



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

Proje Numarası :	2018/4-10 M (YLS)
Projenin Adı :	Diyarbakır İlinde Bulunan Bazı Gökkuşaağı Alabalığı (Oncorhynchus mykiss, Walbaum 1792) İşletmelerinde Bakteriyel Hastalıkların Araştırılması
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 :	29-08-2018
Bitiş Tarihi :	29-12-2023
Alınan Ek Süre :	52 Ay
Sonuç Raporu Tarihi :	01-07-2024
Proje Bütçesi :	8.700,00 TL
Alınan Ek Ödenek :	0,00 TL
Projenin Toplam Bütçesi :	8.700,00 TL
Harcanan Miktar :	8.004,78 TL
Proje Kalan Bütçesi :	695,22 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. | ☐ |



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

F-6

Proje Adı

Diyarbakır İlinde Bulunan Bazı Gökkuşluğu Alabalığı (Oncorhynchus mykiss, Walbaum 1792) İşletmelerinde Bakteriyel Hastalıkların Araştırılması

Proje No	Başlama Tarihi	Bitiş Tarihi	
2018/4-10 M (YLS)	29-08-2018	29-12-2023	
Rapor Türü	Raporun Kapsadığı Dönemin Tarihleri		
Sonuç Raporu	29-08-2018	29-12-2023	
Bilimsel Araştırmalar Birimi Tarafından Sağlanan Destek Miktarı	Gelişme Raporu Döneminde Harcanan	Şimdiye Kadar Harcanan	Kalan
8.700,00 TL	8.004,78 TL	8.004,78 TL	695,22 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	6.200,00 TL	0,00 TL
YOLLUKLAR	305,00 TL	695,00 TL
HİZMET ALIMLARI	1.499,78 TL	0,22 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 Diyarbakır ilinde faaliyet gösteren üretim ve yetiştiricilik yapılan balıkçılık işletmelerdeki balıklarda sıklıkla rastlanan bakteriyel hastalıklar yönünden taranması hedeflendi. Bu amaçla Ocak 2019 ve Ocak 2022 tarihleri arasında 12 farklı alabalık işletmelerinden 0,5-300 gr ağırlığındaki hastalık şüphesi olan Gökkuşluğu 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; 19 adet Yersinia ruckeri, 10 adet Flavobacterium psychrophilum, 15 adet Vibrio anguillarum 22 adet Lactococcus garviae, 14 adet Aeromonas sobria suşu fenotipik ve genetik özelliklerine göre tanımlama yapıldı.

Bu belge, güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

Belge Doğrulama Kodu :6ed4faba72

Belge Takip Adresi : <https://bapotomasyon.ksu.edu.tr/belgedogrula>

Adres : Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootekni
Telefon : (344)280-2097
e-Posta:mikailozcan@ksu.edu.tr

Bilgi için: Mikail ÖZCAN
Unvan: Doç.Dr.
Telefon : (344)280-2097



Rapor içeriği için lütfen eke bakınız.

EK: [20184-10 M \(YLS\) PROJE SONUÇ RAPORU.pdf](#)

Demirbaş[Taşınır Alımları

Proje Kapsamında Demirbaş Niteliğinde Taşınır Alınmamıştır.

Proje Yürütücü Unvanı, Adı SOYADI	İmzası	Tarih
Doç.Dr. Mikail ÖZCAN		01-07-2024

Bu belge, güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

Belge Doğrulama Kodu :6ed4faba72

Belge Takip Adresi : <https://bapotomasyon.ksu.edu.tr/belgedogrula>

Adres : Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootekni
Telefon : (344)280-2097
e-Posta:mikailozcan@ksu.edu.tr

Bilgi için: Mikail ÖZCAN
Unvan: Doç.Dr.
Telefon : (344)280-2097





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

**DİYARBAKIR İLİNDE BULUNAN BAZI GÖKKUŞAĞI
ALABALIĞI (*Oncorhynchus mykiss*, WALBAUM 1792)
İŞLETMELERİNDE BAKTERİYEL HASTALIKLARIN**

BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJELERİ

KOORDİNASYON BİRİMİ

2024 KAHRAMANMARAŞ

**DİYARBAKIR İLİNDE BULUNAN BAZI GÖKKUŞAĞI
ALABALIĞI (*Oncorhynchus mykiss*, WALBAUM 1792)
İŞLETMELERİNDE BAKTERİYEL HASTALIKLARIN
ARAŞTIRILMASI**

Proje No: 2018/4-10 M (YLS)

Doç. Dr. Mikail ÖZCAN

Ece DEMİRELÖZ

2024 KAHRAMANMARAŞ

ÖNSÖZ

Dünyada balık üretimini sınırlandıran en önemli faktör balık hastalıkları olup, üretim ve yetiştirme tesislerinin karlılığını birinci derecede etkilemektedir. Ülkemizde de entansif balık yetiştiriciliğinin ilerlemesiyle birlikte hastalıklardan meydana gelen kayıpların da arttığı görülmektedir. Gerek ekonomiye gerekse protein açığını kapatmadaki katkısı nedeniyle, artan önemine karşın, balık hastalıkları ile ilgili çalışmalar yok denecek kadar azdır. Planlanan bu proje ile; ülkemizin doğal su kaynakları yönünden zengin ve kafes balıkçılığının yoğun yapıldığı iller arasından olan Diyarbakır ili merkezine yakın barajlarda kurulan kafeslerde üretim ve yetiştiricilik yapılan balıkçılık tesislerinin bakteriyel balık hastalıklarının proje kapsamında araştırılması ile geniş kapsamlı kantitatif veriler bilim dünyasına ve kamu oyuna sunulmuş olacaktır.

Araştırmada, Diyarbakır İlinde bulunan kafes işletmelerindeki alabalıklarda örnekler alınarak kültür yöntemi ile besiyerlerine ekimler yapıldı. Elde edilen saf suşlara biyokimyasal testler ve Biolog Systemi (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, Diyarbakır İlin'deki dağılımı ve kaynakları tespit edildi. Ayrıca bakteriyel hastalık etkenlerine karşı uygulanacak antibiyogram ile hastalığın yayılması önlenerek, sektörün verimliliği arttırılacaktır. Bu amaçla **“Diyarbakır İlinde Bulunan Bazı Gökkuşığı Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum 1792) İşletmelerinde Bakteriyel Hastalıkların Araştırılması”** başlıklı bilimsel araştırma projesi Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi tarafından proje numarası 2018/4-10 M (YLS) ile desteklenmiştir. Destekleri için Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Rektörlüğü Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimine teşekkür ederiz.

Projenin başlama tarihi 29-08-2018 ve bitiş tarihi 29-12-2023'tür.

Doç. Dr. Mikail ÖZCAN

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖNSÖZ.....	I
İÇİNDEKİLER.....	II
ŞEKİLLER DİZİSİ.....	V
ÇİZELGELER DİZİSİ.....	IX
ŞİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	X
ÖZET	XI
ABSTRACT	XII
1. GİRİŞ	1
2. MATERYAL VE METOT	11
2.1. Materyal.....	11
2.1.1. Çalışma alanı.....	11
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)	12
2.1.3.4. KF Streptococcus Agar (BASE)	12
2.1.3.5. Yersinia Selective Agar (CIN).....	12
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).....	13
2.1.4.3. Simmons Sitrat Yatık Agar	13
2.1.4.4. MacConkey Agar (MCA)	13
2.1.4.5. Jelatin Hidrolizi	13
2.1.4.6. Kongo Kırmızısı (Galaktozamin Glikan)	13
2.1.4.7. İndol Besiyeri.....	13
2.1.4.8. Eskülin Besiyeri	14
2.1.4.9. Nişastalı Agar.....	14
2.1.4.10. Jelatin Broth	14
2.1.4.11. Kazein hidrolizi	14
2.1.4.12. Tween 20 ve 80 Hidrolizi	14
2.1.4.13. Fizyolojik Tuzlu Su (FTS).....	14
2.1.4.14. Biolog Dehydrated Growth Agar	14
2.1.5. Kimyasallar ve Ayırıcılar	14
2.1.5.1. % 20 Potasyum Hidroksit	14
2.1.5.2. Hidrojen Peroksit (% 3'lük).....	15
2.1.5.3. Gram Boyama Ayırıcıları.....	15
2.1.5.4. Kovaks İndol Ayıracı	15
2.1.5.5. Oksidaz Ayıracı.....	15
2.1.5.6. Lugol Solusyonu (1/5)	15
2.1.5.7. 400 ppm Povidin/iodin Solusyonu	16
2.1.5.8. Metil Kırmızısı Ayıracı	16
2.1.5.9. Fenol Kırmızısı Ayıracı (% 0,2'lik)	16
2.1.5.10. Nitrat A Ayıracı.....	16
2.1.5.11. Nitrat B Ayıracı.....	16

2.1.5.12. 1/80 Normal'lik Amonyum Oksalat (NH ₄ C ₂ O ₄)	16
2.1.5.13. 1/80 Normal'lik Potasyum Permanganat (KMnO ₄).....	16
2.1.5.14. 1/3 Seyreltilmiş Sülfirik Asit (H ₂ SO ₄)	16
2.1.6. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) İşleminde Kullanılan Ayraçlar	17
2.1.6.1. DNA Ekstraksiyonunda Kullanılan Ayraçlar	17
2.1.6.1.1. Proteinase K Solüsyonu (100 mg, Sigma, P2308, St. Louis, MO)	17
2.1.6.1.2. TNES buffer tampon solüsyonu	17
2.1.6.1.3. Phenol Equilibrated, Stabilized: Chloroform: Isoamyl alcohol 25:24:1 (A0889, Applichem, Darmstadt)	17
2.1.6.1.4. Sodyum Asetat Kristalle	17
2.1.6.1.5. Absolute Ethanol (Mutlak Alkol, % 96 Etilalkol).....	17
2.1.6.2. DNA izolasyon kit kimyasalları.....	17
2.1.6.3. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) Analizinde Kullanılan Ayraçlar.....	19
2.1.6.3.1. 10x PZR Buffer (MBI Fermentas)	19
2.1.6.3.2. MgCl ₂ (MBI Fermentas)	19
2.1.6.3.3. dNTP Set (100mM; dATP, dCTP, dGTP, dTTP; MBI Fermentas)	19
2.1.6.3.4. Taq DNA Polymerase Enzimi (500 U; MBI Fermentas)	19
2.1.6.3.5. Primerler	19
2.1.7. Elektroforez İşleminde Kullanılan Ayraçlar	20
2.1.7.1. 5x Tris-Borik Asit-EDTA (TBE) Elektroforez Tampon Solüsyonu	20
2.1.7.2. Agarose LE, (Promega, Madison).....	20
2.1.7.3. 100 bp DNA Ladder (50µg/100µl; MBI Fermentas)	20
2.1.7.4. 6x Loading Dye (Yükleme Boyası) Solüsyonu (1 ml; MBI Fermentas).....	20
2.1.7.5. Ethidium Bromide (10 mg/ml; AppliChem GmbH, Darmstadt)	21
2.1.8. Referans Kültür	21
2.1.9. Kullanılan Diğer Malzemeler	21
2.2. Metot 27	
2.2.1. Balıkların toplanması ve taşınması	27
2.2.2. Balıklarda otopsi	27
2.2.3. Mikrobiyal izolasyon.....	27
2.2.4. Biyokimyasal identifikasyon	27
2.2.4.1. Koloni morfolojisi	28
2.2.4.2. Gram boyama	28
2.2.4.3. Potasyum hidroksit (KOH) ile gram reaksiyon testi	28
2.2.4.4. Oksidaz testi.....	28
2.2.4.5. Katalaz testi.....	29
2.2.4.6. Oksidasyon/Fermentasyon (O/F) testleri	29
2.2.4.7. İndol testi	29
2.2.4.8. Hareket testi	29
2.2.4.9. Metil red (MR) - Voges proskauer (VP) testleri	30
2.2.4.10. Nitrat redüksiyon testi	30
2.2.4.11. Fleksirubin pigment testi	30
2.2.4.12. Kongo kırmızısı (Galaktozamin Glikan) testi.....	30
2.2.5. Biolog sistemi ile identifikasyon.....	30
2.2.6. Moleküler tanılama	33
2.2.6.1. Kromozomal DNA İzolasyonu	33
2.2.6.2. Kit ile kromozomal DNA izolasyonu.....	33
2.2.6.2. DNA'nın çoğaltılması için Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)	34
2.2.6.3. DNA'nın jel elektroforezi.....	34
2.2.6.4. Kapiller elektroforez DNA sekanslama.....	35

2.2.7. Bakteri suşlarının stoklanması	37
2.2.8. Verilerin analizi.....	37
3. BULGULAR.....	38
3.1. Çalışma alanı.....	38
3.2. Balık 38	
3.3. Morfolojik bulgular	39
3.3.1. Kızıl ağız hastalığı.....	39
3.3.2. Bakteriyel Soğuk Su Hastalığı	42
3.3.3. Vibriosis	46
3.3.4. Laktokokkozis	54
3.3.5. Motil Aeromonas Septisemi (MAS).....	57
3.4. Fenotipik ve biyokimyasal bulgular	61
3.4.1. Klasik test bulgular.....	61
3.4.1.1. Kızıl Ağız Hastalığı.....	61
3.4.1.2. Bakteriyel Soğuk Su Hastalığı	63
3.4.1.3. Vibriosis	68
3.4.1.4. Laktokokkozis	70
3.4.1.5. Motil Aeromonas Septisemi (MAS).....	72
3.4.2. Biolog (The biolog GENIII micro plate) bulgular	74
3.4.2.1. Kızıl Ağız Hastalığı.....	74
3.4.2.2. Bakteriyel Soğuk Su Hastalığı	77
3.4.2.3. Vibriosis	80
3.4.2.4. Laktokokkozis	83
3.4.2.5. Motil Aeromonas Septisemi (MAS).....	86
3.5. Moleküler Bulgular	89
3.5.1. Polimeraz Zincir Reaksiyonu bulguları.....	89
3.5.1.1. Kızıl Ağız Hastalığı.....	89
3.5.1.2. Bakteriyel Soğuksu Hastalığı.....	90
3.5.1.3. Vibriosis	91
3.5.1.4. Laktokokkozis	93
3.5.1.5. Motil Aeromonas Septisemi (MAS).....	94
3.5.2. Sekans Analizi Bulgular	95
3.5.2.1. Kızıl Ağız Hastalığı.....	95
3.5.2.2. Bakteriyel Soğuk Su Hastalığı	102
3.5.2.3. Vibriosis	109
3.5.2.4. Laktokokkozis	114
3.5.2.5. Motil Aeromonas Septisemi (MAS).....	121
4. TARTIŞMA.....	128
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	136
KAYNAKLAR	139

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 2.1. Alabalık örneklerinin toplandığı işletmelerinin bulunduğu Diyarbakır lokasyonu	11
Şekil 2.2. DNA izolasyon kiti	18
Şekil 2.3. Lyse BG buffer	18
Şekil 2.4. Lysozyme (BL)	18
Şekil 2.5. RNase A.....	18
Şekil 2.6. Proteinase K buffer	18
Şekil 2.7. Sol T	18
Şekil 2.8. Wash TX1.....	19
Şekil 2.9. Wash TX2.....	19
Şekil 2.10. Stomacher homojenizatör	21
Şekil 2.11. Spin kolon tüpü.....	23
Şekil 2.12. Thermocycler (PZR cihazı)	23
Şekil 2.13. Mikrodalga fırın	23
Şekil 2.14. Elektroforez ve güç kaynağı	23
Şekil 2.15. Ultraviyole transillüminatör.....	24
Şekil 2.16. Dijital bakteriyolojik su banyosu	24
Şekil 2.17. -26 derin dondurucu	24
Şekil 2.18. Soğutmalı etüv	24
Şekil 2.19. Otoklav	25
Şekil 2.20. Laminer flow kabin	25
Şekil 2.21. Ultralow temperature-86 freezer	25
Şekil 2.22. Soğutmalı santrifüj	25
Şekil 2.23. Otomatik buz makinası.....	26
Şekil 2.24. Spektrofotometre.....	26
Şekil 2.25. Trinoküler biyolojik laboratuvar araştırma mikroskobu	26
Şekil 2.26. Eppendorf Santrifüj	26
Şekil 3.1. <i>Yersinia ruckeri</i> enfeksiyonlu balıkta deri renginde koyulaşma	39
Şekil 3.2. <i>Yersinia ruckeri</i> enfeksiyonlu balıkta gözde tek veya çift ekzoftalmus	40
Şekil 3.3. <i>Yersinia ruckeri</i> enfeksiyonlu balıkta ağzın iç ve dış kısımlarında kızarıklık	40
Şekil 3.4. <i>Yersinia ruckeri</i> enfeksiyonlu pektoral yüzgeç tabanında kızarma ve kanama	41
Şekil 3.5. <i>Yersinia ruckeri</i> enfeksiyonlu balıkta iç organlarda peteşiyel hemorajiler ..	41
Şekil 3.6. İşletmede görülen toplu alabalık ölümleri	42
Şekil 3.7. Hasta alabalıkta görülen asites.....	43
Şekil 3.8. Hasta alabalıkta görülen ekzoftalmus.....	43
Şekil 3.9. Hastalıklı alabalıklarda derinin renginden kararırma	44
Şekil 3.10. Hastalıklı alabalığın sırt ve kavdal yüzgecinde oluşan beyaz renkteki lezyonlar	44
Şekil 3.11. Hastalıklı alabalıkta kavdal yüzgecin tahrip olması ve radiusların ortaya çıkması	45
Şekil 3.12. Hastalıklı yavru alabalığın iç organlarının çıkarılması	45

Şekil 3.13. Hastalıklı yavru alabalığın karaciğer ile böbreğin solgun olduğu ve dalağın büyüdüğü tespit edildi.....	46
Şekil 3.14. <i>Vibrio anguillarum</i> enfeksiyonlu balıkta deri renginde koyulaşmalar	46
Şekil 3.15. <i>Vibrio anguillarum</i> enfeksiyonlu balıkta ascites	47
Şekil 3.16. <i>Vibrio anguillarum</i> enfeksiyonlu balıkta dorsal yüzgeçte hemoraji	47
Şekil 3.17. <i>Vibrio anguillarum</i> enfeksiyonlu balıkta ventral yüzgeçte hemoraji.....	48
Şekil 3.18. <i>Vibrio anguillarum</i> enfeksiyonlu balıkta pektoral yüzgeçte hemoraji.....	48
Şekil 3.19. <i>Vibrio anguillarum</i> enfeksiyonlu balıkta solungaç kapaklarında hemoraji	49
Şekil 3.20. <i>Vibrio anguillarum</i> enfeksiyonlu balıkta solungaç kapaklarının iç kısmında hemoraji	49
Şekil 3.21. <i>Vibrio anguillarum</i> enfeksiyonlu balıkta ülserleşme ile sonlanan deri lezyonları.....	50
Şekil 3.22. <i>Vibrio anguillarum</i> enfeksiyonlu balıkta deride derin apse	50
Şekil 3.23. <i>Vibrio anguillarum</i> enfeksiyonlu balıkta anüste etrafında lezyon	51
Şekil 3.24. <i>Vibrio anguillarum</i> enfeksiyonlu balıkta deride derin ülser.....	51
Şekil 3.25. <i>Vibrio anguillarum</i> enfeksiyonlu balıkta deride kan ve iltahap ile dolu derin apse	52
Şekil 3.26. <i>Vibrio anguillarum</i> enfeksiyonlu balıkta iç organlarda hemoroji ve karaciğerde solgunluk	52
Şekil 3.27. <i>Vibrio anguillarum</i> enfeksiyonlu balıkta hava kesesinde hemoroji ve böbrekte kararma	53
Şekil 3.28. <i>Vibrio anguillarum</i> enfeksiyonlu balıkta dalakta büyüme ve kararma	53
Şekil 3.29. <i>Lactococcus garviae</i> enfeksiyonlu balıkta su yüzeyine yakın yüzme	54
Şekil 3.30. <i>Lactococcus garviae</i> enfeksiyonlu balıkta durgunluk.....	54
Şekil 3.31. <i>Lactococcus garviae</i> enfeksiyonlu balıkta deride kararma	55
Şekil 3.32. <i>Lactococcus garviae</i> enfeksiyonlu balıkta gözde çift ekzoftalmus	55
Şekil 3.33. <i>Lactococcus garviae</i> enfeksiyonlu balıkta ascites	56
Şekil 3.34. <i>Lactococcus garviae</i> enfeksiyonlu balıkta dalakta büyüme siyahlaşma ...	56
Şekil 3.35. <i>Lactococcus garviae</i> enfeksiyonlu balıkta kaslarda, hava kesesinde, gonadal dokularda ve mide etrafında peteşiyel hemorajiler	57
Şekil 3.36. <i>Aeromonas sobria</i> enfeksiyonlu balıkta deri renginde koyulaşmalar	57
Şekil 3.37. <i>Aeromonas sobria</i> enfeksiyonlu balıkta ascites.....	58
Şekil 3.38. <i>Aeromonas sobria</i> enfeksiyonlu balıkta pektoral yüzgeçte hemoraji	58
Şekil 3.39. <i>Aeromonas sobria</i> enfeksiyonlu balıkta kavdal yüzgecin tabanında beyaz renkte lezyonlar	59
Şekil 3.40. <i>Aeromonas sobria</i> enfeksiyonlu balıkta vücuta ülserleşme	59
Şekil 3.41. <i>Aeromonas sobria</i> enfeksiyonlu balıkta deride kan ve iltahap ile dolu derin apse	60
Şekil 3.42. <i>Aeromonas sobria</i> enfeksiyonlu balıkta iç organlarda hemoroji, karaciğerde solgunluk ve dalak koyu siyah renkte	60
Şekil 3.43. <i>Yersinia ruckeri</i> 'nin koloni oluşturma.....	61
Şekil 3.44. TYES-A agarda ilk ekimden sonra çoğunluğu sarı renkte olan karışık koloniler	63
Şekil 3.45. TYES –A agarda üreyen saf koloniler	64
Şekil 3.46. Triptik soy agarda üreyen saf <i>Vibrio anguillarum</i> kolonileri.....	68
Şekil 3.47. Triptik soy agarda üreyen saf <i>Lactococcus garviae</i> kolonileri.....	70
Şekil 3.48. Triptik soy agarda üreyen saf <i>Aeromonas sobria</i> kolonileri	72
Şekil 3.49. Gökkuşağı alabalıklarından izole edilen <i>Yersinia ruckeri</i> 'nin Biolog tanılama sisteminin çıktıları	76

Şekil 3.50. Gökkuşığı Alabalığı (<i>Oncorhynchus mykiss</i>)’nda izole edilen <i>Flavobacterium psychrophilum</i> ’nın biyolog tanılama sisteminin çıktıları ..	79
Şekil 3.51. Alabalıklarından izole edilen <i>Vibrio (Listonella) anguillarum</i> ’un Biyolog tanılama sisteminin çıktıları ..	82
Şekil 3.52. Gökkuşığı Alabalığı (<i>Oncorhynchus mykiss</i>)’nda izole edilen <i>Lactococcus garvieae</i> ’nın Biyolog tanılama sisteminin çıktıları ..	85
Şekil 3.53. Gökkuşığı alabalıklarından izole edilen <i>Aeromonas sobria</i> ’nın Biyolog tanılama sisteminin çıktıları ..	88
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.....	89
Şekil 3.55. <i>Flavobacterium psychrophilum</i> DNA’larının, PZR’unda analizi sonucu oluşan 396 bp’lik bantları gösteren agaroz jel; 1–10: <i>Flavobacterium psychrophilum</i> şüpheli örnekler; M: 100 bp’lik moleküler marker.....	90
Şekil 3.56. <i>Flavobacterium psychrophilum</i> DNA’larının, PZR’nda analizi sonucu oluşan 1089 bp’lik bantları gösteren agaroz jel; 1–12: <i>Flavobacterium psychrophilum</i> şüpheli örnekler; M: 100 bp’lik moleküler marker.....	91
Şekil 3.57. 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.....	92
Şekil 3.58. DNA örneklerinin, 27F, 806R primer çifti kullanılarak PCR’de analizi sonucu oluşan <i>Lactococcus garvieae</i> türüne ait 300 bp’lik bantları gösteren agaroz jel; 1–7: İşletmelerden izole edilen <i>Lactococcus garvieae</i> örnekleri; M: 100 bp’lik moleküler marker; N: Negatif kontrol (<i>E. coli</i>) (MBI, Fermentas).....	93
Şekil 3.59. 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 (<i>E. coli</i>) (MBI, Fermentas); P: Pozitif kontrol referans suş (<i>Aeromonas sobria</i> ATCC43979)	94
Şekil 3.60. <i>Yersinia ruckeri</i> suşlarından ileri okuma ile 16S sekans hizalaması	95
Şekil 3.61. <i>Yersinia ruckeri</i> KY15 (Sequence ID: MK548507.1)’in NCBI’den alınan consensüs dizisi	96
Şekil 3.62. <i>Yersinia ruckeri</i> sekans kromatogramı.....	99
Şekil 3.63. Bir adet <i>Yersinia ruckeri</i> sekans sonuçlarının NCBI’deki referans <i>Yersinia ruckeri</i> suşlarıyla benzerlik açısından karşılaştırılması	100
Şekil 3.64. <i>Yersinia ruckeri</i> taksonunun hizalama (alignment) sonucu (Query: <i>Yersinia ruckeri</i> , Sbjct: <i>Yersinia ruckeri</i> KY15 (Sequence ID: MK548507.1) ...	101
Şekil 3.65. <i>Flavobacterium psychrophilum</i> suşlarından ileri okuma ile 16S sekans hizalaması.....	102
Şekil 3.66. <i>Flavobacterium psychrophilum</i> 16S ribosomal RNA (Sequence ID: KU212250.1)’in NCBI’den alınan consensüs dizisi	103
Şekil 3.67. <i>Flavobacterium psychrophilum</i> sekans kromatogramı	106
Şekil 3.68. Bir adet <i>Flavobacterium psychrophilum</i> sekans sonuçlarının NCBI’deki referans <i>Flavobacterium psychrophilum</i> suşlarıyla benzerlik açısından karşılaştırılması.....	107

Şekil 3.69. <i>Flavobacterium psychrophilum</i> taksonunun hizalama (alignment) sonucu (Query: <i>Flavobacterium psychrophilum</i> , Sbjct: <i>Flavobacterium psychrophilum</i> 16S ribosomal RNA (Sequence ID: KU212250.1).....	108
Şekil 3.70. <i>Vibrio anguillarum</i> suşlarından ileri okuma ile 16S sekans hizalaması ..	109
Şekil 3.71. <i>Vibrio anguillarum</i> Ba35-E2-R3 (Sequence ID: CP031528.1)'nın NCBI'dan alınan consensüs dizisi	109
Şekil 3.72. <i>Vibrio anguillarum</i> sekans kromatogramı.....	111
Şekil 3.73. Bir adet <i>Vibrio anguillarum</i> sekans sonuçlarının NCBI'daki referans <i>Vibrio anguillarum</i> suşlarıyla benzerlik açısından karşılaştırılması	112
Şekil 3.74. <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).....	113
Şekil 3.75. <i>Lactococcus garvieae</i> suşlarından ileri okuma ile 16S sekans hizalaması	114
Şekil 3.76. <i>Lactococcus garvieae</i> 1775 (Sequence ID: MT597623.1)'in NCBI'dan alınan consensüs dizisi	115
Şekil 3.77. <i>Lactococcus garvieae</i> sekans kromatogramı	118
Şekil 3.78. Bir adet <i>Lactococcus garvieae</i> sekans sonuçlarının NCBI'daki referans <i>Lactococcus garvieae</i> suşlarıyla benzerlik açısından karşılaştırılması....	119
Şekil 3.79. <i>Lactococcus garvieae</i> taksonunun hizalama (alignment) sonucu (Query: <i>Lactococcus garvieae</i> , Sbjct: <i>Lactococcus garvieae</i> 1775 (Sequence ID: MT597623.1).....	120
Şekil 3.80. <i>Aeromonas sobria</i> suşlarından ileri okuma ile 16S sekans hizalaması....	121
Şekil 3.81. <i>Aeromonas sobria</i> Til3 (Sequence ID: MT384381.1)'nın NCBI'dan alınan consensüs dizisi	122
Şekil 3.82. <i>Aeromonas sobria</i> sekans kromatogramı	125
Şekil 3.83. Bir adet <i>Aeromonas sobria</i> sekans sonuçlarının NCBI'daki referans <i>Aeromonas sobria</i> suşlarıyla benzerlik açısından karşılaştırılması	126
Şekil 3.84. <i>Aeromonas sobria</i> taksonunun hizalama (alignment) sonucu (Query: <i>Aeromonas sobria</i> , Sbjct: <i>Aeromonas sobria</i> Til3 (Sequence ID: MT384381.1).....	127

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa No

Çizelge 2.1. Çalışmada kullanılan primerler	20
Çizelge 2.2. Mikroplakalarda kodlanan 94 adet karbon kaynağı ve kimyasal listesi (Anonim, 2008)	32
Çizelge 2.3. ExoSAP Pürifikasyonu için reaksiyon karışımı	35
Çizelge 2.4. ExoSAP PCR Protokolü	35
Çizelge 2.5. Cycle Sequencing PCR reaksiyon karışımı	36
Çizelge 2.6. Cycle Sequencing PCR Protokolü	36
Çizelge 3.1. Örneklerin alındığı işletme, balık türü, alındığı ili, balık ve örnek sayısı	38
Çizelge 3.2. Gökkuşluğu Alabalıklarından izole edilen 19 <i>Yersinia ruckeri</i> morfolojik ve biyokimyasal özellikleri	62
Çizelge 3.3. <i>Flavobacterium psychrophilum</i> 'un fenotipik ve biyokimyasal özellikleri	65
Çizelge 3.4. Gökkuşluğu Alabalıklarından izole edilen 15 <i>Vibrio anguillarum</i> suşunun morfolojik ve biyokimyasal özellikleri	69
Çizelge 3.5. Gökkuşluğu Alabalıklarından izole edilen 22 <i>Lactococcus garviae</i> morfolojik ve biyokimyasal özellikleri	71
Çizelge 3.6. Hasta balık örneklerinden izole edilen 14 adet <i>Aeromonas sobria</i> suşlarının morfolojik ve biyokimyasal özellikleri	73
Çizelge 3.7. Gökkuşluğu Alabalıklarından izole edilen <i>Yersinia ruckeri</i> 'nin Biolog Sistemi (The biolog GENIII micro plate) cihazı ile diğer fenotipik özellikleri	74
Çizelge 3.8. Gökkuşluğu alabalığından izole edilen <i>Flavobacterium psychrophilum</i> 'nın Biolog Sistemi (The biolog GENIII micro plate) cihazı ile diğer fenotipik özellikleri	77
Çizelge 3.9. Gökkuşluğu Alabalıklarından izole edilen 20 adet <i>Vibrio anguillarum</i> 'un Biolog Sistemi (The biolog GENIII micro plate) cihazı ile diğer fenotipik özellikleri	80
Çizelge 3.10. Gökkuşluğu alabalığından izole edilen 22 adet <i>Lactococcus garviae</i> 'nin Biolog (The biolog GENIII micro plate) cihazı ile diğer fenotipik özellikleri	83
Çizelge 3.11. Gökkuşluğu Alabalıklarından izole edilen 14 adet <i>Aeromonas sobria</i> 'nın Biolog (The biolog GENIII micro plate) cihazı ile diğer fenotipik özellikleri	86

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

Diyarbakır İlinde Bulunan Bazı Gökkuşığı Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum 1792) İşletmelerinde Bakteriyel Hastalıkların Araştırılması

ÖZET

Bu çalışma Diyarbakır ilinde faaliyet gösteren üretim ve yetiştiricilik yapılan balıkçılık işletmelerdeki balıklarda sıklıkla rastlanan bakteriyel hastalıklar yönünden taranması hedeflendi. Bu amaçla Ocak 2019 ve Ocak 2022 tarihleri arasında 12 farklı alabalık işletmelerinden 0,5-300 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; 19 adet *Yersinia ruckeri*, 10 adet *Flavobacterium psychrophilum*, 15 adet *Vibrio anguillarum* 22 adet *Lactococcus garviae*, 14 adet *Aeromonas sobria* suşu fenotipik ve genotipik özelliklerine göre tanımlama yapıldı.

Anahtar kelimeler: Gökkuşığı alabalığı, *Oncorhynchus mykiss*, *Yersinia ruckeri*, *Flavobacterium psychrophilum*, *Vibrio anguillarum* *Lactococcus garviae*, *Aeromonas sobria*, BIOLOG GEN III, Fenotipik, PZR, Sekans, genotipik

Investigation of Bacterial Diseases in Some Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum 1792) Farms in Diyarbakır Province

ABSTRACT

This study aimed to screen fish in aquaculture enterprises engaged in production and cultivation in Diyarbakır province for common bacterial diseases. For this purpose, live Rainbow trout specimens weighing 0.5-300 grams, suspected of disease, were collected from 12 different trout farms between January 2019 and January 2022, and transported to the laboratory for external examination. Subsequently, tissue samples were taken from the eye, liver, spleen, kidney, intestine, and skin. For the isolation of bacterial pathogens, 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), and blood agar (BA) were used. These media were incubated at 15-24°C for 24-72 hours. Biochemical identification tests and the Biolog System (The Biolog GENIII micro plate) were applied to pure strains obtained from these samples to examine their phenotypic characteristics. Special primers were used to confirm the strains identified by the Biolog System using Polymerase Chain Reaction (PCR) technique. Subsequently, molecular confirmation of all these strains was performed. The genetic characteristics of the strains confirmed by PCR were examined. Sequence analysis of the bacterial samples obtained was carried out, and the results were interpreted according to the reference bacteria in NCBI. As a result, 19 strains of *Yersinia ruckeri*, 10 strains of *Flavobacterium psychrophilum*, 15 strains of *Vibrio anguillarum*, 22 strains of *Lactococcus garvieae*, and 14 strains of *Aeromonas sobria* were identified based on their phenotypic and genotypic characteristics.

Key Words: Rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, Phenotypic, genotypic, *Yersinia ruckeri*, *Flavobacterium psychrophilum*, *Vibrio anguillarum*, *Lactococcus garvieae*, *Aeromonas sobria*, BIOLOG GEN III, PCR, Sequence

1. GİRİŞ

Su ürünleri yetiştiriciliğinde sucul organizmaların gelişimlerini en uygun çevresel koşullar altında, su kaynaklarının ekolojik yapısında bozmadan doğal çevrenin ve doğal av stoklarında kontrol altına alınarak, yetiştiricilik prensiplerini de içine alan geniş ve önemli bir üretim ve bilim alanıdır. Üretim alanında da son 60 yıl içerisinde teknolojik ve bilimsel gelişmeler su ürünlerine önemli katkılar sağlamıştır (Bostock, 2011).

Dünya su ürünleri üretimine bakıldığında çok büyük artışlar gözlenmektedir. 1950 yılında dünya su ürünleri üretimi 638.457 ton iken 2022 yılında 182.777.048 tona ulaşmıştır. Elde edilen verilere bakıldığında hem ekonomik açıdan hem de artan dünya nüfusunun besin ihtiyacı açısından su ürünleri üretimi büyük bir önem arz etmektedir (FAO, 2023).

Ülkemizde yetiştiricilik için uygun su kaynakları bakımından zengin bir ülkedir. Bu kaynakların doğru bir şekilde kullanılması ekonomiye ve hayvansal protein ihtiyacını karşılamaya katkı sağlayacaktır. Ülkemizde su ürünleri üretimi 2000 yılında 582376 ton ve bu üretimin 79031 tonu yetiştiricilikten elde edilirken 2022 yılında 849.808 tondur. Bu üretimin 276502 tonu yetiştiricilikten sağlanmıştır (TÜİK, 2023).

Gökkuşığı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*), dünya genelinde ekonomik açıdan önemli balık türleri arasında yer almaktadır. Gökkuşığı alabalığının kültürüne ilk kez 1879 yılında Amerika Birleşik Devletleri'nde başlanmıştır. Daha sonraları ise gıda, stoklama ve sportif balıkçılık amaçlarıyla diğer ülkelere de ithal edilmiştir. Ülkemizde, gökkuşığı alabalığı kültür çalışmaları 1970'li yıllarda başlamış olup, 1980'li yıllarda bu çalışmalar hız kazanmıştır (Korun 2015).

Ülkemizde alabalık türlerinin yetiştiriciliğinin tercih edilmesinin başlıca nedeni, su kaynaklarının elverişli olmasıdır. Alabalık türleri arasında ülkemizde en fazla yetiştiriciliği yapılan tür, Gökkuşığı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*)'dir. Gökkuşığı alabalığının vücudu uzun olup, sırtında yağ yüzgeci bulunmaktadır ve karın kısmı gümüşü beyaz veya sarı renktedir. Gökkuşığı alabalığının yaygın olarak üretilmesinin nedenleri ise yüksek adaptasyon yeteneği, yemden yararlanma kabiliyetinin yüksekliği, kısa kuluçka dönemi ve hastalıklara karşı dayanıklılığı olarak özetlenebilir (Alpbaz, 2005). Ülkemizde 2022 verilerine göre deniz ve içsular toplamda 197.923 ton Gökkuşığı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) üretimi yapılmaktadır (TÜİK, 2023).

Kültür balıkçılığı nedeniyle çok sayıda balığın bir arada ve yakın temas halinde bulunması, doğada (dere, göl, gölet, deniz, vs) serbest yaşayanlara oranla, daha fazla

hastalığın ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Balıkların içinde yaşadıkları ortamın (tuzlu, acı, tatlı su) sınırlı olan besleyici, fiziksel, kimyasal, biyotik ve abiyotik optimal yaşam koşullarının olumsuz yönde değişmesi bunların kısa süre içinde düzelmemesi ve devam etmesi, özellikle, bir çok enfeksiyöz hastalığın çıkmasına neden olmaktadır (Arda ve ark., 2005).

Balıklarda bildirilen bakteriyel patojenlerin sayıca fazla olmasına rağmen, dünya genelinde kültürü yapılan balık türlerinde meydana gelen kayıplardan sorumlu olan patojenlerin *Aeromonas*, *Vibrio*, *Edwardsiella*, *Flavobacterium*, *Yersinia*, *Francisella*, *Photobacterium*, *Piscirickettsia*, *Pseudomonas* ve *Tenacibaculum* gibi Gram-negatif bakteri türleri ile *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Mycobacterium* ve *Renibacterium* gibi Gram-pozitif bakteri gruplarına ait olduğu rapor edilmiştir. Tatlı suda kültürü yapılan balık türlerinin de *Flavobacterium*, *Aeromonas*, *Yersinia ruckeri*, *Renibacterium salmoninarum*, *Mycobacterium* ile *Streptococcus* ve *Lactococcus* türleri tarafından tehdit edildiği bildirilmiştir (Pridgeon ve Klesius 2012; Sudheesh ve ark., 2012). Ülkemizde de kültürü yapılan gökkuşağı alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) farklı coğrafik bölgelerde enfeksiyona neden olan bakteriyel patojenlerin izolasyonu ve teşhisi ile ilgili pek çok çalışma bulunmaktadır (Sarıeyyüpoğlu, 1984; Timur ve ark., 1996; Aydın ve ark., 1997; Balta, 1997; Karataş Düğenci ve Candan, 1997; Diler ve ark., 1998; Diler ve ark., 2000a; Diler ve ark., 2000b; Aydın ve ark., 2001; İspir ve ark., 2004; Altun ve ark., 2010).

Enterik Kızıl Ağız Hastalığı (Enterik Red Mouth, ERM) ya da Yersiniozis olarak bilinen bu hastalık, ilk defa 1950'li yıllarda Amerika Birleşik Devletleri'nde gökkuşağı alabalığı yetiştiriciliği yapılan işletmelerde yüksek mortalite oranlarıyla görülen subakut ve akut formda septisemik bir hastalık olarak rapor edilmiştir (Bullock ve Anderson, 1984; Busch, 1982; Frerich ve Roberts, 1989; Lucangeli ve ark., 2000; Ross ve ark., 1966). ERM hastalığı, dünyanın birçok bölgesine yayılmış durumdadır (Bullock ve ark., 1977; Roberts, 1983; Lesel ve ark., 1983; Stevenson ve Daly, 1982).

Türkiye'de *Yersinia ruckeri*'nin neden olduğu Yersiniozis 1991 yılında gökkuşağı alabalıklarında saptanmıştır. Alabalık işletmelerinin yaygınlaşması ile birlikte hastalık miktarı artmış ve ekonomik kayıplara neden olmaya başlamıştır. Halen bu hastalık alabalık işletmelerinde yaygın halde görülmektedir ve ülkemizin en önemli bakteriyel hastalığı haline gelmiştir (Çağırğan ve Yürekli Türk, 1991; Kubilay, 1997; Kubilay ve Diler, 1999; Timur ve Timur, 1991). Hastalık; renkte koyulaşma, ağızın iç ve dışında, operkulumda ve vücudun dış yüzeyi ile yüzgeçlerin tabanında kanamalar, karında şişkinlik ve sıvı toplanması, tek yada

Çift taraflı ekzoftalmus gibi belirtilerle kendini gösterir. Bu belirtilere bakarak değil, laboratuvar çalışmaları ile kesin teşhis konabilir (Arda ve ark., 2002). Ayrıca; anüs civarında, yüzgeçler ve deride erimeler, göz çukurunda ve iriste kanamalar görülür. Otopsi sonucu yapılan incelemede iç organlarda kanamalar, karın boşluğunda ve mide de sarımsı bir sıvı görülebilir (Diler, 2004).

Gram negatif, enterik bir bakteri olan *Yersinia ruckeri*, genel olarak 0,5 x 1,5 - 2  m boyutunda, hafif kıvrık, omak seklinde, 7 – 8 peritirik flagellaya sahip hareketli, tek tek yada kısa zincirler oluşturan kokobasil yada basil formlarında olabilir (Ross ve ark., 1966; Busch, 1982; Frerichs ve Roberts, 1989; Arda ve ark., 2005). *Yersinia ruckeri*, 15-27  C’de aktif hareket gösterirken, 9  C’deki inkubasyonda flagellalar mevcut olmasına rağmen hareketsiz, 35  C’de inkübe edildiğinde ise flagella olmadığından dolayı tamamen hareketlerini kaybederler (O’Leary ve ark., 1979; Busch, 1982; Davies ve Frerichs, 1989).

Yersinia ruckeri’nin patojenitesi özellikle su sıcaklığı ve balık büyüklüğüne göre ayrıca ortam şartları, beslenme ve stres koşulları gibi faktörlere bağlı olarak değişmektedir. Su sıcaklığının 10  C’nin üzerinde olması halinde hastalık oluşmaktadır, 10  C’nin altında mortalitesi oldukça düşüktür. Ařırđ yemleme, stres şartları ve 7,5 cm den küçük balıklarda ölümler artmaktadır (Busch, 1982; Frerichs ve Roberts, 1989; Austin ve Austin, 1993; Arda ve ark., 2005). Bu enfeksiyon temel olarak genç gkkuřaęđ alabalıklarında görülmektedir (Bullock ve Cipriano, 1990; Horne ve Barnes, 1999).

Yersiniozis etkeni önce sağlıklı balıkların bağırsaklarına yerleşmektedir. Stres, portör balıklarda re-enfeksiyonu, sağlıklı balıklarda ise enfeksiyon sürecini başlatmaktadır (Busch ve Lingg, 1975; Hunter ve ark., 1980). Gerek taşıyıcı gerekse bağırsaklarında kolonize olmuş halde *Yersinia ruckeri* bulunduran balıkların ellenmesi, ařırđ kalabalık halde stoklanması, sudaki amonyak ve diğer zararlı maddelerin artması, oksijen düzeyinin azalması gibi istenmeyen durumlarda enfeksiyon akut bir seyir izlemektedir (Busch, 1982).

Psikrofiloz (Bakteriyel soğuk su hastalıęđ, Pedinkl hastalıęđ, Rainbow Trout Fry Syndrome-RTFS), etkeni olan *Flavobacterium psychrophilum*, ilk olarak 1946 yılında Amerika Birleşik Devletleri’nde Coho somonlarından (*Oncorhynchus kisutch*) izole edilmiştir (Bernardet ve Keroualt, 1989; Inglis ve ark., 1993; Ekman, 2003; Cipriano ve Holt, 2005). Bu patojenin *Salmo salar*, *Anguilla anguilla*, *Cyprinus carpio*, *Tinca tinca* gibi birçok balık türünden izole edildięđ ve önemli ekonomik kayıplara neden olduğu rapor edilmiştir (Lehmann ve ark., 1991; Bernardet, 1997). Japonya’da ise 1987 yılından beri

doğal sular da ve *Plecaglossus altivelis* üretim yapılan işletmelerde *Flavobacterium psychrophilum* ciddi sorunlar teşkil etmiştir (Wakabayashi ve ark., 1994; Lido ve Mizokomi, 1996). Türkiye’de, gökkuşağı alabalığı üretim tesislerinde yavru alabalıklardan *Flavobacterium* türlerinin izole edildiği bildirilmiştir (Balta, 1997; Korun ve Timur, 2001; Özcan ve Sarieyyüpoğlu, 2014) ve 0.5 – 1.0 gramlık alabalıklarda %75 oranında yüksek mortaliteye neden olduğu tespit edilmiştir (Balta, 1997). Ayrıca, 1–5 gramlık alabalık yavrularında mortalite oranı %70 iken, 10–15 gramlık yavrularda bu oran %10 olarak belirlenmiştir (Austin ve Austin, 1987; Bernardet ve Keroualt, 1989; Austin, 1992; Özcan ve Sarieyyüpoğlu, 2013).

Flavobacterium psychrophilum’un neden olduğu, özellikle kuluçkahanelerde su sıcaklığının 10°C’nin altına düştüğü durumlarda ortaya çıkan, septisemik karakterde, akut seyirli, epidemik ve öldürücü bir enfeksiyondur. Bu hastalık, işletmelerde önemli ekonomik kayıplara yol açmaktadır. Psikrofiloz, Türkiye’de ilk kez 1993 yılında yavru gökkuşağı alabalıklarında tespit edilmiş ve sonraki yıllarda farklı coğrafi bölgelere yayılmıştır. Balık üretim tesislerinde ciddi ekonomik kayıplara neden olmuştur. Ülkemizde bu hastalık, şubat-haziran aylarında yaygın olarak görülmüş ve yavru alabalıklar için önemli bir bakteriyel hastalık haline gelmiştir (Bernardet ve Keroualt, 1989; Austin, 1992; Lumsden ve ark., 1996; Diler ve ark., 2003; İspir ve ark., 2004; Arda ve ark., 2005).

Flavobacterium psychrophilum, *Oncorhynchus mykiss*, *Salmo trutta*, *Salvelinus fontinalis*, *Salmo namaycush* (Shotts ve Starliper, 1999; Ekman, 2003; Nematollahi ve ark., 2003; Cipriano ve Holt, 2005) gibi salmonid türlerden ve *Anguilla anguilla*, *Cyprinus carpio*, *Tinca tinca* gibi salmonid olmayan türlerden de izole edilmiştir (Bernardet ve Keroualt, 1989; Lorenzen ve ark., 1991; Austin, 1992; Holliman, 1993; Lorenzen ve ark., 1997; Plumb, 1999; Ekman, 2003; Cipriano ve Holt, 2005). Bu hastalıkta, özellikle kuluçkahane sıcaklığının 10°C’nin altına düştüğü durumlarda, yavru alabalıkların dorsal ve kaudal yüzgeçlerinde, vücut yüzeyinde çeşitli büyüklüklerde lezyonlar, deride kanama ve ekzoftalmus görülür. Ayrıca, solungaç ve karaciğerde solgunluk, karında şişkinlik, bağırsağın sarı bir içerik ile kaplanması, dalak ve karaciğerde büyüme gibi belirtilerle karakterize olan bulaşıcı ve öldürücü bir bakteriyel hastalıktır (Kandil, 1976; Çolak, 1982; Austin ve Austin, 1987; Lorenzen ve ark., 1991; Santos ve ark., 1992; Bustos ve ark., 1995; Balta, 1997; Cengizler, 2000; Korun ve Timur, 2001; Diler ve ark., 2003; Ekman, 2003; Timur ve Timur, 2003; İspir ve ark., 2004; Arda ve ark., 2005; Cipriano ve Holt, 2005).

Flavobacterium psychrophilum, hastalığa yol açtığı gibi alabalıkların deri, mukoza, yüzgeç, solungaç, operkulum, ovaryum sıvısı ve sindirim sisteminin doğal florasında da bulunmaktadır (Diler ve ark., 2000; Nematollahi ve ark., 2003; Arda ve ark., 2005; Kubilay ve ark., 2009a; Kubilay ve ark., 2009b). Ayrıca etkenin hasta anaç balıkların yumurtalarına, buradan da yavru balıklara bulaşabildiği bildirilmiştir (Balta, 1997; Diler ve ark., 2003). Çevresel faktörlerin (özellikle su sıcaklığının düşmesi, kalitesi düşük sular, balık popülasyonundaki artış, kötü bakım-besleme gibi) değişmesiyle etkenin virulensi artmakta ve enfeksiyona neden olmaktadır. Etken temas ve su yoluyla balıklar arasında hızlı bir şekilde yayılarak bulaştığından gökkuşağı alabalığı yetiştiriciliği yapılan işletmelerde aşırı ölümlere ve sonuçta işletmelerde önemli ekonomik kayıplara neden olmaktadır (Cipriano ve Holt, 2005).

Dünya da vibriosis ile ilgili ilk rapor 1761’de bildirilmiş ve bu hastalık 1907 yılında Bonaveri tarafından “pestir ruba anguillarum” olarak tanımlanmıştır. *L. anguillarum*’un ilk ismi ise yılan balığından (*Anguilla anguilla*) izole edildiği için *Bacterium anguillarum* olarak bildirilmiştir (Canestrini, 1907). Daha sonra, *Bacterium anguillarum* yeniden gruplandırılarak *Vibrio anguillarum* ismini almıştır. Yine Wells ve ZoBell (1934)’de *Fundulus parvipinnis* balıklarından izole edilen *Achromobacter ichthyodermis*’in ve Hoshina, (1956)’da gökkuşağı alabalıklarının Japon türlerinden izole edilen ve *V. piscium* var. *japanicus* olarak adlandırılan izolatların gerçekte *V. anguillarum* Tip C olduğu; Hendrie ve ark. (1970) tarafından *Pseudomonas ichthyodermis* olarak ifade edilen izolatların ise *V. anguillarum* Tip A olduğu bildirilmiştir (ZoBell ve Upham, 1944; Hoshina, 1956; Hendrie ve ark., 1971; Bergman, 1909; Larsen ve Jensen, 1979).

Eski ismi *Vibrio anguillarum* olan ve hala pek çok literatürde bu isimle anılan *Listonella anguillarum*, 17 ülkede 50 farklı balık türünde bildirilmişken (Austin ve Austin, 1999; Actis ve ark., 2011) genel olarak *Vibrio vulnificus* biyotip 2 yılan balıklarında (Biosca ve ark., 1996); *Vibrio harveyi* karideslerde (Austin ve ark., 2003); *Vibrio tapetis* deniz balıklarında (clams) (Borrego ve ark., 1996); *Vibrio ordalii* ise salmonidlerde (Schiewe ve ark., 1981) salgınlar oluşturmaktadır.

İlk atipik *Vibrio anguillarum* ise 1996’da tanımlanmış (Pacha ve Kiehn, 1969), takip eden yıllarda benzer izolatlar tespit edilmiş ama tanınması yapılmamıştır (Harrell ve ark., 1976). Bu durum *Vibrio anguillarum* üzerinde bir ayırım yapılması fikrini gündeme getirmiştir. Böylece bakteri *V. anguillarum* biyotip 1 (orijinal bakteri) ve biyotip 2 (ilişkili bakteri) olarak sınıflandırılmıştır. 1981 sonrası gelişen DNA metodları sayesinde biyotip 1

ve 2 arasındaki fark daha net ortaya konmuş ve biyotip 2, yeni bir tür olan *Vibrio ordalii* olarak önerilmiştir. Günümüzde bu iki tür arasındaki farklar ayrıntılı olarak çalışılmıştır (Schiewe ve ark ., 1981; Schiewe ve Crosa, 1981; Kaper ve ark., 1983; Egidius ve ark ., 1986; Alsina ve ark., 1994; Tiainen ve ark ., 1997).

Türkiye’de 1993 yılında çipura (*Sparus aurata*) balıklarından (Candan, 1993; Çağırğan, 1993) bildirilen vibriosis daha sonra levrek (*Dicentrarchus labrax*) (Akan ve ark., 1996; Çağırğan 2004; Tanrıkul ve ark ., 2004; Korun ve Timur, 2008), kefal (*Mugil cephalus*) (Demircan ve Candan, 2006), mercan (*Pagrus pagrus*) (Korun ve Gökoğlu 2007) ve Atlantik salmonu (*Salmo salar L.*) (Candan, 2000) gibi deniz balıkları ile gökkuşağı alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) (Timur ve Korun 2004; Tanrıkul, 2007) rapor edilmiştir.

