

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ



**TATLISU İSTAKOZUNDA (*Astacus leptodactylus*) YANIK LEKE HASTALIĞI
ETKENİ *Fusarium avenaceum*'un PCR YÖNTEMİ İLE TEŞHİSİ**

Büşra ARLI

**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
SU ÜRÜNLERİ MÜHENDİSLİĞİ
ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

ARALIK 2017

ANTALYA

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ



**TATLISU İSTAKOZUNDA (*Astacus leptodactylus*) YANIK LEKE
HASTALIĞI ETKENİ *Fusarium avenaceum*'un PCR YÖNTEMİ İLE
TEŞHİSİ**

Büşra ARLI

**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
SU ÜRÜNLERİ MÜHENDİSLİĞİ
ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

ARALIK 2017

ANTALYA

**T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**TATLISU İSTAKOZUNDA (*Astacus leptodactylus*) YANIK LEKE
HASTALIĞI ETKENİ *Fusarium avenaceum*'un PCR YÖNTEMİ İLE
TEŞHİSİ**

Büşra ARLI

SU ÜRÜNLERİ MÜHENDİSLİĞİ

ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Bu tez Akdeniz Üniversitesi BAPKB tarafından FLY-2017-2632 No'lu proje ile desteklenmiştir.

ARALIK 2017

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TATLISU İSTAKOZUNDA (*Astacus leptodactylus*) YANIK LEKE HASTALIĞI
ETKENİ *Fusarium avenaceum*'un PCR YÖNTEMİ İLE TEŞHİSİ

Büşra ARLI

SU ÜRÜNLERİ MÜHENDİSLİĞİ

ANABİLİM DALI

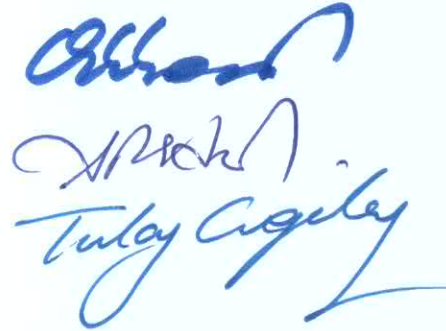
YÜKSEK LİSANS TEZİ

Bu tez 28/12/2017 tarihinde jüri tarafından Oybirliği ile kabul edilmiştir.

Doç. Dr. Süleyman AKHAN (Danışman)

Doç. Dr. Şevki KAYIŞ

Doç. Dr. İ. Tülay ÇAĞATAY



ÖZET

TATLISU İSTAKOZUNDA (*Astacus leptodactylus*) YANIK LEKE HASTALIĞI ETKENİ *Fusarium avenaceum*'un PCR YÖNTEMİ İLE TEŞHİSİ

Büşra ARLI

Yüksek Lisans Tezi, Su Ürünleri Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Süleyman AKHAN

Aralık 2017; 73 Sayfa

Bu çalışmada, Türkiye sularında dağılım gösteren tatlısu ıstakozunda (*Astacus leptodactylus*) yanık leke hastalığına yol açan *Fusarium avenaceum* mantar etkeninin izole edilmesi ve moleküler teşhisi amaçlanmıştır. Pek çok kabuklu hayvan ve tatlısu ıstakozlarında bu hastalığa neden olan *Fusarium avenaceum* mantar türünün Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) yöntemi ile moleküler düzeyde tespiti amaçlanmıştır.

Bayramşah, Karaidemir (Tekirdağ) ve Keban (Elazığ) baraj göllerinden yakalanan tatlısu ıstakozları dokularından örnek alınmış ve PDA besiyerlerine ekimi yapılmıştır. Üretilen mantar izolatlarından DNA izolasyonu yapılmış ve mantar türlerinin moleküler olarak tanımlanmasında yaygın olarak kullanılan ITS bölgesi FAF1 (5'-AACATACCTTAATGTTGCCTCGG-3') ve FAR (5'-ATCCCAACACCAACCCGAG-3') primerleri kullanılarak PCR işlemi ile çoğaltılmıştır. Çoğaltılan bölgelerde dizi analizleri yapılarak elde edilen diziler GenBank'ta blast edilerek üretilen izolatların kesin teşhisi gerçekleştirilmiştir.

Bu çalışma ile Türkiye sularında dağılım gösteren bazı *Astacus leptodactylus* popülasyonlarında yanık leke hastalığına neden olan ve ikincil hastalık olarak belirtilen *Fusarium avenaceum*'un moleküler düzeyde teşhisi yapılarak hastalık etkeni tür düzeyinde tanımlanmış ve doğrulanmıştır.

ANAHTAR KELİMELER: *Fusarium spp.*, tatlısu ıstakozu, PCR, yanık leke hastalığı

JÜRİ: Doç. Dr. Süleyman AKHAN

Doç. Dr. Şevki KAYIŞ

Doç. Dr. İ. Tülay ÇAĞATAY

ABSTRACT

IDENTIFICATION OF BURN SPOT DISEASE AGENT *Fusarium avenaceum* BY PCR IN NARROW-CLAWED CRAYFISH *Astacus leptodactylus*

Büşra ARLI

M. Sc. Thesis in Fisheries and Aquaculture Engineering

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Süleyman AKHAN

December 2017, 73 Pages

In this study, isolation of *Fusarium avenaceum* which is the causative agent of burn spot disease was aimed. We also aimed molecular identification of the fungi species, *Fusarium avenaceum* which causes burn spot disease in most of crustacean species by polymerase chain reaction (PCR) method.

Tissue samples were taken from crayfish specimens which were caught Bayramşah, Karaidemir and Keban dam lakes inoculated to PDA medium for cultivation. Total DNAs were extracted from fungi isolates and 310 bp fragment from ITS regions which is commonly amplified for identification of fungi were amplified by PCR using FAF1 (5'-AACATACCTTAATGTTGCCTCGG-3') and FAR (5'-ATCCCAACACCAAACCCGAG-3') primers. PCR products were sequenced and obtained sequences from ITS regions subjected to BLAST analysis in GenBank to validate identifications.

With this study, *Fusarium avenaceum* associated with burn spot disease was identified and confirmed from some of crayfish populations indigenous to Turkey.

KEYWORDS: Burn spot disease, crayfish, *Fusarium spp.*, PCR

COMMITTEE: Doç. Dr. Süleyman AKHAN

Doç. Dr. Şevki KAYIŞ

Doç. Dr. İ. Tülay ÇAĞATAY

ÖNSÖZ

Bu çalışma, Akdeniz Üniversitesi Su Ürünleri Anabilim Dalı'nda yüksek lisans tezi olarak hazırlanmış ve Türkiye'nin göllerinde doğal olarak bulunan tatlısu ıstakozunda yanık leke hastalığına neden olan *Fusarium avenaceum* türünün moleküler düzeyde tanımlanması amaçlanmıştır.

Yüksek lisans danışmanlığımı üstlenerek öğrencilik süresince deneyimlerini ve önerilerini hiçbir zaman esirgemeyen, çalışmalarımın sürdüğü süre boyunca beni destekleyip yönlendiren danışman hocam Doç. Dr. Süleyman AKHAN'a yardımlarından dolayı sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bilgilerini paylaşan ve desteğini esirgemeyen değerli hocam Doç. Dr. İ. Tülay ÇAĞATAY'a, bu süre boyunca laboratuvarında beraber çalıştığımız ve bana yardımcı olan ekip arkadaşlarım Su Ürünleri Mühendisi Tuba ÇATLI ve Su Ürünleri Mühendisi Yiğit TAŞTAN'a teşekkür ederim.

Hayatımın her anında bana destek veren, ilgilerini ve sevgilerini esirgemeyen sevgili anneme, babama ve tüm aileme sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
ÖNSÖZ.....	iii
İÇİNDEKİLER.....	iv
AKADEMİK BEYAN.....	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xii
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK TARAMASI.....	5
2.1. Tatlısu Istakozunun (<i>Astacus leptodactylus</i>) Sistematığı, Biyolojisi ve Morfolojisi.....	5
2.2. Tatlısu Istakozlarında (<i>Astacus leptodactylus</i>) Görülen Hastalıklar.....	8
2.2.1. Viral hastalıklar.....	8
2.2.2. Bakteriyel hastalıklar.....	8
2.2.3. Paraziter hastalıklar.....	9
2.2.4. Mantar hastalıkları.....	10
2.2.4.1. Tatlısu istakozu (Kerevit) vebası.....	10
2.2.4.2. <i>Saprolegnia parasitica</i> enfeksiyonu.....	12
2.2.4.3. Yanık leke hastalığı.....	12
2.3. <i>Fusarium</i> Cinsi Hakkında Genel Bilgi ve Yapılan Çalışmalar.....	13
2.3.1. <i>Fusarium avenaceum</i> ' un sistematığı.....	15
2.3.2. <i>Fusarium avenaceum</i> ' un morfolojisi.....	15
2.4. Moleküler Tanı Yöntemleri.....	17
3. MATERYAL VE METOT.....	20
3.1. Materyal.....	20

3.1.1. Tatlısu ıstakozu materyali ve örnekleme yapılan su kaynakları.....	20
3.1.2. Çalışmada kullanılan kimyasallar.....	21
3.1.2.1. Potato Dextrose Agar (PDA) besiyeri ve hazırlanması	21
3.1.2.2. DNA izolasyonu ve PZR uygulamasında kullanılan çözeltiler	22
3.1.2.3. Elektroforez işleminde kullanılan kimyasallar ve çözeltiler.....	22
3.1.3. Yararlanılan alet ve ekipmanlar.....	23
3.2. Metot	23
3.2.1. Tatlısu ıstakozu materyalinin laboratuvara getirilmesi.....	23
3.2.2. Tatlısu ıstakozu dokusundan mantar izolasyonu ve izolatların saklanması.....	24
3.2.3. Mantar DNA izolasyonu.....	25
3.2.4. Primerlerin hazırlanması ve PZR optimizasyonu.....	28
3.2.5. DNA ve PZR amplifikasyon ürünlerini görüntülemek için kullanılan jel elektroforezi, boyama ve görüntüleme	30
3.2.6. Dizi Analizi.....	31
3.2.7. Verilerin Değerlendirilmesi	31
4. BULGULAR	32
4.1. Klinik bulgular	32
4.2. Üretilen mantar izolatlarına ait bulgular	33
4.3. Mantar izolatlarına ait morfolojik bulgular	34
4.4. Mantarlardan saflaştırılan toplam DNA bulguları.....	37
4.5. PZR Uygulamalarına İlişkin Bulgular.....	38
4.5.1. Mantar izolatlarına ait PZR bulguları.....	38
4.5.2. Dizi analizi, dizilerin GenBank'tan blast edilerek doğrulanması.....	38
5. TARTIŞMA.....	44
6. SONUÇLAR.....	47
7. KAYNAKLAR.....	48

ÖZGEÇMİŞ

AKADEMİK BEYAN

Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “Tatlısu Istakozunda (*Astacus leptodactylus*) Yanık Leke Hastalığı Etkeni *Fusarium avenaceum*'un PCR Yöntemi İle Teşhisi” adlı bu çalışmanın, akademik kurallar ve etik değerlere uygun olarak bulunduğunu belirtir, bu tez çalışmasında bana ait olmayan tüm bilgilerin kaynağını gösterdiğimi beyan ederim.

25/12/2017

Büşra ARLI

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

cm	: Santimetre
dH ₂ O	: Saf su
g	: Gram
ha	: Hektar alan
hm ³	:Hektometreküp
kg	: Kilogram
km	: Kilometre
L	: Litre
m	: Metre
mg	: Miligram
MgCl ₂	: Magnezyum klorür
mM	: Milimolar
ng	: Nanogram
pmol	: Pikomol
µg	: Mikrogram
µl	: Mikrolitre
°C	: Derece santrigrat

Kısaltmalar

bç	: Baz çifti
DNA	: Deoksiribonükleik asit
dNTP	: Deoksiribonükleotid trifosfat
EtBr	: Ethidium Bromür
EDTA	: Etilendiamin Tetra Asetik Asit

HRV	: Hırane rabdovirüs
ITS	: Transkripsiyonu yapılan iç ara bölgeler
NCBI	: Ulusal Biyoteknoloji Bilgi Merkezi
PZR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PFGE	: Pulsed-Field Jel Elektroforezi
TBE	: Tris-Borik Asit-Edta karışımı
TÜİK	: Türkiye İstatistik Kurumu
16S rDNA	: Ribozomal DNA
RAPD	: Rastgele Arttırılmış Polimorfik DNA
RFLP	: Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi
AFLP	: Çoğaltılmış Parça Uzunluk Polimorfizmi

Tezde ondalık yazım olarak “,” noktalama işareti kullanılmaktadır.

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. 1979-2016 yılları arası Türkiye’de tatlısu ıstakozu üretimi (ton/yıl) (Alpbaz 2009; Harlıoğlu 2004; TÜİK 2017)	3
Şekil 2.1. Tatlısu ıstakozu dorsal görünüm (Orijinal).....	7
Şekil 2.2. Tatlısu ıstakozu ventral görünüm (Orijinal)	7
Şekil 2.3. Porselen hastalığı (Quaglio vd. 2011)	10
Şekil 2.4. Tatlısu ıstakozu (kerevit) vebasası semptomlarının canlı üzerindeki görüntüsü (Orijinal).....	11
Şekil 2.5. <i>Saprolegnia parasitica</i> mikroskobik görüntüsü (Diéguez-Uribeondo vd. 2007)	12
Şekil 2.6. <i>F. avenaceum</i> ’un PDA besiyerindeki görünümü (Makkonen 2013).....	16
Şekil 2.7. <i>F. avenaceum</i> ’un makrokonidi şeklindeki spor yapısı (Dubos vd. 2011)	16
Şekil 2.8. Fusarium türlerine ait makrokonidi şeklindeki spor yapıları. A-D; Makrokonidiyal şekil ve uzunluktaki değişimler. A, <i>F. decemcellulare</i> . B, <i>F. longipes</i> . C, <i>F. culmorum</i> . D, <i>F. chlamydosporum</i> . E-H, Makrokonidiyanın bazal hücrelerindeki değişim. E, <i>F. culmorum</i> . F, <i>F. crookwellense</i> . G, <i>F.avenaceum</i> . H, <i>F. longipes</i> . I-L, Makrokonidi apikal hücrelerdeki değişim. I, <i>F. culmorum</i> . J, <i>F. decemcellulare</i> . K, <i>F. verticillioides</i> . L, <i>F. longipes</i> (Summerell vd. 2003)	17
Şekil 2.9. Funguslarda ribozomal RNA geni ve çevresindeki ITS bölgelerinin görünümü (Begerow vd. 2010)	18
Şekil 3.1. Tatlısu ıstakozu örnekleme yapılan su kaynakları	21
Şekil 3.2. Tatlısu ıstakozu örneklerinin laboratuvara getirilmesi	24
Şekil 3.3. Melanize dokunun PDA besiyerine ekimi	24
Şekil 3.4. a) Preparat hazırlanması; b) Preparatların mikroskopta incelenmesi	25
Şekil 3.5. DNA izolasyonu hazırlık aşaması	26
Şekil 3.6. Mantarın havanda ezilmesi	26
Şekil 3.7. Mantarın havanda ezilmesi	27
Şekil 3.8. Havanda ezilen mantarın tüplere aktarılması	27
Şekil 3.9. Mantarın çöktürülmesi.....	28
Şekil 3.10. a) Hazırlanan karışımın PZR tüplerine eklenmesi; b) Hazırlanan karışımın thermal cycler’a yerleştirelmesi.....	29

Şekil 3.11. a) DNA örneklerinin jele yüklenmesi; b) PZR örneklerinin jele yüklenmesi	31
Şekil 4.1. Semptomlu tatlısu ıstakozlarında yanık leke hastalığının klinik bulguları.....	32
Şekil 4.2. Semptomlu tatlısu ıstakozlarında yanık leke hastalığının klinik bulguları.....	32
Şekil 4.3. Karaidemir Barajına ait numunelerden üretilen <i>F. avenaceum</i> izolatının petride görünümü (Orijinal)	33
Şekil 4.4. Bayramşah Barajına ait numunelerden üretilen <i>F. avenaceum</i> izolatının petride görünümü (Orijinal)	34
Şekil 4.5. Sporilazyona tabi tutulan <i>F. avenaceum</i> 'un mikrokonidi ve makrokonidi sporlarının görünümü (x400).....	35
Şekil 4.6. <i>F. avenaceum</i> 'un hifaları (x400)	35
Şekil 4.7. <i>F. avenaceum</i> 'un hifası ve konidyofordan mikrokonidi üretimi (x400)	36
Şekil 4.8. Laktofenol pamuk mavisi boya ile boyanmış <i>F. avenaceum</i> 'un sporları (mikrokonidi ve makrokonidi) (x400)	36
Şekil 4.9. Laktofenol pamuk mavisi boya ile boyanmış <i>F. avenaceum</i> 'un mikrokonidi şeklindeki spor yapısı (x400)	37
Şekil 4.10. <i>F. avenaceum</i> türü mantardan elde edilen genomik DNA izolasyonlarının %1,2'lik agaroz jel görüntüleri. 1 ve 2; Bayramşah Göleti'nden elde edilen mantar DNA'sı, 3 ve 4; Karaidemir Baraj Göleti'nden elde edilen mantar DNA'sı, 5 ve 6; Keban Baraj Gölü'nden elde edilen mantar DNA'sı.....	37
Şekil 4.11. Mantar örneklerinin FAF1 ve FAR primerleri ile ITS bölgesindeki PZR reaksiyon sonuçları. L: Markır, NK: Negatif kontrol, 1 ve 2; Bayramşah Göleti'nden elde edilen mantarın PZR sonucu, 3 ve 4; Karaidemir Baraj Göleti'nden elde edilen mantarın PZR sonucu, 5 ve 6; Keban Baraj Gölü'nden elde edilen mantarın PZR sonucu	38
Şekil 4.12. İncelenen gen bölgelerindeki nükleotid farklılıklar.....	41
Şekil 4.13. Elde edilen izolatların <i>F. avenaceum</i> türüne ait genetik mesafeler	43

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1. Türkiye’de yetiştiricilik yoluyla elde edilen toplam su ürünleri üretim miktarları (TÜİK 2017)	1
Çizelge 2.1. Tatlısu ıstakozunun (<i>Astacus leptodactylus</i> Eschholtz, 1823) sistematigi (Kumlu 1998)	5
Çizelge 2.2. <i>Fusarium avenaceum</i> ’ un sistematigi (Leslie ve Summerell 2006)	15
Çizelge 3.1. Tatlısu ıstakozu örnekleme yapılan su kaynakları	20
Çizelge 3.2. PDA (Potato Dextrose Agar) besiyerinin hazırlanışı.....	22
Çizelge 3.3. DNA izolasyonunda kullanılan kimyasallar	22
Çizelge 3.4. 10XTBE (Tris Boric Asit EDTA) Tamponu	23
Çizelge 3.5. Agaroz jel hazırlanışı	23
Çizelge 3.6. Mantar için hazırlanan primer listesi (Mishra 2003)	28
Çizelge 3.7. PZR için hazırlanan tüp içeriği	28
Çizelge 3.8. <i>F. avenaceum</i> ’un genomik DNA’sı için PZR protokolü.....	29
Çizelge 3.9. Agaroz jel elektroforezinde kullanılan kimyasal maddeler	30
Çizelge 4.1. Çalışma sonucu üretilen izolatlara ait dizi sonuçları	38
Çizelge 4.2. <i>F. avenaceum</i> izolatlarına ait blast sonuçları.....	42
Çizelge 4.3. <i>F. avenaceum</i> izolatına ait alınan GenBank ulaşım numaraları	42
Çizelge 4.4. Üç istasyona ait <i>F. avenaceum</i> izolatları arasında hesaplanan genetik mesafe.....	43

1. GİRİŞ

Üç tarafı denizlerle çevrili olan Türkiye, sahip olduğu tatlısu kaynakları ile birlikte zengin su kaynaklarına ve potansiyeline sahiptir. Ülkemiz çevresini saran denizlerde 7.816 kıyı şeridinde sahiptir buna adalara ait kıyı şeridi de ilave edildiğinde toplam kıyı uzunluğu 8.333 km uzunluğa erişmektedir. İç su kaynakları olarak yaklaşık 1 milyon hektar doğal göllere, 200.000 km²'ye yakın akarsuya, 70.000 hektarlık lagün gölüne ve 3.419 km² baraj gölüne, 8.903 km² doğal göle sahiptir. Sahip olunan bu su kaynakları ise su ürünleri üretimi için toplamda 25.577.200 ha potansiyel yüzey alanı oluşturmaktadır (Anonim 2001; Çelikkale vd. 1999; Yıldırım vd. 2004). Toplam üretim alanlarının yaklaşık % 95,48'ini denizler (24.135.000 ha), % 3,52'sini doğal göller (890.300 ha), % 1,35'ini baraj gölleri (341.900 ha), % 0,79'unu akarsular (2.000 km²), % 0,27'sini lagün gölleri (70.000 ha) ve yaklaşık % 0,04'ünü (10.000 ha) göletlerin oluşturduğu bildirilmektedir (Yıldırım vd. 2004).

Ülkemizde halihazırda sahip olunan su kaynaklarından gerek avcılık gerekse yetiştiricilik yoluyla üretim yapılmaktadır. Su ürünleri üretiminin önemli bir kısmını oluşturan avcılık yoluyla üretim oldukça eski tarihlerden beri yapılmakta iken su ürünleri yetiştiriciliği ülkemizde 1970'li yıllarda sazan ve alabalık yetiştiriciliği ile başlamıştır. Yetiştiricilik serüveni 1980'li yıllarda Ege ve Akdeniz'de çipura ve levrek, 1990'lı yıllarda Karadeniz'de kafeslerde somon yetiştiriciliği ile devam etmiş, 2000'li yılların başında ise Ege ve Akdeniz'de orkinos yetiştiriciliği ile büyük bir ivme kazanmıştır (Anonim 2011; Yeşilayer vd. 2013; Aydın 2016). İnsan beslenmesinde önemli yeri olan su ürünleri üretimimiz 2016 yılında yapılan toplam 588.715 ton olarak gerçekleşmiştir. Bu üretimin 335.320 tonu avcılık yoluyla 253.395 tonu ise yetiştiricilik yoluyla elde edilmiştir. 2000 yılında toplam üretimin %86,4'ü avcılık, %13,6'sı yetiştiricilik yoluyla sağlanırken bu oranlar günümüzde yetiştiricilik üretimi artarak %43'lere ulaştığı görülmektedir. Ülkemizde kişi başına düşen su ürünleri tüketimi yıllık üretimle artan nüfusa göre her geçen yıl azalmaktadır. 2007 yılında 8,6 kg olan ortalama tüketim 2016 yılında azalarak 5,4 kg'a gerilemiştir (Çizelge 1.1.) (TÜİK 2017).

Çizelge 1.1. Türkiye'de yetiştiricilik yoluyla elde edilen toplam su ürünleri üretim miktarları (TÜİK 2017)

Yıllar	Avcılık Üretimi (Ton)			Yetiştiricilik Üretimi (Ton)			Toplam (Ton)	Kişi Başına Tüketim (Kg)
	Deniz	İçsu	Toplam	Deniz	İçsu	Toplam		
2000	460.521	42.824	503.345	35.646	43.385	79.031	582.376	8,0
2001	484.410	43.323	527.733	29.730	37.514	67.244	594.977	7,5
2002	522.744	43.938	566.682	26.868	34.297	61.165	627.847	6,7
2003	463.074	44.698	507.772	39.726	40.217	79.943	587.715	6,7
2004	504.897	45.585	550.482	49.895	44.115	94.010	644.492	7,8
2005	380.381	46.115	426.496	69.673	48.604	118.277	544.773	7,2

Çizelge 1.1.'in devamı.

