2000).

Osmotik basınç: Mikroorganizmalar hücre membranları yardımıyla, besiyerinin osmotik basıncı ile hücre içindeki osmotik basınç arasında denge kurmuşlardır. Ortamın osmotik basıncı azalmış ise bakteri içine giren fazla sıvı bakteriyi şişirip patlatır, tersi ortamlarda ise bakterinin içinden çıkan fazla sıvı sitoplasmik membranın hücre duvarından ayrılarak büzülmesine neden olur (Arda, 2000). Hidrostatik basınç: Her canlının dayandığı belli bir hidrostatik basınç düzeyi mevcuttur. Bu düzeyin altında veya üstündeki hidrostatik basınç değerlerinde canlı yaşayamaz.

Su: Su olmayan ya da yetersiz olan ortamlarda gıda alışverişi, bakteri içinde sentezlenen enzimlerin ve oluşan metabolitlerin dışarı çıkması güçleşir hatta durabilir. Sıvı besi yerlerinden suyun buharlaşması, bu besiyerinde bulunan kimyasal maddelerin konsantrasyonunu arttırır. Bu durum üremeyi olumsuz etkiler (Arda, 2000).

Elektrik: Sıvı ortamlarda suspansiyon halinde bulunan mikroorganizmalardan doğru veya alternatif elektrik akımı geçirilirse, mikroorganizmalar zarar görebilirler.

Kimyasal faktörler

Kimyasal faktörler arasında oksijen, karbondioksit, pH, redoks potansiyeli, kullanılan antibiyotik, kemoterapötik maddeler ile çeşitli dezenfektanlar da bulunmaktadır (Arda, 2000).

Oksijen: Aeroblar üremeleri, yaşamaları için havadaki oksijene ihtiyaç duyarlar. Aerobik mikroorganizmalar arasında *B. anthracis*, *B. subtilis* vb. sayılabilir. Fakültatif mikroorganizmalar hem aerobik ve hem de anaerobik koşullarda üreyebilme mekanizmasına (*enzimatik sisteme*) sahiptirler. Anaerobik mikroorganizmalar oksijenin bulunmadığı ortamlarda gelişebilirler. Oksijen bunlar için zehirleyici tesir yapar.

pH: Her mikroorganizmanın sevdiği ve yaşadığı belli bir pH aralığı vardır. Minimum ve maksimum pH limitlerine yanaştıkça üreme azalır ve durur. Mikroorganizmaların çoğunluğu pH 5-9 aralığında (optimum yaklaşık) uygun şekilde

büyürler. Düşük pH'da yaşayanlar asidofilikler olarak adlandırılır. Nötrofilik organizmalar ise pH 6-8 aralığında yaşarlar. pH 10-11 arasında gelişenler ise alkalofiliklerdir.

Biyolojik faktörler

Canlıların vücudunda özellikle, sindirim, solunum, ürogenital sistemleri ve derilerinde sayısız mikroorganizma bulunmaktadır. Sentezledikleri antagonist etkiye sahip metabolitler birbirlerini etkileyerek birbirlerinin üremelerine ve hatta ölmelerine de yol açarlar (Arda, 2000).

Mekanik faktörler

Çalkalama: Karıştırma veya çalkalama havalandırma ile birlikte akla gelir. Çünkü havaya açık sıvılar karıştırılırken sıvıdaki çözülmüş oksijen konsantrasyonu artar. Bu nedenle, çalkalamanın üreme üzerine olumlu bir etkisi olduğu bilinmektedir. Fakat çalkalama çok hızlı veya sert bir şekilde olursa mikroorganizmalarda ölümler de meydana gelebilir. Bu yüzden üreme üzerine olumlu etki etmesi için çalkalamanın belli bir hızda olması gerekir (Güven ve Zorba, 2013).

Filtrasyon: Filtrasyon, bir sıvı veya gazın mikroorganizmaların geçemeyeceği kadar küçük delikli filtrelerden geçirilmesidir. Filtrasyon bazen mikroorganizma sayısını azaltmak üzere, daha çok ise ısıya hassas materyallerin, örneğin; kültür besiyerleri, enzimler, antibiyotik çözeltiler vb. sterilizasyonunda kullanılmaktadır (Güven ve Zorba, 2013).

Santrifugasyon: Santrifüj yardımıyla bütün mikroorganizmalar giderilemezler veya sıvı steril hale getirilemez.

Ezme: Santrifüj yardımıyla çöktürülen mikroplar bir havana veya ezme aletine konur burada ezilerek parçalanabilir. Bu yöntemle de bütün mikroplar ölmezler. Basınç uygulama: Devamlı ve yüksek basınç altında bazı mikroplar ölebilirler. Ancak hepsi ölmez. Mikropların sertçe ve devamlı çalkalanması bazılarının ölümüne neden olabilir. Fakat büyük bir kısmı canlı kalabilir (Arda, 2000).

Vibrasyon: Ultrasonik vibrasyonlara maruz bırakılırsa ölebilirler ama tam anlamıyla sterilizasyon sağlamaz.

1.3. Bakteriyel Hastalıklar

Kültür balıkçılığı nedeniyle çok sayıda balığın bir arada ve yakın temas halinde bulunması, doğada (dere, göl, gölet, deniz, vs) serbest yaşayanlara oranla, daha fazla hastalığın ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Balıkların içinde yaşadıkları ortamın (tuzlu, acı, tatlı su) sınırlı olan besleyici, fiziksel, kimyasal, biyotik ve abiyotik optimal yaşam koşullarının olumsuz yönde değişmesi bunların kısa süre içinde düzelmemesi ve devam etmesi, özellikle, bir çok enfeksiyöz hastalığın çıkmasına neden olmaktadır (Arda ve ark., 2005). Tüm çevrede olduğu gibi sularda da meydana gelen kirlilik beraberinde balık yetiştiriciliği ile ilgili birçok sorunu gündeme getirmiştir. Özellikle ülkemizde doğal ve yapay göllerin çeşitli atıklarla kirlenmesi, suları ve bu ortamlarda yaşayan canlıları besin olarak tüketen insanların sağlığını olumsuz yönde etkileyecek birçok bakterinin yaşamasını, çoğalmasını ve burada yaşayan canlılarda barınmasını sağlamaktadır. Kültür balıkçılığının artmasıyla birlikte bakteriyel balık hastalıkları da büyük sorunlar oluşturmaya başlamıştır. Önceleri, balıklar için 15 – 20 bakteri türünün patojenik etki gösterdiğinin (Munro, 1982) sanılmasına rağmen daha sonraları doğal olarak infekte balıklardan 70'e yakın bakteri türü izole edilmiştir (Austin ve Austin, 1999; Woo ve Bruno, 1999).

Tüm dünyada olduğu gibi Türkiye'de de alabalık üretimi yapılan işletmelerde oldukça sık rastlanan başlıca patojen bakteriyel etkenler (*Aeromonas spp.*, *Pseudomonas spp.*, *Shewanella spp.*, *Vibrio spp.*, *Yersinia spp.*, *Renibacterium spp.*, *Streptococcus spp.*, gibi) rapor edilmekle birlikte son yıllarda Gram pozitif kokların sporadik ve endemik olarak yayıldığı ve bunlardan altı farklı türün (*Streptococcus parauberis*, *Streptococcus diffcile*, *Streptococcus iniae*, *Vagococcus salmoninarum*, *Lactococcus piscium* ve *Lactococcus garvieae*) balık hastalıkları ile ilişkisi olduğu belirtilmiştir (Belton 2002; Öztürk ve Altınok, 2014).

Roberts ve Shepherd (1997) balıklarda su kalitesi ve besinsel etkenler dışında kalan hastalık etmenlerini yapıcı etkenlerden kaynaklanan hastalıklar "enfeksiyon hastalıklar" olarak isimlendirmiş ve bu etkenleri bakteriyel, viral, fungal ve paraziter olmak üzere dört grupta tanımlamışlardır. Bakteriyel hastalıkların, yoğun balık

yetiştiriciliği yapılan çiftliklerde büyük ekonomik kayıplara neden olduğu bildirilmektedir.

Balıkların su ortamında parazitler için önemli bir konak olduğu, bazı parazitlerin yaşam ortamı olarak hayatlarının tümünde, bazılarının da ara konak olarak balıkları kullandığı bildirilmiştir. Bu parazit-konak ilişkisinde parazitlerin balıklarda önemli ekonomik kayıplara sebep olabilecek hastalıkları meydana getirdiği de bilinmektedir. Su ürünleri yetiştiriciliği yapılan işletmelerde özellikle yumurtadan ilk çıkış dönemlerinde yoğun olarak ölümlere sebep olan parazitler genellikle tek hücreli (*protozoan*) parazitlerdir (Pillay, 1995).

Ülkemizde balık hastalıkları konusunda farklı bölgeleri kapsayan değişik çalışmalar mevcuttur. İç sular ve denizel ortamlarda değişik balık türlerinin gerek yetiştiricilik ünitelerinde ve gerekse doğal ortamlarında patojenler açısından çalışılması söz konusu olmuştur. Öztürk ve Altınok (2014), yayınlamış oldukları bir çalışmada günümüze değin Türkiye’de gerçekleştirilen bakteriyel ve viral balık hastalıklarını kapsayan detaylı bir çalışma ortaya koymuşlardır. Bu çalışmada Ülkemiz için toplam 48 farklı balık patojeni bakteri ve 5 farklı balık patojeni virüsün 112 farklı çalışmada varlığından söz etmişlerdir. Bu çalışmalara göre ülkemiz için yaygın bakteriyel ve viral balık patojenleri içerisinde, Yersiniosis, Hareketli *Aeromonas* enfeksiyonları, Şavobakteriosis ve Vibriosis, Infectious pancreatic necrosis virus (IPN) ve Viral haemorrhagic septicemia virus (VHS) öne çıkmaktadır. Paraziter patojenler açısından irdelendiğinde Ülkemizde sadece 2003 ile 2009 yılları arasında rapor edilen balık patojenlerinin sayısal karşılığı 79 farklı tür olarak karşımıza çıkmaktadır (Kayış ve ark., 2009).

Genellikle ciddi bakteriyel balık zoonozlarına daha çok Gram negatif bakteriler sebep olmaktadır. Gram pozitif bakterilerden ise sadece bir kısmı insanlarda hastalık oluşturuca etkiye sahiptir (Nemetz, 1993). İnsana bulaşan balık bakteriyel zoonozları, kontamine balık dokularının ve suyun derideki yırtık ve yaralara temas etmesi ile veya daha çok kontamine balık ürünlerinin gıda olarak tüketilmesi sonucu oluşmaktadır (Auistin, 1999). İnsanda bakteriyel balık zoonozları, çoğunlukla belirtisiz gastroenterit, deri veya dokuların altında lokalize enfeksiyonlarla sonuçlanır. Bununla beraber bazen

yüksek mortalitelere sebep olabilmektedirler (Nemetz, 1993). Balık bakteriyel zoonoz etkenleri Auistin ve Auistin (Auistin, 1999) tarafından şu şekilde bildirilmektedir;

- * *Aeromonas hydrophila* (Diyare ve sepsisemiye sebep olur)
- * *Campylobacter jejuni* (gastroenterit)
- * *Clostridium botulinum* tip E (botulismus)
- * *Edwardsiella tarda* (diyare)
- * *Erysipelothrix rhusiopathiae* (balık gülü)
- * *Leptospira interrogans* (leptospiroz)
- * *Mycobacterium fortuitum*
- * *Pseudomonas aeruginosa* (yara infeksiyonları)
- * *Plesiomonas shigelloides* (gastroenterit)
- * *Pseudomonas suorescens* (yara infeksiyonları)
- * *Salmonella* (besin zehirlenmesi)
- * *Streptococcus inia* (Mad Balık hastalığı)
- * *Vibrio parahaemolyticus* (gastroenterit)
- * *Vibrio vulnificus* (sepsisemi, yara infeksiyonları)

Bu organizmalardan büyük çoğunluğunun kaynağı balıkların içinde yaşadığı, atık sularla kontamine olmuş sular olmaktadır. Bir kıyaslama yapılırsa hasta balıklardan orjin alan zoonozlar azdır (Auistin, 1999).

Vibrio spp.: *Vibrionaceae* familyası içerisinde yer alan *Vibriolar* Gram negatif, fakültatif anaerobik, genellikle hareketli, düz veya hafif kıvrık çomakcıklar şeklinde mikroorganizmalardır (Arda, 2000). *Vibrio* türleri balıklarda ve sucul ortamda yaygın bir dağılım göstermektedir. Çeşitli *Vibrio* türleri hem vahşi hem de kültür balıklarında ciddi hastalıklara neden olabilirler. Vibriozis, genellikle tuzlu-, daha az oranda tatlısu balıklarında görülen, vücudun ventral ve lateral kısımlarında kanamalar ve ülserler ile karakterize olan bulaşıcı ve öldürücü bakteriyel bir enfeksiyondur (Arda ve ark 2002). Balıklarda patojenik türler arasında *V. ordalii* (*salmonidlerde sepsisemi*), *V. anguillarum* (yılan balıklarında red pest), *V. salmonicida* (soğuk su vibriozisi), *V. vulnificus* (Avrupa yılan balıklarında sıcak su vibriozisi), *V. viscous* ve *V. wodanis* (Atlantik somonlarında kış ülser hastalığı) yer almaktadır (Gauthier, 2015; Novoslavskij, 2016).

Clostridium botulinum: *C. botulinum* tüm dünyada tatlı su ve deniz balıklarının bağırsaklarında kommensal olarak bulunan, aynı zamanda çevresel sedimentlerde ve çürüyen organik maddelerde de bulunabilen mikroorganizmadır (Gauthier, 2015). Etken anaerobik, Gram pozitif, spor oluşturan bir bakteridir ve dört farklı fenotipik gruba (I-IV) ayrılmaktadır. Bu gruplardan I ve II insanlar için patojeniktir. Ayrıca *C. botulinum* suşları serolojik olarak yedi farklı nörotoksin (A-G) üretmektedir. Bu toksin tipleri arasından insanlardaki salgınlarda en fazla karşılaşılan toksin tipleri tip A, B, E ve F iken, tip C ve D hayvanlardaki botulizm ile ilişkilendirilmektedir (Collins, 1998). Balık tüketimiyle ilişkili olarak insanlarda ortaya çıkan birçok hastalık vakasından ise tip E toksininin sorumlu olduğu bildirilmektedir (Gauthier, 2015). *C. botulinum* neurotoksin tip E'nin neden olduğu hastalık tablosu Amerika, Britanya ve Danimarka'da yetiştiriciliği yapılan salmonid balıklarda bildirilmiştir (Huss, 1974). Bununla birlikte son yıllarda Güneydoğu Amerika'da kanal yayın balıklarında (*Ictalurus punctatus*) saptanan bir hastalık vakası viseral toksikozis olarak rapor edilmiştir (Khoo, 2011). Yapılan çalışmalar *C. botulinum*'un balıkların bağırsaklarında, yüzeylerinde, balık çiftliklerindeki sedimentlerde, balık ürünlerinde ve alglerde bulunabildiğini göstermektedir (Hielm, 1998; Hyytia, 1999).

Erysipelothrix spp.: *Erysipelothrix* türleri arasında *E. rhusiopathiae*, *E. tonsillarum* ve *E. inopinata* bulunmaktadır. Hayvanlarda *E. rhusiopathiae*'nin sebep olduğu hastalık "erysipelas" olarak bilinirken insanlarda hastalık "erysipeloid" olarak adlandırılmaktadır (Gauthier, 2015). Erysipeloid aynı zamanda Rosenbach's hastalığı, Baker-Rosenbach hastalığı ve pseudoerysipelas olarak da isimlendirilmektedir. *E. rhusiopathiae* (önceden *E. insidiosa*) küçük, Gram pozitif, çomak şeklinde, fakültatif aerobik, hareketsiz, spor oluşturmayan bir bakteridir (Walton ve ark., 2014; Weinstein, 1997). Organizma her yerde bol olarak bulunmakta ve doğada (marin yerleşkeler dahil) uzun süreler boyunca persiste olarak kalabilmektedir. Etken birçok vahşi ve evcil hayvanda, kuşlarda ve balıklarda patojen veya kommensaldir. Domuz erysipelas'ı en yaygın olan ve en fazla ekonomik öneme sahip olan hastalıktır (Weinstein, 1997). Chong ve ark. (2015) iki farklı Avustralya yılan balığında (*Anguilla reinhardtii* ve *A. australis*) ortaya çıkan ve septisemi ile seyreden hastalık tablosunun *E. rhusiopathiae* kaynaklı olduğunu bildirmişler ve etkeni moleküler olarak PCR ile identifiye

etmişlerdir. Bu vakada hastalığın strese bağlı ortaya çıkan septisemik bir hastalık olduğu ve düşük mortalite ile seyrettiği rapor edilmiştir.

Lactococcus garvieae: *L. garvieae* fakültatif anaerobik, hareketsiz, sporsuz, Gram pozitif oval kok şeklinde, alfa hemolitik mikroorganizmalardır. Etken ilk defa Büyük Britanya’da sığır mastitis vakasından izole edilmiş sonraları ise, D grubu streptokoklar arasında en önemli balık patojeni olarak kabul görmüştür (Gauthier, 2015). Balıklarda *L. garvieae* tarafından meydana getirilen laktokokkozis enfeksiyonu, özellikle, tatlı su kültürlerindeki *salmonid* balıklar ve denizde yetiştiriciliği yapılan balık türlerinde yıkımlayıcı bir etkiye sahip olan bir tür *streptokokkozis* enfeksiyonu olarak tanımlanmaktadır (Vendrell, 2006).

L. garvieae’nın konakçı aralığı suda yaşayan türler ile sınırlı değildir. Etken aynı zamanda ineklerdeki subklinik meme içi enfeksiyonlardan, su buffalolarındaki subklinik mastitisten, tavuk etlerinden, çiğ inek sütünden, et ürünlerinden, domuz kanı işleyen endüstriyel mezbahanelerden ve kedi ve köpeklerin tonsillerinden izole edilmiştir (Vendrell, 2006). Son yıllarda ise endocarditis, kolesistit ve diskospondilitis’e neden olan bir insan patojeni olarak tanımlanmaktadır (Gauthier, 2015). İnsanlarda görülen enfeksiyonlar ile akuakülterde görülen salgınlar arasındaki ilişki açık bir şekilde ortaya konulmasa da, *L. garvieae* kaynaklı insan enfeksiyonları çiğ deniz ürünlerinin tüketilmesi ile ilişkilendirilmektedir. Wang ve ark. (2008) insanlarda görülen bir *L. garvieae* enfeksiyonunun çiğ balık tüketiminden kaynaklandığını ortaya koymuşlardır.

Streptococcus spp.: Streptokoklar, Gram pozitif, hareketsiz, sporsuz, kapsülsüz ve aerobik mikroorganizmalardır (Arda, 2000). Balıklardaki enfeksiyonlar genel olarak Lancefield grup B organizmaları (*S. agalactiae*) ya da Lancefield antijenlerini ekspres etmeyen *S. iniae* türlerinden kaynaklanmaktadır. *S. agalactiae* insanlarda neonatal sepsis, ineklerde *mastitis* etkenidir (Gauthier, 2015). Japonya’da insan neonatal enfeksiyonlardan izole edilen *S. agalactiae* izolatu ile Kuveyt’te balık ve yunuslardan izole edilen *S. agalactiae* izolatları arasında genetik yakınlık olduğu bildirilmiştir (Evans, 2009). Yapılan bir başka çalışmada ise insan orijinli *S. agalactiae* izolatının deneysel olarak Nil tilapialarını (*Oreochromis niloticus*) enfekte ettiği belirlenmiş ve bu deneysel çalışma sonucunda grup B *streptokokların* memeliler ile balıklar arasındaki bulaşması ortaya konulmuştur (Evans, 2009).

1.4. *Staphylococcus epidermidis*

Stafilokoklar tıp tarihinde ilk kez 1878 yılında Robert Koch tarafından tanımlanmış ve 1881 yılında Alexander Ogston tarafından, farelerde hastalık yaptığı gösterilmiştir. 1940 yılında penisilinin klinik kullanımına girmesiyle, tıp tarihinde önemli enfeksiyon etmeni olarak bilinen stafilokokların neden oldukları enfeksiyonların tedavisinde önemli başarılar sağlanmıştır (Haznedaroğlu, 2007).

S. epidermidis' in insan cildinde zararsız kommensal olarak bulunduğu, cilt florası ve cilt immunitesi üzerinde faydalarının olduğu bilinmektedir (Naik, 2015; Nguyen, 2017) Ancak, *S. epidermidis* aynı zamanda fırsatçı bir insan patojeni olup, epidermal bariyeri geçerlerse kana karışıp sepsise neden olabilmektedirler.

KNS (*koagülaz negatif stafilokok*) içerisinde en sık enfeksiyona neden olan tür *Staphylococcus epidermidis*'dir. Flora üyesi olduklarından enfeksiyon yerinden alınan örneklerde sıklıkla kontaminan olarak bulunurlar. Prostetik materyal, IV kanül gibi vücutta bulunan yabancı cisimler *S.epidermidis*'in ürettikleri polisakkarit yapıdaki biyofilm (slaym) tabakasının kolayca tutunmasını sağlarlar. Biyofilm tabakası içindeki bakterilerin klinik önemi, bu bakterilerin vücut savunma hücreleri ve antibiyotikler gibi dış etkilerden kaçabilmeleri ve tedavi sorunu yaratan kronik enfeksiyonlara neden olabilmektedir (Gül, 2010). *S. epidermidis*'e bağlı enfeksiyonlarda slaym maddesinin bir virülans faktör olarak değerlendirilebileceği birçok araştırmacı tarafından bildirilmiştir (Patrick, 1992). Slaym üretebilen *S. epidermidis* suşlarının fagositoza ve kemotaksise direnç özelliği gösterdikleri, bakteriyi vücudun doğal savunma mekanizmalarına karşı koruyarak, hücrel ve humoral immun cevabı olumsuz yönde etkilediği gösterilmiştir. Ayrıca slaym oluşturan stafilokokların birçok antibiyotiğe karşı daha çok direnç oluşturdıkları da belirtilmiştir (Kiraz, 1993).

S.epidermidis enfeksiyonlarındaki klinik tablo ve enfeksiyon belirtileri *S.aureus*'a göre daha hafiftir. Bu nedenle klinik olarak *S.epidermidis* tanısı koymak oldukça güçtür (Gül, 2010).

1.5. *Bacillus subtilis*

Toprak mikroflorasının önemli bir kısmı *Bacillus* cinsi bakterilerdir. *Bacillaceae* familyası içerisinde yer alan *Bacillus* türleri, aerop ve fakültatif anaerop, gram pozitif endosporlu, bakterilerdir (Logan, 2002; Demirbağ ve Demir 2005). *Bacillus* genusuna ait türlerin çoğu güvenli mikroorganizmalardır. Tarım ve endüstriyel amaçlarda başarılı şekilde kullanılmakta olan pek çok maddeyi sentezleyebilme kabiliyetine sahiptirler. Çoğu mikroorganizmada olduğu gibi, *Bacillus* türleri de gıdalarda patojen veya bozulma etkeni mikroorganizmaların büyümesini önleyebilen veya onları öldüren farklı çeşitlerde bileşik (*bakteriosinler*) üretmektedirler (Hill, 1995; Bennik, 1997). *Bacillus* türleri genel olarak, patojenik bakteri ve funguslara karşı terapötik ajanlar olarak potansiyel uygulamaya sahip peptitler, lipopeptitler, fosfolipitler ve polienler üretirler ve üretilen antimikrobiyal bileşenlerin çoğu peptit orijinlidir (Gálvez, 2007). Antimikrobiyal bileşiklerin gıdalarda biyokoruyucu olarak kullanımı gittikçe popüler hale gelmektedir. Son yıllarda, sağlıklı bilince sahip tüketiciler, sağlıklı hayat tarzlarına uygun doğal gıdalara yönelmektedirler. Bu kimyasal koruyucular olarak katkısız gıdaları içerirler (Gálvez, 2007; Zotta ve ark., 2009). Antimikrobiyal maddeler, gıda koruyucuları olarak önem kazanmakla beraber, bitki patojenlerinin biyolojik kontrolü için de önemlidir. *Bacillus* farklı tür ve suşları tarafından üretilen sekonder metabolitlerin, farklı bitki patojenlerine karşı antibakteriyel ve antifungal aktivite gösterdiği belirtilmektedir (Yu ve ark., 2002).

Bacillus subtilis *Bacillus* adı, 1872 yılında Ferdinand Cohn tarafından ilk defa kullanılmıştır. Tanımlanmış 51 türü bilinmesine rağmen taksonomik olarak yeri tam belirlenmemiş gruplar da halen mevcuttur. Patojen kabul edilen *B. anthracis*, fırsatçı patojen olabilen *B. subtilis* ve gıda zehirlenmelerine neden olan *B. cereus* dışındaki türler insan ve hayvanlarda hastalık oluşturmadığı bilinmekte olup diğer türlerin bazıları insanların doğal şorasında yer alabilmektedir. Bu organizmalar genellikle kanlı agarda büyük, yayılabilen sınırları belirlenemeyen gri koloniler oluştururlar. Isıya, ışına, dezenfektan maddelere dirençli sporların ameliyathane, cerrahi malzeme, kozmetik ürün ve yiyeceklere bulaşması sorunlara neden olmaktadır (Sevim ve ark., 2006).

