



**EĞİRDİR GÖLÜ'NDEN *Sander lucioperca*'daki
Eustrongylides excisus LARVALARININ
(NEMATODA) DNA DİZİSİ TABANLI OLARAK
MOLEKÜLER TANIMLAMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Kevser ÖZTÜRK

Danışman

Prof. Dr. Mehmet Oğuz ÖZTÜRK

MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK

ANABİLİM DALI

Haziran 2023

Bu tez çalışması 21.FEN.BİL.25 numaralı proje ile Afyon Kocatepe Üniversitesi BAPK Birimi tarafından desteklenmiştir.

AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**EĞİRDİR GÖLÜ'NDEN *Sander lucioperca*'daki
Eustrongylides excisus LARVALARININ (NEMATODA) DNA DİZİSİ
TABANLI OLARAK MOLEKÜLER TANIMLAMASI**

Kevser ÖZTÜRK

Danışman

Prof. Dr. Mehmet Oğuz ÖZTÜRK

MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK
ANABİLİM DALI

Haziran 2023

TEZ ONAY SAYFASI

Kevser ÖZTÜRK tarafından hazırlanan “Eğirdir Gölü’nden *Sander lucioperca*’daki *Eustrongylides excisus* Larvalarının (Nematoda) DNA Dizisi Tabanlı Olarak Moleküler Tanımlaması” adlı tez çalışması lisansüstü eğitim ve öğretim yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca 19/06/2023 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından **oy birliği** ile Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı’nda YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Danışman :Prof. Dr. Mehmet Oğuz ÖZTÜRK

Başkan :Prof. Dr. Ahmet SERTESER
Afyon Kocatepe Üniversitesi
Fen-Edebiyat Fakültesi

Üye : Prof. Dr. Mehmet Oğuz ÖZTÜRK
Afyon Kocatepe Üniversitesi
Fen –Edebiyat Fakültesi

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Müjgan KESİK OKTAY
Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi
Şuhut Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksek Okulu

Afyon Kocatepe Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu’nun
...../...../.....tarih ve
.....sayılı kararıyla onaylanmıştır.

.....

Prof. Dr. İbrahimEROL
Enstitü Müdürü

BİLİMSEL ETİK BİLDİRİM SAYFASI
Afyon Kocatepe Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
- Atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
- Ve bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı

beyan ederim.

19 / 06/2023

İmza

Kevser ÖZTÜRK

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

EĞİRDİR GÖLÜ'NDEN *SANDER LUCIOPERCA* 'DAKİ *EUSTRONGYLIDES EXCISUS* LARVALARININ (NEMATODA) DNA DİZİSİ TABANLI OLARAK MOLEKÜLER TANIMLAMASI

Kevser ÖZTÜRK

Afyon Kocatepe Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Mehmet Oğuz ÖZTÜRK

Bu çalışmada, 3 *Eustrongylides excisus* örneğinden 18S rDNA ve 28S rDNA gen lokusuna ait 926-954 bp kısmi belirgin nükleotid dizileri özdeş olarak tanımlanmış ve GenBank'ta kayıt altına alınmıştır (OP480437-39). *Eustrongylides excisus* örneklerinin 18S rDNA gen dizilerindeki nükleotid değerleri tanımlanmıştır: % 26,94-27,26 A; %26,78-26,84 T; % 28,30-28,62 G; % 17,39-17,92 C. Pairwise comparison metodu ile elde edilen 18SrDNA dizi veri kümesi mesafe matrisine göre, bu çalışmada tanımlanan *Eustrongylides excisus* izolatları (OP480437-39) ile GenBank'ta kayıtlı *Eustrongylides excisus* izolatları (MK007967, MT415236, MK545494) arasında tam bir uyum görülmüştür (%0,0). Bu *Eustrongylides excisus* izolatları Maximum likelihood filogram analizinde aynı kümede toplanmıştır. İzolatların internal transkripsiyonlu ayırıcı (ITS) bölgesi 18S rDNA ve 28S rDNA gen sekansı sonuçları, *Eustrongylides excisus*'un anatomik ve morfolojik özelliklerine göre tanımlanan taksonomik konumunu doğrulamıştır. Ayrıca, Eğirdir Gölü'ndeki *Eustrongylides excisus* türüne ait 3 örnek üzerinden 18S rDNA ve 28S rDNA gen dizileri ilk defa bu çalışmada tanımlanmış ve bu türe ait genetik özelliklerin belirlenmesi çalışmalarına katkı yapılmıştır.

2023, x + 68 sayfa

Anahtar Kelimeler: *Eustrongylides excisus*, DNA, *Sander lucioperca*.

ABSTRACT

M.Sc. Thesis

DNA SEQUENCE BASED MOLECULAR IDENTIFICATION OF *EUSTRONGYLIDES EXCISUS* LARVAS (NEMATODA) IN *SANDER LUCIOPERCA* FROM LAKE EĞİRDİR

Kevser ÖZTÜRK

Afyon Kocatepe University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Molecular Biology and Genetic

Supervisor: Prof. Mehmet Oğuz ÖZTÜRK

In this study, 926-954 bp partially distinct nucleotide sequences belonging to the 18S rDNA and 28S rDNA gene loci from 3 *Eustrongylides excisus* samples were identified as identical and registered in GenBank (OP480437-39). Nucleotide values in 18S rDNA gene sequences of *Eustrongylides excisus* samples were defined: 26.94% 27.26 A; 26.78%-26.84% T; 28.30-28.62% G; 17.39-17.92% C. According to the 18S rDNA sequence dataset distance matrix obtained by the Pairwise comparison method, there was a complete agreement (0%) between the *Eustrongylides excisus* isolates identified in this study (OP480437-39) and the *Eustrongylides excisus* isolate registered in the GenBank (MK007967, MT415236, MK545494). The *Eustrongylides excisus* isolates were collected in the same cluster in Maximum likelihood filogram analysis. The internal transcribed spacer (ITS) region 18S rDNA-28S rDNA gene sequence results of the isolates confirmed the taxonomic position of *Eustrongylides excisus*, which was defined according to its anatomical and morphological features. More, 18S rDNA and 28S rDNA gene sequences were defined for the first time in this study on 3 samples of *Eustrongylides excisus* species in Lake Eğirdir, and contributions were made to the determination of genetic characteristics of the species.

2023, x + 68 pages

Keywords: *Eustrongylides excisus*, DNA, *Sander lucioperca*.

TEŞEKKÜR

Bu araştırmanın konusu, deneysel alışmaların ynlendirilmesi, sonuların değerlendirilmesi ve yazımı aşamasında yapmış olduğu büyük katkılarında dolay tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Mehmet Oğuz ÖZTÜRK, araştırma ve yazım süresince yardımlarını esirgemeyen Sayın Prof. Dr. Ahmet SERTESER ve Sayın Dr. Öğr. Üyesi Müjgan KESİK OKTAY'a, her konuda öneri ve eleştirileriyle yardımlarını gördüğüm hocalarıma ve arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Bu araştırma boyunca maddi ve manevi desteklerinden dolay aileme teşekkür ederim.

Kevser ÖZTÜRK
Afyonkarahisar 2023

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

	Sayfa
ÖZET	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER DİZİNİ.....	iv
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	ix
RESİMLER DİZİNİ	x
1. GİRİŞ.....	1
2. LİTERATÜR BİLGİLERİ	3
2.1 <i>Eustrogylides excisus</i> Türünün Taksonomik Konumu.....	3
2.2 <i>Eustrogylides excisus</i> 'un Anatomik ve Morfolojik Özellikleri.....	3
2.3 <i>Eustrogylides excisus</i> 'un Sinonim Taksonları Üzerine Çalışmalar.....	6
2.4 <i>Eustrongylides excisus</i> 'un Yaşam Döngüsü	8
2.5 <i>Eustrogylides excisus</i> 'un Tanısı.....	10
2.6 <i>Eustrogylides excisus</i> 'ta Önleme ve Kontrol	10
2.7 <i>Eustrogylides excisus</i> 'un Konak Organizmalar Üzerindeki Patojenitesi.....	11
2.8 <i>Eustrogylides excisus</i> 'un İnsanlar Üzerindeki Parazit Etkisi.....	16
2.9 <i>Eustrogylides excisus</i> 'un Tedavisi.....	18
2.10 <i>Eustrogylides excisus</i> 'un Coğrafik Dağılımı Üzerine Yapılan Araştırmalar.....	18
2.11 <i>Eustrogylides excisus</i> 'un Moleküler Özellikleri Üzerine Yapılan Araştırmalar.....	27
2.12 <i>Sander lucioperca</i> 'nın Sistematik, Anatomik ve Morfolojik Özellikleri.....	29
2.12.1 Genetik Özelliği.....	31
2.12.2 Doğal Yaşam Ortamı.....	31
2.12.3 Üreme Biyolojisi.....	32
2.12.4 Biyoçeşitlilik Üzerindeki Etkisi.....	32
3. MATERYAL ve METOT	34
3.1 Eğirdir Gölü'nün Genel Özellikleri.....	34
3.2 Araştırma Numuneleri.....	36

3.3 DNA İzolasyonu.....	37
3.4 Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR).....	39
3.5 Agaroz Jel Elektforezi.....	40
3.6 Dizileme, Veri Analizleri ve Ağaç Oluşturulması.....	41
4. BULGULAR.....	43
4.1 <i>Eustrongylides excisus</i> 'un Anatomik ve Morfolojik Özellikleri.....	43
4.2 DNA İzolasyon Bilgileri.....	46
4.3 Dizileme Verileri.....	48
4.4 Filogram Analiz Verileri.....	51
5. TARTIŞMA ve SONUÇ.....	52
6. KAYNAKLAR.....	56
ÖZGEÇMİŞ.....	68

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

bp	Baz çifti
dH ₂ O	Distile su
HCl	Hidroklorik asit
NaCl	Sodyum Klorür
K	Potasyum
M	Molar
mL	Mililitre
µM	Mikromolar
mM	Milimolar
µg	Mikrogram
µL	Mikrolitre
µm	Mikromolar
Nm	Nanometre
V	Volt
cm	Santimetre
gr	Gram

Kısaltmalar

A	Adenin
BLAST	Temel Yerel Hizalama Aracı
C	Sitozin
DNA	Deoksiribonükleik asit
Cox	Sitokrom c oksidaz alt birimi
dNTP	Di-nükleotid trifosfat
EtBr	Etidyum Bromür
EDTA	Etilendiamin tetraasetik asit
F	Forward (İleri)
FASTA	Fast-all, FastA
G	Guanin
ITS	Integrative Tension Sensor
MT	Ağız Tüpü
mtCOI	Mitokondrial Sitokrom Oksidaz
mtDNA	Mitokondriyal DNA
ML	Maksimum Olabilirlik
MP	Maksimum Parsimoni
NAD	Nikotinamid Adenin Dinükleotit
NADH	Nikotinamid Adenin Dinükleotit Hibrit
ND	NanoDrop
PFI	Parazitik Frekans İndeksi
PH	Potansiyel Hidrojen
Ppm	Milyonda Bir Birim
PS	Ağız Önü Pre-Oral Diken
PZR	Polimer zincir reaksiyonu
R	Reverse (Ters)

RAPD	Rasgele çoğaltılmış polimorfik DNA
rDNA	Nükleer Ribozomal DNA
rRNA	Ribozomal RNA
RFLP	Restriksiyon parça uzunluk polimorfizmi
RPM	Dakikadaki devir sayısı
SDS	Sodyum dodesil sülfat
SEM	Taramalı Elektron Mikroskobu
SNPs	Tek nükleotid polimorfizmleri
Spp.	Türleri
SS	Spinal Kılıf
SVCV	Sazan Virüsünün Vektörü
T	Timin
TAE	Tris Asetat Asit
TBE	Tris Borik Asit
Tris	Trisaminometan
UPGMA	Aritmetik Ortalama İle Ağırlıklandırılmamış Çift Grup Yöntemi
UV	Ultraviyole

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 2.1 *Eustroglides excisus* yaşam döngüsü (İnt. Kyn. 2).....9



ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa

Çizelge 3.1 <i>Eustrongylides excisus</i> örneklerinde 18SrDNA ve 28S rDNA lokuslarının çoğaltılması ve dizilenmesinde kullanılan primerler.....	40
Çizelge 3.2 Filogram analizinde kullanılan <i>Eustrongylides</i> sp. izolatlarının verileri....	42
Çizelge 4.1 <i>Sander lucioperca</i> örneklerinin boy ve ağırlık değerleri ile <i>Eustrongylides excisus</i> verileri.....	43
Çizelge 4.2 <i>Eustrongylides excisus</i> örneklerinin 18SrDNA-28SrDNA lokusunun sekans verileri.....	47
Çizelge 4.3 <i>Eustrongylides excisus</i> örneklerinin 18SrDNA-28SrDNA lokusundaki A, T, G ve C nükleotidlerinin yüzde değerleri (%).....	48
Çizelge 4.4 <i>Eustrongylides excisus</i> örneklerinin 18SrDNA-28SrDNA dizilerindeki nükleotid varyasyon ve yüzde değerleri (%)	49
Çizelge 4.5 <i>Eustrongylides spp</i> örneklerinin 18SrDNA-28SrDNA lokus dizilerine göre ikili karşılaştırması (pairwise analizi).....	50
Çizelge 4.6 Mevcut çalışmadan ve GenBank veri tabanından bazı <i>Eustrongylides spp</i> örneklerinin 18SrDNA-28SrDNA nükleotid dizilerine dayanan maksimum likelihood (ML) ağacı.....	51

RESİMLER DİZİNİ

	Sayfa
Resim 2.1 <i>Eustrongylides excisus</i> 'da anterior uç.....	4
Resim 2.2 <i>Eustrongylides excisus</i> , A) yemek borusunun bağırsağa geçiş bölgesi B) kütikülün enine çizgileri.....	4
Resim 2.3 Erkek <i>Eustrongylides excisus</i> 'da arka uç.....	5
Resim 2.4 <i>Eustrongylides excisus</i> larvasının SEM mikrografları.....	6
Resim 2.5 <i>Eustrongylides excisus</i> , dördüncü evre larva.....	6
Resim 2.6 <i>Atherina boyeri</i> 'den toplanan <i>Eustrongylides excisus</i> örneklerinin patolojik ve makroskopik görünümü.....	14
Resim 2.7 Bir <i>Aphanius transgradiens</i> 'te <i>Eustrongylides excisus</i> olgusu.....	15
Resim 2.8 Bir <i>Aphanius sureyanus</i> 'un karın boşluğunda lokalize bir <i>Eustrongylides excisus</i> , mezenter damarlarında belirgin hiperemi.....	15
Resim 2.9 Parazitler çevresinde inflamatuvar reaksiyon.....	16
Resim 2.10 <i>Sander lucioperca</i> genel görünümü.....	30
Resim 2.11 <i>Sander lucioperca</i> 'nın dünyadaki genel yayılışı.....	32
Resim 3.1 Eğirdir Gölü haritası	35
Resim 3.2 Eğirdir Gölü 'nden yakalanan <i>Sander lucioperca</i> örnekleri.....	35
Resim 3.3 Enfekte <i>S. lucioperca</i> 'dan toplanan <i>Eustrongylides excisus</i> örnekleri.....	36
Resim 3.4 DNA izolasyonu için numaralandırılan <i>E. excisus</i> örnekleri.....	38
Resim 3.5 DNA izolasyonu için eppendorflara aktarılan <i>E. excisus</i> örnekleri.....	38
Resim 3.6 DNA izolasyonu için eppendorf tüplerine aktarılan <i>E. excisus</i> örnekleri.....	39
Resim 4.1 <i>Sander lucioperca</i> peritonunda <i>Eustrongylides excisus</i> olgusu.....	44
Resim 4.2 Araştırma materyalleri olan <i>Eustrongylides excisus</i> örnekleri.....	44
Resim 4.3 <i>Eustrongylides excisus</i> 'ta anterior uç.....	45
Resim 4.4 Dişi <i>Eustrongylides excisus</i> 'ta kaudal uç.....	45
Resim 4.5 <i>Eustrongylides excisus</i> örneklerine ait 18S rDNA lokusunun elektroforez görüntüleri ve Marker DNA.....	46

1. GİRİŞ

Parazitik türleri bünyesinde bulunduran *Eustrongylides* spp Kuzey ve Güney Amerika, Avrupa, Doğu Afrika ve Asya kıtalarında olmak üzere geniş coğrafi alanlarda dağılım gösterir (Moravec vd. 2003). Bu taksondaki organizmalar insanlar dahil konakçılar üzerindeki potansiyel patojenite özellikleri nedeniyle büyük ilgi görmektedir (Xiong vd. 2009). *Eustrongylides* cinsinde (Nematoda: Dioctophymatidae) *E.tubifex*, *E.ignotus* ve *E.excisus* olmak üzere üç geçerli tür kabul edilmektedir (Moravec vd. 2003).

Heteroksen yaşam döngüsüne sahip *Eustrongylides* spp'nin larval L1 ila L3 evreleri tatlı su oligoketlerinde bulunur. *Eustrongylides* spp L4 larvaları ikinci ara konak olarak *Perca flavescens*, *Sander lucioperca*, *Lepomis gibbosus*, *Neogobius melanostomus*, *Fundulus heteroclitus* ve *Ponticola gorlap* dahil otuzdan fazla balık türlerinin kaslarında veya viseral serozalarda kapsüllenmiş olarak vücut boşluklarında bulunur (Chepurnaya 2010). Amfibi ve sürüngen türleri de paratenik konak rolü üstlenebilir (Bjelić-Čabrilo vd. 2013). *Eustrongylides* spp'nin olgun evresi enfekte balıkları, amfibileri veya sürüngenleri yiyen ve son konakçı özelliğinde olan *Phalacrocorax carbosinensis*, *Pelecanus pygmaeus*, *Pelecanus onocrotalus*, *Dalmatian pelecans* ve *Phoca caspica* gibi su kuşlarının yemek borusu, proventrikulus ve bağırsağında yaşar (Guagliardo vd. 2019, Zhokhov ve Pugacheva 2019).

Günümüzde Internal transcribed spacer (ITS rDNA) ve mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I (mtCOI DNA) bölgelerinin dizilimini kullanan moleküler analizler, larval ve yetişkin düzeyinde *Eustrongylides* spp'nin doğru tanımlanması için yararlı olduğu kanıtlanmıştır (Abe 2011, Xiong vd. 2013, Kuraiem vd. 2020, Guardone vd. 2021). Bu kapsamda Mazzone vd. (2019), anatomik ve morfolojik tanımlamalarla birlikte ITS dizi tabanlı moleküler yöntemlerle, *Eustrongylides excisus* türünün hem yetişkinlerini hem de L4 larval evrelerinin tür tanımlamasını yapmıştır. Benzer şekilde Pekmezci ve Bölükbaş (2021), L4 evresindeki *Eustrongylides excisus* örneklerinin ITS bölgelerine dayalı ikili genetik mesafe analiz sonuçlarını Mazzone vd. (2019)'nin yetişkin evredeki *Eustrongylides excisus* örnekleri ile karşılaştırmış ve aynı taksona ait oldukları sonucuna ulaşmıştır.

Bu çalışmada; Eğirdir Gölü'nden *Sander lucioperca*'da kaydedilen Larval-4 evredeki *Eustrongylides excisus* türüne ait örneklerin taksonomik konumları 18SrDNA-28SrDNA lokuslarına ait dizi verileri kullanılarak tanımlanmıştır. Araştırma materyali olan *Eustrongylides excisus* örneklerinin 18SrDNA-28SrDNA lokuslarına ait dizi verileri, NCBI veri tabanındaki *Eustrongylides excisus* izolatları ile uyum analizine tabi tutulacaktır. Elde edilecek sonuçlarla, *Eustrongylides excisus* türünün yerel ve küresel ölçekteki genetik özelliklerinin ortaya çıkarılmasına katkı sağlanacaktır.



2. LİTERATÜR BİLGİLERİ

2.1 *Eustrongylides excisus* Türünün Taksonomik Konumu

Alem : Animalia

Şube : Nematoda

Sınıf : Enoplea

Altsınıf : Dorylamia

Takım : Dioctophymatida

Alttakım : Dioctophymatina

Üst aile : Dioctophymatoidea

Aile : Dioctophymatidae

Alt aile : Eustrongylinae

Cins : *Eustrongylides*

Tür : *Eustrongylides excisus* Jägerskiöld, 1909

Synonyms: *Eustrongylides formosensis* Sugimoto, 1933

Eustrongylides indicus Ali, 1971

Eustrongylides phalacrocoracis Johnston and Mawson, 1941

Eustrongylides plotinus Johnston and Mawson, 1941

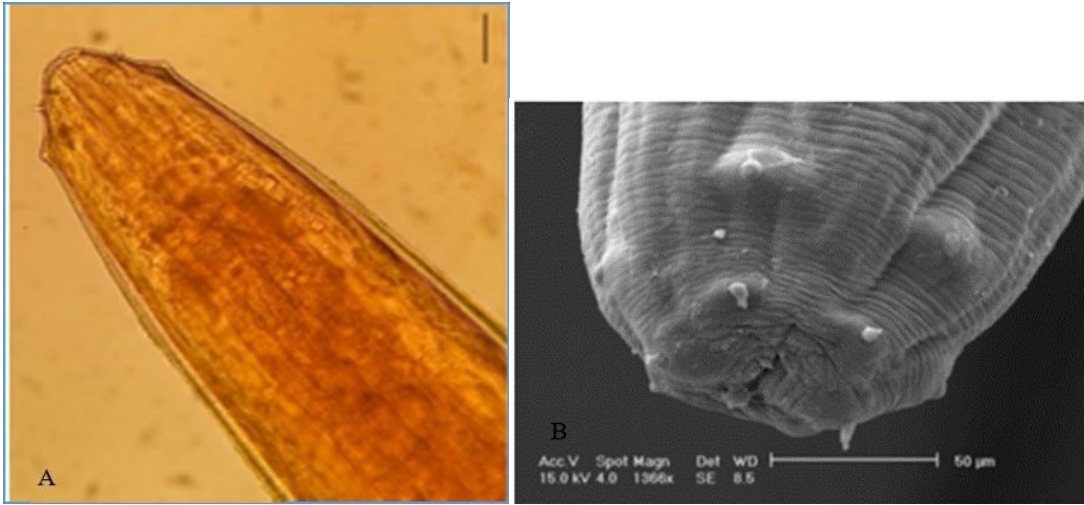
Eustrongylides tricolor Sugimoto, 1931 (İnt. Kyn. 1)

2.2 *Eustrongylides excisus*'un Anatomik ve Morfolojik Özellikleri

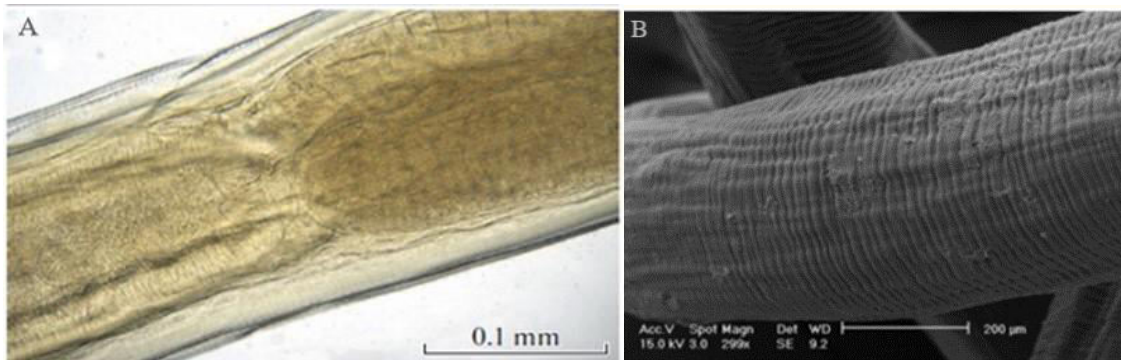
Eustrongylides excisus parazitinin gövdesi orta bölümde genişler ve uçlara doğru daralır. Baş ucu şişkin değildir, kütikülün dikenleri yoktur ve enine dış hatları uçlarda daha belirgindir (Honcharov vd. 2022).

Ağız boşluğu, genel olarak sıralar halinde düzenlenmiş, her birinde 6 papilla bulunan iki daire içinde 12 labial papilla bulunan sefalik ekstremite vardır. İki lateral, iki subventral ve iki subdorsal papilladan oluşan, dar tabanlı ve diken benzeri tepeleri olan büyük iç papillalara sahiptir (Resim 2.1). İki lateral, iki subventral ve iki subdorsal papilladan oluşan küçük dış papillaları, geniş tabanlı ve meme başı benzeri uçlardır. Her iki dairenin lateral labial papillaları, subventral ve subdorsal labial papillalardan daha

öndedir. Labial papillaların iç ve dış çemberleri arasında dört küçük, düz lateral alan papillası bulunur. Anteriordan posterior ekstremiteye her lateral alanda tek sıra halinde somatik papilla bulunur. Bukal boşluk, dar, kısa, kütikül ile kaplıdır. Arka kas kapakçığı bağırsağa çıkıntı yapan uzun bezsi-glandüler özofagus bulunur (Resim 2.2). Rektum kısadır ve kütikül ile kaplıdır (Measures 1988).