Vibrio anguillarum, Vibrionaceae familyasında, Gram negatif, virgül şeklinde çubuk şekilli bir bakteridir. Halofilik özellikli olup doğal kültürü yapılan deniz balıkları, tatlı su balıkları ve diğer akuatik hayvanlarda vibriosis veya hemarajik sepsisemiye neden olmaktadır (Rodkhuma ve ark., 2005). Vibriosis, kültürü yapılan balıklarda stres şartları altında özellikle stoklamanın yoğun ve kötü su kalitesinin bir arada bulunduğu durumlarda ciddi ekonomik kayıplar oluşturmaktadır (Noga, 2000; Peggy ve Francus-Floyd, 2002).

Vibrio anguillarum’ un neden olduğu vibriosis, kabaca %50’ yi aşan mortalite, zayıflık, iştahsızlık, yüzeyde yüzme, deride matlık, kırmızı ve ölü nekrotik alanlar ile yüzgeç ve ağız çevresinde eritemlerin oluştuğu; sistemik seyrettiğinde ise ekzoftalmus, kanlı sıvı dolu bağırsak, hemorajik ve şişkin karaciğerin gözlemlendiği bir hastalıktır (Woo ve Bruno, 2003).

Enfeksiyon sonrası ilk gözlenen semptom balığın dorsal bölgesinde anoroksiye bağlı kararmadır. İlerleyen dönemde ise baş ve operkulum bölgesinde yaygın hemoraji dikkati çeker. Sağlıklı balıklarda vücut yüzeyinde hemoraji görülmez. Diğer klinik semptomlar içerisinde vücudun alt ve yan yüzeylerinde kırmızı noktalar, kanama ya da ülserleşme ile sonlanan deri lezyonları, gözlerde önce opaklaşma sonra ülserasyon ve ekzoftalmus; internal olarak ascites ve bağırsakların visköz bir sıvı ile şişmiş olduğu görülür. Yine bağırsaklar hemorajiktir ve kalp lümeni sıvı ile doludur. Etkenin virulansının çok yüksek olduğu salgın vakalarında ya da akut durumlarda klinik belirti gözlenmeden ölüm şekillenebilir (Toranzo ve ark., 2005; Austin ve Austin, 2007). Dalak, böbrek ve karaciğerde hipertrofi meydana gelmesi de nonspesifik belirtiler arasındadır (Austin ve Austin, 1987).

Viseral boşlukta sıvı toplanması, korneanın opaklaşması ve ilerleyen dönemlerde korneal ülser sonucu gözün kaybı da mümkündür (Roberts, 1978).

Lactococcus garvieae isimli etkenin sebep olduğu laktokokkozis, dünyada ilk defa 1974 yılında sarıkuyruk balığından (*Seriola quinqueradiata*) izole edilmiştir (Kusuda ve ark., 1991). Balıklarda neden olduğu hastalık laktokokkozis (*Lactococcosis*) olarak adlandırılmıştır (Austin ve Austin, 1999). Türkiye’de bu hastalık, ilk defa 1992 yılında Aydın ilinde bir işletmede tespit edilmiştir (Çağırğan, 2007). Ege Bölgesi’ndeki bir gökkuşağı alabalığı işletmesinde 2001 yılında büyük mortalite oranıyla ortaya çıkmış ve 2006 yılında birçok ilde görülmüştür (Türe ve Savaş, 2010). 2008 yılı itibariyle, ülkemizde birçok bölgeye yayılmıştır (Türe ve Altınok, 2012).

Lactococcus garvieae; başta gökkuşağı alabalığı olmak üzere sarıkuyruk (*S. dumerili*), tilapia (*Oreochromis* sp.), japon yılan balığı (*Anguilla japonica*), dil balığı (*Paralichthys olivaceous*), kefal (*Mugil cephalus*), kedi balığı, çırçır balığı (*Coris aygula*), kayabalığı (*Sebastes schlegeli*), sarıağız balığı (*Seriola lalvei*) ve tatlı su karidesi (*Macrobrachium rosenbergii*) gibi çok sayıda akuatik organizmadan izole edilmiştir (Kusuda ve ark., 1991; Prieta ve ark., 1993; Chen ve ark., 2001; Lee ve ark., 2001; Chen ve ark., 2002; Ravelo ve ark., 2002; Colorni ve ark., 2003; Kang ve ark., 2004; Altun ve ark., 2004; Altun ve ark., 2007).

Bakteriyel balık patojenleri arasında yer alan laktokokkozis Gram pozitif bakterilerin neden olduğu hastalıklar içerisinde ekonomik kayıplara neden olan en önemli hastalıklardan biridir. Laktokokkozis yaz aylarında su sıcaklığı 15°C’ye ulaştığında yetiştiriciliği yapılan birçok balık türünde özellikle gökkuşağı alabalıklarında ekonomik kayıplara neden olan septisemik bir hastalıktır (Diler ve ark., 2002; Çağırğan, 2004).

Aeromonaslar hareketli olmaları nedeniyle ekosistemde sıklıkla rastlanan karakteristik tatlı su bakterileridir (Şahin ve ark., 2018). Aeromonas türleri özellikle organik atıklarla kirlenmiş sularda bol miktarda ve ayrıca tuzlu sular dahil olmak üzere her türlü su kaynaklarında bulunduğu bildirilmektedir. Balıklarda bu türler fırsatçı patojen olarak enfeksiyonlara neden olmaktadır. (Southage, 1993; Diler ve Altun, 1994; Van der Marel ve ark., 2008; Hanson ve ark., 2019). Tatlı su balıklarında Aeromonas türleri hemorojik septisemi ile birlikte seyreden enfeksiyonlara sebep olduğu ifade edilmiştir (Munro, 1982; Diker, 1999).

Zimmermann tarafından 1890 yılında musluk suyundan izole edilen ve *Bacillus punctatus* adı verilen ilk bakterinin aeromonas olduğu düşünülmektedir. Bundan bir yıl sonra Sanarelli tarafından kurbağalardan benzer bir suş izole edilmiş ve *Bacillus hydrophilus* olarak isimlendirilmiştir (Popoff, 1984; Joseph ve ark., 1988; Joseph ve Carnahan, 1994; Caselitz, 1996). Bergey's Manual of Systematic Bacteriology'nin 1984 baskısına göre Aeromonas cinsi için de 4 türden bahsedilmektedir ve bunların: *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas sobria*, *Aeromonas caviae*, *Aeromonas salmonicida* olduğu bildirilmektedir (Popoff, 1984).

Aeromonadaceae ailesine ait aeromonas içindeki gram negatif, hareketli, sporsuz, kapsülsüz, fakültatif anaerob, asidorezistans olmayan çomak biçiminde bir bakteri olan *Aeromonas sobria* 0-42°C gibi çok geniş bir sıcaklık aralığında olduklarından insanlar, balıklar ve diğer çeşitli hayvanlar için fırsatçı patojenlerdir (Martin-Carnahan ve Joseph, 2005; Farmer III ve ark., 2006; Van der Marel ve ark., 2008).

Hareketli Aeromonas türleri, canlılar arasında temas yoluyla bulaştığı için, kültür balıklarında enfeksiyonların yayılma riski daha fazladır (Arda, ve ark., 1992; Akan, 1993; Brenda ve Roselynn, 1981; Ramon ve ark., 1980).

Boulanger ve ark. (1977), *Aeromonas sobria* suşunu sadece sağlıklı balıklarda izole ederken, Lebnac ve ark. (1981), sağlıklı ve ölmek üzere olan hasta balıklardan izole etmiştir.

Aeromonas sobria Dünya genelinde Avrupa, Asya, Amerika gibi birçok farklı coğrafyada farklı balık türlerinden balık patojeni olarak rapor edilmiştir (Rahman ve ark., 2002; Wahli ve ark., 2005). Ülkemizde bu bakteri ilk kez Karadeniz Bölgesi'nde üretimi yapılan Atlantik salmon (*Salmo salar*), levrek (*Dicentrarchus labrax*) ve çipura (*Sparus aurata*) gibi diğer türlerden de izole edildiği bildirilmiştir (Karataş, 1996; Avsever ve ark., 2012; Duman, 2017). Bu türler dışında yine yetiştiriciliği yapılan kaynak alabalığında (*Salvelinus fontinalis*) deri lezyonları ile seyreden enfeksiyonlara neden olduğu rapor edilmiştir (Kayış ve Er, 2014).

Aeromonas sobria ile enfekte olmuş balıkların yüzgeç diplerinde, karın altında, ağız bölgesinde, alt çenede, anüs etrafında kızarıklık ve hemorajik alanlar görülür. Vücutta çeşitli derinlikte ülseratif lezyonlar ortaya çıkabilir. Yüksek ölüm oranları ile sonuçlanan çeşitli enfeksiyonlara yol açarlar (Camus ve ark., 1998; Şık ve ark., 2020).

Fenotipik yöntem genetik özellikleri yansıtır ve genellikle spesifiktir. Belli bir fenotipik özellik patojen bir etkenden ender bulunuyorsa tek başına bu etkenin yayılma yolu

hakkında fikir verebilir. Ancak her zaman görülebilen fenotipik özelliklere sahip olan etkenler söz konusu ise alt tiplendirme yapılmalıdır (Swaminathan ve Matar, 1993; Arda, 1994; Olive ve Bean, 1999).

Biolog Sistemi (The biolog GENIII micro plate); 94 biyokimyasal test uygulanarak Gram pozitif ve Gram negatif bakterilerin tanımlanmasında kullanılır. Bu testler 71 karbon kaynağı kullanım deneylerine ve 23 kimyasal duyarlılık deneylerine dayanır. Biolog Mikrobiyal tanımlama sistemi (Mikro İstasyon Kimliği Sistemi) çok yönlü bir sistemdir. Mikrobiyolojinin çok geniş bir alanında çevresel ve patojenik organizmaların identifikasyonunda ve karakter özelliklerinin belirlenmesinde kullanılır (Singh ve ark., 2011; Bochner, 1989a; Bochner, 1989b).

Polimeraz Zincir Reaksiyonu-PZR (Polymerase Chain Reaction - PCR); kısa bir süre içinde aranan etkenlerin genetik materyalini saptamak amacıyla hedeflenen nükleik asit dizisinin (DNA) biyokimyasal olarak çoğaltılmasını sağlayan bir yöntemdir (Saiki ve ark., 1988; Mullis, 1990; Bej ve ark., 1991; Taylor, 1993). Bu yöntemde; hedef organizmadan elde edilen DNA'nın bir parçası çoğaltılarak tespit edilebilecek seviyeye getirilmektedir. PZR, halen mevcut kültür tekniklerine göre 12–24 saat gibi kısa sürede sonuç vermektedir. Bu teknik hastalık teşhisinde doğrudan uygulamaya sahip olduğu gibi aynı zamanda nedeni bilinmeyen hastalıklarda, epidemiyoloji sahasında patojen etkenin tanınması ve mikroorganizmaların sınıflandırılmasında da kullanılmaktadır (Marx, 1988; Coote, 1990; Quirke, 1992; Arda, 1995; Arı, 1999).

1980'li yıllardan beri 16S rRNA gen sekansı bakterilerin sınıflandırılmasında ve genotipik analizleri için önemli bir araç olarak kullanılmaktadır. rRNA mutasyonlardan en az etkilenen genetik materyaldir. 16S rRNA'nın birkaç bölgesi tüm bakterilerde çok iyi korunmuştur. Bu korunmuş bölgelerden seçilen primerler tüm bakterilerde 16S rRNA amplifikasyonunu sağlar ve bunlara universal primerler denir. Çoğaltılan bölgeler aynı zamanda tür identifikasyonunu sağlayan özgün değişken bölgeleri de içerir. Bundan dolayı 16S rRNA gen sekansına dayalı analiz yöntemleri insanlarda klinik tanı laboratuvarlarında bakteriyel izolatların identifikasyonunda kullanılan önemli bir yöntem haline almıştır (Carlos ve ark., 2001; Donnelly, 1986; Esteban ve ark., 2009).

16S rRNA gen bakterilerin sınıflandırılmasında ve genotipik analizleri için beşeri hekimlikte kullanılmaktadır. Artık sekansa dayalı moleküler identifikasyon veteriner klinik

sahada karşılaşılan bakterilerin tanılanmasında da kullanılmaya başlanmıştır (Chai ve ark. 2003).

Bu münferit proje ile, Diyarbakır ilinde bulunan Gökkuşağı Alabalığı işletmelerinde balıklarda sıklıkla rastlanan bakteriyel hastalıklara neden olan patojenlerin izolasyonu, biyokimyasal testler ve Biolog Systemi (The biolog GENIII micro plate) ile fenotipik identifikasyon, PCR (Polymerase Chain Reaction) ve Sekans Analizi ile genotipik tanımlama yapıldı.

2. MATERYAL VE METOT

2.1. Materyal

2.1.1. Çalışma alanı

Bu çalışma Diyarbakır ilinde bulunan 12 adet işletmeden oluşmaktadır.



Şekil 2.1. Alabalık örneklerinin toplandığı işletmelerinin bulunduğu Diyarbakır lokasyonu

2.1.2. Balık materyali

Balık örnekleri Ocak 2019 ve Ocak 2022 tarihleri arasında 12 farklı işletmeden 0,5-300 gr ağırlığından toplam 360 adet Gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) alındı.

2.1.3. Bakteri izolasyonda kullanılan besiyerleri

Bakteri izolasyonu için 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 (Arda, 2000).

2.1.3.1. Tryptic Soy Agar (TSA)

Tryptic Soy Agar karışımından 40 g tartılarak 1000 ml distile su ilave edilerek eriyene kadar benmaride bekletildi. Daha sonra 121°C’de 15 dakika süreyle otoklavda sterilize edildi ve steril petri kaplarına dökülerek hazırlandı (Arda, 2000).

2.1.3.2. Nutrient Broth (NB)

Nutrient Broth karışımından 8 g tartılarak 1000 ml distile su ilave edilerek eriyene kadar benmaride bekletildi. Daha sonra 121°C’de 15 dakika süreyle otoklavda sterilize edildi ve steril petri kaplarına dökülerek hazırlandı (Arda, 2000).

2.1.3.3. Brain-Heart Infusion Agar (BHIA)

Brain-Heart Infusion Agar karışımından 52 g tartılarak 1000 ml distile su ilave edilerek eriyene kadar benmaride bekletildi. Daha sonra 121°C’de 15 dakika süreyle otoklavda sterilize edildi ve steril petri kaplarına dökülerek hazırlandı (Arda, 2000).

2.1.3.4. KF Streptococcus Agar (BASE)

KF Streptococcus Agar karışımından 71,5 g tartılarak 1000 ml distile su ilave edilerek eriyene kadar benmaride bekletildi. Daha sonra 121°C’de 15 dakika süreyle otoklavda sterilize edildi ve steril petri kaplarına dökülerek hazırlandı (Arda, 2000).

2.1.3.5. Yersinia Selective Agar (CIN)

Yersinia Selective Agar karışımından 58,5 g tartılarak 1000 ml distile su ilave edilerek eriyene kadar benmaride bekletildi. Daha sonra 121°C’de 15 dakika süreyle otoklavda sterilize edildi ve steril petri kaplarına dökülerek hazırlandı (Arda, 2000).

2.1.3.6. Tryptone Yeast Extract Salt Agar (TYES-A)

Tryptone yeast extract salts katı besiyerinin hazırlanmasında; 4 g tryptone, 0,4 g yeast extract, 0,5 g $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 0,5 g $CaCl_2 \cdot 2H_2O$, 11 g agar ve 1000 ml distile su (pH 7.2) kullanıldı. Karışım içerisindeki maddeler eriyene kadar 45–50°C’ye ayarlı benmariye (su banyosuna) konuldu. Kapalı deney tüplerine 5 ml miktarında paylaştırıldı ve 121°C’de 15 dakika süreyle otoklavda sterilize edildi (Holt ve ark., 1993).

2.1.3.7. Kanlı agar (KA)

Ticari olarak toz halinde temin edilen kanlı agardan (Biomeurieux, Fransa) 40 gr tartılarak bdistile su ile 1000 ml’ ye tamamlandı. Sterilizasyon işleminden sonra 45 - 50 °C’ ye kadar soğutuldu. İçerisine %5.0 (v/v) oranında, steril şartlarda alınmış koyun kanı ilave edilip karıştırıldıktan sonra petri kaplarına dökülerek hazırlandı (Arda, 2000).

2.1.4. Bakteri identifikasyonunda kullanılan besiyerleri

2.1.4.1. Oksidasyon- Fermentasyon Besiyeri (O/F)

Hugh – Leifson besiyerinden 11 g tartıldı ve 1000 ml distile suya karıştırılarak, 45–50 °C’deki benmariye bırakıldı. Daha sonra tüplere 4’er ml aktararak 121 °C’de 15 dakika süreyle otoklavda sterilize edildi (Arda, 2000).

2.1.4.2. Metil Kırmızısı - Voges Proskauer (MR-VP)

Metil Kırmızısı - Voges Proskauer (MR-VP) ortamından 17 g tartılarak 1000 ml distile su ilave edilerek eriyene kadar 45–50°C'ye ayarlı benmariye konuldu. Bu karışımdan tüplere 4'er ml aktarıldıktan sonra 121°C'de 15 dakika süreyle otoklavda sterilize edildi (Arda, 2000).

2.1.4.3. Simmons Sitrat Yatık Agar

Simmons Sitrat ortamından 23 g tartılarak 1000 ml distile su ilave edilerek eriyene kadar 45–50 °C'ye ayarlı benmariye konuldu. Tüplere bu karışımdan 4'er ml aktarıldıktan sonra 121 °C'de 15 dakika süreyle otoklavda sterilize edildi ve otoklavdan çıkarıldıktan sonra tüpler 45° eğimli olacak şekilde konularak soğutuldu (Arda, 2000).

2.1.4.4. MacConkey Agar (MCA)

Macconkey Agar ortamından 51,5 g tartılarak 1000 ml distile su ilave edilerek eriyene kadar benmaride bekletildi. Daha sonra 121°C'de 15 dakika süreyle otoklavda sterilize edildi. Yaklaşık 45–50°C'ye kadar soğutulduktan sonra steril petri kaplarına dökülerek hazırlandı (Arda, 2000).

2.1.4.5. Jelatin Hidrolizi

TYES agar hazırlanırken % 4 oranında jelatin ilave edilerek, 45–50 °C'ye ayarlı benmariden karışım homojen hale gelene kadar bekletildi ve pH'sı 7,2-7,4'e ayarlandıktan sonra 121 °C'de 15 dakika süreyle otoklavda sterilize edildi (Bilgehan 1995; İnce, 2010).

2.1.4.6. Kongo Kırmızısı (Galaktozamin Glikan)

Hazırlanacak Cytophaga agar besiyeri içersine % 0,003 kongo kırmızısı ilave edildi. Karışım hazırlandıktan sonra 121 °C'de 15 dakika süreyle otoklavda sterilize edildi ve 45–50 °C'ye ayarlı benmaride soğutuldu. Daha sonra steril petri kaplarına dökülerek hazırlandı (Lorenzen, 1994; Lorenzen ve ark., 1997).

2.1.4.7. İndol Besiyeri

İndol besiyerinin hazırlanmasında; 10 g pepton, 5 g NaCl, 1000 ml distile su ilave edilerek eriyene kadar benmaride bekletildi. Daha sonra 121 °C'de 15 dakika süreyle otoklavda sterilize edildi (Cowan, 1974; Arda, 2000).

2.1.4.8. Eskülin Besiyeri

Eskülin besiyeri hazırlanmasında; 10 g pepton, 5 g NaCl, 1 g escülin 0,5 g ferik sitrat 1000 distile su ilave edilerek eriyene kadar benmaride bekletildi. Kapaklı deney tüplerine 5 ml miktarında paylaştırıldı ve 121 °C’de 15 dakika süreyle otoklavda sterilize edildi (Arda, 2000).

2.1.4.9. Nişastalı Agar

Nişastalı agar hazırlanmasında; 10 g beef extract, 10 g pepton, 5 g NaCl, nişasta 10 g, 20 g agar 1000 ml distile su ilave edilerek eriyene kadar benmaride bekletildi. Daha sonra 121 °C’de 15 dakika süreyle otoklavda sterilize edildi ve steril petri kaplarına dökülerek hazırlandı (Cowan, 1974; URL–1).

2.1.4.10. Jelatin Broth

Jelatin broth hazırlanmasında; 10 g sığır ekstraktı, 10 g pepton, 5 g NaCl 1000 ml distile su, % 10 oranında jelatin ilave edilerek eriyene kadar benmaride bekletildi. Kapaklı deney tüplerine 5 ml miktarında paylaştırıldı ve 121 °C’de 15 dakika süreyle otoklavda sterilize edildi (URL–1).

2.1.4.11. Kazein hidrolizi

TYES agara % 2 süt tozu ilave edilerek hazırlandı.

2.1.4.12. Tween 20 ve 80 Hidrolizi

TYES agara ayrı ayrı % 1’lik Tween 20 ve Tween 80 ilave edilerek hazırlandı.

2.1.4.13. Fizyolojik Tuzlu Su (FTS)

Fizyolojik tuzlu su; 8,5 g NaCl, 1000 ml distile suya eklenerek hazırlandı.

2.1.4.14. Biolog Dehydrated Growth Agar

Biolog Sistemi (The biolog GENIII micro plate) Biolog Dehydrated Growth Agar hazır olarak alındı ve kullanıldı.

2.1.5. Kimyasallar ve Ayıraçlar

2.1.5.1. % 20 Potasyum Hidroksit

Potasyum Hidroksit (KOH) 20 g,

Distile su 100 ml ilave edilerek hazırlandı.

2.1.5.2. Hidrojen Peroksit (% 3'lük)

H₂O₂ 3 ml,

Distile su 100 ml ilave edilerek hazırlandı.

2.1.5.3. Gram Boyama Ayıracı

a) Kristal viole eriği

b) Lugol eriği

c) % 96'lık etil alkol

d) Sulu fuksin eriği

2.1.5.4. Kovaks İndol Ayıracı

İsoamylalkol 15 ml,

p-dimethylaminobenzaldehit 1 g,

0,1 M konsantre HCl 5 ml,

p-dimethylaminobenzaldehit isoamylalkol içinde 50–55°C'lik su banyosunda eritildi ve soğutuldu. Asit ilave edildi (Cowan, 1974).

2.1.5.5. Oksidaz Ayıracı

Tetramethyl-p-phenylenediamine dihydrochloride 1 g,

Distile Su 100 ml,

Kimyasal madde distile su içerisinde eritildi. Işık almayacağı bir şişe içinde ve buzdolabında muhafaza edildi. Otooksidasyonu geçiktirmek için % 1 askorbik asit ilave edildi (Cowan, 1974).

2.1.5.6. Lugol Solusyonu (1/5)

Lugol (stok) solusyonu:

İyot 5 g,

K-iyodür 10 g,

Distile su 100 ml,

İyot ve KI 10ml distile su ile havanda ezilerek eritildi. 100mL tamamlandı.

Stok lugol solusyonu 1 ml,

Distile su 5 ml,

Stok lugol solusyonundan 1 ml ve 5 ml distile su ilavesiyle hazırlandı.

2.1.5.7. 400 ppm Povidin/iodin Solüsyonu

% 10'luk polivinilpirolidon (Batticon)'dan 400 ppm dozunda hazırlandı.

2.1.5.8. Metil Kırmızısı Ayıracı

Metil kırmızısı ayıracının hazırlanmasında 0,05 g metil kırmızısı, 150 ml etil alkol ve 100 ml distile su kullanıldı. Metil kırmızısı etil alkolde eritildikten sonra üzerine distile su eklendi (Bilgehan, 1995).

2.1.5.9. Fenol Kırmızısı Ayıracı (% 0,2'lik)

Bir havanda 0,2 g fenol kırmızısı üzerine 23,5 ml 20 normal sodyum hidroksit eriği azar azar eklenerek eritildi. Distile su ile 100 ml'ye tamamlanarak balon jodede çalkalandıktan sonra renkli şişeler içerisinde oda ısısında saklandı (Bilgehan, 1995).

2.1.5.10. Nitrat A Ayıracı

1 g sülfanilik asit,

100 ml N asetik asit ilave edilerek hazırlandı.

2.1.5.11. Nitrat B Ayıracı

0,6 ml alfanaftilamin,

100 ml N asetik asit ilave edilerek hazırlandı.

2.1.5.12. 1/80 Normal'lik Amonyum Oksalat ($\text{NH}_4\text{C}_2\text{O}_4$)

0,4441 g Amonyum Oksalat saf suda çözündürüldü ve saf su ile 500 ml'ye tamamlandı.

2.1.5.13. 1/80 Normal'lik Potasyum Permanganat (KMnO_4)

Bir behere 1 litre saf su konularak kaynatıldı. Daha sonra 0,395 g KMnO_4 ilave edilerek, iyice karıştırıldı ve çözündürüldü 15 dakika süreyle kaynatıldı. Ağzı kapatılarak soğumaya bırakıldı. Soğumuş çözelti cam pamuğundan süzüldü. Bu çözelti bir balon jodede kaynatılıp soğutulmuş su ile 1 litreye tamamlandı.

2.1.5.14. 1/3 Seyreltilmiş Sülfirik Asit (H_2SO_4)

Bir hacim H_2SO_4 3 hacim safsu eklenerek hazırlandı.

2.1.6. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) İşleminde Kullanılan Ayıraçlar

2.1.6.1. DNA Ekstraksiyonunda Kullanılan Ayıraçlar

2.1.6.1.1. Proteinase K Solüsyonu (100 mg, Sigma, P2308, St. Louis, MO)

Mililitresinde 100 µg olacak şekilde hazırlandı.

2.1.6.1.2. TNES buffer tampon solüsyonu

20 mM Tris, pH 8,0, 150 mM NaCl, 10 mM EDTA, % 0,2 SDS, Yukarıdaki maddeler tartılıp ihtiyaç duyulan miktarda hazırlandı ve her örnek için 300 µl kullanıldı.

2.1.6.1.3. Phenol Equilibrated, Stabilized: Chloroform: Isoamyl alcohol 25:24:1 (A0889, Applichem, Darmstadt)

Phenol equilibrated, stabilized 500 ml/l Chloroform 480 ml/l Isoamyl alcohol 20 ml/l pH (20°C) 7,6–8,0 Bu karışımdan her bir örnek için 600 µl miktarında kullanıldı.

2.1.6.1.4. Sodyum Asetat Kristalle

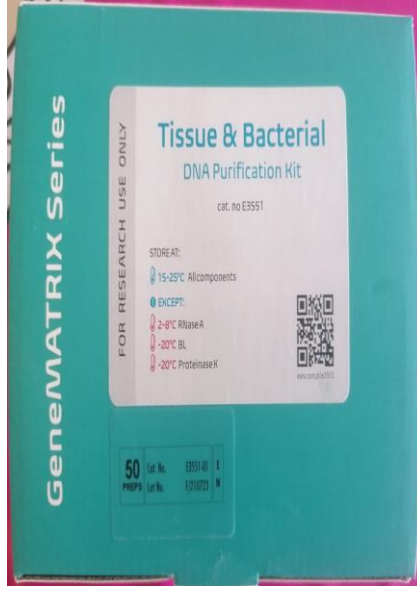
DNA'nın presipitasyonu amacı ile süspansiyona 0,1 volüm (3M) miktarında ilave edildi.

2.1.6.1.5. Absolute Ethanol (Mutlak Alkol, % 96 Etilalkol)

DNA'nın belirli ekstraksiyon aşamalarında kullanılmak üzere % 95, % 90 ve % 70 oranlarında hazırlandı.

2.1.6.2. DNA izolasyon kit kimyasalları

Kromozomal DNA, klonlanacak genlerin çoğaltılmasında kullanılmak için Tissue and Bacterial DNA purification kiti (GeneMATRIX) kullanılarak yapıldı (Şekil 2.2). Bu kit lyse BG buffer (Şekil 2.3), lysozyme (BL) (Şekil 2.4), RNase A (Şekil 2.5), Proteinase K (Şekil 2.6), Sol T (Şekil 2.7), Wash TX1 (Şekil 2.8), Wash TX2 (Şekil 2.9) ve Elution (Şekil 2.10) den oluşmaktadır.



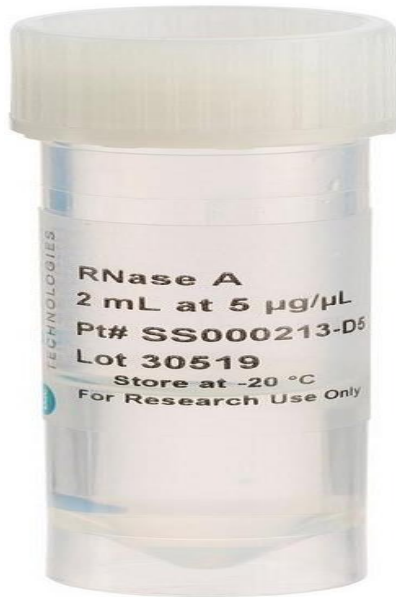
Şekil 2.2. DNA izolasyon kiti



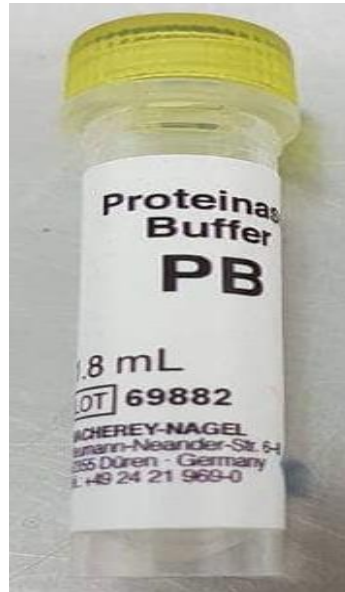
Şekil 2.3. Lyse BG buffer



Şekil 2.4. Lysozyme (BL)



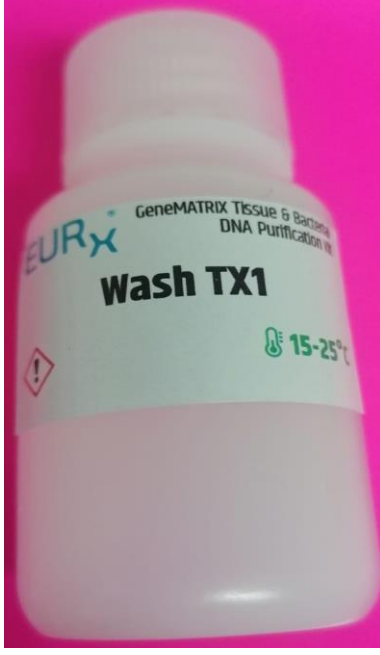
Şekil 2.5. RNase A



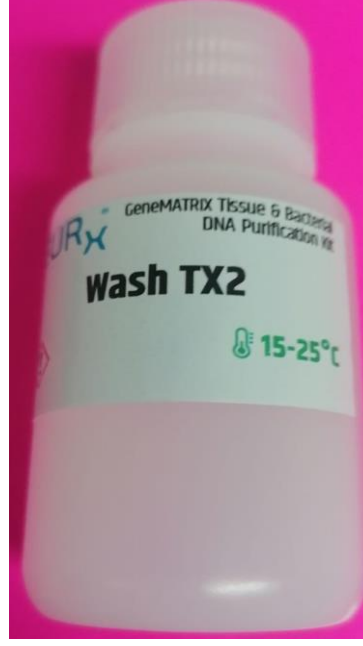
Şekil 2.6. Proteinase K
buffer



Şekil 2.7. Sol T



Şekil 2.8. Wash TX1



Şekil 2.9. Wash TX2

2.1.6.3. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) Analizinde Kullanılan Ayıraçlar

2.1.6.3.1. 10x PZR Buffer (MBI Fermentas)

750 mM Tris-HCl (pH 8,8; 25°C), 200 mM (NH₄)₂SO₄, % 0,1 Tween 20, Her PZR numunesi için 5 µl kullanıldı.

2.1.6.3.2. MgCl₂ (MBI Fermentas)

MgCl₂ (25 mM), her PZR numunesi için 5 µl miktarında kullanıldı.

2.1.6.3.3. dNTP Set (100mM; dATP, dCTP, dGTP, dTTP; MBI Fermentas)

Her deoksinükleotitten eşit oranda alındı ve steril distile su ile 1/20 oranında sulandırıldı. Her PZR numunesi için 4 µl kullanıldı.

2.1.6.3.4. Taq DNA Polymerase Enzimi (500 U; MBI Fermentas)

Her PZR numunesi için 1,25 U (0,25 µl) kullanıldı.

2.1.6.3.5. Primerler

Çalışmada kullanılan tüm primerler Integrated DNA Technologies (IDT) firmasından temin edildi (Çizelge 2.1). Primerler her PZR numunesi için ortalama 25–50 pmol olacak şekilde sulandırıldı.

Çizelge 2.1. Çalışmada kullanılan primerler

Bakteri türü	Primerler
<i>Yersinia ruckeri</i>	YER8 (5'- GCGAGGAGGAAGGGTTAAGTG-3') YER10 (5' GAAGGCACCAAGGCATCTCTG-3')
<i>Flavobacterium psychrophilum</i>	GYRA-FP1F (5'-GAAACCGGTGCACAGAAGG-3') GYRA-FP1R (5'-CCTGTGGCTCCGTTTATTAA-3')
<i>Vibrio anguillarum</i>	(5'-CAGGCTCGCAGTATTGTGC-3') empAR (5'-CGTCACCAGAATTCGCATC-3') (Spesifik)
<i>Lactococcus garviae</i>	27F: 5'-AGA GTT TGA TCM TGG CTC AG-3' 806R 5'-GGA CTA CHV GGG TWT CTA AT-3' (Evrensel)
<i>Aeromonas sobria</i>	F (5'-TAA AGG GAA ATA ATG ACG GCG-3') R (5'-GGC TGT AGG TAT CGG TTT TCG-3') (Spesifik)

2.1.7. Elektroforez İşleminde Kullanılan Ayıraçlar

2.1.7. 1. 5x Tris-Borik Asit-EDTA (TBE) Elektroforez Tampon Solüsyonu

Tris 54,4 g,

Borik Asit 27,2 g,

EDTA 4,6 g,

Yukarıdaki maddeler tartılıp distile su ile 1 litre'ye tamamlandı ve pH 8,3'e ayarlandı. Elektroforez solüsyonu olarak 1/5 oranında sulandırılarak kullanıldı.

2.1.7.2. Agarose LE, (Promega, Madison)

PZR ürünlerinin gözlenmesi için hazırlanan agaroz jeli 1x TBE ile % 1,5 oranında hazırlandı.

2.1.7.3. 100 bp DNA Ladder (50µg/100µl; MBI Fermentas)

DNA Ladder 1/6 oranında sulandırıldı ve agaroz jel kuyucuğuna 5 µl yüklendi.

2.1.7.4. 6x Loading Dye (Yükleme Boyası) Solüsyonu (1 ml; MBI Fermentas)

Yükleme boyası 1/5 oranında sulandırıldı ve her 20 µl PZR ürünü için 5 µl kullanıldı.

2.1.7.5. Ethidium Bromide (10 mg/ml; AppliChem GmbH, Darmstadt)

Ethidium bromide solüsyonundan 0,5 ml alınarak distile su ile 15 ml'ye tamamlandı. Agaroze jelin boyanması için 300 ml distile suya 600 µl ethidium bromide katılarak kullanıldı.

2.1.8. Referans Kültür

İşletmelerden izole edilen *Flavobacterium psychrophilum* şüpheli izolatların fenotipik özelliklerinin belirlenmesi; Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) tekniğinin herhangi bir aşamasında meydana gelebilecek muhtemel bir kontaminasyonu tespit etmek ve uygun DNA ekstraksiyon amacıyla *Flavobacterium psychrophilum* NCIMB 1947^T referans suşu İspanya'da bulunan Centro de Biotecnología Animal laboratuvarından, *Escherichia coli* ise Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim dalından temin edildi.

2.1.9. Kullanılan Diğer Malzemeler

Yavru üretimi yapan 3 farklı işletmede besin keseli yavru ve yavruların kuluçka dolabında, kuluçka teknesinde ve havuzlardan alınması için 10–40 cm yarıçaplı kepçeler; yavruların taşınmasında kullanılan 10–20 litre'lik plastik poşetlerden yararlanıldı. Besin keseli yavru ve 5 g'dan küçük yavruların ezilmesi için kullanılan steril örnek poşeti ve Stomacher homojenizatörden (Bagmixer) (Şekil 2.10) faydalanıldı.



Şekil 2.10. Stomacher homojenizatör

Otopsi işleminde kullanılan malzemeler; eldiven, büyük ve küçük düz diseksiyon makasları, bistüri, pensler, büyüteç oluşmaktadır.

Laboratuvarda; spor, bek alevi, öze değişik ebatlarda petri kutuları, pipet, beher glass, balon, mezür, lam ve lamel, piset, spin kolon tüpü (Şekil 2.11), zirkonyum boncukları, gibi cam metal ve plastik malzemelerden yararlanıldı. PZR siklusları için gerekli sıcaklık ve zamanın programlanabildiği ısıtma bloklarına sahip DNA Thermocycler (termal çevirici-PZR- cihazı) (Thermo scientific) (Şekil 2.12), agaroz jel hazırlamada kullanılan mikrodalga fırın (Arçelik MD574) (Şekil 2.13) elektroforez ve güç kaynağı (Thermo scientific) (Şekil 2.14), ultraviyole transillüminatör (Thermo scientific) (Şekil 2.15), dijital bakteriyolojik su banyosu (NÜVE ST30) (Şekil 2.16), -26 derin dondurucu (Siemens GS33VW30N) (Şekil 2.17), Soğutmalı etüv (Lovibond) (Şekil 2.18), Otoklav (Nüve OTO12) (Şekil 2.19), Laminer flow kabin (Nüve LN120) (Şekil 2.20), Ultralow temperature-86 freezer (BXC-86) (Şekil 2.21), soğutmalı santrifüj (Elektromag M 4808 P) (Şekil 2.22), Otomatik buz makinası (LAB312) (Şekil 2.23), Spektrofotometre (RAY LER GH UV-1601) (Şekil 2.24), trinoküler biyolojik laboratuvar araştırma mikroskobu (9 mp kamera +yazılım) (SOIF) (Şekil 2.25), Eppendorf Santrifüj (Allsheng Mini- 15K) (Şekil 2.26), Binoküler Mikroskop (NİKON E100), Stereo Mikroskop (Olympus SZ51), Öğrenci mikroskobu (XDS-1B), Buzdolabı (Vestel) Kuru Hava Sterilizatörü (Binder FD 115), Hassa terazi (Shinko Denshi HJ-1200CE), Distile su cihazı (Nüve-NS 108), Vortex cihazı (Dragon LAB MX F), Isıtıcıli Manyetik Karıştırıcı (SCI FİNETECH), Mcfarland Densitometre (DEN 1 MOD BS101040), Bakteri koloni sayım makinası (JK-CC 90407) Elektrikli pipet (JOANLAB), Masa Tipi pH Metre (WTW 3210 SET) ve Otomatik mikropipet seti (Thermo Scientific) kulanıldı.



Şekil 2.11. Spin kolon tüpü



Şekil 2.12. Thermocycler (PZR cihazı)



Şekil 2.13. Mikrodalga fırın



Şekil 2.14. Elektroferez ve güç kaynağı



Şekil 2.15. Ultraviyole transillüminatör



Şekil 2.16. Dijital bakteriyolojik su banyosu



Şekil 2.17. -26 derin dondurucu



Şekil 2.18. Soğutmalı etüv



Şekil 2.19. Otoklav



Şekil 2.20. Laminer flow kabin



Şekil 2.21. Ultralow temperature-86 freezer



Şekil 2.22. Soğutmalı santrifüj



Şekil 2.23. Otomatik buz makinası



Şekil 2.24. Spektrofotometre



Şekil 2.25. Trinoküler biyolojik laboratuvar araştırma mikroskobu



Şekil 2.26. Eppendorf Santrifüj

2.2. Metot

2.2.1. Balıkların toplanması ve taşınması

Diyarbakır ilindeki işletmelerinde balıkların hastalıklar yönünden canlı muayeneleri yapıldı. İşletme sahibinden gerekli hastalık bilgileri (anamnez) alındı. Hastalık belirtisi olan balıklar örnekleme için seçildi ve balıklar havuzlardan kepçe yardımıyla alındı. İşletmelerden alınan hastalık şüphesi olan balıklarda otolizin gerçekleştirilmesi amacıyla örnekler buz ile temas etmeden buz kalıplarında laboratuvara taşındı.

2.2.2. Balıklarda otopsi

Hastalık şüphesiyle laboratuvara getirilen balıklar dış muayeneden geçirildi. Balıkların vücut yüzeyi % 70'lik etil alkolle dezenfekte edildi. Laboratuvar ortamında steril kabinde bünzen bek alevi önünde steril makas, pens, bistüri kullanılarak otopsi tekniğine (Frerichs ve Millar, 1993; Çolak, 1982; Timur ve Timur, 2003; Arda ve ark., 2005) göre yapıldı.

2.2.3. Mikrobiyal izolasyon

Alabalık işletmelerinden *Flavobacterium psychrophilum*'un izolasyonu için; alabalıkta direkt alınan 5 gramdan küçük yavru örneklerinden elde edilen homojenizatlar 1/10'luk fizyolojik tuzlu suyla muamele edilerek dilüsyonlar hazırlandı. Bu dilüsyonlardan 0,5 ml alınıp CA, TYES-A, MAOA, EAO+FBS+A, TYES + Tobramycin agar üzerine aktarılıp steril bir öze yardımıyla yayıldı. Aynı dilüsyonlardan 0,5 ml alınarak CB, TYES-B, MAOB, EAO+FBS+B, TYES + TOBRAMYCİN+ BROTH 'a ilave edildi.

Balık otopsisinde; karaciğer, dalak, böbrek ve bağırsaklarından öze ile örnek alınarak Tryptic Soy Agar (TSA), Nutrient Broth (NB), Brain-Heart Infusion Agar (BHIA), KF Streptococcus Agar, Yersinia Selective Agar, Tryptone Yeast Extract Salt Agar (TYES-A) ve kanlı agara ekimler yapıldı. Besiyerleri 15-24°C'de 48 saat inkübasyona bırakıldı.

2.2.4. Biyokimyasal identifikasyon

Tryptic Soy Agar (TSA), Nutrient Broth (NB), Brain-Heart Infusion Agar (BHIA), KF Streptococcus Agar, Yersinia Selective Agar, Tryptone Yeast Extract Salt Agar (TYES-A) ve kanlı agara yapılan ekimlerde üremesi tamamlanan kolonilerden subkültür elde etmek için Triptik Soy Agar (TSA) ve Kalp İnfüzyonu Agar (BHIA)'a öze yardımıyla tekrar ekim yapıldı. Ekimi yapılan besiyerleri 15-24°C'de 24 saat inkübe edildi.

2.2.4.1. Koloni morfolojisi

Triptik Soy Agar (TSA) ve Kalp İnfüzyonu Agar (BHIA)'da 24°C'de 24 saat inkübasyona bırakılan besiyerlerinde gelişen bakterilerin, petrillerdeki kolonilerinin makroskopik görünüşlerine renklerine ve şekline bakılarak değerlendirme yapıldı.

2.2.4.2. Gram boyama

Elde edilen izolatlar Triptik Soy Agar (TSA) ve Kalp İnfüzyonu Agar (BHIA) ortamında 24°C'de üretildi. Bir öze yardımıyla tek düşmüş koloni lam üzerine alındı ve steril su ile lam yüzeyine iyice yayıldı. Lam yüzeyine iyice yayılan koloni, steril kabın içerisinde kuruyana kadar bekletildi. Daha sonra lam alevden 3 defa geçirildi. Bakterilerin fikse edildiği lam üzerine kristal viyole çözeltisi damlatılarak 1 dakika bekletildi ve su ile yıkanarak kristal viyole uzaklaştırıldı. Kristal viyole ile boyanmış lama, lugol çözeltisi damlatılarak 1-2 dakika bekletildi ve sonra distile su ile lugol çözeltisi yıkandı. Lugal solüsyonu uzaklaştırılan lam üzerine %96'luk etil alkol damlatılarak 15-30 saniye bekletildi ve daha sonra distile su ile yıkandı. Karşıt boya olarak safranin damlatıldı ve 40 - 50 saniye beklendi. Lam distile su ile yıkanarak kendi halinde kurumaya bırakıldı. Lam üzerine immersiyon yağı damlatılarak ve 100'lük objektifle OLYMPUS (BX51) mikroskopta incelendi. Boyama sonunda mor renkli bakteriler Gram pozitif, pembe-kırmızı renkli bakteriler ise Gram negatif olarak değerlendirildi (Lelliott ve Stead, 1987).

2.2.4.3. Potasyum hidroksit (KOH) ile gram reaksiyon testi

Lam üzerine bir damla %3'lük potasyum hidroksit solüsyonu damlatılarak hazırlanan besiyerlerinde üremiş taze bakteri izolatlarından öze yardımıyla lam üzerine alınmış ve dairesel hareketlerle yayılarak 15-20 saniye beklenmiştir. Daha sonra öze yukarı doğru yavaşça kaldırıldı ve meydana gelecek yapışkanimsi sünme durumu gözlemlendi. Eğer sünme 0,5 cm den fazla oluşursa gram negatif bakteri olarak değerlendirildi (Sands, 1990).

2.2.4.4. Oksidaz testi

Steril kurutma kâğıdı şeritler halinde kesilip üzerine oksidaz ayırıcı damlatılmıştır. Daha sonra steril bir öze yardımıyla besiyerlerinden alınan şüpheli koloniler bu şerit üzerine sürülmüş ve bir dakika içinde mor renk görülmesi halinde oksidaz pozitif olarak değerlendirilmiştir (Cowan, 1974; Bilgehan, 1995).

2.2.4.5. Katalaz testi

Besi yerlerinde üreyen şüpheli kolonilerden steril bir öze yardımıyla öze ucuna alınarak, lam üzerine konulmuş ve distile su ile iyice yayılmıştır. Sonra %30'luk hidrojen peroksit birkaç damla damlatılmış ve karıştırılmıştır. Oksijen açığa çıkmasıyla hava kabarcıkları oluşturanlar, katalaz pozitif olarak değerlendirilmiş. Negatif olan bakterilerde ise gaz oluşumu gerçekleşmemiştir (Arda, 2000).

2.2.4.6. Oksidasyon/Fermentasyon (O/F) testleri

Steril iğne uçlu öze yardımıyla, besiyerlerinde üreyen şüpheli kolonilerinden alınarak, 2 tüpte bulunan (Hugh ve Leifson) besiyerine dik bir şekilde ekim yapıldı. Tüplerden birine hiçbirşey konulmazken diğerine 1cm kalınlıkta sıvı steril parafin ilave edildi. Tüpler 24° C'de 24 saat ağzı hava almayacak şekilde inkübasyona bırakıldı. Parafin ilave edilmeyen tüpte sarı renk oluşması ve parafinli tüpte renk değişimi olmaması oksidasyon pozitif, her iki tüpte de sarı renk oluşması fermentasyon pozitif olarak değerlendirildi (Arda, 2000).

2.2.4.7. İndol testi

Triptofan bulunan bir besiyerinde geliştirilen bakterilerin, triptofanı hidrolize uğratarak indol oluşturup oluşturmadıklarını belirlemek amacıyla, hazırlanan besiyerlerinde bulunan şüpheli kolonilerin içinden iğne uçlu bir öze kullanılarak bir miktar koloni alındı ve Sülfat-İndole-Motility (SIM) besiyerine ekim yapıldı. Besiyeri 24°C'de 4 gün süreyle inkübe edildi. Bu kültür üzerine 0.4 ml'lik kovacs ayırıcı ilave edildi. Üç dakika içinde oluşan halkalara göre yorumlama yapıldı. Üzerinde kırmızı halka oluşmuşsa pozitif, sarı-kahverengi halka oluşmuşsa negatif indol olarak değerlendirildi.

2.2.4.8. Hareket testi

Flagellaya sahip olan hareketli bakterilerde hareket testinde hareketin gösterilmesi amaçlanmaktadır. İğne uçlu bir öze yardımıyla fazla miktarda koloni besiyerlerinde üreyen kolonilerin içinden alındı. 20°C'de 4 gün süreyle Sülfat-İndole-Motility (SIM) besiyerine ekim yapıp inkübasyona bırakıldı. Hareket pozitif olması, besiyerinde batırma hattı boyunca homojen bir bulanıklık meydana gelmesiyle, hareket negatif olması ise sınırlı bir üreme oluşmasıyla değerlendirildi.

2.2.4.9. Metil red (MR) - Voges proskauer (VP) testleri

TYES-A ve EAO+FBS+A besiyerinde üreyen şüpheli *Flavobacterium psychrophilum* kolonilerinden steril bir öze yardımıyla yeterli miktarda alınarak tüplerdeki Clark – Lups broth’a ekim yapıldı ve 15 °C’de 5–7 gün süreyle inkubasyona bırakıldı. Üretilen kültürün, yarısı alınarak üzerine 4–5 damla metil red solüsyonundan damlatıldı. Kırmızı renk oluşumu pozitif metil kırmızısı testi kabul edildi. Kültürün kalan yarısına ise 3 ml % 5’lik alfa-naftol solüsyonundan ilave edilerek karıştırıldı. Bunun üzerine % 40’lık KOH çözeltisinden 1 ml ilave edilerek 2–5 dakika içerisinde pembe renk oluşumu Voges Proskauer (VP) testi pozitif olarak değerlendirildi (Bilgehan, 1995; Arda, 2000).

2.2.4.10. Nitrat redüksiyon testi

TYES-A ve EAO+FBS+A besiyerinde üreyen şüpheli *Flavobacterium psychrophilum* kolonilerinden steril bir öze yardımıyla bol miktarda alınıp nitrat broth’a ekilerek 15 °C’de 5–7 gün süreyle inkübe edildi. Daha sonra bu kültüre sırasıyla nitrat ayıraçlarından Nitrat A ve Nitrat B damlatıldı. Besiyeri renginin kırmızı renk alması pozitif reaksiyon olarak değerlendirildi (Bilgehan, 1995).

2.2.4.11. Fleksirubin pigment testi

TYES-A ve EAO+FBS+A besiyerinde üreyen şüpheli *Flavobacterium psychrophilum* kolonileri, steril bir öze yardımıyla % 20’lik potasyum hidroksit (KOH) çözeltisiyle emdirilmiş kurutma kağıtlarına temas ettirilerek renk oluşumuna bakıldı. Turuncu-kahverengi renk oluşumu, fleksirubin pigment üretiminin pozitif olduğunu gösterdi (Lorenzen, 1994; Lorenzen ve ark., 1997).

2.2.4.12. Kongo kırmızısı (Galaktozamin Glikan) testi

TYES-A ve EAO+FBS+A besiyerinde üreyen şüpheli *Flavobacterium psychrophilum* kolonilerden steril bir öze yardımıyla yeterli miktarda alınarak, içerisinde % 0,003’lük kongo kırmızısı bulunan TYES-A besiyerine ekim yapıldı. Üreyen kolonilerin kırmızı renk alması, pozitif reaksiyon olarak değerlendirildi (Lorenzen, 1994, Lorenzen ve ark., 1997).

2.2.5. Biolog sistemi ile identifikasyon

Biolog Sistemi (The Biolog GEN III MicroPlate), bir mikroorganizmayı 94 fenotipik test yönünden analiz etmektedir (Çizelge 2.2.). Bunlar 71 farklı karbon kaynağının kullanımı ve 23 kimyasala karşı hassasiyet (engelleyici kimyasallara dayanıklılık) testinden

oluşmaktadır. Bu çalışmada kullanılan The Biolog GEN III MicroPlate plakaları (BIOLOG 21124 Cabot Blvd. Hayward, CA 94545), Gram-negatif ve Gram-pozitif bakterilerin tür seviyesinde tanılanması için 94 biyokimyasal testin kullanıldığı, standart bir mikrometod sistemidir (Bochner, 1989a; Bochner, 1989b).

Metabolik profillerin belirlenip tanılanmada kullanma metoduna göre; tanısı yapılacak izolatlar Triptik Soy Agar (TSA)' a 24°C'de 48 saat inkübe edildi. Biolog IF-A tampon çözeltisinde süspansiyon hazırlandı. Standart turbidity tüpünde, bakteri konsantrasyonu turbidimetre ile % 92-98 olarak ayarlandı. Yoğunlukları ayarlandı ve bakteriyel süspansiyonları mikrolakalardaki her bir çukura 100 l konuldu ve 26 C'de 4-24 saat inkübasyona bırakıldı (Anonim, 2008). Sonrasında mikrolaka okuyucuda okutulmuş sistemin veri bankası ile karşılaştırıldı ve bakteri teşhisi gerçekleştirildi.

