

**T.C.
RECEP TAYYIP ERDOĞAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**DOĞU KARADENİZ'DE YAYILIM GÖSTEREN *Nerocila*
spp.'NİN KONAKÇI HASSASİYETİNİN BELİRLENMESİ**

Akif ER

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Şevki KAYIŞ

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
SU ÜRÜNLERİ ANABİLİM DALI**

RİZE 2013

T.C.
RECEP TAYYIP ERDOĞAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
SU ÜRÜNLERİ ANABİLİM DALI

DOĞU KARADENİZ'DE YAYILIM GÖSTEREN *Nerocila*
spp.' NİN KONAKÇI HASSASİYETİNİN BELİRLENMESİ

Akif ER

Su Ürünleri

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 13/02/2013
Tezin Sözlü Savunma Tarihi : 21/02/2013

Tez Danışmanı: Doç .Dr. Şevki KAYIŞ

Jüri Üyesi : Prof. Dr. İlhan ALTINOK

Jüri Üyesi : Doç. Dr. Fikri BALTA

Enstitü Müdürü: Doç. Dr. Fatih YILMAZ



RİZE, 2013

ÖNSÖZ

Bu çalışma Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Su Ürünleri Anabilim Dalı'nda yüksek lisans tezi olarak hazırlanmıştır. Doğu Karadeniz' de yayılım gösteren *Nerocila* spp.'nin konakçı hassasiyetinin belirlenmesi adlı bu tez Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından 2011.103.02.4 no' lu proje ile desteklenmiştir.

Başta proje yürütücüsü ve aynı zamanda yüksek lisans tez danışmanım olan Doç. Dr. Şevki KAYIŞ' a sabırla verdiği katkılardan dolayı teşekkür ederim.

Proje ekibine dâhil olan bütün araştırmacılara, özellikle Doç. Dr. Semih ENGİN ve Uzman Yusuf CEYLAN' a ayrıca uzatma ağı örneklemeleriyle çalışmamızı önemli katkı sağlayan Bayram RAKICI' ya çok teşekkür ederim. Proje ekibi dışında, yine üniversitemizin desteklediği Karadeniz Yunuslarının balıkçı ağlarına etkisinin araştırıldığı proje ekibinin desteklerini almış olmaktan dolayı, tüm proje ekibi adına Sayın Yrd. Doç. Dr. Sabri BİLGİN'e, tezimin hazırlanmasında emeği geçen tüm Su Ürünleri Fakültesi personeline ve arkadaşlarıma ayrı ayrı teşekkür ederim. Tüm yaşamım boyunca üzerimde emeği olan aileme sonsuz şükranlarımı sunarım.

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ.....	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
TABLO LİSTESİ.....	v
ŞEKİLLERİN LİSTESİ.....	vi
ÖZET.....	viii
ABSTRACT.....	ix
1. GENEL BİLGİLER.....	1
1.1. Giriş.....	1
1.1.1. İzopodların Morfolojileri ve Belirgin Karakterleri.....	3
1.1.2. İzopodların Beslenmeleri ve Gelişmeleri.....	5
1.1.3. İzopodların Yaşam Alanları.....	7
1.2. Nerocila'nın Sistematığı.....	7
1.2.1. Cymothoidae Familyasının Genel Özellikleri.....	7
1.2.2. <i>Nerocila</i> spp. nin Genel Özellikleri.....	8
1.3. Önceki Çalışmalar.....	10
1.4. Amaç.....	11
2. YAPILAN ÇALIŞMALAR.....	12
2.1. Materyal.....	12
2.1.1. Çalışmada Kullanılan Balık Materyali.....	12
2.1.2. Örnekleme Sahası.....	12
2.1.3. Diğer Materyaller.....	13
2.2. Yöntem.....	13
2.2.1. Balık Materyalinin Elde Edilmesi ve Tür Teşhisi.....	13
2.2.2. Ekto Parazitler İçin Örnek Alma Yöntemi.....	13
2.2.3. Morfolojik Karakterlere Göre Parazitlerin Tür Teşhisi.....	14
2.2.3.1. <i>Nerocila bivittata</i>	14
2.2.3.2. <i>Nerocila acuminata</i>	17
2.2.4. Moleküler Yöntem ile Parazitlerin Teşhisi.....	18
2.2.5. Verilerin Değerlendirilmesi.....	20
3. BULGULAR.....	21
4. TARTIŞMA ve SONUÇ.....	31

4.1. Tartışma.....	31
4.2. Sonuç	34
5. ÖNERİLER.....	35
6. KAYNAKLAR.....	36
ÖZGEÇMİŞ.....	43

TABLO LİSTESİ

Tablo 1. İzopodlardan elde edilen DNA örneklerine uygulanan PZR karışımındaki kimyasalların konsantrasyonları ve miktarları.....	19
Tablo 2. İzopodlardan elde edilen DNA örneklerine uygulanan PZR döngü koşulları	20
Tablo 3. Örneklenen balık türleri, avlama yöntemi ve tespit edilen <i>Nerocila</i> spp. sayısı.....	26
Tablo 4. <i>Nerocila</i> spp. için örneklenen balık türlerinin derinlik aralıkları ve örnekleme metotları.....	27

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil 1. İzopodların morfolojileri	3
Şekil 2. Dişi bireylerde marsupium	4
Şekil 3. Erkek bireylerde apendisk maskulina.	5
Şekil 4. Dişi bireylerde I. ve II. pleopod	5
Şekil 5. Yumurtadan çıkan yeni birey “manca”	6
Şekil 6. <i>Nerocila</i> spp.’ nin dorsal açıdan genel görünümü	9
Şekil 7. <i>Nerocila</i> türlerinde baş yapısı	10
Şekil 8. Örnekleme sahası	13
Şekil 9. <i>Nerocila bivittata</i> ’ nın dorsalinde iki adet sarımsı renkte kromatoforların vücut boyunca uzanan görünümü	15
Şekil 10. <i>Nerocila bivittata</i> ’nın I. ve II. antenlerinin görünümü.....	15
Şekil 11. <i>Nerocila bivittata</i> ’ya ait preopodlar	16
Şekil 12. <i>Nerocila bivittata</i> ’ nın erkek bireylerinde II. plepod üzerinde bulunan apendiks maskulina.....	16
Şekil 13. Endopodit ve ekzopoditlerin görünümü.	17
Şekil 14. <i>Nerocila acuminata</i> genel görünüm.....	18
Şekil 15. <i>Nerocila acuminata</i> ’nın I. ve II. antenleri.....	18
Şekil 16. Uzatma ağında örneklenen dil (<i>Solea nasuta</i>) balıklarında kaudal yüzgeç kaidesi ve operkulum üzerinde, <i>Nerocila bivittata</i> ve <i>Nerocila</i> spp.....	22
Şekil 17. Uzatma ağında örneklenen iskorpit (<i>Scorpaena porcus</i>) balığının kaudal yüzgeç kaidesinde <i>Nerocila bivittata</i>	22
Şekil 18. Uzatma ağında örneklenen çırçır (<i>Symphodus</i> spp.) balığının kaudal yüzgeç kaidesinde <i>Nerocila bivittata</i>	23
Şekil 19. Uzatma ağında örneklenen göğebakan (<i>Uronoscopus scaber</i>) balığının baş kısmında <i>Nerocila acuminata</i>	23
Şekil 20. Serbest dalışta örneklenen dil (<i>Solea nasuta</i>) balığının operkulum ve yüzgeç kaide kısımlarında yoğun <i>Nerocila bivittata</i>	24
Şekil 21. Olta ile avlanan levrek balığının (<i>Dicentrarchus labrax</i>) kaudal yüzgecinde <i>Nerocila acuminata</i>	24
Şekil 22. Uzatma ağı ile örneklenen denizatı (<i>Hipocampus guttulatus</i>)’ nda <i>Nerocila bivittata</i>	25

Şekil 23. <i>Nerocila</i> spp. bireylerinin mevsimsel dağılımı	28
Şekil 24. <i>Nerocila bivittata</i> bireylerinin dil balığındaki (<i>Solea nasuta</i>) intensitesi	29
Şekil 25. <i>Nerocila</i> spp. bireylerinin pisi balığındaki (<i>Platichthys flesus</i>) intensitesi	29
Şekil 26. <i>Nerocila bivittata</i> bireylerinin deniziğnelerindeki (<i>Syngnathus</i> sp.) intensitesi	29
Şekil 27. Dil balığında kaudal yüzgeç kaidesinde <i>Nerocila</i> spp. etkisiyle oluşan lezyonlar..	30
Şekil 28. Levrek balığında kaudal yüzgeç üzerinde <i>Nerocila acuminata</i> etkisiyle oluşan lezyonlar	30

ÖZET

Bu tez çalışmasında Doğu Karadeniz kıyılarında yayılım gösteren *Nerocila* spp. bireylerinin konakçı hassasiyeti, değişik metotlar (uzatma ağları, serbest dalış, olta ve gırgır) kullanılarak gerçekleştirilmiş ve izopodların tür teşhisi için morfolojik yöntemlere destek olarak Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) tekniği de kullanılmıştır. Çalışmada *Nerocila* spp. bireylerinin gerçek konakçı hassasiyeti, izopod enfestasyonu için en sağlıklı örnekleme metodunun hangisi olduğu, parazitlerin mevsimsel dağılımı ve derinlik aralıkları belirlenmiştir. Bu bağlamda, örnekleme derinliğe bağlı olarak serbest dalış tekniğinin en sağlıklı, uzatma ağları ile yapılan örnekleme ise yanıltıcı olabileceği gerçeği ortaya çıkmıştır.

Bölgede tür bazında *Nerocila acuminata* ve *Nerocila bivittata* tespit edilmiştir. Parazitlerin özellikle dil (*Solea nasuta*) %26,94, çırçır (*Symphodus* spp.) %16,77, horozbina (*Parablennius sanguinolentus*) %11,76 kaya balıklarında (*Gobius niger*, *Neogobius melanostomus*) %5,21 ve deniziğnesi (*Syngnathus* sp.) %3,44 türlerinde en fazla prevalansa sebep olduğu belirlenmiştir. Mezgit (*Merlangius merlangus*), istavrit (*Trachurus mediterraneus*), palamut (*Sarda sarda*), sardalya (*Sardina pilchardus*), tirsi (*Alosa immaculata*) ve izmarit (*Spicara smaris*) gibi bölgede ekonomik değeri yüksek olan balık türlerinde ise *Nerocila* spp.'ye rastlanmamıştır.

Anahtar kelimeler: *Nerocilia* spp., parazit, balık, örnekleme metodu

ABSTRACT

In this study, host susceptibility of *Nerocila* spp. extending from the eastern Black Sea coast was determined with different sampling techniques (gillnet, free diving, fishing line and purse seine). Also polymerase chain reaction PCR technique for the diagnosis of the parasites was used to support to the morphological methods. Correct host sensitivity and sampling methods, seasonal distribution and depth ranges were determined in the coast of Eastern Black Sea. In this context, free diving technique (depending on depth) was the most effective and gillnet may give misleading result for the studies.

Nerocila acuminata and *Nerocila bivittata* were isolated in the region and the most infestation rate were determined on snouted sole (*Solea nasuta*) 26.94%, srenilabrus (*Symphodus* spp.) 16.77%, rusty blenny (*Parablennius sanguinolentus*) 11.76%, goby fish (*Gobius niger*, *Neogobius melanostomus*) 5,21% and pipefish (*Syngnathus* sp.) 3.44%. Conversely *Nerocila* spp. was not isolated from whiting (*Merlangius merlangus*), horse mackerel (*Trachurus mediterraneus*), Atlantic bonito (*Sarda sarda*), sardina (*Sardina pilchardus*), agone (*Alosa immaculata*) and picarel (*Spicara smaris*).

Key words: *Nerocilia* spp., parasite, fish, sample method

1.GENEL BİLGİLER

1.1. Giriş

Günümüzde daha çok su ürünleri sağlığı olarak tanımlanan balık hastalıkları konusu, özellikle yetiştiricilik faaliyetlerinin yaygınlaşmasıyla sektörde oldukça geniş bir çalışma alanı oluşturmuştur. Bilimsel çalışmaların saha uygulamalarına dönüşmesi ile hastalık etkenleri ve bu etkenlere bağlı sorunların aşılması daha kolay hale gelmiştir. Balıklarda hastalık etkenleri enfeksiyöz olmayan ve enfeksiyöz hastalıklar olmak üzere iki ana gruba ayrılmaktadır. Balığın beslenme koşulları, içinde bulunduğu ortam şartları ve su kalitesi gibi etkenler genel olarak enfeksiyöz olmayan hastalık etmenleridir. Lasee (1995) hastalık yapıcı etkenlerden kaynaklanan hastalıkları enfeksiyon hastalıklar olarak isimlendirmiş ve bu etkenleri bakteriyel, viral, fungal ve paraziter olmak üzere dört grupta incelemiştir.

Bakteriyel hastalıkların, yoğun balık yetiştiriciliği yapılan çiftliklerde büyük ekonomik kayıplara neden olduğu bildirilmektedir (Tanrıkul vd., 1996). Furunkulosis (*Aeromonas salmonicida*), Vibriosis (*Vibrio* spp.), Edwardsiellosis (*Edwardsiella* spp.), Yersiniosis (*Yesinia ruckeri*), Columnaris (*Flavobacterium columnare*) ve Bakteriyel Böbrek Hastalığı (*Renibacterium salmoninarum*) gibi hastalıklar bakteriyel kaynaklı hastalıklar olarak bildirilmiştir (Timur ve Timur, 2003; Kayış vd., 2009).

Viral hastalıkların, çoğu durumlarda, klinik semptom göstermeden balıklarda ölümlere sebebiyet verdiği ve bu tür hastalıkların kontrolünün sınırlı olduğu ifade edilmiştir (Lasee, 1995). Schaperclaus (1992), viral kaynaklı hastalıklar olarak Viral hemorrhagic septicemia (VHS), Infectious pancreatic necrosis (IPN), Infectious hematopoietic necrosis'i (IHN) rapor etmiştir. Bunların dışında Lasee (1995), viral hastalıklar arasında genç salmonlarda görülen Oncorhynchus masou virus hastalığını, ayrıca Golden shiner virus ve Cannel catfish virus gibi hastalıkları da bildirmiştir.

Su kalite kriterlerinin bozuk olduğu balık işletmelerinde, özellikle yumurtaların gözlenme aşamasında, ölü organik materyaller üzerinde fungal organizmaların çoğaldığı ve Saprolegnia, Brachiomyces, Ichthyophonus gibi hastalıkların meydana geldiği bildirilmiştir (Lasee, 1995). Su ortamında balıkların parazitler için önemli bir konakçı olduğu, bazı parazitlerin yaşam ortamı olarak hayatlarının tümünde, bazılarının da ara konakçı olarak balıkları kullandığı bildirilmiştir. Bu parazit-konakçı ilişkisinde parazitlerin

balıklarda önemli ekonomik kayıplara sebep olabilecek hastalıkları meydana getirdiği de bilinmektedir.

