



**DOĞU KARADENİZ'DE BAZI AMFİBİ TÜRLERİNDE
FUNGAL PATOJENİNİN (*Batrachochytrium dendrobatidis*)
REAL-TİME PCR TEKNİĞİ İLE ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Ahmet ÇELİKKIRAN

DANIŞMAN

Doç. Dr. Uğur Cengiz ERİŞMİŞ

MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI

Haziran 2019

Bu tez çalışması 14.FEN.BİL.06 numaralı proje A.K.Ü.BAPK tarafından desteklenmiştir.

AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS

DOĞU KARADENİZ'DE BAZI AMFİBİ TÜRLERİNDE
FUNGAL PATOJENİNİN (*Batrachochytrium dendrobatidis*)
REAL-TİME PCR TEKNİĞİ İLE ARAŞTIRILMASI

Ahmet ÇELİKKIRAN

DANIŞMAN

Doç. Dr. Uğur Cengiz ERİŞMİŞ

MOLEKÜLER BİYOLOJİ ve GENETİK ANABİLİM DALI

Haziran 2019

TEZ ONAY SAYFASI

Ahmet ÇELİKKIRAN tarafından hazırlanan “Doğu Karadeniz’de Bazı Amfibi Türlerinde Fungal Patojeninin (*Batrachochytrium dendrobatidis*) Real-Time PCR Tekniği ile Araştırılması” adlı tez çalışması lisansüstü eğitim ve öğretim yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca 25/06/2019 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından **oy birliği** ile Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı’nda YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Danışman : Doç. Dr. Uğur Cengiz ERİŞMİŞ

İmza

Başkan : Prof. Dr. Mehmet Oğuz ÖZTÜRK
Afyon Kocatepe Üniversitesi,
Fen Edebiyat Fakültesi



Üye : Doç. Dr. Uğur Cengiz ERİŞMİŞ
Afyon Kocatepe Üniversitesi,
Fen Edebiyat Fakültesi



Üye : Doç. Dr. Sevim Feyza ERDOĞMUŞ
Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi,
Şuhut Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu



Afyon Kocatepe Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu’nun
...../...../..... tarih ve
..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

.....
Prof. Dr. İbrahim EROL
Enstitü Müdürü

BİLİMSEL ETİK BİLDİRİM SAYFASI

Afyon Kocatepe Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
- Atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
- Ve bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı

beyan ederim.

25/06/2019

Ahmet ÇELİKKIRAN

ÖZET
Yüksek Lisans Tezi

DOĞU KARADENİZ’DE BAZI AMFİBİ TÜRLERİNDE FUNGAL PATOJENİNİN
(*Batrachochytrium dendrobatidis*) REAL-TİME PCR TEKNİĞİ İLE
ARAŞTIRILMASI

Ahmet ÇELİKKIRAN
Afyon Kocatepe Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı
Danışman: Doç. Dr. Uğur C. ERİŞMİŞ

Bu araştırmada, Türkiye’nin Doğu Karadeniz Bölgesinde dünya çapında amfibi ölümlerine yol açan Chytridiomycosis hastalığına sebep olan *Batrachochytrium dendrobatidis*’in Real-time PCR tekniği ile ilk kez çalışılmıştır. Ülkemizin en önemli ormanlık ve doğal sulak alanlarının bulunuşu ve türlere ait birey sayısı açısından zengin olan bölgemizde, dünyanın birçok bölgesinde toplu amfibi ölümlerine neden olan *Batrachochytrium dendrobatidis* yapılan bu çalışma sayesinde bölgemizdeki varlığı tespit edilmiş olacaktır.

Yapılan bu çalışma, 2015 yılında (Haziran –Ağustos ayları boyunca), ülkemizin Doğu Karadeniz Bölgesinde (Trabzon, Rize, Artvin) 4 farklı lokaliteden (Uzungöl/Çaykara, Karagöl/Yusufeli, Sahra Milli Parkı/Artvin, Şavşat Gölü/Artvin) arazi çalışmaları yapılmıştır. Bu arazi çalışmaları sonucunda toplanan 47 örnekten 6 tanesinde pozitif sonuç alınmıştır. Ülkemizde sadece Doğu Karadeniz Bölgesinde bulunan, IUCN kriterlerine göre “Nesli tehlike altında bulunan hayvanlar (Near Threatened, NT)” kategorisinde yer alan ve azalmakta olan *Pelodytes caucasicus* türü bu fungal patojenin tehdidi altında olduğu görülmüştür. Pozitif sonuç alınan ve ülkemizde Doğu Karadeniz’de bulunan nesli tehlike altında olan *Ommatotriton ophryticus* örneklerinde de Bd pozitif sonuca rastlanmıştır.

Bu araştırmada, lkemizde Doğu Karadeniz Bölgesinin ekolojik zenginliğinin, amfibi türlerinin yok olmasından sorumlu tutulan *Batrachochytrium dendrobatidis* (Bd) fungusu tarafından tehdit edildiği görülmüştür. Yapılmış olan bu tez çalışması sonucunda bölgemizdeki amfibi türlerinin korunması için yasal düzenlemeler yapılabilir ve bu patojenin hangi yollar ile bölgemize geçtiği daha sonraki çalışmalar ile araştırabilir.

2019, xi + 47 sayfa

Anahtar Kelimeler: *Batrachochytrium dendrobatidis*, Chytridiomycosis, qPCR



ABSTRACT

M.Sc Thesis

INVESTIGATED SOME AMPHIBIAN FUNGAL PATHOGEN (*Batrachochytrium dendrobatidis*) TO THE EASTERN BLACK SEA REGION BY REAL-TIME PCR TECHNIQUE

Ahmet ÇELİKKIRAN

Afyon Kocatepe University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Molecular Biology and Genetics

Supervisor: Assoc. Prof. Uğur Cengiz ERİŞMİŞ

In this research, *Batrachochytrium dendrobatidis* which causes the worldwide amphibian fatalities in the region of “Eastern Black Sea” region in Turkey was studied by Real-time PCR technique for the first time. The presence of *Batrachochytrium dendrobatidis* was proven by this work in this region which possesses the one of the most important natural environments in the country and is a home to lots of species.

In this work, field survey in 4 different locations (Uzungöl/Çaykara, Karagöl/Yusufeli, Sahra Milli Parkı/Artvin, Şavşat Gölü/Artvin) which lies in the Eastern Black Sea region (Trabzon, Rize, Artvin) had been carried out during the summer season of 2015 (June through August). During the field survey, the test results of 6 of the 47 specimens came out positive. *Pelodytes caucasicus* species which is only present in Eastern Black Sea region within the borders of Turkey appears in Near Threatened (NT) animals list according to IUCN criteria and faces the danger of extinction is also endangered by this fungal pathogen. In the *Ommatotriton ophryticus* specimens which exist in Eastern Black Sea region Bd positive result has come out.

In this research, it has been shown that *Batrachochytrium dendrobatidis* (Bd) fungus which caused the termination of amphibious species is also a threat to the ecological variety of the Eastern Black Sea region. As a result of this thesis, legal arrangements for protecting amphibious species in the region can be made and the further studies on how

this pathogen transferred into the region can be conducted.

2019, xi + 47 pages

Key Words: *Batrachochytrium dendrobatidis*, Chytridiomycosis, qPCR



TEŞEKKÜR

Bu araştırmanın konusunun seçiminde, deneysel çalışmaların yönlendirilmesinde, sonuçların değerlendirilmesi ve yazımı aşamasında yapmış olduğu büyük katkılarından dolayı tez danışmanım Sayın Doç. Dr. Uğur Cengiz ERİŞMİŞ'e teşekkür ederim.

Araştırma ve yazım süresince yardımlarını esirgemeyen Sayın Dr. Öğr. Üyesi Hakan TERZİ'ye, Öğretim Görevlisi Pınar AĞYAR YOLDAŞ'a, Fahri PAT'a ve Nazif HACIMURAT'a her konuda öneri ve eleştirileriyle yardımlarını gördüğüm hocalarıma ve arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Ayrıca Biyoloji Bölüm Başkanlığına ve bu tez çalışmasını 113Z139 nolu proje ile destekleyen TÜBİTAK'a teşekkür ederim.

Bu araştırma boyunca maddi ve manevi desteklerinden dolayı aileme teşekkür ederim.

Ahmet ÇELİKKIRAN
AFYONKARAHİSAR, 2019

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

	Sayfa
ÖZET	i
ABSTRACT	iii
TEŞEKKÜR	v
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	vi
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ	x
RESİMLER DİZİNİ.....	xi
1. GİRİŞ	1
2. LİTERATÜR BİLGİLERİ	5
2.1 Chytridiomycosis ve <i>Batrochchytrium dendrobatidis</i>	5
2.1.1 Batrochchytrium dendrobatidis'in Yaşam döngüsü.....	8
2.1.2 <i>B.dendrobatidis</i> 'in Dünyadaki Dağılımı.....	9
2.2 Çalışma Bölgesinin Tanımı	13
2.2.1 Rize İli.....	14
2.2.2 Trabzon İli	15
2.2.3 Artvin İli.....	16
2.3 Bölge İçindeki Milli Parklar	17
2.3.1 Kaçkar Dağları Milli Parkı.....	17
2.3.2 Karagöl-Sahara Milli Parkı	17
2.3.3 Hatıla Vadisi Milli Parkı	17
2.4 Doğu Karadeniz' yaşayan olası amfibi türleri.....	17
2.4.1 <i>Pelodytes caucasicus</i> (Boulenger, 1896) / Kafkas kurbağası)	17
2.4.2 <i>Bufo bufo</i> (Linnaeus, 1758/ Siğilli Kurbağa)	18

2.4.3 <i>Bufo verrucosissimus</i> (Pallas, 1814/ Kafkas Siğilli Kurbağası)	19
2.4.4 <i>Pelophylax ridibundus</i> (Pallas, 1771 / Ova Kurbağası, Bataklık Kurbağası) .	20
2.4.5 <i>Ommatotriton ophryticus</i> (Berthold, 1846 / Kuzey Şeritli Semenderi)	21
2.4.6 <i>Mertensiella caucasica</i> (Waga, 1876/ Kafkas Semenderi)	22
3. MATERYAL ve METOT	24
3.1 Arazi Çalışmaları ve Örneklem	24
3.2 Swaplardan DNA İzolasyonu	26
3.2.1 Real Time PCR Uygulaması	27
4. BULGULAR.....	29
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	32
6. KAYNAKLAR.....	35
ÖZGEÇMİŞ.....	47

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

dH ₂ O	Distile su
EDTA	Etilen Diamin Tetra Asetik Asit
Tris-HCl	Tris Hidroklorik Asit
HCl	Hidroklorik Asit
TAE	Tris Asetat Edta
NaCl	Sodyum Klorür
Ct	Cycle Treshold (Döngü Eşiği)
°C	Santigrat Derece
DNA	Deoksiribonükleik Asit
DNaz	Deoksiribonükleaz
mL	Mililitre
µL	Mikrolitre
M	Molar
mM	Mili Molar
ng	Nanogram
Km	Kilometre
Km ²	Kilometre kare
mm ³	Milimetre Küp
µg	Mikrogram
m	Metre

Kısaltmalar

Bd	<i>Batrachochytrium dendrobatidis</i>
Rpm	Rotation per minute(Dakikadaki devir sayısı)
İE	Immediate early
NPH	Yeni patojen hipotezi
QPCR	Quanttative Polimeraz Zincir Reaksiyonu

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 2.1 <i>B. dendrobatidis</i> patojenin global dağılım haritası.....	6
Şekil 2.2 <i>B. dendrobatidis</i> patojenin yıllara bağlı olarak global dağılım haritası.	6
Şekil 2.3 Bulaşıcı ve sesil büyüme aşamalarını gösteren <i>Batrachochytrium dendrobatidis</i> 'in yaşam döngüsü	9
Şekil 2.4 <i>Batrachochytrium dendrobatidis</i> 'e ait Dünya genelindeki yayılım haritası	10
Şekil 2.5 Bd'nin batı Avrupa'da dağılım haritası.....	12
Şekil 3.1 Arazi çalışması yapılan lokaliteler	24
Şekil 3.2 <i>Batrachochytrium dendrobatidis</i> 'e ait standart eğri örneği.....	28

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa

Çizelge 1.1 Türkiye’deki Bd çalışmaları	3
Çizelge 3.1 Çalışılan türler ve örnek sayıları	25
Çizelge 3.2 Bd tespiti için yapılan qPCR’da kullanılan malzemelerin miktarları.	27
Çizelge 3.3 Bd tespiti için Rt-PCR amplifikasyon protokolü	28
Çizelge 4.1 Arazi çalışması yapılan bölgeler, konumları, toplanan türlerin sayısı, çalışılan örneklerin <i>Batrachochytrium dendrobatidis</i> prevalansı ve ortalama genetik ekuivalentleri	31



RESİMLER DİZİNİ

Sayfa

Resim 2.1 Arazi çalışmaları sırasında yakalanan <i>Pelodytes caucasicus</i> (Kafkas Kurbağası)’a ait bir dişi birey	18
Resim 2.2 Arazi çalışmaları sırasında yakalanan <i>Bufo bufo</i> (Siğilli Kurbağa)’ya ait bir dişi birey	19
Resim 2.3 Arazi çalışmaları sırasında yakalanan <i>Bufo verrucosissimus</i> (Kafkas Siğilli Kurbağası)’a ait bir dişi birey	20
Resim 2.4 Arazi çalışmaları sırasında yakalanan <i>Pelophylax ridibundus</i> (Ova Kurbağası, Batakılık Kurbağası)’a ait bir erkek birey	21
Resim 2.5 Arazi çalışmaları sırasında yakalanan <i>Ommatotriton ophryticus</i> (Kuzey Şeritli Semenderi)’a ait bir erkek birey	22
Resim 2.6 Arazi çalışmaları sırasında yakalanan <i>Mertensiella caucasica</i> (Kafkas Semenderi)’ya ait bir dişi birey	23
Resim 3.1 Tez çalışması kapsamında yapılan arazi çalışmaları esnasında örnek toplanması	24
Resim 3.2 Swaplama işlemine ait bazı fotoğraflar	25
Resim 3.3 Arazi çalışmaları sırasında araştırılmak üzere yakalanan amfibiler	26

1. GİRİŞ

Doğuda Asya, batıda Avrupa ve güneyde Afrika kıtaları ile komşu olan Türkiye konum olarak çok önemli stratejik bir noktadadır. Bunun yanı sıra ülkemiz parçalanmış bir topografya yapısına sahip, orografik özellikleri olan, üç tarafı denizlerle çevrili bir kara parçasıdır. Ülkemiz bulunduğu konum itibarı ile değişen iklim koşulları gözlemlenebilir. Bu iklim koşulları ve jeomorfolojik konumu itibarı ile Türkiye biyoçeşitliliği oldukça fazladır. Birçok endemik türlere ve oldukça fazla canlı türlerine ev sahipliği yapmaktadır.

Ülkemiz özel konumundan dolayı karmaşık bir iklim yapısını sahiptir. Bu karmaşık iklim nedeniyle küresel ısınmaya bağlı iklim değişikliğinde en çok etkilenecek ülkeler arasında yukarı sıralarda yer alacağı öngörülmektedir. Oluşabilecek iklim değişikliği sonucunda ekolojik dengenin etkileneceği tarımsal faaliyetlerde, bitki ve hayvanların yaşam alanlarında farklılıklara sebep olacağı düşünülmektedir.

