



**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



Doktora Tezi

**AVRUPA YAYIN BALIĞININ (*Silurus glanis*) GAMET YÖNETİMİ
İLE DÖLLEME BAŞARISININ ARAŞTIRILMASI**

Merve TINKIR UZER

Su Ürünleri Yetiştiriciliği ve Hastalıkları Anabilim Dalı

Su Ürünleri Yetiştiriciliği Programı

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Devrim MEMİŞ**

**II. DANIŞMAN
Prof. Dr. Otomar LİNHART**

Ocak, 2024

İSTANBUL

Bu alışma, 25.01.2024 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Su Ürünleri Yetiştiriciliğı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Su Ürünleri Yetiştiriciliğı Programında Doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Jürisi

Prof. Dr. Devrim MEMİş(Danışman)
İstanbul Üniversitesi
Su Bilimleri Fakóltesi

Prof. Dr. İsmihan KARAYÜCELI
Sinop Üniversitesi
Su Ürünleri Fakóltesi

Prof. Dr. Hülya EMİNÇE SAYGI
Ege Üniversitesi
Su Ürünleri Fakóltesi

Doç. Dr. Aygöl EKİCİ
İstanbul Üniversitesi
Su Bilimleri Fakóltesi

Doç. Dr. Güneş YAMANER
İstanbul Üniversitesi
Su Bilimleri Fakóltesi

İntihal Programı Beyanı

20.04.2016 tarihli Resmi Gazete’de yayımlanan Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin 9/2 ve 22/2 maddeleri gereğince; Bu Lisansüstü teze, İstanbul Üniversitesi’nin aboneli olduğu intihal yazılım programı kullanılarak Fen Bilimleri Enstitüsü’nün belirlemiş olduğu ölçütlere uygun rapor alınmıştır.

Proje Destekleri

Bu tez, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yürütücü Sekreterliğinin 37544 numaralı projesi ile desteklenmiştir.

Bu tez, 097/2019/Z, 037/2020/Z numaralı Güney Bohemia Üniversitesi Araştırma Destek Birimi Biyoçeşitlilik projesi ile desteklenmiştir.

Tezden Üretilmiş Yayınların Künye Bilgileri

Tinkir, M., Yılayaz, A., & Memiş, D. (2023). Two different methods of sperm collection in European catfish (*Silurus glanis* Linnaeus, 1758). *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 40(2), 126-131. <https://doi.org/10.12714/egejfas.40.2.06>.

Tinkir, M., Memiş, D., Cheng, Y., Xin, M., Rodina, M., Gela, D., Tučková, V. & Linhart, O. (2021). Level of *in vitro* storage of the European catfish (*Silurus glanis* L.) eggs at different temperatures. *Fish Physiology and Biochemistry*, 47, 163-171. <https://doi.org/10.1007/s10695-020-00902-9>.

Linhart, O., Cheng, Y., Rodina, M., Gela, D., Tučková, V., Shelton, W. L., Tinkir, M., Memiş, D. & Xin, M. (2020). AQUA_2020_1080: Sperm management of European catfish (*Silurus glanis* L.) for effective reproduction and genetic conservation. *Aquaculture*, 529, 735620. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735620>.

ÖNSÖZ

Doktora eğitimim boyunca akademik anlamda deneyim ve bilgi birikimiyle bana öncü olan; tezimin her aşamasında bilgi, tecrübe ve önerilerini esirgmeden içtenlikle paylaşan değerli hocam Prof. Dr. Devrim MEMİŞ'e;

Tez çalışmamda bilgi ve desteklerini esirgemeyen yoğun çalışma temposu içerisinde bana her zaman vakit ayıran; yaşama bakışına gıpta ettiğim değerli hocam Prof. Dr. Otomar LİNHART'a;

Akademisyenlik hayatım boyunca her zaman ufkumu genişleten ve daima beni destekleyen Tez İzleme Komitemde yer alan değerli hocam Prof. Dr. İsmihan KARAYÜCEL'e;

Tezimin geliştirilmesinde bilimsel katkıları ile yön gösteren Tez İzleme Komitemde yer alan değerli hocam Doç. Dr. Aygöl EKİCİ'ye;

Doktora tezimin birinci dönem deneme çalışmalarımda yardımlarını esirgemeyen Dr. Miaomiao XİN ve Dr. Yu CHENG'e;

Tezimin ikinci dönem demesinde araştırma imkânı sağlayan Akdeniz Su Ürünleri Araştırma Üretim ve Eğitim Enstitüsü Müdürlüğü Yetiştiricilik ekibine ve Skretting Türkiye Şirketine;

Bugünlere gelmemde en büyük özveriye ve öneme sahip; sevgi, saygı ve desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen sevgili annem, babam ve kardeşlerime; hayatıma çok farklı anlam, sevgi ve şefkat katan yeğenlerime; biriktirdiğimiz anılara tez yazma sürecini de eklediğimiz, desteği ve sabrı için sevgili eşim Dr. Uğur UZER'e;

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Ocak 2024

Merve TINKIR UZER

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖNSÖZ	iv
İÇİNDEKİLER.....	v
TABLO LİSTESİ.....	x
SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ.....	xi
ÖZET	xiii
SUMMARY	xv
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL KISIMLAR.....	7
2.1. AVRUPA YAYIN BALIĞININ GENEL ÖZELLİKLERİ	7
2.2. AVRUPA YAYIN BALIĞININ ÜREME BİYOLOJİSİ	10
2.3. BALIKLARDA ÜREME VE ÜREMENİN UYARILMASI	12
2.4. SU ÜRÜNLERİ YETİŞTİRİCİLİĞİNDE GAMET KALİTESİ.....	15
2.5. AVRUPA YAYIN BALIĞINDA KONTROLLÜ ÜRETİM	18
2.6. SU ÜRÜNLERİ YETİŞTİRİCİLİĞİNDE LARVAL BESLENMENİN ÖNEMİ.....	27
3. MALZEME VE YÖNTEM.....	29
3.1. MALZEME	29
3.1.1. Çalışma Yeri.....	29
3.1.2. Balık Temini, Nakli ve Bakımı	29
3.1.3. Denemede Kullanılan Hormon.....	31
3.1.4. Denemede Kullanılan Cihazlar.....	31
3.1.5. Denemede Kullanılan Kimyasal Malzemeler.....	31
3.2. YÖNTEM.....	31
3.2.1. Hormon Uygulama İşlemi	31
3.2.2. Gamet Alımı	32
3.2.3. Sperm Kalitesinin İncelenmesi.....	33
3.2.4. Deneme Gruplarının Oluşturulması	34
3.2.5. İstatistiksel Analiz	39
3.3. MALZEME	40
3.3.1. Çalışma Yeri.....	40
3.3.2. Balık Temini, Nakli ve Bakımı	40

3.3.3. Denemede Kullanılan Hormon.....	41
3.3.4. Denemede Kullanılan Cihazlar.....	41
3.3.5. Denemede Kullanılan Kimyasal Malzemeler.....	41
3.3.6. Denemede Kullanılan Yem	42
3.4. YÖNTEM.....	42
3.4.1. Hormon Uygulama İşlemi	42
3.4.2. Gamet Alımı	42
3.4.3. Deneme Gruplarının Oluşturulması	44
3.4.4. Döllenme Oranı ve Büyüme Performansının Belirlenmesi.....	48
3.4.5. İstatistiksel Analiz	49
4. BULGULAR.....	51
4.1. ÇEK CUMHURİYETİ'NDE AVRUPA YAYIN BALIKLARINDA HORMONAL UYARIM İLE GAMET ALIMİ.....	51
4.1.1. İki Farklı Sperm Yoğunluğunun Zamana Bağlı (0. saat ve 24 saat) Dölleme Başarısının Karşılaştırılması	53
4.1.2. İki Farklı Sperm Yoğunluğunun Zamana Bağlı (0. saat ve 168 saat) Dölleme Başarısının Karşılaştırılması	56
4.1.3. İki Farklı Sıcaklıkta Tutulan Yumurtaların Farklı Saatlerde Dölleme Başarısının Karşılaştırılması	58
4.1.4. Alkalaz Enzimi Kullanılarak Dölleme Başarısının Karşılaştırılması	63
4.1.5. Farklı Enzim Oranının Dölleme Başarısının Karşılaştırılması.....	65
4.2. TÜRKİYE'DE AVRUPA YAYIN BALIKLARINDAN FARKLI METOTLA GAMET ALIMİ, LARVALARIN BÜYÜME PERFORMASI VE YAŞAM ORANI	66
4.2.1. Farklı İki Yöntemle Sperm Alımında Dölleme Başarısının Karşılaştırılması.....	67
4.2.2. Avrupa Yayın Balığı Larvalarının Farklı Besleme Sıklığında Büyüme ve Yaşama Oranlarının Karşılaştırılması.....	68
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	70
KAYNAKLAR.....	89
ÖZGEÇMİŞ	117

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 1.1: 2017-2021 yılları arasında dünya su ürünleri yetiştiricilik ve avcılık miktarları.	2
Şekil 1.2: 2018-2022 yılları arasında ülkemiz su ürünleri yetiştiricilik ve avcılık miktarları.	4
Şekil 2.1: Avrupa yayın balığının kırmızı bölgelerde doğal dağılımı, turuncu bölgelerde sonradan dağılımı gösterilmiştir.	7
Şekil 2.2: Avrupa yayın balığı (Özgün).	8
Şekil 2.3: Balıklarda hipotalamus-hipofiz-gonad hattının şematik görünümü.	13
Şekil 2.4: Gamet kalitesini etkileyen faktörler.	16
Şekil 2.5: Avrupa yayın balığı cinsiyet ayrımı.	20
Şekil 2.6: Avrupa yayın balığı yumurtalarının inkübasyonunda kullanılan zuger şişesi (Özgün).	26
Şekil 3.1: Çek Cumhuriyeti'nde anaç balıkların bulunduğu toprak havuz (Özgün).	29
Şekil 3.2: Dişi ve erkek Avrupa yayın balıkları (Özgün).	30
Şekil 3.3: Avrupa yayın balıklarının stoklandığı tanklar (Özgün).	30
Şekil 3.4: Avrupa yayın balığına hormon uygulaması (Özgün).	32
Şekil 3.5: Avrupa yayın balığına anestezi uygulaması (Özgün).	32
Şekil 3.6: Avrupa yayın balığı dişi ve erkek sağım işlemi (Özgün).	33
Şekil 3.7: Deneme gruplarında yumurta sayımı ve kontrolü (Özgün).	38
Şekil 3.8: Avrupa yayın balığı, A: döllenen yumurta, B: döllenen yumurta (Özgün).	38
Şekil 3.9: Deforme Avrupa yayın balığı larvası (Özgün).	39
Şekil 3.10: Avrupa yayın balığı anaçlarının bulunduğu beton havuz (Özgün).	40
Şekil 3.11: Avrupa yayın balıklarını stoklandığı havuz (Özgün).	41
Şekil 3.12: Cerrahi yöntem ile testis çıkarılmasıyla sperm elde edilmesi (Özgün).	43
Şekil 3.13: Sağım yoluyla sperm elde edilmesi (Özgün).	43
Şekil 3.14: Besin keseli Avrupa yayın balığı larvası (Özgün).	45

Şekil 3.15: Besin kesesini tüketmiş Avrupa yayın balığı larvası (Özgün).....	46
Şekil 3.16: Avrupa yayın balığı larva beslenme rejimi (Özgün).	46
Şekil 3.17: Yayın balığı larvalarının besleme sıklığı denemesinde kapalı devre sistem (Özgün).....	47
Şekil 3.18: Avrupa yayın balığı larvalarının boy ve ağırlık ölçümleri (Özgün).	49
Şekil 4.1: Avrupa yayın balığı spermatozoa VCL ($\mu\text{m/s}$) değerleri(%).	52
Şekil 4.2: Avrupa yayın balığı spermatozoa VSL ($\mu\text{m/s}$) değerleri(%).	52
Şekil 4.3: Avrupa yayın balığı spermatozoa motilitesi (%).	53
Şekil 4.4: 0. ve 24. saatlerde farklı sperm yoğunluklarına (50,000 ve 500,000 adet/ml) göre dölleme oranı (%).	54
Şekil 4.5: 0. ve 24. saatlerde farklı sperm yoğunluklarına (50,000 ve 500,000 adet/ml) göre deforme larva oranı (%).	55
Şekil 4.6: 0. ve 24. saatlerde farklı sperm yoğunluklarına (50,000 ve 500,000 adet/ml) göre larva çıkış oranı(%).	55
Şekil 4.7: 0. saat ve 7 gün saklanan farklı sperm yoğunluklarına (500,000 ve 5,000,000 adet/ml) göre dölleme oranı(%).	57
Şekil 4.8: 0. saat ve 7gün saklanan farklı sperm yoğunluklarına (500,000 ve 5,000,000 adet/ml) göre deforme larva oranı(%).	57
Şekil 4.9: 0. saat ve 7 gün saklanan farklı sperm yoğunluklarına (500,000 ve 5,000,000 adet/ml) göre larva çıkış oranı(%).	58
Şekil 4.10: Farklı iki sıcaklıkta (22 ve 17°C) 1'inci, 3'üncü, 5'inci ve 7'inci saatlerde saklanan yumurtaların dölleme oranı (%).	60
Şekil 4.11: Farklı iki sıcaklıkta (22 ve 17°C) 1'inci, 3'üncü, 5'inci ve 7'inci saatlerde saklanan yumurtaların deforme larva oranı (%).	60
Şekil 4.12: Farklı iki sıcaklıkta (22 ve 17°C) 1'inci, 3'üncü, 5'inci ve 7'inci saatlerde saklanan yumurtaların larva çıkış oranı (%).	61
Şekil 4.13: Farklı iki sıcaklıkta (22 ve 17°C) 1'inci, 3'üncü, 5'inci ve 7'inci saatlerde saklanan yumurtaların dölleme oranı (%).	61
Şekil 4.14: Farklı iki sıcaklıkta (22 ve 17°C) 1'inci, 3'üncü, 5'incive 7'inci saatlerde saklanan deforme larva oranı (%).	62
Şekil 4.15: Farklı iki sıcaklıkta (22 ve 17°C) 1'inci, 3'üncü, 5'incive 7'inci saatlerde saklanan yumurtaların larva çıkış oranı (%).	62

Şekil 4.16: Farklı iki zamanda alınan spermi (0 sa. ve 24 sa.) ile döllemede farklı alkalaz enzim oran kullanımının dölleme oranı (%).	63
Şekil 4.17: Farklı iki zamanda alınan spermi (0 sa. ve 24 sa.) ile döllemede farklı alkalaz enzim oran kullanımının deforme larva oranı (%).	64
Şekil 4.18: Farklı iki zamanda alınan spermi (0 sa. ve 24 sa.) ile döllemede farklı alkalaz enzim oran kullanımının larva çıkış oranı (%).	64
Şekil 4.19: Farklı oranlarda alkalaz enzim kullanımında dölleme oranı (%).	65
Şekil 4.20: Farklı oranlarda alkalaz enzim kullanımında deforme larva oranı (%).	66
Şekil 4.21: Farklı oranlarda alkalaz enzim kullanımında larva çıkış oranı (%).	66
Şekil 4.22: Farklı sperm alma yöntemine göre (SS ve CS) dölleme oranı (%), yumurtadan çıkış oranı (%), deforme larva oranı (%) ve toplam larva oranı (%).	68

TABLO LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 1.1: 2018-2022 yılları önemli türlerinin avcılık miktarları (ton/yıl).	4
Tablo 3.1: Deneme I gruplarında kullanılan sperm hacmi (μ l) ve yoğunluğu (adet/ml).	35
Tablo 3.2: Deneme II gruplarında kullanılan sperm hacmi (μ l) ve yoğunluğu.	36
Tablo 4.1: Farklı Spermatozoa yoğunluğu ve zamana bağlı (0. saat ve 24 saat) dölleme oranı (%),deforme larva oranı (%) ve larva çıkış oranına (%) ait değerler.	53
Tablo 4.2: Spermatozoa yoğunluğu ve zamana bağlı (0. saat ve 168 saat) dölleme oranı (%),deforme larva oranı (%) ve larva çıkış oranına (%) ait değerler (Ort $\pm$ SD).	56
Tablo 4.3: İki farklı sıcaklıkta zamana bağlı (1'inci, 3'üncü, 5'inci ve 7'inci saatte) saklanan yumurtaların dölleme oranı (%) deforme larva oranı (%) ve larva çıkış oranına (%) ait değerler (Ort $\pm$ SD).	59
Tablo 4.4: Alkalaz enzim kullanımının dölleme başarısı (%), deforme larva oranı (%) ve larva çıkış oranına (%) ait değerler (0. saat ve 24 saat) (Ort $\pm$ SD).	63
Tablo 4.5: Farklı alkalaz enzim oran kullanımının dölleme oranı (%), deforme larva oranı (%) ve larva çıkış oranına (%) ait değerler (Ort $\pm$ SD).	65
Tablo 4.6: Sperm alma yöntemine göre (SS ve CS) dölleme başarısı (%), larva çıkış oranı, deforme larva oranı (%) ve toplam larva çıkış oranına (%) ait değerler (Ort $\pm$ SD).	67
Tablo 4.7: Besleme çalışması boyunca takip edilen fizikokimyasal parametre değerleri (Ort $\pm$ SD).	68
Tablo 4.8: Farklı yemleme sıklığı gruplarının büyüme (başlangıç ve final ağırlığı), CAA: canlı ağırlık artışı, SBO: spesifik büyüme oranı ve yaşam oranına ait (Ort $\pm$ SD) değerler.	68

SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ

Simgeler	Açıklama
----------	----------

%	: Yüzde
‰	: Binde
<	: Küçüktür
>	: Büyüktür
μ	: Mikron
°	: Derece
±	: Artı eksi
♂	: Erkek
♀	: Dişi

Kısaltmalar	Açıklama
-------------	----------

C	: Santigrat
CAA	: Canlı ağırlık artışı
cm	: Santimetre
CS	: Cerrahi sağım
SS	: Doğal sağım
IS	: İmmobilizasyon solüsyonu
ml	: Mililitre
VCL	: Eğrisel hız
VSL	: Doğrusal hız
μm	: Mikrometre
μl	: Mikrolitre
sn	: Saniye
diğ.	: Diğerleri
rpm	: Dakikada tur sayısı
dk	: Dakika
kg	: Kilogram
g	: Gram
mg	: Miligram
mm	: Milimetre

m	: Metre
l	: Litre
GSI	: Gonadosomatik indeks
GnRH	: Gonadotropin salgılatıcı hormon
GTH	: Hipofiz gonadotropin
FSH	: Folikül uyarıcı hormon
LH	: Luteinizan hormon
SD	: Standart sapma
ort	: Ortalama
mM	: Minimolar
NaCl	: Sodyumklorür
KCl	: Potasyumklorür
HCl	: Hidroklorür
SBO	: Spesifik büyüme oranı
HKO	: Hayatta kalma oranı
İa	: İlk ağırlık
Sa	: Son ağırlık
z	: Zaman

ÖZET

DOKTORA TEZİ

AVRUPA YAYIN BALIĞININ (*Silurus glanis*) GAMET YÖNETİMİ İLE DÖLLEME BAŞARISININ ARAŞTIRILMASI

Merve TINKIR UZER

İstanbul Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Su Ürünleri Yetiştiriciliği ve Hastalıkları Anabilim Dalı

Danışman : Prof. Dr. Devrim MEMİŞ

II. Danışman : Prof. Dr. Otomar LİNHART

Bu tez çalışmasında, Avrupa yayın balığı (*Silurus glanis*) yetiştiriciliğinin geliştirilmesi için yumurta ve sperm kalitesi üzerine çalışılmıştır. Bu tezin birinci dönem çalışmasında; sağımlı 0. saat, 24 saat ve 168 saat boyunca immobilizasyon solüsyonunda (IS) buz üzerinde farklı yoğunluklarda (50,000 - 500,000 - 5,000,000 adet/ml) saklanan spermin motilitesindeki değişiklikler incelenmiştir. Spermin IS içerisinde saklanması 24. ve 168. saatlerde motilitenin %90'nın üzerinde korunduğu ve spermin eğrisel hız (VCL) ile doğrusal hızının (VSL) sırasıyla 163 ve 90 $\mu\text{m/s}$ seviyelerine kadar ulaştığı belirlenmiştir. 7 gün (168 saat) boyunca saklanan sperm ile döllenmiş yumurtaların döllenme ve larva çıkış oranları azalmış, ancak bu azalma spermatozoa sayısının artırılmasıyla %80 dölleme ve larva çıkış başarıları ile sonuçlanmıştır.

Farklı dişi bireylerden elde edilen yumurtalar, aerobik koşullar altında 17°C ve 22°C'de inkübatörlerinde ayrı ayrı saklanarak (sağımdan 1'inci, 3'üncü 5'inci ve 7'inci saat sonra) döllenme, yumurtadan çıkış ve anomali oranları incelenmiştir. Tüm dişiler için, *in vitro* olarak yumurtaların 5 saate kadar 17°C'de saklanması en iyi sonuç elde edilmiştir. Yumurta saklama süresi ve ortam sıcaklığı açısından gruplar arasında istatistiki açıdan anlamlı bir fark tespit edilmiştir ($p<0,05$). Yumurtaların saklanma süresinin larvalardaki deforme larva oranıyla ilişkili olmadığı tespit edilmiştir.

Birinci dönemin son çalışmasında ise farklı alkalaz enzim oranlarının (3 ml, 3,5 ml, 4 ml, 5 ml) yumurta inkübasyonu üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Yumurtaların döllenme sonrasında, farklı oranlarda alkalaz enziminin kullanımının döllenme ve larva çıkış oranlarında anlamlı farklılık göstermemiştir ($p>0,05$).

Bu tezin ikinci dönem çalışmasında; Avrupa yayın balığından sperm elde etmek için testislere cerrahi (CS) ve doğal sağım (SS) yöntemi uygulamaları karşılaştırılmıştır. Döllenme oranı bakımından en yüksek oran %81,87 olarak SS grubunda tespit edilmiştir. Böylece, anaç balıkların daha sonraki üreme faaliyetlerini devam ettirebilmeleri için sperm alımında cerrahi yöntem kullanılmasının gerekli olmadığı sonucuna varılmıştır.

Avrupa yayın balığı post-larvalarının keselerinin tükenmesinden sonraki ilk yem alımında 15 gün süreyle farklı yemleme sıklığı (günde 4, 6, 8 ve 12 kez *ad-libitum*) uygulanarak büyüme performansı (canlı ağırlık artışı, spesifik büyüme oranı) ve hayatta kalma oranı belirlenmiştir. Sonuç olarak, post larvaların büyüme performansı ve hayatta kalma oranı açısından günde 8 kez beslemenin en iyi sonuç verdiği tespit edilmiştir.

Ocak 2024, 135. sayfa.

Anahtar kelimeler: Avrupa yayın balığı, gamet yönetimi, spermatozoa, yumurta, dölleme, yemleme sıklığı

SUMMARY

Ph.D. THESIS

AN INVESTIGATION ON THE IMPROVEMENT OF FERTILIZATION SUCCESS OF EUROPEAN CATFISH (*Silurus glanis*) WITH GAMETE MANAGEMENT

Merve TINKIR UZER

İstanbul University

Institute of Graduate Studies in Sciences

Department of Aquaculture and Fish Diseases

Supervisor : Prof. Dr. Devrim MEMİŞ

Co-Supervisor : Prof. Dr. Otomar LİNHART

The study aims to improve the European catfish aquaculture through the acquisition of high-quality eggs and sperm. In the first period of the thesis, changes in the motility of sperm (50,000- 500,000- 5,000,000 pcs/ml) stored on ice in 20 ml tubes of immobilization solution (IS) for 0, 24, and 168 hours after the stripping process was investigated. Between the first and 7th days of storage of spermatozoa in IS, motility was maintained above 90% and the curvilinear velocity (VCL) and straight-line velocity (VSL) of spermatozoa reached up to 163 and 90 $\mu\text{m s}^{-1}$, respectively. Although fertilization and larval hatching rates decreased when using sperm stored for 7 days (168 hours), this decline was generally compensated by increasing spermatozoa concentrations, resulting in an overall success rate of 80%.

Eggs obtained from different female individuals were stored separately (1 st, 3 st, 5 st, and 7 st hours after stripping) in incubators at 17°C and 22°C under aerobic conditions, and fertilization, hatching, and malformation rates were examined. Sperm motility rates for fertilization were determined to be in the range of 84-90%. The best result, egg storage time *in vitro* to fertilization at 17°C for up to 5 hours. Statistical significance was found among groups concerning the duration of egg storage and temperature ($p<0,05$). It was determined that the egg storage duration was not correlated with the rate of deformed larvae.

In the final study of the first phase, the impact of different alcalase enzyme ratios (3 ml, 3,5 ml, 4 ml, 5 ml) on egg incubation was investigated. After the fertilization of the eggs after the stripping process, the use of alcalase enzyme at different rates did not show a significant difference in fertilization and hatching rates ($p>0.05$).

The second period of the thesis compared surgical (CS) and stripping process (SS) procedures for obtaining sperm from European catfish testes. Regarding fertilization rate, the highest rate was determined as 81,87% in the SS group. Thus, it was concluded that it was not necessary to use surgical methods for sperm retrieval for the broodstock fish to continue their reproductive activities.

The growth performance (body weight gain and specific growth rate) and survival rate were assessed by employing various feeding frequencies (per day 4, 6, 8, and 12 times) on an *ad-libitum* basis during 15 days, starting from the initial feed intake of post-larvae obtained following the stripping process. As a result, it was determined that feeding times of 8 a day obtained the best results in terms of growth performance and survival rate of postlarvae.

January 2024, 135. pages.

Keywords: European catfish, gamete management, spermatozoa, eggs, fertilization, feeding frequency

1. GİRİŞ

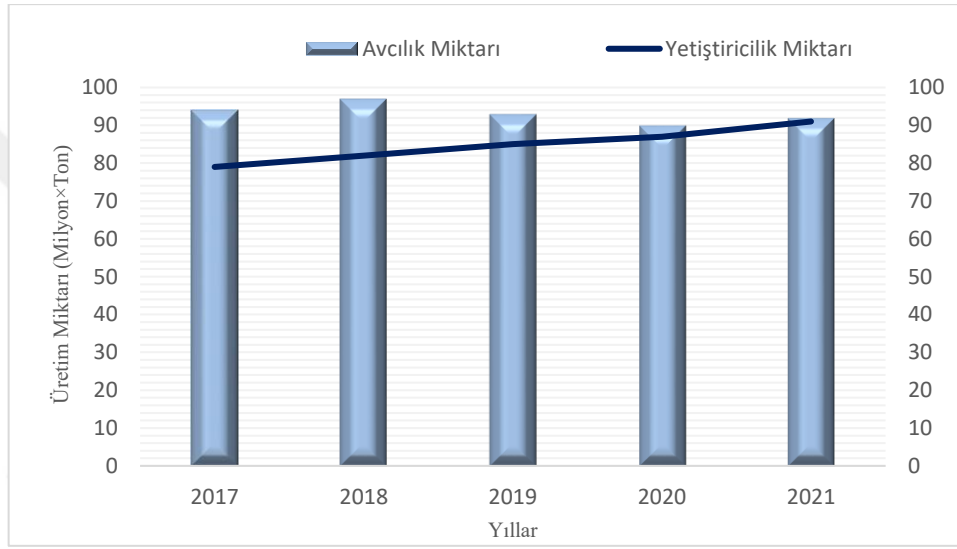
Dünya nüfusunun hızlı bir şekilde artmasıyla insanların kaliteli hayvansal protein ihtiyacını karşılamak için su ürünleri yetiştiriciliği üretim miktarı her yıl artmaktadır. Geçmişte insanlar ihtiyaç duydukları protein kaynaklarının bazılarını doğadan avcılık yoluyla elde edilen sucul canlılardan sağlarken, günümüzde gelişen teknoloji ile su ürünleri yetiştiriciliğinden elde edilen ürünler ön plana çıkmıştır. Su ürünleri yetiştiriciliği sektörü Türkiye’de ve dünyada gıda sektöründe yıllar içerisinde hızla gelişen sektörlerden biri haline gelmiştir. Su ürünleri yetiştiriciliği; “entansif, yarı entansif veya ekstansif şartlarda yapılan, tesislerde gerçekleştirilen su ürünleri üretimi ve/veya büyütme faaliyeti” olarak tanımlanmaktadır (Resmî Gazete, 2004). Su ürünleri yetiştiriciliği köklü bir geçmişe sahiptir. Eski Mısır’da, M.Ö. 2500 yıllarına ait mezar resimlerinde, insanların tilapyalı (*Tilapia* sp.) havuzdan çıkarırken gösteren figürler görülmüştür. Ayrıca M.S. 1127’de derlenen bazı tarihi kaynaklarda, Hindistan’da balık yetiştiriciliği metotlarına dair bilgilere rastlanmıştır. Antik Mısır’a kadar uzanan su ürünleri yetiştiriciliğinde, Çinlilerin geçmişte ilkel yöntemlerle M.Ö. 2000 yıllarından itibaren geleneksel yöntemlerle sazan balığı (*Cyprinus* sp.) yetiştiriciliği yaptığı bilinmektedir. Batı ve Orta Avrupa’da orta çağ döneminde ise manastır ve kilise bahçelerindeki havuzlarda sazan yetiştirildiği yapılmıştır. Su ürünleri yetiştiriciliğinin gelişimi ve yayılması, 2. Dünya Savaşı sonrasında hız kazanmıştır (FAO, 1987; Yayan, 2015; Horvath ve diğ., 2023).