Bacillus'lar amilaz, lipaz, kitinaz, ksilanaz, pektinaz, proteaz ve selüloz gibi farklı ekstrasellüler enzimleri üretme yeteneğine sahiptirler. Bir karbohidraz olan α -amilaz ekstrasellüler enzimi ticari olarak kullanılan ilk enzimdir (Aira ve ark., 1983). *Bacillus subtilis*'tan izole edilen amilaz karşılaştırılmış ve karakterize edilmiştir (Femi-Ola, 2013). Bakteriyel lipazların bir kısmı glikoprotein, bir kısmı da hücre dışı lipoprotein yapısındadırlar. Bakteriyel lipaz üretiminde, *Achromobacter* sp., *Arthrobacter* sp., *Pseudomonas* sp., *Staphylococcus* sp., ve *Hromobacterium* sp. gibi mikroorganizmalardan faydalanılmaktadır (Saxena, 2007). Kitinazlar organizmalar arasında oldukça geniş bir dağılım gösterirler. Bu dağılım bakteriler, mantarlar, yüksek bitkiler, böcekler, kabuklular ve bazı omurgalıları içermektedir (Flach, 1992). Bakteriler tarafından üretilen kitinaz, kitini parçalayarak karbon ve enerji kaynağı olarak bakterinin kullanımına sunar (Leah, 1995; Roberts ve Shepherd, 1997). Kitinazlar başlıca *Serratia*, *Bacillus* ve *Vibrio* türleri tarafından üretilmektedir (Tomassen, 1992; Suzuki, 1998).

Bacillus'ların termofilik, mezofilik ve psikrofilik türleri bulunur. Çok yüksek sıcaklık derecelerinde bile canlı kalırlar. Genellikle 35-37 °C da ve pH 7 civarında ürerler. Tipik habitatları topraktır ve çoğu patojen değildir (Beyatlı, 2005). Endospor oluştururlar. Vejetatif hücreler 0,5x1,2 μ m ile 2,5x10 μ m çapındadır. *Bacillus* cinsinin koloni morfolojisi çeşitlilik gösterir. Elliye yakın türü bulunan *Bacillus*'larda, endosporun hücre içindeki yeri farklıdır. Spor, hücre merkezinde veya uçta, ayrıca, vejetatif hücreden daha dar olabildiği gibi, daha geniş de olabilir. Şekerleri fermente ederler ve sonuçta gaz oluşumu görülmezsizin asit üretirler. Proteinleri ise, amonyak oluşturarak parçalarlar ve böylece kokuşmaya neden olurlar. DNA 'larındaki G+C mol oranı %32-62'dir (Çon ve Gökalp, 1997). Bütün türleri Nutrient Agar, Trypticase Soy Agar, Brain Heart Infusion ve Kanlı Agar gibi besiyerlerinde oldukça iyi ürer. Karbon kaynağı olarak organik asit, şeker ve alkol içeren; azot kaynağı olarak da amonyum bulunduran sentetik ortamlarda çok iyi gelişirler (Altun ve ark., 2013). *Bacillus* türlerinin tanımlanması ve türler arasındaki farklılıkların belirlenmesi için spor ve sporangium morfolojileri temel alınmıştır. Buna göre *Bacillus* türleri 3 grupta toplanmıştır (Kalaylı ve Beyatlı, 2005).

Birinci grup *Bacillus* türleri kendi içlerinde A ve B olmak üzere ikiye ayrılır. Her iki grupta sporangia şişmemiştir. Gram pozitif, sporlar elips veya silindirik şekilli, santral veya terminal konumludur. A grubu ve B grubu arasındaki fark ise A alt grubunda hücre genişliği 1 µm'den küçük, B alt grubunda ise 1 µm'den büyüktür. A alt grubuna örnek olarak *B. cereus*, *B. megaterium*, B alt grubuna örnek olarak ise *B. licheniformis*, *B. subtilis*, *B. pumilus*, *B. firmus* ve *B. coagulans* verilebilir. İkinci grupta yer alan *Bacillus* türlerinde sporangia şişmiştir. Sporları elips, santral ve terminaldir. Bu grupta yer alan türlere örnek olarak *B. polymyxa*, *B. macerans*, *B. circulans*, *B. stearothermophilus*, *B. alvei*, *B. laterosporus* ve *B. brevis* verilebilir. Üçüncü grupta yer alan *Bacillus* türlerinde de sporangia şişmiştir. Sporlar küresel, subterminal ve terminal konumludur. *B. sphaericus* bu gruba örnektir (Kalaylı ve Beyatlı, 2005). *Bacillus subtilis*, aerobik, fakültatif anaerobik olan etken 20-30°C'de ürer ve vejetatif şekilleri dayanıksız olup, sporları bazen kaynama derecelerinde birkaç saat dayanabilirler. Toz, toprak, su ve her yerde bulduklarından besin maddelerine kolaylıkla bulaşır. Özellikle sütte çoğaldıkları zaman kazeini parçalayarak zehirli maddeler açığa çıkarırlar. Diğer besin maddelerinde üredikleri zaman toksin oluştururlar. Kuluçka süresi 2-18 saattir (Arda, 2000). Saprofit bir bakteri olmakla beraber doku içinde veya göz içine bulaşarak enfeksiyonlara ve bazı besin zehirlenmelerine neden olabilir (Arda, 2000).

1.5.1. *Bacillus*ların önemi ve kullanımı

Bacillus cinsi bakteriler, antibiyotik, enzim ve toksin üretimi gibi metabolik özellikleri ile endüstriyel öneme sahip olmaları ve kolay üretilebilmeleri sebebiyle, bakteriler arasında dikkat çeken mikroorganizmalardandır (Yılmaz ve Beyatlı, 2005). Birçok biyoteknolojik çalışmada kullanılan *Bacillus* 'lar, ürettikleri proteinler nedeniyle ticari öneme sahiptirler. *Bacillus* 'ların ürettiği endüstriyel enzimlerden olan subtilisin, selulaz ve amilazlar deterjan endüstrisinde; nötral proteazlar süt endüstrisinde; farklı amilaz ve pullulanazlar besin ve meyve suyu endüstrisinde kullanılmaktadır (Ediz ve Beyatlı, 2005). *Bacillus*'ların diğer bir özelliği de çeşitli böceklere karşı bakteriyel kontrol ajanı olarak kullanılmalarıdır. *Bacillus* cinsi bakteriler PHB

(*Polihidroksibütirat*) üretimi açısından da önemli bir yere sahiptir. PHB (*Polihidroksibütirat*) günümüzde yenilenebilir ve çevre dostu olması özelliğiyle polimer bazlı plastiklerin yerini almaya başlamıştır. Yapılan araştırmalarda bazı *Bacillus* suşlarının hücre kuru kütlelerinin % 50 den fazlasını PHB şeklinde biriktirebildiği bildirilmektedir (Dave, 1996; Beyatlı ve ark., 2005). Chen ve arkadaşları (2002), zenginleştirilmiş besiyerinde büyütülen *Bacillus* bakterilerinde hücre kuru kütlelerine göre % 5-20 arasında PHB biriktirildiğini bildirmektedirler.

1.6. *Lactococcus garvieae*

Lactococcus garvieae ilk olarak Britanya'da sığır mastitislerinden izole edilmiştir (Vendrell ve ark., 2006). Daha sonra 1974 yılında Japonya'da Sarıkuyruk (*Seriola quinqueradiata*) balığından izole edildiği bildirilmiştir (Ksuda ve ark., 1991).

1991 yılında yaz aylarındaki salgından sonra İtalya ve İspanya'da Gökkuşacağı alabalıklarında yüksek mortaliteye neden olduğu rapor edilmiştir (Barnes ve ark., 2002). Etkenin ilerleyen zamanlarda Tayvan'daki Tekir balıklarında (*Mullus murmuletus*) ve tatlı su karideslerinde (*Macrobrachium rosenbergii*) salgınlara neden olduğu bildirilmiştir (Chen ve ark., 2002; Chang, 2004). Türkiye'de ise bu hastalığın ilk defa 2001 yılında Ege Bölgesi'ndeki bir Gökkuşacağı alabalığı işletmesinde meydana geldiği rapor edilmiş (Diler ve ark., 2002) ve 2008 yılından itibaren birçok bölgedeki Gökkuşacağı alabalığı üretim çiftliklerinde görülmüştür.

Günümüzde ise Gökkuşacağı alabalığı çiftliklerinde salgınlar halinde Fransa'da, Balkanlar'da, İsrail'de (Eyngor ve ark., 2004) ve İngiltere'de (Bark ve Mc Gregor, 2001) görülmüştür. Kore'de deniz türlerinde izole edildiği bildirilmiştir (Baeck ve ark., 2006).

Salgınlardan izole edilen patojen Japonya'da 1950 yılının sonlarına kadar *Streptococcus spp.* olarak tanımlandı. Gelişen tekniklerle birlikte 1985 yılından sonra *Streptococcus*'lardan ayrıldı (Schleifer ve ark., 1985). Patojen sonradan *Enterococcus seriolicida* ve daha sonrada *Lactococcus garvieae* olarak sınıflandırılmıştır (Vendell ve ark., 2006). Önceleri *Enterococcus* benzeri olarak tanımlanan bu patojen, DNA hibridizasyon, 16S rRNA sekans analizleri, protein profili ve biyokimyasal

karakterizasyonu gibi çalışmaların sonunda *Enterococcus seriolicida* ve *Lactococcus garvieae*'nin sinonim olduğu bildirildi (Domenech ve ark, 1993; Eldar ve ark, 1999). Neden olduğu hastalık *Laktokokkosis* olarak adlandırılmış (Austin ve Austin, 1999) ve *Laktokokkosis*'in bir çeşit Streptokokkosis olduğu bildirilmiştir (Vendrell ve ark, 2006). Bu etken intensif kültür balıkçılığında, tatlı ve tuzlu su balıklarında zoonotik karakterde özellikle yaz aylarında su sıcaklığının artmasıyla infeksiyonlara neden olan bir patojen olarak bildirilmiştir (Sanchez ve ark, 2011).

Ülkemiz su ürünleri sektöründe en sık karşılaşılan bakteriyel kökenli hastalık etkenlerinden birisi *L. garvieae*'dir (Altun ve ark., 2013; Didinen ve ark., 2014). Etken balıklarda hiperakut hemorojik septisemiyle seyreden *lactococcozis* hastalığının etiyolojik ajanıdır (Meyburg ve ark., 2017). Hastalığa hem tatlı hem de tuzlu suda yetiştiriciliği yapılan balıklarda rastlanmaktadır (Gibello ve ark., 2016). Ülkemizde ilk hastalık bildirim gökkuşağı alabalıklarında 2001 yılında yapılmıştır (Diler ve ark., 2002). Bu hastalık vakasında su sıcaklığının 17 °C olduğu ve etkenin 100-150 gr ağırlığındaki balıklarda % 80'in üzerinde bir kayba neden olduğu bildirilmiştir (Diler ve ark., 2002). İlk izolasyon sonrası hastalığın hızlı bir yayılım sürecine girdiği ve Türkiye'nin farklı bölgelerinde, özellikle de yetiştiriciliği yapılan gökkuşağı alabalıklarının önemli bir patojeni haline geldiği görülmüştür. İlerleyen yıllarda hastalık tüm dünyada olduğu gibi Türkiye'de ortaya çıkan epizootilerden sonra hızlı bir yayılım sürecine girmiş ve özellikle alabalık işletmelerinde önemli ekonomik kayıplara neden olmuştur (Didinen ve ark., 2014; Türe ve Altinok, 2016).

Günümüzde, *L. garvieae* dünya genelinde yayılım göstermiş ve birçok ülkede başta alabalık olmak üzere farklı sucul hayvanlardan izole edilmiştir. Son yıllarda Hindistan'da Gökkuşağı alabalıklarında (Shahi ve ark., 2018), Mısır'da Niltilapylarında (*Oreochromis niloticus*) (Osman ve ark., 2017), Brezilya'da bir tür yayın balığında (*Pseudoplatystoma sp.*) (Fukushima ve ark., 2017), Amerika'da alabalıklarda (Nelson ve ark., 2016), Endonezya'da Nil tilapylarında (Anshary ve ark., 2014), Tayvan'da kefal (*Mugil cephalus*), tilapya, sarı yüzgeçli çipura (*Acanthopagrus latus*) balıklarında, Japon yayın balığında (*Anguilla japonica*) ve dev tatlı su karideslerinde (*Macrobrachium rosenbergii*) (Tsai ve ark., 2012) etkenin izole edildiğine dair bildirimler bulunmaktadır.

L. garvieae'nin sucul hayvanlar dışında insanlarda enfeksiyona (Tandel ve ark., 2017) neden olması etkenin balık kökenli zoonozlar içerisinde sınıflandırılabilceğini göstermektedir. Ancak moleküler tiplendirme metotlarının (*Pulsed Field Gel Electroforesis*) kullanıldığı birçok çalışmada balıklardaki salgınlardan elde edilen izolatlar ile farklı konakçılardan elde edilen izolatlar arasında farklılıkların olduğu, bir başka ifadeyle düşük genetik ilişkilerin olduğu ortaya konmuştur (Kawanishi ve ark., 2006; Tejedor ve ark., 2011).

Fenotipik özellikleri: *L. garvieae* Gram- pozitif, fakültatif anaerobik, hareketsiz endospor üretmeyen bir bakteridir. Optimum üreme sıcaklığı 37°C olup 4-42°C arasındaki sıcaklıklarda üreyebilmektedir. Bazı suşlar 45°C'de zayıf ve yavaş bir şekilde üreyebilirler. Üreme çift ya da kısa zincirler halinde olmaktadır (Kusuda ve ark., 1991, Eldar ve ark., 1999). Bakterinin Man, Rogosa ve Sharpe agar, trypticase-soy (TSA) agar ve brain-heart infusion (BHIA) agar gibi genel besi yerlerinde iyi bir şekilde ürediği (Kusuda ve ark., 1991), McConcey ve Enterococcus agar'ın ise etkenin üremesini inhibe ettiği bildirilmiştir (Toranzo ve ark., 1994). Genel olarak α -hemolitik bakteriler olarak tanımlanırlar (Ravelo ve ark., 2001), ancak β -hemolitik aktivite gösterdikleri de rapor edilmiştir (Teixeira ve ark., 1996). Bakteriyel üreme, pH 4,5-9,6 arasında ve % 4 NaCl içeren ortamda gerçekleştiği, bazı türlerin ise % 6,5 NaCl içeren ortamda üreyebildiği bildirilmiştir (Kusuda ve ark., 1991).

1.7. Lipid peroksidasyonu (MDA)

Serbest radikallerden en fazla etkilenen bileşik lipitlerdir. Membranlarda bulunan fosfolipitlerdeki doymamış bağlar ve kolesterol serbest radikallerle kolayca reaksiyona girerek peroksidasyon ürünlerini meydana getirir. Doymamış yağ asitleri (PUFA)'nin oksidatif yıkımı lipit peroksidasyonu olarak isimlendirilir ve oldukça zararlıdır. Lipit peroksidasyonu kendi kendini devam ettiren zincir reaksiyonları şeklinde oluşur. Lipit peroksidasyonu organizmada oluşan bir serbest radikal etkisi sonucu membran yapısında bulunan doymamış yağ asidi zincirlerinden bir hidrojen atomu uzaklaştırılmasıyla başlar. Bunun sonucunda yağ asidi zinciri bir lipit radikali niteliği kazanır. Oluşan lipit radikali dayanıksız bir bileşiktir ve bir dizi değişikliğe

uğrar. Lipit peroksidasyonu ile meydana gelen membran hasarı geri dönüşümsüzdür. En önemli peroksidasyon ürünü malondialdehittir (MDA). Molekül içi çift bağların pozisyonlarının değişmesiyle diğer konjugantları (Bir alkilin iki çift bağı arasında bir tane tekli bağ varsa buna konjuge dien adı verilir), daha sonra lipit radikallerinin moleküler oksijenle etkileşmesi sonucu lipit peroksil radikali meydana gelir. Lipit peroksil radikalleri membran yapısındaki diğer doymamış yağ asitlerini etkileyerek yeni lipit radikallerinin oluşumuna yol açarken, kendileri de açığa çıkan hidrojen atomlarını alarak lipit hidroperoksitlere dönüşürler ve olay kendi kendine katalizlenerek devam eder (Moslen, 1994; Akkuş, 1995).

Lipid peroksidasyonu sırasında oluşan bileşiklerden aldehitler, en toksik olanlarıdır ve diğer hücre bölümlerine de yayılarak hasara neden olurlar. Nonenzimatik oksidatif lipit peroksit dekompozisyonu sonucu, malondialdehit (MDA) ve 4-hidroksinonenal (4-HNE) oluşur. Malondialdehitin asıl kaynağı ikiden fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin otooksidasyonunda ve eikozanoid sentezinde serbestleşen endoperoksitlerdir (Seven ve Candan, 1995).

Lipit peroksidasyonunun en önemli peroksidasyon ürünü olan malondialdehitin yanı sıra; lipit peroksil radikali ($ROO\cdot$), lipit alkoksil radikali, alkil radikali, v.b gibi peroksidasyon ürünleri meydana gelir. Oluşan malondialdehit hücre membranlarından iyon alışverişine etki ederek membrandaki bileşiklerin, çapraz bağlanmasına yol açar ve iyon geçirgenliğinin ve enzim aktivitesinin değişimi gibi olumsuz sonuçlara neden olur. Malondialdehit bu özelliklerinden dolayı, DNA'nın nitrojen bazları ile de reaksiyona girebilir. Bundan dolayı malondialdehit, mutajenik, kültür hücreleri için genotoksik ve karsinojeniktir (Niki, 1987; Moslen, 1994).

Malondialdehit, protein amino gruplarına, fosfolipitlere ve nükleik asitlere bağlanarak toksik etkisini gösterir. Membran bileşenlerinde çapraz bağlanma ve polimerizasyona neden olur. Membranlardan kolaylıkla difüze olarak, DNA yapısında yer alan nitrojen bazlarla reaksiyona girer ve mutajen, genotoksik etkiler gösterir. Lipid peroksidasyonunun ölçümü doku hasarının iyi bir göstergesi kabul edildiğinden; peroksidasyon sırasında oluşan konjuge dienlerin ölçümü, in vivo lipit peroksit düzeyini yansıtabilecek önemli bir yöntemdir. Malondialdehit miktarının tiyobarbitürik asit testi ile ölçümü bu amaçla kullanılmaktadır (Gümüştaş ve Atukeren, 2008).

1.8. Antioksidanlar

İnsan vücudunun serbest radikaller tarafından oluşturulabilecek oksidatif stresi ortadan kaldırmak için en önemli silahı antioksidanlardır. Antioksidanlar serbest radikalleri temizleyebilen ve hücre hasarını engelleyebilen maddelerdir. İnsanda bulunan antioksidanlar ya vücut tarafından doğal olarak üretilirler ya da dışarıdan ilave olarak alınırlar. Hem endojen hem de eksojen antioksidanlar serbest radikal süpürücü olarak hareket ederler. Bundan dolayı savunma sisteminin etkisini artırarak hastalık riskini de azaltırlar (Shinde, 2012).

Antioksidanlar, normal hücre metabolizmasının toksik yan ürünü olan serbest radikalleri etkisiz hale getirerek koruyucu etki gösterirler (Sen, 2011). Reaktif oksijen türlerinin oluşumunu engellemek, bu maddelerin meydana getirdiği hasarları önlemek ve detoksifikasyonu sağlamak üzere vücutta görev yapan savunma sistemlerine “antioksidan savunma sistemleri” ya da “antioksidanlar” adı verilir (Şener, 2009). Antioksidanlar, radikallerle oldukça hızlı bir şekilde reaksiyona girerek otooksidasyon/peroksidasyonun ilerlemesini önleyen maddelerdir (Dündar, 1999). Antioksidanların rolleri arasında serbest radikallerin fazlasını etkisizleştirmek, serbest radikallerin toksik etkilerine karşı hücreleri korumak ve hastalıkları önlemede katkı sağlamak sayılabilir (Pham-Huy, 2008).

1.8.1. Antioksidanların sınıflandırılması

Antioksidanlar, endojen ve eksojen olmak üzere iki grup altında toplanabilir. Endojen ve eksojen antioksidanlar, oksidan/antioksidan dengesini sağlamak için serbest radikallerden vücudu korur ve serbest radikalleri etkisizleştirmek için kullanılırlar (Sen, 2011).

Endojen Antioksidanlar

Endojen kaynaklı antioksidanlar, enzimatik ve nonenzimatik antioksidanlar olarak iki alt grupta sınıflandırılabilir (Sen, 2011).

Enzimatik Antioksidanlar

Süperoksit dismutaz (SOD), Katalaz (CAT), Glutasyon peroksidaz (GPx) ve Glutasyon redüktaz (GR) enzimatik savunma hattını oluşturan enzimsel antioksidanlardır (Pham-Huy, 2008; Sen, 2011).

Süperoksit Dismutaz

Reaktif oksijen türlerine karşı ilk savunma hattını oluşturur (Sen, 2011). Süperoksit dismutaz, süperoksit radikalini (O_2^-) hidrojen peroksit (H_2O_2) ve moleküler oksijene (O_2) katalizleyen enzimatik bir antioksidandır. Hidrojen peroksit daha sonra, CAT ya da GPx ile ortamdan uzaklaştırılır (Young ve Woodside, 2001)

Antioksidanlar, okside olabilen bileşiklerin oksidasyonunu önleyerek vücutta antibakteriyel, antikanserojen ve kalp-damar hastalıkları riskini azaltıcı rol oynar. Antioksidan maddeler kanser ve kardiyovasküler rahatsızlıklara neden olan serbest radikaller ve reaktif oksijen türlerine göre güçlü antioksidan özelliğe sahiptir. Fenolik bileşikler, fitik asit, askorbik asit, tokoferol; meyve ve sebzelerde, çayda, tüm tahıl tanelerinde doğal olarak bulunan ve sağlık üzerinde olumlu etkiye sahip olan antioksidan bileşiklerdir (Young ve Woodside, 2001).

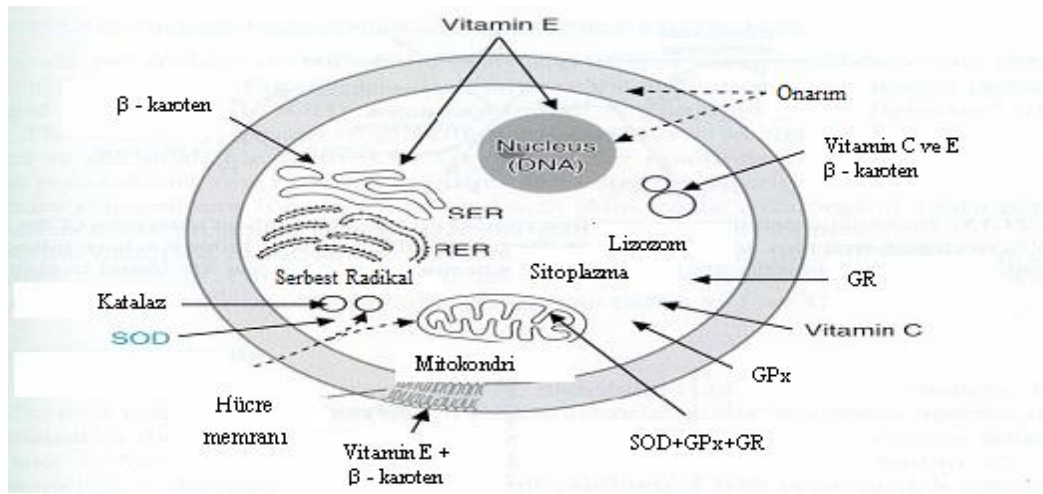
1.8.2. Antioksidan savunma mekanizması

Antioksidanlar, dört farklı mekanizma ile oksidanları etkisizleştirir (Memişoğulları, 2005):

- Temizleme (Scavenging) etkisi: Oksidanları zayıf bir moleküle çevirme şeklinde meydana gelmektedir.
- Baskılama (Quencher) etkisi: Bu etki, oksidan maddelere bir hidrojen aktararak etkisiz hale getirme şeklinde olmaktadır ve çoğunlukla flavonoidler tarafından yapılmaktadır.
- Onarma etkisi: Oksidanların oluşturduğu hasarı ortadan kaldırma şeklinde etki göstermektedirler.
- Zincir koparma etkisi: Oksidanları bağlayarak fonksiyonlarını engelleyen bu etki hemoglobin ve E vitamini tarafından yapılır.

Balıklarda hücre içi enzim yapısına sahip antioksidanlar; süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (KAT), glutatyon peroksidaz (GPx), glutatyon-S-transferaz, glutatyon redüktaz (GR) enzimleridir (Filho, 2007).

Hücre içi nonenzim lipid faz antioksidanlar; vitamin E (*α-tokoferol formu*), β-karoten (vitamin A'nın ön maddesi)'dir. Vitamin C (*askorbik asit*), *ürat, sistein, bilirubin, albumin, transferrin, flavanoidler, glutatyon* hücre içi sıvı faz nonenzim antioksidanlardır (Moraes, 2004; Aksoy ve ark., 2005). Hücrenin antioksidan savunma mekanizması Şekil 1.2.'de görülmektedir (Moeller, 2001; Çelikkale, 2002).



Şekil 1.2. Hücrenin antioksidan savunma mekanizması.