Balık hastalıkları konusunda yapılan çalışmalar dikkate alındığında bakteriyel ve viral balık patojenleri yanı sıra paraziter patojenler ile ilgili bilimsel çalışmaların hemen hemen aynı yoğunlukta olduğu bilinmektedir. Bu çalışmalar özellikle parazitlerin konakçı hassasiyeti (parazitin konakçı seçimi), epizootolojik çalışmalar ve parazitlerin tedavileri üzerine odaklıdır (Öztürk ve Özer, 2008; Balta vd., 2009).

Balık parazitleri protozoan ve metazoan olmak üzere iki ana grupta incelenmektedir. Protozoan parazitler tek hücreli parazitlerdir. Sili, kamçılı ve mikrospor gibi yaygın formları mevcuttur. Balıklarda genellikle hastalık meydana getiren protozoan parazit türleri arasında *Ichthyobodo necator*, *Ichthyophthirius multifiliis*, *Trichodina* spp., *Ambiphyra* spp., *Episitylis* spp., *Chilodenella* spp., *Hexamita* spp. ve *Tetrahymena* spp. türleri sayılabilir (Lasee, 1995; Balta vd., 2008; Kayış vd., 2013). Doğu Karadeniz Bölgesi'nde yetiştiriciliği yapılan alabalıklarda ve akvaryum yetiştiriciliği yapan işletmelerde, bu parazitler yaygın olarak görülmektedir (Kayış vd., 2009).

Metazoan parazitler ise kendi içinde Plathelminthes, Annelida, Nematoda, Mollusca, Arthropoda, Acanthocephala ve Myxozoa gibi filumlara ayrılmaktadır. Bu parazitlerin solungaç tahribatlarına, gözde ve iç organlarda yaralanmalara, balıklarda açlık ve yüzme kesesinde yangılara, solungaç lamellerinden gaz değişiminin engellenmesine sebep oldukları bildirilmiştir. (Lasee, 1995). Doğu Karadeniz Bölgesi'nde monogenetik trematodlar arasında yer alan ve balıklarda sık rastlanan *Gyrodactylus* spp. ve *Dactylogyrus* spp. cinsi parazitler en sık rastlanan metazoan parazitler olarak rapor edilmektedir (Balta vd., 2008).

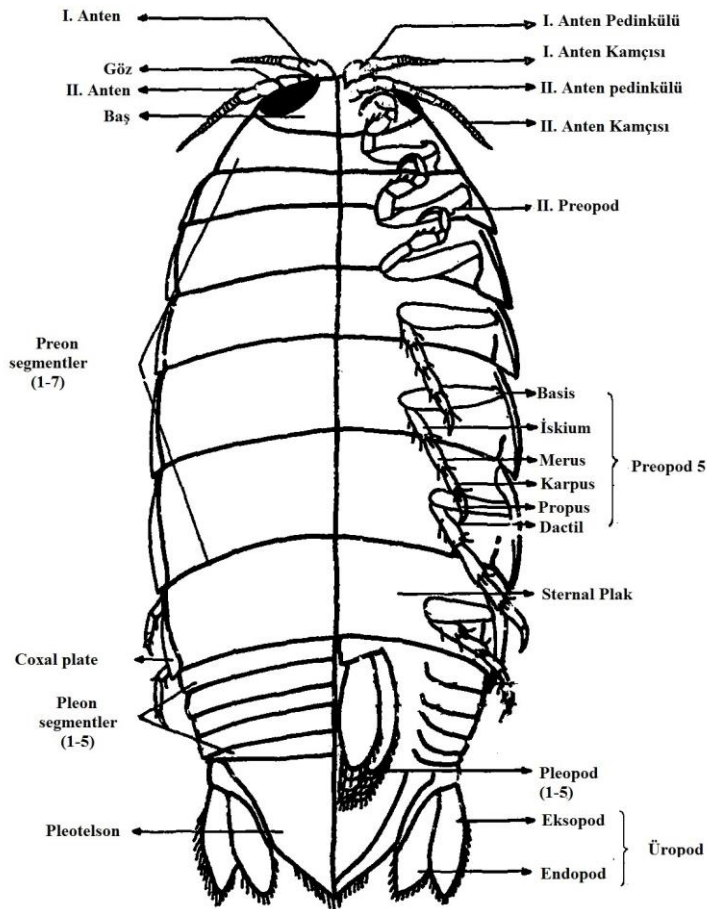
Çok hücreli parazitler içerisinde yer alan Artropoda filumuna ait en büyük grup ise Crustacea'dır. Crustacea grubuna ait ordolar Copepoda, Branchiura, Tantulocarida, Ascothoracida, Cirripedia, Thoracica ve Rhizocephala (barnacles), Amphipoda ve Isopoda şeklinde ayrılmıştır. (Rohde, 2005)

Isopoda (izopod), ordosuna ait olan balık parazitlerinin balıklarda genel olarak deri ve solungaçlara yerleştiği, bazılarının ise ağız boşluğunda parazit olarak konakçıya tutunduğu bildirilmiştir. Balıklarda parazitik olarak yaşayan izopodların birçoğu Cymothoidae ailesine ait olan türlerdir (Trilles, 1969). Kültürü yapılan balık türlerinden çipura (*Sparus aurata*) ve levrek (*Dicentrarchus labrax*) balıkları izopod enfestasyonları bakımından en çok kayıt verilen türlerdendir. Özellikle *Nerocila* ve *Anilocra* cinslerine ait

parazitlerin su sıcaklığının yükselmesiyle birlikte balıklara tutunarak, konakçının dış kısımlarda kızarıklık ve solungaç lamellerinde tahribata neden oldukları bildirilmiştir (Timur ve Timur, 2003).

1.1.1. İzopodların Morfolojileri ve Belirgin Karakterleri

İzopodlar yüksek Curustacealardan olup vücutları dorso-ventralden yassılaştırılmıştır. İzopod toraksı, bileşik yedi çift toraksis bacak ile yedi serbest segmente sahiptir. Bir çift gözde birçok sayıda göz noktası bulunur. İzopodların vücutları baş, göğüs ve karın olmak üzere üç ayrı bölmeden oluşur (Şekil 1). İzopodlarda göğsün birinci segmenti baş ile birleşmiştir. Geriye kalan yedi segmentin oluşturduğu bölgeye preon denir. Bu yedi segmentin her biri preopod denilen bir bacak içerir. Bu bacaklar izopodun hareketini ve avını yakalamasını sağlar.



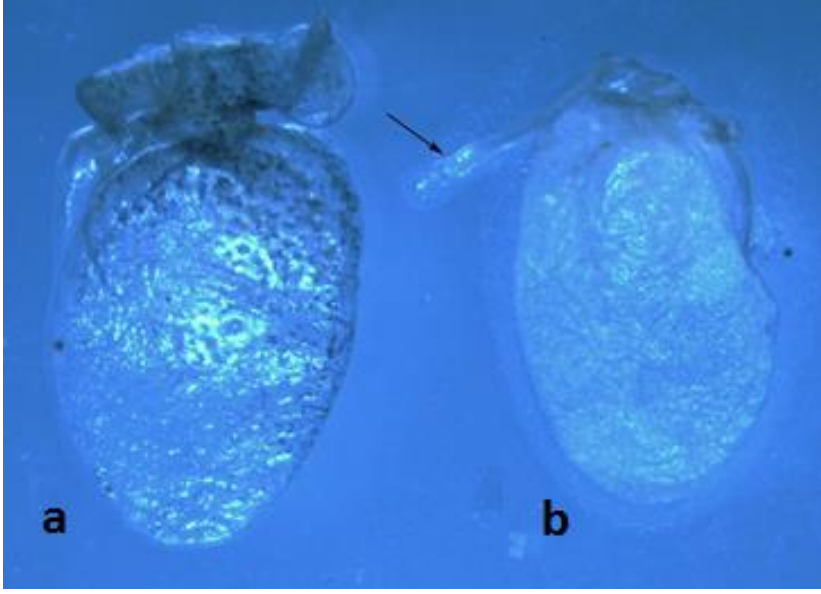
Şekil 1. İzopodların morfolojileri (üst ve alttan görünüm) (Naylor,1972).

İzopodlarda karın kısmında ilk olarak beş segment bulunur. Altıncı segmentler daha geniş olup bu bölgeye pleotelson denir. Pleopodlar yüzmeyi ve solunumu sağlar. İzopodların birleşik gözleri, iki adet anteni ve dört adet çene uzantısı bulunur. Birinci antenler hassas bir yapıya sahiptir. İkinci antenler ise dokunsal bir yapıya sahiptir. Mandibüller, birinci maksil, ikinci maksil ve ayak çeneleri (kancaları) şeklindedir (Kırkım,1998; Grutter ve Hendrikz,1999).

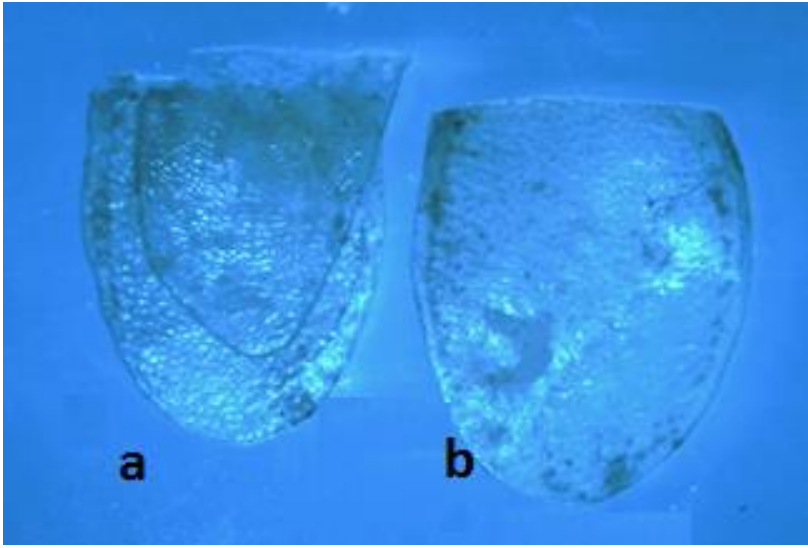
Dişilerde preopodlarının arasında, özel koruyucu kısım olan marsupium bulunur (Şekil 2). Özel koruyucu yere oostegites denir ve olgun dişi bu bölgede yumurtaları, hatta bazen de yumurtadan çıkan yavru bireyleri taşır. Olgun izopod dişileri bir seferde 450-550 adet larva oluşturabilir. Erkek izopodlarda 2. pleopoda bitişik olarak apendisk maskulina denilen bir kısım bulunur (Şekil 3). Bu kısım dişilerde bulunmaz (Chace ve Hobbs, 1969) (Şekil 4).



Şekil 2. Dişi bireylerde marsupium (Özgün).



Şekil 3. Erkek bireylerde, a) I. pleopod, b) II. pleopod ve üzerinde apendisk maskulina siyah ok ile gösterilmiş (Özgün).



Şekil 4. Dişi bireylerde, a) I. pleopod, b) II. pleopod (Özgün).

1.1.2. İzopodların Beslenmeleri ve Gelişmeleri

İzopodlarda beslenme değişkenlik gösterir. Belirli habitatların yanında izopodlar parazit olarak enerji devrinin en önemli unsurunu oluştururlar. Genelde ilkel subordolar (Anthuridae, Asellota, Microcerberidae, Oniscidae, Valvifera) herbivor olarak beslenirler. Diğer subordolara ait türler ise (Epicaridea, Flabellifera ve Ganithiidae) karnivor olarak beslenirler ve parazitik olarak yaşam sürdürürler.

İsopodların larval dönemleri yoktur. Embriyo evreleri dışının yumurta keselerinde gerçekleşir. Kesesini terk eden yavrular yetişkin bireyleri andırır. Genel olarak üremelerinin Şubat ve Ağustos aylarında gerçekleştiği ifade edilmektedir. Yumurtadan çıkan bireye “manca” denir (Şekil5). Bu formların yüzme yetenekleri sınırlı olduğundan, yayılma özelliğini sınırlayan bir faktör olarak değerlendirilir. Parazitik olarak yaşayan Cymothoid türler, *Siganus rivulatus* (Shakman vd., 2009), *Diplectrum radiale*, *Trachinotus carolinus* (Bunkley-Williams ve Bashirullah, 2006), *Mullus barbatus*, *Diplodus annularis*, *Umbrina canariensis* (Ramdane vd., 2007), *Cheilodipterus quinquelineatus* (Fogelman ve Grutter, 2008), *Mugil cephalus*, *Caranx sexfasciatus*, ve *Epinephelus coioides* (Yuniar vd., 2007), gibi yetiştiriciliği yapılmayan değişik balıklarda parazitik olarak bulunmasının yanı sıra, levrek (*Dicentrarchus labrax*) ve çipura (*Sparus aurata*) (Horton ve Okamura, 2001) gibi yaygın olarak yetiştiriciliği yapılan bir çok balık türlerinde de tespit edilmiştir.



Şekil 5. Yumurtadan çıkan yeni birey “manca” (Özgün).

1.1.3. İzopodların Yaşam Alanları

İzopodların denize ait bilinen tür sayısı yaklaşık olarak 4500 civarındadır. Bu türler denizlerin orta kısmından dip kısmına kadar olan yerlerde ve az da olsa pelajik bölgede bulunurlar. Yaklaşık olarak 500 kadar tür ise göl, nehir, akarsu ve yer altı sularında bulunurlar. Deniz türlerine ait subordolar Anthuridae, Asellota, Epicaridea, Ganithiidae, Microcerberidae, Oniscidae, Valvifera, Flabellifera' dır. Sahil çizgisinde yaşayan en önemli dört familya ise; Sphaeromatidae, Idoteidae, Cirolonidae ve Cymothidae' dir. Balıklarda yaygın ekto parazitik olarak yaşayan Cymothidae familyasına ait en önemli cins ise *Nerocila* spp.' dir. (Kırkım, 1998).

1.2. *Nerocila*'nın Sistematığı (Guerin-Maneville, 1832)

Filum: Artropoda

Subfilum: Crustacea

Sınıf: Malacostraca

Ordo: Isopoda

Subordo: Flabellifera

Familya: Cymothoidae

Cins: *Nerocila*

1.2.1. Cymothoidae Familyasının Genel Özellikleri

Cymothoid parazitler tatlı ve deniz su ekosistemlerinde yaşayabilirler. Bu parazitler sportif amaçlı avlanan ve ticari öneme sahip balıklarda oldukça yaygın görülür. Örneğin kefal, orfoz, hamsi, levrek, pisi ve birçok balık türünde bu familyaya ait parazitlere rastlanılmıştır (Bragoni vd., 1983, 1984; Bariche ve Trilles, 2005; Brusca, 1981; Horton ve Okamura, 2001; Kırkım, 1998; Öktener ve Sezgin, 2000; Ramdane vd., 2007). Bu türlerin çoğu balığın dış yüzeyi ve solungaç çemberine ya da ağız boşluğuna yerleşir. Ancak bazı parazitlerse (*Artystone* spp., *Riggia* spp., *Ichthyoxenus* spp., *Ourozeukte* spp.) deri içerisine tünel açarak kapsül oluşturup kas içine yerleşerek yaşayan türlerde varlığı da bildirilmiştir (Rohde, 2005).