Dünya genelinde en hızlı büyüyen gıda sektörünün yıllık ortalama %8,8 ile su ürünleri sektörünün olduğu bildirilmiştir (Subasinghe ve diğ., 2009). Dünya su ürünleri üreticileri içerisinde ilk sırayı Çin alırken, sıralamada Asya ülkeleri ilk onda yer almakta ve bu ülkelerin dünyadaki su ürünleri üretiminin %90’ını gerçekleştirdiği bildirilmiştir. 1970’li yıllarda dünya su ürünleri üretiminin %59’unu geliştirmekte olan ülkelerin sağladığı, 2002 yılında %90’a ulaştığı ve bu oranın 2030 yılında 202 milyon tona ulaşacağı rapor edilmiştir (FAO, 2022).

Dünya genelinde son yirmi yıldaki FAO verileri değerlendirildiğinde; aşırı avcılıktan dolayı doğal balık stoklarında ciddi problemler görülmektedir. Dünya su ürünleri üretimi 2021 yılında 182,7 milyon tona (91,9 milyon ton avcılık ve 90,8 milyon tonu yetiştiricilik) ulaşmıştır. Dünyada yetiştiricilik ve avcılık yolu ile elde edilen su ürünleri üretiminin homojen bir şekilde

dağılmadığı, özellikle Asya Kıtasında yer alan ülkelerin ilk sıralarda yer aldığı görülmektedir. Bu ülkeler arasında Çin'in toplam üretimin %35'ini oluşturarak açık ara önde olduğu bilinmektedir. Çin'i Hindistan, Endonezya, Vietnam ve Peru izlemektedir (FAO, 2023).

2021 yılında dünya avcılık yoluyla su ürünleri üretiminin 91,9 milyon tona ulaştığı ve su ürünleri üretiminin yaklaşık %50,3'ünün avcılık yoluyla elde edildiği bildirilmiştir (Şekil 1.1) (FAO, 2022).



Şekil 1.1: 2017-2021 yılları arasında dünya su ürünleri yetiştiricilik ve avcılık miktarları.

Aşırı avcılık baskısı altındaki doğal stokların azalmasıyla, hızla artan dünya nüfusunun hayvansal protein ihtiyacının karşılanabilmesi açısından kültür balıkçılığının önemi oldukça fazladır. Dünyada su ürünleri üretiminin 2021 yılında %49,7'si yetiştiricilikten elde edilmiştir. Son iki yılda avcılık verilerine baktığımızda düşüş görülürken, yetiştiricilik üretim verilerinin yükselen bir ivme ile arttığı görülmüştür. Dünya su ürünleri toplam yetiştiricilik miktarları incelendiğinde 2017 yılında yetiştiricilik ile elde edilen su ürünleri miktarı 79,6 milyon ton olarak kayıtlara geçerken 2021 yılında bu rakam 90,8 milyon ton olmuştur. 2017-2021 yılları içerisinde yetiştiricilik verileri incelendiğinde dünyadaki su ürünleri yetiştiriciliğinin büyük bir bölümü iç sularda yapılan yetiştiricilikten elde edildiği bildirilmiştir (FAO, 2022).

Dünya genelinde 2017 ile 2021 yılları arasında gerçekleşen toplam su ürünleri avcılık oranlarında ciddi bir artış söz konusu değildir. Bu durum doğal popülasyonlarda avlanabilir

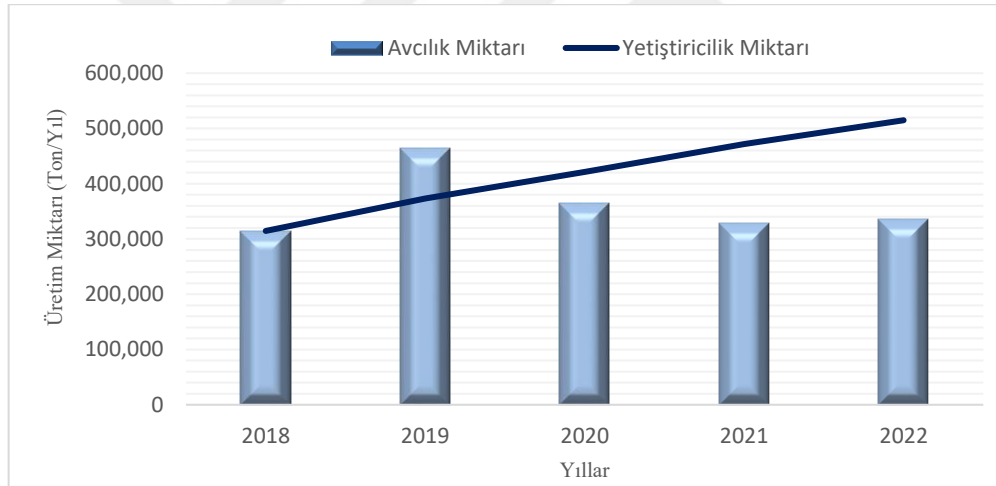
miktarın üst sınırına gelindiği ve su ürünleri stoklarının ciddi baskı altında olduğunu göstermektedir. Son yirmi yıl boyunca dünya genelinde avcılık yolu ile elde edilen su ürünleri üretimi hemen hemen aynı miktarlarda olmasına karşın, dünyadaki su ürünleri yetiştiriciliği üretim rakamları hızla artmaya devam etmektedir (FAO, 2023).

Türkiye su ürünleri sektörü 1984 yılından itibaren her yıl yaklaşık %11'lik bir büyümeyle gıda sektörleri arasında dünya geneli ile paralel olarak en hızlı büyüyen sektör olmuştur. Su ürünleri sektörü insanların hayvansal protein ihtiyacını karşılamasındaki katkısı ve yüksek ihracat gücüne sahip olması ile yeni istihdam alanları oluşturması gibi özelliklerinden dolayı oldukça önemlidir (Arda, 2014). Balık popülasyonu üzerindeki aşırı av baskısı ve küresel iklim değişikliği nedeniyle su ürünleri yetiştiriciliğinin önemi daha da artmıştır (Aydın ve Sayılı, 2009).

Ülkemizde sürdürülebilir su ürünleri yetiştiriciliği açısından üretimi yapılan türlere yenileri eklenmeye başlanmıştır. Baraj gölü ve göletler; içme suyu, sulama suyu ve enerji üretiminin yanı sıra, su ürünleri yetiştiriciliğinin gelişmesiyle birlikte 1990'lı yıllardan itibaren balık yetiştiriciliğinde de kullanılmaya başlanmıştır. Bu sulak alanlarda genel olarak ağ kafesler içerisinde alabalık yetiştiriciliği yapılmaktadır. Entansif yetiştiricilik denizlerde, göletlerde ve baraj göllerinde ağ kafeslerde yapılırken, karada ise beton havuz ve fiberglas tanklarda yapılmaktadır. Göllerde ve toprak havuzlarda yarı entansif yetiştiricilik yapılırken son yıllarda gelişen teknoloji ve artan ekonomik refah ile kapalı devre sistemlerde yetiştiricilik yapılmaktadır (Korkmaz ve diğ., 2008; Yayan, 2015).

Son yıllarda ülkemizde sucul kaynaklardan avcılık yoluyla elde edilen balık stokları azalmasına rağmen, yetiştiricilik yoluyla elde edilen türlerin üretim miktarı önemli ölçüde artmaktadır. Mevcut stokların yoğun av baskısıyla karşı karşıya kaldığı ve yetiştiricilik ile elde edilen su ürünleri üretimi yıldan yıla artarak devam etmektedir (Koca ve diğ., 2011). Su ürünleri üretimi son yıllarda minimum alandan maksimum verim esası ile ilerlemektedir. Doğal ortamlardaki av baskısından ötürü avcılık rakamlarında meydana gelen durgunluğa rağmen su ürünleri yetiştiriciliği rakamlarında sürekli bir artış eğilimi olduğu rapor edilmiştir (Çakmak ve diğ., 2011). Kısacası, ülkemizde su ürünleri avcılık miktarı yıllar içerisinde düzensiz seyrederken, yetiştiricilik miktarının artan bir ivmeyle devam ettiği görülmektedir (Şekil 1.2).

Türkiye su ürünleri üretimi verilerine göre en büyük artış son beş yılda elde edilmiştir (TÜİK, 2023). Türkiye su ürünleri üretimi 2022 yılında toplam 849,808 ton ile bir önceki yıla göre yaklaşık %6,24 oranında artmıştır. Bu üretimin 514,805 tonu yetiştiricilik, 335,003 tonu avcılık yoluyla gerçekleşmiştir. 2018-2022 yılları arasındaki ülkemiz toplam deniz ve iç sularında gerçekleşen su ürünleri yetiştiricilik verileri baktığımızda, 2018 yılında bu miktar 314,537 ton iken, 2022 yılında 514,805 ton olarak gerçekleşmiştir. Ülkemizde 2022 yılı su ürünleri yetiştiricilik miktarının %71,63'ü deniz ürünleri iken, %28,37'si ise iç su ürünlerinden elde edilmiştir. Tarım ve Orman Bakanlığı tarafından, 2020 yılında Doğu Karadeniz Bölgesi'ndeki balıkçılık sezonu döneminin bir bölümünde hamsi avcılığının durdurulmasına bağlı olarak avcılıkla yapılan üretim bir önceki yıla göre %21 düşerek 364,400 ton olmuştur. Su ürünleri yetiştiricilik üretimi ise aynı yıl bir önceki yıla göre %13 oranında artarak 421,411 ton olarak gerçekleşmiştir (Şekil 1.2) (TÜİK, 2023).



Şekil 1.2: 2018-2022 yılları arasında ülkemiz su ürünleri yetiştiricilik ve avcılık miktarları.

Son beş yıl içerisinde Türkiye toplam su ürünleri üretiminin, iç sularda avcılıktan elde edilen miktarı toplam su ürünleri avcılık miktarının %4,13'ünü oluşturmaktadır. Avcılık yoluyla iç sulardan avlanan türler bazında baktığımızda 2022 yılında en büyük oran %30 ile inci kefalidir (*Chalcalburnus tarichi*) (TÜİK, 2023). Ülkemizde avcılık yolu ile elde edilen Avrupa yayın balığı (*Silurus glanis*) miktarı 2012 yılında 816 ton olarak kaydedilmiştir. Bu miktar 2022 yılında 152 tona kadar düşmüştür (TÜİK, 2023). Avrupa yayın balığının yıllara göre avcılık miktarındaki düşüş, doğal stoklardaki av baskısının önemli bir göstergesidir (Tablo 1.1).

Tablo 1.1: 2018-2022 yılları önemli türlerinin avcılık miktarları (ton/yıl).

Yıl	Alabalık	İnci Kefali	Sazan	Turna	Kefal	Avrupa Yayın Balığı
2018	282	9945	2906	181	1088	362
2019	301	9970	3058	190	1102	370
2020	279	9734	2893	183	1149	343
2021	201	9925	3213	144	-	253
2022	210	9991	3359	99	-	152

Su ürünleri sektörünün geleceği, üretimin artırılarak pazar payının genişletilmesine bağlı olduğu kadar yetiştiriciliği yapılan türlerin çeşitliliğine de bağlıdır. Su ürünleri yetiştiriciliğinde yeni balık türlerinin sektöre kazandırılması sürdürülebilirlik açısından oldukça önemlidir. Avrupa yayın balığı yetiştiriciliği içsu balıkları arasında potansiyel yeni bir tür olarak görülmektedir (Saygı ve Güleç, 2019). Avrupa yayın balığı, yüksek yoğunluklarda başarıyla yetiştiriciliği yapılan, hızlı büyümesi ve lezzetli eti nedeniyle ekonomik açıdan oldukça değerli bir tatlı su balığı türüdür.

Avrupa yayın balığı ile ilgili yetiştiricilik çalışmaları 2000 yılından önce uygulanmaya başlanmış olmasına rağmen, günümüzde sadece Orta Avrupa ve Fransa’da yapılmaktadır. Asya ve Avrupa’da, yapay üreme tekniklerinin geliştirilmesi konusunda çalışmalar yapılmakta ancak bu balığın üretiminde bazı sorunlar halen devam etmektedir (Fijan, 1975; Horvath ve Tamas, 1976; Krasznai ve diğ., 1980; Krasznai ve diğ., 1986; Kouril ve diğ., 1995).

Avrupa yayın balığının su ürünleri yetiştiriciliğinde uzun yıllardan bu yana sürdürülen çalışmalar göstermiştir ki, tank veya toprak havuz ortamında kontrollü üretim ile larva elde edilebilmekte ancak hormon uyarımı olmadan doğal yolla Avrupa yayın balığı erkek anaçlarından sperm, dişi anaçlarından da yumurta alınamamaktadır (Fijan, 1975; Linhart ve diğ., 2004). Bu nedenle, Avrupa yayın balığı yetiştiriciliğinde, gametlerin eşeysel olgunluğa ulaşmasını gerçekleştirmek için anaç balıklara hormon uygulaması yapılmaktadır (Horvath ve Tamas, 1976; Linhart ve Billard, 1995). Bazı araştırmacılar tarafından yumurta ve sperm alımının optimizasyonunu sağlamak için oogenez ve spermatogenez üzerine, yumurtlamanın gerçekleştirilmesinde, hormon uygulaması, erkek balıklardan sperm alımı, sperm kalitesinin belirlenmesi, sperm alımında çoklu hipofiz uygulaması, gamet için immobilizasyon ve aktivasyon solüsyonlarının kullanılması, yumurta yapışkanlığının giderilmesi ve yumurta yapışkanlığının giderilmesinde kullanılan enzim çözeltisinin konsantrasyonunun belirlenmesi konuları üzerine bir çok bilimsel çalışmanın Avrupa yayın balığının entansif üretiminde olumlu

katkıları olmuştur (Kouril ve diğ., 1992; Linhart ve Billard, 1995; Saad ve Billard, 1995; Linhart ve diğ., 1995; Legendre ve diğ., 1996; Linhart ve diğ., 1997; Linhart ve diğ., 2001; Kouril ve diğ., 2021).

Ülkemizde Avrupa yayın balığı üzerine yapılan araştırmaların çoğu bu türün biyolojisi, biyo-ekolojisi, yaş-boy ve yaş-ağırlık ilişkileri, beslenmesi ve büyüme özellikleri üzerine yapılırken, gamet alımında yaşanan zorluklardan dolayı üretimi ile ilgili çalışmalar çok sınırlı kalmıştır (Akyurt, 1988; Saylar, 1993; Alp ve diğ., 2004; Bora ve Gül, 2004; Yılmaz ve diğ., 2007; Uysal ve diğ., 2009; Saygı ve Güleç, 2019). Bu nedenle Avrupa yayın balığı üretiminde gamet alımında yaşanan sorunların giderilmesi ve yaygın bir yetiştiricilik yapılabilmesi için anaç ve kuluçkahane yönetimine önem verilmesi, yüksek kaliteli gamet elde etmek için uygun bir üretim prosedürünün geliştirilmesi gerekmektedir.

Bu tez çalışmasında ülkemiz iç su ürünleri yetiştiriciliğinde alternatif bir tür olarak görülen Avrupa yayın balığının yetiştiriciliğinde, gamet ve larva üretiminde karşılaşılan problemlerin giderilmesi amacıyla, döllememiş yumurta ve spermin saklanması en uygun süre ve sıcaklığın belirlenmesi, farklı dölleme yöntemleri kullanılarak yüksek kalitede larva elde edilmesi ve larvaların ilk besleme sürecinde farklı yemleme sıklığı uygulanarak larvaların yumurtadan çıktıktan sonra en yüksek yaşam oranı ile birlikte en iyi büyümenin ortaya konulması amaçlanmıştır. Bu nedenle bu tez çalışmasında aşağıda belirtilen iki farklı dönemde yedi farklı deneme yapılmıştır.

Birinci dönemde tam kontrollü koşullar altında Avrupa yayın balığında dölleme işleminde farklı sperm yoğunluklarının kullanımı; farklı zamanlarda alınan sperm, farklı sıcaklıklarda saklanan yumurtaların yapışkanlığının giderilmesi gibi dölleme başarısını belirlemeye yönelik beş ayrı deneme gerçekleştirilmiştir.

İkinci dönemde ise tam kontrollü koşullarda Avrupa yayın balığında iki farklı sperm alım yöntemi ile dölleme başarısı ve larvalarının ilk beslenmesinde optimum yemleme sıklığının belirlenmesi için larvaların büyüme ve yaşama oranları belirlenmeye çalışılmıştır.

2. GENEL KISIMLAR

2.1. AVRUPA YAYIN BALIĞININ GENEL ÖZELLİKLERİ

Avrupa yayın balığı (*Silurus glanis* Linneaus, 1758), Siluridae familyasına ait Avrupa, Asya ve Afrika kıtalarında doğal olarak bulunan kemikli balıklar sınıfında değerlendirilmektedir (Maitland ve Campbell, 1992; Barus ve Oliva, 1995a; Stone, 2007; Freyhof ve Kottelat, 2008; Copp ve diğ., 2009). Avrupa yayın balığı Avrupa'dan Hazar Denizi, Karadeniz ve Aral Gölü bölgelerine Tuna, Dinyeper ve Volga nehirleri bağlantısı ile göç edip, orijinal dağılım bölgesinin dışına çıkarak farklı bir yayılım göstermektedir (Barus ve Oliva 1995b; Copp ve diğ., 2009) (Şekil 2.1). *Silurus* cinsine ait Türkiye'de iki tür bulunmaktadır. Bu türlerden biri Trakya, Batı, Orta ve Kuzey Anadolu'da yaygın bulunan Avrupa yayın balığı (*S. glanis*) ve diğeri ise sadece Dicle ve Fırat havzalarında bulunan endemik bir tür olan Mezopotamya yayın balığı (*Silurus triostegus* Heckel, 1843)'dır (Alp ve diğ., 2011; Ünlü ve diğ., 2012).



Şekil 2.1: Avrupa yayın balığının kırmızı bölgelerde doğal dağılımı, turuncu bölgelerde sonradan dağılımı gösterilmiştir.

Avrupa yayın balıklarının yaşam alanları akıntının az olduğu büyük nehirler, göller ve düşük tuzluluğa sahip kıyı bölgelerdir (Wolter ve Vilcinskis 1996; Wolter ve Freyhof 2004). Demersal bir tür olan yayın balıkları kışın nehir ve göllerin zemininde bulunan yarıkların içinde veya otla kaplı zeminlerde kış uykusuna yatarlar (Lelek ve diğ., 1964; Lelek, 1987). Avrupa yayın balığı zaman zaman Karadeniz ve Baltık Denizi'nde bulunan acı su bölgesine giriş yapmaktadır (Froese ve Pauly, 2012). Gece avcısı olarak bilinen yayın balıklarının hareketleri beslenme için gece artmaktadır (Carol ve diğ., 2007a). Birçok ülkede geniş bir dağılım gösteren

Avrupa yayın balıkları su kalitesi ve sıcaklığa toleransı oldukça yüksektir (Hilge, 1985). Optimum su sıcaklık değerin 25-27°C’de olduğu tespit edilmiştir (Copp ve diğ., 2009). Avrupa yayın balıklarının kanlarında %30-35 oranında hemoglobin bulunması ve bu sayede az miktarda çözünmüş oksijeni (3-3,5 mg/l) tolere edebilmesi nedeniyle oksijen gereksinimi yüksek olan türler arasında yer almamaktadır (Lelek, 1987; Carol ve Clutton-Brock, 2010).

Avrupa yayın balıkları morfolojik olarak diğer balıklardan farklılık gösterir. Vücudu pulsuz olup yumuşak ve kaygan bir deri ile kaplı uzun yassılaştırmış formdadır (Şekil 2.2). Vücut yapısı uzun, baş kısmı üstten basık ve yassı iken ağız çok büyük ve çenesinde iyi gelişmiş dişler mevcuttur. Yayın balıklarının en önemli morfolojik özelliklerinden biri de bıyıklarının olmasıdır. İki çifti alt çenede kısa bıyık ve bir çifti üst çenede anten şeklinde bıyık bulunmaktadır. Gözleri vücuduna göre oldukça küçüktür. Dorsal yüzgeç oldukça kısa iken anal yüzgeç ise uzun ventralin hemen gerisinden başlayarak kaudal yüzgece kadar uzanır. Kaudal yüzgeci yuvarlak ve küçüktür (Barus ve Oliva, 1995b; Hanel ve Lusk, 2005; Dubsky ve diğ., 2003). Vücut rengi siyahımsı gri veya zeytuni yeşil iken dorsal rengi daha koyudur. Abdomen bölgesi ise kirli beyazdır (Kottelat ve Freyhof, 2007). Avrupa yayın balıkları en büyük balıklar arasında yer alır ve 3 m’ye kadar büyüebilmekte ve 300 kg’ın üzerinde ağırlığa sahip olabilmektedir (Hanel ve Lusk, 2005).



Şekil 2.2: Avrupa yayın balığı (Özgün).

Avrupa yayın balıklarında seksüel dimorfizm belirgin değildir (Barus ve Oliva 1995b). Bu yüzden en önemli ayırt edici özellik ürogenital papillanın şeklidir. Erkek bireyin papillası daha küçük, ince ve pigmentli bir yapıya sahipken, dişi bireyin papillası daha büyük ve dışbükeydir (Dubsky ve diğ., 2003; Proteau ve diğ., 2008). Avrupa yayın balıklarında erkekler eşeyssel olgunluğa dişilere göre daha erken yaşlarda gelmekte olup, erkek bireyler için bu yaş 3-4 iken dişi bireylerde ise bu yaş 4'tür (Alp ve diğ., 2004; Kottelat ve Freyhof, 2007; Copp ve diğ., 2009; Froese ve Pauly, 2012).

Avrupa yayın balıkları karnivordur ve besinleri geniş bir av çeşitliliğine sahip oldukça predatör bir türdür (Copp ve diğ., 2009; Britton ve diğ., 2010). Vitellus kesesi tüketimini tamamlayan Avrupa yayın balığı larvaları yem aramaya çok hızlı bir şekilde uyum sağlarlar (Kouril ve diğ., 1992). Yavru Avrupa yayın balıklarının beslenmesi küçük karidesler, su pireleri ve böcek larvaları gibi su canlılarından oluşan çok geniş bir besin yelpazesinden oluşur (Bekbergenov ve Sagitov, 1984). Avrupa yayın balıklarının besinlerini ararken küçük gözlere sahip olmasına rağmen görüş mesafesinin düşük olduğu tatlı sulardaki yaşama iyi uyum sağlamıştır (Bruton, 1996). Ayrıca yayın balığının gelişmiş tat ve koku reseptörleri olarak kullandıkları bıyıkları kokuları tanımaya duyarlıdır, bu nedenle tespit edebileceği kimyasal maddeler salgılayarak avını kovalayabilir ve kolayca tespit etmektedir (Malyukina ve Martem'yanov, 1981). Gelişmiş tat ve koku alma duyusu sayesinde geceleri görüşe olan bağımlılığı azaldığı için daha rahat avlanmaktadır (Boujard, 1995; Pohlmann ve diğ., 2001).

Avrupa yayın balığı çok hızlı büyüyen bir türdür (Orlova, 1989). En yoğun büyüme, toplam vücut uzunluğunun 38-48 cm'ye ulaştığı yaşamın ilk yılında görülmektedir. Yoğun büyümesi yaklaşık 6-7 yaşlarına kadar devam etmekte olup 100 cm uzunluğa ulaşmaktadır (Wheeler, 1969; Orlova, 1989). Yayın balıklarını yaşam süreci ortalama 20-30 yaşına kadar devam etmektedir (Hochman, 1966). Yayın balığının büyümesinde en büyük artış ilkbahar ve yaz aylarında görülmektedir (Maitland ve Campbell, 1992). Su sıcaklığı sindirimin metabolik süreçlerini etkilediği için yayın balıkları 10°C'nin altındaki sıcaklıklarda yemlerini sindiremezler (Lelek, 1987; Greenhalgh, 1999). Büyüme ve besin kullanımı için optimum su sıcaklığı 25-27°C aralığındadır (Hilge, 1985).

2.2. AVRUPA YAYIN BALIĞININ ÜREME BİYOLOJİSİ

Avrupa yayın balığı yumurtlama için yüksek su sıcaklıklarını tercih eden bir türdür (Carol ve diğ., 2007b). Anaç balıkların üreme döngüsü hormonlar tarafından kontrol edilmekte, yavru üretimi su sıcaklığı ve fotoperiyod gibi abiyotik faktörlerden etkilenmektedir (Maitland ve Campbell, 1992). Avrupa yayın balıkları, genellikle akarsuyun ana akıntısının dışındaki derin yerlerde kışı geçirmektedirler. Mart ayının sonundan nisan ayına kadar sıcaklık 8-10°C'ye ulaştığında hareket etmeye başlarlar (Berg, 1949; Shikhshabekov, 1978), yumurtlama alanlarına ulaşmak için nehirde kısa mesafelerde göç etmektedirler (Lelek, 1987). Tuna Nehri'nin aşağı kesimlerinde bu göç hareketi, su sıcaklığının yalnızca 4-6°C civarında bir sıcaklığa ulaştığı şubat ve mart aylarında gerçekleşmektedir (Ciolac, 2004). Üreme Orta Avrupa'da genellikle mart ayının başından nisan ayına kadar, Doğu Avrupa'da ise mayıs ayının başından haziran ayına kadar gerçekleşmektedir. Erkek ve dişilerin eşleşmesi göç sırasında gerçekleşmektedir. Yayın balığı suda çiftler halinde yumurtlama alanlarına doğru yüzmektedir (Mihálik, 1995). Çeşitli kaynaklara göre, yayın balığının yumurtlaması genellikle geceleri ortam sıcaklığının 18-22°C'ye (Horoszewicz, 1971; Lever, 1977; Shikhshabekov, 1978; Maitland ve Campbell, 1992; Legendre ve diğ., 1996) veya 20-24°C'lere yükselmesi ve geceleri sıcaklığın 18-19°C'nin altına düşmemesi durumunda gerçekleşmektedir (Shikhshabekov, 1978; Proteau ve diğ., 2008). En iyi koşullar, genellikle fırtınadan hemen önce, hava basıncında hızlı bir düşüş ile karakterize edilen sıcak, bunaltıcı akşamlardır (Mihálik, 1995). Yumurtlama alanı olarak, yeterli barınak sağlayan ağaçların, çalılarının ve su bitkilerinin yanı sıra su bitki örtüsüyle kaplı yerler veya nehirlerin döküldüğü yerlerin kökleri ve kök sistemleridir (Barus ve Oliva, 1995b; Greenhalgh, 1999).

