

Kaynak Alabalığının *Salvelinus fontinalis* Semeninin Bakteriye Florasının Belirlenmesi

Özlem Ertekin¹ Filiz Kutluy² Mehmet Kocabaş³ Nadir Başçınar⁴

¹Munzur Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Tunceli, Türkiye.

²Munzur Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Tunceli, Türkiye

³Karadeniz Teknik Üniversitesi, Yaban Hayatı Ekolojisi ve Yönetimi Bölümü, Trabzon, Türkiye.

⁴Karadeniz Teknik Üniversitesi, Sürmene Deniz Bilimleri Fakültesi, Balıkçılık Teknolojisi Mühendisliği Bölümü, Trabzon, Türkiye.

*Sorumlu Yazar

E-mail: oertekin@munzur.edu.tr

Özet

Kaynak alabalığının semeninin bakteriye florasını belirlemek için denemeler kurulmuştur. Semen örnekleri balıklardan toplanmış ve bakteriye florasının belirlenmesi için standart mikrobiyoloji teknikleri uygulanmıştır. Semen örnekleri fizyolojik solusyonla (NaCl:%0,85) seri bir şekilde sulandırılmıştır. Her bir örnekten 0,1 ml, Plate Count Agar (PCA) (Toplam Bakteri Sayısı), Rose Bengal Agar (RBC) (Maya-küf sayısı), VRBD (*Enterobacteriaceae* sayısı) ve Mannitol Salt Agar'a (MSA) (*Micrococcus/Staphylococcus* sayısı) ekim yapılmıştır. *Micrococcus/Staphylococcus* grup bakteri (%11,11) kaynak alabalığı semeninde (*S. fontinalis*) sayılmıştır. Semende toplam bakteri sayısının 10^3 - 10^5 cfu ml⁻¹ arasında değiştiği belirlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Bakteri sayısı, kaynak alabalığı, *Salvelinus fontinalis*, semen.

Abstract

Experiments were designed to evaluate bacterial flora in semen culture of brook trout (*Salvelinus fontinalis*). Herein, semen samples were collected from fish and standard microbiology techniques were processed for bacterial flora. The samples were serially diluted in physiological saline (NaCl: 0.85%). Aliquots of 0.1 ml of each dilution were spread-plated onto Plate Count Agar (PCA) (Total Bacteria Count), Rose Bengal Agar (RBC) (Yeast-Mold Count), VRBD (*Enterobacteriaceae* count) and Mannitol Salt Agar (MSA) (*Micrococcus/Staphylococcus* count). *Micrococcus/Staphylococcus* group bacteria (11.11%) were counted from brook trout (*S. fontinalis*) semen. Total bacteria count varied between 10^3 - 10^5 cfu ml⁻¹ in semen.

Keywords: Bacterial count, brook trout, *Salvelinus fontinalis*, semen

GİRİŞ

Semenin bakteriye kontaminasyonunun belirlenmesi, döllemede hastalıkların yayılma riskinden dolayı önemlidir [1]. Bakteriye kontaminasyon uygun olmayan sperm toplama yöntemlerinden kaynaklanabilir [2]. Sperm motilitesi ve yaşayabilirliği, dölleme, kısa süreli ve uzun süreli muhafaza işlemlerinde anaerobik koşullar ve mikrobiyal kontaminasyon sonucunda azalabilir [3]. Dahası, bakteri yükünün artması oksijen tüketimine ve hücre dışı enzimlerin salgılanmasına neden olabilir [3,4]. Bu nedenlerden dolayı, patojenik kontaminasyon ve bakteriye bozulmanın azaltılması, yüksek sperm kalitesi ve dölleme başarısının artırılması için gereklidir [2].