Şüphesiz küresel ısınmaya bağlı iklim değişikliği, ülkemizdeki doğal ekolojik sistemlerin yapısını bozacağı ve biyolojik çeşitliliğin azalmasına etki edeceği kaçınılmaz olacaktır. Fakat bazı ekosistemler bu değişikliğe çabuk yanıt verirken bazıları daha yavaş yanıt vermektedir. Türlerin tek tek bozulan iklim rejimine ve iklimsel değişikliğe farklı biçimde ve seviyede karşılık vereceğinden birçok ekosistemin üretkenliği, yapısı ve coğrafi dağılışı değişikliğe uğrayacaktır. Bitki ve hayvan popülasyonlarının yaşam alanları değiştikçe, yeni gelen türler sayesinde biyolojik çeşitlilikte lokal artışlar olabilecektir. Fakat sürekli artan olumsuzluklar biyolojik çeşitlilikte azalmaya, salgın hastalıklara, istenmeyen türlerde artışa sebep olarak, habitat bölünmelerine ve iklim yüzünden göçlere sebep olabilir (Öztürk 2002).

Bu ekolojik düzenin bozulmasıyla biyoçeşitliliğin azalmasını tehdit eden, Dünya Sağlık Örgütü'nün Yaban Hayat Organizasyonu (World Organisation for Animal Health) tarafından da Yaban Hayat Hastalıkları Listesine yerleştirilen ve yüksek ölümcül salgın hastalıklar listesi içinde yer alan amfibi patojeni olarak bilinen *B. dendrobatidis* fungusunun etken olduğu Chytridiomycosis hastalığıdır (Berger 1998).

Amfibi biyolojik çeşitliliği küresel olarak azalmaktadır ve chytrid fungusu bu kaybı ilişkilendirilen faktörlerden biridir (Morgan *et al.* 2007). Chytridiomycosis, chytrid mantarın neden olduğu *Batrachochytrium dendrobatidis*'te (BD) ortaya çıkan bulaşıcı bir hastalıktır. Küresel amfibi değerlendirmesine göre (2004) dünyadaki amfibi türlerinin yaklaşık üçte biri tehdit altındadır, bu sayı 1,896 türü temsil eder (İnt.Kyn.1). 2001 yılında, *B. dendrobatidis* büyük önem taşıyan bir yaban hayatı patojeni olarak Uluslararası Salgın Hastalıklar Ofisi (OIE) yer aldı (Hyatt *et al.* 2007). Bu mantar keratin içeren amfibi dokularında kolonize olur. Özellikle iribaşların ağız parçalarında bulunan keratin metamorfoz sırasında deriye yayılır ve metamorfoz sonrasında katmanlı epidermisde kalır.

Konak nüfusunun yoğunluğu, habitat ve yaş yapısı gibi ekolojik faktörlerdeki farklılıklar çevre üzerinden chytrid yayılma oranını etkileyebilir (Daszak *et al.* 1999). Kriger ve Hero (2007) anura türlerinde *B. dendrobatidis* gözlemlenmesi kurbağadan kurbağaya aktarımının mümkün olduğunu göstermiştir. Araştırmacılar Rick Speare ve Lee Berger web üzerinde Chytridiomycosis küresel dağılımının bir listesini tutmamaktadır, Türkiye'de ki amfibi azalışına rağmen bu web sitelerinde chytrid bağımlı ölüm-kayıp bilgisi yoktur.

Türkiye de bulunan 26 amfibi türü (3 anura ve 11 semender endemik türleri) IUCN Kırmızı Listesi'nde yer almamasına rağmen (İnt.Kyn.2), Türkiye'nin Doğu Karadeniz bölgesindeki amfibi düşüşlerinin nedenleri hala tam olarak anlaşılamamıştır (Başkale *et al.* 2013). Türkiye'nin hızlı amfibi düşüşleri genellikle açık ve kolayca tespit edilir, ancak kademeli düşüşler uzun vadeli izleme olmadan tespit etmek daha zordur (Erismiş 2011, Başkale *et al.* 2013). Ron (2005)'a göre, *Batrachochytrium dendrobatidis* (Bd) Anadolu da yayıldığı tahmin edilmiştir, fakat Bd'nin coğrafi dağılımı ve Türkiye'de ki kurbağalara etkisi tam olarak anlaşılamamıştır (Farrer *et al.* 2011, İnt.Kyn.3). Daha önce, sadece iki çalışma Türkiye'de Bd dağılımı üzerinde gerçekleştirilmiştir. Ayrıca, Levant yeşil kurbağalar varlığı (*Pelophylax bedriagae*) gösterilmiştir (Göçmen *et al.* 2013). Son zamanlarda Bd' nin Türkiye Batı Anadolu Göller Bölgesinin güneybatısında yer alan Beyşehir Gölü endemiği *Pelophylax caralitanus*, *Pelophylax ridibundus*, *Hyla orientalis*, *Pseudepidalea variabilis* kurbağalarını infekte ettiğini bildirmişlerdir (Erişmiş *et al.* 2014) (Çizelge 1.1).

Çizelge 1.1 Türkiye’deki Bd çalışmaları.

Tür	Lokalite	n	Prev	GE	Kaynak
<i>Lyciasalamandra.</i>	Fersin	3	-	-	Göçmen vd. 2013
<i>Lyciasalamandra.</i>	Hurma	3	-	-	Göçmen vd. 2013
<i>Lyciasalamandra</i>	Kale Hill	3	-	-	Göçmen vd. 2013
<i>Lyciasalamandra</i>	Göynük	1	-	-	Göçmen vd. 2013
<i>Lyciasalamandra</i>	Tahtalı Dğı	9	-	-	Göçmen vd. 2013
<i>Lyciasalamandra</i>	Gedelme	1	-	-	Göçmen vd. 2013
<i>Lyciasalamandra</i>	Dağdibi	1	-	-	Göçmen vd. 2013
<i>Lyciasalamandra. l.</i>	Boldağ	3	-	-	Göçmen vd. 2013
<i>Lyciasalamandra l.</i>	Saklikent	3	-	-	Göçmen vd. 2013
<i>Lyciasalamandra. l.</i>	Cevreli	3	-	-	Göçmen vd. 2013
<i>Lyciasalamandra. l.</i>	Karadere	3	-	-	Göçmen vd. 2013
<i>Lyciasalamandra.</i>	Gökbek	3	-	-	Göçmen vd. 2013
<i>Lyciasalamandra.</i>	Marmaris	3	-	-	Göçmen vd. 2013
<i>Pelophylax bedriagae</i>	Göynük	2	0,50	3,5	Göçmen vd. 2013
<i>Pelophylax</i>	Golcük Gölü	9	11,1	20,4	Erişmiş vd.2014
<i>Pelophylax</i>	Işıkli Gölü	3	20,5	350,	Erişmiş vd.2014
<i>Pelophylax</i>	Egirdir Gölü	5	14,0	365,	Erişmiş vd. 2014
<i>Pelophylax</i>	Beyşehir Gölü	2	32,1	264	Erişmiş vd.2014
<i>Pseudepidalea</i>	Cevreli	1	-	-	Göçmen vd. 2013
<i>Pseudepidalea</i>	Akoren Gölü	1	23,1	30,6	Erişmiş vd.2014
<i>Pseudepidalea</i>	Golcük Gölü	7	14,2	10,8	Erişmiş vd.2014
<i>Pseudepidalea</i>	Tınaztepe	7	14,2	30,3	Erişmiş vd.2014
<i>Pseudepidalea</i>	Erkmen Göleti	9	22,2	30,2	Erişmiş vd.2014
<i>Hyla orientalis</i>	Akoren Gölü	6	16,7	20,8	Erişmiş vd.2014
<i>Hyla orientalis</i>	Golcük Gölü	3	-	-	Erişmiş vd.2014
<i>Hyla orientalis</i>	Erkmen Göleti	1	-	-	Erişmiş vd.2014
<i>Pelobates syriacus</i>	Akoren Gölü	1	-	-	Erişmiş vd.2014
<i>Pelophylax</i>	Akoren Gölü	1	42,9	50,7	Erişmiş vd.2014
<i>Pelophylax</i>	Tınaztepe	1	18,2	40,8	Erişmiş vd.2014
<i>Pelophylax</i>	Erkmen Göleti	1	13,3	40,8	Erişmiş vd.2014
<i>Rana macrocnemis</i>	Tınaztepe	3	-	-	Erişmiş vd.2014
<i>Triturus karelinii</i>	Golcük Gölü	6	-	-	Erişmiş vd.2014

Yukarıda belirtilen Anadolu lokasyonlarındaki amfibiler arasında Bd varlığı rapor edilmiştir. Bd yayılmasının kontrolü için yönetim stratejileri, sitrit hastalığı bulaşmış vahşi ve esir popülasyonların coğrafi alanlarının teşhisi ve hastalıklı hayvanların bir yerden diğer bir yere hareketinin engellenmesini kapsar.

Bu nedenle, çalışmanın amacı Türkiye'nin Doğu Karadeniz Bölgesi'ndeki Bd taranması olmuştur. BD infeksiyonları kantitatif polimeraz zincir reaksiyonlarıyla test edilmiştir (qPCR). Birtakım araştırmacılar amfibilerdeki Bd infeksiyonlarının anlaşılmasında en duyarlı tekniğin genellikle qPCR olduğunu rapor etmişlerdir (Kriger *et al.* 2006, Hyatt *et al.* 2007). Bu alışma, Türkiye'nin Doğu Karadeniz Bölgesi'ndeki ilk Bd alışmasıdır.



2. LİTERATÜR BİLGİLERİ

2.1 Chytridiomycosis ve *Batrachochytrium dendrobatidis*

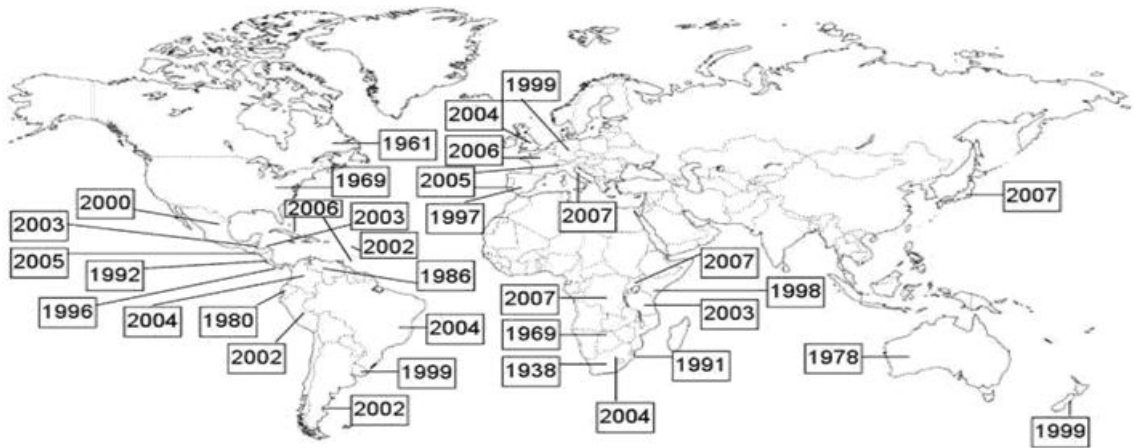
Çağımızın en önemli sorunlarından birisi olan küresel ısınma son 15 yıl içerisinde bilim adamlarının üzerinde durduğu, dünyanın ciddi bir şekilde tartışmaya başladığı ve çözümler üretmek maksadıyla uluslararası anlamda herkesin önemli bir gündem konusu haline gelmiştir. Küresel ısınmaya neden olan karbondioksit ve salınan sera gazları, özellikle sanayi devrimi ile atmosferin kimyasal düzenini son 150 yıla göre fark edilir oranda değişikliğe uğratmıştır. Ekosistemlerin ve biyoçeşitliliğin, küresel iklim değişikliğinden olumsuz anlamda etkilenmesi popülasyonların azalmasına hatta bazı türlerin yok olmasına, bazı türlerin habitat değiştirmesine veya istilacı türler yüzünden göç etmesine sebep olur. Bununla birlikte iklimsel etkiler ile ekolojik dengenin bozulması birçok patojenin yayılış alanlarının çoğalmasına neden olur.

Batrachochytrium dendrobatidis ise bu patojenlerden biri olup küresel anlamda amfibilerde toplu ölümlere ve azalışlara neden olan Chytridiomycosis etkenidir (Berger *et al.* 1998, Bosch *et al.* 2001, Rachowicz *et al.* 2006). Chytridiomycosis hızla gelişmekte olan ve bulaşıcı amfibi hastalığıdır (Daszak *et al.* 2000). Chytridiomycosis hastalığına sebep olan non-hifal zoosporik fungal patojen olan ve konak spesifitesi düşük *Batrachochytrium dendrobatidis* türüdür (Daszak *et al.* 2003). Son 30 yılda *Batrachochytrium dendrobatidis* (Bd) nedeni ile 200'den fazla kurbağa türünde ya popülasyonda büyük kayıplar görülmüş ya da türler bir yıl içerisinde yok olmaya başlamıştır (Skerratt *et al.* 2007). Beklenmedik bu hızlı düşüş tüm dünyada saptanmıştır (Costa Rica: Crump *et al.* 1992, Panama: Lips 1999, Lips 2003a, Lips 2003b, Brazil: Heyer *et al.* 1988, Weygoldt 1989, Avustralya: Laurence *et al.* 1996). Amfibilerdeki azalış ve yapılan genetik çalışmalar ile chytrid fungusunun Avustralya ve Orta Amerika'da doğal popülasyonlara bulaştığı desteklenmiştir (Daszak *et al.* 1999, Daszak *et al.* 2003, Morehouse *et al.* 2003). Son yıllarda ise 350'den fazla amfibi türü Bd ile enfekte olduğuna rastlanmıştır (Fisher *et al.* 2009).

Chytridiomycosis patojenin ilk kaydı Güney Afrika Müzesi, Cape Town (SAMZR 18927) 1938 yılında *Xenopus leavis* türündeki örneklerle dayandığı anlaşılmıştır (Weldon 2004). Araştırmacılar patojenin dünya üzerinde yapılan kurbağa ticareti ve iklim değişikliği nedeniyle yayıldığını saptayarak Güney Amerika, Orta Amerika, Kuzey Amerika, Afrika, Asya, Avrupa ve Yeni Zelanda'da 287 amfibi türünde *B. dendrobatidis* tespiti yapılmıştır (Lips *et al.* 2008, Bosch *et al.* 2007, Skerratt *et al.* 2007, Laurance 2008, Rohr *et al.* 2008, Kriger and Hero 2009, Borzée *et al.* 2017, Laking *et al.* 2017, Valenzuela-Sanchez *et al.* 2018)(Şekil 2.1, Şekil 2.2).



Şekil 2.1 *B. dendrobatidis* patojenin global dağılım haritası (İnt.Kyn.4).



Şekil 2.2 *B. dendrobatidis* patojenin yıllara bağlı olarak global dağılım haritası (Kriger and Hero 2009).

