

## Tatlı Su Istakozlarından (*Astacus leptodactylus*) *Saprolegnia sp.* ve *Aeromonas hydrophila* İzolasyonu

Meriç Lütfi AVSEVER \*   
Necla TÜRK \*

Süleyha HİLMİOĞLU POLAT \*\*  
Dilek Yeşim METİN \*\*

\* Bornova Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü, Ulusal Balık Hastalıkları Referans Laboratuvarı, Bakterioloji Bölümü, Erzene Mahallesi, Ankara Caddesi, No: 172/155, TR 35010 Bornova/İzmir - TÜRKİYE

\*\* Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Mikoloji Laboratuvarı, TR 35010 Bornova/İzmir - TÜRKİYE

Makale Kodu (Article Code): KVFD-2011-4714

### Özet

Bornova Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü'nün İznik gölü kerevitleri üzerinde yaptığı sağlık taraması sırasında altı kerevitin karın bölgelerinde kahverengi melanizasyon saptanmıştır. Lezyonlu bölgelerden alınan doku örneklerinin kültürlerinden *Saprolegnia sp.* aynı kerevitlerin haemolenflerinden ise *Aeromonas hydrophila* izole edilmiş olup, bu olgular sunulmuştur.

**Anahtar sözcükler:** *Aeromonas hydrophila*, *Astacus leptodactylus*, *Saprolegnia sp.*

## *Saprolegnia sp.* and *Aeromonas hydrophila* Isolation from Freshwater-Crayfish (*Astacus leptodactylus*)

### Summary

Brown melanisation was determined in six crayfish' abdomen during health surveillance on İznik lake's freshwater-crayfish by Bornova Veterinary Control and Research Institute. While *Saprolegnia sp.* was isolated from these melanised tissues of the crayfish, *Aeromonas hydrophila* was isolated from same crayfish' haemolenf. So this case report was offered.

**Keywords:** *Aeromonas hydrophila*, *Astacus leptodactylus*, *Saprolegnia sp.*

### GİRİŞ

Karın ve kısıkaçları gıda olarak tüketilen ve düşük kalori bir protein kaynağı olan kerevitin ülkemizdeki doğal türü *Astacus leptodactylus*'tur <sup>1</sup>. 1980 sonlarına kadar çok yüksek olan kerevit stoklarımız 1986 yılında ilk kez Çivril gölünde çıkan ve sonra pek çok tatlı su kaynağımıza bulaşan, *Aphanomyces astaci* isimli bir oomysetin sebep olduğu kerevit vebasının ardından büyük ölçüde tahrip olmuştur <sup>2</sup>. Kerevit vebasının dışında ülkemizdeki kerevit stoklarını tahrip eden başka fungal ve bakteriyel enfeksiyonlar ve etken izolasyonları da bildirilmiştir <sup>3,4</sup>. Bu durum ülkemizdeki kerevit popülasyonunun farklı biyolojik ajanların da tehdidi altında olabileceğini göstermektedir. Bu makalenin amacı, kerevit popülasyonumuzu baskı

altında tutan kerevit vebası etkeni dışındaki diğer bazı biyolojik ajanlara dikkat çekmektir.

### OLGULARIN TANIMI

Karın bölgesinde kahverengi melanizasyon bulunan altı kerevite İznik Gölü'nde Ağustos ayındaki (2010) kontrol sırasında rastlandı. Phenoxymethanol (Merc) ile sedasyona alınan <sup>5</sup> kerevitlerin pericardial sinüslerinden haemolenf, lezyonlu karın bölgelerinden ise aseptik koşullarda doku parçaları alındı. Haemolenf örnekleri klasik bakteriyolojik yöntemler <sup>6,7</sup>, lezyonlu doku parçaları ise klasik



İletişim (Correspondence)



+90 232 3880010/145



lutfiavsever@gmail.com

mikolojik yöntemlerle<sup>8-12</sup> muayene edildi. Bakteriyolojik identifikasyon için ayrıca VITEK-2 Compact (bio-Merieux) cihazından yararlanıldı. Lezyon gösteren altı kerevitin tamamının lezyonlu dokularından *Saprolegnia sp.*, haemolenfinden ise *A. hydrophila* izole edilirken; kontrol sırasında sağlanan diğer lezyonsuz kerevitlerden (16 adet) herhangi bir bakteriyel ya da fungal izolasyon gerçekleştirilmedi.

