

Sayı : 83501499-604.0144791
Konu : Proje Sonuç Raporu

03.04.2024

BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJELERİ KOORDİNASYON BİRİMİNE

Yürütücüsü olduğum 2021/7-10 M nolu projeye ait sonuç raporu belgeleri ekte sunulmaktadır.
Gereğini bilgilerinize arz ederim.

e-imzalıdır

Doç. Dr. Mikail ÖZCAN
Öğretim Üyesi

Ek:

- 1- SONUÇ RAPORU FORMU (2 Sayfa)
- 2- TESLİM DİLEKÇESİ (1 Sayfa)
- 3- 2021-7-10 M MÜNFERİT PROJE SONUÇ RAPORU KİTABI (148 Sayfa)





T.C.
KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ
BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJELERİ KOORDİNASYON BİRİMİ
SONUÇ RAPORU

F-6

Proje Adı

Kılavuzlu Baraj Gölü'ndeki Gökkuşuğu Alabalığı İşletmelerinde Bakteriyel Hastalıkların Biolog Gen III, PCR ve Sekans Analizi ile Tanımlanması

Proje No	Başlama Tarihi	Bitiş Tarihi	
2021/7-10 M	31-12-2021	01-03-2024	
Rapor Türü	Raporun Kapsadığı Dönemin Tarihleri		
Sonuç Raporu	31-08-2023	01-03-2024	
Bilimsel Araştırmalar Birimi Tarafından Sağlanan Destek Miktarı	Gelişme Raporu Döneminde Harcanan	Şimdiye Kadar Harcanan	Kalan
49.000,00 TL		47.224,78 TL	1.775,22 TL
Destek Sağlayan Diğer Kuruluşların Katkısı	Gelişme Raporu Döneminde Harcanan	Şimdiye Kadar Harcanan	Kalan

SAĞLANAN DESTEKTEN ŞİMDİYE KADAR YAPILAN HARCAMALARIN FASILLARA GÖRE DAĞILIMI

Fasıl	Harcanan	Kalan
TÜKETİME YÖNELİK MAL VE MALZEME ALIMLARI	42.233,38 TL	1.775,22 TL
HİZMET ALIMLARI	4.991,40 TL	0,00 TL

RAPOR DÖNEMİNE AİT İLGİLİ YAYINLAR

No	Yayın
	Bulunmamaktadır

RAPOR DÖNEMİNE AİT İLGİLİ FİKRİ MÜLKİYETLER

No	Fikri Mülkiyet Adı	Fikri Mülkiyet No	Alındığı Ülke	Tescil Tarihi
				Bulunmamaktadır

RAPOR DÖNEMİNDE YAPILAN ÇALIŞMALAR VE ELDE EDİLEN SONUÇLAR

Sonuç Rapor Özeti :

Bu çalışma Kılavuzlu Baraj Gölü'nde faaliyet gösteren kafeslerde üretim ve yetiştiricilik yapılan balıkçılık tesislerinin belirlenmesi, özellikle işletmelerdeki balıklarda sıklıkla rastlanan bakteriyel hastalıklar yönünden taranması hedeflendi. Bu amaçla Ocak 2022 ve Ocak 2023 tarihleri arasında 18 farklı alabalık işletmelerinden 5-300 gr ağırlığındaki hastalık şüphesi olan Gökkuşuğu alabalık örnekleri canlı olarak alınıp laboratuvara getirilip dış muayene yapıldı. Sonrasında göz, karaciğer, dalak, böbrek, bağırsak ve deri doku örnekleri alındı. Bakteriyel hastalık etkenlerinin izolasyonu için; Tryptic Soy Agar (TSA), Nutrient Broth (NB), Brain-Heart Infusion Agar (BHIA), KF Streptococcus Agar (BASE), Yersinia Selective Agar (CIN), Tryptone Yeast Extract Salt Agar (TYES-A) ve kanlı agar (KA) kullanıldı. Bu besiyerleri 15-24 oC'de 24-72 saat süreyle inkübatörde inkübe edildi. Alabalık işletmelerinden alınan bu örneklerden elde edilen saf suşlara biyokimyasal tanımlama testleri aynı sıra Biolog Sistemi (The biolog GENIII micro plate) uygulanıp fenotipik özellikleri incelendi. Biolog Sistemi ile tanımlanmış suşların Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) tekniğiyle teyit edilmesinde özel primer kullanıldı. Takiben bu suşların tamamının moleküler olarak teyit yapıldı. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) ile doğrulanan suşların genetik özelliklerine bakıldı. Elde edilen bakteri örneklerinin sekans analizi yapıldı ve analiz sonucu NCB'daki referans bakteriye göre yorumlandı. Sonuç olarak; 28 adet Lactococcus garviae, 22 adet Vagococcus salmoninarum, 14 adet Yersinia ruckeri, 16 adet Vibrio anguillarum ve 20 adet Aeromonas sobria suşu fenotipik ve genetik özelliklerine göre tanımlama yapıldı.

Bu belge, güvenli Elektronik İmza ile imzalanmıştır.

Bu belgeyi sorgulaması için <https://turkiye.gov.tr/ebd?ek=5637&ed=BSC8689B7J&es=44791> adresinden yapılabilir.