Cymothoidler konakçı üzerinde bölgesel yaralanmalara neden olsa da çoğu durumda konakçısı için çok zor bir durum yaşattığı gözlenmemiştir. Konakçı parazit hassasiyeti cinsler arasında değişiklik göstermektedir. Bazı cinsler balıklarda yüksek

(*Cymothoa* spp., *Idusa* spp., *Mothocya* spp.) oranda gözlemlenirken, bazıları ise (*Anilocra* spp., *Livoneca* spp., *Elthusa* spp.) düşük oranda rapor edilmiştir (Brusca, 1981).

Cymothoidler cirolanid ve corallanidlerle benzerlik göstermelerine rağmen bütün yaşamı boyunca balıklar üzerinde parazitik olarak yaşarlar. Ailenin tanımlayıcı özellikleri her yedi çift pereopodunda kavrayıcı dactylerin bulunması ve maksilipedlerinin tutucu setalarının olmayışıdır. Ağızlarının tüm bölümü, parazitik yaşam tarzı için ek uzantılarla modifiye olmuştur. Maksilipedler 2 ya da 3 bölmeli pulplara ayrılarak indirgenir ve maksilüller konakçının kan ve vücut sıvısını kendine transfer edebilmek için eklemler arasından bir stylest (keskin kıl benzeri yapı) uzatır ve maksillalar küçük loblu uzantılara indirgenir. Ağızda bulunan bu uzantılar büyük kavisli terminal veya ucunda diken benzeri setalar bulundurur. Bu yapılar konakçının derisine veya ağız boşluğuna tutunması için tasarlanmıştır. Bütün cymothoid türler muhtemelen protandrik hermafroditlerdir. İlk olarak erkek olarak şekillenen birey sonra dişi bireye dönüşür. (Brusca ve Wehrmann, 2009)

Cymothoid taksonomisi üzerine yapılan son çalışmalar birçok yeni açıklayıcı ve ana verileri düzenlemiştir (Williams ve Williams, 1980, 1981, 1986, 1987; Bruce, 1986, 1987a, b, c; Bruce ve Bowman, 1989; Bowman ve Tareen, 1983). *Nerocila* spp., *Anilocra* spp. ve *Elthusa* spp.'nin ılıman türlerinin konakçı üzerindeki yoğunluğu zayıf olduğu düşünülüyorken, yeni çalışmalar *Anilocra* spp., *Nerocila* spp. ve *Mothocya* spp. gibi türlerin konakçı üzerindeki yoğunluğu daha sınırlı olduğunu ortaya koymuştur. Daha da önemlisi familyaların tanımlanması için yeni kullanılmaya başlanan morfolojik karakterler sınıflandırma çalışmalarına yeni bir ışık tutmaktadır.

Konakçı üzerindeki pozisyon (ağız, deri, solungaç ve açılan çukurlar) ve genel vücut şekli ilişkileri Cymothoid familyasına ait cinslerin tanımlanmasında önemli rol oynamaktadır. Örneğin; *Anilocra* spp. ve *Nerocila* spp. konakçının dışına (deri, yüzgeç vs.), *Livoneca* spp. solungaçlara yerleşirken *Ceratoha* spp. ve *Cymothoa* spp. ağız boşluğuna yerleşir. Morfolojik karakterlerin oluşmasının tam olarak tamamlanmamış olması nedeniyle, erken dönemde sınıflandırmanın kabul edilebilirliği tartışılmaktadır.

1.2.2. *Nerocila* spp.'nin Genel Özellikleri (Leach, 1818)

Vücutları genelde diğer cymothoid üyelerinden daha basıktır ve vücutları genelde bir tarafa nadiren bükülür. Dorsal kromotoforları sık düzenlenmiş ve boyuna üç sıralı şekildedir. Genişliklerine oranla iki kat daha uzundurlar (Şekil 6). Dişi bireyler erkek

bireylere göre daha geniş ve uzundurlar. Gözleri küçük ve lateral kenarlarda iyi gelişmemiş olup iki karanlık gölge şeklindedir.



Şekil 6. *Nerocila* spp. nin dorsal açıdan genel görünümü (Özgün).

Cephalonları sivri ve öne doğru çıkıntı şeklinde değildir. Cephalonları birinci preonlara gömülü değildir ya da çok az gömülüdür. Cephalonların arka kısmı trisünate şeklindedir (Şekil 7). Birbirlerine oldukça yakın bir çift antenleri vardır ve başın ön tarafından (clypeus) ikiye ayrılırlar. Mandibulları üç parçalıdır.

Prenoitlerin posterolateral açıları zayıf ve genelde posteriora doğru gidildikçe giderek artan şekildedir. Koksalları iyi gelişmiştir ve genellikle prenoit hizasını geçerler.

I. pleon VII. preona gömülü değildir. Pleonlar kısmi olarak birbirine eşittirler ve birinci ve ikinci pleonitler posterolaterale kadar uzanırlar. Pleopodlar tipik olarak küçük bir solungaç görevi görür. 3-5 pleonitler derin cep ve kıvrımları içine alır. Üropodlar pleotelsonun posterior hizasını geçerler. Apendiks maskulina erkeklerin ikinci pleonunda bulunur ve dişileşme aşamasında bu yapı giderek küçülür.



Şekil 7. *Nerocila* türlerinde baş yapısı t) trisunate şekli (Özgün).

1.3. Önceki Çalışmalar

Balıkların büyüklüğü, yaşı, yaşam alanı, beslenme tercihleri ve sağlık koşulları ile parazitlenme arasında bir ilişkinin olduğu bilinmektedir. Parazitler konakçıları üzerinde mekanik yaralanma, bariyer oluşturma gibi olumsuzluklara neden olan ve aynı zamanda buldukları konakçılarda çeşitli dokularda emici özellik gösteren canlılardır. Bu tanıma göre hayatları boyunca parazit olarak yaşayan türlerin yanında hayat evrelerinin bir kısmını parazit olarak geçirenler de bulunmaktadır. Değişik familyalara ait olan denizel ve tatlı su formunda olan birçok izopod türü gerek yaşamlarının ilk gençlik evresinde gerekse tüm yaşamı boyunca parazitik olarak yaşayabilmektedirler. (Brusca 1981; Bunkley -Williams ve Williams 1998; Lester ve Hayward 2006)

Balıklar üzerinden tespit edilen parazitik izopodlar hakkında birçok çalışma bulunmaktadır (Trilles, 1975; Bruce, 1987a; Trilles, 1994; Charfi-Cheikhrouha vd., 2000; Horton ve Okamura, 2001; Öktener ve Trilles, 2004; İnnal vd., 2007; Oğuz ve Öktener, 2007; Alas vd., 2008). Kayış vd. (2009) yapmış oldukları çalışmada, Türkiye’de 13 farklı balık türünden 6 farklı izopod türünün (*Anilocra frontalis*, *Anilocra physodes*, *Ceratothoa oestrodies*, *C. steindachneri*, *Nerocila bivittata*, *Livoneca sinuata*) rapor edildiğini bildirmişlerdir. Yine Kayış ve Ceylan (2011) dil balığında(*Solea solea*) *Nerocia orbigny*’yi Karadeniz’den ilk kez rapor etmişlerdir. Cymothoid balık parazitleri *Siganus rivulatus* (Shakman vd., 2009), *Diplectrum radiale*, *Trachinotus carolinus* (Bunkley-Williams ve Bashirullah 2006), *Mullus barbatus*, *Diplodus annularis*, *Umbrina canariensis* (Ramdane vd., 2007), *Cheilodipterus quinquelineatus* (Fogelman ve Grutter, 2008), *Mugil cephalus*, *Caranx sexfasciatus*, *Epinephelus coioides* (Yuniar vd., 2007) gibi yetiştiriciliği yapılmayan değişik balıklarda parazitik olarak bulunmasının yanı sıra, levrek (*Dicentrarchus labrax*) ve çipura (*Sparus aurata*) (Horton ve Okamura, 2001) gibi çok yaygın olarak yetiştiriciliği yapılan balık türlerinde de tespit edilmiştir.

Konu üzerinde gerçekleştirilen çalışmalarda konakçı olarak tabir edilen balık örneklerinin elde edilmesinde değişik metotlar kullanılmıştır. Bu metotlar genellikle uzatma ağları, olta, trol, gırgır, serbest dalış şeklinde kategorize edilmiştir (Oğuz ve Öktener, 2007; Ramdane vd., 2007). Fakat yapılan birçok çalışmada örnekleme metodu açıkça ifade edilmemiş ve hatta örneklerin su ürünleri halinden ve tezgâhlardan elde edildiği bildirilmiştir (Olmo vd., 2007; Yuniar vd., 2007; Ramdane ve Trilles, 2008). Bu örnekleme metotları arasında cymothoid balık parazitlerinin uzatma ağları ile yapılan örneklemelemlerde yoğunlaştığı, özellikle olta ve diğer örnekleme metotlarında ise bu oranın düştüğü gözlemlenmiştir.

Nerocila cinsine ait parazitler dünyanın çeşitli coğrafyalarında birçok deniz balığında parazit olarak yaşadığı rapor edilmiştir (Gourret, 1891; Giordani-Soika, 1950; Amar, 1951; Trilles, 1961, 1968, 1986; Pearse, 1947). Türkiye sularında İskenderun Körfezinden (Monod, 1931), Marmara Denizi ve İstanbul Boğazından (Demir, 1952), Ege Denizi kıyılarından (Geliday ve Kocataş, 1972; Kırkım, 1998) bildirilmiştir. Karadeniz'in batı sahillerinde ise *Labridae*, *Crenilabrus pavo*, *C. tinca*, *C. melops*, *Scorpaena scrofa*, *S. porcus*, *Cottus* sp, *Pagellus erythrinus*, *P. mormyrus*, *Mugil cephalus*, *Spicara maena*, *Meluccius merluccius*, *Monacanthus setifer* gibi balık türlerinden *Nerocila* cinsine ait üç tür (*N. bivittata*, *N. maculata*, *N. orbigny*) rapor edilmiştir (Oğuz ve Öktener, 2007). Doğu Karadenizde ise *Nerocila* cinsine ait kayıt, *Solea solea*' dan rapor edilmiştir (Kayış ve Ceylan, 2011).

1.4. Amaç

Paraziter balık patojenleri ile ilgili çalışmalar içerisinde patojenlerin konakçı hassasiyetlerinin belirlenmesi önem arz etmektedir. Yapılan bu tez çalışmasında son yıllarda balık yetiştiriciliği faaliyetlerinin kalitatif ve kantitatif bir şekilde yoğunlaşmaya başladığı Doğu Karadeniz'de yayılım gösteren Cymothoid balık parazitleri içerisinde yer alan *Nerocila* spp.'nin;

- 1- Konakçı hassasiyeti,
- 2- İzopod identifikasyonunda morfolojik karakterlere bağımlı tür teşhisine yardımcı olabilecek PZR tekniğinin kullanılması
- 3- Örnekleme yöntemiyle parazitlenmenin değişkenliğinin belirlenmesi,
- 4- Mevsimsel dağılımı, gibi bulguların literatüre kazandırılması amaçlanmaktadır.

2. YAPILAN ÇALIŞMALAR

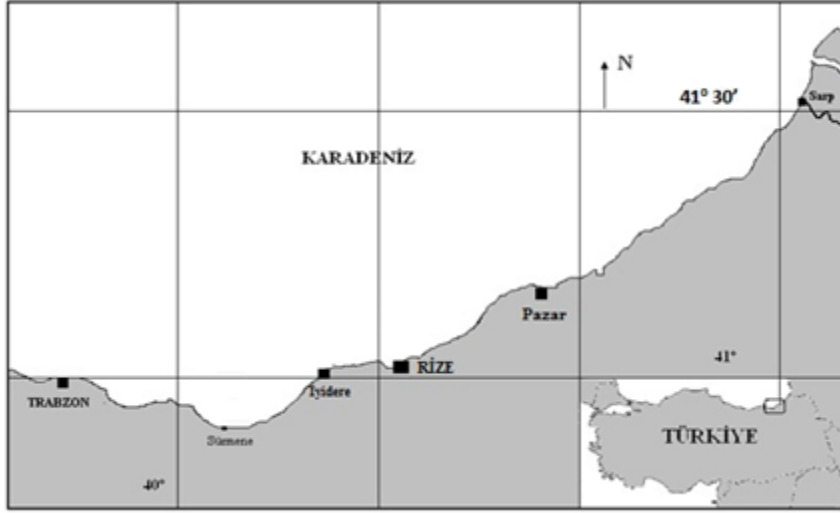
2.1. Materyal

2.1.1. Çalışmada Kullanılan Balık Materyali

Çalışmanın ana materyalini Doğu Karadeniz’de yayılım gösteren balık türleri oluşturmaktadır. Daha önce gerçekleştirilen saha çalışmaları ve literatür bilgilerine göre bölgede hamsi (*Engraulis encrasicolus*), istavrit (*Trachurus mediterraneus*), mezgit (*Merlangius merlangus*), zargana (*Belone belone*), barbun (*Mullus barbatus*), çinekop (*Pomatomus saltatrix*), kalkan (*Psetta maxima*), isparoz (*Diplodus vulgaris*), trakonya (*Trachinus draco*), sardalya (*Sardina pilchardus*), kırlangıç (*Chelidonichthys lucerna*) eşkina (*Sciaena umbra*) izmarit (*Spicara smaris*), karagöz (*Diplodus puntozza*), levrek (*Dicentrarchus labrax*), palamut (*Sarda sarda*), gibi ekonomik değeri yüksek balıkların yanı sıra, kaya balıkları (*Gobius niger*, *Neogobius melanostomus*), iskorpit (*Scorpaena porcus*), dil (*Solea nasuta*), horozbina (*Parablennius sanguinolentus*), kayış (*Ophidion barbatum*), denizati (*Hippocampus guttulatus*), deniziğnesi (*Syngnathus* sp.), çırçır (*Symphodus* spp.), pisi (*Platichthys flesus*), vatoz (*Raja clavata*), köpek balığı (*Squalus acanthias*), ve tiryaki (*Uronoscopus scaber*) gibi balıklar ıskarta ürün olarak avlanmaktadır.

2.1.2. Örnekleme Sahası

Bu çalışma, Doğu Karadeniz Bölgesi’nde yer alan Rize ilinin İyidere ve Pazar ilçeleri arasında kalan kıyı sahili boyunca farklı istasyonlardan balık örnekleme yapılmıştır (Şekil 8).