2006	488.966	44.082	533.048	72.249	56.694	128.943	661.991	8,2
2007	589.129	43.321	632.450	80.840	59.033	139.873	772.323	8,6
2008	453.113	41.011	494.124	85.629	66.557	152.186	646.310	7,8
2009	425.275	39.187	464.462	82.481	76.248	158.729	623.191	7,6
2010	445.680	40.259	485.939	88.573	78.568	167.141	653.080	6,9
2011	477.658	37.097	514.755	88.344	100.446	188.790	703.545	6,3
2012	396.322	36.120	432.442	100.853	111.557	212.410	644.852	7,1
2013	339.047	35.074	374.121	110.375	123.019	233.394	607.515	6,3
2014	266.078	36.134	302.212	126.894	108.239	235.133	537.345	5,5
2015	397.731	34.176	431.907	138.879	101.455	240.334	672.241	6,1
2016	301.464	33.856	335.320	151.794	101.601	253.395	588.715	5,4

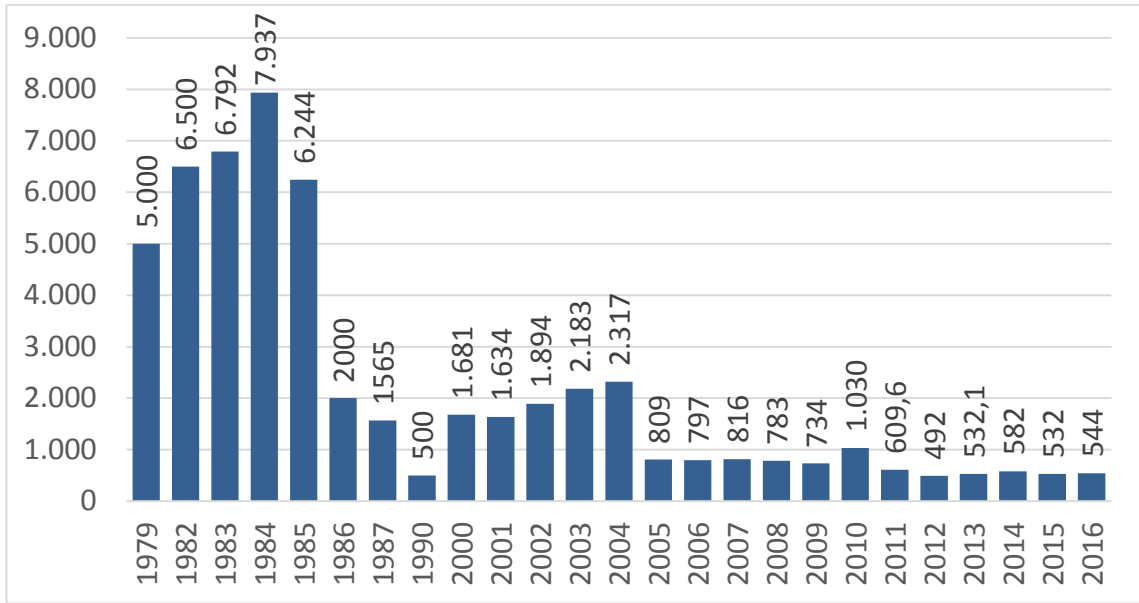
Avcılık yoluyla yapılan üretimi ise denizden ve içsullardan avlanan su ürünleri oluşturmaktadır. Türkiye’de henüz yetiştiricilik yoluyla üretimi yapılamayan tatlısu ıstakozu (*Astacus leptodactylus*) 1985 yılına kadar önemli bir ürün olarak görülürken sonraki süreçte hastalık ve aşırı avcılıktan kaynaklanan azalan üretim miktarları 544 tona kadar gerilemiştir. Türkiye’de tatlısu ıstakozu avcılığı 1960’lı yıllarda yurt dışında tatlısu ıstakozuna olan talebin arttığı zamanlara dayanır. 1984 yılında tatlısu ıstakozu üretiminin maksimum seviyede olduğu zamanlarda üretim miktarı 8.000 civarı iken, bir mantar hastalığı olan kerevit vebası (*Aphanomyces astaci*) nedeni ile 1984 sonrası üretimde çok ciddi azalmalar görülmüştür (Şekil 1.1.) (Ackefors ve Lindqvist 1994; Mazlum ve Yılmaz 2006).

Yüksek ekonomik değere sahip tatlısu ıstakozu (Türk kereviti, dar pençeli kerevit) *Astacus leptodactylus*, ülkemiz su kaynaklarında geniş bir yayılım alanına sahiptir (Köksal 1998; Harlıoğlu 2008; Harlıoğlu vd. 2017). Bu tür ile birlikte, Orta Avrupa’nın doğal ıstakoz türü *Austropotamobius torrentium* (taş kereviti) ülkemizde Batı Trakya Bölgesi’nde bazı su kaynaklarında dağılım gösterdiği bildirilmiştir (Harlıoğlu vd. 2006; Harlıoğlu vd. 2007; Guner vd. 2010; Harlıoğlu ve Farhadi 2017).

Tatlısu ıstakozları doğal yaşam alanlarında ekolojik denge içerisinde önemli rollere sahiptirler. Omnivor beslenme özelliğine sahip tatlısu ıstakozları pek çok organizmayı tüketebilmektedirler (Huner 1994; Bolat ve Kaya 2016). Ekosistemde, organik materyallerin işlenmesinde önemli rol oynayan bu canlılar sistemdeki enerji dengeleri üzerine etkilidirler (Hessen vd. 1993; Wallace vd. 1997; Zhang vd. 2003; Bolat ve Kaya 2016). Tatlısu ıstakozları durgun ve akarsu habitatlarında oynadıkları bu roller nedeni ile anahtar tür olarak görülmektedir (Hogger 1988; Momot 1995; Nyström 2002; Bolat ve Kaya 2016). Buldukları ortamdan yok olduklarında veya yeni bir

ortamda bulunmaları sucul ekosistem üzerinde ciddi birer etkiye neden olabilirler (Matthews ve Reynolds 1992; Nyström ve Strand 1996; Bolat ve Kaya 2016).

Türkiye’de 1986-1990 yılları arasında tatlısu ıstakozu avcılığı veba nedeniyle yasaklanmış, 1991 yılından sonra iyileştirilen popülasyonların düzenli olarak avcılığa açılması ile 2004 yılında tatlısu ıstakozu üretimi 2.317 tona yükselmiştir. Bu artış 2005 yılından itibaren tekrar gerilemiş ve 532 tona düşmüştür. 2016 yılında ise üretim miktarı 544 ton olarak gerçekleşmiştir. Türkiye’de tatlısu ıstakozu üretimi avcılık yoluyla sağlanmaktadır. Geçmiş yıllarda (1985 yılı ve öncesi) tatlısu ıstakozu üretimi yapılan avcılık üretimi içerisinde önemli bir paya sahipti ve 1984 yılında toplam üretim 7.937 ton olarak en yüksek üretim rakamına ulaşmıştır (Şekil 1.1.) (TÜİK 2017).



Şekil 1.1.1979-2016 yılları arası Türkiye’de tatlısu ıstakozu üretimi (ton/yıl) (Alpbaz 2009; Harlıoğlu 2004; TÜİK 2017)

Tatlısu ıstakozlarında veba hastalığından sonra bir diğer önemli hastalık *Fusarium* türlerinin neden olduğu hastalıklardır. *Fusarium* türü funguslar, tahıl yetiştiricilik alanlarında özellikle mısır ve küçük taneli tahıllarda yaygın olarak görülen patojen organizmalardır (Wright vd. 1997; Nicholson vd. 2003; Pirgozliey vd. 2003).

Bitkiler için patojen olan birçok *Fusarium* türü, hayvanlarda ve insanlarda patolojilere yola açabilen ikincil hastalıklara yol açabilmektedir (Bottalico 1988). Yanık leke hastalığı (*Fusarium avenaceum*), tatlısu ve deniz kabuklularında, kabuklarının erozyona uğraması ve nokta şeklinde melanizasyonlara yol açtığı bildirilmiştir (Evans ve Edgerton 2002). Hastalıkta görülen başlıca semptomlar; melanizasyon, renklenme lezyonları ve dış iskelet aşınmalarıdır. Hastalık düşük stok yoğunluğuna sahip doğal tatlısu ıstakozu stoklarında yaygın değildir, ancak stok yoğunluğu yüksek popülasyonlarda ve kültür stoklarında oldukça yaygındır ve tatlısu ıstakozlarının % 50’sini enfekte edebilmektedir (Evans ve Edgerton 2002).

Ülkemizde tatlısu ıstakozu hastalıkları ile ilgili çalışmaların neredeyse tamamı kerevit vebası üzerine yapılmıştır (Baran vd. 1987; Timur ve Timur 1988; Rahe ve Soylu 1989; Baran ve Soylu 1989; Timur 1990; Aydın ve Polatsü 1992; Timur vd. 2010). Türkiye sularındaki tatlısu ıstakozlarında (*A. leptodactylus*) yanık leke hastalığına sebebiyet veren bu mantar etkeni (*Fusarium avenaceum*) ile ilgili bir araştırma yapılmadığı görülmüştür. Bu tez çalışması ile ilk defa ülkemizdeki Türk tatlısu ıstakozu stoklarından yanık leke hastalığı etkeni (*Fusarium avenaceum*) moleküler olarak tür düzeyinde teşhis edilmiştir.

2. KAYNAK TARAMASI

2.1. Tatlısu İstakozunun (*Astacus leptodactylus*) Sistematığı, Biyolojisi ve Morfolojisi

Dünya'daki önemli tatlısu istakozu türlerinin 3 ayrı aileye mensup olduğu görülmektedir. Bunlardan iki aile kuzey yarım kürede dağılım gösteren *Cambaridae* ve *Astacidae*, diğeri ise güney yarım kürede dağılım gösteren *Parastacidae* ailesidir (Huner 1989). Dünya'da dağılım gösteren 400'den fazla tatlısu istakozu türü bulunduğu bildirilmektedir ve her geçen yıl yeni türler kayıt altına alınarak bunlara eklenmektedir. Dünya üzerinde dağılım gösteren maktadır ve bunlardan 10 adedi ekonomik öneme sahiptir (Huner 1994,1995). Bu türlerden 4'ü (*Procambarus clarkii*, *P. acutusacutus*, *P. zonangulus* ve *Orconectes immunis*) *Cambaridae* ailesine; 3'ü (*Astacus astacus*, *A. leptodactylus* ve *A. pacifastacus*) *Astacidae* ailesine ve 3 adedi (*Cherax quadricarinatus*, *C. tenuimanus* ve *C. destructor*) *Parastacidae* ailesine mensuptur (Huner 1995; Mazlum ve Yılmaz 2006).

Ülkemizde ise yaygın olarak bulunan doğal tatlısu istakozu türü, dar pençeli kerevit de denilen Türk kereviti *Astacus leptodactylus* türüdür (Akhan vd. 2014; Kalaycı ve Akhan 2016). *Astacidae* ailesine mensup olan tatlısu istakozunun sistematığı Çizelge 2.1.'deki gibidir.

Çizelge 2.1. Tatlısu istakozunun (*Astacus leptodactylus* Eschholtz, 1823) sistematığı (Kumlu 1998)

Şube	Arthropoda	Eklembacaklılar
Sınıf	Crustacea	Kabuklular
Alt Sınıf	Malacostraca	Gelişmiş Kabuklular
Takım	Decapoda	On ayaklılar
Aile	Astacidae	Tatlısu İstakozları
Cins	Astacus	Tatlısu İstakozu
Tür	<i>Astacus leptodactylus</i>	Tatlısu istakozu

A. leptodactylus, Avrupa tatlısu istakozlarına benzer olup soğuk bir türdür. Üreme dönemleri yaşadıkları ortamın iklim özelliklerine göre değişiklik göstermektedir. Su sıcaklıklarının düştüğü sonbahar aylarında üreme dönemleri başlamaktadır. Su sıcaklığının 7-12 °C olduğu Ekim-Kasım aylarında çiftleşme dönemleri başlar ve 4-6 hafta sonra (su sıcaklığının 6-11 °C olduğu dönemlerde) yumurta bırakırlar. Kış ve ilkbahar ayları yumurtaların kuluçka dönemleridir. Dişiler yumurtalarını ılıman iklim kuşağında 5-6 ay, soğuk iklim kuşağında 6-7 ay ve daha fazla süre taşımaktadırlar. Doğal koşullarda yumurtaların gelişim süreleri 150 ile 210 gün veya daha fazla zaman sürebilmektedir (Hofmann 1971; Mazlum ve Yılmaz 2012).

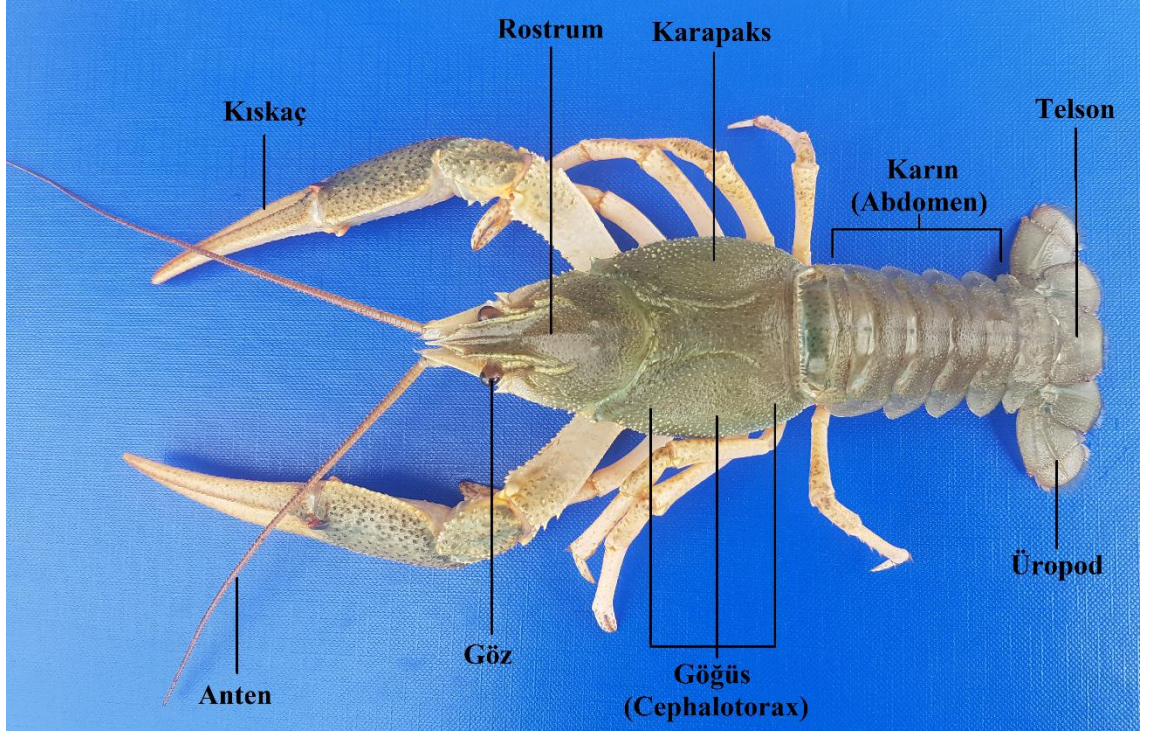
Ülkemizde tatlısu ıstakozları 2-3 yılda cinsi olgunluğa ulaşırlar. Dişi bireyler yılda bir kez ve 200-400 adet arasında yumurta verebilmektedirler (Lee ve Wickens 1992). Tatlısu ıstakozlarında kabuk değişimi canlının büyüklüğüne, buldukları ortama, mevsime ve yaşa bağlı olarak gerçekleşmektedir (Tcherekashina 1977; Mazlum ve Yılmaz 2012).

Tatlısu ıstakozlarının ortalama ömürleri 5 ile 20 yıl arasındadır. Bataklık ortamında oldukça hızlı gelişmektedirler ve 4-5 yılda boyları 10-12 cm uzunluğuna ve ağırlıkları da 75-100 g'a kadar ulaşabilmektedir. Su sıcaklığına bağlı olarak Ekim ve Kasım aylarında çiftleşirler ve Temmuz ayında yumurtalarını açarlar (Kaya ve Avsever 2008).

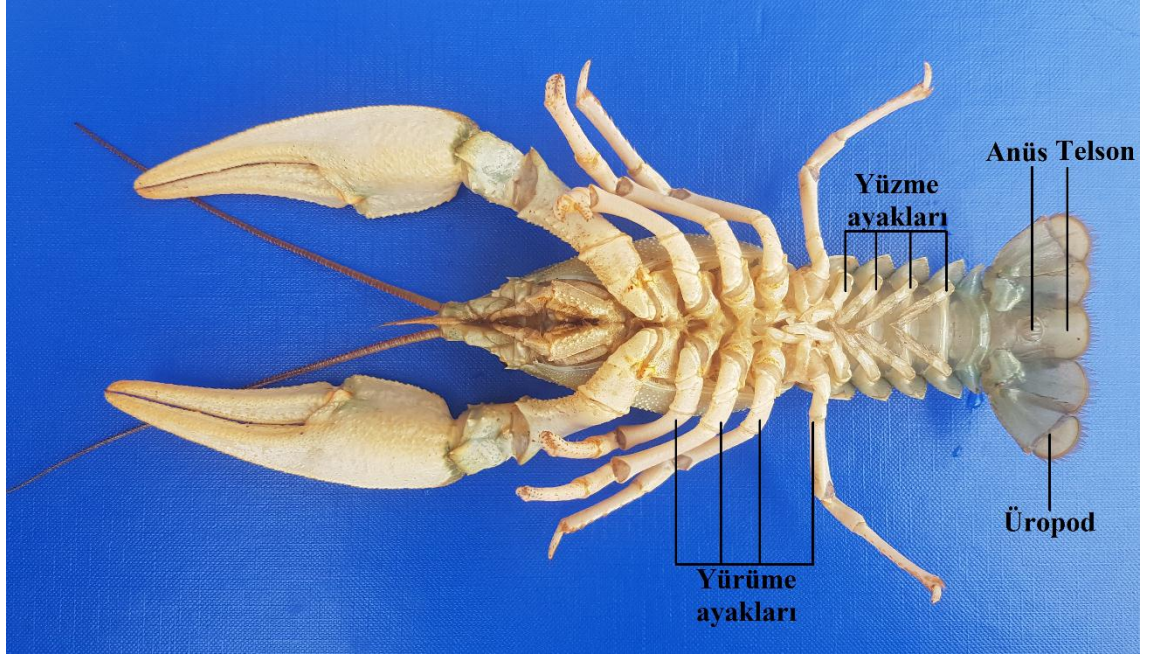
Tatlısu ıstakozlarının vücutları iki kısımdan oluşmaktadır. Bu kısımlar sefalotoraks (baş ve göğüs kısmı) ve abdomendir (karın kısmı). Bu kısımlar toplamda 19 segmentten oluşurlar. Baş ve toraksı kapsayan bölüm (sefalotoraks) sert ve bölümlenmemiş bir kabuk olup karapaksı oluşturur (Şekil 2.1.).

Baş kısmında; 2 çift anten, gözler, 1 çift mandibular uzantı, 2 çift maksil ve 3 çift maksilliped bulunur. Gözler arasından ileriye doğru uzanan rostrum adı verilen sivri bir çıkıntı bulunmaktadır. Ayrıca gözlerin ön ve arka kısımlarında diken şeklinde çıkıntıları vardır (Şekil 2.1.).

Toraks kısmı sekiz segmentten meydana gelmektedir. İlk üçünde çene ayakları denilen maksillipedler bulunmaktadır. Başkaca 5 çift de yürüme ayakları bulunmaktadır. İlk iki çifti keskin ve geniş olmakla birlikte, kısa olarak bilinmektedir. Abdomen kısmı alttan ve üstten belirgin şekilde segmentli bir yapıya sahiptir. Bölge birbiri üzerinde hareket eden 6 segmentten oluşmaktadır. Abdomen kısmında yüzme ayakları (pleopod) denilen çıkıntılar vardır. Dişilerde yüzme ayakları, yumurtalarını tutmalarını sağlar. Ayrıca tatlısu ıstakozu türlerinin teşhisinde, cinsiyet ve olgunluğunun tespitinde kullanılır. Son kuyruk kısmında da telson ve üropod bulunur ve dişilerde anüs bu kısmın ventralinden dışarı açılır (Şekil 2.2.). Erkeklerde ilk iki pleopod çifti spermin transferini sağlayacak şekilde özelleşmiştir. Tatlısu ıstakozu kuyruğunu karnının alt kısmına çekerek, karındaki kaslar sayesinde bulunduğu noktadan oldukça hızlı bir şekilde geri çekilmesini veya zıplamasını sağlar (Mazlum ve Yılmaz 2012).



Şekil 2.1. Tatlısu ıstakozu dorsal görünüm (Orijinal)



Şekil 2.2. Tatlısu ıstakozu ventral görünüm (Orijinal)

2.2. Tatlısu İstakozlarında (*Astacus leptodactylus*) Görülen Hastalıklar

2.2.1. Viral hastalıklar

Tatlısu istakozlarında görülen viral hastalıkların çoğu *Cherax* cinsine mensup türlerden rapor edilmiştir. Viral hastalıkların etkeninin çoğunlukla basilliform virüsler (IBVs) olduğu bildirilmiştir. Tatlısu istakozlarında en sık görülen viral hastalıklar ise; İntranükleer Basilliform Virüsler (IBV), Birnaviridae, Nimaviridae, Parvoviridae, Picornaviridae, Reoviridae, Totiviridae ve tanımlanmamış viral enfeksiyonlar olarak sınıflandırılmaktadır (Longshaw 2011).

Viral hastalıklar arasında en önemli olanı WSSV (Beyaz leke sendrom virüsü) hastalığıdır. Beyaz leke hastalığı, tatlısu istakozlarında görülen en ölümcül virüs hastalıklarından biridir. Mortalitesi çok yüksek olan bu virüs, tatlısu istakozlarında 3 ile 10 gün arasında %100'e varan ölümlere yol açtığı bildirilmiştir (Chou vd. 1995; Wongteerasupaya vd 1995).

2.2.2. Bakteriyel hastalıklar

Tatlısu istakozlarında bakteriyel enfeksiyonlar oldukça yaygın olarak görülmektedir ve birçoğu fırsatçı enfeksiyonlar olarak bilinmektedir. Genellikle tatlısu istakozlarından izole edilen bakteriler *Acinetobacter*, *Aeromonas*, *Bacillus*, *Citrobacter*, *Corynebacterium*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus* ve *Vibrio* cinslerine mensup bakterilerdir (Smith ve Söderhäll 1986; Vey 1986; Alderman ve Polglase 1988; Edgerton vd. 2002; Quaglio vd. 2006).

Tatlısu istakozlarında en sık görülen bakteriyel hastalıklar ise; *Coxiella cheraxi*, *Nocardia*, *Spiroplazma*, *Vibrio*, *Aeromonas* cinsine mensup bakteriler olarak bilinmektedir (Longshaw 2011).

Tatlısu istakozlarının mide florasında da bulunan *Flavobacterium* sp. türü kabuksuz dönemlerinde beslendikleri sıcak ve besince zengin sığ sularda, az miktarda patojenik toksinler salgılayan bakterilerdir. *Flavobacterium* sp. türünün salgıladığı endotoksinler istakoz vücudunda birikerek tutuldukları kapalı ortamlarda 12 ile 24 saat içerisinde ölümlerine neden olabilmektedir. Kerevitlerde *Pseudomonas* sp., *Citrobacter freudii* ve *Aeromonas* sp. hastalık etkeni olabilecek diğer bakteri türleridir. *Citrobacter freudii* türü tatlısu istakozlarında orta mide enfeksiyonuna neden olmaktadır. Hepatopankreas renginin kahverengiye dönüşmesine sebep olan etkenlerden biridir.

Tatlısu istakozlarında gözlenen bir diğer bakteriyel hastalık ise bakteriyel hemorajik sepsisemidir. Sepsisemi, çevre koşullarının uygun olmadığı durumlarda ortaya çıkmaktadır. Yüksek su sıcaklıkları, organik maddenin aşırı yoğunluğu, düşük oksijen seviyesi ve yüksek nitrit/nitrat konsantrasyonlarına maruz kalındığında enfeksiyonun yayılım hızı da artmaktadır. *Aeromonas*, *Pseudomonas* ve *Enterobakter* hemolenf sıvısında bulunan diğer bakteri türleridir ve istakozların doğal yaşam ortamlarında da bulunmaktadır. Hastalıklı bireylerde görülen semptomlar, hareketsizlik ve sonrasında ölüm olmaktadır. Tatlısu istakozlarının bağışıklık sisteminin zayıflaması ve bakterilerin salgıladıkları toksinler nedeniyle ölümleri gerçekleşmektedir. Yetiştiricilikte tatlısu istakozlarının yaklaşık %20-60'ı bu bakterileri taşımaktadır.

Doğal ıstakoz stoklarına oranla kültür koşullarında yaşayan ıstakozların daha yüksek oranda hastalandığı tahmin edilmektedir (Mazlum ve Yılmaz 2012).

