

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ



BATI AKDENİZ BÖLGESİNDEKİ GÖKKUŞAĞI ALABALIĞI (*Oncorhynchus mykiss* WALBAUM 1792) ÇİFTLİKLERİNDEN İZOLE EDİLEN BAKTERİYEL HASTALIK ETKENLERİNİN, ANTİBİYOTİK DİRENÇ GENLERİNİN VE BAZI ENDEMİK MERCAN KÖŞK (*Origanum* spp.) YAĞLARININ ETKENLERE KARŞI ANTİMİKROBİYAL ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ

Yusuf AKTOP

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SU ÜRÜNLERİ TEMEL BİLİMLERİ

ANABİLİM DALI

DOKTORA TEZİ

ŞUBAT 2024

ANTALYA

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ



BATI AKDENİZ BÖLGESİNDEKİ GÖKKUŞAĞI ALABALIĞI (*Oncorhynchus mykiss* WALBAUM 1792) ÇİFTLİKLERİNDEN İZOLE EDİLEN BAKTERİYEL HASTALIK ETKENLERİNİN, ANTİBİYOTİK DİRENÇ GENLERİNİN VE BAZI ENDEMİK MERCAN KÖŞK (*Origanum spp.*) YAĞLARININ ETKENLERE KARŞI ANTİMİKROBİYAL ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ

Yusuf AKTOP

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SU ÜRÜNLERİ TEMEL BİLİMLERİ

ANABİLİM DALI

DOKTORA TEZİ

ŞUBAT 2024

ANTALYA

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BATI AKDENİZ BÖLGESİNDEKİ GÖKKUŞAĞI ALABALIĞI (*Oncorhynchus mykiss* WALBAUM 1792) ÇİFTLİKLERİNDEN İZOLE EDİLEN BAKTERİYEL HASTALIK ETKENLERİNİN, ANTİBİYOTİK DİRENÇ GENLERİNİN VE BAZI ENDEMİK MERCAN KÖŞK (*Origanum spp.*) YAĞLARININ ETKENLERE KARŞI ANTİMİKROBİYAL ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ

Yusuf AKTOP
SU ÜRÜNLERİ TEMEL BİLİMLERİ
ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ

Bu tez Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından FDK-2022-5787 nolu proje ile desteklenmiştir.

ŞUBAT 2024

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BATI AKDENİZ BÖLGESİNDEKİ GÖKKUŞAĞI ALABALIĞI (*Oncorhynchus mykiss* WALBAUM 1792) ÇİFTLİKLERİNDEN İZOLE EDİLEN BAKTERİYEL HASTALIK ETKENLERİNİN, ANTİBİYOTİK DİRENÇ GENLERİNİN VE BAZI ENDEMİK MERCAN KÖŞK (*Origanum spp.*) YAĞLARININ ETKENLERE KARŞI ANTİMİKROBİYAL ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ

Yusuf AKTOP
SU ÜRÜNLERİ TEMEL BİLİMLERİ
ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ

Bu tez 27/02/2024 tarihinde jüri tarafından Oybirliği ile kabul edilmiştir.

Doç. Dr. İfakat Tülay ÇAĞATAY (Danışman)
Prof. Dr. Süleyman AKHAN
Prof. Dr. Zehra Arzu BECER ÖCAL
Prof. Dr. Aysun ERGENE
Doç. Dr. Ertuğrul TERZİ

ÖZET

BATI AKDENİZ BÖLGESİNDEKİ GÖKKUŞAĞI ALABALIĞI (*Oncorhynchus mykiss* WALBAUM 1792) ÇİFTLİKLERİNDEN İZOLE EDİLEN BAKTERİYEL HASTALIK ETKENLERİNİN, ANTİBİYOTİK DİRENÇ GENLERİNİN VE BAZI ENDEMİK MERCAN KÖŞK (*Origanum spp.*) YAĞLARININ ETKENLERE KARŞI ANTİMİKROBİYAL ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ

Yusuf AKTOP

Doktora Tezi, Su Ürünleri Temel Bilimleri Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. İfakat Tülay ÇAĞATAY

Şubat 2024; 107 sayfa

Bu tez çalışmasında Batı Akdeniz Bölgesi'nde faaliyet gösteren gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum 1792) çiftliklerinde sık görülen ve ekonomik kayıplara sebep olan bazı bakteriler izole edilerek ilk olarak bu bakterilerde bulunan çeşitli antibiyotiklere karşı oluşan direnç genlerinin *floR*, *ermA*, *ermB*, *tetA*, *tetE*, *tetM*, *sulI*, *sulII* ve *sulIII* tespiti ve ikinci olarak da bu bakterilere karşı ülkemize endemik *Origanum* türlerinden olan *O. minutiflorum*, *O. saccatum* ve *O. bilgeri*'nin uçucu bitkisel yağlarına karşı antimikrobiyal etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Batı Akdeniz Bölgesi illerinden toplanan 108 adet hastalık belirtisi gösteren gökkuşağı alabalığından alınan bakteri örneklerinden mikrobiyolojik ekimler yapılarak ekonomik kayıplara sebebiyet veren yersiniosis, lactococcosis ve motil aeromonas sepsisemisi gibi hastalıkların gökkuşağı alabalıklarında etkeni olan *Aeromonas hydrophila*, *Lactococcus garvieae* ve *Yersinia ruckeri* bakteri türleri moleküler biyolojik yöntemlerden biri olan PCR yöntemi ile teşhis edilmiştir. Ayrıca matriks aracılı lazer desorbsiyon iyonizasyon uçuş zamanı kütle spektrometresi MALDI TOF (Bruker Microflex) olan bakteriyel protein analiz yöntemi ile bu bulgular doğrulanmıştır. İzole edilen ve tanımlanan bakterilerin antibiyotiklerine duyarlılıkları disk difüzyon yöntemiyle eritromisin (15 µg), florfenikol (30 µg), tetrasiklin (30 µg), sulfametaksazol (100 µg) ve sulfametaksazol-trimetoprim (25 µg) antibiyotikleri kullanılarak belirlenmiştir. Ayrıca tanımlanan bu üç bakteri türünün bu çalışmada elde edilen endemik *O. minutiflorum*, *O. saccatum* ve *O. bilgeri*'nin uçucu yağlarına karşı antimikrobiyal etkileri ve minimum inhibisyon konsantrasyon (MİK) değerleri çalışılmıştır.

Sonuç olarak, bu bakteri türlerinin eritromisin (15 µg), florfenikol (30 µg), tetrasiklin (30 µg), sulfametaksazol (100 µg) ve sulfametaksazol-trimetoprim (25 µg) antibiyotiklere duyarlı oldukları belirlenirken en etkin antibiyotiğin florfenikol (30 µg) olduğu gözlemlenmiştir. *Aeromonas hydrophila*, *Lactococcus garvieae* ve *Yersinia ruckeri* bakterileri için florfenikol (30 µg) antibiyotik zon çapları ortalaması sıra ile 31,0 mm, 23,0 mm ve 30,0 mm olarak tespit edilmiştir. Bakterilerden *Y. ruckeri* (*tetA*, *sulI*

ile *sulII*) *L. garvieae* (*floR*, *ermA*, *ermB*, *tetA*, *tetE*, *tetM*, *sulI*, *sulII* ile *sulIII*) ve *Aeromonas hydrophila* (*sulII*) antibiyotik direnç geni taşıdıkları spesifik primer ve PCR ile tespit edilmiştir. Ayrıca çalışılan bakteriler üzerine endemik *O. minutiflorum*, *O. saccatum* ve *O. bilgeri* uçucu bitkisel yağlarının antimikrobiyal etkisinin olduğu, *O. saccatum* yağının *O. minutiflorum* ve *O. bilgeri* yağına göre antimikrobiyal etkisinin daha az olduğu belirlenirken, *O. minutiflorum* ve *O. bilgeri* yağının güçlü antimikrobiyal etki gösterdikleri belirlenmiştir. Endemik *Origanum* uçucu yağlarının minimum inhibisyon konsantrasyon değeri ise *A. hydrophila*, *L. garvieae* ve *Y. ruckeri* bakterileri türleri üzerine *O. saccatum* yağı için 3,90 µl/mL olarak, *O. bilgeri* ve *O. minutiflorum* yağları için ise 1,90 µl/mL olduğu belirlenmiştir.

ANAHTAR KELİMELEER: Alabalık patojeni, Antibiyotik direnç, Antimikrobiyal etki, Minimum inhibisyon konsantrasyon, *Origanum* yağı

JÜRİ: Doç. Dr. İfakat Tülay ÇAĞATAY

Prof. Dr. Süleyman AKHAN

Prof. Dr. Zehra Arzu BECER ÖCAL

Prof. Dr. Aysun ERGENE

Doç. Dr. Ertuğrul TERZİ

ABSTRACT

DETERMINATION OF ISOLATED BACTERIAL DISEASE CAUSES, ANTIBIOTIC RESISTANCE GENES AND THE ANTIMICROBIAL EFFECTS OF SOME ENDEMIC MARJORAM (*Origanum* SPP.) SPECIES OILS AGAINST AGENTS IN RAINBOW TROUT (*Oncorhynchus mykiss* WALBAUM 1792) FARM OPERATING FROM THE WEST MEDITERRANEAN REGION

Yusuf AKTOP

PhD Thesis in Department of Basic Aquatic Sciences

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. İ. Tülay ÇAĞATAY

February 2024; 107 pages

In this thesis study, some bacteria that are frequently seen and cause economic losses in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum 1792) farms operating in the Western Mediterranean Region were isolated and first the resistance genes against various antibiotics found in these bacteria were identified as *floR*, *ermA*, *ermB*, *tetA*, *tetE*, *tetM*, *sulI*, *sulII* and *sulIII* and secondly to determine the antimicrobial effects of essential oils of *O. minutiflorum*, *O. saccatum* and *O. bilgeri*, which are *Origanum* species endemic to our country, against these bacteria.

Microbiological cultivation was performed on bacterial samples taken from 108 rainbow trout showing disease symptoms collected from the provinces of the Western Mediterranean Region, and the bacterial species *Aeromonas hydrophila*, *Lactococcus garvieae* and *Yersinia ruckeri*, which are the causative agents of diseases such as yersiniosis, lactococcosis and motile aeromonas septicemia, which cause economic losses in rainbow trout, were examined using molecular biological methods. It was diagnosed by PCR method. Additionally, these findings were confirmed by the bacterial protein analysis method with matrix-mediated laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry MALDI TOF (Bruker Microflex). The antibiotic susceptibilities of the isolated and identified bacteria were determined by disk diffusion method using the antibiotics erythromycin (15 µg), florfenicol (30 µg), tetracycline (30 µg), sulfamethaxsol (100 µg) and sulfamethaxsol-trimethoprim (25 µg). In addition, the antimicrobial effects and minimum inhibition concentration (MIC) values of these three identified bacterial species against the essential oils of endemic *O. minutiflorum*, *O. saccatum* and *O. bilgeri* obtained in this study were studied.

As a result, it was determined that these bacterial species were sensitive to the antibiotics erythromycin (15 µg), florfenicol (30 µg), tetracycline (30 µg), sulfamethaxsol (100 µg) and sulfamethaxsol-trimethoprim (25 µg), while the most effective antibiotic was florfenicol (30 µg). has been observed. The average antibiotic zone diameters of florfenicol (30 µg) for *Aeromonas hydrophila*, *Lactococcus garvieae* and *Yersinia ruckeri* bacteria were determined as 31.0 mm, 23.0 mm and 30.0 mm, respectively. Among the bacteria, *Y. ruckeri* (*tetA*, *sulI* and *sulII*), *L. garvieae* (*floR*, *ermA*, *ermB*, *tetA*, *tetE*, *tetM*, *sulI*, *sulII* and *sulIII*) and *Aeromonas hydrophila* (*sulII*) were determined to carry antibiotic resistance genes with the help of specific primers

and PCR bands has been made. In addition, it was determined that endemic *O. minutiflorum*, *O. saccatum* and *O. bilgeri* essential oils had an antimicrobial effect on the studied bacteria, and that *O. saccatum* oil had less antimicrobial effect than *O. minutiflorum* and *O. bilgeri* oil, while *O. minutiflorum* and *O. bilgeri* oils had less antimicrobial effects. It has been determined that oil has a strong antimicrobial effect. The minimum inhibition concentration value of endemic *Origanum* essential oils on *A. hydrophila*, *L. garvieae* ve *Y. ruckeri* bacteria species were determined to be 3.90 µl/mL for *O. saccatum* oil and 1.90 µl/mL for *O. bilgeri* and *O. minutiflorum* oils.

KEYWORDS: Antibiotic resistance, Antimicrobial effect, *Origanum* oil, Minimum inhibitory concentration, Pathogenic of Rainbow trout

COMMITTEE: Assoc. Prof. Dr. İfakat Tülay ÇAĞATAY

Prof. Dr. Süleyman AKHAN

Prof. Dr. Zehra Arzu BECER ÖCAL

Prof. Dr. Aysun ERGENE

Assoc. Prof. Dr. Ertuğrul TERZİ

ÖNSÖZ

Dünya üzerinde nüfusun hızlı artışı beslenmede gereksinim duyulan protein ihtiyacını da beraberinde getirmiştir. Dolayısıyla söz konusu durum insan beslenmesinde yeni protein kaynaklarının arayışını veya mevcut olan kaynaklarda stok artışı yaparak bu gereksinim duyulan ihtiyacı karşılamaya yöneltmiştir. Bu durum diğer hayvancılık sektörlerinde olduğu gibi su ürünleri yetiştiricilik sektöründe üretim kapasitesini artırmak için havuzlardaki balık stoğunun artırılması gibi yollara başvurmaktadır. Balık çiftliklerinde meydana gelen söz konusu bu durum balıkların alan baskısına bağlı hareket kısıtlaması gibi bazı olumsuz sebepler ile meydana gelen stres faktörleri hastalıkların ortaya çıkmasına ve buna sebep olan patojenlerin hızla yayılmasına neden olabilmektedir. Çiftliklerde hızla yayılan ve hastalık etmeni patojenleri önlemek için bilinçli veya bilinçsiz antibiyotik gibi kemoterapötik ilaçların kullanımına başvurulabilmektedir. Antibiyotik kullanımı patojenlerin direnç kazanmasına sebep olabilmekte ve yetiştiricilik yapılan çiftliklerde fazla ilaç masrafları, gereksiz iş güçleri ve maliyeti aşan ürün elde edilmesi gibi problemler ile balık çiftliklerinin zarara uğramasıyla sonuçlanmaktadır. Bu gibi sorunların minimize edilmesi veya tamamen çözülmesi akademi, sektör ve ARGE iş birlikleri ile mümkün olabilmektedir. Bu sebeple ekonomik kayıplara neden olabilecek alanlarda daha çok bilimsel çalışmalar yapılması gerek su ürünleri sektörü gerekse ülkemiz ekonomisi için daha iyi olacaktır.

Bu doktora tez çalışmasında da Batı Akdeniz illeri içerisinde faaliyet gösteren gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum 1792) çiftliklerinde sık görülen ve ekonomik kayıplara sebep olan önemli bazı etken bakterilerde çeşitli antibiyotiklere karşı oluşan direnç genleri ve endemik bazı *Origanum* türlerine ait uçucu yağlara karşı antimikrobiyal etkilerinin belirlenmesi çalışılmıştır. Tez çalışmasının yapılmasında beni yönlendiren yol gösterip yardımcı olan yalnız akademik eğitim için değil hayatımın her aşamasında büyük yardımını gördüğüm çok değerli danışman hocam Doç. Dr. İfakat Tülay ÇAĞATAY'a, değerlendirmeleri ve tavsiyeleri ile tezimin tamamlanmasını sağlayan tez izleme komitesi üyeleri Prof. Dr. Süleyman AKHAN ile Prof. Dr. Zehra Arzu BECER ÖCAL'a ve yüksek lisans eğitimimde danışmanlık yaparak bugünlere ulaşmamı sağlayan Doç. Dr. Beytullah Ahmet BALCI'ya teşekkürlerimi sunarım.

Bu tez çalışmasında bitki materyalinin toplanması için gerçekleştirilen arazi çalışmasında bizzat kendisinin de katılımıyla toplmam da yardımcı olan ve çalışmam esnasında hiçbir yardımını esirgemeyen Prof. Dr. Ahmet AKSOY hocama ve Dr. Jale ÇELİK'e teşekkür ederim.

Bitkilerden yağ eldesi aşamasında laboratuvarın kullanımı için her türlü imkânı sağlayan Prof. Dr. Hüseyin ÇETİN'e ve arkadaşım Sadık Burak POLAT'a, MALDI-TOF MS laboratuvar bilgisi ile yardımlarını esirgemeyen kıymetli arkadaşım Doğukan KARACA'ya, çalışma süresince destek veren Kerim ZORLU ile F. Çağlar YÜCEL'e teşekkürü bir borç bilirim.

Bu tez çalışmasının gerçekleşmesinde balık materyali sağlayan başta Aydemir Alabalık Tesisi ile mühendisi Ahmet AYDEMİR olmak üzere yardımcı olan diğer bütün tesis ve mühendislerine, laboratuvar çalışmalarının yapılmasında laboratuvar kullanımı

için Akdeniz Üniversitesi Su rnleri Fakültesi Dekanlığı'na ve Fen Fakültesi Dekanlığı'na teşekkür ederim.

FDK-2022-5787 No'lu Proje ile tezimi maddi olarak destekleyen Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne teşekkür ederim.

Doktora eğitimim esnasında almış olduğum YK 100/2000 bursu için Yükseköđretim Kurulu Başkanlığı'na ve TÜBİTAK 2211 A programları kapsamında almış olduğum burs için TÜBİTAK Bilim İnsanı Destekleme Programları Başkanlığı'na sonsuz teşekkür ederim.

Tezimi biricik yeđenim Mehmet Ali AKTOP'a adıyorum.



İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	iii
ÖNSÖZ	v
İÇİNDEKİLER	vii
AKADEMİK BEYAN	x
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xii
ÇİZELGELER DİZİNİ	xv
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK TARAMASI	4
2.1. Türkiye ve Dünya Su Ürünleri Üretim Miktarları	4
2.2. Gökkuşluğu Alabalığı (<i>Oncorhynchus mykiss</i> , Walbaum, 1792)	7
2.2.1 Sistematığı ve biyolojisi.....	7
2.3. Yetiştiricilik Koşullarında Karşılaşılan Bakteriyel Gökkuşluğu Alabalığı Hastalıkları	8
2.4. Bakteriyel Balık Hastalıkları Etkenlerinin Tanımlanması	11
2.4.1. Bakteriyel balık hastalıklarının polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ile tanımlanması	12
2.4.2. Bakteriyel balık hastalıklarının matriks ile desteklenmiş lazer desorpsiyon/iyonizasyon uçuş zamanı kütle spektrometresi (MALDI-TOF MS) tanımlaması	12
2.4.2.1. MALDI-TOF MS Yöntemi ile Yapılan Bazı Çalışmalar.....	14
2.5. Yetiştiricilik Koşullarında Antibiyotik Kullanımı ve Çoklu Antibiyotik Direnci (ÇAD).....	17
2.6. Antibiyotik Duyarlılık ve Direnç Geni Üzerine Yapılan Çalışmalar.....	19
2.7. Bitkisel Yağ ve Ekstraktların Antimikrobiyal Etkisi Üzerine Yapılan Bazı Çalışmalar.....	20
2.8. Yağ Eldesi için Kullanılan <i>Origanum</i> Türleri.....	24
2.8.1. <i>Origanum bilgeri</i> botanik bilgileri	26
2.8.2. <i>Origanum minutiflorum</i> botanik bilgileri.....	27
2.8.3. <i>Origanum saccatum</i> botanik bilgileri	28
2.9. Su Ürünlerinde <i>Origanum</i> sp. Bitkisi ve Ekstraktlarının Kullanımı.....	28
2.10. <i>Origanum</i> sp. Yağları ile Yapılan Antimikrobiyal Çalışmalar	32
3. MATERYAL VE METOT.....	38
3.1. Materyal	38
3.1.1. Araştırma sahası	38

3.1.2. Balık materyali	39
3.1.3. Balık örnekleme yapılan çiftliklerdeki su parametreleri	39
3.1.4. Bitki materyali.....	40
3.1.5. Bitkisel yağ materyali	41
3.1.6. Çalışmada kullanılan besiyerleri	42
3.1.7. Kullanılan kit ve kimyasal materyalleri	43
3.1.8. PCR için kullanılan primerler	44
3.1.9. Antibiyotik diskleri	45
3.2. Metot	46
3.2.1. Örnekleme için balıkların taşınması ve incelenmesi.....	46
3.2.2. Besiyerlerin hazırlanması, bakteri örnekleme, izolasyonu ve üretimi	48
3.2.3. Bakteri suşlarından DNA izolasyonu.....	49
3.2.4. Bakteri İzolatları DNAsının agaroz jel elektroforezinde görüntülenmesi	51
3.2.5. Bakteri izolatlarının PCR ile teşhisi.....	52
3.2.6. Bakteri izolatlarının Matris ile desteklenmiş lazer desorpsiyon/ iyonizasyon uçuş zamanı kütle spektrometresi (MALDI-TOF MS) yöntemi ile tanımlanması	54
3.2.7. Bakteri izolatlarının antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesi.....	56
3.2.8. Bakteri izolatlarının antibiyotik direnç genlerinin belirlenmesi	57
3.2.9. Disk difüzyon yöntemi ile bitkisel yağların antimikrobiyal etkisinin belirlenmesi	60
3.2.10. Bitki materyalinin teşhisi	61
3.2.11. Bitkilerin kurutulması ve yağ eldesi	64
3.2.12. Uçucu yağ analiz metodu bileşen tayini gaz kromatografi kütle spektrometresi analizi (GC-MS/FID).....	65
3.2.13. Bitkisel yağların minimum inhibisyon konsantrasyonlarının tespiti	66
3.2.14. İstatistiksel analizler	67
4. BULGULAR	68
4.1. Balık Örneklerinden Elde Edilen Bulgular	68
4.2. Bakteri İzolatlarının Moleküler Spesifik Primer ile Tanımlanması.....	69
4.3. Bakteri İzolatlarının MALDI-TOF MS ile Tanımlanması.....	69
4.4. Bakteri İzolatlarının Antibiyotik Duyarlılıkları	70
4.5. Bakteri İzolatlarının Direnç Genleri.....	72
4.6. Çalışmada Kullanılan Endemik Bitki Türlerine Ait Yağların Analiz Bulguları..	73
4.7. Tanımlanan Patojen Bakteriler Üzerine <i>Origanum</i> spp. Esansiyel Yağlarının Antimikrobiyal Etkisinin Belirlenmesi	75
4.8. Tanımlanan Patojen Bakteriler Üzerine <i>Origanum</i> sp. Uçucu Yağlarının MİK..	77

5. TARTIŞMA.....	80
5.1. Balık Örneklerinden Elde Edilen Bulgular	80
5.2. Bakteri İzolatlarının Moleküler Teşhisi	80
5.3. Bakteri izolatlarının MALDI TOF MS ile Teşhisi.....	81
5.4. Bakteri İzolatlarının Antibiyotik Duyarlılıkları	82
5.5. Bakteri İzolatlarının Antibiyotik Direnç Genleri	83
5.6. Yağ Analizi	83
5.7. <i>Origanum</i> Yağlarının Antimikrobiyal Etki Zonları	86
5.8. <i>Origanum</i> Yağlarının MİK	88
6. SONUÇ	90
7. KAYNAKLAR	92
ÖZGEÇMİŞ	

AKADEMİK BEYAN

Doktora Tezi olarak sunduğum “Batı Akdeniz Bölgesindeki Gökkuşığı Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum 1792) Çiftliklerinden İzole Edilen Bakteriyel Hastalık Etkenlerinin, Antibiyotik Direnç Genlerinin ve Bazı Endemik Mercan Köşk (*Origanum* Spp.) Yağlarının Etkenlere Karşı Antimikrobiyal Etkilerinin Belirlenmesi” adlı bu çalışmanın, akademik kurallar ve etik değerlere uygun olarak yazıldığını belirtir, bu tez çalışmasında bana ait olmayan tüm bilgilerin kaynağını gösterdiğimi beyan ederim.

27/02/2024
Yusuf AKTOP

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

g	: Gram
mg/l	: Mili gram/ litre
µL/mL	: Mikrolitre/ mililitre
mm	: Milimetre
pH	: Çözeltinin asitlik veya bazlık derecesini tarif eden ölçü birimi
mM	: Milimolar
µg	: Mikrogram
ppm	: Milyonda bir birim
°C	: Derece
%	: Yüzde
UV	: Ultra Viyole

Kısaltmalar

ÇAD	: Çoklu Antibiyotik Direnci
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
dNTP	: Deoksinükleosid trifosfat
EDTA	: EtilenDiamin Tetraasetik Asit
FAO	: Gıda ve Tarım Örgütü
TSA	: Triptik Soy Agar
TSB	: Triptik Soy Broth
NA	: Nutrient Agar
KA	: Kanlı Agar

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Gökkuşığı alabalığı- <i>O. mykiss</i> (Walbaum, 1792)	7
Şekil 2.2. Matriks ile desteklenmiş lazer dezorbsiyon iyonizasyon ile uçuş zamanı kütle spektrometresi (MALDI-TOF MS)	12
Şekil 2.3. MALDI-TOF MS çalışma prensibi (Calderaro vd. 2014).....	13
Şekil 2.4. <i>Origanum bilgeri</i> (Tüylü mercan)	26
Şekil 2.5. <i>Origanum minutiflorum</i> (Toka kekik)	27
Şekil 2.5. <i>Origanum saccatum</i> (Tahtacı kekiği)	28
Şekil 3.1. Batı Akdeniz Bölgesi araştırma lokasyonları	38
Şekil 3.2. Çalışmada kullanılan enfekte olmuş gökkuşığı alabalığı (<i>O. mykiss</i>) materyali (<i>O. mykiss</i>) materyali	39
Şekil 3.3. Gökkuşığı alabalığı (<i>O. mykiss</i>) a) havuz giriş ve b) havuz çıkışlarından su kalite parametrelerinin ölçümü	40
Şekil 3.4. Endemik <i>Origanum</i> türlerinin toplanması	41
Şekil 3.5. Endemik <i>Origanum</i> türlerinden elde edilen yağ materyalleri	42
Şekil 3.6. (a-b-c-d-e). Çalışmada kullanılan besiyerlerin tartımı, otoklav ve ekim işlemleri	43
Şekil 3.7. Magen HiPure Bacterial DNA Kit	43
Şekil 3.8. (a-b-c-d) EDTA, Tris, NaCl (Sodyum klorür), hazırlanışı ve Ph metre ile kontrolü	44
Şekil 3.9. Çalışmada kullanılan antibiyotik diskler	46
Şekil 3.10. Ayrı ayrı poşetlenerek buzlu strafor ile soğuk zincir taşınan balıklar	47
Şekil 3.11. Balıkların a. Boy ve b. Ağırlık ölçümleri	47
Şekil 3.12. Bakteri ekimi ve üretim aşamalarının görüntüleri	49
Şekil 3.13. Kit ile DNA izolasyonu	50
Şekil 3.14. a. Broth besiyerinde üretilen bakteri izolatu, b. 1,5 mL ependorf tüpler içerisinde santrifüj sonrası pelet oluşumu c. Tüpler içerisine hazırlanan solüsyonların ilavesi, d. Santrifüj sonrası tüp içerisinde oluşan üç faz, e. Alınan üst fazın santrifüj sonrası alkolle yıkanan peletinden alkolün uzaklaştırılması f. Peletin 100 µL TE içerisinde çözdürülmesi	51
Şekil 3.15. a. Agaroz jel hazırlanışı b. Elektroforezde DNA yürütme işlemi c. UV ışık altında DNA görüntüleme	52
Şekil 3.16. a. DNA Polymerase, KIT ve b. Thermal Cycler ile PZR	52
Şekil 3.17. a. ompTS PZR koşulu b. Yer 8-10 PZR koşulu c. pLG-1-2 PZR koşulu ...	54
Şekil 3.18. a. Agardan target üzerine bakteri kolonisi yayma b. Targete yayılan bakteriler üzerine matriks ilavesi c. Hazırlanan alfabetik ve numerik targetin cihaza yerleştirilmesi d. Cihazın yerleştirilen targeti okuması	55

Şekil 3.19. a. İzolatlarının yoğunluğu 0,5 McFarland standart yoğunluğu, b. MHA'ya steril mikropipet aracılığı ile ekimi steril c. Steril drigalski spatülü yardımıyla izolatın MHA ya yayılışı, d. ticari olarak alınan antibiyotik içeren disklerin yerleştirilmesi	56
Şekil 3.20. Ticari alınan antibiyotiklerin petri görünümü ve milimetrik zon ölçümleri	57
Şekil 3.21. PZR işlem basamakları: a. PZR mix ile DNA hazırlanışı, b. Agoroz jel tartımı, c. PZR sonucu görüntüleme için sonuçların elektroforezde yürütülmesi, d. UV ışığında antibiyotik direnç bantlarının görüntülenmesi.	58
Şekil 3.22. PZR koşulları a. flo(R), b. erm(A) c. erm(B), d. tet(A) e. tet(E) f. tet(M) g. sul(1) h. sul(2) i. sul(3)	59
Şekil 3.23. a. Yağların disklerle emdirilişi, b. MHA'ya steril mikropipet aracılığı ile ekimi bakteri ekimi c. Steril drigalski spatülü yardımıyla bakterinin MHA ya yayılışı, d. Yağ zonları, e. Yağların zon çapının milimetrik ölçülmesi	61
Şekil 3.24. O. bilgeri'nin morfolojik görünümü	62
Şekil 3.25. O. minutiflorum'un morfolojik görünümü	63
Şekil 3.26. O. saccatum'un morfolojik görünümü	64
Şekil 3.27. Origanum türlerinin öğütülmesi ve hassas terazide tartılması	65
Şekil 3.28. a. Origanum türlerinden clevenger cihazı ile yağ eldesi ve b. Elde edilen yağın kapaklı cam deney tüplerine katılması	65
Şekil 3.29. a. 96 kuyucuklu plakta MİK hazırlanışı b. MİK yapılan plaklar c. MİK sonrası kuyucuklardan yapılan ekimler d. Ekimi yapılan kuyucukta meydana gelen bakteri koloni üremeleri	67
Şekil 4.1. Çalışma kapsamında örneklenen bazı balıkların kliniksel bulguları a. iki taraflı gözlerde ekzoftalmus ve göz kaybı, üst ve altçenede lezyonlar b. Karın bölgesinde şişlik, anüs ve etrafında kanama gözde ekzoftalmus, c. iç organ ve karaciğerde kanama (hemoraji) ve solgunluk d.-e. karın bölgesi ile deride lezyon ve kanama (hemoraji) f. Solungaç filametlerinde erime ve yapışma.....	68
Şekil 4.2. İzole edilen a. <i>Lactococcus garvieae</i> , pLG-1 (F)-pLG-2 (R) 1100 bp b. <i>Yersinia ruckeri</i> Yer 8 (F) Yer 10 (R) 575 bp c. <i>Aeromonas hydrophila</i> ompTS (F) ompTS (R) 1008 bp bakterilerinin spesifik primerler ile moleküler tanımlanması.....	69
Şekil 4.3. MALDI-TOF MS cihazında <i>Yersinia ruckeri</i> , <i>Lactococcus garvieae</i> ve <i>Aeromonas hydrophila</i> 'nın kütle spektrumları	70
Şekil 4.4. <i>Lactococcus garvieae</i> , <i>Yersinia ruckeri</i> ve <i>Aeromonas hydrophila</i> türlerinin antibiyotik disk zonları	71
Şekil 4.5. Bakterilerde taranan a. erm(A), b. erm(B) c. flo(R), d. tet(A), e. tet(E), f. tet(M), g. sul(1), h. sul(2) ile sul(3) antibiyotik direnç genlerine ait bazı amplikon büyüklükleri	73
Şekil 4.6. <i>O. minutiflorum</i> , <i>O. bilgeri</i> ve <i>O. saccatum</i> , yağlarının görsellikleri.....	75
Şekil 4.7. Endemik <i>Origanum</i> türleri a. <i>O. bilgeri</i> b. <i>O. minutiflorum</i> c. <i>O. saccatum</i> yağlarının <i>L. garvieae</i> , <i>Y. ruckeri</i> ve <i>A. hydrophila</i> üzerine antimikrobiyal etkisi	77
Şekil 4.8. Endemik <i>Origanum</i> türlerinin <i>L. garvieae</i> , <i>Y. ruckeri</i> ve <i>A. hydrophila</i> üzerine antimikrobiyal MİK etkisi	78

Şekil 4.9. Endemik *Origanum* türlerinin **a.** *O. minutiflorum* **b.** *O. bilgeri* **c.** *O. saccatum* yağlarının *L. garvieae*, *Y. ruckeri* ve *A. hydrophila* üzerine MİK etkisinin kuyucuk ekimleri.....79



ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Dünya su ürünleri üretim miktarı	4
Çizelge 2. 2. Türkiye su ürünleri üretim miktarı	5
Çizelge 2. 3. Türkiye su ürünleri üretiminde yetiştiriciliği en fazla yapılan türler	6
Çizelge 3.1 <i>Origanum</i> örneklerinin takson, lokalite yükseklik verileri.....	40
Çizelge 3.2 PZR aşamasında kullanılan spesifik primerler	44
Çizelge 3.3. Antibiyotik direnç geni tespiti için PZR aşamasında kullanılan primerler.	45
Çizelge 3.4. PZR koşulunda kullanılan kitin mix karışım protokolü	53
Çizelge 3.5. . Bakteri teşhisi için kullanılan türe özgü primerler ve PZR koşullarının listesi	54
Çizelge 3.6. Direnç genlerinin belirlenmesinde kullanılan primerler ve PZR koşulları.	59
Çizelge 4.1. İzole edilen bakterilerin disk difüzyon ile zon çapları.....	71
Çizelge 4.2. İzole edilen bakteri türleri ve taşımış oldukları antibiyotik direnç genleri.	72
Çizelge 4.3. <i>Origanum bilgeri</i> , <i>O. munitiflorum</i> ve <i>O. saccatum</i> ’un aktif madde analiz sonuçları.....	74
Çizelge 4.4. İzole edilen bakteriler üzerine endemik <i>Origanum</i> türlerinin disk difüzyon ile tespit edilen zon çapları	76

1. GİRİŞ

Nüfus oranının dünyada hızla artmaya başladığı günümüzde insan beslenmesin de ihtiyaç duyulan hayvansal protein ihtiyacını karşılanma düşüncesi, akuakültürde balık üretiminin ve tesis sayısının artmasına sebep olmuştur. Sağlıklı bir besin ve ihraç edilebilen değerli bir ürün olması sebebiyle Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı'nın gökkuşağı alabalığı (*O. mykiss*) üretimine verdiği desteklemeler buna ilaveten gelişen bilim ve teknoloji ile son yıllarda bu balığın üretiminde %130'dan fazla büyüme sağlanmıştır (Duman 2017). Üretim kapasitesinde gerçekleşen artış oranı biyolojik patojenlerin artışı da beraberinde getirmiş ve yetiştiricilik yapılan sularda patojen yükünü artırmıştır. Yüksek yoğunlukta yapılan üretimin sebep olduğu patojen yükündeki bu artış ve sularda da meydana getirdiği su kalitesindeki azalma, dengesiz ve yetersiz besleme benzeri sebeplerden dolayı hastalık problemleri daha sık görülür hale getirmiştir (Akşit ve Kum 2008).

Genellikle balık üretim çiftliklerinde görülen patojen mikroorganizmalar bakteri, mantar, virüs ve parazitlerden oluşturmaktadır (Duman 2017). Geçmiş yıllarda yaklaşık 15 ile 20 bakteri türünün balıklar üzerine patojenite gösterdiği bildirilirken (Munro 1982), ilerleyen zamanla enfekte olmuş balıklardan yaklaşık olarak 70 bakterinin izolasyonu gerçekleştirilmiştir (Woo ve Bruno 2003). Ciddi balık kayıplarına sebep olduğu için bakteriyel patojenler çalışmaların odak noktası haline gelmiş ve yoğun olarak araştırılmaya başlanmıştır (Akşit ve Kum, 2008). Bu sebeple *Aeromonas*, *Streptococcus*, *Pseudomonas*, *Yersinia*, *Flexibacter*, *Vibrio* ve *Renibacterium* coğrafik olarak çeşitli bölgelerden gökkuşağı alabalıkları (*O. mykiss*)'nda enfeksiyona sebep olduğu bildirilmiş özellikle *Aeromonas salmonicida*, *Yersinia ruckeri* *Vibrio anguillarum* ve *Lactococcus garvieae* enfeksiyonlarının büyük kayıplara sebep olduğu ve hatta tüm akuatik ortamlarda *A. salmonicida*'nın neden olduğu furunkulozisin %90 oranında ölümlere sebebiyet veren bir hastalık olduğu bildirilmiştir (Kirkan vd. 2003; Kum vd. 2004; Subasinghe 2005).

Çeşitli sebeplerden dolayı meydana gelen, %90 oranında ölümler meydana getirmesi ile büyük ekonomik kayıplara sebep olan bazı hastalıklarda antibakteriyel ilaçların uygulanması gözardı edilemeyecek bir gerçektir (Burka vd. 1997). Birden fazla hastalığa karşı vazgeçilmez savunma mekanizması olarak penisilin bulunmasıyla neredeyse seksen yıldır antibiyotikler kullanılmaktadır (Meral ve Korukluoğlu 2014). Antibiyotikler, hedef aldığı bakteride sentezini yaptıkları hücre duvarı işlevini durdurarak ve zarda gerçekleşen işlevleri bozarak veya sentezi gerçekleşecek proteinleri engelleyerek yok ederler. Su ürünlerinde patojen bakterilere karşı kullanılan antibiyotikler amoksisilin, eritromisin, florfenikol, oksitetrasiklin, sulfanomid, tetrasiklin, sulfametaksazol-trimetoprim şeklinde sıralanabilmektedir (Kirkan vd. 2003; Baek vd. 2006; Akşit ve Kum 2008; Duman 2017). Bu ilaçların kullanımı yetiştiricilik yapılan ülke ve coğrafyalara göre değişiklik gösterebilmektedir. Ülkemizde de bu konuda 2013 yılının Temmuz ayı itibari ile 41 adet ruhsatlı ilacın su ürünleri yetiştiriciliğinde kullanılması mevcuttur (Altan 2019). Bu alanda yapılan bütün çalışmalar uygun kullanıma dikkatleri çekmektedir.

Bakterilere karşı yoğun olarak kullanılan antibiyotik ajanlar çoklu direnç gösteren bakteri türlerinin artmasına sebebiyet vermiştir. Bilinçsizce ve gereğinden fazla kullanılan antibiyotikler, bakterilerin antibiyotiklere karşı direnç geliştirmelerine

sebebiyet verirken aynı zamanda gün geçtikçe de hastalıkların tedavisine karşı kullanılabilecek antibiyotiklerin ve etkilerinin azalmasına neden olmaktadır (Dolgun vd. 2016).

İngiltere ve Japonya gibi ülkelerde yapılan su ürünleri üretimlerinde β -laktam türü antibiyotiklerin kullanımı uzun süre tercih edilmiştir. Fakat bu antibiyotikler arasında olan amoksisilin benzeri ilaçların kullanımında hareketli *Aeromonas* türlerinin direnç gösterdiği belirlenmiştir. Geniş spektrumlu antibiyotik fenikollerden birisi de kloramfenikol olup yine bu antibiyotığın yoğun ve gereksiz kullanımı bakterilerde direnç gelişimi meydana getirebilmektedir. Bu alanda yapılan çalışmalarda direnç gelişimini ortaya koymaktadır. Gökkuşluğu alabalığı bağırsağından izole ettikleri hareketli *Aeromonas* (*A. hydrophila*, *A. sobria* ve *A. caviae*) etkenlerinin tamamının ampisilin'e (Korun ve Toprak 2010), alabalıklardan izole edilen *Hafnia alvei* amoksisilin (10 μ g), ampisilin (10 μ g), eritromisin (15 μ g)'e (Onuk vd. 2015), hastalık semptomu gösteren ayrıca akuakültürde yetiştiriciliği yapılan gökkuşluğu alabalıklarından, su örneklerinden ve bentik örneklerinden izole edilen iki izolatın (ENT1 ve ENT3) florfenikole, tüm izolatların ise sulfanomidlere (Yavaş vd. 2018), sazan balıklarından izole edilen *A. hydrophila* suşlarının ampisiline (Öztürk vd. 2007), *Enterococcus hirae*, *E. mundtis*, *E. durans*, *E. faecium*, *E. faecalis* izolat türlerin çoğunun eritromisin, vankomisin, oksasilin ve streptomisine (Çıtak vd. 2004), *Y. ruckeri*'nin oksitetrasikline ve sulfonamidlere dirençli olduğunu (DeGrandis ve Stevenson 1985) bildirmişlerdir.

Yine aynı şekilde Sörum vd. (1992) yılında çiftliklerde üretilen Atlantik salmonlarında vibriozise sebep olan *Vibrio salmonicida* türünde tetrasiklin dirençlilik geni *tet(E)* belirlemişlerdir. Agersø vd. (2007) Danimarka'da yaptıkları çalışmalarında balık çiftliklerinden izole ettikleri *Aeromonas* spp. türlerinde tetrasikline dirençli *tet(E)*, *tet(A)* ve *tet(D)* genlerini çalışmışlardır. Savaşan vd. (2008) yılında balık kökenli *Enterococcus faecalis* suşlarının antibiyotik dirençlilikleri araştırdıkları çalışmalarında vankomisin direnç fenotipinin *vanA* olduğunu belirlemişlerdir. Terzi (2013) bakterilerde en sık görülen antibiyotik direnç geninin *ampC* olduğunu ve bunu koliform bakterilerde *tet(A)*, *sul2*, *bla_{CTX-M1}*, *tetA*, *sul2*, *bla_{TEM-OT12}* ve *bla_{TEM-OT34}* olarak tespit etmiştir. Duman (2017) yılında yaptığı çalışmasında *Aeromonas* türlerinde *tet(A)*, *sul1*, *tet(E)*, *floR*, *Y. ruckeri* izolatlarında *sul1* ve *L. garvieae* izolatlarında *ermA* ve *tet(S)* genlerinin yaygın olduğunu bildirmiştir. Hancı ve Onuk (2018) yılında yaptıkları çalışmaları *L. garvieae* izolatlarından birinin *sulI* direnç genine, altısının *sulIII* direnç genine ve bir izolatın *tet(D)* direnç geni taşıdıklarını bildirmiştir. Sezgin vd. (2023) yılında *L. garvieae* izolatlarının *tet(A)* ve *tet(B)* genlerini bulundurduğunu tespit etmişlerdir.

Artan antibiyotik direncinin, 2014 yılında Dünya Sağlık Örgütü (WHO)'nün yayımladığı rapor ile insan sağlığı açısından sorun teşkil ettiği belirtilmiştir (Anonim 2014). Bu nedenle tüm dünyada önemli bir sorun haline gelen antibiyotik direnci araştırmacıların dikkatini üzerine çekmiştir. Bu konudaki endişe veren sebeplerden birisi antibiyotiklere olan direncin artması diğeri ise patojen bakterilere direnç genlerinin taşınabilme ihtimalidir (Sharma vd. 2014). Araştırmacılar tarafından yapılan çalışmalar insanların yanı sıra karasal hayvanlara ilaveten akuatik hayvanlar arasında antibiyotiklere karşı oluşan direnç genlerinin geçebileceğini ortaya koymaktadır (Kim ve Aoki 1993; Angulo ve Griffin 2000). Söz konusu bu durum ile yüksek oranda

patajen bakterilerde saptanan çoklu direnç geni uygun antimikrobiyel ajanların seçilerek balık hastalıklarının tedavisinde kullanımının önemini vurgulamaktadır (Onuk vd. 2015). Çoklu antibiyotik direnç (ÇAD) sınır değeri 0.2 olarak görülmekte ve bu oranın üzerinde hesaplanan indeksi ortamda antibiyotiklerin yoğun olarak kullanılmasının yanı sıra yüksek riskli kontaminasyonu ifade ettiğine dikkat çekilmektedir (Bhuvaneshwari 2017; Nelson vd. 2019).

Temel hedefi en yüksek verimin elde edilmesinin yanı sıra balık sağlığının korunmak olarak belirleyen su ürünleri üretimi, alternatif kullanımlara ve yeniliklere her zaman açık olmuştur. Buna istinaden kullanımının yasaklanan gelişimi artırıcı antibiyotiklerin yerine yemden balıkların daha iyi yararlanabilmesi, immunostimülan etki oluşturabilmesi ve hastalıklara karşı balıkların korunabilmesi hedefi ile bitkilerin çiçek, yaprak ve kök kısımlarını buna ilaveten bunlardan elde ettikleri ekstrakt ve uçucu yağları yem içerisinde kullanarak su ürünleri bir alternatif oluşturmuştur (Zheng vd. 2009; Divya vd. 2014; Cunha vd. 2018). Bu kapsamda balıklarda potansiyel olarak kullanılabilen bitkisel kökenli ajanların tespit edilmesi önemli bir konu haline gelmeye başlamıştır (Tagnaout vd. 2023). Bitki ekstraktları ve yağları immun sistemi güçlendirerek veya hastalık yapıcı patojen mikroorganizmalar üzerinde meydana getirdiği olumsuz etkisi ile canlıların hastalıklara karşı korunması amaçlanmıştır. Ayrıca son zamanlarda antibiyotiklere alternatif bitkisel ekstraktlarında yeme ilave edilmesi ile bazı balıklarda bağışıklık sistemi ve bazı bakterilere karşı direnç kazandırma üzerine çalışmalar ortaya koyulmaya başlanmıştır (Farsani vd. 2019; Ahmed vd. 2020). Bitkisel ekstraktlar (özütler) ve yağlar antimikrobiyal çalışmalarda odak noktası haline gelmiştir (Divya vd. 2014; Cunha vd. 2018).

Bu tez çalışmasında Batı Akdeniz Bölgesi'nde faaliyet gösteren gökkuşağı alabalığı (*O. mykiss*, Walbaum 1792) çiftliklerinde sık görülen ve ekonomik kayıplara sebep olan bazı bakterilerde bulunan, çeşitli antibiyotiklere olan duyarlılıkları ile antibiyotiklere karşı oluşan direnç genlerinin (*ermA*, *ermB*, *floR*, *tetE*, *tetM*, *tetA*, *sulI*, *sulII* ve *sulIII*) tespiti ve ülkemiz sınırları içerisinde endemik türlerden olan *Origanum minutiflorum*, *O. saccatum* ve *O. bilgeri* uçucu bitkisel yağlarına karşı antimikrobiyal etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. KAYNAK TARAMASI

2.1. Türkiye ve Dünya Su Ürünleri Üretim Miktarları

Su ürünleri üretimi küresel bağlamda 2018 yılından itibaren 177 milyon ton üzerinde bir değere ulaşmıştır ve bu toplam değer içerisindeki 85.3 milyon tonluk payı su ürünleri yetiştiriciliği oluşturmıştır. Su ürünleri alanında dünya geneli üretimde avcılık üretim miktarı durağanlığa yakın bir seyir sürdürdüğü gösterirken, 1980’li yıllardan beri yetiştiriciliğin payı ise her yıl artış göstermeye devam etmiştir. 2021 yılı için Birleşmiş Milletler’in Gıda ve Tarım Örgütü verilerine göre (FAO) su ürünleri alanındaki dünya geneli üretimin 182 milyon tonlara eriştiği bildirilmektedir. Bu üretimin avcılıktan 91,2 milyon tonu elde edilirken, 90,8 milyon tonu ise yetiştiricilikten elde edilmiştir (Bodur Böcüoğlu 2023). Söz konusu bu durum 2010 yılı ve 2020 yılları arasındaki dünya su ürünleri üretimi FAO verileri Çizelge 2.1’de gösterilmiştir.

Çizelge 2.1. Dünya su ürünleri üretim miktarı

Dünya Su Ürünleri Üretimi							
Yıllar	Avcılık Üretimi (Ton)			Yetiştiricilik Üretimi (Ton)			Toplam
	Deniz	İçsu	Toplam	Deniz	İçsu	Toplam	
2010	76.278.358	10.863.861	87.142.219	21.861.535	35.945.661	57.807.196	144.949.415
2011	81.136.060	10.502.636	91.638.696	22.737.131	37.105.127	59.842.258	151.480.954
2012	77.767.502	10.881.090	88.648.592	23.925.870	39.576.434	63.502.304	152.150.896
2013	78.832.286	10.915.515	89.747.801	24.855.137	42.130.065	66.985.202	156.733.003
2014	79.349.911	11.045.110	90.395.021	26.225.099	44.329.027	70.554.126	160.949.147
2015	80.521.369	11.149.469	91.670.838	27.039.998	45.772.262	72.812.260	164.483.098
2016	78.285.821	11.365.442	89.651.263	28.578.979	47.978.996	76.557.975	166.209.238
2017	81.222.361	11.908.155	93.130.516	30.055.941	49.554.288	79.610.229	172.740.745
2018	84.421.966	12.021.387	96.443.353	30.782.285	51.339.568	82.121.853	178.565.206
2019	80.419.970	12.098.653	92.508.623	32.060.104	53.302.727	85.362.832	177.871.455
2020	78.790.000	11.470.000	90.265.933	33.000.000	54.000.000	87.502.609	177.768.543

Çizelge 2.1’de belirtildiği üzere FAO verilerine göre geçmişten günümüze en fazla su ürünleri üretimi 2018 yılında 178.565.206 ton ile en yüksek seviyeye ulaşmıştır. Küresel üretim sucul bitkilerde dahil olmak üzere 2016 yılında 110,2 milyon ton olarak gerçekleşmiştir. İstikrarlı bir artış gösteren su ürünleri yetiştiriciliğinin küresel üretime 2000 yılına katkısı %25,7 oranında olurken 2016 yılında katkısı ise %46,8 olarak hesaplanmıştır (FAO 2018; Altan 2019). 2021 yılında ise 91.190.700 ton avcılık üretimi 90.861.800 ton yetiştiricilik üretimi olmak üzere dünya su ürünleri üretimi 182.052.500 ton olarak gerçekleşerek en yüksek seviyeye ulaşmıştır (FAO 2022).

Dünyada üst sıralardaki yerlere çıkmaya devam eden Türkiye, su ürünleri yetiştiriciliğinde Avrupa Birliği ülkeleri ile kıyaslandığında, son 4 yıl içinde 1. sıraya yerleşmiştir. Dünya üzerinde ülkemizin 2016 yılında gerçekleştirilen 145 bin ton ihracatı, 2021 yılına gelindiğinde 239 bin tona ulaşırken, 2022 yılında ise söz konusu ihracat durumu 252 binlere ulaşmıştır. Ekonomik veri bakımından 2021 yılı değerlendirmesi su ürünleri ihracatında 1,37 milyar dolar gerçekleşirken, 2022 yılında 1103 farklı ülkeye yapılan ihracat ile 7 milyar dolara kadar çıkmıştır (Bodur

Böcüoğlu 2023). Dünya üretiminin yanı sıra ülkemize ait 2010 ile 2022 yılları arasındaki TÜİK su ürünleri üretimine ait verileri Çizelge 2.2’de verilmiştir.

Çizelge 2.2. Türkiye su ürünleri üretim miktarı

Türkiye Su Ürünleri Üretimi							
Yıllar	Avcılık Üretimi (Ton)			Yetiştiricilik Üretimi (Ton)			Toplam Üretim (Ton)
	Deniz	İçsu	Toplam	Deniz	İçsu	Toplam	
2010	445.680	40.259	485.939	88.573	78.568	167.141	653.080
2011	477.658	37.097	514.755	88.344	100.446	188.790	703.545
2012	396.322	36.120	432.442	100.853	111.557	212.410	644.852
2013	339.047	35.074	374.121	110.375	123.019	233.394	607.515
2014	266.078	36.134	302.212	126.894	108.239	235.133	537.345
2015	397.731	34.176	431.907	138.879	101.455	240.334	672.241
2016	301.464	33.856	335.320	151.794	101.691	253.395	588.715
2017	322.173	32.145	354.318	172.492	104.010	276.502	630.820
2018	283.955	30.139	314.094	209.370	105.167	314.537	628.631
2019	431.572	31.56	463.168	256.930	116.426	373.356	836.524
2020	331.281	33.119	364.400	293.175	128.236	421.411	785.811
2021	295.025	33.140	328.165	355.644	136.042	471.686	799.851
2022	301.747	33.256	335.001	368.742	146.063	514.805	849.808

Ülkemizde su ürünleri üretimi TÜİK verilerine göre 2019 yılında toplam 836.524 ton ile en yüksek seviyeye ulaşmış ve bu üretimin 373.356 tonunu yetiştiricilik üretimi oluştururken 463.168 tonunu avcılık yoluyla elde edilen üretim oluşturmuştur. Yine TÜİK verilerine göre 2018 yılında gerçekleşen 628.631 ton su ürünleri üretiminde yaklaşık 314 bin tonluk üretim ile avcılık ve yetiştiricilik eş bir seviyede gerçekleşmiştir. Ülkemizde avcılık üretim verilerinde inişli çıkışlı bir eğilim gösterirken, yetiştiricilik üretim verilerinde ise sürekli bir artış sürdürmüştür (Altan 2019). 2021 yılı su ürünleri üretimi Türkiye’de 328 bin 158 tonu avcılıktan 471 bin 686 tonu ise yetiştiricilikten olmak üzere 799 bin 844 ton olarak gerçekleşmiştir. Bu değer avcılık oranı %41,1’i oluştururken yetiştiricilik oranı %58,9’unu oluşturmaktadır. 2022 hedefinin yetiştiricilik sektöründe 500 bin tonun üzerinde olması hedeflenirken 2023 yılı yetiştiricilik hedefinin ise 600 bin ton olması belirlenmiştir (Bodur Böcüoğlu 2023). Çizelge 2.2’de belirtildiği üzere 2022 yılında 514.805 ton olarak yetiştiricilik üretimi gerçekleşmiştir. 2022 yılı üretiminde 335.001 ton olarak gerçekleşen avcılık üretiminin 301.747 tonunu deniz ve 33.256 tonunu içsu avcılığı oluşturmaktadır. 335.001 tonu avcılık üretiminden 514.805 tonu ise yetiştiricilik üretiminden 2022 yılı Türkiye su ürünleri üretimi 849.808 ton olarak gerçekleşmiştir. Deniz yetiştiricilik üretimi 368.742 ton iç su yetiştiricilik üretimi 146.063 ton olarak gerçekleşmiştir. Bu yetiştiricilik üretim verilerinde gökkuşağı alabalığı (*O. mykiss*) üretimi önemli paya sahiptir. Gökkuşağı alabalığı (*O. mykiss*) ve sazan (*C. carpio*) ile 1970’lerde ülkemizde başlayan yetiştiricilik faaliyetlerini 1980’lerde Ege’nin yanı sıra Akdeniz’de de üretimine başlanan avrupa levreği (*D. labrax*) ve yaldız başlı olarak isimlendirilen çipura (*S. aurata*) izlemiştir (Altan 2019). En fazla üretimi yapılan söz konusu üç türe ait TÜİK üretim verileri Çizelge 2.3’te 2010’ yılı itibari ile verilmiştir.

