

22220

AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SAPROLEGNIASIS HASTALIĞININ PATOGENESİSİ VE ISPARTA BÖLGESİ  
BALIK İŞLETMELERİNDEKİ DAĞILIMI ÜZERİNDE BİR ARAŞTIRMA

DOKTORA TEZİ

Biyolog Öznur DİLER

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 06.01.1992

Tezin Savunulduğu Tarih : 27.02.1992

Tez Danışmanı : Prof.Dr.Metin TİMUR

Diğer Jüri Üyeleri : Prof.Dr.Gülten KÖKSAL

Prof.Dr.Gülşen TİMUR

Ocak, 1992

T.C. İÜ. AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ  
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

## ÖNSÖZ

Balık yetiştiriciliği, beslenmedeki sorunların çözümü için ümit vaadeden ve üzerinde önemle durulması gereken yeni bir sektördür. Bu sektördeki başarı yetiştiricilikte karşılaşılan hastalıklar, su kalitesi, yem ve besleme gibi problemlerin zamanında çözülmesine bağlıdır.

Balık patolojisi içerisinde yer alan mikopatoloji, balıklarda sıkça görülen mantar hastalıklarının teşhis ve tedavisindeki sorunların çözümünü amaçlamakta ve bu konudaki yeni gelişmeleri üreticilerin istifadesine sunmaktadır. Bu nedenle, çalışmamızda özellikle içsu balık yetiştiriciliğinde balıkların her döneminde ortaya çıkan Saprolegniasis hastalığının etkeni olan mantarların biyolojileri, patogenesisi araştırılarak incelenmiştir.

Bu konuyu öneren ve araştırmayı yöneten tez danışmanım sayın hocam Prof.Dr.Metin TİMUR'a, çalışmalarında yardımcı olan sayın hocam Prof.Dr.Gülşen TİMUR'a, şekillerimin çiziminde yardımcı olan Arş.Gör.İ.İsmail TURNA'ya, araştırmalarımında destek olan Arş.Gör.Abdullah DİLER'e, tezin yazımında yardımcı olan Gülfidan DİLAVER'e en içten teşekkürlerimi sunarım.

Kaynak gösterilmek suretiyle tezimden yararlanılabilir.

Eğirdir

Ocak, 1992

Öznur DİLER

## İÇİNDEKİLER

|   | <u>Sayfa</u> |
|---|--------------|
| ÖNSÖZ   | II           |
| İÇİNDEKİLER   | III          |
| ÖZET  | VIII         |
| SUMMARY   | IX           |
| 1. GİRİŞ .....  | 1            |
| 2. LİTERATÜR BİLGİSİ .....  | 4            |
| 2.1. Patojen Mantar Enfeksiyonları .....  | 4            |
| 2.2. Class : Oomycetes .....  | 6            |
| 2.2.1. Morfolojisi .....  | 6            |
| 2.2.2. Taksonomi .....  | 7            |
| 2.3. Ordo : Saprolegniales .....  | 8            |
| 2.3.1. Genel Özellikleri .....  | 8            |
| 2.3.2. Saprolegniales'in Biyolojisi .....   | 10           |
| 2.3.2.1. Aseksüel Üreme .....   | 10           |
| 2.3.2.2. Seksüel Üreme .....  | 13           |
| 2.3.3. Taksonomisi .....  | 16           |
| 2.4. Saprolegniaceae Patogenesisi .....   | 16           |
| 2.4.1. Yumurta ve Balıklarda Görülen <u>Saprolegnia</u> Enfeksiyonları ile İlgili Sistematik Çalışmalar ..... | 20           |
| 2.4.2. Saprolegniasis Enfeksiyonunu Hazırlayıcı Sebepler ve Enfeksiyonun Yayılması .....                      | 25           |
| 2.4.2.2. Balıklarda Enfeksiyonu Hazırlayıcı Sebepler ve Enfeksiyonun Yayılması .....                          | 26           |
| 2.4.3. Çeşitli Faktörlerin Zoosporogenesis Üzerindeki Etkisi .....  | 27           |
| 2.5. Isparta Bölgesi ve Su Ürünleri Potansiyeli .....   | 28           |

|  |           |
|--|-----------|
| 2.5.1. Isparta Bölgesinin Coğrafi Yapısı .....   | 28        |
| 2.5.2. Bölgenin Su Ürünleri Potansiyeli ve Isparta İlindeki Balık Üretim ve Yetiştirme Tesisleri ..... | 29        |
| <b>3. MATERYAL VE METOD .....</b>  | <b>31</b> |
| 3.1 Materyal .....   | 31        |
| 3.1.1. Isparta Bölgesi Balık İşletmeleri .....   | 31        |
| 3.1.2. Uygulamada Kullanılan Balık ve Yumurtalar .....   | 36        |
| 3.1.3. Uygulama Yeri .....   | 36        |
| 3.1.3.1. Uygulama Akvaryumları .....   | 37        |
| 3.1.3.2. Uygulamada Kullanılan Su Kaynağı .....  | 38        |
| 3.1.3.3. Uygulamada Kullanılan Su Sterilizatörü ve Besiyerleri .....                                   | 38        |
| 3.1.3.3.1. Su Sterilizatörü .....  | 38        |
| 3.1.3.3.2. Besiyerleri .....   | 39        |
| 3.2. Metod .....   | 39        |
| 3.2.1. Uygulamada Kullanılan Döllenenmiş Yumurtaların Elde Edilmesi .....                              | 39        |
| 3.2.2. Yumurta ve Yavru Balıkların Taşınması .....   | 39        |
| 3.2.2.1. Yumurtaların Taşınması .....  | 39        |
| 3.2.2.2. Yavru Balıkların Taşınması .....  | 40        |
| 3.2.3. Yumurta ve Yavru Balıkların Dezenfeksiyonu .....  | 40        |
| 3.2.4. İnkübatörün Kurulması .....   | 40        |
| 3.2.5. Etken İzolasyonu .....  | 41        |
| 3.2.6. Besiyerlerinin Hazırlanması .....   | 41        |
| 3.2.7. Kültürlerin İdentifikasyonu .....   | 42        |
| 3.2.8. Kültürlerin Muhafazası .....  | 43        |
| 3.2.9. Uygulamada Kullanılan Yumurta ve Yavru Balıklarda Enfeksiyon Oluşturulması .....                | 43        |

|  |    |
|--|----|
| 3.2.10. Histopatolojik Çalışmalar .....  | 43 |
| 3.2.10.1. Örneklerin Tespit İşlemi .....   | 43 |
| 3.2.10.2. Örneklerin Histokimyasal Boyanması ve İncelenmesi .....  | 43 |
| 3.2.11. Uygulamada Kullanılan Değişik Kalitedeki Akvaryum Sularının Hazırlanması .....                   | 44 |
| 3.2.12. İşletme Sularının Analizleri .....   | 44 |
| 3.2.12.1. Kimyasal ve Fiziksel Analizler .....   | 44 |
| 3.2.12.2. Mikrobiyolojik Analizler .....   | 44 |
| 3.2.13. Hematolojik Çalışmalar .....   | 45 |
| 3.2.13.1. Balıklardan Kan Alma Metodu .....  | 45 |
| 3.2.13.2. Buffy-coat Tekniği .....   | 45 |
| 3.2.13.3. Kan Frotisi Hazırlama Tekniği .....  | 45 |
| 3.2.13.4. Kan Boyama Tekniği .....   | 45 |
| 4. BULGULAR .....  | 46 |
| 4.1. Yumurta ve Balıklardan Elde Olunan İzolatların Genus Seviyesinde Tespiti İle İlgili Bulgular .....  | 46 |
| 4.1.1. Genus : <u>Saprolegnia</u> .....  | 46 |
| 4.1.2. Genus : <u>Pythium</u> .....  | 58 |
| 4.2. Yumurta ve Yavru Balıklardan Elde Olunan İzolatların Tür Seviyesinde Tespiti İle İlgili Bulgular .. | 59 |
| 4.2.1. <u>Pythium</u> <u>afertile</u> Kanouse ve Humphrey, 1927 ....                                     | 59 |
| 4.2.2. <u>Pythium</u> <u>elongatum</u> Matthews, 1931 .....  | 61 |
| 4.2.3. <u>Saprolegnia</u> <u>litoralis</u> Coker, 1923 .....   | 63 |
| 4.2.4. <u>Saprolegnia</u> <u>terrestris</u> Cookson ex Seymour, 1937 .....                               | 64 |
| 4.2.5. <u>Saprolegnia</u> <u>glomerata</u> (Tiesenhausen) Lund, 1934 .....                               | 65 |
| 4.2.6. <u>Saprolegnia</u> <u>ferax</u> (Gruithuisen) Thuret, 1850 ..                                     | 66 |
| 4.2.7. <u>Saprolegnia</u> <u>diclina</u> Humphrey, 1893 .....  | 67 |
| 4.3. Isparta Bölgesi Balık İşletmelerinde Elde Olunan İzolatlarla İlgili Bulgular .....                  | 70 |

|  |    |
|--|----|
| 4.3.1. Gökçeli Alabalık İşletmesine Ait İzolatlarla İlgili Bulgular .....                              | 70 |
| 4.3.2. Çukurköy Alabalık İşletmesine Ait İzolatlarla İlgili Bulgular .....                             | 72 |
| 4.3.3. Milas Alabalık İşletmesine Ait İzolatlarla İlgili Bulgular .....                                | 74 |
| 4.3.4. Eğirdir-Fidanlık Sazan İşletmesine Ait İzolatlarla İlgili Bulgular .....                        | 75 |
| 4.4. Yumurta ve Larvalarda Enfeksiyon Çalışmalarına Ait Bulgular .....                                 | 76 |
| 4.4.1. Yumurtalarda Enfeksiyon Çalışmalarına Ait Bulgular .....  | 76 |
| 4.4.1.1. Milas Alabalık Üretim İstasyonu İle İlgili Bulgular .....                                     | 76 |
| 4.4.1.2. Gökçeli Alabalık İşletmesi İle İlgili Bulgular .....  | 78 |
| 4.4.2. Larvalarda Enfeksiyon Çalışmalarına Ait Bulgular .....  | 79 |
| 4.5. Farklı pH Değerleri ve Organik Maddenin Yumurtalarda Enfeksiyon Oluşumu Üzerindeki Etkileri ..... | 82 |
| 4.5.1. Su Sıcaklığı $9.5 \pm 1$ °C Olan Ortamlarda Enfeksiyonun İzlenmesi .....                        | 82 |
| 4.5.2. Su Sıcaklığı $15 \pm 1$ °C Olan Ortamlarda Enfeksiyonun İzlenmesi .....                         | 84 |
| 4.6. Farklı pH Ortamlarındaki Yavru Balıklarda Enfeksiyonun İzlenmesi .....                            | 85 |
| 4.6.1. Su Sıcaklığı 11-12 °C Olan Ortamlarda Enfeksiyonun İzlenmesi .....                              | 85 |
| 4.6.2. Su Sıcaklığı $15 \pm 1$ °C Olan Ortamlarda Enfeksiyonun İzlenmesi .....                         | 86 |
| 4.7. Histopatolojik Bulgular .....   | 87 |
| 4.8. Hematolojik Çalışmalar .....  | 90 |
| 4.9. Farklı Sıcaklık Değerlerinin <u>Saprolegnia sp.</u> 'nin Büyümesi Üzerindeki Etkisi .....         | 92 |

|   |     |
|---|-----|
| 4.10. Farklı pH Değerlerinin <u>Saprolegnia sp.</u> 'nin Büyüme-<br>si Üzerine Etkisi ..... | 93  |
| 4.11. Su Analizlerine Ait Bulgular .....  | 94  |
| 4.11.1. Mikrobiyolojik Analiz .....   | 94  |
| 4.11.2. İşletmelere Ait Suların Kimyasal ve Fiziksel<br>Analizleri .....                    | 94  |
| 4.11.3. Denemede Kullanılan Suyun Kimyasal Özellikleri                                      | 96  |
| 5. TARTIŞMA VE SONUÇ .....  | 97  |
| KAYNAKLAR .....   | 106 |
| ÖZGEÇMİŞ .....  | 118 |



## ÖZET

Bu araştırmada Isparta ili balık üretim tesislerinden temin edilen Gökkuşağı alabalığı (Oncorhynchus mykiss) yumurta ve yavru balıkları ile aynalı sazan (Cyprinus carpio) yumurtalarından Saprolegniasis etkeni mantarların izolasyonu, identifikasyonu ve patogenesisi çalışılmıştır.

Enfekte yumurta ve yavru balıklardan yapılan bu izolasyon çalışmalarında bütün şletmelere ait yumurta ve yavru balıklarda toplam 52+13 Saprolegnia, 8+3 Pythium izolatı elde edilerek bunların S. litoralis, S. terrestris, S. diclina, S. glomerata, S. ferax, P. elongatum, P. afertile türleri oldukları, Oogonium üretmeyenler ise Saprolegnia sp. olarak kaydedilmiştir.

Yumurtalarla yapılan enfeksiyon çalışmalarında Saprolegnia sp.'nin önce ölü yumurtalara yerleştiği, daha sonra canlı yumurtalara zarar verdiği ve enfeksiyon miktarının yumurta kalitesine bağlı olarak değişebildiği gibi su sıcaklığı, pH ve zoospor sayısının bu hastalığın yayılmasında önemli rol oynadığı görölmüştür.

Alabalık larvalarında Saprolegnia enfeksiyonu önce baş bölgesinden başlayarak vücudun diğer bölgelerine yayılırken, histolojik bakıda yumurta kesesi boyunca Saprolegnia hifaları tespit edilmiştir. Yavru balıklardaki histolojik kesitlerde de epidermisin nekroze olduğu, göz ve kas tabakasında ise Saprolegnia hifaları görölmüştür.

Enfeksiyonla ilgili yapılan buffy-coat alışmalarında lenfosit, monosit ve nötrofilik granülosit'den oluşan tablonun şkillendiği belirlenmiştir.

## SUMMARY

In this study the pathogenesis of Saprolegniasis in the eggs and fry of rainbow trout was carried out. Saprolegniaceous fungi were isolated and identified from rainbow trout (Oncorhynchus mykiss) eggs, fry and mirror carp (Cyprinus carpio) eggs from the fish farms in Isparta.

The Isolated species were identified as Saprolegnia litoralis, S. terrestris, S. diclina, S. glomerata, S. ferax, Pythium elongatum, P. afertile.

In the experimental infection studies the Saprolegnia sp. firstly localized on to dead eggs, then spread to alive eggs. The water temperature, pH and number of the spores were particularly important factors at the Saprolegnia infection.

At the beginning of the infection on rainbow trout, the infection had begun on the head region then spread to the other parts of the body.

In histopathological study it was observed that infected fry the fungi hyphae were distended throughout the yolk sac. On the larvae fungi-causing necrosis were observed in epidermis and dermis, and the layers were disappeared, only melanin pigment remained.

In buffy-coat studies, observed blood cells were neutrophiles, monocytes and lymphocytes.

## 1. GİRİŞ

Dünya nüfusunun zamanla artmasına paralel olarak protein ihtiyacı ve açığıda her geçen gün artmaktadır. Bu durum yeni protein kaynakları arayışını da beraberinde getirmektedir.

Amino asit bakımından zengin bir protein kaynağı olan balık eti diğer protein kaynaklarıyla mukayese edildiğinde, daha kolay sindirilebilirlik özelliği taşıdığı ortaya çıkmaktadır. Dünya balık üretimi toplam 76,8 milyon ton kadardır. Bunun yaklaşık 6,8 milyon tonu yetiştiricilik yolu ile elde edilmektedir. Dolayısıyla yetiştiricilik yoluyla elde olunan balık miktarı giderek önem kazanmakta ve 2000'li yıllarda bu yolla yaklaşık 50 milyon ton balık üretilebileceği hesaplanmaktadır (19).

Ülkemiz için günümüzde ve gelecekte besin deposu durumunda olan içsu kaynaklarımız büyük bir potansiyel oluşturmaktadır. Zira, projesi onaylı balık yetiştiriciliği yapan işletmelerin sayısı her geçen gün artmakta ve bunların büyük bir bölümünde de alabalık kültürü yapılmaktadır. Halen mevcut potansiyeli değerlendirmek ve yenileri için daha uygun koşullar hazırlayabilmek için üretim çalışmalarında ortaya çıkabilecek hastalık problemlerinin çok iyi tanınması ve patogenesislerinin bilinmesi zorunluluğu vardır.

Balık hastalıkları içerisinde önemli bir yere sahip olan mantar hastalıklarının tarihçesi, balık yetiştiriciliğinin tarihçesi kadar eskidir (92). Bu konuda günümüze kadar mantar hastalıklarının tanımı ve tedavisi ile ilgili çok sayıda araştırma yapılmasına karşın, hala bu konuda başarılı sonuçlar alınmadığı bildirilmektedir (31,58,75,86,100).

Mantar hastalıklarının çözümünde en önemli sorunun, mantar etkenlerinin biyolojileri ve teşhislerinin henüz tam olarak çözülememiş olduğu vurgulanarak, mantar hastalıklarında bu konuya önem verilmesi istenmektedir (84,100).

Akvatik mantarlar, gerek doğada ve gerekse yetiştiricilik faaliyetlerinde balık ve kabuklu su ürünlerinin tüm yaşantıları boyunca yumurta, larva, genç ve nihayet damızlık dönemlerinde meydana getirdikleri enfeksiyonlarla yüksek mortaliteye neden olabilmektedirler.

Balıklarda görülen mantar hastalıklarının genel taksonomik incelenmesinde, Saprolegnia genusunun mantar hastalık etkenleri arasında çoğunluğu oluşturduğu görülmektedir (78,84,113). 1985-1989 yılları arasında Japonya'daki balık üretim tesislerinde Silver salmon (Oncorhynchus kisutch)'larda görülen Saprolegniasis hastalığı % 50 oranında kayba neden olmuştur (48). Ülkemizde de gelişen kültür balıkçılığına paralel olarak yumurta, yavru ve erişkin balıklarda görülen mantar hastalığına sıkça rastlanılmaktadır. Yakın geçmişte ülkemiz ekonomisinde önemli bir yere sahip olan tatlısu kerevitlerinde görülen plague hastalığının etkeninin de bir mantar (Aphanomyces astaci) olduğu bildirilmiştir (106). Bu hastalık, ülkemizde olduğu kadar başta Kuzey Avrupa ülkeleri olmak üzere Rusya ve İngiltere'de büyük tahribatlara neden olmuştur (5,21,22,32,33,34,35,67,68,74,92,94,95).

Mantar hastalıklarının balık üretim tesislerinin hemen hepsinde ve özellikle kuluçkaevlerinde sıkça görülmesi, bu saprofit etkenlerin sulara doğal olarak bulunabilmelerinden ileri gelmektedir (97). Bu durum ülkemiz tatlısu kaynakları için de aynıdır. Zira, çalışmalarımızı yürüttüğümüz Göller Bölgesi içsu kaynaklarından. Eğirdir, Çivril ve Beyşehir gibi göllerimizde yakın geçmişte kerevitlerde görülen mantar hastalığı da bunun doğruluğunu göstermektedir (106).

Dünyada ve ülkemizde karşılan hastalık sorunları gözönüne alınarak yapılan bu çalışmada, ülkemiz kültür balıkçılığının

her geçen gün artmasına karşın hastalıkların ve özellikle mantar etkenli hastalıkların henüz araştırılmamış olması nedeniyle, alabalık ve sazan balıklarında görülebilen mantar hastalık etkenlerinin isimlendirilmesi, biyolojik özellikleri ve patogenisileri incelenerek bu konuda yapılacak çalışmalara ışık tutulmaya çalışılmıştır.



## 2. LİTERATÜR BİLGİSİ

### 2.1. Patojen Mantar Enfeksiyonları

Oomycetes sınıfı içerisinde yer alan mantarlar (Tablo 1) balık ve yumurtalarında enfeksiyonlara neden olmaktadır (28,37,65,70,77,84,115).

Scott ve O'Bier (1962) mantar hastalıkları üzerinde yaptıkları bir çalışmada, enfekte balık ve yumurtalarında Saprolegnia, Aphanomyces, Achlya, Pythium, Allomyces ve Leptomitius'a ait türleri izole etmişlerdir ( 84 ). Srivastava (1976) mantar ile enfekte sazan (Cyprinus carpio) yumurtalarından Saprolegnia ferax, Achlya proliferata, Aphanomyces helicoides, Isoachlya anisosporea türlerini izole etmiştir ( 99 ). Neish (1977) Oncorhynchus nerca'ya ait erişkin bireylerde incelenen bütün lezyonlardan Saprolegnia türlerini izole ederek etkenin patojen olabileceğini bildirmiştir ( 64 ).

Ülkemizde bu konuda yapılan bir çalışmada tatlısu istakozunda (Astacus leptodactylus) plague hastalığının etkeni Aphanomyces astaci izole edilerek, bunun tatlısu istakozlarında epizootik karakterde ölümlere neden olduğu ortaya konulmuştur ( 106 ).

Balıklarda solungaç nekrozuna neden olan fungal etken ilk defa Cyprinus carpio'dan izole edilerek Branchiomyces sanguinis şeklinde tanımlanmıştır ( 65 ). Daha sonraki yıllarda Esox lucius ve Tinca tinca'da Branchiomyces demigrans tespit edilmiştir ( 65 ).

Enfekte balıkların dokularında küresel, kalın duvarlı, çok nukleuslu, kist şeklinde görülen Ichthyophonus hoferi, çeşitli tatlısu salmonidleri ile Scomber scombrus, Clupea harengus gibi deniz balıklarında enfeksiyon etkeni olarak bildirilmektedir ( 9,10,65,77,105 ).

Carmichael (1966) yaptığı bir araştırmada Exophiala salmonis'in Salmo clarkii ve Salvelinus'larda epizootiklere neden olduğunu

bildirmiştir. Histolojik incelemeler sonucu tespit edilen kronik granuloma da çok sayıda dev hücreleri birlikte görülmüştür (65).

Bitkilerde saprofit bir mantar olan Phoma herbarum'un Ross ve arkadaşları (1975) tarafından Oncorhynchus türleri ve Salmo gairdneri'lerde enfeksiyon oluşturduğu saptanmıştır. Bu araştırmacılar yaptıkları incelemede hasta balıkların öncelikle hava keselerinin enfekte olduğunu ve daha sonra etkenin diğer iç organlara yayıldığını tespit etmişlerdir (82).

Reihenbach-Klinke (1965) bazı tatlısu balıklarının iç organlarında parazitik bir Penicillium türünü tanımlamıştır (10,65).

Morfolojik olarak basit ve çok iyi bilinmeyen Dermocystidium türleri tatlısu balıklarında parazit olarak isimlendirilmiştir (36,50).

Tablo 1. Mantar Enfeksiyonlarına Neden Olan Organizmalar

| Enfeksiyon Etkeni Organizmalar  | Hastalığın Adı                              | Yeraldığı Gruplar   |
|---|---|---------------------|
| Saprolegnia<br>Achlya<br>Aphanomyces<br>Pythium<br>Calyptralegnia<br>Dictyuchus<br>Thraustotheca<br>Leptolegnia<br>Leptomitus | Saprolegniasis<br>Achlysis<br>Aphanomycosis | OOMYCETES           |
| Branchiomyces   | Branchiomycosis                             |                     |
| Ichthyophonous  | Ichthyosporidiosis                          | ZYGOMYCETES         |
| Exophiala<br>Phoma<br>Verticillium<br>Fusarium<br>Aureobasidium<br>Cryptococcus<br>Candida                                    |   | FUNGİ<br>IMPERFECTI |
| Penicillium<br>Dermocystidium   |   | ASCOMYCETES         |

## 2.2. Class: Oomycetes

### 2.2.1. Morfolojisi

Genelde mantarların kesin tanımlarının yapılabilmesi çok zor olmakla beraber, Ainsworth (1973) mantarları "heterotrof beslenen, thallusları substratum içinde yada üzerinde bulunan hüfaları tek hücreli yada çok hücreli septalı veya septasız olabilen hareketsiz, eukaryotik, çok çekirdekli homo veya heterokaryotik miselyumlu, seksüel-aseksüel yol ile üreyebilen saprofit, parazit ve her yerde yaşayabilen simbiyotik organizmalar" şeklinde ifade etmektedir (112).

Saprolegniasis etkeni olan Saprolegnia spp.'nin dahil olduğu Oomycetes sınıfını diğer fungus sınıflarından ayıran temel özellik, aseksüel üremeleri sırasında farklı boy ve şekilde, iki flagellalı hareketli zoospor üretmeleridir (65). Oomycetes de seksüel üreme, Oogami'dir. Dolayısıyla Oomycetes ismi, sınıfın bu özelliğinden ileri gelmektedir (65). Kalın duvarları olan Oospor veya diğer adıyla resting spor'un üretimi, hareketsiz gamet nukleuslarının birleşmesiyle olmaktadır (65). Bu sınıftaki mantarların thallusları substratum veya besin ortamında kolayca büyüebilmektedir. Somatik yapı, basit ve tek hücreli thallustan çok branşlı, flamentöz miselyuma kadar uzanmaktadır (6,70,112).

Oomycetes sınıfının hareketli sporları olan zoosporların flagellaları farklı uzunluktadır (Heterokont tip). Flagellalardan birikamçı ipi tipinde, diğeri parlak-süslü tiptedir (112). Zoosporlar, zoosporangia'dan çıkarlar (112). Oomycetes zoosporları hem armut (pyriform) hem de böbrek şekilli (reniform) olmak üzere iki farklı morfolojik özellikte olabilmektedirler (112).

Bazı Saprolegniales ve Peronosporales üyeleri toprakta, Peronosporales'in bazı türleri ise, karasal bitkilerin köklerine

yerleşebilirken Oomycetes'lerin çoğu akvatik karakter göstermektedirler ( 62,71,111,112).

Zoosporların hareketliliği sudaki yayılmalarına bağlı iken, bitkilerde hastalığa neden olan Peronosporales'lerden bazılarında sporangiumlar sporangiofordan bağımsız olarak rüzgarla yayılırlar. Bunların daha sonraki çimlenmeleri ise, zoosporlar yada çimlenme tüplerinin yardımıyla olabilmektedir ( 63,112)

Oomyceteslerin hücre duvarları genelde mantarlarda var olan duvar yapısına pek benzemez. Dolayısıyla Aranson (1967)'un bu konudaki çalışmalarına göre, duvarlarında glukosidik bağlarla bağlı glukanlar ve az miktarda sellüloz bulunmaktadır (6,63,112).

Genel olarak mantarların hifalarında septa yoktur (7). Seksüel üreme, Oogami yani küçük ve hareketsiz bir yumurta ile hareketli spermden oluşan bir heterogamidir. Oomycetes'lerde de aseksüel üreme sırasında thallus diploidtir. Gametler ise birleşme öncesi mayoz bölünme ile nukleuslarını yarıya indirgemektedirler (23,112).

Lagenidiales grubunda yeralan mantarlarda vejetatif kısım olan thallusun tamamı üremede kullanılırken (holocarpik); Saprolegniales, Leptomitales, Peronosporales'lerde sadece bir kısmı üreme için kullanılmaktadır (eucarpik) (3).

#### 2.2.2. Taksonomi

Oomycetes sınıfı Sparrow (1960)'a göre dört Ordo'ya ayrılmaktadır (41).

- Class : Oomycetes
- 1. Ordo : Saprolegniales
- 2. Ordo : Leptomitales
- 3. Ordo : Lagenidiales
- 4. Ordo : Peronosporales

Saprolegniales ordosunda zoosporlar, sporangium içerisinde oluşur. Morfolojik olarak monomorfik, dimorfik ve nadiren de aplanetik olan bu mantarların thallusları holocarpik yada eucarpiktir ( 4, 7, 45, 112 ). Hifalarında bölmeler yoktur ( 7 ). Saprolegniales ordosu, akvatik mantarlar arasında en iyi bilinmekte ve "su küfü" olarakta isimlendirilmektedir ( 6,112 ). Bunlar, saprofit olarak nemli topraklarda, göl kenarında ve tatlısuda bol olarak bulunan organizmalardır. Bu grupta yer alan Saprolegnia, Achlya, Aphanomyces genuslarının çeşitli enfeksiyonlara neden oldukları bildirilmektedir ( 48,64,65,67,84,85,99,106 ).

Leptomitales ordosundaki zoosporlar, özellikleri yönünden Saprolegniales'e benzemektedir. Bunların thallusları eucarpiktir. Hifaları belli aralıklarda boğumlanarak daralmıştır. Leptomitales ordosundan bazı türler, organik maddelerce zengin sularda yaşamakta ve indikatör organizma olarak da tanınmaktadır ( 7,41,63,69 ).

Lagenidiales ordosunda zoosporlar sporangium içerisinde veya sporangiumdan oluşan geçici bir vezikül içerisinde üretilmektedir. Sporlar monomorfik karakterde ve reniform tiptedirler. Thallus ise holocarpiktir. Bu ordoda yer alan üyelerin tatlısu ve deniz alglerinde, su küflerinde ve mikroskopik su hayvanlarında endoparazit olarak yaşadıkları bildirilmektedir ( 7,70,98 ).

Peronosporales ordosunda zoosporların üreme şekli Lagenidiales'e benzer. Thallusları eucarpiktir. Peronosporales üyelerinden balık yumurtalarındaki enfeksiyon etkeninin tesbiti ile ilgili çeşitli çalışmalarda etken olarak Pythium izole edilmiştir (84,111,112).

### 2.3. Ordo : Saprolegniales

#### 2.3.1 Genel Özellikleri

Laboratuvar koşullarında kolay üreyebilen Saprolegniaceae türleri oksijence zengin sularda, yarı sıvı ortamlarda veya nemli

topraklarda bol miktarda bulunabilmektedir ( 6, 7, 12, 41, 70 ). Bir nehir yada göl suyuna kaynatılmış kenevir (Cannabis sativa L.) buğday (Triticum vulgare L.) veya mısır (Zea mays L.) tohumu konulduğunda, suya konulan bu tohumlar üzerinde birkaç gün içerisinde mantar kolonilerinin oluşabildiği bildirilmektedir (70,85,112).

