



**KARABALIK (*Clarias gariepinus*) SPERMASININ FARKLI
pH'LARDA KISA SÜRELİ SAKLANMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**MERSİN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

ONUR KARSLI

**SU ÜRÜNLERİ
ANABİLİM DALI**

**MERSİN
MAYIS - 2023**

**KARABALIK (*Clarias gariepinus*) SPERMASININ FARKLI
pH'LARDA KISA SÜRELİ SAKLANMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ONUR KARSLI
ORCID ID: 0000-0003-4473-6602

MERSİN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SU ÜRÜNLERİ
ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
PROF. DR. SERHAT BÜYÜKLEBLEBİCİ
ORCID ID: 0000-0003-3655-1536

MERSİN
MAYIS - 2023

ÖZET

KARABALIK (*Clarias gariepinus*) SPERMASININ FARKLI pH'LARDA KISA SÜRELİ SAKLANMASI

Bu çalışmanın amacı, spermanın kısa süreli muhafazasında farklı pH derecelerinde spermatozoon motilitelerinin korunup korunmayacağını tespit edilmesidir. Kısa süreli soğutma yöntemi spermanın saklanması ve kullanılması amacıyla birçok canlı türünde uygulanmaktadır. Su ürünlerinde son yıllarda kullanımı artan bir yöntemdir.

Spermanın soğuk muhafazası, soğutulacak spermanın önce koruyucu maddelerle bir araya getirilerek dengelenmesi, sonra belirli bir hızla soğutulması ve gelişimlerine izin verecek fizyolojik solüsyonlar içerisine alınması esasına dayanır. Bütün bu işlemler yapılırken; hücre hasarı minimal olmalıdır, hücrenin yapısal bütünlüğü ve fonksiyonel özellikleri korunmalıdır (Holt,2000).

Balık kültüründe spermanın soğuk olarak saklanması birçok faydası bulunmaktadır. İstenen karakterler elde etme, istenen karakterlerde seleksiyon yaparak bir örneklik oluşturmak, hibrid yavru elde etme, enfeksiyonların yayılma riskini azaltma gibi avantajlara sahiptir.

Tarım ve hayvancılık, gıda maddeleri ihtiyaçlarını karşılayan, bu yüzden de yaşamı doğrudan ilgilendiren vazgeçilmez bir ekonomik faaliyettir. Son yıllarda önemli derecede gelişme kaydeden hayvansal üretim faaliyetleri içerisinde değerlendirilen balık yetiştiriciliğinde, özellikle ıslah konusunda henüz istenilen düzeye ulaşamamıştır. Bu çalışmada karabalıklarda spermanın farklı pHlarda sulandırıcılar ile kısa süreli soğuk saklanması sonucu motilite faktörlerine etkisi araştırılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Kısa süreli saklama, Sperma, Tatlı su balıkları, *Clarias gariepinus*, pH.

Danışman: Prof. Dr.Serhat BÜYÜKLEBLEBİCİ, Mersin Üniversitesi, Su Ürünleri Anabilim Dalı, Mersin.

ABSTRACT

SHORT-TERM STORAGE OF AFRICAN CATFISH (*Clarias gariepinus*) SPERM IN DIFFERENT pHs

The aim of this study is to determine whether the fertilization of sperm at different pH degrees in the short -term preservation of sperm will be preserved. This method is applied in many species for sperm storage and use. It is a method that has increased its use in aquaculture in recent years.

The cold storage of the sperm is based on the fact that the sperm to be cooled is first combined with protective agents, then cooling at a certain speed and taking it into physiological solutions that allow their development when it is reused. While doing all these procedures; Cell damage should be minimal, the structural integrity and functional properties of the cell should be maintained (Holt,2000).

The cold storage of the sperm in fish culture has many benefits. It has advantages such as obtaining the desired characters, creating a sample by selection in desired characters, obtaining hybrid puppies, and reducing the risk of spreading infections.

Agriculture and animal husbandry is an indispensable economic activity that meets the needs of foodstuffs and therefore directly concerns life. Fish cultivation, which has been evaluated within the animal production activities that have developed significantly in recent years, has not yet reached the desired level of breeding. In this study, the short -term cold storage of the sperm in marine fish is discussed with pH factors affecting the result with dilutors at different pH.

Keywords: Short -term storage, sperm, freshwater fish, *Clarias gariepinus*, pH.

Advisor: Prof. Dr. Serhat BÜYÜKLEBLEBİCİ, Mersin University, Department of Aqua Product, Mersin.

TEŞEKKÜR

Tezin hazırlanmasında büyük katkılarından dolayı öğretim üyesi danışmanım Sayın Profesör Doktor Serhat BÜYÜKLEBLEBİCİ, Sayın Profesör Doktor Pürhan Barbaros TUNCER, Sayın Profesör Doktor Fatih ÖĞRETMEN ve Sayın Profesör Doktor Kaya GÖKÇEK'e teşekkürlerimi sunarım..



İÇİNDEKİLER

	Sayfa
İÇ KAPAK	i
ONAY	ii
ETİK BEYAN	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
TEŞEKKÜR	vi
İÇİNDEKİLER	vii
TABLolar DİZİNİ	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR	x
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMALARI	2
2.1. Clarias gariepinus (Karabalık)	2
2.1.1. Clarias gariepinus (Karabalık) Hakkında Genel Bilgi	2
2.1.2. Clarias gariepinus'un Sistematikteki Yeri	3
2.1.3. Clarias gariepinus'un Morfolojik Özellikleri	3
2.1.4. Clarias gariepinus'un Üreme ve Beslenme Özellikleri	3
2.1.5. Clarias gariepinus'un Biyolojik Yönden Önemi	4
2.2. Sperma ve Spermatozoon Özellikleri	4
2.2.1. Sperma Kalitesinin Belirlenmesi	5
2.2.2. Sperma Kalitesini Etkileyen Faktörler	6
2.2.3. Fotoperyot	7
2.3. Sperma Koruyucuları	11
2.3.1. Sperma Koruyucularının Hazırlanması	11
2.3.2. Spermanın Koruyucular ile Sulandırılması	12
2.4. Spermanın Soğuk Saklanması Prosedürü	12
2.4.1. Spermanın Soğuk Saklanması Tarihçesi	13
3. MATERYAL ve YÖNTEM	14
3.1. Spermanın Alınması	14
3.2. Çalışmada kullanılan materyaller	18
4. BULGULAR ve TARTIŞMA	21
5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER	27
KAYNAKLAR	29
ÖZGEÇMİŞ	39

TABLolar DİZİNİ

	Sayfa
Tablo 2.1. Türkiye'de ve Hatay'da yakalanan karabalık miktarı(ton)	4
Tablo 2.2. Alabalık sperması için kullanılan sulandırıcı	11
Tablo 2.3. Sazan sperması için kullanılan sulandırıcı	12
Tablo 4.1. Motilite oranının motilite süresi ile korelasyonu	22
Tablo 4.2. Farklı pH değerlerinin istatistiksel anlamda motilite üzerine etkisi	23
Tablo 4.3. Çalışmada bulunan değerler tablosu	24
Tablo 4.4 .Kontrol Grubu Motilite Süresi - % Motilite Değişimi	25
Tablo 4.5. 1. Gün Motilite Süresi - % Motilite Değişimi	25
Tablo 4.6. 2. Gün Motilite Süresi - % Motilite Değişimi	26
Tablo 4.7. 3. Gün Motilite Süresi - % Motilite Değişimi	26

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 2.1. Clarias gariepinus	2
Şekil 2.2. Olgun bir spermatozoanın kısımları	5
Şekil 2.3. Yumurtanın, spermanın ve larvanın kalitesine etkiyen etmenler	7
Şekil 2.4. Fotoperiyot yöntemi uygulanan balıklar yemlenirken	8
Şekil 2.5. Fotoperiyot için faydalanılan ışıklandırma düzeneği	8
Şekil 2.6. Fotoperiyot yönteminde ışıklandırma	9
Şekil 2.7. Fotoperiyot yöntemi kullanılan havuzlar	9
Şekil 2.8. Fotoperiyot ile elde edilen yumurtalar	10
Şekil 3.1. Spermanın abdominal masaj yöntemi ile 5 ml tüplere toplanması	14
Şekil 3.2. Erkek karabalık cinsiyet organı	15
Şekil 3.3. Karabalık cinsiyet organları	15
Şekil 3.4. Abdominal bölgeden dışarıya alınan testis	16
Şekil 3.5. Testisin dışarıda yapılan diseksiyonu ile beherlere spermanın toplanması	17
Şekil 3.6. Elde edilen dokunun plankton bezinden süzülmesi	18
Şekil 3.7. Nikon_eclipse80i marka mikroskop	19
Şekil 3.8. Eppendorf marka mikropipet	19
Şekil 3.9. 5 ml cam deney tüpleri	20

SİMGELER VE KISALTMALAR

Kısaltma/Simge	Tanım
°	Derece
Ca ²⁺	Kalsiyum İyonu
CaCl ₂	Kalsiyum Klorür
cm	Santimetre
FAO	Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü
K ⁺	Potasyum İyonu
KCl	Potasyum Klorür
kg	Kilogram
lt	Litre
m ²	Metrekare
m ³	Metreküp
mg	Miligram
Mg ²⁺	Magnezyum İyonu
MgCl ₂	Magnezyum Klorür
ml	Mililitre
mm	Milimetre
mOsm	Miliozmoz
Na ⁺	Sodyum İyonu
NaCl	Sodyum Klorür
NaHCO ₃	Sodyum Bikarbonat
O ₂	Oksijen
ppt	Binde bir
sn	Saniye
SSP	Suni Seminal Plazma
Syn	Sinonim, Anlamdaş
Tris-HCl	Tris (Hidroksimetil) Aminometan Hidroklorür
TÜİK	Türkiye İstatistik Kurumu
vb	ve benzeri
vd	ve diğerleri
μ	Mikron

1. GİRİŞ

Dünya nüfusunun artışı ve sağlıklı beslenmenin önemi göz önünde bulundurulduğunda, Akman ve diğerlerine göre (2006) karasal alanların sınırlı olması nedeniyle insanlar sağlıklı gıda ihtiyaçlarına yeni çözümler üretmek zorundadır. İnsanlar, su kaynakları ve balıklarla ilk çağlardan beri yakın bir ilişki içindedirler. Günümüzde denizler ve iç sular, hızla artan dünya nüfusunun her türlü yaşamında etkili bir biyolojik kaynak olarak kullanılmaktadır (Geldiay ve Kocataş, 1988).

2021 yılında su ürünleri üretimi, bir önceki yıla göre %1,8 artarak 799 bin 851 ton oldu. Bu üretimden %32,8'i avcılık yoluyla elde edilen deniz balıkları, %4,1'i avcılık yoluyla elde edilen diğer deniz ürünleri, %4,1'i avcılık yoluyla elde edilen iç su ürünleri ve %59'u yetiştiricilik ürünlerinden oluşuyordu (Balıkçılık ve Su Ürünleri Genel Müdürlüğü, 2020-2021). Balık yetiştiriciliği sektörü, son yıllarda eğitici faaliyetler ve hızlı teknoloji transferi sayesinde şaşırtıcı bir gelişme göstermiş ve Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) tarafından gıda üretiminde dünyadaki en hızlı büyüyen sektör olarak ilan edilmiştir (FAO,2016).

Ülkemizde balık yetiştiriciliği, üretim ve pazarlama açısından gelişmeye devam etmektedir. Ancak özellikle balık ıslahı konusunda önemli sorunlarla karşı karşıyadır. Verimliliğin artırılabilmesi için yüksek verimli genotipler ile çalışılması gerekmektedir. Ancak, işletmelerde düzenli seleksiyon programları uygulanmaması, kâr amaçlı hareket eden işletme sahipleri tarafından diğer çiftliklerden yumurta veya yavru balık alınması nedeniyle genetik yapı uzun süre muhafaza edilememektedir. Bu durumda, istenmeyen genetik farklılıklar meydana gelmekte ve balıklar bireysel olarak olması gereken verimli özellikleri kaybetmektedir (Bozkurt,2002).

Sperma saklama yöntemleri, genetik olarak üstün özelliklere sahip erkek damızlıklardan elde edilebilecek birey sayısını çoğaltabilir ve istenilen genetik özellikleri nesiller boyu koruyabilir. Ayrıca genetik materyal kolayca taşınabilir ve erkek gamet hücrelerinden yıl boyunca istenildiği anda faydalanılabilir. Bu yöntem aynı zamanda erkek damızlık balıkların en ekonomik şekilde değerlendirilmesine yardımcı olur ve sperma bankalarının kurulmasına imkân tanır (Bozkurt,2004).

Balık yetiştiriciliğinde, işletmede kullanılan suyun kaynağı ve kalitesi, anaç balıkların beslenme rejimi ve yem kalitesi, fotoperiyot ortamı, anaç balıkların yaşadığı stres, üreme sezonu ve sperm elde etme yöntemleri gibi çeşitli faktörler, sperm kalitesini etkilemektedir (Glogowski vd.,2002;Billard vd.,1995;Rurangwa vd.,2004;Bobe vd.,2010).

Türkiye'de karabalık yetiştiriciliğinin yaygın olduğu bazı bölgeler: Bolu, Gölcük Gölü gibi doğal göllerde ve özel çiftliklerde karabalık üretimi gerçekleştirilmektedir. Isparta, Eğirdir Gölü ve Kovada Gölü gibi göllerde karabalık üretimi gerçekleştirilir. Sivas'da , Zara ilçesi ve Kangal bölgesi, karabalık çiftliklerinin yoğun olduğu bölgeler arasındadır. Antalya'da Manavgat ve Alanya gibi ilçelerde karabalık çiftlikleri bulunur.Trabzon'da Maçka, Tonya ve Düzköy gibi ilçelerde karabalık çiftlikleri bulunmaktadır.