Evrak sorgulaması için <https://turkiye.gov.tr/ebd?ek=5637&ed=BS586R61F6&es=302767> adresinden yapılabilir.

Rapor içeriği için lütfen eke bakınız.

EK: [2021-7-10 M MÜNFERİT PROJE SONUÇ RAPORU.pdf](#)

Demirbaş[Taşınır Alımları

Proje Kapsamında Demirbaş Niteliğinde Taşınır Alınmamıştır.

Proje Yürütücü Unvanı, Adı SOYADI	İmzası	Tarih
Doç.Dr. Mikail ÖZCAN		02-04-2024

Bu belge, güvenli Elektronik İmza ile imzalanmıştır.

Bu belgeyi sorgulamak için <https://turkiye.gov.tr/ebd?ek=5637&eD=BSC8689B7J&eS=44791> adresinden yapılabilir.

Evrak sorgulaması için <https://turkiye.gov.tr/ebd?ek=5637&eD=BS586R61F6&eS=302767> adresinden yapılabilir.



T.C.
KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ
BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJELERİ KOORDİNASYON BİRİMİNE

Proje Numarası :	2021/7-10 M
Projenin Adı :	Kılavuzlu Baraj Gölü'ndeki Gökkuşluğu Alabalığı İşletmelerinde Bakteriyel Hastalıkların Biolog Gen III, PCR ve Sekans Analizi ile Tanımlanması
Projenin Türü :	Münferit Proje (M)
Proje Yön. Unv.-Adı-Soyadı :	Doç.Dr. Mikail ÖZCAN
Görev Yeri :	Ziraat Fakültesi
Bölümü :	Su Ürünleri
Sözleşmeye Göre Projenin	
Başlangıç Tarihi :	31-12-2021
Bitiş Tarihi :	01-03-2024
Alınan Ek Süre :	0 Ay
Sonuç Raporu Tarihi :	02-04-2024
Proje Bütçesi :	49.000,00 TL
Alınan Ek Ödenek :	0,00 TL
Projenin Toplam Bütçesi :	49.000,00 TL
Harcanan Miktar :	47.224,78 TL
Proje Kalan Bütçesi :	1.775,22 TL
İşyeri Telefon Numarası :	(344)280-2097
Cep Telefon Numarası :	(536)483-6453
Proje Yöneticisinin İş Adresi :	Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Su Ürünleri Bölümü 46100 KAHRAMANMARAŞ
Demirbaş/Taşınır Alımları	Proje Kapsamında Demirbaş Niteliğinde Taşınır Alınmamıştır.

Projemin sonuç raporunun kabulünü arz ederim./...../202..

Doç.Dr. Mikail ÖZCAN
(İmza)

Projemin Sonuç Raporunun, Üniversitemiz BAP/Kütüphane İnternet Sayfasında;

- | | |
|---|-------------------------------------|
| 1.Yayınlanmasına İzin Vermiyorum. | ☒ |
| 2.Sadece Özetin Yayınlanmasına İzin Veriyorum. | ☐ |
| 3.Tam Metin Yayınlanmasına İzin Veriyorum. | ☐ |
| 4. Tarihinden İtibaren Tam Metin Yayınlanmasına İzin Veriyorum. | ☐ |

Bu belge, güvenli Elektronik İmza ile imzalanmıştır.

Bu belgeyi sorgulamak için <https://turkiye.gov.tr/ebd?ek=5637&eD=BSC8689B7J&eS=44791> adresinden yapılabilir.

Evrak sorgulaması için <https://turkiye.gov.tr/ebd?ek=5637&eD=BS586R61F6&eS=302767> adresinden yapılabilir.



**T.C.
KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM
ÜNİVERSİTESİ**

**KILAVUZLU BARAJ GÖLÜ'NDEKİ GÖKKUŞAĞI
ALABALIĞI İŞLETMELERİNDE BAKTERİYEL
HASTALIKLARIN BİOLOG GEN III, PCR VE SEKANS
ANALİZİ İLE TANIMLANMASI**

**BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJELERİ
KOORDİNASYON BİRİMİ**

2024 KAHRAMANMARAŞ

Bu belge, güvenli Elektronik İmza ile imzalanmıştır.

Bu belgeyi sorgulamak için <https://turkiye.gov.tr/ebd?ek=5637&eD=BSC8689B7J&eS=44791> adresinden yapılabilir.

Evrak sorgulaması <https://turkiye.gov.tr/ebd?ek=5637&eD=BS586R61F6&eS=302767> adresinden yapılabilir.

**KILAVUZLU BARAJ GÖLÜ’NDEKİ GÖKKUŞAĞI
ALABALIĞI İŞLETMELERİNDE BAKTERİYEL
HASTALIKLARIN BİOLOG GEN III, PCR VE SEKANS
ANALİZİ İLE TANIMLANMASI**

Proje No: 2021/7-10 M

Doç. Dr. Mikail ÖZCAN

Dr. Oğuzhan KUZUCU

2024 KAHRAMANMARAŞ

Bu belge, güvenli Elektronik İmza ile imzalanmıştır.

Bu belgeyi sorgulaması için <https://turkiye.gov.tr/ebd?eK=5637&eD=BSC8689B7J&eS=44791> adresinden yapılabilir.

