



**T.C.  
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ  
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ  
SU ÜRÜNLERİ HASTALIKLARI (VETERİNER) ANA BİLİM DALI**

**TÜRKİYE'NİN KARADENİZ KIYILARINDA AVLANAN  
DENİZ BALIKLARINDA *HYSTEROThYLACIUM*  
(NEMATODA: RAPHIDASCARIDIDAE) LARVALARININ  
MORFOLOJİK VE MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONU**

Yüksek Lisans Tezi

**Muhammet Yavuz GELEN**

Danışman  
**Doç. Dr. Gökmen Zafer PEKMEZCİ**

SAMSUN  
2021

T.C.  
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ  
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ  
SU ÜRÜNLERİ HASTALIKLARI (VETERİNER) ANA BİLİM DALI



**TÜRKİYE'NİN KARADENİZ KIYILARINDA AVLANAN  
DENİZ BALIKLARINDA *HYSTEROETHYLACIUM*  
(NEMATODA: RAPHIDASCARIDIDAE) LARVALARININ  
MORFOLOJİK VE MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONU**

Yüksek Lisans Tezi

**Muhammet Yavuz GELEN**

Danışman

**Doç. Dr. Gökmen Zafer PEKMEZCİ**

Bu çalışma, Ondokuz Mayıs Üniversitesi tarafından PYO.VET.1904.20.022 proje numarası ile desteklenmiştir.

SAMSUN  
2021

## TEZ KABUL VE ONAYI

Muhammet Yavuz GELEN tarafından, Doç. Dr. Gökmen Zafer PEKMEZCİ danışmanlığında hazırlanan “Türkiye'nin Karadeniz Kıyılarında Avlanan Deniz Balıklarında *Hysterothylacium* (Nematoda: Raphidascarididae) Larvalarının Morfolojik ve Moleküler Karakterizasyonu ” başlıklı bu çalışma, jürimiz tarafından 6.7.2021 tarihinde yapılan sınav sonucunda oy birliği ile başarılı bulunarak Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

	Unvanı Adı Soyadı Üniversitesi Ana Bilim/Ana Sanat Dalı	İmza	Sonuç
<b>Başkan (Danışman)</b>	Doç. Dr. Gökmen Zafer PEKMEZCİ Ondokuz Mayıs Üniversitesi Su Ürünleri Hastalıkları (Veteriner) Anabilim Dalı		<input type="checkbox"/> Kabul <input type="checkbox"/> Ret
<b>Üye</b>	Doç. Dr. Banu YARDIMCI Ondokuz Mayıs Üniversitesi Su Ürünleri Hastalıkları (Veteriner) Anabilim Dalı		<input type="checkbox"/> Kabul <input type="checkbox"/> Ret
<b>Üye</b>	Doç. Dr. Emrah ŞİMŞEK Erciyes Üniversitesi Su Ürünleri ve Hastalıkları (Veteriner) Anabilim Dalı		<input type="checkbox"/> Kabul <input type="checkbox"/> Ret

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen ve yukarıda adları yazılı jüri üyeleri tarafından uygun görülmüştür.

ONAY  
... / ... / ...  
Prof. Dr. Ali BOLAT  
Enstitü Müdürü

## BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANI

Hazırladığım Yüksek Lisans tezinin bütün aşamalarında bilimsel etiğe ve akademik kurallara riayet ettiğimi, çalışmada doğrudan veya dolaylı olarak kullandığım her alıntıya kaynak gösterdiğimi ve yararlandığım eserlerin Kaynaklar'da gösterilenlerden oluştuğunu, her unsurun enstitü yazım kılavuzuna uygun yazıldığını ve TÜBİTAK Araştırma ve Yayın Etiği Kurulu Yönetmeliği'nin 3. bölüm 9. maddesinde belirtilen durumlara aykırı davranılmadığımı taahhüt ve beyan ederim.

9/6/2021

Muhammet Yavuz GELEN

## TEZ ÇALIŞMASI ÖZGÜNLÜK RAPORU BEYANI

**Tez Başlığı:** Türkiye'nin Karadeniz Kıyılarında Avlanan Deniz Balıklarında *Hysterothylacium* (Nematoda: Raphidascarididae) Larvalarının Morfolojik ve Moleküler Karakterizasyonu

Yukarıda başlığı belirtilen tez çalışması için şahsım tarafından 9/6/2021 tarihinde intihal tespit programından alınmış olan özgünlük raporu sonucunda;

Benzerlik oranı : % 11

Tek kaynak oranı : % 2 çıkmıştır.

9/6/2021

Doç. Dr. Gökmen Zafer PEKMEZCİ

## ÖZET

TÜRKİYE'NİN KARADENİZ KIYILARINDA AVLANAN DENİZ  
BALIKLARINDA *HYSTEROHYLACIUM* (NEMATODA:  
RAPHIDASCARIDIDAE) LARVALARININ MORFOLOJİK VE MOLEKÜLER  
KARAKTERİZASYONU

Muhammet Yavuz GELEN

Ondokuz Mayıs Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Su Ürünleri Hastalıkları (Veteriner) Ana Bilim Dalı

Yüksek Lisans, Temmuz/2021

Danışman: Doç. Dr. Gökmen Zafer PEKMEZCİ

Türkiye karasularında avlanan deniz balıklarını enfekte eden *Hysterothylacium* (Nematoda: Raphidascarididae) türlerinin larval morfotiplerinin tanımlanması ve moleküler karakterizasyonları hakkında az sayıda araştırma bulunmaktadır. Bugüne kadar Karadeniz'de avlanan deniz balıklarını enfekte eden *Hysterothylacium* türlerinden sadece *H. aduncum* larvalarının rDNA ITS (ITS-1, 5.8S, ITS-2) bölgesinin moleküler karakterizasyonu yapılmıştır. Karadeniz'de *H. aduncum* larvaları haricinde diğer *Hysterothylacium* larval morfotiplerinin tanımlanması ve moleküler karakterizasyonları hakkında bugüne kadar herhangi bir araştırma yapılmamıştır. Bu tez ile Karadeniz'de avlanan deniz balıklarını enfekte eden *Hysterothylacium* larval morfotiplerinin tanımlanması ve moleküler karakterizasyonlarının ortaya konulması amaçlanmıştır.

Karadeniz'de avlanan ve ekonomik öneme sahip olan deniz balıklarından *Engraulis encrasicolus* L., 1758 (hamsi), *Trachurus trachurus* L., 1758 (karagöz istavrit), *Mullus barbatus ponticus* E., 1927 (barbunya) ve *Merlangius merlangus* L., 1758 (mezgıt) türlerinin parazitolojik muayeneleri yapılmıştır. Morfolojik inceleme ile *Hysterothylacium* sp. larval tip III, IV, VIII ve IX morfotipleri tanımlanmıştır. Tanımlanan larval morfotipler arasından seçilen örneklerin DNA ekstraksiyonları yapılmış, rDNA ITS ve mtDNA cox2 gen bölgeleri PCR ile çoğaltılmış ve DNA dizi analizleri yapılmıştır.

Bu tez ile Karadeniz'den izole edilen *Hysterothylacium* sp. larval tip III ve IV'ün rDNA ITS ve mtDNA cox2 gen bölgeleri ile *Hysterothylacium* sp. larval tip VIII ve IX'un mtDNA cox2 gen bölgeleri ilk kez moleküler olarak karakterize edilmiştir. Bu tez çalışmasında elde edilen ITS ve cox2 genetik verileri Karadeniz ve dünyanın farklı su kaynaklarındaki larval morfotipler ile erişkin *Hysterothylacium* türlerinin filogenetik ilişkilerini ortaya çıkartmak için kullanılabilir.

**Anahtar Sözcükler:** *Hysterothylacium*, morfotip, ITS, Cox 2, Karadeniz

## ABSTRACT

### MORPHOLOGICAL AND MOLECULAR CHARACTERIZATION OF *HYSTEROThYLACIUM* (NEMATODA: RAPHIDASCARIDIDAE) LARVAE IN MARINE FISH FROM THE BLACK SEA COAST OF TURKEY

Muhammet Yavuz GELEN

Ondokuz Mayıs University

Institute of Graduate Studies

Department of Aquatic Animal Diseases, Faculty of Veterinary Medicine

Master, July/2021

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Gokmen Zafer PEKMEZCI

There are few studies on the morphological identification and molecular characterization of the larval morphotypes of *Hysterothylacium* (Nematoda: Raphidascarididae) species that infect marine fish caught in Turkish territorial waters. To date, molecular characterization of the rDNA ITS (ITS – 1, 5.8S, ITS – 2) region of only *H. aduncum* larvae among the *Hysterothylacium* species that infect marine fish caught in the Black Sea has been made. There is no study on the morphological identification and molecular characterization of *Hysterothylacium* larval morphotypes except *H. aduncum* larvae in the Black Sea. It is aimed to describe the *Hysterothylacium* larval morphotypes that infect marine fish caught in the Black Sea and to reveal their molecular characterization with this thesis.

Parasitological examinations of *Engraulis encrasicolus* L., 1758 (anchovy), *Trachurus trachurus* L., 1758 (horse mackerel), *Mullus barbatus ponticus* E., 1927 (red mullet), and *Merlangius merlangus* L., 1758 (whiting) which are captured and have economic importance in the Black Sea were performed. *Hysterothylacium* sp. larval type III, IV, VIII and IX morphotypes were described based on morphological examination. DNA extractions of the representatives of the described larval morphotypes were made, rDNA ITS and mtDNA cox2 genes were amplified by PCR, and DNA sequence analyses were performed.

The rDNA ITS and mtDNA cox2 genes of *Hysterothylacium* sp. larval type III and IV, and the mtDNA cox2 gene of *Hysterothylacium* sp. larval type VIII and IX which were isolated from the Black Sea have been molecularly characterized for the first time with this thesis. The ITS and cox2 genetic data obtained here can be used to reveal the phylogenetic relationships of *Hysterothylacium* larval morphotypes and adult *Hysterothylacium* species in the Black Sea and worldwide.

**Keywords:** *Hysterothylacium*, morphotype, ITS, Cox 2, Black Sea

## ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans eğitimim ve tez çalışmalarım süresince ilgi ve desteğini esirgemeyen, tez konusunun seçilmesinde ve çalışmaların yürütülmesinde büyük katkısını gördüğüm tez danışmanım Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi Su Ürünleri Hastalıkları Anabilim Dalı öğretim üyesi Sayın Doç. Dr. Gökmen Zafer PEKMEZCİ'ye, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi Su Ürünleri Hastalıkları Anabilim Dalı'nın değerli öğretim üyeleri Sayın Prof. Dr. Ertan Emek ONUK ve Sayın Doç. Dr. Banu YARDIMCI'ya destekleri için teşekkür ederim.

Bu çalışma Ondokuz Mayıs Üniversitesi tarafından PYO.VET.1904.20.022 proje numarası ile desteklenmiştir.

Muhammet Yavuz GELEN

## İÇİNDEKİLER

<b>1. GİRİŞ</b> .....	HATA! YER İŞARETİ TANIMLANMAMIŞ.
<b>2. GENEL BİLGİLER</b> .....	<b>2</b>
<b>3. MATERYAL METOT</b> .....	<b>19</b>
3.1. Materyal .....	19
3.1.1. Deniz Balıklarının Parazitolojik Muayenesi .....	19
3.2. Metot .....	19
3.2.1. Deniz Balıklarının Parazitolojik Muayenesi .....	19
3.2.2. <i>Hysterothylacium</i> Larval Morfotiplerin Morfolojik İdentifikasyonu.....	19
3.2.3. <i>Hysterothylacium</i> Larval Morfotiplerin Enfeksiyon Parametreleri .....	20
3.2.4. <i>Hysterothylacium</i> Larval Morfotiplerin Genomik DNA İzolasyonu .....	20
3.2.5. <i>Hysterothylacium</i> Larval Morfotiplerin PZR Analizleri.....	20
3.2.6. <i>Hysterothylacium</i> Larval Morfotiplerin Filogenetik Analizleri .....	21
<b>4. BULGULAR</b> .....	<b>23</b>
4.1. <i>Hysterothylacium</i> sp.larval tip III .....	23
4.2. <i>Hysterothylacium</i> sp. larval tip IV .....	26
4.3. <i>Hysterothylacium</i> sp. larval tip VIII .....	29
4.4. <i>Hysterothylacium</i> sp. larval tip IX .....	32
4.5. Filogenetik analiz.....	35
<b>5. TARTIŞMA</b> .....	<b>40</b>
<b>6. SONUÇ</b> .....	<b>46</b>
<b>KAYNAKLAR</b> .....	<b>47</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ</b> .....	<b>55</b>

## SİMGELER VE KISALTMALAR

<b>%</b>	: Yüzde
<b>µm</b>	: Mikrometre
<b>BLAST</b>	: Basic Local Alignment Search Tool
<b>cox2</b>	: Mitochondrial cytochrome coxidase subunit 2
<b>DNA</b>	: Deoksiribonükleik asit
<b>E</b>	: Ergin
<b>FAO</b>	: Gıda ve Tarım Örgütü
<b>gDNA</b>	: Genomik DNA
<b>ITS</b>	: Internal transcribed spacer
<b>KİTAM</b>	: Karadeniz İleri Teknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi
<b>L2</b>	: İkinci dönem larva
<b>L3</b>	: Üçüncü dönem larva
<b>L4</b>	: Dördüncü dönem larva
<b>mm</b>	: Milimetre
<b>mtDNA</b>	: Mitochondrial DNA
<b>n</b>	: Örnek sayısı
<b>NJ</b>	: Neighbour- Joining
<b>PZR</b>	: Polimeraz zincir reaksiyonu
<b>rDNA</b>	: Ribosomal DNA
<b>rrnS</b>	: Small subunit of ribosomal RNA
<b>UV</b>	: Ultraviyole
<b>V</b>	: Volt
<b>Y</b>	: Yumurta

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. <i>Hysterothylacium</i> sp. tip V larvanın morfolojik özellikleri (resim).....	8
Şekil 2.2. <i>Hysterothylacium</i> sp. tip V larvanın morfolojik özellikleri (çizim).....	9
Şekil 2.3. <i>Hysterothylacium aduncum</i> 'un yaşam döngüsü.....	10
Şekil 4.1. <i>Hysterothylacium</i> sp. larval tip III'ün morfolojik özellikleri.....	24
Şekil 4.2. <i>Hysterothylacium</i> sp. larval tip III izolatlarının (MZ-1, MZ-2, MZ-3) <i>cox</i> 2 genleri arasındaki nükleotid farklılıkları.....	25
Şekil 4.3. <i>Hysterothylacium</i> sp. larval tip IV'ün morfolojik özellikleri.....	27
Şekil 4.4. <i>Hysterothylacium</i> sp. larval tip IV izolatlarının (MZ-4-MZ-8) <i>cox</i> 2 genleri arasındaki nükleotid farklılıkları.....	28
Şekil 4.5. <i>Hysterothylacium</i> sp. larval tip VIII'in morfolojik özellikleri.....	30
Şekil 4.6. <i>Hysterothylacium</i> sp. larval tip VIII izolatlarının (MZ-9, MZ-10) <i>cox</i> 2 genleri arasındaki nükleotid farklılıkları.....	31
Şekil 4.7. <i>Hysterothylacium</i> sp. larval tip IX'un morfolojik özellikleri.....	33
Şekil 4.8. <i>Hysterothylacium</i> sp. larval tip IX izolatlarının (MZ-11, MZ-12) <i>cox</i> 2 genleri arasındaki nükleotid farklılıkları.....	34
Şekil 4.9. Karadeniz'den izole edilen <i>Hysterothylacium</i> larval tipleri ile diğer <i>Hysterothylacium</i> türlerinin ITS (ITS-1 ve ITS-2) gen bölgelerinin filogenetik ağacı.....	36
Şekil 4.10. Karadeniz'den izole edilen <i>Hysterothylacium</i> larval tipleri ile diğer <i>Hysterothylacium</i> türlerinin <i>cox</i> 2 gen bölgelerinin filogenetik ağacı.....	37

## TABLULAR DİZİNİ

**Tablo 1.** Dünyadaki *Hysterothylacium* tür ve larva morfotiplerinin konak, coğrafik alan ile GenBank erişim numaralı.....**Hata!** **Yer** **işareti** tanımlanmamış.2

**Tablo 4.1.** *Hysterothylacium* sp. larval tip III ve IV izolatlarının *cox 2* geninin genetik uzaklıkları.....38

**Tablo 4.2.** *Hysterothylacium* sp. larval tip VIII ve IX izolatlarının *cox 2* geninin genetik uzaklıkları.....39

# 1. GİRİŞ

Ülkemiz karasularında avlanan deniz balıklarında bugüne kadar *Hysterothylacium aduncum*, *H. fabri* ve *H. reliquens* türleri bildirilmiştir (Doğanay, 1994; Akmirza, 2013; Pekmezci vd., 2013; 2014; Keskin, vd., 2015; Şimşek, vd., 2018; Öztürk ve Yeşil, 2018; Köksal, 2019). Karadeniz’de avlanan deniz balıklarında sadece *H. aduncum* ve *H. fabri* larvaları morfolojik olarak tanımlanmıştır (Doğanay, 1994; Öztürk ve Yeşil, 2018; Köksal, 2019). Karadeniz’de avlanan deniz balıklarının enfekte eden *Hysterothylacium* larvalarının morfolojileri tam olarak bilinmemektedir. Ayrıca Karadeniz’de avlanan deniz balıklarında sadece *H. aduncum* larvalarının rDNA ITS ve mtDNA *rrnS* gen bölgelerinin moleküler karakterizasyonu yapılmıştır (Pekmezci, vd., 2013; Pekmezci, 2019). Bununla birlikte bugüne kadar Karadeniz’de avlanan deniz balıklarının enfekte eden *H. aduncum* türü haricinde diğer *Hysterothylacium* türlerinin moleküler karakterizasyonu yapılmamıştır.

Bu tez çalışması ile Karadeniz’den izole edilen *Hysterothylacium* sp. larvaların tip III ve IV morfolojilerinin rDNA ITS ve mtDNA *cox 2* gen bölgeleri ile *Hysterothylacium* sp. larvaların tip VIII ve IX morfolojilerinin mtDNA *cox 2* gen bölgeleri ilk kez moleküler olarak karakterize edilmiştir. Burada elde edilen ITS ve *cox 2* verileri Karadeniz ile dünyanın farklı su kaynaklarındaki *Hysterothylacium* türlerinin filogenetik ilişkilerini ortaya çıkartmak için kullanılabilir. Ülkemiz karasularında avlanan deniz balıklarının enfekte eden *Hysterothylacium* cinsiyle ilgili yapılan araştırmalar *Hysterothylacium*’un larvaları ile yetişkinleri arasındaki ilişkilerin açığa çıkmasına yardımcı olmaktadır.

## 2. GENEL BİLGİLER

Balık parazitleri sucul ekosistemin ayrılmaz bir parçasıdır. Tatlı ve tuzlu su olmak üzere göl, akarsu, deniz gibi doğal alanlarda ya da kültüre edilen balık popülasyonlarında yaygın olarak bulunurlar. Parazitler balıklarda doğal koşullarda az sayıda olduklarında genellikle önemsiz kabul edilmekte ancak fazla sayıda ve yoğun olarak bulduklarında sorun oluşturmaktadır.

Parazitler içerisinde yer alan nematodlar Nemathelminthes kökünde yer alan vücutları bölümlenmemiş, uzun ve silindirik yapıya sahip olan ayrı cinsiyetli helmintlerdir. Nematodların önemli bir bölümü serbest yaşam sürerken, bir bölümü ise insan ve hayvanlarda paraziter yaşama uyum sağlamışlardır. Bir bölümü direkt geliştiği halde bir bölümü gelişmelerinde ara/paratenik konağa gereksinim duyarlar. Animalia aleminde 256 aileden ve 40.000'den fazla türden oluşan en önemli ve en geniş grubu oluştururlar (Williams and Jones, 1994; Anderson, 2000; Umut, vd., 2006).

Nematod parazitlere tatlı su, deniz ve acı su balıklarında sıklıkla rastlanır. Birbirinden farklı türler konaklarının vücut kondisyonlarını, yüzme performanslarını, üreme kabiliyetlerini ve hematolojik profillerini etkilerler ve ciddi hastalık tablosu oluşturarak yüksek oranlarda ölümlere neden olabilirler. Balıklarda ergin nematodlar çoğunlukla sindirim sisteminde parazitlenirken, larvalar vücut boşluğu, iç organların yüzeyinde ya da paranziminde bulunurlar (Moravec, 1994; Molnár, et al., 2006; Choundhury and Cole, 2008).

Nematodlar tipik olarak uzun, her iki ucu sivri, bilateral simetrik ve yalancı vücut boşluğuna (pseudocoel) sahip canlılardır. Büyüklükleri çok değişkendir ve 1 mm'den küçük ya da 1 m'den uzun olabilirler. Vücudun hareketinden kaslar ve psöydosöldeki sıvının basıncı sorumlu olup, hareket solucanımsı/yılanımsı şeklindedir. Vücut hipodermis tarafından salgılanan ve kütikula olarak adlandırılan hücresiz bir tabaka ile kaplıdır. Vücut çeperindeki kaslar tek tabaka olup, sadece uzunlamasına seyrederek ve sirküler kaslar yoktur. Sindirim sistemi gelişmiş olup, ağız, barsak ve anüsleri vardır. Sinir sistemi genel olarak basit olup, vücudun farklı bölümlerindeki hareketin mekanik eşgüdümü hemolenf hacmindeki yerel değişiklikler ve lokal reflekslerle sağlanır. Boşaltı sistemi lateral kanallar veya ventral bezler ile bazen de her ikisinden oluşur. Bu sistem vücudun ön ucuna yakın yerde ventral bir delikle sonlanır. Nematodların çoğu ayrı cinsiyetlidir ve genelde

dişiler parazitler erkeklerden daha büyüktür. Erkek ve dişiler dıştan morfolojik olarak ayrılabilirler (Seksüel dimorfizm). Eşey organları ayrı organlar şeklinde ve genellikle dış ortamla bağlantı kuran kanallar biçimindedir. Dişilerin arka ucu genellikle sivri olduğu halde erkeklerin kıvrık veya genişlemiş olarak sonlanır (Moravec, 1994; Umur, vd., 2006). Balıklarda bulunan nematodlar çoğunlukla ovipardırlar ve yumurtlayarak çoğalırlar. Bununla birlikte çok sayıda vivipar olan nematod türleri bulunmaktadır (Izyumova, 1964; Moravec, 1994). Nematodlar yaşam döngülerinde tatlı su ya da deniz balıklarını kesin, ara ya da paratenik konak olarak kullanırlar (Choundhury and Cole, 2008).

