

T.C
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

***SAPROLEGNIA PARASITICA* İLE ENFEKTE EDİLEN
GÖKKUŞAĞI ALABALIĞI (*ONCORHYNCHUS MYKISS*)'NİN
HİSTOPATOLOJİSİ**

Başar ALTINTERİM

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
SU ÜRÜNLERİ YETİŞTİRİCİLİĞİ ANABİLİM DALI**

ELAZIĞ, 2003

136762

**T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ**

T.C
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**SAPROLEGNIA PARASITICA İLE ENFEKTE EDİLEN
GÖKKUŞAĞI ALABALIĞI (ONCORHYNCHUS MYKISS)'NİN
HİSTOPATOLOJİSİ**

Başar ALTINTERİM

YÜKSEK LİSANS TEZİ
SU ÜRÜNLERİ YETİŞTİRİCİLİĞİ ANABİLİM DALI

Bu tez 26.06.2020 tarihinde, Aşağıda Belirtilen Jüri Tarafından Oybirliği / ~~Oy çokluğu~~ ile başarılı / ~~başarısız~~ olarak değerlendirilmiştir.

Danışman: Doç Dr. Mustafa DÖRÜCÜ

Üye: Prof. Dr. Mustafa SARILCI

Üye: Doç. Dr. Metin Çaltır

Üye:

Bu tezin kabulü, Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 02.10.2020 tarih ve 25/1 sayılı kararıyla onaylanmıştır.

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

***Saprolegnia parasitica* İLE ENFEKTE EDİLEN GÖKKUŞAĞI ALABALIĞI (*Oncorhynchus mykiss*)'NİN HİSTOPATOLOJİSİ**

Başar ALTINTERİM

Fırat Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Su Ürünleri Yetiştiricilik Anabilim Dalı

2003, Sayfa: 20

Bu çalışma da Fırat Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Akvaryum Laboratuvarındaki akvaryumlarda stoklanan alabalıklar, (*Oncorhynchus mykiss*) *Saprolegnia parasitica* mantarı ile enfekte edilerek histopatolojileri incelendi. Araştırmada; ortalama ağırlığı: $41,2 \pm 7,1$ g (34,1-48,3g) ve boyu: $16,7 \pm 2,6$ cm (14,1-19,3cm) olan toplam 60 adet gökkuşağı alabalığı kullanıldı. *S. parasitica* stok kültüründen, 0,001 gr/ml chloramphenicol ilaveli Corn Meal Agar (CMA)'da etüvde üretildi. *S. parasitica* zoosporları, alabalıkların dorso-ventral bölgeleri ile solungaçlarına sürme ve su ortamına karıştırma bırakma yolları ile bulaşma sağlandı. Makroskobik olarak deri, solungaç ve gözler üzerinde pamuğumsu oluşumlar görüldü. Alabalıkların yem alımında ve vitalitelerinde azalma, solunum hareketlerinde artma tespit edildi. Mantar üremesinin görüldüğü deri, kas ve solungaç dokularından histolojik kesitler alındı. Dejenere dokuların mikroskop altında fotoğrafları çekilerek incelendiğinde; deride erozyonların, kas tabakasında nekroz ve ödemlerin, solungaç lamellalarında ise hemoraji ve konjesyonun olduğu tespit edildi.

Anahtar kelimeler: Sucul mantarlar, Gökkuşağı alabalığı, *Saprolegnia*, histopatoloji.

**T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ**

ABSTRACT

Master Thesis

Histopathology of Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) Infected with *Saprolegnia parasitica*

Başar ALTINTERİM

Firat University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Fish Production and Breeding

2003, Page: 20

In this study, rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in aquariums of Fisheries Faculty Aquarium Laboratory of Firat University were infected with *Saprolegnia parasitica* and examined for histopathology.

A total of 60 rainbow trout of which mean weight and mean length were 41.2 ± 7.1 g (34.1-48.3g) and 16.7 ± 2.6 cm (14.1-19.3cm) respectively, were used in this research. *S. parasitica* was isolated in 0.001 g/ml chloramphenicol added CMA (Corn Meal Agar). *S. parasitica* spores were inoculated to the fish by smearing dorso-ventrally and on gills and bathing. Macroscopically, cotton like appearances were observed on skin, gills and eyes. When picture of infected skin, gills and eyes were examined erosion on skin necrosis and oedema in muscle and hemorrhage and congestion on gill lamellae were observed.

Key words: Aquatic fungi, Rainbow trout, *Saprolegnia*, histopathology.

TEŞEKKÜR

Beni bu çalışmaya sevk eden, gerekli bilgi ve desteğini esirgemeyen danışman hocam Doç.Dr. Mustafa DÖRÜCÜ'ye, fakültenin imkanlarını kullanımına sunan Fırat Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Dekanlığına, Veteriner Fakültesi Histoloji ve Patoloji bölümündeki hocalarıma, laboratuvar çalışmalarımda bana yardım eden fakülte'deki araştırma görevlisi arkadaşlarıma ve tez çalışmamda maddi destek sağlayan Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Yönetim Birimi (FÜBAP)'ne katkılarından dolayı teşekkür ederim.



İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	VII
TABLolar LİSTESİ.....	VIII
1. GİRİŞ.....	1
2. LİTERATÜR BİLGİSİ.....	3
2.1. Mantarlar.....	3
2.1.1. Saprolegniasis.....	5
3. MATERYAL VE METOT.....	6
4. BULGULAR.....	7
4.1. Makroskobik bulgular.....	10
4.2. Mikroskobik bulgular.....	10
4.2.1. Kontrol ve enfekte gurubu alabalıkların kas tabakalarının incelenmesi.....	11
4.2.2. Kontrol ve enfekte gurubu alabalıkların solungaç tabakalarının incelenmesi.	12
4.2.3. Kontrol ve enfekte gurubu alabalıkların deri tabakalarının incelenmesi.....	13
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	14
KAYNAKLAR.....	16

ŞEKİLLER LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 4.1. CMA’da üretilmiş <i>Saprolegnia parasitica</i> kolonisi.....	7
Şekil 4.2. Bulaştırma işlemi yapılmamış gökkuşağı alabalığı.....	8
Şekil 4.3. <i>Saprolegnia parasitica</i> üremesinin görüldüğü gökkuşağı alabalığı.....	8
Şekil 4.2.1.1. Kontrol grubu alabalıklarından alınan kas tabakasının görünümü.....	11
Şekil 4.2.1.2. <i>Saprolegnia parasitica</i> ile enfekte edilen gökkuşağı alabalıklarının kas tabakasındaki hemoraji.....	11
Şekil 4.2.2.1. Kontrol grubu alabalıklardan alınan solungaç lamellalarının görünümü.....	12
Şekil 4.2.2.2. <i>Saprolegnia parasitica</i> ile enfekte edilen gökkuşağı alabalıklarının solungaç lamellalarındaki hemoraji ve konjesyon.....	12
Şekil 4.2.3.1. Kontrol grubu alabalıklardan alınan derinin görünümü.....	13
Şekil 4.2.3.2. <i>Saprolegnia parasitica</i> ’nın ile enfekte edilen gökkuşağı alabalıklarının derisindeki erozyonun görünümü.....	13

TABLolar LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 4.1. <i>S. parasitica</i> ile enfekte edilen ve edilmeyen kontrol gurubuna ait alabalıkların total boy ve ağırlıkları.....	9
Tablo 4.1.1. Bulaştırma işlemi yapılan ve yapılmayan kontrol gurubuna ait alabalıkların canlı kalma süreleri.....	10



GİRİŞ

Yaşamın birçok evresinde mantarların zarar ve yararlarıyla karşılaşmaktadır. Mantarlar, bazı asitlerin, ilaçların, gıda maddelerinin ve vitaminlerin üretiminde kullanılırlar. Bunun yanı sıra organik maddelerin parçalanmasında doğanın vazgeçilmez bir parçasıdır. Yararları olduğu kadar ilaç ve gıda maddeleri üzerindeki tahrip edici özelliklerinden dolayı zararları da bulunmaktadır.