2. KAYNAK ARAŞTIRMALARI

2.1. Clarias gariepinus (Karabalık)

2.1.1. Clarias gariepinus (Karabalık) Hakkında Genel Bilgi

Karabalık, pulsuz ve yumuşak vücut yapılarıyla silindirik bir görünüme sahiptir. İyi gelişmiş dişleri ve büyük bir ağızları vardır. Başları dorso-ventral olarak hafifçe yassılaştırmıştır, kuyruğa yaklaştıkça yanlardan yassılaşırlar. Dört çift bıyıkları bulunur. Anal yüzgeç uzundur ve ventral yüzgeçlerin hemen gerisinden başlayıp kuyruk yüzgecine kadar uzanır. Tek loplu kuyruk yüzgecine sahiptirler ve genellikle dip balıklardır. Diğer balıklar tarafından değerlendirilemeyen besin kaynakları bu balıklar tarafından ete dönüştürülebilir. Eti lezzetli, kemiksiz ve yüksek protein içermektedir (Copp vd.,2009).

Clarias gariepinus (Karabalık), tropik ve subtropik bölgelerde yaygın olan bir türdür ve ülkemizin Güney ve Güneydoğu Anadolu bölgelerinde bazı göl, akarsu ve kanallarda yaşamaktadır. Diğer *Clarias* türleri gibi, sıcak sularda yaşamayı tercih eder ve 10°C'nin altındaki sularda zorlanır. Yaz aylarında 23°C su sıcaklığında üreme gösterirken, 24°C ve daha sıcak sularda optimal bir gelişim göstermektedir(Şimşek vd.,2022).

Karabalık olarak da bilinen *Clarias gariepinus*, Claridae ailesine aittir ve sekiz bıyık, gelin balığı ve kara yayın gibi isimlerle de anılır. Ülkemizde Antalya'dan Hatay'a kadar olan sahil kuşağı akarsuları ve tatlı su kaynaklarında doğal olarak bulunmaktadır (Tekelioğlu,1980). Potamodrom özellikleri sebebiyle akarsu ve nehirlerde göç etme eğilimindedirler. 8-35°C aralığında tatlı suda yaşayabilirler ve pH değişimlerine karşı toleranslıdırlar (Teugels,1986). Güney bölgelerimiz için ticari bir önem taşıyan karabalık, özellikle Asi Nehri'nde bol miktarda bulunmakta olup bu bölgeden doğadan yavru toplanarak yetiştiriciliği yapılmaktadır (Genç,2006).



Şekil 2.1. *Clarias gariepinus* (Djatkiko,2012;Jurek,2012).

2.1.2. *Clarias gariepinus*'un Sistematikteki Yeri

Phylum : Vertabrata

Subphylum: Pisces

Class : Osteichthyes

Subclass : Actinopterygii

Super-Order: Ostariophysii

Order : Siluriformes

Family : Clariidae

Genus : *Clarias*

Species : *gariepinus* (BURCHELL, 1822) (Narin,2003).

2.1.3. *Clarias gariepinus*'un Morfolojik Özellikleri

Karabalık, uzun ve ince bir vücuda ve büyük bir kafaya sahiptir. Doğada 1,4 metreye kadar büyüebilir ve canlı ağırlığı 59 kg'ı bulabilir (Tekelioğlu,1980). Karabalığın başı, karından sırtta kadar yassılaştırmıştır ve vücudu yumuşak dokulu, pulsuz ve güçlü bir deri ile kaplanmıştır. Derisi üzerinde şekilleri düzensiz çok sayıda benekler mevcuttur. Dişi karabalıklarda burun ucu yuvarlaktır, ancak erkeklerde hafifçe sivrileşir. Ayrıca, dört çift bıyığı bulunur, bunlardan bir çifti üst çenede ve üç çifti alt çenede yer alır (Geldiay ve Balık, 1996).

Karabalığın gözleri küçük ve yuvarlaktır ve ağzı geniş ve altta bulunur. Gövdesi ve kuyruk bölgesi kısmen düzleşmiş biçimli olan karabalık, küçük dorsal yüzgeci ve kanal tipi ventral yüzgeci bulundurmaktadır (Sarıhan ve Cengizler, 1997). Karabalık, hava kesesi, farinks ve solungaç boşluğu gibi yapılarla ilişkili yoğun kan damarları içeren dokularla çevrelenmiş yardımcı solunum organına sahiptir. Bu özellik, karabalığın su dışında saatlerce ve hatta çamur bataklıklarında haftalarca hayatta kalmasına izin verir (Durmaz Bekmezci, 2010). Karabalığın vücut rengi genellikle sırt tarafında koyu kahverengi, yan taraflarında gri kahverengi, karın bölgesinde ise bulanık beyazdır. Ayrıca, karın yüzgecinin kenarları sarı renklidir (Demirsoy,1993;Çelikkale,1994).

2.1.4. *Clarias gariepinus*'un Üreme ve Beslenme Özellikleri

Clarias gariepinus, omnivor bir beslenme özelliği sergilemektedir. Temel gıda kaynakları arasında böcekler, planktonlar, yengeçler, karidesler ve diğer omurgasızlar yer almaktadır. Ayrıca, *Clarias gariepinus*, karabalık, ölü kuşlar, çürümüş meyveler ve bitki tohumları gibi birçok farklı kaynaktan da beslenebilmektedir (Ergene vd., 1999). Bu türün araştırmaları, yaz aylarında daha fazla beslendiklerini ve Diptera larvaları başta olmak üzere Arthropodları tükettiklerini

göstermiştir (Yalçın vd., 2001). Doğal koşullarda büyüme özellikleri incelendiğinde, *Clarias gariepinus*'un sıcak su döneminde 9 ayda 18-20 cm boyuna ulaştığı görülmüştür (Clay,1979).

Clarias gariepinus dişileri, vücut ağırlığının büyük bir kısmını kaplayan büyük bir çift ovaryuma sahiptir. Erkeklerin ürogenital açıklıkları dışarı doğru uzandığından, dişi ve erkek bireyler kolayca ayırt edilebilir (Tekelioğlu, 1996). *Clarias gariepinus*'un dişi ve erkeklerinin bir yaşında cinsel olgunluğa ulaşmaya başladığı ve iki yaşında tüm popülasyonun ergenliğe ulaştığı gözlenmiştir. Ayrıca, karabalığın gonad gelişiminin kış aylarında başladığı ve üremenin Mayıs-Ağustos ayları arasında (21°-30° C) gerçekleştiği bildirilmiştir (Yalçın vd., 2001).

2.1.5. *Clarias gariepinus*'un Biyolojik Yönden Önemi

Clarias gariepinus, sıcak iklimlerde yaygın olarak bulunan bir balık türüdür. Bu türün üretimi, çevresel gereksinimlerinin az olması, düşük oksijen seviyelerinde ve yoğun stoklama koşullarında gelişebilmesi, farklı besinleri sindirme yeteneği gibi avantajlı özellikleri sayesinde tercih edilmektedir (Tekelioğlu, 1996). Ayrıca, bu balıkların yüksek yumurta verimliliği ve kolay dölllenme kabiliyeti, en uygun türler arasında yer almalarını sağlamaktadır (Hecht vd.,1996). pH değişimlerine toleransları olduğu için, *Clarias gariepinus* balıkları 0-12 ppt (0-12mg/litre) tuzluluk değerleri arasında da yaşayabilirler (Narin, 2003).

Ancak, *Clarias gariepinus*'un bataklık gibi çamurlu ortamlarda yaşayarak dipten beslenmesi, etinde istenmeyen bir koku oluşmasına neden olur. Bu nedenle, besin kaynağı olarak sınırlı bir kullanıma sahiptir. Ancak, Uzak Doğu ve Afrika ülkelerinde popüler bir yiyecek olarak tüketilmektedir (Bilgin vd.,2001;Çelikkale, 1988). Türkiye'de ve Hatay'da yakalanan karabalık miktarına ilişkin bilgiler Tablo 2.1.'de sunulmuştur (TÜİK, 2020).

Tablo 2.1. Türkiye'de ve Hatay'da yakalanan karabalık miktarı (ton) (TÜİK, 2020).

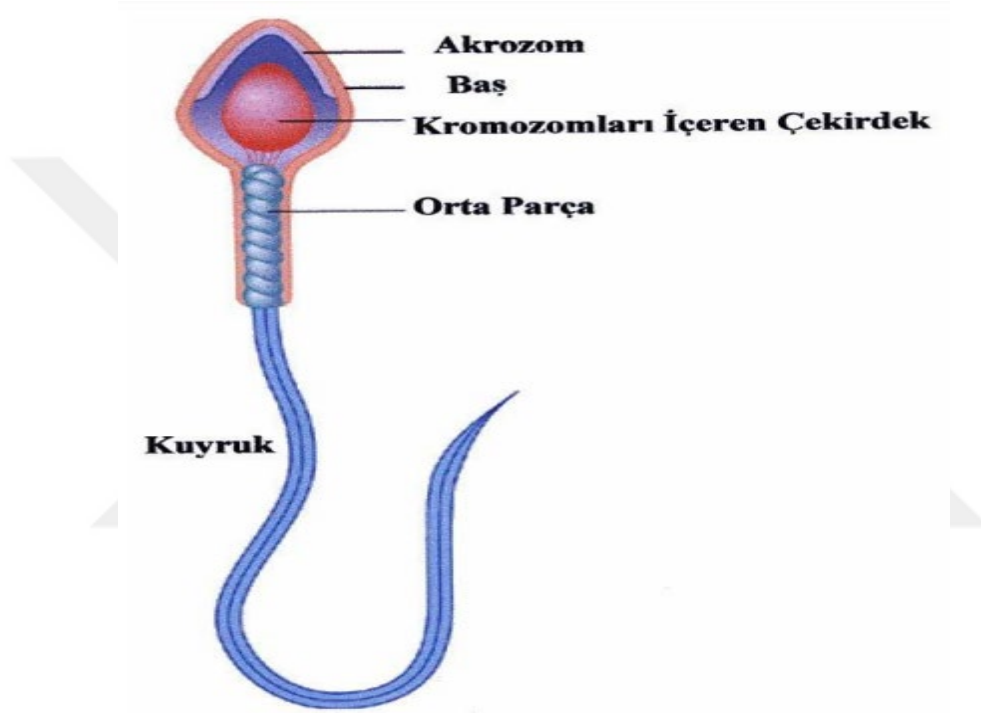
Yıl	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020	2021
Türkiye	341	361	299	345	351	303	262	216	206	203	175	156
Hatay	18	16,2	12	3,1	3	2	2	2	2	2	2	2
Yüzde	5,28	4,48	4,01	0,9	0,85	0,66	0,76	0,93	0,97	0,98	1,14	1,28

2.2. Sperma ve Spermatozoon Özellikleri

Sperma, genital materyali taşıyan çekirdeği içeren üreme hücresi ve seminal plazmanın birleşmesiyle oluşan bir sıvıdır. Seminal plazmanın kimyasal ve fiziksel özellikleri, sperm hücrelerinin sağlıklı kalmasını ve hareketsiz kalmasını sağlamaktadır (Cabrita vd.,2008). Sperm hücreleri, baş,

kuyruk ve orta bölümden oluşan hücrelerdir ve genetik materyali embriyoya aktarmaktadır. Erkek germ hücresi olan "spermium" canlıken oldukça hareketlidir (Lahnsteiner ve Patzner, 2008).

Sekretor kanallarından salgılanan sıvı, hem seminal plazmayı hem de spermatozoa'yı içerdiğinden "süt" veya "sperma" olarak adlandırılır. Alabalıkta 4-6 ml, sazanlarda 1-5 ml miktarda üretilen sperma, her ikisinde de 10-20x10⁹/ml yoğunluğa sahiptir. Alabalık spermeleri yaklaşık 20 mikron uzunluğundadır ve oval yapıda bir başa sahiptir. Akrozom varlığı bildirilmemiştir. Seminal plazmanın bileşimi türlere göre küçük farklılıklar gösterse de, Na, K, Cl, protein ve şeker en önemli bileşenleridir. Balık spermının osmotik basıncı 306 mOsm l-1'dir ve pH değeri 7.0'dır (Billard, 1992).



Şekil 2.2. Olgun bir spermatozoanın kısımları (Kayalı vd., 1992).

2.2.1. Sperma Kalitesinin Belirlenmesi

Sperma kalitesi, yumurtayı dölleme yeteneği ile doğrudan ilişkili olan bazı parametrelerle belirlenir (Brooks vd., 1997; Rurangwa,2004). Aktif spermatozoon yüzdesi, hareketlilik süresi, sperm konsantrasyonu ve seminal plazma bileşimi, sperma kalitesinin ölçülmesinde kullanılır (Billard ve Gillet, 1981).

Seminal plazmanın pH ve ozmolilitesi, sperma kalitesini etkileyerek dölleme yeteneğine katkıda bulunan diğer parametrelerdir (Alavi ve Cosson,2005; Rurangwa vd.,2004; Linhart vd., 2000; Ciereszko, A. ve Dabrowski,1993; Aas vd.,1991). Sperma aktivasyon solüsyonunun pH değeri 7.2'den 8.6'ya doğru arttıkça, spermatozoon hareketliliği, hızı ve motilite süresi artar (Wojtczak,2007).

Sperma özellikleri belirlendiğinden bu yana yapılan çalışmalar, tek bir spermatozoon kalitesi parametresinin iyi kalitedeki spermatozoonları belirlemek için yeterli olamayacağını göstermiştir. Spermatozoonlar, sperma kanallarından aşağı doğru inerken hareket kabiliyeti kazanır. Bu olgunlaşmanın meydana gelmesi, pH değerinin yükselmesiyle olur (Morisawa ve Morisawa, 1988). Bu durum, testislerdeki spermatozoonların tampon bölgede harekete geçmesini sağlayan pH'nın genellikle 8 veya üzerinde olduğu türlerde görülür (Morisawa vd., 1993). Olgun spermatozoon serbest bırakılmasıyla, hücre dışı iyon değişimleri, hareketliliği tetikler (Morisawa, 1994). Birçok türde, spermal plazma ile su arasındaki osmotik basınç, sperm hareketliliğini tetikleyen ana unsurdur. Ayrıca, alabalık ailesinde hücre dışı K⁺ değerinin düşüşü de sperm hareketliliğini sağlar [(Morisawa ve Suzuki, 1980).