Chytridiomycosis, amfibi cildindeki keratin içeren tabakanın Bd tarafından sürekli olarak infekte edilmesiyle meydana gelen hastalıktır (Berger *et al.* 1998). Chytridiomycosis'in yeniden oluşması su ile taşınan zoosporlar vasıtasıyla, Bd'nin yaşam döngüsünü devam ettirmesiyle, anura larvalarının ağız yapılarının parazite olmasıyla ve amfibilerin post metamorfik dönemde enfeksiyona maruz kalmasıyla oluşur. İribaşlarda keratinli yapı sadece ağız kısımda bulunur ve patojen burayı enfekte eder ama bazı durumlarda larvaların kuyruk kısımlarında da oluştuğu bildirilmiştir (Brodman and Briggler 2008, Kriger and Hero 2007, Berger *et al.* 1998, Longcore *et al.* 1999, Marantelli *et al.* 2004).

Genç ve ergin kurbağalarda Bd enfeksiyonu parmak, göbek ve pelvik kısmındaki deri hücreleri içinde bulunmaktadır (Berger *et al.* 1998). Chytridiomycosis oluştuğunda ozmatik düzenleme (regülasyon) giderek bozulmaya başlar ve kandaki elektrolit düzeyi düşer ve kalbin durmasından kaynaklı ölüm gerçekleşir. Amfibi iç dengenin korunmasında kalın deri çok önemli faktördür ve deri fonksiyonunu bozan madde ve maddelerin, direk olarak Bd'nin salgı ürünlerinin mekanizması olduğu düşünülmekte filogenetik uzaklıktaki amfibilerde enfekte ve yok olma sebebi olabilir (Voyles *et al.* 2009). Ölüm oranı, patojenin dozuna, yaşa, türe, sıcaklığa bağlı olarak değişir (Berger *et al.* 1999a, 2004, Woodhams *et al.* 2005). Enfeksiyon yoğunluğu önemli bir faktördür çünkü enfeksiyonda yük yaklaşık 10.000 mantar zoosporuna ulaşıncaya ölüm gerçekleşir (Vredenburg *et al.* 2010, Cheng *et al.* 2011).

Bd amfibilerin biyolojik yapısını değiştirdiği gibi enfekte durumunda popülasyonda bulunan bireyin büyümesini de etkilediği belirlenmiştir (Lips *et al.* 2008, Bosch *et al.* 2007). BD zoosporlar ile bir amfibiden diğerine bulaşır derisini enfekte eder (Berger *et al.* 1998, Longcore *et al.* 1999). Zoosporlar ise 24 saat içinde hareketli hale gelir (Berger 2001). Zoosporlar hem larval safhada (bu safhada sadece ağız yapısında tespit edilmiştir) hem de yetişkin amfibileri enfekte eder (Berger *et al.* 1999a, Nichols *et al.* 2001). Ölüm ise enfeksiyondan sonra 18-45 gün içerisinde gerçekleşir.

Berger (2005)'e göre metamorfoz sonrası amfibilerde iştahsızlık, uyuşukluk, refleks kaybı, arka ayakta anormal postür ile oluşan anormal duruş genişliği, Parker (2002)'in

çalışmasında ise vekeratinize dokuda kayıplar, deride lekeler, Rachowicz vd. (2004)'e göre semenderlerde deri dökülmeleri ve ventral yüzeyde küçük koyu noktalar, larvaların ağız parçalarında pigmentsiz bölgeler görülür (Davidson *et al.* 2003, Cummer *et al.* 2005). Laboratuvar ortamında birçok amfibi türünde Bd'nin oldukça yüksek patojenite gösterdiği ve hatta düşük dozun bile ölümlere neden olabildiği bildirilmiştir (Skerratt *et al.* 2007).

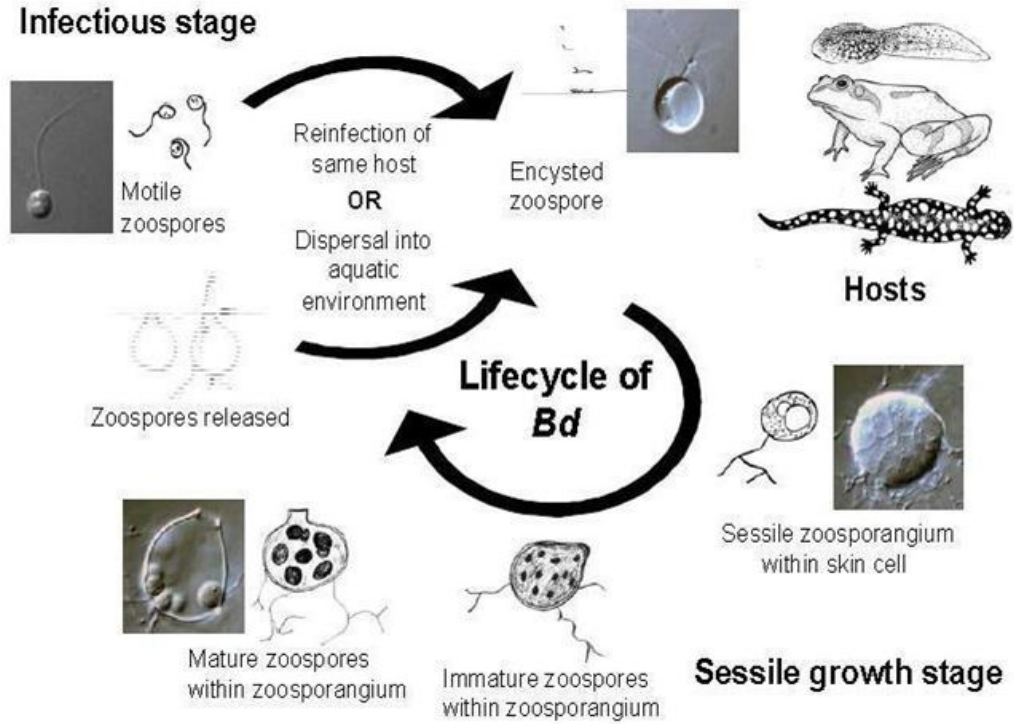
Hyatt vd. (2007), Boyle vd. (2004) ve Hyatt vd. (2007) moleküler yöntemler kullanarak kurbağalarda Bd toksininin tespiti için protokol oluşturmuşlar ve bu protokol güvenilir olarak kabul edilip yaygın olarak kullanılmaktadır.

2.1.1 Batrachochytrium dendrobatidis'in Yaşam döngüsü

Batrachochytrium dendrobatidis, Chytridiomycota şubesi, Chytridiomycetes sınıfı, Chytridiales takımında yer alır, toprak ve suda yaşamaktadır (Hyatt *et al.* 2007). Bd geniş dağılıma sahip kozmopolit bir fungustur (Sparrow 1960, Karling 1977).

Batrachochytrium dendrobatidis (Bd)'in iki ana evreden oluşan yaşam döngüsüne sahip sucul organizmadır (Berger *et al.* 2005). Evrelerden ilki hareketli safha olarak adlandırılır bu safhada su ile zoospor taşınabilir ve yeni konaklara ulaşabilir. Bu evrede zoosporlar kısa ömürlüdür, diğer evre ise zoosporangium (sporangium olarak da bilinir) içinde sporlarını artırıp gelişebildiği durağan evredir. Bu evrede eşeysiz çoğalma için monosentrik olan tallus zoosporangium içinde yer alır. *Batrachochytrium dendrobatidis* (Bd)'nin zoosporları doğrudan konağın keratinize tabakalarına tutunup uyum sağlar ve rizoidleri ile beraber zoosporangium halinde olgunlaşır (Şekil 2.3).

Batrachochytrium dendrobatidis sporlarının yaşam süresi yaklaşık olarak 4 gün kadardır ve bu süre içinde 400'ün üzerinde spor üretebilirler. Zoosporların uygun ortam bulması halinde bu evreler tekrarlanır. Bu zoosporlar aynı konak içinde çoğalabileceği gibi farklı bir konakta bulabilirler. Bu durumdan *Batrachochytrium dendrobatidis* (Bd)'nin zorunlu parazit olmadığı söylenebilir (Davidson *et al.* 2003, Longcore *et al.* 1999).

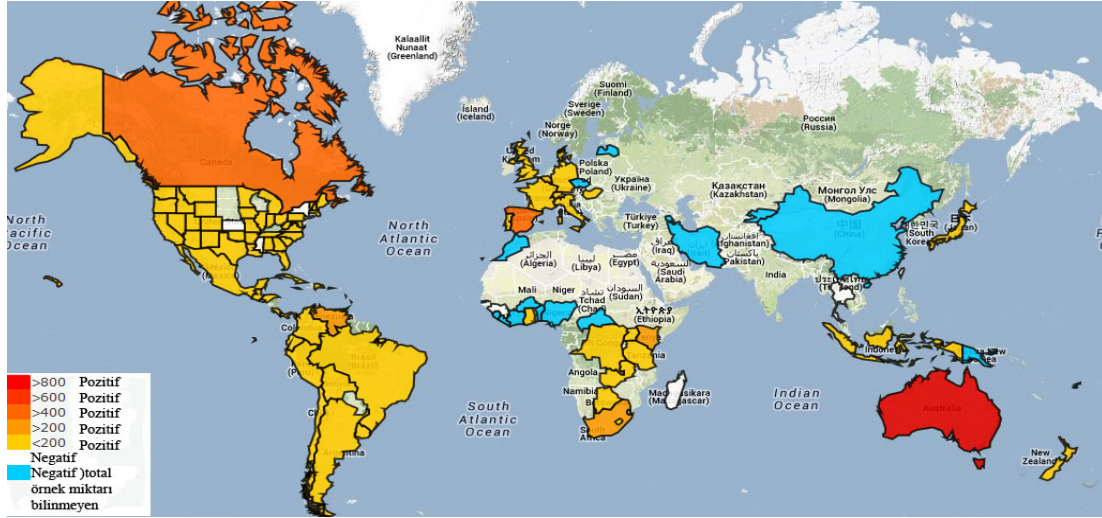


Şekil 2.3 Bulaşıcı ve sesil büyüme aşamalarını gösteren *Batrachochytrium dendrobatidis*'in yaşam döngüsü (Rosenblum *et al.* 2010).

B.dendrobatidis çevrede geniş bir alanda bulunabilir. Chytridiomycosis patojenine bağlı ölüm, temel olarak belirli bir konum için yılın soğuk zamanlarında veya serin yüksek bölgelerde görülebilir (Berger *et al.* 1999a, Piotrowski *et al.* 2004). Kültür ortamında chytrid mantarının optimum gelişme sıcaklığı 17°C ile 25°C' dir (Piotrowski *et al.* 2004). 28°C'nin üzerindeki sıcaklıkta ve 10°C'nin altındaki sıcaklıklarda ise chytrid büyümesi durur veya büyümesi yavaşlar, bu sıcaklıklarda fungus büyümeyi tercih etmediği için enfeksiyonlar ölüme yol açmaz (Piotrowski *et al.* 2004).

2.1.2 *B.dendrobatidis*'in Dünyadaki Dağılımı

B. dendrobatidis' in uluslararası kurbağa ticareti ve iklim değişikliği nedeniyle ile pek çok bölgeye yayıldığı tespit edilmiştir. Çalışmacılar Avrupa, Asya, Güney Amerika, Orta Amerika, Kuzey Amerika, Afrika ve Yeni Zelanda'da 287 amfibi türü ve 25 amfibi familyasında Bd tespit etmişlerdir (Bosch *et al.* 2007, Kerry M. Krigger 2009, Lips *et al.* 2008, Laurance 2008, Rohr *et al.* 2008, Skerratt *et al.* 2007) (Şekil 2.4).



Şekil 2.4 *Batrachochytrium dendrobatidis*'e ait Dünya genelindeki yayılım haritası (İnt.Kyn.3).

Avustralya kıtasının kuzey toprakları hariç tüm eyaletlerde 4 zonda Bd tespit edilmiştir. Bu zonlar;

- 1)Victoria'da ki dağ ve dağ eteklerindeki ormanlarda ve Doğu kıyılarındaki Queensland, New South Wales yağmur ormanlarında (Berger *et al.* 1999a)
- 2)Güneybatıda bulunan Perth'e kadar uzanan bölgede (Berger *et al.* 1999a)
- 3)Adelaide tarafında (Berger *et al.* 1999a)
- 4)Tasmania adasında (Oberdorf 2005, 2006)

Avustralya'nın kuzey topraklarında Bd'nin pozitif olduğu kaydedilmiştir (Van Sluys and Hero 2010). Müze örneklerinde Güney Queensland'a ve Canondale alanında Bd patojenini Aralık 1978'de Doğu kıyılarında bulunduğu, Adelaide Mayıs 1996, Güneybatıda Ekim 1985, Tasmania'da ise 2004'de bulunduğu bildirilmiştir (Oberdorf 2005). *Toudoctylus acutirostris* türünün Bd nedeniyle 1993'te yok olduğu bilinmektedir. Ayrıca *Rheobatrachus silus*, *Rheobatrachus vitellinus*, ve *Taoudoctylus diurnus* türlerinin ise Bd patojeni sebebiyle yok olduğundan şüphelenilmektedir (Laurance *et al.* 1996, Berger *et al.* 1998).

Taoudoctylus diurnus (Güne Gün Kurbağası) türü 1975'de Aguilarda daha sonra 1978'lerin sonuna doğru Blackall'da ve son kez ise 1979'un başlarında Canandale'de görülmüştür (Czechura and Ingram 1990). Ağız yolu ile doğum yapan bir kurbağa türü

olan *Rheobatrachus silus* 1979'dan sonra Canondale'de ortadan kaybolmuş ve son olarak 1981'de Blockall'da görülmüştür.

Bu zaman aralığında *M. Fleayi*, *Litoria peorsonia* ve *Mixophyes iteratus* türlerinin ve New South Wales ve Güneydoğu Queensland'da bulunan popülasyonlarında %90'dan fazla azalma tespit edilmiştir (İngram and Mcdonald 1993).

Bd, Amerika Birleşik Devletleri, Meksika ve Kanada'da bulunmuştur. Müze örneklerindeki çalışmalarda 1961'de *Rana catesbeianan*'nın Bd taşıyıcısı olduğu ve patojenin Kuzey Amerika'dan kaynaklandığı bilinmektedir. Bu patojenin dünyaya yayılımından bu türün sorumlu olduğu yapılan çalışmalar sonucu ortaya çıkartılmıştır (Rosenblum *et al.* 2010, Garner *et al.* 2006, Quelli *et al.* 2005, Mazzoni *et al.* 2003).

Afrika'da ise patojenin en eski örnekleri Kamerun bölgesinde *Xenopus fraseri* örnekleri 1933'de (Soto-Azat *et al.* 2010) ve Güney Afrika'da *Xenopus laevis* örnekleri 1938'de tespit edilmiştir (Weldon *et al.* 2004). Afrika kıtasında yer alan 13 ülkede Bd enfeksiyonu rapor edilmiştir. Bu ülkeler; Malavi, Kamerun, Zambiya Kongo, Gana, Botswana, Kenya, Lesotho, Nijerya, Güney Afrika, Svaziland, Tanzanya, Uganda Demokratik Cumhuriyeti, olup dokuzunda (Malawi, Cameroon, Zambia, Ghana, Botswana, South Africa, Swaziland, Uganda ve Tanzania) *Xenopus* türlerinde patojen saptanmıştır. Günümüze Afrika amfibi türlerinden Kihansi Sprey kurbağasında (*Nectophrynoides asperginis*) Chytridiomycosis'e bağlı olarak popülasyonda ciddi düşüşler görülmüştür (Weldon and Du Preez 2004, Channing *et al.* 2006).