Şekil 8. Örnekleme sahası.

2.1.3. Diğer Materyaller

Deneme sürecinde balık ve parazitlerin boylarının ölçümü için mm bölmeli ölçüm tahtası ve canlı ağırlıkların ölçülmesinde ise 1 gr hassasiyetli dijital terazi kullanılmıştır. Parazit örneklerinin incelenmesinde stereo mikroskop, tek kullanımlık eldivenler, makas, bisturi ve pensten yararlanılmıştır. Örneklerin saklanmasında %70'lik etil alkol ve %4'lük formaldehit ve yaklaşık olarak 10 cc hacminde kapaklı plastik kaplar kullanılmıştır.

2.2. Yöntem

2.2.1. Balık Materyalinin Elde Edilmesi ve Tür Teşhisi

Balık örnekleme Şubat 2010 ile Nisan 2012 tarihleri arasında 16 ay süreyle her ay iki örnekleme yapılarak gerçekleştirilmiştir. Balıklar, serbest dalış (zıpkın, kepçe, vs.), olta, gırgır ve değişik tipte uzatma ağları olmak üzere 4 farklı şekilde örneklenmiştir (Öktener ve Sezgin, 2000; Bunckley-Williams ve Bashirullah, 2006; Oğuz ve Öktener, 2007; Ramdane vd., 2007). Balıkların tür teşhisi Turan, (2007)' ye göre yapılmıştır.

2.2.2. Ekto Parazitler İçin Örnek Alma Yöntemi

Örneklenen balıkların dış yüzeyinde izopod parazit varlığı araştırılmış ve rastlanan izopodlar pens yardımıyla alınıp her bir balıktaki izopod örnekleri %70'lik alkol veya %4 lük formaldehit solüsyonunda saklanmıştır. Moleküler çalışmalarda kullanılacak örnekler alkolde fikse edilmiştir.

2.2.3. Morfolojik Karakterlere Göre Parazitlerin Tür Teşhisi

Parazit teşhisi için stereo mikroskop kullanılmıştır. Tür teşhisi; *Nerocila bivittata* için Gourret, (1891); Monod, (1923, 1931); Perrier, (1930); Giordani-Soika, (1950); Amar, (1951); Demir, (1952); Balcells, (1953); Trilles, (1961, 1968, 1986); Roman, (1970); Kırkım, (1989); Brusca, (1981); Geldiay- Kocataş, (1972); Naylor, (1972) ve Papoutsoglou, (1976), *Nerocila acuminata* için Schioedte ve Meinert, (1881), Richardson, (1900, 1901, 1902, 1905), Comeaux, (1942); Pearse, (1947,1952); Hutton, (1964); Schultz, (1969); Briggs, (1970); Gosner, (1971); Hastings, (1972); Brusca, (1978); Williams ve Williams, (1978); Moreira ve Sadowsky, (1978); Kussakin, (1979); Kensley ve Schotte, (1989) ve Trilles vd. (1989) gibi araştırmacıların çalışmalarında kullandığı aşağıda ifade edilen morfolojik karakterlere göre yapılmıştır.

2.2.3.1. *Nerocila bivittata*

Tanım: Dişiler 26 mm uzunluğuna kadar ulaşır. Vücutları loblu ve ovalimsidir. Vücut boy uzunluğu genişliklerine oranla iki katıdır. Dişi bireyler erkek bireylerin iki katı kadardır. Genellikle vücudunun dorsal tarafında yoğunlaşan kramotoforların rengi, kahverengi ve 2 sıra halinde sarı veya lavanta renginde iki adet şerit şeklindedir (Şekil 9).

Baş: Başın uzunluğu baş genişliğinden genelde daha uzundur. Başın ön tarafı antenlerin önüne uzanmış geniş ve yuvarlak yapılıdır. Gözleri küçük, fazla gelişmemiştir ve karanlık bir gölge şeklinde görülürler. *Nerocila bivittata* bireylerinde antenler kısa ve kalındır. Birinci antenleri 7 boğumludur ve 2.-7. boğumları arasında tüysü setaları vardır. Antenlerin sonuna doğru ivmeli bir daralma görülür. Antenülleri ise uzun ve daha ince bir yapı gösterir. İkinci antenleri 9 boğumludur ve 3.-9. boğumlarında tüysü setaları vardır (Şekil 10).

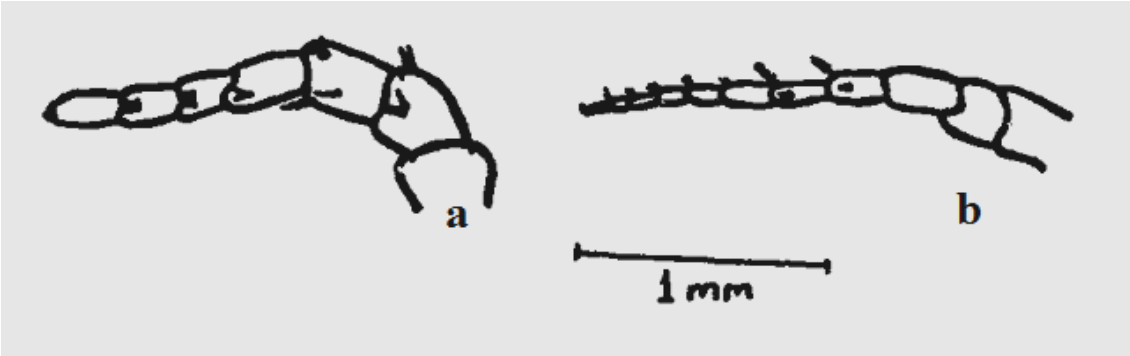
Preon: Vücutlarında yedi adet preon bulunmaktadır. 1. segment en uzun ve dar olanıdır. Preonlar segmentleri loblu ve birbirlerini çok az örterler. 6. preonit vücudun en geniş yerini oluşturur (Şekil 9). Preopodların 1. çifti kısa 2.-6. çiftleri aynı uzunlukta 7. preonit çifti ise uzundur. Dactylusları gelişmiştir, çengel şeklinde, tırnak gibi sert ve sivridir (Şekil 11).

Pleon: Pleon segmentlerinin lateraldeki uçları sivridir ve uzundur. Pleonun 1. segmenti 7. preonitin 4/3 kadar içerisine girmiştir. Pleopodlar uzun ve ovalimsi bir yapı gösterir. Erkek bireylerde 2. pleopodlarında appendix maskulina bulunur (Şekil 12).

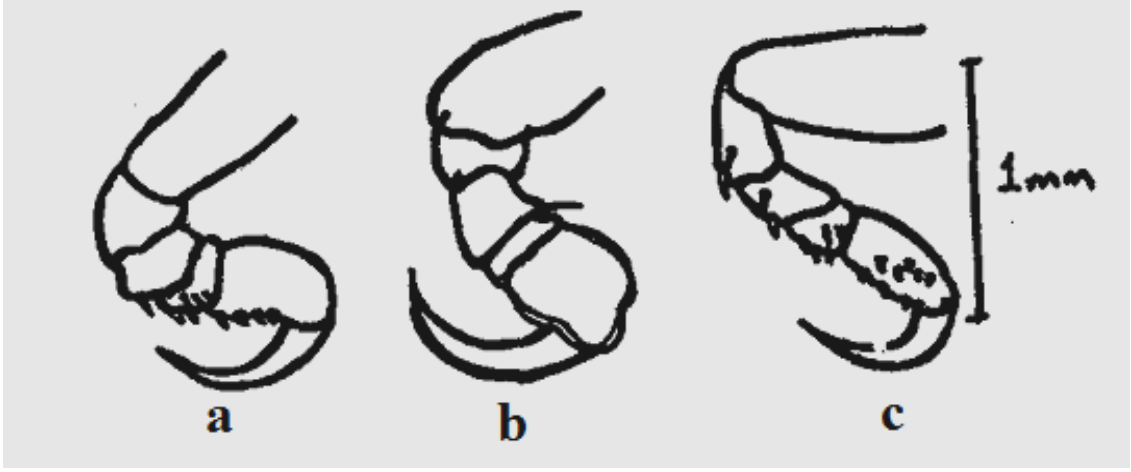
Pleotelson kalp şeklinde, anterior kenarda enine dalgalı çukurluklar, posterior kenarda ise 3 girinti çıkıntı olup ortadaki çıkıntı biraz uzundur. Üropodlarında endopoditler kısa, ekzopoditleri uzundur ve pleotelsonun posterior kısmını aşarlar (Şekil 13).



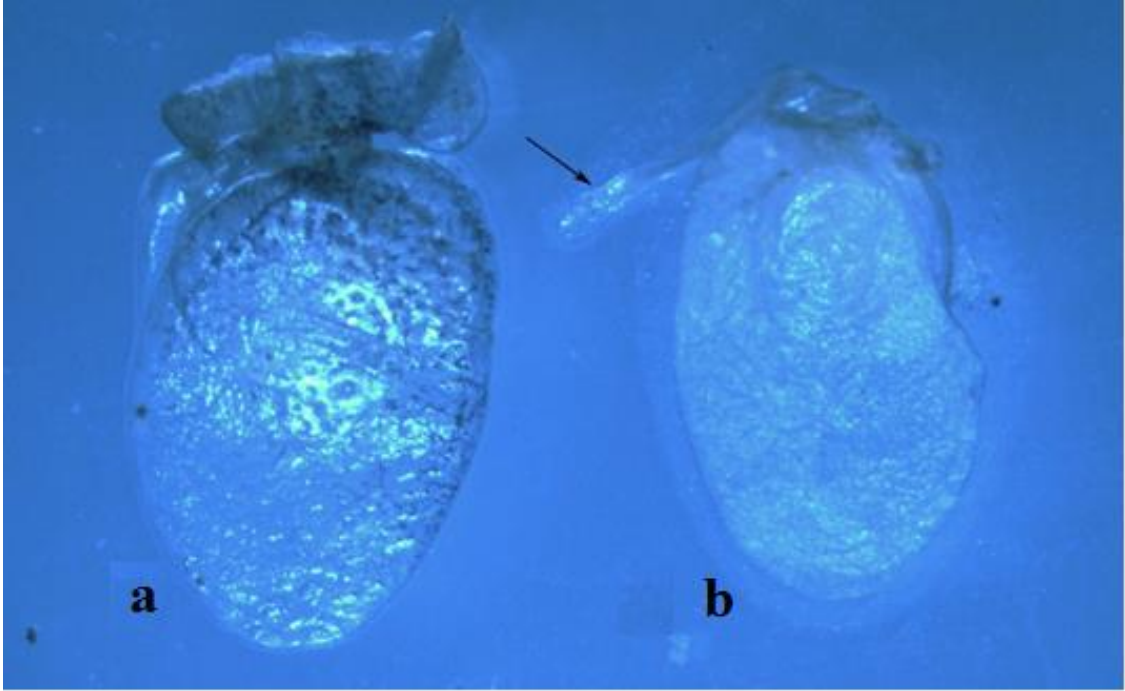
Şekil 9. Dorsalde iki adet sarımsı renkte kromatoforların vücut boyunca uzanan görünümü *Nerocila bivittata* (Özgün).



Şekil 10. *Nerocila bivittata*'nın a) I. ve b) II. antenlerinin görünümü.



Şekil 11. *Nerocila bivittata*'ya ait a) I.preopod, b) I.-VI. preopod, c) VII. Preopod.



Şekil 12. *Nerocila bivittata*'nın erkek bireylerinde a) I. pleopod, b) II. pleopod üzerinde bulunan apendiks maskulina (siyah ok ile gösterilmiş) (Özgün).



Şekil 13. Üropodların görünümü a) endopod, b) ekzopod, c) pleotelson. (Özgün).

2.2.3.2. *Nerocila acuminata*

Tanım: Vücudunun genişliği 7,0-13,0 mm, uzunluğu 14,0-25,0 mm dir. Dişi bireyler erkek bireylerin iki katı kadardır. Genellikle vücudunun dorsal tarafında yoğunlaşan kramotoforların rengi kahverengi, boyuna iki sıra halinde sarı veya lavanta rengine iki adet şerit şeklindedir. (Şekil 14)

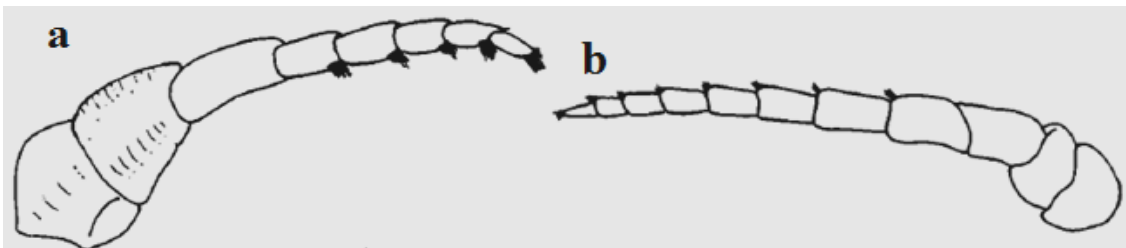
Baş: Başının genişliği baş uzunluğundan büyük ya da nadiren birbirlerine yakın uzunluktadır. Kafanın ön tarafı konveks yapılı ve düzgün bir şekilde yuvarlaklaşmıştır. Orta büyüklükte olan gözleri oval yapıdadır. Birinci antenleri 8 boğumlu ve geniş biçimdedir. İkinci antenleri 9-11 boğumlu ilk 2 tanesi zayıf genişliktedir (Şekil 15). Birinci antenler ikinci antenlerden yaklaşık olarak 1 mm daha uzundur. Maksilipedleri 2-4 terminal dikenlidir. Maksilla 1'in tepesinde de dört adet diken bulunur. 2. maksillanın her bir lobunda iki tane diken bulunur ve her birinin şekli yarım ay şeklindedir. Mandibulları basit yapılıdır ve palplarının ucunda birkaç tane seta vardır. Mandibullarının orta kısmında da bir kaç seta bulunur.

Preon: 1., 5. ve 6. prenoitler en uzun ve birbirleriyle eşit uzunluktadır, 2.-4. prenoitler en kısa olanlarıdır, 5. ve 6. prenoitler en geniş olanlarıdır. 7. prenoit 1. pleonun 4/3 ünü kapatacak şekilde uzanır (Şekil 14). Koksallateler vücudun dorsal tarafından bakıldığında genellikle görülebilir özelliktedir. Tüm preonların posterior tarafı ya da sadece posteriordeki preonların koksallateleri keskin ya da yarı keskin açıdadır. Genç dişiler 7. preopodlarındaki erkeklik dikenlerini kaybetmezler.