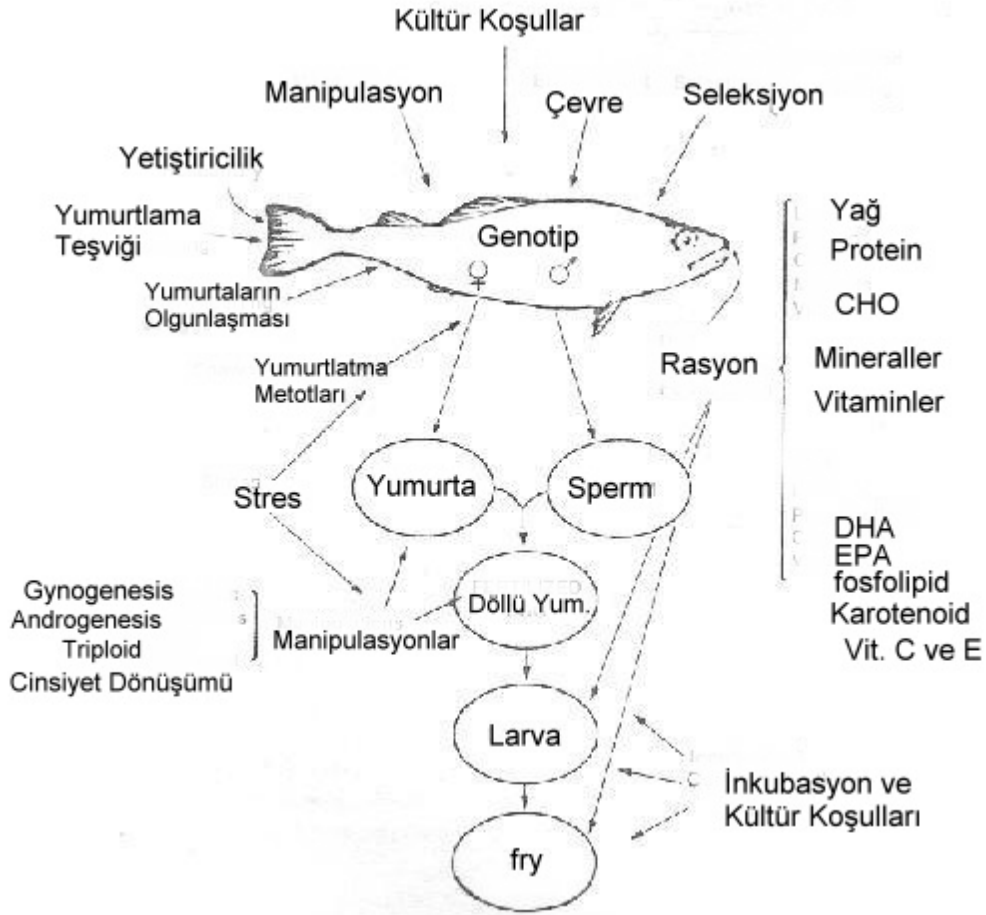
Clupea palasii (ringa balığı) gibi bazı türlerde, yumurta faktörleri de spermatozoon hareketliliğini etkiler (Oda vd., 1980). Spermatozoon hareketliliğinin başlaması ile iyon değişimi arasındaki bağlantıyı moleküler olaylar sağlar. Özellikle Cyprinidae ve Salmonidae familyalarına ait balıklarda bu değişim araştırılmıştır. Alabalık ailesinde aksonem düzeyinde hareketlilik başlangıcı ile cAMP artışı arasındaki bağlantı ayrıntılı bir şekilde incelenmiştir fakat bu tip bağlantı aktörleri henüz kısmi olarak incelenmiş olup, karmaşık bir fosforilasyon-defosforilasyon sıralamasını içermektedir. Alabalık ailesine ait balıklarda protein fosforilasyonu proteasomlar tarafından düzenlenmektedir (Inaba vd., 1998; Inaba, 2008).

2.2.2. Sperma Kalitesini Etkileyen Faktörler

Sperma kalitesini etkileyen faktörler, genetik, fizyolojik ve çevresel faktörlerin etkileşimine bağlı olarak biyotik ve abiyotik faktörlerdir. Bir kuluçkahane ortamında sperma kalitesinin objektif olarak değerlendirilmesi, erkek anaç yönetiminin en iyi koşullarını sağlamak ve döllenme başarısını artırmak için önemlidir (Aydın, 2011; Rurangwa vd., 2004).

Yüksek kalitede sperma elde edilebilme oranı, anaç balıkların olabildiğince stressiz bir ortamda tutulması ile artar (Cabrita vd., 2008). Yetiştirilen türlere uygun bir ortam oluşturularak, doğada maruz kaldıkları şartların sağlanması amaçlanır. Ancak, bazen anaç balıkların, içinde bulundurulduğu suların fiziksel, kimyasal ve biyolojik kalitesindeki değişimler, tank tipi, stoklama yoğunluğu, beslenme kalitesi, patojenler ve sağım/alım yönteminden kaynaklanan stres faktörleri, sperma kalitesini olumsuz yönde etkileyebilir (Bromage ve Roberts, 1995; Cabrita vd., 2008).

Ayrıca, damızlık alabalıkların yaşı da sperma kalitesini etkiler. Genellikle alabalık erkek bireyleri 2-3 yaşında, dişiler ise 3-4 yaşında cinsel olgunluğa ulaşmaktadırlar (Atay, 1980; Çelikkale vd., 2002). Anaç seçimi yapılırken, sperma kalitesi ile döl verimi dikkate alınarak 2-6 yaş aralığındaki anaç balıkların kullanılması uygun görülmektedir (Tekin vd. 2003).



Şekil 2.3. Yumurtanın, spermanın ve larvanın kalitesine etkiyen etmenler (Bromage ve Roberts, 1995)

2.2.3. Fotoperyot

Bir gün içindeki aydınlık süresi veya ışık süresi olarak bilinen fotoperyot, dünya'nın kendi eksenini etrafında dönmesi ve güneşin hareketleri sonucu meydana gelen doğal bir olaydır (Emre ve Kürüm, 1998). Fotoperyot uygulamalarıyla gamet gelişimi, sabit uzun gün veya kısa gün sürelerinin değiştirilmesiyle öne veya geri alınabilir (Kime ve Nash, 1999). Üreticiler bu uygulamalar sayesinde, doğal üreme sezonunu beklemek zorunda kalmadan yıl boyunca yumurta ve spermalarını toplayabilirler. Yapılan bu konudaki çalışmalar gösteriyor ki, fotoperyot ile üreme zamanını ileri ya da erkene almak yumurta veya larva kalitesini olumsuz yönde etkilememektedir (Carrillo, 1989).



Şekil 2.4.Fotoperiyot yöntemi uygulanan balıklar yemlenirken (Fotoperiyot ile yumurta üretimini ikiye katladı. 20 Şubat 2021. Erişim tarihi 13.11.2022. <https://haberton.com/fotoperiyot-ile-yumurta-uretimini-ikiye-katladi>).



Şekil 2.5.Fotoperiyot için faydalanılan ışıklandırma düzeneği (Fotoperiyot ile yumurta üretimini ikiye katladı. 20 Şubat 2021. Erişim tarihi 13.11.2022. <https://haberton.com/fotoperiyot-ile-yumurta-uretimini-ikiye-katladi>).



Şekil 2.6.Fotoperiyot yönteminde ışıklandırma (Fotoperiyot ile yumurta üretimini ikiye katladı. 20 Şubat 2021. Erişim tarihi 13.11.2022. <https://haberton.com/fotoperiyot-ile-yumurta-uretimini-ikiye-katladi>).



Şekil 2.7.Fotoperiyot yöntemi kullanılan havuzlar (Fotoperiyot ile yumurta üretimini ikiye katladı. 20 Şubat 2021. Erişim tarihi 13.11.2022. <https://haberton.com/fotoperiyot-ile-yumurta-uretimini-ikiye-katladi>).



Şekil 2.8.Fotoperiyot ile elde edilen yumurtalar (Fotoperiyot ile yumurta üretimini ikiye katladı. 20 Şubat 2021. Erişim tarihi 13.11.2022. <https://haberton.com/fotoperiyot-ile-yumurta-uretimini-ikiye-katladi>).

Balıkların üremelerinde, çevresel etmenler arasında fotoperiyot gibi eşeysel olgunluğa etki eden faktörler vardır. Bu faktörler, üreme sürecini düzenlemek için fizyolojik işlemleri etkiler. Potansiyel olarak, gametogenezin başlatılmasından tamamlanmasına kadar olan süreçte, üreme zamanlaması üzerinde etkili olduğu belirtilmektedir. Gamatogenezi etkileyen en önemli faktörün, diğer faktörler sabit tutulduğunda fotoperiyot olduğu bilinmektedir(Karayücel ve Karayücel, 2016). Fotoperiyodun kemikli balıklarda eşeysel olgunlaşma aşamalarının tüm basamaklarını (beyin-hipofiz-gonad eksenini) kontrol ettiği gözlemlenmiştir (Karayücel ve Karayücel, 2016).

Ayrıca, sıcaklık etmeni de fotoperiyottan sonra en etkili etmenlerden biridir (Nakari vd.,1987). Kemikli balıklar, bazı müstesnalar dışında değişken sıcakkanlı balıklardır ve vücut sıcaklıkları buldukları su ortamının sıcaklığına yakındır. Dolayısıyla, ortamın sıcaklığı genel faaliyetler ile bilhassa beslenmede belirleyici bir rol oynamaktadır(Karayücel ve Karayücel, 2016). Birçok balık türünde, yumurtlama zamanının, metabolik faaliyetlerin, immünolojik tepkilerin ve üreme fizyolojilerinin su sıcaklığına bağlı olarak değişebileceği belirtilmektedir (Kocabaş, 2009). Tate ve Helfrich (1998), Morone chrysops türünde yaptıkları çalışmada, sıcaklık ve fotoperiyotun sperma yoğunluğuna, motilite süresine ve seminal sıvının pH'sına etki ettiğini, ancak bu etkilerin döllenme oranına bir etkisinin olmadığını bildirmişlerdir.

2.3. Sperma Koruyucuları

2.3.1. Sperma Koruyucularının Hazırlanması

Sperma sulandırıcıları, spermatozoanın ihtiyaçlarını karşılayan ve dış etkenlere karşı bütünlüğünü ve fertilitite yeteneğini koruyan sıvı besi ortamlarıdır. Temel işlevleri arasında spermanın hacmini artırmak, spermatozoanın canlı kalma süresini artırmak, onu ani ısı değişikliklerinden korumak ve ona mikroorganizmaların zarar vermesini önlemek yer alır (Pabuccuoğlu, 2013). Sulandırıcılarda aranan belli başlı özelliklerden bazıları, ozmotik basıncın seminal plazmanın ozmotik basıncına eşit olması ve bu dengeyi saklama süresince koruması, spermatozoanın metabolizmasında gerekli olan mineral maddeleri taşınması, enerji gereksinimlerini karşılayabilecek maddeleri içermesi ve ısı değişimlerine karşı spermatozoayı koruyan maddeler içermesidir. Ayrıca, patojen mikroorganizmalardan olumsuz etkilenmemesi için antibiyotikler içermeli ve spermatozoanın metabolik artıklarını etkisizleştirme kapasitesine sahip olmalıdırlar (Pabuccuoğlu, 2013).

Bu çalışmada sulandırıcı olarak, 2mM CaCl₂, 110 mM NaCl, 20 mM KCl, 2 mM MgCl₂, 10mM NaHCO₃ , pH8 kullanılmıştır.

Yine bu çalışmada aktivasyon solüsyonu olarak ise 17 mM NaCl, 5mM Tris-HCl kullanılmıştır.

Daha önce yapılan çalışmalarda alabalık ve sazanlar için aşağıdaki tablolardaki gibi farklı sulandırıcılar kullanılmıştır (Büyükhatipoğlu ve Holtz, 1977;Kurokura vd.,1984).

Tablo 2.2. Alabalık sperması için kullanılan sulandırıcı(Büyükhatipoğlu ve Holtz, 1977).

BİLEŞİMİ	YOĞUNLUK (mg / ml)
NaCl	5.92
KCl	1.72
CaCl ₂	0.68
MgSO ₄	0.15
Tris (Hidroksimetilaminometan)	24.20
Sitrik asit	to pH 7.25
KATKI MADDELERİ	
Bovine Serum Albumen	p4.00
Promine - D	5.00
DMSO	0.12

Tablo 2.3. Sazan sperması için kullanılan sulandırıcı (Kurokura vd.,1984).

Yoğunluk (mg / 100 ml)					
	NaCl	KCl	CaCl ₂	MgCl ₃	NaHCO ₃
Sulandırıcı I	750	20	20	0	20
Sulandırıcı II	440	620	22	8	20

2.3.2. Spermanın Koruyucular ile Sulandırılması

Sperma soğutma işlemi için, öncelikle koruyucu içeren sulandırıcılar kullanılarak spermatozoanın korunması amaçlanır. Spermanın aktivitesinin önlenmesi başarılı bir koruma uygulaması için oldukça önemlidir. Sulandırıcı kompozisyonunun geliştirilmesinde iki ana yaklaşım bulunmaktadır: ilk olarak balığın seminal plazma kompozisyonuna benzer sulandırıcıların kullanılması, ikincisi ise hazırlanması daha kolay olan sulandırıcıların kullanılmasıdır (Ciereszko, 2000).

Balık spermasının korunması üzerine yapılan çalışmalarda, soğutulmuş veya dondurulmuş spermanın taze spermaya göre fertilizasyon kapasitesinin daha düşük olduğu belirlenmiştir. Balık spermatozoasının suda aktive olması ve bu aktivitenin 2 dakika ile 50 saniye arasında sınırlı kalması, sperma koruma işlemlerini oldukça zorlaştırmaktadır. Bu nedenle en uygun koruma yönteminin seçilmesi ve işlemler arasındaki sürenin mümkün olan en kısa tutulması gerekmektedir (Bozkurt vd., 2005).

2.4. Spermanın Soğuk Saklanması Prosedürü

Sperma soğutma işlemi için uygun koruyucu solüsyonların temin edilmesi veya hazırlanması gereklidir. Steril şartlar altında, spermatozoanların aktivasyonunu önlemek için sulandırıcılar uygulanmalıdır (Büyükhatipoğlu ve Holtz, 1977).

