



ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
SU ÜRÜNLERİ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**TÜRKİYE SULARINDA YAKALANAN VE  
YETİŞTİRİCİLİĞİ YAPILAN LEVREKLERDE  
(*DICENTRARCHUS LABRAX* LINNAEUS, 1758)  
DİPLECTANİD TÜRLERİN (MONOGENEA,  
DİPLECTANIDAE) MOLEKÜLER  
KARAKTERİZASYONU**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Coşkun AYDIN**

**Samsun  
Temmuz-2018**





ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
SU ÜRÜNLERİ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**TÜRKİYE SULARINDA YAKALANAN VE  
YETİŞTİRİCİLİĞİ YAPILAN LEVREKLERDE  
(*DICENTRARCHUS LABRAX* LINNAEUS, 1758)  
DİPLECTANİD TÜRLERİN (MONOGENEA,  
DİPLECTANIDAE) MOLEKÜLER  
KARAKTERİZASYONU**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Coşkun AYDIN**

**Danışman  
Doç. Dr. Gökmen Zafer PEKMEZCİ  
Samsun  
Temmuz-2018**

T.C.  
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Veteriner Hekim Coşkun AYDIN tarafından Doç. Dr. Gökmen Zafer PEKMEZCİ danışmanlığında hazırlanan “TÜRKİYE SULARINDA YAKALANAN VE YETİŞTİRİCİLİĞİ YAPILAN LEVREKLERDE (*DICENTRARCHUS LABRAX* LINNAEUS, 1758) *DIPLECTANİD* TÜRLERİN (*MONOGENEA, DIPLECTANIDAE*) MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONU” başlıklı bu çalışma jürimiz tarafından 16/07/2018 tarihinde yapılan sınav ile Su Ürünleri Hastalıkları Anabilim Dalında (Veteriner) YÜKSEK LİSANS Tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan: **Prof. Dr. Alparslan YILDIRIM**  
Erciyes Üniversitesi

Üye: **Doç. Dr. Gökmen Zafer PEKMEZCİ** (Danışman)  
Ondokuz Mayıs Üniversitesi

Üye: **Doç. Dr. Banu YARDIMCI**  
Ondokuz Mayıs Üniversitesi

ONAY

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen ve yukarıda adları yazılı jüri üyeleri tarafından uygun görülmüştür.

... / ... / ...

**Prof. Dr. Ahmet UZUN**  
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

## TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans eğitimim ve tez çalışmalarım süresince ilgi ve desteğini esirgemeyen, tez konusunun seçilmesinde ve çalışmalarım yürütülmesinde büyük katkısını gördüğüm tez danışmanım Sayın Doç. Dr. Gökmen Zafer PEKMEZCİ'ye, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Su Ürünleri Hastalıkları Anabilim Dalı'nın değerli öğretim üyeleri Prof. Dr. Belgin SIRIKEN, Doç. Dr. Ertan Emek ONUK, Doç. Dr. Banu YARDIMCI'ya destekleri için teşekkür ederim. Ayrıca her konuda desteğini esirgemeyen annem Emine AYDIN ve eşim Tünay AYDIN'a sonsuz teşekkür ederim.

Bu çalışma, Ondokuz Mayıs Üniversitesi tarafından PYO.VET.1904.17.007 proje numarası ile desteklenmiştir.



## ÖZET

### TÜRKİYE SULARINDA YAKALANAN VE YETİŞTİRİCİLİĞİ YAPILAN LEVREKLERDE (*DICENTRARCHUS LABRAX* LINNAEUS, 1758) DİPLECTANİD TÜRLERİN (MONOGENEA, DİPLECTANİDAE) MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONU

**Amaç:** Bu araştırmada ilk kez ülkemiz karasularında avlanan ve yetiştirilen levreklerin (*Dicentrarchus labrax*) solungaçlarını enfekte eden diplectanid türlerin (Monogenea, Diplectanidae) moleküler identifikasyonu ve filogenetik ilişkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

**Materyal ve Metot:** Karadeniz ve Ege Denizi'nde avlanan ve yetiştirilen toplam 40 adet levreğin parazitolojik muayenesi yapıldı. Levreklerin solungaçlarından izole edilen diplectanidlerin morfolojik identifikasyonu yapıldı. Morfolojik olarak teşhis edilen izolatların (GZP-1-5) moleküler identifikasyonları ve karakterizasyonu için 28S ribozomal RNA (rRNA) ile 18S rRNA-ITS-1 gen bölgeleri spesifik primerler ile çoğaltıldı. PZR analizleri sonrasında diplectanid türe ait izolatların aynı primerler ile DNA dizi analizleri yapıldı. Elde edilen sekansların filogenetik ağacı Maximum Likelihood metodu ile oluşturuldu.

**Bulgular:** Parazitolojik incelemeler sonucunda levreklerin solungaçlarında *Diplectanum aequans* (Wagener, 1857) türü teşhis edildi. Türkiye karasularında yetiştirilen ve avlanan levreklerde *D. aequans*'in enfeksiyon oranı %100, enfeksiyon yoğunluğu 15,10 olarak tespit edildi. GZP-1 izolatının (MH400167) 18S rRNA-ITS-1 gen bölgesinin Fransa (AJ276439) ve İtalya'dan (AM943816) izole edilen *D. aequans* türü ile %100 identik olduğu saptandı. Bununla birlikte 28S rRNA gen bölgesi yönünden GZP-1 izolatı (MH400186) ile diğer *Diplectanum* türleri arasında genetik uzaklık % 21,2-30 olarak saptandı.

**Sonuç:** Bu tez çalışması ile dünyada ilk kez *D. aequans* türüne ait GZP-1 izolatının 28S rRNA gen bölgesi moleküler olarak karakterize edilerek MH400186 erişim numarası ile Genbank veri tabanına kayıt edildi. Aynı zamanda ülkemize ait GZP-1 izolatının 18S rRNA-ITS-1 gen bölgesinin moleküler karakterizasyonu ilk kez yapılarak MH400167 erişim numarası ile Genbank veri kaydı yapıldı.

**Anahtar Kelimeler:** *Diplectanum aequans*; DNA dizi analizi; Levrek (*Dicentrarchus labrax*); PZR; 18SrRNA ve ITS-1; 28S rRNA

Coşkun AYDIN, Yüksek Lisans Tezi  
Ondokuz Mayıs Üniversitesi - Samsun, Temmuz - 2018

## ABSTRACT

### MOLECULAR CHARACTERIZATION OF DIPLECTANID SPECIES IN SEA BASS (*DICENTRARCHUS LABRAX* LINNAEUS, 1758) REARED AND CAPTURED OFF TURKISH WATERS

**Aim:** It is aimed to molecularly identify and determine the phylogenetic relations of diplectanid species (Monogenea, Diplectanidae) that infects the gills of the sea bass' (*Dicentrarchus labrax*) that captured and reared in our territorial waters for the first time within the present study.

**Materials and Methods:** At a total of 40 sea bass that captured and reared in the Black and Aegean Sea were parasitologically examined. Molecular identification was carried out the diplectanids that isolated from the gills of the sea bass. 28S ribosomal RNA (rRNA) and 18S rRNA-ITS-1 gene regions were amplified with the specific primers for molecular identification and characterization of the morphologically identified isolates (GZP-1-5). DNA sequencing was made with the same primers of the isolates belong to diplectanid species after PCR analyzes. Phylogenetic tree was conducted by the Maximum Likelihood method of the obtained sequence analyzes.

**Results:** *Diplectanum aequans* (Wagener, 1857) species were identified within the parasitological examinations of sea bass' gills. The prevalence of the *D. aequans* as 100%, and intensity as 15.10 were detected in the sea bass that reared and captured in the Turkish territorial waters. The 18S rRNA-ITS-1 gene region of the GZP-1 isolate (MH400167) was found 100% identical with the French (AJ276439) and Italian (AM943816) isolates collected from *D. aequans* species. Moreover, pairwise distance of the GZP-1 isolate (MH400186) from the other *Diplectanum* species for the 28S rRNA gene region detected as 21.2-30%.

**Conclusion:** Within this thesis research the 28S rRNA gene region of the GZP-1 isolate belongs to the *D. aequans* species was molecularly characterized for the first time in the World and submitted to the GenBank with an MH400167 accession number. At the same time, the 18S rRNA-ITS-1 gene region of the GZP-1 isolate that belong to our country were molecularly characterized for the first time and submitted to the GenBank with an MH400167 accession number.

**Keywords:** *Diplectanum aequans*; DNA sequencing; Sea bass (*Dicentrarchus labrax*); PCR; 18SrRNA-ITS-1; 28S rRNA

## SİMGELER VE KISALTMALAR

<b>°C</b>	: Santigrat derece
<b>m</b>	: Metre
<b>mm</b>	: Milimetre
<b>µm</b>	: Mikrometre
<b>%</b>	: Yüzde
<b>mg/l</b>	: Miligram/litre
<b>ppm</b>	: Milyonda bir
<b>mg/kg</b>	: Miligram/kilogram
<b>PZR</b>	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
<b>AIC</b>	: Akaike Bilgi Ölçütü
<b>ML</b>	: Maximum Likelihood



## İÇİNDEKİLER

ÖZET .....	iv
ABSTRACT .....	v
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	vi
İÇİNDEKİLER.....	vii
<b>1. GİRİŞ.....</b>	<b>1</b>
<b>2. GENEL BİLGİLER .....</b>	<b>3</b>
2.1. Türkiye’de Su Ürünleri Üretimi .....	3
2.2. Avrupa Deniz Levreğinin ( <i>Dicentrarchus labrax</i> ) Biyolojik Özellikleri.....	4
2.3. Balık Parazitlerinin Önemi .....	5
2.4. Balıklarda Trematodların Genel Özellikleri .....	6
2.5. Diplectanid Trematodların Genel Özellikleri .....	7
2.6. Türkiye’de <i>Diplectanum aequans</i> ile İlgili Kayıtlar.....	11
2.7. Dünya’da <i>Diplectanum aequans</i> ile İlgili Kayıtlar.....	12
2.8. <i>Diplectanum aequans</i> ’ın Tedavi Denemeleri .....	13
<b>3. MATERYAL VE METOT .....</b>	<b>14</b>
3.1. Materyal.....	14
3.1.1. Levreklerin ( <i>Dicentrarchus labrax</i> ) satın alınması .....	14
3.2. Metot.....	14
3.2.1. Levreklerin ( <i>Dicentrarchus labrax</i> ) Parazitolojik Muayenesi .....	14
3.2.2. Diplectanid Türün PZR ve Filogenetik Analizleri .....	15
<b>4. BULGULAR .....</b>	<b>17</b>
4.1. Levreklerin Parazitolojik Muayene Sonuçları .....	17
4.2. Diplectanid Türün Moleküler Analiz Sonuçları .....	20
4.2.1. 28S rRNA ile 18S rRNA-ITS-1 Gen Bölgesinin Amplifikasyon Sonuçları .....	20
4.2.2. 28S rRNA ile 18S rRNA-ITS-1 Gen Bölgesinin DNA Dizi Analizi ve Filogenetik Analiz Sonuçları.....	22
<b>5. TARTIŞMA .....</b>	<b>32</b>
<b>6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....</b>	<b>37</b>
<b>KAYNAKLAR.....</b>	<b>38</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>44</b>

## 1. GİRİŞ

Su ürünleri içerisinde tatlı su ve deniz balıklarında karşılaşılan en önemli sorunlardan birisi de paraziter hastalıklar ve parazitlerin doğrudan konak canlı üzerinde oluşturdukları etkilerdir. Balık parazitleri ile doğal koşullarda yaşayan ve kültüre edilen balık popülasyonlarında sıklıkla karşılaşılır. Doğal koşullarda balık parazitleri popülasyon büyüklüğünü fark edilebilir derecede etkileyen ölümlere ve konaklarında ciddi hasarlara neden olmazlar. Ancak yetiştiricilik ortamında yoğun stres altında kalan balıklar paraziter enfeksiyonlara karşı yeterince direnç gösteremezler. Ülkemiz karasularında Avrupa deniz levreği (*Dicentrarchus labrax* Linnaeus, 1758) hem avcılık yolu ile hem de kafes sistemlerinde yetiştirilerek insan tüketimine sunulan en değerli ticari balıklardan biridir. Kaliteli ve lezzetli ete sahip olan levrek ülkemiz ve uluslararası pazarlarda tercih edilmesi sebebiyle de ekonomik değer taşımaktadır. Levreklerde özellikle solungaçlara yerleşim gösteren Diplectanidae ailesindeki monogenik trematodlar konaklarında ciddi anlamda hasarlara neden olmaktadır. Levreklerin (*D. labrax*) solungaçlarını enfekte eden iki diplectanid türü bilinmektedir. Bu türler *Diplectanum aequans* Wagener, 1857 ve *D. laubieri* Lambert and Maillard, 1974 türleridir. Ülkemizde deniz levreklerinde diplectanid türlerden sadece *D. aequans* türünün morfolojik olarak identifikasyonu yapılmış ve Karadeniz ile Ege Denizi'nde varlığı rapor edilmiştir (Tokşen, 2007; Öktener ve ark., 2009; Akmirza, 2010; Yardımcı ve Pekmezci, 2010; Akbaş, 2011; Bulut, 2011; Uzun, 2013; Emre ve ark., 2014; Öğüt ve Uzun, 2014).

Son yıllarda DNA'nın bilinen bir gen bölgesi ya da genetik barkodları yeni taksonların tanımlanması veya var olan taksonların ayırt edilmesinde sıklıkla kullanılmaktadır. Trematod taksonları arasında filogenetik ilişkilerin belirlenmesinde mitokondriyal (cox-1) ve nükleer ribozomal RNA (rRNA) genlerinin (18S-ITS1-5.8S-ITS2-28S) uygun ve etkin bölgeler olduğu kanıtlanmıştır (Blasco-Costa ve ark., 2016). Diplectanid türlerin moleküler olarak tanımlanması ya da türler arasında genetik uzaklıkların belirlenmesinde 28S rRNA gen bölgesinin D1-D3 domain kısmı ile 18S rRNA ve tüm ITS-1 gen bölgelerini içeren nükleer DNA'lar yaygın olarak kullanılmaktadır (Hassouna ve ark., 1994; Verneau ve ark., 1997; Šimková ve ark., 2003; Wu ve ark., 2005; Tingbao ve ark., 2006; Lim ve ark., 2010; Chotnirat ve ark., 2015; Nitta ve Nagasawa, 2017).

Türkiye’de bugün kadar yapılan araştırmalarda *D. aequans* türünün sadece morfolojik teşhisi yapılmıştır. Ülkemizde bugüne kadar levreklerin solungaçlarına yerleşen ve konak özgü olan diplectanid türlerin moleküler karakterizasyonları ve filogenetik ilişkilerinin belirlenmesinde herhangi bir bilimsel araştırma yapılmamıştır.

Bu tez çalışması ile ülkemiz karasularında avlanan ve yetiştirilen levreklerin (*D. labrax*) solungaçlarını enfekte eden diplectanid türlerin ilk kez moleküler karakterizasyonları ile filogenetik soy ilişkileri ortaya konulmuştur. Elde edilen bilimsel sonuçların levrek yetiştiriciliğinde önemli bir sorun olduğu görülen *D. aequans* türü ile ilgili yapılacak olan moleküler epidemiyolojik araştırmalara katkı sağlayacağı ve ışık tutacağı kanısındayız.



## 2. GENEL BİLGİLER

İnsanların dünya nüfusundaki artışına bağlı olarak besin gereksinimlerine olan ihtiyaçları her geçen gün artmaktadır. Hızlı nüfus artışına bağlı olarak en önemli besin grupları arasında yer alan hayvansal protein kaynakları insanlar için yetersiz kalmaktadır. Su ürünlerinin ucuz, lezzetli, kolay ulaşılabilir ve diğer hayvansal protein kaynaklarına göre besin değeri açısından kalitesi göz önüne alındığında alternatif bir besin kaynağı olduğu bilinmektedir (Braun, 2005).

