

ÇANAKKALE BOĞAZI'NDAKİ AEROB ve MİKROAEROFİLİK BAKTERİYEL FLORANIN ARAŞTIRILMASI

Nejdet GÜLTEPE

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi,
Yetiştiricilik Bölümü, Çanakkale
e-mail: nejdetgulpe@hotmail.com

Seyit AYDIN

Kastamonu Üniversitesi, Kastamonu Eğitim Fakültesi, 37100 Kastamonu.

Geliş Tarihi / Received : 25.05.2008

Özet: Bu çalışmada Çanakkale Boğazı'nın Mayıs ayında aerob ve mikroaerofilik bakteriyel florası araştırılmıştır. İzole edilebilen bakterilerin % 59.88' ini *Aeromonas salmonicida* subsp. *acromogenes*, % 33.33' ünü *Vibrio gazogenes*, % 5.56'sını *Vibrio furnissii*, % 0.62'sini *Aeromonas salmonicida* tip A ve % 0,62'sini ise *Pseudomonas viridiflava*'nın oluşturduğu belirlenmiştir. Ayrıca *Yersinia* ve *Staphylococcus* cinsine ait bakteriler de aranmış fakat izole edilememiştir. İzole edilebilen bakteri türlerinin deniz suyundaki yoğunlukları bakımından balık ve diğer su canlıları açısından tehlikeli seviyede olmadığı belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Çanakkale Boğazı, *Aeromonas salmonicida* subsp. *acromogenes*, *Vibrio gazogenes*, *Vibrio furnissii*, *Aeromonas salmonicida* tip A, *Pseudomonas viridiflava*

An Investigation of Aerob and Microaerophilic Bacterial Flora in Dardanelles

Abstract: Aerob and microaerophilic bacterial flora of Dardanelles was investigated during in May. Bacterial flora were composed of 59.88 % *Aeromonas salmonicida* subsp. *acromogenes*, 33.33 % *Vibrio gazogenes*, 5.56 % *Vibrio furnissii*, 0.62 % *Aeromonas salmonicida* type A and 0,62 % *Pseudomonas viridiflava*. *Yersinia* sp. and also *Staphylococcus* genus could not be isolated. It was suggested that values of pathogenic bacteria could not be harmfully for fish and other aquatic animals.

Keywords: Dardanelles, *Aeromonas salmonicida* subsp. *acromogenes*, *Vibrio gazogenes*, *Vibrio furnissii*, *Aeromonas salmonicida* type A, *Pseudomonas viridiflava*

GİRİŞ

Kimyasal analizlerin tek başına su kaynağının kalitesinin belirlenmesinde yeterli kıstas olamayacağı günümüzde anlaşılmıştır. Bir istasyondan alınan örneklerdeki mikroorganizma tür ve yoğunlukları; suyun kalitesi hakkında bilgi verebildiği gibi, suda yaşayan canlıların ve doğal çevrenin de etkilenebilme miktarını belirlemektedir.

Sular tabii halinde steril değildir. Her zaman belli konsantrasyonda da olsa mikroorganizma ihtiva etmektedir. Araştırmacılar, toprağın filtrasyon etkisi ile mikroorganizmaların besin kaynaklarını sınırlamalarından dolayı bakteri konsantrasyonlarının yeraltı sularında zayıf olduğunu bildirmektedirler (Çelikkale 1994, Ford 1994). Bu tür sularda daha ziyade Flavobacterium, Bacillus, Corynebacterium, Micrococcus, Staphylococcus, Pseudomonas ve Acinetobacter türlerin hakim olduğu belirtilmektedir (Herman 1981, Reichardt 1981, Rheinemer 1985, Ford 1992). Akarsu ve nehir sistemlerinde ise; Pseudomonas, Acinetobacter, Bacillus, Corynebacterium ve Pasteurella türlerinin hakim olduğu bildirilmektedir (Rheinemer 1985, Cipriano ve diğ. 1992). Akarsu ve nehirlerin göl ve denizlere dökülmesi yani suların birbirleriyle bağlantı halinde bulunması tabii olarak flora ve fauna değişimine sebep olmaktadır.

