

Elazığ'daki Gökkuşığı Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) İşletmelerinin Bakteriyel Yönden İncelenmesi

Ayşe KILIÇ¹, Engin ŞEKER², Mikail ÖZCAN² ve Ünal İSPİR²

¹Elazığ Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü, 23200, Elazığ

²Fırat Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, 23119, Elazığ
enginseker@firat.edu.tr

(Geliş/Received: 21.09.2006; Kabul/Accepted: 17.11.2006)

Özet: Bu çalışmada, altı farklı alabalık işletmesinden alınan gökkuşığı alabalıklarının barsak, kan, karaciğer, böbrek ve vücut boşluğu'na ait aerobik bakteriyel flora araştırıldı. Balıklardan alınan örneklerden Tryptic Soy Agar, ShotsWatman Agar ve Anacker Ordal Agar besiyerine ekim yapıldı. Biyokimyasal testler yapıldıktan sonra patojenik mikroorganizma olarak *Yersinia ruckeri* (142 suş, %51.07), *Pseudomonas sp.* (104 suş, %37.41) ve *Flavobacterium sp.* (32 suş, %11.51) izole edildi.

Anahtar Kelimeler: Gökkuşığı Alabalığı, Bakteriyel Flora, İç organlar

Bacterial Flora of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Farms in Elazig Region

Abstract: In this study, aerobic bacterial flora of intestine, kidney, liver, blood and body cavity of rainbow trout in six different fish farms were examined. Samples from fish were aseptically streaked on Tryptic Soy Agar, ShotssWatman Agar and Anacker Ordal Agar plates and incubated for specific time and temperature. After incubation biochemical test *Yersinia ruckeri* (142 strain, 51.07%), *Pseudomonas sp.* (104 strain, 37.41%), and *Flavobacterium sp.* (32 strain, 11.51%) were identified.

Key Words: Rainbow Trout, Bacterial Flora, Viscera

1. Giriş

Tüm çevrede olduğu gibi sularda da meydana gelen kirlilik beraberinde balık yetiştiriciliği ile ilgili birçok sorunu gündeme getirmiştir. Su kaynaklarının kirlenmesi ile birlikte bakteriyel kökenli balık hastalıkları, ekonomik kayıplara neden olan etkenlerin en önemlilerinden birini oluşturmaktadır.

Yakın geçmişe kadar balıklar için 15–20 bakteri türü patojenik etki gösterdiğinin [1] sanılmasına rağmen daha sonraları doğal olarak infekte olmuş balıklarda 70'e yakın bakteri türü izole edilmiştir [2].

Ülkemizde yaygın olarak kültürü yapılan gökkuşığı alabalıklarında; farklı coğrafik bölgelerde enfeksiyona neden olan bakteriyel patojenlerin çeşitliliği araştırılmıştır [3-12].

Bu çalışmada; Elazığ ilinde yer alan bazı işletmelerden alınan alabalık (*Oncorhynchus mykiss*)'larda bakteriyel floranın tespiti amaçlanmıştır.

2. Materyal ve Metot

Araştırma, Elazığ'da bulunan 6 adet gökkuşığı alabalığı işletmesinden alınan alabalık (*Oncorhynchus mykiss*)'larda bakteriyel floranın tespiti için 2005 yılında gerçekleştirildi. Çalışmada 187 adet 50–250 g, 10 adet 10–40 g ağırlığında olmak üzere toplam 197 adet balık kullanıldı. Bu amaçla aseptik şartlar altında balıkların karaciğer, böbrek, vücut boşluğu, bağırsak ve kanlarından Tryptic soy (TSA) agara ekimler yapılarak 24°C'de 1–5 gün Anacker Ordal Agar (AOA) [13] ise 20°C'de 2 hafta boyunca inkübe edildi. İzole edilen suşların fizyolojik, morfolojik ve biyokimyasal bakterileri Plump ve Bowser [14] ile Austin ve Auitin [2]'e göre identifiye edildi. Bakteri suşlarının morfolojik karakterleri native muayene ve gram boyama ile yapıldı. Oksidasyon/Fermentasyon (O/F) Testi, Oksidaz, Katalaz, Hareket muayenesi, İMVİC testleri,