Çizelge 2.3. Türkiye su ürünleri üretiminde yetiştiriciliği en fazla yapılan türler

Yıllar	Alabalık			Çipura	Levrek
	İçsu	Deniz	Toplam		
2010	78.165	7.079	85.244	28.157	50.796
2011	100.239	7.697	107.936	32.187	47.013
2012	111.335	3.234	114.569	30.743	65.512
2013	122.873	5.186	128.059	35.701	67.913
2014	107.983	5.610	113.593	41.873	74.653
2015	101.166	6.872	108.038	51.844	75.164
2016	101.297	5.716	107.013	58.254	80.847
2017	103.705	5.952	109.657	61.090	99.971
2018	104.887	9.610	114.497	76.680	116.915
2019	116.053	9.692	125.745	99.730	137.419
2020	126.101	18.182	144.283	109.749	148.907
2021	134.174	31.509	165.683	133.476	155.151
2022	144.347	45.454	189.801	152.469	156.602

Ülkemiz sahip olduğu kıyı şeridi, nehirleri, doğal gölleri ve baraj gölleri, zengin su kaynakları, jeopolitik konumu ile su sütunlarıyla çevrili bir yarım ada özelliğinde olması ile su ürünleri üretiminde uygun bir zemin oluşturmaktadır (Dirican vd. 2009). Günümüzde özellikle Karadeniz'de meydana gelen gelişmeler ile faaliyetine başlayacak yeni tesislerle ve Marmara Denizi'ndeki çift kabuklu yetiştiriciliğide eklendiği zaman mevcut durumun daha da yükselmesi beklenmektedir.

Balık yetiştiricilik tesis sayısında yaklaşık 6 da 1 oranını içeren Batı Akdeniz Havzasında 454 balık çiftliği tesisi yer almakta olup bu tesislerden kıyı suyu kütlelerinde ya da açık deniz alanlarında 109'u bulunurken, kıta içi su kütlelerinde ise 345 balık çiftliği tesisi bulunmaktadır. Faaliyet gösteren tesis sayısının en fazla Kıyı suyu kütlelerinde olması sebebiyle nütrient yükünün Güllük Körfezi üzerinde en fazla olduğu bildirilmiştir. Kıta içi su kütlelerinde faaliyetini sürdüren tesisler bakımından en fazla yüklerin ise Sarıçay, Seki Çayı ve Eşen Çayı'nda olduğu bildirilmiştir. Sonuç olarak, 5 Göl Suyu Kütlesi, 15 Nehir Suyu Kütlesi ve 7 Kıyı Suyu Kütlesi olmak üzere 27 su kütlelerinin balık çiftlikleri tesisleri nedeniyle Batı Akdeniz Havzasında önemli oranda baskılandığı öne sürülmüştür (TarımOrman NHYP 2021).

Yetiştiricilik yapan tesis sayısı 2020 yılı itibari ile 2.139 adete ulaşmıştır. Bu tesislerden 306.124 ton/yıl toplam proje kapasitesi ile 432 tanesini deniz 210.660 ton/yıl toplam proje kapasitesi ile 1707 tanesini de iç su oluşturmaktadır (BSGM 2021). Günümüzde gökkuşağı alabalığı üretim tesisleri yapan illerimizin sayısı 60-70 lere varmaktadır. Bu da %54,9'u ile gökkuşağı alabalığını ülkemizde en fazla üretilen balık türlerinden olmasını sağlamaktadır ve ülkemizde yüksek oranda üretilen bu türün ihracatı yapılmaktadır (Aydın 2016).

2023 yılı itibari ile ülkemizde 1829 tanesi iç sularda 553 tanesi denizlerde olmak üzere toplamda 2382 yetiştiricilik işletmesi bulunmaktadır (Bodur Böcöoğlu 2023). Modern teknolojilerin ülkemiz su ürünleri yetiştiriciliğinde uygulanmaya başlanmasıyla buna ilaveten tesislerde kuluçkahane kapasitelerinin artırımı, kafes yöntemiyle yapılan üretimlerin genişletilmesi, su ürünleri mühendisi ve teknik personel sayılarının artmasıyla Türkiye dünya ülkeleriyle yarışacak pozisyona erişmiştir (TÜİK 2021). İçsu

üretiminin yanısıra deniz üretimi ile de en fazla üretilen türlerden biriside Gökkuşığı alabalığı türüdür (TÜİK 2021). Türkiye’de iç sularda yapılan Gökkuşığı alabalığı üretimi iller bazında değerlendirildiğinde, 2020 yılında gökkuşığı alabalığı üretiminin 23 bin ton ile en fazla yapıldığı il Elâzığ olurken, ikinci olarak bu ili 22 bin ton gökkuşığı alabalığı üretimi ile Muğla izlemiştir. İç sularda yapılan gökkuşığı alabalığı üretimi 126.101 ton olarak belirlenmiştir. Ülkemizde en fazla üretim gerçekleştiren diğer önemli iller 7.004 ton ile Şanlıurfa, 5.800 ton ile Tokat, 5.259 ton ile Kahramanmaraş, 5.250 ton ile Gaziantep ve 5.103 ton ile Samsun ili olduğu belirlenmiş ve alabalık üretimlerini 2020 yılında gerçekleştirmişlerdir. Yine 2020 yılı verilerine göre Batı Akdeniz Bölgesi İlleri içerisinde olan Antalya 1.406 ton, Burdur 2.835 ton ve Isparta 3.069 ton gökkuşığı alabalığı üretimi gerçekleştirmiştir (Sevgül Tütmez 2023).

2.2. Gökkuşığı Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum, 1792)

2.2.1 Sistematığı ve biyolojisi

Gökkuşığı alabalığı (*O. mykiss* Walbaum, 1792) (Şekil 2.1) ekonomik değeri yüksek sadece ülkemizde değil aynı zamanda dünya genelinde üretimi yapılan bir balık türüdür. Bu türün erginleri ortalama 2-3 kg olsalarda, 11 yaşındaki bireylerin 25,4 kg ağırlığa ve 120 cm boya erişebildikleri bildirilmiş ve sistematikteki yeri aşağıdaki gibi verilmiştir (Froese ve Pauly 2009, Woynarovich vd. 2011, Aydın 2016).

Alem: Animalia
 Şube : Chordata
 Sınıf : Actinopterygii
 Takım : Salmoniformes
 Aile : Salmonidae
 Cins : *Oncorhynchus*
 Tür : *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792)



Şekil 2.1. Gökkuşığı alabalığı-*O. mykiss* (Walbaum, 1792)

Pasifik okyanusuna dökülen ırmaklarda yaşayan ve Kuzey amerika kökenli olan ve o bölgenin batı kısımlarının yanı sıra Kuzeydoğu Asya’daki Kamçatka bölgesine ait bir türdür. Bu balık türü 1870’li yıllarda ilk kez ABD’nin Kaliforniya eyaletinde yetiştirilmeye başlanmış başta sportif balıkçılığın desteklenmesi amaçlanmış olsa da

doğadaki balık popülasyonlarının ve bunların arttırılmasının hedeflenmesine yönelik yetiştiricilik çalışmaları 1880’li yıllarda Avrupa’da daha sonrada 1970’li yıllarda ülkemizde başarılı bir şekilde sürdürülmüştür (Emre ve Kürüm 2007; Janssen vd. 2015).

Gökkuşığı alabalığının yetiştiricilikte tercih edilme sebepleri kolay döl alımı çevre koşullarının yanı sıra hastalıklara karşı dayanıklılığı, yem değerlendirmesinin yüksek oluşu ve ağırlık artışının iyi olması şeklinde sıralanmaktadır (Aras vd. 2000, Tekelioğlu 2000; Çağıltay 2011, Woynarovich vd. 2011). Yetiştiricilik çalışmalarında önceleri Asya, Avrupa, Güney Amerika’nın yanı sıra Balkanlar, Avusturalya ve Afrika’da dahil etmek suretiyle neredeyse dünyanın 82’den fazla ülkesinde bu balık türünün yetiştiriciliği yapılmaktadır (Janssen vd. 2015; Singh vd. 2016). Bu türü üreten ülkeler arasında İran’ın yanı sıra Şili, Norveç, Türkiye, İtalya ve Peru yer almaktadır. Söz konusu ülkelerdeki gökkuşığı alabalığı üretimi toplam üretimin %64’üne denk gelmektedir (Adeli ve Baghaei 2013; Singh vd. 2016).

Ülkemizde de 1970’lerden günümüze kadar 50 yıllı aşkın bir geçmişi ile en fazla yetiştiriciliği yapılan türler arasındadır. Bu türün üretiminde suyun kalitesi sınırlayıcı faktördür. Türün su ihtiyacı kültürün yoğunlu ve çeşidine sıcaklık koşullarına göre değişim gösterirken, türün yeiştiriciliğinin yapıldığı işletmelerde bir ton suda için aşağı yukarı 5 l s⁻¹ suya gereksinim duyulmaktadır (Altan 2019).

Gökkuşığı alabalıkları 2-10 °C’ları arasında yumurtlama gerçekletirirken 10 ila 18 °C su sıcaklığı optimal düzeydir ve en iyi gelişimi 10-12 °C su sıcaklığında göstermektedir. Bu sıcaklığın yanı sıra 25 °C’ye kadar olan su sıcaklığına da dayanım gösterebilmektedirler. Ayrıca canlılık faaliyetlerini 3 ppm gibi düşük oksijende sürdürebiliyorlarken, 5 ile 7 ppm çözünmüş oksijen değeri düzeyi yetiştiricilik koşullarında gökkuşığı alabalıklarında optimal bir değer olarak kabul edilir (Pillay 1993; Adeli ve Baghaei 2013).

2.3. Yetiştiricilik Koşullarında Karşılaşılan Bakteriyel Gökkuşığı Alabalığı Hastalıkları

Balıklar, su ve sedimentin içerdiği çeşitli mikroorganizmalarca zengin çevre ile sürekli bir ilişki içerisinde. Bu organizmalardan bir kısmı solungaç, derilerine ve sindirim kanalına yerleşebilmektedir. Balıkların söz konusu bu kısımlarına yerleşen organizmalar balıklar için faydalı olmasının yanı sıra balık sağlığı için zararlıda olabilmekte ve balık sağlığını tehdit edebilmektedir (Pekala-Safińska 2018).

Günümüzde hızla artan dünya nüfusunun hayvansal proteine olan ihtiyacını karşılama arzusu entansif balık üretimine geçişi gerektirmiştir. Dolayısıyla su ürünleri yetiştiriciliğinde hızlı gelişme göstererek hayvansal gıda sektörünün talebini karşılamada ilk sıralarda yerini almıştır. Üretim sistemlerinde artan balık stoğu sonucu üretimi yapılan balıkları etkileyen zaman zaman göz ardı edilemeyecek ekonomik kayıplara neden olan hastalıkların görülme sıklığı ve etkisini arttırmıştır (Shefat 2018). Balıklarda genel itibari ile hastalık etmenleri bakteriler, virüsler, mantarlar ve parazitlerin yer aldığı enfeksiyöz olanlar ile yem ile ilgili parametreler, su ile ilgili parametreler ve genetik faktörlerin yer aldığı nonenfeksiyöz olanlar şeklinde iki gruba ayrılmıştır (Köprücü 2016). Bu nedenle hastalık etkenleri arasında yer alan bakteriler yoğun stoklu balık yetiştiriciliğinde de etkinliğini artırmakta iken, hastalık meydana gelmesi kitlesel

balık ölümlerine ve yüksek ekonomik kayıplara sebep olabilmektedir. Özellikle bulaşıcı olan hastalıklar söz konusu durumun oluşmasında ana etkenlerdendir. Balıklarda bulaşıcı bakteriyel enfeksiyonlar ise sadece ülkemizde değil aynı zamanda dünyada da sürdürülebilir üretime engel olan ciddi bir problem olarak görülmektedir (Shefat 2018). Ancak, yukarıda belirtildiği gibi balıklarda hastalık etkeni sadece bakteri türlerinden ibaret değildir. Diğer taraftan parazit, virüs ve mantar gibi patojen mikroorganizmalarla da olabilmektedir. Balık sağlığının bozulmasında ve hastalık yapıcı ajanların oluşmasında çevresel parametrelerin ve su kalite kriterlerinin değişmesinde iklim koşulları önem arz etmektedir. (Altan 2019).

Konumları itibari ile farklı bölgelerde olan ve değişik iklim koşullarına sahip ülkelerden yaygın olarak çeşitli bakteriyel hastalıklar bildirilmiştir. *Aeromonas* spp. kaynaklı enfeksiyonlar orta Avrupa ülkelerinde en sık görülen bakteriyel balık hastalığı olarak bildirilirken, bu durum İskandinav ülkelerindeki balıklar da en sık görülen hastalık ise kopepodların istilası ile amebik solungaç hastalığı olarak bildirilmiştir. Ayrıca son zamanlarda tatlı su balıklarında görülen bakteriyel hastalıklar patolojisinde dinamik değişimlerin olduğu belirtilmiştir (Pekala-Safińska 2018). Bu duruma ek olarak Danimarka'da yetiştiriciliği yapılan gökkuşağı alabalığında *Y. ruckeri*'nin sebebiyet verdiği enterik kızıl ağız hastalığına ilaveten *F. psychrophilum*'un neden olduğu enfeksiyonlar ve *A. salmonicida* etkenli furunkulozis'in başlıca bakteriyel hastalıkların olduğu bildirmiştir (Dalsgaard ve Madsen 2000).

Balıklarda çok çeşitli bakteriyel patojenler olmasına karşın küresel çapta balık yetiştiriciliğinde en fazla kayıplara gram-negatif bakteri türlerinden *Aeromonas*, *Vibrio*, *Yersinia*, *Francisella*, *Edwardsiella*, *Flavobacterium*, *Tenacibaculum*, *Photobacterium*, *Piscirickettsia* ve *Pseudomonas* gibi bakteriler olurken gram-pozitif bakterilerden *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Mycobacterium* ve *Renibacterium* cinsine ait bakterilerin sebep olduğu ortaya koyulmuştur (Sudheesh vd. 2012; Pridgeon ve Klesius 2012; Altan 2019).

Tüm dünyada yaygın olarak *Flavobacterium psychrophilum* enfeksiyonları görülmektedir. Bu bakteri türünün 1985'den günümüze kadar Danimarka'da izole edilmekte olduğu ayrıca fingerling balıklarda soğuk su hastalığına sebebiyet verdiğini ve Avrupa ülkelerinin çoğunda meydana gelen benzer durumlar gibi Danimarka üretim faaliyetleri gerçekleştiren kuluçkahanelerdeki alabalıklarda büyük ölçüde kayıplar meydana getirdiği rapor edilmiştir (Dalsgaard ve Madsen 2000). Salmonid balıklarda bu tür bakteriyel soğuk su hastalığı ile yaygın olarak gökkuşağı alabalığında fry mortalite sendromuna sebep olurlar (Sudheesh vd. 2012). Toprağın yanı sıra tatlı suda ve deniz çevrelerinde çok rastlanan bu bakteri türünün cinsi otuzdan fazla türü kapsar ancak bu cinslerden *F. psychrophilum*, *F. columnare* ve *F. branchiophilum* üç tür flavobakteriyozise sebep olurlar (Sudheesh vd. 2012; Pekala-Safińska 2018).

Yetiştiriciliği yapılan gökkuşağı alabalıklarında ciddi kayıplara neden olan ve en çok bu balık türünü etkileyen bir diğer bakteri ise gram-negatif bir bakteri türü olan *Enterobacteriaceae* familyasında yer alan ve enterik kızıl ağız hastalığına neden olan etken *Yersinia ruckeri*'dir (Huang vd. 2015; Menanteau-Ledouble vd. 2018). Bu bakteri türü hemorajik septisemi durumunda deri altı kanamalarının yanı sıra başta ağız bölgesinde kanamaya sebebiyet vermesi durumundan hastalığa bu isim verilmiştir. Gökkuşağı alabalıklarında ilk kez 1956 yılında Hagerman Vadisi (ABD)'nde bu bakteri

türü izole edilmiştir. Daha sonra farklı ülkelerden bildirilmiştir ve günümüzde başta Amerika kıtası olmak üzere Avrupa, Avustralya ve Güney Afrika balık popülasyonlarında görülebilmektedir. (Akhlaghi ve Sharifiyazdi 2008; Ormsby vd. 2016). Enterik kızıl ağız hastalığına yakalanan balıklarda opak sarımsı sıvı ile dolu arka bağırsak, pankreas ve karaciğer, pilorik seka, hava kesesine ilaveten lateral vücut kaslarına üzerinde peteşiyal kanamalar, bağırsak ile yangılı dalak bulgularına rastlanılmaktadır (Ormsby vd. 2016; Menanteau-Ledouble vd. 2018). Bu hastalığın tedavisi antitibiyotik ile mümkün olabilmektedir. Fakat hastalık çıkışlarında kullanılacak gereğinden fazla antibiyotik uygulamalarını önüne geçebilmek iyi bakım yapılmasına ilaveten uygun aşılama ve gerekmektedir (Altan 2019).

Gökkuşağı alabalıklarında sıklıkla görülen bir diğer hastalık mezofilik *Aeromonas* türlerinin sebep olduğu hareketli aeromonas septisemisi (MAS) enfeksiyonudur. Enfeksiyonun oluşmasında en büyük faktör strestir. Bu hastalığa yakalanan balıklarda ani başlayan balık ölümlerinin yanı sıra yüzmede bozukluk, yem almama, solungaçlarda solgunluk, deri de kabarcıklar ve parlak kırmızı kenar ile çevrili ülserler gözlenen bulgular arasındadır (Goharrizi vd. 2015; Duman vd. 2018). Kontamine yiyecek ve su alımı ile insan patojeni de olabileceği ve *Aeromonadaceae* familyasına ait olan *Aeromonas* cinsi bakterilerin on dokuz tür içerdiği bildirilmiştir (Elbehiry and Hal 2017). Mezofilik *Aeromonas* türleri 35-37 °C sıcaklıklarda gelişme gösteren *Aeromonas hydrophila* ile temsil edilirken, psikrofilik *Aeromonas* türleri ise *A. salmonicida* ile temsil edilmektedir (Liu 2015). Salmonid türü balıklarda *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida*'nın furunkulozise sebep olduğu ayrıca kliniksel açıdan enfekteli balıklardan izole edilebilmesi *A. salmonicida*'nın zorunlu balık patojeni olarak bildirilmiştir (Bartkova 2016; Alghabshi vd. 2018). Furunkulozise yakalanan balıklarda durgunluk ve iştah kaybının yanı sıra deride hiperpigmentasyon olabilmektedir. Ayrıca çıban yada ülserlerin yanı sıra iç organlarda kanama ve dalakta büyümede gözlenebilmektedir (Bartkova 2016).

Balıklar için ciddi patojen olan bir diğer bakteri grubu ise *Pseudomonas* cinsi üyelerinden bazılarıdır. Özellikle *Pseudomonas fluorescens*, *P. fragi* ve *P. putida* en sık izole edilen *Pseudomonas* türleridir. Bu türlerden *Pseudomonas putida* ile *P. fluorescens*'in balıklarda önemli patojen oldukları ve balıklar üzerinde mortalitesinin yüksek olduğu ve ekonomik kayıplara sebep oldukları bildirilmiştir (Franzetti ve Skarpellini 2007; El-Barbary ve Hal 2017). Ayrıca balıklarda *P. fluorescens* bakteri türünün bakteriyel kanamalı septiseminin başlıca sebeplerindendir (Altan 2019). *P. putida* bakteri türünde gökkuşağı alabalığının yanı sıra Avrupa yılan balığı olarak isimlendirilen *A. anguilla* benzeri farklı tür balıklarda kültüre alınmasını tehdit eden dikkat edilmesi gereken bir balık patojeni olduğu tespit edilmiştir. (El-Barbary ve Hal 2017).

Doğal salmonid türü balıkların yanı sıra yetiştiriciliği yapılan balıklarda da *Renibacterium salmoninarum* neden olduğu bakteriyel böbrek hastalığı bulaşıcı ve ciddi problemlere sebep olan bir hastalıktır. Hastalık 1930'lu yılların başlarında ilk kez İskoçya'da Atlantik salmonsunu ile Amerika Birleşik Devletleri'nde de *S. trutta*, *S. fontinalis*'e ilaveten gökkuşağı alabalıklarında tanımlanmış ve günümüzde de Kuzey yarımkürede bulunan tüm salmonid türlerini tehdit eden bir hastalık olmasının yanında ençok *Oncorhynchus* spp. türünü etkilediği bildirilmiştir (Hardie vd. 1996; Jansson 2002; Faisal vd. 2010; Faisal vd. 2012).

Böbreklerde granülatöz dokulara sebebiyet veren Bakteriyel böbrek hastalığı akut ve ya kronik olarak seyreder (Faisal vd. 2010). *Renibacterium salmoninarum* neden olduğu bu hastalığa yakalanan balıklarda denge kaybı, gözlerde ekzoftalmi, solungaçlarda solgunluk, karında şişlik, yüzgeçlerde ve yan çizgilerde noktasal kanamalar ve yer yer hemorajiler ve karında asidik sıvı birikimi gözlenen hastalık bulguları arasındadır. Tedavisi için henüz ticari aşı yoktur ancak eritromisin gibi antibiyotikler ile tedaviler önerilmektedir (Faisal vd. 2010).

Su sıcaklığına bağlı olarak balıklarda *Streptococcus*, *Lactococcus* ve *Vagococcus* bakteri türleri streptokokkozis'e sebep olmaktadır (Kia ve Mehrabi 2013; Raissy vd. 2016). *S. iniae*, *S. paraberis* ve *S. difficilis*, *L. piscium*, *L. garvieae*, *Caryobacterium piscicola* ve *V. salmoninarum* bu hastalığa sebep olan türlerdendir. Hastalık Japonya da yoğun stok ile yetiştiriciliği yapılan gökkuşağı alabalıklarından 1957'de bildirilmiş ve günümüze kadar birçok balık türünde rapor edilmiştir (Raissy vd. 2016). Streptokokkozis hastalığına yakalanan balıklarda başta iştahsızlık ve denge kaybının yanı sıra durgunluk ve anormal yüzme, gözlerde tek taraflı ve ya her iki gözdede meydana gelen ekzoftalmi ve buna ilaveten hemoraji hatta opaklaşma, operkulum ile anüs etrafında kanama ve deri renginde koyulaşma görülebilmektedir (Gomes vd. 2006).

2.4. Bakteriyel Balık Hastalıkları Etkenlerinin Tanımlanması

Hızla gelişen gıda üretim sektörlerinden olan balık yetiştiriciliğinde hastalıklar önemli problemlerdendir (Köprücü 2016). Hastalık etkenleri enfeksiyöz olan ve nonenfeksiyöz olanlar olarak sınıflandırılmış olsalarda balıklarda meydana gelen hastalıkların önemli bir bölümünün temelinde hem beslenme yetersizlikleri hemde aşırı beslenme bulunabilmektedir. Beslenmede oluşan yetersizliklerin yanı sıra kötü beslenme direkt olarak balıklarda bozukluklara, hastalıklara ve hatta ölümleri oluşturabileceği gibi indirekt olarak ta bağışıklık sistemini bozarak balıkların direncini zayıflatmakta buna ilaveten hastalık ajanlarının enfeksiyon oluşturmalarını da hızlandırabilmektedir (Karaman ve Yüngül 2014).

Hastalıklara sebep olan bu ajanları tanımlamada birçok yöntem kullanılmaktadır. Hastalıklar için ilk tercih çoğunlukla nekropsi olabilmektedir. Fakat bu yöntem ajanları tam olarak tanımlamaya yetmeye bilir. Geleneksel hastalık teşhislerinden artık teknolojik tanımlara geçişler yapılarak erken tanı ve tedavilerin önü açılmakta ve doğru teşhis ve müdahale süreçleri hızlandırılabilir. Ayrıca hastalığa sebebiyet veren etkenlerin neler olduğunu tanımlayabilmek için tercih edilen bazı klasik yöntemlerin mikrobiyolojik tanımlama, immünolojik, biyokimyasal veya histopatolojik test yöntemleri olduğu geçmişte ve günümüzde kullanılan teknikler arasında bildirilmiştir (Diler, 2000; Çağatay ve Gümüş 2018). Ancak hızlı ve erken teşhis için balık hastalıklarına sebebiyet veren bakteriyel etkenleri tanımlamada Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) ve Matriks ile Desteklenmiş Lazer Desorpsiyon/ İyonizasyon Uçuş Zamanı Kütle Spektrometresi (MALDI-TOF MS) yöntemleri son yıllarda tercih edilen teşhis yöntemlerindendir (Şen 2012; Terzi 2013; Duman 2017; Çağatay ve Gümüş 2018; Boonstra vd. 2022; Temür Karacan 2023).

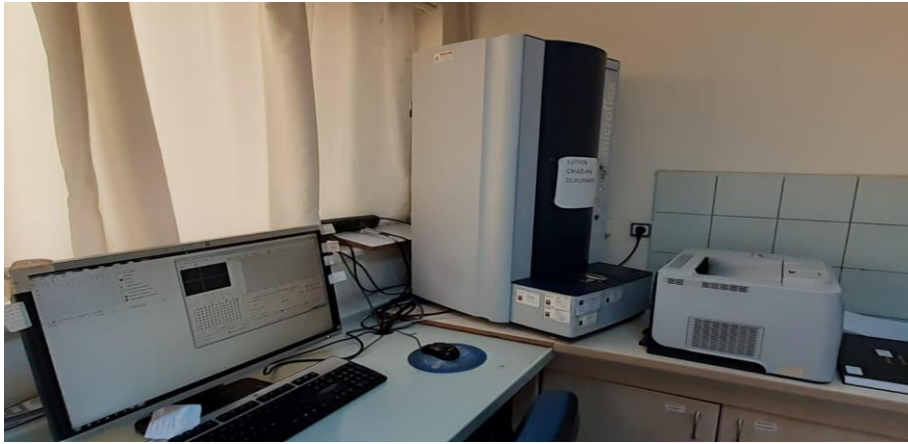
2.4.1. Bakteriyel balık hastalıklarının polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ile tanımlanması

Konvansiyonel tanımlama yöntemleri olarak bildirilen mikrobiyolojik tanımlama, immünolojik, biyokimyasal veya histopatolojik testler çok zaman alıcı veya yüksek emek gerektiren metotlardan olması sebebiyle bunlara alternatif daha avantajlı ve modern metot kullanımını gerektirmiştir. Yapılan çalışmalara bakıldığında araştırmacıların genetik yöntemlerden yararlanarak günümüzde birçok türde çalışmalar yaptığını ortaya koymaktadır. Bu yöntemlerden birisi polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) şeklinde olduğu bildirilmiştir (Çağatay ve Gümüş 2018).

Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) güvenilir teknik olup hedef nükleik asit zincirlerinin in vitro olarak spesifik komplementer oligonükleotidler ve ısıya dayanıklı polimeraz enzimleri kullanılarak çoğaltılmasını sağlayan bir yöntemdir (Kula ve Gökpınar 2018). Özetle uygun koşullar sağlanarak tüp içerisinde nükleik asitlerin çoğaltılması metodudur Bu metot genellikle 94 °C-98 °C sıcaklık aralıklarında gerçekleştirilen denatürasyon ile başlayıp 37 °C-65 °C aralığında gerçekleştirilen annealing ile devam ederek 72 °C sıcaklıkta gerçekleştirilen uzama aşamalarının belirli sayıda döngüsü ile yapılabilmektedir (Hancı ve Onuk 2018; Ulutaş 2022). Yaygın olarak tıbbi ve biyolojik araştırma laboratuvarlarında kalıtsal hastalıkların teşhisi, genetik parmak izlerinin tanımlanması, bulaşıcı hastalıkların teşhisi, genlerin klonlanması, babalık testi ve DNA hesaplaması gibi değişik konularda PZR kullanımı mevcuttur.

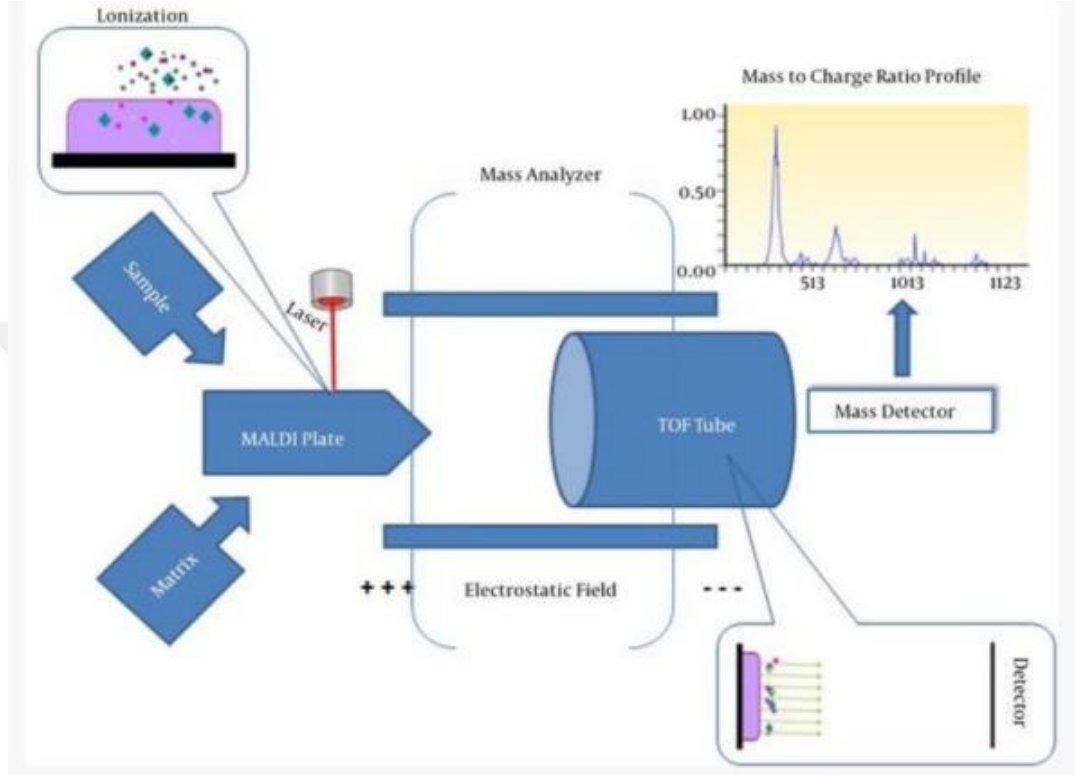
2.4.2. Bakteriyel balık hastalıklarının matriks ile desteklenmiş lazer desorpsiyon/iyonizasyon uçuş zamanı kütle spektrometresi (MALDI-TOF MS) tanımlaması

Mikroorganizmaların tanımlanmasında yaygın bir şekilde kullanılan yöntemlerden birisi de kullanımı ile mikrobiyoloji laboratuvarlarında adeta bir devrim yaratmış olan matriks aracılı lazer desorbsiyon iyonizasyon uçuş zamanı kütle spektrometresi (matrix-assisted laser desorbtion/ionization time-of flight mass spectrometry, MALDI-TOF MS)'dir (Şekil 2. 2) (Tekinaslan Alem 2022; Temür Karacan 2023).



Şekil 2.2. Matriks ile desteklenmiş lazer desorbsiyon iyonizasyon ile uçuş zamanı kütle spektrometresi (MALDI-TOF MS)

MALDI-TOF MS aracılığıyla bu canlıların tanımlanması daha hızlı ve pratik olmasının yanı sıra maliyet bakımından da çok uygundur (Clark vd 2013; Nomura vd 2015). Bu yöntemde mikroorganizmaların taşıdığı protein, peptid, şeker gibi biyomoleküller ve polimer ile dendrimer, makromoleküller gibi büyük organik moleküller iyonize edildikten sonra elektrik ya da manyetik alandan geçirilerek protein profilleri oluşturulmaktadır. Cihazın çalışma prensibini gösteren görsel Şekil 2.3'te verilmiştir.



Şekil 2.3. MALDI-TOF MS çalışma prensibi (Calderaro vd. 2014)

Cihaz İyonizasyon kaynağı, kütle analizörü ve algılama bölümü olmak üzere üç kısımdan meydana gelmektedir. Son zamanlarda Bruker Biotyper (Bruker-Daltonik, ABD), Vitek Ms (Biomerieux, Fransa), Andromas (Andromas SAS, Fransa) ve Axima/Saramis (Shimadzu, Japonya) sistemleri olmak üzere 4 tane farklı ticari MALDI-TOF MS sistemi bulunmaktadır (Ölmez 2020; Tekinaslan Alem 2022).

Oluşturulan profil spektralarının grafiksel görüntüleri ile sistemin kütüphane veritabanındaki referans mikroorganizmaların uyumu kıyaslanarak cins hatta tür kapsamında tanımlamalar yapılabilmektedir (Anhalt ve Fenselau 1975).

MALDI-TOF MS sisteminin çalışmasında üretilen bakteri kolonisi bir plakaya yerleştirilerek üzerine lazerin enerjisini verimli bir şekilde emmesi ve moleküle proton transfer ederek molekülün iyonlaşmasını sağlamak üzere matriks ilave edilmektedir. Bu aşamada genellikle matriks α -siyano-4hidroksisünamik asit (CHCA) en çok tercih edilen matrikslerdendir (Temür Karacan 2023).

Matriks eklenmesi yapılarak kurutulan plaka daha sonra MALDI-TOF MS cihazına yerleştirilir. Cihaz çalıştırılarak UV (mor ötesi) ışınlar ile plaka ışınlanır.

Işınlama ile bakterilerde bulunan proteinler esasen ribozomal proteinler iyonize edilir (Temür Karacan 2023). Çünkü bu proteinler mikrobiyal üreme koşullarında çevresel koşullardan en az etkileniyor olmasından dolayı rutin tanımlamada en yaygın kullanımı olanlardandır (Suh and Limbach 2004).

Katı veya likit halde bulunan ve iyonize edilen moleküller iyonizasyon işlemi sonrasında iyonize gaz molekülleri haline geçerler. Daha sonra bu işlemin akabinde iyonlaşan moleküller plaktan ayrılarak serbest hale dönüşürler.

Dedektöre ulaşabilmek için üretilen iyonlar uçuş zamanlı kütle analizörlerinde sabit bir mesafeyi geçmeleri gerekir. Bu sebeple hareket etmeleri için iyonlara yaklaşık uzunluğu 1 metreyi bulan tüp içerisinde hızlandırıcı voltaj (20 kV) uygulanır (Posteraro vd. 2013). Bu voltaj ile plakadan ayrılan iyonize analit molekülleri dedektöre ulaşana kadar uçuş tüpü olarak da isimlendirilen yaklaşık uzunluğu 1 metreyi bulan tüp içerisinde sürüklenirler.

Böylece bu iyonize moleküllerin dedektöre uçuşması için gereken süre kütle/yük (m/z) oranını vermektedir. Dolayısıyla analit moleküllerinin bu tüp içerisinde katetme süreleriyle moleküllerin kütleleri orantılıdır.

İyonize moleküllerin yani bileşen proteinlerin sinyal yoğunluğu tepe noktaları 2000-20000 m/z arasında değişen kütle spektrumlarını oluşturur. Oluşan bu spektrumlar mikroorganizmanın tanımlanması için referans veri tabanındaki bilgilerle kıyaslanır. Cins ve tür düzeyinde yapılan kıyaslama sonucu mikroorganizmanın tanımlanması belirlenebilmektedir.

Özellikle yaklaşık bir gün içerisinde bakterinin tanımlanma süresini kısaltabilmekte ve böylece diğer tekniklerle MALDI-TOF MS'in birleştirilmesiyle mikrobiyal tiplendirme çalışmaları ve dirençli bakterilerin tespiti için daha yaygın kullanım alanı oluşturabileceği düşünülmektedir (Nomura vd. 2020; Karacan Temür 2023).

2.4.2.1. MALDI-TOF MS Yöntemi ile Yapılan Bazı Çalışmalar

Mikroorganizmaların kütle spektrometrisi aracılığıyla tanımlamaya yönelik ilk çalışma girişimleri bakterilerin 1975 yılında tanımlanmasıyla olmuştur (Anhalt ve Fenselau 1975). Ancak bozulmamış protein analizleri mümkün olmadığı için 1980'lerde geliştirilen teknoloji ile sağlam makromoleküllerin ve parçalanmamış proteinlerin analizini mümkün kılmıştır (Sevgül Tütmez 2023). 1985 de geliştirilen daha sonra da kimya Nobel ödülünü kazandıran yumuşak desorpsiyon iyonizasyonu yöntemini biyolojik makromoleküllerin kütle spektrometrik analizini sağlayan ultra ince metal tozu ve giserol kullanımı ile gerçekleştirmiştir (Tekinaslan Alem 2022)

Sevgül Tütmez (2023) Tunceli İlindeki Alabalıklarda *Aeromonas* Türlerinin Maldi-Tof Ms Yöntemiyle İdentifikasyonu başlıklı yaptığı çalışmada ergin birey ve yavru birey karışık 200 adet Gökkuşağı alabalığı ile 64 su örneğini material olarak kullanmıştır. Çalışmasında MALDI-TOF MS yöntemi ile tanımladığı 13 familyaya ait 526 şüpheli bakteri kolonisi tespit ederek en fazla Enterobacteriaceae familyasına ait bakteri olduğunu tespit etmiştir.

Temür Karacan (2023) yaptığı çalışmasında nonfermentatif Gram negatif basil olan *Pseudomonas aeruginosa* üzerine çalışmıştır. Çalışmasında çoklu ilaç direnci artmış salgın yapma potansiyeli olan *P. aeruginosa* patogeneğinde ST111, ST175, ST235, ST253, ST395 olarak adlandırılan yüksek riskli klonları MALDI-TOF MS yöntemi ile erken tespitini ve polimeraz zincir reaksiyonu ile virulans faktörlerinin üretiminde rol alan genleri belirlemeyi amaç edinmiştir. Çalışma kapsamında çeşitli kliniklerden gönderilen örneklerden 100 adet *P. aeruginosa* izolatları izole ederek kullanmıştır. Yüksek riskli *P. aeruginosa* izolatlarının klonlara özgü piklerin araştırılmasını da Vitek- MS (Biomeriux, France) kullanılarak MALDI-TOF MS yöntemiyle yapmıştır. Sonuç olarak hem yüksek riskli klonlarda hem de diğer suşlarda Virulans faktörlerini yüksek oranlarda tespit ederken, yüksek riskli klonlar ile virulans faktörleri arasında anlamlı bir ilişki tespit edememiştir. Bu ilişkiyi değerlendirmek için daha ileri moleküler çalışmaların yapılmasına ihtiyaç olduğunu ayrıca dünya çapında yüksek riskli klonların erken tespitinin yapılabilmesinin yanı sıra uygun antimikrobiyal tedavi gibi stratejik tedavi seçeneklerinin geliştirilebilmesinin yüksek riskli klonların yayılımını engellemeye yardımcı olacağını bildirmiştir.

Özcan (2023) ticari bir çiftlikte doğustan *Aeromonas veronii* tarafından kontamine *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792) MALDI-TOF ile kültür yöntemleri ve antibiyotik duyarlılık profillerini belirlenmeye çalışmıştır. Çalışmaları kapsamında Türkiye'nin güneydoğu anadolu bölgesinde 30 ticari balık çiftliği gezerek 200-250 gr arası dış kliniklerinde kanama pul kaybı renk koyulaşması gibi belirtileri olan rastgele 40 balık örnekleme yapmıştır. *Aeromonas veronii* belirledikleri çalışmada bu bakterinin oxytetracycline, enrofloxacin, florfenicol, neomycin, erythromycin ve amoxicilline karşı %0 dan %100 e kadar değişen duyarlılık tespit etmiştir.

Tekinaslan Alem (2022) yaptığı “Dermatofitlerin Konvansiyonel ve Maldi ToF Yöntemi İle Tanımlanmaları Ve Sivi Mikrodilüsyon Yöntemiyle Antifungal Duyarlılık Profilleri” başlıklı çalışmasında geleneksel yöntemler ve MALDI-TOF MS yöntemiyle dermatofitlerin identifikasyonu ile antifungal duyarlılık profillerini incelenmeyi amaçlamıştır. Çalışmasında 82 dermatofit izolatını inceleyerek konvansiyonel tanımlaması yapmıştır. 15 adet *Microsporum canis*, 23 adet *Trichophyton mentagrophytes* ve 45 adet *T. rubrum* kökeni yeniden identifiye edilmiştir ve bu dermatofit izolatlarının tümü MALDI-TOF MS yöntemiyle de doğrulanmıştır. Ayrıca sıvı mikrodilüsyon yöntemiyle 50 dermatofit suşunun CLSI M38-A3'e göre amfoterisin B, itraconazol, ketokonazol ve terbinafin için antifungal duyarlılıklarını incelemiştir. Sonuç olarak yenilikçi bir teknoloji olan MALDI-TOF MS yönteminin klinik tanı açısından önemine dikkat çekerek dermatofitlerin hızlı ve doğru olarak rutin laboratuvarlarda tanımlanmaları için konvansiyonel yöntemlerle birlikte kullanılması gerektiğini bildirmiştir.

Dhayalan vd. (2022) Pektinaz üreten yenilikçi bakterinin moleküler karakterizasyonu ile *Syngnathus abaka* balığının bağırsağından izole edilen *Aeromonas guangheii*, RSM enzim üretimi için optimizasyon, klonlama ve ifade analizi exo-pelA-geni ve rekombinant protein saflaştırması başlıklı çalışmalarında Hindistan'ın Salem Bölgesi'ndeki Stanley Rezervuarı'ndaki (21°43.232'K, 87°48.884'D) Cauvery Nehri'nden toplam 20 balık toplamıştır. Jayaram vd. (2010) el kitabı kullanarak topladığı balığın zeytin diken olarak da isimlendirilen Afganistan, Hindistan, Nepal, Bangladeş, Pakistan, Butan, Sri Lanka, Tayland ve Myanmar'a özgü yerel ticari

balıkçılık için çok az öneme sahip olan ve maksimum 42 cm boya erişebilen sazangiller balık türü *Systemus sarana* olduğunu tespit etmişlerdir. Balık bağırsağı içeriklerini 10^{-5} 'e kadar homojenize etmiştir. İzolatları yayma plaka tekniği ile 37°C'de nütrient agar besiyeri plağında üreme durumuna getirmişler ve son olarak -20°C'de uzun süreli saklama için %40'lık gliserol stoku yapmışlardır. Kuyu difüzyon yöntemi kullanarak 100 µl hücresiz süpernatant bir pektin agar kuyu plakasına (5 mm çapında) yüklemişler ve plakaları 37°C'de 24 saat inkübe etmişlerdir. Üretilen enzim miktarı daha sonra hesaplamışlar ve sindirim karışımlarının kütle spektrumlarını, reflektör modunda 4800 MALDI-TOF-MS cihazında (Applied Biosystem) elde etmişlerdir.

Anwer vd. (2022) Riyad bölgesinde İdrar Yolu Enfeksiyonlarına Neden Olan Bakteriyel Patojenlerin Hızlı Analizi için MALDI-TOF MS başlıklı çalışmalarında toplumdaki hastaların idrar örneklerinden bakteri izolatlarını belirlemek ve ardından izole edilen bakterilerin antimikrobiyal duyarlılık testini yapmayı amaç edinmişlerdir. Bakteriyel hastalığın başarılı tedavisi, bakteri türüne ve antimikrobiyal duyarlılık testine dayalı olarak uygun bir ilacın seçilmesine dayandığına dikkat çekmişlerdir. Klinik mikrobiyoloji laboratuvarına toplam yetmiş adet idrar örneği almışlardır. MALDI-TOF MS (Matrix Assisted Laser Desorpsiyon İyonizasyon Süresi Uçuş Kütle Spektromu denemesi) kullanılarak örneklerden 18 kültürü doğrudan tanımlama yoluyla tanımlamışlardır. Tanımlanan 18 bakteriden 17'si (%94) patojenik olduğunu tespit etmişlerdir. Kültür, idrar örneklerinde tespit edilen ana türlerin *Klebsiella pneumoniae*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli* ve *A. caviae* olduğunu belirlemişlerdir. Örneklerinden en sık elde edilen bakterinin %72,2 ile *E. coli* olduğunu ve bunu %16,6 ile *K. pneumoniae* izlediğini bildirmişlerdir. Ayrıca *E. faecalis* dışındaki tüm izolatların eritromisine dirençli olduğunu tespit etmişler ve 13 izolattan %61.5 oranı ile 8'inin hem kotrimoksazole hem de tetrasikline dirençli olduğunu bildirmişlerdir. Sonuç itibarı ile MALDI-TOF MS in dolaylı kültür yöntemleriyle idrar örneklerinden tür düzeyine kadar bakterilerin tanımlanması için güvenilir sonuçlar sağladığını ve bu tür yerel gözetimlerin ampirik terapi farkındalığı ve izolatların direnç seviyelerinin belirlenmesi için kullanımını şiddetle tavsiye etmişlerdir.

Kuloğlu (2019) yaptığı çalışmada laktik asit bakterilerinin (LAB) geleneksel yöntemlerle üretilen Bolu ve çevre illerinden toplanan yoğurt örneklerinden izolasyonunu, tanımlanmasını ve bazı starter kültür özelliklerinin belirlenmesini çalışmada amaç edinmiştir. Bu kapsamda MALDI-TOF MS Biotyper sistemi ile izole edilen suşların tanımlanması yapmıştır. Çalışma kapsamında 76 tanesi *Lactobacillus delbrueckii*, 3 tanesi *Lactobacillus fermentum*, 2 tanesi *Lactobacillus plantarum*, 2 tanesi *Lactobacillus helveticus* ve 1 tanesi *Enterococcus faecalis* olarak izole ettiği 84 izolattı sistemle tanımlamıştır. Antibiyotik dirençlerinin belirlenmesi için izole ettiği 84 adet suşa 16 farklı antibiyotik kullanmıştır. Çalışmada sonuç olarak amfisilin, eritromisin, teikoplanin, klindamisin, streptomisin, sefotaksim, kloramfenikol, rifampisin, tetrasiklin ve vankomisin antibiyotiklerine karşı izolatların duyarlılıklarının fazla olduğunu, buna karşın gentamisin, nalidiksik asit, ofloksasin, siprofloksasin, ve trimetoprim sülfametoksazol antibiyotiklerine de dirençli olduklarını belirlemiştir.

Kluga vd. (2017) yapmış olduğu çalışmada marketten üçer adet olarak satın aldığı karabaş (*Alburnus alburnus*) ve kızılkanat (*Scardinius erythrophthalmus*) balıklarını soğuk zincir ile araştırma için laboratuvara getirmiştir. Çalışmada bu balıklardan izole edilen bakteriyel mikrofloraya karşı *Origanum vulgare* L., *Melissa*

officinalis L., *Malva mauritiana* ve *Mentha piperita* L., bitkilerin ekstraktlarının antibakteriyel aktivitesini tespit etmeyi amaçlamışlardır. Matris Destekli Lazer Desorpsiyon İyonizasyonu – Uçuş Süresi Kütle Spektrometresi (MALDI-TOF MS) ile tüm bakteri suşlarını tanımlamışlardır. Balık mikroflorası arasında *Enterobacter cloacae*, *Buttiauxella agrestis*, *Delftia acidovorans*, *Acinetobacter pittii*, *A. baumannii*, *Serratia liquefaciens*, *Staphylococcus epidermidis*, *St. caprae*, *Pseudomonas alcaligenes*, *Ps. oryzihabitans*, *Pantoea agglomerans*, *Lelliottia amnigena*, *Escherichia coli*, *Providencia rettgeri* ve *Rahnella aquatilis* tespitini gerçekleştirmişlerdir. Antibakteriyel aktivitesi için kullanmış oldukları tüm bitki ekstraktlarının, test edilen bakterilere karşı farklı derecelerde antimikrobiyal aktivite gösterdiğini belirlemişlerdir.

2.5. Yetiştiricilik Koşullarında Antibiyotik Kullanımı ve Çoklu Antibiyotik Direnci (ÇAD)

Yunanca kökenli iki kelimenin birleşimi olan antibiyotik, anti “karşıt” ve bios “yaşam” kelimelerinden türetilmiştir. Antibiyotiğin devri 1941 yılında penisilinin keşfi ile başlamıştır. Sentetik ve ya doğal olarak bakteri, mantar ya da aktinomisetlerden elde edilen ve bakterileri gelişimini düşük yoğunlukta dahi etkileyen ve ya onların yaşamsal faaliyetini ortadan kaldıran maddelerdir (Akkan ve Karaca 2003; Topal vd. 2015). Kullanımı dünya geneli su ürünleri yetiştiriciliğinde son 50 yılda hızla yaygınlaşan antibiyotik, geniş ve dar spektrumlu olarak gruplandırılırken, bakteriler üzerinde hücre duvarı sentezini engelleyen, ara metabolizmayı bozan, nükleik asit sentezini inhibe eden, sitoplazmik zarın geçirgenliğini değiştiren ve protein sentezini inhibe edenler gibi etki mekanizmasına göre sınıflandırılır (Çolak 1999; Akkan ve Karaca 2003). Ayrıca antibiyotikler bakteriyi öldürerek bakteriyosidal veya gelişimini ve üremesini durdurarak bakteriyostatik özellik gösterebilirler (Çolak 1999; Akkan ve Karaca 2003; Leekha vd. 2011).

Alabalıklarda meydana gelen furunkulozis hastalığı tedavisinde sülfonamidler ile başlayan antibiyotik kullanımı bazı gram-negatif patojenlere tedavi amaçlı tetrasiklinlerin kullanımı ile devam etmiş ve 1970’li yıllara ulaşıldığında sülfonamidlerin ve trimethoprim kullanılmıştır (Özdemir 2010). Günümüzde ise bakterilerin sebep olduğu hastalıklarda tedavi amaçlı β -lactamlar, aminoglikozidler, makrolidler, kinolon grubu olarak flumequin ve oksolinik asit, tetrasiklin grubu olarak oksitetrasiklin gibi ya da sülfonamid-diaminoprimidin grubu olarak sülfadiazin + trimetoprim gibi kullanımlar yapılmaktadır (Akşit ve Kum 2008; Altan 2019; Verap ve Balta 2023).

Antibiyotik kullanımı yetiştiricilik yapılan farklı ülke ve coğrafyalara göre değişebilmektedir. Bu konuda 2’si amoksisilin, 1’i oksolinik asit, 2’si enrofloksasin, 15’i de florfenikol, 9’u sülfadiazin + trimethoprim ve 12’si oksitetrasiklin içeren 41 adet ruhsatlı ilacın temmuz ayı itibari ile 2013 yılında ülkemiz su ürünleri yetiştiriciliğinde kullanılabileceği mevcuttur (Özdemir 2010; Aydın 2017). Kullanılan antibiyotikler yetiştiricilik koşullarında balıklara ağız yolu ile alımı için yeme katılarak, immersiyon uygulaması olarak da isimlendirilen banyo ya da daldırma yöntemiyle ve son olarakda enjeksiyon uygulaması şeklinde olmak üzere üç farklı yöntemle uygulanmaktadır (Özdemir 2010). Etki mekanizmalarına göre de dar ve geniş spektrumlu olarak gruplandırılmıştır. Tek makrolid olarak su ürünleri yetiştiriciliğinde kullanılan Eritromisin, gram-pozitif bakteri türleri üzerinde dar spektrumlu etki yaparken,

fenikollerde bu durum geniş spektrumlu antibiyotik gruplarından olup hem Gram-pozitif hemde Gram-negatif bakteri türlerine etki etmektedir. Kloramfenikol, tiamfenikol ve florfenikol bu grup içerisinde yer alırken kloramfenikolün yoğun ve gereksiz kullanımı bakterilerde direnç gelişimi meydana getirebilmektedir. Salmonid balıklarda görülen furunkulozis tedavisinde genellikle Fenikol grubu içerisinde yer alan florfenikol kullanılmaktadır (Akşit ve Kum 2008; Özdemir 2010). İngiltere ve Japonya da yapılan su ürünleri üretimlerinde β -laktam türü antibiyotiklerin kullanımı uzun süre tercih edilmiştir. Fakat bu antibiyotikler arasında olan amoksisilin benzeri ilaçlar hareketli *Aeromonas* türlerinin göstermiş olduğu direncin yanı sıra pahalı bir ilaç olmasından dolayı balık hastalıklarının tedavi edilebilmesinde yaygın bir kullanım alanı meydana getirememiştir.

Antibiyotik ajanların 20 yüz yılın başlarından beri olan süreçte gereğinden fazla veya aşırı olarak kullanılması, çoklu direnç belirtileri veren bakteri türlerin artmasına sebebiyet vermiştir. Bu direncin indeksi bakteri türünün dirençli gösterdiği antibiyotik sayısının toplamı ve bunun maruz kaldığı antibiyotik sayısına oranlanması ile hesaplanmaktadır. 0.2 oranın üzerinde hesaplanan çoklu antibiyotik direnç (ÇAD) indeksi ortamda antibiyotiklerin yoğun olarak kullanılmasının yanı sıra yüksek riskli kontaminasyonu ifade etmektedir (Krumperman 1983; Bhuvaneshwari 2017; Nelson vd. 2019). Söz konusu bu durum ile ortamda bulunan antibiyotik dirençli bakteriler ile bunların yayılması sadece ülkemizde değil aynı zamanda dünya genelinde de halk sağlığını olumsuz etkilediği için tehdit ve ciddi sağlık problemleri olarak görülmektedir. (Agubo vd. 2017; Saxena ve Kaushik 2019).