Kaynak alabalığı, *Salvelinus fontinalis*, yetiştiricilik potansiyeli, ekonomik değeri ve tüketici talebinden dolayı dünyada önemli balık türlerinden birisidir. Sperm kalitesi, dölleme başarısı ve açılma oranını etkilediğinden dolayı önemlidir. Bu nedenlerden dolayı, bu çalışmada kaynak alabalığının semeninin bakteriye florasının belirlenmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL VE YÖNTEM

Anaclar (2 yaş ve üstü) Sürmene Deniz Bilimleri Fakültesi'nden temin edilmiştir. Anaclar 2-fenoksietanol (0,6 ml L⁻¹) ile bayıldıktan sonra abdominal masaj yöntemiyle sperm toplanmıştır. Sperm toplama, kontaminasyonu ve aktivasyonu önlemek için sperme su, kan, üre ve fekes karışmamasına dikkat edilmiştir. Sperm 50 ml'lik tüplere sağlanmış ve analiz edilene kadar buz üstünde tutulmuştur. 18 anaçtan alınan örnekler 3 tekrarlı olarak mikrobiyolojik analizlere tabi tutulmuştur.

Semen örnekleri fizyolojik solusyonla (NaCl:%0,85; 10^{-1} - 10^{-7}) seri bir şekilde sulandırılmıştır. Her bir örnek-

ten 0,1 ml yayma plak yöntemine göre, Plate Count Agar (PCA) (Toplam Bakteri Sayısı), Rose Bengal Agar (RBC) (Maya-küf sayısı), VRBD (*Enterobacteriaceae* sayısı) ve Mannitol Salt Agar'a (MSA) (*Micrococcus/Staphylococcus* sayısı) ekim yapılmıştır. Toplam bakteri sayısı ve *Enterobacteriaceae* sayısı için 37°C'de 48 saat, Maya-küf sayısı için 25°C'de 5 gün, *Micrococcus/Staphylococcus* sayısı için 37°C'de 36-48 saat inkübasyon sağlanmıştır. Sayımlar 3 ve 5'lik dilüsyonlarda yapılmıştır.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Kaynak alabalığının semeninde yapılan sayımlara göre *Micrococcus/Staphylococcus* grup bakteri (%11,11) kaynak alabalığı semeninde (*S. fontinalis*) sayılmıştır. Semende toplam bakteri sayısının 10^3 - 10^5 cfu ml⁻¹ arasında değiştiği belirlenmiştir. *Enterobacteriaceae* ve Maya-küf sayısı belirlenmemiştir.

Yapılan literatür incelemesinde semen ve yumurta mikrobiyolojisi ile ilgili sınırlı sayıda araştırmaya rastlanmıştır. Silver barb (*Barbodes gonionotus*) sperminde yapılan bir araştırmada hayvansal orijinli kontamine semende toplam heterotrofik bakteri sayısı $5.03 \pm 1.84 \times 10^4$ CFU mL⁻¹ bulunmuştur [11]. Çalışmada elde edilen sonuçlar benzerlik göstermektedir. Balık yumurtası ile ilgili olarak yapılan bir araştırmada [7] Yayın balığı yumurtalarında toplam bakteri sayısının 7×10^3 ile 2×10^5 kob/g arasında olduğu bildirilmektedir. Bu araştırma sonuçları da çalışma verileri ile uyum göstermektedir. Patır ve ark. [10] tarafından yapılan araştırmada, kullanılan havyar örneklerinin, toplam mezofilik aerobik bakteri sayısı incelendiğinde, ham yumurtada ortalama olarak 2,05 log₁₀ kob/g olan bakteri bulunmuştur. Bu sonuç çalışma sonuçları ile benzerlik göstermektedir.

Gökten [8] tarafından belirtildiğine göre Koliformlar

çeşitli gıdalarda bulunabilen aranan bakterilerdir ve temiz sularında avlanan balıklarda bulunmazlar. Çalışmada da Koliformların bir grubu olan *Enterobacteriaceae*'ya rastlanmamıştır.

Jay [9]'a göre *Staphylococcus*'lar doğada yaygın olarak bulunmalarına rağmen deniz ürünleri doğal olarak *Staphylococcus* mikroorganizmalarını içermez. Çalışmada incelenen örneklerin (%11.11)'inde *Staphylococcus/Micrococcus* belirlenmiştir. Benzer olarak, [12]'de yapılan araştırmada incelenen 68 adet Osetra, Sevruga, Beluga ve İran havyar örneğinin yalnız birinde *Staphylococcus aureus*'un tespit edildiği bildirilmiştir.