karbonhidrat fermentasyon testleri ve Triple Soya Iron Agar (TSIA) kullanılarak bazı biyokimyasal özellikleri belirlendi. Ayrıca MacKonkey agar'daki üreme durumu tespit edildi. *Y. ruckeri*'den şüphelenilen suşlar, bu bakteri için selektif besi yeri olan ShotssWatman Agar (SWA)'a [15] ekildi. Mikroorganizmaların tanınmasında Holt ve diğ., [16]'den yararlanıldı.

3. Sonuçlar

Elde edilen bakterilerin bazı biyokimyasal özellikleri Tablo 1 işletmelere ve bulundukları organlara göre dağılımı ise Tablo 2 ve 3'de verilmiştir. TSA'da 24°C'de 48 saat inkubasyon sonucunda düzgün kenarlı, beyaz yuvarlak, düz karakterde kolonilerin ürediği görüldü. SWA besi yerinde ise 24°C de 48 saat inkubasyon sonucunda, tween 80'nin hidroliz sonucu etrafında bulutumsu bir zon ile çevrili mavi yeşil renkte koloniler üredi. AOA'da 7–10 günlük inkübasyondan sonra açık sarı pigmentli koloniler gözlemlendi. İncelenen 278 adet suşun 142'sinin (% 51.07) *Yersinia ruckeri*, 104'ünün (% 37.41) *Pseudomonas sp.* ve 32'sinin (% 11.51) *Flavobacterium sp.* olduğu tespit edildi.

Tablo 1. İzole edilen bakterilerin biyokimyasal özellikleri

Biyok. Test.	<i>Y. ruckeri</i>	<i>Pseud. sp.</i>	<i>Flavob. sp.</i>
Oksidaz	-	+	+
Gram boyama	-	-	-
Katalaz		+	+
Hareket	+	+	-
Jelatin hidrolizi	+	+	+
İndol üretimi	-	-	-
B-galaktosidase	+		-
Arjinin dihidrolaz	-	+	
Lizin dekarboksilaz	+	-	
Ornitin dekarboksilaz	+	-	
Voges-proskauer	d		
Metil red	+		
Hemoliz			
Sitrat	+		
Glikoz	+	+	+
İnositol	-	-	
Mannitol	+	d	-
Rhamnoz	-		-
Sorbitol	d		
Sukroz	-		+
Trehaloz	+		+

d:Değişken

Tablo 2. İzole edilen bakterilerin işletmelere göre sayı ve yüzde (%) olarak dağılımı.

			<i>Y. ruckeri</i>	<i>Pseud. sp.</i>	<i>Flavob. sp.</i>
İŞLETMELER	1	Adet	42	23	-
		%	29.58	22.16	-
	2	Adet	18	20	-
		%	12.68	19.23	-
	3	Adet	35	44	-
		%	24.65	42.31	-
	4	Adet	13	-	8
		%	9.15	-	25
	5	Adet	15	2	12
		%	10.56	1.92	37.5
	6	Adet	19	15	12
		%	13.38	14.42	37.5

Tablo 3. İzole edilen bakterilerin bulunış yerlerine göre dağılımı.

		Bağırsak	Kan	Karaciğer	Böbrek	V. boşluğu
<i>Y. ruckeri</i>	Ad.	96	15	15	12	4
	%	53.63	57.70	44.12	37.71	50
<i>Flavob. sp.</i>	Ad.	18	4	2	4	4
	%	10.06	15.38	5.88	12.9	50
<i>Pseud. sp.</i>	Ad.	65	7	17	15	-
	%	36.31	26.92	50	48.39	-
Toplam		179	26	34	31	8

