



Temporal variation of microbial load under controlled laboratory conditions of *Tubifex tubifex* collected from nature



Pınar Çelik*¹, Fikret Çakır²

*Corresponding author: pinarakaşlan@yahoo.com

Received: 27.08.2020

Accepted: 19.10.2020

Affiliations

¹Çanakkale Onsekiz Mart University, Marine Sciences and Technology Faculty, Department of Aquaculture, 17100, Çanakkale, TURKEY.

²Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Marine Sciences and Technology Faculty, Department of Fishing and Fish Processing Technology, Çanakkale, TURKEY.

ABSTRACT

This paper has compared microbiological load levels of *Tubifex tubifex* both collected from nature and kept under controlled conditions for 28 days. Six different experimental groups were investigated. These groups were (1) the group with sand on the tank floor and ultraviolet (UV) sterilized (Group 1 = KUVL), (2) the group with sand on the tank floor but not UV sterilized (Group 2 = KUVS), (3) the group with mud on the tank floor and UV sterilized (Group 3 = ÇUVL), (4) the group with mud on the tank floor but not UV sterilized (Group 4 = ÇUVS), (5) the group with the empty tank floor and UV sterilized (Group 5 = ZUVL), (6) the group with the empty tank floor but not UV sterilized (Group 6 = ZUVS). Water-related parameters were kept constant in all groups. The experiments were carried out in triplicate and 100 grams of alive *T. tubifex* were stocked for each group. Microbiological samples were taken from *T. tubifex*, which were kept in the closed-circuit system for twenty-eight days, on a weekly basis periodically (0, 7, 14, 21, 28 days) and measurements were conducted. The results revealed that the number of total aerobic bacteria (TAB) showed a time-dependent decrease in all groups. Moreover, it has been determined that the amount of microbiological bacterial load decreased continuously until the end of 28 days.

Keywords

Tubifex tubifex
Culture
Microbiology
Yeast-mold
Pseudomonas/aeromonas
Coliform bacteria
Mesophile/ psychrophile bacteria

Doğadan toplanan *Tubifex tubifex*'in mikrobiyal yük seviyesinin kontrollü laboratuvar şartlarında değişimi

ÖZET

Bu çalışmada, doğadan toplanan *Tubifex tubifex*'ler ile 28 gün boyunca kontrollü şartlarda tutulan *T. tubifex*'lerin mikrobiyolojik yük seviyeleri karşılaştırılmıştır. Bu amaçla altı farklı deneme grubu oluşturulmuştur. Bu gruplar (1) tank zemininde kum olan ve ultraviyole (UV) sterilizasyon işlemi uygulanan grup (1. Grup = KUVL), (2) tank zemininde kum olan ancak UV sterilizasyon uygulanmayan grup (2. Grup = KUVS), (3) tank zemininde çamur olan ve UV sterilizasyon işlemi uygulanan grup (3. Grup = ÇUVL), (4) tank zemininde çamur olan ancak UV sterilizasyon uygulanmayan grup (4. Grup = ÇUVS), (5) tank zemini boş olan ve UV sterilizasyon işlemi uygulanan grup (5. Grup = ZUVL), (6) tank zemini boş olan ancak UV sterilizasyon işlemi uygulanmayan grup (6. Grup = ZUVS) olarak planlanmıştır. Su parametreleri tüm gruplarda sabit tutulmuştur. Denemeler üç tekerrürlü olacak şekilde gerçekleştirilmiş olup her bir gruba 100'er gram canlı *T. tubifex* stoklanmıştır. Kapalı devre sistemde bir yirmisekiz gün boyunca tutulan *T. tubifex* lardan periyodik olarak (0. gün, 7. gün, 14. gün, 21. gün ve 28. gün) mikrobiyolojik örnekler alınmış ve ölçümler yapılmıştır. Elde edilen bulgulara göre toplam aerob

Anahtar Kelimeler

Tubifex tubifex
Yetiştiricilik
Mikrobiyoloji
Maya-küf
Pseudomonas/aeromonas
Koliform bakteri
Mezofil/psikrofil bakteri

Cite this article as

Çelik, P. & Çakır, F. (2020). Temporal variation of microbial load under controlled laboratory conditions of *Tubifex tubifex* collected from nature. *Marine and Life Sciences*, 2(2): 71-77. (In Turkish)

bakteri sayısı (TAB) tüm gruplarda zamana bağlı bir azalma göstermiştir. Bunun yanı sıra ortamdaki mikrobiyolojik bakteri yük miktarının başlangıç anından itibaren 28 günün sonuna kadar sürekli düşüş eğilimi gösterdiği tespit edilmiştir.