Nematoda sınıfı Raphidascarididae ailesinde yer alan *Hysterothylacium* türleri balıkları enfekte eden deniz ascaridoidleri arasında geniş bir dağılıma ve bolluğa sahip olan parazitlerdir. *Hysterothylacium* türleri Kuzey Atlantik, Akdeniz, Karadeniz, Pasifik Okyanusu ve Avustralya, Çin ve Güney Amerika deniz sularını kapsayan dünya çapında geniş bir dağılıma ve bolluğa sahiptirler (Bruce, et al., 1994; Pekmezci, vd., 2013; 2014; Shamsi, et al., 2013, 2015; Li, et al., 2017; 2018; Şimşek, vd., 2018; Roca-Geronès, et al., 2018; 2020; Tedesco, et al., 2018; Khammassi, et al., 2020).

Raphidascarididae ailesinde yer alan *Hysterothylacium* türlerinin ve larval tiplerinin taksonomisi (NCBI Taxonomy) aşağıda belirtilmiştir (Schoch, et al., 2020).

<b>Alem:</b>	Metazoa
<b>Şube:</b>	Nematoda
<b>Sınıf:</b>	Chromadorea
<b>Takım:</b>	Rhabditida
<b>Üst aile:</b>	Ascaridoidea
<b>Aile:</b>	Raphidascarididae
<b>Cins:</b>	<i>Goezia</i>
<b>Cins:</b>	<i>Raphidascaris</i>
<b>Cins:</b>	<i>Iheringascaris</i>
<b>Cins:</b>	<i>Hysterothylacium</i>
<b>Tür:</b>	<i>Hysterothylacium aduncum</i> <i>Hysterothylacium amoyense</i> <i>Hysterothylacium auctum</i>

*Hysterothylacium australe*  
*Hysterothylacium bidentatum*  
*Hysterothylacium brucei*  
*Hysterothylacium deardorffoverstreeterorum*  
*Hysterothylacium fabri*  
*Hysterothylacium fortalezae*  
*Hysterothylacium kajikiae*  
*Hysterothylacium liparis*  
*Hysterothylacium longilabrum*  
*Hysterothylacium pelagicum*  
*Hysterothylacium persicum*  
*Hysterothylacium reliquens*  
*Hysterothylacium rigidum*  
*Hysterothylacium sinense*  
*Hysterothylacium tetrapteri*  
*Hysterothylacium thalassini*  
*Hysterothylacium zhoushanense*  
*Hysterothylacium* sp. III SS-2010  
*Hysterothylacium* sp. IV SS-2010  
*Hysterothylacium* sp. IV-A  
*Hysterothylacium* sp. IVA-111-1  
*Hysterothylacium* sp. IVA-111-2  
*Hysterothylacium* sp. IVA-111-5  
*Hysterothylacium* sp. IVA-111-6  
*Hysterothylacium* sp. IVB-112-2  
*Hysterothylacium* sp. IVB-22-11  
*Hysterothylacium* sp. IVB-54-1  
*Hysterothylacium* sp. larval type III GZP-2021  
*Hysterothylacium* sp. larval type IV B SS-2020  
*Hysterothylacium* sp. larval type IV (genotype B) SS-2020  
*Hysterothylacium* sp. larval type IV GZP-2021  
*Hysterothylacium* sp. larval type IX GZP-2021  
*Hysterothylacium* sp. larval type V KBP-2020  
*Hysterothylacium* sp. larval type VI A SS-2020

*Hysterothylacium* sp. larval type VI C SS-2020  
*Hysterothylacium* sp. larval type VI SS-2019  
*Hysterothylacium* sp. larval type VIII GZP-2021  
*Hysterothylacium* sp. larval type VIII SS-2020  
*Hysterothylacium* sp. larval type XIV SS-2019  
*Hysterothylacium* sp. type IV AJ-2012  
*Hysterothylacium* sp. type IV-A LL-2015  
*Hysterothylacium* sp. type V AJ-2013  
*Hysterothylacium* sp. type VI AJ-2013  
*Hysterothylacium* sp. type VI SS-2014  
*Hysterothylacium* sp. type VIII AJ-2012  
*Hysterothylacium* sp. type X AJ-2013  
*Hysterothylacium* sp. type XIII SS-2014  
*Hysterothylacium* sp. type XIV SS-2014  
*Hysterothylacium* sp. type XVII SS-2019  
*Hysterothylacium* sp. V SS-2010  
*Hysterothylacium* sp. VI SS-2010  
*Hysterothylacium* sp. VI SS-2016  
*Hysterothylacium* sp. VII SS-2010  
*Hysterothylacium* sp. VIII SS-2010  
*Hysterothylacium* sp. VIII-111-4  
*Hysterothylacium* sp. VIII-21-2  
*Hysterothylacium* sp. VIII-42-2  
*Hysterothylacium* sp. X SS-2010  
*Hysterothylacium* sp. XI SS-2010  
*Hysterothylacium* sp. XII SS-2010  
*Hysterothylacium* sp. XIV-96-1  
*Hysterothylacium* sp. XV SS-2016  
*Hysterothylacium* sp. XVIII-126-2  
*Hysterothylacium* sp. XVIII-80-3  
*Hysterothylacium* sp. XVIII-84-1

Askaridan parazitler üç belirgin dudak, dış labiyal papilla ve çok sayıda kaudal papilla varlığıyla karakterizedir. Deniz balıkları, sürüngenler, kuşlar ve memeliler de dahil olmak üzere tüm omurgalı hayvan sınıflarının gastrointestinal sistem parazitleridir. Deniz türleri arasında çeşitlilik bakımından yalnızca spiruridler tarafından geride bırakılırlar ve spiruridlerle birlikte deniz faunasından tanımlanan nematodların çoğunu oluştururlar. Üç ascarididan üst ailesi olan Ascaridoidea, Cosmoceroidea ve Seuratoidea gruplarında özellikle denizlerde yaşayan memeliler ve balıkları enfekte eden parazitler bulunmaktadır (Rohde, 2005).

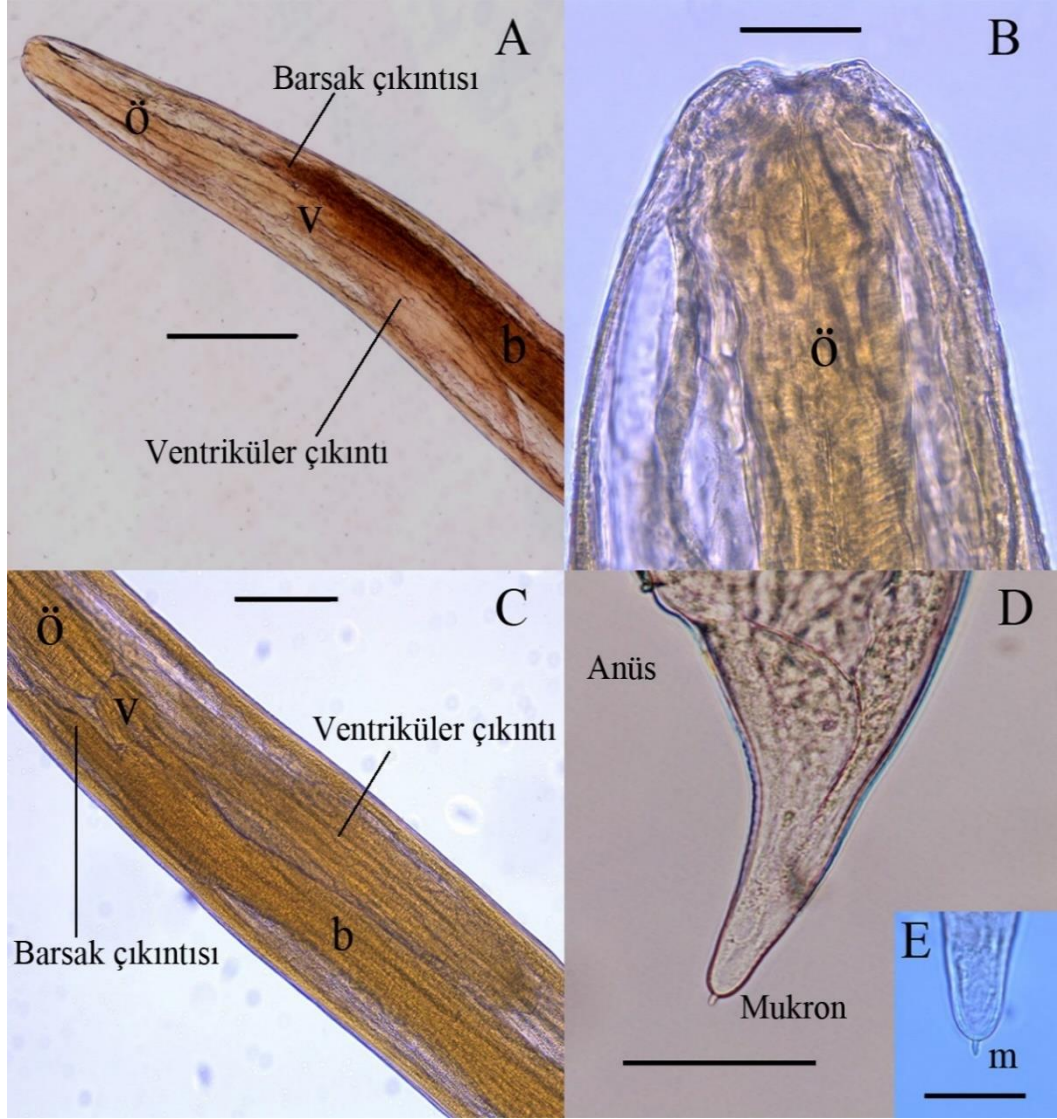
Ascaridoidea üst ailesi genelde kalın kütikülaya sahip olan büyük nematodlardır. Baş kısmında dudaklar genelde iyi gelişmiş olup bazen interlabia ile ayrılabilir. Özefagus basit ve silindirik yapıda ya da arka ucu genişlemiş ventrikülüs ile sonlanır. Ekeklerde iki spikülüm genellikle eşit uzunlukta ve benzerdir. Erkeklerde prekloakal çekmen yoktur ve çok sayıda genital papil vardır. Vulva vücudun orta kısmındadır. Bazı türler hayat döngüleri esnasında ara konağa ihtiyaç duyarken diğerleri ara konaksız gelişir. Ascaridoidea üst ailesine bağlı Raphidascarididae ailesinde yer alan çok sayıda tür tatlı su ve deniz balıklarda parazitlenebilmektedir (Moravec, 1994).

**Cins: *Hysterothylacium* (Ward ve Magath, 1917)**

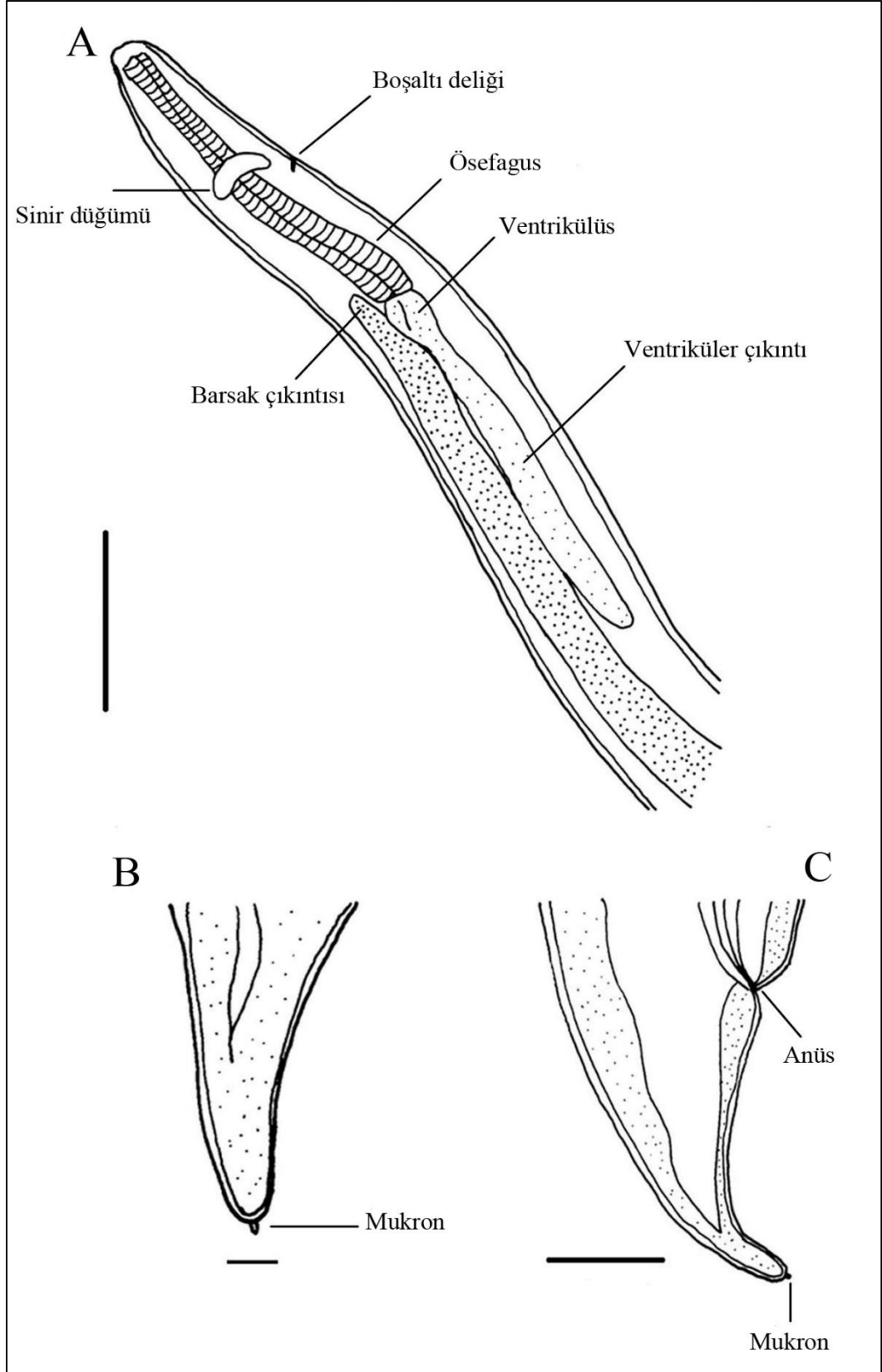
**Sinonim:** *Thynnascaris* (Dollfus, 1933); *Contracaecum* (*Thynnascaris*) (Dollfus, 1935); *Contracaecum* (*Erschovicaecum*) (Morgovoi, 1951); *Contracaecum* (*Simplexonema*) (Kreis, 1952); *Contracaecum* (*Acollaris*) (Araujo, 1970).

Oldukça büyük nematodlardır. Dişi bireyler erkek bireylere göre daha büyüktür. Vücut uzun ve orta kısmı en geniş yeridir. Kütikulada hafif belirgin halkalanmalar vardır veya yoktur. Ön uçta 3 adet dudak vardır. Dudaklar iyi gelişmiş ve yaklaşık olarak eşit büyüklüktedir. Genellikle dudaklar uzunluğundan daha geniş olup, lateral kenarlarında şeffaf kütiküler yapıda çıkıntılı ya da çıkıntısız yakaları bulunur. İnterlabia mevcut olup interlabial çıkıntılar var ya da yoktur. Lateral kanatları (kütiküler kanat) belirgin ya da değildir. Özefagus uzun, kassal ve çoğunlukla son kısımlarına doğru genişlemektedir. Ventrikülüs küresel bir yapıdadır. Posterior seyirli ventriküler çıkıntı mevcuttur. Ventiküler çıkıntının

uzunluğu türlere göre değişkenlik göstermektedir. Anterior seyirli barsak çıkıntısı (intestinal sekum) bulunur. Barsak çıkıntısının uzunluğu türlere göre değişkenlik gösteriri. Boşaltı (salgı) deliği sinir düğümü hizasında ya da yakınındadır. Boşaltı deliğinin lokalizasyonu bu cinsin *Contracecum* cinsinden ayrılmasında en önemli morfolojik özelliktir. Rektal bezler var ya da yoktur. Erkeklerde spikülömler birbirine benzer, eşit ya da uzunlukları çok az olarak birbirinden farklıdır. Genital papil çok sayıdadır. Dişilerde vulva vücudun orta kısmının anteriorundadır. Uterus didelfik ve opistodelfik yapıdadır. Ovipardırlar. Anüs terminaldir. Kuyruk koni biçiminde düz, sivri ve ucunda tek (mukron) ya da birden çok sıralı iğne sonlanabilir. Dişi ve erkek larvalarda genital yapılar ana hatları ile belirgindir. Erkek larvalarda spikülömler ve kaudal papiller henüz tam olarak gelişmemiştir. Dişi larvalarda uterus ve vajina şekillenmiş olup vajinal açıklık kütikula ile kaplıdır ve vulva biçimlenmemiştir. Deniz, tatlı ve acı suların parazitleridir (Şekil 2.1., 2.2.) (Moravec, 1994; Pekmezci, vd., 2014; Shamsi, et al., 2013; 2015; Pantoja, et al., 2016; Tedesco, et al., 2018; Khammassi, et al., 2020).

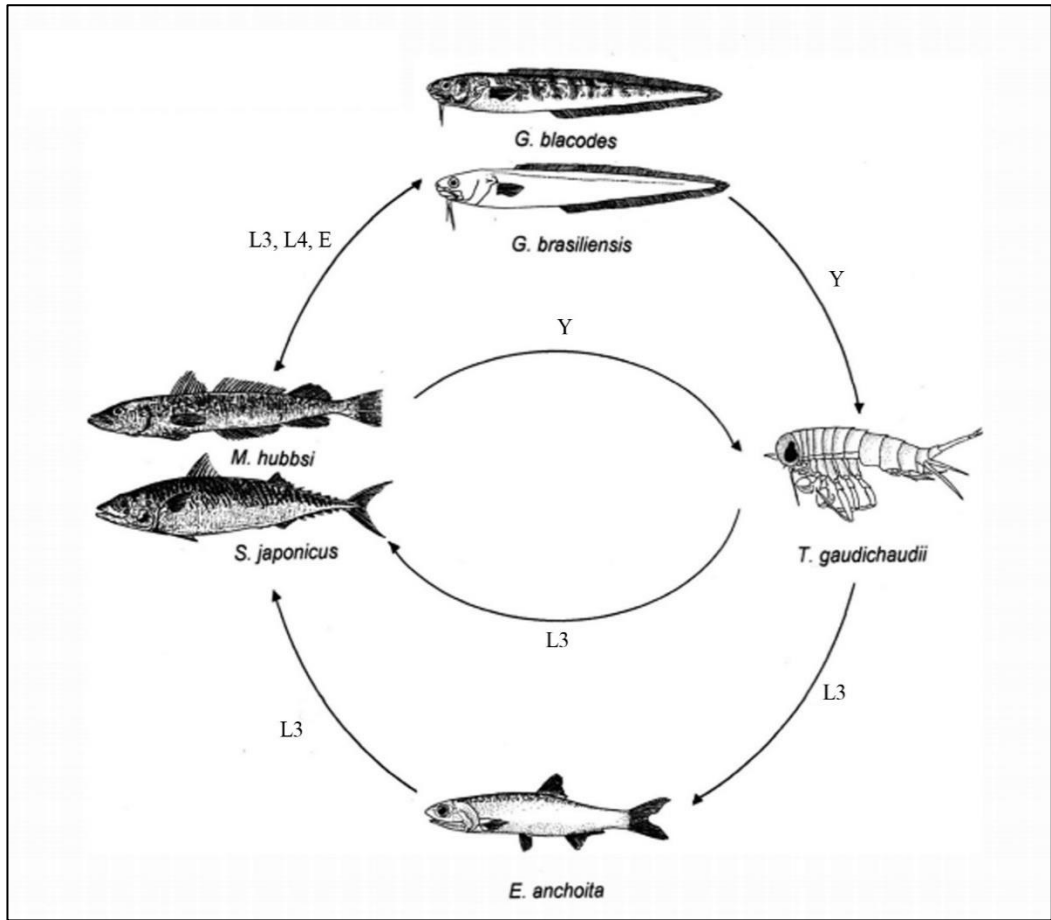


Şekil 2.1. *Hysterothylacium* sp. tip V larvanın morfolojik özellikleri (resim). **A-** *Hysterothylacium* tip V ön parça (skala: 500 µm), **B-** *Hysterothylacium* tip V ön uç (skala: 50 µm), **C-** *Hysterothylacium* tip V özofagus (ö)-ventrikül (v)-barsak (b) birleşimi (skala: 200 µm), **D-** *Hysterothylacium* tip V arka parça (skala: 50 µm), **E-** *Hysterothylacium* tip V kuyruk ucu (skala: 20 µm), **b:** barsak, **m:** mukron, **ö:** oesofagus, **v:** ventrikülüs (Khammassi, et al., 2020)



Şekil 2.2. *Hysterothylacium* sp. tip V larvanın morfolojik özellikleri (çizim). **A-** *Hysterothylacium* tip V ön parça (skala: 500  $\mu\text{m}$ ). **B-** tek terminal mukron gösteren arka uç (skala: 20  $\mu\text{m}$ ), **C-** *Hysterothylacium* tip V arka parça (skala: 100  $\mu\text{m}$ ), (Khammassi, et al., 2020)

*Hysterothylacium* türlerinin L3'leri bentik ve pelajik balıkların mezenterinde ve iç organlarında kapsüllenmiş halde bulunurken, L4'leri ve ergin formlar balıkların mide ve barsak kanalında ya da karın bölgesinde serbest bulunabilirler (González, 1998; Klimpel and Ruckert, 2005; Rello, et al., 2008). *Hysterothylacium* türlerinin konaklar arası bulaşma ve gelişmesi ile ilgili olarak bilinenlerde bazı noktalar halen eksiktir. Kesin konak balıkların dışkıları ile yumurtalar atılır ve yumurtalarda L2'ler gelişir. L2'ler çeşitli omurgasızlar (kopepodlar, isopodlar) tarafından alınır ve onların hemosellerini istila eder. Omurgasızlarda L3 gelişir ve omurgasızların kesin konaklar tarafından yenilmesi ile parazitlerin ergin şekilleri oluşur. Ya da paratenik konak balıklar ile diğer paratenik konaklar tarafından alınan L3'ler kendi kendilerine gelişmelerini durdurur ve kesin konakları tarafından alınmayı beklerler. Kesin konak balıklarda L4 ve erginler şekillenir (Navone, et al., 1998; Anderson, 2000) (Şekil 2.3.).



Şekil 2.3. *Hysterothylacium aduncum*'un yaşam döngüsü (Navone et al., 1998)

*Hysterothylacium* cinsine ait nematodlar hem larva hem de yetişkin aşamalarında çeşitli deniz balığı turlerini enfekte eder. Bu parazitler larva aşamalarında konakçı spesifik değildir ve bu nedenle deniz ekosisteminde yaygın olarak bulunurlar ve kuresel bir dağılım sergilerler (Bruce, et al., 1994; Shamsi, et al., 2013).