Bu çalışmada, cam deney tüplerinde sulandırılmış örnekler buzdolabında 4 gün boyunca muhafaza edilmiştir.

Alabalık ve sazan spermasının kısa süreli (1-2 saat ile 1-2 gün arasında) saklanması yapay üretimde sıkça kullanılmaktadır. Uzun süreli saklama (cryoprezervasyon) yapabilmek için iyi kalitede sperm kullanımı gerekmektedir (Pironen, 1987). Günümüzde yapılan araştırmalar uzun periyotlarda taze spermanın saklanması üzerine yoğunlaşmaktadır. Nativ sperm, +4°C ve oksijen atmosferi altında 15 günden fazla bir süredir dölleme kabiliyetini yitmediği gibi antibiyotik ve antimikotik ajanların ilavesi ile 3 haftadan daha uzun süre için viabilitenin değişmediği bildirilmiştir (Büyükhatipoğlu ve Holtz, 1977). Billard (1978), spermanın saklanması için en uygun ortamın oksijen atmosferi olduğunu açıklamıştır. Kısa süreli saklamada yüksek yoğunlukta spermatozoanın hızlı oksijen tüketimine neden olduğu için Stoss ve Holtz (1977), doymuş nemli oksijen atmosferi altında sudan oksijen geçişi ile

spermatozoanın 34 gün boyunca fertilizasyon kabiliyetini yitirmeden viabil kaldığını belirtmişlerdir. Sulandırıcılardaki oksijen konsantrasyonunun azaltılması, spermatozoanın hareketsiz tutulmasına yardımcı olmaktadır. Ayrıca, alabalıklar için K ve sükröz solüsyonları, sazanlar için ise yüksek ozmotik basınçlı solüsyonlar kullanılarak spermatozoa hareketsiz tutulabilmektedir (Mc Niven vd., 1993; Saad vd., 1988).

Kısa süreli soğutma veya kriyoprezervasyon işleminden sonra spermatozoanın büyük bir çoğunluğu membran ve mitokondri hasarı yaşamaktadır. Bu nedenle soğutulmuş spermanın hemen kullanılması fertilizasyon oranını artırmaktadır (Bozkurt vd., 2005). Spermalar bu işlem sonrasında doğrudan yumurtalar üzerine aktarılarak fertilizasyon gerçekleştirilir (Tekin vd., 2003b).

2.4.1. Spermanın Soğuk Saklanması Tarihi

Sperm hücrelerinin soğuk saklanması tarihi oldukça eski zamanlara dayanmaktadır. 1700'lü yıllardan beri kullanılan bir yöntem olan doku ve hücreleri soğukta saklama, bilimsel ve modern anlamda canlı hücre dondurma çalışmalarına ilham vermiştir. Kriyoprotektan olarak adlandırılan soğuk şokuna karşı koruma sağlayıcı gliserolün keşfi, Polonyalı bilim insanı Jerzy Neyman tarafından 1949 yılında yapılmıştır. Bu keşif, ilk olarak spermatozoa gibi hücrelerin dondurulmasını mümkün kılmıştır. Kriyobiyolojinin önemi bu sayede artmıştır, çünkü bu bilim dalı hücrelerin, dokuların, organların ve organizmaların dondurularak incelenmesini sağlar. Dondurulan ve çözölen hücrelerin fonksiyonel özelliklerinin daha iyi anlaşılması da kriyobiyolojinin gelişimine katkıda bulunmuştur (Leibo ve Brandley, 1999).

Soğuk saklamanın ilk bulunduğu dönemlerde, sığır spermleri, buzlu bir çözelti içinde -79 derece Santigrat'ta (dondurucu sıcaklıkta) saklanmış ve başarılı bir şekilde çözöndürölmüştür. Bununla birlikte, insan sperm hücrelerinin dondurulup saklanması konusu daha sonraki yıllarda ele alınmıştır. 1953 yılında, ilk kez insan sperm hücreleri -20 derece Santigrat'ta dondurulmuş ve başarılı bir şekilde çözöndürölmüştür (Leibo ve Brandley, 1999).

1963 yılında, İskoçyalı bilim insanı Christopher Polge, sığır spermalarını -196 derece Santigrat'ta sıvı nitrojen içinde dondurarak saklama yöntemini geliştirmiştir. Bu yöntem, günümüzde de yaygın şekilde kullanılan kriyoprezervasyon veya dondurulmuş depolama yöntemi olarak bilinmektedir. Bugün, dondurulmuş sperm hücreleri, canlıların üremesinde önemli bir seçenek haline gelmiştir. Spermalar, uzun süreler boyunca dondurularak saklanabilmekte ve daha sonra kullanılabilir (Rall ve Meyer, 1985).

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Spermmanın Alınması

Erkek damızlık balıktan intra-abdominal hipofiz bezi enjeksiyonu yapılarak kısa sürede sperm elde edilebilir (Çelikkale, 1988;Alpbaz ve Hoşsucu, 1986). Enjekte edilecek hipofiz bezinin miktarı, balığın her kg canlı ağırlığına 1-2 mg arasında hesaplanır. Hipofiz bezi, %0,7 serum fizyolojik içinde ezilip seyreltilerek hazırlanır. Abdomen içine enjekte edildikten 24 saat sonra sperm alınması sağlanır(Alpbaz, 1984).

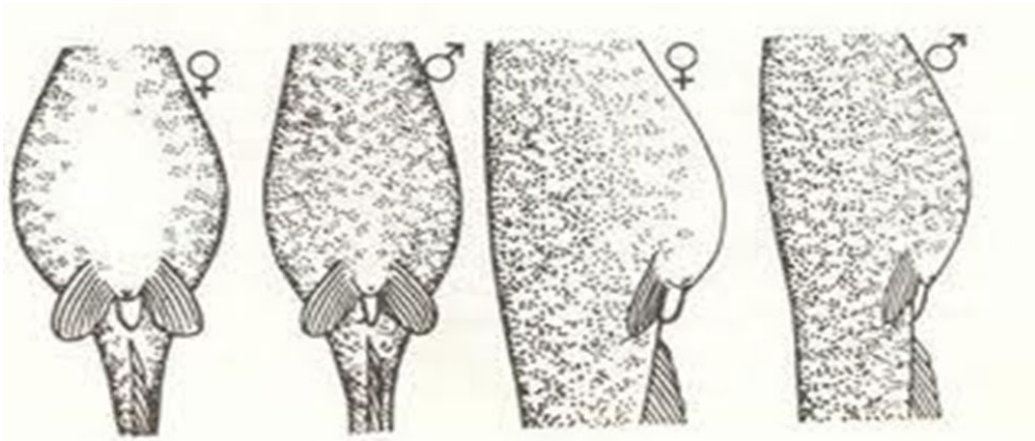
Sperma, damızlık balıklardan abdominal masaj yoluyla veya testisin dışarıda yapılan diseksiyonu ile dereceli tüplere alınmaktadır. Bu çalışmada, damızlık karabalıktan testisin dışarıda yapılan diseksiyonu ile sperm alınmıştır. Alınan spermmanın miktarı, rengi, kıvamı, motilitesi, yoğunluğu ve pH değeri gibi özellikleri makroskobik ve mikroskopik olarak incelenerek belirlenir (Tekin vd.,2003a).



Şekil 3.1. Spermmanın abdominal masaj yöntemi ile 5 ml tüplere toplanması (Şahin ve Köse, 2015).



Şekil 3.2. Erkek karabalık cinsiyet organı.

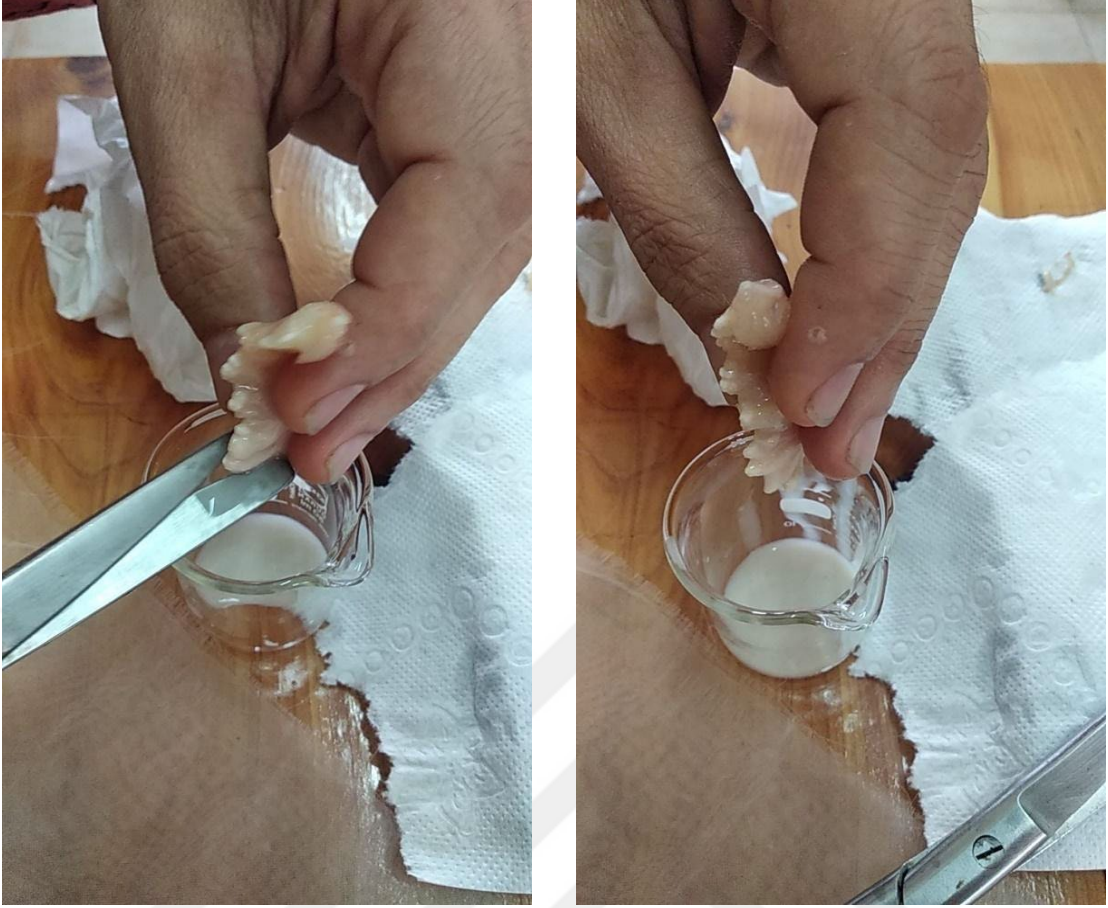


Şekil 3.3. Karabalık cinsiyet organları (Alpbaz ve Hoşsucu, 1986).



Şekil 3.4. Abdominal bölgeden dışarıya alınan testis (Öğretmen vd., 2014).

Testisler, üreme mevsimine bağlı olarak boyutları ve renkleri değişebilen organlardır. Olgunlaştıklarında, vücut ağırlığının %12'sinden daha fazlasına ulaşan bir ağırlığa sahip olabilirler. Renkleri genellikle krem rengi-beyazdır ve taneciksiz bir yapı sergilerler (Demir, 2009).



Şekil 3.5. Testisin dışarıda yapılan diseksiyonu ile beherlere spermanın toplanması.

Balıklardan elde edilen sperma genellikle masaj yöntemiyle sağlanır. Balık başı yukarıda tutularak karın bölgesine sıvazlama şeklinde masaj yapılır ve sperm bir kabın içine alınır. Sazan balıklarında, hipofiz ekstresi enjeksiyonları (1-2mg/kg) spermin miktar ve kalitesini artırabilir. Sağım işlemi kolaylaştırmak için balıklar narkoz banyosunda sakinleştirilirler. MS-222 Sandoz (Etil-Aminobenzoat) veya Chinalgine banyoları gibi anestezi yöntemleri kullanılabilir. Ayrıca, %0.1'lik Fenoksi Etanol ile de balıklar anestezi altına alınarak sağım işlemi gerçekleştirilebilir. Bu çalışmada, sağım yöntemiyle değil diseksiyon yöntemiyle sperm alınmıştır. Yayın balıklarının testislerinde, diğer türlerden farklı olarak, sperm olgunluğu testisin parmak şeklindeki çıkıntılarının uç kısmından başlar. Bu nedenle, kültür koşullarında verimli sperm almak zordur (Öğretmen vd., 2014). Alınan sperma, 120 mikron göz açıklığına sahip plankton filtreden süzülür (Şekil 3.6.).



Şekil 3.6. Elde edilen dokunun plankton bezinden süzülmesi (Öğretmen vd., 2014).

3.2. Çalışmada kullanılan materyaller

Bu çalışmada Asi Nehri'nde ağ yardımıyla 01.03.2022 tarihinde canlı avlanan 4 adet erkek karabalıktan elde edilen spermler kullanılmıştır. 20 litrelik su dolu büyük bir kaptan 4 saatlik süre içerisinde Hatay'dan Mersin'e getirilip balık havuzlarında bir gün süreyle dinlendirilmişlerdir. Balıktan spermin kısa süre içerisinde elde edilebilmesi için erkek damızlık balıklara intra abdominal hipofiz bezi enjeksiyonu yapılmıştır. Enjekte edilmek üzere sazan hipofiz bezi, damızlık balıkların her bir canlı kilogram ağırlığına 1mg hesabı ile %0,7 oranında serum fizyolojik içerisinde seyreltilerek hazırlanmıştır. Abdomen içerisine yapılan enjeksiyonu takiben 24 saat sonra sperm alımı sağlanmaktadır. Diseksiyon öncesi anesteziyeye alınmaları için 2-phenoxyethanol kullanılmıştır. Diseksiyon ile abdominal bölgede alt yüzgeç önünden ön tarafa doğru solungaçlar arası hizanın gerisine kadar longitudinal diseksiyon yapılmıştır. Abdominal bölge içerisinde dış kısımları beyaz renkli görünen bu testisler deforme edilmeden bütün halde dışarıya alınmıştır. Testis yüzeyinde bulunabilen ve kontaminasyona sebep olabilecek kan gibi dokular temizlenmiştir. Spermatozoon aktivitesi başlamaması için testis dış yüzeyindeki sıvılar kâğıt havlu yardımıyla uzaklaştırılmıştır. Soğuk zincir peçeteye sarılan testisler buz kalıbı üzerine konularak testislerin soğuk zinciri korunmuştur. Ardından testislere diseksiyon makası ile aralıklı vertikal kesitler yapıp bir behere sağılmıştır. Bu beheler de yine buz kalıbı üzerine konulmuştur.