Giriş

Tubifex tubifex akvaryum balıklarının beslenmesinde yaygın olarak kullanılan en önemli canlı yemlerden biridir. Fiyatının yüksek olması canlıya olan talep ile doğru orantılıdır. *T. tubifex*'in bu kadar çok tercih edilmesinin en önemli sebebi balıkların üreme ve büyüme performansını dikkat çekici seviyede yükseltmesidir. Özellikle de ω -3 ve ω -6 serisi yağ asitleri, esansiyel aminoasit ve karotenoid pigmentleri bakımından zengin bir besin kaynağıdır (Yanar ve ark., 2003; Çelik, 2018). *T. tubifex*, dünya genelinde tatlı su ekosistemlerinde (Brinkhurst ve Jameison, 1971; Lazim ve Learner, 1986; Şahin ve Yıldız, 2011), özellikle de organik madde bakımından zengin akarsular, lağım suları, mezbahane ve sığır işletme atıklarının döküldüğü kirli dere yataklarında bol miktarda bulunan bir canlıdır (Brinkhurst ve Jamieson, 1971; Chekanovskaya, 1981; Lazim ve Learner, 1986). Balık beslemede yaygın olarak kullanılan, organik ve inorganik yükü oldukça fazla olan *T. tubifex*'ler bu tür doğal ortamlardan toplanmaktadır. Dolayısıyla, hem bu canlı ile temas eden insanlar için hem de beslenen canlılar için yüksek seviyede hastalık riskleri taşımaktadır (Tanyolaç, 1993; Yanar ve ark., 2003; Elibol ve ark., 2006). Yaşadıkları ortamdaki patojenik mikroorganizmalar ile etkileşim içerisinde olduklarından, birçok mikroorganizma için konak vazifesi görebilmektedirler. *T. tubifex*'ler bilhassa alabalıklar üzerinde etkili olduğu bilinen *Myxobolus cerebralis* sporlarının ana konakçısı durumundadırlar (Markiw ve Wolf 1983; Wolf ve ark., 1986; El-Matbouli ve Hoffman, 1989; El-Matbouli ve Hoffman, 1995; Beauchamp ve ark., 2002). Bu ve buna benzer daha pek çok hastalık etmenini bünyesinde barındırabilen *T. tubifex*, balık üreticileri, yetiştiriciler ve nihai aşamada balıklarını bu canlılar ile besleyen akvaryum severler için potansiyel bir hastalık tehlikesi taşıyabilmektedir. Buna rağmen *T. tubifex*'lerin balık beslemede kullanımı her geçen gün artmaktadır. Tüm bu hastalık risklerinin en aza indirgenebilmesi için bu canlıların kontrollü şartlarda yetiştirilmesi büyük önem arz etmektedir.

Bu çalışmada doğadan toplanan *T. tubifex*'lerin bünyelerindeki mikrobiyal yük bazı değerlerle ölçülmüştür. Bu çalışmanın nihai amacı hastalık riski yüksek olan doğal ortamlarından toplanan *Tubifex*'lerin mikrobiyolojik açıdan ne derece

risk taşıdıklarını tespit ettikten sonra bu risklerin tamamen ortadan kaldırılması veya en aza indirilmesi yönünde çözüm önerileri getirmektir.

Materyal ve Yöntem

Bu çalışmada, öncelikle Eskişehir Porsuk Çayı'ndan toplanan *T. tubifex*'lerin bünyesindeki mikrobiyolojik yük miktarı tespit edilmiştir. Sonraki aşamada ise, doğadan toplanan canlı materyaller Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Deniz Bilimleri ve Teknolojisi Fakültesi, Akvaryum Balıkları Üretim ve Araştırma Ünitesi'nde kontrollü kapalı devre sistemlerin kullanıldığı akvaryumlara stoklanmıştır. Çalışmada altı farklı deneme grubu oluşturulmuştur.

1. Grup (KUVL): Tank zemininde kum olan ve Ultraviole (UV) sterilizasyon işlemi uygulanan grup.
2. Grup (KUVS): Tank zemininde kum olan ancak UV sterilizasyon uygulanmayan grup.
3. Grup (ÇUVL): Tank zemininde çamur olan ve UV sterilizasyon işlemi uygulanan grup.
4. Grup (ÇUVS): Tank zemininde çamur olan ancak UV sterilizasyon uygulanmayan grup.
5. Grup (ZUVL): Tank zemini boş olan ve UV sterilizasyon işlemi uygulanan grup.
6. Grup (ZUVS): Tank zemini boş olan ancak UV sterilizasyon işlemi uygulanmayan grup.

Grupların hepsinde sabit su şartları uygulanmıştır. Üçer tekerrürden oluşan grupların her bir tekerrürüne 100'er gram *T. tubifex* stoklanmıştır. Kapalı devre sistemde bir ay tutulan *T. tubifex*'lerden 7 gün aralıklarla (0. gün, 7. gün, 14. gün, 21. gün ve 28. gün) mikrobiyolojik örnekler alınmış ve toplam aerob mezofil bakteri sayısı, psikrofil bakteri sayısı, toplam koliform bakteri sayısı, toplam maya-küf sayısı, *pseudomonas-aeromonas* sp. bakteri sayısı ölçümleri yapılmıştır. Bir aylık periyotta 3 farklı zemin ortamında bulunan (kum, çamur ve zeminsiz) *T. tubifex*'lerden bir bölümüne UV uygulaması yapılmış diğer bölümüne ise UV uygulaması yapılmamıştır. Böylece aynı zeminlerde UV'li UV'siz sistemlerdeki analiz sonuçları karşılaştırılmıştır. Bu şekilde UV'nin etkisi tespit edilmeye çalışılmıştır. Bunun için başlangıçta örnek alındıktan sonra her hafta birer örnek alınmış ve deneme 1 ay sonra sonlandırılmıştır.

Bakteriyel aktiviteyi belirlemek üzere yapılan mikrobiyolojik analizde, steril bir pens yardımı ile 1 gram örnek alınıp 9 mililitre serum fizyolojik su içerisinde homojenize edilmiştir. Homejenizatlardan 10^{-8} e kadar seri seyreltilimler hazırlanarak yayma plak yöntemlerine göre ekimler yapılarak bakteri sayımları gerçekleştirilmiştir. Ekimler üçer tekerrürlü olarak yapılmıştır.

Total aerobik mezofilik bakteri sayımında; besiyeri olarak Plate Count Agar (PCA, Merck) kullanılmıştır. Hazırlanan dilüsyonlardan yüzeye yayma yöntemi ile ekim yapılan petri kutuları 37°C 'de 24-48 saat aerobik şartlarda inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda petri kutularındaki aerobik mezofilik bakteriler sayılarak total aerobik mezofilik bakteri sayıları belirlenmiştir.

Psikrofil bakteri sayımında; besiyeri olarak Plate Count Agar (PCA, Merck) kullanılmıştır. Hazırlanan dilüsyonlardan yüzeye yayma yöntemi ile ekim yapılan petri kutuları 7°C 'de 7 gün aerobik şartlarda inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda petri kutuları sayılarak psikrofilik bakteri sayıları belirlenmiştir.