Gunumuzde *Hysterothylacium* cinsi deniz ve tatlı su balıklarında rapor edilen yaklaşık 103 turu iğermektedir (Bezerra, et al., 2021). Bugune kadar morfolojik olarak on sekiz (I–XVIII) *Hysterothylacium* larval morfotipi tanımlanmiştır. Bazı morfotipler molekuler olarak karakterize edilmiş ve ergin *Hysterothylacium* turleri ile ilişkilendirilmiştir (Cannon, 1977; Szostakowska, et al., 2002; Jabbar, et al., 2012; 2013; Knoff, et al., 2012; Pekmezci, vd., 2013, 2014; Guo, et al., 2014; Andres, et al., 2016; Fonseca, et al., 2016; Shamsi, et al., 2013; 2015; 2016; 2018; Pantoja, et al., 2016; Shamsi, 2017; Zhao, et al., 2017; Zhang, et al., 2018; Rodrıguez, et al., 2019; Costa, et al., 2018; Di Azevedo and Iņiguez, 2018; Ghadam, et al., 2018; Li, et al., 2012a; b; 2013; 2017; 2018; Roca- Geronès, et al., 2018; şimşek, vd., 2018; Tedesco, et al., 2018; Hossen and Shamsi, 2019; Khammassi, et al., 2020) (Tablo 1).

**Tablo 1.** Dünyadaki *Hysterothylacium* tür ve larva morfotiplerinin konak, coğrafik alan ile GenBank erişim numaralı

Parazit türü	GenBank Erişim Numarası		Konak	Coğrafik alan	Kaynak
	rDNA ITS gen bölgesi	mtDNA <i>cox 2</i> geni			
<i>Hysterothylacium</i> tip I	-	-	<i>Amentum devisi</i> , <i>Saurida undosquamis</i> , <i>Paraplotosus albilabris</i> , <i>Mylio australia</i> , <i>Gerris ovatus</i> , <i>Polynemus sheridani</i> , <i>Platycephalus indicus</i> , <i>Synaptura orientalis</i> , <i>Cynoglossus bilineatus</i> , <i>Triacanthus biaculeatus</i> , <i>Sphaeroides hamiltoni</i> , <i>Tragulichthys jaculiferus</i>	Avustralya kıyıları	Cannon, (1977)
<i>Hysterothylacium</i> tip II	-	-	<i>Plectorhynchus chrysotaenia</i> , <i>Choerodon venustus</i>	Avustralya kıyıları	Cannon, (1977)
<i>Hysterothylacium</i> tip III SS-2010	FN811721 (ITS1) FN811678 (ITS2)	-	<i>Lutjanus</i> spp.	Avustralya kıyıları	Shamsi et al., (2013)
<i>Hysterothylacium</i> tip III	MF693070 (ITS1) MF693086 (ITS2)	-	<i>Trachurus trachurus</i>	Batı Akdeniz	Roca- Geronès, et al., (2018)
<b><i>Hysterothylacium</i> tip III GZP-2021</b>	<b>MZ313182 (ITS1, 5.8S, ITS2)</b>	<b>MZ313477 MZ313478 MZ313479</b>	<b><i>Mullus barbatus ponticus</i></b>	<b>Karadeniz</b>	<b>Bu araştırma</b>
<i>Hysterothylacium</i> tip IVA SS-2010	FN811724 (ITS1) FN811690 (ITS2)	-	<i>Abudefduf whiteyi</i> , <i>Caesio cuning</i> , <i>Lutjanus argentimaculatus</i>	Avustralya kıyıları	Shamsi, et al., (2013)
<i>Hysterothylacium</i> tip IVB SS-2010	FN811730 (ITS1) FN811682 (ITS2)	-	<i>Sillago flindersi</i> , <i>Scomber australasicus</i>	Avustralya kıyıları	Shamsi, et al., (2013)
<i>Hysterothylacium</i> tip IVC AJ-2012	JN631798 (ITS1) JN631805 (ITS2)	-	<i>Sillago flindersi</i>	Avustralya kıyıları	Jabbar, et al., (2012)

<i>Hysterothylacium</i> tip IVD AJ-2012	JN631799 (ITS1) JN631806 (ITS2)	-	<i>Sillago flindersi</i>	Avustralya kıyıları	Jabbar, et al., (2012)
<i>Hysterothylacium</i> tip IV	MF693071 (ITS1) MF693087 (ITS2)	-	<i>Trachurus trachurus</i> <i>Micromesistiuspoutassou</i>	Batı Akdeniz	Roca- Geronès, et al., (2018)
<b><i>Hysterothylacium</i> tip IV GZP-2021</b>	<b>MZ313181 (ITS1, 5.8S, ITS2)</b>	<b>MZ313480 MZ313481 MZ313482 MZ313483 MZ313484</b>	<b><i>Mullus barbatus ponticus</i></b>	<b>Karadeniz</b>	<b>Bu araştırma</b>
<i>Hysterothylacium</i> tip V CAf	KU594481 (ITS1, 5.8S, ITS2)	KU594493	<i>Caulolatilus chrysops</i>	Brezilya (Atlantik kıyısı)	Pantoja, et al., (2016)
<i>Hysterothylacium</i> tip V GYc	KU594482 (ITS1, 5.8S, ITS2)	KU594494	<i>Gymnothorax vicinus</i>	Brezilya (Atlantik kıyısı)	Pantoja, et al., (2016)
<i>Hysterothylacium</i> tip V LAe	KU594483 (ITS1, 5.8S, ITS2)	KU594495	<i>Lagocephalus laevigatus</i>	Brezilya (Atlantik kıyısı)	Pantoja, et al., (2016)
<i>Hysterothylacium</i> tip V MNB	KU594484 (ITS1, 5.8S, ITS2)	KU594496	<i>Menticirrhus americanus</i>	Brezilya (Atlantik kıyısı)	Pantoja, et al., (2016)
<i>Hysterothylacium</i> tip V MRa	KU594485 (ITS1, 5.8S, ITS2)	KU594497	<i>Merluccius hubbsi</i>	Brezilya (Atlantik kıyısı)	Pantoja, et al., (2016)
<i>Hysterothylacium</i> tip V PAc	KU594486 (ITS1, 5.8S, ITS2)	KU594498	<i>Paralichthys isocetes</i>	Brezilya (Atlantik kıyısı)	Pantoja, et al., (2016)
<i>Hysterothylacium</i> tip V PROd	KU594487 (ITS1, 5.8S, ITS2)	KU594499	<i>Prionotus punctatus</i>	Brezilya (Atlantik kıyısı)	Pantoja, et al., (2016)
<i>Hysterothylacium</i> tip V ZEc	KU594488 (ITS1, 5.8S, ITS2)	KU594500	<i>Zenopsis conchifer</i>	Brezilya (Atlantik kıyısı)	Pantoja, et al., (2016)
<i>Hysterothylacium</i> tip V MB-2016	KX815378 (ITS1, 5.8S, ITS2)	KX815379	<i>Mullus surmuletus</i>	Akdeniz	Khammassi, et al., 2020
<i>Hysterothylacium</i> tip V SS-2010	FN811738 (ITS1) FN811699 (ITS2)	-	<i>Lutjanus carponatus</i>	Avustralya kıyıları	Shamsi, et al., (2013)
<i>Hysterothylacium</i> tip VI SS-2010	FN811740 (ITS1) FN811701 (ITS2)	-	<i>Chaetodon</i> spp., <i>Heniochus monoceros</i>	Avustralya kıyıları	Shamsi, et al., (2013)
<i>Hysterothylacium</i> tip VI SS-2016	LT576346 (ITS1) LT576347 (ITS2)	-	<i>Otolithes ruber</i>	Basra Körfezi	Shamsi, et al., (2016)
<i>Hysterothylacium</i> tip VI SS-2019	MG594309 (ITS1) MG594332 (ITS2)	-	<i>Acanthopagrus australis</i> <i>Rhabdosargus sarba</i>	Avustralya kıyıları	Shamsi, et al., (2018)

<i>Hysterothylacium</i> tip VII SS-2010	FN811749 (ITS1) FN811709 (ITS2)	-	<i>Caesio cuning</i>	Avustralya kıyıları	Shamsi, et al., (2013)
<i>Hysterothylacium</i> tip VIII SS-2010	FN811750 (ITS1) FN811710 (ITS2)	-	Engraulidae, Clupeidae, Carangidae, Sillaginidae ve Scombridae	Avustralya kıyıları	Shamsi, et al., (2013)
<i>Hysterothylacium</i> tip VIII	MF693073 (ITS1) MF693089 (ITS2)	-	<i>Trachurus trachurus</i> , <i>Micromesistius poutassou</i> , <i>Engraulis encrasicolus</i>	Kuzey-Doğu Atlantik Okyanusu	Roca- Geronès, et al., (2018)
<b><i>Hysterothylacium</i> tip VIII GZP-2021</b>	<b>MZ313180 (ITS1, 5.8S, ITS2)</b>	<b>MZ313485 MZ313486</b>	<b><i>Trachurus trachurus</i></b>	<b>Karadeniz</b>	<b>Bu araştırma</b>
<i>Hysterothylacium</i> tip IX	MF693080 (ITS1) MF693096 (ITS2)	-	<i>Micromesistius poutassou</i>	Kuzey-Doğu Atlantik Okyanusu	Roca- Geronès, et al., (2018)
<b><i>Hysterothylacium</i> tip IX GZP-2021</b>	<b>MZ313183 (ITS1, 5.8S, ITS2)</b>	<b>MZ313487 MZ313488</b>	<b><i>Merlangius merlangus</i></b>	<b>Karadeniz</b>	<b>Bu araştırma</b>
<i>Hysterothylacium</i> tip X SA	KU594490 (ITS1, 5.8S, ITS2)	KU594502	<i>Sarda sarda</i>	Brezilya (Atlantik kıyısı)	Pantoja, et al., (2016)
<i>Hysterothylacium</i> tip X AJ-2013	JX848679 (ITS1) JX848692 (ITS2)	-	<i>Atherinomorus endrachtensis</i> , <i>Cephalopholis cyanostigma</i> , <i>Hyporhamphus affinis</i>	Avustralya kıyıları	Jabbar, et al., (2013)
<i>Hysterothylacium</i> tip X SS-2010	FN811761 (ITS1) FN811714 (ITS2)	-	<i>Sphyraena novaehollandiae</i>	Avustralya kıyıları	Shamsi, et al., (2013)
<i>Hysterothylacium</i> tip XI SS-2010	FN811763 (ITS1) FN811717 (ITS2)	-	<i>Seriola lalandi</i>	Avustralya kıyıları	Shamsi, et al., (2013)
<i>Hysterothylacium</i> tip XII SS-2010	FN811767 (ITS1) FN811720 (ITS2)	-	<i>Lutjanus carponatus</i>	Avustralya kıyıları	Shamsi, et al., (2013)
<i>Hysterothylacium</i> tip XIII SS-2014	LN651104 (ITS2)	-	<i>Abalistes stellatus</i>	Avustralya kıyıları	Shamsi, et al., (2015)
<i>Hysterothylacium</i> tip XIV SS-2019	MG594310 (ITS1) MG594333 (ITS2)	-	<i>Tripodichthys angustifrons</i>	Avustralya kıyıları	Shamsi, et al., (2018)
<i>Hysterothylacium</i> tip XV SS-2016	LT576348 (ITS1) LT576357 (ITS2)	-	<i>Saurida tumbil</i>	Basra Körfezi	Shamsi, et al., (2016)
<i>Hysterothylacium</i> tip XV EL	KU594491 (ITS1, 5.8S, ITS2)	KU594503	<i>Elops saurus</i>	Brezilya (Atlantik kıyısı)	Pantoja, et al., (2016)

<i>Hysterothylacium</i> tip XVI	LT717074 (ITS1) LT717075 (ITS2)	-	<i>Epinephelus areolatus</i> , <i>Pseudorhombus arsius</i> <i>Saurida undosquamis</i>	Irak suları	Ghadam, et al., (2018)
<i>Hysterothylacium</i> tip XVII SS-2019	MG594313 (ITS1) MG594336 (ITS2)	-	<i>Acanthopagrus australis</i> <i>Rhabdosargus sarba</i> <i>Tripodichthys angustifrons</i>	Avustralya kıyıları	Shamsi, et al., (2018)
<i>Hysterothylacium</i> tip XVIII	MK161426 (ITS1) MK161451 (ITS2)	-	<i>Engraulis australis</i>	Avustralya kıyıları	Hossen and Shamsi, (2019)
<i>H. aduncum</i>	MW131976 (ITS1, 5.8S, ITS2)	MW149072	<i>Melanogrammus aeglefinus</i>	Barents Denizi	Bao, et al., 2021
<i>H. aduncum</i>	MF693084 (ITS1) MF693100 (ITS2)	-	<i>Micromesistius poutassou</i>	Kuzey-Doğu Atlantik Okyanusu	Roca- Geronès, et al., (2018)
<i>H. aduncum</i>	KF736936 (ITS1, 5.8S, ITS2)	-	<i>Lophius litulon</i>	Çin suları	Guo, et al., (2014)
<i>H. aduncum</i>	JX413596 (ITS1, 5.8S, ITS2)	-	<i>Merlangius merlangus</i> <i>euxinus</i>	Karadeniz	Pekmezci, vd., (2013)
<i>H. aduncum</i>	-	MF120249	<i>Lophius litulon</i>	Çin suları	Li, et al., (2018)
<i>H. aduncum</i>	MF062510 (ITS1, 5.8S, ITS2)	-	<i>Boops Boops</i>	Ege Denizi	Şimşek, vd., 2018
<i>H. australe</i>	HE862216 (ITS1) HE862223 (ITS2)	-	<i>Seriola lalandi</i>	Avustralya kıyıları	Shamsi, 2017
<i>H. brucei</i>	HE862222 (ITS1) HE862230 (ITS2)	-	<i>Kajikia audax</i>	Avustralya kıyıları	Shamsi, 2017
<i>H. kajikiae</i>	HE862220 (ITS1) HE862226 (ITS2)	-	<i>Kajikia audax</i>	Avustralya kıyıları	Shamsi, 2017
<i>H. fabri</i>	KU948632 (ITS1, 5.8S, ITS2)	-	<i>Mullus surmuletus</i>	Akdeniz	Tedesco, et al., (2018)
<i>H. fabri</i>	KC852206 (ITS1, 5.8S, ITS2)	KC862609	<i>Zeus faber</i>	Akdeniz	Pekmezci, vd., (2014)
<i>H. fabri</i>	KF736940 (ITS1, 5.8S, ITS2)	-	<i>Uranoscopus japonicus</i>	Çin suları	Guo, et al., (2014)
<i>H. fabri</i>	-	MF120252	<i>Uranoscopus japonicus</i>	Çin suları	Li, et al., (2018)
<i>H. fabri</i>	MF062511 (ITS1, 5.8S, ITS2)	-	<i>Boops boops</i>	Ege Denizi	Şimşek, vd., 2018

<i>H. persicum</i>	LT576366 (ITS1) LT576369 (ITS2)	-	<i>Scomberomorus commerson</i>	Basra Körfezi	Shamsi, vd., (2016)
<i>H. reliquens</i>	LT717080 (ITS1) LT717081 (ITS2)	-	<i>Otolithes ruber,</i> <i>Brachirus orientalis</i>	Irak suları	Ghadam, et al., (2018)
<i>H. reliquens</i>	KX786287 (ITS1, 5.8S, ITS2)	KX825838	<i>Brachirus orientalis</i>	Irak suları	Zhao, et al., (2017)
<i>H. reliquens</i>	MF062509 (ITS1, 5.8S, ITS2)	-	<i>Boops boops</i>	Ege Denizi	Şimşek, vd., (2018)
<i>H. amoyense</i>	MH211518 (ITS1, 5.8S, ITS2)	-	<i>Lophius litulon</i>	Doğu Çin Denizi	Zhang, et al., (2018)
<i>H. amoyense</i>	-	MF120253	<i>Muraenesox cinereus</i>	Çin suları	Li, et al., (2018)
<i>H. auctum</i>	AF115571 (ITS1, 5.8S, ITS2)	-	<i>Zoarcetes viviparus</i>	Baltık Denizi	Szostakowska, et al., (2002)
<i>H. bidentatum</i>	AY603539 (ITS1, 5.8S, ITS2)	-	-	-	-
<i>H. fortalezae</i>	KX098563 (ITS1, 5.8S, ITS2)	-	<i>Maurolicus weitzmani</i>	Kuzey Meksika Körfezi	Andres, et al., (2016)
<i>H. fortalezae</i>	-	AF179914	-	-	Nadler and Hudspeth, (2000)
<i>H. liparis</i>	KF601900 (ITS1, 5.8S, ITS2)	-	<i>Liparis tanakae</i>	Çin suları	Guo, et al., (2014)
<i>H. liparis</i>	-	MF120251	<i>Liparis tanakae</i>	Çin suları	Li, et al., (2018)
<i>H. longilabrum</i>	JQ520159 (ITS1, 5.8S, ITS2)	-	<i>Siganus fuscescens</i>	Çin suları	Li, et al., (2012a)
<i>H. longilabrum</i>	-	MF120247	<i>Siganus fuscescens</i>	Çin suları	Li, et al., (2018)
<i>H. rigidum</i>	HF680321 (ITS1, 5.8S, ITS2)	-	<i>Lophius piscatorius</i>	İrlanda kıyıları	-
<i>H. sinense</i>	KX817294 (ITS1, 5.8S, ITS2)	-	<i>Pseudorhombus</i> <i>cinnamoneus</i>	Sarı Deniz	Li, et al., (2017)
<i>H. sinense</i>	-	MF120254	<i>Conger myriaster</i>	Çin suları	Li, et al., (2018)
<i>H. tetrapteri</i>	-	MF120256	<i>Kajikia audax</i>	Çin suları	Li, et al., (2018)
<i>H. thalassini</i>	JX982126 (ITS1, 5.8S, ITS2)	-	<i>Priacanthus tayenus</i>	Çin suları	Liu, et al., (2013)

<i>H. thalassini</i>	-	MF120250	<i>Priacanthus macracanthus</i>	Çin suları	Li, et al., (2018)
<i>H. zhoushanensis</i>	JX028277 (ITS1, 5.8S, ITS2)	-	<i>Pseudorhombus oligodon</i>	Çin suları	Li, et al., (2012b)
<i>H. zhoushanensis</i>	-	MF120248	<i>Pseudorhombus oligodon</i>	Çin suları	Li, et al., (2018)
<i>H. pelagicum</i>	-	AF179915	-	-	Nadler and Hudspeth, (2000)
<i>H.deardorffoverstreetorum</i>	JF730199 (ITS1, 5.8S, ITS2)	JF730205	<i>Paralichthys isosceles</i>	Brezilya (Atlantik kıyısı)	Knoff, et al., (2012)
<i>H.deardorffoverstreetorum</i>	-	KU886688	<i>Paralichthys patagonicus</i> , <i>Xystreureys rasile</i>	Brezilya (Atlantik kıyısı)	Fonseca, et al., (2016)
<i>H.deardorffoverstreetorum</i>	MK039161 (ITS1, 5.8S, ITS2)	-	<i>Parapristipoma octolineatum</i>	Kuzeydoğu Atlantik	Rodríguez, et al., (2019)
<i>H.deardorffoverstreetorum</i> <i>sensu stricto</i>	-	MF189865	<i>Mullus argentinae</i>	Brezilya (Atlantik kıyısı)	Di Azevedo and Iñiguez, (2018)
<i>H.deardorffoverstreetorum</i> <i>sensu lato</i>	-	MF189886	<i>Mullus argentinae</i>	Brezilya (Atlantik kıyısı)	Di Azevedo and Iñiguez, (2018)

Son yıllarda *Hysterothylacium* türlerinin larva formlarının 18 morfotipinin taksonomik olarak yeniden sınıflandırılması yapılmış ve deniz balıklarında *Hysterothylacium* larva formlarının yeni bir morfolojik anahtarı oluşturulmuştur (Pantoja, et al., 2016).

*Hysterothylacium* larval morfotiplerinin moleküler identifikasyonunda nükleer ribozomal ITS gen bölgesi (ITS-1, 5.8S subunit, ITS-2), mitokondriyal *cox 2* ve *rrnS* genleri kullanılmıştır (Pekmezci, vd., 2013; 2014; Shamsi, et al., 2011; 2013; 2015; 2016; 2018; Pantoja, et al., 2016; Pekmezci, 2019; Khammassi, et al., 2020; Şimşek, et al., 2021). *Hysterothylacium* türlerinin morfotipleri moleküler veriler ile doğrulanabilir ve her iki metot kullanılarak ergin formları açıklanabilir (Shamsi, et al., 2011). Moleküler analizler sonrasında morfotip VIII ve IX 'un *H. aduncum* türünün sırası ile üçüncü ve dördüncü dönem larva aşamaları olduğunu görülmüştür (Roca-Geronès, et al., 2018).

Ülkemiz karasularında avlanan deniz balıklarında bugüne kadar *H. aduncum*, *H. fabri* ve *H. reliquens* türleri bildirilmiştir (Doğanay, 1994; Akmırza, 2013; Pekmezci, vd., 2013; 2014; Keskin, vd., 2015; Şimşek, vd., 2018). Karadeniz'de ise bugüne kadar sadece *H. aduncum* ve *H. fabri* türlerinin larvaları morfolojik olarak tanımlanmıştır (Doğanay, 1994; Öztürk ve Yeşil, 2018; Köksal, 2019). Türkiye karasularında avlanan deniz balıklarında saptanan *Hysterothylacium* türlerinin moleküler karakterizasyonu konusunda sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır (Pekmezci, vd., 2013; 2014; Keskin, vd., 2015; Şimşek, vd., 2018; Pekmezci, 2019; Şimşek, vd., 2021). Daha önceki yıllarda Karadeniz'de avlanan deniz balıklarının enfekte eden *H. aduncum* larvalarının sadece rDNA ITS ve mtDNA *rrnS* gen bölgelerinin moleküler karakterizasyonları yapılmıştır (Pekmezci, vd., 2013; Pekmezci, 2019).

### **3. MATERYAL METOT**

#### **3.1. Materyal**

Karadeniz'de avlanan ve ekonomik öneme sahip olan deniz balıklarından *Engraulis encrasicolus* L., 1758 (hamsi), *Trachurus trachurus* L., 1758 (karagöz istavrit), *Mullus barbatus ponticus*, E., 1927 (barbunya) ve *Merlangius merlangus* L., 1758 (mezgit) türleri taze olarak satın alınmıştır. Ekonomik öneme sahip olan her bir türden 30 balık incelenmiştir.

#### **3.2. Metot**

##### **3.2.1. Deniz Balıklarının Parazitolojik Muayenesi**

Deniz balıklarının her birinin ayrı ayrı nekropsileri ve parazitolojik muayeneleri yapılmıştır. Balıkların karın duvarı iç organlar zedelenmeden anüsten itibaren başın alt kısmına kadar ince uçlu makas yardımı ile kesilmiştir. İç organların yüzeyleri ve karın boşluğu nematod larvaları yönünden steromikroskop altında farklı büyütme altında incelenmiştir. Sonra sindirim sistemi ve iç organlar dışarı çıkarılmış ve içinde 1:5 oranında musluk suyu içeren 1 litrelik kapaklı kaplar içerisine alınarak oda sıcaklığında sabit bir pozisyonda bir gece inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrasında kaplar içerisinden organlar çıkarıldıktan sonra üst kısımdaki sıvı dökülmüş ve dip kısımdaki sıvı steromikroskop altında nematod larvaları yönünden incelenmiştir ve larvalar toplanmıştır (Shamsi and Suthar, 2016).