Evrak sorgulaması için <https://turkiye.gov.tr/ebd?eK=5637&eD=BS586R61F6&eS=302767> adresinden yapılabilir.

ÖNSÖZ

Ülkemizde kişi başına yetersiz olan hayvansal protein tüketiminin istenilen düzeye çıkarılması için özellikle su ürünleri; besin değeri yüksek, doğal stokların yanında kültür yoluyla üretimi her geçen gün artış gösteren bir hayvansal besin maddesi olarak bu açığın kapatılmasında önemli bir seçenektir. Kültür balıkçılığı için yurdumuz çok elverişli bir konuma sahiptir. Özellikle gökkuşağı alabalığı kültürü ülkemizde gün geçtikçe yaygınlaşmakta ve ekonomideki yerini arttırmaktadır. Kültür balıkları yetiştiriciliğinde balıkların birbirleriyle yakın temasta bulunmaları, suların çabuk kirlenmesi ve su kalitesinin (fiziksel, kimyasal, ve mikrobiyolojik parametrelerinin) optimal değerlerin dışına çıkması gibi nedenlerle balıklar arasında infeksiyöz ve non-infeksiyöz hastalıklar kolayca ortaya çıkmakta, yayılmakta ve zamanında gerekli koruyucu önlemler alınmazsa ve değişen yaşam koşulları düzeltilmezse, bu hastalıkların kolayca yayılarak ölümcül boyutlara ulaşmasına neden olmaktadır. Böyle durumlar da balıkların sağlığına olduğu kadar, işletmenin ekonomisine ve geleceğine olumsuz yönde etki etmektedir.

Araştırmada, Kılavuzlu Baraj Gölü'nde bulunan kafes işletmelerindeki alabalıklarda örnekler alınarak kültür yöntemi ile besiyerlerine ekimler yapıldı. Elde edilen saf suşlara biyokimyasal testler ve Biolog Sistemi (The biolog GENIII micro plate) ile fenotipik identifikasyon, PCR (Polymerase Chain Reaction), ve Sekans Analizi ile moleküler tanımlama yapıldı. Böylece bakteriyel hastalık etkenlerinin bölgedeki yaygınlığı, Kılavuzlu Baraj Gölü'ndeki dağılımı ve kaynakları tespit edildi. Ayrıca bakteriyel hastalık etkenlerine karşı uygulanacak antibiyogram ile hastalığın yayılması önlenerek, sektörün verimliliği arttırılacaktır. Bu amaçla “Kılavuzlu Baraj Gölü'ndeki Gökkuşağı Alabalığı İşletmelerinde Bakteriyel Hastalıkların Biolog Gen III, PCR ve Sekans Analizi ile Tanımlanması” başlıklı bilimsel araştırma projesi Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi tarafından proje numarası 2021/7-10 M ile desteklenmiştir. Destekleri için Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Rektörlüğü Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimine teşekkür ederiz.

Projenin başlama tarihi 31.12.2021 ve bitiş tarihi 01.03.2024'tür.

Doç. Dr. Mikail ÖZCAN

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖNSÖZ.....	I
İÇİNDEKİLER.....	II
ŞEKİLLER DİZİSİ.....	V
ÇİZELGELER DİZİSİ.....	VIII
ÖZET.....	X
ABSTRACT.....	XI
1. GİRİŞ.....	1
2. MATERYAL VE METOT.....	10
2.1. Materyal.....	10
2.1.1. Çalışma alanı.....	10
2.1.2. Balık materyali.....	11
2.1.3. Bakteri izolasyonda kullanılan besiyerleri.....	11
2.1.3.1. Tryptic Soy Agar (TSA).....	11
2.1.3.2. Nutrient Broth (NB).....	11
2.1.3.3. Brain-Heart Infusion Agar (BHIA).....	11
2.1.3.4. KF Streptococcus Agar (BASE).....	11
2.1.3.5. Yersinia Selective Agar (CIN).....	11
2.1.3.6. Tryptone Yeast Extract Salt Agar (TYES-A).....	12
2.1.3.7. Kanlı agar (KA).....	12
2.1.4. Bakteri identifikasyonunda kullanılan besiyerleri.....	12
2.1.4.1. Oksidasyon- Fermentasyon Besiyeri (O/F).....	12
2.1.4.2. Metil Kırmızısı - Voges Proskauer (MR-VP).....	12
2.1.4.3. Simmons Sitrat Yatık Agar.....	12
2.1.4.4. MacConkey Agar (MCA).....	12
2.1.4.5. Biolog Dehydrated Growth Agar.....	13
2.1.5. Kimyasallar ve Ayıraçlar.....	13
2.1.5.1. % 20 Potasyum Hidroksit.....	13
2.1.5.2. Hidrojen Peroksit (% 3'lük).....	13
2.1.5.3. Gram Boyama Ayıraçları.....	13
2.1.5.4. Kovaks İndol Ayırıcı.....	13
2.1.5.5. Oksidaz Ayırıcı.....	13
2.1.6. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) İşleminde Kullanılan Ayıraçlar ..	14
2.1.6.1. DNA Ekstraksiyonunda Kullanılan Ayıraçlar.....	14
2.1.6.1.1. Proteinase K Solüsyonu (100 mg, Sigma, P2308, St. Louis, MO).....	14
2.1.6.1.2. TNES buffer tampon solüsyonu.....	14
2.1.6.1.3. Phenol Equilibrated, Stabilized: Chloroform: Isoamyl alcohol 25:24:1 (A0889, Applichem, Darmstadt).....	14
2.1.6.1.4. Sodyum Asetat Kristalle.....	14
2.1.6.1.5. Absolute Ethanol (Mutlak Alkol, % 96 Etilalkol).....	14
2.1.6.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) Analizinde Kullanılan Ayıraçlar.....	14
2.1.6.2.1. 10x PZR Buffer (MBI Fermentas).....	14
2.1.6.2.2. MgCl ₂ (MBI Fermentas).....	14
2.1.6.2.3. dNTP Set (100mM; dATP, dCTP, dGTP, dTTP; MBI Fermentas).....	15

