

T.C.

AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KUZEY MARMARA DENİZİ'NDE DOĞADAN AVCILIK YOLU İLE ELDE
EDİLEN AVRUPA İSTİRİDYESİNİN (*Ostrea edulis*, L. 1758) HASTALIK
ETKENİ BAZI BAKTERİLERİN İNCELENMESİ ÜZERİNE BİR ÇALIŞMA

Nilay SÜTÇÜOĞLU

YÜKSEK LİSANS TEZİ

SU ÜRÜNLERİ MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

2010

T.C.

AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KUZEY MARMARA DENİZİ'NDE DOĞADAN AVCILIK YOLU İLE ELDE
EDİLEN AVRUPA İSTİRİDYESİNİN (*Ostrea edulis*, L. 1758) HASTALIK
ETKENİ BAZI BAKTERİLERİN İNCELENMESİ ÜZERİNE BİR ÇALIŞMA

Nilay SÜTÇÜOĞLU

YÜKSEK LİSANS TEZİ

SU ÜRÜNLERİ MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

2010

**KUZEY MARMARA DENİZİ'NDE DOĞADAN AVCILIK YOLU İLE ELDE
EDİLEN AVRUPA İSTİRİDYESİNİN (*Ostrea edulis*, L. 1758) HASTALIK
ETKENİ BAZI BAKTERİLERİN İNCELENMESİ ÜZERİNE BİR ÇALIŞMA**

Nilay SÜTÇÜOĞLU

YÜKSEK LİSANS TEZİ

SU ÜRÜNLERİ MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

Bu tez 2009.02.0121.023 proje numarası ile Akdeniz Üniversitesi Bilimsel
Araştırma Projeleri Yönetim Birimi tarafından desteklenmiştir.

2010

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KUZEY MARMARA DENİZİ'NDE DOĞADAN AVCILIK YOLU İLE ELDE
EDİLEN AVRUPA İSTİRİDYESİNİN (*Ostrea edulis*, L. 1758) HASTALIK
ETKENİ BAZI BAKTERİLERİN İNCELENMESİ ÜZERİNE BİR ÇALIŞMA

Nilay SÜTÇÜOĞLU

YÜKSEK LİSANS TEZİ
SU ÜRÜNLERİ MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

Bu tez 10.6/2010 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından (95) not takdir edilerek
Oybirliği/Oyçokluğu ile kabul edilmiştir.

JÜRİ: Yard. Doç. Dr. Jale KORUN (Danışman)
Yard. Doç. Dr. Mehmet GÖKOĞLU
Yard. Doç. Dr. İbrahim YILDIRIM

ÖZET

KUZEY MARMARA DENİZİ'NDE DOĞADAN AVCILIK YOLU İLE ELDE EDİLEN AVRUPA İSTİRİDYESİNİN (*Ostrea edulis*, L. 1758) HASTALIK ETKENİ BAZI BAKTERİLERİN İNCELENMESİ ÜZERİNE BİR ÇALIŞMA

Nilay SÜTÇÜOĞLU

Yüksek Lisans Tezi, Su Ürünleri Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Yard. Doç. Dr. Jale KORUN

Mayıs 2010, 52 sayfa

Bu çalışmada, Kuzey Marmara Denizi'nde avcılık yolu ile avlanan istiridye (*Ostrea edulis*) örneklerinin hastalık etkeni bazı bakterilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Kasım 2009-Nisan 2010 tarihleri arasında Kumbağ-Yeniçiftlik (Tekirdağ) bölgesinden avcılık yolu ile istiridye örnekleri temin edilmiştir. Bakteriyolojik çalışma için, istiriye örneklerinin iç organlarından Deniz Suyu Agar (DSA) ve TTCBS Agara (%1.5 NaCl ilaveli) ekimler yapılmıştır. Araştırmada toplam 60 istiridye ile çalışılmış ve 44 bakteri suşu izole edilmiştir. İzole edilen bakterilerin standart biyokimyasal yöntemler ve API 20E ticari hızlı tanı kitleri ile tanısı gerçekleştirilmiştir. Çalışılan istiridyelerden hastalık etkeni olarak yalnızca *Vibrio alginolyticus* izole edilmiştir. Bununla birlikte çalışma boyunca 12 *Vibrio*, 31 *Shewanella* ve 1 *Citrobacter* türü olmak üzere 44 bakteri suşu izole ve tanımlanmıştır.

ANAHTAR KELİMELEER: Avrupa istiridyesi, *Ostrea edulis*, *Vibrio*, *Shewanella*, *Citrobacter*

JÜRİ: Yard. Doç. Dr. Jale KORUN (Danışman)

Yard. Doç. Dr. Mehmet GÖKOĞLU

Yard. Doç. Dr. İbrahim YILDIRIM

ABSTRACT

A STUDY ABOUT SOME BACTERIAL DISEASE AGENTS EXAMINATION OF EUROPEAN FLAT OYSTER (*Ostrea edulis*, L. 1758) CAUGHT FROM NATURE BY HUNTING IN NORTHERN SEA OF MARMARA

Nilay SÜTÇÜOĞLU

M. Sc. Thesis in Aquatic Engineering

Adviser: Assist. Prof. Dr. Jale KORUN

May, 2010, 52 pages

The purpose of this study is to identify some disease agents of oyster (*Ostrea edulis*) samples that were obtained through fishing in Northern Sea of Marmara.

Oyster samples obtained from Kumbağ-Yeniçiftlik (Tekirdağ) from November 2009 to April 2010. For bacteriological study, samples taken from oysters internal organs inoculated on Sea Water Agar (SWA) and TCBS Agar (supplemented with 1.5% NaCl). In this study, totally 60 oysters were examined and 44 bacterial strains were isolated. The isolated bacteria were identified by using standard biochemical methods and API 20E commercial rapid identification kit. In studied oysters, *Vibrio alginolyticus* isolated only as disease agent. However, in all study totally 44 bacterias, which 12 *Vibrio*, 31 *Shewanella* and 1 *Citrobacter* species, were isolated and identified.

KEY WORDS: European flat oyster, *Ostrea edulis*, *Vibrio*, *Shewanella*, *Citrobacter*

COMMITTEE: Assist. Prof. Dr. Jale KORUN (Adviser)

Assist. Prof. Dr. Mehmet GÖKOĞLU

Assist. Prof. Dr. İbrahim YILDIRIM

ÖNSÖZ

Son yıllarda tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de su ürünleri üretim sektöründe ciddi gelişmeler yaşanmaktadır. Tatlı sularda alabalık ve sazan, deniz ortamında ise çipura ve levrek üretimine dayalı işletmelerin sayısı hızla artmıştır. Bu türlerin yanında yetiştiriciliğe alternatif yeni türlerin arayışlarına da başlanmıştır. Avrupa istiridyesi, *Ostrea edulis*, ülkemizde pek tüketilmemesine rağmen, yurtdışında büyük bir pazar payına sahiptir. Ülkemiz sularında doğal olarak bulunan bu tür avcılık yolu ile elde edilmektedir. Yetiştiriciliği açısından ülkemizde uygun bölgeler bulunmasına rağmen kültür çalışmaları sadece bilimsel çalışmalar düzeyinde kalmıştır. Ülkemizde *O. edulis*'in bakteri florası ve enfeksiyonları üzerine bir çalışma bulunmamaktadır. Bu açıdan söz konusu tez çalışması ilki oluşturacaktır. İleride yapılabilecek yetiştiricilik faaliyetlerinde, ülkemizde bulunan istiridyelerin hangi bakterileri taşıdığına tespiti açısından çalışmanın özgün bir değeri bulunmaktadır.

Bu tez çalışmasının laboratuvar kısmının tümü Akdeniz Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi'nde gerçekleştirilmiştir. Çalışmanın tüm aşamalarında her türlü desteğini esirgemeyen değerli danışman hocam Sayın Yard. Doç. Dr. Jale KORUN'a göstermiş olduğu özenden dolayı teşekkür ederim.

Bu çalışmada projeyi destekleyen Akdeniz Üniversitesi Araştırma Fonuna, çalışmalarım süresince imkanlarından yararlandığım Su Ürünleri Fakültesi Anabilim Dalı Başkanlığına, değerli yardımlarından dolayı Avcılık Bölüm Başkanı hocam Sayın Doç. Dr. Cengiz DEVAL'e, hocam Sayın Yard. Doç. Dr. Mehmet GÖKOĞLU'na, laboratuvar çalışmalarım esnasında yardımlarını gördüğüm fakültemiz lisans öğrencilerinden Mehmet Ali Keçel SÖNMEZ'e, çalışmalarım süresince bana destek olan tüm arkadaşlarıma ve yaşamımda maddi, manevi desteklerini esirgemeyen aileme teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
ÖNSÖZ.....	iii
İÇİNDEKİLER.....	iv
SİMGELER DİZİNİ.....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	viii
1. GİRİŞ.....	1
2. KURAMSAL BİLGİLER VE KAYNAK TARAMALARI	4
2.1. <i>Ostrea edulis</i> 'in Biyolojisi.....	4
2.1.1. <i>Ostrea edulis</i> 'in sistematığı.....	4
2.1.2. <i>Ostrea edulis</i> 'in morfolojisi.....	4
2.1.3. <i>Ostrea edulis</i> 'in beslenmesi.....	6
2.1.4. <i>Ostrea edulis</i> 'in üremesi ve larval gelişimi.....	7
2.1.5. <i>Ostrea edulis</i> 'in ekolojisi ve coğrafik dağılımı.....	8
2.2. <i>Ostrea edulis</i> 'in Avcılığı.....	9
2.3. <i>Ostrea edulis</i> 'in Kültürü.....	9
2.3. <i>Ostrea edulis</i> 'in Hastalıkları.....	10
2.3.1. Vibriozis.....	10
2.3.1. <i>Cytophage</i> benzeri bakterilerden kaynaklanan enfeksiyon.....	11
2.3.3. Nokardiyozis.....	12
2.4. <i>Ostrea edulis</i> ile İlgili Daha Önce Yapılan Çalışmalar.....	13
3. MATERYAL VE METOT.....	15
3.1. Materyal.....	15
3.1.1. Araştırmanın yapıldığı yer.....	15
3.1.2. İstiridye materyali.....	16
3.1.3. Çalışmada kullanılan besiyerleri ve kimyasal maddeler.....	17
3.1.4. Çalışmada kullanılan API 20E ticari hızlı tanı kiti.....	17

3.2. Metot.....	18
3.2.1. İstiridyelerin makroskopik ve mikroskopik incelenmesi.....	18
3.2.2. İstiridyelerden bakteri izolasyonu.....	19
3.2.3. İzole edilen bakterilerin morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal özelliklerinin tespiti.....	19
3.2.3.1. Morfolojik özelliklerinin tespiti.....	19
3.2.3.2. Fizyolojik özelliklerinin tespiti.....	20
3.2.3.3. Biyokimyasal özelliklerinin tespiti.....	20
3.2.4. API 20E kitinin kullanılması.....	21
4. BULGULAR.....	23
4.1. İstiridyelerin Klinik Bulguları.....	23
4.2. Bakteriyojik Çalışma Sonucu Elde Edilen Bulgular.....	25
4.2.1. Hareket özelliğine ait bulgular.....	25
4.2.2. Morfolojik özelliklerine ait bulgular.....	25
4.2.3. Fizyolojik özelliklerine ait bulgular.....	25
4.2.4. Biyokimyasal özelliklerine ait bulgular.....	26
4.2.5. API 20E hızlı tanı kiti ile yapılan tanımlama.....	34
5. TARTIŞMA.....	41
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	46
7. KAYNAKLAR.....	47
ÖZGEÇMİŞ	

SİMGELER DİZİNİ

Simgeler

μg	Mikrogram
ml	Mililitre
pH	Hidrojen potansiyeli
gr	Gram
cm	Santimetre
$^{\circ}\text{C}$	Santigrad derece
NO_2	Nitrit
N_2	Nitrat

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Avrupa istiridyesi, <i>Ostrea edulis</i>	5
Şekil 2.2. <i>O. edulis</i> 'in iç organları.....	5
Şekil 2.3. İstiridyelerin beslenmesi.....	6
Şekil 2.4. Avrupa istiridyesi, <i>O. edulis</i> 'in yayılım gösterdiği bölgeler.....	8
Şekil 3.1. İstiridye örneklerinin elde edildiği Yeniçiftlik (Tekirdağ) bölgesi	15
Şekil 3.2. İstiridye örneklerinin avlandığı ticari balıkçı teknesi.....	16
Şekil 3.3. API 20E kitinin uygulamasının şematik açıklaması.....	22
Şekil 4.1. Çalışmada kullanılan <i>O. edulis</i> 'de düzensiz kabuk yapısı.....	23
Şekil 4.2. Küçük iç organlar, kabuk içinde kalkerleşmiş yapılar.....	24
Şekil 4.3. Kabuk içinde debris birikimi.....	24
Şekil 4.4. Kabuğun iç kısmında gözlenen kırmızı noktalar.....	25
Şekil 4.5 Sitokrom oksidaz testi.....	26
Şekil 4.6 Katalaz testi.....	26
Şekil 4.7. Oksidasyon-fermantasyon testi (O/F).....	32
Şekil 4.8. Metil-kırmızısı testi (MR)	33
Şekil 4.9. O/ 129 Vibriostatik ajana karşı hassasiyet (10 ve 150 µg disk ⁻¹)	33
Şekil 4.10. API 20E ticari hızlı tanı kitleri.....	34

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Avrupa istiridyesi, <i>O. edulis</i> 'in sistematığı.....	4
Çizelge 4.1. Bakterilerin morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal özellikleri ile ilgili bulguları.....	27
Çizelge 4.2. Bakterilerin API 20E ticari hızlı tanı kiti ile ilgili bulguları.....	35

1. GİRİŞ

İstiridye türleri Kutup ve Antartik bölgeler hariç hemen hemen dünyanın tüm denizlerinde bulunurlar. Gerek avcılık gerekse kültür yolu ile dünyada en çok üretimi yapılan bivalvia türleridir. İstiridyeler, protein ve mineral açısından zengin su ürünleridir. Bu besleyici özelliklerinden dolayı dünyada en çok tüketilen su ürünleri arasında yer almaktadır. Artan talebi nedeniyle çeşitli ülkelerde yetiştiriciliği yapılarak başka ülkelere ihraç edilmekte ve ülkeye döviz girdisi sağlanmaktadır. 1990'lı yıllarda Marmara, Karadeniz ve Ege'den avlanan istiridyeler ihraç edilerek ülkemize iyi bir döviz kaynağı olmuştur (Garido- Handog 1990, Ateş 1998, Uyan ve Aral 2000).

Dünyada 100'den fazla istiridye türünün bilinmesine karşın bunlardan sadece birkaçının yaygın olarak kültürü yapılmaktadır. Kültürü yapılan bu türler, *Crassostrea*, *Ostrea* ve *Saccostrea* cinslerine ait türlerdir (FAO 2005). Bu türler arasında *O. edulis*, Avrupa'nın yerli bir türüdür. Atlantik Okyanusu'nun Kuzeydoğu kesiminde Norveç'ten Fas'a kadar ve tüm Akdeniz havzası boyunca dağılım gösterir. Ülkemiz kıyılarında da bulunan bu tür tüm denizlerimizde dağılım göstermekte, Marmara ve Ege denizinden avcılığı yapılmaktadır (Fischer vd 1987, Kumlu 2001). Bununla birlikte, ülkemiz sularında ticari olarak yetiştiriciliğinin yapılmamasına karşın, denizlerimizde türün kültürü için uygun bölgeler bulunduğu bildirilmiştir (Ateş 1998).