##### **3.2.2. *Hysterothylacium* Larval Morfotiplerin Morfolojik İdentifikasyonu**

Araştırma esnasında bulunan nematod larvaları tek tek toplanmış, sayılmış ve distile su altında temizlenerek %70'lik sıcak etanolde tespit edilmiştir. Alkolde tespit edilen larvalar tek tek olacak şekilde ve her seferinde bisturi ucu değiştirmek koşulu ile üç eşit parçaya ayrılmıştır. Larvaların ön ve arka parçalarından morfolojik identifikasyon yapılırken, orta kısımları moleküler analizler için kullanılmıştır. Larvaların ön ve arka uçları laktofenolde (fenol, laktik asit, gliserin, su=2:1:1:1 oranı) 1-2 gün şeffaflandırılmıştır. Daha sonra larvaların ışık mikroskobuna (Leica DM 2500 LED) bağlı dijital kamera sistemi (Leica MC 190 HD) yardımı ile resimleri çekilmiş ve morfometrik ölçümleri yapılarak morfotipleri teşhis edilmiştir (Berland, 1961; Cannon, 1977; Petter and Maillard, 1988; Shamsi, et al., 2013; 2015; 2016; 2018; Costa, et al., 2018; Ghadam, et al., 2018; Roca- Geronès, et al., 2018; Tedesco, et al.,

2018; Hossen and Shamsi, 2019). Larvaların morfometrik ölçümleri ortalama değer (en küçük ölçüm değeri–en büyük ölçüm değeri) şeklinde verilmiştir.

### **3.2.3. *Hysterothylacium* Larval Morfotiplerin Enfeksiyon Parametreleri**

Araştırmada morfolojik olarak identifiye edilen larval morfotiplerin enfeksiyon oranı ve yoğunluğu Rózsa et al., (2000)'nın belirttiği şekilde hesaplanmıştır.

Enfeksiyon Oranı (%): Parazit ile enfekte konak (balık) sayısının incelenen tüm konak (balık) sayısına oranıdır. Yüzde olarak ifade edilir.

Enfeksiyon Yoğunluğu=Enfekte Konak (Balık) Başına Ortalama Parazit Sayısı (Adet): İncelenen konakta (balık) bulunan parazit türünün toplam sayısının aynı parazit ile enfekte konak (balık) sayısına oranıdır.

### **3.2.4. *Hysterothylacium* Larval Morfotiplerin Genomik DNA İzolasyonu**

Her bir *Hysterothylacium* larval morfotipi için 3 ile 5 larvanın orta parçalarının genomik DNA izolasyonları ticari kit (Genomik DNA İzolasyon Kiti, MG-GDNA-01, HibriGen) yardımı ile kit protokolüne göre yapılmıştır. Larvaların gDNA'ları PZR analizleri yapılmaya kadar –20°C'de muhafaza edilmiştir.

### **3.2.5. *Hysterothylacium* Larval Morfotiplerin PZR Analizleri**

Larval morfotiplerin gDNA'ların rDNA ITS (ITS–1, 5.8S, ITS–2) bölgesi NC5 (5'–GTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATT–3') ve NC2 (5'–TTAGTTTCTTTTCCTCCGCT–3'), mtDNA *cox 2* gen bölgesi 211 (5'–TTTTCTAGTTATATAGATTGRTTTYAT–3') ve 210 (5'–CACCAACTCTTAAAATTATC–3') primer çiftleri kullanılarak PZR ile çoğaltılmıştır (Zhu, et al., 1998; Nadler and Hudspeth, 2000). Her bir gen bölgesi için gDNA, PZR master mix, ileri ve geri yönlü primerler olacak şekilde PZR karışımı hazırlanmıştır (Pekmezci, vd., 2013; 2014). PZR karışımı termal siklus cihazına yerleştirilmiş ve amplifikasyonu koşulları Pekmezci, vd., (2013; 2014)'de belirtilen protokollere göre yapılmıştır. Sonrasında amplifiye PZR ürünleri etidyum bromid ile boyanmış %1,5 agaroz jel'de 100 V'da 1 saat yürütülmüş ve sonrasında jel görüntüleme cihazında UV altında DNA bantlarının varlığı görüntülenmiştir.

### 3.2.6. *Hysterothylacium* Larval Morfotiplerin Filogenetik Analizleri

Her bir gen bölgesi için amplifikasyonda başarılı olan PZR ürünlerinin saflaştırılması ve iki yönlü DNA dizi analizleri hizmet alımı karşılığında Ondokuz Mayıs Üniversitesi KİTAM'da yaptırılmıştır.

İki yönlü DNA dizisi belirlenen rDNA ITS ile mtDNA *cox 2* gen bölgelerinin nükleotid baz dizilerini gösteren kromotogramların kalite skorları Geneious R11 (Kearse, et al., 2012) ve Vector NTI Advance 11.5 (Invitrogen) programları ile analiz edilmiştir. Kromotogramların kalite skorlarının belirlenmesinde Phred skoru 20'nin ( $Q \geq 20$ ) üzerinde olan nükleotid bazları dikkate alınmıştır (Ewing and Green, 1998; Ewing, et al., 1998). Her bir larval morfotipe ait olan ileri ve geri yönlü DNA dizilerin kendi aralarında birleştirmeleri Geneious R11 (Kearse, et al., 2012) ve Vector NTI Advance 11.5 (Invitrogen) programları ile yapılmış ve her bir larval morfotip için ortak bir nükleotid dizisi elde edilmiştir. Elde edilen ortak dizilerin GenBank veri tabanında BLAST analizleri (Altschul, et al., 1997) yapılarak larval morfotiplerin diğer morfotipler ile aralarındaki benzerlik yüzdeleri belirlenmiştir. Sonrasında GenBank veri tabanına daha önce kaydedilen larval morfotipler için geçerli olan ITS-1, ITS-2 ve *cox 2* nükleotid dizileri tespit edilmiş ve filogenetik analizlerde kullanılmıştır. Larval morfotiplerin ITS-1 ve ITS-2 dizileri Geneious R11 programı kullanılarak kendi aralarında birleştirilmiştir (Kearse, et al., 2012).

Araştırmada tespit edilen larval morfotipler ile daha önce GenBank'a veri tabanına kaydedilen diğer larval morfotiplerin ITS (ITS-1, ITS-2) ve *cox 2* gen bölgelerinin çoklu hizalamaları ClustalW algoritması (Thompson, et al., 1994) kullanılarak BioEdit programı ile yapılmıştır (Hall, 1999). Çoklu dizi hizalamasından belirsiz şekilde ya da oldukça farklı hizalanan nükleotidler "daha az katı seçim" seçeneği işaretlenerek Gblocks 0.91b programı kullanılarak kaldırılmıştır (Castresana, 2000).

Larval morfotiplerin ITS (ITS-1, ITS-2) ve *cox 2* gen bölgelerinin genetik uzaklıkları (p-distance) Kimura-2-Parameter modeli (tek tip oranlar ve %95'lik kısmi silme) kullanılarak MEGA X programı ile hizalanmış diziler üzerinden hesaplanmıştır (Kumar, et al., 2018). Aynı zamanda her iki gen bölgesinin filogenetik ağaçları Neighbour- Joining metodu ve Kimura-2-Parameter modeli kullanılarak 10000 tekrarlı olarak MEGA X programı ile oluşturulmuştur (Kumar, et al., 2018).

Filogenetik ağaçta iç düğümlerde ön yükleme değerleri ( $\geq 70$ ) rapor edildi (Hillis and Bull, 1993) ve dış grup olarak *Ascaris lumbricoides* kullanıldı. Bu araştırmada ITS ve *cox 2* gen bölgesi karakterize edilen *Hysterothylacium* larval morfotiplerin GenBank kayıtları yapılmış ve erişim numaraları alınmıştır.

#### 4. BULGULAR

Karadeniz'de avlanan ve ekonomik öneme sahip olan deniz balıklarından *Engraulis encrasicolus* Linnaeus, 1758 (hamsi), *Trachurus trachurus* L., 1758 (karagöz istavrit), *Mullus barbatus* L., 1758 (barbunya) ve *Merlangius merlangus* L., 1758 (mezgit) türlerine *Hysterothylacium* türlerinin üçüncü ve dördüncü dönem larvaları tespit edilmiştir. İncelenen tüm balıklarda *Hysterothylacium* larvalarının en az bir morfortipi bulunmuştur. Morfolojik olarak analiz edilen *Hysterothylacium* larvaları dört farklı morfortipte olmak üzere III, IV, VIII ve IX olarak sınıflandırıldı.

Bu larval morfortiplerin enfeksiyon parametreleri, ayrıntılı morfolojik özellikleri ve morfometrik ölçümleri ile genetik karakterizasyonu aşağıda verilmiştir.

##### 4.1. *Hysterothylacium* sp. larval tip III

**Tanımlama:** Üçüncü dönem larva (n=3). Vücut uzunluğu 10 (10–11) mm ve genişliği 178 (162–197) µm'dir. Dudaklar iyi gelişmemiştir. Diş mevcuttur. Sinir halkasının ve boşaltım deliğinin ön uca uzaklığı sırası ile 273 (265–283) ve 377 (360–390) µm'dir. Özofagus 868 (860–880) µm uzunluğunda olup vücut uzunluğunun %8,6'sıdır. Ventrikül nispeten yuvarlak ve 65 (46–89) µm uzunluğundadır. Ventriküler çıkıntı uzunluğu 909 (842–986) µm'dir. Barsak sekum uzunluğu ventriküler çıkıntıdan daha kısadır ve 71 (68–74) µm uzunluğundadır. Barsak sekum uzunluğu özofagus uzunluğunun %8,1'i, ventriküler çıkıntı uzunluğunun %7,8'idir. Kuyruk uzun, sivri, konik şekilli ve ucunda tek diken ile sonlanır. Kuyruk uzunluğu 126 (100–166) µm'dir (Şekil 4.1.).

**Konak:** *Mullus barbatus ponticus*, Essipov, 1927 (Mullidae), Barbunya balığı

**Konaktaki yerleşim yeri:** Barsak

**Lokalite:** Samsun, Türkiye'nin Karadeniz kıyıları (FAO fishing area 37.4.2)

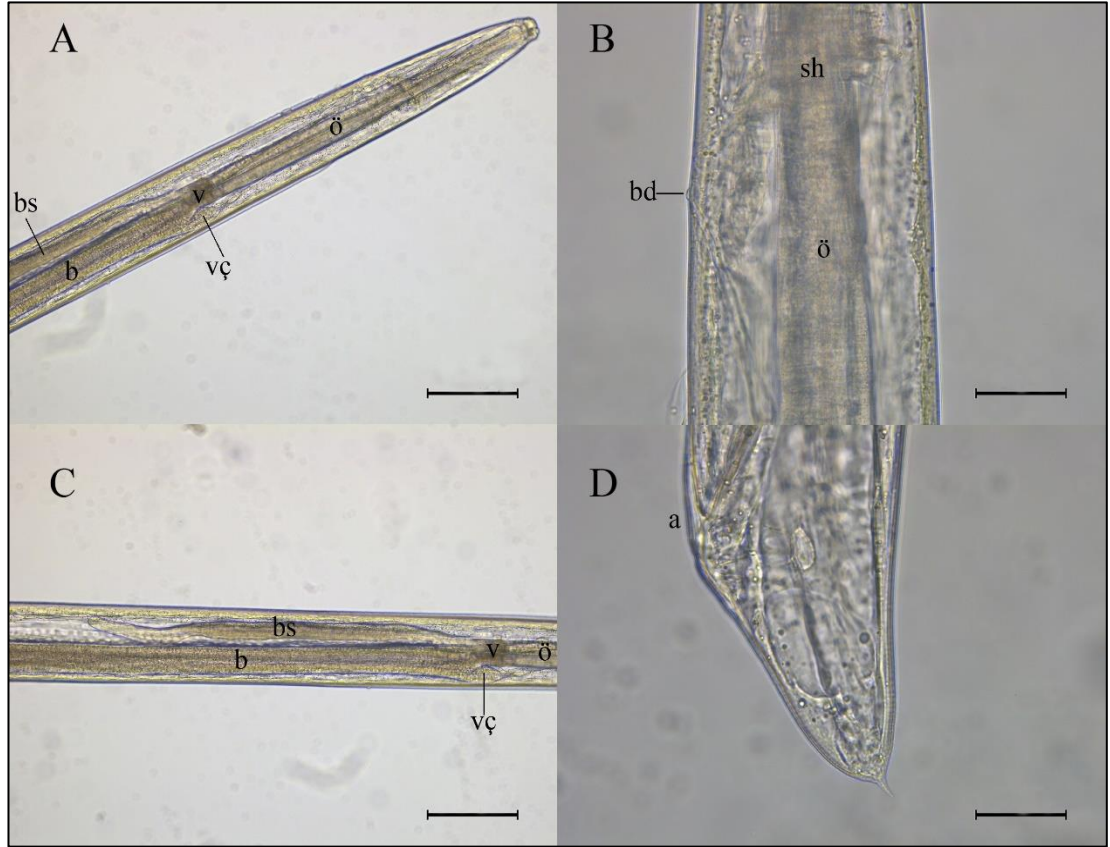
**İncelenen örnek sayısı:** *M. barbatus ponticus*'tan toplanan 3 örneğin morfometrik ölçümleri yapılmıştır

**Epidemiyolojik parametre:** Enfeksiyon oranı %10 (3/30); enfeksiyon yoğunluğu 1; toplam parazit sayısı 3

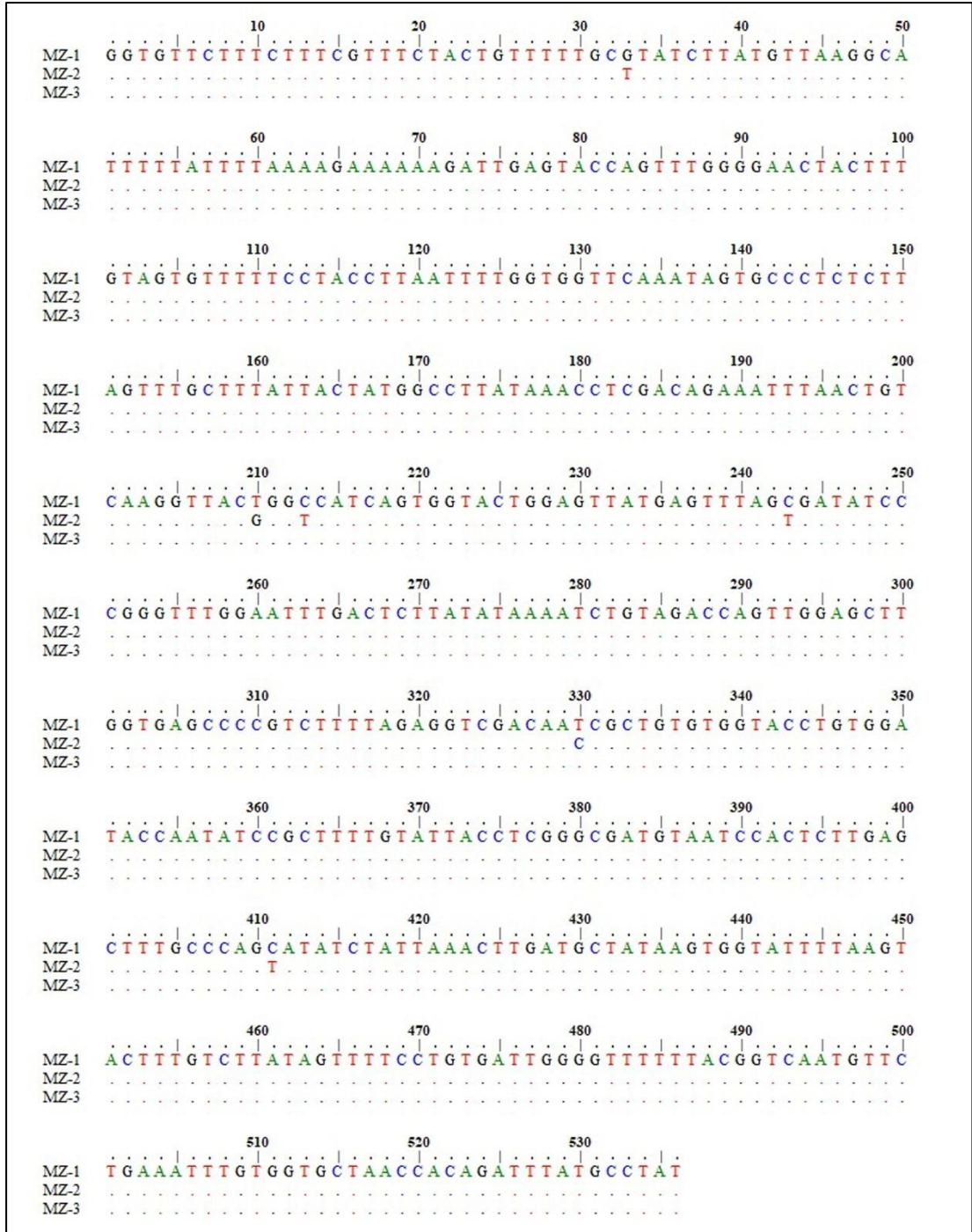
**Genetik karakterizasyon:** *Mullus barbatus ponticus*'tan izole edilen 3 larvanın (MZ-1, MZ-2, MZ-3) ITS ve *cox 2* gen bölgelerinin moleküler karakterizasyonu yapılmıştır. DNA dizi analizleri sonucunda MZ-1, MZ-2 ve MZ-3 numaralı

izolatların ITS ve *cox 2* gen bölgeleri sırası ile 900 ve 536 baz uzunluğunda olduğu tespit edilmiştir. Üç izolat (MZ-1, MZ-2, MZ-3) ITS gen bölgesi açısından birbirleri ile %100 oranında identiktir ve aralarında nükleotid farklılığı saptanmamıştır. MZ-1, MZ-2 ve MZ-3 izolatları arasında *cox 2* gen bölgesi açısından nükleotid farklılığı saptanmıştır (Şekil 4.2.). Bu izolatların *cox 2* genleri arasındaki genetik uzaklıkları (p-distance) %0,00–1,13 arasında değişmektedir (Tablo 4.1). *Hysterothylacium* sp. larval tip III izolatlarının ITS sekansları *Hysterothylacium* sp. larval tip IV ile özdeşti.

**GenBank Numaraları:** *Hysterothylacium* sp. larval tip III'ün ITS gen bölgesi için MZ-1 izolatı MZ313182 numarası ile *cox 2* gen bölgesi için MZ-1 izolatı MZ313477, MZ-2 izolatı MZ313478 ve MZ-3 izolatı MZ313479 numarası ile GenBank'a kaydedilmiştir.



Şekil 4.1. *Hysterothylacium* sp. larval tip III'ün morfolojik özellikleri. **A-** Ön parça (skala: 200 µm), **B-** Ön uç (skala: 50 µm), **C-** Özofagus-ventrikülüs-barsak birleşim yeri (skala: 200 µm), **D-** Arka uç (skala: 50 µm), **a:** anüs, **b:** barsak, **bd:** boşaltım deliği, **bs:** barsak sekumu, **ö:** özofagus, **sh:** sinir halkası, **v:** ventrikülüs, **vç:** ventriküler çıkıntı



Şekil 4.2. *Hysterothylacium* sp. larval tip III izolatlarının (MZ-1, MZ-2, MZ-3) *cox 2* genleri arasındaki nükleotid farklılıkları

#### 4.2. *Hysterothylacium* sp. larval tip IV

**Tanımlama:** Dördüncü dönem larva (n=10). Vücut uzunluğu 12 (10–15) mm ve genişliği 191 (163–223) µm'dir. Dudaklar gelişmiştir. Diş yoktur. Sinir halkasının ve boşaltım deliğinin ön uca uzaklığı sırası ile 286 (257–311) ve 349 (310–375) µm'dir. Özofagus 880 (720–1019) µm uzunluğundadır ve vücut uzunluğunun %7,3'üdür. Ventrikül nispeten yuvarlak ve 77 (50–166) µm uzunluğundadır. Ventriküler çıkıntı uzunluğu 782 (594–982) µm'dir. Barsak sekum uzunluğu ventriküler çıkıntıdan daha kısadır ve 113 (60–173) µm uzunluğundadır. Barsak sekum uzunluğu özofagus uzunluğunun %12,8'i, ventriküler çıkıntı uzunluğunun %14,4'üdür. Kuyruk uzun, sivri, konik şekilli ve ucunda çok sayıda diken kümesi ile sonlanır. Kuyruk uzunluğu 163 (105–250) µm'dir (Şekil 4.3.).