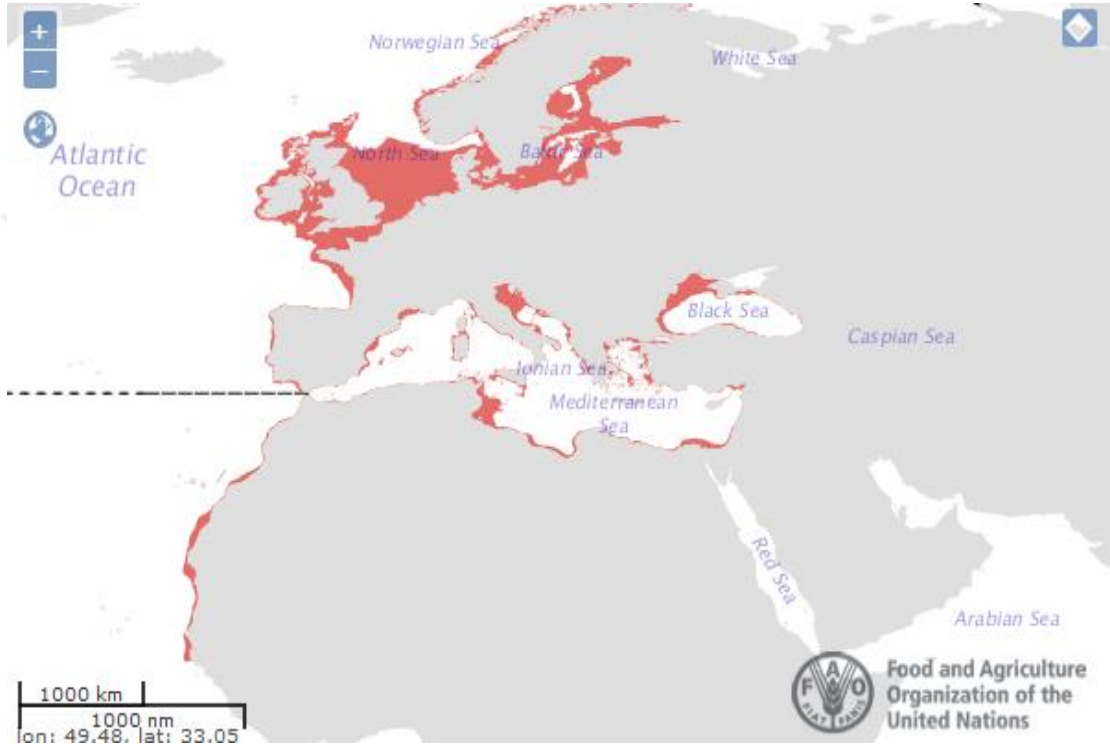
### 2.1. Türkiye’de Su Ürünleri Üretimi

Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü’nün 2015 yılı verilerine göre Dünya’da su ürünleri üretimi 170 345 641 tondur ve bunun 76 641 025 tonu kültür balıkçılığında sağlanmıştır. Ülkemiz açısından durum değerlendirilmesinde yapıldığında 2016 yılı verilerine göre Türkiye su ürünleri üretimi avcılık dâhil olmak üzere toplamda 588 715 tondur ve bunun 253 395 tonu yetiştiricilikten sağlanmıştır. Yetiştiricilikten elde edilen üretimin %59,9’u denizlerimizden elde edilirken, %40,1’i iç sularımızdan elde edilmektedir. Ülkemizde kültür balığı yetiştiriciliğinde üretim itibari ile üç balık türü ön plana çıkmaktadır. 2016 yılı verilerine göre ülkemizde 107 013 ton alabalık, 80 847 ton levrek ve 58 254 ton çipura üretimi gerçekleştirilmiştir (TÜİK, 2018).

Ülkemizde su ürünleri yetiştiriciliği ekonomik anlamda ilk olarak 1970’li yıllarda gökkuşuğu alabalığı ve sazan üretimi ile başlamıştır. Daha sonra 1980’li yıllarda levrek ve çipura, 2000’li yıllarda orkinos üretiminin başlaması ile ülkemizde kültür balıkçılığının üretimi ivme kazanmıştır. Ülkemizde kültür balıkçılığı açısından en çok üretilen balıklar gökkuşuğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*), Avrupa deniz levreği (*Dicentrarchus labrax*) ve çipura (*Sparus aurata*) türleridir. Bu türlerden gökkuşuğu alabalığı büyük oranda iç piyasada tüketilerken, levrek ve çipuraların yaklaşık olarak %75’i Avrupa Birliği ülkelerine ihraç edilmektedir. Türkiye Cumhuriyeti Devlet Planlama Teşkilatının öngörülerine göre 2023 yılında Türkiye’nin su ürünleri üretiminin 600 bin tona çıkacağı ve bunun ticari değerinin 5 milyar TL seviyesine ulaşacağı tahmin edilmektedir (Aydın, 2017).

## 2.2. Avrupa Deniz Levreğinin (*Dicentrarchus labrax*) Biyolojik Özellikleri

Avrupa deniz levreği kemikli bir balıktır. Serranidae ailesinde ve *Dicentrarchus* soyunda yer alır. Tür adı *D. labrax* (Linneaus, 1758)'dir. Bu tür Kuzey Atlantik ile Norveç kıyılarından Fas ve Kanarya Adaları ile Senegal'e kadar uzanan sahiller ile Akdeniz ve Karadeniz'de yoğun olarak dağılım göstermektedir (Şekil 1) (FAO, 2018).



Şekil 1. Levrek balığının coğrafik dağılımı (FAO, 2018'den uyarlanmıştır)

Levrek balıkları denizlerde, acı su lagünlerinde, nehir ağızlarında yaşamlarını sürdürebilen bazen tatlı sulara giriş yapabilen ve ekonomik değeri yüksek olan bir balıktır. Levrekler yırtıcı ve etçil bir türdür. Yalnız ya da küçük sürüler halinde dolaşırlar. Kış aylarında 100 m derinliğe kadar göç ederler. Levrekler küçük balıklar, karides, yengeç ve mürekkep balıkları ile beslenirler. Tatlı sularda yaşamlarını sürdürebilir ama üreyemezler. Levrekler geniş sıcaklık toleransına sahiptirler. Yaşamalarını 5-28°C arası su sıcaklığında sürdürebilirler. Bununla birlikte tuzluluk değişimlerine karşı dayanıklı olup düşük tuzluluğa adapte olabilirler (Burgu ve Umur, 2003; FAO, 2018).

### 2.3. Balık Parazitlerinin Önemi

Balık parazitleri sucul ekosistemin ayrılmaz bir parçasıdır. Doğal ve kültüre edilen balık popülasyonlarında yaygın olarak bulunurlar. Doğal şartlarda çoğu parazitler popülasyon büyüklüğünü etkileyen ölümlere ve konaklarının ciddi yaralanmalarına neden olmazlar. Balıkların parazitler sebebiyle hastalandığını tahmin etmek zordur. Bu durum kültüre edilen balıklara göre doğal ortamlarda bulunan balıklarda hemen hemen imkânsızdır. Parazitlerin neden olduğu hastalıklar çok sayıda stres faktörünün bulunduğu yetiştiricilik ortamlarında daha sık görülmektedir. Özellikle bazı parazitler hızlı bir şekilde çoğalarak önemli ekonomik kayıpların olduğu ağır enfeksiyonlara neden olmaktadır (Meyer, 1991; Scholz, 1999).

Balık parazitlerinin konak üzerindeki etkileri farklı şekillerde kendini gösterir. Örneğin monogenik trematodların irritasyonlarına bağlı olarak aşırı mukus üretimi sonucunda derinin solunum fonksiyonu bozulur. Yine monogenik trematodların opisthaptorlarının solungaç dokusundaki mekanik irritasyonlarına bağlı olarak epitelyal hiperplaziler, bağ doku hipertrofileri, lamellar yapının yok olması, solungaç kapillarlarında ve ikincil solungaç katmanlarında atrofiler, kanamalar, sekonder bakteri ve mantar invazyonları, anemi tablosu sonucunda gaz değişiminin etkilenmesi ile ölümler şekillenebilir. Yine *Lernaea* ve *Ergasilus* cinsi kopepodların saldırı ve beslenmeleri esnasında ciddi doku hasarları, şişkinlikler ve hematomlar şekillenir. Subkutan doku ve deriyi istila eden digenik trematod metaserkerleri deride patolojik değişikliklere neden oldukları gibi fazla sayıda olduklarında küçük balıklarda ölümler şekillenir (Williams ve Jones, 1994; Roberts, 2001).

Yetiştiricilik ortamında su sıcaklığı ve pH'nın değişmesi, birim alanda istenilenden fazla miktarda balık bulunması, aşırı yemleme ve su değişiminin yeterli düzeyde olmaması gibi yetiştiricilik uygulamaları balıkların hastalıklara karşı olan direncini azaltmaktadır. Bu durum parazitlerin neden olduğu hastalıkları ortaya çıkartmakta ve parazitlerin rahatlıkla yayılmalarına sebep olmaktadır (Pillay, 2004). Yetiştiricilik ortamında parazitlerin balıklar üzerine olan etkileri kısaca 4 şekilde görülebilir. Birincisi parazitlerin direkt sebep olduğu ölümlerdir. İkincisi parazitler balıkların beslenme alışkanlıklarını olumsuz yönde etkilemekte ve büyüme performanslarında gerilemeye neden olmaktadır. Üçüncüsü paraziter enfeksiyonlar işletme giderlerini artırmakta ve işletmenin devamlılığını sağlayan kar-zarar dengesinin

bozulmasına sebep olmaktadır. Sonucusu ise uzun süren paraziter hastalıkların balık popülasyonunun azalmasına veya yapısında değişikliğe sebep olmasıdır (Barber ve ark., 2000; Barber ve Poulin, 2002).

Balıklardaki parazit enfeksiyonlarının kontrolünde öncelikli olarak hastalığın doğru teşhis edilmesi, uygun tedavi prosedürünün uygulanması ve koruyucu önlemlerin mutlaka alınması gerekmektedir. Balıklarda paraziter enfeksiyonların doğru teşhis edilmesi hayati derecede önemlidir ve hastalığın kontrol altına alınabilmesi için gereklidir. Parazit hastalıklarının etkin bir şekilde kontrol edilebilmesi için paraziter etkenlerin ekolojik özelliklerinin ve biyolojilerinin araştırılması ve ortaya konulması gerekmektedir (Tonguthai, 1997).

#### **2.4. Balıklarda Trematodların Genel Özellikleri**

Balıklarda deri, derialtı doku, yüzgeç ve solungaçlarda parazitlenen çok sayıda monogenik ve digenik trematod bulunmaktadır. Monogenik trematodların konak seçiciliği ile direkt yaşam döngüsüne sahip oldukları bilinmektedir. Monogenea'lar acı, tatlı su ve deniz balıklarında yaygın olup yoğun enfestasyonları genellikle zayıf sanitasyonu ve su kalitesinin bozukluğunu işaret etmektedir. Balıklardaki Monogenik trematodların büyük bir çoğunluğu balıkların dış yüzeyinde (deri, yüzgeçler, solungaçlar, ağız boşluğu, burun boşluğu) parazitlenirken birkaç türün de endoparazitik yaşama (*Calicotyle kroyeri*) adapte olduğu bilinmektedir. Monogenea'lar posterior yapışma organellerinin (opisthaptor) morfolojileri temel alınarak iki sınıfa ayrılmaktadır. Daha yaygın olan Monopisthocotylea alt sınıfındakilerin küçük lateral çengel ve kitinize çapa benzeri yapıları içeren farklı büyüklükte tek yapışma organı bulunmaktadır. Polyopisthocotylea alt sınıfındakilerde kitinöz oluşumlar ile desteklenmiş küçük ve çoğunlukla simetrik ya da asimetric olarak muskuler yapıda çok sayıda yapışma organı bulunmaktadır. Balıkları en sık olarak enfeste eden Monopisthocotylid aileler Capsalidae (*Benedenia seriola*, *Neobenedenia* türleri), Dactylogyridae (*Dactylogyrus vastator*, *Haliotrema abaddon*), Diplectanidae (*Diplectanum aequans*), Gyrodactylidae (*Gyrodactylus salaris*), Microbothriidae (*Dermophthirius* türleri), Monocotylidae (*Dendromonocotyle* türleri) olduğu bilinmektedir. Yine balıklarda sık karşılaşılan Polyopisthocotylid aileler ise Diclidophoridae (*Neoheterobothrium hirame*) ve Heteraxinidae (*Zeuxapta seriola*) aileleridir. Monogenea'lar çoğunlukla balıkların solungaç, solungaç kapaklarının iç

kısmı ve ağız boşluğunda parazitlenip kan ve epitel dokusu ile beslenirler (Buchmann ve Bresciani, 2006; Kent ve Fournie, 2007; Bullard ve Overstreet, 2008; Whittington ve Chisholm, 2008). Digenik trematodlar yaşam döngülerinde bir veya daha fazla sayıda ara konağa ihtiyaç duyarlar. Balıklar larval ya da ergin Digenea'ların yaşam döngülerinde kesin, ara ya da paratenik konak rolü üstlenmektedir. Çok az sayıdaki ergin Digenea'ların (Bucephalidae, Sanguinicolidae, Monorchiidae, Gorgoderidae, Allocreadiidae, Opcoelidae) balıklara zarar verdiği bilinmektedir. Balıklardaki Digenea'ların asıl patolojik etkilerinin çeşitli doku ve organlara yerleşim gösteren larval formları olan metaserkerlerden kaynaklanmaktadır. Digenea sınıfında yer alan bazı trematodların metaserkeri tatlı ve tuzlu su balıklarının deri, yüzgeç ve solungaçlarında bulunmaktadır. Kist içerisinde yer alan metaserkerlerin etrafında sıklıkla melanin pigmentinin birikimine bağlı olarak deri ve yüzgeçlerde siyah noktalar şekillenmektedir. Bu şekilde kötü etkilenen balıkların göze hoş olmayan görüntülerinden dolayı market değerlerinin de etkilendiği bilinmektedir (Moravec ve ark., 1991; Robert, 2001; Paperna ve Dzikowski, 2006; Bullard ve Overstreet, 2008).

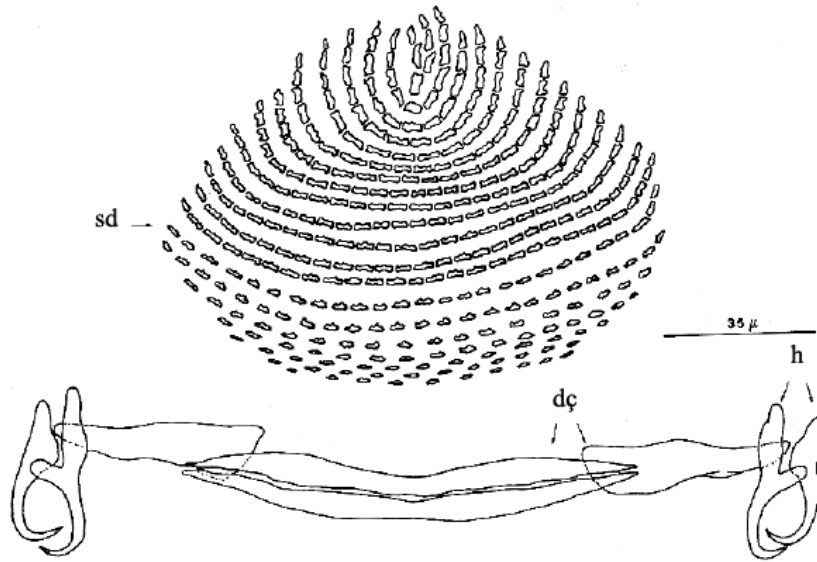
## 2.5. Diplectanid Trematodların Genel Özellikleri

Diplectanidae ailesinde deniz ve bazı tatlı su balıklarının solungaçlarında parazitlenen 20 cins içerisinde yaklaşık olarak 250'nin üzerinde tanımlanmış tür bulunmaktadır. Çoğu diplectanid tür diğer dactylogyrid türlerden haptorlarındaki tutunma organeli olan squamodisk ile squamodiskin anteriorundaki destekleyici çubuklar ve hamuli (kanca) yapılarının varlığı ile morfolojik olarak kolaylıkla ayırt edilmektedir. Squamodisk Diplectanidae ailesinde bulunan parazit için ayırıcı bir yapıdır. Squamodisk ventral ve dorsal olmak üzere genellikle iki tanedir. Tek squamodisk yapısına sahip türlerde bulunmaktadır. Squamodisk yapısında değişik sayıda radial olarak dizilmiş küçük kitinize diken sıraları bulunmaktadır. Bu kitinize dikenlerin sayısı ve dizilişine bakılarak diplectanid türlerin ayrımları yapılmaktadır. Parazitin arka ucunda bir adet medial ve iki adet lateral destekleyici çubuk bulunmaktadır. Lateral çubukların uçlarında dorsal ve ventral olmak üzere 2 çift hamuli vardır. Ön uçta 4 adet göz lekesi, küçük bir farinks ve çoğunlukla ikiye dallanmış şekilde barsaklar bulunur. Diplectanid türlerin ayrımında squamodisk ile erkek çiftleşme organının şekli ve yapısı önem arz etmektedir (Oliver, 1968; Whittington ve Chisholm, 2008). *Diplectanum* Diesing, 1858 soyu Diplectanidae ailesinin en geniş