Antibiyotik direnci bakterilerde hem doğal hemde direnç genlerinin aktarılması ile de meydana gelebilmektedir (Özaktaş 2007; Piotrowska vd. 2017). Günümüz su ürünleri üretiminde çiftliklerde meydana gelen bakteriyel hastalıkların tedavisinde antibiyotikler fazlaca kullanılmaktadır. Oksitetrasiklin, eritromisin, florfenikol, sarafloksasinin yanı sıra ve trimetoprimli veya ornitoprimli sülfonamidler yaygın bir şekilde kullanılan antibiyotiklerdendir. Dolayısıyla, söz konusu bu durum antibiyotik baskısı ile diğer bakteri türlerinde antibiyotik direncinin oluşmasını destekler. Balıklar tedavi amaçlı kullanılan antibiyotiklerin tamamını absorbe edememekte hatta bir kısmı suda diğer kısımda sediment içinde birikebilmektedir. Balık havuzlarından *Aeromonas* cinsi bakterilerin izolasyonu ile bu türün çoklu antibiyotik direnci taşıdığını tespit etmişlerdir (Özaktaş 2007; Piotrowska vd. 2017). Danimarka'da yürütülen bir başka çalışmada ise hareketli *Aeromonas*, *F. psychrophilum* ve *Y. ruckeri* suşlarından çoklu antibiyotik direncinin özellikle *Aeromonas* ve *F. psychrophilum* türlerinde gözlemlendiği belirtilmiştir (Özaktaş 2007).

Birinci ve ikinci jenerasyon şeklinde ayrılan ve sentetik antibakteriyel olarak kullan Kinolonların birinci jenerasyon da nalidiksik asit, flumekuik ve oksolinik asit bulunurken, ikinci jenerasyonunda sarafloksasin ile enrofloksasin bulunmaktadır. Geniş spektrum özelliğe sahip birinci jenerasyon oksolinik asit genellikle gram-negatif bakterilere karşı etki göstermektedir (Altan 2019). Ancak günümüzde sentetik kökenli olan antiprotozoal etki de gösteren nifürpirolini ve furazolidon içeren nitrofuranlar antibakteriyel etkinliklerinin yanı sıra kansorejen etkileride bulundurması sebebi ile kültür balıkçılığı yetiştiriciliğinde kullanımı yasaklanmıştır (Özdemir 2010).

2.6. Antibiyotik Duyarlılık ve Direnç Geni Üzerine Yapılan Çalışmalar

Filik vd. (2021) hastalık semptomu gösteren balıklardan izole ettikleri *A. hydrophila* ATCC 7966 ve 20 *A. hydrophila* suşunun 28 farklı antibiyotiğe karşı duyarlılığı araştırdıkları çalışmada; suşların 12 antibiyotiğe (Oksasilin, ampisilin, vankomisin, penisilin G, klindamisin, tilosin, oksitetrasiklin, siprofloksasin, pristinamisin, sefalotin, oksolinik asit, nitrofurantoin) karşı dirençli olduğunu, 14 antibiyotiğe (Norfloksasin, gentamisin, enrofloksasin, flumekuoin, kloramfenikol, kolistin, streptomisin, nalidiksik asit, sulfametoksazol-trimetoprim, seftriakzon, sefoperazon, sülfadiazin, kanamisin, doksisisiklin) karşı duyarlı ve 2 antibiyotiğe (Eritromisin, apramisin) karşı orta derecede duyarlı olduğunu belirlemişlerdir. Suşların ÇAD indeks değeri aralığı 0,21-0,75 olduğu ve 14 antibiyotiğe karşı çoklu antibiyotik direnci gösterdiğini tespit etmişler. Çalışmada *A. hydrophila*'nın en etkili antibiyotik olan oksitetrasikline ve çalışmada kullanılan antibiyotiklerin büyük kısmına karşı geliştirdiği dirence dikkat çekilerek suşların yüksek bir dirence sahip olduklarını belirtmişlerdir. Çalışmanın sonucu olarak balık hastalıklarını tedavi ederken yanlış antibiyotik seçimi patojeninin direncini arttırdığı ve dolayısıyla hastalık tedavisinde ciddi sorunlara neden olduğunu dile getirmişlerdir.

Durmaz ve Kılıçoğlu (2015) Karadeniz'de faaliyet gösteren bir alabalık çiftliğinde enfeksiyon görülmesi sonucu enfekte olan 8 balığı inceleyerek oluşturdukları çalışmada, hastalık etkenini bulmuşlar ve etkenin antibiyotik duyarlıklarını belirlemişlerdir. Salgının 2014 Ağustos ayında, su sıcaklığının 21 °C olduğunu ve 1 ay içinde %70-75 oranında ölüme sebebiyet verdiğini gözlemlemişler. Çalışmada balıklardan dördünün karaciğer, böbrek ve dalağında *Lactococcus garvieae* izole etmişler, izolatların fenotipik bakımdan uyumlu olduğunu gözlemlemişler. İzolatların hepsinin eritromisin, florfenikol, amoksisilin, ampisilin ve oksitetrasikline karşı duyarlı; okzolinik asit, trimetoprim ve sulfametoksazol/trimetoprime karşı dirençli olduğunu bildirmişlerdir. Sefoperazon, Enrofloksasin, gentamisin ve neomisine farklı oranlarda duyarlılık tespit edilirken, izolatların hepsi çoklu antibiyotik direnci tespit ettiklerini dile getirmişlerdir.

Gökkuşığı alabalıklarının bağırsağından izole ettikleri hareketli *Aeromonas* bakterilerinin tamamının (*A. caviae*, *A. hydrophila*, *A. sobria*) ampisilin'e (Korun ve Toprak 2010), alabalıklardan izole edilen *H. alvei* amoksisilin (10µg), ampisilin (10µg), eritromisin (15µg)'e (Onuk vd. 2015), akuakültür ortamında yetiştiriciliği yapılan gökkuşığı alabalıklarından hastalık semptomu gösterenler ile su ve bentik örneklerinden iki izolatın (ENT1 ve ENT3) florfenikole, tüm izolatların ise sulfanomidlere (Yavaş vd. 2018), sazan balıklarından izole edilen *A. hydrophila* suşlarının ampisiline (Öztürk vd. 2007), *Enterococcus faecium*, *E. faecalis*, *E. mundtis*, *E. durans* ve *E. hirae* türlerine ait suşların çoğunun oksasilin, eritromisin, vankomisin ve streptomisine, (Çıtak vd. 2004), *Y. ruckeri*'nin oksitetrasikline ve sulfonomidlere karşı dirençli olduğunu (DeGrandis ve Stevenson 1985) bildirmişlerdir. Çapkın vd. (2015) yılında yaptıkları çalışmada 9 bakteri türü izole etmişler *ampC*, *tetA*, *sul2*, *blaCTX-M1* ve *blaTEM* direnç genlerini çalışmışlardır. Sörum vd. (1992) yılında çiftliklerde üretilen Atlantik salmonlarında vibriozise sebep olan *Vibrio salmonicida* türünde tetrasiklin dirençlilik geni *tet(E)* belirlemişlerdir. Agersø vd. (2007) Danimarka'da yaptıkları çalışmalarında balık çiftliklerinden izole ettikleri *Aeromonas* spp. türlerinde tetrasikline dirençli *tet(E)*, *tet(A)* ve *tet(D)* genlerini çalışmışlardır. Savaşan vd. (2008) yılında balık kökenli

Enterococcus faecalis suşlarının antibiyotik dirençlilikleri araştırdıkları çalışmalarında vankomisin direnç fenotipinin vanA olduğunu belirlemişlerdir.

2.7. Bitkisel Yağ ve Ekstraktların Antimikrobiyal Etkisi Üzerine Yapılan Bazı Çalışmalar

Bitkiler ile bitkilerden elde ettikleri yağları ve ekstraktları insanlar ilk çağlardan günümüze kadar çeşitli amaçlarının yanı sıra hastalıkları tedavi etmek amacıyla kullanmışlardır. Bitkilerden elde edilen bu ekstraktlardan biriside esansiyel yağlardır. Esansiyel yağlar; bitkilerin başta tohum ve yaprak olmak üzere köklerinden, çiçeklerinden ve kabuklarından su buharı distilasyon yöntemi ya da ekstraksiyon yöntemi yoluyla elde edilen, oda sıcaklığında çoğunlukla sıvı formda olan ayrıca kolayca kristalleşebilme özelliği gösteren genellikle renksiz ya da açık sarı renkli bileşimlerdir (Bayaz 2014). Esansiyel yağlar bulunduğu bitkiye karakteristik özellik kazandıran bitkiye ait kokudan ziyade yakıcı lezzeti de veren, çok sayıda kimyasal bileşenden meydana gelen, oda sıcaklığında uçucu özellik gösteren ayrıca su ile sürüklenme yetisine sahip yağimsı karışımlardır. Uçucu ve kokulu olmaları ise en belirgin özelliklerindendir (Sevinç ve Merdun 1995; Şengezer ve Güngör 2008). Organik çözücülerde kolaylıkla çözünen esas olarak terpenlerden oluşan ancak suda çözünmeyen karışımlardır. Özellikle meyvelerde ve çiçek ve fazla miktarda bulunurlar (Anonim 2007). Yaklaşık olarak bilinen çeşitli amaçlarla farklı alanlarda tercih edilen 3000 esansiyel yağın 300 kadarı da ticari öneme sahip olduğu bildirmiştir (Bayaz 2014). Antiseptik, antimikrobiyal, sindirim uyarıcı, enzimatik ve antioksidan etkileri bilinen en önemli fonksiyonlarıdır.

Dünya üzerinde bitki türleri hatta bu bitki türlerinin içerdikleri etken maddelerin tespit edilmesi ayrıca bu içerik ve etken maddelerin patojenlere olan etkisinin belirlenmesi son yıllarda yoğun çalışılan bir alan haline gelmiştir.

Son yıllarda antimikrobiyal ilaçlara özellikle antibiyotikler başta olmak üzere patojen bakterilerin kazandığı ve ya oluşturduğu dirençler dikkat edilesi gereken bir problem haline gelmiştir (Çelik ve Yuvalı Çelik 2007). Bu dikkat çeken problem yapılan ve yapılacak olan çalışmaları doğal bitki özüt ya da içeriklerinden üretilen maddeleri kullanarak patojen mikroorganizmalara karşı meydana getireceği etkileri belirlemeye yöneltmiştir. Bitkisel yağ ve ekstraktları kullanılarak yapılan bazı antimikrobiyal çalışmalar aşağıdaki gibidir.

Bilenler ve Gökbulut (2019) yaptıkları ‘hastane patojenlerinin ticari uçucu yağlara karşı hassasiyetlerinin belirlenmesi’ başlıklı çalışmada on bir tane ticari bitki uçucu yağının broth dilüsyon ve oyuk agar teknikleri ile *Salmonella spp.*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* ve *Escherichia coli* olmak üzere dört patojen bakteriye ayrıca maya türü olan *C. albicans* üzerine Bergamot (*Citrus bergamia*), Isırgan otu (*Urtica dioica*), Adaçayı (*Salvia officinalis*), Çam terebentin (*Pinus terebenthinae*), Sedir ağacı (*Cedrus libani*), *C.albicans*, Pelesenk (*Copaifera officinalis*) uçucu yağları olmak üzere tıbbi amaçlı kullanılan, antimikrobiyal aktivitelerini belirlemişlerdir. Isırgan otu (*Urtica dioica*) ile Bergamot *C. bergamia*’nın minimum inhibisyon konsantrasyonu değerlerinin 62.5 µL/mL değeri ile gram pozitif bakterilere karşı oldukça düşük olduğu, test edilen on bir bitki uçucu yağının gram negatif bakteriler üzerinde ise 125-500 µL/mL değeri ile antimikrobiyal aktivitesinin orta düzeyde

olduğunu belirlemişlerdir. Gram pozitif bakterilerde Bergamot (*Citrus bergamia*), Isırgan otu (*Urtica dioica*), Adaçayı (*Salvia officinalis*) ve Çam terebentin (*Pinus terebenthinae*) uçucu yağlarının oyuk agar test sonuçlarında 13 ile 30 mm olarak belirlenen değeri ile Gram negatiflerde 8 ile 18 mm olarak belirlenen değerine kıyasla daha etkin olduğunu tespit etmişlerdir. *C.albicans* inhibisyonunun yalnızca 500 µL mL⁻¹ oranı ile Bergamot uçucu yağında gerçekleştiği ayrıca test edilen mikroorganizmalar üzerinde ise Pelesenk (*C. officinalis*) uçucu yağının her hangi bir aktivite sergilemediğini bildirmişlerdir. Çalışmalarının sonucunda mikroorganizmalar ile mücadele edebilme hususunda uçucu yağların alternative ve tamamlayıcı çözümler sunabileceğine ayrıca bu konudaki yapılacak çalışmalara katkı sağlayabileceğini bildirmişlerdir.

Zangeneh vd. (2018) yaptıkları çalışmada Macrobroth tüp testi ile kişniş (*Coriandrum sativum* L.) uçucu yağının Minimum İnhibitör Konsantrasyonu (MIC) belirlemeye çalışmışlardır. Yaptıkları çalışmanın sonuçlarına göre, *C. sativum*'un antibakteriyel özelliğini gösterdiğini, 2-8 mg/mL konsantrasyonlarında seçilen on bakterinin büyümesini engellediğini ve 2-16 mg/mL konsantrasyonları ile onları uzaklaştırdığını, bitkinin bazı bakteriyel enfeksiyonları tedavi etmek için bir antibiyotik olarak kullanılabileceğini bildirmişlerdir.

Baba vd. (2016) çalışmasında yem takviyesi olarak Mozambik tilapyası (*Oreochromis mossambicus*) balığı üzerine limon (*Citrus limon*) kabuğundan elde edilen uçucu yağı kullanarak spesifik olmayan bağışıklık sistemi immünostimulan etkisi, *E. tarda*'ya karşı direnç gelişimi ve büyüme performansına olan etkisini belirlemeyi amaçlamışlardır. Çalışmaları kapsamında 50 L akvaryumlara ve her akvaryum başına 25 balığa rastgele dağıtarak kontrol grubu için %0 ardından %0.5, %0.75 ve %1 oranlarında limon esansiyel yağı ile desteklenmiş ticari diyetlerle 60 gün boyunca besleme yapmışlardır. Balıklara *Edwardsiella tarda* enfeksiyonu enjekte edilerek kayıt tutulmuştur. Kontrol grubuna oranla limon (*Citrus limon*) kabuğundan elde edilen uçucu yağın kullanıldığı gruplarda ölümün daha az olduğunu belirlemişlerdir. Sonuç olarak lizozim aktivitesini artırdığını, beyaz kan hücreleri sayısını yükselttiğini, ve spesifik büyüme oranına olumlu etkisinin olduğunu belirlemişlerdir. Ayrıca direnç gelişimi oluşturmasıyla *C. limon* kabuğu esansiyel yağı takviyesinin, spesifik olmayan bağışıklık parametrelerini ve büyüme performansını iyileştirebileceğini ve kültürlenmiş tilapya ölüm oranını azaltabileceğini bildirmişlerdir.

Bulut vd. (2009) Türkiye'deki 19 ticari esansiyel yağların antioksidatif ve antimikrobiyal taramaları başlıklı çalışmalarında *S. aureus*, *S. epidermidis*, *K. pneumonia* ve *E. coli*'ye karşı standart disk difüzyon yöntemi kullanılarak antibakteriyel test yapmışlardır. Çalışmalarına penisilin, gentamisin ve vankomisin disklerini de dahil etmişlerdir. *Penisilin* (44 mm) ve *vankomisin* (14 mm) yalnızca *S. aureus*'u inhibe ettiğini bildirmişlerdir *Juniperus nana* (Ardıç) ve *Ocimum basilicum* (Fesleğen) uçucu yağları hariç *Urtica dioica* (Isırgan), *Foeniculum vulgare* (Rezene) arta kalan uçucu yağlar, test edilen bazı mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiğini bildirmişler ancak en etkili uçucu yağı *Thymus serpyllum* (Kekik) olarak tespit etmişlerdir. Sonuç olarak *Dianthus caryophyllus* (Karanfil) ve *Thymus serpyllum* (Kekik) uçucu yağlarının önemli antimikrobiyal ve antioksidan kapasiteye sahip olduklarını bildirmişlerdir.

Aslan vd. (2021) yürüttükleri farklı esansiyel yağların in vitro koşullarda antimikrobiyal etkinliğinin değerlendirilmesi başlıklı çalışmada 4 farklı standart bakteri suşu ve 1 klinik bakteri suşu olmak üzere toplamda 5 bakteri ile 1 standart maya mantarı suşu olmak üzere 6 organizmaya karşı ticari olarak satılan 16 farklı esansiyel yağın *Lavandula officinalis* (Lavanta yağı), *Myristicae fragrans* (Muskat yağı), *Citrus bergamia* (Bergamot yağı), *Citrus limonum* (Limon yağı), *Citrus sinensis* (Portakal yağı), *Thymus vulgaris* (Kekik yağı), *Pelargonium graveolens* (İtır-Sardunya yağı), *Cymbopogon citrates* (Limon Otu yağı), *Cupressus sp.* (Servi yağı), *Rosemary officinalis* (Biberiye Yağı), *Laurus nobilis* (Defne Yağı), *Argania spinosa* (Argan yağı), *Melaleuca alternifolia* (Çay Ağacı yağı), *Menta piperita* (Nane yağı), *Prunus amygdalus* (Tatlı Badem yağı) ve *Citrus aurantium* (Neroli yağı) antimikrobiyal aktivitelerini araştırmışlardır. Kullanılan 4'ü standart suş ve 1'i klinik izolat olan 5 bakteriye ve 1 maya mantarına karşı çalışmada en fazla etki gösteren esansiyel yağlar ve inhibisyon zon çapı değerleri *Thymus vulgaris*, *Melaleuca alternifolia*, *Menta piperita*, *Lavandula officinalis* göstermiş olduğunu bildirmişlerdir. Bu değerler *Staphylococcus aureus*, *Acinetobacter baumannii*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Klebsiella pneumonia* ve maya mantarı *Candida albicans* göre sırayla ≥ 50 mm, 43 mm, 35 mm, 35 mm; 9 mm, ≥ 50 mm olarak *Thymus vulgaris* için belirlenirken- 14 mm, 19 mm, 20 mm, ≤ 10 mm, 13 mm, ≥ 50 mm olarak *Melaleuca alternifolia* için belirlenmiştir. Ayrıca *Menta piperita* yağında bu değerler ≥ 50 mm, 20 mm, 18 mm, 14 mm, *Klebsiella pneumoniae*'de inhibisyon zonu belirleyememişler maya mantarı *Candida albicans* ≥ 50 mm zon ölçmüşlerdir. *Lavandula officinalis* yağı için sırayla verilen bu bakterilerde 16 mm, 10 mm, 11 mm, 14 mm, zonlar belirlenirken *Klebsiella pneumoniae*'de inhibisyon zonu tespit edemezlerken, *Candida albicans* üzerinde *Lavandula officinalis* yağı 18 mm inhibasyon zonu oluşturduğunu bildirmişlerdir. Çalışmalarında sonuç olarak 16 ticari esansiyel yağların kullanılan 6 organizmaya karşı farklı düzeylerde yüksek antimikrobiyal etkisinin olduğunu belirlemişlerdir. Nane, Kekik, çay ağacı ve lavanta esansiyel yağlarının çalışılan diğer esansiyel yağlara göre antimikrobiyal etkinliğinin fazla olduklarını belirlemişlerdir. Ayrıca yeni antimikrobiyal madde ve antimikrobiyal ilaç çalışmalarına kullandıkları esansiyel yağların, sahip oldukları yüksek antimikrobiyal etki göstermeleri nedeniyle katkı sağlayabileceğini kanaatine varmışlardır.

Coşkun (2019) yaptığı ardıç (*Juniperus communis*) meyvesinden elde edilen uçucu yağın biyolojik aktivite araştırmaları çalışmasıyla su distilasyonu ile elde ettikleri uçucu yağın ve eczanelerden temin ettiği dört ticari uçucu yağların antioksidan ve antimikrobiyal aktivite çalışmalarını gerçekleştirmiştir. Disk difüzyon yöntemi kullanarak meyvelerinden su distilasyonu ile elde ettikleri uçucu yağın *S. aureus* bakterisi ve *C. krusei* fungusu üzerine etki ettiğini ancak diğer uçucu yağ örneklerinin aktivite göstermediğini ve sonuç olarak dört ticari yağ örneğinden üçünün safsızlık olduğunu yapılan analizlerde tespit etmiştir.

Ertürk vd. (2017) *Ocimum basilicum* ve *Thymbra spicata* esansiyel yağının ve ekstraktlarının antioksidan ve antimikrobiyal aktivitelerini ve kimyasal bileşimlerini araştırmak amacıyla yaptıkları çalışmada, dört gram pozitif (*Streptomyces murinus*, *Micrococcus luteus*, *S. aureus* ve *Bacillus subtilis*), dört gram negatif (*Yersinia enterocolitica*, *Klebsiella pneumoniae*, *P. aeruginosa* ve *Proteus vulgaris*), bir maya (*C. albicans*) ve bir küf (*A. niger*) kullanmışlar. Uçucu yağ ve *Thymbra spicata* özleri

bakteri, maya ve küfe karşı en etkili ve önemli aktiviteye sahip olduğunu gözlemlemişler. *Thymbra spicata*'nın antioksidan aktivitesi *Ocimum basilicum*'dan daha yüksek olduğunu bulmuşlar. Fenolik bileşikler, indirgeyici ajan olarak hareket eden antioksidanlar, hidrojen donörleri ve singlet oksijen söndürücüler gibi iyi özelliklere sahip olduğunu tespit etmişler. On dört fenolik bileşik analiz yapmışlar ve *Ocimum basilicum* ve *Thymbra spicata*'da bazı fenolikler tespit etmişler. Çalışmanın sonucu olarak Lamiaceae bitkisinin fenolik bileşiklerce zengin olduğunu ve aynı zamanda antimikrobiyal ve antioksidan özelliklere sahip olduğunu, bu nedenle gıda ve ilaç endüstrilerinde yararlı bir bitkisel kaynak olabileceğini bildirmişlerdir.

Silva vd. (2011) yaptıkları çalışmada gram pozitif ve gram negatif bakterilere karşı kişniş (*Coriandrum sativum* L.) uçucu yağının antibakteriyel etkisini incelemişlerdir. Sonuç olarak kişniş yağının test edilen tüm bakterilere karşı etkili bir antimikrobiyal etkiye sahip olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca kişniş yağı, *Bacillus cereus* ve *Enterococcus faecalis* dışında test edilen hemen hemen tüm bakterilere karşı bakterisidal aktivite sergilediğini tespit etmişlerdir.

Ünver Alçay vd. (2018) yaptıkları çalışmada ardıç meyvelerinin ve uçucu yağının antimikrobiyal aktivitesinin olduğunu bildirmişlerdir. Karık vd. (2014) yaptıkları çalışmada fesleğen yağının antimikrobiyal etkisinin olduğunu bildirmişlerdir. Gürcan ve Adiloğlu (2020) fesleğen (*Ocimum basilicum*) bitkisinde bazı bitki besin elementleri ile antibakteriyel aktivitesinin ilişkisi başlıklı çalışmalarında fesleğen ve özleri de antibakteriyel ajanlar olarak kullanılabileceğini bildirmişlerdir. Lo Cantore vd. (2004) yaptıkları çalışmada rezene (*Foeniculum vulgare*) ve kişniş (*Coriandrum sativum* L.) uçucu yağının in vitro koşullarda *Escherichia coli* ve *Bacillus megaterium*'a karşı antibakteriyel aktivitesine bakmışlardır. Kişniş yağının rezene yağına oranla daha etkili olduğunu bildirmişlerdir. Begnami vd. (2009) *Coriandrum sativum* L.'den (Apiaceae) elde edilen uçucu yağın farklı *Candida* türlerine karşı kimyasal ve antifungal aktivitesini araştırmışlardır. *Candida tropikalis* dışında test edilen tüm *Candida* türlerine karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiğini bildirmişlerdir.

Braanin vd. (2015) *Origanum vulgare* L. ve *Ocimum basili* L. (Lamiaceae) bitkilerini diklorometan ve metanol ile ekstrakt yaparak antimikrobiyal aktivite açısından test etmişlerdir. *Origanum vulgare* L. ekstraktlarının gram pozitif bakterilere karşı daha etkili olduğunu minimum inhibisyon konsantrasyonu değerlerinin (MIC) 62.5 ve 125 µg/mL arasında olduğunu, *Ocimum basili* L. ekstraktlarının *Candida albicans* için minimum inhibisyon konsantrasyonu değerlerinin (MIC) 125 µg/mL belirlemişlerdir. *Origanum vulgare* L. nin Sikloheksan ekstraktının *Helcobakter pilori* ye karşı aktivite göstermediğini diğer bütün ekstraktların 250-500 µg/mL arasında aktive göstermiş olduğunu tespit etmişlerdir. Ayrıca rozmarinik asit ve diğer polar bileşiklerin antibakteriyel bileşik olabileceği sonucuna varmışlardır.

Orçan vd. (2023) küresel sorun haline gelen antibiyotiklere ve türevlerine karşı günden güne artan dirence karşı yürüttükleri endemik *Alyssum filiforme* (kuduzotu) bitkisinin , antioksidan, antibiyofilm, antimikrobiyal aktivitesinin ve fenolik profilinin belirlenmesi başlıklı çalışmada, endemik *Alyssum filiforme* (kuduzotu) bitkisinin gövde kısmını ve yapraklarını sıvı azot yardımıyla havanda ezmişlerdir. Ezilerek öğütülen endemik bitki *Alyssum filiforme* (kuduzotu) örneğinden 15 g tartıp 150 ml saf metanol kullanılarak soxhlet cihazında 4-6 saat aralığında ekstraksiyon işlemine tabii

tutmuşlardır. *Bacillus subtilis* (DSMZ 1971), *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter durans*, *Salmonella typhimurium*, *Enterobacter aerogenes* (ATCC 13048), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) bakterileri üzerinde mikrodilüsyon yöntemi ile MİK değeri belirlemişlerdir. Belirlenen MİK değerinin 5 ile 20 mg/ml arasında değiştiğini bildirmişlerdir. *S.typhimurium* bakterisi için 5 mg/ml belirledikleri MIC değerinin *E aerogenes* ve *E durans* bakterileri için 20 mg/ml olduğunu belirlemişlerdir. Diğer türler için ise 10 mg/ml olduğunu bildirmişlerdir. Sonuç olarak elde ettikleri veriler doğrultusunda bitkilerin doğal, çevreci, ekonomik olmalarının yanı sıra özellikle sağlık açısından bir tehdit oluşturmaması gibi avantajlı özellikleri, antimikrobiyal ve antibakteriyel ajan olarak kullanılabileceğini tespit etmişlerdir. Tüketimi ya da kullanımı sonrası metabolizmada zararlı kalıntı bırakmaması bitkisel ürünlerin antibiyotik ve antioksidan özelliğinin yanı sıra antimikrobiyal etki gibi pek çok avantaj sağlaması ile sağlıklı yaşam için önemli bir rol üstlendirdiğini bildirmişlerdir.

2.8. Yağ Eldesi için Kullanılan *Origanum* Türleri

Dünya üzerinde *Origanum* L. cinsinin de üyesi olarak bulunduğu Lamiaceae familyası yaklaşık 245 cins ve 7886 tür ile temsil edildiği bilinmekte iken başta Akdeniz ülkeleri olmak üzere dünya üzerinde yayılışının fazla olduğu yerler Avustralya, Güney Batı Asya ve Güney Amerika şeklindedir. Ülkemiz bu familyanın önemli gen merkezleri arasında yer alırken; 46 cins, 602 tür ve 179 alt tür ve varyeteyi içeren 782 taksonu ile ülkemizin üçüncü familyasıdır (Koyuncu vd. 2010; Güner vd. 2012; Yıldız 2020).

Origanum, Lamiaceae familyası içerisinde tıbbi ve aromatik bitkiler bakımından önemli cinslerden biridir. Tıbbi ve aromatik bitkilerin kullanımına olan ilgi de son yıllarda giderek artmaktadır. İnsanlar ve hayvanlarda oluşan hastalıkların sağaltımı için kullanılan bitkiler tıbbi bitki olarak ifade edilirken; kokulu bitkiler ise aromatik bitki şeklinde isimlendirilmektedir (Göktaş ve Gıdık 2019; Çelik 2020; Aktop ve Çağatay 2022). Bu bitkilerin tedavi amaçlı kullanımı M.Ö. 5000' lere Mezopotamya uygarlığına kadar uzandığı ve yaklaşık 250 bitkisel ürünün bu amaçla kullanıldığı rapor edilmiştir (Çelik 2020).

Doğadan toplanarak kullanılan bu bitkilerin artık büyük bir kısmının üretimi hem dünyada hem ülkemizde yapılabilmekte ve kültür koşullarında yetiştirilebilmektedir (Acıbuca ve Bostan Budak 2018). Birçok türün gen merkezi konumunda olan ülkemiz Tıbbi ve aromatik bitki olarak da 174 aile, 1251 cins ve yaklaşık 12.000' den fazla türe sahip olup bunlardan biriside *Origanum* L türüdür (Kendir ve Güvenç 2010).

Origanum L. ismi Yunanca iki kelime olan “oros” (dağ) ve “ganos” (parlaklık) kelimelerinden türetilmiştir (Fonnegra ve Jiménez 2007; Aktop ve Çağatay 2022). *Origanum* türleri çoğunlukla Akdeniz, Kuzey Afrika, Avrupa-Sibirya ve İran-Turan bölgelerinde yayılış göstermektedir. *Origanum* cinsi dünya üzerinde 43 tür (51 takson) ve 19 hibrit tür ile bilinmektedir (Dirmenci vd. 2018a; 2018b; 2019). Cins ülkemizde ise 14'ü endemik 23 tür (26 takson) ve 9'u endemik olan 11 hibrit ile temsil edilmektedir (Dirmenci vd. 2019).

Origanum türleri İtalya'dan 2. Dünya Savaşı'ndan sonra pizza yapımında ABD askerleri tarafından kullanılan bu bitkiyi öğrenip tanıtmasıyla dünyada üne kavuşmuştur dönen. Pizzalarda, etli yemeklerde, salatalarda, çorba ve sos yapımında bu dönemden sonra fazlaca kullanılmaktadır. Ekonomik olarak büyük öneme sahip olan bu familya üyeleri aromatik bileşikler ve temel yağlar sayesinde parfüm gıda ve ilaç sanayi gibi çeşitli alanlarda kullanılmaktadır (Clive ve Stace 1980; Estilai ve Hatemi 1990). Bu türe olan ilginin zamanla artması talepleri meydana getirmiştir. Böylece daha fazla bitkiye ihtiyaç duyulmaya başlanmıştır. Söz konusu sebeple bitki kullanımının yaygınlaşması ticareti ve ürün eldesi içinde üretimi beraberinde getirmiştir.

Ticari amaçlar için bazı türler kültüre alınmaktadır. Ticari türlerin çoğu *Mentha*, *Origanum* ve *Thymus* gibi Akdeniz orijinli genellikle gıdalarda lezzet verici olarak kullanılan aromatik bitki cinsleridir. Ünal vd. (2004) tarafından çelikle ve tohum çimlenmesi ile Antalya için endemik olan *Origanum husnucan-baseri* H. Duman, Z. Aytaç & A. Duran, *O. minutiflorum* O.Schwarz & P.H. Davis, *O. bilgeri* P.H. Davis, *O. solymicum* P.H. Davis, ve *O. saccatum* P.H. Davis türlerinin çoğaltılması çalışmalarını denemişlerdir. Ayrıca uçucu yağ üretimi yapılırken ortaya çıkan kekik suyu da boğaz ağrısının yanı sıra soğuk algınlığı, mide ve bağırsaklardaki kasılmalarda kullanılmaktadır (Tunca ve Yeşilyurt 2017; Güven 2021). Kekik olarak *Origanum vulgare* ssp. *Hirtum*, *O. onites*, *O. minutiflorum*, *O. vulgare* ssp. *vulgare*, *Thymus capitatus*, *T. spicata*, *Saturea cuneifolia*, *Coridotymus capitatus*, *Saturea hortensis* ticareti yapılan önemli türler olarak sayılabilmektedir (Gürbüz vd 2011). Genelde karvakrol bakımından *Thymus* türlerinin uçucu yağları zengin iken timol bakımından *Thymus* türlerinin uçucu yağları zengindir. Bu bitkilerin ihracatı ülkemize önemli döviz girdisi sağlamakta olup birim fiyat ortalaması 2.69 kg/\$ iken 2018 yılı verilerine göre 3.2 kg/\$ olarak belirlenmiştir (Gürbüz vd. 2011; Yıldız 2020).

Origanum türleri taşımış olduğu salgı tüyleri ile uçucu yağ taşıyan bir ya da çok yıllık otsu veya çalısı bitkilerdir. Bu bitkilerde yapraklar çoğu zaman basit bazen parçalı ayrıca gövde dört köşeli ve dekuzat dizilişlidir. Çiçekler zigomorf, vertisillat durumunda ve bilabiattır (Yıldız 2020). Bitkilerin meyvesi 4 nuska ayrılan bir şizokarptır (Davis 1982). Bu tez çalışması kapsamında *Origanum bilgeri* (Tüylü mercan), *Origanum minutiflorum* (Toka kekik), *Origanum saccatum* (Tahtacı kekiği) yağ eldesi için üç *Origanum* L türüne yer verilmiş ve botanik bilgileride aşağıdaki gibidir.

2.8.1. *Origanum bilgeri* botanik bilgileri

Alem: Plantae/ Bitkiler Alemi
Şube : Magnoliophyta / Tohumlu Bitkiler
Altsınıf : Magnoliidae / Manolya altsınıfı
Aile : Lamiaceae / Ballıbabagiller
Cins : *Origanum* / Mercan köşk (Sadıkoğlu 2012)
Tür : *Origanum bilgeri* / Tüylü mercan (Şekil 2.4)



Şekil 2.4. *Origanum bilgeri* (Tüylü mercan)

2.8.2. *Origanum minutiflorum* botanik bilgileri

Alem: Plantae / Bitkiler Alemi
Şube : Magnoliophyta / Tohumlu Bitkiler
Altsınıf : Magnoliidae / Manolya altsınıfı
Aile : Lamiaceae / Ballıbabagiller
Cins : *Origanum* / Mercan köşk (Sadıkoğlu 2012)
Tür : *Origanum minutiflorum* / Toka kekik (Şekil 2.5)



Şekil 2.5. *Origanum minutiflorum* (Toka kekik)

2.8.3. *Origanum saccatum* botanik bilgileri

Alem: Plantae / Bitkiler Alemi
Şube : Magnoliophyta / Tohumlu Bitkiler
Altsınıf : Magnoliidae / Manolya altsınıfı
Aile : Lamiaceae / Ballıbabagiller
Cins : *Origanum* / Mercan köşk (Sadıkoğlu 2012)
Tür : *Origanum saccatum* / Tahtacı kekiği (Şekil 2.6)



Şekil 2.6. *Origanum saccatum* (Tahtacı kekiği)

2.9. Su Ürünlerinde *Origanum* sp. Bitkisi ve Ekstraktlarının Kullanımı

Son yıllarda *Origanum* türleri su ürünleri sektöründe başta antimikrobiyal ajan olarak yem katkı maddesi ve anestezi madde olarak kullanımının yanı sıra su ürünleri işleme teknolojisinde yaygın olarak çalışılan bir konu haline gelmeye başlamıştır (Cihangir ve Diler 2016; Diler vd. 2017; Wahdan vd. 2019; Abdel-Latif vd. 2020; Pathirana vd. 2021). Bu bitkilerin yüksek miktarda içermiş olduğu timol ve karvakrol etken maddeleri ve diğer etken maddeleri ile su ürünleri alanındaki yapılan çalışmalarda olumlu sonuçlar meydana getirmiştir (Aktop ve Çağatay 2022). Lamiceaea familyasına ait bu türlerin antibakteriyel etkilerinin yanında antifungal, antioksidan, anti-enflamatuar olarak kullanım potansiyeline de sahiptir (de Moraes França Ferreira vd. 2014; Diler vd. 2017). Ayrıca bir ürünün pazarlanmasında her sektörlerde olduğu gibi su ürünleri sektöründe de işleme sonrası ürünün paketlenmesi, depolanması ve uzun raf ömrünün belirlenmesi üzerine çalışılan konulardan olmuştur (Özyılmaz 2007; Çetinkaya

2013; Kenar 2020). Pazarlamada ürünlerin bozulmadan uzun süreli saklanması önemli ve dikkat çeken hususlardandır. Dolayısıyla *Origanum* türleri su ürünleri işleme sektöründe ürünlerde kullanılarak raf ömrünü uzatmaya çalışılmıştır (Taşkaya 2010; Akarsu 2016).

Yiğit ve Kocaayan (2023) yapmış oldukları çalışmalarında gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) üzerinde kişniş (*Coriandrum sativum*) ve kekik (*Origanum onites*) uçucu yağlarının farklı konsantrasyonlarda (20, 50, 70, 100, 150, 200, 300, 400, 500, 600 mg L⁻¹) anestezi etkinliğini araştırmışlardır. Ayrıca uçucu yağların solungaç, karaciğer ve böbrek gibi balık dokuları üzerindeki histopatolojik etkileri de belirlemişlerdir. Deney sonunda gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) üzerinde kişniş (*C. sativum*) esansiyel yağının 50 mg L⁻¹ konsantrasyonunda sedatif, 200 mg L⁻¹ konsantrasyonunda anestezi etkiye sahip olduğunu gözlemlemişlerdir. Ancak kekik esansiyel yağının, gökkuşağı alabalığında test edilen konsantrasyonlarda (20, 50, 70, 100, 150, 200, 300, 400, 500, 600 mg L⁻¹) ölüme neden olduğunu bildirmişlerdir. Histopatolojik incelemede ise kekik (*O. onites*) grubunun solungaçlarında hiperemi, ödem ve deskuamasyon gözlemlemişlerdir. Ayrıca yine bu grupta karaciğer ve böbreklerde hiperemi oluştuğunu belirlemişlerdir. Kişniş (*C. sativum*) esansiyel yağının kullanıldığı grupta balıkların hiçbir organında patolojik bulguya rastlanmamışlardır. Çalışma sonucunda 200 mg L⁻¹ kişniş esansiyel yağının gökkuşağı alabalığı (*O. mykiss*) için anestezi olarak kullanılabileceği sonucuna varmışlardır.

Rashidian vd. (2021) “Kekik (*Origanum vulgare*) özünün zebra balığı (*Danio rerio*) büyüme performansını, serum ve mukus doğuştan bağışıklık tepkilerini ve *Aeromonas hydrophila* mücadelesine karşı direnci” başlıklı çalışmada *Origanum vulgare*'nin ultrason destekli ekstraktının, yem katkısı olarak etkisini araştırmıştır. *Origanum vulgare* ekstraktını %0 (kontrol), %0.5 (M1), %1 (M2) ve %2 (M3) kg⁻¹ oranlarda olarak 4 farklı diyet yemi hazırlayarak 12 tanka 440 yetişkin Zebra Balığı (*Danio rerio*) dağıtarak 8 hafta beslemişlerdir. Balıklara daha sonra *A. hydrophila* enfeksiyonu enjekte ederek challenge oluşturmuşlar ve ölüm oranını 10 gün boyunca kaydetmişlerdir. Çalışmalarının sonuçlarında, *Origanum vulgare* ekstraktının kilo alımı ve spesifik büyüme hızı gibi büyüme parametreleri üzerinde güçlü etkiler gösterdiğini tespit etmişlerdir. Yem dönüşüm oranının ise ekstrakt içeren diyetlerle beslenen balıklarda önemli ölçüde düşük olduğunu belirlemişlerdir. Ayrıca *Origanum vulgare* ekstraktının antioksidan ve bağışıklık yanıtlarını iyileştirerek, oksidatif strese karşı daha az hassasiyet ve *A. hydrophila* ile tehdit edildiğinde daha yüksek bir hayatta kalma oranı ile sonuçlandığını bildirmişlerdir. Çalışmalarında genel itibarı ile, en büyük etkilerin *Origanum vulgare* ekstraktının diyetle %1 oranında dahil edildiği diyet yemiyle beslenen bireylerde gözlemlemişlerdir. Bu sonuçlar doğrultusunda *Origanum vulgare* bitkisinden elde edilen ekstraktın su ürünleri endüstrisinde kullanım için büyük bir potansiyele sahip olduğunu ve Zebra Balığı (*Danio rerio*) beslenme çalışmaları için uygun bir model olduğu kanaatine varmışlardır.

Bodur vd. (2018) çalışmada yeni bitki bazlı anesteziklerin etkileri stress ve refah parametreleri üzerine etkilerine etkisini araştırmıştır. Yaptığı bu araştırmada *Origanum* ve *Okaliptüs* yağını anestezi olarak kullanmıştır. Çalışma sonucu olarak *Origanum* yağının düşük dozda daha yüksek etkinlik gösterdiğini bulmuştur. Başka bir çalışmada ise yayın balığı (*Rhamdia quelen*) üzerine Mercan köşk (*O. majorana*)'ün anestezi olarak sedasyon ve bayılmaya etkisi sırayla 100 µL L⁻¹ ve anestezi etkisi ≥

200 µL L⁻¹ olduğu tespit edilmiştir (Cunha vd. 2018). Becker vd. (2021) *Farfantepenaeus paulensis* ve *Litopenaeus vannamei* iki karides türünde Mercan köşk (*O. majorana*) yağını anestezi olarak kullanmıştır. 800 µL L⁻¹ oranda *O. majorana*'da ayılmanın daha uzun olduğunu tespit etmiştir. *Origanum* yağı ile yapılan anestezi çalışmaları etkin bir anestezi madde olabileceğini ortaya çıkarmıştır.

Diler vd. (2016) tarafından *Origanum onites* (İzmir kekiği)'in büyüme, lizozim ve antioksidan aktivitesinin yanı sıra gökkuşağı alabalığı (*O. mykiss*)'nda *Lactococcus garvieae*'ye karşı direnç etkisini incelemişlerdir. Bu çalışma kapsamında *Origanum onites* yağını 0.125, 1.5, 2.5 ve 3.0 mL kg⁻¹ olmak üzere 4 farklı konsantrasyonlarda yeme ilave ederek 90 gün boyunca besleme yapmışlardır. *Origanum onites*'in ilave edildiği gruplarda final ağırlığının kontrol grubundan önemli ölçüde daha yüksek olduğunu belirlemişlerdir. Ayrıca balık yemine uygulanabilir olduğunu ve hastalık direncine olumlu etkisinin olduğunu bildirmişlerdir.

Diler vd. (2017) tarafından yapılan “*Origanum vulgare* L. Uçucu Yağının Gökkuşağı Alabalıkları (*Oncorhynchus mykiss*)'nda Büyüme, Lizozim ve Antioksidan Aktivite ve *Vibrio anguillarum*' a Karşı Direnç Üzerine Etkisi” başlıklı çalışmalarında *Origanum vulgare* uçucu yağını 0.125, 1.5, 2.5 ve 3.0 mL kg⁻¹ oranlarında gökkuşağı alabalığı (*O. mykiss*) balık yemine ilave etmişlerdir. 0.125 mL kg⁻¹ oranında ilave edilen *Origanum vulgare* uçucu yağı ile beslenen grup hariç diğer grupların kontrol grubuna oranla daha iyi sonuçlar verdiğini bildirmişlerdir. Ayrıca lizozim aktivitesi düzeyleri ve plazma süperoksit dismutaz (SOD) *Origanum vulgare* uçucu yağı ilaveli gruplarda kontrol grubuna göre yüksek olduğunu saptamışlardır. *V. anguillarum* patojeni enfeksiyon uygulamaları sonucunda balıkların ölüm oranının *O. vulgare* uçucu yağı ile formüle edilen yemlerle beslenmiş tüm gruplarda önemli derecede azalma olduğunu belirlemişlerdir (P<0,05). Yem katkısı olarak kullanılan *O. vulgare* uçucu yağının deneme sonucunda patojenlere karşı direnci artırıcı bir etki gösterdiğini, balıklarda büyümeyi destekleyici olduğunu ayriyeten lizozim ve antioksidan aktiviteyi artırıcı olduğunu bildirmişlerdir.

Rudiansyah vd. (2022) yaptıkları *Origanum majorana* (Mercan köşk), *Thymus vulgaris* (Kekik), ve *Satureja hortensis* (Mercimek otu) özlerinin bir karışımı ile beslenen sazanın (*Cyprinus carpio*) büyüme performansında, kan biyokimyasallarında, bağışıklık tepkilerinde ve antioksidan kapasitesinde faydalı değişiklikler başlıklı çalışmalarında *Thymus vulgaris* (Kekik), *Origanum majorana* (Mercan köşk) ve *Satureja hortensis*'ten elde ettikleri karışımı balık yemine 0 (kontrol), %0,5, %1, %2 ve 3 kg⁻¹ oranlarında olacak şekilde ilave ederek 60 günlük besleme yapmışlardır. Çalışmanın sonunda, nihai canlı ağırlık, canlı ağırlık artışı, spesifik büyüme oranı, hayatta kalma oranı ve yemden yararlanma oranı bu karışımlardan %1 ve %2 ilaveli yemlerle beslenen gruplarda kontrol grubuna göre (P ≤ 0.05) etki göstermiş ve en iyi değerler %1 oranında karışımı içeren diyetle beslenen balıklarda kaydetmişlerdir.

Özdemir vd. (2021) İzmir Kekiği (*O. onites*)'in esansiyel yağlarının gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) yumurtalarından izole ettikleri *Saprolegnia parasitica*'da antifungal etkilerini araştırmışlardır. Çalışmada 1-1000 ppm arası oranda minimum inhibasyon konsantrasyonu ve minimum öldürücü dozu agar ortamında belirlemeye çalışmışlar ve sırayla 250 ile 500 ppm olduğunu tespit etmişlerdir. Çalışma sonunda İzmir Kekiği (*O. onites*)'in esansiyel yağlarının olumlu etkilerinin olduğunu ve

500 ppm oranında kullanımının formaldehit kullanılan kontrol grubundan daha iyi sonuç verdiğini formalin kullanımının yerini alabileceğini bildirmişlerdir.

Yousefi vd. (2021) tarafından yapılan Mercan köşk (*O. majorana*) ekstraktının sazan balığı (*Cyprinus carpio*) üzerine büyüme performansı, sağlık ve hastalık direnci üzerindeki potansiyel etkilerini araştırdıkları çalışmada balık yemine Mercan köşk (*O. majorana*) ekstraktını 0 (kontrol), 100, 200 ve 400 mg kg⁻¹ olacak şekilde 4 farklı oranda ilave etmişlerdir. Hazırlanan bu yemler ile 8 hafta besleme yapmışlar ve *A. hydrophila* enfeksiyonunu enjekte etmişlerdir. Çalışma verileri doğrultusunda en yüksek final ağırlığı, ağırlık artışı, spesifik büyüme oranı ve en düşük yemden yararlanma oranını 200 mg kg⁻¹ Mercan köşk (*O. majorana*) ekstraktı ilaveli yemle beslenen grubun gösterdiğini tespit etmişlerdir. Ayrıca beyaz kan hücre sayısı, kırmızı kan hücreleri, hematokrit, hemoglobinin, ortalama eritrosit hacmi ve ortalama eritrosit hemoglobinin bu oranın kullanıldığı grubun balıklarında belirgin artış gösterdiğini bildirmişlerdir. Sonuç itibari ile Mercan köşk (*O. majorana*) ekstraktı ilavesinin *Aeromonas septisemisi* sırasında balık ölümlerini baskılayan balık büyümesini, antioksidan ve bağışıklık sistemlerini uyarması nedeniyle sazan için uygun bir yem takviyesi olduğunu tespit etmişlerdir. Elde ettikleri sonuçlara göre sazan yem formülasyonu için 200 mg kg⁻¹ Mercan köşk (*O. majorana*) ekstraktı ilavesini *A. hydrophila*'ya karşı direnç kazanımına olumlu etki ettiğini ve kullanımının uygun olduğunu bildirmişlerdir.

Ergül (2018) tarafından yapılan gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) üzerine yem katkısı olarak izmir kekiği (*O. onites*) ekstrakt ilavesinin etkisini araştırdıkları çalışmada 0.25 ve 0.50 ml kg⁻¹ oranlarda ilave ederek 72 gün besleme yapmıştır. Deneme başında yaklaşık 40 gr ortalama ağırlıkta olan balıklar deneme sonunda sırayla final ağırlık ve canlı ağırlık artışı değeri sırasıyla 77.50±0.70 g ve 38.00±1.41 g olarak en iyi büyümenin 0.25 ml kg⁻¹ oranında izmir kekiği (*O. onites*) ekstrakt ilavesinin olduğu grupta tespit etmiş ve istatistiksel olarak farkı önemli bulunmuştur (p<0.05). Spesifik büyüme oranında ekstrakt ilavesinin olduğu gruplarda kontrol grubuna göre önemli bir fark elde ederken (p<0.05) yaşama oranı ve yem değerlendirme oranında gruplar arasında istatistiksel bir fark olmadığını belirlemiştir (p>0.05). Denemede balıklarından alınan derileri histolojik olarak incelemeleri sonucu 0.50 ml kg⁻¹ ve 0.25 ml kg⁻¹ ekstrakt ilaveli gruplarda gökkuşağı alabalığı derisinde goblet hücre sayısının kontrol grubuna göre daha fazla olduğu sonucuna varmıştır (p<0.05). Çalışma sonucuna göre İzmir Kekiği (*O. onites*) ekstrakt ilavesinin kontrol grubuna göre daha iyi sonuç verdiğini bağırsak ile deri histolojisi, balıkların büyüme ve bağırsak mikrobiyoflorasına etkisinin olduğunu tespit etmiştir.

Taşkaya (2010) tarafından *Origanum vulgare* L. subsp. *hirtum* uçucu yağı uygulanarak yapılan bir çalışmada baş ve iç organları çıkarılmış hamsilerdeki (*Engraulis encrasicolus* L. 1758) denemelerini 4±1°C'de depolamışlar ve depolanma süresince duyu kalite parametrelerini mikrobiyolojik ve kimyasal yönden araştırmıştır. Bu çalışma ile hamsilerdeki (*Engraulis encrasicolus* L. 1758) raf ömrü üzerine *Origanum vulgare* L. subsp. *hirtum* uçucu yağı etkisini belirlemeye çalışmıştır. Bu çalışma sonucunda *Origanum*'un balık etinde kullanılabilir olduğunu 4°C'de hamsi filetolarının raf ömrünü uzattığını, duyu kalite olarak belirlemiştir.

Zheng vd. (2009) tarafından yapılan çalışmada, kanal yayın balığında (*Ictalurus punctatus*) büyüme performansı ve antioksidan etkileri üzerine ticari bir ürün olan karvakrol ve timol bileşenleri bulunduran ve *Origanum heracleoticum* bitkisinden elde edilen Orego-Stim® isimli ürünün etkisini araştırmışlardır. Kanal yayın balıklarını (*Ictalurus punctatus*) 8 hafta süren besleme süresinden sonra, deneysel olarak *Aeromonas hydrophila* ile enfekte ederek mortalite düzeyleri saptamışlardır. Süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz aktivitesini lizozim aktivitesi ve antioksidan aktivitesini belirleyebilmek için incelemişlerdir. Sonuç olarak elde ettikleri veriler doğrultusunda çalışmalarında *Origanum* bitkisinden izole edilen karvakrol ve timol bileşenlerinin ilave edilerek yaptıkları yemle beslenen deney gruplarında *A. hydrophilia*'ya bağlı mortalitenin azaldığını, büyüme performansında belirgin bir artış sergilediğini kaslarda protein birikiminin artırarak anabolik etki yaptığı ve patojenlere karşı dayanıklılığın arttığını bildirmişlerdir.

Sarı (2016) tarafından yapılan bir çalışmada *Origanum minutiflorum* O.Schwarz Et. P.H. Davis Bitkisinin toz hali, liyofilize tozu ve uçucu yağları gökkuşağı alabalığı yemlerine farklı konsantrasyonlarda katarak 8 hafta besleme yapmıştır. Çalışmasında amaç gökkuşağı alabalıklarında *Origanum minutiflorum* O.Schwarz Et. P.H. Davis bitkisinin antioksidan ve nonspesifik immun sistem üzerine etkilerini belirlemektir. Nonspesifik immun sisteme yönelik *Origanum minutiflorum* etkilerini değerlendirebilmek için deney sonunda respiratory burst, fagositik ve lizozim aktivitelerini incelemiş ayrıca balıkların canlı ağırlık artışını takip etmiştir. Karaciğer örneklerinde süperoksit dismutaz, malondialdehit düzeyleri, glutatyon-peroksidaz, glutatyon S-transferaz ve katalaz enzim aktivitelerini *Origanum minutiflorum*'un antioksidan aktivitenin değerlendirilmesi incelemiştir. Nonspesifik immun sisteme ait parametrelerden en yüksek etkinliği 1000 mg kg⁻¹ oranında uçucu yağların ikame edildiği yem gruplarında tespit etmiştir. Liyofilize ekstraktı 500 ve 1000 mg kg⁻¹ oranlarında içeren yem grupları ile beslenen balıklarda respiratory burst aktivitesi ve fagositik aktivite artışını değişken düzeylerde olduğunu tespit etmiştir. Toz hali, liyofilize tozu ve uçucu yağları ile balık yemlerine değişik oranlarda ilave edilen *Origanum minutiflorum* balıklarda canlı ağırlığına etkide artış göstermesinin istatistiksel olarak gruplar arası artışın önemsiz olduğunu belirlemiştir. Endemik bir bitki türü olan *Origanum minutiflorum*'un liyofilize ekstraktlarının ve özellikle uçucu yağlarının doza bağlı değişken derecede gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) üzerine elde ettikleri verilere dayanarak nonspesifik immun sisteme yönelik ve antioksidan etkinlik açısından önemli düzeyde olduğunu tespit etmiştir.