Saprolegniaceae üyelerinin miselyumlarında bol olarak dallanma görülür. Hifalarında septa bulunmamakla beraber (coenocytic), bu oluşumlar sadece üreme organlarının altında onları sınırlayıcı olarak görülmektedir ( 7, 63 ). Hifalarda kalınlık, türler arasında değişim göstermekle beraber Alderman ve Polyglase (1986)'a göre Aphanomyces astaci'de hifa çapı diğer türlere göre daha küçüktür (5-10 mikron) (5,51).

Saprolegniaceae familyasına ait üyeler saf kültür ortamında çok hızlı büyümektedir. Bunların fizyolojileri konusunda çok çeşitli araştırmalar yapılmıştır ( 7, 112 ). Bu araştırmacılara göre Saprolegniaceae türlerinin çoğunda vitamin gereksinimi yoktur (7,30, 41, 112 ). Doğadaki kükürtü, organik formdaki sistin ve sistein şeklinde kullanabilirken, inorganik sülfatı kullanamazlar ( 7,41, 63, 112). Organik azot kaynakları olan aminoasitler ile pepton ve kazein'i inorganik kaynaklara tercih ederler. İnorganik azot kaynaklarından amonyumu değerlendirebilirken, nitratları kullanamazlar. Glikoz pek çok tür için en iyi karbon kaynağı iken, bazı türlerde maltoz, nişasta, glikojen, mannoz, sukroz ve etanol karbon kaynağı olarak da kullanılmaktadır ( 30,73, 112 ). Mantarlar büyüebilmek için Mg, Ca, Zn, Mn, Fe ve S'e ihtiyaç duymaktadırlar. Barksdale (1962)'ye göre S, P, Ca, K, Mg yetersizliği oogonia oluşumu için sınırlayıcı olabilmektedir ( 7,49,59,112).

### 2.3.2. Saprolegniales'in Biyolojisi

#### 2.3.2.1. Aseksüel Üreme

Saprolegniaceae'de aseksüel üreme zoosporlar ile olmaktadır. Zoosporlarda yönlendirici görev yapan anterior flagellum ile itici güç olarak kullanılan posterior flagellum bulunmaktadır ( 6,14, 15, 41, 65,88,112). Bazı cinslerde iki farklı morfolojik tipte (dimorfizm) zoospor üretildiği bildirilmektedir (7,41,45,65,112).

Saprolegnia genusunda zoosporların tipik olarak zoosporangiumun uç noktasındaki açıklıktan çıktığı bilinmekle beraber, bazı durumlarda zoosporların dallanma gösteren zoosporangiumun yan dalından suya çıkararak serbest kaldıkları tespit edilmiştir (64).

Saprolegnia'da primer zoosporlar ilk hareketli safhada genellikle armut (pyriform) şekindedirler. Bunların apikal olarak bağlanmış iki flagellaları vardır. Sporlar kısa bir süre suda yüzdükten sonra hareketsiz , yuvarlak kese (kist) haline gelerek dinlenme periyoduna girerler (Tablo 2) ( 7,45, 65, 112 ). Dinlenme periyodu sonunda kistlerden böbrek şekilli (reniform) iki flagellası bulunan sekonder zoosporlar oluşur ( 7,41,112).

Saprolegnia genusunda primer sporların hareketliliği başlangıçta zayıf iken, kısa bir süre sonra bunların hareketsiz kaldıkları görülür. Sekonder sporlarda hareketlilik süresi ise daha uzun bir süre (birkaç saat) devam edebilmektedir (65,112).

Saprolegniaceae familyasında (Aphanomyces genusu hariç) hifaların ucunda kalınlığı hifa çapından daha büyük, uzun, çoğunlukla silindirik şekilli zoosporangiumlar oluşur. Zoosporangiumlar hifalardan daha yoğun, granüler protoplazma içermeleri ile ayırt edilir ( 7, 51 ). Saprolegnia da sporangiumun tabanında bir septum gelişir. Oluşan bu septum basıncın artması ile sporangium içerisine doğru çıkıntı yapmaktadır. Zoosporlar, meydana gelen bu basınç etkisiyle birkaç saniyede suya dağılabilmektedir (112).

Basal septumun oluşmasından sporangiumun farklılaşmasına kadar olan bütün işlemler ve zoosporların sporangiumdan suya çıkışlarına kadar geçen sürenin yaklaşık 90 dakika olduğu saptanmıştır (112).

Saprolegnia genusunda spor çapının bazen sporangiumdaki açıklıktan daha büyük olabildiği ve bu durumda sporların sıkışık bir şekilde suya geçebildikleri bildirilmektedir (112).

Saprolegnia'da zoosporların sporangiumu terketmesinden sonra, içerisi boşalan sporangiumun basal septumundan oluşan yeni bir sporangium duvarı, sporangiumun içerisinde olgunlaşarak (internal proliferasyon) iç içe iki duvar meydana getirir (7,64,65,112).

Saprolegnia'da zoosporangiumdan çıkan primer zoosporların genellikle bir dakikadan daha kısa bir süre suda yüzdükleri ve daha sonra hareketsiz, yuvarlak kist şeklini aldıkları, bazı durumlarda ise bunların bir saatten çok suda yüzebildikleri tespit edilmiştir (112).

Sekonder zoosporların hareketleri kemotaksis şeklindedir. Sporlar su içerisinde bulunan canlıların vücudunda toplanma eğilimi göstermektedirler (89,97).

Saprolegnia'da aseksüel üremede iki ayrı morfolojik safha bulunduğu için bu durum dimorfizm olarak isimlendirilmektedir (7,41,112).

Saprolegniceae'de genusların birbirinden morfolojik olarak ayrılması aseksüel üremede görev alan zoosporangiumun şekli, yapısı, özelliği ve zoosporangiumda üretilen zoosporların sporangiumdan çıkış tarzının saptanması ile yapılmaktadır (7,41,45,64,65,96,112). Saprolegnia genusunda primer zoosporlar, sporangiumdan yüzerek uzaklaşmaktadır. Achlya genusunda zoosporlar sporangiumun çıkış bölgesinde hareketsiz kalmaktadırlar (6,7,41,45,112).

Saprolegniaceae familyasında zoosporların sporangiumu terkediş şekilleri, sınıflandırmada kriter olarak kabul edilmekte ise de ortamın sıcaklığı ve besin elementleri gibi fiziksel ve kimyasal faktörlerdeki değişmelerin, spor hareketliliği üzerinde etkili olabildiği bildirilmektedir (65,112). Saprolegnia'da 10 °C'nin altındaki sıcaklıklarda primer zoosporların normal davranmadığı ve bazı örneklerde sporların sporangiumdan çıkar çıkmaz kist şeklini aldığı ve sporangiumun ağzına yakın bir yerde gevşek görünümlü, hareketsiz spor yığını oluşturarak Achlya gibi davranabildiği bildirilmektedir ( 49,112 )

Achlya ve Aphanomyces genúşlarında kalsiyum iyonlarının zoospor üretiminde etkili olduğu tespit edilmiştir (34,35,46,95).

Bazı durumlarda Saprolegnia genusunda zoosporların sporangium içinde kaldığı ve orada yuvarlak kist şekline geçerek çimlenme tüpleri ile sporangium duvarlarına girdiği bildirilmektedir (64). Aplanetizm olarakta isimlendirilen bu duruma, balıklardan izole edilen Saprolegnia türlerinde rastlandığı bildirilmektedir (64).

Saprolegniaceae üyelerinde aseksüel üremede Tablo 2'de de görüleceği gibi zoosporlardan başka gemmae yada chlamydospor kullanılmaktadır ( 7,41,45,65,70,112 ). Kalın duvarlı ve yoğun sitoplazma ile dolu olan gemmae, bir septa ile hifadan ayrılmaktadır ( 41,112). Gemmae'nın kurumaya ve donmaya duyarlı olduğu yapılan araştırmalarla tespit edilmiştir ( 112).

Gemmae'nın dişi gametangium yada zoosporangium olarak fonksiyon yaptığı ve çimlenme tüpü vererek çimlendiği saptanmıştır ( 7).

### 2.3.2.2. Seksüel Üreme

Saprolegniaceae'de seksüel üremenin gametangial kontakt ile meydana geldiği tespit edilmiştir (7). Seks organları genellikle terminalde yer almaktadırlar. Bununla birlikte intercalary gelişme gösteren Oogonia'ya rastlanabilmektedir. Bu grupta morfolojik olarak farklı gametangiumlar üretilmektedir. Erkek gametangium antheridium, dişi gametangium ise, oogonium olarak isimlendirilmektedir (7,41).

Erkek gametangium içeriği, dişi gametangioma fertilizasyon tüpünden geçerek ulaşmaktadır. Ancak, fertilizasyon tüpünün mikroskop altında her zaman görülemediği bildirilmektedir (7,60).

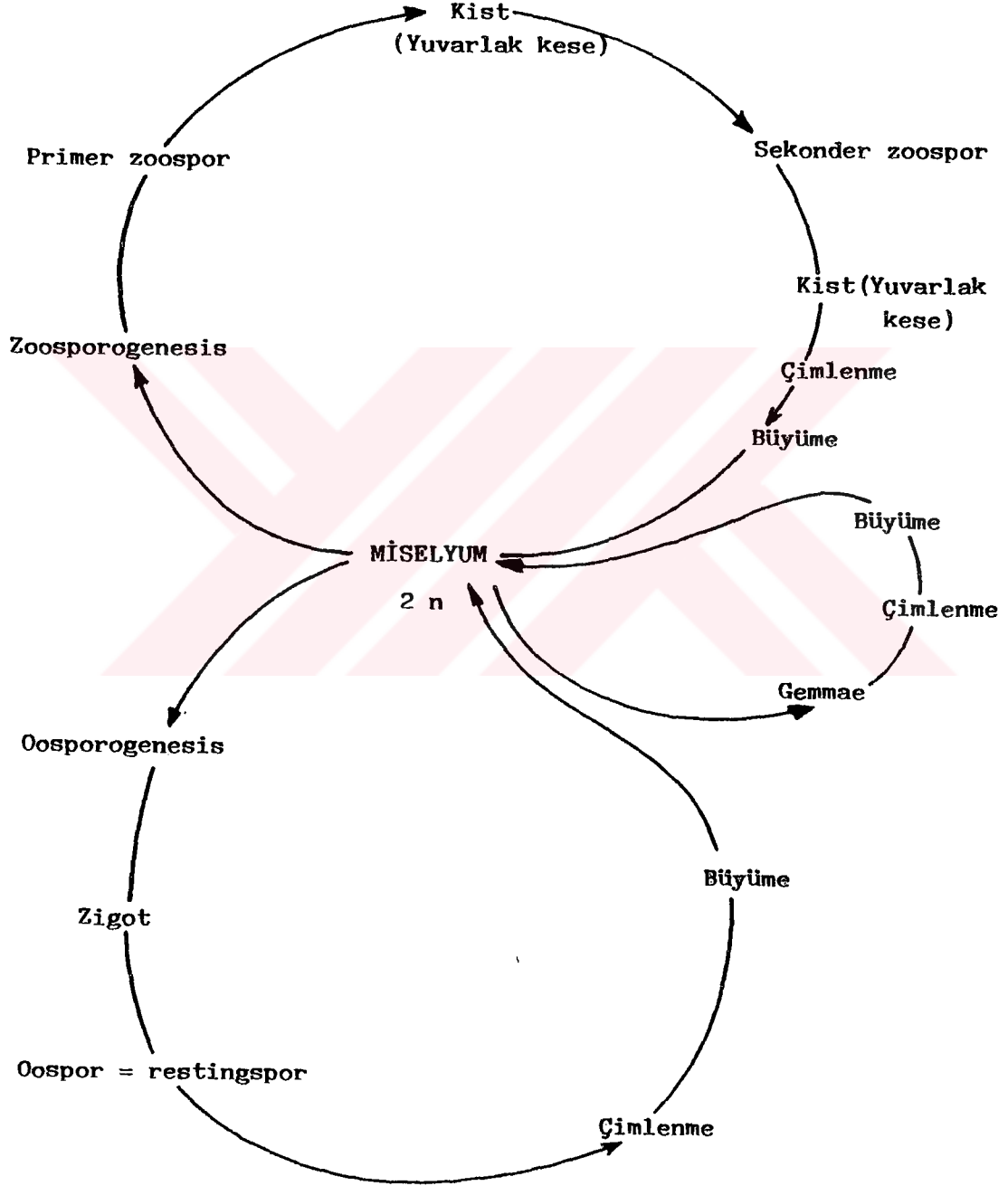
Antheridium hücresi ile Oogonium hücrelerinin her ikisinde döllenmeden önce mayoz meydana geldiği tespit edilmiştir (112). Döllenme olayından sonra oogoniumdaki oosferler, oosporları oluşturmaktadır (Şekil 1) (7,76,88).

Oomycetes'de seksüel yolla üretilen oosporların çapı ve sayısı sınıflandırma çalışmalarında tür tespiti için kriter olarak değerlendirilebilmektedir (45,64,65,70,102,113).

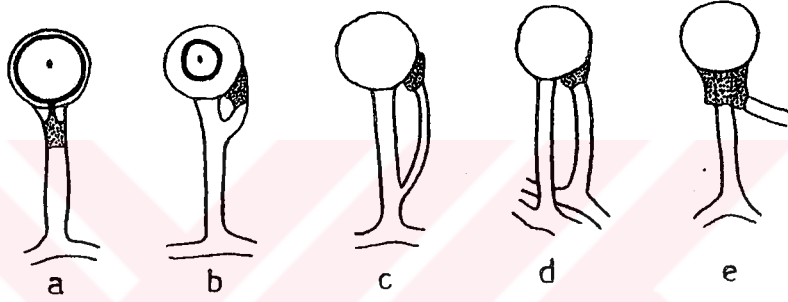
Oosporların (=resting spor) az granüllü ve merkezi ooplastları vardır. Oosporda, ooplastı çevreleyen lipid benzeri bir materyal mevcuttur (7,41,65,70,112). Yapılan çalışmalarda bu materyalin bir gıda rezervi olabileceği görüşü hakimdir (112). Ooplast, oospor içinde kenara yakın yer alırsa, subsentrik oospor olarak da isimlendirilmektedir (7,23,41,64,65). Ooplastın sentrik, asentrik, subsentrik olduğu durumlara da rastlandığı bildirilmektedir (7). Oospordaki ooplastın düzenlenmesi, türler arasında sınıflandırma yönünden kriter olarak değerlendirilmektedir (45).

Oosporların çimlenerek hifa ürettiği, bununla birlikte çimlenmede isteksiz oldukları yapılan araştırmalarda tespit edilmiştir (64,112).

Şekil 1. Saprolegnia genusunda yaşam siklusu



Saprolegniaceae üyelerinin çoğunun homothallusa sahip oldukları yani, aynı thallusta hem antheridium hemde oogonium ürettikleri bildirilmektedir (7). Antheridiuma ait hücre, oogoniumu taşıyan sapın hemen altından oluşursa buna, hypogynous antheridial hücre adı verilmektedir. Androgynous antheridiumda ise, antheridial branşlar oogoniumla aynı hifadan ortaya çıkmaktadır. Diclinous tipte antheridium ve oogonium farklı hifalardan oluşmaktadırlar (Şekil 2) (4,112)



Şekil 2. Oogoniumu ve yerleştikleri hifa durumuna göre antheridium tipleri

- a) Hypogynous antheridial hücre
- b,c) Androgynous antheridial hücre
- d,e) Diclinous antheridial hücre

Saprolegnia genusunda thallusun somatik kısmında iki farklı hifa yeralır. Rhizoidal hifa, substratuma girmekte ve besin maddelerinin absorpsiyonunda kullanılmaktadır. Aerial hifanın uçlarında ise, eşeysiz ve eşeyli üreme organları bulunur (7,15).

### 2.3.3. Taksonomisi

Saprolegniales ordosu Dick (1973)'e göre beş familyadan oluşmaktadır (41). Bunlar;

- Ordo : Saprolegniales
1. Familya : Thraustochytriaceae
  2. Familya : Haliphthoraceae
  3. Familya : Leptolegniellaceae
  4. Familya : Saprolegniaceae
  5. Familya : Ectrogellaceae

Saprolegniales ordosunun en iyi bilinen ve 150 türe sahip en geniş familyası Saprolegniaceae (41)'dir.

Ectrogellaceae üyeleri; tatlısularda deniz diatomlarında ve Phaeophyceae'lerde parazitik yaşam gösterirler. Thallusları holocarpiktir. Canlı organizmaların içinde büyürler (41).

### 2.4. Saprolegnia Patogenesi

Balık hastalıkları içerisinde önemli bir yere sahip olduğu bildirilen mantar hastalıklarının teşhis ve tedavisinde temel problemin, etkenin izolasyonu ve tanımlanması olduğu konusunda birçok araştırmacı hemfikirdirler (64,84,100,113). Zira, mantar hastalıklarına çok sayıda tür neden olabilmekte ve bunların tanımlanmalarında oldukça karışıktır (65). Ancak, balık mantar hastalıklarında en büyük genusu Saprolegnia'nın temsil ettiği bugün artık bilinmektedir (78,84,100).

Saprolegnia enfeksiyonu ilk defa 1748'de kızılkanat (Rutilus rutilus), balıklarında tanımlanmıştır (3).

İngiltere'de 1877-1881 yılları arasında salmonidlerde mantar enfeksiyonuna bağlı olarak lezyonlardan S. ferax izole edildiği bildirilmiştir. Ancak günümüzde bu enfeksiyonun Ulseratif Dermal Nekrosis (UDN) olduğu kesinlik kazanmıştır (80)

XIX. Yüzyılın sonları ile XX. yüzyılın başlarında Avrupa ve Kuzey Amerika'da akvakültür çalışmalarında Saprolegnia mantarlarının, çeşitli tatlısu balıklarında yaşamın bütün evrelerinde tehlike oluşturabildiği ileri sürülmektedir (65).

Bugüne kadar tatlısu balıklarında tespit edilen Saprolegniaceae ailesine mensup mantar enfeksiyonlarında etkenin daha çok üremeye hazırlanan Salmonidlerde çok etkili ve yaygın enfeksiyonlara neden olduğu tespit edilmiştir (28). Salmonidlerde oluşan bu enfeksiyonlar genellikle, ya primer enfeksiyonları (bakteriyel, viral, parazitik) müteakiben oluşmakta, yahut balıkların taşınması, yoğun popülasyonu ve fiziksel yaralanmalar sonucu meydana gelmektedir (64, 65, 78, 92). Bu durumda çoğunlukla sekonder enfeksiyon karakteri taşıdığı tespit edilen mantar enfeksiyonlarının bazı hallerde primer özellik gösterdiği de saptanmıştır (28, 64). Bu konuda Bruno ve Stamps'ın (1987) Atlantik Salmon frylarında yapmış oldukları bir araştırmada, mantar hifalarının solungaç filamentlerini kapattığı, nekrotik ve hiperplastik oluşumlar sonucu balıklarda solunum güçlüğünün şekillendiğini ortaya koymuşlardır (28).

Saprolegnia enfeksiyonunun genel tanımı morfolojik yapısına göre kolaylıkla yapılabilmektedir. Enfeksiyonun tipik olan morfolojik yapısı, enfekte olan balığın epidermisin üzerinde pamuksu beyaz oluşumların şekillenmesidir (64,113).

Saprolegnia ile enfekte olmuş balıkların histolojik deri kesitlerinde deri yüzeyini ağ gibi saran çok sayıda hifalara rastlandığı bildirilmektedir (78). Miselyum yığınlarının yer aldığı bölgenin altında, yüzeysel dermal nekrozisten uzanan dejenere doku alanları ve kasların myofibriller nekrozu, ödem ve yaygın hemoraji tespit edilmiştir (78).

Saprolegnia diclina zoosporlarının aktiviteleri üzerine rol oynayan en önemli faktörün balıklardaki stres olduğu, epidermal katların balık türlerine göre değişmesi ve vücuttaki metabolit ile amino asit miktarlarının zoospor aktivitesi üzerinde rol oynadığı ortaya konulmuştur (89).

Aynı araştırmacılara göre mantar zoosporlarının aktiviteleri, suyun sıcaklığına bağlı olarak değişmektedir. Dolayısıyla Saprolegnia diclina'da su sıcaklığının 20 °C olması halinde, suya bırakılan mantar zoosporlarının sayısı artmakta, buna karşın soğukkanlı hayvan olan balıklarda, bağışıklık mekanizmasındaki artış, patojen etkili bu zoosporların balık vücuduna girmesini engelleyememektedir (89). Mantar zoosporlarının üreme ve aktif oluşları çok geniş pH aralığında şekillenebilmektedir. Fakat, yapılan araştırmalarda düşük pH değerlerinde zoospor sayısı azalırken, pH 7 değerinde üretilen zoospor sayısı artmaktadır. Sudaki pH değeri birçok akarsuda 7 civarında olduğu için, mantar zoosporlarının birçok akarsuda çoğalma ve yayılma imkanı bulabildiği bildirilmektedir. Zoosporların üremesi ve aktivitelerinin sadece pH ve su sıcaklığı ile ilişkili olmadığı, aynı zamanda sudaki çözünmüş oksijen ile de yakın ilgili bulunduğu ortaya konulmuştur (89,97).

Düşük oksijen değerlerinde mantar zoosporlarının sudaki miktarlarının azaldığı, bununla birlikte bazı Cyprinid ve Salmonidlerde sudaki yetersiz oksijenden kaynaklanan stres faktörleri varlığında balıkların mantar zoosporlarına karşı cazip hale gelebildikleri bildirilmektedir. Aynı araştırmacı yüksek değerlerde oksijen içeren sulara yaptığı araştırmada, yüksek değerdeki oksijen nedeniyle zoospor üretimi artarken balıklardaki hareketliliğin ve yem alımının da arttığını bildirmektedir (89).

Balıklarda genellikle ülseratif lezyonlara neden olan mantar hastalığı ile ilgili birçok çalışma yapılmıştır ( 64, 65, 66, 78,79). Yapılan bu çalışmalarda etkenin önce konakçının derisi üzerine yerleştiği, zamanla daha derinlere doğru inerek yayıldığı bildirilmektedir ( 8,64,65,78).

Oomyceteslerden ileri gelen mantar hastalığında yapılan bir histopatolojik çalışmada, Oomyceteslerin çok zayıf mononükleer inflamatory reaksiyon oluşturduğu, buna karşın etkeni Aphanomyces ve Saprolegnia olan vakalarda granülo-matoz mikosis'in şekillendiği ortaya konulmuştur (66,107). Bir başka araştırmacıya göre genelde deri üzerinde yüzeysel enfeksiyon şekillendiği fakat bazı hallerde kas içerisine ve hatta peritoneal boşluk ve iç organlara ulaşarak yaygın doku tahribine de neden olduğu gösterilmiştir ( 65 ).

Saprolegnia enfeksiyonları vücudun hemen her tarafında oluşabilen iseler de, Sockeye salmonlarında yapılan çalışmalarda enfeksiyonun çoğunlukla daha çok başın dorsal yüzeyinde, dorsal yüzgeçlerin ön kısmında, adipoz yüzgeçte ve nihayet diğer yüzgeçlerde şekillendiği bildirilmektedir ( 64 ). Bazı durumlarda vücudun dorsal bölgesinde oluşan bu lezyonlar, mekanik çarpmalar sonucu deride oluşan yaralar, ülserler ve veziküller ile birlikte şekillenebilmektedir ( 64 ).

Hastalığın Sockeye salmonların vücutları üzerindeki dağılımı konusunda yapılan incelemede, yüzgeçlerin dışında gözlerin ve enaz oranda da solungaçların etkilendiği ortaya konulmuştur ( 64 ). Sockeye salmonlarda enfeksiyonun vücuttaki dağılımı ile ilgili yapılan bir çalışmada, histolojik bakıda deri üzerindeki mantar etkeninin merkezden çevreye doğru yayıldığı ve önce epidermiste tahribat yaparak zamanla basal membrana doğru ilerlediği ve dermise ulaştığı, bazı hallerde de üremesine devam ederek hipodermis ve kasa yerleştiği görülmüştür ( 64 ).

Saprolegnia türlerinin normal koşullar altında patojen organizmalar olmadığı ancak, strese neden olan faktörlerin ortamda var oluşu veya balığın diyeti içerisindeki L-Askorbik asit eksikliğinin sözkonusu olduğu durumlarda meydana gelen protein yetmezliği sonucu balıklarda rejenerasyon yeteneğinin bozulmasıyla ortamdaki Saprolegnia zoosporlarının patojen hale geçerek balıklarda hastalık oluşturduğu bildirilmektedir (65). Bu konuda yapılan başka bir çalışmada balıklardaki stres yapıcı faktörlerin hipofiz bezini uyarak vücuttaki plazma kortikosteroidlerinin seviyesini artırdığı ve böylece vücutta bir protein eksikliğinin ortaya çıktığı tespit edilmiştir (64,65).

#### 2.4.1. Yumurta ve Balıklarda Görülen Saprolegnia Enfeksiyonları İle İlgili Sistematik Çalışmalar

Coker (1923) yaptığı çalışmalarında balık ve balık yumurtalarından izole ettiği Saprolegnia parasitica'yı tanımlamıştır (65). Araştırmacı, yaptığı bu çalışmada mantarın eşeyssel üreme safhasına ait oogonia özelliklerini dikkate almamıştır (65,84).

Kanouse tarafından 1932 yılında yapılan bir çalışmada, balık ve yumurtalardan bazı Saprolegnia türleri izole edilmiştir. Bu araştırmacı elde ettiği izolatlarını kenevir (Cannabis sativa) tohumu üzerinde üretmiş ve oogonium duvarlarının ince çukursuz tipte olduğunu, antheridiumlarının diclinous tipte, oosporlarının 18-22 mikron çapında küçük ve subsentrik tipte görüldüğünü ifade ederek izolatlarını S. parasitica olarak isimlendirmiştir (65).

Scott ve O'Bier (1962) A.B.D. de yaptıkları bir çalışmada 14 eyaletten topladıkları 25 farklı türdeki balık ve yumurtalardan 64 izolat elde etmişlerdir. Tespit olunan 41 adet izolattan 14'ünü S. parasitica olarak tanımlayarak, daha önceleri Coker (1923) tarafından yapılan S. parasitica ile ilgili tanımın yanlış olduğunu açıklarken, diğer 14 izolatta bütün kültür metodlarını denedikleri

halde eşeyli üreme yapılarının görülmemesi nedeniyle tür seviyesinde teşhiste bulunamamışlardır (84). Teşhisi yapılabilen diğer izolatları ise, 1 adet S. ferax, 8 S. delica (sonraki çalışmalarda S. diclina'nın sinonimi olduğu belirtilmiştir) ve geriye kalan 5 izolat S. monoica olarak belirtilirken, diğer izolatları Achlya, Pythium, Aphanomyces, Leptomitus, Allomyces olarak saptamışlardır. Bu araştırmacılar elde ettikleri izolatların parazitlik eğilimini tespit etmek için Saprolegnia izolatlarının yaralı Platycoecilus maculatus'larda öldürücü olduğunu ortaya koymuşlardır (84).

Hindistan'da bu konuda Srivastava ve Srivastava (1976) tarafından yapılan bir başka çalışmada Cyprinus carpio var. communis'e ait enfekte yumurtalardan S. ferax, Achlya proliferata, Aphanomyces helicoides, Isoachlya anisospora, Leptolegnia sp.'nin izolasyon ve identifikasyonlarını yaparak bu izolatların Cyprinus carpio var. communis yumurtalarına karşı patogenesis'inin saptanmasına çalışılmıştır (99).

Bu çalışmanın sonuçlarına göre, Saprolegnia ferax'ın % 87 A. proliferata'nın % 85, Aphanomyces helicoides'in % 64, Isoachlya anisospora var. indica'nın % 60 oranında enfeksiyon yaptığı tespit edilmiştir. Araştırmacı S. ferax ve A. proliferata'nın diğer izolatlara göre daha patojenik bir etken olduğunu belirtmiştir (99).

Srivastava (1985) Hindistan'daki Saprolegnia genusuna ait 7 türü S. diclina Humphrey, S. ferax (Gruith) Thuret, S. litoralis Coker, S. luxurians (Bhargava et Srivastava) Seymour, S. monilifera de Bary, S. parasitica Coker, S. unispora (Coker et Couch) Seymour'u tanımlamıştır (101).

Shah ve arkadaşları (1977) tatlısu balıkları ile karides yumurtaları ve frylarında patojenik bazı akvatik phycomycetesler üzerinde yaptıkları bir araştırmada, brown trout yumurta ve frylarından S. parasitica Coker, Pythium sp., Hint sazani frylarından

Leptomits libertae Agradh, Aphanomyces stellata de Bary, tatlısu karidesi yumurtalarından Achlya racemosa Hildebrand, hilsa yumurtalarından S. ferax (Gruith)'i izole etmişlerdir (85). Araştırmacılar, S. ferax ile enfekte olan yumurtaların önce beyaz renkte olduğunu, daha sonra dereceli olarak rengin koyulaştığını ve sonunda siyah renk alan yumurtalardan larvanın çıkamadığını görmüşlerdir. Fry'lar da ise enfeksiyonun kafa bölgelerinden başlayarak tüm vücut bölgesini sararak ölümlere neden olduğu bildirilmektedir. Yüksek derecedeki su sıcaklığının ve türbiditenin Achlya türlerinin enfeksiyonu için uygun ortam yarattığını belirten araştırmacılar, A. racemosa'nın tatlısu karidesi yumurtalarında % 50 kayıp oluşturduğunu bildirmişlerdir. Aphanomyces stellata'nın enfeksiyonları eksternal olarak başlattığını ve enfekte frylarda önce hareketlerde yavaşlama daha sonra ölüm görüldüğünü bildirmişlerdir. Pythium sp. yumurtalarında % 10, frylarda ise % 5 enfeksiyona neden olmuş ve S. parasitica türü ile birlikte yumurta ve frylarda görülmüştür. Leptomits libertae Hint sazani frylarının caudal bölgesinde düzensiz kabarcıkların etkeni olarak tespit edilmiştir. Shah ve arkadaşları bu sınıflandırma çalışmalarında patojenlerin tanımlarını yapmışlardır (90).