Antioksidanlar, oksijenin tahrip edici reaksiyonuna (oksidasyon) karşı koruyucu özellik gösteren maddelerdir. Organizmanın gerek iç (sindirim, solunum, hastalık, yaralanma vb.) ve gerekse dış (çevresel faktörler) etkenlerin uyarılarıyla sürekli zorlanmaktadır. Bu zorlanmalar sırasında ve sonrasında oluşan oksidan moleküller hücrelere ve dokulara saldırarak tahribata neden olur (Qiles, 2002; Bera ve ark., 2005). Organizmada, reaktif oksijen türlerini ve diğer prooksidanları, düşük molekül ağırlıklı serbest radikal gidericiler ve antioksidan enzimlerle sürekli etkisizleştiren bir sistem mevcuttur. Reaktif oksijen türlerine karşı hücre içi ve hücre dışı enzim ve nonenzim (enzim olmayan) savunma mekanizmasına antioksidan savunma sistemi denilmektedir (McLean, 2005).

1.8.3. Antioksidan vitaminler

Lipid faz antioksidanı olan vitamin E (*α - tokoferol formu*) ve *β -karoten* (vitamin A'nın ön maddesi), vitamin A, sıvı faz toplayıcısı olan vitamin C antioksidan vitaminlerdir. Vitaminler, enzimatik reaksiyonlarda kofaktör olarak görev yaparlar. Antioksidan vitaminler bu görevlerinin yanı sıra oksidan moleküllerinin zararlı etkilerinden organizmayı korurlar (Aksoy ve ark., 2005; Vandana ve ark., 2006).

1.8.4. Antioksidan vitaminlerin etki mekanizması

Antioksidan özelliği yanında prooksidan özelliği olan bir vitamindir. Prooksidan özelliği ile serbest radikal oluşumunu minimum düzeye indirgeme özelliğine sahiptir. Hayvanlarda olduğu gibi balıklarda da *β -karoten* aktivitesi vitamin A aktivitesinden fazladır. *β -karoten*, *α -tokoferol* gibi yağda eriyen bitkisel kaynaklı doğal bir antioksidandır ve vitamin E varlığında antioksidan etkisi daha belirginleşmektedir. Ancak vitamin A'nın retinol formu ve *β -karoten*, oksidasyona karşı vitamin E kadar dayanıklı değildir (Palozzo ve ark., 2003). Biyolojik membrana ve doku lipidlerine saldıran serbest radikalleri *α -tokoferol* ve vitamin C (askorbik asit) ile beraber baskırlar (Zhang ve Omley, 2001; Rao, 2007). Vitamin A, singlet oksijen gibi serbest radikal türlerini inaktif hale getirip hücreyi lipid peroksidasyonuna ve DNA hasarına karşı korumaktadır (Abdullah ve ark., 1987; Lukaski, 2004).

Tokoferoller, yalnızca bitkiler tarafından sentezlendikleri için bitkisel gıdalarla alınarak canlılarda redoks sistem olarak etki gösterirler (Shiau ve Hsu, 2002). Serbest radikal denilen oksidan molekülleri bloke edebilen E vitamini gibi bir antioksidanın eksikliğinde bu moleküllerin hücrelere saldırıp protein, lipid, karbonhidrat, nükleik asitler, DNA ve enzimler gibi hücre yapı elemanlarında geri dönüşümsüz hasarlar oluşmaktadır (Bai ve Gatlin, 1992; Arslan ve ark., 1997). Tüm hayvanlarda olduğu gibi balıklarda da bu hücre tahribatları doku ve organlarda çeşitli fonksiyonel aksaklıklara neden olmakta ve ağır seyreden durumlar ise ölümle sonuçlanmaktadır (Chang, 2004; Banudevi, 2006).

Canlılarda katabolizma sonucu, sigara dumanı, UV ışınları ve stres gibi durumlarda reaktif oksijen ara ürünleri oluşur. Bu ara ürünler canlı vücudundaki diğer bileşik ve moleküllerle kolayca reaksiyona girerek daha zararlı olan bileşikler meydana getirebilir. Bunun sonucunda da hücre ölümü, yaşlanma, kalp ve damar rahatsızlıklar, parkinson, kanser gibi birçok hastalığa yol açmaktadır. Vücuttaki bu tür zararlı bileşikler antioksidan enzim sistemleri ve antioksidan maddelerle daha az zararlı veya tamamen zararsız hale getirirler (Elmastaş ve ark. 2006)

Antioksidanların gıda ve ilaç sanayinde kullanımı yaygın olup neredeyse tükettiğimiz her ürüne antioksidan maddeler katılmakta ve bu maddeler gıdalardaki bozulmayı önlemekle beraber onların daha uzun süreli saklanması sağlıyorlar (Elmastaş ve ark. 2006).

Balık dokuları PUFA'lar bakımından zengin olmasından dolayı lipid peroksidasyonuna karşı hassastır. Hayvanlar; antioksidan enzimler, endogenous antioksidanlar ve besinsel antioksidanların oluşturduğu in vivo peroksidasyona karşı büyük bir savunma mekanizması meydana getirirler (Hamre ve ark. 2004).

Balık türevi gıda ürünlerinde kalite kaybını önlemek için, balık kasındaki lipidlerinde mevcut olan yüksek doymamış yağ asitlerinden dolayı etkili bir antioksidana ihtiyaç duyulur. Vitamin E (*α-tokoferol*) gibi yağda çözünen antioksidanlar, balık kasındaki doymamış lipitlerin oksidasyonunu önlemede önemli bir rol oynar. *α*- tokoferol en büyük antioksidan aktiviteye sahip olanıdır. Bu nedenle, *α*- tokoferol asetat, Vitamin E türevi olup gıdalara lipit oksidasyonu azaltmak için bir antioksidan olarak kullanılır (Yıldız ve ark. 2006).

Fizyolojik koşullarda serbest radikaller ile antioksidan mekanizmalar denge halinde iken, bu dengenin oksidanlar yönünde değişmesi doku hasarı olarak adlandırılan "*oksidatif stres*" e neden olmaktadır. Serbest radikaller, membran lipitlerinin peroksidasyonuna neden olarak membran geçirgenliğinin artmasına ve hücrenin iyon dengesinin bozulmasına neden olmaktadır. Malondialdehit gibi tiyobarbitürik asit reaktifleri, konjuge dienler ve lipit hidroperoksitlerinin ölçümü, dokulardaki oksidatif stresi gösteren lipid peroksit belirleyicileridir. Normal koşullar altında serbest radikallerin oluşumunu ve bunların meydana getirdiği hasarı önlemek için vücutta enzimatik (Süperoksit dismutaz (SOD), Katalaz ve Glutatyon peroksidaz (GSH-Px) gibi

ve enzimatik olmayan (İndirgenmiş Glutasyon ve vitaminler (A,C,E)) gibi antioksidan savunma mekanizmaları gelişmiştir. Ancak bu savunma sistemi bütün hasarlardan tam anlamıyla korunabilmek için yeterli olamamaktadır. Bu nedenle, metabolizmanın oksidatif hasardan korunabilmesi için bireyin antioksidan içeren gıda maddelerini de tüketmesi olumlu etki göstermektedir (Virtanen ve ark., 2006).

1.8.5. Süperoksit dismutaz (SOD)

Ökaryotik hücrelerin serbest radikallere karşı geliştirdikleri korunma mekanizmaları arasında en başta süperoksit dismutaz enzimi gelmektedir. Antioksidan enzimlerden en önemlisi olan SOD; hepatositlerin, eritrositlerin ve beyin hücrelerinin mitokondri matriksinde bulunmaktadır (Yining ve ark., 2011).

SOD, antioksidan savunmanın ilk basamağı olan süperoksit anyonunun bozunarak hidrojen perokside dönüşümünü katalize eden bir metaloenzimdir. Süperoksit radikali oksijene bir elektron eklenmesi ya da aerobik hücrelerde moleküler oksijenin bir elektron alarak indirgenmesi sonucu oluşmaktadır. Süperoksit radikali, bir eşlenmemiş elektron içerdiğinden ne çok fazla reaktif, ne de güçlü bir oksidan olmasına rağmen hücresel enerji depolarının boşalması ve toksik metabolitlerin birikmesi sonucunda hücre ölümüne yol açmaktadır (Lee ve ark., 2004; Şener, 2009).

Bu radikalın en önemli fonksiyonu hidrojen peroksit kaynağı olması ve geçiş metallere varlığında Fenton ve Haber Weiss reaksiyonu ile son derece aktif hidroksil radikaline dönüşmesidir. Bu durumda katalaz ve glutasyon peroksidaz enzimlerinin aktivitesi artmakta ve oluşan hidrojen peroksit düzeyi kontrol altında tutulmaktadır (Velioğlu, 2000; Lee ve ark., 2004). Katalaz ve süperoksit dismutaz kombinasyonunun butilhidroksianisolden daha etkili bir antioksidan olduğu bildirilmektedir (Fox, 2003).

1.8.6. Glutasyon peroksidaz (GSH-Px)

Glutasyon peroksidaz, hücre içi hidroperoksitlerin yok edilmesinden sorumlu en etkin antioksidan enzimdir. Glutasyon peroksidazın, selenyum bağlı ve selenyum bağlı olmayan olmak üzere iki farklı türü bilinmektedir. Selenyum bağlı glutasyon peroksidaz,

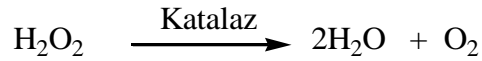
enzim aktivitesi için gerekli olan dört alt biriminde seleno sistein içermektedir. Her iki glutatyon türü de organik hidrojen peroksidin indirgenmesi için kullanılmaktadır. Eritrositlerde ve diğer dokularda, prostetik grup olarak selenyum içeren glutatyon peroksidaz enzimi, indirgenmiş glutatyon tarafından hidrojen peroksit ve lipid peroksitlerinin parçalanmasını katalize eder; böylece membran lipidlerini ve hemoglobini, peroksitler tarafından oksidasyona karşı korur (Stagsted, 2005; Yining ve ark., 2011).

Glutatyon peroksidaz lipid peroksidasyonundan ortaya çıkan hidroperoksitleri parçalayarak yeni radikal üretimini ve oksidasyonunu engellemekte ve kanda bulunan eritrositleri hemoglobin oksidasyonuna karşı korumaktadır. Ayrıca aşırı hidrojen peroksit varlığında glutatyonun (GSH) okside glutatyona (GSSG, glutatyon disülfid) oksidasyonunu katalize eder; bu arada H₂O₂ de suya dönüştürülerek detoksifiye edilmiş olur (Yalçın, 1998; Velioğlu, 2000).

1.8.7. Katalaz (CAT)

Katalaz (H₂O₂:H₂O₂ oksidoredüktaz, EC 1.11.1.6) yapısında dört tane hem grubu bulunan bir hemoproteindir. Katalaz esas olarak peroksizomlarda daha az olarak sitozolde ve mikrozomal fraksiyonda bulunur.

Katalaz hidrojen peroksidi (H₂O₂) suya ve oksijene parçalar.



Granulomatöz hücrelerde katalaz, hücreyi kendi solunumsal patlamasına karşı koruma işlevini de görür. Hücrede oluşan hidrojen peroksidi (H₂O₂) hidroksil serbest radikali (OH[•]) oluşumunu önlemek için ortadan kaldırır.

2. KAYNAK BİLDİRİŞLERİ

Gram-negatif bir bakteri olan *Aeromonas caviae*, balıklarda nadiren bulunan bir bakteri türüdür. Ancak enfekte olan balıklarda yüksek oranda ölüm görülmektedir. Bu bakteri ile enfekte olan Gümüş yayın balıklarının (*Rhamdia quelen*), böbrek dokusunda bu bakterinin varlığı PCR ile tespit edilmiştir. Daha sonra bu balıklarda sağlıklı balıklara göre antioksidan düzeylerinin değişimi ve Malondialdehit düzeyinin değişimi tespit edilmiştir. Çalışmada reaktif oksijen türlerinin karaciğer ve böbrek dokularında artış gösterdiği SOD, GSH-Px, ve GSH düzeylerinin karaciğer ve böbrek dokularında azaldığı tespit edilmiştir. Malondialdehit düzeyinin ise her iki dokuda da artış gösterdiği belirtilmiştir (Baldisseraa, ve ark., 2018).

Streptococcus agalactiae ile enfekte olmuş Gümüş yayın balıklarının (*Rhamdia quelen*), ksantin oksidaz, reaktif oksijen türlerinin ve nitrik oksit düzeylerinin araştırıldığı bir çalışma yapılmıştır. Çalışmada reaktif oksijen türlerinin, ksantin oksidaz ve nitrik oksit düzeylerinin kontrol grubuna göre belirgin bir düzeyde artış gösterdiği tespit edilmiştir (Souzaveark.,2017).

Baldissera ve ark. (2018) yapmış olduğu bir çalışmada *Streptococcus agalactiae* ile enfekte olmuş Gümüş yayın balıklarının (*Rhamdia quelen*), kreatin kinaz, adenilat kinaz ve piruvat kinaz düzeylerinin değişimi incelenmiştir. Çalışmada kreatin kinaz, adenilat kinaz ve piruvat kinaz enzim düzeylerinin azaldığı gözlenmiştir (Baldisseraa, 2018).

Aeromonas hydrophilla Vibrionaceae familyasına ait, fakültatif anaerobik gram negatif, çubuk şeklinde, özellikle su ortamlarında bulunan bir bakteridir. *Aeromonas hydrophilla* ile enfekte olan yavru Hint balıklarının (*Cirrhinus mrigala*) bağışıklık ve antioksidan savunma sistemlerinin araştırıldığı bir çalışma yapılmıştır. Çalışmada SOD ve CAT aktivitelerinin düzeylerindeki değişim tespit edilmiştir. *Aeromonas hydrophilla* ile enfekte olan yavru balıkların SOD ve CAT düzeylerinin belirgin düzeylerde düşüş gösterdiği tespit edilmiştir (Kumar ve ark., 2018).

Tarnecki ve ark. (2018) *Acinetobacter*, *Bacillus*, *Corynebacterium*, ve *Pseudomonas* bakterileri bulunduran İştine balıklarını (*Sciaenops ocellatus*) tespit

ederek bu balıkların antioksidan düzeyindeki değişimi incelemişlerdir. Çalışmada kan parametrelerinin ve antioksidan düzeylerinin (SOD 1.33, 0.84 U/mg) anlamlı azalış gösterdiği ifade edilmiştir. Çalışma sonucuna göre, kültür balıkçılığında bakteri enfeksiyonlarının balık üretim verimini olumsuz etkileyen bir durum olduğu belirtilmiştir (Tarnecki ve ark. 2018).

Japonya'da *Deinococcus grandis* bakterisini bulunduran balıklara radyasyon uygulanarak oluşan DNA hasarının araştırıldığı bir çalışma yapılmıştır. Bakterili balıklarda kontrol grubuna göre daha fazla DNA hasarı olduğu belirlenmiştir (Satoh ve ark. 2016).

Bacchetta ve arkadaşları (2016) Zebra balığı (*Danio rerio*) dış yüzeyinde yaşayan bakterilere gümüş nano partikül uygulaması yaparak balıkların dış yüzeyindeki bakteriyel gelişimi araştırmışlardır. Çalışmada gümüş nanopartikül konsantrasyonuna bağlı olarak yaşayan bakteri toplulukları sayısında azalma olduğu, uygulanan toksitenin balık dokusundaki antioksidan düzeyini etkilemediği bulunmuştur.

Mahmoud ve ark. (2017) Nil tilapyası balığının bakteri kontaminasyonunda büyüme, bağışıklık ve antioksidan gelişim durumunun araştırıldığı bir çalışma yapmıştır. Çalışmada balıkların yemlerine farklı dozlarda diyetik kurkumin takviyesi yapıldıktan sonra balıkların *Aeromonas hydrophila*, *Coliforms*, *Escherichia coli* ve *Aeromonas spp.* bakterileri ile kontaminasyonu sağlanmaktadır. Toplam 84 günlük süreç sonunda balıkların büyüme ve ölüm oranları bağışıklıkları ve antioksidan değişimleri incelenmiştir. Büyüme oranlarının ve antioksidan düzeylerinin zamanla kurkumin konsantrasyonuna bağlı olarak azaldığı, ölüm oranlarının ve lipid peroksidasyonunun zamanla artış gösterdiği tespit edilmiştir.

Wang ve ark., (2019) *Bacillus velezensis* V4 ve *Rhodotorula mucilaginosa* bakterileri içeren yemler ile yavru Atlantik somonunun (*Salmo salar L.*) besleyerek balıkların büyüme, hastalık direnci ve antioksidan özelliğini araştırmışlardır. Çalışmada antioksidan düzeylerinin ve MDA seviyelerinin genel olarak değişmediği tespit edilmiştir.

Alabalıkların diyetlerine probiyotik, prebiyotik ve simbiyotik olan *Galactooligosaccharide*, *Pediococcus acidilactici*, *Streptococcus iniae* bakterileri uygulanarak antioksidan değişiminin incelendiği bir çalışma yapılmıştır. Sekiz hafta

boyunca sürdürülen çalışmada Malondialdehit düzeyin hiçbir grupta anlamlı bir değişim göstermediği, antioksidanlarında genel olarak artış gösterdiği tespit edilmiştir (Hoseinifar ve ark. 2017)

Türkiye’de tatlı su ve deniz balıklarındaki bakteri, virüs, parazitlerle ilgili yapılan çalışmalar incelendiğinde ilk olarak Monod 1931 yılında kupez balığından metazoon bir parazit olan *Ceratothoa sp* (parazitik isopod)’yi tespit etmiştir. Daha sonra çeşitli araştırmacılar tarafından tatlı su, deniz ve çeşitli akvaryum balıklarının bakteri, virüs ve parazit faunaların var olup olmadığı araştırılmıştır (Öktener, 2003). Balıklar, içerisinde buldukları ortam nedeniyle sürekli olarak mikroorganizmalarla temas halindedir. Bu nedenle bakteriyel hastalıklar, yoğun balık yetiştiriciliğinin yapıldığı çiftliklerde büyük ekonomik kayıplara neden olmaktadır (Tanrikul ve ark., 1997).

Patojen protozoonlar balık çiftliklerinde en çok bulunan parazitler olup genellikle balık vücudunun dış kısmında ve solungaçlarında görülürler. Protozoon parazitler, balık popülasyonunda çok kısa sürede sayıca büyük boyutlara ulaşması nedeniyle metazoon parazitlere göre balık çiftliklerinde daha fazla ekonomik kayıplara yol açmaktadır (Tigin, 1992).

Balıkların dış yüzeyinde, solungaçlarında, mide ve bağırsaklarında *Aeromonas*, *Pseudomonas* ve *Cytophaga* türlerine ait birçok bakterinin bulunduğu saptanmıştır. Yapılan araştırmalarda tatlı su balıklarından izole edilen bakteriler arasında ilk sırayı *Aeromonas*’ın aldığı bildirilmektedir (Muz ve ark., 1995). Motil *Aeromonas*’lardan *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas caviae* ve *Aeromonas sobria* tatlı su balıklarında “Hemorajik Septisemi Hastalığı”nı oluştururlar (Austin ve Austin, 1999).

Akuakültür, dünyada bir endüstri halindedir ve bu alanda yetiştiriciler maliyeti düşürmek için birim m³ suda maksimum balık yetiştirmenin yollarını aramaktadır. Bu durum doğada yaşamaya alışmış balıklarda stres nedeni olmaktadır (Çağırğan, 1993). Ayrıca balığın hapsedildiği kafes ve havuzdan çıkamaması olumsuz çevre şartlarından kaçmasını engellemektedir. Suyun fiziksel ve kimyasal özelliklerindeki değişikliklerin, balıkların elden geçirilmesinin, beslemenin düzensiz ve dengesiz yapılmasının strese neden olduğu bilinmektedir. Stres altındaki balıkta kan kortizoller seviyesi yükselir ve bunun immunosupresif etkisi nedeni ile vücudun genel savunma mekanizması

baskılanarak balık enfeksiyöz ajanlarla mücadele edemeyerek hastalanır (Austin ve Austin, 1999).

Balıklar yaşadıkları ortam nedeniyle doğal olarak birçok enfeksiyonla karşı karşıya kalmaktadır. Entansif yetiştiricilik yapılan yerlerde balıkların yoğun stoklanması enfeksiyöz hastalıkların büyük bir tehlike oluşturmasına neden olmaktadır. Bir balıkta başlayan hastalık çok kısa zamanda diğerlerine bulaşmakta ve yayılmaktadır (Muz ve ark., 1995).

Enfeksiyöz hastalıkların ortaya çıkmasında konakçı, patojenin virülensi ve çevre arasında bir ilişki söz konusudur. Çevre şartlarındaki herhangi bir olumsuz değişiklik strese neden olurken hastalık etkeninin virülensi ve miktarı da hastalığın çıkmasında önemli bir faktördür (Çağırğan, 1993.). Yakın geçmişe kadar balıklar için 15–20 bakteri türü patojenik etki gösterdiğinin (Munro, 1982.) sanılmasına rağmen daha sonraları doğal olarak infekte balıklarda 70'e yakın bakteri türü izole edilmiştir (Austin ve Austin, 1999.)

Balıklar diğer omurgalılarından farklı olarak ya günlük ya da mevsimsel sıcaklık ve oksijen değişikliğine maruz kaldıkları için kararsız çevre şartlarına uyum sağlayan metabolizmaya sahiptirler. Bu savunma mekanizması da diğer omurgalılarından farklı değildir ve hem enzimatik olan hem de enzimatik olmayan yapıları kapsar (Borazan Özkurt, 2006). Organizma oksidatif strese maruz kaldığında ASS bu sistem içerisinde yer alan antioksidan enzimlerin sentezini artırarak cevap verebilmektedir (Halliwell,1999). Eğer ASS sistemi oksidatif stresin ortadan kaldırılmasında etkili olursa dokularda herhangi bir hasar meydana gelmeyecektir. Fakat stresin ortadan kaldırılmasında ASS başarısız olursa antioksidan enzimler inhibisyona; proteinler, lipitler, DNA ve diğer anahtar moleküller oksidasyona uğrayacaktır. Böylece, hücre ve dokularda hasar meydana gelecektir (Reznick ve ark. 1998).

Akuatik organizmalarda türler arasında nicelik açısından farklılıklar olmasına rağmen antioksidan enzimlerin varlığı bilinmektedir. Antioksidan enzimler, hücre homeostazisinde rol oynar. Antioksidanlar vücutta çeşitli yollarla oluşan serbest radikallerin doku ve hücrelere verdiği zararları önlemeye yardımcı olur. Oksijen radikallerinin etkisiyle ortaya çıkabilecek oksidatif hasarları önlemek amacıyla canlı sistem tarafından gerçekleştirilen pek çok korunma mekanizması vardır. Bunlar

intrasellüler ve ekstrasellüler olmak üzere iki gruba ayrılır (Ames ve ark. 1993). İlk ve temel antioksidan savunma, enzimatik olarak yapılmaktadır. En önemli intrasellüler enzimlerin; Süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz ve katalaz olduğu bilinmektedir. Sonraki savunma hattı ise ekstrasellüler nonenzimatik antioksidanlar tarafından oluşturulur. Bunlar; E vitamini, C vitamini, β -karoten, transferrin, seruloplazmin, albumin, haptoglobin, ubikinon (*koenzim Q10*) gibi bileşiklerdir (Halliwell ve Gutteridge, 1999)



3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

Bu çalışmada 45 adet 200-250 g'lık Gökkuşığı Alabalıkları (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum 1792) ticari olarak üretim yapan alabalık üretim çiftliklerinden temin edildi. Hasta oldukları gözlemsel olarak tespit edilen, alabalıklar bakteriyel hastalıkları tespit edilmek üzere buz dolu termoslar ile laboratuvar ortamına getirildi. Laboratuvar ortamında ağırlık, boy uzunluğu ölçülerek bakteriyel analiz için çalışılacak dokulardan örnekler alındıktan sonra biyokimyasal analiz için dokulara ayrılarak -20 °C'deki derin dondurucuda donduruldu.

3.2. Kullanılan Alet ve Cihazlar

ELISA cihazı

Spektrofotometre cihazı (Pop-Citizen),

Etüv (Termal),

Hassas terazi (Sartrorius),

Santrifüj (SED 6),

Homojenizatör (Wiggenhauser D-130)

Boehringer-mannheim Precitherm PFV Otomatik Su Isıtıcısı,

pH Metre (WTW Series inolab pH/ION 735),

Derin dondurucu (Samsung),

Ayarlanabilir otomatik pipetler (Socorex, Swiss, Brand)

Cam tüp,

Plastik santrifüj tüpü,

Ependorf tüp,

Tüplük,

Dişli Pens,

Cerrahi Makas,

Balon joje,
Piset.