2.10. *Origanum* sp. Yağları ile Yapılan Antimikrobiyal Çalışmalar

Su ürünleri üretiminde en yüksek verimin minimum zamanda eldesini temel hedef olarak belirlerken balık sağlığının korunmasını da ön planda tutmaktadır. Antibiyotiklerden gelişimi artırıcı olanların kullanımının yasaklanmasından sonra hastalıklardan korunmak, immunostimülan etki oluşturmak ve yemden yararlanma oranını artırmak amacıyla bitkilerin çiçek, kök ve yaprak gibi kısımları ile bunlardan elde edilen uçucu yağların ya da ekstraktın yem içerisinde kullanımları önem kazanmıştır (Zheng vd. 2009). Bu kapsamda balıklarda potansiyel olarak kullanılacak olan bitkiler önem arzeden çalışma konusu haline gelmiştir. Bitki ekstraktları ve yağları immun sistemi güçlendirerek canlıların hastalıklara karşı korunması amaçlanmıştır. Yüksek düzeyde uçucu yağ içeren *Origanum* türlerinin

antibakteriyel etki gösteren başta karvakrol ve timol ile p-cymen, γ -terpinen gibi çok sayıda aktif metabolitleri bulundurmaktadır (Karousou ve Kokkini, 2003). İçermiş olduğu bu bileşenler ile antimikrobiyal çalışmalara konu olmuştur.

Tagnaout vd. (2023) yaptıkları çalışmada *Origanum elongatum*'un toprak üstü kısımlarından ekstrakte ettikleri uçucu yağın kimyasal bileşiminin profile, antioksidan, antibakteriyel ve insektisidal aktivitelerini değerlendirmişlerdir. *Origanum elongatum* yağının kütle spektrometresi (GC/MS) ile birleştirilmiş gaz kromatografisi, bileşenlerinin %99,08'ini oluşturan toplam 27 bileşen belirlemiştir. Bu bileşenlerden %57,32 oranı ile Karvakrol'un ana bileşen olduğunu ve bunu %14,70 ile p-simen'nin ve %9,84 ile γ -terpinen) izlediğini bildirmişlerdir. Disk ve seyreltme yöntemleri ile *S. aureus*, *Serratia fonticola*, *Enterococcus faecalis*, *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella oxytoca*, duyarlı *Klebsiella pneumonia*, duyarlı *E.coli*, dirançlı *E.coli* ve *Enterobacter aerogenes* gibi hastanede yatan hastalardan izole edilen dokuz patojenik bakteri üzerinde in vitro antibakteriyel testler gerçekleştirmişlerdir. *Origanum elongatum* esansiyel yağı minimum inhibitör konsantrasyonlarla (MIC) önemli bir antibakteriyel aktiviteler gösterdiğini bildirmişlerdir. MIC = 32 μ L/mL oranında *Staphylococcus aureus* için belirlenirken bu tür hariç diğer tüm suşlara karşı 2 ile 8 μ L/ mL oranında belirlemiştir. Böcek öldürücü aktivite ile ilgili olarak ise LD50 = 17 $\pm$ 0,53 μ L/L 24 saatlik hava maruz kalma ile olduğunu sonuç itibari ile doğal bir antioksidan, antibiyotik ve biyopestisit olarak kullanılabileceğini bildirmişlerdir.

Nazıroğlu vd. (2022) yapmış oldukları çalışmada amacı, *Origanum onites*, ve *Mentha spicata* subs. *tomentosa* iki farklı aromatik bitkinin uçucu yağlarını ve bunların nanoemülsiyon formülasyonlarını balık patojeni *A. veronii*, *P. aeruginosa*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Yersinia ruckeri*, *Vibrio alginolyticus* L. *garvieae* olmak üzere altı farklı bakteriye karşı antimikrobiyal aktivitelerini belirlemeyi amaçlamışlardır. *Mentha spicata* subs. *tomentosa* uçucu yağının ana bileşenleri %25,01 oranıyla piperitone, %19,53 oranıyla okaliptol (1,8-cineole), %14,50 ini pulegone, ve %10,98 piperitenone olarak belirlerken, *Origanum onites* uçucu yağının ana bileşen oranını %46,17 karvakrol ve %13,05 p-cymene, oranında tespit etmişlerdir. Agar disk difüzyon yöntemi aracılığıyla *Origanum onites* ile *Mentha spicata* subs. *tomentosa* uçucu yağlarının ve bunların nanoemülsiyonlarının antibakteriyel etkilerini belirlemiştir. *Origanum onites* uçucu yağının nanoemülsiyonlarının pozitif kontrol olarak kullandıkları enrofloksasine göre Gram-negatif bakteri olan *Aeromonas veronii* üzerine son derece etkili olduğunu tespit etmişlerdir. Ayrıca nanoemülsiyonların esansiyel yağdan antibakteriyel aktivite bakımından daha etkili olduğunu belirlemiştir. *Mentha spicata* subs. *tomentosa* uçucu yağlarının ve bunun nanoemülsiyonlarının balık patojenlerine karşı düşük etkiye sahip olduğunu bunun yanında *L. garvieae* ve *A. veronii* balık patojenleri üzerinde antibakteriyel aktivite göstermediğini bildirmişlerdir. Sonuç itibari ile çalışmalarında antibakteriyel aktivitede *Origanum onites*'i daha etkin bulmuşlardır.

Klüga vd. (2017) Balıktan izole edilen bakteriyel mikrofloraya karşı *Origanum vulgare* L., *Melissa officinalis* L., *Mentha piperita* L., ve *Malva mauritiana* antibakteriyel aktivitesi başlıklı çalışmalarında, bitkilerin balık mikroflorasına karşı antibakteriyel aktivitesini tespit etmeyi amaçlamışlardır. Bu kapsamda 6 bitki türünü Slovakya'nın yerel ortamlarından toplamışlar ve 4 etanolik ekstrakt yapmışlardır. Ekstrakt olarak *Origanum vulgare* L., *Melissa officinalis* L., *Mentha piperita* L., ve *Malva mauritiana*'yı bakteriyel mikrofloraya karşı antibakteriyel aktivite açısından

kullanmışlardır. Bakteriyel suş olarak, karabaş (*Alburnus alburnus*) ve kızılkanattan (*Scardinius erythrophthalmus*) izole edile Letonya menşeli suşlarını tercih etmişlerdir. Matris Destekli Lazer Desorpsiyon İyonizasyonu – Uçuş Süresi Kütle Spektrometresi (MALDI-TOF MS) ile tüm bakteri suşlarını tanımlamışlardır. Balık mikroflorası arasında *Enterobacter cloacae*, *Acinetobacter baumannii*, *A. pittii*, *Buttiauxella agrestis*, *Delftia acidovorans*, *Serratia liquefaciens*, *Providencia rettgeri*, *Pseudomonas alcaligenes*, *Ps. oryzihabitans*, *Staphylococcus epidermidis*, *St. caprae*, *Pantoea aglomerans*, *Rahnella aquatilis*, *Lelliottia amnigena* ve *E. coli* tespitini gerçekleştirmişlerdir. Antibakteriyel aktivitesi için kullanmış oldukları tüm bitki ekstraktlarının, test edilen bakterilere karşı farklı derecelerde antimikrobiyal aktivite gösterdiğini belirlemişlerdir. Çalışmada kullanılan tüm bakteri suşlarının uygulanan tüm ekstraktlara karşı orta derecede duyarlı olduklarını tespit etmişlerdir. *Malva mauritiana* ve *Melissa officinalis* L.'nin *Pseudomonas oryzihabitans*'a ($6,67 \pm 1,53$ karşılık $9,67 \pm 0,58$ mm) karşı en güçlü antimikrobiyal etkisini bulmuşlardır. *Mentha piperita* L.'nin en iyi antimikrobiyal aktivitesi *Staphylococcus epidermis*'e ($7,33 \pm 0,58$ mm) ve *Origanum vulgare* L.'nin en güçlü antimikrobiyal etkisi *Enterobacter cloacae* ve *Serratia liquefaciens* ($9,67 \pm 0,58$ mm) bakteri suşlarına karşı aynı olduğunu tespit etmişlerdir.

Sözmen vd. (2012) yaptıkları çalışmada endemik *Origanum bilgeri* P.H.Davis uçucu yağını iki farklı yöntemle çıkartarak yağ bileşiminin karşılaştırılmasını ve antibakteriyel aktivitesinin belirlenmesini amaçlamışlardır. Bu kapsamda *Origanum bilgeri* P.H.Davis'ten hidrodistilasyon (HD) ve solventsiz mikrodalga ekstraksiyon (SFME) olmak üzere iki farklı ekstraksiyon yöntemi ile uçucu yağını elde etmişler ve yağın antibakteriyel aktivitesi ile kimyasal bileşimi incelemişlerdir. Bu endemik *Origanum* türünün antibakteriyel aktivitesinin çok iyi olduğunu bildirmişlerdir. solventsiz mikrodalga ekstraksiyon ve hidrodistilasyon tarafından elde edilen *O. bilgeri* esansiyel yağı bileşimini GC/MS analiz etmişlerdir. Her iki yöntemle elde edilen yağların ana bileşenleri karvakrol (%90.20 – 84.30), p-simen (%3.40 – 5.85), g-terpinen (%0.47 – 1.20) ve timol (%0.69 – 1.08) olduğunu bildirmişlerdir. Solventsiz mikrodalga ekstraksiyon ile elde ettikleri yağın ekstraksiyon veriminin daha yüksek olduğunu, ayrıca daha kısa ekstraksiyon süresi ile daha yüksek aktif bileşen karvakrol içeriği gibi birçok önemli avantaj sağladığını belirlemişlerdir. Hem hidrodistilasyon hem de Solventsiz mikrodalga ekstraksiyon ile elde ettikleri yağların karvakrol açısından zengin olduğunu ve iyi bir antibakteriyel aktivite gösterdiklerini tespit etmişlerdir. En büyük inhibisyon zonlarını solventsiz mikrodalga ekstraksiyon tarafından elde edilen *O. bilgeri* esansiyel yağında gözlemlemişlerdir. Sonuç itibari ile çalışmalarında *O. bilgeri* esansiyel yağının yaygın olarak kullanılan sentetik antimikrobiyal ürünler yerine birçok gıdada bakteriyel kontaminasyona karşı önleyici olarak kullanılma potansiyeline sahip olduğunu bildirmişlerdir.

Aslın ve Yucel (2008) tarafından yürütülen çalışmada su mikrodilüsyon yöntemi ile agar kuyu difüzyon yöntemi kullanılarak *O. minutiflorum*'un uçucu yağının antimikrobiyal aktivitelerini belirlemeyi çalışmalarında amaçlamışlardır. Bu kapsamda siprofloksasin'e karşı direnci olan *Campylobacter* spp.'e üzerine test etmişlerdir. Bu uçucu yağa karşı duyarlı bakteri türleri için 7.8-800 µg/ml aralığında minimum inhibisyon konsantrasyonu (MIC) değerleri olduğunu belirlemişlerdir. Çalışmalarında elde ettikleri *O. minutiflorum* uçucu yağının, test ettikleri siprofloksasine dirençli tüm *Campylobacter* spp. karşı güçlü antimikrobiyal aktivite gösterdiğini bildirmişlerdir.

Gıda kaynaklı *Campylobacteriosis* benzeri hastalıklara karşı gıdalarda doğal bir koruyucu olarak *O. minutiflorum*'un kullanılabileceğini sonucuna varmışlardır.

Vardar Ünlü vd. (2007) tarafından yapılan Batı Akdeniz florası endemik türü olan *O. minutiflorum* (yayla kekiği) hidrodistillasyonla elde ettiği esansiyel yağın, in vitro olarak antimikrobiyal etkinliğini araştırmışlardır. Bu kapsamda disk difüzyonu ve minimum inhibisyon konsantrasyon yöntemleri kullanılarak bu yağın in vitro antimikrobiyal aktivitesini 16 bakteri ve 2 maya üzrenine etkinliğini değerlendirmişlerdir. *Origanum minutiflorum* (yayla kekiği) uçucu yağlarının, *Pseudomonas aeruginosa* dışındaki diğer tüm test edilen mikro organizmalara karşı güçlü antimikrobiyal aktivite etkinliğini tespit etmişlerdir. Ana bileşenler karvakrol ve p-simen olan *O. minutiflorum* uçucu yağlarının antibakteriyel etkisinin olduğunu ortaya koyan ilk rapor olduğuna vurgu yapmışlardır.

Dadaloğlu ve Evrendilek Akdemir (2004) tarafından yapılan bir çalışmada *O. minutiflorum* (Yayla kekiği), *Laurus nobilis* (defne), İspanyol lavanta (*Lavandula stoechas* subsp. *stoechas* L.) ve rezene (*Foeniculum vulgare* Mill.) uçucu yağlarının *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes* ve *S. aureus* üzerine etkisini belirlemişlerdir. Uçucu yağları gıda kaynaklı bu patojenlere 0 (kontrol), 5, 10, 20, 30, 40, 50 ve 80 mL mL⁻¹ dozlarında uygulandıktan sonra hayatta kalan hücre sayıları saymışlardır. Çalışma sonunda elde ettikleri veriler ile tüm uçucu yağların test ettikleri bakterilere karşı çok güçlü bir antibakteriyel aktivite sergilediğini ortaya koymuşlardır ($P < 0.05$). Gaz kromatografisi-kütle spektrofotometri analizlerinde Yayla kekiğinin (*Origanum minutiflorum*) %68,23 oranında karvakrol, defnenin (*Laurus nobilis* L.) %60,72 oranında 1,8-sineol, İspanyol lavantanın (*Lavandula stoechas* subsp. *stoechas* L.) %55,79 oranında fenkon ve rezenenin (*Foeniculum vulgare* Mill.) %85,63 oranında trans –anetol bileşenlerinde olduğunu bildirmişlerdir.

Karan vd. (2021) tarafından tarımsal bitki patojen bakterilerine karşı *Origanum bilgeri*, *Origanum onites*, *Satureja spicigera* yapraklarından elde ettikleri uçucu yağlarının antibakteriyel aktivitesini araştırdıkları çalışmada *Origanum bilgeri*'nin %70.52 oranında karvakrol, % 6.42 oranında borneol ve % 6.24 oranında p-simen içerdiğini belirlemişlerdir. Patojenlerle mücadelede günümüzde doğal ürünlere olan ilginin arttığını bildirmiştir. Çalışmalarında *Origanum bilgeri*, *Origanum onites* ve *Satureja spicigera* yapraklarının uçucu yağlarını cleverger tipi aparat kullanılarak buhar distilasyonu ile elde etmişler ve ayrıca gaz kromatografisi-kütle spektrometrisi (GC/MS) analizi ile bileşenlerini tanımlamışlardır. Uçucu yağların antimikrobiyal aktivitelerini *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* (Pst), *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (Cmm) ve *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria* (Xav) kullanarak uygulamışlardır. Kullanılan doza bağlı olarak *O. bilgeri* uçucu yağının tüm patojenler üzerinde (% 100) önemli bir etkiye sahip olduğunu tespit etmişlerdir. *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria* ve *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* bakterilerine karşı *O. onites* esansiyel yağının 7,5 µL doz ile kullanılmasının büyük bir etkiye sahip olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca 7,5 µL'lik bir dozda kullanılan *S. spicigera* esansiyel yağının *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* üzerinde inhibisyon etkisinin olduğunu belirlemişlerdir. Buna ilaveten *Satureja spicigera* uçucu yağının *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria* bakterisi üzerinde 10 µL'de %94 oranında inhibe ettiğini tespit etmişlerdir. Sonuç olarak çalışmalarında karşılık gelen uçucu yağların, tarım endüstrisi için doğal bir pestisit adayı olabileceği kanısına varmışlardır.

Yılmaz vd. (2014) tarafından yapılan bir çalışmada 34 uçucu yağdan 18 adetinin *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* üzerinde %67 ve üzerinde engelleyici etki gösterdiğini bildirmiştir. Ticari sabit yağların hiçbirinin, uçucu yağların ise tamamı antibakteriyel etki gösterdiğini bildirmiştir Aynı firmadan farklı zamanlarda temin ettikleri *S. officinalis* L.ve *R.officinalis* L. aynı uçucu yağların antibakteriyel etkileri arasında fark olduğunu belirlemişlerdir. Test edilen yağlar içerisinde *Origanum* türlerinin en etkili uçucu yağlar olduğunu ve *O. onites*'in uçucu yağı 14 fitopatogenik bakteri üzerinde 22-40 mm'lik bir inhibisyon bölgesi oluşturduğunu tespit etmişlerdir. *O. onites* ekstraktının da *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* ve *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria* patojenleri üzerinde daha etkili olduğu ve hastalık şiddetini azalttığı bildirmişlerdir.

Sözmen vd. (2011) tarafından yapılan *Origanum saccatum* P.H. Davis esansiyel yağının antibakteriyel aktivitesi ve kimyasal bileşenleri başlıklı çalışmalarında solventsiz mikrodalga ekstraksiyon (SFME) ve hidrodistilasyon (HD) ile elde ettikleri endemik *Origanum saccatum* P.H. Davis, GC/MS kullanılarak tanımlamışlardır. *O. saccatum*'dan sırasıyla SFME ve HD ile elde edilen her iki esansiyel yağında ana bileşenlerini p-simen (%72.5 ve %70.6), timol (%9.32 ve %8,11) ve karvakrol (%7,18 ve %6,36) olarak belirlemişlerdir. SFME ve HD ile elde edilen EO'ların antibakteriyel aktiviteleri disk difüzyon yöntemi ile karşılaştırılarak değerlendirmişlerdir. Farklı bakteri türleri üzerine SFME ile ekstrakte edilen esansiyel yağın antibakteriyel aktivitesinin test edilen yedi bakteriye karşı HD ile ekstrakte edilen esansiyel yağın aktivitesinden daha etkili olduğunu bildirmişlerdir.

Özcan ve Chalchat (2009) tarafından yapılan çalışmada *Origanum saccatum* uçucu yağının antimikrobiyal aktivitesini belirleyebilmek için *Bacillus cereus*, *S. aureus*, *B. subtilis*, *E. coli*, *Aspergillus parasiticus*, *A. niger*, *Alternaria alternata*, *Fusarium oxysporum* ve *Botrytis cinerea* olmak üzere toplamda 9 mikroorganizma üzerinde agar disk difüzyon yöntemi kullanarak çalışmışlardır. *Origanum saccatum* uçucu yağının *Staphylococcus aureus* ve *Escherichia coli* üzerinde etkili olduğunu tespit etmişlerdir. *Bacillus subtilis* ve *Bacillus aureus* 100 ppm oranı haricinde *Origanum saccatum* uçucu yağının tüm mikroorganizmaların büyümesi üzerinde değişen seviyelerde antimikrobiyal etki gösterdiğini tespit etmişlerdir. Çalışma sonucunda elde ettikleri veriler doğrultusunda konsantrasyon derecesine bağlı olarak antimikrobiyal aktivitenin arttığını en yüksek duyarlı bakterilerde *Staphylococcus aureus* ve *Escherichia coli* olduğunu tespit etmişlerdir.

Ekici vd. (2011) tarafından su ürünleri alanında balıklardan izole edilen *Y. ruckeri*, *A. hydrophila*, *F. psychrophilum*, *Vibrio anguillarum*, *V. alginolyticus* ve *L. garviae* patojenlerine karşı kekik (*Origanum vulgare*), biberiye (*Rosmarinus officinalis*), melisa (*Melis oleum*), karabaş (*Lavandulae romanae oleum*) ve zencefil (*Zingiber officinale*) gibi bazı bitkisel uçucu yağların antibakteriyel aktivitesini araştırmışlardır. Çalışma kapsamında antibakteriyel aktiviteyi belirlemek için bakterilere hazırladıkları agar besiyerine 3 mm çukurlar açarak 25 µL metanolle seyrelttikleri solüsyonlardan eklemişlerdir. Kontrol grubuna ise sadece metanol ekleyerek zon çaplarını ölçmüşlerdir. Araştırdıkları çalışmalarında *O. vulgare*'nin bakteriyel hastalıklara karşı doğal tedavi edici özelliği ile antibiyotiklere alternatif olarak tercih edilebilecek potansiyeli olduğunu ve bakteriyel balık patojenleri üzerine antibakteriyel aktivitesinin olduğu belirlemişlerdir. Çalışma verilerinin sonucu olarak

kekik (*O. vulgaris*) ve melisa (*Melis oleum*) yağlarının diğer yağ denemelerinden daha fazla antimikrobiyal etki gösterdiğini özellikle *Origanum vulgaris* yağının geniş spektrumlu bir özellikte antimikrobiyal etkiye sahip olduğunu bildirmişlerdir.

Ökmen vd. (2012) tarafından yapılan bir çalışmada gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) dan toplamda 18 *Aeromonas salmonicida* izole ettiklerini etmişlerdir. Bunlar üzerine in vivo ve in vitro koşullarda Lamiaceae Türlerinin (*O. vulgare* sp. Hirtum, *O. onites*, *Thymbra spicata* var.*intricata* ve *Satureja thymbra*) antimikrobiyal etkisini çalışmışlar ve penisilin, trimetoprim ve basitrasine antibiyotiklerine karşı tüm suşları %100 dirençli olarak bulmuşlardır. Ayrıca 18 suşun 17 tanesinde *O. vulgare* sp. *hirtum* ,*O. onites* ve *Thymbra spicata* var.*intricata* ve *Satureja thymbra* yağları yüksek ve inhibisyon zonları göstermiş ve bu zonlar sırasıyla 14-25, 12-26, 10-30 ve 10-33 mm arasında değişkenlik gösterdiğini bildirmişlerdir. *A.salmonicida* FC84 suşunda hiçbir etki olmazken, *Origanum* esansiyel yağlarına en duyarlı bakteri *A.salmonicida* FC29 suşu ve en etkili esansiyel yağ ise *Satureja thymbra* olarak tespit etmişlerdir. MIC değerini 800 µg µL⁻¹ olarak belirledikleri uçucu yağın 400, 200, 100 µg µL⁻¹ oranlarındaki farklı dilüsyonlarının deney balıklarına enjeksiyonun toksik etkiye ve toplam ölüme neden olduğunu bildirmişler. Sonuç itibari ile antibiyotik yerine kullanılamayacağını düşük dozlarının bağışıklık uyarıcı olabileceğini bildirmişlerdir.

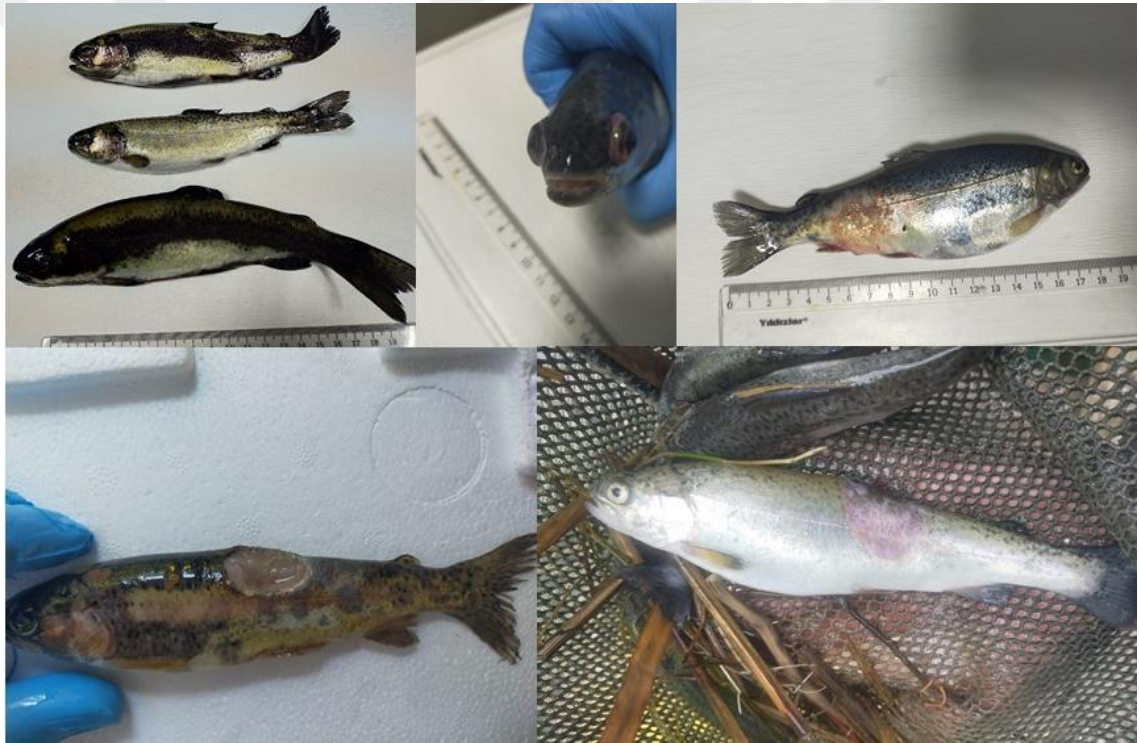
3.1. Materyal

Tez çalışması Batı Akdeniz Bölgesi'nde Antalya, Burdur, Isparta illerinde faaliyet gösteren gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum 1792) bulunduran işletmeler vasıtasıyla yürütülmüştür (Şekil 3.1). Çalışmada her ilden 2 işletme olacak şekilde 6 işletme kullanılmıştır. İşletme tarafından ıskartaya çıkarılan yeni ölü balıkların bakteriyolojik ve moleküler olarak çalışılması ise Akdeniz Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Araştırma Laboratuvarlarında sürdürülmüştür.



3.1.2. Balık materyali

Çalışmada araştırma materyali eldesi için kullanılan gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum 1792) Batı Akdeniz Bölgesi sınırları içinde Antalya, Isparta, Burdur İl'lerinde faaliyet gösteren gökkuşağı alabalığı (*O. mykiss*) bulunduran işletmelerden Mart 2021-2023 yılları arasında temin edilmiştir. İşletmelerde bulunan balıklarda gözlerde egzozalmus, renkte koyulaşma ve kısım kısım hemoraji ile yara olan, yüzgeçlerde erime, karında şişlik gibi bulgular göstererek yeni ölü gökkuşağı alabalıkları örnekleme için araştırma materyali olarak alınmıştır. Çalışma süresince $22,98 \pm 3,35$ cm boy ve $154,06 \pm 48,52$ g ağırlıkta toplamda 108 adet gökkuşağı alabalığı balık materyali olarak kullanılmıştır. İşletmelerden alınan balık örnekleri buz koyulan strafor ile ayrı ayrı poşetlenerek soğuk zincirle materyal olarak kullanılmak üzere Akdeniz Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Araştırma Laboratuvarı'na hızlıca getirilmiştir. İşletmelerden alınan gökkuşağı alabalığı (*O. mykiss* Walbaum 1792) materyali Şekil 3.2'de verilmiştir.



Şekil 3.2. Çalışmada kullanılan enfekte olmuş gökkuşağı alabalığı (*O. mykiss*) materyali

3.1.3. Balık örnekleme yapılan çiftliklerdeki su parametreleri

Çalışma kapsamında gökkuşağı alabalığı (*O. mykiss*) çiftliklerinde balıkların bulunduğu su ortamının sıcaklık, çözünmüş oksijen, pH gibi su kalite parametrelerine ait ölçümler AZ 84051 model combo su kalite ölçüm cihazı ve SmartOxy tecnos marka cihazı ile havuz giriş ve çıkışlarından gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.3).



Şekil 3.3. Gökkuşığı alabalığı (*O. mykiss*) **a)** havuz giriş ve **b)** havuz çıkışlarından su kalite parametrelerinin ölçümü

3.1.4. Bitki materyali

Bu tez çalışmasında antimikrobiyal aktivitenin belirlenmesi amacıyla *Origanum* örnekleri Prof. Dr. Ahmet AKSOY ile birlikte ağustos 2021 yılında Antalya İl sınırları içerisinde toplanmıştır (Şekil 3.4). Toplanan *Origanum* örneklerinin takson, lokalite yükseklik gibi verileri Çizelge 3.1’de verilmiştir.

Çizelge 3.1. *Origanum* örneklerinin takson, lokalite yükseklik verileri

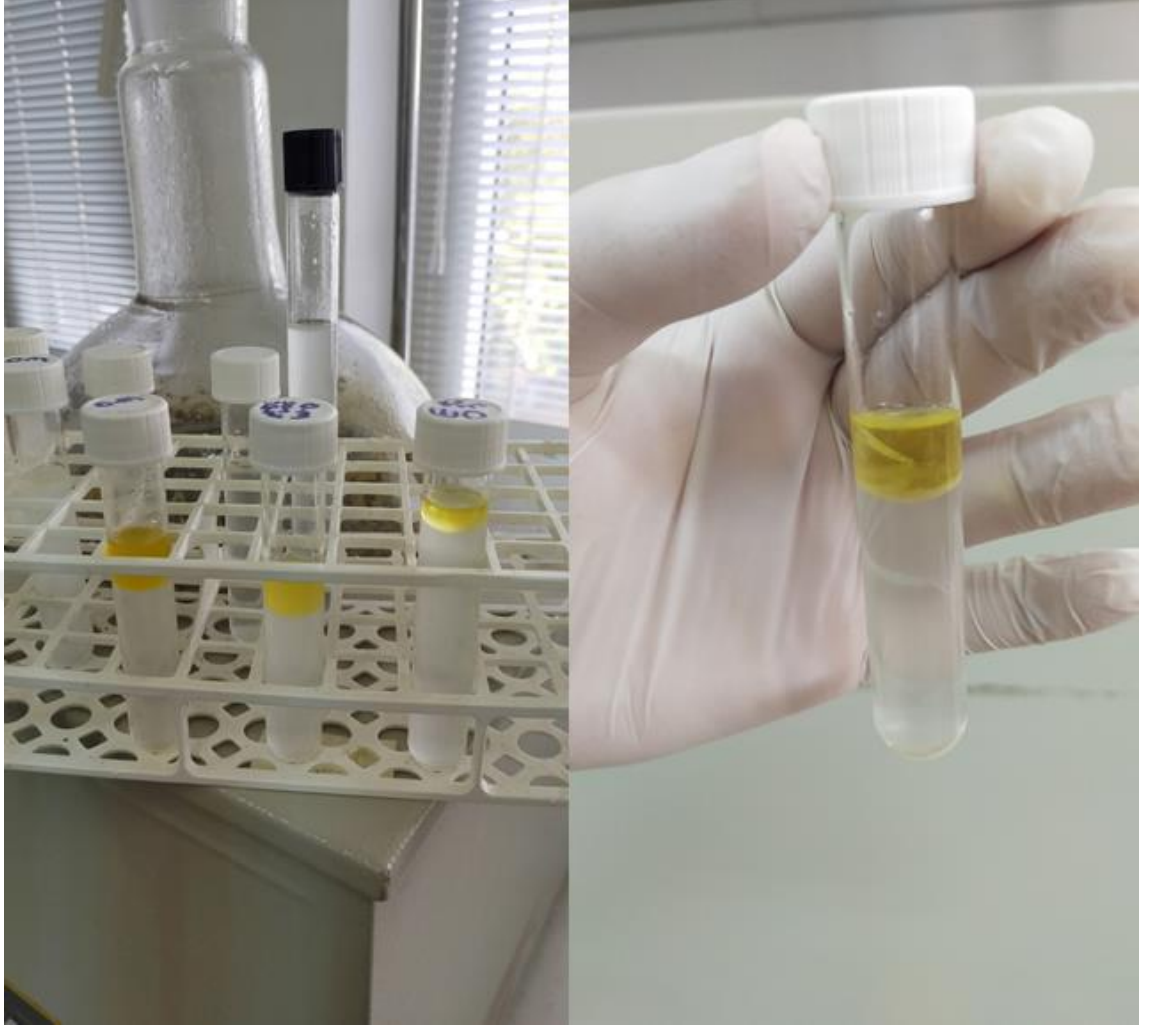
Takson	Lokalite	Yükseklik	Toplanma Tarihi	Toplayıcı No	Herb. No
<i>O. bilgeri</i>	Gündoğmuş, Pembelik köyü, Kuruca Yaylası’na gidiş, 5. km, kalker yamaç vadi içleri	1610 m.	14.08.2021	Aksoy 3228	AKDU 6285
<i>O. minutiflorum</i>	Korkuteli, Saklıkent, Kayak Tesisi yanı, kalker hareketli yamaçlar	1885 m.	14.08.2021	Aksoy 3229	AKDU 6287
<i>O. saccatum</i>	Gündoğmuş’a 5 km kala, yol kenarı kalker yamaç	837 m.	14.08.2021	Aksoy 3226	AKDU 6286



Şekil 3.4. Endemik *Origanum* türlerinin toplanması

3.1.5. Bitkisel yağ materyali

Toplanan endemik *Origanum* türleri kurutulma sonrası Akdeniz Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Laboratuvarı'nda destile edilen bitkisel yağ materyalleri izole edilen bakteri türüne antimikrobiyal etkisini belirlemede kullanılmıştır. Kullanılan *Origanum bilgeri* (Tüylü mercan), *Origanum saccatum* (Tahtacı kekiği; Bayır çayı), *Origanum minutiflorum* (Yayla kekiği) türleri yağ materyali Şekil 3. 5 'te verilmiştir.



Şekil 3.5. Endemik *Origanum* türlerinden elde edilen yağ materyalleri

3.1.6. Çalışmada kullanılan besiyerleri

Çalışmada her balıktan alınan bakteri numunelerinin rutin üretilebilmesi için besiyeri olarak Triptik Soy Agar (TSA) katı ve Triptik Soy Broth (TSB) sıvı besiyerleri kullanılmıştır. TSA’da ve TSB’de üremesi gerçekleştirilemeyen türleri üretebilmek için Mueller Hinton Agar (MHA) Katı, Kanlı Agar (KA) katı ve Nutrient Agar (NA) katı gibi değişik besiyerlerine ekimler yapılmıştır (Şekil 3. 6) (Ekici vd. 2011; Durmaz vd. 2012; Austin and Austin, 2016).



Şekil 3.6 (a-b-c-d-e). Çalışmada kullanılan besiyerlerinin tartımı, otoklav ve ekim işlemleri

3.1.7. Kullanılan kit ve kimyasal materyalleri

Çalışmada bakterilerden DNA izolasyonu için Magen HiPure Bakterial DNA Kiti (Guangdong, Çin kullanılmıştır (Şekil 3.7). Kit içeriğinde hazır bulunan tampon ve solisyonlar protokol talimatı uyarınca karıştırılarak hazırlanmıştır. Manuel DNA izolasyonu için ise hazırlanan 0,5 M EDTA (Ph: 8,0), 1M Tris (Ph: 8,0), 5 M NaCl (Sodyum Klorür), SDS (Sodyum Dodesil Sülfat) %10 (w/v) SDS (ph: 7,2) ve Proteinaz K kullanılmıştır (Şekil 3.8). Bu hazırlık aşaması sonrası DNA izolasyon için (75 mM NaCl, 25 mM EDTA, 20 mM Tris, Ph: 7,5) karıştırılarak STE (Sodium-Tris-EDTA buffer) hazırlanmıştır. PZR aşamasında SOLİS BİODYNE FİREPol DNA Polymerase, KIT kullanılmıştır.



Şekil 3.7. Magen HiPure Bacterial DNA Kit



Şekil 3.8. (a-b-c-d) EDTA, Tris, NaCl (Sodyum klorür), hazırlanışı ve pH metre ile kontrolü

3.1.8. PCR için kullanılan primerler

Bakterilerin moleküler tanımlanması için kullanılan spesifik primerler (Çizelge 3.2) ve bulundurduğu antibiyotik direnç genlerinin tanımlanması için kullanılan primerler (Çizelge 3.3) aşağıda verilmiştir.

Çizelge 3.2. PZR aşamasında kullanılan spesifik primerler

Primer İsmi	Primer Dizisi	Amplikon Büyüklüğü	Kaynak
ompTS-(F) ompTS-®	5'-GCAGTGGTTTATGACAAAGACG-3' 5'-TTAGAAGTTGTATTGCAGGGC-3'	1008 bp	Khushiramani vd. 2007; Çağatay ve Gümüş 2018
Yer8 (F) Yer10 (R)	5'-GCGAGGAGGAAGGGTTAAGTG-3' 5'-GAAGGCACCAAGGCATCTCTG-3'	575 bp	Gibello vd. 1999; Duman 2017
pLG-1 (F) pLG-2 (R)	5'-CATAACAATGAGAATCGC-3' 5'-GAGGGTGGCGGTTCT-3'	1100 bp	Duman 2017

Çizelge 3.3. Antibiyotik direnç geni tespiti için PZR aşamasında kullanılan primerler

Primer İsmi	Primer Dizisi	Amplikon Büyüklüğü	Kaynak
<i>flo(R)</i>	F.5'-TATCTCCCTGTCGTTCCAG-3' R. 5'-AGAACTCGCCGATCAATG-3'	399bp	Van vd. 2008
<i>erm(B)</i>	F.5'-GATACCGTTTACGAAATTGG-3' R. 5'-GAATCGAGACTTGAGTGTGC-3'	364bp	Chen vd. 2007
<i>erm(A)</i>	F.5'-GAAATYGGRTCAGGAAAAGG-3' R. 5'-AAAYAGYAAACCYAAAGCTC-3'	332bp	Chen vd. 2007
<i>tet(A)</i>	F.5'-GCTACATCCTGCTTGCCCTC-3' R. 5'-CATAGATCGCCGTAAGAGG-3'	210bp	Ng vd. 2001
<i>tet(E)</i>	F.5'-GTGATGATGGCACTGGTCAT-3' R 5'-CTCTGCTGTACATCGCTCTT-3'	1180 bp	Schmidt vd. 2001
<i>tet(M)</i>	F.5'-GTTAAATAGTGTCTTGAG-3' R. 5'-CTAAGATATGGCTCTAACAA-3'	657bp	Nawaz vd. 2011
<i>sul(1)</i>	F.5'-CGGCGTGGGCTACCTGAACG-3' R 5'-GCCGATCGCGTGAAGTTCCG-3'	433bp	Duman 2017
<i>sul(2)</i>	F.5'-GCGCTCAAGGCAGATGGCATT-3' R 5'-GCGTTTGATACCGGCACCCGT-3'	293bp	Duman 2017
<i>sul(3)</i>	F.5'-TCAAAGCAAAATGATATGAGC-3' R 5'-TTTCAAGGCATCTGATAAAGAC-3'	787bp	Duman 2017

3.1.9. Antibiyotik diskleri

Bakteri suşlarının tez çalışması kapsamında antibiyotiklere olan antimikrobiyal duyarlılıklarını belirleyebilmek için 5 çeşit antibiyotikli disk kullanılmıştır. Bu antibiyotik içeren Bioanalyse Antimicrobial Susceptibility Test Discs marka olan diskler; eritromisin (15 µg), florfenikol (30 µg), tetrasiklin (30 µg), sulfametaksazol (100 µg) ve sulfametaksazol-trimetoprim (25 µg) şeklindedir (Şekil 3.9) (Akşit ve Hum, 2008; Çapkın vd. 2015).



Şekil 3.9. Çalışmada kullanılan antibiyotik diskler

3.2. Metot

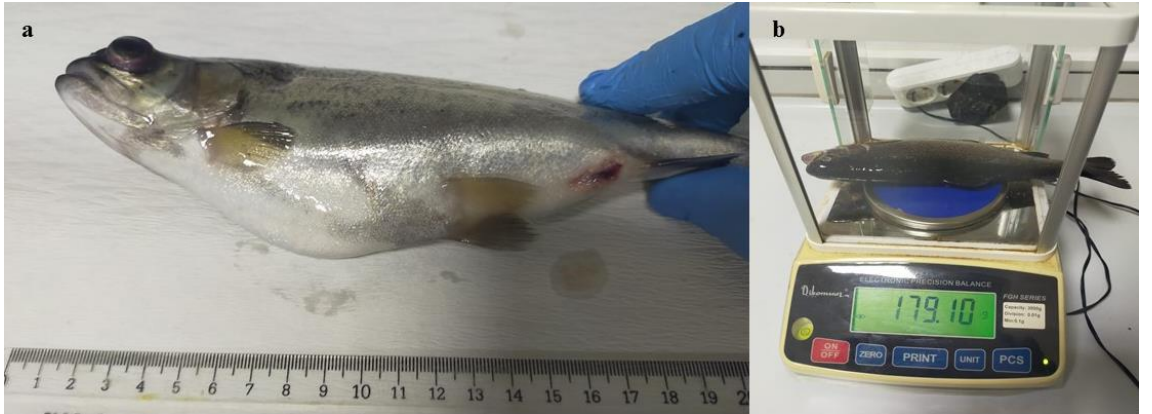
3.2.1. Örneklem için balıkların taşınması ve incelenmesi

Tez çalışması kapsamında Batı Akdeniz Bölgesi sınırları içinde Antalya, Isparta, Burdur illerinde faaliyet gösteren gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum 1792) bulunduran işletmelerden ıskartaya çıkarılan taze ölü gökkuşağı alabalığı (*O. mykiss*) temini yapılmıştır. Örneklem zamanı işletmeden alınan yeni ölü olarak ıskartaya çıkarılan gözlerde egzozfalmus, renkte koyulaşma ve kısım kısım hemoraji ile yara olan, yüzgeçlerde erime, karında şişlik gibi bulgular taşıyanlar seçilerek çalışmada kullanılmıştır. Soğuk zincirle taşınacak balıklar buz koyulan strafor ile ayrı ayrı poşetlenerek soğuk zincir şeklinde (Şekil 3.10) Akdeniz Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi Moleküler Biyoloji ve Genetik çalışmalarının gerçekleştirildiği Araştırma Laboratuvarı 9'a getirilmiştir.



Şekil 3.10. Ayrı ayrı poşetlenerek buzlu strafor ile soğuk zincir taşınan balıklar

Çalışma süresince 108 balık çalışma kapsamında kullanılmıştır. Örnekleme için getirilen balıkların milimetrik cetvel ile boyları ve Dikomsan FGH max: 3000g marka hassas terazi ile ağırlık ölçümleri gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.11).



Şekil 3.11. Balıkların **a.** Boy ve **b.** Ağırlık ölçümleri

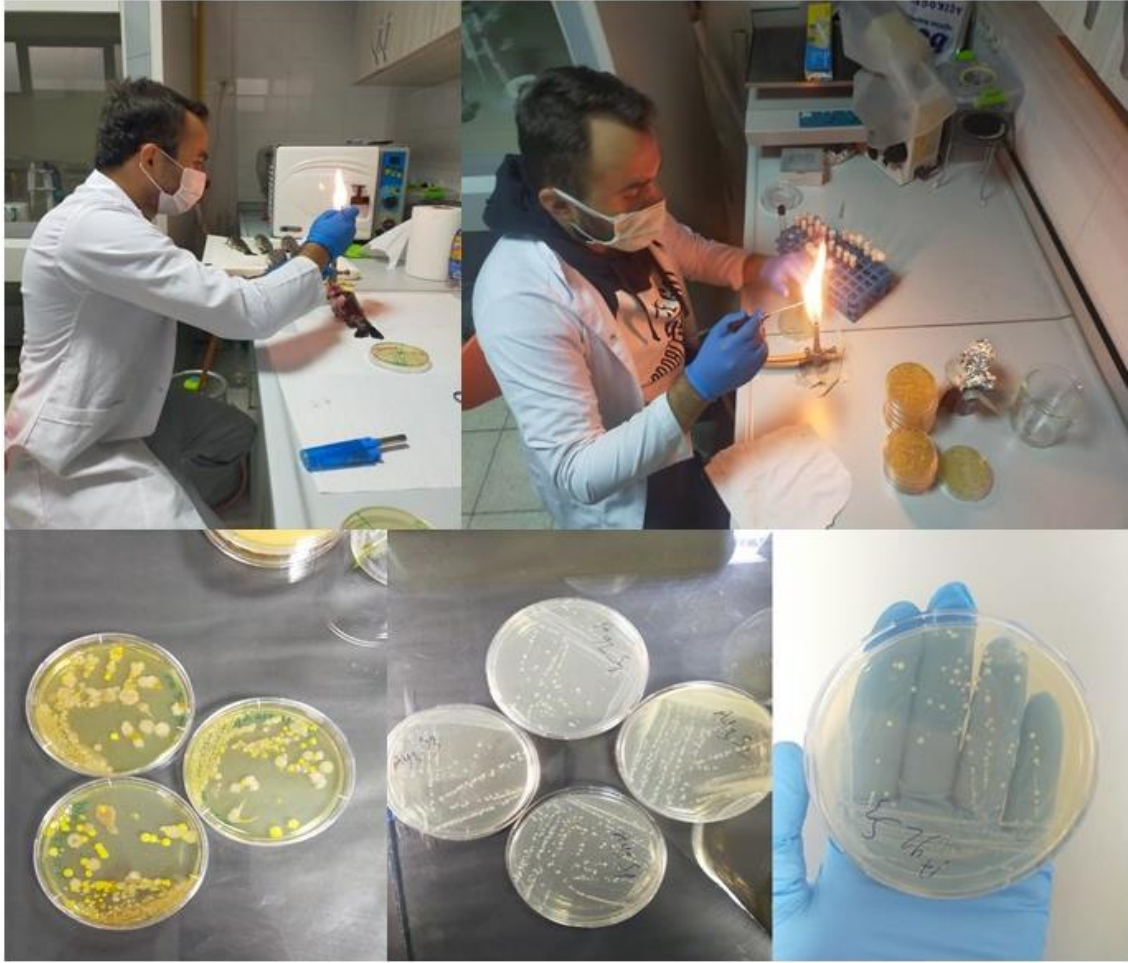
Boy ağırlık ölçümleri gerçekleştirilen balıkların boy-ağırlık ölçüm verileri excel ortamına girilerek boy ağırlık ortalamaları belirlenmiştir. Materyal eldesi için kullanılan balıklarda minimum total boyun 14,5 cm ile 29,56 g ağırlıkta olduğu maksimum total boyun 27,5 cm ile 252,99 g ağırlıkta olduğu tespit edilmiştir. Genel boy ortalaması $22,98 \pm 3,35$ ve genel ağırlık ortalaması $154,06 \pm 48,52$ olarak saptanmıştır.

Laboratuvar ortamına getirilen balıkların dış bakıları yapılırken gözlerinde ekzoftalmus, karın bölgesinde şişlik, yüzgeçlerinde erime, derilerinde peteşi ve vücutlarında yaralar gibi gözlemler yapılmıştır. Ayrıca nekropside iç organlardan; karaciğer, böbrek ve dalak benzeri hastalıktan etkilenecek organlarda meydana gelen renkte solgunluk, kanama ve karında asidik sıvı gibi gözlemlere bakılmıştır. Balık örneklerinden daha önceden hazırlanan besiyerlerine bakteri ekimi aşamasına geçilmiştir.

3.2.2. Besiyerlerin hazırlanması, bakteri örneklenmesi, izolasyonu ve üretimi

Bakterilerin örneklemesi için kullanılan besiyerleri, besiyeri kutusu üzerinde yazan rutin besiyeri hazırlama formatına göre g/L şeklinde hassas terazide broth ve ya agar besiyeri olarak toz halde tartılarak üzerine mezür aracılığıyla gerektiği oranda distile su eklenerek otoklavlanabilir kapaklı şişeler içerisine karışımı hazırlanmıştır. Hazırlanan bu besiyeri karışımı otoklav (Hirayama HV 50 ve Reverberi Matika New M9010/23/06) aracılığıyla 15 dk'da 121 °C'de steril hale getirilmiştir (Ulutaş 2022). Daha sonra aseptik koşullar altında steril olan otoklavlanmış deney tüpleri ve petrilere bek alevi dibinde katılarak bakteri ekimine hazır hale getirilerek bakteri ekimi ve üretim aşamasına geçilmiştir (Şekil 3.12).

Alabalık bulunduran tesislerinden gözlerde egzoftalmus, renkte koyulaşma ve kısım kısım hemoraji ile yara olan, yüzgeçlerde erime, karında şişlik gibi bulgular gösteren ve yeni ölü olarak ıskartaya çıkarıldıktan sonra laboratuvara uygun koşullar altında temin edilen balıklardan hazırlanan sıvı besiyeri ortamına enfekteli bölgelerden steril swap ile ekim yapılmıştır. Ayrıca öze yardımıyla katı besiyeri ortamına da ekim gerçekleştirilmiştir. $25\pm3^{\circ}\text{C}$ de 24-72 saat süre ile ekimi gerçekleştirilen bakterilerin inkübasyonu yapılmıştır (Vendrell vd. 2006). Daha sonra seri dilisyon yöntemiyle sıvı besiyerinde üretilen bakteriler katı ortamına tek koloni ekimi gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3.12. Bakteri ekimi ve üretim aşamalarının görüntüleri

İnkübasyona bırakılarak kolonilerin üremesi sağlanmış ve makroskobik olarak gözlemlenmiştir. Katı besiyer üzerinde makroskobik gözlemlene sonrası farklı morfolojik özellik gösteren bakteri kolonileri saf tür eldesi için sıvı besiyer ortamına tek tek aktarılmıştır. Tek koloni aktarılan saf tür bakteriler inkübasyon süresi sonunda steril tüplere alınarak üzerine hazırlanan %15 gliserollü besiyer eklenmiş ve tüplerde uzun süreli saklama amacıyla, dondurucuya koyulmuştur (Terzi 2013).

3.2.3. Bakteri suşlarından DNA izolasyonu

Bakteri türlerinin moleküler olarak tanımlanmasının yapılabilmesi için tek koloni olarak stoklanan bakteriler brothda yeniden üretilmiştir. Broth besiyerde üretilen bakterilerin DNA (genomik DNA) izolasyon işlemi için 1,5 mL ependorf tüpler içerisine 1000 µL alınarak 13 000 devirde 3 dk santrifüj edilerek tüp içerisine bakteriler çöktürülmüştür (Güler vd. 2018). DNA izolasyonu için yeterli pelet elde edilince manuel yöntemi ve kit ile izolasyon aşamasına geçilmiştir. Kit ile DNA izolasyonu aşamasında kitin protokolü aracılığıyla belirtilen oranda karıştırılarak hazırlanan kit solüsyonları ile prosedür basamakları takip edilerek DNA izolasyonu gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.13).



Şekil 3.13. Kit ile DNA izolasyonu

Bakterilerin DNA izolasyon için (75 mM NaCl, 25 mM EDTA, 20 mM Tris, pH: 7,5) oranlarında karıştırılarak hazırlanan STE (Sodium-Tris-EDTA buffer) solüsyonundan ve %10 (w/v) SDS (Ph: 7,2) ile proteinaz K ilavesinden yararlanılarak fenol kloroform DNA izolasyon metodu kullanılarak DNA izole edilmiştir. 1,5 mL hacme sahip ependorf tüpler içerisinde üç faza ayrılan karışımdan üst faz yeni tüpe alınarak santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası tüpün dip kısmına çöken pelet % 100 alkolle yıkanarak santrifüj edildikten sonra %70 alkolle yıkama yapılarak 37 °C’de uçurma yapılmıştır. İzole edilen pelet DNA alkolle yıkama işlemlerinden sonra 100 µL 1xTris-EDTA (1xTE) içerisinde çözdürülmüştür. Gerçekleştirilen işlemlere ait basamaklar Şekil 3.14’de verilmiştir.



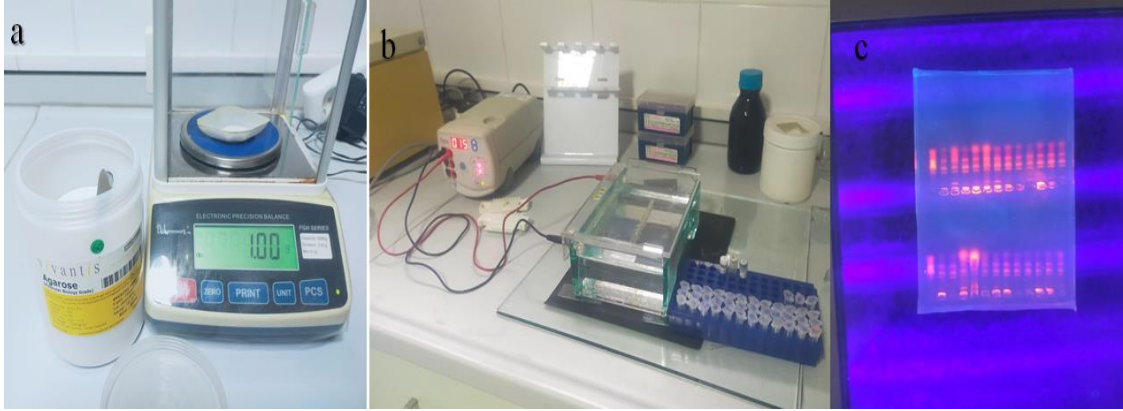
Şekil 3.14. a. Broth besiyerinde üretilen bakteri izolatu, b. 1,5 mL ependorf tüpler içerisinde santrifüj sonrası pelet oluşumu c. Tüpler içerisine hazırlanan solüsyonların ilavesi, d. Santrifüj sonrası tüp içerisinde oluşan üç faz, e. Alınan üst fazın santrifüj sonrası alkolle yıkanan peletinden alkolün uzaklaştırılması f. Peletin 100 µL TE içerisinde çözündürülmesi

3.2.4. Bakteri İzolatları DNA'sının agaroz jel elektroforezinde görüntülenmesi

İzole edilerek 100 µL TE içerisinde çözündürülen DNA'yı görüntüleyebilmek için 10XTBE tamponu (108 g Trisma base, 55 g borik asit, 40 ml 0.5 M EDTA, pH 8.3) hazırlanarak 450:50 ml (saf su: tampon) olacak şekilde 500 ml hacminde 1XTBE tamponu eldesi için seyreltilmiştir. %1'lik agaroz jel oluşturabilmek için 1 g agaroz Dikomsan FGH max: 3000g marka hassas terazi ile tartılarak, 250 ml erlen içerisine 100 ml ölçülen 1XTBE tamponu ile birlikte eklenerek mikrodalga fırında (Arçelik MD 574) eritilmiş ve yaklaşık 55 °C'ye kadar soğuması beklenmiştir. Soğutulan agarozu daha sonra etidyum bromid eklenmiştir. Jel oluşumu için elektroforez cihazı içerisine yerleştirilecek tablaya çeker ocak altında tarakları yerleştirildikten sonra, yaklaşık 55°C'ye kadar soğutulan karışım hava kabarcığı oluşturulmadan dökülerek jelin katılaşarak oluşması beklenmiştir. Tabla içerisinde oluşan agaroz jel tarakları çıkarıldıktan sonra elektroforez cihazına koyulmuş ve üzerini kaptacak ölçüde 1XTBE tamponu ile hazne doldurulmuştur. Tarakların açtığı kuyucuklar steril pipet ucu ile jel parçası kalma ihtimaline karşı hazneye koyulan 1XTBE tamponu ile yıkanmıştır.