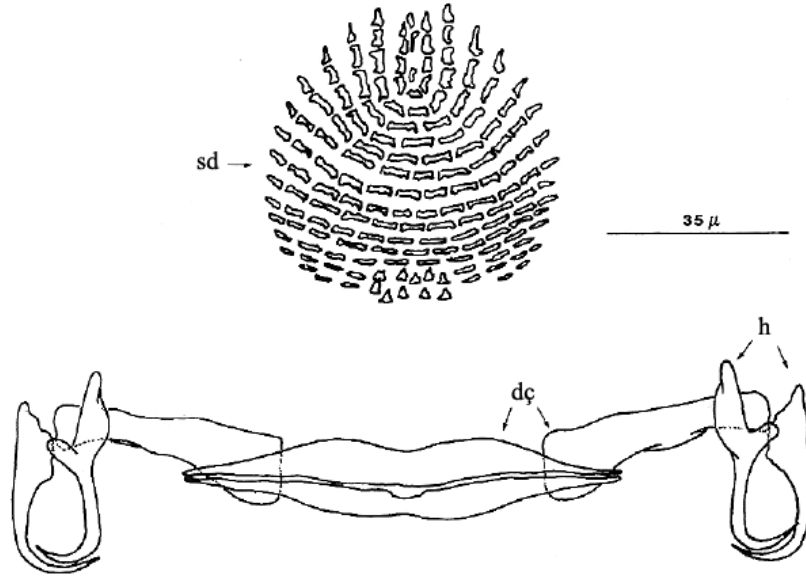


soyudur. Bu cins içerisinde Fransa'nın Akdeniz kıyılarındaki doğal levrek (*Dicentrarchus labrax*) popülasyonları ile Atlantik ve Akdeniz kıyılarındaki kültüre edilen popülasyonlarda *D. aequans* (Wagener, 1857) Diesing 1858 ve *D. laubieri* (Lambert & Maillard 1974) türleri rapor edilmiştir (Oliver, 1968; Lambert ve Maillard, 1974; González-Lanza ve ark., 1991).

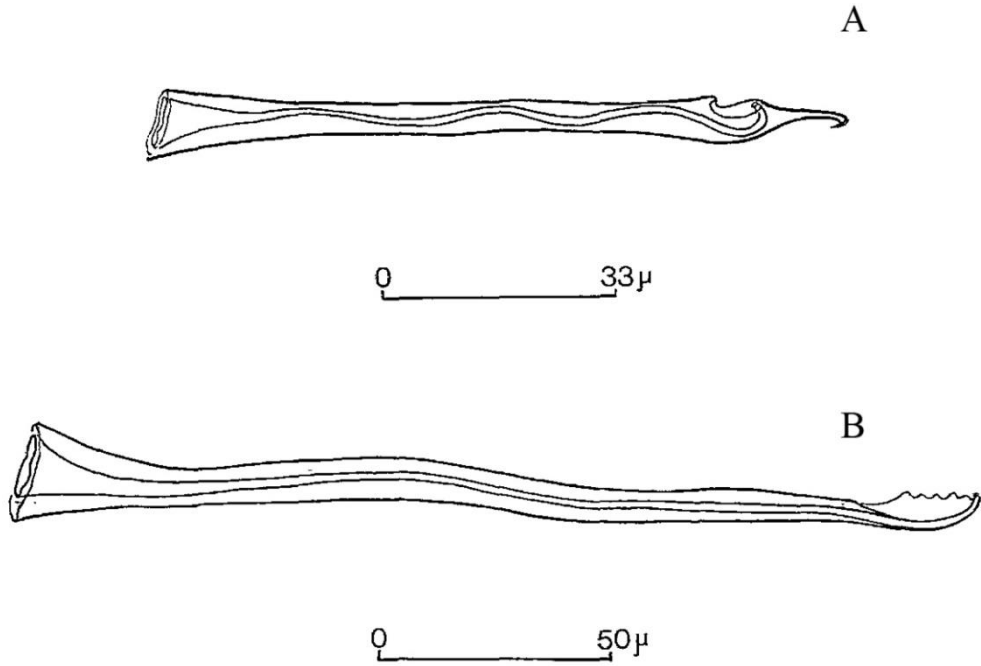
*Diplectanum aequans* 0,65-1,7 mm uzunluğunda ve 0,26-0,50 mm genişliğindedir. *Diplectanum laubieri* 1,2-1,45 mm uzunluğunda, 0,25-0,27 mm genişliğindedir. Bu iki tür arasındaki en önemli morfolojik farklar squamodisk üzerindeki kitinize dikenlerin sıra sayısı ile cirrus (penis) şeklindedir. *Diplectanum aequans* türünde squamodisk üzerinde 20-25 arası diken sırası bulunurken, *D. laubieri* türünde 11-16 arasında değişiklik göstermektedir. Bununla birlikte *D. laubieri* türünün cirrusu kanca şeklinde sonlanırken *D. aequans*'in cirrusu hafif eğimli olarak sonlanmaktadır (Oliver, 1968; Lambert ve Maillard, 1974; Silan ve Maillard, 1989; González-Lanza ve ark., 1991) (Şekil 2-4).



Şekil 2. *Diplectanum aequans*'in haptor parçaları, sd: squamodisk, dç: destekleyici çubuk, h: hamuli, ölçü çubuğu= 35 µ (Silan ve Maillard, 1989'dan uyarlanmıştır)



**Şekil 3.** *Diplectanum laubieri*'nin haptor parçaları, **sd**: squamodisk, **dç**: destekleyici çubuk, **h**: hamuli, ölçü çubuğu= 35 µ (Silan ve Maillard, 1989'dan uyarlanmıştır)



**Şekil 4.** Diplectanid türlerin cirrus (penis) yapısı. **A:** *Diplectanum laubieri*, **B:** *Diplectanum aequans* (Lambert ve Maillard, 1974'den uyarlanmıştır)

*Diplectanum aequans* direkt yaşam döngüsüne sahiptir. Parazit ovipardır ve levreğin solungaçlarına yumurtalarını bırakır. Erişkin parazitler hermafrodittir. Küçük olan yumurtaları (kenar uzunluğu yaklaşık 60 µm) tetrahedraldir. Tek kısa uzantısı yaklaşık 40 µm uzunluğundadır. Yumurta içerisindeki embriyonun gelişmesi su sıcaklığı ile ilgilidir. Yumurtadan etrafı siliumlar ile kaplı olan oncomiracidium çıkar. 10°C'de embriyonun gelişmesi 11 gün sürmekte ve devam eden 8 gün içerisinde yumurtadan oncomiracidium çıkmaktadır. Yine 15°C'de embriyonun gelişmesi 7 gündür ve devam eden 5 gün içerisinde yumurtadan oncomiracidium çıkmaktadır. Su sıcaklığı 20°C olduğunda embriyo gelişimi 4 gün ve yumurtadan oncomiracidium çıkışı 2. gün olurken, su sıcaklığı 30°C olduğunda embriyo gelişimi sadece 2 gün ve yumurtadan oncomiracidium çıkışı 3. gün olmaktadır. Bununla birlikte *D. aequans* yumurtalarının 5°C su sıcaklığında 45 gün beklemesine rağmen yumurtadan larva çıkmadığı görülmüştür. Yumurtadan çıkan oncomiracidium 13-14°C'de 30 saat canlılığını sürdürmektedir. Oncomiracidium ilk olarak konağının deri epitel yüzeyine ya da ağız boşluğuna tutunmaktadır. Larvalarda squamodisk ve hamuli geliştikten sonra konağının solungaçlarına göç etmektedir. Bulaşma yumurta ya da oncomiracidiumun bir balıktan diğerine geçmesiyle olmaktadır. *Diplectanum aequans*'in erişkin hale ulaşma süresi su sıcaklığına bağlıdır. Su sıcaklığı 15,5°C olduğunda bu süre 35 gün, 20°C'de 25 gün, 26 °C'de 15 gün ve 30°C'de ise 9 gündür (Cecchini ve ark., 1998; Whittington ve Chisholm, 2008).

*Diplectanum aequans* türünün erişkinleri levreklerin solungaçlarında parazitlenirken parazitin genç evrelerine levreklerin derisinde rastlanmaktadır (Whittington ve Chisholm, 2008). Parazit solungaç dokusunun epitelleri ile beslenmektedir. Enfekte balıklarda lamellar ödem, sekonder lamellerde füzyon ile primer ve sekonder lamellerde nekrozlar gözükmemektedir (Whittington ve Chisholm, 2008; Yardımcı ve Pekmezci, 2012). Enfekte balıklarda deride bulutlaşma, solungaçlarda epitelyal hiperplazi, aşırı mukus sekresyonu ile kızamık bölgeler ve hemorajili alanlar görülmektedir. Ağır enfekte balıklarda uyuşukluk, anoreksi ve asfeksi semptomları ve yüksek oranlarda ölümler görülmektedir. Ayrıca *D. aequans*'in levreklerin genç bireylerinde ölümlere neden olduğu rapor edilmiştir (Oliver, 1977; Dezfuli ve ark., 2007; Whittington ve Chisholm, 2008).

## 2.6. Türkiye’de *Diplectanum aequans* ile İlgili Kayıtlar

Türkiye’de *D. aequans* ilk olarak Ege Denizi’nde kültürü yapılan levreklerde rapor edilmiştir (Tokşen, 2007).

Karadeniz’de Ordu ili Vona Koyu’nda ağ kafeslerde yetiştiriciliği yapılan levreklerde *D. aequans*’in enfeksiyon oranı %100 olarak tespit edilmiştir. Enfekte levreklerde parazitin enfeksiyon yoğunluğu 3,45 olarak bulunmuştur (Öktener ve ark., 2009).

Bodrum Salih Adası civarında doğal ortamdan yakalanan ve kafeslerde yetiştirilen levreklerde *D. aequans*’in enfeksiyon oranı sırası ile %21,5 ile %23,8 olarak tespit edilmiştir (Akmirza, 2010).

Ege Denizi’nde ağ kafeslerde yetiştirilen ve günlük %1,5 oranında mortalite gözlenen levreklerin parazitolojik ve patolojik incelemeleri yapılmıştır. İncelenen levreklerde %100 enfeksiyon oranında *D. aequans* tespit edilmiştir. Bununla birlikte levreklerde enfeksiyonun ortalama yoğunluğu ise 31,9 olarak saptanmıştır. Patolojik incelemede parazitlerin etkisine bağlı olarak lamellar ödem, sekonder lamellerde füzyon ile primer ve sekonder lamellerde nekrozlar gözlenmiştir. Balıklardaki ölümlerin *D. aequans* ve *Lernanthropus kroyeri* parazitlerinin yoğun enfestasyonu sonucu oluşan lezyonlardan kaynaklandığı kanısına varılmıştır (Yardımcı ve Pekmezci, 2010).

Milas-Bodrum civarındaki işletmelerde kültürü yapılan 139 adet levreğin 12’sinde *D. aequans* saptanmıştır (Akbaş, 2011).

Muğla Milas yöresinde denizde ağ kafeslerde ve karada toprak havuzlarda yetiştirilen levreklerde sırası ile *D. aequans*’in enfeksiyon oranı %95 ile %48,3 olarak bulunmuştur. Parazitin enfeksiyon yoğunluğu denizdeki ağ kafeslerde yetiştirilen levreklerde 28,9 iken toprak havuzda yetiştirilen levreklerde 21,2 olarak tespit edilmiştir (Bulut, 2011).

Ordu-Perşembe yöresinde Karadeniz’de kafeslerde yetiştirilen levreklerde %91,7 oranında *D. aequans* saptanmıştır. Ayrıca parazit sayısının artışına bağlı olarak balıklarda kondisyonun düştüğü gözlenmiştir. Aynı zamanda parazitin sayısı arttıkça levreklerden bakteri izole etme olasılığının arttığı da ifade edilmiştir (Uzun, 2013).

Antalya Beymelek Lagün Gölü’nde avlanan levreklerde *D. aequans*’in enfeksiyon oranı %71,2, enfeksiyon yoğunluğuda 35,03 olarak saptanmıştır (Emre ve ark., 2014).

Karadeniz’de Ordu ve Trabzon illerinde ağ kafeslerde yetiştirilen levreklerde *D. aequans*’in enfeksiyon oranı %66,7-100 arasında değişkenlik göstermiştir. Enfeksiyon yoğunluğu ise en yüksek olarak 6,08 olarak saptanmıştır. Parazitin ölümlere neden olmadığını ancak balıkların kondisyonuna olumsuz etki ederek sekonder enfeksiyonlara karşı levrekleri zayıf düşürdüğü belirtilmiştir (Öğüt ve Uzun, 2014).

## 2.7. Dünya’da *Diplectanum aequans* ile İlgili Kayıtlar

Ülkemiz karasuları haricinde dünyanın farklı coğrafik alanlarında levreklerde *D. aequans* ve *D. laubieri* türleri rapor edilmiştir.

Akdeniz’in İspanya kıyılarında kültüre edilen levrek popülasyonlarında *D. aequans* ve *D. laubieri* türleri saptanmıştır. Levreklerde *D. aequans*’in enfeksiyon oranı ve yoğunluğu %80,64 ve 112 olarak tespit edilmiştir. Aynı zamanda *D. laubieri*’nin enfeksiyon oranı ve yoğunluğu %67,7 ile 59,61 olarak rapor edilmiştir (González-Lanza ve ark., 1991).

Portekiz’de tatlı su ekosisteminde kültüre edilen levreklerde *D. aequans*’in enfeksiyon oranı %100 olarak rapor edilmiştir (Cruz e Silva ve ark., 2000).

Norveç’in güney doğusunda bulunan Oslo Haliç’inde yakalanan doğal levreklerde %100 enfeksiyon oranında *D. aequans* türü saptanmıştır (Sterud, 2002).

Adriyatik Körfezinde ağ kafeslerde yetiştirilen levreklerin parazitolojik incelemeleri yapılmıştır. *D. aequans*’in enfeksiyon oranı %60-100 arasında bulunmuştur. Parazit popülasyon dinamiğinin suyun tuzluluğu, sıcaklığı ve spesifik konakçı gibi çevresel faktörlerle güçlü bir ilişki sonucu değiştiği bildirilmiştir (Mladineo, 2004; 2006).

Adriyatik Denizi’nin kuzey kıyısındaki genç levreklerde *D. aequans*’in mortalitelere neden olduğu rapor edilmiştir. Levreklerde enfeksiyon oranı %73,6, enfeksiyon yoğunluğu  $34,61 \pm 4,42$  olarak tespit edilmiştir (Dezfuli ve ark., 2007).

Akdeniz’de Sardinya Adası Santa Gilla Lagon’unda yakalanan doğal levreklerde *D.aequans*’in enfeksiyon oranı ve yoğunluğu %96 ile 17 olarak saptanmıştır (Culurgioni ve ark., 2010).

Akdeniz’de Korsika’nın güney kıyılarında yetiştiriciliği yapılan levreklerde *D. aequans* tespit edilmiştir (Antonelli ve ark., 2016).

Akdeniz’in Cezayir kıyılarında yakalanan levreklerin parazitolojik incelemeleri sonucunda %20 oranında *D. aequans* tespit edilmiştir (Amel ve ark., 2016).