Erkek balık, genellikle sığ suda (40-60 cm) tabanda bir yuva oluşturur. Yuva, çakıl, kum veya aşırı büyümüş bitkilerin ince kökleri arasında sığ bir çöküntü şeklinde olabilir (Maitland ve Campbell, 1992). Yuvanın yakınında erkek balık, dişi balığı su yüzeyinin hemen altında kovalar ve sıklıkla kuyruğunu hareket ettirir (Planche, 1987). Bir sonraki adımda erkek 10-12 saniye boyunca dişinin etrafına sarılır. Dişi yavaş yavaş dibe batar ve kahverengi yumurta öbeklerini nehirlerin kaynak kısmı ve yoğun bitkili göl alanlarında otlu, çakıl ve kumlu bölgelere bırakır (Copp ve diğ., 2009). Erkek balık dişi balığı takip eder ve yumurtaları dölemek için ortama spermelerini bırakır. Tüm bu işlemler birkaç kez tekrarlanır ve gürültülü bir şekilde eşleşme ve gamet bırakma işlemi gerçekleşir. 1,5-2 saat sonra üreme işlemi tamamlanır (Mihalik, 1995).

Bazı yerlerde ortama ve anaç balığına göre yayın balığı tek bir günde yumurtalarını dökerler, bazıları ise yumurtlama işlemini birkaç gün içerisinde tamamlarlar. Çek Cumhuriyeti'nde toprak havuzlarda yumurtlama işlemi birkaç saatte içinde gerçekleşir (Barus ve Oliva, 1995a,b).

Bunun tersine, Türkiye'de Alp ve diğ., (2004)'nin yaptığı bir çalışmada yayın balığının üreme döneminin haziran başından ağustos ayına kadar sürebileceği belirtilirken, Maitland ve Campbell (1992) ise yayın balığının üremesini mayıs ve temmuz ayları arasında olduğunu bildirmektedir. Yayın balığı yumurtaları yapışkan özellik göstermektedir. Bu özellik bitkiler, yapraklar veya kökler gibi organik materyallerden oluşan yuvaya yumurtlayan ve yumurtaların tutunması için önemli bir rol oynamaktadır (Copp ve diğ., 2009). Dişi balıklar, boyutları 1,0-3,6 mm arasında değişen genellikle 2,0-2,4 mm arasında olan parlak yeşil-sarı renkte bir yığın yumurta bırakmaktadır (Maitland ve Campbell, 1992; Alp ve diğ., 2004; Proteau ve diğ., 2008). Yumurta miktarı anaç balığın ağırlığına göre değişmektedir (Copp ve diğ., 2009; Froese ve Pauly, 2019). Dişi anaç balıklar, kilogram vücut ağırlığı başına 8,500 adet yumurtadan 30,000 adet yumurtaya kadar yumurtlamaktadır (Maitland ve Campbell, 1992; Alp ve diğ., 2004; Proteau ve diğ., 2008).

Erkek balığının testis boyutları çok küçüktür (Hochman, 1967; Shikhshabekov, 1978; Linhart ve diğ., 1986). Erkek balıklarda gonadosomatik indeks (GSI), (gonad ağırlığının vücut ağırlığına oranı) yumurtlama öncesi dönemde yaklaşık %0,19'dur (Alp ve diğ., 2004). Erkek bireyler kuluçka döneminde (yaklaşık 2,5-3 gün kuluçka süresince) yumurtaların bulunduğu alanı korumaktadır (Proteau ve diğ., 2008; Copp ve diğ., 2009). Erkek yayın balığı kaudal yüzgecini her 3-5 dakikada bir hareket ettirerek embriyolar için yeterli oksijen sağlamakta aynı zamanda su akışıyla onları istenmeyen yabancı maddelerden korumaktadır (Horvath ve diğ., 1992; Copp ve diğ., 2009). Dişi ve erkek anaç balığın yuvayı döllenmiş yumurtaların larva çıkışından itibaren yumurta kesesinin tükenmesine kadar koruduğunu bildirmektedir (Maitland ve Campbell, 1992). Avrupa yayın balığı larvaları ışığa karşı çok duyarlıdır ve doğrudan güneş ışığından etkilenmektedir. Su sıcaklığı 13-14°C'nin altına düştüğünde larvalar ölmektedir (Mihálik, 1982). Yayın balıkları yaşamlarını bölgesel alanlara bağlı sürdürmekte ve yumurtlama döneminin sona ermesinden sonra tekrar güç kazanmak için kalıcı olarak bulunduğu yere geri göç etmektedir (Lelek, 1987).

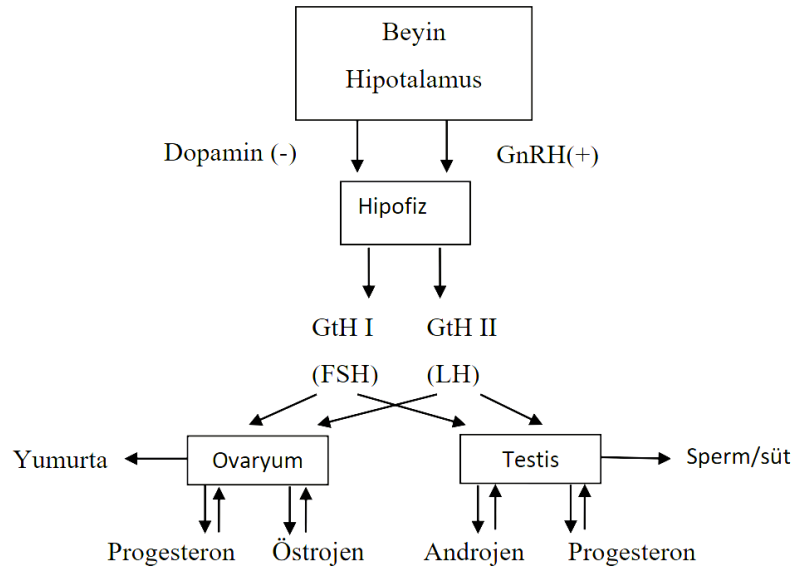
2.3. BALIKLARDA ÜREME VE ÜREMENİN UYARILMASI

Bir türün yetiştiriciliğinin başarılı bir şekilde yapılabilmesi için üreme fizyolojisinin iyi anlaşılması ve anaç balık yönetiminin belirlenmesi çok önemlidir. Bazı türlerin oosit olgunlaşmasının gerçekleşmemesi, uygun olmayan yetiştiricilik koşullarına bağlanabilmektedir (Schreck, 2010). Bu yüzden, akuakültür için türlerin üretilmesinde ilk etapta doğadan yakalanan anaçların kullanılması, ardından kuluçkahane üretiminden elde edilen anaç balıkların kullanılması ile tam kontrollü üretimin başarılabilmesi oldukça önemlidir (Mylonas ve diğ., 2013).

Balıklarda üreme hormonlarının kontrolündeki üreme döngüsü gametogenez; yumurta üretimi (oogenez) ve sperm üretimi (spermatogenez) şeklinde ikiye ayrılır (Mylonas ve diğ., 2010). Yumurtlamayı tetikleyici hormonların etkinliği birçok faktör tarafından kontrol edilmektedir. Bu faktörlerden biri de üreme sürecindeki cinsiyet steroidleridir (Kime, 1993; Abubakar ve Ipinjolu, 2019). Nesli tükenmekte ve ekonomik açıdan önemli olan balık türlerinde başarılı bir yetiştiricilik için kullanılan en yaygın kontrollü üreme yöntemlerinden biri, spermiasyon ve ovulasyonun hormonal uyarım sonucu gerçekleştirilmesidir (Kouril ve diğ., 2007). Hormonal olarak kontrol edilen üreme sürecini anlamak, balıklarda daha sonraki yumurtlama ve spermiasyon için çok önemlidir.

Balıklarda üreme, beyin-hipotalamus-hipofiz bezi ve gonad üzerinden gerçekleşmektedir. Beyin; sıcaklık, yemleme, yağmur gibi çevresel koşullar ve hormonlar neticesinde uyarılır. Son oosit olgunlaşmasını uyarmada ve olgun yumurta elde etmede hormon uygulaması etkili bir yöntemdir (Zohar ve Mylonas, 2001; Mylonas ve diğ., 2010; Abubakar ve Ipinjolu, 2019). Balıklarda üreme fizyolojisi stres, kültür koşulları, beslenme ve üreme organlarının durumu gibi birçok abiyotik ve biyotik faktörlerden etkilenmektedir. Üremenin başlaması için uygun sıcaklık ve suyun fizikokimyasal özellikleri önemli faktörlerdir. Gamet gelişimi ve yumurtlama süresini, çevresel faktörler ve nöroendokrin sistemin etkilediği bildirilmiştir (Rottmann ve diğ., 1991; Bruch ve Binkowski, 2002; Paragamian ve Wakkinen, 2002; DeLonay ve diğ., 2007). Bununla birlikte, su kalitesi gibi çevresel şartlara bağlı olarak her bir balık türüne göre uyarıcı hormonların gonaddaki son olgunlaşmaya ve ovulasyona olan etkisinin bilinmesine gereksinim vardır (Abubakar ve Ipinjolu, 2019). Balıklarda tüm bu faktörler merkezi sinir sistemi tarafından endokrin bezi ile kontrol edilmektedir (Şekil 2.3) (Migaud, 2015). Hipofiz

gonadotropinleri (GTH-I ve GTH-II), Luteinizan Hormon (LH), Folikül Uyarıcı Hormon (FSH) üremenin endokrin kontrolünde çok önemli rol oynarlar. İki GTH'nin salgılanması, Gonadotropin Salgılatıcı Hormonun (GnRH) uyarıcı etkisi aracılığıyla beyin tarafından kontrol edilir. GnRH doğrudan hipofiz bezine etki eder. Bu etkileşim sonucunda FSH ve LH salgılanmasını sağlar. Gonada etki etmek üzere kan dolaşımına karışan bu salgılar gonada steroid hormonlarının sentezini uyarır. Bu hormonlar ise gonadal gelişimin son etkileyicileridir (Mananos ve diğ., 2008).



Şekil 2.3: Balıklarda hipotalamus-hipofiz-gonad hattının şematik görünümü.

Kontrollü koşullar altında tek başına çevresel şartların uygunluğunun son gamet olgunlaşmasını ve ovulasyonu sağlamada yeterli olmadığı bilinmektedir (Targonska ve diğ., 2010). Kontrollü koşullarda balıkların çevresel koşulları uygun olmadığında eşeysel olgunlaşma uygun hale gelene kadar ya ertelenir ya da üreme işlemi tamamen durdurulabilir. Gamet alımı için, çevresel manipülasyon ile gerekli uygun koşullar sağlanarak (su sıcaklığı, fotoperiyot ve yumurtlama substratı) olgunlaşmış gamet alımı gerçekleşir. Çevresel manipülasyonlar, kültür koşulları ayarlanarak doğal gamet alım işlemini sağlaması için kullanılırken, diğer bir kullanım sebebi doğal gamet alım sezonu dışında uygulanan manipülasyonlar ile gamet elde edilmesidir. Bu durum, ihtiyaç üzerine yumurta ve yavru sağlamak için yumurtlatma zamanının ayarlanabileceğini göstermektedir (Karayücel ve Karayücel, 2016).

Üreme döneminde ve üreme dönemi dışında doğal ortamdan yakalanan veya kültür anaç balıklarının çoğunun ılık su ve deniz balığı türleri, hormonal manipülasyon olmadan yumurtlamadığı bilinmektedir (Zarski ve diğ., 2009; Sharaf, 2012; Zepeda ve diğ., 2020; Kucharczyk ve diğ., 2020). Balıklarda hormonal manipülasyonlar, eksojen hormonların kullanımı ile gamet olgunlaşmasını teşvik etmek, gamet üretiminin verimliliğini artırmak ve kuluçkahanede gamet alımını kolaylaştırmak için kullanılabilir (Salami ve diğ., 1994; Zohar ve Mylonas, 2001; Brzuska, 2004; Szczerbowski ve diğ., 2009). Bu hormonal manipülasyonlar, kan dolaşımındaki gonadotropin seviyesini artırarak, hipofiz ve gonadal eksenini hedef alır. Artan gonadotropin seviyesi, balık hipofiz ekstrelerinin gonadotropin salgılatıcı hormon (GnRH) veya analoglarının uygulanmasıyla dolaylı olarak indüklenebilir (Mylonas ve diğ., 2010). Hormonal manipülasyonların bir diğer fonksiyonu anaç bireylerden gamet eldesinde senkronizasyonu sağlamasıdır. Bu manipülasyon uygulaması maliyeti düşürür, gamet alımını ve inkübasyon işlemlerini kolaylaştırır (Karayücel ve Karayücel, 2016). Hormonal manipülasyonda kullanılan hormonların türü, uygulama protokolleri ve gamet alma prosedürleri, kültürü yapılan her türün üreme biyolojine bağlı olarak değişebilir (Zohar ve Mylonas, 2001; Yaron ve diğ., 2009; Mylonas ve diğ., 2010; Mylonas ve diğ., 2017).

Birçok balık türünün kontrollü üretiminde sperm ve yumurta elde etmek için çeşitli hormonlar kullanılmaktadır. Bunlardan en eski ve hala kullanılan hormon hipofizdir (Donaldson ve Hunter, 1983; Gallis ve diğ., 1989; Billard ve diğ., 1999; Williot ve diğ., 2000; Linhart ve diğ., 2000b; Urbanyi ve diğ., 2004; Horvath ve diğ., 2005; Park ve Chapman, 2005; Alavi ve diğ., 2008; Psenicka ve diğ., 2008a,b; Dzyuba ve diğ., 2010; Boryshpolets ve diğ., 2011). Kullanılan bir diğer hormon ise, gonadotropin salgılatıcı hormon (GnRH)'dur (Glogowski ve diğ., 2002; Linhart ve diğ., 2002; Piros ve diğ., 2002; Rzemieniecki ve diğ., 2004; Sarosiek ve diğ., 2006; Herbison, 2016; Kanda, 2019). Gonadotropin salgılatıcı hormon analogları (GnRHa), insan gonadotropini (GtHs), dopamin antagonistleri (pimozid, domperidon, metoklopramid ve reserpin) ve gonadotropinlere benzer sentetik hormonlar (Ovopel) cinsel olgunlaşmayı başlatmak için çeşitli türlerde kullanılmıştır (Zohar ve Mylonas, 2001; Almeida, 2013; Araújo ve diğ., 2014).

Balıkların üremesinde hormon hazırlama sürecinde dikkat edilmesi gereken bazı hususlar vardır. Bu hususlar yumurtlamaya hazır birey sayısı (anaçlarda kantitatif parametreler),

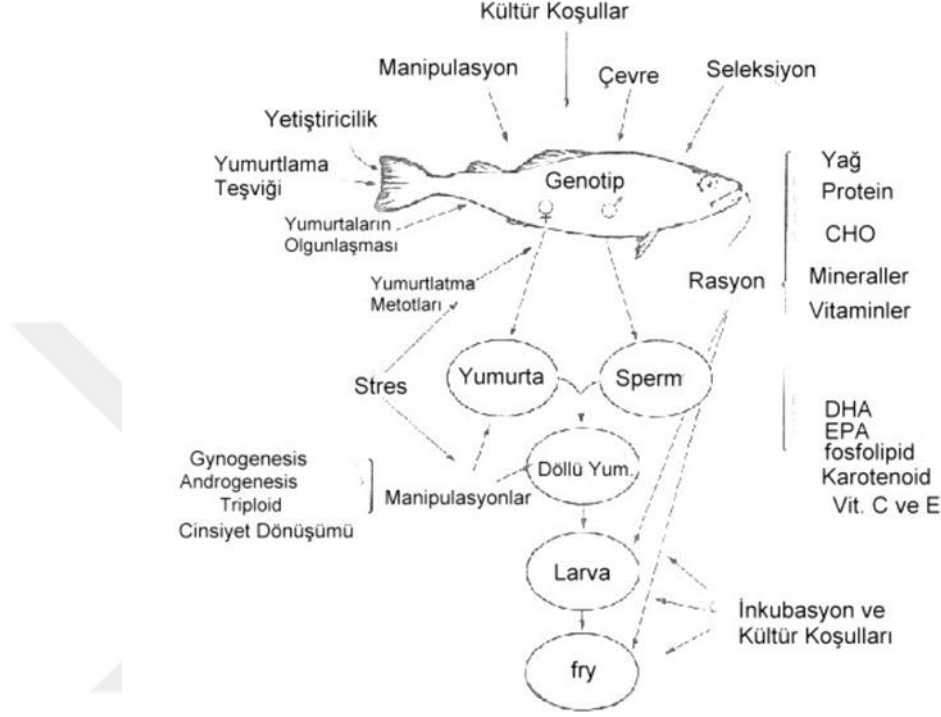
yumurtlama sonrası ölüm oranı (kalitatif parametreler), elde edilen gamet kalitesi ve embriyo yaşam oranıdır (Jamroz ve diğ., 2008). Sağım zamanının geçirilmesi yumurtaların aşırı olgunlaşmasına ve yumurta kalitesinin düşmesine neden olur. Bunun sonucunda döllenme oranlarının düşmesi, embriyo ve larvalarda yüksek ölüm oranları ve deforme larvaların artışına sebep olabilir (Aegerter ve Jalabert, 2004; Flajshans ve diğ., 2007). Gökkuşluğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) yumurtalarının aşırı olgunlaşması ile ovaryum sıvısının içerisinde biyokimyasal ve histolojik değişimler meydana gelir (Lahnsteiner, 2000). Bu durum sonucunda yumurta proteini parçalarının birikmesi ile yumurta kalitesi düşmektedir (Rime ve diğ., 2004). Bu yüzden hormon enjeksiyonundan sonra ovulasyon zamanını doğru tahmin etmek ve yumurtaların dışının ovaryumunda kalabileceği süreyi belirlemek oldukça önemlidir (Rasines ve diğ., 2012). Yumurtanın ovaryum sıvısı içerisinde canlılığının sağlanması ve olgunlaşma zamanı su sıcaklığına bağlıdır. Ilık su balıklarında ovulasyondan sonra yumurtalar hızlı bir şekilde bozulur. Bu yüzden aşırı olgunlaşmanın önüne geçmede hormon enjeksiyonu ile sağım arasındaki sürenin önemli olduğu bilinmektedir (Yu ve diğ., 2017).

2.4. SU ÜRÜNLERİ YETİŞTİRİCİLİĞİNDE GAMET KALİTESİ

Bir türün sürdürülebilir yetiştiriciliğinin sağlanması gamet kalitesine bağlıdır (Migaud ve diğ., 2013; Bobe, 2015). Kaliteli olmayan gametler embriyoların ve sonrasında larvaların yaşama oranlarını olumsuz etkilemektedir (Bromage ve diğ., 1992; Migaud ve diğ., 2013; Bobe, 2015). Döllenmiş yumurtanın embriyonik gelişiminin erken safhasında kalitesinin belirlenmesi, düşük larva çıkış oranı olasılığı olan yumurtaların elimine edilmesi ile yetiştiricilik sektöründe oluşacak maliyetin engellenmesi konusunda oldukça önemlidir (Bromage ve diğ., 1992). Gamet kalitesinde olabilecek varyasyonlar, bir sonraki üretimi tehlikeye atabilir ve genetik seçim gerçekleştirme olasılıklarını sınırlayabilir. Anaç yetiştirmenin yüksek maliyeti göz önüne alındığında, gamet kalitesindeki büyük farklılıklar, balık çiftliklerinin ve su ürünleri yetiştiriciliği şirketlerinin rekabet gücünü ve sürdürülebilirliğini etkileyebilir. Bu yüzden kaliteli gametlerin elde edilmesi, önemli ekonomik sonuçları olan akuakültür sektörü için oldukça hassas bir konudur (Migaud ve diğ., 2013; Bobe, 2015).

Yumurta ve sperm kalitesini birçok biyotik ve abiyotik faktörler etkilemektedir (Bromage ve Roberts, 1995). Beslenmenin üreme fizyolojisi üzerine önemli etkisi göz önüne alındığında yumurta ve larva kalitesine etkileri anlaşılabilmektedir (Hardy, 1983; Watanabe, 1985;

Kjorsvik ve diğ., 1990; Bromage ve diğ., 1992). Yağ asitlerinden özellikle PUFA'lar, vitaminler ve karotenoidler gamet verimi üzerinde etkili olmaktadır (Şekil 2.4) (Bromage ve Roberts 1995).



Şekil 2.4: Gamet kalitesini etkileyen faktörler.

Yumurta kalitesi, yumurtanın döllenebilme ve normal embriyoya dönüşebilme yeteneği olarak tanımlanmaktadır (Bobe ve Labbe, 2010). Su ürünleri yetiştiriciliğinde çok sayıda kaliteli yumurta üretebilmek oldukça önemlidir (Bonnet ve diğ., 2007). Yumurta kalitesini; anaç balıkların beslenmesi (Watanabe, 1985), yumurta yüzeyindeki bakterilerin varlığı, yumurtaların aşırı olgunlaşması, stress ve döllenme öncesi ovulasyon periyodu doğrudan etkilemektedir (Bromage ve diğ., 1992). Su ürünleri yetiştiriciliğinde düşük yumurta kalitesi, döllenme problemi, yumurta aktivasyon sorunları, gelişim bozuklukları, embriyo aşamasında gözlemlenen ölümler ve deformasyonlar gibi çeşitli problemlere yol açabilmektedir (Bobe ve Labbe, 2010; Migaud ve diğ., 2013; Bobe, 2015). Bazı yetiştiricilik uygulamaları ve çevresel faktörler belirli malformasyonları tetikleyebileceği için yumurta kalitesini değerlendirmek için embriyonik gelişimin detaylı karakterizasyonuna ihtiyaç vardır (Bonnet ve diğ., 2007). Embriyo kalitesi, embriyogenez sırasında hücrel morfolojinin gözlemlenmesiyle belirlenebilir (Avery ve Brown, 2005; Avery ve diğ., 2009). Yumurta yaşama oranı, döllenme

oranı ve kuluçka oranı embriyonik yumurta kalite kriterleri ile ilgilidir. Sağlıklı embriyolar, kuluçka oranı ve larval stres testleri arasında yüksek korelasyon ilişkisi olduğu rapor edilmiştir (Kjorsvik ve diğ., 2003; Avery ve Brown, 2005).

Farklı balık türlerine ait yumurta hücresinin morfolojik yapısı birbiriyle benzerlik göstermektedir. Balık yumurtası; vitellus ve koryon adı verilen bir yumurta kılıfı ile çevrili olup, animal ve vejetatif kutup olmak üzere iki kısımda incelenir. Balık yumurtasının yüzeyinde bulunan mikrofil deliği vasıtasıyla sperm hücresi yumurta hücresi içerisine girmektedir. Böylece döllenme gerçekleşir ve embryo gelişimi başlar (Poleo ve diğ., 2001; Savaş, 2001).

Balık spermi; spermatozoa ve seminal plazmadan oluşur (Alavi ve diğ., 2007). Seminal plazma, spermatozoada osmolaliteyi ve pH'ı belirleyebilen inorganik bileşenleri içerir. Spermatozoa seminal plazmadayken genellikle hareketsizdir. Spermin su ile temas ettiği andan itibaren öne doğru hareketinin başladığı bilinmektedir (Stoss, 1983; Billard, 1986).

Balıklarda sperm hareketliliğini etkileyen dış faktörler pH, sıcaklık ve iyon konsantrasyonudur (Alavi ve diğ., 2009). Sperm motilitesi, tatlı su balıklarında hipo-ozmotik (seminal sıvıya göre) ve deniz balıklarında hiper-ozmotik bir ortam tarafından başlatılır (Morisawa ve diğ., 1983; Alavi ve diğ., 2007). Ozmotik basınç, iyonik kompozisyon ve pH sperm aktivasyonunu belirleyen en önemli faktörlerdir. Tatlısu balıklarına göre deniz balıklarında daha yüksek bir osmotik basınç içinde motilite gerçekleşir. Ozmotik basınç, tatlısu balıklarında düşen veya deniz balıklarında seminal plazma ile karşılaştırıldığında artan, sperm motilitesinin başlangıcını tetiklemede en yaygın olarak bilinen faktördür. Osmolalitedeki değişikliklerin etkilerini anlamak, potansiyel sperm hareketliliğini korumak amacıyla balık sperminin uzun süreli depolanması için en uygun koşulların geliştirilmesine yardımcı olmaktadır (Alavi ve diğ., 2007). Balık sperminin hareketliliği, doğal üreme sırasında çevredeki sulu ortama veya yapay üreme sırasında seyreltilere salındıktan sonra meydana gelir. Balık sperm motilite özelliklerindeki değişiklikler hem doğal olarak üreme mevsimi boyunca (*in vivo* saklama) hem de spermatozoanın *in vitro* saklanması sırasında meydana gelmektedir (Darszon ve diğ., 1999; Alavi ve Cosson, 2006; Cosson ve diğ., 2008).

Sperm kalitesi, yumurtayı dölleme yeteneği ile doğrudan ilişkili olan bazı parametrelerle belirlenir (Brooks ve diğ., 1997; Rurangwa ve diğ., 2004; Kowalski ve Cejko, 2019). Aktif spermatozoa yüzdesi, hareketlilik süresi, sperm yoğunluğu ve seminal plazma bileşimi, sperm kalitesinin ölçülmesinde kullanılır (Billard ve diğ., 1981). Seminal plazmanın pH ve ozmolilitesi, sperm kalitesini etkileyerek dölleme yeteneğine katkıda bulunan diğer parametrelerdir (Aas ve diğ., 1991; Ciereszko ve Dabrowski, 1993; Linhart ve diğ., 2000c; Rurangwa ve diğ., 2004; Alavi ve Cosson, 2005). Çoğu balık türü için gametlerin toplanması sağım yoluyla yapılmaktadır. Anaç balığa uygulanan abdominal basınç ya da cerrahi yöntem ile olgun yumurta ve sperm ayrı kaplar içerisinde toplanır. Sağım sırasında sperm, yumurtalar ile karışmadan önce spermlerin aktif hale gelmesinden dolayı ortamda su ya da ürün bulaşması istenmez (Karayücel ve Karayücel, 2016). Fakat abdominal masaj ile toplanan sperm örneklerinde üre kontaminasyonu (sperm kanalı ve üriner kanalın yakınlığından dolayı) kaçınılmazdır. Bundan dolayı sperm yoğunluğu ve seminal plazma kompozisyonundaki değişim yanlış yorumlanabilir (Rana, 1995). Sperm aktivasyon solüsyonunun pH değeri 7,2'den 8,6'ya doğru arttıkça, spermatozoa hareketliliği, hızı ve motilite süresinin arttığı bilinmektedir (Wojtczak ve diğ., 2007).

Alabalıkta 4-6 ml sperm, sazanlarda 1-5 ml sperm elde edilirken, her ikisinde de sperm 10×10^9 ml yoğunluğa sahiptir. Alabalık spermleri yaklaşık 20 mikron uzunluğundadır ve oval yapıda bir başa sahiptir (Billard, 1992; Kunz-Ramsay Rodina ve diğ., 2004, 2013). Genellikle her balık türüne ait spermatozoa motilite süresi farklılık göstermektedir. Örneğin, spermatozoa motilite süresi Avrupa yayın balığı için yaklaşık 60-120 sn, gökkuşağı alabalığı 40-51 sn, sazan balığı 50-78 sn, zebra balığı 35-60 sn, kadife balığı 40-60 sn, mersin balığı ise 190-780 sn arasında değişmektedir (Bromage ve Roberts, 1995; Rodina ve diğ., 2004; Linhart ve diğ., 2005; Jing ve diğ., 2009; Imanpoor ve diğ., 2011; Yamaner ve diğ., 2015; Özdemir ve Ekici, 2017; Cheng ve diğ., 2022).

2.5. AVRUPA YAYIN BALIĞINDA KONTROLLÜ ÜRETİM

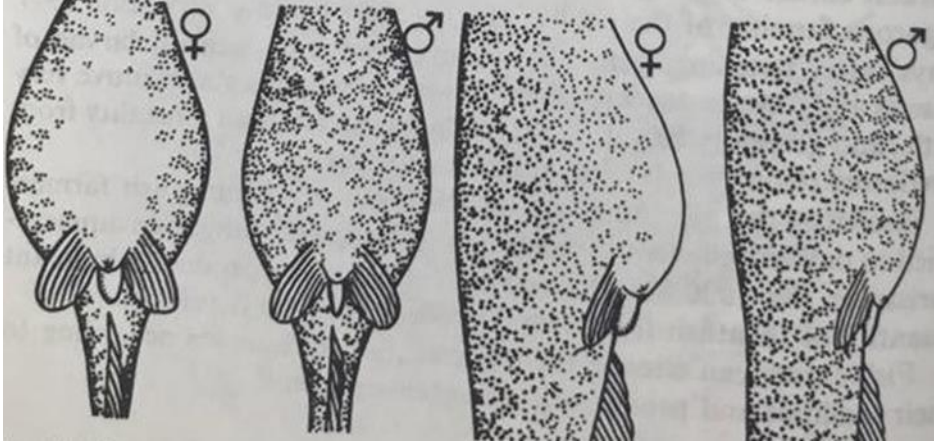
Diğer balık türlerinde olduğu gibi Avrupa yayın balığının da başarılı bir şekilde yetiştiriciliğinin yapılması için uygun ortam koşullarının gerekli olduğu bilinmektedir (Kouril ve diğ., 1992). Anaç balıkların bulunduğu farklı büyüklükteki (0,1-0,5 ha.) gölet alanlarının maksimum su

derinliği 1,5- 2 m arasında olmalıdır. Anaç balıkların stok yoğunluğu 50 kg/ha'yı geçmemelidir (Horvath ve diğ., 1992).