**Konak:** *Mullus barbatus ponticus*, Essipov, 1927 (Mullidae), Barbunya balığı

**Konaktaki yerleşim yeri:** Karın boşluğu ve iç organların yüzeyi

**Lokalite:** Samsun, Türkiye'nin Karadeniz kıyıları (FAO fishing area 37.4.2)

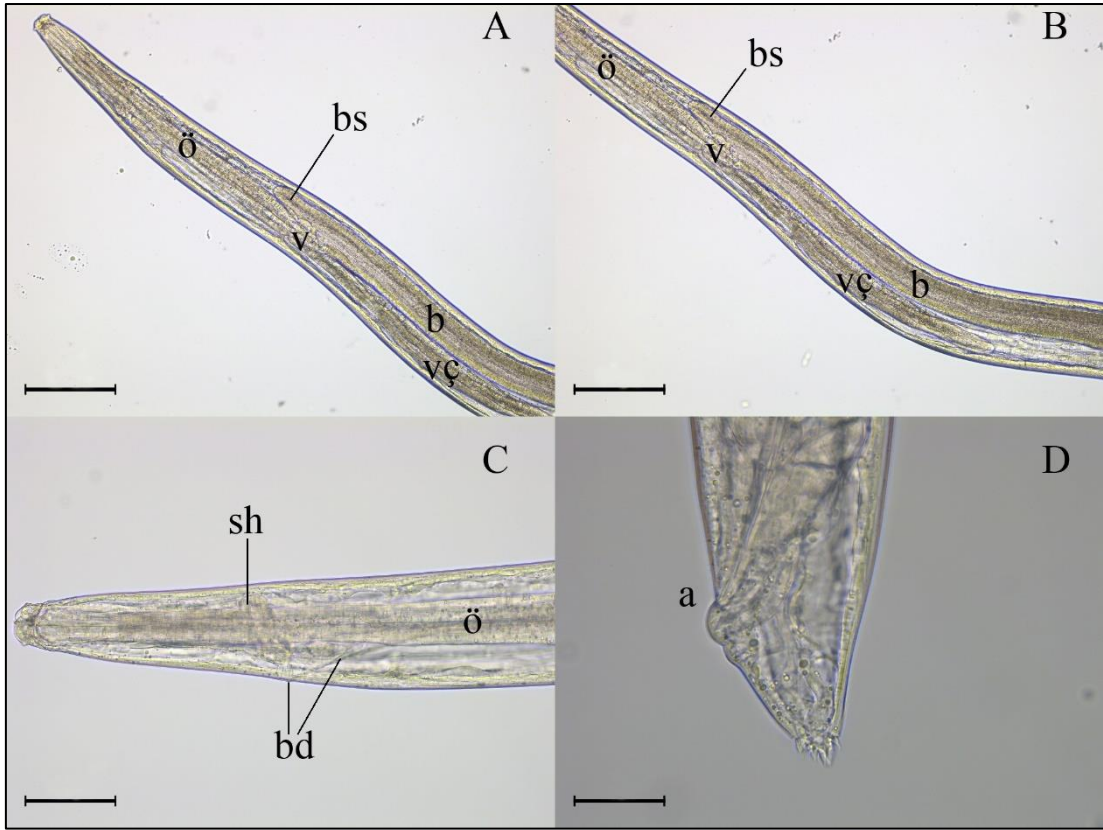
**İncelenen örnek sayısı:** *Mullus barbatus*'tan toplanan 10 örneğin morfometrik ölçümleri yapılmıştır

**Epidemiyolojik parametreler:** Enfeksiyon oranı %40 (12/30); enfeksiyon yoğunluğu 2,5; toplam parazit sayısı 30

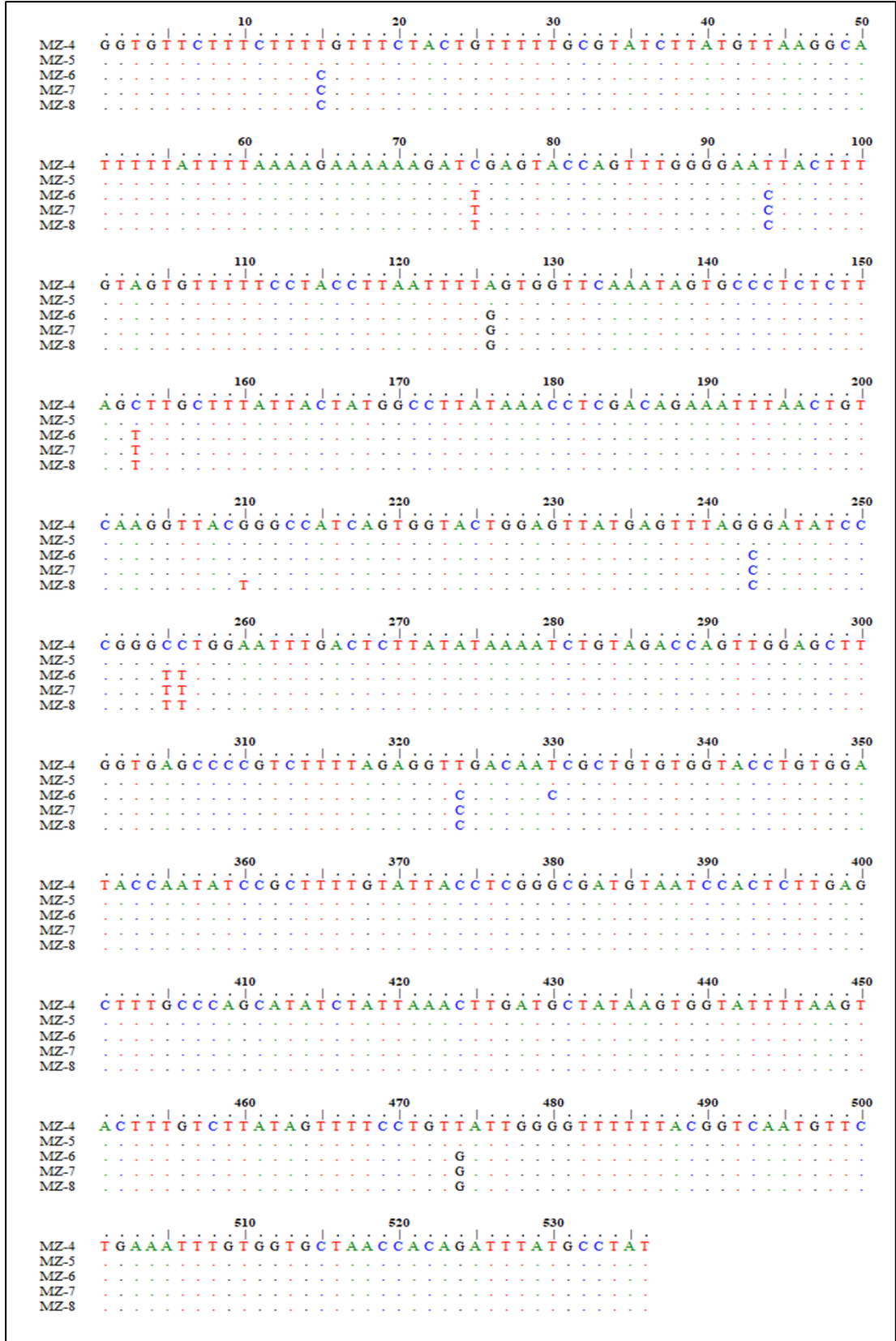
**Genetik karakterizasyon:** *Mullus barbatus ponticus*'tan izole edilen 5 larvanın (MZ-4, MZ-5, MZ-6, MZ-7, MZ-8) ITS ve *cox 2* gen bölgelerinin moleküler karakterizasyonu yapılmıştır. DNA dizi analizleri sonucunda MZ-4-MZ-8 numaralı izolatların ITS ve *cox 2* gen bölgeleri sırası ile 900 ve 536 baz uzunluğunda olduğu tespit edilmiştir. Beş izolat (MZ-4-MZ-8) ITS gen bölgesi açısından birbirleri ile %100 oranında identiktir ve aralarında nükleotid farklılığı saptanmamıştır. Bu 5 izolat arasında *cox 2* gen bölgesi açısından nükleotid farklılığı saptanmıştır (Şekil 4.4.). Bu izolatların *cox 2* genleri arasındaki genetik uzaklıkları (p-distance) %0,00–2,09 arasında değişmektedir (Tablo 4.1.). *Hysterothylacium* sp. larval tip IV izolatlarının ITS sekansları *Hysterothylacium* sp. larval tip III ile özdeşti.

**GenBank Numaraları:** *Hysterothylacium* sp. larval tip IV'ün ITS gen bölgesi için MZ-4 izolatı MZ313181 numarası ile *cox 2* gen bölgesi için MZ-4 izolatı MZ313480, MZ-5 izolatı MZ313481, MZ-6 izolatı MZ313482, MZ-7 izolatı

MZ313483 ve MZ-8 izolatı MZ313484 numarası ile GenBank'a kaydedilmiştir.



Şekil 4.3. *Hysterothylacium* sp. larval tip IV'ün morfolojik özellikleri. **A-** Ön parça (skala: 200 µm), **B-** Özofagus-ventrikülüs-barsak birleşim yeri (skala: 200 µm), **C-** Ön uç (skala: 100 µm), **D-** Arka uç (skala: 50 µm), **a:** anüs, **b:** barsak, **bd:** boşaltım deliği, **bs:** barsak sekumu, **ö:** özofagus, **sh:** sinir halkası, **v:** ventrikülüs, **vç:** ventriküler çıkıntı



Şekil 4.4. *Hysterothylacium* sp. larval tip IV izolatlarının (MZ-4-MZ-8) *cox 2* genleri arasındaki nükleotid farklılıkları

### 4.3. *Hysterothylacium* sp. larval tip VIII

**Tanımlama:** Üçüncü dönem larva (n=10). Vücut uzunluğu 11 (7–12) mm ve genişliği 214 (201–225) µm'dir. Dudaklar iyi gelişmemiştir. Diş mevcuttur. Sinir halkasının ve boşaltım deliğinin ön uca uzaklığı sırası ile 309 (289–343) ve 414 (375–445) µm'dir. Özofagus 1540 (1160–1755) µm uzunluğundadır ve vücut uzunluğunun %14'üdür. Ventrikül nispeten yuvarlak ve 106 (91–116) µm uzunluğundadır. Ventriküler çıkıntı uzunluğu 517 (412–710) µm olup özofagus uzunluğunun %33'üdür. Barsak sekum uzunluğu 558 (452–805) µm uzunluğundadır. Barsak sekum uzunluğu özofagus uzunluğunun %36'sı, ventriküler çıkıntı uzunluğunun %107'sidir. Kuyruk uzun, sivri, konik şekilli ve ucunda tek diken ile sonlanır. Kuyruk uzunluğu 142 (115–201) µm'dir (Şekil 4.5.).

**Konak:** *Engraulis encrasicolus* Linnaeus, 1758 (Engraulidae), Hamsi; *Trachurus trachurus* Linnaeus, 1758 (Carangidae), İstavrit; *Mullus barbatus ponticus*, Essipov 1927 (Mullidae), Barbunya balığı; *Merlangius merlangus* Linnaeus, 1758 (Gadidae), Mezgit

**Konaktaki yerleşim yeri:** Karın boşluğu ve iç organların yüzeyi

**Lokalite:** Samsun, Türkiye'nin Karadeniz kıyıları (FAO fishing area 37.4.2)

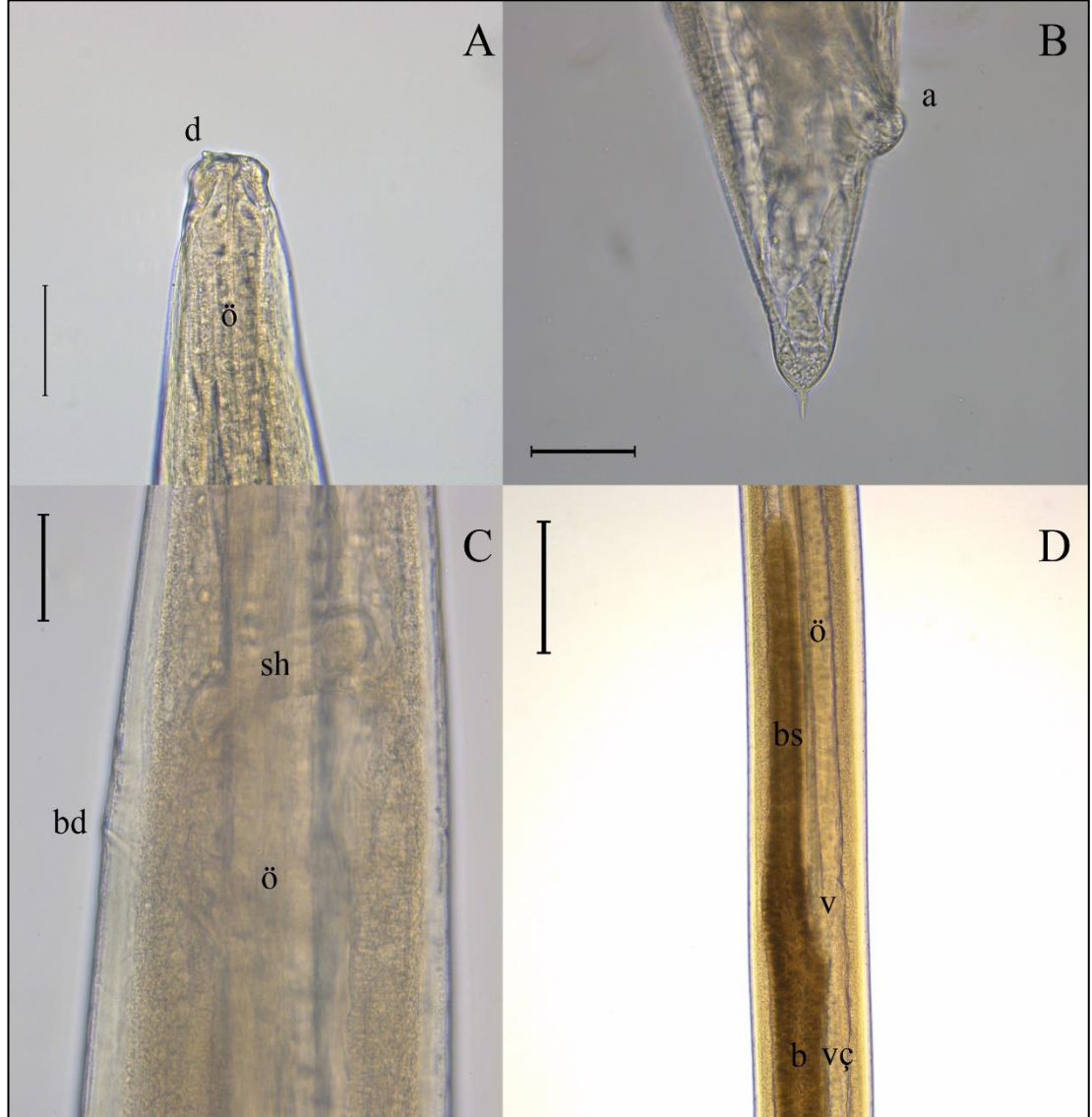
**İncelenen örnek sayısı:** *Engraulis encrasicolus* (n=5) ve *Trachurus trachurus* (n=5) türlerinden toplanan 10 örneğin morfometrik ölçümleri yapılmıştır

**Epidemiyolojik parametre:** *Engraulis encrasicolus* için enfeksiyon oranı %83 (25/30), enfeksiyon yoğunluğu 4,6 ve toplam parazit sayısı 115'tir. *Trachurus trachurus* için enfeksiyon oranı %70 (21/30), enfeksiyon yoğunluğu 2,2 ve toplam parazit sayısı 48'dir. *Mullus barbatus* için enfeksiyon oranı %16 (5/30), enfeksiyon yoğunluğu 1 ve toplam parazit sayısı 5'tir. *Merlangius merlangus* için enfeksiyon oranı %10 (3/30), enfeksiyon yoğunluğu 2 ve toplam parazit sayısı 6'tir.

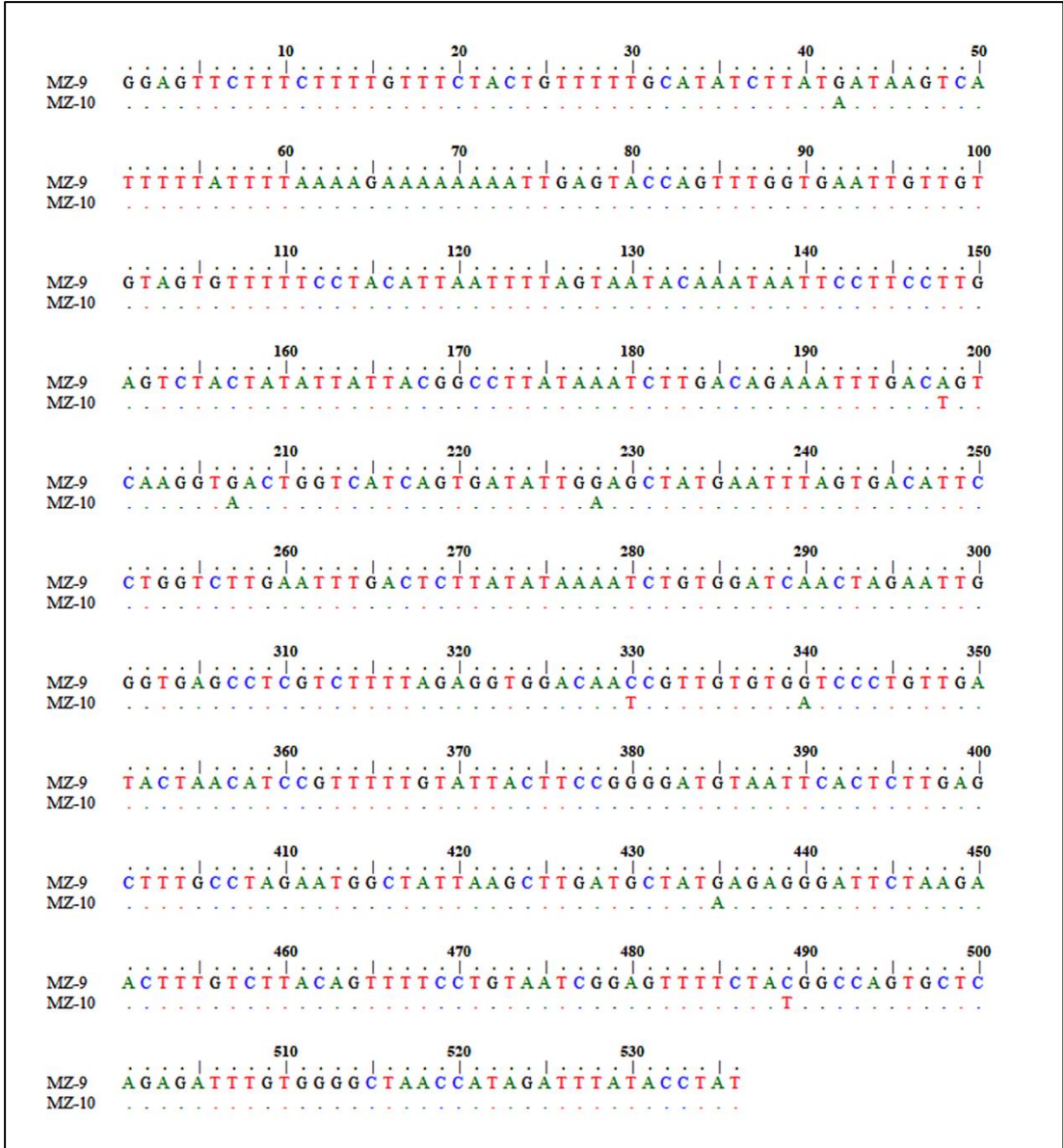
**Genetik karakterizasyon:** *Trachurus trachurus*'tan izole edilen 2 larvanın (MZ–9, MZ–10) ITS ve *cox 2* gen bölgelerinin moleküler karakterizasyonu yapılmıştır. DNA dizi analizleri sonucunda MZ–9 ve MZ–10 numaralı izolatların ITS ve *cox 2* gen bölgeleri sırası ile 900 ve 536 baz uzunluğunda olduğu tespit edilmiştir. İki izolat (MZ–9, MZ–10) ITS gen bölgesi açısından birbirleri ile %100 oranında identiktir ve aralarında nükleotid farklılığı saptanmamıştır. MZ–9 ve MZ–10 izolatları arasında *cox 2* gen bölgesi açısından nükleotid farklılığı saptanmıştır (Şekil 4.6.). Bu

izolatların *cox 2* genleri arasındaki genetik uzaklıkları (p-distance) %1,51 olarak bulunmuştur (Tablo 4.2). *Hysterothylacium* sp. larval tip VIII izolatlarının ITS sekansları *Hysterothylacium* sp. larval tip IX ile özdeşti.

**GenBank Numaraları:** *Hysterothylacium* sp. larval tip VIII'in ITS gen bölgesi için MZ-1 izolatu MZ313180 numarası ile *cox 2* gen bölgesi için MZ-9 izolatu MZ313485 ve MZ-10 izolatu MZ313486 numarası ile GenBank'a kaydedilmiştir.



Şekil 4.5. *Hysterothylacium* sp. larval tip VIII'in morfolojik özellikleri. **A-** Ön uç (skala: 50 µm), **B-** Arka uç (skala: 50 µm), **C-** Ön kısım (skala: 50 µm) **D-** Özofagus-ventrikülüs-barsak birleşim yeri (skala: 200 µm), **a:** anüs, **b:** barsak, **bd:** boşaltım deliği, **bs:** barsak sekumu, **d:** diş, **ö:** özofagus, **sh:** sinir halkası, **v:** ventrikülüs, **vç:** ventriküler çıkıntı



Şekil 4.6. *Hysterothylacium* sp. larval tip VIII izolatlarının (MZ-9, MZ-10) *cox 2* genleri arasındaki nükleotid farklılıkları

#### 4.4. *Hysterothylacium* sp. larval tip IX

**Tanımlama:** Dördüncü dönem larva (n=10). Vücut uzunluğu 15 (12–19) mm ve genişliği 265 (235–298) µm'dir. Dudaklar gelişmiştir. Diş yoktur. Lateral kanatlar dudakların hemen altından başlar ve tüm vücut boyunca daralarak devam eder. Sınır halkasının ve boşaltım deliğinin ön uca uzaklığı sırası ile 382 (310–440) ve 445 (348–498) µm'dir. Özofagus 1610 (1350–1965) µm uzunluğundadır ve vücut uzunluğunun %10'udur. Ventrikül nispeten yuvarlak ve 102 (85–140) µm uzunluğundadır. Ventriküler çıkıntı uzunluğu 700 (515–940) µm'dir. Barsak sekum uzunluğu 710 (550–910) µm'dir. Barsak sekum uzunluğu özofagus uzunluğunun %44'ü, ventriküler çıkıntı uzunluğunun %101'idir. Kuyruk uzun, sivri, konik şekilli ve ucu örten çok sayıda bir grup küçük dikenler ile kaplıdır. Kuyruk uzunluğu 185 (135–265) µm'dir (Şekil 4.7.).

**Konak:** *Merlangius merlangus* Linnaeus, 1758 (Gadidae), Mezgit; *Trachurus trachurus* Linnaeus, 1758 (Carangidae), İstavrit

**Konaktaki yerleşim yeri:** Karın boşluğu ve iç organların yüzeyi

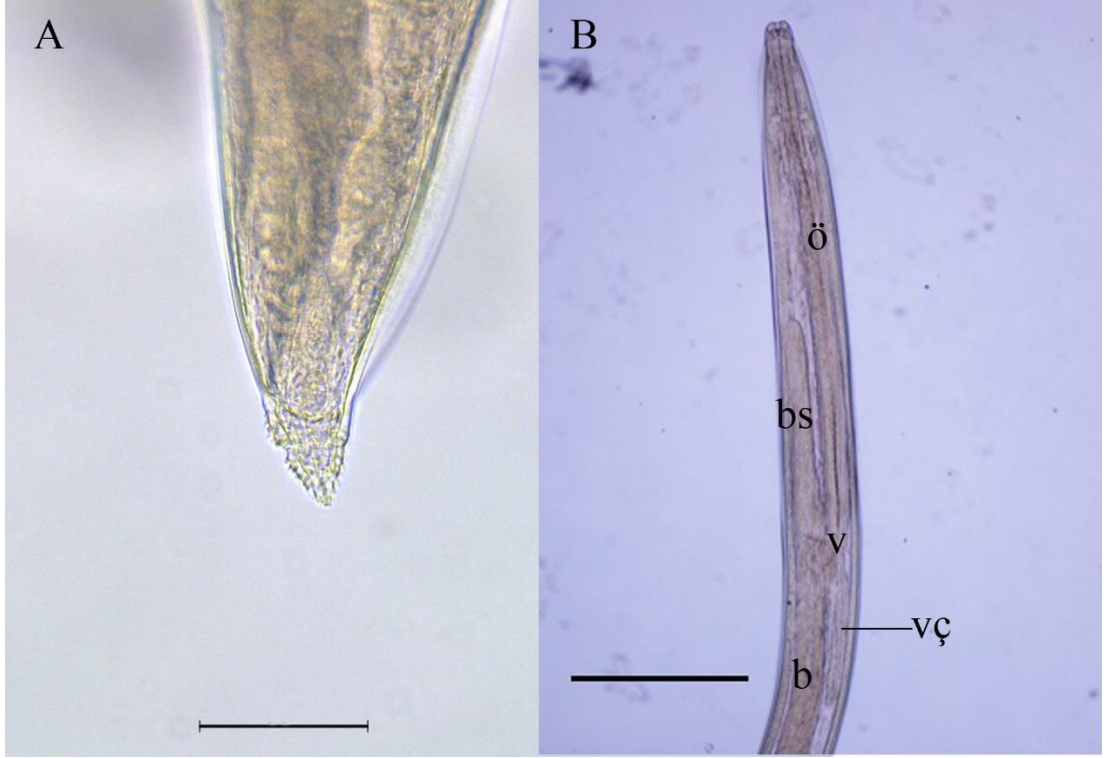
**Lokalite:** Samsun, Türkiye'nin Karadeniz kıyıları (FAO fishing area 37.4.2)

**İncelenen örnek sayısı:** *Merlangius merlangus* (n=5) ve *Trachurus trachurus* (n=5) türlerinden toplanan 10 örneğin morfometrik ölçümleri yapılmıştır

**Epidemiyolojik parametreler:** *Merlangius merlangus* için enfeksiyon oranı %60 (18/30) enfeksiyon yoğunluğu 1,2 ve toplam parazit sayısı 22'dir. *Trachurus trachurus* için enfeksiyon oranı %50 (15/30), enfeksiyon yoğunluğu 1,6 ve toplam parazit sayısı 25'tir.