2.1.6.2.4. Taq DNA Polymerase Enzimi (500 U; MBI Fermentas)	15
2.1.6.2.5. Primerler	15
2.2. Metot.....	16
2.2.1. Balıkların toplanması ve taşınması.....	16
2.2.2. Balıklarda otopsi.....	16
2.2.3. Mikrobiyal izolasyon.....	16
2.2.4. Biyokimyasal identifikasyon	16
2.2.4.1. Koloni morfolojisi	16
2.2.4.2. Gram boyama	17
2.2.4.3. Potasyum hidroksit (KOH) ile gram reaksiyon testi	17
2.2.4.4. Oksidaz testi	17
2.2.4.5. Katalaz testi	17
2.2.4.6. Oksidasyon/Fermentasyon (O/F) testleri.....	18
2.2.4.7. İndol testi	18
2.2.4.8. Hareket testi.....	18
2.2.5. Biolog sistemi ile identifikasyon	18
2.2.6. Moleküler tanılama.....	21
2.2.6.1. Kromozomal DNA İzolasyonu.....	21
2.2.6.2. DNA'nın çoğaltılması için Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)	21
2.2.6.3. DNA'nın jel elektroforezi.....	22
2.2.6.4. Kapiller elektroforez DNA sekanslama.....	22
2.2.7. Bakteri suşlarının stoklanması.....	24
2.2.8. Verilerin analizi	24
3. BULGULAR	25
3.1. Çalışma alanı	25
3.2. Balık	25
3.3. Morfolojik bulgular	25
3.3.1. Laktokokkozis	25
3.3.2. Soğuk Su Gram Pozitif Kok Enfeksiyonu.....	29
3.3.3. Kızıl ağız hastalığı.....	34
3.3.4. Vibriozis	36
3.3.5. Motil Aeromonas Septisemi (MAS).....	44
3.4. Fenotipik ve biyokimyasal bulgular	48
3.4.1. Klasik test bulgular.....	48
3.4.1.1. Laktokokkozis	48
3.4.1.2. Soğuk Su Gram Pozitif Kok Enfeksiyonu.....	50
3.4.1.3. Kızıl Ağız Hastalığı.....	52
3.4.1.4. Vibriozis	54
3.4.1.5. Motil Aeromonas Septisemi (MAS).....	56
3.4.2. Biolog (The biolog GENIII micro plate) bulgular.....	58
3.4.2.1. Laktokokkozis	58
3.4.2.2. Soğuk Su Gram Pozitif Kok Enfeksiyonu.....	61
3.4.2.3. Kızıl Ağız Hastalığı.....	64
3.4.2.4. Vibriozis	67
3.4.2.5. Motil Aeromonas Septisemi (MAS).....	70
3.5. Moleküler Bulgular.....	73
3.5.1. Polimeraz Zincir Reaksiyonu bulguları.....	73
3.5.1.1. Laktokokkozis	73
3.5.1.2. Soğuk Su Gram Pozitif Kok Enfeksiyonu.....	74

3.5.1.3. Kızıl Ağız Hastalığı	75
3.5.1.4. Vibriozis	76
3.5.1.5. Motil Aeromonas Septisemi (MAS).....	77
3.5.2. Sekans analizi bulgular	78
3.5.2.1. Laktokokkozis	78
3.5.2.2. Soğuk Su Gram Pozitif Kok Enfeksiyonu	85
3.5.2.3. Kızıl Ağız Hastalığı	89
3.5.2.4. Vibriozis	96
3.5.2.5. Motil Aeromonas Septisemi (MAS).....	101
4. TARTIŞMA.....	108
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	115
KAYNAKLAR.....	118