Neish (1977) Oncorhynchus nerca'da yaptığı incelemelerde 20 olgun balıktan 20 izolat elde ederek, bu izolatları Saprolegnia spp. olarak belirlemiştir (64). Bu araştırmacı mikolojik bulgularındaki izolatlarında Saprolegnia'ya özgü internal çoğalmayı ve zoospor kaçış şeklini görmüştür. Bazı izolatların zoosporangiumlarında uzantılar görüldüğünü ve sporlarının buradan çıkış yaptığını, bazılarında da zoosporların sporangium içinden çıkamadığını ve sporangium içinde çimlendiğini (aplanoid zoosporangium) belirtmiştir (64).

Neish (1977) izolatlarnn 14 °C de kenevir tohumunda blylynce, zoosporangium meydana getirdiğini gormuŖtur. Ancak, 3 izolatta zoosporangia oluŖumuna rastlamamıŖtır. Oogonium uretini btun izolatlarnnda sadece 10 °C de meydana gelmiŖtir (64).

İzolatlarn i1in sınıflandırma yaparken Neish onları 4 ayrı kategoriye ayırmıŖtır. Bu sınıflandırmada kriter olarak zoosporangium ve oogonium uretim miktarlarını kullanmıŖtır. A kategorisindeki izolatlarn zoosporangium uretini 14 °C de, kenevir tohumunda zayıf, 21 °C de ise bol olarak gorulurken oogonium uretimine rastlanmamıŖtır. B kategorisinde zoosporangium uretini A'ya benzer bulunurken, 10 °C de Oogonium uretiminin bol olduğu gorulmuŖtur. C kategorisinde ise zoosporangium uretini A ve B den farklı olarak 14 °C de bol, 21 °C de ise hi1 uretilmemiŖtir. Bu kategoride 10 °C de oogonium uretini yoktur (64).

D kategorisinde zoosporangium C ye benzer olarak bol, 21 °C de ise uretilmemiŖtir. Oogonium ise 1ok az miktarda uretilmiŖtir (64).

Sonuc olarak A ve C kategorisindeki eŖeyli ureme organlarının uretilememesi nedeniyle teŖhis genus seviyesinde yapılmıŖtır. B kategorisindeki izolatlarn ise bol miktarda gemmae oluŖturdukları, 10 °C de Antheridium ve Oogoniumu birkaç hafta i1inde urettikleri, Oogonium duvarlarının ince, bazen 1ukurlu, oosferlerin 24-29 mikron olduğunu, oosferin olgun durumda sentrik-subsentrik goruldüğu tespit edilmiŖtir. Neish (1977) bu izolatlarda oosferlerin 1oğunluğunun geliŖmediđini gormuŖtur. Antheridiumların Saprolegnia genusu i1in tipik olarak tubuler yada ucu daralan (clavat) Ŗekilli olan diclinous tipinde yer aldığını tespit etmiŖtir. Bu uygulamalarda fertilizasyon turleri nadiren gorulmuŖtur. Aynı araŖtırmacı B kategorisinde yeralan izolatlarn S. diclina - S. parasitica kompleksine dahil olabileceklerini; D kategorisi izolatlarnn ise

S. parasitica olarak identifiye edilen Saprolegnia izolatlarından morfolojik ve fizyolojik olarak farklı olan ayrı bir Saprolegnia straini olabileceğini vurgulamıştır (64).

Willoughby (1978) İngiltere'nin Göller Bölgesinde yaptığı bir çalışmada Salmonidae'lerde, Perca fluviatilis, Lampetra fluviatilis, Esox lucius'dan elde ettiği izolatlarını Saprolegnia spp. olarak identifiye etmiştir (113). Bu araştırmacı salmonidlerden elde ettiği izolatlarını S. diclina Tip 1., Perca fluviatilis'den elde ettiği izolatları S. diclina Tip 2, su örneğinden elde ettiği ve saprofit olduğunu belirttiği izolatını ise S. diclina Tip 3 olarak isimlendirmiştir. Araştırmacı, S. diclina Tip 1'in salmonidlerde patojen olduğunu ve 7 °C de Oogonium ürettiğini, bol üretilen oogoniumlarda oospor çapınının 17.9 - 24.4 mikron arasında değiştiğini belirtmiştir (113). Yapılan bu çalışmada izolattaki oosporların, hifaların invazyonu nedeni ile gelişemediğini ayrıca vurgulamıştır. Willoughby (1978) bu çalışmasındaki izolatlarda, oogonium uzunluğunu (L), genişliğe (B) oranını (L/B) incelemiştir (113).

S. diclina Tip 1 izolatında L/B oranı  $> 13$ 'dür. Saprolegnia diclina Tip 2 levrekte patojendir. Oogonium 7 °C de üretilmiştir. Oogonium miktarı bol değildir. Oosporların çapı 20.7 - 25.5 mikrondur. Oosporların fertilizasyonundaki başarısızlık nedeniyle tam gelişemedikleri görülmüştür. L/B oranı  $< 12$ 'dir. Saprolegnia diclina Tip 3 izolatu tamamen saprofitik olup 20 °C de oogonium üretilmiştir. Oogonium üretimi bol değildir. Oospor çapı 21.7 - 26.3 mikrondur. Bu izolatta da oosporların tam olgunlaşmadığı görülmüştür. Ayrıca Willoughby (1978), yaptığı çalışmasında S. parasitica - S. diclina kompleksi kavramını desteklemenin imkansız olduğunu belirtmiştir (113).

Neish (1976) S. diclina Humphrey ile S. parasitica Coker'in birbirinin sinonimi olarak kullanılabileceğini belirtmiştir (65).

#### 2.4.2. Saprolegnia Enfeksiyonunu Hazırlayıcı Sebepler ve Enfeksiyonun Yayılması

Balık ve yumurtalar üzerindeki pamuksu beyaz görünümü ile Oomycetes mantarlarının neden olduğu enfeksiyonlar kolaylıkla ayırt edilmekte ( 28,64,65 ) ve bu enfeksiyonların ortaya çıkışında birçok hazırlayıcı sebepler önemli rolü oynamaktadır ( 65).

##### 2.4.2.1. Yumurtalarda Enfeksiyonu Hazırlayıcı Sebepler ve Enfeksiyonun Yayılması

Smith ve arkadaşları (1985) Saprolegnia mantarlarının gerek hifal büyüme yolu ile, gerekse zoosporları ile alabalık yumurtalarını enfekte ettiklerini bildirmektedirler (90). Kırılma sonucunda canlılığını kaybeden yumurtalarda enfeksiyona karşı duyarlılığın olduğu zira, yumurtalardan suya geçen besin maddelerinin kemotaksise yol açması nedeniyle Saprolegnia enfeksiyonlarının arttığı belirtilmektedir. Ölü yumurtalardan besin maddelerinin su içerisine yayılmasının, yumurtaların üzerindeki zoosporların çimlenmesini teşvik ettiği bildirilmektedir (90).

Potansiyel kaynak olarak sularda her zaman Saprolegnia mantarlarının bulunduğu bildirilmektedir ( 52,89,97).

Kuluçkaevlerine su ile taşınan mantar zoosporlarının önce ölü yumurtalara yerleşerek canlı yumurtalara doğru yayıldıkları tespit edilmiştir (90). Şeffaflığını kaybederek beyaz renk alan ölü yumurtalarda biraraya gelen mantarların hızla büyüyerek komşu ölü ve canlı yumurtaları da enfekte ettikleri bildirilmektedir. Sağlam alabalık yumurtalarının inkübasyonu sırasında ortamda ölü yumurtaların bulunması, canlı yumurtalarında enfekte olmasına yol açmaktadır ( 78,90).

Gökkuşağı alabalığı yumurtalarında S. ferax ve S. diclina'nın etkisi üzerinde yapılan karşılaştırmalı bir çalışmada, S. ferax'ın hifal temas yolu ile daha çok sayıdaki yumurtayı enfekte ettiği tespit edilmiştir ( 90 ). S. ferax'ın 10-15 °C'de S. diclina'ya göre daha hızlı büyüdüğü bu çalışma ile ortaya konulmuştur ( 90 ).

#### 2.4.2.2. Balıklarda Enfeksiyonu Hazırlayıcı Sebepler ve Enfeksiyonun Yayılması

Salmonidlerde stresin Saprolegniasis'e duyarlılığı artırdığı belirtilmektedir (65). Birçok araştırmacı balıklardaki yoğun populas-yon, yaralanma, arzu edilmeyen su sıcaklığı, balık nakli, açlık gibi çeşitli stres faktörlerinin hipofiz ve kan dolaşımı yolu ile plazmakortikosteroidlerinin seviyesinde artışa neden olduğunu, buna bağlı olarak protein katabolizması ve glukoneogenezis'in artarak vücutta oluşan protein eksikliği sonucu hastalığın meydana geldiğini saptamıştır ( 42,64,65 ). Kollagen kaybının balıklardaki yara ve ülserlerin iyileşme yeteneğine zarar verdiği bilinmektedir ( 64,104 ). Balıkların gelişmesinde gerekli olan L-Ascorbik asidin yetersizliğinde, vücuttaki kollagen kaybı sonucu yara ve ülserlerin kolay iyileşemediği saptanmıştır ( 65,104 ).

Richards ve Pickering (1978) doğa ve kültür koşullarındaki olgun brown troutlarda Saprolegnia enfeksiyonunu mukayeseli olarak çalışmışlardır (79). Bu çalışma sonuçlarına göre kültür koşullarında yetişmiş erkek ve dişi brown troutlarda Saprolegnia enfeksiyonunun doğal göl ortamında yaşayan balıklara göre daha şiddetli seyrettiği, seksüel yönden erkek ve dişi balıklar arasında hastalığın yayılması açısından farklılığın olmadığı tespit edilmiştir. Aynı araştırmacılar Leven ve Windermere Göllerinde yaşayan brown troutlarda cinsiyete bağlı olarak enfeksiyonun farklı yerlerde meydana geldiğini tespit etmişlerdir (79). Bu çalışmada erkek balıklar arasında enfeksiyonun

balıkların dorsalinden başlayarak daha sonra lateral line'ye doğru yayıldığını, dişi balıklarda ise daha çok kuyruk bölgesinin enfekte olduğunu belirlemişlerdir. Araştırmacılar, sek-süel olarak olgun balıklarda epidermisin yapısındaki değişikliklerin, erkek brown troutların Saprolegnia enfeksiyonuna duyarlılığı artırdığını belirterek, döl verimi sırasında erkek balıkların epidermislerindeki mukus üreten goblet hücrelerinin sayısında bir azalma olduğunu ortaya koymuşlardır (79).

Balıklarda Saprolegnia enfeksiyonlarının yavaş ilerleme gösterdiği ve daha çok vücudun sivri uçlarına yerleşmeyi tercih ettikleri saptanmıştır (8, 65). Miselyumun enfeksiyonun başlangıç noktasından dışarı doğru yayıldığı ve komşu enfeksiyonlar ile birleştiği ifade edilmiştir (78). Enfeksiyonun gelişmesi halinde balıkların artan derecelerde letarjik oldukları ve daha kolay yoruldukları, dış uyarılara karşı az duyarlı oldukları gözlenmiştir (65,78,85).

#### 2.4.3. Çeşitli Faktörlerin Zoosporogenesis Üzerindeki Etkisi

Su sıcaklığının zoospor oluşumunda önemli bir etkiye sahip olduğu daha önce Saprolegniaceae Pathogenesisinde bildirilmiştir. Bu konuda yapılan bir çalışmada S. diclina'nın zoosporlarının 20 °C su sıcaklığında 24 saat içinde, 25 °C ve 15 °C'ye göre daha çok sayıda üretildiği tespit edilmiştir (89). Sudaki çözülmüş oksijen suda yaşayan mantarlar için önemli bir faktördür. S. diclina zoosporlarının üretimi üzerine azot/hava karışımının etkisi araştırıldığında, 159 mm Hg oksijen basıncında 24 saatteki spor üretiminin 51 mm Hg'a göre daha fazla olduğu tespit edilmiştir (89).

Yine aynı şekilde zoosporların geniş bir pH aralığında üretilebildiği ve aktif halde kalabildikleri bildirilmektedir (89). Bu konuda S. diclina'nın pH 7 de 24 saatin sonunda, pH 8, 6.5'a göre daha bol miktarda spor ürettiği saptanmıştır (89).

Organik azot kaynağı olarak çeşitli aminoasitlerden glutamik asit'in Glycine, Proline, Aspartik asit'e göre S. diclina'nın zoosporlarını en çok cezbeden amino asit olduğu tespit edilmiştir(89).

Akvatik Phycomycetes zoosporlarının karakteristik özelliği olan kemotaksis, Saprolegnia zoosporlarında da görülmektedir (89,97).

Akvatik ortamlardaki ölü omurgalı veya omurgasız hayvanların vücutları zamanla Saprolegnia miselyum'u ile kaplanmaktadır (97). Zira, ortamdaki  $CaCl_2$ ,  $MgCl_2$  gibi toprak metal kloridleri pozitif kemotaksis maddeleridirler (97).

## 2.5. Isparta Bölgesi ve Su ürünleri Potansiyeli

### 2.5.1. Isparta Bölgesinin Coğrafi Yapısı

Isparta ili, Akdeniz Bölgesinde yer alır. Bölgede başta Eğirdir Gölü olmak üzere Kovada, Burdur, Gölcük, Salda, Beyşehir gibi göllerin yer alması nedeniyle bu bölgeye "Göller Bölgesi" adı da verilmektedir (83).

Jeolojik olarak Göller Bölgesi III. Jeolojik dönemde oluşan beyaz tebeşir ve kalkerden meydana gelmiştir. Bu dönemde yörede ortaya çıkan tektonik oluşumlara bağlı olarak yöre, engebeli bir arazi yapısına sahiptir. İşte bu engebeli arazide oluşan kapalı havzaların su ile dolması sonucu bölgede bugünkü irili ufaklı göller ortaya çıkmıştır (16,83).

### 2.5.2. Bölgenin Su Ürünleri Potansiyeli ve Isparta İlindeki Balık Üretim ve Yetiştirme Tesisleri

Göller Bölgesinde yeralan irili ufaklı göllerin toplam yüzölçümü yaklaşık 2304 km<sup>2</sup>'dir. Bunlardan en verimli olan göl 488 km<sup>2</sup> yüzölçümü ile Eğirdir Gölü'dür (2,13,83). Göller dışında bölgenin en önemli akarsuları Aksu, Atabey, Çandır, Çukur, Kovada gibi akarsulardır (Tablo 2).

Tablo 2. Isparta İlindeki Minimum Debileri 50 lt/sn'den Büyük Olan Akarsular (\*)

| Akarsuyun Adı             | Çıktığı Yer                | Döküldüğü Yer  |
|---------------------------|----------------------------|----------------|
| Aksu Çayı                 | Eğirdir, Aksu              | Akdeniz        |
| Atabey Çayı               | Atabey                     | Sulama suyu    |
| B.Gökçeli Kaynağı         | Eğirdir, B.Gökçeli Kaynağı | Sulama suyu    |
| Çandır Deresi             | Sütçüler, Çandır Kaynağı   | Aksu           |
| Çukur Çayı                | Merkez, Çukur köyü         | Aksu           |
| Çukur Kaynağı             | Merkez, Çukur köyü         | Çukur Çayı     |
| Isparta Çayı              | Merkez                     | Aksu           |
| Karacahisar Çayı          | Eğirdir Karacahisar        | Aksu           |
| Kartoz Çayı               | Sütçüler-Kasımlar          | Göksu          |
| Kayaağzı Kaynağı          | -                          | Eğirdir Gölü   |
| Keçiborlu Deresi          | Keçiborlu                  | Burdur Gölü    |
| Kovada Çayı               | Eğirdir, Eğirdir Gölü      | Aksu           |
| Milas Kaynağı             | Merkez, Yakaören           | Sulama suyu    |
| Sav Çayı                  | Merkez, Sav                | Sulama suyu    |
| Sığırlık (Küçüksu) Deresi | Sütçüler, Sığırlık         | Aksu           |
| Sücüllü Çayı              | Yalvaç                     | Sücüllü        |
| Uluborlu Çayı             | Uluborlu                   | Uluborlu, B.G. |

(\*) : Tarım İl Müdürlüğü Şahsi Görüşme

Göl ve akarsular yönünden oldukça zengin su kaynaklarına sahip olan Göller Bölgesinde yer alan Isparta ili sınırları içinde dokuz adet balık üretim tesisi yer almaktadır. Bu tesislerden büyük bir bölümü alabalık üretim tesisidir. Yıllık kapasiteleri yaklaşık 90 ton/yıl kadar olan bu işletmelerden en eski olanı

1971 yılından beri faaliyet göstermektedir (18). Büyük bir çoğunluğu özel teşebbüse ait bu işletmelerin en büyük üretim sorunları gerek kuluçka döneminde ve gerekse geliştirme döneminde balıklarda görülen mantar hastalığıdır.

Tablo 3. Isparta İlindeki Balık Üretim ve Yetiştirme Tesisleri  
(1990 yılı itibariyle) (\*)

| İşletmenin Adı  | Kapasitesi<br>ton/yıl |
|---|-----------------------|
| Kumbul Alabalık Yetiştirme Tesisi Aksu-Isparta                      | 30                    |
| Çukurköy Alabalık Üretim Tesisi Çukurköyü-Isparta                   | 7                     |
| Gökçinar Alabalık Üretim ve Yetiştirme Tesisi Karadikenköyü-Isparta | 20                    |
| Baysal Alabalık Üretim Tesisi Çandır-Isparta                        | 7                     |
| Aksu Belediyesi Alabalık Yetiştirme Tesisi Aksu-Isparta             | 12                    |
| Aşağı Gökdere Aynalı Sazan Üretim Tesisi Aşağı Gökdere-Isparta      | 5                     |
| Milas Alabalık Üretim Tesisleri Milas-Isparta                       | -                     |
| Büyük Gökçeli Alabalık Üretim Tesisi Büyük Gökçeli-Isparta          | -                     |

(\*) : Tarım İl Müdürlüğü Şahsi Görüşme

### 3. MATERYAL VE METOD

#### 3.1. Materyal

##### 3.1.1. Isparta Bölgesi Balık İşletmeleri

Tarım Köyişleri Bakanlığına bağlı Milas Su Ürünleri Üretim İstasyonu 1980-1981 yılında kurulmuştur. 10 x 1 x 1 m ölçülerinde 10 adet yavru havuzu, 5 x 0.45 x 0.40 m ebatlarında kuluçka kanallarına sahip işletmede kullanılan suyun kaynaktaki debisi 150-200 lt/sn, havuzlarda 50 lt/sn ve kuluçka kanallarında ise 20 lt/sn dir (Resim 1).



Resim 1. Milas Su Ürünleri Üretim İstasyonu yavru geliştirme ve yetiştirme havuzlarının genel görünümü

1974-1975 yıllarında kurulan Çukurköy Alabalık İşletmesi özel bir işletmedir. İşletmenin kuluçka evinde 10 x 0.50 x 0.20 m ebatlarında kanallar bulunmaktadır. İşletmede kullanılan suyun debisi 120 lt/sn'dir (Resim 2).



Resim 2. ukurky Alabalık İşletmesi yetiştirme havuzları ve kulukaevinin genel görünümü

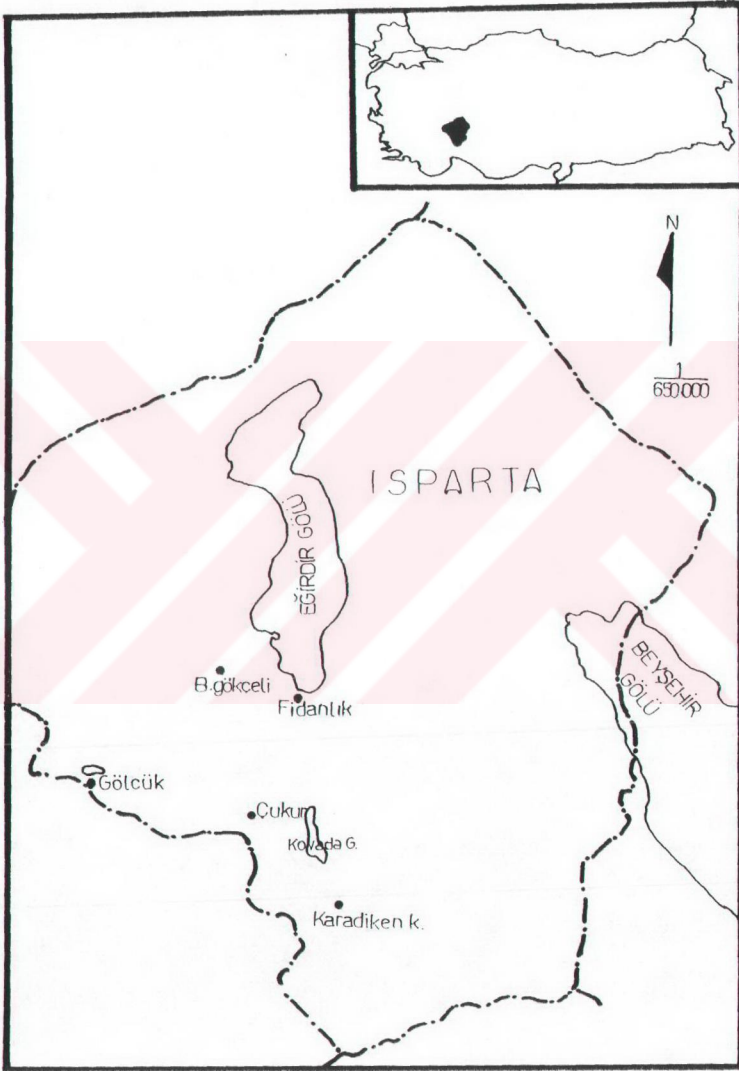
1973-1974 yıllarında kurulan Bykgkeli Alabalık İşletmesi, Gökçeli Belediyesine ait bir işletmedir. Kuluçka binasındaki kuluçka kanalları 7.50 x 0.60 x 0.40 m ölçülerindedir. Isparta-Eğirdir karayoluna 4-5 km mesafede olan bu işletmede kullanılan suyun debisi 120 lt/sn'dir (Resim 3).



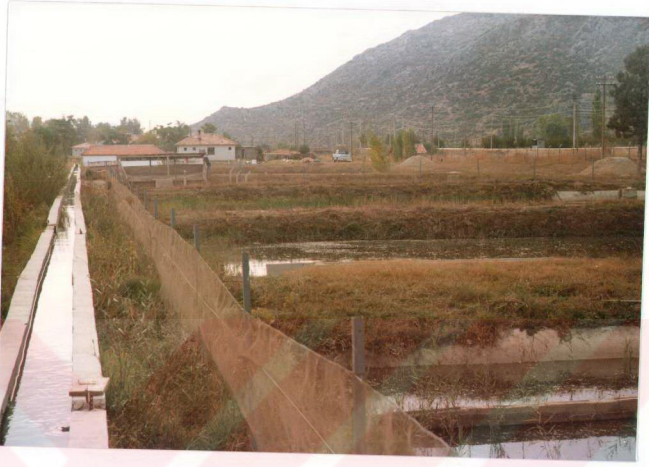
Resim 3. Gökçeli Alabalık İşletmesinde kuluçkaevi ve anaç Havuzu

Eğirdir Orman İşletmesi Aynalı Sazan Tesisleri 1981 yılında kurulmuştur. İşletmede göl suyu kullanılmaktadır. Üretim yarı kontrollü yolla yapılmaktadır. Toprak havuzlarda yapılan yetiştiricilik ve üretim çalışmalarında besleme ve geliştirme havuzları (2 adet)  $2500 \text{ m}^2$ , büyütme havuzları (2 adet)  $1248 \text{ m}^2$ , yavru havuzları (2 adet)  $832 \text{ m}^2$ , ön büyütme havuzları (2 adet)  $624 \text{ m}^2$ , stok havuzu (1 adet)  $100 \text{ m}^2$ , kışlatma havuzu (1 adet)  $300 \text{ m}^2$ , dubisch yumurtlama havuzu (1 adet)  $100 \text{ m}^2$  kullanılmaktadır (Resim 4).

İşletme 1991 yılından itibaren faaliyetlerini Aşağı Gökdere tesislerinde devam ettirmektedir.

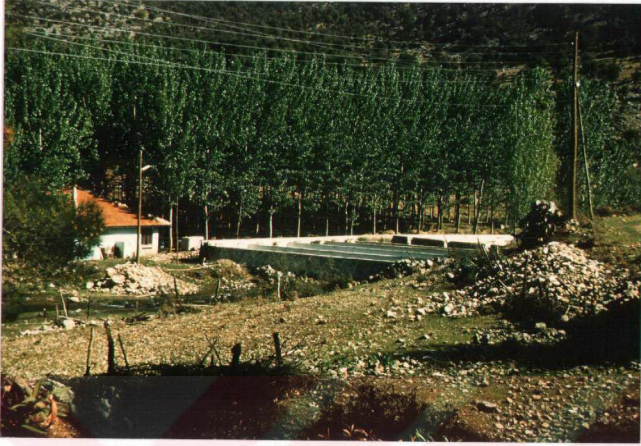


Şekil 3. Isparta ilindeki Balık İşletmeleri



Resim 4. Eğirdir-Fidanlık Sazan İşletmesi havuzlarının genel görünüşü

Karadiken köyü yakınlarında yer alan Gökpınar Alabalık İşletmesi 1985 yılından sonra faaliyete geçen özel bir işletmedir. İşletmenin suyu, Kovada Gölünden kaynaklanmaktadır. Bu işletmede, suyun debisi, Kovada Gölünün su seviyesine bağlı olarak değişmektedir. Halen işletmede mevcut su problemi nedeniyle, işletme ile ilgili bulgular düzenli olarak temin edilememiştir (Resim 5).



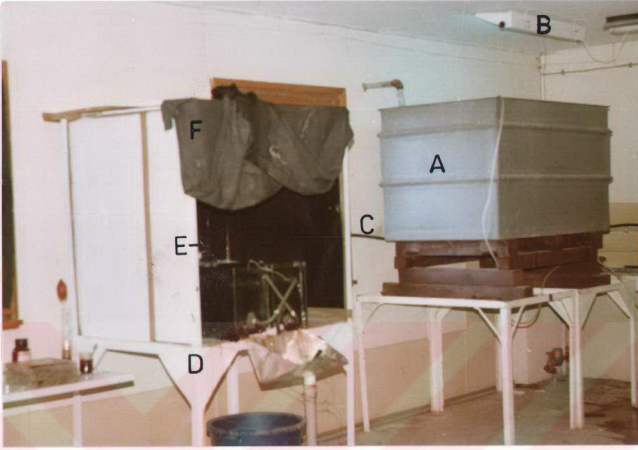
Resim 5. Gökpınar Alabalık İşletmesi yetiştirme havuzları ve kuluçkaevi genel görünüşü

### 3.1.2. Uygulamada Kullanılan Balık ve Yumurtalar

Enfeksiyon çalışmalarında kullanılan Oncorhynchus mykiss yumurtaları 970'i Milas ve 264'ü Büyük Gökçeli olmak üzere iki farklı alabalık işletmesinden sağlanmıştır. Açık sarı renkteki Milas kökenli yumurtalar 27.12.1989, koyu sarı renkteki Büyük Gökçeli kökenli yumurtalar 07.02.1990 tarihinde temin edilmiştir (43). Yavru alabalıklar ise 18.03.1991 tarihinde Milas Alabalık Üretim İstasyonundan sağlanmıştır. İzolasyon çalışmalarında kullanılan enfekte yumurta ve yavru balıklar ise Milas, Çukurköy, Büyük Gökçeli ve Eğirdir Fidanlık Balık Üretim İşletmelerinden temin edilmiştir.

### 3.1.3. Uygulama Yeri

Enfeksiyon uygulamaları Akdeniz Üniversitesi Eğirdir Su Ürünleri Yüksekokulu Balık Üretim Tesislerinde yapılmıştır (Resim 6).

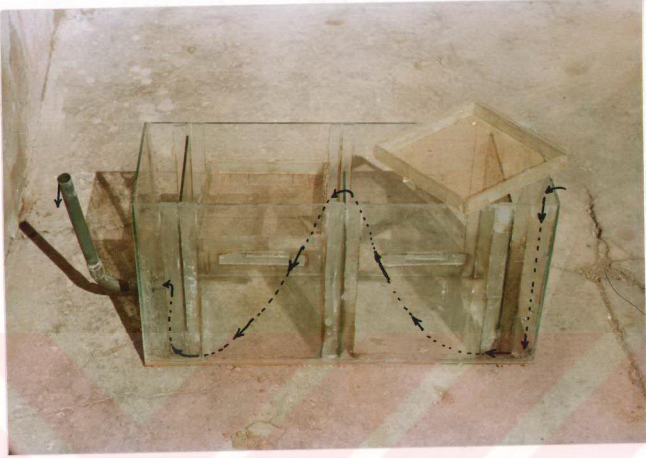


Resim 6. Enfeksiyon uygulamasındaki Genel görünüş

- A) Uygulamada kullanılan su toplama tankı
- B) Ultraviyole lamba
- C) Toplama tankından inkübatöre su taşıyan plastik boru
- D) İnkübatör akvaryumların yerleştirildiği ve straforlarla koruma altına alınan çalışma masası
- E) Ziftli kağıt
- F) Işıktan koruma perdesi

### 3.1.3.1 Uygulama Akvaryumları

Enfeksiyon uygulamaları için 60 x 22 x 30 cm ölçülerinde akarsu su sisteminde ilti adet cam inkübatör (Resim 7) ile ayrıca 75 x 35 x 29 cm'lik cam akvaryumlar durgun su sisteminde hazırlanmıştır. Durgun su sisteminde hazırlanan akvaryumlar hava motoru ile havalandırılarak oksijence zenginleştirilmiştir. İnkübatör akvaryumlara yerleştirilecek yumurtaların inkübasyonu için 20 x 20 cm ölçülerinde yumurta kasetleri kullanılmıştır. Cam inkübatör ara bölmeleri alınarak larvalar için kullanılmıştır.