Sperma koruyucu olarak pH7- pH 7,5 - pH 8 - pH 8,5 – pH 9 – pH 9,5 oranlarında 6 Tris-HCl sulandırıcı hazırlanmıştır.

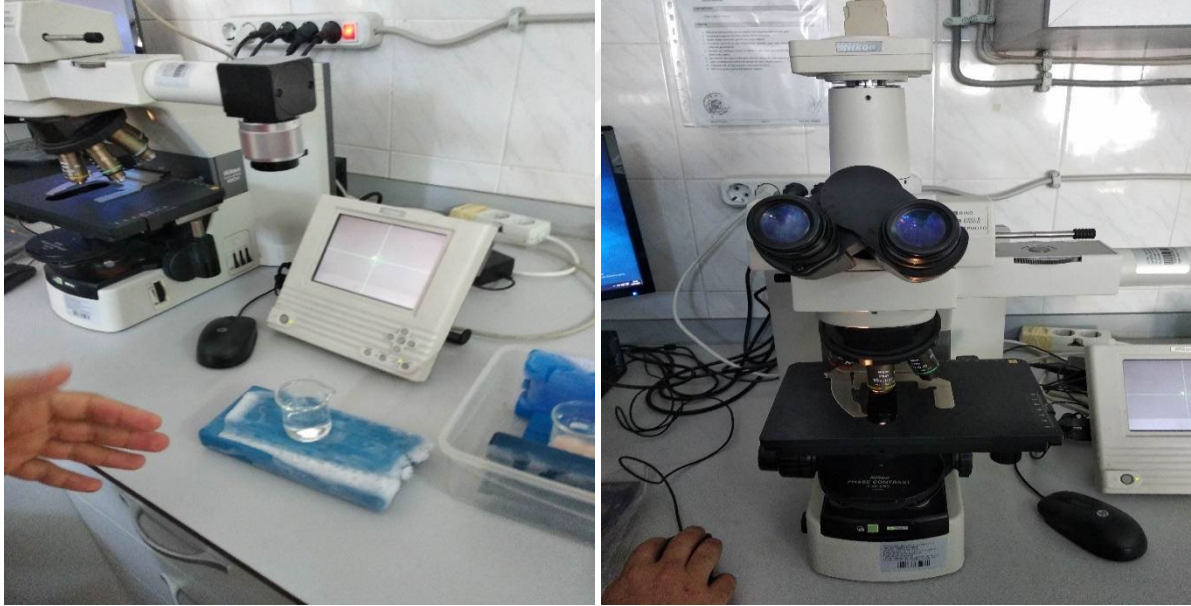
Spermalar sulandırıldıktan sonra dört günlük deney-gözlem süresince buzdolabında +4 derecede muhafaza edilmiştir. Önceden sterilize edilmiş 5 ml ağızları açık cam deney tüplerinde dik pozisyonda depolanmıştır.

Çalışmada sulandırıcı olarak Suni Seminal Plazma; 2 mM $CaCl_2$, 110 mM NaCl, 20 mM KCl, 2 mM $MgCl_2$, 10 mM $NaHCO_3$, kullanılmıştır.

Çalışmada aktivasyon solüsyonu olarak 17mM NaCL, 5mM Tris-HCl kullanılmıştır.

Aktivasyon solüsyonunun pH değeri 7,2'den 8,6'ya doğru yükseldikçe sperm hareketliliğinin, hızının ve motilite süresinin arttığı bildirilmiştir[79].

Eppendorf marka mikropipet yardımıyla 1:50 oranında sulandırılan spermatozoonların 24 saatlik periyotlarla motiliteleri gözlenmiştir. Motilite gözlemleri Nikon_eclipse80i mikroskobu ile yapılmıştır. pH ve süreye göre değişen motilite değerleri SPSS versiyon 25 programında anlamlandırılmıştır.



Şekil 3.7. Nikon_eclipse80i marka mikroskop



Şekil 3.8. Eppendorf marka mikropipet



Şekil 3.9. 5 ml cam deney tüpleri

4. BULGULAR ve TARTIŞMA

Döllenmede kullanılmak üzere seçilen spermanın kalitesinin en güvenilir göstergesi spermatozoanın motilitesidir. Gökkuşuğu Alabalığı (*oncorhynchus mykiss*) spermasının kısa süreli muhafazası ile ilgili diğer bir araştırmada aktivasyon sıvısı eklendikten sonraki ortalama spermatozoa motilitesi $97,5 \pm 4,52$ olarak belirlenmiştir. *O. mykiss* için tespit edilen ortalama spermatozoa motilitesi aynı tür için Bozkurt ve ark. (2005), Aral ve ark. (2007), Canyurt ve Akhan (2008), *S. trutta abanticus* için Bozkurt ve ark. (2006a), *S. trutta fario* için Bozkurt ve ark. (2006b), *S. trutta magrostigma* için Bozkurt ve ark. (2011) tarafından rapor edilen ortalama spermatozoa motilitesinden daha yüksek bulunmuştur. Spermatozoa seminal sıvı içinde hareket etmeden durmakta, ancak aktivasyon sıvısı (tatlı su) ile temasa geçtiğinde ivedilikle aktive olmakta ve 72 ile 184 saniye arasında değişen kısa bir süreliğine hareketlilik göstermektedirler. Bu belirtilen değerler aynı tür için diğer bazı araştırmacılar tarafından bildirilen motilite süresi ile uyumlu olmasına rağmen (Tekin vd.,2003a; Bozkurt vd.,2005; Büyükhatipoğlu ve Holtz, 1984; Babiak vd., 1999), Tuset ve ark. (2008) tarafından bildirilen değerden yüksektir. Spermatozoanın motilite değerleri mevsime (Benau ve Turner, 1980), seminal plazmanın biyokimyasal bileşimi ve osmolalitesine (Alavi vd.,2009) bağlı olarak farklılık gösterebilir. Balıklarda erkek bireylerin döllenmedeki başarı potansiyeli, spermatozoa motilite süresinin uzun olması ile doğru orantılıdır(Aas vd., 1991).

Tate ve Helfrich (1998), Morone chrysops türünde yaptıkları çalışmada, sıcaklık ve fotoperiyotun sperma yoğunluğuna, motilite süresine ve seminal sıvının pH'sına etki ettiğini, ancak bu etkilerin döllenme oranında bir faktör olmadığını bildirmişlerdir.

Monsour ve ark. (2005) yaptığı çalışmada seminal plasma pH 8.5 ± 0.21 olan deney grubunun 77.9 ± 5.2 motilite oranının seminal plasma pH 7.8 ± 0.18 olan deney grubunun 79.6 ± 6.1 motilite oranına göre aralarında anlamlı bir fark olmadığı görülmüştür.

GnRHa hormonunun *Clarias gariepinus* sperm özellikleri üzerine etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada intratestiküler sperm pH değerleri 8.2 ile 8.5 aralığında olan gruplar arasında pH değeri 8.3 olan grubun en yüksek sperm hareketliliği yüzdesine sahip olduğu görülmüştür(Amer vd., 2005).

Bu çalışmada kullanılan balıkların mevsimsel sıcaklık değişimlerinden etkilenmesi sonucu normal üreme sezonundaki sperm kalitesinin düşük olduğu düşünülmektedir. Şubat ayında sıcaklığın mevsim normallerine göre farklılık göstermesi nedeniyle erken gerçekleşen üreme faaliyeti sperm kalitesini düşürdüğü tahmin edilmektedir.

Kontrol grubundan elde edilen verilere göre 1. ve 2. Grubun 35 ile 36 saniyelik motilite sürelerinde motilite oranları %50 görülmektedir. 3. Grubun 40. Saniyeden sonra motilite oranının %50 üzerine çıkması ısının değişiminin etkisiyle olmaktadır (Tablo4.4.).

İlk gün üç gruptan da elde edilen verilere göre pH-7'de 20-25 saniye arasında en düşük motilite oranı %10'un altında olduğu ve pH-8,5'te 25-35 saniye arasında en yüksek motilite oranı 1. ve 2. grupta %60'ın üzerinde 3. grupta %55 civarında olduğu gözlemlenmiştir(Tablo4.5.).

İkinci gün üç gruptan da elde edilen verilere göre pH-7’de 15-20 saniye arasında en düşük motilite oranı %5’in altında olduğu ve pH-8,5’te 25-30 saniye arasında en yüksek motilite oranı 1. grupta %35 civarı 2. ve 3. grupta %35 civarında olduğu gözlemlenmiştir(Tablo4.6.).

Üçüncü gün üç gruptan da elde edilen verilere göre pH-7’de 10-15 saniye arasında en düşük motilite oranı %5’in altında olduğu ve pH-8,5’te 20-25 saniye arasında en yüksek motilite oranı 1. ve 2. grupta %15 civarında 3. grupta %20 civarında olduğu gözlemlenmiştir(Tablo4.7.).

Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi İstatistik Anabilim dalı desteğiyle elde edilen Tablo 4.1.’deki verilere göre 0,856 anlamlılık değeri ile motilitenin süre ile artış gösterdiği sonucuna varılmıştır.

Tablo 4.1. Motilite oranının motilite süresi ile korelasyonu

			Motilite_Yüzdesi	Motilite_Süresi
Spearman's rho	Motilite_Yüzdesi	Correlation Coefficient	1,000	,856**
		Sig. (2-tailed)	.	,000
		N	54	54
	Motilite_Süresi	Correlation Coefficient	,856**	1,000
		Sig. (2-tailed)	,000	.
		N	54	54

** . Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

Tablo 4.2. Farklı pH değerlerinin istatistiksel anlamda motilite üzerine etkileri**Multiple Comparisons**

Dependent Variable: Motilite_Yüzdesi

Tukey HSD

(I) pH	(J) pH	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
7,00	7,50	-8,88889	7,47141	,840	-31,0633	13,2855
	8,00	-20,44444	7,47141	,086	-42,6188	1,7299
	8,50	-31,55556*	7,47141	,001	-53,7299	-9,3812
	9,00	-29,33333*	7,47141	,004	-51,5077	-7,1590
	9,50	-8,44444	7,47141	,866	-30,6188	13,7299
7,50	7,00	8,88889	7,47141	,840	-13,2855	31,0633
	8,00	-11,55556	7,47141	,637	-33,7299	10,6188
	8,50	-22,66667*	7,47141	,042	-44,8410	-,4923
	9,00	-20,44444	7,47141	,086	-42,6188	1,7299
	9,50	,44444	7,47141	1,000	-21,7299	22,6188
8,00	7,00	20,44444	7,47141	,086	-1,7299	42,6188
	7,50	11,55556	7,47141	,637	-10,6188	33,7299
	8,50	-11,11111	7,47141	,674	-33,2855	11,0633
	9,00	-8,88889	7,47141	,840	-31,0633	13,2855
	9,50	12,00000	7,47141	,599	-10,1744	34,1744
8,50	7,00	31,55556*	7,47141	,001	9,3812	53,7299
	7,50	22,66667*	7,47141	,042	,4923	44,8410
	8,00	11,11111	7,47141	,674	-11,0633	33,2855
	9,00	2,22222	7,47141	1,000	-19,9521	24,3966
	9,50	23,11111*	7,47141	,037	,9367	45,2855
9,00	7,00	29,33333*	7,47141	,004	7,1590	51,5077
	7,50	20,44444	7,47141	,086	-1,7299	42,6188
	8,00	8,88889	7,47141	,840	-13,2855	31,0633
	8,50	-2,22222	7,47141	1,000	-24,3966	19,9521
	9,50	20,88889	7,47141	,075	-1,2855	43,0633
9,50	7,00	8,44444	7,47141	,866	-13,7299	30,6188
	7,50	-,44444	7,47141	1,000	-22,6188	21,7299
	8,00	-12,00000	7,47141	,599	-34,1744	10,1744
	8,50	-23,11111*	7,47141	,037	-45,2855	-,9367
	9,00	-20,88889	7,47141	,075	-43,0633	1,2855

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Tablo 4.3. Çalışmada bulunan değerler tablosu.