Suda görülen mantar türleri ise kültür balıkçılığında balık yumurtası ve balık üzerinde üreyerek hastalanmalarına ve ölümlerine neden olmaktadır. Hastalığın ikincil bir etken olması birincil derecedeki etkenin balık vücudunda daha uzun kalmasına ve dolayısıyla tahribatın maksimum seviyeye ulaşmasına neden olmaktadır. Bu sayede hastalık oluşturan birincil etkenin diğer balıklara yayılma oranını da yükseltmektedir. Mantar enfeksiyonları strese ve çevresel koşullara duyarlı olan balıkları, kolayca etkilemektedir. Öyle ki balıklar su sıcaklığının değişiminde bile mantar hastalıklarına yakalanabilmektedirler.

Mantar etkenlerinin deneklere bulaştırılmasında dorso-ventral bölgeye ve solungaçlara sürme metodu, mantar etkeninin suya aktarılması yöntemleri kullanılmaktadır (Singhal ve diğ., 1987; Willoughby, 1994).

Saprolegnia etkeninin, deneklere inoküle edilmeleriyle çeşitli makroskobik ve mikroskobik bulgular elde edilmiştir. *S. parasitica*'nın, gökkuşağı alabalıklarının (*Oncorhynchus mykiss*) solungaçlarına, sürme yönteminin uygulanması sonucunda solunum hareketlerinde düzensizlik tespit edilmiştir. İntraperitoneal enjeksiyon yöntemi ile oluşturulan enfeksiyon sonucunda ise dengesiz yüzme hareketleri, havuz kenar ve köşelerine yakın bulunma, durgun görünme, solunumda düzensizlik tespit edilmiştir (Pickering ve Willoughby, 1982). Mantar kolonilerinin balıklardaki hücre çoğalmasını direkt olarak etkilediği buna bağlı olarak da vitalite azlığı, yem alımında azalma, solunum hareketlerinde düzensizlik, ani yüzme hareketleri, ölüm olaylarının meydana geldiği, solungaçlardaki histolojik muayenelerde solungaç lammellalarında dejenerasyonların tespit edildiği belirtilmiştir (Hoshina ve diğ., 1960; Roberts ve Shephard, 1994; Willoughby, 1985).

Saprolegnia enfeksiyonlarının oluşmaması için ölü veya hasta balıkların ortamdaki ayıklanması, çevresel koşulların düzenlenmesi, stres faktörlerinin ortadan kaldırılması gibi koruyucu önlemlerin alınması tercih edilmiştir. Mantar hastalıklarının tedavisinde çeşitli kimyasallardan yararlanılsa da önemli olan bulaşma ihtimaline karşı koruyucu tedbirlerin alınması ve bu sayede de mantar hastalıklarının getirebileceği zararların minimuma indirilmesidir (Pickering ve Willoughby, 1982; Willoughby, 1989).

Bugüne kadar *Saprolegnia parasitica* mantarının balıklar üzerindeki histopatolojik etkilerinin incelenmediği ülkemizde, bu çalışmada *Saprolegnia parasitica* mantarının alabalıklarda oluşturabileceği histopatolojik olarak etkilerinin tespiti amaçlanmıştır.

Bu tez çalışması, Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi (FÜBAP) tarafından 593 nolu proje olarak desteklenmiştir.



2. LİTERATÜR BİLGİSİ

2.1. Mantarlar

Mantarlar; doğada parazit, saprofit veya simbiyotik olarak yaşamlarını sürdürmektedir. Mantarların morfolojik ve fizyolojik fonksiyonlarının ortaya koyulması durumunda yararlı faaliyetlerinden sürekli bir şekilde faydalanmak ve zararlı faaliyetlerinden de sakınmak mümkündür. Mantarlar canlılar üzerinde parazit olarak yaşamlarını sürdürdüklerinden onların hastalanmasına ve hatta ölümlerine neden olurlar (Ekingen, 1983; Öner, 1992; Zeybek, 1988; Cengizler, 2000).

Mantarlar, çok çeşitli olmaları nedeniyle, makroskobik ve mikroskobik olarak morfolojik karakterleri yönünden oldukça geniş bir farklılık gösterirler. Bu durumları her ne kadar, genetik özelliklerine bağlı ise de, yaşlanma, beslenme ve çevresel koşulların etkisi ile de yakından ilişkilidir. Mantarların büyük çoğunluğu flamentöz bir koloni morfolojisine sahip olmalarına karşın, bazıları da mukoid bir üreme gösterir (Arda, 1997; Baydar, 1990; Ekingen, 1983). Mantarların birçoğu aerobik karakter taşırlar ve oksijenin bulunduğu ortamlarda gelişirler ve ürerler. Bu nedenle havada bulunan oksijen miktarı üreme için yeterlidir. Oksijenin azlığı veya mikroaerofilik koşullar üremeyi ve gelişmeyi sınırlar (Altuner, 1995; Arda, 1997; Biçici, 1990, Fitzpatrick ve diğ., 1995, Hatai ve Hoshiai, 1994).

Mantarlar genellikle düşük pH değerlerinde bile kolayca üreyebilir ve böyle ortamlara adapte olabilirler. Bu nedenle mantarların minimal ve maksimal pH-limitleri 2-11 arasında değişebilir. Mantarların üreme sıcaklığı limitleri oldukça geniştir ve türler arasında farklar gösterir. Bu sınırlar, 0° ile 60°C arasında değişmektedir. Hifler maksimal sıcaklık limitinin dışında kolayca ölmelerine karşılık, sporları yüksek sıcaklığa ve değişik çevre koşullarına çok fazla dayanıklılık gösterirler. Buzdolabında üreyebilen ve gıdaların bozulmasına neden olan mantarlara her zaman rastlamak mümkündür. Termofilik olanlar ise 60°C'nin üstünde gelişebilir. Ancak optimal sıcaklık, üreme için en uygun olanıdır. Patojen mantarlar için optimal sıcaklık, üzerinde veya içinde üredikleri canlının sıcaklık derecesi olarak kabul edilmektedir (Howe ve diğ., 1999; Humason, 1979; Meyer, 1991; Mitchel ve Collins, 1997).