Çizelge 2.2. Mikroplakalarda kodlanan 94 adet karbon kaynağı ve kimyasal listesi (Anonim, 2008)

A1 Negative Control	A2 Dextrin	A3 D- Maltose	A4 DTrehalo se	A5 DCellobio se	A6 Gentiobiose	A7 Sucrose	A8 D-Turanose	A9 Stachyos e	A10 Positive Control	A11 pH 6	A12 pH 5
B1 D- Raffinose	B2 α -D- Lactose	B3 DMelibio se	B4 β -Methyl- DGlucosi de	B5 D-Salicin	B6 N-Acetyl- DGlucosami ne	B7 N-Acetyl- β - DMannosam ine	B8 N-Acetyl- DGalactosam ine	B9 N-Acetyl Neuramin ic acid.	B10 1% NaCl	B11 4% NaCl	B12 8% NaCl
C1 α - DGlucose	C2 D- Mannose	C3 D- Fructose	C4 DGalacto se	C5 3-Methyl Glucose	C6 D-Fucose	C7 L-Fucose	C8 L-Rhamnose	C9 Inosine	C10 1% Sodium Lactate	C11 Fusidic Acid	C12 D-Serine
D1 D-Sorbitol	D2 D- Mannitol	D3 D- Arabitol	D4 Myo Inositol	D5 Glycerol	D6 D-Glucose- 6-PO4	D7 D-Fructose- 6-PO4	D8 D-Aspartic Acid	D9 D-Serine	D10 Troleandomy cin	D11 Rifamyci n SV	D12 Minocycli ne
E1 Gelatin	E2 Glycyl-L- Proline	E3 L- Alanine	E4 L- Arginine	E5 L- Aspartic Acid	E6 L-Glutamic Acid	E7 L-Histidine	E8 L- Pyroglutamic Acid	E9 L-Serine	E10 Lincomycin	E11 Guanidin e HCl	E12 Niaproof 4
F1 Pectin	F2 D- Galacturo nic Acid	F3 L- Galactoni c Acid Lactone	F4 D- Gluconic Acid	F5 D Glucuroni c Acid	F6 Glucuronami de	F7 Mucic Acid	F8 Quinic Acid	F9 DSacchar ic Acid	F10 Vancomycin	F11 Tetrazoliu m Violet	F12 Tetrazoliu m Blue
G1 p- Hydroxy- Phenylace tic Acid	G2 Methyl Pyruvate	G3 D-Lactic Acid Methyl Ester	G4 L-Lactic Acid	G5 Citric Acid	G6 α -Keto Glutaric Acid	G7 D-Malic Acid	G8 L-Malic Acid	G9 Bromo- Succinic Acid	G10 Nalidixic Acid	G11 Lithium Chloride	G12 Potassium Tellurite
H1 Tween 40	H2 γ -Amino- Butyric Acid	H3 α - Hydroxy- Butyric Acid	H4 β - Hydroxy- D,LButyr ic Acid	H5 α -Keto- Butyric Acid	H6 Acetoacetic Acid	H7 Propionic Acid	H8 Acetic Acid	H9 Formic Acid	H10 Aztreonam	H11 Sodium Butyrate	H12 Sodium Bromate

2.2.6. Moleküler tanılama

2.2.6.1. Kromozomal DNA İzolasyonu

DNA izolasyonunda TSA besiyeri ortamında 24°C’de 48 saatte büyütülmüş bakterilerin kullanımıyla gerçekleştirildi. Kromozomal DNA izolasyonu için *Yersinia ruckeri*, *Flavobacterium psychrophilum*, *Vibrio anguillarum* *Lactococcus garviae* ve *Aeromonas sobria* suşlarından kromozomal DNA kiti kullanıldı.

DNA kiti ile izolasyon için Bakteri kolonisi 24 saat önce ekilmiş besiyerinde alındı. Bu koloni içerisinde 100 µl steril saf su bulunan 1,5 ml ependof tube içerine karıştırıldı ve üzerine 300 µl lyse BG buffer eklendi. Bu süspansiyona 50 µl tampon BL ve 2 µl RNase A eklendi ve vortex yapıldı. Bu karışım 37°C’de 15 dakika inkübe edildi. İnkübasyondan sonra 20 ul Proteinaz K eklendi ve 3 saniye vortekslendikten sonra çalkalamalı su banyosunda 56°C’de 30 dakika inkübe edildi. Su banyosundan alınan örnekler 350 ul tampon Sol T eklendi ve 3 saniye vortex yapıldı ve tekrar çalkalamalı su banyosunda 56°C’de 5 dakika inkübasyona bırakıldı. Bu inkübasyondan sonra örnekler 15 saniye boyunca vortekslendi ve 12 000 x g’de 1 dakika boyunca santrifüj edildi. Santrifüjden sonra bu karışım toplama tüpünün içinden bulunan DNA bağlama spin (arıtma) kolon tüpüne aktarıldı ve 11 000 x g’de 1 dakika boyunca santrifüjlendi. Sıvının tamamı spin (arıtma) kolonundan geçene kadar santrifüjlenme devam etti. Sıvı içeren alttaki tüp boşaltıldı ve boşaltılan tüp tekrar spin kolonun altına yerleştirildi. Spin (arıtma) kolonuna 500 ul Wash TX1 tamponu eklendi ve 11 000 x g’de 1 dakika boyunca santrifüjlendi. Spin (arıtma) kolonun altındaki tüpte toplanan sıvı boşaltıldı ve boşaltılan tüp tekrar spin kolonun altına yerleştirildi. Spin (arıtma) kolonuna 500 ul Wash TX2 tamponu eklendi ve 11 000 x g’de 1 dakika boyunca santrifüjlendi. DNA bağlama spin (arıtma) kolonun altındaki toplanan sıvı tüp atıldı ve yeni eppendorf tüp takıldı. Spin (arıtma) kolonuna 150 µl elüsyon tamponu eklendi ve 2 dakika oda sıcaklığında inkübe edildi. Daha sonra 11 000 x g’de 1 dakika santrifüj edildi. Spin (arıtma) kolonuna atıldı ve alttaki eppendorf tüp -20 °C depolandı.

2.2.6.2. Kit ile kromozomal DNA izolasyonu

DNA izolasyonunda Tryptone Yeast Extract Salt Agar (TYES-A) besiyeri ortamında 24°C’de 48 saatte büyütülmüş bakterilerin kullanımıyla gerçekleştirildi. Kromozomal DNA izolasyonu için *Yersinia ruckeri*, *Flavobacterium psychrophilum*, *Vibrio anguillarum* *Lactococcus garviae* ve *Aeromonas sobria* suşlarından Tissue and Bacterial DNA purification kiti kullanıldı.

Kiti ile DNA izolasyon için Bakteri kolonisi 24 saat önce ekilmiş besiyerinde alındı. Bu koloni içerisinde 100 µl steril saf su bulunan 1,5 ml ependof tube içerine karıştırıldı ve üzerine 300 µl lyse BG buffer eklendi. Bu süspansiyona 50 µl tampon BL ve 2 µl RNase A eklendi ve vortex yapıldı. Bu karışım 37°C'de 15 dakika inkübe edildi. İnkübasyondan sonra 20 ul Proteinaz K eklendi ve 3 saniye vortekslendikten sonra çalkalamalı su banyosunda 56°C'de 30 dakika inkübe edildi. Su banyosundan alınan örnekler 350 ul tampon Sol T eklendi ve 3 saniye vortex yapıldı ve tekrar çalkalamalı su banyosunda 56°C'de 5 dakika inkübasyona bırakıldı. Bu inkübasyondan sonra örnekler 15 saniye boyunca vortekslendi ve 12 000 x g'de 1 dakika boyunca santrifüj edildi. Santrifüjden sonra bu karışım toplama tüpünün içinden bulunan DNA bağlama spin (arıtma) kolon tüpüne aktarıldı ve 11 000 x g'de 1 dakika boyunca santrifüjlendi. Sıvının tamamı spin (arıtma) kolonundan geçene kadar santrifüjlenme devam etti. Sıvı içeren alttaki tüp boşaltıldı ve boşaltılan tüp tekrar spin kolonun altına yerleştirildi. Spin (arıtma) kolonuna 500 ul Wash TX1 tamponu eklendi ve 11 000 x g'de 1 dakika boyunca santrifüjlendi. Spin (arıtma) kolonun altındaki tüpte toplanan sıvı boşaltıldı ve boşaltılan tüp tekrar spin kolonun altına yerleştirildi. Spin (arıtma) kolonuna 500 ul Wash TX2 tamponu eklendi ve 11 000 x g'de 1 dakika boyunca santrifüjlendi. DNA bağlama spin (arıtma) kolonun altındaki toplanan sıvı tüp atıldı ve yeni eppendorf tüp takıldı. Spin (arıtma) kolonuna 150 µl elüsyon tamponu eklendi ve 2 dakika oda sıcaklığında inkübe edildi. Daha sonra 11 000 x g'de 1 dakika santrifüj edildi. Spin (arıtma) kolonuna atıldı ve alttaki eppendorf tüp -20 °C depolandı.

2.2.6.2. DNA'nın çoğaltılması için Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)

Toplam 40 µL hacimde hazırlanan PCR karışımında; 1 µL (20 pikomol) ileri primer, 1 µL (20 pikomol) geri primer, 1 µL dNTP (1 mM), 4 µL buffer (NH₄)₂ SO₄ (10X), 1,6 µL MgCl₂, 1µL DNA polimeraz (5 u/µL) [25 mM Tris-HCl (pH 7,5), 0,1 mM EDTA, 1 mM DTT ve %50 (v/v) gliserol], 1µL kalıp DNA (~400 ng/mL), 29,4 µL dH₂O ile toplam hacim (40 µL) tamamlanarak hazırlandı. PCR işleminde, 94°C DNA'nın denatürasyonu, değişken yapışma, 72°C de uzama sıcaklığı olarak ayarlanmıştır ve PCR 30 döngü olarak yapıldı. Koloni PCR uygulamalarında 1. PCR döngüsünden önce 95°C'de 5 dakikalık ön denatürasyon aşaması eklendi.

2.2.6.3. DNA'nın jel elektroforezi

PCR'de amplifiye edilen DNA ürünlerinden, 7 µl alınıp, 3 µl blue orange yükleme solüsyonu ile karıştırılarak daha önce hazırlanan % 1,5'luk agaroz jel üzerindeki

kuyucuklara yerleştirildi. Son kuyucuğa da DNA markeri bırakıldı. Jel, Tris-borik asit EDTA (TBE) buffer'ı kullanılarak % 1,5 'luk agaroz jelde 80 V 'da 1,5 saat elektroforez işlemine tabi tutulduktan sonra ethidium bromide (10 mg/ml) ile 30 dakika süreyle boyandı. Karanlık odada ultraviyole transillüminatörde *Yersinia ruckeri*, *Flavobacterium psychrophilum*, *Vibrio anguillarum* *Lactococcus garviae* ve *Aeromonas sobria*'ya özgü DNA bant uzunluklarına (bp-base pair) bakılarak polaroid kamera sistemi ile fotoğrafı çekildi.

2.2.6.4. Kapiller elektroforez DNA sekanslama

Çalışmada DNA gen dizi analizi için AB3130XL16 kapiller cihazı (Hitachi, Japonya) kullanıldı. Dizi analizinde sekans işlemi bir dizi basamaklardan oluşmaktadır. Jel elektroforezinde uygun bant gösteren örnekler sekans işlemi için seçilerek Exso-SAP pürifikasyonu aşağıda Çizelge 2.3. ve 2.4.'de belirtildiği şekliyle reaksiyon karışımı ve PCR protokolü uygulandı (Çizelge 2.5).

Çizelge 2.3. ExoSAP Pürifikasyonu için reaksiyon karışımı

Reaksiyon Karışımı	Miktar (µl)
PCR ürünü	2,5
Exosap	1
Toplam miktar	3,5

Çizelge 2.4. ExoSAP PCR Protokolü

Basamak I	Basamak II	Basamak III
37°C	80°C	4°C
30 dk	15 dk	∞

ExoSAP pürifikasyonundan sonra sekans PCR metodu uygulanarak nükleotidlerin BigDye 3.1. ile floresan işaretlemesi yapıldı.

Çizelge 2.5. Cycle Sequencing PCR reaksiyon karışımı

Reaksiyon Karışımı Miktar (µl)	Miktar (µl)
PCR ürünü	3,5
Big Dye	2
Buffer(5x)	2
Steril distile su	0,5
Primer (F veya R,2 ng/ul)	2
Total Hacim	10

Yukarıdaki malzemeler uygun eppendorf tüpünde homojen şekilde karıştırılarak karışım çözeltisi hazırlandı. Ardından PCR protokolünü gerçekleştirmek için eppendorf marka PCR cihazında Çizelge 2.6.'da belirtilen döngülere bırakıldı.

Çizelge 2.6. Cycle Sequencing PCR Protokolü

Basamak I		Basamak II		Basamak III
(1 defa)		(25 defa)		(1 defa)
96.0 °C	96.0 °C	50.0 °C	60.0 °C	4.0 °C
1:00dk	0:10dk	0:05dk	4:00dk	∞

Sekans öncesi tüm örnekler Sephadex pürifikasyonu yapılarak AB3130xl Genetic Analyzer cihazına yüklendi. Sephadex pürifikasyonu için aşağıdaki yöntem izlendi. 1 gr sephadex 14 ml deiyonize ultra saf su içinde çözülerek 700 µl alıcı sütun içerisine aktarıldı. 4600 rpm 2.5 dk santrifüj edilerek sephadex karışımının sıvı kısmı uzaklaştırıldı. Elde edilen kolona Sekans PCR ürünleri eklenerek 4600 rpm 2.5 dk santrifüj edildi. Santrifüj sonrası altta kalan kısım sekans cihazına yüklendi.

2.2.7. Bakteri suşlarının stoklanması

Bakteriler -20 °C de %15'lik gliserol içerisine alınarak kısa süreli kullanımlar için saklandı. Uzun süreli saklama ise, besiyerinde 16 saat büyütülen bakterilerden 200 µl alınarak 12000 rpm (14515 g)'de 3 dakika çöktürülerek peletlerin %30 gliserol içeren LB veya GM17 besi yerinde çözündürüp, şok soğutma ile -80°C'de saklanması şeklinde oldu.

2.2.8. Verilerin analizi

Elde edilen sekans sonuçları Clone Manager 9'da düzenlenip sıraya konulduktan sonra elektronik veri tabanında NCBI GenBank'a giriş yapılarak BLAST üzerinden diğer *Yersinia ruckeri*, *Flavobacterium psychrophilum*, *Vibrio anguillarum* *Lactococcus garviae*, ve *Aeromonas sobria* türlerinin sekansları ile karşılaştırılarak tür teşhisi doğrulandı.

3. BULGULAR

3.1. Çalışma alanı

Diyarbakır ilinde örnek alınan alabalık yetiştiriciliği yapan işletmelerden 12'si besi işletmesi olarak üretim yaptığı tespit edildi. İşletmelerin hepsi besi işletmesi olması, yavru balık ihtiyacı Türkiye'nin farklı illerinde temin edilmektedir.

3.2. Balık

Bakteriyolojik muayenede, 360 adet Gökkuşluğu alabalığından (*Oncorhynchus mykiss*) toplam 2.160 adet örnek besiyerlerine ekimler yapıldı (Çizelge 3.1).

Çizelge 3.1. Örneklerin alındığı işletme, balık türü, alındığı ili, balık ve örnek sayısı

İşletme No	Balık Türü	Balık Sayısı	Örnek Sayısı
1.	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	30	180
2.	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	30	180
3.	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	30	180
4.	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	30	180
5.	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	30	180
6.	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	30	180
7.	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	30	180
8.	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	30	180
9.	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	30	180
10.	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	30	180
11.	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	30	180
12.	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	30	180
TOPLAM		360	2.160

3.3. Morfolojik bulgular

Diyarbakır ilinde balıkçılık işletmelerinden alınan anamnezde; özellikle 0,5-300 gr ağırlığındaki balıklar durgun, iştahsız veya yem almadığı belirlendi. Balıkların bulunduğu suyun 12-18 °C 7.01 – 7.9 pH ve 7.5 – 9 mg L-1 O₂ düzeyinde olduğu tespit edildi.

3.3.1. Kızıl ağız hastalığı

Diyarbakır ilinde faaliyet gösteren gökkuşağı alabalık tesislerinden alınan numuneler genellikle hastalık şüphesi taşıyan numunelerdir. Havaaların ısınması ve su sıcaklarının artması ile birlikte tesislerde hastalık belirtisi gösteren numuneler arandı. Bazı tesislerde de belirti olmadığı halde numune alımı yapıldı. Çiftliklerde; rengi koyulaşan, ağzın iç ve dış kısımlarında, operkulumlarda, vücudun dış yüzeyinde ve yüzgeçlerin tabanında kanamalar, karında şişkinlik ve sarı sıvı toplanması, ekzoftalmus görülen ve havuz kenarlarında, su yüzeyinde uyuşuk ya da hareketsiz duran balıklar gözle ve elle muayene edilerek numune olarak seçilmiştir. Alınan numuneler 5-200 arası balıklardır. Hasta balıklarda klinik belirtileri arasında deri renginde koyulaşma (Şekil 3.1) ve ekzoftalmus (Şekil 3.2), ağzın iç ve dış kısımlarında kızarıklık (Şekil 3.3), pelvik yüzgeç tabanında kanamalar (Şekil 3.4) İç organda meydana gelen peteşiyal kanamalar (Şekil 3.5) görüldür.



Şekil 3.1. *Yersinia ruckeri* enfeksiyonlu balıkta deri renginde koyulaşma



Şekil 3.2. *Yersinia ruckeri* enfeksiyonlu balıkta gözde tek veya çift ekzoftalmus



Şekil 3.3. *Yersinia ruckeri* enfeksiyonlu balıkta ağzın iç ve dış kısımlarında kızarıklık



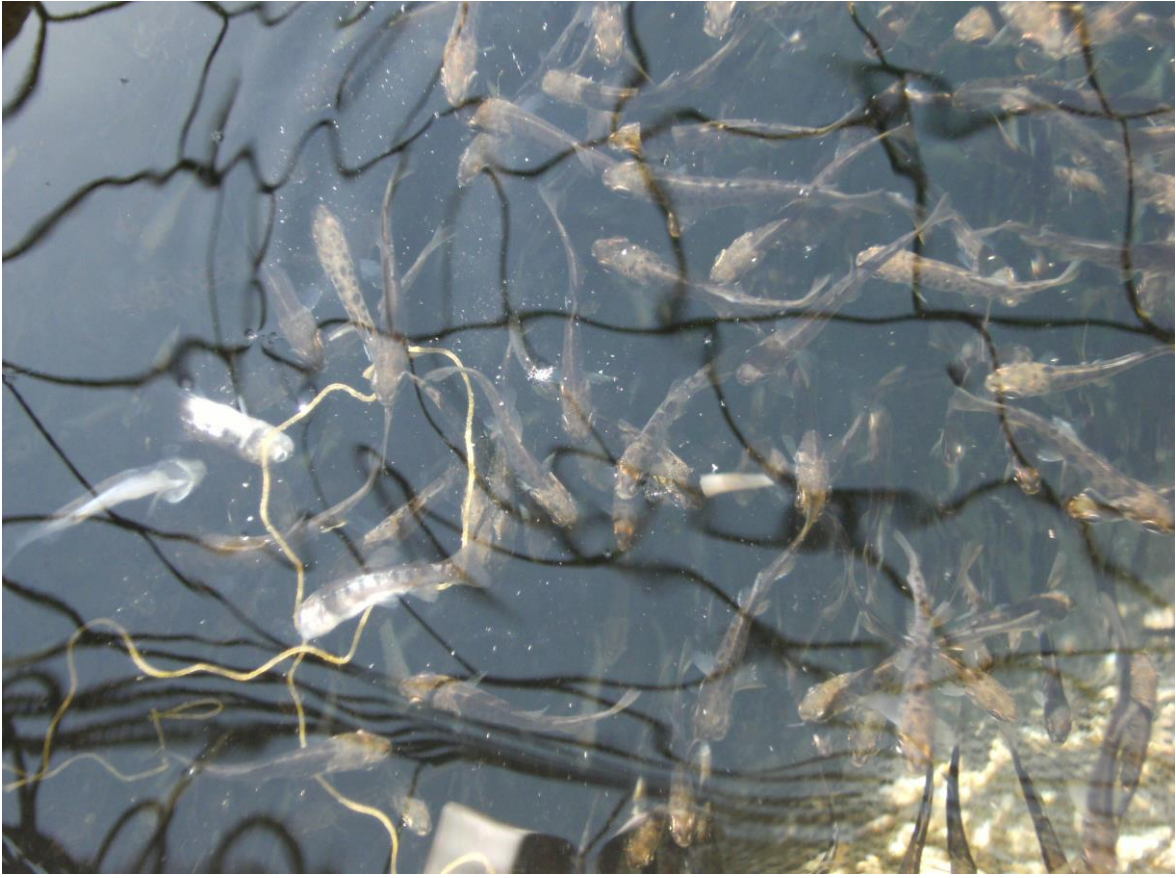
Şekil 3.4. *Yersinia ruckeri* enfeksiyonlu pektoral yüzgeç tabanında kızarma ve kanama



Şekil 3.5. *Yersinia ruckeri* enfeksiyonlu balıkta iç organlarda peteşiyel hemorajiler

3.3.2. Bakteriyel Soğuk Su Hastalığı

Diyarbakır ilindeki balıkçılık işletmelerinden alınan anamnezde; özellikle 5 gramdan küçük yavru ve 5 gramdan büyük yavru balıklar durgun, iştahsız veya yem almadığı belirlendi. Ayrıca yem almaya başladıktan 20–50 gün sonra büyük kayıplara yol açan Bakteriyel soğuk su hastalığı semptomlarına benzer bulgular tespit edildi. Yapılan incelemelerde işletmede günde 100–200 yavru alabalığın öldüğü (Şekil 3.6) saptandı. Yaklaşık 2 hafta kadar süren bu salgından dolayı yavru balıklarda % 20’lik bir kayıp meydana geldi.



Şekil 3.6. İşletmede görülen toplu alabalık ölümleri

Yavruların bulundukları havuzlarda yapılan incelemelerde hastalıklı gökkuşağı alabalıklarının iştahsız, durgun ve su yüzeyinde yüzdükleri, ayrıca bazı balıkların spiral yüzme hareketleri yaptıkları ve denge problemi yaşadıkları görüldü. Öte yandan bazı balıklarda asitese bağlı olarak karın boşluğunda şişkinlik (Şekil 3.7), ekzoftalmus (Şekil 3.8), derinin renginde kararma (Şekil 3.9) ve birkaç balığın sırt ve kaval yüzgecinde beyaz renkte lezyonların şekillendiği (Şekil 3.10) ve hastalığın ilerlemiş olduğu balıklarda kaval yüzgecin tamamen tahrip olduğu ve radiusların (Şekil 3.11) ortaya çıktığı gözlemlendi.



Şekil 3.7. Hasta alabalıkda görülen asites



Şekil 3.8. Hasta alabalıkda görülen ekzoftalmus



Şekil 3.9. Hastalıklı alabalıklarda derinin renginden kararma



Şekil 3.10. Hastalıklı alabalığın sırt ve kaval yüzgecinde oluşan beyaz renkteki lezyonlar

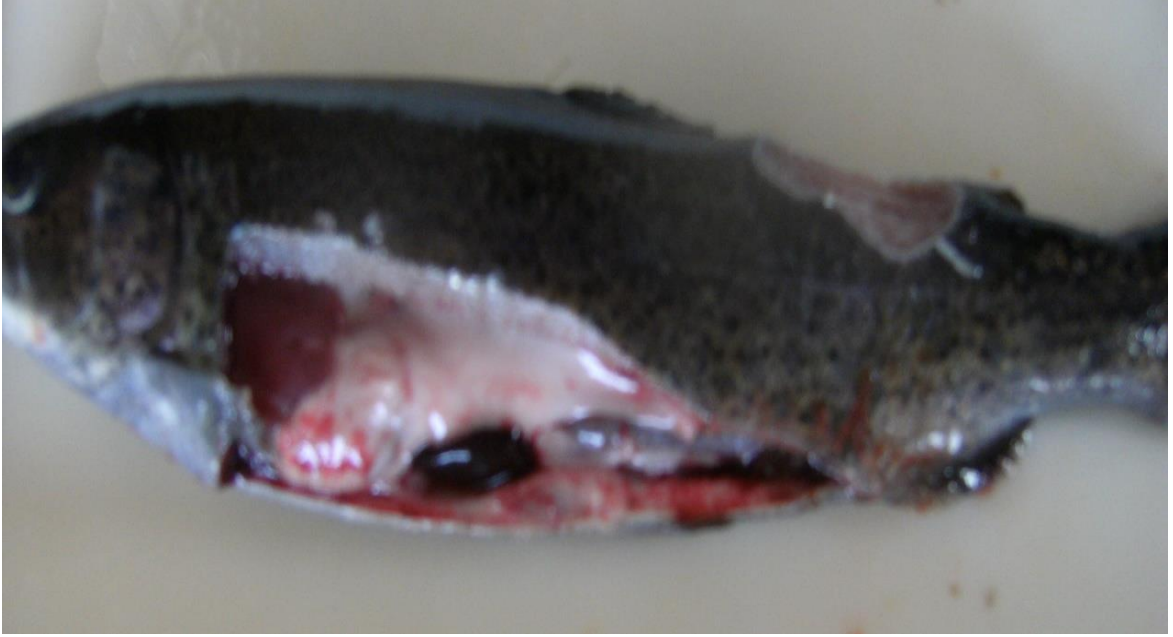


Şekil 3.11. Hastalıklı alabalıkta kavdal yüzgecin tahrip olması ve radiusların ortaya çıkması

Enfekte gökkuşağı alabalık yavrularının abdominal ensizyonla iç organları açığa çıkarıldı (Şekil 3.12). Karaciğer ile böbreğin solgun olduğu ve dalağın büyüdüğü tespit edildi (Şekil 3.13). Hastalıklı yavru alabalıkların karın boşluklarında sarı renkli bir sıvı birikiminin ve bağırsaklarda iltihapların olduğu gözlemlendi.



Şekil 3.12. Hastalıklı yavru alabalığın iç organlarının çıkarılması



Şekil 3.13. Hastalıklı yavru alabalığın karaciğer ile böbreğin solgun olduğu ve dalağın büyüdüğü tespit edildi

3.3.3. Vibriozis

Diyarbakır ilinde faaliyet gösteren 12 ayrı işletmeden alınan hastalık şüpheli numuneler ve bölgedeki balıkçılık işletmelerinden alınan anamnez; balıkların yeme karşı isteksiz olduğu, hareketlerinde azalma ve balıkların ağlara ve havuz kenarlarına sürtünmeleri görüldüğü yönündeydi. İşletmelerdeki balıklar klinik muayeneden geçirildi. Genel olarak hasta balıklarda deri renginde koyulaşmalar (Şekil 3.14) görüldü.



Şekil 3.14. *Vibrio anguillarum* enfeksiyonlu balıkta deri renginde koyulaşmalar

Vücut yüzeyi gözle ve büyüteçle dikkatli bir şekilde incelendiğinde karında su toplanması (ascites) (Şekil 3.15) görüldür.



Şekil 3.15. *Vibrio anguillarum* enfeksiyonlu balıkta ascites

Kafes yüzeyinde yüzen hasta balıklar gözlemlendiğinde dorsal yüzgeçte hemoraji (Şekil 3.16) göze çarpmaktadır.



Şekil 3.16. *Vibrio anguillarum* enfeksiyonlu balıkta dorsal yüzgeçte hemoraji

Hasta balığın abdominal bölgesi incelendiğinde ventral yüzgeç tabanında hemoraji (Şekil 3.17) görüldü.



Şekil 3.17. *Vibrio anguillarum* enfeksiyonlu balıkta ventral yüzgeçte hemoraji

Balıkların pektoral yüzgeçleri incelendiğinde yüzgeç tabanı ve etrafında yoğun bir şekilde hemorajiler (Şekil 3.18) görüldü.



Şekil 3.18. *Vibrio anguillarum* enfeksiyonlu balıkta pektoral yüzgeçte hemoraji

Solungaç kapakları muayene edildiğinde özellikle kapakların uç ve alta tarafında yoğun hemoraji (Şekil 3.19) görüldü.



Şekil 3.19. *Vibrio anguillarum* enfeksiyonlu balıkta solungaç kapaklarında hemoraji

Büyüteçle solungaç kapaklarının iç kısımları incelendiğinde yoğun hemoraji (Şekil 3.20) gözlemlendi.



Şekil 3.20. *Vibrio anguillarum* enfeksiyonlu balıkta solungaç kapaklarının iç kısmında hemoraji

Balıkların vücutlarında kırmızı noktalar, ülserleşme ile sonlanan deri lezyonları (Şekil 3.21) göze çarpmaktadır.



Şekil 3.21. *Vibrio anguillarum* enfeksiyonlu balıkta ülserleşme ile sonlanan deri lezyonları

Balıkların derileri elle ile muayene edildiğinde deride kan ve iltahap ile dolu derin apse (Şekil 3.22) hissedildi.



Şekil 3.22. *Vibrio anguillarum* enfeksiyonlu balıkta deride derin apse

Balığın anüs bölgesi klinik muayenesi yapıldığında anüs kanlı irinli sıvı ve anüste etrafında lezyonlar (Şekil 3.23) görüldü.



Şekil 3.23. *Vibrio anguillarum* enfeksiyonlu balıkta anüste etrafında lezyon

Hasta balıkların derisi büyüteçle dikkatli bir şekilde incelendiğinde hemoraji olan bölgelerde derin ülser (Şekil 3.24) meydana geldi.



Şekil 3.24. *Vibrio anguillarum* enfeksiyonlu balıkta deride derin ülser

Canlı olarak getirilen hasta balıklar laboratuvar ortamında aseptik koşullar altında lateral kesitte apse kısım kesildi. Apsenin içerisinde kan ve iltahap (Şekil 3.25) ile dolu olduğu tespit edildi.



Şekil 3.25. *Vibrio anguillarum* enfeksiyonlu balıkta deride kan ve iltahap ile dolu derin apse

Hasta canlı balıklar aseptik koşullar altında otopsi uygulanarak iç muayene yapıldı. İç organlar gözle ve büyüteçle dikkatli bir şekilde incelendi. Tüm iç organlarda hemoroji ve karaciğerde solgunluk (Şekil 3.26) görüldü.



Şekil 3.26. *Vibrio anguillarum* enfeksiyonlu balıkta iç organlarda hemoroji ve karaciğerde solgunluk

Balıkların mide ve bağırsakları steril bir pens yardımıyla karın boşluğunda dışarı çıkarıldığında hava kesesinde hemoroji ve böbrekte kararma (Şekil 3.27), görüldü.



Şekil 3.27. *Vibrio anguillarum* enfeksiyonlu balıkta hava kesesinde hemoroji ve böbrekte kararma

Hasta balığın dalak incelendiğinde büyüme ve kararma (Şekil 3.28) görüldü.



Şekil 3.28. *Vibrio anguillarum* enfeksiyonlu balıkta dalakta büyüme ve kararma

3.3.4. Laktokokkozis

Kafes başında yapılan gözlemlere göre balıklarda su yüzeyine yakın olarak yüzme (Şekil 3.29.), durgunluk (Şekil 3.30.), iştahsızlık ve yem alımında azalma gibi davranışsal bozukluklar gözlemlendi. Balıklarda dış klinik bulgu olarak deri renginde koyulaşma (Şekil 3.31.), iki taraflı ekzoftalmus (Şekil 3.32.), karın kısmında ascites (Şekil 3.33.) gözlemlendi. Otopsi yapılan balıklarda dalakta büyüme ve renginde koyulaşma (Şekil 3.34.), vücut kasında, pilorik sekada, vücut yağında ve gonadlarda hemoraji (Şekil 3.35.) tespit edildi.



Şekil 3.29. *Lactococcus garviae* enfeksiyonlu balıkta su yüzeyine yakın yüzme



Şekil 3.30. *Lactococcus garviae* enfeksiyonlu balıkta durgunluk



Şekil 3.31. *Lactococcus garviae* enfeksiyonlu balıkta deride kararma



Şekil 3.32. *Lactococcus garviae* enfeksiyonlu balıkta gözde çift ekzoftalmus



Şekil 3.33. *Lactococcus garviae* enfeksiyonlu balıkta ascites



Şekil 3.34. *Lactococcus garviae* enfeksiyonlu balıkta dalakta büyüme siyahlaşma



Şekil 3.35. *Lactococcus garviae* enfeksiyonlu balıkta kaslarda, hava kesesinde, gonadal dokularda ve mide etrafında peteşiyel hemorajiler

3.3.5. Motil *Aeromonas* Septisemi (MAS)

Diyarbakır ilinde faaliyet gösteren 12 farklı işletmeden alınan hastalık şüpheli numuneler ve bölgedeki balıkçılık işletmelerinden alınan anamnez; balıkların yeme karşı isteksiz olduğu, hareketlerinde azalma ve balıkların ağlara ve havuz kenarlarına sürtünmeleri görüldüğü yönündeydi. İşletmelerdeki balıklar klinik muayeneden geçirildi. Genel olarak hasta balıklarda deri renginde koyulaşmalar (Şekil 3.36) görüldü.



Şekil 3.36. *Aeromonas sobria* enfeksiyonlu balıkta deri renginde koyulaşmalar

Vücut yüzeyi gözle ve büyüteçle dikkatli bir şekilde incelendiğinde karında su toplanması (ascites) (Şekil 3.37) ve anüs bölgesinde şişlik görüldü.



Şekil 3.37. *Aeromonas sobria* enfeksiyonlu balıkta ascites

Hasta balığın abdominal bölgesi incelendiğinde pektoral yüzgeç tabanında hemoraji (Şekil 3.38) görüldü.



Şekil 3.38. *Aeromonas sobria* enfeksiyonlu balıkta pektoral yüzgeçte hemoraji

Hasta balığın kuruk bölgesi incelendiğinde kavdal yüzgecin tabanında beyaz renkte lezyonlar (Şekil 3.39) görüldü.



Şekil 3.39. *Aeromonas sobria* enfeksiyonlu balıkta kavdal yüzgecin tabanında beyaz renkte lezyonlar

Balıkların vücutlarında ülserleşme ile sonlanan deri lezyonları (Şekil 3.40) göze çarpmaktadır.



Şekil 3.40. *Aeromonas sobria* enfeksiyonlu balıkta vücuta ülserleşme

Canlı olarak getirilen hasta balıklar laboratuvar ortamında aseptik koşullar altında lateral kesitte apse kısım kesildi. Apsenin içerisinde kan ve iltahap (Şekil 3.41) ile dolu olduğu tespit edilmiştir.



Şekil 3.41. *Aeromonas sobria* enfeksiyonlu balıkta deride kan ve iltahap ile dolu derin apse

Hasta canlı balıklar aseptik koşullar altında otopsi uygulanarak iç muayene yapıldı. İç organlar gözle ve büyüteçle dikkatli bir şekilde incelendi. Tüm iç organlarda hemoraji, karaciğerde solgunluk ve dalak koyu siyah renkte (Şekil 3.42) görüldü.



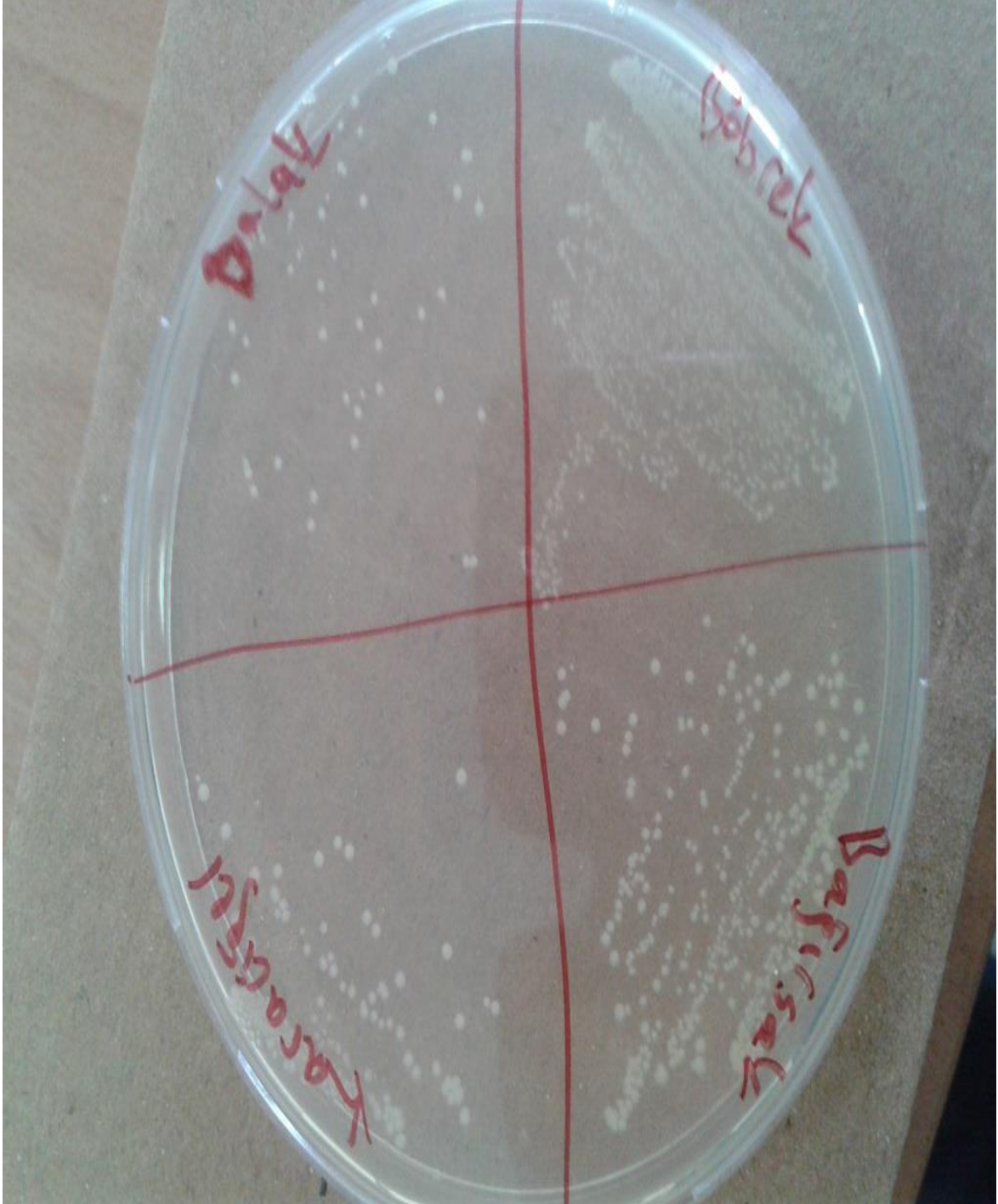
Şekil 3.42. *Aeromonas sobria* enfeksiyonlu balıkta iç organlarda hemoraji, karaciğerde solgunluk ve dalak koyu siyah renkte

3.4. Fenotipik ve biyokimyasal bulgular

3.4.1. Klasik test bulgular

3.4.1.1. Kızıl Ağız Hastalığı

İzole edilen gram negatif çomak şekilli 14 adet *Yersinia ruckeri* suşun saf kültürlerinden (Şekil 3.43.) fenotipik ve biyokimyasal özellikleri belirlendi (Çizelge 3.2.).



Şekil 3.43. *Yersinia ruckeri*'nin koloni oluşurması

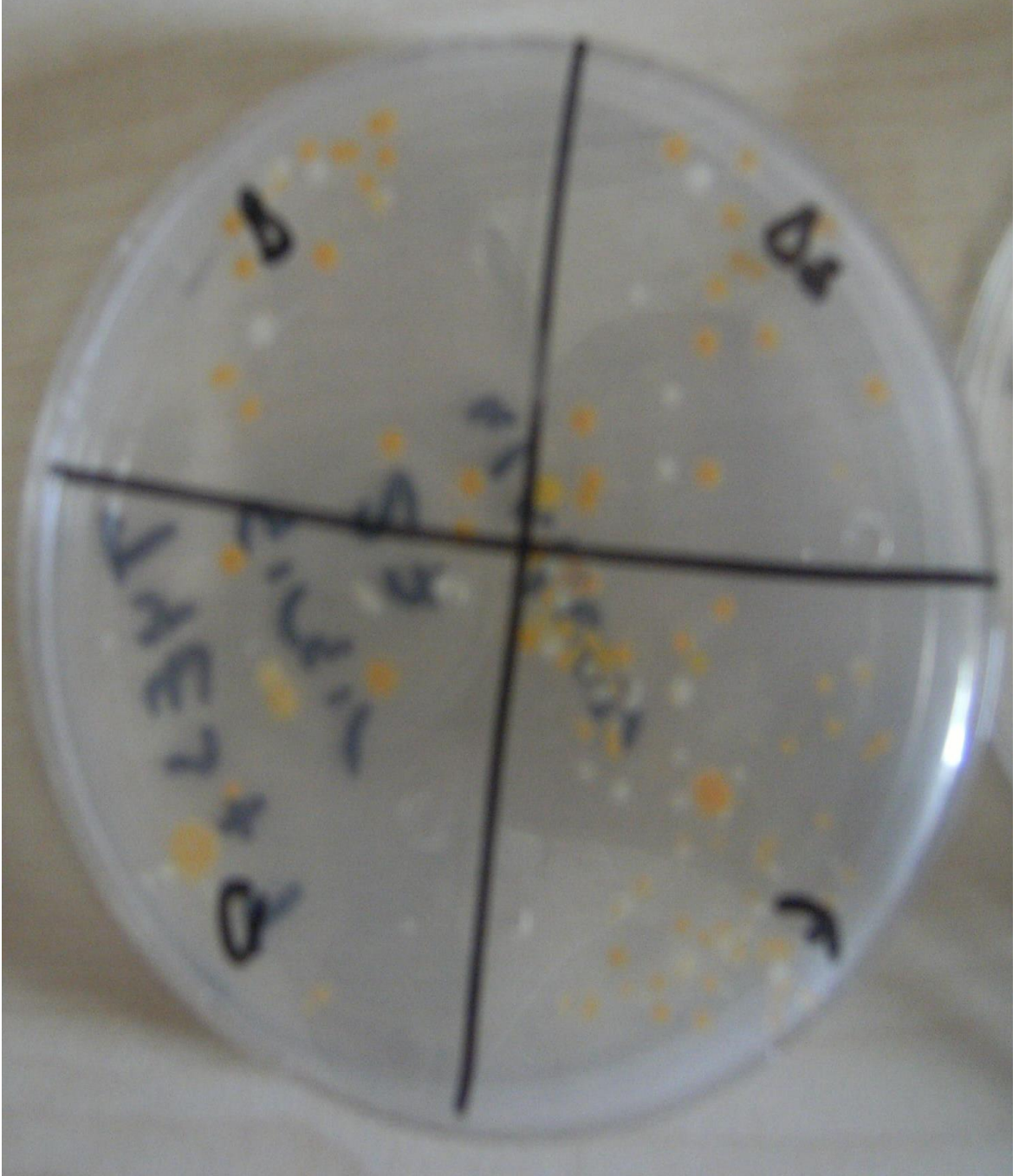
Çizelge 3.2. Gökkuşığı Alabalıklarından izole edilen 19 *Yersinia ruckeri* ve biyokimyasal özellikleri

morfolojik

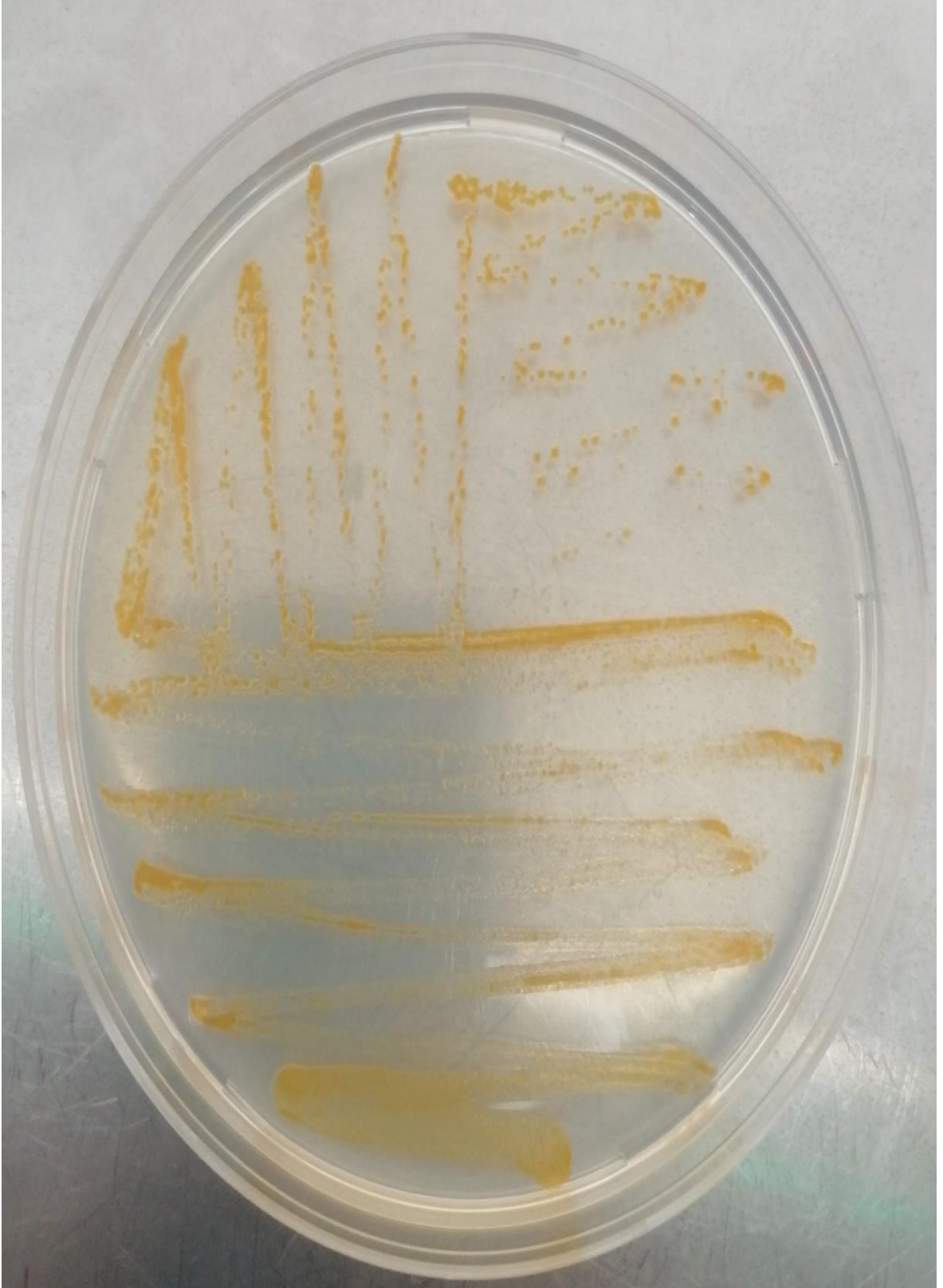
	<i>Yersinia ruckeri</i> (n:19)
Koloni rengi	Beyaz
Gram Boyama	-
Şekli	çomak
Oksidaz	-
Katalaz	+
Hareket	+
H ₂ S	-
Metil Red	+
Voges Proskauer	-
İndol	-
Üreaz Oluşumu	-
O/F	F
MacConkey Agar	+
Mueller-Hinton Agar	+
0°C’de üreme	-
5°C’de üreme	-
15°C’de üreme	+
20°C’de üreme	+
25°C’de üreme	+
30°C’de üreme	+
37°C’de üreme	+
% 0,0 NaCl’de üreme	+
% 0,5 NaCl’de üreme	+
% 1,0 NaCl’de üreme	+
% 2,0 NaCl’de üreme	+
% 6,5 NaCl’de üreme	-

3.4.1.2. Bakteriyel Soğuk Su Hastalığı

TYES-A, agara yapılan ekimler 15°C’de 5–7 gün süreyle etüvde bekletildikten sonra çoğunluğu sarı renkte olmak üzere değişik koloniler (Şekil 3.44) saptandı. Bu sarı renkli kolonilerden TYES-A’ya ekimler yapılarak sarı pigmentli saf kolonilerin (Şekil 3.45) oluştuğu görülmüştür.



Şekil 3.44. TYES-A agarda ilk ekimden sonra çoğunluğu sarı renkte olan karışık koloniler



Şekil 3.45. TYES –A agarda üreyen saf koloniler

İzole edilen gram negatif çomak şekilli 10 adet suşun saf kültürlerinden fenotipik ve biyokimyasal özellikleri belirlendi (Çizelge 3.3.).

Çizelge 3.3. *Flavobacterium psychrophilum*'un fenotipik ve biyokimyasal özellikleri

Fenotipik ve Biyokimyasal Özellikler	İzole Edilen 10 adet <i>Flavobacterium psychrophilum</i> Suşları											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Koloni rengi	Sarı	Sarı	Sarı	Sarı	Sarı	Sarı	Sarı	Sarı	Sarı	Sarı	Sarı	Sarı
Gram Boyama	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Katalaz	Zayıf	Zayıf	Zayıf	Zayıf	Zayıf	Zayıf	Zayıf	Zayıf	Zayıf	Zayıf	Zayıf	Zayıf
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Oksidaz	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Fleksirubin pigment	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Kongo red	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hareket	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
İndol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Metil Red	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Voges Proskauer	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Nitrat testi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
O/F	-/-	-/-	-/+	-/-	-/-	-/+	-/-	-/-	-/+	-/-	-/-	-/-
ONPG	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
OD	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Jelatin hidrolizi	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Simmons sitrat	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Üreaz testi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
H₂S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hemoliz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Nişasta hidrolizi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Eskülin hidrolizi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kazein hidrolizi	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Tween 20 hidroliz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Tween 80 hidrolizi	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

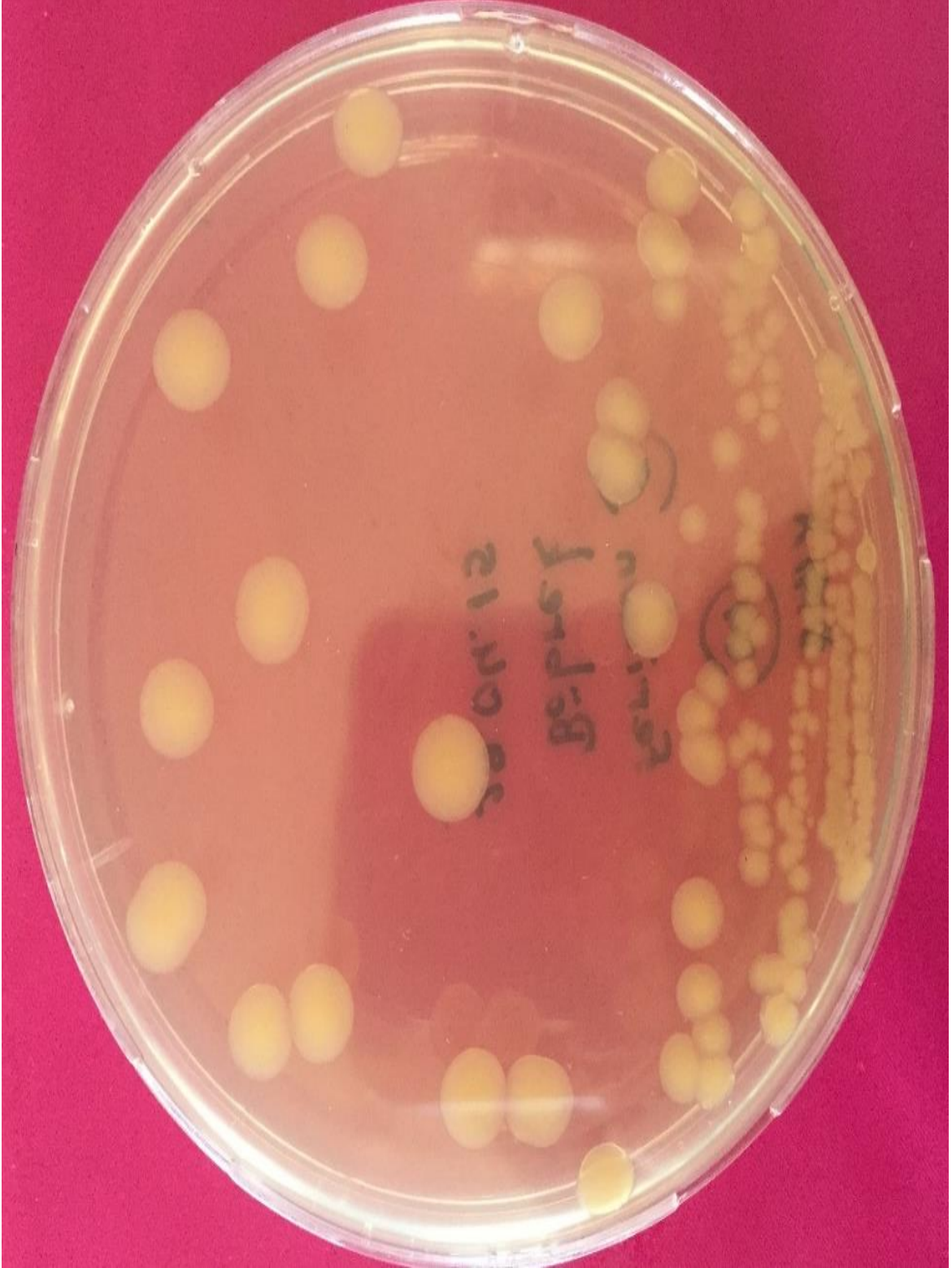
Glukoz	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Laktoz	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Mannitol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Galaktoz	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Arabinoz	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sorbitol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Lizin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Fruktoz	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
İnositol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Rhamnoz	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Mannoz	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Meliboz	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Amigolalin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sukroz	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
TYE agarda üreme	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
TYES-A'da üreme	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
TSA'da üreme	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-
TSB'da üreme	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-
Kanlı agar	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
MCA'da üreme	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
PCA'da üreme	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
MHA'da üreme	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0°C'de üreme	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5°C'de üreme	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
15°C'de üreme	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

20°C’de üreme	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
25°C’de üreme	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+
30°C’de üreme	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
37°C’de üreme	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
% 0,0 NaCl’de üreme	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
% 0,5 NaCl’de üreme	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
% 1,0 NaCl’de üreme	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
% 2,0 NaCl’de üreme	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

* _ : Negatif Reaksiyon, +: Pozitif Reaksiyon, **ONPG:** Ortho-Nitrophenyl-Beta-D-Galactosidase, **H₂S:** Hidrojen Sülfür, **MCA:** MacConkey Agar, **O/F:** Oksidasyon/Fermentasyon, **OD:** Ornitindekarboksilaz, **TSA:** Tryptic Soy Agar, **TSB:** Tryptic Soy Broth, **PCA:** Plate Count Agar, **MHA:** Mueller-Hinton Agar.

