

Eğirdir Gölü Sudak Balıklarında (*Stizostedion Lucioperca* L.1758) Mide-Barsak Mikroflorasının Kalitatif ve Kantitatif Değişimleri

Öznur DİLER, Abdullah DİLER

Süleyman Demirel Üniversitesi, Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi, Eğirdir, Isparta-TÜRKİYE

Geliş Tarihi : 27.06.1996

Özet: Bu çalışmada Eğirdir gölü sudak balıklarının mide-barsak mikroflorasının kalitatif ve kantitatif tespiti amacıyla 34 adet sudak balığı incelendi. 134 bakteri suşu izole edilerek identifikasyonları yapıldı. Florada dominant olarak *Staphylococcus*, *Moraxella*, *Micrococcus* cinsleri saptanırken ayrıca *Aeromonas*, *Flavobacterium*, *Propionibacterium*, Coryneform grup *Acinetobacter*, Enterobacteriaceae üyelerinin daha az sayıda bulunduğu tespit edildi. Mide-barsak mikroflorasında yer alan bakterilerin su sıcaklığındaki değişikliklere ilişkin olarak kalitatif değişiklikler gösterdiği saptandı. Toplam aerobik bakteri sayısı mide'de 5.5×10^3 - 5.0×10^4 cfu/g, barsakta 1.0×10^4 - 10×10^6 cfu/g olarak tespit edildi. Sonuç olarak, diğer tatlı su balıklarının sindirim sistemi mikroflorasından farklı olarak sudak balıklarında *Staphylococcus* ve *Moraxella* cinsi bakterilerin dominant grubu oluşturduğu belirlendi.

Anahtar Sözcükler: *Stizostedion lucioperca*, Bakteriyel flora, Mide,Barsak.

Quantitative and Qualitative Changes of the Gastrointestinal Microflora of Pike-Perch (*Stizostedion Lucioperca* L. 1758) in Eğirdir Lake

Abstract: This study has been carried out quantitative and qualitative studies of the gastrointestinal microflora of 34 pike-perch in Eğirdir Lake 134. strains of bacteria were isolated and identified. Main bacterial groups were *Staphylococcus*, *Moraxella*, *Micrococcus* in addition *Aeromonas*, *Flavobacterium*, *Propionibacterium*, Coryneform group, *Acinetobacter*, Enterobacteriaceae were also detected. Qualitative examination of the bacteria present in gastrointestinal flora indicated that, the bacterial population of pike-perch will be changed to by water temperature. Total aerobic bacteria number ranged from 5.5×10^3 - 5.0×10^4 cfu/g, 1.0×10^4 - 10×10^6 cfu/g in the stomach and intestine respectively. As a result, in pike perch, *Staphylococcus* and *Moraxella* were determined as a dominant group that were differed from microflora of digestive system of the other freshwater fish.

Key Words: *Stizostedion lucioperca*, Bacterial flora, stomach, intestine.

Giriş

Balıkların sindirim sistemi, solungaçları ve derisi çeşitli sayıda mikroorganizma cinsi içermektedir (1, 2, 3). Aktif olarak beslenen teleostların sindirim kanalı, deri ve solungaç mikroflorasındaki bakterilere benzer olmakla birlikte barsakların kendine has ortamına ise özellikle *Vibrio*, *Aeromonas*, Enterobacteriaceae üyesi gibi bazı fermentatif bakterilerin adapte olabildiklerine inanılmaktadır. Bu çerçevede tatlı sularda yaşayan sağlıklı salmonidlerin barsak mikroflorasında *Aeromonas* cinsi ve Enterobacteriaceae grubu bakterilerin dominant olduğu tespit edilmiştir (4, 5). Balıkların yaşama ortamının sindirim sistemi mikroflorası üzerine etkisini araştırmak üzere gökkuşuğu alabalıklarının mide-barsak mikroflorası incelenmiş (6) *Aeromonas* Enterobacteriaceae üyelerinin dominant olduğu tespit edilirken farklı bir coğrafik bölgede yer alan diğer bir alabalık işletmesinde ise florada *Vibrio* ve Enterobacteriaceae üyelerinin en çok izole edilen cinsler oldukları belirlenmiştir.