Aeromonas hydrophila, genel olarak balıklar, midyeler ve insanlarda hastalık yaptığı bilinen, tatlı sulara yaygın olarak bulunan bir bakteri türüdür (Tulsidas vd. 2008). Bakteri sağlıklı olarak görünen tatlısu ıstakozlarından izole edilmiş ancak kültür koşullarında hastalığa neden olacağı öngörülmüştür (Quaglio vd. 2006).

İsveç'te Jiravanichpaisal vd (2009) *A. hydrophila* ve birkaç farklı bakteri türü izole etmiş; sıvı besiyerinde üretmiş, bakteriyel ekstraselüler ürünleri ayırmış ve farklı sıcaklıklarda tutulan tatlısu ıstakozlarından izole etmiştir. Bu bakterilerden birkaçı farklı sıcaklıklarda patojen olsa da ölümlerin çoğunun *A. hydrophila* türünden kaynaklı olduğunu tahmin etmişlerdir. *A. hydrophila* enjekte edilen kerevitlerde 22 °C sıcaklıkta 6 saat sonra ölümlerinin gerçekleşmeye başladığı bildirilmiştir. Enfekte edilmiş ıstakozlarda histolojik muayene sonucunda dokuda birçok nekrotik lezyon ve sinüslerde hemosit birikiminin olduğu rapor edilmiştir.

2.2.3. Paraziter hastalıklar

Psorospermium haeckeli, Haeckel (1857) tarafından bulunmuş ve Hilgendorf (1883) tarafından bir parazit türü olarak tanımlanmıştır. Bu parazit türü tatlısu ıstakozu karapaksının altındaki bağ doku liflerinin bağlı olduğu kısımlarda bulunmaktadır. Avrupa tatlısu ıstakozlarında çok sık görülmektedir. Parazit tatlısu ıstakozlarının kabuk değişimi sırasında ortaya çıkmaktadır ve ölümlere neden olmaktadır. 100 yıldan fazla süredir bilinen bu türün yaşam döngüsü hala tam olarak bilinmemektedir (Vogt ve Rug 1995).

Thelohania cinsleri Avrupa tatlısu ıstakozlarında ciddi bir patojeniteye sahiptir ve tatlısu ıstakozlarında porselen hastalığına yol açmaktadır. Bu türler tatlısu ıstakozlarının genellikle kas dokusunda bulunur ve opak veya beyazımsı bir renk oluştururlar. Bu parazit türü kas hücrelerinin içerisinde yaşamaktadır. Buldukları kas liflerinin de parçalanmasına neden olurlar. Tatlısu ıstakozlarının kısaç ve karın bölgesi bu durumdan en çok etkilenen bölgeleridir. Bazı durumlarda kalp ve mide kaslarında da bulunabilmektedir. Hastalığın ileri evrelerinde tatlısu ıstakozunun abdomen kısmında matlaşmalar görülmektedir (Şekil 2.3.) (Mazlum ve Yılmaz 2012).



Şekil 2.3. Porselen hastalığı (Quaglio vd. 2011)

Tatlısu ıstakozu sülüğü olarak bilinen *Branchiobdella*, 1-12 mm uzunluğuna sahip olan tatlısu ıstakozlarında ektokomensal ve ektosimbiyotik olarak görülmektedir. Tatlısu ıstakozlarının solungaç ve karapaksın dış bölgelerinde konakçı birey olarak görülür ve mevsime göre başka türleri de tatlısu ıstakozlarına konuşlanabilir (Edgerton vd. 2002). Konakçı bireyin aktarımı tatlısu ıstakozlarının birbiri ile teması sırasında gerçekleşir. *Branchiobdella*'lerin patojen olduğuna dair birkaç öneri vardır. Bunlardan en önemli olanı, bazı türlerinin konak bireyin solungaçlarında malenizasyona sebep olması olarak gösterilmektedir (Alderman ve Polglase 1988). *Branchiobdella* cinsi ile ilgili yalnızca bir mortalite bildirilmiş ve ölen bireyin de ölüm nedeni daha çok bakteriyolojik veya diğer tür patojenlerle ilgili olduğu bildirilmiştir (Hubault 1935). *B. hexadonta* türü tatlısu ıstakozlarının solungaçlarından kan sıvısı emerek parazitik etki gösterdiği bildirilmektedir (Mazlum ve Yılmaz 2012). Ülkemizde bu parazitin kerevitlerden verilen kaydı bulunmaktadır (Odabaşı vd. 2016).

2.2.4. Mantar hastalıkları

Aphanomyces astaci, kerevitlerde en çok çalışılan mantar hastalığıdır. Bununla birlikte, birçok farklı mantar türleri kerevitlerden izole edilmiş ve rapor edilmiştir. Bunlardan bazıları: *Fusarium spp.*, *Alternaria sp.*, *Hormodendrum sp.*, *Aspergillus sp.* ve *Uncinula sp.* olduğu söylenebilir. Ayrıca tatlısu ıstakozlarında hastalık yapan mantarlar Oomycetes, Sedariomycetes, Microsporidia olarak da sınıflandırılmaktadır (Longshaw 2011).

2.2.4.1. Tatlısu ıstakozu (Kerevit) vebası

Kerevit vebası ilk olarak Kuzey Amerika'dan Avrupa'ya 1860'lı yıllarda taşındığı tahmin edilmektedir (Cornalia 1860; Alderman 1996). Sonrasında Avrupa'nın tamamına yayılmış 1981'de İngiltere (Alderman vd. 1984), 1985'de Türkiye (Baran ve Soylu 1989; Rahe ve Soylu 1989), 1987'de İrlanda (Reynolds 1988) gibi birçok ülkede tespit edilmiştir. İsveç'te yerli kerevit popülasyonlarının %90'ının veba sebebiyle öldüğü tahmin edilmektedir (Edsman 2000). Bu hastalığa sebebiyet veren

Aphanomyces astaci'nin varlığı ve taşınma yolu yaklaşık 140 yıldır bilinmektedir (Oidtmann vd. 2002).

Türkiye'de kerevit vebası ilk olarak 1986'da Çivril gölünden rapor edilmiştir. Buradan diğer tatlı su kaynaklarına bulaşan hastalık nedeniyle ülkemiz tatlısu ıstakozu stokları büyük oranda tahrip olmuştur (Baran ve Soylu 1989; Avsever vd. 2011). *A. astaci*, Avrupa, Asya ve Avustralya tatlısu ıstakozu türlerine karşı patojenik olmasına rağmen Amerikan türleri veba etkeni mantara karşı duyarlı değildir (Şekil 2.4.) (Unestam 1969, 1972, 1975; Unestam ve Weiss 1970).



Şekil 2.4. Tatlısu ıstakozu (kerevit) vebası semptomlarının canlı üzerindeki görüntüsü (Orişinal)

A. astaci, Oomycota şubesine aittir ve Saprolegniales takımında yer almaktadır. Bu takım "watermoulds" ismi ile yaygın olarak bilinmektedir ve gerçek mantar olarak kabul edilmemektedir. Gerçek mantarlar olan Eumycota'dan daha çok kahverengi algere ve diyatomlara yakın akrabalarıdır (Stephens vd. 2005; Buller 2008). *A. astaci*, renksiz, şeffaf, ince dallanmış, septasız, granüler bir sitoplazmaya sahiptir. Hifalar; yuvarlak uçlu, kısa dallı olup 4-5 mikron genişliğine sahiptir (Alderman ve Polglase 1984). *A. astaci*'nin hifaları ıstakoz üzerinde kütikülün yumuşak kısımlarına yerleşir. Hifalar aynı zamanda ventral sinirlerde ve beyin gangliyonunda da gelişebilir. Ancak bu gelişim bazen histolojik muayenede görülmeyebilir. Hifalar özellikle gözde, nadir olarak da diğer organlarda görünür ve hastalık çok fazla ilerlemediği sürece kaslara ulaşmaz (Stephens vd. 2005). Ancak tatlısu ıstakozunda yapılan klinik bulgularda *A. astaci* mantarının canlı üzerinde kahverengi melanizasyonlara neden olduğu görülmektedir (Şekil 2.4.).

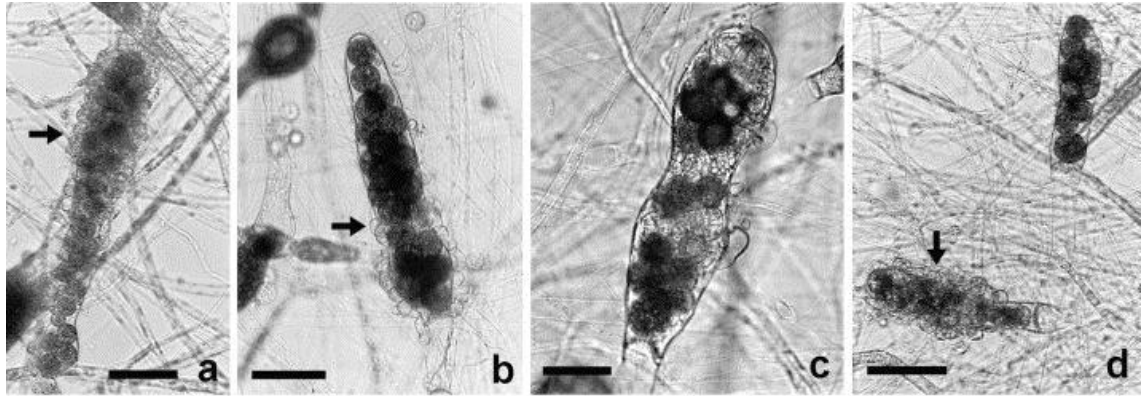
A. astaci kaynaklı enfeksiyon 4 aşamada gerçekleşmektedir. Bunlar; tanıma, tutunma, penetrasyon ve hastalık gelişimi aşamalarıdır (Cerenius ve Söderhäll 1984). Nyhlén ve Unestam (1978) tarafından gerçekleştirilen çalışmalarda hastalığın penetrasyon aşamasında *A. astaci*, konak bireyin dokusuna penetre olabilmek için

kitinolitik ve proteolitik enzimler sentezlemektedir. Donpuşa vd. (2010) tarafından yapılan çalışmada ise hastalığa dirençli olan *Pasifastacus leniusculus* türünde *A. astaci* tarafından sentezlenen proteolitik enzimleri inhibe eden mekanizmaları bulunmaktadır.

Bu hastalığın tatlı su kaynaklarına bulaşmasından sonra balıklar, su kuşları ve tatlısu istakozları patojen *A. astaci* mantarının sporlarını hızlı bir şekilde çevreye yaymalarına sebep olmuşlardır (Muller 1973; Timur vd. 2010).

2.2.4.2. *Saprolegnia parasitica* enfeksiyonu

Balıklarda patojen etkileri bilinen *Saprolegnia parasitica* bir mantar türü olmakla birlikte, deri üzerinde enfeksiyonlarına neden olmaktadır. Son yıllarda tatlısu istakozlarında ise % 60'lara varan ölümlere yol açmaktadır. Hastalığın yayılımı mantar sporlarının taşınımı ile olup, kerevit vebasına benzerlik göstermektedir. Yoğun stoklarda ise hızla yayılmaktadır. Balıklarda bağışıklık sisteminin zayıf olduğu, kış aylarında ve yumurtlama dönemlerinde gözlenmektedir (Şekil 2.5.) (Amborski 1980; Mazlum ve Yılmaz 2012).



Şekil 2.5. *Saprolegnia parasitica* mikroskopik görüntüsü (Diéguez-Uribeondo vd. 2007)

Tatlısu istakozu yumurtalarına bu enfeksiyon dışında farklı *Saprolegnia* sp. türleri de bulaşmaktadır. Daha çok döllenmemiş yumurtalara bulaşan bu tür, döllenmiş yumurtalarda ise hızlı bir şekilde yayılım gösterir. Bu mantar türünün bulaşma hızının oldukça düşük olması nedeniyle su kalitesinin iyi olduğu habitatlarda bir problem teşkil etmediği gözlemlenmiştir. (Mazlum ve Yılmaz 2012).

2.2.4.3. Yanık leke hastalığı

Yanık leke hastalığı etkeni bir tür mantar olan *Fusarium avenaceum* tarafından oluşturulmaktadır. Sucul canlılarda ve özellikle tatlısu istakozlarında kabukların erozyona uğraması şeklinde bildirilmiştir. Düşük stok yoğunluğuna sahip tatlısu istakozlarında yaygın olarak görünmeyen bu mantar türü, stok yoğunluğunun yüksek olduğu durumlarda tatlısu istakozlarının %50'sini enfekte edebilmektedir (Evans ve Edgerton 2002). *F. avenaceum* karpuz, buğday, patlıcan, fasulye, mısır vb. birçok bitki türlerinde oldukça önemli bir patojeniteye sahiptir. Bunun yanı sıra insanlarda ve hayvanlarda da hastalıklara neden olabilmektedir.

Tatlısu ıstakozunda yanık leke hastalığı ile ilgili çok az çalışma yapıldığı görülmektedir. Daha çok bitkilerde görülen bu mantar cinsine ait türler, sucul canlılarda çok az da olsa ikincil hastalık olarak bilinmektedir.

Makkonen vd. (2013) tatlısu ıstakozunda yanık leke hastalığının teşhisi üzerine bir çalışma yaparak sonuçlarını rapor etmiştir. Yapılan bu çalışmada, Estonya anakarasında ve Saaremaa adasındaki *Astacus astacus* stoklarında yanık leke hastalığının salgın olduğu belirtilmiştir. Hastalığın nedenini araştırmak için Estonya'dan temin edilen ıstakoz örneklerindeki melanize bölgelerinden dokular alınıp, DNA izolasyonu gerçekleştirildikten sonra ITS primerleri ile bölge çoğaltılmış ve dizilerin DNA analizi gerçekleştirilmiştir. Bu çalışma sonucunda kerevit popülasyonlarındaki melanizasyonlara neden olan hastalık etkeni *F. avenaceum* olarak teşhis edilmiştir.

Patolojisi: Mantar enfekte ıstakozun kabuğunda lezyon, kahverengileşme ve yapısal bozukluklara yol açmaktadır. Genellikle tatlısu ıstakozu dokusunu penetre edememektedir. Yanık leke hastalığı yaralı veya hasta olan kerevitlerde ikincil enfeksiyon olarak görülmektedir.

Teşhis: Klinik teşhisi tatlısu ıstakozu doku üzerinde melanizasyonlara bakılarak görülmektedir. Moleküler teşhisi ise polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) kullanılarak hızlı ve spesifik bir şekilde yapılmaktadır.

Tedavi: Yanık leke hastalığının henüz bilinen bir tedavisi bulunmamaktadır ve tedavisi üzerine herhangi bir araştırma yapılmamıştır.

Hastalığın etki ettiği türler: Yapılan çalışmalar doğrultusunda *Astacus astacus* ve *Astacus leptodactylus* türlerinde görülmektedir. Diğer tatlısu ıstakozu türleri üzerindeki etkisi henüz bilinmemektedir.

2.3. *Fusarium* Cinsi Hakkında Genel Bilgi ve Yapılan Çalışmalar

Fusarium türleri doğada oldukça yaygın olarak bulunmaktadır. Özellikle tarımsal bitkiler için, aynı zamanda da insan ve hayvanlarda da patojeniteye sahiptir. *Fusarium* cinsi monofiletik değildir. *Fusarium* enfeksiyonlarında mortalite oranları hastaların bağışıklık sisteminin direncine göre değişiklik gösterebilmektedir. Bağışıklık sistemi baskılanmış organizmalarda daha sık görülmektedir. *Fusarium* türleri en çok bitkilerde rastlanmaktadır ve çok çeşitli hastalıklara neden olduğu belirtilmiştir. *F. graminearum* ve *F. oxysporum* türleri en çok rastlanan 10 bitki patojenitesi arasında yer almaktadır.

Anamorfik *Fusarium* cinslerine ait 1.500 tür, alttür ve çeşitleri bulunmaktadır ve aynı zamanda *Fusarium spp.*'ye ait 7 tane teleomorf cinsi vardır. Ayrıca, *Fusarium* cinsi içinde 7 tür kompleksi (*F. solani*, *F. oxysporum*, *F. incarnatum-equiseti*, *F. fujikuroi*, *F. dimerum* ve *F. sporotrichioides*) bulunmaktadır (Asan 2011).

Fusarium türü funguslar, dünyada tahıl yetiştiricilik alanlarında en çok mısırlarda görülen ve ekonomik kayıplara yol açan mikroorganizmalardır. Birçok *Fusarium* türü, hayvanlarda ve insanlarda ikincil bir hastalık olarak görülebilmektedir. Coğrafik dağılımı, sıcaklık ve nem gereksinimlerine bağlı olarak birkaç *Fusarium*

türünün uluslararası düzeyde özel önemi vardır: *Fusarium graminearum*, *Fusarium culmorum* ve *Fusarium avenaceum* (Parry vd. 1995; Bottalico ve Perrone 2002).

Sordariomycetes sınıfına ait bazı mikroorganizmaların tatlısu ıstakozlarında hastalığa sebep olduğu *Fusarium* cinsi adı altında rapor edilmiş ancak tür bazında tanımlanmamıştır (Quaglio vd. 2006). Alderman ve Polglase (1985) *Austropotamobius pallipes*' de görülen *Fusarium* kaynaklı bir enfeksiyon teşhis etmişlerdir. Enfekte olan ıstakozların kabuk değiştirmeleri yavaşlamış ve solungaçları etrafında çok sayıda melanize kapsüller olduğu bildirilmiştir. Bu nedenle hastalığa “siyah solungaç hastalığı” adı verilmiştir.

Histolojik bulgularda gelişen melanize kapsüllerin fungal miselyum içerdiği hemositler tarafından çevrildiği görülmüştür. Enfeksiyonun ileriki aşamalarında hemosit birikimi ve melanizasyonun arttığı tespit edilmiştir. *Fusarium oxysporum* kaynaklı lezyonlar Maestracci ve Vey (1987) tarafından *A.leptodactylus* ve *A.pallipes* türlerinin solungaçlarından rapor edilmiştir. Bu vaka Alderman ve Polglase (1985)' in *Plectosporium tabacinum* olarak tanımladığı etkenin sebep olduğu semptomlar ile çok benzerlik göstermektedir.

Diğer bir *Fusarium* kaynaklı hastalık olan “Kahverengi abdomen hastalığı”nın etkeni Chinain ve Vey (1988) tarafından *Fusarium solani* olarak rapor edilmiştir. Chinain ve Vey (1988) ve Edgerton vd. (2002) tarafından bu fungusun ürettiği ekzotoksinlerin tatlısu ıstakozlarında öldürücü etkiye sahip olabileceği bildirilmiştir. Edgerton vd. (2002) herhangi bir temel dayanağı olmamasına rağmen Vey (1979)'in rapor ettiği *Fusarium* türünün *F.roseum* olduğunu bildirmektedir (Longshaw 2011).

Chinain ve Vey (1988), *Astacus leptodactylus* türünün karın kısmında karakteristik kahverengi lekelerle yol açan enfeksiyonu araştırmıştır. Bu kahverengi abdomen hastalığına *Fusarium solani* türü fungusun neden olduğu bildirilmiştir. Yapay olarak yaralandırılan *A. leptodactylus* ve Kuzey Amerika ıstakozu *Pacifastacus leniusculus*'ta mikozis deneysel koşullar altında çoğaltılmıştır. Tatlısu ıstakozu gövdesinde yaralanan bölgelerde enfeksiyonun gelişimi belirlenmiştir. *A. leptodactylus* türünün bu enfeksiyona karşı daha dirençli olduğu belirlenmiştir.

Khoa vd. (2005), 2000-2003 yılları arasında Japonya'daki kuruma karideslerinin (*Penaeus japonicus*) siyah solungaçlarındaki lezyonlardan 9 farklı *Fusarium* suşu izole edilmiştir. İzole edilen bütün suşlar bazı morfolojik karakterler göstermiştir. Rastgele seçilen 2 suş, kuruma karideslerinde intramüsküler enjeksiyon yoluyla patojenlik göstermiştir. Temsili bir izolatan kesin morfolojik özelliklerine bakıldığında *Fusarium solani* kompleksinin bir üyesi olduğu tespit edilmiştir. 5.8S ribozomal DNA ve 28S ribozomal DNA bölgesi de dahil olmak üzere, ITS bölgelerine ait dizilere dayanan filogenetik analizler, test edilen 5 suşun monofiletik olduğunu göstermiştir. Mevcut suşlardan ve filogenetik *F. solani* morfolojik ve filogenetik özellikleri ile açıkça ayırt edilmiştir.

Türkiye'de yaklaşık 99 farklı *Fusarium* türü üzerinde çalışma yapıldığı tespit edilmiştir. *F. oxysporum*, *F. solani*, *F. equiseti* ve *F. moniliforme*, Türkiye'den bildirilen en yaygın türlerdir (Asan 2011).

2.3.1. *Fusarium avenaceum*' un sistematığı

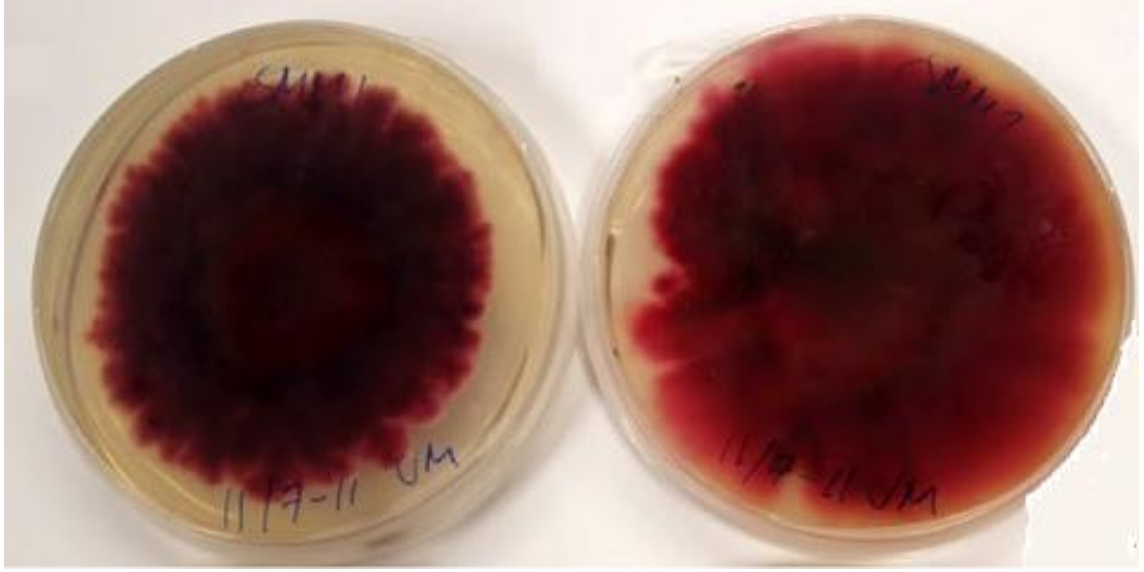
Fusarium cinsi *Eumycota*'ya mensup en adaptif mantar cinsidir. En önemli üyelerinden birisi de *Fusarium avenaceum* türüdür. *F. avenaceum*'un sistematığı Çizelge 2.2.'deki gibidir.

Çizelge 2.2. *Fusarium avenaceum*'un sistematığı (Leslie ve Summerell 2006)

Alem:	Fungi
Şube:	Ascomycota
Alt Şube:	Pezizomycotina
Sınıf:	Sordariomycetes
Alt sınıf:	Hypocreomycetidae
Takım:	Hypocreales
Aile:	Nectriaceae
Cins:	<i>Fusarium</i>
Tür:	<i>Fusarium avenaceum</i>

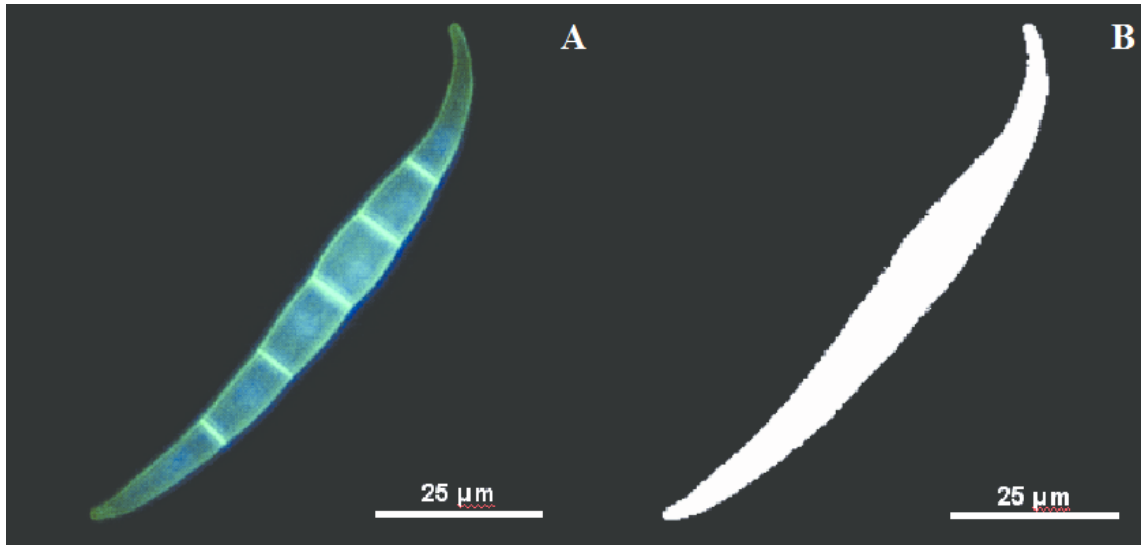
2.3.2. *Fusarium avenaceum*' un morfolojisi

Fusarium avenaceum'a ait koloniler PDA besiyerinde en fazla 3,5.-4,0 cm çapında dairesel olarak görülmektedir (Sangalang vd. 1995). PDA besiyerinde 20-25°C'de 10-14 gün inkübe edildiklerinde bordo pembe renkli miselyumlar gelişir (Şekil 2.6.).