Avrupa kıtasında ise *B. dendrobatidis* yaygın fakat gelişigüzel şekilde dağılım göstermektedir (Garner *et al.* 2005). İlk olarak ise 1997'de Guadarrama Pealara Milli Parkındaki yabani amfibilerde Chytridiomycosis'in neden olduğu ölümcül salgınlar görülmüştür (Bosch *et al.* 2001). Bd enfeksiyonları günümüzde ise İspanya, Büyük Britanya, Fransa, Almanya, Portekiz, İtalya, İsviçre, Lüksemburg gibi birçok Avrupa ülkesinde rapor edilmiştir, İspanya'da Bd patojenine bağlı ilk salgın vakaları 1997'de tespit edilmiş olup bunu 1998 ve 1999 da ki vakalar takip etmiştir (Bosch *et al.* 2001). İspanya'da en az 3 amfibi türü (*Alytes obstetricans*, *Bufo bufo* ve *Salamandra*

salamandra) Chytridiomycosis sebebiyle ölümler yaşanmaktadır (Bosch *et al.* 2001, Bosch and Martinez-Salano 2006).

Büyük Britanya’da, *B. dendrobatidis* Afrikalı pençeli kurbağalar ya da Amerikan boğa kurbağaları (Amerikan bullfrog) ile beraber ortaya çıkmışlardır, enfekte olmuş boğa kurbağaları *Lissotriton vulgaris*, *Triturus cristatus*, *Bufo bufo* ve *Rana temporaria*’nın ıslah yapılması için kullanılan göletlerde meydana gelmiştir (Cunningham *et al.* 2005). Fransa’da *B. dendrobatidis* Pyrenees dağlarındaki bullfroglarında tespit edilmiştir (Garner *et al.* 2006). İtalya’daki Bd enfeksiyonu *Bombina pachypus*’da 2001 yılında saptanmıştır (Stagni *et al.* 2004) (Şekil 2.5).



Şekil 2.5 Bd’nin batı Avrupa’da dağılım haritası.

Almanya’da ise son zamanlarda yayınlanan bazı çalışmalarda enfekte olan *R. esculenta*, *R. arvalis* ve *R. esculenta* synkleptonu bulunmuş ve *B. dendrobatidis* ‘ in Almanya’da çok fazla yaygın olduğu görülmektedir (İnt.Kyn.5).

Hollanda’da ise 2009 yılında kurbağaların %4 üne gelen bir oranda *B. dendrobatidis*, yumuşak semender, ebe kurbağa, Alp semenderi ve havuz kurbağalarında pozitif çıkmıştır (Spitzen- van der Sluijs *et al.* 2010).

2.2 Çalışma Bölgesinin Tanımı

Çalışma alanı olan Doğu Karadeniz Bölgesi, Türkiye'nin kuzeydoğusunda bulunur. Güneyinde Doğu Karadeniz Dağları kuzeyinde Karadeniz kıyı şeridi boyunca batıda Ordu ile doğuda Gürcistan sınırına kadar uzanır. Doğu Karadeniz 38° 36' ile 41° 36' doğu boylamları ve 40° 46' ile 41° 31' kuzey enlemleri arasında kalan bölge seçilmiştir (Uzun 2007).

Tokat, Amasya, Bayburt, Gümüşhane, Giresun, Trabzon, Artvin, Rize, Ordu bölgede bulunan illerdir. Doğu-Batı istikametinde olup Türkiye'nin yüzölçümü bakında %18 ile üçüncü bölgesidir.

Yeryüzü şekilleri III. Jeolojik zamanda Alp kıvrımları sonucunda oluşan doğu-batı yönündeki Kuzey Anadolu Dağları ve bunlar arasındaki geçitler oluşturur. Kuzey Anadolu dağ oluşumu kuşağının kuzey kısmının yamaç kısmını teşkil eden bu alan, Karadeniz'e dökülen akarsularla parçalanmış durumdadır. Kuaterner'de oluşan değişimler ve dağların kıtaların yükselmesine bağlı yükselmesi nedeniyle akarsuların aşındırmasının seyri ve şiddetinin değişmesi Karadeniz'in seviyesinde değişmelere neden olmuştur. Yükselmenin fazla olması akarsu aşındırmasının devamlı canlı kalmasına ve derin yarıklar oluşturmuştur. Akarsuların sebep oldukları vadi yamaçlarının eğimi 35'e kadar ulaşmıştır (Atalay 1986, 1987).

2000 metrelere çıkıldığında buzul şekillere rastlanır. Doğu Karadeniz Dağları'nda Pleistosen'in son buzul çağında yüksek dağlarda gelişmiş buzullar etkili olmuş topografyada derin izler bırakmıştır. Bu dağlık alanda buzul vadilerinin, sirklerin, moren depolarının ve diğer buzul şekillerinin örnekleri görülür. Aynı zamanda, Kaçkar dağlarının zirvesinin kuzey yamacında ve güneyindeki başka bir tepenin kuzeyinde ise güncel buzullara rastlanmaktadır (Erinç 1949, 2000, Somuncu 1988, Tandoğan 1971).

Dağlar kıyıya paralel uzanır ve kıyı ile iç kesim arasında iklim farkı bu bölgede çok fazladır. Kıyıda ılıman iklim olan Karadeniz iklimi görülür. Denizellik etkisi iç kesimlere ulaşmadığı için bu yerlerde karasal iklim görülür. Bölgede kıta sahanlığı dar, girinti-çukıntı az ve falez oluşumu fazladır.

Karadeniz’den gelen nemli hava yükseltisi fazla olan dağlardan iç kesimlere geçemez bu da dağların kuzey yamaçlarına çok fazla yağış bırakır. Doğu Karadeniz Bölgesi kıyı şeridi ılıman ve nemli bir iklime sahip olmasından dolayı Türkiye’nin en fazla yağış alan bölgesidir. Rize taraflarında yıllık yağış miktarı 2000 mm’yi geçmekte, kıyından yükseklerle doğru gidildikçe yağış miktarı artmaktadır. Ortalama sıcaklık 14-15°C yüksek yerlerde ise daha azdır (Uzun 2007).

2.2.1 Rize İli

Rize İli 3920 km²’lik yüzölçümüne sahiptir. Rize ili batıda Trabzon, doğuda Artvin, güneyde Bayburt ve Erzurum illeri ile kuzeyde Karadeniz’le çevrilidir. Dağlık bir arazi yapısı ve çok engebeli olan Rize’nin kıyıları genel anlamda sade bir görüntüye sahiptir. Yer yer taraçalara ve falezlere rastlanır. Kıyı şeridinin genişliği 20-150 arasında olup hemen arkasından 150-200 m’yi bulan tepeler yükselmeye başlar. Karadeniz’e dökülen akarsular bu alandan itibaren dar ve derin vadiler oluşturmaya başlarlar. Bu vadiler dik yamaç halinde olup yaklaşık 2000 m yüksekliğe kadar çıkar. 2000 m’den 3200 m yüksekliği arasında kalan kısımlarda basık sırtlar, “V” profilli vadi yapısından “U” profilli vadilere dönüşür. Bu alanda çok sayıda moren set gölleri ve buz yalağı bulunur. Rize ilinde Karadeniz iklimi görülür, bu ikliminin genel özelliği, yazları serin, kışları ılıman ve yılın her mevsimi yağış almasıdır. Dağların kıyıya paralel uzanması buna en büyük etkidir. Yıllık ortalama sıcaklığı 14°C dir. Bu zamana kadar ilde kaydedilen en yüksek sıcaklık 38°C iken en düşük sıcaklık ise -7°C olarak kaydedilmiştir.

Rize ilinin en sıcak ayı Temmuz iken en soğuk ayı ise Ocak ayı olarak tespit edilmiştir. Ülkemizin en çok yağış alan ili olan Rize yıllık yağış miktarı yaklaşık 2300 mm.’nin üzerindedir. Rize’de yağış miktarının yıl içerisinde dengeli dağılmasından dolayı ilde kurak geçen bir dönem yoktur. İlde en çok yağış sonbaharda en az yağış miktarı ise ilkbahar mevsiminde görülür. %75’in üzerinde bir nem oranına sahiptir. İlin doğal bitki örtüsü, kıyılarda nemlilik ve yıllık yağış miktarı fazla olmasından dolayı geniş yapraklı gür ormanlardan oluşmaktadır. Türkiye’nin orman yönünden en zengin ili olan Rize bu özelliği ile Türkiye’deki ormanların %25’ini barındırır (İnt.Kyn.6).

2.2.2 Trabzon İli

Trabzon, Asya ve Ortadoğu transit yolunun başında Doğu Anadolu'nun kuzeydoğusunda, Karadeniz'in doğal bir limanının kıyısında kurulmuş bir şehirdir. 41 derece kuzey enleminde ve 39 derece doğu boylamı gps koordinatlarıdır.

Trabzon merkez yüzölçümü yüz ölçümü 4685 km²'dir. Trabzon ili kuzeyde Karadeniz, güneyde Gümüşhane, batıda Giresun, doğuda Rize, güneydoğuda Bayburt illeri ile çevrilidir. Çaykara, Maçka, Of, Akçaabat, Arsin, Sürmene başlıca ilçeleridir.

Türkiye'nin yüzölçümü bakımından küçük illerden biri olan Trabzon, engebeli ve akarsu vadileri tarafından yarılmış dağlık alanlardan oluşur. Karadeniz kıyısından başlayıp Doğu Karadeniz sıradağlarına bağlı kıyı dağlarının yüksek kesimlerine kadar uzanan Trabzon ilinin doğal bitki örtüsü bakımından komşu iller kadar çok zengindir. Kıyı şeridinden duvarı andıran bir biçimde yükselen bu dağlar, güneye doğru hafif bir eğimle daha da yükseldikten sonra Harşit ve Çoruh vadilerine doğru oldukça dik şekilde alçalmaktadır.

Kıyı şeridine paralel bir şekilde uzanan Soğanlı, Trabzon, Haldizen, ve Zigana dağları ilin güney kısmının engebeli olmasına neden olur. Bazı noktaları 3 bin metreyi geçerek doğal sınırları oluşturmaktadır. Trabzon ilinin tespit edilen en yüksek noktası 3193 metreye erişen Çakır Göl dağının zirvesidir. Kaynaklardan doğan suların tamamı Karadeniz'e dökülür. İlin başlıca su kaynakları Değirmendere, Solaklı Çayı, Foldere, Kale, Karadere, Yanbolu ve Baltacı dereleridir. Trabzon'un başlıca göller, Buzyalağı Gölü, Sera Gölü ve Uzungöl adlı heyelan gölleridir. Trabzon topraklarının %60'ını kıyı şeridinden içeri kısımlara gittikçe yükselen ve ortalama 25-30 metre arası değişen bir eğim gösteren alanlar oluşturur. %30'u ise dağlık biçimindedir. %10'u düzlük olan topraklar ise engebelidir.

Trabzon'da deniz iklimi görülür. En soğuk ay ortalaması 7°C Şubat ayı iken sıcak ay ortalaması 23°C Ağustos ayıdır. Yıllık ortalama yağış metrekareye 830 mm³'dür (İnt.Kyn.7).

2.2.3 Artvin İli

Artvin 40° 35' ile 41° 32' kuzey enlemleri ve 41° 07' ile 42° 00' doğu boylamları arasında yer alır. Yaklaşık yüzölçümü 7.367 km²'dir. İlin yüzölçümü 783.577 km²'dir ve Türkiye'nin %0,9'u kadardır. Karadeniz'e paralel uzanan Doğu Karadeniz Dağları'nın il sınırları içinde; Altıparmak, Kükürtlü, Kaçkar, İskaristi Dağları adıyla sınıra kadar uzanmaktadır. Kaçkar Dağı, batıdan doğuya doğru iki sıra halinde Karadeniz'e paralel uzanan 3937 m. yüksekliği ile bölgenin en yüksek noktasını oluşturmaktadır. Şavşat ve Borçka ilçeleri arasında bulunan ve Gürcistan sınırına kadar uzanmakta olan Karçal Dağı 3428 m. yüksekliği ile Artvin ilinin diğer önemli bir dağıdır.

Arhavi ve Hopa'daki bazı aluviyal düzlükler dışında ilde ova denebilecek düz alanlar yoktur. Artvin ilinde yaylalar geniş alan kaplamakta olup yaklaşık il toptaklarının %51'ini oluşturur. Artvin, bölgenin iklim özellikleri en çok değişkenlik gösteren ilidir. Cankurtaran dağları ile kıyı kesimi arasında bol yağışlı Karadeniz iklimi görülürken, Cankurtaran dağları ile Borçka ve Artvin Merkez'e kadar olan alanda iklim daha soğuk kışlar ve daha az yaz yağışları olan Karadeniz iklimi şeklindedir. Artvin endemik tür ve bitki çeşitliliği bakımında ülkemizde en önde gelen illerimiz arsındadır. Toplam 1268 türün 119 adedi endemik türdür. Türkiye florasında yaklaşık 10.000 tür bulunduğunu düşünürsek bunun % 13'lük bir kısmının Artvin'de de bulunduğu ortaya çıkmaktadır. Aynı zamanda tüm Türkiye'de bulunan yaklaşık 2700 endemik türün %4,4'ü Artvin sınırları içinde yer almaktadır. Artvin ili sınırları içinde 30'a yakın akarsu bulunur. Bunlardan Karadeniz'e dökülenler hariç diğerleri Çoruh Nehrinin kollarını oluşturur. Karadeniz Havzası'nın en büyük akarsuyu olan Çoruh Nehri bu il sınırları içindedir. Uzunluğu 376 km olup, 354 km'si yurdumuz sınırları içinde bulunur. İl sınırları içinde sirk, moren, krater oluşumlu göller de bulunur (İnt.Kyn.8).

2.3 Bölge İçindeki Milli Parklar

2.3.1 Kaçkar Dağları Milli Parkı

Artvin ili Yusufeli ilçesi ve Rize ili Çamlıhemşin ilçesi sınırlarında bulunmaktadır. 51.550 hektar alana sahiptir. Rize ile 68 km uzaklıktadır. Orman alanı toplam alanın %35'ini oluştururken batısı Fırtına Vadisi, kuzey ve doğusu Hemşin Deresi ile çevrilidir. Doğu Karadeniz Dağları silsilesinin 3 büyük dağını içerir ve bunlar Üçdörük (Verçenik), Göller (Hunut) ve Kaçkar dağlarıdır.

Kaçkar Dağları; kültürel, doğal ve görsel olağanüstü kaynakları çok fazla ancak, yok olmaya yüz tutmuş yaban hayatı bulunmaktadır. Milli Park içinde 54'ü endemik olan 756 bitki türü, 6'sı endemik 149 takson omurgasız hayvan, 178 takson omurgalı hayvan tespit edilmiştir.

2.3.2 Karagöl-Sahara Milli Parkı

3,660 hektar alana sahip Milli Park iki parçadan oluşur. Karagöl kısmı Şavşat ilçesine 25 km uzaklıkta iken, Sahara bölümü Ardahan-Şavşat karayolu üzerinde 17 km uzaklıktadır. Ender manzara güzellikleri, rekreasyonel, kültürel ve turistik potansiyele sahip olan bir göl bulunmaktadır.