Bakteriyolojik çalışmayla ilgili resimler **Şekil 1 (A, B)**'de, fungal etkenin izolasyonu ve besi yerindeki morfolojisine dair resimler **Şekil 2 (A, B, C, D)**'de, fungal etkenin steril çeşme suyunda zoospor oluşturması ve germinasyonunu gösteren resimler ise **Şekil 3 (A, B, C, D)**'te gösterilmiştir.

## TARTIŞMA ve SONUÇ

Ülkemizde kerevitlerden *Saprolegnia sp.* ve *A. hydrophila* izolasyonunun birlikte yapıldığına dair bir literatür bilgisine rastlanmamıştır. Söderhall ve ark.<sup>13</sup>, *A. leptodactylus*'tan *Saprolegnia* mantar türünün izolasyonunu yapmışlardır. Aynı araştırmacılar etkenin zayıf patojeniteye sahip olduğunu ve genellikle kerevitte hücrel savunma reaksiyonu uyararak melanizasyona neden olduğunu bildirmişlerdir. Melanizasyonla ilgili benzer bilgi *A. hydrophila* için de belirtilmiştir<sup>14</sup>. Noonin ve ark.<sup>14</sup>, *A. hydrophila*'nın kerevit haemolenfinin florasında bulunduğu ve fırsatçı patojen olduğunu belirtmesine rağmen, Jiravanichpaisal ve ark.<sup>15</sup>,



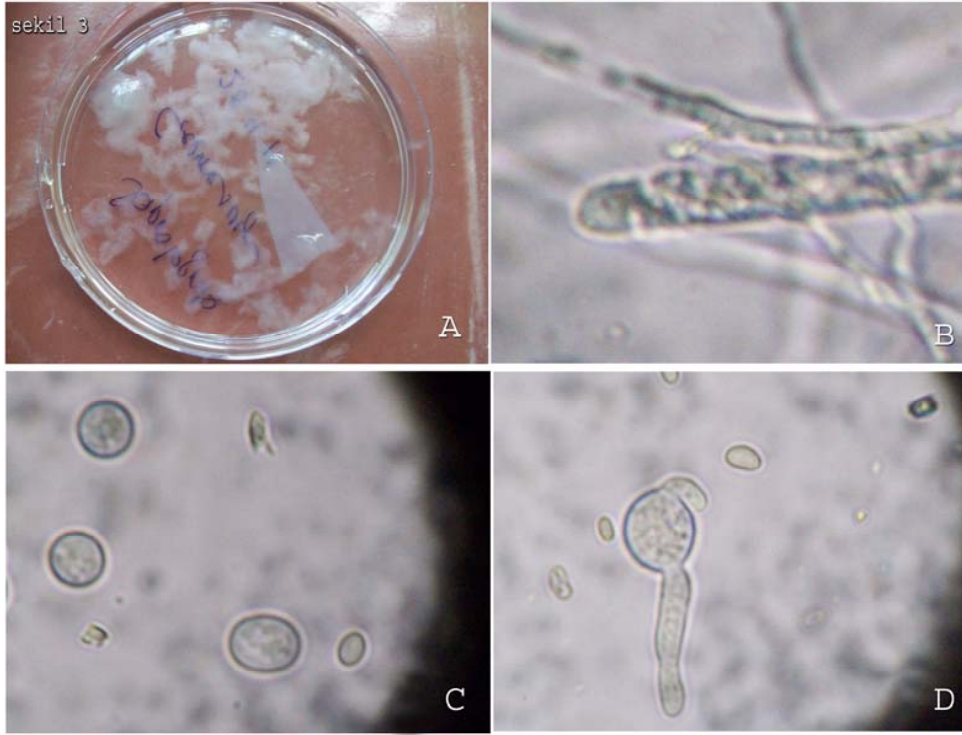
**Şekil 1. A-** Kerevitin pericardial sinüsünden haemolenf alınması. **B-** Haemolenften kanlı agar ortamına yapılan bakteriyel kültür. 25°C, inkubasyonun 2. günü