## 2.8. *Diplectanum aequans*'ın Tedavi Denemeleri

Çoğu yetiştiricilik sistemlerinde Monogenea'ların yayılımını kontrol etmek mümkün olmamaktadır. Kültüre edilen balık popülasyonlarında paraziter enfeksiyonlara karşı yüksek antiparaziter etkili ve düşük toksiteli ilaç ve kimyasalların kullanılması gerekmektedir. Kullanılan antiparaziter ilaçlar yeme katıldıkları gibi tanklarda kısa ya da uzun süreli daldırma şeklinde ya da banyo tarzında uygulanmaktadır. Kültüre edilen levreklerde *Diplectanum* enfeksiyonlarının önlenmesi için kafesteki barındırma koşullarının iyileştirilmesi ve stres faktörlerinin en aza indirilmesi hayati derecede önemlidir. Kafeslerdeki suyun iyi oksijenizasyonunun sağlanması, düşük yoğunlukta balık stoklaması ve dışkı ile artık yemlerin kontrolü sonucu amonyak seviyesinin azaltılması gerekmektedir. Parazitin tedavisinde trichlorphon'un 0,2 mg/l dozda en az 48 saat banyo tarzı uygulamalarının etkili olduğu bilinmektedir (Whittington ve Chisholm, 2008).

*Diplectanum aequans*'in tedavisinde azametifosun 1 ppm'lik dozunun 2 saatlik banyo uygulamaları ile 2 mg/kg dozda oral uygulamaları etkili olmuştur. Ayrıca triklorfonun 50 mg/kg dozda oral yolla tedavisinin parazitleri öldürdüğü ve etkili olduğu tespit edilmiştir. Bununla birlikte formaldehit, malaşit yeşili, levamizol, mebendazol, febantel, toltrazuril, ivermectin ve diklorvos'un banyo uygulamalarının *D. aequans*'in tedavisi için etkili olmadığı görülmüştür. Benzer şekilde teflubenzuron'un 10-20 mg/kg dozda oral uygulamalarının etkili olmadığı rapor edilmiştir (Tokşen, 2007; Tokşen ve ark., 2012; 2013a, b). Levreklerde rafoxanid etken maddesinin 6 ppm dozda 48 saat süre ile banyo uygulamalarının etkili olduğu bildirilmiştir (Cognetti-Varriale ve ark., 1992).

### 3. MATERYAL METOT

#### 3.1. Materyal

##### 3.1.1. Levreklerin (*Dicentrarchus labrax*) satın alınması

Karadeniz ve Ege Denizi'nde avcılık yolu ile elde edilen ve kafes sistemlerinde yetiştirilip Samsun'da insan tüketimi için sunulan taze levrekler (*Dicentrarchus labrax*) satın alınmıştır. Karadeniz ve Ege Denizi'nde avlanan levreklerden 10'ar, Karadeniz ve Ege Denizi'nde kafes sistemlerinde yetiştirilen levreklerden 10'ar adet olmak üzere toplam 40 adet levrek satın alınmıştır.

#### 3.2. Metot

##### 3.2.1. Levreklerin (*Dicentrarchus labrax*) Parazitolojik Muayenesi

Balıkçı tezgâhları ve marketlerden satın alınan levrekler soğuk zincir altında laboratuvara getirilmiştir. Balıklar satın alınırken yakalandıkları ve/veya yetiştirildikleri coğrafi bölgeler kayıt edilmiştir. Levrekler parazitolojik muayeneleri esnasında zemin üzerinde kaymalarını önlemek için plastik kesme tahtaları üzerine konulmuştur. Parazitolojik muayene sırasında levreklerin solungaç kapakları makas yardımı ile kesilmiştir. Daha sonra ince uçlu makas ve pensler yardımı ile solungaç yayları kesilerek çıkartılmış ve içinde distile su bulunan petri kaplarına konulmuştur. Petri kaplarına konulan solungaç yayları pensler yardımı ile tek tek stereomikroskop altında farklı büyütme oranlarında incelenmiştir. İncelemeler sonucunda solungaç filamentlerinde tespit edilen diplectanid parazitler saf etanol içeren plastik kaplara toplanmış ve sayıları kayıt edilmiştir. Levreklerden toplanan diplectanid parazitlerin morfolojik identifikasyonu için parazitlerden tek tek gliserinle lam lamel arası preparatlar hazırlanmış ve ışık mikroskobu altında incelenerek resimleri çekilmiştir. Solungaç filamentlerinde bulunan diplectanidlerin morfolojik tür identifikasyonu ilgili literatürler ışığında yapılmıştır (Oliver 1968, 1976; Lambert ve Maillard, 1974; Silan ve Maillard, 1989; González-Lanza ve ark., 1991). Tür identifikasyonu yapılan 10 adet diplectanid türünün ışık mikroskobuna bağlı kamera sistemi (Leica, MD 190 HD) ile morfolojik ölçümleri yapılmış ve kayıt edilmiştir. Teşhis edilen diplectanidler DNA ekstraksiyonları yapılmaya kadar saf etanol içinde saklanmıştır.

Araştırmada tespit edilen diplectanid türün enfeksiyon oranı ve yoğunluğu Rózsa ve ark. (2000)'nın belirttiği şekilde hesaplanmıştır.

Enfeksiyon Oranı (%): Parazit ile enfekte konak (balık) sayısının incelenen tüm konak (balık) sayısına oranıdır. Yüzde olarak ifade edilir.

Enfeksiyon Yoğunluğu=Enfekte Konak (Balık) Başına Ortalama Parazit Sayısı (Adet): İncelenen konakta (balık) bulunan parazit türünün toplam sayısının aynı parazit ile enfekte konak (balık) sayısına oranıdır.

Enfeksiyon oranı ve yoğunluğu gibi parametreler Sterne's exact method ve bootstrap örnekleme tekniği (n=2000) kullanılarak "Quantitative Parasitology 3.0" programında yapılmıştır (Reiczigel ve Rózsa, 2005).

### **3.2.2. Diplectanid Türün PZR ve Filogenetik Analizleri**

Levreklerin parazitolojik incelemeleri sonucunda solungaç dokusundan toplanıp morfolojik olarak tanımlanmış diplectanid türün genomik DNA (gDNA) ekstraksiyonu ticari DNA izolasyon kiti (GeneJET, Thermo Scientific) kullanılarak yapılmıştır. Elde edilen gDNA ekstraktları PZR analizleri yapılmaya kadar -20°C'de muhafaza edilmiştir.

Diplectanid türün moleküler tanımlanması için 28S ribozomal RNA (28S rRNA) gen bölgesi C1 (5'-ACCCGCTGAATTTAAGCAT-3') ve D2 (5'-TGGTCCGTGTTTCAAGAC-3') primer çiftleri ile 18S rRNA-ITS-1 gen bölgesi L7 (5'-TGATTTGTCTGGTTTATTCCGAT-3') ve IR8 (5'-GCTAGCTGCGTTCTTCATCGA-3') primer çiftleri ile invitro koşullarda PZR metodu ile amplifiye edilmiştir (Hassouna ve ark., 1984; Verneau ve ark., 1997; Šimková ve ark., 2003; Wu ve ark., 2005). Amplifikasyon sonunda elde edilen PZR ürünleri etidyum bromid ile boyanmış %1,5' lik agaroz jelde elektroforeze tabi tutulmuştur. Elektroforez sonrası agaroz jel görüntüleme cihazına konulmuş ve ultraviyole ışık altında amplifiye edilen DNA bantları görüntülenmiştir. Görüntüleme sisteminde parlak ve beklenen büyüklükte tek bant veren PZR ürünlerinin direkt DNA dizi analizleri hizmet alımı karşılığında firmalara yaptırılmıştır.

Levreklerden toplanan diplectanid türüne ait 5 izolataın 28S rRNA ile 18S rRNA-ITS-1 gen bölgeleri saflaştırma işlemi sonrasında aynı amplifikasyon primerleri ile çift yönlü olarak iki tekrarlı DNA dizi analizleri firmalara yaptırılmıştır.



İki yönlü DNA dizisi belirlenen 28S rRNA ile 18S rRNA-ITS-1 gen bölgelerinin baz dizimlerini gösteren kromotogramların kalite skorları Geneious R11 (Kearse ve ark., 2012) ve Vector NTI Advance 11.5 (Invitrogen) programları ile analiz edilmiştir. Kromotogramların kalitesinin belirlenmesinde phred skoru 20'nin ( $Q \geq 20$ ) üzerinde olan bazlar dikkate alınmıştır (Ewing ve Green, 1998; Ewing ve ark., 1998). İleri ve geri yönlü dizilerin kendi aralarında birleştirmeleri Geneious R11 (Kearse ve ark., 2012) ve Vector NTI Advance 11.5 (Invitrogen) programları ile yapılmış ve diplectanid türe ait ortak bir nükleotid dizisi elde edilmiştir. Elde edilen ortak dizilerin GenBank veri tabanında Blastn analizleri (Altschul ve ark., 1997) yapılarak izolatların dünyadaki diğer izolatlar ile benzerlik yüzdeleri belirlenmiştir. Araştırmada karakterize edilen diplectanid izolatın (GZP-1) filogenetik soy ilişkilerinin belirlenmesi için daha önce Genbank'a kayıt edilen diğer diplectanid izolatlar ile çoklu hizalamaları ClustalW programı (Thompson ve ark., 1994) kullanılarak BioEdit ile yapılmıştır (Hall, 1999). Genetik uzaklık Kimura-2 modeli ve çift yönlü silme (pairwise deletion) veri alt kümesi kullanılarak Mega 7.0 programında hesaplanmıştır. Filogenetik ağaç oluşturulmadan önce dizilerin çoklu hizalamaları üzerinde gerekli düzeltmeler yapılmıştır. Nükleotid kompozisyonu ve sayıları BioEdit programı ile hesaplanmıştır (Hall, 1999). Diplectanid türler arasındaki filogenetik ilişkilerinin çözümlenmesinde Maximum Likelihood (ML) analizleri kullanılarak Mega 7.0 programında filogenetik ağaç oluşturulmuştur (Kumar ve ark., 2016). ML analizlerinde sekans evrimi için en uygun nükleotid yer değiştirme modelin belirlenmesinde Mega 7.0 programı kullanılmıştır. En düşük AIC değeri dikkate alınarak filogenetik ağaç oluşturuldu. ML analizlerinde filogenetik ağacın güvenilirliğinin belirlenmesinde 100 tekrarlı bootstrap testi kullanılmıştır (Felsenstein, 1985). Araştırmada izole edilen diplectanid türe ait GZP-1 izolatının 28S rRNA gen bölgesinin dizilimi MH400186 erişim numarası ile aynı izolatın (GZP-1) 18S rRNA-ITS-1 gen bölgelerine ait dizilimi MH400167 erişim numarası ile Genbank'a kayıt edilmiştir.

## 4. BULGULAR

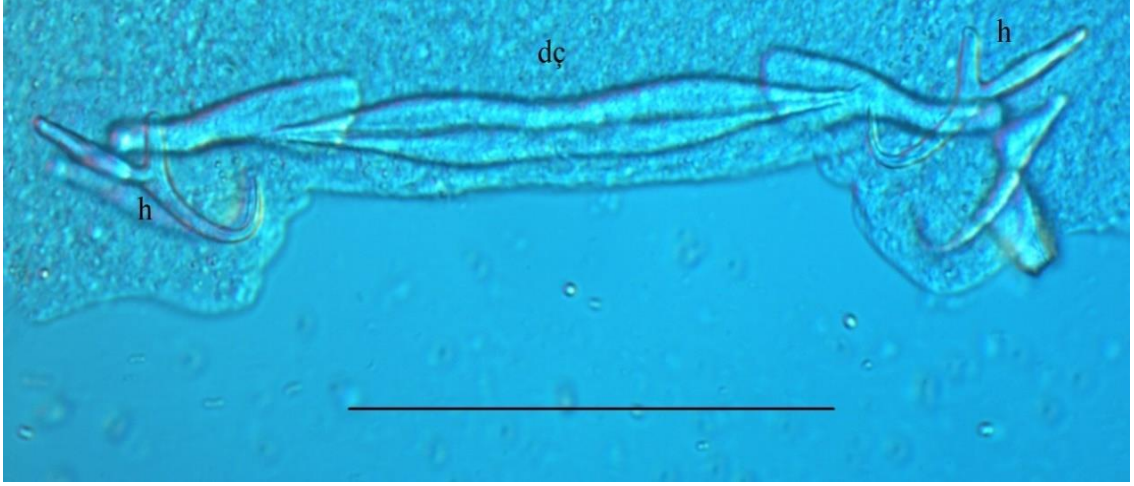
### 4.1. Levreklerin Parazitolojik Muayene Sonuçları

Parazitolojik incelemeler sonucunda levreklerin solungaç filamentlerinde saptanan diplectanid türün morfolojik identifikasyonu ilgili literatürler (Oliver 1968, 1976; Lambert ve Maillard, 1974; Silan ve Maillard, 1989; González-Lanza ve ark., 1991) ışığında yapılmış ve araştırmada saptanan türün *Diplectanum aequans* (Wagener, 1857) olduğu tespit edilmiştir (Şekil 5-8).

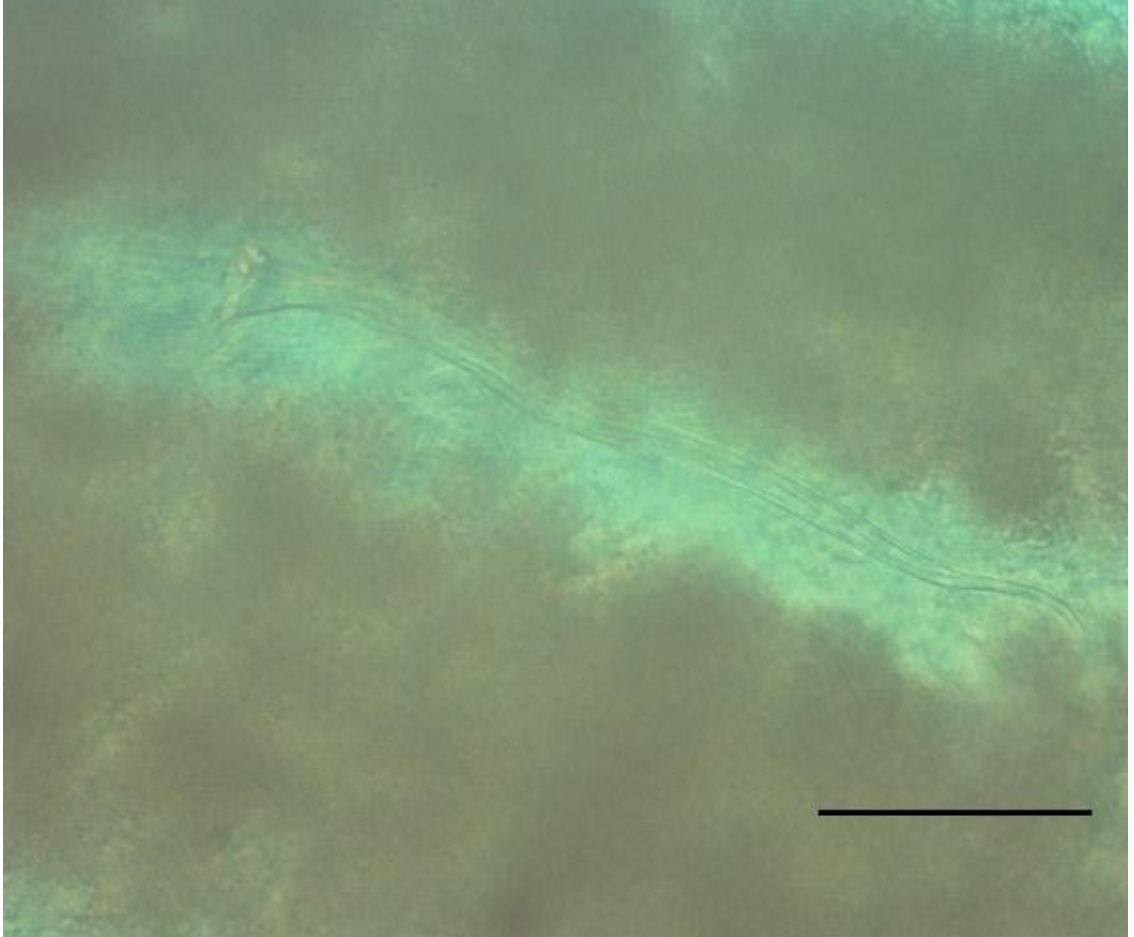
Solungaçlardan toplanan 10 adet *D. aequans*'in morfolojik ölçümleri yapılmıştır. Saf etanolde tespit edilen parazitler 13,8 (11,3-17,8) mm uzunluğunda ve 0,32 (0,2-0,38) mm genişliğindedir. Ön uçta 4 adet göz lekesi vardır. Cirrusunun uç kısmı hafif eğimlidir ve sivri olarak sonlanmaktadır. Parazitin arka haptor kısmında 2 adet squamodisk vardır. Squamodiskte 24-25 sıra kitinize diken sırası vardır. Bir adet medial ve iki adet lateral destekleyici çubuk ile lateral çubukların uçlarında dorsal ve ventral olmak üzere 2 çift hamuli vardır (Şekil 5-8).