3.3. Kimyasal Maddeler ve Malzemeler

8-OHdG DNA Hasar kiti
SOD enzim kiti (Randox-Ransod)
GSH-Px enzim kiti (Randox-Ransod)
Etanol (C₂H₅OH)(Merck)
Potasyumdihidrojenfosfat (KH₂PO₄)(Merck)
MS-222 (3-aminobenzoik asit etil ester metan sülfonat tuzu)(Merck)
Sodyumklorür (NaCl)(Merck)
Hidrojenperoksit (H₂O₂)(Merck)
Hidroklorik asit (HCl)(Merck)
Perklorik asit (HClO₄)(Merck)
Deiyonize saf su (H₂O)
Tiyobarbitürik asit (TBA)(C₄H₄N₂O₂S) (Sigma)
1.1.3.3.tetraethoksiopropan (MDA) (Sigma)
Triklor asetik asit (TCA) (C₂Hl₃O₂)(Merck)
Etilen daimin tetra asetik asit (EDTA)(Merck)
Disodyum hidrojen fosfat (Na₂HPO₄) (Merck)
Sodyum dihidrojen fosfat (NaH₂PO₄) (Merck)

3.4. Yöntem

3.4.1. Bakteriyeel hastalıkların identifikasyonu

Örnekleme

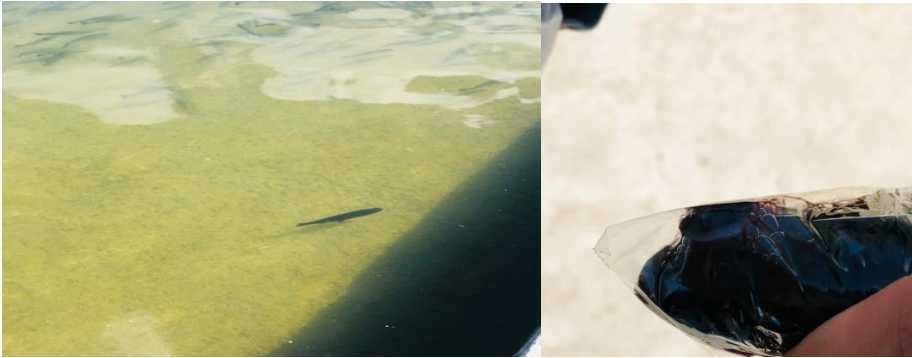
Çalışma Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 31.01.2019 tarih ve 2019/01 sayılı kararı ile gerçekleştirilmiştir. Çalışmanın örnekleme zamanı Mayıs-Ağustos 2018 tarih aralığını kapsamaktadır. Çalışmada kullanılan gökkuşuğı alabalıkları Van ilinde bulunan ve yavru üretimi yapan

işletmelerden seçilmiştir. Balıkların bakteriyel analizi Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Dr. Öğret. Üyesi Şükrü ÖNALAN tarafından yapıldı. Bu amaçla 5 farklı işletmeden 9'ar adet olmak üzere toplam 45 adet balık satın alınmıştır. Örnekleme yapılan balıklarda dış semptom olarak hareketlerde yavaşlama, ayrı yüzme, renkte kararma, bilateral ekzoftalmus ve asites gibi semptomlar başta olmak üzere yüzme bozukluğu, yüzgeç erimesi gibi belirtiler gösteren balıklar seçilmiştir.

Örnekleme yapılan balıkların dış yüzeyleri % 70'lik etanol ile dezenfekte edilmesinin ardından her bir çiftlik için ve her bir balık örneği için ayrı kilitli poşetlerde ayrılmışlardır. Örnekler Probu termometre özellikli Rubbermaid ile +4 °C'de aynı gün laboratuvara getirilmiştir.

Örnekleme bölgesi ve özellikleri

Örnekleme esnasında su sıcaklığının 15-17 °C arasında değiştiği gözlenmiştir. Balık numuneleri yetiştiricilik yapılan havuzlarda yalnız kalan, sürü dışında yüzen, renkte kararma olan ve gözlerde ekzoftalmus şekillenmiş balıklardan seçilmiştir (Şekil 3.1). Örnekleme sonrasında gerçekleştirilen nekropsi işleminde böbrek ve semptomlu yüzgeç dokularından özeyle örnekler alınmıştır.

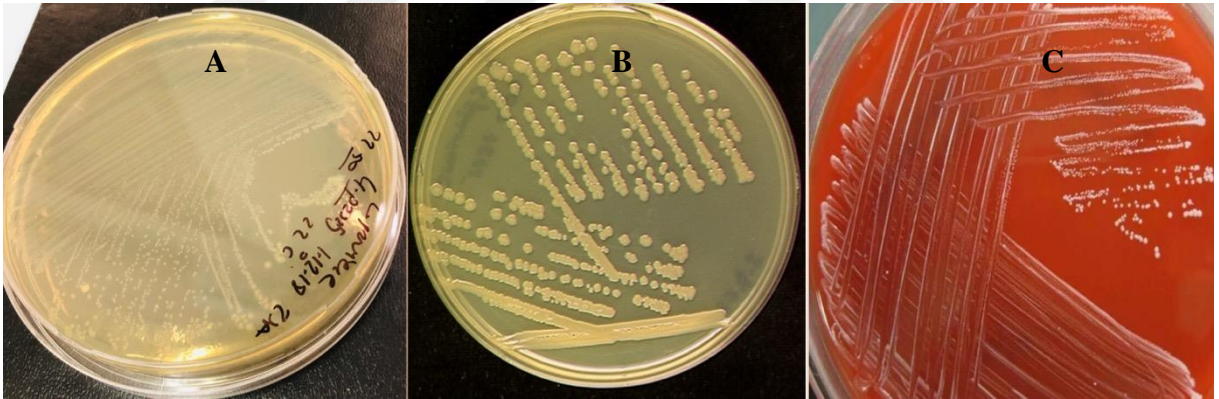


Şekil 3.1. Örnekleme esnasında toplanan balıklardan bazıları (Orijinal).

3.4.2. Bakteri izolasyonları

Bakteri izolasyonları ve moleküler tabanlı çalışmalar Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Biyoteknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezine ait demo laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. Örnekleme yapılan balıklardan bakteri izolasyonlarını gerçekleştirilmesi amacıyla Tryptic Soy Agar (TSA) besiyerine böbrek ve septomlu yüzgeç dokularından ekimler swap yardımı ile gerçekleştirilmiştir. Ardından, besiyerleri 37 °C’de 24 saat inkübasyona bırakılmışlardır.

Nekropsi esnasında alınan böbrek ve semptomlu yüzgeç dokularından TSA, LB ve BA besiyerlerine ekimler gerçekleştirilmiştir. 37 °C’de 24 saatlik inkübasyon periyodunun ardından gelişen koloniler tekrar saflaştırılmıştır. Saflaştırılan izolatların besiyeri görüntüleri aşağıda verilmiştir (Şekil 3.2). 5 farklı çiftlikten 3 çeşit bakteri türü gelişimi gözlenmemiştir. Çiftliklerden sırasıyla 10 adet *L. garvieae*, 9 adet *B. subtilis*, ve 8 adet *S. epidermidis* etkenleri izole edilmiştir.



Şekil 3.2. Gökkuşacağı alabalığı işletmelerinden izole edilen bakteriyel hastalık etkenleri (A: *L. garvieae*, B: *B. subtilis*, C: *S. epidermidis*).

3.4.3. Bakterilerin identifikasyonu

Bakterilerin identifikasyonları için 27F-1492R universal primeler kullanılarak Real-Time PCR uygulanmıştır. Bu amaçla bakterilerden DNA izolasyonları Mericon bacterial DNA kiti (Qiagen) ile gerçekleştirilmiştir. DNA’ların saflıkları

Nanospektrofotometre (Thermo) ile ölçülmüştür. Real-Time PCR bakterilerden izole edilen DNA'lar ve universal primerler kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Çalışmada kullanılan Real-Time PCR protokolü aşağıda verilmiştir (Çizelge 3.1).

Çizelge 3.1. Real-Time PCR aşamasında kullanılan protokol

Ön-denatürasyon	95 °C	10 dk
Denatürasyon	94 °C	45 sn
Bağlanma	56 °C	30 sn
Uzama	72 °C	45 sn
Son uzama	72 °C	7 dk

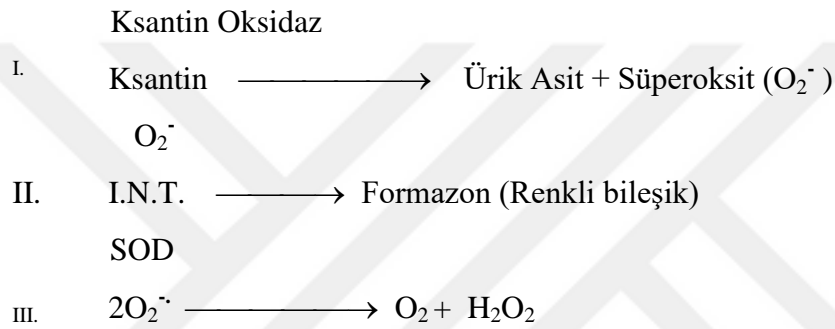
45 döngü

3.4.4. Numunelerin analize hazırlanması

Doku örneklerinden 0.5 gram tartılıp cam tüplere konuldu. Doku örnekleri on katı oranında fosfat tamponu ile homojenize edildi. Kullanılan fosfat tamponu (50 mM KH_2PO_4 ve 10 mM EDTA) pH 7'ye ayarlanarak hazırlandı. Homojenizatör ile homojen hale getirilen doku örnekleri 3500 rpm'de 10 dk. santrifüj edildi. Santrifüjleme işleminden sonra üstte kalan sıvı kısım alınıp 4°C' de biyokimyasal analizler için saklandı (Yeltekin ve Oğuz, 2018).

3.4.5. Süperoksit dismutaz (SOD) enzim aktivitesi tayini

Prensip: Süperoksit dismutaz enziminin rolü, metabolizmada üretilen toksik süperoksit radikalinin hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüşümünü hızlandırmaktır. Metotta ksantin ve ksantin oksidaz kullanılarak süperoksit radikali, 2-(2-iodophenyl)-3-(4-nitrophenol)-5-phenyltetrazolium chloride (I.N.T.) ile kırmızı renge dönüşür. Süperoksit dismutaz enziminin aktivitesi, bu reaksiyonun inhibisyon derecesi ile ölçüldü (Xia ve ark., 1995).



Deneyin yapılışı: Süperoksit dismutaz enzim aktivitesi Randox -Ransod enzim kiti ile 505 nm'de 37°C'de spektrofotometrede absorban değerleri ölçülerek belirlendi. Analiz için hazırlanan süpernatantlardan ependorf tüplere 15 µl eklenerek aşağıda verilen pipetleme işlemleri yapıldı.

	<u>Ayraç körü</u>	<u>Standartlar</u>	<u>Sulandırılmış örnek</u>
Sulandırılmış örnek	-----	-----	15 µl
Standart	-----	15 µl	-----
Fosfat Tamponu	15 µl	-----	-----
Karışık Substrat	500 µl	500 µl	500 µl
Ksantin oksidaz	75 µl	75 µl	75 µl

İçerik karıştırıldıktan 30 saniye sonra ilk absorban A_1 okundu ve eş zamanlı olarak zaman başlatıldı. İkinci absorban ise A_2 3 dakika sonra saptandı.

Spektrofotometreden alınan absorbans değerleri aşağıda verilen formülde yerine konarak SOD enzimi % inhibisyonları “Eş 3.1 ve Eş 3.2” ‘e göre hesaplandı.

$$100 - \frac{(\Delta A_{\text{StdDk}} \cdot x100)}{(\Delta A_{\text{Blank Dk.}})} = \% \text{ İnhibisyon} \quad (3.1)$$

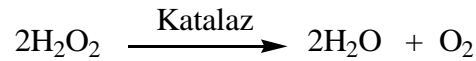
$$100 - \frac{(\Delta A_{\text{ÖrnekDk}} \cdot x100)}{(\Delta A_{\text{Blank Dk.}})} = \% \text{ İnhibisyon} \quad (3.2)$$

Süperoksit dismutaz enzim aktivitesi, yapılan standart çalışması sonucu elde edilen standart konsantrasyon grafiğine göre hesaplandı.

3.4.6. Katalaz (CAT) enzim aktivitesinin tayini

Prensip: Hidrojen peroksitin (H_2O_2) katalaz enzimi tarafından parçalanması prensibine dayanmaktadır. Aebi (1984)’nin UV spektrofotometrik metodu kullanılmıştır.

Katalaz hidrojen peroksidi suya ve oksijene parçalar.



Deneyin yapılışı: CAT enzim aktivitesi, Aebi (1984)’nin yöntemine göre otoanalizörde 240 nm’de ölçüldü. Küvete aşağıdaki ayırıklar pipetlendi:

<u>Numune</u>	<u>Kör</u>
0,500 ml numune	0,250 ml fosfat tamponu(tampon karışımı)
0,250 ml H ₂ O ₂	

Katalaz peroksit reaksiyonunda zamanın bir fonksiyonu olarak azalan absorbands değerleri 0 sn ve 15 sn boyunca 240 nm’de okundu. Katalaz enzim aktivitesi absorbands değerinin zamanla azalışı ile ilişkilendirilmektedir.

A₁:0 sn

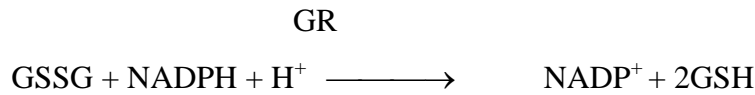
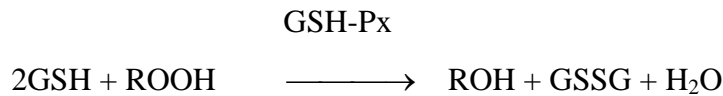
A₂:15 sn

$K=(2.3/15)(\log A_1 / A_2)$

$K=0.153(\log A_1 / A_2)$ U/mg

3.4.7. Glutasyon peroksidaz (GSH-Px) enzim aktivitesi tayini

Prensip: GSH-Px, formülde görülen kümen hidroperoksit ile indirgenmiş olan glutasyon (GSH)’nu okside olmuş glutatyona (GSSG) yükseltger. Ortamda glutasyon redüktaz (GR) ve nikotinamid adenin dinükleotid fosfat hidrojen (NADPH) var ise yükseltgenmiş glutasyon (GSSG), NADPH’ın NADP’ye oksidasyonu ile GSH’a indirgenir (Paglia ve Valentine, 1967; Flohe ve Gunzler, 1984).



Deneyin yapılışı: GSH-Px enzim aktivitesi, Randox-Ransel enzim kitleri ile spektrofotometrede 340 nm’de 37°C’de ölçüldü. Küvete aşağıdaki ayıraçlar pipetlendi.

	<u>Ayıraç körü</u>	<u>Sulandırılmış örnek</u>
Sulandırılmış örnek	-----	10 µl
Distile Su	10 µl	-----
Ayıraç	500 µl	500 µl
Kümen	20 µl	20 µl

Küvetler karıştırıldı, örnek ve körün absorbensları 1 dakika sonra okundu. Zaman başlatıldı, 1 ve 2 dakika sonra absorbenslar tekrar okundu. Dakikadaki absorbens değişimi “Eş 3.4” ‘e göre hesaplandı.

$$U/I \text{ Hemolizat} = 8412 \times \Delta A_{340 \text{ nm}} / \text{dakika.} \quad (3.4)$$

3.4.8. Lipit peroksidasyonun (MDA) ölçülmesi

Prensip: Bu yöntem Placer ve ark. (1966)’nın yöntemi olup lipit peroksidasyonunun aldehit ürünlerinden biri olan malondialdehitin (MDA) tiobarbitürik asit (TBA) ile olan reaksiyonun temelini dayanmaktadır. Oluşan MDA, TBA ile pembe renkli bir kompleks oluşturmakta ve bu çözeltinin absorbensı spektrofotometre ile 532 nm’de ölçülerek lipit peroksidasyonun derecesi saptanmaktadır.

Deneyin yapılışı: Malondialdehit düzeyini belirlemek için deney tüplerine aşağıda verilen pipetleme işlemleri yapıldı. Daha sonra tüpler 100 °C’de 20 dakika bekletildi. Soğutma işleminden sonra 3500 rpm’de 10 dakika santrifüj yapıldıktan sonra üst faz absorbensı 532 nm’de okunur. Satndartın konsantrasyonu ve absorbensın oranına göre süpernatantların malondialdehit düzeyleri belirlendi.

	<u>Kör (ml)</u>	<u>Standart (ml)</u>	<u>Örnek (ml)</u>
Örnek	-----	-----	0.250
Standart	-----	0.250	-----
Serum Fizyolojik	0.250	-----	-----
Ayıraç	2.250	2.250	2.250

3.4.9. 8-Hidroksi-2-deoksiguanozin (8-OHdG) düzeyinin belirlenmesi

Balık dokusu 8-Hidroksi-2-Deoksiguanozin (8-OHdG) düzeylerinin belirlenmesi için Fish(8-OHdG) ELISA kit (Catalogue No:201-00-0041)(SunRed marka) kullanıldı. Çalışmaya başlamadan yarım saat önce kit malzemeleri oda sıcaklığına getirildi (Standart, Standard diluent, Mcroelisa Strip Plate, Str-HRP-Conjugate Reagent, 30X Wash solution, Biotin-(8-OHdG) Ab, Chromogen Solution A, Chromogen Solution B, Stop Solution).

1. 8-OHdG standardı Standard diluent ile hazırlanır. Hazırlanmış olan standartlar Mcroelisa Strip Plate içine 50 µl olarak eklenir. Bir kuyucuk da blank olarak seçildi.
2. Diğer kuyucuklara 40 µl numune örneklerinden konuldu.
3. Her bir kuyucuğa 50 µl Str-HRP-Conjugate Reagent eklenir sadece numune örnekleri üzerine 10 µl Biotin-(8-OHdG) Ab eklenerek pleytin üzeri kapatıldı.
4. Pleyt, 37°C sıcaklığında Plate Shaker'ında 1 saat süreyle inkübe edildi.
5. Pleyt kuyucukları, bidistile saf su ile 30 kez dilue edilen 30X Wash Buffer ile (300 µl /kuyucuk olacak şekilde), 1-2dk bekletilerek 5 defa yıkandı.
6. Yıkama sonrası her tüpe 50 µl Chromogen Solution A ve sonrada 50 µl Chromogen Solution B eklendi.
7. Karanlıkta 37°C sıcaklığında Plate Shaker'ında 10 dk süreyle inkübe edildi.
8. İnkubasyon sonucu plate kuyucuklarına 50 µl Stop Solution eklenerek 10dk içerisinde absorbansı 450 nm olan ELISA (Plate Reader) cihazında ölçüm yapıldı.

9. 8-OHdG standartlarının optik dansitelerine ve konsantrasyonlarına uygun standart grafiği çizilerek oluşturulan formüle göre örneklerdeki 8-OHdG düzeyi hesaplandı.

3.5. Verilerin istatistiksel analizi

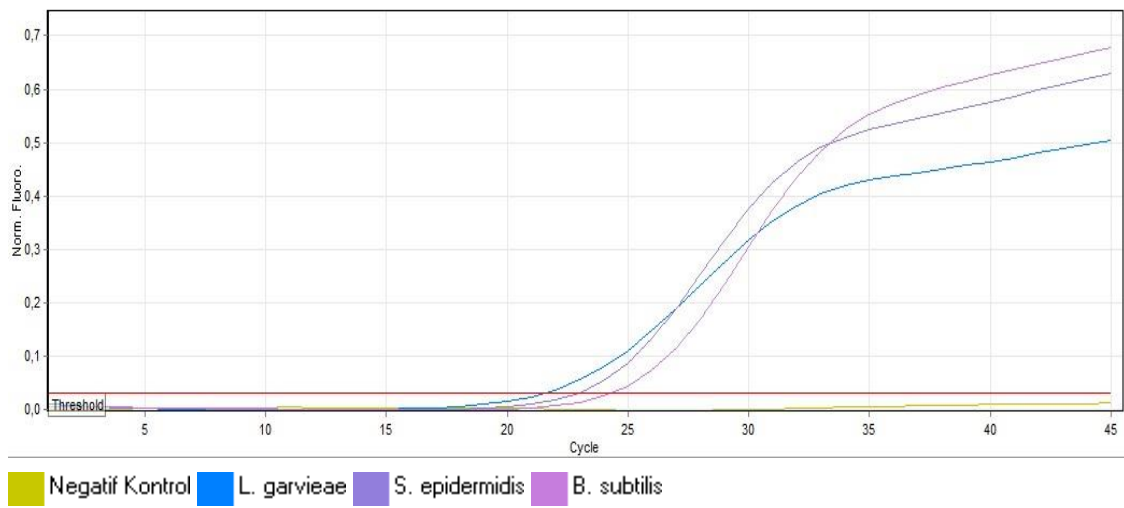
Analizler sonucunda elde edilen değerler ortalama \pm standart hata olarak ifade edildi. Farklı gruplar arasında ortaya çıkan değerlerinin çoklu karşılaştırmaları için ANOVA ve arkasından Tukey testi yapılarak farklılık ortaya konuldu. Değerler arasındaki fark 0.05'e göre yapıldı.



4. BULGULAR

4.1. Real-Time PCR analizi sonuçları

İzole edilen bakteriyel etkenlerden elde edilen DNA'lar Real-Time PCR'da template olarak kullanılmıştır. İzolatların tanımlanması amacıyla Real-Time PCR işlemi gerçekleştirilmiştir. Universal (27F-1492R) primerler ile gerçekleştirilen Real-Time PCR sonucu aşağıda verilmiştir (Şekil 4.1).



Şekil 4.1. Çalışmada izole edilen bakteriyel DNA'lar ile gerçekleştirilen Real-Time PCR görüntüsü (Sigmoidal eğriler pozitif, Eşik değerinin altından kalan negatif kontrol örneği).

Real-Time PCR sonuçları doğrultusunda bakteriyel DNA'ların Universal primerler ile örtüşerek bağlanma meydana getirdiği SYBRGreen tabanlı florasan ışımada pozitif sonuçlar verdikleri gözlenmiştir.

4.2. Bakteriyel identifikasyon sonuçları

Real-Time PCR amplikonları ile gerçekleştirilen Sanger Tek Yönlü sekanslama sonrasında elde edilen nükleik asit dizileri aşağıda verilmiştir.

```

1 TTTTTTTTTT CTTTATGGCT CGTCTCGTGG AGTCCATAG AGGTTACCTC ACCGACTTCG
61 GGTGTTACAA ACTCTCGTGG TGTGACGGGC GGTGTGTACA AGGCCCGGGA ACGTATTAC
121 CGCGGCATGC TGATCCGCGA TTAGTAGCGA TTCCAGTTC ACGCAGTCGA GTTGACAGCT
181 GCGATCCGAA CTGAGAACAG ATTTGTGGGA TTGGCTAAC CTCGCGGTTT CGCTGCCCTT
241 TGTTCTGTCC ATTGTAGCAC GTGTGTAGCC CAGGTCATAA GGGGCATGAT GATTTGACGT
301 CATCCCACC TTCTCCGGT TTGTACCCGG CAGTCACCTT AGAGTGCCCA ACTGAATGCT
361 GGCAACTAAG ATCAAGGGTT GCGCTCGTTG CGGGACTTAA CCCAACATCT CACGACACGA
421 GCTGACGACA ACCATGCACC ACCTGTCACT CTGCCCCCGA AGGGGACGTC CTATCTTAG
481 GATTGTGAGA GGATGTCAAG ACCTGGTAAG GTTCTTCGCG TTGCTTCGAA TTAACCACA
541 TGCTCACCG CTTGTGCGGG CCCCCTCAA TTCTTTGAG TTTCACTCTT GCGACCCGTAC
601 TCCCCAGGCG GAGTGCTTAA TGCCTTAGCT GCAGCACTAA GGGGCGGAAA CCCCCTAACA
661 CTTAGCACTC ATCGTTTACG GCGTGGACTA CCAGGGTATC TAATCCTGTT CGCTCCCAC
721 GCTTTCGCTC CTCAGCGTCA GTTACAGACC AGAGAGTCGC TTTCGCCACT GGTGTTCTCT
781 CACATCTCTA CGCATTTTAC CGCTACACGT GGAATTCAC TCTCTCTTC TGCCTCAAG
841 TTCCCCAGTT TCCAATGACC CTCCCGGTT GAGCCGGGGG CTTTCACATC AGACTTAAGG
901 AACCGCCTGC GAGCCCTTTA CGCCAATAA TTCCGGACAA CGCTTGCCAC CTACGATTA
961 CCGCGGCTGC TGGCACGTAG TTAGCCGTGG CTTTCTGGTT AGGTACCGTC AAGTAGCCG
1021 CCCTATTCCA ACGGTACTTG TTCTCTCTTA CAACAAAGCT TTAGTATTTC GAAAACATTC
1081 TTCATTACAG GCGCTTGTCT GTCGAACCTT CTCCATTTCG AAAAATCCCA CTGCTGCCCC
1141 CGTAGAATCG GGGCGGGGGG GGGTCCAAGG TGGCAATCCC CCCTCCGGTG GCACCGCCCC
1201 CTTCCCTTGT TAACCGTGAA CCCCACAAA GACCAAAAAC CCGGGGGGGC CCCTGAATTT
1261 GTGTAATAAA GGGCCCTCTT TATTGTTTAT AACCTTTGTT AAACAAAGGA AGGGAAGAAG
1321 AACCGCTTTT TCGGGTACT ACAGTGCCGG AAAGTAAATT CTTGGGGGGC CCCCCCCCC
1381 CCTCCCCAG CGCATTATAA AAAGGGAAGT GTGTTTTTTC TCTTTCGGG TCGGGGGGA
1441 CGCGAAAAGA AGGTGAGAAA AAAAACAAAA AAAATATAAA AAAATAACAT GCGCTCTCCT
1501 GGCCGTTTGT TCCCTGTTGA TGTTTCGTGC GGCCGCGCGC TGTTTTGTTT GCTTGTGGCC
1561 GTCGCGCCGT TCTGACGGTG TTGGGTGCG CCCTGGCCCC TGCCGCGCCG CCCCCGGCCC
1621 GCTCTCTGCG TTCGT