DNA yürütme ve görüntüleme için hazırlanan jel kuyucuklarına ilk kuyucuğa marker ve sonraki kuyucuklara 4 µl DNA veya PZR sonucu elde edilen amplifikasyon ürünü ile 2 µl ladder (boyar madde) karıştırılarak ikinci kuyucuktan itibaren sıra ile yüklenmiştir. DNA marker olarak 50-1000 bp'lik marker kullanılmıştır. Kuyucuklara yapılan yükleme sonrası örnekler 80 V-100 V da 40-60 dakika yürütülmüştür. Bu süre sonunda agaroz jelde yürütülen bantların görüntülenmesi U.V. lambası altında

gerçekleştirilmiştir (Altan 2019). Elde edilen DNA EtBr içeren %1'lik agaroz jelde yürütülmüştür. Bantlar UV ışık altında görüntülenerek DNA kalitesi kontrol edilmiştir (Ishida vd. 2010) (Şekil 3.15).



Şekil 3.15. a. Agaroz jel hazırlanışı **b.** Elektroforezde DNA yürütme işlemi **c.** UV ışık altında DNA görüntüleme

3.2.5. Bakteri izolatlarının PCR ile teşhisi

Bakteri türlerinin tayini moleküler olarak da gerçekleştirilmiştir. Elde edilerek jelde kontrolü gerçekleştirilen DNA'lar için polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) yapılmıştır. PZR amplifikasyonu için steril saf su, steril PZR tüpleri ve pipet uçları otoklavlanarak hazırlanmıştır. SOLİS BİODYNE FİREPol DNA Polymerase, KIT ve içeriğindeki protokol kullanılarak BIO RAD T100 Thermal Cycler PZR cihazı kullanılarak PZR aşaması gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.21). PZR koşulunda kullanılan kitin mix karışımı Çizelge 3.4' de verilmiştir.



Şekil 3.16. a. DNA Polymerase, KIT ve **b.** Thermal Cycler ile PZR

Çizelge 3.4. PZR koşulunda kullanılan kitin mix karışım protokolü

Bileşen	Değer	Final konsantrasyonu
FİREPol DNA Polymerase (5U/ µl)	0.08-0.2 µl	0.02-0.05 U/ µl
FİREPol 10x Buffer B yada BD	2 µl	1x
25 mM MgCl ₂	1.2-2 µl	1.5-2.5 mM
dNTP Mix (20 mM herbiri)	0.2 µl	200 Mm herbiri
Forward Primer (10 µM)	0.2-0.6 µl	100-300 nM
Reverse Primer (10 µM)	0.2-0.6 µl	100-300 nM
10x Solüsyon S (optional)	2,4 yada 6 µl	1x,2x yada 3x
Template DNA (added at step 4)	Değişebilir	Değişebilir
Steril distile su	20 µl'ye tamamla	
Toplam reaksiyon değeri	20 µl	

SOLİS BİODYNE FİREPol Buffer, MgCl₂, dNTP, Solüsyon S (optional), Taq polymerase, forvert ve reverse bir primerler ile DNA ilavesi yapılarak oluşturulan PZR master mix'i kullanılarak PZR yapılmıştır. Örneklerde başlangıç denatürasyonu aşaması 92-95 °C'de 3-5 dk ve son uzama aşaması 72°C'de 7-10 dk olarak uygulanmıştır (Şekil 3.17). Bakteri identifikasyonu için *A. hydrophila*, *L. garvieae*, ve *Y. ruckeri* için türe özgü spesifik primerlerden yararlanılmıştır (Khushiramani vd. 2007; Çağatay ve Gümüş 2018; Gibello vd. 1999; Duman 2017). Bu primerler ve PZR koşulları Çizelge 3.5'de verilmiştir. Elde edilen bandlar EtBr içeren %1'lik agaroz jelde yürütülerek, UV ışık altında görüntülenmiş ve PZR bantları kontrol edilmiştir (Ishida vd. 2010).



Şekil 3.17. a. ompTS PZR koşulu b. Yer 8-10 PZR koşulu c. pLG-1-2 PZR koşulu

Çizelge 3.5. Bakteri teşhisi için kullanılan türe özgü primerler ve PZR koşullarının listesi

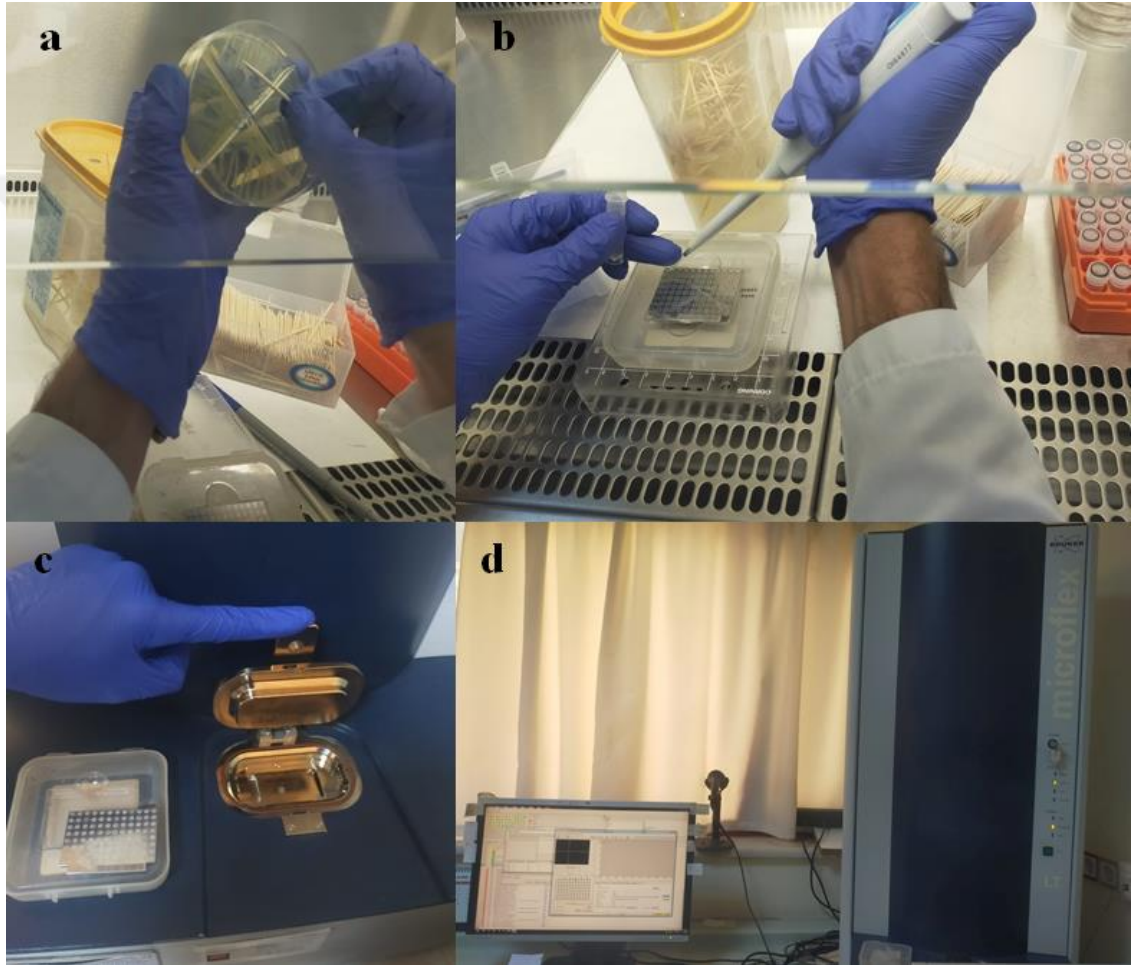
Bakteri adı	Hedef Bölge	Primer ismi	Primer dizisi	Amplikon büyüklüğü	PZR koşulları	Kaynak
<i>A. hydrophila</i>	ompTS	ompTS-f ompTS-r	5'-GCAGTGGTTTATGACAAAGACG-3' 5'-TTAGAAGTTGTATTGCAGGGC-3'	1008 bp	94°C 5dk 94°C 1.5dk 61°C 30sn 72°C 1.5dk X30 72°C 7dk	Khushiraman i vd. 2007; Çağatay ve Gümüş 2018
<i>Y. ruckeri</i>	16S-rDNA	Yer8 (F) Yer10 (R)	5'-GCGAGGAGGAAGGGTTAAGTG-3' 5'-GAAGGCACCAAGGCATCTCTG-3'	575 bp	92°C 5dk 92°C 1dk 57°C 1dk 72°C 1dk X25 72°C 5dk	Gibello vd. 1999; Duman 2017
<i>L. garvieae</i>	16S-rDNA	pLG-1 (F) pLG-2 (R)	5'-CATAACAATGAGAATCGC-3' 5'-GAGGGTGGCGTTCT-3'	1100 bp	94°C 3dk 94°C 1dk 57°C 1dk 72°C 1.5dk X30 72°C 10dk	Duman 2017

*PZR bant durumuna göre denatürasyon-bağlanma ile uzama gibi sıcaklıklarda ve döngü sayılarında modifikasyon yapılmıştır.

3.2.6. Bakteri izolatlarının Matris ile desteklenmiş lazer desorpsiyon/ iyonizasyon uçuş zamanı kütle spektrometresi (MALDI-TOF MS) yöntemi ile tanımlanması

Matris (HCCA) (α - siyano-4-hidroksisüyanik asit) maddelerinin sulandırılması için organik çözücü kullanılmıştır. Her bir sulandırma işleminde organik çözücü taze olarak hazırlanmıştır. Asetonitril (ACN), deiyonize su, trifloro asetik asit (TFA) kullanılan kimyasallardan olup 1mL'lik ependorf tüpün içerisine 475 μ l su eklenmiştir. Suyun üzerine 500 μ l ACN eklenerek elde edilen karışımın üzerine 25 μ l TFA eklenmiş ve çözelti vorteks ile karıştırılmıştır. 2-8 °C da katı halde saklanan HCCA matris maddesi hassas terazide 5 mg tartılarak kapaklı tüpe aktarıldıktan sonra üzerine hazırlanan çözeltiden 450 μ l eklenerek çözünme işlemi tamamlanana kadar vortekslenmiştir. Çözünen HCCA bir hafta kadar stabil şekilde oda sıcaklığında muhafaza edilmiştir.

Triptik soy agar besiyerinde tek koloni olarak üretilen bakteriler nümerik ve alfabetik belirteçler içeren target üzerine aseptik koşullarda yayılarak üzerine mikropipetle 1 µl formik asit damlatılarak kurutulmuştur. Bu bölümlerin kurutulmasından sonra üzerine matriks sıvısı 1 µl eklenerek oda sıcaklığında kurutulmasının ardından target MALDI-TOF MS Bruker Microflex cihazına yerleştirilerek okutulma yapılmıştır. MALDI-TOF MS Bruker Microflex cihazı ile bakteri tanımlama işlem basamakları Şekil 3.18’de verilmiştir. Bu analiz için E-84768725-604.01.01-691043 sayılı izni ile Akdeniz Üniversitesi Rektörlüğü Sağlık, Araştırma ve Uygulama Merkezi Hastane Merkez Laboratuvar Birimi kullanılarak hizmet alımı şeklinde gerçekleştirilmiştir.

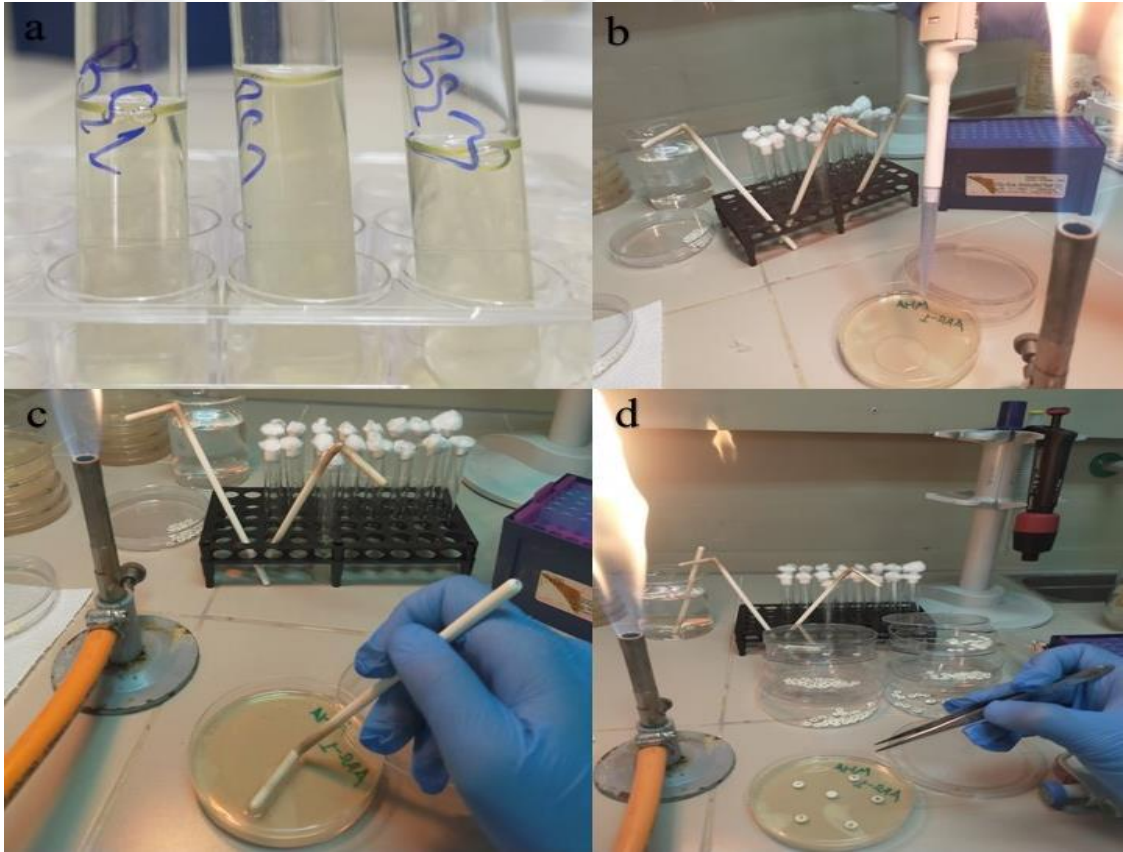


Şekil 3.18. a. Agardan target üzerine bakteri kolonisi yayma b. Targete yayılan bakteriler üzerine matriks ilavesi c. Hazırlanan alfabetik ve numerik targetin cihaza yerleştirilmesi d. Cihazın yerleştirilen targeti okuması

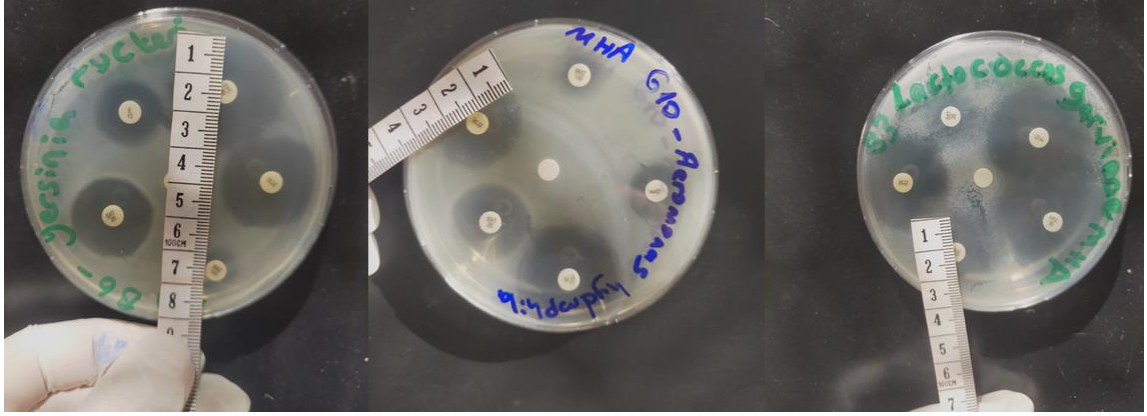
MALDI-TOF MS cihazında her bir örnek için lazer atışı yapılarak kütle spektrumları elde edilmiştir. Elde edilen kütle spektrumları MALDI-TOF MS kütüphanesiyle karşılaştırılarak tanımlaması yapılmıştır. Lazer atışları ile elde edilen kütle spektrum piklerinde hesaplanan pik skor değerleri ≥ 1.700 üzeri verilen sonuçlarda bakteri isimleri pozitif kabul edilmiştir (Tekinaslan Alem 2022).

3.2.7. Bakteri izolatlarının antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesi

Suşların antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesinde disk difüzyon yönteminden yararlanılmıştır (Öztürk vd. 2010). Bakteri izolatları uygun sıcaklıkta (25 ± 3 °C) 24 saat broth besiyerde üretilmiştir. Üretilen bakteri izolatlarının antimikrobiyal hassasiyet deneyleri Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI 2014) ölçütlerine uygun olarak mueller hinton agarda (MHA) ile gerçekleştirilmiştir (Balta 2020). Bu amaçla bakteri izolatlarının yoğunluğu 0,5 McFarland standart yoğunluğa/bulanıklığa ulaştığında standarda yakın bir kalınlıkta hazırlanan mueller hinton agara (MHA) steril mikropipet aracılığı ile 100 µl ekimi yapılarak steril drigalski spatülü yardımıyla agar bulunan petrinin her yerine yayılmıştır (Şekil 3.19). Daha sonra petrilere ticari olarak alınan eritromisin (15 µg), florfenikol (30 µg), tetrasiklin (30 µg), sulfametaksazol (100 µg) ve sulfametaksazol-trimetoprim (25 µg) içeren diskler yerleştirilerek uygun sıcaklıkta (25 ± 3 °C) mueller hinton agarda (MHA) bir gece inkubasyona bırakılmıştır (Savaşan vd. 2008). İnkübasyon sonunda antibiyotik disklerin etrafında oluşan inhibisyon zonunda meydana gelen çaplar milimetrik ölçülerek standart zon çapları ile karşılaştırılmıştır (Şekil 3.20). Analizde meydana gelebilecek olan uygulama hatalarını en aza indirebilmek için her bir test 3'er kez tekrarlanmıştır, ölçümlerde aritmetik ortalama alınmıştır (Akşit ve Kum 2008).



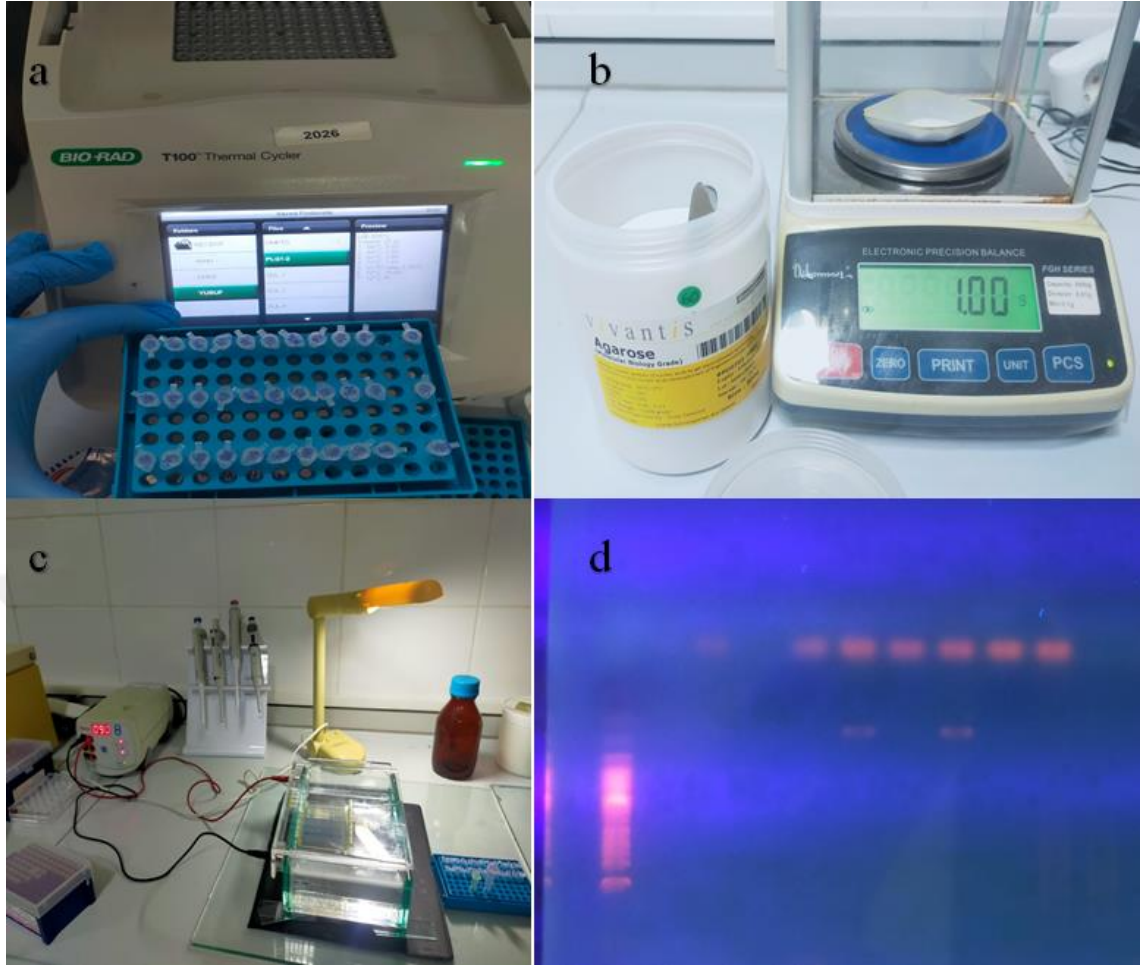
Şekil 3.19. a İzolatlarının yoğunluğu 0,5 McFarland standart yoğunluğu, b MHA'ya steril mikropipet aracılığı ile ekimi steril c. Steril drigalski spatülü yardımıyla izolatın MHA ya yayılışı, d. Ticari olarak alınan antibiyotik içeren disklerin yerleştirilmesi



Şekil 3.20. Ticari alınan antibiyotiklerin petri görünümü ve milimetrik zon ölçümleri

3.2.8. Bakterileri izolatlarının antibiyotik direnç genlerinin belirlenmesi

Antibiyotik direnç genlerinin PZR ile belirlenmesi için *ermA*, *flor*, *ermB*, *tetE*, *tetM*, *tetA*, *sulI*, *sulII* ve *sulIII* gibi gen bölgesi incelenmiştir. Direnç genlerinin PZR amplifikasyonu için steril saf su, PZR tüpü ve 1 µl, 10 µl ile 100 µl pipet uçları otoklavlanarak hazırlanmıştır. Saf su +4 derecede soğutulmuş ve buz kalıbı üzerine koyulan tüplerde PZR aşamasına geçilmiştir. SOLİS BİODYNE FİREPol Kiti ve protokolü kullanılarak FİREPol 10x Buffer B yada BD 2 µl, 25 mM MgCl₂ 1.2-2 µl, dNTP 20 mM mix 0.2 µl, forward primer (10 µM) 0.2-0.6 µl, reverse primer (10 µM) 0.2-0.6 µl, 10x Solüsyon S (optional) 2,4 yada 6 µl, FİREPol DNA Polymerase (5U/ µl) 0.08-0.2 µl, ile DNA ve steril distile su ilavesi yapılarak oluşturulan PZR master mix'i kullanılarak PZR yapılmıştır. Elde edilen bantlar EtBr içeren %1'lik agaroz jelde yürütülerek UV ışık altında görüntülenmiştir. Yapılan PZR işlem basamağı Şekil 3. 21 da verilmiştir.



Şekil 3.21. PZR işlem basamakları: **a.** PZR mix ile DNA hazırlanışı, **b.** Agoroz jel tartımı, **c.** PZR sonucu görüntüleme için sonuçların elektroforezde yürütülmesi, **d.** UV ışığında antibiyotik direnç bantlarının görüntülenmesi.

Örneklerde PZR başlangıç denatürasyonu aşaması 94-95°C’de 4-5 dk ve son uzama aşaması 72°C’de 7-10 dk olarak uygulanmıştır (Şekil 3.22). PZR döngü koşulları ise Çizelge 3.6’da primer dizileri ile birlikte verilmiştir.



Şekil 3.22. PZR koşulları a. *flo(R)*, b. *erm(A)* c. *erm(B)*, d. *tet(A)* e. *tet(E)* f. *tet(M)* g. *sul(1)* h. *sul(2)* i. *sul(3)*

Çizelge 3.6. Direnç genlerinin belirlenmesinde kullanılan primerler ve PZR koşulları

Primer ismi	Primer dizisi	Amplikon büyüklüğü	PZR koşulları	Kaynak
<i>flo(R)</i>	F. 5'-TATCTCCCTGTCGTTCCAG-3' R. 5'-AGAACTCGCCGATCAATG-3'	399bp	94°C 4 dk 94°C 30sn 56°C 30sn 72°C 1dk X30 72°C 7dk	Van vd. 2008
<i>erm(B)</i>	F. 5'-GATACCGTTTACGAAATTGG-3' R. 5'-GAATCGAGACTTGAGTGTGC-3'	364bp	94°C 4 dk 94°C 30sn 58°C 30sn 72°C 1dk X30 72°C 7dk	Chen vd. 2007
<i>erm(A)</i>	F. 5'-GAAATYGGRTCAGGAAAAGG-3' R. 5'-AAYAGYAAACCYAAAGCTC-3'	332bp	94°C 4 dk 94°C 30sn 58°C 30sn 72°C 1dk X30 72°C 7dk	Chen vd. 2007
<i>tet(A)</i>	F. 5'-GCTACATCCTGCTTGCTTC-3' R. 5'-CATAGATCGCGTGAAGAGG-3'	210bp	94°C 5dk 94°C 1dk 55°C 1dk 72°C 1,5dk X30 72°C 10dk	Ng vd. 2001
<i>tet(E)</i>	F. 5'-GTGATGATGGCACTGGTCAT-3' R. 5'-CTCTGCTGTACATCGCTCTT-3'	1180 bp	95°C 5 dk 95°C 30sn 62°C 30sn 72°C 45sn X25 72°C 7dk	Schmidt vd. 2001
<i>tet(M)</i>	F. 5'-GTAAATAGTGTCTTGGAG-3' R. 5'-CTAAGATATGGCTCTAACAA-3'	657bp	95°C 5 dk 55°C 45sn X30 72°C 1dk 72°C 7dk	Nawaz vd. 2011
<i>sul(1)</i>	F. 5'-CGGCGTGGGCTACCTGAACG-3' R. 5'-GCCGATCGCGTGAAGTTCCG-3'	433bp	94°C 5 dk 94°C 30sn 60°C 30sn 72°C 1dk X30 72 °C 7dk	Duman 2017
<i>sul(2)</i>	F. 5'-GCGCTCAAGGCAGATGGCATT-3' R. 5'-GCGTTGATACCGGACCCCGT-3'	293bp	94°C 4 dk 94°C 30sn 55°C 30sn 72°C 1dk X30 72°C 7dk	Duman 2017
<i>sul(3)</i>	F. 5'-TCAAAGCAAAATGATATGAGC-3' R. 5'-TTTCAAGGCATCTGATAAAGAC-3'	787bp	94°C 4 dk 94°C 30sn 55°C 30sn 72°C 1dk X30 72°C 7dk	Duman 2017

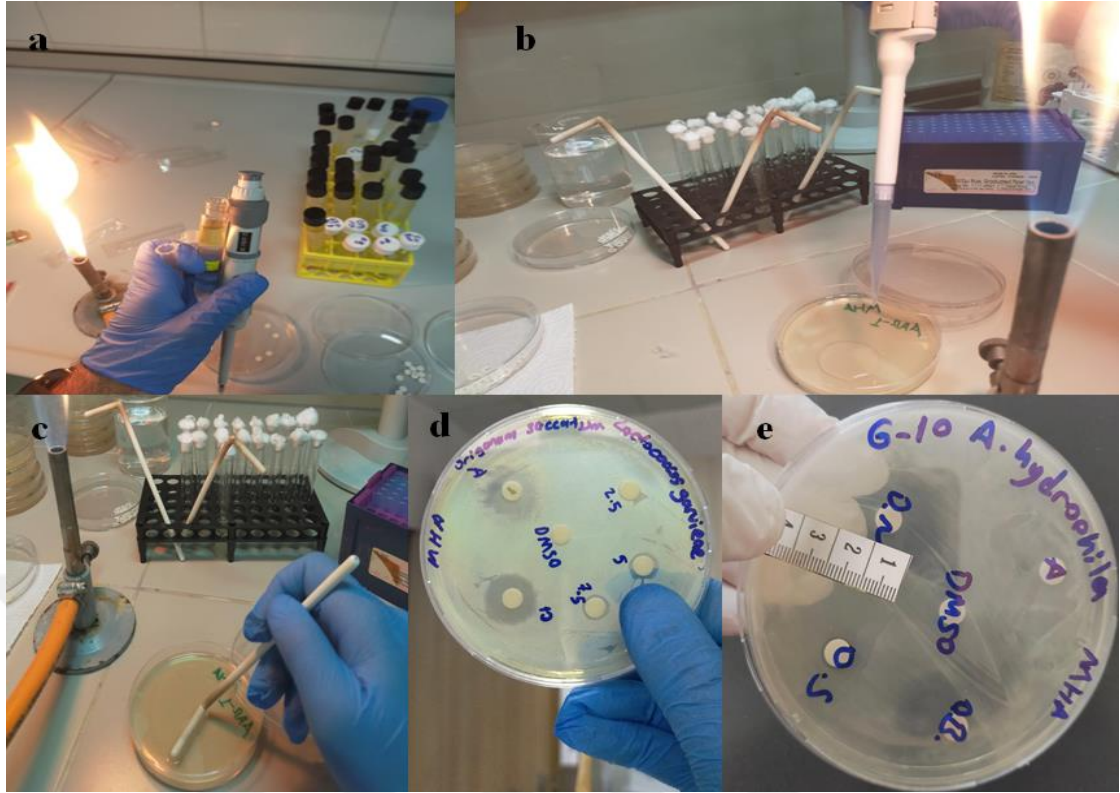
*PZR bant durumuna göre denatürasyon-bağlanma ile uzama sacılıklarında ve döngü sayılarında modifikasyon yapılmıştır.

3.2.9. Disk difüzyon yöntemi ile bitkisel yağların antimikrobiyal etkisinin belirlenmesi

Toplanan bitki örneklerinden Akdeniz Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Laboratuvarında hidrodistilasyon yöntemi ile clevenger aparatı kullanılarak, destilasyona tabi tutulmasıyla uçucu yağlar elde edilmiştir (Çetin ve Yanık 2006). Uçucu yağ bileşenleri gaz kromatografi cihazı (GC:MS) ile Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü (BATEM)'de analiz ettirilmiştir (Koç vd. 2013). Bitkisel yağların bakteri suşlarına karşı olan antibakteriyel etkisi disk difüzyon metodu kullanılarak tespit edilmiştir.

Yağlar, belirli konsantrasyonda DMSO (dimetil sülfoksit solüsyonu) ile seyreltilerek homojenize edilmiştir. Pozitif kontrol grubunda, standart olarak kullanılan hazır antibiyotik disklerden, negatif kontrol grubunda ise DMSO kullanılmıştır. Daha sonra bu konsantrasyonlar 6 mm çapında steril disklerle 2.5, 5, 7.5, 10 µl olarak emdirilmiştir.

Bakteri izolatları uygun sıcaklıkta (25 ± 3 °C) 24 saat TSB'de üretilmiştir. Üretilen bakteri izolatlarının antimikrobiyal hassasiyet deneyleri Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2014) ölçütlerine uygun olarak mueller hinton agarda (MHA) ile gerçekleştirilmiştir (Balta 2020). Bu amaçla bakteri izolatlarının yoğunluğu 0,5 McFarland standart yoğunluğa/bulanıklığa ulaştığında standarda yakın bir kalınlıkta hazırlanan mueller hinton agara (MHA) steril mikropipet aracılığı ile 100 µl ekimi yapılarak steril drigalski spatülü yardımıyla agar bulunan petrinin her yerine yayılmıştır. Daha sonra değişik konsantrasyonlarda 6 mm çapında steril disklerle emdirilen *Origanum bilgeri* (Tüylü mercan), *Origanum saccatum* (Tahtacı kekiği; Bayır çayı), *Origanum minutiflorum* (Yayla kekiği) yağlarına ait diskler yerleştirilmiştir. Ekimden yaklaşık 20 dk sonra besiyerleri üzerine diskler hafifçe bastırılarak yerleştirilmiştir. Bu aşamadan sonra bakteri izolatları uygun sıcaklıkta (25 ± 3 °C) bir gece inkübasyona bırakılmıştır (Diler vd. 2017). İnkübasyon sonunda disklerin etrafında oluşan inhibisyon zon çapları antibakteriyel özelliği belirtmek milimetrik olarak ölçümler alınmıştır (Bulut vd. 2009). Değerlendirmede ortaya çıkabilecek olan uygulama hatalarını en aza indirebilmek için her bir test 3'er kez tekrarlanmıştır, değerlerin aritmetik ortalaması alınmıştır (Akşit ve Kum 2008; Diler vd. 2017) (Şekil 3.23).



Şekil 3.23. a. Yağların disklere emdirilişi, b MHA'ya steril mikropipet aracılığı ile ekimi bakteri ekimi c. Steril drigalski spatülü yardımıyla bakterinin MHA ya yayılışı, d. Yağ zonları, e. Yağların zon çapının milimetrik ölçülmesi

3.2.10. Bitki materyalinin teşhisi

Tez çalışması kapsamında toplanan endemik *Origanum* bitki türlerine ait örnekler Akdeniz Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Botanik Laboratuvarı'nda Stereomikroskop (Leica EZ4HD) kullanılarak teşhis edilmiştir. Bitkilerin teşhisi sırasında “Türkiye ve Doğu Ege Adaları'nın Florası” kitabından (Ietswaart 1982) ve taksonların Türkçe isimleri için Sadıkoğlu (2012)'dan faydalanılmıştır. Teşhis edilen bitki materyaline ait örnekler Akdeniz Üniversitesi Fen Fakültesi Herbaryumu (AKDU)'nda muhafaza edilmektedir. Toplanan taksonlara ait morfolojik özellikler aşağıda verilmiştir.

***Origanum bilgeri* P.H.Davis, Kew Bull. 4: 406 (1949) / Tüylü mercan, Türk. Bitkileri List. s. 568 (2012)**

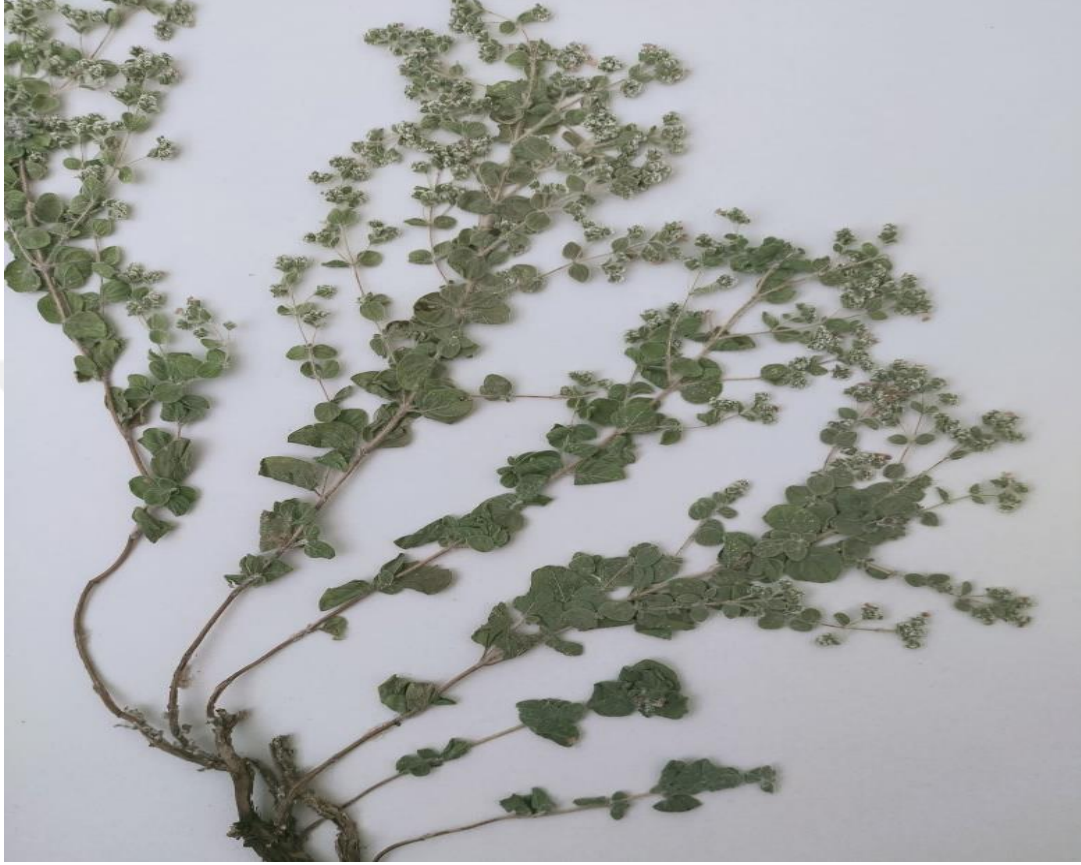
Tip: [Türkiye C4] Antalya: Alanya (Isauria), Geyik Dağ yakınında Han Boğaz ormanı, kuru nehir yatağının güney tarafında Sedir açıklığı, 1525 m, 30 viii 1947, P.H. Davis 14720 (holo. K, iso. E! G! JE! W!).

30 cm'ye kadar büyüyen yarıçalı, tüylüden yoğun tüylüye kadar. Dallar, gövde başına 10 çift, 6 cm'ye kadar. Yapraklar saplıdan sapsız kadar (yaprak sapı 6 mm'ye kadar), yuvarlak veya yumurtamsı, 6-23 x 5-20 mm, küt uçlu. Sipiküller ~3-15 x 4 mm. Bırakteler yumurtamsı veya eliptik, 2-4 x 1-3 mm, küt veya sivri uçlu. Kaliks ~2,5 mm;

üst dudak dişli, ~ 1/2'si kadar; alt dudak $\pm$ üst dudak kadar uzun, genişçe üçgenimsi dişli. Korolla beyaz, 3-6 mm (Şekil 3.24).

Çiçeklenme: Temmuz

Habitat ve yükseklik: Sedir ormanı açıklığı, ~1525 m. Endemik.



Şekil 3.24. *O. bilgeri*'nin morfolojik görünümü

***Origanum minutiflorum* O.Schwarz & P.H.Davis, Kew Bull. 4: 408 (1949) / Toka kekik, Türk. Bitkileri List. s. 569 (2012)**

Tip: [Türkiye C3] Antalya: Kemer (Likya), Tahtalı Dağ (antik Solyma), Kemer üzeri Çukur Yayla, ~1000 m, kireçtaşı yamaçlardaki kayalar üzerinde *Ballota cristata* ile birlikte, 15 viii 1947, P.H. Davis 14185 (holo.K, iso.E!G! W!)

35 cm'ye kadar büyüyen yarıçalı, kısa kabatüylü-havlı tüylü. Dallar, gövde başına 10 çift, 4 cm'ye kadar. Yaprak saplı ila yarisaplı (sap 6 mm'ye kadar), yumurtamsı veya eliptik, 3-16 x 1-12 mm, $\pm$ sivri uçlu. Sipiküller ~ 2-8 x 3 mm. Bırakteler yumurtamsı veya eliptik, 13 x 0,5-1,5 mm, $\pm$ küt uçlu. Kaliks ~2 mm; üst dudak loblu veya $\pm$ geniş üçgenimsi dişli ~ 2/5'i kadar; alt dudak $\pm$ üst dudak kadar uzun, genişçe üçgenimsi dişli. Korolla beyaz, 2,5-4 mm (Şekil 3.25).

Çiçeklenme: Temmuz - Ağustos

Habitat ve yükseklik: Kayalık kireçtaşı yamaçlar, 1500-1800 m. Endemik.



Şekil 3.25. *O. minutiflorum*'un morfolojik görünümü

***Origanum saccatum* P.H.Davis, Kew Bull. 4: 409 (1949) / Tahtacı kekiği, Türk. Bitkileri List. s. 569 (2012)**

Tip: [Türkiye C4] Antalya: Alanya (Pamphylia-Isauria), Kozlu Dere yakınları Kargi Çay (Alanya'nın güneydoğusu), 1000 m, 26 viii 1947, P. H. Davis 14276 (holo, K! Iso. E!).

80 cm'ye kadar büyüyen yarıçalı, $\pm$ tabanda tüylü, aksi halde tüysüz. Dallar, gövde başına 12 çift, 7 cm'ye kadar; 2. dereceden dallar bazen mevcuttur. Yapraklar yarisaplı, yüreksi ila yumurtamsı, 6-40 x 4-24 mm, sivri veya küt uçlu, donuk mavimsi yeşil. Sipiküller 10-35 x 6-11 mm. Bırakteler yumurtamsı, 6-11 x 2-6 mm, sipsivri veya sivri. Kaliks (2-)1-dudaklı $\sim 2/5$ 'i kadar, ~ 5 mm; üst dudak hafifçe tam kenarlı; alt dudak (varsa) 2 çok küçük loblu. Korolla pembe, ~ 12 mm (Şekil 3.26).

Çiçeklenme: Temmuz - Ağustos

Habitat ve yükseklik: Kalker kayalar ve yamaçlar, bazen çam ormanlarında, ~ 1000 m. Endemik



Şekil 3.26. *O. saccatum*'un morfolojik görünümü

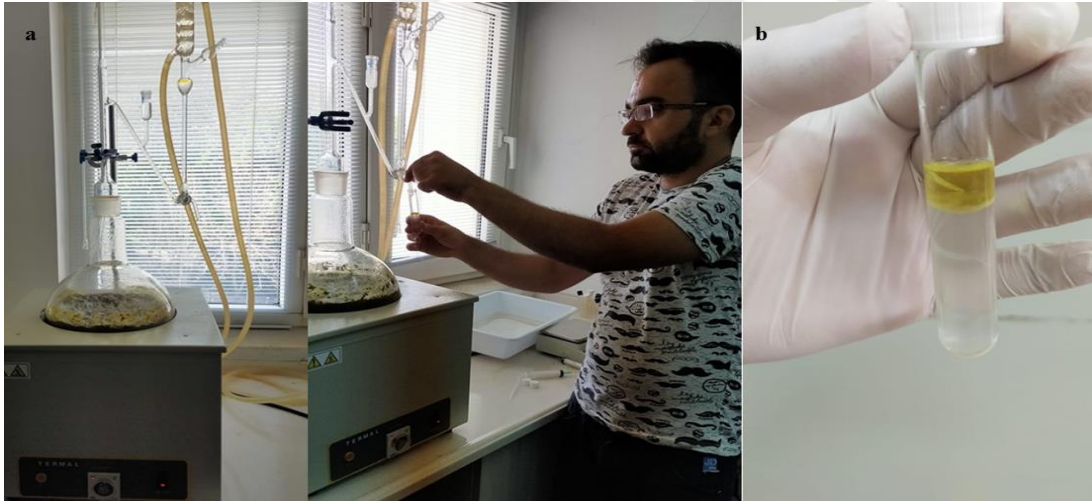
3.2.11. Bitkilerin kurutulması ve yağ eldesi

Toplanan bitkiler direk güneş ışığı almayan ortamda oda sıcaklığında 2 hafta süreyle kurutulmuştur. Kurutulan bitkiler öğütücü (Spice & Herb Grinder IC-25 B) vasıtasıyla öğütülmüş ve toz haline getirilmiştir (Dönmez vd 2020). Sonrasında bitkilerin yağ verimliliğini belirlemek için ve mantoya uygun olacak şekilde koyulmak üzere 0,00 g hassas terazi tartılmıştır (Şekil 3. 27). Sonrasında öğütülmüş toz haldeki bitkiler hava ve ışık almayan bir saklama kabı içerisinde yağ eldesine kadar muhafaza edilmiştir.



Şekil 3.27. *Origanum* türlerinin öğütülmesi ve hassas terazide tartılması

Öğütme işleminden sonra tartılan bitkiler clevenger cihazının balon joje kısmına koyularak üzerini kaplayacak şekilde manto ölçüsünde su ile doldurulmuş yağ elde etme aşamasına geçilmiştir (Çetin ve Yanık 2006). Cihazda mantonun ısınması için sıcaklık ayarlanmıştır. Manto kısmında yer alan içinde bitki ve suyun olduğu balon joje içerisinde kaynama başlayınca soğutma suyu açılmıştır. Mantodan ısınarak yükselen esansiyel yağ soğutma suyunun geçtiği bölgeye temas ederek yoğunlaşmış ve clevenger aparatı içerisinde ayrılmıştır. Ayrıışan esansiyel yağlar kapaklı cam deney tüpleri içerisine toplanmıştır (Şekil 3.28 a-b). Bu süreç bütün bitkiler için uygulanarak yağları elde edilmiştir. *Origanum bilgeri* (Tüylü mercan), *O. saccatum* (Tahtacı kekiği; Bayır çayı), *O. minutiflorum* (Yayla kekiği) türlerinden yağ elde edilmiştir.



Şekil 3.28. a. *Origanum* türlerinden clevenger cihazı ile yağ eldesi ve **b.** Elde edilen yağın kapaklı cam deney tüplerine katılması

3.2.12. Uçucu yağ analiz metodu bileşen tayini gaz kromatografi kütle spektrometresi analizi (GC-MS/FID)

Kapaklı cam deney tüpleri içerisine alınan sıvı örneklerdeki uçucu yağ bileşenleri (yağda çözünür), içeriğinin tespit edilebilmesi için analiz edilmek üzere hekzan ile 1:100 oranında seyreltilerek ekstraksiyon yoluyla hekzan fazına (üst faz, supernatant) aktarılmıştır. Analizlenmesi hedeflenen *Origanum bilgeri* (Tüylü mercan),

O. saccatum (Tahtacı kekiği; Bayır çayı), *O. minutiflorum* (Yayla kekiği) türlerinden uçucu yağ bileşenlerini içeren hekzan (apolar) fazı, gaz kromatografi (Agilent 7890A) cihazına direkt olarak enjekte edilmiştir. Analizler 40:1 oranında split modda gerçekleştirilerek enjeksiyon miktarı 1 µL şeklindedir. Enjektör sıcaklığı 250°C’de bekletilmiştir, kolon önce sıcaklık programı olarak 10 dakika 60°C’de, sonra 60°C’den 220°C’ye 4°C/dakika ve 220°C de 10 dakika olacak şekilde ayarlanmıştır. Bu sıcaklık programı doğrultusunda toplam analiz süresi 60 dakika olmuştur. Kütle dedektörü için tarama aralığı (m/z) 35-450 atomik kütle ünitesi ve elektron bombardımanı iyonizasyonu 70 eV kullanılmıştır, uçucu yağın bileşenlerinin teşhisinde ise WILEY ve OIL ADAMS kütüphanelerinin verileri esas alınmıştır. Bileşenlerde elde edilen sonuçların yüzdeleri FID dedektör kullanılarak, bileşenlerin teşhisi ise MS dedektör aracılığıyla gerçekleştirilmiştir. Yapılan bu analizlerde taşıyıcı gaz olarak 0,8 mL/dakika akış hızında helyum gazı kullanılmıştır. Bileşenlerin ayrımını kapiler kolon (HP Innowax Capillary; 60,0 m x 0,25mm x 0,25µm) ile gerçekleştirilmiştir. Kolon, bitiminde bir ayraç (splitter) yardımıyla FID ve kütle spektrometresi dedektörüne (Agilent 5975C) akış 1:1 oranında olacak şekilde ikiye ayrılmıştır. Sonuç olarak ortaya çıkarılan bileşen piklerinin tanımlamaları (isimleri) MS dedektörü yardımıyla yapılmıştır. Bileşenlerin oranlarının (bağıl yüzdeleri) tespitinde ise FID dedektöründen elde edilen veriler kullanılmıştır. Uçucu yağ bileşenlerinin teşhisinde, GC-MS sisteminde yüklü olan Oil Adams, Wiley ve Nist kütüphanelerinin verileri esas alınmıştır (Özek vd. 2010).

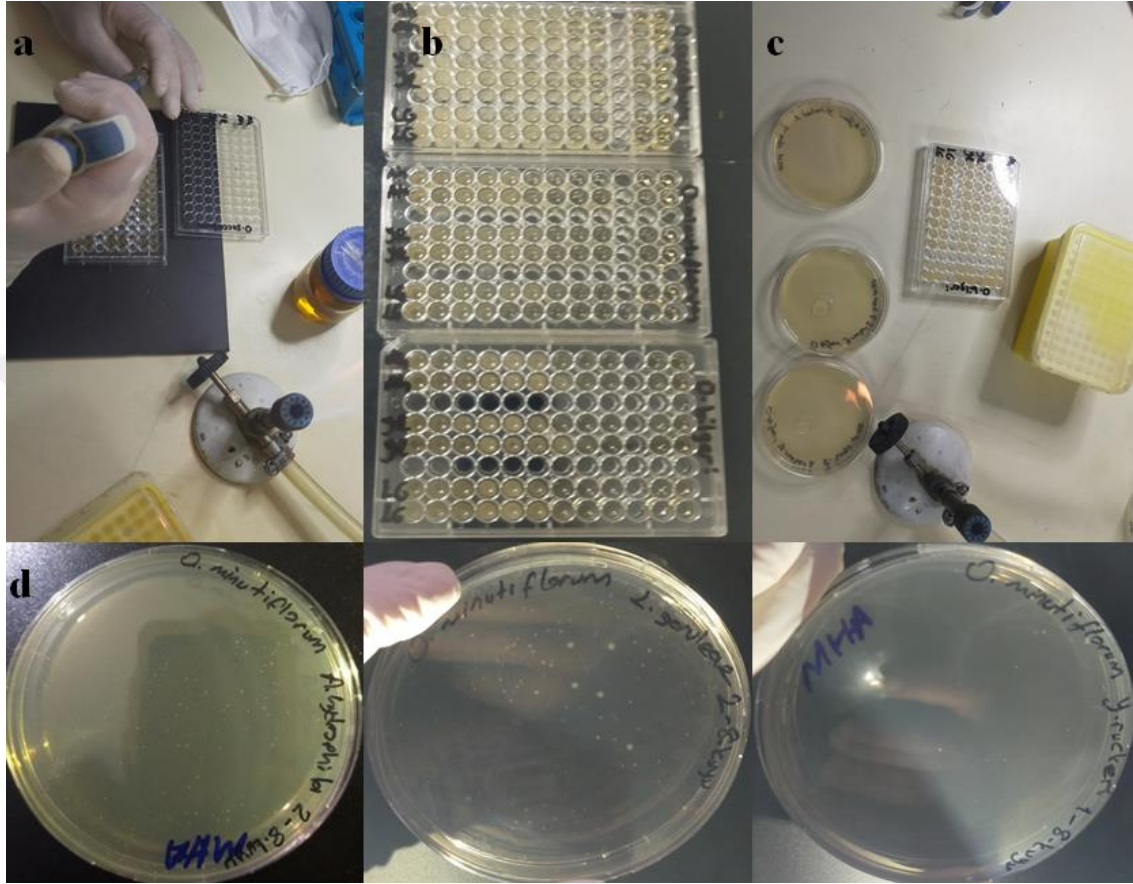
3.2.13. Bitkisel yağların minimum inhibisyon konsantrasyonlarının tespiti

Batı Akdeniz Bölgesi’nde faaliyet gösteren çiftliklerinden temin edilen gökkuşağı alabalığından (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum 1792) izole edilmiş *Lactococcus garvieae*, *Yersinia ruckeri* ve *Aeromonas hydrophila* bakterilerinin üzerine endemik *Origanum* türleri olan *Origanum bilgeri*, *O. minutiflorum* *O. saccatum* yağlarının minimum inhibisyon konsantrasyonlarının (MİK) belirlenebilmesinde 96 kuyucuklu plaklardan yararlanılmıştır. Örnekleme ve üretim sonrası türü tespit edilerek seçilen bakterilerin bu çalışma kısmı için broth içerisindeki miktarı 0,5 McFarland standart yoğunluğa ayarlanmıştır (Ekici vd. 2011). Bu standart çözelti için %1’lik 9,95 mL sülfirik asite (H_2SO_4) 0,05 mL baryumklorür ($BaCl_2(H_2O)$) eklenerek hazırlanan çözeltinin 625 nm dalga boyunda ölçümü yapılarak absorbans değerinin 0,08-0,1 değerleri arasında olup olmadığı belirlenmiştir. Bakteri suşlarının yoğunlukları bu çözelti kıyası ile az yoğunlukta olanlar üretilmiş fazla yoğunlukta olanlar seyreltilerek standarta getirilmiştir.

Endemik *Origanum* türleri olan *Origanum bilgeri*, *O. minutiflorum* ve *O. saccatum*’dan elde edilen yağlarının minimum inhibisyon konsantrasyonlarının (MİK) belirlenmesi için broth mikrodilüsyon yöntemi kullanılmıştır (Ekici vd. 2011).

Kuyucuklara hazırlanan çalışma stoğu 1. kuyucuktan 9. kuyucuğa kadar 50 µl olacak şekilde sırayla 25 µl, 12.5 µl, 6.25 µl, 3.125 µl, 1.5625 µl, 0.78125 µl, 0.380625 µl, 0.1953125 µl ve 0.09765625 µl 96 kuyucuklu plaklar içerisine dağıtılmıştır. 50 µl çalışma stoğu olan 1-9. kuyucuklara TSB besiyeri ve 0.5 McFarland standardına göre ayarlanmış bakteri suşlarından eklenerek her bir kuyucuk 200 µl’ye ulaştırılmıştır. 10. kuyucuk boş bırakılırken, 11. kuyucuk 100 µl besiyeri+100 µl bakteri koyularak pozitif

kontrol olarak hazırlanmıştır. 12. Kuyucuk ise steril 200 µl besiyeri olarak negatif kontrol yapıdır. Hazırlanan plate 26 ± 2 °C sıcaklığında 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Plate üzerinde gözle görünen üremenin olmadığı (bulanıklık olmayan) ilk kuyucuk MİK değeri olarak kaydedilmiştir. Bu kuyulardan ekim yapılarak bakterileri kolonileri ile MİK kontrolü sağlanmıştır (Şekil 3.29).