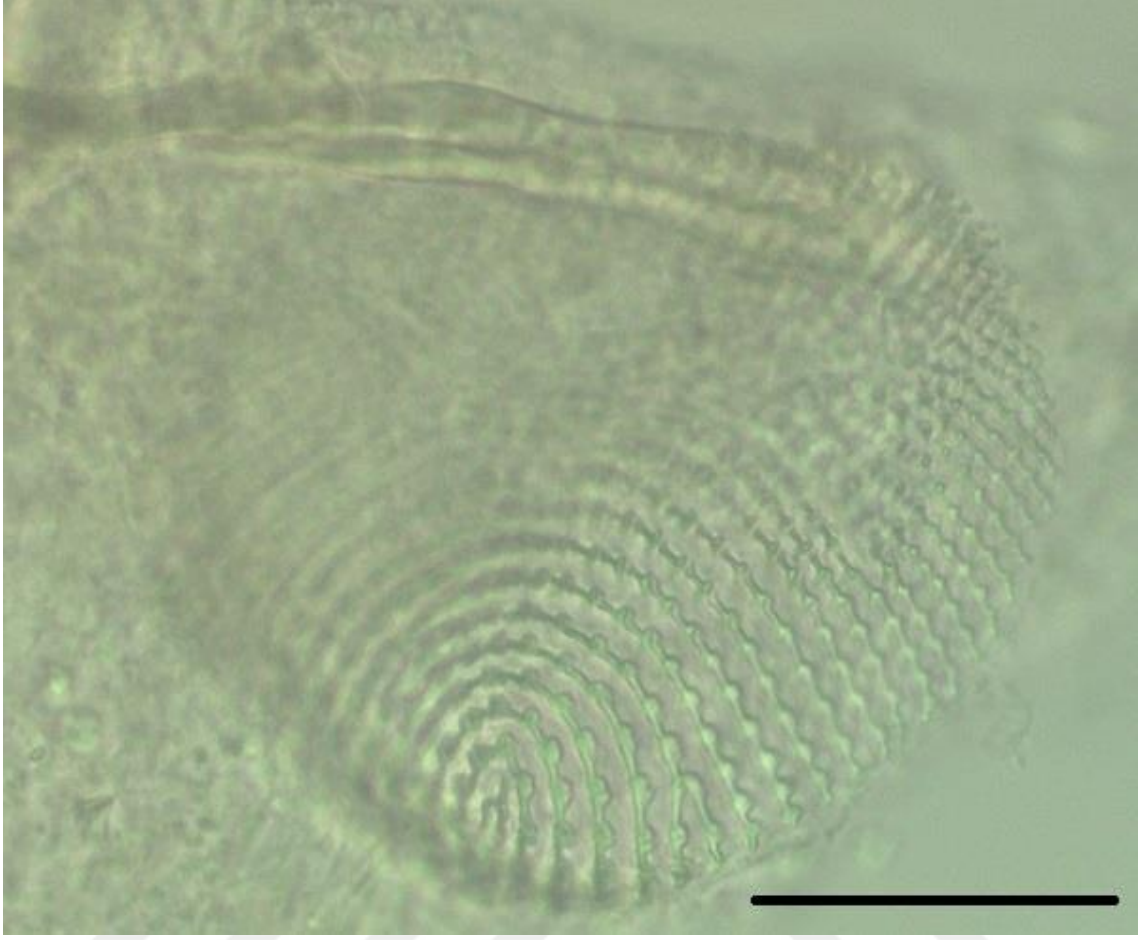
Şekil 5. *Diplectanum aequans* (Wagener, 1857), gliserin preparat, tüm birey, ölçü: 500  $\mu$ , orijinal



**Şekil 6.** *Diplectanum aequans* (Wagener, 1857), gliserin preparat, haptor parçaları, **dç:** destekleyici çubuk, **h:** hamuli, ölçü: 100  $\mu$ , orijinal



**Şekil 7.** *Diplectanum aequans* (Wagener, 1857), gliserin preparat, cirrus (penis), ölçü: 50  $\mu$ , orijinal



**Şekil 8.** *Diplectanum aequans* (Wagener, 1857), gliserin preparat, squamodisk (24-25 adet diken sırası), ölçü: 50  $\mu$ , orijinal

Türkiye karasularında kültüre edilen ve avcılık yolu ile yakalanan ve araştırma materyalini oluşturan 40 levreğin tamamı (%100) *D. aequans* ile enfekte bulunmuş ve enfeksiyon yoğunluğu 15,10, toplam parazit sayısı da 604 olarak tespit edilmiştir.

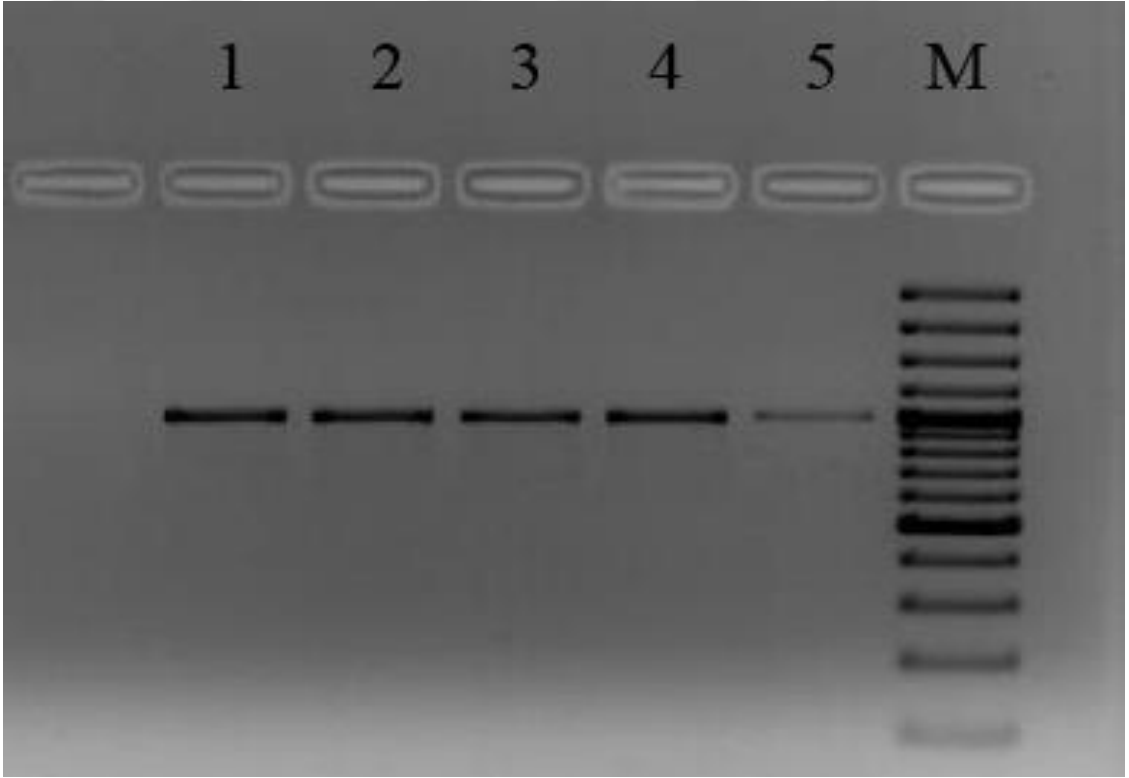
Karadeniz’de kültüre edilen 10 levrekte enfeksiyon yoğunluğu 26,40 ve toplam parazit sayısı 264 olarak saptanmıştır. Karadeniz’de avcılık yolu ile yakalanan 10 levrekte enfeksiyon yoğunluğu 11,10 ve toplam parazit sayısı 111 olarak belirlenmiştir. Ege Denizi’nde kültüre edilen 10 levrekte enfeksiyon yoğunluğu 9,80 ve toplam parazit sayısı 98 olarak tespit edilmiştir. Ege Denizi’nde avcılık yolu ile yakalanan 10 levrekte enfeksiyon yoğunluğu 13,10 ve toplam parazit sayısı 131 olarak saptanmıştır.

## 4.2. Diplectanid Türün Moleküler Analiz Sonuçları

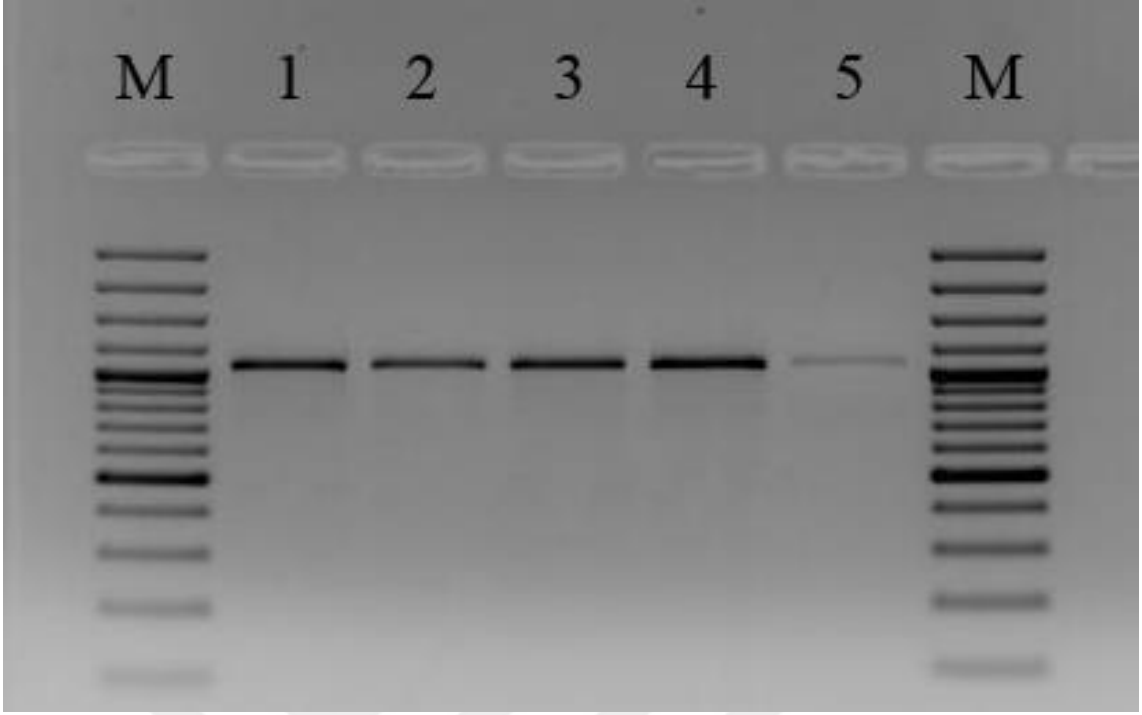
### 4.2.1. 28S rRNA ile 18S rRNA-ITS-1 Gen Bölgesinin Amplifikasyon Sonuçları

Morfolojik identifikasyon sonucunda ilgili literatürler ışığında *D. aequans* olarak teşhis edilen parazitlerin arasından seçilen 5 izolatın (GZP-1-5) 28S rRNA ile 18S rRNA-ITS-1 gen bölgelerinin amplifikasyonunda sırası ile ~1000 ve ~1050 baz büyüklüğünde bantlar gösterdikleri tespit edilmiştir.

*Diplectanum aequans* GZP-1-5 izolatlarının 28S rRNA gen bölgesi ile 18S rRNA-ITS-1 gen bölgelerinin PZR ile amplifikasyonu sonucu elde edilen amplikonların %1,5'lik jel agarosundaki görüntüleri sırası ile Şekil 9-10'da verilmiştir.



**Şekil 9.** *Diplectanum aequans* izolatlarının 28S rRNA gen bölgesini amplifiye eden C1-D2 primerleri ile yapılan PZR sonucu elde edilen amplifonların jel elektroforez görünümü. **M:** Marker (100 bp). **1-5:** *Diplectanum aequans* izolatları (GZP-1-5)



**Şekil 10.** *Diplectanum aequans* izolatlarının 18S rRNA-ITS-1 gen bölgelerini amplifiye eden L7-IR8 primerleri ile yapılan PZR sonucu elde edilen amplifonların jel elektroforez görünümü. **M:** Marker (100 bp). **1-5:** *Diplectanum aequans* izolatları (GZP-1-5)

#### 4.2.2. 28S rRNA ile 18S rRNA- ITS-1 Gen Bölgesinin DNA Dizi Analizi ve Filogenetik Analiz Sonuçları

*Diplectanum aequans* türüne ait GZP-1-5 izolatlarının DNA dizilerinin çoklu hizalamaları sonrasında izolatlar arasında 28S rRNA ile 18S rRNA-ITS-1 gen bölgesi yönünden intraspesifik (=tür içi) nükleotid farklılığı saptanmamıştır.

İzolatlar arasında nükleotid farklılığı saptanmadığı için sadece Karadeniz'den izole edilen GZP-1 izolatının 28S rRNA gen bölgesinin (=large subunit ribosomal RNA geni) nükleotid dizilimi MH400186 erişim numarası ile Genbank veri tabanına kayıt edilmiştir. Aynı zamanda GZP-1 izolatının 18S rRNA-ITS-1 gen bölgelerinin (=small subunit ribosomal RNA geni-internal transcribed spacer-1) nükleotid dizilimleri MH400167 erişim numarası ile Genbank veri tabanına kayıt edilmiştir.

MH400186 erişim numaralı *D. aequans* GZP-1 izolatına ait 28S rRNA gen bölgesinin nükleotid dizilimi *D. aequans* türü için dünyada ilk kez Genbank veri tabanına kayıt edilmiştir.

GZP-1 izolatının dizi analizleri sonrasında 28S rRNA gen bölgesinin 933 bazlık kısmı ile 18S rRNA-ITS-1 gen bölgelerinin 960 bazlık kısmı başarı ile elde edilmiştir.

GZP-1 izolatının (MH400186) 28S rRNA gen bölgesinin nükleotid kompozisyonu ve sayısı Tablo 1'de verilmiştir.

**Tablo 1.** GZP-1 izolatının 28S rRNA gen bölgesinin nükleotid kompozisyonu (%) ve sayısı

İzolat	Nükleotid kompozisyonu (%)/Sayısı						Toplam baz sayısı
	T	C	A	G	A+T	G+C	
GZP-1	28,1/263	19,4/181	23,5/220	28,8/269	51,7	48,2	933

GZP-1 izolatının (MH400167) 18S rRNA-ITS-1 gen bölgesinin nükleotid kompozisyonu ve sayısı Tablo 2’de verilmiştir.

**Tablo 2.** GZP-1 izolatının 18S rRNA-ITS-1 gen bölgesinin nükleotid kompozisyonu (%) ve sayısı

İzolat	Nükleotid kompozisyonu (%)/Sayısı						
	T	C	A	G	A+T	G+C	Toplam baz sayısı
GZP-1	26,5/255	22,1/213	25,6/246	25,6/246	52,19	47,8	960

18S rRNA-ITS-1 gen bölgesi yönünden *D. aequans* GZP-1 izolatının (MH400167) GenBank veri tabanında Blastn analizleri yapılmıştır. GZP-1 izolatının tür içi ve diğer *Diplectanum* türlerle benzerlik oranları Tablo 3’ de verilmiştir.

Blastn analizleri sonrasında GZP-1 izolatının (MH400167) 18S rRNA gen bölgesi yönünden Fransa (AJ276439) ve İtalya’dan (AM943816) izole edilen *D. aequans* türü ile %100 identik olduğu saptanmıştır. Bununla birlikte *D. aequans* GZP-1 izolatının (Türkiye, MH400167) *D. sillagonum* (AY553617) ile %97,3, *D. grouperi* (AY553618) ile %96,6 ve *D. blairense* (DQ537356) ile %96,2 oranında benzer olduğu belirlenmiştir (Tablo 3).