Resim 7. Özel cam inkübatör ve yumurta yumurta kasetinin genel görünümü ( → ..... su sirkülasyonu yönü)

### 3.1.3.2. Uygulamada Kullanılan Su Kaynağı

Uygulamada kullanılan su Eğirdir Gölü kıyısına 117 m uzaklıkta açılan keson kuyudan elektrikli bir pompa ile alınmıştır. Dinlendirme ve havalandırma tankında bekletilen su, inkübatör akvaryumlara plastik bir boru yardımı ile dağıtılmıştır (Resim 6).

### 3.1.3.3. Uygulamada Kullanılan Su Sterilizatörü ve Besiyerleri

#### 3.1.3.3.1. Su Sterilizatörü

Suyun sterilizasyonu, su toplama tankının üzerine 150 cm yükseklikte monte edilen Philips GGA 130 ultraviyole lamba ile sağlanmıştır.

### 3.1.3.3.2. Besiyerleri

İzolasyon çalışmalarımız için Yeast Fosfat Starch Agar (YPSS = YSA), Corn Meal Dekstroz Yeast (CMDY), Corn Meal Dekstroz Fosfat (CMDP), Raper's Medium (RM), Patates Dekstroz Agar (PDA), Corn Meal Agar (CMA), Weak Maltoz Pepton Agar (MPA) besiyerleri kullanılmıştır (1,12,26,29,55).

## 3.2. Metod

### 3.2.1. Uygulamada Kullanılan Döllenmiş Yumurtaların Elde Edilmesi

Anaç balıklardan elde olunan yumurtalar kuru dölleme yöntemi ile döllandikten sonra 30-45 dakika bekletilerek taşımaya hazır hale getirilmiştir (17).

### 3.2.2. Yumurta ve Yavru Balıkların Taşınması

#### 3.2.2.1. Yumurtaların Taşınması

İsparta-Milas Alabalık Üretim İstasyonundan yaklaşık 1000 adet, Gökçeli Alabalık İşletmesinden 267 adet olmak üzere toplam 1267 adet yumurta, Yüksekokulumuz Üretim Tesislerine taşınmıştır. Taşıma öncesi yumurtaların sağım ve dölleme işlemleri tamamlanmış, bir saatin sonunda da tabanı yuvarlak 5 lt hacimli, ağzı kapaklı plastik bir kap ile taşınmıştır. Taşıma sırasında döllenmiş yumurtaların ışıktan etkilenmesini önlemek amacıyla kabın üzeri koyu renkli bir bez ile örtülmüştür (17,24).

Çalışmalarımızın bir bölümü için göz lekesi oluşmuş alabalık yumurtaları Milas Alabalık Üretim İstasyonundan temin edilmiştir. 850 adet gözülü yumurta yukarıda belirtilen yöntemle Yüksekokula taşınmıştır.

### 3.2.2.2. Yavru Balıkların Taşınması

Total boy uzunluğu 3 - 3,5 cm olan 300 adet yavru alabalık Milas Alabalık Üretim İstasyonundan içerisinde 1/3 su bulunan naylon torbalarda taşınmıştır. Taşıma sırasında torbalar basınçlı oksijen ile şişirilip ağızları bağlandıktan sonra plastik bir kovaya yerleştirilerek Yüksekokula taşınmıştır ( 56,72,108).

### 3.2.3. Yumurta ve Yavru Balıkların Dezenfeksiyonu

Uygulamada kullanılmak üzere Yüksekokul Laboratuvarına getirilen yumurta ve yavru balıklar 6.6 ppm'lik malaşit yeşili ile 15 sn dezenfekte edildikten sonra denemelerde kullanılmıştır (102).

### 3.2.4. İnkübatörün Kurulması

Uygulamada kullanılan yeni döllenmiş alabalık yumurtaları, Kalifornia tipinde hazırlanan cam inkübatör içindeki kasetlere yerleştirilmiştir. İnkübatöre giriş suyunun debisi 0.9 lt/dk olarak ayarlanmıştır (Resim 8).



Resim 8. Çalışma düzenindeki cam inkübatörlerin genel görünümü

### 3.2.5. Etken İzolasyonu

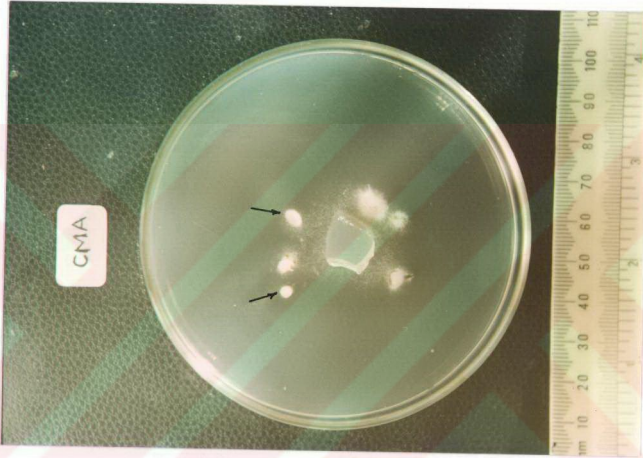
Enfekte yumurta ve yavru balıklardan izolasyonlar, "tek spor izolasyon" yöntemi ile yapılmıştır (1,12,25). İzolasyon için alınan örnekler 1/1000 oranında seyreltildikten sonra 3.1.3.3.2'de belirtilen besiyerlerine steril pipet yardımıyla ekilmiştir. İnkübasyon için 20 °C'de 24 - 48 saat süre ile etüve yerleştirilen ekimi yapılmış petri kutularında, üreme bölgeleri görüldükten sonra saflaştırılması yapılmıştır. Bu amaçla üreme bölgelerinden alınan 1 cm<sup>2</sup> lik parçalar, yeni besiyerlerine transfer edilmiştir (26,38,102).

### 3.2.6. Besiyerlerinin Hazırlanması

Çalışmalarımızda kullanılan yedi farklı besiyeri, bilinen yöntemlere göre hazırlanarak otoklavda 121 °C 'de 1,5 atmosfer basınç altında 15 dakika süre ile sterilize edilmiştir (26,38). İzolasyon çalışmalarında kullanılmak üzere hazırlanan bu besiyerleri otoklavda steril hale getirildikten sonra soğumaya bırakılarak içerisine 100 ml'ye 0.01 gr Combiotic-S (6000 iu Kristalize Procain Penicilin G, 200.000 iü Kristalize Potasyum Penicillin G ve 0.5 gr Kristalize Streptomycin) ilave edilmiştir (26,44).

### 3.2.7. Kültürlerin İdentifikasyonu

Yumurta ve yavru balıklardan izole edilerek yeni bir besiyerinde saflaştırılan izolatların bulunduğu kültür ortamına, kabuksuz steril kenendir yerleştirilerek 6-24 saat arasında inkübe edildiğinde, kültürlerin tohuma transferi sağlanmıştır (Resim 9) (55,64,113).



Resim 9. Kültürün İdentifikasyonu için kullanılan CMA ve steril kenendir tohumları

Mantarlı kenendir tohumları daha sonra steril distile su içeren petri kutularına aktarılarak 20 °C sıcaklıkta 24 saatten sonra spor çıkışları izlenmiştir ( 55, 64, 113 ). Mantarların spor çıkış tiplerine göre önce genus seviyesindeki tespitleri (41,45,62,91, 93,111,112) daha sonra eşeyli üreme yapılarını teşvik amacıyla 7,14,20°C lik farklı sıcaklık derecelerinde soğutmali etüvde inkübe ederek tür seviyesindeki tespitleri ışıklı mikroskop yardımıyla yapılmıştır.

### 3.2.8. Kùltürlerin Muhafazası

Enfekte yumurta ve yavru balıklardan izole edilerek saflaştırılmış organizmalar kenevir tohumu üzerinde büyütilerek içinde steril distile su bulunan steril tüpler içerisinde 4 °C'deki buzdolabında muhafaza edilmişlerdir (40,44)

### 3.2.9. Uygulamada Kullanılan Yumurta ve Yavru Balıklarda Enfeksiyon Oluşturulması

Uygulamamızda enfeksiyon kaynağı olarak izolasyon çalışmalarımızdan elde olunan Saprolegnia sp. izolatları kullanılmıştır. Enfeksiyon çalışmalarında kenevir tohumunda hazırlanan mantar dis-tile suyun içinde sporlandırıldıktan sonra zoosporları, içerisinde enfekte edilecek yumurta yada yavru balık bulunan su dolu kaba ilave edilmiştir (87,102) Yumurta ve yavru balıklardaki enfeksiyonun gelişimi stereo mikroskop yardımıyla izlenmiştir.

### 3.2.10. Histopatolojik Çalışmalar

#### 3.2.10.1. Örneklerin Tespit İşlemi

Larva ve yavru balık örnekleri % 10'luk hazırlanan nötral formaldehit içerisinde 24 saat süreyle tespit edilmiştir (20,29,39).

#### 3.2.10.2. Örneklerin Histokimyasal Boyanması ve İncelenmesi

En az 24 saat süre ile % 10'luk nötral formaldehit içerisinde tespit edilen örnekler, önce bir saat çeşme suyu altında yıkandıktan, sonra doku geliştirme işlemine tabi tutulmuştur. Doku geliştirme işleminde Doku Proses Cihazı ile doku sularından arındırılan örnekler, parafin bloklara alınarak rotary mikrotom yardımıyla 5 mikron kalınlığında kesilmiştir. Örneklerle ait doku kesitleri 48 °C'lik sıcak su banyosundan lam üzerine alınarak Haematoxylin-eosin ve PAS-Light green doku boyama metodları ile boyanarak ışıklı mikroskop altında incelenmiştir ( 15,20,29,39).

### 3.2.11. Uygulamada Kullanılan Değişik Kalitedeki Akvaryum Sularının Hazırlanması

Akvaryumlarda farklı pH değerlerindeki suyun ayarlanabilmesi için 1 M NaOH ve 1 M HCl kullanılarak hassas dijital pH metre ile ölçümler yapılmıştır. Organik madde bakımından zenginleştirme ise, doğal ortamına uygunluk sağlaması bakımından çatlamış yada kırılmış alabalık yumurtalarının suya bulaştırılmasıyla gerçekleştirilmiştir. Sudaki organik madde miktarı tayini TSE 266'ya göre yapılmış ve 7.53 mg/lt'lik değer 12.56 mg/lt'ye yükseltilmiştir (11).

### 3.2.12. İşletme Sularının Analizleri

#### 3.2.12.1. Kimyasal ve Fiziksel Analizler

Uygulamalarımızda kullandığımız göl suyu ve diğer işletmelere ait su örneklerinde  $Cl^-$ ,  $Ca^{+2}$ ,  $Mg^{+2}$ ,  $SO_4^{-2}$ ,  $OH^-$ ,  $CO_3^{-2}$ ,  $HCO_3^{-2}$  tayinleri Eğirdir Su Ürünleri Yüksekokulu Su Kalitesi Laboratuvarında yapılmıştır (11, 54). Sıcaklık ve çözülmüş oksijen oksijenmetre ile ölçülmüştür.

#### 3.2.12.2. Mikrobiyolojik Analizler

Uygulamada kullandığımız göl suyu ve balık işletmelerinden alınan su örnekleri uygun koşullarda Eğirdir Su Ürünleri Yüksekokulu Mikrobiyoloji Laboratuvarına getirilerek bu örneklerin içerisine steril cezbedici (kenevir tohumu) yerleştirilmek suretiyle sulardaki akvatik mantarların varlığı kontrol edilmiştir (1,12,53).

### 3.2.13. Hematolojik Çalışmalar

#### 3.2.13.1. Balıklardan Kan Alma Metodu

Saprolegnia sp. zoosporları enjekte edilen anaç alabalıkların enjeksiyondan 5 gün sonra enselerine sert bir cisimle vurularak öldürülmüş ve kuyruk yüzgeçleri dibinden bir makasla kesilmiştir. Kesilen kuyruktan akan kan içerisinde EDTA bulunan steril tüplere alınmıştır (14).

#### 3.2.13.2. Buffy-coat Tekniği

Daha önce EDTA'lı tüpler içerisine alınan kan, hematokrit tüplere çekilmiştir. Sonra bir ucu cam macunu ile kapatılan tüpler, mikrohematokrit santrifüje dengeli ve karşılıklı yerleştirilerek 10500 rpm'de 5 dakika süre ile santrifüj edilmiştir (29).

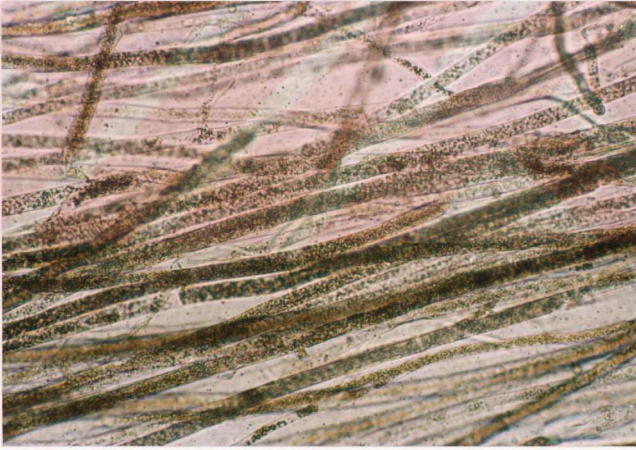
#### 3.2.13.3. Kan Frotisi Hazırlama Tekniği

Mikrohematokrit santrifüjde 5 dakika süreyle santrifüj edilen tüplerde kan hücreleri ile serum birbirinden ayrılmıştır. Bu teknikte mantar enfeksiyonu taşıyan balıkların kanlarında beyaz kan hücreleri (leucocytes) ve kırmızı kan hücreleri (erythrocytes) de birbirleri arasında ayrılarak tüp içerisinde beyaz bir bölge (buffy-coat) oluşturmaktadırlar (103). Tüp, bir cam testeresi ile buffy-coat bölgesinden kesilerek içerisinde oluşan beyaz bölge steril bir lam üzerine yayılmış ve ince bir froti hazırlanmıştır.

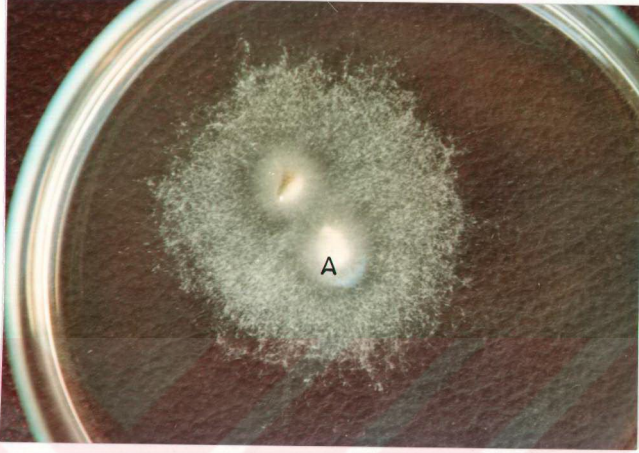
#### 3.2.13.4. Kan Boyama Tekniği

Sürtme frotiler, havada kurutulduktan ve alkol içinde tespit edildikten sonra Giemsa boyama tekniği ile boyanmıştır (29,39,61).

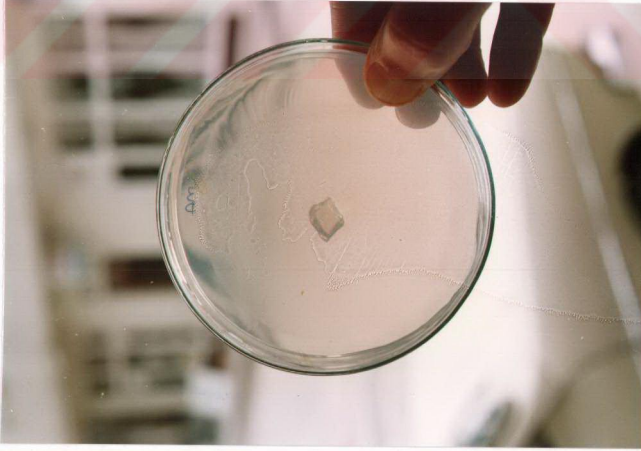
oluşturmayıp, suda flagellumları yardımı ile hareket edebildikleri (Resim 15). Zoosporlar bir dakikadan çok olmayan bir süre yüzdükten sonra yuvarlak kist şeklini almışlardır. Sporların suya çıkmasını sağlayan sporangiumdaki açıklığın spor çapından küçük olduğu ve sporların bu açıklıktan sıkışarak geçtikleri saptanmıştır (Resim 15). Saprolegnia izolatlarında eski sporangium yada sporangiumlar içinde yeni sporangium gelişmesi şeklinde internal proliferasyon yaygın olarak görülmüştür (Resim 16). Gerek CMA gerekse distile su içindeki kenevir tohumunda gelişen bazı izolatlarda sporangium içinde olgunlaşmış sporların suya çıkmadığı hallerde sporangium duvarından suya kadar uzanan uzun çimlenme tipleri oluşturdukları tespit edilmiştir (Resim 17).



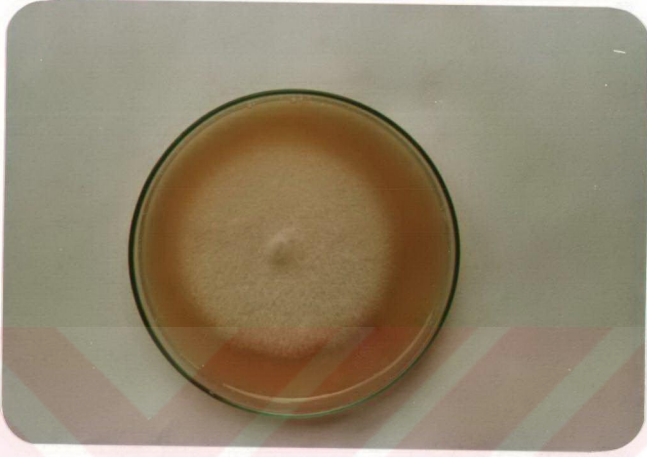
Resim 10. Saprolegnia genusunda septasız, granüllü hifalar



Resim 11. Distile su içindeki kenevir tohumu etrafında gelişen bir haftalık Saprolegnia kültürü  
A) Kenevir tohumu



Resim 12. CMA'da kültürü yapılmış Saprolegnia izolatı

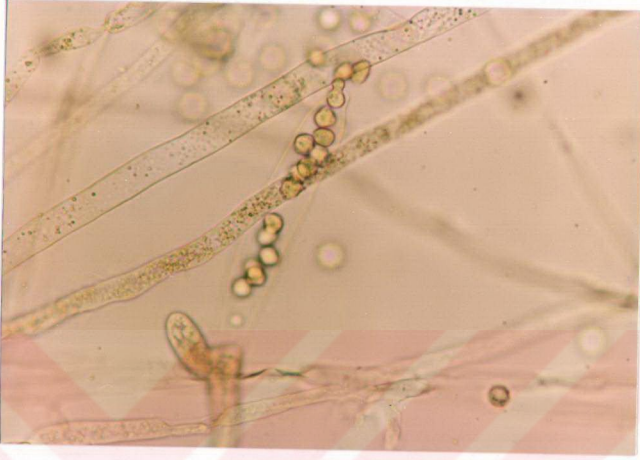


Resim 13. PDA'da kültürü yapılmış Saprolegnia izolatı



Resim 14. Saprolegnia sp. olgun bir zoosporangiumdan boşalma-  
ya hazır zoosporlar

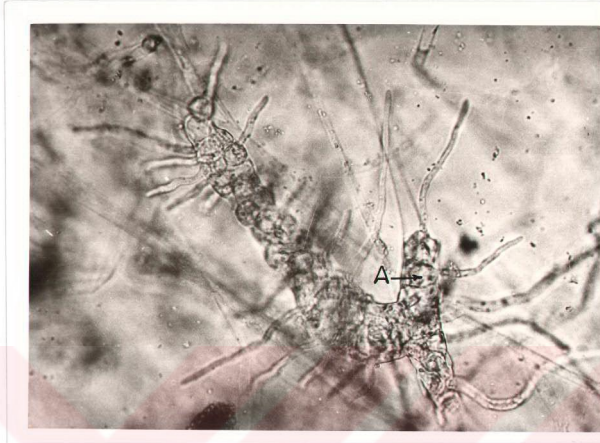
x 200



Resim 15. Saprolegnia sp. olgun bir zoosporangiumdan çıkarak uzaklaşan zoosporlar x 200



Resim 16. Saprolegnia sp. zoosporlarını boşaltmış bir zoosporangiumda görülen internal proliferasyon  
A) İç içe geçen zoosporangium (internal Proliferasyon) x 100



Resim 17. Saprolegnia sp. zoosporlarını boşaltmamış bir zoosporangiumda çimlenen zoosporlar

A) Zoospor

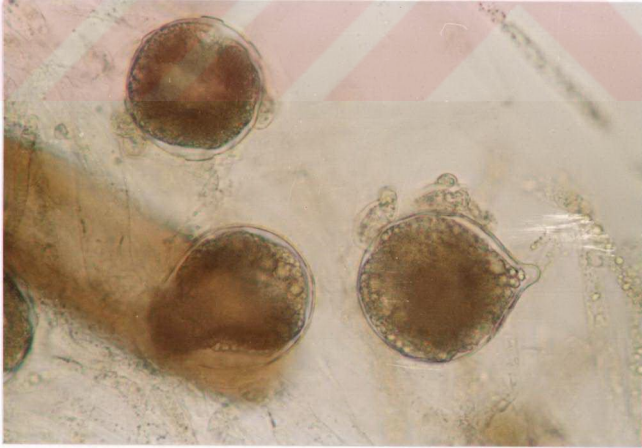
x 400

Saprolegnia izolatlarında primer zoosporlar armut şeklinde görülmektedir. İzolatların bir kısmında sporlar suda hızla hareket edebilirken bazılarının çok yavaş harekete sahip oldukları saptanmıştır. Bütün izolatlarda zoosporların kısa bir süre içerisinde yuvarlak şekil alarak hareketsiz kaldıkları ve çimlendikleri tespit edilmiştir.

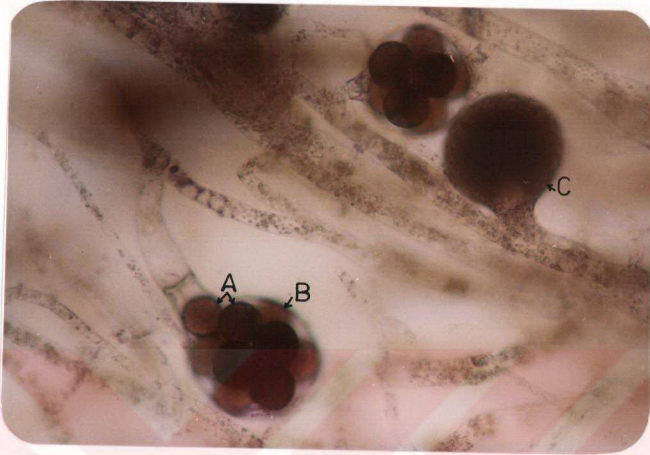
Gemmae olarak isimlendirilen koyu renkli, kalın hücre duvarları olan ve birbirinden farklı morfolojik şekillerde olabilen yapılar, bütün Saprolegnia izolatlarında görülmüştür. Yapılan çalışmalarda kültürdeki gemmae miktarının sıcaklık artışı, ışık gibi fiziksel faktörlerden etkilenecek şekilde değişmesi nedeniyle tür seviyesinde yapılan değerlendirmelerde sadece gemmae şekli dikkate alınmıştır.

Saprolegnia izolatlarının çoğunda dişi gametangium olan Oogoniumlara 20 °C'de 3. yada 4. günden itibaren rastlanmıştır. Olgunlaşmamış oogoniumlar içinde iri globüller görülürken (Resim 18), oogoniumların olgunlaşmasıyla oosferler belirgin olarak dikkati çekmiştir (Resim 19). Oogonium içindeki oosporların sayısı türlere göre değişmektedir. Bazı Saprolegnia izolatlarının oogonium üretme = bilmek için belirli sıcaklık derecelerine ihtiyaç duydukları görülmüştür. Yine bazı izolatlarda farklı sıcaklık istekleri olabileceği göz önüne alınmasına rağmen, oogonium üretimine hiç rastlanmamıştır. Saprolegnia izolatlarında oogonium şekli, çoğunlukla globöse olarak görülmüştür. Bununla birlikte çeşitli şekillerde oogoniumlarda tespit edilmiştir. İzolatların tümünde oogonium duvarlarında çukurlar dikkati çekmiştir (Resim 20).

Saprolegnia izolatlarında sentrik ve subsentrik olmak üzere iki farklı tip gösteren oosporlar çoğunlukla yuvarlak, seyrek olarakta kare, dikdörtgen şeklinde görülmüştür (Resim 21).



Resim 18. Saprolegnia sp. olgunlaşmamış oogoniumlar



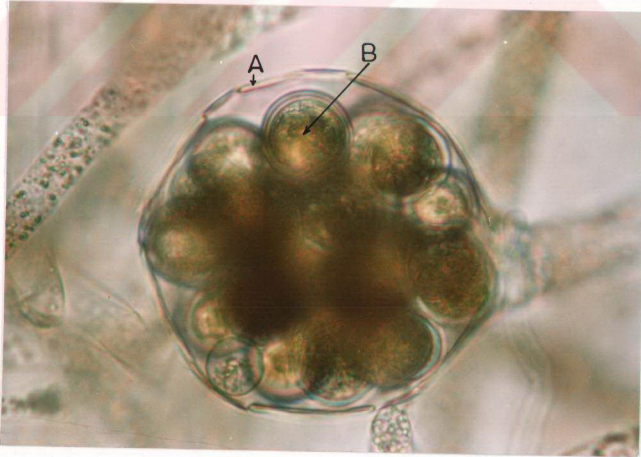
Resim 19. Saprolegnia sp. oogoniumlar içinde

A) Oosferler

B) Olgunlaşmış bir oogonium

C) Olgunlaşmamış oogonium

x 200

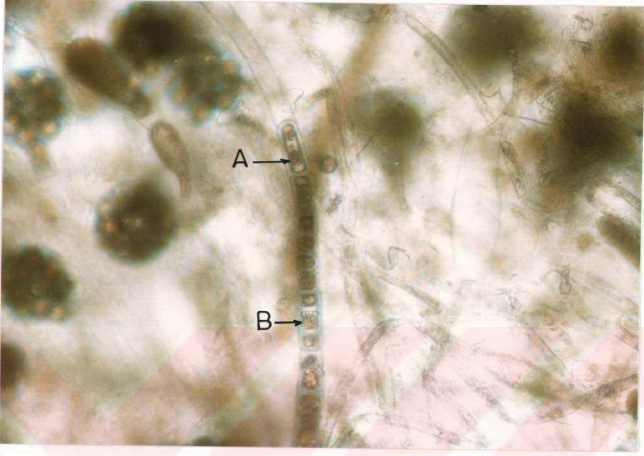


Resim 20. Saprolegnia sp.'de

A) Oogonium duvarında görülen çukurlar

B) Olgun oospor

x 400



Resim 21. Saprolegnia sp. kare yada dikdörtgen şeklinde görülen oosporlar

A) Dikdörtgen şekilli oospor

B) Kare şekilli oospor

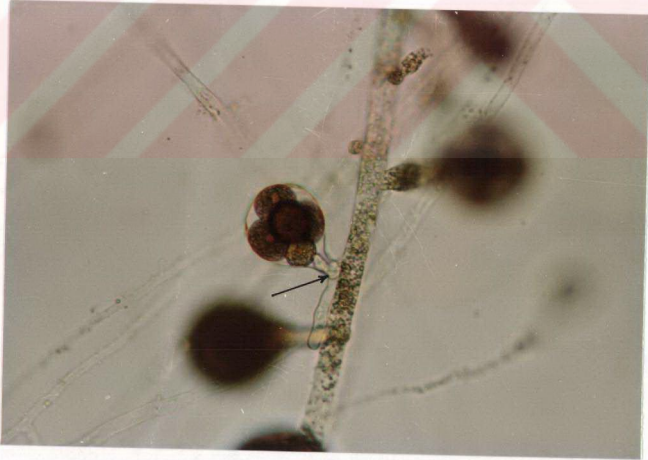
x 100

Saprolegnia izolatlarında Antheridium, Diclinous ve Androgynous tiplerinde görülmüştür (Resim 22,23). Oogoniumun etrafında yer alan antheridium miktarına dikkat edilerek, antheridiumun oogoniumu tamamen çevirmesi yada kısmen az miktarda çevirmesi tür ayrımı için bir kriter kabul edilmiştir.

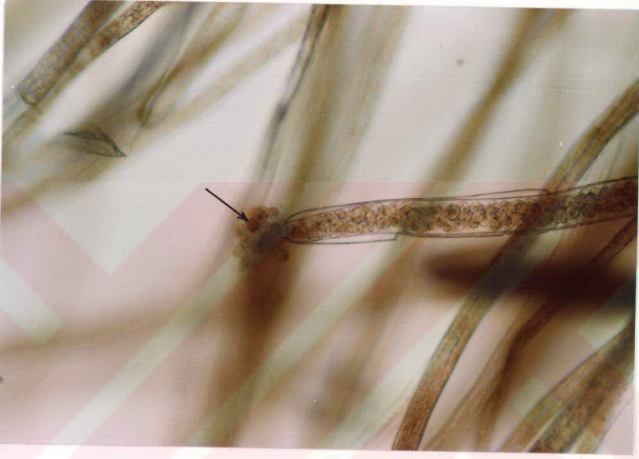
İncelenen bazı izolatlarda zoospor çıkışlarının Achlya tipinde olduğu görülmüştür (Resim 24). Ancak, aynı izolatlarda yapılan tekrarlı incelemelerde spor çıkış şeklinin Saprolegnia sp.'e uygun olduğu tespit edilmiştir. Bu izolatların zaman zaman Achlya gibi davranabilen Saprolegnia sp. olabilecekleri kanısına varılmıştır.