Ticari öneme sahip istiridye yatakları çeşitli nedenlerle tüm dünyada gittikçe azalmaktadır. Örneğin, 1985 ile 1990'lı yıllar arasında Amerika Birleşik Devletleri'ndeki istiridye üretimi 700-800 ton iken bu üretimde keskin bir düşüş yaşanmış ve üretim miktarı 4-5 ton'a kadar düşmüştür. Benzer bir düşüş de Avustralya'da yaşanmış ve 2. Dünya savaşından günümüze kadar bu ülkedeki istiridye üretiminde %45 oranında azalma olmuştur. Aynı durum Akdeniz'de de görülmüştür (FIGIS 2006). FAO (2005) verilerine göre Avrupa istiridye stokları 1950'den 1990'a kadar artarken, 1995-2000 yılları arasında ise azalmıştır. Doğu Akdeniz'de istiridye avcılığı yapan ülkeler; İtalya (%46.1), Yunanistan (%4.4), Türkiye (%2.2) ve Hırvatistandır (%1.5) (Zrnčić vd 2007). Avrupa istiridyesi, *O. edulis* 'in kültür yoluyla üretiminde de 1970'li yıllardan bu yana düşüşler yaşanmıştır. İstiridye üretimindeki bu düşüşlerin hastalık epidemiklerinden kaynaklandığı bildirilmektedir (FIGIS 2006).

Hastalıklar, istiridye yetiştiriciliğinde ciddi sorunlara yol açmakta, larva, juvenil ya da ergin bireyler dahil üretimin herhangi bir evresini etkileyebilmektedir. Ayrıca hastalığın ortaya çıkışı enfekte istiridye stoklarının yer değiştirmesinden de kaynaklanabilmektedir (Paillard vd 2004). Bugüne kadar *O. edulis*'in bireylerini etkileyen üç bakteriyel enfeksiyon bildirilmiştir. Bunlar *Vibrio tubiashii*, *V. alginolyticus* gibi farklı *Vibrio* türlerinin neden olduğu vibriozis, *Cytophage* spp. türlerinin neden olduğu enfeksiyon ile etiyolojik etkeni *Nocardia crassostreae* olan nokardiyozistir (Hada vd 1984, Bower 2006).

Vibriozis; larval ve juvenil bivalviada basilli nekroza neden olan bir hastalıktır. Etkilenen bireylerde yumuşak dokuda yoğun bir nekroz ve larvaların hareketlerinde de azalma görülmektedir. Hastalık etkeni olan *Vibrio* türleri, juvenil ve larval *Pecten jacobaeus*, *Crassostrea virginica*'nın spat ve larvalarından izole edilmiştir (Kothary vd 2001, Austin 2005).

Cytophage-benzeri bakteriler *O. edulis*, *C. gigas*, *Mercenaria mercenaria*, *Tapes philippinarum*, *Siliqua patula*, ve *Argopecten irradians*'ın dahil olduğu juvenil bivalvialarda yüksek mortalitelere neden olmaktadır (Dungan vd 1989). Bakterinin bivalvia ligamentini tahrip etmesi sonucunda, valflerin kapanması olanaksız hale gelmekte, böylece beslenme ve solunum engellenmekte, fırsatçı bakterilerde dokuları enfekte ederek sekonder olarak enfeksiyonlara neden olabilmektedir (Perkins 1993).

Nokardiyozis *C. gigas*'da görülmesine rağmen yetiştiricilik sisteminin yakınında kültürü yapılan diğer tür olan *O. edulis*'lerde de enfeksiyona rastlanıldığı bildirilmiştir. Hasta juvenil ve ergin istiridyelerin manto, solungaç, addüktör kası ve kalp yüzeyleri üzerinde 1cm büyüklüğe ulaşan yuvarlak, sarıdan yeşile doğru değişen renkte kabarcıkların görüldüğü bildirilmektedir (Bower 2006).

Ülkemiz denizlerinde *O. edulis*'in bulunmasına rağmen ticari boyutta henüz yetiştiriciliği yapılmamaktadır. Bu konudaki çalışmalar temel yetiştiricilik çalışmaları olup deneysel boyutlarda kalmıştır. Yaptığımız literatür taramalarında istiridye hastalıklarıyla ilgili ülkemizde hiçbir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu çalışma ile, doğadan avcılık yolu ile elde edilen istiridyelerin bakteriyel enfeksiyonları ilk kez

alışılarak elde edilen veriler gelecekte ülkemizde ticari amaçlı yapılacak istiridye yetiştiriciliğinde yaşanabilecek hastalıklarda ilk verileri oluşturacaktır.

2. KURAMSAL BİLGİLER VE KAYNAK TARAMALARI

2.1. *Ostrea edulis*'in Biyolojisi

2.1.1. *Ostrea edulis*'in sistematığı

Çalışmada materyal olarak kullanılan *O. edulis*'in sistematığı Çizelge 2.1'de verilmiştir.

Çizelge 2.1. Avrupa istiridyesi, *O. edulis*'in sistematığı (Torigoe 1981)

Filum:	Mollusca
Class:	Bivalvia
Ordo:	Filibranchiata (Pteroida)
Familya:	Ostreidae
Genus:	<i>Ostrea</i>
Tür:	<i>Ostrea edulis</i> (Linnaeus, 1758)

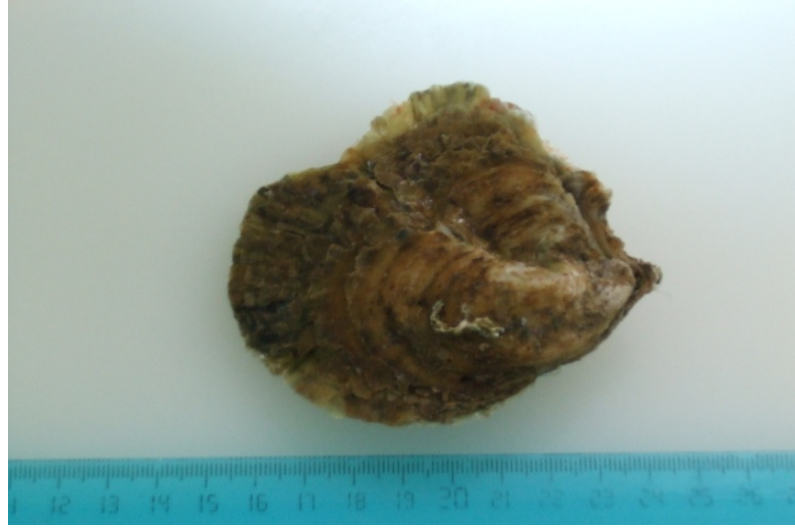
2.1.2. *Ostrea edulis*'in morfolojisi

Bivalvia grubunda yer alan istiridyelerde iki parçalı kabuk vücudu tamamen örter. Kabuk üzerinde katmerli bir tabakalaşma görülmekle birlikte, kabuk parçaları eşit değildir. Kabuk, sırt tarafında birbirine ligamentlerle bağlı olup, karın tarafından açılır. Sağ (üst) kabuk yassı ve sol (alt) kabuk konkav şeklindedir. Sol kabuk parçası bir cisme bağlanırken, sağ kabuk da bir kapak gibi üst tarafı örter (Şekil 2.1) (Alpbaz vd 1990, Demirsoy 2001).

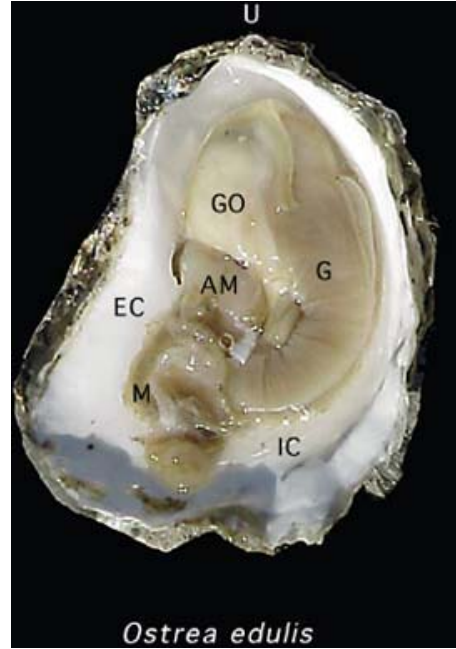
Kabuklar, ligamentlerin gerilme ve genişleme eğilimlerinden dolayı kendiliğinden açılır. Bununla birlikte, kabuğu kapatan kuvvet, iki kabuk arasında gerili bulunan adduktor kası aracılığıyla olur (Garido-Handog 1990, Demirsoy 2001).

İstiridyelerde tüm vücut, ventralde ve dorsalde manto ile çevrilmiştir. İstiridyelerin beslenme ve solunumları, manto ve solungaçlar vasıtası ile olur.

Solungaçlar vücudun 2/3'ünü sarıp dört adet yarı ay şeklinde tabakadan oluşur ve belli aralıklarda birbirine bağlanmış küçük filamentlerden meydana gelir (Şekil 2.2) (Walne 1974).



Şekil 2.1. Avrupa istiridyesi, *Ostrea edulis* (orijinal)

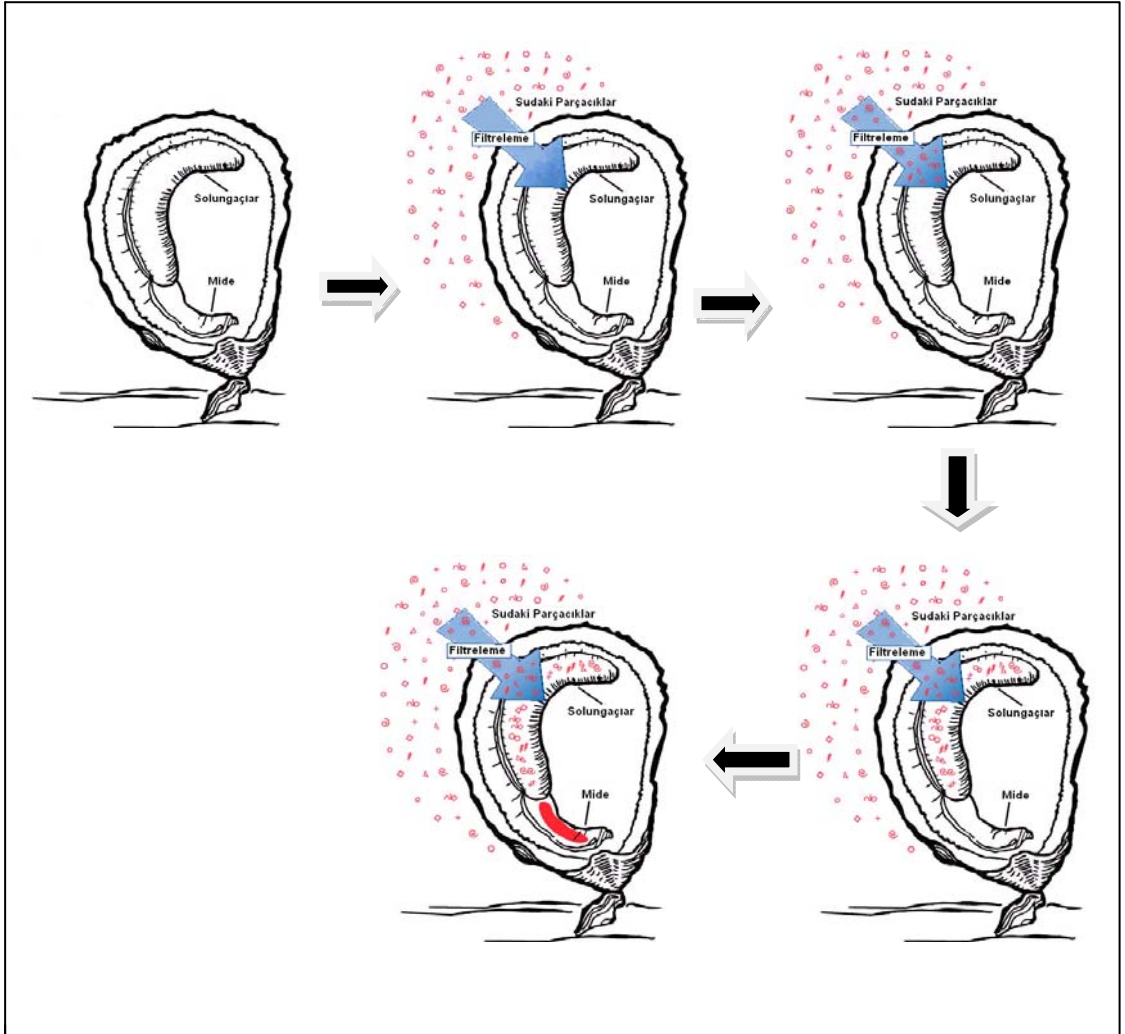


Şekil 2.2. *O. edulis*'in iç organları. Burada; S: Solungaçlar, M: Manto, IC: Suyu içine alma kısmı, EC: Suyu dışarıya bırakma kısmı (FAO 2004)

2.1.3. *Ostrea edulis*'in beslenmesi

İstiridyeler suyu filtre ederek beslenirler. Kabuklarını açarak suyu, manto boşluğundaki su alma bölümünden vücut içerisine alırlar. Fito ve zooplankton ile organik materyalden uygun büyüklükte olanlar, labial pulplar ve solungaçlardaki siller aracılığı ile seçilerek ağız aracılığı ile sindirim sistemine girerler. İstenmeyen materyal mantodaki dışarı bırakma bölümünden su ile birlikte dışarıya atılır (Şekil 2.3) (Kumlu 2001, McNevin 2007).

İstiridyeler suyu filtre ederek beslenen canlılar oldukları için suda bulunan ağır metalleri, kimyasalları, bakterileri ve biyolojik toksinleri vücutlarına kolaylıkla alabilir ve biriktirebilirler (Elston 1993).



Şekil 2.3. İstiridyelerin beslenmesi

2.1.4. *Ostrea edulis*'in üremesi ve larval gelişimi

O. edulis protandrik hermafrodit olup önce erkek olarak gelişir. Sonra dişileşir ve bir sonraki üreme döneminde yine erkekleşebilir. *O. edulis* aynı mevsimde cinsiyet değiştirebilme özelliğine sahiptir (Pillay 1995).

İstiridyeler olgun durumda iken gonadlar 2 veya 3 mm kalınlığında bir tabaka biçiminde olup, cinsiyetler arasındaki farklılık; yumurta ve sperm varlığı haricinde dış inceleme ile anlaşılabilir (Bardach vd 1972).

O. edulis yumurta çapı 50 µm civarında olup, yumurta verimliliği 500 bin ile 1 milyon arasındadır. Tür, larvipor bir türdür. Dişi birey, erkek bireylerin su içine saldıkları spermleri vücut içine alır ve döllenmeyi pallial boşluğunda (manto boşluğundaki suyu vücut içine alma bölümünde) gerçekleştirir. Larval gelişimin ilk safhaları da yine bu bölgede gerçekleşir. Solungaçların yanında yer alan pallial boşlukta açılan larvalar, ancak serbestçe yüzebilen veliger aşamasına ulaştıklarında (8-10 gün sonra) su içine salınırlar. (Heral 1990, FAO 2004).

Larval gelişim genellikle üç haftada tamamlanır. İlk larval dönem hareketli trokofor dönemidir. Trokofor larvası beslenmez ve bu safhayı veliger larva izler. Veliger larva velumları aracılığıyla serbestçe yüzebilir. Velum hem yüzme hem de beslenme organıdır. Veliger larvası, 3 veya 4 haftaya kadar planktonik kalır. Bu safhanın sonlarına doğru, ayakları gelişir ve sert bir yüzey aramak için dibe yerleşir (pediveliger dönem). Uygun bir substrata yerleştiğinde, ayaklarındaki bisusları aracılığıyla tutunur ve metamorfoz geçirerek spat haline döner. Ayaktaki bisojenik bez aracılığı ile spatlar yapışkan bir salgı salgılayarak kendilerini sert zeminlere kolayca yapıştırabilmektedirler (Kumlu 2001, Wallace vd 2008).

O. edulis larvalarının gelişimi için su sıcaklığının 15-16°C'nin üstünde olmaması, tuzluluğun ise %25 civarında olması gerekmektedir (Kumlu 2001).

2.1.5 . *Ostrea edulis*'in ekolojisi ve coğrafik dağılımı

O. edulis tuzluluğu ‰20-28 olan, yüksek verimlilikte, sığ, kıyasal sularda bulunur. Katı zeminli herhangi bir nesne üzerinde gelişebilir. En iyi büyüme gösterdiği tuzluluk ise ‰25'tir. Bulanıklığa karşı istiridyenin toleransı yoktur. *O. edulis* daha düşük sıcaklıklarda, özellikle 10 ile 24°C arasında daha iyi gelişir. 26°C'nin üstündeki sıcaklıklarda yüksek mortaliteler görülebilmektedir. İstiridyenin yumurtlama ve larval gelişimi için optimum sıcaklık 13 ile 18°C arasında olmalıdır (Bardach vd 1972, Garido-Handog 1990, Kumlu 2001, McNevin 2007).