Mantarlar sporlanma (sporulasyon) ile eşeysiz (aseksüel) ve eşeyli (seksüel) olarak üreme yeteneğine sahiptirler. Miselyumlar olgunlaşır ve yeterince gıda maddesi depo ederse veya çevresel koşullar sporulasyona uygun ise hiflerde, çeşitli şekillerde sporlar gelişir. Sporlar olgunlaştıktan sonra hifden ayrılarak serbest hale gelir ve uygun koşullarda çimlenerek kendi türüne özgü mantarlar oluştururlar. Bu özellik mantarların sınıflandırılmasında yardımcı olur. Mantar sporları değişen çevre koşullarına çok dayanıklıdır. Bu nedenle doğada uzun yıllar

canlı ve enfektif olarak kalabilirler. Eşeyli üremede seksüel sporlar, ayrı cins veya karakterde olan iki gametin çekirdeklerinin bölünmeye uğrayarak haploid hale gelmesi ve bu haploid kromozomların birleşmesi sonu meydana gelirler (Altuner, 1995; Arda, 1997; Mueller ve Whister, 1994; Murphy, 1981 ;Özdemir, 1994).

Mantar kolonileri, hif adı verilen genellikle, ince, uzun ve saydam mikroskobik filamentlerden oluşmuşlardır. Uzunlukları türlere göre değişmekle beraber 1-3 cm ve çapları da 5-10 µm arasındadır. Bazıları ince bir borucuk tarzında bir görünüme sahip olmasına karşın, bir kısım hifler de, genetik karakterleri gereği, dallanma gösterirler. Hiflerden meydana gelen ağ benzeri oluşumlara miselyum (mycelium) adı verilir. Miseller mantarların vejetatif gövdesini teşkil ederler. Beslenmede rol alan hiflere vajetatif hif, bunların dışında kalanlara ise arial hif denir. Arial hiflerden çoğalmada görev alanlarına ise fertil hif adı verilir (Baydar, 1990; Erer, 1995; Kandil, 1976; Neish, 1977; Neish ve Hughes, 1980; Zeybek, 1988).

Kültür ortamlarında özellikle, patojen mantar kolonilerinde, hiflerin mikroskobik ve makroskobik morfolojilerinde bazı farklılaşmalar göze çarpmaktadır. Böyle değişimler daha ziyade arial ve fertil hiflerde gözlenmektedir. Bir kısım hiflerde de spiral, raket, noduler, şamdan, tarak, gibi özel formlara rastlanabilmektedir (Arda, 1997; Baydar, 1990; Noga, 1996; Öner, 1992; Peterson ve diğ., 1994; Pottinger ve Pickering, 1992).

Mantar hücrelerinde çekirdekler küçüktür (2-3µm). Bu nedenle de normal ışık mikroskopları ile güçlkle fark edilirler. Çekirdeğin etrafında çift katlı ve delikli bir zar (hücre zarı) bulunur. Her mantar hücresinde çekirdek olup giemsa ile boyanan preparatlarda kolaylıkla görülebilir. Ancak, çok genç ve çabuk üreyen hiflerde bazen birden fazla çekirdeğe rastlanabilir. Septumsuz hiflerde, her hücrede birden fazla çekirdeğin varlığı kabul edilmektedir (Arda, 1997; Kandil, 1976; Özdemir, 1994; Rach ve diğ., 1997; Timmermans, 1994; Zeybek, 1988).

Mantarların klorofilleri olmadığı için fotosentez yapamazlar. Bu nedenle gıda gereksinimlerini dışarıdan karşılamak zorundadırlar. Bazı mantarlar basit yapıdaki ortamlarda gelişebildikleri halde, diğerlerinin ise üremeleri, gelişmeleri için inorganik maddelere, vitamin ve kimyasal maddelere ihtiyaçları vardır. Patojenik mantarlardan bir kısmı için tiamin, inositol veya biotin üremeyi artırıcı veya üretme faktörü olarak önemlidir. Patojen mantarları üretmek ve izole etmek için, laboratuvarlarda, bileşiminde çeşitli inorganik ve organik maddeler bulunan besi yerleri kullanılmaktadır. Bunların arasında en fazla Sabouraud dekstroza agar, Brain-heart infusion kanlı agar, Czapek agar, Patates dekstroza agar, vs. kullanılmaktadır (Altuner, 1995; Baydar, 1990; Biçici, 1990; Çolak, 1980; Roberts, 1989; Roberts and Shepherd, 1994).

2.1.1. Saprolegniasis

Tatlı ve tuzlu sularda yaşayan balıklarda ve yumurtalarında görülen *Saprolegnia* türü mantarların neden olduğu bir hastalıktır. Alabalık kuluçkahanelerinde epizootik karakterde seyretmekte ve büyük ekonomik kayıplara yol açmaktadır. Lezyonlar balık üzerinde hızla gelişmekte ve kimyasal tedavi yoluna gidilmedikçe ölümlere yol açmaktadır. Genellikle ölü balık yumurtalarına hücum etmekte ondan sonrada yakınındaki canlı yumurtalara ve balıklara sıçramakta ve öldürmektedir. Hastalık olaylarında en fazla *Saprolegnia invaderis* ve *S. parasitica* izole edilmektedir. Bu mantarlar uzun, branşlı ve septumsuz hiflere sahiptirler. Saprolegniasis'in en önemli ayırt edici özelliği sporangiumlarının iki flagelluma sahip olması ve hareket edebilmeleridir. *Saprolegnia* türleri özellikle düşük sıcaklıklarda bulunurlar. Bunlar genellikle salmonlarda, sazanlarda ve yılan balıklarında sıkça rastlanmaktadır (Saricyyüpoğlu, 1995; Seymour, 1970).

Balık üzerinde önceleri küçük bir leke halinde başlayan mantar odakları zamanla büyüyerek gözle görülebilecek bir büyüklüğe ulaşır ve zamanla vücut yüzeyine yayılır. *Saprolegnia*, balığı güçsüz düşürmekte ve balığın ölümüne neden olmaktadır (Ekingen, 1983; Roberts, 1994; Saricyyüpoğlu, 1995, Snieszko, 1974; Singhal ve diğ., 1987).

Balıklarda mantarların oluşturduğu hastalıkları araştırmak amacıyla bir çok çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalar tarih sırasına göre aşağıda verilmiştir.

Hoshina ve diğ. (1960), yılan balıklarında oluşan *Saprolegniasis*'i ve histolojisini; Pickering ve diğ. (1979), enfekte balıklardan izole edilen *Saprolegnia parasitica*'nın ikinci devre zoospor kistlerinin yapısı ve histopatolojisini; Roberts ve Shepherd. (1994), *S. parasitica*'nın mikotik alanlarını ve histolojisini incelemişlerdir. Willoughby ve Pickering. (1997), tropik tatlı su balıklarını etkileyen *S. parasitica*'nın histopatolojik araştırılmasını ele almışlardır. Pickering ve Willoughby (1982), salmonlardaki *Saprolegnia* enfeksiyonlarını; Alderman (1986), *S. parasitica*'nın izolasyonu ve kültürünü; Smith ve diğ. (1985), alabalık yumurtalarında *Saprolegnia*'nın oluşturduğu koloni ve enfeksiyonlarını araştırmışlardır. Singhal ve diğ. (1987), *Saprolegnia* ve *Achlya*'nın deneysel olarak balıklara taşınmasını, balıklarda *S. parasitica*'nın büyümesinin mikroskopi vasıtasıyla ölçülmesini sağlamışlardır. Willoughby ve Roberts (1992), Asya'daki balıklarda *S. parasitica*'nın izolasyonu için geliştirilen metodolojiyi ortaya koymuşlardır. Bly ve diğ. (1997), balık için patojenik olan *Saprolegnia*'nın *Pseudomonas fluorescens* vasıtasıyla engellenmesine çalışmışlardır.