Pleon: Pleonitler eşit uzunluktadırlar. 1. pleonit, 3. pleonitin son kısmına kadar, genelde pleotelsonun anterior kısmına kadar uzanır. 2. pleonit, pleotelsonun ortalarına kadar uzanır. Pleopodlar temel olarak solungaç lameli işlevi görürler. Dişi bireylerde apendiks maskulina kaybolmaz ama değişerek oldukça küçülür. Pleotelsonun posterior kısmı kalkan şeklindedir. Endopodları, eksopodlarından daha küçüktür ve pleotelsonun hizasını geçerler.



Şekil 14. *Nerocila acuminata* genel görünüm (Özgün)



Şekil 15. *Nerocila acuminata*'nın a) birinci anten, b) ikinci antenlerin görünümü.

2.2.4. Moleküler Yöntem ile Parazitlerin Teşhisi

Moleküler yöntem ile tür teşhisinde öncelikle izopodlardan DNA eldesi gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla izopodların ayak kısımlarından yeterince örnek alınmış ve bu DNA eldesi Qiagen DNA ekstraksiyon kiti (Düsseldorf/Almanya) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Özetle, 25mg lık izopod dokusu 1,5ml lik ependorf tüp içerisine aktarılmış ve 180 µl ATLBuffer ve 20 µl Proteinase-K eklenerek vortekslenmiştir. Daha sonra 56⁰C’de 1100 rpm şiddetinde çalkalanarak 1-3 saat tamamen parçalanması sağlanmış ve santrifüj edilmiştir. 4 µl RNase eklenerek 15 saniye vortekslenmiş, 2 dakika oda sıcaklığında inkübe edilmiş ve ardından 200 ul Buffer AL eklenmiştir. Ardından 15 saniye vortekslenildikten sonra 70⁰C’de 10 dakika inkübe edilmiştir. 200 µl %96-100 etanol eklenmiş alt kısım ile iyice karışmış olan karışım pipet yardımıyla AL ve mini spin column tüplerine koyulmuş ve kapağı kapatılmıştır. 1 dakika 8000 rpm’ de santrifirüj edildikten sonra filtre çıkarılmış yerine yeni collection tüp koyulmuştur. Yeni tüpe konulmuş olan filtreye 500 µl Buffer AW2 eklenmiş ve 14000 rpm’ de 3 dakika santrifirüj edilmiştir. Filtre temiz ependorfa koyulmuş ve 200 µl Buffer AE ya da distile su eklenerek, oda sıcaklığında 10-15 dakika inkübe edilmiştir. 8000 rpm’ de 1 dakika santrifirüj edilerek DNA örnekleri kullanıma hazır hale getirilmiştir.

Tüm Crustacea’lar da kullanılan mtDNA Sitokrom Oksidaz Geni Üiversal Primerleri (LCO1490 5’- GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG- 3’, HCO2198 5’- TAAACTTCAGGGTGACCAAAAATCA- 3’) yardımıyla izopodlardan elde edilen DNA örnekleri Tablo 1 ve 2’de belirtilen PZR şartlarında çalışılmış ve sonuçlar sekans için Macrogen firmasına gönderilmiştir (Meibergdreef 31 1105 AZ, Amsterdam/ Hollanda).

Tablo 1. İzopodlardan elde edilen DNA örneklerine uygulanan PZR karışımındaki kimyasalların konsantrasyonları ve miktarları.

Kimyasallar	Konsantrasyon	Miktarı (µl)
10X PZR tamponu		10
dNTP karışımı	10 mM	4
MgCl ₂	0,25 mM	3,5
Primer Karışımı	40 mM	0,5
Taq DNA polimeraz		0,3
Kalıp DNA	50 mM	5
dH ₂ O		26,7
Toplam		50

Tablo 2. İzopodlardan elde edilen DNA örneklerine uygulanan PZR döngü koşulları.

	Sıcaklık (°C)	Zaman (dk)	Döngü Sayısı
İlk Ayrılma	94	3	1
Ayrılma	94	1	
Yapışma	48	1	36
Uzama	72	1	
Son Uzama	72	10	1
	4	∞	

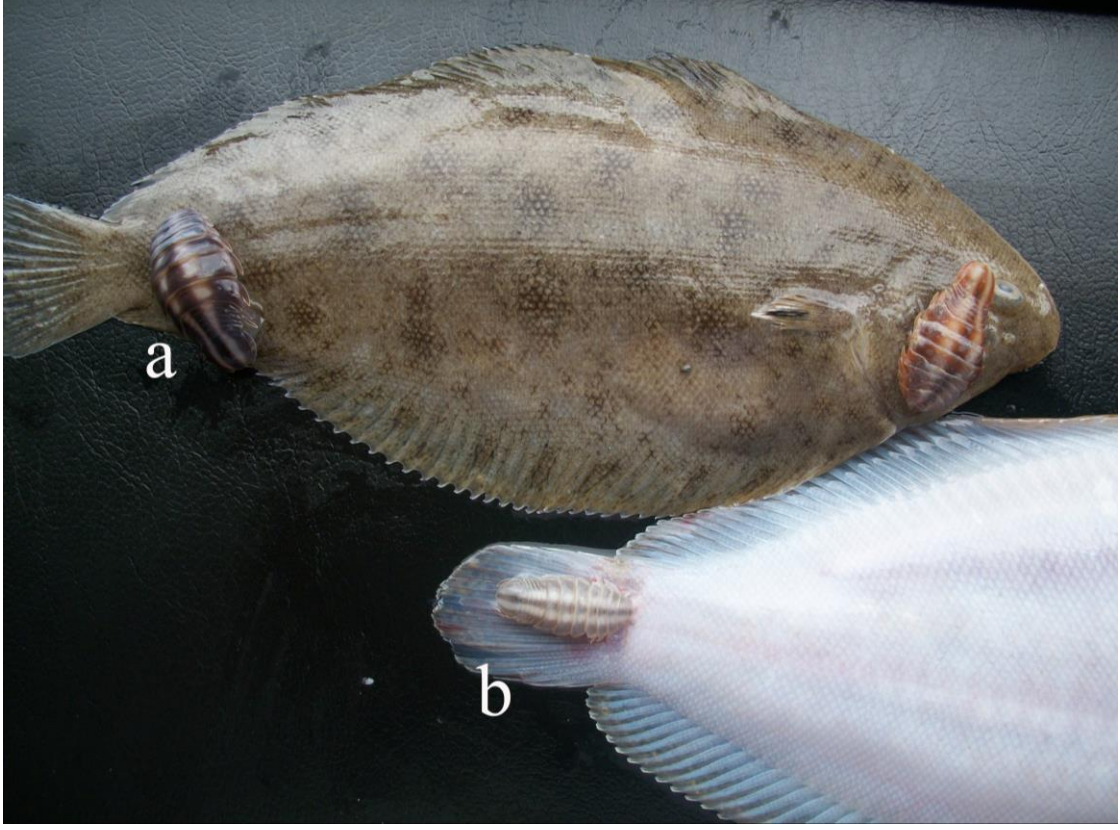
2.2.5. Verilerin Değerlendirilmesi

Arazi çalışmasının sonucunda kaydedilen bilgiler, parazitin örnekleme metodu, örnekleme sahası, konakçısı ve hangi mevsimde örneklendiğini belirten bir liste şeklinde sunulmuştur. Parazitlerin prevalans değerleri [(enfeste örnek sayısı / tüm örnek sayısı) x 100] şeklinde, intensity ise toplam parazit sayısının parazitli birey sayısına bölümü ile hesaplanmıştır.

3. BULGULAR

Yapılan arazi çalışmalarının sonucunda, farklı balık türlerine ait (28 farklı tür) toplam 26542 örnek değişik avlama yöntemleri ile örneklenmiştir. *Nerocila* cinsine ait *Nerocila acuminata* ve *N. bivittata*, tür seviyesinde değişik balıklarda tespit edilmiştir. Toplam 688 *Nerocila* bireyinden 159 tanesi *Nerocila acuminata*, 434 tanesi *Nerocila bivittata*, olarak tanımlanmış geriye kalan 95 birey ise *Nerocila* spp. olarak cins seviyesinde tanımlanmıştır. İzopodlara ait DNA örneklerinden elde edilen sekansların sonucu, genbank'ta yer alan sekanslar ile karşılaştırılmıştır. Bu sonuçlar ışığında izopod örneklerinin %90 oranında *Nerocila* cinsine ait olduğu belirlenmiştir. Cins teşhisinde morfolojik karakterlerin yanı sıra kullanılan moleküler yöntem teşhis için destekleyici olmuştur. Çalışma sonucunda örneklenen balık türleri ve *Nerocila* spp. ile enfeste balık sayıları genel olarak Tablo 3 te verilmiştir.

Parazit için toplam prevalans dikkate alındığında uzatma ağı için %3,23, olta için %0,41 ve serbest dalış için %9,02 değerlerine ulaşılmıştır. Balık türleri içerisinde *Nerocila* spp. ile ilgili prevalans dikkate alındığında ise; dil (*Solea nasuta*), çırçır (*Symphodus* spp.), horozbina (*Parablennius songuinolentus*) kaya balıkları (*Gobius niger*, *Neogobius melanostomus*) ve deniziğnesi (*Syngnathus* spp.) türleri sırasıyla %26,94, %16,76, %11,77 %5,21, %3,44 ve oranlarında, en fazla enfestasyonun olduğu türler olarak tespit edilmiştir (Şekil 16, 17, 18, 19, 20). Mezgit (*M. merlangus*), istavrit (*Trachurus mediterraneus*), palamut (*Sarda sarda*), sardalya (*Sardina pilchardus*), tirsi (*Alosa immaculata*) ve izmarit (*Spicara smaris*) gibi bölgede ekonomik değeri yüksek olan balık türlerinde ise *Nerocila* spp.'ye rastlanılmamıştır. Bunun yanı sıra, deniziğnesi (*Syngnathus* sp.), barbun (*Mullus barbatus*), kalkan (*Psetta maxima*), tiryaki (*Uronosopus scaber*) doğal levrek (*Dicentrarchus labrax*) (Şekil 21) ve denizatı (*Hippocampus guttulatus*) (Şekil 22) gibi balık türlerinden ülkemiz ve dünya sularında *Nerocila* spp. ile ilgili ilk sayılabacak identifikasyonlar gerçekleştirilmiştir.



Şekil 16. Uzatma ağında örneklenen dil (*Solea nasuta*) balıklarında kaudal yüzgeç kaidesi ve operkulum üzerinde görülen a) *Nerocila bivittata* ve b) *Nerocila* spp. (Özgün).



Şekil 17. Uzatma ağında örneklenen iskorpit (*Scorpaena porcus*) balığının kaudal yüzgeç kaidesinde *Nerocila bivittata* (Özgün).



Şekil 18. Uzatma ağında örneklenen çırçır (*Sympodus* spp.) balığının kaudal yüzgeç kaidesinde *Nerocila bivittata* (Özgün).



Şekil 19. Uzatma ağında örneklenen göğebakan (*Uronoscopus scaber*) balığının baş kısmında *Nerocila acuminata* (Özgün).



Şekil 20. Serbest dalışta örneklenen dil (*Solea nasuta*) balığının operkulum ve yüzgeç kaide kısımlarında yoğun *Nerocila bivittata* (Özgün).



Şekil 21. Olta ile avlanan levrek balığının (*Dicentrarchus labrax*) kaudal yüzgecinde *Nerocila acuminata* (Özgün).



Şekil 22. Uzatma ağı ile örneklenen denizati (*Hippocampus guttulatus*)' nda *Nerocila bivittata* (Özgün).

Tablo 3. Örneklenen balık türleri, avlama yöntemi ve tespit edilen *Nerocila* spp. sayısı, BS: balık sayısı EBS: enfeste balık sayısı

Balık Türleri	Avlama Yöntemi									
	Uzatma Ağı		Kalkan Ağı		Olta		Serbest Dalış		Gırgır	
	BS	EBS	BS	EBS	BS	EBS	BS	EBS	BS	EBS
Barbun (<i>Mullus barbatus</i>)	1699	4	-	-	7	-	-	-	1045	-
Çırçır (<i>Symphodus</i> spp.)	270	71	-	-	9	3	1235	180	-	-
Çinekop (<i>Pomatomus saltatrix</i>)	-	-	-	-	-	-	-	-	75	-
Denizati (<i>Hipocampus guttulatus</i>)	134	1	-	-	-	-	-	-	4	-
Deniziğnesi (<i>Syngnathus</i> sp.)	5	3	-	-	-	-	220	5	7	-
Dil (<i>Solea nasuta</i>)	201	57	-	-	-	-	15	1	3	1
Eşkına (<i>Sciaena umbra</i>)	3	-	-	-	2	1	80	2	-	-
Gelincik (<i>Gaidropsarus mediterraneus</i>)	13	-	-	-	-	-	-	-	4	-
Göğebakan (<i>Uronoscopus scaber</i>)	314	17	-	-	-	-	-	-	308	-
Horozbina (<i>Parablennius songuinolentus</i>)	-	-	-	-	-	-	17	2	-	-
İskorpit (<i>Scorpaena porcus</i>)	711	17	-	-	-	-	195	1	129	-
İsparoz (<i>Diplodus vulgaris</i>)	-	-	-	-	5	-	-	-	-	-
İstavrit (<i>Trachurus mediterraneus</i>)	649	-	-	-	572	-	-	-	14366	-
Kalkan (<i>Psetta maxima</i>)	6	2	83	-	-	-	-	-	2	-
Karagöz (<i>Diplodus puntazzo</i>)	36	-	-	-	-	-	221	1	-	-
Kaya Balığı (<i>Gobius niger, Neogobius melanostomus</i>)	21	6	-	-	-	-	190	5	-	-
Köpek balığı (<i>Squalus acanthias</i>)	-	-	7	-	-	-	-	-	-	-
Kırlangıç (<i>Chelidonichthys lucerna</i>)	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-
Levrek (<i>Dicentrarchus labrax</i>)	-	-	-	-	3	1	15	-	-	-
Mezgit (<i>Merlangius merlangus</i>)	787	-	-	-	560	-	-	-	1002	-
Palamut (<i>Sarda sarda</i>)	211	-	-	-	12	-	-	-	12	-
Pisi (<i>Platichthys flesus</i>)	2	1	-	-	-	-	5	1	-	-
Sardalya (<i>Sardina pilchardus</i>)	176	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Tirsi (<i>Alosa immaculata</i>)	21	-	-	-	35	-	-	-	262	-
Trokonya (<i>Trachinus draco</i>)	-	-	-	-	-	-	-	-	4	-
Vatoz (<i>Raja clavata</i>)	6	-	184	-	-	-	-	-	4	-
Yeşil izmarit (<i>Spicara smaris</i>)	228	-	-	-	-	-	-	-	11	-
Zargana (<i>Belone belone</i>)	140	1	-	-	-	-	-	-	-	-
Toplam	5631	178	274	-	1205	5	2193	198	17239	1

Yapılan arazi çalışmalarında *Nerocila* spp. türlerinin %63,08' inin *Nerocila bivittata*' ya ve %23,11'i *Nerocila acuminata*' ya ait olduğu saptanmıştır. %13,8 oranında *Nerocila* cinsine ait bireylerin tür tespiti yapılamamıştır. *Nerocila bivittata* bireylerinin % 14,7' si ve *Nerocila acuminata* bireylerinin ise % 7,7 sinin dişi olduğu tespit edilmiştir.