**Fig 1. A-** Taking haemolymph from freshwater crayfish' pericardial sinus. **B-** Bacterial culture from haemolymph to blood agar. 25°C, 1 day incubated

**Şekil 2. A-** Kerevitte fungal ekimlerin yapıldığı melanize bölgeler. **B-** Fungal izolata ait koloni morfolojisi: Koyu gri renkte (zaman ilerledikçe kahverengine çalan), seyrek örgülü, bol hifli, hızlı ve her yöne üreme gösteren özellikte. 22°C, inkubasyonun 4. günü. **C-** Etkenin kültürden Laktofenol pamuk mavisi ile yapılan boyaması (40 x). Enleri farklı boyutta, nadir septalı, hiyalen hifler ve sporangiumlar. **D-** Sporangial yapılar içinde spor oluşumu ve spor boşalması



**Fig 2. A-** Melanise regions that fungal culture was done. **B-** Colony morphology of the fungal isolate: Dark grey colour (Making brown that passed days), rarely plaited, plentiful hiphae, fast and spread to every direction featured. 22°C, 4 days incubated. **C-** Lactophenol Strain from the culture. The hyphaes that have different wide, seldom septa, hyaline hiphae structer. And that's the sporangiums. **D-** Be formed spores in sporangial structures and pumping spore



**Şekil 3.** A- Steril musluk suyunda üreme. 22°C, inkubasyonun 1. günü. B- Musluk suyundan natif muayene (40 x). Mantar miçhellerinde zoospor yapısının oluşmaya başlaması. C- Musluk suyu ortamında oluşmuş değişik büyüklüklerde zoosporlar. D- Zoosporlarda germinasyonun başlaması

**Fig 3.** A- Fungal cultered in sterile tap water. 22°C, 1st day incubated. B- Native examination (x 40) from tap water that was fungal cultered. Starting be forming zoospores in fungal micelle. C- Different sizes zoospores that formed in tap water. D- Starting germinating in zoospores

kerevitlerde %100 mortalite ile seyreden *A. hydrophila* enfeksiyonu saptadıklarını bildirmişlerdir. Aynı çalışmada yüksek virulanslı *A. hydrophila* ile enfekte edilen tatlı su kerevitlerinin (*Pacifastacus leniusculus*) 4°C'de canlı kaldığı, sıcaklığın 20°C'nin üzerine çıkmasıyla ölümlerin hızla başladığı belirtilmiştir. Durmaz ve Türk<sup>16</sup>, alabalık ve su örnekleri üzerinde yaptıkları araştırmada su örneklerinden ve balıkların solungaçlarından *Aeromonas* türlerini izole etmişler, ancak internal organlardan herhangi bir izolasyon olmadığını bildirmişlerdir. Bu durum etkenin virulansının düşük olması ve sucul canlılarda sepsise neden olmaması olarak yorumlanabilir. Sonuç olarak, yapılan çalışma tatlı su kereviti (*A. leptodactylus*)'yle ilgili fungal ve bakteriyel çalışmalarla<sup>8-10,13,14</sup> uyumlu olmakla birlikte, her iki etkenin aynı kerevitler üzerinde izole edilmesi, lezyonsuz kerevitlerden etken izolasyonu yapılamaması ve özellikle bakteriyel izolasyonun haemolenften ve saf kültür şeklinde gerçekleştirilmiş olması, İznik gölü kerevitlerinde sporadik seyirli bir miks enfeksiyon tablosu olabileceğini akla getirmektedir. Ancak bunun söylenebilmesi için etkenlere dair ileri patojenite çalışmalarına ihtiyaç vardır.