Şekil 3.29. a. 96 kuyucuklu plakta MİK hazırlanışı b. MİK yapılan plaklar c. MİK sonrası kuyucuklardan yapılan ekimler d. Ekimi yapılan kuyucukta meydana gelen bakteri koloni üremeleri

3.2.14. İstatistiksel analizler

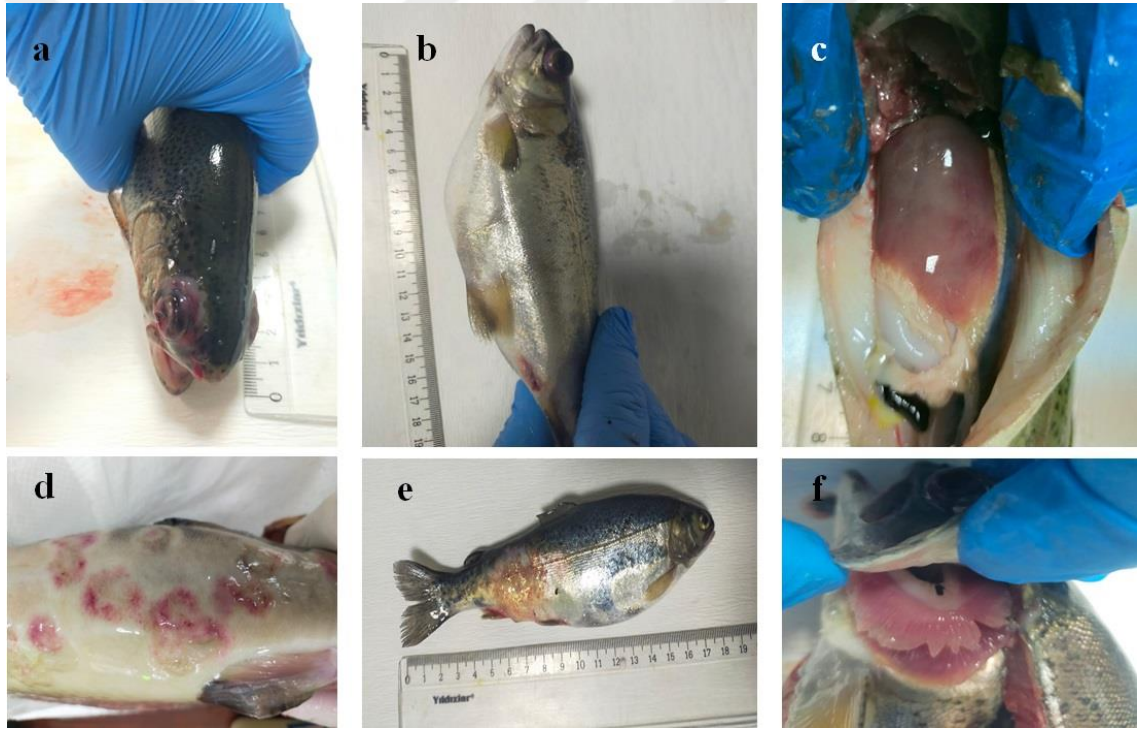
Batı Akdeniz Bölgesi'nde faaliyet gösteren ve gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum 1792) bulunduran işletmelerden temin edilen balıkların boy ve ağırlıkları, izolasyonları gerçekleştirilen bakterilerin çalışmada kullanılan endemik *Origanum bilgeri* (Tüylü mercan), *O. minutiflorum* (Yayla kekiği), *O. saccatum* (Tahtacı kekiği; Bayır çayı) uçucu yağlarına olan antimikrobiyal duyarlılıkları ve eritromisin (15 µg), florfenikol (30 µg), tetrasiklin (30 µg), sulfametaksazol (100 µg), sulfametaksazol-trimetoprim (25 µg) disklerine olan antibiyotik zon çapları ile elde edilen verilerin analizleri Excel (Office 365, Microsoft) kullanılarak yapılmıştır.

4. BULGULAR

“Batı Akdeniz Bölgesindeki Gökkuşluğu Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum 1792) Çiftliklerinden İzole Edilen Bakteriyel Hastalık Etkenlerinin, Antibiyotik Direnç Genlerinin ve Bazı Endemik Mercan Köşk (*Origanum* Spp.) Yağlarının Etkenlere Karşı Antimikrobiyal Etkilerinin Belirlenmesi” başlıklı tez çalışması kapsamında elde edilen bulgular aşağıdaki gibidir.

4.1. Balık Örneklerinden Elde Edilen Bulgular

Tez çalışması kapsamında Batı Akdeniz Bölgesi’nde faaliyet gösteren gökkuşluğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum 1792) bulunduran Antalya, Burdur ve Isparta illerinde bulunan çiftliklerden taze ölü enfekteli 108 adet gökkuşluğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum 1792) temini yapılarak dışbaki ve nekropsi klinik bulguları incelenmiştir. Bazı balıkların göstermiş olduğu belirtilere ait kliniksel bulgular Şekil 4.1’de verilmiştir.



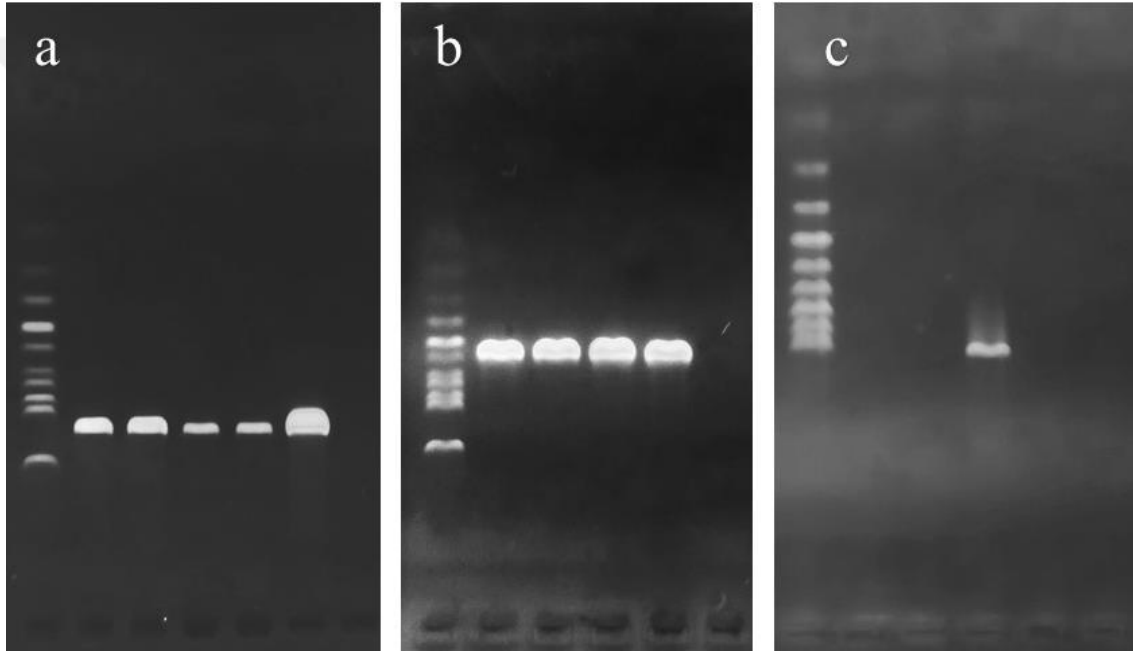
Şekil 4.1. Çalışma kapsamında örneklenen bazı balıkların kliniksel bulguları **a.** iki taraflı gözlerde ekzoftalmus ve göz kaybı, üst ve altçenede lezyonlar **b.** Karın bölgesinde şişlik, anüs ve etrafında kanama gözde ekzoftalmus, **c.** iç organ ve karaciğerde kanama (hemoraji) ve solgunluk **d.-e.** karın bölgesi ile deride lezyon ve kanama (hemoraji) **f.** Solungaç filametlerinde erime ve yapışma

Dış klinik bulguları açısından deri renginde ve başta koyulaşma ile tek taraflı yada iki taraflı gözlerde ekzoftalmus, karın kısmında şişlik, anüs ve etrafında kanama karın bölgesi ve deride kanama ve lezyonlar, solungaç filametlerinde erime ve yapışma gibi bulgular ile nekropsi sonrası iç organlarda kanama ve karaciğerde solgunluk peteşi, karın boşluğunda asidik sıvı gibi bulgular bazı balık örneklerinde gözlenmiştir.

4.2. Bakteri İzolatlarının Moleküler Spesifik Primer ile Tanımlanması

Türe özgü spesifik primerler kullanılarak Batı Akdeniz Bölgesi'nde faaliyet gösteren ve gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum 1792) bulunduran işletmelerden temini gerçekleştirilen balıklarda çalışma kapsamında izole edilen bakterilerden *Lactococcus garvieae*, *Yersinia ruckeri* ve *Aeromonas hydrophila* tespit edilmiştir.

Tez çalışması kapsamında *Lactococcus garvieae* için pLG1 (F)- pLG 2 (R), *Yersinia ruckeri* için Yer 8 (F)- Yer 10 (R) ve *Aeromonas hydrophila* için ompTS(F)-ompTS (R) primerler kullanılarak agaroz jelde elde edilen türe özgü PZR bantları görüntülenerek tür tayinleri gerçekleştirilmiştir. Bu doğrultuda elde edilen *L. garvieae*, *Y. ruckeri* ve *A. hydrophila* için sırayla 1100 bp, 575 bp ve 1008 bp amplicon büyüklüklerindeki türe özgü pzs bantlarına ait bulgular Şekil 4.2 (a-b-c)'de verilmiştir.

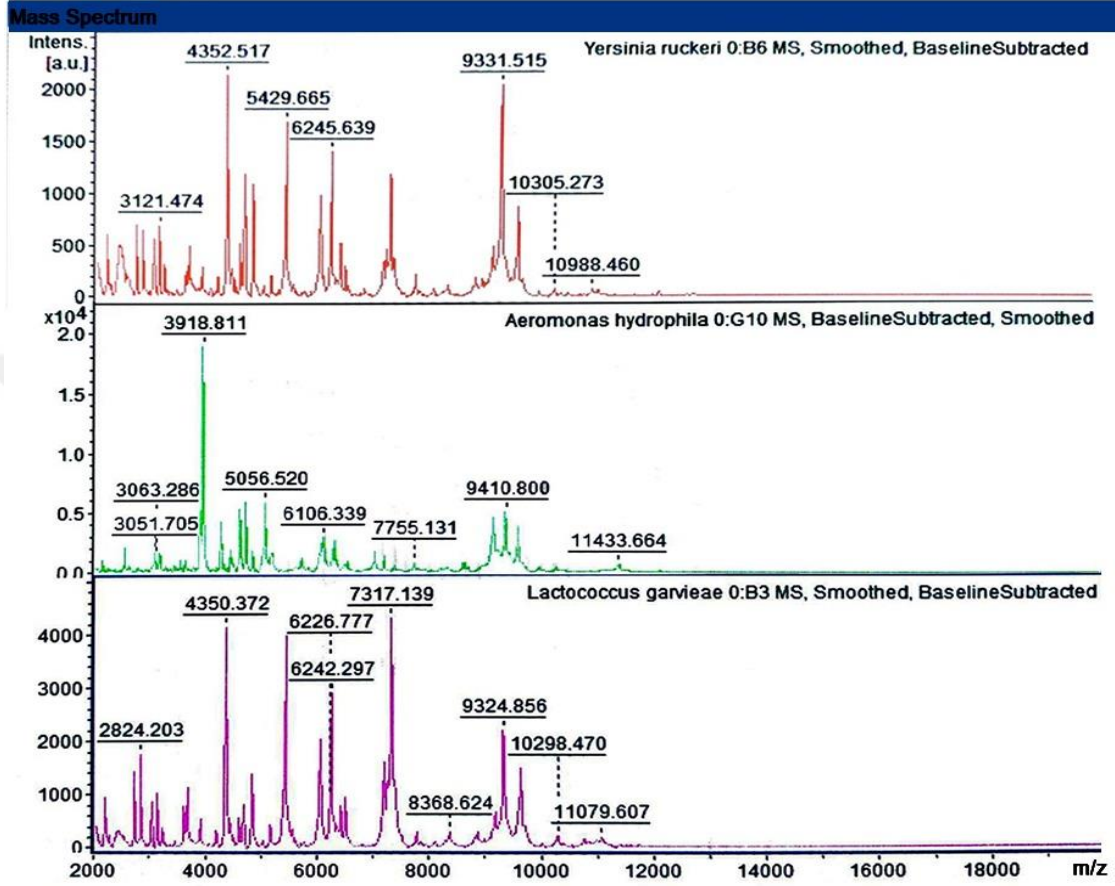


Şekil 4.2. İzole edilen **a.** *Lactococcus garvieae*, pLG-1 (F)-pLG-2 (R) 1100 bp **b.** *Yersinia ruckeri* Yer 8 (F) Yer 10 (R) 575 bp **c.** *Aeromonas hydrophila* ompTS (F) ompTS (R) 1008 bp bakterilerinin spesifik primerler ile moleküler tanımlanması

4.3. Bakteri İzolatlarının MALDI-TOF MS ile Tanımlanması

Tez çalışması kapsamında Akdeniz Üniversitesi Rektörlüğü Sağlık, Araştırma ve Uygulama Merkezi Hastane Merkez Laboratuvar Biriminde MALDI-TOF MS cihazı ile analizi yapılan bakterilerde tez konusunda hedeflenen *Lactococcus garvieae*, *Yersinia ruckeri* ve *Aeromonas hydrophila* tanımlanmıştır. Plakaya yerleştirilen tanımlanacak bakteri kolonisi lazerin enerjisini verimli bir şekilde emmesi ve moleküle proton transfer ederek molekülün iyonlaşmasını sağlamak üzere ilave edilen matriksten sonra cihaz çalıştırılarak UV (mor ötesi) ışınlar ile plaka ışınlanmıştır. Katı veya likit halde bulunan ve iyonize edilen moleküller iyonizasyon işlemi sonrasında iyonize gaz molekülleri serbest hale geçirilmiştir. Kat ettiği yolla dedektöre ulaştırılan iyonize

moleküllerin yani bileşen proteinlerin sinyal yoğunluğu tepe noktaları 2000-20000 m/z arasında değişen kütle spektrumları mikroorganizmanın tanımlanması için referans veri tabanındaki bilgilerle kıyaslanarak tür düzeyinde belirlenmiştir. Çalışmanın bu kısmına ait *Lactococcus garvieae*, *Yersinia ruckeri* ve *Aeromonas hydrophila*'nın kütle spektrumlarına ait bulgular Şekil 4.3'de verilmiştir.



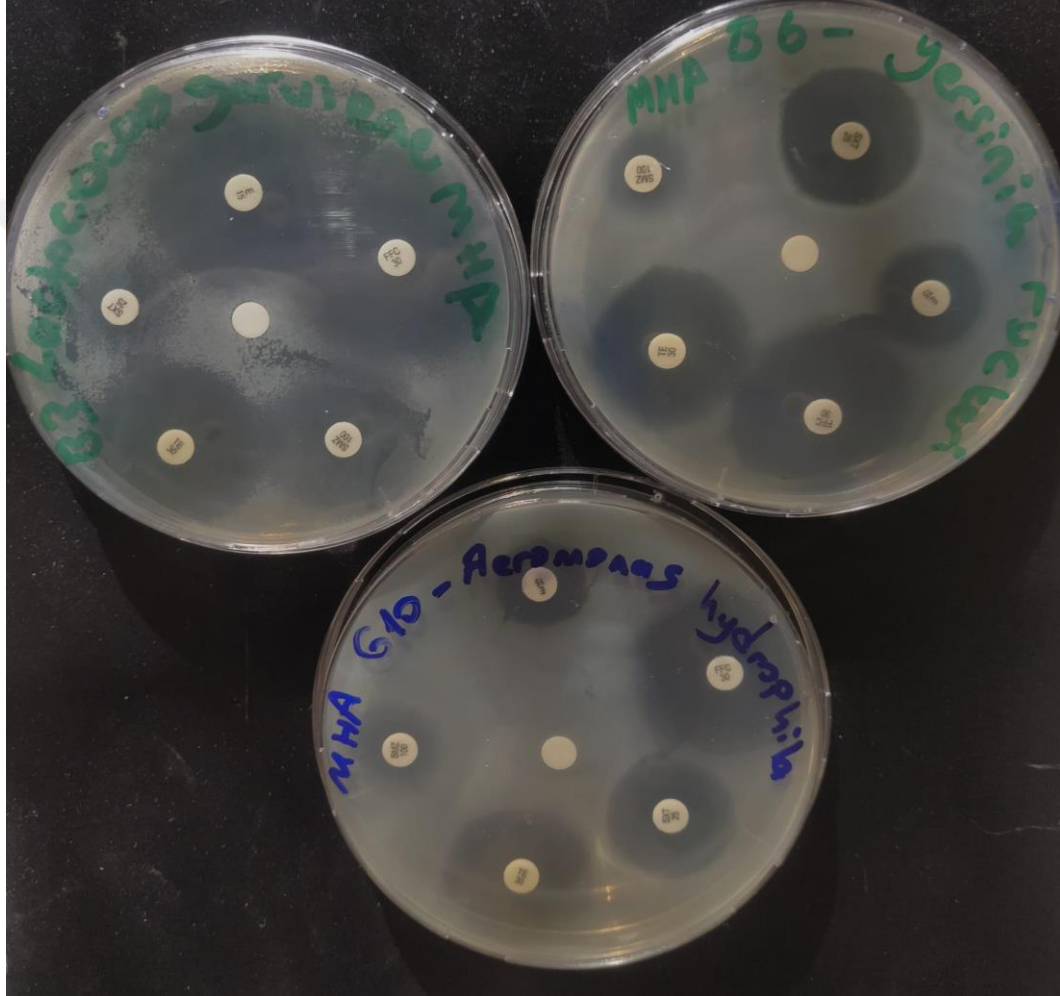
Şekil 4.3. MALDI-TOF MS cihazında *Yersinia ruckeri*, *Lactococcus garvieae* ve *Aeromonas hydrophila*'nın kütle spektrumları

4.4. Bakteri İzolatlarının Antibiyotik Duyarlılıkları

Batı Akdeniz Bölgesi'nde faaliyet gösteren gökkuşağı alabalığı çiftliklerinde örneklenen 108 adet gökkuşağı alabalığından (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum 1792) izole edilen patojen bakterilerden MALDI-TOF MS ve Moleküler DNA izolasyon yöntemi ile *Lactococcus garvieae*, *Yersinia ruckeri* ve *Aeromonas hydrophila* teşhis edilmiştir. Teşhis edilen bakterilerin antibiyotik duyarlılıklarını belirlemek için eritromisin (E) (15 µg), florfenikol (FE) (30 µg), tetrasiklin (TE) (30 µg), sulfametaksazol (SMZ) (100 µg) ve sulfametaksazol-trimetoprim (SXT) (25 µg) içeren disklerin kullanılmasından sonra oluşan zon çapları mm olarak ölçülmüş ve ölçüm sonuçları Çizelge 4.1'de verilmiştir. Ölçülen zon ile elde edilen bulgular verilmiştir. Teşhisi yapılan tez kapsamındaki patojen bakterilerin söz konusu antibiyotiklere olan dirençleri için disk difüzyon yöntemi ile test uygulanmıştır. Antibiyotik disklerin etrafında oluşan zonlar Şekil 4.4'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.1. İzole edilen bakterilerin disk difüzyon ile zon çapları

Batı Akdeniz Örneklemesi	Antibiyotiklere Bağlı Zon Çapı (mm)				
	E (15 µg)	FE (30 µg)	TE (30 µg)	SMZ (100 µg)	SXT (25 µg)
<i>Lactococcus garvieae</i>	18,3	23,0	20,3	19,7	14,7
<i>Yersinia ruckeri</i>	22,0	30,0	25,0	19,3	25,3
<i>Aeromonas hydrophila</i>	24,0	31,0	23,0	18,7	24,0

**Şekil 4.4.** *Lactococcus garvieae*, *Yersinia ruckeri* ve *Aeromonas hydrophila* türlerinin antibiyotik disk zonları

Elde edilen disk zonu bulguları doğrultusunda florfenikol (30 µg) (FFC) oluşturmuş olduğu etkin disk zonu ile söz konusu bakteriler üzerinde en etkili antibiyotik olmuştur. *Lactococcus garvieae* için 14,7 mm ortama ile en düşük zonu sulfametaksazol-trimetoprim SXT (25 µg) verirken, *Yersinia ruckeri* için 19,3 mm ortalama ile sulfametaksazol SMZ (100 µg) en düşük zonlu antibiyotik olmuştur. Bu çalışmada kullanılan bakterilerin antibiyotiklere duyarlı olduğu tespit edilmiştir.

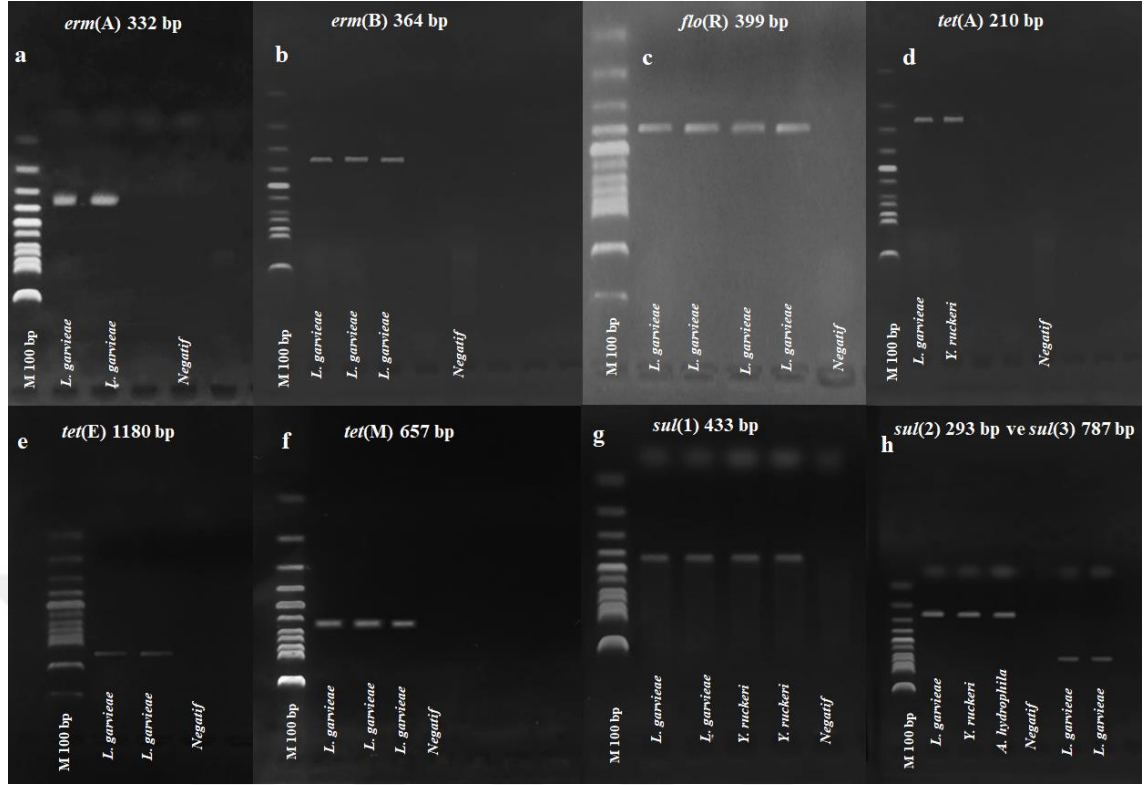
4.5. Bakteri İzolatlarının Direnç Genleri

Batı Akdeniz Bölgesi'nde faaliyet gösteren ve gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum 1792) bulunduran işletmelerden temini gerçekleştirilen balıklarda çalışma kapsamında izole edilen, MALDI-TOF MS ve Moleküler DNA izolasyonu ile teşhis edilmiş bakterilerden *Lactococcus garvieae*, *Yersinia ruckeri* ve *Aeromonas hydrophila*'da *flo(R)*, *erm(A)*, *erm(B)*, *tet(A)*, *tet(E)*, *tet(M)* ve *sul(1)*, *sul(2)* ile *sul(3)* genleri antibiyotik direnç gen primerleri ile taranmıştır. İzole edilen *Lactococcus garvieae* türü bakterilerde söz konusu genlerin hepsi tespit edilirken, *Yersinia ruckeri* bakteri türünde *tet(A)*, *sul(1)* ile *sul(2)*, *Aeromonas hydrophila* türünde ise sadece *sul(2)* direnç geni tespit edilmiştir. Bakteri türlerine ait taşıdıkları antibiyotik direnç genleri Çizelge 4.2'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.2. İzole edilen bakteri türleri ve taşıdığı oldukları antibiyotik direnç genleri

Tespit Edilen Antibiyotik Direnç Geni	Bakteri Adı		
	<i>Lactococcus garvieae</i>	<i>Yersinia ruckeri</i>	<i>Aeromonas hydrophila</i>
<i>erm(A)</i>	+		
<i>erm(B)</i>	+		
<i>flo(R)</i>	+		
<i>tet(A)</i>	+	+	
<i>tet(E)</i>	+		
<i>tet(M)</i>	+		
<i>sul(1)</i>	+	+	
<i>sul(2)</i>	+	+	+
<i>sul(3)</i>	+		

Tez konusu kapsamında izole edilen patojen bakterilerin MALDI-TOF MS ile moleküler DNA izolasyonu yöntemleriyle teşhis edilmiş *Lactococcus garvieae*, *Yersinia ruckeri* ve *Aeromonas hydrophila* bakterilerinde spesifik primerler ile taranan *flo(R)*, *erm(A)*, *erm(B)*, *tet(A)*, *tet(E)*, *tet(M)*, *sul(1)*, *sul(2)* ile *sul(3)* antibiyotik direnç genlerine ait bazı amplikon büyüklükleri agaroz jel üzerinde görüntülenen bantlar Şekil 4.5'de gösterilmiştir.



Şekil 4.5. Bakterilerde taranan **a. erm(A)**, **b. erm(B)**, **c. flo(R)**, **d. tet(A)**, **e. tet(E)**, **f. tet(M)**, **g. sul(1)**, **h. sul(2)** ile **sul(3)** antibiyotik direnç genlerine ait bazı amplicon büyüklükleri

4.6. Çalışmada Kullanılan Endemik Bitki Türlerine Ait Yağların Analiz Bulguları

Tez çalışması kapsamında Gündoğmuş, Pembelik köyü, Kuruca Yaylası'na gidiş, 5. km, kalker yamaç vadi içleri, Korkuteli, Saklıkent, Kayak Tesisi yanı, kalker hareketli yamaçlar, Gündoğmuş'a 5 km kala, yol kenarı kalker yamaç bölgelerinden toplanan *O. bilgeri*, *O. munitiflorum* ve *O. saccatum* bitkilerine ait uçucu yağ analiz metodu bileşen tayini gaz kromatografi kütle spektrometresi (GC-MS/FID) ile Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü (BATEM)'de analizi yapılmış ve elde edilen bulgular Çizelge 4.3'de verilmiştir.

Çizelge 4.3. *Origanum bilgeri*, *O. munitiflorum* ve *O. saccatum*'un aktif madde analiz sonuçları

Kırılma İndisi Tayini	TS EN ISO 6320		
Bağıl Yoğunluk Değeri	TS 4959		
Uçucu Yağ Bileşenleri Tayini	GC-MS/FID		
ANALİZ SONUÇLARI	<i>O. bilgeri</i>	<i>O. munitiflorum</i>	<i>O. saccatum</i>
Kırılma İndisi (20 C)	1,5063	1,5102	1,4871
Bağıl Yoğunlu K (20 C)	0,947	0,973	0,859
No	Bileşen Adı	Bileşen Miktarı (%)	Bileşen Miktarı (%)
1	<i>alpha-Pinene</i>	0,38	0,2
2	<i>alpha-Thujene</i>	0,29	0,33
3	Camphene	0,49	0,2
4	Myrcene	1,09	0,78
5	<i>alpha-Terpinene</i>	1,12	0,5
6	Limonene	0,31	0,16
7	1,8-Cineole	0,61	0,6
8	<i>beta-Phellandrene</i>	0,23	0,15
9	<i>gamma-Terpinene</i>	5,86	2,49
10	<i>para-Cymene</i>	9,94	3,75
11	1-Octen-3-ol	0,99	0,52
12	trans-Sabinene hydrate	0,66	0,86
13	Linalool	0,52	0,16
14	Terpinen-4-ol	2,04	2,7
15	<i>beta-Caryophyllene</i>	1,8	2,58
16	Aromadendrene	0,32	0,33
17	Cumin aldehyde		
18	<i>alpha-Terpineol</i>	0,36	0,41
19	Borneol	4,31	1,83
20	Carvone	0,11	0,34
21	Caryophyllene oxide	0,31	0,15
22	Timol	0,43	0,22
23	Karvakrol	67,55	80,36
	Tanımlanamayan	0,28	0,38

Çizelge 4.3'deki bulgular değerlendirildiğinde *O. bilgeri* (Tüylü mercan) ve *O. minutiflorum* (Yayla kekiği) türlerinde karvakrol oranı sırayla % 67,55 ile % 80,36 olarak tespit edilmiştir. *O. saccatum* (Tahtacı kekiği; Bayır çayı) türünde ise para-Cymene oranı % 70,28 olarak bulunmuştur. Ayrıca *O. saccatum* (Tahtacı kekiği; Bayır çayı) türünde karvakrol % 1,93 olarak az miktarda tespit edilmiştir. para-Cymene oranı sırayla % 9,94 ile 3,75 *O. bilgeri* (Tüylü mercan) ve *O. minutiflorum* (Yayla kekiği) türlerinde bileşen olarak bulunmuştur. Ancak Cumin aldehyde bileşenini *O. bilgeri* (Tüylü mercan) ve *O. minutiflorum* (Yayla kekiği) içermezken %0,35 oranı ile iz miktar kadar az olarak bulunsada *O. saccatum* (Tahtacı kekiği; Bayır çayı) türü için tespit edilmiştir. Çizelge 4.3'den de anlaşılacağı üzere 20 C de kırılma indisi *O. bilgeri* (Tüylü mercan), *O. minutiflorum* (Yayla kekiği) *O. saccatum* (Tahtacı kekiği; Bayır çayı) türleri için sırayla 1,5063 - 1,5102 - 1,4871 olarak tespit edilmiştir. Yine 20 °C'de bu üç tür için çizelgede belirtildiği üzere bağıl yoğunluk sırayla 0,947 - 0,973-0,859 olarak belirlenmiştir.

Elde edilen ve analizi gerçekleştirilen *O. bilgeri* (Tüylü mercan) *O. saccatum* (Tahtacı kekiği; Bayır çayı), *O. minutiflorum* (Yayla kekiği) türlerinden yağların renk görsellikleri Şekil 4.6' da verilmiştir. Şekilden de anlaşılacağı üzere Tahtacı kekiği veya bayır çayı olarakda isimlendirilen *O. saccatum* yağının çok açık sarı renkte olduğu tespit edilmiştir. Tüylü mercan olarak bilinen *O. bilgeri*'nin renginin *O. saccatum* ve *O. minutiflorum* yağından daha koyu bir renge sahiptir. Ayrıca Yayla kekiği olarakda isimlendirilen *O. minutiflorum*'un açık sarı bir renge sahip olduğu belirlenmiştir.



Şekil 4.6. *O. minutiflorum*, *O. bilgeri* ve *O. saccatum*, yağlarının görsellikleri

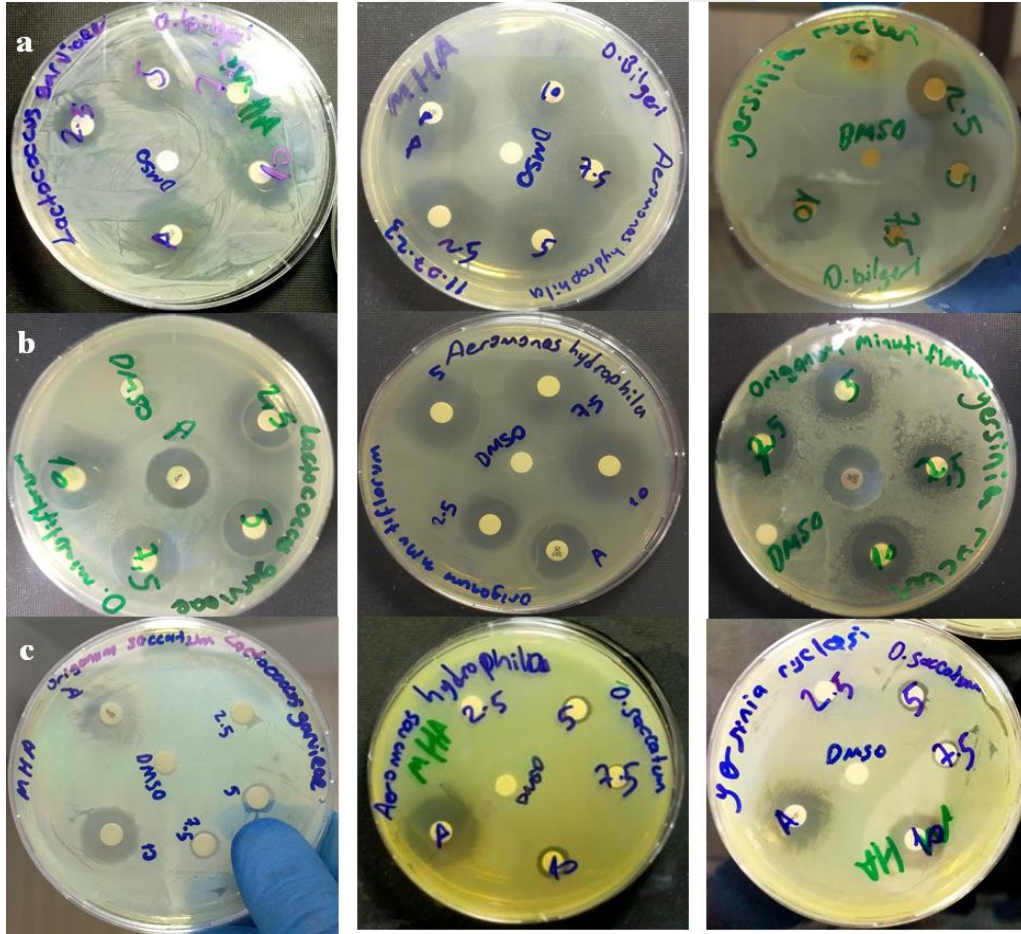
4.7. Tanımlanan Patojen Bakteriler Üzerine *Origanum* spp. Esansiyel Yağlarının Antimikrobiyal Etkisinin Belirlenmesi

MALDI-TOF MS ve Moleküler DNA izolasyonu ile teşhis edilmiş Batı Akdeniz Bölgesi'nde faaliyet gösteren çiftliklerinden izole edilen bakteriler üzerine endemik *Origanum* türleri olan *O. bilgeri*, *O. minutiflorum* *O. saccatum* yağlarının antimikrobiyal etkisini belirlemek için disk difüzyon yöntemi uygulanmıştır. Oluşan zon çapları mm olarak ölçülmüş ve ölçüm sonuçları Çizelge 4.4'de verilmiştir. Disk etrafında oluşan zonlardan bazıları Şekil 4.7'de gösterilmiştir.

Oluşan disk zonlarından da anlaşılacağı üzere endemik *Origanum saccatum* yağına oranla *O. minutiflorum* ve *O. bilgeri* yağları söz konusu bakteriler üzerinde daha etkili olmuştur. Çalışmada kullanılan tüm yağların antimikrobiyal etkisinin olduğu tespit edilmiştir.

Çizelge 4.4. İzole edilen bakteriler üzerine endemik *Origanum* türlerinin disk difüzyon ile tespit edilen zon çapları

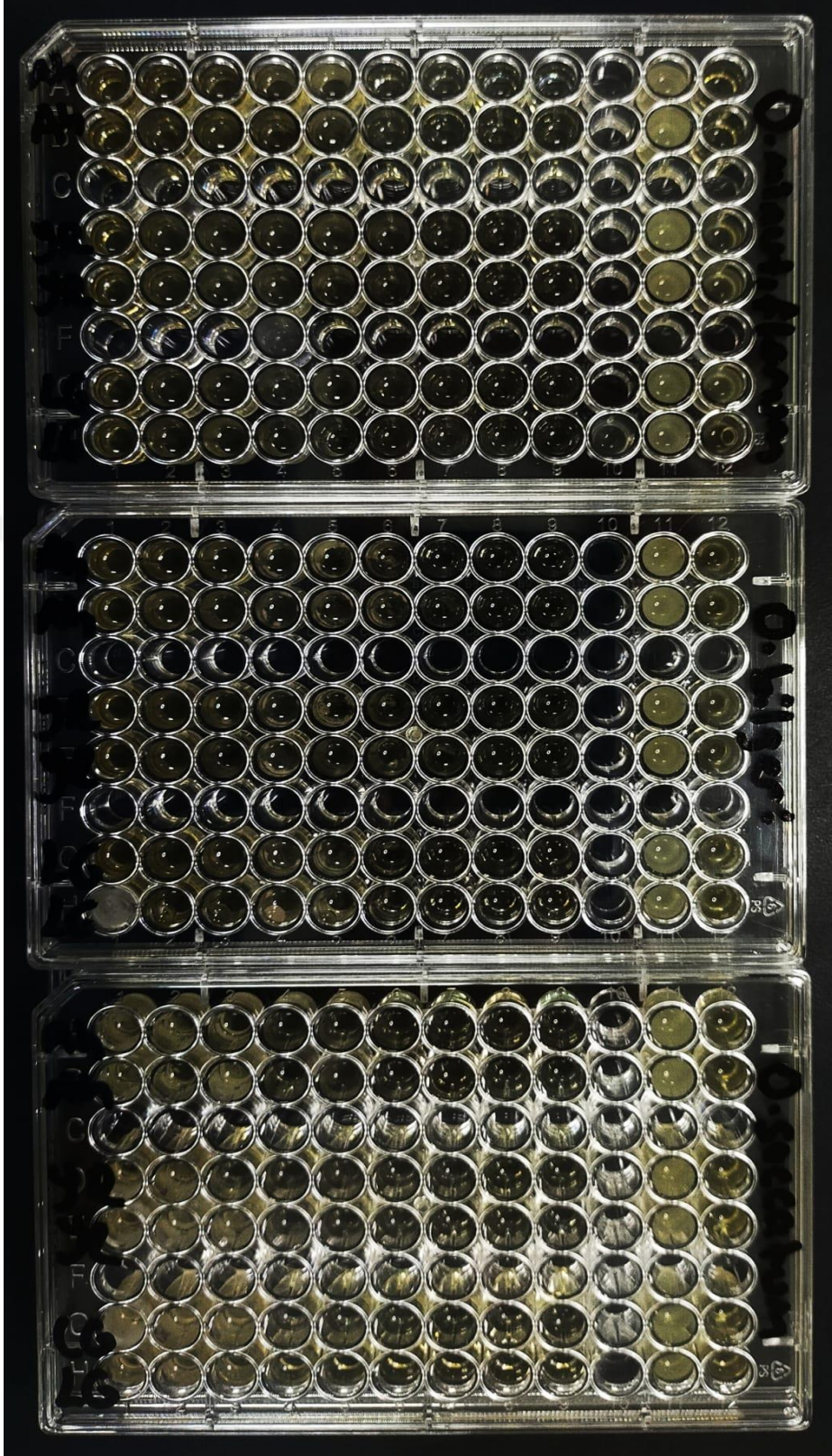
İzole Edilen Türler ve Zon Çapı (mm)				
Endemik <i>Origanum</i> Türleri	Yağ oran (μL)	<i>L. garvieae</i>	<i>Y. ruckeri</i>	<i>A. hydrophila</i>
<i>O. minutiflorum</i>	2,5	22,0	22,0	22,0
	5	24,0	24,7	25,0
	7,5	26,0	28,0	27,3
	10	30,0	30,3	30,3
<i>O. bilgeri</i>	2,5	16,0	18,0	21,0
	5	22,0	22,3	23,7
	7,5	25,0	26,7	26,3
	10	27,0	29,0	28,7
<i>O. saccatum</i>	2,5	7,0	6,7	7,0
	5	9,7	9,3	9,0
	7,5	11,7	11,7	11,0
	10	13,3	13,3	13,0



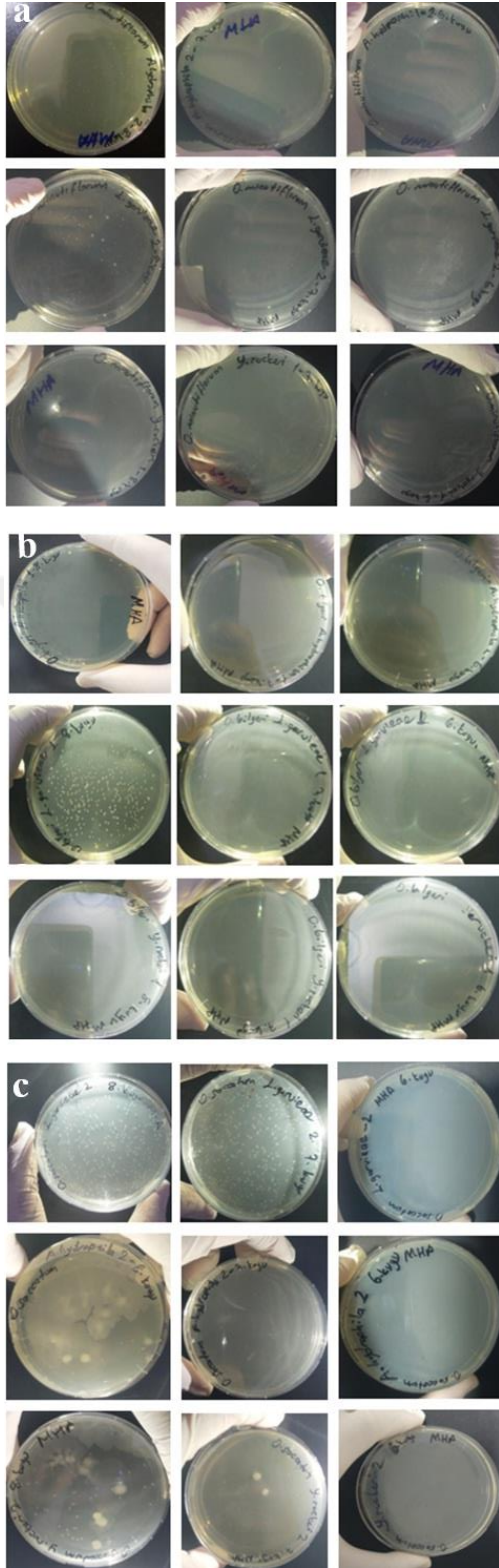
Şekil 4.7. Endemik *Origanum* türleri a. *O. bilgeri* b. *O. minutiflorum* c. *O. saccatum* yağlarının *L. garvieae*, *Y. ruckeri* ve *A. hydrophila* üzerine antimikrobiyal etkisi

4.8. Tanımlanan Patojen Bakteriler Üzerine *Origanum* sp. Uçucu Yağlarının MİK

Origanum minutiflorum, *O. bilgeri* ve *O. saccatum* yağlarının Batı Akdeniz Bölgesi gökkuşağı alabalığı bulunduran çiftliklerden izole MALDI-TOF MS ve Moleküler DNA izolasyonu ile teşhis edilmiş *Lactococcus garvieae*, *Yersinia ruckeri* ve *Aeromonas hydrophila*'ya antimikrobiyal etkisinin olup olmadığını belirleyebilmek için minimum inhibisyon konsantrasyonlarının tespiti (MİK) gerçekleştirilerek 96 lık plate üzerinde yapılan çalışma bulguları Şekil 4.8'de göstermiştir. Endemik *O.* yağlarının DMSO ile seyreltilerek hazırlanan çalışma stoklarını, bakteri solisyonunu ve broth besiyerini içeren plate kuyucuklarında *Lactococcus garvieae*, *Yersinia ruckeri* ve *Aeromonas hydrophila* inkübe edilmiştir. İnkübe sonunda gözle görülen üremenin olmadığı, *O. saccatum* için 3,90 µl/mL oranı 6. kuyucuk, *O. minutiflorum* ve *O. bilgeri* için 1,90 µl/mL oranı içeren 7. kuyucuk minimum inhibisyon konsantrasyonu olarak kabul edilmiştir. 6., 7., ve 8. kuyucuklardan ekim yapılmıştır (Şekil 4.9). Kullanılan bütün uçucu yağlar için 6. kuyucuklardan yapılan ekimlerde bakteri kolonisi üremesi görülmezken 7. kuyucuk ekimlerinden *O. saccatum* uçucu yağı için söz konusu bakteri türleri üreme görülmüştür. *O. minutiflorum* ve *O. bilgeri* uçucu yağı için 8. kuyucuklarda *Lactococcus garvieae*, *Yersinia ruckeri* ve *Aeromonas hydrophila* bakteri kolonisi üreme görülmüştür.



Şekil 4.8. Endemik *Origanum* türlerinin *L. garvieae*, *Y. ruckeri* ve *A. hydrophila* üzerine antimikrobiyal MİK etkisi



Şekil 4.9. Endemik *Origanum* türlerinin **a.** *O. minutiflorum* **b.** *O. bilgeri* **c.** *O. saccatum* yağlarının *L. garvieae*, *Y. ruckeri* ve *A. hydrophila* üzerine MİK etkisinin kuyucuk ekimleri

5. TARTIŞMA

5.1. Balık Örneklerinden Elde Edilen Bulgular

Tez çalışması kapsamında örneklenen bazı enfekteli alabalıklarda yapılan teşhis ile elde edilen bazı bulgular Şekil 4.1 de gösterilmiştir. Çağatay ve Gümüş (2018) yılında yürüttükleri çalışmalarında bakteriyel hastalıkla enfekte alabalıkta deride lezyon ve hemoraji, solungaçta ve yüzgeçte hemoraji vücut üzerinde, iç organlarda ve ağız çevresinde lezyonlar, sıvı birikimi ve solungaçlarda renk solgunluğu klinik bulgularını bildirmiştir. Altan (2019) yapmış olduğu çalışmasında *Lactococcus garvieae* ile enfekteli balıklarda dış klinik bulgu olarak deri renginde özellikle vücudun baş ve dorsal kısımlarında koyulaşma, tek ya da iki taraflı ekzoftalmus, bazı balıklarda ise tek gözde ekzoftalmus ile diğer gözde göz kaybı ile birlikte göz çukurunda hemoraji, karın kısmında şişkinlik, solungaç filamentlerinde erime ve yapışma, bazı balıklarda pectoral, pelvik ve anal yüzgeç taban kısımlarında hemoraji ile bazı balıklarda ise üst çenede lezyon gözlenmiştir. Nekropsi sonrası balıklarda dalakta büyüme ve renginde koyulaşma, vücut kasında, pilorik sekada, vücut yağında ve gonadlarda hemoraji, karaciğerde hemoraji ve kıvamında yumuşama, hava kesesinde şişkinlik ile bazı balıklarda hava kesesi yüzeyinde hemoraji, böbrekte erime ile karın kısmında asidik sıvı birikimi gözlemlenmiştir. Bu tez çalışmasında ise enfekteli bazı balıklarda dış klinik bulguları açısından deri renginde ve başta koyulaşma ile tek taraflı yada iki taraflı gözlerde ekzoftalmus, karın kısmında şişlik, anüs ve etrafında kanama karın bölgesi ve derilerde kanama ve lezyonlar, solungaç filamentlerinde erime ve yapışma gibi bulgular ile nekropsi sonrası iç organlarda kanama ve karaciğerde solgunluk peteşi, karın boşluğunda asidik sıvı gibi bulgular bazı balık örneklerinde gözlenmiştir. Bakteriyel enfeksiyonlu balıklar üzerine yapılan kliniksel bulgular tutarlıdır.

5.2. Bakteri İzolatlarının Moleküler Teşhisi

Tez çalışması kapsamında izole edilen bakterilerin moleküler teşhis için *Lactococcus garvieae* için pLG-1 (F)-pLG-2 (R) 1100 bp, *Yersinia ruckeri* için Yer 8 (F) Yer 10 (R) 575 bp ve *Aeromonas hydrophila* için ompTS (F) ompTS (R) 1008 bp türe özgü spesifik primerler kullanılarak yapılmıştır. PZR sonunda primerlerin ampikon büyüklüklerinin jelde yürütülmesi ile görüntülenen türe özgü spesifik bandlar vasıtasıyla moleküler tanımlama belirlenmiştir. Duman (2017) tarafından yapılan gökkuşağı alabalıkları üzerine yapılan bir çalışmada moleküler olarak *L. garvieae* ve *Y. ruckeri* bakterilerinin antimikrobiyal duyarlılıkları ile duyarlılıkta rol oynayan genlerin tespitini çalışmıştır. Çalışmasında *Lactococcus garvieae* için pLG-1 (F)-pLG-2 (R) 1100 bp, *Yersinia ruckeri* için Yer 8 (F) Yer 10 (R) 575 bp primerlerini kullanarak PZR ile identifikasyon gerçekleştirmiştir. Şeker vd. (2012) yaptıkları çalışmalarında *Yersinia ruckeri* için 589 bp pzs bant tespiti ile tanımlama yapmıştır. Ulutaş (2022) yapmış olduğu çalışmada *L. garvieae* bakteri türünü SA1B10 primeri ile 709 bp baz uzunluğu ile tanımlama yapmıştır. Jel üzerinde PZR sonuçlarını görüntüleyerek tanımlama yapmıştır. Bu tez çalışmasında da *Yersinia ruckeri* için Yer 8 (F) Yer 10 (R) 575 bp ve *Lactococcus garvieae* için pLG-1 (F)-pLG-2 (R) 1100 bp primerler kullanılarak PZR sonuçları Şekil 4.2’de gösterilerek tanımlama yapılmıştır. Çalışmalar arasındaki edinilen bulgular tutarlıdır. Yogananth vd. (2009) yılında Hindistan’ın Chennai şehrinde örnekledikleri balıklardan *Aeromonas hydrophila* izole ettikleri çalışmalarında aerolysin (*aerA*) ve haemolysin (*hlyH*) genlerinin pzs banları ile 416 bp ve 597 bp ile

tespit yapmıştır. Algammal vd. 2022. *Oreochromis niloticus*'tan izole ettikleri *Aeromonas hydrophila* ile yapmış oldukları çalışmada *gyrB* geni ile 1100 bp pcr bantlar ile tanımlama yapmışlardır. Rahman vd. (2021) yılında *Aeromonas hydrophila* ile yürüttükleri çalışmalarında 16S rRNA ile 1419 bp sekans uzunluğunda tanımlama yapmıştır. Çağatay ve Gümüş (2018) yılında yaptıkları çalışmada *Aeromonas hydrophila* için 1008 bp amplikon büyüklüğünde ompTS (F) ompTS (R) türe özgü spesifik primerini kullanarak tür teşhisi gerçekleştirmiştir. PZR sonuçlarını jelde yürüterek 1008 bp amplikon büyüklüğünde görünen bantlar üzerinden değerlendirme yapmışlardır. Bu tez çalışmasında *Aeromonas hydrophila* için ompTS (F) ompTS (R) türe özgü spesifik primeri kullanılmıştır. PZR sonunda 1008 bp amplikon büyüklüğünde bant jelde yürütülerek görüntülenmiştir. PZR sonuçlarını gösteren bandlar Şekil 4.2'de verilmiştir. Yapılan çalışma ve literatürdeki sonuçlar ile tür tanımlamada elde edilen sonuçların tutarlı olduğu belirlenmiştir.

5.3. Bakteri izolatlarının MALDI TOF MS ile Teşhisi

Bakteri izolatlarının tanımlanmasında özellikle mikrobiyoloji laboratuvarlarında bir devrim başlatan kısa sürede çok sayıda izolatu tanımlayabilen Matriks ile Desteklenmiş Lazer Desorpsiyon/ İyonizasyon Uçuş Zamanı Kütle Spektrometresi (MALDI-TOF MS) aracılığıyla yapılan çalışmalardan elde edilen bulguların tutarlılığıda oldukça yüksektir (Tekinaslan Alem 2022; Anwer vd. 2022; Sevgül Tütmez 2023). Hızlı, güvenilir ve yenilikçi bir teknoloji olduğu ve dakikalar içinde tür tanımlamasının yanı sıra ekonomik olması ile de son yıllarda tercih sebebi olmaktadır.

MALDI-TOF MS'in kısa sürede daha fazla bakteriyi tanımlayabildiği moleküler teşhise göre daha hızlı olduğu belirlenmiştir. Tekinaslan Alem (2022)'de yapmış olduğu çalışmada matris destekli lazer desorpsiyon/iyonizasyon uçuş süresi kütle spektrometrisi (MALDI-TOF MS) hızlı, güvenilir ve yenilikçi bir teknoloji olduğunu ve dakikalar içinde tür tanımlaması yapabildiğini bildirmiştir. Ayrıca çalışmasında dermatofitlerin hızlı ve güvenilir tanımlanması için MALDI-TOF MS sisteminin önemli ve yararlı olduğunu dikkat çekmiştir. Sevgül Tütmez (2023) alabalıklarda *Aeromonas* türleri üzerine yaptığı çalışmada MALDI-TOF MS yöntemiyle identifikasyonunu gerçekleştirmiştir. Moleküler analizlerde MALDI-TOF MS yönteminin doğru ve hızlı sonuç vermesi nedeniyle kullanılabilirliğini bildirmiştir. Anwer vd. (2022) MALDI-TOF MS ile enfeksiyona neden olan patojen bakterilerin hızlı analizini yapmış oldukları çalışmada bu yöntemin güvenilir sonuçlar sağladığını bildirmişlerdir. Mursalim vd. (2022) Tayland'daki hastalıklı tatlı su balıklarından izole ettiği *Aeromonas spp.*'nin çeşitliliği ve antimikrobiyal duyarlılık profillerini araştırdığı çalışmasında birkaç araştırmacının (Soler vd. 2004; Benagli vd. 2012; Latif-Eugenin 2015; Shin vd. 2015) kolay doğru güvenilir hızlı yüksek verimli ve uygun maliyetli bir yöntem olmasından dolayı MALDI-TOF MS'i önerdiğini bildirmişlerdir. Bu tez çalışmasında sağlamış olduğu kolaylıklar, hızlı ve fazla sayıda yapılan teşhis ve ekonomik bir yöntem olmasından dolayı araştırmacılarla aynı kanaatteyiz. Ayrıca Tekinaslan Alem (2022) yapmış olduğu çalışmada lazer atışları ile elde edilen kütle spektrum piglerinde hesaplanan pig skor değerleri ≥ 1.700 üzeri verilen sonuçlarda bakteri isimleri pozitif kabul edildiğini bildirmiştir. Bu çalışma sonucunda ≥ 1.700 den büyük olan ve tez konusu kapsamında belirlenmesi hedeflenen *Lactococcus garvieae*, *Yersinia ruckeri* ve *Aeromonas hydrophila* türlerine ait pig skor değerlerine ait grafik Şekil 4.3'de gösterilmiş bakteri tanımlamaları literatürdeki çalışmalar ile de tutarlı olmuştur.