Resim 2.1 *Eustrongylides excisus*'da anterior uç. Ağız açıklığının çevresinde iki sıra papilla. A: Işık mikroskop görüntüsü (Honcharov vd. 2022), B: Elektron mikroskop görüntüsü (Branciari vd. 2016)



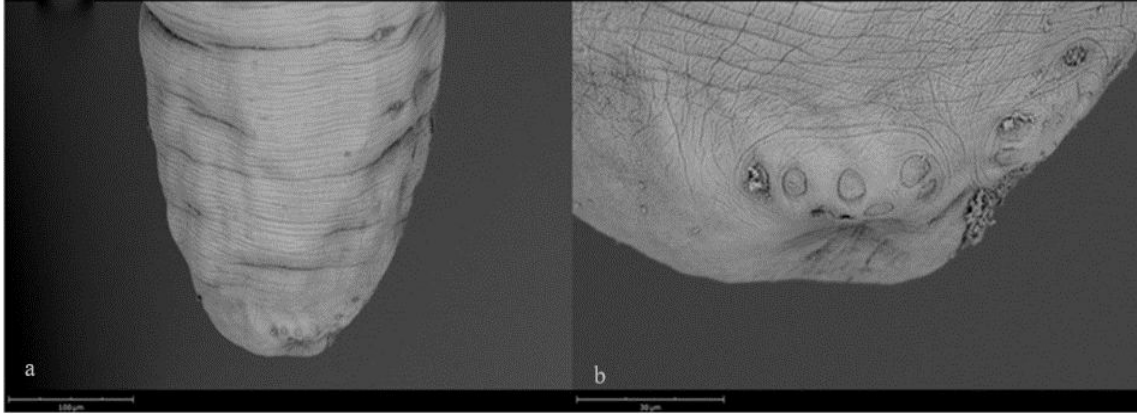
Resim 2.2 *Eustrongylides excisus*, A: yemek borusunun bağırsağa geçiş bölgesi (Zhokhov vd. 2019), B: kütikülün enine çizgileri (Branciari vd. 2016).

Türün Karakteristik Özellikleri: İç kısımdaki papillalar dışdakilere göre daha büyüktür. Bu, *Eustrongylides excisus*'u *Eustrongylides tubifex*'ten ayırır. Kaudal vantuzun dış çevresi indirgenmiş bir kütikül kenarına sahiptir ve kaudal yapının iç tarafı bir dizi kütikül çıkıntıya sahiptir ve kaudal yapıda derin bir ventral yarık bulunur. Kaudal yapının bu özellikleri de *E. excisus*'u *E. ignotus*'tan ayırır (Measures 1988).

Karakteristik Erkek Eşey Özellikleri: Ortalama uzunluk 56 mm'dir. Tabanda sefalik papilla yüksekliği ve genişliği: iç 25-28 X 27-28 μm , dış 20 23 X 48-50 μm 'dir. Bukkal boşluk 58 μm uzunluğundadır. Sinir halkası ön uçtan 98 μm uzaklıktadır. Sinir halkası bölgesinde vücut genişliği 275 μm 'dir. Yemek borusu 10 mm uzunluğundadır. Orta bölümde gövde genişliği 0,6 mm'dir. Rektum 350 μm uzunluğundadır. Arka ekstremitte kaslı vantuzla doğru genişlemiştir. Kaudal uç iç kütikül yüzeyinde mevcut tüberküller vardır. Kütiküler çıkıntılar sıralı olarak iç tarafta yer alır. Spikül 8.8 mm uzunluğundadır, basit distal uç kısmı, iğneye benzer. Spikülün kas kılıfı kalın, spikülün proksimal ucunun ilerisine uzanır (Resim 2.3) (Measures 1988).

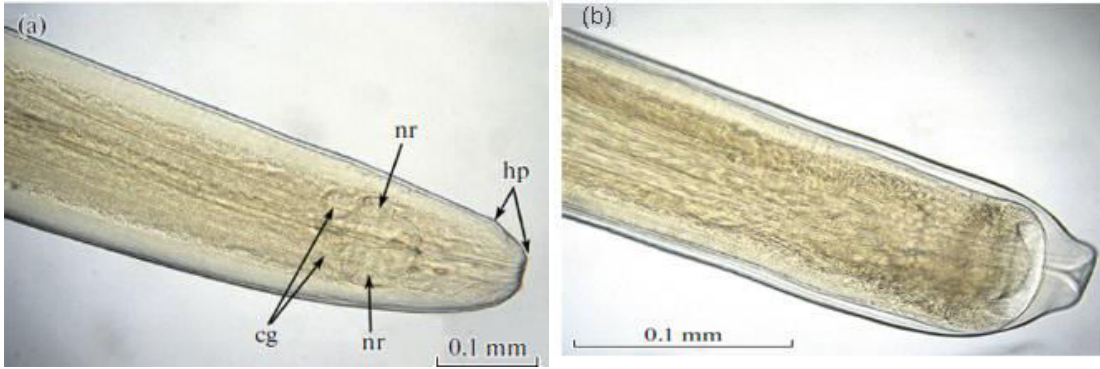


Resim 2.3 Erkek *Eustrongylides excisus*'da arka uç (Honcharov vd. 2022).



Resim 2.4 *Eustrongylides excisus* larvasının SEM mikrografları. a: kaudal uç, b: kaudal papilla detayı (Menconi vd. 2021).

Karakteristik Dişi Eşey Özellikleri: Ortalama vücut boyu 42 mm'dir. Bukkal boşluk 100 μm uzunluğundadır. Sinir halkası ön uçtan 170 μm uzaklıktadır. Vücut genişliği sinir halkası hizasında 315 μm'dir. Yemek borusu 13 mm uzunluğundadır. Orta bölümde gövde genişliği 1,6 mm'dir. Rektum 710 μm uzunluğundadır. Arka uça genişlik 630 μm'dir. Terminal anüs ile arka uç küttür (Resim 2.5). Vulva terminali, anüsün ventralindedir (Measures 1988).



Resim 2.5 *Eustrongylides excisus*, dördüncü evre larva (a) sefalik uç; (b) kaudal uç. nr: sinir halkası; hp: baş papillası; cg: servikal bezler (Zhokhov vd. 2019).

2.3 *Eustrongylides excisus*'un Sinonim Taksonları Üzerine Çalışmalar

Aşağıdaki beş sinonim takson ve bir alttür, *E. excisus*'un eşanlamlıları olarak kabul edilir (Measures 1988).

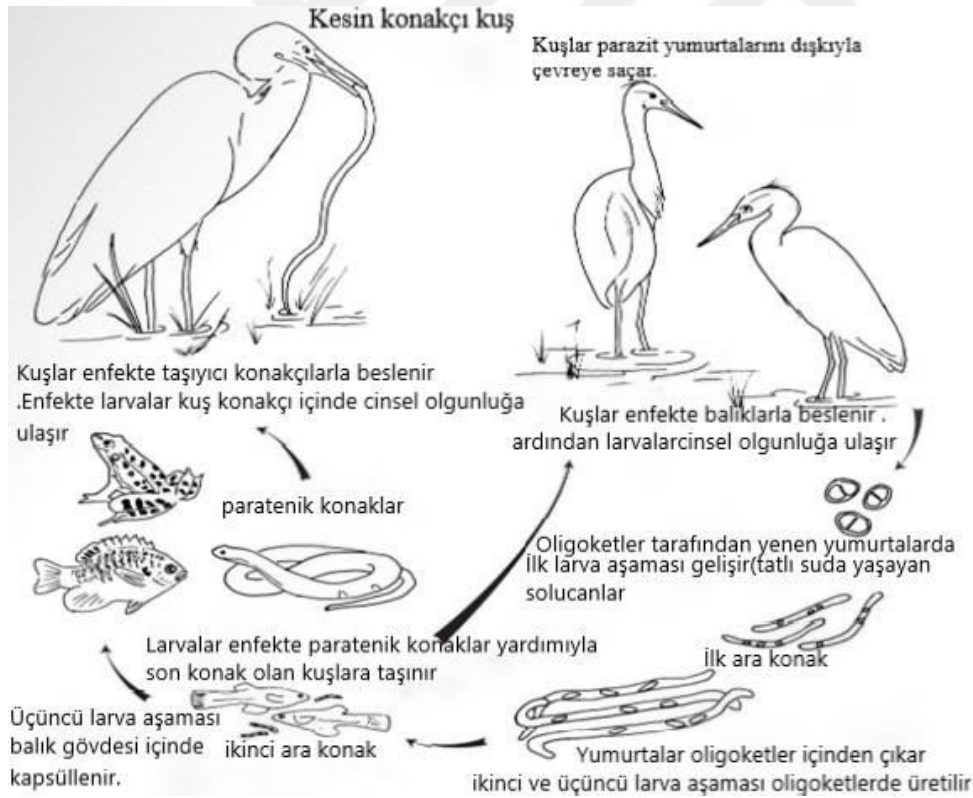
1. *Eustrongylides formosensis*, Taihoku, Tayvan'dan *Nycticorax nycticorax*'ın (L.) taşlığından tanımlanmıştır. Erkeğin sefalik papillası, spikülü ve kaudal yapısı *Eustrongylides excisus* ile benzerdir.
2. *Eustrongylides indicus*, Hyderabad, Andhra Pradesh, Hindistan'dan *Threskiornis aethiopicus melanocephalus*'un (Latham) proventrikulusundan tarif edilmiştir. Spikül uzunluğu ise yukarıda *E. excisus* için verilenden biraz daha kısadır ve 7,6 mm olarak verilmiştir. Bununla birlikte, erkeğin sefalik papillası ve kaudal yapısı *Eustrongylides excisus* ile aynıdır.
3. *Eustrongylides phalacrocoracis*, Tailem Bend ve Adelaide, Güney Avustralya'dan *Phalacrocorax melanoleucos* (Vieillot) midesinden tanımlanmıştır. Sefalik, papilla, spikül uzunluğu (10.2 mm) ve kaudal yapı, *E. excisus* ile benzerdir.
4. *Eustrongylides plotinus*, Bumett River, Queensland, Avustralya'dan *Anhinga melanogaster rufa*'dan (Daudin) (*Plotus novae hollandiae*) tanımlanmıştır. Spikül uzunluğu (13 mm), *E. excisus*'ta bildirilenden biraz daha büyüktür. Johnston ve Mawson (1944), erkekte *E. excisus*'takine benzer sefalik papilla ve ventral yarık tanımlanmıştır.
5. *Eustrongylides tricolor*, Taihoku, Tayvan'dan *Anas platyrhynchos* L.'nin (= *Anas boschas domesticus*) proventrikulusundan tanımlanmıştır. British Museum'dan (Natural History) (Nos. 1932.1.25.17 - 19) daki paratipler, *E. excisus*'un orijinal tanımında kullandığı örneklerle benzer bulunmuştur.
6. Hoeppli vd. (1929), Çin'den ardeidlerden (*N. nycticorax*), *Ardeola bacchus* (Bonaparte) *Eustrongylides excisus amoyensis*'i tanımlanmıştır. Hoeppli vd. (1929) tarafından orta gövdenin genişlemesiyle ayırt edilmiştir. Bu özellik, daha sonra *excisus*'ta gözlenmiş ve taksonomik olarak anlamlı olmadığı düşünülmüştür (Karmanova 1968). Bu nedenle, *E. excisus amoyensis*, *E. excisus* ile eş anlamlı olarak kabul edilmiştir.

2.4 *Eustrongylides excisus*'un Yaşam Döngüsü

Eustrongylides spp, çeşitli tatlı su balıklarını ve balık yiyen kuşları (*Phalacrocorax carbo sinensis*, *P. pygmaeus*, *Phoca caspica*) enfekte eden Dioctophymatidae familyasına ait parazitik nematodlardır (Karmanova 1968). Bu nematodlar, ilk ara konaklar olan *Lumbriculus variegatus*, *Tubifex tubifex* veya *Limnodrilus* spp. tatlı su oligoketlerini (L1 ila L3 larva aşaması), ikinci ara konak olarak tatlı su balıklarını, amfibileri veya sürüngenleri (L4 larva aşaması) ve kesin konakçı olarak balık yiyen kuşları (yetişkin aşaması) içeren bir yaşam döngüsüne sahiptir. Enfekte balıklarla beslenen yırtıcı balık türleri, amfibiler ve sürüngenler *E.excisus* parazitleri için paratenik konak olarak hizmet edebilir ve balık yiyen kuşları enfekte edebilir. *Eustrongylides*'in üçüncü evre larvaları, balığın vücudunun boşluğunda serbest halde veya iç organların yüzeyinde ince bir seröz zar altında kıvrılmış halde bulunur. Dördüncü evre larvaları genellikle vücut boşluğunda bağ dokusu kapsülleri oluşturur. Bu nematod türü için balık, ikinci ara ve rezervuar konakçı görevi görür. Erişkinler, *Ciconiiformes*, *Anseriformes*, *Gaviiformes* ve *Pelecaniformes* gibi piscivore kuşların yemek borusu, proventrikulus veya bağırsaklarının mukozasında yaşarlar (Bjelić-Čabrilo vd. 2013).

Parazitin iki ara konak, paratenik konak ve kesin konak içeren karmaşık bir yaşam döngüsü vardır. Bu nedenle yaşam döngüsü heteroksendir. Ara konaklar ve kesin konaklar, diğer konaklara parazit taşınmasını ve gelişecek bir yer sağlarken, paratenik konaklar yalnızca diğer konaklara taşıma sağlar. *Eustrongylides* spp'nin yaşam döngüsü, yumurtadan cinsel olarak olgun solucana kadar beş aşama içerir (Bjelić-Čabrilo vd. 2013). Nematod gelişim döngüsü, ilk larva aşaması yumurta içinde gelişir ve son konak olan enfekte kuş tarafından bir su kütlelerinin içine veya yakınına dışkıyla atılmasıyla başlar. Dışkıdaki yumurtalar suya ulaştıklarında bir oligoket tarafından parazitin yumurtaları yutulur. Oligoket solomunda veya organlarında, parazit larvaları yumurtadan çıkar, ikinci ve üçüncü aşama larvalara dönüşür. Larva, ikinci ara konakçıyı bir balığı istila edebilir hale gelir. Balık enfekte olmuş oligoket ile beslendiğinde, ikinci ara konak olur ve balıkların mide-bağırsak sistemine giren larvalar bağırsak duvarını deler ve bağırsak dışı boşluğa girer. Daha sonra nematod larvaları vücut boyunca göç eder. Göç eden larvalar balığın kas dokusu, hepatopankreas ve gonadlarına

yerleşebilir. Larvalar balığın gövdesinde kaldıkça iki kez kılıf değiştirirler ve üçüncü ve dördüncü gelişim evrelerine ulaşırlar (Cole 1999). Son olarak, bir kuş enfekte olmuş balıkla beslendiğinde, son konak rolü oynar ve *Eustrongylides excisus* cinsel olarak olgunlaşır. Parazit enfeksiyondan 14 ila 23 gün sonra yumurta bırakır. Döngü, parazit cinsel olarak olgunlaştığında ve kuşun dışkıyla yoluyla dış ortama yumurta bıraktığında kendini tekrar eder. Balık yiyen kuşların dışkılarıyla sulara giren yumurtalar, yaşamsal işlevlerini 2-2,5 yıl kadar sürdürebilmektedir (Bjeli-Cabrilo vd. 2013). Yumurtaların dış ortamda olgunlaşması 19-21 gün sürer, 2-5 gün sonra istila aşamasına gelirler. Serbest larvaların dış ortamda yaşama potansiyeli ve hızlı ölümler (Karmanova 1968). Ayrıca, *Sander lucioperca*, *Esox lucius*, *Atherina boyeri* gibi karnivor balıklar, amfibi veya sürüngenler, enfekte balıkla beslenirse, kesin konak tarafından beslenene kadar paratenik bir konak haline gelir (Şekil 2.1) (Spalding ve Forrester 1993).



Şekil 2.1 *Eustrongylides excisus* yaşam döngüsü (İnt kay 2).

2.5 *Eustrongylides excisus*'un Tanısı

Konak canlıda otopsi yapılmadan önce, dokuda sert, organlara sıkıca bağlı ve deri altı dokuda hissedilen tübüler lezyonları bulmak için palpasyonla tanı kullanılabilir. Palpasyon pratik ve basit olmakla birlikte, kaburgaları lezyon olarak ortaya çıkma potansiyeline sahip olduğundan, küçük konakların muayenelerinde hatalar yapılabilir. Teşhise dışkı örnekleri incelenerek de ulaşılabilir, ancak yüksek yanlış negatif potansiyeli vardır. Yine de en iyi teşhis şekli otopsidir. Otopsi sırasında, yetişkin veya larval nematodların ışık ve elektron mikroskobu ile incelenmesi en iyi tanı belirlenebilir (Spalding 1990).

2.6 *Eustrongylides excisus*'u Önleme ve Kontrol

Eustrongylides türlerinin çeşitli konukçu türlerle karmaşık yaşam döngüsü nedeniyle, enfeksiyonu önlemek ve salgınları kontrol etmek zordur. Bu hastalığın salgınları, tarımsal akış ve kentsel gelişim ile yakından bağlantılıdır. Su kütlelerinin ötrofikasyonu, solucanları yiyen enfekte balıkların ve ardından balıkları yiyen kuşların sayısının artmasına neden olan yüksek düzeyde oligoket bu parazitin sayıca artışını destekler (Franson ve Cluster 1994).

Eustrongylidosis önlemenin bir yolu, oligoket popülasyonlarını kontrol etmektir. Bu parazitin salgınları, bir bölgenin su yollarında çok sayıda oligoket solucanı ile yakından bağlantılıdır. Çünkü solucanlar, türlerin üremesi için gereklidir. Oligoket popülasyonları, sudaki besin seviyelerini izleyerek kontrol edilebilir. Yüksek besin seviyeleri oligoket popülasyonlarını destekler. Sudaki oksijen seviyesini azaltarak da kontrol edilebilirler. Kimyasal sızıntıyı azaltmak için sorumlu çiftçilik uygulamalarını teşvik etmek, bu parazit salgınına önleyebilir (Franson ve Cluster 1994).

Yöneticilerin, bir salgın haline gelmeden önce parazitin semptomlarını yakalamak için gayretli olmaları gerekir. Bir kez Eustrongylidosis salgını meydana geldiğinde, ekosistem yöneticileri oligoketlerde, balıklarda ve kuşlarda yayılmayı durdurmak için çok az şey yapabilirler. Geleneksel antelmintikler balıklarda etkili değildir çünkü

gastrointestinal sistem içinde yaşayan parazitleri öldürürler. Oysa *Eustrongylides* türleri midenin dışında vücut boşluğunda yaşar. Parazitler balıklardan ancak cerrahi olarak çıkarılabilir ve bu pratikte mümkün değildir. Balıkların yaşam döngüsünü tamamen durdurmak için parazitli tüm balıklar itlaf edilmelidir (Coyner vd. 2002).

2.7 *Eustrongylides excisus*'un Konak Organizmalar Üzerindeki Patojenitesi

Eustrongylides excisus, kuşların kursak dış yüzeyi veya balıklarda mide, karaciğer, yüzme kesesi ve karın boşluğunda bulunur (Resim 2.5). Ayrıca kursaktaki parazitin varlığı, parazit mideye girdiğinde bakteriyel peritonit, karın boşluğu duvarlarının iltihaplanması ve sepsis, bakterilerin kana sızması gibi ikincil enfeksiyonlara neden olur. Bir haftalıktan küçük kuşlar, çeşitli nedenlerle yaşlı kuşlara göre östrongilidoza daha duyarlıdır. Bunun nedeni bağışıklık sistemlerinin tam gelişmemiş olmasıdır. Genç kuşlardan farklı olarak, daha yaşlı kuşlar, daha güçlü bağışıklık sistemleri nedeniyle kronik östrongilidoz geliştirir. Genç kuşlara benzer şekilde, yaşlı kuşların kursaklarında lezyonlar vardır ve ikincil enfeksiyonlar gelişir. Hem genç hem de yaşlı kuşlarda yaygın bir davranış, iştahsızlığa ve sonunda anoreksiya veya zayıflamaya yol açan yiyeceğin regürjitasyonunu içerir. Bazı durumlarda, parazit akciğerde yaşayabilir ve stres seviyelerini ve hastalığın şiddetini artıran solunum problemlerine neden olabilir. Balıklarda parazit, vücut kondisyonunu etkileyerek onu hastalıktan çok predasyona karşı daha duyarlı hale getirir (Scholz 1999).

Franceschini vd. (2022), *Eustrongylides* spp.'nin dağılımını Orta İtalya'daki Trasimeno Gölünde bulunan *Perca fluviatilis*, *Micropterus salmoides*, *Atherina boyeri*, *Anguilla anguilla*, *Ictalurus melas*, *Cyprinus carpio*, *Tinca tincave* *Lepomis gibbosus* balıklarında incelemiştir. Menconi vd'nin (2020) araştırmasına oldukça benzeyen, *Eustrongylidosis* durumunda *Lepomis gibbosus*, *Micropterus salmoides* ve *Perca fluviatilis*'i gözlemlemiştir. İncelenen balıklarda anlamlı bir parazit dağılımı bulunmamıştır. Doğrudan dokularda lokalize olan parazit, konak organizmalarında kapsül oluşumu, ve melanizasyon olarak gösterilebilen en belirgin reaksiyona neden olur (Feist ve Longshaw 2008, Mitchell vd. 2009). Kapsül oluşumu, parazitin ölümü veya ortadan

kaldırılmasını önlemek için dinamik parazit-konak sistemini dengeleme parazit stratejisinin kilit noktasıdır (Parker vd. 2009). Histolojik incelemeler, kapsül oluşumundan bağımsız olarak, parazitlerin vücut yapılarını kapsülün içinde iyi bir şekilde tutabildiklerini göstermiştir. Bu nedenle balıklar, *Eustrongylides* için ara konaklar olarak kabul edilebilir. Nematod larvaları, sıkı kapsül oluşumu ve çevredeki inflamatuvar süreçleri, parazitlerin hayati aktivitesi üzerinde hiçbir etkisi yoktur (Guagliardo vd. 2019).

Parazitler, karın duvarının iç tarafında balığın vücudunda yarı saydam kapsüller oluşturur. Kapsüller, konağın dokularından oluşur ve *Eustrongylides* nematod larvaları, sıkı bir spiral veya geniş bir halka oluşturarak içlerine yerleşir. Parazitli kistler kesildiğinde, az miktarda sarımsı sıvının dışarı aktığı görülmüştür. Bu sıvı, iltihaplı eksüdanın bir unsuru ve nematod larvalarının hayati aktivitesinin ürünüdür. Konağın vücudundaki göç sırasında içi boş organlarda (mide ve bağırsak) spesifik kistler oluşur. İç organların duvarlarında serbestçe bulunan larvalar, bir kez daha döküldükleri belirli kapsüllerin oluşumu için konağın materyalini kullanmalarına izin veren doku ve organlara ulaşana kadar göç etmeye devam edebilir. Overstreet vd. (2003), *E. excisus* larvalarının serbest olarak yerleşebileceğini veya kas kalınlığında bir spiral oluşturabileceğini bildirilmiştir. Larvalar karın boşluğunu genişletir, ancak balığın ölümü nispeten nadiren kaydedilmiştir. Ölüm, enfekte balığın organizmasında ikincil enfeksiyonun yayılmasından kaynaklanabilir. *Eustrongylides* larvaları, kas dokusunda kanamalara neden olabilecek ortamın yüksek sıcaklıkları durumunda kapsülü terk ederek kas dokusu içinde göç edebilir (Cooper vd. 1978).

Eustrongylides nematodlarının fiziksel ve biyokimyasal özelliklerini inceleyen deneysel çalışmalar, parazit beslenmesinin ozmoz yoluyla gerçekleştiğini, parazitlerin konak dokularından oksijen alabildiğini göstermiştir. *Eustrongylides* larvaları aerobiktir. In vitro koşullarda yoğun olarak oksijen tüketirler, sıcaklığın artması durumunda oksijen tüketimi ve glikojen kaybı artma eğilimindedir (Brandt ve Simpson 1944). Konağın aç bırakılmasının doku parazitleri üzerinde hiçbir etkisi olmadığı kanıtlanmıştır. Gözlem, 65 gün boyunca aç bırakılan bir balığın vücudunda lokalize olan *Eustrongylides* larvalarında glikojen azalması göstermemiştir (Brandt 1944, 1952).

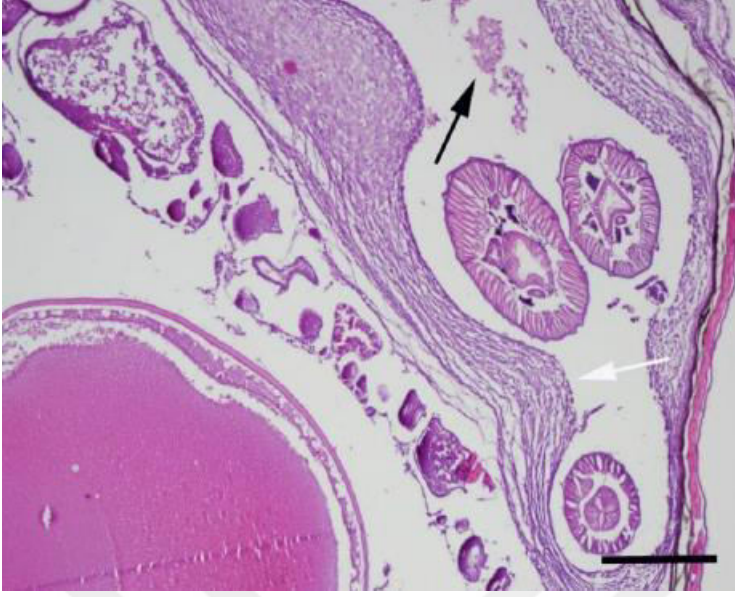
Eustrongylides larvalarının hemoglobine sahip olduğu bulundu. Biyokimyasal özellikler açısından bu hemoglobin, ortamda az miktarda oksijen olsa bile oksijeni daha iyi sabitleme yeteneğine sahip olduğundan, konakçıdan önemli ölçüde farklıdır (Brandt 1937). Demir içeren solunum pigmenti, kırmızı renkli parazitlerde bulunur (Brandt 1937). pH seviyesi tatmin edici değilse, *Eustrongylides*'in hidrojen iyonu aktivitesi optimuma doğru hareket eder. Bu uyarlanabilir özellik, özellikle gastrointestinal sistemde parazitlerin doğal olarak yer değiştirmesi alanındaki pH seviyesindeki önemli dalgalanmalardan kaynaklanır (Brandt 1942, 1943).