3.4.1.3. Vibriozis

İzole edilen 15 adet *Vibrio anguillarum* suşun saf kültürlerinden (Şekil 3.46.) fenotipik ve biyokimyasal özellikleri belirlendi (Çizelge 3.4.).



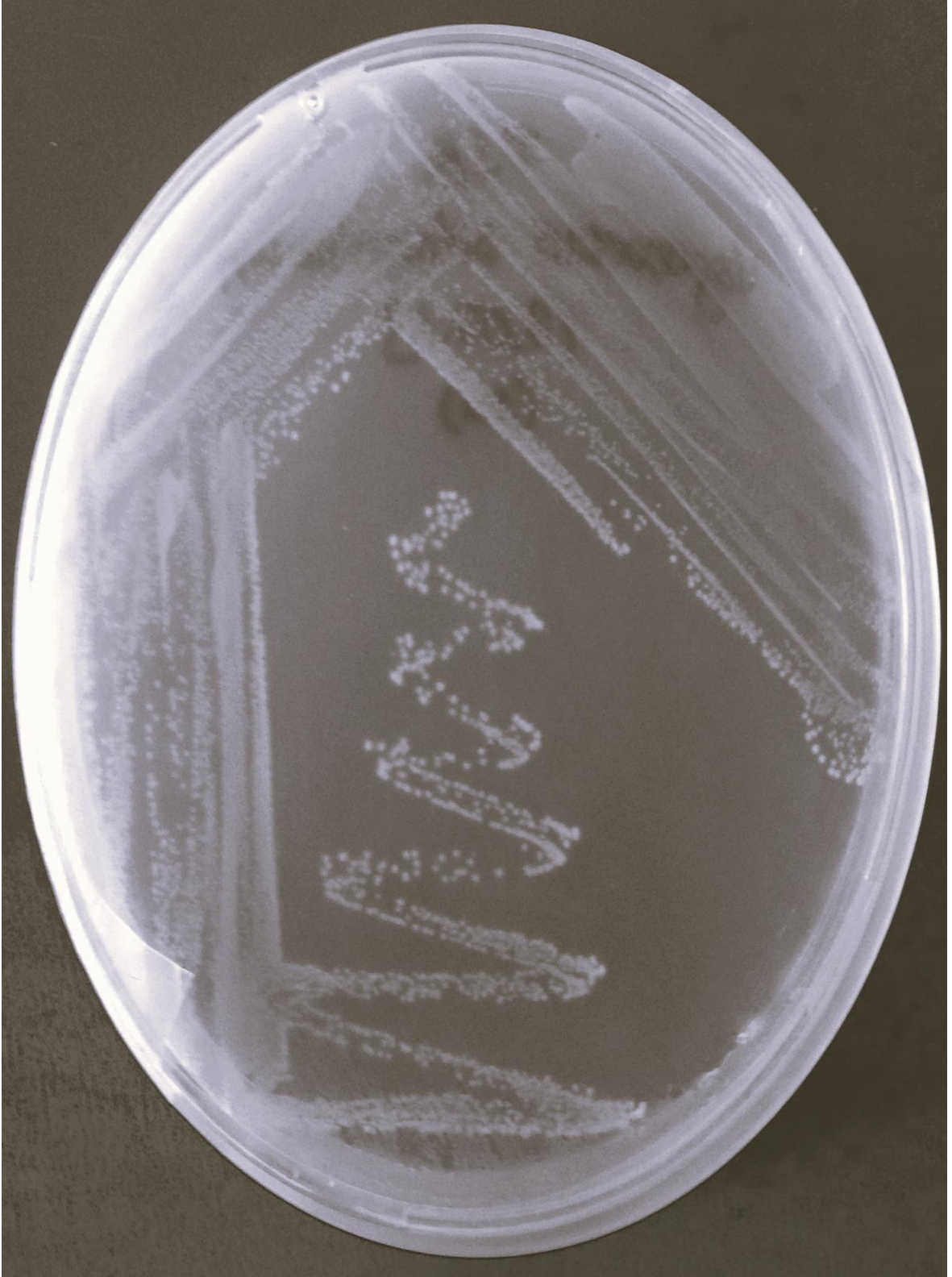
Şekil 3.46. Triptik soy agarda üreyen saf *Vibrio anguillarum* kolonileri

Çizelge 3.4. Gökkuşığı Alabalıklarından izole edilen 15 *Vibrio anguillarum* suşunun morfolojik ve biyokimyasal özellikleri

	<i>Vibrio anguillarum</i> (n:15)
Koloni rengi	Sarı
Gram Boyama	-
Şekli	virgül biçiminde
Oksidaz	+
Katalaz	+
Hareket	+
H ₂ S	-
Metil Red	-
Voges Proskauer	+
İndol	+
Üreaz Oluşumu	-
O/F	F
MacConkey Agar	+
Mueller-Hinton Agar	+
0°C’de üreme	-
5°C’de üreme	+
15°C’de üreme	+
20°C’de üreme	+
25°C’de üreme	+
30°C’de üreme	+
37°C’de üreme	+
% 0,0 NaCl’de üreme	+
% 0,5 NaCl’de üreme	+
% 1,0 NaCl’de üreme	+
% 2,0 NaCl’de üreme	+
% 6,5 NaCl’de üreme	+

3.4.1.4. Laktokokkozis

İzole edilen gram pozitif kok şekilli 22 adet *Lactococcus garviae* suşun saf kültürlerinden (Şekil 3.47.) fenotipik ve biyokimyasal özellikleri belirlendi (Çizelge 3.5.).



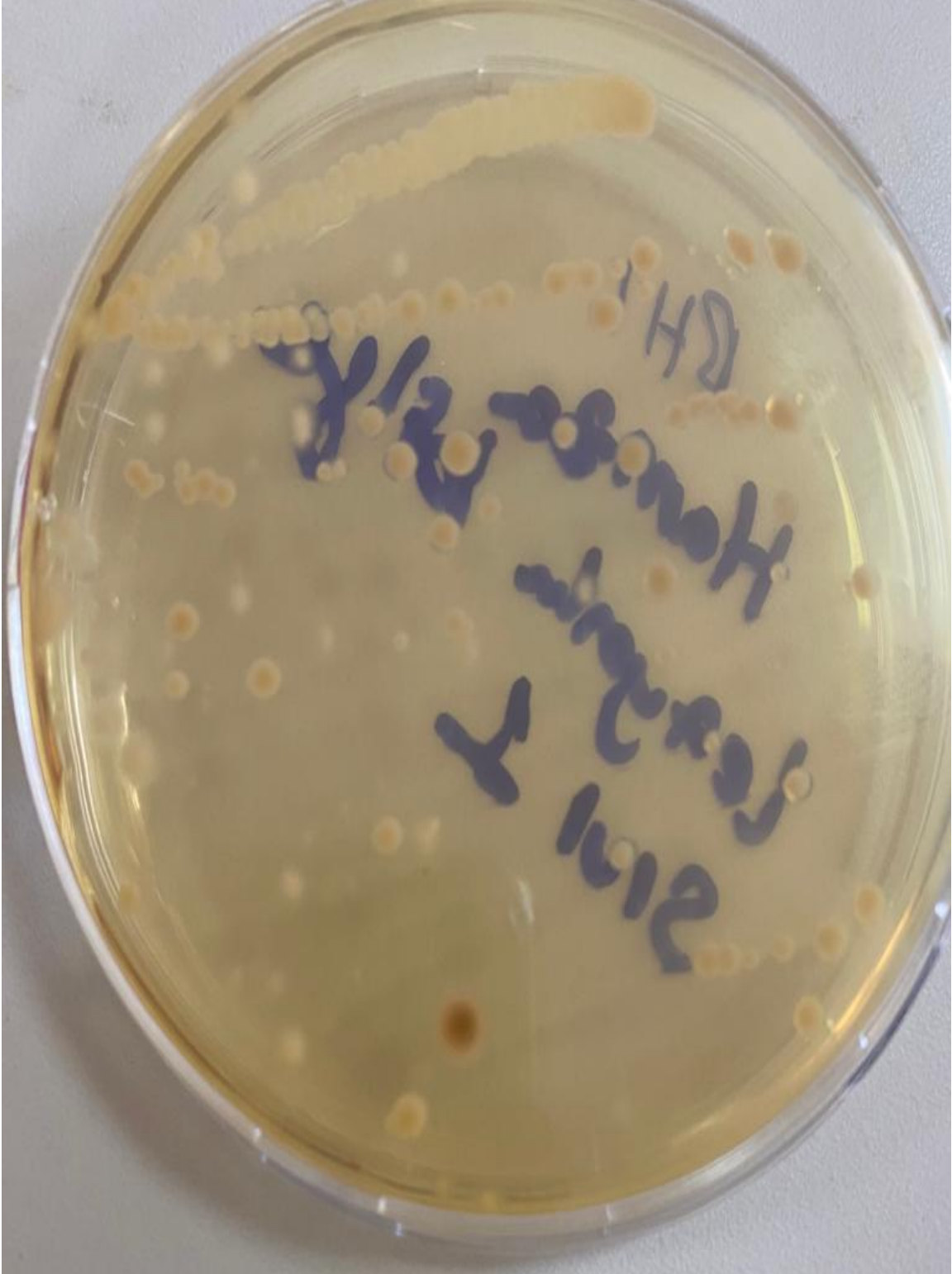
Şekil 3.47. Triptik soy agarda üreyen saf *Lactococcus garviae* kolonileri

Çizelge 3.5. Gökkuşığı Alabalıklarından izole edilen 22 *Lactococcus garviae* morfolojik ve biyokimyasal özellikleri

	<i>Lactococcus garviae</i> (n:22)
Koloni rengi	Beyaz
Gram Boyama	+
Şekli	kok
Oksidaz	-
Katalaz	-
Hareket	-
H ₂ S	-
Metil Red	+
Voges Proskauer	+
İndol	-
Üreaz Oluşumu	-
O/F	F
MacConkey Agar	-
Mueller-Hinton Agar	+
0°C’de üreme	+
5°C’de üreme	+
15°C’de üreme	+
20°C’de üreme	+
25°C’de üreme	+
30°C’de üreme	+
37°C’de üreme	+
% 0,0 NaCl’de üreme	+
% 0,5 NaCl’de üreme	+
% 1,0 NaCl’de üreme	+
% 2,0 NaCl’de üreme	+
% 6,5 NaCl’de üreme	+

3.4.1.5. Motil *Aeromonas* Septisemi (MAS)

İzole edilen *Aeromonas sobria* suşun 14 adet saf kültürlerinden (Şekil 3.48) fenotipik ve biyokimyasal özellikleri belirlendi (Çizelge 3.6.).



Şekil 3.48. Triptik soy agarda üreyen saf *Aeromonas sobria* kolonileri

Çizelge 3.6. Hasta balık örneklerinden izole edilen 14 adet *Aeromonas sobria* suşlarının morfolojik ve biyokimyasal özellikleri

	<i>Aeromonas sobria</i> (n:14)
Koloni rengi	Krem
Gram Boyama	-
Şekli	Çomak
Oksidaz	+
Katalaz	+
Hareket	+
H ₂ S	-
Metil Red	-
Voges Proskauer	-
İndol	+
Üreaz Oluşumu	-
O/F	+/+
MacConkey Agar	+
Mueller-Hinton Agar	+
0°C’de üreme	-
5°C’de üreme	+
15°C’de üreme	+
20°C’de üreme	+
25°C’de üreme	+
30°C’de üreme	+
37°C’de üreme	+
% 0,0 NaCl’de üreme	+
% 0,5 NaCl’de üreme	+
% 1,0 NaCl’de üreme	+
% 2,0 NaCl’de üreme	+
% 6,5 NaCl’de üreme	-

3.4.2. Biolog (The biolog GENIII micro plate) bulgular

3.4.2.1. Kızıl Ağız Hastalığı

Biyokimyasal testlerin doğrulamak ve diğer fenotipik özellikleri belirlemek amacıyla Biolog Sistemi (The biolog GENIII micro plate) cihazı kullanıldı (Çizelge 3.7.).

Çizelge 3.7. Gökkuşağı Alabalıklarından izole edilen *Yersinia ruckeri*'nin Biolog Sistemi (The biolog GENIII micro plate) cihazı ile diğer fenotipik özellikleri

Biyokimyasal Kriter	İzolat reaksiyonu (n:19)	Biyokimyasal Kriter	İzolat reaksiyonu (n:19)
pH 5	-	%8 NaCl	-
pH 6	+	%4 NaCl	-
Positif Kontrol	+	%1 NaCl	+
Stachyose	-	N-Acetyl Neuraminic Acid	+
D- Turanose	+/-	N-Acetyl-D- Galactosamine	+
Sucrose	-	N-Acetyl- β -D- Mannosa-mine	+
Gentiobiose	-	N-Acetyl-D- Glucosamine	+
D-Cellobiose	-	D-Salicin	-
D-Trehalose	+	β - Methyl-D- Glucoside	+/-
D-Maltose	+	D-Melibiose	-
Dextrin	+	α -D-Lactose	-
Negatif Kontrol	-	D-Raffinose	-
D-Serine	-	Minocycline	-
Fusidic Acid	-	Rifamycin SV	-
%1 Sodium Lactate	+	Troleando-mycin	+
I Nisine	+	D-Serine	-
L-Rhamnose	-	D-Aspartic Acid	-
L-Fucose	-	D-Fructose-6- Phosphate	+
D-Fucose	+/-	D-Glucose-6- Phosphate	+
3-Methyl Glucose	+/-	Glycerol	+
D-Galactose	+	myo-İnositol	-
D-Fructose	+	D-Arabitol	+/-
D-Mannose	+	D-Mannitol	+
α -D-Glucose	+	D-Sorbitol	+/-
Niaproof 4	-	Tetrazolium Blue	+/-
Guanidine HCl	+/-	Tetrazolium Violet	+/-
Lincomycin	+	Vanco-mycin	+
L-Serine	+	D-Saccharic Acid	-

L-Pyroglutamic Acid	-	Quinic Acid	-
L-Histidine	-	Mucic Acid	-
L-Glutamic Acid	+	Glucoronamide	+
L-Aspartic Acid	+	D-Glucuronic Acid	+
L-Arginine	-	D-Gluconic Acid	+
L-Alanine	+	L-Galactonic Acid Lactone	+
Glycyl-L-Proline	+	D-Galacturonic Acid	+
Gelatin	-	Pectin	-
Potassium Tellurite	-	Sodium Bromate	-
Lithium Chloride	+/-	Sodium Butyrate	+
Nalidixic Acid	+	Aztreonam	-
Bromo-Succinic Acid	+	Formic Acid	-
L-Malic Acid	+	Acetic Acid	+
D-Malic Acid	-	Propionic Acid	-
α -Keto-Glutaric Acid	+/-	Acetoacetic Acid	+/-
Citric Acid	+/-	α -Keto- Butyric Acid	-
L-Lactic Acid	+	β - Hydroxy-D,L- Butyric Acid	-
D-Lactic Acid Methyl Ester	+/-	α -Hydroxybutyric Acid	+/-
Methyl Pyruvate	+	γ -Amino-Butyric Acid	-
p-Hydroxy-Phenylacetic Acid	-	Tween 40	+/-

Biolog's Microbial Identification System software programı kullanılarak bakterilerin metabolik reaksiyon profilleri elde edilmiştir. Sistemin kütüphanesinde bulunan metabolik profilleri bilinen izolatlarla, hasta balıkta izole edilen izolatlarımızla karşılaştırılmış ve 3 bakteri türüyle (*Edwardsiella ictaluri*, *Leclercia adecarboxylata*, *Yersinia kristensenii*) farklı oranlarda benzer olduğu ve 1 bakteri türü ile (*Yersinia ruckeri*) % benzer bulunmuştur (Şekil 3.49.).

Şekil 3.49. Gökkuşuğu alabalıklarından izole edilen *Yersinia ruckeri*'nin Biolog tanılama sisteminin çıktıları

Program MicroLog 3/5.2.01 33
 Project ML5
 File Name 23.05.2022:D5E
 User biolog
 Instrument MicroStation 2 Reader
 Instrument S/N 0
 Incubation Hours 18.00
 Plate Number 1
 Plate Type GEN III
 Protocol A

Örnek No
 İzole edildiği yer Balık
 İzole eden Mikail ÖZCAN
 Tanımlayan
 Tarih 23/05/2022

Date & Time of Read May 23 2022 9:18 AM
 Biolog ID DB Biolog GEN III 2_6_1_08.15G

Result Species ID: *Yersinia ruckeri*
 Comment
 Notice

Rank	PROB	SIM	DIST	Organism Type	Species
1	0.990	0.668	4.635	GN-Ent	<i>Yersinia ruckeri</i>
2	0.007	0.003	7.825	GN-Ent	<i>Edwardsiella ictaluri</i>
3	0.003	0.001	8.397	GN-Ent	<i>Leclercia adecarboxylata</i>
4	0.000	0.000	9.708	GN-Ent	<i>Yersinia kristensenii</i>

Key: <x: positive, x: negative, <x: mismatched positive, x+: mismatched negative, {x: borderline, -x: less than A1 well

Well Color Values

Plate	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	86	{ 136	{ 150	< 166	89	81	76	{ 101	80	< 186	< 167	- 61
B	80	80	85	94	80	< 216	{ 148	< 152	< 174	{ 137	41	42
C	< 162	{ 146	< 164	{ 117 +	95	98	87	79	{ 126	{ 151	43	56
D	{ 108	< 174	47	87	{ 134	{ 119	52	90	59	74 +	< 197	40
E	77	{ 112	{ 121	87	{ 121	{ 130	94	91	< 168	{ 123	{ 95	< 172
F	54	< 163	< 156	- < 155	{ 149	{ 129	83	88	88	< 162	< 197	< 198
G	82	{ 117	94	{ 149	{ 128	- 98	49	{ 144	{ 130	43	58	41
H	{ 110	78	55	87	32	{ 128	52	{ 115	48	53	60	72

Report Date May 23 2022 3:06 PM

3.4.2.2. Bakteriyel Soğuk Su Hastalığı

Biyokimyasal testlerin doğrulamak ve diğer fenotipik özellikleri belirlemek amacıyla Biolog Sistemi (The biolog GENIII micro plate) cihazı kullanıldı (Çizelge 3.8.).

Çizelge 3.8. Gökkuşluğu alabalığından izole edilen 10 adet *Flavobacterium psychrophilum*'nın Biolog Sistemi (The biolog GENIII micro plate) cihazı ile diğer fenotipik özellikleri

Biyokimyasal Kriter	İzolat reaksiyonu (n:10)	Biyokimyasal Kriter	İzolat reaksiyonu (n:10)
pH 5	+/-	%8 NaCl	-
pH 6	+/-	%4 NaCl	-
Positif Kontrol	+	%1 NaCl	+/-
Stachyose	Zayıf +	N-Acetyl Neuraminic Acid	+/-
D- Turanose	+/-	N-Acetyl-D-Galactosamine	-
Sucrose	-	N-Acetyl- β -D-Mannosa- mine	+/-
Gentiobiose	+/-	N-Acetyl-D-Glucosamine	+/-
D-Cellobiose	+/-	D-Salicin	+/-
D-Trehalose	+/-	β - Methyl-D-Glucoside	+/-
D-Maltose	+/-	D-Melibiose	+/-
Dextrin	+/-	α -D-Lactose	-
Negatif Kontrol	-	D-Raffinose	-
D-Serine	+/-	Minocycline	+/-
Fusidic Acid	-	Rifamycin SV	+/-
%1 Sodium Lactate	+/-	Troleando-mycin	+/-
I Nosine	+/-	D-Serine	+/-
L-Rhamnose	+/-	D-Aspartic Acid	-
L-Fucose	-	D-Fructose-6- Phosphate	+/-
D-Fucose	-	D-Glucose-6- Phosphate	Zayıf +
3-Methyl Glucose	-	Glycerol	-
D-Galactose	+/-	myo-Inositol	-
D-Fructose	+/-	D-Arabitol	-
D-Mannose	+/-	D-Mannitol	+/-
α -D-Glucose	+/-	D-Sorbitol	-
Niaproof 4	+/-	Tetrazolium Blue	+
Guanidine HCl	+/-	Tetrazolium Violet	+
Lincomycin	+/-	Vanco-mycin	+/-
L-Serine	+/-	D-Saccharic Acid	+/-
L-Pyroglutamic Acid	-	Quinic Acid	+/-
L-Histidine	-	Mucic Acid	+/-
L-Glutamic Acid	+/-	Glucoronamide	+/-
L-Aspartic Acid	+/-	D-Glucuronic Acid	-
L-Arginine	-	D-Gluconic Acid	-
L-Alanine	-	L-Galactonic Acid Lactone	-
Glycyl-L-Proline	+/-	D-Galacturonic Acid	-

Gelatin	+	Pectin	-
Potassium Tellurite	-	Sodium Bromate	-
Lithium Chloride	-	Sodium Butyrate	-
Nalidixic Acid	-	Aztreonam	+/-
Bromo-Succinic Acid	-	Formic Acid	-
L-Malic Acid	-	Acetic Acid	+/-
D-Malic Acid	-	Propionic Acid	-
α -Keto-Glutaric Acid	+/-	Acetoacetic Acid	+/-
Citric Acid	+/-	α -Keto- Butyric Acid	-
L-Lactic Acid	-	β - Hydroxy-D,L-Butyric Acid	-
D-Lactic Acid Methyl Ester	-	α -Hydroxybutyric Acid	-
Methyl Pyruvate	-	γ -Amino-Butyric Acid	-
p-Hydroxy-Phenylacetic Acid	-	Tween 40	+/-

Biolog's Microbial Identification System software programı kullanılarak bakterilerin metabolik reaksiyon profilleri elde edildi. Sistemin kütüphanesinde bulunan metabolik profilleri bilinen izolatlarla, hasta balıkta izole edilen izolatlarımızla karşılaştırıldı ve 3 bakteri türüyle (*Flavobacterium resinovorum*, *Chryseobacterium scophthalmum*, *Flavobacterium tirrenicum*, *Obesum bacteria proteus* biogroup 2) farklı oranlarda benzer olduğu ve 1 bakteri türü ile (*Flavobacterium psychrophilum*) % benzer bulunmuştur (Şekil 3.50).

Şekil 3.50. Gökkuşuğu Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*)’nda izole edilen *Flavobacterium psychrophilum*’nın biolog tanılama sisteminin çıktıları

Program MicroLog 3/5.2.01 33
 Project ML5
 File Name 05.01.2022.D5E
 User biolog
 Instrument MicroStation 2 Reader
 Instrument S/N 0
 Incubation Hours 20.00
 Plate Number 1
 Plate Type GEN III
 Protocol A

İzolat No Kahramanmaraş
 İzole Edildiği Yer Alabalık
 İzole Eden Mikail ÖZCAN
 Tanımlayan Seyfettin Çelik
 Tarih 05. 01.2022

Date & Time of Read January 05 2022 9:58 AM
 Biolog ID DB Biolog GEN III 2_6_1_08.I5G

Result Species ID: *Flavobacterium psychrophilum*
 Comment
 Notice

Rank	PROB	SIM	DIST	Organism Type	Species
1	0.142	0.142	8.215	GN-Nent	<i>Flavobacterium resinovorum</i>
2	0.122	0.122	8.400	GN-Nent	<i>Chryseobacterium scophthalmum</i>
3	0.091	0.091	8.766	GN-Nent	<i>Flavobacterium tirrenicum</i>
4	0.088	0.088	8.812	GN-Nent	<i>Obesum bacteria proteus biogroup 2</i>

Key: <x: positive, x: negative, <x-: mismatched positive, x+: mismatched negative, {x: borderline, -x: less than A1 wellWell

Color Values

Plate	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	118	{144	{140	{124	{149	{158	86	{123	<164	{197	{195	{117
B	114	91	{135	{137	{145	{153-	{131	84	{154-	{178	46	41
C	{125+	{157	{143	{141	76	91	101	{129	{141	{190	71	{172
D	77	{142	100	70	99	<167-	{143	78	{148-	{171	{203-	{127
E	{178	{126+	95	111	{127	{143	99	108	{147	{195	{148	{148
F	78	96	91	83	85	{116	{140	{117	{131	{127	<375	<374
G	94	100	107	78	{139	{130	84	97	26	43	35	46
H	{138	86	96	101	68	{141	65	{142	61	{198	40	42

Report Date January 05 2022 10:10 AM

3.4.2.3. Vibriosis

Biyokimyasal testlerin doğrulamak ve diğer fenotipik özellikleri belirlemek amacıyla Biolog Sistemi (The biolog GENIII micro plate) cihazı kullanıldı (Çizelge 3.9.).

Çizelge 3.9. Gökkuşuğu Alabalıklarından izole edilen 20 adet *Vibrio anguillarum*'un Biolog Sistemi (The biolog GENIII micro plate) cihazı ile diğer fenotipik özellikleri

Biyokimyasal Kriter	İzolat reaksiyonu (n:20)	Biyokimyasal Kriter	İzolat reaksiyonu (n:20)
pH 5	-	%8 NaCl	+/-
pH 6	+	%4 NaCl	+
Positif Kontrol	+	%1 NaCl	+
Stachyose	-	N-Acetyl Neuraminic Acid	-
D- Turanose	Zayıf +	N-Acetyl-D- Galactosamine	+/-
Sucrose	+	N-Acetyl- β -D- Mannosa-mine	-
Gentiobiose	-	N-Acetyl-D- Glucosamine	+
D-Cellobiose	+/-	D-Salicin	+/-
D-Trehalose	Zayıf -	β - Methyl-D-Glucoside	+
D-Maltose	+	D-Melibiose	-
Dextrin	+	α -D-Lactose	-
Negatif Kontrol	-	D-Raffinose	-
D-Serine	+/-	Minocycline	-
Fusidic Acid	+	Rifamycin SV	+
%1 Sodium Lactate	+	Troleando-mycin	+
I Nosine	+	D-Serine	-
L-Rhamnose	-	D-Aspartic Acid	+/-
L-Fucose	-	D-Fructose-6- Phosphate	+
D-Fucose	+/-	D-Glucose-6- Phosphate	+
3-Methyl Glucose	-	Glycerol	+
D-Galactose	+	myo-Inositol	Zayıf +
D-Fructose	+	D-Arabitol	-
D-Mannose	+	D-Mannitol	+
α -D-Glucose	+	D-Sorbitol	+
Niaproof 4	+	Tetrazolium Blue	+
Guanidine HCl	+	Tetrazolium Violet	+
Lincomycin	-	Vanco-mycin	+
L-Serine	+	D-Saccharic Acid	-
L-Pyroglutamic Acid	-	Quinic Acid	+/-
L-Histidine	+	Mucic Acid	-
L-Glutamic Acid	+	Glucoronamide	-
L-Aspartic Acid	+	D-Glucuronic Acid	-

L-Arginine	+	D-Gluconic Acid	+
L-Alanine	+	L-Galactonic Acid	+/-
Glycyl-L-Proline	+	Lactone	+/-
Gelatin	+	D-Galacturonic Acid	+
Potassium Tellurite	-	Pectin	+
Lithium Chloride	+	Sodium Bromate	-
Nalidixic Acid	+	Sodium Butyrate	+/-
Bromo-Succinic Acid	-	Aztreonam	+/-
L-Malic Acid	+	Formic Acid	+/-
D-Malic Acid	-	Acetic Acid	+
α -Keto-Glutaric Acid	+	Propionic Acid	-
Citric Acid	+/-	Acetoacetic Acid	+/-
L-Lactic Acid	+	α -Keto- Butyric Acid	+
D-Lactic Acid Methyl Ester	+	β - Hydroxy-D,L- Butyric Acid	-
Methyl Pyruvate	+/-	α -Hydroxybutyric Acid	Zayıf +
p-Hydroxy-Phenylacetic Acid	+	γ -Amino-Butyric Acid	-
	-	Tween 40	+

Biolog's Microbial Identification System software programı kullanılarak bakterilerin metabolik reaksiyon profilleri elde edilmiştir. Sistemin kütüphanesinde bulunan metabolik profilleri bilinen izolatlarla, hasta balıkta izole edilen izolatlarımızla karşılaştırılmış ve 3 bakteri türüyle (*Vibrio metschnikovii*, *Vibrio aestuarianus*, *Vibrio cholerae* O1/O139) farklı oranlarda benzer olduğu ve 1 bakteri türü ile (*Listonella anguillarum*) % benzer bulunmuştur (Şekil 3.51.).

Şekil 3.51. Alabalıklarından izole edilen *Vibrio (Listonella) anguillarum* 'un Biolog tanılama sisteminin çıktıları

Program MicroLog 3/5.2.01 33
 Project ML5
 File Name 18.11.2022 2.D5E
 User biolog
 Instrument MicroStation 2 Reader
 Instrument S/N 0
 Incubation Hours 22.00
 Plate Number 1
 Plate Type GEN III
 Protocol A

Sample ID USKIM 3
 Field 2 BALIK
 Field 3 MİKAİL ÖZCAN
 Field 4
 Field 5 18/11/2022

Date & Time of Read Kas 18 2022 2:25 PM
 Biolog ID DB Biolog GEN III 2_6_1_08.I5G

Result Species ID: Listonella anguillarum
 Comment
 Notice

Rank	PROB	SIM	DIST	Organism Type	Species
1	0.522	0.522	7.135	GN-Nent	Listonella anguillarum
2	0.134	0.134	7.376	GN-Nent	Vibrio metschnikovii
3	0.111	0.111	7.609	GN-Nent	Vibrio aestuarianus
4	0.097	0.097	7.776	GN-Nent	Vibrio cholerae 01/0139

Key: <x: positive, x: negative, <x: mismatched positive, x+: mismatched negative, {x: borderline, -x: less than A1 well

Well Color Values

Plate	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	124	< 265	< 259	138 + {	194	107	< 256	< 250 -	123	< 259	< 270	34
B	122	128	110	< 232	{ 146	< 244	{ 153	126	{ 154	< 302	< 271	{ 189
C	< 253	< 230	< 226	< 233	125	{ 196 -	125	123	< 226	< 289	< 254	{ 184
D	< 236	< 230	131	< 217 -	< 244	< 261	< 249	{ 149	52	< 259	< 249	45
E	< 248	< 238	< 242	< 216	< 252	< 246	< 246	130	< 246	52	< 256	< 272
F	< 253	{ 143	{ 201 -	< 245	114	107	128	{ 159	90	< 259	< 242	< 319
G	81	< 224	{ 204	< 242	< 247	{ 161	115	< 250	< 246	43	< 263	57
H	< 238	137	< 239 -	101	< 244 -	{ 144	99	< 250	{ 173	{ 237	{ 130	89

Report Date Kas 18 2022 1:45 PM

3.4.2.4. Laktokokkozis

Biyokimyasal testlerin doğrulamak ve diğer fenotipik özellikleri belirlemek amacıyla Biolog Sistemi (The biolog GENIII micro plate) cihazı kullanıldı (Çizelge 3.10.).

Çizelge 3.10. Gökkuşığı alabalığından izole edilen 22 adet *Lactococcus garvieae* 'nin Biolog (The biolog GENIII micro plate) cihazı ile diğer fenotipik özellikleri

Biyokimyasal Kriter	İzolat reaksiyonu (n:22)	Biyokimyasal Kriter	İzolat reaksiyonu (n:22)
pH 5	-	%8 NaCl	Zayıf +
pH 6	+	%4 NaCl	+
Positif Kontrol	+	%1 NaCl	+
Stachyose	Zayıf +	N-Acetyl Neuraminic Acid	-
D- Turanose	+	N-Acetyl-D- Galactosamine	+
Sucrose	Zayıf +	N-Acetyl- β-D-Mannosa- mine	+
Gentiobiose	+	N-Acetyl-D-Glucosamine	+
D-Cellobiose	+	D-Salicin	+
D-Trehalose	+	β- Methyl-D-Glucoside	+
D-Maltose	+	D-Melibiose	+/-
Dextrin	+	α-D-Lactose	+/-
Negatif Kontrol	-	D-Raffinose	+/-
D-Serine	-	Minocycline	-
Fusidic Acid	-	Rifamycin SV	+
%1 Sodium Lactate	+	Troleando-mycin	-
I Nosine	+	D-Serine	-
L-Rhamnose	+/-	D-Aspartic Acid	-
L-Fucose	+/-	D-Fructose-6- Phosphate	+/-
D-Fucose	+/-	D-Glucose-6- Phosphate	+/-
3-Methyl Glucose	+	Glycerol	+
D-Galactose	+	myo-İnositol	+/-
D-Fructose	+	D-Arabitol	-
D-Mannose	+	D-Mannitol	+
α-D-Glucose	+	D-Sorbitol	+
Niaproof 4	-	Tetrazolium Blue	+/-
Guanidine HCl	+/-	Tetrazolium Violet	+/-
Lincomycin	+/-	Vanco-mycin	-
L-Serine	-	D-Saccharic Acid	-
L-Pyroglutamic Acid	-	Quinic Acid	-
L-Histidine	-	Mucic Acid	+/-
L-Glutamic Acid	-	Glucoronamide	+/-
L-Aspartic Acid	-	D-Glucuronic Acid	+/-
L-Arginine	+/-	D-Gluconic Acid	+
L-Alanine	-	L-Galactonic Acid Lactone	-

Glycyl-L-Proline	+/-	D-Galacturonic Acid	+
Gelatin	-	Pectin	+
Potassium Tellurite	+	Sodium Bromate	Zayıf +
Lithium Chloride	-	Sodium Butyrate	+
Nalidixic Acid	+	Aztreonam	+
Bromo-Succinic Acid	-	Formic Acid	-
L-Malic Acid	-	Acetic Acid	+/-
D-Malic Acid	-	Propionic Acid	-
α -Keto-Glutaric Acid	-	Acetoacetic Acid	+/-
Citric Acid	-	α -Keto- Butyric Acid	+/-
L-Lactic Acid	-	β - Hydroxy-D,L-Butyric Acid	-
D-Lactic Acid Methyl Ester	-	α -Hydroxybutyric Acid	+/-
Methyl Pyruvate	+/-	γ -Amino-Butyric Acid	-
p-Hydroxy-Phenylacetic Acid	-	Tween 40	+/-

Biolog's Microbial Identification System software programı kullanılarak bakterilerin metabolik reaksiyon profilleri elde edildi. Sistemin kütüphanesinde bulunan metabolik profilleri bilinen izolatlarla, hasta balıkta izole edilen izolatlarımızla karşılaştırıldı ve 3 bakteri türüyle (*Leuconostoc mesenteroides*, *Enterococcus casseliflavus*, *Enterococcus mundtii*) farklı oranlarda benzer olduğu ve 1 bakteri türü ile (*Lactococcus garvieae*) % benzer bulunmuştur (Şekil 3.52).

Şekil 3.52. Gökkuşığı Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*)’nda izole edilen *Lactococcus garvieae*’nın Biolog tanılama sisteminin çıktıları

Program MicroLog 3/5.2.01 33
 Project ML5
 File Name 05.07.2022 D5E
 User biolog
 Instrument MicroStation 2 Reader
 Instrument S/N 0
 Incubation Hours 20.00
 Plate Number 1
 Plate Type GEN III
 Protocol A

İzolat No 3-1
 İzole Edildiği Yer Balık
 İzole Eden Mikail ÖZCAN
 Tanımlayan Mustafa KÜSEK
 Tarih 05/07/2022

Date & Time of Read Tem 05 2022 9:53 AM
 Biolog ID DB Biolog GEN III 2_6_1_08.I5G

Result Species ID: *Lactococcus garvieae*
 Comment
 Notice

Rank	PROB	SIM	DIST	Organism Type	Species
1	0.704	0.704	4.236	GP-Coccus	<i>Lactococcus garvieae</i>
2	0.197	0.197	4.740	GP-Coccus	<i>Leuconostoc mesenteroides</i> ss cremoris
3	0.086	0.086	5.476	GP-Coccus	<i>Enterococcus casseliflavus</i>
4	0.038	0.038	6.170	GP-Coccus	<i>Enterococcus mundtii</i>

Key: <x: positive, x: negative, <x: mismatched positive, x+: mismatched negative, {x: borderline, -x: less than A1 well

Well Color Values

Plate	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	106	< 228	< 237	< 230	< 233	< 232	< 233 -	< 197	< 198 -	< 254	< 253	43
B	{ 162	{ 120	{ 131	< 231	< 237	< 234	< 230	< 234	107	< 248	< 236	< 217 -
C	< 231	< 239	< 232	< 230	< 190	{ 157	{ 141	{ 132	< 247	< 241	52	69
D	< 239	< 243	107	{ 124	< 219	{ 126	{ 139	106	62	58	< 247	57
E	109	{ 137	114	{ 179	104	101	109	103	65	{ 116	{ 198	42
F	< 240	< 205	115	< 236	{ 124	{ 122	{ 126	94	115	63	{ 168	{ 159
G	66	{ 119	98	98	94	114	86	95	71	< 246	57	< 237
H	{ 152	88	{ 119	92	{ 175	{ 163	108	{ 125	83	< 252	< 248	< 214 -

Report Date Tem 05 2022 10:09 AM

3.4.2.5. Motil Aeromonas Septisemi (MAS)

Ayrıca biyokimyasal testleri doğrulamak ve diğer fenotipik özellikleri belirlemek amacıyla Biolog Sistemi (The biolog GENIII micro plate) cihazı kullanıldı (Çizelge 3.11.).

Çizelge 3.11. Gökkuşığı Alabalıklarından izole edilen 14 adet *Aeromonas sobria* 'nın Biolog (The biolog GENIII micro plate) cihazı ile diğer fenotipik özellikleri

Biyokimyasal Kriter	İzolat reaksiyonu (n:14)	Biyokimyasal Kriter	İzolat reaksiyonu (n:14)
pH 5	-	%8 NaCl	-
pH 6	+	%4 NaCl	-
Positif Kontrol	+	%1 NaCl	+
Stachyose	-	N-Acetyl Neuraminic Acid	-
D- Turanose	-	N-Acetyl-D- Galactosamine	Zayıf -
Sucrose	Zayıf -	N-Acetyl- β-D-Mannosa- mine	+/-
Gentiobiose	-	N-Acetyl-D-Glucosamine	+
D-Cellobiose	Zayıf -	D-Salicin	+/-
D-Trehalose	+	β- Methyl-D-Glucoside	+
D-Maltose	+	D-Melibiose	-
Dextrin	+	α-D-Lactose	-
Negatif Kontrol	-	D-Raffinose	-
D-Serine	-	Minocycline	-
Fusidic Acid	-	Rifamycin SV	+
%1 Sodium Lactate	+/-	Troleando-mycin	+
I Nosine	+	D-Serine	-
L-Rhamnose	-	D-Aspartic Acid	+/-
L-Fucose	-	D-Fructose-6- Phosphate	Zayıf -
D-Fucose	+/-	D-Glucose-6- Phosphate	+
3-Methyl Glucose	-	Glycerol	+
D-Galactose	+	myo-İnositol	+/-
D-Fructose	+	D-Arabitol	Zayıf +
D-Mannose	+	D-Mannitol	+
α-D-Glucose	+	D-Sorbitol	+/-
Niaproof 4	+	Tetrazolium Blue	+/-
Guanidine HCl	+	Tetrazolium Violet	+/-
Lincomycin	-	Vanco-mycin	+
L-Serine	+	D-Saccharic Acid	+/-
L-Pyroglutamic Acid	+/-	Quinic Acid	+/-
L-Histidine	+	Mucic Acid	-
L-Glutamic Acid	+	Glucoronamide	-
L-Aspartic Acid	+	D-Glucuronic Acid	+/-
L-Arginine	+	D-Gluconic Acid	+

L-Alanine	+	L-Galactonic Acid Lactone	+/-
Glycyl-L-Proline	+	D-Galacturonic Acid	+/-
Gelatin	+/-	Pectin	+/-
Potassium Tellurite	-	Sodium Bromate	-
Lithium Chloride	-	Sodium Butyrate	-
Nalidixic Acid	-	Aztreonam	-
Bromo-Succinic Acid	+	Formic Acid	-
L-Malic Acid	+	Acetic Acid	Zayıf -
D-Malic Acid	-	Propionic Acid	-
α -Keto-Glutaric Acid	+/-	Acetoacetic Acid	+/-
Citric Acid	+/-	α -Keto- Butyric Acid	-
L-Lactic Acid	+/-	β - Hydroxy-D,L-Butyric Acid	+/-
D-Lactic Acid Methyl Ester	+/-	α -Hydroxybutyric Acid	+/-
Methyl Pyruvate	+	γ -Amino-Butyric Acid	+/-
p-Hydroxy-Phenylacetic Acid	-	Tween 40	+

Biolog's Microbial Identification System software programı kullanılarak *Aeromonas sobria*'nın metabolik reaksiyon profilleri elde edilmiştir. Sistemin kütüphanesinde bulunan metabolik profilleri bilinen izolatlarla, hasta balıktan izole edilen izolatlarımızla karşılaştırılmış ve 3 bakteri türüyle (*Aeromonas allosaccharophila*, *Aeromonas veronii/sobria*, *Aeromonas jandaei*) farklı oranlarda benzer olduğu ve bir bakteri türü ile (*Aeromonas sobria*) % benzer bulunmuştur (Şekil 3.53.).

Şekil 3.53. Gökkuşāğı alabalıklarından izole edilen *Aeromonas sobria*'nın Biolog tanılama sisteminin çıktıları

Program MicroLog 3/5.2.01 33
 Project ML5
 File Name 05.09.2023.2.D5E
 User biolog
 Instrument MicroStation 2 Reader
 Instrument S/N 0
 Incubation Hours 22.00
 Plate Number 1
 Plate Type GEN III
 Protocol A

Sample ID USKIM 4
 Field 2 BALIK
 Field 3 MIKAIL OZCAN
 Field 4
 Field 5 05.09.2023:

Date & Time of Read 05.09.2023 2:26 PM
 Biolog ID DB Biolog GEN III 2_6_1_08.I5G

Result Species ID: *Aeromonas sobria* DNA group 7
 Comment
 Notice

Rank	PROB	SIM	DIST	Organism Type	Species
1	0.503	0.503	7.453	GN-Nent	<i>Aeromonas sobria</i> DNA group 7
2	0.146	0.146	7.563	GN-Nent	<i>Aeromonas allosaccharophila</i>
3	0.115	0.115	7.849	GN-Nent	<i>Aeromonas veronii/sobria</i> DNA group 8
4	0.065	0.065	8.557	GN-Nent	<i>Aeromonas jandaei</i> DNA group 9

Key: <x: positive, x: negative, <x-: mismatched positive, x+: mismatched negative, {x: borderline, -x: less than A1 well

Well Color Values

Plate	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	108	< 253	< 248	< 235	109 +	81	104 +	107	104	< 253	< 239	35
B	112	110	117	< 250	{ 129	< 256	{ 136	101 +	44	< 255	37	36
C	< 248	< 245	< 239	< 233	84	{ 161	111	106	< 223	{ 128	38	35
D	{ 169	< 240	< 204 -	{ 136	< 238	< 254	31 +	{ 146	27	< 248	< 262	42
E	{ 149	< 226	< 241	< 226	< 249	< 255	< 234	{ 127	< 253	43	< 204	< 249
F	{ 145	{ 140	{ 171	< 239	{ 120	107	54	{ 145	{ 118	< 254	{ 106	{ 114
G	103	< 225	{ 131	{ 131	{ 125 +	{ 160	67	< 265	< 250	43	35	43
H	< 236	{ 136	{ 133	{ 147	87	{ 151	100	82 +	46	42	52	46

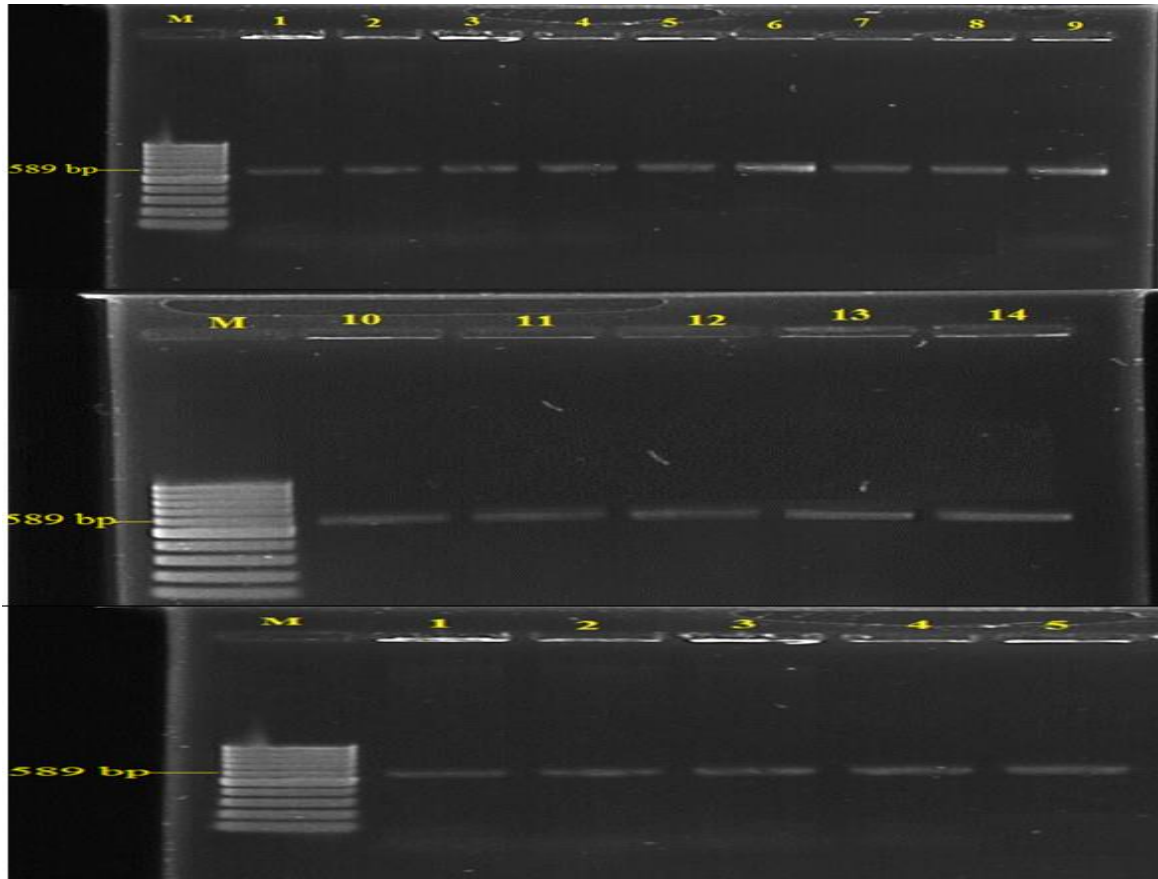
Report Date 07.09.2023: 11:28 AM

3.5. Moleküler Bulgular

3.5.1. Polimeraz Zincir Reaksiyonu bulguları

3.5.1.1. Kızıl Ağız Hastalığı

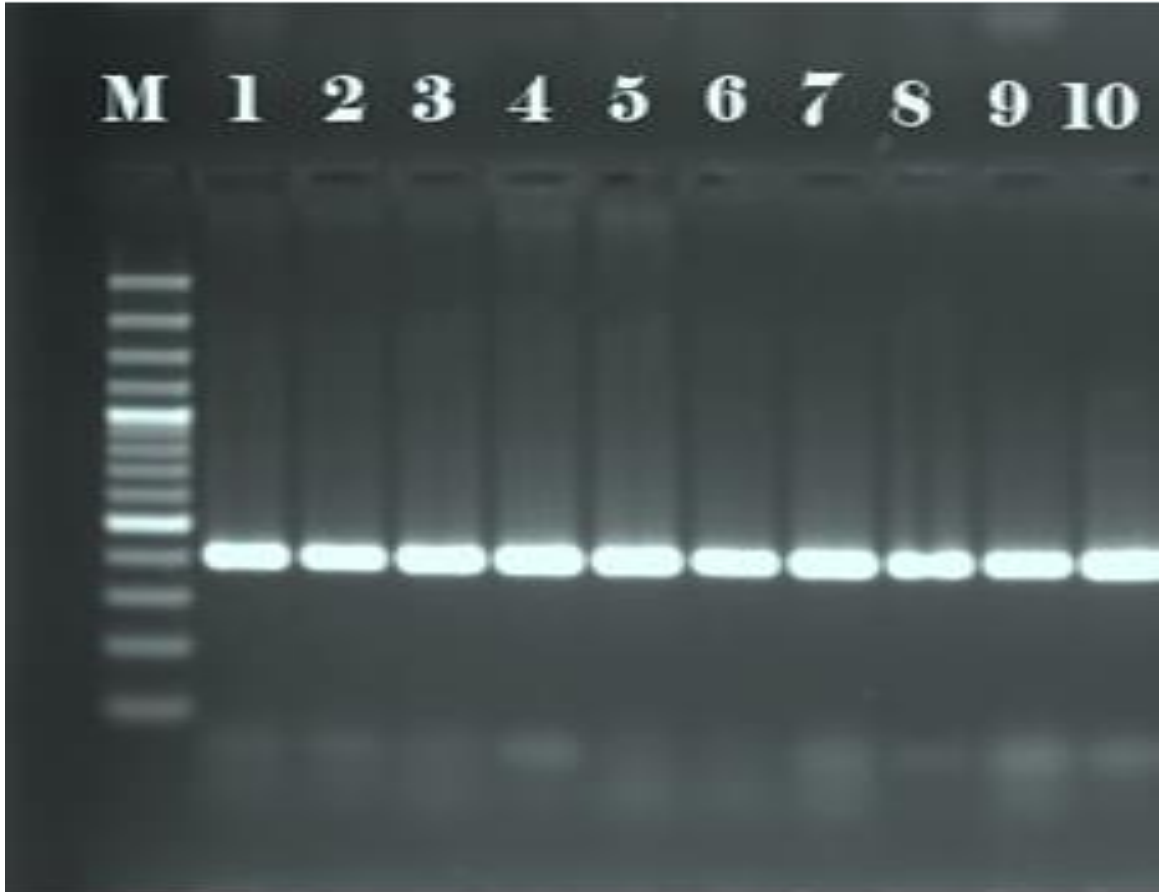
Diyarbakır ilinde faaliyet gösteren 12 farklı Gökkuşuğu alabalığı işletmelerinden alınan örnekten 19 adet *Yersinia ruckeri* izole edildi. Bu bakterilerin DNA'ları PZR ile amplifikasyonu yapıldı. Daha sonra bu ürünler % 1,5'luk agaroz jelde elektroforezden geçirildi. Jel ethidium bromide ile boyanıp, sonuçlar ultraviyole transilluminatörde değerlendirildi. Ondört adet suşun hepsinde *Yersinia ruckeri* türüne ait YER8 (5'-GCGAGGAGGAAGGGTTAAGTG-3') ve YER10 (5'-GAAGGCACCAAGGCATCTCTG-3') spesifik primer çifti ile 589 bp uzunluğunda bantlar görüldü (Şekil 3.54.). Dolayısıyla 19 adet izolatin tamamının *Yersinia ruckeri* olduğu kanıtlandı.