3. MATERYAL VE METOT

Bu çalışma 2001-2002 tarihleri arasında Cip Balık Üretim Tesisi'ndeki beton havuzlarda ve Fırat Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi akvaryum laboratuvarındaki cam akvaryumlarda stoklanan alabalıklar (*Oncorhynchus mykiss*) üzerinde gerçekleştirildi.

Çalışmada ağırlığı: $41,2 \pm 7,1$ g (34,1-48,3g) ve boyu: $16,7 \pm 2,6$ cm (14,1-19,3cm) olan toplam 60 adet gökkuşağı alabalığı kullanıldı. Gökkuşağı alabalıkları D.S.İ. 9. Bölge Müdürlüğü Keban Su Ürünleri Şube Müdürlüğünden temin edildi. Alabalıklar, Cip Balık Üretim Tesisi'ndeki havuzlarda 15 gün süreyle, ortama adapte olabilmeleri için stoklandı. Sonrasında alabalıkların Fırat Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi akvaryum laboratuvarındaki cam akvaryumlarda 7 gün süreyle ortama adaptasyonları sağlandı. Balıklar pelet yem ile beslendi. Denemede 60x30x20 cm ebatlarında toplam 6 akvaryum kullanıldı. Su sıcaklığı termometre ile her gün ölçüldü. Akvaryum suları Rambo marka hava pompaları yardımıyla havalandırıldı, düşük sıcaklıklarda ısıtıcı ile sıcaklık dengede tutuldu.

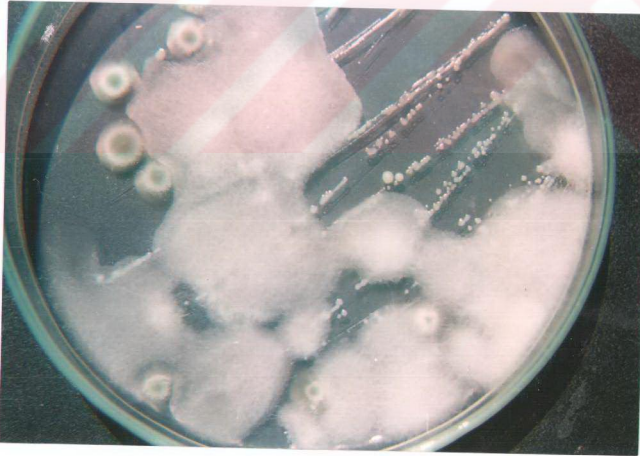
Saprolegnia parasitica, Cip Balık Üretim Tesisindeki hasta balıklardan izole edilerek, 0.0001 gr/ml chloramphenicol ilaveli Corn Meal Agar (CMA)'da etüvde üretildi. *S. parasitica*, stok kültürünün gençleştirilmesi amacı ile taze CMA'ya aktarılarak, 20-22 °C'de 3 gün inkübe edildi. CMA'da gelişen *S. parasitica* kolonisine kabukları temizlenerek otoklavda steril edilmiş kenevir (*Cannabis sativa*) tohumları (4-5 adet) yerleştirildi. 20-22 °C'de 12-24 saat süreyle inkübe edilerek mantar hifalarının tohuma transferi sağlandı. Mantar hifalarını taşıyan bu tohumlar, distilasyon cihazı ile distile edilmiş su bulunan petri kutularına aktarıldı. *S. parasitica* mantarı 3 ayrı yöntemle alabalıklara bulaştırılmaya çalışıldı. Her yöntem için 15 alabalık kullanmak üzere 3 grup oluşturuldu. Birinci grup balıkların dorso ventral kısımları bistürinin ucuyla zedelendirilip *S. parasitica*, 0,5 ml/adet ve $0,4 \times 10^2$ zoospor/ml yoğunluktaki stok kültüründen eküvyon çubuğuyla sürülerek bulaştırıldı. İkinci grup balıkların solungaç kapakları (operkulum) steril bir pens yardımıyla aralanarak *S. parasitica*'nın stok kültüründen eküvyon çubuğu bulaştırılıp, solungaçlara sürülerek enfekte edildi. Üçüncü grup balıklar ise; bulundukları akvaryum suyuna, pipetle *S. parasitica* içeren solusyondan $0,4 \times 10^2$ zoospor/ml yoğunlukta 20ml miktarında karıştırılarak enfeksiyonun bulaştırılmasına çalışıldı (Roberts ve Shepherd, 1994; Diler ve Diler, 1996; Bootsma, 1973; Dykova ve Lom, 1978; Fregenada ve diğ., 2000; Lee ve Luna, 1968).

Bulaştırmayı takiben enfekte ve kontrol gruplarından 12, 15, 18, 21 ve 24. günlerde 3'er adet balık örneği alınarak örnekleme işlemleri yapıldı. Bilinen yöntemlerle otopsis (Arda ve diğ., 2002) yapılan balıkların deri, kas ve solungaçlarından doku örnekleri alındı. Alınan doku örnekleri % 10'luk formalin solusyonunda fikse edildi. Tesbit edilen doku örnekleri tesbit

sıvısından arındırılmak üzere tesbit süresi kadar yıkamaya alındı. Dehidrasyon için alkol, parlatmak için xylol serilerinden geçirilip, parafine emdirildikten sonra yine parafinde bloklandı. Leica marka kızaklı mikrotomda Parafinli dokulardan 5-6 mikron kalınlığında kesitler alındı. Doku kesitlerine rutin incelemeler için hematoksilin-eosine boyaması uygulandı. Hazırlanan preparatlar Olympus BH-2 araştırma mikroskopunda incelendi. Önemli bulgular mikrofotografi ile tespit edildi.

4. BULGULAR

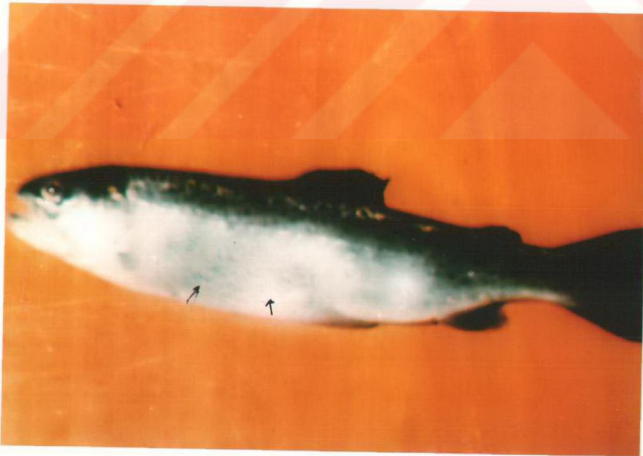
Saprolegnia parasitica, Cip Balık Üretim Tesisindeki hasta balıklardan izole edilerek, 0.0001 gr/ml chloramphenicol ilaveli Corn Meal Agar (CMA)'da etüvde üretildi. *S. parasitica*, stok kültürünün gençleştirilmesi amacı ile taze CMA'ya aktarılarak, 20-22 °C'de 3 gün inkübe edildi (Şekil 4.1.). Gençleştirilen mantar sporlarının steril kenevir tohumlarına geçişi sağlandı. Tohumlar sayesinde yoğun hale gelen mantar sporları saf suya aktarıldı. Bulaştırma işlemi yapılmamış ve yapılmış alabalıkların görünümleri Şekil 4.2. ve 4.3.'de verilmiştir



Şekil 4.1. CMA'da üretilmiş *Saprolegnia parasitica* kolonisi.