**Genetik karakterizasyon:** *Merlangius merlangus*'tan izole edilen 2 larvanın (MZ-11, MZ-12) ITS ve *cox 2* gen bölgelerinin moleküler karakterizasyonu yapılmıştır. DNA dizi analizleri sonucunda MZ-11 ve MZ-12 numaralı izolatların ITS ve *cox 2* gen bölgeleri sırası ile 900 ve 536 baz uzunluğunda olduğu tespit edilmiştir. İki izolat (MZ-11, MZ-12) ITS gen bölgesi açısından birbirleri ile %100 oranında identiktir ve aralarında nükleotid farklılığı saptanmamıştır. MZ-11 ve MZ-12 izolatları arasında *cox 2* gen bölgesi açısından nükleotid farklılığı saptanmıştır (Şekil 4.8.). Bu izolatların *cox 2* genleri arasındaki genetik uzaklıkları (p-distance) %1,13 olarak bulunmuştur (Tablo 4.2.). *Hysterothylacium* sp. larval tip IX izolatlarının ITS sekansları *Hysterothylacium* sp. larval tip VIII ile özdeşti.

**GenBank Numaraları:** *Hysterothylacium* sp. larval tip XI'un ITS gen bölgesi için MZ-1 izolatu MZ313183 numarası ile *cox 2* gen bölgesi için MZ-11 izolatu MZ313487 ve MZ-12 izolatu MZ313488 numarası ile GenBank'a kaydedilmiştir.



Şekil 4.7. *Hysterothylacium* sp. larval tip IX'un morfolojik özellikleri. **A-** Arka uç (skala: 50 µm), **B-** Ön parça (skala: 500 µm), **b:** barsak, **bs:** barsak sekumu, **ö:** özofagus, **v:** ventrikülüs, **vç:** ventriküler çıkıntı



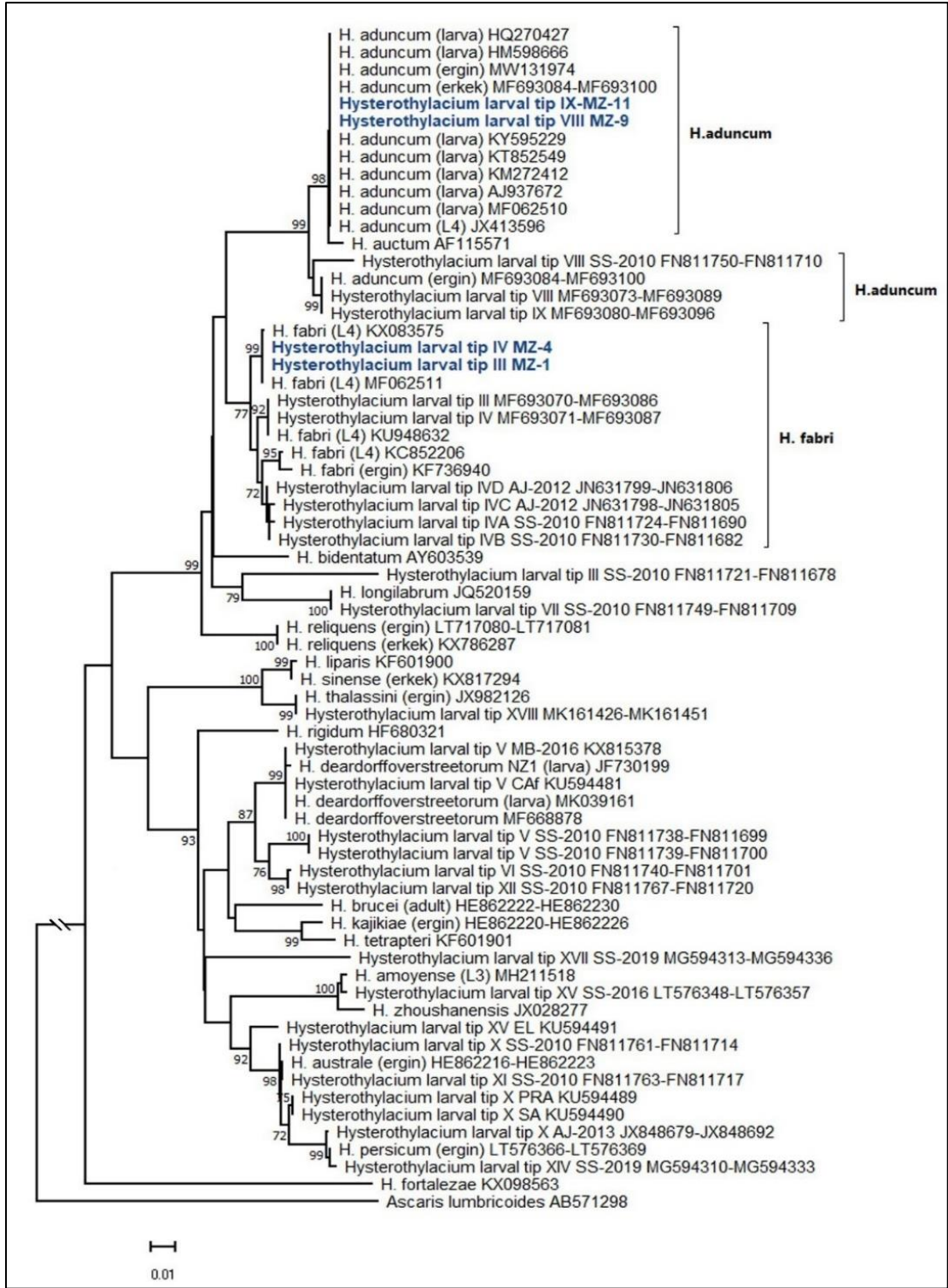
#### 4.5. Filogenetik analiz

Bu araştırmada NJ metodu kullanılarak oluşturulan ITS gen bölgesinin filogenetik ağacında *Hysterothylacium* sp. larval tip III (MZ-1) ve IV (MZ-4) izolatlarının *H. fabri*, *Hysterothylacium* sp. larval tip VIII (MZ-9) ve IX (MZ-11) izolatlarının ise *H. aduncum* türü ile kümelendiğini görülmüştür (Şekil 4.9.).

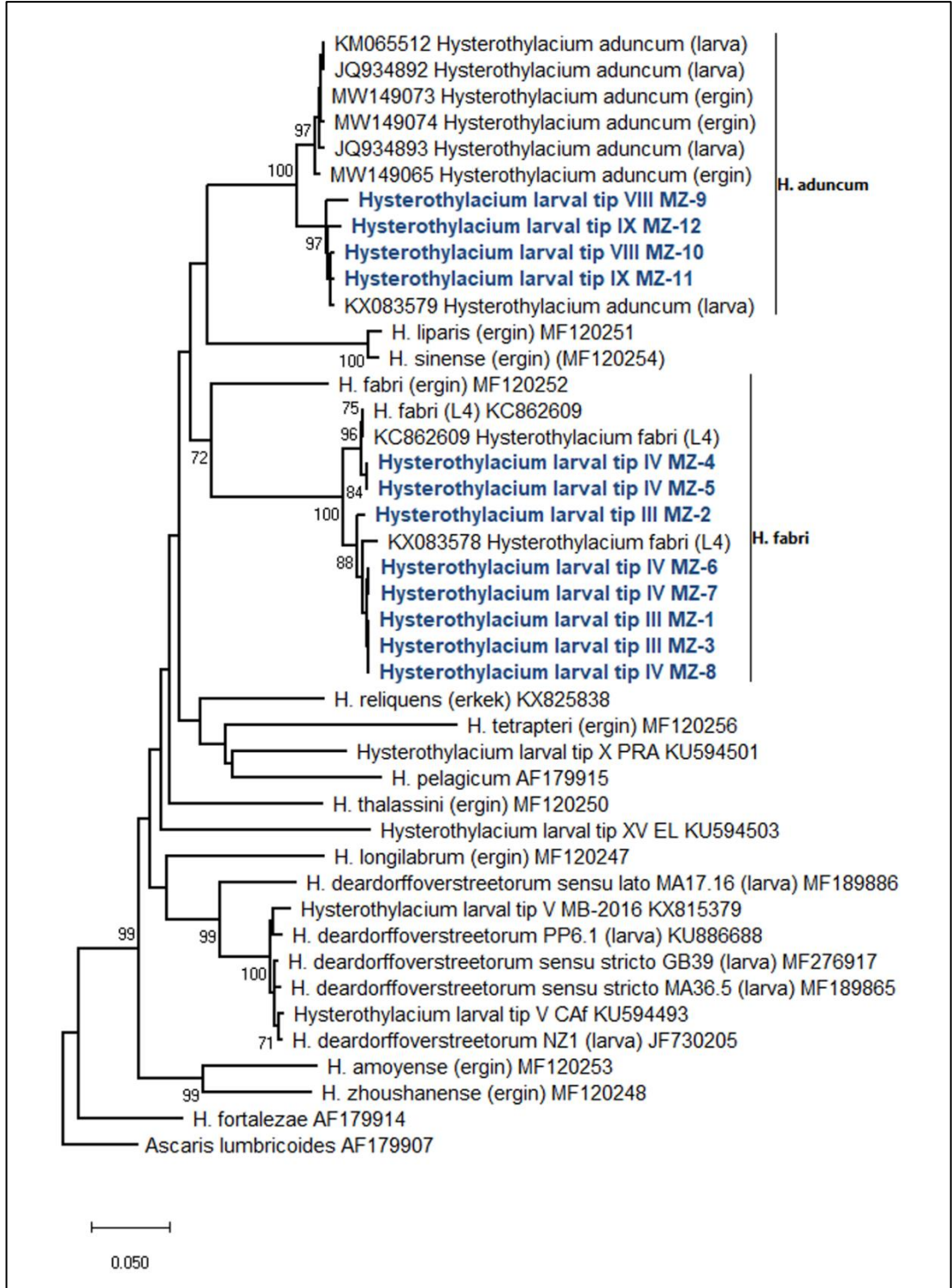
*Cox 2* gen bölgesinin NJ metodu kullanılarak oluşturulan filogenetik ağacında *Hysterothylacium* sp. larval tip III (MZ-1-MZ-3) ve IV izolatlarının (MZ-4-MZ-8) *H. fabri*, *Hysterothylacium* sp. larval tip VIII (MZ-9, MZ-10) ve IX izolatlarının (MZ-11, MZ-12) ise *H. aduncum* türü ile kümelendiğini saptanmıştır (Şekil 4.10.).

Bu araştırmada Karadeniz'den izole edilen *Hysterothylacium* sp. larval tip III (MZ-1, MZ-2, MZ-3) ve IV (MZ-4, MZ-5, MZ-6, MZ-7, MZ-8) izolatlarımızın ITS gen bölgelerinin birbirleri ile özdeş olduğu saptanmıştır (p-distance=%0,00). *Hysterothylacium* sp. larval tip III (MZ-1, MZ-2, MZ-3) ve IV (MZ-4, MZ-5, MZ-6, MZ-7, MZ-8) izolatlarımızın *cox 2* geninin kendi aralarındaki genetik uzaklıkları %0,00-2,09 arasında değiştiği görülmüştür (Tablo 4.1.).

Karadeniz'den izole edilen *Hysterothylacium* sp. larval tip VIII (MZ-9, MZ-10) ve IX (MZ-11, MZ-12) izolatlarımızın ITS gen bölgelerinin birbirleri ile özdeş olduğu saptanmıştır (p-distance=%0,00). *Hysterothylacium* sp. larval VIII (MZ-9, MZ-10) ve IX (MZ-11, MZ-12) izolatlarımızın *cox 2* geninin kendi aralarındaki genetik uzaklıkları %0,37-2,29 arasında değiştiği tespit edilmiştir (Tablo 4.2.).



Şekil 4.9. Karadeniz'den izole edilen *Hysterothylacium* larval tipleri ile diğer *Hysterothylacium* türlerinin ITS (ITS-1 ve ITS-2) gen bölgelerinin filogenetik ağacı. *Hysterothylacium* türlerinin ITS dizilerinin evrimsel süreci NJ analiz yönteminde Kimura-2-parameter modeli kullanılarak ortaya konulmuştur. *Hysterothylacium* larval morfolopleri ile erişkin türlerinin GenBank erişim numaraları takson isimlerinin yanlarında belirtilmiştir. Takson isimlerinden sonra bir veya iki GenBank erişim numarası sunulmuştur. Bir numara birleştirilmiş ITS-1 ve ITS-2 sekanslarını gösterirken, iki numara sırasıyla ITS-1 ve ITS-2 sekanslarını göstermektedir. Bu araştırmadaki izolatlar filogenetik ağaç üzerinde koyu mavi renk ile gösterilmiştir. Filogenetik ağaç 10000 tekrar ile oluşturulmuştur. Dalların önündeki rakamlar destek değerlerini göstermektedir



Şekil 4.10. Karadeniz'den izole edilen *Hysterothylacium* larval tipleri ile diğer *Hysterothylacium* türlerinin *cox 2* gen bölgelerinin filogenetik ağacı. *Hysterothylacium* türlerinin *cox 2* dizilerinin evrimsel süreci NJ analiz yönteminde Kimura-2-parameter modeli kullanılarak ortaya konulmuştur. *Hysterothylacium* larval morfoloju ile erişkin türlerinin GenBank erişim numaraları takson isimlerinin yanlarında belirtilmiştir. Bu araştırmadaki izolatlar filogenetik ağaç üzerinde koyu mavi renk ile gösterilmiştir. Filogenetik ağaç 10000 tekrar ile oluşturulmuştur. Dalların önündeki rakamlar destek değerlerini göstermektedir

Tablo 4.1. *Hysterothylacium* sp. larval tip III ve IV'ün *cox 2* geninin genetik uzaklıkları (%)

<i>Hysterothylacium</i> sp. larval tipleri	1	2	3	4	5	6	7	8
1 MZ313477 <i>Hysterothylacium</i> sp. larval tip III MZ-1	-							
2 MZ313478 <i>Hysterothylacium</i> sp. larval tip III MZ-2	1,13							
3 MZ313479 <i>Hysterothylacium</i> sp. larval tip III MZ-3	0,00	1,13						
4 MZ313480 <i>Hysterothylacium</i> sp. larval tip IV MZ-4	2,09	2,67	2,09					
5 MZ313481 <i>Hysterothylacium</i> sp. larval tip IV MZ-5	2,09	2,67	2,09	0,00				
6 MZ313482 <i>Hysterothylacium</i> sp. larval tip IV MZ-6	0,37	0,75	0,37	2,09	2,09			
7 MZ313483 <i>Hysterothylacium</i> sp. larval tip IV MZ-7	0,19	0,94	0,19	1,90	1,90	0,19		
8 MZ313484 <i>Hysterothylacium</i> sp. larval tip IV MZ-8	0,00	1,13	0,00	2,09	2,09	0,37	0,19	-

Tablo 4.2. *Hysterothylacium* sp. larval tip VIII ve IX'un *cox 2* geninin genetik uzaklıkları (%)

<i>Hysterothylacium</i> sp. larval tipleri		1	2	3	4
1	MZ313485 <i>Hysterothylacium</i> sp. larval tip VIII MZ-9	-			
2	MZ313486 <i>Hysterothylacium</i> sp. larval tip VIII MZ-10	1,51			
3	MZ313487 <i>Hysterothylacium</i> sp. larval tip XI MZ-11	1,51	0,37		
4	MZ313488 <i>Hysterothylacium</i> sp. larval tip XI MZ-12	2,29	1,13	1,13	-

## 5. TARTIŞMA

Bu araştırmada Türkiye'nin Karadeniz kıyılarında avlanan ve ekonomik önemi olan dört yenilebilir balık türü olan *Engraulis encrasicolus*, *Trachurus trachurus*, *Mullus barbatus* ve *Merlangius merlangus* türlerinde dört *Hysterothylacium* sp. larval morfortip (III, IV, VIII, IX) morfolojik olarak tanımlanmış ve bu morfortipler moleküler olarak karakterize edilmiştir.

Araştırmada tanımlanan bu dört morfortip daha önce Avusturalya kıyılarında avlanan deniz balıklarında ilk kez tanımlanan *Hysterothylacium* III, IV, VIII ve IX morfortipleri ile benzer morfolojik özelliklere sahipti (Cannon, 1977; Shamsi, et al., 2013). *Hysterothylacium* larvalarının morfortipleri ilk kez Cannon, (1977) tarafından tanımlanmış ve sınıflandırılmıştır. Bu sınıflandırma ile Avustralya kıyılarından avlanan deniz balıklarından *Amentum devisi*, *Saurida undosquamis*, *Paraplotosus albilabris*, *Mylio australia*, *Gerris ovatus*, *Polynemus sheridani*, *Platycephalus indicus*, *Synaptura orientalis*, *Cynoglossus bilineatus*, *Triacanthus biaculeatus*, *Sphaeroides hamiltoni*, *Tragulichthys jaculiferus*, *Plectorhynchus chrysotaenia*, *Choerodon venustus*, *Nemipterus aurifilum*, *Sciaena dussumieri*, *Parastromateus niger*, *Parapercis nebulosus*, *Pseudorhombus arsius*, *Scoliodon jordani*, *Lutjanus amabilis*, *Nemipterus aurifilum*, *Johnius australis*, *Sciuea dussumieri*, *Pranesus ogilbyi* ve *Pseudorhombus arsius* türlerinde *Hysterothylacium* larvaları için sırası ile I, II, III ve IV numaralı morfortipler ilk kez tanımlanmıştır (Cannon, 1977). Sonrasında yine Avustralya kıyılarından avlanan deniz balıklarından *Lutjanus carponatus*, *Chaetodon* spp., *Heniochus monoceros*, *Caesio cuning*, *Sphyraena novaehollandiae*, *Seriola lalandi* ve *Lutjanus carponatus* türlerinde *Hysterothylacium* V, VI, VII ve IX, X, XI, XII (Shamsi, et al., 2013), *Neoplatycephalus richardsoni* ve *Sardinops sagax* türlerinde VIII (Shamsi, et al., 2011), *Abalistes stellatus* türünde XIII ile *Herklosichthys quadrimaculatus*, *Rastrelliger kanagurta* ve *Trichiurus lepturus* türlerinde XIV numaralı morfortipler tanımlanmıştır (Shamsi, et al., 2015). Basra körfezinde avlanan *Otolithes ruber*, *Psettodes erumei*, *Saurida tumbil* ve *Scomberomorus commerson* türlerinde *Hysterothylacium* XV morfortipi tanımlanmıştır (Shamsi, et al., 2016). *Hysterothylacium* XVI morfortipinin tanımlanması yine Basra körfezinde avlanan *Epinephelus areolatus*, *Pseudorhombus arsius* ve *Saurida undosquamis* balık türlerinde yapılmıştır (Ghadam, et al., 2018). Son yıllarda Avustralya kıyılarında yakalanan *Rhabdosargus sarba* ve *Tripodichthys*

*angustifrons* türlerinde *Hysterothylacium* XVII morfortipi (Shamsi, et al., 2018) ile *Engraulis australis* türünde *Hysterothylacium* XVIII morfortipinin tanımlanması yapılmıştır (Hossen and Shamsi, 2019). Günümüze kadar yapılan araştırmalarda *Hysterothylacium* larva formları için 18 morfortip önerilmiştir. Son zamanlarda yapılan bazı çalışmalarda *Hysterothylacium* morfortiplerinin taksonomik olarak yeniden sınıflandırılması yapılmış ve yeni bir morfolojik anahtar oluşturulmuştur (Pantoja, et al., 2016). Deniz balıklarını enfekte eden *Hysterothylacium* larvalarının 18 morfortipik sınıflandırılması haricinde *Hysterothylacium* türlerin sadece üçüncü ya da dördüncü evre larvalarının morfolojik identifikasyonları yapılmıştır (Petter and Maillard, 1988; Moravec, 1994; Valero, et al., 2006; Pekmezci, vd., 2013; 2014; Costa, et al., 2018; Tedesco, et al., 2018; Agostinho, et al., 2020; Bao, et al., 2021). Akdeniz ve Karadeniz'den avlanan farklı türdeki deniz balıklarında *Hysterothylacium aduncum*, *H. arnoglossi*, *H. bifidalatum*, *H. fabri*, *H. reliquens*, *H. rigidum*, *H. incurvum* ve *Hysterothylacium* sp. türlerinin hem erişkin hem de larva aşamaları ile *Hysterothylacium* larval V morfortipi morfolojik olarak identifiye edilmiştir (Petter and Maillard, 1987; 1988; Martín-Sánchez, et al., 2003; Valero, et al., 2006; Klimpel, et al., 2008; MacKenzie, et al., 2008; Rello, et al., 2008; 2009; Kalay, vd., 2009; Gutiérrez-Galindo, et al., 2010; Amor, et al., 2011; Angelucci, et al., 2011; Vardić Smrzlić, et al., 2012; Serracca, et al., 2013; Pekmezci, vd., 2013; 2014; Keskin, vd., 2015; Azizi, et al., 2017; Gazzonis, et al., 2017; Barcala, et al., 2018; Costa, et al., 2018; Roca-Geronès, et al., 2018; 2020; Şimşek, vd., 2018; Tedesco, et al., 2018; Khammassi, et al., 2020). Bu tez araştırmasında yapılan morfolojik incelemeler sonucunda *Hysterothylacium* morfortip III ve IV ile VIII ve IX'un sırası ile *H. fabri* ve *H. aduncum* türlerinin üçüncü ve dördüncü dönem larva aşamaları olduğu tespit edilmiştir.