5.4. Bakteri İzolatlarının Antibiyotik Duyarlılıkları

Tez çalışması kapsamında Batı Akdeniz Bölgesi'nde faaliyet gösteren çiftliklerinden gökkuşağı alabalığından (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum 1792) izole edilen bakterilerinin antibiyotik duyarlılıklarını belirlemek için eritromisin (15 µg), florfenikol (30 µg), tetrasiklin (30 µg), sulfametaksazol (100 µg) ve sulfametaksazol-trimetoprim (25 µg) içeren diskler kullanılarak ölçülen zon ile elde edilen bulgular doğrultusunda bakterilerin söz konusu antibiyotiklere karşı izole edilen ve tanımlanan *Lactococcus garvieae*, *Yersinia ruckeri* ve *Aeromonas hydrophila* bakterilerin söz konusu antibiyotiklere duyarlı oldukları tespit edilmiştir. Onuk vd. (2015) tarafından 72'si gökkuşağı alabalığı, 18'i sazan balığı, 15'i levrek 10'u tatlısu kefali, 9 karadeniz alabalığı, 4 diskus balığı ve 1 yunus balığı olmak üzere toplamda 132 balık örneğinden izole ederek tür düzeyinde tanımladığı toplamda 19 bakteri üzerine 14 farklı antibiyotik kullanarak amoksisilin (10 µg), enrofloksasin (5 µg), ampisilin (10 µg), eritromisin (15 µg), flumekuin (30 µg), gentamisin (10 µg), florfenikol (30 µg), kanamisin (30 µg), oksitetrasiklin (30 µg), sefoperazon (75 µg), oksolinik asit (2 µg), neomisin (30 µg), trimetoprim (5 µg) ve trimetoprim+sulfametoksazol (25 µg) (Oxoid, İngiltere), (Bioanalyse, Türkiye) antibiyotikleri kullanılarak antibiyotik duyarlılıkları belirlenmiştir. İn vitro koşullarda izolatların 14 antibiyotiğe karşı disk difüzyon metodu ile duyarlılık testini yapmışlardır. Test için kullandıkları antibiyotikler içerisinde amoksisilinin %89.5 ile en yüksek direnç oranlarının olduğunu ve bunu %82.3 oranı ile ampisilin ve %78.9 oranla eritromisine karşı şekillendiğini, en düşük direnç oranının ise %5.3 ile enrofloksasine karşı şekillendiği tespit etmişlerdir. Buna ilaveten akvaryum balıkları üzerinden izole edilen iki izolatın en az 11 antibiyotiğe karşı direnç göstermesinin ve bunun saptanmış olmasının dikkat çekici bir bulgu olduğuna vurgu yapmışlardır. Yürüttükleri çalışma bulguları ile, balık hastalıklarını tedavi etmek için uygun ve doğru antimikrobiyel ajanların seçilmesi gerektiğinin önemini ortaya koymuşlardır.

Filik vd. (2021) hasta balıklardan izole ettikleri *A. hydrophila* ATCC 7966 ve 20 *A. hydrophila* suşunun 28 farklı antibiyotiğe karşı duyarlılığı araştırdıkları çalışmada; suşların 12 antibiyotiğe (oksasilin, ampisilin, vankomisin, penisilin G, klindamisin, tilosin, oksitetrasiklin, siprofloksasin, pristinamisin, sefalotin, oksolinik asit, nitrofurantoin) karşı dirençli olduğunu, 14 antibiyotiğe (norfloksasin, gentamisin, enrofloksasin, flumekuin, kloramfenikol, kolistin, streptomisin, nalidiksik asit, sulfametoksazol/trimetoprim, seftriakson, sefoperazon, sülfadiazin, kanamisin, doksisisiklin) karşı duyarlı ve 2 antibiyotiğe (eritromisin, apramisin) karşı orta derecede duyarlı olduğunu belirlemişlerdir. Suşların ÇAD indeks değer aralığı 0,21-0,75 olduğu ve 14 antibiyotiğe karşı çoklu antibiyotik direnci gösterdiğini tespit etmişler. Çalışmada *A. hydrophila*'nın en etkili antibiyotik olan oksitetrasikline ve çalışmada kullanılan antibiyotiklerin büyük kısmına karşı geliştirdiği dirence dikkat çekilerek suşların yüksek bir dirence sahip olduklarını belirtmişlerdir. Çalışmanın sonucu olarak balık hastalıklarını tedavi ederken yanlış antibiyotik seçimi patojeninin direncini arttırdığı ve dolayısıyla hastalık tedavisinde ciddi sorunlara neden olduğunu dile getirmişlerdir.

Bu tez çalışmasında izole edilen bakterilerin antibiyotik duyarlılıklarını belirlemek için eritromisin (15 µg), florfenikol (30 µg), tetrasiklin (30 µg), sulfametaksazol (100 µg) ve sulfametaksazol-trimetoprim (25 µg) içeren diskler

kullanılmıştır. Teşhisi yapılan tez kapsamındaki patojen bakterilerin söz konusu antibiyotiklere olan dirençleri için disk difüzyon yöntemi ile test uygulanmıştır.

Lactococcus garvieae, *Yersinia ruckeri* ve *Aeromonas hydrophila* üzerine uygulanan Eritromisin (15 µg), florfenikol (30 µg), tetrasiklin (30 µg), sulfametaksazol (100 µg) ile sulfametaksazol-trimetoprim (25 µg) içeren diskler sonunda oluşan zon çapları mm olarak ölçülmüş ve ölçüm sonuçları Çizelge 4.1’de verilmiştir. Antibiyotik diskler etrafında oluşan zonlar Şekil 4.4’de gösterilmiştir. Elde edilen disk zonu bulguları doğrultusunda florfenikol (30 µg) (FFC) oluşturmuş olduğu etkin disk zonu ile söz konusu bakteriler üzerinde en etkili antibiyotik olmuştur. *Lactococcus garvieae* için 14,6 mm ortama ile en düşük zonu sulfametaksazol-trimetoprim SXT (25 µg) verirken, *Yersinia ruckeri* için 19,3 mm ortalama ile sulfametaksazol SMZ (100 µg) en düşük zonlu antibiyotik olmuştur. Ancak tez konusu bakterilerin antibiyotiklere duyarlı olduğu tespit edilmiştir.

5.5. Bakteri İzolatlarının Antibiyotik Direnç Genleri

Duman (2017) tarafından yapılan bir çalışmada *Yersinia ruckeri*, *Lactococcus garvieae* ve *Aeromonas* bakterilerinin antimikrobiyal duyarlılıkları ve duyarlılıkta rol oynayan genlerin tespitini çalışmıştır. Çalışmasında *flo(R)*, *erm(A)*, *erm(B)*, *tet(A)*, *tet(B)*, *tet(C)*, *tet(D)*, *tet(E)*, *tet(G)*, *tet(M)*, *tet(S)*, *sul(1)*, *sul(2)* ile *sul(3)* genleri olmak üzere 14 adet gen üzerine tarama yapmıştır. *Yersinia ruckeri* izolatlarının *sul(1)*, *Lactococcus garvieae*’nin *erm(A)*, *tet(S)*, ve *Aeromonas* bakterileri türlerinin ise *tet(A)*, *tet(E)* ve *flo(R)* genlerini taşıdığını tespit etmiştir. Savaşan vd. (2008) yılında balık kökenli *Enterococcus faecalis* suşlarının antibiyotik dirençlilikleri araştırdıkları çalışmalarında vankomisin direnç fenotipinin *vanA* olduğunu belirlemişlerdir. Sörum vd. (1992) yılında çiftliklerde üretilen Atlantik salmonlarında vibriozise sebep olan *Vibrio salmonicida* türünde tetrasiklin dirençlilik geni *tet(E)* belirlemişlerdir. Agersø vd. (2007) Danimarka’da yaptıkları çalışmalarında balık çiftliklerinden izole ettikleri *Aeromonas* spp. türlerinde tetrasikline dirençli *tet(E)*, *tet(A)* ve *tet(D)* genlerini çalışmışlardır. Bu tez çalışması Şekil 4.5 bulgularında ise literatürle benzer sonuçlar elde edilmiştir. Batı Akdeniz Bölgesi’nde faaliyet gösteren çiftliklerinden gökkuşağı alabalığından izole bakterilerden *Yersinia ruckeri* (*tetA*, *sulI* ile *sulII*) *Lactococcus garvieae* (*floR*, *ermA*, *ermB*, *tetA*, *tetE*, *tetM*, *sulI*, *sulII* ile *sulIII*) ve *Aeromonas hydrophila* (*sulII*) antibiyotik direnç geni taşıdıkları tespit edilmiştir. Ülkemizde yapılmış son yıllardaki çalışmalarda *Aeromonas* türlerinin *tet(B)*, *tet(A)* ve *sulI* ile (*sulII*) genlerini bulundurdıkları bildirilmiştir (Boran vd. 2013; Capkin vd. 2015).

5.6. Yağ Analizi

Baydar ve Avcu (2020) Batı Akdeniz florasında yer alan ve buraya özgün endemik bir tür olan *O. minutiflorum* (yayla kekiği) bitkisini farklı dönemde (tomurcuklanma başlangıcı, tomurcuklanma sonu, çiçeklenme başlangıcı, tam çiçeklenme, çiçeklenme sonu, tohum oluşumu ve tohum olgunlaşma) toplayarak kuruttuktan sonra yapraklarında hidro-clevenger cihazında uçucu yağ içerikleri ve GC/MS cihazında uçucu yağ bileşenlerini belirlemişlerdir. Tam çiçeklenme döneminde en fazla uçucu yağ içeriğini %3.0 oranı ile elde ederlerken en az uçucu yağ oranı ise %1.6 ile tohum olgunlaşma döneminde topladıkları bitkilerden elde etmişlerdir. Biçim devrelerine göre *O. minutiflorum* (yayla kekiği) bitkisinin uçucu yağının ana bileşeni

olan karvakrol oranının önemli değişkenlik gösterdiğini, %82.78 ile tomurcuklanma sonunda en yüksek oranda en yüksek olduğunu ve %50.83 oranı ile tohum olgunlaşma devresinde ise en düşük oranda olduğunu tespit etmişlerdir. Toker vd. (2017) tarafından yapılan *O. minutiflorum* bitkisinin uçucu yağı ve bileşenleri üzerine 5 farklı distilasyon süresinin (10, 20, 30, 60, 120 dk) etkisini araştırdıkları çalışmada cleverger apereyi kullanarak *O. minutiflorum* uçucu yağlarını elde etmişlerdir. Elde edilen sonuçları değerlendirdiklerinde farklı distilasyon grupları arasındaki farkı istatistiki olarak ($p<0.05$) önemli olduğunu bulmuşlardır. *O. minutiflorum* uçucu yağlarında ana bileşen karvakrol olarak 28 bileşen tespit etmişler ve yağ veriminin % 0.12-3.11 arasında olduğunu bildirmişlerdir. Sonuç olarak distilasyon süresine göre *Origanum minutiflorum* uçucu yağlarında bileşen olarak bulunan karvakrol miktarının da % 62.60 ile 86.40 arasında değiştiğini tespit etmişlerdir. Aslim ve Yucel (2008) yapmış oldukları çalışmada elde ettikleri *O. minutiflorum*'un (O. Schwarz ve P.H. Davis) uçucu yağını gaz kromatografisi / kütle spektrometresi (GC/MS) ile analiz etmişlerdir. Yağın %98.7'sini temsil eden 29 bileşen belirlemişler ve bitkilerden elde edilen yağ verimi %4.0-4.4 v/w olarak hesaplanmışlardır. *O. minutiflorum* yağının ana bileşenlerini karvakrol (%73.9) ve p-simen (%7.20) olarak tespit etmişlerdir. Ayrıca yağda daha düşük karvakrol metil eter (% 0.05), karvakrol asetat (%0.06) ve heptadekanol (%0.06) bildirmiştir. Baydar (2005) endemik olarak yetişen *O. minutiflorum* yayla kekiği ile yürüttüğü çalışmada koruma altına alınması gereken 10 tür arasında büyük öneme sahip olduğunu ayrıca yayla kekiğinde yüksek uçucu yağ verim ve kalitesi için en uygun toplama zamanının belirlenmesi Ispartada yürüttüğü çalışmada amaçlamıştır. Isparta ilinde yayla kekiğinin geniş dağılım gösterdiğini 1400 rakımlı Sütçüler florasından 2001 yılının 13 Ağustos (tomurcuklanma sonu devresi), 20 Ağustos (çiçeklenme başı devresi), 27 Ağustos (tam çiçeklenme devresi), 2 Eylül (çiçeklenme sonu devresi) ve 29 Eylül (tohum olgunlaştırma devresi) olmak üzere 5 farklı tarihte toplama yapmıştır. Topladığı bitkileri kurutulduktan sonra su distilasyon yöntemi ile uçucu yağ içeriklerini ve GC ile uçucu yağ bileşenlerini karvakrol ve timol'un yanı sıra, p-simen, γ -terpinen, p-mirsen, α -terpinen ve borneol olarak belirlemiştir. Bu bitki örneklerinde %1.7-4.9 oranında uçucu yağın değiştiğini bildirmişlerdir. Karvakrol'ün %60.3-92.3 arasında yayla kekiği uçucu yağında değişim gösterdiği ve en önemli bileşeni olduğunu vurgulamıştır. En fazla uçucu yağ içeriğinin 20 Ağustos tarihinde %4.9 ile çiçeklenme başında toplananlarda olduğunu ve % 92.3 oranı ile en yüksek karvakrol içeriğinin 2 Eylül çiçeklenme sonunda toplanan örneklerde olduğunu bildirmişlerdir. Şarer vd. (1996), ülkemizde endemik bir tür olarak yetişen yayla kekiği olarak da isimlendirilen *O. minutiflorum* (O. Schwarz et P.H. Davis) bitkisinin uçucu yağ numunelerinin antimikrobiyal etkileri ve kimyasal bileşimlerini inceledikleri çalışmada, değişen yüksekliklerde elde ettikleri bitkilerden aldıkları iki yağ numunesini kolon kromatografisi (CC) ve gaz kromatografisi (GC) tekniğini kullanarak analiz etmişler. Alınan yağ örneklerinin birincisinde %90,78, ikincisinde %92,95 oranlarında karvakrol olduğunu belirlemişlerdir. *O. minutiflorum* uçucu yağ numunelerinin fiziki özellikleri incelenmesi sonucu her iki numunenin de renginin açık sarı, kokusunun keskin kekiksi, %70 Etanolde çözünürlüğün 3K olduğu, 20°C derecedeki yoğunluklarının sırasıyla 0.9650 ve 0.9602 olduğu, kırılma indekslerinin ise sırasıyla 1.6743 ve 1.6671 olduğunu saptamışlardır.

Bu çalışmada yayla kekiği *O. minutiflorum* (O. Schwarz et P.H. Davis)'un renginin sarı, kokusunun kekik kokusu, kırılma indisi K (20 °C) 1,5102, bağıl Yoğunluk

(20 °C) 0,973 olarak tespit edilmiştir. 22 tanımlanan bileşen tespit edilirken, %0.38 tanımlanmayan bileşen bulunmuştur. Ayrıca karvakrol bileşeni %80,36 olarak belirlenmiştir. Toker vd (2017) yılında yapmış oldukları çalışmada bileşen olarak belirlenen karvakrol miktarı yüzdesi arasında yer alarak çalışmada elde edilen karvakrol miktarı tutatlıdır. Ancak Şarer vd. (1996) yaptıkları çalışmada birincisinde %90,78, ikincisinde %92,95 oranlarında karvakrol tespit etmiştir. Bu farklılığın bitkinin toplanma zamanının yanı sıra yıllık yağış miktarı, mevsimsel güneşlenme ile toplanan bitkinin kurutulma süresiyle ve yağ elde yönteminden kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir.

Karan vd (2021) tarafından *O. bilgeri*, *O. onites*, *Satureja spicigera* yapraklarından elde ettikleri uçucu yağlarının tarımsal bitki patojen bakterilerine karşı antibakteriyel aktivitesini araştırdıkları çalışmada *O. bilgeri*'nin %70.52 oranında karvakrol, % 6.42 oranında borneol ve % 6.24 oranında p-simen içerdiğini bildirmiştir. Ayrıca *O. bilgeri* temel bileşenlerinde karvakrolün %90.20 ile %84.30 arasında p simenin %3.40 ile %5.85 arasında, γ -terpinene %0.47 ile % 1.20 arasında ve timolün 0.69 ile 1.08 arasında temel bileşen olarak bulunduğunu bildirmiştir. Sözman vd (2012) yaptıkları çalışmada hidrodistilasyon (HD) ve solventsiz mikrodalga ekstraksiyon (SFME) olmak üzere iki farklı ekstraksiyon yöntemi ile endemik *O. bilgeri* P.H.Davis uçucu yağını çıkartarak yağ bileşiminin karşılaştırılmasını belirlenmesini amaçlamışlardır. Bu kapsamda *O. bilgeri* P.H.Davis'ten uçucu yağını kimyasal bileşimi incelemişlerdir. Solventsiz mikrodalga ekstraksiyon ve hidrodistilasyon tarafından elde edilen *O. bilgeri* esansiyel yağı bileşimini GC/MS analiz etmişlerdir. Her iki yöntemle elde edilen yağların ana bileşenleri karvakrol (%90.20 – 84.30), p-simen (%3.40 – 5.85), g-terpinen (%0.47 – 1.20) ve timol (%0.69 – 1.08) olduğunu bildirmişlerdir. Solventsiz mikrodalga ekstraksiyon ile elde ettikleri yağın ekstraksiyon veriminin daha yüksek olduğunu, ayrıca daha kısa ekstraksiyon süresi ile daha yüksek aktif bileşen karvakrol içeriği gibi birçok önemli avantaj sağladığını belirlemişlerdir. Bu tez çalışmasında hidrodistilasyon metodu ile cleverger cihazında *O. bilgeri* (Tüylü mercan)'nın yağı elde edilmiştir. Renginin altın sarı, kokusunun keskin kekik kokusu, kırılma indisi K (20 C) 1,5063, bağl yoğunluk (20 C) 0,947 olarak tespit edilmiştir. Tez çalışması kapsamında yapılan analizde *O. bilgeri* (Tüylü mercan)'nın 22 tanımlanan bileşen tespit edilirken, %0.28 tanımlanmayan bileşen olduğu bulunmuştur. Ayrıca karvakrol bileşeni %67,55 olarak bu tez çalışmasında belirlenmiştir. Bu anabileseni % 9,94 oranı ile para-Cymene izerken gamma-Terpinene bileşeni %5,86 oranında ve Borneol %4,31 oranında olduğu tespit edilmiştir.

Sözman vd. (2011) tarafından yapılan solventsiz mikrodalga ekstraksiyon (SFME) ile hidrodistilasyon (HD) ile elde edilen *O. saccatum* P.H. Davis esansiyel yağının antibakteriyel aktivitesi ve kimyasal bileşenlerinin karşılaştırılması başlıklı çalışmalarında elde ettikleri endemik *O. saccatum* (Tahtacı kekiği; Bayır çayı) P.H. Davis, GC/MS kullanılarak tanımlamışlardır. *O. saccatum*'dan sırasıyla solventsiz mikrodalga ekstraksiyon ile elde edilen esansiyel yağda %72.5 oranında p-simen, %9.32 oranında timol ve %7,18 oranında karvakrol olduğunu ayrıca hidrodistilasyon ile elde edilen esansiyel yağın ana bileşenlerinde %70.6 oranında p-simen, %8,11 oranında timol ve %6,36 oranında karvakrol olduğunu bildirmişlerdir. Solventsiz mikrodalga ekstraksiyon ile elde edilen esansiyel yağın hidrodistilasyon ile elde edilen esansiyel yağa oranla önemli ölçüde daha yüksek miktarlarda oksijenli bileşikler ve daha düşük

miktarlarda monoterpenler içerdiğini tespit etmişlerdir. Özcan ve Chalchat (2009) tarafından yapılan *O. saccatum* L. esansiyel yağının kimyasal bileşenleri ve antimikrobiyal özellikleri başlıklı çalışmalarında *O. saccatum* L. içerisinde 39 tanımlanan bileşen olduğunu ve esansiyel yağın %99,11 ini oluşturduğunu % 82.8 oranında p-simen, 6.2% oranında g-terpinene, %1.5 oranında p-cymene-8-ol ve % 1,2 oranında karvakrol olduğunu bildirmişlerdir. Bu tez çalışmasında yağ eldesi için toplanan *O. saccatum*'dan (Tahtacı kekiği; Bayır çayı) P.H. Davis elde edilen ya GC/MS kullanılarak analiz ettirilmiştir. *O. saccatum* esansiyel yağı içerisinde 12 bileşen tespit edilmiştir. Bu bileşenlerden % 70,28 oranını para-simen ana bileşen olarak oluşturduğu tespit edilirken %22,48 oranı ile gamma-Terpinene, % 1,93 oranı ile karvakrol ve %1,39 oranında alpha-Terpinene bileşen olarak belirlenmiştir.

5.7. *Origanum* Yağlarının Antimikrobiyal Etki Zonları

Nazıroğlu vd. (2022) yapmış oldukları çalışmada *O. onites* uçucu yağının ana bileşen oranını %46.17 karvakrol ve %13.05 p-cymene, oranında tespit etmişlerdir. *O. onites* uçucu yağının nanoemülsiyonlarının pozitif kontrol olarak kullandıkları enrofloksasine göre gram-negatif bakteri olan *Aeromonas veronii* üzerine son derece etkili olduğunu tespit etmişlerdir. Ayrıca nanoemülsiyonların esansiyel yağdan antibakteriyel aktivite bakımından daha etkili olduğunu belirlemişlerdir. *Mentha spicata* subs. *tomentosa* uçucu yağlarının ve bunun nanoemülsiyonlarının balık patojenlerine karşı düşük etkiye sahip olduğunu bunun yanında *Aeromonas veronii* ve *Lactococcus garvieae* balık patojenleri üzerinde antibakteriyel aktivite göstermediğini bildirmişlerdir. Sonuç itibari ile çalışmalarında antibakteriyel aktivitede *O. onites*'i daha etkin bulmuşlardır.

Yılmaz vd. (2014) tarafından yapılan bir çalışmada 34 uçucu yağdan 18 adetinin *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* üzerinde %67 ve üzerinde engelleyici etki gösterdiğini bildirmiştir. Ticari sabit yağların hiçbirinin, uçucu yağların ise tamamı antibakteriyel etki gösterdiğini bildirmiştir Aynı firmadan farklı zamanlarda temin ettikleri aynı uçucu yağların (*S. officinalis* L.ve *R.officinalis* L.) antibakteriyel etkileri arasında fark olduğunu belirlemişlerdir. Test edilen yağlar içerisinde *O. türlerinin* en etkili uçucu yağlar olduğunu ve *O. onites*'in uçucu yağı 14 fitopatojenik bakteri üzerinde 22-40 mm'lik bir inhibisyon bölgesi oluşturduğunu tespit etmişlerdir. *O. onites* ekstraktının da *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* ve *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria* patojenleri üzerinde daha etkili olduğu ve hastalık şiddetini azalttığı bildirmişlerdir. Özcan ve Chalchat (2009) Agar disk difüzyon yöntemiyle çalışmış olduğu *O. saccatum* uçucu yağının *Staphylococcus aureus* ve *Escherichia coli* üzerinde etkili olduğunu tespit etmişlerdir.

Şarer vd. (1996), ülkemizde endemik bir tür olarak yetişen yayla kekiği olarak da isimlendirilen *O. minutiflorum* (O. Schwarz et P.H. Davis) bitkisinin uçucu yağ numunelerinin antimikrobiyal etkileri çalışmasında elde ettiği numuneler ile Disk Difüzyon yöntemi kullanılarak *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Streptococcus faecalis* ATCC 19433, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Escherichia coli* ATCC 25922 bakterileri ve *Candida albicans* KUEN 977 ve *Candida tropicalis* CBS 94 mantarına karşı antibakteriyel ve antifungal etkileri incelemesi sonucunda test bakterilerinin ve mantarların tamamının gelişimini önemli ölçüde inhibe ettiğini gözlemlemiştir.

Demir vd. (2013) tarafından yürütülen çalışmalarında cleverger aparatı ile *Origanum minutiflorum* ve *O. onites* kekiklerinden elde ettikleri uçucu yağların *Drosophila melanogaster*'e SMART test ile etkisini araştırmışlardır. Elde ettikleri bulgulara göre *O. minutiflorum* uçucu yağında karvakrol oranını % 74.6 olarak belirlerken *O. onites* uçucu yağında karvakrol oranını % 32.6 şeklinde tespit etmişlerdir. Bulgulara göre her iki kekik yağında kayda degecek bir genotoksit etki göstermediğini tespit etmişlerdir.

Vardar Ünlü vd. (2007) yapmış oldukları çalışmalarında Türkiye'de endemik bir tür olan *O. minutiflorum*'un hava kısımlarından hidrodistillasyon metoduyla elde ettikleri esansiyel yağın, in vitro koşullarda antimikrobiyal etkinliğini belirlemeye çalışmışlardır. Uçucu yağın kütle spektrometresi ve gaz kromatografisi analizi ile 961.5 mL L⁻¹ 'i oluşturan 34 bileşenin yağda tespitini gerçekleştirmişlerdir. Yağda 793.4 mL L⁻¹ oranında karvakrol, 32.6 mL L⁻¹ oranında p-simen ve 21.4 mL L⁻¹ oranında y-terpinen olarak mevcut başlıca bileşikler olarak bildirilmiştir. Uçucu yağın in vitro koşullarda antimikrobiyal etkisini disk difüzyonu yöntemine ilaveten minimum inhibisyon konsantrasyon yöntemi de kullanılarak 16 bakteri türü ve 2 maya türü olmak üzere 18 organizmaya karşı etkisini ortaya koymaya çalışmışlardır. *Pseudomonas aeruginosa* haricindeki diğer organizmalar üzerine uçucu yağların güçlü antimikrobiyal etki gösterdiğini tespit etmişlerdir. Yağda başlıca bileşenler olan karvakrol ve p-simen antimikrobiyal etkileri belirlemek için denemişler ve karvakrol'un yağ bileşenleri ile karşılaştırılabilir özellik gösterdiğini ve buna ilaveten gözlenen biyolojik etkinlikten sorumlu ana bileşen olduğunu ortaya koymuşlardır. Ayrıca *O. minutiflorum* uçucu yağlarının antibakteriyel etkinlik gösteren ilk rapor olduğunu belirtmişlerdir.

Oke ve Aslim (2010) endemik *O. minutiflorum*'un antimikrobiyal, antioksidan ve sitotoksik etkilerini araştırdıkları bir çalışmalarında, DPPH radikal temizleme, metal şelasyon aktivite ve karoten ağartma testleri kullanılarak ekstraktların antioksidan aktivitelerini belirlemeye çalışmışlardır. Ayrıca bitki ekstraktlarındaki toplam fenol bileşenleri miktarı belirlenmiş ve 1-karoten ağartma testinde ekstraktlar, linoleik asit oksidasyonuna karşı %58.1 ± 0.2 - % 98.2 ± 0.3'lük bir inhibisyon aralığı içinde olduğunu göstermişlerdir. Bitkinin antimikrobiyal etkisini agar kuyu difüzyon yöntemi ve mikrodilüsyon yöntemleri ile değerlendirmişlerdir. Çalışmalarında inhibisyon zonunun 20.2 ± 0.2 mm'lik bir alanına sahip olduğu *O. minutiflorum*'dan elde edilen n-hexane ekstraktının, *Shigella sonnei* RSKK 878'e üzerine maksimum antibakteriyel etkiye sahip olduğunu bildirmişlerdir. MTT analizi ile ekstraktların ayrıca sitotoksik etkilerini tespit etmişlerdir. 10-100 µg/ml konsantrasyonda *O. minutiflorum* ekstraktlarının bebek hamster böbreği fibroblast hücre dizisinde herhangi bir sitotoksik etkisinin olmadığını bildirmişlerdir. Bulguları sonucunda gıda endüstrisinde *O. minutiflorum*'un doğal bir kaynak olarak uygulanabileceğini tespit etmişlerdir.

Yıldız (2020) *O. minutiflorum* üzerine yaptığı çalışmada, ham ekstre hazırlamak için 500 gr bitkisel materyalin parçalanmış toprak üstü bölümünü %70'lik etanol ile çalkalayıcı kullanarak iki kez 48 saat boyunca uyguladığı maserasyon sonucunda elde ettikleri süzüntüler bir araya getirilip 40°C'de rotavaporda yoğunlaştırdığını dile getirmiştir. Yüksek miktardaki fraksiyonların incelenmesi sonucu etil asetat ekstresi inhibasyon yüzdesinin yüksek olduğunu bildirmiştir.

Bu tez çalışmasında MALDI-TOF MS ve Moleküler DNA izolasyonu ile teşhis edilmiş Batı Akdeniz Bölgesi'nde faaliyet gösteren çiftliklerinden izole edilen *Lactococcus garvieae*, *Yersinia ruckeri* ve *Aeromonas hydrophila* bakterileri üzerine endemik origanum türleri olan *O. bilgeri*, *O. minutiflorum* *O. saccatum* yağlarının antimikrobiyal etkisini belirlemek için disk difüzyon yöntemi uygulanmıştır. Oluşan zon çapları mm olarak ölçülmüş ölçüm sonuçları Çizelge 4.4'de verilmiştir. Disk etrafında oluşan zonlardan bazıları Şekil 4.4'de gösterilmiştir. Oluşan disk zonlarından da anlaşılacağı üzere endemik *O. saccatum* yağına oranla *O. minutiflorum* ve *O. bilgeri* yağları söz konusu bakteriler üzerinde daha etkili olmuştur. *O. minutiflorum* ve *O. bilgeri*'nin yağlarının güçlü antimikrobiyal olduğu çalışma kapsamında gözlemlenmiştir. Çalışmada kullanılan tüm yağların Batı Akdeniz Bölgesi'nde faaliyet gösteren çiftliklerinden izole ve ekonomik kayıplara sebebiyet verebilen ve direnç geni taşıyan patojen bakteriler *Lactococcus garvieae*, *Yersinia ruckeri* ve *Aeromonas hydrophila* üzerine antimikrobiyal etkisinin olduğu tespit edilmiştir. Zon çapları literatürde yapılan çalışmalar ile uyumludur.

5.8. Origanum Yağlarının MİK

Karan vd. (2021) tarafından yapılan çalışmada *O. onites*, *O. bilgeri* ve *Satureja spicigera* yapraklarından elde ettikleri uçucu yağların antimikrobiyal aktivitelerini *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* (Pst), *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria* (Xav) ve *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (Cmm) kullanarak uygulamışlardır. Kullanılan doza bağlı olarak *O. bilgeri* uçucu yağının tüm patojenler üzerinde (% 100) önemli bir etkiye sahip olduğunu tespit etmişlerdir. *Xanthomonas axonopodis* pv. *Vesicatoria* ve *C. michiganensis* subsp. *michiganensis* bakterilerine karşı *O. onites* esansiyel yağının 7,5 µL doz ile kullanılmasının büyük bir etkiye sahip olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca 7,5 µL'lik bir dozda kullanılan *S. spicigera* esansiyel yağının *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* üzerinde inhibisyon etkisinin olduğunu belirlemişlerdir. Buna ilaveten *Satureja spicigera* uçucu yağının *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria* bakterisi üzerinde 10 µL'de %94 oranında inhibe ettiğini tespit etmişlerdir. Sonuç olarak çalışmalarında karşılık gelen uçucu yağların, tarım endüstrisi için doğal bir pestisit adayı olabileceği kanısına varmışlardır.

Tagnaout vd. (2023) yaptıkları çalışmada *O. elongatum*'un toprak üstü kısımlarından ekstrakte ettikleri uçucu yağın disk ve seyreltme yöntemleri ile *Serratia fonticola*, *E. faecalis*, *Acinetobacter baumannii*, *S. aureus*, *Klebsiella oxytoca*, duyarlı *Klebsiella pneumonia*, duyarlı *E.coli*, dirançli *E.coli* ve *E. aerogenes* gibi hastanede yatan hastalardan izole edilen dokuz patojenik bakteri üzerinde in vitro antibakteriyel testler gerçekleştirmişlerdir. *O. elongatum* esansiyel yağı minimum inhibitör konsantrasyonlarla (MİK) önemli bir antibakteriyel aktiviteler gösterdiğini bildirmişlerdir. MİK = 32 µL mL⁻¹ oranında *Staphylococcus aureus* için belirlenirken bu tür hariç diğer tüm suşlara karşı 2 ile 8 µL mL⁻¹ oranında belirlemişlerdir. Böcek öldürücü aktivite ile ilgili olarak ise LD50 = 17 ± 0,53 µL L⁻¹ 24 saatlik hava maruz kalma ile olduğunu sonuç itibari ile doğal bir antioksidan, antibiyotik ve biyopestisit olarak kullanılabileceğini bildirmişlerdir.

Braanin vd. (2015) *O. vulgare* L. ve *Ocimum basilicum* L. (Lamiaceae) bitkilerini diklorometan ve metanol ile ekstrakt yaparak antimikrobiyal aktivite açısından test etmişlerdir. *O. vulgare* L ekstraktlarının gram pozitif bakterilere karşı daha etkili

olduğunu minimum inhibisyon konsantrasyonu değerlerinin (MİK) 62.5 ve 125 µg/mL arasında olduğunu, *Ocimum basili* L. ekstraktlarının *Candida albicans* için minimum inhibisyon konsantrasyonu değerlerinin (MİK) 125 µg/mL belirlemişlerdir. *O. vulgare* L nin Siklohekzan ekstraktının *Helcobakter pilori* ye karşı aktivite göstermediğini diğer bütün ekstraktların 250-500 µg/mL arasında aktive göstermiş olduğunu tespit etmişlerdir. Ayrıca Rozmarinik Asit ve diğer polar bileşiklerin antibakteriyel bileşik olabileceği sonucuna varmışlardır.

Sözmen vd. (2011) tarafından yapılan *O. saccatum* P.H. Davis esansiyel yağının antibakteriyel aktivitesi ve kimyasal bileşenleri başlıklı çalışmalarında solventsiz mikrodalga ekstraksiyon (SFME) ve hidrodistilasyon (HD) ile elde ettikleri endemik *O. saccatum* P.H. Davis, GC/MS kullanılarak tanımlamışlardır. *O. saccatum*'dan sırasıyla SFME ve HD ile elde edilen her iki esansiyel yağında ana bileşenlerini p-simen (%72.5 ve %70.6), timol (%9.32 ve %8,11) ve karvakrol (%7,18 ve %6,36) olarak belirlemişlerdir. SFME ve HD ile elde edilen EO'ların antibakteriyel aktiviteleri disk difüzyon yöntemi ile karşılaştırılarak değerlendirmişlerdir. Farklı bakteri türleri üzerine SFME ile ekstrakte edilen esansiyel yağın yedi bakteri türünde antibakteriyel aktivitesini belirlemeye çalışmışlar ve test edilen HD ile ekstrakte edilen esansiyel yağın aktivitesinden daha etkili olduğunu bildirmişlerdir.

Özcan ve Chalchat (2009) tarafından yapılan çalışmada *O. saccatum* uçucu yağının antimikrobiyal aktivitesini belirleyebilmek için *Bacillus cereus*, *S. aureus*, *B subtilis*, *Aspergillus niger*, *Alternaria alternata*, *E. coli*, *Fusarium oxysporum*, *A. parasiticus* ve *Botrytis cinerea* olmak üzere toplamda 9 mikroorganizma üzerinde agar disk difüzyon yöntemi kullanarak çalışmışlardır. *O. saccatum* uçucu yağının *Staphylococcus aureus* ve *Escherichia coli* üzerinde etkili olduğunu tespit etmişlerdir. *Bacillus subtilis* ve *Bacillus aureus* 100 ppm oranı haricinde *Origanum saccatum* uçucu yağının tüm mikroorganizmaların büyümesi üzerinde değişen seviyelerde antimikrobiyal etki gösterdiğini tespit etmişlerdir. Çalışma sonucunda elde ettikleri veriler doğrultusunda konsantrasyon derecesine bağlı olarak antimikrobiyal aktivitenin arttığını en yüksek duyarlı bakterilerde *Staphylococcus aureus* ve *Escherichia coli* olduğunu tespit etmişlerdir.

Aslım ve Yücel (2008) yürüttükleri çalışmalarında, su mikrodilüsyonu ile agar kuyu difüzyon yöntemi kullanılarak *O. minutiflorum*'un uçucu yağını siprofloksasin'e karşı direnç gösteren *Campylobacter* spp. üzerine antimikrobiyal aktivitelerini araştırmıştır. Minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK) değerleri *O. minutiflorum*'un uçucu yağına duyarlı bakteri türleri için 7.8-800 pg ml⁻¹ aralığında olduğunu bildirmiştir. Elde ettiği bulgular ile *O. minutiflorum*'un gıda kaynaklı *Campylobacteriosis* gibi hastalıklarda gıdada doğal bir koruyucu olarak kullanılabileceğini belirtmişlerdir. Bu çalışmada *Origanum* türleri olan *O. bilgeri*, *O. minutiflorum*, yağlarının *Lactococcus garvieae*, *Yersinia ruckeri* ve *Aeromonas hydrophila* bakterilerinin üzerine 1,90 µl/mL oranında minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK) değerlerinin olduğu *O. saccatum*'um 3,90 µl/mL oranında minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK) tespit edilmiştir.

6. SONUÇ

Gelişen teknoloji, Tarım ve Orman Bakanlığı desteklemeleri, artan ihracat aracılığıyla da geniş pazar alanına ulaşarak hızla büyüyen su ürünleri üretiminde yaklaşık son on yıldan beri %130'lara ulaşan büyüme gösteren gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) yetiştiriciliği ekonomik getirisiyle yalnız ülkemizde değil küresel üretimde de üretimi gerçekleştirilen bir tür olmuştur. Ancak yoğun stoklu üretimlerden kaynaklı aşırı patojen yükleri söz konusu balıkların sağlıklarını olumsuz yönde etkileyerek üretimini gerçekleştiren işletmeleri zaman zaman büyük ekonomik zararlara uğratabilmektedir. Bu sebeple balıkların sağlığını olumsuz yönde etkileyen patojenlere gereğinden fazla ve bilinçsizce yapılan ilaçlı mücadeleler özellikle antibiyotikler patojenlerin gün geçtikçe direnç kazanımına sebebiyet verebilmektedir.

Küresel bir insan sağlığı sorunu haline gelen zamanla bakterilerce kazanılan antibiyotik direnci, bakteriyel hastalıklarla yapılacak mücadelelerde kullanılacak antibiyotik ajanları da sınırlayabilmektedir. Söz konusu durumun önüne geçilmesi hastalıkların doğru teşhisi ve doğru antibiyotiğin uygun dozda kullanımı ile mümkün olabileceği aşikardır. Böylelikle gerek üretim tesislerinin gerekse çevrenin uğradığı ve gelecekte de uğrayacağı zararlar daha az seviyelere indirgenmiş olacaktır.

Yüksek üretim hedeflerinin yanı sıra yeniliklere ve alternatiflere her zaman açık olan su ürünleri üretimi balık ve çevre sağlığında ön planda tutmaya özen göstermektedir. Zamanla kimyasal ve sentetik bileşen içeren ilaçlara kazanılan dirençler üretimde bir çok ilacı kullanılamaz hale getirmiş ve yeni alternatiflere sürüklemiştir. Yeni alternatifler olarak denemeleri yapıldıkça elde edilen veriler ile sentetik ve kimyasal ilaçlar yerini tespiti gerçekleştirilen bitkisel tedavilere bırakmaya başlamıştır.

Bitkilerden elde edilen ekstrakt ve uçucu yağlar özellikle tıbbi ve aromatik bitkilerden elde edilenler söz konusu durumda odak noktası olmaya başlamıştır. Gerek yeme ilaveleri gerekse anestezik madde olarak tercih edilmeleri bitkisel ürünlerin su ürünlerinde kullanımını giderek yaygınlaştırmaktadır.

Bu tez çalışması kapsamında Batı Akdeniz Bölgesi'nde faaliyet gösteren ve gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum 1792) bulunduran işletmelerden temini gerçekleştirilen balıklardan izole edilen *Lactococcus garvieae*, *Yersinia ruckeri* ve *Aeromonas hydrophila* MALDI-TOF MS ve Moleküler DNA izolasyonu ile teşhis edilmiştir. Teşhisi gerçekleştirilen bakterilerin eritromisin (15 µg), florfenikol (30 µg), tetrasiklin (30 µg), sulfametaksazol (100 µg) ile sulfametaksazol-trimetoprim (25 µg) antibiyotiklerine duyarlılıkları belirlenmiştir. Bakteriler söz konusu antibiyotiklere duyarlı bulunmuştur. Bu bakteriler üzerine en etkili antibiyotiğin florfenikol (30 µg) olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca sulfametaksazol-trimetoprim (25 µg) *Lactococcus garvieae* üzerine en az zon veren antibiyotik olurken *Yersinia ruckeri* ve *Aeromonas hydrophila* üzerine Sulfametaksazol (100 µg) en az zon veren antibiyotik olmuştur. Tanımlanan bu bakterilerde *erm*(B), *flo*(R), *erm*(A), *tet*(E), *tet*(A), *tet*(M), *sul*(1), *sul*(2) ile *sul*(3) genleri spesifik primerler ile taranmıştır. *Aeromonas hydrophila*'da yalnız *sul*(2) geni tespit edilirken *Yersinia ruckeri*'de *tet*(A), *sul*(1),ve *sul*(2) tespit edilmiştir. *Lactococcus garvieae* izolatlarında ise *flo*(R), *erm*(A), *erm*(B), *tet*(A), *tet*(E), *tet*(M), *sul*(1), *sul*(2) ile *sul*(3) genleri tespit edilmiştir. Buna ilaveten bakteriler üzerine endemik origanum türleri olan *Origanum bilgeri*, *O. minutiflorum* ve *O. saccatum*

yağlarının antimikrobiyal etkisini belirlemek için disk difüzyon yöntemi uygulanmıştır. Uygulanan yağların antimikrobiyal etkisinin olduğu belirlenirken *Origanum bilgeri*, *O. minutiflorum* yağının *O. saccatum* yağına göre daha düşük dozlarda bile etkili olduğu saptanmıştır. Ayrıca minimum inhibisyon konsantrasyon değerinin *O. saccatum* yağı için 3,90 µl/mL olduğu *Origanum bilgeri* ve *O. minutiflorum* yağları için ise 1,90 µl/mL olduğu belirlenmiştir.

Aromatik bitki ve bu bitkiden elde edilen esansiyel yağların bakteriler üzerine antimikrobiyal etki sergilediği ve alternatif olarak kullanılabileceği yapılan çalışmalar ile aşıkardır. Bu tez çalışması kapsamında kullanılan yağların antimikrobiyal etkisi olduğu görülmüştür. Dolayısıyla mikrobiyal hastalıkların tedavisi için söz konusu yağlardan su ürünleri alanında bir fayda sağlayabileceği düşünülmektedir.

Günümüzde sentetik içerikli maddelerin yan etkileri aşırı ölçüde olması, antimikrobiyal etki için kullanılan ilaçlara özellikle antibiyotiklere karşı organizmaların direnç oluşturmaları eskiye dayanan bitkisel ve doğal yöntemlerin önemini ortaya koymaktadır.

Uçucu yağlara karşı artan tüketici talebi, doğal ve güvenilir olmaları bitkisel uçucu yağlar konusunda daha ayrıntılı çalışmalar ortaya konulması gerekliliğininde beraberinde getirmiştir. Antibiyotiklere alternatif olarak kullanılabilecek bitkisel yağ çeşitleri ve etkileri üzerine daha detaylı çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Yapılan bu çalışmanın gelecekte bu amaçla yapılacak diğer çalışmalara kaynak olabileceği ve katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

7. KAYNAKLAR

- Abdel-Latif, H.M.R., Abdel-Tawwab, M., Khafaga, A.F. and Dawood, M.A.O. 2020. Dietary *Origanum* essential oil improved antioxidative status, immunerelated genes, and resistance of common carp (*Cyprinus carpio* L.) to *Aeromonas hydrophila* infection. *Fish and Shellfish Immunology* 104, 1–7
- Adeli, A. and Baghaei, F. 2013. Production and supply of rainbow trout in Iran and the world. *World Journal of Fish and Marine Sciences (WJFMS)*, 5(3): 335–341.
- Agersø, Y., Bruun, M.S., Dalsgaard, I. and Larsen, J.L. 2007. The tetracycline resistance gene *tet(E)* is frequently occurring and present on large horizontally transferable plasmids in *Aeromonas spp.* from fish farms. *Aquaculture* 266:47–52
- Ahmed, S. A. A., Reda, R. M. and ElHady, M. 2020. Immunomodulation by *C. sativum* seeds (Coriander) and its ameliorative effect on lead-induced immunotoxicity in Nile tilapia (*O. niloticus* L.). *Aquacul Res.*, 51:1077–1088.
- Akarsu, H. 2016. Buzdolabında (+2±1 °C) vakum paketlenerek depolanmış alabalık (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) filetolarının kalitesine farklı kekik (*Origanum onites* L.) ekstraktlarının etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Rize, 81s.
- Akhlaghi, M. and Sharifi Yazdi, H. 2008. Detection and identification of virulent *Yersinia ruckeri*: the causative agent of enteric redmouth disease in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) cultured in Fars Province, Iran. *Iran. J. Vet. Res.*, 9(4): 347–352
- Akkan, H.A. ve Karaca, M. 2003. Veteriner iç hastalıklarında antibiyotiklerin kullanımı, *YYÜ Vet. Fak. Derg.*, 14(2): 72-77.
- Akşit, D. ve Kum, M. 2008. Gökkuşaağı alabalıkları (*O. mykiss*, Walbaum 1792)’nda sık görülen patojen mikroorganizmaların tespiti ve antibiyotik duyarlılık düzeylerinin belirlenmesi. *YYÜ Vet Fak Derg.*, 19(1): 1-7.
- Aktop, Y. ve Çağatay, İ. T. 2022. Tıbbi ve aromatik bitkilerden *Origanum* türlerinin su ürünlerinde kullanım alanları. *Menba Kastamonu Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Dergisi*, 8(2), 114-121
- Algammal, A.M., Mohamed, M., Tawfiek, B.A. Hozzein, W.N., El Kazzaz, W. M. and Mabrok, M. 2020. Molecular typing, antibiogram and PCR-RFLP based detection of *Aeromonas hydrophila* complex isolated from *Oreochromis niloticus*. *Pathogens*. 9:238.
- Alghabshi, A. Austin, B. and Crumlish, M. 2018. *Aeromonas salmonicida* isolated from wild and farmed fish and invertebrates in Oman. *Int Aquat Res.*,10: 145–152.
- Altan, E. 2019. Antalya ili civarındaki bazı alabalık çiftliklerinden *Lactococcus garvieae*'nin izolasyonu. Yüksek Lisans Tezi, Akdeniz Üniversitesi, Antalya, 79s.
- Angulo, F.J. and Griffin, P.M. 2000. Changes in antimicrobial resistance in *S. enterica* serovar Typhimurium. *Emerg Infect Dis.*, 6: 436–438.

- Anhalt, J.P. and Fenselau C. 1975. Identification of bacteria using mass spectrometry. *Anal Chem*, 47: 219-25.
- Anonim. 2014. World Health Organization. Antimicrobial resistance global report on surveillance. France. <http://www.who.int/drugresistance/documents/surveillancereport/en/> (Erişim Tarihi: 01.12.2014).
- Anwer, R., Darami, H., Almarri, F.K., Albogami, M.A., Alahaydib, F. 2022. MALDI-TOF MS for Rapid Analysis of Bacterial Pathogens Causing Urinary Tract Infections in the Riyadh Region. *Diseases*. 10, 78.
- Aras, N.M., Kocaman, E.M. ve Aras, M.S. 2000. Genel su ürünleri ve kültür balıkçılığının temel esasları. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ders Yayınları, no: 216, Erzurum.
- Aslan, R., Taşkın Kafa, A.H., Hasbek, M., Çelik, C. 2021. Farklı esansiyel yağların in vitro antimikrobiyal etkinliğinin değeriendirilmesi. *Turk Hij Den Biyol Derg*, 78(4): 525 – 534
- Aslım, B. and Yücel, N. 2008. In vitro antimicrobial activity of essential oil from endemic *Origanum minutiflorum* on ciprofloxacin-resistant *Campylobacter* spp. *Food Chemistry*, 107 (2), 602-606 p.
- Austin, B. and Austin, D.A. 2016. Bacterial fish pathogens. 6. th edition. Springer International Publishing, Switzerland, pp: 21-82; 161-321; 323-396; 643-721.
- Aydın, B. 2016. Gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) yavru yeminde kurutulmuş damıtma kalıntıları ve çözünür maddeleri (DDGS) kullanma olanaklarının araştırılması, Doktora Tezi, Akdeniz Üniversitesi, Antalya, 174s.
- Aydın, H. 2017. Türkiye’de kültür balıkçılığı potansiyeli ve akuakültür sektörünün ekonomiye katkısı. *Balkan Sosyal Bilimler Dergisi*, 6(11): 62-67.
- Baba, E., Acar, Ü., Öntaş, C, Kesbiç, O.S., Yılmaz, S. 2016. Evaluation of *Citrus limon* peels essential oil on growth performance, immune response of Mozambique tilapia *Oreochromis mossambicus* challenged with *Edwardsiella tarda*. *Aquaculture*, 465: 13–18.
- Baeck, G.W., Kim, H.J., Gomez, D.K. and Park, S.C. 2006. Isolation and characterization of *Streptococcus* sp. from diseased flounder (*P. olivaceus*) in Jeju Island. *J Vet Sci.*, 7: 53-58.
- Balta, F. 2020. Fırtına Deresi’ndeki gökkuşağı alabalık çiftliklerinde izole edilen *Aeromonas* spp. izolatlarının antimikrobiyel hassasiyetin belirlenmesi. *Anadolu Çev. ve Hay. Dergisi*, 5(3), 397-407.
- Bartkova, S. 2016. *Aeromonas salmonicida* - Epidemiology, whole genome sequencing, detection and in vivo imaging, PhD Thesis, Technical University of Denmark. 156 p.
- Bayaz, M. 2014. Esansiyel yağlar: antimikrobiyal, antioksidan ve antitumör aktivitei. *Akademik Gıda* 12(3): 45-53.

- Baydar, H. 2005. Yayla Kekiği (*Origanum minutiflorum* O. Schwarz et. P. H. Davis)'nde farklı toplama zamanlarının uçucu yağ içeriği ve uçucu yağ bileşenleri üzerine etkisi. *Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 18:2, 175 – 178.
- Baydar, H. ve Avcu, F. 2020. Yayla kekiği (*Origanum minutiflorum* O. Schwarz et. P.H. Davis)'nin farklı biçim dönemlerinde uçucu yağ içeriği ve bileşenleri. *Türk Bilim ve Mühendislik Dergisi*, 2(2): 64-70.
- Benagli, C., Demarta, A., Caminada, A., Ziegler, D., Petrini, O. and Tonolla, M. 2012. A rapid MALDI-TOF MS identification database at genospecies level for clinical and environmental *Aeromonas* strains. *PLoS One*, 7(10), e48441.
- Bilenler, T. ve Gökbulut İ. 2019. Hastane patojenlerinin ticari uçucu yağlara karşı hassasiyetlerinin belirlenmesi. *GÜFBED/GUSTIJ*, 9 (3): 716-723. orcid.org/0000-0001-7831-6337.
- Bodur Böcuoğlu, A. 2023. Türkiye su ürünleri yetiştiriciliğinde Avrupa'nın zirvesinde. <https://www.aa.com.tr/tr/ekonomi/turkiye-su-urunleri-yetistiriciliginde-avrupanin-zirvesinde/2872867>
- Bodur, T., Afonso, J.M., Montero, D. and Navarro, A. 2018. Assessment of effective dose of new herbal anesthetics in two marine aquaculture species: *D. labrax* and *A. regius*. *Aquacult.* 482; 78-82.
- Boonstra, M., Fouz, B., van Gelderen, B., Dalsgaard, I., Madsen, L., Jansson, E., Amaro, C. and Haenen, O. 2023. Fast and accurate identification by MALDI-TOF of the zoonotic serovar E of *Vibrio vulnificus* linked to eel culture. *Journal of Fish Diseases*, 46, 445–452.
- Boran, H., Terzi, E., Altınok, I., Çapkın, E. and Başçınar, N. 2013. Bacterial diseases of cultured mediterranean horse mackerel (*Trachurus mediterraneus*) in sea cages. *Aquaculture*, 396.
- Braanin, S., Bogdanovi'c, N., Kolundži'c, M., Milenkovi'c, M., Goli'c, N., Koji'c, M. and Kundakovi'c, T. 2015. Antimicrobial activity of oregano (*Origanum vulgare* L.) and basil (*Ocimum basilicum* L.) extracts. *Adv. Technol.* 4, 5–10.
- BSGM. 2021. Balıkçılık ve Su ürünleri Genel Müdürlüğü, Su Ürünleri İstatistikleri. <https://www.tarimorman.gov.tr/SGB/Belgeler/SagMenuVeriler/BSGM.pdf>
- Burka, J.F., Hammell, K.L., Horsberg, T.E., Johnson, G.R., Rainnie, D.J. and Speare, D.J. 1997. Drugs in salmonid culture - a review. *J. Vet Pharmacol Ther.*, 20: 333-349.
- Calderaro, A., Motta, F., Montecchini, S., Gorrini, C., Piccolo, G., Piergianni, M., Buttrini, M., Medici, M.C., Arcangeletti, M.C, Chezzi, C. and De Conto, F. 2014. Identification of dermatophyte species after imlementation of the in-house MALDI-TOF MS database. *International Journal of Molecular Sciences*, 15: 16012-16024.
- Chen, J., Yu, Z., Michel, F.C., Wittum, T. and Morrison, M. 2007. Development and application of real-time PCR assays for quantification of erm genes conferring resistance to macrolideslincosamides- streptogramin B in livestock manure and manure management systems. *App and Envir Microbio.*, 73(14), 4407-4416.