Avrupa yayın balığı yetiştiriciliğinde önemli bir faktör anaç balıkların yıl boyunca uygun içerikte ve yeterli miktarda beslenmelerinin sağlanmasıdır. Avrupa yayın balıklarında kaliteli üremenin en önemli belirleyici dönemi yumurtlamadan önceki dönem olan nisan-haziran aylarının olduğu bilinmektedir (Hochman, 1967; Shikhshabekov, 1978; Orlova ve Popova, 1987). Anaç Avrupa yayın balıklarına biyokütlesinin iki katına kadar yem verilmesi önerilmekte iken bazı kaynaklar bu oranın dört katına çıkabileceğini belirtmektedir (Kouril ve diğ., 1992). Anaç balıklar için tercih edilen yem balık türleri 0,05 kg'dan 0,5 kg'a kadar olan ağırlıktaki kadife balığı (*Tinca tinca*), sazan balığı (*Cyprinus carpio*) ve tatlı su levreği (*Perca fluviatilis*)'dir (Kouril ve diğ., 1992).

Avrupa yayın balığının hem erkek hem de diři anaçları uygun havuzlarda birlikte yetiştirilmektedir. Anaç balıklar yumurtlamalarının ardından baharda gerçekteşecek olan üretim çalışmalarına kadar bu havuzlarda yaşamaktadır. Avrupa yayın balığı anaçlarının cinsiyet ayrımının yapılması için en uygun zamanın nisan ayı olduğu bilinmektedir. Üreme döneminde yumurtlamaya uygun çok büyük olmayan Avrupa yayın balıklarının sečilmesi önerilmektedir. Erkek anaç balıklardan elde edilen sperm miktarının az olmasından kaynaklanan sorunları önlemek amacıyla, diři anaç balıkların sayısına göre daha fazla erkek anaç kullanılması gerekmektedir (Linhart ve diđ., 2001).

Genellikle 5-25 kg ağırlığa ulaşabilen 4-10 yaş arası anaç balıklar yumurtlama için kullanılmaktadır (Linhart ve diğ., 2001). Avrupa yayın balıkları oldukça büyük oldukları için yumurtlama işleminde 4-8 kg ağırlığındaki balıkların kullanılması önerilmektedir (Kouril ve diğ., 1992). Yumurtlama öncesi dönemde, Avrupa yayın balığı anaçlarının cinsiyete göre havuzlara ayrı ayrı konulması çok önemlidir. Bu balıklarda cinsiyet belirleme işlemi, genital papillanın şekli ve pektoral yüzgeçlerinin ilk sert ışınlarının pürüzsüzlüğüne göre belirlenmektedir (Şekil 2.5) (Horvath ve diğ., 1992).



Şekil 2.5: Avrupa yayın balığı cinsiyet ayrımı.

Anaç balıklar için havuzlarda en iyi koşulların ve suyun fiziksel parametrelerinin düzenli kontrolünün sağlanması gerekmektedir. Havuzlardaki su sıcaklığının artması, dişi bireylerin kendiliğinden yumurtlamasına ya da yumurtaların aşırı olgunlaşmasına neden olmaktadır. Bu durumu önlemek için, havuzlardaki su akışını arttırarak suyun soğuması sağlanmalıdır (Kouril ve diğ., 1992; Linhart ve diğ., 2001).

Avrupa yayın balığının kontrollü koşullar altında üretilmesinde yumurtlama sürecinin başarılı olması için, anaç balıkların yumurtlama zamanının doğru tahmin edilmesi gerekmektedir. Yumurtlatma hazırlık sürecinde, su sıcaklığı önemli bir referans olup, içinde bulunulan yılın su sıcaklığı bir önceki yılın su sıcaklığı ile ilişkilendirilmektedir (Krejszeff ve diğ., 2008; Targonska ve diğ., 2010). Yumurtlatma işleminde uygun zamanı doğrulamak için, normal yumurtlama tarihinden en az 14-20 gün önce 3-4 dişi anaç balıktan oosit örneği alınmalıdır. Oositlerin incelenmesi sonucunda yumurtaların döllenme işlemine hazır olup olmadıkları nükleus konumunun kontrol edilmesiyle yapılmaktadır (Linhart ve diğ., 2001).

Yumurtlama döneminde, anaç balıklarının olduğu havuzlardan öncelikle erkek anaç balıkları planlanan yumurtlamadan üç gün önce, yumurtlama havuzlarında ise planlanan yumurtlamadan iki gün önce alınmalıdır. Sağlıklı, genişlemiş bir abdomene sahip dişi anaç balıkları yumurtlatma işlemi için seçilirler. Oositleri 2 mm'den küçük olan anaç balıklar 1-2 hafta sonra yumurtlatmaya alınmalıdır. Bu balıkların abdomen bölgesine masaj yapıldığında yumurtaların alınması mümkün değildir. Genişlemiş abdomen bölgesine sahip olmayan ve sağlık durumu kötü olan dişi anaç balıklar üretim dışında tutulmalıdır. Abdomen bölgesine yapılan masaj sonrası ovaryum içinde bazı parçalanmış oositler bulunabilir. Avrupa yayın erkek anaç

balıklarının sperm alımına en uygun olanlar seçilerek abdomen bölgesine masaj yaparken 1-2 hafta boyunca sperm bulunan anaç balıkları sağım işlemine dahil edilirken, morfolojik gözleme göre sağlık durumu kötü olanlar üretim dışında bırakılmaktadır (Linhart ve diğ., 2001).

Sağıma uygun seçilen anaç balıklar için önceden ısıtılmış su sıcaklığına sahip, yeterli havalandırma ve oksijen doygunluğuna ulaşmış havuzlara yerleştirilirler. Anaç adayı balıkların yerleştirildiği havuzlarda çözünmüş oksijen içeriği 4-5 mg/l'nin altına düşmemeli ve balıkların dışarı atlamasını önlemek için üstleri kapatılmalıdır (Linhart ve diğ., 2001). Üreme sürecinde stres altında olan saldırgan balıkların havuzlara tek tek yerleştirilmesi önerilmektedir (Linhart ve Billard, 1992). Aynı cinsiyette olan anaç balıkların birbirlerine saldırmalarını önlemek için bazı durumlarda çeneleri dikilerek bir arada bulundurulabilmekte fakat bu uygulanan prosedürün etik kurallara uymaması ve güvenilirliğinin düşük olması nedeniyle kesinlikle önerilmemektedir (Horvath ve Tamas, 1976; Kouril ve diğ., 1992).

Avrupa yayın balıklarının hormon enjeksiyonu kullanılarak ilk başarılı yumurtlatılması Hırvatistan'da Fijan (1975), ardından Macaristan'da Horvath ve Tamas (1976) ve daha sonra Çek Cumhuriyeti'nde Kouril ve Hamackova (1977) tarafından gerçekleştirilmiştir. Balıklarda yumurtlamada kullanılan en yaygın hormon, hipofiz hormonudur. Sazan balığı (*C. carpio*), gonadotropin (GtH) sağlayan en yaygın hipofizin elde edilmesi için yetiştirilen önemli bir türdür. Sazan balığının hipofiz bezini kullanarak ovulasyon ve spermisyonu sağlamak mümkündür (Kouril ve diğ., 1999). Avrupa yayın balıklarında kullanılan sazan hipofiz hormonu serum fizyolojik içerisinde çözündürülüp, yumurtlamadan 24-48 saat önce kas içine enjekte edilmektedir (Kouril ve diğ., 1992; Linhart ve diğ., 2001). Bazı erkek anaç balıklarında spermisyon için 24 saat önce yeterli olduğu bilinmekte ancak optimal spermisyon 48 saat sonra gerçekleşmektedir (Linhart ve diğ., 2001). Erkek yayın balıklarda hormon enjeksiyonu, tek seferde 3-5 mg/kg sazan hipofizi olarak önerilmektedir (Kouril ve diğ., 1992). Dişi anaç balık için 4-5 mg/kg bir veya iki kez sazan hipofizi enjeksiyon uygulanmasından sonra yumurtlama işleminin gerçekleştiği bildirilmiştir (Fijan, 1975; Horvath ve Tamas, 1976). Yumurtlamanın 22°C sıcaklıkta gerçekleştiği durumlarda, anaç balıklarda hormon enjeksiyonu 5 mg/kg olacak şekilde sazan hipofizi tek enjeksiyon olarak önerilmektedir (Linhart ve diğ., 2001; Linhart ve diğ., 2004). Kouril ve diğ., (1992), anaç balıklara sazan hipofiz hormon enjeksiyonunu 4-5 mg/kg olarak iki doz halinde önermekte olup, ilk doz için toplam dozun %10-20'sini, ikinci doz

ise 12-14 saat sonra %80-90 oranında yapılmasını belirtmektedir. İkinci doz uygulamasından 13-14 saat sonra ovulasyon gerçekleşmektedir. Avrupa yayın balıklarının yumurtlatılmasında LHRHa ve Ovopel (LHRHa, D-Ala6) hormonları da kullanılmaktadır. Fakat GnRH ya da LHRH analoglarının birlikte kullanılması önerilmemektedir (Epler ve diğ., 1997; Brzuska ve Adamek, 1999; Brzuska, 2001). Bu hormonların yumurtlamayı 5-10 saat kadar geciktirmesi ve sürenin uzamasına sebep olmasıyla sazan hipofiz hormonundan daha iyi olmadığı tespit edilmiştir (Linhart ve diğ., 2001).

Avrupa yayın balıkları hormon enjeksiyonu ve gamet alım işlem öncesinde uygun anestezi madde kullanılarak uyuşturulmalıdır. Anestezi madde olarak fenoksietanol (10 litre /1-3 ml) kullanılmaktadır. Anaç balıklarda tam anestezi, yani balıkları sorunsuzca idare edebildiğimiz dönem, hareketsiz hale geldiklerinde ve solungaç kapakları açıldığında anlaşılmaktadır (Kouril ve diğ., 1992; Linhart ve diğ., 2001).

Avrupa yayın balığı erkek anaçları tam anestezi edildikten sonra, idrarın kendi kendine akmasını sağlamak için birkaç dakika dik pozisyonda tutulmaktadır. İdrar kontrolü yapıldıktan sonra masa üzerine sabit bir pozisyonda yerleştirilen erkek balıklara fiziksel güç gerektiren bir masaj ile abdomenin ön kısmından genital papillaya doğru 10-15 dakika gibi bir sürede sağmaya çalışılmaktadır. Bir süre sonra sperm içeren idrar opak renk iken daha sonra yoğunlaştırılmış sperm süt rengi olarak görülmüştür. Spermin su ile aktivasyonundan sonra spermatozoa motilitesinin 121 saniye içinde durduğu bildirilmiştir (Linhart ve diğ., 2001). 1 ml'de ortalama $9,6-1,63 \times 10^9$ adet sperm yoğunluğunun olduğu, erkek balık başına toplam sperm sayısının, $9,69-28,75 \times 10^9$ adet aralığında, anaç balıklardan sağım ile elde edebileceğimiz ortalama sperm hacminin ise 9,6-14,6 ml olduğu bildirilmiştir (Linhart ve diğ., 2001).

Avrupa yayın balığın testisi, abdomen boşluğunda birkaç kez katlanmış bir organ olarak bulunmaktadır. Kontrollü koşullarda sağım yoluyla az miktarda sperm elde edilmesinin nedeninin bu durum olduğu rapor edilmiştir (Mananos ve diğ., 2008). Sperm kalitesi ve miktarı, yumurtlamadan önceki dönemde sıcaklıktan ve özellikle hormon enjeksiyon uygulamasından sonraki sıcaklıktan etkilenmektedir. Sperm sağım sırasında sıcaklık optimum değerinin altındaysa ve bulunduğu ortamda dişi birey var ise sperm sayısında da azalma görülmektedir (Kouril ve diğ., 1992). İmmobilizasyon solüsyonuna alınan spermilerin dölleme işleminden

önce karıştırılması önerilmektedir. Karıştırılan sperm pipet yardımıyla yumurtalar ile karıştırılmaktadır (Linhart ve diğ., 2001).

Sperm alımı sırasında sperm idrar ile kontamine olur ve dolayısıyla aktive olmaktadır (Linhart ve diğ., 1986). İdrar osmolaritesinin, spermatozoanın hemen aktivasyonuna neden olan anahtar faktör olduğu bilinmektedir. Bu motilite, seminal plazmadan sekiz kat daha düşük ozmoliteye sahip olan idrarın bu özelliği sayesinde tetiklenerek, idrar kontaminasyonu ile spermatozoanın erken aktive edilmesi sonucu sağım sırasında olumsuz etki göstermektedir (Linhart ve diğ., 1987). Spermatozoa idrar kontaminasyonu ile aktive olduğunda bir miktar enerji kaybı olmaktadır (Alavi ve diğ., 2019).

Kontrollü üremede, erkek anaç balık sayısının azlığı, az miktarda sperm alınması ve hormon uygulaması ile farklı zamanlarda sperm ve yumurta alınması nedeniyle sperm kısa süreli saklanabilmektedir. Spermin kısa süreli saklanması, spermatozoanın minimum metabolik aktivite ile hareketsiz bir durumda tutulması için taze spermin bir sulandırıcı ile seyreltilmektedir. Spermatozoa uygun ortam koşulları altında motilitesini koruyarak saatlerce hatta haftalarca saklanabilmektedir. (Billard ve diğ., 1995; Contreras ve diğ., 2020). Sulandırıcının içeriği ve ozmolalitesi, spermatozoanın sağılma öncesinde hareketsiz durumda olgunlaşmaya uğradığı seminal plazmanınkine benzer olmalıdır (Contreras ve diğ., 2020; Dietrich ve diğ., 2021). Yapay bir sulandırıcı kullanımının, balığın sperm saklama süresini uzatabileceği ve sperm motilitesini kaybetme olasılığını düşürebildiği rapor edilmiştir (Cejko ve diğ., 2018, 2019).

Bu türe özgü yapay bir solüsyona maruz bırakılarak düşük kaliteli/hareketsiz spermi geliştirmenin mümkün olduğu bilinmektedir (Linhart ve diğ., 1987). Başarılı bir şekilde Avrupa yayın balığının sağılması için, idrar kontaminasyonu ile aktivasyonu önlemek amacıyla sperm immobilizasyon solüsyonu içine alınması önemlidir (Linhart ve diğ., 1987; Legendre ve diğ., 1996). İmmobilizasyon solüsyonuna alınan sperm hacminin solüsyon hacmine oranının 1:1 geçmemesi gerekmektedir (Linhart ve diğ., 1987; Saad ve Billard, 1995; Linhart ve diğ., 2001). Yumurtaların üzerine spermin doğrudan sağılması önerilmez çünkü böyle durumlarda yumurtaların döllenme oranının azaldığı bildirilmiştir (Kouril ve diğ., 1992; Linhart ve diğ., 2001). Farklı sperm saklama yöntemlerinin (taze alınmış sperm, immobilizasyon solüsyonuna

alınmış sperm ve testis spermi) incelendiği bir çalışmada yumurtaların döllenme başarısı belirlenmeye çalışılmış ve immobilizasyon solüsyonuyla (137 mM NaCl, 67 mM KCl, 133 mM glisin) %85,1 döllenme oranı elde edilmiştir (Linhart ve diğ., 1987).

Günümüzde ise sperm için 200 mM NaCl, 30 mM Tris-HCl, pH 7'den oluşan bir immobilizasyon solüsyonu kullanılmaktadır. Bu solüsyon içinde spermler, 4°C'de 48-72 saate kadar saklanabilmektedir (Linhart ve Billard, 1994; Saad ve Billard, 1995; Linhart ve diğ., 2004). Kouril ve diğ., (2021) ise immobilizasyon solüsyonu için 11,7 g NaCl ve 3,6 g Tris'ten oluşan bir karışım önermektedir.

Avrupa yayın balığı erkek anaçlardan sperm alımından 1-2 saat sonra dişi anaçlarından yumurtlama işlemi gerçekleştirilir. Dişi anaç balıkların yumurtaları genital papilladan kendiliğinden dışarı atan sazan ve herbivor balıklarla karşılaştırıldığında, yumurtaların sağılması için abdomen bölgelerine masaj yaparken daha fazla kuvvet uygulamak gerekmektedir. Yumurtalara idrar ve dışkı bulaşması önlemek için dikkat edilmelidir (Kouril ve diğ., 1992). Avrupa yayın balığında yumurtaların çapı 2,5-2,8 mm arasında değişmekte ve 1 g yumurta 160 adet yumurta içermektedir. Yumurtalar su sıcaklığındaki değişikliklere karşı da çok hassastır (Fijan, 1975; Horvath ve Tamas, 1976; Kouril ve diğ., 1995; Linhart ve Billard, 1995; Linhart ve diğ., 2002).

Dişi balıktan sağılan yumurtalar 18-20°C'de kuluçkahanede gölgeye alınır ve üzeri kapatılır (Linhart ve diğ., 2001). Hormon enjeksiyonundan sonra optimum koşullar altında yumurtlama başarı oranı %70-100'dür. Yumurtalar az miktarda viskoz salgı içerir. Kırmızımsı renkli sıvı, düşük yumurta verimliliğine sahip düşük kaliteli yumurtaların bulaştığını gösterir. Sağım esnasında yumurtaların rengi oldukça değişkendir. Gri-sarıdan gri-yeşile kadar farklı tonlara sahiptirler. Yumurtaların beyaz renk görünmesi ise, döllenme yeteneği olmayan yumurtaların olgunlaşmış olduğunu göstermektedir. Avrupa yayın balıklarından 10-20 bin adet/kg yumurta alınabileceği bildirilmiştir (Kouril ve diğ., 1992).

Sağımın ardından yumurtalar plastik kaplara maksimum 500 g kuru yumurta olarak konulmaktadır. Her 100 g yumurta için immobilizasyon solüsyonunda saklanan 2 ml sperm ile dölleme gerçekleştirildiği belirtilmektedir (Kouril ve diğ., 1992; Linhart ve diğ., 2001). Erkek

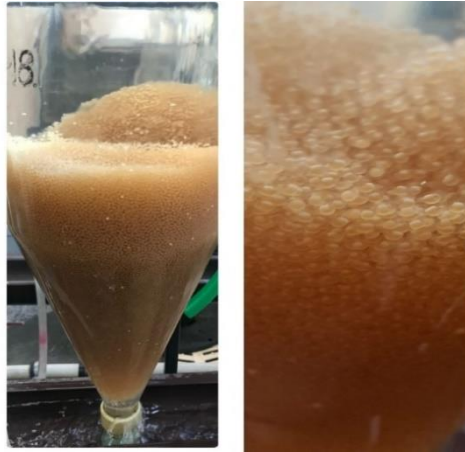
balıktan alınan spermin yetersiz kaldığı durumlarda testis spermi kullanılmaktadır. Testis spermi, 0,5-2 mm göz açıklığında bir kumaştan geçirilen testislerin immobilizasyon solüsyonu içeren bir kaba aktarılması ile elde edilebilir (Kouril ve diğ., 1992). Yumurtalara sperm eklenmesiyle beraber eş zamanlı bir şekilde aktive etmek gerekmektedir. Aktivasyon için 200 gram yumurta için 100 ml aktivasyon solüsyonu (1 g NaCl, 0,6 g Tris, 1 litre damıtılmış HCl) kullanılmaktadır. Aktive olan yumurtaların dikkatlice karıştırılması gerekmektedir (Linhart ve diğ., 2001).

Su ürünleri yetiştiriciliğinde birçok tatlı su balığı türünde iyi bilinen özelliklerden biri de yumurta yapışkanlığıdır. Yumurta yapışkanlık mekanizması, mukopolisakkaritlerden ve mukoproteinlerden oluşan kütle oluşumuyla sonuçlanan foliküler epitel tarafından mukoza sentezine dayanmaktadır. Daha sonra su ile temas sonucu ortama mukozomların salınması tetiklenir ve yapışkanlık ortaya çıkar. Yumurta yapışkanlığını gidermek için kullanılan yöntemler (tanin, alkalaz enzimi vb. gibi), embriyonun hayatta kalmasını ve yumurtadan çıkış oranını etkilemektedir (Siddique ve diğ., 2016). Avrupa yayın balığı yumurtaları, diğer birçok balık türünün yumurtalarından nispeten daha yüksek bir viskoziteye sahiptir ve yapışkanlığı giderilemez ise yumurtalar kurumakta ve döllenme işlemi gerçekleşmemektedir (Linhart ve diğ., 2001). Avrupa yayın balığı yumurtası yapışkan olduğu için yumurta yapışkanlığının giderilmesi için kil veya enzim-alkalin proteaz kullanılmaktadır (Kouril ve diğ., 1992). Kil (100-200 g/l) ile yumurta yapışkanlığının giderilmesi döllenmiş yumurtaların aktivasyonundan 5 dakika sonra yapılmaktadır. Bu işlemden 5-10 dakika sonra yumurtalar temiz su ile yıkanır ve inkübatörlere aktarılır (Kouril ve diğ., 1992).

Linhart ve diğ., (2001) tarafından yumurta aktivasyonundan 5 dakika sonra, alkalaz enzim (20°C sıcaklıktaki 980 ml kuluçka suyuna 20 ml enzim) kullanarak 2 dakika boyunca yumurtaların yapışkanlığının giderilmesi gerçekleştirilmiştir. Bu işlemden hemen sonra yumurtalar temiz su ile yıkanarak kuluçka şişelerine aktarılmıştır. Yumurta yapışkanlığının giderilmesi için alkalaz enziminin kullanılmasında enzimin yoğunluğuna göre oran belirlenmelidir. Çünkü yüksek yoğunluğa sahip alkalaz enzimi kullanılacak ise hazırlanan çözeltideki kullanılan oranın azaltılması gerekmektedir (Kouril ve diğ., 2021).

Yumurta yapışkanlığı giderilmemiş yumurtalar için zuger şişelerinde inkübasyon önerilmez. Kuluçkahanede inkübasyon sırasında kayıplar fazla olmaktadır. Yumurtaların yayıldığı ve tek kat halinde olabileceği monofilament akış kanalına yerleştirilen kumaş (göz açıklığı 1-2 mm) üzerinde inkübe edilmesi önerilmektedir (Kouril ve diğ., 1992). Avrupa yayın balığı yumurtalarında döllenme 22-23°C’de gerçekleştikten sonra 2,5-3 gün içinde larvanın çıkması beklenmektedir. Bir günlük larva yaklaşık 2,6 mg ağırlığındadır (Kouril ve diğ., 1995; Linhart ve diğ., 2002).

Döllenmiş yumurtaların inkübasyonunda kullanılan zuger şişelerinin üçte ikisinden fazlasının (10 litrelik zuger şişesine kuru ağırlığı 600-650 g olan 100,000 yumurta) doldurulmaması gerekmektedir (Şekil 2.6). Döllenmiş yumurtalar zuger şişelerine yerleştirildikten sonra su akışı, yumurtaları yavaşça döndürecek şekilde ayarlanmaktadır. Yumurtalar birbirine ya da zuger şişesinin duvarına yapışır su seviyesini düşürerek yumurtaları kısa süreliğine hızlı bir şekilde döndürerek bu sorun çözülür. Yumurta yapışmasının bir diğer sebebi yumurta yapışkanlığı giderilme prosedürün düzgün yapılmaması veya inkübasyon sırasındaki suyun düşük sıcaklığının sonucu olabilmektedir. Kuluçka süresince ölü yumurtaların günlük olarak uzaklaştırılması ve günde iki kez Wescodyn solüsyonu (22°C su sıcaklığında 2 ml/l) ile mortaliteyi önleyici banyo yapılması gerekmektedir (Linhart ve diğ., 2001).



Şekil 2.6: Avrupa yayın balığı yumurtalarının inkübasyonunda kullanılan zuger şişesi (Özgün).

Yumurtadan çıkan larvalar, 200 litre su hacmine sahip dikdörtgen tanklara alınır. Tanklardaki temiz su girişi 0,2-0,4 l/dk ile su yüksekliği 10-12 cm’ye ayarlanır. Karanlık ortamda 22-23°C sıcaklıkta maksimum 10,000 adet larva yerleştirilir. 2-3 gün içinde larvalar

havuzun köşelerinden çekilerek hareket etmeye başlar. Günde birkaç kez ortamı ölü bireylerden arındırmak gerekir. Larvalar 3-4 günden itibaren (25°C) dış ortamdan besin almaya başlarlar. Avrupa yayın balığı larvaları 1,5 cm'ye ulaştığında büyük havuzlara transferi gerçekleştirilir (Linhart ve diğ., 2001).

2.6. SU ÜRÜNLERİ YETİŞTİRİCİLİĞİNDE LARVAL BESLENMENİN ÖNEMİ

Kültür balıkçılığına yönelik artan taleple birlikte, larvaların sağlıklı ve hızlı gelişimleri için ilk dönemlerinde beslenme konusu oldukça hassastır. Larva ölümlerini azaltmak için uygun yem ve besleme rejimleri kritik öneme sahiptir (Yufera ve diğ., 2003). Bu süreçte dikkat edilmesi gereken bazı unsurlar (su kalitesi, kanibalizm ve salgın hastalıklar gibi) vardır. Bu unsurlara dikkat edilmez ise bu süreçte larvalarda kitlesel kayıplar görülmektedir. Larvalarda görülen kanibalizm uygun yem ve yemleme sonucunda boylama yapılarak önlenmektedir. Bazı balık türlerinin aşırı ışıktan kaçınmaları yaygın olarak bilinmektedir (Villamizar ve diğ., 2011). Larvaların ise tamamen karanlıkta yetiştirilmesi balıklar üzerindeki stres etkilerini düşürerek türün kanibalizm özelliğini azalttığı bildirilmiştir (Kozłowski ve Poczyzynski, 1999). Su kalitesi ve hastalıklar ise kapalı devre sistemlerin kullanılmasıyla kontrol altına alınmaktadır (Demir, 2017).

Larvaların keseli evreden karma yeme geçiş dönemine kadar olan süreç içerisindeki ölüm oranlarının canlı yem kullanımı ile azaldığı bildirilmiştir (Liao ve diğ., 2001). Doğal ortamda ve yetiştiricilik koşullarında besin kesesini tüketen balık larvaları zooplankton ile beslenir. Bu yüzden kuluçkahanelerde rotifer ve artemia gibi canlı yemler üretilmekte ve larvaların canlı yem ile beslenmesi sağlanmaktadır (Policar ve diğ., 2007; Lahnsteiner ve diğ., 2012).

Larva beslemede, yem türünün yetiştiricilik üzerinde doğrudan etkisi olup, türler arasında farklılık göstermektedir (Zarski ve diğ., 2011). Formüle edilen mikro yemler, başlangıç yemi olarak larvalar için test edilir (Lahnsteiner ve diğ., 2012). Bazı tatlı su balık türleri larvaları (sazan balığı, gökkuşaağı alabalığı gibi) hayatta kalmaları üzerinde önemli bir etki olmaksızın ilk günden itibaren karma yemle beslenebilir. Endojen beslenmeden eksojen beslenmeye geçiş döneminde larva kayıpları yüksektir (Bakhtiyar ve diğ., 2017). Bu yüzden tatlı su türlerinin canlı yem ile eksojen olarak sindirim enzimlerini almaya gereksinimleri vardır (Zarski ve diğ., 2011). Larvaları sadece başlangıç yemiyle beslemeye başlamanın dezavantajları; iştahsızlık,

hastalık direncinde azalma ve büyümenin durması olarak bilinmektedir. Bunun sonucunda yüksek stok ölümleri görülmektedir (Kujawa, 2004). Larvaların eksojen beslemenin başlangıcında, verilen besine duyarlı olduğu kanıtlanmış ve sadece formüle edilmiş yem ile (toz yem, karma yem, mikropartikül yem ve başlangıç yemi) beslemenin larvaların hareketini azalttığı ve mortaliteyi arttırdığı bildirilmiştir (Zarski ve diğ., 2011).