O. edulis Atlantikte; Norveç, Fransa, Danimarka, Almanya, Hollanda, Belçika, Britanya ve İrlanda sularında bulunur. Güneyde ise; Akdeniz'e kıyası bulunan ülkelerin hemen hepsinde yayılım gösterir. Ülkemizde denizlerinde de bulunduğu bildirilmiştir (Şekil 2.4) (Fischer vd 1987, Uyan ve Aral 2000, Kumlu 2001).



Şekil 2.4. Avrupa istiridyesi, *O. edulis*'in yayılım gösterdiği bölgeler (Jaziri 1990)

2.2. *Ostrea edulis*'in Avcılığı

İstiridyeler buldukları derinliklere göre 3 yöntemle avlanırlar. Bu yöntemler;

- 1) Elle toplama
- 2) Maşa ile toplama
- 3) Derin sulardaki yataklardan motor gücü ile çalışan dreçlerle toplanmadır.

Bu yöntemlerden elle toplama yöntemi, düşük gel-git alanlarında çalışmak için uygundur. Maşa ile toplama, gel-git alanlarında avlanmanın mümkün olmadığı veya zor yapıldığı durumlarda kullanılmaktadır. Daha derin ve akıntılı alanlarda ise motor gücüyle kullanılan dreçlerle avcılık yapılmaktadır (Mckee 1963).

Ülkemizde gel-git olayının önemli ölçüde gerçekleşmemesi nedeni ile istiridye (*O. edulis*) avcılığı maşa ile yapılmamaktadır. Uygulanan avlama metodu, motorlu tekne ile kıyı sularında dreçle veya dalma metodu ile yapılmaktadır.

2.3. *Ostrea edulis*'in Kültürü

İstiridyeye olan talebin avcılıkla karşılanamaması ve bazı bölgelerdeki doğal istiridye stoklarının azalmaya başlaması nedeniyle, çeşitli ülkelerde istiridye kültürü yapılmaktadır.

İstiridye yetiştiriciliğinde uygulanan yöntemler; zeminde yetiştiricilik, raf sistemlerinde yetiştiricilik ve su yüzeyinden sarkıtılan iplerde, ağ fileler, kafesler veya tablalar içinde yetiştiriciliktir.

En eski semirtme sistemi zeminde yetiştiriciliktir. Bu sistem günümüzde halen birçok ülkede yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu yetiştiricilik yönteminde, istiridye yavruları, yoğun olarak zemine tutundukları alanlardan toplanırlar. Zararlı predatörler elimine edildikten sonra, istiridye spatlarının tutunmaları için zemine kabuklar, ağaç gövdeleri, taşlar, kayalar veya diğer bazı sert maddeler yerleştirilir. Bu cisimlere tutunan yavrular, semirtme alanlarına stoklanırlar (Kumlu 2001). Zeminde yetiştiricilik en ucuz ve en kolay yetiştirme sistemidir. Çünkü spatlar semirtme alanlarına stoklanır ve

pazarlama boyuna erişinceye kadar burada bırakılırlar. Ancak metot sadece sağlam dibi olan sığ sularda uygulanabilir. Birim alandaki üretim miktarı diğer yöntemlere göre daha düşüktür. Hasat daha zordur ve predatörlerden dolayı yüksek ölümler görülebilmektedir (Quayle 1980, Garido-Handog 1990).

Raf sistemlerinde yetiştiricilikte ise; kolektörlere yapıştırılmış olan istiridyelerin, rafların üzerine yatay olarak yerleştirilmesi şeklinde ya da ağ torba veya çerçevesi tahta olan ve tabanı metal örgülü olan tablalarda yetiştiricilik şeklinde yapılmaktadır (Kumlu 2001). Bu yetiştiricilik sistemi maksimum 2-3 metre derinliklerde uygulandığında ekonomik olmakta, bununla birlikte sistemin maliyeti derinliğe bağlı olarak değişmektedir (Garido-Handog 1990).

Su yüzeyinden sarkıtılan sistemlerde yetiştiricilik genellikle sal veya uzun halatlardan düşey olarak sarkıtılan iplerde, tablalarda, plastik kovalarda veya ağ filelerde yapılmaktadır. Bu yetiştiricilik yöntemleri, diğer yöntemlere göre daha derin sularda yetiştiricilik yapma şansı vermektedir (Kumlu 2001).

2.3. *Ostrea edulis*'in Hastalıkları

Bugüne kadar *O. edulis*'in bireylerini etkileyen önemli bakteriyel enfeksiyonların vibriozis, *Cytophage* benzeri bakterilerden kaynaklanan enfeksiyonlar ile nokardiyozis olduğu bildirilmiştir (Hada vd 1984, Bower 2001).

2.3.1. Vibriozis

Vibriozis ya da basilli nekrozisi, juvenil ve larval *C. virginica*, *C. gigas* ve *O. edulis* gibi istiridye türlerinde görülen bakteriyel bir enfeksiyondur (Bower, 2002). Hastalığa *Vibrio tubiashii*, *V. splendidus* ve *V. alginolyticus* gibi farklı *Vibrio* türleri neden olmaktadır. Vibriozisde, ölüm oranları yüksek olup, hastalıktan etkilenen larval bireylerde beslenme oranının azaldığı ve yüzme davranışlarında da düzensizlikler görüldüğü bildirilmiştir. Bununla birlikte, juvenil ve larvalarda, organ ve dokularında nekrozlara da rastlanılmaktadır. Ayrıca, larvaların enfeksiyonun erken evrelerinde,

manto kısımlarında meydana gelen zararı onaramadıkları da bildirilmiştir. Jüvenil istiridyelerin boyutu arttıkça, manto hasarını onarabilme kabiliyetlerinin de arttığı görülmektedir (Elston 1999, Elston vd 1999).

Vibrio'lar Vibrionaceae familyası üyeleri olup; Gram-negatif, hareketli, düz veya hafif kıvrık çomaklardır. Sıvı besiyerinde polar flagella aracılığı ile hareket ederler. Katı besiyerinde ise çok sayıda lateral flagellum oluşturabilirler. *Vibrio* türleri, sitokrom-oksidad pozitif, TCBS (Thiosulfate Citrate Bile salt Sucrose) agarda gelişme gösterebilen, fakültatif anaerop bakteri türleridir (Alsina ve Balnch 1994, Holt vd 1994).

Vibrio türleri tüm deniz ortamlarında yaygın olarak bulunurken, genellikle yılın en sıcak aylarında sorun yaratmaktadır. *V. tubiashii* özellikle Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'nin Kuzey Doğu Atlantik Kıyıları ile Fransa'daki istiridye işletmelerinden bildirilmiştir (Bower 2002).

Kültür koşullarının uygun olmaması (ağır metaller, toksik fitoplankton gibi), enfeksiyon etkenini latent olarak taşıyan damızlık bireyler ve/veya alg kültürleri de enfeksiyonun kaynaklarını oluşturabilmektedir (Elston 1999). Hastalığın kontrolü için, sistem yüzeylerinin ve anaçların sanitasyonuna, su filtrasyonuna, organik atıkların en düşük seviyede olmasına dikkat edilmelidir. *Vibrio* türü ile enfekte tablalar uygun bir şekilde yok edilmeli, bütün ekipmanlar dezenfekte edilmelidir. Dezenfeksiyon amaçlı olarak tatlı su yıkamaları ve/veya sodyum hipoklorit banyoları, 3-10 dk için 10-25 ppm oranında değişen konsantrasyonlarda önerilmektedir (Elston vd 2000).

2.3.2. *Cytophage* benzeri bakterilerden kaynaklanan enfeksiyon

O. edulis ile beraber *C. gigas* ve *C. virginica* dahil tüm istiridye türlerinde gözlenen *Cytophage* benzeri bakterilerin neden olduğu enfeksiyonda (CLB), etkilenen bireylerde normalde sert olan ligament yapısının yumuşadığı ve bunun sonucu olarak da normal solunum ve beslenmenin engellendiği görülür. Genellikle enfeksiyondan jüvenil ve larval istiridyelerin daha çok etkilendiği bildirilmiştir. Özellikle kabuk yüksekliği 1 cm'den küçük olan bireylerin yaygın olarak etkilendiği görülmüştür. Hastalığın ağır olarak seyrettiği durumlarda, özellikle ligament yapısının yumuşamasından dolayı

ligamentte meydana gelen erozyonlar sonrasında sekonder bakteriyel ve/veya mantar enfeksiyonlarının gelişebildiği bildirilmiştir (Dungan vd 1989, Bower 2001).

Etken *Cytophage* spp. Gram–negatif boyanma özelliğine sahip olup, saçaklı veya lifli kenarları ile fark edilebilen bakteri kolonilerini oluşturur. Bakteri, nemli katı yüzeylerde kayma hareketi yapma yeteneğine sahip olup, 2.5 ile birkaç yüz mikron arasında değişen uzun ve pleomorfik hücre yapısı ile karakterizedir. Düşük besin içerikli agar ortamlarında veya %50’si deniz suyu ile hazırlanmış *Cytophage* agarda (SWCA) geliştiği bildirilmiştir (Dundan vd 1989, Bower 2001).

Hastalığın kontrolünde, uygun sistem ve kabuk sanitasyon işlemleri ile hastalığın üstesinden gelinebilir. Kuluçkahane ortamında ileri derecede ligament erozyonuna sahip olan yavru istiridyeler için, genel olarak uygulanan tedavi yöntemleri; tatlı suda bekletme ve sodyum hipoklorit banyosu uygulamaktır (Elston 1999).

2.3.3. Nokardiyozis

Nocardia crassostreae Pasifik istiridyelerinde (*C. gigas*) Pasifik İstiridyesi Nokardiyozisi (PON) olarak adlandırılan bir hastalığa neden olmaktadır. Aynı hastalık *C. gigas*’ın yetiştiriciliğinin yapıldığı yere yakın *O. edulis*’lerde de görülmüştür (Bower 2006).

Etken *Actinomyce* türü olup Gram-pozitif, aside dirençli ve filamentli bakterilerden oluşan dallanmış koloniler meydana getirir (Elston 1993).

Hasta juvenil ve ergin istiridyelerin manto, solungaç, addüktör kası ve kalp yüzeyinde 1cm büyüklüğe kadar ulaşabilen yuvarlak, sarıdan yeşile doğru değişen renkte kabarcıklar görülmektedir (Bower 2006).

Kuzey Amerika’nın Batı kıyıları ve Japonya’daki istiridye işletmelerinden bildirilen enfeksiyona, yetersiz çevre koşulları nedendir. Enfeksiyon tüm yıl boyunca görülebilmektedir ancak su sıcaklığının arttığı dönemlerde ölüm oranlarında da artışın olduğu bildirilmiştir (Bower 2006, Elston 1999).

Hastalıklı istiridyelerin başka bölgelere nakledilmesiyle birlikte hastalığın buralara da taşındığı kaydedilmiştir. Hastalığın kontrolü ve hastalıktan korunmak için nakil işleminin yapılmaması gerektiği bildirilmiştir (Elston 1993).

2.4. *Ostrea edulis* ile İlgili Daha Önce Yapılan Çalışmalar

Ülkemizde ticari olarak istiridye yetiştiriciliği yapılmamaktadır. Ancak denizlerimizde türün kültürü için uygun bölgelerin bulunduğu bildirilmektedir. Bu konuda Ateş (1998), yapmış olduğu çalışma ile Çanakkale ve Kuzey Marmara Denizinde, *O. edulis*'in gelişiminin oldukça başarılı olduğu ve bu bölgelerin istiridye gelişimine elverişli, uygun, sakin koylara sahip olduğunu, bölgede istiridyelerin beslenmesi için bol gıda bulunduğunu ve sıcaklık, tuzluluk ve akıntı gibi diğer ekolojik koşulların da optimum düzeyde bulunması nedeniyle bölgede istiridye yetiştiriciliğinin mümkün olabileceğini bildirmiştir.

Uyan ve Aral (2000), Karadenizde bulunan istiridyelerden (*O. edulis*) yavru elde etme olanakları ve elde edilen larvaların metamorfoz sürecinin saptanması üzerine yaptıkları çalışma ile istiridye larvalarının elde edilmesinde bir güçlük yaşamadıklarını ve Karadeniz koşullarında *O. edulis* yetiştiriciliğinin mümkün olabileceğini bildirmişlerdir.

İspanya'nın Kuzey-batısında ticari olarak *O. edulis* yetiştiriciliği yapan kuluçkahanelerde yoğun larval ölümler gözlenmiştir. Lodeiros vd (1987) bu ölümlere neden olan mikroorganizmaları ve patojenlerin kaynağını araştırmışlardır. Kuluçkahanelerin tüm bölümlerinde yapılan bakteriyolojik muayene ve sayımda, ilkbaharda toplam bakteri ve olası muhtemel *Vibrio*'ların sayısının artış gösterdiğini ve sıcaklığın artması ile hastalık çıkışlarının da başladığını bildirmişlerdir. Bakteriyolojik araştırmanın yapıldığı tüm kuluçkahanelerde hastalığa *V. tubiashii*'nin etken olduğu vibriyozisin larvalarda tipik basilli nekrozlara sebep olduğu saptanmıştır. Hastalığı kontrol etmek için en etkili antibiyotığın kloramfenikol olduğu belirtilmiştir.

Kelly ve Stroh (1988), Pasifiğin Kuzey-batısında doğal ve kültür koşullarındaki istiridye populasyonlarını *Vibrio* açısından incelemişlerdir. Bu çalışma sonucunda

Vibrio türleri içerisinde en fazla *V. parahaemolyticus*, *V. fluvialis* ve *V. vulnificus*'u izole edilmiştir. Çalışmada ılık sularda bulunan istiridyelerin *Vibrio* türlerini daha soğuk sularda bulunan istiridyelere göre daha fazla içerdiklerini tespit etmişlerdir.

Pujalte vd (1999), İspanya'nın Akdeniz kıyılarında bulunan *O. edulis* çiftliğinden, Haziran 1989-Mayıs 1990 tarihleri arasında temin edilen istiridyeye ve deniz suyu numunelerinin bakteriyolojik analizini yapmışlardır. Çalışmada istiridyeye örneklerinden baskın olarak 2 *Vibrio* türü; *V. splendidus* ve *V. harveyi* izole edilmiş ancak, deniz suyunda *Vibrio* spp. baskın tür olarak teşhis edilmemiştir. Çalışmada *Vibrio* türlerinin dışında *Pseudomonas luteoviolacea*, *Shewanella putrefaciens*, *Bacillus* sp. gibi türler de tanımlanmıştır.

Macián vd (2001), *O. edulis*'den izole ettikleri bakteri suşlarını fenotipik olarak *Vibrio splendidus*'a benzeyen ancak vibriostat ($150\mu\text{g disk}^{-1}$) testine direnç göstermesi ve bazı karbonhidratlardan (glukoz, galaktoz, mannoz, mannitol, maltoz, melibiyoz, selobiyoz ve trehaloz) asit üretmesi ile *V. splendidus*'dan ayrılan yeni bir *Vibrio* türü izole etmişler ve bu türü *V. lentus* sp. nov. olarak tanımlamışlardır.

Richards vd (2008), New Jersey'nin Delaware Koyunda ticari istiridyeye yetiştiriciliği yapılan bölgeden istiridyeye ve su örnekleri alarak, toplam 1,421 bakteri izole etmişlerdir. API 20E ticari hızlı tanı kiti kullanılarak biyokimyasal testlere göre 170 (12.0%) izolatin *S. putrefaciens*, 26 (1.8%) izolatin *Photobacterium damsela* subsp. *damsela* ve API tanımlama sisteminde tanımlanamayan 665 (46.8%) suşun 16S rRNA genlerinin sekans analizi yapılarak *S. abalonesis*, *S. algae*, *S. baltica*, *S. hafniensis*, *S. marislavi*, *S. putrefaciens*, *Listonella anguillarum* ve *P. damsela* olarak tanımlamışlardır. Yapılan 2 yıllık çalışmada, istiridyelerden izole edilen bakteri sayısının, sıcaklığın yüksek olduğu yaz ve özellikle Ağustos ayında maksimum seviyeye ulaştığı bildirilmiştir.