Sulardaki flora ve fauna değişikliğinin diğer sebeplerinden biri ise endüstriyel ve evsel atıklardır. Özellikle evsel atıklar sonucu yoğunluk kazanan Enterobacteriaceae familyası içinde yer alan bakterilerin tıp, veteriner, bitki koruma ve su bakteriyolojisi ile ilgili çalışmalar yapan araştırmacılar için önemli olduğu; çünkü bunların birçok yüksek yapılı organizmalarda ve insanlarda patojen özellik gösteren türleri olduğu bilinmektedir (Jones 1988). Yine atıklarla konsantrasyonlarında artış gözlenebilen Bacillaceae familyasına mensup bakteri türlerinin de en fazla toprakta ve nadir olarak da balıklarda bulunduğu bildirilmiştir (Goepfert 1976, Bilgehan 1990). Aynı şekilde Micrococcus, Staphylococcus ve diğer bazı kok türlerinin de balıklar için patojen olduğu rapor edilmektedir (Shah ve Tyagi 1986, Austin ve Stobie 1992, Austin ve Austin 1993, Aydın ve diğ. 1996).

Suyu kirleten en büyük ve en yaygın sebeplerinden biri, arıtılmadan suya verilen insan atıklarıdır. Gelişmekte olan memleketlerde her 5 kişiden 2 tanesi için sanitasyon şartları uygun değildir ve atıklar, arıtılmadan rutin bir şekilde su yollarına verilmektedir. Suyun bu şekilde kanalizasyonla kirlenmesinin ise, gelişmekte olan memleketlerde görülen hastalık ve ölümlerin en büyük sebebini teşkil ettiği bildirilmektedir (Özenci 1992).

Çanakkale'de kentsel kanalizasyon sistemi ile toplanan atık sular sadece mekanik arıtma işlemlerinden geçirildikten sonra derin deniz deşarjı sistemi ile denize verilmektedir. Ayrıca Sarıçay civarında bulunan sanayi tesisleri ve zeytinyağı tesislerinin atıkları da, çay üzerinden denize boşalmaktadır. Bu şekilde boğazın mikrobiyal florası etkilenmekte ve mikroorganizmaların deniz suyundaki konsantrasyonları değişmektedir. Bunun yanında boğazdaki su akıntıları ve sıcaklık değişimleri de mikroorganizma konsantrasyonunu değiştirmektedir.

Halofilik özellik göstermeleri sebebiyle gerek patojen gerekse patojen olmayan Vibrio türleri de deniz suyunda bulunmakta, tür ve konsantrasyonları sıcaklık, pH ve kirlilik gibi faktörlerle değişmektedir.

Bu araştırmanın amaçları şu şekilde sıralanabilir:

1. Çanakkale Boğazı Deniz Suyu'nun durumunu bakteriyel yönden incelemek,
2. Bakteri türlerinin genel yoğunluğunu, patojen türlerin su ürünleri sağlığı bakımından durumunu tespit etmektir.

MATERYAL VE METOT

Çanakale Boğazı'nın aerob ve mikroaerofilik bakteriyel florasını incelemek üzere istasyon olarak Kordon Mevkii belirlenmiştir. İstasyonun belirlenmesinde; yoğun deniz trafiği, yakın bölgede bulunan su ürünleri işletmeleri ve kentsel yerleşimden kaynaklanabilecek sonuçlar etkili olmuştur. Su örneklerinin alınmasında 6x15 cm ebadındaki steril, kapaklı cam kavanozlar kullanılmıştır. Suyun kimyasal analizi palintest kiti kullanılarak, Palintest İnterface 7000 fotometresi ile fotometrik olarak ölçülmüştür.