Balık larvaları için mikro diyetlerin geliştirilmesi, doğru besin bileşenlerinin kullanılmasına bağlıdır. Sindirim sisteminin ontogenetik gelişimi, sindirim enzimlerinin doğrudan veya dolaylı aktivasyonu ve diyetin farklı bileşenlerinin sindirilebilirliği ile ilgili hususları da içermelidir (Kolkovski, 2001). Bazı tatlı su balığı larvaları, ağızları açılır açılmaz formüle edilmiş diyetlerle beslenebilse de deniz balıklarında kuluçkahanede yalnızca birkaç hafta sonra canlı yem, kural olarak karma yemlerle değiştirilir (Cahu ve Infante, 2001). Bununla birlikte, formüle edilmiş diyetlerin tek yem kaynağı olarak erken tanıtılması, tatlı su türlerinde bile sınırlı bir başarıda olduğu bilinmektedir (Koven ve diğ., 2001). Ontogenetik gelişim sırasında sindirim sisteminin farklılaşması bilgisi, larval balıkların beslenme fizyolojisini anlamak ve gelişimin fizyolojik aşamasını besleme uygulamaları ve yetiştirme protokolü ile senkronize etmek için gereklidir (Senger ve diğ., 1993). Deniz ve tatlı su balığı türünün sindirim sisteminin ontogenetik gelişiminde, yumurtadan çıktıktan sonra sindirim sisteminin basit bir tüp olduğu bilinmektedir. Larva dönemi ağızın açılmasıyla başlar ve mide bezlerinin görünümü larva gelişim dönemi boyunca değişikliğe uğrar (Kjorsvik ve diğ., 1991; Boulhic ve Gabaudan, 1992; Gawlicka ve diğ., 1995; Santamaria ve diğ., 2004). Genel olarak larvalar, yumurtadan çıktıktan sonra yumurta sarısı ve lipid globülleri emilene kadar değişmeden kalan basit epitelden oluşan düz bir bağırsağa sahiptir (Govoni ve diğ., 1986; Ferrais ve diğ., 1987; Verreth ve diğ., 1992; Sarasquete ve diğ., 1995).

Larva yetiştirmedeki kritik aşama, larvaların doğal yemlerden formüle edilmiş yemlere geçiş sürecidir. Eksojen beslenmenin başlangıcında, kemikli balıkların larvaları düz veya kıvrımlı bir sindirim sistemine sahip olabilir ve bu andan itibaren birkaç hızlı morfolojik değişiklik meydana gelmektedir (Buddington ve Cristofferson, 1985; Gisbert ve Williot, 1997; Rao, 2003; Frommel ve diğ., 2014; Crespel ve diğ., 2017). Bu yüzden post larva döneminde uygun besleme sıklığı ve günlük yem alımı büyüme, gelişme ve hayatta kalma oranında kritik aşama olarak kabul edilir (Volkof ve Peter, 2006).

3. MALZEME VE YÖNTEM

Bu tez çalışması iki dönemden oluşmaktadır. Birinci dönem denemeleri Çek Cumhuriyeti’nde, ikinci dönem denemeleri ise Türkiye’de yürütülmüştür.

3.1. MALZEME

3.1.1. Çalışma Yeri

Bu çalışmanın birinci dönem denemeleri, 3-16 Haziran 2019 tarihleri arasında Güney Bohemia Üniversitesi, Balıkçılık ve Suların Korunması Fakültesi (Faculty of Fisheries and Protection of Waters), Balık Üretimi ve Hidrobiyoloji Araştırma Enstitüsü’nde (Fish Culture and Hydrobiology) gerçekleştirilmiştir.

3.1.2. Balık Temini, Nakli ve Bakımı

Çalışmanın birinci dönem denemelerinde kullanılan anaç yayın balığına ait dişi ve erkek bireyler üreme dönemi başlangıcında (4 Haziran 2019) saf oksijen destekli taşıma tanklarıyla çalışmanın yapılacağı yer olan Balık Kültürü ve Hidrobiyoloji Araştırma Enstitüsü’nde bulunan toprak havuzlardan ıgırıp ağ yardımıyla temin edilmiş (Şekil 3.1) ve toplam 12 adet anaç balık (6 ♀ - 6 ♂) kuluçkahaneye getirilmiştir. Dişi ve erkek anaç balıkların ortalama canlı ağırlığı sırasıyla $15,03 \pm 0,83$ kg ve $23,82 \pm 4,93$ kg olarak ölçülmüştür.



Şekil 3.1: Çek Cumhuriyeti’nde anaç balıkların bulunduğu toprak havuz (Özgün).

Kuluçkahaneye getirilen anaç balıklar ikincil eşey özelliklerine göre dişi ve erkek anaç balıklar olarak ayrı ayrı bölmelere yerleştirilmiştir. Eşey ayrımı papilla ve abdomen kısımlarına

bakılarak tespit edilmiştir (Şekil 3.2). Erkek bireyin papillası daha sivri abdomen kısmı basıktır. Dişi bireyin ise papillası daha oval ve kırmızı renkte abdomen kısmı şişkindir.



Şekil 3.2: Dişi ve erkek Avrupa yayın balıkları (Özgün).

Sağım öncesinde bulundukları ortama uyum sağlamaları ve strese girmemeleri için tankların üstleri ışık girmeyecek şekilde branda ile kapatılmıştır (Şekil 3.3).



Şekil 3.3: Avrupa yayın balıklarının stoklandığı tanklar (Özgün).

3.1.3. Denemede Kullanılan Hormon

Bu tez çalışmasının birinci döneminde yumurtlatma hormonu olarak ticari sazan hipofiz hormonu kullanılmıştır. Uygun ortamda muhafaza edilen pelet şeklindeki sazan hipofiz hormonlarının hazırlanmasında %0,9'luk serum fizyolojik [NaCl (Braun-3570140)] solüsyon kullanılmıştır.

3.1.4. Denemede Kullanılan Cihazlar

Tez çalışmasının birinci dönem denemeleri boyunca sperm görüntüleme işlemlerinde binoküler mikroskop (Nikon ECLIPSE) ve (Proiser, Valencia, İspanya) bilgisayar destekli otomatik sperm analizi sistemi kullanılmıştır. Kimyasal hazırlanmasında masa tipi pH metre (WTW inoLab pH 7110) ve masa üstü hassas terazi (Kern ADB $\pm$ 0,001g) kullanılmıştır. Yumurtaların tartılmasında ve saklanması ise terazi (Kern EBM $\pm$ 0.01g) ve inkübatörler (Poll Lab-Q Cell) kullanılmıştır.

3.1.5. Denemede Kullanılan Kimyasal Malzemeler

Çalışmanın birinci döneminde, sağımlı sonrası sperm hareketliliğini azaltmak için immobilizasyon solüsyonu [NaCl (Penta-7647145), Tris (Sigma-25859)], spermin aktivasyonu için aktivasyon solüsyonu [NaCl (Penta-7647145), Tris (Sigma-25859), Pluronic (Sigma-P2443)], anaç balıkların bayılması için fenoksietanol (Sigma-122996), yumurta yapışkanlığının giderilmesi için alkalaz enzimi (Merck-126741) kullanılmıştır.

3.2. YÖNTEM

3.2.1. Hormon Uygulama İşlemi

Su sıcaklığı 22°C'ye ulaştığında dişi ve erkek anaç balıklara anestezi işlemi uygulanmadan 5 mg/kg olacak şekilde sazan hipofiz hormonu enjeksiyon işlemi gerçekleştirilmiştir (Linhart ve diğ., 2004). Ağırlığı tespit edilen anaç bireylerin toplam ağırlıklarına göre uygulanacak hormon miktarı hesaplanarak belirlenmiştir. Pelet formdaki sazan hipofiz hormonu porselen havanda iyice öğütülüp toz haline getirildikten sonra %4 oranında serum fizyolojik ile çözündürülmüştür. Hormon solüsyonu, enjeksiyon işleminden hemen önce taze olarak hazırlanmıştır. Enjeksiyon için masaya alınan erkek ve dişi anaç balıklara sazan hipofiz hormonu, insülin enjektörü kullanılarak dorsal yüzgecinin sağına ve soluna olacak şekilde 45° açı ile intramusküler olarak

tek doz enjekte edilmiştir (Şekil 3.4). Enjeksiyon işlemi biten balıklar tekrar alındıkları tanklarda üstleri kapatılarak sağıma kadar 24 saat bekletilmiştir.



Şekil 3.4: Avrupa yayın balığına hormon uygulaması (Özgün).

3.2.2. Gamet Alımı

Enjeksiyon işleminden 24 saat sonra dişi ve erkek anaç balıkların sağım aşamasına geçilmiştir. Sağım işleminden hemen önce anaç balıklara su banyosunda 2-fenoksietanol (1000 $\mu\text{l/l}$) anestezi işlemi uygulanarak bayılmaları sağlanmıştır (Linhart ve diğ., 2004) (Şekil 3.5).



Şekil 3.5: Avrupa yayın balığına anestezi uygulaması (Özgün).

Sağım erkek anaç balıklar ile başlanmıştır. Erkek anaç balıklar sağılmadan önce abdomen kısmı ve papilla kurulanmıştır. Abdomen kısmı sıvazlanarak vakum yardımıyla sağılan erkek anaç balıklardan sağılan sperm, 10 ml immobilizasyon solüsyonu (IS: 200 mM NaCl, 30 mM Tris-HCl, pH 7) içeren 20 ml'lik cam tüp içine alınmıştır (Linhart ve diğ., 1987; Saad ve Billard, 1995). Cam tüp içine alınan sperm dikkatlice çalkalanmış, 0°C'de strafor kutu içinde bulunan yaprak buz üzerinde sağım boyunca bekletilmiştir. Erkek anaç balıktan tüp içerisine alınan sperm 24 saat boyunca 0-2°C'de yumurta sağımına kadar buzdolabında saklanmıştır. Dişi anaç balıklar sedye üzerinde yan olarak yerleştirilip sağılmadan önce anüs kısmı ve papillası kurutularak abdomen kısmının sıvazlanması yöntemiyle kuru ortamda plastik kap içerisine koyu renkli yumurtalar alınarak sağım işlemi gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.6).



Şekil 3.6: Avrupa yayın balığı dişi ve erkek sağım işlemi (Özgün).

3.2.3. Sperm Kalitesinin İncelenmesi

Erkek balıklardan elde edilen sperm motilite yüzdesinin belirlenmesinden sonra %70'in üstünde motiliteye sahip 6 bireyden elde edilen spermelerin tümü bir araya getirilerek karıştırılmış ve döllenme işlemlerinde bu sperm kullanılmıştır. Sperm motilite yüzdesi ve hızının tespitinde 1:40 (sperm: aktivasyon solüsyonu) oranında aktivasyon solüsyonu (17mM

NaCl + 5 mM Tris-HCl + %0,25 Pluronic F-127, pH: 8) kullanılmıştır (Legendre ve diğ., 1996). Aktive edilmiş spermatozoa, 0., 1. ve 7. günlerde 25 kare/s'ye ayarlanmış uEye Cockpit yazılımı ile donatılmış bir ISAS dijital kamera (PROISER, İspanya) ile 10× objektif lens kullanılarak mikroskopta (UB 200i, PROISER, İspanya) incelenmiştir. Video kayıtları AVI formatında kaydedilmiş ve ISAS yazılımı (PROISER, İspanya) ile 15., 30. ve 45. saniyelerde analiz edilmiştir. Sperm hareketlilik parametreleri, eğrisel hız (VCL, $\mu\text{m}/\text{sn}$), doğrusal hız (VSL, $\mu\text{m}/\text{sn}$) ve motilite yüzdesi (%) oda sıcaklığında (21°C) üç tekrar olarak bilgisayar destekli sperm analiz (CASA-ISAS yazılım) sistemi kullanılarak belirlenmiştir. Hızı $10 < \mu\text{m}/\text{s}$ olan sperm hareketsiz kabul edilmiştir (Linhart ve diğ. 2004).

Spermatozoa yoğunluğu, Bürker lamı yardımıyla hemositometrik yöntem (Marienfeld, Almanya) kullanılarak belirlenmiştir. Mikroskop altında [Olympus mikroskop BX 41 (4009)], sperm örnekleri 1:10,000 oranında NaCl (%0,9) çözeltisi içerisinde seyreltilerek her karedeki spermatozoa sayısı (12 diyagonal karede 5 ile 25 arasında olanlar sayıma tabi tutulmuş) $\times 10^9$ ml^{-1} olarak belirlenmiştir (Linhart ve diğ. 2004).

$$\text{Yoğunluk (ml}^{-1}\text{)} = (\text{sulandırma oranı}) \times (12 \text{ karede sayım}) \times (0,92 \times 10^9)$$

$$\text{Yoğunluk (ml}^{-1}\text{)} = (\text{sulandırma oranı}) \times (12 \text{ karede sayım}) \times (0,94 \times 10^9)$$

$$\text{Yoğunluk (ml}^{-1}\text{)} = (\text{sulandırma oranı}) \times (12 \text{ karede sayım}) \times (0,65 \times 10^9)$$

3.2.4. Deneme Gruplarının Oluşturulması

Tez çalışmasının birinci döneminde beş farklı deneme gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmalar aşağıda verilmiştir.

Deneme I: İki farklı sperm yoğunluğunun zamana bağlı (0. saat ve 24 saat) dölleme başarısının karşılaştırılması

Bu deneme gurubunda dişi balıktan elde edilen yumurtalar kullanılarak iki farklı sperm yoğunluğu ile dölleme gerçekleştirilmiştir. Dişi anaç balıklardan alınan 0,3 g yumurta (yaklaşık 50-60 adet) ile 0. saatte sağılan spermin ve 24 saat süre ile 0-2°C de bekletilen erkek anaç balıklardan elde edilen spermin iki farklı yoğunluğu kullanılarak dört farklı deneme grubu oluşturulmuştur. Spermatozoa yoğunluğu sırasıyla 5×10^4 adet/ml (2,66 μl), 5×10^5 adet/ml (26,6 μl), 5×10^4 adet/ml (2,77 μl) ve 5×10^5 adet/ml (27,7 μl) olarak ayarlanan sperm, 0,3 g yumurta ile 3 ml dölleme suyu (kuluçka suyu) eklenmiş ve bir dakika süreyle dijital orbital çalkalayıcıda

(150 rpm) karıştırıldıktan sonra 100 ml'lik beher içerisinde döllenme işlemi gerçekleştirilmiştir. Dört beher kabından oluşan her grup dört deneme kutusuna (13,5 cm x 10 cm x 6,5 cm) ayrı ayrı yerleştirilmiş ve 300 ml klorsuz dinlendirilmiş musluk suyu ile doldurulmuştur. Bu kutular inkübasyon süresi boyunca 22°C'de klimalı bir laboratuvarında tutulmuştur. Deneme grupları kendi içinde dört paralel olacak şekilde tasarlanarak farklı zamanlarda (0. saat ve 24 saat) ve farklı yoğunluklarda kullanılan spermin döllenme başarısına etkisi karşılaştırılmıştır. Deneme grupları aşağıda Tablo 3.1'de verilmiştir

Tablo 3.1: Deneme I gruplarında kullanılan sperm hacmi (μ l) ve yoğunluğu (adet/ml).

Deneme I Grupları	Sperm Hacmi (μ l)	Sperm Yoğunluğu (adet/ml)
0 saat kullanılan sperm	2,66	5×10^4
0 saat kullanılan sperm	26,6	5×10^5
24 saat kullanılan sperm	2,77	5×10^4
24 saat kullanılan sperm	27,7	5×10^5

Deneme II: İki farklı sperm yoğunluğunun zamana bağlı (0. saat ve 168. saat) dölleme başarısının karşılaştırılması

Bu deneme grubunda, dişi balıktan elde edilen yumurtalar kullanılarak iki farklı sperm yoğunluğu ile döllenme gerçekleştirilmiştir. Dişi anaç balıklardan alınan 0,3 g yumurta (yaklaşık 50-60 adet) ile 0. saatte sağılan ve 168 saat süre ile 0-2°C de bekletilen erkek anaç balıklardan elde edilen spermin iki farklı yoğunluğu kullanılarak dört deneme grubu oluşturulmuştur. Spermatozoa yoğunluğu sırasıyla 5×10^5 adet/ml (27,2 μ l), 5×10^6 adet/ml (5,43 μ l), 5×10^5 adet/ml (19,23 μ l) ve 5×10^6 adet/ml (7,69 μ l) olarak ayarlanan sperm, 0,3 g yumurta ile 3 ml dölleme suyu (kuluçka suyu) eklenmiş ve bir dakika süreyle dijital orbital çalkalayıcıda (150 rpm) karıştırıldıktan sonra 100 ml'lik beher içinde dölleme işlemi gerçekleştirilmiştir. Dört beher kabından oluşan her grup dört deney kutusuna (13,5 cm x 10 cm x 6,5 cm) ayrı ayrı yerleştirilmiş ve 300 ml klorsuz dinlendirilmiş musluk suyu ile doldurulmuştur. Bu kutular inkübasyon süresi boyunca 22°C'de klimalı bir laboratuvarında tutulmuştur. Deneme grupları kendi içinde dört paralel olacak şekilde tasarlanarak farklı zamanlarda (0. saat ve 168 saat) ve

farklı sperm yoğunluklarının dölleme başarısına etkisi karşılaştırılmıştır. Deneme grupları aşağıda Tablo 3.2’de verilmiştir.

Tablo 3.2: Deneme II gruplarında kullanılan sperm hacmi (μ l) ve yoğunluğu (adet/ml).

Deneme II Grupları	Sperm Hacmi (μ l)	Yoğunluk (adet/ml)
0 saat kullanılan sperm	27,7	5×10^5
0 saat kullanılan sperm	5,43	5×10^6
168 saat kullanılan sperm	19,23	5×10^5
168 saat kullanılan sperm	7,69	5×10^6

Deneme III: İki farklı sıcaklıkta tutulan yumurtaların farklı saatlerde dölleme başarısının karşılaştırılması

Bu deneme grubunda üç farklı dişi anaç balıktan elde edilen yumurtalar, aerobik koşullar altında iki farklı sıcaklık derecesindeki (17°C ve 22°C) inkübatörlerde 50 ml’lik beherlerde 20 g olarak ayrı ayrı muhafaza edilmiştir. İki farklı sıcaklıklarda saklanan bu yumurtaların 1’inci, 3’üncü, 5’inci ve 7’inci saatlerde dölleme işlemi için toplama 4 deneme grubu oluşturulmuştur. Dişi anaç balıklardan alınan 0,3 g yumurta (yaklaşık 50- 60 adet), 20 μ l sperm (yaklaşık 3,600,000 adet spermatozoa) ile 3 ml dölleme suyu eklenmiş ve 1 dakika süreyle dijital orbital çalkalayıcıda (150 rpm) karıştırılarak 100 ml’lik beher içerisinde dölleme işlemi gerçekleştirilmiştir. Dört beher kabından oluşan her grup dört deneme kutusuna (13,5 cm x 10 cm x 6,5 cm) ayrı ayrı yerleştirilmiş 300 ml klorsuz dinlendirilmiş musluk suyu doldurulmuştur. Bu kutular inkübasyon süresi boyunca 22°C ’de klimalı bir laboratuvarında tutulmuştur. Deneme grupları kendi içinde dört paralel olacak şekilde tasarlanarak iki farklı sıcaklıkta ve farklı sürelerde bekletilen yumurtaların dölleme başarısına etkisi karşılaştırılmıştır.

Deneme IV: Alkalaz enzimi kullanılarak dölleme başarısının karşılaştırılması

Bu deneme grubunda, aynı dişi anaç balıktan elde edilen yumurtalar ile 0. saatte sağılan ve 24 saat ($0-2^{\circ}\text{C}$) bekletilen sperm dölleme için kullanılmıştır. Yumurtalar iki farklı zamanda bekletilen sperm ile dölleme işleminden sonra alkalaz enzimi (4 ml/l) ile muamele edilmiştir. Dişi anaç balıklardan alınan 300 g yumurta (yaklaşık 54,000 adet) ile 1 ml sperm kullanılarak

150 ml dölleme suyu eklendikten sonra yavaşça karıştırılarak dölleme işlemi sağlanmıştır. Dölleme işleminden iki dakika sonra 100 g yumurta örneği alınarak her bir deneme grubunda 13,5 cm x 10 cm x 6,5 cm boyutlarındaki kutulara ayrı ayrı yerleştirilmiş 300 ml klorsuz dinlendirilmiş musluk suyu doldurulmuştur. Dölleme işleminden beş dakika sonra döllenen yumurtalara alkalaz enzim (4,0 ml) uygulaması yapılmıştır. İki dakika bekledikten sonra 100 g yumurta örneği alınarak deneme kutularına yerleştirilmiştir. Bu kutular inkübasyon süresi boyunca 22°C’de klimalı bir laboratuvarında tutulmuştur. Deneme grupları kendi içinde dört paralel olacak şekilde tasarlanarak alkalaz enzimi kullanılan yumurtaların döllenme başarısına etkisi karşılaştırılmıştır.

Deneme V: Farklı enzim (alkalaz) oranları kullanılarak dölleme başarısının karşılaştırılması

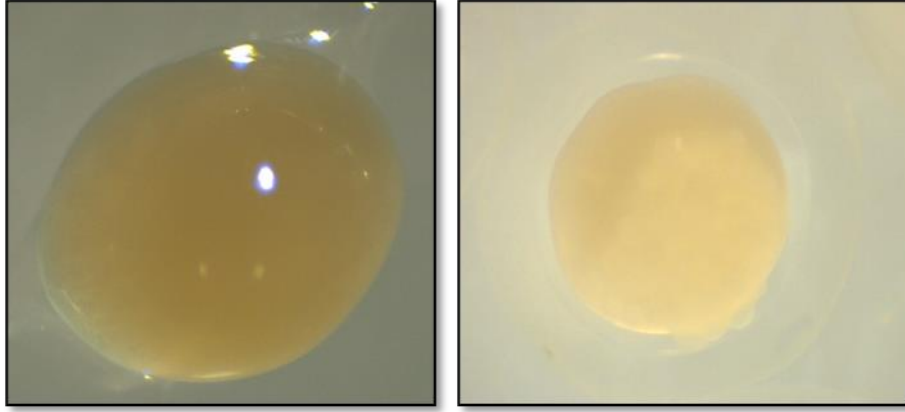
Bu deneme grubunda, farklı alkalaz enzim oranları kullanılarak dölleme işlemi gerçekleştirilmiştir. Dişi anaç balıktan alınan 100 g yumurta (yaklaşık 16,000 adet) ile 1 ml sperm ve 50 ml dölleme suyu eklendikten sonra yavaşça karıştırılarak dölleme gerçekleştirilmiştir. Dölleme işleminden iki dakika sonra 100 g yumurta örneği alınarak her bir deneme grubunda 13,5 cm x 10 cm x 6,5 cm boyutlarındaki kutulara ayrı ayrı yerleştirilmiş 300 ml klorsuz dinlendirilmiş musluk suyu doldurulmuştur. Bu işlemde beş dakika bekledikten sonra, sırasıyla 3,0 ml/l, 3,5 ml/l, 4,0 ml/l ve 5,0 ml/l oranlarında alkalaz enzimi döllemiş yumurtalara uygulanarak iki dakika yavaşça karıştırıldıktan sonra deneme kutularına yerleştirilmiştir. Bu kutular inkübasyon süresi boyunca 22°C’de klimalı bir laboratuvarında tutulmuştur. Deneme grupları kendi içinde dört paralel olacak şekilde tasarlanarak farklı alkalaz enzim oranlarının yumurtaların döllenme başarısına etkisi karşılaştırılmıştır.

Deneme gruplarındaki yumurtalar 1’inci, 3’üncü ve 5’inci günlerde gerçek sayım yöntemi ile çekilen fotoğraflar üzerinden sayılarak tespit edilmiştir (Linhart ve diğ., 2004). Yumurta sayımı yapılan günler mantarlaştıran yumurtalar ortamdaki uzaklaştırılmış ve kayıt altına alınmıştır (Şekil 3.7).



Şekil 3.7: Deneme gruplarında yumurta sayımı ve kontrolü (Özgün).

Deneme gruplarında döllenmiş ve ölü yumurta örnekleri alınmış ve fotoğrafları çekilmiştir (Şekil 3.8).



Şekil 3.8: Avrupa yayın balığı, A: döllenmemiş yumurta, B: döllenmiş yumurta (Özgün).

Avrupa yayın balığı gamet kalitesini belirlemek için; döllenme oranı, deforme larva oranı ve larva çıkış oranı hesaplanmıştır Deforme larvalar (Şekil 3.9); kıvrık kuyrukları, eğri ve kısa vücut yapılarıyla belirlenmiştir (Linhart ve diğ., 2004).



Şekil 3.9: Deforme Avrupa yayın balığı larvası (Özgün).

Hesaplamalar aşağıdaki şekilde yapılmıştır:

$$\text{Döllenme oranı (\%)} = (\text{Döllenmiş yumurta sayısı} / \text{Toplam yumurta sayısı}) \times 100$$

$$\text{Deforme Larva Oranı (\%)} = (\text{Deforme larva sayısı} / \text{Toplam yumurta sayısı}) \times 100$$

$$\text{Larva çıkış oranı (\%)} = (\text{Yumurtadan çıkan larva sayısı} / \text{Toplam yumurta sayısı}) \times 100$$

3.2.5. İstatistiksel Analiz

I. Dönem denemelerinde elde edilen verilerin analizinde SPSS 20.0 (IBM SPSS Software, ABD) yazılımı kullanılmıştır. Çalışmada dört paralel kullanılarak elde edilen tüm verilerde ortalama değerler alınmış ve standart sapmalarıyla ($\text{Ort} \pm \text{SD}$) birlikte sunulmuştur. Elde edilen verilerin istatistiksel analizi gruplar arasında çok faktörlü varyans analizi (ANOVA) ile veri dağılımının homojenliği için Levene testi kullanılarak yapılmıştır. Ortalamalar arasındaki tüm farklılıklar LSD testi ile belirlenmiştir. Verilerin istatistiksel öneminde $p < 0,05$ olasılık değeri anlamlı kabul edilmiştir.

Etik Kurul İzni

Bu tez çalışması birinci dönem denemeleri Çek Cumhuriyeti'nin AB ile uyumlaştırılmış Hayvan Refahı Yasası ilkelerine göre yapılmıştır. 4 Ekim 2016 tarihinden itibaren 5 yıl süreyle geçerli olan 56665/2016-MZE-17214 (17OZ19180/2016–17214) referans numaralı deney hayvanları izni ile gerçekleştirilmiştir.

3.3. MALZEME

3.3.1. Çalışma Yeri

Bu çalışmanın ikinci dönem denemeleri, 17 Mayıs-17 Haziran 2021 tarihleri arasında Tarım ve Orman Bakanlığına bağlı Antalya Su Ürünleri Eğitim, Araştırma ve Uygulama Müdürlüğü'ne ait Kepez Birimi'nde gerçekleştirilmiştir.

3.3.2. Balık Temini, Nakli ve Bakımı

II. Dönem denemelerinde, dişi ve erkek yayınlar üreme dönemi başlangıcında (17 Mayıs 2021) saf oksijen destekli taşıma tanklarıyla beton havuzlardan seçilerek kuluçkahaneye taşınmıştır. Denemelerde toplam 14 adet anaç balık (7 ♀ - 7 ♂) kullanılmıştır. Dişi ve erkek anaç balıkların ortalama canlı ağırlığı sırasıyla $11,3 \pm 1,01$ kg ve $9,29 \pm 1,0$ kg olarak ölçülmüştür (Şekil 3.10).



Şekil 3.10: Avrupa yayın balığı anaçlarının bulunduğu beton havuz (Özgün).

Kuluçkahaneye getirilen anaç balıklar ikincil eşey özelliklerine göre dişi ve erkek anaç balıklar olarak ayrılarak ayrı ayrı beton havuz bölmelerine yerleştirilmiştir. Sağım öncesinde strese girmemeleri için bulundukları havuzların üstleri file ağ ile kapatılmıştır (Şekil 3.11).