3. MATERYAL ve METOT

3.1. Materyal

3.1.1. Araştırmanın yapıldığı yer

Araştırmada istiridye örneklerimiz Kuzey Marmara Bölgesi Kumbağ ve Yeniçiftlik (Tekirdağ) olmak üzere 2 istasyondan dreçle toplanmıştır (Şekil 3.1). Çalışma süresince toplam 60 istiridye örneği (ortalama ağırlık 47 g, ort. boy 7.1 cm) ile çalışılmıştır. Örnekleme çalışmalarını yapabilmek amacı ile T.C. Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı Koruma ve Kontrol Genel Müdürlüğü'nden B.12.0.KKG.0.17/106.01-11-01-2775 sayılı avlanma izni alınmıştır.



Şekil 3.1. İstiridye örneklerinin elde edildiği Tekirdağ (Yeniçiftlik) bölgesi (orijinal)

3.1.2. İstiridye materyali

İstiridye örnekleri Kasım 2009-Nisan 2010 tarihleri arasında ayda 2 sefer olmak üzere doğadan avcılık yolu ile temin edilmiştir. Örnekler ticari balıkçı teknesi ile denize açılarak, profesyonel olarak avcılıkta kullanılan “metal ıstiridye dreci” ile 10-15 m derinliklerden elde edilmiştir (Şekil 3.2). Alınan ıstiridye örnekleri, içerisinde buz aküler bulunan taşıma kabı ile Akdeniz Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Uygulama Laboratuvarına canlı olarak nakledilmiştir.



Şekil 3.2. İstiridye örneklerinin avlandığı ticari balıkçı teknesi (orijinal)

3.1.3. Çalışmada kullanılan besiyerleri ve kimyasal maddeler

Araştırmada kullanılan besiyerleri ve kimyasal maddeler aşağıda belirtilmiştir:

Thiosulfate Citrate Bile salt Sucrose (TCBS) agar (Merck), Tryptic Soy Agar (Merck), Brain Heart Agar (Merck), Mueller- Hinton Agar (Merck), Mac Conkey Agar (Oxoid), Nutrient Buyyonu (Merck), MR-VP Buyyonu (Merck), OF Bazal Vasatı (Merck), Agar (Merck), Nişasta (Sigma), Maya özütü (Merck), Et özütü (Merck), Tripton (Sigma), Pepton (Merck), D-(+)- Glukoz, D-(+)- Galaktoz (Sigma), D-(-)- Fruktoz (Sigma), D-(+)- Mannoz (Sigma), Laktoz (Merck), Ksiloz (Merck), Kanada balzamu (Merck), Bromtimol mavisi (Merck), Sodyum klorür (Merck), Potasyum hidroksit (KOH) (Riedel-de Haen), Potasyum fosfat (K₂HPO₄) (Sigma), Hidrojen peroksit solüsyonu (%0,3 H₂O₂) (Fluka), Gliserol (Merck), Etil alkol (Tekkim) (yerli üretim), Sıvı Parafin (Merck), Ampisilin (10 µg) (Oxoid), O/129 Vibriostat (10 µg /150µg) (Oxoid), Gram boyama seti (Merck), Metil- kırmızısı (Merck).

3.1.4. Çalışmada kullanılan API 20E ticari hızlı tanı kiti

Kitin içeriği (Ref. 20 100) aşağıdaki gibidir;

- a) 25 API 20E stripleri
- b) 25 inokübasyon kutusu
- c) 25 sonuç kağıtları
- d) 1 prospektüs

Kitde bulunan testler aşağıda verilmiştir;

β- galaktozidaz (Ortho Nitrofenil- βD- Galaktopiranosidaz) (ONPG), Arjinin DiHidrolaz (ADH), Lizin Dekarboksilaz (LDC), Ornitin Dekarboksilaz (ODC), Sitrat kullanımı (CIT), H₂S üretimi (H₂S), Üreaz (URE), Triptofan DeAminaz (TDA), İndol üretimi (IND), Voges-Proskauer (VP), Jelatinaz (GEL), Glukoz fermentasyon/ oksidasyonu (GLU), Mannitol fermentasyon/ oksidasyonu (MAN), İnositol fermentasyon/ oksidasyonu (INO), Sorbitol fermentasyon/ oksidasyonu (SOR), Ramnoz fermentasyon/ oksidasyonu (RHA), Sakaroz fermentasyon/ oksidasyonu (SAC),

Melibioz fermentasyon/ oksidasyonu (MEL), Amygdalin fermentasyon/ oksidasyonu (AMY), Arabinoz fermentasyon/ oksidasyonu (ARA).

Kitin ayıraçları;

- a) James (2×5 ml) (Ref. 70542)
- b) Nit 1+Nit 2 (2×1 amp.) (Ref. 70442)
- c) VP1+VP2 (2×1 amp.) (Ref. 70422)
- d) TDA (2×1 amp.) (Ref. 70402)
- e) Zn (Ref. 70380)
- f) Mineral yağ (Ref. 70100)
- g) McFarland Standart (Ref. 70090) No:0.5
- h) Atılabilir steril plastik pipetler

3.2. Metot

Mikrobiyolojik çalışmalar Akdeniz Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Uygulama (Mikrobiyoloji) Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

3.2.1. İstiridyelerin makroskopik ve mikroskopik incelenmesi

İstiridye materyali avlandığı bölgeden soğuk muhafaza ile hızlı bir şekilde laboratuara taşınmıştır. İstiridye örneklerinin öncelikle canlı olup olmadıkları kontrol edilmiştir. Örneklerin kabukları üzerindeki debris birikimi fırça ile temizlenmiş, boy ve ağırlıkları ölçülmüş ve kabuk oluşumundaki anormal değişiklikler incelenerek kaydedilmiştir. Bakteriyolojik çalışma öncesinde, istiridyeler membran filtrelerden geçirilerek sterilize edilen deniz suyu ile yıkanmıştır. Daha sonra istiridyelerin ligament ve addüktör kasları steril bir şekilde makas ve pens kullanılarak kesilmiş ve istiridye açılmıştır. İç yapı stereo mikroskop (Nikon SMZ645)'ta incelenerek elde edilen bulgular kaydedilmiştir (Paillard vd 1996, Boetcher vd 2000).

3.2.2. İstiridyelerden bakteri izolasyonu

İstiridyelerin gonad, solungaç ve mantolarından steril öze ve pensler kullanılarak organlar alınıp homojen hale getirildikten sonra Deniz Suyu Agar (DSA) (Trypton 5 g, maya özütü 3 g, gliserol 3 ml, agar 15 g, filtreden geçirilmiş deniz suyu 1000 ml, pH 7.5) (Boetcher ve Ruby 1990, Boetcher vd 1999) ve TTCBS agara (%1.5 NaCl ilaveli) ekim yapılmıştır. Ekimli besiyerlerden DSA 72 saat ve TTCBS agar 48 saat etüvde 28 ± 2 °C sıcaklıkta inkübe edilmiştir (Sugumar vd 1998). Daha sonra tek düşmüş bakteri kolonileri ile TTSA (%1.5 NaCl ilaveli) besiyerine yeniden altkültürler alınarak bakterilerin saflaşması sağlanmıştır.

3.2.3. İzole edilen bakterilerin morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal özelliklerinin tespiti

3.2.3.1. Morfolojik özelliklerinin tespiti

Bakterilerin morfolojik özelliklerinin tespiti için Gram boyama (Fenolsüz Gram-color modifiye set) yapılmıştır. Hareketlilik tespiti için ise asılı damla yöntemi ve hareket besiyeri olmak üzere 2 farklı yöntem kullanılmıştır (Seeley vd 1991).

Hareket besiyeri

<u>içeriği</u>	<u>gr/lt</u>
nutrient buyyon	8
glukoz	5
agar	5
distile su	1000 ml

121°C'de 15 dk otoklavlanarak sterilize edilmiştir. Petrilere dökülen besiyeri soğuduğunda, besiyerin orta kısmına bakteri kolonisi bırakılarak 28 ± 2 °C'de 1 haftaya kadar inkübe edilmiştir. Bu süre sonunda besiyeri yüzeyine bakteri kolonisi yayılması pozitif olarak kabul edilmiştir (Kim ve Surette 2003).

3.2.3.2. Fizyolojik özelliklerinin tespiti

Bakterilerin fizyolojik özelliklerinin tespiti için farklı tuzluluk oranlarında (%0, 3, 6, 8 ve 10 NaCl içeren Nutrient buyyonu) ve farklı sıcaklıklarda (4, 20, 30, 35 ve 40°C'de) gelişmelerine bakılmıştır (Alsina ve Blanch 1994).

3.2.3.3. Biyokimyasal özelliklerinin tespiti

Bakterilerin biyokimyasal özelliklerinin tespiti için çeşitli testler gerçekleştirilmiştir. Bu testler; Sitokrom oksidaz (tetrametilenparafenilendiamine), katalaz (%0.3 H₂O₂ solüsyonu), oksidasyon-fermantasyon testi (O/F), metil-kırmızısı testi (MR), glukozdan gaz oluşumu, O/129 Vibriostatik ajana karşı hassasiyet (10 ve 150 µg disk⁻¹), amfisiline hassasiyet, TCBS ve Mac Conker agarda gelişme, kabarma, amilaz üretimi, şekerlerden asit üretimi (galaktoz, fruktoz, mannoz, laktoz, ksiloz)'dir. Kullanılan tüm test besiyeri %1.5 NaCl ilave edilerek hazırlanmıştır (Alsina ve Blanch 1994, Musa vd 2008, Noguerola ve Blanch 2008). Çalışmada kullanılan bazı besiyerlerin içerikleri ve yapıları aşağıda belirtilmiştir.

Amilaz üretimi

Bu amaçla nişasta içeren besiyeri kullanılmıştır.

<u>içeriği</u>	<u>gr/lt</u>
tripton	10
maya özütü	10
K ₂ HPO ₄	5
nişasta	3
agar	15
distile su	1000 ml

121°C'de 15 dk otoklavlanarak sterilize edilmiştir (Seeley vd 1991).

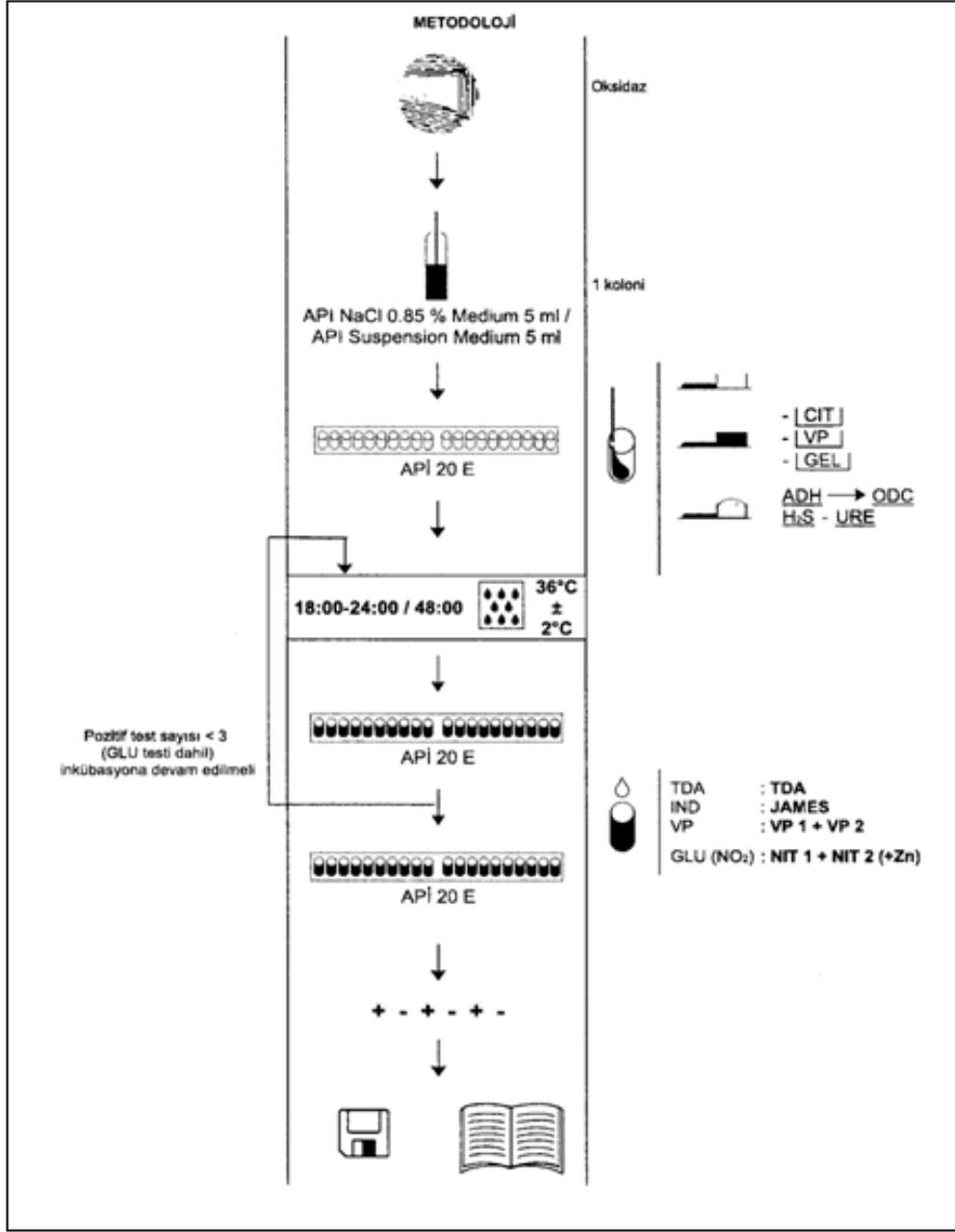
Şeker testleri

<u>içeriği</u>	<u>gr/lt</u>
et özütü	3
pepton	2
bromotimol mavisi	0.024
laktoz	5
distile su	1000 ml

Belirtilen ölçüde hazırlanan malzemeler karıştıktan sonra pH 7.2'ye ayarlanarak 121°C'de 15 dk otoklavlanarak sterilize edilmiştir (Seeley vd 1991).

3.2.4. API 20E kitinin kullanılması

Çalışma sırasında örneklenen bakteri suşları fenotipik tanı testleri ile yapılan biyokimyasal tanımlama dışında API 20E hızlı tanı kiti (Biomérieux) kullanılarak tanımlanmıştır. Kitler üretici firmanın tavsiyesine göre uygulanmıştır. Kitin uygulamasının şematik açıklaması Şekil 3.3'de verilmiştir. Tüm suşlar steril %1.5 NaCl içeren tuzlu vasat içinde homojenize edilerek Mc Farland 0.5 olacak şekilde ayarlanarak uygulanmıştır. Bakteri ekimi yapılan kitler 28±2°C'da 24 ve 48 saat inkübe edilmiş, ayraçlar damlatılarak sonuçlar okunmuştur (Crocı vd 2007).