Şekil 4.2. Bulaştırma işlemi yapılmamış gökkuşağı alabalığı.



Şekil 4.3. *Saprolegnia parasitica* üremesinin görüldüğü gökkuşağı alabalığı.

Deney süresince akvaryum suyu sıcaklığı 12-13 °C arasında değişim gösterdi. Alabalıklarda mantar üremelerinin saptanması için günlük olarak gözlemler yapıldı. Deney grupları (Grup 1, Grup 2, Grup 3) ve kontrol grubu alabalıkların total boy ve ağırlıkları Tablo 4.1.'de verilmiştir.

Tablo 4.1. *S. Parasitica* ile enfekte edilen ve edilmeyen kontrol grubuna ait alabalıkların total boy (cm) ve ağırlıkları (g).

Grup 1		Grup 2		Grup 3		Kontrol	
T. Boy	Ağırlık	T. Boy	Ağırlık	T. Boy	Ağırlık	T. Boy	Ağırlık
15.5	38	14.7	36	20.4	50	12.3	32
16.4	42	16.3	42	16.8	42	18.5	40
17.0	46	15.2	37	15.9	35	21.0	52
17.8	54	16.8	42	17.8	54	15.2	38
14.5	38	20.2	50	13.5	35	18.6	56
15.6	38	17.3	44	19.2	47	14.6	38
14.8	36	18.9	47	18.9	46	12.8	30
16.2	44	13.5	35	17.8	43	19.8	43
14.4	34	19.7	48	15.6	40	20.5	50
16.7	40	21.0	52	19.8	44	12.6	27
16.9	46	13.4	36	18.7	43	13.9	33
15.9	40	12.8	32	14.6	36	14.8	37
17.2	38	22.2	55	22.2	53	15.7	40
18.3	41	13.7	27	18.9	44	20.5	51
15.7	40	14.0	32	11.5	28	19.2	47
16,1±1,1	41±4,9	16,6±3,0	41±8,2	17,4±2,8	41,8±6,6	16,6±3,1	40,9±8,7

4.1. Makroskopik bulgular

Mantar miselyumları ilk etapta tahriş edilen dorso-ventral bölgede ve solungaçlarda üreme gösterdi Yem alımlarında azalmaların meydana geldiği ve vitalitenin azaldığı görüldü. Derideki lezyonun etrafının kırmızı bir hal aldığı belirlendi. Daha sonra miselyumlar balıkların solungaçlarında şekillenmeye başladı. Solungaçlardaki lezyonların akut halinde ise balıklarda ağız açma, su dışına sıçrama ve ani yüzme hareketleri gözlemlendi. Yem alımı tamamen durdu. Mortaliteye yakın zamanlarda ise gözler etrafında mantar üremelerinin yoğunlaştığı tespit edildi. Balıkların canlı kalma süreleri tespit edildi (Tablo 4.1.1.).

Tablo 4.1.1. Bulaştırma işlemi yapılan ve yapılmayan kontrol grubuna ait alabalıkların canlı kalma süreleri (saat).

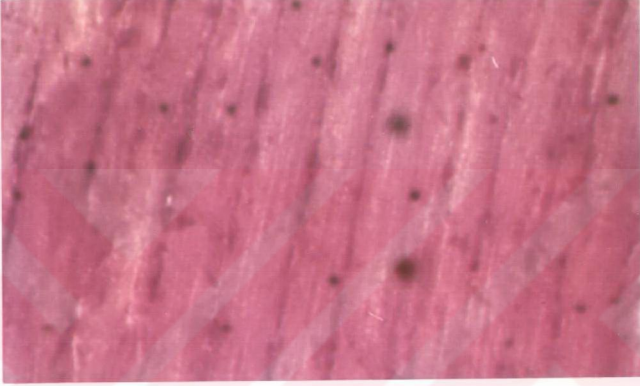
Grup 1	Grup 2	Grup 3	Kontrol
386	380	403	407
390	392	393	405
392	386	389	404
394	391	394	408
377	402	362	403
382	386	411	410
378	394	403	407
389	362	393	409
378	401	382	410
390	407	401	414
391	373	403	418
383	362	380	425
389	412	414	417
402	370	405	408
381	374	359	415
386,8±6,9	386,1±15,7	392,8±16,2	410,6±6,0

4.2. Mikroskopik bulgular

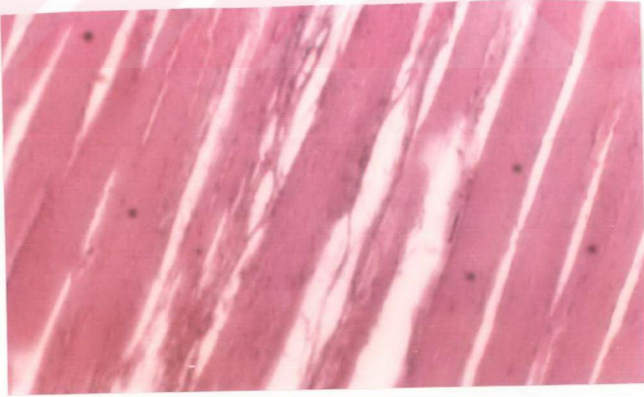
Enfekte grubuna ait balıklardan 135, kontrol grubuna ait balıklardan ise 45 adet olmak üzere 180 adet kesit alındı. Kontrol grubundaki balıkların doku kesitleri ile enfekte edilmiş balıkların doku kesitleri karşılaştırıldı ve bazı mikroskopik farklılıklar tespit edildi.

4.2.1. Kontrol ve enfekte gurubu alabalıkların kas tabakalarının incelenmesi

Kontrol grubuna ait kas tabakasının fotoğrafı incelendiğinde kas fibrillerinin normal bir yapıya sahip olduklarını, çekirdek ve sitoplazmanın herhangi bir bozulmaya uğramadığı görüldü (Şekil 4.2.1.1). Dorso-ventral bölgeye uygulanan sürme yöntemi sonucunda kas tabakasının kas fibrillerinin nekroze olduğu ve ödemlerin oluştuğunu, karyolisizin meydana geldiği tespit edildi (Şekil 4.2.1.2).



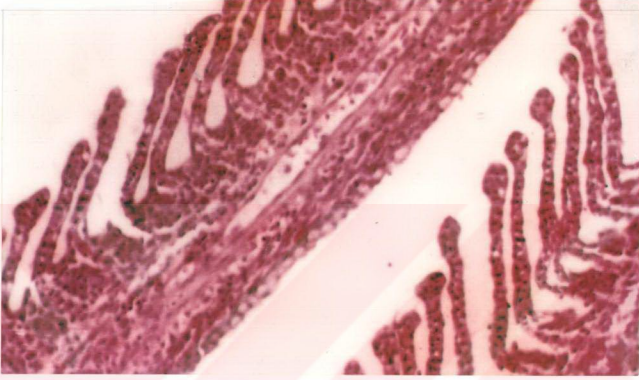
Şekil 4.2.1.1. Kontrol grubu alabalıklarından alınan kas tabakasının görünümü, H&Ex200.



Şekil 4.2.1.2 *Saprolegnia parasitica* ile enfekte edilen gökkuşağı alabalıklarının kas tabakasındaki hemoraji (→), H&Ex200.