Toplam koliform bakteri sayısının belirlenmesinde besiyeri olarak Violet Red Bile Agar (VRB, Merck) kullanılmıştır. Yüzeye yayma metoduna göre ekimi yapılan petri kutuları 37°C 'de 24 saat inkübasyona bırakılmış ve inkübasyon sonunda çapı 1 mm'nin üzerinde olan koloniler sayılarak toplam koliform bakteri sayısı belirlenmiştir.

Toplam maya-küf sayımı için Malt Extract Agar (Merck) kullanılmıştır. Petri kaplarına yayma plak yöntemine göre ekimler yapılmış ve besiyerleri inkübasyon için $25-28^{\circ}\text{C}$ 'de 5 gün süre bekletilmiştir. İnkübasyon süresi sonunda oluşan koloniler sayılarak toplam maya-küf sayısı belirlenmiştir.

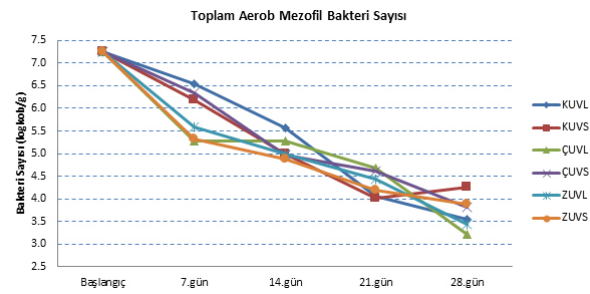
Pseudomonas-Aeromonas sp. bakteri sayımında Glutamate Starch Phenol Red (GSP) Agar kullanılmıştır. Yayma plak yöntemine göre ekimi yapılan besiyerleri 28°C 'da 3 gün süre ile inkübasyona bırakılmış ve inkübasyon sonunda oluşan 2-3 mm çaplı sarı renkli ve etrafı sarı zonlu koloniler *Aeromonas* sp, yine 2-3mm çaplı kırmızı ve etrafı kırmızı zonlu koloniler *Pseudomonas* sp. olarak değerlendirilmiştir.

Çalışma kapsamında elde edilen verilerin değerlendirilmesinde "SPSS 20" paket programından yararlanılmıştır. Üzerinde durulan her bir özellik için grup ortalamalarının önemlilik testi, Varyans Analiziyle (ANOVA) yapılmış ve gruplar arasındaki olası farklar 'Tukey Çoklu

Karşılaştırma' testi kullanılarak karşılaştırılmıştır.

Bulgular

Bu çalışmada oluşturulan 6 farklı gruptan periyodik aralıklarla alınan örneklerin mikrobiyolojik analizleri yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar doğrultusunda doğadan toplanan örneklerin sonuçları (Tablo 1'de Başlangıç olarak verilmiştir) ile kontrollü laboratuvar şartlarındaki bireylerin mikrobiyal yük seviyelerikarşılaştırılmıştır. Yapılan mikrobiyolojik analizlere ait bulgular Tablo 1 ile Şekil 1, Şekil 2, Şekil 3, Şekil 4 ve Şekil 5'te sunulmuştur.



Şekil 1: *T. tubifex*' in kum, çamur ve zeminsiz alanlarda UV uygulanan ve UV uygulanmayan koşullardaki "Toplam Aerob Mezofil Bakteri Sayısı".

Elde edilen bulgulara göre toplam aerob bakteri sayısı (TAB) çalışma başlangıcında $7,26 \pm 0,24$ log kob/gr iken tüm gruplarda zamana bağlı bir azalma göstermiştir (Şekil 1). Çalışmanın 28. gününde KUVL grubunda $3,56 \pm 0,06$ log kob/gr; KUVS grubunda $4,26 \pm 0,12$ log kob/gr; ÇUVL grubunda $3,21 \pm 0,23$ log kob/gr; ÇUVS grubunda $3,82 \pm 0,22$ log kob/gr; ZUVL grubunda $3,45 \pm 0,03$ log kob/gr ve ZUVS grubunda $3,88 \pm 0,02$ log kob/gr olarak tespit edilmiştir (Şekil 1). Çalışmanın 7. gününde zeminleri aynı UV uygulamaları farklı gruplardan sadece ÇUVL ve ÇUVS arasındaki farklar istatistiksel olarak önemli ($p < 0,05$) bulunurken kum ve zeminsiz gruplardaki mikrobiyal yük miktarları arasındaki farklar önemsiz bulunmuştur. Çalışmanın 14 ve 21. günlerinde ise tüm gruplardaki UV uygulanmış ve UV uygulanmamış örneklerdeki mikroorganizma yükleri arasındaki farklar önemsiz bulunmuştur ($p > 0,05$). Çalışmanın sonlandırıldığı 28. günde ise tüm zeminlerde (Kum, Çamur, Zeminsiz) UV uygulanan ve UV uygulanmayan gruplar arasındaki istatistiksel farklar önemli ($p < 0,05$) bulunmuştur (Tablo 1). En düşük toplam aerob bakteri sayısı ise ÇUVL grubunda tespit edilmiştir. Elde edilen bulgulara göre UV uygulanan gruplardaki mikroorganizma yükleri UV uygulanmayan örneklerden daha düşük bulunmuştur.