Şekil 3.3. API 20E kitinin uygulamasının şematik açıklaması (API 20E, Ref. 20 100)

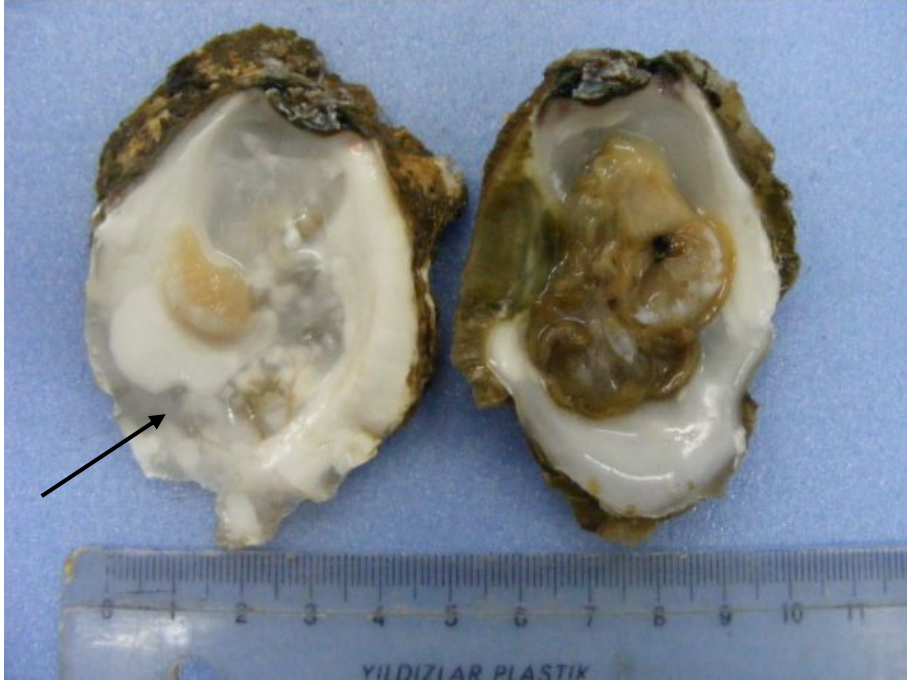
4. BULGULAR

4.1. İstiridyelerin Klinik Bulguları

Çalışma boyunca Kasım 2009-Nisan 2010 tarihleri arasında olmak üzere her ay ortalama 10 istiridye ile çalışılmıştır. Bakteriyolojik çalışma öncesi, istiridyeler dış ve iç yönden incelenerek, gözlenen bulgular kaydedilmiştir. Dış bakıda, istiridyelerin kabuklarında morfolojik bozukluklar tespit edilmiştir. Kabuklar üzerinde kırılmalar, düzensiz kabuk oluşumları ve kalkerleşmiş yapılar gözlenmiştir (Şekil 4.1). İstiridyeler iç yönden incelendiğinde ise iç organların normalden küçük oldukları tespit edilmiştir. Kabuk iç yapısında ise kalkerli yapıların mevcut olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.2). İncelenen istiridye örneklerinin bazılarında da debrisi birikimi gözlenmiştir (Şekil 4.3). Mart ayında yapılan örnekleme çalışmasında 2 nolu istiridyenin kabuğunun iç kısmında kırmızı noktalara rastlanmıştır (Şekil 4.4). Çalışma boyunca incelenen tüm istiridyelerin iç organlarında herhangi bir nodül oluşumuna ve/veya kabuk içerisinde konkiolin birikimine rastlanmamıştır.



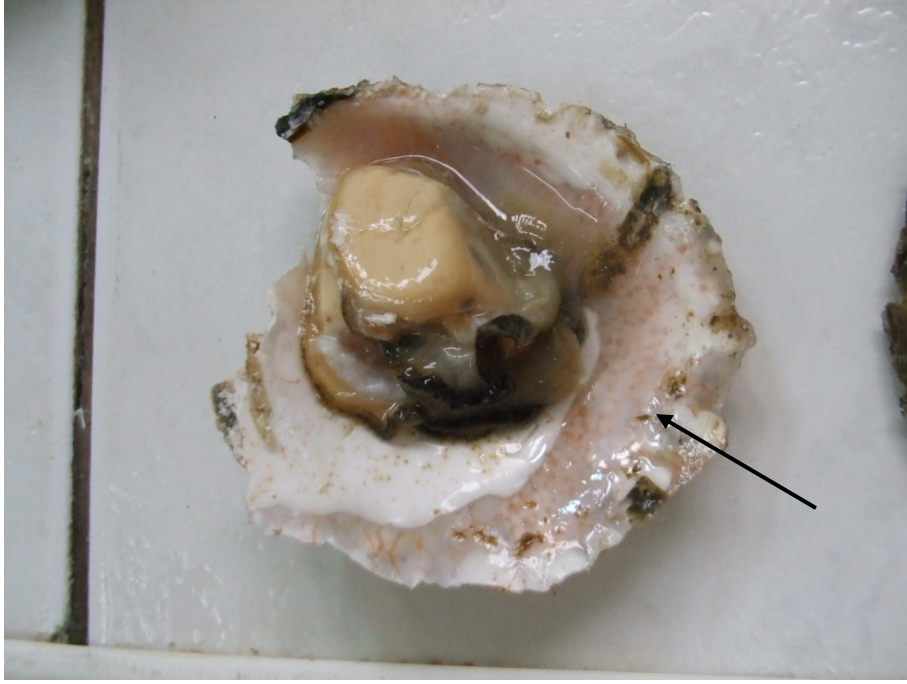
Şekil 4.1. Çalışmada kullanılan *O. edulis*'de düzensiz kabuk yapısı (okla gösterilmiştir) (orijinal)



Şekil 4.2. Küçük iç organlar, kabuk içinde kalkerleşmiş yapılar (okla gösterilmiştir) (orijinal)



Şekil 4.3. Kabuk içinde debrıs birikimi (okla gösterilmiştir) (orijinal)



Şekil 4.4. Kabuğun iç kısmında gözlenen kırmızı noktalar (okla gösterilmiştir) (orijinal)

4.2. Bakteriolojik Çalışma Sonucu Elde Edilen Bulgular

4.2.1. Hareket özelliğine ait bulgular

Çalışılan 44 bakteri suşunun hareketli olduğu hem asılı damla yöntemi hem de hareket besiyerinde yapılan çalışmalar sonucunda tespit edilmiştir.

4.2.2. Morfolojik özelliklerine ait bulgular

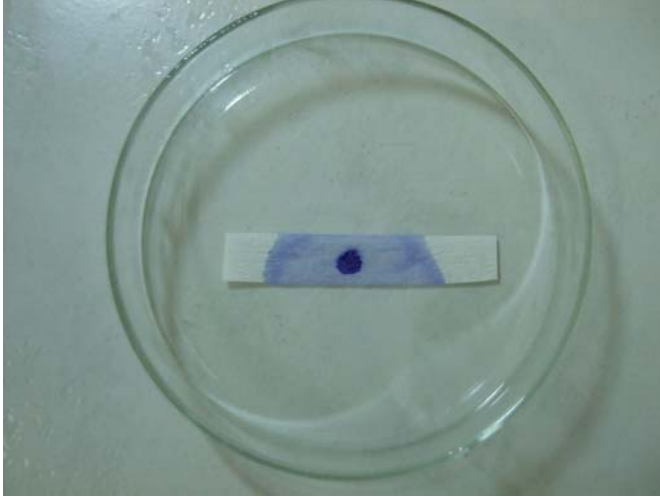
İzole edilen bakterilere uygulanan Gram-boyama sonucu bakteri suşlarının hepsinin Gram-negatif, *Vibrio* suşlarının hafif kıvrık, diğer bakteri suşlarının ise çomak şekilli oldukları bulunmuştur.

4.2.3. Fizyolojik özelliklerine ait bulgular

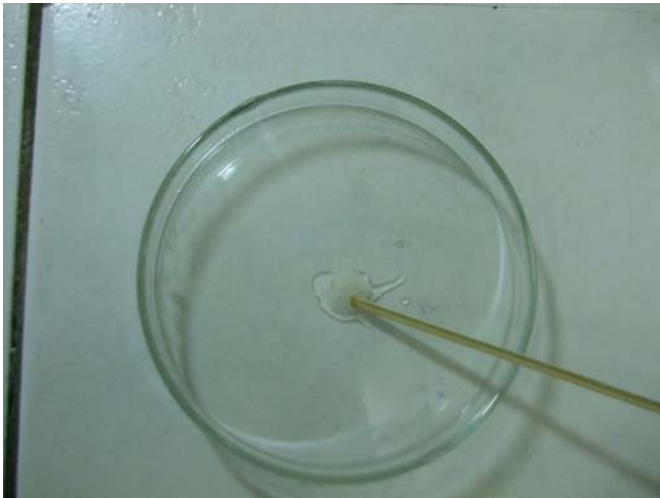
Çalışılan tüm bakterileri suşlarının 4°C’de gelişim gösterdiği tespit edilmiştir. Çalışmada yapılan diğer fizyolojik testler ise Çizelge 4.1’de verilmiştir.

4.2.4. Biyokimyasal özelliklerine ait bulgular

Kasım 2009-Nisan 2010 tarihleri arasında çalışılan toplam 60 istirdiyeden 44 bakteri suşu izole edilmiştir. Çalışılan 43 suşun sitokrom oksidaz ve katalaz testleri pozitif, 1 suşun ise s. oksidaz negatif olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.5 ve 4.6). Yapılan diğer biyokimyasal testler Çizelge 4.1’de verilmiştir. Çalışılan testlerden bazılarına ait şekiller (Şekil 4.7, 4.8 ve 4.9) 32 ve 33 numaralı sayfalarda yer almaktadır. Çalışmada izole edilen bakteri suşlarının tanımlanması Bergey’s Manual of Systematic Bacteriology’ye göre yapılmıştır (Bowman 2005, Farmer ve Janda 2005, Frederiksen 2005).



Şekil 4.5. Sitokrom oksidaz testi (orijinal)



Şekil 4.6 Katalaz testi (orijinal)

Çizelge 4.1. Bakterilerin morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal özellikleri ile ilgili bulguları

Testler	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Hareket	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Gr. Boyama	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Şekil	Ç	Ç	Ç	Ç	Ç	Ç	Ç	Ç	Ç	Ç
S. oksidaz	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
Katalaz	+	+	z+	z+	+	+	z+	+	+	+
O/F	F	F	NF	NF	F	NF	NF	NF	F	NF
MR	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-
Amilaz	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+
Gaz oluşumu	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kabarma	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Asit üretimi:										
Laktoz	+	+	z+	z+	+	z+	z+	z+	+	-
Galaktoz	+	+	z+	z+	+	z+	-	z+	+	z+
Ksiloz	+	+	z+	z+	+	z+	z+	-	+	-
Fruktoz	+	+	+	+	+	-	z+	-	+	-
Mannoz	+	+	+	+	+	z+	z+	-	+	-
Gelişme:										
4°C'de	+	+	+	+	+	+	+	+	+	z+
20°C'de	+	+	+	+	+	+	+	+	z+	+
30°C'de	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
35°C'de	-	+	z+	z+	+	-	-	+z	+	+
40°C'de	-	z+	-	-	+	z+	z+	-	+	z+
Gelişme:										
%0 NaCl'de	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
%3 NaCl'de	+	+	+	+	+	+	+	+	+	z+
%6 NaCl'de	z+	z+	+	+	+	+	z+	-	+	z+
%8 NaCl'de	-	+	-	-	z+	-	-	-	z+	-
%10 NaCl'de	-	-	-	-	z+	-	-	-	-	-
Gelişme:										
TCBS (%1.5 NaCl)	+y	+s	+y	+y	-	+y	+y	+y	+s	+y
Mac Conkey (%1.5 NaCl)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Hassasiyet:										
O/129 (10µg disk ⁻¹)	H	H	D	D	D	D	D	D	H	D
O/129 (150µg disk ⁻¹)	H	H	D	D	D	D	D	D	H	D
Ampisilin	H	H	H	H	D	H	H	H	H	H

Ç: Çomak şekilli, +: pozitif, z+: zayıf pozitif, -: negatif, D: dirençli, H: hassas, y: yeşil, s: sarı, NF: non-fermentatif, F: fermentatif

Çizelge 4.1.'in devamı

Testler	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
Hareket	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Gr. Boyama	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Şekil	Ç	Ç	Ç	Ç	Ç	Ç	Ç	Ç	Ç	Ç
S. oksidaz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Katalaz	+	+	+	z+	+	+	+	+	+	+
O/F	F	NF	NF	NF	NF	F	NF	NF	NF	NF
MR	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Amilaz	+	-	-	z+	-	+	z+	z+	+	+
Gaz oluşumu	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kabarma	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Asit üretimi:										
Laktoz	+	-	-	z+	z+	+	z+	-	z+	-
Galaktoz	+	z+	z+	-	z+	+	z+	z+	z+	z+
Ksiloz	z+	z+	-	z+	z+	+	-	-	z+	-
Fruktoz	+	-	-	z+	-	+	z+	-	z+	-
Mannoz	+	z+	-	z+	-	+	-	z+	-	-
Gelişme:										
4°C'de	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
20°C'de	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
30°C'de	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
35°C'de	+	z+	+	+	+	+	z+	z+	z+	+
40°C'de	+	-	z+	z+	-	+	z+	-	-	-
Gelişme:										
%0 NaCl'de	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
%3 NaCl'de	+	z+	z+	z+	+	+	+	+	+	+
%6 NaCl'de	z+	z+	+	+	+	z+	+	z+	+	z+
%8 NaCl'de	z+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
%10 NaCl'de	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Gelişme:										
TCBS (%1.5 NaCl)	+s	+y	+y	+y	+y	+y	+y	+y	+y	+y
Mac Conkey (%1.5 NaCl)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Hassasiyet:										
O/129 (10µg disk ⁻¹)	H	D	D	D	D	H	D	D	D	D
O/129 (150µg disk ⁻¹)	H	D	D	D	D	H	D	D	D	D
Ampisilin	H	H	H	H	H	H	H	D	D	H

Ç: Çomak şekilli, +: pozitif, z+: zayıf pozitif, -: negatif, D: dirençli, H: hassas, y: yeşil, s: sarı, NF: non-fermentatif, F: fermentatif

Çizelge 4.1.'in devamı

Testler	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
Hareket	+	+	+z	+	+	+	+z	+	+	+
Gr. Boyama	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Şekil	Ç	Ç	Ç	Ç	Ç	Ç	Ç	Ç	Ç	Ç
S. oksidaz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Katalaz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
O/F	NF	NF	F	F	NF	NF	NF	NF	F	NF
MR	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-
Amilaz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Gaz oluşumu	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kabarma	+	+	+	+	+	+	+	z+	+	+
Asit üretimi:										
Laktoz	z+	z+	+	+	-	-	z+	z+	+	-
Galaktoz	z+	z+	+	+	-	z+	z+	z+	+	z+
Ksiloz	z+	z+	+	+	-	z+	z+	-	+	-
Fruktoz	-	z+	+	+	z+	z+	z+	z+	+	z+
Mannoz	z+	-	+	+	-	z+	z+	z+	+	z+
Gelişme:										
4°C'de	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
20°C'de	+	+	+	z+	+	+	+	+	+	+
30°C'de	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
35°C'de	z+	z+	z+	+	+	+	z+	+	z+	+
40°C'de	-	-	-	z+	z+	z+	-	z+	z+	z+
Gelişme:										
0%NaCl'de	-	-	-	-	z+	z+	-	-	-	-
%3 NaCl'de	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
%6 NaCl'de	+	z+	z+	z+	z+	-	z+	z+	z+	z+
%8 NaCl'de	-	-	z+	z+	-	-	z+	-	-	-
%10 NaCl'de	-	-	-	z+	-	-	-	-	-	-
TCBS (%1.5 NaCl)	+y	+y	+s	+s	+y	+y	+y	+y	+s	+y
Mac Conkey (%1.5 NaCl)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Hassasiyet:										
O/129 (10µg disk ⁻¹)	D	D	H	H	D	D	D	D	H	D
O/129 (150µg disk ⁻¹)	D	D	H	H	D	D	D	D	H	D
Ampisilin	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H

Ç: Çomak şekilli, +: pozitif, z+: zayıf pozitif, -: negatif, D: dirençli, H: hassas, y: yeşil, s: sarı, NF: non-fermentatif, F: fermentatif