Balıkların sindirim sistemi mikroflorasında yer alan bakteri cinslerinden *Acinetobacter*, *Bacillus*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Moraxella* ve *Pseudomonas* daha çok gıda maddeleri ve sudan köken alan mikroorganizmalardır (7). Balığın açlık, su sıcaklığı gibi uygun olmayan çevre şartlarında bulunması bu bakterilerden *Pseudomonas* ya da *Acinetobacter*'in florada dominant hale gelmesine neden olabilmektedir. Dolayısı ile sindirim sistemi mikroflorasının incelenmesi balığın sağlık durumu konusunda fikir verebilmektedir (5, 7).

Bu çalışma; ülkemizde doğada yaşayan balıkların mide-barsak mikroflorası ile ilgili çalışmaların yetersizliği nedeniyle ve ihracaat kaynağı olarak önem arz eden, son yıllarda beslenme yetersizliğine bağlı sağlık problemleri olan Eğirdir gölü sudak balıklarının mide-barsak mikroflorasının kalitatif ve kantitatif yönden incelenmesini amaçlamıştır.

Materyal ve Metod

Örnekler

Materyal olarak kullanılan sudak balıkları Eğirdir Gölü Köprü avlağı kooperatifi yardımı ile avlandı. Çalışmada ortalama 27.5 cm total boy ve 107.56 gram canlı ağırlığındaki balıklar kullanıldı.

Örnekleme Şekli

Çalışma süresinde örnekler ayda bir kez alınarak Kasım 1995-Nisan 1996 periyodunda toplam 34 adet sudak bağılığı incelendi. Canlı olarak kısa bir süre içinde laboratuvara getirilen balıklardan izolasyon işlemi aynı gün içinde yapıldı.

Balık ve Su Örneklerinden İzolasyon İşlemi

Mide barsak mikroflorası incelenmek üzere laboratuvara getirilen sudak balıklarının vücut yüzeyi %70'lik etil alkol ile silindi. Aseptik koşullarda anüsten başa doğru dikkatli bir şekilde ventral ve lateral insizyon yapılarak abdominal boşluk açıldı. Mide ve barsak steril bir bistüri bıçağı ile kesilerek, içerikleri darası alınmış steril bir petri kutusuna boşaltıldı. Petri kutuları tartılarak içeriklerin miktarları belirlendikten sonra peptonlu su ile 1/10'luk seyreltileri hazırlandı. Rotasyon hareketi ile karıştırılarak 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} oranlarında seyreltildi. Her bir seyreltiden 1 ml alınarak Tryptic Soy Agara (TSA) dökme plak metodu ile ekimler yapıldı. Üç seri halindeki petri kutuları 22°C de 48-72 saat inkübe edilerek toplam aerobik bakteri sayımı yapıldı (7, 8). Petri kutularında üreyen ve kültürel farklar gösteren koloniler seçildi ve önce sıvı daha sonra katı besiyerine alınarak saflaştırıldı.

Su örnekleri ise ayda bir kez Eğirdir gölü Köprü avlağının 3 istasyonundan alınarak aynı şekilde seyreltileri yapılmak suretiyle TSA besiyerinde toplam aerobik bakteri sayımı yapıldı.

Mikroorganizmaların İdentifikasyonu

Tryptic Soy Agarda izole edilen bakterilerden 134'ü saflaştırıldı. İzolatların morfolojik, fiziksel ve biyokimyasal özellikleri incelenerek koloni morfolojisi ve pigmentasyonu, gram boyama, hücre şekli, çukurlam'da hareketlilik, sitokrom oksidaz, katalaz, oksidasyon/fermentasyon, vibriostat testleri yapıldı. İdentifikasyon işlemleri sırasında akuatik florada bulunan bakterilerin cins seviyesinde tanımlanabilmesi için önerilen tablolardan yararlanıldı (7, 9, 10, 11).