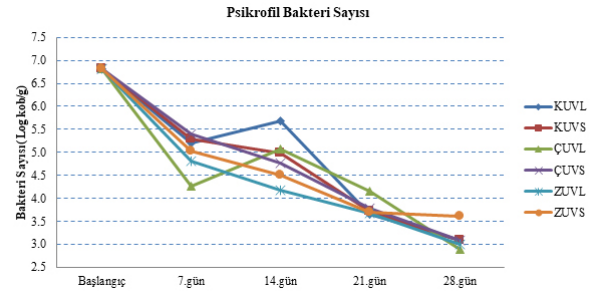
Çalışma başlangıcında $6,83 \pm 0,16$ olarak tespit

Tablo 1. *T. tubifex* in kum, çamur ve zeminiz alanlarda UV uygulanan ve UV uygulanmayan koşullardaki mikroorganizma yükleri

(KUVL: Kum Zemin UV Uygulanmış; KUVS: Kum Zemin UV Uygulanmamış; ÇUVL: Çamur Zemin UV Uygulanmış; ÇUVS: Çamur Zemin UV Uygulanmamış; ZUVL: Zeminiz UV Uygulanmış; ZUVS: Zeminiz UV Uygulanmamış. A-B: aynı gündeki KUVL ve KUVS arasındaki farkları göstermektedir. a-b: aynı gündeki ÇUVL ve ÇUVS arasındaki farkları göstermektedir. x-y; aynı gündeki ZUVL ve ZUVS arasındaki farkları göstermektedir.)

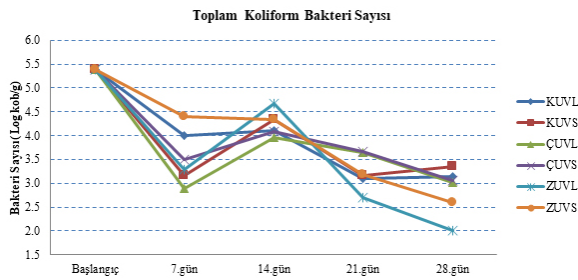
Mikroorganizmalar-Süre		Deneme Grupları-Mikroorganizma sayıları (\pm standart hata) (log kob/gr)				
Toplam Aerob Mezofil Bakteri	KUVL	KUVS	ÇUVL	ÇUVS	ZUVL	ZUVS
Başlangıç	7,26 \pm 0,24					
7. gün	6,55 \pm 0,15 ^A	6,19 \pm 0,20 ^A	5,28 \pm 0,02 ^b	6,35 \pm 0,18 ^a	5,60 \pm 0,23 ^x	5,32 \pm 0,17 ^x
14. gün	5,57 \pm 0,35 ^A	4,98 \pm 0,15 ^A	5,28 \pm 0,25 ^a	4,97 \pm 0,19 ^a	4,99 \pm 0,01 ^x	4,89 \pm 0,18 ^x
21. gün	4,05 \pm 0,37 ^A	4,01 \pm 0,41 ^A	4,68 \pm 0,47 ^a	4,62 \pm 0,12 ^a	4,44 \pm 0,12 ^x	4,19 \pm 0,26 ^x
28. gün	3,56 \pm 0,06 ^B	4,26 \pm 0,12 ^A	3,21 \pm 0,23 ^b	3,82 \pm 0,22 ^a	3,45 \pm 0,03 ^y	3,88 \pm 0,02 ^x
Psikrofil Bakteri						
Başlangıç	6,83 \pm 0,16					
7. gün	5,21 \pm 0,71 ^A	5,29 \pm 0,46 ^A	4,26 \pm 0,04 ^b	5,39 \pm 0,49 ^a	4,81 \pm 0,41 ^y	5,03 \pm 0,14 ^x
14. gün	5,68 \pm 0,36 ^A	4,97 \pm 0,09 ^B	5,06 \pm 0,22 ^a	4,77 \pm 0,07 ^b	4,19 \pm 0,05 ^y	4,51 \pm 0,20 ^x
21. gün	3,66 \pm 0,10 ^A	3,72 \pm 0,08 ^A	4,15 \pm 0,23 ^a	3,77 \pm 0,49 ^a	3,67 \pm 0,47 ^x	3,69 \pm 0,16 ^x
28. gün	3,08 \pm 0,18 ^A	3,09 \pm 0,59 ^A	2,89 \pm 0,14 ^a	3,09 \pm 0,32 ^a	3,00 \pm 0,25 ^y	3,61 \pm 0,16 ^x
Toplam Koliform Grubu						
Başlangıç	5,39 \pm 0,01					
7. gün	3,99 \pm 0,76 ^A	3,16 \pm 0,51 ^B	2,89 \pm 0,05 ^b	3,49 \pm 0,61 ^a	3,29 \pm 0,42 ^y	4,39 \pm 0,18 ^x
14. gün	4,10 \pm 0,32 ^A	4,35 \pm 0,07 ^A	3,97 \pm 0,22 ^a	4,09 \pm 0,12 ^a	4,67 \pm 0,09 ^x	4,34 \pm 0,21 ^x
21. gün	3,10 \pm 0,05 ^A	3,16 \pm 0,06 ^A	3,65 \pm 0,23 ^a	3,67 \pm 0,53 ^a	2,69 \pm 0,47 ^y	3,18 \pm 0,16 ^x
28. gün	3,15 \pm 0,29 ^A	3,35 \pm 0,64 ^A	3,01 \pm 0,35 ^a	3,06 \pm 0,40 ^a	2,00 \pm 0,26 ^y	2,60 \pm 0,15 ^x
Maya-Küf						
Başlangıç	6,24 \pm 0,06					
7. gün	5,46 \pm 0,04 ^A	5,43 \pm 0,01 ^A	3,00 \pm 0,05 ^a	3,14 \pm 0,09 ^b	4,10 \pm 0,03 ^y	4,57 \pm 0,05 ^x
14. gün	4,48 \pm 0,09 ^A	4,04 \pm 0,07 ^B	3,01 \pm 0,12 ^a	3,01 \pm 0,07 ^a	4,02 \pm 0,09 ^x	4,13 \pm 0,03 ^x
21. gün	2,63 \pm 0,14 ^B	3,44 \pm 0,06 ^A	3,23 \pm 0,24 ^a	3,19 \pm 0,07 ^a	2,46 \pm 0,12 ^x	2,87 \pm 0,09 ^x
28. gün	2,53 \pm 0,13 ^A	2,56 \pm 0,09 ^A	2,39 \pm 0,32 ^a	2,30 \pm 0,09 ^a	2,32 \pm 0,02 ^x	2,46 \pm 0,03 ^x
<i>Pseudomonas Aeromonas</i>						
Başlangıç	6,67 \pm 0,89					
7. gün	6,01 \pm 0,64 ^A	5,14 \pm 1,32 ^B	4,26 \pm 0,74 ^b	4,70 \pm 1,08 ^a	4,70 \pm 0,88 ^x	4,25 \pm 0,35 ^y
14. gün	5,69 \pm 0,80 ^A	5,11 \pm 0,14 ^B	4,43 \pm 0,57 ^a	4,77 \pm 0,43 ^a	4,19 \pm 0,20 ^x	4,28 \pm 0,03 ^x
21. gün	3,88 \pm 0,24 ^A	3,66 \pm 0,23 ^A	4,22 \pm 0,25 ^a	3,97 \pm 0,09 ^a	3,53 \pm 0,52 ^x	4,00 \pm 0,23 ^x
28. gün	3,69 \pm 0,10 ^B	3,93 \pm 0,16 ^A	3,18 \pm 0,22 ^a	3,25 \pm 0,05 ^a	3,59 \pm 0,58 ^x	3,65 \pm 0,58 ^x