Bakterilerin izolasyon ve identifikasyonunda; BAIRD-PARKER Agar, *Campylobacter* Selective Agar Base, CASO (Tryptic Soy) (TS) Agar, CASO (Tryptic Soy) (TS) Broth, ENDO Agar, GSP (Pseudomonas Aeromonas Selective) Agar, McCONKEY Agar, SS (*Salmonella Shigella*) Agar, TCBS (*Vibrio Selective*) Agar ve Yersinia Selective Agar Base, Bactident® Oxidase, KLIGLER (Double Sugar Iron) (KI) Agar, Lysine Iron (LI) Agar, MR-VP (Metil-red VOGES-PROSKAUER) Broth, Nitrate Broth, OF Basal Medium, SIMMONS Citrate Agar, Triple Sugar Iron (TSI) Agar, Tryptone Water, Urea Agar Base, Nutrient Broth, Gelatine ve peptonlu su kullanılmıştır (Anonymous 1996).

Alınan su örnekleri elektif ve selektif besiyerlerine dilüsyon-plak metoduna göre ekim yapılmıştır. Ekim yapılan petri plakları 25°C'de 24 saat inkübe edilmiştir (Smith 1981, Roberts 1989, Gürgün ve Halkman 1990). Üreyen kültürlerden total bakteri sayımı cfu mL⁻¹ olarak yapılmıştır. Seyreltip tek koloni düşürmek amacıyla besiyerlerine tekrar ekim yapıp, üretilen saf kültürlerde identifikasyon testlerine geçilmiştir (Leloğlu ve Erdoğan 1979).

ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

Örneklerin alınması sırasında; su sıcaklığı 18°C, pH 8,1 olarak ölçülmüştür. Suyun kimyasal analizleri sırasıyla, 490 nm Cl₂; 520 nm Br₂, N, H₂O₂, Fe, SO₄ ve NO₂; 570 nm Al, Ca, CaCO₃, HCO₃ ve Na₂SO₃; 640 nm PO₄ ve P dalga boylarında yapılmış, analiz sonuçları Çizelge 1'de verilmiştir.

Mikrobiyolojik incelemelerde sadece izole edilebilen bakteri tür ve cinsleri dikkate alınmış, mikroorganizma popülasyonunun hesaplanmasında tek kriter olarak alınmıştır. Deniz suyu örneğinin mikrobiyolojik analizi sonucunda izole edilen bakterilerin morfolojik özellikleri ve bazı biyokimyasal test sonuçları Çizelge 2'de verilmiştir.

1. Grup İzolat: Bu grupta izole edilen bakteriler, *Aeromonas salmonicida* subsp. *achromogenes* olarak tarif edilmiştir. İzolat TS agarda yuvarlak, konveks şekilli ve krem renkli koloniler oluşturmuştur. Morfolojik ve biyokimyasal özellikleri bakımından Tablo 2'de verilen sonuçlar, literatüre uymaktadır (Holt ve diğ. 1994). Bakteri çeşitli alabalık türlerinde patojen olup frunkulosis hastalığına sebep olmaktadır. Ayrıca sazan balığı türleri (*Cyprinidae* sp.), tatlı su levreği (*Perca fluviatilis*), çipura (*Sparus aurata*), tatlı su kefali (*Leuciscus cephalus*), turna balığı (*Esox lucius*) ve kedi balığında (*Macrones kolvillii*) da hastalıklara sebep olmaktadır (Austin ve Austin 1993).

2. Grup İzolat: Çizelge 2'de görüldüğü gibi bu gruba ait izolat *Vibrio furnissii* olarak tanımlanmıştır. İzolat TCBS agarda yuvarlak, konveks şekilli ve sarı renkli koloniler oluşturmuştur. Bulunan test sonuçları bu konudaki araştırma sonuçlarına uygundur (Holt ve diğ. 1994). Bakterinin insan ve hayvanlarda patojen olduğuna dair herhangi bir literatüre rastlanmamıştır.