**Tablo 3.** 18S rRNA-ITS-1 gen bölgesi yönünden *Diplectanum aequans* GZP-1 izolatının (MH400167) Genbank'a kayıtlı diğer *Diplectanum* türler ile benzerlik oranları (%)

	<i>D. aequans</i> (MH400167), Türkiye	<i>D. aequans</i> (AJ276439), Fransa	<i>D. aequans</i> (AM943816), İtalya	<i>D. sillagonum</i> (AY553617)	<i>D. grouperi</i> (AY553618)	<i>D. blairense</i> (DQ537356)
<i>D. aequans</i> (MH400167), Türkiye	-	%100	%100	%97,3	%96,6	%96,2
<i>D. aequans</i> (AJ276439), Fransa	%100	-	%100	%97,3	%96,6	%96,2
<i>D. aequans</i> (AM943816), İtalya	%100	%100	-	%97,9	%98,2	%96,5
<i>D. sillagonum</i> (AY553617)	%97,3	%97,3	%97,9	-	%96,6	%98,2
<i>D. grouperi</i> (AY553618)	%96,6	%96,6	%98,2	%96,6	-	%95,9
<i>D. blairense</i> (DQ537356)	%96,2	%96,2	%96,5	%98,2	%95,9	-

*Diplectanum aequans* GZP-1 izolatu ile diğer *Diplectanum* türleri arasındaki 18S rRNA gen bölgesi yönünden genetik uzaklıkları (pairwise distance) Tablo 4’de sunulmuştur.

*Diplectanum aequans* GZP-1 izolatu (MH400167) ile diğer *Diplectanum* türleri arasında 18S rRNA gen bölgesi yönünden türler arası genetik uzaklık %0-7,6 arasında farklılık göstermiştir (Tablo 4).

**Tablo 4.** *Diplectanum* türleri arasında 18S rRNA gen bölgesinin nükleotid sekans farklılıklarının (%) ikili karşılaştırması

	1	2	3	4	5	6
1. <i>D. aequans</i> MH400167, Türkiye	-					
2. <i>D. aequans</i> AJ276439, Fransa	0,000					
3. <i>D. aequans</i> AM943816, İtalya	0,000	0,000				
4. <i>D. sillagonum</i> AY553617	0,030	0,030	0,027			
5. <i>D. grouperi</i> AY553618	0,035	0,035	0,024	0,040		
6. <i>D. blairense</i> DQ537356	0,076	0,076	0,084	0,019	0,045	-

28S rRNA gen bölgesi yönünden *D. aequans* GZP-1 izolatının (Türkiye: Karadeniz, MH400186) GenBank veri tabanında Blastn analizleri yapılmıştır. GZP-1 izolatının diğer *Diplectanum* türlerle ilgili gen bölgesine göre benzerlik oranları Tablo 5’ de verilmiştir.

Blastn analizleri sonrasında GZP-1 izolatının (MH400186) 28S rRNA gen bölgesi yönünden *D. blaiense* (AY553627) ile %86,8, *D. penangi* (DQ054821) ile %85,7, *D. sillagonum* (AY553626) ile %85,3, *D. grouperi* (DQ054820) ile %84,5, *D. veropolynemi* (AY553625) ile %84 ve *D. umbrinum* (EF100560) ile %83,7 oranında benzer olduğu saptanmıştır (Tablo 5).



**Tablo 5.** 28S rRNA gen bölgesi yönünden *Diplectanum aequans* GZP-1 izolatının (MH400186) Genbank'a kayıtlı diğer *Diplectanum* türler ile benzerlik oranları (%)

	<i>D. aequans</i> (MH400186)	<i>D. blaiense</i> (AY553627)	<i>D. penangi</i> (DQ054821)	<i>D. sillagonum</i> (AY553626)	<i>D. grouperi</i> (DQ054820)	<i>D.veropolynemi</i> (AY553625)	<i>D. umbrinum</i> (EF100560)
<i>D. aequans</i> (MH400186)	-	%86,8	%85,7	%85,3	%84,5	%84	%83,7
<i>D. blaiense</i> (AY553627)	%86,8	-	%88,1	%91,7	%89,5	%88,3	%86
<i>D. penangi</i> (DQ054821)	%85,7	%88,1	-	%88,8	%93,5	%86,9	%83,3
<i>D. sillagonum</i> (AY553626)	%85,3	%91,7	%88,8	-	%90,2	%80,7	%84,6
<i>D. grouperi</i> (DQ054820)	%84,5	%89,5	%93,5	%90,2	-	%84,3	%91,8
<i>D.veropolynemi</i> (AY553625)	%84	%88,3	%86,9	%80,7	%84,3	-	%81,9
<i>D. umbrinum</i> (EF100560)	%83,7	%86	%83,3	%84,6	%91,8	%81,9	-

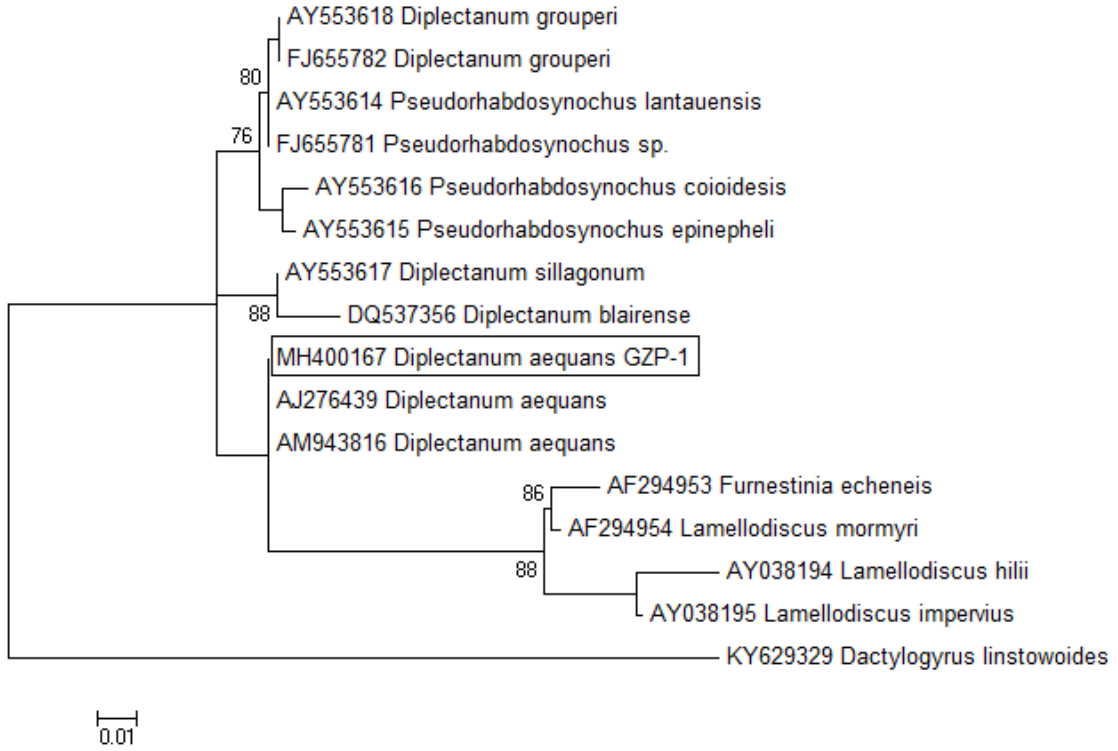
*Diplectanum aequans* GZP-1 izolatu ile diğer *Diplectanum* türleri arasında 28S rRNA gen bölgesi yönünden türler arası genetik uzaklık (pairwise distance) Tablo 6’da sunulmuştur.

*Diplectanum aequans* GZP-1 izolatu (MH400186) ile diğer *Diplectanum* türleri arasında 28S rRNA gen bölgesi yönünden genetik uzaklık %21,2-30 arasında farklılık göstermiştir (Tablo 6).

**Tablo 6.** *Diplectanum* türleri arasında 28S rRNA gen bölgesinin nükleotid sekans farklılıklarının (%) ikili karşılaştırması

	1	2	3	4	5	6	7
1. <i>D. aequans</i> MH400186							
2. <i>D. blaiense</i> AY553627	0,238						
3. <i>D. penangi</i> DQ054821	0,280	0,347					
4. <i>D. sillagonum</i> AY553626	0,224	0,112	0,337				
5. <i>D. grouperi</i> DQ054820	0,300	0,359	0,119	0,337			
6. <i>D. veropolynemi</i> AY553625	0,268	0,343	0,223	0,307	0,231		
7. <i>D. umbrinum</i> EF100560	0,212	0,261	0,273	0,227	0,306	0,274	

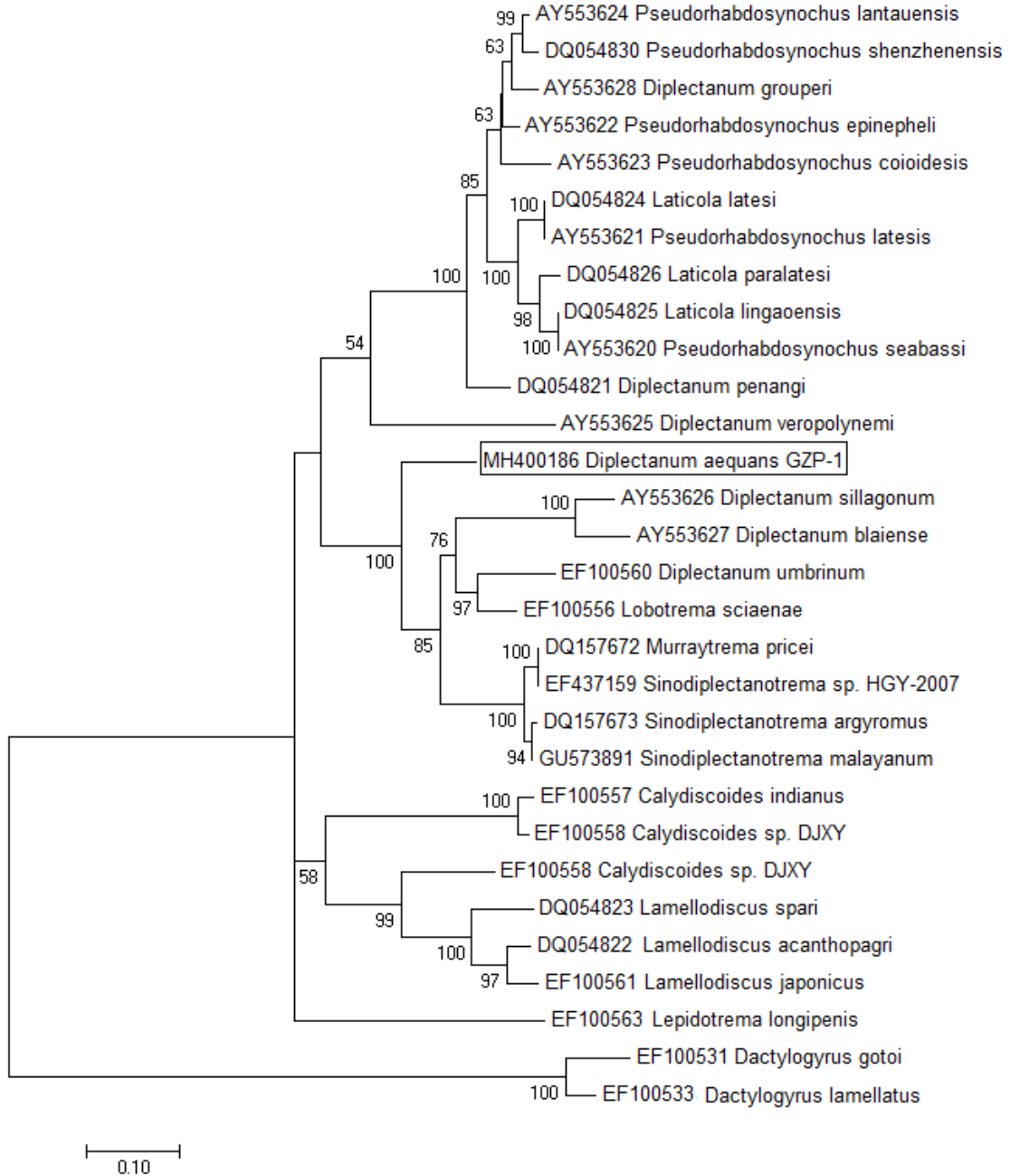
18S rRNA gen bölgesi yönünden *D. aequans* GZP-1 izolatının (MH400167) GenBank veri tabanında kayıtlı diğer diplectanid türler ile olan filogenetik ilişkisi Şekil 11’de gösterilmiştir.



**Şekil 11.** *Diplectanum* türlerinin 18S rRNA gen bölgesinin filogenetik ağacı. 18S rRNA dizilerinin evrimsel süreci ML analiz yönteminde Kimura-2 modeli kullanılarak ortaya konulmuştur. Filogenetik ağaç 100 tekrar ile yapılmıştır. Dalların önündeki rakamlar destek değerlerini göstermektedir. Diplectanid türlerinin Genbank erişim numaraları yanlarında belirtilmiştir. *Dactylogyrus linstowoides* (KY629329) dış grup olarak kullanılmıştır

Maksimum olasılık temelli filogenetik ağaç (Şekil 11) üzerinde görüleceği üzere Karadeniz’den izole edilen ve morfolojik olarak *D. aequans* olarak tanımlanan GZP-1 izolatı daha önce Fransa (AJ276439) ve İtalya’dan (AM943816) izole edilen ve moleküler olarak karakterize edilen *D. aequans* türü ile aynı dalda yer almıştır (Şekil 11). GZP-1 izolatının Fransa ve İtalya’dan karakterize edilen izolatlar ile aynı dalda yer alması morfolojik olarak *D. aequans* olarak tanımlanan GZP-1 izolatının moleküler olarakta *D. aequans* türü olduğunu kanıtlamıştır.

28S rRNA gen bölgesi yönünden *D. aequans* GZP-1 izolatının (MH400186) GenBank veri tabanında kayıtlı diğer Diplectanidae ailesindeki türler ile olan filogenetik ilişkisi Şekil 12’de gösterilmiştir.



**Şekil 12.** Diplectanidae ailesindeki türlerinin 28S rRNA gen bölgesinin filogenetik ağacı. 28S rRNA dizilerinin evrimsel süreci ML analiz yönteminde General Time Reversible modeli kullanılarak ortaya konulmuştur. Filogenetik ağaç 100 tekrar ile yapılmıştır. Dalların önündeki rakamlar destek değerlerini göstermektedir. Diplectanid türlerinin Genbank erişim numaraları yanlarında belirtilmiştir. *Dactylogyrus gotoi* ve *Dactylogyrus lamellatus* dış grup olarak kullanılmıştır

Maksimum olasılık temelli filogenetik ağaç (Şekil 12) üzerinde görüleceği üzere Karadeniz'den izole edilen *D. aequans* GZP-1 izolatının (MH400186) ayrı bir dalda yer aldığı ve *D. sillagonum* (AY553626), *D. blaiense* (AY553627), *D. umbrium* (EF100560), *Lobotrema sciaenae* (EF100556), *Murraytrema pricei* (DQ157672), *Sinodiplectanotrema* sp. HGY-2007 (EF437159), *Sinodiplectanotrema argyromus* (DQ157673) ve *Sinodiplectanotrema malayanum* (GU573891) türleri ile monofiletik kardeş grup oluşturduğu görülmüştür (Şekil 12).