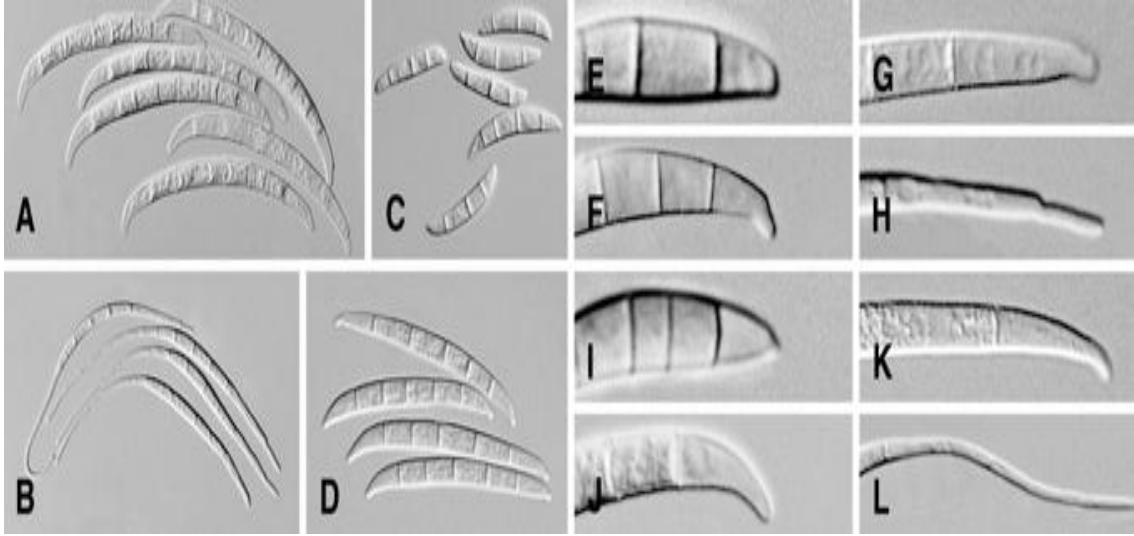
Şekil 2.6. *F. avenaceum*'un PDA besiyerindeki görünümü (Makkonen 2013)

Hifaları şeffaf ve en fazla 5-7 septalı olan bir mantar türüdür (Şekil 2.7.). konidyoforları genellikle şeffaf ve septasızdır. Miselyumdan farklılaşarak çatallaşan konidyoforlar ayrı ayrı oluşum sergilerler. Tek tek üreyen mikrokonidiler septasız, oval ve düz veya hafif oval şeklinde görünmektedirler.



Şekil 2.7. *F. avenaceum*'un makrokonidi şeklindeki spor yapısı (Dubos vd. 2011)

Fusarium türlerinin ayırt edilmesinde en birincil özellik makrokonidiyum şekilli spora sahip olmalarıdır. Bu sporların uçlarında türler arasında farklılaşan kıvrımlar vardır ve genellikle 3-5 segmentten oluşur (Şekil 2.8.).



Şekil 2.8. Fusarium türlerine ait makrokonidi şeklindeki spor yapıları. A-D; Makrokonidiyal şekil ve uzunluktaki değişimler. A, *F. decemcellulare*. B, *F. longipes*. C, *F. culmorum*. D, *F. chlamydosporum*. E-H, Makrokonidiyanın bazal hücrelerindeki değişim. E, *F. culmorum*. F, *F. crookwellense*. G, *F.avenaceum*. H, *F. longipes*. I-L, Makrokonidi apikal hücrelerdeki değişim. I, *F. culmorum*. J, *F. decemcellulare*. K, *F. verticillioides*. L, *F. longipes* (Summerell vd. 2003)

2.4. Moleküler Tanı Yöntemleri

Gelişen teknolojinin mikrobiyoloji alanındaki en önemli yenilikleri moleküler tanımlama yöntemleridir. Moleküler tanımlama tekniklerine her gün yenilerinin eklenmesi, bilimsel çalışmalara oldukça yarar sağlamaktadır ve yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu nedenle ülkemizde son yıllarda kullanılan bu yöntemlerin bilimsel araştırmalar üzerindeki hızı artmıştır (Çetinkaya ve Ayhan 2012).

Mikrobiyolojide tanı ve teşhis alanında hızlı yöntemler ilk olarak 1960'larda kullanılmaya başlanmıştır. Son 40 yılda bu hızlı tanı yöntemlerinin gelişimi artan hızda devam ederek günümüzde kullanılan rekombinant DNA teknolojisine dayalı moleküler tanı yöntemleri geliştirilmiştir (Fung 2006). Hızlı tanı yöntemleri başlangıçta biyokimyasal tanı yöntemleri olarak ortaya çıkmışken 1975-1985 yıllarında serolojik testlerin gelişimi ile devam etmiştir. Bugünkü anlamda moleküler yöntemler ise 1990'lı yıllarda polimeraz zincir reaksiyonunun (PZR) keşfi ve uygulanması başlamış günümüze kadar biyosensör ve mikroarray gibi sistemlerin gelişimi ile devam etmiştir (Fung 1995; Aras 2011).

Moleküler tanı yöntemleri, hastalıkların tespit edilmesinde ve tedavilerinde oldukça önemli bir role sahiptir. Mikrobiyoloji, immünoloji ve genetik alanlarında sıkça kullanılan yöntemlerdir. Moleküler tanı yöntemleri mikrobiyolojide, hastalıklara neden olan parazit, bakteri, virüs ve mantarların tanımlanmasında kullanılmaktadır. Moleküler tanı yöntemlerinin yoğun olarak kullanıldığı alanlar, ilaçların tespiti, gen bozuklukları, kanser türleri ve enfeksiyöz hastalıkların teşhis olarak sıralanabilir (Aras 2011).

Moleküler çalışmalar, mikroorganizmaların DNA molekül yapısının tanımlanmasına dayanmaktadır. DNA'ya dayalı PZR metotları moleküler tanı amaçlı

olarak yaygın olarak kullanılmaktadır. Moleküler yöntemler, mikroskobik çalışmalarda görülmesi, kültürde üretimi uzun zaman alan, zor veya olanaksız mikroorganizmaların teşhisinde önemli rol oynamaktadır (Grinstead ve Bennett 1988; Caetano-Anolles 1993; Pepper vd. 1995; Perry ve Staley 2000).

PZR yöntemi konakçı veya patojen numunelerinden hastalık etkeni mikroorganizmaların tanısında kullanılan hızlı, doğru ve güvenilir bir moleküler yöntemdir. Bu yöntem, her türlü viral, bakteriyel, paraziter ve mantar hastalık etkenine ait gen bölgesine ait dizilere tamamlayıcı olan ve PZR işleminde hedef gen bölgesinin çoğaltılmasında rol alan primer adı verilen özel oligonükleotitler ve Taq DNA polimeraz enzimi kullanılarak *in vitro* olarak çoğaltılmasını sağlamaktadır. Mikroorganizmaların teşhisinde oldukça güvenilir ve hızlı yöntemdir (Persing 1991). PZR işlemi DNA molekülü üzerinde bulunan hedef gen bölgesine özel primerin bağlanarak hedef gen bölgesinin defalarca çoğaltılması esasına dayanır (Prichard 2001; Bişkin vd. 2011). Günümüzde, konvansiyonel PZR, çoklu (müльтиpleks) PZR, kantitatif PZR, gerçek zamanlı PZR gibi çeşitli PZR teknikleri geliştirilmiş ve kullanılmaktadır. PZR ile birlikte kullanılan DNA'ya dayalı belirteçler ise DNA parmak izi çıkarmaya yarayan belirteçler (RAPD, RFLP, AFLP, mikrosatellitler gibi) ve nükleotid farklılığına dayalı dizi belirteçleri olarak sıralanabilir.

Fungus etkenlerin moleküler tanısı direkt konakçı dokusundan veya kültüre edilmiş mantar dokusundan elde edilen DNA numuneleri ile yapılabilmektedir. Moleküler tanıda amaç hızlı ve güvenilir bir şekilde mantar enfeksiyonunun hasta üzerinde kanıtlanması ve daha sonra ise enfeksiyon etkeni patojenin tür düzeyinde tanımlanması amaçlanmaktadır. Fungusların tür düzeyinde tanımlanmasında yaygın olarak mitokondrial DNA bölgeleri kullanılmaktadır. Mitokondrial genoma ait küçük (18S) ve büyük (28S) ribozomal alt üniteleri arasında bulunan internal transcribed spacer (ITS) bölgeleri, sitokrom oksidaz (COX), sitokrom b, P450L1A1 dimetilaz ve aktin bölgeleri genomik alanda en çok tercih edilen bölgelerdir (Susever ve Yeğenoğlu 2011). ITS bölgeleri funguslarda taksonomik çalışmalarda tür tespiti ve türler arası ilişkilerde oldukça yaygın olarak kullanılmaktadır (Begerow vd. 2010).



Şekil 2.9. Funguslarda ribozomal RNA geni ve çevresindeki ITS bölgelerinin görünümü (Begerow vd. 2010)

Nükleer rRNA sistronu, mantar teşhisi ve filogenetik için 20 yıldan fazla (Begerow 2010) kullanılmaktadır ve bileşenleri CO1'e alternatif olarak tartışılmaktadır (Rossman 2007; Eberhardt 2010). Ökaryotik rRNA sistronu, RNA polimeraz I tarafından bir birim olarak kopyalanan 18S, 5.8S ve 28S rRNA genlerinden oluşur. Bu genler genellikle ITS bölgesi olarak adlandırılır. 18S nükleoz ribozomal küçük altbirim rRNA geni (SSU) yaygın olarak filogenetikte kullanılır ve homoloğu (16S) genellikle bakteriler için bir tür tanı olarak kullanılır (Stackebrandt 1994), mantarlarda daha az

değişken alana sahiptir. 28S nükleer ribozomal büyük subunit rRNA geni (LSU) bazen kendi başına ya da ITS ile kombine şekilde türleri ayırt etmektedir. Mayalar için, LSB'nin D1/D2 bölgesi, DNA barkodlama kavramının geliştirilmesinden çok önce türlerin karakterize edilmesi için kabul edilmiştir (Fell vd. 2000; Scorzetti vd. 2002; Schocha vd. 2012).

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

3.1.1. Tatlısu ıstakozu materyali ve örnekleme yapılan su kaynakları

Araştırmada Akdeniz Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi'nde yürütülmüş olan 114O368 numaralı TÜBİTAK Projesi kapsamında farklı su kaynaklarından temin edilen tatlısu ıstakozu numuneleri kullanılmıştır. Bu tez çalışmasında 3 farklı bölgeden (Bayramşah Göleti/TEKİRDAĞ, Karaidemir Barajı/TEKİRDAĞ, Keban Baraj Gölü/ELAZIĞ) yakalanan her istasyondan 20 adet olmak üzere 60 tatlısu ıstakozu örneği materyal olarak kullanılmıştır (Şekil 3.1.). Çalışmada kullanılan örneklerin alındığı su kaynakları örnekleme yapılan konumlar ve örnekleme zamanları Çizelge 3.1.'de sunulmuştur.

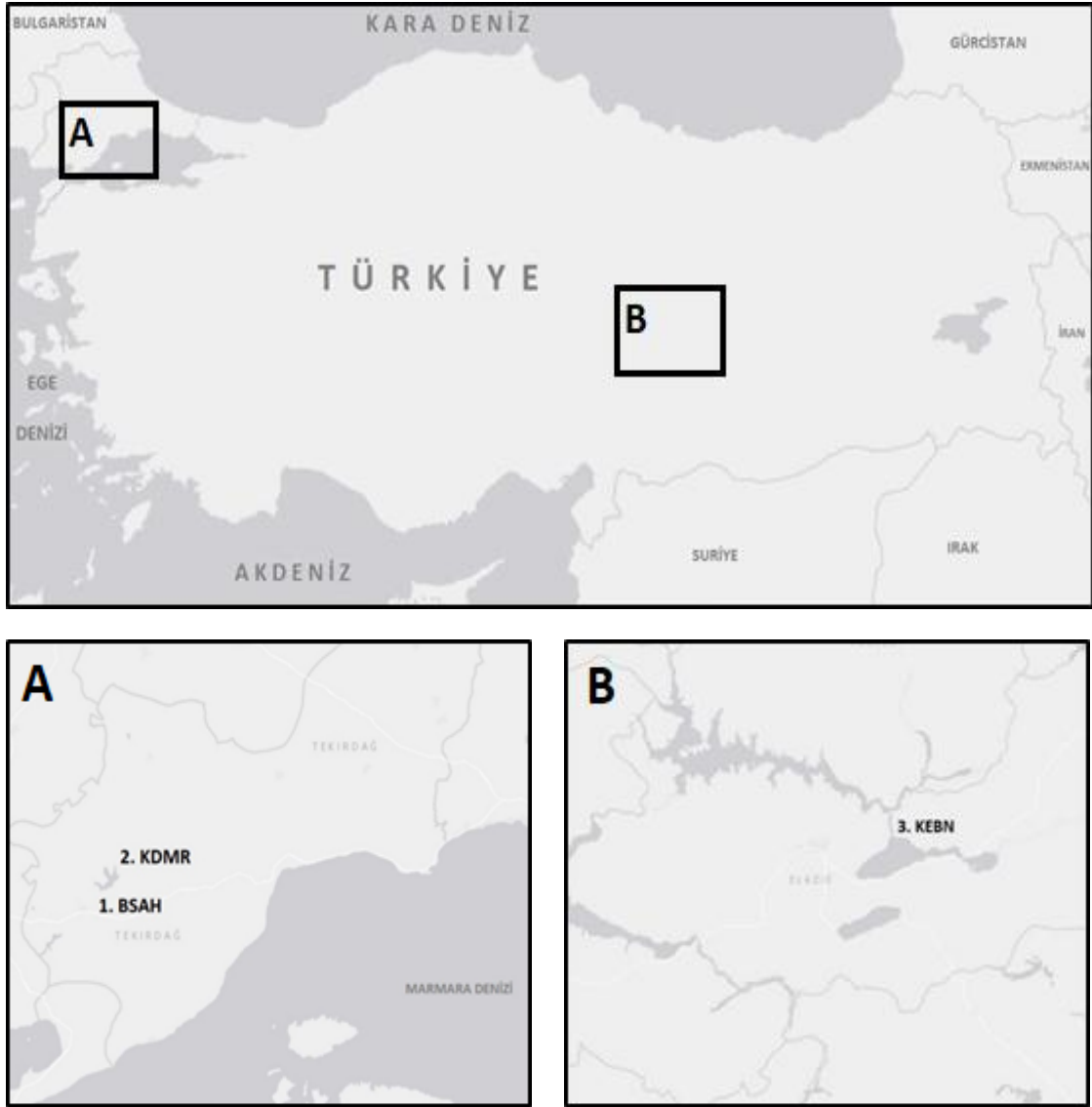
Çizelge 3.1. Tatlısu ıstakozu örnekleme yapılan su kaynakları

İstasyon No	Su kaynağı adı	Bulunduğu il/ilçe	Koordinatları	Örnekleme zamanı
1	Bayramşah Göleti	Hayrabolu-Tekirdağ	41°07'31,66"K 27°11'57,34"D	18.04.2016
2	Karaidemir Baraj Gölü	Malkara-Tekirdağ	40°57'21,47"K 27° 00'38,23"D	08.08.2015
3	Keban Baraj Gölü	Elazığ	38°48'08,03"K 38°43'45,74"D	10.11.2015

Tatlısu ıstakozu örnekleme yapılan su kaynaklarından Keban Baraj gölü Fırat nehri üzerinde 1975 yılında hizmete alınmış olup ülkemizdeki en büyük baraj göllerinden biridir. Baraj gölünde enerji üretiminin yanısıra balıkçılıkta yapılmaktadır. Elazığ, Tunceli ve Erzincan illeri içerisinde bulunan baraj gölünde 180 tekne, 310 balıkçı geçimini su ürünleri avcılığından sağlamaktadır (Dartay ve Canpolat 2016). Keban baraj gölünden avlanan en önemli türlerden birisi de tatlısu ıstakozudur. Yasal olmayan yollardan Eğirdir gölünden getirilerek aşılandığı tahmin edilen tatlısu ıstakozları son yıllarda yıllık 19-20 ton dolaylarında avlanarak yöredeki balıkçılara gelir kaynağı oluşturmaktadır (Demirel ve Yüksel 2013).

Bayramşah göleti Harabolu (Tekirdağ) sinekli deresi üzerine kurulmuş olup sulama amaçlı inşaa edilmiştir. Su hacmi 1,75 hm³ olan gölette balıkçılık yapılmamaktadır. Poğaç (Karaidemir) deresi üzerinde sulama maksatlı kurulan Karaidemir Barajı toplam 15,56 km² yüzey alanine 107,83 hm³ su hacmine sahip olup sulama maksatlı olarak yapılmıştır. Tekirdağ-Malkara ilçesinde bulunan baraj gölü

halihazırda sulama amaçlı kullanılırken küçük çapta balıkçılıkta yapılmaktadır (Anonim 2017).



Şekil 3.1. Tatlısu ıstakozu örnekleme yapılan su kaynakları

3.1.2. Çalışmada kullanılan kimyasallar

3.1.2.1. Potato Dextrose Agar (PDA) besiyeri ve hazırlanması

Fusarium sp. üretiminde genel katı besiyeri olarak kullanılır. Bileşiminde patates infüzyonu 4,0 g/L; glikoz 20,0 g/L; agar-agar 15,0 g/L bulunur. Besiyeri, distile su içerisinde eritilip, otoklavda 121°C’de 15 dakika steril edildikten sonra petri kutularına dökülmüştür. Hazırlanmış olan besiyeri berrak ve sarımsı bir renge sahiptir.

Çizelge 3.2. PDA (Potato Dextrose Agar) besiyerinin hazırlanışı

Kimyasalın Adı	Kullanılan Miktar
Potato Dextrose Agar (Lab M, İngiltere)	39 g/L
Penisilin	100 mg/L (otoklavlandıktan sonra eklendi)
Oxolinik Asit	10 mg/L (otoklavlandıktan sonra eklendi)
Filtre edilmiş göl suyu	1000 ml/L

3.1.2.2. DNA izolasyonu ve PZR uygulamasında kullanılan çözeltiler

DNA izolasyonunda; Qiagen DNeasy Blood & Tissue ticari izolasyon kiti kullanılmıştır (Çizelge 3.3.).

Çizelge 3.3. DNA izolasyonunda kullanılan kimyasallar

Kimyasalın Adı	Kullanılan Miktar (µl)
ATL Tamponu	180
Proteinaz K	20
RNase	10
AL Tamponu	200
Etanol	200
AW1 Tamponu	500
AW2 Tamponu	500
AE Tamponu	100

PZR uygulamalarında; Tag DNA polimeraz enzimi, dNTP karışımı, PZR tamponu, MgCl₂, Primerler ve ultra saf su kullanılmıştır.

3.1.2.3. Elektroforez işleminde kullanılan kimyasallar ve çözeltiler

Elektroforezde; Agaroz, Ethidium Bromür (10 mg/ml), 1XTBE (Çizelge 3.4.), DNA işaretleyici (100-1000 bç) ve yükleme tamponu kullanılmıştır.

Çizelge 3.4. 10XTBE (Tris Boric Asit EDTA) Tamponu

Kimyasalın Adı	Kullanılan Miktar
Tris	108 g
Borik Asit	55 g
EDTA	9.3 g
dH ₂ O	1000 ml'ye tamamlanmıştır

Çizelge 3.5. Agaroz jel hazırlanışı

Kimyasalın Adı	Kullanılan Miktar
Agaroz	1,6 g
1XTBE Tamponu	80 ml

3.1.3. Yararlanılan alet ve ekipmanlar

Laboratuvarında yapılan işlemlerde: Thermal Cycler (Biorad T100, ABD), biyo-görüntüleme cihazı (DNr, İsrail), yatay elektroforez (BioRad, ABD), Elektroforez güç kaynağı (Thermo, ABD), etüv (Nüve, Türkiye), derin dondurucu (Bosch, Türkiye), buzdolabı (Beko, Türkiye), santrifüj (Heraeus, Almanya), otoklav (Hirayama, Japonya), distile saf su cihazı (İsolab, Türkiye), vorteks (VWR international, ABD), manyetik karıştırıcı (Stuart-Bibby scientific, Birleşik Krallık), elektronik terazi, mikrodalga fırın (Arçelik, Türkiye), otomatik pipetler (Eppendorf, Almanya), PZR tüpleri (İsolab, Türkiye), mikroskop (Olympus, Japonya) ve cam malzemeler kullanılmıştır.

3.2. Metot

3.2.1. Tatlısu ıstakozu materyalinin laboratuvara getirilmesi

Av araçları veya balıkçılardan temin edilen tatlısu ıstakozları canlı olarak straför kutularda laboratuvara getirilmiştir. Bu lokasyonlar içerisinde klinik bulguları gözlemlenen kerevitlerden Bayramşah Göleti (Tekirdağ), Karaidemir Barajı (Tekirdağ) ve Keban Baraj Gölünden (Elazığ) temin edilen örnekler tez çalışması için kullanılmıştır (Şekil 3.2.).



Şekil 3.2. Tatlısu ıstakozu örneklerinin laboratuvara getirilmesi

3.2.2. Tatlısu ıstakozu dokusundan mantar izolasyonu ve izolatların saklanması

Araziden temin edilen tatlısu ıstakozu numunelerinin klinik muayenesi yapılarak hastalık belirtisi gösteren kerevitlerden *F. aveneae* izolasyonu için doku alınarak PDA besiyerine ekilmiştir. İncelenen şüpheli bireylerin dış yüzeyi iyice temizlenerek steril diseksiyon aletleri yardımı ile kerevitin melanize kısımlarından doku örnekleri alınmıştır. Alınan doku örnekleri distile su yardımı ile yıkanarak örneklerden PDA besiyerine ekimleri yapılmıştır. Ekimi yapılan mantarlar etüvde 20 °C’de 14 gün inkübe edilmiştir (Makkonen vd. 2013) (Şekil 3.3.).



Şekil 3.3. Melanize dokunun PDA besiyerine ekimi

Tatlısu ıstakozu dokusundan PDA besiyerinde üretilen *F. avenaceum* türü mantar izolatları günlük olarak takip edilerek karakteristik pembe mantar hifleri görüldüğünde petri ler resimlenmiş ve hasat edilen hifalar 7 gün boyunca sporilizasyona tabi tutulup mikroskopta kontrol edilmiştir. Oluşan hifalar, septaları ve makrokonidi şeklindeki sporları morfolojik olarak tanımlanmıştır (Şekil 3.4.).



Şekil 3.4. a) Preparat hazırlanması; b) Preparatların mikroskopta incelenmesi

Fusarium avenaceum olarak morfolojik teşhisi gerçekleştirilen organizmalar tekrar pasajlanarak saflaştırılmış ve gerekli analizlerde kullanılmak üzere +4 °C’de buzdolabında ve ek olarak gliserol-pepton (1:1) sıvı besiyerinde dondurularak saklanmıştır. Hasat edilen mantar hifleri etanolde DNA izolasyonu ve sonraki çalışmalar için saklanmıştır.