```

Şekil 4.2. *Bacillus subtilis*'e ait sekans sonuçları

```

1 TTTTCTGAAT GTAGGATCAG TGTTCCTACG TCGCCCTCCT TGCGGTTAGG CAACCTACTT
61 TGGGTACTCC CAACTCCCGT GGTGTGACGG GCGGTGTGTA CAAGGCCCGG GAACGTATT
121 ACCGCGCGCT GCTGATCCGC GATTACTAGC GATTCGACT TCATGCAGGC GAGTTGCAGC
181 CTGAAATCCG AACTGAGAAT GGTTTAAGA GATTAGCGCA CCCTCAGGGG TTGGCGACTC
241 GTTGACCAT CCATTGTAGC ACGTGTGTAG CCCAGGTCAT AAGGGGCATG ATGATTTGAC
301 GTCATCCCCA CCTTCTCCG GTTTATCACC GGCAGTCTCA CTAGAGTGCC CAACTTAATG
361 ATGGCAACTA GTAATAAGGG TTGCGCTCGT TGCGGGACTT AACACAACAT CTCACGACAC
421 GAGCTGACGA CAACCATGCA CCACCTGTAT CCCGTGTCCC GAAGGAATC CTTATCTCTA
481 AGGATAGCAC GAGTATGTCA AGACCTGGTA AGTTCTTCA CGTFACTTCG AATTAACCA
541 CATGCTCCAC CGCTTGTGCG GGCCCCCGTC AATTCTTTG AGTTTCAACC TTGCGGTCTG
601 ACTCCCAGG CGGAGTGCTT AATGCGTTAG CTGCGCTACA GAGAACTTAT AGCTCCTAC
661 AGTAGCACT CATCGTTTAC GCGTGGACT ACCAGGGTAT CTAATCCTGT TTGCTCCCCA
721 CGCTTTCGAG CCTCAGTGTG AGTTACAGGC CAGAGAGCCG CTTTCGCCTC CCGTGTCTCT
781 CCATATATCT ACGCATTTCA CCGCTACACA TGGAATTC ACTCTCCTC CCGTCACTA
841 AGTCTCCAG TTTTCAATGC ACACAATGGT TGAGCCACTG CTTTTTTCAT CAGACTTAAG
901 AAAACACCTG CGCTCCCTT ACTCCACCA AATCCGGACA ACCTTGTGA ACTAACCTAT
961 TAACTACGGC TGCTGGCAGG GAATTAGCCG TCCCTTCTT GTTAGAAACG ACCCCCTTAA
1021 GGAATTTTTT TTTTCCACTT AACTTACGTT TTTTCTACAA AATTTTAATT TTACATAAAC
1081 CTTATATCCC TCCCACCGGC GGCCCTTCA GGGTGGCTGC CTCCCTTAG TTAGAAACT
1141 CCTCCCTACC TCTCGCAAC TAGAACGGGA GGGGTGTGCT TTATCGCCCT GAATCACCC
1201 TCCCCCCCT GGAAGGGGGG GCCATTATTT GGTCTTTGGA TGTGCCATAA CAAAACCCCA
1261 CCCCAGGGG GGGGGGGTTC TATATAGTAA TTATTTATTT TTTTAAAAA AAAGAAAAA
1321 CCTCCCCCG CTTTATTAA TAGATATTAT ATATTTTTTC CTCGCACCC CACCGCCCG
1381 CCCCCCCCC CTTCCGACC CTCCCCCA CCCCACCC CTTCCACC ACCCGCGGTA
1441 TATGATAAGA ACAACAAT TGTGTGTTTT CATACCCAGT GAGTGGTGT GTGTTTGGCG
1501 CCGCCGCGC CGATCGCGC CGTATGAACG AAAAGAAAAA AAATAAAAAA AATATAAAAA
1561 TTTCTTTTT CTGTTGGGT GGGCGGGGCG CGTACGTGT GTGTTGTTT TATATTTTGA
1621 TTTGGTGATT GCTTACACT GCAACGGCAG AGTGAATAT TATAT

```

Şekil 4.3. *Lactococcus garvieae*'ye ait sekans sonuçları

```

1 GTTCTGCAGG TGATACGTGG CAGCTAGTCG GCTCCAATGG TTA CTCCAAC GGCTTCGGGT
61 GTTACAACT CTCGTGGTGT GACAGGCGGT GTGTACAAGA CCCGGGAACG TATTCACCGT
121 AGCATGCTGA TCTACGATTA CTAGCGATT CAGCTTCATA TAGTCGAGTT GCAGACTACA
181 ATCCGAAC TGAGCAACTT TATGGGATTT GCTTGACCTC GCGGTTTCGC TGCCCTTTGT
241 ATTGTCCATT GTAGCACGTG TGTAGCCCAA ATCATAAGGG GCATGATGAT TTGACGTCAT
301 CCCACCTTC CTCCGTTTG TCACCGGCAG TCAACTTAGA GTGCCAACT TAATGATGGC
361 AACTAAGCTT AAGGGTTGCG CTCGTTGCGG GACTTAACCC AACATCTCAC GACACGAGCT
421 GACGACAACC ATGCACCACC TGCTACTCTG TCCCCGAAG GGGAAAAC TATCTCTAGA
481 GGGGTCAGAG GATGTCAAGA TTTGGTAAGG TTCTTCGCGT TGCTTCGAAT TAAACCACAT
541 GCTCCACCGC TTGTGCGGGT CCCCGTCAAT TCCTTTGAGT TTCAACCTTG CGGTCGTA
601 CCCAGGCGG AGTGCTTAAT GCGTTAGCTG CAGCACTAAG GGGCGGAAAC CCCCTAACAC
661 TTAGCACTCA TCGTTTACGG CGTGGACTAC CAGGGTATCT AATCCTGTTT GATCCCCACG
721 CTTTCGCACA TCAGCGTCAG TTACAGACCA GAAAGTCGCC TTCGCCACTG GTGTTCTCC
781 ATATCTCTGC GCATTTACC GCTACACATG GAATTCCTACT TTCCTCTTCT GCACTCAAGT
841 TTTCCAGTTT CCAATGACCC TCCACGGTTG AGCCGTGGG TTTACATCA GACTTAAAAA
901 ACCGCCTACG CGCGCTTTAC GCCCAATAAT TCCGGATAAC GCTTGCCACC TACGTATTAC
961 CGCGCTGCT GGCACGTAGT TAGCCCTGGC TTTCTGATTA AGTACCGTCC AGACGTGCAT
1021 AGTACTTAC ACATTTGTTT TTCCTAATA ACAAAAGTTT ACGATCCGAG AACTTCATCA
1081 CTAAGCGGG CGTTGCTCCG TCAAGCTTTC CCCATTGCG GAAGATTCTT ACTGCTGCCT
1141 CCCGTAGGAA TTGGAAACGG GGGTCAGGTC CCGTGTGCCG AATCCCCCTC CCCGGTCGGC
1201 TACCCACCTT CCCCTGGTTA AGCGTTTCTT TCCAACAACA AAAAGGGGGG GGTCCCCTTA
1261 AAATTAAGA AACCCCTTTC TTTTAAACC GGGTGCCAAT TTTTCGTTTA CCCCGTTCC
1321 CCAATTTCC CCCCTATGAG GGTCTCTCCG GGTTTTACC CCCCCCCC CCCCAAGG
1381 AAGATTTTCA AGGGTGCGTT TTTTTTTTTT TCGGGGCCG GGGTTGGGG GCGTGGGGTA
1441 GAAATAAATA AAAAACATAA AAAAAAATA AAAAAAGTT TGTGCGTGC GCGTCTCCG
1501 TCCTTTGCG GTTGCTCTGT GCGTTAAGCT GCTCCGCCG CCTCTCCC

```

Şekil 4.4. *Staphylococcus epidermidis*'e ait sekans sonuçları

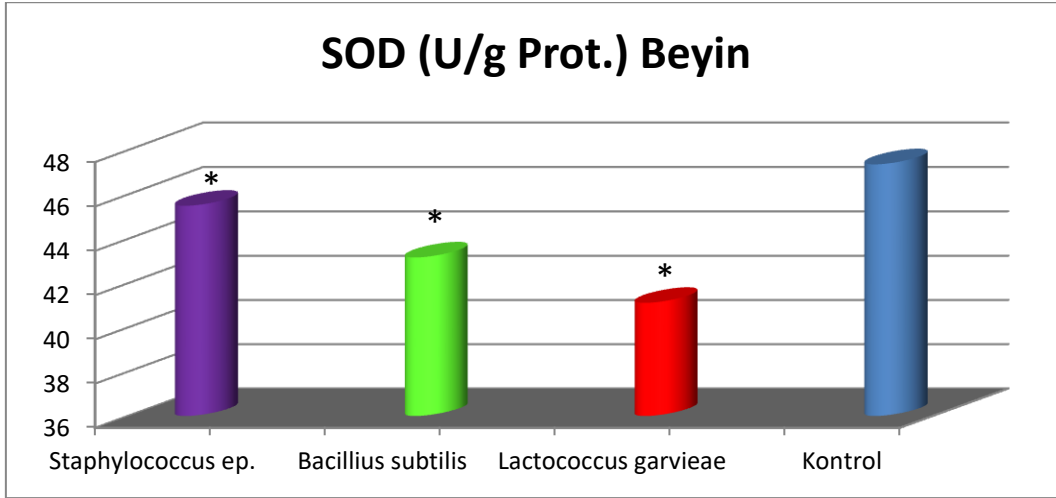
Nükleik asit dizisinin NCBI ve CLC web tabanlarında gerçekleştirilen Blast işlemi neticesinde izole edilen bakterilerin tamamının %100 oranında dizi örtüşmesinin olduğu görülmüştür.

Çalışmada Van'nın ilçelerinde bulunan beş farklı alabalık üretim çiftliğinden hasta oldukları gözlenen Gökkuşluğu alabalıkları (*Oncorhynchus mykiss*) alındı. Bakteri türleri tespit edilen alabalıkların beyin, karaciğer, böbrek ve kas dokularında SOD, CAT, GSH-Px, MDA ve 8-OHdG düzeyleri tespit edildi.

4.3. Antioksidan Aktivitelerinin Sonuçlar

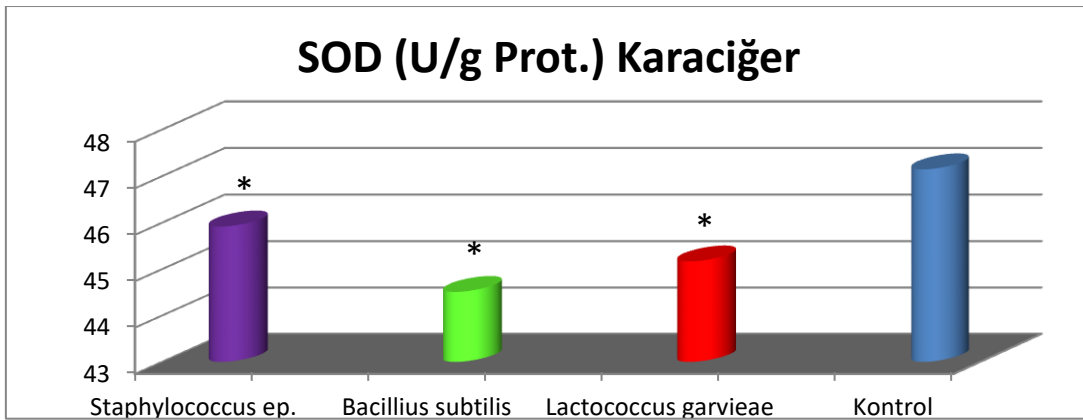
Serbest radikallere karşı ilk savunma sistemi olan antioksidan savunma sistemi enzimlerinin (SOD, CAT, GSH-Px) düzeyleri aşağıdaki gibidir.

4.3.1 SOD enzim aktivitesi sonuçları



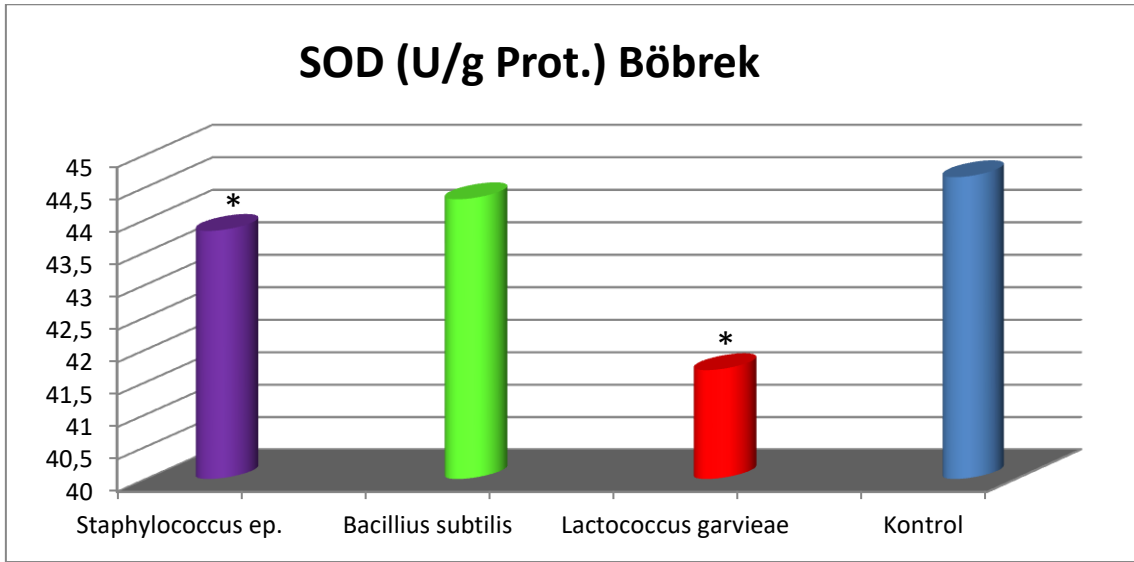
Şekil 4.5. Farklı bakterili Gökkuşacağı alabalıklarının beyin dokusu SOD aktivite düzeylerinin değişimi.

Şekil 4.5. incelendiğinde kontrol grubu balıklarının diğer bakterili balık grupları arasındaki SOD düzeyleri değişimi anlamlı bulunmuştur ($p < 0.05$). Bakterili balıkların beyin dokusu süperoksit dismutaz enzim aktivitesinin kontrol grubu balıklarına göre belirgin bir düzeyde düşüş gösterdiği tespit edilmiştir.



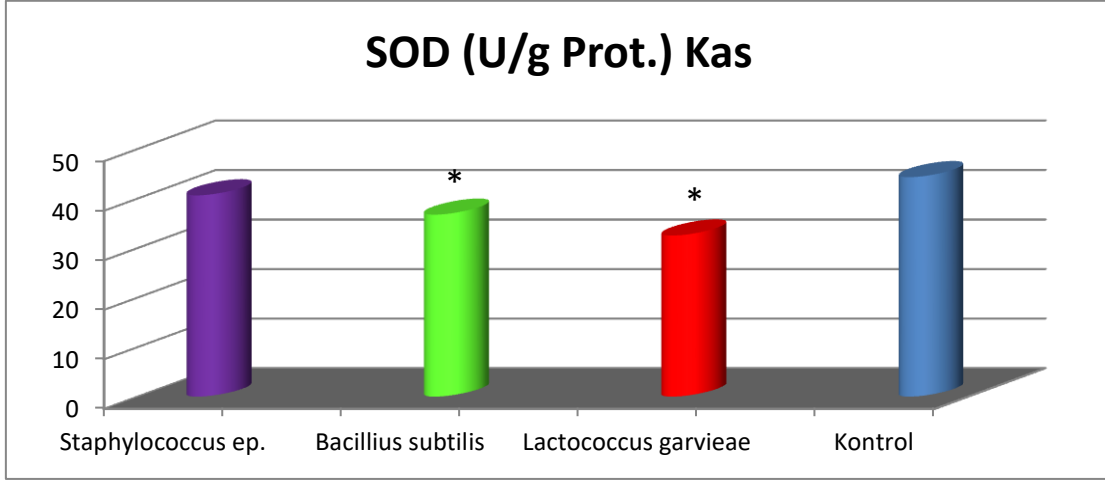
Şekil 4.6. Farklı bakterili Gökkuşacağı alabalıklarının karaciğer dokusu SOD aktivite düzeylerinin değişimi.

Şekil 4.6. incelendiğinde karaciğer dokusu SOD düzeyi kontrol grubu balıklarının diğer bakterili balık grupları arasındaki SOD düzeyleri ile olan değişimi istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$). Her üç bakteri türünde de karaciğer dokusu SOD enzim aktivitesinin oldukça belirgin bir düzeyde düşüş gösterdiği gözlenmiştir. *Bacillus subtilis* türü bakterili balıklarının karaciğer süperoksit dismutaz düzeyinin oldukça düşük seviyelere indiği tespit edilmiştir.



Şekil 4.7. Farklı bakterili Gökkuşluğu alabalıklarının böbrek dokusu SOD aktivite düzeylerinin değişimi.

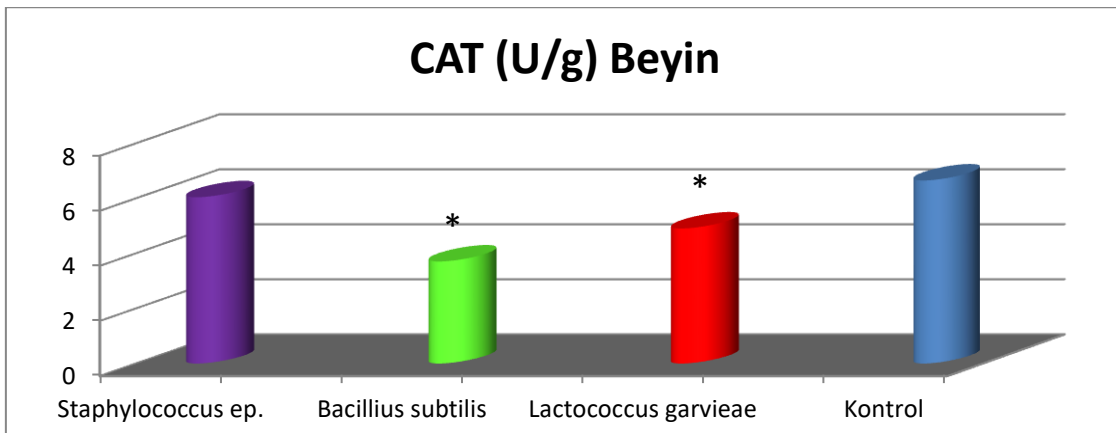
Bakterili balıkların böbrek dokusu süperoksit dismutaz düzeylerinin *Lactococcus garvieae* ve *Staphylococcus epidermidis* bakteri türünde kontrol grubuna göre anlamlı farklılıklar tespit edilmiştir ($p<0.05$). *Bacillus subtilis* bakteri türünde ise böbrek dokusu süperoksit dismutaz düzeyindeki azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (Şekil 4.7.) ($p<0.05$).



Şekil 4.8. Farklı bakterili Gökkuşacağı alabalıklarının böbrek dokusu SOD aktivite düzeylerinin değişimi.

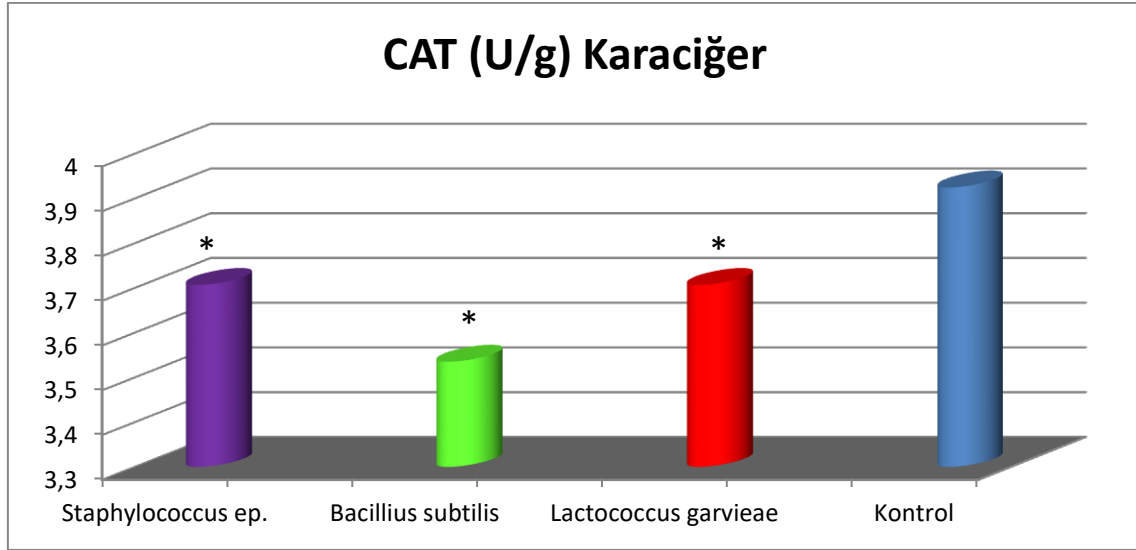
Lactococcus garvieae ve *Bacillus subtilis* bakterili balıkların kas dokusu süperoksit dismutaz düzeylerinin istatistiksel olarak anlamlı azalışlar gösterdikleri gözlenirken *Staphylococcus epidermidis* bakterisi türünde balıkların SOD düzeyindeki azalış kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlam ifade etmemektedir (Şekil 4.8.) ($p < 0.05$).

4.3.2. CAT enzim aktivitesi sonuçları



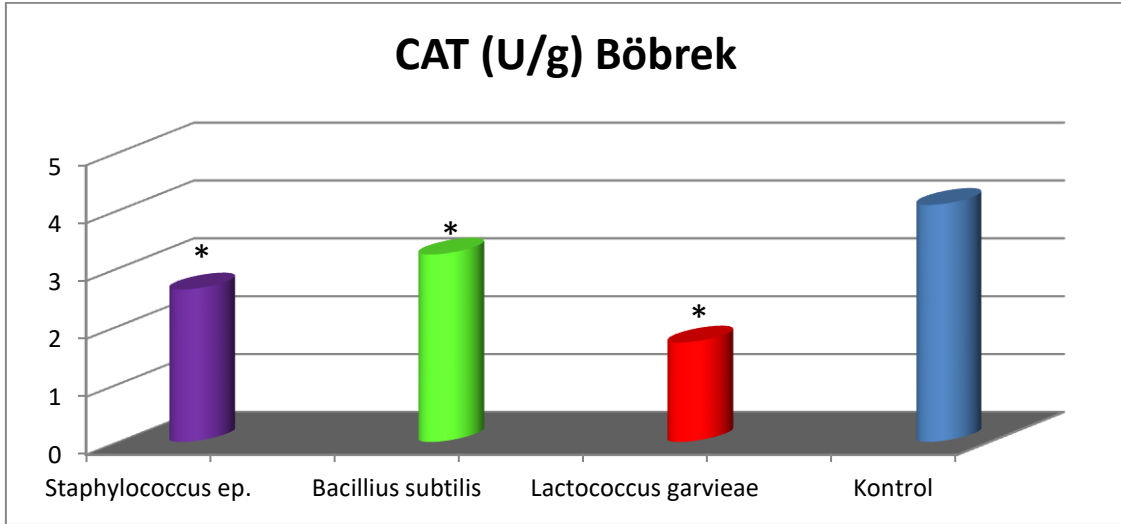
Şekil 4.9. Farklı bakterili Gökkuşacağı alabalıklarının beyin dokusu CAT aktivite düzeylerinin değişimi.

Şekil 4.9 incelendiğinde *Bacillus subtilis* ve *Lactococcus garvieae* bakterili balıkların beyin dokusu katalaz enzim düzeylerinin istatistiksel olarak anlamlı azalışlar gösterdikleri gözlenmiştir. *Staphylococcus epidermidis* bakterili balıkların beyin dokusu katalaz düzeyinin anlamlı bir değişim göstermediği tespit edilmiştir ($p<0.05$).



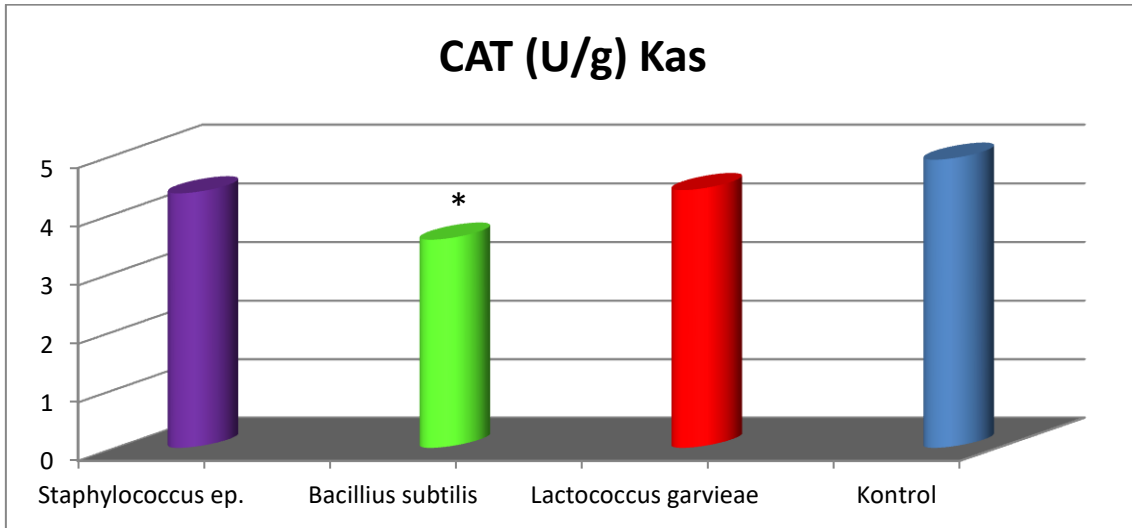
Şekil 4.10. Farklı bakterili Gökkuşuğu alabalıklarının karaciğer dokusu CAT aktivite düzeylerinin değişimi.