4.2.2. Kontrol ve enfekte gurubu alabalıklarının solungaç tabakalarının incelenmesi

Kontrol grubuna ait solungaç lamellaları incelendiğinde solungaç yaprağının düzgün olduğu belirlendi (Şekil 4.2.2.1). Solungaçlara sürme yönteminin uygulandığı gruba ait balıkların solungaç lamellalarında hemoraji ve konjesyon olduğu görüldü (Şekil 4.2.2.2).



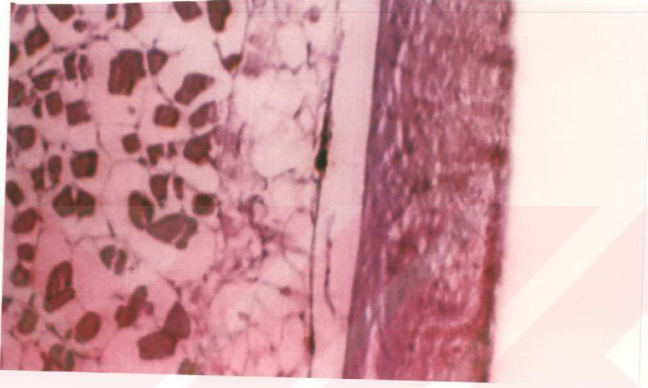
Şekil 4.2.2.1. Kontrol grubu alabalıklarından alınan solungaç lamellalarının görünümü, H&Ex200.



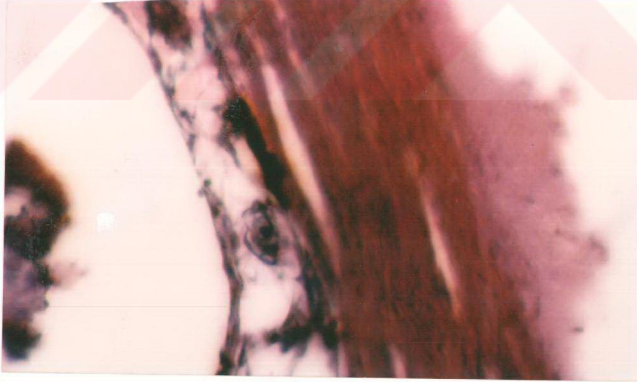
Şekil 4.2.2.2. 2 *Saprolegnia parasitica* ile enfekte edilen gökkuşuğu alabalıklarının solungaç lamellalarındaki hemoraji (→) ve konjesyon (⇒), H&Ex200.

4.2.3. Kontrol ve enfekte gurubu alabalıklarının deri tabakalarının incelenmesi

Kontrol grubuna ait deri tabakası incelendiğinde herhangi bir erozyonun oluşmadığı, sitoplazma ve deri tabakalarında bir hemorojinin bulunmadığı tespit edildi (Şekil 4.2.3.1). Ortama bırakma yönteminin uygulandığı gruba ait deri tabakasının fotoğrafı incelendiğinde deri tabakalarının nekroze olarak parçalanmaların meydana geldiğini tespit edildi (Şekil 4.2.3.2).



Şekil 4.2.3.1. Kontrol grubu alabalıklarından alınan derinin görünümü, H&Ex200.



Şekil 4.2.3.2. *Saprolegnia parasitica* ile enfekte edilen gökkuşağı alabalıklarının derisindeki erozyonun (→) görünümü, H&Ex200.

TARTIŞMA VE SONUÇ

Bir araştırmada (Alderman, 1986) *Saprolegnia parasitica* izolasyonu ve histolojik prosedür takibi esnasında yapılan hatalar sonucunda elde edilen şekillerdeki sitoplazma ve çekirdek renklerinin değişiklik gösterdiğini, bu nedenle mantarın yol açtığı dejenerasyonun tespitinde bir boyama prosedürüne bağlı kalmayıp başka boyama metotlarının da kullanılmasının bulgular üzerinde detaylı bir tanımlamada etkili olacağından bahsedilmiştir. Bu nedenle, Grocott metodu üzerinde elde ettiği görüntülerle Mayers metodu arasındaki farklılıkları iki ayrı yöntemin aynı materyaller üzerinde uygulamasını yaparak görüntülerin farklılıklarını ortaya koymuştur. Bu çalışmada Mayers ile Grocott metodu kullanılmasına karşın Grocott metodunda sonuca götürebilecek bulgular tespit edilememiştir.

Başka bir araştırmada (Pickering ve Willoughby, 1982) ise *S. parasitica*'nın, gökkuşağı alabalığının (*Oncorhynchus mykiss*) solungaçlarına sürme ve intraperitoneal enjeksiyon yöntemi ile oluşturulan enfeksiyon sonucunda gözlenen dengesiz yüzme, havuz kenar ve köşelerine yakın bulunma, durgun görünme, solunumda düzensizlik ve ani yüzme hareketleri şeklinde klinik belirtiler tespit edilmiştir. Yapmış olduğum çalışmada, *S. parasitica* zoosporları; solungaç, göz ve dorsal yüzgecin altındaki bölgelere bulaştırma yoluyla enfekte edildi ve benzer bulgulara rastlanıldı.

Saprolegnia ve *Achlya*'nın dencysel olarak balıklara taşınmasının incelendiği başka bir çalışmada (Roberts ve Shepherd, 1994) mantar kolonilerinin balıklardaki hücre çoğalmasını direkt olarak etkilediğini ortaya koymuştur. Deneklerin % 97'sinde hücre proliferasyonuna bağlı olarak boğulma saptanmıştır. Yapılan bu çalışmada benzer sonuçlar elde edildi ve balıkların solunum güçlüğü çektiği görüldü.

Yapılan diğer bir çalışmada; (Hoshina ve diğ., 1960), yılan balıklarına iki yolla *Saprolegnia parasitica* inoküle edilmiş balıkların hepsinde de mantar bulaşmasını takiben; vitalite azlığı, yem alımında azalma, solunum hareketlerinde düzensizlik, ani yüzme hareketleri, dency gruplarındaki balıklarda 357-403 saatlik sürelerde ölüm olaylarının meydana geldiği ve ölmüş balıkların solungaçlarındaki histolojik muayenelerde ise deri tabakasında nekroz, hemoraji, solungaç lamellalarında hiperemi, kas fibrillerinde nekroz ve karyolizis tespit etmişlerdir. *S. parasitica*'nın dencysel olarak gökkuşağı alabalığına enfekte edildiği bu araştırmanın bulgularıyla aynı olduğu görülmüştür.

Gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) üzerinde yapılan diğer bir çalışmada enfekte yılan balıklarından izole edilen *S. parasitica*'nın aynı bir dency grubu üzerindeki balıkların kaslarına ayrı ayrı olarak enjeksiyonu yapılmıştır. Enjeksiyon işlemi, kabukları temizlenerek steril edilmiş kenevir (*Cannabis sativa*) tohumları (4-5 adet), 20-22°C'de 12-24

saat inkübe edilerek *S. parasitica* hifalarının tohuma transferi sağlanmıştır. Mantar hifalarını taşıyan bu tohumlar, içinde steril distile su bulunan petri kutularına aktarılmıştır ve daha sonra Whatman 541 filtre kağıdı yardımı ile steril koşullarda süzülerek, Thoma lamıyla zoospor yoğunluğu hesaplanmıştır. Sporların enjeksiyon işlemini takip eden sürede balıklarda 154-200 saat sonra ölümler meydana gelmiştir. Yapılan histopatolojik incelemelerde kas tabakaları arasında ödem ve nekroza rastlanılmıştır (Pickering ve diğ., 1979). Yapılan bu çalışmada da aynı yöntem kullanılmasına rağmen kaslara enjeksiyon sonucu Pickering ve arkadaşları, 154-200 saat sonra ölüm olaylarını tesbit etmişlerdir, bu çalışmamda ölüm olayları 362-412 saat sonra gözlemlenmiştir. Bunun dışında kas tabakaları arasında ödem ve nekroza aynı şekilde rastlanılmıştır.

Yapılan diğer bir çalışmada, (Roberts ve Shepherd, 1994) alabalıkların epidermal tabakasında *Saprolegnia parasitica* üremesinden dolayı meydana gelen hipereminin, *Cyprinus carpio*'da da görülen *S. parasitica*'nın neden olduğu hiperemi ile benzerlik gösterdiği belirlenmiştir (Richard ve Pickering, 1978). Bu çalışmada deri, solungaç ve kas tabakalarında tesbit edilen hemorajiyile Hoshina ve arkadaşları (1960)'nın yılan balıklarında tesbit ettiği hemorajiyile benzer olduğu saptanmıştır. Richard ve Pickering (1978)'in de alabalıklar üzerinde yaptığı çalışmalar sonucu aynı bulguları elde etmesi *S. parasitica*'nın pek çok balık türünde aynı semptomları meydana getirdiği fikrini doğurmaktadır.

Sonuç olarak bu çalışmada; gökkuşağı alabalıklarında enfeksiyona bağlı olarak, hareketlerinde anormal sayılabilecek ani yüzme hareketleri, su dışına doğru yönelerek oksijen alma isteği, yem alımlarında zamanla düşüş, deri, kas ve solungaçlarda mantar üremeleri saptandı. Mikroskobik olarak ise kas fibrillerinde ve solungaç lamellalarında hemorajilere, deri dokularında parçalanmalara rastlanıldı. Tahribatin dokularda zamanla yoğunlaştığı ve yayıldığı görüldü.

Bu da *Saprolegnia* hastalığında erken teşhisle tedavi yoluna gidilerek doku tahribatı ve ölümlerin önüne geçilebileceğini göstermiştir. Bu hastalığa karşı; stres koşullarının ortadan kaldırılması, çevresel koşulların uygun hale getirilmesi, kalabalık havuzlardaki balık sayısının azaltılması, suyun pH, oksijen ve kirlilik seviyelerine dikkat edilmesi, hastalığa yakalanan balıkların havuzlardan ayıklanması gibi önlemler alınabilir. Bu sayede mantar etkeni ister ortamda bulunsun isterse su ile birlikte taşısın bu dönüşümlü su arıtma sistemi ile riski minimuma indirmiş olunur. Dolayısıyla da ekonomik kayıpların önüne geçilerek, sağlıklı ürünler elde edip, üretim sınırları aşılabacaktır.

KAYNAKLAR

- Alderman, D. J., 1986, In vitro testing of fisheries chemotherapeutants with *Saprolegniasis* Journal of Fish Disease, 24(5).
- Altuner, Z., 1995, Tohumuz Bitkiler Sistematigi, Tokat Basimevi Genel Yayin No: 21, Tokat.
- Arda, M., 1980, Mikoloji (Genel ve Özel), Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayinlari No: 366, Ders Kitabı: 264, Ankara. 342 s.
- Arda, M., 1997, Temel Mikrobiyoloji, Medisan Yayin Serisi No:25, Ankara. 125 s.
- Arda, M., Secer, S., Sarıeyyüpoğlu, M., 2002. Balık Hastalıkları, Medisan Yayin Serisi No: 56, Ankara, 142 s.
- Baydar, S., 1990, Tohumuz Bitkilerin Sistematigi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Fatih Eğitim Fakültesi. KTÜ Basimevi Genel Yayin No: 151, Fak. Yayin No:46, Trabzon. 176 s.
- Biçici, M., 1990, Mikoloji. Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ders Kitabı No: 121, Adana. 134 s.
- Bly, J. E., Lawson, L.A., Dalc, D. J., Szalai, A. J., Durborow R. M. and Clem, L. W., 1992, Winter Saprolegniosis in channel catfish. Disease of Aquatic Organisms. 13: 164 p.
- Bly, J. E., S. M-A., Quiniou, L.A., Lawson and Clem L. W., 1997, Clem Inhibition of Saprolegnia pathogenic for fish by *Pseudomonas fluorescens* Departmant of Microbiology, University of Mississippi Medical Center, Mississippi, USA, Journal of Fish Disease. 20. 345 p.
- Bootsma R.,1973, İnfections with Saprolegnia in pike culture (*Esox lucius* L.). Department of Special Animal Pathology Faculty of Veterinary Medicine. Biltstraat 172, University of Utrecht (The Netherlands). Aquaculture 2. 13 (7).
- Cengizler, İ., 2000, Balık Hastalıkları Ders Kitabı, Çukurova Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Yayinlari Yayin No:7, Adana, 136 s.
- Çolak, A., 1980, Balık Hastalıkları El Kitabı, Ege Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Yayinlari Yayin no: 9, İzmir, 63 s.
- Diler, Ö. ve Diler, A., 1996, Deneyisel olarak *Saprolegnia diclina* ile enfekte Gökkuşagi Alabaliginda Bazı Hematolojik İncelemeler. Süleyman Demirel Üniversitesi, Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi, Eğirdir, Isparta-Türkiye. 20.
- Dykova I. and Lom J., 1978, Histopathological changes in fish gills infected with myxosporidian parasites of the genus *Hennequya* Enstitute of Parasitology, Czechoslovak academy of Science, Prague. 312 p.
- Ekingen, G., 1983, Tatlı Su Balık Parazitleri, Fırat Üniversitesi Su Ürünleri Yüksek Okulu Yayin No: 1, Elazığ, 255 s.