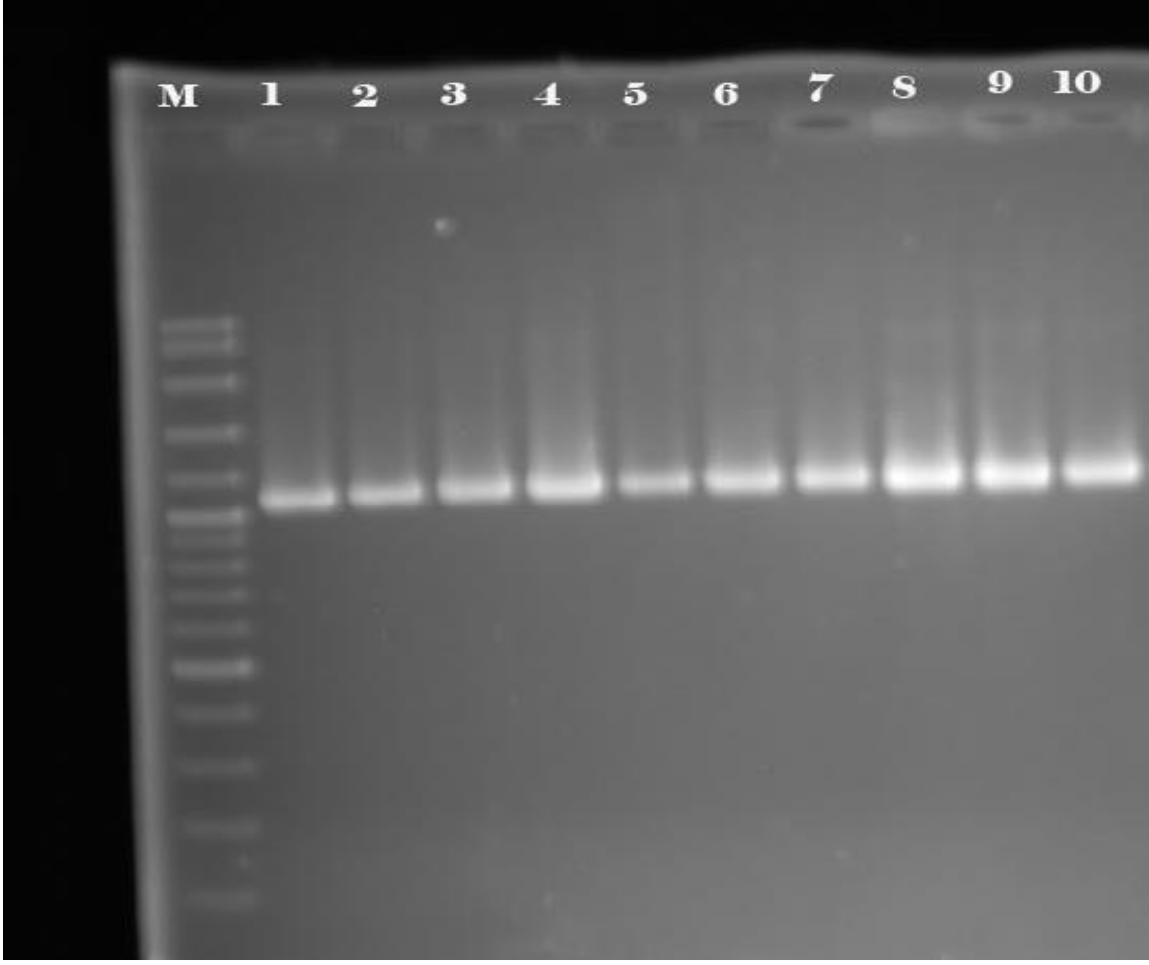
Şekil 3.54. DNA örneklerinin YER8, YER10 primer çifti kullanılarak PCR'de analizi sonucu oluşan *Yersinia ruckeri* türüne ait 589 bp'lik bantları gösteren agaroz jel; 1–14: İşletmelerden izole edilen *Yersinia ruckeri* örnekleri; M: 100 bp'lik moleküler marker

3.5.1.2. Bakteriyel Soğuksu Hastalığı

Diyarbakır balıkçılık işletmelerinden izole ve identifikasyonu yapılan 10 adet *Flavobacterium psychrophilum* suş'un DNA izolasyonu gerçekleştirildi. Bu DNA'ların PZR ile amplifikasyonu yapıldı. Daha sonra bu PZR ürünler içerisinde 19 tane *Flavobacterium psychrophilum*, 1 tane pozitif kontrol, 1 tane negatif kontrol ve 1 tane 100 bp'lik moleküler marker (M) % 1,5'luk agaroz jele yerleştirilip elektroforezden geçirildi. Bu agaroz jel etidium bromide ile boyanıp, ultraviyole transilluminatörde bakıldı. Yüz atmış adet suşun hepsinde *Flavobacterium* cinsine ait PSY1 190–206, PSY2 1278–1262 primere çiftine göre 396 bp uzunluğunda bantlar görüldü (Şekil 3.55). *Flavobacterium psychrophilum* türüne ait GYRA-FP1F, GYRA-FP1R primer çiftinde ise 1089 bp uzunluğunda bantlar görüldü (Şekil 3.56) ve bunların da pozitif kontrolle aynı uzunluktaki bantları oluşturduğu tespit edildi. Dolayısıyla izole edilen 10 şüpheli suşun *Flavobacterium psychrophilum*'un olduğu kanıtlandı.



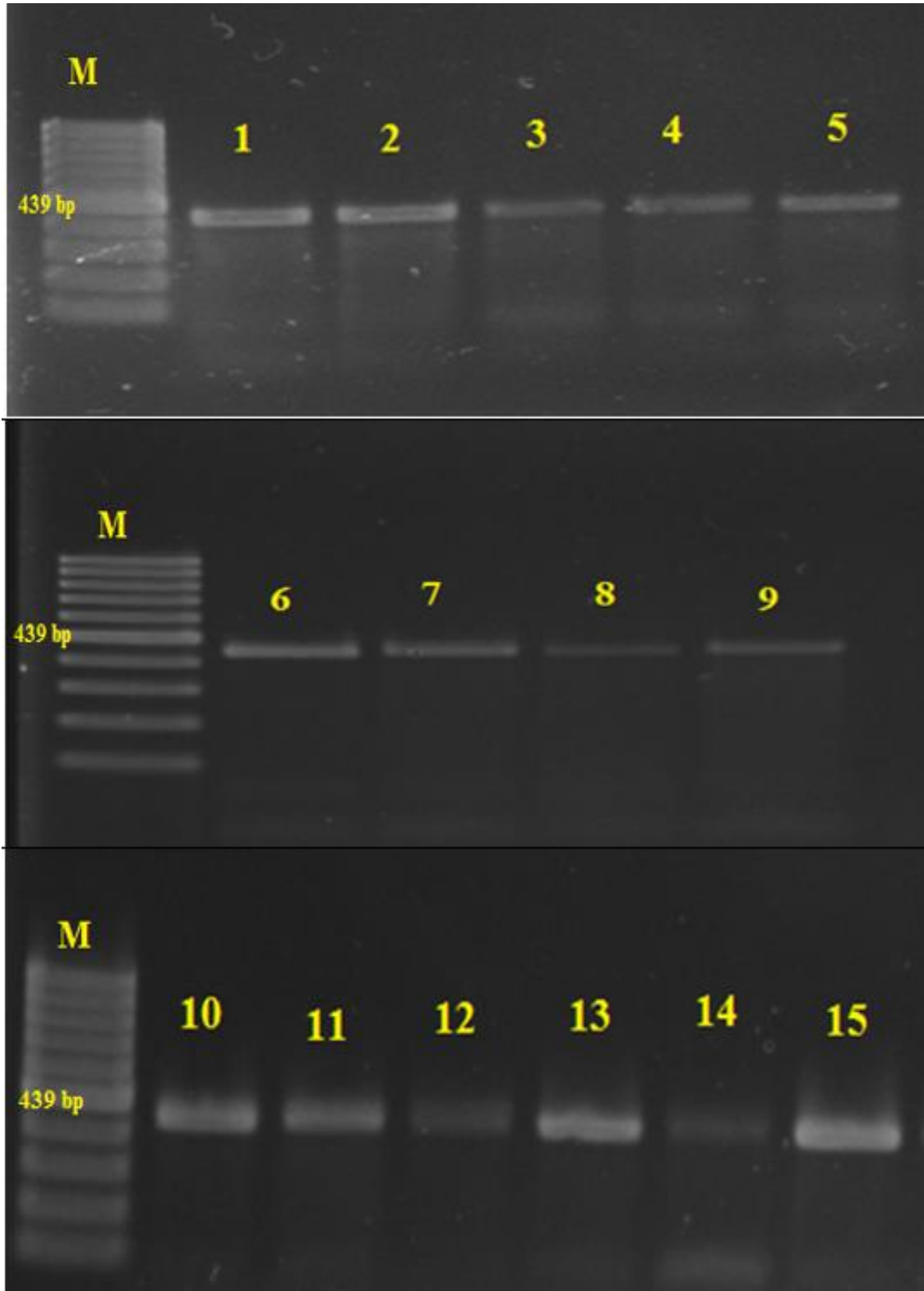
Şekil 3.55. *Flavobacterium psychrophilum* DNA'larının, PZR'nunda analizi sonucu oluşan 396 bp'lik bantları gösteren agaroz jel; 1–10: *Flavobacterium psychrophilum* şüpheli örnekler; M: 100 bp'lik moleküler marker



Şekil 3.56. *Flavobacterium psychrophilum* DNA'larının, PZR'nda analizi sonucu oluşan 1089 bp'lik bantları gösteren agaroz jel; 1–12: *Flavobacterium psychrophilum* şüpheli örnekler; M: 100 bp'lik moleküler marker

3.5.1.3. Vibriosis

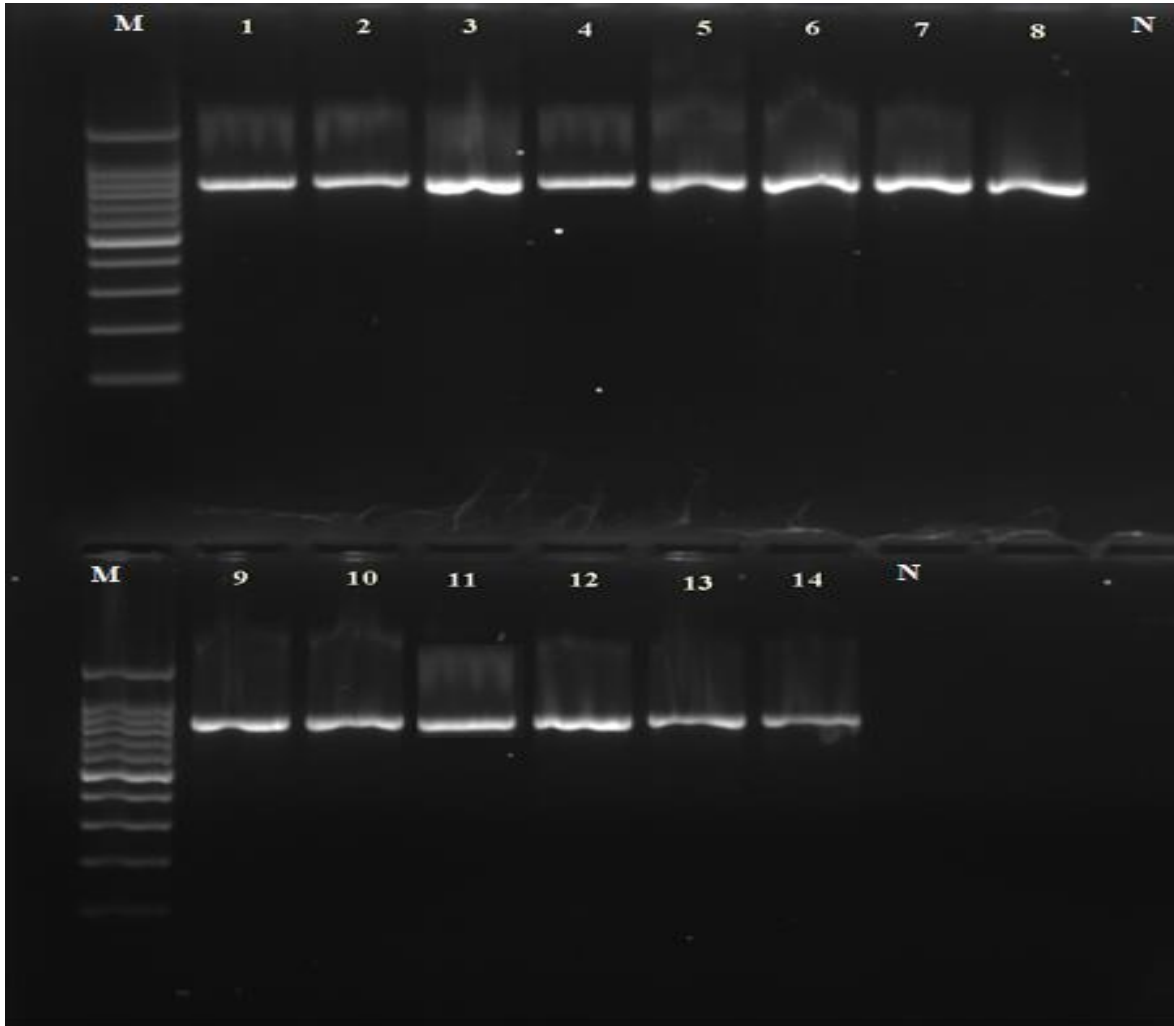
Diyarbakır ilindeki Gökkuşuğu alabalığı işletmelerinden alınan örnekten 15 *Vibrio anguillarum* izole edildi. Bu isolatların DNA izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Bu DNA'ların PZR ile amplifikasyonu yapılmıştır. Daha sonra bu ürünler % 1,5'luk agaroz jelde elektroforezden geçirilmiştir. Jel ethidium bromide ile boyanıp, sonuçlar ultraviyole transilluminatörde değerlendirilmiştir. Yirmi adet suşun hepsinde *anguillarum* türüne ait empAF (5'-CAGGCTCGCAGTATTGTGC-3') ve empAR (5'-CGTCACCAGAATTCGCATC-3') primerlerle 439 bp uzunluğunda bantlar görülmüştür (Şekil 3.57). Dolayısıyla 15 adet izolatin tamamının *Vibrio anguillarum* olduğu kanıtlandı.



Şekil 3.57. DNA örneklerinin, empAF, empAR primer çifti kullanılarak PCR’de analizi sonucu oluşan *V. anguillarum* türüne ait 439 bp’lik bantları gösteren agaroz jel; 1–20: İşletmelerden izole edilen *V. anguillarum* örnekleri; M: 100 bp’lik moleküler marker

3.5.1.4. Laktokokkozis

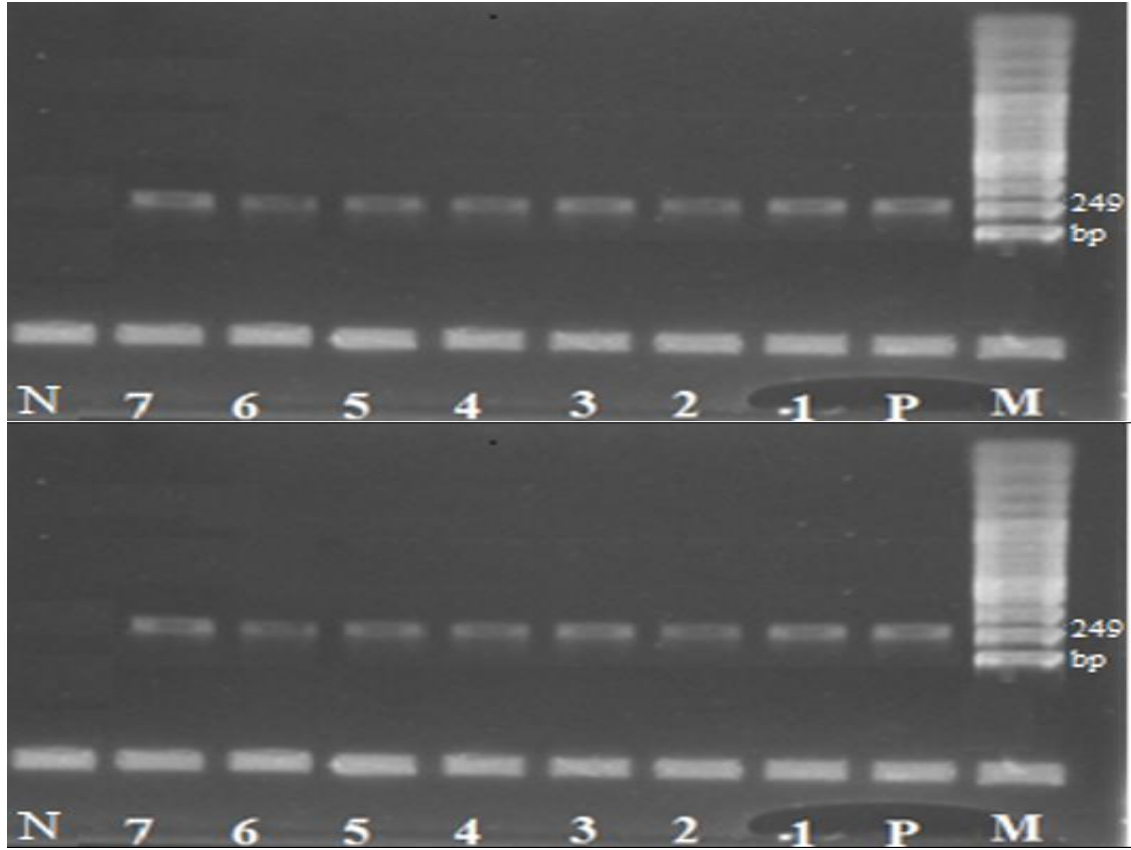
Diyarbakır ilinde faaliyet gösteren 12 farklı Gökkuşuğu alabalığı işletmelerinden alınan örnekten 22 adet *Lactococcus garvieae* izole edildi. Bu izolatlar ile birlikte *E. coli* (negatif kontrol-N)'nin DNA izolasyonu gerçekleştirildi. Bu DNA'ların PZR ile amplifikasyonu yapıldı. Daha sonra bu ürünler % 1,5'luk agaroz jelde elektroforezden geçirildi. Jel ethidium bromide ile boyanıp, sonuçlar ultraviyole transilluminatörde değerlendirildi. Yirmi sekiz adet suşun hepsinde *Lactococcus garvieae* türüne ait 27F: 5'-AGA GTT TGA TCM TGG CTC AG-3' 806R 5'-GGA CTA CHV GGG TWT CTA AT-3' evrensel bakteriyel primer çifti ile 300 bp uzunluğunda bantlar görüldü (Şekil 3.58).



Şekil 3.58. DNA örneklerinin, 27F, 806R primer çifti kullanılarak PCR'de analizi sonucu oluşan *Lactococcus garvieae* türüne ait 300 bp'lik bantları gösteren agaroz jel; 1–7: İşletmelerden izole edilen *Lactococcus garvieae* örnekleri; M: 100 bp'lik moleküler marker; N: Negatif kontrol (*E. coli*) (MBI, Fermentas)

3.5.1.5. Motil *Aeromonas* Septisemi (MAS)

Diyarbakır ilinde faaliyet gösteren 12 farklı Gökkuşáğı alabalığı işletmelerinden alınan örnekten 14 adet *Aeromonas sobria* izole edildi. Bu isolatlar ile birlikte *Aeromonas sobria* ATCC43979 referans suşu (pozitif kontrol-P) ve *E. coli* (negatif kontrol-N)'nin DNA izolasyonu gerçekleştirildi. Bu DNA'ların PZR ile amplifikasyonu yapıldı. Daha sonra bu ürünler % 1,5'luk agaroz jelde elektroforezden geçirildi. Jel ethidium bromide ile boyanıp, sonuçlar ultraviyole transilluminatörde değerlendirildi. Yirmi adet suşun hepsinde *Aeromonas sobria* türüne ait F (5'-TAA AGG GAA ATA ATG ACG GCG-3') ve R (5'-GGC TGT AGG TAT CGG TTT TCG-3') primer çifti ile 249 bp uzunluğunda bantlar görüldü (Şekil 3.59). Dolayısıyla 14 adet izolatin tamamının *Aeromonas sobria* olduğu kanıtlandı.



Şekil 3.59. DNA örneklerinin, F, R primer çifti kullanılarak PCR'de analizi sonucu oluşan *Aeromonas sobria* türüne ait 249 bp'lik bantları gösteren agaroz jel; 1–7: İşletmelerden izole edilen *Aeromonas sobria* örnekleri; M: 100 bp'lik moleküler marker; N: Negatif kontrol (*E. coli*) (MBI, Fermentas); P: Pozitif kontrol referans suş (*Aeromonas sobria* ATCC43979)

3.5.2. Sekans Analizi Bulgular

Sekans datalarının değerlendirilmesi için ham veriler Bioedit 7.2.5 software ile işlenerek NCBI - Basic Local Alignment Search Tools (BLAST) programı kullanılarak referans veritabanları ile karşılaştırıldı. Tüm örnekler çift yönlü çalışılarak konsensüs oluşturulup blastlandı.

3.5.2.1. Kızıl Ağız Hastalığı

Yersinia ruckeri suşlarından ileri okuma ile sekans analizi yapıldı. Sekansı sonucu elde edilen nükleotid dizisi Şekil 3.60.'de, *Yersinia ruckeri* KY15 (Sequence ID: MK548507.1)'nın NCBI'dan alınan consensüs dizisi Şekil 3.61.'de verildi.

```
GGTYGGGMGCYTACMMATGCAGTCGAGCGGCAGCGGAAGTAGCTTGCTAC
TTTGCCGGCGAGCGGCGGATCGGTGAGTAATGTCTGGGGATCTGCCTGAT
GGAGGGGGATAACTACTGGAAACGGTAGCTAATACCGCATAACCTCGCAA
GAGCAAAGTGGGGGACCTTCGGGCCTCACGCCATCGGATGAACCCAGATG
GGATTAGCTAGTAGGTGGGGTAATGGCTCACCTAGGCGACGATCCCTAGC
TGGTCTGAGAGGATGACCAGCCACACTGGAAGTGGAGACACGGTCCAGACT
CCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGCAAGCCTGAT
GCAGCCATGCCGCGTGTGTGAAGAAGGCCTTCGGGTTGTAAAGCACTTTC
AGCGAGGAGGAAGGGTTAAGTGTTAATAGCACTGAACATTGACGTTACTC
GCAGAAGAAGCACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAG
GGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCACGCAGGCGGTT
TGTTAAGTCAGATGTGAAATCCCCGAGCTTAACTTGGGAACTGCATTTGA
AACTGGCAAGCTAGAGTCTTGTAGAGGGGGGTAGAATTCCAGGTGTAGCG
GTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGGCCCCCT
GGACAAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTA
GATACCCTWGWAGTCMC
```

Şekil 3.60. *Yersinia ruckeri* suşlarından ileri okuma ile 16S sekans hizalaması



Nucleotide

Nucleotide ▼

Advanced

FASTA ▼

Yersinia ruckeri strain KY15 16S ribosomal RNA gene, partial sequence

GenBank: MK548507.1

[GenBank](#) [Graphics](#) [PopSet](#)

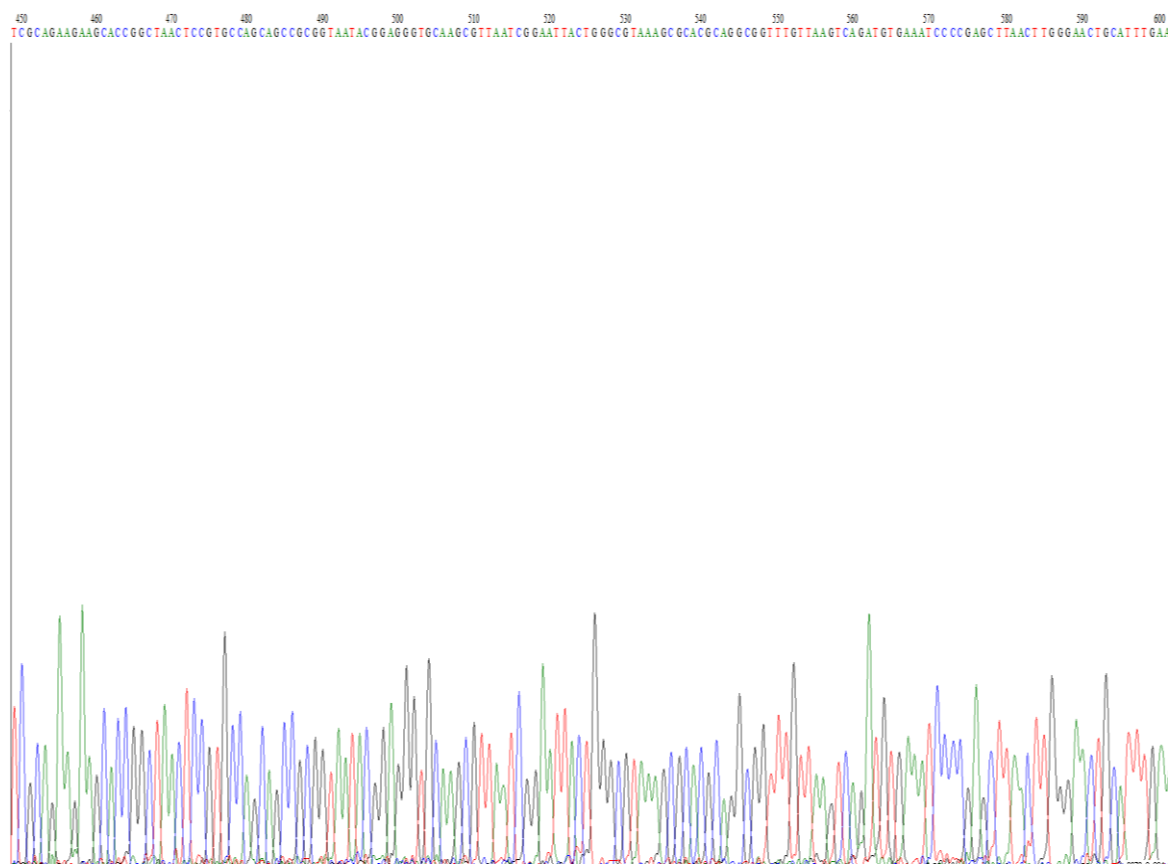
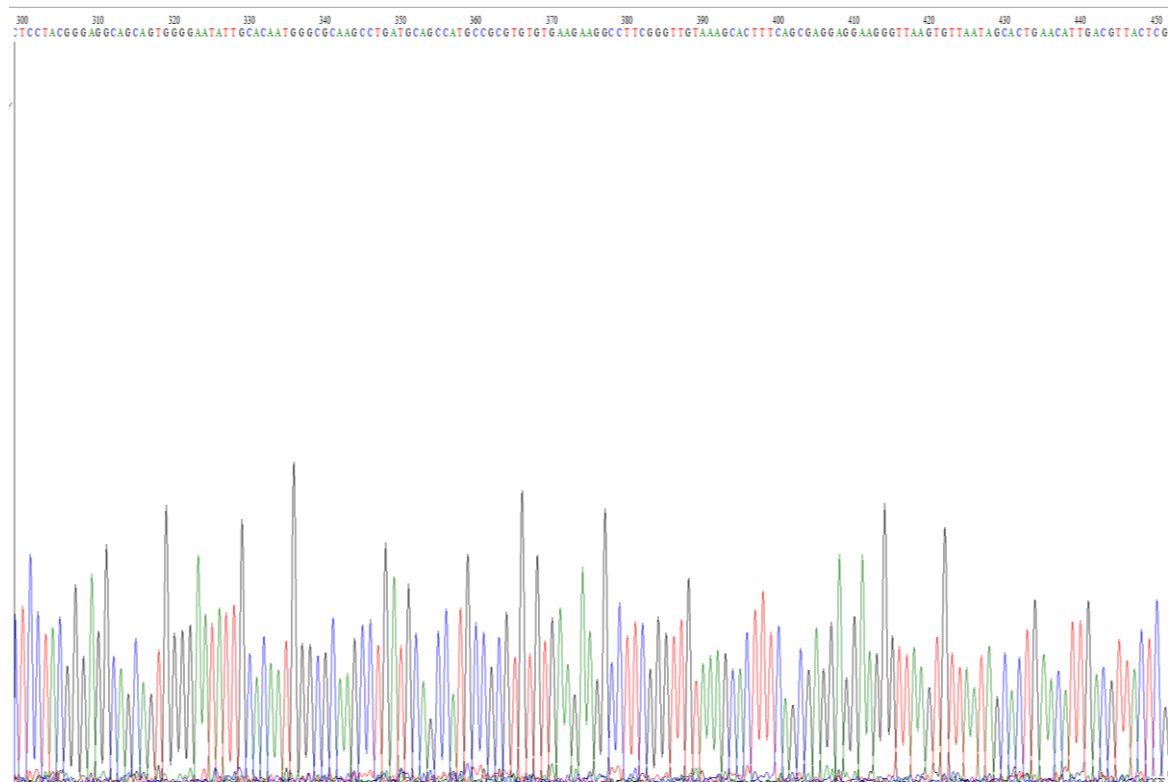
>MK548507.1 Yersinia ruckeri strain KY15 16S ribosomal RNA gene, partial sequence

```
TGGCGGCAGCTACACATGCAGTCGAGCGGCAGCGGAAGTAGCTTGCTACTTTGCCGGCGAGCGGCGGACG
GGTGAGTAATGTCTGGGGATCTGCCTGATGGAGGGGGATACTACTGGAAACGGTAGCTAATACCGCATA
ACCTCGCAAGAGCAAAGTGGGGGACCTTCGGGCCTCACGCCATCGGATGAACCCAGATGGGATTAGCTAG
TAGGTGGGTAAATGGCTCACCTAGGCGACGATCCCTAGCTGGTCTGAGAGGATGACCAGCCACACTGGAA
CTGAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGCAAGCCTGATG
CAGCCATGCCGCGTGTGTGAAGAAGGCCCTTCGGGTTGTAAAGCACTTTCAGCGAGGAGGAAGGGTTAAGT
GTTAATAGCACTGAACATTGACGTTACTCGCAGAAGAAGCACCAGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGT
AATACGGAGGGTCAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCACGCAGGCGGTTTGTAAAGTCAG
ATGTGAAATCCCCGAGCTTAACTTGGGAACGCATTTGAACTGGCAAGCTAGAGTCTTGTAGAGGGGGG
TAGAATTCCAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGGCCCCCTG
GACAAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCT
GTAACGATGTCGACTTGGAGGTTGTGCCCTTGAGGCGTGGCTTCGGAGCTAACGCGTTAAGTCGACCG
CCTGGGGAGTACGGCCGAAGGTTAACTCAAATGAATTGACGGGGGCCGACAAAGCGGTGGAGCATG
TGGTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTACTCTTGACATCCACAGAACTTGGCAGAGATGCCT
TGGTGCCTTCGGGAACGTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTGTGAAATGTTGGGTT
AAGTCCCACAACGAGCGCAACCTTATCCTTTGTTGCCAGCACGTAATGGTGGGAACCTAAGGGGAGACTG
CCGGTGACAAACCGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGAGTAGGGCTACACAC
GTGCTACAATGGCAGATACAAAGTGAAGCGAACTCGCGAGAGCAAGCGGACCACATAAAGTCTGTCGTAG
TCCGGATTGGAGTCTGCAACTCGACTCCATGAAGTCGGAATCGTAGTAATCGTAGATCAGAATGCTACG
GTGAATACGTTCCCGGGCCTTGACACACCGCCGTCACACCATGGGAGTGGGTTGCAAAAGAAGTAGGT
AGCTTAACCTTCGGGAGGGCGCTACCATCTTGGAT
```

Şekil 3.61. *Yersinia ruckeri* KY15 (Sequence ID: MK548507.1)'in NCBI'dan alınan consensüs dizisi

Yersinia ruckeri'nin sekans piklerinin Bioedit Sequence Alignment Editor programı kullanılarak kromatogramları görüntülendi ve tek tek kontrolleri yapıldı (Şekil 3.62.).





Sekans sonuçları NCBI'daki referans *Yersinia ruckeri* suşlarıyla benzerlik açısından karşılaştırılmıştır (Şekil 3.63). Yapılan karşılaştırmada *Yersinia ruckeri* KY15 (Sequence ID: MK548507.1) ile en yakın benzerlik gösterdiği izlenmiştir. Karşılaştırmada en yüksek benzerlik *Yersinia ruckeri* KY15 ile gözlemlenmiş ve benzerlik yüzdesi 745/749(99%), oluşan gap sayısı 0/749(0%) ve toplam puan 1363 bits(738) olarak hesaplanmıştır. Benzerlik değerleri ve hizalama karşılaştırması verilmiştir (Şekil 3.64).


National Library of Medicine
National Center for Biotechnology Information

Log in

BLAST® » blastn suite » results for RID-07M4GJJ5016
Home Recent Results Saved Strategies Help

[Edit Search](#)
[Save Search](#)
[Search Summary](#)
[How to read this report?](#)
[BLAST Help Videos](#)
[Back to Traditional Results Page](#)

Job Title Nucleotide Sequence
RID [07M4GJJ5016](#) Search expires on 03-28 15:53 pm [Download All](#)
Program BLASTN [Citation](#)
Database nt [See details](#)
Query ID lcl|Query_5001347
Description None
Molecule type dna
Query Length 767
Other reports [Distance tree of results](#) [MSA viewer](#)

Filter Results
Organism only top 20 will appear ☐ exclude

[Add organism](#)
Percent Identity to **E value** to **Query Coverage** to
[Filter](#) [Reset](#)

[Descriptions](#)
[Graphic Summary](#)
[Alignments](#)
[Taxonomy](#)

Sequences producing significant alignments
Download Select columns Show 100

☐ select all 1 sequences selected
[GenBank](#)
[Graphics](#)
[Distance tree of results](#)
[MSA Viewer](#)

	Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
☒	Yersinia ruckeri strain KY15 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Yersinia ruckeri	1363	1363	97%	0.0	99.47%	1435	MK548507.1
☐	Unidentified microorganism clone oclvp189lb202800 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	unidentified micr...	1363	1363	97%	0.0	99.47%	765	MG271473.1
☐	Yersinia ruckeri strain BH1206 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Yersinia ruckeri	1363	1363	97%	0.0	99.47%	1446	KJ850444.1
☐	Bacterium 69 oclvp189 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	bacterium 69 oc...	1363	1363	97%	0.0	99.47%	765	KF160533.1
☐	Yersinia ruckeri strain BY-1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Yersinia ruckeri	1363	1363	97%	0.0	99.47%	1443	KF413425.1
☐	Yersinia ruckeri strain xb2 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Yersinia ruckeri	1358	1358	97%	0.0	99.33%	1451	MG581405.1

Şekil 3.63. Bir adet *Yersinia ruckeri* sekans sonuçlarının NCBI'daki referans *Yersinia ruckeri* suşlarıyla benzerlik açısından karşılaştırılması

[Download](#) [GenBank](#) [Graphics](#)

Yersinia ruckeri strain KY15 16S ribosomal RNA gene, partial sequence

Sequence ID: [MK548507.1](#) Length: **1435** Number of Matches: **1**

[See 1 more title\(s\)](#) [See all Identical Proteins\(IPG\)](#)

Range 1: 16 to 764 [GenBank](#) [Graphics](#)

[Next Match](#) [Previous Match](#)

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
1363 bits(738)	0.0	745/749(99%)	0/749(0%)	Plus/Plus
Query 17	ATGCAGTCGAGCGGCAGCGGAAGTAGCTTGTCTACTTTGCCGGCGAGCGCGGATCGGTGA	76		
Sbjct 16	ATGCAGTCGAGCGGCAGCGGAAGTAGCTTGTCTACTTTGCCGGCGAGCGCGGACGGGTGA	75		
Query 77	GTAATGTCTGGGGATCTGCCTGATGGAGGGGGATAACTACTGGAAACGGTAGCTAATACC	136		
Sbjct 76	GTAATGTCTGGGGATCTGCCTGATGGAGGGGGATAACTACTGGAAACGGTAGCTAATACC	135		
Query 137	GCATAACCTCGCAAGAGCAAAGTGGGGGACCTTCGGGCCTCACGCCATCGGATGAACCCA	196		
Sbjct 136	GCATAACCTCGCAAGAGCAAAGTGGGGGACCTTCGGGCCTCACGCCATCGGATGAACCCA	195		
Query 197	GATGGGATTAGCTAGTAGGTGGGGTAATGGCTCACCTAGGCGACGATCCCTAGCTGGTCT	256		
Sbjct 196	GATGGGATTAGCTAGTAGGTGGGGTAATGGCTCACCTAGGCGACGATCCCTAGCTGGTCT	255		
Query 257	GAGAGGATGACCAGCCACACTGGAAGTGAAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCA	316		
Sbjct 256	GAGAGGATGACCAGCCACACTGGAAGTGAAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCA	315		
Query 317	GTGGGGAATATTGCACAATGGGCGCAAGCCTGATGCAGCCATGCCGCGTGTGTGAAGAAG	376		
Sbjct 316	GTGGGGAATATTGCACAATGGGCGCAAGCCTGATGCAGCCATGCCGCGTGTGTGAAGAAG	375		
Query 377	GCCTTCGGGTTGTAAAGCACTTTCAGCGAGGAGGAAGGGTTAAGTGTTAATAGCACTGAA	436		
Sbjct 376	GCCTTCGGGTTGTAAAGCACTTTCAGCGAGGAGGAAGGGTTAAGTGTTAATAGCACTGAA	435		
Query 437	CATTGACGTTACTCGCAGAAGAAGCACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATAC	496		
Sbjct 436	CATTGACGTTACTCGCAGAAGAAGCACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATAC	495		
Query 497	GGAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCACGCAGGCGGTTTGTTAA	556		
Sbjct 496	GGAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCACGCAGGCGGTTTGTTAA	555		
Query 557	GTCAGATGTGAAATCCCCGAGCTTAACCTGGGAAGTGCATTTGAAACTGGCAAGCTAGAG	616		
Sbjct 556	GTCAGATGTGAAATCCCCGAGCTTAACCTGGGAAGTGCATTTGAAACTGGCAAGCTAGAG	615		
Query 617	TCTTGTAGAGGGGGGTAGAATTCCAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAA	676		
Sbjct 616	TCTTGTAGAGGGGGGTAGAATTCCAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAA	675		
Query 677	TACCGGTGGCGAAGGCGGCCCCCTGGACAAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGG	736		
Sbjct 676	TACCGGTGGCGAAGGCGGCCCCCTGGACAAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGG	735		
Query 737	AGCAAACAGGATTAGATACCCTGAGAGTC	765		
Sbjct 736	AGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTC	764		

Şekil 3.64. *Yersinia ruckeri* taksonunun hizalama (alignment) sonucu (Query: *Yersinia ruckeri*, Sbjct: *Yersinia ruckeri* KY15 (Sequence ID: MK548507.1))

3.5.2.2. Bakteriyel Soğuk Su Hastalığı

Flavobacterium psychrophilum suşlarından ileri okuma ile sekans analizi yapıldı. Sekan sonucu elde edilen nükleotid dizisi Şekil 3.65.'de, *Flavobacterium psychrophilum* 16S ribosomal RNA (Sequence ID: KU212250.1)'ın NCBI'dan alınan consensüs dizisi Şekil 3.66.'de verildi.

```
ACTCGATGAGGCCTTCGKWCCCTCAGCGTCATCATTTGTAAGKRACCTGCC
TTCGCAATTGGTRTTCAAGTAATCTCTAWGCATTTACCGCTACACTACA
TATTCYAGTYACTTCYAMWTWAYTCAAGMCMWRCAGTATCAATGGCCGTT
CCATMGTTTRAGCKATGRGMTTTCACCACTGACTTATCTGKCCGCCTACGG
ACCCTTTAAACCCAATRAWTCCGGATAACGCTTGSATCCTCCGTATTACC
GCGGCTGCTGGCACGGAGTTAGCCGATSCTTATTCTCACAGTACCGTCAA
GYTCGGTCACGACCRARKGTTTCTTCCTGTGCAAAAGMAGTTTACAATCC
ATAGGACCGTCATCCTGCACGCGGSATGGCTGGWTCAGGCTYKCGCCCAT
TGACCAATATTCCTCACTGCTGCCTCCCGTAGGAGTCKGGTCCGTGTCTC
AGTACCAGGGGGGGGGGATCTCCCTCTCAGGACCCCTACCCATCGTKGCCT
TGGKAAGCCGTTACCTTACCCAATAKCTAATGGKGCSCATGCTCATCTT
TTACCGYKGWGAYTTTAATAKTGWGGTKGATGCCAACTCACTATACTATG
AGGTATTAATCCAWATTTMTCTGGKMTATCCCTCTGWAAAAGGWAKATTG
CATACGYKTYACGCACCCGYGCCCCGGTCTCAAWMATKGMTATTCTACCC
CTCC
```

Şekil 3.65. *Flavobacterium psychrophilum* suşlarından ileri okuma ile 16S sekans hizalaması



National Library of Medicine
National Center for Biotechnology Information

Nucleotide

Nucleotide ▼

Advanced

FASTA ▼

Flavobacterium psychrophilum 16S ribosomal RNA gene, partial sequence

GenBank: KU212250.1

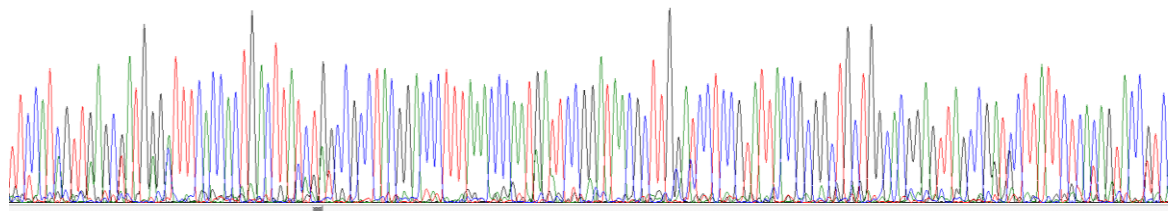
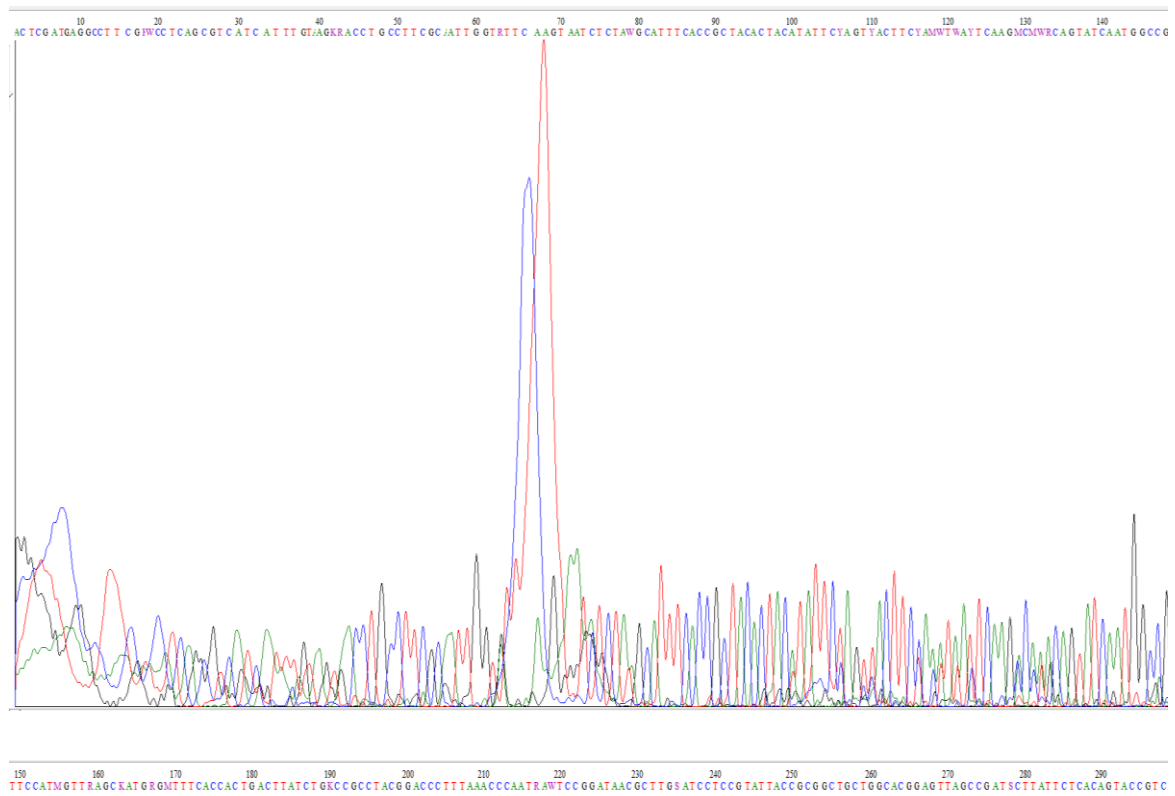
[GenBank](#) [Graphics](#)

>KU212250.1 Flavobacterium psychrophilum 16S ribosomal RNA gene, partial sequence

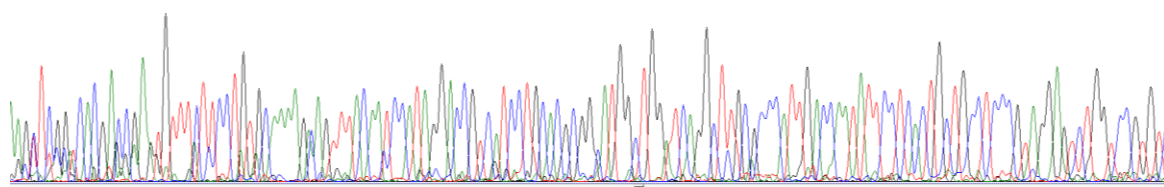
```
AGTCGAGGGGTAGAATAGCAATATTTGAGACCGGCGCACGGGTGCGTAACGCGTATGCAATCTACCTTTT
ACAGAGGGATAGCCCAGAGAAATTTGGATTAATACCTCATAGTATAGTGAGTTGGCATCAACACACTATT
AAAGTCACAACGGTAAAGATGAGCATGCGTCCATTAGCTAGTTGGTAAGGTAACGGCTTACCAAGGCA
ACGATGGGTAGGGGTCCTGAGAGGGAGATCCCCCACTGGTACTGAGACACGGACCAGACTCCTACGGG
AGGCAGCAGTGAGGAATATTGGTCAATGGGCGCAAGCCTGAACCAGCCATGCCGCGTGACGGATGACGGT
CCTATGGATTGTAACCTGCTTTTGCACAGGAAGAACTCGGTCGTGACCGAGCTTGACGGTACTGTGA
GAATAAGGATCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGGAGGATCCAAGCGTTATCCGGAATCA
TTGGGTTTAAAGGGTCCGTAGGCGGCCAGATAAGTCAGTGGTGAAAGCCCATCGCTCAACGATGGAACGG
CCATTGATACTGTTTGGCTTGAATTATTTGGAAGTAACTAGAATATGTAGTGTAGCGGTGAAATGCTTAG
AGATTACATGGAATACCAATTGCGAAGGCAGGTTACTACAAATTGATTGACGCTGATGGACGAAAGCGTG
GGTAGCGAACAGGATTAGATACCTGGTAGTCCACGCCGTAACGATGGATACTAGCTGTTGGGAGCAAT
CTCAGTGGCTAAGCGAAAGTGATAAGTATCCACCTGGGGAGTACGTTCCGAAGATGAACTCAA
```

Şekil 3.66. *Flavobacterium psychrophilum* 16S ribosomal RNA (Sequence ID: KU212250.1)'in NCBI'dan alınan consensüs dizisi

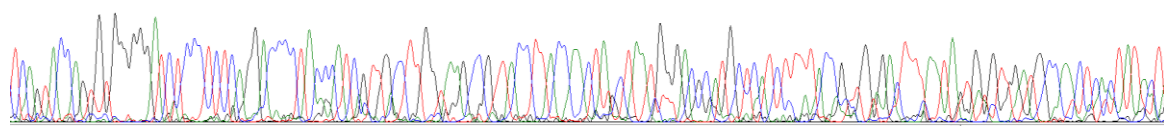
Flavobacterium psychrophilum'un sekans piklerinin Bioedit Sequence Alignment Editor programı kullanılarak kromatogramları görüntülendi ve tek tek kontrolleri yapıldı (Şekil 3.67.).



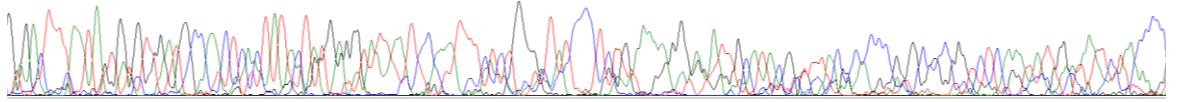
300 310 320 330 340 350 360 370 380 390 400 410 420 430 440
 LAGTTCGGTCACGACCRARKGTTTCTTCTGTGC AAAAGMA GTTTACAA TCCATAGGACCGTCATCCTGCACGCGGSATGGCTGWTCAAGCTTTCGCCCATTTGACCAATATTCCTCACTGCTGCTCCCGTAGGAATCKGGTCGGTGT



450 460 470 480 490 500 510 520 530 540 550 560 570 580 590
 TCAGTACACAGGGGGGGGATCTCCCTCTCAGGACCCCTACCACTCTGTCGCCCTTGGAAGCGGTACCTTACCCAACTAATGAGGCTGCTCATCTTTTACCGTGGYTTTAATAKTGGGTTGATGCCAACTCACTATAC



560 570 580 590 600 610 620 630 640 650 660 670 680 690 700
G G A T T T T A A T A T G G G T K G A T G C C A A C T C A C T A T A C T A T G A G G T A T T A A T C C A T T T T M T C T G G K M T A T C C C T C T G A A A A G G A K A T T G C A T A C G T K T T A C G C A C C C G T C C C C G G T C T C A A T A T G M T A T T C T A C C C



Şekil 3.67. *Flavobacterium psychrophilum* sekans kromatogramı

Sekans sonuçları NCBI'daki referans *Flavobacterium psychrophilum* suşlarıyla benzerlik açısından karşılaştırılmıştır (Şekil 3.68). Yapılan karşılaştırmada *Flavobacterium psychrophilum* 16S ribosomal RNA (Sequence ID: KU212250.1) ile en yakın benzerlik gösterdiği belirlendi. Karşılaştırmada en yüksek benzerlik *Flavobacterium psychrophilum* 16S ribosomal RNA ile gözlemlenmiş ve benzerlik yüzdesi 700/700(100%), oluşan gap sayısı 0/700(0%) ve toplam puan 1293 bits (700) olarak hesaplandı. Benzerlik değerleri ve hizalama karşılaştırması verildi (Şekil 3.69).

◀ Edit Search

Save Search

Search Summary ▼

How to read this report?

BLAST Help Videos

Back to Traditional Results Page

Job Title Nucleotide Sequence

RID [OWPVB2VG013](#) Search expires on 04-05 15:48 pm [Download All](#) ▼

Program BLASTN [Citation](#) ▼

Database nt [See details](#) ▼

Query ID lcl|Query_7329493

Description None

Molecule type dna

Query Length 704

Other reports [Distance tree of results](#) [MSA viewer](#) ?

Filter Results

Organism only top 20 will appear

☐ exclude

Type common name, binomial, taxid or group name

+ Add organism

Percent Identity

E value

Query Coverage

to

to

to

Filter

Reset

Descriptions

Graphic Summary

Alignments

Taxonomy

Sequences producing significant alignments

Download ▼

Select columns ▼

Show 100 ▼

?