Noei vd.(2015), bu çalışma, örneğin dört mersin balığı türünün parazit topluluklarının durumunu belirlemek için yapılmıştır. Bu amaçla, Mart 2010'dan Mayıs 2011'e kadar Hazar Denizi'nin güneybatısındaki (Guilan Eyaleti, İran) iki balıkçılık bölgesinde dört mersin balığı türünden toplam 93 birey bulunmuştur. İncelenen balıkların istila edilmiş dokularının histolojik preparatları alınmıştır. Parazitlerin histopatolojik etkilerinin incelenmesi için hazırlanmıştır. Ortalama yoğunluk, yaygınlık, bolluk ve baskınlık dahil olmak üzere klasik epidemiyolojik değişkenler, mevsim, coğrafi bölge ve cinsiyete göre gruplandırılmış ve hesaplanmıştır. İncelenen balık dokularında *Eustrongylides excisus* larvarı bunların balıkların histopatolojik dokuları üzerindeki etkileri tespit edilmiştir.



Resim 2.6 *Atherina boyeri*' den toplanan *Eustrongylides excisus* örneklerinin patolojik ve makroskopik görünümü. Viseral (a) ve kas (b) lokalizasyonu ile (c, d) parazitin genel görünümü (Guardone vd. 2021).

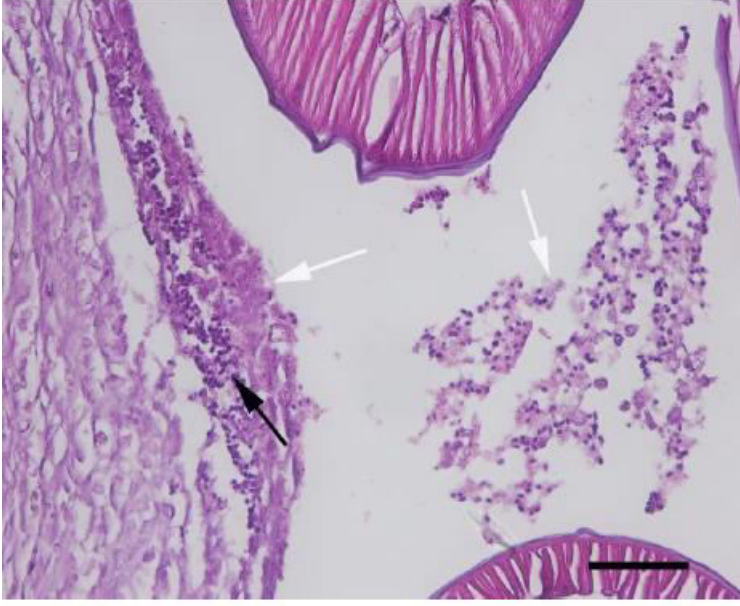
İnnal vd. (2019), *E. excisus*'un konakta hiperemi, hemoraji ve inflamatuvar reaksiyonlar gibi patolojik olgulara neden olabileceği belirtmiştir. Karın boşluğunun histopatolojik incelemesinde, oluklu lokalizasyon sebebiyle bir parazite ait çok sayıda parazit kesitine rastlanmıştır. Dişi balıklarda parazitlerin çoğu yumurtalıkların yakınında görülmüştür. Parazitler ince bir fibröz doku ile örtülü olup, parazitlerin etrafında yaygın olarak inflamatuvar hücre infiltrasyonları gözlenmiştir. Histopatolojik inceleme sonucunda parazitlerin granümatöz reaksiyon ve dağınık lenfositlerden oluşan kapsüllerle çevrelediği gözlenmiştir. Genellikle gonadlarda hiperemi, mikro kanamalar ve ödem gözlenmiştir. Parazit nodül merkezlerinde nekrotik kalıntılar ve enflamatuvar hücreler saptanmıştır. Karın boşluğunda serbest parazitlerin varlığı durumunda, mezenter damarlarının ciddi şekilde hiperemik olduğu tespit edilmiştir (Resim 2.7-2.9) .



Resim 2.7 Bir *Aphanius transgradiens*'te *Eustrongylides excisus* olgusu (oklar). A: Konağın balık yumurtalığından lifli bir kapsül (beyaz ok). Ayrılan parazitler ve parazitin etrafındaki enflamatuar reaksiyon (siyah ok). Ölçü çubuğu: 200 μm (İnnal vd. 2019).



Resim 2.8 Bir *Aphanius sureyanus*'un karın boşluğunda lokalize bir *Eustrongylides excisus*. Mezenter damarlarında belirgin hiperemi (ok). Ölçü çubuğu: 100 μm (İnnal vd. 2019).



Resim 2.9 Parazitler çevresinde inflamatuvar reaksiyon (siyah ok) ve nekrotik debris (beyaz ok). Ölçü çubuğu: 50 µm (İnnal vd. 2019).

2.8 *Eustrongylides excisus*'un İnsanlar Üzerindeki Parazit Etkisi

Eustrongylidosis, son yıllarda dünya çapında artan prevalansı ile görülme sıklığı artan bir helmintozdur. Parazit döngüsündeki rolü nedeniyle epidemiyolojik bir ilginin yanı sıra, *E. excisus*'un çalışma alanındaki raporu olası kalite ve halk sağlığı sorunlarını ortaya çıkarmaktadır (Guardone vd. 2021). Bu parazit nadir görülen zoonotik enfeksiyonlardan sorumlu bir tür olarak kabul edilmektedir (Eiras vd. 2018).

Eustrongylides spp gibi zoonotik parazitler etçil organizmaları ve bunlarla beslenen insanları enfekte edebildikleri için oldukça önemlidir (Mohammad vd. 2011). Bir insan yeterince ısıtılmış işlem görmemiş balık veya balık ürünlerini tüketirse Eustrongylidosis ile enfeksiyona yakalanabilir (Deardorff vd. 1991). Bugüne kadar ABD'de en az beş, Güney Sudan'da iki vaka bildirilmiştir. ABD'de enfeksiyon yerel olarak hazırlanmış suşiye atfedilen bir vaka dışında, balıkçılar tarafından canlı minnows tüketiminden kaynaklanmıştır. Parazitlerin gastrointestinal sisteme girmesini takiben, kontamine balığın yutulmasından sonraki 24 saat sonra mide bölgesinde şiddetli karın ağrısı göstermiştir. ABD'den bildirilen beş vakadan dördü ameliyat gerektirmiş ve bu sırada solucanlar karından çıkarılmıştır.

Artan çiğ veya az pişmiş balık tüketim eğilimi dikkate alındığında insan beslenme alışkanlıklarındaki değişikliklerin balık kaynaklı zoonozun bulaşmasındaki etkileri göz önünde bulundurulduğunda halk sağlığı sorunları ortaya çıkabilir (D'Amico vd. 2014, Pozio vd. 2013, Scaramozzino vd. 2018, Scholz vd. 2009).

Bu parazit Güney Sudan'da iki kadında atipik bir seyri olduğu kaydedilmiştir. Alt ekstremite distal segmentindeki granülomlarda deri altından lokalize parazitler çıkarılmıştır (Eberhard vd. 2014). Dolayısıyla bu parazit türünü taşıyan ticari balıklar, insanlar ve hayvanlar için potansiyel olarak tehlikeli olabilir ve genel epidemiyolojik refahı tehdit edebilir. Bu nedenle, özellikle daha önce belirli bir bölgede kayıtlı olmayan zoonotik helmintlerin yayılması konusu özel bir dikkat gerektirmektedir (Honcharov vd. 2022).

Parazit döngüsündeki rolü nedeniyle epidemiyolojik bir ilginin yanı sıra, bu türün varlığı olası halk sağlığı sorunlarına ve deniz ürünleri kalitesine ilişkin sonuçlara işaret etmektedir. Çünkü *A. boyeri*, İtalya'da olduğu kadar çeşitli Akdeniz ülkelerinde de yerel olarak oldukça tercih edilen bir türdür. Hırvatistan, Yunanistan, İspanya ve Türkiye'de *Eustrongylides excisus* türünün, insan helmintoz vakalarında nedensel bir ajan olduğu henüz kanıtlanmamış olsa da, insan vakalarında yer alan türlerin coğrafi dağılımını açıklayan daha fazla veri mevcut olana kadar zoonotik potansiyel göz ardı edilemez. Bu nedenle, *A. boyeri*'nin hazırlanma ve işlenme yöntemi ve artan çiğ veya az pişmiş balık tüketim eğilimi de dikkate alınmalıdır. Tatlı su tedarik zinciri boyunca uygun sıhhi önlemlerin uygulanması ihtiyacının iletilmesi ve tüketicileri yabancı balıklarda parazitlerin doğal oluşumu konusunda eğitilmesi esas olmalıdır (Guardone vd. 2021).

Bu nedenle, özellikle *Eustrongylides* larvalarının sadece iç organlarda değil, aynı zamanda çok çeşitli balıkların etlerinde de bulunduğu düşünüldüğünde, halk sağlığı sorunları ortaya çıkabilir (Food and Drug Administration, 2012). *Eustrongylides* larvaları, pembe-kırmızı renkleri ve boyutları nedeniyle de açıkça görülebilmesine ve bu nedenle Gıda İşletmecileri (FBO) tarafından daha kolay uzaklaştırılmasına/atılmasına rağmen, Avrupa ve İtalya mevzuatının gerektirdiği önleyici prosedürlerin doğru uygulanması, deniz ürünlerinde parazitolojik riskin yönetilmesi için son derece

önemlidir (D'Amico vd. 2014, Pozio vd. 2013, Scaramozzino vd. 2018, Scholz vd. 2009).

2.9 *Eustrongylides excisus*'un Tedavisi

Eustrongylidosis tedavisi, mide astarındaki geniş miktarda perforasyon ve tedavi için mevcut sınırlı yapılar nedeniyle, kuş popülasyonunda sınırlıdır. Parazitlerle enfekte olan insanlarda, bağırsak duvarından çıkarmak için ameliyat gerekir. Cerrahi, toplu halde yabani doğada gezen kümes hayvanları için uygun bir tedavi seçeneği olmadığından, enfekte olmuş yabani kuşlar için tedavi yöntemi bulunamamıştır veya bulunsa da muhtemelen pratik uygulaması olmayacaktır. Ayrıca, bu nematodların öldürülmesi veya uzaklaştırılması, konak organizmaya yarardan çok zarar verme olasılığı da vardır (Spalding ve Forrester 2008).

2.10 *Eustrongylides excisus*'un Coğrafik Dağılımı Üzerine Yapılan Araştırmalar

Eustrongylides nematod larvaları ile ikinci ara konakların yani balıkların istilaya uğraması, büyük ölçüde ortamın sıcaklığına bağlıdır. Bu nedenle mevsimsel bir karaktere sahiptir. Yaşamsal aktiviteyi ve yumurtaların olgunlaşmasını sürdürmek için en uygun sıcaklık 20 – 30 °C'dir. *Eustrongylidosis*'in mevsimsel salınım dinamikleri birkaç ana faktöre bağlıdır: Bunlar ortamın sıcaklığı, balığın beslenme yoğunluğu, parazitin gelişme periyodu ve balık yiyen kuşların ortamdaki varlığıdır (Cole 1999).

Cullinan (1945), Baltimore yakınlarındaki Chesapeake Körfezi'nde *Eustrongylides* nematodları ile enfekte olmuş 465 *Fundulus heteroclitus*'un %54,7'sinin dişi ve %45,3'ünün erkek olduğunu bulmuştur. Yazar ayrıca larva boyutunun balık boyutuna bağlı olduğunu belirtmiştir.

Ilıman karasal iklim kuşağında yer alan Avrupa ülkelerinde (Ukrayna, Moldova vb.) ilkbaharda enfeksiyon oranı zirveye ulaşır. Böylece, Moldova Cumhuriyeti'ndeki Kuchurgan rezervuarının balıkları arasında, *Eustrongylides* enfeksiyonu yıl boyunca kaydedilmiştir, ancak en yüksek noktaya ilkbaharda ulaşmıştır (Moshu 2014).

Dnipro-Buh Haliçinin (Ukrayna) yırtıcı balıkları arasında östrongylidozun mevsimsel dinamikleri, sonbaharda ve ilkbaharda olmak üzere iki zirve kaydedilmiştir. Ancak enfeksiyon yaygınlığı ve yoğunluk oranları ilkbaharda zirveye ulaşmıştır. En yüksek enfeksiyon yüzdesi levrekte %95,4, sudak balığında %81,8 ve turna balıklarında %80,4'dir. Yaz aylarında levrek, sudak balığı ve turna balığı için enfeksiyon yaygınlığı sırasıyla %72,7, %41,6 ve %55,5'tir. Kışın *Eustrongylides* enfeksiyon yaygınlık oranları oldukça düşük seviyeye inmiştir. Bu dönemde enfeksiyon olgusu levrek, sudak ve tuna balığı için sırasıyla %66,6, %35,7 ve %26,6'dır (Honcharov vd. 2017).

Martins vd. (2009) göre, Brezilya'da Paran Nehri'nde *Eustrongylidosis* ile enfekte olan *Hoplias malabaricus* arasında, yaygınlık dişilerde %79,8 ve erkeklerde %47,7 olarak hesaplanmıştır. *Plagioscion squamosissimus*'te enfeksiyon yaygınlığı enfekte erkeklerde dişilere göre fazla kaydedilmiştir.

Eustrongylides spp. türlerinin larva evreleri, önceki çalışmalarda morfolojik özelliklere dayalı olarak Kuzey ve Güney Amerika, Avrupa, Doęu Afrika, Orta Asya, Çin ve Türkiye dahil olmak üzere neredeyse tüm dünyada 14 balık taksonunda (*Petromyzoniformes*, *Acipenseriformes*, *Clupeiformes*, *Anguilliformes*, *Salmoniformes*, *Cypriniformes*, *Gadiformes*, *Atheriniformes*, *Beryciformes*, *Gasterosteiformes*, *Synbranchiformes*, *Perciformes*, *Pleiformes*) rapor edilmiştir (Xiong vd. 2009, Saraiva vd. 2006, Bjelić-abrilo vd. 2013, Branciarı vd. 2016, Goncharov vd. 2018, Guardone vd. 2021, Coyner vd. 2002; Haugen vd. 2008, Salgado-Maldonado vd. 2004, Mineeva 2018, Kvach 2005, Francova vd. 2011, Moravec 1994, Dezfuli vd. 2015). Parazitin ılıman karasal, tropikal ve subtropikal iklim bölgelerinde çok daha yaygın olduğu fark edilmiştir (Barros vd. 2010, Mierzejewska vd. 2012).

Eustrongylides excisus larvaları Türkiye'de Uluabat ve Manyas gllerinden *Gobius fluviatilis* (ztrk vd. 2001, 2002), Durusu (Terkos) Gölü'nden *Silurus glanis* ve *Abramis brama*'da (Soylu 2005, Karato Soylu 2006), Kırkgöz ayı'ndaki *Aphanius mento*'da bildirilmiştir (Aydoğdu vd. 2011). Sıgırcı Gölü'nde *Perca fluviatilis* ve *S. lucioperca* (olak 2013, Soylu 2013) ve Eğirdir Gölü'nden *Carassius gibelio*, *Cyprinus*

carpio, *S. lucioperca* ve *Atherina boyeri*'de (Ozmen vd. 2021) bildirilmiştir.

Eustrongylides excisus ayrıca balık, su kuşları, sürüngenler (Fauna Europaena 2017, Molnar vd. 2006, Moravec 1994), kurbağa (Saglam ve Arikan, 2006) ve zar yılanından (Carlsson vd. 2011) 3. ve 4. evre larvaları tespit edilmiştir. Su kurbağası (*Rana ridibunda*) (Saglam ve Arikan 2006) ve su yılanı *Natrix tessellata*'da (Carlsson vd. 2011) *Eustrongylides excisus* larvaları tespit edilmiştir.

Measures (1988) tarafından, *Eustrongylides* Jagerskiold, 1909 (Nematoda: Dioctophymatoidea) cinsi, deneysel olarak enfekte olmuş ortak Merganserlerden (*Mergus merganser*) yetişkin *E. tubifex*'in ve çeşitli müzelerden *Eustrongylides* spp örneklerinin incelenmesine dayalı olarak revize edilmiştir. Bu genusta üç tür ayırt edilebilir olarak kabul edilmiştir: *E. tubifex* (Nitzsch in Rudolphi, 1819) Jagerskiold, 1909 (tip tür), *E. ignotus* Jagerskiold, 1909 ve *E. excisus* Jagerskiold, 1909. Araştırmacılar, üç türün tümü yeniden tanımlamıştır. *Eustrongylides pevapillatus* Jagerskiold, 1909, *E. tubifex* ile eşanlamlı olarak kabul edilmiştir. *Eustrongylides formosensis* Sugimoto, 1933, *E. indicus* Ali, 1971, *E. phalacrocoracis* Johnston ve Mawson, 1941, *E. plotinus* Johnston ve Mawson, 1941, *E. tricolor* Sugimoto, 1931 ve *E. excisus amoyensis* Hoeppli, Hsu ve Wu, 1929 sinonim olarak kabul edilmiştir.

Ozturk vd. (2001), Ocak-1997, Kasım-1998 tarihleri arasında gerçekleştirilen çalışma sonucunda, Kuş (Manyas) Gölü balık türlerinden *Gobius fluviatilis*'te *Eustrongylides excisus* olgusuna rastlanmıştır. Çalışmada bu türün morfolojik-anatomik özellikleri ve karakteristik yapıları detaylı olarak tanımlanmıştır.

Ozturk vd. (2002), Nisan 1998 ile Kasım 1999 arasında Uluabat Gölü'ndeki *Gobius fluviatilis*'in helmint parazitleri incelenmiştir. Çalışmada sürecinde 134 konak balıktan 40 adedinde 108 *Eustrongylides excisus* bulunmuştur.

Sattarı ve Mokhayer (2005), Hazar Denizi'nin güneybatısındaki 3 coğrafi bölgeden *Acipenser gueldenstaedti* (n=78), *A. nudiventris* (n=18) ve *Huso huso* (n=6) olmak

üzere 3 mersin balığı türünden 102 adet örnek toplanmıştır. Konak balık türlerinde *Eustrongylides excisus* enfeksiyonuna da rastlamıştır.

Karatoy ve Soylu (2006), Haziran 2002-Mayıs 2003 tarihleri arasında Durusu Gölü'nde (Terkos) yakalanan çipurada (*Abramis brama* Linnaeus, 1758) metazoan parazitlerini incelemiştir. Bu çalışma sırasında incelenen 67 balıktan 64'ünde on parazit türü tespit edilmiştir. Bu parazit türler arasında *Eustrongylides excisus* (Jagerskiöld, 1909) türü de yer almaktadır.

Saglam ve Arıkan (2006), tarafından Mart 2001 ile Şubat 2002 tarihleri arasında Hazar Gölü'nden (Elazığ, Türkiye) 15 gün aralıklarla toplanan 236 bataklık kurbağası *Rana ridibunda* endohelminthler açısından araştırılmıştır; Bunlardan 148 (%62,71) kurbağanın helminthlerle enfekte olduğu tespit edilmiştir. Toplamda 9 helminth türü (3 trematod, 5 nematod ve 1 acanthocephalan) saptanmıştır. *Eustrongylides excisus* (%14,41) vücut boşluğunda ve midede rastlanmıştır.

Kvach ve Winkler (2011), yuvarlak kaya balığı *Neogobius melanostomus*, 1991 yılından itibaren Baltık Denizi'nde kolonileşmeye başlayan Ponto-Hazar havzasına özgü, dipte yaşayan bu balık türünün Güneybatı Baltık bölgesindeki parazitleri ilk kez araştırmışlardır. Güneybatı Baltık Denizi'ndeki yuvarlak kayabalığı 12 parazit türü ile enfekte olmuştur. Yuvarlak kayabalığı, Baltık Denizi'nde daha önce bu balıkta bulunmayan yedi yeni parazit türü tarafından kolonize edilmiştir. *Eustrongylides excisus* yuvarlak kayabalığı için yeni parazit olarak tanımlamışlardır.

Mersin balığı Hazar Denizi'ndeki en önemli balıktır. Araştırmacılar bu çalışmada, dört mersin balığı türünden toplam 93 birey yakalamıştır. Mart 2010'dan Mayıs 2011'e kadar Hazar Denizi'nin güneybatısından (Guilan Eyaleti, İran) coğrafi bölgedir. Biyometrik özellikler kaydedildikten sonra parazitleri tanımlamak için standart otopsi ve parazitolojik yöntemler kullanılmıştır. Genel numuneler ve mevsim, coğrafi konum, cinsiyet, uzunluk ve ağırlığa göre gruplandırılmış numuneler için standart istatistiksel hesaplama (ortalama yoğunluk, standart sapma, aralık, yaygınlık, bolluk ve baskınlık) yapılmıştır. Gruplar arasındaki farklar Kruskal Wallis testi ve Man Whitney U testi ile

belirlenmiştir ($p < 0.05$). Balıklarda *Eustrongylides excisus*, dahil olmak üzere beş parazit türü bulunmuştur (Noei 2011).

Aydoğdu vd. (2011) tarafından, 3 balık türüne ait *Capoeta antalyensis*, *Aphanius mento* ve *Pseudophoxinus battalgil* de toplam 65 balıkta Mayıs 2009 – Haziran 2009 tarihleri arasında helminth parazitleri (Nemathelminthes) incelenmiştir. Çalışma sonucunda 3 nematod türüne ait toplam 123 adet parazite rastlanmıştır. Sırasıyla *P. battalgil* ve *A. mento*'nun vücut boşluğunda yalnızca 2 adet *E. excisus* larvası bulunmuştur.

Colak (2013) tarafından, Nisan 2009-Şubat 2010 tarihleri arasında yapılan araştırmada Sığırcı Gölü'nden yakalanan 10 balık türünden toplam 366 örnek incelenmiştir. Bu balıklarda 33 parazit türü bulunmuştur. Bu parazitlerden 18 monogenean, 5 digenean trematode, 3 cestod, 3 acanthocephalan, 3 nematod ve 1 Mollusca: Bivalvia (glochidia) türü tespit edilmiştir. İncelenen balık türlerinden *Perca fluviatilis*, *Sander lucioperca* 'da *Eustrongylides excisus*'a rastlanmıştır.

Ćirković vd. (2013)' e göre, balıketi ve balık ürünlerini piyasaya arz ederken ve muayene ederken, özellikle balıkların çiğ veya az pişmiş olarak tüketilmesi durumunda insanlarda enfeksiyona yol açabilecek zoonotik parazitlerin varlığına dikkat edilmelidir. Epidemiyolojik açıdan, nematod grubundan helmintler en büyük öneme sahiptir. En önemlileri *Anisaxis spp* ve *Eustrongylides excisus*'tur. *Anisakiasis*, son yirmi yılda dünya çapında prevalansı dramatik bir artış gösteren ciddi bir zoonotik hastalıktır. Larva deniz balıklarında, çoğunlukla sardalye, ringa balığı ve uskumruda bulunur. *Eustrongylidosis*, tatlı su balıklarında öncelikle yırtıcı hayvanlarda meydana gelen bir hastalıktır. Yayın balığı, levrek ve turna ve en önemli türü *Eustrongylides excisus* olan *Eustrongylides* cinsinin parazitlerinden kaynaklanır.

Çolak (2011), Haziran 2008 ile Mayıs 2009 arasında aylık aralıklarla İznik Gölünden toplanan 208 dişi ve 63 erkek olmak üzere toplam 271 gümüş balığının (*Atherina boyeri* Risso, 1810) metazoan parazitleri incelenmiştir. Toplanan balıklar ortalama uzunluk $8,4 \pm 2,2$ cm (3,1-12,2 cm) ve ortalama ağırlık $4,7 \pm 3,5$ g (0,1–11,7 g) incelenmiştir. 33 balıkta parazit bulunmamış, diğer balıklarda ise dört parazit türü tespit edilmiştir:

Diplostomum sp. (yaygınlık %39,13, ortalama yoğunluk $3,50 \pm 3,03$); *Tylodelphys clavata* (yaygınlık %74,16, ortalama yoğunluk $10,41 \pm 14,89$); *Bothriocephalus acheilognathi* (yaygınlık %40,59, ortalama yoğunluk $31,83 \pm 57,74$); ve *Eustrongylides excisus* (yaygınlık %6.64, ortalama yoğunluk 1.16 ± 0.39) belirlenmiştir. *E. excisus*'un ortalama bolluğu kış ve erken ilkbahar aylarında daha yüksek olduğu bulunmuştur.