2.3.3 Hatla Vadisi Milli Parkı

Artvin il merkezine 7 km'lik mesafede olup 17.104 hektar alana sahiptir. Sahada jeolojik ve jeomorfolojik yapı, eşsiz peyzaj güzellikleri, relikt ve endemik karakterdeki bitki örtüsü, zengin faunası ve rekreasyonel potansiyeli yüksek bir alandır (İnt.Kyn.9).

2.4 Doğu Karadeniz' yaşayan olası amfibi türleri

2.4.1 *Pelodytes caucasicus* (Boulenger, 1896) / Kafkas kurbağası)

Boyları yaklaşık 6 cm olup gözbebeği yuvarlağa yakın dikeydir. Vücut oldukça ince

yapılı olup uzun arka bacakları uzatıldığında burun hizasına gelebilmektedir. Genellikle deri erkeklerde sırtta pürüklüdür, deriye dokunulduğunda zımparamsı bir his verir. Bununla birlikte erkekleri dişilerden ayıran temel özellikler; ön üyelerin daha uzunca ve kuvvetli olması, iç ses kesesinin bulunması ve üreme mevsiminde vücudun alt tarafında siyah renkte kabarcıklar meydana gelmesidir. Yüzme zarı bu türün parmakların kaide kısmında bulunur ve bu yüzden diğer türlerdeki kadar gelişmiş değildir. Arka ayakta bulunan çok küçük metatarsal tüberküle sahiptir. Üreme yaz boyu devam eder dişiler yumurtaları durgun ve küçük su birikintilere bırakır. Gündüzleri taş altlarında saklanırlarken gece aktif olurlar. Habitat tahribatı türü tehdit eden başlıca etmendir.(NT) Neredeyse Tehdit Altında (IUCN) türün popülasyonu azalma eğilimindedir (Başoğlu ve Özeti 1973, Golubev 1985, Özeti ve Yılmaz 1994, Baran ve Atatür 1998, Arıkan vd. 2007, Budak ve Göçmen 2008) (Şekil 2.6).



Resim 2.1 Arazi çalışmalarında yakalanan *Pelodytes caucasicus* (Kafkas Kurbağası)’a ait bir dişi birey (Fotoğraf: Doç. Dr. Uğur Cengiz Erişmiş).

2.4.2 Bufo bufo (Linnaeus, 1758/ Siğilli Kurbağa)

Sırt tarafı genellikle kahverengi olup bazen bu renk kırmızımsı, grimsi rengindeki tonlara doğru değişebilir ve bazen üzerinde birkaç tane koyu leke de bulunabilir. Çenede diş bulunmamakta ve parotid bezleri iyi gelişmiştir. Kulak küçük olduğu için

kulak zarı bariz belli değildir. Yüzme zarı vardır, bacakları az gelişmiştir. Parmaklarda bulunan tüberkül çift sıra halindedir. Derisi kabarcıklı ve bol siğillidir iris ise bakır kırmızısıdır. Erkeklerinde ses kesesi bulunmaz, karasal yaşama uyum sağlamıştır. Fazla sıçrayamadıkları için çok yavaş hareket ederler. Dişiler, erkeklere göre büyüktür. Eşeyssel olgunluğa 4 yılın sonunda oluşurlar, üreme döneminde erkeklerinde ön parmaklarının ilk üçünün iç tarafı siyah ve dikenli kabarcık meydana gelir. Ampleksus bir hafta kadar sürebilir. Dişi 5000-7000 yumurta bırakabilir. (LC) Asgari Endişe (IUCN) durumunda olup popülasyonunda değişiklik yoktur (Venzmer 1922, Bird 1936, Bodenheimer 1944, Clark and Clark 1973, Çaydam 1974, Yılmaz 1989, Özeti ve Yılmaz 1994, Baran ve Atatür 1998, Budak ve Göçmen 2008) (Şekil 2.7).



Resim 2.2 Arazi çalışmaları sırasında yakalanan *Bufo bufo* (Siğilli Kurbağa)'ya ait bir dişi birey (Fotoğraf: Doç. Dr. Uğur Cengiz Erişmiş).

2.4.3 *Bufo verrucosissimus* (Pallas, 1814/ Kafkas Siğilli Kurbağası)

Sırt tarafı genelde renkli bazen kırmızımsı, grimsi bazende koyu renkli olabilir. Parotid bezleri iyi gelişmiş olup çenelerde diş bulunmaz. Özellik olarak *Bufo bufo*'ya çok benzer sadece parotidlerdeki siyah renklenme ile ayrılır. (LC) Asgari Endişe (IUCN) durumunda olup popülasyonunda değişiklik yoktur (Yılmaz 1989, Özeti ve Yılmaz 1994, Baran ve Atatür 1998, Budak ve Göçmen 2008) (Şekil 2.8).



Resim 2.3 Arazi çalışmaları sırasında yakalanan *Bufo verrucosissimus* (Kafkas Siğilli Kurbağası)'a ait bir dişi birey (Fotoğraf: Doç. Dr. Uğur Cengiz Erişmiş).

2.4.4 *Pelophylax ridibundus* (Pallas, 1771 / Ova Kurbağası, Bataklık Kurbağası)

Vücut boyları 15 cm kadar olup baş yanlarındaki koyu renkli şerit yoktur. Sırtın yanlarındaki deri kıvrımları iyi gelişmiştir. Erkeklerde dış ses kesesi mevcuttur ve deri genellikle pürüklüdür. Sırt tarafı yeşilimsi, açık veya koyu kahverengi olabilir, zemin üzerinde koyu lekeler görülür. Sudan fazla ayrılamaz, ağır akan su ve göl kenarlarında bulunur. Böceklerle beslendiği için sivrisinek popülasyonunu dengede tutmaya yarar sağlayan kurbağa türüdür. 2500 metre yükseklikte bile rastlanabilir (Leviton *et al.* 1992, Özeti ve Yılmaz 1994, Baloutch and Kami 1995, Kuzmin 1995, Baran ve Atatür 1998, Arnold 2003, Budak ve Göçmen 2008) (Şekil 2.9).



Resim 2.4 Arazi çalışmaları sırasında yakalanan *Pelophylax ridibundus* (Ova Kurbağası, Bataklik Kurbağası)'a ait bir erkek birey (Fotoğraf: Doç. Dr. Uğur Cengiz Erişmiş).

2.4.5 *Ommatotriton ophryticus* (Berthold, 1846 / Kuzey Şeritli Semenderi)

Kuzey Anadolu Bölgesine özgü olup kıyı boyunca görülür, Ön ve arka bacaklar arasında gümüşü bir şerit vardır ve bu şerit iyi gelişmiştir. Üst ev alt yanlarında bulunan siyah şeritler genellikle devamlı veya parçalı şekilde bulunmaktadır. Dişilere nazaran erkekler daha büyüktür. Erkeklerde üreme zamanı ortaya çıkan sırt yüzgeci oldukça uzundur ve daha parlaktır. Yüksekliği 24 mm'ye kadar olabilir. Nadiren durgun ve az akan sularda yaşarlar hatta alçak sularda suların bulunması bile gerekmez üreme evrelerini kuruyan sularda bile geçirebilirler. Çok yüksek rakımlarda görülebilir. (NT) Neredeyse Tehdit Altında (IUCN) türün popülasyonu azalma eğilimindedir (Özeti ve Yılmaz 1994, Baran ve Atatür 1998, Budak ve Göçmen 2008) (Şekil 2.10).



Resim 2.5 Arazi çalışmaları sırasında yakalanan *Ommatotriton ophryticus* (Kuzey Şeritli Semenderi)’a ait bir erkek birey (Fotoğraf: Doç. Dr. Uğur Cengiz Erişmiş).

2.4.6 *Mertensiella caucasica* (Waga, 1876/ Kafkas Semenderi)

Bu türde zemin rengi siyahımsı ve üzerinde genellikle uzunlamasına kuyruk uzunluğu, baş+gövde uzunluğunu geçmektedir. Semenderin zemin rengi siyahımsı ve genellikle 2 sıra halinde uzunlamasına sarımsı lekeler bulunmaktadır. Ventrali kırmızımsı kahverengi, bazen küçük beyaz lekeli. *Lyciaslamandra* türlerinde olduğu gibi bu türün de ergin erkeklerinde kuyruk ile gövdenin bağlandığı kaide kısmının üst tarafında “hedonik çıkıntı” adı verilen bir çıkıntı vardır. Dağlık yerlerde 500-2000 metre yükseklikteki alanlarda yaşarlar. Geceleri aktif olup, gündüzleri ise uygun yerlerde veya taş altlarında gizlenirler. Bu tür karasal form olmasına rağmen üreme zamanı suya girerler. Ampleksus (kucaklaşma) vardır, fakat *Salamandra*’nın aksine dişiyle suda gerçekleşen aşk oyunları mevcuttur. Ovipardır. Bazı durumlarda ovovivipari de görülebilir. Doğu Karadeniz yayla turizmi, yapılan barajlar, bölgeye kurulan HES’ler popülasyon eğilimi azalmakta olan türün habitatlarını tahrip eden başlıca etmenler arasındadır (Başoğlu ve Özeti 1973, Tarhinishvili and Gokhelashvili 1999, Budak ve Göçmen 2008) (Şekil 2.11).



Resim 2.6 Arazi alışmaları sırasında yakalanan *Mertensiella caucasica* (Kafkas Semenderi)'ya ait bir dişi birey (Fotoğraf: Doç. Dr. Uğur Cengiz Erişmiş).

3. MATERYAL ve METOT

3.1 Arazi Çalışmaları ve Örneklem

Arazi çalışması yapılan Doğu Karadeniz Bölgesine ait lokaliteler Şekil 3.1. ve Şekil 3.2.'de verilmiştir. Bu lokalitelerden 47 ergin amfibi bireyleri yakalanmıştır (Çizelge 3.1).



Şekil 3.1 Arazi çalışması yapılan lokaliteler.

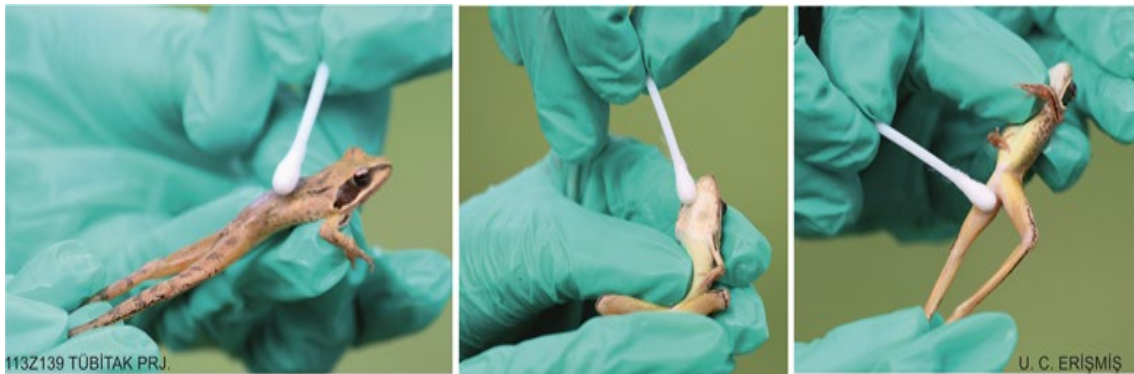


Resim 3.1 Tez çalışması kapsamında yapılan arazi çalışmaları esnasında örnek toplanması.

Çizelge 3.1 Çalışılan türler ve örnek sayıları.

Tür Adı	Lokalite	Birey Sayısı
<i>Pelodytes caucasicus</i>	Uzungöl/ Trabzon	14
<i>Bufo bufo</i>	Uzungöl/ Trabzon	5
	Karagöl/ Artvin	4
<i>Bufo verrucosissimus</i>	Uzungöl/ Trabzon	7
<i>Pelophylax ridibundus</i>	Sahra Milli Parkı / Artvin	4
	Karagöl/ Artvin	5
<i>Ommatotriton ophryticus</i>	Şavsat Gölü /Artvin	4
<i>Mertensiella caucasica</i>	Uzungöl/ Trabzon	4

Yakalanan bireylerde Chytridiomycosis hastalığının tanısı için örnekleme pamuk uçlu swaplar (Medical Wire & equipment, MW 100-100; Biomerieux) ile 10 kez kurbağanın dorsal yüzeyine, 10 kez her bir kurbağanın kasıktan koltuk altına doğru, 10 kez ventral yüzeyine, 10 kez her bir kalçanın alt yüzeyine ve 5 kez ayaklarının alt yüzeyine sürtülerek yapıldı (Şekil 3.3). Bu teknik ile yüzey alanından en fazla miktarda örneklem yapılabilmesi için seçilmiştir ve yanlış negatif sonuç çıkma riskini en aza indirmektedir. Alınan swaplar 2,0 ml’lik steril ependorf tüplere alındı ve 10 saat içinde laboratuvara ulaştırılarak -20°C’de laboratuvar analizleri yapılincaya kadar burada saklandı (Kriger *et al.* 2006) (Şekil 3.4).



Resim 3.2 Swaplama işlemine ait bazı fotoğraflar.



Resim 3.3 Arazi çalışmalarında araştırılmak üzere yakalanan amfibiler.

3.2 Swaplardan DNA İzolasyonu

Öncelikle çalışılacak örnek sayısı kadar 2,0 ml'lik vidalı kapaklı tüpler hazırlanarak her birey için etiketlemeler yapıldı. Tüplerin içerisine 30-40 mg 0,5 mm çapındaki zirkonyum/silika boncuklar konularak 50 µl PrepMan Ultra (Applied Biosystems #4318930) eklenir ve son olarak swaplar sapları kesilerek tüplere eklendi. Tüplerdeki örnekler BeadBug (Benchmark) cihazı ile 45-60 sn boyunca 4000 rpm de homojenize edilerek mevcut zoosporların parçalanması sağlandı, kısa bir süre buz küvetinde bekletilip 13,000 xg de 30 s. santrifüj yapıldıktan sonra homojenizasyon ve santrifüj işlemleri tekrarlandı. Tüplerin kapakları 22 yada 23 numara steril iğneler kullanılarak delindi ve tüpler kaynayan su banyosunda bekletildiler. Su banyosundan alınan örnekler 2 dk. oda sıcaklığında soğumaya bırakılmasının ardından en yüksek hızda (~ 13,000 xg.) 3 dk. +4 °C de santrifüj edildi ve oluşan süpernatant toplanarak qPCR işlemlerinde

kullanılmak üzere 1/10 oranında sulandırılmıştır (~ 5 ng/μl), qPCR çalışması DNA izolasyonu işleminden daha ileri bir tarihte yapıldığı durumlarda DNA örnekleri etiketlenmiş steril 0,5 ml'lik tüplerde -20°C de saklandı (Kriger *et al.* 2006).

3.2.1 Real Time PCR Uygulaması

Bd varlığının tespiti için izole edilen DNA örnekleri Bd'ye özgü ITS1-3 Chytr (5'-CCTTGATATAATACAGTGTGCCATATGTC-3') ve 5.8S Chytr (5'-AGCCAAGAGATCCGTTGTCAAA-3') primerleri ve ChytrMGB2 (5'-6FAM CGAGTCGAACAAAAT MGBNFQ-3') TaqMan MGB (minör groovebinding) probu kullanılarak gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu uygulamasına tabi tutuldu (Boyle *et al.* 2004). Real time PCR işleminde reaksiyonların son hacimleri 20 μl (15 μl rt-PCR + 5 15 μl DNA örneği) olarak ayarlandı (Çizelge 3.2).