3.2.3. Mantar DNA izolasyonu

Semptomlu tatlısu ıstakozu örneklerinden izole edilen *F. avenaceum* türü mantarın hifleri besiyerinden hasat edilerek DNA izolasyonu için eppendorf tüplere alınarak etanolde fikse edilmiştir. Hiflerden DNA izolasyonu Qiagen ticari izolasyon kiti (Qiagen DNeasy Blood & Tissue Kit) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. DNA izolasyonu aşağıdaki protokole göre yapılmıştır.

1. Hasat edilen mantarlar 1000 µl etanol eklenerek havanda ezildi. Daha sonra 1.5 ml’ lik eppendorf tüplerine alındı, 16.100 Xg’ de 10 dakika santrifüj edilerek süpernatant ve çöken partiküller birbirinden ayrıştırıldı (Şekil 3.5., 3.6., 3.7., 3.8., 3.9.).

2. Çöktürülen partiküller distile su yardımı ile 2 kez 16.100 Xg’de 10 dakika santrifüj edilerek yıkandı.

3. Çöktürülen mantar üzerindeki distile su pipet yardımı ile alındı, üzerine 200 µl PBS konularak iyice karıştırıldı.

4. Karışımın üzerine 20 µl Proteinaz K eklendi ve tekrar karıştırıldı.

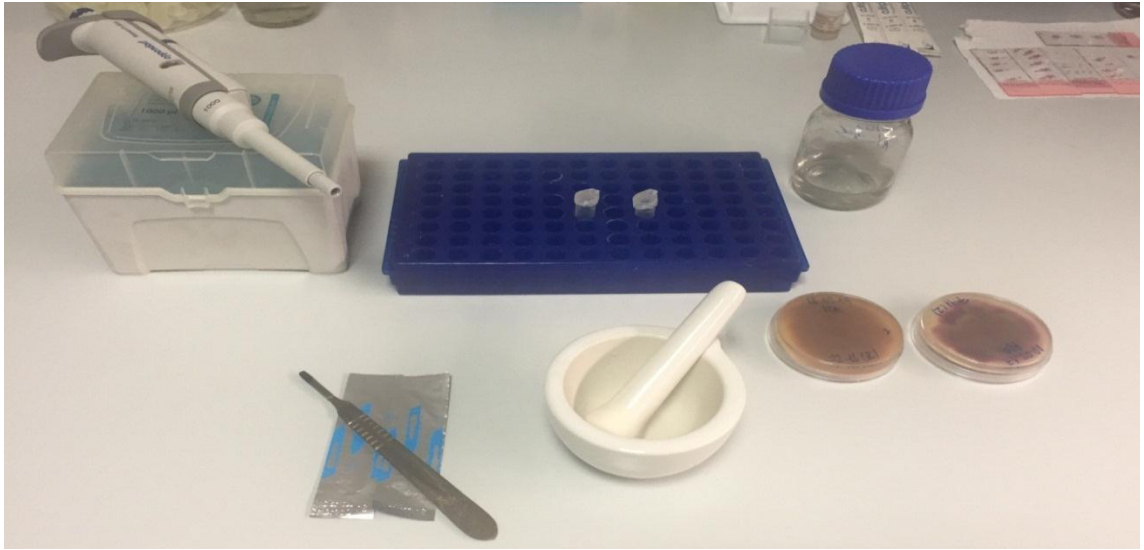
5. Bunun üzerine 200 µl AL Tamponu eklendi ve karıştırıldı. Karıştırıldıktan sonra üzerine 20 µl RNase eklendi ve iyive karıştırıldıktan sonra 10 dakika oda sıcaklığında inkübe edildi.

6. İnkübe edildikten sonra üzerine %96’lık 200 µl etanol eklendi ve karıştırıldı.

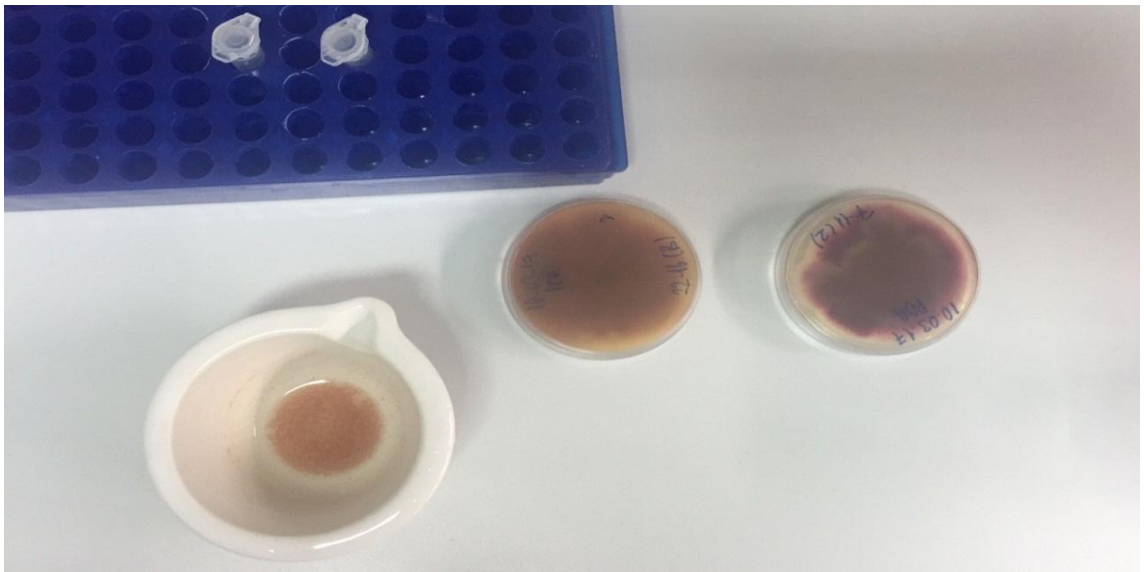
7. Elde edilen bu karışım Qiagen DNeasy Mini filtrelili tüplere aktarıldı, üzerine 500 μ l AW1 Tamponu eklendi ve 6.000 Xg'de 1 dakika santrifüj edildi. Santrifüj edildikten sonra alttaki tüp atıldı ve filtrelili kısım yeni bir tüpün üzerine konuldu.

8. Tüpe 500 μ l AW2 Tamponu eklendi ve 16.100 Xg'de 3 dakika santrifüj edildi. Santrifüj edildikten sonra tekrar alttaki tüp atıldı ve filtrelili kısım 1.5 ml'lik eppendorf tüpünün üzerine konuldu.

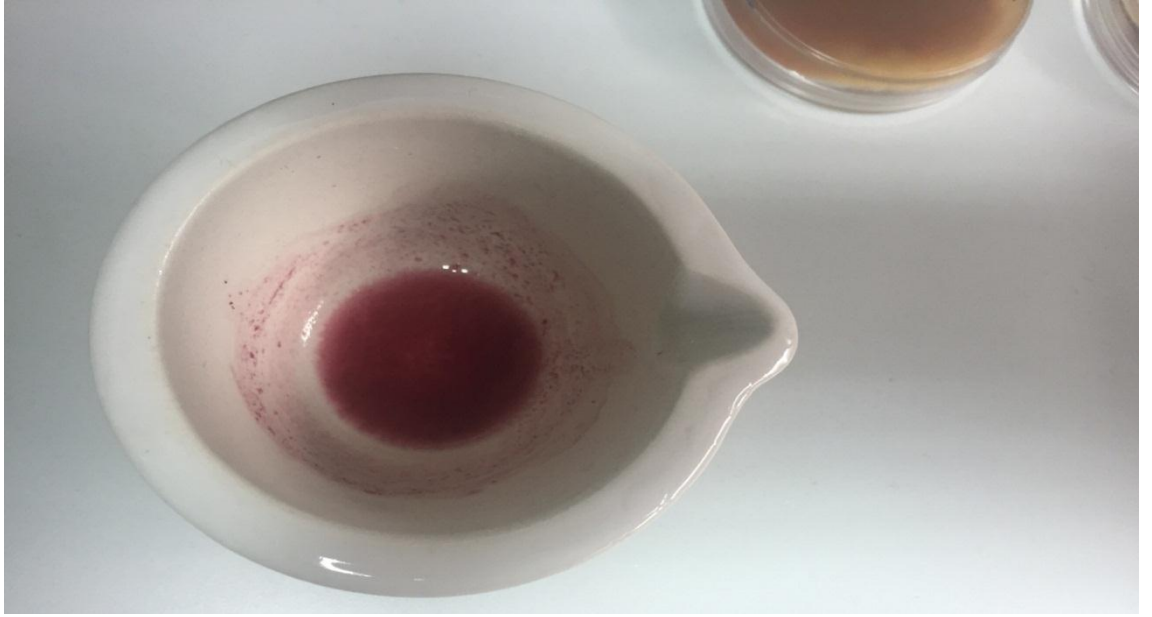
9. Son olarak filtrelili tüp üzerine 100 μ l AE Tamponu eklendi ve 56 °C'de 3 dakika bekletildi. Daha sonra 6.000 Xg'de 1 dakika santrifüj edilerek DNA hazır hale getirildi.



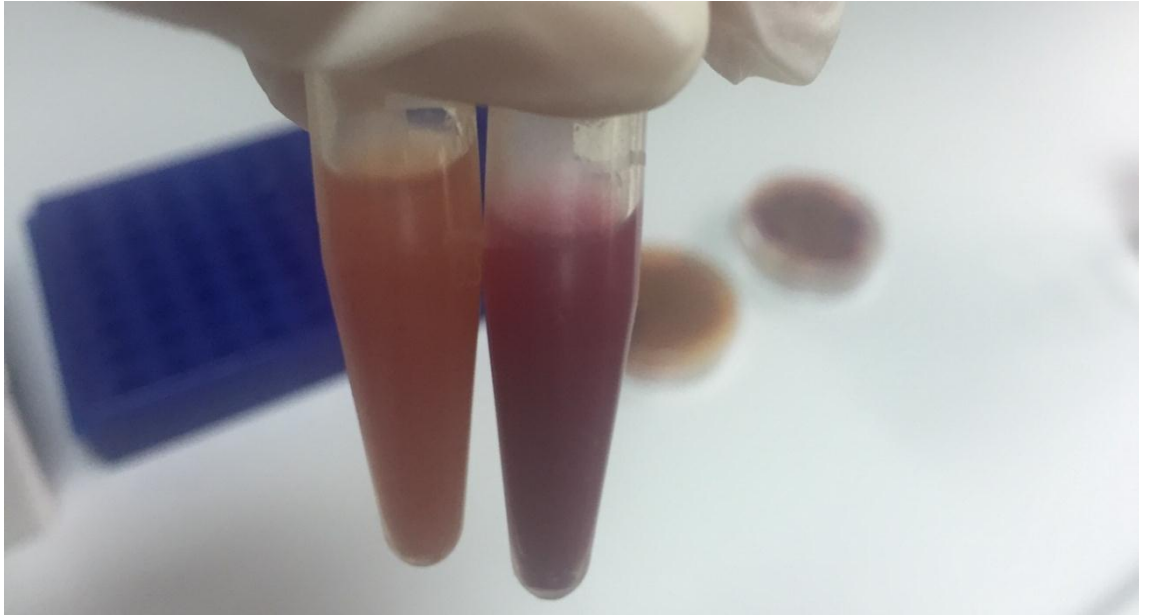
Şekil 3.5. DNA izolasyonu hazırlık aşaması



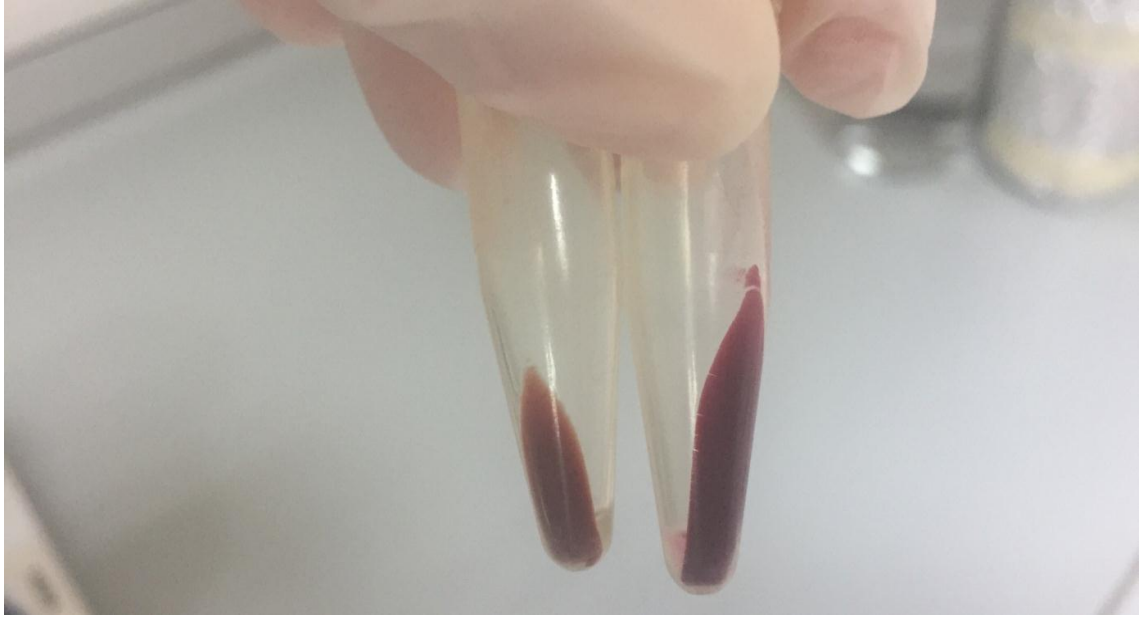
Şekil 3.6. Mantarın havanda ezilmesi



Şekil 3.7. Mantarın havanda ezilmesi



Şekil 3.8. Havanda ezilen mantarın tüplere aktarılması



Şekil 3.9. Mantarın çöktürülmesi

İzole edilen DNA'lar sonraki aşamalarda kullanılmak üzere -20 °C'de muhafaza edildi.

3.2.4. Primerlerin hazırlanması ve PZR optimizasyonu

PZR işleminde, Mishra vd. (2003)'nin *F. avenaceum* türünün moleküler teşhisi için nrDNA ITS bölgesinden 314 bç büyüklüğünde amplicon üreten spesifik primerler kullanılmıştır (Çizelge 3.6.).

Çizelge 3.6. Mantar için hazırlanan primer listesi (Mishra 2003)

Primer adı	Primer Dizisi	Amplicon Boyu
FAF1 (ileri)	5'- AACATACCTTAATGTTGCCTCGG -3'	314 bç
FAR (geri)	5'- ATCCCCAACACCAAACCCGAG – 3'	

PZR işlemi için, hazırlanan primer çifti, saflaştırılmış genomik DNA, PZR master karışımı içerisine ilave edilerek, PZR işlemi toplam 50 µl hacimde Çizelge 3.7.'de görüldüğü şekilde hazırlanarak kullanılmıştır.

Çizelge 3.7. PZR için hazırlanan tüp içeriği

Kimyasalın Adı	Konsantrasyon	Miktarı (µl)
Ultra saf su		29,8

Çizelge 3.7.'nin devamı.

10X PZR Buffer		10
MgCl ₂	20 mM	4
dNTP Karışımı	10 mM	2
Geri Primer	100 pmol	1
İleri Primer	100 pmol	1
Taq DNA Polimeraz	5 u/μl	0,2
Kalıp DNA	50 ng/μl	2
TOPLAM		50

Karışım PZR tüplerinin içerisine eşit bir şekilde dağıtılmıştır. Bir tüpün içerisine negatif kontrol amaçlı DNA konulmadan sadece karışım eklenmiştir (Şekil 3.10.). Hedeflenen gen bölgesi için en uygun sıcaklığı belirlemede gradient PZR işlemi yapılarak bağlanma sıcaklığı 61°C olarak belirlenmiştir. 314 bç uzunluğunda istenilen bölgenin çoğaltılmasında kullanılan PZR protokolü Çizelge 3.8.'de verilmiştir.



Şekil 3.10. a) Hazırlanan karışımın PZR tüplerine eklenmesi; b) Hazırlanan karışımın thermal cycler'a yerleştirilmesi

Çizelge 3.8. *F. avenaceum*'un genomik DNA'sı için PZR protokolü

Sıcaklık	Zaman	Döngü Sayısı
95°C	5 dk	1
95°C	20 sn	25

Çizelge 3.8.'nin devamı.

61°C	20 sn	25
72°C	45 sn	25
72°C	5 dk	-

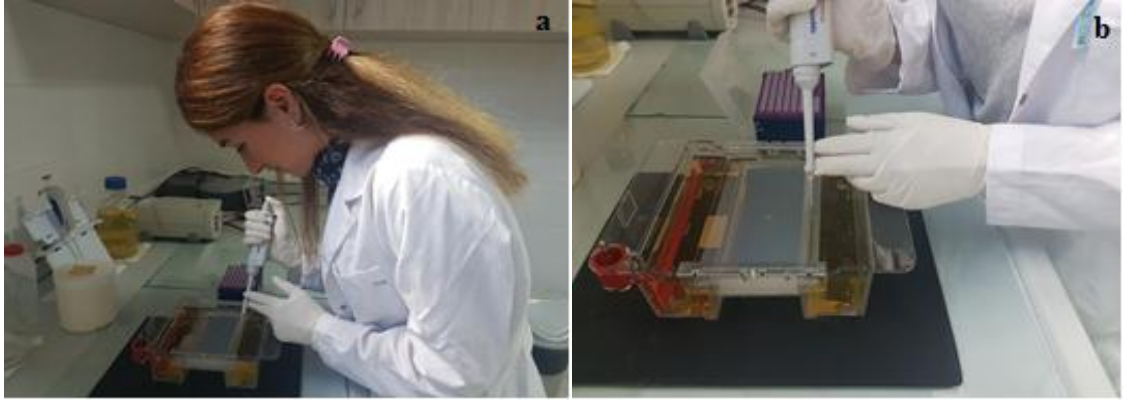
3.2.5. DNA ve PZR amplifikasyon ürünlerini görüntülemek için kullanılan jel elektroforezi, boyama ve görüntüleme

DNA izolasyonu ve PZR işlemi sonucunda elde edilen ürünler 0,5 µg/ml ethidium bromid içeren %1,2' lik agaroz jelde DNA için 140 Volt' da 30 dk, PZR için 100 Volt' da 1 saat yürütülerek, sonuçlar jel görüntüleme cihazında incelenmiştir. Sonuçlar jel görüntüleme cihazında kayıt altına alınmış ve bulgulara eklenmiştir.

Çizelge 3.9. Agaroz jel elektroforezinde kullanılan kimyasal maddeler

Kimyasalın Adı	Miktarı
Agaroz	1,6 g
1XTBE Tamponu	80 ml
EtBr (10 mg/ml)	5 µl
Örnek yükleme boyası	2 µl
DNA ve PZR ürünü	5 µl

Çizelge 3.9.'de miktarları belirtilmiş olan % 1,2'lik agaroz jel 1XTBE tamponu içerisine eklenmiş ve mikrodalga fırında 2 dakika kaynatıldıktan sonra üzerine EtBr konulmuştur. Daha sonra hazırlanan karışım hafifçe sallanarak içerisindeki kimyasalların eşit bir şekilde dağılımı gerçekleştirilmiştir. Hazırlanan karışım yatay elektroforez tankına döküldü ve yaklaşık 10-15 dakika jelin donması beklendi. Donan agaroz jelde örnek yüklenecek kuyucuklar oluşturulduktan sonra her bir kuyucuk için 2 µl örnek yükleme boyası ile boyandı 5 µl hacmindeki DNA ve PZR ürün örnekleri yüklenmiştir (Şekil 3.11.). Daha sonra DNA'lar 100 Volt'da 30 dk, PZR ürünleri 100 Volt'da 1 saat yürütülmüştür.



Şekil 3.11. a) DNA örneklerinin jele yüklenmesi; b) PZR örneklerinin jele yüklenmesi

3.2.6. Dizi Analizi

PZR işlemi sonunda elde edilen PZR ürünleri ($1720 \pm \% 30$ adet numunede) 0.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ethidium bromid içeren % 1' lik agaroz jelde 90 V' da 40 dk. yürütülerek kontrol edilmiştir. PZR işlemi sonrası ürün alınamayan numuneler için tekrar PZR işlemi yapılmıştır. Dizi analizi, çoğaltılan ITS ve 5.8S rDNA gen bölgeleri PZR ürünü agaroz jelde kontrol edildikten sonra hizmet satın alımı yapılarak gerçekleştirilmiştir. Dizin analizi BigDyeTM terminatör döngü şartları altında otomatik sekanslayıcıda (ABI 3730x1) 39, 264R 42, 640 primerleri kullanılarak yaptırılmıştır.

3.2.7. Verilerin Değerlendirilmesi

Hizmet alımı yapılarak elde edilen *F. avenaceum* dizileri Gen Bank' ta Blast yapılarak doğruluğu ve geçerliliği kontrol edilmiştir. DNA dizilerinin hizalanması ve nükleotid çeşitliliği BioEdit (Hall 1999) programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Nükleotid kompozisyonu ve haplotip sayısı, haplotip çeşitliliği DnaSP (Rozas vd. 2017) programı kullanılarak belirlenmiştir. Filogenetik analiz ve genetik mesafa hesabı için MEGA (Ver. 7.0.21) (Kumar vd. 2016) programı kullanılmıştır.

4. BULGULAR

4.1. Klinik bulgular

Tatlısu ıstakozu örnekleri laboratuvara getirildikten sonra gross muayene işlemi gerçekleştirilmiş ve semptomlu bireyler tespit edilerek fotoğraflanıp kayıt altına alınmıştır. Semptomlu kerevitlerde sırt, karın ve kuyruk bölgelerinin kütikül tabakasında yanık leke hastalığının belirtisi olan dış tarafı siyah ortası açık kahverengi renkli melanize kısımlar gözlemlenmiştir (Şekil 4.1., 4.2.).