Balık ve su örneklerindeki toplam aerobik bakteri sayımlarının değerlendirilmesinde geometrik ortalamadan yararlanıldı (12).

Bulgular

Bu araştırmada 34 adet sudak balığının mide-barsak içeriğinden yapılan incelemelerde toplam 134 bakteri suşunun tanımlaması yapıldı.

Sindirim sistemi mikroflorası incelenen balıkların hepsinde mide ve barsaklarının tamamen dolu olmadığı dikkati çekti. Bazı balıklarda midenin az dolu ve hatta tamamen boş olduğu görüldü. Sindirim sistemi mikroflorasının *Staphylococcus*, *Moraxella*, *Micrococcus*, *Propionibacterium*, Coryneform grup, *Flavobacterium*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Aeromonas* ve Enterobacteriaceae grubu bakterilerden oluştuğu görüldü.

Bu cinslerin dağılımı ise %26.9 *Staphylococcus*, %23.1 *Moraxella*, %14.2 *Micrococcus*, %7.5 *Propionibacterium*, %6 Coryneform grup, %5.2 *Flavobacterium* ve *Aeromonas*, %4.5 *Acinetobacter*, %3.7 *Pseudomonas*, %1.5 *Enterobacteriaceae* olarak belirlendi. %2.2 oranında bakteri ise identifiye edilemedi (Tablo 1).

Tablo 1. Sudak balıklarının mide-barsak mikroflorasından izole edilen bakteri cinslerinin dağılımı ve yüzdeleri

Bakteri Cinsi	Bakteri Sayısı			
	Mide	Barsak	Toplam	%
<i>Staphylococcus</i>	26	10	36	26.9
<i>Micrococcus</i>	7	12	19	14.2
<i>Aeromonas</i>	1	6	7	5.2
<i>Pseudomonas</i>	1	4	5	3.7
<i>Propionibacterium</i>	6	4	10	7.5
Coryneform grup	–	8	8	6
<i>Moraxella</i>	8	23	31	23.1
<i>Flavobacterium</i>	2	5	7	6.2
<i>Acinetobacter</i>	1	5	6	4.5
Enterobacteriaceae	–	2	2	1.5
İdentifiye edilemeyen	–	–	3	2.2

Sudak balıklarının mide barsak mikroflorasından en fazla izole edilen bakterilerin *Staphylococcus* ve *Moraxella* cinslerine ait olduğu tespit edildi (Tablo 2).

Sudak balıklarındaki toplam aerobik bakteri sayısı minimum ve maksimum değerler şeklinde mide de 5.5×10^3 - 5.0×10^4 cfu/g olarak, barsakta, 1.0×10^4 - 1.0×10^6 cfu/g olarak tespit edildi. Eğirdir gölü suyundaki toplam aerobik bakteri sayısı yine minimum ve maksimum olarak I. istasyonda 2.0×10^1 - $1.9.7 \times 10^2$ cfu/ml, II. istasyonda 4.5×10^1 - $1.6.5 \times 10^2$ cfu/ml, III. istasyonda ise 1.9×10^1 - $1.6.7 \times 10^2$ arasında değişmiştir (Tablo 3).

Aylar	Bakteri Cinsleri %									
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
Kasım	60	10	-	10	-	10	10	-	-	-
Aralık	40	22.8	-	2.8	-	2.8	-	-	17.1	14.2
Ocak	-	-	-	-	-	-	36.3	36.3	9.1	18.1
Şubat	44.1	17.6	5.8	-	-	-	-	-	-	32.3
Mart	-	12.5	-	31.2	-	-	31.2	-	-	25
Nisan	4	8	16	-	8	12	-	12	4	36

A : *Staphylococcus*, B : *Micrococcus*, C : *Acinetobacter*, D : *Aeromonas*,
 E : Enterobacteriaceae, F : *Pseudomonas*, G : *Propionibacterium*,
 H : *Flavobacterium*, I : *Coryneform*, J : *Moraxella*