4. Tartışma

Bu çalışmada bulunan 278 izolatın identifikasyon test sonuçları (Tablo 2), suşların önceki bilgileriyle uyum sağlamıştır [2, 5, 10, 16]. *Yersinia ruckeri*'nin neden olduğu Yersiniosis gökkuşağı alabalığı yetiştiriciliği yapılan tesislerde yüksek mortalite ile seyreden ve ciddi ekonomik kayıplara neden olan bir hastalıktır [17]. *Pseudomonas sp.* ve *Flavobacterium sp.* suyun mikrobiyal florasında ve balıkların barsak ve solungaçlarında normal

olarak bulunabilen predominat bir hastalık etkenidir [11, 18, 19]. Her iki bakteriye de hem deniz [20, 21] ve hemde tatlı su balıklarında [5, 10] rastlamak mümkündür.

Yersiniosis, çeşitli doku ve organlarda hemorajik zonların oluşması ile karakterize bir hastalıktır. Doğada taşınması yabancı balıklar, sucul invertebratlar ve kuşlar ile olmaktadır [22]. ERM'nin oluşmasından 2 ay sonra bile balıkların dışkılarından bakteri izole edilebilmektedir [23]. Rodgers [24], yıl boyunca yapılan bütün ekimlerde balıkların böbreklerinden *Y. ruckeri* izole etmiştir. Yine *O. mykiss*, *P. fluvialis*, *Coregonus sp.* ile *Rutilus rutilus*'lerde çoğunlukla barsaklardan az bir oranda da böbreklerden *Y. ruckeri* izole edilmiştir [25]. Bu çalışmada da; izole edilen 142 *Y. ruckeri* suşundan 96'sı barsaklarda ve 12'si ise böbreklerde bulunmuştur. Ancak balıkların karaciğer, böbrek, dalak ve barsaklarında bulunan mikrobiyal floranın işletmeler arasında değişebileceği de bildirilmiştir [8]. Bu çalışmada bakteriyel yönden incelemeye tabi tutulan alabalık işletmelerinin tamamında *Yersinia ruckeri* izole edilmiştir. Ancak; işletmelerdeki balıkların hiç biride yersiniozis'e özgü; ağız bölgelerinde, deri, yüzgeç ve anüs bölgesinde eritemler, vücut yüzeyinde ve iç organlarda hemoraji gibi klinik vakalara [19] rastlanmamıştır. Diler ve diğ., [6] Fethiye bölgesindeki bazı alabalık işletmelerinde hastalık belirtisi göstermeyen balıkların iç organlarından yaptıkları ekimlerde *Y. ruckeri*'yi tespit etmişlerdir. Bu çalışmada da yersiniozis bakımından herhangi bir belirti göstermemiş balıklardan bakterinin izole edilmesi hastalığın balıklarda latent olarak taşındığını göstermektedir.

Tatlı su balıklarının sindirim kanalında özellikle *Aeromonas* ve *Enterobacteriaceae* familyası üyeleri bulunmaktadır [8]. Bu cins bakteriler tatlı suda geniş bir dağılım gösterirler. *Acinetobacter*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*,

Moraxella ve *Pseudomonas* cinsi bakteriler ise sudan ve yemden kaynaklanmaktadır. *Pseudomonas* ve *Acinetobacter spp.* Barsak mikrobiyasının predominant unsuru olarak bildirilmiştir. Bu gibi durumlar açlık ve balıkların istenmeyen fizyolojik şartlarda yaşadıklarının bir belirtisi olarak kabul edilmektedir [8]. Sarıyyüpoğlu [11], gökkuşığı alabalıklarının mide-barsak mikrobiyasının alınan yem ve su ile ilişkili olduğunu ve en fazla *Enterobacter* bulunduğunu bildirmiştir. Bu çalışmada da incelenen 6 işletmenin 5'inde tespit edilen 104 adet *Pseudomonas sp.* suşunun 65 (%36,31)'inin barsakta bulunması diğer araştırmacıların bu bakterinin balıklarda barsakta bulunabileceği fikrini desteklemektedir. Ancak bu çalışmada Nieto ve diğ. [26], bildirdiği gibi *Enterobacter* cinsine ait bir bakteri olan *Y. ruckeri*'nin daha fazla olduğu tespit edildi.