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 2.1. Alabalık örneklerinin toplandığı işletmelerinin bulunduğu Kılavuzlu Baraj Gölü'nün lokasyonu.....	10
Şekil 3.1. <i>Lactococcus garviae</i> enfeksiyonlu balıkta su yüzeyine yakın yüzme	26
Şekil 3.2. <i>Lactococcus garviae</i> enfeksiyonlu balıkta durgunluk.....	26
Şekil 3.3. <i>Lactococcus garviae</i> enfeksiyonlu balıkta deride kararma.....	27
Şekil 3.4. <i>Lactococcus garviae</i> enfeksiyonlu balıkta gözde çift ekzoftalmus.....	27
Şekil 3.5. <i>Lactococcus garviae</i> enfeksiyonlu balıkta ascites	28
Şekil 3.6. <i>Lactococcus garviae</i> enfeksiyonlu balıkta dalakta büyüme siyahlaşma.....	28
Şekil 3.7. <i>Lactococcus garviae</i> enfeksiyonlu balıkta kaslarda, hava kesesinde, gonadal dokularda ve mide etrafında peteşiyel hemorajiler.....	29
Şekil 3.8. <i>Vagococcus salmoninarum</i> enfeksiyonlu balıkta deride kararma.....	30
Şekil 3.9. <i>Vagococcus salmoninarum</i> enfeksiyonlu balıkta gözde tek veya çift ekzoftalmus.....	30
Şekil 3.10. <i>Vagococcus salmoninarum</i> enfeksiyonlu balıkta ascites	31
Şekil 3.11. <i>Vagococcus salmoninarum</i> enfeksiyonlu balıkta anüste kızarıklık	31
Şekil 3.12. <i>Vagococcus salmoninarum</i> enfeksiyonlu balıkta karaciğer solgun	32
Şekil 3.13. <i>Vagococcus salmoninarum</i> enfeksiyonlu balıkta dalakta ve böbrekte büyüme siyahlaşma.....	32
Şekil 3.14. <i>Vagococcus salmoninarum</i> enfeksiyonlu balıkta kaslarda, hava kesesinde, gonadal dokularda ve mide etrafında peteşiyel hemorajiler	33
Şekil 3.15. <i>Vagococcus salmoninarum</i> enfeksiyonlu balıkta bağırsaklar kanlı ve yer yer sarımtırak renkte irinli bir eksudat.....	33
Şekil 3.16. <i>Yersinia ruckeri</i> enfeksiyonlu balıkta deri renginde koyulaşma.....	34
Şekil 3.17. <i>Yersinia ruckeri</i> enfeksiyonlu balıkta gözde tek veya çift ekzoftalmus	35
Şekil 3.18. <i>Yersinia ruckeri</i> enfeksiyonlu balıkta ağzın iç ve dış kısımlarında kızarıklık ..	35
Şekil 3.19. <i>Yersinia ruckeri</i> enfeksiyonlu balıkta iç organlarda peteşiyel hemorajiler.....	36
Şekil 3.20. <i>Vibrio anguillarum</i> enfeksiyonlu balıkta deri renginde koyulaşmalar	36
Şekil 3.21. <i>Vibrio anguillarum</i> enfeksiyonlu balıkta ascites.....	37
Şekil 3.22. <i>Vibrio anguillarum</i> enfeksiyonlu balıkta dorsal yüzgeçte hemoraji	37
Şekil 3.23. <i>Vibrio anguillarum</i> enfeksiyonlu balıkta anüs ve ventral yüzgeçte hemoraji...	38
Şekil 3.24. <i>Vibrio anguillarum</i> enfeksiyonlu balıkta pektoral yüzgeçte hemoraji.....	38
Şekil 3.25. <i>Vibrio anguillarum</i> enfeksiyonlu balıkta solungaç kapaklarında hemoraji	39
Şekil 3.26. <i>Vibrio anguillarum</i> enfeksiyonlu balıkta solungaç kapaklarının iç kısmında hemoraji	39
Şekil 3.27. <i>Vibrio anguillarum</i> enfeksiyonlu balıkta vücuta kırmızı noktalar, ülserleşme ile sonlanan deri lezyonları	40
Şekil 3.28. <i>Vibrio anguillarum</i> enfeksiyonlu balıkta deride derin apse.....	40
Şekil 3.29. <i>Vibrio anguillarum</i> enfeksiyonlu balıkta anüste etrafında lezyon	41
Şekil 3.30. <i>Vibrio anguillarum</i> enfeksiyonlu balıkta deride derin ülser	41
Şekil 3.31. <i>Vibrio anguillarum</i> enfeksiyonlu balıkta deride kan ve iltahap ile dolu derin apse	42
Şekil 3.32. <i>Vibrio anguillarum</i> enfeksiyonlu balıkta iç organlarda hemoroji ve karaciğerde solgunluk	42
Şekil 3.33. <i>Vibrio anguillarum</i> enfeksiyonlu balıkta hava kesesinde hemoroji ve böbrekte kararma	43