Resim 22. *Saprolegnia* sp. oogoniumla farklı bir hifadan gelen Antheridium (Diclinous Antheridium) (Okla gösterilmiştir) x 200



Resim 23. *Saprolegnia* sp. oogoniumla birlikte aynı hifada yer alan (Androgynous) ve oogonial sapın hemen altından gelen (Hypogynous) Antheridium (Okla gösterilmiştir) x 200



Resim 24. Olgun bir zoosporangiumdan boşalan zoosporların küme oluşturması

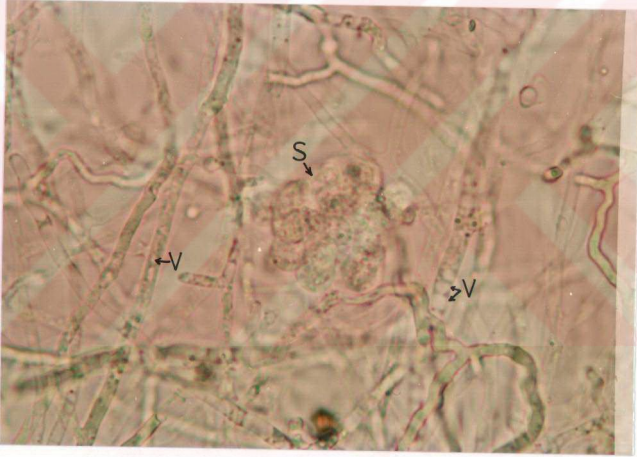
x 100

Tablo 4. Alabalık Yumurta ve Yavru Balık İzolatlarından Genus Seviyesinde Yapılan Testitler

| Genus       | Hifa Özellikleri                                 | CMA'da Büyüme           | PDA'da Büyüme                                 | Zoosporların Çıkış Şekli  | Sporangium Şekli        | Gemmae Üretimi       | Distile Su İçindeki Kemaver Torunu Kilitirinde Koloni Görünüşü                            |
|-------------|--|-------------------------|---|---|-------------------------|----------------------|---|
| Saprolegnia | Branşlı Septasız Bol granüllü 12,5-30 µ çapında  | İnce zor görülen koloni | Yoğun pamuk beyazı kom-pakt tüylü görünümde   | Küme oluştur-maz. Sporan-giumun bir ya-da birkaç nok-tasından dışa-rı boşalma             | Çoğunlukla ince, uzun   | Gemmae üretili-yor   | Gevşek yapıda Bazı izolatlarda ince noktali bir görünümde-dir                             |
| Pythium     | Branşlı Septasız Granüllü Vakuollü 3-5 µ çapında | İnce zor görülen koloni | Yoğun pamuk beyazı ve pakt ve tüylü görünümde | Küme oluştur-maz. Vezikülün her tarafından suya hızla dağılırlar veya sporangium çimlenir | Filamentöz veya küresel | Gemmae üretili-miyor | İç içe geçmiş kompakt yapıda-dır. Saprolegnia ya göre daha kü-çük koloni çapı-na sahiptir |

4.1.2. Genus : Pythium

Pythium izolatlarının hifaları branşlı, septasız, granüllü ve yer yer vakuollüdür (Resim 25). Distile su içinde kenevir tohumu etrafında ince ve iç içe geçmiş kompakt görünümlü hifalardan meydana gelen koloniler oluşturdukları tespit edilmiştir. (Resim 26). Pythium izolatlarında sporangium filamentöz, yuvarlak, ince uzun tiplerde görülmüştür (Resim 25,27,29). Elde edilen izolatların hiçbirinde Oogonium ve Antheridium üretimine rastlanmamıştır (Tablo 6).

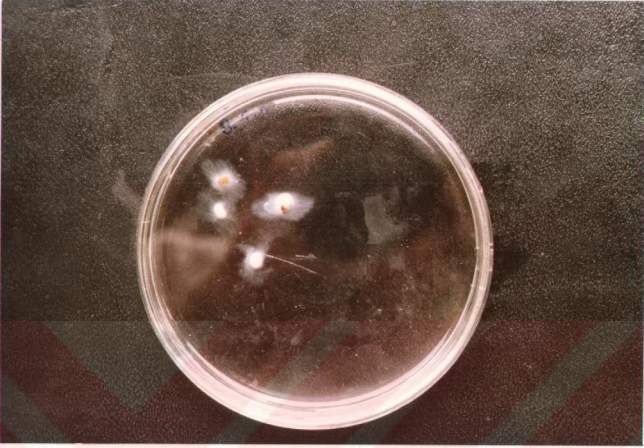


Resim 25. Pythium sp. septasız, granüllü ve vakuollü hifalar

V) Vakuöl

x 400

S) Sporangium



Resim 26. Pythium sp. distile suda kenevir tohumları etrafında gelişen kültürü

#### 4.2. Yumurta ve Yavru Balıklardan Elde Olunan İzolatların Tür Seviyesinde Tespiti İle İlgili Bulgular

##### 4.2.1. Pythium afertile Kanouse ve Humphrey, 1927

Pythium afertile olarak teşhis edilen türde çapı 3-5 mikron olan hifaların genç kültürlerde septasız, yaşlı kültürlerde ise bazen septalı oldukları tespit edilmiştir. İncelenen hifaların renksiz, kıvrımlı ve dallanmalarının düzensiz olduğu dikkati çekmiştir (Resim 27). Pythium afertile türünde sporangia, hifa benzeri bir yapı göstermektedir. Zoosporlar terminalde yer alan, küre-oval şekilli bir vezikülün içinde meydana gelmektedir. Oluşan vezikülün çapı 42.5 mikron olarak ölçülmüştür. Zoosporlar yaklaşık 9 mikron kadardır.

Resim 27. Pythium afertile

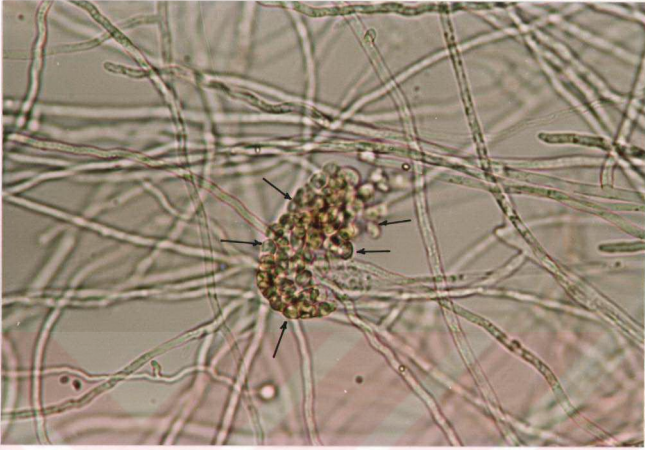
x 200

Sp) Hifa benzeri sporangium

V ) Olgun zoosporları taşıyan vezikül

S ) Vezikül ile sporangiumu ayıran septa

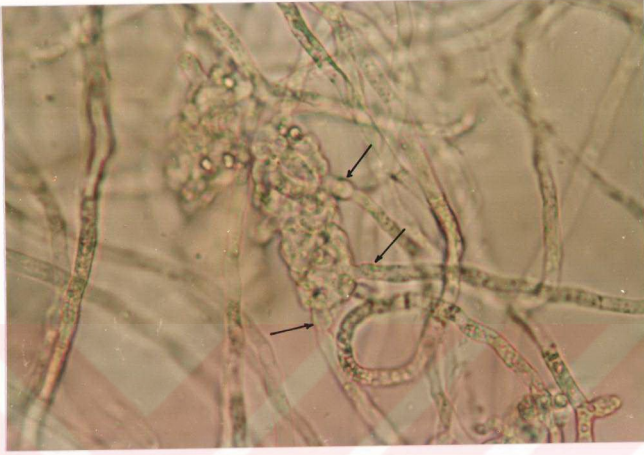
Olgun zoosporların önce içinde buldukları vezikülde hareket etmeye başladıkları, kısa bir süre sonra vezikülün her tarafından hızla suya dağıldıkları saptanmıştır (Resim 28). Reniform şekilli sporların suda çok hızlı hareket edebildikleri ve birkaç dakika içinde hareketsiz kist oluşturdukları görülmüştür. Pythium afertile izolatlarında Antheridium ve Oogonium üretilmemiştir.



Resim 28. Pythium afertile Zoosporangiumdan suya boşalan  
zoosporlar x 200

#### 4.2.2. Pythium elongatum Matthews, 1931

Pythium elongatum olarak teşhis edilen türün hifa özellikleri Pythium genusu özelliklerini taşımaktadır. Çapı ortalama 4 mikron olarak ölçülmüştür. Sporangium gerek terminalde gerekse interkalarda 45 mikron çapında, küresel yada 60 mikron uzunlukta ince uzun şekilde buldukları tespit olunmuştur. Bu türe özgü olarak sporangiumun çimlenme tipleri ürettiği ve seksüel üreme organlarının bulunmadığı dikkati çekmiştir (Resim 25,29).



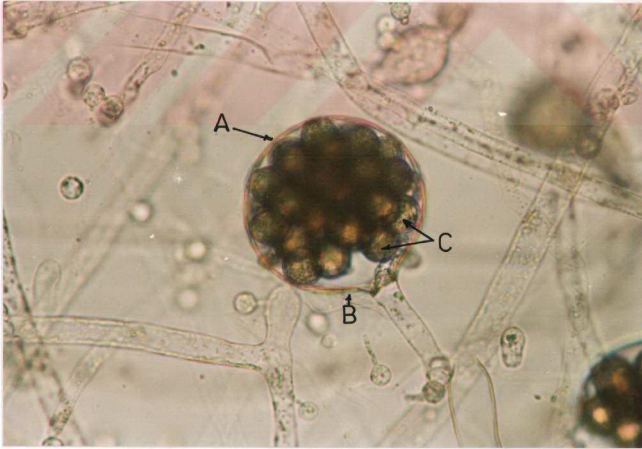
Resim 29. *Pythium elongatum* çimlenme tüpleri üreten sporangium  
(Okla gösterilmiştir) x 400

Tablo 5. Alabalık Yumurta ve Yavru Balık İzolatlarından Tür Seviyesindeki Tespitler

| Pythium Türleri     | Sporangia Şekli                                    | Eşeyli Üreme | Sporangium veya Vezikül çapı (mikron) | Zoozpor çapı (mikron) | Hifa Özelliği   | Sporangial proliferasyon |
|---------------------|--|--------------|---------------------------------------|-----------------------|---|--------------------------|
| <i>P. afertile</i>  | Filamentöz<br>Vejetatif hifadan farklılaşmış tipte | Yok          | 42.5                                  | 9                     | Genç kültürde septasız bazen vakuollü yaşlı kültürde bazen septalı    | Yok                      |
| <i>P. elongatum</i> | Küresel yada ince uzun ve zincir şeklinde değil    | Yok          | 45-60                                 | -                     | Genç kültürde septasız, sık sık vakuollü yaşlı kültürde bazen septalı | Yok                      |

#### 4.2.3. Saprolegnia litoralis Coker, 1923

Bu türde Antheridia'nın, Oogonia'nın hemen hemen bütününi çevrelediği, dolayısıyla Antheridium'un çoğunlukla Androgynous, nadiren de Diclinous orjinli olduğu saptanmıştır. Gökçeli Alabalık İşletmesinden elde olunan bu izolatta, Oogonium'un globose, pyriform, elonge şekillerde, miktarının bol olduğu görülmüştür (Resim 30). Yapılan ölçümlerde Oogonium çapının 60-112 mikron arasında değiştiği ve Oogonium duvarının bariz çukurluk gösterdiği saptanmıştır. Subsentrrik bulunan oosporların çapı 22.5 mikron olarak ölçülmüştür. Ölçümü yapılan oospor sayısının 1-20 arasında değiştiği görülmüştür. Gemmae şeklinin pyriform, elonge ve globose şekilli olduğu, Oogonium'un bazen Gemmae zincirinin arasında yada ucunda yer aldığı dikkati çekmiştir. Genç kültürlerde kolaylıkla bol miktarda görülebilen Antheridia'nın bir süre sonra azaldığı tespit edilmiştir.



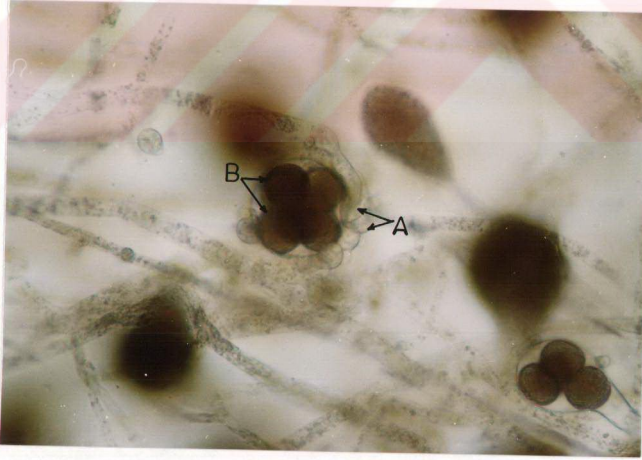
Resim 30. Saprolegnia litoralis

x 200

- A) Küresel (globose) Oogonium
- B) Androgynous Antheridium
- C) Oosporlar

#### 4.2.4. Saprolegnia terrestris Cookson ex Seymour, 1937

Saprolegnia terrestris'te Antheridial branşlar Oogonium'un hemen altından gelmektedirler. Bu izolatta Antheridium'ların S. litoralis gibi çoğunlukla Androgynous tipte olduğu ve Oogonium'un bütününi çevrelediği görülmüştür (Resim 31). Kenevir tohumu kültüründe yoğun büyüyen S. terrestris'te sporangium miktarının çok olduğu, buna bağlı olarak da fazlaca zoospor üretiminin yapıldığı tespit edilmiştir. Sporangium'un hifaya bağlandığı noktada dar, uç kısma doğru daha geniş olduğu görülmüştür. Oogonium'un terminalde yada lateral saplarda bulunduğu seyrek olarak da intercalary görülebildiği saptanmıştır (Resim 32). Çapı ortalama 62.5 - 97.5 mikron olarak ölçülen Oogonium'un, globose ve pyriform şekil gösterdiği (Tablo 7), duvarlarında bariz olmayan az sayıda çukurların bulunduğu görülmüştür. Kültür vasatlarında subsentrik tipte olan Oosporların sayısı 6-8, çapı 26 mikron olarak tespit edilmiştir.



Resim 31. Saprolegnia terrestris

x 200

- A) Oogoniumu bütününiyle çevreleyen Androgynous Antheridium  
 B) Globose Oogonium içinde oluşan Oosferler

Resim 32. *Saprolegnia terrestris*

x 200

Intercalary Oogonium (Okla gösterilmiştir)

*S. terrestris* türünde Gemmae şekli globose yada elongedir. Bu türün en karakteristik özelliği, Antheridium'un Oogonium'un hemen altından gelerek oosporlara ulaşmasıdır (Hypogynous tip) (Resim 23).

#### 4.2.5. *Saprolegnia glomerata* (Tiesenhausen) Lund, 1934

Bu türde Antheridium'un, Oogonium'un etrafını tümüyle çevrelediği ve Antheridium'un çoğu kez Androgynous tipte, nadiren de Diclinous olarak şekillendiği görülmüştür. Bu izolatin en tipik özelliği, gemmadaki dallanmaların çok miktarda görülmesidir (Resim 33). Oogonium çapı 75-100 mikron, Oospor sayısının ise 2-12 arasında değiştiği ve çoğunlukla 2-4 adet olduğu görülmüştür. Oogonium miktarının çok, şeklinin genellikle globose, elonge, seyrek olarak da zincir oluşturduğu tespit edilmiştir. Çoğunlukla

lateral saplarda yerleşen Oogonium'un bazende intercalary olduğu görülmüştür. Oosporların çapı 22.5-25 mikron ve oospor tipinin subsentrik olduğu, bu izolatta Antheridium'ların kültürde sürekli aynı miktarda görüldüğü ancak, oosporların zamana bağlı olarak dejenere oldukları tespit edilmiştir.



Resim 33. Saprolegnia glomerata

x 40

dallanmalar yapan Gemmae (Okla gösterilmiştir)

#### 4.2.6. Saprolegnia ferax (Gruithuisen) Thuret, 1850

S. ferax türünde Antheridium'un, Oogonium'un etrafını % 15-20 gibi az bir oranda çevrelediği ve Androgynous tipte olduğu görülmüştür. Duvarlarında belirgin çukur bulunan ve sayıca çok olan Oogonium'ların çapı çoğunlukla 75 mikron olarak ölçülmüştür (Resim 34). Oosporlar subsentriktir. 25 mikron çapında ölçülmüştür. Sayıları 5-14 arasında değişmektedir. Oogonium'lar hifaların terminallerinde bulunmaktadır. Gemmae şekli elonge bazende boğumlu olarak görülmüştür.

Resim 34. Saprolegnia ferax

x 200

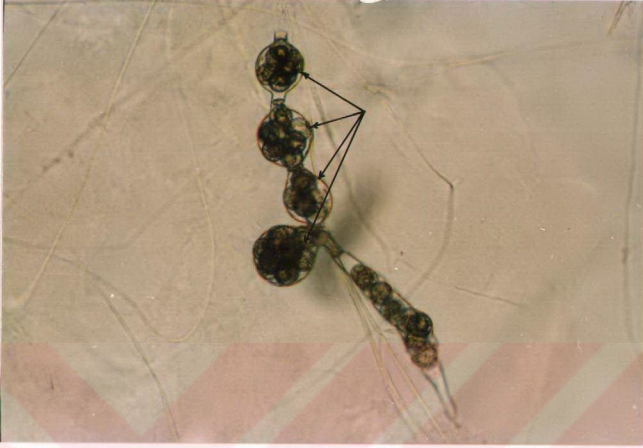
A) Globose Oogonium

B) Subsentrık Oosporlar

C) Oogonium etrafında az miktarda görülen Antheridiumlar

4.2.7. Saprolegnia diclina Humphrey, 1893

Bu türde Antheridium'lar Diclinous tiptedirler. Antheridium'lar Oogoniumu tamamen çevrelemektedir. Bu izolatta Oogonium miktarının bol, globose pyriform, elonge şekillerde olabildiği dikkati çekmiştir. Bu izolatın en tipik özelliği olarak da gerek CMA ve gerekse distile su içindeki kenevir tohumu kültüründe Oogonium'ların birbirine bağlanarak sayıları 2-3-7 olan zincirler yaptıkları görülmüştür (Resim 35). Oogoniumların kısa boyun oluşturduğu, terminal, lateral yada intercalary olarak yerleştikleri saptanmıştır. Ölçümü yapılan Oogonium'ların çapı 50-70 mikron arasında değişmekle birlikte genellikle 62 mikron olduğu görülmüştür. Oospor sayısı 7-20, çapı 25 mikron ve sentrik tipte olduğu saptanmıştır. Gemmae globose, elonge ve zincirler halindedir (Resim 36).



Resim 35. Saprolegnia diclina  
Oogonia zinciri (Okarla gösterilmiştir)

x 100



Resim 36. Saprolegnia diclina  
Gemma zinciri

x 100

Tablo 6. Alabalık Yumurta ve Yavrü Balık İzolatlarından Tür Seviyesindeki Tespitler

| Saprolegnia Türleri  | Antheridia Tipi   | Antheridium'un Oogonium Etrafında Toplanma Miktarı | Oogonia Şekli                 | Oogonia çapı (mikron) | Oospor Tipi | Oospor çapı (mikron) | Oospor Sayısı | Gemme Şekli                |
|----------------------|---|--|-------------------------------|-----------------------|-------------|----------------------|---------------|----------------------------|
| <u>S. litoralis</u>  | Androgynous   | Antheridium Oogonium'un bitkininde                 | Globose Pyriform Elonge       | 60-112                | Subsentrak  | 22.5                 | 1-20          | Elonge Pyriform Kiremsi    |
| <u>S. terrestris</u> | Androgynous (Antheridial dallar Oogoniumuna hemen ardından ulaşır) (Hypogynous) | Antheridium Oogonium'un bitkininde                 | Globose Pyriform              | 62.5-97.5             | Subsentrak  | 26                   | 6-8           | Elonge Globose             |
| <u>S. glomerata</u>  | Androgynous   | Antheridium Oogonium'un bitkininde                 | Globose Elonge Nadiren zürcür | 75-100                | Subsentrak  | 22.5-25              | 2-12          | Gemma dallar malar yapıyor |
| <u>S. ferax</u>      | Androgynous   | Antheridium Oogoniumun % 15-20 sunde               |                               | 75                    | Subsentrak  | 25                   | 5-14          | Elonge Boğumlu             |
| <u>S. diclina</u>    | Diclinous   | Antheridium Oogoniumun bitkininde                  | Çoğunlukla zürcürlerde        | 62                    | Sentrak     | 25                   | 7-20          | Globose Elonge Zürcür      |

#### 4.3. Isparta Bölgesi Balık İşletmelerinden Elde Olunan İzolatlarla İlgili Bulgular

##### 4.3.1. Gökçeli Alabalık İşletmesine Ait İzolatlarla İlgili Bulgular

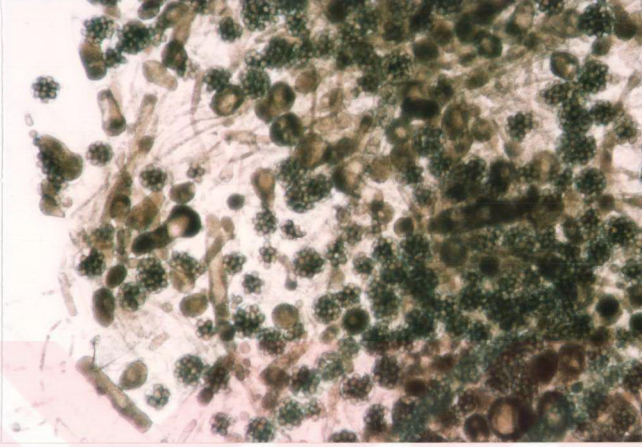
Bu işletmedeki gökkuşağı alabalığı enfekte yumurtalarından 17 izolat elde edilmiştir. İzolasyonlar için 7 farklı izolasyon ortamı kullanılmıştır. Elde edilen izolatlardan 12'sinin Saprolegnia sp., 5'inin Achlya sp. benzeri spor çıkış şekli gösterdikleri saptanmıştır. Elde edilen bütün izolatların 20 °C'de Oogonium ürettikleri görülmüştür. Yalnızca CMDP I besiyerinden elde edilen izolatta 20 °C'de ve daha düşük sıcaklık derecelerinde (7 °C, 14 °C) Oogonium üretilmemiştir.

Elde edilen diğer izolatların hepsinde çok bol miktarlarda Oogonium üretimi görülmüştür (Resim 37). DY 3 ortamından elde edilen izolatta bazen zoosporların sporangiumdan çıkamadığı ve sporangium içinde çimlendiği dikkati çekmiştir (Resim 38).

İşletmede yumurtalardan elde olunan Saprolegnia izolatlarından Oogonium üretenlerin teşhisleri yapılarak Saprolegnia litoralis, Saprolegnia terrestris, Saprolegnia diclina türleri izole edilmiştir. Oogonium üretmeyen izolat ise Saprolegnia sp. olarak belirlenmiştir.

Enfekte Gökkuşağı alabalığı yavru balıkları için CMA besiyerini kullanarak 4 izolat tespit edilmiştir. Bunlardan 3 adeti Pythium sp. diğeri ise Saprolegnia sp. olarak isimlendirilmiştir. Pythium izolatlarının özellikleri incelenerek Pythium elongatum, Saprolegnia izolatının ise S. diclina türü olduğu saptanmıştır.

Gökçeli alabalık işletmesinden elde edilen Saprolegnia izolatlarından biri hariç diğer hepsinin ortak özelliği, özel sıcaklık tercihleri olmaksızın kolayca ve bol miktarda Oogonium üretmeleridir.



Resim 37. Saprolegnia sp. distile su içinde kenevir tohumunda  
bol Oogonium üretimi x 40



Resim 38. Saprolegnia sp. Zoosporangium içinde çimlenen  
zoosporlar (Ok ile gösterilmiştir) x 100

#### 4.3.2 Çukurköy Alabalık İşletmesine Ait İzolatlarla İlgili Bulgular

İşletmedeki Gökkuşuğu alabalığı enfekte yumurtalarından 19 izolat elde edilmiştir. İzolasyonlar sırasında 7 farklı besiyeri kullanılmıştır. Bu izolatlardan Achlya sp. benzeri spor çıkışı gösteren 2 izolatla birlikte toplam 16 izolatın Saprolegnia sp. olduğu geriye kalan 3 izolatla ise spor üretiminin çok zayıf olması nedeniyle teşhisleri mümkün olmamıştır.

Çukurköy alabalık işletmesindeki yumurtalardan DY 3 besiyerine yapılan ekimden elde edilen izolat yalnızca 14 °C'de Oogonium üretmiştir. YSA 1, YSA 2, YSA 4, DP 4, PDA 2 besiyerlerinden elde edilen izolatların düşük (7 °C ve 14 °C) ve yüksek (20 °C) her iki sıcaklık derecelerinde Oogonium üretebildikleri görülmüştür. Diğer ortamlardan elde edilen izolatların ise, Oogonium üretmedikleri tespit edilmiştir. Oogonium üreten izolatlar Saprolegnia glomerata, Saprolegnia litoralis olarak teşhis edilmiştir. Oogonium üretmeyen izolatlar ise Saprolegnia sp. olarak belirlenmişlerdir.

Çukurköy Alabalık İşletmesinden elde edilen Saprolegnia izolatlarının sporangiumlarının ucunda veya yanlarında dallanmalar şeklinde tüp benzeri uzantılar görülmüştür. Olgun sporangiumda zoosporların boşalmasına imkan veren açılmanın bu dallardan sadece birinde veya hepsinde aynı anda olabildiği tespit edilmiştir (Resim 39, 40).

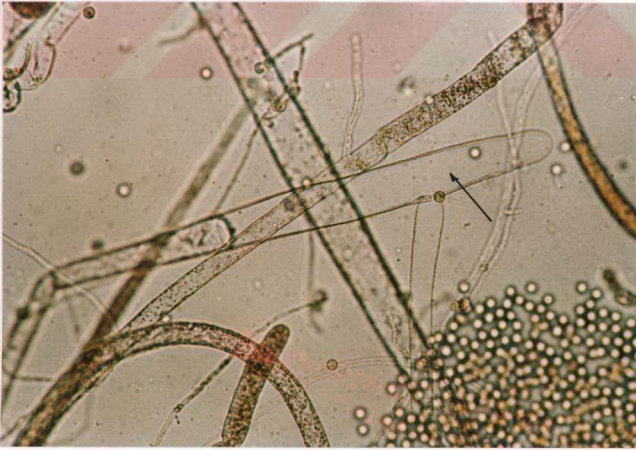
Bu işletmeden elde ettiğimiz izolatlarla ait kültürlerde Oogonium içinde görülen oosporların bir kısmında, birkaç hafta içinde belirgin şekillerinin kaybolduğu ve dejenerasyonlar meydana geldiği görülmüştür (Resim 41).



Resim 39. *Saprolegnia* sp. olgun sporangiumdan zoosporların boğalması x 100

A) Bazal septum

B) Sporangiuma ait yan dal



Resim 40. Zoosporlarını boğaltmış sporangium

x 100



Resim 41. Saprolegnia sp. dejenere olmuş Oosporlar

x 200

Çukurköy Alabalık İşletmesine ait enfekte yavru balıklardan CMA kullanılarak 3 izolat elde edilmiştir. Bu izolatların spor çıkışları incelenerek Saprolegnia genusu, Oogonium özellikleri incelenerek Saprolegnia glomerata türü olduklarına karar verilmiştir.

#### 4.3.3. Milas Alabalık İşletmesine Ait İzolatlarla İlgili Bulgular

İşletmedeki Gökkuşağı alabalığı enfekte yumurtalarından toplam 14 izolat elde edilmiştir. İzolasyonlar için 7 farklı besiyeri kullanılmıştır. Elde edilen izolatlardan 6'sı Saprolegnia sp. geri kalan 8 adeti Pythium genusuna ait Pythium afertile türü olduğu tespit edilmiştir.

Saprolegnia izolatları için 7,14 ve 20 °C'lik farklı sıcaklık değerleri kullanılmıştır. Fakat, Oogonium üretmedikleri görülmüştür. RM 1, YSA 1, YSA 2, YSA 3, YSA 4, CMDP 1, CMDP 3, CMDP 4 ortamlarından elde edilen izolatların spor çıkışları incelenerek Pythium afertile türü oldukları belirlenmiştir.

Milas Alabalık İşletmesi enfekte yavru balıklarından CMA kullanılarak 9 izolat elde edilmiştir. Bunların hepsinin Saprolegnia genusuna ait S. diclina türü olduğu tespit edilmiştir.

#### 4.3.4. Eğirdir-Fidanlık Sazan İşletmesine Ait İzolatlarla İlgili Bulgular

Bu işletmeden elde edilen enfekte sazan yumurtalarından YSA besiyeri kullanılarak 16 izolat elde edilmiştir. Bu izolatlardan 13'ünün Saprolegnia genusuna ait olduğu belirlenmiştir. YSA 1, YSA 6, YSA 7, YSA 10, YSA 15 ortamlarından elde ettiğimiz Saprolegnia izolatları düşük ve yüksek sıcaklık derecelerinde Oogonium üretmişler ve S. ferax türü olarak teşhis edilmişlerdir. YSA 4, YSA 9, YSA 11, YSA 13, YSA 16 ortamlarından elde edilen Saprolegnia izolatları sadece 7 °C'de Oogonium üretmişlerdir. Bu izolatların da S. ferax türü olduğu görülmüştür. YSA 2, YSA 3, YSA 14 ortamlarından elde edilenlerin ise Oogonium üretmedikleri görülmüştür. YSA 5, YSA 8, YSA 12 ortamından elde edilen izolatların zayıf spor üretimi nedeni ile teşhisleri mümkün olmamıştır.

Elde edilen Saprolegnia izolatlarının sporangiumlarında dallanmalar gözlenmiştir.