☐ select all 1 sequences selected

[GenBank](#)

[Graphics](#)

[Distance tree of results](#)

[MSA Viewer](#)

	Description ▼	Scientific Name ▼	Max Score ▼	Total Score ▼	Query Cover ▼	E value ▼	Per. Ident ▼	Acc. Len ▼	Accession
☒	Flavobacterium psychrophilum 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Flavobacterium psychrop...	966	966	96%	0.0	89.34%	837	KU212250.1
☐	Flavobacterium psychrophilum strain 5 genome	Flavobacterium psychrop...	966	5790	96%	0.0	89.34%	2848408	CP010274.2
☐	Flavobacterium psychrophilum strain MH1 genome	Flavobacterium psychrop...	966	5790	96%	0.0	89.34%	2847905	CP010275.2
☐	Flavobacterium psychrophilum strain PG2, complete genome	Flavobacterium psychrop...	966	5790	96%	0.0	89.34%	2850726	CP010276.2
☐	Flavobacterium psychrophilum strain VQ50 chromosome	Flavobacterium psychrop...	966	5790	96%	0.0	89.34%	2806870	CP010277.2
☐	Flavobacterium psychrophilum strain 3 chromosome	Flavobacterium psychrop...	966	5790	96%	0.0	89.34%	2805502	CP010278.2
☐	Flavobacterium psychrophilum strain 950106-1/1, complete genome	Flavobacterium psychrop...	966	966	96%	0.0	89.34%	2736292	CP008902.1
☐	Flavobacterium psychrophilum strain FPS-S6-R18 chromosome	Flavobacterium psychrop...	966	5790	96%	0.0	89.34%	2860537	CP095721.1
☐	Flavobacterium psychrophilum strain FPS-S6-R14 chromosome	Flavobacterium psychrop...	966	5790	96%	0.0	89.34%	2860588	CP095709.1

Şekil 3.68. Bir adet *Flavobacterium psychrophilum* sekans sonuçlarının NCBI'daki referans *Flavobacterium psychrophilum* suşlarıyla benzerlik açısından karşılaştırılması

Flavobacterium psychrophilum 16S ribosomal RNA gene, partial sequence

Sequence ID: [KU212250.1](#) Length: 837 Number of Matches: 1

Range 1: 5 to 686 [GenBank](#) [Graphics](#)

[Next Match](#) [Previous Match](#)

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
966 bits(523)	0.0	612/685(89%)	6/685(0%)	Plus/Minus
Query 22	TCAGCGTC-ATC-ATTTGTAAGKRACCTGCCTTCGCAATTGGTRTTC-AAGTAATCTCTA	78		
Sbjct 686	TCAGCGTCAATCAATTTGT-AGTAACCTGCCTTCGCAATTGGTATTCCATGTAATCTCTA	628		
Query 79	WGCATTTACCGCTACACTACATATTCYAGTYACTTCYAMWTWAYTCAAGMCMWRCAGTA	138		
Sbjct 627	AGCATTTACCGCTACACTACATATTCAGTTACTTCAAATAATTCAAGCCAAACAGTA	568		
Query 139	TCAATGGCCGTTCCATMGTTTRAGCKATGRGTTTTCACTGACTTATCTGKCCGCCTAC	198		
Sbjct 567	TCAATGGCCGTTCCATCGTTGAGCGATGGGCTTTCACTGACTTATCTGGCCGCCTAC	508		
Query 199	GGACCCCTTTAAACCCAATRAWTCGGATAACGCTTGSATCCTCCGTATTACCGCGGCTGC	258		
Sbjct 507	GGACCCCTTTAAACCCAATGATTCCGGATAACGCTTGGATCCTCCGTATTACCGCGGCTGC	448		
Query 259	TGGCACGGAGTTAGCCGATSCCTATTCTCACAGTACCGTCAAGYTCGGTCACGACCRARK	318		
Sbjct 447	TGGCACGGAGTTAGCCGATCCTTATTCTCACAGTACCGTCAAGCTCGGTACGACCGAGT	388		
Query 319	GTTTCTTCCTGTGCAAAAGMAGTTTACAATCCATAGGACCGTCATCCTGCACGCGGSATG	378		
Sbjct 387	GTTTCTTCCTGTGCAAAAGCAGTTTACAATCCATAGGACCGTCATCCTGCACGCGGCATG	328		
Query 379	GCTGGWTCAGGCTYKCGCCATTGACCAATATTCCTCACTGCTGCCTCCCGTAGGAGTCK	438		
Sbjct 327	GCTGGTTCAGGCTTGCGCCATTGACCAATATTCCTCACTGCTGCCTCCCGTAGGAGTCT	268		
Query 439	GGTCCGTGTCTCAGTACCAgggggggggATCTCCCTCTCAGGACCCCTACCCATCGTKGC	498		
Sbjct 267	GGTCCGTGTCTCAGTACCAAGTGTGGGGGATCTCCCTCTCAGGACCCCTACCCATCGTTGC	208		
Query 499	CTTGGKAAGCCGTTACCTTACCCAATAKCTAATGGKGCSCATGCTCATCTTTTACCGYK	558		
Sbjct 207	CTTGGTAAGCCGTTACCTTACC-AACTAGCTAATGGGACGCATGCTCATCTTTTACCGTT	149		
Query 559	GWGAYTTTAATAKTGWGGTKGATGCCAACTCACTATACTATGAGGTATTAATCCAWATTT	618		
Sbjct 148	GTGACTTTAATAGTGTGT-GATGCCAACTCACTATACTATGAGGTATTAATCCAAATTT	90		
Query 619	MTCTGGKMTATCCCTCTGWAAAAGGWAKATTGCATACGYKTYACGCACCCGYGCCCGGT	678		
Sbjct 89	CTCTGGGCTATCCCTCTGTAAAAGGTAGATTGCATACGCGTTACGCACCCGTGCGCCGT	30		
Query 679	CTCAAWMATKGMTATTCTACCCCTC	703		
Sbjct 29	CTCAATATTGCTATTCTACCCCTC	5		

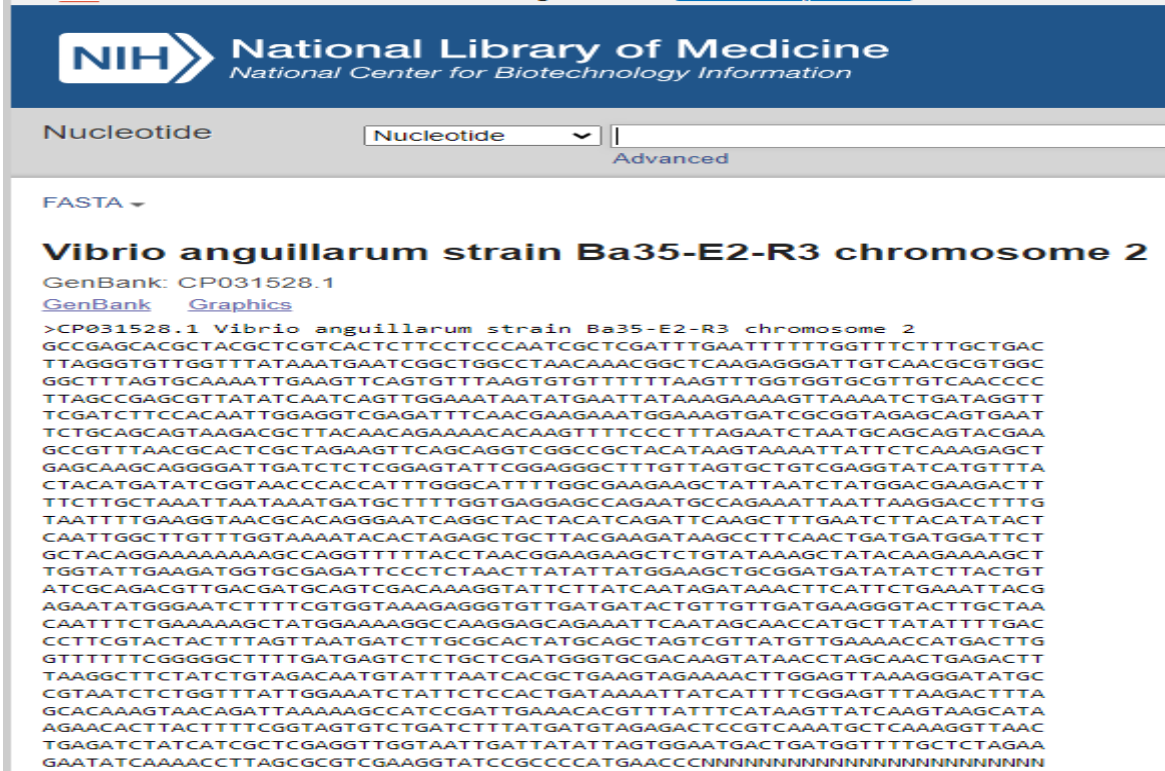
Şekil 3.69. *Flavobacterium psychrophilum* taksonunun hizalama (alignment) sonucu (Query: *Flavobacterium psychrophilum*, Sbjct: *Flavobacterium psychrophilum* 16S ribosomal RNA (Sequence ID: KU212250.1))

3.5.2.3. Vibriozis

Vibrio anguillarum suşlarından ileri okuma ile sekans analizi yapıldı. Sekansı sonucu elde edilen nükleotid dizisi Şekil 3.70.'de, *Vibrio anguillarum* Ba35-E2-R3 (Sequence ID: CP031528.1)'nın NCBI'dan alınan consensüs dizisi Şekil 3.71.'de verildi.

```
AAAGCCCCAGCCAAAAAATAGGCGGTCCACAAACCTAGTCGGACTAGTA
AAGCATTGTGAGCAGCAGAGGTATCGTTGTAAAACAGGGCAAAAATGAGC
AAGCCCGAGTACCGCAACAAGCCCCTAGATATCGTCCAAGTGTACGGCAT
GCTGGGGCATGAAATTGATTCTGATGTGGTACTTGTTTTCTTCAGTTGG
TGAAAAAGAAGCTATTACATTTGAACTTATTCGCTACCAACAACCTGCCGT
AAACTTGCCCGATACCTTTCTCAGTTTGCGATACTACGACTGACATATTA
AAGACCGGTAAACCATGAAACATCTGCTGGTAACGGACTATGACTTTACC
TTTTTGGAGGGTGACGCTTTTTACCCCCTGAAAGCCTTTTTGTGTGATGC
CAATACTGCTGACGAGA
```

Şekil 3.70. *Vibrio anguillarum* suşlarından ileri okuma ile 16S sekans hizalaması



NIH National Library of Medicine
National Center for Biotechnology Information

Nucleotide

FASTA ▾

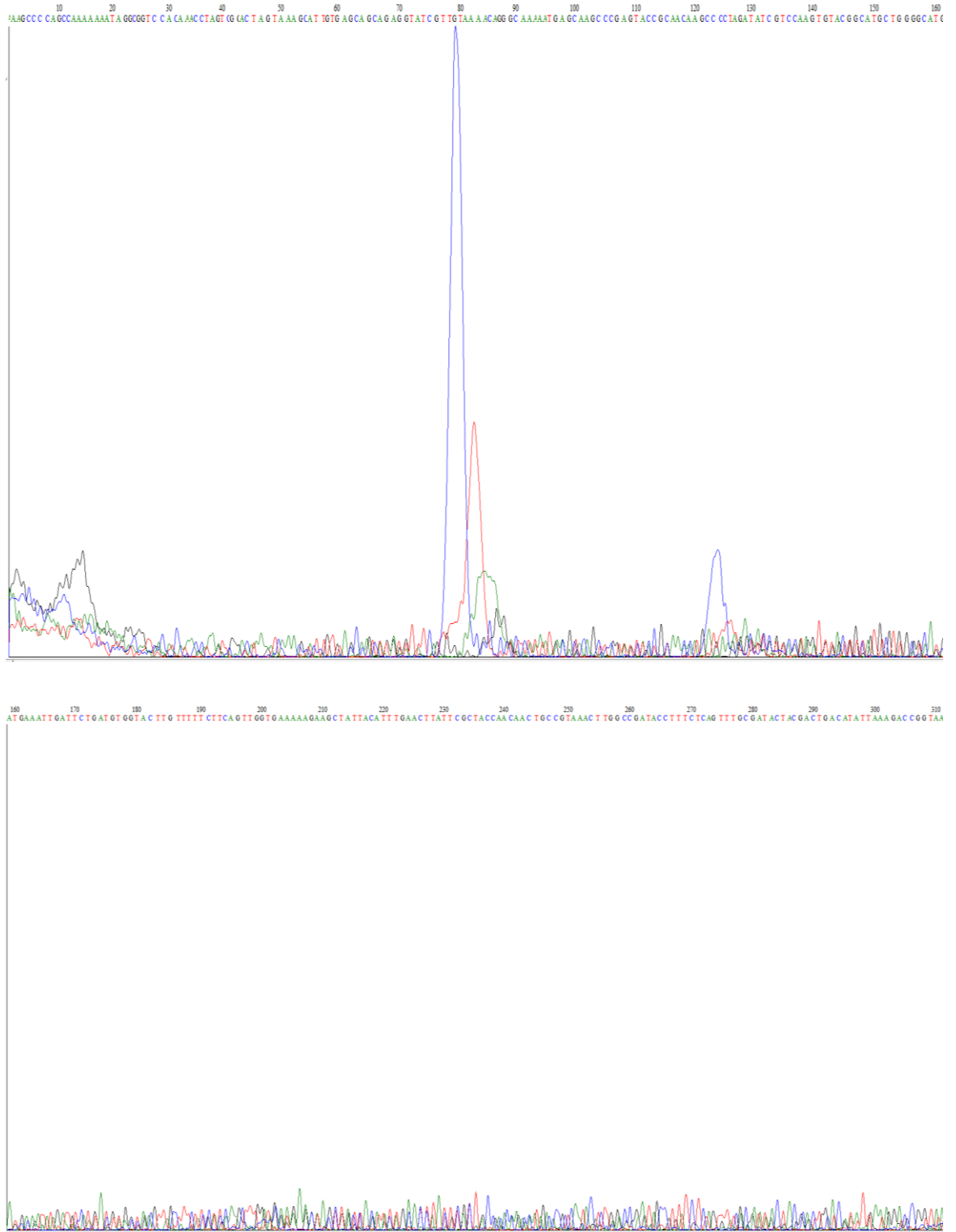
Vibrio anguillarum strain Ba35-E2-R3 chromosome 2

GenBank: CP031528.1
[GenBank](#) [Graphics](#)

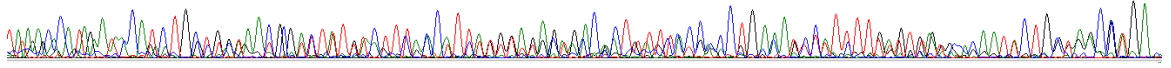
>CP031528.1 Vibrio anguillarum strain Ba35-E2-R3 chromosome 2
GCCGAGCACGCTACGCTCGTCACTCTTCCTCCCAATCGCTCGATTTGAATTTTGGTTTCTTTGCTGAC
TTAGGGTGTGGTTTATAAATGAATCGGCTGGCTTAACAAACGGCTCAAGAGGGATTGTCAACGCGTGGC
GGCTTTAGTGCAAAATTGAAGTTCAGTGTTTAAAGTGTGTTTTTAAAGTTTGGTGGTGCCTTGTCAACCCC
TTAGCCGAGCGTTATATCAATCAGTTGGAAATATATGAATTTAAAGAAAAAGTTAAATCTGATAGGTT
TCGATCTTCCACAATTGGAGGTGAGATTTCACGAAGAAATGGAAAGTGATCGCGGTAGAGCAGTGAAT
TCTGCAGCAGTAAGAGCTTACAAACAGAAAAACACAAGTTTCCCTTTAGAATCTAATGCAGCAGTACGAA
GCCGTTTAAACGCACTCGCTAGAAAGTTCAGCAGGTGCGCCGCTACATAAGTAAAAATTATTCTCAAAGAGCT
GAGCAAGCAGGGGATTGATCTCTCGGAGTATTCGGAGGGCTTTGTTAGTGCTGTGAGGTATCATGTTTA
CTACATGATATCGGTAAACCCACCATTTGGGCATTTTGGCGAAGAAAGCTATTAAATCTATGGACGAAGACTT
TTCTTGTCTAAATTAATAAATGATGCTTTTGGTGAGGAGCCAGAATGCCAGAAATTAATTAAGGACCTTTG
TAATTTTGAAGGTAACGCACAGGGAATCAGGCTACTACATCAGATTCAAGCTTTGAATCTTACATATACT
CAATTGGCTTGTTTGGTAAAAATACACTAGAGCTGCTTACGAAGATAAGCCTTCAACTGATGGATTCT
GCTACAGGAAAAAAGCCAGGTTTACCTAACGGAAGAGCTCTGTATAAAGCTATACAAAGAAAAAGCT
TGGTATTGAAGATGGTGCGAGATTCCCTCTAACTTATATTATGGAAGCTGCGGATGATATATCTTACTGT
ATCGCAGACGTTGACGATGCAGTCGACAAAGGTATTCTTATCAATAGATAAACTTCATTCTGAAATTACG
AGAAATGCGGAATCTTTTCGTGGTAAAGAGGGTGTGATGATGATGTTGTTGATGAAGGGTACTTGCTAA
CAATTTCTGAAAAAGCTATGGAAGGCAAGGAGCAGAAATTCATAGCAACCATGCTTATATTTTGAC
CCTTCGATCTACTTTAGTTAATGATCTTGCGCACTATGCAGCTAGTCTGTTATGTTGAAAAACCATGACTTG
GTTTTTTCGGGGGCTTTTGTAGTCTCTGCTCGATGGGTGCGACAAGTATAACCTAGCAACTGAGACTT
TAAGGCTTCTATCTGTAGACAAATGTATTTAATCACGCTGAAGTAGAAAACTTGGAGTTAAAGGGATATGC
CGTAATCTCTGGTTTATTGGAAATCTATTCTCCACTGATAAAATATCATTTTCGGAGTTTAAAGACTTTA
GCACAAAGTAACAGATTAAAAAGCCATCCGATTGAAACACGTTTATTTCATAAGTTATCAAGTAAGCATA
AGAACACTTACTTTTCGGTAGTGCTGATCTTTATGATGTAGAGACTCCGTCAAATGCTCAAAGGTTAAC
TGAGATCTATCATCGCTCGAGGTTGGTAATTGATTATATTAGTGAAGTACTGATGGTTTTGCTCTAGAA
GAATATCAAAACCTTAGCGCGTCAAGGTATCCGCCCATGAACCCNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN

Şekil 3.71. *Vibrio anguillarum* Ba35-E2-R3 (Sequence ID: CP031528.1)'nın NCBI'dan alınan consensüs dizisi

Vibrio anguillarum'un sekans piklerinin Bioedit Sequence Alignment Editor programı kullanılarak kromatogramları görüntülendi ve tek tek kontrolleri yapıldı (Şekil 3.72.).



310 320 330 340 350 360 370 380 390 400 410
TAAACCATGAAACATCTGCTGGTAACGGACTATGACTTTACCTTTTGGAGGGTGACGCTTTTACCCCTGAAAGCCTTTTGTGTGATGCCAATACTGCTGACGAGA



Şekil 3.72. *Vibrio anguillarum* sekans kromatogramı

Sekans sonuçları NCBI'daki referans *Vibrio anguillarum* suşlarıyla benzerlik açısından karşılaştırılmıştır (Şekil 3.73). Yapılan karşılaştırmada *Vibrio anguillarum* Ba35-E2-R3 (Sequence ID: CP031528.1) ile en yakın benzerlik gösterdiği izlendi. Karşılaştırmada en yüksek benzerlik *Vibrio anguillarum* Ba35-E2-R3 ile gözlemlendi ve benzerlik yüzdesi 150/166(90%), oluşan gap sayısı 2/166(1%) ve toplam puan 217 bits(117) olarak hesaplandı. Benzerlik değerleri ve hizalama karşılaştırması verilmiştir (Şekil 3.74).



National Library of Medicine
National Center for Biotechnology Information

Log in

BLAST® » blastn suite » results for RID-07PSA1XK013

HomeRecent ResultsSaved StrategiesHelp

Edit Search
Save Search
Search Summary

How to read this report?
BLAST Help Videos
Back to Traditional Results Page

Job Title: IONTEK_268451_M4268419_

RID: 07PSA1XK013
Search expires on 03-28 16:38 pm
Download All

Program: BLASTN
Citation

Database: nt
See details

Query ID: lcl|Query_4376681

Description: None

Molecule type: dna

Query Length: 417

Other reports:
Distance tree of results
MSA viewer

Filter Results

Organism
only top 20 will appear
☐ exclude

Type common name, binomial, taxid or group name

Add organism

Percent Identity
E value
Query Coverage

to
 to
 to

Filter
Reset

Descriptions
Graphic Summary
Alignments
Taxonomy

Sequences producing significant alignments
Download
Select columns
Show 100

☐ select all 1 sequences selected
GenBank
Graphics
Distance tree of results
MSA Viewer

	Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
☒	Vibrio anguillarum strain Ba35-E2-R3 chromosome 2	Vibrio anguillarum	217	217	39%	3e-51	90.36%	989371	CP031528.1
☐	Vibrio anguillarum strain Ba35-E2-R1 chromosome 2	Vibrio anguillarum	217	217	39%	3e-51	90.36%	991092	CP031524.1
☐	Vibrio anguillarum strain Ba35-E2-R4 chromosome 2	Vibrio anguillarum	217	217	39%	3e-51	90.36%	989209	CP031532.1
☐	Vibrio anguillarum strain Ba35-E2-2 chromosome 2	Vibrio anguillarum	217	217	39%	3e-51	90.36%	991066	CP031520.1
☐	Vibrio anguillarum strain 425 chromosome 2, complete sequence	Vibrio anguillarum	217	217	39%	3e-51	90.36%	1141928	CP020533.1
☐	Vibrio anguillarum strain ATCC-68554 chromosome 2, complete sequence	Vibrio anguillarum	217	217	39%	3e-51	90.36%	998051	CP023209.1
☐	Vibrio anguillarum strain 87-9-116 chromosome 2, complete sequence	Vibrio anguillarum	217	217	39%	3e-51	90.36%	1207658	CP021981.1
☐	Vibrio anguillarum chromosome 2, strain NB10, complete sequence	Vibrio anguillarum	217	217	39%	3e-51	90.36%	1187342	LK021129.1
☐	Vibrio anguillarum strain NB10-GFP chromosome 2, complete sequence	Vibrio anguillarum	217	217	39%	3e-51	90.36%	1187922	CP076068.1

Şekil 3.73. Bir adet *Vibrio anguillarum* sekans sonuçlarının NCBI'daki referans *Vibrio anguillarum* suşlarıyla benzerlik açısından karşılaştırılması

Database nt [See details](#) ▼
Query ID lcl|Query_4376681
Description None
Molecule type dna
Query Length 417
Other reports [Distance tree of results](#) [MSA viewer](#) ?

[+ Add organism](#)

Percent Identity
E value
Query Coverage

to
 to
 to

Filter Reset

Descriptions
Graphic Summary
Alignments
Taxonomy

Alignment view Pairwise ▼ ☐ CDS feature ? [Restore defaults](#) Download ▼

1 sequences selected ?

Download ▼ GenBank Graphics

▼ Next ▲ Previous ◀ Descriptions

Vibrio anguillarum strain Ba35-E2-R3 chromosome 2
Sequence ID: [CP031528.1](#) Length: 989371 Number of Matches: 1
Range 1: 399074 to 399238 [GenBank](#) [Graphics](#) ▼ Next Match ▲ Previous Match

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
217 bits(117)	3e-51	150/166(90%)	2/166(1%)	Plus/Plus

Query 245 TGCCGTAAACTTGGCCGATACCTTTCTCAGTTTGGGATACTACGACTGACATATTAAGA 304
|||||
Sbjct 399074 TGCCGTAAACTTGGCCGATACCTTTCTCAGTTTGGGATACTACGACTGACATATTAAGA 399133

Query 305 CCGGTA AACCATGAAACATCTGCTGGTAACGGACTATGACTTTACCTTTTGGAGGGTGA 364
|||||
Sbjct 399134 CCGGTA AACCATGATACATCTGCTGGTAACGGACTTTGACTTTACCATAGGTAGAGTGA 399193

Query 365 CGCTTTTACCCCTGAAAGCCTTTTGTGTGATGC-CAATACTGC 409
|||||
Sbjct 399194 CGCTTTTACCACTGAAAGCCATTTTGTGT-TGGCACAATACTGC 399238

Şekil 3.74. *Vibrio anguillarum* taksonunun hizalama (alignment) sonucu (Query: *Vibrio anguillarum*, Sbjct: *Vibrio anguillarum* Ba35-E2-R3 (Sequence ID: CP031528.1))

3.5.2.4. Laktokokkozis

Lactococcus garvieae suşlarından ileri okuma ile sekans analizi yapıldı. Sekan sonucu elde edilen nükleotid dizisi Şekil 3.75.'de, *Lactococcus garvieae* 1775 (Sequence ID: MT597623.1)'in NCBI'dan alınan consensüs dizisi Şekil 3.76.'de verildi.

CWTCTCGGGKYCYWWATWMWTGCSARGTCGAGCGAWGAKKAAAGATAGCT
TGCTATTTTTATGAAGAGCGGCGAACGGGTGAGTGAGGCGTGGGAAATCT
GCCGAGTAGCGGGGGACAACGTTTGGAAACGAACGCTAATACCGCATAAC
AATGAGAATCGCATGATTCTTATTTGAAAGAAGCAATTGCTTCACTACTT
GATGATCCCGCGTTGTATTAGCTAGTTGGTAGTGTAAGGACTACCAAGG
CGATGATACATAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACACTGGGACTGAG
ACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCGGCAATG
GGGGCAACCCTGACCGAGCAACGCCGCGTGAGTGAAGAAGGTTTTCGGAT
CGTAAAACTCTGTTGTTAGAGAAGAACGTTAAGTAGAGTGGAATAATTACT
TAAGTGACGGTATCTAACCAGAAAGGGACGGCTAACTACGTGCCAGCAGC
CGCGGTAATACGTAGGTCCMAAGCGTTGTRCGGATTTATTGGRCGTAAAG
CGAGCGCAGGTGGTTTCTTAAGTCTGATGTAAAAGGCAGTGGCTCAACCA
TTGTGTGCATTGGAAACTGGGAGACTTGAGTGCAGGAGAGGAGAGTGGAA
TTCCATGTGTAGCGGTGAAWGCGTAGATATATGGAGGAACACCGGAGGCG
AAAGCGGCTCTCTGGCCTGTAAMCTGAMACWGAAGGCTCGAAAAGCGTGG
GGAGCMAAAMAGGATTWARATACCCCTTRGTWGTMCACAA

Şekil 3.75. *Lactococcus garvieae* suşlarından ileri okuma ile 16S sekans hizalaması



Nucleotide

Nucleotide ▼

Advanced

FASTA ▼

Send

Lactococcus garvieae strain 1775 16S ribosomal RNA gene, partial sequence

GenBank: MT597623.1

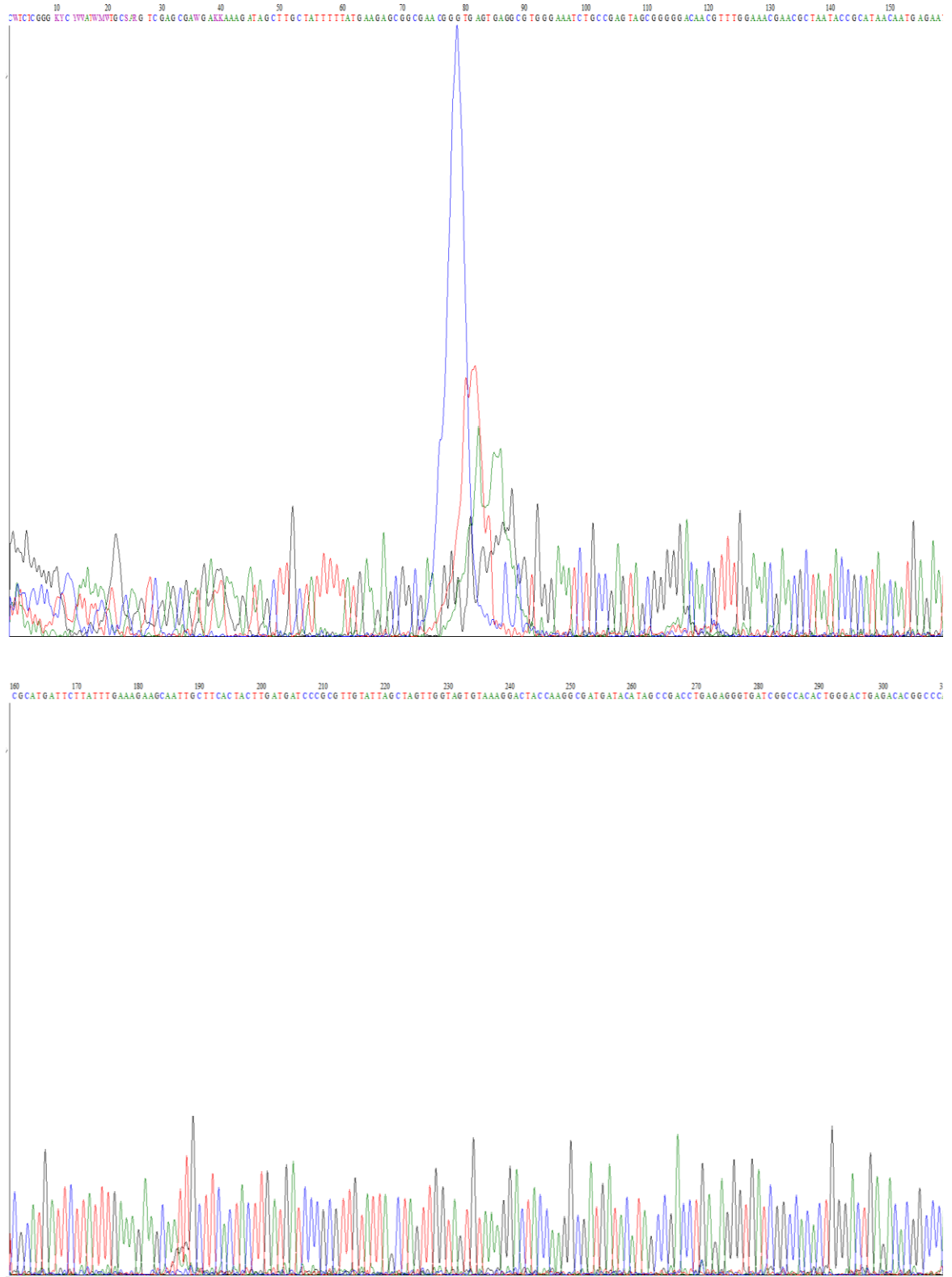
[GenBank](#) [Graphics](#)

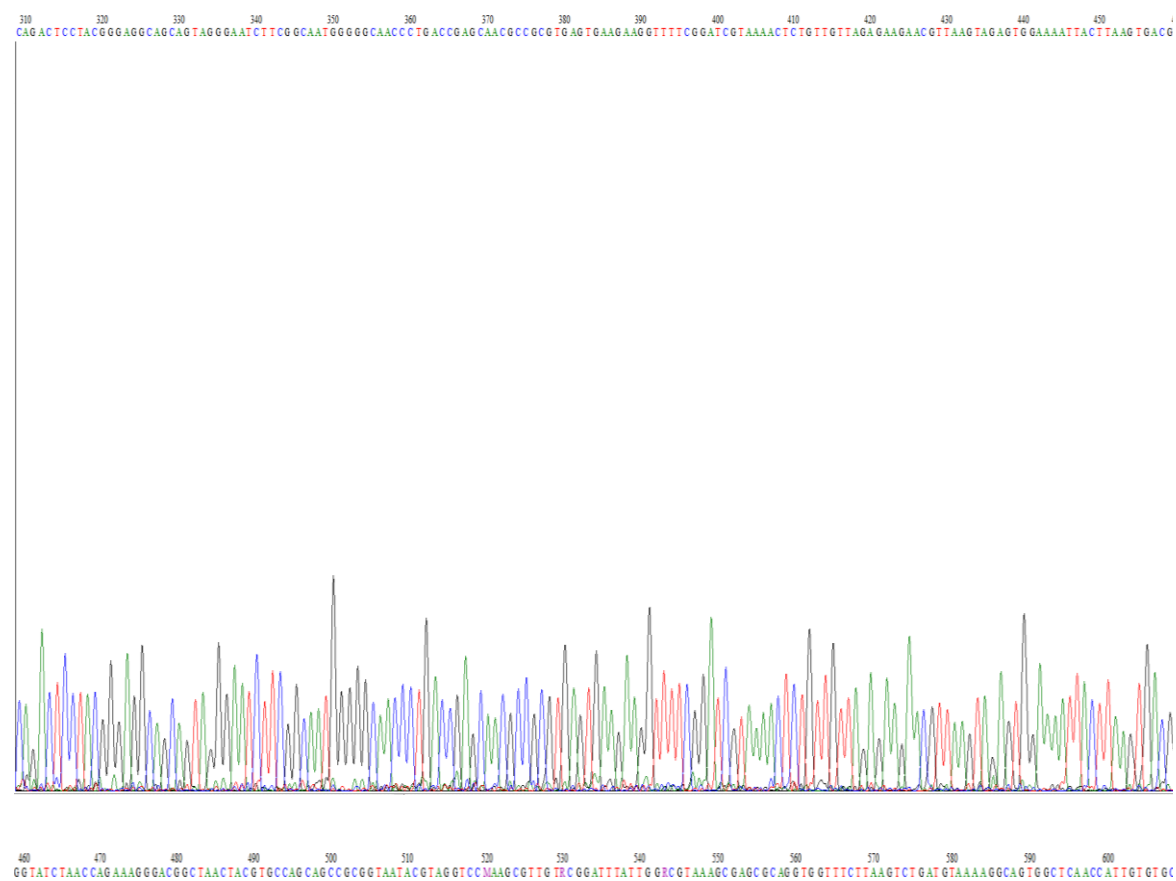
>MT597623.1 Lactococcus garvieae strain 1775 16S ribosomal RNA gene, partial sequence

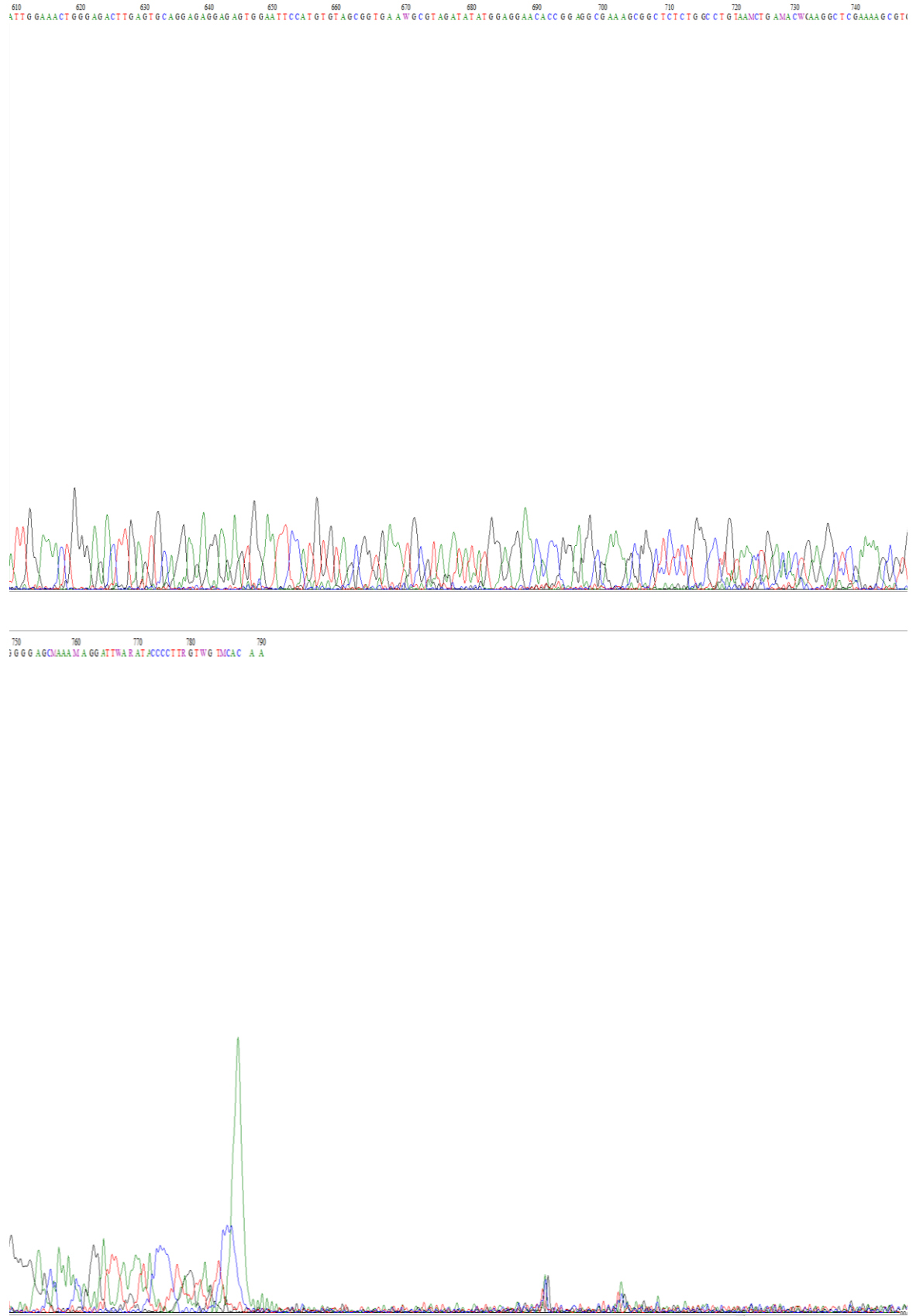
```
AAGGGGGGGGGGGTGCCTAATACATGCAGTCGAGCGATGATTAAGATAGCTTGCTATTTTATGAAGA
GCGGCGAACGGGTGAGTAACGCGTGGGAAATCTGCCGAGTAGCGGGGACAACGTTTGGAAACGAACGCT
AATACCGCATAACAATGAGAATCGCATGATTCTTATTTGAAAGAAGCAATTGCTTCACTACTTGATGATC
CCGCGTTGTATTAGCTAGTTGGTAGTGTAAAGGACTACCAAGGCGATGATACATAGCCGACCTGAGAGGG
TGATCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCGGCA
ATGGGGGCAACCTGACCGAGCAACGCCGCGTGAGTGAAGAAGGTTTTCGGATCGTAAACTCTGTTGTT
AGAGAAGAAGCTTAAGTAGAGTGGAAAATTACTTAAGTGACGGTATCTAACGAGAAAGGACGGCTAACT
ACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGTCCCAAGCGTTGTCCGGATTATTGGGCGTAAAGCGAGCGC
AGGTGGTTTCTTAAGTCTGATGTAAAAGGCAAGTGCGTCAACCATTTGTGTGATTGGAAACTGGGAGACTT
GAGTGCGAGAGAGGAGAGTGGAATCCATGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATATGGAGGAACACCGGA
GGCGAAAGCGGCTCTCTGGCCTGTAACGACTGAGGCTCGAAAGCGTGGGAGCAAAACAGGATTAGAT
ACCCTGGTAGTCCACGCCGTAACGATGAGTGCTAGCTGTAGGGAGCTATAAGTTCTCTGTAGCGCAGCT
AACGCATTAAGCACTCCGCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCG
CACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGTCTTGACATACTCGT
GCTATCCTTAGAGATAAGGAGTTCCTTCGGGACACGGGATACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGT
GTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCTTATTACTAGTTGCCATCATTAAAGTTGGG
CACTCTAGTGAGACTGCCGGTGATAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTTAT
GACCTGGGTACACACGTGCTACAATGGATGGTACAACGAGTCGCCAACCCGCGAGGGTGCCTAATCTC
TTAAACCATTCAGTTCGGATTGCAAGGCTGCAACTCGCCTGCATGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGC
GGATCAGCACGCCGCGGTGAATACGTTCCGGGCCCTGTACACCGCCGTCACACCAGGAAGTTGGG
AGTACCCAAAGTAGGTTGCCTAACCGCAAGGAGGGCGCTTCTAAAGGGT
```

Şekil 3.76. *Lactococcus garvieae* 1775 (Sequence ID: MT597623.1)'in NCBI'dan alınan consensüs dizisi

Lactococcus garvieae 'nın sekans piklerinin Bioedit Sequence Alignment Editor programı kullanılarak kromatogramları görüntülendi ve tek tek kontrolleri yapıldı (Şekil 3.77.).







Şekil 3.77. *Lactococcus garvieae* sekans kromatogramı

Sekans sonuçları NCBI'daki referans *Lactococcus garvieae* suşlarıyla benzerlik açısından karşılaştırılmıştır (Şekil 3.78). Yapılan karşılaştırmada *Lactococcus garvieae* 1775 (Sequence ID: MT597623.1) ile en yakın benzerlik gösterdiği belirlendi. Karşılaştırmada en yüksek benzerlik *Lactococcus garvieae* 1775 ile gözlemlenmiş ve benzerlik yüzdesi 700/700(100%), oluşan gap sayısı 0/700(0%) ve toplam puan 1293 bits (700) olarak hesaplandı. Benzerlik değerleri ve hizalama karşılaştırması verildi (Şekil 3.79).

National Library of Medicine
National Center for Biotechnology Information

Log in

BLAST® » blastn suite » results for RID-04Y4P1PP016

Home Recent Results Saved Strategies Help

Edit Search
Save Search
Search Summary

How to read this report?
BLAST Help Videos
Back to Traditional Results Page

Job Title Nucleotide Sequence

RID 04Y4P1PP016 Search expires on 03-27 15:26 pm Download All

Program BLASTN Citation

Database nt See details

Query ID lcl|Query_6631107

Description None

Molecule type dna

Query Length 790

Other reports Distance tree of results MSA viewer

Filter Results

Organism only top 20 will appear ☐ exclude

Type common name, binomial, taxid or group name

Add organism

Percent Identity E value Query Coverage

to
 to
 to

Filter Reset

Descriptions
Graphic Summary
Alignments
Taxonomy

Sequences producing significant alignments
Download Select columns Show 100

☐ select all 1 sequences selected

GenBank
Graphics
Distance tree of results
MSA Viewer

Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
☒ Lactococcus garvieae strain 1775 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Lactococcus gar...	1293	1293	94%	0.0	97.47%	1450	MT597623.1
☐ Lactococcus garvieae strain 829 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Lactococcus gar...	1293	1293	94%	0.0	97.47%	1458	MT585528.1
☐ Lactococcus garvieae strain 826 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Lactococcus gar...	1293	1293	94%	0.0	97.47%	1440	MT585526.1
☐ Lactococcus garvieae strain 1358 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Lactococcus gar...	1293	1293	94%	0.0	97.47%	1445	MT573780.1
☐ Lactococcus garvieae strain 1158 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Lactococcus gar...	1293	1293	94%	0.0	97.47%	1446	MT573633.1
☐ Lactococcus garvieae strain 1157 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Lactococcus gar...	1293	1293	94%	0.0	97.47%	1445	MT573632.1

Şekil 3.78. Bir adet *Lactococcus garvieae* sekans sonuçlarının NCBI'daki referans *Lactococcus garvieae* suşlarıyla benzerlik açısından karşılaştırılması

[Download](#) [GenBank](#) [Graphics](#)

Lactococcus garvieae strain 1775 16S ribosomal RNA gene, partial sequence

Sequence ID: [MT597623.1](#) Length: 1450 Number of Matches: 1

Range 1: 57 to 756 [GenBank](#) [Graphics](#)

[Next Match](#) [Prev](#)

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
1293 bits(700)	0.0	700/700(100%)	0/700(0%)	Plus/Plus
Query 1	TATTTTATGAAGAGCGGCGAACGGGTGAGTAACGCGTGGGAAATCTGCCGAGTAGCGGG	60		
Sbjct 57	TATTTTATGAAGAGCGGCGAACGGGTGAGTAACGCGTGGGAAATCTGCCGAGTAGCGGG	116		
Query 61	GGACAACGTTTGGAAACGAACGCTAATACCGCATAACAATGAGAATCGCATGATTCTTAT	120		
Sbjct 117	GGACAACGTTTGGAAACGAACGCTAATACCGCATAACAATGAGAATCGCATGATTCTTAT	176		
Query 121	TTGAAAGGAAAGCAATTGCTTCACTACTTGATGATCCCGCGTTGTATTAGCTAGTTGGTAGT	180		
Sbjct 177	TTGAAAGGAAAGCAATTGCTTCACTACTTGATGATCCCGCGTTGTATTAGCTAGTTGGTAGT	236		
Query 181	GTAAAGGACTACCAAGGCGATGATACATAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACACTGG	240		
Sbjct 237	GTAAAGGACTACCAAGGCGATGATACATAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACACTGG	296		
Query 241	GACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCGGCAATGGGG	300		
Sbjct 297	GACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCGGCAATGGGG	356		
Query 301	GCAACCCTGACCGAGCAACGCCGCGTGAGTGAAGAAGGTTTTCGGATCGTAAACTCTGT	360		
Sbjct 357	GCAACCCTGACCGAGCAACGCCGCGTGAGTGAAGAAGGTTTTCGGATCGTAAACTCTGT	416		
Query 361	TGTTAGAGAAGAACGTTAAGTAGAGTGGAAAATTACTTAAGTGACGGTATCTAACCAGAA	420		
Sbjct 417	TGTTAGAGAAGAACGTTAAGTAGAGTGGAAAATTACTTAAGTGACGGTATCTAACCAGAA	476		
Query 421	AGGGACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTCCCAAGCGTTGTCCGG	480		
Sbjct 477	AGGGACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTCCCAAGCGTTGTCCGG	536		
Query 481	ATTTATTGGGCGTAAAGCGAGCGCAGGTGGTTTCTTAAGTCTGATGTAAAAGGCAGTGGC	540		
Sbjct 537	ATTTATTGGGCGTAAAGCGAGCGCAGGTGGTTTCTTAAGTCTGATGTAAAAGGCAGTGGC	596		
Query 541	TCAACCATTGTGTGCATTGGAAACTGGGAGACTTGAGTGACAGGAGAGGAGAGTGGAAATTC	600		
Sbjct 597	TCAACCATTGTGTGCATTGGAAACTGGGAGACTTGAGTGACAGGAGAGGAGAGTGGAAATTC	656		
Query 601	CATGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATATGGAGGAACACCGAGGCGAAAGCGGCTCTC	660		
Sbjct 657	CATGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATATGGAGGAACACCGAGGCGAAAGCGGCTCTC	716		
Query 661	TGGCCTGTAAGTGAAGTGAAGTGAAGTGAAGTGAAGTGAAGTGAAGTGAAGTGAAGTGAAGT	700		
Sbjct 717	TGGCCTGTAAGTGAAGTGAAGTGAAGTGAAGTGAAGTGAAGTGAAGTGAAGTGAAGTGAAGT	756		

Şekil 3.79. *Lactococcus garvieae* taksonunun hizalama (alignment) sonucu (Query: *Lactococcus garvieae*, Sbjct: *Lactococcus garvieae* 1775 (Sequence ID: MT597623.1))

3.5.2.5. Motil *Aeromonas* Septisemi (MAS)

Aeromonas sobria suşlarından ileri okuma ile sekans analizi yapıldı. Sekansı sonucu elde edilen nükleotid dizisi Şekil 3.80.'de, *Aeromonas sobria* Til3 (Sequence ID: MT384381.1)'nın NCBI'dan alınan consensüs dizisi Şekil 3.81.'de verildi.

TCGMCTGAGCGTMGTCTTTGTCATGTGCGCCTAGCACGGTATTCTAGACG
CCCTTTCCCGCTAYCCGGAATTCTACCCCCCTAAAGSTCTAGCTGAACAG
TTTTAAATGCAATTCCCAGGTTGAGCCCGGGGCTTTCACATCTAACTTAT
CCAACCGCCTGCGTGCGCTTTACGCCCAGTAATTCCGATTAACGCTTGCA
CCCTCCGTATTACCGCGGCTGCTGGCACGGAGTTAGCCGGTGCTTCTTCT
GCGAGTAACGTCACAGCTGACAGATATTAGCTGCCAACCTTTCCTCCTCG
CTGAAAGTGCTTTACAACCCGAAGGCCTTCTTCACACACGCGGCATGGCT
GCATCAGGGTTTCCCCCATTGTGCAATATTCCCCACTGCTGCCTYYYKWT
KKAGTCTGGACCGTGTCTCAGTTCCAGTGTGGCTGATCATCCTCTCAGAC
CAGCTAGGGATCGTCGCCTTGGTGAGCCATTACCCACCAACTAGCTAAT
CCCACCTGGGTTCATCCAATCGCGAAAGGCCCGAAGGTCCCCTCCTTTCC
CCCGTAGGGCGTATGCGGTATTAGCAGTCGTTTCCAAGTGTATCCCCCT
CGACTGGGCAGATCCCCAAGCATTACTACCCGTCCGCCGCTCGCCGMA
AAAGTAGCAAGCTACTTTTCCCGCWGCCGCWCGACTTGMATGTGTWAGGC
CTGCCGCCAGCGTTCAATCTKGAGCCATGGAATCAAAMMATAT

Şekil 3.80. *Aeromonas sobria* suşlarından ileri okuma ile 16S sekans hizalaması

Aeromonas sobria strain Til3 16S ribosomal RNA gene, partial sequence

GenBank: MT384381.1

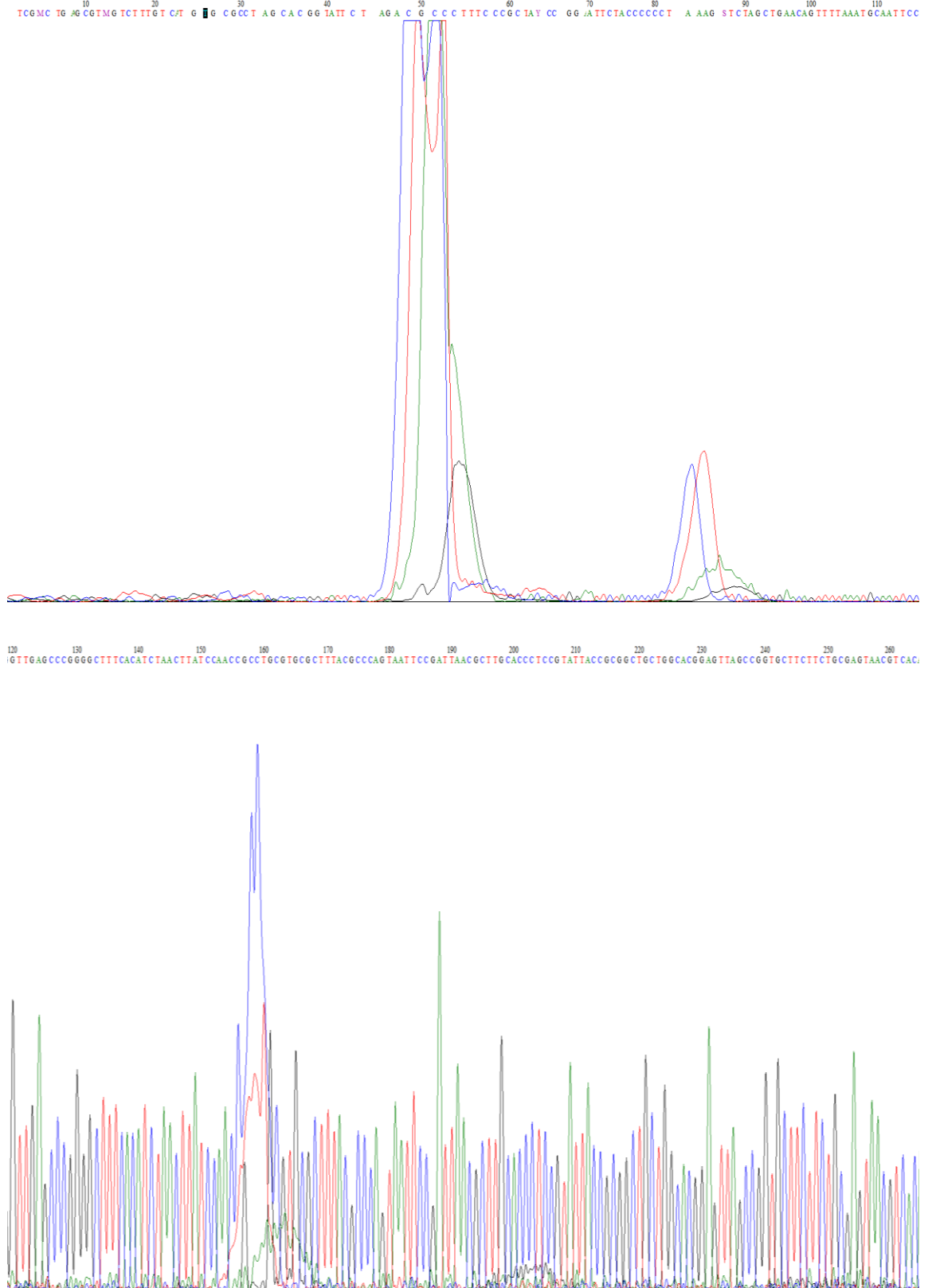
[GenBank](#) [Graphics](#)