Şekil 3.11: Avrupa yayın balıklarını stoklandığı havuz (Özgün).

3.3.3. Denemede Kullanılan Hormon

Bu tez çalışmasının ikinci döneminde, yumurtlatma hormonu olarak ticari sazan hipofiz (Sigma-P3034) hormonu kullanılmıştır. Uygun ortamda muhafaza edilen toz şeklindeki sazan hipofiz hormonlarının hazırlanmasında %9'luk serum fizyolojik [NaCl (Sigma-S8776)] solüsyon kullanılmıştır.

3.3.4. Denemede Kullanılan Cihazlar

Tez çalışmasının ikinci dönem denemeleri boyunca ölçüm ve görüntüleme işlemlerinde ışık (Nikon ECLİPSE Ci) ve binoküler mikroskoplar (Leica) kullanılarak yapılmıştır. Deneme süresince kimyasal hazırlanmasında kullanılan masa tipi pH metre (WTW 7310), yumurtaların ve larvaların tartımında masa üstü hassas terazi (SHIMADZU ATX324R $\pm$ 0,001g) kullanılmıştır. Suyun fiziksel parametre değerleri YSI ProODO ölçüm cihazı ile günde 2 kez ölçülmüştür.

3.3.5. Denemede Kullanılan Kimyasal Malzemeler

Çalışmanın ikinci döneminde sağım sonrası spermi hareketliliğini azaltmak için immobilizasyon solüsyonu [NaCl (Sigma-31434), Tris (Sigma-B9754)], spermin aktivasyonu için aktivasyon solüsyonu [NaCl (Sigma-31434), Tris (Sigma-B9754), Pluronic (Sigma-P2443)], anaç balıkların bayılması için fenoksietanol (Sigma-122996) ve yumurta yapışkanlığının giderilmesi için Tanin (Merck-K40726173) kullanılmıştır.

3.3.6. Denemede Kullanılan Yem

Çalışmada kullanılan %62 ham protein, %14 ham yağ, %8 kül, %0,2 ham selüloz içeriğine sahip 250-400 µm ve 300-500 µm boyutlarında mikropartikül ticari yem kullanılmıştır. Yayın balığına özgü üretilen larva yemleri Skretting Türkiye tarafından temin edilmiştir.

3.4. YÖNTEM

3.4.1. Hormon Uygulama İşlemi

Su sıcaklığı 22°C'ye ulaştığında dişi ve erkek anaç balıklar hormon uygulamasından hemen önce alınıp su banyosunda 0,5 ml/l oranında 2-fenoksietanol uygulanarak anestezi işlemi gerçekleştirilmiştir (Neiffer ve Stamper, 2009). Hormon miktarı balıkların ağırlıklarına göre dişi ve erkek anaç balıklar için 5 mg/kg olacak şekilde, sazan hipofiz hormon enjeksiyon işlemi gerçekleştirilmiştir (Linhart ve diğ., 2004). Toz formdaki sazan hipofiz hormonu %4 oranında serum fizyolojik solüsyonu ile çözdürülmüştür. Hormon solüsyonu enjeksiyon işleminden hemen önce taze olarak hazırlanmıştır. Enjeksiyon için masaya alınan erkek ve dişi anaç balıklar ağırlıklarına göre sazan hipofiz hormonu insülin enjektörü kullanılarak dorsal yüzgecinin sağına ve soluna olacak şekilde 45° açı ile intramusküler olarak tek doz enjekte edilmiştir. Enjeksiyon işlemi biten balıklar tekrar alındıkları dikdörtgen kuluçkahanedeki beton havuzlarda üstleri kapatılarak sağına kadar 24 saat bekletilmiştir.

3.4.2. Gamet Alımı

Enjeksiyon işleminden 24 saat sonra dişi ve erkek anaç balıklar için sağım aşamasına geçilmiştir. Sağım işleminden hemen önce anaç balıklara su banyosunda 0,5 ml/l oranında fenoksietanol ile anestezi işlemi uygulanarak bayılmaları sağlanmıştır (Neiffer ve Stamper, 2009). Erkek anaç balıklardan iki farklı yöntem ile gamet alımı gerçekleştirilmiştir. Erkek anaç balıklar sağılmadan önce abdomen kısmı ve papilla kurulanmıştır. İlk yöntem erkek anaç balıklara uygulanan cerrahi metot (CS) olan "laparotomi" yöntemi ile testis dokusunun çıkarılmasıyla sperm alınması işlemidir. Cerrahi işlem için steril cerrahi aletlerden oluşan bir cerrahi kit kullanılmıştır. Erkek bireylerin abdomen kısmı yaklaşık 5 cm kesilerek, derinin peritondan ayrılması ile testis dokusu alınmış ve periton üzerinde sekiz şeklinde dikişler atılarak dikilmiştir. Testiküler sperm operasyonu sırasında diğer organlara zarar gelmemesi için testis

dikkatlice çıkarılmıştır. Testis dokusu çıkarıldıktan sonra küçük küçük parçalara ayrılarak 200 μm 'lık bir plankton ağı ile behere süzülerek aktarılmıştır (Şekil 3.12).



Şekil 3.12: Cerrahi yöntem ile testis çıkarılmasıyla sperm elde edilmesi (Özgün).

İkinci yöntemde ise cerrahi olmayan metotta, abdomen kısmı sıvazlanarak vakum yardımıyla sağılan sperm (SS) cam tüp içine alınarak, 0°C buz aküleri üzerine sağım boyunca bekletilmiştir (Şekil 3.18). Sağılan sperm 10 ml immobilizasyon solüsyonu (200 mM NaCl, 30 mM Tris-HCl, pH 7) içeren 20 ml'lik cam tüp içine vakum yardımıyla alınmıştır (Linhart ve diğ., 1987; Saad ve Billard, 1995). Dişi anaç balıklar, sedye üzerinde yan konulup, sağılmadan önce anüs ve papilla kısmı kurularak, abdomen kısmının sıvazlanması yöntemiyle kuru ortamda plastik kap içerisine yumurtalar alınarak sağılmıştır (Şekil 3.13).



Şekil 3.13: Sağım yoluyla sperm elde edilmesi (Özgün).

Sağım sonrasında spermilerin motiliteleri ışık mikroskop altında (20x) tespit edilmiştir. Aktivasyondan sonra spermatozoonların hareket biçimine göre 5 skala yöntemi kullanılarak ölçüm yapılmıştır (Morisawa ve Morisawa, 1986; Cosson, 2008).

Buna göre;

- 5 nolu skala (%100-75)= Tüm spermatozoonlar ileri doğru hızlı hareket eder.
- 4 nolu skala (%75-50)= Birçok spermatozoon ileri doğru hızlı hareket eder; bununla beraber bazı spermatozoonlar da yavaş hareket, zigzag hareket, titreme hareketi de görülebilir.
- 3 nolu skala (%50-25)= Bazı spermatozoonlar ileri doğru hızlı hareket eder, bazı spermatozoonlar da zigzag ve titreme hareketi görülebilir, bazı spermatozoonlar hareket etmezler.
- 2 nolu skala (%25-5)= İleri doğru hareket nadirdir. Bazı spermatozoonlar titreme hareketine sahiptir.
- 1 nolu skala (%5-0)= Spermatozoonlar hareketsizdir.

Erkek balıklardan elde edilen spermilerin motilite oranı skala yöntemine göre 5 nolu skala olarak (%100-75) tespit edilmiş ve motilite oranı %75'in altında olanlar dölleme işleminde kullanılmamıştır.

3.4.3. Deneme Gruplarının Oluşturulması

Tez çalışmasının ikinci döneminde iki farklı deneme yapılmıştır. Bu çalışmalar aşağıda verilmiştir.

Deneme I: Farklı iki yöntemle sperm alımında dölleme başarısının karşılaştırılması

Bu deneme grubunda aynı dişi balıktan elde edilen yumurtalar farklı iki metot ile alınan sperm (CS ve SS) kullanılarak iki deneme grubu oluşturulmuştur. Dişi anaç balıklardan alınan 300 g yumurta ile 1 ml sperm 150 ml dölleme suyu (kuluçka suyu) eklenerek, 1 dakika süreyle yavaşça karıştırıldıktan sonra dölleme işlemi gerçekleştirilmiştir. Dölleme işleminden hemen sonra yumurtaların yapışkanlığının giderilmesi için 0,5 g/l tanin 20 sn uygulanarak deneme kutularına (18 cm x 18 cm x 6 cm) yerleştirilmiştir. Her deneme grubuna 600 ml klorsuz

dinlendirilmiş musluk suyu doldurulmuştur. Her bir deneme grubu kendi içerisinde dört paralel olacak şekilde tasarlanmıştır.

Deneme II: Avrupa yayın balığı larvalarının farklı besleme sıklığında büyüme ve yaşama oranlarının karşılaştırılması

Bu deneme gurubunda, Avrupa yayın balığı larvalarının farklı besleme sıklığı kullanılarak larva besleme çalışması gerçekleştirilmiştir. Dölllenmiş yumurtalardan 22°C su sıcaklığında 5 gün sonra besin keseli larva çıkışı gerçekleşmiştir (Şekil 3.14).

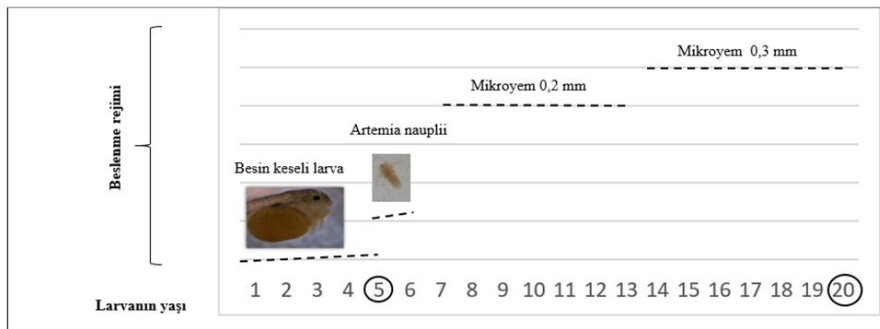


Şekil 3.14: Besin keseli Avrupa yayın balığı larvası (Özgün).

Besin kesesini beşinci gün sonunda tamamen tüketmiş (Şekil 3.15), hava kesesi şişmiş ve serbest yüzme aşamasına geçmiş larvalar, ilk olarak 2 gün süreyle *Artemia salina* (artemia nauplii) ve daha sonra hazır mikropartikül yem ile dört farklı besleme sıklığı uygulanarak 15 gün boyunca büyütülmüş ve larvaların ilk besleme çalışması yapılmıştır. Yumurta kesesini tamamlayan larvaların ilk besleme rejimi Şekil 3.16’da verilmiştir.



Şekil 3.15: Besin kesesini tüketmiş Avrupa yayın balığı larvası (Özgün).



Şekil 3.16: Avrupa yayın balığı larva beslenme rejimi (Özgün).

Besleme sıklığı deneme grubunda toplam 16 adet 10 litrelik akvaryumdan oluşan kapalı devre larva bakım ve besleme ünitesi kullanılmıştır (Şekil 3.17). Her bir 10 litrelik akvaryuma Avrupa yayın balığı larvaları 5 adet/l olacak şekilde 50 adet larva stoklanmıştır. Bu ünite her akvaryuma su girişi ve çıkışı verilmiş olup su çıkışları larvaların kaçışına engel olacak şekilde plankton ağı ile kapatılmıştır.



Şekil 3.17: Yayın balığı larvalarının besleme sıklığı denemesinde kapalı devre sistem (Özgün).

Dört farklı deneme grubu (dört paralel) aşağıdaki şekilde oluşturulmuştur;

- G4: günde 4 kez yemlenen deneme grubu,
- G6: günde 6 kez yemlenen deneme grubu,
- G8: günde 8 kez yemlenen deneme grubu,
- G12: günde 12 kez yemlenen deneme grubu.

Larvaların günlük beslenmesi serbest yemleme programına (*ad-libitum*) göre yapılmıştır. Deneme başı ve sonunda larva sayımı ve boy, ağırlık ölçümleri yapılarak yaşama ve büyüme parametreleri kaydedilmiştir.

Deneme süresi boyunca her yemlemeden önce ve sonra tüm akvaryumlar kontrol edilmiştir. Akvaryumlarda günlük olarak ölen bireyler kaydedilmiştir. Yemleme sonrası akvaryum dibindeki tüketilmeyen yem ve dışkı atıkları düzenli olarak sifonlama işlemi yapılarak ortamdaki uzaklaştırılmıştır.

3.4.4. Döllenme Oranı ve Büyüme Performansının Belirlenmesi

Avrupa yayın balığı gamet yönetimi denemelerinde döllenme performansını belirlemek için döllenme oranı, deforme larva oranı ve larva çıkış oranı hesaplanmıştır. Deforme larvalar; kıvrık kuyrukları, eğri ve kısa vücut yapılarıyla belirlenmiştir.

Deneme gruplarındaki yumurtalar 1'inci, 3'üncü ve 5'inci günler gerçek sayım yöntemi ile çekilen fotoğraflar üzerinden sayılarak tespit edilmiştir. Yumurta sayımı yapılan günler mantarlaştan yumurtalar ortamdan uzaklaştırılmış ve kayıt altına alınmıştır (Linhart ve diğ., 2004).

Hesaplama aşağıdaki şekilde yapılmıştır:

$$\text{Döllenme oranı (\%)} = (\text{Döllenmiş yumurta sayısı} / \text{Toplam yumurta sayısı}) \times 100$$

$$\text{Deforme Larva Oranı (\%)} = (\text{Deforme larva sayısı} / \text{Toplam yumurta sayısı}) \times 100$$

$$\text{Larva çıkış oranı (\%)} = (\text{Yumurtadan çıkan larva sayısı} / \text{Toplam yumurta sayısı}) \times 100$$

Deneme başında ve sonunda tüm gruplardan rastgele örnekleme metodu ile alınan larvaların hassas dijital kumpas ile boy ölçümleri yapıp, hassas terazide ağırlık ölçümleri gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.18). Tartım sırasında balıklar stres ve yaralanma gibi olumsuz faktörlerden etkilenmemeleri için 600 µl/l 2-fenoksietanol kullanılmıştır. Larvaların deneme başında ve sonunda canlı ağırlıkları 0,0001 g hassasiyetli dijital terazi kullanılarak tartılmıştır. Tartılmadan önce her bir larva kurutma kâğıdı kullanılarak mümkün olduğunca sudan arındırılmıştır.



Şekil 3.18: Avrupa yayın balığı larvalarının boy ve ağırlık ölçümleri (Özgün).

Büyüme parametrelerinin hesaplanmasında aşağıdaki formüller kullanılmıştır (Lugert ve diğ., 2016).

$$\text{Canlı Ağırlık Artışı (CAA)} = [\text{Son ağırlık (g)} - \text{ilk ağırlık (g)}]$$

$$\text{Hayatta Kalma Oranı (HKO)} = [\text{Hayatta kalan balık sayısı} / \text{İlk balık sayısı}] \times 100$$

$$\text{Spesifik Büyüme Oranı (SBO)} = 100 \times \{(\ln Sa - \ln İa) / Z\},$$

Sa= Son ağırlık (g); İa= İlk ağırlık (g); Z= Zaman (gün)

15 günlük çalışma süresi boyunca sabah 08:00 ve akşam 20:00 saatlerinde günde iki kez sıcaklık, oksijen ve pH değerleri YSI ölçüm cihazı ile ölçülmüştür.

3.4.5. İstatistiksel Analiz

II. Dönem denemelerinde elde edilen verilerin analizinde SPSS 20.0 paket programı kullanılarak hesaplanmıştır. Çalışmada 4 paralel kullanılarak elde edilen tüm verilerde ortalama değerler alınmış ve standart sapmalarıyla (Ort±SD) birlikte sunulmuştur. Elde edilen verilerin istatistiksel analizi tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ardından t-testi yapılarak veri dağılımının homojenliği için Levene testi kullanılarak yapılmıştır. Verilerin istatistiksel öneminde $p < 0,05$ olasılık değeri anlamlı kabul edilmiştir.

Etik Kurul İzni

İkinci dönem denemeleri ise Araştırma, Akdeniz Su Ürünleri Araştırma, Üretim ve Eğitim Enstitüsü Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 29.05.2020 tarihli 09/2020 sayılı izni ile hayvan deneyleri için belirtilen etik değerlere uygun olarak gerçekleştirilmiştir.



4. BULGULAR

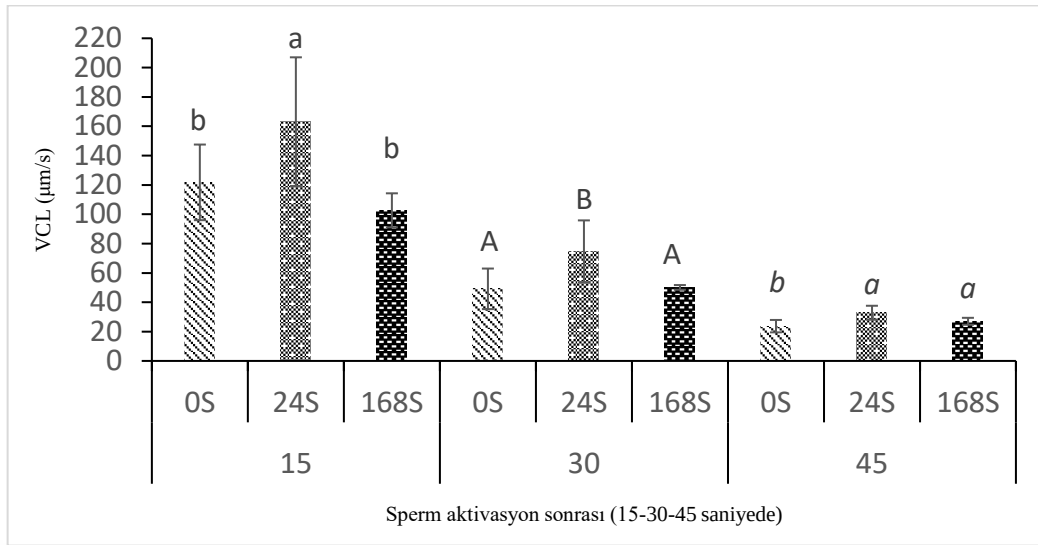
4.1. ÇEK CUMHURİYETİ'NDE AVRUPA YAYIN BALIKLARINDA HORMONAL UYARIM İLE GAMET ALIMI

Çalışmanın birinci döneminde yürütülen beş farklı denemenin sonucunda Avrupa yayın balığı için gamet yönetimi ile dölleme başarısının geliştirilmesi amacıyla elde edilen bulgular aşağıda değerlendirilmiştir.

Birinci dönem deneme I ve II gruplarında kullanılan Avrupa yayın balığı sperminin kalite parametrelerine ilişkin sonuçlar aşağıda sunulmuştur.

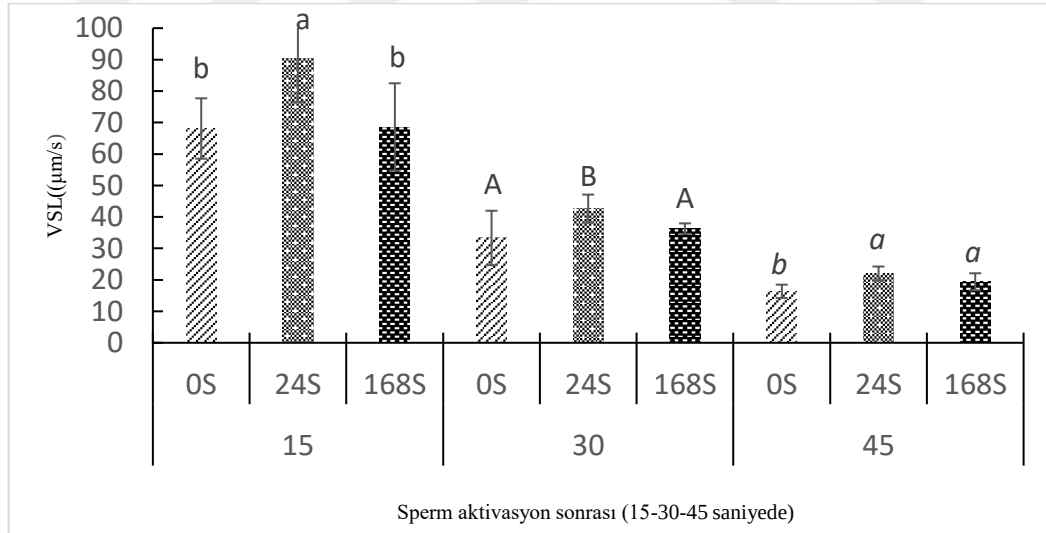
IS'da saklanan spermlerin kalite parametre değerlerinde (VCL, VSL ve motilitesi) saklama süresine göre anlamlı farklılık göstermiştir ($p<0,05$) (Şekil 4.1, Şekil 4.2, Şekil 4.3). Spermatozoa motilitesi, VCL ve VSL'sinin sperm sağıldıktan hemen sonraki sonuçlara göre 24 saatlik saklamadan sonra artış tespit edilmiştir Her üç parametrede 168 saatlik saklamadan sonra benzer değerler göstermiştir. Genel olarak, IS'nin Avrupa yayın balığı sperm hareketliliğini korumada çok etkili olduğu belirlenmiştir. Sperm muhafazasının 24 saat ile 168 saat sonunda, spermatozoa motilitesi %90'nın üstünde tespit edilmiştir. VCL ve VSL değerleri ise sırasıyla 163 ve 90 $\mu\text{m s}^{-1}$ olarak ölçülmüştür.

Avrupa yayın balığı spermatozoası sağım sonrası 0, 24 ve 168 saat IS'da saklanan spermin aktivasyonu sonrası 15'inci, 30'uncu ve 45'inci saniyelerdeki VCL ($\mu\text{m/s}$) değeri $\text{Ort}\pm\text{SD}$ olarak ifade edilmiştir; farklı harf taşıyan değerler anlamlı şekilde farklılık gösterdiği belirlenmiştir ($p<0,05$) (Şekil 4.1).



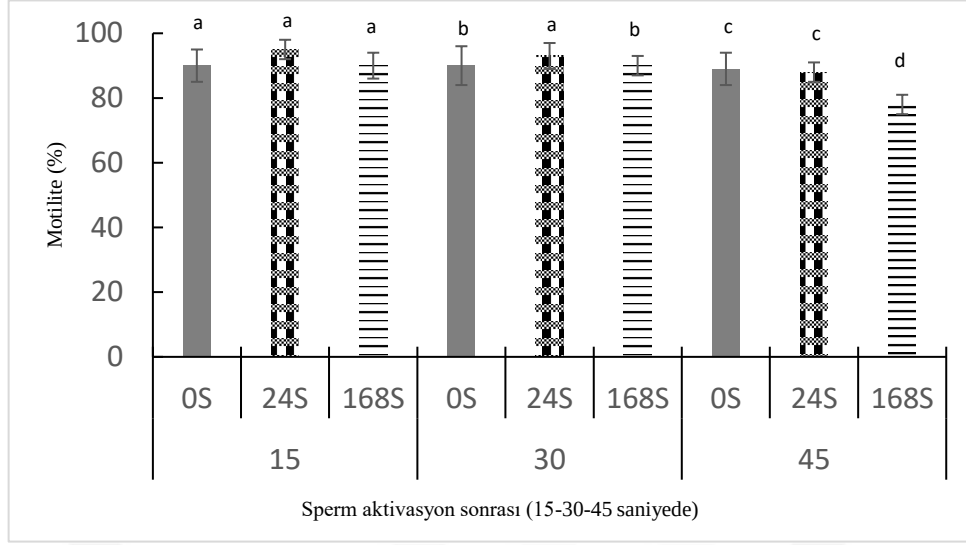
Şekil 4.1: Avrupa yayın balığı spermatozoa VCL (µm/s) değerleri(%).

Avrupa yayın balığı spermatozoasının sağım sonrası 0, 24 ve 168 saat IS’de saklanan spermin aktivasyonu sonrası 15., 30. ve 45. saniyelerdeki VSL (µm/s) değeri Ort±SD olarak ifade edilmiştir; farklı harf taşıyan değerler anlamlı şekilde farklılık gösterdiği belirlenmiştir ($p<0,05$) (Şekil 4.2).



Şekil 4.2: Avrupa yayın balığı spermatozoa VSL (µm/s) değerleri(%).

Avrupa yayın balığı spermatozoasının sağım sonrası 0, 24 ve 168 saat IS’da saklanan spermin aktivasyonu sonrası 15., 30. ve 45. saniyelerdeki spermatozoa motilitesi (%) Ort±SD olarak ifade edilmiştir; farklı harf taşıyan değerler anlamlı şekilde farklılık gösterdiği belirlenmiştir ($p<0,05$) (Şekil 4.3).



Şekil 4.3: Avrupa yayın balığı spermatozoa motilitesi (%).

4.1.1. İki Farklı Sperm Yoğunluğunun Zamana Bağlı (0. saat ve 24 saat) Dölleme Başarısının Karşılaştırılması

Dişi anaç balıklardan alınan yumurta, 0. saat sağılan erkek anaç balık spermi ve 24 saat IS'da bekletilen sperm (iki farklı sperm yoğunluğu) ile gerçekleştirilen dölleme işleminin yapıldığı denemenin sonuçları (döllenme oranı, deforme larva oranı ve larva çıkış oranı) Tablo 4.1'de sunulmuştur.

Tablo 4.1: Farklı Spermatozoa yoğunluğu ve zamana bağlı (0. saat ve 24 saat) döllenme oranı (%),deforme larva oranı (%) ve larva çıkış oranına (%) ait değerler (Ort±SD).

Spermatozoa Yoğ. (adet/ml)	Döllenme Oranı		Deforme Larva Oranı		Larva Çıkış Oranı	
	0. Saat	24 Saat	0. Saat	24 Saat	0. Saat	24 Saat
50,000	23,36±9,03	11,13±4,59	1,88±2,26	1,45±1,76	21,05±9,09	9,52±4,40
500,000	72,43±11,27	58,2±9,77	8,46±6,15	5,85±5,62	68,02±11,27	54,68±10,46

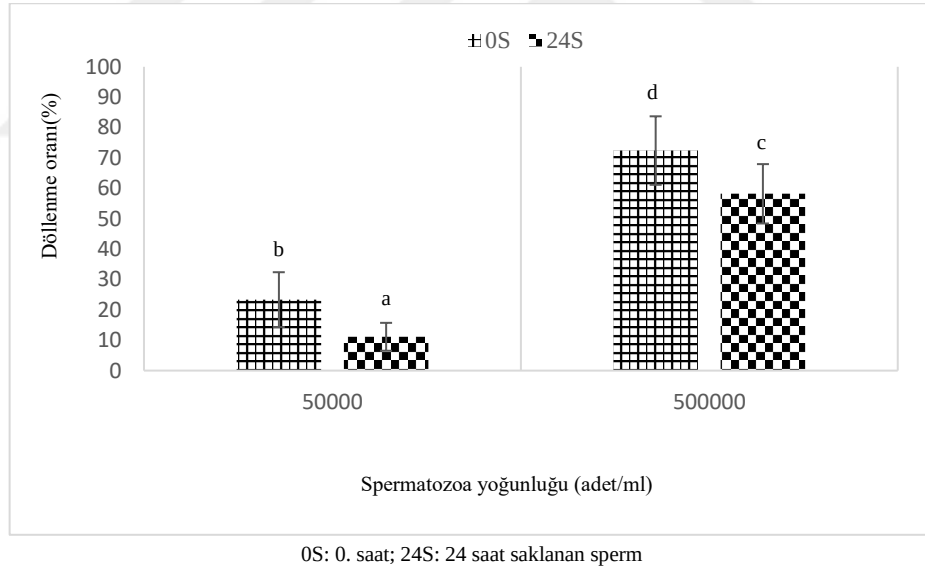
En yüksek döllenme oranı ve larva çıkış oranı sırasıyla %72,43 ve %68,02 ile döllemenin 0. saatte (spermatozoa yoğunluğu 500,000 adet/ml) gerçekleştiği grupta tespit edilmiştir.