Kontrol	% Motilite	Mot Süre(sn)	% Motilite	Mot Süre(sn)	% Motilite	Mot Süre(sn)
0.gün	50	35	50	36	55	40

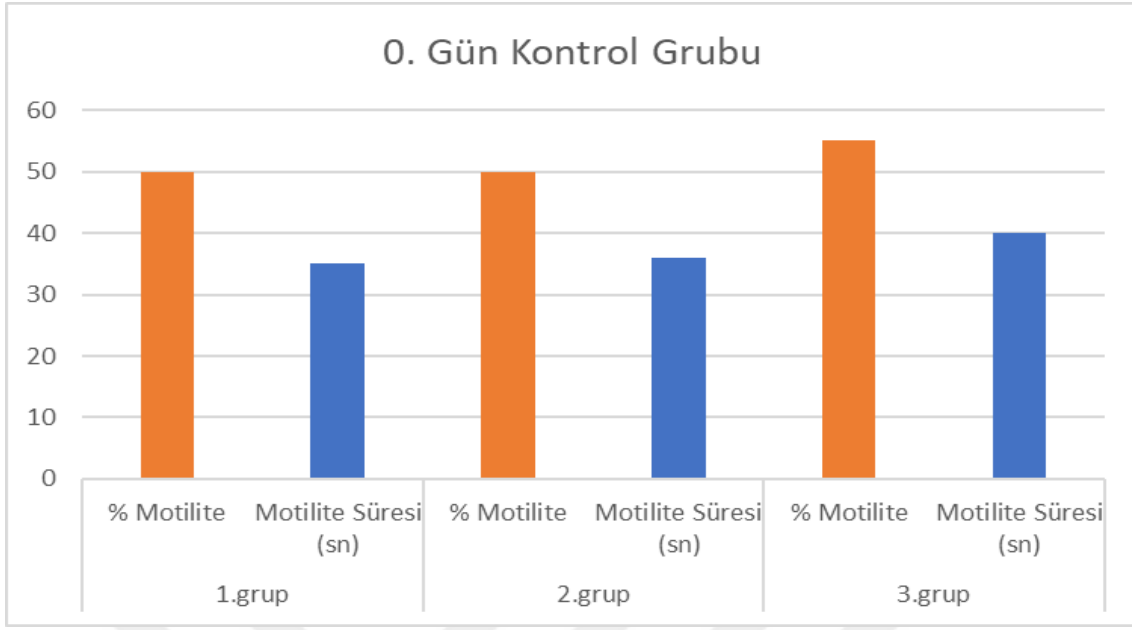
1.gün						
pH	% Motilite	Motilite Süre(sn)	% Motilite	Motilite Süre(sn)	% Motilite	Motilite Süre(sn)
7	5	24	10	22	10	25
7,5	25	28	30	28	30	25
8	55	33	50	32	60	29
8,5	65	29	65	35	55	33
9	60	34	50	31	60	30
9,5	25	27	20	32	20	30

2.gün						
pH	% Motilite	Motilite Süre(sn)	% Motilite	Motilite Süre(sn)	% Motilite	Motilite Süre(sn)
7	5	19	3	18	5	15
7,5	10	23	10	20	10	20
8	15	25	20	22	15	26
8,5	35	26	30	30	30	25
9	35	30	30	26	35	25
9,5	15	20	15	22	20	18

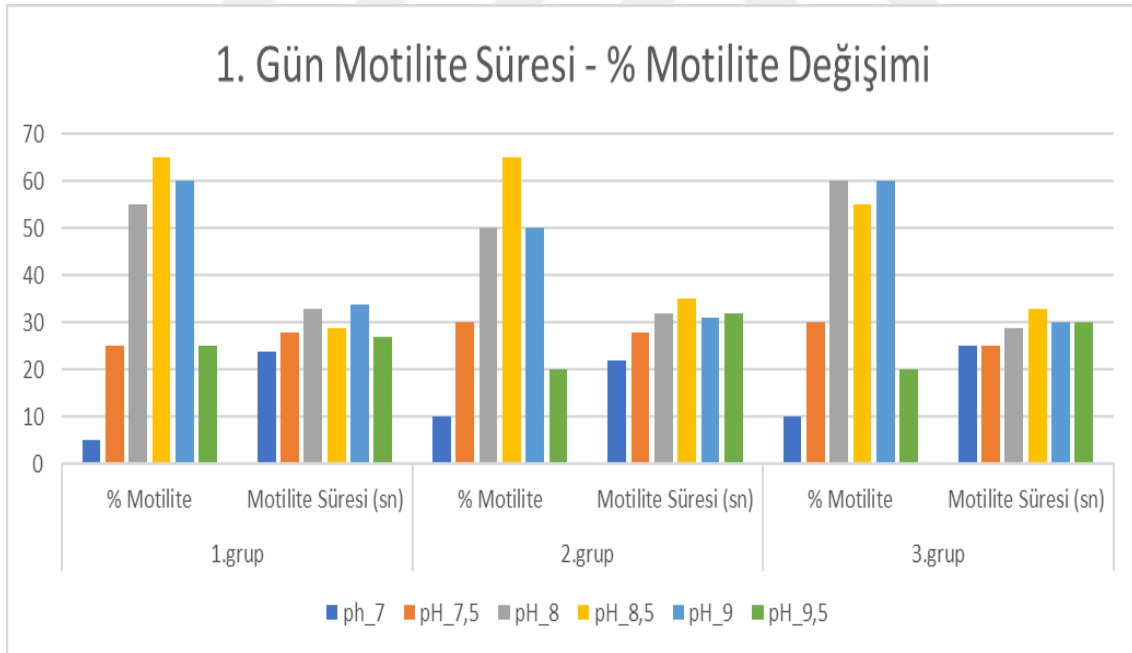
3.gün						
pH	% Motilite	Motilite Süre(sn)	% Motilite	Motilite Süre(sn)	% Motilite	Motilite Süre(sn)
7	2	15	3	14	3	12
7,5	3	15	4	18	4	15
8	5	15	5	19	5	21
8,5	15	23	15	25	20	22
9	10	22	15	25	15	29
9,5	3	20	1	17	3	22

Yapılan araştırmada Tablo 4.3. 'teki değerlere göre 1.gün, 2.gün ve 3.gün 7 pH 'da nonprogresive spermatozoonlar görülmüştür. Yine Tablo 4.2.'deki verilere göre farklı pH değerlerinin istatistiksel anlamda motilite üzerine etkileri araştırılıp; pH7'nin, pH8,5 ve pH9 ile arasında fark olduğu, pH7,5 ile pH8,5 arasında fark olduğu ve pH8,5 ile pH9,5 arasında fark olduğu sonucuna varılmıştır.

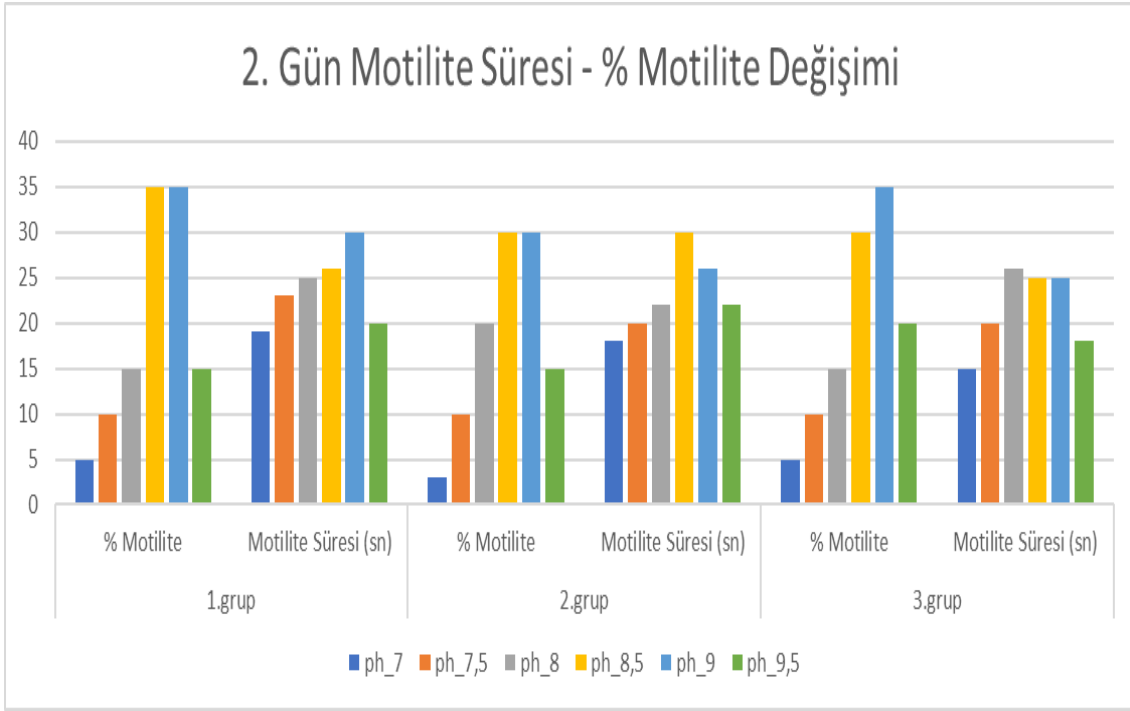
Tablo 4.4. Kontrol Grubu Motilite Süresi - % Motilite Değişimi



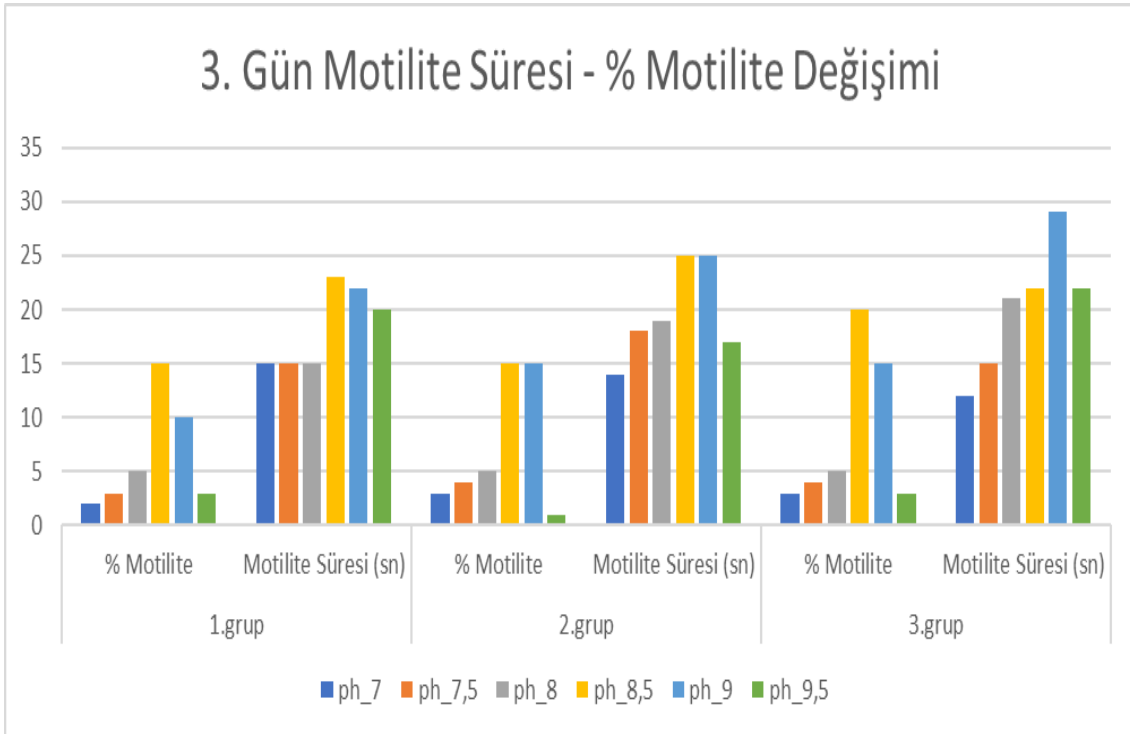
Tablo 4.5. 1. Gün Motilite Süresi - % Motilite Değişimi



Tablo 4.6. 2. Gün Motilite Süresi - % Motilite Değişimi



Tablo 4.7. 3. Gün Motilite Süresi - % Motilite Değişimi



5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

Bu çalışmanın amacı, spermanın kısa süreli muhafazasında farklı pH derecelerinde spermatozoon motilitelerinin korunup korunmayacağına tespit edilmesidir. Balıklardan elde edilen spermanın kaliteli olabilmesi için yetiştiricilik koşullarında birçok şartın başarılı bir biçimde birlikte uygulanması gerekmektedir.

Karabalıklardan elde edilen semen, farklı oranlarda sulandırılarak iyi kalitede ve kısmen olgunlaşması sağlanarak 4 gün inkübe edilmiştir. Bu çalışmada uygulanan suni seminal plazma (SSP) sulandırıcının 1:3 sulandırma oranı önceki çalışmalardan faydalanılarak kullanılmıştır [78]. Çalışmanın özellikle ilk günlerinde sulandırılan örneklerde testiküler spermde kontrole oranla daha yüksek motilite görülmesi süreç içerisinde aynı zamanda spermatozoa hücrelerinin olgunlaştığını da göstermiştir.

Adewumi ve ark. (2005) yaptıkları bir çalışmada, *Clarias gariepinus* (Burchell) üretim stokuna farklı şekilde ısıtılmış soya bazlı diyetlerle beslenmenin yumurta ve sperm kalitesi üzerindeki etkisini araştırmıştır. Araştırma, farklı diyetlerin kullanımının yumurta ve sperm kalitesi üzerinde önemli bir etkisi olduğunu göstermiştir. Diğer diyetlerle beslenen balıklara göre %25 oranında soya içeren D25 diyeti ile beslenen balıkların daha yüksek oosit çapı, milt yoğunluğu, milt hacmi, sperm hareketliliği ve yüksek yüzde yumurta döllenmesi ve çıkma oranına sahip olduğu gözlenmiştir. Balıkların beslenmesi, üreme başarısı ve sağlıklı büyüme için önemlidir. Bu nedenle bu diyete yakın değerlere sahip yemlerle beslenmesi üretimde başarı oranını artıracaktır.

Clarias gariepinus erkeklerinin üreme sağlığı, yaşa bağlı olarak değişmektedir. Okoye ve ark. (2017) yaptığı araştırmada, 6, 9 ve 12 aylık üç yaş grubundaki erkeklerin semen hacmi, sperm sayısı, spermatokrit, testis ve genital papilla allometrik değerleri ile testis histomorfolojileri incelenmiştir. Sonuç olarak, 12 aylık erkeklerin semen hacmi, spermatokrit ve genital papilla allometrik değerleri, 6 ve 9 aylık erkeklerden anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Bu nedenle, *Clarias gariepinus* erkeklerinin üreme sağlığı, yaşlarına bağlı olarak değişebilir. Bu nedenle başarı sağlanması için üretimde 12 aylık *Clarias gariepinus* erkeklerinin kullanılması önerilebilir.

Afrika kedibalığı spermatozoalarının glutatyon kullanılarak kriyoprezervasyonu ve bu işlemin spermatozoaların hareketliliği ve canlılığı üzerindeki etkileri hakkında yapılan bir çalışmada, doğrudan gözlem, spermin pH 7 olduğunu göstermiş ve sonuçlar, sperm canlılığının %81 ila %92 arasında ve sperm hareketliliğinin %28,5 ila %40,5 arasında değiştiğini göstermiştir. Araştırmanın sonucu, Afrika kedibalığı *Clarias gariepinus* spermatozoalarının glutatyon kullanılarak kriyoprezervasyonunun sperm motilitesi ve canlılığı üzerinde önemli bir etkisi olduğudur. Araştırma, glutatyon konsantrasyonunun artmasıyla sperm motilitesi ve canlılığının arttığını göstermiştir. En yüksek sperm motilitesi ve canlılığı, glutatyon konsantrasyonu 2.0 mg L⁻¹'de kaydedilmiştir. Bu sonuçlar, Afrika kedibalığı spermatozoalarının kriyoprezervasyonu için glutatyonun kullanımının etkili bir yöntem olduğunu göstermektedir (Mahfudhah vd., 2019).