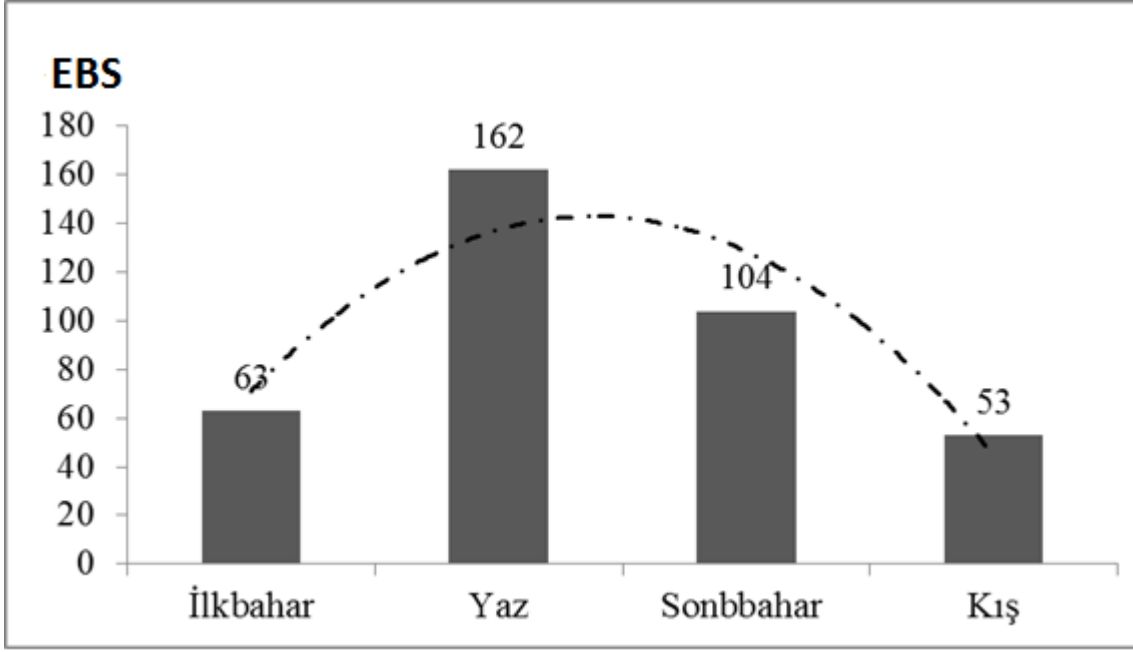
Nerocila bivittata' nın erkek bireylerinin ortalama 16,33 x 7,23 mm büyüklüğünde, dişilerinin ise 26,18 x 14,82 mm büyüklüğünde olduğu gözlenmiştir. *Nerocila acuminata*' nın erkek bireylerinin ortalama 15,46 x 7,04 mm büyüklüğünde, dişilerinin ise 22,34 x 12,42 büyüklüğünde olduğu gözlemlenmiştir.

Gerçekleştirilen örnekleme derinlik aralığı ve bu derinliklere göre enfeste balık sayıları Tablo 4'de verilmiştir. Bu verilerin ışığında parazitin 0-30 m arası derinliklerde yoğun olarak varlığına rastlanılmış, 30 m den daha derin sularda parazitin varlığı sadece mezgit avcılığı için kullanılan uzatma ağında denizati örneğinde tespit edilmiştir.

Tablo 4. *Nerocila* spp. için örneklenen balık türlerinin derinlik aralıkları ve örnekleme şekli. EBS; enfeste balık sayısı, BS; örneklenen balık sayısı

Derinlik (metre)	Örnekleme Şekli	EBS/BS
0-10	Serbest dalış	198 / 2193
0-30	Uzatma ağları	177 / 4764
	Olta	5 / 1205
40<	Kalkan ağı	0 / 274
	Mezgit ağı	1 / 837
22-100	Gırgır	1 / 17239
	Toplam	382 / 26542

Parazitlerin mevsimsel dağılımlarına bakıldığında, en fazla kayıt yaz mevsimi olarak gözlemlenmiştir (Şekil 23). Enfestasyonun en az kış aylarında meydana geldiği belirlenmiştir.



Şekil 23. *Nerocila* spp. bireylerinin mevsimsel dağılımı, EBS; enfeste balık sayısı

Gerçekleştirilen tüm örnekleme sonuçlarında *Nerocila* spp. bireylerinin intensity değeri 1,79 olarak hesaplanmıştır. Örnekleme şekline göre ise serbest dalış ve uzatma ağı ile yapılan örnekleme sonuçlarında bu değerler sırasıyla 2,25 ve 1,8 olarak belirlenmiştir. Tek bir bireyde düşünüldüğünde en yüksek intensity değerleri deniziğnesinde 8 ve yassı balıklar (*Pleuronectiformes*) olan pisi ve dil balıklarında 7 olarak belirlenmiştir (Şekil 24, 25, 26). Ortalama intensity değerleri ise; deniziğnesi (*Syngnathus* sp.) 3,87, pisi (*Platichthys flesus*) ve kalkan (*Psetta maxima*) 3,5, dil (*Solea nasuta*) 2,74, eşkina (*Sciaena umbra*) 2,33, kayabalıklarında (*Gobius niger*, *Neogobius melanostomus*) 2,18, çırçır (*Symphodus* spp.) 1,54, göğebakan (*Uronosopus scaber*) 1,35, iskorpit (*Scorpaena porcus*), 1,33, barbun (*Mullus barbatus*), denizatı (*Hipocampus guttulatus*) horozbina (*Parablennius sanguinolentus*), karagöz (*Diplodus puntazzo*), levrek (*Dicentrarchus labrax*) ve zargan (*Belone belone*) balıklarında 1 olarak hesaplanmıştır.



Şekil 24. *Nerocila bivittata* bireylerinin dil balığındaki (*Solea nasuta*) intensitisi (Özgün).

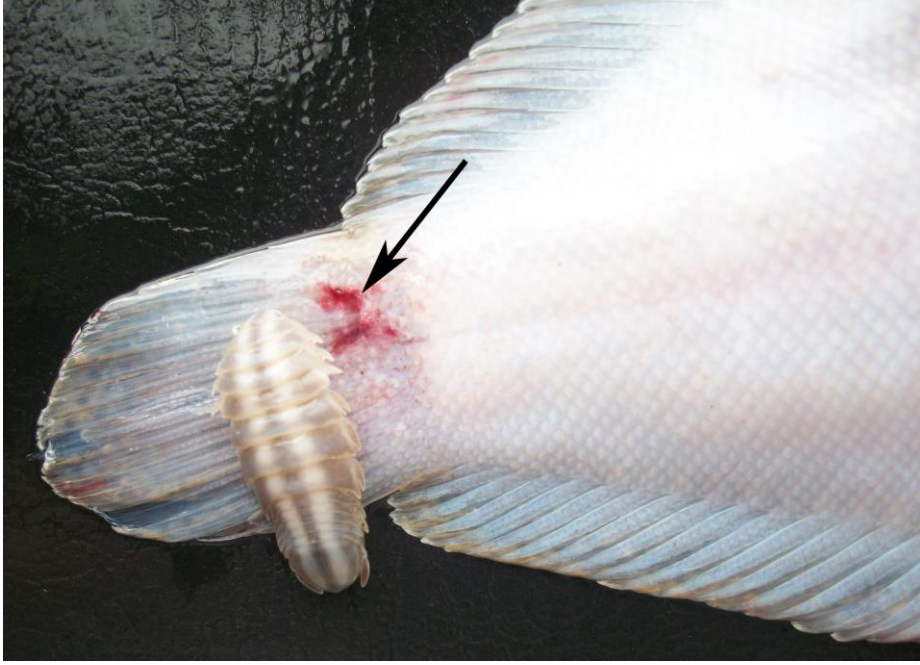


Şekil 25. *Nerocila* spp. bireylerinin pisi balığındaki (*Platichthys flesus*) intensitisi (Özgün).

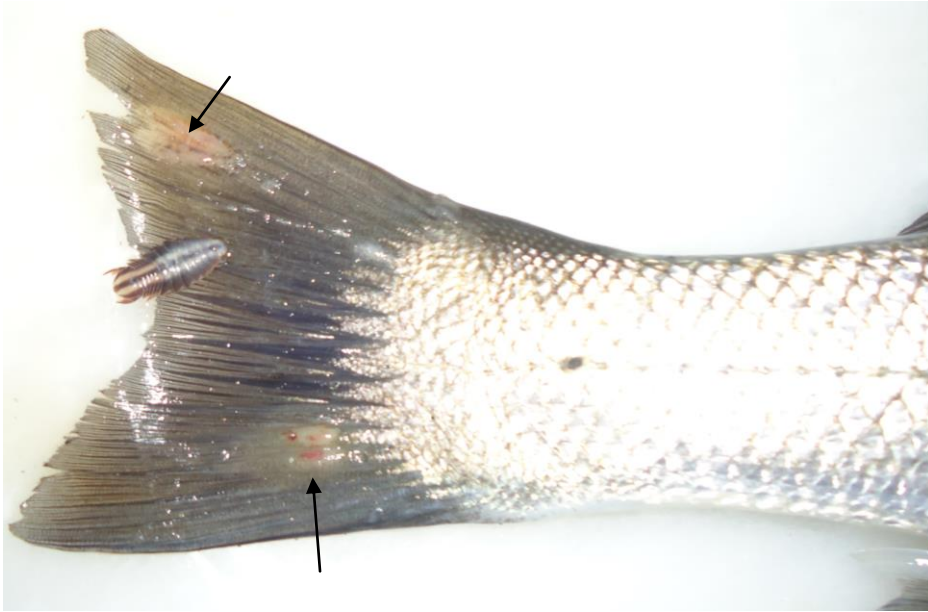


Şekil 26. *Nerocila bivittata* bireylerinin deniziğnelerindeki (*Syngnathus* sp.) intensitisi (Özgün).

Nerocila spp. ile enfeste balıklarda önemli bazı patolojik bulgulara rastlanmıştır. Bu bağlamda en belirgin etki deri üzerinde lezyonlar ve kanamalar olarak tespit edilmiştir (Şekil 27, 28).



Şekil 27. Dil balığında kaudal yüzgeç kaidesinde *Nerocila* spp. etkisiyle oluşan lezyonlar (Özgün).



Şekil 28. Levrek balığında kaudal yüzgeç üzerinde *Nerocila acuminata* etkisiyle oluşan lezyonlar (Özgün).

4. TARTIŞMA ve SONUÇ

4.1. Tartışma

Cymothoidae familyasında *Nerocila* cinsine ait türler geniş bir yere sahiptir. *Nerocila* türleri Akdeniz, Kuzey-Batı Afrika ve Kızıl Deniz'de yaygın olarak bulunmaktadır (Trilles, 1994). Günümüzü kadar genellikle Mugilidae familyasına ait türler (*Liza aurata*, *L. ramada*, *Mugil cephalus* ve *Chelon labrosus*) olmakla birlikte, değişik balık türlerinde (*Alosa agone*, *Dicentrarchus labrax*, *Callorhinchus milii*, *Acanthopagrus australis*, *Pagrus auratus*, *Mola mola*, *Pseudocaranx dentex*, *Sillago bassensis*, *Pomatomus saltatrix*, *Trigla lyra*, *Symphodus tinca*, *Solea solea*, *Serranus scriba*, *Diplodus vulgaris*, *Scorpaena porcus*) dış parazit olarak bulunduğu bildirilmiştir (Bruce, 1987a; Trilles, 1975; Trilles, 1994; Charfi-Cheikhrouha vd., 2000; Ramdane vd., 2007; Ferri vd., 2008). Ülkemizde *Nerocila* türlerinin konakçı hassasiyeti ile ilgili çalışmalar mevcuttur (Öktener, 2003; Öktener vd., 2009; Kayis vd., 2009). *Nerocila bivittata* ve *N. orbigny* türleri ülkemiz sularından rapor edilmiştir (Horton ve Okamura, 2001; Öktener ve Trilles, 2004; Alas vd., 2008). Ülkemizin farklı denizlerinden bu cinse ait parazit kayıtları bulunmasına karşın, Doğu Karadeniz kıyıları için *Nerocila* cinsine ait çalışmalara rastlanılmamıştır. Gerçekleştirilen bu çalışmada, mevsimsel dağılım dikkate alınarak 28 farklı balık türünde *Nerocila* cinsine ait konakçı hassasiyeti farklı avlama yöntemlerine göre belirlenerek bu konuda var olan büyük bir eksiklik giderilmeye çalışılmıştır.

Nerocila cinsine ait parazitler ile ilgili yapılan çalışmalarda konakçı olarak değişik balık türleri rapor edilmiştir (Bruce, 1987; Trilles, 1975, 1994; Charfi-Cheikhrouha vd., 2000; Ramdane vd., 2007; Ferri vd., 2008). Fakat bu çalışmaların çoğunda örnekleme metodu açıkça ifade edilmemiş, hatta örneklerin balıkçı halinden ve tezgâhlardan elde edildiği bildirilmiştir (Olmo vd., 2007; Yuniar vd., 2007; Ramdane ve Trilles, 2007). Bu çalışmada, *Nerocila* cinsine ait parazitlerin değişik örnekleme yöntemleri ile elde edilmesi sonucunda gerçek konakçı hassasiyetinin ve *Nerocila* cinsine ait parazitlerin nasıl örnekleneceğine ışık tutulmaya çalışılmıştır. Bu bağlamda, elde edilen veriler ışığında, *Nerocila* spp.'nin uzatma ağlarında yapılan örnekleme yöntemlerinde diğer örnekleme yöntemlerinde elde edilmeyen sonuçlar elde edilmiştir. Örneğin, barbun (*Mullus barbatus*) ve zargana (*Belone belone*) türlerinde *Nerocila* spp.'nin varlığına uzatma ağlarında rastlanılmıştır. Yine uzatma ağları ile yapılan denizati (*Hipocampus guttulatus*), göğebakan

(*Uronoscopus scaber*) ve zargana (*Belone belone*) örneklemelerinde enfestasyona rastlanmıştır.

Her ne kadar, bahsi geçen türlerin uzatma ağları dışında kalan örneklemelerde eşit sayılarda örnekleme yapılamamışsa da, daha önce rapor edilmeyen balık türlerinin enfeste olmasında daha çok uzatma ağlarının su içerisinde uzun süre kalmasının ve savunmasız kalan balıklarda parazitlenmenin olabileceği düşünülmektedir. Bu nedenle anlık örnekleme olarak isimlendirilebilecek serbest dalış ile yapılan örneklemelerin parazitin konakçı seçiminde, hem prevalans hem de intensity açısından da daha kesin sonuç vereceği düşünülmektedir. Olta ile yapılan örneklemelerde, enfeste balıkların stres koşullarında yem almaya yönelik isteksizlik olasılığı düşünüldüğünde serbest dalışın anlık örnekleme için daha iyi temsil ettiği söylenebilir.