Çizelge 3.2 Bd tespiti için yapılan qPCR'da kullanılan malzemelerin miktarları.

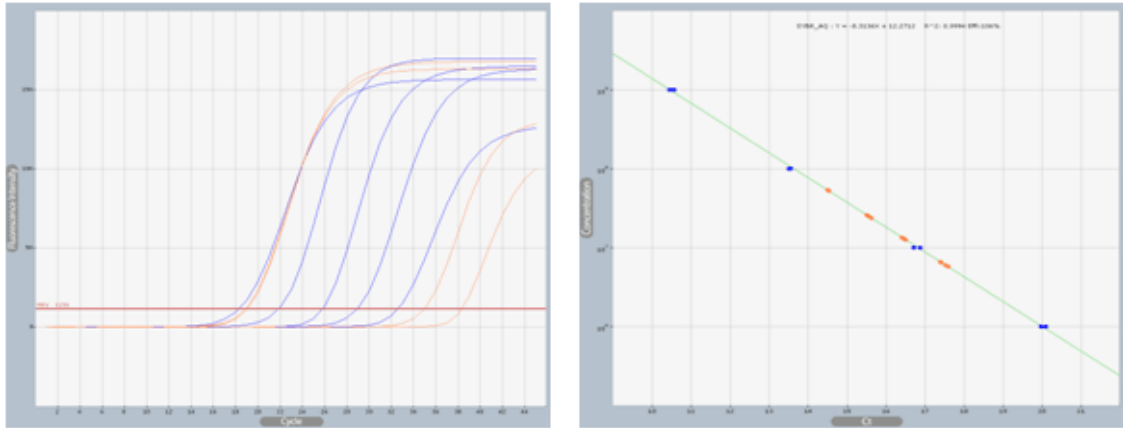
2 x PrecisionTMMasterMix (PrimerDesign, Genesig, İngiltere)	10 μl x örnek sayısı
B.dendrobatidis'e özel Primer/Probe (10 pikomol) mix	1 μl x örnek sayısı
DNAz ve RNAz içermeyen steril su	4 μl x örnek sayısı
Toplam	15μl x örnek sayısı
DNA örneği (5 ng / μl)	5 μl
Reaksiyon Toplamı Son Hacmi	20 μl

Real PCR için hazırlanan örnekler 8'li 0,2'ml strip PCR tüplerine konularak üzerleri şeffaf seal bandı ile kapatılarak karışımın homojenize olması ve tüplerin duvarında kalmış olabilecek damlaların dibe inmesi amacıyla bütün tüpler vorteks – spin cihazı (Bioneer, Kore) ile 2500 rpm de 5 s., “hard” seviyede çalkalama ayarında 20 s. ve 20 tekrar şeklinde vorteks – spin edildi. Daha sonra hazır olan tüpler real time PCR cihazının (Bioneer Exicycler96, Kore) termal bloğu üzerindeki kuyucuklara yerleştirildikten sonra aşağıdaki protokole göre cihaz çalıştırıldı (Çizelge 3.3).

Çizelge 3.3 Bd tespiti için Rt-PCR amplifikasyon protokolü (PrimerDesing, İngiltere).

Döngü Sayısı	İşlem Basamağı	Süre (saat.dakika.saniye)	Sıcaklık
1 Tekrar	Enzim Aktivasyonu	00.10.00	95 °C
	Denatürasyon	00.00.10	95 °C
50	Bağlanma - Uzama	00.01.00	60 °C
Tekrar	Verilerin Okunup Bilgisayara aktarılması	-	-
1 Tekrar	Melting	-	55 °C – 94 °C

Kurbağalardan alınan örnekler qPCR işlemleri 3 tekrar şeklinde yapılarak hatalı sonuç verme ihtimali en aza indirilmiştir. Pozitif çıkan örnekler üç tekrarın tamamında aynı şekilde pozitif çıkmış iseler Bd pozitif olarak kabul edilmiştirler. *Batrachochyrium dendrobatidis*'in pozitif veya negatif olup olmadığı qPCR cihazının bilgisayara aktarmış olduğu Ct (cycle treshold) verilerine bakılarak yapılan değerlendirme sonucu gözlemlenmiştir. qPCR deneylerinde kullanılan standart pozitif örnekler Bioneer Exicycler 96 analiz programı tarafından oluşturulan standart eğri sayesinde zoospor sayıları bu standart eğri referans alınarak otomatik genomik eküvalent değerleri hesaplanmıştır (Ağyar 2014) (Şekil 3.5).



Şekil 3.2 *Batrachochyrium dendrobatidis*'e ait standart eğri örneği.

4. BULGULAR

2015 yılı Haziran – Ağustos ayları arasında yapılan arazi çalışmalarında, ülkemiz Doğu Karadeniz Bölgesinde Uzungöl (Trabzon), Karagöl (Artvin), Sahra Milli Parkı (Artvin), Şavşat Gölü (Artvin)'nde arazi çalışmaları yapılmıştır. Arazi çalışmaları esnasında lokalitelerin bulunduğu konum, hava sıcaklığı, nem ve yükseklik ölçümleri yapılmıştır. Elde edilen veriler Çizelge 4.1'de gösterilmiştir. Arazi çalışmalarında oldukça fazla miktarda karşılaşmamız beklenen türlere çok az karşılaşılmıştır. Örnek almak üzere yakalanan hayvanlarda hastalığı destekleyici lezyonlar, doku kayıpları, kırmızılıklar tespit edilmiştir.

Arazi çalışmaları esnasında 47 örnek toplanmıştır. Bunların 14'sinin *Pelodytes caucasicus*, 7'sinin *Bufo verrucosissimus*, 9'unun *Bufo bufo*, 9'unun *Pelophylax ridibundus*, 4'ünün *Ommatotriton ophryticus*, 4'ünün *Mertensiella caucasicus* tespit edilmiştir (Çizelge 4.1).

Pelodytes caucasicus, *Bufo verrucosissimus*, *Mertensiella caucasicus* örneklerinin hepsi, *Bufo bufo* örneklerinin 5'i Uzungöl/Trabzon bölgesinden sağlanmıştır. *Ommatotriton ophryticus* örnekleri Şavşat Gölü/Artvin'den temin edilmiştir. *Bufo bufo* türünün 4 örneği, *Pelophylax ridibundus* türünün 5 örneği Karagöl/Artvin'den sağlanmıştır. *Pelophylax ridibundus*'un 4 örneği ise Sahra Milli Parkı/Artvin'den alınmıştır (Çizelge 4.1).

Yapmış olduğumuz bu çalışmada; toplanan 14 *Pelodytes caucasicus* örneğinin 2 tanesinde (%16) Bd pozitif olarak belirlenmiş, Uzungöl/Trabzon lokalitesinden alınan 5 *Bufo bufo* örneğinde Bd negatif, Karagöl/Yusufeli bölgesinden alınan 4 örneğin 1'inde (%25) Bd pozitif saptanmıştır.

Bufo verrucosissimus türünden alınan 7 örnekten 1'inde (%14) Bd pozitif tespit edilmiştir. *Pelophylax ridibundus*'un Sahra Milli Parkı'ndan alınan 4 örnekte Bd negatif, Karagöl/Yusufeli'nden alınan 5 örnekten 1'inde (%20) Bd pozitif saptanmıştır.

Şavşat Gölü/Artvin'den *Ommatotriton ophryticus* türünden alınan 4 örnekten 1'inde (%25) Bd pozitif, *Mertensiella caucasicus*'dan alınan 4 örnekte ise Bd negatif tespit edilmiştir.

Genetik ekuavalent ortalamaları (GEs) *Pelodytes caucasicus*'da 588 ± 92 'dir. Uzungöl'den toplanan örneklerde Bd pozitif 2 örnekte birinde en yüksek GEs değeri 698 değerinde ise 479 olarak tespit edilmiştir. Sadece Karagöl/Yusufeli lokalitesindeki örneklerde Bd pozitif tespit edilen *Bufo bufo*'da 524, en düşük zoospor sayısı *Bufo verrucosissimus*'da 410 olarak tespit edilmiştir.

Pelophylax ridibundus türünün GEs değerleri ise 465 olarak tespit edilmiştir. Sadece Şavşat Gölü'nden toplanan tür olan *Ommatotriton ophryticus* türünün Genetik ekuavalent ortalamaları (GEs) 416 olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.1).

Çizelge 4.1 Arazi çalışması yapılan bölgeler, konumları, toplanan türlerin sayısı, çalışılan örneklerin *Batrachochytrium dendrobatidis* prevalansı ve ortalama genetik ekuivalentleri (Zoospor Sayısı x10⁴).

Tür	Lokalite	Koordinatlar	Sıcaklık°C	Nem%	Yükseklik	N (+ve)	Prev. (%)	GEs
<i>Pelodytes caucasicus</i>	Uzungöl/ Trabzon	40°37'40''K 40°17'46''D	28	59	1158m	14 (2)	0.16	588±92
<i>Bufo bufo</i>	Uzungöl/ Trabzon	40°37'20''K 40°17'22''D	25.5	53	1290m	5(0)	0.00	-
	Karagöl/ Yusufeli	40°58'56''K 41°18'46''D	23	63	1600m	4(1)	0.25	524.00
<i>Bufo verrucosissimus</i>	Uzungöl/ Trabzon	41°17'24''K 42°28'11''D	24	68	1870m	7(1)	0.14	410.00
<i>Pelophylax ridibundus</i>	Sahra Milli Parkı / Artvin	41°17'36''K 42°28'26''D	26.3	57	1865m	4(0)	0.00	-
	Karagöl/ Yusufeli	40°58'51''K 41°18'24''D	23.5	52	1610m	5(1)	0.20	465.00
<i>Ommatotriton ophryticus</i>	Şavsat Gölü /Artvin	41°16'15''K 42°21'49''D	29	60	1335m	4(1)	0.25	416.00
<i>Mertensiella caucasicus</i>	Uzungöl/ Trabzon	40°37'19''K 40°17'56''D	28.5	54	1690m	4(0)	-	-
Total						47(6)	0.10	498.25±28.42
Genetik ekuivalent ortalamaları (GEs)								

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

İklimsel değışiklikler dünya üzerinde yaşayan canlıları olumsuz yönde etkilemektedir. Bu değışiklikler dünya üzerinde eşit olmadığı gibi canlılar üzerinde farklı bireysel tepkiler vermektedir.

İklim değışikliğinin canlı sağlığına etkisi üzerine yapılan çalışmalar gösteriyor ki bazı bulaşıcı hastalıkların dağılımının ve vektörlerinin değışmesidir. Bunun sonucunda hastalığın yayılma hızının değışmesine, hastalığın görülme sıklığının artmasına, göçlerin artmasına ve hastalığın oluşturma olasılığı olan bölgelerin çoğalmasına neden olmaktadır.

Dünya'daki 6593 türünden %32'si büyük tehlike altında olup 122 amfibi türü yok olma tehlikesi ile karşı karşıyadır. Türkiye topraklarında 127 (10 kaplumbağa, 62 kertenkele ve 55 yılan) sürüngen ve 30 (14 Urodel, 16 Anur) kurbağa türü bulunmaktadır. Bu türlerin birçoğu Dünya Tabiatı Koruma Birliği (IUCN) kırmızı listesinde bulunmaktadır. Bu listeye göre ülkemizde bulunan amfibilerin %43'ü düşük öncelikli, %17'si tehlike altına girmek üzere, %17'si tehlike altında, %13'ü hassas ve %7'si kritik olarak kategoride yer almakta %3'ü hakkında ise yeterli bilgi bulunmamaktadır. Son zamanlarda tüm Dünya'da görülen toplu amfibi azalışına etken olan nedenlerden birinin *B. dendrobatidis* olduğu bilinmektedir.

Batrachochytrium dendrobatidis Kuzey ve Güney Amerika, Avrupa, Okyanusya, Afrika ve Asya olmak üzere 5 kıtada tespit edilmiştir. Ancak, sadece üç kıtanın kavşağında Anadolu'da Bd varlığını açıklayan yayımlanmış güncel iki çalışma olmuştur. Bu yüzden Anadolu'da Bd'nin varlığı şaşırtıcı değildir. Göçmen vd. (2013) tarafından yapılan çalışmada, Göynük Kanyon'dan alınan 2 *Pelophylax bedriagae* örneğinden 1 tanesi Bd için pozitif değer olan 3.5 genomik eşdeğer (GE) enfeksiyon oranı tespit edilmiştir. Son zamanlarda Batı Anadolu Bölgesi ve Göller Bölgesi'ndeki çalışmalarda Bd enfeksiyonunun *Pelophylax ridibundus*, *Hyla orientalis*, *Bufotes variabilis* hemde endemik Beyşehir kurbağası *Pelophylax caralitanus* ' da tespiti yapılmıştır (Çizelge 1.1) (Erişmiş et al. 2014).

Bugüne kadar Türkiye’de 34 amfibi türü kaydedilmiştir. Türkiye’nin coğrafi konumu nedeniyle, farklı türler farklı yerlere yayılır ve çok sayıda tehdiye maruz kalmaktadır (Şekercioğlu *et al.* 2011). Bu bir sıra içerir kısıtlı ve ender amfibi türleri *Rana tavaensis* (Franzen vd. 2008), *Rana holtzi* (Baran vd. 2007; Yıldız & Göçmen 2012), *R. macrocnemis* (Veith vd. 2003), *Pelophylax caralitanus* (Bülbül *et al.* 2011). Eğer bu gibi türler mantar enfeksiyonuna duyarlı olsalardı, yerel ve izole popülasyonların türleri kolayca tükenmiş olabilirdi. Bu nedenle Anadolu’daki bu patojenlerin ve türlerin bu patojenlere karşı duyarlılığının tespit edilmesi gereklidir. Ayrıca, patojenin yayılmasını önlemek için stratejiler geliştirilmelidir. Bu çalışmada, 5 cinsten 6 türü içeren 47 örnek çalışılmıştır. Bildiğimiz kadarıyla, bu Doğu Karadeniz Bölgesi’ndeki amfibilerdeki Bd ile ilgili ilk rapordur. Başka bir hipotez’in iddiasına göre Chytrid’in birçok bölgede endemik olduğunu, iklim ve diğer faktörler Chytridiomycosis son salgınlar sonucunda konak-patojen ilişkisini değiştirdiğini ileri sürmüştür (Morehouse *et al.* 2003; Weldon *et al.* 2004). Ilımlı Bd enfeksiyon oranı (10.00%, n = 47) ve ortalama zoospor oranı (498.25±28.42 GEs) bulunmuştur. Çalışma alanlarında görünüşte sağlıklı olan amfibilerde Bd enfeksiyon prevalansı yaygınlığı gözlenmiştir. Düşük zoospor yükün bulguları yaz aylarında yapılan arazi çalışmalarına bağlandırılmıştır. Önceki çalışmalar Chytridiomycosis enfeksiyonundan kaynaklanan ölümleri yılın soğuk zamanlarında ya da rakımdan dolayı soğğun fazla olduğu yerlerde meydana geldiğini göstermiştir (Berger *et al.* 1999b, Piotrowski *et al.* 2004). Türkiye’nin çeşitli bölgelerinde düzensiz topografyadan dolayı farklı iklimlere sahiptir. Karadeniz’de okyanus iklimi görülür. Bu bölgede iklim ıslak ve nemlidir (Yaz 23°C, Kış 7°C) (Şensoy *et al.*, 2008, Piotrowski *et al.*, 2004). Chytrid suşları sıcaklık farklılıkları olmadığında, hastalığa bağlı ölüm ve kayıpların soğuk alanlarda sınırlandırılabilceğini söylemiştir. Ilıman bölgelerde salgın, sıcak aylarda dağlık alanlarda ya da kış boyunca ovalarda meydana gelmiş olması mümkündür. Ron (2005)’a göre, Bd’nin Anadolu ormanları ve stepleri ve Avrupa’nın yaklaşık 55°K güneyini içeren bir çok modelde ekolojik nişi destekleyen alanlarda yayıldığını tahmin etmiştir. Daha önceki çalışmamız Anadolu ikliminin Chytridiomycosis’in yayılması için elverişli olduğunu göstermiştir (Erişmiş *et al.* 2014).