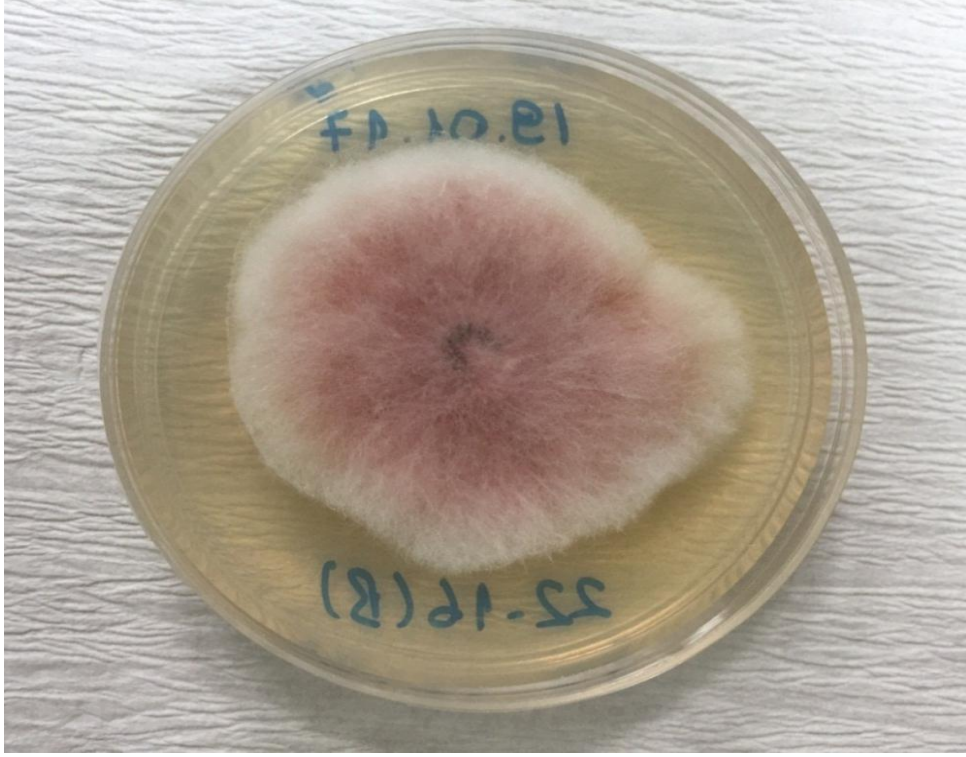
Şekil 4.1. Semptomlu tatlısu ıstakozlarında yanık leke hastalığının klinik bulguları



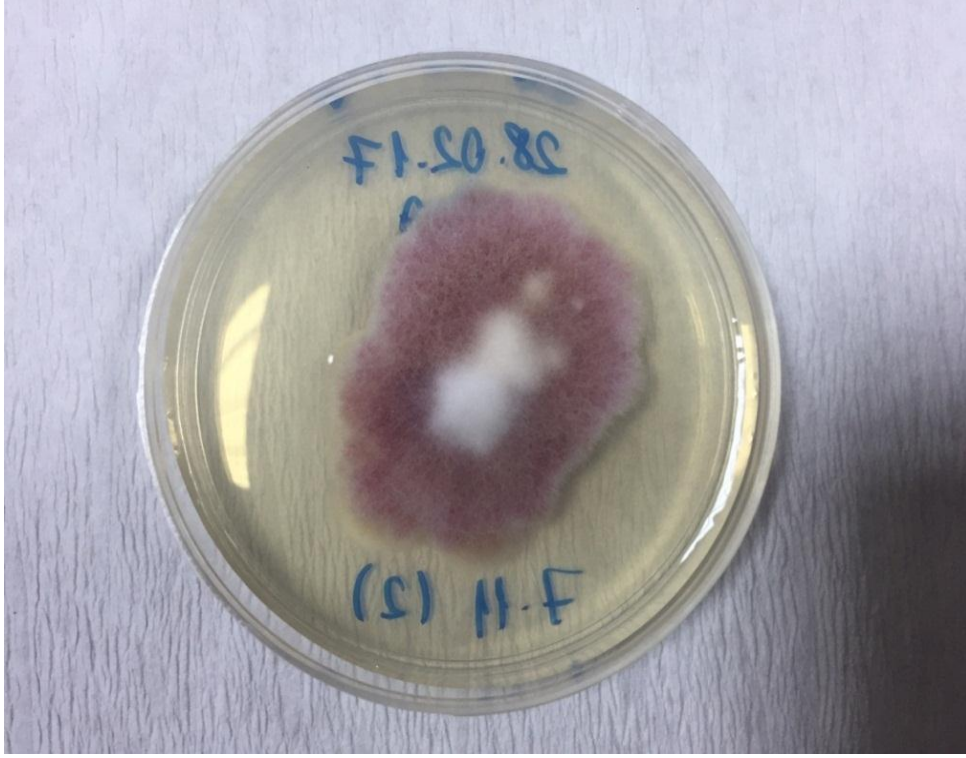
Şekil 4.2. Semptomlu tatlısu ıstakozlarında yanık leke hastalığının klinik bulguları

4.2. Üretilen mantar izolatlarına ait bulgular

Çalışmada, 1140368 nolu proje kapsamında örnekleme yapılan 41 istasyondan 3 istasyonda *Fusarium avenaceum* türü mantar izolatları izole edilmiştir. Morfolojik olarak bakıldığında bordo pembe koloniler görülmüştür. Bazıları daha açık pembe renge görünürken bazılarında daha koyu bordo pembe renkte miselyumlar gözlemlenmiştir. Petri kaplarında üretilen mantar izolatlarına ait koloniler fotoğraflanıp kaydedilmiştir (Şekil 4.3., 4.4.).



Şekil 4.3. Karaidemir Barajına ait numunelerden üretilen *F. avenaceum* izolatının petride görünümü (Orijinal)

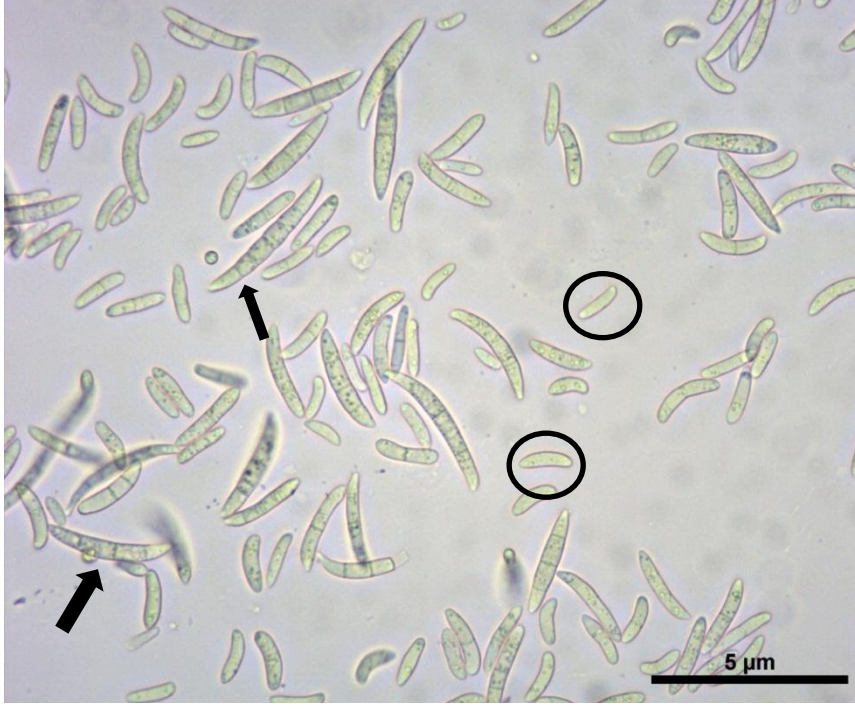


Şekil 4.4. Bayramşah Barajına ait numunelerden üretilen *F. avenaceum* izolatının petride görünümü (Orijinal)

4.3. Mantar izolatlarına ait morfolojik bulgular

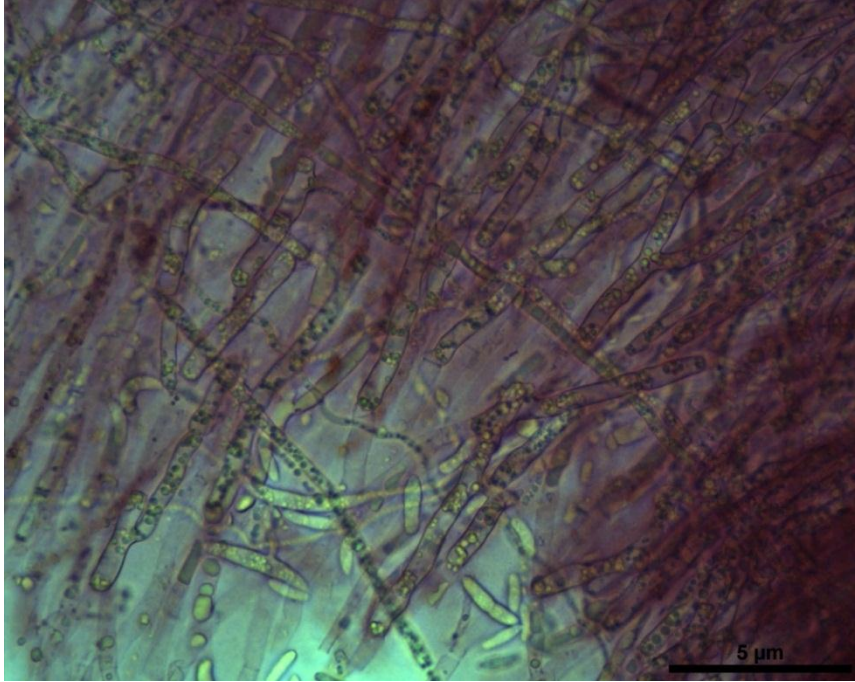
İstasyonlardan gelen numunelerden izole edilen mantarların morfolojik incelemesi için hifalarından bir parça alınarak tüp içerisine konulmuş üzerine göl suyu eklenerek etüvde 7 gün boyunca sporilizasyona tabi tutulmuştur. Sporilizasyon sonucunda göl suyundan 25 µl lam üzerine alınmış ve ışık mikroskopunda incelemesi yapılmıştır.

Mikroskop altında görülen sporlar fotoğraflanıp kaydedilmiştir. Şekil 4.5’de makrokonidiler siyah ok işaretleri ile, mikrokonidiler ise daire içerisine alınarak gösterilmiştir.

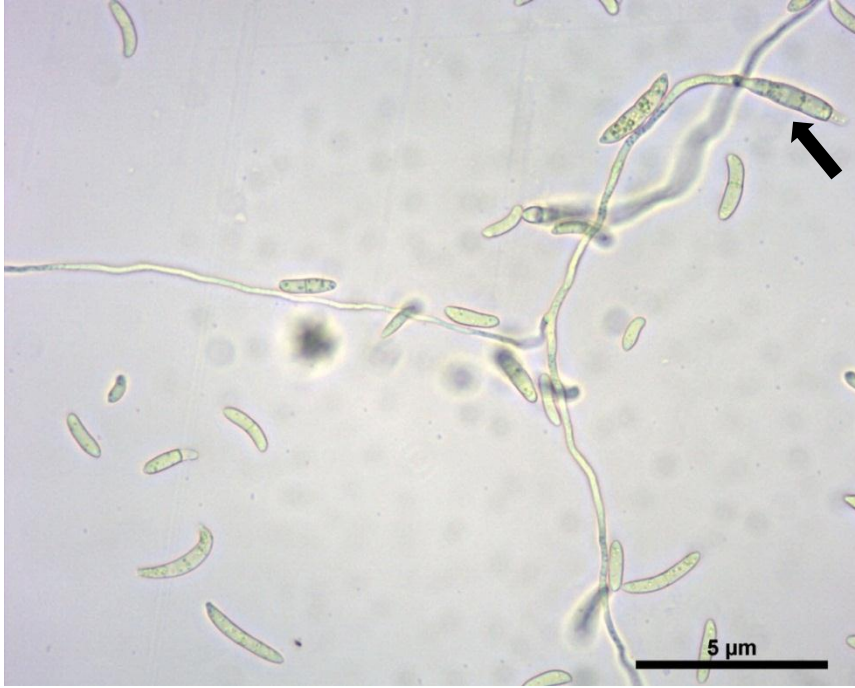


Şekil 4.5. Sporilazyona tabi tutulan *F. avenaceum*'un mikrokonidi ve makrokonidi sporlarının görünümü (x400)

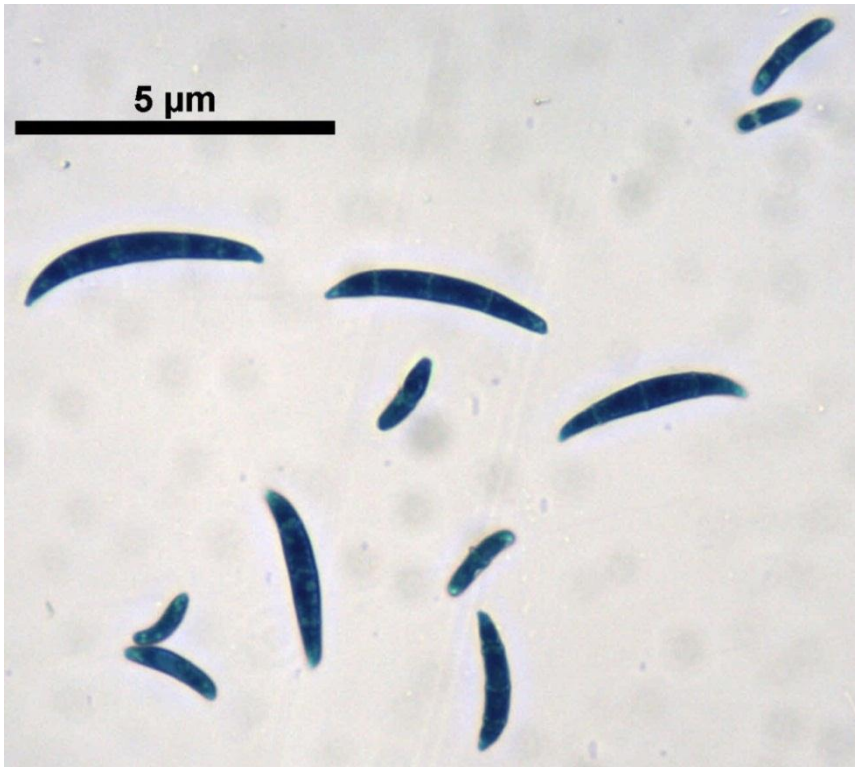
F. avenaceum türüne ait septalı ve granülsüz şeffaf hifalar (Şekil 4.6.) ve bu hifalardan farklılaşan konidyoforlar tespit edilmiştir. Konidyoforlardan mikrokonidi şeklinde sporların ürediği gözlemlenmiştir (Şekil 4.7.). Laktofenol pamuk mavisi boya ile boyanmış mikrokonidi ve makrokonidi Şekil 4.8. ve Şekil 4.9'de görülmektedir.



Şekil 4.6. *F. avenaceum*'un hifaları (x400)



Şekil 4.7. *F. avenaceum*'un hifası ve konidyofordan mikrokonidi üretimi (x400)



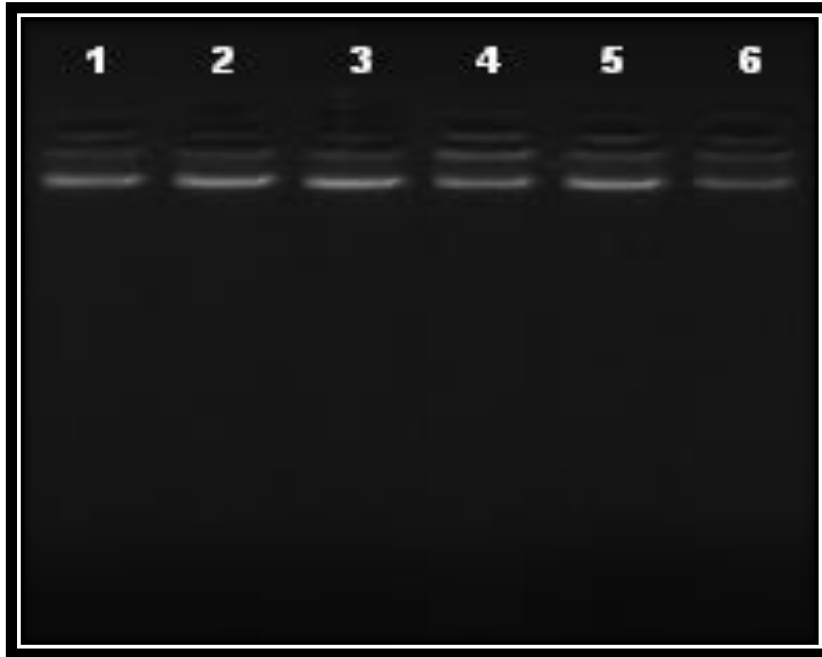
Şekil 4.8. Laktofenol pamuk mavisi boya ile boyanmış *F. avenaceum*'un sporları (mikrokonidi ve makrokonidi) (x400)



Şekil 4.9. Laktofenol pamuk mavisi boya ile boyanmış *F. avenaceum*'un mikrokonidi şeklindeki spor yapısı (x400)

4.4. Mantarlardan saflaştırılan toplam DNA bulguları

Çalışmada elde edilen *F. avenaceum* izolatlarından paralel elde edilen DNA'ların kalitesi agaroz jel elektroforezinde kontrol edilmiştir (Şekil 4.10.). İzolasyon kiti mantar hiflerinden DNA izolasyonunda başarılı ve temiz sonuç verdiği şekilde görülmektedir.

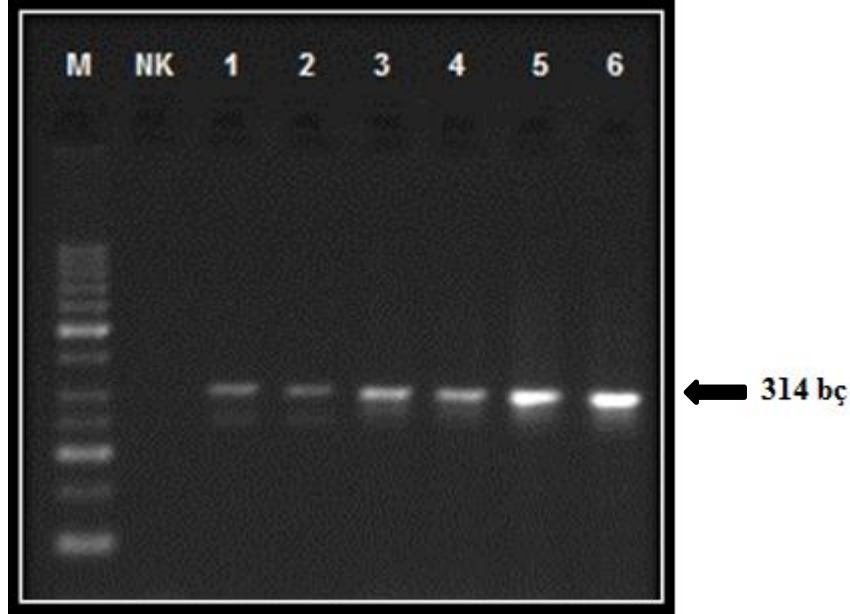


Şekil 4.10. *F. avenaceum* türü mantardan elde edilen genomik DNA izolasyonlarının %1,2'lik agaroz jel görüntüleri. 1 ve 2; Bayramşah Göleti'nden elde edilen mantar DNA'sı, 3 ve 4; Karaidemir Baraj Göleti'nden elde edilen mantar DNA'sı, 5 ve 6; Keban Baraj Gölü'nden elde edilen mantar DNA'sı

4.5. PZR Uygulamalarına İlişkin Bulgular

4.5.1. Mantar izolatlarına ait PZR bulguları

Elde edilen mantar izolatlarına ait DNA örnekleri kullanılarak *Fusarium avenaceum* türünün teşhisinde kullanılan FAF1 ve FAR primerleri ile PZR işlemi gerçekleştirilmiştir. PZR sonuçları agaroz jel elektroforezinde yürütülmüş ve görüntüleme cihazında görüntülenmiştir. Mantarın ITS gen bölgesi ait 314 bp uzunluğundaki bölge çoğaltılmıştır (Şekil 4.11.).



Şekil 4.11. Mantar örneklerinin FAF1 ve FAR primerleri ile ITS bölgesindeki PZR reaksiyon sonuçları. L: Markır, NK: Negatif kontrol, 1 ve 2; Bayramşah Göleti'nden elde edilen mantarın PZR sonucu, 3 ve 4; Karaidemir Baraj Göleti'nden elde edilen mantarın PZR sonucu, 5 ve 6; Keban Baraj Gölü'nden elde edilen mantarın PZR sonucu

4.5.2. Dizi analizi, dizilerin GenBank'tan blast edilerek doğrulanması

PZR ürünlerinin dizi analizleri yapılmak üzere Güney Kore merkezli Macrogen firmasına gönderilmiş ve dizi analiz sonuçlarına ulaşılmıştır (Çizelge 4.1.).

Çizelge 4.1. Çalışma sonucu üretilen izolatlara ait dizi sonuçları

İzolat	Dizi Analizi
BSAH1	TTG GAT GTT GTG CAT CTT ATT TCC CTA GCG GAC CTG CCC GCC AGA GGA CCC AAA CTC TAA TGT TTC TTA TTG TAA CTT CTG AGT AAA ACA AAC AAA TAA ATC AAA ACT TTC AAC AAC GGA TCT CTT GGT TCT GGC ATC GAT GAA GAA CGC AGC AAA ATG CGA TAA GTA ATG TGA ATT GCA GAA TTC AGT GAA TCA TCG AAT CTT TGA ACG CAC ATT GCG CCC GCT GGT ATT CCG GCG GGC ATG CCT GTT CGA GCG TCA TTT CAA CCC TCA AGC

Çizelge 4.1.'in devamı.

	CCT CGG GTT TGG TGT TGG GGA TA
BSAH2	TTG GAT GTT GTG CAT CTT ATT TCC CTA GCG GAC CTG CCC GCC AGA GGA CCC AAA CTC TAA TGT TTC TTA TTG TAA CTT CTG AGT AAA ACA AAC AAA TAA ATC AAA ACT TTC AAC AAC GGA TCT CTT GGT TCT GGC ATC GAT GAA GAA CGC AGC AAA ATG CGA TAA GTA ATG TGA ATT GCA GAA TTC AGT GAA TCA TCG AAT CTT TGA ACG CAC ATT GCG CCC GCT GGT ATT CCG GCG GGC ATG CCT GTT CGA GCG TCA TTT CAA CCC TCA AGC CCT CGG GTT TGG TGT TGG GGA TA
KDMR1	TTG GAT GTT GTG CAT TTT ATT TCC CTA GCG GAC CTG CCC GCC AGA GGA CCC AAA CTC TAA TGT TTC TTA TTG TAA CTT CTG AGT AAA ACA AAC AAA TAA ATC AAA ACT TTC AAC AAC GGA TCT CTT GGT TCT GGC ATC GAT GAA GAA CGC AGC AAA ATG CGA TAA GTA ATG TGA ATT GCA GAA TTC AGT GAA TCA TCG AAT CTT TGA ACG CAC ATT GCG CCC GCT GGT ATT CCG GCG GGC ATG CCT GTT CGA GCG TCA TTT CAA CCC TCA AGC CCT CGG GTT TGG TGT TGG GGA TA
KDMR2	TTG GAT GTT GTG CAT TTT ATT TCC CTA GCG GAC CTG CCC GCC AGA GGA CCC AAA CTC TAA TGT TTC TTA TTG TAA CTT CTG AGT AAA ACA AAC AAA TAA ATC AAA ACT TTC AAC AAC GGA TCT CTT GGT TCT GGC ATC GAT GAA GAA CGC AGC AAA ATG CGA TAA GTA ATG TGA ATT GCA GAA TTC AGT GAA TCA TCG AAT CTT TGA ACG CAC ATT GCG CCC GCT GGT ATT CCG GCG GGC ATG CCT GTT CGA GCG TCA TTT CAA CCC TCA AGC CCT CGG GTT TGG TGT TGG GGA TA
KEBN1	TTG GAT GTT GTG CAT GTT ATT TCC CTA GCG GAC CTG GCC TCC AGA AGA CCC AAA CTC TAA TGT TTC GTA TTG GAA CTT CTG AGT AAA ACA AAC AAA TAA ATC AAA ACT TTC AAC AAC GGA TCT CTT GGT TCT GGC ATC GAT GAA CAA CGC AGC AAA ATG CGA TAA GTA ATG TGA ATT GCA GAA TTC ACT GAA TCA TCG AAT CTT TGA ACG CAC ATT GCG CCC GCT GGT ATT CCG GCG GGC ATG CCG GTT CGA GCG TCA TTT CAA CCC TCA AGC CCT CGC GTT TGG TGT TGG GGA TA
KEBN2	TTG GAT GTT GTG CAT GTT ATT TCC CTA GCG GAC CTG GCC TCC AGA AGA CCC AAA CTC TAA TGT TTC GTA TTG GAA CTT CTG AGT AAA ACA AAC AAA TAA ATC AAA ACT TTC AAC AAC GGA TCT CTT GGT TCT GGC ATC GAT GAA CAA CGC AGC AAA ATG CGA TAA GTA ATG TGA ATT GCA GAA TTC ACT GAA TCA TCG AAT CTT TGA ACG CAC ATT GCG CCC GCT GGT ATT CCG GCG GGC ATG CCT GTT CGA GCG TCA TTT CAA CCC TCA AGC

Çizelge 4.1.'in devamı.

	CCT CGC GTT TGG TGT TGG GGA TA
--	--------------------------------

Gelen sonuçlar BioEdit (Ver. 7.2.5) programı kullanılarak edit edilmiş ve fasta formatına dönüştürülmüştür. Daha sonra MEGA (Ver. 7.0.21) programı yardımıyla hizalanarak baz pozisyonlarındaki değişken bölgeler belirlenmiştir (Şekil 4.12.).