Her üç bakterili balık gruplarının karaciğer dokusu katalaz enzim düzeylerinin istatistiksel olarak anlamlı azalışlar gösterdiği tespit edilmiştir. Özellikle *Bacillus subtilis* bakterili balık grubunda değerlerin oldukça düşüş gösterdiği gözlenmiştir (Şekil 4.10.) ($p<0.05$).



Şekil 4.11. Farklı bakterili Gökkuşuğu alabalıklarının böbrek dokusu CAT aktivite düzeylerinin değişimi.

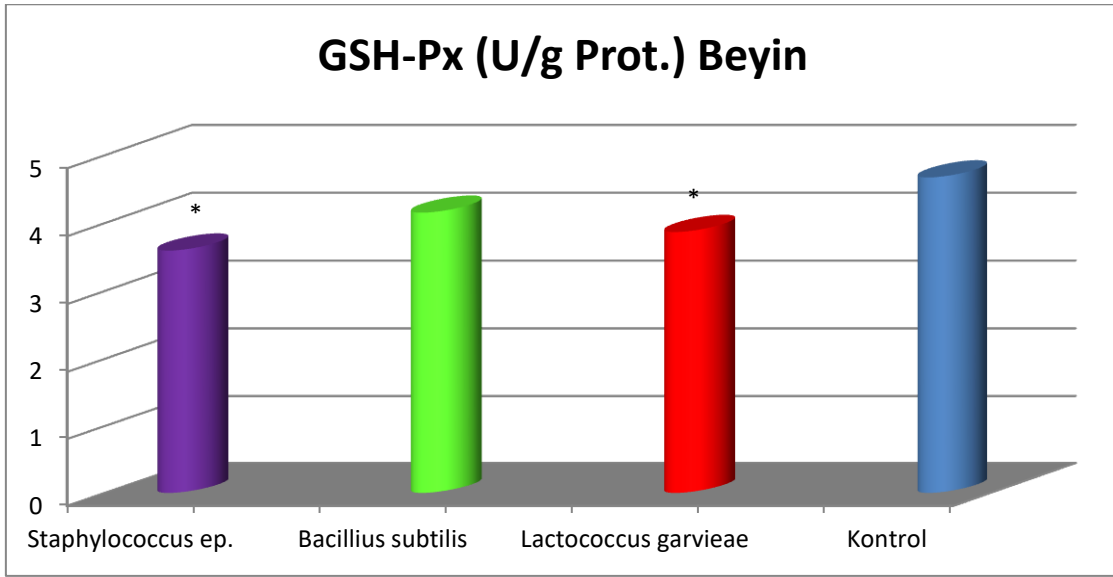
Şekil 4.11. incelendiğinde kontrol grubu alabalıklarının böbrek dokusu katalaz düzeyine göre bakterili alabalıkların böbrek dokusu katalaz düzeylerinin istatistiksel olarak anlamlı azalışlar gösterdiği bulunmuştur ($p<0.05$). *Lactococcus garvieae* bakterili alabalık grubunda bu azalış daha belirgin olarak gözlenmiştir.



Şekil 4.12. Farklı bakterili Gökkuşuğu alabalıklarının kas dokusu CAT aktivite düzeylerinin değişimi.

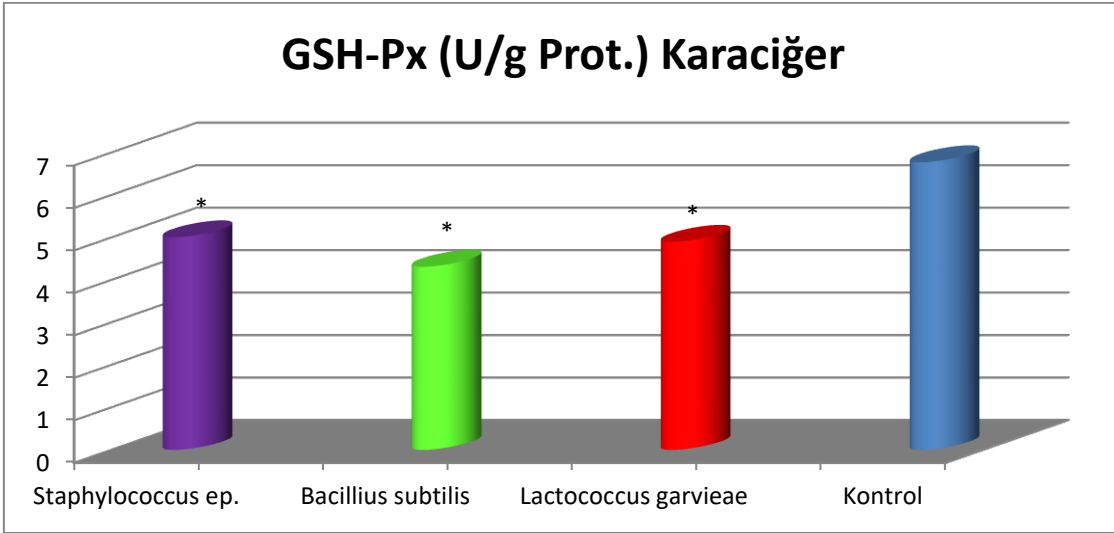
Bacillus subtilis bakterili alabalık grubunun kas dokusu katalaz düzeyinin istatistiksel olarak anlamlı azalış gösterdiği tespit edilmiştir. *Staphylococcus epidermidis* ve *Lactococcus garvieae* bakterili balık gruplarında ki değişim ise istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (Şekil 4.14.) ($p<0.05$).

4.3.3. GSH-Px enzim aktivitesi sonuçları



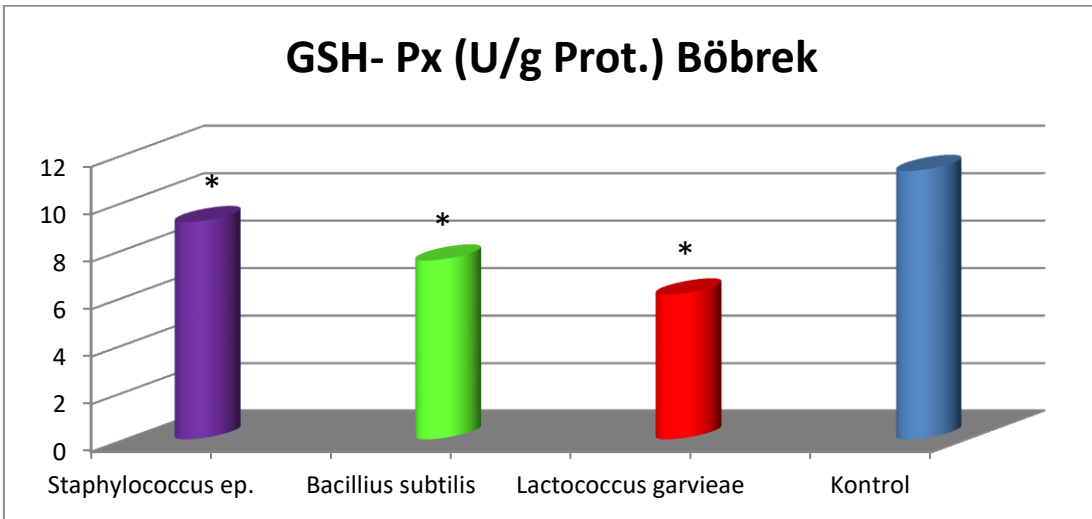
Şekil 4.13. Farklı bakterili Gökkuşaağı alabalıklarının beyin dokusu GSH-Px aktivite düzeylerinin değişimi

Şekil 4.13. incelendiğinde *Staphylococcus epidermidis* ve *Lactococcus garvieae* bakterili balıklarının beyin dokusu glutatyon peroksidaz düzeyinin kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı azalış gösterdiği tespit edilmiştir. *Bacillus subtilis* bakteri grubunda ise azalış gözlenmesine rağmen istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (Şekil 4.13.) ($p<0.05$).



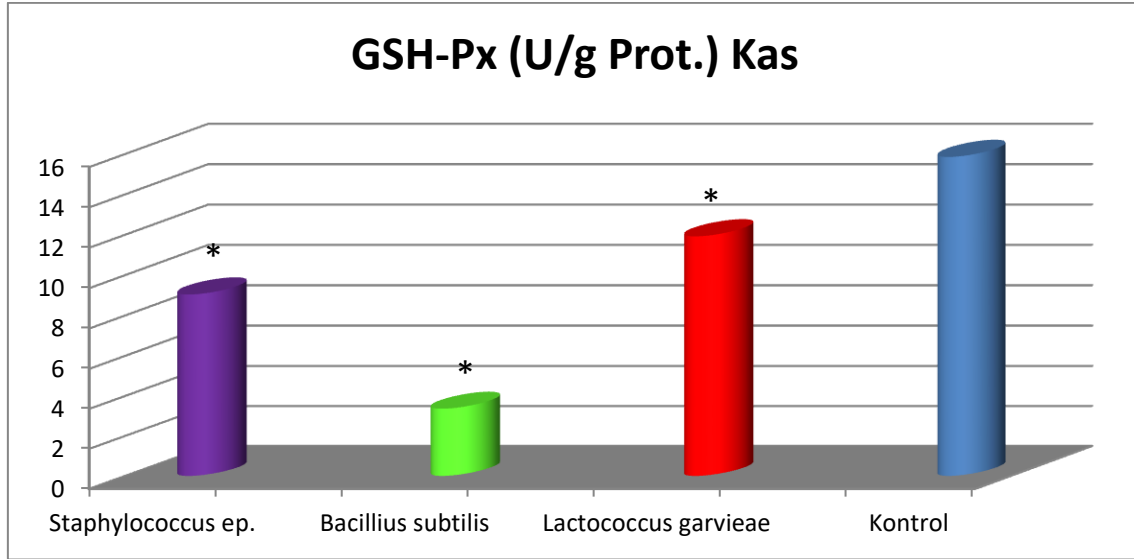
Şekil 4.14. Farklı bakterili Gökkuşuğu alabalıklarının karaciğer dokusu GSH-Px aktivite düzeylerinin değişimi

Her üç bakterili alabalık gruplarının karaciğer dokusu GSH-Px enzimi düzeyleri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar bulunmuştur. Özellikle *Bacillus subtilis* bakterisi grubunda daha belirgin bir azalış olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.14) ($p < 0.05$).



Şekil 4.15. Farklı bakterili Gökkuşuğu alabalıklarının böbrek dokusu GSH-Px aktivite düzeylerinin değişimi

Şekil 4.15 incelendiğinde her üç bakterili alabalık grubunun böbrek dokusu glutasyon peroksidaz düzeyinin kontrol grubuna göre istatistiksel olarak azalış gösterdiği tespit edilmiştir. *Lactococcus garvieae* bakterili grubun GSH-Px düzeyinin diğer gruplara oranla daha belirgin bir düzeyde azaldığı gözlenmiştir ($p<0.05$).

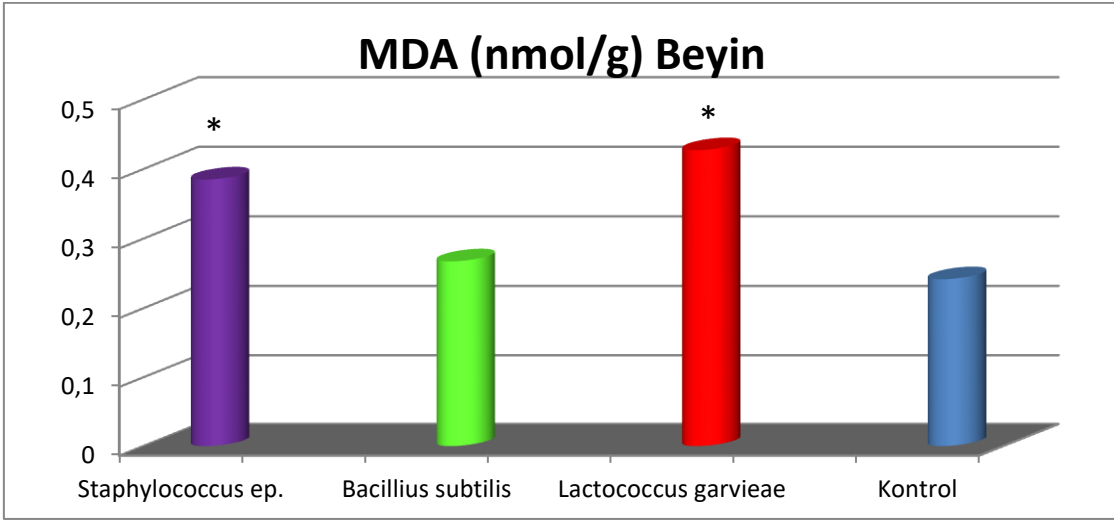


Şekil 4.16. Farklı bakterili Gökkuşaağı alabalıklarının kas dokusu GSH-Px aktivite düzeylerinin değişimi

Her üç bakterili alabalık grubu kas dokusu glutasyon peroksidaz düzeyi kontrol grubu göre istatistiksel olarak anlamlı azalış göstermiştir. *Bacillus subtilis* bakterili balık grubunda glutasyon peroksidaz düzeyi oldukça önemli seviyede azalış gösterdiği tespit edilmiştir (Şekil 4.16) ($p<0.05$).

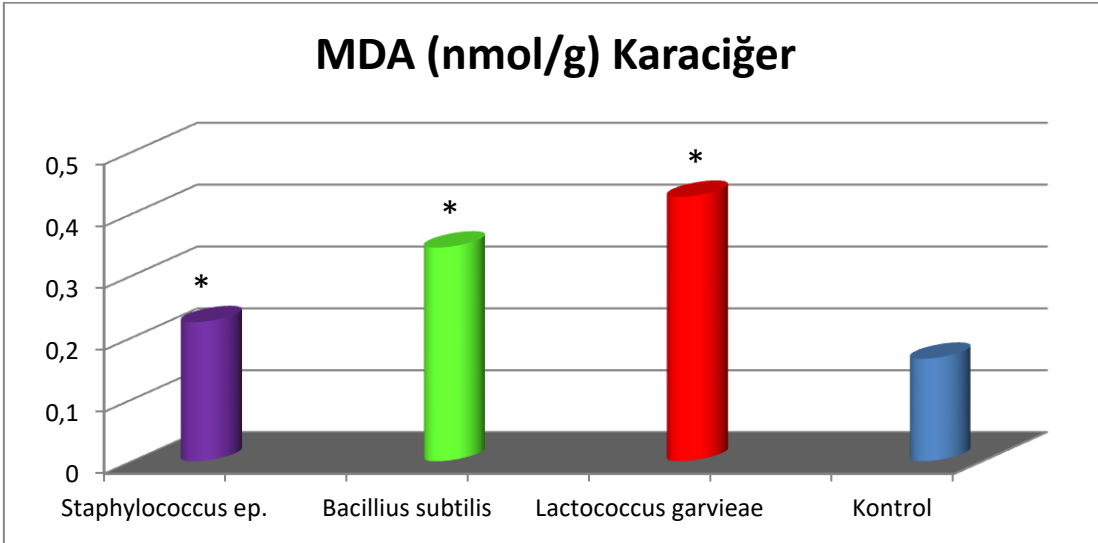
4.3.4. MDA sonuçları

Şekil 4.17 incelendiğinde lipitlerin okside olma oranını gösteren malondialdehit düzeyinin her grupta artış gösterdiği görülmektedir. Ancak sadece *Staphylococcus epidermidis* ve *Lactococcus garvieae* bakterili alabalıkların beyin dokusu malondialdehit düzeylerinin istatistiksel olarak anlamlı artış gösterdiği tespit edilmiştir ($p<0.05$).



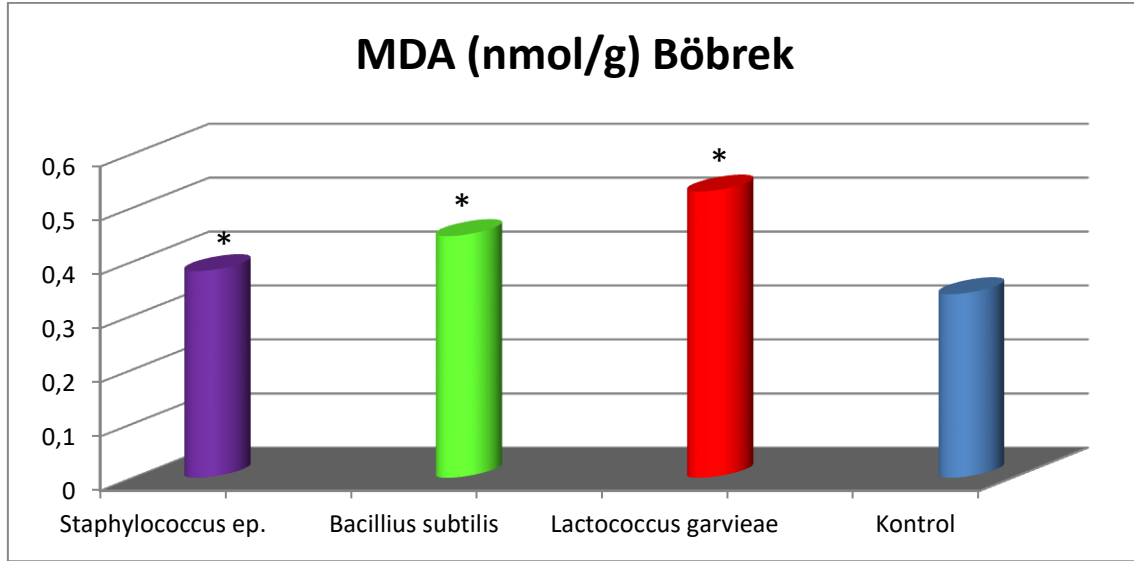
Şekil 4.17. Farklı bakterili Gökkuşacağı alabalıklarının beyin dokusu MDA düzeylerinin değişimi

Karaciğer malondialdehit düzeyi değişimi kontrol grubuna göre üç bakterili grupta da istatikselsel olarak anlamlı olacak düzeylerde artışlar göstermiştir. Özellikle *Lactococcus garvieae* bakterili grupta malon dialdehit düzeyinin oldukça yüksek seviyeler yükseldiği gözlenmiştir (Şekil 4.18) ($p < 0.05$).



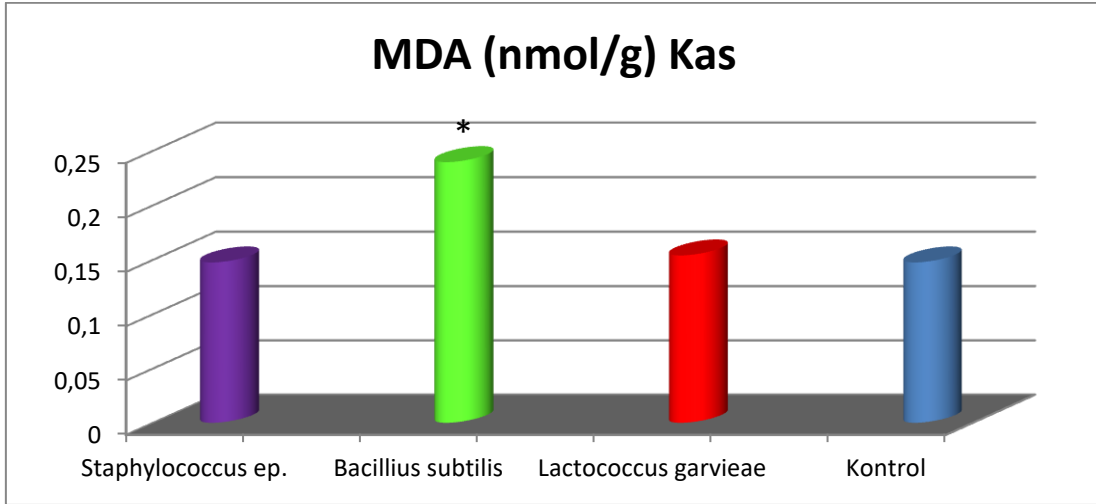
Şekil 4.18. Farklı bakterili Gökkuşacağı alabalıklarının karaciğer dokusu MDA düzeylerinin değişimi

Bakterili alabalıkların böbrek dokusu malondialdehit düzeyinin kontrol grubuna göre belirgin düzeyde artış gösterdiği ve bu artışın istatistiksel olarak da anlamlı olduğu bulunmuştur. Özellikle *Lactococcus garvieae* bakterili grubun malondialdehit düzeyin en yüksek seviyelerde seyrettiği tespit edilmiştir (Şekil 4.19) ($p<0.05$).



Şekil 4.19. Farklı bakterili Gökkuşluğu alabalıklarının böbrek dokusu MDA düzeylerinin değişimi

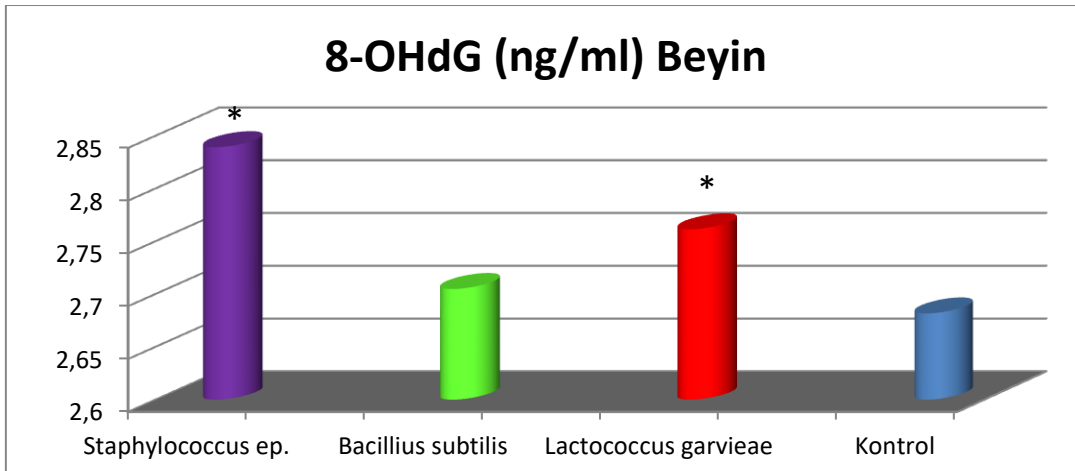
Şekil 4.20 incelendiğinde kas dokusu malondialdehit düzeyinin kontrol grubuna göre *Bacillus subtilis* bakterili alabalık grubunda istatistiksel olarak anlamlı seviyede olduğu belirlenmiştir ($p<0.05$). *Staphylococcus epidermidis* ve *Lactococcus garvieae* bakterili alabalıkların kas dokusu malondialdehit düzeyinin değişiminin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görülmüştür.



Şekil 4.20. Farklı bakterili Gökkuşaağı alabalıklarının kas dokusu MDA düzeylerinin değişimi

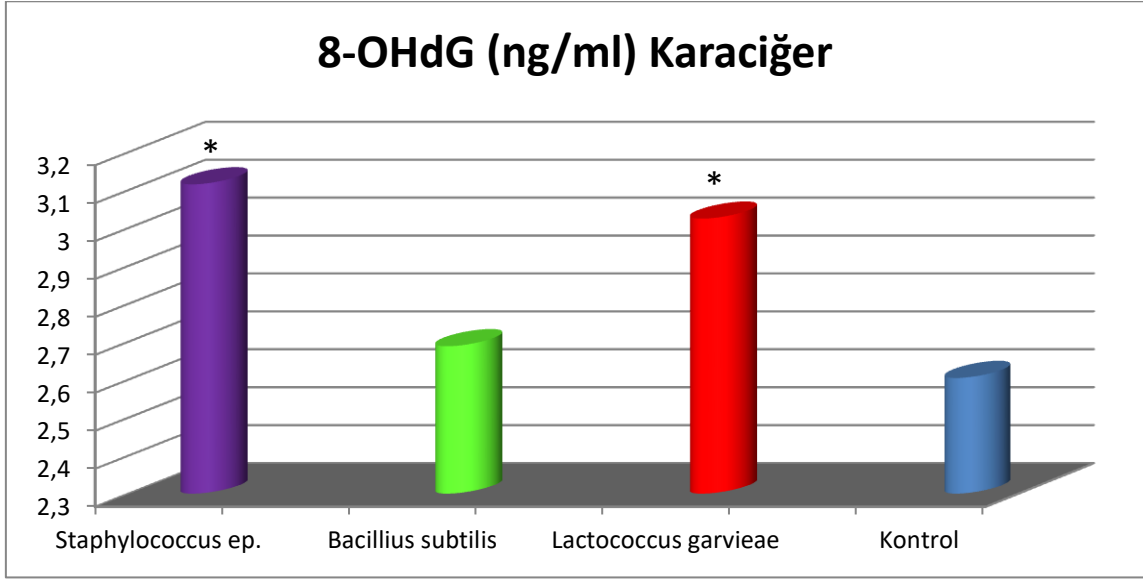
4.3.5. 8-OHdG sonuçları

Oksidasyonun ileri aşamalarında DNA zincirinde birtakım hasarlar oluşur 8-OHdG'de bu hasarların en belirgin ürünüdür. Çalışmamızda *Staphylococcus epidermidis* ve *Lactococcus garvieae* bakterili alabalıklarının beyin dokusu 8-OHdG düzeyinin istatistiksel olarak anlamlı bir artış gösterdiği görülmektedir (Şekil 4.21) ($p<0.05$).