- Cihangir, E. ve Diler, İ. 2016. Yavru ve juvenil gökkuşığı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) yemlerine farklı oranlarda ilave edilen kekik yağının (*Origanum vulgare* L.) büyüme performansı ve yemden yararlanma üzerine etkisi. *Süleyman Demirel Üniversitesi Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi Dergisi*, 12(2), 86-96.
- Clark, A.E., Kaleta, E.J., Arora, A. and Wolk, D.M. 2013. Matrix-assisted laser desorption ionization–time of flight mass spectrometry: a fundamental shift in the routine practice of clinical microbiology. *Clinical microbiology reviews*. 26(3):547603.
- CLSI. 2014. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Twenty-Fourth Informational Supplement. Clinical Laboratory Standards Institute, Wayne, USA, M100-S24, 230s.
- Coşkun, İ. 2019. Ardıç meyvesinden elde edilen uçucu yağda biyolojik aktivite araştırmaları. Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi, İzmir, 45s.
- Cunha, J.A., Heinzmann, B.M. and Baldissotto, B. 2018. The effects of essential oils and their major compounds on fish bacterial pathogens – a review. *J of App Microbio.*, 125, 328-344.
- Çağatay, İ.T. ve Gümüş, E. 2018. Gökkuşığı alabalığında karşılaşılan bazı bakteriyel hastalık etkenlerinin hızlı teşhisi. *Journal of Advances in VetBio Science and Techniques*, 3(3), 23-27.
- Çağiltay, F. 2011. İç Su Balıkları Yetiştiriciliği. Nobel Yayın Dağıtım. Yayın No:29, Fen Bilimleri Dizi No:2. Ankara, 290 s.
- Çapkın, E., Terzi, E. ve Altınok, İ. 2015. Occurrence of antibiotic resistance genes in culturable bacteria isolated from Turkish trout farms and their local aquatic environment. *Dis Aquat Org.*, 114: 127–137.
- Çelik, E. ve Çelik Yuvalı, G. 2007. Bitki uçucu yağlarının antimikrobiyal özellikleri. *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi*, 05: 2, 1-6.
- Çelik, Y. S. 2020. Tıbbi ve aromatik bitkilerin balık yetiştiriciliğinde kullanım potansiyelleri. *Menba Kastamonu Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Dergisi*, 6(2), 86-94.
- Çetin, H. ve Yanıkoğlu, A. 2006. A study of the larvicidal activity of *Origanum* (Labiatae) species from southwest Turkey. *J Vector Ecol.*, 31, 118–122
- Çetinkaya, S. 2013. Vakum paketli pişirilen (sous vide) gökkuşığı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792)'nın soğuk depolanması sırasında kalite özelliklerine doğal antioksidanların etkisi. Doktora Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi, Isparta, 156 s.
- Çıtak, S., Yücel, N. ve Orhan, S. 2004. Antibiotic resistance and incidence of Enterococcus species in Turkish white cheese, *International J of Dairy Tec.*, 57: 27-31.
- Çolak, D. 1999. Antimikrobiyal ilaçlar ve etki mekanizmaları. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Güneş Kitapevi, Ankara, 81-89.

- Dadaloğlu, I. and Evrendilek Akdemir, G. 2004. Chemical compositions and antibacterial effects of essential oils of Turkish oregano (*Origanum minutiflorum*), bay laurel (*Laurus nobilis*), Spanish lavender (*Lavandula stoechas* L.), and fennel (*Foeniculum vulgare*) on common foodborne pathogens. *J Agric Food Chem.* 29;52(26):8255-60.
- Dalsgaard, I. and Madsen, L. 2000. Bacterial pathogens in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), reared at Danish freshwater farms. *J. Fish Dis.*, 23: 199–209.
- De Moraes França Ferreira, P., da Silva Nascimento, L., Coelho Dias, D., da Veiga Moreira, D. M., Lúcia Saláro, A., de Freitas, M.B.D., Carneiro, A.P.S. and Zuanon, J.A.S. 2014. Essential oregano oil as a growth promoter for the yellowtail tetra, *Astyanax altiparanae*. *Journal of the World Aquaculture Society*, 45(1), 28-34.
- De Moraes França Ferreira, P., da Silva Nascimento, L., Coelho Dias, D., da Veiga Moreira, D. M., Lúcia Saláro, A., de Freitas, M.B.D., Carneiro, A.P.S. and Zuanon, J.A.S. 2014. Essential oregano oil as a growth promoter for the yellowtail tetra, *Astyanax altiparanae*. *Journal of the World Aquaculture Society*, 45(1), 28-34.
- DeGrandis, S.A. and Stevenson, R.M. 1985. Antimicrobial susceptibility patterns and R plasmid-mediated resistance of the fish pathogen *Y. ruckeri*. *Antimicrob Agents Chemother.*, 27: 938-942.
- Dhayalan, A., Thillinathan, N., Velramar, B., Athiyappagounder, P., Sundaramoorthy, D. and Pachiappan P. 2022. Molecular characterization of pectinase producing innovative bacterium, *Aeromonas Guangheii*, isolated from the gut of fish, systemus sarana, RSM optimization for its enzyme production, the cloning and expression analysis of exo-pelA-gene and the recombinant protein purification. *Researchsquare*.
- Diler, Ö., Görmez, Ö., Diler, İ. ve Metin, S. 2016. Effect of oregano (*Origanum onites* L.) essential oil on growth, lysozyme and antioxidant activity and resistance against *Lactococcus garvieae* in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Aquaculture Nutrition*,
- Diler, Ö., Görmez, Ö., Metin, S., İlhan, İ. and Diler, İ. 2017. *Origanum vulgare* L. Uçucu yağının gökkuşığı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*)’nda büyüme, lizozim ve antioksidan aktivite ve *Vibrio anguillarum*’a karşı direnç üzerine etkisi. *Süleyman Demirel Üniversitesi Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi Dergisi*, 13(1), 42-57.
- Dirican, S. Musul, H. ve Çilek, S. 2009. Some physico-chemical characteristic and rotifers of Camligoze dam lake, Susehri, Sivas, Turkey. *J. Anim. Vet. Adv.*, 8(4): 715-719
- Dirmenci, T., Özcan, T., Acar, M., Arabacı, T., Yazıcı, T. and Martin, E. 2019. A rearranged homoploid hybrid species of *Origanum* (Lamiaceae): *O. × munzurensis* Kit Tan & Sorger. *Botany letters*, 166(2), 153-162.

- Dirmenci, T., Özcan, T., Yazıcı, T., Arabacı, T. and Martin, E. 2018b. Morphological, cytological, palynological and molecular evidence on two new hybrids from Turkey: an example of homoploid hybridization in *Origanum* (Lamiaceae). *Phytotaxa*, 371(3), 145-167.
- Dirmenci, T., Yazıcı, T., Özcan, T., Celenk, S. and Martin, E. 2018a. A new species and a new natural hybrid of *Origanum* L.(Lamiaceae) from the west of Turkey. *Turkish Journal of Botany*, 42(1), 73-90.
- Divya, K., Ramalakshmi, K., Murthy, P.S., Rao L. J. M. 2014. Volatile oils from *Ferula asafoetida* varieties and their antimicrobial activity. *Food Science and Techno.*, 59:774-779
- Dolgun, O., Yüksel, H. T., Parın, U., Erbaş, G. ve Kırkan, Ş. 2016. Kültür balıkçılığında antimikrobiyel direnç. *Animal Health Prod and Hyg.*, 5(2) : 472 – 476.
- Dönmez, M.F. Şahin Uysal B. ve Usanmaz Bozhüyük A. 2020. *Satureja* türlerinden elde edilen uçucu yağ ve ekstraktlarının fasulyede bakteriyel patojenlere karşı antibakteriyel etkisi, *Journal of Agriculture*. 3(2): 57- 70.
- Duman, M. 2017. Gökkuşluğu alabalıklarında görülen motil *Aeromonas* (*A. hydrophila*, *A. sobria*, *A. caviae*), *Y. ruckeri* ve *L. garvieae* bakterilerinin antimikrobiyal duyarlılıkları ve duyarlılıkta rol oynayan genlerin tespiti. Doktora Tezi, Uludağ Üniversitesi, Bursa.
- Duman, M. Saticioğlu, İ.B. Janda, J.M. and Altun, S. 2018. The determination of the infectious status and prevalence of motile *Aeromonas* species isolated from disease cases in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and aquarium fish. *J. Fish Dis.*, 41: 1843-1857.
- Durmaz, Y. ve Kılıçoğlu. Y. 2015. Bir Alabalık Çiftliğinde Doğal enfekte gökkuşluğu alabalıklarından (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) *Lactococcus garvieae*'nin kültür ve pcr ile saptanması ve etkenin antibiyotik duyarlılık profillerinin belirlenmesi. *Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg.* 10(2): 109-115
- Durmaz, Y., Onuk, E.E. ve Çiftçi, A., 2012. Investigation of the presence and antibiotic susceptibilities of *Flavobacterium psychrophilum* in rainbow trout farms (*O. mykiss* Walbaum, 1792) in the middle and eastern black sea regions of Turkey, *A.Ü. Vet. Fak. Derg.*, 59, 141-146.
- Ekici, S., Diler, Ö., Didinen, B. I. ve Kubilay, A. 2011. Antibacterial activity of essential oils from medicinal plants against bacterial fish pathogens. *Kafkas Univ. Vet. Fak. Derg.*, 17,
- El-Barbary, M.I. and Hal, A.M. 2017. Phenotypic and genotypic characterization of some *Pseudomonas* sp. associated with *Burkholderia cepacia* isolated from various infected fishes. *J. Aquac. Res. Development.*, 8(7): 1-7.
- Emre, Y. ve Kürüm, V. 2007. Havuz ve kafeslerde alabalık yetiştiriciliği kitabı. İkinci Baskı. Posta Basım, İstanbul, 272 s.
- Ergül, S.N. 2018. Gökkuşluğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) yemlerine farklı oranlarda kekik (*Origanum onites*) ekstraktı ilavesinin büyüme performansı, deri histolojisi, barsak histolojisi ve mikrobiyotası üzerine etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi, Isparta, 56s.

- Ertürk, Ö., Tanrikulu, G.İ., Yavuz, C., Can, Z. and Çakır, H.E. 2017. Chemical compositions, antioxidant and antimicrobial activities of the essential oil and extracts of lamiaceae family (*Ocimum basilicum* and *Thymbra spicata*) from Turkey. *Int. J. Sec. Metabolite*, Vol. 4: 3 pp. 340-348
- Faisal, M. Eissa, A.E. and Starliper C.E. 2010. Recovery of *Renibacterium salmoninarum* from naturally infected salmonine stocks in Michigan using a modified culture protocol. *J. Adv. Res.*, 95–102
- Faisal, M., Schulz, C., Eissa, A., Brenden, T., Winters, A., Whelan, G., Wolgamood, M., Eisch, E. and VanAmberg J. 2012. Epidemiological investigation of *Renibacterium salmoninarum* in three *Oncorhynchus* spp. in Michigan from 2001 to 2010, *Prev. Vet. Med.*, 107: 260-274.
- FAO. 2018 The state of world fisheries and aquaculture. FAO Fisheries and Aquaculture Department.
- FAO. 2022. The state of world fisheries and aquaculture. FAO Fisheries and Aquaculture Department.
- Farsani, M.N., Hoseinifar, S. H., Rashidian, G., Farsanid H.G., Ashouri, G. and Doan, H.V. 2019. Dietary effects of *C. sativum* extract on growth performance, physiological and innate immune responses and resistance of rainbow trout (*O. mykiss*) against *Y. ruckeri*. *Fish and Shellfish Immunology*, 91:233–240.
- Filik, N., Önem, E. ve Kubilay, A. 2021. *Aeromonas hydrophila* suşlarının antibiyotik direnç profilleri. *Acta Aquatica Turcica*. 17(2), 202-213
- Fonnegra, R. and Jiménez, S. 2007. Plantas medicinales aprobadas en Colombia (pp. 193–194). Colombia: Universidad de Antioquia.
- Franzetti, L. and Scarpellini, M. 2007. Characterisation of *Pseudomonas* spp. isolated from foods. *Annals of Microbiology*, 57(1): 39-47.
- Froese, R. and Pauly, D. 2009. FishBase. World Wide Web electronic publication. <http://www.fishbase.org> version.
- Gibello, A., Blanco, M.M., Moreno, M.A., Cutuli, M.T., Domenech, A., Dominguez, L. and Fernandez-Garayzabal, J.F. 1999. Development of a PCR assay for detection of *Yersinia ruckeri* in tissues of inoculated and naturally infected trout. *Appl. Envir. Mic.*, 65, 346-350.
- Gomes, S., Afonso, A. and Gartner, F. 2006. Fish vaccination against infections by *Streptococcal* species and the particular case of lactococcosis. *RPCV*, 101: 25-35.
- Güler, M., Tokgöz, F., Korkmaz, E.M. ve Budak, M. 2018. Böcek dokularından dna izolasyonu yöntemlerinin kalite, verim ve maliyet açısından karşılaştırılması. *S.Ü. Fen Fakültesi Fen Dergisi*, 44 (2), 135-148.
- Güner, A., Aslan, S., Ekim, T., Vural, M. and Babaç, M. T. 2012. Türkiye bitkileri listesi. (damarlı bitkiler), nezahat gökyağı botanik bahçesi ve flora araştırmaları Derneği Yayını, (s 262).

- Gürbüz, B., İpek, A. ve Ayvaz, N. 2011. Türkiye florasındaki *Origanum* türlerinin yayılış alanları ve ticareti. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi* 4 (2):55-58
- Güven, N. 2021. *Origanum vulgare* L. subsp. *hirtum* (link) Ietswaart bitkisinin Eskişehir koşullarında yetiştirilmesi ve farmakognozik açıdan incelenmesi. Doktora Tezi, Anadolu Üniversitesi, Eskişehir, 80s.
- Hancı, İ. ve Onuk, E.E. 2018. *Lactococcus garvieae* İzolatlarının Antimikrobiyal Direnç Profillerinin Fenotipik ve Genotipik Olarak Belirlenmesi. *Etlik Vet Mikrobiyol Derg.*, 29 (2): 94-103.
- Hardie, L.J. Ellis, A.E. and Secombes, C.J. 1996. In vitro activation of rainbow trout macrophages stimulates inhibition of *Renibacterium salmoninarum* growth concomitant with augmented generation of respiratory burst products. *Dis.Aquat. Org.*, 25: 175-183.
- Hoşsu, B., Korkut, A.Y. and Fırat, A. 2003. Balık besleme ve yem teknolojisi, I. Ege Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Yayınları No: 50, Bornova-İzmir, 265 s.
- Huang, Y. Jung, A. Schäfer, W. Mock, D. Michael, G.B. Runge, M. Schwarz, S. and Steinhagen, D. 2015. Analysis of *Yersinia ruckeri* strains isolated from trout farms in northwest Germany. *Dis. Aquat. Org.*, 116: 243–249.
- Ietswaart, J.H. 1982. *Origanum* L. In: Davis, P.H. (Ed.) Flora of Turkey and the East Aegean Islands. Vol. 7. Edinburgh Univ Press, Edinburgh, pp. 297–313. (Kitap bölümü)
- Ishida, Y., Ahmed, A.M., Mahfouz, N.B., Kimura, T., El-Khodery, S.A., Moawad, A.A. and Shimamoto, T. 2010. Molecular analysis of antimicrobial resistance in gram-negative bacteria isolated from fish farms in Egypt. *J Vet Med Sci.*, 72(6): 727–734.
- Janssen, K., Chavanne, H., Berentsen, P. and Komen, H. 2015. Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)- Current status of selective breeding in Europe. *Aquaculture Europe*, 1-12.
- Jansson, E. 2002. Bacterial Kidney Disease in salmonid fish, department of fish, Swedish University of Agricultural Sciences. Doctoral thesis, Uppsala. 52.
- Karan, T., Belguzar, S. and Selvi, B. 2021. Antibacterial activity of essential oils of *Origanum bilgeri*, *Origanum onites*, *Satureja spicigera* leaves against agricultural plant pathogenic bacteria, journal of essential oil bearing plants, 24:5, 1159-1168,
- Karousou, R. and Kokkini, S. 2003. The genus *Origanum* (Labiatae) in crete: distribution and essential oils. *Boccone*, 16, 717-721.
- Kenar, M. 2020. Bazı aromatik bitkilerden elde edilen rozmarinik asit, karnosol ve karnosik asitin sardalya (*Sardina pilchardus* Walbaum 1972) filetosu üzerindeki antioksidan ve antimikrobiyal etkilerinin incelenmesi. Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi, Adana, 271s.
- Khushiramani, R., Girisha, S.K., Karunasagar, I. and Karunasagar, I. 2007. Cloning and expression of an outer membrane protein ompTS of *A.hydrophila* and study of immunogenicity in fish. *Pro. Exp. Pur.*51(2): 303-7.

- Kia, E.R. and Mehrabi, Y. 2013. Detection and identification of different *Streptococcus* strains in farmed rainbow trout in Boyerahmad and Dena regions (North South of Iran). *World Journal of Fish and Marine Sciences (WJFMS)*, 5 (3): 315-321
- Kim, E.H. and Aoki, T. 1993. Drug resistance and broad geographical distribution of identical R plasmids of *P. piscicida* isolated from cultured yellowtail in Japan. *Microbiol Immunol.*, 37: 103–109.
- Kirkan, S., Göksoy, O.E. ve Kaya, O. 2003. Isolation and antimicrobial susceptibility of *A. salmonicida* in rainbow trout (*O. mykiss*) in Turkey hatchery farms. *J Vet Med B.*, 50: 339-342.
- Klůga, A., Terentjeva, M., Kántor, A., Kluz, M., Puchalski, C. and Kačániová, M. 2017. Antibacterial Activity of *Melissa officinalis* L., *Mentha piperita* L., *Origanum vulgare* L. and *Malva mauritiana* against bacterial microflora isolated from fish. *Advanced Research In Life Sciences*. 1(1), 75-80 www.degruyter.com/view/j/arls
- Korun, J. ve Toprak, B.H. 2010. Kültürü yapılan gökkuşağı alabalıkları (*O. mykiss*)’nın barsağından izole edilen hareketli *Aeromonas* suşlarının antibiyotik hassasiyetleri üzerine NaCl’ün etkisi. *Kafkas Üni Vet Fak Derg.*, 16: 193-198
- Koyuncu, O., Yaylacı, Ö. K., Öztürk, D., Erkara, İ. P., Savaroğlu, F., Akçoşkun, Ö. ve Ardıç, M. 2010. Osmaneli (Bilecik-Türkiye) ve çevresinde doğal yayılış gösteren Lamiaceae taksonlarının risk kategorileri ve etnobotanik özellikleri. *Biological Diversity and Conservation*, 3 (3), 31-45.
- Köprücü, S. 2016. Alabalık Hastalıkları, Korunma Ve Tedavi Yöntemleri. [https://arastirma.tarimorman.gov.tr/elazigsuurunleri/Belgeler/S%C3%9CRD%C3%9CR%C3%9CLEB%C4%B0L%C4%B0R%20ALABALIK%20YET%C4%B0%C5%9ET%C4%B0R%C4%B0C%C4%B0L%C4%B0%C4%9E%C4%B0%20%C3%87ALI%C5%9ETAYI%20\(12.04.2016\)/4-Alabal%C4%B1k%20Hastal%C4%B1klar%C4%B1,%20Korunma%20ve%20Tedavi%20y%C3%B6ntemleri.pdf](https://arastirma.tarimorman.gov.tr/elazigsuurunleri/Belgeler/S%C3%9CRD%C3%9CR%C3%9CLEB%C4%B0L%C4%B0R%20ALABALIK%20YET%C4%B0%C5%9ET%C4%B0R%C4%B0C%C4%B0L%C4%B0%C4%9E%C4%B0%20%C3%87ALI%C5%9ETAYI%20(12.04.2016)/4-Alabal%C4%B1k%20Hastal%C4%B1klar%C4%B1,%20Korunma%20ve%20Tedavi%20y%C3%B6ntemleri.pdf)
- Kula, D. ve Gökpinar, S. 2018. Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) inhibitörleri. *Animal Health Prod and Hyg.* 7(2) : 599 – 604.
- Kuloğlu, Ş.B. 2019. Geleneksel Yoğurtlardan Laktik asit bakterilerinin izolasyonu, MALDI TOF MS biotyper sistemi ile tanımlanması ve bazı starter kültür özelliklerinin belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, 82 s.
- Kum, C., Gökbulut, C., Akar, F., Kirkan, Ş. ve Sekkin, S. 2004. Gökkuşağı alabalıklarında (*O. mykiss*) *E. seriolocida* izolasyonu ve etkili antibakteriyel sağaltım seçeneğinin belirlenmesi. *Vet Hek Derg.*, 75: 47-53.
- Krumperman, P.H. 1983. Multiple antibiotic resistance indexing of *Escherichia coli* to identify high-risk sources of fecal contamination of foods. *Applied and Environmental Microbiology*, 461, 165-170.
- Latif-Eugenin, F. L. 2015. *Aeromonas*, un microorganismo ambiental de importancia en salud humana y animal. Universidad Rovira i Virgili.405 p.

- Leekha, S.Terrell, C.L. and Edson R.S. 2011. General principles of antimicrobial therapy. *Mayo. Clin. Proc.*, 86(2): 156-167.
- Liu, D. 2015. Chapter 61: *Aeromonas*. *Molecular Medical Microbiology* (Second Edition). 2: 1099-1110.
- Menanteau-Ledouble, S. Lawrence, M.L. and El-Matbouli, E. 2018. Invasion and replication of *Yersinia ruckeri* in fish cell cultures. *BMC Vet. Res.*, 14: 81.
- Meral, H. ve Korukluoğlu, M. 2014. Laktik asit bakterilerinin antibiyotik direnç mekanizmaları. *U. Ü. Ziraat Fak. Derg.*, 28(2):71-82.
- Munro, A.L.S. 1982. The pathogenesis of bacterial diseases of fish. (in) microbial disease of fish. R.J. Roberts (Editor), 131-149, Academic Press, London, UK.
- Mursalim, M. F., Budiyansah, H., Raharjo, H. M., Debnath, P. P., Sakulworakan, R., Chokmangmeepisarn, P., Yindee, J., Piasomboon, P., Elayaraja, S. and Rodkhum, C. 2022. Diversity and antimicrobial susceptibility profiles of *Aeromonas* spp. isolated from diseased freshwater fishes in Thailand. *Journal of Fish Diseases*, 45, 1149–1163.
- Nawaz, M., Wang, J., Zhou, A., Ma, C., Wu, X., Moore, J.E. and Xu, J. 2011. Characterization and transfer of antibiotic resistance in lactic acid bacteria from fermented food products. *Current Microbio.*, 62(3), 1081-1089.
- Nazıroğlu, M., Diler, Ö., Özil, Ö. ve Diler, A. 2022. In vitro antibacterial activity of *Origanum onites* and *Mentha spicata* subs. *tomentosa* essential oil nanoemulsions against bacterial fish pathogens. *Acta Aquatica Turcica*, 18(4), 495-504.
- Ng, L.K., Martin, I., Alfa, M. and Mulvey, M. 2001. Multiplex PCR for the detection of tetracycline resistant genes. *Molecular and Cellular Probes.*, 15(4), 209-215.
- Nomura, F., Nakanishi, T., Igarashi, K., Yamaguchi, S., Setou, M. and Niwa T. 2020. Medical mass spectrometrist (MMS) training and certification: a key step to expanding routine clinical mass spectrometry usage in Japan. *Clinical Mass Spectrometry*, 15:13-5.
- Nomura, F., Tsuchida, S., Murata, S., Satoh, M. and Matsushita, K. 2020. Mass spectrometrybased microbiological testing for blood stream infection. *Clinical Proteomics*, 17(1):1-11.
- Nomura, F. 2015. Proteome-based bacterial identification using matrix-assisted laser desorption ionization–time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS): A revolutionary shift in clinical diagnostic microbiology. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Proteins and Proteomics*. 1854(6):528-37. 83.
- Onuk, E. E., Durmaz, Y., Çiftci, A., Pekmezci, G. Z. ve Kılıçoğlu, Y. 2015. Çeşitli balık türlerinden izole edilen patojen bakteriler ve antibiyotik direnç profilleri. *Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg.*, 10(3): 156-164.
- Orçan, İ, Bülbül, A.S., Kara, Y. 2023. *Alyssum filiforme* bitkisinin antimikrobiyal, antibiyofilm, antioksidan aktivitesinin ve fenolik profilinin belirlenmesi. *Journal of Advanced Research in Natural and Applied Sciences*. 9(1): 48-55.

- Ormsby, M.J., Caws, T., Burchmore, R., Wallis, T., Verner-Jeffreys, D.W. and Davies, R.L. 2016. *Yersinia ruckeri* Isolates recovered from diseased Atlantic Salmon (*Salmo salar*) in Scotland are more diverse than those from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and represent distinct subpopulations. *Appl. Environ. Microbiol.*, 82(19): 5785-5794
- Ökmen, G., Uğur, A., Saraç, N. and Arslan, T. 2012. In vivo and in vitro Antibacterial Activities of Some Essential Oils of Lamiaceae Species on *Aeromonas salmonicida* isolates from cultured rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 11(15), 2762-2768.
- Ölmez, M. 2020. Anaerobik bakterilerin tanımlanmasında matriks aracılı lazer desorpsiyon iyonizasyon uçuş zamanı kütle spektrometrisinin (MALDI-TOF MS) değerlendirilmesi. Uzmanlık Tezi, Sakarya Üniversitesi, Sakarya.
- Özcan, F. 2023. Observation of inherently contaminated *Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792 by *Aeromonas veronii* with MALDI-TOF and culture methods and specification of antibiotic sensitivity profiles of agent in a commercial. *Indian Journal of Animal Research*, 57 (2): 245-248.
- Özcan, M.M. and Chalchat J.C. 2009. Chemical composition and antimicrobial properties of the essential oil of *Origanum saccatum* L. *J Food Safety*; 29: 617-628
- Özdemir, E. 2010. Gökkuşığı alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*- Walbaum 1792) bazı antibiyotik kalıntılarının saptanması. Besin Hijyen ve Teknolojisi ABD. Doktora tezi. Ankara Üniversitesi, Ankara, 75 s
- Özdemir, R.C., Taştan, Y. and Güney, K. 2021. Prevention of Saprolegniasis in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) eggs using oregano (*Origanum onites*) and laurel (*Laurus nobilis*) essential oils. *J Fish Dis.* 45:51–58.
- Özek, T., Tabanca, N., Demirci, F., David E. Wedge and K. Hüsnü Can Başer. 2010. Enantiomeric distribution of some linalool containing essential oils and their biological activities. *Rec. Nat. Prod.* 4(4), 180-192
- Öztürk, D., Adanir, R ve Turutoglu H. 2007. Isolation and antibiotic susceptibility of *A. hydrophila* in a carp (*C. carpio*) hatchery farm, *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy*, 51(3): 361-364.
- Özyılmaz, A. 2007. Gökkuşığı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum, 1792) filetolarında kekik eterik yağı kullanımının raf ömrü üzerine etkisi. Yüksek Lisans Tezi Mustafa Kemal Üniversitesi, Hatay, 57s.
- Pathirana, H.N.K.S., Wimalasena, S.H.M.P., De Silva, B.C.J., Hossain, S. and Heo, G.J. 2021. Antibacterial activity of oregano (*Origanum vulgare*) essential oil, carvacrol and thymol against fish pathogenic bacteria isolated from cultured olive flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Iranian Journal of Fisheries Sciences*. 20(6) 1822-1834.
- Pękala-Safińska, A. 2018. Contemporary threats of bacterial infections in freshwater fish. *J. Vet. Res.*, 62(3): 261-267
- Pillay, T.V.R. 1993. Aquaculture principles and practices. Fishing News Books. 624 p

- Posteraro, B., De Carolis, E., Vella, A. and Sanguinetti, M. 2013. MALDI-TOF mass spectrometry in the clinical mycology laboratory: identification of fungi and beyond. *Expert review of proteomics*. 10(2):151-64.
- Pridgeon, J.W. and Klesius, P.H. 2012. Major bacterial diseases in aquaculture and their vaccine development. *CAB Rev.*, 141-148.
- Raissy, M. Sarshoughi, M. and Moumeni, M. 2016. Molecular identification of some causative agents of warmwater streptococcosis by M-PCR in cultured rainbow trout, Chaharmahal - Bakhtiari Province. *Iran. J. Fish. Sci.*, 15(2): 836-845.
- Rashidian, G., Boldaji, J.T., Rainis, S., Prokić, M.D. and Faggio, C. 2021. Oregano (*Origanum vulgare*) extract enhances zebrafish (*Danio rerio*) growth performance, serum and mucus innate immune responses and resistance against *Aeromonas hydrophila* challenge. *Animals*. 11: 299.
- Rudiansyah, M., Abdelbasset, W.K., Jasim, S.A. et al. 2022. Beneficial alterations in growth performance, blood biochemicals, immune responses, and antioxidant capacity of common carp (*Cyprinus carpio*) fed a blend of *Thymus vulgaris*, *Origanum majorana*, and *Satureja hortensis* extracts. *Aquaculture*, 555; 738-254.
- Rahman, M.Z., Hossain, A., Rahman, M.M., Nasren, S., Mamun, M.M.A., Khalil, S.M.I. and Alam, M.M.M. 2021. Molecular identification of *Aeromonas hydrophila* isolate with sensitivity and resistance to antibiotics for its different strains. *Adv. Anim. Vet. Sci.* 9(12). 2062-2068.
- Sadıkoğlu, N. 2012. *Origanum*. Şu sitede: Bizimbitkiler (2013). <<http://www.bizimbitkiler.org.tr>>, [er. tar.: 04 03 2022].
- Sarı, A.B. 2016. Gökkuşluğu alabalıklarında *Origanum Minutiflorum* O.Schwarz Et. P.H. Davis bitkisinin antioksidan ve nonspesifik immün sistem üzerine etkileri. Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi, 104s.
- Savaşan, S., Kaya, O., Kırcan, Ş. ve Çiftçi, A. 2008. Balık kökenli *E. faecalis* suşlarının antibiyotik dirençlilikleri. *Ankara Üniv Vet Fak Derg.*, 55, 107-110.
- Schmidt, A.S, Bruun, M.S, Dalsgaard, I., Larsen, J.L. 2001. Incidence, distribution, and spread of tetracycline resistance determinants and integron-associated antibiotic resistance genes among motile aeromonads from a fish farming environment. *Appl Environ Microbiol.*, 67: 5675– 5682.
- Sevgül Tütmez, Ç. 2023. Tunceli İlindeki Alabalıklarda *Aeromonas* Türlerinin Maldi-Tof Ms Yöntemiyle İdentifikasyonu. Yüksek Lisans Tezi, Munzur Üniversitesi, Tunceli, 81 s.
- Sevinç, A., Merdun, B. 1995. Türkiye’de yetişen uçucu yağ içeren bitkiler ve kullanım alanları. Bitirme Ödevi, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü.
- Sezgin, S. S., Yılmaz, M., Arslan, T. and Kubilay, A. 2023. Current antibiotic sensitivity of *Lactococcus garvieae* in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) farms from Southwestern Turkey. *Journal of Agricultural Sciences (Tarım Bilimleri Dergisi)*, 29(2):630-642.

- Sharma, P., Tomar, S. K., Goswami, P., Sangwan, V. and Singh, R. 2014. Antibiotic resistance among commercially available probiotics- A Review. *Food Research International*. 57: 176-195.
- Shefat, S.H.T. 2018. Vaccines for infectious bacterial and viral diseases of fish. *J. Bacteriol. Infec. Dis.*, 2(2): 1-5.
- Shin, H. B., Yoon, J., Lee, Y., Kim, M. S., Lee, K. 2015. Comparison of MALDI-TOF MS, housekeeping gene sequencing, and 16S rRNA gene sequencing for identification of *Aeromonas* clinical isolates. *Yonsei Medical Journal*, 56(2), 550–555.
- Silva, F., Ferreira, S., Queiroz, J.A., Domingues F.C. 2011. Coriander (*Coriandrum sativum* L.) essential oil: its antibacterial activity and mode of action evaluated by flow cytometry. *Journal of Medical Microbiology*, 60 (Pt10) (2011), pp. 1479-1486
- Singh, A.K. Kamalam, B.S. and Kumar, P. 2016. Charting ways to invigorate rainbow trout production in India. *J. Fish. Sci.*, 10(2): 25-32.
- Singh, V., Moreau, R.A., Hicks, K.B., Belyea, R.L. and Staff, C.H. 2001. Recovery of phytosterols from fiber removed from distiller dried grains with solubles (DDGS). Paper No. 016012. *Paper presented at the Annual Meeting of the American Society of Agricultural Engineers*.
- Soler, L., Yáñez, M. A., Chacon, M. R., Aguilera-Arreola, M. G., Catalán, V., Figueras, M. J., Martínez-Murcia, A. J. 2004. Phylogenetic analysis of the genus *Aeromonas* based on two housekeeping genes. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 54(Pt 5), 1511–1519.
- Sørum, H., Roberts, M.C. and Crosa, J.H. 1992. Identification and cloning of a tetracycline resistance gene from the fish pathogen *Vibrio salmonicida*. *Antimicrob Agents Chemother.*, 36:611–615.
- Sözmen, F., Uysal, B., Odabaş, B., Köse Odabaş, E., Aktaş, Ö., Cinbilgel, İ. and Oksal, S.B. 2012. Extraction of the essential oil from endemic *Origanum bilgeri* P.H.Davis with two different methods: comparison of the oil composition and antibacterial activity. *Chemistry & Biodiversity*, 9: 1356.
- Sözmen, F., Uysal, B., Oksal, S.B., Köse Odabaş, E. and Deniz, G. I. 2011. Chemical composition and antibacterial activity of *Origanum saccatum* P.H. Davis essential oil obtained by solvent-free microwave extraction: comparison with hydrodistillation. *Journal of AOAC International*, 94:1.
- Subasinghe, R.P. 2005. Epidemiological approach to aquatic animal health management: opportunities and challenges for developing countries to increase aquatic production through aquaculture. *Prev Vet Med.*, 67:117–24.
- Sudheesh, P.S., Al-Ghabshi, A., Al-Mazrooei, N. and Al-Habsi, A. 2012. Comparative pathogenomics of bacteria causing infectious diseases in fish. *Int. J. Evol. Biol.*, 16 p.
- Suh, M.J. and Limbach, A.P. 2004. Investigation of methods suitable for the matrix-assisted laser desorption/ ionization mass spectrometric analysis of proteins from ribonucleoprotein complexes. *Eur J MassSpectrom* (Chichester, Eng), 10: 89–99.

- Şarer, E., Pançalı, S. ve Yıldız, S. 1996. *Origanum minutiflorum* O. Schwarz et P.H. Davis uçucu yağının bileşimi ve antimikrobiyal aktivitesi. *Ankara Ecz. Fak. Der.* 25,1
- Şeker, E, Karahan, M, Sarıeyyüpoğlu, M. ve Çetinkaya, B. 2011. Detection of *Yersinia ruckeri* by polymerase chain reaction (PCR) in infected rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum 1792). *J Anim Plant Sci.* 21(8): 570-574.
- Şen, B. E. 2012. Gökkuşığı alabalıklarından (*Oncorhynchus mykiss*) izole edilen hareketli *Aeromonas* türlerinde bulunan virulans genlerin tespiti üzerine bir çalışma. Yüksek Lisans Tezi, Akdeniz Üniversitesi, Antalya, 69s.
- Şengezer, E. ve Güngör, T., 2008. Esansiyel yağların hayvanlar üzerindeki etkileri. *Lalahan Hayvan Araştırma Enstitüsü Dergisi* 48(2): 101-110.
- Tagnaout, I.; Zerkani, H.; Bencheikh, N.; Amalich, S.; Bouhrim, M.; Mothana, R.A.; Alhuzani, M.R.; Bouharroud, R.; Hano, C. and Zair, T. 2023. Chemical composition, antioxidants, antibacterial, and insecticidal activities of *Origanum elongatum* (Bonnet) emberger & maire aerial part essential oil from Morocco. *Antibiotics*, 12, 174.
- Tarım Orman NHYP. 2021. Batı Akdeniz Nehir Havzası Yönetim Planı. <https://www.tarimorman.gov.tr/SYGM/Belgeler/NHYP%20DEN%C4%B0Z/Bat%C4%B1%20Akdeniz%20NHYP.pdf>
- Taşkaya, L., Chen, Y. C. and Jaczynski, J. 2010. Color improvement by titanium dioxide and its effect on gelation and texture of proteins recovered from whole fish using isoelectric solubilization/precipitation. *LWT-Food Science and Technology*, 43(3), 401-408.
- Tekelioğlu, N. 2000. İç Su Balıkları Yetiştiriciliği (Soğuk ve Sıcak İklim Balıkları). Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ofset Atölyesi, Adana, 367 s.
- Tekinaslan Alem, N. 2022. Dermatofitlerin konvansiyonel ve MALDI TOF yöntemi ile tanımlanmaları ve sıvı mikrodilüsyon yöntemiyle antifungal duyarlılık profilleri. Doktora Tezi ,Ankara Üniversitesi, 105 s.
- Temür Karacan, G. 2023. *Pseudomonas aeruginosa* izolatlarında virulans genlerinin polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ile tespiti ve yüksek riskli klonların matriks ile desteklenmiş lazer desorpsiyon/iyonizasyon uçuş zamanı kütle spektrometresi yöntemi (Maldı-tof ms) ile araştırılması. Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı, Mikrobiyoloji Tıpta Uzmanlık, 59 s.
- Terzi, E. 2013. Alabalık işletmelerinden izole edilen bakterilerde antibiyotik direnç genlerinin belirlenmesi. Doktora Tezi. Karadeniz Teknik Üniversitesi, Trabzon.
- Toker, R., Gölükcü, M. and Tokgöz, H. 2017. Effects of distillation times on essential oil compositions of *Origanum minutiflorum* O. Schwarz Et. PH Davis. *Journal of Essential Oil Research*, 29 (4), 330-335.
- Topal, M. Şenel, G.U. Topal, E.A. ve Öbek, E. 2015. Antibiyotikler ve kullanım alanları. *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 31(3): 121-127.
- Tunca, H. ve Yeşilyurt, M.E. 2017. Dünyada ve Türkiye’de kekik raporu.Denizli: Denizli Ticaret Borsası.

- TÜİK, 2021. Su Ürünleri İstatistikleri <https://data.tuik.gov.tr/Bulten/Index?p=Su-Urunleri-2021>
- TÜİK, 2023. Su Ürünleri İstatistikleri <https://biruni.tuik.gov.tr/medas/?kn=97&locale=tr> (Erişim tarihi: 04.08.2023).
- Ulutaş, A. 2022. *Lactococcus garvieae*'de bazı virülans genlerinin tespiti üzerine bir çalışma. Yüksek Lisans Tezi, Akdeniz Üniversitesi, Antalya, 58s.
- Ünal, O., Gökceoğlu, M. ve Topcuoğlu, Ş.F. 2004. Antalya Endemiği *Origanum Türlerinin* Tohum Çimlenmesi ve Çelikle Çoğaltılması Üzerinde Araştırmalar. *Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 17(2), 135-147.
- Van, T.T.H., Chin, J., Chapman, T., Tran, L.T. and Coloe, P.J. 2008. Safety of raw meat and shellfish in Vietnam: an analysis of *Escherichia coli* isolations for antibiotic resistance and virulence genes. *International Journal of Food Microbio.*, 124(3), 217-223.
- Vendrell, D., Balcazar, J.L., Ruiz-Zarzuela, I., De Blas, I., Girones, O. and Muzquiz, J.L. 2006. *Lactococcus garvieae* in fish: a review. *Comparative Immunology, Microbiology & Infectious Diseases* 29, 177–198.
- Vardar Ünlü, G., Ünlü, M., Dönmez, E and Vural, N. 2007. Chemical composition and in vitro antimicrobial activity of the essential oil of *Origanum minutiflorum* O Schwarz & PH Davis. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 87:255–259.
- Verep, B. ve Balta, F. 2023.. Türkiye'nin Doğu Karadeniz kıyılarında deniz kafeslerinde balık yetiştiriciliği potansiyeli ve sürdürülebilir çevre. *Anadolu Çev. ve Hay. Dergisi*, 8(4), 679-690.
- Wahdan, A., Fadel, A. and Mabrok, M. 2019. New insights into the effect of *Origanum* extracts on the gene expression profiles of multidrug-resistant isolates of *Pseudomonas aeruginosa* retrieved from *Oreochromis niloticus*. *Turk. J. Fish.& Aquat. Sci.* 20(7), 507-519.
- Woo, P.T.K. and Bruno, D.W. 2003. Fish disease and disorders, Volume 3: Viral, bacterial and fungal infections. CABI Publishing, Oxfordshire, UK.
- Woynarovich, A., Hoitsy, G. and Moth-Poulsen, T. 2011. Small-scale rainbow trout farming. Fisheries and Aquaculture Technical Paper. Volume 561, Rome, 31 “181 p.
- Yavaş, O., Duman, M., Satıcıoğlu, I. B., Garip, E., Karaer, F. ve Altun, S. 2018. Akuakültürde tespit edilen fekal koliform kökenli antimikrobiyal direnç genleri. *İklim Değişikliği ve Çevre*, 3, (4): 22–26.
- Yıldız, G. 2020. *Origanum minutiflorum* O. Schwarz et P.H. Davis üzerine farmakognozik araştırmalar. Doktora Tezi, Anadolu Üniversitesi, Eskişehir, 192s.
- Yılmaz, M., Kavak, S. and Baysal, Ö. 2014. Bazı ticari sabit ve uçucu yağların domates bakteriyel kanser ve solgunluk etmeni üzerine antibakteriyel etkileri. *Derim*. 31: 50-60.

- Yiğit, N.O. ve Kocaayan, H. 2023. Efficiency of thyme (*Origanum onites*) and coriander (*Coriandrum sativum*) essential oils on anesthesia and histopathology of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*. 562: 738813.
- Yogananth, N., Bhakayaraj, R., Chanthuru, A., Anbalagan, T. and Mullai Nila K. 2009. Detection of virulence gene in *Aeromonas hydrophila* isolated from fish samples using pcr technique. *Global Journal of Biotechnology & Biochemistry* 4 (1): 51-53.
- Yousefi, M., Ghafarifarsani, H., Hoseinifar, SH., Rashidian, G. and Van Doan, H. 2021. Effects of dietary marjoram, *Origanum majorana* extract on growth performance, hematological, antioxidant, humoral and mucosal immune responses, and resistance of common carp, *Cyprinus carpio* against *Aeromonas hydrophila*. *Fish and Shellfish Immunology*, 108; 127–133
- Zangeneh, M.M., Zangeneh, A., Moradi, R. and Shahmohammadi, A. 2018. Chemical characterization and antibacterial activity of the essential oil of *Coriandrum sativum* Leaves in the West of Iran (Kermanshah). *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 21:5, 1349-1358.
- Zheng, Z.L., Justin Tan, Y.W., Liu, H.Y., Zhou, X.H., Xiang, X. and Wang, K.Y. 2009. Evaluation of oregano essential oil (*Origanum heracleoticum* L.) on growth, antioxidant effect and resistance against *Aeromonas hydrophila* in channel catfish (*Ictalurus punctatus*) *Aquaculture*, 292; 214–218

ÖZGEÇMİŞ

Yusuf AKTOP

ÖĞRENİM BİLGİLERİ

Doktora 2018-2024	Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Su Ürünleri Temel Bilimleri Anabilim Dalı, Antalya
Yüksek Lisans 2014-2017	Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Su Ürünleri Mühendisliği Anabilim Dalı, Antalya
Lisans 2010-2014	Akdeniz Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi, Su Ürünleri Mühendisliği Bölümü, Antalya

SCI, SSCI, AHCI İNDEKSLERİNE GİREN DERGİLERDE YAYINLANAN MAKALELER

1. Çağatay T.İ., Aydın B., **Aktop Y.**, Yılmaz H. E. 2022 Molecular And Morphologic Study Of *Clinostomum complanatum* (Digenea Clinostomidae) In *Garra Rufa* (Doctor Fish) From Southern Turkey. FEB-FRESENIUS ENVIRONMENTAL BULLETIN
2. Balci B.A., **Aktop Y.**, Korun J., Gökoğlu M. 2019. "Some Biological Parameters of The Red Mullet (*Mullus barbatus* L., 1758) in Antalya Gulf", FRESENIUS ENVIRONMENTAL BULLETIN, vol.28, no.1, pp.215-219.
3. Balci B.A., **Aktop Y.** 2019. "Histological assessment of seasonal gonad maturation of red mullet (*Mullus barbatus* L., 1758) in Antalya Bay of Mediterranean in Turkey", Journal Of Applied Animal Research, vol.47, no.1, pp.63-71.

DİĞER DERGİLERDE YAYINLANAN MAKALELER

1. **Aktop Y.**, Çağatay İ. T., (2022). Tıbbi ve aromatik bitkilerden *Origanum* türlerinin su ürünlerindeki kullanım alanları. Menba Kastamonu Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Dergisi, 8(2), 114-121
2. **Aktop. Y.**, Yılmaz. H. E., Çağatay. T., (2021). Geographical distribution of freshwater fish parasite *Clinostomum* spp.. Menba Kastamonu Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Dergisi, 7(1), 58-63.

3. **Aktop, Y.**, Çağatay, İ. T., 2020. Ağır Metallerin Balıklarda Birikimi ve Etkileri. Menba Kastamonu Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Dergisi, 6(1), 37-44.
4. Balci B.A., **Aktop Y.** 2019. "Yeme Çakşır Otu (*Ferula elaeochytris* K. 1947) İlavesinin Japon Balığının (*Carassius auratus* L. 1758) Büyüme ve Gonad Gelişimi Üzerine Etkisi", Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, cilt.9, no.1, ss.347-359
5. **Aktop Y.**, Aydın B., Çağatay T.İ. 2019. Usability of Coriander Oil (*Coriandrum sativum*) as a Herbal Anestheticon Fish. Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology, 7(sp3): 23-26.

HAKEMLİ KONGRE / SEMPOZYUMLARIN BİLDİRİ KİTAPLARINDA YER ALAN YAYINLAR

1. **Aktop Y.**, Yılmaz H. E., Çağatay T.İ. 2021. "Bazı Balık Patojenleri Üzerine Ticari Kişniş Otu (*Coriandrum sativum*) Yağının Antimikrobiyal Etkisinin Belirlenmesi" (Paper ID:711), 24-26 Kasım 2021. 4. International Eurasian Conference on Biological and Chemical Sciences (4.Uluslararası Avrasya Biyolojik ve Kimya Bilimleri Konferansı) , Online,
2. **Aktop Y.**, Yılmaz H. E., Çağatay T.İ. 2021. "Bazı Ticari Yağların Balık Patojenleri Üzerine Antimikrobiyal Etkisinin Belirlenmesi" (Paper ID:712) 24-26 Kasım 2021. 4. International Eurasian Conference on Biological and Chemical Sciences (4. Uluslararası Avrasya Biyolojik ve Kimya Bilimleri Konferansı) , Online,
3. **Aktop Y.**, Yılmaz E.H., Çağatay T.İ. 2019. Tatlı Su Balıkları Paraziti Olan *Clinostomum* Spp.'nin Coğrafik Dağılımı. 30 Ağustos Bilimsel Araştırmalar Sempozyumu, ISBN- 978- 605-7695-36-9, s 102.
4. **Aktop Y.**, Balci B.A., Ünver A.Ç. 2018. "Yavru Balık Üretiminde Bazı Balık Türleri Üzerine Yapılan Hormon Uygulamaları", 3rd National / 1st International Workshop on Gamete Biology in Aquaculture, Iskenderun/Hatay, HATAY, TÜRKİYE, 19-21 Eylül 2018, pp.55-56.
5. Aydın B., **Aktop Y.** 2017. "Su Ürünleri Yetiştiriciliğinde Bitkisel Anesteziklerin Kullanımı", International Multidisciplinary Studies Congress(IMSC), ANTALYA, TÜRKİYE, 25-26 Kasım 2017, pp.30-30
6. **Aktop Y.**, Balci B.A., Ünver A.Ç. 2017. Çakşır Otunun Balık Yeminde Yem Katkısı Olarak Kullanılabilirliği." II. International Akademik Research Congress (INES) Abstracts Book,ALANYA,TÜRKİYE, 18-21 Ekim 2017, pp.1037-1037
7. Balci B.A., Aydın B., Gümüş E., **Aktop Y.** 2016. "Azalan balık unu yerine kullanılan tatlandırılmış lüpen ile acı lüpen ununun aynalı sazan (*Cyprinus carpio*, L. 1758) yeminde karşılaştırılması", 1. International Academic Research Congress, ANTALYA, TÜRKİYE, 3-5 Kasım 2016, pp.2999-3004
8. Gümüş E., Aydın B., **Aktop Y.** 2015. "The Effect of Distillers Dried Grains with Solubles (DDGS) on Skin and Fillet Colouration of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792)", 1st World Conference on Innovative Animal Nutrition and Feeding (WIANF), Budapest, MACARISTAN, 15-17 Ekim 2015, pp.106-107

9. Aydın B., Gümüş E., Balci B.A., **Aktop Y.**, Aksoy A. , "Effect Of Replacing Dietary Fish Meal With Poultry By-Product Meal On Muscle Fatty Acid Composition And Liver Histology Of Nile Tilapia Fry, *Oreochromis niloticus*.", International Symposium Fisheries and Aquatic Sciences (FABA), TRABZON, TÜRKİYE, 25-27 Eylül 2014, pp.279-279
10. Balci B.A., Aydın B., Gümüş E., **Aktop Y.**, Kaya Y. 2014. "Effect of Raw Lupin Seed Meal (*Lupinus albus*) on Growth Performance and Feed Utilization in Common Carp Fry (*Cyprinus carpio*)", III. Balık Besleme Ve Yem Teknolojisi Çalıştayı, İZMİR, TÜRKİYE, 4-5 Eylül 2014, ss.1-1
11. Aydın B., Balci B.A., Gümüş E., **Aktop Y.**, Aksoy A. 2014. "Effect Of Replacing Dietary Fish Meal With Poultry By-Product Meal On Liver Histology Of Common Carp Fry (*Cyprinus Carpio*).", International Symposium Fisheries and Aquatic Sciences (FABA), TRABZON, TÜRKİYE, 25-27 Eylül 2014, pp.278-278
12. Aydın B., Balci B.A., **Aktop Y.**, Gümüş E. 2014. "Effect Of Different Levels Of The Processed Lupin Seed Meal (*Lupinus albus*) On Growth Performance And Feed Utilization In Common Carp Fry (*Cyprinus carpio*).", International Symposium Fisheries and Aquatic Sciences (FABA), TRABZON, TÜRKİYE, 25-27 Eylül 2014, pp.277-277
13. Balci B.A., Aydın B., Gümüş E., **Aktop Y.** 2016. "Azalan balık unu yerine kullanılan tatlandırılmış lüpen ile acı lüperin ununun aynalı sazan (*Cyprinus carpio*, L. 1758) yeminde karşılaştırılması", 1. International Academic Research Congress, ANTALYA, TURKİYE, 3-5 Kasım 2016, pp. 2999-3004

DESTEKLENEN PROJELER

1. Batı Akdeniz Bölgesindeki Gökkuşluğu Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum 1792) Çiftliklerinden İzole Edilen Bakteriyel Hastalık Etkenlerinin, Antibiyotik Direnç Genlerinin ve Bazı Endemik Mercan Köşk (*Origanum Spp.*) Yağlarının Etkenlere Karşı Antimikrobiyal Etkilerinin Belirlenmesi BAP Araştırma Projesi, FDK-2022-5787, Araştırmacı.
2. Bazı Bitkisel Esansiyel Yağların Kangal Balıkları (*Garra rufa*) Üzerindeki Anestezik Etkilerin Araştırılması Proje No: FBA-2018-3619
3. Çakşır Otunun (*Ferula elaeochytris* L) Japon Balığı (*Carassius auratus*)nın Büyüme ve Üremesi Üzerine Etkisi, BAP Araştırma Projesi, FYL-2017-1976, Araştırmacı.
4. Antalya Körfezinde Mullidae Familyasından Barbun *Mullus barbatus*un Üreme Özellikleri ve Gonad Gelişiminin Histolojik Olarak İncelenmesi", BAP Arastırma Projesi, FBA-2015-413, Araştırmacı
5. Bazı Lüpen Türlerinin (*Lupinus* L.) Yem Değeri ve Balık Beslemede Kullanılabilirliğinin Araştırılması", TÜBİTAK Projesi, 2209, Proje Yürütücüsü, 2013

YAPTIĞI TEZLER

1. **Aktop Y. 2017.** Japon Balığının (*Carassius auratus* L. 1758) Büyümesi ve Gonad Gelişimi Üzerine Çakşır Otunun (*Ferula elaeochytris* K. 1947) Etkisinin Araştırılması, Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü/Su Ürünleri Mühendisliği ABD. Yüksek Lisans Tezi.
2. **Aktop Y. 2024.** Batı Akdeniz Bölgesindeki Gökkuşığı Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum 1792) Çiftliklerinden İzole Edilen Bakteriyel Hastalık Etkenlerinin, Antibiyotik Direnç Genlerinin ve Bazı Endemik Mercan köşk (*Origanum* Spp.) Yağlarının Etkenlere Karşı Antimikrobiyal Etkilerinin Belirlenmesi, Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü/Su Ürünleri Temel Bilimleri ABD. Doktora Tezi.

KURS VE SERTİFİKALAR

1. Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası (Kategori B) (13 Kasım 2016)
2. Uniacademy Institute Eğitim Danışmanlık (15 Mart 2013)
 - ISO 14001 Çevre Yönetim Sistemi
 - ISO 22000 Gıda Güvenliği Yönetim Sistemi
 - OHSAS 18001 İş Sağlığı Ve Güvenliği
 - ISO 9001: 2008 Kalite Yönetim Sistemi
 - ISO 9001:2008 İç Tetkikçi
 - Stratejik Yönetim
 - Entegre Yönetim Sistemi
 - Kişisel Gelişim ,NLP,Motivasyon,Stres Yönetimi, Zaman Yönetim,Beden ve İletişim Dilleri Eğt.
3. EDUCON Profesyonel Satış Teknikleri (30 Ekim 2010 Cengiz ALKİŞ)