Sperm yoğunluğu 50,000 adet/ml kullanılan grupta en yüksek dölleme oranı ve larva çıkış oranı 0. saatte %23,36 ve %21,05 olarak tespit edilmiştir. Sperm yoğunluğunun (500,000 adet/ml) 10 kat artırılması sonucunda en iyi dölleme ve larva çıkış oranları elde edilmiştir.

En düşük dölleme oranları sırasıyla %11,13 ve %23,36 ile spermatozoa yoğunluğunun 50,000 adet/ml olduğu 24 saat ve 0. saat gruplarında kaydedilmiştir.

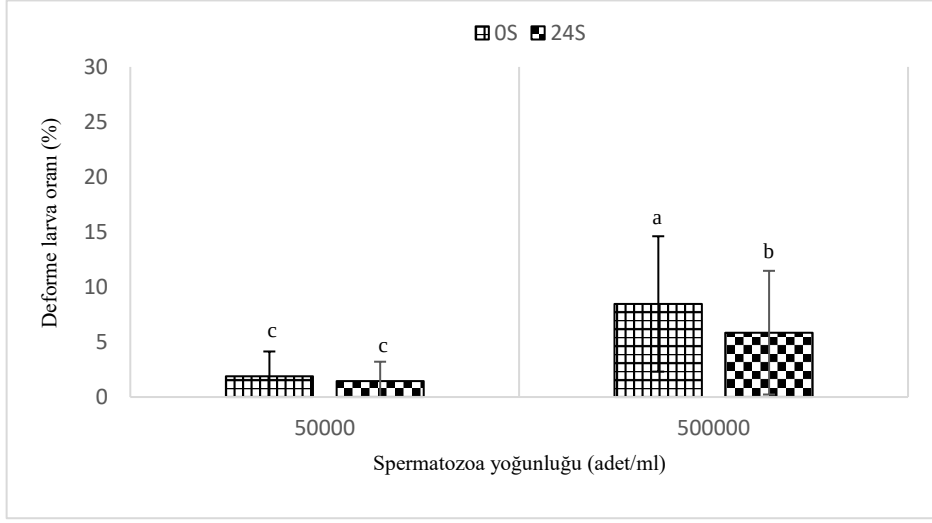
Spermin 24 saat boyunca IS içinde bekletilmesi ile dölleme işleminde kullanılmasını 0. saatte göre karşılaştırdığımızda dölleme oranında düşüşe neden olduğu belirlenmiştir. Fakat spermatozoa yoğunluğunun (500,000 adet/ml) 10 kat artırılması sonucunda en iyi dölleme ve larva çıkış oranları elde edilmiştir.

Spermatozoa yoğunluğu ve saklama süresi etkileşiminin dölleme oranı üzerinde anlamlı farklılık gösterdiği belirlenmiştir ($p<0,05$) (Şekil 4.4).



Şekil 4.4: 0. ve 24. saatlerde farklı sperm yoğunluklarına (50,000 ve 500,000 adet/ml) göre dölleme oranı (%).

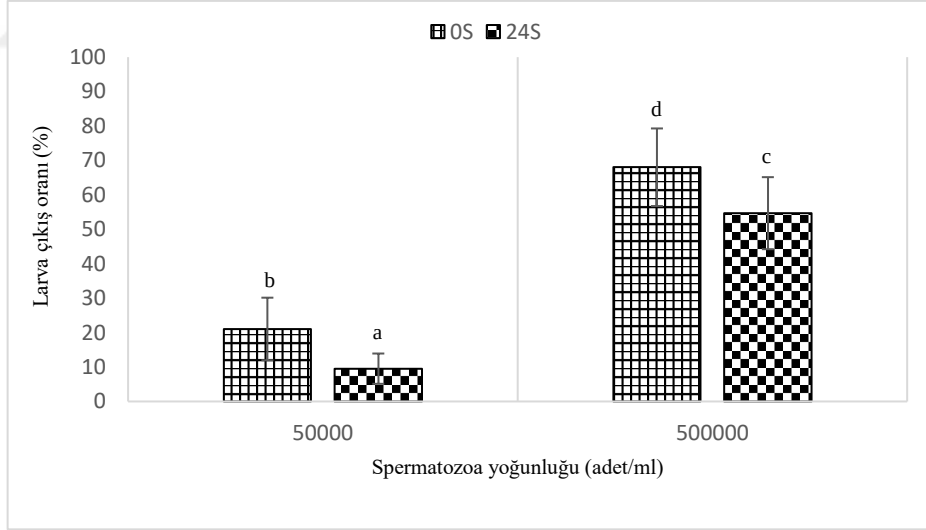
Spermatozoa yoğunluğunun deforme larva oranı üzerinde anlamlı farklılık gösterdiği ($p<0,05$), ancak saklama süresinin deforme larva oranı üzerinde anlamlı farklılık göstermediği belirlenmiştir ($p>0,05$) (Şekil 4.5).



0S: 0. saat; 24S: 24 saat saklanan sperm

Şekil 4.5: 0. ve 24. saatlerde farklı sperm yoğunluklarına (50,000 ve 500,000 adet/ml) göre deforme larva oranı (%).

Spermatozoa yoğunluğu ve saklama süresi etkileşiminin larva çıkış oranı üzerinde etkili olmuş ve değerler anlamlı farklılık gösterdiği belirlenmiştir ($p < 0,05$) (Şekil 4.6).



0S: 0. saat; 24S: 24 saat saklanan sperm

Şekil 4.6: 0. ve 24. saatlerde farklı sperm yoğunluklarına (50,000 ve 500,000 adet/ml) göre larva çıkış oranı(%).

4.1.2. İki Farklı Sperm Yoğunluğunun Zamana Bağlı (0. saat ve 168 saat) Dölleme Başarısının Karşılaştırılması

Dişi anaç balıklardan alınan yumurta, sıfırıncı saat sağılan erkek anaç balık spermi ve 7 gün IS'da bekletilen sperm (iki farklı sperm yoğunluğu) ile gerçekleştirilen dölleme işleminin yapıldığı denemenin sonuçları (döllenme oranı, deforme larva oranı ve larva çıkış oranı) Tablo 4.2'de sunulmuştur.

Tablo 4.2: Spermatozoa yoğunluğu ve zamana bağlı (0. saat ve 168 saat) döllenme oranı (%),deforme larva oranı (%) ve larva çıkış oranına (%) ait değerler (Ort±SD).

Spermatozoa Yoğ. (adet/ml)	Döllenme Oranı		Deforme Larva Oranı		Larva Çıkış Oranı	
	0. Saat	168 Saat	0. Saat	168 Saat	0. Saat	168 Saat
500,000	65,86±13,42	18,96±8,90	6,96±5,66	2,3±3,48	64,03±14,34	17,93±8,37
5,000,000	84,21±5,05	82,19±5,45	12,40±11,38	11,96±2,46	80,40±6,81	78,47±4,92

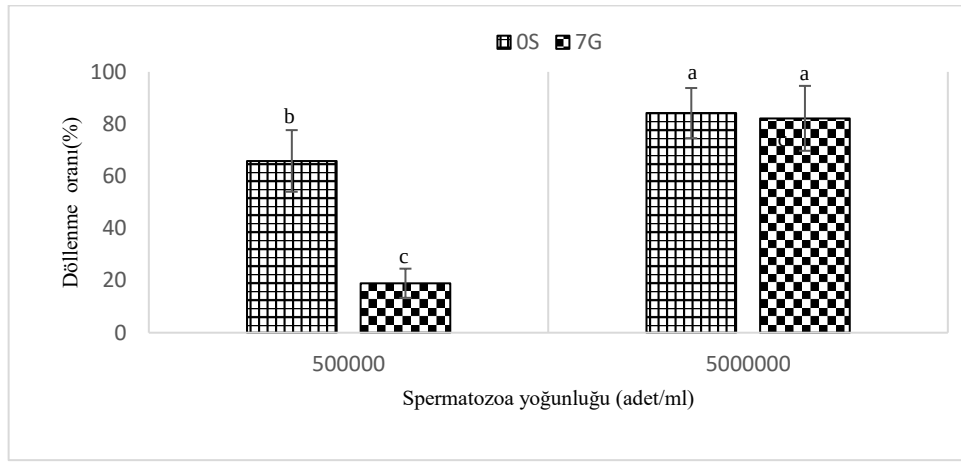
En yüksek döllenme oranı ve larva çıkış oranı sırasıyla %84,21 ve %80,40 ile döllemenin 0. saatte (Spermatozoa yoğunluğunun 5,000,000 adet/ml) gerçekleştiği grupta elde edilmiştir.

Döllemede kullanılan sperm yoğunluğunun (500,000 adet/ml) en yüksek döllenme oranı ve larva çıkış oranı 0. saatte sırasıyla %65,86 ve %64,03 olarak belirlenmiştir.

En düşük döllenme oranları sırasıyla %18,96 ve %65,86 ile spermatozoa yoğunluğunun 500.000 adet/ml olduğu 168 saat ve 0. saat gruplarında kaydedilmiştir.

Spermin 168 saat boyunca IS içinde bekletilmesi sonucunda dölleme işleminde kullanılmasının 0. saatte göre karşılaştırdığımızda döllenme oranında düşüşe neden olduğu belirlenmiştir. Fakat spermatozoa yoğunluğunun (5,000,000 adet/ml) 10 kat artırılması sonucunda en iyi döllenme ve larva çıkış oranları elde edilmiştir.

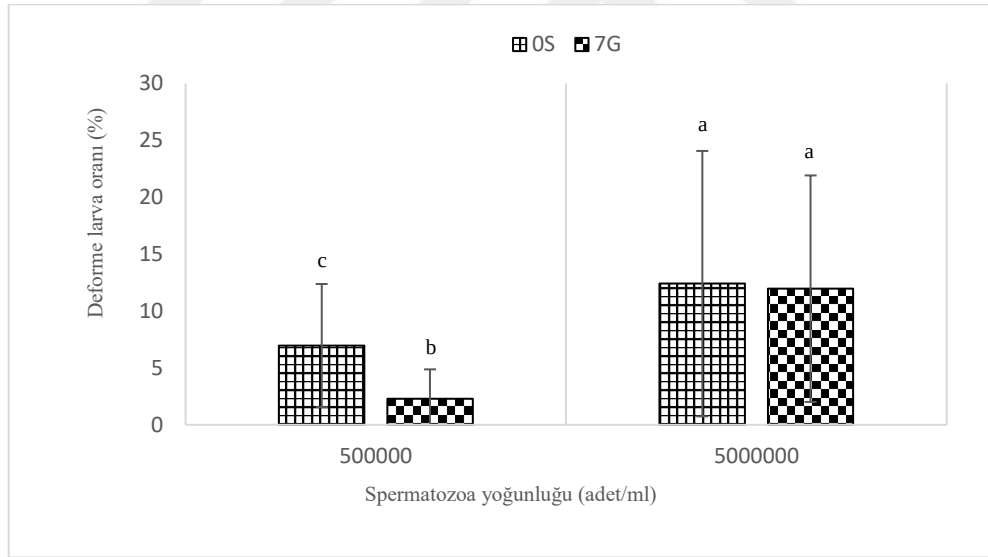
Spermatozoa yoğunluğu ve saklama süresi etkileşiminin döllenme oranı üzerinde anlamlı farklılık gösterdiği belirlenmiştir ($p<0,05$). (Şekil 4.7).



0S: 0. saat; 7G: 7 gün saklanan sperm

Şekil 4.7: 0. saat ve 7 gün saklanan farklı sperm yoğunluklarına (500,000 ve 5,000,000 adet/ml) göre döllenme oranı(%).

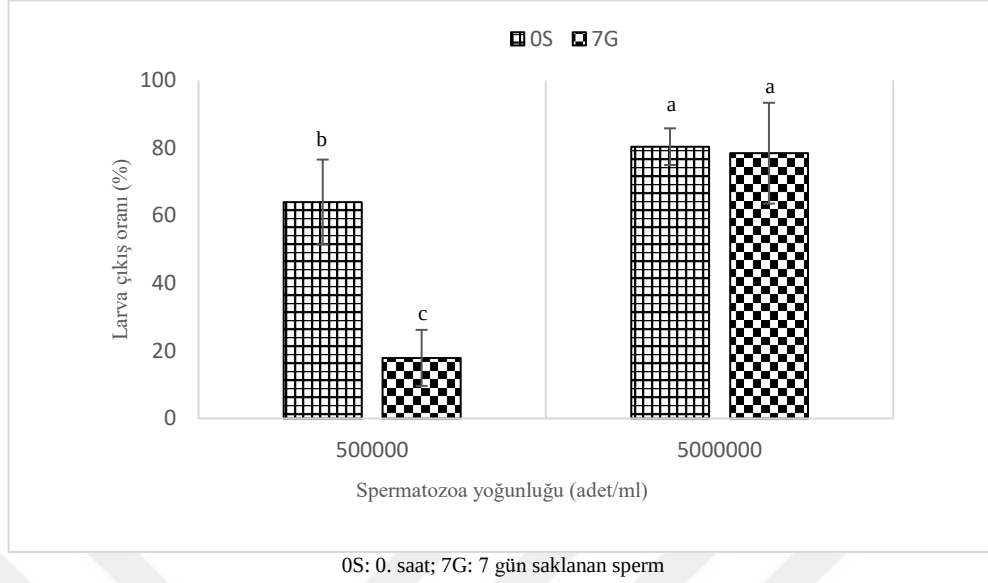
Spermatozoa yoğunluğunun deforme larva oranı üzerinde anlamlı farklılık gösterdiği ($p < 0,05$), ancak saklama süresinin deforme larva oranı üzerinde anlamlı şekilde farklılık göstermediği belirlenmiştir ($p > 0,05$) (Şekil 4.8).



0S: 0. saat; 7G: 7 gün saklanan sperm

Şekil 4.8: 0. saat ve 7gün saklanan farklı sperm yoğunluklarına (500,000 ve 5,000,000 adet/ml) göre deforme larva oranı(%).

Spermatozoa yoğunluğu ve saklama süresi etkileşiminin larva çıkış oranı üzerinde anlamlı farklılık gösterdiği belirlenmiştir ($p < 0,05$) (Şekil 4.9).



Şekil 4.9: 0. saat ve 7 gün saklanan farklı sperm yoğunluklarına (500,000 ve 5,000,000 adet/ml) göre larva çıkış oranı(%).

4.1.3. İki Farklı Sıcaklıkta Tutulan Yumurtaların Farklı Saatlerde Dölleme Başarısının Karşılaştırılması

Üç farklı dişi anaç balıktan alınan yumurtalar iki farklı sıcaklıkta saklanarak farklı (1'inci, 3'üncü, 5'inci. ve 7'inci.) saatlerde gerçekleştirilen dölleme işleminin gerçekleştirildiği denemenin sonuçları (dölleme, deforme larva ve larva çıkış oranları) Tablo 4.3'te sunulmuştur.

İki farklı sıcaklıkta zamana bağlı saklanan yumurtaların dölleme başarısına bakıldığında en yüksek dölleme oranı sırasıyla 3 saat saklamada 22°C'de %90,72±1,68 ve 17°C'de %89,57±1,95 olarak 3'üncü dişide, en yüksek larva çıkış oranı sırasıyla 3 saat saklama süresinde 17°C'de %86,28±1,82 1. dişide ve %84,72±3,42 olarak 3 dişide elde edilmiştir (Tablo 4.3).

Dölleme öncesindeki saklama sıcaklıklarına bakılmaksızın en yüksek dölleme oranları, döllemenin sağımdan sonraki 3 saat sonra gerçekleştiği grupta elde edilmiştir. Sağımdan 3 saat sonra dölleme oranı en yüksek %90,72 olarak tespit edilmiştir. Döllememiş yumurtaların 17°C ve 22°C'de saklandığı gruplarda yumurtlamadan beş saat sonra dölleme oranında düşüş olduğu tespit edilmiştir (Tablo 4.3).

Döllenmemiş yumurtaların 5 saat 17°C ve 22°C’de saklandığı iki grupta %86,20 ile %57,95 aralığında %57’nin üzerinde döllenme oranlarına ulaşılmıştır.

Sağımdan 7 saat sonra, döllenmemiş yumurtaların 17°C ve 22°C’de saklandığı durumlarda döllenme oranlarının %49,57 ile %69,65 arasında değiştiği ve döllenme oranında önemli bir düşüş olduğu görülmüştür. Sağımda elde edilen yumurtaların 7 saat sonra, 17°C’de saklanan döllenmemiş yumurtaların en yüksek döllenme oranı, %69,65 olarak tespit edilmiştir.

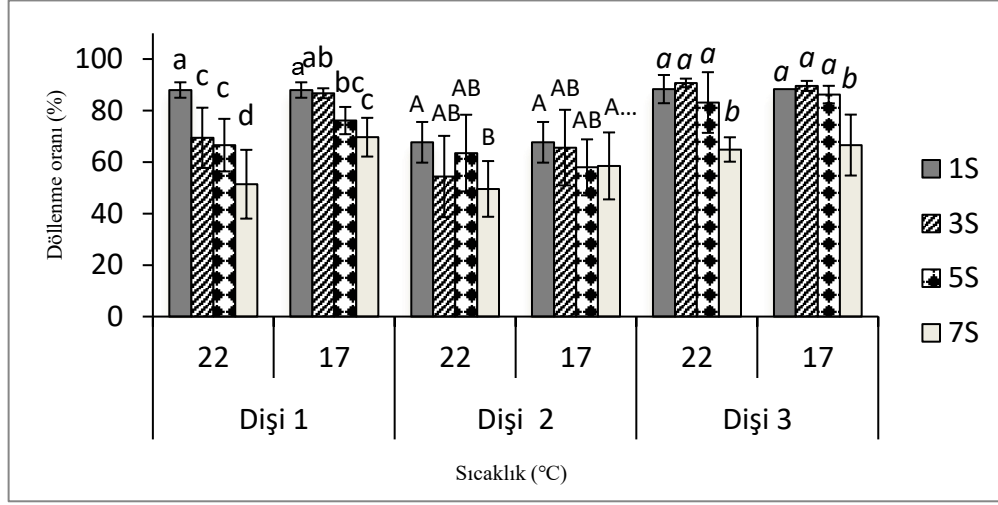
Yumurtaların döllenme başarısına bakıldığında en yüksek dölleme oranının 22°C’de saklanan 1’inci dişi grubu (%90,72), 2. en yüksek dölleme oranı 17°C’de saklanan 3’üncü dişi grubunda (%89,57) elde edilmiştir.

En düşük döllenme oranları sırasıyla %49,57, %51,39 ve %54,38 ile döllenmiş yumurtaların 22°C’de saklandığı 1. ve 2. dişi gruplarında kaydedilmiştir.

Tablo 4.3: İki farklı sıcaklıkta zamana bağlı (1’inci, 3’üncü, 5’inci ve 7’inci saatte) saklanan yumurtaların döllenme oranı (%) deforme larva oranı (%) ve larva çıkış oranına (%) ait değerler (Ort±SD).

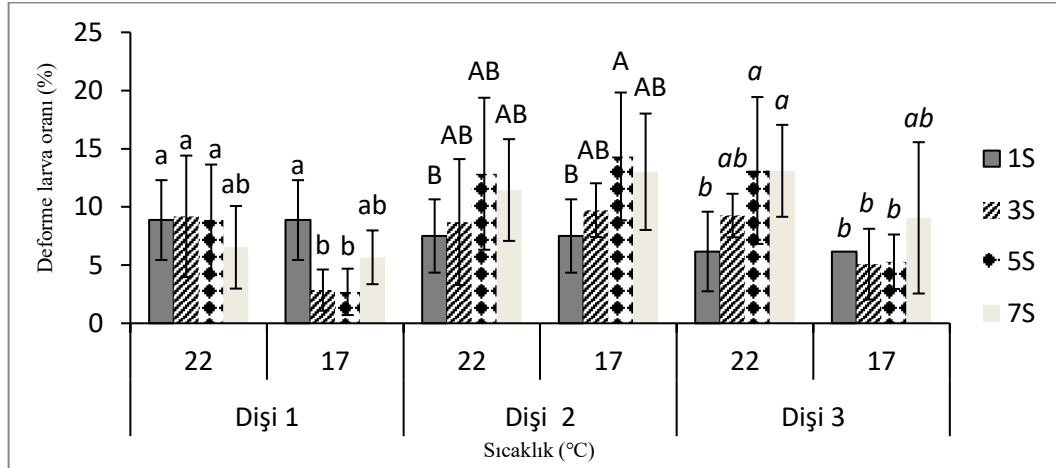
S	°C	Döllenme Oranı			Deforme Larva Oranı			Larva Çıkış Oranı		
		Dişi 1	Dişi 2	Dişi 3	Dişi 1	Dişi 2	Dişi 3	Dişi 1	Dişi 2	Dişi 3
1	22	87,97±3,00	67,67±7,90	88,33±5,48	8,87±3,43	7,5±3,15	6,17±3,42	84,43±3,53	55,56±10,24	82,51±6,05
1	17	87,97±3,00	67,67±7,90	88,33±5,48	8,87±3,43	7,5±3,15	6,17±3,42	84,43±3,53	55,56±10,24	82,51±6,05
3	22	69,41±11,7	54,38±15,79	90,72±1,68	9,19±5,22	8,70±5,41	9,26±1,87	65,11±11,85	51,57±15,01	86,18±4,12
3	17	86,72±1,93	65,62±14,67	89,57±1,95	2,85±1,77	9,72±2,31	5,08±3,00	86,28±1,82	56,18±6,36	84,72±3,42
5	22	66,58±10,2	63,5±14,88	83,12±11,78	8,89±4,75	12,85±6,53	13,13±6,31	54,99±9,61	60,38±15,6	81,13±2,99
5	17	76,11±5,29	57,95±10,87	86,2±3,40	2,7±1,99	14,34±5,49	5,29±2,34	71,38±2,72	46,51±10,36	80,08±3,10
7	22	51,39±13,35	49,57±10,82	64,88±4,74	6,53±3,55	11,45±4,37	13,10±3,95	37,67±9,26	44,08±7,03	58,31±4,43
7	17	69,65±7,52	58,51±13,00	66,6±11,83	5,67±2,31	13,02±5,00	9,06±6,50	64,2±8,40	53,43±13,61	59,71±14,75

Denemede kullanılan her üç dişide de saklama sıcaklığı ve süresi etkileşimi döllenme oranı üzerinde anlamlı farklılık gösterdiği belirlenmiştir ($p<0,05$) (Şekil 4.10).



Şekil 4.10: Farklı iki sıcaklıkta (22 ve 17°C) 1'inci, 3'üncü, 5'inci ve 7'inci saatlerde saklanan yumurtaların dölleme oranı (%).

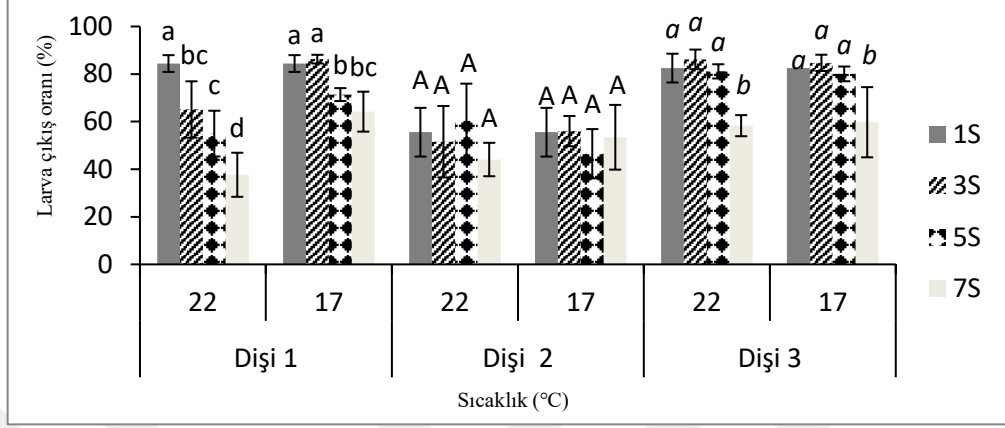
Dişi 1'de, saklama sıcaklığının deforme larva üzerinde anlamlı fark gösterdiği ($p < 0,05$), ancak saklama süresinin deforme larva üzerinde anlamlı fark göstermediği belirlenmiştir ($p > 0,05$). Dişi 2'de, saklama sıcaklığı ve süresi etkileşiminin deforme larva üzerinde anlamlı fark göstermediği belirlenmiştir ($p > 0,05$). Dişi 3'te ise saklama sıcaklığının deforme larva üzerinde anlamlı fark gösterdiği ($p < 0,05$), ancak saklama süresinin deforme larva üzerinde anlamlı fark göstermediği belirlenmiştir ($p > 0,05$) (Şekil 4.11).



Şekil 4.11: Farklı iki sıcaklıkta (22 ve 17°C) 1'inci, 3'üncü, 5'inci ve 7'inci saatlerde saklanan yumurtaların deforme larva oranı (%).

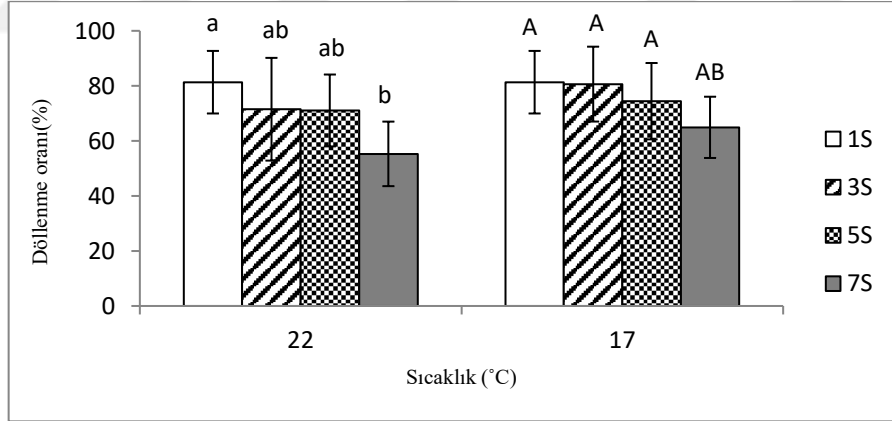
Dişi 1'de, saklama sıcaklığı ve süresi etkileşiminin larva çıkış oranı üzerinde anlamlı fark gösterdiği belirlenmiştir ($p < 0,05$). Dişi 2'de, saklama sıcaklığı ve süresi etkileşiminin larva çıkış oranı üzerinde anlamlı fark göstermediği belirlenmiştir ($p > 0,05$). Dişi 3'te ise saklama

sıcaklığının larva çıkış oranı üzerinde anlamlı farklılık göstermediği ($p>0,05$), ancak saklama süresinin larva çıkış oranı üzerinde anlamlı fark gösterdiği belirlenmiştir ($p<0,05$) (Şekil 4.12).



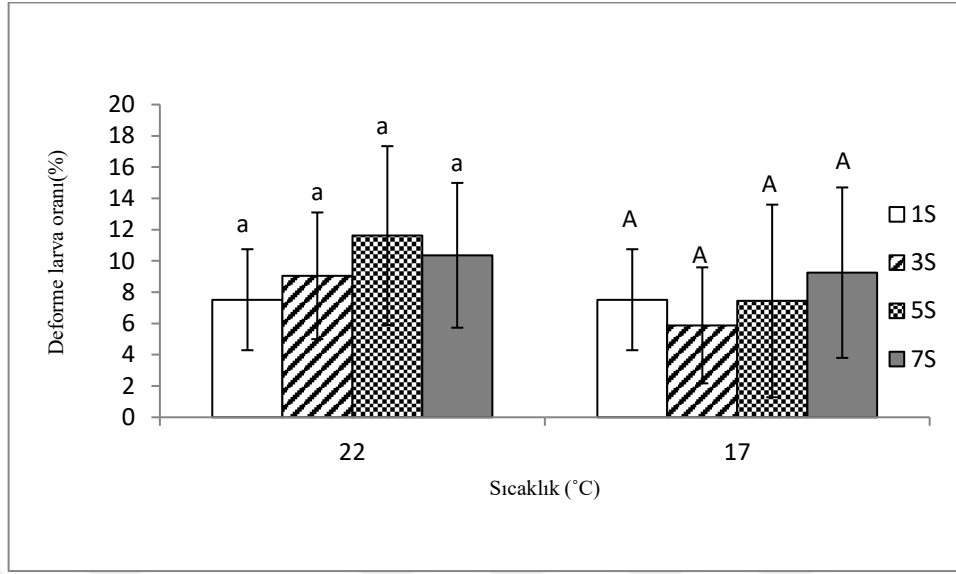
Şekil 4.12: Farklı iki sıcaklıkta (22 ve 17°C) 1'inci, 3'üncü, 5'inci ve 7'inci saatlerde saklanan yumurtaların larva çıkış oranı (%).