#### 4.4. Yumurta ve Larvalarda Enfeksiyon Çalışmalarına Ait Bulgular

##### 4.4.1. Yumurtalarda Enfeksiyon Çalışmalarına Ait Bulgular

##### 4.4.1.1. Milas Alabalık Üretim İstasyonu ile İlgili Bulgular

Isparta Milas Alabalık Üretim İstasyonundan temin edilen 970 adet döllenenmiş alabalık yumurtasının inkübasyon kasetlerine yerleştirilmesinden sonra 30 gün içerisinde mantar enfeksiyonu sonucu ölen yumurtaların sayısı Tablo 7'de verilmiştir.

Tablo 7. Enfeksiyon Denemesi Sonucu Tespit Olunan Enfekte Ölü Yumurta Sayıları

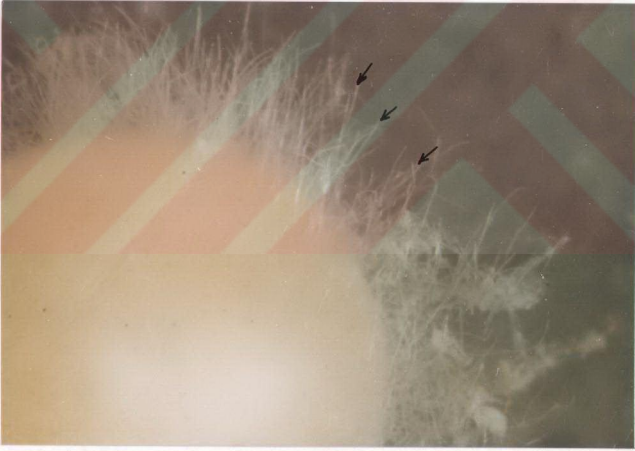
| Tarihler            | Enfekte Ölü Yumurta Sayıları | Enfekte Ölü Yumurta Sayılarının En Fazla Olduğu Günler | Enfekte Ölü Yumurta Sayılarının En Fazla Görüldüğü Günlere Ait Yumurta Sayısı |
|---------------------|------------------------------|--|---|
| 28.12.1989-6.1.1990 | 46                           | 10   | 13  |
| 07.1.1990-16.1.1990 | 230                          | 12   | 52  |
| 17.1.1990-26.1.1990 | 90                           | 27   | 25  |

Tablo 7'nin incelenmesinden de anlaşılacağı gibi en fazla ölüm olayı yumurtaların en hassas olduğu günlere rastlayan 11-20. günlerde görülmüştür.

İnkübasyon sırasında canlılığını kaybeden enfekte yumurtaların önce beyaz bir renk aldıkları ve kısa sürede yumurta üzerinde gelişen Saprolegnia hifalarının bitişikteki canlı ve ölü yumurtalara doğru yayıldıkları dikkati çekmiştir.

Enfekte yumurtaların stereo mikroskop ile incelenmesinde Saprolegnia hifalarının yumurta**yı** bütünüyle kapladığı görülmüştür (Resim 42).

Yapılan bu 30 günlük çalışmada tespit olunan enfekte ölü yumurta sayısı 366'dır. Enfekte ölü yumurtaların canlı yumurtalara oranı ise % 37.73 olarak hesaplanmıştır.



Resim 42. Saprolegnia sp. enfekte bir alabalık yumurtası yüzeyinde gelişen hifalar

#### 4.4.1.2. Gökçeli Alabalık İşletmesi İle İlgili Bulgular

Çalışmamızda Gökçeli Alabalık İşletmesinden temin edilen 264 adet döllenen yumurtanın inkübasyon kasetlerine yerleştirilmesinden sonra 35 gün içinde enfeksiyon sonucu ölen yumurtaların sayısı Tablo 8'de verilmiştir.

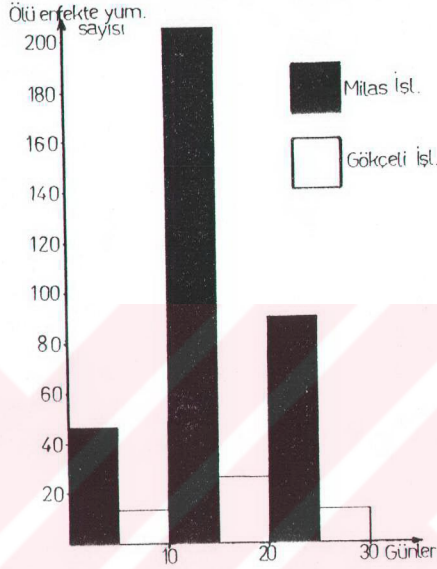
Tablo 8. Enfeksiyon Denemesi Sonucu Tespit Olunan Enfekte Ölü Yumurta Sayıları

| Tarihler            | Enfekte Ölü Yumurta Sayıları | Enfekte Ölü Yumurta Sayılarının En Fazla Olduğu Günler | Enfekte Ölü Yumurta Sayılarının En Fazla Görüldüğü Günlere Ait Yumurta Sayısı |
|---------------------|------------------------------|--|---|
| 8.2.1990-17.2.1990  | 13                           | 9  | 9   |
| 18.2.1990-27.2.1990 | 27                           | 12   | 15  |
| 28.2.1990-9.3.1990  | 13                           | 23   | 5   |
| 10.3.1990-14.3.1990 | 1                            | 32   | 1   |

Tablo 8'e göre en fazla ölüm olayı 11-20. günlerde görülmüştür. Bu dönem yumurtaların hassas olduğu günleri kapsamaktadır.

Bu çalışmada 264 yumurtadan 54'ünün enfeksiyon sonucu öldüğü saptanarak enfeksiyon oranının % 20.45 olduğu tespit edilmiştir.

Gökçeli Alabalık İşletmesinden getirilen yumurtalar ile Milas Alabalık Üretim İstasyonundan alınan yumurtalarda meydana gelen enfeksiyon oranları incelendiğinde aynı izolatin Milas Alabalık Üretim İstasyonu yumurtalarında daha etkili olduğu görülmüştür. Her iki işletmeden getirdiğimiz yumurtaların inkübasyonu sırasında enfekte yumurta sayılarının en fazla olduğu günlerin benzerliği dikkati çekmiştir (Şekil 4).

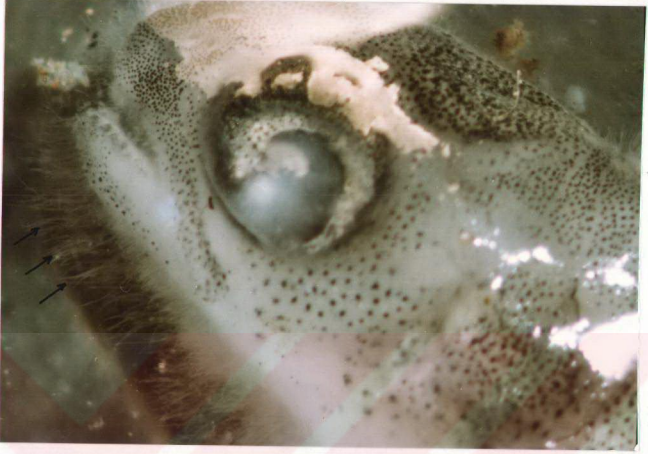


Şekil 4 Milas ve Gökçeti Alabalık İşletmelerinde İştünlere göre değişen ölü enfekte yumurta sayıları.

#### 4.4.2. Larvalarda Enfeksiyon Çalışmalarına Ait Bulgular

Milas kökenli yumurtalardan elde edilen larvalarda enfeksiyonun seyri incelendiğinde 27.01.1990 - 25.02.1990 tarihleri arasında 252 larvanın enfeksiyondan etkilenerek öldüğü saptanmıştır. Yapılan enfeksiyon oranı hesaplamasında % 41.72 ölüm oranı tespit edilmiştir.

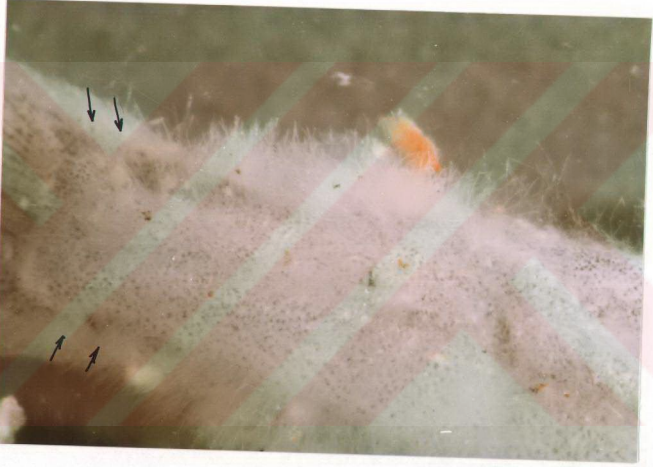
Enfekte larvaların stereo mikroskop altında incelenmesinde enfeksiyonun öncelikle ağız bölgesinde alt çenede başlayarak zamanla vücudun diğer bölümlerine yayıldığı dikkati çekmiştir (Resim 43,44,45). Enfekte larvaların histopatolojisi ile ilgili bulgular 4.7'de verilmiştir.



Resim 43. *Saprolegnia* sp. enfekte alabalık larvasında ağız bölgesinde başlayan enfeksiyon



Resim 44. *Saprolegnia* sp. enfekte alabalık larvasının dorsalinde yeralan enfeksiyon

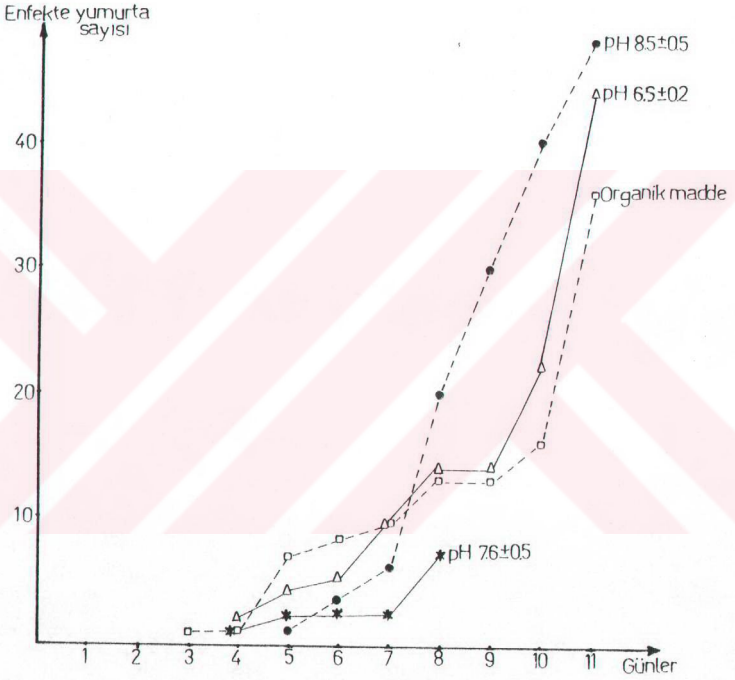


Resim 45. *Saprolegnia* sp. enfekte alabalık larvasında kuyruk bölgesindeki enfeksiyon

#### 4.5. Farklı pH Değerleri ve Organik Maddenin Yumurtalarda Enfeksiyon Oluşumu Üzerindeki Etkileri

##### 4.5.1. Su Sıcaklığı 9.5±1 °C Olan Ortamlarda Enfeksiyonun İzlenmesi

Farklı su sıcaklıkları, pH ve organik maddenin yumurtalarda mantar enfeksiyonu oluşturması üzerindeki etkileri tespit etmek amacıyla hazırlanan deneme çalışmamızda en çok ölü yumurta sayısı çalışmanın ilk 5. günü içerisinde organik madde bulunan akvaryumda görülmüştür. Yapılan incelemede ölü yumurtaların tamamının enfeksiyon sonucu öldükleri tespit edilmiştir. Daha sonraki 8. günde ölü enfekte yumurta sayısı hesaplandığında pH 8.5 ± 0.5'de % 20, pH 6.5 ± 0.2'de % 14, pH 7.6 ± 0.5'de % 7 olarak hesaplanmıştır. Organik maddece zengin olan akvaryumlarda ölü enfekte yumurta oranı % 13 olarak hesaplanmıştır. Çalışmanın son 11. gününde % 48 ile en yüksek enfekte ölü yumurta oranı, pH 8.5 ± 0.5 olan akvaryumda görülmüştür. Diğer akvaryumlardan pH 6.5 ± 0.2 olanında bu oran % 44 iken, içerisinde organik madde bulunan akvaryumda % 36'lık bir enfeksiyon oranı saptanmıştır. Çalışmamızın 2. haftasında durgun su sisteminin de etkisiyle yumurtalarda enfeksiyon oranının yükseldiği görülmüştür. Bununla ilgili sonuçlar Şekil 5'te verilmiştir.



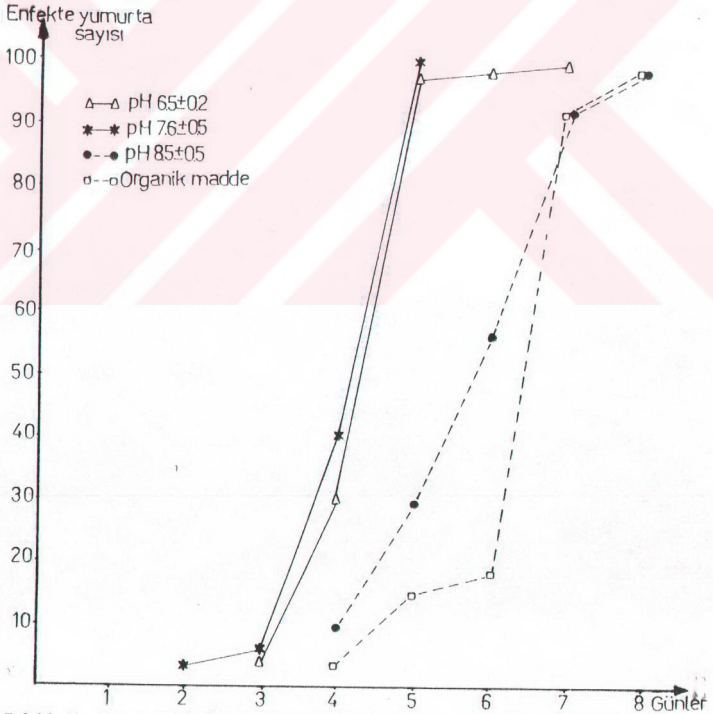
Şekil 5.  $9.5 \pm 1$  °C Su sıcaklığında çeşitli faktörlerin oluşturduğu enfekte yumurta sayısı

#### 4.5.2. Su Sıcaklığı $15 \pm 1$ °C Olan Ortamlarda Enfeksiyonun İzlenmesi

Su sıcaklığı  $5.5 \pm 1$  °C artırılırken pH değerleri ve organik madde miktarı sabit tutulan çalışmamızın 7. gününde pH  $6.6 \pm 0.2$  olan akvaryumda ölü enfekte yumurta oranı % 98, organik maddece zengin akvaryumda % 97, pH  $8.5 \pm 0.5$  olan akvaryumda % 97 ve pH  $7.6 \pm 0.5$  olan akvaryumda ise ölü enfekte yumurta oranı % 100 olarak hesaplanmıştır.

Çalışmamızda tespit olunan bu bulgulara göre su sıcaklığının yumurtalarda ölüm oranını artırdığı, buna bağlı olarak da enfeksiyon oranının yükseldiği görülmüştür. Bununla ilgili sonuçlar

Şekil 6'da verilmiştir.

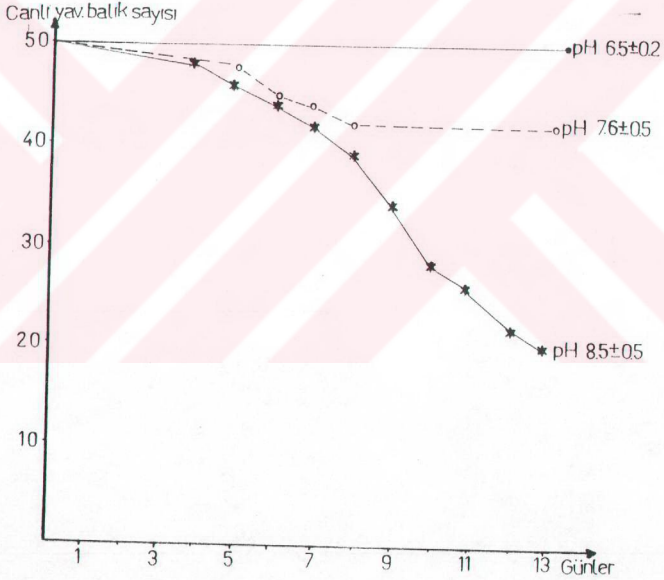


Şekil 6. Su sıcaklığı  $15 \pm 1$  °C olan akvaryumlarda çeşitli faktörlerin oluşturduğu enfekte yumurta sayısı

#### 4.6. Farklı pH Ortamlarındaki Yavru Balıklarda Enfeksiyonun İzlenmesi

##### 4.6.1. Su Sıcaklığı 11-12 °C Olan Ortamlarda Enfeksiyonun İzlenmesi

Bu çalışmada en fazla enfekte yavru balığa pH  $8.5 \pm 0.5$  olan akvaryumda rastlanarak, enfeksiyon oranı % 30 olarak tespit edilmiştir (Şekil 7). Bu oran pH  $7.6 \pm 0.5$  olan akvaryumda % 8 iken, pH  $6.5 \pm 0.2$  olan akvaryumdaki balıklarda ise hiç ölüm görülmemiştir

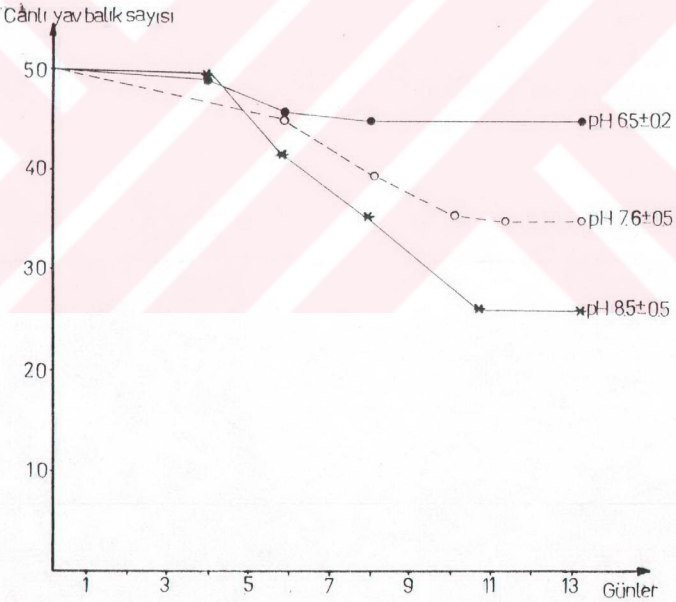


Şekil 7. Su sıcaklığı 11-12 °C olan akvaryumlarda enfeksiyonun izlenmesi

#### 4.6.2. Su Sıcaklığı $15 \pm 1$ °C Olan Ortamlarda Enfeksiyonun İzlenmesi

pH değerleri değiştirilmeden sadece su sıcaklığı  $15 \pm 1$  °C'ye ayarlanan akvaryumlarda uygulanan enfeksiyon çalışmasında en fazla ölüm oranı % 23 ile pH  $8.5 \pm 0.5$  olan akvaryumda görülürken, pH  $7.6 \pm 0.5$  olan akvaryumda ölüm oranı % 15 ve pH  $6.6 \pm 0.2$  olan akvaryumda ise % 5 olarak tespit edilmiştir.

Bu çalışmalarda yavru balıkların iki farklı sıcaklık değerlerinde yumurtalar kadar etkilenmedikleri, pH  $8.5 \pm 0.5$  olan ortamda *Saprolegnia*'ya bağlı olarak ölüm oranının arttığı görülmüştür (Şekil 8).

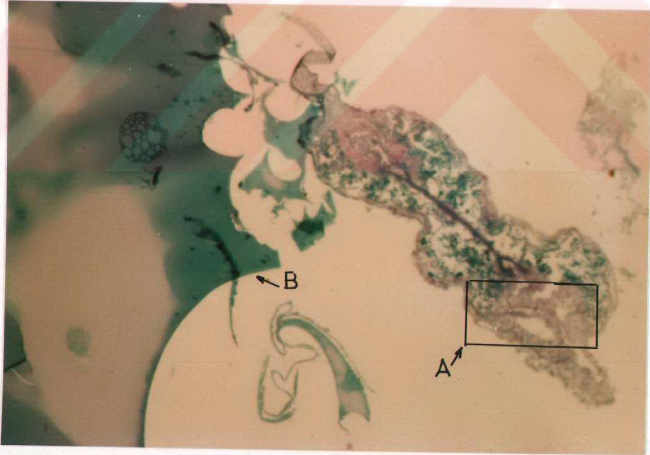


Şekil 8. Su sıcaklığı  $15 \pm 1$  °C olan akvaryumlarda enfeksiyonun izlenmesi

#### 4.7. Histopatolojik Bulgular

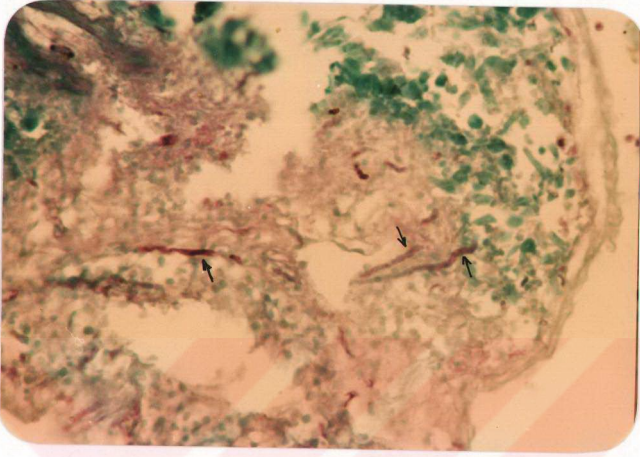
Besin kesesi çekilmiş larva ve yavru enfekte balıklarda uygulanan H+E ve PAS-Light Green boyama teknikleri ile dokular mikroskop altında incelendiğinde; larvaların kalan besin kesesinde (Resim 46,47), yavru balıkların ise göz ve kas dokusu içerisinde PAS pozitif ve H+E boyamada ise mor renkli hifalar görülmüştür (Resim 48,49). Besin kesesinde yeralan hifaların çapı 3-4 mikron kadar iken, göz ve kas dokusu içerisindeki hifalar 5 mikron ölçülmüştür.

Yavru balıklardan alınan doku kesitlerinde epidermis ve dermisin tamamen nekroze olduğu, bu nekrotik alanda çok sayıda hifanın hücresel debris'i ağ gibi sardığı görülmüştür (Resim 50). Derinin dermis tabakasından geriye yalnızca pigment hücrelerinin kaldığı dikkati çekmiştir (Resim 51).

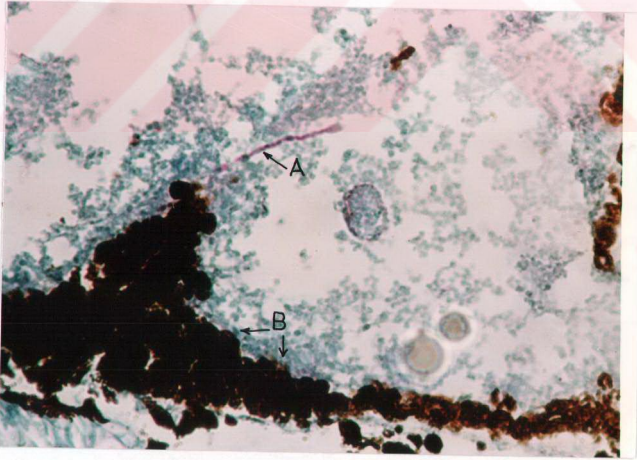


Resim 46. *Saprolegnia* sp. enfekte larvalardaki hifalar  
PAS-Light Green x 40

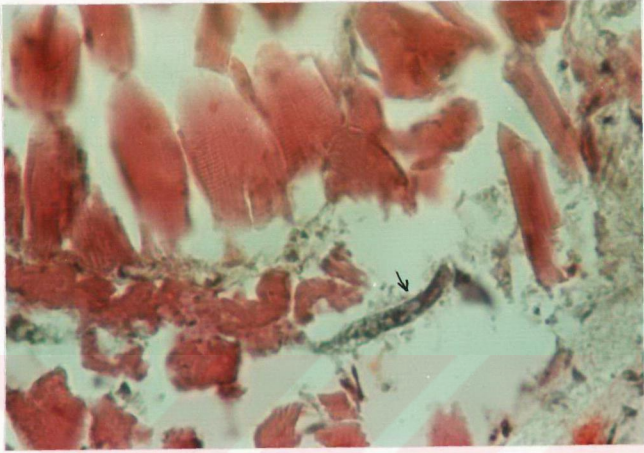
- A) Hifaların bulunduğu bölge  
B) Yumurta kesesi



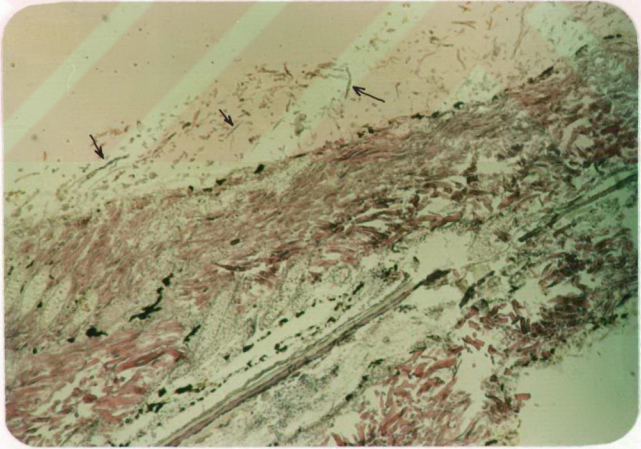
Resim 47. Saprolegnia sp. enfekte larvadaki büyütülmüş bölgedeki hifalar  
(Okla gösterilmiştir) PAS- Light Green x 200



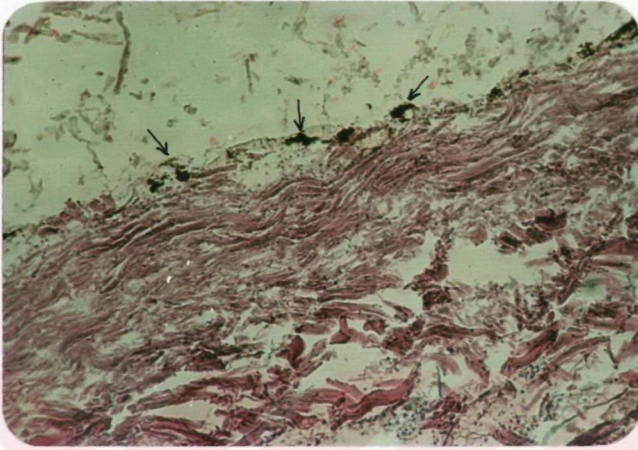
Resim 48. Saprolegnia sp. enfekte bir yavru alabalık gözünde mantar hifası  
A) Mantar hifası PAS- Light Green x 100  
B) Pigment hücreleri



Resim 49. Saprolegnia sp. enfekte bir yavru alabalık kas dokusunda mantar hifası  
H+E x 400



Resim 50. Saprolegnia sp. enfekte bir yavru alabalıkta hifalarla birlikte görülen debrıs (Okla gösterilmiştir)  
H+E x 40

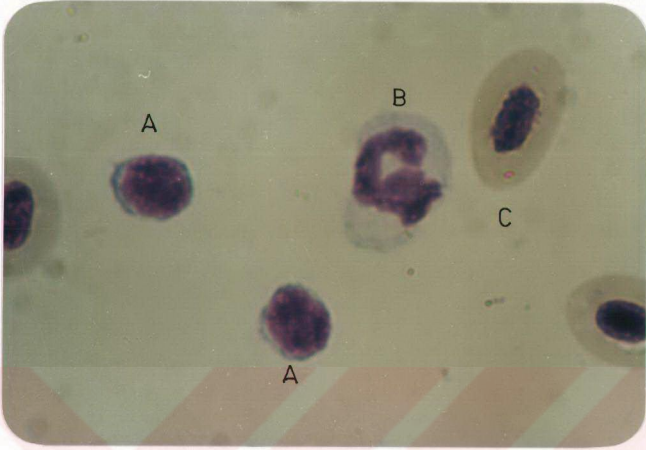


Resim 51. *Saprolegnia* sp. enfekte bir yavru alabalıkta görülen pigment hücreleri

H+E x 100

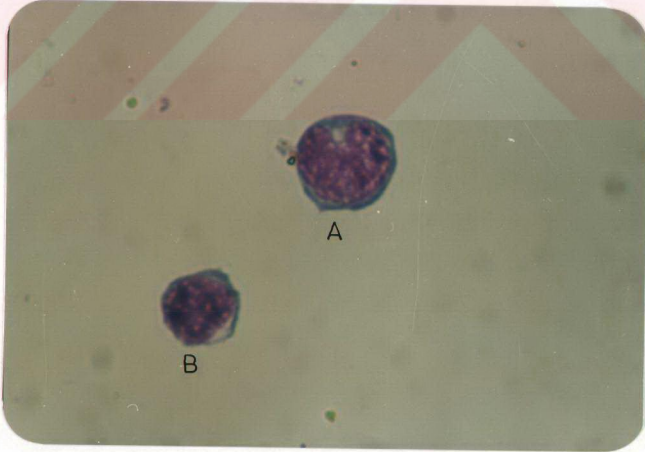
#### 4.8. Hematolojik Çalışmalar

Enfekte anaç alabalıklardan alınan kan örneklerinden Buffy-öat tekniği ile hazırlanan sürtme frotiler Giemsa metodu ile boyandıktan sonra, lam üzerinde lenfosit, monosit ve neutrofilin oluşmuş bir tablo görülmüştür (Resim 52,53).