Bjelić vd. (2013), Novi Sad şehir bölgesindeki Tuna-Tisa-Tuna Kanalı'nda 21 tatlısu levrek (*Sander lucioperca*) örneği parazitolojik inceleme için yakalamışlardır. Parazitlerin, su levreklerinin paratenik bir konakçı olduğu *Eustrongylides excisus* türüne ait olduğu belirlenmiştir. Bu bulgu, Sırbistan'daki su levreklerinde larvaların ilk tespitini temsil etmiştir. Sudak balığı, dördüncü evre nematod larvalarını barındıran ikinci ara konaklar olan benthos veya plankton yiyen balıkların yutulmasıyla enfekte olmuştur. *E. excisus*, çiğ veya az pişmiş balık tüketerek enfekte olabilen insanlar için patojenik olduğu belirtilmiştir.

Soylu (2013), Nisan 2009 ile Şubat 2010 tarihleri arasında Türkiye'nin İpsala ilçesindeki Sığırcı Gölü'nden mevsimsel olarak toplam 52 levrek yakalanmıştır. *Perca fluviatilis* örnekleri sekiz parazit türü rastlanmıştır. Konak balıktaki *Eustrongylides excisus* türünün enfeksiyon değerleri %94,2 ve 42.2 ± 62.89 dir.

Roohi vd. (2014) tarafından, Hazar Denizi'nin güneybatısında yer alan Anzali sulak alandan Nisan ve Temmuz 2012 arasında toplam 86 Avrupa yayın balığı, *Silurus glanis* L, 1758 toplamıştır. Biyometrik özellikler kaydedildikten sonra parazitolojik yöntemler kullanılmıştır. Bu çalışmada, Avrupa yayın balıklarından 14 parazit türünden toplam 17.214 birey elde edilmiştir. Parazit türler arasında *Eustrongylides excisus* türü de belirlenmiştir.

Metin vd. (2014) tarafından, 2013 yılı Şubat ve Nisan aylarında Eğirdir Gölü'nden toplanan 35 adet sudak balığında (*Sander lucioperca*) endoparazit olarak bulunan *Eustrongylides excisus* larvaları incelenmiştir. *Eustrongylides excisus* larvalarının prevalansı %100 olarak belirlenmiştir. *E. excisus* larvalarının ortalama yoğunluğu Şubat ayında 34.4, Nisan ayında 23.46 olarak tespit edilmiştir.

Fallah vd. (2015) tarafından yapılan bu çalışmada, Anzali sulak alanından yakalanan 120 turna balığı, *Esox lucius* parazit faunası yönünden incelenmiştir. Ayrıca, hem enfekte hem de enfekte olmayan balıkların hematolojik parametrelerindeki değişiklikler karşılaştırılmıştır. Parazitolojik incelemelerde *Eustrongylides excisus* türünde dahil olduğu çeşitli parazitlere rastlanılmıştır. Ayrıca aşağıdaki hematolojik parametreler değerlendirilmiştir. Hematokrit, hemoglobin konsantrasyonu, eritrosit ve lökosit sayıları, ortalama hücre hacmi (MCV), ortalama hücre hemoglobini, ortalama hücre hemoglobin konsantrasyonu lenfositleri, monositler ve eozinofiller. Enfekte ve enfekte olmayan balıklar arasında MCV için önemli fark bulunmuştur.

Oprescu vd. (2015) bu çalışmayı Belobreşca bölgesinde, Tuna nehri havzasında Nisan 2012 ile Nisan 2013 tarihleri arasında yürütmüştür. Çalışmada 88 *Stizostedion lucioperca* örneği klasik teknikler kullanılarak incelenmiştir. Parazitolojik araştırmaların ardından *Stizostedion lucioperca*'da eustrongylidoz prevalansı %55.68 olarak bulunmuştur.

Urdes vd. (2015), tarafından *Eustrongylides* nematodunun 3. ve 4. evre larvalarını içeren paraziter bir olgu incelenmiştir. Çalışma sırasında, nematodu (cins düzeyi) ve parazitin konakçı üzerindeki patolojik etkilerini belirlemek amacıyla, istila edilen balıklar parazitolojik, anatomik ve patolojik incelemelere tabi tutulmuştur.

Eustrongylides spp bir tatlı su balığı zoonotik nematodu olarak kabul edilir. Bu çalışmada *Eustrongylides* spp. Trasimeno gölünün altı yenilebilir balığında *Perca fluviatilis*, *Carassius auratus*, *Micropterus salmoides*, *Tinca tinca*, *Cyprinus carpio* ve *Atherina boyeri* araştırılmıştır. Araştırmalar Ekim 2014-Eylül 2015 tarihleri arasında yürütülmüş ve her mevsim için tür başına 384 örnek Trasimeno gölünde yakalanmış ve karın boşluğunda ve kasta larva varlığı açısından incelenmiştir. Üç balık türünde karın boşluğunda ve kas sisteminde nematod varlığı ortaya çıkarılmıştır. *Eustrongylides* spp prevalansının konak balıklardaki enfeksiyonu sırasıyla %6,84, %1,89 ve %0,13 olarak belirlenmiştir. Bu çalışmada, Trasimeno Gölündeki levrek, çipura ve diğer balıkların zoonotik parazitlerle enfekte olduğu; bu nedenle gıda işletmecileri, tüketicilerin

sağlığını garanti altına almak için uygun önlemleri almak zorunda oldukları tanımlanmıştır (Branciari vd. 2016).

Yardımcı vd. (2018), Eylül 2012-Mayıs 2013 döneminde Büyükçekmece Baraj Gölü'ndeki dokuz balık türüne ait toplam 273 balık örneği incelenmiş ve enfekte bireylerde 11 parazit türü saptanmıştır. Balık örnekleri diseksiyon sırasında vücut boşluğu, iç organları, solungaçlar, gözler, deri ve yüzgeçler olmak üzere incelenmiştir. *Eustrongylides excisus* balık türlerinde en yaygın parazit olarak gözlemlenmiş ve tür düzeyinde teşhis edilmiştir.

Güven ve Öztürk (2018) bu çalışmada, Aşağı Kızılırmak Deltasında yaşayan 3 kaya balığının, *Neogobius fluviatilis*, *Proterorhinus marmoratus* ve *Pomatoschistus marmoratus* metazoan parazit faunalarını araştırılması ve karşılaştırılmasını yapmıştır. Kaya balıkları, balık ağları ve elektroşok cihazıyla yakalanmıştır. Balıklar metazoan parazitleri için klasik yöntemlerle disseke mikroskop altında incelenmiştir. İzole edilen parazitler %70 etil alkol ile tespit edilmiştir. Üç kaya balığının metazoan faunalarını karşılaştırmak için Czekanowski-Sorensen indeksi (Ics) kullanılmıştır. Çalışmada bulunan parazit türler arasında *Eustrongylides excisus* türü de belirlenmiştir.

Zhokhovve Pugacheva (2019) çalışmasında, *Eustrongylides excisus*'un Rybinsk Rezervuarında (Yaroslavl oblast, Rusya) bulunmasına ilişkin veriler sunmuştur. Bu nematodun rezervuardaki yaygınlığı, son konakçısı olan karabatak kuşunun ortamda bulunmasıyla bağlantılı olduğu belirlenmiştir.

Tanrıkul vd. (2019), araştırmalarında Marmara Gölü'nden (Manisa, Türkiye) 51 adet sudak balığı (*Sander lucioperca* L., 1758) numunesinde *Eustrongylides* spp olgusuna rastlamışlardır. Enfeksiyonun prevalansı %100 olarak belirlenmiştir. *Eustrongylides* spp örneklerine kaslarda, karın boşluğunda ve iç organlarda tanımlanmıştır.

İnnal vd. (2019) tarafından, Türkiye faunası için dört endemik balık türünde *Eustrongylides excisus* türü incelenmiştir. Bu çalışmada, ilk kez dört *Aphanius* türünde

E. excisus tespit edilmiştir. Ayrıca, *Aphanius transgrediens*, *A. saldae*, *A. iconii* ve *A. sureyanus* konak türleri için *E. excisus* yeni konakçı kaydı olarak bildirilmiştir.

Zhang vd. (2021), Çin'den toplanan 120 Asya bataklık yılan balığını, *Monopterus albus* bireyleri parazit enfeksiyonları açısından incelemiş ve 78 larva nematodu izole etmiştir. Internal transcribed spacer (ITS) ve sitokrom c oksidaz alt birim I (COI) gen bölgelerinin dizi ve filogenetik analizi dahil olmak üzere morfolojik ve moleküler özellikleri, bu nematodları mümkün olan en doğru taksonomik seviyede tanımlamak için kullanılmıştır.

Kırım ve Chunchukova (2021) tarafından Tundja tatlı su ekosisteminden yayın balığı (*Silurus glanis* Linnaeus, 1758) helmintleri ve helmint toplulukları temel alınarak araştırılmıştır. İncelenen yedi yayın balığı örneği sonucunda, üç helmint taksonu bulunmuştur. *Eustrongylides excisus* Jägerskiöld, 1909, larva, *S. glanis*'in helmint toplulukları için bir baskın tür olarak belirlenmiştir (P% = 42.86). Nehir ekosisteminden *S. glanis*, *E. excisus* için yeni bir konak kaydı olarak belirlenmiştir.

Ozmen vd. (2021) tarafından, Türkiye'nin ikinci büyük tatlı su gölü olan Eğirdir Gölü'nde Ocak-Ekim 2018 tarihleri arasında bazı balık türlerinde *Eustrongylides excisus* Jägerskiöld, 1909 enfeksiyonu araştırılmıştır. *Aphanius iconii*, *Atherina boyeri*, *Knipowitschia caucasica*, *Sander lucioperca* konukçu türlerde parazit enfeksiyonu tespit edilmiştir. En yüksek enfeksiyon prevalansı (%21,4) *S. lucioperca*'da saptanmıştır. Ortalama yoğunluk, *K. caucasica*'da 1,25 nematod/balık ile *S. lucioperca*'da 2,3 nematod/balık arasında değiştiği görülmüştür. Parazit *E. excisus*, Eğirdir Gölü'nde yerli olmayan bir balık türü olan *Knipowitschia caucasica*'da ilk kez kaydedilmiştir. Bu araştırma, nematod *E. excisus*'un incelenen tüm teleost türlerinde histopatoloji etkileri hakkında yararlı veriler sağlamıştır.

2.11 *Eustrongylides excisus*'un Moleküler Özellikleri Üzerine Yapılan Araştırmalar

Koehler vd. (2009), *Diectophymatoidea* üst familyasının, 4 genusundan 3'ü (5 tür) arasındaki DNA dizi varyasyonunun analizlerine dayalı olarak değerlendirilmiştir. Temsil edilen, maksimum parsimoni, maksimum olabilirlik ve 18S nükleer DNA (786 baz çifti [bp] segmenti) ve mitokondriyal sitokrom oksidaz 1 (293 bp) genlerinin Bayes çıkarımı kullanılarak *Diectophymatoidea*'nın ilk moleküler filogenetik değerlendirmesi yapılmıştır.

Xiong vd.(2013), Çin'deki farklı balık türlerinden toplanan nematodlar *Eustrongylides* spp, moleküler belirteçler mitokondriyal sitokrom oksidaz c alt birim 1 (COI) geni ve Internal transcribed spacer (ITS) rDNA bölgeleri kullanılarak tür içi ve türler arası evrimsel varyasyonları açısından incelenmiştir. Filogenetik analiz, *Eustrongylides* türlerinin 3 iyi desteklenmiş dallara ayrıldığını göstermiştir. Bölümler arasındaki ITS farklılığı, 2 ve 3'üncü bölümlerin aynı türü temsil edebileceğini, oysa bölüm 1'in başka bir türü temsil ettiğini öne sürmüştür. Bu nematodların konukçu özgüllüğü, yaygınlık verilerine, konukçu aralığına ve filogenetik bilgilere göre analiz edilmiştir. Clade 1, 4 balık türünde, yani *Odontobutis obscurus*, *Silurus asotus*, *Culter mongolicus* ve *Acanthogobius flavimanus*'ta bulunmuş, ancak 2 perciform türünde, *O. obscurus* ve *A.flavimanus*'ta baskın görülmüştür. Clade 2, 3 balık türünde, *Monopterus albus*, *Channa argus* ve *Channa asiatica*'da bulunmuş, ancak *M. albus*'ta baskındır. *Eustrongylides* spp'nin ilk ara konağı 9 türde bulunmuştur, ancak düşük prevalansı, tüm türlerde tesadüfi enfeksiyon olduğunu göstermiştir.

Youssefi vd. (2020), Hazar Denizi'nin güneyinde (Mazandaran eyaleti, İran) Freidoonkenar'dan 550-800 g ağırlığında 100 adet *Esox lucius* Linnaeus örneği toplanmış ve *Eustrongylides* varlığı açısından incelenmiştir. Parlak kırmızı nematod larvaları testislerde bulunmuş ve *E. lucius* balıklarının %90'ının vücut kaslarında kapsüllenmiştir. Larvalara *Eustrongylides excisus* teşhisi konulmuştur. Parazitik larvaların neden olduğu lezyonların histopatolojik incelemesi için kas ve testislerden doku örnekleri alınmıştır. Moleküler analiz için nematod larva genomik DNA'sı çıkarılmıştır ve *Eustrongylides*'in moleküler karakterizasyonu ve GenBank'ta mevcut

olan karşılık gelen dizilerle karşılaştırma yapılmıştır. Kasta parazitlerin neden olduğu histopatolojik hasarlar eksternal nodüller, inflamasyon, nekroz ve granülomları içerdiğini belirtmiştir. Çok çekirdekli dev hücreler, epitelooid hücreler, lenfoid hücreler, makrofajlar ve nekrotik debris içeren granülomlar gözlenmiştir. Testislerin mikroskobik incelemesinde bazı Sertoli hücrelerinde hafif vakuoler dejenerasyon tespit edilmiştir. Moleküler analiz, elde edilen larvaların *E. excisus* olduğunu doğrulamıştır. DNA dizilerinin karşılaştırılması, izole edilmiş nematodların Çin'deki tatlı su balıklarından elde edilenlere çok benzer olduğunu göstermiştir. Bu çalışmada, *Esox lucius*'ta *Eustrongylides* nematodları ve bu balık türünün kas ve testislerinde *E. excisus* larvalarının neden olduğu inflamatuvar lezyonlar ilk kez rapor edilmiştir. Ek olarak, geri kazanılan larvaların moleküler karakterizasyonu ve filogenik analizi, mikro değişkenlerin varlığını göstermiştir.

Pekmezci ve Bolukbas (2021), Türkiye'nin kuzeyindeki levrek *Sander lucioperca*'dan toplanan *E.excisus* larvaları, ITS bölgelerinin, SSU rRNA'nın ve COI belirteçlerinin dizilenmesiyle karakterize edilmiştir. Morfolojik özelliklere dayalı olarak tanımlanan *Eustrongylides* spp'nin dördüncü aşama larvalar, ITS dizi analizine göre *E.excisus* moleküler olarak tanımlanmıştır. Bu çalışma, Türkiye'de *E. excisus* için SSU rRNA ve COI dizilerinin GenBank'taki ilk kaydını temsil etmiştir.

Guardone vd. (2021), Massaciuccoli gölünde (Kuzeybatı Toskana, İtalya) yakalanan büyük ölçekli gümüş balığı (*Atherina boyeri*) örneklerinde bu parazitin oluşumunu ilk kez bildirmiştir. Üç farklı örneklemede (Ağustos-Ekim 2019) toplam 3317 *A. boyeri* örneği toplanmıştır. Balıklar görsel olarak incelenmiş ve ardından yapay sindirime tabi tutulmuştur. Her iki işlemde sonra görünür parazitler toplanmış ve sayılmış, daha sonra mikroskobik inceleme ile cins düzeyinde ve ITS gen bölgesinin moleküler analizi ile tür düzeyinde tanımlanmıştır. Genel olarak, *Eustrongylides excisus*'un larva evreleri olarak tanımlanan 75 nematod, iç organlarda ve kasta bulunmuştur. *E. excisus*'un çalışma alanındaki raporu olası kalite ve halk sağlığı sorunlarını ortaya çıkarmıştır. Son zamanlarda artan çiğ balık tüketiminin tatlı su balık türlerini de hedef aldığı da göz önüne alındığında, bu tehlikenin varlığının ve gıda işletmecilerine uygun sağlık önlemlerinin uygulanması gereğinin iletilmesi tanımlanmıştır.

Menconi vd. (2021), Garda gölünde (İtalya) ilkbahar-yaz döneminde (2020) bir balık parazitolojik araştırması yapmak üzere 14 örnekleme alanı seçmişlerdir. Nematodların morfolojik olarak *Eustrongylides* cinsine Internal transcribed spacer (ITS) rDNA dizilerinin amplifikasyonu, onları *E. excisus* olarak tanımlanmıştır. Çalışılan beş balık türünden (*Perca fluviatilis*, *Lepomis gibbous*, *Coregonus lavaretus*, *Alosa fallax lacustris* ve *Micropterus salmoides*), yalnızca üçü parazit *E. excisus*'u sunmuştur: *P. fluviatilis*, *L. gibbous* ve *M. salmoides*'dir. Ayrıca, farklı örnekleme alanlarından yakalanan aynı balık türleri içinde prevalans değerlerinde farklılıklar bulunmuştur. Bulgular, ağırlıklı olarak balık yiyen balıkların *E. excisus* için pozitif olduğunu ve prevalansın *M. salmoides*'te nasıl en yüksek olduğunu göstermiştir. Balık boyutu ile ilgili olarak, ağırlıklı olarak zooplankton, bentik omurgasızları besleyen yavru levreklerin beslenme alışkanlığı nedeniyle *P. fluviatilis*'te vücut büyüklüğü ile *E. excisus* arasında negatif bir ilişki bulunmuştur.

Zhang vd. (2021), Çin'den toplanan 120 Asya bataklık yılan balığı, *Monopterus albus* bireyleri parazit enfeksiyonları açısından incelenmiş ve 78 larva nematodu izole etmişlerdir. ITS ve sitokrom c oksidaz alt birim I (COI) gen bölgelerinin dizi ve filogenetik analizi dahil olmak üzere morfolojik ve moleküler özellikler, bu nematodları mümkün olan en doğru taksonomik seviyede tanımlamak için kullanılmıştır.

2.12 *Sander Lucioperca*'nın Sistematik, Anatomik ve Morfolojik Özellikleri

Alem: Animalia

Şube: Chordata

Altşube: Vertebrata

Sınıf: Teleostei

Takım: Perciformes

Alttakım: Percoidei

Family: Percidae

Cins: *Sander*

Tür: *Sander lucioperca* Linnaeus, 1758 (İnt. Kyn.3).

Sudak balığı ya da Uzun levrek (*Sander lucioperca*, eski bilimsel adı *Stizostedion lucioperca*), Percidae familyasından yırtıcı bir tatlısu balığı türüdür. Sudak balıklarının zarif bir vücutları, sırtlı uzun ince bir gövdesi, yanlar yeşil ile mavi-gri veya kahverengimsiyah, göbek beyaz ile mavimsi ve yüzgeçler sarı-gridir. Türün iki sırt yüzgeci vardır. Biri 13 ila 20 dikenli, diğeri 1-2 dikenli ve 18 ila 24 yumuşak ışınıdır. Kuyruk yüzgecinde 17 yumuşak ışın bulunur ve anal yüzgeçte 2-3 diken ve 10-14 yumuşak ışın bulunur ayrıca dikenli sırt yüzgecinde sıralanan siyah noktalar vardır. Diğer yüzgeçler soluk sarıdır. *S.lucioperca*, yaklaşık 15-20 kg ağırlığa karşılık gelen 1000 mm'ye (standart uzunluk) kadar boyutlara ulaşabilir ve 10 ila 20 yaşına kadar varabilir. Maksimum yaş, büyüme hızı ile ters orantılıdır. Yavaş büyüyen *S. lucioperca* sınırlı gıda kaynaklarının olağandışı yavaş büyümenin olası nedeni olarak tanımlandığı bodur populasyonlar kaydedilmiştir (Vinni vd. 2009).



Resim 2.10 *Sander lucioperca* genel görünümü (özgün)

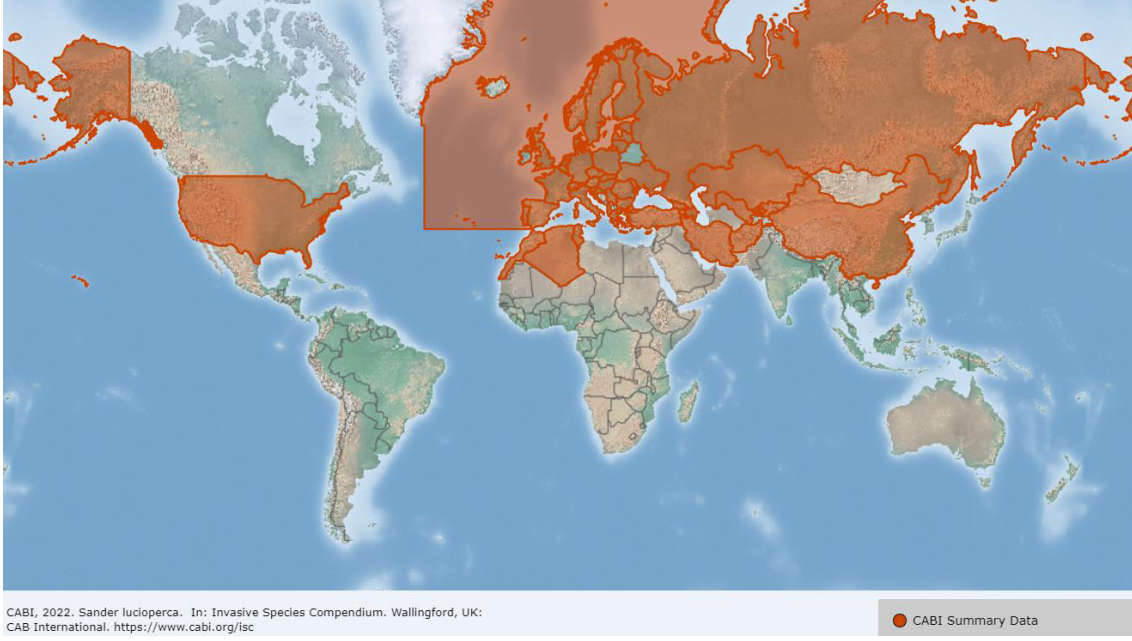
2.12.1 Genetik Özelliği

S. lucioperca, 48 diploid/zigotik (2n) kromozom sayısına sahiptir. *S. lucioperca*'nın, *Sander volgensis* ve *Perca fluviatilis* ile melez bireyler oluşturduğu bilinmektedir (Kahilainen vd. 2011, Specziar vd. 2009, Müller vd. 2010) .

2.12.2 Doğal Yaşam Ortamı

Tarihsel olarak, *S. lucioperca* çoğunlukla gllere, nehirlerde, rezervuarlarda, orta derecede akan sularda ve tuzlu kıyı sularında yaşar. Bazen ırmakların denize aktığı yerlerde bulunan az tuzlu deniz suyunda da yaşayabilirler. Yüksek oksijen içeriğine sahip bulanık, orta derecede ötrofik sularda büyür. Derinlik gündüzleri sığınmak için yeterliyse, berrak sularda da bulunurlar. Habitat tercihleri yıl içinde ve yaşa ve çevresel koşullara göre değişir (Lappalainen vd. 1995). Sonbahar boyunca, *S.lucioperca* 1,2–1,8 m derinlikteki alanlarda çok daha derin sulara taşındıkları kış aylarına kadar yaşar. Kış sona erdiğinde, yumurtlamak için çakıl/çakıl zemini olan daha sığ sulara göç ederler. Yaz aylarında habitat kullanımı çeşitlilik göstermektedir. Derin sularda yaşamayı tercih eder, çok çabuk büyür ama tutsak tutulunca çabuk öldüğünden dolayı havuzda ya da akvaryumda yetiştirilemez (Poulet vd. 2005).

Ülkemizin i sularında genellikle, Eğirdir Gölü, Beyşehir Gölü, Bafra Balık Glleri, ekmece ve Terkos Glleri, Suğla Gölü, Altınkaya Baraj Gölü, Karadeniz Havzası, Hirfanlı Baraj Gölü, Seyhan Baraj Gölü, Kapulukaya Baraj Gllerine kadar çok geniş bir dağılış alanına sahiptir (Balık vd. 2006).



Resim 2.11 *Sander lucioperca*'nın dünyadaki genel yayılışı (İnt. Kyn.4).

2.12.3 Üreme Biyolojisi

S. lucioperca yumurtlamadan yaklaşık bir ay önce sığ alanlara, genellikle ilkbaharda Nisan ile Haziran arası veya yumurtlama alanlarındaki sıcaklıklar 10–14°C'ye ulaştığında göç etmeye başlar. Acı su balıkları tatlı su habitatlarına göç edecektir. Erkekler bölgeseldir ve genellikle yaklaşık 5-10 cm derinliğinde ve 50 cm çapında kum veya çakılda veya genellikle bulanık suda ve 1-3 m derinlikte yumurtaların bırakıldığı açıkta kalan bitki kökleri arasında sığ bir yuva yaparlar. Üreme genellikle şafakta veya gece yapılır. Doğurganlık dişinin büyüklüğüne bağlıdır, ancak 150-400 yumurta/g arasında değişir ve 0.9-1.5 mm arasında değişir. Yumurtlamadan sonra dişi ayrılır ve erkek yumurtaları göğüs yüzgeçleriyle havalandırarak yuvayı korur. Ürettiği 40.000 yumurta diğer balık türlerinin ürettiğinden çok daha azdır ve bu yüzden diğer balıklar kadar çok türemez (Sokolov ve Berdicheski 1989).