Bu çalışmada *Hysterothylacium fabri* türü morfolojik olarak Karadeniz'den incelenen dört balık türünden sadece *Mullus barbatus ponticus*'ta *Hysterothylacium* larval morfortip III (üçüncü dönem larva) ve IV (dördüncü dönem larva) olarak tespit edildi. *Hysterothylacium fabri*'nin larvaları daha önce Karadeniz'de avlanan *Alosa immaculata*, *Chelidonichtys lucerna*, *Diplodus annularis*, *Gaidropsarus mediterraneus*, *Gobius niger*, *Mesogobius batrachocephalus*, *Mu. barbatus ponticus*, *Parablennius sanguinolentus*, *Pomatomus saltatrix*, *Raja clavata*, *Ophidion rochei*, *Scorpaena porcus*, *Serranus scriba*, *Spicara smaris*, *Symphodus roissali*, *Sy. cinereus*,

*Sy. tinca*, *Trachinus draco*, *Trachurus trachurus* ve *Uranoscopus scaber* türlerinde morfolojik olarak rapor edilmiştir (Öztürk ve Yeşil, 2018; Köksal, 2019). Ayrıca Ege Kıyılarında avlanan *Al. fallax*, *Boops boops*, *Coris julis*, *D. annularis*, *Mu. surmuletus*, *Oblado melanur*, *Pagellus acarne*, *P. erythrinus*, *Phycis phycis*, *T. mediterraneus*, *Tr. draco*, *Squalus blainvillei*, *Spoondyllosoma cantharus* türlerinde *H. fabri* türü *Contracecum fabri* olarak rapor edilmiştir (Akmırza, 2000a; b; 2013).

Bu araştırmada *Hysterothylacium aduncum* türü Karadeniz'den incelenen *Engraulis encrasicolus*, *Trachurus trachurus*, *M. barbatus ponticus* ve *Merlangius merlangus* türlerinde morfolojik olarak *Hysterothylacium* larval morfortip VIII (üçüncü dönem larva) ve IX (dördüncü dönem larva) olarak tespit edildi. Karadeniz'de avlanan *Alosa immaculata*, *Al. fallax nilotica*, *Arnoglossus laterna*, *Belone belone*, *Caspialosa* sp., *Chelidonichthys lucerna*, *E. encrasicolus*, *Gaidropsarus mediterraneus*, *Gobius cruentatus*, *Go. niger*, *Me. merlangus euxinus*, *Mu. barbatus ponticus*, *Mesogobius batrachocephalus*, *Neogobius melanostomus*, *Ophidion rochei*, *Parablennius sanguinolentus*, *Pomatomus saltatrix*, *Raja clavata*, *Sarda sarda*, *Sciaena umbra*, *Scorpaena porcus*, *Solea solea*, *Sprattus sprattus*, *Spicara smaris*, *Symphodus tinca*, *Sy. cinereus*, *Serranus scriba*, *T. mediterraneus*, *T. trachurus*, *Trachinus draco* ve *Uranoscopus scaber* türlerinde üçüncü ve dördüncü dönem *H. aduncum* larvaları ile ergin parazitler morfolojik olarak tespit edilmiştir (Doğanay, 1994; Ismen ve Bingel, 1999; Özer, 2007; Tepe ve Oğuz, 2013; Özer ve Olguner, 2013; Özer, vd., 2016; Dobrucalı, 2017; Öztürk ve Yeşil, 2018; Köksal, 2019). Türkiye'nin Mersin kıyılarında avlanan *Sparus aurata* ve *Diplodus vulgaris* türlerinde *H. aduncum*'un varlığı rapor edilmiştir (Kalay, vd., 2009). Ülkemizin Çanakkale kıyılarında avlanan *Trachurus trachurus*, *Solea solea*, *Sparus aurata*, *Pomatomus saltatrix*, *Liza saliens* ve *Engraulis encrasicolus* türlerinde *H. aduncum* tespit edilmiştir (Keser, vd., 2007).

Ülkemiz karasularında avlanan deniz balıklarının enfekte eden *Hysterothylacium* cinsinin moleküler verileri azdır. Günümüze kadar karasularımızda avlanan farklı türdeki deniz balıklarının enfekte eden *H. aduncum*, *H. fabri* ve *H. reliquens* türlerinin moleküler karakterizasyonları yapılmıştır (Pekmezci, vd., 2013; 2014; Keskin, vd., 2015; Şimşek, vd., 2018; 2021). Karadeniz'den avlanan *Merlangius merlangus* ve *Trachurus trachurus* türlerini enfekte eden *H. aduncum*'un dördüncü dönem larvalarının rDNA ITS (ITS1–5.8S–ITS2) gen bölgesi ilk kez Pekmezci, vd., (2013) tarafından karakterize edilmiştir. Bu tez çalışması ile Karadeniz'den *M. merlangus* ve

*T. trachurus* türlerinden izole edilen *Hysterothylacium* morfortip VIII ve IX'un ilk kez mtDNA *cox 2* gen bölgesi moleküler olarak karakterize edilmiştir. Ülkemizin Ege Denizi kıyılarında avlanan *Zeus faber* türünden izole edilen dördüncü dönem *H. fabri* larvalarının rDNA ITS ve mtDNA *cox 2* gen bölgelerinin moleküler karakterizasyonları ilk kez Pekmezci, vd., (2014) tarafından ortaya konulmuştur. Akdeniz'in Mersin kıyılarından avlanan *Sparus aurata*, *Diplodus vulgaris* ve *Solea solea* türlerini enfekte eden dördüncü dönem *H. aduncum* larvalarının ilk kez mtDNA *cox1* gen bölgesi karakterize edilmiştir (Keskin, vd., 2015). Sonrasında ülkemizin Ege Denizi kıyılarında avlanan *Boops boops*'tan izole edilen *H. aduncum*, *H. fabri* ve *H. reliquens* türlerinin rDNA ITS gen bölgesi ilk kez moleküler olarak karakterize edilmiştir (Şimşek, vd. 2018). Bu tez çalışması ile Karadeniz'den avlanan *M. barbatus ponticus* türünü enfekte eden üçüncü (morfortip III) ve dördüncü (morfortip IV) dönem *H. fabri* larvalarının ilk kez rDNA ITS ve mtDNA *cox 2* gen bölgeleri moleküler olarak karakterize edilmiştir.

Kemikli balıkları enfekte eden ascaridoid nematodlardan *Anisakis*, *Contraceacum* ve *Hysterothylacium* cinslerinde yer alan türlerin larva aşamalarının morfolojik olarak doğru tanımlanması zordur. Günümüzde nükleer ribozomal ve mitokondriyal DNA'nın ITS bölgesi ile *cox 2* gen bölgelerinin DNA dizi analizlerini içeren moleküler tekniklerin balıkları enfekte eden ascaridoid nematodların larva ve erişkin dönemlerini özellikle tür düzeyinde doğru identifikasyonları için etkili olduğu kanıtlanmıştır (Zhu, et al., 1998; Kellermanns, et al., 2007; Klimpel, et al., 2007; Amor, et al., 2011; Pekmezci, vd., 2013; 2014; Roca-Geronès, et al., 2018; 2020; Şimşek, vd., 2018; 2021; Tedesco, et al., 2018; Pekmezci ve Yardımcı, 2019; Khammassi, et al., 2020). Bu çalışmada Karadeniz'de avlanan *Merlangius merlangus* ve *Trachurus trachurus* balık türlerinde tanımlanan *Hysterothylacium* larval morfortip VIII ve IX'un rDNA ITS gen bölgelerinin daha önce Pekmezci vd., (2013) tarafından Karadeniz'den izole edilen *H. aduncum* dördüncü dönem larvaların rDNA ITS gen bölgesi (GenBank erişim numarası: JX413596–JX413597) ile %100 oranında eşleştiği tespit edilmiştir (p-distance=0,00). Ayrıca bu çalışmadaki *Hysterothylacium* larval morfortip VIII ve IX'un ITS gen bölgelerinin Ege Denizi'nin Türkiye kıyıları (MF062510), Grönland (KT852549), Norveç kıyıları (KM272412), Baltık Denizi (AJ937672), Kuzey Denizi (HM598666), Adriyatik Denizi (KY595228–KY595229; JQ934879–JQ934883) ve Barent Denizi'nden (MW131974–MW131976)

izole edilen *H. aduncum* türünün ITS gen bölgesi ile %100 oranında eşleşmiştir (Kellermanns, et al., 2007; Zhu, et al., 2007; Vardić Smrzlić, et al., 2012; Klapper, et al., 2015; 2016; Cipriani, et al., 2018; Şimşek, vd., 2018; Bao, et al., 2021). Karadeniz'den *H. aduncum* ITS dizileri ile Baltık Denizi, Kuzey Denizi, Akdeniz ve Adriyatik Denizi'nden yayınlanan *H. aduncum*'un ITS verileri arasındaki %100 oranındaki genetik eşleşme bu türün geniş bir coğrafik dağılıma sahip olması, düşük konak özgünlüğü ile ara ve kesin konak popülasyonlarının fazla olması ile açıklanabilir (Pekmezci, vd., 2013).

Bu çalışmada *Hysterothylacium* larval morfortip VIII'e ait iki izolatanın (MZ-9 ve MZ-10) *cox 2* gen bölgelerinin BLAST analizleri sonrasında Akdeniz'in Sicilya kıyıları (KX083579), Adriyatik Denizi (JQ934891–JQ934893) ile Barent Denizi'nde (MW149060–MW149074) avlanan deniz balıklarından izole edilen *H. aduncum* türünün *cox 2* gen bölgesi ile %94,5–99,6 oranında benzerlik saptanmıştır (Vardić Smrzlić, et al., 2012; Costa, et al., 2018; Bao, et al., 2021). Ayrıca *Hysterothylacium* larval morfortip IX'un MZ-11 ve MZ-12 izolatlarının *cox 2* gen bölgelerinin Akdeniz'in Sicilya kıyıları (KX083579), Adriyatik Denizi (JQ934891–JQ934893) ile Barent Denizi'nden (MW149060–MW149074) izole edilen *H. aduncum* türünün *cox 2* gen bölgesi ile aralarında %94,7–99,6 oranında benzerlik bulunmuştur (Vardić Smrzlić, et al., 2012; Costa, et al., 2018; Bao, et al., 2021).

Bu tez çalışmasında Karadeniz'de avlanan *Mullus barbatus ponticus* türünde tanımlanan *Hysterothylacium* larval morfortip III ve IV'ün rDNA ITS gen bölgelerinin Ege Denizi (MF062511), İyon Denizi (KU948632–KU948636) ve Akdeniz'in Sicilya kıyılarından (KX083575) izole edilen *H. fabri* türünün ITS gen bölgesi ile %100 oranında eşleşmiştir (Şimşek, vd., 2018; Costa, et al., 2018; Tedesco, et al., 2018). Ayrıca ülkemiz karasularında Pekmezci, vd., (2014) tarafından Ege Denizinde avlanan *Zeus faber*'den izole edilen *H. fabri* ile bu çalışmada Karadeniz'den izole edilen *H. fabri*'nin üçüncü ve dördüncü dönem larvaların rDNA ITS gen bölgeleri arasında %98,89 oranında benzerlik tespit edilmiştir. Ülkemiz karasularından daha önce Ege Denizi'nden ve bu çalışmada Karadeniz'den izole edilen dördüncü dönem *H. fabri* larvalarının ITS gen bölgesi açısından aralarında %1,00 oranında genetik farklılık tespit edilmiştir. Bu ITS gen bölgeleri arasındaki genetik farklılığın Martín-Sánchez, et al., (2003) tarafından daha önce belirtildiği üzere *H. fabri*'nin en az 3 kardeş tür (sibling species=morfolojik olarak benzer, genetik olarak farklı türler)

içermesi nedeni ile ortaya çıktığı düşünülmektedir.

Karadeniz’de avlanan *Mullus barbatus ponticus* türünde tanımlanan *Hysterothylacium* larval morfolotip III izolatlarımızın (MZ-1-MZ-3) mtDNA *cox 2* geni Akdeniz’in Sicilya kıyıları (KX083578) ve Ege Denizi’nden (KC862609) izole edilen *H. fabri* türünün dördüncü dönem larvalarının mtDNA *cox 2* gen bölgeleri arasında %97,01–98,68 oranında benzerlik bulunmuştur (Pekmezci, vd., 2014; Costa, et al., 2018). Ayrıca *Hysterothylacium* larval morfolotip IV izolatlarımızın (MZ-4-MZ-8) mtDNA *cox 2* gen bölgesi ile Akdeniz’in Sicilya kıyıları (KX083578) ve Ege Denizi’nden (KC862609) izole edilen *H. fabri* türünün dördüncü dönem larvalarının mtDNA *cox 2* gen bölgesi arasında %97,35–99,63 oranında benzerlik saptanmıştır (Pekmezci, vd., 2014; Costa, et al., 2018).

Bu araştırmada Karadeniz’den izole edilen *Hysterothylacium* larval morfolotip III ve IV izolatlarımızın rDNA ITS gen bölgelerinin kendi aralarında intraspesifik nükleotid değişkenliği yokken (p-distance=%0,00), bu izolatlarımızın mtDNA *cox 2* geninin kendi aralarındaki genetik uzaklıkları (p-distance) %0,00–2,09 arasında değiştiği saptanmıştır. İyon Denizinden izole edilen dördüncü dönem *H. fabri* larvalarının ITS gen bölgeleri arasında nükleotid farklılığı saptanmamıştır (Tedesco, et al., 2018). Brezilya kıyılarından izole edilen sekiz *Hysterothylacium* larval morfolotip V izolatlarının ITS gen bölgeleri arasında intraspesifik nükleotid farklılığı saptanmazken, bu izolatların *cox 2* genindeki genetik heterojenliğe dayalı 6 farklı genotipe (Va–Vf) sahip olduğunu bulunmuştur (Pantoja, et al., 2016). Akdeniz’in Sicilya kıyılarından izole edilen dördüncü dönem *H. fabri* larvalarının ITS ve *cox 2* genleri arasında intraspesifik nükleotid farklılıkları belirlenmiştir (Costa, et al., 2018). Bununla birlikte Akdeniz’in Tunus kıyılarından izole edilen *Hysterothylacium* larval morfolotip V’in farklı izolatlarının ITS ve *cox 2* gen bölgeleri arasında intraspesifik nükleotid farklılığı saptanmamıştır (p-distance=%0,00) (Khammassi, et al., 2020). Bu araştırmada özellikle *Hysterothylacium* larval morfolotip III ve IV’ün *cox 2* dizileri arasında tür içi nükleotid varyasyonu olduğu anlaşılmıştır ve bu varyasyonlar aynı zamanda *Hysterothylacium* genusunda ITS bölgesine kıyasla *cox 2* geninin yüksek değişkenliğini doğrulamıştır.

## 6. SONUÇ

Bu tez çalışması ile Karadeniz'den izole edilen *Hysterothylacium* larval tip III ve IV morfotiplerinin rDNA ITS ve mtDNA *cox 2* gen bölgeleri ile *Hysterothylacium* larval tip VIII ve IX morfotiplerinin mtDNA *cox 2* gen bölgeleri ilk kez moleküler olarak karakterize edilmiştir. Burada elde edilen ITS ve *cox 2* verileri Karadeniz ile dünyanın farklı su kaynaklarındaki *Hysterothylacium* türlerinin filogenetik ilişkilerini ortaya çıkartmak için kullanılabilir.

Ülkemiz karasularında avlanan deniz balıklarının enfekte eden *Hysterothylacium* cinsiyle ilgili yapılan araştırmalar bu cinsin larvaları ile yetişkinleri arasındaki ilişkilerin açığa çıkmasına yardımcı olmaktadır. Gelecekte yapılacak araştırmalar ile *Hysterothylacium* larval morfotipleri haricinde *Hysterothylacium* yetişkinleri için de mümkün olduğunca fazla morfolojik ve moleküler verilerin sağlanması gerekmektedir. Bu nedenle ülkemiz karasularında avlanan deniz balıklarının enfekte eden *Hysterothylacium* larval morfotipleri ile yetişkinlerin genetik yapısını incelemek için aynı genetik belirteçleri kullanan daha fazla sayıda araştırma yapılması gerekmektedir.

## KAYNAKLAR

- Agostinho, B.N., do Valle Fragoso, L., Serrano, T.D., Vieira, D.H.M.D., Vera, M., Porto-Foresti, F., de Alzevedo, R.K., Abdallah, V.D. (2020). First record of *Hysterothylacium fabri* (Rudolphi 1819) Deardorff and Overstreet 1980 from *Scomber Colias* of the South Atlantic waters. *Parasitology Research*. 119(6). 1981-1988.
- Akmirza, A. (2000a). Metazoan parasites of red mullet (*Mullus surmuletus* L.) caught near Gökçeada. *İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*. 26(1). 129-140.
- Akmirza, A. (2000b). Seasonal distribution of parasites detected in fish belonging to the Sparidae family found near Gökçeada. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*. 24(4). 435-441.
- Akmirza, A. (2013). Gökçeada kıyı sularındaki balıkların parazitik nematodları. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*. 37. 199-202.
- Altschul, S.F., Madden, T.L., Schäffer, A.A., Zhang, J., Zhang, Z., Miller, W., Lipman, D.J. (1997). Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. *Nucleic Acids Research*. 25(17). 3389-3402.
- Amor, N., Farjallah, S., Merella, P., Said, K., Slimane, B.B. (2011). Molecular characterization of *Hysterothylacium aduncum* (Nematoda: Raphidascaridae) from different fish caught off the Tunisian coast based on nuclear ribosomal DNA sequences. *Parasitology Research*. 109(5). 1429-1437.
- Anderson, R.C. (2000). *Nematode Parasites of Vertebrates. Their Development and Transmission*. CABI Publishing, Wallingford.
- Andres, M.J., Peterson, M. S., Overstreet, R.M. (2016). Endohelminth parasites of some midwater and benthopelagic stomiiform fishes from the northern Gulf of Mexico. *Gulf and Caribbean Research*. 27(1). 11-19.
- Angelucci, G., Meloni, M., Merella, P., Sardu, F., Madeddu, S., Marrosu, R., Petza, F., Salati, F. (2011). Prevalence of *Anisakis* spp. and *Hysterothylacium* spp. larvae in teleosts and cephalopods sampled from waters off Sardinia. *Journal of Food Protection*. 74(10). 1769-1775.
- Azizi, R., Yemmen, C., Bahri, S. (2017). Metazoan parasites of trachinid fishes (Teleostei: Trachinidae) from Tunisian coasts (Mediterranean Sea). *Acta Adriatica: International Journal of Marine Sciences*. 58(2). 209-224.
- Bao, M., Cipriani, P., Giulietti, L., Drivenes, N., Levsen, A. (2021). Quality issues related to the presence of the fish parasitic nematode *Hysterothylacium aduncum* in export shipments of fresh Northeast Arctic cod (*Gadus morhua*). *Food Control*. 121. 107724.
- Barcala, E., Ramilo, A., Ortega, N., Picó, G., Abollo, E., Pascual, S., Muñoz, P. (2018). Occurrence of *Anisakis* and *Hysterothylacium* larvae in commercial fish from Balearic Sea (Western Mediterranean Sea). *Parasitology Research*. 117(12). 4003-4012.
- Berland, B. (1961). Nematodes from some Norwegian marine fishes. *Sarsia*. 2(1), 1-50.
- Bezerra, T.N., Eisendle-Flöckner, U., Hodda, M., Holovachov, O., Leduc, D., Mokievsky, V., Peña Santiago, R., Sharma, J., Smol, N., Tchesunov, A., Venekey, V., Zhao, Z., Vanreusel, A. (2021). Nemys: World Database of Nematodes. *Hysterothylacium* Ward & Magath, 1917. World Register of Marine Species at: <http://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=19962> on 2021-05-15.

- Bruce, N.L., Adlard, R.D. Cannon L.R.G. (1994). Synoptic checklist of ascaridoid parasites (Nematoda) from fish hosts. *Invertebrate Taxonomy*. 8. 583-674.
- Cannon, L.R.G. (1977). Some larval ascaridoids from South-eastern Queensland marine fishes. *International Journal for Parasitology*. 7. 233-243.
- Castresana, J. (2000). Selection of conserved blocks from multiple alignments for their use in phylogenetic analysis. *Molecular Biology and Evolution*. 17(4). 540-552.
- Choundhury, A., Cole, R.A. (2008). "Phylum Nematoda". Eiras, J.C., Segner, H., Wahli, T., Kapoor, B.G. (eds.). in: *Fish Diseases Volume 2*. (s. 1063-1115). Science Publishers, USA.
- Cipriani, P., Sbaraglia, G.L., Palomba, M., Giuliotti, L., Bellisario, B., Bušelić, I., Mladineo, I., Chelieschi R., Nascetti, G., Mattiucci, S. (2018). *Anisakis pegreffii* (Nematoda: Anisakidae) in European anchovy *Engraulis encrasicolus* from the Mediterranean Sea: Fishing ground as a predictor of parasite distribution. *Fisheries Research*. 202. 59-68.
- Costa, A., Graci, S., Cammilleri, G., Buscemi, M.D., Collura, R., Vella, A., Ferrantelli, V. (2018). Molecular identification of *Hysterothylacium* spp. in fishes from the Southern Mediterranean Sea (Southern Italy). *Journal of Parasitology*. 104(4). 398-406.
- Di Azevedo, M.I.N., Iñiguez, A.M. (2018). Nematode parasites of commercially important fish from the southeast coast of Brazil: Morphological and genetic insight. *International Journal of Food Microbiology*. 267. 29-41.
- Dobrucalı, B. (2017). *Karasu ilçesi (Sakarya) kıyılarından yakalanan bazı teleost balık türlerinin helmint faunası*. Yüksek Lisans Tezi. Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Isparta.
- Doğanay, A. (1994). Karadeniz'den avlanan mezigit balıklarında *Hysterothylacium aduncum* (Rudolphi, 1802) olgusu. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*. 41(2). 208-217.
- Ewing, B., Green, P. (1998). Base-calling of automated sequencer traces using phred. II. Error probabilities. *Genome Research*. 8(3). 186-194.
- Ewing, B., Hillier, L., Wendl, M.C., Green, P. (1998). Base-calling of automated sequencer traces using Phred. I. Accuracy assessment. *Genome Research*. 8(3). 175-185.
- Fonseca, M.C.G., Knoff, M., Felizardo, N.N., Di Azevedo, M.I.N., Torres, E.J.L., Gomes, D.C., Iñiguez, A.M., de São Clemente, S.C. (2016). Integrative taxonomy of Anisakidae and Raphidascarididae (Nematoda) in *Paralichthys patagonicus* and *Xystreureys rasile* (Pisces: Teleostei) from Brazil. *International Journal of Food Microbiology*. 235. 113-124.
- Gazzonis, A.L., Cavallero, S., Zanzani, S.A., Olivieri, E., Malandra, R., Ranghieri, V., D'Amelio, S., Manfredi, M.T. (2017). *Anisakis* sp. and *Hysterothylacium* sp. larvae in anchovies (*Engraulis encrasicolus*) and chub mackerel (*Scomber colias*) in the Mediterranean Sea: Molecular identification and risk factors. *Food Control*. 80. 366-373.
- Ghadam, M., Banaii, M., Mohammed, E.T., Suthar, J., Shamsi, S. (2018). Morphological and molecular characterization of selected species of *Hysterothylacium* (Nematoda: Raphidascarididae) from marine fish in Iraqi waters. *Journal of Helminthology*. 92. 116-124.
- González, L. (1998). The life cycle of *Hysterothylacium aduncum* (Nematoda: Anisakidae) in Chilean marine farms. *Aquaculture*. 162. 173-186.