## 5. TARTIŞMA

Bu çalışma ile Türkiye sularında yakalanan ve yetiştiriciliği yapılan levreklerde (*D. labrax*) diplectanid tür/türlerin (Monogenea, Diplectanidae) varlığı ve saptanan tür/türlerin moleküler karakterizasyonları araştırılmıştır. Türkiye karasularında avlanan ve yetiştirilen levreklerin parazitolojik incelemeleri sonucunda solungaç filamentlerinde *Diplectanum aequans* (Wagener, 1857) türü morfolojik olarak teşhis edilmiştir (Şekil 5-8). Levreklerin konak spesifik paraziti olan bu türün ayırt edici morfolojik özellikleri ilgili literatürler (Oliver 1968, 1976; Lambert ve Maillard, 1974; Silan ve Maillard, 1989; González-Lanza ve ark., 1991) ışığında yapılmıştır. Araştırmada Türkiye karasularında ağ kafeslerde yetiştirilen ve avcılık yolu ile yakalanan 40 levrekte *D. aequans*'in enfeksiyon oranı %100, enfeksiyon yoğunluğu 15,10 ve toplam parazit sayısı 604 olarak tespit edilmiştir. Aynı zamanda Karadeniz'de kültür levreklerinde enfeksiyon yoğunluğu 26,40 olarak tespit edilirken, Ege Denizi'nde kültür levreklerinde bu oran 9,80 olarak saptanmıştır. Bununla birlikte Karadeniz'de avcılık yolu ile yakalanan levreklerde enfeksiyon yoğunluğu 11,10 iken Ege Denizi'nde avlanan levreklerde enfeksiyon yoğunluğu 13,10 olarak tespit edilmiştir.

Araştırmada saptanan *D. aequans* türünün 18S rRNA-ITS-1 ile 28S rRNA gen bölgeleri moleküler olarak karakterize edilmiştir. Morfolojik incelemede *D. aequans* olarak olarak identifiye edilen GZP-1 izolatının 18S rRNA-ITS-1 gen bölgesinin Blastn analizleri sonrasında Fransa (AJ276439) ve İtalya'dan (AM943816) izole edilen *D. aequans* türü ile %100 identik olduğu saptanmıştır. Morfolojik olarak *D. aequans* olarak teşhis edilen türün aynı zamanda 18S rRNA gen bölgesinin analizleri ile moleküler olarak da *D. aequans* olduğu anlaşılmıştır. Ribozomal RNA gen bölgeleri yönünden karakterize edilen izolatların nükleotid dizilerinin Genbank kayıtları gerçekleştirilerek erişim numaraları alınmıştır. Bu araştırma ile MH400186 erişim numaralı GZP-1 izolatına ait 28S rRNA gen bölgesinin nükleotid dizilimi *D. aequans* türü için dünyada ilk kez Genbank veri tabanına kayıt edilmiştir. Aynı zamanda ülkemiz açısından *D. aequans* türüne ait GZP-1 izolatının 18S rRNA-ITS-1 ile 28S rRNA gen bölgeleri yönünden ilk kez moleküler karakterizasyonları ortaya konulmuştur.

*Diplectanum aequans* özellikle levrekleri (*D. labrax*) enfekte etmektedir. *Diplectanum aequans*'ın varlığı ile ilgili kayıtlar çok büyük bir oranda Akdeniz'de yaşayan ve kültüre edilen levreklerden rapor edilmiştir. Bununla birlikte Manş Denizi,

Doğu Atlantik Okyanusu ve Kızıldeniz’de yaşayan levreklerde de parazit tespit edilmiştir (Whittington ve Chisholm, 2008). Bununla birlikte ülkemiz karasularında avlanan ve yetiştiriciliği yapılan levreklerde *D. aequans* türü yüksek enfeksiyon oranlarında ve yoğunluğunda saptanmıştır (Tokşen, 2007; Öktener ve ark., 2009; Akmirza, 2010; Yardımcı ve Pekmezci, 2010; Akbaş, 2011; Bulut, 2011; Uzun, 2013; Emre ve ark., 2014; Öğüt ve Uzun, 2014).

Bu çalışmada Karadeniz’de Samsun kıyılarında avlanan ve yetiştiriciliği yapılan levreklerin parazitolojik incelemesi sonunda enfeksiyon oranı % 100 olarak tespit edilmiştir. Daha önceki yıllarda Karadeniz’de yapılan çalışmalarda Ordu ili Vona Koyu’nda ağ kafeslerde yetiştiriciliği yapılan levreklerde *D. aequans*’in enfeksiyon oranı da bizim çalışmamızda olduğu gibi %100 olarak tespit edilmiştir (Öktener ve ark., 2009). Karadeniz’de yapılan diğer çalışmalarda Ordu ve Trabzon illerinde ağ kafeslerde yetiştirilen levreklerde *D. aequans*’in enfeksiyon oranı %66,7-100 arasında değişkenlik göstermiştir (Öğüt ve Uzun, 2014). Yine Ordu-Perşembe yöresinde kafeslerde yetiştirilen levreklerde %91,7 oranında *D. aequans* yaygınlığı saptanmıştır (Uzun, 2013). Karadeniz’de daha önce yapılan çalışmalar ile bizim çalışmamızın verileri dikkate alındığında ağ kafeslerde yetiştirilen levreklerde *D. aequans* türünün çok yaygın olduğu anlaşılmaktadır. Bu çalışmada ile aynı zamanda Karadeniz’den avcılık yolu ile yakalanan levreklerde de *D. aequans* türünün enfeksiyon oranı %100 bulunmuştur. Bu tez çalışmasında Karadeniz’de avlanan ve yetiştirilen levreklerde *D. aequans*’in %100 oranlarında saptanması Karadeniz’de yetiştiricilik yapan levrek üreticilerine daha fazla sorun oluşturacağını göstermektedir.

Araştırmamızda Karadeniz’de kültüre edilen ve avlanan levreklerde sırası ile parazitin enfeksiyon yoğunluğu 26,40 ve 11,10 olarak saptanmıştır. Karadeniz’de yapılan diğer çalışmalarda Ordu ili Vona Koyu’nda ağ kafeslerde yetiştiriciliği yapılan levreklerde enfeksiyon yoğunluğu 3,45 olarak bulunmuştur (Öktener ve ark., 2009). Karadeniz’de yapılan başka bir çalışmada Ordu ve Trabzon illerinde ağ kafeslerde yetiştirilen levreklerde enfeksiyon yoğunluğu en yüksek olarak 6,08 olarak saptanmıştır (Öğüt ve Uzun, 2014). Karadeniz’de Öktener ve ark. (2009) ile Öğüt ve Uzun (2014) tarafından yapılan çalışmalar dikkate alındığında bu tez çalışmasında kafeslerde yetiştirilen levreklerde *D. aequans*’in enfeksiyon yoğunluğu daha yüksek bulunmuştur.

Bu çalışmada Ege Denizi’nde avlanan ve yetiştiriciliği yapılan levreklerin

parazitolojik incelemesi sonunda *D. aequans*'ın enfeksiyon oranı %100 olarak saptanmıştır. Ege Deniz'inde daha önceki yıllarda yapılan araştırmalarda parazitin enfeksiyon oranı farklı prevalans değerlerinde rapor edilmiştir (Akmırza, 2010; Yardımcı ve Pekmezci, 2010; Akbaş, 2011; Bulut, 2011). Bodrum Salih Adası civarında avlanan ve yetiştirilen levreklerde *D. aequans*'in enfeksiyon oranı sırası ile %21,5 ile %23,8 olarak tespit edilmiştir (Akmırza, 2010). Yine Ege Bölgesi'nde ağ kafeslerde yetiştirilen levreklerde enfeksiyon oranı %100 olarak saptanmıştır (Yardımcı ve Pekmezci, 2010). Muğla Milas bölgesinde denizde ağ kafeslerde ve karada toprak havuzlarda yetiştirilen levreklerde sırası ile *D. aequans*'in enfeksiyon oranı %95 ile %48,3 olarak tespit edilmiştir (Bulut, 2011). Ayrıca Antalya Beymelek Lagün Gölü'nde avlanan levreklerde *D. aequans*'in enfeksiyon oranı %71,2 olarak saptanmıştır (Emre ve ark., 2014).

Bu çalışmada Ege Denizi'nde kültüre edilen ve avlanan levreklerde sırası ile parazitin enfeksiyon yoğunluğu 9,8 ve 13,10 olarak tespit edilmiştir. Ege Denizi'nde ağ kafeslerde yetiştirilen ve günlük %1,5 oranında ölüm gözlenen havuzlarda parazitin enfeksiyon yoğunluğu 31,9 olarak bulunmuştur (Yardımcı ve Pekmezci, 2010). Muğla Milas yöresinde enfeksiyon yoğunluğu denizdeki ağ kafeslerde yetiştirilen levreklerde 28,9 iken toprak havuzda yetiştirilenlerde 21,2 olarak belirlenmiştir (Bulut, 2011). Bununla birlikte Antalya Beymelek Lagün Gölü'nde avlanan levreklerde *D. aequans*'in enfeksiyon yoğunluğu 35,03 olarak tespit edilmiştir (Emre ve ark., 2014).

Dünyanın farklı coğrafik alanlarında levreklerde *D. aequans* ve *D. laubieri* türleri rapor edilmiştir (González-Lanza ve ark., 1991; Cruz e Silva ve ark., 2000; Sterud, 2002; Mladineo, 2004; 2006; Dezfuli ve ark., 2007; Culurgioni ve ark., 2010; Amel ve ark., 2016; Antonelli ve ark., 2016).

González-Lanza ve ark., (1991) Akdeniz'in İspanya kıyılarında yetiştirilen levreklerde *D. aequans* ve *D. laubieri* türlerini tespit etmişlerdir. İspanya kıyılarında levreklerde *D. aequans*'in enfeksiyon oranı ve yoğunluğu %80,64 ve 112 olarak tespit edilmiştir. Portekiz'de kültür levreklerinde *D. aequans*'in enfeksiyon oranı %100 olarak rapor edilmiştir (Cruz e Silva ve ark., 2000). Benzer şekilde Norveç Oslo Haliç'inde yakalanan doğal levreklerde *D. aequans* %100 enfeksiyon oranında tespit edilmiştir (Sterud, 2002). Adriyatik Körfezi'nde ağ kafeslerde yetiştirilen levreklerde *D. aequans*'in enfeksiyon oranı %60-100 arasında bulunmuştur (Mladineo, 2004; 2006).

Yine Adriyatik Denizi'nin kuzey kıyısındaki genç levreklerde enfeksiyon oranı %73,6 oranında ve enfeksiyon yoğunluğu  $34,61 \pm 4,42$  olarak saptanmıştır (Dezfuli ve ark., 2007). Akdeniz'de Sardinya Adası Santa Gilla Lagon'unda doğal levreklerde enfeksiyon oranı ve yoğunluğu %96 ile 17 olarak saptanmıştır (Culurgioni ve ark., 2010). Akdeniz'in Cezayir kıyılarında yakalanan levreklerde %20 oranında *D. aequans* tespit edilmiştir (Amel ve ark., 2016). Bu tez araştırması ile de Türkiye karasularında kültüre edilen ve avcılık yolu ile yakalanan levreklerde *D. aequans*'in enfeksiyon oranı %100 ve enfeksiyon yoğunluğu 15,10 olarak belirlenmiştir.

DNA'nın bilinen bir gen bölgesi ya da genetik barkodları yeni taksonların tanımlanması veya var olan taksonların ayırt edilmesinde son zamanlarda sıklıkla kullanılmaktadır. Trematod taksonları arasında filogenetik ilişkilerin belirlenmesinde mitokondriyal (cox-1) ve nükleer ribozomal RNA (rRNA) genlerinin (18S-ITS1-5.8S-ITS2-28S) uygun ve etkin bölgeler olduğu bilinmektedir (Blasco-Costa ve ark., 2016).

Diplectanid türlerin moleküler olarak tanımlanması ya da türler arasında genetik uzaklıkların belirlenmesinde 28S rRNA gen bölgesinin D1-D3 domain kısmı ile 18S rRNA-ITS-1 gen bölgelerini içeren nükleer DNA'lar yaygın olarak kullanılmıştır (Hassouna ve ark., 1994; Verneau ve ark., 1997; Šimková ve ark., 2003; Wu ve ark., 2005; Tingbao ve ark., 2006, Lim ve ark., 2010; Chotnipat ve ark., 2015; Nitta ve Nagasawa, 2017). Son zamanlarda trematod taksonlarının filogenetik ilişkilerinin belirlenmesinde nükleer rRNA genleri ile mitokondriyal cox1 geninin çok popüler seçenekler olduğu görülse de, özellikle rRNA genlerinden 28S ve ITS gen bölgeleri daha sıklıkla kullanılmaktadır. Bu noktada taksonomik ilişkilerin belirlenmesinde en az bir korunan bölge (18S veya 28S rRNA) ve bir ara parçanın (ITS1, ITS2 veya tüm ITS1-5.8S-ITS2 bölgesi) filogeniye katılması önerilmektedir (Blasco-Costa ve ark., 2016).

Bugüne kadar *Diplectanum* türlerinin 28S rRNA gen bölgesi ile ilgili olarak Genbank veri tabanına *D. blaiense* (AY553627), *D. penangi* (DQ054821), *D. sillagonum* (AY553626), *D. grouperi* (DQ054820), *D. veropolynemi* (AY553625) ve *D. umbrinum* (EF100560) olmak üzere altı türünün veri kaydı girilmiştir. Ancak Genbank veri tabanına *D. aequans* türünün 28S rRNA geninin veri kaydı girilmemiştir. Bu araştırma ile dünyada ilk kez Genbank veri tabanına *D. aequans* türü için 28S rRNA veri kaydı girilmiştir. Bununla birlikte Türkiye'den izole edilen GZP-1 izolatının 18S

rRNA-ITS-1 gen bölgeleri bu araştırma ile ilk kez moleküler olarak karakterize edilmiştir.

Son yıllarda yapılan filogenetik tabanlı taksonomide Diplectanidae Monticelli, 1903 ailesi 4 alt aileye ayrılmıştır. Bunlar Nasobranthitrematinae Domingues & Boeger, 2008, Pseudomurraytrematoidinae Domingues & Boeger, 2008, Lamellodiscinae Oliver, 1969 ve Diplectaninae Monticelli, 1903 alt aileleridir. Diplectaninae Monticelli, 1903 alt ailesi *Paradiplectanum*, *Rhabdosynochus*, *Pseudodiplectanum*, *Monoplectanum*, *Latericaecum*, *Pseudolamellodiscus*, *Acleotrema*, *Diplectanum*, *Lobotrema*, *Murraytrema*, *Lepidotrema*, *Spinomatrix*, *Rhamnocercus*, *Rhamnocercoides*, *Oliveriplectanum*, *Murraytrematoides*, *Anoplectanum*, *Laticola*, *Pseudorhabdosynochus* ve *Echinoplectanum* soylarını içermektedir (Domingues ve Boeger, 2008). Bu araştırma sonucunda *D. aequans* GZP-1 izolatının 18S ve 28S rRNA gen bölgelerinin filogenetik soy ilişkilerinde son yapılan filogenetik tabanlı taksonomi ile benzer şekilde Diplectaninae alt ailesinde kümелendiği görülmüştür (Şekil 11-12).

## 6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu tez çalışması ile dünyada ilk kez *D. aequans* türüne ait GZP-1 izolatının 28S rRNA gen bölgesi moleküler olarak karakterize edilerek MH400186 erişim numarası ile Genbank veri tabanına kayıt edildi. Aynı zamanda ülkemize ait GZP-1 izolatının 18S rRNA-ITS-1 gen bölgesinin moleküler karakterizasyonu ilk kez yapılarak MH400167 erişim numarası ile Genbank veri kaydı yapıldı. Ülkemizin Karadeniz kıyılarından izole edilen *D. aequans* GZP-1 izolatına ait yeni ve geçerli olan rRNA verileri (MH400167, MH400186) Diplectanidae ailesindeki taksonların moleküler identifikasyonu ve filogenetik ilişkilerin belirlenmesinde faydalı olacaktır.

Trematod taksonları arasında filogenetik ilişkilerin çözümlenmesinde rRNA genleri haricinde mitokondriyal cox-1 geninin uygun ve etkili olduğu bilinmektedir. Bu nedenle *D. aequans* türünün genetik barkodlarının ortaya çıkarılması için cox-1 gen bölgesinin karakterize edilmesi gerekmektedir. Ayrıca ülkemiz karasularında levrek haricinde ekonomik önemi olan çipura (*Sparus aurata*) ve sarıağz (*Argyrosomus regius*) gibi diğer ekonomik balık türlerinde kültür yetiştiriciliği yapılmaktadır. Ekonomik öneme sahip bu balık türlerini enfekte eden diplectanid türlerinin araştırılması ve moleküler karakterizasyonlarının ortaya konulması gerekmektedir.