				111	111	111	122	222	222	223	333	333	333	444	444	444	455	555		
BSAH1	123	456	789	012	345	678	901	234	567	890	123	456	789	012	345	678	901	234		
BSAH2	TTG	GAT	GTT	GTG	CAT	CTT	ATT	TCC	CTA	GCG	GAC	CTG	CCC	GCC	AGA	GGA	CCC	AAA		
KDMR1		
KDMR2	T..		
KEBN1	G..	G..	T..	...	A..		
KEBN2	G..	G..	T..	...	A..		
																		111	111	111
BSAH1	555	556	666	666	666	777	777	777	788	888	888	889	999	999	999	000	000	000		
BSAH2	567	890	123	456	789	012	345	678	901	234	567	890	123	456	789	012	345	678		
KDMR1	CTC	TAA	TGT	TTC	TTA	TTG	TAA	CTT	CTG	AGT	AAA	ACA	AAC	AAA	TAA	ATC	AAA	ACT		
KDMR2		
KEBN1	G..	...	G..		
KEBN2	G..	...	G..		
BSAH1	111	111	111	111	111	111	111	111	111	111	111	111	111	111	111	111	111	111		
BSAH2	011	111	111	112	222	222	222	333	333	333	344	444	444	445	555	555	555	666		
KDMR1	901	234	567	890	123	456	789	012	345	678	901	234	567	890	123	456	789	012		
KDMR2	TTC	AAC	AAC	GGA	TCT	CTT	GGT	TCT	GGC	ATC	GAT	GAA	GAA	CGC	AGC	AAA	ATG	CGA		
KEBN1		
KEBN2	C..		
BSAH1	111	111	111	111	111	111	111	111	111	111	111	111	122	222	222	222	222	222		
BSAH2	666	666	677	777	777	778	888	888	888	999	999	999	900	000	000	001	111	111		
KDMR1	345	678	901	234	567	890	123	456	789	012	345	678	901	234	567	890	123	456		
KDMR2	TAA	GTA	ATG	TGA	ATT	GCA	GAA	TTC	AGT	GAA	TCA	TCG	AAT	CTT	TGA	ACG	CAC	ATT		
KEBN1		
KEBN2		
BSAH1	222	222	222	222	222	222	222	222	222	222	222	222	222	222	222	222	222	222		
BSAH2	111	222	222	222	233	333	333	334	444	444	444	555	555	555	566	666	666	667		
KDMR1	789	012	345	678	901	234	567	890	123	456	789	012	345	678	901	234	567	890		
KDMR2	GCG	CCC	GCT	GGT	ATT	CCG	GCG	GGC	ATG	CCT	GTT	CGA	GCG	TCA	TTT	CAA	CCC	TCA		
KEBN1		
KEBN2		
BSAH1	222	222	222	222	222	222	222	222	22											
BSAH2	777	777	777	888	888	888	899	999	99											
KDMR1	123	456	789	012	345	678	901	234	56											
KDMR2	AGC	CCT	CGG	GTT	TGG	TGT	TGG	GGA	TA											
KEBN1		
KEBN2		

Şekil 4.12. İncelenen gen bölgelerindeki nükleotid farklılıklar

Çalışmalarda üretilen izolatların *Fusarium avenaceum* türü olduğu blast analizi ile doğrulanmıştır. Elde edilen bulgular GenBank'ta benzerlik gösterdiği önceki çalışmalar ile karşılaştırılmıştır. Blast sonuçlarına göre Bayramşah ve Karaidemir göletlerine ait izolatlar GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>) kabul numarası MG385082.1 olan *F. avenaceum* türüne %100 benzerlik gösterirken Keban barajından üretilen izolatlar %97 benzerlik gösterdiği görülmüştür (Çizelge 4.2.).

Çizelge 4.2. *F. avenaceum* izolatlarına ait blast sonuçları

BAZ POZİSYONLARI											BENZER OLDUĞU ORGANİZMA	BENZERLİK (%)	GENBANK ERİŞİM NO
1	1	2	2	3	4	4	6	7	4	8			
İZOLAT	6	7	0	6	7	3	5	8	6	9			
BSAH1	C	C	G	G	T	T	G	G	T	G	<i>F. avenaceum</i>	100	<u>MG385082.1</u>
BSAH2	<i>F. avenaceum</i>	100	<u>MG385082.1</u>
KDMR1	T	<i>F. avenaceum</i>	100	<u>MG385082.1</u>
KDMR2	T	<i>F. avenaceum</i>	100	<u>MG385082.1</u>
KEBN1	G	G	T	A	G	G	C	C	G	C	<i>F. avenaceum</i>	97	<u>MG385082.1</u>
KEBN2	G	G	T	A	G	G	C	C	G	C	<i>F. avenaceum</i>	97	<u>MG385082.1</u>

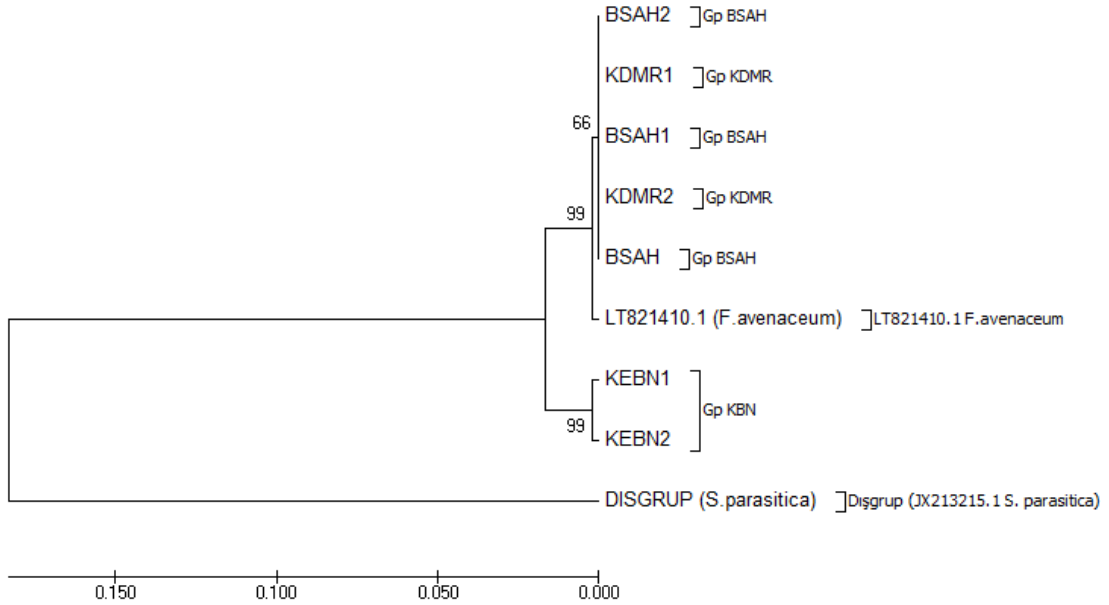
BSAH: Bayramşah Baraj Gölü (Hayrabolu-TEKİRDAĞ); KDMR: Karaidemir Baraj Gölü (Malkara-TEKİRDAĞ);KEBN: Keban Baraj Gölü (Keban-ELAZIĞ)

Blast analiz sonucu tür teşhis yapılan izolatlara ait diziler GenBank'a sunularak kabul numaraları alınmış ve ilk defa moleküler olarak barkodlanmıştır (Çizelge 4.3.).

Çizelge 4.3. *F. avenaceum* izolatına ait alınan GenBank ulaşım numaraları

İZOLAT ADI	GENBANK KABUL NO
SUB3589133 BSAH	MG859859
SUB3589133 KDMR	MG859860
SUB3589133 KEBN1	MG859861
SUB3589133 KEBN2	MG859862

Elde edilen izolatlar a ait sonuçlar Almario (2018) tarafından LT821410.1 GenBank kabul numarası ile alınan *F. avenaceum* izolatu ve dış grup olarak da Leung (2015) tarafından alınan JX213215.1 GenBank kabul numaralı *Saprolegnia parasitica* izolatu ile aralarındaki genetik mesafe hesaplanarak, akrabalık dereceleri ortaya konulmuştur (izelge 4.4.). BSAH ve KDMR izolatları arasında genetik mesafe 0 hesaplanırken her iki izolatu KEBN izolatlarına mesafesi 0,33 olarak hesaplanmıştır. Şekil 4.13.'te üretilen filogenetik aata BSAH, KDMR ve referans dizi aynı dalda gruplanırken KEBN izolatları ikinci dalda gruplanmıştır.



Şekil 4.13. Elde edilen izolatların *F. avenaceum* türüne ait genetik mesafeler

Çizelge 4.4. Üç istasyona ait *F. avenaceum* izolatları arasında hesaplanan genetik mesafe

İzolat	Genetik Mesafe				
	1	2	3	4	5
1-BSAH					
2-KDMR	0,000				
3-KEBN	0,033	0,033			
4-LT821410.1_F.avenaceum	0,004	0,004	0,037		
5-Dıřgrup(JX213215.1-S.parasitica)	0,363	0,363	0,376	0,363	

5. TARTIŞMA

Türkiye’de su ürünleri, hızla gelişim gösteren bir sektördür. Ülkemizde su ürünlerinin gelişimi bilimsel araştırmalar yapılmasına ve uluslararası gelişmelerin yakından takip edilmesiyle daha da ivme kazanmaktadır. Modern teknolojilerin gelişmesi ile birlikte moleküler düzeyde istenilen sonucun elde edilmesi, genetik düzeyde kontrolün etkili olması, hastalıkların bulaşmasının önlenmesi, beslenme koşullarının bilinmesi gelişen teknolojilerin yeniliklerine bağlıdır.

Ülkemizin doğal sularında yaşam faaliyeti gösteren tatlısu ıstakozları (*A. leptodactylus*) karın ve kısıkaçları gıda olarak tüketilebilen, düşük kalorili protein kaynağı olan, iç sularımızda ekonomik değeri oldukça yüksek bir su canlısıdır. Ülkemizde tüketimi yeteri kadar yüksek olmasa da diğer birçok ülkede oldukça sevilerek tüketilen bir besin kaynağıdır.

Kerevit vebası olarak nitelendirilen *Aphanomyces astaci* mantar türü nedeniyle bazı doğal popülasyonların hızla yok olması, stokların da giderek azalmasına neden olmuştur. Bu nedenle kerevitlerde görülen bu ölümcül hastalık ve etkeni *A. astaci* birçok bilim insanının tatlısu ıstakozu hastalıkları üzerindeki çalışmalarında odak noktası olmuştur.

Tatlısu ıstakozları iç sulardaki ekolojik dengenin önemli birer parçası haline gelmiştir ve önemli bir protein kaynağıdır. Bu nedenle, popülasyonlarda meydana gelen değişimler hastalıklar ve yabancı türlerin oluşturduğu tehditler oldukça dikkate alınması gereken konulardır.

Türkiye’de doğal olarak göllerde, akarsularda, barajlarda ve nehirlerde yaygın bir şekilde dağılım gösteren ve son yıllarda popülasyonunda önemli bir miktarda artış bulunan tatlısu ıstakozu ile ilgili yapılan birçok çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmalar genellikle taksonomisi, dağılımı, morfolojisi, işleme teknolojisi ve biyolojisi alanında yapılmıştır (Geldiay ve Kocataş 1970; Erençin ve Köksal 1977; Harlıoğlu ve Türkgülü 2000; Bolat 2001; Harlıoğlu ve Holdich 2001; Harlıoğlu 2004; Duman vd. 2012). Ancak ülkemizde dağılım gösteren tatlısu ıstakozu türlerinde *Fusarium avenaceum* kaynaklı bir çalışma yapılmadığı görülmüştür.

Fusarium türlerinin tespitinde yalnız besi ortamından veya mikroskop altında inceleyip morfolojik teşhisini yapabilmek taksonomistler için dahi oldukça karmaşık bir işlemdir. Günümüz fungal organizmaların teşhisi türlerin karakteristik özelliklerinin yetersizliği ve esnekliği sebebiyle uzman bir taksonomist gerektiren bir durumdur. Sıkça yanlış tanımlamalarla sonuçlanan oldukça komplike türlerdir (Mishra vd. 2003).

Tatlısu ıstakozlarında *F. avenaceum* kaynaklı enfeksiyon bugüne dek yalnızca Makkonen vd. (2010) tarafından bildirilmiştir. Makkonen vd. bu çalışmada *Astacus astacus* türünde yanık leke hastalığına ait belirtiler tespit etmiş, ancak tür bazında tanımlamamıştır. Makkonen (2013) ise *Astacus astacus* kerevitinde yanık leke hastalığına neden olan mantar etkeni *Fusarium avenaceum*’u tespit ederek, tür bazında tanımlamışlardır.

Bu tez çalışmasında Türkiye sularında Tekirdağ ve Elazığ bölgelerinden temin edilen tatlısu istakozu örneklerinden *F. avenaceum* mantar türünün izolasyonu ve izolatlardan PZR yöntemi ile moleküler tanısı gerçekleştirilmiştir. Mantar türüne özgün primerler ile istenilen bölge çoğaltılmış ve dizi analizi yapılarak türün doğruluğu tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlar ile dış gruptan seçilen farklı izolat türleri ile genetik mesafesi hesaplanmış ve akrabalık dereceleri ortaya konulmuştur. Filogenetik ağaçlandırma ile referans diziler ve elde izolatlar arasında gruplandırma yapılmıştır.

Yanık leke hastalığına neden olan *F. avenaceum* türü tatlısu istakozları için önemli bir tehdit unsuru olarak belirlenmiştir. Daha çok toprakta bulunan ve oldukça önemli bir bitki patojenitesi olan *Fusarium* türlerine ait hastalıklar ikincil bir hastalık olmakla beraber bulunduğu popülasyonların yoğunluğuna bağlı olarak ölümlere sebep olmaktadır.

Aynı şekilde hastalığın belirlendiği doğal sularımızda gerekli önlemler alınıp hastalığın yayılımının engellenmesi gerekmektedir. Ayrıca hastalığın ülkeler arasındaki dolaşımını izlemek ve kontrol altında tutmak gerekir. Bu da konu ile ilgili yeterli bir bilgiye sahip olunması ve ileri tanı yöntemlerinin kullanılması ile daha etkin bir hale gelecektir.

Bu çalışmada *F. avenaceum* türüne ait olan mantarın Türkiye sularından ilk defa tespiti gerçekleştirilmiştir. Semptomlu kerevitlerden alınan doku örneklerinden mantarın üretilmesi sağlanmıştır. Üretilen mantardan DNA izolasyonu yapılmış ve türünün morfolojik teşhisi referans görüntülerle karşılaştırılarak incelenmiştir. Ancak kesin tanı moleküler teşhis kullanılarak yapılabilmektedir. Hastalığın moleküler teşhisi için en sık kullanılan yöntem olan PZR ile mantarın istenilen bölgesi Mishra vd. (2003)'nin uyguladığı PZR metodu modifiye edilerek çoğaltılmıştır.

PZR optimizasyonu sonrasında tatlısu istakozlarından (*Astacus leptodactylus*) izole edilen *Fusarium* izolatlarından ITS gen bölgesine ait 314 bp uzunluğundaki bölge FAF1 ve FAR primerleri kullanılarak çoğaltılmış ve pozitif bantlar gözlemlenmiştir. Çalışmada yapılan PZR analizleri ile üç istasyonda *F. avenaceum* patojeni tanısı konulmuştur.

Üretilen mantarların morfolojik olarak teşhisinde yaşanan şüpheleri ortadan kaldıran ve kesin ve doğru teşhis imkanı sunan moleküler teşhis yöntemi başarı ile kullanılmıştır. Bu tez çalışması ile hastalık belirtisi gösteren örneklerden izole edilen mantar PZR sonucunda *F. avenaceum* pozitif olarak gözlemlenmiştir. Klinik bulgularda gözlenen sonuçlar PZR sonucu doğrultusunda yanık leke hastalığına sebebiyet veren *F. avenaceum* türü olduğunu doğrulamıştır.

Kerevitlerde yanık leke hastalığına yol açan *F. avenaceum* türü Türkiye'nin farklı popülasyonlarından tatlısu istakozlarının incelenmesi ve bu hastalığın ilk defa ülkemiz sularından moleküler yöntemlerle teşhis edilmesi literatürlere özgün bir çalışma olarak katkıda bulunması beklenmektedir.

Bu çalışma ile birlikte, PZR tekniğinin kullanılmasının çalışma üzerindeki hız ve güvenilirlik açısından etkili bir yöntem olduğu belirlenmiştir. Bu tekniğin kullanılması ile mantarın teşhisi kısa sürede gerçekleştirilmiştir. Kullanılan bu teknik çeşitli

canlıların gözlenmesi ve sistematik olarak dağılımının incelenmesinde rahatlıkla kullanılabilir. Ayrıca çeşitli laboratuvar ortamlarında sonuçların tekrar edilebilirliği göz önünde bulundurulduğunda ise çalışmaların kolayca yapılabileceğini göstermiştir.

Bu araştırmada kullanılan moleküler teknoloji ile yanık leke hastalığına neden olan mantarın tespit edilmesi diğer hastalık bulguları için de bu teknolojilerin uygulanmasını doğrulamaktadır.

6. SONUÇLAR

Bu çalışmada Tekirdağ ve Elazığ bölgelerinden temin edilen kerevitler laboratuvara getirilmiştir. Laboratuvara getirilen örneklerde gerekli incelemeler yapılmış ve hastalık belirtisi gösteren kerevitler tespit edilmiştir. Semptomlu tatlısu ıstakozlarının melanize kısımlarından doku örnekleri alınmış ve besiyerlerine ekimi yapılmıştır. Ekimi yapılan örnekler mikroskopta incelenmiş ve ilgili genin tespiti için DNA izolasyonu yapılmıştır.

Kerevitlerde ikincil bir hastalık olan yanık leke hastalığının etkeni *F. avenaceum* türünün ITS gen bölgesine bakılarak FAF1 ve FAR primerleri kullanılarak PZR işlemi ile tespit edilmiştir. Bu bölgeyi belirlemek için uygun PZR protokolü seçilmiş ve 3 farklı izolata ait 6 örnek için PZR yapılmıştır. PZR'ı yapılan örnekler elektroforezde yürütülmüş ve incelenmiştir.

Elde edilen PZR ürünleri MacroGen firmasına gönderilerek dizi analizlerine ulaşılmıştır. Gelen dizi sonuçları BioEdit (Ver. 7.2.5) programında edit edilerek fasta formatına dönüştürülmüş ve daha sonra MEGA (Ver. 7.0.21) programı kullanılarak hizalanmıştır. Hizalanan dizilerin baz pozisyonlarındaki değişken bölgeler belirlenmiştir. Nükleotid farklılıklar incelendiğinde 4 farklı haplotip olduğu gözlemlenmiştir.

Fusarium avenaceum izolatlarından elde edilen ITS bölgesine ait diziler GenBank'ta yapılan blast analizi ile doğrulanmıştır. Blast sonuçlarına bakıldığında ise Bayramşah ve Karaidemir göllerine ait izolatlarda GenBank kabul numarası MG385082.1 olan *F. avenaceum* türüne %100 benzerlik gösterdiği, Keban barajından üretilen izolatların ise %97'lik bir benzerliği olduğu görülmüştür.

Elde edilen izolatların tür teşhisi gerçekleştirildikten sonra Türkiye sularından elde edilebilecek *F. avenaceum* türünün teşhisinde referans olarak kullanılmak üzere GenBank kabul numaraları alınmıştır.

Bu tez çalışmasının sonucu olarak hastalık belirtisi gösteren örneklerden izole edilen mantar PZR sonucunda *F. avenaceum* pozitif olarak gözlemlenmiştir. Klinik bulgularda gözlenen sonuçlar PZR sonucu doğrultusunda yanık leke hastalığına sebebiyet veren *F. avenaceum* türü olduğunu doğrulamıştır.

Kerevitlerde yanık leke hastalığı'na yol açan *F. avenaceum* türü mantarın ITS geni üzerine çalışmalar gerçekleştirilmiş ancak bu çalışmada Türkiye'nin farklı popülasyonlarından tatlısu ıstakozlarının incelenmesi ve bu hastalığın ilk defa ülkemiz sularından moleküler yöntemlerle teşhis edilmesi literatürlere özgün bir çalışma olarak katkıda bulunması beklenmektedir.

7. KAYNAKLAR

- Ackefors, H., and Lindqvist, O.V. 1994. Cultivation of freshwater of crayfishes in Europe. In: Huner, J.V. (Eds.), *Freshwater Crayfish Aquaculture in North America, Europe and Australia*, families Astacidae, Cambaridae and Parastacidae. Haworth, Binghamton, New York, pp. 157-216.
- Akhan, S., Bektas, Y., Berber, S., Kalaycı, G. 2014. Population structure and genetic analysis of narrowclawed crayfish (*Astacus leptodactylus*) populations in Turkey. *Genetica*, 142: 381-395.
- Alderman, D.J. and Polglase, J.L., Frayling, M., Hogger, J. 1984. Crayfish plague in Britain. *J. Fish Dis.*, 7: 401-405.
- Alderman, D.J. and Polglase, J.L. 1985. *Fusarium tabacinum* (Beyma) Gams. as a gill parasite in the crayfish *Austropotamobius pallipes* Lereboullet. *Journal of Fish Diseases*, 8: 249-252.
- Alderman, D.J. and Polglase, J.L. 1988. Pathogens, parasites and commensals. In: Holdich, D.M., Lowery, R.S. (Eds.), *Freshwater Crayfish: Biology, Management and Exploitation*. Croom Helm, London, pp. 167-212.
- Alderman, D.J. 1996. Geographical spread of bacterial and fungal diseases of crustaceans. *Revue Scientifique et Technique - Office International des Epizooties*, 15(2): 603-632.
- Alpbaz, A. 2009. Su Ürünleri Yetiştiriciliği, ISBN: 2789785852100.
- Amborski, R.L. 1980. Diseases of crayfish. Proc. 1st. Nat. Crayfish Culture Workshop, Gooch, D. and Hune, J. (Eds.), Res., Ser. No. 50. University of Southwestern Louisiana, Louisiana.
- Anonim 2001. 8. Beş Yıllık Kalkınma Planı (2001-2005) DPT, Ankara. 158 p. http://www.bilgitoplumu.gov.tr/wp.content/uploads/2015/01/Sekizinci_Kalkinma_Planı.pdf [Son erişim tarihi: 10.11.2017].
- Anonim 2011. Su Ürünleri Yetiştiriciliği. www.tarim.gov.tr. [Son erişim tarihi: 01.12.2017].
- Anonim 2017: DSİ 11. Bölge Müdürlüğü (Edirne) Baraj ve Göletler. <http://bolge11.dsi.gov.tr/isletmedekitesisler/baraj-golet>. [Son erişim tarihi: 10.12.2017].
- Aras, Z. 2011. Mikrobiyolojide kullanılan hızlı tanı yöntemleri. *Türk Hij. Den. Biyol. Derg.*, 68(2): 97 – 104.
- Asan, A. 2011. Checklist of *Fusarium* Species Reported from Turkey. *Mycotaxon*, 116: 479.
- Aydın, F. ve Polatsü, S. 1992. "Mogan Gölü tatlısu istakozlarının (*Astacus leptodactylus* ESCH. 1823) mantar hastalığının ortaya çıkmasını kolaylaştıran olumsuz fiziksel ve kimyasal parametreler". *Akdeniz Üniv. Su Ürünleri Müh. Dergisi*, 3: 143-153.
- Avsever, M.L., Türk, N., Hilmioğlu Polat, S., Metin, D.Y. 2011. Tatlı Su İstakozlarından (*Astacus leptodactylus*) *Saprolegnia* sp. ve *Aeromonas*

- hydrophila* İzolasyonu. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 17(5): 873-875.
- Aydın, H. 2016. Türkiye’ de Kültür Balıkçılığı Potansiyeli ve Akuakültür Sektörünün Ekonomiye Katkısı. *Balkan Sosyal Bilimler Dergisi*, 6(11): 62-67.
- Baran, İ., Timur, M., Oray, I., Timur, G., Rahe, R. ve Soylu E. 1987. "Investigations on a disease causing serious mortality on crayfish (*Astacus leptodactylus*) populations in Turkey". Aquaculture Europe 87. International Conference International Exhibition.
- Baran, I. and Soylu, E. 1989. "Crayfish Plague in Turkey". *Journal of Fish Diseases*, 12: 193-197.
- Begerow, D., Nilsson, H., Unterseher, M., Maier W. 2010. Current state and perspectives of fungal DNA barcoding and rapid identification procedures. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 87(1): 99-108.
- Bişkin, Z., Yıldırım, A., İnci, A., Düzlü, Ö. 2011. Parazitolojide Teşhis Amaçlı Kullanılan Moleküler Biyolojik Teknikler. *Erciyes Üniv. Vet. Fak. Derg.*, 8(1): 43-51.
- Bolat, Y. 2001. Reproduction on the crayfish (*Astacus leptodactylus* Eschscholtz, 1823) in Lake Eğirdir. *J. Inst. Natur. Appl. Sci.*, 5: 49-56.
- Bolat, Y. ve Kaya, M.A. 2016. Eğirdir Gölü kerevitlerde (*Astacus leptodactylus*, Eschscholtz, 1823) büyüme ve üreme özelliklerinin belirlenmesi. *Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi Dergisi*, 12(1):11-24.
- Bottalico, A. and Perrone, G. 2002. Toxigenic *Fusarium* species and mycotoxins associated with head blight in small-grain cereals in Europe. *European Journal of Plant Pathology*, 108: 611-624.
- Buller, N. 2008. Crayfish plague. Australia and New Zealand Standard Diagnostic Procedure, September 2008.
- Caetano-anolles, G. 1993. PCR Methods Applications. 3: 85-94.
- Cerenius, L. and Söderhäll, K. 1984. Repeated zoospore emergence from isolated spore cysts of *Aphanomyces astaci*. *Exptl. Mycol.*, 8: 370-377.
- Chinain, M. and Vey, A. 1988. Experimental study of *Fusarium solani*: infections in *Astacus leptodactylus* and *Pasifastacus leniusculus* (Crustacea, Decapoda). *Diseases of Aquatic Organisms*, 5: 215-223.
- Chou, H.Y., Huang, C.Y., Wang, C.H., Chiang, H.C., Lo, C.F. 1995. Pathogenicity of a baculovirus infection causing white spot syndrome in cultured penaeid shrimp in Taiwan. *Dis. Aquat. Org.*, 23: 165–173.
- Cornalia, E. 1860. [English title not available]. (Sulla malattia dei gamberi.) *Atti della Società Italiana di Scienze Naturali*, II: 334-336.
- Çelikkale, M.S., Düzgüneş, E., Okumuş, İ. 1999. Fisheries Sector in Turkey: Potential, Current State, Constraints and Recommendations (in Turkish). İstanbul Ticaret Odası Yayınları (İTO), No. 1999-2, Lebib A.S., İstanbul, 414 s.