- Guo, Y.N., Xu, Z., Zhang, L.P., Hu, Y.H., Li, L. (2014). Occurrence of *Hysterothylacium* and *Anisakis* nematodes (Ascaridida: Ascaridoidea) in the tanaka's snailfish *Liparis tanakae* (Gilbert & Burke) (Scorpaeniformes: Liparidae). *Parasitology Research*. 113(4). 1289-1300.
- Gutiérrez-Galindo, J. F., Osanz-Mur, A. C., Mora-Ventura, M.T. (2010). Occurrence and infection dynamics of anisakid larvae in *Scomber scombrus*, *Trachurus trachurus*, *Sardina pilchardus*, and *Engraulis encrasicolus* from Tarragona (NE Spain). *Food Control*. 21(11). 1550-1555.
- Güven, A., Öztürk, T. (2019). Metazoan parasites of common sole (*Solea solea*) and scaldfish (*Arnoglossus laterna*) (Pleuronectiformes) from Sinop coast of Black Sea. *Helminthologia*. 56(2). 132-140.
- Hall, T.A. (1999). BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series*. 41. 95-98.
- Hillis, D.M., Bull, J.J. (1993). An empirical test of bootstrapping as a method for assessing confidence in phylogenetic analysis. *Systematic Biology*. 42.182-192.
- Hossen, M.S., Shamsi, S. (2019). Zoonotic nematode parasites infecting selected edible fish in New South Wales, Australia. *International Journal of Food Microbiology*. 308.108306.
- Ismen, A., Bingel, F. (1999). Nematode infection in the whiting *Merlangius merlangus euxinus* off Turkish Coast of the Black Sea. *Fisheries Research*. 42(1-2). 183-189.
- Izyumova, N.A. (1964). "Phylum Nematelminthes". Pavlovskii E.N. (eds.). in: *Key to Parasites of the Freshwater Fishes of the U.S.S.R.* (s.615-681). Jerusalem.
- Jabbar, A., Khoon, A.T., Hui, T.X., Schaeffner, B.C., Jex, A.R., Nolan, M.J., Lopata, A., Gasser, R.B., Beveridge, I. (2012). Mutation scanning- based analysis of anisakid larvae from *Sillago flindersi* from Bass Strait, Australia. *Electrophoresis*. 33(3). 499-505.
- Jabbar, A., Asnoussi, A., Norbury, L.J., Eisenbarth, A., Shamsi, S., Gasser, R.B., Lopata, L.A., Beveridge, I. (2013). Larval anisakid nematodes in teleost fishes from Lizard Island, northern Great Barrier Reef, Australia. *Marine Freshwater Research*. 63. 1283-1299.
- Kalay, M., Dönmez, A.E., Koyuncu, C.E., Genç, E., Şahin, G. (2009). Seasonal variation of *Hysterothylacium aduncum* (Nematoda: Raphidascarididae) infestation in sparid fishes in the Northeast Mediterranean Sea. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*. 33(6). 517-523.
- Kearse, M., Moir, R., Wilson, A., Stones-Havas, S., Cheung, M., Sturrock, S., Buxton, S., Cooper, A., Markowitz, S., Duran, C., Thierer, T., Ashton, B., Meintjes, P., Drummond, A. (2012). Geneious Basic: an integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data. *Bioinformatics*. 28(12). 1647-1649.
- Kellermanns, E., Klimpel, S., Palm, H.W. (2007). Molecular identification of ascaridoid nematodes from the deep-sea onion-eye grenadier (*Macrourus berglax*) from the East Greenland Sea. *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers*. 54(12). 2194-2202.
- Keser, R., Bray, R.A., Oguz, M.C., Çelen, S., Erdoğan, S., Doğuturk, S., Aklanoglu, G., Marti, B. (2007). Helminth parasites of digestive tract of some teleost fish caught in the Dardanelles at Çanakkale, Turkey. *Helminthologia*. 44(4). 217-221.

- Keskin, E., Koyuncu, C.E., Genç, E. (2015). Molecular identification of *Hysterothylacium aduncum* specimens isolated from commercially important fish species of Eastern Mediterranean Sea using mtDNA cox1 and ITS rDNA gene sequences. *Parasitology International*. 64. 222-228.
- Khammassi, M., Bahri, S., Pekmezci, G.Z. (2020). Morphological and molecular identification of *Hysterothylacium* larvae (Nematoda: Raphidascarididae) in marine fish from Tunisian Mediterranean coasts. *Parasitology Research*. 119(10). 3285-3296.
- Klapper, R., Kochmann, J., O'Hara, R.B., Karl, H., Kuhn, T. (2016). Parasites as biological tags for stock discrimination of beaked redfish (*Sebastes mentella*): parasite infra-communities vs. limited resolution of cytochrome markers. *PLoS One*. 11(4). e0153964.
- Klapper, R., Kuhn, T., Münster, J., Levsen, A., Karl, H., Klimpel, S. (2015). Anisakid nematodes in beaked redfish (*Sebastes mentella*) from three fishing grounds in the North Atlantic, with special notes on distribution in the fish musculature. *Veterinary Parasitology*. 207(1-2). 72-80.
- Klimpel, S., Ruckert, S. (2005). Life cycle strategy of *Hysterothylacium aduncum* to become the most abundant anisakid fish nematode in the North Sea. *Parasitology Research*. 97. 141-149.
- Klimpel, S., Kleinertz, S., Palm, H. W. (2008). Distribution of parasites from red mullets (*Mullus surmuletus* L., Mullidae) in the North Sea and the Mediterranean Sea. *Bulletin of Fish Biology*. 10(2). 25-38.
- Knoff, M., Felizardo, N.N., Iñiguez, A.M., Maldonado, Jr.A., Torres, E.J.L., Pinto, R.M., Gomes, D.C. (2012). Genetic and morphological characterisation of a new species of the genus *Hysterothylacium* (Nematoda) from *Paralichthys isosceles* Jordan, 1890 (Pisces:Teleostei) of the Neotropical Region, state of Rio de Janeiro, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*. 107. 186-193.
- Köksal, S.P. (2019). *Karadeniz'in Sinop kıyılarından yakalanan bazı balık türlerindeki nematod parazit faunasının belirlenmesi*. Yüksek Lisans Tezi, Sinop Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Sinop.
- Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C., Tamura, K. (2018). MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution*. 35(6). 1547.
- Li, L., Liu, Y.Y., Zhang, L.P. (2012a). Morphological and molecular identification of *Hysterothylacium longilabrum* sp. nov. (Nematoda: Anisakidae) and larvae of different stages from marine fishes in the South China Sea. *Parasitology Research*. 111(2). 767-777.
- Li, L., Liu, Y.Y., Zhang, L.P. (2012b). Morphological and genetic characterization of *Hysterothylacium zhoushanensis* sp. nov. (Ascaridida: Anisakidae) from the flatfish *Pseudorhombus oligodon* (Bleeker) (Pleuronectiformes: Paralichthyidae) in the East China Sea. *Parasitology Research*. 111(6). 2393-2401.
- Liu, Y.Y., Xu, Z., Zhang, L.P., Li, L. (2013). Redescription and genetic characterization of *Hysterothylacium thalassini* Bruce, 1990 (Nematoda: Anisakidae) from marine fishes in the South China Sea. *Journal of Parasitology*. 99(4). 655-662.
- Li, L., Zhao, J.Y., Chen, H.X., Ju, H.D., An, M., Xu, Z., Zhang, L.P. (2017). Survey for the presence of ascaridoid larvae in the cinnamon flounder *Pseudorhombus cinnamoneus* (Temminck & Schlegel) (Pleuronectiformes: Paralichthyidae). *International Journal of Food Microbiology*. 241. 108-116.

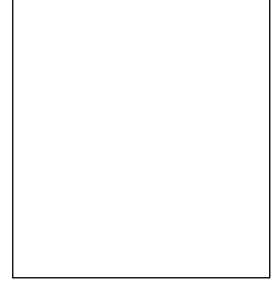
- Li, L., Lu, L., Nadler, S.A., Gibson, D.I., Zhang, L.P., Chen, H.X., Zhao, W.T., Guo, Y.N. (2018). Molecular phylogeny and dating reveal a terrestrial origin in the early carboniferous for ascaridoid nematodes. *Systematic Biology*. 67(5). 888-900.
- MacKenzie, K., Campbell, N., Mattiucci, S., Ramos, P., Pinto, A.L., Abaunza, P. (2008). Parasites as biological tags for stock identification of Atlantic horse mackerel *Trachurus trachurus* L. *Fisheries Research*. 89(2). 136-145.
- Martín-Sánchez, J., Díaz, M., Artacho, E.M., Valero, A. (2003). Molecular arguments for considering *Hysterothylacium fabri* (Nematoda: Anisakidae) a complex of sibling species. *Parasitology Research*. 89(3). 214-220.
- Molnár, K., Buchmann, K., Székely, C. (2006). "Phylum Nematoda". Woo, P.T.K. (eds.). in: *Fish Diseases and Disorders, Protozoan and Metazoan Infections*. Second edition (s.417-444). CAB International.
- Moravec, F. (1994). *Parasitic Nematodes of Freshwater Fishes of Europe*. Academia and Kluwer Academic Publishers, Dordrecht-Netherlands.
- Nadler, S.A., Hudspeth, D.S. (2000). Phylogeny of the Ascaridoidea (Nematoda: Ascaridida) based on three genes and morphology: hypotheses of structural and sequence evolution. *Journal of Parasitology*. 86. 380-393.
- Navone, G.T., Sardella, N.H., Timi, T. (1998). Larvae and adults of *Hysterothylacium aduncum* (Rudolphi, 1802) (Nematoda: Anisakidae) in fishes and crustaceans in the South West Atlantic. *Parasite*. 5. 127-136.
- Özer, A. (2007). Metazoan parasite fauna of the round goby *Neogobius melanostomus* Pallas, 1811 (Perciformes: Gobiidae) collected from the Black Sea coast at Sinop, Turkey. *Journal of Natural History*. 41(9-12). 483-492.
- Özer, A., Olguner, A.M. (2013). Metazoan parasites of some marine fish species collected at the Sinop Coasts of the Black Sea. *Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 30(3). 93-97.
- Özer, A., Kornyychuk, Y.M., Yurakhno, V., Öztürk, T. (2016). Seasonality and host-parasite interrelationship of *Hysterothylacium aduncum* (Nematoda) in whiting *Merlangius merlangus* off the southern and northern coasts of the Black Sea. *Helminthologia*. 53(3). 248-256.
- Öztürk, T., Yeşil, A. (2018). Metazoan parasite fauna of the red mullet, *Mullus barbatus ponticus* Essipov, 1927 in the Sinop coasts of the Black Sea. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 18(1). 153-160.
- Pantoja, C.S., Pereira, F.B., Santos, C.P., Luque, J.L. (2016). Morphology and molecular characterization hold hands: clarifying the taxonomy of *Hysterothylacium* (Nematoda: Anisakidae) larval forms. *Parasitology Research*. 115. 4353-4364.
- Pekmezci, G.Z., Bolukbas, C.S., Gurler, A.T., Onuk, E.E. (2013). Occurrence and molecular characterization of *Hysterothylacium aduncum* (Nematoda: Anisakidae) from *Merlangius merlangus euxinus* and *Trachurus trachurus* off the Turkish coast of Black Sea. *Parasitology Research*. 112(3). 1031-1037.
- Pekmezci, G.Z., Yardimci, B., Onuk, E.E., Umur, S. (2014). Molecular characterization of *Hysterothylacium fabri* (Nematoda: Anisakidae) from *Zeus faber* (Pisces: Zeidae) caught off the Mediterranean coasts of Turkey based on nuclear ribosomal and mitochondrial DNA sequences. *Parasitology International*. 63. 127-131.

- Pekmezci, G.Z., Yardimci, B. (2019). On the occurrence and molecular identification of *Contracaecum* larvae (Nematoda: Anisakidae) in *Mugil cephalus* from Turkish waters. *Parasitology Research*. 118(5). 1393-1402.
- Pekmezci, G.Z. (2019). Molecular characterization of *Hysterothylacium aduncum* (Nematoda: Raphidascarididae) larvae infecting *Merlangius merlangus euxinus* (Linnaeus, 1758) from the Turkish Black Sea coast based on mitochondrial small subunit ribosomal RNA gene analysis. *Etlik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi*. 30(1). 64-69.
- Petter, A.J., Maillard, C. (1987). Ascarides de Poissons de Méditerranée occidentale. *Bulletin du Muséum National d'Histoire Naturelle*. 9. 773-798.
- Petter, A.J., Maillard, C. (1988). Larves d'ascarides parasites de poissons en Méditerranée occidentale. *Bulletin du Muséum National d'Histoire Naturelle*. 10. 347-369.
- Rello, F.J., Adroher, F.J., Valero, A. (2008). *Hysterothylacium aduncum*, the only anisakid parasite of sardines (*Sardina pilchardus*) from the southern and eastern coasts of Spain. *Parasitology Research*. 104. 117-121.
- Rello, F.J., Adroher, F.J., Benítez, R., Valero, A. (2009). The fishing area as a possible indicator of the infection by anisakids in anchovies (*Engraulis encrasicolus*) from southwestern Europe. *International Journal of Food Microbiology*. 129(3). 277-281.
- Roca-Geronès, X., Montoliu, I., Godínez-González, C., Fisa, R., Shamsi, S. (2018). Morphological and genetic characterization of *Hysterothylacium* Ward & Magath, 1917 (Nematoda: Raphidascarididae) larvae in horse mackerel, blue whiting and anchovy from Spanish Atlantic and Mediterranean waters. *Journal of Fish Disease*. 41. 1463-1475.
- Roca-Geronès, X., Segovia, M., Godínez-González, C., Fisa, R., Montoliu, I. (2020). *Anisakis* and *Hysterothylacium* species in Mediterranean and North-East Atlantic fishes commonly consumed in Spain: Epidemiological, molecular and morphometric discriminant analysis. *International Journal of Food Microbiology*. 325. 108642.
- Rodríguez, H., Bañón, R., Ramilo, A. (2019). The hidden companion of non- native fishes in north- east Atlantic waters. *Journal of Fish Disease*. 42(7). 1013-1021
- Rohde, K. (2005). *Marine Parasitology*. Csiro Publishing. Australia.
- Rózsa, L., Reiczigel, J., Majoros, G. (2000). Quantifying parasites in samples of hosts. *Journal of Parasitology*. 86(2). 228-232.
- Schoch, C.L., Ciufu, S., Domrachev, M., Hotton, C.L., Kannan, S., Khovanskaya, R., Leipe, D., McVeigh, R., O'Neill, K., Robbertse, B., Sharma, S., Sousoff, V., Sullivan, J.P., Sun, L., Turner, S., Karsch-Mizrachi, I. (2020). NCBI Taxonomy: A comprehensive update on curation, resources and tools. *Database*. baaa062.
- Serracca, L., Cencetti, E., Battistini, R., Rossini, I., Prearo, M., Pavoletti, E., Fioravanti, M.L., Righetti, M., Di Donfrancesco, B., Ercolini, C. (2013). Survey on the presence of *Anisakis* and *Hysterothylacium* larvae in fishes and squids caught in Ligurian Sea. *Veterinary Parasitology*. 196(3-4). 547-551.
- Shamsi, S., Eisenbarth, A., Saptarshi, S., Beveridge, I., Gasser, R. B., Lopata, A.L. (2011). Occurrence and abundance of anisakid nematode larvae in five species of fish from southern Australian waters. *Parasitology Research*. 108(4). 927-934.

- Shamsi, S., Gasser, R., Beveridge, I. (2013). Description and genetic characterisation of *Hysterothylacium* (Nematoda: Raphidascauridae) larvae parasitic in Australian marine fishes. *Parasitology International*. 62. 320-328.
- Shamsi, S., Poupa, A., Justine, J.L. (2015). Characterisation of Ascaridoid larvae from marine fish off New Caledonia, with description of new *Hysterothylacium* larval types XIII and XIV. *Parasitology International*. 64. 397-404.
- Shamsi, S., Ghadami M., Suthar, J., Mousavi, E.H., Soltani, M., Mirzargar, S. (2016). Occurrence of ascaridoid nematodes in selected edible fish from the Persian Gulf and description of *Hysterothylacium* larval type XV and *Hysterothylacium persicum* n. sp. (Nematoda: Raphidascauridae). *International Journal of Food Microbiology*. 236. 65-73.
- Shamsi, S., Suthar, J. (2016). A revised method of examining fish for infection with zoonotic nematode larvae. *International Journal of Food Microbiology*. 227. 13-16.
- Shamsi, S. (2017). Morphometric and molecular descriptions of three new species of *Hysterothylacium* (Nematoda: Raphidascauridae) from Australian marine fish. *Journal of Helminthology*. 91. 613-624.
- Shamsi, S., Steller, E., Chen, Y. (2018). New and known zoonotic nematode larvae within selected fish species from Queensland waters in Australia. *International Journal of Food Microbiology*. 272. 73-82.
- Shamsi, S., Eisenbarth, A., Saptarshi, S., Beveridge, I., Gasser, R.B., Lopata, A.L. (2011). Occurrence and abundance of anisakid nematode larvae in five species of fish from southern Australian waters. *Parasitology Research*. 108(4). 927-934.
- Şimşek, E., Çiloğlu, A., Yıldırım, A., Pekmezci, G.Z. (2018). Identification and molecular characterization of *Hysterothylacium* (Nematoda: Raphidascauridae) larvae in bogue (*Boops boops* L.) from the Aegean Sea, Turkey. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*. 24. 525-530.
- Şimşek, E., Sürsal, N., Karademir, G.K., Pekmezci, G.Z. (2021). First molecular characterization of *Hysterothylacium fabri* larvae (Nematoda: Raphidascauridae) in the Mediterranean Sea based on the small subunit ribosomal RNA gene sequence. *Kocatepe Veterinary Journal*. 14(1). 71-76.
- Szostakowska, B., Myjak, P., Kur, J., Sywula, T. (2002). Molecular evaluation of *Hysterothylacium auctum* (Nematoda, Ascaridida, Raphidascauridae) taxonomy from fish of the southern Baltic. *Acta Parasitologica*. 46. 194-201.
- Tedesco, P., Gustinelli, A., Caffara, M., Patarnello, P., Terlizzi, A., Fioravanti, M.L. (2018). *Hysterothylacium fabri* (Nematoda: Raphidascauridae) in *Mullus surmuletus* (Perciformes: Mullidae) and *Uranoscopus scaber* (Perciformes: Uranoscopidae) from the Mediterranean. *Journal of Parasitology*. 104. 262-274.
- Tepe, Y., Oğuz M. (2013). Nematode and acanthocephalan parasites of marine fish of the eastern Black Sea coasts of Turkey. *Turkish Journal of Zoology*. 37. 753-760.
- Thompson, J.D., Higgins, D.G., Gibson, T.J. (1994). CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Research*. 22(22). 4673-4680.
- Umur, Ş., Köroğlu, E., Güçlü, F., Tınar, R. (2006). "Nematoda". Tınar R. (eds.). in: *Helminтологи*, Birinci Baskı. (s. 213-461). Nobel Akademik Yayıncılık.
- Williams, H., Jones, A. (1994). *Parasitic Worms of Fish*. Taylor & Francis Ltd., London.

- Valero, A., Paniagua, M.I., Hierro, I., Díaz, V., Valderrama, M.J., Benítez, R., Adroher, F.J. (2006). Anisakid parasites of two forkbeards (*Phycis blennoides* and *Phycis phycis*) from the Mediterranean coasts of Andalucía (Southern Spain). *Parasitology International*. 55(1). 1-5.
- Vardić Smrzlić, I., Valić, D., Kapetanović, D., Kurtović, B., Teskeredžić, E. (2012). Molecular characterisation of Anisakidae larvae from fish in Adriatic Sea. *Parasitology Research*. 111(6). 2385-2391.
- Zhang, K., Xu, Z., Chen, H.X., Guo, N., Li, L. (2018). Anisakid and raphidascaridid nematodes (Ascaridoidea) infection in the important marine food-fish *Lophius litulon* (Jordan) (Lophiiformes: Lophiidae). *International Journal of Food Microbiology*. 284. 105-111.
- Zhao, J.Y., Zhao, W.T., Ali, A.H., Chen, H.X., Li, L. (2017). Morphological variability, ultrastructure and molecular characterisation of *Hysterothylacium reliquens* (Norris & Overstreet, 1975) (Nematoda: Raphidascarididae) from the oriental sole *Brachirus orientalis* (Bloch & Schneider) (Pleuronectiformes: Soleidae). *Parasitology International*. 66(1). 831-838.
- Zhu, X., Gasser, R.B., Podolska, M., Chilton, N. B. (1998). Characterisation of anisakid nematodes with zoonotic potential by nuclear ribosomal DNA sequences. *International Journal for Parasitology*. 28(12). 1911-1921.
- Zhu, X., Podolska, M., Liu, J.S., Yu, H.Q., Chen, H.H., Lin, Z.X., Luo, C.B., Song, H.Q., Lin, R.Q. (2007). Identification of anisakid nematodes with zoonotic potential from Europe and China by single-strand conformation polymorphism analysis of nuclear ribosomal DNA. *Parasitology Research*. 101(6). 1703-1707.

## ÖZ GEÇMİŞ



Muhammet Yavuz GELEN, Samsun Veteriner Sağlık Meslek Lisesi'ni 2002 yılında bitirdikten sonra Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi'nden 2017 yılında mezun oldu. 2006 yılından bu yana Tarım ve Orman Bakanlığında Veteriner Sağlık Teknisyeni ve Veteriner Hekim olarak görev yapmaktadır. Samsun İl Tarım ve Orman Müdürlüğünde Veteriner Hekim olarak görev yapan Muhammet Yavuz GELEN, orta derecede İngilizce bilmektedir. Özge GELEN ile evli olup, Recep Yasin ve Oğuz Buğra isimli iki çocuğu bulunmaktadır. Temel ilgi alanları, Coğrafya, Doğa ve Hayvanlar alemidir. 14.06.2021

### İletişim Bilgileri

E-posta :  
Telefon :  
ORCID ID : 0000-0002-7175-389X

### Yayınlanmış Çalışmalar:

1.

### Kazanılan Ödüller, Teşvikler ve Burslar

1.