edilen psikrofil bakteri sayısı tüm çalışma gruplarında süreye bağlı olarak bir azalma göstermiştir (Şekil 2). İzlenme süresinin 28. gününde deneme gruplarında tespit edilen mikroorganizma yoğunlukları sırasıyla; KUVL grubunda 3,08 \pm 0,18 log kob/gr; KUVS grubunda 3,09 \pm 0,59 log kob/gr; ÇUVL grubunda 2,89 \pm 0,14 log kob/gr; ÇUVS grubunda 3,09 \pm 0,32 log kob/gr; ZUVL grubunda 3,00 \pm 0,25 log kob/gr ve ZUVS grubunda 3,61 \pm 0,16 log kob/gr olarak tespit edilmiştir (Şekil 2). En düşük bakteri yükü ise yine ÇUVL grupta tespit edilmiştir. Çalışma başlangıcından 21. güne kadar tüm gruplarda istatistiksel olarak mikroorganizma miktarları arasında farklar gözükse de çalışmanın sonunda KUVL ve KUVS arasında ÇUVL ve ÇUVS arasında önemli bir fark bulunamamıştır ($p>0,05$). Ancak zeminiz grup olan ZUVL ve ZUVS grupları arasındaki mikrobiyal yük ise istatistiki olarak önemli bulunmuştur ($p>0,05$). Yine TAB'da olduğu gibi psikrofil bakteri sayısında da UV uygulaması yapılan zeminlerdeki bakteri yükünün uygulanmayanlara göre daha düşük olduğu belirlenmiştir.

**Şekil 2.** *T. tubifex* in kum, çamur ve zeminiz alanlarda UV uygulanan ve UV uygulanmayan koşullardaki "Psikrofil Bakteri Sayısı".

Toplam koliform bakteri sayıları çalışma başlangıcında 5,39 \pm 0,01 log kob/gr olarak tespit edilirken tüm çalışma gruplarında süreye bağlı olarak azalmıştır (Şekil 3). Arındırma işleminin sonu olan 28. günde deneme gruplarında tespit edilen koliform bakteri sayıları ise sırasıyla; KUVL grubunda 3,15 \pm 0,29 log kob/gr; KUVS grubunda 3,35 \pm 0,64 log kob/gr; ÇUVL grubunda 3,01 \pm 0,35 log kob/gr; ÇUVS grubunda 3,06 \pm 0,40 log kob/gr; ZUVL grubunda 2,00 \pm 0,26 log kob/gr ve ZUVS grubunda 2,60 \pm 0,15 log kob/gr olarak tespit

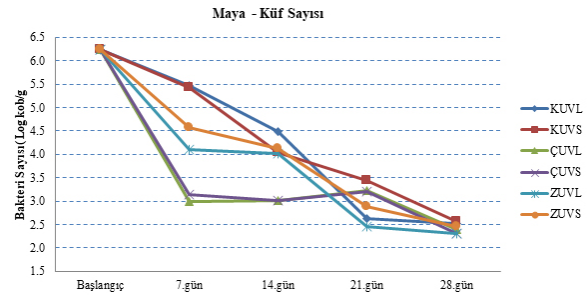
edilmiştir (Şekil 3). En düşük bakteri yükü ise ZUVL grubunda saptanmıştır. Tüm uygulama gruplarında depolamanın 7. gününde UV uygulmalı gruplar arasındaki farklar önemli bulunmuştur. Çalışmanın 14, 21 ve 28. günlerinde kumlu ve çamurlu zeminlerde tespit edilen bakteri yükleri arasındaki farklar istatistiksel olarak önemsiz ($p>0,05$) bulunurken ZUVL ve ZUVS gruplarında tespit edilen bakteri yükleri arasındaki farklar ise istatistiksel olarak önemli ($p<0,05$) bulunmuştur. Koliform grubu bakteri miktarlarında da UV uygulaması yapılan gruplardaki mikroorganizma yükünün UV uygulanmayanlara oranla daha düşük değerlerde olduğu belirlenmiştir.



Şekil 3. *T. tubifex*' in kum, çamur ve zeminsiz alanlarda UV uygulanan ve UV uygulanmayan koşullardaki "Toplam Koliform Bakteri Sayısı".