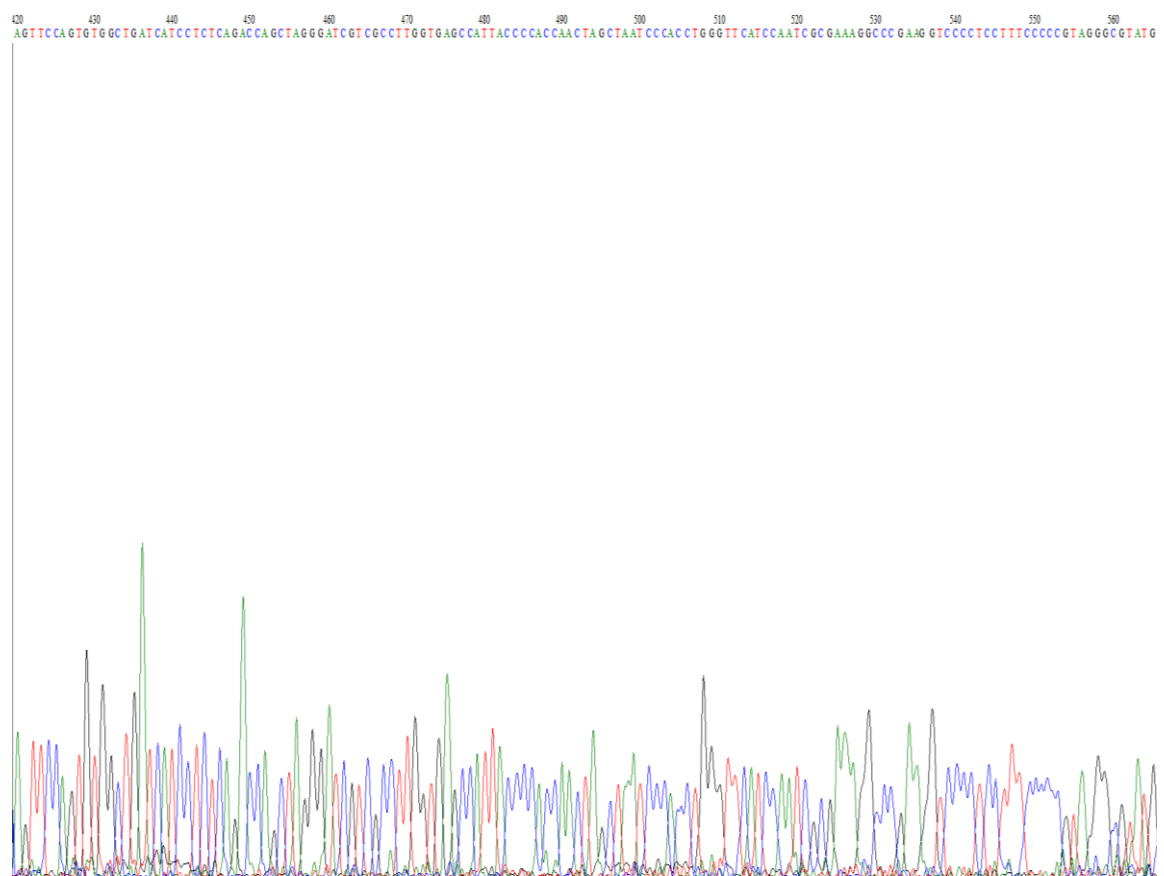
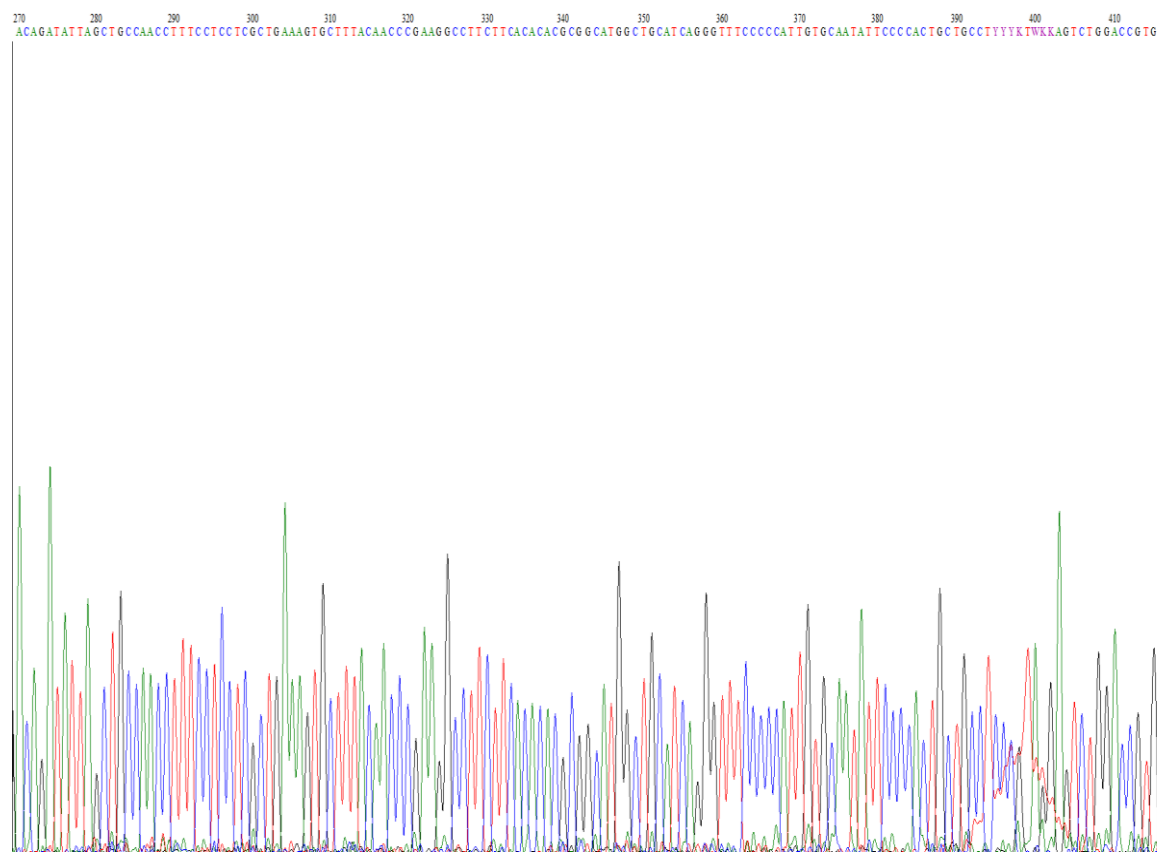
>MT384381.1 Aeromonas sobria strain Til3 16S ribosomal RNA gene, partial sequence

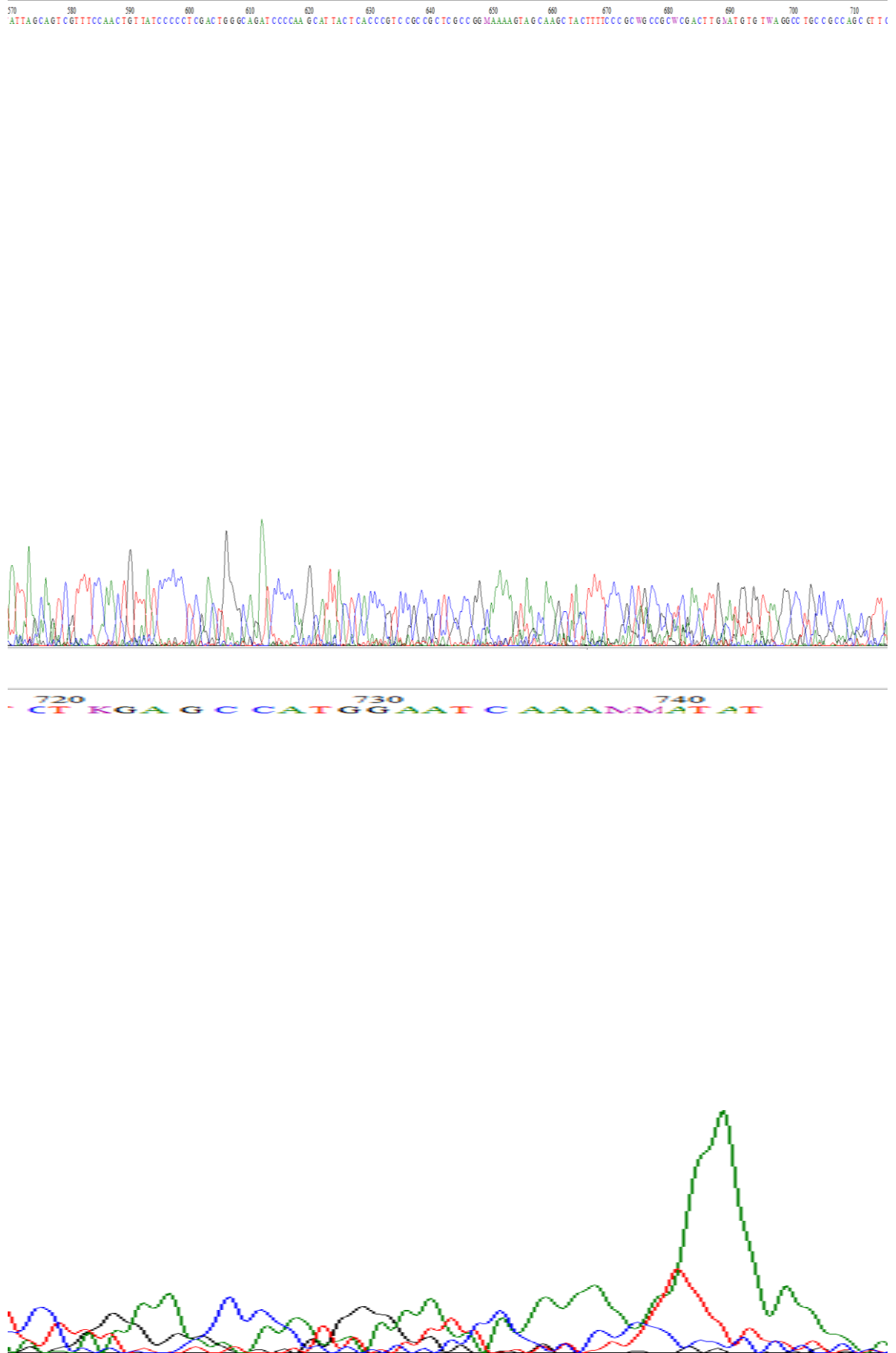
```
GAGTTTGATCATGGCTCAGATTGAACGCTGGCGGCAGGCCTAACACATGCAAGTCGAGCGGCAGCGGGAA
AGTAGCTTGCTACTTTTGGCGGCGAGCGGCGGACGGGTGAGTAATGCCCTGGGATCTGCCAGTCGAGGG
GGATAACAGTTGGAAACGACTGCTAATACCGCATACGCCCTACGGGGGAAAGGAGGGGACCTTCGGGCCT
TTCGCGATTGGATGAACCCAGGTGGGATTAGCTAGTTGGTGGGGTAATGGCTACCAAGGCGACGATCCC
TAGCTGGTCTGAGAGGATGATCAGCCACTGGAAGTGAAGACCGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCA
GTGGGGAATATTGCACAATGGGGGAAACCTGATGCAGCCATGCCGCGTGTGTGAAGAAGGCCTTCGGGT
TGTAAGCACTTTGAGCGAGGAGGAAAGGTTGGCAGCTAATATCTGTCAGCTGTGACGTTACTCGCAGAA
GAAGCACC GGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGGAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTG
GGCGTAAAGCGCACGCGAGGCGGTTGGATAAGTTAGATGTGAAAGCCCCGGGCTCAACCTGGGAATTGCAT
TTAAACTGTTGAGCTAGAGTCTTGTAGAGGGGGGTAGAATTCAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGA
TCTGGAGGAATACCGTGGCGAAGCGGCCCCCTGGACAAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGG
AGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCGTAAACGATGTCGATTTGGAGGCTGTGTCCTTGAG
ACGTGGCTTCGGAGCTAACGCCGTTAAATCGACCGCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAACTCAAAT
GAATTGACGGGGCCCGCAACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCCTACCT
GGCCTTGACATGTCTGGAATCCTGCAGAGATACGGGAGTGCCTTCGGGAATCAGAACACAGGTGCTGCAT
GGCTGTCGTCAGTCTGTGTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTGTCCTTTGTT
GCCAGCAGTAATGGTGGGAATCAAGGGGAGTGCCTGGTATAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTC
AAGTCATCATGGCCCTTACGGCCAGGGCTACACAGTGTACAATGGCGGTACAGAGGGCTGCAAGCTA
GCGATAGTGAGCGAATCCCAAAAGCGCGTGTAGTCCGGATCGGAGTCTGCAACTCGACTCCGTGAAGT
CGGAATCGCTAGTAATCGCAATCAGAATGTTGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGACACACCGCCCG
TCACACCATGGGAGTGGGTTGCCACAGAAGTAGATAGCTTAACCTTCGGGAGGGCGTTTACCACGGTGTG
ATTCATGACTGGGGTGAAGTCGTAACAAGGTAA
```

Şekil 3.81. *Aeromonas sobria* Til3 (Sequence ID: MT384381.1)'nin NCBI'dan alınan consensüs dizisi

Aeromonas sobria'nın sekans piklerinin Bioedit Sequence Alignment Editor programı kullanılarak kromatogramları görüntüledi ve tek tek kontrolleri yapıldı (Şekil 3.82.).







Şekil 3.82. *Aeromonas sobria* sekans kromatogramı

Sekans sonuçları NCBI'daki referans *Aeromonas sobria* suşlarıyla benzerlik açısından karşılaştırılmıştır (Şekil 3.83). Yapılan karşılaştırmada *Aeromonas sobria* Til3 (Sequence ID: MT384381.1) ile en yakın benzerlik gösterdiği izlendi. Karşılaştırmada en yüksek benzerlik *Aeromonas sobria* Til3 ile gözlemlendi ve benzerlik yüzdesi 665/691(96%), oluşan gap sayısı 11/691(1%) ve toplam puan 1146 bits(620) olarak hesaplandı. Benzerlik değerleri ve hizalama karşılaştırması verilmiştir (Şekil 3.84).

Job Title

Nucleotide Sequence

RID

[H5R84PMP016](#)
Search expires on 09-27 21:30 pm
[Download All](#)

Program

BLASTN [Citation](#)

Database

nt [See details](#)

Query ID

lcl|Query_73173

Description

None

Molecule type

dna

Query Length

743

Other reports

[Distance tree of results](#)
[MSA viewer](#)

Filter Results

Organism

only top 20 will appear

☐ exclude

[+ Add organism](#)

Percent Identity

E value

Query Coverage

to

to

to

[Filter](#)

[Reset](#)

Descriptions

Graphic Summary

Alignments

Taxonomy

Sequences producing significant alignments

[Download](#)
[Select columns](#)
Show

☐ select all 1 sequences selected

[GenBank](#)
[Graphics](#)
[Distance tree of results](#)
[MSA Viewer](#)

	Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
☒	Aeromonas sobria strain Til3 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Aeromonas sobria	1146	1146	92%	0.0	96.24%	1503	MT384381.1
☐	Aeromonas sobria strain KR4-29 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Aeromonas sobria	1146	1146	92%	0.0	96.24%	1501	MN752404.1
☐	Aeromonas sobria strain TL10 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Aeromonas sobria	1146	1146	92%	0.0	96.24%	1503	MN493077.1
☐	Aeromonas sp. CU5 chromosome, complete genome	Aeromonas sp. ...	1146	11449	92%	0.0	96.24%	4615599	CP023817.1
☐	Aeromonas sobria strain sob11204 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Aeromonas sobria	1146	1146	92%	0.0	96.24%	1458	OQ625324.1
☐	Aeromonas sobria strain sob11203 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Aeromonas sobria	1146	1146	92%	0.0	96.24%	1458	OQ625323.1

Şekil 3.83. Bir adet *Aeromonas sobria* sekans sonuçlarının NCBI'daki referans *Aeromonas sobria* suşlarıyla benzerlik açısından karşılaştırılması

Aeromonas sobria strain Til3 16S ribosomal RNA gene, partial sequence

Sequence ID: [MT384381.1](#) Length: 1503 Number of Matches: 1

Range 1: 4 to 690 [GenBank](#) [Graphics](#)

▼ [Next Match](#) ▲ [Previous Match](#)

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
1146 bits(620)	0.0	665/691(96%)	11/691(1%)	Plus/Minus
Query 54	TTTC-CCGCTA-YCC-GGAATTCTA-CCCC-CTA-AAG-STCTAGCTGAACAGTTTTAA	106		
Sbjct 690	TTTCACCGCTACACCTGGAATTCTACCCCCCTCTACAAGACTCTAGCTGAACAGTTTTAA	631		
Query 107	ATGCAATTCCCAGGTTGAGCCCGGGGCTTTTACATCTAACTTATCCAACCGCTGCGTGC	166		
Sbjct 630	ATGCAATTCCCAGGTTGAGCCCGGGGCTTTTACATCTAACTTATCCAACCGCTGCGTGC	571		
Query 167	GCTTTACGCCCAGTAATTCCGATTAAACGCTTGCAACCTCCGTATTACCGCGGCTGCTGGC	226		
Sbjct 570	GCTTTACGCCCAGTAATTCCGATTAAACGCTTGCAACCTCCGTATTACCGCGGCTGCTGGC	511		
Query 227	ACGGAGTTAGCCGGTGCTTCTTCTGCGAGTAACGTCACAGCTGACAGATATTAGCTGCCA	286		
Sbjct 510	ACGGAGTTAGCCGGTGCTTCTTCTGCGAGTAACGTCACAGCTGACAGATATTAGCTGCCA	451		
Query 287	ACCTTTCCTCCTCGCTGAAAGTGCTTTACAACCCGAAGGCCTTCTTCACACACGCGGCAT	346		
Sbjct 450	ACCTTTCCTCCTCGCTGAAAGTGCTTTACAACCCGAAGGCCTTCTTCACACACGCGGCAT	391		
Query 347	GGCTGCATCAGGGTTTCCCCATTGTGCAATATTCCTCACTGCTGCTTYYKTHKKAGTC	406		
Sbjct 390	GGCTGCATCAGGGTTTCCCCATTGTGCAATATTCCTCACTGCTGCTTCCCGTAGGAGTC	331		
Query 407	TGGACCGTGTCTCAGTTCCAAGTGTGGCTGATCATCCTCTCAGACCAGCTAGGGATCGTCG	466		
Sbjct 330	TGGACCGTGTCTCAGTTCCAAGTGTGGCTGATCATCCTCTCAGACCAGCTAGGGATCGTCG	271		
Query 467	CCTTGGTGAGCCATTACCCACCAACTAGCTAATCCACCTGGGTTTCATCCAATCGCGAA	526		
Sbjct 270	CCTTGGTGAGCCATTACCCACCAACTAGCTAATCCACCTGGGTTTCATCCAATCGCGAA	211		
Query 527	AGGCCCCGAAGGTCCCTCCTTTCCCCCGTAGGGCGTATGCGGTATTAGCAGTCGTTTCCA	586		
Sbjct 210	AGGCCCCGAAGGTCCCTCCTTTCCCCCGTAGGGCGTATGCGGTATTAGCAGTCGTTTCCA	151		
Query 587	ACTGTTATCCCCCTCGACTGGGCAAGTATCCCAAGCATTACTCACCCTCCGCCGCTCGCC	646		
Sbjct 150	ACTGTTATCCCCCTCGACTGGGCAAGTATCCCAAGCATTACTCACCCTCCGCCGCTCGCC	91		
Query 647	GGMAAAAGTAGCAAGCTACTTTTCCCGCAGCCGCGACCTTGMATGTGTWAGGCCTGCCG	706		
Sbjct 90	GGCAAAAGTAGCAAGCTACTTT-CCCGCTGCCGCTCGACTTGCATGTGTWAGGCCTGCCG	32		
Query 707	CCAGCGTTCAATCTKGAGCCATGGAATCAAA	737		
Sbjct 31	CCAGCGTTCAATCT-GAGCCATG-A-TCAAA	4		

Şekil 3.84 Şekil 3.64. *Yersinia ruckeri* taksonunun hizalama. *Aeromonas sobria* taksonunun hizalama (alignment) sonucu (Query: *Aeromonas sobria*, Sbjct: *Aeromonas sobria* Til3 (Sequence ID: MT384381.1))

4. TARTIŞMA

Bu araştırmada; Diyarbakır ilinde Ocak 2019 ve Ocak 2022 tarihleri arasında 12 farklı alabalık işletmelerinden 360 adet Gökkuşluğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) hastalık belirtisi gösteren 0,5-300 g ağırlıklarındaki canlı balıkların göz, karaciğer, dalak, böbrek, bağırsak ve deri dokularında patojenlerin bilinen klasik kültür yöntemiyle izolasyonu ve Biolog Sistemi (The biolog GENIII micro plate) ile fenotipik özelliklerine göre identifikasyonu gerçekleştirildi. Ayrıca PCR (Polymerase Chain Reaction) ve sekans analizi yardımıyla moleküler tanımlamasının yapıldı. BIOLOG GEN III otomatik tanılama sistemi, PCR (Polymerase Chain Reaction) ve sekans analizi sonuçlarına göre *Yersinia ruckeri*, *Flavobacterium psychrophilum*, *Vibrio anguillarum* *Lactococcus garviae* ve *Aeromonas sobria* olduğu belirlendi.

Yersinia ruckeri varlığının Diyarbakır bölgesindeki günümüzdeki durumunu ortaya koymayı amaçlayan bu çalışmada, su ısındıkça hastalığı taşıyan balıklarda hastalık etkileri görülmeye başlamış, hastalıklı balıkla sağlıklı balığı morfolojik olarak ayırt etmek kolaylaşmıştır. Su sıcaklığının artması ile birlikte hastalık taşıyan balıklarda belirtiler artmıştır. Laboratuvar çalışmaların da da suların ısınması ile birlikte *Y.ruckeri* varlığı tespit sayısı artmıştır. Özellikle su sıcaklıklarının arttığı Haziran, Temmuz aylarında daha yüksek oranda izole edilmiştir. Bu durum sıcaklık artışı ile hastalığın görülme sıklığı arasındaki ilişkiyi desteklemektedir. Scallan (1983), yaptığı çalışmada, *Yersinia ruckeri* salgınlarının su sıcaklıklarının arttığı dönemde arttığını belirtmiştir.

Alınan numunelerin birçoğunda, yüzgeçler, ağız, göz, operkulum çevresinde kızarıklıklar, hemorojiler görülmüştür ve yapılan analizleri sonucunda *Yersinia ruckeri* tespiti yapılmıştır. Bu durum, Yersiniozis çeşitli doku ve organlarda hemorajik zonların oluşması ile karakterize bir hastalıktır ve hastalık genel hemorojik septisemi bulgularıyla seyreder. Özellikle çene etrafı, ağız boşluğu, yüzgeç tabanları ve anüste subkutan hemorojiler görülür (Bullock ve Snieszko, 1975; Fuhrman ve ark., 1983) şeklindeki açıklamayı doğrulamaktadır.

Bazı çiftliklerden morfolojik belirti gösteren numune bulunamadığı için rastgele numune alınmıştır ancak analizi sonucunda *Yersinia ruckeri* teşhis edilmiştir. Bu durum, Diler ve ark. (1998), yaptıkları bir çalışmada Fethiye bölgesindeki bazı alabalık işletmelerinde hastalığa özgü klinik belirti göstermeyen balıkların iç organlarından *Yersinia ruckeri* izole etmişlerdir. Ayrıca Kılıç ve ark. (2007)'nın yaptıkları bir çalışmada da

yersiniozis bakımından herhangi bir belirti göstermeyen balıklardan bakterinin izolasyonu gerçekleştirilmiştir, şeklindeki araştırmaları desteklemektedir.

Yersinia ruckeri'nin neden olduğu yersiniozis gökkuşağı alabalığı yetiştiriciliği yapılan tesislerde yüksek mortalite ile seyreden ve ciddi ekonomik kayıplara neden olan bir hastalıktır (Austin ve Austin, 1993). Özellikle yavru döneminde % 75'lara ulaşan mortaliteye neden olmaktadır (Tanrıku, 1994).

Hastalığın ortaya çıkmasında strese neden olan ortamın organik kirliliği, ısı, yoğun stoklama, elle temas ve oksijen yetersizliği gibi faktörlerin rolü olduğu tespit edilmiştir (Bullock ve Snieszko, 1975). Yaptığımız araştırmada, aşırı derecede suyun bulanık, su sıcaklığı artan, aşırı stoklanmış balık çiftliklerinde *Yersinia ruckeri* daha çok izole edilmiştir.

Stres şartlarına bağlı olarak değişmekle birlikte hastalık su ısısının aniden yükselmeye başladığı bahar aylarında ve genç hayvanlarda genellikle perakut ve akut, su ısısının düştüğü sonbahar aylarında ve 1 yaşındaki balıklarda ise kronik seyirlidir (Collins ve ark. 1996; Willumsen, 2006). Yaptığımız çalışmada özellikle bahar döneminde *Yersinia ruckeri* sebebiyle balık ölümlerinin artması bu çalışmayı desteklemektedir. Scallan (1983), bakteriyel salgınların hem su sıcaklıklarının artması hem de su sıcaklıklarındaki ani değişikliklerle balıkların strese girmesi sonucunda meydana geldiğini belirtmiştir.

Austin ve Austin (1993) ve Cabello (2006), izole edilen bakteriyel etkenlerin suyun normal mikroflorasında bulunabileceğini ancak başta mevsimlere bağlı olarak su sıcaklık değerlerinde meydana gelen ani değişiklikler ile hijyenik kusurlar, üretim alanında yoğun balık olması ve temiz bariyerlerinin olmaması gibi stresin artmasına yol açan durumlarda hastalıkların görülme sıklığının arttığını bildirmişlerdir.

Genelde bakteriyel enfeksiyon balıkların fizyolojik olarak stresli olduğu durumlar ile hijyen şartlarının kötü olduğu dönemlerde meydana gelir. Aşırı stoklama, düşük oksijen ve kötü işçilikten kaçınmak enfeksiyondan korunmanın en iyi yolları olarak bildirilmektedir (Aoki, 1999).

Schmidt ve ark., (2000); çalışmalarında balık örneklerini stomacher'da homojenize ederek bakteriyolojik ekim için hazırladıkları bildirmişlerdir. Yine diğer bir araştırmada (Yıldırım, 2007) ise balık materyali porselen havanda ezilerek bakteriyolojik ekimde kullanılmıştır. Daha steril olması ve kısa sürede sonuç vermesinden dolayı bu araştırmada da stomacher homojenizatörü tercih edildi. Buna göre Araştırmanın yapıldığı 4 işletmeden 8 ay boyunca alınan toplam 1835 adet yumurta, povidin/iodin solüsyonuyla yıkanmış

yumurta, döllelenmiş yumurta, gözlenmiş yumurta, keseli yavru, 5 gramdan küçük yavru ve yem örnekleri stomacher'da başarılı bir şekilde homojen edilerek bakteriyolojik ekimde kullanıldı.

Flavobacterium psychrophilum'u izole etmek için ekim yaptıkları Cytophaga Agar (CA), Modifiye edilmiş Anacker ve Ordal Agar (MAOA) ve Tryptone Yeast Extract Salt Agar (TYES-A) besiyerlerini 15-20 °C'de 3-7 gün süreyle inkübe etmişlerdir. Bu besiyerlerinde ortası kabarık, konveks ve ince yayılan kenarlara sahip, yuvarlak, sarı renkli koloniler ürettiği gibi, düzgün kenarlı, yuvarlak, koloniler de oluştuğunu ve bu kolonilerden yapılan boyalı preparatlarda 1,20-1,30 µm uzunluğunda gram negatif çomak biçimli ve kayarak hareket eden bakterilerin varlığını belirlemişlerdir (Sander ve Fryer 1988; Bernardet ve Kerouault 1989; Crump ve ark., 2001; Wiklund ve ark., 1994; Lorenzen ve ark., 1997; Bowser 1999; Dalsgaard ve Madsen 2000; Korun ve Timur 2001; Nematollahi ve ark., 2003; Diler ve ark., 2003; İspir ve ark., 2004; Cipriano ve Holt 2005). Fenotipik karakterlerini belirlemede bu çalışmalardaki besiyerlerinden yararlanılarak koloni yapısı ve etken özellikleriyle ilgili araştırmacıların bulguları bir kez daha doğrulanmış oldu. Diyarbakır ilindeki alabalık işletmelerinden izole edilen 10 adet *Flavobacterium psychrophilum*'un benzer bulgulara rastlandı.

Yapılan araştırmalarda (Wiklund ve ark., 1994; Lorenzen ve Olesen, 1997; Madetoja ve ark., 2001; Cipriano ve Holt 2005; Ekman, 2003) izole edilen *Flavobacterium psychrophilum*'un oluşturduğu kolonilerin sarı renkte görüldüğü, oksidaz testinin negatif; fleksirubin tipi pigment üretme testinin oranj (portakal) renkte; jelatin ve kazein hidrolizasyon testinin pozitif; Kongo kırmızısı testinin, H₂S ve karbonhidratlardan asit üretiminin negatif olduğu bildirilmiştir. Bu çalışmada da 5 gramdan küçük yavru, 5 gramdan büyük sağlıklı, hastalıktan şüpheli veya yeni ölmüş alabalık yavrularının dalak, karaciğer, böbrek, bağırsak ve su örneklerinden izole edilen *Flavobacterium psychrophilum*'un identifikasyonunda bu ayırt edici biyokimyasal testler başarılı bir şekilde uygulanıp benzer sonuçlar elde edildi.

Yapılan bazı çalışmalarda (Diler ve ark., 2003; Korun ve Timur 2001; Didinen ve ark., 2005) oksidaz testinin negatif ve bazılarında (Bernardet ve Kerouault 1989; Ostland ve ark., 1997; Elsayed ve ark., 2006) da bu testin pozitif sonuç verdiği rapor edilmiştir. Bu çalışmada izole edilen bütün suşların oksidaz negatif olduğu belirlenmiştir. Bu durum *F. psychrophilum* suşları arasında fenotipik farklılıkların görülebileceği görüşünü desteklemektedir. *F. psychrophilum*'un identifikasyonunda Cipriano ve Holt (2005) ile

Didinen ve ark., (2005) O/F testinin negatif olduğunu, İspir ve ark., (2004) ise oksidasyon testinin negatif ve fermantasyon testinin pozitif olduğunu bildirmişlerdir. Bu araştırmada da bazı suşlarda fermantasyon testi pozitif, bazılarında da negatif olduğu saptandı. *Flavobacterium psychrophilum* referans bakteri suşunun ise O/F testinin negatif sonuç verdiği tespit edilmiştir.

Yapılan bir çalışmada (Lorenzen ve ark., 1997) *Flavobacterium psychrophilum*'un 25°C'de üremediği, başka bir çalışmada (Bernardet ve Kerouault 1989) yine bu etkenin 25°C'de seyrek olarak ürediği, 25°C'nin üzerinde ise üremediği ifade edilmiştir. Bu konuda Lorenzen ve ark., (1997) de, 25 *Flavobacterium psychrophilum*'un 18'inin 25°C'de seyrek olarak ürediğini, fakat 30°C'de üremediğini, Schmidtke ve Carson (1995) ise 20 izolattan 18'inin 25°C'de seyrek olarak ürediğini fakat 30°C'de üremediğini bildirmişlerdir. Son olarak da Dalsgaard ve Madsen (2000) bu etkenin 5, 15, 20 ve 25°C'lerde ürediğini tespit etmişlerdir. Araştırmaya konu olan Diyarbakır'daki alabalık işletmelerinden izole edilen 10 adet suşun 5, 15 ve 20°C'lerde ürediği ve dolayısıyla Dalsgaard ve Madsen (2000)'in bulgularıyla kısmen benzerlik gösterdiği görüldü. Yine araştırmalardaki bu suşların 25°C ve üzeri sıcaklıklarda ise ürememesi de Lorenzen ve ark., (1997)'in sonuçlarıyla paralellik göstermiştir.

Lorenzen ve ark., (1997), *Flavobacterium psychrophilum*'un % 1'lik NaCl'de üremesine rağmen, % 2'lik NaCl'de üremediğini, Diler ve ark., (2003) de bu etkenin % 0,5'lik NaCl'de ürediğini, % 1'lik ve % 2'lik NaCl'de üremediğini, yine Nematollahi ve ark., (2003) ise *Flavobacterium psychrophilum*'un % 0,8-1'lik ve % 2'lik NaCl'de ürediğini rapor etmişlerdir. Diyarbakır ilindeki alabalık üretim işletmelerinden izole edilen *Flavobacterium psychrophilum* suşları ile *Flavobacterium psychrophilum* NCIMB 1947T referans suşunun % 0, % 0,5 ve % 1'lik NaCl'de ürediği, % 2'lik NaCl'de ise üremediği tespit edildi. Buna göre % 2'lik ve üzeri tuzlulukta bu bakterinin üremediği sonucuna varılmıştır.

Çevre koşullarındaki olumsuz değişimlerle balıkların hastalanmalarına yol açan bu etken, su ve balıkların ovaryum sıvısı ve sindirim sisteminin doğal florasında da bulunmaktadır (Saricyyüpoğlu, 1984; Austin ve Austin, 1987; Holt ve ark., 1993; Gonzalez ve ark., 1999; Cengizler, 2000; Gonzalez ve ark., 2001; Nematollahi ve ark., 2003; Hatha ve ark., 2005; Arda ve ark., 2005; Skrodenyte-Arbaciauskiene ve ark., 2006; Kubilay ve ark., 2009a; Kubilay ve ark., 2009b). Etkenlerin hem su ve hem de balık örneklerinde izole edilmiş olması bu konuda çalışan araştırmacıların (Saricyyüpoğlu, 1984; Austin ve Austin,

1987; Holt ve ark., 1993; Gonzalez ve ark., 1999; Cengizler, 2000; Gonzalez ve ark., 2001; Nematollahi ve ark., 2003; Hatha ve ark., 2005; Arda ve ark., 2005; Skrodenyte-Arbaciauskiene ve ark., 2006; Kubilay ve ark., 2009a; Kubilay ve ark., 2009b) sonuçlarıyla paralellik göstermektedir.

Flavobacterium psychrophilum'un neden olduğu hastalık, balık türlerine göre farklı mortalite oranları ile seyretmektedir. Coho Salmon (*Oncorhynchus kisuch*) balıklarında bu etkenden dolayı % 50 oranında mortalite görüldümütür (Holt, 1987). Hastalığın gökkuşağı alabalık yavrularında yem almaya başladıktan iki ay sonra meydana geldiği ve mortalitenin % 75 civarında olduğu bildirilmiştir (Lorenzen ve ark., 1991; Bruno, 1992). Bu araştırmada da işletmede yavru balıklar yem almaya başladıktan 20–50 gün sonra ölümlerin görülmesi, hastalığın yavru alabalıkların ilk aylarında ortaya çıkabileceğini doğruladı. Ancak işletmelerdeki mortalite oranlarının işletmede % 20 diğer araştırmacıların (Holt, 1987; Lorenzen ve ark., 1991; Bruno, 1992) bildirdiği oranlardan daha düşük olduğu görüldü. Bu durum, işletmelerin su kaliteleri arasındaki farklılıklarla hastalığın mortalitesi arasında bir ilişki olduğu ve su kalitesi iyi olan işletmelerde mortalitenin düşük seyrettiği şeklinde yorumlandı.

Yapılan bazı çalışmalarda (Austin, 1992; Bernardet ve Kerouault 1989; Bruno, 1992; Bustos ve ark., 1995; Lorenzen ve ark., 1991; Toranzo ve Barja, 1993; Wiklund ve ark., 1994; Didinen ve ark., 2005) hasta ve ölmüş balıklarda; karın boşluğunda sıvı birikimine bağlı olarak şişkinlik, ekzoftalmus, derinin renginde koyulaşma ve birkaç balığın sırt ve kavdal yüzgecinde beyaz renkte lezyonların şekillendiği ve hastalığın ilerlemiş durumlarında balıklarda kavdal yüzgecin tamamen tahrip olduğu ve radiusların ortaya çıktığı, karaciğer ile böbreğin solgun olduğu ve dalağın büyüdüğü tespit etmişlerdi. Araştırma yapılan alabalık işletmesinde de benzer bulgulara rastlandı.

Vibrio anguillarum su sıcaklığındaki ani değişimlerde daha çok hastalık oluşturduğunu belirtmişlerdir (Çağırğan 1993; Akaylı, 2001; Tanrıkul ve ark., 2004; Demircan ve Candan, 2006; Korun ve Timur, 2008; Timur ve Korun, 2004; Tanrıkul, 2007; Akşit ve Kum 2008). Bizim çalışmamızda da mevsim geçişinin olduğu ve su sıcaklığının değiştiği Haziran ayında izole edilmiştir.

Vibriosis bütün dünyada kültür balıkçılığında yaygın bir şekilde ortaya çıkması nedeniyle önemli bir problem olarak görülmektedir (Toranzo ve Barja, 1990; Reed ve Floyd-Francis, 2013). Bu hastalık deniz balıkları, kabuklu ve eklem bacaklı su ürünlerinin üretimini

sınırlandırıcı bir bakteriyel enfeksiyondur (Çağırğan, 1993; Akaylı, 2001; Tanrıkul ve ark., 2004; Timur ve Korun, 2004; Demircan ve Candan, 2006; Tanrıkul, 2007; Korun ve Timur, 2008). Vibriozise neden olan baskın türün *Vibrio anguillarum* olduğu kabul edilmesine rağmen diğer bazı vibrio türleride (*V. ordalii*, *V. damsela*, *V. vulnificus*, *V. chlerae*, *V. alginolyticus*) birçok deniz ve acı su türlerinde hastalığa sebep olmaktadır (Reed ve Floyd-Francis, 2013). Gerçekte, hastalık yoğun yetiştiricilik bölgelerinde işletmeden işletmeye hızlı bir şekilde yayılmaktadır (Tanrıkul, 2007). Diyarbakır'da bulunan gökkuşağı alabalık işletmelerinde de vibriosis görülmeye başlanmış ve hızlı bir şekilde yayılım göstermiştir.

Hastalık genellikle laterji, iştah kaybı, suyun yüzeyine yakın bulunma veya yüzeysel yüzme ile başlar, hemorajiler ve şişkin karaciğer dokusunun geliştiği, ilerlediğinde deride matlık, kırmızı ve ölü (nekrotik) alanların şekillendiği, oluşan lekelerin yüzgeç ve ağız çevresinde yaygınlık gösterdiği dikkati çeker (Arda ve ark., 2005). Bu araştırmanın yapılan alabalık işletmelerinde de benzer bulgulara rastlanmıştır.

V. anguillarum tarafından oluşturulan vibriosis, genelde yaz aylarında, organik madde düzeyi yüksek, sık ve tuzlu sularda görülür (Inglis ve ark., 1993; Actis ve ark., 1999; Eguchi ve ark., 2000; Demircan ve Candan., 2006; Frans ve ark., 2011). Bu çalışma yaz ayında ve organik maddenin bol olduğu iki işletmede izole edilmiştir.

Morfolojik ve nekropsi bulgularımız daha önceki çalışmalarla büyük ölçüde uyumludur. Akşit ve Kum (2008), *V. anguillarum*'u daha çok mevsim geçişlerinde izole etmişlerdir. Bu durum etkenin su sıcaklığı değişimlerinde daha çok hastalık oluşturduğunu akla getirmektedir. Bizim çalışmamızda da mevsim geçişinde hastalık görülmüş ve izolasyonu gerçekleştirilmiştir.

Bu çalışmadaki; bakteriyel izolatlarının identifikasyon test sonuçları (Çizelge 3.5.) *Vibrio anguillarum*'un önceki bilgileriyle uyum sağlamıştır (Akaylı ve ark., 2013).

Akaylı ve ark. (2013), gökkuşağı alabalıklarından izole ettikleri *V. anguillarum* izolatlarında sağladıkları bulgular içerisinde arjinin, lizin, glukoz ve jelatin; çalışmamız ile uyumlu; arabinoz ise kısmen uyumludur. Bu durum tatlı sularda hastalık yapan *V. anguillarum* etkeninin deniz balıklarındaki etkenlerden fenotipik olarak farklılık gösterebileceği şeklinde yorumlanabileceği gibi, bu konuda daha kapsamlı çalışma yapılması gerekmektedir.

Laktokokkoziste su sıcaklığının 14-15°C'yi aştığında enfeksiyonun meydana geldiği (Ghittino ve ark., 1998; Soltani ve ark., 2008) ve su sıcaklığının 18°C'yi aştığında ise mortalite oranının arttığı bildirilmiştir (Munday ve ark., 1993; Pereira ve ark., 2004). Diyarbakır ilinde özellikle yaz aylarında su sıcaklığının en yüksek olduğu Temmuz ve Ağustos aylarında *Lactococcus garviae* izolasyonu ve identifikasyonu yapılmıştır.

Lactococcus garviae'nin gökkuşağı alabalıklarında oluşturduğu deneysel ve doğal enfeksiyonlarında genel olarak klinik muayende gözlerde tek veya çift taraflı ekzoftalmus, hemoraji ve korneada opaklaşma, renkte koyulaşma, yüzgeç diplerinde hemoraji ve abdomen içinde kanlı sıvı birikimi ve viseral organlarda yaygın hiperemi ve hemoraji gözlemlendiği gibi (Doménech ve ark., 1993; Kusuda ve Salati, 1999; Diler ve ark., 2002; Ürkü, 2011). Bu çalışmada da benzer şekilde hasta alabalıklarda deride kararma, gözde tek veya çift ekzoftalmus, karında ascites, anüste kızarıklık, karaciğer solgun, dalakta ve böbrekte büyüme siyahlaşma, kaslarda, hava kesesinde, gonadal dokularda ve mide etrafında peteşiyel hemorajiler, bağırsaklar kanlı ve yer yer sarımtırak renkte irinli bir eksudat görülmüştür. Bu klinik bulgular farklı ülkelerde yapılan çalışmalarla benzerlik göstermektedir.

Aeromonas sobria birçok canlıdan ve su ortamından izole edilebilmekte olup; balıktan, kurbağadan ve insandan izolasyonları bulunmaktadır (Popoff ve Véron, 1976). Gökkuşağı alabalıklarında sıklıkla rastlanan *Aeromonas sobria*'nın başlıca sebepleri arasında; alabalık çiftliklerinde balıkların yoğun stoklanması, su kalitesinin düşük olması (ph, amonyak, nitrit vs.), su sıcaklığına bağlı ani değişimler gösterilebilir (Şahin ve ark., 2018). Bu çalışmamızda da örneklerini aldığımız çiftliklerde yoğun stoklama, düşük su kalitesi, su sıcaklığına bağlı ani olduğu işletmelerde *Aeromonas sobria* identifiye edildi.

Aeromonas sobria enfekte balıklarda deri renginde koyulaşmalar, böbreklerde şişkinlik, iç organlarda hemorajiler, karında su toplanması, karaciğerde soluklaşma, anüse yakın bölgelerde kanlı irinli sıvı, dalakta hemorajiler, deride lezyonlar görülebildiği belirtilmiştir (Janda ve Motyl 1985; Agnew ve Barnes, 2007; Janda ve Abbott, 2010; Noga, 2010; Şahin ve ark., 2018). Ayrıca enfekte balıklarda ülserasyon, yüzgeç ve kuyruk çürüğü, abdominal distansiyon ve ekzoftalmus gibi çeşitli klinik bulgular bildirilmiştir (Sreedharan ve ark., 2013). Bu araştırmanın yapıldığı alabalık işletmelerinde de benzer bulgulara rastlandı.

Bu çalışmadaki; bakteriyel izolatlarının identifikasyon test sonuçları (Çizelge 3.6.) *Aeromonas sobria*'nın önceki bilgileriyle uyum sağlamıştır (Koneman ve ark., 1992; Roberts, 1993).

Akuakültürde genel olarak *Aeromonas* enfeksiyonları Motil *Aeromonas* Septisemi (MAS) olarak adlandırılır (Duman, 2017). Hareketli *Aeromonas* septisemi etkenlerinden olan *A. sobria* ülkemizde ilk olarak Karadenizde yetiştiriciliği yapılan Atlantik salmon (*Salmo salar*), gökkuşağı alabalığı, çipura ve levrekten izole edilmiştir (Avsever ve ark., 2012). Farklı zaman dilimlerinde gerçekleştirilen bu çalışmalarda büyük sağlıklı, hastalıktan şüpheli veya yeni ölmüş alabalıkların dalak, karaciğer, böbrek ve bağırsak örneklerinde *Aeromonas sobria* izole edilmesi bu bölgede bulunan işletmelerde bu etkenle kontaminasyonunun devam ettiğini gösterdi.

Gökkuşağı alabalıklarında hareketli *Aeromonas* enfeksiyonlarına sıklıkla rastlanılmasına rağmen (Abbott ve ark., 2003; Duman ve ark., 2018) klasik mikrobiyolojik testlerin tür ayrımında yetersiz kaldığı, atipik özellik gösteren *Aeromonas* türlerinin biyokimyasal özelliklerinin farklılık gösterdiği bu durumun da *Aeromonas* türlerinin teşhisini zorlaştırdığı bildirilmektedir (Janda, 2001). Bu çalışmada Biyokimyasal test sonuçlarının belirlenmesinin uzun zaman alması nedeniyle Biolog Sistemi (The biolog GENIII micro plate) başarılı şekilde kullanıldı. *Aeromonas sobria*'nin identifikasyonunda güvenilir sonuçlar alındı.

16S rRNA'nın dizi analizi *Aeromonas* türlerinin identifikasyonunda son yirmi yılda yaygın olarak kullanılmıştır (Martínez-Murcia ve ark., 2007). Bu çalışmada sekans analizi ile *Aeromonas sobria* teşhisi yapıldı. Böylece korunmuş gen bölgelerinin güvenilirliğini arttırdı.

PZR tekniğinin saf ya da karışık kültürlerde bulunan az sayıdaki mikroorganizmaların bir gün gibi kısa sürede identifiye edilmesinden sebep kültür ve serolojik testlere göre daha avantajlı olduğu ifade edilmiştir (Lin ve Tsen, 1996). PZR amplifikasyonunda tanıyı kolay hale getirmektedir. Bu araştırmada da bakterilerin yanlış pozitif reaksiyon vermesi *Aeromonas sobria*'nın tür spesifik F (5'-TAA AGG GAA ATA ATG ACG GCG-3') ve R (5'-GGC TGT AGG TAT CGG TTT TCG-3') iki farklı primer çiftinin kullanıldı. Bu çalışma sonucunda elde edilen örneklerdeki hastalık etkeninin *Aeromonas sobria* olduğu, örneklerin pozitif bant oluşturmasıyla ispatlandı.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sonuç olarak bu çalışmada, yurdumuzda ve dünyanın birçok ülkesinde gökkuşağ alabalıklarında hastalık oluşturan ve büyük ekonomik kayıplara yol açan, Kızıl Ağız Hastalığı, Psikrofilozis (Bakteriyel soğuk su hastalığı, Pedinkul hastalığı, Rainbow Trout Fry Syndrome -RTFS), Vibriozis, Laktokokkozis, Motil *Aeromonas* Septisemi (MAS)'nin etkenlerinden *Yersinia ruckeri*, *Flavobacterium psychrophilum*, *Vibrio anguillarum*, *Lactococcus garviae* ve *Aeromonas sobria*'nın klasik kültür yöntemi ile izolasyonu ve identifikasyonu yapıldı. Ayrıca Biolog Sistemi (The biolog GENIII micro plate) yöntemi ile bu etkenlerin 71 farklı karbon kaynağının kullanımı ve 23 kimyasala karşı hassasiyet (engelleyici kimyasallara dayanıklılık) testinden oluşan 94 fenotipik test yönünden analiz edildi. Bakteriyel hastalıkların teşhisinde hızlı sonuç veren moleküler bir teknik olan PCR (Polymerase Chain Reaction) kullanılarak, moleküler olarak *Yersinia ruckeri*, *Flavobacterium psychrophilum*, *Vibrio anguillarum*, *Lactococcus garviae* ve *Aeromonas sobria*'nın identifikasyonu gerçekleştirildi. İnsanlarda klinik tanı laboratuvarlarında bakteriyel izolatların identifikasyonunda kullanılan önemli bir teknik olan 16S rRNA gen sekansına dayalı analiz yöntemi *Yersinia ruckeri*, *Flavobacterium psychrophilum*, *Vibrio anguillarum*, *Lactococcus garviae* ve *Aeromonas sobria*'nın tanımlanmasında kullanıldı. Böylece kültürden üretilmiş *Yersinia ruckeri*, *Flavobacterium psychrophilum*, *Vibrio anguillarum*, *Lactococcus garviae* ve *Aeromonas sobria*'nın PZR tekniği ile tanısı kısa bir sürede yapılması sonucu, zamanında uygulanacak tedavi ile balıkçılık işletmelerinde büyük ekonomik kayıpların önüne geçilecektir.

Hastalıktan şüpheli balıkların morfolojik özelliklerine bakılarak kesin ve doğru teşhisi mümkün değildir. Bu nedenle klasik kültür yöntem, Biolog Sistemi (The biolog GENIII micro plate), PCR (Polymerase Chain Reaction) ve sekans analizleri yapılması gerekmektedir.

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 Kızıl Ağız Hastalığı, Psikrofilozis (Bakteriyel soğuk su hastalığı, Pedinkul hastalığı, Rainbow Trout Fry Syndrome -RTFS), Vibriozis, Laktokokkozis, Motil *Aeromonas* Septisemi (MAS) enfeksiyonları kolayca ortaya çıkmakta, yayılmaktadır. Bu nedenle zamanında gerekli koruyucu önlemler alınmalı ve değişen yaşam koşulları düzeltilmelidir.

Balıklarda Stres immune (bağışıklık) sisteminin devre dışı kalmasına ve balığın *Yersinia ruckeri*, *Flavobacterium psychrophilum*, *Vibrio anguillarum* *Lactococcus garviae* ve *Aeromonas sobria*'ya karşı korumasız hale gelmesine neden olmaktadır. Bu sebepten dolayı balıkları stresten uzak tutabilmek için kültür koşullarının (sıcaklık, ışık, oksijen, stok yoğunluğu vb) optimum olarak sağlanması, su kalitesinin yüksek tutulması, uygun yemlerin kullanılması, gereksiz ilaç ve kimyasal kullanımının terk edilmesi ve gürültünün minimuma indirilmesi gibi koşullara azami bir şekilde özen gösterilmelidir.

Kızıl Ağız Hastalığı, Psikrofilozis (Bakteriyel soğuk su hastalığı, Pedinkul hastalığı, Rainbow Trout Fry Syndrome -RTFS), Vibriozis, Laktokokkozis, Motil *Aeromonas* Septisemi (MAS) enfeksiyonları ile mücadelede antibiyotiklerin kullanımı oldukça yaygın kullanılan bir yöntemdir. Antibiyotikler zamanla suda kirliliğe balıkta da kalıntılara ve antibiyotiklere dirençli mikroorganizmaların gelişmesine, sucul çevreye ve insan sağlığına zararlı sonuçlar ortaya çıkarması nedeniyle balıklarda kullanımı tercih edilmemelidir.

Hastalıklardan korunmada en geçerli yol, başladıktan sonra durdurmak yerine, başlamaması için önlem almaktır. Bu nedenle salgın balık hastalıkları ile mücadelede de en etkin yöntem aşı kullanmaktır.

Diyarbakır ilinde bulunda gökkuşağı alabalık yetiştiricilik tesislerinde *Yersinia ruckeri*, *Flavobacterium psychrophilum*, *Vibrio anguillarum* *Lactococcus garviae* ve *Aeromonas sobria*'a tespit edildi. Bölgede porsiyonluk balık alışverişi olduğundan dolayı bulunan tüm tesislere Kızıl Ağız Hastalığı, Psikrofilozis (Bakteriyel soğuk su hastalığı, Pedinkul hastalığı, Rainbow Trout Fry Syndrome -RTFS), Vibriozis, Laktokokkozis, Motil *Aeromonas* Septisemi (MAS) bulaşma riski de vardır. Bu nedenle, işletmeler sterilizasyona gerekli önemi vermeli mutlaka karantina havuzları kullanmalıdır.

İşletmeler, koruyucu olarak ve balıkların bağışıklık sistemini artırması için özellikle ilkbahar dönemlerinde yemlere katılmak üzere Vitamin C ve Vitamin E kullanımı konusunda bilinçlendirilmelidir.

Çalışma sonucunda hastalığın bölgede ekonomik anlamda büyük zararlar meydana getirmediği görüldü. Üreticilerin hastalıklara karşı ilaç uygulamaları konusunda tam ve yeterli bilgiye sahip olmamalarının yanında bakteriyel patojenlerin zaman içinde antibakteriyellere karşı farklı duyarlılık düzeyleri geliştirdikleri göz önünde bulundurularak üreticilerin bilinçsiz ilaç uygulamalarından kaçınmaları sağlanmalıdır. Balık hastalık ve

zararlılarına karşı kullanılan her türlü aşı, ilaç, hormon, dezenfektan ve kimyasalların satışı kontrol altına alınmalı, bilgisiz ve yetkisiz kişilerin çiftliklerde satış yapmaları engellenmelidir. Hastalık etkeni ve suşları tam olarak tespit edilmeli, rastgele ilaç kullanmaktan kaçınılmalıdır.

Günümüz kültür balıkçılığında zorunlu manipulasyonlar, yoğun stoklama, azalan çözünmüş oksijen miktarı, suda biriken balık atıkları ve stres oluşturacak tüm koşullardan kaçınılmalıdır. İşletmelerdeki yetiştirme şartları uygun değil ise mutlaka düzeltilmelidir.

Balık işletmeleri, hastalıklardan korunmada en geçerli yol; hastalık başladıktan sonra ilaçlarla durdurmak yerine, hastalık çıkmadan önce gerekli koruyucu önlemler almaktır. Bu nedenle salgın balık hastalıkları ile mücadelede de en etkin yöntem aşı kullanmaktır.

İşletme sahipleri ve çalışanları; kültürel önlemler, dezenfektan tedbirleri, hastalık belirtileri, numune seçme, numune taşıma, müracaat edeceği yerler hakkında bilgilendirilmeli ve eğitilmelidir.

İşletmelerde; önce kültürel önlemler alınmalı, aşı uygulamaları yapılmalı, hastalık bulaşmasını önleyecek dezenfektan tedbirleri alınmalıdır. Bunlara rağmen hastalık görülmüş ise önce hastalık tam olarak tespit edilmeli, antibiyotik duyarlılık testi yapılmalı ve hastalığa karşı ilaçlı mücadele başlatılmalıdır.

KAYNAKLAR

- Abbott, S.L., Cheung, W.K., Janda, J.M. (2003). The genus *Aeromonas*: biochemical characteristics, atypical reactions, and phenotypic identification schemes. *Journal of clinical microbiology*, 41(6): 2348-2357.
- Actis, L.A., Tolmasky, M.E., Crosa, J.H. (1999). *Vibriosis*. In: *Fish Diseases and Disorders*, volume 3: Viral, Bacterial and Fungal Infections. Edited by P.T.K Woo and D.W. Bruno. CAB International Publication,,142 pp.Newyork.
- Actis, L.A., Tolmasky, M.E., Crosa, J.H. (2011). *Vibriosis*. In: *Fish Diseases and Disorders*, Volume3. CABI, 2nd edition, 570-605 pp.
- Agnew, W., Barnes, A. (2007). *Streptococcus iniae*: an aquatic pathogen of global veterinary significance and a challenging candidate for reliable vaccination. *Veterinary microbiology*, 122:1-15.
- Akan, M. (1993). *Hayvanlardan ve çevresel kaynaklardan izole edilen hareketli Aeromonas türlerinin biyokimyasal, toksijenik, enzimatik ve yüzey özellikleri*. Ankara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Ankara.
- Akan, M., Yıldız, H., İzgür, M., Atay, D. (1996). Levreklerde *Vibrio anguillarum*'a bağlı vibriosis olgusu, *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 2: 40-43.
- Akaylı, T. (2001). *Kültür Çipura balıklarında (Sparus aurata, L.1758) Vibriosis'in Elisa ve bakteriyolojik yöntemlerle teşhisi*. İstanbul Üniv. Fen Bilimleri Enstitüsü. Doktora Tezi, 77s. İstanbul.
- Akaylı, T., Ürkü, Ç., Çanak, Ö. (2013). Kültür Gökkuşığı Alabalıklar (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum 1792)'ından İzole Edilen Gram-Negatif Bakterilerin Antibiyotik Duyarlılığı. *Biyoloji Bil. Araş. Dergisi*, 6 (2): 11-15.
- Akşit, D., Kum, C. (2008). Gökkuşığı Alabalıkları (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum 1792)'nda Sık Görülen Patojen Mikroorganizmaların Tespiti ve Antibiyotik Duyarlılık Düzeylerinin Belirlenmesi. *Y.Y.Ü. Vet. Fak. Derg.* 19(1): 1-7.
- Alsina, M., Martine-Picado, J., Jofre, J., Ve Blanch, A.R. (1994). A Medium for Presumptive Identification of *Vibrio anguillarum*. *Applied and Environmental Microbiology*, 60 (5): 1681-1683.