Çizelge 4.1.'in devamı

Testler	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40
Hareket	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Gr. Boyama	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Şekil	Ç	Ç	Ç	Ç	Ç	Ç	Ç	Ç	Ç	Ç
S. oksidaz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Katalaz	+	+	+	+	+	+	+	z+	+	z+
O/F	NF	NF	F	F	NF	NF	F	F	NF	NF
MR	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-
Amilaz	z+	z+	+	+	z+	z+	+	+	z+	z+
Gaz oluşumu	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kabarma	+	+	+	+	+	+	+	+	+	z+
Asit üretimi:										
Laktoz	z+	z+	+	+	+	z+	+	+	z+	z+
Galaktoz	z+	z+	+	+	z+	-	+	+	z+	z+
Ksiloz	+	z+	+	+	+	-	+	+	z+	z+
Fruktoz	z+	z+	+	+	z+	z+	+	+	-	z+
Mannoz	z+	z+	+	+	z+	-	+	+	z+	-
Gelişme:										
4°C'de	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
20°C'de	+	+	+	z+	+	+	+	+	+	+
30°C'de	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
35°C'de	+	+	+	z+	+	+	z+	+	+	+
40°C'de	z+	z+	z+	z+	z+	z+	z+	z+	z+	-
Gelişme:										
%0 NaCl'de	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
%3 NaCl'de	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
%6 NaCl'de	z+	z+	+	+	z+	+	z+	+	+	+
%8 NaCl'de	-	-	z+	z+	-	-	-	-	z+	z+
%10 NaCl'de	-	-	-	-	-	-	-	-	z+	z+
Gelişme:										
TCBS (%1.5 NaCl)	+y	+y	+s	+s	+y	+y	+s	+y	+y	+y
Mac Conkey (%1.5 NaCl)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Hassasiyet:										
O/129 (10µg disk ⁻¹)	D	D	H	H	D	D	H	H	D	D
O/129 (150µg disk ⁻¹)	D	D	H	H	D	D	H	H	D	D
Ampisilin	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H

Ç: Çomak şekilli, +: pozitif, z+: zayıf pozitif, -: negatif, D: dirençli, H: hassas, y: yeşil, s: sarı, NF: non-fermentatif, F: fermentatif

Çizelge 4.1.'in devamı

Testler	41	42	43	44
Hareket	+	+	+	+
Gr. Boyama	-	-	-	-
Şekil	Ç	Ç	Ç	Ç
S. oksidaz	+	+	+	+
Katalaz	z+	+	z+	+
O/F	NF	NF	NF	NF
MR	-	-	-	-
Amilaz	z+	z+	z+	z+
Gaz oluşumu	-	-	-	-
Kabarma	+	+	+	+
Asit üretimi:				
Laktoz	-	z+	+	z+
Galaktoz	z+	z+	z+	z+
Ksiloz	-	z+	z+	z+
Fruktoz	z+	z+	z+	z+
Mannoz	-	z+	z+	z+
Gelişme:				
4°C'de	+	+	+	+
20°C'de	+	+	+	+
30°C'de	+	+	+	+
35°C'de	z+	+	-	+
40°C'de	-	z+	z+	-
Gelişme:				
%0 NaCl'de	-	-	-	-
%3 NaCl'de	+	+	+	+
%6 NaCl'de	z+	z+	z+	z+
%8 NaCl'de	z+	-	-	-
%10 NaCl'de	z+	-	-	-
Gelişme:				
TCBS (%1.5 NaCl)	+y	+y	+y	+y
Mac Conkey (%1.5 NaCl)	+	+	+	+
Hassasiyet:				
O/129 (10µg disk ⁻¹)	D	D	D	D
O/129 (150µg disk ⁻¹)	D	D	D	D
Ampisilin	D	D	D	D

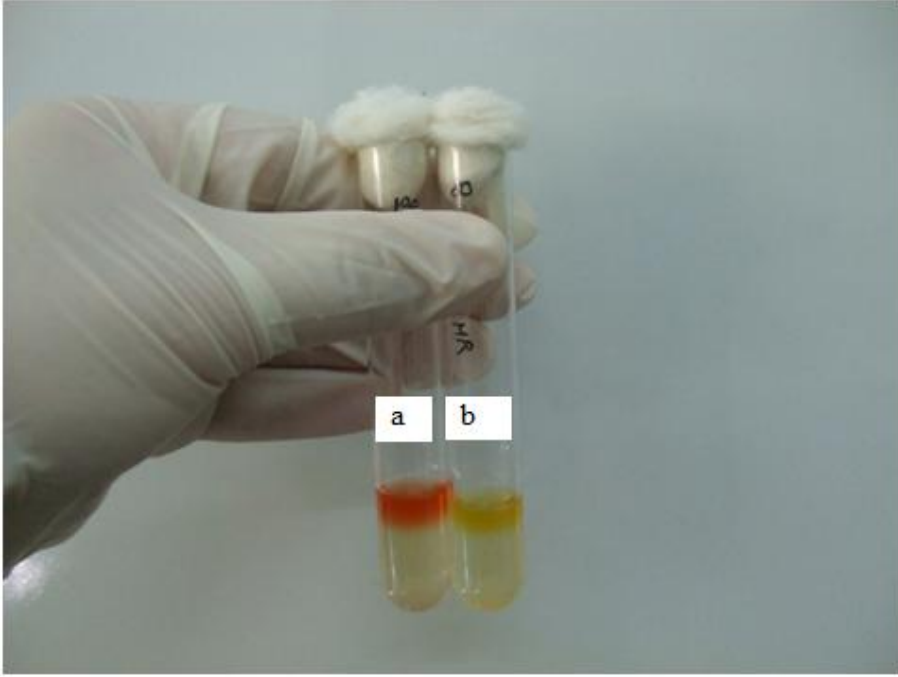
Ç: Çomak şekilli, +: pozitif, z+: zayıf pozitif, -: negatif, D: dirençli, H: hassas, y: yeşil, s: sarı, NF: non-fermentatif, F: fermentatif

Çizelge 4.1’de Bergey’s Manual of Systematic Bacteriology’e göre 2 ve 34 nolu suşlar *Vibrio alginolyticus*; 1, 16 ve 38 nolu suşlar *V. vulnificus*; 9, 11, 23, 24, 29, 33 ve 37 nolu suşlar *V. fluvialis* ;3, 4, 6, 7, 8, 10, 12, 13, 14, 15, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 25, 26, 27, 28, 30, 31, 32, 35, 36, 39, 40, 41, 42, 43 ve 44 nolu suşlar *Shewanella putrefaciens*; 5 nolu suş ise *Citrobacter freundii* olarak tanımlanmıştır.

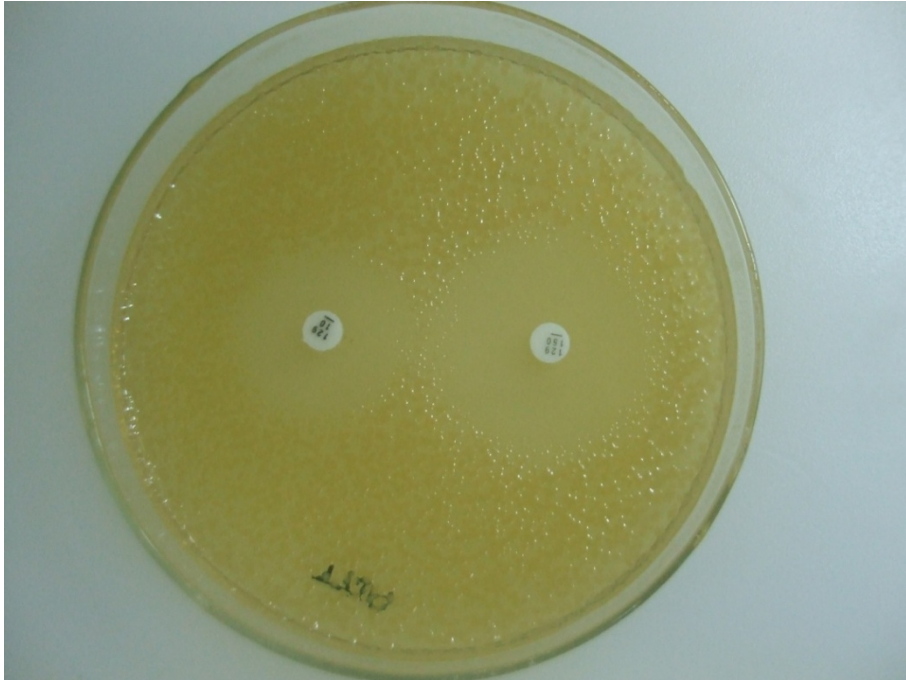
Çizelge 4.1’de 1-6 nolu suşlar Kasım ayında, 7-12 nolu suşlar Aralık ayında, 13-19 nolu suşlar Ocak ayında, 20-27 nolu suşlar Şubat ayında, 28-35 nolu suşlar Mart ayında ve 36-44 nolu suşlar ise Nisan ayında izole edilerek tanımlanmıştır.



Şekil 4.7. Oksidasyon-fermantasyon testi (O/F) (orijinal)



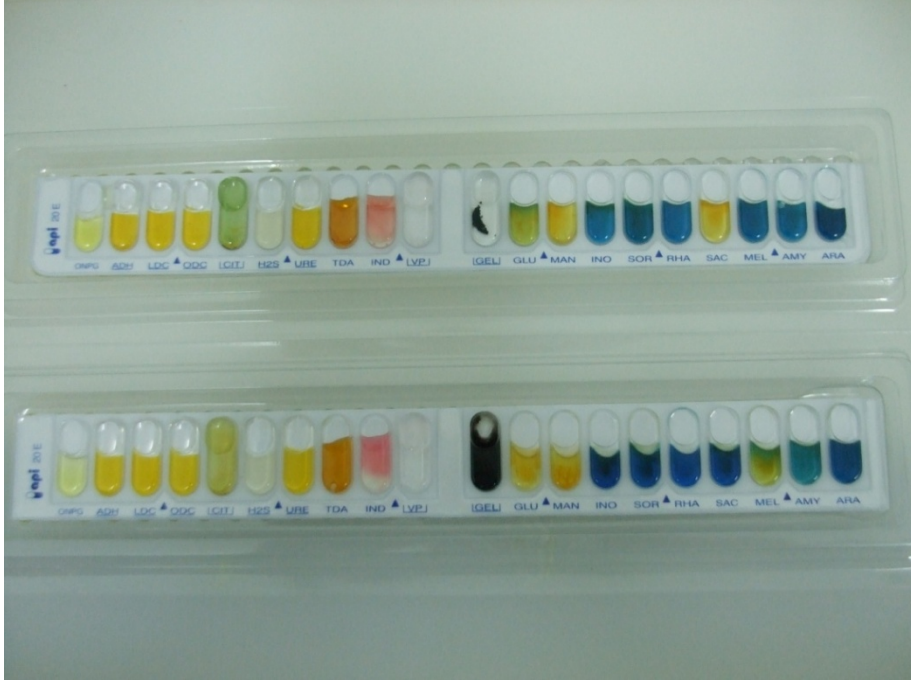
Şekil 4.8. Metil-kırmızısı testi (MR) (a- pozitif, b- negatif reaksiyon) (orijinal)



Şekil 4.9. O/129 Vibriostatik ajana karşı hassasiyet (10 ve $150 \mu\text{g disk}^{-1}$) (orijinal)

4.2.5. API 20E hızlı tanı kiti ile yapılan tanımlama

Çalışılan 44 bakteri suşu fenotipik tanı yöntemleri yanı sıra API 20E ticari hızlı tanı kiti kullanılarak tanımlanmıştır (Şekil 4.10). Kitler $28\pm 2^\circ\text{C}$ sıcaklıkta 24-48 saat süre ile inkübe edilmiştir. Kitlere ayıraçlar eklenerek sonuçlar APIWEB Identification Software'a göre okunmuştur. Çalışılan suşlar ve elde edilen sonuçlar Çizelge 4.2'de verilmiştir.



Şekil 4.10. API 20E ticari hızlı tanı kitleri (orijinal)

Çizelge 4.2. Bakterilerin API 20E ticari hızlı tanı kiti ile ilgili bulguları

Testler	1*	2*	3*	4*	5	6*	7*	8*	9	10*
ONPG	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-
ADH	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-
LDC	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ODC	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
CIT	-	-	-	-	+	-	+	+	-	-
H ₂ S	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+
URE	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
TDA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
IND	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
VP	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
GEL	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+
GLU	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-
MAN	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-
INO	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
SOR	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
RHA	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
SAC	-	+	-	-	+	-	-	-	+	-
MEL	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-
AMY	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ARA	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
NO ₂	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
N ₂	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-

*: 48 saatlik inkübasyon sonucu okunanlar, +: pozitif, -: negatif reaksiyon

Çizelge 4.2.'nin devamı

Testler	11	12*	13*	14*	15*	16	17*	18*	19*	20*
ONPG	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-
ADH	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
LDC	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ODC	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
CIT	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
H ₂ S	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+
URE	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
TDA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
IND	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-
VP	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
GEL	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+
GLU	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-
MAN	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
INO	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
SOR	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
RHA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
SAC	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MEL	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
AMY	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ARA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
NO ₂	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
N ₂	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-

*: 48 saatlik inkübasyon sonucu okunanlar, +: pozitif, -: negatif reaksiyon

Çizelge 4.2.'nin devamı

Testler	21*	22*	23	24	25*	26*	27*	28*	29	30*
ONPG	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-
ADH	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-
LDC	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ODC	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
CIT	-	+	+	-	-	+	-	-	-	+
H ₂ S	+	+	-	-	+	+	+	+	-	+
URE	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
TDA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
IND	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
VP	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
GEL	+	-	-	-	-	+	-	-	-	+
GLU	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-
MAN	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-
INO	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
SOR	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
RHA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
SAC	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-
MEL	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
AMY	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ARA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
NO ₂	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+
N ₂	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-

*: 48 saatlik inkübasyon sonucu okunanlar, +: pozitif, -: negatif reaksiyon

Çizelge 4.2.'nin devamı

Testler	31*	32*	33*	34*	35*	36*	37	38*	39*	40*
ONPG	-	-	+	-	-	-	+	+	-	-
ADH	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
LDC	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ODC	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
CIT	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-
H ₂ S	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+
URE	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
TDA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
IND	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-
VP	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
GEL	+	+	+	-	+	+	-	+	-	+
GLU	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-
MAN	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-
INO	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
SOR	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
RHA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
SAC	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-
MEL	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
AMY	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ARA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
NO ₂	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
N ₂	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-

*: 48 saatlik inkübasyon sonucu okunanlar, +: pozitif, -: negatif reaksiyon

Çizelge 4.2.'nin devamı

Testler	41*	42*	43*	44*
ONPG	-	-	-	-
ADH	-	-	-	-
LDC	-	-	-	-
ODC	-	-	-	-
CIT	+	+	-	-
H ₂ S	+	+	+	+
URE	-	-	-	-
TDA	-	-	-	-
IND	-	-	-	-
VP	-	-	-	-
GEL	+	+	+	+
GLU	-	-	-	-
MAN	-	-	-	-
INO	-	-	-	-
SOR	-	-	-	-
RHA	-	-	-	-
SAC	-	-	-	-
MEL	-	-	-	-
AMY	-	-	-	-
ARA	-	-	-	-
NO ₂	+	+	+	+
N ₂	-	-	-	-

*: 48 saatlik inkübasyon sonucu okunanlar, +: pozitif, -: negatif reaksiyon

Çizelge 4.2'de 1 numaralı suş 104614455 nümerik kod ile *Vibrio vulnificus*; 2 numaralı suş 004612455 nümerik kod ile *V. alginolyticus*; 3, 4, 6, 10, 13, 14, 15, 21, 31, 32, 40, 43, 44 numaralı suşlar 040200451 nümerik kod ile *S. putrefaciens*; 5 numaralı suş 000457255 nümerik kod ile *C. freundii*; 7, 8, 17, 18, 19, 20, 26, 30, 35, 36, 41, 42 numaralı suşlar 060200451 nümerik kod ile *S. putrefaciens*; 9, 24 numaralı suşlar 300412465 nümerik kod ile *V. fluvialis*; 11 numaralı suş 344612565 nümerik kod ile *V. fluvialis*; 12, 25, 27, 28, 39 numaralı suşlar 040000451 nümerik kod ile *S. putrefaciens*; 16 numaralı suş 104604455 nümerik kod ile *V. vulnificus*; 22 numaralı suş 060000451 nümerik kod ile *S. putrefaciens*; 23 numaralı suş 320412465 nümerik kod ile *V. fluvialis*; 29 numaralı suş 104410455 nümerik kod ile *V. fluvialis*; 33 numaralı suş 104204455 nümerik kod ile *V. fluvialis*; 34 numaralı suş 024412425 nümerik kod

ile *V. alginolyticus*; 37 numaralı suş 104412455 nümerik kod ile *V. fluvialis* ve 38 numaralı suş 104610455 nümerik kod ile *V. vulnificus* olarak tanımlanmıştır.