2.12.4 Biyoçeşitlilik Üzerindeki Etkisi

S. lucioperca bir yetişkin olarak zorunlu bir piscivore olduğundan, açık su avcısıdır ve bulanık sularda veya düşük ışık koşullarında beslenmeye iyi adapte olmuştur (Karas ve Sandström 2002), aynı zamanda büyümelerine ve yumurtlamalarına izin vermeyen genç

balıkların çoğunu ortadan kaldırarak potansiyel olarak balıkçılığın çökmesine neden olabilir. *S. lucioperca* yerli ve çiftlik balıklarına bulaşabilen balık hastalıkları ve parazitlerinin bir vektörüdür *Sander volgensis* ile hibritleşme yeteneğine sahip olduğu bulunmuştur (Specziar vd. 2009, Müller vd. 2010).

S. lucioperca 1955 yılında Eğirdir Gölü'nde ekonomik değeri olmayan diğer balık türlerinin değerlendirilmesi amacıyla gerçekleştirilen bir aşılama çalışması sonrasında göller bölgesindeki dağılımı hız kazanmıştır. 1961'den itibaren burada önemli bir ticari tür haline geldi (Sarıhan 1979). Bununla birlikte, giriş, şu anda soyu tükenmiş olarak kabul edilen *Phoxinellus* cinsindeki ikisi de dahil olmak üzere birçok yerli balık türünün ortadan kaybolmasıyla ilişkilidir. Bu durum aynı zamanda soyu tükenmiş balıkların yumurta ve larvaları avlaması nedeniyle nadir görülen yerli Türk kerevitleri *Astacus leptodactylus*'un da artmasına neden olmuş ve Türkiye ekonomisi için dış ticaretin artmasına neden olmuştur. Ayrıca, Birleşik Krallık'ta sazangillerin önemli bir azalmayla sonuçlandığı iddia edilmiş, ancak kapsamlı bir inceleme buna dair ikna edici bir kanıt bulamamıştır (Balık vd. 2006).

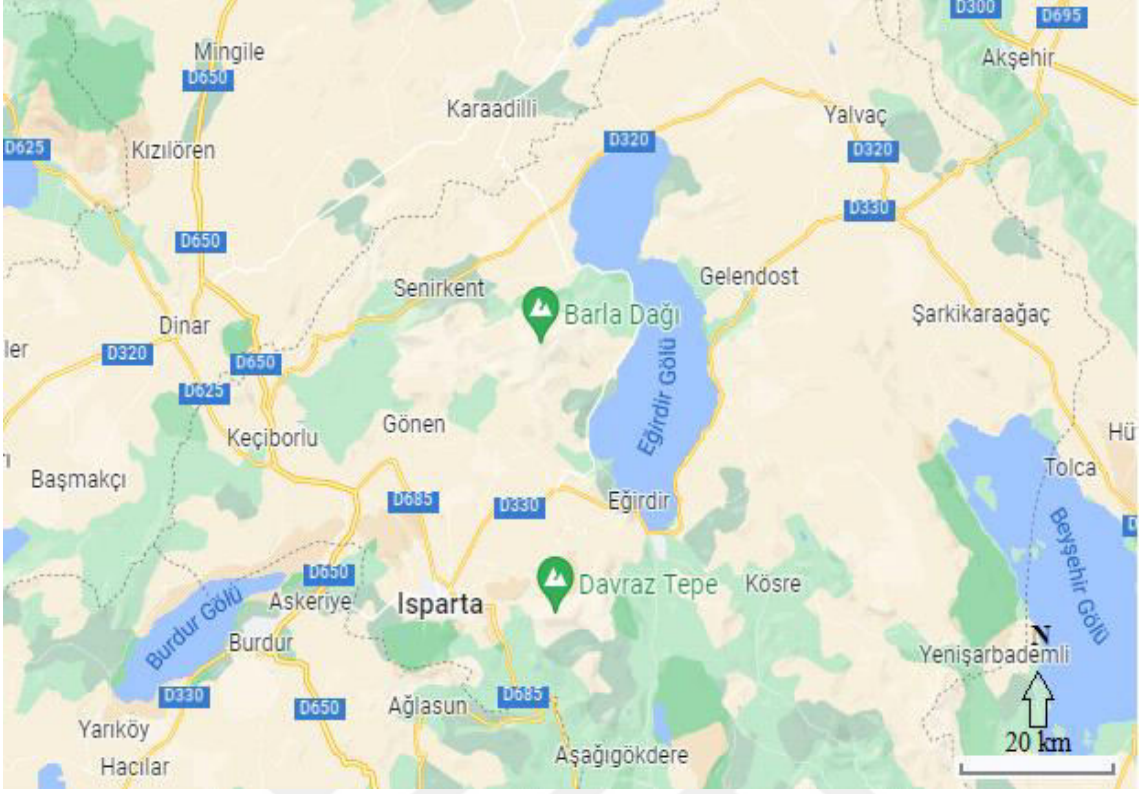
3. MATERYAL ve METOT

3.1 Eğirdir Gölü'nün Genel Özellikleri

Eğirdir Gölü, Akdeniz Bölgesi içerisinde, 37°50'-38°16' kuzey enlemleri ve 30°57'-30°44' doğu boylamları arasında bulunmaktadır (Resim 3.1). Türkiye'nin güneyindeki Isparta ili sınırları içerisinde yer alan Eğirdir Gölü 457 km² yüzölçümü ile Türkiye'nin 4. büyük gölü, aynı zamanda 2. büyük tatlı su gölüdür. Gölün, deniz seviyesinden yüksekliği 918 m olup, ortalama derinliği 8 metredir. Göller Bölgesinde bulunan Eğirdir Gölü kuzey-güney doğrultusundaki uzunluğu 50 km, kıyı uzunluğu 150 km, en geniş yeri 16 km en dar yeri ise 3 km'dir (Kaptan ve Özcan 2014).

Tektonik kökenli olması nedeniyle göl çok derin olmayıp gölün kapsadığı suyun hacmi, su seviyesinde bir değişim olduğu zaman büyük ölçüde değişebilmektedir. Göl tabanı ve kıyıları karstik yapıdadır ve yer altı suyunun ulaşımına ve göl tabanından sızmaya elverişlidir. Eğirdir Gölü'nde kemer boğazın kuzeyinde yer alan bölümü Hoyran, güneyinde yer alan bölümü Eğirdir olarak iki havzaya ayrılmıştır. Kuzeyde kalan ve daha sığ olup tarım arazilerinin yoğun olduğu havza Hoyran gölü, su kuşları için önemlidir. Eğirdir bölgesi ise daha derin ve oligotrofik düzeydedir (Didinen ve Boyacı 2007).

Gölde bulunan balık türleri tatlısu levreği, sazan, sudak, eğrez ve aşılandıktan sonra kısa bir sürede adapta olan ve hızla çoğalagümüş balığıdır. Kerevit, yengeç, su yılanı, su faresi, kurbağa ve su kaplumbağası gibi diğer canlılar gölde bulunur. Ayrıca Eğirdir Gölü tepeli dalgıç, karabatak, balıkçıl türleri, angıt, bozkaz, benekli sutavuğu, sumru, martı çeşitleri gibi yerli türler ile birlikte pelikan, flamingo, kuğu, sakarcakazı, bozkaz, fiyu, kılkuyruk, macar, kız kuşu, su çulluğu ve tepeli pakta gibi kışlayan ve konaklayan türleri bünyesinde barındıran yaban hayatı için de önemli bir habitatır. (Coşkun ve Ertan 2016).



Resim 3.1 Eğirdir Gölü haritası (İnt. Kyn. 5).



Resim 3.2 Eğirdir Gölü'nden yakalanan *Sander lucioperca* örnekleri (özgün).

3.2 Araştırma Numuneleri

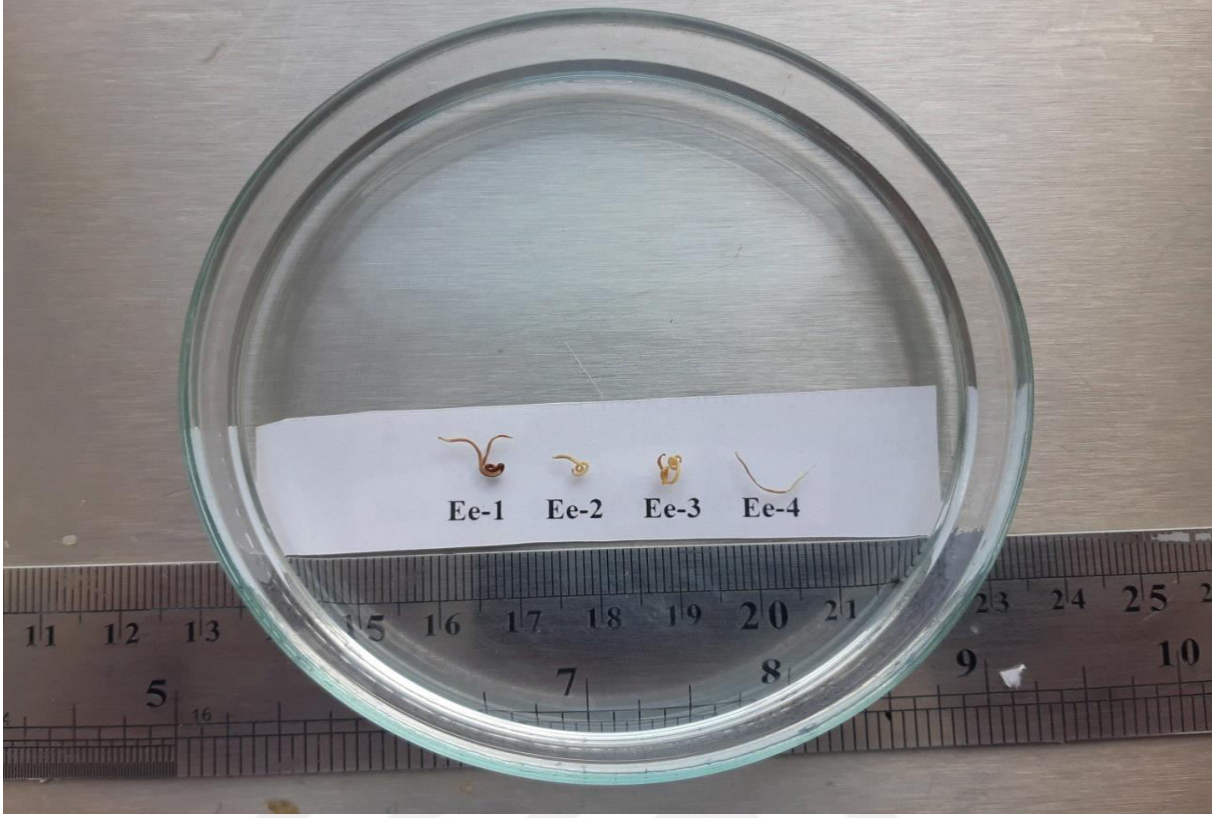
Çalışmada kullanılan *Eustrongylides excisus* örnekleri; Isparta İli, Türkiye, Eğirdir Gölü'nde yakalanan 15 sudak balığı *Sander lucioperca* (L) toplanmıştır (Resim 3.2). Görünür nematodlar balık karın peritonundan çıkarıldı ve stereomikroskopi kullanılarak sefalik papilla ve benzeri anatomi ve morfolojisine göre tanımlandı (Resim 3.3). Parazitik solucanlar DNA ekstraksiyonu için %70 etanol içinde sabitlendi.



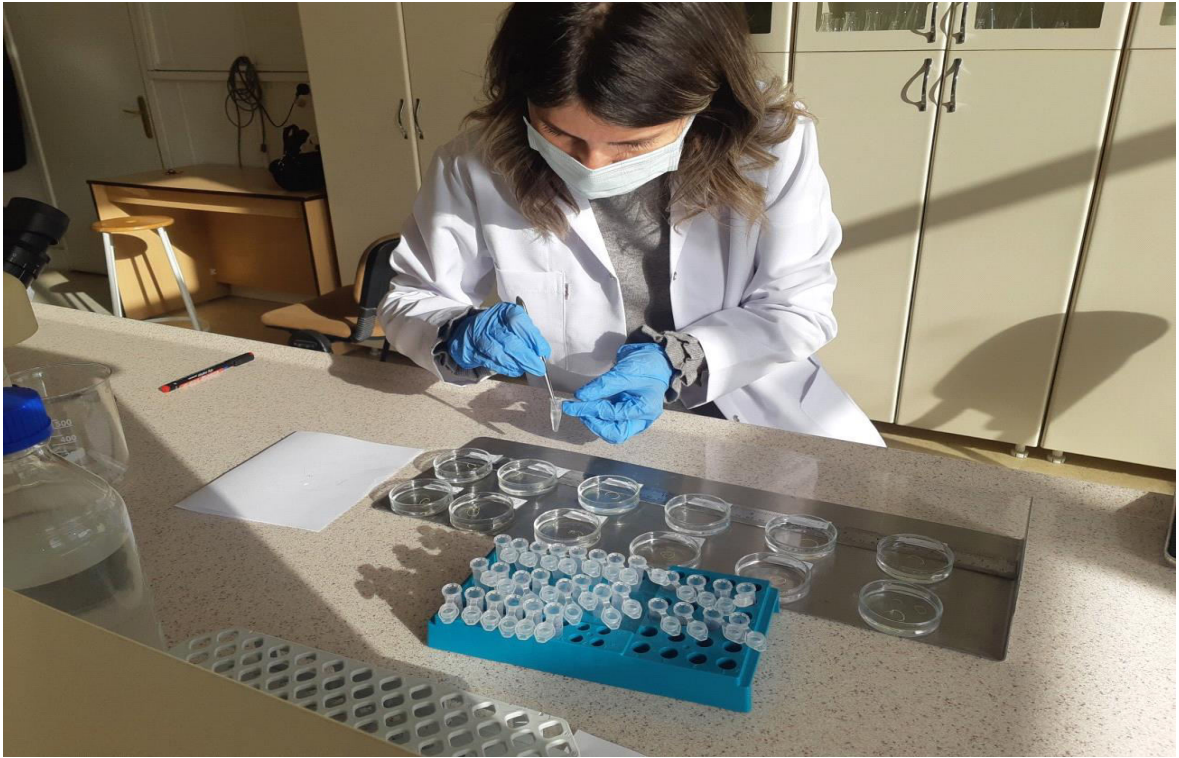
Resim 3.3 Enfekte *S. lucioperca*'dan toplanan *Eustrongylides excisus* örnekleri (özgün).

3.3 DNA İzolasyonu

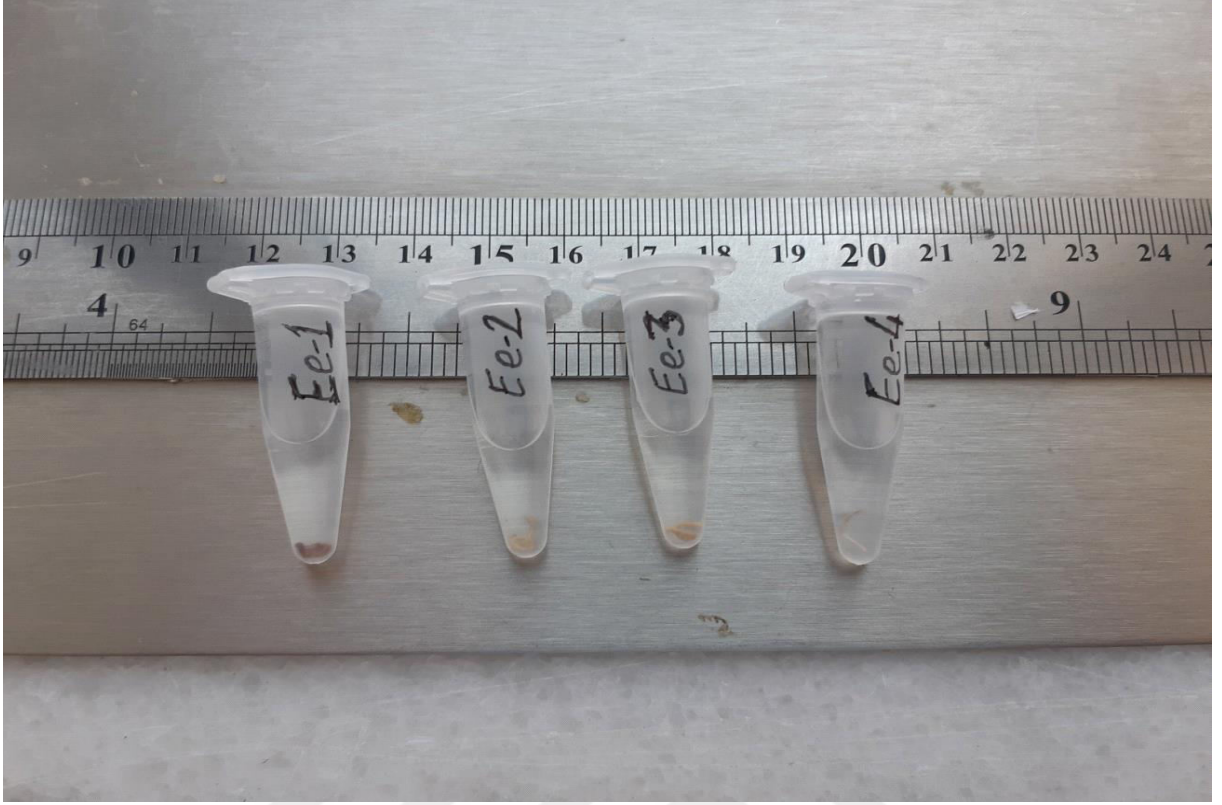
Eustrongylides excisus örneklerinin DNA ekstraksiyonu için %70 etanol içindeki örnekler kullanılmıştır (Resim 3.4, 3.5). Bunun için EurX Gene MATRIX Tissue&Bacterial DNA izolasyon kiti (Polonya) kullanılmıştır. DNA izolasyonu, Koehler vd. (2009)'nin metodolojisine göre gerçekleştirilmiştir. Çalışılan örnekler 1.5 ml'lik eppendorf tüpler içinde %70 etil alkol ortamında muhafaza edilmiştir. Tüplere 500 µl solüsyon I (50 mM Tris-HCl, pH 8, 20 mM EDTA pH 8 ve % 2 SDS) eklenmiştir. Doku, steril mikro havaneli ile homojenleştirilmiş ve 10 ml proteinaz K (20 mg / ml) ilave edilip ve vortekslenmiştir (Resim 3.6). Numune, 2 saat boyunca su banyosunda 55°C'de inkübe edilmiştir. İnkübasyonun ardından, numune buz üzerinde 10 dakika boyunca soğutulmuş ve numuneye 250 µl solüsyon II (6 M NaCl) eklenmiş, iyice karıştırılması için birkaç kez ters çevrilmiştir. Tüp 5 dakika buz üzerinde soğutulmuş ve 15 dakika 8000 rpm'de santrifüjlenmiştir. Yaklaşık 500 µl süpernatant (üst kısım), yeni etiketlenmiş 1.5ml'lik tüpte toplanmıştır. DNA'yı çökeltmek için hacmin iki katı % 100 AR sınıfı etanol ilave edilmiştir. Çökelti, 5 dakika süreyle 8000 rpm'de pellet haline getirilmiştir ve süpernatant, pellete dokunmadan çıkarılmıştır. DNA pelleti 500 µl soğuk etanol ile durulanmış ve 5 dakika 11.000 rpm'de santrifüjlenmiştir. Süpernatant dikkatlice alınmıştır ve fazlası sıvı pipet kullanılarak boşaltılmıştır. Pellet, bir ısıtma bloğu üzerinde 55° C'de kapak kapalı olarak kısmen kurutulmuştur (etanolden yoksun). Pellet, çözünene kadar geniş çaplı filtre ucu ile nazikçe pipetlelenerek pelletin boyutuna bağlı olarak (ortalama 100 µl) 50–200 µl taze steril H₂O ile yeniden süspanse edilmiştir. Bu çözülmüş DNA, polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) için bir kalıp olarak kullanılmıştır (Koehler vd. 2009).



Resim 3.4 DNA izolasyonu için numaralandırılan *E. excisus* örnekleri (özgün).



Resim 3.5 DNA izolasyonu için eppendorflara aktarılan *E. excisus* örnekleri (özgün).



Resim 3.6 DNA izolasyonu için eppendorf tüplerine aktarılan *E. excisus* örnekleri (özgün).

3.4 Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)

Toplam DNA, nükleaz içermeyen ultra saf su içinde süspansiyon edilmiştir. Her örnek için DNA konsantrasyonu ve saflığı, sırasıyla 260/280 nm ve 260/230 nm absorban dalga boyu oranlarında, NanoDrop ND 2000 (ThermoScientific, Wilmington, ABD) kullanılarak spektrofotometri ile ölçülmüştür. DNA bütünlüğü agaroz jel elektroforezi ve % 1,5 etidyum bromür boyama ile değerlendirilmiştir. DNA izolatları -20 ° C'de saklanmıştır (Koehler vd. 2009).

E. excisus örneklerine ait DNA izolasyonu elde edildikten sonra, 18S ve 28S rDNA'nın yaklaşık 700 bazlık bölgesini çoğaltmak için tek aşamalı PZR işlemi gerçekleştirilmiştir. PZR reaksiyonu Solis Biodyne (Estonya) FIREPol® DNA Polymerase Taq polimeraz enzimiyle gerçekleştirilmiştir. PZR çalışmasında hedeflenen 18SrDNA ve 28SrDNA bölgesi için 18SF5'TTGGATGATTCGGTGAGGT3' ve 28SR 5'AACCGCTTAGTAATATGCT3' primerleri kullanılmıştır (Çizelge 3.1).

PZR içeriği: 25 ml hacimlerde aşağıdaki oranlarda uygulanmıştır:

PZR Tamponu (10 X-1 X)

MgCl₂ (25 mM-1,5 mM)

dNTP mix (20 mM-0,2 mM)

F. Primer (10 uM- 0,3 uM)

R. Primer (10 uM-0,3 uM)

Taq DNA Polymerase (5U/ul- 2 U)

DNA template (3 µl)

PZR grade su ile 35 ul' ye tamamlanmıştır.

PZR amplifikasyonu şu şekilde uygulanmıştır: Isıtma 95° C 5 dakika ilk denatürasyon aşaması başlamıştır, ardından 45 saniye 95° C'de 40 döngü, 45 saniye 57° C'de bağlama ve 72° C'de 60 saniye uzatma, 72° C'de 5 dakika son uzatma, ardından 4° C'de sabit tutulmuştur. PZR işleminde Hafner vd. (1994)'nin metodolojisinden yararlanılmıştır.

Çizelge 3.1 *Eustrongylides excisus* örneklerinde 18S ve 28S rDNA gen lokuslarının çoğaltılması ve dizilenmesinde kullanılan primerler.

Hedef gen	Primerler	Sekans (5'-3')	Kaynaklar
18S, 28S rDNA	18SF	TTGGATGATTCGGTGAGGT	Xiong et al. 2013
	28SR	AACCGCTTAGTAATATGCT	

3.5 Agaroz Jel Elektroforezi

PCR işlemlerinde kullanılmak üzere 100 mL tampon çözeltilisi hazırlanmıştır. Çözelti bileşenleri; 10 X PZR tampon, 25 mM MgCl₂, 20 mM dNTP mix, 10 µM F. Primer, 10 µM R.Primer, 5U/ µl Taq DNA Polimeraz, 3 µl DNA template, PZR distile su ile 35 µl'ye tamamlanmıştır.

100 mL hacminde, %1,5'lik agaroz jel hazırlanması için 1,5 g agaroz, 100 mL 1 X TAE ve EtBr ilave edilmiştir. Karışım mikrodalga fırında çözülmüştür. Eriyen agaroz çözeltilisi oda sıcaklığında 55°C'ye kadar soğutulmuş ve EtBr eklenerek çalkalanmıştır. Agaroz, içinde 10 kuyucuklu tarak olan yatay elektroforez kasetine dökülmüş ve polimerize olması için 1 saat beklenmiştir.

Agaroz-jel, içinde 1XTAE jel tampon çözeltisi bulunan yatay elektroforez tankına alınmış ve jelin üstünü kapatacak kadar TAE ile doldurulmuştur. Örnek yüklemesi için küçük bir parafilm alınarak üzerine her bir örnek sayısı kadar yükleme tamponu (yaklaşık 1'er µl) parafilm üzerine koyulmuş ve her biri 5 µl örnek yükleme tamponu ile karıştırılıp jele yüklenmiştir.

PZR ürünlerinin boyutunu belirlemek için de, ilk kuyucuğa bir DNA standart markır (GeneRuler DNA ladder mix, Katalog No: SM0338Fermentas) yüklenmiş ve 100 V'ta 2 saat yürütülmüştür. Daha sonrareaksiyon durdurulmuş ve jel, UV trans-aydınlatici jel doc sistemi v3.1 (ABI, Abilene,TX) altında ölçülmüş ve fotoğraflama işlemi yapılmıştır.