Flavobacterium cinsi bakteriler alabalıklarda özellikle fry ve fingerling'lerde ölümcül enfeksiyonlara neden olabileceği bildirilmiştir [5, 10, 19]. Aynı işletmelerin bazılarında 2000–2002 yılları arasında meydana gelen toplu ölümlerin etkisinin *Flavobacterium psychrophilum* olduğunu tespit edilmiştir [10]. Bu çalışmada elde edilen 278 suşun % 11,51'ini *Flavobacterium sp.* oluşturması, bu etkenin işletmelerden tamamen yok edilmediğinin bir göstergesi olarak ilgi çekicidir.

Balıkları etkileyen birçok mikroorganizmalarda olduğu gibi bu çalışmada bulunan bakterilerde, çevre şartlarının bozulmasıyla meydana gelen stres ile birlikte bağışıklık sistemi zayıflamış olan canlıda hastalığa sebep olan etkenlerdir. Sonuç olarak; işletmelerde izole edilen üç bakterinin de balıklarda ölümcül enfeksiyonlara neden olduğu göz önünde bulundurularak işletmelerin hijyenik koşulları özen göstererek ve stok fazlalığından kaçınarak hastalıklar ile mücadele çalışmasını yıl boyunca yapmaları önerilebilir.

5. Kaynaklar

1. Munro, A. L. S. (1982). "The pathogenesis of bacterial diseases of fish." in Microbial disease of fish (Ed) Roberts, R. J., Academic Press, London , 131 – 149.
2. Austin, B. , Austin, D. A. (1993). Bacterial fish pathogens disease in farmed and wild fish. Ellis Horwood, London, 376 pp.
3. Aydın, S., Çiltaş, A., Akyurt, İ., (1997). Investigations on systemic *Aeromonas hydrophila* infections appeared in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum) in 1991–1995. Akdeniz Balıkçılık Kongresi (9–11 Nisan 1997), İzmir, 359–369.