Bu çalışma, ülkemizde yetiştiricilik potansiyeli çok yüksek olan yayın balığı üretiminin geliştirilmesi açısından çok önemlidir. Ayrıca alternatif kültür türü olarak, büyüme sürecinde olan kültür

balıkçılığı sektöründe, kapasite gelişimine direk etki, nihai olarak bölgesel ve ulusal ekonomiye kazanım sağlayacaktır. Çalışma sayesinde, elde edilen pratiğe yönelik kısa süreli muhafaza yöntemiyle, üretim yapacak tesislere ve akademik çalışanlara kolaylık sağlanacaktır. Karabalığın üreme biyolojisi üzerine, sperm ve yumurta kalitesi, dölleme çalışmaları gibi kısımları da içeren daha kapsamlı çalışmaların yapılması son derece gereklidir.

Organizasyon ve yetiştirme açısından, uygun metotlarının seçilmesi balık spermasının başarılı prezervasyonu için oldukça önemlidir. Son zamanlarda yapılan çalışmalar ışığında spermanın 0°C ile 9°C arasındaki sıcaklıklarda depolanmasını önerilmektedir. Bazı araştırmalar, elektrolit solüsyonların veya dişilerden elde edilen sölomik sıvının eklenmesi ile saklama süresinin uzatılması doğrultusunda bilgiler elde etmiştir (Billard, 1978; Mc Niven, 1993).

Kısa süreli saklama konusunda yapılan araştırmalarda en iyi sonuç +4°C de O₂ atmosferi altında elde edilmiştir (Döl verimi %80,2, kontrol grubunda %98,2). Aynı zamanda açık hava altında da iyi sonuçlar alınmıştır. Buna karşılık anaerobik şartlar iyi sonuç vermemiştir (Mc Niven, 1993; Büyükhatipoğlu ve Holtz, 1977; Saad ve Billard, 1986). Ayrıca, sperma farklı gazlar (N₂, O₂, CO₂ ve hava) altında tutularak motiliteleri değerlendirilmiş ve değişik sonuçlar elde edilmiştir. Nativ sperma aktive olma yeteneğini N₂ gazı altında 3-4 gün, açık havada veya O₂N₂ (1: 1) karışımında 8-10 gün ve saf oksijen altında 12-13 gün sürdürmüştür. Sonuç olarak, yüksek O₂ içeren gaz atmosferi depolama şartları için en uygun ortamdır. Buna karşılık balık spermasının farklı medyumlarda sulandırılarak kısa süreli saklanması başarısızlıkla sonuçlanmıştır (Billard, 1978; Büyükhatipoğlu ve Holtz, 1977; Saad ve Billard, 1986).

Clarias gariepinus üretiminde fotoperiyot uygulamaları ile uygun havuz şartlarında üretim yapılması için daha detaylı çalışmalar yapılması gerekmektedir.

Müller ve arkadaşlarının (2019) yaptığı karabalık üzerindeki sperma sulandırıcılarını pH 8,0 a göre ayarlamaları da motilite parametreleri açısından karabalık için pH 8.0 ın optimum motiliteyi sağladığı ve yapmış olduğumuz çalışmada bulduğumuz pH 8-8,5 ile uyumlu olduğu görülmüştür.

Marimuthu ve arkadaşlarının (2019) yaptığı çalışmada belirtilen bilgilere göre, çoğu tatlı su balık türü için ideal pH değeri 6,5-9,0 aralığındadır . Ancak, her balık türü için uygun pH aralığı farklılık gösterebilir ve bu nedenle, balık türüne ve yetiştirme koşullarına bağlı olarak farklı pH seviyeleri gerekebilir. Bizim çalışmamızdaki bulunan değer Marimuthu ve arkadaşlarının (2019) bulunduğu pH derecelerinin en yüksek ve en düşük değerleri aralığında bir değer olan pH 8,5 değeri olduğu için uyumlu olduğu görülmüştür.

Bu çalışmanın sonucu olarak pH 8,5 solüsyonunda motilitenin diğer pH solüsyonlarına oranla en yüksek seviyede olması nedeniyle kısa süreli sperm muhafazası yapılırken hazırlanan suni seminal plazma sıvısının pH derecesinin 8,5 olması gerekmektedir.

KAYNAKLAR

Aas, G.H., Refstie, T., Gjerde, B., 1991, Evaluation of milt quality of Atlantic salmon, *Aquaculture*, 95 (1-2), 125-132.

Adewumi, A.A., Olaleye, V.F., Adesulu, E.A. Egg and Sperm Quality of the African catfish, *Clarias gariepinus* (Burchell) Broodstock Fed Differently Heated Soybean-based Diets. *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences* 1(1): 17-22, 2005.

Akman, N., Aksoy, F., Şahin, O., Kaya, Ç. Y., Erdoğan, G., 2006, Cumhuriyetimizin 100. Yılında Türkiye'nin Hayvansal Üretimi. Türkiye Damızlık Sığır Yetiştiricileri Merkez Birliği Yayınları No:4, Ankara, ISBN:975-94093-3-X.

Alavi, S.M.H., Pšenička, M., Polícar, T., Rodina, M., Hamáčková, J., Pavel Kozák, P., Linhart, O. (2009). Sperm quality in male *Barbus barbus* L. fed different diets during the spawning season. *Fish Physiol Biochem*, 35: 683-693.

Alavi, S.M.H., ve Cosson, J., 2005, Sperm motility in fishes. I. Effects of temperature and pH: a review, *Cell Biology International*, 29 (2), 101-110.

Alpbaz, A., G., Hoşsucu, H., 1986. (ikinci baskı:1996) İçsu balıkları yetiştiriciliği (Yılan, Yayın, Turna, Sudak, Koregon, Tilapia) E.Ü. SÜYO Yayınları No:12, İzmir

Alpbaz, A.G., (1984). Su Ürünleri Yetiştiriciliği. 270, Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları No: 398, Atay, D., (1990). Balık Üretimi. 308, Anadolu Matbaası, Ankara.

Amer, M.A., El-Sherbiny, A.M., Al-Gamal, A.A., Osman, M.F., Semen Characteristics of the African Catfish *Clarias Gariepinus*: 1- Effects of GnRH Analogue. *Egypt, J. Aquat.Biol. & Fish.* Vol. 9, No. 4:469-487 (2005) ISSN1110-6131.

Aral, F., Şahinöz, E., Dogu, Z. (2007). A Study on the Milt Quality of *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1972) and *Carasobarbus luteus* (Heckel, 1843) in Atatürk Dam Lake, Southeastern Turkey. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 0,29166666666666741-44.

Atay, D., 1980, Alabalık üretim tekniği, Başbakanlık Basımevi, Ankara.

Aydın, İ., 2011, Kültür balıklarında sperm kalitesi: kalite parametrelerin ölçümü ve kaliteyi etkileyen faktörler, Yunus Araştırma Bülteni, 2011 (1).

Babiak, I., Fraser, L., Dobosz, S., Goryczko, K., Kuzminski, H., Strzezek, J. (1999). Computer-controlled freezing of rainbow trout *Onchorhynchus mykiss* (Walbaum) spermatozoa for routine programmes. *Aquacult. Res.*, 30: 707-710.

Balıkçılık ve Su Ürünleri Genel Müdürlüğü, Su ürünleri üretim miktarı, 2020-2021.

Benau, D., Turner, C. (1980). Initiation, prolongation and reactivation of the motility of salmonid spermatozoa. *Gamete Res.*, 3: 247- 257.

Bilgin, Ş., Ünlüsayın, M. ve Gülyavuz, H., 2001. Utilization of *Clarias gariepinus* (Burchell 1822) according to different processing methods and determination of chemical components (in Turkish), *Turk. J. Vet. Anim. Sci.*, 25:309- 312.

Billard, R. (1978) Changes in structure and fertilizing ability of marine freshwater fish spermatozoa diluted in media of various salinities. *Aquaculture*, 14 : 187 – 198

Billard, R. (1992) Reproduction in rainbow trout. *Aquaculture*, 100 : 263 - 298

Billard, R., Cosson, J., Perchec, G., Linhart, O., 1995, Biology of sperm and artificial reproduction in carp, *Aquaculture*, 129 (1), 95-112.

Billard, R., Gillet, C. 1981. Ageing of Eggs and Temperature Potentialization of Micropollutant Effects of the Aquaculture Medium on Trout Gametes. *Cahier du Laboratoire de Montereau*, 12: 35–42.

Bobe, J., Labbe, C., 2010, Egg and sperm quality in fish, *General and Comparative Endocrinology*, 165 (3), 535-548.

Bozkurt Y, Akçay E, Tekin N, Seçer S. 2005. Effect of Freezing Techniques, Extenders and Cryoprotectants on the Fertilization Rate of Frozen Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Sperm. *The Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgeh*, 57 (2), 125-130 (2005).

Bozkurt, Y., Seçer, S., Bekcan, S. (2006). Relationship Between Spermatozoa Motility, Egg Size, Fecundity and Fertilization Success in *Salmo trutta abanticus*. *Tarım Bilimleri Dergisi*, 12 (4): 345-348.

Bozkurt, Y., Seçer, S., Bukan, N., Akçay, E., Tekin, N. (2006). Relationship Between Body condition, Physiological and Biochemical parameters in Brown Trout (*Salmo trutta fario*) Sperm. Pakistan Journal of Biological Sciences, 9(5):940-944.

Bozkurt, Y., Öğretmen, F., Kökçü, Ö., Ercin, U. (2011). Relationships between seminal plasma composition and sperm quality parameters of the *Salmo trutta macrostigma* (Dumeril, 1858) semen: with emphasis on sperm motility. Czech J. Anim. Sci.,56(8): 355–364.

Bozkurt, Y., 2002. Balık spermasının muhafaza metodları. Doktora semineri (Basılmamış). Ankara Üniversitesi, Ankara, Türkiye.

Bozkurt, Y., 2004. Aynalı sazan (*Cyprinus carpio* L.1758) spermasının bazı spermatolojik özelliklerinin belirlenmesi ve farklı sulandırıcılar ile kısa süreli saklanması değerlendirilmesi. Doktora Tezi. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, Türkiye, 168 sayfa.

Bromage, N.R. ve Roberts, R.J., 1995, Broodstock management and egg and larval quality, Blackwell Science Ltd., Cambridge.

Brooks, S., Tyler, C.R., Sumpter, J.P., 1997, Egg quality in fish: what makes a good egg? Reviews in Fish Biology and Fisheries, 7 (4), 387-416.

Büyükhatipoğlu, Ş., Holtz, W. (1984). Sperm output in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) effect of age, timing and frequency of stripping and presence of females. Aquaculture, 37: 63-71.

Büyükhatipoğlu, S. and Holtz, W. (1977) Preservation of trout sperm in liquid or frozen state. Aquaculture, 14: 49 - 56

Cabrita, E., Robles, V., Herráez, P., 2008, Methods in reproductive aquaculture: marine and fresh water species, CRC Press. United States of America, ISBN: 978-0-8493- 8053-2.

Canyurt, M.A., Akhan, S. (2008). Effect of Ascorbic Acid Supplementation on Sperm Quality of Rainbow Trout (*Onchorynchus mykiss*). Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 8: 171-175.

Carrillo, M., Bromage, N., Zanuy, S., Serrano, R., Prat, F., 1989, Theeffect of modifications in photoperiod on spawning time, ovarian development and egg quality in the seabass (*Dicentrarchus labrax* L.), Aquaculture, 81 (3), 351-365.

Ciereszko A, Glogowski J, Dabrowski K. 2000. Biochemical characteristics of seminal plasma and spermatozoa of fresh water fishes. In: Cryopreservation in Aquatic Species. Tiersch, T.R. and Mazik, P.M. (Editors) World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana. p. 20-48.

Ciereszko, A. ve Dabrowski, K., 1993, Estimation of sperm concentration of rainbow trout, whitefish and yellow perch using a spectrophotometric technique, *Aquaculture*, 109 (3), 367-373.

Clay, D., 1979. Sexual maturity and stream of the African catfish (*Clarias gariepinus*) with an observation on the spawning behaviour of the Nile catfish (*Clarias lazera*). *Zoological Journal of the Linnean Society*: 65 (4): 351-365.

Copp GH, Britton JR, Cucherousset J, Garcı́a Berthou E, Kirk R, Peeler E, Stak_enas S (2009) Voracious invader or benign feline? A review of the environmental biology of European catfish *Silurus glanis* in its native and introduced range. *Fish Fish* 10:25-2282.

Çelikkale, M , Timur, M , , D , Ercan, E . (2002). Influence of Acclimation to the Cold Water on Growth Rate of Russian Sturge on Juveniles (*Acipenser gueldenstaedtii*, Brandt&Ratzenburg, 1833). *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 2 (2) Retrieved from <https://dergipark.org.tr/tr/pub/trjfas-ayrildi/issue/13293/160658>

Çelikkale, M. S., 1988. İç Su Balıkları ve Yetiştiriciliği. I. K.T.Ü. Sürmene Deniz Bilimleri ve Teknolojisi Yüksekokulu, Cilt: 1, Yayın no: 124, K.T.Ü. Basımevi, 419s., Trabzon.

Çelikkale, M. S., 1994. İç Su Balıkları Yetiştiriciliği. Cilt 1., K.T.Ü. Sürmene Deniz Bilimleri Fakültesi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Basımevi, Genel Yayın No: 124, 420 s., Trabzon. *Sci.*, 1(6): 335 – 331.

Demir, N., (2009), İhtiyoloji, Nobel Yayıncılık, Ankara.