- Çelikkale, E. ve Ayhan, K. 2012. Mikrobiyolojide Kullanılan Bazı Moleküler Teknikler. *Karaelmas Fen ve Mühendislik Dergisi*, 2 (1): 53-62.
- Dartay, M. ve Canpolat, M. 2016. Keban Baraj Gölü (Elazığ, Türkiye) balıkçılık sorunları ve çözüm önerileri. *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 33(3): 291-298.
- Demirel, F. ve Yüksel, F. 2013. Keban Baraj Gölündeki Kerevit (*Astacus leptodactylus* Eschscholtz, 1823) Populasyonuna Uygulanan Avcılık Tekniğinin Belirlenmesi. *Yunus Araştırma Bülteni*, 4: 13-22.
- Diéguez-Uribeondo, J., Fregeneda-Grandes, J., Cerenius, L., Pe´rez-Iniesta, E., Aller Gancedo, J.M., Tellería, M.T., Söderhäll, K., Martín, M.P. 2007. Re-evaluation of the enigmatic species complex *Saprolegnia diclina*–*Saprolegnia parasitica* based on morphological, physiological and molecular data. *Fungal Genetics and Biology*, 44: 585–601.
- Donpudsa, S., I. Söderhäll, V., Rimphanitchayakit, L., Cerenius, A., Tassanakajon, Söderhäll K. 2010. Proteinase inhibitory activities of two two-domain Kazal proteinase inhibitors from the freshwater crayfish *Pacifastacus leniusculus* and the importance of the P2 position in proteinase inhibitory activity. *Fish and Shellfish Immunology*, 29: 716-723.
- Dubos, T., Pogoda, F., Ronellenfitsch, F.K., Junk, J., Hoffmann, L., Beyer, M. 2011. Fractal dimension and shape parameters of asexual *Fusarium* spores from selected species: Which species can be distinguished?. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 119(1): 8–14.
- Duman, M., Emir Çoban, M., Özpolat, E. 2012. Biberiye ve Kekik Esansiyel Yağları Katkısının Marine Edilmiş Kerevitlerin (*Astacus leptodactylus* Esch., 1823) Raf Ömrüne Etkisinin Belirlenmesi. *Kafkas Univ. Vet. Fak. Derg.*, 18(5): 745 751.
- Eberhardt, U. 2010. A constructive step towards selecting a DNA barcode for fungi. *New Phytol.*, 187: 265–268.
- Edgerton, B.F., Evans, L.H., Stephens, F.J., Overstreet, R.M. 2002. Synopsis of freshwater crayfish diseases and commensal organisms. *Aquaculture.*, 206: 57-135.
- Edsman, L. 2000. Crayfish conservation in Sweden, lessons to learn. In: Rogers, D. ve Brickland, J. (Eds.), Proc Crayfish Conf., 26/27 April 2000, Leeds. Environment Agency, Bristol, pp. 19–23.
- Erençin, Z. and Köksal, G. 1977. Studies on the freshwater crayfish (*Astacus leptodactylus* Eschscholtz, 1823) in Anatolia. *Freshwater Crayfish*, 3: 187-192.
- Fell, J.W., Boekhout, T., Fonseca, A., Scorzetti, G., Stätzell-Tallman, A. 2000. Biodiversity and systematics of basidiomycetous yeasts as determined by large subunit rDNA D1/D2 domain sequence analysis. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 50: 1351–1371.
- Fung, D.Y.C. 2006. Rapid methods and automation in microbiology: 25 years of development and predictions. *Bull. Tech. U. Ist.*, 54(4): 45-55.

- Fung, D.Y.C. 1995. What's needed in rapid detection of foodborne pathogens, *Food Technol.*, 6: 64-7.
- Geldiay, R. and Kocataş, A. 1970. The preliminary report about the taxonomy and distribution of *Astacus* (Decapoda) of Turkey. *Sci. Rep. Fac. Sci.*, 94: 1-7.
- Grinsted, J. and Bennett, P.M. 1988. Analysis of Plasmid DNA with Restriction Endonucleases, In: *Methods in Microbiology*, Volume 21, Plasmid Technology 2nd Edition, Academic Press, London, 0-12- 521-521-5.
- Hall, T.A. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucl. Acids. Symp. Ser.*, 41: 95-98.
- Harlioğlu, M.M. and Türkgülü, İ. 2000. The relationship between egg size and female size in freshwater crayfish, *Astacus leptodactylus*. *Aquaculture International*, 8: 95-98.
- Harlioğlu, M.M. and Holdich, D.M. 2001. Meat yields in the introduced crayfish, *Pacifastacus leniusculus* and *Astacus leptodactylus*, from British waters. *Aquaculture Research*, 32: 411-417.
- Harlioğlu M.M. 2004. The present situation of freshwater crayfish, *Astacus leptodactylus* (Eschscholtz, 1823) in Turkey. *Aquaculture*, 230: 181–187.
- Harlioğlu, M.M. and Guner, U. 2006. Studies on the recently discovered crayfish, *Austropotamobius torrentium* (Shrank, 1803), in Turkey: Morphological analysis and meat yield. *Aquaculture Research*, 37: 538-542.
- Harlioğlu, M.M. and Guner, U. 2007. A new record of recently discovered crayfish, *Austropotamobius torrentium* (Shrank, 1803), in Turkey. *Bulletin Français de la Pêche et de la Pisciculture-Connaissance Et Gestion Du Patrimoine Aquatique*, 387: 1-5.
- Harlioğlu, M.M. 2008. The harvest of the freshwater crayfish *Astacus leptodactylus* Eschscholtz in Turkey: Harvest history, impact of crayfish plague, and present distribution of harvested populations. *Aquaculture International*, 16: 351-360.
- Harlioğlu, M.M. ve Farhadi, A. 2017. Türkiye'ye İthal Edilen Kerevit Türlerinin Çevre Üzerine Oluşturabileceği Olumsuz Etkiler. *Fırat Üniv. Müh. Bil. Dergisi*, 29(1): 247-259, 248-259.
- Hessen, D.O., Kristiansen, G., Skurdal, J. 1993. Nutrient Release From Crayfish, and Its Potential Impact on Primary Production in Lakes. *Freshwater Crayfish*, 9: 311-317.
- Hogger, J.B. 1988. Ecology, population biology and behaviour, Freshwater crayfish: Biology, Management and Exploitation Holdich, D.M. ve Lowery, R.S. (Eds.), Chapman & Hall, London, p. 114-144.
- Hubault, E. 1935. Une epizootie sur *Potamobius pallipes* Lereboullet. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, 2: 109–112.
- Huner, J.V. 1989. Overview of international and domestic freshwater crayfish production. *J. Shellfish Res.*, 8: 259-265.

- Huner, J.V. 1994. Freshwater Crayfish Aquaculture in North America, Europe, and Australia: Families Astacidae, Cambaridae, and Parastacidae, *Food Products Press*, s. 312.
- Huner, J.V. 1995. An overview of the status of freshwater crayfish culture. *J. Shellfish Res.*, 14(2): 539-543.
- Jiravanichpaisal, P., Roos, S., Edsman, L., Liu, H., Söderhäll, K. 2009. A highly virulent pathogen, *Aeromonas hydrophila*, from the freshwater crayfish *Pacifastacus leniusculus*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 101: 56–66.
- Kalaycı, G. and Akhan, S. 2016. Molecular Identification of *Astacus leptodactylus* and *Austropotamobius torrentium* Using mtDNA-RFLP Method. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 16: 789-795.
- Kaya, O. ve Avsever, L. 2008. Kerevit Vebasının İleri Tanı Yöntemleri İle Araştırılması. Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, MB-D-2008-0002.
- Khoa, L.V., Hatai, K., Yuasa, K., Sawada, K. 2005. Morphology and molecular phylogeny of *Fusarium solani* isolation from kuruma prawn *Penaeus japonicus* with black gills. *Fish Pathol.*, 40: 103-109.
- Köksal, G. 1988. *Astacus leptodactylus* in Europe. In: Freshwater Crayfish: Biology, Management and Exploitation D.M. Holdich and R.S. Lowery (Eds.), Croom Helm, London and Timber Press, Oregon, pp. 365-400.
- Kumar, S., Stecher, G., Tamura, K. 2016. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0 for bigger datasets. *Molecular Biology and Evolution*. 33: 1870-1874.
- Kumlu, M. 1998. Karides, İstakoz ve Midye Yetiştiriciliği. Çukurova Üniv. Su Ürün. Fak., Ders Kitabı No:6, 340 s.
- Lee, D.O'C. and Wickens, J.F. 1992. Crustacean Farming. *Blackwell Scientific Public.*, pp. 381.
- Leslie, J.F. and Summerell, B.A. 2006. The *Fusarium* Laboratory Manual. Blackwell Publishing, Oxford, UK, pp. 388.
- Longshaw, M. 2011. Diseases of crayfish: A review. *Journal of Invertebrate Pathology*, 106: 54–70.
- Makkonen, J., Kokko, H., Henttonen, P., Kivistik, M., Hurt, M., Paaver, T., Jussila, J. 2010. Fungal isolations from Saaremaa, Estonia: noble crayfish (*Astacus astacus*) with melanised spots. *Freshw. Crayfish*, 17: 155–158.
- Makkonen, J., Jussila, J., Koistinen, L., Paaver, T., Hurt, M., Kokko, H. 2013. *Fusarium avenaceum* causes burn spot disease syndrome in noble crayfish (*Astacus astacus*). *Journal of Invertebrate Pathology*, 113: 184–190.
- Matthews, M. and Reynolds, J.D. 1992. Ecological impact of crayfish plague in Ireland. *Hydrobiologia*, 234: 1-6.
- Mazlum, Y. ve Yılmaz, E. 2006. Türkiye’de Önemli Kerevit Türlerinin Yetiştiriciliği. *E.Ü. Su Ürünleri Dergisi*, 23(1-2): 201-205.

- Mazlum, Y. ve Yılmaz, E. 2012. Kerevitlerin Biyolojisi ve Yetiştiriciliği. Mustafa Kemal Üniversitesi Yayınları: 34, s. 17-19, 55-58.
- Mishra, P.K., Fox, R.T.V., Culham, A. 2003. Development of a PCR-based assay for rapid and reliable identification of pathogenic *Fusaria*. *FEMS Microbiology Letters*, 218: 329-332.
- Momot, W.T. 1995. Redefining the role of crayfish in aquatic ecosystems. *Reviews in Fisheries Science*, 3: 33-63.
- Muller, H. 1973. Die flusskrebe 2, 73 A- Ziemsem Verlag Witten berg Lutherstadt.
- Nicholson, P., Chandler, E., Draeger, R.C., Gosman, N.E., Simpson, D.R., Thomsett, M., Wilson, A.H. 2003. Molecular tools to study epidemiology and toxicology of *Fusarium* head blight of cereals. *European Journal of Plant Pathology*, 109: 691-703.
- Nyhlén, L. ve Unestam, T. 1978. Cyst and germ tube wall structure in *Aphanomyces astaci*, Oomycetes. *Can. J. Microbiol.*, 24: 1296-1299.
- Nyström, P. and Strand, J.A. 1996. Grazing by a native and an exotic crayfish on aquatic macrophytes. *Freshwater Biology*, 36: 673-682.
- Nyström, P. 2002. Ecology, Biology of Freshwater Crayfish. Holdich, D.M. (Ed.), Blackwell Scientific, Oxford, pp. 192-235.
- Odabaşı, S., Arslan, N., Odabaşı, D.A., 2016. First Record of *Branchiobdella kozarovi* Subchev, 1978 from European Part of Turkey. *Acta zool. bulg.*, 68(4): 597-598.
- Oidtmann, B., Heitz, E., Rogers, D., Hoffmann, R.W. 2002. Transmission of crayfish plague. *Dis. Aquat. Org.*, 52: 159-167.
- Parry, D.W., Jenkinson, P., Mcleod, L. 1995. *Fusarium* ear blight (scab) in small-grain cereals - a review. *Plant Pathology*, 44: 207-238.
- Pepper, I.L., Gerba, C.P. and Brendecke, J.W. 1995. Molecular Detection of Microbial Pathogens Using Polymerase Chain Reaction. In: Environmental Microbiology, Academic Pres., Inc., pp. 115-122.
- Perry, J.J. and Staley, J.T. 2000. Genetic Engineering Chapter 16. In: Microbiology: Dynamics and Diversity, Saunders College Publishing, Fort Worth, USA, pp. 367-381.
- Persing, H.D. 1991. Polymerase chain reaction: Trends to benches. *J. Clin. Microbiol.*, 29: 1281-1285.
- Prichard, R. and Tait, A. 2001. The role of molecular biology in veterinary parasitology. *Vet. Parasitol.*, 98: 169-194.
- Pirgozliev, S.R., Edwards, S.G., Hare, M.C., Jenkinson, P. 2003. Strategies for the control of *Fusarium* head blight in cereals. *European Journal of Plant Pathology*, 109: 731-742.
- Quaglio, F., Morolli, C., Galuppi, R., Bonoli, C., Marcer, F., Nobile, L., De Luise, G., Tampieri, M.P. 2006. Preliminary investigations of disease-causing organisms in the white-clawed crayfish *Austropotamobius pallipes* complex

- from streams of northern Italy. *Bulletin Francais de la Pecheet de la Pisciculture*, 380: 1271–1290.
- Quaglio, F., Capovilla, P., Floravanti, M.L., Marino, F., Gaglio, G., Florio, D., Floretto, B., Gustinelli, A. 2011. Histological analysis of tholohanasias in White-clawed crayfish *Austropotamobius pallipes* complex. *Knowledge and Management of Aquatic Ecosystems*, 401: 27.
- Rahe, R. and Soylu, E. 1989. Identification of the pathogenic fungus causing destruction to Turkish crayfish stocks (*Astacus leptodactylus*). *J. Invertebr. Pathol.*, 54: 10–15.
- Rossmann, A.Y. 2007. Report of the planning workshop for all fungi DNA Barcoding. *Inoculum*, 58: 1–5.
- Reynolds, J.D. 1988. Crayfish extinctions and crayfish plague in Ireland. *Biol. Cons.*, 45: 279–285.
- Rozas, J., Ferrer-Mata, A., Sánchez-DelBarrio, J.C., Guirao-Rico, S., Librado, P., Ramos-Onsins, S.E., Sánchez-Gracia, A. 2017. DnaSP 6: DNA Sequence Polymorphism Analysis of Large Datasets. *Mol. Biol. Evol.*, 34: 3299–3302.
- Sangalang, A.E., Summerell, B.A., Burgess, L.W., Backhouse, D. 1995. Taxonomy of *Fusarium*: characterization of *Fusarium avenaceum* subsp. *aywerte* and *Fusarium avenaceum* subsp. *nurragi*. *Mycal. Res.*, 99(3): 287–290.
- Schocha, C.L., Seifert, K.A., Huhndorf, S., Robert, V., Spouge, J.L., Levesque, C.A., Chen, W. 2012. Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for Fungi. *PNAS*, 109(16): 6241–6246.
- Scorzetti, G., Fell, J.W., Fonseca, A., Stetzl-Tallman, A. 2002. Systematics of basidiomycetous yeasts: A comparison of large subunit D1/D2 and internal transcribed spacer rDNA regions. *FEMS Yeast Res.*, 2: 495–517.
- Smith, V.J. and Söderhäll, K. 1986. Crayfish pathology: an overview. *Freshwater Crayfish*, 6: 199–211.
- Stackebrandt, E. and Goebel, B.M. 1994. Taxonomic note: A place for DNA-DNA reassociation and 16S rRNA sequence analysis in the present species definition in bacteriology. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 44: 846–849.
- Stephens, F.N., Buller, D., Alderman, A., Cameron, M., Doroudi, P., Suijendorp, M., Deveney and R. Bowater. 2005. Disease strategy: Crayfish plague (Version 1.0). In: Australian Aquatic Veterinary Emergency Plan (AQUAVETPLAN), Edition 2 (Australian Government Department of Agriculture, Fisheries and Forestry).
- Summerell, B.A., Salleh, B., Leslie, J.F. 2003. A Utilitarian Approach to *Fusarium* Identification. *Plant Disease*, 87(2): 117–128.
- Susever, S. ve Yeğenoğlu, Y. 2011. İnvazif Mantar Enfeksiyonlarının Tanımlanmasında Moleküler Yöntemlerin Öneminin Konvansiyonel Yöntemler ile Karşılaştırılarak Değerlendirilmesi. *Mikrobiyol. Bul.*, 45(2): 325–335.
- Tcherkashina, N.Y. 1977. Survival, growth, and feeding Dynamics of juveniles swamp crayfish in Louisiana rice fields. *Proceed. Annu. Conf. Southeast Assoc. Game and Fish Comm.*, 17: 180–186.

- Timur, M. ve Timur, G. 1988. Çivril (Işıklı) ve Eğirdir Gölü tatlısu ıstakozlarında (*Astacus leptodactylus*) görülen plague hastalığı üzerinde bir araştırma. *Su Ürün. Müh. Derg.*, 1: 1-10.
- Timur, G. 1990. "Crayfish plague in some lakes of Turkey". *Bull. Eur. Ass. Fish Pathol.*, 10(4): 100-103.
- Timur, G., Timur, M., Diler, Ö. 2010. "Türkiye’de kerevit vebası hastalığının bazı göllerdeki kerevit stoklarına etkisi". *SDÜ Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi Dergisi*, 6(2): 32-38.
- TÜİK. 2016. Su ürünleri istatistikleri 2015.
<https://biruni.tuik.gov.tr/medas/?kn=97&locale=tr>. [Son erişim tarihi: 20.12.2017]
- TÜİK. 2017. Su ürünleri istatistikleri 2016.
<https://biruni.tuik.gov.tr/medas/?kn=97&locale=tr>. [Son erişim tarihi: 20.12.2017]
- Tulsidas, H., Ong, Y.Y., Chan, K.C. 2008. *Aeromonas hydrophila* bacteraemia and portal pyaemia. *Singapore Med. J.*, 49(4): 346.
- Unestam, T. 1969. Resistance to the crayfish plague in some American, Japanese and European crayfishes. *Rep. Inst. Freshw. Res. Drottningholm*, 49: 202–209.
- Unestam, T., and Weiss, D.W. 1970. The host-parasite relationship between freshwater crayfish and the crayfish disease fungus *Aphanomyces astaci*: Responses to infection by a susceptible and a resistant species. *J. Gen. Microbiol.*, 60: 77–90.
- Unestam, T. 1972. On the host range and origin of the crayfish plague fungus. *Rep. Inst. Freshw. Res. Drottningholm*, 52: 192–198 .
- Unestam, T. 1975. Defence reactions in and susceptibility of Australian and New Guinean freshwater crayfish to European-crayfish-plague fungus. *Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci.*, 53: 349–359.
- Vey, A. 1986. Disease problems during aquaculture of freshwater crayfish. *Freshwater Crayfish*, 6: 212–222.
- Vogt, G. and Rug, M. 1995. Microscopic anatomy and histochemistry of the crayfish parasite *Psorospermium haeckeli*. *Dis. Aquat. Org.*, 21: 79-90.
- Wallace, J.B., Eggert, S.L., Meyer, J.L., Webster, J.R. 1997. Multiple trophic levels of a forest stream linked to terrestrial litter inputs. *Science*, 277: 102-104.
- Wongteerasupaya, C., Vickers, J.E., Sriurairatana, S., Nash, G.L., Akarajamorn, A., Boonsaeng, V., Panyim, S., Tassanakajon, A., Withyachumnarnkul, B., Flegel, T.W. 1995. A nonoccluded, systemic baculovirus that occurs in cells of ectodermal and mesodermal origin and causes high mortality in the black tiger prawn, *Penaeus monodon*. *Dis.Aquat. Org.*, 21: 69–77.
- Wright, G.F.K., Say, M., Pascoe, I.G., Guest, D.I. 1997. Incidence and symptoms of *Fusarium* diseases of carnations in Victoria. *Australasian Plant Pathology*, 26: 44–53.

- Yeşilayer, N., Gören, H.M., Kaymak, İ.E. 2013. Mevcut Durum ve Destekleme Politikaları Bakış Açısından, Türkiye ve Avrupa Birliği Su ürünleri Yetiştiriciliğinin Karşılaştırılması. *Gaziosmanpaşa Bilimsel Araştırma Dergisi*, 2: 59-75.
- Yıldırım, Ö. and Okumuş, İ. 2004. Aquaculture in Muğla Province and its Position in Turkey Aquaculture. E.U. *Journal of Fisheries & Aquatic Sciences*, 21(3-4): 361- 364.
- Zhang, Y., Negishi, J.N., Richardson, J.S., Kolodziejczyk, R. 2003. Impact of marine derived nutrients on stream ecosystem functioning. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B*, 270: 2117-2123.

ÖZGEÇMİŞ

BÜŞRA ARLI
busraarli@gmail.com



ÖĞRENİM BİLGİLERİ

Yüksek Lisans:	Akdeniz Üniversitesi
2014-2017	Su Ürünleri Fakültesi, Su Ürünleri Mühendisliği Ana Bilim Dalı, Antalya
Lisans:	Akdeniz Üniversitesi
2009-2014	Su Ürünleri Fakültesi, Su Ürünleri Mühendisliği Bölümü, Antalya

ESERLER:

Uluslararası bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitaplarında basılan bildiriler

- 1- Akhan S., Çağatay İ.T., Berber S., Arli B. , Taştan Y., Çatli T., "Genotyping crayfish plaque fungus *Aphanomyces astaci* by RAPD from Turkey", 7th International Conference on Aquaculture and Fisheries, Roma, ITALY, 19-21 Ekim 2017, vol.8, no.9, pp.54-54.
- 2- Akhan S., Çağatay İ.T., Berber S., Arli B. , Taştan Y., Çatli T., "Molecular identification of crayfish plague (*Aphanomyces astaci*) fungus in Turkish crayfish (*Astacus leptodactylus*) populations by PCR and its current status.", 7th International Conference on Aquaculture and Fisheries, ROMA, ITALY, 19 21 Ekim 2017, vol.8, no.9, pp.44-44.
- 3- Arli B. , Akhan S., "Molecular identification of burn spot diseases (*Fusarium* sp.) from Turkish crayfish stocks by PCR method", I st International Symposium on

Limnology and Freshwater Fisheries, ISPARTA, TÜRKIYE, 4-6 Ekim 2017, pp. 200-200.

- 4- Akhan S., Çatli T., Arli B. , "History, present status and future perspectives of crayfish (*Astacus leptodactylus*, Eschscholtz, 1823) production in Turkey", I st International Symposium on Limnology and Freshwater Fisheries, ISPARTA, TÜRKIYE, 4-6 Ekim 2017, pp.167-167.
- 5- Akhan S., Çağatay İ.T., Berber S., Arli B., Taştan Y., Çatli T., "Detection of crayfish plague (*Aphanomyces astaci*) diseases in major Turkish crayfish (*Astacus leptodactylus*) population by PCR method and distribution of crayfish plague in Turkey", International Symposium on Animal Science (ISAS) 2017, Herceg Novi, KARADAĞ, 5-10 Haziran 2017, pp.41-41.