Tablo 3. Sudak balıklarının mide-barsak mikroflorasında ve suda tespit edilen toplam aerobik bakteri sayısı

Aylar	Toplam Bakteri Sayısı (*)				
	Mide	Barsak	Su Örnekleri		
	cfu/g	cfu/g	I. Ist. (cfu/ml)	II. Ist. (cfu/ml)	III. Ist. (cfu/ml)
Kasım	3.0x10 ⁴	1.0x10 ⁴	3.0x10 ¹	15.6x10 ¹	1.9x10 ¹
Aralık	1.0x10 ⁴	10x10 ⁶	2.5x10 ¹	4.5x10 ¹	6.5x10 ¹
Ocak	4.0x10 ⁴	3.0x10 ⁶	19.7x10 ²	20.5x10 ¹	16.7x10 ²
Şubat	5.5x10 ³	1x10 ⁶	16.1x10 ²	16.5x10 ²	15x10 ¹
Mart	4.5x10 ⁴	8x10 ⁶	21.4x10 ¹	19.6x10 ¹	18.5x10 ¹
Nisan	5.0x10 ⁴	8.5x10 ⁶	23.9x10 ¹	18.7x10 ¹	14.7x10 ¹
Geo.Ort.	2.3x10 ⁴	1.7x10 ⁶	2.2x10 ²	2.1x10 ²	1.4x10 ²

(*) Değerler, üç paralelin ortalamasını göstermektedir.

- I. Ist. Plaj
- II. Ist. Ada
- III. Ist. Hastane

Tartışma

Balıkların sindirim kanalı mikroflorası balık türü ve yaşadığı ortam yanısıra mevsimsel su sıcaklıkları farkına bağlı olarak değişebilmektedir (13, 14). Bu konuda yapılan araştırmalarda deniz ve tatlı su balıklarının sindirim sistemi mikroflorasında bazı farkların olduğu görülmüştür (6, 15). Deniz balıklarından *Pomatomus saltatrix*'in barsak mikroflorasında *Pseudomonas* ve *Achromobacter* en fazla izole edilen cinsler olmuşlardır (16). *Paqrus major* ve *Acanthopagrus schlegelii*'nin larval döneminde barsak mikroflorasında *Vibrio* ve *Pseudomonas* cinsleri dominant tespit edilmişlerdir (15). Tatlı sularında yaşayan sağlıklı salmonid balıkların barsak mikroflorasında öncelikle *Aeromonas* ve Enterobacteriaceae familyası üyeleri bulunurken bu balıklar denizlere göç ettiklerinde *Vibrio* cinsi bakteriler dominant hale gelmektedirler (7). Bazı araştırmacılara göre (5, 6,

Tablo 2. Sudak balıklarının mide-barsak mikroflorasından izole edilen bakteri cinslerinin aylara göre % dağılımı

18, 19) de, gökkuşağı alabalığının sindirim kanalında diğer salmonidlere benzer şekilde *Aeromonas* ve Enterobacteriaceae üyeleri gibi fermentatif özellikteki bakterilerin dominant olarak yer aldıkları bildirilmektedir. Sözkonusu bakterilerden *Aeromonas*'ın yılın her mevsiminde sularında bulunabildiği fakat Enterobacteriaceae üyelerinin ise sularındaki varlığının bir kontaminasyona işaret olduğu vurgulanmaktadır (7).

Sarıyüpoğlu (18)'na göre gökkuşağı alabalıklarının barsağında %1 gibi düşük bir oranda yer alan Gram pozitif *Staphylococcus*, Nieto ve ark. (6)'nın yaptığı bir başka araştırmada ise aynı balık türünde *Aeromonas* ve Enterobacteriaceae üyelerinden sonra sindirim kanalında en fazla izole edilen bakteri cinsi olarak bildirilmiştir. Sözkonusu bu araştırmaya göre (6) *Staphylococcus*'un balıklardan yüksek oranda izole edilmesi, kontamine gıda maddeleri ve balıklarda taşıma ile ilgili stres nedeniyle olabileceği vurgulanmıştır. Bu çalışmada ise *Staphylococcus* ve *Moraxella* sudak balıklarından izole edilen dominant cinsler olmuşlardır. Her iki bakteri cinsi balığın yaşadığı ortam ve besin kaynaklarına ait florada bulunabilmekle birlikte (7) balıklardan en çok izole edilen bakteri olmaları, balıkların açlığa bağlı fizyolojik stres içinde olmaları ile de izah edilebileceği kanısına varılmıştır.