Ayrıca Bd ana konakta daha az negatif etkileri olan amfibi türlerini daha az enfekte eder ve öldürmez, hastalığı depo etmek için hizmet eder (Mazzoni *et al.* 2003). Bu hastalığı *Xenopus spp*, *Rana catesbeiana* ve *Bufo marinus* gibi birçok amfibi türü taşımaktadır, ayrıca karasal türler anurlarda Bd hastalığı kurbağadan kurbağaya taşınarak mümkün olduğu ileri sürülüyor (Kriger and Hero. 2007). Chytrid'in vektörlerde ki hareketinin belirtilerine ek vektörler yaban hayatı (Johnson and Speare. 2005) ya da kontamine hayvan ürünleri, kuş alım satımı, bilim adamlarının balık, amfibiler, ya da diğer su organizmaları örnekleme sırasında bulunmaktadır (Halliday 1998). Ancak, Güney Doğu Anadolu, Suriye sınır bölgesinde özel niteliklere sahiptir. Bölgenin fauna çoğunlukla eremial tür güneyden gelen ve ülkenin başka bir yerinde görülenlerden oluşur. Ayrıca, ülkenin diğer bölgelerinden gelen türlerin bazıları da bu ortama uyum sağladılar. Anadolu'nun Kuzey-Güney, Doğu ve Batı köşeleri de eşsiz amfibi ve sürüngen türü içerir. Doğu Akdeniz Bölgesi için de eşsiz bir sürüngen faunası vardır. Bu bölgeler Kafkasya ve güneyden gelen türlerin koridorları vardır. Yüksek çapraz Anadolu Dağları kolonizasyon için önemli bir engel oluşturuyor (Ansell *et al.* 2011).

Bufo variabilis Anadolu'da geniş bir dağılım gösterirler. *P. ridibundus* dağılımı Kuzey ve Kuzey-Batı Anadoludur (Çizelge 1.1). Eğer Bd'ye dayanıklı amfibiler Chytridiomycosis'in yayılmasına etkili olursa, bu iki tür çalışma alanında patojen geçişte etkili olabilirler.

Anadolu çapraz dağlar Anadolu ve Marmara Bd kolonizasyon için bir engel olmadığını düşünmekteyiz. Bu nedenle, amfibi ticareti *B. dendrobatidis* varlığı için test Batı Karadeniz ve Trakya'da zorunlu olmalıdır. Başarılı yönetim stratejileri geliştirilmesi kurbağalar *B. dendrobatidis* varlığı etkileri üzerinde daha fazla çalışmaları bağlıdır.

6. KAYNAKLAR

- Ağyar P. (2014). Real-Time PCR Kullanılarak Beyşehir Gölü ve Çevresinde İki Amfibi Patojeninin (*Batrachochytrium dendrobatidis* ve Ranavirüs) Yaygınlığının İlk Kez Saptanması. Yüksek Lisans Tezi, Afyon Kocatepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Afyon.
- Ansell, S.W., Stenøien, H.K., Grundmann, M., Russell, S.J., Koch, M.A., Schneider, H. and Vogel, J.C. (2011). The importance of Anatolian mountains as the cradle of global diversity in *Arabis alpina*, a key arctic–alpine species. *Annals of Botany*, **108**: 241-252.
- Arıkan, H., Tosunoğlu, M, Atatür, M. and Göçmen, B. (2007). Some comments on the breeding biology of *Pelodytes caucasicus* Boulenger, 1896 from Uzungöl, Northeast Anatolia.
- Arnold, E.N. (2003). Reptiles and amphibians of Europe. Princeton University Press.
- Atalay, İ. (1986). Uygulamalı Hidrografiya, Ege Üniversitesi, Edebiyat Fakültesi Yayınları, No:38, İzmir.
- Atalay, İ. (1987). Türkiye Jeomorfolojisine Giriş, Ege Üniversitesi Edebiyat Fakültesi Yayınları No:9, İzmir. ATALAY, İ. 1986. Uygulamalı Hidrografiya, Ege Üniversitesi, Edebiyat Fakültesi Yayınları, No:38, İzmir.
- Baloutch, M. and Kami, H. G. (1995). Amphibians of Iran. Tehran University Publishers, Tehran.
- Baran, I. and Atatür, M.K. 1998. Turkish herpetofauna (amphibians and reptiles). Republic of Turkey Ministry of Environment, Ankara.
- Baran, İ., Ilgaz Avcı, C. O. A. and İret, F. (2007). On new populations of *Rana holtzi* and *Rana macrocnemis* (Ranidae: Anura). *Turkish Journal of Zoology*, **31**: 241-247.

- Başkale, E., Yildirim, E., Çevik, I.E. and Kaya, U. (2013). Population Size and Age Structure of Metamorphic and Pedomorphic Forms of *Ommatotriton ophryticus* (Berthold, 1846) in the Northwestern Black Sea Region of Turkey. *Journal of Herpetology*, **47(2)**: 270-276.
- Başoğlu, M. ve Ozeti, N. (1973). Türkiye Amphibileri. Ege Üniv, Bornova-İzmir.
- Berger, L., Hyatt, A.D., Speare, R. and Longcore, J.E. (2005). Life cycle stages of the amphibian chytrid *Batrachochytrium dendrobatidis*. *Diseases of Aquatic Organisms*, **68**: 51–63.
- Berger, L.R. Speare, H., Hines, B., Marantelli, G., Hyatt, A.D., McDonald, K.R., Skerratt, L.F., Olsen, V., Clarke, J.M., Gillespie, G., Mahony, M., Sheppard, N., Williams, C. and Tyler, M.J. (2004). Effect of season and temperature on mortality in amphibians due to Chytridiomycosis. *Australian Veterinary Journal*, **82 (7)**: 434– 439.
- Berger, L. Diseases in Australian Frogs [PhD thesis]. Townsville, Australia. James Cook University: Townsville. (2001).
- Berger, L., Speare, R. and Hyatt, A.D. (1999a). Chytrid fungi and amphibian declines: overview, implications and future directions. In: Campbell A (ed) Declines and disappearances of Australian frogs. *Environment Australia, Canberra*, p 23–33.
- Berger, L., Speare, R. and Kent, A. (1999b). Diagnosis of chytridiomycosis in amphibians by histologic examination. *Zoo's Print Journal*, **15**:184–190.
- Berger, L., Speare, R., Daszak, P., Green, D.E., Cunningham, A.A., Goggin, C.L., Slocombe, R., Ragan, M.A., Hyatt, A.D., McDonald, K.R., Hines, H.B., Lips, K.R., Marantelli, G. and Parkes, H. (1998). Chytridiomycosis causes amphibian mortality associated with population declines in the rainforests of Australia and Central America. *Proceedings Natural Academy Science USA*, **95**: 9031–9036.
- Bird, C.G., (1936). The Distribution of Reptiles and Amphibians in Asiatic Turkey, with notes on a collection from Vilayets of Adana, Gaziantep and Malatya. *Ann. Mag. Nat. Hist*, London (10) **18**: 257-281.
- Bodenheimer, F. S., (1944). Introduction into the knowledge of the Amphibia and Reptilia of Turkey. *Istanbul Üniv. Fen Fak. Mecmuası*, Ser. B, **9**: 76-79.

- Borzée, A., Kosch, T.A., Kim, M. and Jang, Y. (2017). Correction: Introduced bullfrogs are associated with increased *Batrachochytrium dendrobatidis* prevalence and reduced occurrence of Korean treefrogs. *PLOS ONE*, **12(12)**: e0190551.
- Bosch, J., Carrascal, L.M., Duran, L., Walker, S. and Fisher, M.C. (2007). Climate change and chytridiomycosis in a montane area of Central Spain: Is there a link? *Proceedings of the Royal Society of London, Series B*, **274**: 253-260
- Bosch, J. and Martínez-Solano, I. (2006). Chytrid fungus infection related to unusual mortalities of *Salamandra salamandra* and *Bufo bufo* in the Peñalara Natural Park, Spain. *Oryx*, **40(1)**: 84 – 89.
- Bosch, J., Martínez-Solano, I. and García-París, M. (2001). Evidence of a chytrid fungus infection involved in the decline of the common midwife toad (*Alytes obstetricans*) in protected areas of central Spain. *Biological Conservation*, **97**: 331–337.
- Boyle, D.G., Boyle, D.B., Olsen, V., Morgan, J.A.T. and Hyatt, A.D. (2004). Rapid quantitative detection of chytridiomycosis (*Batrachochytrium dendrobatidis*) in amphibian samples using Real-time Taqman PCR assay. *Diseases of Aquatic Organisms*, **60**: 141–148.
- Brodman, R. and Briggler, T. J. (2008). *Batrachochytrium dendrobatidis* in *Ambystoma jeffersonianum* larvae in southern Indiana. *Herpetological Review*, **39(3)**: 320–321.
- Budak, A. ve Göçmen, B. (2008). Herpetoloji (Ders Kitabı). İkinci baskı. Ege Üniversitesi Yayınları. Fen Fakültesi Yayın No. 194.
- Bülbül, U., Matsui, M., Kutrup, B. and Eto, K. (2011). Taxonomic relationships among Turkish water frogs as revealed by phylogenetic analyses using mtDNA gene sequences. *Zoological Science*, **12**: 930-936.
- Cheng, T.L., Rovito, S.M., Wake, D.B. and Vredenburg, V.T. (2011). Coincident mass extirpation of neotropical amphibians with the emergence of the infectious fungal pathogen *Batrachochytrium dendrobatidis*. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 9502–9507.

- Clark, R.J. and Clark, E.D. (1973). Report on a collection of Amphibians and Reptiles from Turkey. *Occasional Papers California Academy of Science San Fransisco*, **104**: 1-62.
- Cummer, M.R., Green, D.E. and O'Neill, E.M. (2005). Aquatic chytrid pathogen detected in terrestrial plethodontid salamander. *Herpetological Review*, **36**: 248-249.
- Cunningham, A.A., Garner, T.W.J., Aguilar-Sanchez, V., Banks, B., Foster, J., Sainsbury, A.W., Perkins, M., Walker, S.F., Hyatt, A.D. and Fisher, M.C. (2005). Emergence of amphibian chytridiomycosis in Britain. *Veterinary Record*, **157**: 386-387.
- Crump, M.L., Hensley, F.R. and Clark, K. L. (1992). Apparent decline of the Golden Toad: underground or extinct? *Copeia*, **1992**: 413-420.
- Czechura, G.V. and Ingram, G. (1990). Taudactylus diurnus and the case of the disappearing frogs. *Memoirs of the Queensland Museum* **29(2)**: 361-365.
- Çaydam, Ö., (1974). İzmir’de bulunan Anura türlerinden *Bufo bufo*, *Bufo viridis* (Bufonidae), *Rana ridibunda* (Ranidae), *Pelobates syriacus* (Pelobatidae) ve *Hyla arborea* (Hylidae)’nin üreme biyolojisi üzerine araştırmalar. *Ege Üni. Fen Fak. İlmî Rap. Serisi*, **198**: 1-22.
- Davidson, E. W., Parris, M., Collins, J. P., Longcore, J. E., Pessier, A. P. and Brunner, J. (2003). Pathogenicity and transmission of chytridiomycosis in tiger salamanders (*Ambystoma tigrinum*). *Copeia*, **2003**: 601-607.
- Daszak, P., Cunningham A.A. and Hyatt, A.D. (2003). Infectious disease and amphibian population declines. *Diversity and Distributions*, **9**: 141–150.
- Daszak, P., Cunningham, A.A. and Hyatt, A.D. (2000). Emerging infectious diseases of wildlife threats to biodiversity and human health. *Science*, **287**: 443–449.
- Daszak, P., Berger, L., Cunningham, A.A., Hyatt, A.D., Green, G.E. and Speare, R. (1999). Emerging infectious diseases and amphibian population decline. *Emerging Infectious Diseases*, **5**: 735–748.

- Erinç, S., (1949). Eiszeitliche Formen und gegenwartige Verletscherung im nordostanatolischen Randgebirge .*Geologische Rundschau*, **37**: 75-83.
- Erinç, S. (2000). Jeomorfoloji-I (Güncelleştirme: Ertek, A. ve Güneysu, C.) *İstanbul: Der Yayınları, Yayın*, (284).
- Erismis, U. C. (2011). Abundance, demography and population structure of *Pelophylax ridibundus* (Anura: Ranidae) in 26-August National Park (Turkey). *North western J Zool*, **7**: 5–16.
- Erismis U., Konuk M., Yoldas T., Agyar P., Yumuk D. and Korcan E. (2014): Survey of Turkey's endemic frogs for amphibian chytrid fungus *Batrachochytrium dendrobatidis*. *Diseases of Aquatic Organisms*, **111(2)**:153-7.
- Farrer, R. A., Weinert, L. A., Bielby, J., Garner, T. W., Balloux, F., Clare, F. and Anderson, L. (2011). Multiple emergences of genetically diverse amphibian-infecting chytrids include a globalized hypervirulent recombinant lineage. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **108(46)**: 18732-18736.
- Franzen, M., Bussmann, M., Kordges, T. and Thiesmeier, B. (2008). Die Amphibien und Reptilien der Südwest-Türkei. – Bielefeld: Laurenti Verlag.
- Garner, T.W.J., Perkins, M.W., Govindarajulu, P., Seglie, D., Walker, S., Cunningham A.A. and Fisher, M.C. (2006). The emerging amphibian pathogen *Batrachochytrium dendrobatidis* globally infects introduced populations of the North American bullfrog, *Rana catesbeiana*. *Biology Letters*, **2**: 455 – 459.
- Garner, T. W. J., Walker, S., Bosch, J., Hyatt, A. D., Cunningham, A. A. and Fisher, M. C. (2005). Chytrid fungus in Europe. *Emerging Infectious Diseases*, **11**: 1639-1641.
- Golubev N. S. (1985), Caucasian Parsley Frog—*Pelodytes caucasicus* Boulenger (Distribution, Morphology, and Ecology). Author's Abstract of Candidate's Thesis, Izd.