5. TARTIŞMA

Avrupa istiridyesi, *O. edulis* insan gıdası olarak tüketilen ve ekonomik değeri yüksek olan bir türdür. Ülkemizde tüketilmemesine karşın, tür 1990'lı yıllarda önemli döviz kaynaklarından birini oluşturmuştur (Ateş 1998). Ülkemizde bu tür sadece avcılık yolu ile elde edilmektedir. İstiridyeye ithalatının yapılabilmesi için, ithalatın yapılacağı ülkelerde istiridyelerde 2 yıl boyunca herhangi bir enfeksiyonun görülmemiş olması istenmektedir. Ayrıca Avrupa Birliği Kabuklu Su Ürünleri Direktifi (95/70/EC), hastalıkların yayılmasını sınırlamak amacıyla istiridyeye üretiminin yapıldığı suların zonlara ayrılmış olmasını da istemektedir (Vallat 2008). Ülkemizde *O. edulis* yetiştiriciliği ile ilgili deneysel çalışmalar yapılmış olmasına karşın (Uyan ve Aral 2000), hastalıklarına dair çalışmalar yapılmamıştır. Bu araştırma ile ülkemizde doğadan avcılık yolu ile elde edilen istiridyelerin bakteriyel enfeksiyonları ilk kez çalışılarak, vibriosis etkeni *Vibrio alginolyticus* ile birlikte diğer bakteri türlerine ait suşlar da izole edilmiştir.

İstiridyelerde kabuk oluşumu ve şekli genellikle istiridyenin yaşadığı ve tutunduğu ortamlara göre şekil almaktadır (Garido-Handog 1990). Bununla birlikte, çalışmada incelenen istiridyelerin hepsinde kabuk kısımlarında morfolojik bozukluklar tespit edilmiştir. Kabuklar üzerinde kırılmalar, düzensiz kabuk oluşumları ve kalkerleşmiş yapıların bulunduğu gözlenmiştir. İç bakıda ise organların normalden küçük oldukları, kabuklarının iç kısmında ise kalkerli yapıların bulunduğu tespit edilmiştir. Bazı istiridyelerde ise debris birikimi gözlenmiştir. Bununla birlikte incelenen istiridyelerin iç organlarında Bower (2006)'nın bildirdiği gibi herhangi bir nodül oluşumuna ve/veya Ford ve Tripp (1996)'nın *C. virginica*'da bildirdiği gibi kabuklar içerisinde konkiolin birikimine rastlanılmamıştır.

Dungan vd (1989), *C. gigas* ile yapmış oldukları bir çalışmada *Cytophage*-benzeri bakterilerden etkilenmiş istiridyelerde normalde sert olan kabuktaki ligament kısmının yumuşadığını bildirmiştir. Çalışmamızda incelediğimiz istiridyeye örneklerinde ise Dungan vd (1989)'nin bildirdiği bulgulara benzer bulgular tespit edilmemiştir.

V. tubiashii'nin neden olduğu basilli nekrozda istiridyelerde yoğun yumuşak doku nekrozu bildirilmiştir (Kothary vd 2001). Bununla birlikte materyal olarak kullandığımız istiridyelerde iç organlarda bu tür bir bulguya rastlanılmamıştır.

Bower (2002), farklı *Vibrio* türlerinin neden olduğu enfeksiyonlarla, etkilenmiş istiridyeleri incelemiştir. Bu istiridyelerde bakteri tarafından üretilen dış toksin sebebi ile dokularda nekroz ve bunun sonucunda ölüm geliştiğini bildirmiştir. Bununla birlikte çalışmamızda doku ölümü gözlenmemiştir.

Yumuşakça türlerinin mikrobiyotası halk sağlığı yönünden yoğun olarak incelenmiştir. Bunun sebebi ise bu türlerin patojenik mikroorganizmaları vücutlarında biriktirebilmeleri ve insanlar tarafından tüketilmeleri halinde hastalık sorunlarına neden olabilmeleridir. Kabuklu su ürünlerinden insan patojeni bakterilerin izolasyonu yaygın bir şekilde rapor edilmiş olup çalışmaların çoğunluğu fekal kontaminasyon, enterik patojenler ve *Vibrio*'nun patojenik türleri üzerine odaklanmıştır. (Pujalte vd 1999).

Çalışma boyunca izole edilen Gram-negatif, hareketli, sitokrom oksidaz ve katalaz pozitif ve O/F testinde fermentatif üreme gösteren bakteri suşlarının, TCBS'de sarı ve yeşil koloniler oluşturmaları, vibriostat (10 ve 150µg disk⁻¹) testine hassasiyet göstermeleri bu bakteri suşlarının *Vibrio* cinsine ait olduğunu göstermektedir (Alsina ve Blanch 1994, Farmer ve Janda 2005).

Çalışmada, biyokimyasal testler Bergey's Manual of Systematic Bacteriology'e göre kıyaslanmıştır. Bakteri tanımlaması yapılmış olan bazı suşların da, birkaç test sonucunda farklılıklar olduğu gözlenmiştir. *V. alginolyticus* olarak tanımlanan 2 ve 34 numaralı suşların, laktozdan ve ksilozdan asit üretimi Bergey's Manuel'de negatif olarak belirtilirken, bu çalışmada pozitif olarak bulunmuştur. Ayrıca *V. vulnificus* olarak tanımlanan 1, 16 ve 38 numaralı suşlar ile *V. fluvialis* olarak tanımlanan 9, 11, 23, 24, 29, 33, 37 ve 45 numaralı suşların ksiloz ve kabarma testleri, Bergey's Manuel'de negatif olarak belirtilirken, mevcut çalışmada pozitif olarak tespit edilmiştir.

Kelly ve Stroh (1988), Tamplin ve Capers (1992) ve Andrews ve Posadas (2003) farklı istiridye türleri ile yapmış oldukları çalışmalarda *V. fluvialis*, *V. parahaemolyticus* ve *V. vulnificus*'u izole etmişlerdir. Bu bulgular yaptığımız

bakteriyolojik çalışmalar sonucu izole ettiğimiz *Vibrio* suşlarına benzerlik göstermektedir.

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) zoonotik hastalıkları hayvanlar ile insanlar arasında doğal olarak nakledilen hastalıklar olarak tanımlamaktadır. Zoonotik hastalıklar hem gelişmiş ülkelerde hem de gelişmekte olan ülkeler için bir sorun oluşturmaktadır. Bu hastalıklar insanlara içme suları, deniz yada akvaryum suları ile nakledilebildiği gibi balık, istiridye, midye gibi su ürünlerinin az pişmiş yada çiğ olarak tüketilmeleri ile de bulaşabilmektedir (Korun 2009).

Vibrio türleri sucul çevrelerde yaygın olarak bulunurlar. Kabuklu su ürünleri ile balıklardan sıklıkla izole edilirler. Epidemik *V. cholera* suşları çevresel kaynaklardan insanlara ve deniz ürünlerine bulaşırken, *V. vulnificus* ve *V. parahaemolyticus* dahil diğer *Vibrio* türleri ile *V. cholera*'nın epidemik olmayan suşları deniz ürünlerinin çiğ yada az pişmiş olarak tüketilmesi ile insanlarda enfeksiyonlara neden olmaktadır (Korun 2009).

V. vulnificus çiğ istiridye tüketimi ile yada insanlardaki açık yaraların deniz suyuna maruz kalması sonucu enfeksiyonlara yol açmakta, karaciğer hastalığı yada bağışıklık sistemi baskılanmış hastalıklarda ciddi sorunlara ve ölümlere neden olmaktadır. Yukarıda değinilen zoonotik *Vibrio* türleri dışında izole ettiğimiz *V. alginolyticus* bakterisinin Japonya'da bu tür ile kontamine olmuş deniz ürünlerine çiğ olarak tüketilen sağlıklı insanların dışkılarından izole edildiği bildirilmiştir (Korun 2009).

Çalışmamızda *V. vulnificus*, *V. alginolyticus* gibi zoonotik *Vibrio* türlerinin izole edilmesi, Avrupa istiridyесinin az pişmiş olarak tüketilmesi sonucu insan sağlığı açısından önem arz edeceğini göstermektedir.

Gram-negatif, hareketli, sitokrom oksidaz ve katalaz pozitif, non-fermentatif, TCBS'de yeşil renkli koloni oluşturan ancak vibriostat (10 ve 150µg disk⁻¹) testine direnç gösteren bakteri suşlarının, *Shewanella putrefaciens* için bildirilen (Bowman 2005) biyokimyasal test sonuçları ile uyumlu olduğu görülmüştür. Bununla birlikte bazı testlerde farklılıklar da gözlenmiştir. *S. putrefaciens* olarak tanımlanan 3, 4, 6, 7, 8, 10, 12, 13, 14, 15, 17, 18, 19, 21, 22, 27, 28, 30, 31, 32, 35, 36, 39, 40, 41, 42, 43, 44

numaralı suşların, %0 NaCl'de gelişmesi ve ayrıca 3, 4, 6, 7, 10, 12, 13, 14, 15, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 25, 27, 28, 30, 31, 32, 35, 36, 39, 40, 41, 42, 43 ve 44 numaralı suşların, %6 NaCl'de gelişmesi Bergey's Manuel'de negatif olarak bildirilirken, bu çalışmada pozitif olduğu tespit edilmiştir.

S. putrefaciens Gram-negatif, oksidatif, H₂S üreten, çomak şekilli bakteri türüdür. Tür, farklı koşullar altında balıklarda bozulmalara neden olmakla birlikte zoonotik bir mikroorganizma olup *S. putrefaciens*'in insan izolatlarının bakteriyemi, yumuşak doku gibi enfeksiyonlara neden olduğu bildirilmiştir. Bu izolatlara ek olarak türün toprak, sığır ve domuz etleri dahil insan olmayan kaynaklardan da sıklıkla izole edildiği bildirilmiştir (Korun vd 2009).

Richards vd (2008), istiridyelerle yapmış oldukları çalışmada, istiridye ve su örnekleri ile çalışarak, bakteri izolasyonu ve tanımlanmasını gerçekleştirmişlerdir. İzole edilen bakterilerin %12'sinin *S. putrefaciens* olduğu bildirilmiştir. Çalışmamızda *O. edulis*'den *S. putrefaciens* izole edilerek, bu bulgu Richards vd (2008)'in bulgularına benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir.

Pujalte vd (1999), İspanya'nın Akdeniz kıyılarında bulunan *O. edulis* yetiştirme çiftliğinden, Haziran 1989-Mayıs 1990 tarihleri arasında temin edilen istiridye ve deniz suyu numunelerinin bakteriyolojik analizini yapmışlardır. Çalışmada yıl boyunca istiridye örneklerinden baskın olarak 2 *Vibrio* türü; *V. splendidus* ve *V. harveyi* izole edilmiş ancak buna zıt olarak, deniz suyunda *Vibrio* spp. baskın tür olarak teşhis edilmemiştir. Çalışmada *Vibrio* türlerinin dışında *Pseudomonas luteoviolacea*, *S. putrefaciens*, *Bacillus* sp. gibi çeşitli türlerde tanımlanmıştır.

Gram-negatif, hareketli, sitokrom oksidaz negatif, katalaz pozitif olan bakteri suşu ise *Citrobacter freundii* olarak tanımlanmıştır (Frederiksen 2005). Fernández-Delgado ve Suarez (2009) yılın farklı dönemlerinde deniz suyu ve istiridye örneklerini enterik bakteriler yönünden incelemiş, izole edilen bakteri türlerinin *Escherichia*, *Providencia*, *Kluyvera*, *Citrobacter*, *Morganella*, *Klebsiella* ve *Enterococcus* cinslerine ait türler olduklarını bildirmiştir. Çalışmamızda *Vibrio* ve *Shewanella* suşları dışında enterik bakterilerden *C. freundii* de istiridye örneklerinden izole edilmiştir.

Fenotipik tanı yöntemleri yaygın, kolay ve kültürü yapılabilen patojenlerin tespiti için uygundur. Bununla birlikte *Renibacterium salmoninarum* ve *Mycobacterium* spp. gibi birçok patojenler için bu yöntemler pahalı ve zaman tüketici olabilmektedir. Bu yöntemler ile bakteri türlerinin izolasyonu birkaç haftayı alabilir. Gelişmenin yavaş olduğu bazı bakteri türlerinde besiyeri üzerindeki kültür diğer kontamine edici bakteri türleri ve/veya mantar türlerinin aşırı gelişmesi sebebi ile maskelenebilirler (Adam 2004). Bu nedenle biyokimyasal testlere dayandırılan ticari tanımlama sistemleri geliştirilmiştir (Colorni 2004).

API 20E Enterobacteriaceae ve diğer seçici olmayan Gram-negatif çomak türü bakteriler için geliştirilmiş bir tanımlama sistemi olup, 23 standartlaştırılmış ve miniatürize edilmiş biyokimyasal testler ile veri tabanını kullanmaktadır. API 20E kiti dehidre edilmiş substratları içeren 20 mikrotüpten oluşmaktadır. Bu tüpler bakteriyel süspansiyon ile inoküle edilir. Bakteri tanımlanmasında üretici firma tarafından sağlanan software bilgisayar programı ile okunur. API 20E balıklardan izole edilen bakterilerin teşhisi için hızlı tanımlama kiti olarak, en yaygın şekilde kullanılmaktadır (Panebianco vd 2004, Popovic vd 2004, Korun vd 2009). Bununla birlikte bu kitin istiridye, pekten (*Argopecten purpuratus*) gibi farklı kabuklu türlerinden izole edilen bakterilerin tanımlanmasında da kullanıldığı bildirilmiştir (Jorquera vd 1999, Richards vd 2008).

Richards vd (2008) çalıştıkları istiridye ve deniz suyu izolatlarını fenotipik tanı yöntemleri ile birlikte API 20E hızlı tanı kiti kullanarak, *S. putrefaciens* olarak tanımlamışlardır.

Çalışmada, bakteri tanımlaması fenotipik tanı yöntemleri ve API 20E ticari hızlı tanı kiti ile gerçekleştirilmiştir. İzole edilen bakteri suşlarının, bakteriyolojik çalışmalarda fenotipik tanı yöntemleri ile API 20E hızlı tanı kiti sonuçları arasında bir farklılık tespit edilmemiştir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Kasım 2009-Nisan 2010 tarihleri arasında yürütülen bu çalışmada Kuzey Marmara Denizi'nde doğadan avcılık yolu ile temin edilen istiridyeye (*O. edulis*)'lerin hastalık etkeni bakterilerinin tespiti amaçlanmıştır. Yapılan bakteri izolasyonu ve tanımlanması sonucu hastalık etkeni olarak sadece *V. alginolyticus* izole ve tanımlanmıştır. Yine bu bakteri türü ile birlikte, başka bakteri türleri de bulunmuştur. Çalışmada toplam 60 istiridyeye incelenmiş ve 31 *S. putrefaciens*, 7 *V. fluvialis*, 3 *V. vulnificus*, 2 *V. alginolyticus* ve 1 *C. freundii* olmak üzere toplam 44 bakteri suşu çalışılmıştır.

İstiridyeler suyu süzerek beslenen canlılardır. Besinlerini deniz suyunda askıda bulunan plankton, bakteri, organik ve inorganik maddeler oluşturmaktadır. İstiridyeler çığ tüketildiklerinden, tüketici sağlığı ile canlının kendi sağlığı da, barındırdığı mikro organizma yüküne bağlıdır. Dolayısıyla istiridyenin sağlığı, doğal ortamlarındaki zararlı ve faydalı mikro organizmaların çevresel dengesiyle ilişkilidir. Doğal istiridyelerin hastalık durumları üzerine yaptığımız bu çalışmada; düzensiz kabuk oluşumu, araştırmanın yapıldığı dönemde düşük kondüsyon gibi bulgular gözlenirse de, mikrobiyolojik çalışma sonucunda diğer ülkelerdeki kültür istiridyelerinde görülen hastalık etkeni bakteri türleri tespit edilememiştir. Ancak zoonotik bakteri türlerinin izole edilmesinin ileriki yıllarda avcılık yolu ile üretim ve yurtdışına ihracatında insan sağlığı açısından önem arz edeceği kanısındayız. Bu nedenle istiridyelerin temin edildiği Kuzey Marmara denizinde Yeniçiftlik (Tekirdağ) ve Kumbağ (Tekirdağ) ve civarındaki bölgelerdeki mevcut istiridyeye stoklarında zoonotik etkenler üzerine daha kapsamlı çalışmalar (histopatoloji, elektron mikroskopisi çalışmaları gibi) yapılmasına, ayrıca istiridyeye ölümlerinden sorumlu bir patojen bulunursa diğer bivalvia türlerine de etkenin nakledilip nakledilmediğinin analiz edilmesine ve bu etkenin istiridyeye popülasyonu üzerine olan etkisinin araştırılmasına ihtiyaç vardır.