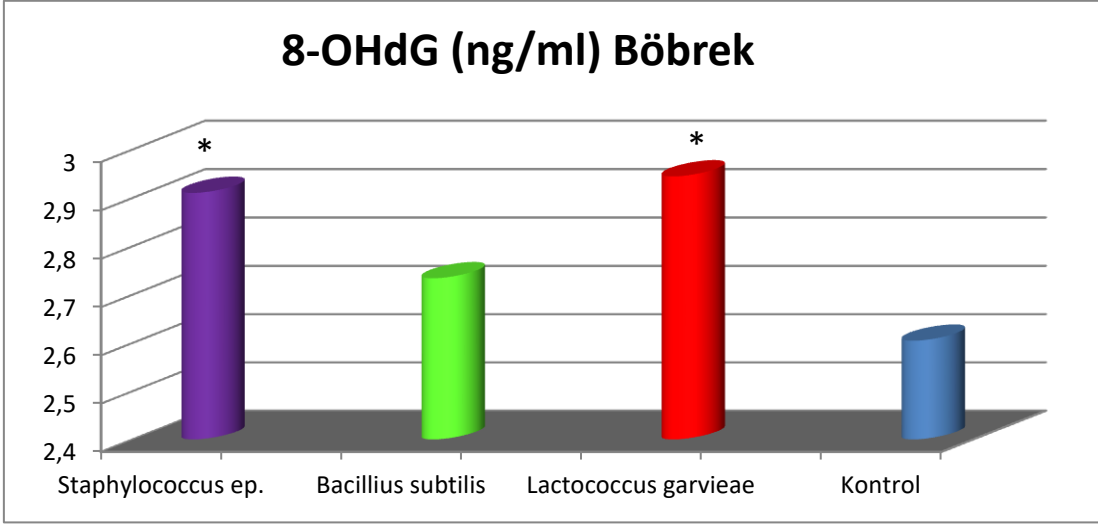
Şekil 4.21. Farklı bakterili Gökkuşaağı alabalıklarının beyin dokusu 8-OHdG düzeylerinin değişimi

Şekil 4.22 incelendiğinde *Staphylococcus epidermidis* ve *Lactococcus garvieae* bakterili alabalık gruplarının karaciğer dokusu 8-OHdG düzeylerinin kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı artış gösterdiği tespit edilmiştir ($p<0.05$). *Bacillus subtilis* bakterili alabalık grubunda ise artış olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.



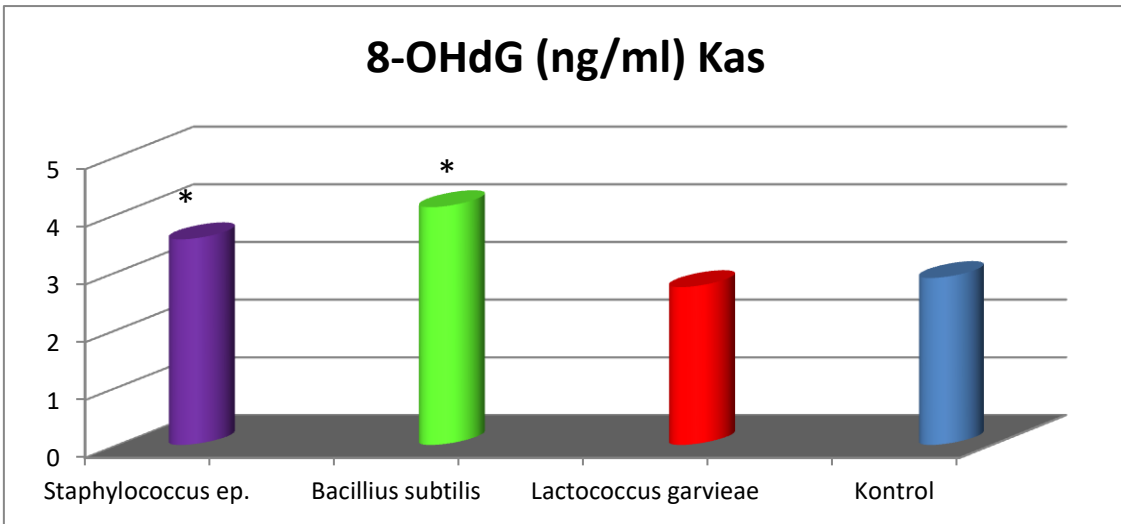
Şekil 4.22. Farklı bakterili Gökkuşuğu alabalıklarının karaciğer dokusu 8-OHdG düzeylerinin değişimi

Bakterili alabalıkların böbrek dokusu 8-OHdG düzeyindeki değişimler incelendiğinde yine *Staphylococcus epidermidis* ve *Lactococcus garvieae* bakterili alabalık gruplarının 8-OHdG düzeylerinin kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı artış gösterdiği bulunmuştur (Şekil 4.23) ($p<0.05$).



Şekil 4.23. Farklı bakterili Gökkuşacağı alabalıklarının böbrek dokusu 8-OHdG düzeylerinin değişimi

Şekil 4.24 incelendiğinde kas dokusu 8-OHdG düzeylerinin *Staphylococcus epidermidis* ve *Bacillus subtilis* bakterili alabalık gruplarında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı artış olduğu gözlenmiştir ($p < 0.05$). *Lactococcus garvieae* bakterili alabalık grubunda kas dokusu 8-OHdG düzeyi değişiminin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı tespit edilmiştir ($p < 0.05$).



Şekil 4.24. Farklı bakterili Gökkuşacağı alabalıklarının kas dokusu 8-OHdG düzeylerinin değişimi

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışma ile son yıllarda dünya geneli tüketilen ve önemi her geçen gün artan, protein kaynaklı besin öğelerinden olan Gökkuşuğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss Walbaum*)'nın farklı bakteriyel etkenlere maruz kalması sonucunda DNA hasarı, lipid peroksidasyonu ve antioksidan düzeylerindeki değişimler incelenmiştir. Balıklar Van'ın ilçelerinde bulunan beş farklı alabalık üretim çiftliğinden hasta olduğu gözlemlenen balıklar arasından seçilmiştir. Örnekleme yapılan balıkların PCR yöntemi ile çoğaltılan DNA'larının gen ekspresyonları yapılarak bakteri türleri tespit edilmiştir. Bu bakterili balıkların bazı dokularında antioksidan enzimleri (SOD, CAT, GSH-Px), Malondialdehit ve 8-OHdG düzeyleri ölçülerek elde edilen sonuçlar değerlendirilmiştir.

Türkiye'de tatlı su ve deniz balıklarındaki bakteri, virüs, parazitlerle ilgili yapılan çalışmalar incelendiğinde ilk olarak Monod 1931 yılında kupez balığından metazoon bir parazit olan *Ceratomyxa sp* (parazitik isopod)'yi tespit etmiştir. Daha sonra çeşitli araştırmacılar tarafından tatlı su, deniz ve çeşitli akvaryum balıklarının bakteri, virüs ve parazit faunalarının var olup olmadığı araştırılmıştır (Öktener, 2003). Balıklar, içerisinde buldukları ortam nedeniyle sürekli olarak mikroorganizmalarla temas halindedir. Bu nedenle bakteriyel hastalıklar, yoğun balık yetiştiriciliğinin yapıldığı çiftliklerde büyük ekonomik kayıplara neden olmaktadır (Tanrikul ve ark., 1997).

Aeromonas hydrophilla Vibrionaceae familyasına ait, fakültatif anaerobik gram negatif, çubuk şeklinde, özellikle su ortamlarında bulunan bir bakteridir. *Aeromonas hydrophilla* ile enfekte olan yavru Hint balıklarının (*Cirrhinus mrigala*) bağışıklık ve antioksidan savunma sistemlerinin araştırıldığı bir çalışma yapılmıştır. *Aeromonas hydrophilla* ile enfekte olan yavru balıkların SOD ve CAT düzeylerinin belirgin düzeylerde düşüş gösterdiği tespit edilmiştir (Kumar ve ark. 2018). Tarnecki ve ark. (2018) *Acinetobacter*, *Bacillus*, *Corynebacterium*, ve *Pseudomonas* bakterileri bulunduran İşkine balıklarını (*Sciaenops ocellatus*) tespit ederek bu balıkların antioksidan düzeyindeki değişimi incelemişlerdir. Çalışmada kan parametrelerinin ve antioksidan düzeylerinin (SOD 1.33, 0.84 U/mg) anlamlı azalış gösterdiği ifade edilmiştir. Çalışma sonucuna göre, kültür balıkçılığında bakteri enfeksiyonlarının balık

üretim verimini olumsuz etkileyen bir durum olduğu belirtilmiştir (Tarnecki ve ark. 2018). Yaptığımız çalışmada da her üç bakteri grubunda antioksidan enzim aktivite değerlerinin bu çalışmalar ile paralellik gösterdiği görülmüştür.

Birçok streptokok türü bakterilerin balıkların beyin ve sinir sisitemine yerleşerek onları enfekte ettiği ve bu balıkların beyin dokusu antioksidan enzimlerinin azalmasına sebep olduğu belirtilmiştir. Böylece balıkların beyin fonksiyonlarının zamanla yavaşlaması sonucu hareketlerinde de bir takım değişikliklerin ortaya çıktığı belirtilmiştir (Austin ve Austin, 1999, Eldar ve ark., 1999, Yanong ve Francis-Floyd, 2002). Sunulan çalışmanın beyin dokusundaki antioksidan enzimler ile MDA ve 8-OHdG düzeylerindeki değişimlerde bu durumu desteklemektedir.

Antioksidan enzimlerin karaciğerdeki aktivitesi izlendiğinde üç bakteri türünde de yoğun bir şekilde düşüş gözlenmektedir. Ancak *Bacillus subtilis* türü bakterili balıkların antioksidan enzimlerinin oldukça düşük seviyelerde gözlendiği, MDA ve 8-OHdG düzeylerinin ise arttığı tespit edilmiştir (Şekil 4.7). Bu duruma *Bacillus subtilis* bakterilerinin yerleştiği yerde çoğalması sürecinde oluşturdukları toksik maddelerin sebep olduğu düşünülebilir.

Streptococcus agalactiae ile enfekte olmuş Gümüş yayın balıklarının (*Rhamdia quelen*), ksantin oksidaz, reaktif oksijen türlerinin ve nitrik oksit düzeylerinin araştırıldığı bir çalışma yapılmıştır. Çalışmada reaktif oksijen türlerinin, ksantin oksidaz ve nitrik oksit düzeylerinin kontrol grubuna göre belirgin bir düzeyde artış gösterdiği tespit edilmiştir (Souza ve ark.,2017). Ayrıca gram-negatif bir bakteri olan *Aeromonas caviae*, balıklarda nadiren bulunan bir bakteri türüdür. Ancak enfekte olan balıklarda yüksek oranda ölüm görülmektedir. Bu bakteri ile enfekte olan Gümüş yayın balıklarının (*Rhamdia quelen*), böbrek dokusunda bu bakterinin varlığı PCR ile tespit edilmiştir. Daha sonra bu balıklarda sağlıklı balıklara göre antioksidan düzeylerinin değişimi ve Malondialdehit düzeyinin değişimi tespit edilmiştir. Çalışmada reaktif oksijen türlerinin karaciğer ve böbrek dokularında artış gösterdiği SOD, GSH-Px, ve GSH düzeylerinin karaciğer ve böbrek dokularında azaldığı tespit edilmiştir. Malondialdehit düzeyinin ise her iki dokuda da artış gösterdiği belirtilmiştir (Baldisseraa, ve ark., 2018). Çalışmamızda da bu makalelerle uyumlu olarak böbrek

dokusundan tespit edilen *Lactococcus garvieae* bakterisinin bu dokudaki antioksidan enzim düzeylerini azalttığı, MDA ve 8-OHdG düzeylerini ise artırdığı görülmüştür.

Süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz ve katalaz gibi enzimler strese karşı savunmanın ilk ve en önemli basamaklarıdır (Pandey et al. 2003). Çalışmada antioksidan enzim düzeylerinin bakterilerin türlerine ve yerleştikleri dokuların (solungaç, deri ve böbrek) özelliklerine göre farklı şekillerde yanıt verdiği görülmektedir.

Hücrelerdeki oksidasyonun ilerleyen aşamalarında, DNA zincirinde birtakım hasarlar meydana gelmektedir. Reaktif oksijen türleri DNA yapısında 20'den fazla baz türünde oksidatif hasar ürünü oluşmasına yol açmaktadır (Dizdaroğlu, 1998). Hasara uğrayan bazlar arasında, 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OHdG) oldukça duyarlı ve en sık karşılaşılan oksidatif DNA hasarı belirteçidir (De Martinis ve Bianchi, 2002). Japonya'da *Deinococcus grandis* bakterisini bulunduran balıklara radyasyon uygulanarak oluşan DNA hasarının araştırıldığı bir çalışma yapmıştır. Bakterili balıklarda kontrol grubuna göre daha fazla DNA hasarı olduğu belirlenmiştir (Satoh ve ark. 2016). Yaptığımız çalışmada, her üç bakteri türünün özellikle yerleştikleri doku üzerinde belirgin tahribatlara yol açtıkları ve bunun sonucu olarak hem lipid peroksidasyonunun hemde 8-OHdG düzeylerinin artış gösterdiği tespit edilmiştir. Bu durum çalışmamızın literatürdeki diğer çalışmalar ile uyumlu olduğunu göstermektedir.

Yapılan bu araştırma sonucuna göre; balıkların yaşam alanı, su kalitesi, balık yoğunluğu, su sıcaklığı ve havuzları besleyen kaynak suyunun özellikleri bazı bakteri türlerinin gelişimine yol açarak işletmelerde ekonomik kayıplara sebep olabilmektedir. Bu bakteri türleri, balık dokularında hızla çoğalarak balıklarda oksidatif stres meydana getirmektedir. Oluşan stres sonucu serbest radikallerin artmasıyla antioksidan aktivite düzeylerinin düştüğü, lipid peroksidasyonun ve 8-OHdG düzeylerinin arttığı gözlenmiştir. Bu bakterili balıkların insanlar ve diğer canlılar tarafından tüketilmesi durumunda ise bakterilerin canlılar arasında yayılmasına ve belkide zamanla daha dirençli bakteri türlerinin gelişmesine de sebep olacaktır. Bu nedenle balık yaşam alanlarının temizliğine su kaynaklarının ve yemlerinin kalitesine dikkat edilerek işletmeler için daha az canlı kaybı ve daha sağlıklı besin üretimi sağlanmaya

alışılmalıdır. Bu tez çalışması, daha sonra yapılacak ileri düzey araştırmalar için bir kaynak teşkil etmektedir.



KAYNAKLAR

- Abdullah, A.S., Vijculata, P., Sivarajasingam, S., Ragavan, K., 1987. Haematologic and growth response to prepartum administration of vitamin A in calves. *Growth*, **51**: 198-201.
- Aira, S., Kilal, K., Imanaka, A. 1983. Cloning and Expression of Thermostable α -amylase Gene from *Bacillus stearothermophilus* in *Bacillus stearothermophilus* and *Bacillus subtilis*. *Applied and Environmental Microbiology*, **46**:1059-1065.
- Akkuş, İ., 1995. *Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri*. Mimoza Yayınları, **38**(5) : 1-12.
- Aksoy, N., Vural, H., Sabuncu, T., Arslan, O., Şahin A., 2005. Beneficial effects of vitamins C and E against oxidative stress in diabetic rats. *Nutrition Research*, **25**: 625-630.
- Alpbaz, A., 2005, *Su Ürünleri Yetiştiriciliği, Genel Su Ürünleri Yetiştiriciliği*, Alp Yayınları, ISBN 975- 97056-1-3.
- Altun, S., Onuk, E.E., Ciftci, A., Duman, M., Büyükekiz, A.G. 2013. Determination of phenotypic, serotypic and genetic diversity and antibiotyping of *yersinia ruckeri* isolated from rainbow trout. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, **19**(2): 225-232.
- Ames, B. N., Shigenaga, M. K., Hagen, T. M., 1993. Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* **90**(17):7915-22.
- Anshary, H., Kurniawan, R.A., Sriwulan, S., Ramli, R., Baxa, D.V. 2014. Isolation and molecular identification of the etiological agents of streptococcosis in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) cultured in net cages in Lake Sentani, Papua, Indonesia. *Springerplus* **24**: 3, 627.
- Arda, M., 2000. **Temel mikrobiyoloji**. (Genişletilmiş İkinci Baskı). Ankara: Medisan Yayınevi Serisi. 558
- Arslan, A., Nazıroğlu, M., Gönülalan, Z., Sarıgöl, C., Aksakal, M., 1997. Farklı muhafaza sıcaklığı ve sürelerinin balık eti vitamin E miktarına etkisi. *Tr. J. of Veterinary and Animal Sciences*, **21**: 211-213.
- Austin, B., Austin, D.A. 1999. *Bacterial Fish Pathogens Disease of Farmed and Wild Fish*, Third (Revised) Edition, Praxis Publishing Chichester, U.K., 457
- Aydın, F. 2009. Salar *Linnaneus*, Salmo., *A.Ü. Alabalık Biyolojisi ve Yetiştirme Teknikleri*.
- Bacchetta, Carla, et al. 2016. Toxicological effects induced by silver nanoparticles in zebra fish (*danio rerio*) and in the bacteria communities living at their surface. *Bulletin of environmental contamination and toxicology* **97**: 456-462.
- Baek, G.W., Kim, J.H., Gomez, D.K., Park, S.C. 2006. Isolation and Characterization of *Streptococcus* sp. From Diseased Flounder (*Paralichthys olivaceous*) in Jeju Island. *J. Vet. Sci.*, **7**: 53–58.
- Bai, S.C., Gatlin, D.M., 1992. Dietary vitamin E concentration and duration of feeding affect tissue α -tokopherol concentrations of Channel Catfish (*Ictalurus punctatus*). *Aquaculture*, **113**: 130-135.

- Baldisseraa, M. D., Souzab, C. F., Santosa, R. C. V., Baldisserotto, B., 2018. *Streptococcus agalactiae* alters cerebral enzymes of phosphoryl transfer network in experimentally infected silver catfish: Impairment on brain energy homeostasis. *Aquacultur.* **489**: 105–109.
- Banudevi, S., Krishnamoorthy, G., Venkataraman, P., Vignesh, C., Aruldash, M.M., Arunakaron, J., 2006. Role of α -tocopherol on antioxidant status in liver, lung and kidney of CP exposed male albino rats. *Food and Chemical Toxicology*, **10**: 243-252.
- Bark, S., Mc Gregor, D., 2001. The First Occurrence of Lactococcosis in Farmed Trout in England. *Trout News*, **31**: 9–11.
- Barnes, A.C., Guyot, C., Hansen, B.G., Horne, M.T., Ellis, A.E. 2002. Antibody increases phagocytosis and killing of *Lactococcus garvieae* by rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, L.) macrophages. *Fish & Shellfish Immunol.* **12**:181–186
- Belton, D., 2002. Import risk assessment: juvenile yellowtail kingfish (*Seriola lalandii*) from Spencer Gulf aquaculture, South Australia. *NIWA Client Report* **1**:58.
- Bennik, M.M.J., Verheul, A., Abee T., Naaktgeboren G.-Stoffels, L. G. M. Gorris, E. J. Smid, *Appl. Environ. Microbiol.*, **63** (9): 3628-3636.
- Bera, D., Lahiri, D., Nag, A., 2005. Studies on a natural antioxidant for stabilization of edible oil and comparison with synthetic antioxidant. *Journal of Food Engineering*, **4**: 56-67.
- Beyatlı Y., Aslım B. ve Mumcu Z.N. 2005. *Doğada Parçalanabilen Termobiyoplastiklerin Üretimi*. Devlet Planlama Teşkilatı Projesi (DPT: 97K121150), 21-37, Ankara.
- Borazan-Özkurt, G., 2006. Balıklarda deniz kirliliğinin biyobelirteçleri. *Türk Veteriner Hekimler Birliği Dergisi*. **1-2**: 71–76.
- Bruno, D.W., Poppe, T.T. 1996. *A Colour Atlas of Salmonid Diseases*. Academic Press. 194 p. LONDON.2.
- Cann D.C., Taylor, L.Y. 1982. An outbreak of botulism in rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson, farmed in Britain. *J Fish Dis.* **5**: 393-399.
- Chang, R., Lockman, R., Goodwin, A., Ploveen, A., Dabrowski, K., 2004. Effect of dietary vitamin C and E on alternative complement activity hematology, tissue composition, vitamin concentration and response to heat stress in juvenile golden shiner (*Notemigonus crysoleucas*). *Aquaculture*, **242**: 533-569.
- Chen, S.C., Liaw, L.L., Su, H.Y., Ko, S.C., Wu, C.Y., Chaung, H.C. 2002. *Lactococcus garvieae*, a Cause of Disease in Grey mullet, *Mugil cephalus* L., in Taiwan. *J. Fish Dis.*, **25**: 727–732.
- Chong, R.S.M., Shinwari, M.W., Amigh, M. J., Aravena-Roman, M., Riley, T.V. 2015. First report of *Erysipelothrix rhusiopathiae*-associated septicaemia and histologic changes in cultured Australian eels, *Anguilla reinhardtii* (Steindachner, 1867) and *A. australis* (Richardson, 1841). *J Fish Dis.* **38**: 839-847.
- Collins, M.D., East, A.K., 1998. Phylogeny and taxonomy of the foodborne pathogen *Clostridium botulinum* and its neurotoxins. *J Appl Microbiol.* **84**: 5-17.
- Çağırğan, H., 1993. *Kültürü yapılan çipura ve levrek balıklarında görülen bakteriyel hastalıkların teşhis ve tedavileri*. Doktora Tezi. Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü İzmir.

- Çelikkale, M.S. 2002. *İç su balıkları yetiştiriciliği*, K.T.Ü. Sürmene Deniz Bilimleri Fakültesi, Trabzon.
- Çon, A. H., Gökalp, H. Y. 1997. *Gıda Mikrobiyolojisi*. Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Ders Notları Yayın no: 007, 23, Mühendislik Fakültesi Basım Ünitesi. Denizli.
- Dave, H., Ramakrishna, C., Desai, J.D. 1996. Production of polyhydroxybutyrate by petrochemical activated sludge and Bacillus sp. *IPCB-403. Ind. Jour. Exp. Bio.*, **34**: 216-219.
- Demirbağ, Z. Demir İ. 2005. *Genel Mikrobiyoloji Laboratuvarı Uygulama Kitabı*, KATÜ, FenEdebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Esen Matbaacılık, Trabzon, 126.
- De Martinis, B.S., Bianchi, D.L.P.M. 2002. Methodology for urinary 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine analysis by hplc with electrochemical detection. *Pharmacol Res*, **46** (2): 129-31
- Didinen, B.I., Yardımcı, B., Onuk, E.E., Metin, S., Yıldırım, P. 2014. Naturally Lactococcus garviae infection in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792): new histopathological observations, phenotypic and molecular identification, *Revue Med. Vet.*, **165**: 1-2, 12-19.
- Diler O, Altun S, Adiloglu AK, Kubilay A, Işıklı B, 2002. First Occurrence of Streptococcosis Affecting Farmed Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Turkey. *Bull. Eur. Ass. Fish Pathol.*, **22**: 21–25.
- Dizdaroglu, M. 1998. Facts about the artifacts in the measurement of oxidative DNA base damage by gas chromatography-mass spectrometry. *Free Radic Res*, **29** (6): 551-63
- Domenech, A., Prieta, J., Fernandez-Garayzaabal, J., Collins, M.D., Jones, D., Dominguez, L. 1993. Phenotypic and phylogenetic evidence for a close relationship between Lactococcus garviae and Enterococcus seriolicida. *Microbiologia (SEM)* **9**: 63–68.
- Dündar, Y., Aslan R., 1999. Hücre Moleküler Statüsünün Anlaşılması ve Fizyolojik Önem Açısından Radikaller, Antioksidanlar. *İnsizyon Cerrahi Tıp Bilim Dergisi*; **2**(2): 134-142.
- Ediz, N., Beyatlı, Y. 2005. Bacillus cinsi bakteriler tarafından biyoplastik üretimi. *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi*, **3**(5): 1-22.
- Eldar, A., Gorla, M., Ghittino, C., Zlotkin, A., Bercovier, H. 1999. Biodiversity of Lactococcus garviae strains isolated from fish in Europe, Asia, and Australia. *Appl Environ Microbiol*, **65**: 1005–1008.
- Elmastaş, M., Gülçin, İ., Işıldak, Ö., Küfrevioğlu, Ö.İ., İbaoglu, K., Aboul-Eneinc, H.Y. 2006. Radical scavenging activity and antioxidant capacity of bay leaf extracts. *Journal of Iranian Chemical society*, **3**(3): 258-266.
- Evans, J.J., Klesius, P.H., Pasnik, D.J., Bohnsack, J.F. 2009. Human Streptococcus agalactiae isolate in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Emerg Infect Dis*. **15**(5): 774-776.
- Eyngor M, Zlotkin A, Ghittino C, Prearo M, Douet DG, Chilmonczyk S Clonality and Diversity of the Fish Pathogen Lactococcus garviae in Mediterranean Countries. *Appl. Environ. Microbiol.*, **70**: 5132–5137, 2004.