Resim 52. Saprolegnia sp. enfekte edilmiş alabalık kan  
örneğine ait Giemsa x 1000

- A) Lenfosit
- B) Nötrofil
- C) Eritrosit

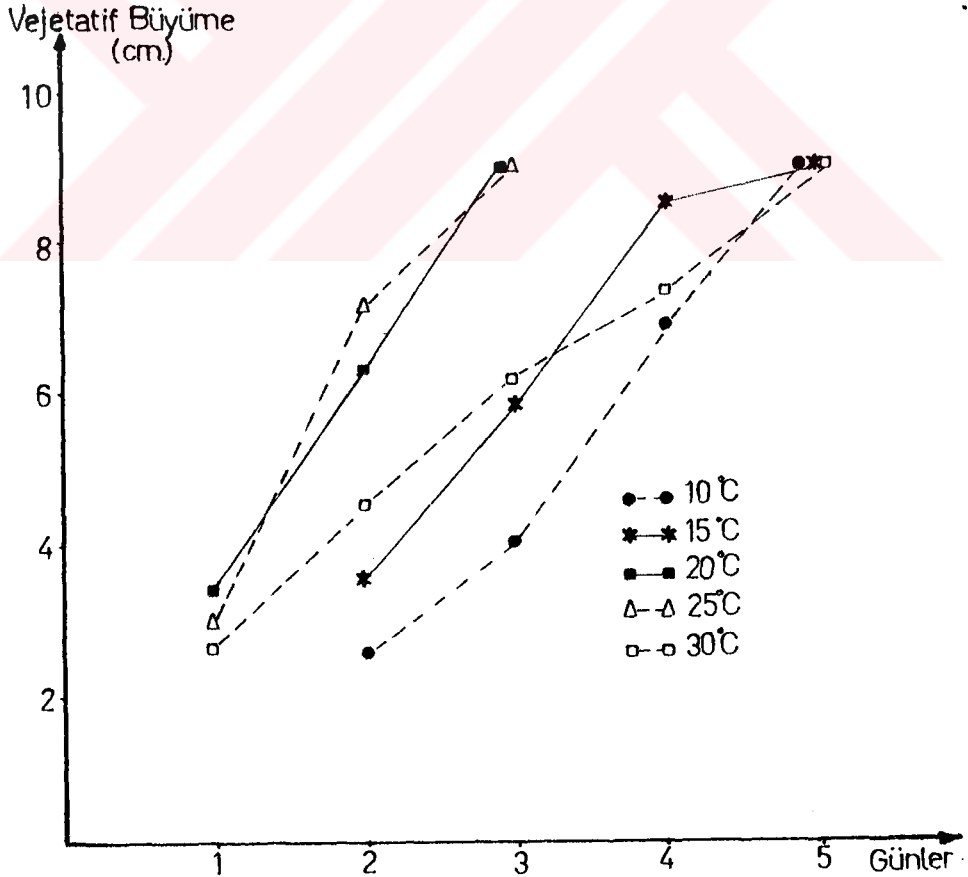


Resim 53. Saprolegnia sp. enfekte edilmiş alabalık kan  
örneğine ait Giemsa x 1000

- A) Monosit
- B) Lenfosit

#### 4.9. Farklı Sıcaklık Değerlerinin Saprolegnia sp'nin Büyümesi Üzerindeki Etkisi

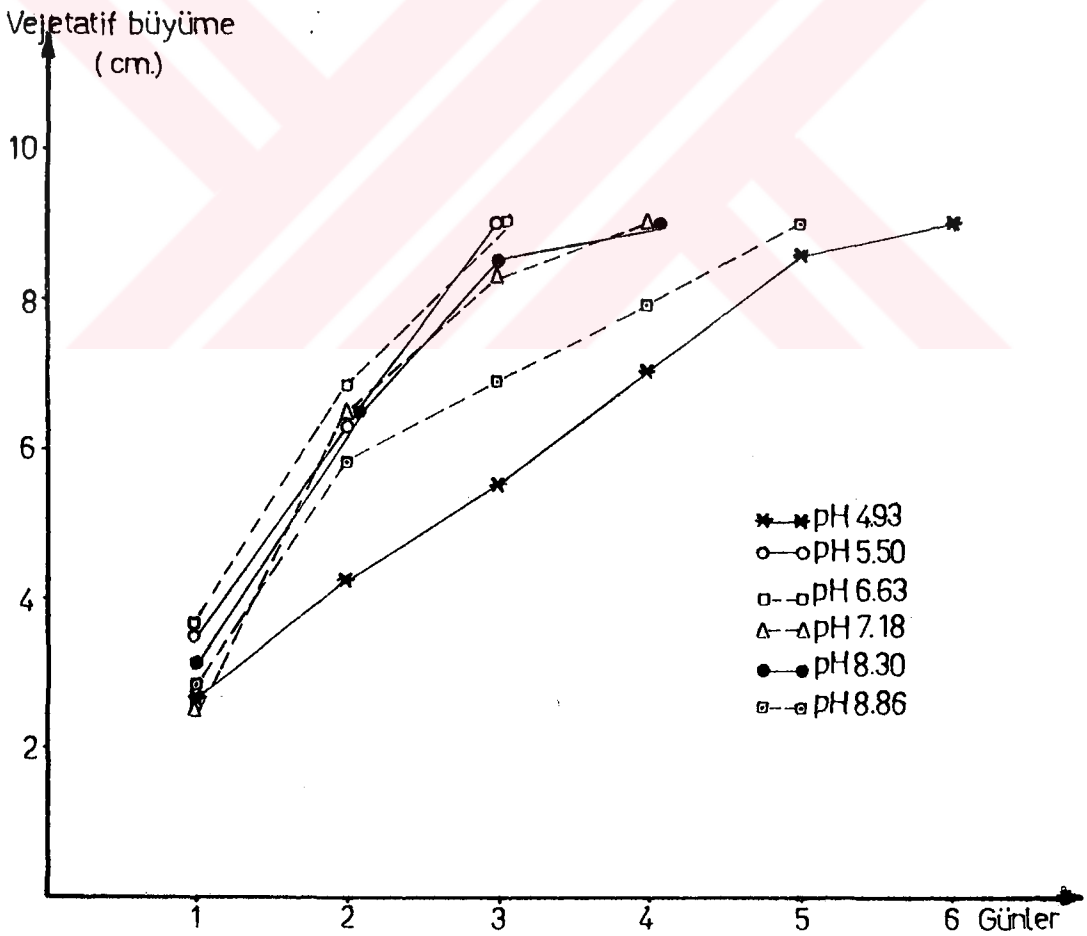
Çalışmada Milas Alabalık Üretim İstasyonuna ait enfekte alabalık yumurtalarından izole ettiğimiz ve Oogonia üretimi olmaması nedeniyle Saprolegnia sp. olarak identifiye edilen izolat, CMA besiyerinde 10 °C, 15 °C, 20 °C, 25 °C ve 30 °C'lik farklı sıcaklık değerlerinde inkübe edilmiştir. Çalışmada 10 °C ve 15 °C sıcaklıklarda ilk 24 saatte üremenin olmadığı görülmüştür. 20 °C ve 25 °C'lik sıcaklıklarda büyümenin hızlı olduğu ve 3 gün içerisinde tamamlandığı tespit edilmiştir (Şekil 9). 30 °C'de ise büyümenin 10 °C ve 15 °C'ye göre daha hızlı ancak 20 °C ve 25 °C'lere göre daha yavaş olduğu belirlenmiştir.



Şekil 9. Farklı sıcaklık değerlerinin günlere göre Saprolegnia sp'nin büyümesi üzerine etkisi

#### 4.10. Farklı pH Değerlerinin Saprolegnia sp'nin Büyümesi Üzerine Etkisi

Bu çalışmada da 4.9. da kullanılan Saprolegnia izolatı CMA besiyerinin 6 farklı pH değerinde (4.93, 5.50, 6.63, 7.18, 8.30, 8.86) hazırlanması ile 25 °C'lik etüv sıcaklığında inkübe edilmiştir. Saprolegnia sp'nin pH 5.50 ve 6.63 de diğer pH değerlerine göre daha hızlı ve kısa süre içinde büyüdüğü tespit edilmiştir (Şekil 10). pH 7.18'deki büyümenin ise pH 8.86 ve 8.30'a göre daha iyi olduğu görülmüştür. En yavaş büyüme pH 4.93 de belirlenmiştir.



Şekil 10. Farklı pH değerlerinin günlere göre Saprolegnia sp'nin büyümesi üzerine etkisi

#### 4.11. Su Analizlerine Ait Bulgular

##### 4.11.1. Mikrobiyolojik Analiz

Milas, Çukurköy, Gökçeli Fidanlık İşletmeleri ve Kampüste yer alan tesisten alınan su örneklerindeki mantarlar genus seviyesinde incelenerek sonuçları Tablo 9.'da gösterilmiştir.

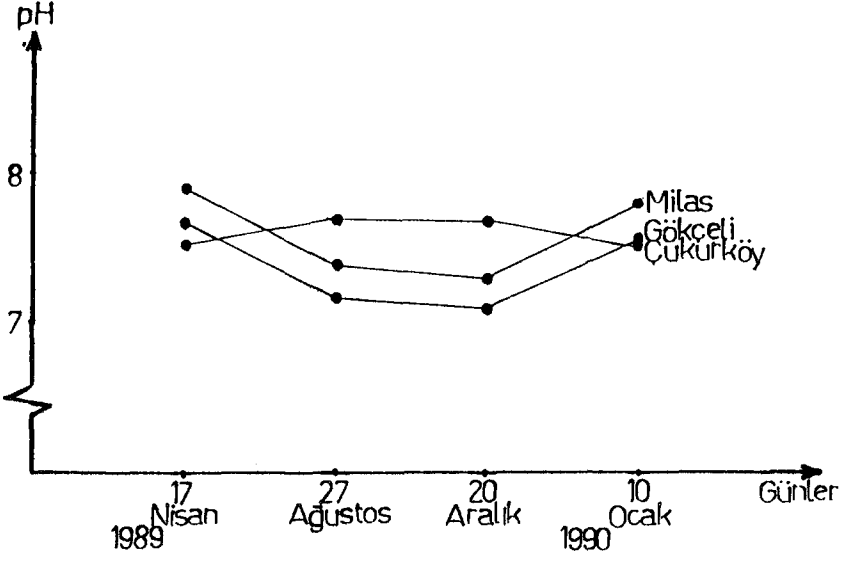
Tablo 9. İşletmelere ait suların mikrobiyolojik yolla incelenmesinden elde edilen bulgular

| İşletmeler | Suda Üreme | Teşhis      |
|------------|------------|-------------|
| Milas      | +          | Saprolegnia |
| Çukurköy   | +          | Pythium     |
| Gökçeli    | +          | Saprolegnia |
| Fidanlık   | +          | Saprolegnia |
| Kampüs     | +          | Saprolegnia |

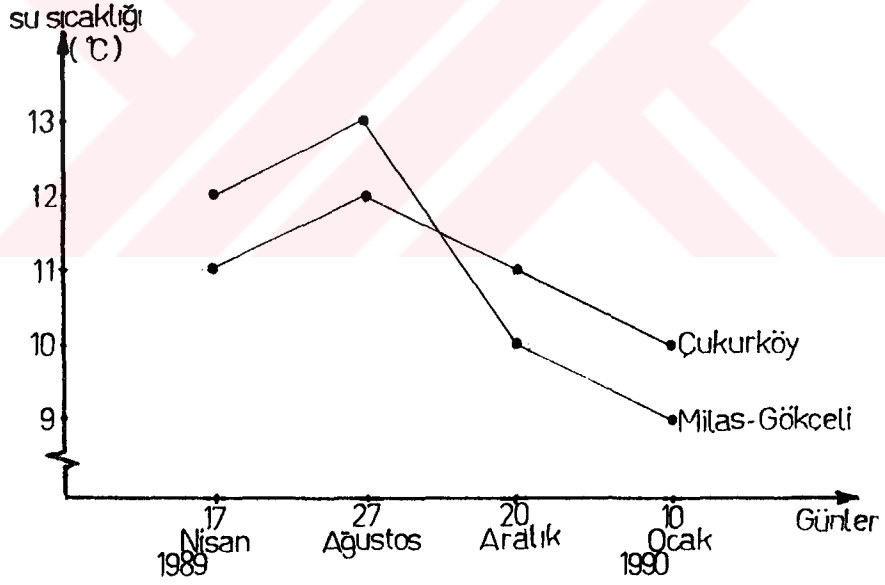
##### 4.11.2. İşletmelere Ait Suların Kimyasal ve Fiziksel Özellikleri

Tablo 10. Isparta ili alabalık işletmelerinin sularına ait kimyasal özellikler

|                               | GÖKÇELİ     | ÇUKURKÖY    | MİLAS       |
|-------------------------------|-------------|-------------|-------------|
| Cl <sup>-</sup>               | 13.31 mg/lt | 8.87 mg/lt  | 13.31 mg/lt |
| Organik Madde                 | 4.42 mg/lt  | 6.63 mg/lt  | 3.16 mg/lt  |
| OH <sup>-</sup>               | Yok         | Yok         | Yok         |
| HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> | 256.2 mg/lt | 109.8 mg/lt | 93.22 mg/lt |
| CO <sub>3</sub> <sup>-2</sup> | Yok         | 15 mg/lt    | Yok         |
| Ca <sup>+2</sup>              | 52.13 mg/lt | 50.12 mg/lt | 50.12 mg/lt |
| Mg <sup>+2</sup>              | 4.86 mg/lt  | 4.86 mg/lt  | 3.64 mg/lt  |



Şekil 11. Alabalık işletmelerinde tespit edilen pH değerleri



Şekil 12. Alabalık işletmelerinde tespit edilen su sıcaklıkları

## 4.11.3. Denemede Kullanılan Suyun Kimyasal Özellikleri

Tablo 11. Eğirdir Su Ürünleri Yüksekokulu Balık Üretim Tesislerinde kullanılan suyun kalitesi ve miktarı

| <u>Özellik</u>                | <u>Miktar</u> |
|-------------------------------|---------------|
| Cl <sup>-</sup>               | 21.43 mg/lt   |
| Organik Madde                 | 6.8 mg/lt     |
| OH <sup>-</sup>               | Yok           |
| HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> | 364.475 mg/lt |
| CO <sub>3</sub> <sup>-</sup>  | Yok           |
| Ca <sup>+2</sup>              | 101.05 mg/lt  |
| Mg <sup>+2</sup>              | 21.38 mg/lt   |
| SO <sub>4</sub> <sup>-2</sup> | 29.99 mg/lt   |

## 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

*Saprolegniaceae* üyelerinin morfolojik ayrımlarında zoosporların sporangiumdan çıkış şekilleri önemli bulgu kabul edilmekle birlikte, çıkış mekanizmasının çevresel ve besinsel faktörler ile etkilenebildiği de bildirilmektedir (45,65,97,112).

Mantarlar üzerinde yapılan sistematik çalışmalarda *Saprolegnia* genusu üyelerinin bazen *Achlya* gibi davranabildiği ifade olunmaktadır (45,112). Yapmış olduğumuz çalışmada da bazı *Saprolegnia* izolatlarının benzeri davranış gösterdikleri, ancak bunların lam ve petri kutusu üzerindeki tekrarlı incelemelerinde, *Saprolegnia* olabilecekleri kanısı kuvvet kazanmıştır.

*Saprolegnia* zoosporları kültürlerin tazeliğini kaybetmesine bağlı olarak, ya da bakteriyel kontaminasyon sonucu sporangium içinde hareketsiz kist (kese) şeklini aldığı ve çimlendiği bildirilmektedir (64). Bu çimlenme sırasında çimlenme tüpleri sporangium duvarına penatre olmaktadır (64). Yaptığımız çalışmada katı ve sıvı bazı kültürlerdeki izolatlarda bakterilerden ileri gelen kontaminasyona bağlı olarak zoosporların sporangium içerisinde hareketsiz kalarak çimlendikleri saptanmıştır. Zira, akvatik ortamdan yapılan izolasyonlarda bakterilerin üremesini engelleyici antibiyotik kullanılmasına rağmen izolatların tümünde bakterilerin tam olarak ortadan kaldırılması mümkün olmamaktadır. İşte bu nedenledir ki, mantarla yapılan çalışmalarda kontaminasyon sorunu daha bir süre güncelliğini koruyacaktır (64).

*Saprolegnia* genusuna ait türlerin saptanmasında seksüel üreme yapılarının tespiti önemlidir (45). Ancak yapılan bazı çalışmalarda elde olunan izolatların bir kısmında *Oogonium* üretiminin sağlanamadığı bildirilmiştir (47,64,84). Konu ile ilgili yapılan bir araştırmada bazı salmonidler ve tatlısu levreğinden (*Perca fluviatilis* L.) elde edilen *Saprolegnia* izolatlarının 20 °C'de

Oogonium üretmedikleri halde, düşük sıcaklık derecelerinde (7 °C) Oogonium üretebildikleri gösterilmiştir (113). Bir başka araştırmada ise Sockeye salmonlarından elde edilen Saprolegnia izolatlarının tamamının sadece 10 °C'de Oogonium ürettiği saptanmıştır (64). Yapmış olduğumuz çalışmada ise Saprolegnia izolatlarından bazıları-  
nın yalnızca düşük sıcaklıklarda Oogonium üretebildikleri görülür-  
ken, bir kısmının da 20 °C ve daha düşük sıcaklıklarda hiç Oogonium  
üretmediği belirlenmiştir.

Son yıllarda bazı araştırmacıların tür seviyesinde yaptıkları tanımlamalarında Salmo gairdneri'den elde ettikleri Saprolegnia izolatları arasında Oogonium üretmeyenleri Saprolegnia parasitica (Coker 1923) olarak tanımlanmaktadır (47). Bununla birlikte Sockeye salmonlarından elde edilen Saprolegnia izolatlarında Oogonium üretmeyenler ise, Saprolegnia sp. şeklinde ifade edilmektedir (64). Günümüzde yapılan çalışmalarda balık ve yumurtalardan elde edilen ancak, Oogonium üretmeyen izolatlar için tür seviyesinde bir tanımlama tercih edilmemektedir (64). Bu nedenle çalışmamızda da Oogonium üretmeyen izolatlar Saprolegnia sp. olarak değerlendirilmiştir.

Olgun Sockeye salmonlarındaki Saprolegniasis'i mikolojik ve patolojik yönden inceleyen bir çalışmada, lezyonların hepsinden yalnızca Saprolegnia sp. izole edilerek, bu izolatlardan 10 °C'de Oogonium üretenlerin düşük sıcaklık derecelerinde gametangium oluşturmaları nedeniyle bunlar S. parasitica - S. diclina kompleksi olarak ifade edilmiştir (64). Bir başka çalışmada ise salmonid balıklarda Saprolegniasis ile ilgili yapılan araştırmada 7 °C'de Oogonium üreten 20 °C'de ise Oogonium üretimi olmayan izolatlar S. diclina Humphrey olarak isimlendirilmiştir (113). Yine aynı çalışmada ince Oogonial duvarlı, diclinous antheridiumlu ve sub-sentrik oosporlu olarak tanımlanan S. parasitica'nın, S. diclina'nın

sinonimi olabileceği belirtilmiştir. Yapmış olduğumuz çalışmada *Diclinous Antheridium*'lu ve *Antheridium*'u *Oogonium* etrafını çevrelemiş halde gördüğümüz izolatların *S. diclina* olarak tanımlanması uygun bulunmuştur.

Tatlısu levreği (*Perca fluviatilis*) ve salmonidlerden elde edilen *Saprolegnia* izolatlarında yapılan bir çalışmada, döllenenmedeki başarısızlık yada *Oogonium*'a giren hifaların yapmış olduğu tahribat sonucu oosporların olgunlaşmadıkları bildirilmiştir (113). Bu duruma çalışmalarımız sırasında sadece Çukurköy Alabalık İşletmesinden elde edilen izolatlarda rastlanmıştır. Bu izolatlarda Oosporların çoğunun olgunlaştıktan sonra 10 gün içerisinde *Oogonium*'da dejenere olmaya başladığı ve az sayıda oosporun sağlam kaldığı görülmüştür.

*Saprolegnia* izolatlarında internal çoğalma ve zoosporların sporangiumun terminal (uç) noktasından suya boşalması bu genusa ait karakteristik özelliklerdir (45). Ancak istisnai olarak zoosporların sporangiumdan çıktıkları noktanın terminal yerine lateral de olabildiği saptanmıştır (64). Bizim çalışmalarımızda elde ettiğimiz *Saprolegnia* izolatlarının bir kısmı tipik olarak sporlarını boşaltırken bazı izolatlarında sporangiumlarının dallandığı ve zoosporların bu dallardan suya çıktıkları tespit edilmiştir.

Sınıflandırma çalışmaları yapan bazı araştırmacılar, zoosporangium miktarını değerlendirme kapsamına alarak 14 °C ve 20 °C'deki zoosporangium üretim miktarlarını genus içerisindeki sınıflandırma çalışmalarında değerlendirmişlerdir (64). Ancak, sıcaklığa bağlı olarak değişebilen sporangium miktarlarının bir kriter olarak ele alınmasının sakıncalı olduğu da yine yapılan bir çalışmada vurgulanarak zoosporların 20 °C'de 15 °C'ye göre daha çok sayıda üretildiği belirlenmiştir (89). Yapmış olduğumuz çalışmada, zoosporangium üretim miktarı sınıflandırmada bir kriter olarak

değerlendirilmemiştir. Gemmanın şekli, sınıflandırma çalışmalarında incelenmiş ancak miktarı çeşitli fiziksel faktörlerden etkilenebildiği için dikkate alınmamıştır.

Günümüzde mikroorganizmaların muhafaza edilmesi için çeşitli yöntemler uygulanmaktadır. Bunlardan biri de steril distile su içerisinde muhafaza yöntemidir (40, 109). Saprolegnia türlerinin muhafazası için daha önceki çalışmalarda Buell ve Weston (1984) mineral yağ kullanmışlardır (29). Mantarlar için daha basit ve ucuz olması nedeniyle tavsiye edilen, steril distile suyu elde olunan izolatların muhafazasında kullandığımızda, özellikle bakteriyel kontaminasyondan arınmış kültürlerin korunmasında başarılı sonuç verdiği saptanmıştır.

Oomycetes sınıfına ait Peronosporales ordosu üyelerinin daha çok toprakta yaşadıkları ve bazılarının saprofit oldukları bilinmekle birlikte çoğunun bitki ve hayvan paraziti olduğu tespit edilmiştir (111,112). Pythium ultimum, Pythium afertile gibi türler balık yumurtaları ve frylarından izole edilmiştir (84,85). Eşeysiz yolla üremeleri doğrudan sporangiumun çimlenmesi yada serbest bırakılan zoosporlarla olmaktadır (63). Çalışmamızda Gökkuşağı alabalığı yumurtalarından, yalnızca eşeysiz yolla ürettiği tespit edilen Pythium afertile türü izole edilmiştir. Yavru alabalıklardan ise Pythium elongatum türü tespit edilmiştir. Pythium elongatum türünde sporangiumun çimlenme tüpleri ile çimlendiği saptanmıştır.

İzolasyon çalışmalarında belirli bazı ortamların yine belli organizmaların izolasyonlarında kullanılabildiği, dolayısıyla organizmaların sınıflandırılmalarında yararlanılabildiği görülmüştür (26). Bununla birlikte çalışmamızda Achlyaizolasyonu için tavsiye edilen Raper's Medium, Allomyces izolasyonu için yeast extract Fosfat Sülfat Starch Agar gibi farklı ortamlar kullanılmasına

rağmen, yumurta ve yavru balıklardaki mantar enfeksiyonlarında Saprolegnia'nın dominant olması nedeniyle elde ettiğimiz izolatların çoğunluğunu Saprolegnia türleri oluşturmuştur.

Akvatik Phycomycetes zoosporları için kemotaksis, karakteristik bir özellik olarak bilinmektedir (97). Akvatik mantarların zoosporlarının kemotaksisle yada su ile taşınmaları sonucunda öncelikle ölü yumurtaları enfekte ettiği, yerleştiği yerde büyüyerek, bitişikteki canlı ve ölü yumurtalara hifaları yardımıyla ulaştığı bildirilmektedir (78,89).

Alabalık yumurtalarında enfeksiyon oluşturulmasına ilişkin yaptığımız çalışmalarda öncelikle ölü yumurtaların enfekte olduğu görülmüştür. Bu nedendir ki balık yumurtalarının döllenenini takiben kaset içerisindeki ölü yumurtaların derhal usulüne uygun bir şekilde toplanarak imhası, sağlam yumurtaların mantar enfeksiyonuna karşı korunması için gereklidir.

Gökkuşuğu alabalığı üretim çalışmalarında döllenen yumurtaların inkübasyonu sırasında larva çıkışına kadar geçen zaman içinde farklı devreler geçirdikleri bilinmektedir (57). Yumurtalarda göz lekesi oluşumundan önceki dönemin hassas dönem olduğu, dolayısıyla bu dönemdeki yumurtalara özel itina gösterilmesi gerektiği bildirilmektedir (81). Yaptığımız çalışmalarda gerek Milas Alabalık Üretim İstasyonunda, gerekse Gökçeli Alabalık Üretim İşletmesinden temin ettiğimiz yumurtalardaki ölüm oranı ve buna bağlı şekillenen mantar enfeksiyonu oranının 11 ve 20. günler arasındaki 12. günde arttığı görülmüştür.

Gökkuşuğu alabalığı yumurtalarının kalitesi ile anaç balıkların bakım ve beslenmesi arasında doğrudan bir ilişkinin bulunduğu bildirilmektedir (17). Bu durumda anaç balıkların doğal besin kaynakları veya eşdeğer yapay yemlerle beslenmesi, yumurtaların kalitesi üzerinde müspet etkili olmaktadır. Çalışmalarımızda

anaçları doğal yemlerle beslenen ve yumurtaları kehribar veya koyu sarı renkte olan Gökçeli Alabalık Üretim İşletmesinden getirdiğimiz yumurtalarda % 20.45'lik bir enfeksiyon oranı tespit edilmiştir.

Alabalık yumurtalarının inkübasyonu sırasında optimum koşulların sağlandığı embriyonal gelişme devresindeki yumurta kayıpları, % 10-20 arasında değişmektedir (17,81). Çalışmamızda Milas Alabalık Üretim İstasyonundan getirilen yumurtalarda ölü enfekte yumurtaların canlılara oranı % 37.73 olarak tespit edilmiştir. Bununla birlikte Gökçeli'den getirilen yumurtalarda bu oran % 20.45 şeklinde hesaplanmıştır.

Su sıcaklığının artması, Saprolegnia enfeksiyonlarının başlaması ve daha sonrada enfeksiyonun gelişmesini kuvvetli bir şekilde artırmaktadır ( 89 ). S. diclina zoosporlarının 20 °C'de 10 °C ve 15 °C'lere göre daha çok sayıda üretildiği bildirilmektedir ( 89 ). Suda yaşayan ve enfeksiyon yapabilen mantarların miktarlarının da enfeksiyon seyrini etkileyebildiği tespit edilmiştir (65). Çalışmalarımızda  $9.5 \pm 1$  °C'deki düşük su sıcaklığının enfeksiyon seyrini yavaşlattığı tespit edilmiştir. Bununla birlikte 2. haftada artan orandaki Saprolegnia enfeksiyonunun görülmesi, akvaryumda zamana bağlı olarak mantar zoosporlarının miktarca artmasıyla ilgili olduğu görüşünü kuvvetlendirmektedir. Çalışmamızın 11. gününde pH  $8.5 \pm 0.5$ 'de % 48, pH  $6.6 \pm 0.2$ 'de % 44'lük enfeksiyon oranları görülürken bu değerlerin organik maddenin bulunduğu akvaryumdaki enfeksiyon oranına göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. pH  $8.5 \pm 0.5$  değeri Gökkuşağı alabalığı üretimi ve yetiştiriciliği için tavsiye edilen 6.4 - 8.4 pH aralığına göre yüksek bir değerdir (81). Dolayısıyla yumurtaların inkübasyonu sırasında ölüm ve buna bağlı enfeksiyon oranını artırdığı düşünülmektedir. pH  $6.5 \pm 0.2$  değeri ise, farklı pH değerlerinin Saprolegnia sp.'nin büyümesi üzerindeki etkisi üzerinde yapmış olduğumuz

çalışmada büyüme için optimum pH değeri olarak belirlenmiştir. pH  $8.5 \pm 0.5$ 'in yumurtaların inkübasyonu için yüksek bir pH değeri olması, pH  $6.5 \pm 0.2$  Saprolegnia sp. büyümesi için çok uygun bir pH değeri olması yumurtalardaki enfeksiyon oranının yükselmesine yol açtığına inanılmaktadır.

Su sıcaklığı  $15 \pm 1$  °C'de yaptığımız çalışmalarda, su sıcaklığına bağlı olarak yumurtalardaki ölüm oranı artışı Saprolegnia enfeksiyonu gelişimi için su sıcaklığının önemli olduğunu göstermektedir. Dolayısıyla  $15 \pm 1$  °C'de yürütülen çalışmamızda Saprolegnia enfeksiyonunun yüksek oranda seyrettiği saptanmıştır.

Balıklarda herhangi başka bir etken olmaksızın tek başına şekillenen bazı Saprolegnia enfeksiyonlarında balıkların hastalığa karşı duyarlılığı, enfeksiyonun başlangıç yeri ve enfeksiyonun tahrip ettiği doku tipi önemlidir. Bütün bu koşullar mantarın patojenliği üzerinde etkili olmaktadır ( 64 ). Bruno ve Stamps 1987 yılında yaptıkları bir çalışmada Atlantik salmonu frylarının dışardan beslenmeye başladıkları dönemlerde solungaçlarındaki patolojik bozukluğa bağlı olarak şekillenen Saprolegniasis'i tanımlamışlardır ( 28 ). Saprolegniasis'e bağlı olarak balıkların solungaçları ve pharenx etrafında büyüyen miselyumun mukus ve gıda partikülleri ile birlikte engel oluşturduğunu, barsaklarda tıkaç blok şekillendiğini, dolayısıyla solunum ve beslenme faaliyetlerinin sürdürülememesi sonucu zayıflayan balıklarda yüksek ölüm oranının şekillendiği bildirilmektedir ( 28 ). Bununla birlikte Saprolegniasis'in deneysel koşullarda oluşturulmasında enfeksiyon kaynağı organizma ile test edilecek balığın birlikte uygun koşullarda bir araya getirilmesi gerektiği bildirilmektedir (100). Yaptığımız çalışmalarda  $11-12$  °C ve  $15 \pm 1$  °C'lik su sıcaklıklarında  $8.5 \pm 0.5$ ,  $7.6 \pm 0.5$  ve  $6.5 \pm 0.2$  olmak üzere üç değişik pH değeri denendiğinde en çok ölüm ve enfeksiyon oranının pH  $8.5 \pm 0.5$ 'de görüldüğü

saptanmıştır. Alabalıkların büyümesi için optimum sıcaklık değerinin 16 °C olması nedeniyle yavru balıklarda meydana gelen yüksek ölüm ve enfeksiyon oranlarının, yüksek pH değerinin neden olduğu olumsuz çevre koşulları ile arttığına inanılmaktadır. Zira aynı çalışmalarda 11-12 °c su sıcaklığında pH 6.5 ± 0.2'de 13 gün boyunca yavru balıklarda hiç ölüm olayı görülmemiştir.