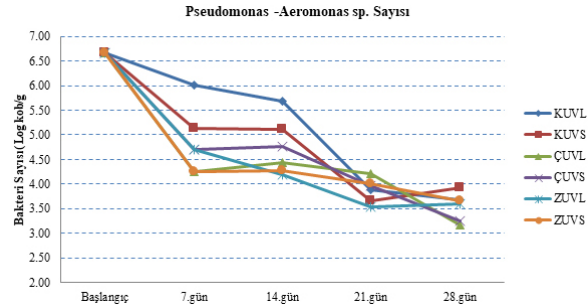
Maya-küf sayıları çalışma başlangıcında $6,24 \pm 0,06$ log kob/gr olarak tespit edilmiştir (Şekil 4). Maya-küf sayısı arıtma süresine bağlı olarak tüm deneme gruplarında azalma göstermiş ve çalışmanın 28. gününde deneme gruplarında sırasıyla; KUVL grubunda $2,53 \pm 0,13$ log kob/gr; KUVS grubunda $2,56 \pm 0,09$ log kob/gr; ÇUVL grubunda $2,39 \pm 0,32$ log kob/gr; ÇUVS grubunda $2,00 \pm 0,09$ log kob/gr; ZUVL grubunda $2,32 \pm 0,02$ log kob/gr ve ZUVS grubunda $2,46 \pm 0,03$ log kob/gr olarak tespit edilmiştir. Arıtma süresi sonunda tüm gruplarda tespit edilen maya-küf değerleri istatistiksel olarak değerlendirildiğinde UV' li ve UV'siz gruplar arasındaki farkların önemsiz ($p>0,05$) olduğu UV uygulamasının maya-küf sayısı üzerinde önemi bir etkisinin olmadığı belirlenmiştir (Şekil 4).

Pseudomonas-Aeromonas sp. sayıları çalışma başlangıcında $6,67 \pm 0,89$ log kob/gr olarak belirlenirken arıtma süresine bağlı olarak azalma göstermiştir (Şekil 5). Arıtma süresinin sonu olan 28. günde ise deneme gruplarındaki *Pseudomonas-Aeromonas* sp. sayısı sırasıyla; KUVL grubunda $3,69 \pm 1,10$ log kob/gr; KUVS grubunda $3,93 \pm 0,16$ log kob/gr; ÇUVL grubunda $3,18 \pm 0,22$ log kob/gr; ÇUVS grubunda $3,25 \pm 0,05$ log kob/gr; ZUVL grubunda $3,59 \pm 0,58$ log kob/gr ve ZUVS grubunda $3,65 \pm 0,58$ log kob/gr olarak tespit edilmiştir. Depolama sonunda KUVL ve KUVS



Şekil 4. *T. tubifex*' in kum, çamur ve zeminsiz alanlarda UV uygulanan ve UV uygulanmayan koşullardaki "Maya-Küf Sayısı".

gruplarında UV uygulamaları arasındaki farklar önemli ($p<0,05$) bulunurken, Diğer gruplardaki uygulamalar arası farklar önemsiz ($p>0,05$) bulunmuştur. *Pseudomonas-Aeromonas* sp. mikroorganizmalarının da UV uygulanan gruplarda daha düşük değerlere sahip olduğu belirlenmiştir (Şekil 5).



Şekil 5: *T. tubifex*' in kum, çamur ve zeminsiz alanlarda UV uygulanan ve UV uygulanmayan koşullardaki "Pseudomonas -Aeromonas sp. Sayısı".

Tartışma ve Sonuç

Bu çalışmada 28 günlük bir sürede 3 farklı zemin ortamında bulunan (kum, çamur ve zeminsiz) *T. tubifex*' lerden bir bölümüne UV uygulaması yapılmış diğer bölümüne ise UV uygulaması yapılmamıştır. Elde edilen bulgulara göre toplam aerob bakteri sayısı (TAB) çalışma başlangıcında $7,26 \pm 0,24$ log kob/g iken tüm gruplarda zamana bağlı bir azalma göstererek çalışmanın 28. gününde KUVL grubunda $3,56 \pm 0,06$ log kob/gr; KUVS grubunda $4,26 \pm 0,12$ log kob/gr; ÇUVL grubunda $3,21 \pm 0,23$ log kob/gr; ÇUVS grubunda $3,82 \pm 0,22$ log kob/gr; ZUVL grubunda $3,45 \pm 0,03$ log kob/gr ve ZUVS grubunda $3,88 \pm 0,02$ log kob/gr olarak tespit edilmiştir. Elde edilen bulgulara göre UV uygulanan gruplardaki mikroorganizma yükleri UV uygulanmayan örneklerden daha düşük bulunmuştur. Bunun yanı sıra ortamdaki mikrobiyolojik bakteri yük miktarının başlangıç anından itibaren 28 günün sonuna kadar sürekli düşüş eğilimi gösterdiği tespit edilmiştir. Bu 28 günlük bekletme süresinin sonunda UV uygulamasının örneklerdeki toplam aerob bakteri