Balıkların yaşadığı ortamın bakteriyel florasını sıcaklık, çözünmüş oksijen konsantrasyonu, pH, yağmurlar gibi önemli çevresel parametrelerin kontrol ettiği belirtilmektedir (5), Nieto ve ark. (6) gökkuşağı alabalıklarının sindirim sistemi mikroflorasında Enterobacteriaceae üyelerini kış aylarında izole edememişlerdir. Bu çalışmada da Enterobacteriaceae üyelerinin kış aylarına ait örneklerde bulunmazken, nisan ayında izole edilebilir olması, bunun yanısıra göl suyundaki toplam aerobik bakteri sayısının da artmış olması nedeniyle bulgularımız sindirim sistemi mikroflorasının su sıcaklığına bağlı olarak değişebileceği görüşünü desteklemektedir.

Çalışma süresince sudak balıklarının sindirim kanalı mikroflorasını temsil eden bakterilerin *Micrococcus*, *Propionibacterium*, *Flavobacterium*, *Aeromonas*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, Enterobacteriaceae üyelerine ait örneklerden oluştuğu tespit edilmiştir. Bulgularımıza göre sudak balıklarının mide barsak mikroflorasında yer alan bakteri cinslerinin diğer balık türlerinde tespit edilmiş (7, 13, 20) bakteriler ile benzerlik gösterdiği anlaşılmaktadır.

Ayrıca bu çalışmada mide barsak mikroflorasında yer alan bakteri cinslerinden *Pseudomonas* ve *Propionibacterium* haricindekilerin sudak balıklarının deri mikroflorasından izole edilenler (21) ile benzer oldukları dikkati çekmiştir. Bulgularımız teleostlarda sindirim kanalının mikroflorasının, deri florası ile benzer olabileceği görüşünü desteklemektedir.

Balıklarda toplam aerobik bakteri sayısı mide de 10^5 cfu/g, barsakta 10^7 - 10^8 cfu/g olarak bildirilmektedir (4, 22). Bakteriyel florayı kalitatif ve kantitatif olarak araştırırken izolasyon için kullanılan besiyerlerinin kimyasal yapısı bulguları etkileyebilmekle birlikte bu çalışmada toplam aerobik bakteri sayısı barsakta 10^4 - 10^7 cfu/g, mide de 10^3 - 10^4 cfu/g, göl suyunda ise 10^1 - 10^3 cfu/ml arasında değişim göstermiştir.

Bu çalışma ile diğer tatlısu balıklarının sindirim sistemi mikroflorasından farklı bir sonuç elde edilmiş ve sudak balıklarının mide barsak mikroflorasında *Staphylococcus* ve *Moraxella* cinsi bakterilerin dominant grubu oluşturdukları anlaşılmıştır.