Demirsoy, A., 1993. Yaşamın Temel Kuralları: Omurgalılar. Cilt III/ Kısım I, 2. Baskı, Hacettepe Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Meteksan yayınları, 684 s., Ankara.

Djatkiko, W. A., 18. 06. 2012. *Clarias gariepinus*. 10.11.2022 tarihinde Erişim: http://en.wikipedia.org/wiki/File:Clarias_garie_080516_9146_tdp.jpg.

Durmaz Bekmezci, H., 2010. Aşağı Seyhan Ovası Drenaj Sistemlerindeki Kirlilik Etmenlerinin *Clarias gariepinus*'da Toksik Etkileri. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı. Doktora Tezi. Adana.

Emre, Y., Kürüm, V., 1998. Havuz ve kafeslerde alabalık yetiştiriciliği teknikleri. Minpa Matbaacılık Tic. Ltd. 737 Şti. Ulus, Ankara, 232.

Ergene, S., Portakal, E., Karahan, A., 1999. Karyological Analysis and Body Proportion of Catfish (Clariidae, *Clarias lazera*, Valenciennes, 1840) in the Göksu Delta, Turkey. Mersin University, Science and Art Faculty, Biology Department Çiftlik, Mersin-TURKEY. Tr. J. of Zoology 23, 423–426.

FAO, 2016, The state of world fisheries and aquaculture 2016, contributing to food security and nutrition for all, Food and Agriculture Organization of The United Nations, Rome, ISBN: 978-92-5-109185-2.

Fotoperiyot ile yumurta üretimini ikiye katladı. 20 Şubat 2021. Erişim tarihi 13.11.2022. <https://haberton.com/fotoperiyot-ile-yumurta-uretimini-ikiye-katladi/>

Geldiay, R. ve Kocataş, A., 1988. Deniz biyolojisine giriş, Ege Üniversitesi Fen Fakültesi İzmir. 1988 s (1).

Geldiay, R., ve Balık, S.,1996. Türkiye Tatlı su Balıkları. Ege Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Yayınları No: 46, Ders Kitabı Dizini No: 16, 532 s.

Genç, M. A., Yılmaz, E., Genç, E., 2006. Yeme Eklenen Mannan- Oligosakkarit'in Karabalıkların (*Clarias gariepinus* (Burchell, 1822)) Gelişimine, Barsak ve Karaciğer Histolojisine Etkileri. Mustafa Kemal Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi. E.Ü. Su Ürünleri Dergisi, 23, 37- 41.

Glogowski, J., Kolman, R., Szczepkowski, M., Horváth, Á., Urbányi, B., Sieczyński, P., Ciereszko, A., 2002, Fertilization rate of Siberian sturgeon (*Acipenserbaeri*, Brandt) milt cryopreserved with methanol, *Aquaculture*, 211 (1), 367-373.

Hecht, T., Wilson, D., Sogeloos, P., De Soete, G., 1996. *Advances African Catfish Culture Technologies*.

Holt WT. 2000. Fundamental aspects of sperm cryobiology: the importance of species and individual differences. *Theriogenology*, 53, 47-58.

Inaba, K. (2008). Molecular mechanisms of the activation of flagellar motility in sperm. In: Alavi, S.M.H., Cosson, J.J., Coward, K., Rafiee, G. (Eds.), *Fish spermatology*, Alpha Science International Ltd., Oxford, pp. 267-279.

Inaba, K., Morisawa, S., Morisawa, M. (1998). Proteasomes regulate the motility of salmonid fish sperm through modulation of cAMP-dependent phosphorylation of an outer arm dynein light chain. *J. Cell Sci.*, 111: 1105-1115.

Jurek, L., 12. 08. 2012. *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822). 10.11.2022 tarihinde Erişim: <http://www.biolib.cz/en/taxonimage/id154579/?taxonid=15726>.

Karayücel İ. ve Karayücel S., 2016, Balıklarda üreme, Nobel akademik yayıncılık, Ankara, ISBN: 978-605-320-441-1.

Kayalı, H., Satiroglu, G., Tasyürekli, M. (1992). The effects of fluctuating seasonal and constant water temperatures on the photoperiodic advancement of reproduction in female rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture*, 205: 193-204.

Kime, D.E. ve Nash, J.P., 1999, Gamete viability as an indicator of reproductive endocrine disruption in fish, *Science of the Total Environment*, 233 (1), 123-129.

Kocabaş, M., 2009, Türkiye Doğal Alabalık (*Salmo trutta*) ekotiplerinin kültür şartlarında büyüme performansı ve morfolojik özelliklerinin karşılaştırılması, Doktora Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.

Kurokura, H. , Hirano, R. , Tomita, M. and Iwahashi, M. (1984) Cryopreservation of carp sperm. *Aquaculture*, 37 : 267 - 273

Lahnsteiner, F., Patzner, R.A. (2008). Sperm morphology and ultrastructure in fish. In: Alavi,S.M.H., Cosson, J.J., Coward, K., Rafiee, G. (Eds.), *Fish Spermatology*, Alpha Science International Ltd., Oxford, pp. 2-61.

Leibo SP, Brandley L. 1999. Comparative cryobiology of mammalian spermatozoa. 502-515. In: C Gagnon (Ed), *The Male Gamet*. Cache River Press, St Louis.

Linhart, O., Rodina, M., Cosson, J., 2000, Cryopreservation of sperm in common carp. *Cyprinus carpio*: sperm motility and hatching success of embryos., *Cryobiology*, 41 (3), 241-250.

Mahfudhah, R., Muchlisin, Z. A., Siti-Azizah, M. N. (2019). Initial evaluation of the motility and viability of African catfish *Clarias gariepinus* spermatozoa cryopreserved using glutathione. *Earth and Environmental Science* 364. doi:10.1088/1755-1315/364/1/012030.

Mansour, N., Ramoun, A., Lahnsteiner, F. (2005). Quality of testicular semen of the African catfish *Clarias gariepinus* (Burchell,1822) and its relationship with fertilization and hatching success.

Marimuthu, K., Palaniandy, H., Muchlisin, Z.A. (2019). Effect of different water pH on hatching and survival rates of African catfish *Clarias gariepinus* (Pisces:Claridae). Aceh Journal of Animal Science 4(2):80-88.

Mc Niven, M.A. , Galbnt, R.K. and Richardson, G.F. (1993) Fresh storage of trout semen using a non-aqueous medium. Aquaculture, 109 : 71 - 82

Morisawa, M. (1994). Cell signaling mechanisms for sperm motility. Zoolog. Sci., 11: 647-662.

Morisawa, M., Suzuki, K. (1980). Osmolality and potassium ion: their roles in initiation of sperm motility in teleosts. Science, 210: 1145-1147.

Morisawa, S., Ishida, K., Okuno, M., Morisawa, M. (1993). Roles of pH and cyclic adenosinemonophosphate in the acquisition of potential for sperm motility during migration from the sea to the river in chum salmon. Mol. Reprod. Dev., 34: 420-426.

Morisawa, S., Morisawa, M. (1988). Induction of potential for sperm motility by bicarbonate and pH in rainbow trout and chum salmon. J. Exp. Biol., 136:13-22.

Müller, T., Szabo, T., Kollar, T., Csorbai, B., Marinovic, Z., Horvath, L., Kucska, B., Bodnar, A., Bela, U., Horvath, A. (2019). Artificial insemination of African catfish (*Clarias gariepinus*) using cryopreserved sperm. Theriogenology 123,145-150.

Nakari, T., Soivio, A., Pesonen, S., 1987, Effects of an advanced photoperiod cycle on the gonadal development and spawning time of 2-year-old *Salmogairdneri* R. reared in earth ponds under extreme annual water temperatures, Aquaculture, 67 (3), 369-384.

Narin, G., 2003. Gölbaşı Gölü'nde (Hatay) bulunan (*Clarias gariepinus* (Burchell, 1822)) (Karabalık)'ın Büyüme ve Üreme Özellikleri. Mustafa Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Yüksek Lisans Tezi.

Oda, S., Igarashi, Y., Manaka, K., Koibuchi, N., Sakai Sawada, M., Sakai, K., Morisawa, M., Ohtake, H., Shimizu, N. (1998). Sperm-activating proteins obtained from the herring eggs are homologous to trypsin inhibitors and synthesized in follicle cells. Dev. Biol., 204: 55-63.

Okoye, C. N., Okeke, J. J., & Ogbuagu, E. L. (2017). Semen Quality Parameters of Cultured Broodstock African Catfish (*Clarias gariepinus*) of Different Ages. *Animal Research International*, 14(3), 2777-2784

Öğretmen, F., İnanan, B., Kaya, G.,2014. Ulusal Su Ürünleri Yetiştiriciliğinde Gamet Biyolojisi Çalıştayı. 3-5 Nisan 2014, Sapanca

Pabuccuoğlu S, (2013). Sperma Sulandırıcıları ve Spermanın Sulandırılması Spermanın Kısa ve Uzun Süreli Saklanması ve Kryobiyoloji, 2.

Pirronen, J. (1987) Factors affecting fertilization rate with cryopreserved sperm of Whitefish. *Aquaculture*, 66 : 347 - 357

Rall, Wf, Meyer, Tk. (1985). Ice-free cryopreservation of Mouse embryos. *Nature*, 313: 573-574.

Rurangwa, E., Kime, D.E., Ollevier, F., Nash, J.P., 2004, The measurement of sperm motility and factors affecting sperm quality in cultured fish, *Aquaculture*, 234 (1), 1-28.

Rurangwa, E., Kime, D.E., Ollevier, F., Nash, J.P., 2004, The measurement of sperm motility and factors affecting sperm quality in cultured fish, *Aquaculture*, 234 (1), 1-28.

Rurangwa, E., Kime, D.E., Ollevier, F., Nash, J.P., 2004, The measurement of sperm motility and factors affecting sperm quality in cultured fish, *Aquaculture*, 234 (1), 1-28.

Saad, A. , Billard, R. (1986) Spermatozoa production and volume of semen collected after hormonal stimulation in the carp. *Aquaculture*, 65 : 67 - 77

Saad, A., Billard, R., Theron, M.C. and Hollebeco, M.G. (1988) Short-term preservation of carp semen. *Aquaculture*, 71 : 133 - 150

Sarıhan, E., ve Cengizler, İ., 1997. Balık Anatomisi. Ç.Ü. Su Ürünleri Fakültesi, Ders Kitabı, Adana. 126s.

Şahin, T , Köse, Ö . (2015). Kaynak Alabalığı (*Salvelinus Fontinalis*)'Nın Spermatolojik Özellikleri Ve Spermanın Kısa Süreli Muhafazası . *Erzincan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi* , 8 (1) , 88-99 . DOI: 10.18185/eufbed.90287

Şimşek, E., Gözler, Z. A., & Samsun, O. (2022). Asi Nehri'ndeki Karabalık (*Clarias gariepinus*, Burchell, 1822)'ın balıkçılık yapısı, ekonomik değeri ve Antakya halkının karabalık tüketimi. Muş Alparslan Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi, 2(1), 18-29.

Tate, A.E. ve Helfrich, L.A., 1998, Off-season spawning of sunshine bass (*Morone chrysops* × *M. saxatilis*) exposed to 6-or 9-month phase-shifted photothermal cycles, *Aquaculture*, 167 (1), 67-83.

Tekelioğlu, N., 1980. Çukurova Bölgesindeki Tatlı Su Kaynaklarında Bulunan Karabalıkların Doğal Koşullarındaki Bazı Vücut Özellikleri ve Yumurta Verimliliği ile Ç.Ü. Ziraat Fakültesi Balık Üretim Tesislerinde Yetiştirme Olanakları Üzerine Bir Araştırma.Ç.Ü. Zootekni ABD Doktora Tezi, Adana.

Tekelioğlu, N., 1980. Çukurova Bölgesindeki Tatlı Su Kaynaklarında Bulunan Karabalıkların Doğal Koşullarındaki Bazı Vücut Özellikleri ve Yumurta Verimliliği ile Ç.Ü. Ziraat Fakültesi Balık Üretim Tesislerinde Yetiştirme Olanakları Üzerine Bir Araştırma.Ç.Ü. Zootekni ABD Doktora Tezi, Adana.

Tekelioğlu, N., 1996. İç Su Balıkları Yetiştiriciliği, Çukurova Üniversitesi, Su Ürünleri Yüksekokulu, 339-354.

Tekin N, Secer S, Akçay E, Bozkurt Y. 2003b. Cryopreservation of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) semen. *Israeli J. Aquaculture-Bamidgeh*. 55, 208-212.

Tekin N, Seçer S, Akçay E, Bozkurt Y, Kayam S. 2003a. The effect of age on spermatological properties in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* W. 1792). *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 27(1), 37-44.

Tekin, N., Seçer, S., Akçay, E., Bozkurt, Y., 2003, Cryopreservation Of Rainbow Trout (*Oncorhynchus Mykiss*) Semen, *The Israeli Journal of Aquaculture Bamidgeh*, 55(3), 208-212.

TEUGELS, G.,1986. A systematic revision of the African species of the genus *Clarias* (Pisces: Clariidae). *Annales Musee Royal de l'Afrique Centrale*, 247: 1- 199.

Tuset, V.M., Dietrich, G.J., Wojtczak, M., Słowińska, M., de Monserrat, J., Ciereszko, A. (2008). Relationships between morphology, motility and fertilization capacity in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) spermatozoa. *J. Appl. Ichthyol*, 24: 393–397.

TÜİK. (2020). Su ürünleri istatistikleri. 2020 içsu balıkları üretim miktarı. Türkiye İstatistik Kurumu. Retrieved on February 10, 2022, Kaynak <https://data.tuik.gov.tr/Bulten/Index?p=Su-Urunleri-2020-37252>

Wojtczak, M., Dietrich, G.J., Słowińska, M., Dobosz, S., Kuźmiński, H., Ciereszko, A., 2007, Ovarian fluid pH enhances motility parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) spermatozoa, *Aquaculture*, 270 (1), 259-264.

Yalçın, Ş., Solak, K., Akyurt, İ., 2001. Certain Reproductive Characteristic of the Catfish (*Clarias gariepinus* (Burchell, 1822)) Living in the River Asi, Turkey. *Turkish Journal of Zoology*, TUBITAK, 25:453-460.