sayısının azalmasında daha etkili olabileceğini göstermiştir. Ayrıca, *T. tubifex*' lerin koliform grubu bakterilerden arındırılması işleminde kum ve çamur zeminlerde bekletilen *T. tubifex*' lerdeki bakterileri yüklerinin zeminsiz ortamda bekletilen *T. tubifex*' lere oranla daha fazla olduğu, bu durum da kum ve çamur zeminlerin koliform bakterileri daha fazla barındırdığını göstermektedir. Bu sebeple koliform grubu bakterilerin uzaklaştırılmasında *T. tubifex*' lerin zeminsiz ortamlarda bekletilmesinin daha uygun olacağı düşünülmektedir. Su kolonundaki besinlerinden de istifade edebilen *T. tubifex* için askıda katı miktarı da önemlidir. Dolayısıyla doğal ortamda mezbahane suları ve kanalizasyon atıklarının olduğu bölgelerde vs. *T. tubifex* popülasyonunun yoğun olması bunun en büyük göstergesidir. Yetiştiricilik ortamında kullanılacak kültür suyunun da bu gibi ortamlardaki sular gibi olması üretim potansiyelini arttıracaktır. Bu noktadan sonra yine hastalık yapıcı etmenlerin ortaya çıkması kuvvetle muhtemeldir. Böyle bir ortamda mikrobiyolojik yükü risk değerlerinin altında tutabilmek oldukça zordur. Birçok araştırmacı *T. tubifex*' in bulunduğu doğal ortamda aşırı organik yük açısından indikatör olduğunu kabul etmektedir (Milbrink, 1978, 1980, 1987; Lang ve Lang-Dobler, 1980; Sarkka, 1987). Bundan dolayı da *T. tubifex* ile beslenen su canlılarının hasta olma riskleri artmaktadır. Kontrollü şartlarda *T. tubifex* yetiştiriciliğinin yapılması, işte bu hastalık riskinin minimum seviyeye indirilmesi sağlayabilir. Bu çalışmanın en önemli hedeflerinden biri de budur. Bu yüzden kontrollü laboratuvar şartlarında tutulan *T. tubifex*' lerin mikrobiyolojik yüklerindeki değişim gözlenmiştir. Doğadaki *T. tubifex*' lerin maruz kaldığı en ciddi enfeksiyonlardan biri *Myxobolus cerebralis*' tir. Beauchamp ve ark. (2006) yaptıkları iki laboratuvar denemesinde *M. cerebralis* enfeksiyonuna maruz kalmış *T. tubifex*' in bu parazite karşı olan hassasiyetini araştırmışlardır. Deneyin başında ve sonunda, deney ve kontrol gruplarındaki kültürlerle genetik analizler yapılarak *M. cerebralis* enfeksiyonuna maruz kalmış hastalıklı kültürler ile temiz kültürlerin toplam parazit üremesi yöntemi kullanılarak aralarındaki durum değerlendirilmiştir. Hassas ve dirençli kurtların birlikte bulunduğu kültürlerin, bu hastalığa karşı hassas olan kurtların bulunduğu kültürlerle kıyaslandığında parazit üremesinin devamlılığının %70 azaldığı görülmüştür. Bu çalışmanın sonunda bazı *T. tubifex* türlerine *M. cerebralis* parazitinin verilmesi ölümle sonuçlanabilir ya da parazit inaktif olabilir ve belki de bazı dönme hastalığı olan bölgelerdeki duyarlı Oligochaeta'lerle kıyaslandığında daha fazla hayatta kalma şansı da gösterebileceği

bulunmuştur. Bunun yanı sıra Kaeser ve Sharpe (2006), *M. cerebralis* konakçı parazitinin bulunduğu enzootik habitatlarda *T. tubifex* ve diğer sucul oligoketlerin bolluğu ve dağılımı üzerine çalışma yapmışlardır. Bu çalışmalarda da hastalık risklerinden bahsedilmiştir. *T. tubifex* için konakçı parazit olan *M. Cerebralis*' in dışında da *Myxobolus bramae*, *Myxobolus portucalensis* gibi başka konakçı parazitlerin varlığı da rapor edilmiştir (El-Mansy, 1998; Eszterbauer ve ark. 2000). Bu tür riskler çoğu zaman *T. tubifex*' in yoğun kültürlerde balık beslenmesinde kullanılmasının önüne geçmektedir. Bu tür riskleri ortadan kaldırmanın tek yolu kontrollü şartlarda yetiştiricilik yoluyla üretilmiş *T. tubifex* kullanmaktır.

Mevcut çalışmada, aşırı organik yüklü, sanayi ve evsel atıklarının yoğun olduğu bir ortamdan toplanarak laboratuvara taşınan *T. tubifex*' in yetiştiricilik şartlarında mikrobiyolojik yük seviyelerinin izlenmesi amacıyla bir dizi ölçüm yapılmıştır. Daha önce *T. tubifex*' in yetiştiriciliğinde kullanılabilecek bilgiler sunan bazı bilimsel çalışmalar bulunmaktadır. Peters (1977), *T. tubifex*' in vücudunda ultrafiltrasyon için mümkün olan bölgelerin belirlenmesi amacıyla bir çalışma yapmıştır. Famme ve Knudsen (1984), tüm sıcaklık limitlerinde *T. tubifex*' in oksijensizliğe karşı olan ilişkisini araştırmıştır. Steen Redeker ve ark. (2004), sediment ve su ortamından çinko ve kadmiyum gibi ağır metallerin *T. tubifex*' in vücudunda birikimi ile ilgili bir çalışma yapmışlardır. Ancak *T. tubifex*' in mikrobiyolojik kompozisyonunu gösteren çalışma yok denecek seviyededir. Bu yüzden bu çalışmada ortaya konan bulguların sonraki çalışmalar için önemli bir kaynak olacağı düşünülmektedir.

Teşekkür

Bu çalışma 213O033 nolu TÜBİTAK projesi kapsamında desteklenmiştir.

ETİK STANDARTLARA UYUM

Yazarların Katkısı

FÇ, mikrobiyal yük analizlerini yapmış ve yorumlamıştır. Diğer kısımlar **PÇ** tarafından tasarlanmış, uygulanmış ve yazılmıştır.

Çıkar Çatışması

Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması olmadığını deklare etmektedir.

Etik Onay

Yazarlar bu tür bir çalışma için resmi etik kurul onayının gerekli olmadığını bildirmektedir.