3. Grup İzolat: Bu gruptaki bakteriler, *Vibrio gazogenes* olarak tarif edilmiştir. İzolat TCBS agarda yuvarlak, konveks şekilli ve yeşil renkli koloniler oluşturmuştur.

Gerek morfolojik bakımdan gerekse test sonuçları literatüre tamamen uygundur (Holt ve diğ. 1994). Bakterinin gökkuşağı alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) patojen olduğu bildirilmiştir (Aydın ve diğ. 1998).

4. Grup İzolat: Bu grupta izole edilen bakteriler Atipik *Aeromonas salmonicida* olarak tarif edilmiştir. İzolat GSP agarda yuvarlak, konveks şekilli ve sarı renkli koloniler oluşturmuştur. Morfolojik ve biyokimyasal özellikleri bakımından literatüre uygundur. 1. gruptaki izolat gibi bakteri, çeşitli alabalık türleri (*Salmonidae* sp.), sazan balığı türleri (*Cyprinidae* sp.), tatlı su levreği (*Perca fluviatilis*), çipura (*Sparus aurata*), tatlı su kefali (*Leuciscus cephalus*), turna balığı (*Esox lucius*) ve kedi balığında (*Macrones kolvillii*) da hastalıklara sebep olmaktadır (Austin ve Austin 1993).

5. Grup İzolat: Bu gruba ait bakteri izolatları Çizelge 2'de görüldüğü gibi *Pseudomonas viridiflava* olarak tanımlanmıştır. İzolat GSP agarda yuvarlak, konveks şekilli ve pembe renkli koloniler oluşturmuştur. Bulunan test sonuçları ve bu konudaki araştırma sonuçları birbirleriyle uyum içindedir. Bakteri bitkilerde patojen olmakla beraber, insan ve hayvanlarda patojen değildir (Holt ve diğ. 1994).

Su numunesinden üretilen bakteri türlerinin kolonileri selektif besiyerleri ve TS agar üzerinde sayılmış, Çizelge 3'te cfu mL⁻¹ olarak verilmiştir.

TARTIŞMA ve SONUÇ

Çalışma bulgularına göre; Çizelge 3'te görüldüğü gibi enterik bakterilerden balıklar için patojen olan *Aeromonas salmonicida* subsp. *achromogenes*, Atipik *Aeromonas salmonicida*, *Vibrio gazogenes* ve bitkiler için patojen olan *Pseudomonas viridiflava* bulunmuş, fakat bunların miktarının su ürünleri ve çevre sağlığını etkileyecek seviyede olmadığı görülmüştür. Bu patojen bakterilerin suyun doğal mikroflorasında bulunabileceği bilinmektedir (Holt et al., 1994). Ayrıca *Yersinia* ve *Staphylococcus* türleri bakteriler de aranmış fakat izole edilememiştir. Örneklemenin yapıldığı mevsimde (Mayıs) su sıcaklığının ısınmaya başlamış olması ve Çanakkale Boğazı'nda devamlı olarak su akıntılarının bulunması; izole edilen patojen bakteri seviyesinin az olmasına ve farklı patojen bakterilerin bulunmamasına da etkili olabilir. İzole edilebilen bakterilerin, deniz suyunun mikrobiyal florasındaki patojen olan bakteriler üzerinde antagonistik etkilerinin ve dolayısıyla bunlardan kaynaklanan bir inhibisyonun mevcudiyeti araştırılmalıdır. İzole edilen bakteri türlerine bakılarak deniz suyu na bırakılan atıkların arıtma sistemlerinden geçirilerek uygun şekillerde deşarj edilmesi tavsiye edilebilir.