Şekil 3.34. <i>Vibrio anguillarum</i> enfeksiyonlu balıkta dalakta büyüme ve kararma	43
Şekil 3.35. <i>Aeromonas sobria</i> enfeksiyonlu balıkta deri renginde koyulaşmalar	44
Şekil 3.36. <i>Aeromonas sobria</i> enfeksiyonlu balıkta ascites	45
Şekil 3.37. <i>Aeromonas sobria</i> enfeksiyonlu balıkta pektoral yüzgeçte hemoraji	45
Şekil 3.38. <i>Aeromonas sobria</i> enfeksiyonlu balıkta kavdal yüzgecin tabanında beyaz renkte lezyonlar	46
Şekil 3.39. <i>Aeromonas sobria</i> enfeksiyonlu balıkta vücuta ülserleşme	46
Şekil 3.40. <i>Aeromonas sobria</i> enfeksiyonlu balıkta deride kan ve iltahap ile dolu derin apse	47
Şekil 3.41. <i>Aeromonas sobria</i> enfeksiyonlu balıkta iç organlarda hemoroji, karaciğerde solgunluk ve dalak koyu siyah renkte	47
Şekil 3.42. Triptik soy agarda üreyen saf <i>Lactococcus garviae</i> kolonileri	48
Şekil 3.43. Triptik soy agarda üreyen saf <i>Vagococcus salmoninarum</i> kolonileri	50
Şekil 3.44. <i>Yersinia ruckeri</i> 'nin koloni oluşturma	52
Şekil 3.45. Triptik soy agarda üreyen saf <i>Vibrio anguillarum</i> kolonileri	54
Şekil 3.46. Triptik soy agarda üreyen saf <i>Aeromonas sobria</i> kolonileri	56
Şekil 3.47. Gökkuşaağı Alabalığı (<i>Oncorhynchus mykiss</i>)'nda izole edilen <i>Lactococcus garviae</i> 'nin Biolog tanılama sisteminin çıktıları	60
Şekil 3.48. Gökkuşaağı Alabalığı (<i>Oncorhynchus mykiss</i>)'nda izole edilen <i>Vagococcus salmoninarum</i> 'nin Biolog tanılama sisteminin çıktıları	63
Şekil 3.49. Gökkuşaağı alabalıklarından izole edilen <i>Yersinia ruckeri</i> 'nin Biolog tanılama sisteminin çıktıları	66
Şekil 3.50. Alabalıklarından izole edilen <i>Vibrio (Listonella) anguillarum</i> 'un Biolog tanılama sisteminin çıktıları	69
Şekil 3.51. Gökkuşaağı alabalıklarından izole edilen <i>Aeromonas sobria</i> 'nın Biolog tanılama sisteminin çıktıları	72
Şekil 3.52. DNA örneklerinin, 27F, 806R primer çifti kullanılarak PCR'de analizi sonucu oluşan <i>Lactococcus garviae</i> türüne ait 300 bp'lik bantları gösteren agaroz jel; 1-7: İşletmelerden izole edilen <i>Lactococcus garviae</i> örnekleri; M: 100 bp'lik moleküler marker; N: Negatif kontrol (E. coli) (MBI, Fermantas)	73
Şekil 3.53. DNA örneklerinin pSal-I, pSal-2 primer çifti kullanılarak PCR'de analizi sonucu oluşan <i>Vagococcus salmoninarum</i> türüne ait bantları gösteren agaroz jel; 1-22: İşletmelerden izole edilen <i>Vagococcus salmoninarum</i> örnekleri; M: 100 bp'lik moleküler marker; N: Negatif kontrol (E. coli) (MBI, Fermantas)	74
Şekil 3.54. DNA örneklerinin YER8, YER10 primer çifti kullanılarak PCR'de analizi sonucu oluşan <i>Yersinia ruckeri</i> türüne ait 589 bp'lik bantları gösteren agaroz jel; 1-14: İşletmelerden izole edilen <i>Yersinia ruckeri</i> örnekleri; M: 100 bp'lik moleküler marker	75
Şekil 3.55. DNA örneklerinin, empAF, empAR primer çifti kullanılarak PCR'de analizi sonucu oluşan <i>V. anguillarum</i> türüne ait 439 bp'lik bantları gösteren agaroz jel; 1-20: İşletmelerden izole edilen <i>V. anguillarum</i> örnekleri; M: 100 bp'lik moleküler marker	76
Şekil 3.56. DNA örneklerinin, F, R primer çifti kullanılarak PCR'de analizi sonucu oluşan <i>Aeromonas sobria</i> türüne ait 249 bp'lik bantları gösteren agaroz jel; 1-7: İşletmelerden izole edilen <i>Aeromonas sobria</i> örnekleri; M: 100 bp'lik moleküler marker; N: Negatif kontrol (E. coli) (MBI, Fermantas); P: Pozitif kontrol referans suş (<i>Aeromonas sobria</i> ATCC43979)	77
Şekil 3.57. <i>Lactococcus garviae</i> suşlarından ileri okuma ile 16S sekans hizalaması	78