Kaynaklar

- Beauchamp, K. A., Gay, M., Kelley, G. O., El-Matbouli, M., Kathman, R. D., Nehring, R. B. & Hedrick, R. P. (2002). Prevalence and susceptibility of infection to *Myxobolus cerebralis* and genetic differences among populations of *Tubifex tubifex*. *Diseases of Aquatic Organisms*, 51: 113-121.
- Beauchamp, K. A., El-Matbouli, M., Gay, M., Georgiadis, M. P., Nehring, R. B. & Hedrick, R. P. (2006). The effect of cohabitation of *Tubifex tubifex* (Oligochaeta: Tubificidae) populations on infections to *Myxobolus cerebralis* (Myxozoa: Myxobolidae). *Journal of Invertebrate Pathology*, 91(1): 1-8.
- Brinkhurst, R. O. & Jamieson, B. G. M. (1971). *Aquatic Oligochaeta of the world*. Oliver and Boyd, Edinburgh.
- Chekanovskaya, O. V. (1981). *Aquatic Oligochaeta of the USSR*. Amerind Publishing Company. New Delhi.
- Çelik, P. (2018). Sediment yapısının *Tubifex tubifex*'in biyokimyasal kompozisyonu üzerine etkisi. *International Eurasian Conference on Biological and Chemical Sciences*, 26-27 April 2018, Ankara. Proceeding Book 129-134 pp.
- Elilol, M. İ., Üstündağ, S. & Çevlik, H. (2006). Eğrekkaya Baraj Gölü limnolojisi, *I. Balıklandırma ve Rezervuar Yönetimi Sempozyumu*, Antalya, pp:447-452.
- El-Mansy, A. (1998). Development of *Myxobolus portucalensis* Saraiva and Molnár, 1990 (Myxosporea: Myxobolidae) in the oligochaete *Tubifex tubifex* (Müller). *Systematic Parasitology*, 41(2): 95-103.
- El-Matbouli, M. & Hoffman, R. W. (1989). Experimental transmission of two *Myxobolus* spp. developing bisporogony via Tubificid Oligochaetes. *Parasitology Research*, 75: 461-464.
- El-Matbouli, M. & Hoffman, R. W. (1995). Light and electron microscopic observations on the route of the triactinomyxonsporoplasm of *Myxobolus cerebralis* from epidermis into Rainbow trout cartilage. *Journal of Fish Biology*, 46: 919-935.
- Eszterbauer, E., Székely, C., Molnár, K. & Baska, F. (2000). Development of *Myxobolus bramae* (Myxosporea: Myxobolidae) in an oligochaete alternate host, *Tubifex tubifex*. *Journal of Fish Diseases*, 23(1): 19-25.
- Famme, P. & Knudsen, J. (1984). Total heat balance study of anaerobiosis in *Tubifex tubifex* (Müller). *Journal of Comparative Physiology B*, 154(6): 587-591.
- Kaesler, A. J. & Sharpe, W. E. (2006). Patterns of distribution and abundance of *Tubifex tubifex* and other aquatic oligochaetes in *Myxobolus cerebralis* enzootic areas in Pennsylvania. *Journal of Aquatic Animal Health*, 18(1): 64-78.
- Lang, C. & Lang-Dobler, B. (1980). Structure of tubificid and lumbriculid communities, and three indices of trophy based upon these communities, as descriptors of eutrophication level of Lake Geneva (Switzerland). In R. O. Brinkhurst & D. G. Cook (eds), *Aquatic Oligochaete Biology*. Plenum Publishing Corporation, New York: 457-470.
- Lazim, M. N. & Learner, M. A. (1986). The life-cycle and productivity of *Tubifex tubifex* (Oligochaeta: Tubificidae) in the Moat-Feeder Stream, Cardiff, South Wales. *Ecography*, 9(3): 185-192.
- Markiw, M. E. & Wolf, K. (1983). *Myxosoma cerebralis* (Myxozoa: Myxosporea) etiologic agent of salmonid whirling disease requires Tubificid Oligochaetes (Annelida: Oligochaetes) in its life cycle. *The Journal of Protozoology*, 30: 561-564.
- Milbrink, G. (1978). Indicator communities of oligochaetes in Scandinavian lakes. *Internationale Vereinigung für theoretische und angewandte Limnologie, Verhandlungen*, 20(4): 2406-2411.
- Milbrink, G. (1980). Oligochaete communities in pollution biology. The European situation with special reference to lakes in Scandinavia. In R. O. Brinkhurst & D. G. Cook (eds), *Aquatic Oligochaete Biology*. Plenum Publishing Corporation, New York: 433-455.
- Milbrink, G. (1987). Biological characterization of sediments by standardized tubificid bioassays. *Hydrobiologia*, 155: 267-275.
- Peters, W. (1977). Possible sites of ultrafiltration in *Tubifex tubifex* Müller (Annelida, Oligochaeta). *Cell and Tissue Research*, 179(3): 367-375.
- Sarkka, J. (1987). The occurrence of oligochaetes in lake chains receiving pulp mill waste and their relation to eutrophication on the trophic scale. *Hydrobiologia*, 155: 259-265.
- Steen Redeker, E., Bervoets, L. & Blust, R. (2004). Dynamic model for the accumulation of cadmium and zinc from water and sediment by the aquatic oligochaete, *Tubifex tubifex*. *Environmental Science and Technology*, 38(23): 6193-6200.
- Şahin, S. K. & Yıldız, S. (2011). Species distribution of oligochaetes related to environmental parameters in Lake Sapanca (Marmara Region, Turkey), *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 11(3): 359-366.
- Tanyolaç, J. (1993). Limnoloji, Hatiboğlu Yayınları, Ankara, pp: 294.
- Wolf, K., Markiw, M. E. & Hiltunen, J. K. (1986). Salmonid whirling disease: *Tubifex tubifex* (Müller) identified as the essential oligochaete in the protozoan life cycle. *Journal of Fish Diseases*, 9(1): 83-85.
- Yanar, M., Yanar, Y. & Genç, M. A. (2003). *Tubifex tubifex* Müller, 1774 (Annelidae)'in Besin Kompozisyonu, *Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi*, 20(1-2): 103-110.