PZR ürünlerinin bant büyüklüğünün istenen gen bölgelerine ait olduğu DNA standart ölçütün den karşılaştırılarak kontrol edilmiştir. PZR ürünü saflaştırma aşamasında, elde edilen tek bant örnekler için MAGBIO "High Prep™ PZR Clean-up System" (AC-60005) saflaştırma kiti kullanılıp, kit prosedürlerine uyularak saflaştırılmıştır. DNA bantları jelden kesilmiş, EurXGeneMATRIX Agarose Out DNA pürifikasyon kiti (Polonya) yardımıyla saflaştırılmıştır. Daha sonra ABI PRISM 3130xl otomatik sıralayıcı (Applied Biosystems), Macrogen (Amsterdam, Hollanda) 'in BigDye Terminator v3.1 Döngü Sıralama kiti ile aynı primerler kullanılarak çift yönlü dizileme yapılmıştır. GenBank veri tabanında OP480437, OP480438 ve OP480439 erişim numaraları ile kaydedilmiştir.

3.6 Dizileme, Veri Analizleri ve Ağaç Oluşturulması

Elde edilen ham dizi verileri birleştirmeden önce kalite skoru bakımından ($Q \geq 20$) değerlendirildi (Kearse vd. 2012). Daha sonra diziler, NCBI BLAST veri tabanı ortamındaki referans *Eustrongylides excisus* dizileri ile karşılaştırıldı (Altschul vd. 1990). Doğrulan ITIS dizileri, Clustal-X kullanılarak hizalandı (Kumar vd. 2018). Hizalamalar Seaview'de görsel olarak incelendi. İzolat dizileri arasındaki varyasyonların ikili tahminleri, MEGA X tabanında Kimura iki parametrelili (K2P) modeli kullanılarak hesaplandı (Kumar vd, 2018). Filogenetik analizde 18S rDNA dizileri kullanıldı (Çizelge 3.2). Filogenetik analizler için Maksimum Olabilirlik yöntemi (ML) kullanıldı

(Tamuravd. 2004). Dış grup olarak *Dioctophyme renale* kullanıldı. Ağaçtaki her dalın desteğini değerlendirmek için 1.000 kopya ile önyükleme analizi yapıldı. %70 ve yukarı değerler anlamlı olarak alındı.

Çizelge 3.2 Filogram analizinde kullanılan *Eustrongylides* sp. izolatlarının verileri.

Tür	Lokalite	Gen lokusu	NCBI Numaraları	Kaynaklar
<i>Eustrongylides excisus</i>	Eğirdir Gölü, Türkiye	18S, 5.8S, 28S rDNA	OP480437 OP480438 OP480439	Bu çalışma
<i>Eustrongylides excisus</i>	Derbent Baraj Gölü, Samsun, Türkiye	18S, 5.8S, 28S rDNA	MK007967	Pekmezci ve Bolukbas 2021
<i>Eustrongylides</i> sp.	Freidoonkenar, Mazandaran province, Iran	18S, 5.8S, 28S rDNA	KU963206	Youssefi vd. 2020
<i>Eustrongylides</i> sp.	Yangtze River, Hubei, China	18S, 5.8S, 28S rDNA	GQ215501	Xiong vd. 2013
<i>Eustrongylides excisus</i>	Trasimeno Lake, Italy	18S, 5.8S, 28S rDNA	MK545494	Mazzone vd. 2019
<i>Eustrongylides excisus</i>	Massaciuccoli Lake, Lucca, Italy	18S, 5.8S, 28S rDNA	MT415236	Guardone vd. 2021
<i>Eustrongylides ignotus</i>	Norman, Oklahoma, USA	18S rDNA	EU394732	Koehler vd. 2009
<i>Dioctophyme renale</i> -Dış grup	Sudbury, Ontario, Canada	mtCOI	EU394733	Koehler vd. 2009

4. BULGULAR

Araştırma kapsamında incelenen 15 sudak balığından 3'ünde, 4 adet larval evredeki *Eustrongylides excisus*'a rastlanmıştır (Çizelge 4.1). *Eustrongylides excisus* sudak balıklarının peritonunda kaydedilmiştir (Resim 4.1).

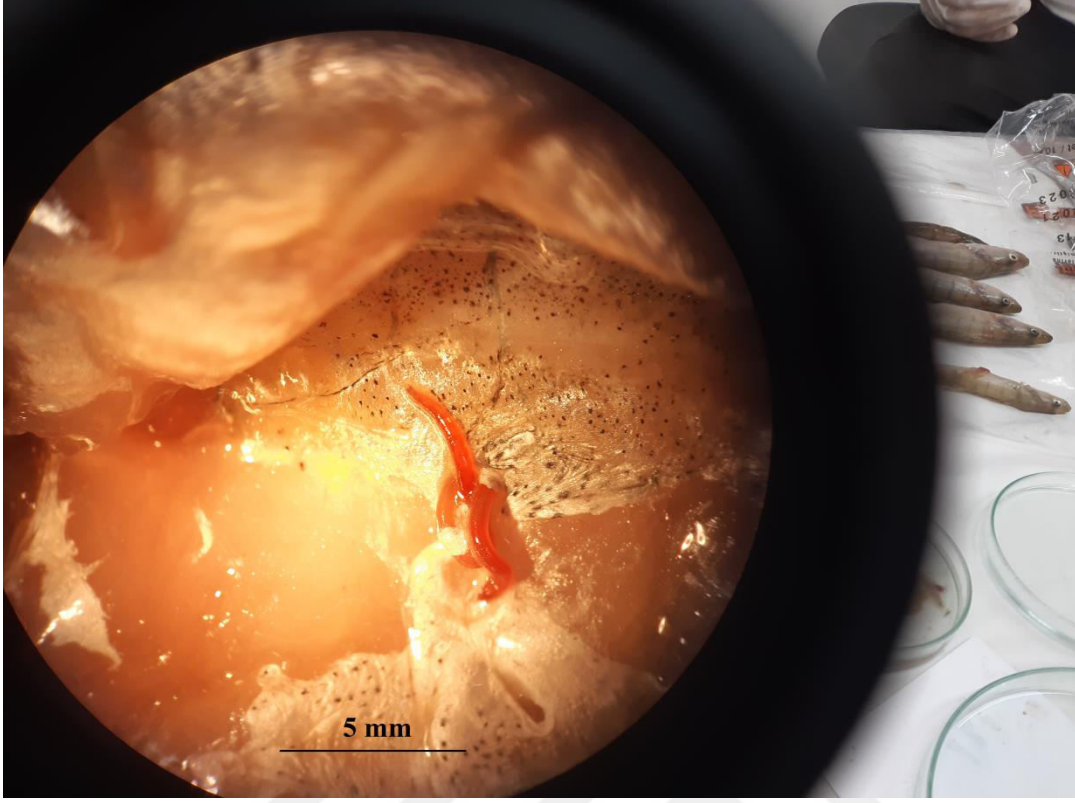
4.1 *Eustrongylides excisus*'un Anatomik ve Morfolojik Özellikleri

Araştırma sürecinde konak balıklardan kaydedilen 4 adet larval evredeki *Eustrongylides excisus* kalın ipliksi şekle sahiptir (Resim 4.2). Vücut yüzeyi üzerinde enine çizgiler bulunan kalın bir kutikula ile örtülüdür. Anteriör uçtaiki sıra halinde 12 sefalik papilla bulunmaktadır (Resim 4.3).

Tanımlanan larval evredeki 4 *Eustrongylides excisus*'un tamamının dişi eşey özelliğinde olduğu kaydedilmiştir. Vücut 23.6-32.3 (27.4) mm boyunda ve 9.6-1.3 (1.2) mm enindedir. Ösafagus 3.10-5.59 (4.23) mm boyundadır. Papillalar vücut boyunca, kutikula üzerinde lateral alanda sıralanmıştır. Parazitin posteriyör uç kısmı kısmı kupa şeklindedir. Genital organlar vücudun posteriyör tarafında konumlanmıştır. Vulva posteriyör terminalde anüsün kenarından dışarı açılmaktadır (Resim 4.4).

Çizelge 4.1 *Sander lucioperca* örneklerinin boy ve ağırlık değerleri ile *Eustrongylides excisus* enfeksiyon verileri

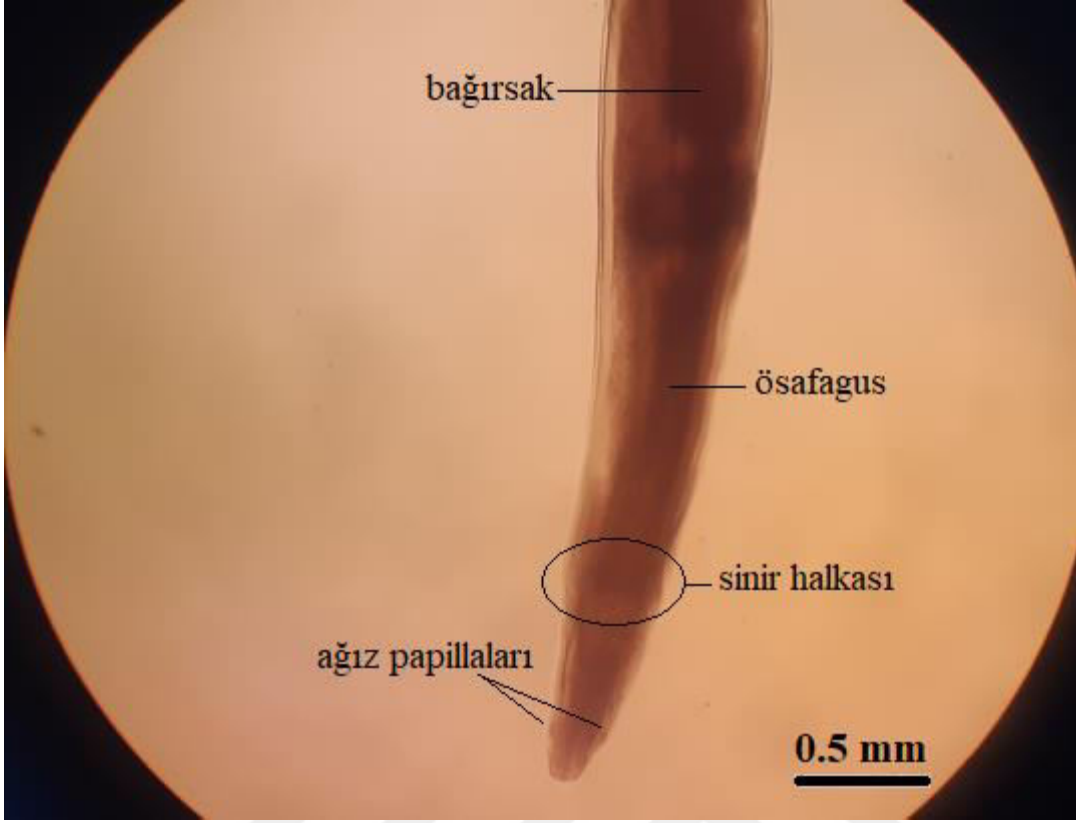
Örnek no	Boy (cm)	Ağırlık (gr)	<i>Eustrongylides excisus</i> sayısı
1	17,0	39,5	
2	16,3	33,7	
3	13,0	20,1	
4	18,0	51,8	
5	13,5	21,4	
6	17,7	46,8	
7	13,4	21,0	
8	16,8	37,5	
9	13,3	20,9	
10	16,6	39,2	1
11	13,0	21,4	
12	13,5	23,2	2
13	10,5	9,1	1
14	13,4	21,1	
15	16,2	32,8	



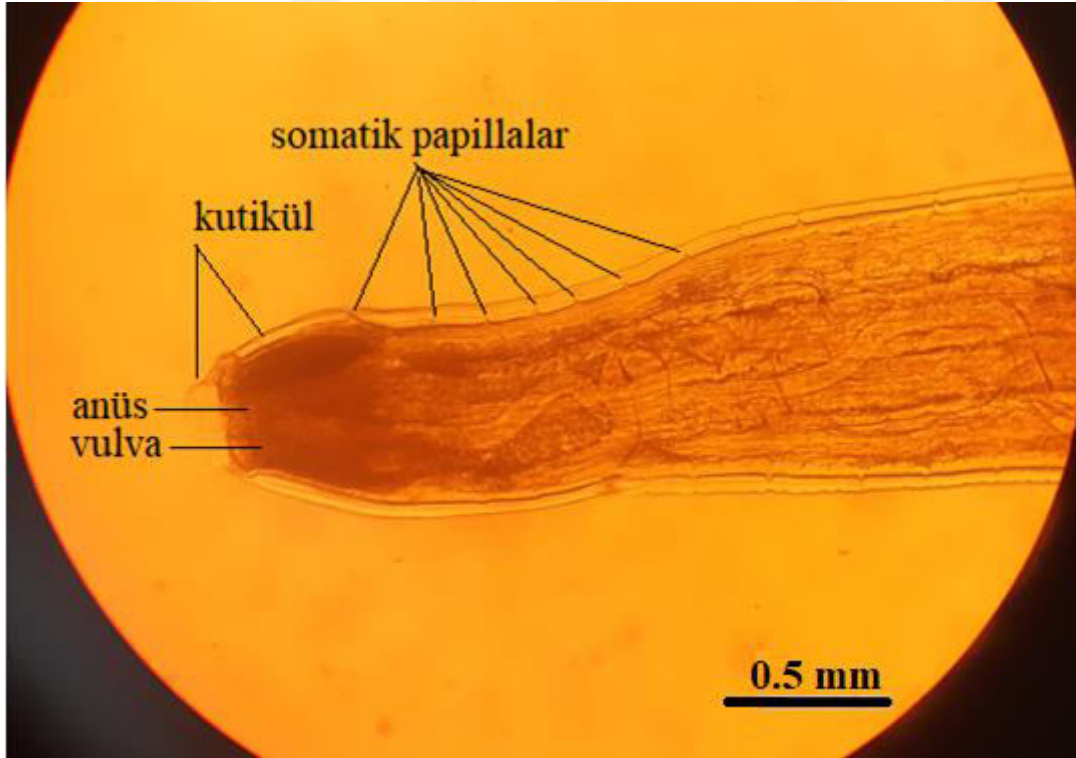
Resim 4.1 *Sander lucioperca* peritonunda *Eustrongylides excisus* olgusu (özgün)



Resim 4.2 Araştırma materyalleri olan *Eustrongylides excisus* örnekleri (özgün)



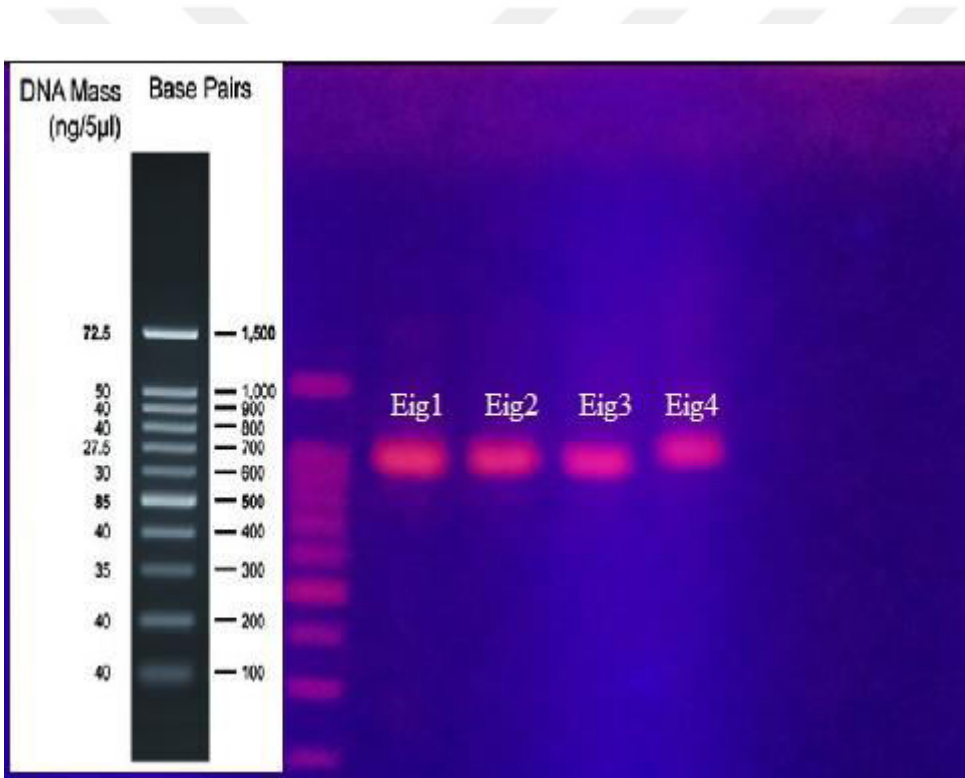
Resim 4.3 *Eustrongylides excisus*'ta anterior uç (özgün)



Resim 4.4 Dişi *Eustrongylides excisus*'ta kaudal uç (özgün)

4.2 DNA İzolasyon Bilgileri

Bu çalışmada, parazitik *Eustrongylides excisus* türünün moleküler tanımlaması, Eğirdir Gölündeki *Sander lucioperca*'dan toplanan 4 adet *Eustrongylides excisus* örneğinin 18S rDNA- 28S rDNA gen lokusları üzerinden yapılmıştır. Buna karşın 18S rDNA- 28S rDNA lokusuna ait tek bir profil ve güvenilir bant kaydedilmiştir (Resim 4.5). İzolatların 18S rDNA- 28S rDNA lokus bant boyutu 926, 954 ve 950 bp olarak belirlenmiştir. 18S rDNA-28S rDNA lokusunun nükleotidleri, her bir örnekten doğrudan dizilenmiştir (Çizelge 4.2) ve GenBank'ta kayıt altına alınmıştır (OP480437-39) (Çizelge 4.3).



Resim 4.5 *Eustrongylides excisus* örneklerine ait 18S rDNA lokusunun elektroforez görüntüleri ve Marker DNA (özgün).

Cizelge 4.2 *Eustrongylides excisus* örneklerinin 18SrDNA-28SrDNA lokusunun sekans verileri.

Örnek No	GenBank No	Baz çifti Sayısı	Sekans verileri
Eig1	OP480437	926	<p>1 gtgtgatcc gttgaggatt ggctgttgcg ttgggaagt ggccgaacc aaccatctag 61 aggaagtaaa agtcgtaaca aggtttccgt aggtgaacct gcggaaggat cattactgtt 121 gaacactttg gtggaatgcc aatgcgtacg tactgtgtgt atggcgtttg atgataaacg 181 tttgatcgac ggggagaatg tgaataacgg ctaaatgtgt gccgtaacct atctgttgg 241 tgcttgaata cagttgctgt cagtcagcag acaggtacca ttgtgcaggt gatgaacaca 301 cgggctgata ggctgatgga ccaggccgca ccggtttaa ggagcaatgt ccgcctgaac 361 tgtagtcgtt gaatgaatga ccgaaatcg aaaacggcgt aaacgatttt cagtgaacat 421 cacttaccat cgatacatga tggaaatat gaaaaatg attttgagca gtggtacct 481 ggggtcgtt gtcgatgaaa aacggtgcaa aactcgagag tttatgtgaa ttgcagacat 541 attgaacgtt gatatttga acgcatatgg tggcaagac tgctgtgat gccacggccg 601 cttgagggtc agttgatgca ctttgataat cgaatagact gaccgatcga tgataatgat 661 accggtggtc atgtgaatag ttcgataccg gttcatgtcg tgcttacctg gttatcaat 721 taaaggtgat gacggcgaag acggctcata cgaagtgtac ggcgttattg attgaatcag 781 ccggtcggag agatgaaatg taacaagta cccgtttctc cgggtttgga cagagaagga 841 caaaaagaaa tgcgatgttg gcgctttcta catgatggtg ttggtgttcg tttgaaatgt 901 gaaacgacct caagtcggtc gaggtc</p>
Eig2	OP480438	954	<p>1 cctctcggga ccgatgcttt gtgtgatcc gttgaggatt ggctgttgcg ttgggaagt 61 ggccgaacc aaccatctag aggaagtaaa agtcgtaaca aggtttccgt aggtgaacct 121 gcggaaggat cattactgtt gaacactttg gtggaatgcc aatgcgtacg tactgtgtgt 181 atggcgtttg atgataaacg tttgatcgac ggggagaatg tgaataacgg ctaaatgtgt 241 gccgtaacct atctgttgg tgcttgaata cagttgctgt cagtcagcag acaggtacca 301 ttgtgcaggt gatgaacaca cgggctgata ggctgatgga ccaggccgca ccggtttaa 361 ggagcaatgt ccgcctgaac tgtagtcgtt gaatgaatga ccgaaatcg aaaacggcgt 421 aaacgatttt cagtgaacat cacttaccat cgatacatga tggaaatat gaaaaatg 481 atttgagca gtggtacct ggggtcgtt gtcgatgaaa aacggtgcaa aactcgagag 541 tttatgtgaa ttgcagacat attgaacgtt gatatttga acgcatatgg tggcaagac 601 tgctgtgat gccacggccg cttgagggtc agttgatgca ctttgataat cgaatagact 661 gaccgatcga tgataatgat accggtggtc atgtgaatag ttcgataccg gttcatgtcg 721 tgcttacctg gttatcaact taaaggtgat gacggcgaag acggctcata cgaagtgtac 781 ggcgttattg attgaatcag ccggtcggag agatgaaatg taacaagta cccgtttctc 841 cgggtttgga cagagaagga caaaaagaaa tgcgatgttg gcgctttcta catgatggtg 901 ttggtgttcg tttgaaatgt gaaacgacct caagtcggtc gaggttaacc gcta</p>
Eig3	OP480439	950	<p>1 atgcttcgtg ttgatccgtt gcggtatggc tgttcggtt ggaagttggc cgaaccaac 61 catctagagg aagtaaaagt cgtaacaagg ttccgtagg tgaacctgcg gaaggatcat 121 tactgttga cactttggtg gaatgcaat gcgtactgtac tgtgtgtatg gcgtttgatg 181 ataaacgttt gatcgacggg gagaatgta ataacggcta aatgtgtgcc gtaaacatc 241 tttgtgttc tgaatacag ttgctgtcag tcagcagaca gttaccatgg tgcaggtgat 301 gaaacacagg gctgataggt cgatggacca ggccgaccg gtttaaagga gcaatgtccg 361 cctgaactgt agtcgttga tgaatgaccg aaatcgaaa acggcgtaaa cgattttcag 421 tgaacatcac ttaccatcga tacatgatgg aatatatgag aaagtatatt ttgagcagt 481 gatcactggg ttcgttggc gatgaaaaac ggtgcaaac tcgagagttt atgtgaattg 541 cagacatatt gaacgttgat atttgaaac catatggtgg caaagactgc tgcgatgcc 601 acggccgctt gaggtcagt tgatgcactt tgataatcga atagactgac cgatcgatga 661 taatgatacc ggtggtcatg tgaatgttc gataccggtt catgtcgtgc ttactgtgtt 721 atcacctaa aggtgatgac ggcaagacg gctcatcaga agttacggc gttattgatt 781 gaatacggc gtcggagaga tgaatgtaa caagtcacc gtttctccg ttgtggacag 841 agaaggcaa aaagaaatgc gatgttggcg ctttctacat gatggtgttg gtgttcgtt 901 gaaatgtgaa acgacctcaa gtcggtcag gtaaccgct gaattaaagc</p>

4.3 Dizileme Verileri

Mevcut araştırmada incelenen *E.excisus* örneklerinin 18s rDNA lokus dizilemesi yapılmıştır. *Eustrongylides excisus* örneklerinin 18S rDNA lokusundaki dizilerdeki bazdeğerleri A %26,94-27,26; T %26,78-26,84; A+T %53,72-54,1; G %28,30-28,62; C %17,39-17,92; G+C %45,69-46,54 olarak kaydedilmiştir. Bu örnekler arasında en düşük A+T değeri Eig2 (OP480438) nolu izolatta görölürken, en yüksek A+T oranı Eig3 (OP480439) de yer almaktadır. En düşük G+C olgusu Eig3 (OP480439) iken, en yüksek G+C ise Eig2 (OP480438) ile Eig1 (OP480437) nolu örnekte kaydedilmiştir (Çizelge 4.3).

İncelenen üç *Eustrongylides excisus* örneklerinin 18S rDNA-28S rDNA lokuslarındaki nükleotid çeşitliliği ve konumlarına göre nükleotidlerin dağılımı tanımlanmıştır. Araştırmada incelenen üç *Eustrongylides excisus* örneklerinin 18S rDNA- 28S rDNA lokus dizileri kendi aralarında da tam bir homoloji uyumu göstermiştir. *Eustrongylides excisus* izolatlarına ait 18S rDNA- 28S rDNA dizileri, NCBI üzerindeki en yakın bir izolat ile tam benzerlik göstermiştir. İncelenen izolatların 18S rDNA- 28S rDNA lokus nükleotitleri arasında varyasyona rastlanılmamıştır. Böylece mevcut izolatların aynı taksona ait bireyler olduğu kesinleşmiştir (Çizelge 4.4).

Ayrıca *Eustrongylides excisus* izolatlarımızın 18S rDNA lokasyonundaki nükleotid dizileri arasında haplotip varyasyonuna da rastlanılmamıştır. Bu kapsamda Haplotype (gene) diversity (Hd) değeri 0 olarak bulunmuştur.