## KAYNAKLAR

- Akbaş M. Ege bölgesinde bulunan bazı ipura (*Sparus aurata*, Lin., 1758) ve levrek balığı (*Dicentrarchus labrax*, Lin., 1758) işletmelerinde parazitik hastalıkların araştırılması. Suleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Isparta, 2011; 1-73.
- Akmirza A. Salih adası civarındaki kültür ve doğal deniz balıklarındaki monogenean trematodlar ve crustacean parazitlerin araştırılması. Kafkas Univ Vet Fak Derg 2010; 16: 353-360.
- Altschul S, Madden T, Schaffer A, Zhang J, Zhang Z, Miller W, Lipman DJ. Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. Nucleic Acids Res 1997; 25(17): 3389-3402.
- Amel BTN, Meddour A, Nadjadi ZM, Boutiba Z. First records of helminth parasites of *Dicentrarchus labrax* in the western coast of Algeria. J Appl Environ Biol Sci 2016; 6(1): 46-51.
- Antonelli L, Foata J, Quilichini Y, Marchand B. Influence of season and site location on European cultured sea bass parasites in Corsican fish farms using indicator species analysis (IndVal). Parasitol Res 2016; 115: 561-568.
- Aydın H. Türkiye'de kültür balıkçılığı potansiyeli ve akuakültür sektörünün ekonomiye katkısı. Bal Sos Bil Derg 2017; 6(11): 62-67.
- Barber I, Hoare D, Krause J. Effects of parasites on fish behaviour: a review and evolutionary perspective. Rev Fish Biol Fish 2000; 10(2): 131-165.
- Barber I, Poulin R. Interactions between fish, parasites and disease. In: Hart PJB, Reynolds JD, editors. Handbook of fish biology and fisheries. Volume 1, Blackwell Publishing. 2002; 359-384.
- Blasco-Costa I, Cutmore SC, Miller TL, Nolan MJ. Molecular approaches to trematode systematics: "best practice" and implications for future study. Syst Parasitol 2016; 93(3): 295-306.
- Braun, JV. The world food situation. New driving forces and required actions. Washington, D.C, USA, International Food Policy Research Insitutute. 2005; 1-8.
- Buchmann, K., Bresciani, J. Monogenea (Phylum Platyhelminthes). In: Woo PTK, editor. Fish diseases and disorders Volume 1: Protozoan and metazoan infections. 2nd Ed., CAB International. 2006; 297-344.
- Bullard SA, Overstreet RM. Digeneans as enemies of fishes. In: Eiras JC, Segner H, Wahli T, Kapoor BG, editors. Fish diseases Volume 2, Science Publishers. 2008; 817-976.

- Bulut S. Muğla Milas bölgesinde yetiştirilen levrek (*Dicentrarchus labrax* L.1758) balıklarında bulunan parazit türlerinin tespiti. Muğla Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Muğla, Yüksek Lisans Tezi. 2011; 1-68.
- Burgu A, Umur Ş. Su ürünleri yetiştiriciliği ve hastalıkları. Burdur. 2003; 1-161.
- Cecchini S, Saroglia M, Berni P, Cognetti-Varriale AM. Influence of temperature on the life cycle of *Diplectanum aequans* (Monogenea, Diplectanidae), parasitic on sea bass, *Dicentrarchus labrax* (L.). J Fish Dis 1998; 21: 73-75.
- Chotnipat S, Miller TL, Knuckey RM, Hutson KS. Molecular and morphological evidence for the widespread distribution of *Laticola paralatesi* infecting wild and farmed *Lates calcarifer* in Australia. Dis Aquat Organ 2015; 113(3): 195-205.
- Cognetti-Varriale AM, Cecchini S, Saroglia M. Therapeutic trials against the *Diplectanum aequans* (Monogenea), parasite of sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) in intensive farming. Bull Eur Assoc Fish Pathol 1992; 12: 204-206.
- Cruz e Silva MP, Orge ML, Afonso-Roque MM, Grazina-Freitas MS, Carvalho-Varela M. *Diplectanum aequans* (Wagener, 1857) Diesing, 1858 (Monogenea, Diplectanidae) in sea bass (*Dicentrarchus labrax* (L.), 1758) from freshwater culture. Acta Parasitol Port 2000; 7(1/2): 53-56.
- Culurgioni J, De Murtas R, Cannella S, Figus V. Parasites of wild European sea bass *Dicentrarchus labrax* (Linnaeus, 1758) from St. Gilla lagoon (Sardinia, South Western Mediterranean). Ittiopatologia 2010; 7: 123-133.
- Dezfuli B, Luisa G, Edi S, Roberto M, Shinn A, Maurizio M. Gill histopathology of cultured European sea bass, *Dicentrarchus labrax* (L.), infected with *Diplectanum aequans* (Wagener 1857) Diesing 1958 (Diplectanidae: Monogenea). Parasitol Res 2007; 100: 707-713.
- Domingues MV, Boeger WA. Phylogeny and revision of Diplectanidae Monticelli, 1903 (Platyhelminthes: Monogenoidea). Zootaxa 2008; 1698: 1-40.
- Emre N, Kubilay A, Aydoğdu A. Prevalence, intensity and abundance of helminth parasites infections on wild sea bass, *Dicentrarchus labrax* (Moronidae) from Beymelek Lagoon Lake, Antalya, Turkey. Journal of Academic Documents for Fisheries and Aquaculture. 2014; 1: 31-39.
- Ewing B, Green P. Base-calling of automated sequencer traces using phred. II. Error probabilities. Genome Res 1998; 8(3): 186-194.
- Ewing B, Hillier, L, Wendl MC, Green P. Base-calling of automated sequencer traces using phred. I. Accuracy assessment. Genome Res 1998; 8(3): 175-185.
- FAO. *Dicentrarchus labrax* (Linnaeus, 1758)  
<http://www.fao.org/fishery/species/2291/en>, 2018. Erişim Tarihi: 01.04.2018.



- Felsenstein, J. Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution* 1985; 39(4): 783-791.
- González-Lanza C, Alvarez-Pellitero P, Sitja-Bobadilla A. Diplectanidae (Monogenea) infestations of sea bass, *Dicentrarchus labrax* (L.), from the Spanish Mediterranean area. *Parasitol Res* 1991; 77(4): 307-314.
- Hall TA. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symp Ser* 1999; 41: 95-98.
- Hassouna N, Michot B, Bachellerie JP. The complete nucleotide sequence of mouse 28S rRNA gene. Implications for the process of size increase of the large subunit rRNA in higher eukaryotes. *Nucleic Acids Res* 1984; 12(8): 3563-3583.
- Kearse M, Moir R, Wilson A, Stones-Havas S, Cheung M., Sturrock S, Buxton S, Cooper A, Markowitz S, Duran C, Thierer, T, Ashton B, Meintjes P, Drummond A. Geneious Basic: an integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data. *Bioinformatics* 2012; 28(12): 1647-1649.
- Kent ML, Fournie JW. Parasites of fishes. In: Baker DG, editor. *Flynn's parasites of laboratory animals*. 2nd Ed., Blackwell Publishing. 2007; 69-116.
- Kumar S, Stecher G, Tamura K. MEGA7: Molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. *Mol Biol Evol* 2016; 33(7): 1870-1874.
- Lambert A, Maillard C. Parasitisme branchial simultanè pardeux especes de *Diplectanum* Diesing, 1858 (Monogenea, Monopisthocotylea) chez *Dicentrarchus labrax* (L. 1758). *C R Acad Sci (Paris)* 1974; 279: 1345-1347.
- Lim LHS, Tan WB, Gibson DI. Description of *Sinodiplectanotrema malayanum* n. sp. (Monogenea: Diplectanidae), with comments on the taxonomic position of the genus. *Syst Parasitol* 2010; 76(2): 145-157.
- Meyer FP. 1991. Aquaculture disease and health management. *J Anim Sci* 1991; 69(10): 4201-4208.
- Mladineo I. Monogenean parasites in Adriatic cage-reared fish. *Acta Adriat* 2004; 45(1): 65-73.
- Mladineo I. Parasites of Adriatic cage reared fish, *Acta Adriat* 2006; 47(1): 23-28.
- Moravec F, Ergens R, Našincová V, Scholz T. Parasitic metazoa. In: Svobodová Z, Vykusová B. editors. *Diagnostics, prevention and therapy of fish diseases and intoxication*. Research Institute of Fish Culture and Hydrobiology, Vodňany, Czechoslovakia. 1991; 80-109.

- Nitta M, Nagasawa K. A new species of *Furcohaptor* Bijukumar & Kearns, 1996 (Monogenea: Diplectanidae) parasitic on *Cynoglossus robustus* Günther (Pleuronectiformes: Cynoglossidae) in the Seto Inland Sea, Japan, with comments on its systematic position and an amended generic diagnosis of *Furcohaptor*. *Syst Parasitol* 2017; 94(8): 907-913.
- Oliver G. Recherches sur les Diplectanidae (Monogenea) parasites de téléostéens du Golfe du Lion. I. Diplectaninae Monticelli, 1903. *Vie et Milieu Série A: Biologie Marine* 1968; 19: 95-138.
- Oliver G. Étude de *Diplectanum aequans* (Wagener, 1857) Diesing, 1858 Monogenea, Monopisthocotylea, Diplectanidae) au microscope électronique à balayage. *Z Parasitenkd* 1976; 51(1): 91-98.
- Oliver G. Effet pathogène de la fixation de *Diplectanum aequans* (Wagener, 1857) Diesing, 1858 (Monogenea, monopisthocotylea, Diplectanidae) sur les branchies de *Diplectanum labrax* (Linnaeus, 1758), (Pisces, Serrnidae). *Z Parasitenkd* 1977; 53: 7-11.
- Ögüt H, Uzun E. Incidence and prevalence of *Diplectanum aequans* and its influence on the fitness of juvenile sea bass (*Dicentrarchus labrax*) in the Black Sea. *Aquaculture Res* 2014; 45: 742-748.
- Öktener A, Alaş A, Solak K. Occurrence of *Diplectanum aequans* (Wagener, 1857) on the cultures sea bass, *Dicentrarchus labrax* (Linnaeus, 1758) from the Black Sea of Turkey. *Bull Eur Ass Fish Pathol* 2009; 29(3): 102-103.
- Paperna I, Dzikowski R. 2006. Digenea (Phylum Platyhelminthes). In: Woo PTK, editor. *Fish diseases and disorders. Volume 1: Protozoan and metazoan infections*. 2nd Ed., CAB International. 2006; 345-390.
- Pillay TVR. *Aquaculture and the environment*. Second Edition, Oxford, UK, Blackwell Publishing. 2004; 92-95.
- Reiczigel J, Rózsa L. *Quantitative Parasitology 3.0*. Budapest, Hungary.
- Roberts RJ. The parasitology of teleost. In: Robert RJ, editor. *Fish pathology*, Third Edition, Harcourt Publishers. 2001; 254-297.
- Rózsa L, Reiczigel J, Majoros G. Quantifying parasites in samples of hosts, *J Parasitol* 2000; 86(2): 228-232.
- Scholz T. Parasites in cultured and feral fish. *Vet Parasitol* 1999; 84(3): 317-335.
- Silan P, Maillard C. Modalités de l'infestation par *Diplectanum aequans*, Monogène ectoparasite de *Dicentrarchus labrax* en aquaculture. Eléments d'épidémiologie et de prophylaxie. In: Vivares CP, Bonami JR, Jasper E, editors. *Pathology in marine aquaculture*. Belgium, European Aquaculture Society, 1986; 139-152.

- Silan P, Maillard C. Biologie comparée du développement et discrimination des Diplectanidae ectoparasites du Bar (Teleostei). Ann Sci Nat Zool 1989; 10: 31-45.
- Šimková A, Plaisance L, Matjusová I, Morand S, Verneau O. Phylogenetic relationships of the Dactylogyridae Bychowsky, 1933 (Monogenea: Dactylogyridea): the need for the systematic revision of the Ancyrocephalinae Bychowsky, 1937. Syst Parasitol 2003; 54(1): 1-11.
- Sterud, E. Parasites of wild sea bass *Dicentrarchus labrax* from Norway. Dis Aquat Organ 2002; 48: 209-212.
- Thompson JD, Gibson TJ, Higgins DG. Multiple sequence alignment using ClustalW and ClustalX. Curr Protoc Bioinformatics 2003: 1, 2-3.
- Tingbao Y, Kritsky DC, Yuan S, Jianying Z, Suhua S, Agrawal N. Diplectanids infesting the gills of the barramundi *Lates calcarifer* (Bloch) (Perciformes: Centropomidae), with the proposal of *Laticola* ng (Monogeneoidea: Diplectanidae). Syst Parasitol 2006; 63(2): 125-139.
- Tokşen E. Ege denizinde yetiştiriciliği yapılan levrek (*Dicentrarchus labrax* Linnaeus, 1758)'lerin solungaç paraziti *Diplectanum aequans* (Wagener, 1857) (Monogenea: Diplectanidae)'in tedavisi üzerine denemeler. Ekoloji 2007; 16(62): 66-71.
- Tokşen E, Nemli E, Koyuncu E, Cankurt M. Effect of trichlorfon on *Diplectanum aequans* (Monogenea: Diplectanidae) infestations in cultured sea bass, *Dicentrarchus labrax*. Bull Eur Ass Fish Pathol 2012; 32(3): 103-108.
- Tokşen E, Nemli E, Cankurt M. Effect of teflubenzuron on *Diplectanum aequans* (Monogenea: Diplectanidae) infestations in cultured sea bass, *Dicentrarchus labrax*. Bull Eur Ass Fish Pathol 2013a; 33(3): 91-96.
- Tokşen E, Nemli E, Değirmenci U, Karacalar U. The effects of azamethiphos and trichlorfon on the control of *Diplectanum aequans* (Monogenea: Diplectanidae) infestations in cultured broodstock sea bass, *Dicentrarchus labrax*. Bull Eur Ass Fish Pathol 2013b; 33(5): 144-149.
- Tonguthai K. Control of freshwater fish parasites: a Southeast Asian perspective. Int J Parasitol 1997; 27(10): 1185-1191.
- TÜİK. T. C. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Su Ürünleri İstatistikleri Şubat 2018. <https://www.tarim.gov.tr/sgb/Belgeler/SagMenuVeriler/BSGM.pdf>, 2018. Erişim tarihi: 04.05.2018.
- Uzun E. Doğu Karadeniz'de deniz levreği'nde (*Dicentrarchus labrax*) ölümlere sebep olan bakteriyel hastalıklar ve mevsimselliklerinin belirlenmesi. Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon, Yüksek Lisans Tezi. 2013; 1-96.

- Verneau O, Renaud F, Catzefflis F. Evolutionary relationships of sibling tapeworm species (Cestoda) parasitizing teleost fishes. *Mol Biol Evol* 1997; 14(6): 630-636.
- Whittington ID, Chisholm LA. Diseases caused by monogenea. In: Eiras JC, Segner H, Wahli T, Kapoor BG. editors. *Fish diseases Volume 2*. USA, Science Publishers. 2008; 683-816.
- Williams H, Jones A. *Parasitic worms of fish*. London, Taylor & Francis Ltd. 1994; 306-371.
- Wu XY, Li AX, Zhu XQ, Xie MQ. Description of *Pseudorhabdosynochus seabassi* sp. n. (Monogenea: Diplectanidae) from *Lates calcarifer* and revision of the phylogenetic position of *Diplectanum grouperi* (Monogenea: Diplectanidae) based on rDNA sequence data. *Folia Parasitol* 2005; 52(3): 231-240.
- Yardımcı B, Pekmezci GZ. Gill histopathology in cultured sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) co-infected by *Diplectanum aequans* (Wagener, 1857) and *Lernanthropus kroyeri* (van Beneden, 1851). *Ank Univ Vet Fak Derg* 2012; 59: 61-64.

## ÖZGEÇMİŞ

**Adı Soyadı:** Coşkun AYDIN

**Doğum Yeri:** Ankara

**Doğum Tarihi:** 26.04.1982

**Medeni Hali:** Evli

**Bildiği Yabancı Diller:** İngilizce

**Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl):** Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi-2004

**Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl:**

İlçe Gıda, Tarım ve Hayvancılık Müdürlüğü Kandıra- KOCAELİ (2006-2008)

İlçe Gıda, Tarım ve Hayvancılık Müdürlüğü Çubuk- ANKARA (2008-2013)

Samsun Veteriner Kontrol Enstitüsü (2013-devam ediyor)

**E-posta:** coskunaydin08@gmail.com