Konakçı hassasiyetinin belirlenmesinde önerilebilecek bir diğer yaklaşım şekli kullanılan bütün örnekleme metotlarının ortak değerlerinin dikkate alınması şeklinde olabilir. Bu açıdan değerlendirildiğinde çırçır (*Symphodus spp.*), dil (*Solea nasuta*) ve kaya balıkları (*Gobius niger*, *Neogobius melanostomus*) genel olarak tüm örneklemelerde enfestasyonun varlığının gözlemlendiği türler olmuştur.

Karadeniz’de *Nerocila spp.* ile ilgili kapsamlı bir çalışma gerçekleştirilmemiştir. Sadece *Nerocila* türlerinin değişik balıklardaki ilk kayıtları verilmiştir (Öktener ve Trilles, 2004). Bu konudaki bilgiler Doğu Karadeniz kıyıları için daha da fakir bir durum sergilemektedir. Bu nedenle bulguların analizi konusunda Türkiye ve Dünya deniz balıkları faunası dikkate alınmıştır. *Nerocila bivittata* Ülkemizin Ege denizi kıyılarında yapılan araştırmada, Kırkım (1998) tarafından, *Labridae*, *Scianidae*, *Sparidae* ve *Gobridae* genusuna ait balıklardan rapor edilmiştir. Ayrıca, *Nerocila bivittata*, *Pagellus erythrinus*, *Pagellus sp.*, *Labrus merula*, *Gobius niger*, *Sciaena umbra*, *Dentex macrophthalmus*, *Symphodus tinca*, *Parablennius sanguinolentus* ve *Scorpaena scrofa* gibi balık türlerinden rapor edilmiş, *Nerocila orbigny* ise *Dicentrarchus labrax* ve *Liza aurata* gibi balık türlerinden kayıt olarak verilmiş ve *Nerocila maculata* ise konakçı bildirilmeden Akdeniz, Marmara ve Karadeniz’den kayıt olarak verilmiştir (Öktener ve Trilles, 2004; Öktener vd., 2009). Bu çalışmada elde edilen bulgular ile daha önce gerçekleştirilen çalışmalarla karşılaştırıldığında konakçı olarak *Gobius niger*, *Sciaena umbra* ve *Parablennius sanguinolentus* türleri ortak olarak kaydedilmiştir. Her ne kadar tüm örnekleme metotlarında ortak konakçı olmasalar da, özellikle, deniziğnesi (*Syngnathus sp.*), barbun (*Mullus barbatus*), kalkan (*Psetta maxima*), tiryaki (*Uronoscopus scaber*), zargana (*Belone*

belone) ve denizati (*Hippocampus guttulatus*) gibi balık türlerinden ülkemiz ve dünya sularında *Nerocila* spp. ile ilgili ilk sayılacak identifikasyonlar gerçekleştirilmiştir. Değişik örnekleme metotları kullanılmasına rağmen mezgit (*M. merlangus*), istavrit (*Trachurus mediterraneus*), palamut (*Sarda sarda*), sardalya (*Sardina pilchardus*), tirsi (*Alosa immaculata*) ve izmarit (*Spicara smaris*) gibi bölgede ekonomik değeri yüksek olan balık türlerinde *Nerocila* spp.'ye rastlanılmamıştır. Bu bulguların, bahsi geçen balıkların bir kısmının pelajik olmasından, bir kısmının ise derin suları tercih etmesinden olabileceği şeklinde yorumlanabilir.

Mevsimsel olarak balıklarda *Nerocila* spp. ile ilgili veriler değerlendirildiğinde özellikle yaz ve sonbahar mevsiminde parazitlenmenin yoğun olduğu, ilkbahar ve kış aylarında bu değerlerin düştüğü gözlemlenmiştir. Bu durum parazitlerin bu çalışmanın verilerinde de olduğu gibi kıyısal alanları tercih etmesi (0-30 m su derinlik aralığında en yoğun örnekleme olmuştur), balıkların ise suların soğumaya başladığı aylarda daha derin suları tercihi olarak açıklanabilir. Parazitlerin üreme döneminin Şubat ve Ağustos ayları olarak literatürde verilmiş olması, yaz üreme döneminde su sıcaklığının yüksek olduğu dönemlerin parazitlenmenin en yoğun olduğu dönemi işaret ettiği düşünülmektedir. Kış üreme döneminde ise balıkların parazitlenmesindeki azalmanın su sıcaklığına bağlı olarak balıkların derinlik tercihinin etkisi olarak yorumlanabilir.

Nerocila cinsine ait balık parazitlerinin tür teşhisleri bölgesel farklılıklar ve izopodların genel özellikleri bakımından zor olmaktadır. Bu nedenle destekleyici teşhis metotlarının geliştirilmesi önem arz etmektedir. Bu çalışmada Ülkemizde ilk kez *Nerocila* spp. için universal primerler yardımıyla sekans sonuçları elde edilmiş ve genbanktaki sınırlı bilgilerle karşılaştırma imkânı bulunmuştur. Bu tez çalışması bu açıdan oldukça önem arz etmektedir. Zira gelecekte daha detaylı olarak tür teşhisleri yapılacak parazitlerin baz dizilimlerinin genbank ta yer alması sağlanabilir.

Örnekleme çalışmalarının gerçekleştirildiği su derinliği açısından bakıldığında parazitlerin konakçı seçiminin belirlenmesi net olarak gözlemlenmektedir. Daha önce ülkemiz ve dünya sularında gerçekleştirilen çalışmalarda örneklenen balık türlerinin hangi derinlik aralığında bulunduğu çoğunlukla belirtilmemiştir (Öktener ve Sezgin, 2000; Ramdane vd., 2007; Ferri vd., 2008). Bu tez çalışmasında balıkların *Nerocila* spp. ile enfeste olmasında su derinliğinin beklide en belirleyici etken olduğu gözlemlenmiştir. Bu açıdan su derinliği irdelendiğinde 0-30 m aralığında gerçekleştirilen örnekleme çalışmalarında 376 enfeste balık örnekleme gözlemlenirken, 30 m den daha derin sularda daha fazla balık örnekleme

rağmen enfeste balık sayısı sadece 2 olarak kaydedilmiştir. Aynı türlerin derinlik farklılığı dikkate alındığında parazitlenmenin de farklılık arz ettiği görülmektedir. Örneğin kalkan balıklarında 0-15 m aralığında 6 örnek elde edilmiş ve iki örnekte *Nerocila* spp. ye rastlanmış, 30 m ve daha derin sularda gerçekleştirilen 83 kalkan bireyinin örneklemeinde ise hiçbir parazite rastlanılmamıştır.

Su derinliğine bağlı parazitlenme durumunun prevalans ve intensiteyi de etkilediği düşünülmektedir. Serbest dalış örnekleme, genel olarak 0-10 m su derinliği arasında gerçekleştirilmiş ve toplam prevalans 9,02 ve intensite ise 2,25 olarak belirlenmiştir. Uzatma ağında ise tüm örnekleme 0-30 m su derinliklerinde ve daha derin sularda gerçekleştirilmiştir. Bu örneklemeinde toplam prevalans 3,23 intensite ise 1,8 olarak kaydedilmiştir. Sonuçlar değerlendirildiğinde örnekleme metoduna göre serbest dalışta daha yüksek prevalans ve intensitenin gerçekleştiğini söylemek yanıltıcı olabilir. Örnekleme derinlikleri göz önüne alınarak değerlendirme yapılmasının daha sağlıklı olacağı düşünülmektedir.

4.2. Sonuç

Sonuç olarak bu tez çalışması boyunca gerçekleştirilen araştırmalarda Doğu Karadeniz'de bulunan Rize ilinin İyidere ve Pazar ilçeleri arasında kalan sahil kıyılarında yayılım gösteren *Nerocila* spp. bireylerinin gerçek konakçı hassasiyeti, parazit incelemeleri için en sağlıklı örnekleme metodunun hangisi olduğu, parazitlerin mevsimsel dağılımı ve derinlik aralıkları belirlenmiş, tür teşhisi açısından destekleyici bir metot olan PZR tekniği kullanılmıştır. Bu bağlamda, örneklemeinde öncelikle örnekleme derinliğinin belirleyici olduğu, serbest dalış tekniğinin en sağlıklı, uzatma ağları ile yapılan örneklemeinde ise yanıltıcı olabileceği gerçeği ortaya çıkmıştır.

Örnekleme sonucunda Şubat-Mart ve Temmuz-Ağustos aylarında yumurtalı bireylere rastlanılmış, parazitin yılda iki defa üreyebildiği tespit edilmiştir. Bu bağlamda; üreme dönemlerinde *Nerocila* türleri ilkbahar ve yaz aylarında artış göstermiştir.

Yapılan çalışmada, denizignesi (*Syngnathus* sp.), barbun (*Mullus barbatus*), kalkan (*Psetta maxima*), tiryaki (*Uronoscopus scaber*), zargana (*Belone belone*) ve denizatı (*Hippocampus guttulatus*) gibi balık türlerinden ülkemiz ve dünya sularında *Nerocila* spp. ile ilgili ilk sayılacak identifikasyonlar gerçekleştirilmiştir.

5. ÖNERİLER

Tez çalışmasının sonuçları *Nerocila* cinsine ait örneklemelerde konakçı seçiminin belirlenmesinde su derinliği ve örnekleme metodunun yapılan örneklemeleri etkilediği gerçeğini ortaya çıkarmıştır. Bu nedenle daha sonraki yapılacak çalışmalarda bu konuların dikkate alınmasının uygun olacağı düşünülmektedir.

Bir diğer önerilebilecek husus da, kafes sistemleri için bölgede alternatif tür olarak yetiştiriciliği yapılması düşünülen türlerin (Kalkan, pisi, dil vs.) seçiminde ve kafes sistemlerinin derinlik aralıklarının belirlenmesinde, *Nerocila* spp. enfestasyonlarına maruz kalınmaması için gerekli tedbirlerin alınmasında faydalı bilgi sağlayacağı düşünülmektedir. Bu bağlamda, deniz suyu kullanılan kara işletmelerinde kullanılacak deniz suyunun 30 m den daha derin kısımdan alınması gerekliliği mutlaka bilinmelidir.

Ülkemizde ilk kez *Nerocila* türleri için universal primerler yardımıyla sekans sonuçları elde edilmiş ve genbanktaki sınırlı bilgilerle karşılaştırma imkânı bulunmuştur. Zira gelecekte daha detaylı olarak tür teşhisleri yapılabilmesi için parazitlerin DNA' sından elde edilen baz dizilimlerinin genbank ta yer alması sağlanarak tür teşhisinde kolaylık sağlayacağı düşünülmektedir.

Çeşitli balıklarda gözlenen *Nerocila* cinsine ait parazitlerin mortaliteye neden olup olmayacağı, herhangi bir hastalık etkeniyle (bakteri, virüs) mix enfeksiyona sebebiyet verip vermeyeceği araştırılarak literatüre kazandırılabilir.

6. KAYNAKLAR

- Alas A, Öktener A, Iscimen A and Trilles JP. 2008. New host record, *Parablennius sanguinolentus* (Teleostei, Perciformes, Blenniidae) for *Nerocila bivittata* (Crustacea, Isopoda, Cymothoidae) Parasitol. Res., 102 (2008), pp. 645–646.
- Amar R. 1951. Isopodes marines de Banyuls, Vie Milieu, (4): 529-530.
- Balcells ER. 1953. Sur des Isopodes parasites de poissons, Vie et milieu, 4(3): 548-551.
- Balta F, Kayis S and Altinok İ. 2008. External protozoan parasites in three trout species in the Eastern Black Sea region of the Turkey: intensity, seasonality, and their treatments. Bull. Eur. Ass. Fish Pathol., 28 (4), 157-162.
- Balta F, Kayış Ş ve Balta ZD. 2009. Doğu Karadeniz Bölgesinde Yetiştiriciliği Yapılan Gökkuşuğu alabalıklarında Görülen Costiasis Enfestasyonu ve Tedavisi. Süleyman Demirel Üniversitesi, Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi Dergisi, Cilt:5, Sayı:1-2, Sayfa:11-16.
- Bariche M and Trilles JP. 2005. Preliminary check-list of Cymothoids (Crustacea: Isopoda) parasitic on marine fishes from Lebanon, Zoology in the Middle East, (34): 53-60.
- Bowman TE. and Tareen, IV. 1983. Cymothoidae from fishes of Kuwait (Arabian Gulf) (Crustacea: Isopoda). Smithsonian Contributions to Zoology 382: i-iii, 1-30.
- Briggs PT. 1970. Records of parasitic isopods from Great South Bay, New York. New York Fish and Game Journal, 17: 55-57.
- Bragoni G, Romestand B and Trilles JP. 1983. Parasitoses a Cymothoadien chez le loup (*Dicentrarchus labrax* Linnaeus, 1758) en elevage. I. Ecophysiologie parasitaire dans le cas de l'étang de Diana (Haute-Corse). Ann Para.
- Bragoni G, Romestand B and Trilles JP. 1984. Parasitoses a Cymothoadien chez le loup *Dicentrarchus labrax* (Linnaeus, 1758) en elevage. II. Ecologie parasitaire dans le cas de l'étang de Diana (Haute-Corse) (Isopoda, Cymothoidae). Crustaceana 47(1):44–51.
- Bruce NL. 1986. Revision of the isopod crustacean genus *Mothocya* Costa, in Hope, 1851 (Cymothoidae: Flabellifera). parasitic on marine fishes. Journal of Natural History 20: 1089-1192.
- Bruce NL. 1987a. Australian *Pleopodias* Richardson, 1910 and *Anilocra* Leach, 1818 (Isopoda: Cymothoidae). Crustacean parasites of marine fishes. Records of the Australian Museum 39: 85-130.
- Bruce NL. 1987b. Australian *Renocila* Miers, 1880 (Isopoda. Cymothoidae), crustacean parasites of marine fishes. Records of the Australian Museum 39: 169-182.