Çizelge 4.3 *Eustrongylides excisus* örneklerinin 18SrDNA-28SrDNA lokusundaki A, T, G ve C nükleotidlerinin yüzde değerleri (%).

Örnek No	GenBank No	A (%)	T (%)	G (%)	C (%)
Eig1	OP480437	27,21	26,78	28,62	17,39
Eig2	OP480438	26,94	26,83	28,30	17,92
Eig3	OP480439	27,26	26,84	28,32	17,58

Çizelge 4.4 *Eustrongylides excisus* örneklerinin 18SrDNA-28SrDNA dizilerindeki nükleotid varyasyon ve yüzde değerleri (%) (MK007967 referans izolatına göre).

Örnek No	GenBank No	Nükleotid varyasyon sayısı ve (%)	Varyasyonlu Nükleotidlerin konumları ve adları
Eig1	OP480437	0	-
Eig2	OP480438	0	-
Eig3	OP480439	0	-

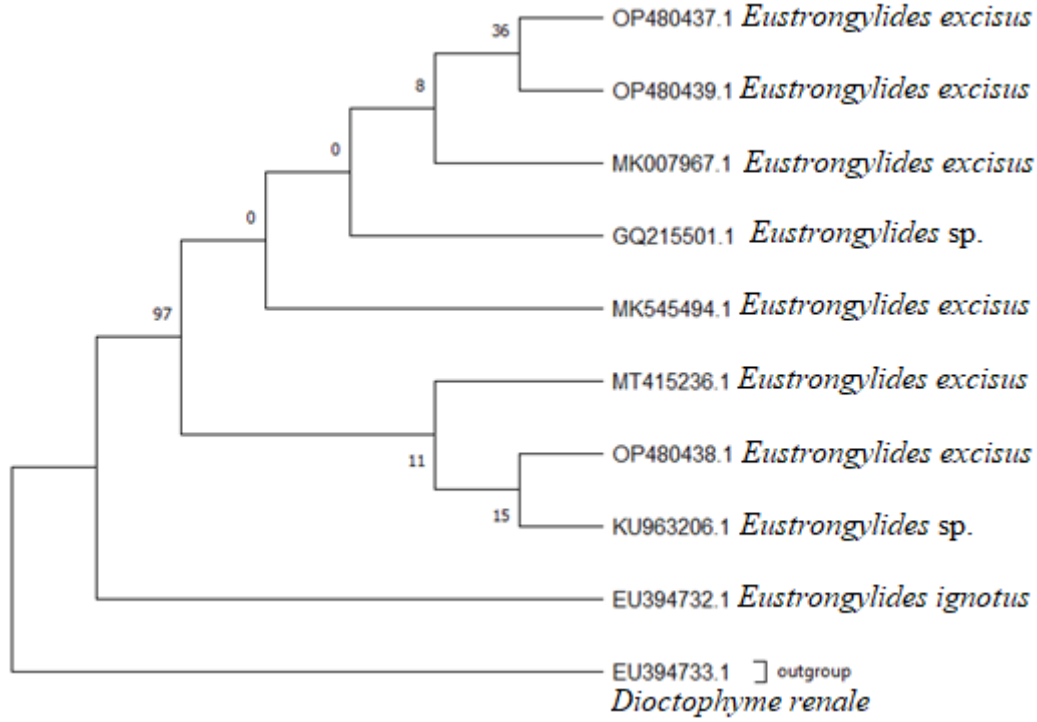
Bu çalışmada elde edilen *Eustrongylides excisus* izolatları (OP480437-39) ile GenBank veritabanındaki *Eustrongylides* spp. İzolatlarının 18S rDNA- 28S rDNA nükleotid dizilerinin ikili karşılaştırılması (%) yapılmıştır (Çizelge 4.5). 18S rDNA-28S rDNA hizalı nükleotid dizileri bakımından, mevcut araştırmanın *Eustrongylides excisus* izolatları (OP480437-39), MT415236 *Eustrongylides excisus* izolatı ile MK545494 *Eustrongylides excisus* izolatı arasında farklılık görülmemiştir. Benzer şekilde mevcut çalışma sürecinde elde edilen 3 izolatlar da kendi aralarında tam uyum göstermiştir. Bununla birlikte GQ215501 *Eustrongylides* sp. izolatı, KU963206 *Eustrongylides* sp. izolatına göre daha yakın konumlanmıştır. Mesafe matrisi analizinde 18S rDNA-28S rDNA gen dizi özellikleri bakımından *Eustrongylides excisus* izolatlarına en yakın tür *Eustrongylides ignotus* (EU394732) olarak tanımlanmıştır. İkili karşılaştırma analizinde dış grup *Dioctophyme renale* (EU394733) kullanılmıştır (Çizelge 4.5).

Çizelge 4.5 *Eustrongylides spp* örneklerinin 18SrDNA-28SrDNA lokus dizilerine göre ikili karşılaştırması (pairwise analizi).

	<i>E.</i> OP480437.1 <i>excisus</i>	<i>E. excisus</i> OP480438.1 <i>E. excisus</i>	<i>E. excisus</i> MK007967.1 <i>E. excisus</i>	<i>E. excisus</i> OP480439.1 <i>E. excisus</i>	<i>Eustrongylides</i> sp. GQ215501.1 <i>Eustrongylides</i> sp.	<i>Eustrongylides</i> sp. KU963206.1 <i>Eustrongylides</i> sp.	<i>E. excisus</i> MT415236.1 <i>E. excisus</i>	<i>E. excisus</i> MK545494.1 <i>E. excisus</i>	<i>E. ignotus</i> EU394732.1 <i>E. ignotus</i>	<i>Diectophyme renale</i> EU394733.1 <i>Diectophyme renale</i>	-Diş grup
OP480437.1 <i>Eustrongylides excisus</i>											
OP480438.1 <i>Eustrongylides excisus</i>	0,000										
MK007967.1 <i>Eustrongylides excisus</i>	0,000	0,001									
OP480439.1 <i>Eustrongylides excisus</i>	0,000	0,003	0,003								
GQ215501.1 <i>Eustrongylides</i> sp.	0,026	0,030	0,027	0,027							
KU963206.1 <i>Eustrongylides</i> sp.	0,004	0,004	0,005	0,005	0,033						
MT415236.1 <i>Eustrongylides excisus</i>	0,000	0,000	0,000	0,000	0,027	0,000					
MK545494.1 <i>Eustrongylides excisus</i>	0,000	0,000	0,000	0,000	0,024	0,000	0,000				
EU394732.1 <i>Eustrongylides ignotus</i>	1,354	1,362	1,344	1,359	1,413	1,390	1,409	1,408			
EU394733.1 <i>Diectophyme renale</i>											
-Diş grup	1,363	1,363	1,363	1,363	1,429	1,363	1,363	1,363	1,812		

4.4 Filogram Analiz Verileri

Çizelge 4.6 Mevcut çalışmadan ve GenBank veri tabanından bazı *Eustrongylides spp* örneklerinin 18SrDNA-28SrDNA nükleotid dizilerine dayanan maksimum likelihood (ML) ağacı.



Bu çalışmada elde edilen *Eustrongylides excisus* izolatlarına ait bulgular (OP480437-39) ile GenBank veri tabanındaki *Eustrongylides spp.* izolatlarının 18rDNA-28S rDNA gen dizileri kullanılarak maksimum olabilirlik (ML) yöntemi ile filogram analizi yapılmıştır (Şekil 4.1). Maksimum olabilirlik analiz değerleri, *Eustrongylides excisus* ile *Eustrongylides ignotus* türleri kendi arasında %97 ile güçlü bir şekilde filogram oluşumunu desteklemiştir. ML analizi sonucunda, mevcut çalışmada elde edilen *Eustrongylides excisus* izolatlarından OP480437, OP480439, MK007967 izolatı kendi aralarında en yakın konumlanma göstermiştir. Bu konumlanmayı geri kalan diğer iki GQ215501 ve MK545494 izolatları takip etmiştir. Diğer yandan OP480437 izolatı ağacın kol ayrımına yakın bölgede yer alan KU963206 ve MT415236 izolatlarıyla daha yakın benzerlik taşıdıkları görülmüştür. EU394733 *Dioctophyme renale* dış grup olması nedeniyle ağaçta farklı bir kol meydana getirmiştir (Çizelge 4.6).

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Dioctophymatidae taksonundaki *Eustrongylides excisus* parazitik nematodlar için tatlı su oligoketler (*Lumbricus variegatus*, *Tubifex tubifex*, *Limnodrilus* sp.) ilk ara konak, amfibiler (*Rana ridibunda*), sürüngenler (*Natrix tessellate*), çeşitli balık türleri paratenik konak ve bazı su kuşları (*Pelecanus* sp., *Phalacrocorax carbo*, *P. pigmeus*) kesin konak olarak bilinmektedir (Spalding vd. 1993).

Parazit döngüsündeki rolü nedeniyle *E. excisus* larvaları balıklar için oldukça patojeniktir. Bjelić-Čabrilo vd. (2013)'in, *E. excisus* larvalarının mersin balıklarda dokulara ağır hasar verdiği bildirilmiştir. Nematod larvaların bulunduğu bölgelerde büyük yara izleri bulunduğunu, bazen enflamatuvar lezyonlar ortaya çıkmış ve sıklıkla böbreğin tamamen tahrip olduğunu ifade etmiştir. *Eustrongylides* türleri balıkların vücut boşluğunda, kaslarında, testislerinde veya bağırsakları gibi iç organların dış yüzeyinde bulunabilir ve yüksek derecede enfekte balıklarda konakçının karnında şişkinlik ile sonuçlandığına dikkat çekmiştir (Spalding vd. 1993). Youssefi vd. (2020), nematodun kasta eksternal nodül, inflamasyon ve granülomatöz nekroza neden olduğunu bildirmiştir. Ayrıca testis dokusunda bazı sertoli hücrelerinde spermatozoa kümelenmesi, nekroz ve vakuoler dejenerasyon gözlendiğini vurgulamıştır. Nematodlar genel olarak bağırsaktan vücut boşluğuna göç ettiklerinde, etkilenen balıklar çoğunlukla sarkık veya şişkin karınlar ortaya çıktığı rapor edilmiştir. Innal vd. (2019), parazitlerin histopatolojik inceleme sonucunda konakçı dokularda hiperemi, ödem, hafif kanama ve inflamatuvar reaksiyonlara, ayrıca mezenter damarların ciddi şekilde hiperemiye neden olduğunu saptamıştır. *Eustrongylides* nematodlarını içeren çiğ veya az pişmiş balıkların insan tüketicilerinde gastrit ve bağırsak sistemi enfeksiyonun da helmintlerin bağırsağın dışına çıkabilmesi için perforasyonu bildirilmiştir (Ibiwoye vd. 2005).

Sudak balığı (*Sander lucioperca*) Türkiye'de yerel ticari balıkçılık için bir kaynaktır ve geleneksel mutfakta yaygın olarak kullanılmaktadır (Balık vd. 2006, Çelik vd. 2005, Çağlak ve Karşlı 2013, İlhan ve Sarı 2013). Ayrıca Hırvatistan, Yunanistan, İspanya ve İtalya gibi birçok ülkede ticari öneme sahiptir (Maci ve Basset 2010). Son zamanlarda özellikle, artan küresel balık ticareti, çiğ veya az pişmiş balık tüketimine artan eğilimi

göz önüne alındığında, kamu hijyenive deniz ürünleri kalitesi üzerinde etkileri epidemiyolojisinin anlaşılmasına ve halk sağlığı bakımından önemlidir. Bu anlamda *E. excisus*'un izlenme ve halk sağlığı önlemlerine ihtiyaç olabileceği değerlendirilmiştir (Eiras vd. 2018).

Bu çalışmada incelenen araştırma örnekleri, anatomik ve morfolojik özellikleri kapsamında kaudal morfolojisi, kaudal yöndeki papillerin karakteristik yapıları, anterior uçta iki sıra halinde bulunan papilla yapıları, sinir halkası ve özafagus gibi yapılar diagnostik özellikleri yönünden incelenmiştir. Bu karakterler geçerli üç *Eustrongylides* türünü (*E. tubifex*, *E. ignotus* ve *E. excisus*) ayırt etmek için kullanılan en belirgin morfolojik özelliklerdir (Pekmezci vd. 2021). Yapılan değerlendirmede Eğirdir Gölü sudak balıklarında toplanan *E. excisus* örneklerinin Measures (1988), Mazzone vd. (2019) ve Pekmezci vd. (2021) tarafından tanımlanan *E. excisus* ile anatomik ve morfolojik özellikler yönünden tam benzerlik göstermiştir.

Türkiye'den bugüne kadar *Eustrongylides excisus* türünün dağılışı gösterdiği *Gobius fluviatilis* (Öztürk vd. 2001, 2002), *Perca fluviatilis* (Soylu 2013), *Atherina boyeri* (Çolak 2013), *Sander lucioperca* (Metin vd. 2014, Ozmen vd. 2021, Tanrikul vd. 2019), *Aphanius transgrediens* (İnnal vd. 2019) balık türleri üzerine çalışmalar vardır. Bu araştırmalar ile *E. excisus* türü anatomik ve morfolojik özelliklerine göre tanımlanmıştır. Türkiye'de *Sander lucioperca*' dan tanımlanan *E. excisus* türü ITS, SSU rRNA ve COI dizileri üzerinden ilk moleküler çalışma Pekmezci vd. (2021) tarafından yapılmıştır. Bu araştırmada ise Eğirdir Gölü *Sander lucioperca*' da kaydedilen *E. excisus* türünü 18S rDNA lokusu kapsamında moleküler olarak tanımlanan Türkiye'deki ikinci çalışmadır.

Mevcut araştırmada incelenen *E. excisus* örneklerinin 18S rDNA lokusundaki dizilerdeki baz değerleri ile A %26,94-27,26; T %26,78-26,84; A+T %53,72-54,1; G %28,30-28,62; C %17,39-17,92; G+C %45,69-46,54 olarak kaydedilmiştir. Bu örnekler arasında en düşük A+T değeri Eig2 (OP480438) nolu izolatta görülürken, en yüksek A+T oranı Eig3 (OP480439) de yer almaktadır. En düşük G+C olgusu Eig3 (OP480439) iken, en yüksek G+C ise Eig2 (OP480438) ile Eig1 (OP480437) nolu örnekte kaydedilmiştir.

Diğer araştırmacılar (Xiong vd. 2013, Mazzone vd. 2019, Pekmezci vd. 2021, Youssefi vd. 2020, Guardone vd. 2021) tarafından tanımlanan *E. excisus* izolatlarının 18S lokusundaki A, T, G, C, % değerlerinin oranı, MK007967 nolu izolatının (A %27,23, T %26,81, G %28,27, C %17,70), KU963206 nolu izolatın (A %27,87, T %26,91, G %27,87, C %17,34), GQ215502 nolu izolatın (A %27,77, T %27,27, G %27,87, C %17,08), MK545495 nolu izolatın (A %27,73, T %26,60, G %28,11, C %17,57), MT415237 nolu izolatın (A %27,67, T %26,54, G %28,18, C %17,61) olarak tanımlanmıştır. Bunun sonucunda MK007967 nolu *E. excisus* izolatının 18S rDNA dizisindeki bazların dağılım oranı ile bu araştırmada incelenen izolatların nükleotid oranları arasında çok yüksek oranda benzerlik bulunmuştur. En çok farklılık GQ215502 nolu *E. excisus* izolatu olarak tanımlanmıştır.

Araştırma sürecinde tanımlanan üç izolatın (OP480437- OP480439) 18S rDNA- 28S rDNA lokus nükleotitleri arasında varyasyona rastlanılmamıştır. Böylece mevcut izolatların aynı taksona ait bireyler olduğu tanımlanmıştır. Youssefi vd. (2020), tarafından izole edilmiş (KU963206) nolu izolatın, Xiong vd. (2013)'nin tatlı su balıklarından elde edilenlere çok yüksek oranda benzer olduğunu rDNA ITS genetik dizilerini ile doğrulamıştır. Bunun sonucunda parazitlerin kökeninin aynı olabileceğini düşündürmüştür. Youssefi vd. (2020) tarafından izole edilen (KU963206) dizi ile Xiong vd. (2013) izole edilen diğer diziler arasındaki birkaç varyasyon, diğer parazitlere benzer şekilde *Eustrongylides* nematodlarında mikrovaryant olasılığını göstermiştir.

Bu araştırmada tanımlanan *Eustrongylides excisus* larvalarının (OP480437- OP480438- OP480439) 18S rDNA dizileri ile GenBank ortamından alınan İtalya'da tanımlanmış MT415236 nolu *Eustrongylides excisus* izolatu (Guardone vd. 2021) ve MK545494 nolu *Eustrongylides excisus* izolatının (Mazzone vd. 2019) 18S rDNA *E. excisus* dizileriyle ikili genetik mesafe analizi yöntemiyle değerlendirilmiş ve %100 özdeşlik elde edilmiştir. Ayrıca Türkiye'de Pekmezci vd.(2021) *Eustrongylides* spp larvalarının 18s rDNA dizileri %0,1 (MK007967), İran'dan Youssefi vd. (2020) 18s rDNA dizileri %0,4 (KU963206) çok büyük benzerlikle bu örneklerin aynı taksonu temsil ettiğini göstermiştir. Bununla birlikte, Çin'den Xiong vd. (2013) tarafından tanımlanan GQ215501 nolu *E. excisus* izolatının 18S rDNA dizileri arasındaki genetik varyasyonun

%0,26 olduğu bulunmuştur. Bu kapsamda *E. excisus* izolatları arasındaki coğrafik izolasyon mesafesi arttıkça izolatlar arasındaki varyasyonun çoğaldığı tanımlanmıştır.

Mevcut çalışmada elde edilen veriler araştırma örneklerinin (OP480437- OP480438- OP480439), diğer *E. excisus* izolatları ile (MK007967, MK545494, MT415236, KU963206, GQ215501) maximum likelihood yöntemiyle değerlendirilmiştir. Analiz sonucunda izolatların monofiletik bir dalda %97 önyükleme değeri ile kümelendiği görülmüştür. Bu sonuçlar 18s rDNA lokusunun, filogenetik çalışmada ilgilin ematod türlerinin tanımlanmasında başarıyla kullanılabileceğini göstermiştir. *Eustrongylides excisus* izolatlarının (OP480437-39) 18S rDNA gen dizisi, MK007967 *Eustrongylides excisus* izolatı ile arasında farklılık görülmemiş ve en yakın dalda konumlanmıştır. *E. excisus* izolatlarına en yakın tür *Eustrogylides ignotus* (EU394732) olarak tanımlanmıştır. Bu çalışmada incelenen larval 4 evresindeki *E. excisus* örnekleri, *E. excisus* izolatına (MK007967, MK545494, MT415236) ait 18s rDNA dizisiyle tam eşleme göstermiştir. Bu sonuç araştırma örneklerimizin 18s rDNA lokusuna göre genetik olarak *E. excisus* türüne ait olduğunu doğrulamıştır. Pekmezci vd. (2021), iyi tanımlanmış yetişkin nematod dizileri ile aynı veya çok yüksek benzerlik oranlarını gösterirse, larva nematodlarının spesifik kimliği de genetik olarak tanımlanabileceğini belirtmiştir. Mevcut çalışma sonuçları da bu görüşü desteklemiştir.

Sonuç

Sonuç olarak bu çalışmayla, Türkiye'de Eğirdir gölünden toplanan *Sander lucioperca*'daki parazit *E. excisus*'un 18S rDNA gen dizisi ilk defa bu çalışmayla tanımlanmıştır. 3 *Eustrongylides excisus* örneğine ait 18S rDNA dizisi, morfolojik yapı ve moleküler verilere göre tanımlanmasıyla taksonomik konumunu doğrulamıştır. Mevcut çalışmada incelenen *E. excisus* izolatları gen dizilimi bakımından kendi aralarında tam özdeşlik göstermiştir. Bu geçerli genetik veriler, *Eustrongylides* türlerinin filogenetik ilişkilerini kurmak, *Eustrongylides excisus*'un DNA barkod kitaplığının oluşturulması çalışmalarına ve taksonomik kökenine katkıda bulunmuştur. Ayrıca, Türkiye'deki *Eustrongylides* türlerinin larva ve erginlerindeki genetik değişkenliği ve populasyon genetik yapısını incelemek için aynı genetik belirteçleri kullanan ileri araştırmalara ihtiyaç vardır.

6. KAYNAKLAR

- Abe N, 2011, Molecular and morphological identification of helminthes found in Japanese smelt, *Hypomesus transpacificus nipponensis*, with notes on new host records of *Eustrongylidesignotus* and *Raphidascaris gigi*. *Acta Parasitol* 56, 227–231.
- Altschul S F, Gish W, Miller W, Myers E W, Lipman D J, 1990, Basic local alignment search tool. *J Mol Biol* 215, 403–410.
- Aydoğdu A, Emre Y, Emre N, Altunel F N, 2011, The Occurrence of Helminth Parasites (Nemathelminthes) in Some Freshwater Fish from Streams Discharging into Antalya Bay in Antalya Turkey, Two New Host Records from Antalya, *Turk J Zool*, 35(3), 859–864.
- Balık İ, Çubuk H, Özkök R, Uysal R, 2006, Eğirdir Gölü balık faunası ve balıkçılığı: sudak balığının (*Sander lucioperca* (Linnaeus, 1758)) aşılındığı 1950’li yıllardan günümüze değişimler, I. Balıklandırma ve Rezervuar Yönetimi Sempozyumu, 105–118, Antalya.
- Barros L A, Mateus L A F, Braun D T, Bonaldo J, 2010, Ecological aspects of endoparasites in red piranha (*Pygocentrus nattereri* Kner, 1860) from Cuiabá river, Mato Grosso, Brazil *Arq Bras Med Vet Zootec*, 62, 228–231.
- Bjelić-Čabrilo O, Novakov N, Ćirković M, Kostić D, Popović E, Aleksić N, vd., 2013, The first determination of *Eustrongylides excisus* Jägerskiöld, 1909, Larvae (Nematoda: Dioctophymatidae) in the pike-perch *Sander lucioperca* in Vojvodina (Serbia), *Helminthologia*, 50, 291–294.
- Branciarri R, Ranucci D, Miraglia D, Valiani A, Veronesi F, Urbani E, vd., 2016, Occurrence of parasites of the genus *Eustrongylides* spp. (Nematoda: Dioctophymatidae) in fish caught in Trasimeno lake, Italy *Italian Journal of Food Safety*, 5, 6130.
- Brand Th V, 1937, Haemoglobin in larval nematode, *J Parasitol*, 23, 225.
- Brand Th V, 1942, Factors influencing the oxygen consumption of larval *Eustrongylides* *J Parasitol*, 28(6), 27.
- Brand Th V, 1943, Influence of temperature, pH and inorganic ions upon the oxygen consumption, *Biol Bull*, 84, 148.