- Ercer, H., 1995, Balık Hastalıkları, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları Yayın No: 43, Ankara. 178 s.
- Fregenada G. J. M., Fernandez D. and Aller Gancedo J. M., 2000, Ultrastructural analysis of *Saprolegnia* secondary zoospore cyst ornamentation from infected wild brown trout, *Salmo trutta* L. and river water indicates two distinct morphotypes amongst long-spined isolates. Departamento de patologia Animal-Sanidad Animal, Enfermedades Infecciosas, Facultad de Veterinaria, Universidad de Leon. Journal of Fish Disease. 174 p.
- Fitzpatrick, M.S., Schreck, C.B., and Chitwood, R.L. 1995. Evaluation of three candidate fungicides for treatment of adult spring chinook salmon. Progressive Fish-Culture. 159 p.
- Hatai, K., and Hoshiai, G-I. 1994. Pathogenicity of *Saprolegnia parasitica* coker. In Salmon Saprolegniasis. Edited by G. J. Mueller. U.S. Department of Energy, Bonneville Power Administration, Portland, Oregon. 98 p.
- Hoshina, T., Sano, T. and Sunayama, H., 1960. Studies on the Saprolegniasis histologic research of eel. University Press. Tokyo. 80 p.
- Howe, G.E., Gingerich, W.H., Dawson, V.K., and Olson, J.J. 1999. Efficacy of hydrogen peroxide for treating Saprolegniasis in channel catfish. Journal of Aquatic Animal Health. 235 p.
- Humason, G. L., 1979, Animal Tissue Techniques. 4th. Edn. W. H. Freeman & Co., San Francisco, CA. 312 p.
- Kandil, M., 1976, Balık Hastalıkları, Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayınları No:5, Ankara. 156 s.
- Lee G., Luna, H.T. (ASCP), 1968, Chief histopathology Laboratories, Armed Forces Institute of Pathology, Manual of Histologic Staining methods of the Armed Forces Institute of Pathology Third Edition. McGraw-Hill Book Company, New York. 234 p.
- Meyer, F.P. 1991. Aquaculture disease and health management. Journal of Animal Science. 69: 45 (9).
- Mitchell, A.J., and Collins, C.B. 1997. Review of the therapeutic uses of hydrogen peroxide in fish production. Aquaculture Management. 23(3).
- Mueller, G.J, and Whisler, H.C. 1994. Fungal parasites of salmon from the Columbia River watershed: In Salmon Saprolegniasis. Edited by G. J. Mueller. U.S. Department of Energy, Bonneville Power Administration, Portland, Oregon. 187 p.

- Murphy, T.M. 1981. The use of chemosterilants to lower the frequency of skin fungal infection amongst precocious male 1+ Atlantic salmon parr, *Salmo salar* L. Journal of Fish Diseases 4: 38 (7).
- Neish, G. A., 1977, Observation on Saprolegniasis of adult sockeye salmon, *Oncorhynchus nerca* (Walbaum). Journal of Fish Biology. 555 p.
- Neish, G.A., and Hughes, G.C. 1980. Diseases of fishes, Book 6, Fungal Diseases of Fishes. T.W.F. Publications, Neptune, New Jersey. 159 p.
- Noga, E.J. 1996. Fish Disease Diagnosis and Treatment. Mosby-Year Book, Inc. St. Louis, MO. 367 p.
- Öner, M., 1992, Genel Mikrobiyoloji, E.Ü. Fen Fakültesi Temel Ve Endüstriyel Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İzmir-Bornova. 85 s.
- Özdemir, N., 1994, Tatlı Ve Tuzlu Sularda Alabalık Üretimi, Fırat Üniversitesi Yayınları. Elazığ. Sayı:35, 219 s.
- Peterson, A., Jegstrup, and Olson, L.W. 1994. Screening for bacteria antagonistic to *Saprolegnia parasitica* with BASF Pluronic Polyol F-127. Edited by G. J. Mueller. U.S. Department of Energy, Bonneville Power Administration, Portland, Oregon. 160 p.
- Pickering, A.D., and Willoughby, L.G. 1982. Factors which predispose salmonid fish to Saprolegniasis In Microbial Diseases of Fish. Edited by R.J. Roberts. Academic Press, London, England. 297 p.
- Pickering, A. D. and Willoughby, L. G., 1982. Saprolegnia infections of salmonid fish. In: Edited by Roberts R. J. Microbial Disease of Fish. Academic press, New York, NY, 318 p.
- Pickering, A. D., Willoughby, L. G. and McGhory, C. B., 1979, Fine structure of secondary zoospore cyst cases and histologic research of Saprolegnia isolates from infected fish. Transaction British Mycology Society. 436 p.
- Pottinger, T.G., and Pickering, A.D. 1992. The influence of social interaction on the acclimation of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum) to chronic stress. Journal of Fish Biology. 41: 8 (4) .
- Rach, J.J., Schreier, T.M., Howe, G.E., and Redman, S.D. 1997. Effect of species, life stage, and water temperature on the toxicity of hydrogen peroxide to fish. Progressive Fish-Culture. 59. 9 (9).

- Richard, R. H. and Pickering A. B., 1978, Frequency and distribution patterns of Saprolegnia infection in wild and hatchery brown trout *Salmo trutta* L. and char *Salvelinus alpinus* (L.) Journal of Fish Disease. 92 p.
- Roberts, R.J. 1989. Fish Pathology, second edition. Bailliere Tindall Publishers, London. 467 p.
- Roberts, J. R. and Shephard, J. C., 1994, Handbook Of Trout And Salmon Disease, Fishing News Book Ltd. Farnham, London. 345 p.
- Sarıcıyüpoğlu, M., 1995, Balık Hastalıkları Ders Notları, Fırat Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi, Elazığ. 56 s.
- Seymour, R.L. 1970. The Genus Saprolegnia. Nova Hedwigia. 124 p.
- Snieszko, S.F. 1974. The effects of environmental stress on outbreaks of infectious diseases of fishes. Journal of Fish Biology. 154 p.
- Singhal, R. N. Swarn. Jeet and Davies, R.W., 1987, Experimental Transmission of Saprolegnia and Achlya to Fish. Aquaculture. 64. 9 (6).
- Smith, S. N. Armstrong, R. A., Springate, J. and Barker, G., 1985, Infection and colonisation of trout eggs by Saprolegniaceae. Transactions British Mycology Society. 85. 8 (55).
- Timmermans, J. A., 1994, Textbook of Fish Culture, (Translated by Kahn, H.) The University Press, Cambridge, London, 478 p.
- Verigina, I. A., 1986, Structure of the Connective Tissue of Cyprinidae IV. Cyprinidae. Zoological Museum, Moscow state University. Moscow. Originally published in Voprosy Ichtiologii. 691 p.
- Van Waters and Rogers, Inc. 1988. Material safety data sheet. Van Waters and Rogers, Inc. Seattle, WA. 365 p.
- Whisler, H.C. 1996. Identification of Saprolegnia spp. Pathogenic in Chinook Salmon. Final Report, DE-AC79-90BP02836, US Department of Energy, Washington, D.C., 43 p.
- William T., 1987, Yasutake collection and Preparation of fish specimens for Histological Examination U. S. Fish and wild life Service. National Fisheries Research Center- Seattle, Washington. 115 p.
- Willoughby, L.G. and Pickering, A.D. 1977. Viable Saprolegniaceae spores on the epidermis of the salmonid fish *Salmo trutta* and *Salvelinus alpinus*. Transactions British Mycology Society. 95 p.
- Willoughby, L.G. 1985. Rapid preliminary screening of Saprolegnia on fish. Journal of Fish Diseases. 476 p.

- Willoughby, L.G. 1986. An ecological study of water at the medium for growth and reproduction of the *Saprolegnia* from salmonid fish. Transactions British Mycology Society. 502 p.
- Willoughby, L.G. 1989. Continued defense of salmonid fish against *Saprolegnia* fungus, after its establishment. Journal of Fish Diseases, 12: 78 (63).
- Willoughby, L.G., and Roberts, R.J. 1992. Towards strategic use of fungicides against *Saprolegnia parasitica* in salmonid fish hatcheries. Journal of Fish Diseases 115: 13 (6).
- Willoughby, L.G. 1994. Fungi and Fish Diseases. Pisces Press, Stirling, Scotland. 57 p.
- Zeybek, N., 1988, Kriptogramların (Çiçeksiz Bitkilerin) Pratiği, Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Kitaplar Serisi No:14, İzmir-Bornova, 90 s.

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANİYON MERKEZİ