- Femi-Ola, T.O., Azeez, I.I. 2013. "Purification and Characterization of Beta-Amylase of *Bacillus subtilis* Isolated from Kolanut Weevil", *Journal of Biology and Life Science*, **4**: 68-78.
- Filho, D. W., 2007. Reactive oxygen species, antioxidants and fish mitochondria. *Frontiers in Bioscience*, **12**,(1): 1229-1237.
- Flach, J., Plet, P.E., Jolles, P. 1992. What's the New in Chitinase Research?. *Experientia*, **48**: 701-716.
- Flohe, L. and Gunzler, W.A. (1984) *Assays of Glutathione Peroxidase*. Methods in Enzymology, 105, 114-121.
- Fox, F.P. 2003. Exogenous enzymes in dairy technology. *University Colage. Vol. 17 (3)*: 173-199. Cock, Ireland.
- Fukushima, H.C., Leal, C.A., Cavalcante, R.B., Figueiredo, H.C., Arijo, S., Moriñigo, M.A., Ishikawa, M., Borra, R.C., Ranzani-Paiva, M.J. 2017. Lactococcus garvieae outbreaks in Brazilian farms Lactococcosis in Pseudoplatystoma development of an autogenous vaccine as a control strategy. *J Fish Dis.* **40**(2): 263-272.
- Gálvez, A., Abriouel, H., López, R.L., Omar, N.B. 2007. *Int. J. Food Microbiol.*, **120**: 51-70.
- Gauthier, D.T. 2015. Bacterial zoonoses of fishes: a review and appraisal of evidence for linkages between fish and human infections. *Vet J.* **203**(1): 27-35.
- Gibello, A., Galan-Sanchez, F., Mar Blanco, M., Rodríguez-Iglesias, M., Domínguez, L., Fernandez-Garayzabal, J.F. 2016. The zoonotic potential of *Lactococcus garvieae*: An overview on microbiology, epidemiology, virulence factors and relationship with its presence in foods. *Res Vet Sci*; **109**: 59-70.
- Gül, M. 2010. *Hemşireler İçin Mikrobiyoloji*, Nobel Tıp Kitabevi Ltd. Şti., 168-170, İstanbul.
- Gümüştaş, K., Atukeren, P. 2008. *Oksidatif ve nitrozatif stresin psikiyatrik bozukluklar ile ilişkisi. İÜCerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri. Türkiye'de sık karşılaşılan psikiyatrik hastalıklar. Sempozyum Dizisi*; 62;329-340.
- Güven, S., Zorba, D.N.N., 2013. *Genel Mikrobiyoloji ve Laboratuvar Kılavuzu*. Nobel Akademik Yayıncılık Eğitim Danışmanlık,, Ankara.
- Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C., 1999. *Free Radicals in Biology and Medicine. 3rd ed.* Oxford University Press. Inc, London.
- Hamre, K., Christiansen, R., Wathne, E., Albrektsen, S. 2004. Antioksidant vitamins minerals and lipid levels in diets for Atlantic salmon (*Salmo salar*) : effects on growth performance and fillet quality. *Aquaculture Nutrition*, **10**: 113-123.
- Haznedaroğlu, T. 2007. Metisilin dirençli *S. aureus* (MRSA), korunma ve kontrol. GATA infeksiyon kontrol komitesi, [<http://www.gata.edu.tr/infkom/MRSA.pdf>].
- Hill C. Bacteriocins, 1995. *Natural Antimicrobials from Microorganisms: New Methods for Food Preservation*, Blackie Academic & Professional, London, 457p.
- Horst-Emme, W. 1990. *Forellenzucht. Verlag Paul Parey*. 157 s. Hamburg und Berlin.
- Hoseinifar, S.H., Dadar, M., Ringo, E., 2017. Modulation of nutrient digestibility and digestive enzyme activities in aquatic animals: The functional feed additives scenario. *Aquaculture Research*. 1-14.

- Huss, H.H., Eskildsen, U. 1974. Botulism in farmed trout caused by *Clostridium botulinum* type E; a preliminary report. *Nord Vet Med.* **26**: 733-738.
- Hyytia, E., Hielm, S., Björkroth, J., Korkeala, H., 1999. Biodiversity of *Clostridium botulinum* Type E Strains Isolated from fish and fishery products. *Appl Environ Microbiol.* **65**(5): 2057-2064.
- Kalaylı, E., Beyatlı, Y. 2005. *Bacillus* cinsi Bakterilerin Antimikrobiyal Aktiviteleri, PHB üretimleri ve Plazmid DNA'ları. *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi.* **01**(12): 24-35.
- Kawanishi, M., Yoshida, T., Yagashiro, S., Kijima, M., Yagyu, K., Nakai, T., Murakami, M., Morita, H., Suzuki, S. 2006. Differences between *Lactococcus garvieae* isolated from the genus *Seriola* in Japan and those isolated from other animals (trout, terrestrial animals from Europe) with regard to pathogenicity, phage susceptibility and genetic characterization. *J Appl Microbiol;* **101**(2): 496-504.
- Khoo, L.H., Goodwin, A.E., Wise, D.J., Holmes, W.E., Hanson, L.A., Steadman, J.M., Mc Intyre, L.M., Gaunt, P.S. 2011. The pathology associated with visceral toxicosis of catfish. *J Vet Diagn Invest.* **23**(6): 1217-1221.
- Kiraz, N. 1993. Koagülaz negatif stafilokokların slaym oluşumuna etkileri, *Türk Mikrobiol Cem Derg.* **23**: 219-225.
- Ksuda, R., Kawai, K., Salati, F., Banner, C.R., Fryer, L. 1991. *Enterococcus seriolicida* sp. Nov., a fish pathogen. *Int.J. Syst. Bacteriol., Vol. 41*: 406-409.
- Kurtoğlu, İ. Z., Çakmak, E. 2007. Karadeniz Bölgesi Kültür Balıkçılığı: Alabalık yetiştiriciliği. *SÜMAE YUNUS Araştırma Bülteni*, **7**:1.
- Leah, R., Tommerup, H., Svendse, N.I., Mundy, J. 1995. Biochemical and Molecular Characterisation Three barley Seed Proteins with Antifungal Properties, *Journal of Biological Chemistry*, **266**: 1564-1573.
- Lee, J., Koo, N., Min, D.B. 2004. Reactive oxygen species, aging, and antioxidative nutraceuticals. *Compherensive Reviews in Food Science and Technology*, **Vol. 3**: 21-33.
- Logan, N.A., Turnbull, P.C.B. 2002. *Bacillus and Recently Derived Genera*. In: PR Murray, Rogel Berkeley, Blackwell Science Ltd. Blackwell Publishing, 305.
- Lukaski, H.C., 2004. Vitamin and mineral status, effect on physical performance. *Nutrition*, **20**: 632-644.
- McLean, J.A., Karadas, F., Surai, P.F., McDevitt, R.M. and Speake, B.K., 2005. Lipid-soluble and water-soluble antioxidant activities of the avian intestinal mucosa at different sites along the intestinal tract. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B*, **141**: 366-372.
- Memişoğulları, R., 2005. Diyabette serbest radikallerin rolü ve antioksidanların etkisi. *Dicle Tıp Fakültesi Dergisi*, **3**: 30-39.
- Moeller, J., Robert, B., 2001, *Diseases of Fish*. California Animal Healt and Food Safety, California Press No:43, 34.
- Moraes, G., 2004. Metabolical responses in adaptation to stress in fish. *International Congress on the Biology of Fish, Brazil*, 47.
- Moslen, M.T. 1994. *Reactive Oxygen Species in Normal Physiology, Cell Injury and Phatogocytosis, Free Radicals in Diagnostic Medicine*, Ed. D Armstrong, 1-15, Plenum Press, New York.

- Munro, A. L. S. 1982. *The pathogenesis of bacterial diseases of fish*. in Microbial disease of fish (Ed) Roberts, R. J., Academic Press, London , 131 – 149.
- Muz, A., Sarıyüpoğlu, M., Ertuş H.B., Şimşek, A., 1995. Keban baraj gölünden yakalanan bazı balıkların serobik ve mikroaerofilik bakteriler yönünden incelenmesi. *Fırat Üniv Sağlık Bil Derg*, **9** (2): 212-219.
- Naik S. Bouladoux N. Linehan J.L. Han S.J. Harrison O.J. Wilhelm O. vd., 2015. Commensal Dendritic-Cell Interaction Specifies a Unique Protective Skin Immune Signature, *Nature*, **520**: 104–108.
- Nelson, M.C., Varney, J.S., Welch, T.J., Graf, J. 2016. Draft genome sequence of *Lactococcus garvieae* strain PAQ102015-99, an outbreak strain isolated from a commercial trout farm in the Northwestern United States. *Genome Announc* **4**: 4(4).
- Nemetz, T.G., Shotts, E.B. Jr: Zoonotic Disease Chapter 17. 1993. “*Stroskopfmle(Ed): Fish Medicine*” p.214, W.B. Saunders Company. Philadelphia, London.
- Nguyen, T.H., Park, M.D., Otto, M., 2017. Host Response to *Staphylococcus epidermidis* Colonization and Infections, *Front. Cell Infect. Microbiol.*, **7**, 90.
- Niki, E. 1987. Antioxidant in relation to lipid peroxidation. *Chem. Phy. Lipids*. **44**: 227-253.
- Novoslavskij, A., Terentjeva, M., Eizenberga, I., Valciņa, O., Bartkevičs, V., Bērziņš, A., 2016. Major foodborne pathogens in fish and fish products: a review. *Ann Microbiol.* **66**: 1-15.
- Osman, K.M., Al-Maary, K.S., Mubarak, A.S., Dawoud, T.M., Moussa, I.M.I., Ibrahim, M.D.S., Hessain, A.M., Orabi, A., Fawzy, N.M. 2017. Characterization and susceptibility of streptococci and enterococci isolated from Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) showing septicæmia in aquaculture and wild sites in Egypt. *BMC Vet Res* ;**25**: 13(1):357.
- Öktener, A. 2003. A checklist of metazoan parasites recorded in freshwater fish from *Turkey*. *Zootaxa*, **394**: 1-28.
- Öztürk, R.Ç., Altınok1, İ., 2014. Bacterial and Viral Fish Diseases in Turkey. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **14**: 275-297.
- Paglia, D.E., Valentine, W.N. 1967. Studies on the Quantitative and Qualitative Characterization of Erythrocyte Glutathione Peroxidase. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, **70**: 158-169.
- Palozzo, P., Serini, S., Nicuolo, F.D., Piccini, E., Calviello, G., 2003. Prooxidant effect of β -carotene in cultured cells. *Moleculer Aspects of Medicine*, **24**: 353- 362.
- Pandey, S., Parvez, S., Sayeed, I., Haque, R., Bin-Hafeez, B. And Raisuddin S., 2003. Biomarkers of oxidative stress: a comparative study of river Yamuna fish Wallago atto. *The Science of the Total Enviroment*, **309**: 105-115.
- Patrick, C.C. 1992. Role of *Staphylococcus epidermidis* slime layer in experimental tunnel tract infections. *Infect Immun.*, **60**: 1363-1367.
- Pham-Huy, L.A., He, H., Pham-Huy, C. 2008. Free Radicals, Antioxidants in Disease and Health. *Int J Biomed Sci.* **4**(2): 89-96.
- Pillay, T.V.R. 1995. *Aquaculture. Principles and Practices*. Fishing News Books. 417-419.

- Placer, Z.A., Cushman, L., Johnson, B.C. 1966. Estimation of products of lipid peroxidation (Malonyl dialdehyde) in biological fluids. *Analytical Biochemistry*, 16 (2): 359-364.
- Rao, H.V., Rao, L.G., 2007. Carotenoids and human health. *Pharalological Research*, 10: 1043-1168.
- Ravelo, C., Magariños, B., Romalde, J.L., Toranzo, A.E. 2001. Conventional versus miniaturized systems for the phenotypic characterization of *Lactococcus garvieae* strains. *Bull Eur Assoc Fish Pathol*, 21: 136-144.
- Reznick, A. Z., Packer L., Sen, C. K., Holloszy, J.O., Jackson, M. J., Eds. 1998. *Strategies to assess oxidative stress, In Skeletal Muscle, Birkhauser Verlag*, Basel, Switzerland, 43- 58.
- Roberts, R.J., Shepherd, C.J., 1997. *Handbook of Trout and Salmon Diseases, Third Ed.* Fishing News Books, Blackwell Science Ltd., Oxford, U.K. ISBN 0- 85238-244-8. 84.
- Satoh, K., Yoshino, J., Akamatsu, T., et al. 2016. Evidence-based clinical practice guidelines for peptic ulcer disease. *J Gastroenterol* ;51: 177- 94.
- Sanchez, T.P., Balcazar, J.L., Merrifield, D.L., Carnevali, O., Gioacchini, G., DeBlas, I., Zarzuela, I.R., 2011. Expression of immune-related genes in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) induced by probiotic bacteria during *Lactococcus garvieae* infection. *Fish & Shellfish Immunol*. 31: 196-201.
- Saxena, R.K. Dönmez, G., Takaç, S. 2007. “Isolation of Lipase Producing *Bacillus* sp. from Olive Mill Wastewater and Improving its Enzyme Activity”, *Journal of Hazardous Materials*, 149: 720-724.
- Schleifer, K.H., Kraus, J., Dvorak, C., Klipper-Bälz, R., Collins, M.D., Fisher, W. 1985. Transfer of *Streptococcus lactis* and related streptococci to genus *Lactococcus* gen. nov. *Systematic and Applied Microbiology*, 6: 183-195.
- Sen, S., Chakraborty, R. 2011. *The Role of Antioxidants in Human Health. American Chemical Society, Oxidative Stress: Diagnostics, Prevention and Therapy.* Chapter 1: 1-37.
- Seven, A., Candan, G. 1995. *Serbest Radikaller ve Lipid Peroksidasyonu*. Klinik Gelişim 8:3906-3911.
- Sevim, E.Ç., Sevim, A., Özgümüş, O. B. 2006. İçme sularından izole edilen *Bacillus* suşlarının identifikasyonu ve antibiyotiklere direnç profilleri. *Society* 36: 219.
- Shahi, N., Mallik, S.K., Sahoo, M., Chandra, S., Singh, A.K. 2018. First report on characterization and pathogenicity study of emerging *Lactococcus garvieae* infection in farmed rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), from India. *Transbound Emerg Dis*; 1-10.
- Shiau S.Y. and Hsu Y.C., 2002. Vitamin E sparing effect by dietary vitamin C in juvenile hybrid tilapia (*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*). *Aquaculture*, 210: 335-342.
- Shinde, A., Ganu, J., Naik, P. 2012. Effect of free radicals & Antioxidants on oxidative stress: A Review. *J Dent Allied Sci*. 1(2): 6366.
- Souza, C. F., Baldissera, M. D., Santos, R. C.V., Raffin, R. P., Baldisserotto B. 2017. Nanotechnology improves the therapeutic efficacy of *Melaleuca alternifolia* essential oil in experimentally infected *Rhamdia quelen* with *Pseudomonas aeruginosa*. *Aquaculture*. 473: 169-171.

- Stagsted, J. 2005. Absence of both glutathione peroxidase activity and glutathione in bovine milk. *International Dairy Journal*, Vol. 16: 662–668.
- Steffens, W. 1981. Moderne Fischwirtschaft. *Verlag J. Neumann-Neudamm*. 375, Melsungen . Berlin. Basel. Wien.
- Suzuki, K., Suzuki, M., Tayıyojı, M., Mikaidou, N., Watanabe, V. 1998. Chitin-binding protein (*Cbp21*) in the Culture Supernatant *Serratia marsescens* 2170, *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 62: 128-135.
- Şener, G., Yeğen, B. Ç. 2009. İskemi Reperfüzyon Hasarı. *Klinik Gelişim Dergisi*. 22: 5-13.
- Tandel, K., Bhatt, P., Ranjan, P., Rathi, K.R. 2017. Meningitis caused by *Lactococcus garvieae*. *Med J Armed Forces India*;73(1):94-96.
- Tanrıkul, T., Çağırğan, H., Tokşen, E. 1997. Bakteriyel Balık Hastalıkları. *Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü Dergisi*. 20: Bornova, 105- 27.
- Tarnecki, A. M., Rhody, N. R., Walsh, C.J., 2018. Health Characteristics and Blood Bacterial Assemblages of Healthy Captive Red Drum: Implications for Aquaculture and Fish HealthManagement. *Journal of Aquatic Animal Health*. 30: 339–353.
- Teixeira, L.M., Merquior, V.L.C., Vianni, M.C.E., Carvalho, M.G.S., Fracalanza, S.E.L., Steigerwalt, A.G., Brenner, D.J., Facklam, R.R. 1996. Phenotypic and genotypic characterization of atypical *Lactococcus garvieae* strains isolated from water buffalos with subclinical mastitis and confirmation of *L. garvieae* as a senior subjective synonym of *Enterococcus seriolicida*. *Int. J. Syst. Bacteriol*. 46: 664–668.
- Tejedor, J.L., Vela, A.I., Gibello, A., Casamayor, A., Domínguez, L., Fernandez-Garayzabal, J.F. 2011 A genetic comparison of pig, cow and trout isolates of *Lactococcus garvieae* by PFGE analysis. *Lett Appl Microbiol*;53(6): 614-619.
- Tekelioğlu, N. 2005. *İç Su Balıkları Yetiştiriciliği Bölümü, Alabalık Yetiştiriciliği*, Adana, 1-68, 2005.
- Tigin, Y., Burgu, A., Doğanay, A., Öge, S. 1992. Balık parazitleri. *Türk Parazitoloji Derg.* 16 (1): 103-119.
- TOB Tarım ve Orman Bakanlığı Yayınları 2019. <http://www.tarimorman.gov.tr/BSGM>
- Tomassen, J., Filloux, A., Bally, M., Murgier, M., Lazdunski, A. 1992. Protein Secretion In *Pseudomonas aeruginosa*”, *FEMS Microbiology Reviews*, 103: 73-90.
- Toranzo, A.E., Devesa, S., Heinen, P., Riaza, A., Núñez, S., Barja, J.L. 1994. Streptococcosis in cultured turbot caused by an *Enterococcus*-like bacterium. *Bull Eur Assoc Fish Pathol*. 14: 19-23.
- Tsai, M.A., Wang, P.C., Liaw, L.L., Yoshida, T., Chen, S.C. 2012. Comparison of genetic characteristics and pathogenicity of *Lactococcus garvieae* isolated from aquatic animals in Taiwan. *Dis Aquat Organ*, 102(1): 43-51.
- Türe, M., Altınok, I. 2016. Detection of putative virulence genes of *Lactococcus garvieae*. *Dis Aquat Org* , 119: 59-66.
- Vandana, S., Ram S., Ilavazhagan M., Kumar G.D. and Banerjee P.K., 2006, comparative cytoprotective activity of vitamin C, E and beta-carotene against chromium induced oxidative stress in murine macrophages. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 60: 71-76.

- Velioglu, S. 2000. *Doğal antioksidanların insan sağlığına etkileri*. Gıda. 25 (3): 167-176.
- Vendrell, D., Balcazar, J.L., Ruiz-Zarzuola, I., Blas, I., Girones, O., Muzquiz, J.L., 2006. Lactococcus garvieae in fish: A review. *Comp Immun Microbiol Infect Dis.* **29**: 177-198.
- Virtanen, T., Pihlanto, A., Akkanen, S., Korhonen, H. 2006. Development of antioxidant activity in milk whey during fermentation with lactic acid bacteria. *Journal of Applied Microbiology*, Vol **102**(1): 106-115.
- Yalçın, A.S. 1998. *Antioksidanlar*. Klinik Gelişim, 11:342-6.
- Yanong, R.P.E., Francis-Floyd, R. 2002. Streptococcal Infections of Fish. Circular FA057, Department of Fisheries and Aquatic Sciences, Florida Cooperative Extension Service, *Institute of Food and Agricultural Sciences*, University of Florida. <http://edis.ifas.ufl.edu/FA057> (03.07.2007).
- Yıldız, M., Şener, E., Gün, H. 2006. Effect of refrigerated storage on fillet lipid quality of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* W.) fed a diet containing different levels of DL α -tocophrol acetate. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, **30**: 143-150.
- Yılmaz, M., Beyatlı, Y. 2003. Biyoplastik: Poli- β -Hidroksibütirat (PHB). *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi*, **1**(9): 1-33.
- Yining, B., Wenbo, Z., Zheng, Z., Wang Z. 2011. Antioxidant property in vivo of cheese whey enzymatic hydrolysates. *The 5 th International Conference on Bioinformatics and Biomedical Engineering*. p:1-4 May 2011, Wuhan, China.
- Young, I.S., Woodside, J.V. 2001 *Antioxidants in Health and Disease*. J Clin Pathol.; **54**(3): 176-186.
- Yu, G.Y., Sinclair, J.B., Hartman, G.L., Bertagnolli, B.L. 2002. *Soil Biol. Biochem.* **34**: 955-963.
- Zhang, P., Omley, S.T., 2000. β -Carotene: Interactions with α -Tokoferol and Ascorbic Asid in Microsomal Lipid Peroxidation. *Journal of Nutritional Biochemistry*, **12**: 38-45.
- Zotta, T., Parente, E., Ricciardi, A. 2009. *World J. Microbiol Biotechnol*, **25**: 1119-1124.
- Xia, J.Q., Yason, C.V., Kibenge, F.S. 1995. Detection of bovine nepeevsue-t in the semen of experimentally infected bulls by dot-blot hybridisation, polymerase chain reaction and virus isolation. *Aes. Vet. Sci.* **59**: 2, 183- 165.
- Walton, R.N., Clemens, A., Chung, J., Moore, S., Wharton, D., Haydu, L., deVilla, E., Sanders, G., Bussey, J., Richardson, D., Austin, J.W. 2014. Outbreak of type E foodborne botulism linked to traditionally prepared salted fish in Ontario, Canada. *Foodborne Pathog Dis.* **11**(10): 830-834.
- Wang, J., Sasaki, T., Maehara, Y., Nakao, H., Tsuchiya, T., Miyoshi, S.I. 2008. Variation of extracellular proteases produced by *Vibrio vulnificus* clinical isolates: Genetic diversity of the metalloprotease gene (vvp), and serine protease secretion by vvp-negative strains. *Microb Pathog.* **44**: 494-500.
- Wang, C., Liu, Y., Sund, G., Lia, X., Liu, Z., 2019. Growth, immune response, antioxidant capability, and disease resistance of juvenile Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) fed *Bacillus velezensis* V4 and *Rhodotorula mucilaginosa* compound. *Aquaculture* **500**: 65-74.

- Weinstein, M.R., Litt, M., Kertesz, D.A., Wyper, P., Rose, D., Coulter, M., McGeer, A., Facklam, R., Ostach, C., Willey, B.M., Borczyk, A., Low, D.E. 1997. Invasive infections due to a fish pathogen, *Streptococcus iniae*. *N Engl J Med.* **337**: 589-94
- Willey, Joanne, M., Sherwood, L., Christopher, J., Woolverton. 2009. *Prescott'un Mikrobiyoloji Prensipleri* . McGraw-Hill Yüksek Öğrenimi.
- Woo, P.T.K., Bruno, D.W., 1999. *Viral, Bacterial and Fungal Infections*. Fish diseases and disorders. Vol. 3. Oxon. Cabi Publishing, 874p. United Kingdom.



ÖZ GEÇMİŞ

1990 yılında Van'da doğdu. İlk ve Orta öğretimini Van'da tamamladı. 2010 yılında Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Eğitim Fakültesi Fen Bilimleri Öğretmenliği Bölümü'ne başlayıp 2014 yılında mezun oldu. 2017 yılında Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'nde yüksek lisans öğrenimine başladı.



T.C
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
LİSANSÜSTÜ TEZ ORJİNALLİK RAPORU

Tarih: 23/01/2020

Tez Başlığı / Konusu:

FARKLI BAKTERİYEL HASTALIK ETKENLERİNE MARUZ KALMIŞ GÖKKUŞAĞI
ALABALIKLARINDA OLUŞAN DNA HASARI VE ANTIOKSİDAN DÜZEYLERİNDEKİ
DEĞİŞİMLERİN İNCELENMESİ

Yukarıda başlığı/konusu belirlenen tez çalışmamın Kapak sayfası, Giriş, Ana bölümler ve Sonuç bölümlerinden oluşan toplam "77" sayfalık kısmına ilişkin, 23/01/2020 tarihinde şahsım/tez danışmanım tarafından "Turnitin" intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtreleme uygulanarak alınmış olan orijinallik raporuna göre, tezimin benzerlik oranı % 7 (Yedi) dir.

Uygulanan filtreler aşağıda verilmiştir:

- Kabul ve onay sayfası hariç,
- Teşekkür hariç,
- İçindekiler hariç,
- Simge ve kısaltmalar hariç,
- Gereç ve yöntemler hariç,
- Kaynakça hariç,
- Alıntılar hariç,
- Tezden çıkan yayınlar hariç,
- 7 kelimededen daha az örtüşme içeren metin kısımları hariç (Limit inatch size to 7 words)

Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Lisansüstü Tez Orijinallik Raporu Alınması ve Kullanılmasına İlişkin Yönergeyi inceledim ve bu yönergede belirtilen azami benzerlik oranlarına göre tez çalışmamın herhangi bir intihal içermediğini; aksinin tespit edileceği muhtemel durumda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve yukarıda vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim.

Gereğini bilgilerinize arz ederim.

23.01.2020
Tarih ve İmza

Adı Soyadı: Fatih KURT

Öğrenci No: 169102029

Anabilim Dalı: Kimya

Programı: Biyokimya

Statüsü: Y. Lisans Doktora

DANIŞMAN ONAYI
UYGUNDUR

Doç. Dr. Aslı ÇİLİNGİR YELTEKİN

(Unvan, Ad Soyad, İmza)

ENSTİTÜ ONAYI
UYGUNDUR



(Unvan, Ad Soyad, İmza)