- Brand Th V, 1944, Physiological observation on a larval Eustrongylides VI Transmission to various coldblooded intermediate host. Proc Helminthol Soc Wash, 11(1), 23–27.
- Brand Th V, 1952, Chemical physiology of endoparasitic animals. Acad. Press N Y, 339.
- Brand Th V, Simson W F, 1944, Studies upon survival and metabolism in sterile surroundings J Parasitol, 30(2), 121–129.
- Cağlak E, Karşlı B, (2013), Beyşehir gölü sudak (Sander lucioperca Linnaeus, 1758) balıklarının mevsimsel et verimi ve kimyasal kompozisyonu. Süleyman Demirel Üniversitesi Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi Dergisi, 9(1), 1–8.
- Carlsson M, Karvemo S, Tudor M, Sloboda M, Mihalka A D, Ghira I, vd., 2011, Monitoring a large population of dice snake at lake Sinoe in Dobrogea, Romania, Mertensiella, 18, 237–244.
- Chepurnaya A G, 2010, Fish parasites fauna in various water bodies of the Lower Volga region, Vestn. Astrakhan. Gos. Tekhn. Univ., Ser. Rybn. Khoz.,1, 62–65.
- Ćirković M, Novakov N, Petrović J, Ljubojević' D, Apić J, Babić J, Teodorović V, 2013, Fanding of Parasitic Nematodes of Fishes Present in the Market Archives of Veterinary Medicine, 6(2), 3–13.
- Colak H S, 2013, Metazoan Parasites of Fish Species from Lake Sığırcı (Edirne, Turkey), Turk J Vet Anim Sci, 37, 200–205.
- Cole R A, 1999, Eustrongylidosis In: Friend, M, Franson, J C (Eds) Field Manual of Wildlife Diseases: General Field Procedures and Diseases of Birds. U.S. Department of the Interior Fish and Wildlife Service: Washington, DC, USA, 223–228.
- Cooper C, Crites J, Spinkle Fastkie D, 1978, Population biology and behavior of larval Eustrongylides tubifex (Nematoda: Dioctophymatida) in Poikilothermous hosts, J Parasitol, 64, 102–107.
- Coşkun D, Ertan Ö O, 2016, Eğirdir Gölü (Hoyran Bölgesi) Fitoplanktonik Alg Florası Üzerine Bir Araştırma Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 20(1), 16–26.
- Coyner D F, Spalding M G, Forrester D J, 2002, Epizootiology of Eustronglyides Ignotus in Florida: Distribution, density, and natural infections in intermediate

- hosts , *Journal of Wildlife Diseases*, 38(3), 483–499.
- Crivelli A J, 1995, Are fish introductions a threat to endemic freshwater fishes in the northern Mediterranean region? *Biol Cons*, 72, 311–319.
- Cullinan R P, 1945, The larvae of *Eustrongylides ignotus* in *Fundulus heteroclitus*, *J Parasitol*, 31(2), 109–112.
- Çelik M, Diler, A, Küçükgülmez A, (2005), A comparison of the proximate compositions and fatty acid profiles of zander (*Sander lucioperca*) from two different regions and climatic conditions. *Food Chemistry*, 92(4), 637–641.
- Çolak S Ö, 2013, The helminth community of the sand smelt (*Atherina boyeri* Risso, 1810) from Lake Iznik, Turkey. *J Helminthol* 87, 129–34.
- D'Amico P, Malandra R, Costanzo F, Castigliero L, Guidi A, Gianfaldoni D, vd., 2014, Evolution of the *Anisakis* risk management in the European and Italian context. *Food Research International*, 64, 348–362.
- Deardorff T L, Overstreet R M, 1991, Sea food transmitted zoonoses in the United States: the fishes, the dishes, and the worms. In: Ward, D R, Hackney, C R (Eds) *Microbiology of marine food products*, Van Nostrand Reinhold, New York, 211–265.
- Dezfuli BS, Manera M, Lorenzoni M, Pironi F, Shinn AP, Giari L, 2015. Histopathology and the inflammatory response of European perch, *P. fluviatilis*, muscle infected with *Eustrongylides* spp. (nematode), *Parasite Vector* 8–227.
- Didinen H, Boyacı Y Ö, 2007, E. Eğirdir Gölü Hoyran Bölgesi Rotifer Faunasının (Rotifera) Sistematik ve Ekolojik Yönden İncelenmesi U. *Journal of Fisheries & Aquatic Sciences*, 24(1–2), 31–37.
- Eberhard M L, Ruiz-Tiben E, 2014, Cutaneous emergence of *Eustrongylides* in two persons from South Sudan. *Am J Trop Med Hyg*, 90, 315–317.
- Eiras J C, Pavanelli G C, Takemoto R M, Nawa Y, 2018, An overview of fish-borne nematodiasis among returned travelers for recent 25 years—unexpected diseases sometimes far away from the origin. *Korean J. Parasitol*, 56, 215.
- Fallah F J, Khara H, Daghigh Rohi J D, Sayadborani M, 2015, Hematological parameters associated with parasitism in pike, *Esox lucius* caught from Anzali wetland *J Parasit Dis* 39(2), 245–248.
- Feist S W, Longshaw M, 2008, Histopathology of fish parasite infections – importance.

- J Fish Biol, 73, 2143–2160.
- Felsenstein J, 1985, Confidence limits on phylogenies, An approach using the bootstrap. Evolution 39, 783–791.
- Franceschini R, Guardone L, Armani A, Ranucci D, Roila R, Valiani A, vd., 2022, Five-years management of an emerging parasite risk (*Eustrongylides* sp., Nematoda) in a fishery supply chain located on Trasimeno Lake (Italy), Food Control, 136, 108858.
- Francova K, Ondračková M, Polačik M, Jurajda P, 2011, Parasite fauna of native and non-native populations of *Neogobius melanostomus* (Pallas, 1814) (Gobiidae) in the longitudinal profile of the Danube River, J. Appl. Ichthyol, 27(3), 879–886.
- Franson J C, Cluster T W, 1994, Eustrongylidosis in wading birds from colonies in California, Texas, and Rhode Island, USA, Colonial Waterbirds, 17(2), 168–172.
- Goncharov S L, Soroka N M, Pashkevich I Y, Dubovy I A I, Bondar A O, 2018, Infection of Predatory Fish with Larvae of *Eustrongylides excisus* (Nematoda, Dioctophymatidae) in the Delta of the Dnipro River and the Dnipro-Buh Estuary in Southern Ukraine. Vestn Zool, 52(2), 137–144.
- Guagliardo S, Viozzi G, Brugni N, 2019, Pathology associated with larval *Eustrongylides* sp (Nematoda: Dioctophymatoidea) infection in *Galaxias maculatus* (Actinopterygii: Galaxiidae) from Patagonia. Argentina Int J Parasitol Parasites Wildl, 10, 113–116.
- Guardone L, Ricci E, Susini F, Polsinelli E, Guglielmone G, Armani A, 2021, First detection of *E. excisus* (Nematoda: Dioctophymatidae) in big-scale sand smelt (*Atherina boyeri*) from the lake Massaciuccoli (Northwest Tuscany, Italy), implications for public health and seafood quality, Food Control 120, 107517 in new localities in the southwestern Baltic Sea, Parasitol Res., 109, 769–780.
- Güven A, Oztürk T, 2018, Metazoan Parasite Faunas of Three Gobiid Species (Actinopterygii: Gobiidae) Inhabiting the Lower Kızılırmak Delta in Samsun, A Comparative Study, Türkiye Parazitoloj Derg 42, 33–8.
- Hafner M S, Sudman P D, Villablanca F X, Spradling T A, Demastes J W, Nadler S A, 1994, Disparate rates of molecular evolution in cospeciating hosts and parasites. Science 265, 1087–1090.

- Haugen P, Hemmingsen W, Mackenzie K, 2008, The distribution of *Eustrongylides* sp. (Nematoda: Dioctophymatoidea) in brown trout *Salmo trutta* L. in the River Otra in southern Norway. *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists* 28, 138–143.
- Hoepli R, Hsu H F, Wu H W, 1929, Helminthologische Beiträge aus Fukien and Chekiang, *Arch Schiffs Trop Hyg*, 33, 1–44.
- Honcharov S L, 2017a, Age dynamics of infection of predatory fish species by larvae of nematodes *Eustrongylides excisus* in the Dnieper-Bug estuary and the Dnieper delta. *BPSAA*, 3, 110–115.
- Honcharov S L, Soroka N M, Dubovyı A I, 2017, Seasonal dynamics of infection of predatory fish species by nematodes *Eustrongylides excisus* (Nematoda: Dioctophymatidae) in the Dnieper-Bug Estuary and the Dnieper Delta. *Anim Biol*, 19(4), 16–23.
- Honcharov S L, Soroka N M, Galat M V, Zhurenko O V, Dubovyı A I, Dzhamıl V I, 2022, *Eustrongylides* (Nematoda:Dioctophymatidae), epizootology and special characteristics of the development biology, *Helminthologia*, 59(2), 127–142.
- Honcharov, S L, (2017b): Distribution of nematode larvae *Eustrongylides excisus* Jägerskiöld, 1909 (Nematoda: Dioctophymatidae) in the body of predatory fish. *Scientific and technical bulletin of the Research Center for Biosafety and Environmental Control of Agricultural Resources*, 5(3), 5–9.
- Ibiwoye T T I, Ogunsusi R A, Balogun A M, Agbontale J J, 2005, Contributions of haematological factors to the estimations of *Eustrongylides africanus* larvae densities in *Clarias gariepinus* and *Clarias anguilaris* from Bida floodplain of Nigeria, *Sokoto Journal of Veterinary Sciences*, 6, 145–149.
- Innal D, Yıldırım M, Stavrescu-Bedivan M M, Güçlü S S, Ünal M C, Doğangil B, vd., 2019, Occurrence and infection dynamics of *Salsuginus* sp. (Monogenea, Ancyrocephalidae) and *Eustrongylides excisus* (Nematoda, Dioctophymatidae) in four endemic *Aphanius* (Cyprinodontidae) species: new host records for Turkish fauna, *Acta Biologica Turcica*, 32(2), 103–109.
- İlhan A, Sarı H M, (2013), Fish fauna and fisheries activities in Lake Marmara. *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 30(4), 187–191.
- Johnston H, Mawson M, 1944, Remarks on some parasitic nematodes from Australia

- and New Zealand. *Trans R Soc S Aust* 68, 60–66.
- Kahilainen K K, Teacher A G F, Kähkönen K, Vinni M, Lehtonen H, Merilä J, 2011, First Record of Natural Hybridization and Introgression between Pikeperch (*Sander lucioperca*) and Perch (*Perca fluviatilis*). *Ann. Zool. Fennici*, 48, 39–44.
- Kaptan H, Tekin-Özan S, 2014, Eğirdir Gölü'nün (Isparta) Suyunda, Sedimentinde ve Gölde Yaşayan Sazan'ın (*Cyprinus carpio* L., 1758) Bazı Doku ve Organlarındaki Ağır Metal Düzeylerinin Belirlenmesi, *SDU Journal of Science (E-Journal)*, 9(2), 44–60.
- Karas P, Sandström A, 2002, Effects of eutrophication on young-of-the-year freshwater fish communities in coastal areas of the Baltic, *Environmental Biology of the Fishes* 63, 89–101.
- Karatoy E, Soylu E, 2006, Metazoan Parasites of Bream (*Abramis brama* Linnaeus, 1758) in Lake Durusu. *Acta Parasitol. Turcica*, 30, 233–238.
- Karmanova E M, 1968, Animal and human dioctophimides and the diseases they cause, in *Osnovy nematodologii (Nematology Basics)*, Moscow, Nauka, 20, 103–119.
- Kearse M, Moir R, Wilson A, Stones-Havas S, Cheung M, Sturrock S, vd., 2012, Geneious Basic: an integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data. *Bioinformatics* 28, 1647–1649.
- Kırım D, Chunchukova M, 2021, Helminths And Helminth Communities Of *Silurus Glanis* (Linnaeus, 1758) From The Tundja River, Bulgaria *Scientific Papers. Series D, Animal Science*, 64(1), 523–528.
- Koehler A V A, Hoberg E P, Torres-Pérez F, Cook J A, 2009, A Molecular View of the Superfamily Dioctophymatoidea (Nematoda), *Comp. Parasitol*, 76(1), 100–104.
- Kumar S, Stecher G, Li M, Knyaz C, Tamura K, 2018, MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution* 35, 1547–1549.
- Kuraïem B P, Knoff M, Telleria E L, Fonseca M C G, Machado L S, Cunha N C, vd., 2020, *Eustrongylides* sp (Nematoda Dioctophymatoidea parasitizing *Hoplias malabaricus* (Actinopterygii Erythrinidae) collected from the state of Rio de Janeiro Brazil. *Braz J Vet Parasitol* 29:e014519.
- Kvach Y, 2005, A comparative analysis of helminth faunas and infection parameters of ten species of gobiid fishes (Actinopterygii: Gobiidae) from the north-western

- Black Sea. Acta Ichthyol. Piscat., 35(2), 103–110.
- Kvach Y, Winkler H M, 2011, The colonization of the invasive round goby *Neogobius melanostomus* by parasites in new localities in the southwestern Baltic Sea, Parasitol Res, 109, 769–780.
- Lambert A, 1997, The introduction of freshwater fish species in continental areas, “What about their parasites?”, Bulletin Francais de la Peche et de la Pisciculture 344–345, 323–334.
- Lappalainen J, Erm V, Lehtonen H, 1995, Pikeperch *Stizostedion lucioperca* (L.), catch in relation to juvenile density and water temperature in Parnu Bay, Estonia, Fisheries Management and Ecology 2, 113–120.
- Maci S, Basset A, 2010, Spatio-temporal patterns of abundance, size structure and body condition of *Atherina boyeri* (Pisces: Atherinidae) in a small non-tidal Mediterranean lagoon. Estuarine, Coastal and Shelf Science, 87, 125–134.
- Martins M, Santos S, Marengoni N, Takahashi K, Onaka E, 2009, Seasonality of *Eustrongylides* sp. (Nematoda: Dioctophymatidae) larvae in fishes from Paraná river, South-western Brazil. Bol Inst Pesca, 35, 29–37.
- Mazzone A, Caffara M, Gustinelli A, Agnetti F, Sgariglia E, Lo Vaglio G, vd., 2019, Morphological and Molecular Characterization of Larval and Adult Stages of *Eustrongylides excisus* (Nematoda: Dioctophymatoidea) with Histopathological Observations. J Parasitol. 105(6), 882–889.
- Measures N, 1988, Revision of the genus *Eustrongylides* Jagerskiold, 1909 (Nematoda: Dioctophymatoidea) of piscivorous birds, Can. J. Zool, 66, 885–895.
- Menconi V, Riina M V, Pastorino P, Mugetti D, Canola S, Pizzul E, vd., 2020, First occurrence of *Eustrongylides* spp. (nematoda: Dioctophymatidae) in a subalpine lake in Northwest Italy: New data on distribution and host range, Int J Environ Res Public Health, 17, 4171.
- Menconi V, Tedesco P, Pastorino P, Confortini I, Esposito G, Tomasoni M, vd., 2021, Could Fish Feeding Behaviour and Size Explain Prevalence Differences of the Nematode *Eustrongylides excisus* among Species? The Case Study of Lake Garda. Water, 13, 3581.
- Metin S, Didinen B I, Boyacı Y Ö, Kubilay A, Emre N, Didinen H, Emre Y, 2014, Occurrence of *Eustrongylides excisus* Jägerskiöld 1909 Larvae (Nematoda:

- Dioctophymatidae) in Pikeperch (*Sander lucioperca*, L.) in Lake Eğirdir, Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi Dergisi, 10(1), 20–24.
- Mierzejewska K, Kvach Y, Wozniak M, Kosowska A, Dziekonska-Rynko J, 2012, Parasites of an Asian Fish, The Chinese Sleeper *Percottus Glenii*, in The Włocławek Reservoir on The Lower Vistula River, Poland: in Search of The Key Species in The Host Expansion Process. *Comp. Parasitol.*, 79(1), 23–29.
- Mineeva O V, 2018, Bullfish nematodes (Perciformes, Gobiidae) in the Saratov Reservoir, *Izv. Samar. Nauch. Tsentra, Ross. Akad. Nauk*, 20(2), 67–72.
- Mitchell A, Overstreet R, Goodvin A, 2009, *Eustrongylides ignotus* infecting commercial bass, *Morone chrysops* female X *Morone saxatilis* male, and other fish in the southeastern USA, *J Fish Dis*, 32 (9), 795–799.
- Mohammad R, Iraj M, Mahzad A M, Behyar J, Bagher A F, Saeed S S, 2011, Occurrence and intensity rate of internal Metazoan parasites in *Rutilus frisii kutum* and the first report of *Dioctophyma renale* (Nematoda: Dioctophymidae) in Iran, *World J. Zool.*, 6(1), 91–97.
- Molnar K, Buchmann K, Szekely C, 2006, Ph Nematoda, In: *Fish disease and disorders*, I, 417–430, 2nd edition, P.T.K. Woo, Univ. of Guelph, Canada
- Monteiro C M, Amato J F R, Amato S B, 2011, Helminth parasitism in the Neotropical cormorant, *Phalacrocorax brasilianus*, in Southern Brazil: Effect of host size, weight, sex, and maturity state. *Parasitol Res*, 109, 849–855.
- Moravec F, 1994, *Parasitic nematodes of freshwater fishes of Europe*. Kluwer Academic Publisher, 470.
- Moravec F, Nie P, Wang G T, 2003, Some nematodes of fishes from central China, with the redescription of *Procamallanus* (*Spirocamallanus*) *fulvidraconis* (Camallanidae). *Folia Parasitologica* 50, 220–230.
- Moshu A, 2014, Helminths of fish from reservoirs of the Dniester-Prut interfluvium, potentially hazardous to human health. Chisinau: Eco-TIRAS, 88 (In Russian).
- Müller T, Taller J, Kolics B, Kovacs B, Urbanyi B, Specziar A, 2010, First record of natural hybridization between pikeperch *Sander lucioperca* and *Volga pikeperch* *S. volgensis* *J Appl Ichthyol*, 26, 481–484.
- Noei M R, 2011, Parasitic worms of *Acipenser stellatus*, *A. gueldenstaedtii*, *A. nudiiventris* and *Huso huso* (Chondrostei: Acipenseridae) from the southwest

- shores of the Caspian Sea *Caspian J. Env. Sci.*, 9(2), 257–266.
- Noei M R, Ibrahimov S, Sattari M, 2015, Parasitic worms and their histopathological effects in four sturgeon species from the southwest shores of the Caspian Sea, *Int J Aquat Biol*, 3(6), 414–424.
- Oprescu I, Imre M, Sorescu D, Imre K, Stanimirovici A, 2015, Prevalence Of *Eustrongylidos* And Locations Of *Eustrongylides excisus* In Zander (*Stizostedion Lucioperca*) In Belobreşca Aquatic Habitat, Caras-Severin County. *Lucrări Ştiinţifice Medicină Veterinară* 48(3), 117–123.
- Overstreet R M, 2003, Presidential address: flavor buds and other delights. *J Parasitol*, 89(6), 1093–1107.
- Ozmen O, Stavrescu–Bedivan M M, Innal D, 2021, Histopathological Aspects Caused By Nematod Parasite *Eustrongylides excisus* Observed In Some Fish Species of Eğirdir Lake, Turkey, *AgroLife Scientific Journal*, 10, 1.
- Ozturk M O, Aydoğdu A, Doğan I, 2002, The Occurrence of The Helminth Fauna in Sand Goby (*Gobius fluviatilis* Pallas, 1811) from Lake Uluabat, Turkey, *Acta Vet Beograd*, 52(5-6), 381–392.
- Ozturk O M, Oğuz M C, Altunel F N, 2001, Manyas Gölündeki kaya balıkları (*Gobius fluviatilis* L.)’nın metazoon parazitleri üzerine bir araştırma ve Türkiye helminth faunası için iki yeni kayıt, *Türkiye Parazit Derg*, 25, 88–93.
- Parker G A, Ball M A, Chubb J C, 2009, To grow or not to grow? Intermediate and paratenic hosts as helminth life cycle strategies. *J Theor Biol*, 25, 135–147.
- Pekmezci G Z, Bolukbas C S, 2021, Morphological and molecular characterization of *Eustrongylides excisus* larvae (Nematoda: Dioctophymatidae) in *Sander lucioperca* (L.) from Northern Turkey, *Parasitol Res.*, 120, 2269–2274.
- Poulet N, Arzel C, Messad S, Lek S, Argillier C, 2005, Diel activity of adult pikeperch *Sander lucioperca* (L.) in a drainage canal in the Mediterranean basin during spring, *Hydrobiologia*, 543, 79–90.
- Pozio E, Armignacco O, Ferri F, Morales M A G, 2013, *Opisthorchis felinus*, an emerging infection in Italy and its implication for the European Union. *Acta Tropica*, 126, 54–62.
- Roohi J D, Sattari M, Asgharnia M, Rufchaei R, 2014, Occurrence and intensity of parasites in European catfish, *Silurus glanis* L, 1758 from the Anzali wetland,

- southwest of the Caspian Sea, Iran, *Croat J Fish*, 72(1), 25–31.
- Sağlam N, Arıkan H, 2006, Endohelminth fauna of the marsh frog *Rana ridibunda* from Lake Hazar, Turkey, *Diseases of Aquatic Organisms*, 72, 253–260.
- Salgado-Maldonado G, Mercado-Silva N, Cabañas-Carranza G, Caspeta-Mandujano J M, Aguilar-Aguilar R, Iniguezda Valos L I, 2004, Helminth parasites of freshwater fishes of the Ayuquila River, Sierra de Manantlan Biosphere Reserve, west central Mexico. *Comparative Parasitology* 71, 67–72.
- Saraiva A, Rosim D F, Silva-Souza A T, 2006, Nematode parasites of characoid fishes from Brazil. *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists* 26, 271–274.
- Sarıhan E, 1979, Eğirdir Gölü Sudak (*Lucioperca lucioperca* (Linnaeus, 1758)) Populasyonunun Metrik (ölçülebilir) ve Meristik (sayılabilir) Özellikleri, *Doğa Bilim Dergisi*, 3(2), 121–124.
- Sattarı M, Mokhayer B, 2005, Occurrence and Intensity of some Parasitic Worms in *Acipenser gueldenstaedti*, *A. nudiventris* and *Huso huso* (Chondrostei: Acipenseridae) from the Southwest of the Caspian Sea *Turk J Vet Anim Sci* 29, 1279–1284.
- Scaramozzino P, Condoleo R, Martini E, Bossù T, Aquilani S, Spallucci V, vd., 2018, Behaviour and eating habits as determinants for human opisthorchiasis in the Bolsena Lake area, Italy. *Folia Parasitologica*, 65, 1–7.
- Scholz T, 1999, Parasites in cultured and feral fish, *Veterinary Parasitology*, 84(3–4), 317–335.
- Scholz T, Garcia H H, Kuchta R, Wicht B, 2009, Update on the human broad tapeworm (genus *Diphyllobothrium*), including clinical relevance. *Clinical Microbiology Reviews*, 22, 146–160.
- Sloboda M, Mihalca A D, Falka I, Petrželková K, Carlsson M, Ghira I, vd., 2010, Are gobiidish more susceptible to predation if parasitized by *Eustrongylides excisus*? An answer from robbed snakes. *Ecological Research* 25, 469–473.
- Sokolov L I, Berdicheskii L S, 1989, Acipenseridae. In: *The freshwater fishes of Europe*. Vol. 1, Part II. General introduction to fishes Acipenseriformes [ed. by Holcık, J.], Germany: AULA-Verlag Wiesbaden, 150–153.
- Soylu E, 2005, Metazoan Parasites of Catfish (*Silurus glanis*, Linnaeus, 1758) form

- Durusu (Terkos) Lake. J. Black Sea / Medit. Environ., 11, 225–237.
- Soylu E, 2013, Metazoan Parasites of Perch *Perca fluviatilis* L. From Lake Sığircı, Ipsala, Turkey. Pak J Zool, 45(1), 47–52.
- Spalding M G, 1990, Antemortem diagnosis of Eustrongylidosis in wading birds (Ciconiiformes), Colonial Waterbirds, 13(1), 75–77.
- Spalding M G, Forrester D J, 1993, Pathogenesis of *Eustrongylides ignotus* (Nematoda: Dioctophymatoidea) in Ciconiiformes, Journal of Wildlife Diseases, 29(2), 250–260.
- Spalding M, Forrester D, 2008, Eustrongylidosis, Parasitic Diseases of Wild Birds, pp. 289–315.
- Specziar A, Bercsényi M, Müller T, 2009, Morphological characteristics of hybrid pikeperch (*Sander lucioperca* female × *Sander volgensis* male) (Osteichthyes, Percidae). Acta Zoologica Academiae Scientiarum Hungaricae, 55(1), 39–54.
- Tamura K, Nei M, and Kumar S, 2004, Prospects for inferring very large phylogenies by using the neighbor-joining method. Proceedings of the National Academy of Sciences (USA) 101, 11030–11035.
- Tanrıkul T T, Dinçtürk E, Dereli H, 2019, The infection of Eustrongylides spp. in Pike Perch (*Sander lucioperca* L., 1758) (Teleostei: Percidae), Anatolian Env. and Anim. Sciences, 4(2), 122–126.
- Urdes L D, Marin M P, Diaconescu C, Nicolae C G, Hangan M, 2015, First case report of Eustrongylidosis in eel (*Anguilla anguilla*) populations inhabiting Danube Delta lakes Agriculture and Agricultural Science Procedia 6, 277–280.
- Urdes L, Hangan M, Diaconescu C, Ianițchi D, Serafim V, 2008, Eustrongylidosis' occurrence in freshwater fish from the Danubian Delta area, Scientific Papers, Animal Science and Biotechnologies, 41(2), 182–186.
- Vinni M, Lappalainen J, Malinen T, Lehtonen H, 2009, Stunted growth of pikeperch *Sander lucioperca* in Lake Sahajärvi, Finland. J. Fish Biol, 74, 967–972.
- Xiong F, Li WX, Wu SG, Zou H, Wang GT (2013) Molecular phylogeny and host specificity of the larval *Eustrongylides* (Nematoda: Dioctophmidae) from freshwater fish in China. J Parasitol 99, 137–144
- Xiong F, Wang G T, Wu S G, Nie P, 2009, Development of *Eustrongylides ignotus* (Nematoda: Dioctophmida) in domestic ducks (*Anas platyrhynchos domestica*

- (L.)). The Journal of Parasitology, 95, 1035–1039.
- Yardımcı R E, Çiğdem Ü, Yardımcı C H, 2018, Parasite fauna of fish in Büyükçekmece Dam Lake, Erzincan University Journal of Science and Technology, 11(2), 158–167.
- Youssefi M R, Tabaripour R, Hosseini M, 2020, Molecular characterisation and histopathological study of *Eustrongylides excisus* nematode in the northern pike (*Esox lucius*), Bulg. J. Vet. Med.
- Zhang S, Huang G, Li L, Liu X, Tang X, Suo X, 2021, Morphological and Phylogenetic Analysis of *Eustrongylides* sp. And *Gnathostoma spinigerum* Parasitizing the Asian Swamp Eel *Monopterus albus* in China. Pathogens, 10, 711.
- Zhokhov A E, Pugacheva M N, 2019, First Record of *Eustrongylides excisus* (Dorylaimea: Dioctophymatidae) in Fish of the Rybinsk Reservoir, Russian Academy of Sciences, 10(4), 325–327.

İnternet Kaynakları

- 1- <http://www.marinespecies.org/>, 02.21.2022
- 2- <http://fliphtml5.com/>, 02.21.2022
- 3- <http://fauna-eu.org/>, 04.10.2022
- 4- <http://www.cabi.org/>, 04.10.2022
- 5- <http://google.com/maps/>, 04.10.2022