7. KAYNAKLAR

- ADAM, A. 2004. Immunodiagnostics in aquaculture. *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists*, 24 (1): 33-37.
- ALPBAZ, A., ÖNEN, M. ve ÇÖRÜŞ, I. 1990. Urla İskelesi civarından toplanan İstiridye'ler (*Ostrea edulis*) üzerine araştırmalar. *Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi*, 7 (25): 26-28.
- ALSINA, M. and BLANCH, A. 1994. A set of keys for biochemical identification of environmental *Vibrio* species. *Journal of Applied Microbiology*, 76: 79-85.
- ATEŞ, C. 1998. Çanakkale Boğazı ve Kuzey Marmara Denizi'nde İstiridyenin (*Ostrea edulis* L. 1758) Gelişimi. TC İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Su Ürünleri Avlama ve İşleme Teknolojisi Anabilim Dalı, Avlama Teknolojisi Programı, Doktora tezi, 88 sayfa.
- ANDREWS, L. and POSADAS, B. 2003. Oyster Irritation: Pathogenic *Vibrio* Response and Consumer Difference Testing. Technical Report, Missisipi State University, 3 pages.
- AUSTIN, B. 2005. Miscellaneous animal pathogens in the biology of Vibrios, ASM Press Washington DC, 297-311.
- BARDACH, J.E., RYTHER, J.H. and MCLARNEY, W.O. 1972. Oyster culture. Aquaculture, The Farming and Husbandry of Freshwater and Marine Organisms, 674-742.
- BOETCHER, K.J and RUBY, E.G. 1990. Depressed light emission by symbiotic *Vibrio fischeri* of Sepiolid squid *Euprymna scolopes*. *Journal of Bacteriology*, 173 (7): 3701- 3706.
- BOETCHER, K.J., BARBER, B.J. and SINGER, J.T. 1999. Use of bacterial agents to elucidate the etiology of juvenile oyster disease (JOD) in *Crassostrea virginica* and numerical dominance of a alfa-Proteobacterium in JOD-affected animals. *Applied and Environmental Microbiology*, 65 (6): 2534-2539.
- BOETCHER, K.J., BARBER, B.J. and SINGER, J.T. 2000. Additional evidence that juvenil oyster disease is caused by a member of *Roseobacter* group and colonization of nonaffected animals by *Stappia stelluta*- like strains. *Applied and Environmental Microbiology*, 66: 3924-3930.
- BOWER, S.M. 2001. Synopsis of Infectious Diseases and Parasites of Commercially Exploited Shellfish: Hinge Ligament Disease of Juvenile Oysters. http://www-sci.pac.dfo-mpo.gc.ca/shelldis/pages/hldjoy_e.htm.
- BOWER, S.M. 2002. Synopsis of Infectious Diseases and Parasites of Commercially Exploited Shellfish: *Vibrio* spp. (Larval and Juvenile Vibriosis) of Oysters. http://www-sci.pacidfo mpo.gc.ca/shelldis/pages/vibrioy_e.htm.

- BOWER, S.M. 2006. Synopsis of Infectious Diseases and Parasites of Commercially Exploited Shellfish: Nocardiosis of Oysters.
http://www-sci.pac.dfo-mpo.gc.ca/shelldis/pages/nocardoy_e.html.
- BOWMAN, J.P. 2005. *Shewanella* in Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. BRENNER, D.J., KRIEG, N.R., STALEY, J.T., Volume 2, 480-491, Springer.
- COLORNI, A. 2004. Diseases of mediterranean fish species: Problems, research and prospects. *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists*, 24 (1): 22-32.
- CROCI, L., SUFFREDINI, E., COZZI, L., TOTI, L., OTTAVIANI, D., PRUZZO, C., SERRATORE, P., FISCHETTI, R., GOFFREDO, E., LOFFREDO, G., MIONI, R. and *Vibrio parahaemolyticus* Working Group, 2007. Comparison of different biochemical and molecular methods for the identification of *Vibrio parahaemolyticus*. *Journal of Applied Microbiology*, 102: 229-237.
- DEMİRSOY, A. 2001. Yaşamın Temel Kuralları, Omurgasızlar =İnvertebrata, Böcekler Dışında. Cilt 2/Kısım 1, Dördüncü Baskı, Ankara, 1210 ss.
- DUNGAN, C.F., ELSTON, R.A. and SCHIEWE, M. 1989. Evidence for colonization and destruction of hinge ligaments of cultured juvenile Pacific oysters, *Crassostrea gigas*, by *Cytophage*-like bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, 55: 1128-1135,
- ELSTON, R.A. 1993. Infectious diseases of the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. *Annual Review of Fish Diseases*, 3: 259-276.
- ELSTON, R. A. 1999. Health management, development, and histology of seed oysters. World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana, USA, 110 pp.
- ELSTON R.A., FRELIER, P. and CHENEY, D. 1999. Extrapallial abscesses associated with chronic bacterial infections in the intensively cultured juvenile Pacific oyster *Crassostrea gigas*. *Diseases of Aquatic Organisms*, 37: 115-120.
- ELSTON, R., GEE, A. and HERWIG, R.P. 2000. Bacterial pathogens, diseases and their control in bivalve seed culture. *Journal of Shellfish Research*, 19: 644.
- FAO Fisheries Technical Papers T471, 2004. The hatchery culture of bivalves, 28 pp.
- FAO 2005. Yearbook of Fisheries Statistics extracted with FishStat Version 2.30 (Copyright 2000). Fisheries database: Aquaculture production quantities 1950-2003; Commodities Production and Trade 1976-2002.)
www.fao.org/fi/statist/FISOFT/FISHPLUS/asp.
- FARMER III, J.J. and JANDA, J.M. 2005. Vibrionaceae in Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. BRENNER, D.J., KRIEG, N.R., STALEY, J.T., Volume 2, 491-546, Springer.

- FERNÁNDEZ-DELGADO, M. and SUÁREZ, P. 2009. Multiple antibiotic resistance of enteric bacteria isolated from recreation coastal waters and oyster of the Caribbean Sea. *Annals of Microbiology*, 59 (3): 409-414.
- FIGIS 2006. Cultured Aquatic Species Information Programme *Ostrea edulis*. <http://www.fao.org/figis/servlet/static?dom=root&xml=index.xml>.
- FISCHER, W., BAUCHOT, M.L. and ET SCHNEIDER, M. (RED.). 1987. Fisches FAO d'identification des especes pour les besoins de la peche. (Revision 1). Mediterranee et mer Noire. Zone de peche 37.2. Vertebres. Rome, FAO pp., 761-1530.
- FORD, S.E. and TRIPP, M.R. 1996. Disease and Defense Mechanisms. In: Kennedy, V.S., R.I.E. Newell and A.F. Eble (eds), The Eastern Oyster *Crassostrea virginica*. Maryland Sea Grant Collage, College Park, Maryland, 581-660.
- FREDERIKSEN, W. 2005. Citrobacter in Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. BRENNER, D. J., KRIEG, N. R., STALEY, J. T., Volume 2, 651-656, Springer.
- GARIDO-HANDOG, L. 1990. Oyster Culture In: Selected papers on mollusc culture. FAO Documents. <http://www.fao.org/docrep/field/003/AB737E/AB737E03.htm>
- HADA, H.S., WEST, P.A., LEE, J.V., STEMMER, J. and COLWELL, R.R. 1984. *Vibrio tubiashii* sp. nov., a pathogen of bivalve mollusks. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 34: 1-4.
- HERAL, M. 1990. Training oyster culture in France. In: Barnabe, G.(Ed.), Aquaculture, I. Ellis Horwood Limited, 342-387, England.
- HOLT, J. G., KRIEG, N.R., SNEATH, P.H.A., STALEY, J.T. and WILLIAMS, S.T. 1994. Bergey's Mannual of Determinative Bacteriology, Ninth Edition, Williams and Wilkins, 566-570.
- JAZIRI, H. 1990. Variations génétiques et structuration biogéographique chez un bivalve marin: l'huître plate *Ostrea edulis* L. (PhD dissertation). Montpellier, France: University of Montpellier II.
- JORQUERA, M.A., RIQUELME, C.E., LOYOLA, L.A. and MUÑOZ, L.F. 1999. Production of bacterial substances by a marine vibrio isolated from cultures of the scallop *Argopecten purpuratus*. *Aquaculture International*, 7: 433-448.
- KELLY, M.T. and STROH, E.M.D. 1988. Occurrence of *Vibrionaceae* in natural and cultivated oyster populations in the Pacific Northwest. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 9 (1): 1-5

- KIM, W. and SURETTE, M.G. 2003. Swarming populations of *Salmonella* represent a unique physiological state coupled to multiple mechanisms of antibiotic resistance. *Biological Procedures Online*, 5: 189-196.
- KORUN, J. 2009. Balık ve kabuklu su ürünleri orijinli zoonotik hastalıklar üzerine bir çalışma. *İnfeksiyon Dergisi*, 23 (3): 151-156.
- KORUN, J., AKGÜN-DAR, K. and YAZICI, M., 2009. Isolation of *Shewanella putrefaciens* from cultured European sea bass, (*Dicentrarchus labrax*) in Turkey. *Revue de Medecine Veterinaire*, 160 (11): 532-536.
- KOTHARY, M.H., DELSTON, R.B., CURTIS, S.K., MCCARDEL, B.A. and TALL, B.D. 2001. Purification and characterization of a vulnificolysin-like cytotoxin produced by *Vibrio tubiashii*. *Applied and Environmental Microbiology*, 67 (8): 3707-3711.
- KUMLU, M. 2001. Karides, İstakoz ve Midye Yetiştiriciliği Ders Kitabı. Çukurova Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Yayınları, No:6, 303 sayfa.
- LODEIROS, C., BOLINCHES, J., DOPAZO, C.P. and TORANZO, A.E. 1987. Bacillary Necrosis in hatcheries of *Ostrea edulis* in Spain. *ScienceDirect*, 65 (1): 15-29.
- MACIÁN, M.C., LUDWIG, W., AZNAR, R., GRIMONT, P.A.D., SCHLEIFER, K.H., GARAY, E. and PUJALTE, M.J. 2001. *Vibrio lentus* sp. nov., isolated from Mediterranean oysters. *Internal Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 51: 1449-1456.
- MCKEE, L.G. 1963. The oyster, Clam, Scallop, and Abalone Fisheries. Industrial Fisheries Technology, 184 pp, London.
- MCNEVIN A.A. 2007. Farmed Oysters. Seafood Watch, Monterey Bay Aquarium, 41 pp.
- MUSA, N., WEI, L.S., WEE, W., LEONG, L.K., SHAH, S.M. and YING, T.H. 2008. Studies of phenotypic and numerical taxonomy of *Vibrio* spp. isolated from oyster, *Crassostrea iredalei*. *World Journal of Agricultural Sciences*, 4 (2): 189-197.
- NOGUEROLA, I. and BLANCH, A.R. 2008. Identification of *Vibrio* spp. with a set of dichotomous keys. *Journal of Applied Microbiology*, 1-11.
- PAILLARD, C., ASHTON-ALCOX, K.A. and FORD, S.E. 1996. Changes in bacterial densities and hemocyte parameters in Eastern oysters, *Crassostrea virginica*, affected by juvenile oyster disease. *Aquatic Living Resources*, 9: 145-158.

- PAILLARD, C., LE ROUX, F. and BORREGO, J.J. 2004. Bacterial disease in marine bivalves, a review of recent studies: Trends and evolution. *Aquatic Living Resources*, 17: 477-498.
- PANEBIANCO, A., GIUFFRIDA, A., CONTE, F., ZIINO, G., MINNITI, A. and IANNUZZI, L. 2004. Research on bacteraemia in cultured rainbow trout. *Veterinary Research Communications*, 28: 261-263.
- PERKINS, F.C. 1993. Infectious Diseases of Mollusc: In: Pathobiology of Marine and Estuarine Organisms. Eds. Couch, J. A., Fournie, J. W., 531 pp.
- PILLAY, T.V.R. 1995. Aquaculture Principles and Practices. Fishing News Books, 575 pp.
- POPOVIC, N.T., SKUKAN, A.B., STRUNJAK- PEROVIC, I., COZ- RAKOVAC, R., HACMANJEK, M. and HUNJAK, B. 2004. Comparison of the API 20E and BBL Crystal E/NF identification systems for differentiating bacterial isolates from apparently healthy reared Sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Veterinary Research Communications*, 28: 93-101.
- PUJALTE, M.J., ORTIGOSA, M., MACIAN, M.C. and GARAY, E. 1999. Aerobic and facultative anaerobic heterotrophic bacteria associated to Mediterranean oysters and seawater. *International Microbiology*, 2: 259-266.
- RICHARDS, G.P., WATSON, M.A., CRANE III, E.J., BURT, I.G. and BUSHEK, D. 2008. *Shewanella* and *Photobacterium* spp. in oysters and seawater from the Delaware Bay. *Applied and Environmental Microbiology*, 74 (11): 3323-3327.
- QUAYLE, D.B. 1980. Tropical Oysters: Culture and Methods. Ottawa, Ontario, IDRC.
- SEELEY, H.W. Jr., VANDEMARK, P.J. and LEE, J.J. 1991. Microbes in Action, A Laboratory Manual of Microbiology. Fourth Edition, 448 pp, New York.
- SUGUMAR, G., NAKAI, T., HIRATA, Y., MATSUBARA, D. and MUROGA, K. 1998. *Vibrio splendidus* biovar II as the causative agent of bacillary necrosis of Japanese oyster *Crassostrea gigas* larvae. *Disease of Aquatic Organisms*, 33: 111-118.
- TAMPLIN, M.L. and CAPERS, G.M. 1992. Persistence of *Vibrio vulnificus* in tissues of Gulf Coast oysters, *Crassostrea virginica*, exposed to seawater disinfected with UV light. *Applied and Environmental Microbiology*, 58 (5): 1506-1510.
- TORIGOE, K. 1981. Oyster in Japan. J.Sci. Hiroshima Uni. Ser. B., Div. 1 (Zoology), 29 (2): 291-418.
- UYAN, O. and ARAL, O. 2000. A Study on the possibilities of obtaining larva from native Flat oysters (*Ostrea edulis* L.) living in the Black Sea and larval metamorphosis stage. *Turkish Journal of Zoology*, 24: 343-350.

- VALLAT, B. 2008. Aquatic Animal Health Code, 11th Edition. OIE Standarts.
- WALLACE, R.K., WATERS, P. and RIKARD, F.S. 2008. Oyster Hatchery Techniques. SRAC Publication No. 4302.
- WALNE, P.R. 1974. Culture of Bivalve Molluscs 50 years experience at Conwy. Fishing News Books Ltd. Farnham, Surrey England, 189 pp.
- ZRNČIĆ, S., ORAIĆ, D., MIHALJEVIĆ, Ž. and ZANELLA, D. 2007. Impact on varying cultivation depths on growth rate and survival of the European flat oyster *Ostrea edulis*, L. *Aquaculture Research*, 38: 1305-1310.

ÖZGEÇMİŞ

Nilay SÜTÇÜOĞLU 1985 yılında KKTC/Lefkoşa'da doğdu. İlk, orta ve lise eğitimini Lefkoşa'da tamamladı. 2003 yılında girdiği Akdeniz Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi'nden 2007 yılında Su Ürünleri Mühendisi olarak mezun oldu. Eylül 2007 yılında Akdeniz Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi'nde yüksek lisans eğitimine başladı.