KAYNAKLAR

- Anonymous, 1996. Microbiology Manual. Merck, E. Merck, Darmstad, p. 405.
- Austin, B. and Stobie, M., 1992. Recovery of *Micrococcus luteus* and presumptive *Planococcus* from moribund fish during outbreak of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum) fry syndrome (RTFS) IN England. J. Fish Dis., 15, 203-206.
- Austin, B. and Austin, D. A., 1993. Bacterial Fish Pathogens Diseases in Farmed and Wild Fish. Second Edition. Ellis Horwood, London, p. 189.
- Aydın, S., 1995. *Escherichia vulneris*, *Citrobacter freundii*, *Bacillus cereus* Bakteri lerinin Patojenitesi ve gökkuşağı alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) Oluşturulan Enfeksiyonların Klinik ve Laboratuar Yönünden Araştırılması. Atatürk Üni. Fen Bil. Ens. Zootekni Anabilim Dalı (Doktora Tezi), Erzurum.

- Aydın, S., Çiltaş, A. K., ve Akyurt, İ., 1996. Examinations on clinical, pathological and haematological activity of *Micrococcus luteus* infections appeared in rain bow trout (*Oncorhynchus mykiss*) (Manuscript submitted for publication).
- Aydın, S., Şentürk, A., Güre, H., Bulut, M. and Engin, M., 1998. The Proceedings of the First International Symposium on Fisheries and Ecology, 2-4 Sep. 1998, Trabzon/Turkey, 242-249.
- Benson, H. J., 1983. Microbiological Application. A Laboratory Manual in General Microbiology. W. M. C. Brown (ed.), Company Publishers Dubuque, Iowa (Seventh Edition), p. 397.
- Bilgehan, H., 1990. Klinik Mikrobiyoloji Özel Bakteriyoloji ve Bakteri Enfeksiyonları. Barış Yayınları, Fakülteler Kitabevi, Bornova - İzmir, s. 186.
- Bilgehan, H., 1995. Klinik Mikrobiyolojik Tanı. Barış Yayınları, Fakülteler Kitabevi, Bornova - İzmir, s. 768.
- Cipriano, R. C., Ford, L. A., Teska, J. D. and Hale, L., 1992. Detection of *Aeromonas salmonicida* in the mucus of salmonid fishes. *J. Aquat. Anim. Health.*, 4, 114 - 118.
- Çelikkale, M. S., 1994. İç Su Balıkları ve Yetiştiriciliği. KTÜ Sürmene Deniz Bilimleri Fak., Genel Yayın no: 124, Fak. Yayın no: 2, Cilt 1, 2. Baskı, Trabzon, s. 37.
- Ford, L. A., 1992. Detection of *Aeromonas salmonicida* using a water sampling technique. Proceedings of the Atlantic Salmon Workshop, Northeast Fishery Center, Lamar, PA, 17-19 March, 1992, p. 149-154.
- Ford, L. A., 1994. Detection of *Aeromonas salmonicida* from water using a filtration method. *Aquaculture*, 122, 1-7.
- Goepfert, J. M., 1976. *Bacillus cereus* Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Food (ed. M. L. Speck). American Pub. Health Ass. 1015 Eighteenth Street, NW Washington, p. 417-423.
- Gürgün, V. ve Halkman, A. K., 1990. Mikrobiyolojide Sayım Yöntemleri. Gıda Teknolojisi Derneği Yayın no: 7, s. 140, Ankara.
- Herman, L. G., 1981. The slow growing gram negative pigmented water bacteria. The *Flavobacterium-Cytophaga* Group, Gesellschaft für Biotechnologische Forschung. H. Reichenbach and O. B. Weeks (ed.). Deerfield Beach, FL, p. 169-178.
- Holt, J. G., Krieg, N. R., Sneath, P. H. A., Staley, J. T. and Williams, S. T., 1994. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Ninth Edition. Williams&Wilkins, 428 East Preston Street, Baltimore, Maryland 21202, USA, pp. 175-190.
- Jones, D., 1988. Composition and properties of the family Enterobacteriaceae. *J. Appl. Bacteriology Symposium Supplement*, 65, 1-19.
- Leloğlu, N. ve Erdoğan, N., 1979. Mikrobiyoloji Laboratuvar Yöntemleri. Atatürk Üni. Yay. no: 549, Erzurum, s. 168.
- Özenci, M., 1992. Çevre ve İnsan Sağlığı. II. Uluslararası Ekoloji ve Çevre Sorun

ları Sempozyumu, 5-7 Kasım 1992, Ankara, s. 168.