- Göçmen, B., Veith, M., Iğci, N., Akman, B., Godmann, O. and Wagner, N. (2013). No Detection Of The Amphibian Pathogen *Batrachochytrium dendrobatidis* In Terrestrial Turkish Salamanders (*Lyciasalamandra*) Despite Its Occurrence In Syntopic Frogs (*Pelophylax bedriagae*). *Salamandra*, **49(1)**: 51-55
- Halliday, T. (1998). A declining amphibian conundrum. *Nature*, **394**: 418–419.
- Heyer, W.R., Rand, A.S., Gonçalves da Cruz, C.A. and Peixoto, O.L. (1988). Decimations, extinctions, and colonizations of frog populations in southeast Brazil and their evolutionary implications. *Biotropica*, **20**: 230-235.
- Hyatt, A. D., Boyle, D. G., Olsen, V., Boyle, D. B., Berger, L., Obendorf, D., Dalton, A., Kriger, K., Hero, M., Hines, H., Phillott, R., Campbell, R., Marantelli, G., Gleason, F. and Colling, A. (2007). Diagnostic assays and sampling protocols for the detection of *Batrachochytrium dendrobatidis*. *Diseases Of Aquatic Organisms*, **73**: 175–192.
- Ingram, G. J. and McDonald, K. R. (1993). "An update on the decline of Queensland's frogs." Herpetology in Australia: A diverse discipline. D. Lunney and D. Ayers, eds., Transactions of the Royal Zoological Society of New South Wales, Sidney, 297-303.
- Johnson, M. L. and Speare, R. (2003). Survival of *Batrachochytrium dendrobatidis* in water: quarantine and disease control implications. *Emerging Infectious Diseases*, **9**: 922-925.
- Karling, J.S. (1977). Chytridiomycetorum Iconographia: An Illustrated and Brief Descriptive Guide to the Chytridomycetous Genera with a Supplement of the Hyphochytriomycetes (Lubrecht and Cramer, Monticello, NY).
- Kruger, K.M. and Hero, J.M. (2009). Chytridiomycosis, Amphibian Extinctions, and Lessons for the Prevention of Future Panzootics. *Ecohealth*, **6(1)**: 6-10.
- Kruger, K.M., Hero, J.M. (2007). The chytrid fungus *Batrachochytrium dendrobatidis* is nonrandomly distributed across amphibian breeding habitats. *Diversity and Distributions*, **13**: 781–788.
- Kruger, K.M., Hero, J.M. and Ashton K.J. (2006). Cost Efficiency In The Detection Of Chytridiomycosis Using PCR Assay. *Diseases of Aquatic Organisms*, **71**: 149–154.

- Kuzmin, S. L. (1995). Die Amphibien Russlands und angrenzender Gebiete. Westarp Wissenschaften, Magdeburg.
- Laking, A.E., Ngo, H.N., Pasmans, F., Martel, A. and Nguyen, T.T. (2017). *Batrachochytrium salamandrivorans* is the predominant chytrid fungus in Vietnamese salamanders. *Scientific Reports*, **7**: 44443.
- Laurance, W.F., McDonald, K.R. and Speare, R. (1996). Australian rain forest frogs: support for the epidemic disease hypothesis. *Conservation Biology*, **10**: 406–413.
- Laurance, W.F. (2008). Global warming and amphibian extinctions in eastern Australia. *Austral Ecology*, **33**: 1-9.
- Leviton, A. E., Anderson, S. C., Adler, K. and Minton S. A. (1992). Handbook to Middle East Amphibians and Reptiles. *Society for the Study of Amphibians and Reptiles*, Oxford, Ohio.
- Lips, K.R., Diffendorfer, J., Mendelson III, J.R. and Sears, M.W. (2008). Riding the wave: reconciling the roles of disease and climate change in amphibian declines. *PLoS Biology*, **6 (3)**: 441–454.
- Lips, K. R., Green, D. E. and Papendick, R. (2003a). Chytridiomycosis in wild frogs from southern Costa Rica. *Journal of Herpetology*, **37**: 215-218.
- Lips, K. R., Reeve, J. D. and Witters, L. (2003b). Ecological traits predicting amphibian population declines in Central America. *Conservation Biology*, **17**: 1078-1088.
- Lips, K. R. (1999). Mass mortality and population declines of anurans at an upland Site in Western Panama. *Conservation Biology*, **13**: 117-125.
- Longcore, J.E., Pessier, A.P. and Nichols, D.K. (1999). *Batrachochytrium dendrobatidis* gen. et sp. nov., a chytrid pathogenic to amphibians. *Mycologia*, **91**: 219–227.
- Marantelli, G., Berger, L., Speare, R. and Keegan, L. (2004). Changes in distribution of *Batrachochytrium dendrobatidis* and keratin during tadpole development leading to high mortality after metamorphosis. *Pacific Conservation Biology*, **10**: 173–179.

- Mazzoni, R., Cunningham, A.A., Daszak, P., Apolo, A., Perdomo, E. and Speranza, G. (2003). Emerging pathogen of wild amphibians in frogs (*Rana catesbeiana* farmed for international trade. *Emerging Infectious Diseases*, **9**: 995-998
- Morehouse, E. A., James, T. Y., Ganley, A. R. D., Vilgalys, R., Berger, L., Murphy, P. J. and Longcore, J. E. (2003). Multilocus sequence typing suggests that the chytrid pathogen of amphibians is a recently emerged clone. *Molecular Ecology*, **12**: 395–403.
- Morgan, J.A.T., Vredenburg, V.T., Rachowicz, L.J., Knapp, R.A., Stice, M.J., Tunstall, T., Bingham, R.E., Parker, J.M., Longcore, J.E., Moritz, C., Briggs, C.J. and Taylor, J.W. (2007). Population genetics of the frog-killing fungus *Batrachochytrium dendrobatidis*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **104 (34)**: 13845–13850..
- Nichols, D.K., Lamirande, E.W., Pessier, A.P., and Longcore, J.E. (2001). Experimental transmission of cutaneous chytridiomycosis in dendrobatid frogs. *Journal of Wildlife Diseases*, **37**: 1-11.
- Obendorf, D.L. and Dalton, A. (2006). A survey for the presence of the amphibian chytrid fungus (*Batrachochytrium dendrobatidis*) in Tasmania. *Papers and Proceedings of the Royal Society of Tasmania* **140**: 25-29.
- Obendorf, D.L. (2005). Developing field & diagnostic methods to survey for chytridiomycosis in Tasmanian frogs. Central North Field Naturalists, Inc. Tasmania, Australia. Report to the Department of Environment and Heritage, Canberra.
- Ouellet, M., Mikaelian, I., Pauli, B.D., Rodrigue, J. and Green, D.M. (2005). Historical evidence of widespread chytrid infection in North American amphibian populations. *Conservation Biology*, **19**: 1431–40.
- Özeti, N. ve Yılmaz, I. 1994. Türkiye amphibileri. Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Kitaplar Serisi: 221.
- Öztürk, K. (2002). Küresel İklim Değişikliği ve Türkiyeye Olası Etkileri. *Gazi Üniversitesi Gazi Eğitim Fakültesi Dergisi*, **22(1)**.

- Parker, J. M., Mikaelian, I., Hahn, N. and Diggs, H. E. (2002). Clinical diagnosis and treatment of epidermal chytridiomycosis in African clawed frogs (*Xenopus tropicalis*). *Comparative medicine*, **52**(3): 265-268.
- Piotrowski, J.S., Annis, S.L. and Longcore J.E. (2004). Physiology of *Batrachochytrium dendrobatidis*, a chytrid pathogen of amphibians. *Mycologia*, **96**: 9–15.
- Rachowicz, L.J., Knapp, R.A., J. Morgan, A.T., Stice, M.J., Vredenburg, V.T., Parker J.M. and Briggs, C.J. (2006). Emerging infectious disease as a proximate cause of amphibian mass mortality. *Ecology*, **87**: 1671–1683.
- Rachowicz, L.J. and Vredenburg, V.T. (2004). Transmission of *Batrachochytrium dendrobatidis* within and between amphibian life stages. *Diseases of Aquatic Organisms*, **61**: 75-83.
- Rohr, J.R., Raffel, T.R., Romansic, J.M., McCallum, H. and Hudson, P.J. (2008). Evaluating the links between climate, disease spread, and amphibian declines. *Proceedings National Academy of Science USA*, **105**: 17436–17441.
- Ron, S.R., (2005) Predicting the Distribution of the Amphibian Pathogen *Batrachochytrium dendrobatidis* in the New World. *Biotropica*, **37**(2): 209–221.
- Rosenblum, E.B., Römppler, H., Schöneberg, T. and Hoekstra, H.E. (2010). Molecular and functional basis of phenotypic convergence in white lizards at White Sands. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **107**(5): 2113-2117.
- Sensoy, S., Demirci, M., Ulupınar, Y., Balta, İ. (2008). Türkiye İklimi, DİM websitesi <http://www.dmi.gov.tr/iklim/iklim.aspx>
- Skerratt, L.F., Berger, L., Speare, R., Cashins, S., Mc McDonald, K.R., Phillott, A.D., Hines, H.B. and Kenyon, N. (2007). Spread of Chytridiomycosis has caused the rapid global decline and extinction of frogs. *EcoHealth*, **4**: 125 – 134.
- Somuncu, M. (1988). Develi Ovası'nın kuzey ve batı bölümünde rüzgar erozyonu sorunu ve alınması gereken önlemler (Wind erosion problem in the northern and western sides of the Develi Basin and precautions should be taken). *Jeomorfoloji Dergisi (Journal of Geomorphology)*, 37-45.

- Soto-Azat, C., Clarke, B. T., Poynton, J. C. and Cunningham, A. A. (2010). Widespread historical presence of *Batrachochytrium dendrobatidis* in African pipid frogs. *Diversity and Distributions*, **16**: 126-131.
- Sparrow, F.K. (1960). *Aquatic Phycomycetes* (The Univ. of Michigan Press, Ann Arbor, MI), pp. 16–18.
- Spitzen- van der Sluijs, A. M. and R. Zollinger. (2010). Literature review on the American bullfrog. Stichting RAVON, Nijmegen, the Netherlands.
- Stagni, G., Dall'Olio, R., Fusini, U., Mazzotti, S., Scoccianti, C. and Serra, A. (2004). Declining populations of Apennine yellowbellied toad *Bombina pachypus* in northern Apennines, Italy: is *Batrachochytrium dendrobatidis* the main cause? *Italian Journal of Zoology*, **71 (Suppl. 2)**: 5-13.
- Şekercioglu, C. H., Anderson, S., Akçay, E., Bilgin, R., Emre, C. Ö., Semiz, G., Tavşanoğlu, C., Baki, Y. M., Soyumert, A., İpekdağ, K., Sağlam, İ. K., Yücel, M and Dalfes, H. N. (2011). Turkey's globally important biodiversity in crisis. *Biological Conservation* **144**: 2752-2769.
- Tandoğan, A. (1971). The physical geography of Çayeli-Pazar vicinity. *Journal of the Ankara University Faculty for Language and History/Geography*, 3-4.
- Tarkhnishvili, D.N. and Gokhelasvili, R.K. 1999. The amphibians of the Caucasus. *Advances in Amphibian Research in the Former Soviet Union*: 1-229.
- Uzun, A. (2007). Doğu Karadeniz Kıyı Kuşağında Coğrafi Yapı Sel İlişkisi. *TMMOB Afet Sempozyumu*, 5-7.
- Van Sluys, M. and Hero, J. M. (2010). How does chytrid infection vary among habitats? The case of *Litoria wilcoxii* (Anura, Hylidae) in SE Queensland, Australia. *EcoHealth*, **6(4)**: 576-583.
- Venzmer, G., (1922). Neues Verzeichnis der Amphibien und Reptilien von Kleinasien. *Zool. Jahrb. Syst*, **46**: 43-60.

- Voyles, J., Young, S., Berger, L., Campbell, C., Voyles, W.F., Dinudom, A., Cook, D., Webb, R., Alford, R.A., Skerratt, L.F. and Speare, R. (2009). Pathogenesis of chytridiomycosis, a cause of catastrophic amphibian declines. *Science*, **326**: 582-585.
- Vredenburg, V.T., Knapp, R.A., Tunstall, T.S. and Briggs, C.J. (2010). Dynamics of an emerging disease drive large-scale amphibian population extinctions. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **107**: 9689-9694.
- Valenzuela-Sánchez, A., O'Hanlon, S.J., Alvarado, M., Uribe-Rivera, D.E., Cunningham, A.A., Fisher, M.C. and Soto-Aza, C. (2018). Genomic epidemiology of the emerging pathogen *Batrachochytrium dendrobatidis* from native and invasive amphibian species in Chile. *Transboundary and Emerging Diseases*, **65**(2): 309-314.
- Veith, M., Schmidtler, F. J., Kosuch, J., Baran, I. and Seitz, A (2003). Paleoclimatic changes explain Anatolian mountain frog evolution: a test for alternating vicariance and dispersal events. *Molecular Ecology* **12**: 185-199.
- Weldon, C., du Preez, L.H., Hyatt, A.D., Muller, R. and Speare, R. (2004). Origin of the amphibian chytrid fungus. *Emerging Infectious Diseases*, **10**(12): 2100–2105.
- Weygoldt, P. (1989). Changes in the composition of mountain stream frog communities in the Atlantic mountains of Brazil: frogs as indicators of environmental deteriorations? *Studies of Neotropical Fauna and Environment*, **243**: 249-255
- Woodhams, D.C. and Alford, R.A. (2005). Ecology of chytridiomycosis in rainforest stream frog assemblages of tropical Queensland. *Conservation Biology*, **19**: 1449-1459.
- Yildiz, M. Z and Göcmen, B. (2012). Population dynamics, reproduction, and life history traits of Taurus Frog, *Rana holtzi* Werner, 1898 (Anura: Ranidae) in Karagöl (Ulukışla, Niğde), Turkey. *Herpetologica Romanica* **6**: 1–40.
- Yılmaz, İ., (1989). Kuzey Anadolu Amfibilerin yayılışı üzerine bir çalışma (Amphibia: Uredela, Anura). *Doğu TU Zooloji D*, **13**(2): 130-140.

İnternet Kaynakları

1. <http://www.globalamphibians.org/>, 12.03.2019
2. www.iucn-redlist.org/, 09.01.2019
3. www.bd-maps.net, 14.11.2018
4. <https://amphibiaweb.org/chytrid/chytridiomycosis.html>, 08.01.2019
5. <http://www.spatialepidemiology.net/B.dendrobatidis>, 12.01.2019
6. <http://www.rizekulturturizm.gov.tr/>, 24.04.2019
7. <http://trabzonguldak6167.blogcu.com/>, 24.04.2019
8. <http://www.artvin.gov.tr/cografi-durum>, 25.04.2019
9. <http://bolge12.ormansu.gov.tr/12Bolge/AnaSayfa.aspx?sflang=tr>, 01.05.2019

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Ahmet ÇELİKKIRAN
Doğum Yeri ve Tarihi : AFYONKARAHİSAR/ 18.09.1988
Yabancı Dili : İngilizce
İletişim (Telefon/e-posta) : 0555 811 03 64 / celikkiranahmet@gmail.com

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)

Lise : Afyon Lisesi (2006)
Lisans : Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Biyoloji Bölümü
(2012)

Çalıştığı Kurum/ : Afyon Sağlık Bilimleri Üniversitesi Tıp Fakültesi
Kurumlar ve Yıl : Biyokimya Anabilim Dalı Laboratuvarı

Yayınları (SCI ve diğer) :