- Altun, S., Adiloğlu, A. K., Kubilay, A., Diler, O., Delibaş, N., Sutcu, R. (2007). Immunogenic and Antigenic Profiles of Nine *L. garvieae* Strains from Different Rainbow Trout Farms. *The Israeli Journal of Aquaculture–Bamidgeh*, 59(2):111-116.
- Altun, S., Diler, Ö., Adiloğlu, K. (2004). Genotyping of *L. garvieae* strains from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) by 16s rDNA sequencing. *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists*, 24, 119.
- Altun, S., Kubilay, A., Diler, Ö. (2010). *Yersinia ruckeri* Suşlarının Fenotipik ve Serolojik Özelliklerinin İncelenmesi. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 16(B), 223-229.
- Anonim, (2008). Biolog Gen III Microplate Instruction for Use.
- Aoki, T. (1999). *Motile aeromononads (Aeromonas hydrophila*. Fish Diseases and Disorders, volume 3: Viral, Bacterial and Fungal Infections (eds P.T.K. Woo and D.W.Bruno), Cab International, 427–453.
- Arda, M. (1994). *Biyoteknoloji: Bazı Temel İlkeler*. Kükem Derneği Bilimsel Yayınları No:2 İkinci Baskı.
- Arda, M. (1995). *Biyoteknoloji, (Bazı Temel İlkeler)*. Kükem Derneği Bilimsel Yayınlar No:3, Armoni Ltd. Şti., Ankara.
- Arda, M. (1995). *Biyoteknoloji, (Bazı Temel İlkeler)*. Kükem Derneği Bilimsel Yayınlar No:3, Armoni Ltd. Şti., Ankara.
- Arda, M. (2000). *Temel Mikrobiyoloji; "Genişletilmiş İkinci Baskı.. Medisan Yayın Serisi no 46. Ankara"*.
- Arda, M., Seçer, S., Sarıyüpoğlu, M. (2002). *Balık Hastalıkları*. Medisan Yayın Serisi, Ankara. 56, 60–61.
- Arda, M., Seçer, S., Sarıyüpoğlu, S. (2005). *Balık Hastalıkları*. Medisan Yayın Serisi:61 Ankara. 230.
- Arı, Ş. (1999). *DNA' nın Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) ile Çoğaltılması, Moleküler Biyolojide Kullanılan Yöntemler*, ed.: Temizkan, G, Arda, M, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul Üniversitesi Biyoteknoloji ve Genetik Mühendisliği Araştırma ve Uygulama Merkezi (BİYOGEEM); Yayın No: 1, İstanbul, 57-68.

- Austin B., Austin, D. A. (1993). *Bacterial Fish Pathogens Disease in Farmed and Wild Fish*. 2 th edition, Ellis Horwood, London, 376pp.
- Austin, B and Austin, D.A. (1987). *Bacterial Fish Pathogens: Disease in Farmed and Wild Fish*. Ellis Horwood Ltd. Chichester, 363pp.
- Austin, B. (1992). The recovery of *Cytophaga psychrophila* from Two Cases of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) Fry Syndrome in the U.K. *Bull. Eur. Assoc. Fish Pathol.* 12: 207–208.
- Austin, B., Austin, D.A. (1999). *Characteristics of The Pathogens: Gram-negative Bacteria*. In: *Bacterial Fish Pathogens: Disease in Farmed and Wild Fish*. (Eds.: B. Austin. and D.A. Austin). Third (revised) edition. Praxis Publishing Ltd., New York. s. 102–118.
- Austin, B., Austin, D.A. (2007). *Bacterial Fish Pathogens Disease in Farmed and Wild Fish*, 4 th edition, Praxis Publishing, Chichester, 594 pp.
- Austin, B., Pride, A.C. and Rhodie, G.A. (2003). Association of a bacteriophage with virulence in *Vibrio harveyi*. *J Fish Dis* 26, 55–58.
- Avsever, M.L., Onuk, E.E., Turk, N., Tunaligil, S., Eskiizmirli, S., Incoglu, S. And Yabanli, M. (2012). Pasteurellosis cases in sea bass and sea bream cultured in the Aegean region and other bacteria isolated from these cases. *Bornova Veteriner Kontrol ve Arastırma Enstitüsü Dergisi*, 34(48): 9-16.
- Aydın, S., Çiltaş, A., Akyurt, İ. (1997). Investigations on systemic *Aeromonas hydrophila* infections appeared in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum) in 1991–1995. *Akdeniz Balıkçılık Kongresi*, 359-369, 9–11 Nisan 1997, İzmir.
- Aydın, S., Erman, Z., Bilgin, Ö. C. (2001). Investigations of *Serratia liquefaciens* in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum). *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 25: 643-650.
- Balta, F. (1997). Kültürü yapılan alabalıklarda (*Oncorhynchus mykiss*) görülen *Flexibacter psychrophila* enfeksiyonu. IX. Ulusal Su Ürünleri Sempozyumu. 641- 648. 17–19 Eylül 1997, Eğirdir/Isparta.
- Bej, A.K., Mahbubani M.H., Atlas, R.M. (1991). Amplification of Nucleic Acids by Polymerase Chain Reaction (PCR) and Other Method and Their Applications. *Critical Reviews in Biochemistry and molecular Biology*, 26: 301–334.

- Bergman, A.M. (1909). Die Rote Beulenkrankheit des Aals. *Bericht aus der Koniglichen Bayerischen Versuchsstation*, 2, 10-54.
- Bernardet, J.F. (1997). Immunization with bacterial antigens *Flavobacterium* and *Flexibacter* infection. *Developments in Biological Standardization* 90: 179 – 188.
- Bernardet, J.F., Keroualt, B. (1989). Phenotypic and Genomic Studies of “*Cytophaga psychrophila*”, Isolated from Diseased Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) in France. *Appl. Environ. Microbial.* Vol. 55, No: 7, 1796–1800.
- Bilgehan, H. (1995). *Klinik Mikrobiyolojik Tanı*. 2. Baskı, Fakülteler Kitapevi Barış Yayınları, Ankara, 641–705.
- Biosca, E.G., Oliver, J.D., Amaro, C. (1996). Phenotypic characterization of *Vibrio vulnificus* biotype 2, a lipopolysaccharidebased homogeneous O serogroup within *Vibrio vulnificus*. *Appl. Environ. Microbiol.* 62:918–927.
- Bochner, B.R. (1989a). Sleuthing out Bacterial Identities. *Nature*, 339: 157-158.
- Bochner, B.R. (1989b). “Breathprints” at the Microbial Level. *ASM News* 55: 536-539.
- Borrego, J. J., Castro, D., Luque, A., Paillard, C., Maes, P., Garcia, M. T., Ventosa, A. (1996). *Vibrio tapetis* sp. nov., the Causative Agent of the Brown Ring Disease Affecting Cultured Clams. ***International Journal of Systematic Bacteriology***, 46(2): 480-484
- Bostock, (2011). Foresight Projeck on Global food and Farming Futurs. The Application of Science and Technology Development in Shapping Curent and Future Aquaculture Production Systems, *Journal of Aqricultural Science*, 149, 133-141.
- Boulanger, Y., Lallier, R., Cousineau, G. (1977). Isolation of enterotoxigenic *Aeromonas* from fish. *Can. J. Microbiol.* 23: 1161-1164.
- Bowser, P.R. (1999). “*Diseases of Fish*”, *PhD, Aquatic Animal Health Program, Department of Microbiology and Immunology, College of Veterinary Medicine Cornell University, Ithaca, New York*, 26 p.
- Brenda, J. A., Roselynn, M.W.S. (1981). Extracellular virulence factors of *Aeromonas hydrophila* in fish infections. *Can. J. Microbiol.* 27: 1114-1122.
- Bruno, D.W. (1992). “*Cytophaga psychrophila*, (*Flexibacter psychrophilus*)(Borg), histopathology associated with mortalities among farmed rainbow trout

- (*Oncorhynchus mykiss*) (Walbaum) in the UK ”. *Bull. Eur. Ass. Fish Pathol.*, 12 (6): 215-216.
- Bullock, G.L., Anderson D.P. (1984). Immunization Against *Yersinia ruckeri*, Cause and Enteric Redmouth Disease. (*Symposium on fish Vaccination. Theoretical Background and Practical Results on Immunization Against Infectious Diseases*). 20-22 February, O.T.E. PARIS. 66-151.
- Bullock, G.L., Cipriano, R.C. (1990). Enteric Redmouth Disease in Salmonids. United States Department of the Interior Fish and Wild life service. *Fish disease Leaflet*, 67: 4.
- Bullock, G.L., Snieszko, S.F. (1975). Enteric redmouth disease of salmonids. *Fish Dis. Leaflet*, 42: 1–7.
- Bullock, G.L., Stuckey, H.M., Shotts, E.B. (1977). Early Records of North American and australian outbreaks of enteric redmouth bacterium. *Fish Health. News*, 6, 96-97.
- Busch, R. A., Lingg, A. (1975). Establishment of an asymptomatic carrier state infection of enteric redmouth disease in rainbow trout. *J. Fish. Res. Bd Can.* 32, 242-243.
- Busch, R.A. (1982). Enteric Redmouth Disease. Symposium International de Talloires. 10-12 May., 1982, Les Antigenes des Micro-organismes Pathogens des Poissons. *Collection Fondation Marcel merieux*. 201-24.
- Bustos, P., Calbuyahue, A., Maontaña, J., Opazo, B., Entrala, P., Solervicens, R. (1995). First isolation of *Flavobacterium psychrophilum* as causative agent of rainbow trout fry syndrome (RTFS) in Chile. *Bull. Eur. Assoc. Fish Pathol.* 15: 162–164.
- Cabello, FC. (2006). Heavy use of prophylactic antibiotics in aquaculture: a growing problem for human and animal health for the environment, *Environ. Microbiol.* 8 (7), 1137–1144.
- Camus, A.C., Durborow, R.M., Hemstreet, W.G., Thune, R.L., Hawke, J.P. (1998). Aeromonas Bacterial Infections-Motile Aeromonad Septicemia. *Southern Regional Aquaculture Center (SRAC)*, 478.
- Candan, A. (1993). *Vibrio anguillarum* infection in *Sparus aurata* L. 1758, *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, 23: 25-27.
- Candan, A. (2000). Türkiyede Üretilen Atlantik Salmon (*Salmo salar* L.)’unda Saptanan İlk Vibriosis Olgusu. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, 24, 1.

- Canestrini, G. (1907). *La Malattia Dominante Delle Anguille.*, In Atti Inst Ven Ser, Italy. 809-814pp.
- Carlos, V.S., Oscar, R.S., Irma, Q.R.E. (2001). Occurrence of *Listeria* Species in Raw Milk in Farms on the Outskirts of Mexico city. *Food Microbiol*, 18: 177–181.
- Caselitz, F.H. (1996). How the *Aeromonas* story started in medical microbiology. *Med.Microbiol.Lett.*, 5:46-54.
- Cengizler, İ. (2000). *Balık Hastalıkları Ders Kitabı*. Çukurova Ünivesitesi Su Ürünleri Fakültesi Yayınları No: 7, 136s.
- Chai, H., Archambault, M., Prescott, J.F. (2003). 16S Ribosomal RNA Sequence-based Identification of Veterinary Clinical Bacteria. *J. Vet Diagn Invest*, 15, 465-469.
- Chen, S.C., Liaw, L.L., Su, H.Y., Ko, S.C., Wu, C.Y., Chaung, H.C., Tsai, Y.H., Yang, K.L., Chen, Y.C., Chen, T.H., Lin, G.R., Cheng, S.Y., Lin, Y.D., Lee, J.L., Lai, C.C., Weng, Y.J., Chu, S.Y. (2002). *L. garvieae*, a cause of disease in grey mullet, *Mugil cephalus* L., in Taiwan. *Journal of Fish Diseases*, 25, 727-732.
- Chen, S.C., Lin, Y.D., Liaw, L. L., Wang, P.C. (2001). *L. garvieae* infection in the giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* confirmed by polymerase chain reaction and 16S rDNA sequencing. *Diseases of Aquatic Organisms*, 45, 45- 52.
- Cipriano, R.C., Holt R.A. (2005). *Flavobacterium psychrophilum*, Cause of Bacterial Cold-Water Disease and Rainbow Trout Fry Syndrome. Fish Disease Leaflet No:86. United States Dept. of the Interior. U.S. Geological Service, National Fish Health Research Laboratory, Kearneysville, WV. 44pp.
- Collins, R.O., Foster, G., Ross, HM. (1996). Isolation of *Yersinia ruckeri* from otter and salmonid fish from adjacent fresh water catchments, *Vet. Rec.* 139 (7), 169.
- Colorni, A., Ravelo, C., Romalde, J.L., Toranzo, A.E. (2003). Diamant a *L. garvieae* in Wild Red Sea Wrasse *Coris aygula* (Labridae). *Diseases of Aquatic Organisms*, 56, 275-278.
- Coote, U.G. (1990). Amplification of Nucleic Acids by the Polymerase Chain Reaction. *Article*, 57-59.
- Cowan, S.T. (1974). Manual for The Identification of Medical Bacteria, University Priting House, Cambridge, 238p.

- Crump, E.M., Perry, M.B., Clouthier, S.C., Kay, W.W. (2001). Antigenic Characterization of the Fish Pathogen *Flavobacterium psychrophilum*, *Applied and Environmental Microbiology*, 67, 750-759.
- Çağırğan, H. (1993). *Kültürü Yaşılan Çipura (Sparus aurata,L) ve levrek (Dicentrarchus labrax L.) Balıklarında Görülen Bakteriyel Hastalıkların Teşhis ve Tedavisi Üzerine Bir Araştırma*. Ege Üniv. Fen Bilimleri Enstitüsü Su Ürünleri Anabilim Dalı Doktora Tezi, 117s, İzmir.
- Çağırğan, H. (2004). Biotyping of *L. garvieae* Isolated from Turkey. *Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi, Journal of Fisheries & Aquatic Sciences*, 21(3-4), 267–269.
- Çağırğan, H. (2004). Levrek yavrularında (*Dicentrarchus labrax* L., 1758) vibriozise karşı aşı geliştirilmesi. *Ege Üniv Su Ürün Derg* 21, 271-274p.
- Çağırğan, H. (2007). Gökkuşluğu Alabalığı Hastalıkları. Doğu Anadolu Kalkınma Programı, Tarım ve Kırsal Kalkınma Bileşeni.
- Çağırğan, H., Yürekli Türk, O. (1991). First isolation of *Yersinia ruckeri* from rainbow trout farm in Turkey, In: *The Fifth Conference of EAAP, Disease of Fish and Shellfish*, 24–29 August 1991, Book of Abstract, 131.
- Çolak, A. (1982). *Balık Hastalıkları Elkitabı*. Cumhuriyet Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Yayınları, No:1, Esnaf matbaası, Sivas, 138s.
- Dalsgaard, I., Madsen, L. (2000). Bacterial pathogens in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), reared at danish freshwater farms. *J. Fish Dis.*, 23: 199-209.
- Davies, R.I., Frerichs G.N. (1989). Morphological and biochemical differences among isolates of *Yersinia ruckeri* obtained from wide geographical areas. *J. Fish Dis*, 12, 357-365.
- Demircan, D., Candan, A. (2006). Identification of *Vibrio anguillarum* by PCR (rpoN Gene) associated with Vibriosis in Marine Fish in Turkey, *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 30: 305-310.
- Didinen, B.I., Diler, Ö., Ekici, S., Altun, S. (2005). *Flavobacterium psychrophilum* izolatlarının teşhisinde API ZYM kullanımı ve ATB VET ile antimikrobiyal duyarlılığın belirlenmesi. *Süleyman Demirel Üniversitesi Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi Dergisi*, 1 (2): 64-70.

- Diker, K.S. (1999). *Aeromonas ve aeromonas enfeksiyonları*. Özel Mikrobiyoloji. 59-62s, Medisan Yayın Serisi. No: 26, Ankara.
- Diler, O., Altun, S., Adıloglu, A., Kubilay, A., Işıklı, B. (2002). First Occurance of Streptococcosis Affecting Farmed Rainbow Trout in Turkey. *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists*, 22(1), 21-26.
- Diler, Ö. (2004). *Balık Hastalıkları*. Süleyman Demirel Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Eğirdir.
- Diler, Ö., Altun, S. (1994). Gökkuşaağı alabalıklarından (*Oncorhynchus mykiss*) hemorajik sepsisemi etkeni olarak izole edilen bazı *Aeromonas hydrophila* suşlarının biyokimyasal özelliklerinin belirlenmesi. *SDÜ Eğirdir Su Ürün Fak Derg*, 4, 169-178.
- Diler, Ö., Altun, S., Çalikuşu, F., Diler, A. (2000). Gökkuşaağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*)'nin yaşadığı ortam ile ilişkili kalitatif ve kantitatif bakteriyel florası üzerine bir araştırma. *Turk J. Vet. Anim. Sci.* 24: 251–259.
- Diler, Ö., Altun, S., Çalikuşu, F., Diler, A. (2000b). Gökkuşaağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*)'nın yaşadığı ortam ile ilişkili kalitatif ve kantitatif bakteriyel florası üzerine bir araştırma. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 24: 251–259.
- Diler, Ö., Altun, S., Diler, A., Işıklı, B. I., Gürcan, O. C. (2000a). Bazı balık çiftliklerinde gökkuşaağı alabalıklarının (*Oncorhynchus mykiss*) mikroflorasının tespiti ve kontrolü üzerine bir çalışma. *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 4: 58–69.
- Diler, Ö., Altun, S., Işıklı, B.I. (2003). Kültürü yapılan gökkuşaağı alabalığı (*Onchorhynchus mykiss*)'ndan izole edilen *Flavobacterium psychrophilum*'un fenotipik karakterleri. *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 7.1, 1–8.
- Diler, Ö., Demirkan, T., Altun, S., Çalikuşu, F. (1998). Fethiye bölgesindeki bazı alabalık işletmelerinde görülen Yersiniosis'in mevsimsel dağılımı üzerine bir araştırma. *Doğu Anadolu III. Su Ürünleri Sempozyumu*. 207–220. 10–12 Haziran 1998, Erzurum.
- Doménech, A., Prieta, J., Fernández-Garayzabal, J.F., Collins, M.D., Jones, D., Domínguez, L. (1993). Phenotypic and phylogenetic evidence for a close relationship between *Lactococcus garvieae* and *Enterococcus seriolicida*. *Microbiologia*, 9, 63-68.

- Donnelly, C.W. (1986). Listeriosis and dairy products: Why now and why milk? *Hoard's Dairyman*, 131, 663-687.
- Duman, M. (2017). *Gökkuşluğu alabalıklarında görülen motil Aeromonas (Aeromonas hydrophila, A. sobria, A. caviae), Yersinia ruckeri ve Lactococcus garvieae bakterilerinin antimikrobiyal duyarlılıkları ve duyarlılıkta rol oynayan genlerin tespiti*. T.C. Uludağ Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora tezi, Bursa.
- Duman, M., Saticioglu, I.B., Janda, J.M., Altun, S. (2018). The determination of the infectious status and prevalence of motile Aeromonas species isolated from Disease cases in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and aquarium fish. *J. Fish Dis.* 00:1–15.
- Egidius, E., Wiik, R., Andersen, K., Hoff, K. A. and Hjeltne, B. (1986). *Vibrio salmonicida* sp. nov. a new fish, pathogen. *Inter J Syst Bacteriol* 36, 518-520pp.
- Eguchi, M., Fujiwara, E. and Miyamoto, N. (2000). Survival of *Vibrio anguillarum* in freshwater environments: adaptation or debilitation? *J Infect Chemother* 6, 126-129pp.
- Ekman, E. (2003). *Natural and experimental Infections with Flavobacterium psychrophilum in salmonid fish*. Swedish University of agricultural sciences, Doctoral thesis, 47s.
- Elsayed, E.E., Eissa, A.E., Faisal, M. (2006). Isolation of *Flavobacterium psychrophilum* from sea lamprey, *Petromyzon marinus* L., with skin lesion in Lake Ontario. *Journal of Fish Diseases*, 29: 629-632.
- Esteban, J.I., Oporto, B., Aduriz, G., Juste, R.A., Hurtado, A. (2009). Faecal shedding and strain diversity of *Listeria monocytogenes* in healthy ruminants and swine in Northern Spain. *BMC Veterinary Research*, 5, 1-10.
- FAO, (2023). FishStat Plus-Universal software for fishery statistical time series <http://www.fao.org/fishery/statistics/software/fishstat/en> (Erişim tarihi: 08.08.2023).
- Farmer III, J.J., Arduinoiii, M.J., Hickman-Brenner, F.W. (2006). *The genera Aeromonas and Plesiomonas*. In: M. Dworkin, S. Falkow, E. Rosenberg, K.H. Schleifer, and E. Stackebrandt, editors. *The Prokaryotes*. New York: Springer, 564–596.
- Frans, I., Michiels, C.W., Bossier, P., Willems, K.A., Lievens, B. and Rediers H. (2011). *Vibrio anguillarum* as a Fish Pathogen: Virulence Factors, Diagnosis and Prevention. *J Fish Dis* 34 (9), 643-61pp.

- Frerichs, G.N., Millar, S.D. (1993). *Manual for The Isolation and Identification of Fish bacterial Pathogens*. Institute of Aquaculture, University of Stirling, Pisces Pres, Stirling. 60s.
- Frerichs, G.N., Roberts R.J. (1989). *The bacteriology of Teleosts*. In: Fish pathology (ROBERTS, R.J. ed.) Second Edition. Bailliere Tindall, London 289-320.
- Fuhrman, H., Böhm, K.M., Schletfeld, H.C. (1983). An outbreak of enteric redmouth disease in West Germany, *J.Fish Dis.* 6, 309–311.
- Ghittino, C., Muzquiz, J.L. (1998). La streptococosis de la trucha arco iris en Espana. Reunion de Piscicultores. Zaragoza. *Revista Aquatic* 2.
- Gonzalez, C.J., Lopez-Diaz, T.M., Garcia-Lopez, M.L. Prieto, M., Otero, M. (1999). Bacterial microflora of wild brown trout (*Salmo trutta*), wild pike (*Esox lucius*) and aquacultured rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of Food Protection*, 62(11): 1270-1277.
- Gonzalez, C.J., Santos, J.A., Garcia-Lopez, M.L., Gonzalez, N., Otero, A. (2001). *Mesophilic aeromonads* in wild and aquacultured freshwater fish. *Journal of Food Protection*, 64(5): 687-691.
- Hanson, L.A., Hemstreet, W.G., Hawke, J.P. (2019). Motile *Aeromonas* septicemia (MAS) in fish. *Southern Regional Aquaculture Center*, 0478.
- Harrell, L.W., Novoty, A.J., Schiewe, M.H., Hodgins, H.O. (1976). Isolation and description of two vibrios pathogenic to Pacific salmon in Puget Sound, Washington. *Fish Bullet.* 74, 447-449
- Hatha, M., Vivekanandhan, A.A., Joice, G.J., Christol, J.J. (2005). Antibiotic resistance pattern of motile aeromonads from farm raised fresh water fish. *International Journal of Food Microbiology*, 98(2):131-134.
- Hendrie, M. S., Hodgkiss, W., Shewan, J. M. (1970). The identification, taxonomy and classification of luminous bacteria. *J. Gen. Microbiol.*, 64:151–169.
- Hendrie, M. S., Hodgkiss, W., Shewan, J. M. (1971). Proposal for the species *Vibrio anguillarum* Bergmen 1909, *Vibrio piscium* David 1927 and *Vibrio ichthyodermis* (Wells and ZoBell) Shewan, Hobbs and Hodgkiss 1960 be combined as a single species, *Vibrio anguillarum*. *Int. J. Bacteriol.*, 21: 64-68.

- Holliman, A. (1993). *The veterinary approach to trout in aquaculture for veterinarians*. Fish Husbandary and Medicine, ed. Lydia Brown Pergamon Press, 447p.
- Holt, R.A. (1987). *Cytophag, Psychrophil, the Causative Agent of Bacterial Cold-Water Disease in Salmonid Fish*. Oregon State University A Thesis 182 p.
- Holt, R.A., Rohovec, J.S. and Fryer, J.L. (1993). “*Bacterial cold-water disease*”, In: “*Bacterial Diseases of Fish*”, Inglis, V., Roberts, R. and Bromage, N. R. (ed.), Blackwell Scientific Publications, Oxford., 312p.
- Horne, M.T., Barnes, A.C. (1999). *Enteric redmouth disease (Yersinia ruckeri)*, In: Woo PTK, Bruno DW (eds) *Fish diseases and disorders*, Vol. 3. Viral, bacterial and fungal infections. CABI Publishing, Wallingford, 455-477.
- Hoshina, T. (1956). An epidemic disease affecting rainbow trout in Japan. *J. Tokyo Univ. Fisher.*, 42: 15- 16.
- Hunter, V.A., Knittel, M.D., Fryer, J.L. (1980). Stress-induced transmission of *Yersinia ruckeri* infection from carriers to recipient steelhead trout (*Salmo gairdneri*, Richardson). *Journal of Fish Diseases*, 3: 467–472.
- Inglis, V., Roberts, J.R., Bromage, R.N. (1993). Bacterial cold water disease. *Bacterial Disease of Fish*, 1-22.
- İnce, H. (2010). Balık hastalıklarında teşhis yöntemleri, Erişim: [http://www.ziraatci.com/editor/yazigoster.asp?katid=30&editid=427&yaziid=1260&manual=off&kategori=Su%20%C3%83%C5%93r%C3%83%C2%BCnleri], Erişim tarihi: 30.09.2010.
- İspir, Ü., Şeker, E., Sağlam, N., Dörücü, M. (2004). Doğu Anadolu Bölgesinde Bazı Gökkuşaklı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) İşletmelerinde görülen *Flavobacterium psychrophilum* Enfeksiyonunun Araştırılması. *Fırat Üniversitesi, Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 16(4), 718–724.
- Janda, J.M. (2001). *Aeromonas and Plesiomonas*, p. 1237–1270. In M. Sussman (ed.), *Molecular medical microbiology*, Academic Press, London, England
- Janda, J.M., Abbott, S.L. (2010). The genus *aeromonas*: Taxonomy, pathogenicity and infection. *Clin Microbiol Rev*, 23: 35-73.

- Janda, J.M., Motyl, M.R. (1985). "Cephalothin susceptibility as a potential marker for the *Aeromonas sobria* group." *Journal of Clinical Microbiology*, 22(5): 854-855.
- Joseph, S.W., Carnahan, A. (1994). The isolation, identification and systematics of the motile *Aeromonas* species. *Annu.Rev.Fish.Dis.*, 4: 315-343.
- Joseph, S.W., Janda, M., Carnahan, A. (1988). Isolation enumeration and identification of *Aeromonas* spp. *J.Food Safety.*, 9: 23-25.
- Kandil, M. (1976). *Balık hastalıkları*. Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi yayınları: 5. Ankara, 995s.
- Kang, S., Shin, G., Shin, Y., Palaksha, K.J., Kim, Y., Yang, H. (2004). Experimental evaluation of pathogenicity of *Lactococcus garvieae* in black rockfish (*Sebastes schlegeli*). *Journal of Veterinary Science*, 5(4), 387-390.
- Kaper, J. B., Lockman, H., Remmers, E. F., Kristensen, K. and Colwell, R. R. (1983). Numerical Taxonomy of *Vibrios* Isolated from Estuarine Environment. *Int J Syst Bacteriol* 33, 229-255.
- Karataş Düğenci, S., Candan, A. (1997). Marmara bölgesindeki bir gökkuşağı alabalığı (*O. mykiss*) işletmesinde Yersiniosis vakası. *IX. Ulusal Su Ürünleri Sempozyumu*. 17 – 19 Eylül 1997, Eğirdir/Isparta. 641–648.
- Karataş, S. (1996). *Salmo salar*larda bağırsak florasından *Aeromonas* cinsi bakterilerin izolasyonu. İstanbul Üniversitesi, MSc Thesis, İstanbul.
- Kayış, Ş., Er, A. (2014). Skin lesions on different fish species caused by bacteria, *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 31, 55-59.
- Kılıç, A., Şeker, E., Özcan, M., İspir, Ü. (2007). Elazığ'daki gökkusagı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) işletmelerinin bakteriyel yönden incelenmesi. *Fırat Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 19 (2): 129–132.
- Koneman, E.W., Allen, S. D., Janda, W. M., Schreckenberger, P. C., Winn, W. C. (1992). *Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*, Fourth Edition, J. B. Lippincott Company, Philadelphia, 0-397-51201-5.
- Korun, J. (2015). A study on the present disease situation of the cultured rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, W.) in Turkey. Sixth International Scientific Agricultural

Symposium "Agrosym 2015", Jahorina, Bosnia and Herzegovina, October 15-18, Book of Proceedings 2015 pp. 1729-1733.

- Korun, J., Gökoğlu, M. (2007). *Listonella anguillarum* isolated from Hatcherycultured red porg *Pagrus pagrus* in Turkey, *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 6: 823-827.
- Korun, J., Timur, G. (2001). Gökkuşığı Alabalıklarında (*Onchorhynchus mykiss*) fry mortalite sendromu (FMS) üzerinde bir çalışma. *İstanbul Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi*, 12:15-30.
- Korun, J., Timur, G. (2008). Marine Vibriosis Associated with Diseased Sea Bass (*Dicentrarchus labrax*) in Turkey. *Journal of FisheriesSciences.com* (online), 2(1),66-76.
- Kubilay A., Altun, S., Savaş S. (2009b). A study on aerobic bacterial flora during incubation of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum 1792) eggs in hatchery. *Journal of FisheriesSciences*. 3(1) 5–9.
- Kubilay, A. (1997). *Gökkuşığı alabalıklarında (Oncorhynchus mykiss) patojen bakteri Yersinia ruckeri'ye karşı antikor üretimi ve tespiti*. Doktora Tezi. Süleyman Demirel Üniveristesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Burdur. 118s.
- Kubilay, A., Altun, S., Didinen, B.I., Ekici, S., Diler, Ö. (2009a). Gökkuşığı Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) İşletmelerinde *Flavobacterium psychrophilum* İzalosyonu. *Kafkas Univ. Vet. Fak. Derg.* 15 (5): 709–715.
- Kubilay, A., Diler, Ö. (1999). Gökkuşığı alabalıklarından izole edilen *Yersinia ruckeri* suşlarının serotiplerinin Lam Aglutinasyon testi ve tespiti. *Süleyman Demirel Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Dergisi*. Sayı 6, 40-47.
- Kusuda, K., Kawai, K., Salati, F., Banner, C.R., Freyer, J.L. (1991). *Enterococcus serolocida* sp. nov, a fish pathogen. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 41, 406-409.
- Kusuda, R., Salati, F. (1999). *Enterococcus seriolocida* and *Streptococcus iniae*. *Fish Disease Lab. Faculty of Agriculture Kochi University Nankoku Kochi* 783.
- Larsen, J. L., Jensen, N. L. (1979). The Ulcus Syndrome in cod (*Gadus morhua*) II. A bacteriological investigation. *Nord. Vet. Med.*, 31, 289-296p.

- Lebnac, D., Mittal, K.R., Olivier, G., Lallier, R. (1981). Serogrouping of motile *Aeromonas* species isolated from healthy and moribund fish. *Applied and Environmental Microbiology*, 42, 1, 56-60.
- Lee, D.C., Lee, J.I., Park, C.I., Park, S.I. (2001). The study on the causal agent of Streptococciosis (*Lactococcus garvieae*), isolated from cultured marine fishes. *Journal of fish pathology*, 14(2), 71-80.
- Lehmann, J., Mock, D., Sturenberg, F.J., Bernardet, J.F. (1991). First Isolation of *Cytophaga psychrophila* from a Systemic Disease in Eel and Cyprinids. *Diseases of Aquatic Organisms*, 10: 217–220.
- Lelliott, R.A., Stead, D.E. (1987). *Methods for diagnosis of bacterial diseases of plants*. Blackwell Scientific Publications, 216 s.
- Lesel, R., Lesel, M., Gavini, F., Vuillaume, A. (1983). Outbreak of enteric red mouth disease in rainbow trout, *Salmo gairdneri* richhardson, in France. *Bull. Eur. Ass. Fish Pathol.*, 6, 385-7.
- Lido, Y., Mizokami, A. (1996). Outbreaks of coldwater disease in wild ayu and pale chub. *Fish Pathol.*, 31, 157 – 164.
- Lin, C.K., Tsen H.Y. (1996). Use of two 16S DNA Targeted Oligonucleotides as PZR Primers for the Specific Detection of Salmonella in Foods. *Journal of Applied Bacteriology*, 80: 659–666.
- Lorenzen, E. (1994). *Studies on Flexibacter psychrophilus in relation to rainbow trout fry syndrome (RTFS)*. National Veterinary Laboratory, Royal Veterinary and Agricultural University, Copenhagen. Ph.D. thesis. 174p.
- Lorenzen, E., Dalsgaard, I., Bernardet, J.F. (1997). Characterization of isolates of *Flavobacterium psychrophilum* associated with coldwater disease or rainbow trout fry syndrome I: phenotypic and genomic studies. *Diseases of Aquatic Organisms*, 31: 197-208
- Lorenzen, E., Dalsgaard, I., From, J., Hansen, F. M., Horlyck, V., Korsholm, H., Mellergaard, S., Olesen, N.J. (1991). Preliminary investigations of fry mortality syndrome in rainbow trout. *Bull. Eur. Assoc. Fish Pathol.* 11: 77–79.

- Lorenzen, E., Olesen, N.J. (1997). Characterization of isolates of *Flavobacterium psychrophilum* associated with coldwater disease or rainbow trout fry syndrome II: serological studies. *Diseases of Aquatic Organisms*, 31, 209–220.
- Lucangeli, C., Morabito, A., Caprioli, A., Achene, L., Busani, L., Mazzolini, E., Fabris, A., Macri, A. (2000). Molecular fingerprinting of strains of *Yersinia ruckeri* serovar O1 and *Photobacterium damsela* subsp. *piscicida* isolated in Italy. *Veterinary Microbiology* 76, 273-281.
- Lumsden, J.S., Ostland, V.E., Ferguson, H.W. (1996). Necrotic Myositis in Cage Cultured Rainbow Trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), Caused by *Flexibacter psychrophilus*. *Journal of fish diseases*, 19; 113–119.
- Madetoja, J., Hänninen, M-N., Hirvelä-Koski, V., Dalsgaard, I., Wiklund, T. (2001). Phenotypic and genotypic characterization of *Flavobacterium psychrophilum* from Finnish fish farms. *J. Fish Dis.* 24: 469–479.
- Martin-Carnahan, A., Joseph, S.W. (2005). *Genus I. Aeromonas*. In: Brenner, D.J., Krieg, N.R. and Staley, J.T., editors. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Springer, New York, 557-578.
- Martínez-Murcia, A.J., Figueras, M.J., Saavedra, M.J., Stackebrandt, E. (2007). The recently proposed species *Aeromonas sharmans* sp. nov., isolate GPTSA-6T, is not a member of the genus *Aeromonas*. *Int. Microbiol.*, 10:61-64.
- Marx, J.L. (1988). Multiplying Genes by Leaps and Bounds. *Science*, 240: 1408–1410.
- Mullis, K. B. (1990). The Unusual Origin of the Polymerase Chain Reaction. *Sci. Am.* 262,(4): 56-65.
- Munday, B.L., Jack, D.L., Schmidtke, L. (1993). Pathogenicity of the species *Streptococcus* causing disease in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists* 13(1), 25-27.
- Munro A. L. S. (1982). *The Pathogenesis of Bacterial Diseases of Fish*. In “Microbial Disease of Fish” (ed. By R. J. Roberts). *Academic Press, London*, s. 131 – 149.
- Nematollahi, A., Decostere, A., Pasmans, F., Haesebrouck, F. (2003). *Flavobacterium psychrophilum* infections in salmonid fish. *Journal of Fish Diseases*, 26: 563–574.

- Noga, E.J. (2000). *Fish Diseases: Diagnosis and Treatment*. Iowa State University Press, p.367, Ames.
- Noga, E.J. (2010). *Fish disease, diagnosis and treatment*. Willey Blackwell, USA.
- O’leary, P.J., Rohovec, J.S., Fryer, J.L. (1979). A further characterisation of *Yersinia ruckeri* (enteric redmouth bacterium). *Fish Pathol*, 14, 71-78.
- Olive, DM., Bean, P. (1999). Principles and Applications of Methods for DNA- Based Typing of Microbial Organizms. *J. Clin. Microbiol.* 37, 1661-1669.
- Ostland, V.E., McGrogan, D.G., Ferguson, H.W. (1997). Cephalic osteochondritis and necrotic scleritis in intensively reared salmonids associated with *Flexibacter psychrophilus*. *Journal of Fish Diseases*, 20: 443-451.
- Özcan, M., Sarieyyüpoğlu, M. (2013). Investigation of the Antibacterial Susceptibilities of *Flavobacterium psychrophilum* Isolated in Some Trout Farms of Elazığ City. *Aquaculture Studies*, 13(2), 011-019.
- Özcan, M., Sarieyyüpoğlu, M. (2014). Identification and Investigation of Phenotypic and Genotypic Characteristics of *Flavobacterium psychrophilum* in Fry Rainbow Trouts (*Oncorhynchus mykiss*) in Some Trout. *International Journal of Sciences* 3(04), 24–34. Available at SSRN: <https://ssrn.com/abstract=2573671>
- Pacha, R. E. and Kiehn, E.D. (1969). Characterization and Relatedness of Marine *Vibrios* Pathogenic to Fish: Physiology, Serology and Epidemiology. *J. Bacteriol.*, 100, 1242-1247pp.
- Peggy, A.R., Francus-Floyd, R. (2002). *Vibrio Infections of Fish*.<http://edis.ifas.ufl.edu>. Erişim Tarihi: 01.06. 2002.
- Pereira, F., Ravelo, C., Toranzo, A.E., Romalde, J.L. (2004). *Lactococcus garvieae*, an emerging pathogen for the Portuguese trout culture. *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists*, 24(6), 274–279.
- Plumb, J.A. (1999). *Health maintenance and pirincipal microbial disease of cultured Fishcs*. Iowa State University/Amcs, 328p.
- Popoff, M. (1984). *Genus III Aeromonas* Kluver and Van Niel 1936, 398AL, In „Bergey’s Manual of Systematic Bacteriology“, Editors, NR Krieg, JG Holt, Volume 1, Williams&Wilkins, London. 545–548.

- Popoff, M., Véron, M. (1976). A taxonomic study of the *Aeromonas hydrophila*–*Aeromonas punctata* group. *Journal of General Microbiology*, 94(1), 11–22.
- Pridgeon J.W. and Klesius, P.H. 2012. Major bacterial diseases in aquaculture and their vaccine development. *CAB Rev.*, 141-148.
- Prieta, J., Domenech, A.M., Fernandez-Garaizabal, J.F., Collins, M.D., Rodrigues, U.M., Jones, D. (1993). Laktokokkozis De la Trucha Arco Iris (*Oncorhynchus mykiss*). *Medicine Veterinary*, 10, 367–373.
- Quirke, P. (1992). Molecular Biology and Infections of the Gut. *Gut*, 33: 1441–1443.
- Rahman, M., Colque-Navaro, P., Kuhn, I., Huys G., Swings, J., Mollby, R. (2002). Identification and characterization of pathogenic *Aeromonas veronii* biovar *sobria* associated with epizootic ulcerative syndrome in fish in Bangladesh. *Applied Environmental Microbiology*, 68, 650-655.
- Ramon, J.S., Allen, D.A., Lockman, H., Colwell, R.R., Joseph, S.W., Daily, O.P. (1980), Isolation, enumeration, and characterization of *Aeromonas* from polluted waters encountered in divining operations. *Applied and Environmental Microbiology*, 39, 5: 1010-1018.
- Ravelo, C., Magarinos, B., Lopez-Romalde, S., Toranzo, A.E., Romalde, J.L. (2002). Molecular Fingerprintings of Fish-Pathogenic *Lactococcus garvieae* Strains by Random Amplified Polymorphic DNA Analysis. *Journal of Clinical Microbiology*, 41(2), 751–756.
- Reed, P.A., Francis-Floyd, R. (2013). *Vibrio* infections of fish. <http://ufdcimages.uflib.ufl.edu/IR/00/00/13/26/00001/FA03600.pdf>, Son Erişim Tarihi: 10.01.2013.
- Roberts, M.S. (1983). A report of an epizootic in hatchery reared rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson at an English trout farm, caused by *Yersinia ruckeri*. *J. Fish. Dis.* 6, 551-552.
- Roberts, R.J. (1978). Vibrionaceae. *Fish Pat.*, 191-195pp
- Roberts, R.J. (1993). *Motile Aeromonad Septicaemia*, In *Bacterial Diseases of Fish* (edited by INGLIS, V., ROBERTS, R. J. and BROMAGE, N. R.), Blackwell Scientific Publications, 0-632-03497-1.

- Rodkhuma, C., Hirono, I., Crosab, J.H., Aoki, T. (2005). Four Novel Hemolysin Genes Of *Vibrio anguillarum* And their Virulence To Rainbow Trout. *Microbial Pathogenesis* 39,109–119.
- Ross, A.J., Rucker, R.R., Ewing, W.N. (1966). Description of a bacterium associated with remouth disease of rainbow trout. *Canadian journal of Microbiology*. 12, 763-70.
- Saiki, R.K., Gelfand, D.H., Stoffel, S., Scharf, S.J., Higuchi, R., Horn, G.T., Mullis, K.B., Erlich, H.A. (1988). Primer-Directed Enzymatic Amplification of DNA with a Thermostable DNA Polymerase. *Science*, 239: 487–491.
- Sander, J.E., Fryer J.L. (1988). *Bacteria of Fish in "Methods in Aquatic Bacteriology"* (Ed by AUSTIN), John wiley & Sons ltd., Cichester, New York, Brisbane, Toronto, Singapore.
- Sands, D.C. (1990). *Physiological criteria-determinate tests*. In *Methods in Phytobacteriology*, ed: Klement, Z., Rhudolp, K., Sands, D.C., Academia Kiado, Budapest, Hungary.
- Santos, Y., Huntly, P.J., Turnbull, A., Hasting, T.S. (1992). Isolation of *Cytophaga psychrophila* (*Flexibacter psychrophilus*) in association with rainbow trout mortality in the U.K, *Bull. of The European Ass. of Fish Pathol.*, 12, 209-210.
- Sarıeyyüpoğlu, M. (1984). Gökuşağı Alabalıklarında (*S. gairdneri*) Mide-Bağırsak Bakteriyel Florasının Aerobik Yönden İncelenmesi. *Doğa Bilim Dergisi*, 8, 3: 281-287.
- Scallan, A. (1983). *Investigations into symptomatic carriers of furunculosis*. Ph.D Thesis, National University of Ireland, Dublin.
- Schiewe, M. H., Trust, T. J., Crosa, J. H. (1981). *Vibrio ordalii* sp. nov.: A Causative Agent of Vibriosis in Fish. *Cur Microbiol* 6, 343-348pp.
- Schiewe, M.H., Crosa, J.H. (1981). Molecular Characterization of *Vibrio anguillarum* biotype 2. *Can J Microbiol* 27, 1011-1018pp.
- Schmidt, A.S., Bruun, M.S., Dalsgaard, I., Pedersen, K., Larsen, J.L. (2000). Occurrence of antimicrobial resistance in fish-pathogenic and environmental bacteria associated with four Danish rainbow trout farms. *Applied and Environmental Microbiology*, 66: 4908–4915.

- Schmidtke, L.M., Carson, J. (1995). Characteristics of *Flexibacter psychrophilus* isolated from Atlantic salmon in Australia. *Diseases of Aquatic Organisms*, 21:157-161.
- Shotts, E.B., Starliper, C.E. (1999). *Flavobacterial Disease: Columnaris Disease, Cold-water Disease and Bacterial Gill Disease*. In *Fish Diseases and Disorders*, Vol. 3, Eds. Woo, P.T.K., Bruno, D.W., 559-577.
- Singh, J., Batra, N., Sobti, R.C. (2001). Serine Alkaline Protease from a Newly Isolated *Bacillus* sp. SSR1. *Process Biochem.* 36:781-785.
- Skrodenyte-Arbaciauskiene, V., Sruoga, A., Butkauskas, D. (2006). Assessment of microbial diversity in the river trout, *Salmo trutta fario* L., intestinal tract identified by partial 16SrRNA gene sequence Analysis. *Fisheries Science*, 72(3): 597–602.
- Soltani, M., Nikbakht, G.H., Mousavi, H.A.E., Ahmadzadeh, N. (2008). Epizootic outbreaks of laktokokkozis caused by *Lactococcus garvieae* in farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Iran. *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists*, 28(5), 170-175.
- Southage, P. (1993). *Disease in aquaculture*. In, Brown L (Ed): *Aquaculture for Veterinarians*. 1st ed. pp. 84-102, Pergamon Pres, New York.
- Sreedharan, K., Philip, R., Singh, I.S.B. (2013). Characterization and virulence potential of phenotypically diverse *Aeromonas veronii* isolates recovered from moribund freshwater ornamental fishes of Kerala, India. *Antonie van Leeuwenhoek*, 103: 53–67.
- Stevenson, R. M. W., Daly, J. G. (1982). Biochemical and serological characteristic of Ontario isolates of *Yersinia ruckeri*. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 39, 870-876.
- Sudheesh, P.S. Al-Ghabshi, A. Al-Mazrooei, N. and Al-Habsi, A. (2012). Comparative pathogenomics of bacteria causing infectious diseases in fish. *Int. J. Evol. Biol.*, 16 p.
- Swaminathan, B., Matar, G.M. (1993). *Molecular Typing methods*. “*Diagnostic Molecular Microbiology: Principles and Applications*”. ASM. pres Washington DC. 26-50.
- Şahin, A.G., San, A.T., Gürçay, S., Alkan, S.M. (2018). Green Terror (Andinoacara rivulatus) Balığında Motil Aeromonas Olgusu. *International Journal of Pure and Applied Sciences*, 4(1), 72-76.

- Şık, Z., Altındaş, Ö., Atıcı, E.G. (2020). Balıklardan izole edilen bakteriyel etkenler: Beş yıllık değerlendirme. *Etlik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi*, 31(1), 29-33.
- Tanrıkul, T.T. (1994). *Yersiniozis hastalığından korunmada aşı uygulamaları ve bu uygulamaların sonuçlarının değerlendirilmesi*. Doktora tezi. Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü. Bornova(İzmir). 33s.
- Tanrıkul, T.T. (2007). Vibriosis as an Epizootic Disease of Rainbow Trout (*Onchorynchus mykiss*) in Turkey. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 10(10), 1733-1737.
- Tanrıkul, T.T., Çağırğan,H., Tokşen, E. (2004). Levrek’lerden (*Dicentrarchus labrax* L., 1758) İzole Edilen *Vibrio* Türlerinin API 20E Yöntemiyle İdentifikasyonu. *E.Ü. Su Ürünleri Dergisi*, 21(3-4): 243– 247.
- Taylor, G.R. (1993). *Polymerase Chain Reaction: Basic Principles and Automation*.In PZR: A Pratical Approach, Eds:McPherson, M.J., Quirke, P. and Taylor, G.R.Oxford University Press,Oxford, 1-14.
- Tiainen, T., Pedersen, K., Larsen, J. L. (1997). *Vibrio anguillarum* serogroup O3 and *V. anguillarum* like serogroup O3 cross-reactive species: Comparison and characterization. *J. Appl., Microbiol.*, 82(2), 211-218pp.
- Timur, G., Karataş, S., Çolak, S., Akaylı, T. (1996). Gökkuşığı alabalık (*Oncorhynchus mykiss*, W, 1792) yavrularında görülen furunkulosis hastalığı üzerine bir çalışma. *II. International Symposium on Aquatic Products*. İstanbul, Türkiye.
- Timur, G., Korun, J. (2004). First Outbreak of Vibriosis in Farmed Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Turkey. *Istanbul University Journal of Fisheries*, 18, 1-9.
- Timur, G., Timur, M. (1991). An Outbreak of Enteric redmouth disease in farmed rainbow trout (*Onchorynchus mykiss*) in Turkey. *Bull. Eur. Ass. Fish Pathol.*, 11, 182-183.
- Timur, M., Timur, G. (2003). *Balık Hastalıkları Kitabı*. TC. İstanbul Üniversitesi Yayınları, Rektörlük Yayın No: 4426, Su Ürünleri Yayın No: 5, 238, İstanbul. 588 s.
- Toranzo A. E., Barja, J. L. (1990). A review of the taxonomy and seroepizootiology of *Vibrio anguillarum*, with special reference to aquaculture in the northwest of Spain. *Diseases of Aquatic Organism*, 9: 73-82.

- Toranzo, A.E., Barja, L.J. (1993). "Fry Mortality Syndrome (FMS) In Spain. Isolation of The Causative Bacterium *Flexibacter psychrophilus*". *Bull. Eur. Ass. Fish Pathol.*, 13(1):30-32.
- Toranzo, A.E., Magarinos, B., Romalde, J.L. (2005). A review of the main bacterial fish diseases in mariculture systems. *Aquaculture*, 246, 37-61.
- TÜİK, (2023). Su Ürünleri İstatistikleri <https://biruni.tuik.gov.tr/medas/?kn=97&locale=tr> (Erişim tarihi: 04.08.2023).
- Türe, M., & Savaş, H. (2010). Karadeniz Bölgesinde Gökkuşığı Alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) Lactococcosis (*Lactococcus garvieae*). *Aquaculture Studies*, 3: 19-20.
- Türe, M., ve Altınok, İ., 2012. PFGE Metodu Kullanılarak *L. garvieae*'nin Genetik Çeşitliliğinin ve Yayılımının Belirlenmesi. Su Ürünleri Merkez Araştırma Enstitüsü-Trabzon. TAGEM/HS/10/09/02)179
- URL-1 <http://www.mikrobiyoloji.org/> Bazı Önemli Biyokimyasal Testler. 11 Ekim 2009.
- Ürkü, Ç. (2011). *Gökkuşığı Alabalıklarında (Oncorhynchus mykiss, W.) Deneysel Olarak Oluşturulan Lactococcosis' in Bakteriyolojik ve Serolojik Metotlarla Teşhisi*. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü. İstanbul, 126s.
- Van der Marel, M., Schroers, V., Neuhaus, H., Steinhagen, D. (2008). Chemotaxis towards, adhesion to, and growth in carp gut mucus of two *Aeromonas hydrophila* strains with different pathogenicity for common carp, *Cyprinus carpio* L. *Journal of Fish Diseases*, 31(5), 321-330.
- Wahli, T., Burr, S.E., Pugovkin, D., Mueller, O., Frey, J. (2005). *Aeromonas sobria*, a causative agent of disease in farmed perch, *Perca fluviatilis* L. *Fish Diseases*, 28, 141-150.
- Wakabayashi, H., Toyama, T., Lida, T. (1994). A study on serotyping of *Cytophaga psychrophila* isolated from fishes in Japan. *Fish Pathology*, 29, 101-104.
- Wells, N. A., Zobell, C.E. (1934) *Achromobacter ichthyodermis*, n. sp., the etiological agent of an infectious dermatitis of certain marine fishes. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 20:123-126.

- Wiklund, T., Kaas, K., Lönnström, L., Dalsgaard, I. (1994). Isolation of *Cytophaga psychrophila* (*Flexibacter psychrophilus*) from wild and farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Finland. *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists*, 14 (2): 44-46.
- Willumsen, B. (2006). Birds and wild fish as potential vectors of *Yersinia ruckeri*, *J. Fish Dis.* 12 (3), 275-277.
- Woo, P.T.K., Bruno, D.W. (2003). Viral, Bacterial and Fungal Infections. *Fish Disease and Disorders*, 3, 874.
- Yıldırım, S. (2007). *Mersin Çağlarca Köyündeki Gökkuşığı Alabalığı (Oncorhynchus mykiss, Walbaum, 1792) Kuluçkahanelerinde Flavobacterium spp.'nin Araştırılması*. Mersin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi 79s.
- ZoBell, C.E., Upham, H.C. (1944). A List of Marine Bacteria Including Descriptions of Sixty New Species. *Bul. Scr. Ins. Ocean*, 5: 239-292.