4. Aydın, S., Erman, Z., Bilgin, Ö. C. (2001). Investigations of *Serratia liquefaciens* in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum). Tr J. Vet. Anim. Sci., 25, 643-650.
5. Balta, F. (1997). Kültürü yapılan alabalıklarda (*Oncorhynchus mykiss*) görülen *Flexibacter psychrophila* enfeksiyonu. IX. Ulusal Su Ürünleri Sempozyumu. (17 – 19 Eylül 1997). Eğirdir/Isparta. 641 – 648.
6. Diler, Ö., Demirkan, T., Altun, S., Çalikuşu, F. (1998). Fethiye bölgesindeki bazı alabalık işletmelerinde görülen Yersiniosis'in mevsimsel dağılımı üzerine bir araştırma. Doğu Anadolu III. Su Ürünleri Sempozyumu. 207 – 220.
7. Diler, Ö., Altun, S., Diler, A., Işıklı, B. I., Gürçan, O. C., (2000a). Bazı balık çiftliklerinde gökkuşağı alabalıklarının (*Oncorhynchus mykiss*) mikroflorasının tespiti ve kontrolü üzerine bir çalışma. S. D. Ü. Fen Bil. Enst. Derg., 4, 58-69.
8. Diler, Ö., Altun, S., Çalikuşu, F., Diler, A., (2000b). Gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*)'nın yaşadığı ortam ile ilişkili kalitatif ve kantitatif bakteriyel florası üzerine bir araştırma. Türk J. Vet. Anim. Sci., 24, 251-259.
9. Karataş Düğenci, S., Candan, A., (1997). Marmara bölgesindeki bir gökkuşağı alabalığı (*O. mykiss*) işletmesinde yersiniozis vakası. IX. Ulusal Su Ürünleri Sempozyumu. (17 – 19 Eylül 1997). Eğirdir/Isparta. 641 – 648.
10. İspir, Ü., Şeker, E., Sağlam, N., Dörücü, M. (2004). Doğu Anadolu Bölgesinde Bazı Gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) İşletmelerinde görülen *Flavobacterium psychrophilum* Enfeksiyonunun Araştırılması. F. Ü. Fen ve Müh. Bil. Derg., 16 (4) 718-724.
11. Sarıeyyüpoğlu, M. (1984). Gökkuşağı alabalıklarında (*S. gairdneri*) mide – barsak bakteriyel florasının aerobik yönden incelenmesi. Doğa Bilim Dergisi, 8 (3), 281 – 287.
12. Timur, G., Karataş, S., Çolak, S., Akaylı, T., (1996). Gökkuşağı alabalık (*Oncorhynchus mykiss*, W, 1792) yavrularında görülen furunkulosis hastalığı üzerine bir çalışma. II. International Symposium on Aquatic Products. İstanbul, Türkiye.
13. Anoker, R.L. and Ordal E.J. (1959). Studies on the myxobacterium *Chondrococcus columnaris* I. serological typing. Journal of Bacteriology 78, 25-32
14. Plump, J. A., Bowser, P. R. (1983). Microbial fish disease laboratory manual. Brown Printing Company Montgomery, Alabama, USA, 95 p.
15. Waltman, W.D. and Shotts, E.B. A Medium for the Isolation and Differentiation of *Yersinia ruckeri*. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 41, 804-806, 1984
16. Holt, J. G., Krieg, N. R., Sueath, P. H. A., Satley, J. T., Williams, S. T. (1993). Bargey's Manual of Determinative Bacteriology. Williams and Witkins, Baltimore.
17. Ewing, E. W., Ross, A.J., Brenner, D. J. And Fanning, G. R. (1978). *Yersinia ruckeri* sp. Nov., the redmouth (RM) bacterium. Int. J. Bacteriol., 28, 37 – 44.
18. Sarıeyyüpoğlu, M. (1987). Gökkuşağı alası (*S. gairdneri*) yumurta ve spermelerinin bakteriyel yönden incelenmesi. Doğa Tu Zooloji, 12 (1), 110 – 113.
19. Arda, M., Seçer, S., Sarıeyyüpoğlu, M. (2002). Balık Hastalıkları. Medisan, Ankara, 51– 57 s.
20. Zorrilla, I., M. Chabrilion, M., Arijo, S., Diaz – Rosales, P., Martinez – Manzanarez, E., Balebona, M. C., Morinigo, M. A. (2003). Bacteria recovered from diseased cultured gilthead sea bream (*Sparus aurata*) in southwestern Spain. Aquaculture, 218, 11 – 20.
21. Balebona, M. C., Zorrilla, I., Morinigo, M. A., Borrego, J. J. (1998). Survey of bacterial pathologies affecting farmed gilthead sea bream (*Sparus aurata*) in southwestern Spain 1990 to 1996. Aquaculture, 166, 19 – 35.
22. Willumsen, B. (1989). Birds and wild fish as potential vectors of *Yersinia ruckeri*. J. Fish Dis., 12, 275 – 277.
23. Rodgers, C. J. (1992). Development of a selective-differential medium for the isolation of *Yersinia ruckeri* and its application in epidemiological studies. J. Fish Dis., 15, 243 – 254.
24. Rodgers, C. J. (1991). The usage of vaccination and antimicrobial agents for control of *Yersinia ruckeri*. J. Fish. Dis., 14, 291- 301.
25. Waltonen, I., Rintamaki, P., Koskivacra, M. (1992). Occurence and pathogenicity of *Yersinia ruckeri* at fish farms in nothern and central Finland. J. Fish Dis., 9, 163 – 171.
26. Neito, P., Toronzo, A. E., Barja, J. L. (1984). Comparision between the bacterial flora associated with fingerling rainbow trout cultured in two different hatcheries in the Nort-West of Spain. Aquaculture, 42, 193 – 206.