## KAYNAKLAR

- 1. Harlioğlu MM:** Comparative biology of the signal crayfish, *Pacifastacus leniusculus* (Dana), and the narrow-clawed crayfish, *Astacus leptodactylus* Eschscholtz. Unpublished PhD Thesis, University of Nottingham, UK, 1996.
- 2. Baran I, Soylu E:** Crayfish plague in Turkey. *J Fish Dis*, 12 (2): 193-197, 1989.
- 3. Diler Ö, Bolat Y:** Isolation of Acremonium species from crayfish, *Astacus leptodactylus* in Eğirdir Lake. *Bull Eur Fish Pathol*, 21 (4): 164-168, 2001.
- 4. Patır B, Dinçoğlu AH, İnanlı AG:** Keban Baraj Gölü tatlı su istakozlarının (*Astacus leptodactylus* Escholtz, 1823) mikrobiyolojik kalitesi ile mikrobiyal florası üzerine araştırmalar. *Ege Üniv Su Ürün Derg*, 19 (1-2): 19-28, 2002.
- 5. Tsantilas H, Galatos AD, Athanassopoulou F, Prassinou N, Kousoulaki K:** Efficacy of 2-phenoxyethanol as an anaesthetic for two size classes of white sea bream, *Diplodus sargus* L., and sharp snout sea bream, *Diplodus puntazzo* C. *Aquaculture*, 253 (1-4): 64-70, 2006.
- 6. Austin B, Austin DA:** Bacterial Fish Pathogens: Disease in Farmed and Wild Fish. Third (Revised) ed., pp.457, Praxis Publishing Ltd, Chichester, UK, 1999.
- 7. Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenber PC, Winn WC: Jr.** Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. 5th ed., pp 121- 162, Lippincott- Raven Publishers, Philadelphia, USA, 1997.
- 8. Diéguez-Urbeondo J, Cerenius L, Söderhäll K:** *Saprolegnia parasitica* and its virulence on three different species of freshwater crayfish, *Aquaculture*, 120 (3-4): 219-228, 1994.
- 9. Hulvey JP, Padgett DE, Bailey JC:** Species boundaries within *Saprolegnia* (Saprolegniales, Oomycota) based on morphological and DNA sequence data. *Mycologia*, 99 (3): 421-429, 2007.
- 10. Ke XL, Wang JG, Gu ZM, Li M, Gong XN:** saprolegnia identification based on their morphological characteristics and its rDNA region. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 34 (2): 293-301, 2010.
- 11. Leclerc MC, Guillot J, Deville M:** Taxonomic and phylogenetic analysis of *Saprolegniaceae* (Oomycetes) inferred from LSU rDNA and ITS sequence comparisons. *Antonie van Leeuwenhoek International Journal of General and Molecular Micr*, 77 (4): 369-377, 2000.
- 12. Unestam T:** Fungal diseases of crustacea. *Rev Med Vet Mycol*, 8 (1): 1-20, 1973.
- 13. Söderhäll K, Dick MW, Clark G, Fürst M, Constantinescu O:** Isolation of *Saprolegnia parasitica* from the crayfish *Astacus leptodactylus*. *Aquaculture*, 92, 121-125, 1991.
- 14. Noonin C, Jiravanichpaisal P, Söderhäll I, Merino S, Tomás JM, Söderhäll K:** Melanization and Pathogenicity in the Insect, *Tenebrio molitor*, and the Crustacean, *Pacifastacus leniusculus*, by *Aeromonas hydrophila* AH-3. *PLoS One*, 5 (12): 2010.
- 15. Jiravanichpaisal P, Roos S, Edsman L, Liu H, Söderhäll K:** A highly virulent pathogen, *Aeromonas hydrophila*, from the freshwater crayfish *Pacifastacus leniusculus*. *J Invertebr Pathol*, 101 (1): 56-66, 2009.
- 16. Durmaz Y, Türk N:** Alabalık işletmelerinden motil *Aeromonas*ların izolasyonu ve antibiyotiklere duyarlılığının saptanması. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 15 (3): 357-361, 2009.