Şekil 3.58. <i>Lactococcus garvieae</i> 1775 (Sequence ID: MT597623.1)'in NCBI'dan alınan consensüs dizisi.....	79
Şekil 3.59. <i>Lactococcus garvieae</i> sekans kromatogramı	82
Şekil 3.60. Bir adet <i>Lactococcus garvieae</i> sekans sonuçlarının NCBI'daki referans <i>Lactococcus garvieae</i> suşlarıyla benzerlik açısından karşılaştırılması	83
Şekil 3.61. <i>Lactococcus garvieae</i> taksonunun hizalama (alignment) sonucu (Query: <i>Lactococcus garvieae</i> , Sbjct: <i>Lactococcus garvieae</i> 1775 (Sequence ID: MT597623.1)).....	84
Şekil 3.62. <i>Vagococcus salmoninarum</i> suşlarından ileri okuma ile 16S sekans hizalaması	85
Şekil 3.63. <i>Vagococcus salmoninarum</i> Partial 16S rRNA (Sequence ID: X54272.1)'nın NCBI'dan alınan consensüs dizisi	86
Şekil 3.64. Bir adet <i>Vagococcus salmoninarum</i> sekans sonuçlarının NCBI'daki referans <i>Vagococcus salmoninarum</i> suşlarıyla benzerlik açısından karşılaştırılması	87
Şekil 3.65. <i>Vagococcus salmoninarum</i> taksonunun hizalama (alignment) sonucu (Query: <i>Vagococcus salmoninarum</i> , Sbjct: <i>Vagococcus salmoninarum</i> Partial 16S rRNA (Sequence ID: X54272.1)).....	88
Şekil 3.66. <i>Yersinia ruckeri</i> suşlarından ileri okuma ile 16S sekans hizalaması	89
Şekil 3.67. <i>Yersinia ruckeri</i> KY15 (Sequence ID: MK548507.1)'in NCBI'dan alınan consensüs dizisi	90
Şekil 3.68. <i>Yersinia ruckeri</i> sekans kromatogramı.....	93
Şekil 3.69. Bir adet <i>Yersinia ruckeri</i> sekans sonuçlarının NCBI'daki referans <i>Yersinia ruckeri</i> suşlarıyla benzerlik açısından karşılaştırılması.....	94
Şekil 3.70. <i>Yersinia ruckeri</i> taksonunun hizalama (alignment) sonucu (Query: <i>Yersinia ruckeri</i> , Sbjct: <i>Yersinia ruckeri</i> KY15 (Sequence ID: MK548507.1)).....	95
Şekil 3.71. <i>Vibrio anguillarum</i> suşlarından ileri okuma ile 16S sekans hizalaması	96
Şekil 3.72. <i>Vibrio anguillarum</i> Ba35-E2-R3 (Sequence ID: CP031528.1)'nın NCBI'dan alınan consensüs dizisi	96
Şekil 3.73. <i>Vibrio anguillarum</i> sekans kromatogramı	98
Şekil 3.74. Bir adet <i>Vibrio anguillarum</i> sekans sonuçlarının NCBI'daki referans <i>Vibrio anguillarum</i> suşlarıyla benzerlik açısından karşılaştırılması.....	99
Şekil 3.75. <i>Vibrio anguillarum</i> taksonunun hizalama (alignment) sonucu (Query: <i>Vibrio anguillarum</i> , Sbjct: <i>Vibrio anguillarum</i> Ba35-E2-R3 (Sequence ID: CP031528.1)).....	100
Şekil 3.76. <i>Aeromonas sobria</i> suşlarından ileri okuma ile 16S sekans hizalaması.....	101
Şekil 3.77. <i>Aeromonas sobria</i> Til3 (Sequence ID: MT384381.1)'nın NCBI'dan alınan consensüs dizisi	102
Şekil 3.78. <i>Aeromonas sobria</i> sekans kromatogramı	105
Şekil 3.79. Bir adet <i>Aeromonas sobria</i> sekans sonuçlarının NCBI'daki referans <i>Aeromonas sobria</i> suşlarıyla benzerlik açısından karşılaştırılması.....	106
Şekil 3.80. <i>Aeromonas sobria</i> taksonunun hizalama (alignment) sonucu (Query: <i>Aeromonas sobria</i> , Sbjct: <i>Aeromonas sobria</i> Til3 (Sequence ID: MT384381.1)).....	107

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa No

Çizelge 2.1. Çalışmada kullanılan primerler	15
Çizelge 2.2. Mikroplakalarda kodlanan 94 adet karbon kaynağı ve kimyasal listesi (Anonim, 2008).....	20
Çizelge 2.2. ExoSAP Pürifikasyonu için reaksiyon karışımı	22
Çizelge 2.3. ExoSAP PCR Protokolü.....	23
Çizelge 2.4. Cycle Sequencing PCR reaksiyon karışımı	23
Çizelge 2.5. Cycle Sequencing PCR Protokolü	23
Çizelge 3.1. Örneklerin alındığı işletme, balık türü, alındığı ili, balık ve örnek sayısı.....	25
Çizelge 3.2. Gökkuşuğu Alabalıklarından izole edilen 28 <i>Lactococcus garviae</i> morfolojik ve biyokimyasal özellikleri.....	49
Çizelge 3.3. Gökkuşuğu Alabalıklarından izole edilen 22 <i>Vagococcus salmoninarum</i> morfolojik ve biyokimyasal özellikleri.....	51
Çizelge 3.4. Gökkuşuğu Alabalıklarından izole edilen 14 <i>Yersinia ruckeri</i> morfolojik ve biyokimyasal özellikleri.....	53
Çizelge 3.5. Gökkuşuğu Alabalıklarından izole edilen 20 <i>Vibrio anguillarum</i> suşunun morfolojik ve biyokimyasal özellikleri.....	55
Çizelge 3.6. Hasta balık örneklerinden izole edilen <i>Aeromonas sobria</i> suşlarının morfolojik ve biyokimyasal özellikleri.....	57
Çizelge 3.7. Gökkuşuğu alabalığından izole edilen 30 adet <i>Lactococcus garviae</i> 'nin Biolog (The biolog GENIII micro plate) cihazı ile diğer fenotipik özellikleri. 58	
Çizelge 3.8. Gökkuşuğu Alabalıklarından izole edilen 22 adet <i>Vagococcus salmoninarum</i> 'un Biolog Sistemi (The biolog GENIII micro plate) cihazı ile diğer fenotipik özellikleri	61
Çizelge 3.9. Gökkuşuğu Alabalıklarından izole edilen <i>Yersinia ruckeri</i> 'nin Biolog Sistemi (The biolog GENIII micro plate) cihazı ile diğer fenotipik özellikleri 64	
Çizelge 3.10. Gökkuşuğu Alabalıklarından izole edilen 20 adet <i>Vibrio anguillarum</i> 'un Biolog Sistemi (The biolog GENIII micro plate) cihazı ile diğer fenotipik özellikleri	67
Çizelge 3.11. Gökkuşuğu Alabalıklarından izole edilen <i>Aeromonas sobria</i> suşunun fenotipik özellikleri.....	70