Göktan ve Jay [8,9] belirttiğine göre küfler genellikle toprak orijinli olup, balıkların avlandığı anda sudan ya da avlanma sonrasında bulaşabilmekte ancak su ürünlerinin florasında bulunmamaktadır. Çalışmada da örneklerde küf-ma bulunmamıştır. Bu durum semenin elde edilmesi sırasında herhangi bir bulaşının olmadığı ve sonraki işlemlerde de hijyenik olarak çalışıldığının bir göstergesi olabilmektedir.

Sperm motilitesi ve süresi anaerobik koşullarda mikrobiyal kontaminasyondan dolayı azalabilir [5]. Bakterinin salgıladığı enzimler hücre yapısının bozulmasına ya da ölümüne neden olmaktadır [6]. Sperm toplama yöntemi, döllemede ve muhafaza işlemlerinde siteril olmayan solusyonların kullanılması, muhafaza süreci mikrobiyal kontaminasyona neden olabilmektedir [5, 6]. Bu çalışmada elde edilen sonuçlar, bakteriyel floranın sperm kalitesini etkileyebilecek seviyede olmadığını göstermiştir.

SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Sonuç olarak, çalışmadaki koşullar ve sağlık yönteminin hijyen ve sanitasyon açısından uygun olduğu belirlenmiştir. Bu çalışma, dölleme, uzun süreli sperm muhafazası çalışmaları ve anaç yönetimi için yararlı olacaktır.

KAYNAKLAR

- [1] Ercan MD, Ekici A. 2016. Reducing bacterial density in the semen of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) by applying gradient centrifugation and swim-up washing methods. *Aquaculture Research*, 47: 3845–3851.
- [2] Boonthai T, Khaopong W, Sangsong J, Sooksawat T, Nimrat S, Vuthiphandchai V. 2016. Semen collection methods affect the bacterial composition of post-thawed semen of silver barb (*Barbodes gonionotus*). *Animal Reproduction Science*, 166: 90–98
- [3] Halimi M, Norousta R. 2014. Penicillin improves the milt quality of Persian sturgeon, *Acipenser persicus* during short-term storage. *International Journal of Aquatic Biology*, 2(2): 53-57.
- [4] Jenkins JA, Tiersch TR. 1997. A preliminary bacteriological study of refrigerated channel catfish sperm. *Journal of World Aquaculture Society*, 28: 282-288.
- [5] Niksirat H, Sarvi K, Abdoli A, Hajirezaee S. 2011. Short-term storage of semen of rainbow trout: interactions of time, antibiotic, and activator. *Journal of Applied Aquaculture*, 23(4): 358-366.
- [6] Keogh LM, Byrne PG, Silla AJ. 2017. The effect of gentamicin on sperm motility and bacterial abundance during chilled sperm storage in the Booroolong frog. *General Comparative Endocrinology*, 243: 51–59.
- [7] Eun JB, Chung HJ and Hensberger JO, Chemical composition and micro flora of Channel catfish (*Ictalurus punctatus*) roe and swim bladder. *J Agric Food Chem* 1994; 42: 714-717.
- [8] Göktan D, Gıdaların Mikrobiyal Ekolojisi- Cilt 1. Et Mikrobiyolojisi. İzmir: Ege Üniv Basımevi 1990: 149-165.
- [9] Jay JM, The microbial spoilage of foods. In: Alani

DI, Mooyoung M. (Editors). *Biotechnology and Applied Microbiology Perspectives*. New York, 1986; 325-342

[10] Patır B, Özpolat E, Şeker P, Yalçın H. 2010. Vakum Ambalajlı Gökkuşuğu Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) Havyarının Üretimi ve Muhafazası Sırasında Mikrobiyolojik Kalitesinde Meydana Gelen Değişimler. *F.Ü.Sağ.Bil.Vet.Derg.*, 25 (1): 31 – 36

[11] Boonthai T, Khaopong W, Sangsong J, Sooksawat T, Vuthiphandchai V, Nimrat S. 2016. Evaluation of the potential source of bacterial contamination during cryopreservation process of silver barb (*Barbodes gonionotus*) sperm. *Aquaculture Research*, 47, 2101–2113

[12] Altuğ G, Bayrak Y. Microbiological analysis of caviar from Russia and Iran. *Food Microbiology* 2003; 20 1: 83-86.