Brown troutlar ile yapılan bir çalışmada fry'larda Saprolegnia enfeksiyonu görüldüğü ve % 15 oranında kayıplara yol açtığı bildirilmiştir ( 85 ). Bu enfeksiyonların kafa bölgesinden başladığı ve tüm vücudu kaplayarak ölüme yol açtığı görülmüştür. Larvalarda yaptığımız enfeksiyon çalışmalarında, enfekte larvalarda enfeksiyonun ağız ve çenelerde başladığı dikkati çekmiştir.

Saprolegnia enfeksiyonuna neden olan mantarların, balığın yaşadığı çevrede her zaman bulunan bir bileşen olduğu bugün artık bilinmektedir. Akvatik ortamdaki zoosporların miktarı, mevsimlere göre değişiklik göstermektedir ( 97 ). Bu miktar kış aylarında maksimum iken yaz aylarında minimum seviyeye düşer. Çalışmalarımızda işletmelerin sularında da doğal olarak bu mantarların yaşadıkları tespit edilmiştir. Sularda her zaman var olan bu organizmanın balıkları her zaman enfekte etmemesi bu etkenin bir, fırsatçı fakültatif parazit olduğunu düşündürmektedir (64). Fiziksel olarak zarar görmüş yaralı balıklarda Saprolegnia enfeksiyonu daha kolay görülmektedir (65 ). Bu konuda son yıllarda yapılan çalışmalarda Sockeye salmonların olgunlaşması sırasında plazma kortikosteroidlerinin seviyesinde bir artış tespit edilmiştir. Bu artışla birlikte balıklarda oluşan protein yetmezliği nedeni ile rejenerasyon yeteneklerinin bozulduğu, dolayısıyla gelişmekte olan balıklarda enfeksiyonun meydana gelmesinin kolaylaştığı bildirilmektedir (64,65). Stres artırıcıları olarak bilinen yüksek su sıcaklığı, balıkların

taşınması, hırpalamak, ortamda kirleticilerin sublethal konsantrasyonlarda bulunması vücuttaki kortikosteroidlerin seviyesini artırmakta dolayısıyla balıklar enfeksiyona daha duyarlı hal almaktadırlar (65).

Böehm ve Fuhrmann 1984 yılında çeşitli tatlısu balıkları ile yaptıkları çalışmalarda Saprolegnia izolatlarını çoğunlukla deri lezyonlarından elde ettiklerini bildirmektedirler (27). Bu çalışmalarda deri yanısıra yüzgeç ve solungaçlarında Saprolegnia enfeksiyonlarından etkilendiği görülmüştür. Çok sayıda araştırmacı Oomycetes üyelerinin bazen kas tabakasına kadar ulaştığını, ancak bunların genellikle deriye nüfuz eden yüzeysel lezyonlar oluşturduklarını tespit etmişlerdir (8,64,78). Internal Saprolegniasis vakalarına ise daha çok yavru balıklarda rastlandığı bildirilmektedir (65,78). Yavru balıklarda deri ile iç organlar arasındaki mesafenin kısa olması, enfeksiyonun daha hızlı yayılmasına neden olmaktadır (65,78).

Yaptığımız çalışmalarda yavru balıklarda derinin tamamen nekroze olduğu, iç organlar ve kas tabakalarında mantar hifalarının bulunduğu saptanmıştır. Yumurta kesesi henüz çekilmemiş larvalarda ise, peritonal Saprolegniasis tanımlanmıştır (78). Çalışmamızda da yumurta kesesi boyunca Saprolegnia hifaları PAS-light Green boyama yöntemi ile tespit edilerek gösterilmiştir.

Balıklarda mantar enfeksiyonu sonucu şekillenen hematolojik tabloda lenfosit ve nötrofillerin koruyucu rolleri olabileceği bildirilmektedir (114). Yapmış olduğumuz çalışmada Saprolegnia sp. ile enfekte edilen alabalıktan 5. günde Buffycoat metodu ile elde olunan lökositler Giemsa ile boyandığında bu lökositlerin nötrofil, lenfosit ve monosit hücrelerinden oluştuğu görülmüştür. Bu durumda sağlıklı bir alabalıkta lökositlerin görülmemesi, buna karşın mantar enfeksiyonu gösteren balıklarda ise bu hücrelerin (nötrofil, monosit, lenfosit) şekillenmesi sözkonusu kan hücrelerinin enfeksiyona karşı oluştuğunu göstermektedir.

## KAYNAKLAR

1. AARONSON, S., 1970, Experimental Microbial Ecology. Academic Press New York and London, 236 pp.
2. ACAR, B., ACAR, S., 1975, GÖllerimiz. Redhouse Yayınevi P.K. 142, İstanbul.
3. AINSWORTH, G.C., 1965, Historical Introduction to Mycology. Chapter I. In The Fungi An Advanced Treatise Vol. I, Eds. Ainsworth, G.C., Sussman, A.S., Academic Press. New York and London, 3-20 pp.
4. AINSWORTH, G.C., 1971, Ainsworth and Bisby's Dictionary of The Fungi 6 th Ed. Commonwealth Mycol. Inst. Kew, Surrey, 663 p.,
5. ALDERMAN, D.J., POLYGLASE, J.L., 1986, Aphanomyces astaci: Isolation and culture. Journal of Fish Diseases Vol. 9, 367-379 pp.
6. ALEXOPOULOS, C.J., BOLD, H.C., 1967, Algae and Fungi. The Macmillan Company, London, 94-97 pp.
7. ALEXOPOULOS, C.J., MIMS, C.W., 1979, Introductory Mycology. Third Edition John Willey and Sons Inc. New York, Chichester. 632 p.
8. ALVAREZ, F., RAZQUIN, A., VARAS, A., VILLENA, A., ZAPATA, A., 1989, Histopathological Analysis of the Skin Lesions of Saprolegnia sp. Infected Brown Trouts, Salmo trutta fario. Diseases of Fish and Shellfish IV EAFF International Conference Spain.
9. AMLACHER, E., 1970, Textbook of Fish Diseases T.F.H. Publications London, 163-178 pp.
10. AMLACHER, E., 1986, Taschenbuch der Fischkrankheiten Gustav Fisher Verlag, Stuttgart, 251-266 pp.

11. ANONYMOUS, 1965, İçme Suları. TS 266, Türk Standartları Enstitüsü Ankara, 32 s.
12. ANONYMOUS, 1985, Standard Methods for the Examination of Water & Wastewater American Public Health Association and American Water Works Association and Water Pollution Control Federation. U.S.A., 986-989 pp.
13. ANONYMOUS, 1990, 1986 Yılı Su Akım Değerleri. Elektrik İşleri Etüd İdaresi Genel Md. Yay. 975-7566-06-3, Ankara.
14. ARDA, M., 1974, Balıklarda Bakteriyal, Mantar, Viral ve Ekolojik Nedenlerden İleri Gelen Hastalıklar ve Tedavileri. Ankara Üniv. Vet.Fak.Yay. No 300, Ankara, 259 s.
15. ARDA, M., 1980, Mikoloji (Genel ve Özel). Ankara Üniversitesi Veteriner Fak.Yay. No 366, Ankara, 322 s.
16. ARDEL, A., 1951, Göller Bölgesinde Morfolojik Müşahadeler. İstanbul Üniv. Coğrafya Enstitüsü Derg. 2, 1-2.
17. ATAY, D., 1980, Alabalık Üretim Tekniği, Başbakanlık Basımevi, Ankara, 171 s.
18. ATAY, D., 1986, Su Ürünleri Yetiştiriciliği ve Ülkemizdeki Kurulu İşletmelerin Sorunları ve Çözüm Yolları. Su Ürünleri Sektörünün Bugünkü Durumu ve Sorunları Sempozyumu, İzmir, T.C. Ziraat Bankası Su Ürünleri Kredileri Müdürlüğü Yayın No 7, 141-153 s.
19. ATAY, D., 1990, Balık Üretimi. T.C. Tarım Orman ve Köyişleri Bakanlığı Eğirdir Su Ürünleri Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü Yay. No 2, 302 s.
20. BANCROFT, J.D., 1977, Theory and Practice of Histological Techniques. Churchill Livingstone. Edinburg, London and New York, 420 p.

21. BARAN, İ., TİMUR, M., ORAY, I.K., TİMUR, G., RAHE, R., SOYLU, E., 1987, Investigation on a Disease Causing Serious Mortality on Crayfish (Astacus leptodactylus) Populations in Turkey. International Conference of Aquaculture Europe 87 Amsterdam Netherland.
22. BARAN, İ., SOYLU, E., 1989, Crayfish plague in Turkey. Journal of Fish Disease Vol. 12, 193-197 pp.
23. BARTNICKI-GARCIA, S., HEMMES, D.E., 1874, Some Aspects of The Form and Function of Oomycetes Spores. Chapter 14. In The Fungal Spore Eds. Weber, D.J., Hess, W.M. John Wiley and Sons. Interscience Publication. 593-641 pp.
24. BERKA, R., 1986, The transport of live fish A review. FAO. EIFAC Technical Paper 48, Çekoslovakya, 52 p.
25. BOOTH, C., 1971, Introduction to General Methods. Chapter I. In Methods in Microbiology Vol. 4, Ed. Brooth, C., Academic Press. London and New York, 1-48 pp.
26. BOOTH, C., 1971, Fungal Culture Media Chapter II, In Methods in Microbiology. Vol. 4, Ed. Booth, C., Academic Press. London and New York, 49-95 pp.
27. BÖHM, K.H., FURMANN, H., 1984, A mycological survey of diseases freshwater fish. Bull.Eur.Ass. Fish Pathol. 4(2), 26-27 pp.
28. BRUNO, D.W., STAMPS, D.J., 1987, Saprolegniasis of Atlantic salmon, Salmo salar L. fry. Journal of Fish Diseases Vol. 10, 513-517 pp.
29. BULLOCK, A.M., 1978, Laboratory Methods. Chapter 12. In Fish Pathology. Ed. Roberts, R.J. Bailliere Tindall. London, 234-267 pp.
30. CANTINO, E.C., 1966, Morphogenesis in Aquatic Fungi. Chapter 10. In The Fungi. An Advanced Treatise Vol. II,. Eds. Ainsworth, G.C., Sussman, A.S. Academic Press. New York and London, 283-337 pp.

31. CARBALLO, M., ORTIZ, J.A., MUNOZ, M.J., 1989, Effect of Sublethal Concentrations of four toxic chemicals Susseptibility of Salmo gairdneri Alevins to Saprolegniasis. Diseases of Fish and Shellfish IV EAFF Int. Conf. Spain.
32. CERENIUS, L., OLSON, L.W., LANGE, L., SODERHALL, K., 1984, The secondary zoospore of Aphanomyces astaci and A. laevis (Oomycetes, Saprolegniales). Nordic Journal of Botany 4: 697-706 pp.
33. CERENIUS, L., SODERHALL, K., 1984, Isolation and properties of B-glukan synthetase from the aquatic fungus, Aphanomyces astaci. Physiol. Plant. 60: 247-252 pp.
34. CERENIUS, L., SODERHALL, K., 1987, Repeated zoospore emergence from isolated spore cysts of Aphanomyces astaci. Experimental Mycology Vol. 8, 370-377 pp.
35. CERENIUS, L., SODERHALL, K., FULLER, M.S., 1987, Aphanomyces astaci and Aphanomyces spp. In Zoosporic Fungi in Teaching and Research. Eds. Fuller, M.S., Jaworski, A. 64-65 pp.
36. CERVINKA, S., VITOVEC, J., LOM, J., HASKA, J., KUBU, F., 1974, Dermocystidiosis—a gill disease of the carp due to Dermocystidium cyprini sp. J.Fish Biol. Vol. 6, 689-699 pp.
37. CHIEN, C.Y., 1981, Observations on the growth and morphology of Saprolegniaceous fungi isolated from rainbow trout Salmo gairdneri J.Fish Pathol. 15 (3-4) 241-248 pp.
38. COLLINS, C.H., 1976, Microbiyological Methods. Butterworths. London Boston, 499 p.
39. CULLING, C.F.A., 1963, Handbook of Histopathological Techniques. London. Butterworths, 553 p.
40. DERBENTLİ, S., 1985, Mikroorganizmaların muhafazası için uygulanan yöntemler. KÜKEM Derg. 8(1) 65-71 s.

41. DICK, M.W., 1973, Saprolegniales. Chapter 7 and Leptomitales Chapter 8. In The Fungi. An Advanced Treatise. Eds. Ainsworth, G.C., Sparrow, F.K., Sussman, A.S., Vol. IVB. Academic Press, inc. 113-158 pp.
42. DURAN, A., RODRIGUEZ, L.B., REGLERO, A. and PEREZDIAZ, 1987, Changes in serum enzymes of Saprolegnia- infected brown trout Salmo trutta L. Journal of Fish Diseases Vol. 10, 505-507 pp.
43. DYK, V.J., 1990, Long journey of the pasific salmon. National Geografic. Vol. 178, No 1, 3-38 pp.
44. GARETH-JONES, E.B., 1971, Aquatic Fungi Chapter VII. In Methods in Microbiology. Vol. 4. Ed. Booth, C. Academic Press. London and New York, 335-362 pp.
45. GILMAN, J.C., 1957, A Manual of Soil Fungi Iowa State Univ. Press U.S.A. 86-161 pp.
46. GRIFFIN, D.H., 1966, Effect of electrolytes on differentiation in Achlya sp. Plant Physiol. 41, 1254-1256 pp.
47. HATAI, K., WILLOUGHBY, L.G., 1988, Saprolegnia parasitica from rainbow trout inhibited by the bacterium Pseudomonas fluorescens. Bulletin of the Europeans Association of Fish Pathologist Vol. 8, No 2, 27-29 pp.
48. HATAI, K., HOSHIAI, G., KUBOTA, S., 1989, Pathogenicity of Saprolegnia isalotes from cultured silver salmon (Oncorhynchus kisutch Walbaum) with Saprolegniasis. Diseases of Fish and Shellfish. IV. EAFF International Conf. Sep. 24-28 Spain.
49. HAWKER, L.E., 1966, Environmental Influences on Reproduction. Chapter 14. Volume II. In The Fungi. An Advanced Treatise. Eds. Ainsworth, G.C., Sussman, A.S., Academic Press. New York and London, 435-469 pp.

50. HENDRICK, R.P., GROFF, J.M., MODIN, J., FRIEDMAN, C., 1989, Sytemic Infections with Dermocystidium sp. First occurence in north America in Atlantic Salmon (Salmo salar) reared in California, U.S.A. Diseases of Fish and Shellfish IV. EAFF Int. Conference Spain.
51. HICKMAN, C.J., 1965, Fungal Structure and Organization. Chapter 2. In The Fungi An Advanced Treatise. Vol. I. Eds. Ainsworth, G.C., Sussman, A.S. Academic Press. New York and London 21-45 pp.
52. JOHNSON, Jr.T.W., 1956 b, Notes on fungi from Mississippi I Aquatic Phycomycetes. The American Midland Naturalist 55(1) 184-193 pp.
53. JONES, E.B.G., 1971, Aquatic Fungi. Chapter XII. In Methods in Microbiology Vol. 4. Ed. Booth, C., Academic Press. London and New York
54. KESKİN, H., 1975, Gıda Kimyası. istanbul Üniv. Yay. No 21, İstanbul, 1046 s.
55. KOCH, W.J., 1972, Fungi in the Laboratory a manual and text. University of North Carolina Student Stores, Chapel Hill U.S.A.
56. KUŞAT, M., 1986, Kefal Balıklarında (Mugil auratus Risso, 1810 ve Mugil capito Cuvier, 1829) Yavru Nakli ve Tatlı Suyu Adaptasyonunun İncelenmesi Üzerinde Bir Araştırma. Yüksekli-sans Tezi. Ankara Üniv. Fen Bil. Enst. 59 s.
57. LAGLER, K.F., BARDACH, J.E., MILLER, R.R., 1962, Ichthyology: The Study of Fishes. New York London 545 p.
58. LANGVAD, F., 1989, Some New Fungicides and their Possible Use in Treating Fungal Fish Disease. Disease of Fish and Shellfish IV. EAFF International Conference Sep. 24-28 Spain.

59. LILLY, V.G., 1965, The Chemical Environment for Fungal Growth Vol. I. Media, Macro and Micronutrients. Chapter 17. In The Fungi An Advanced Treatise. Eds. Ainsworth, G.C., Sussman, A.S. Academic Press. New York and London 465-478 pp.
60. MACHLIS, L., 1966, Sex Hormones in Fungi. Chapter 13. The Fungi An Advanced Treatise. Eds. Ainsworth, G.C., Sussman, A.S. Vol. II. Academic Press. New York and London 415-431 pp.
61. MC CARTHY, D.H., STEVENSON, J.P., ROBERTS, M.S., 1973, Some blood parameters of the rainbow trout (Salmo gairdneri Ric.) Vol. 5, 1-8 pp.
62. MIDDLETON, T.J., 1943, The Taxonomy, Host Range and Geographic Distribution of the Genus Pythium. Mem. Torrey Bot. Club. 20: 177 p.
63. MULLER, E., LOEFFLER, W., 1976, Mycology An Outline for Science and Medical Students. George Thieme Publishers. Stuttgart. 142-145 pp.
64. NEISH, G.A., 1977, Observation on Saprolegniasis of adult sockeye salmon, Onchorhynchus nerca (Walbaum). J. Fish Biol. Vol. 10, 513-522 pp.
65. NEISH, G.A., HUGHES, G.H., 1980, Fungal Diseases of Fishes In Diseases of Fishes. Book 6 (Eds. Snieszko, S., Axelrod, H.R.) T.F.H. Publications Surrey England. 159 p.
66. NOGA, E.J., DYKSTRA, M.J., 1986, Oomycetes fungi associated with ulcerative mycosis in menhaden, Brevoortia tyrannus (Labrobe) Vol. 9, 49-53 pp.
67. NYHLEN, L., UNESTAM, T., 1980, Wound reactions and Aphanomyces astaci growth in crayfish cuticle. Journal of Invertebrate Pathology 36, 187-197 pp.
68. OLSON, L.W., CERENIUS, L.L., SODERHALL, K., 1984, The primary and secondary spore cyst of Aphanomyces (Oomycetes, Saprolegniales). Nordic Journal of Botany 4: 681-696 pp.

69. ORMEROD, K., BONDE, G.J., KRISTENSEN, K.K., 1982, Bacteriological Examination in Examination of Water for Pollution Control Ed. Suess, M.J. Pergamon Press. Oxford New York. Sydney. 461 p.
70. ÖNER, M., 1971, Mikoloji I. Ege Üniv. Fen Fakültesi Yay.No 53, İzmir, 180 s.
71. ÖNER, M., 1986, Genel Mikrobiyoloji. Ege Üniv. Fen Fakültesi Yay. No 94, İzmir, 380 s.
72. ÖZBAŞ, M., 1991, Alabalık Larvalarının (Salmo gairdneri Rich. 1836) Taze Karaciğer Pulpası ile Beslenmesi Üzerinde Bir Araştırma. Yüksek lisans Tezi, Akdeniz Üniv. Fen. Bil. Enst. 45 s.
73. PERLMAN; D., 1965, The Chemical Environment for Fungal Growth. Chapter 18. Carbon Sources. In The Fungi. An Advanced Treatise. Vol. I. Eds. Ainsworth, G.C., Sussman, A.S. Academic Press. New York and London. 479-489 pp.
74. PERSSON, M., SODERHALL, K., 1986,  $\text{CaCl}_2$  Induced germination peptidase secretion in Aphanomyces astaci. Experimental Mycology. Vol. 10, 205-213 pp.
75. PRABHUJI, S.K., SRIVASTAVA, G.C., RIZVI, S.J.H., MATHUR, S.N., 1983, 1,3,7 Trimethylxanthine (caffeine); a new natural fish fungicide Experiantia 39 Birkhäuser Verlag. CH-4010 Basel/Switzerland. 177-179 pp.
76. RAPER, J.R., 1966, Life Cycles, Basic Patterns of Sexuality, and Sexual Mechanisms. Chapter 15. In The Fungi. An Advanced Treatise, Vol. II. Eds. Ainsworth, G.C., Sussman, A.S. Academic Press. New York and London. 473-504 pp.
77. REICHENBACH-KLINKE, H.H., 1980, Krankheiten und Schädigungen der Fische, 2. Auflage Gustav Fisher Verlag. Stuttgart, 472 p

78. RICHARDS, R.H., 1978, The Mycology of Teleosts Ed. Roberts, R.J. In Fish Pathology. Bailliere Tindall London. 205-210 pp.
79. RICHARDS, R.H., PICKERING, A.B., 1978, Frequency and distribution patterns of Saprolegnia infection in wild and hatchery reared brown trout Salmo trutta L. and char Salvelinus alpinus (L.) Journal of Fish Disease 1: 69-82 pp.
80. Roberts, R.J., 1972, Ulcerative Dermal Necrosis (UDN) of salmon (Salmo salar L.) In Diseases of Fish. Ed. Mawdesley-Thomas, L.E. 53-79 pp. Academic Press London and New York.
81. ROBERTS, R.J., SHEPHERD, C.J., 1986, Handbook of Trout and Salmon Diseases. Second Edition. Fishing News Books Ltd. Farnham, Surrey, England. 33-45 pp.
82. ROSS, A.J., YASUTAKE, W.T., 1975, Phoma herbarum a plant saprophyte, as a fish pathogen. Journal of Fisheries Research Board of Canada Vol.32, No 9, 1648-1652 pp.
83. SARAÇOĞLU, S., 1962, Türkiye Coğrafyası Üzerine Etüdler. Milli Eğitim Basımevi İstanbul. 508 s.
84. SCOTT, W.W., O'BIER, A.H., 1962, Aquatic fungi with diseased fish and fish eggs. Progressive Fish Culturist. Vol.24. 3-15 pp.
85. SHAH, K.L., JHA, B.C., JHINGRAN, A.G., 1977, Observation on Some Aquatic Phycomycetes Pathogenic to eggs and fry of fresh water fish and prawn. Aquaculture, Vol.12, 141-147 pp.
86. SINGHAL, R.N., JEET, S., DAVIES, W., 1986, Chemotherapy of six ectoparasitic diseases of cultured fish. Aquaculture Vol.54, 165-171 pp.
87. SINGHAL, R.N., JEET, S., DAVIES, R.W., 1987, Experimental transmission of Saprolegnia and Achlya to fish. Aquaculture, Vol. 64, 1-7 pp.

88. SMITH, G., 1969, An Introduction to Industrial Mycology. Sixth Edition. Edward Arnold (Publishers) Ltd. London 375 p.
89. SMITH, S.N., ARMSTRONG, R.A., RIMMER, J.J., 1984, Influence of environmental factors on zoospores of Saprolegnia diclina. Trans. Br. Mycol. Soc. 82 (3), 413-421 pp.
90. SMITH, S.N., ARMSTRONG, R.A., SPRINGATE, J., BARKER, G., 1985, Infection and colonization of trout eggs by Saprolegniaceae. Trans. Br. Mycol. Soc. 4:719-723 pp.
91. SNELL, W.H., DICK, A.E., 1971, A Glossary of Mycology. Harvard University Press. Cambridge, Massachusetts. U.S.A.
92. SNIESZKO, S., 1972, Progress in Fish Pathology in this Century. 1-14 In Diseases of Fish by L.E. Mawdesley-Thomas. Symposia of the Zoological Society of London Number 30, Academic Press. 1-14 pp.
93. SODERHALL, K., STENSSON, E., UNESTAM, T., 1978, Chitinase and Protease Activities in germinating zoospore cysts of a parasitic fungus Aphanomyces astaci, Oomycetes.. Mycopathologia Vol.64. 1: 9-11 pp.
94. SODERHALL, K., CERENIUS, L., 1983, Protein and nucleic acid synthesis during germination of the asexual spores of the aquatic fungus, Aphanomyces astaci. Physiol. Plant. Vol.58, 13-17 pp.
95. SODERHALL, K., CERENIUS, L., 1987, Controlled Growth and Development in Filamentous Oomycetes with Emphasis on Aphanomyces spp. In zoosporic Fungi In Teaching and Research Eds. Fuller, M.S., Javorski, A. 264-267 pp.
96. SPARROW, F.K., 1943, Aquatic Phycomycetes. The University of Michigan Press. London. 540-542 pp.

97. SPARROW, F.K., 1968, Ecology of Freshwater Fungi. Chapter II, Eds. Ainsworth, G.C., Sussman, A.S. In The Fungi An Advanced Treatise Vol.III. The Fungal Population Academic Press. New York and London, 41-93 pp.
98. SPARROW, F.K., 1973, Lagenidiales. Chapter IX. In The Fungi An Advanced Treatise. Eds. Ainsworth, G.C., Sparrow, F.K., Sussman, A.S. Vol.IVB, Academic Press. Inc. 159-163 pp.
99. SRIVASTAVA, R.C., SRIVASTAVA, G.C., 1976, A note on the destruction of the eggs of Cyprinus carpio var. Communis, by the members of Saprolegniaceae. Science and Culture. Vol.42 No 12.
100. SRIVASTAVA, R.C., 1980, Studies in Fish Mycopathology: A Review Part II. Mykosen 23(7) 380-391 pp.
101. SRIVASTAVA, R.C., 1985, The Genus Saprolegnia in India. Botanical Survey India.
102. SRIVASTAVA, R.C., 1987, Fish Mycopathology.
103. TİMUR, M., 1975, A study of the carrageenin granuloma in the plaice (Pleuronectes platessa L.) Doktora Tezi. Stirling University. England, 184 s.
104. TİMUR, M., ROBERTS, R.J., MC QUEEN, A., 1977, Carrageenin granuloma in the plaice: A histopathological study of chronic inflammation in a teleost fish. Journal Comp. Path. 87, 89-96 pp.
105. TİMUR, G., TİMUR, M., 1984, Giant-cell reaction associated with Ichthyophonus hoferi infection in wild plaice, Pleuronectes platessa L. Journal of Fish Diseases. Vol.7, 513-514 pp.
106. TİMUR, M., TİMUR, G., 1988, Çivril (Işıklı) ve Eğirdir Gölü tatlısu istakozlarında (Astacus leptodactylus) görülen plague hastalığı üzerinde bir araştırma. Akdeniz Üniv. Su Ürünl.Müh.Derg.Vol.I, Sayı 1, 1-10 s.

107. TİMUR, G., 1990, Crayfish Plague in some lakes of Turkey. Bull.Eur.Ass.Fish Pathol. Vol 10 (4), 100 -103 pp.
108. TURNA, İ.İ., 1990 Fiber Tanklara Pompalanan Eğirdir Göl Suyunda Gökkuşağı Alabalık Yavrularının (Salmo gairdneri Ric. 1836) Beslenmesi Üzerinde Bir Araştırma. Yüksek Lisans Tezi, Akdeniz Üniv. Fen Bil.Enst. 68 s.
109. TÜMBAY, E., 1979, Pratik Tıp Mikolojisi. Ege Üniv. Tıp Fak. Ders Notu, 147 s.
110. WATERHOUSE, G.M., 1971, Phycomycetes. Chapter 6. In Methods in Microbiology. Ed. Booth, C. Vol.4, Academic Press. London and New York. 183-192 pp.
111. WATERHOUSE, G.M., 1973, Peronosporales. Chapter 10. In The Fungi An Advances Treatise. Eds. Ainsworth, G.C., Sparrow, F.K., Sussman, A.S. Vol.IV.B. Academic Press. 165-183 pp.
112. WEBSTER, J., 1980, Introduction to Fungi. Second Edition. Cambridge Univ. Press. Cambridge. U.S.A. 1-190 pp.
113. WILLOUGHBY, L.G., 1978, Saprolegniasis of salmonid fish in Windermere: A critical analysis. Journal of Fish Biol. Vol. 1. 51-67 pp.
114. WILLOUGHBY, L.B., 1989, Continued defence of salmonid fish against Saprolegnia fungus, after its establishment. Journal of Fish Diseases. Vol.12, 63-67 pp.
115. WOOD, S.E., WILLOUGHBY, L.G., BEAKES, G.W., 1986, Preliminary evidence for inhibition of Saprolegnia fungus in the mucus of brown trout, Salmo trutta L., following experimental challenge. Journal of Fish Diseases Vol.9, 557-560 pp.

**ÖZGEÇMİŞ**

1961 yılında İzmir'de doğdum. Tuğsavul İlkokulundan sonra Şirinyer Lisesi orta bölümünü ve İzmir Kız Lisesinde lise öğrenimimi tamamladım. Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü, Temel ve Endüstriyel Mikrobiyoloji Anabilim Dalından 1982'de mezun oldum. 1984'de Akdeniz Üniversitesi Eğirdir Su Ürünleri Yüksekokulunda Araştırma Görevlisi olarak göreve başladım. 1985'de Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsünde Yüksek lisansımı tamamladım. 1987'de Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsünde Doktora programına başladım. Evliyim. Halen Akdeniz Üniversitesi Eğirdir Su Ürünleri Yüksekokulunda Araştırma Görevlisi olarak çalışmaktayım.