Kaynaklar

1. Patir, B. Arslan, A., Güven, M. Keban Barajı Gölü Aynalı Sazanlarda (*Cyprinus carpio* L.) Derinin Bakteriyel Florası. Türk Vet. ve Hayvancılık Derg., 17: 281-284, 1993.
2. Mudarris, M., Austin, B. Quantitative and qualitative studies of the bacterial microflora of turbot, *Scophthalmus maximus*, L., gills. J. Fish Biol. 32: 223-229, 1988.
3. Sarıyüpoğlu, M., Aynalı Sazan (*Cyprinus carpio* L.) ve Tatlı Su Kefalinde (*Leuciscus cephalus* L.) Solungaçların Bakteriyel Florası. İstanbul Üniv. Su Ürünleri Dergisi 1-2, 57-63, 1993.
4. Austin, B., Austin, D.A., Bacterial Fish Pathogens Disease in Farmed and Wild Fish New York Ellis Horwood Lmt. 364 p.1987.
5. Horsley, R.W., A review of the bacterial flora of teleosts and elasmobranchs, including methods for its analysis. J. Fish Biol. 10, 529-553, 1977.
6. Nieto, P., Toranzo, A.E., Barja, J.L. Comparison Between The Bacterial Flora Associated with Fingerling Rainbow Trout Cultured in Two Different Hatcheries in the North-West of Spain. Aquaculture 42: 193-206, 1984.
7. Austin, B., Austin, D.A., 1989. Methods For The Microbiological Examination of Fish and Shell fish. Ellis Horwood Lmt. 317 p, 1989.
8. Collins, C.H., Lyne, P., Microbiological Methods Butterworths, London, 521 p., 1976.
9. Shewan, J.M., Skinner, F.A., Aquatic Microbiology. The Society for Applied Bacteriology Sym. Series No:6 London, New York Academic Press. 369 p, 1977.
10. Cowan, S.T., Steel, K.J. Manual For The Identification of Medical Bacteria. Cambridge Univ. Press 216 p., 1970.
11. Buchanan, R.E., Gibbons, N.E., Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. Eighth Edition. The Williams. Wilkins Company/Baltimore, 1974.
12. Düzgüneş, O., Kesici, T., Gürbüz, F., İstatistik Metodları. II. Baskı A.Ü. Ziraat Fak. Yay. 218 s, 1993.
13. Horsley, R.W. The Bacterial Flora of the Atlantic *Salmo salar* L. in Relation to its Environment. J. Applied Bacteriology 36, 377-386, 1973.
14. Beri, H.K., James, M.A., Solanki, K.K. Bacterial Flora of Some Fishes of Maharashtra and Saurashtra Coasts (India) J. Fd. Sci. Technol., 26, 318-321, 1989.
15. Newman, J.T., Cosenza, B.J. Buck, J.D. Aerobic Microflora of the Bluefish (*Pomatomus saltatrix*) intestine. J. Fish. Res. Bd. Canada 29: 333-336, 1972.
16. Sugita, H., Niyajima, C., Sugivra, C., Iwata, M., Kato, S., Deguchi, Y. The Intestinal Microflora of Japanese Migratory fish. J. Fish Biol. 35: 161-163, 1989.
17. Murogava, K., Higashi, M., Keitoku, H. The Isolation of Intestinal Microflora of Farmed red Seabream (*Paqrus major*) and Black Seabream (*Acanthopagrus schlegelii*) at larval and juvenile stages. Aquaculture 65: 79-88, 1987.
18. Sarıyüpoğlu M., Gökkuşluğu alabalıklarında (*S. quairdneri*) Mide-Barsak Bakteri Florasının Aerobik Yönden İncelenmesi. Doğa Bilim Derg., 8: 281-286, 1984.
19. Austin, B., Al-Zahrani, A.M.J., The effect of antimicrobial compounds on the gastrointestinal microflora of rainbow trout. *Salmo quairdneri* Richardson. J. Fish Biol. 33 1-14 p., 1988.
20. Strasdine, G.A., LynDubetz., Coliform Flora of Migrating Sockeye Salmon (*Oncorhynchus nerca*) J. Fish. Res. Bd. Canada, 31 (9): 1559-1560, 1974.
21. Diler, Ö., Diler A., Eğirdir Gölü Sudak Balıklarında (Stizostedion lucioperca L. 1758) Derinin Bakteriyel Florası. S.D.Ü. Eğirdir Su Ürünleri Fak. Derg. Vol.4: 179-190, 1995.
22. Liston, J. Microbiology in Fishery Science. In: Advances in Fish Science. In: Advances in Fish Science and Technology. (Ed. J.J. Connell) Fishing News Books Ltd. Farnham, Surrey, England, 138-157, 1980.