- Reichardt, W., 1981. Some etiological aspects of aquatic Cytophagas. The Flavobacterium-Cytophaga Group, Gesellschaft für Biotechnologische Forschung. H. Reichenbach and O. B. Weeks (ed.). Deerfield Beach, FL, p. 189-199.
- Rheinheimer, G., 1985. Aquatic Microbiology. 3 rd Edn. Jhon Wiley and Sons, Newyork NY, p. 257.
- Roberts, R. J., 1989. Pathophysiology and systematic pathology of teleosts. Fish Pathology, R. J. Roberts (ed.), Baillière Tindall London, p. 347-402.
- Shah, K. L. and Tyagi, B. C., 1986. An eye disease in silver carp, *Hypophthalmichthys molitrix*, held in tropical ponds, associated with the bacterium *Staphylococcus aureus*. Aquaculture, 55, 1-4.
- Smith, A. L., 1981. Principles of Microbiology. The C. V. Company St Louis, Toronto, London, p. 85.

Çizelge 1. Suyun Kimyasal Analiz Sonuçları

Parametreler	Ölçümler
Br2	0,06 mg L-1
H2O2	0,04 mg L-1
PO4	0,03 mg L-1
P	0,099 mg L-1
Ca	290 mg L-1
NO2	0,0594 mg L-1
N	0,018 mg L-1
Cl2	4 mg L-1
Na2SO3	6 mg L-1
Fe	0,03 mg L-1
Al	0 mg L-1
SO4	190 mg L-1
CaCO3	165 mg L-1
HCO3	201,3 mg L-1
pH	8,1
Sıcaklık	18 OC

Çizelge 2. İzole Edilen Bakterilerin Morfolojik ve Bazı Biyokimyasal Test Sonuçları

Uygulanan Test	1. İzolat	2. İzolat	3. İzolat	4. İzolat	5. İzolat
Gram boyama, Simmon's sitrat, Hareket*, KCN'de üreyebilme	-	-	-	-	-
30 °C'de üreyebilme, katalaz, lipaz, jelatin hidrolizi	+	+	+	+	+
Bakteri morfolojisi	Basil	Basil	Basil	Basil	Basil
Oksidaz	+	+	-	+	-
Voges-Proskauer (VP), lizin dekarboksilaz, H2S üretimi	-	-	+	-	-
Metil-red (MR)	+	-	+	+	-
İndol	+	-	-	+	-
Nitrat indirgeme	-	+	+	-	+
Üre hidrolizi	+	+	+	+	-
Nişasta hidrolizi	-	-	+	-	+
Eskülin hidrolizi	+	-	+	+	+
NH3 üretimi	+	-	+	+	+
Arjinin dihidrolaz	+	-	+	+	-
Esteraz	+	-	-	+	+
O/F üreyebilme	F	F	F	F	O
	Asit Üretimi				
Glukoz, teraloz, galaktoz, eritritol, ksiloz, maltoz, valin, ramnoz, sukroz, salisin, rafinoz, fruktoz, mannitol, sorbitol, arabinoz, dekstrin, dulsitol	+	+	+	+	+
Laktoz, mannoz, adonitol, glikojen	+	+	+	-	-
Inulin, inositol	+	+	+	+	-
	Gaz Üretimi				
Glukoz	+	+	+	+	+

* = Oda sıcaklığı

Çizelge 3. Agar Üzerinde Bakterilerin Sayımı

Bakteri	Sayı (cfu mL-1)
<i>Aeromonas salmonicida</i> subsp. <i>Achromogenes</i>	970
<i>Vibrio furnissii</i>	90
<i>Vibrio gazogenes</i>	540
<i>Aeromonas salmonicida</i> type A	10
<i>Pseudomonas viridiflava</i>	10