- Bruce NL. 1987c. Australian species of *Nerocila* Leach, 1818 and *Creniola* n. gen. (Isopoda: Cymothoidae), crustacean parasites of marine fishes. *Records of Australian Museum*, 39: 355-412.
- Bruce NL and Bowman TE. 1989. Species of the parasitic isopod genera *Ceratothoa* and *Glossohius* (Crustacea: Cymothoidae) from the mouths of flying fishes and halfbeaks (Beloniformes). *Smithsonian Contributions to Zoology* 489: i-iii, 1-28.
- Brusca RC. 1978. Studies on the Cymothoid fish symbionts of the eastern Pacific (Isopoda, Cymothoide). I. Biology of *Nerocila californica*. *Crustaceana*, 34: 141-154.
- Brusca RC. 1981. A monograph on the Isopoda Cymothoidae (Crustacea) of the eastern Pacific), *Zoological journal of the Linnean Society* 73: 117-199.
- Brusca RC and Wehrtmann IS. 2009. Marine Biodiversity of Costa Rica, Central America *Monographiae Biologicae* vol.86: 257-264.
- Bunkley-Williams L and Williams EHJ. 1998. Isopods associated with fishes: a synopsis and corrections. *Journal of Parasitology* 84, 893-896.
- Bunkley-Williams L and Bashirullah AKM. 2006. Isopods (Isopoda: Aegidae, Cymothoidae, Gnathiidae) associated with Venezuelan marine fishes (Elasmobranchii, Actinopterygii), *Rev. Biol. Trop. (Int. J. Trop. Biol.)* Vol. 54 (Suppl. 3): 175-188.
- Charfi-Cheikhrouha F, Zghidi W, Ould Yarba L and Trilles JP. 2000. Les Cymothoidae (Isopodes parasites de poissons) des côtes tunisiennes: écologie et indices parasitologiques. *Systematic Parasitology*, 46: 146-150.
- Comeaux GT. 1942. Parasitic isopods of fishes from the Grand Isle, Louisiana region. *Proceedings of the Louisiana Academy of Science*, 6: 86.
- Demir M. 1952. Boğaz ve adalar sahillerinin omurgasız dip hayvanları, *Hidrobiyol., İstanbul* 2A: 1-654.
- Ferri J, Petrić M, Matic-Skoko S and Dulčić J. 2008. New host record, black scorpionfish *Scorpaena porcus* (Pisces, Scorpaenidae) for *Nerocila orbigny* and *Ceratothoa parallela* (Crustacea, Isopoda, Cymothoidae). *Acta Adriatica*, 49: 255-258.
- Fogelman RM and Grutter AS. 2008. Mancae of the parasitic cymothoid isopod, *Anilocra apogonae*: early life history, host specificity and effect on growth and survival of preferred young cardinal fishes. *Coral Reefs*, 27(3): 685-693.
- Geliday R and Kocatas A. 1972. Isopod collected in İzmir Bay, Aegean Sea, *Crustaceana* supplement 3: 19-30.
- Giordani – Soika A. 1950. Tanadacei egli Isopodi marini della Laguna di Venezia, *Archiv. oceanogr. Limnologia*, 7(2-3):213-238.

- Gosner KL, 1971. Guide to Lhr Identifiation of Marine and Estuarine invertebrates, Cap Hatteras to the Bay o Fundy. New York: Wiley-Interscience.
- Gourret MP. 1981. Les Lemodipodes et les Isopodes du Golfe de Marseille, annales du mus. d'hist. natu. De Marseille, zoologie, tome IV, Travaux scientifiques memuire, 1: 1-44.
- Grutter AS and Hendrikz J. 1999. Diurnal Variation in the Abundance of juvenile Parasitic Gnathiid Isopods on Coral Reef Fish: Ipllication for Parasite-Cleaner Fish Interactions. Coral Reefs, 18: 187-191.
- Guerin-Meneville FE. 1832. Crustaces. In 'Expedition scientifique de Moree, section des Sciences physiques.' III. 1 re partie, Zoologie 2e section. Des animaux articules. Crustaces: 30-50.
- Hastings RW. 1972. The barnacle *Conthoderma virgatum* (Spengler), in association with the isopod *Nerocila acuminata* Schioedte and Meinert, and the orange filefish, *Alutrra schacpj* (Walbaum). *Crustaceana*, 22: 274-278.
- Horton T and Okamura B. 2001. Cymothoid isopod parasites in aquaculture: a review and case study of a Turkish sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and sea bream (*Sparus auratus*) farm. Dis Aquat Org, 47, 181-188.
- Hutton RF. 1964. A second list of parasites from Marine and coastal animals of Florida. American Microscopical Society Transaction, 83: 439-447.
- Innal D, Kirkim F. and Erkakan F. 2007. The parasitic isopods, *Anilocra frontalis* and *Anilocra physodes* (Crustacea; Isopoda), on some marine fish in Antalya Gulf, Turkey. Bull. Eur. Assoc.Fish Pathol., 27: 239-241.
- Kayis S, Balta F, Serezli R and Er A. 2013. Parasites on Different Ornamental Fish Species in Turkey, fisheriessciences.com., 8:79-85
- Kayis S and Ceylan Y. 2011. First report of *Nerocila orbigny* (Crustacea, Isopoda, Cymothoidae) on *Solea solea* (Teleostei, Soleidae) from Turkish Sea, Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 11: 169-171.
- Kayis S, Özcelep T, Capkin E and Altinok I. 2009. Protozoan and Metazoan Parasites of Cultured Fish in Turkey and their Applied Treatments. The Israeli Journal of Aquaculture–Bamidgeh, 61: 93-102.
- Kensley B and Schotte M. 1989. Guide to marine isopod crustaceans of the Caribbean. Smithsonian Institution Press. Washington, D.C., and London. 308.
- Kırkım F. 1998. Ege Denizi Isopoda (*Crustacea*) Faunasinin Sistematığı ve Ekolojisi Üzerine Araştırmalar. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Ana Bilim Dali, Doktora Tezi.238 Sayfa. İzmir.

- Kussakin OG. 1979. Marine and brackish-water Isopoda of the cold and temperate waters of the Northern Hemisphere. Suborder Flabellifera. *Opredeliteli po Faune SSSR*, 122: 1470.
- Lasee BA. 1995. *Introduction to Fish Health Management*. 2nd edition, U.S. Fish and Wildlife Service La Crosse Fish Health Center 555, Lester Avenue Onalaska, Wisconsin, 139 pp.
- Leach WE. 1818. *Cymothoides* Dictionnaire des sciences naturelles, 12, 338-354.
- Lester RJG and Hayward CJ. 2006. Phylum Arthropoda. In 'Disease of Fish'. Vol 1. (Ed. PTK Woo.) (CABI Publishing: Wallingford).
- Monod T. 1923. Prodrôme d'une faune des Tanaidacea et des Isopoda des cotes de France, *Bull, Soc, Zool. France*:1-125.
- Monod T. 1931. Crustaces de Syrie, (Les etats de Syrie): 405-409.
- Moreira PS and Sadowsky V. 1978. An annotated bibliography of parasitic isopoda (Crustacea) of Chondrichthyes. *Boletim do Instituto Oceanografico, Sao Paula*, 27: 95-152.
- Naylor E. 1972. British Marine Isopods, A New Series Synopses Of The British Fauna, 3:86.
- Oguz MC and Öktener A. 2007. Four parasitic crustacean species from marine fishes of Turkey. *Turkiye Parazitoloji Dergisi*, 31: 79-83.
- Olmo AP, Raga JA, Kostadinova A and Ferná'ndez M. 2007. Parasite communities in *Boops boops* (L.) (Sparidae) after the Prestige oil-spill: Detectable alterations. *Marine Pollution Bulletin* 54: 266–276.
- Öktener A. 2003. A checklist of metazoan parasites recorded in freshwater fish from Turkey. *Zootaxa*, 394: 1–28.
- Öktener A and Sezgin M. 2000. *Mothocya epimerica* Costa, 1851 (Flabellifera: Cymothoidae), an isopod parasite in the branchial cavities of the Black Sea Silverfish *Atherina boyeri* Risso, 1810 (Perciformes, Atherinidae). *Turk Journal of Marine Sciences*, 6 (1): 23-29.
- Öktener A and Trilles JP. 2004. Report on the Cymothoids (Crustacea, Isopoda) collected from marine fishes in Turkey. *Acta Adriat* 45 (2):15–23.
- Öktener A, Trilles JP, Alas A and Solak K. 2009. New hosts for species belonging to the genera *Nerocila*, *Anilocra*, *Ceratothoa*, *Mothocya* and *Livoneca* (Crustacea, Isopoda, Cymothoidae). *Bulletin of the European Association Fish Pathologists* 29: 49 -54.

- Öztürk T ve Özer A. 2008. Sarıkum Lagününden Yakalanan Pisi Balığının, *Platichthyes flesus* L., 1758, Parazit Faunası ve Konak Faktörlerine Göre Bulunuşu. *Journal of FisheriesSciences.com*, 2: 403-418.
- Papoutsoglou SE. 1976. Metazoan parasites of fishes from Saronicos Gulf, Athens-Greece, *Thalassographica*, 1(1): 69-102.
- Pearse AS. 1947. Observations on the occurrence of certain barnacles and isopods at Beaufort, North Carolina. *Journal of the Washington, Academl of Science*, 37: 325-328.
- Pearse AS. 1952. Parasitic Cnucacea from the Texas coast. *Publication of the Institute of Marine Science, University of Texas*, 2 (2): 5-42.
- Perrier R. 1930. Faune de la France (Arthropoda, ordre 7 Isopodes): 153-167.
- Ramdane Z and Trilles JP. 2008. Cymothoide and Aegidae (Crustacea, Isopoda) from Algeria. *Acta Parasitologica*, 53: 173-178.
- Ramdane Z, Bensouilah MA and Trilles JP. 2007. The Cymothoidae (Crustacea, Isopoda), parasites on marine fishes, from Algerian fauna. *Belgian Journal of Zoology*, 137: 67-74. *Handbook of trout and salmon disease*, third edition. p 179. Fishing News Books, Oxford.
- Richardson HR. 1900. Synopsis of North American invertebrates. VIII. Isopoda, Pt 1. *American Naturalist*, 34: 207-230; 295-309.
- Richardson HR. 1901. Key to the isopods of the Atlantic coast of North America, with descriptions of new and little known species. *Roceedings of the United States National Mum, W*: 495-579.
- Richardson HR. 1902. The marine and terrestrial isopods of the Bermudas, with descriptions of new genera and species. *Tre of the Connecticut Academy of Science*, 11: 2 7 7-3 10.
- Richardson HR. 1905. A monograph on the isopods of North America. *Bulletin of the United States, Nationital Museum*. 5 4: 1-727.
- Rohde K. 2005. *Marine parasitology*. CSIRO Publishing. Collingwood, Australia. Xxii - 565 pp.
- Roman ML. 1970. Contribution a L'étude de la biologie des Cymothoidae (Crustaces, Isopodes) de la Baie de la Ciotat, *Tethys* 2(2): 501- 514.
- Schaperclaus W. 1992. *Fish diseases*. Vol.1. Ed. Balkema, Rotterdam, p. 594.
- Schioedte JC and Meinert FW. 1881. *Symbolae ad Monographiam Cymothoarum Crustaceorum Isopodum Familiae 2. Anilocridae*. *Naturhistorisk Tidsskrift*, (3), 13, 1-166.

- Schultz GA. 1969. How to Know the Marine Isopod Crustacea. Dubuque, Iowa: Wm C. Brown.
- Shakman E, Kinzelbach R, Trilles JP and Bariche M. 2009. First occurrence of native cymothoids parasites on introduced rabbitfishes in the Mediterranean Sea, *Acta Parasitologica*, 54, 380-384.
- Tanrıkul T, Çağırğan H and Tokşen E. 1996. Bakteriyel Balık Hastalıkları. Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü Dergisi. 20, Bornova, 105-27.
- Timur G and Timur M. 2003. Balık Hastalıkları. İÜ Su Ürünleri Yayın no. 5, İstanbul. pp.538
- Trilles JP. 1961. Sur *Nerocila D'orbignyi* Schioedte et Meinert 1881 (Isopoda, Cymothoidae) du bassin occidental de la Méditerranée: 689-696.
- Trilles JP. 1968. Recherches sur les Isopodes Cymothoidae des côtes Françaises, Systematique et eanistique, Université de Montpellier Faculté des sciences These le Doktorat: 1-181.
- Trilles JP. 1969. Recherches sur les isopodes Cymothoidae des côtes françaises. Aperçu général et comparatif sur la bionomie et la sexualité de ces Crustacés. *Bull Soc Zool Fr* 94(3):433-445.
- Trilles JP. 1975. Les Cymothoidae (Isopoda, Flabellifera) des collections du Museum national d'Histoire naturelle de Paris. II. Les Anilocridae Schioedte et Meinert, 1881. Genres *Anilocra* Leach, 1818 et *Nerocila* Leach, 1818 *Bull. Mus. Natl 'Histoire Naturelle*, 290 (1975), pp. 303-346.
- Trilles JP. 1986. Les Cymothoidae (Crustacea, Isopoda, Flabellifera) D'Afrique, *Bull. mus natn. Hist.nat.*, 8(3): 617-636.
- Trilles JP, Radujkovic BM and Romestand B. 1989. Parasites des poissons marins du Monténégro: Isopodes (Fish parasites from Montenegro: Isopods). *Acta Adriatica*, 30: 279-306.
- Trilles JP. 1994. Les Cymothoidae (Crustacea, Isopoda) du Monde (Prodrome pour une Faune). *Stud Mar* 21/22(1-2):1-288.
- Turan C. 2007. Türkiye Kemikli Deniz Balıkları Atlası ve Sistematığı, Nobel kitabevi, ISBN: 9944730181, Adana, s557.
- Williams EHJ and Williams LB. 1978. Cymothoid isopods of some marine fishes from the northern Gulf of Mexico. *Northeastern Gulf / Science*, 2: 122-124.
- Williams EHJ and Williams LB. 1980. Four new species of *Renorila* (Isopoda: Cymothoidae), the first reported from the New World. *Proceedings of the Biological Society of Washington* 93: 573-592.

- Williams EHJ and Williams LB. 1981. Nine new species of *Anilocra* (Crustacea: Isopoda: Cymothoidae) external parasites of West Indian coral reef fishes. Proceedings of the Biological Society of Washington 94: 1005-1047.
- Williams EHJ and Williams LB. 1986. The first *Anilocra* and *Pleopodias* isopods (Crustacea: Cymothoidae) parasitic on Japanese fishes, with three new species. Proceedings of the Biological Society of Washington 99: 647-657.
- Williams EHJ. and Williams LB. 1987. Three new species of *Renocila* (Crustacea: Isopoda: Cymothoidae), external parasites of coral reef fishes from the Ryukyu Islands of Japan. Proceedings of the Biological Society of Washington 100: 417-432.
- Yuniar AT, Palm HW and Walter T. 2007. Crustacean fish parasites from Segara Anakan Lagoon, Java, Indonesia. Parasitol Res 100:1193–1204.

ÖZGEÇMİŞ

Akif ER 1987 yılında Zonguldak'ta doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Zonguldak'ta tamamladı. 2005 yılında girdiği Karadeniz Teknik Üniversitesi Rize Su Ürünleri Fakültesi'nden 2009 yılında mezun oldu. 2009 yılında, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Su Ürünleri Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans öğrenimine başladı. 2011 yılında Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi'nde Araştırma görevlisi olarak göreve başladı. Halen bu görevine devam etmektedir.