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

The biolog GENIII micro plate	: Biolog Sistemi
PCR	: Polymerase Chain Reaction
PZR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
TSA	: Tryptic Soy Agar
NB	: Nutrient Broth
BHIA	: Brain Heart Infusion Agar
BASE	: KF Streptococcus Agar
CIN	: Yersinia Selective Agar
TYES-A	: Tryptone Yeast Extract Salt Agar
KA	: Kanlı agar
°C	: Santigrat derece
NCBI	: National Center for Biotechnology Information
ERM	: Enterik Red Mouth
cm	: santimetre
DNA	: Deoksiribo nükleik asit
O/F	: Oksidasyon/Fermentasyon
MR	: Metil Kırmızısı
VP	: Voges Proskauer
MCA	: MacConkey Agar
KOH	: Potasyum Hidroksit
H₂O²	: Hidrojen Peroksit
HCl	: Hidrojen Klorür
TNES	: Tris, NaCl, EDTA, SDS
MgCl₂	: Magnezyum klorür
MBI Fermentas	: protein molecular weight marker
KOH	: Potasyum Hidroksit
SIM	: Sülfat-İndole-Motility
µL	: mikrolitre
dNTP	: Deoksinükleotitfosfatlar
EDTA	: Ethylene diamine tetra acetic acid
bp	: Base pair
BLAST	: Basic Local Alignment Search Tool
V	: Volt
TBE	: Tris-borik asit EDTA
mg/ml	: Mililitre başına miligram
pH	: pH
O₂	: Oksijen
MAS	: Motil Aeromonas Septisemi
M	: 100 bp'lik moleküler marker
N	: Negatif kontrol
rRNA	: Ribosomal RNA
RNA	: Ribonükleik asid

Kılavuzlu Baraj Gölü'ndeki Gökkuşığı Alabalığı İşletmelerinde Bakteriyel Hastalıkların Biolog Gen III, PCR ve Sekans Analizi ile Tanımlanması

ÖZET

Bu çalışma Kılavuzlu Baraj Gölü'nde faaliyet gösteren kafeslerde üretim ve yetiştiricilik yapılan balıkçılık tesislerinin belirlenmesi, özellikle işletmelerdeki balıklarda sıklıkla rastlanan bakteriyel hastalıklar yönünden taranması hedeflendi. Bu amaçla Ocak 2022 ve Ocak 2023 tarihleri arasında 18 farklı alabalık işletmelerinden 5-300 gr ağırlığındaki hastalık şüphesi olan Gökkuşığı alabalık örnekleri canlı olarak alınıp laboratuvara getirilip dış muayene yapıldı. Sonrasında göz, karaciğer, dalak, böbrek, bağırsak ve deri doku örnekleri alındı. Bakteriyel hastalık etkenlerinin izolasyonu için; Tryptic Soy Agar (TSA), Nutrient Broth (NB), Brain-Heart Infusion Agar (BHIA), KF Streptococcus Agar (BASE), Yersinia Selective Agar (CIN), Tryptone Yeast Extract Salt Agar (TYES-A) ve kanlı agar (KA) kullanıldı. Bu besiyerleri 15-24 °C'de 24-72 saat süreyle inkübatörde inkübe edildi. Alabalık işletmelerinden alınan bu örneklerden elde edilen saf suşlara biyokimyasal tanımlama testleri aynı sıra Biolog Sistemi (The biolog GENIII micro plate) uygulanıp fenotipik özellikleri incelendi. Biolog Sistemi ile identifiye edilen suşların Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) tekniğiyle teyit edilmesinde özel primer kullanıldı. Takiben bu suşların tamamının moleküler olarak teyit yapıldı. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) ile doğrulanan suşların genetik özelliklerine bakıldı. Elde edilen bakteri örneklerinin sekans analizi yapıldı ve analiz sonucu NCBI'daki referans bakteriye göre yorumlandı. Sonuç olarak; 28 adet *Lactococcus garviae*, 22 adet *Vagococcus salmoninarum*, 14 adet *Yersinia ruckeri*, 16 adet *Vibrio anguillarum* ve 20 adet *Aeromonas sobria* suşu fenotipik ve genetik özelliklerine göre tanımlama yapıldı.

Anahtar kelimeler: Gökkuşığı alabalığı, *Oncorhynchus mykiss*, Fenotipik, genetik, *Lactococcus garviae*, *Vagococcus salmoninarum*, *Yersinia ruckeri*, *Vibrio anguillarum*, *Aeromonas sobria*, BIOLOG GEN III, PZR, Sekans