3 farklı dişi balıktan alınan yumurtaların 17 ve 22 °C sıcaklıkta ortalama dölleme oranı Şekil 4.13'te verilmiştir. Buna göre yumurtaların saklama sıcaklığı ve 1' 3 ve 5'inci saatlerde yapılan dölleme işlemlerinde dölleme oranının anlamlı farklılık gösterdiği belirlenmiştir ($p<0,05$).



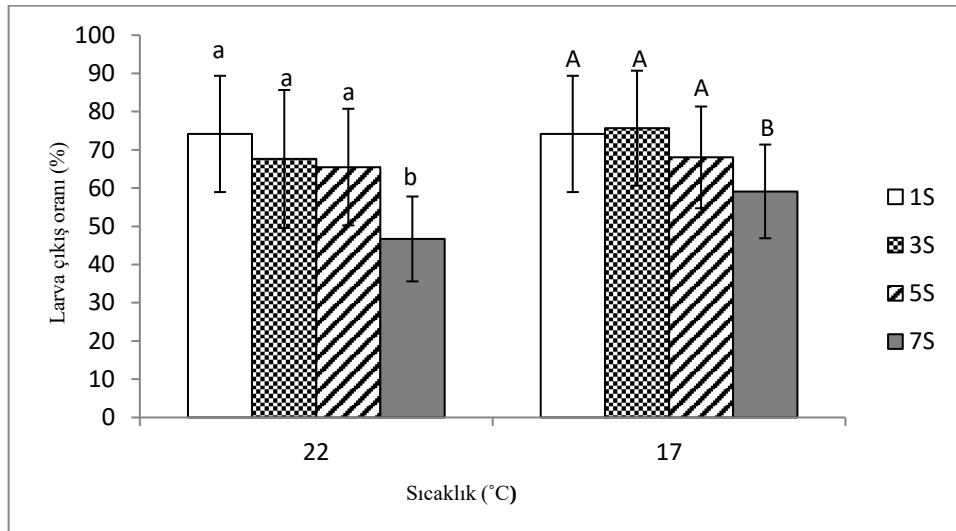
Şekil 4.13: Farklı iki sıcaklıkta (22 ve 17°C) 1'inci, 3'üncü, 5'inci ve 7'inci saatlerde saklanan yumurtaların dölleme oranı (%).

3 farklı dişi balıktan alınan yumurtalardan çıkan larvaların 17 ve 22 °C sıcaklıkta ortalama deforme oranı Şekil 4.14'te verilmiştir. Saklama sıcaklığının deforme larva üzerinde anlamlı fark gösterdiği ($p<0,05$), ancak saklama süresinin deforme larva üzerinde anlamlı fark göstermediği belirlenmiştir ($p>0,05$).



Şekil 4.14: Farklı iki sıcaklıkta (22 ve 17°C) 1'inci, 3'üncü, 5'incive 7'inci saatlerde saklanan deforme larva oranı (%).

3 farklı dişi balıktan alınan yumurtaların 17 ve 22 °C sıcaklıkta ortalama larva çıkış oranı Şekil 4.15'te verilmiştir. Saklama sıcaklığı ve süresi etkileşimi larva çıkış oranı üzerinde anlamlı farklılık gösterdiği belirlenmiştir ($p < 0,05$).



Şekil 4.15: Farklı iki sıcaklıkta (22 ve 17°C) 1'inci, 3'üncü, 5'incive 7'inci saatlerde saklanan yumurtaların larva çıkış oranı (%).

4.1.4. Alkalaz Enzimi Kullanılarak Dölleme Başarısının Karşılaştırılması

Dişi anaç balıklardan alınan yumurta, 0. saat sağılan erkek anaç balık spermi ve 24 saat bekletilen sperm ile gerçekleştirilen dölleme işlemi sırasında, yumurtaların yapışkanlığının giderilmesi için alkalaz enzim kullanım denemesinin sonuçları (dölleme, deforme larva ve larva çıkış oranları) Tablo 4.4'te sunulmuştur.

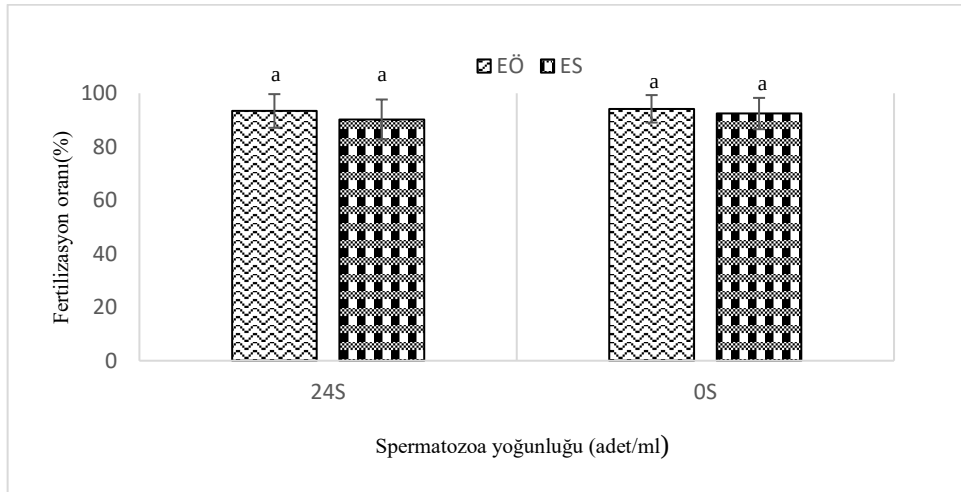
Tablo 4.4: Alkalaz enzim kullanımının dölleme başarısı (%), deforme larva oranı (%) ve larva çıkış oranına (%) ait değerler (0. saat ve 24 saat) (Ort±SD).

	Dölleme Oranı		Deforme Larva Oranı		Larva Çıkış Oranı	
Sperm	K	ES	K	ES	K	ES
0.Saat	94,18±5,14	92,42±5,86	6,62±4,73	7,22±2,98	91,68±4,88	89,42±7,42
24 Saat	93,38±6,30	90,24±7,44	5,50±3,68	6,24±3,53	90,44±8,08	87,49±7,27

K: Kontrol grubu; ES: Alkalaz enzim uygulanan grup

Elde edilen sonuçlara dölleme oranı en yüksek %94,18±5,14 ile 0. saatte kontrol grubunda, larva çıkış oranı en yüksek %91,68±4,88 ile 0. saatte yine kontrol grubunda belirlenmiştir.

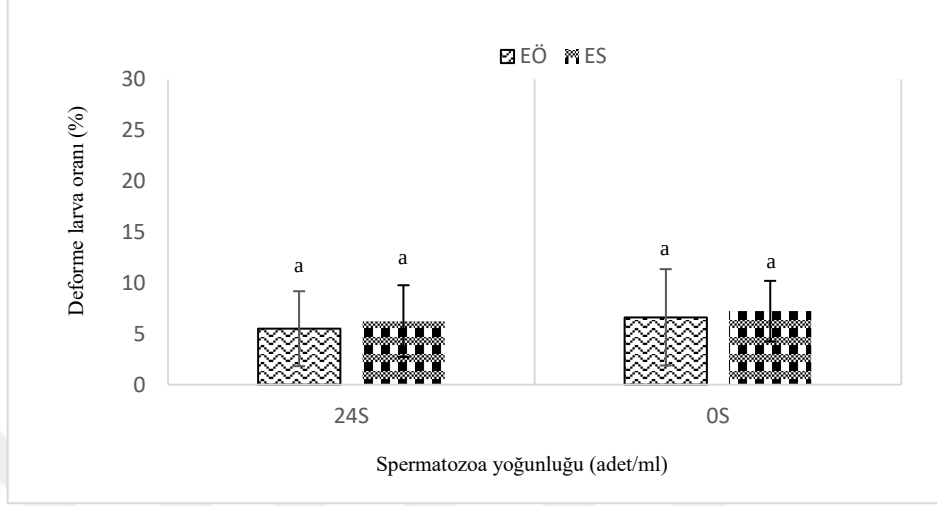
Saklama süresinin ve alkalaz enzim uygulaması etkileşimi dölleme oranı üzerinde anlamlı bir farklılık göstermediği belirlenmiştir ($p>0,05$) (Şekil 4.16).



EÖ: Alkalaz enzim uygulanmayan grup; ES: Alkalaz enzim uygulanan grup

Şekil 4.16: Farklı iki zamanda alınan spermi (0 sa. ve 24 sa) ile döllemede farklı alkalaz enzim oran kullanımının dölleme oranı (%).

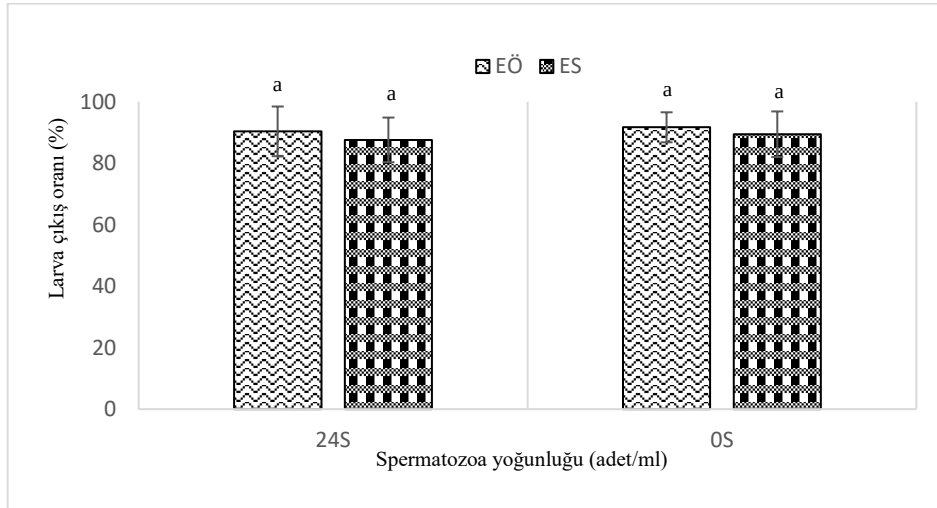
Saklama süresinin ve alkalaz enzim uygulaması etkileşiminin deforme larva oranı üzerinde anlamlı farklılık göstermediği belirlenmiştir ($p>0,05$) (Şekil 4.17).



EÖ: Alkalaz enzim uygulanmayan grup; ES: Alkalaz enzim uygulanan grup

Şekil 4.17: Farklı iki zamanda alınan spermi (0 sa. ve 24 sa.) ile döllemede farklı alkalaz enzim oran kullanımının deforme larva oranı (%).

Saklama süresinin ve alkalaz enzim uygulaması etkileşiminin larva çıkış oranı üzerinde anlamlı bir farklılık yaratmadığı göstermediği belirlenmiştir ($p>0,05$) (Şekil 4.18).



EÖ: Alkalaz enzim uygulanmayan grup; ES: Alkalaz enzim uygulanan grup

Şekil 4.18: Farklı iki zamanda alınan spermi (0 sa. ve 24 sa.) ile döllemede farklı alkalaz enzim oran kullanımının larva çıkış oranı (%).

4.1.5. Farklı Enzim Oranının Dölleme Başarısının Karşılaştırılması

Dişi anaç balıktan alınan yumurtanın dölleme işlemi sırasında farklı oranlarda alkalaz enziminin kullanıldığı denemenin sonuçları (dölleme, deforme larva ve larva çıkış oranları Tablo 4.5’de sunulmuştur.

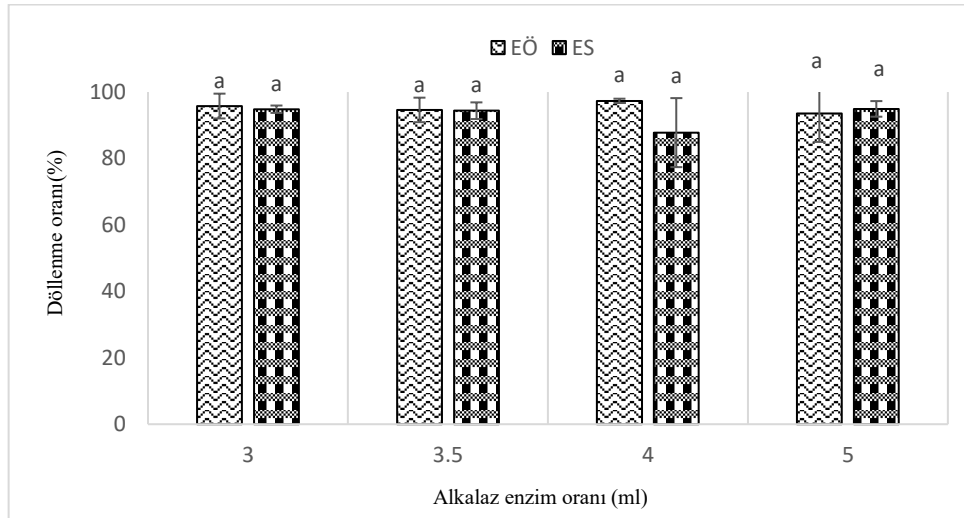
Tablo 4.5: Farklı alkalaz enzim oran kullanımının dölleme oranı (%), deforme larva oranı (%) ve larva çıkış oranına (%) ait değerler (Ort±SD).

Alkalaz (ml)	Dölleme Oranı		Deforme Larva Oranı		Larva Çıkış Oranı	
	EÖ	ES	EÖ	ES	EÖ	ES
3	95,79±3,73	94,83±1,11	7,02±6,38	5,37±4,07	80,2±25,30	93,54±2,49
3,5	94,62±3,69	94,38±2,51	10,11±2,61	8,90±2,61	66,54±19,17	88,73±4,33
4	97,35±0,65	87,79±10,39	5,19±1,95	11,1±1,95	93,41±5,33	74,49±15,20
5	93,55±8,56	94,93±2,35	13,38±7,25	3,43±0,52	75,99±26,45	94,54±2,89

EÖ: Alkalaz enzim uygulanmayan grup; ES: Alkalaz enzim uygulanan grup

Dölleme oranı en yüksek EÖ gruplarında %97,35 (4ml/l) ve %95,79 (3 ml/l) oranlarıyla tespit edilmiştir. Toplam larva çıkış oranı en yüksek ES gruplarında %94,54 (5 ml/l) ve %93,54 (3 ml/l) oranlarıyla elde edilmiştir.

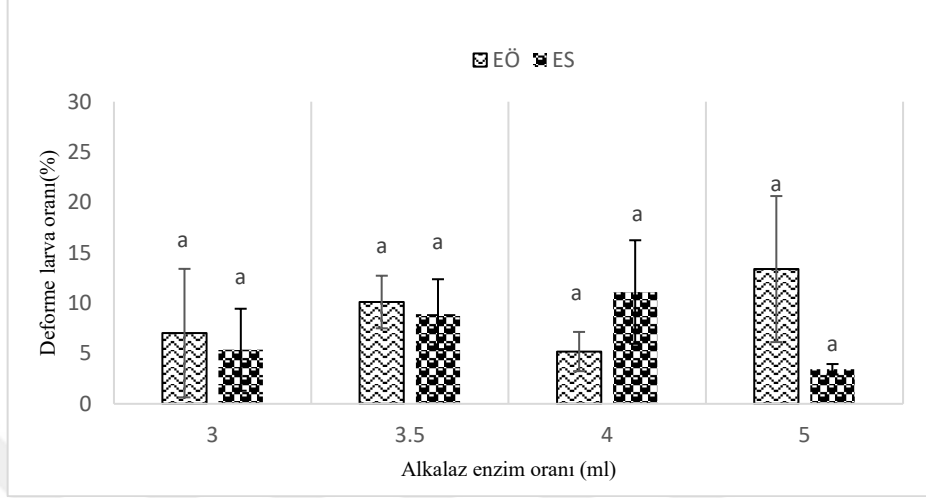
Farklı oranlarda alkalaz enzim kullanımı dölleme oranı açısından gruplar arasında anlamlı farklılık göstermemiştir ($p>0,05$) (Şekil 4.19).



EÖ: Alkalaz enzim uygulanmayan grup; ES: Alkalaz enzim uygulanan grup

Şekil 4.19: Farklı oranlarda alkalaz enzim kullanımında dölleme oranı (%).

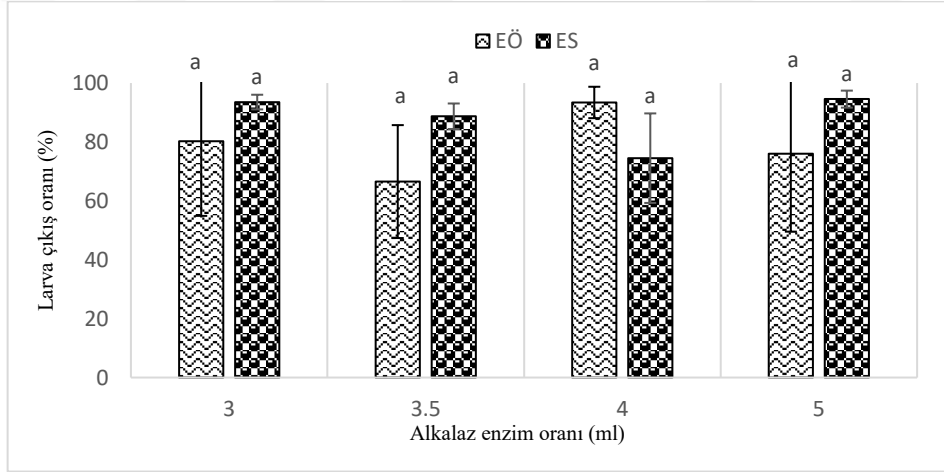
Farklı oranlarda alkalaz enzim kullanımı deforme larva oranı açısından gruplar arasında anlamlı farklılık göstermemiştir ($p>0,05$) (Şekil 4.20).



EÖ: Alkalaz enzim uygulanmayan grup; ES: Alkalaz enzim uygulanan grup

Şekil 4.20: Farklı oranlarda alkalaz enzim kullanımında deforme larva oranı (%).

Farklı oranlarda alkalaz enzim kullanımı larva çıkış oranı açısından gruplar arasında anlamlı farklılık göstermemiştir ($p>0,05$) (Şekil 4.21).



EÖ: Alkalaz enzim uygulanmayan grup; ES: Alkalaz enzim uygulanan grup

Şekil 4.21: Farklı oranlarda alkalaz enzim kullanımında larva çıkış oranı (%).

4.2. TÜRKİYE'DE AVRUPA YAYIN BALIKLARINDAN FARKLI METOTLA GAMET ALIMI, LARVALARIN BÜYÜME PERFORMASI VE YAŞAM ORANI

Çalışmanın ikinci döneminde yürütülen iki farklı denemenin sonucunda Avrupa yayın balığı için gamet yönetimi ile dölleme başarısının geliştirilmesi ve postlarvalarında besleme sıklığının araştırılması amacıyla elde edilen bulgular aşağıda değerlendirilmiştir.

4.2.1. Farklı İki Yöntemle Sperm Alımında Dölleme Başarısının Karşılaştırılması

Dişi anaç balıklardan alınan yumurta, vakum yardımıyla sağılan erkek anaç balık spermi (SS) ve cerrahi operasyon (CS) sonucu testislerin çıkarılmasıyla alınan sperm ile gerçekleştirilen dölleme işleminin yapıldığı denemenin sonuçları (dölleme, larva çıkış, deforme larva ve toplam larva oranları) Tablo 4.6’de sunulmuştur.

Tablo 4.6: Sperm alma yöntemine göre (SS ve CS) dölleme başarısı (%), larva çıkış oranı, deforme larva oranı (%) ve toplam larva çıkış oranına (%) ait değerler (Ort±SD).

Sperm Alım Metodu	Dölleme Oranı	Larva Çıkış Oranı	Deforme Larva Oranı	Toplam Larva Oranı
SS	81,87±17,38	71,26±13,48	4,84±1,67	76,10±12,39
CS	66,18±11,39	50,23±11,80	3,60±3,12	53,83±11,28

CS: Cerrahi işlem ile sperm alımı; SS: Sağım işlemi ile sperm alımı

Sağım işlemi sırasında her bir dişiden 1 kg’ın üzerinde yumurta alınmıştır. Birinci gruptaki erkek balıklardan IS içerisinde sağım yöntemiyle en az 11.5 ml sperm elde edilirken, ikinci grupta ise cerrahi yöntem ile en az 14 ml testis spermi elde edilmiştir.

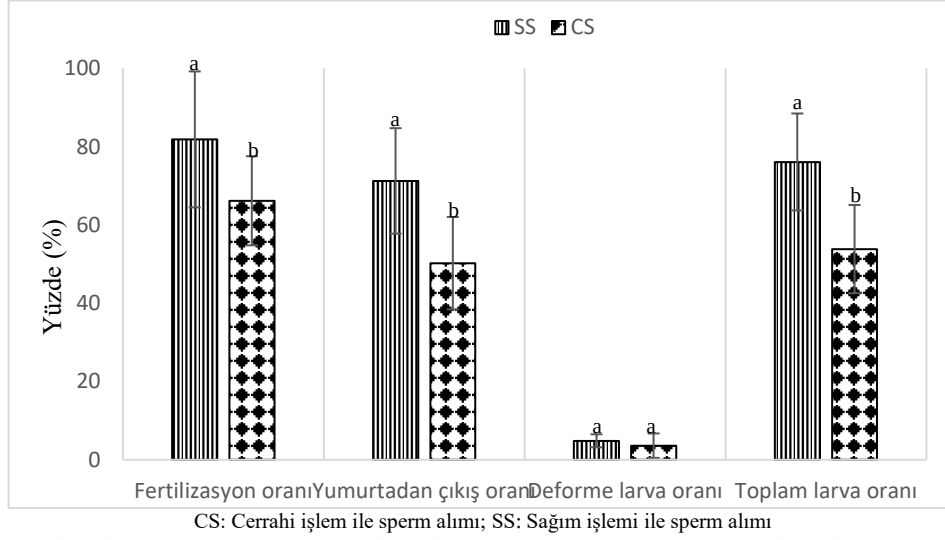
İki farklı sperm alma yöntemine bağlı dölleme başarısı incelendiğinde dölleme oranı en yüksek %81,87 ±17,38 ile SS grubunda, en düşük ise %66,18 ile CS grubunda elde edilmiştir.

Larva çıkış oranı en yüksek %71,26 ile sağım yoluyla alınan SS grubunda, en düşük ise %50,23 ile CS grubunda elde edilmiştir.

Deforme larva oranı en yüksek %4,84 ile SS grubunda, en düşük ise %3,60 ile CS grubunda elde edilmiştir.

Toplam larva oranı en yüksek %76,10 ile sağım yoluyla alınan SS grubunda, en düşük ise %53,83 ile CS grubunda elde edilmiştir.

İki farklı sperm alım metodunun uygulandığı gruplar arasında dölleme, larva çıkış ve toplam larva oranları açısından anlamlı farklılık gözlenmiştir ($p<0,05$) ancak deforme larva oranı açısından anlamlı farklılık gözlenmemiştir ($p>0,05$) (Şekil 4.22).



Şekil 4.22: Farklı sperm alma yöntemine göre (SS ve CS) döleme oranı (%), yumurtadan çıkış oranı (%), deforme larva oranı (%) ve toplam larva oranı (%).

4.2.2. Avrupa Yayın Balığı Larvalarının Farklı Besleme Sıklığında Büyüme ve Yaşama Oranlarının Karşılaştırılması

Avrupa yayın balığı post larvalarının farklı besleme sıklığında büyüme ve yaşama özelliklerinin araştırılması amacıyla yapılan çalışmada, deneme boyunca su sıcaklığı, çözülmüş oksijen ve pH parametrelerinde önemli farklılık olmamıştır (Tablo 4.7).

Tablo 4.7: Besleme çalışması boyunca takip edilen fizikokimyasal parametre değerleri (Ort±SD).

	G4	G6	G8	G12
Sıcaklık (°C)	25,9 ±0,40 ^a	26,1 ±0,38 ^a	26, 2 ±0,25 ^a	26,4 ±0,51 ^a
Oksijen (mg/l)	7,13 ±0,38 ^a	7,08 ±0,25 ^a	7,03 ±0,31 ^a	7,01 ±0,36 ^a
pH	7,65 ±0,47 ^a	7,50 ±0,23 ^a	7,48 ±0,46 ^a	7,42 ±0,35 ^a

* Aynı satır içinde aynı harflere sahip değerler arasında anlamlı şekilde farklılık gözlenmemiştir ($p > 0,05$).

15 gün süren bu denemede farklı besleme sıklığı ile beslenen Avrupa yayın balığı post larvalarının büyüme performansı (başlangıç ve son ağırlıklar; canlı ağırlık artışı, spesifik büyüme oranı ve hayatta kalma oranı) değerleri Tablo 4.8’de verilmiştir.

Tablo 4.8: Farklı yemleme sıklığı gruplarının büyüme (başlangıç ve final ağırlığı), CAA: canlı ağırlık artışı, SBO: spesifik büyüme oranı ve yaşam oranına ait (Ort±SD) değerler.

	G4	G6	G8	G12
Başlangıç ağırlığı (g)	0,00761±0,0016 ^a	0,00758±0,0019 ^a	0,0072±0,0012 ^a	0,00755±0,0018 ^a
Final ağırlığı (g)	0,098±0,004 ^b	0,091±0,015 ^b	0,106±0,011 ^c	0,082±0,007 ^a
CAA (g)	0,0904 ^c	0,0835 ^b	0,0980 ^c	0,0740 ^a
SBO (%)	18,21±0,51 ^b	17,85±0,24 ^a	19,21±0,32 ^c	17,01±0,57 ^a
HKO (%)	55±1,8 ^b	68,3±2,3 ^c	77,5±2,7 ^d	42,5±1,2 ^a

Yemleme Sıklığı :G4 grubu: günde 4 kez, G6 grubu: günde 6 kez, G8 grubu: günde 8 kez, G12 grubu: günde 12 kez ,
 *Aynı satır içinde farklı harflere sahip değerler arasında anlamlı şekilde farklılık gözlenmiştir ($p<0,05$).

Deneme grupları arasında CAA değerleri anlamlı farklılık göstermiş ($p<0,05$) ve en yüksek canlı ağırlık artışı G8 grubunda, en düşük ise G12 grubunda elde edilmiştir.

Deneme grupları arasında SBO değerleri anlamlı farklılık göstermiş ($p<0,05$) ve en yüksek spesifik büyüme oranı değerinin %19,21 ile G8 grubunda, en düşük değerin ise %17,01 değeriyle G12 grubuna ait olduğu tespit edilmiştir.

Deneme grupları arasında YO değerleri anlamlı farklılık göstermiş ($p<0,05$) ve en yüksek hayatta kalma oranı değerinin %77,5 ile G8 grubunda, en düşük değerin ise %42,5 değeriyle G12 grubuna ait olduğu tespit edilmiştir.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu tez çalışmasında, Avrupa yayın balığı yetiştiriciliğinde erkek balıklarda gamet alımında yaşanan problemlerin çözümü ve post larvalarda düşük yaşama oranı, kanibalizm larva beslenmesi gibi sorunları ortadan kaldıracak denemeler yapılmıştır. Bu denemelerin bulguları iki farklı dönemde yürütülmüş ve aşağıda tartışılmıştır.

Birinci dönem çalışmalarında, Çek Cumhuriyeti'nde 5 farklı deneme düzeneği kurulmuştur. I ve II. denemelerinde, kontrollü gamet alımında, erkek anaçlardan elde edilen sperminin farklı zamanlarda immobilizasyon solüsyonu (IS) içine alınmasına bağlı olarak farklı spermatozoa yoğunluğunun dölleme başarısına etkisi araştırılmıştır.

Yumurtaların dölleme başarısı, embriyo kalitesi ve larvaların büyüme performansı büyük ölçüde gamet kalitesine bağlıdır (Alavi ve diğ., 2008; Crean ve Bonduriansky, 2014; Zajitschek ve diğ., 2014; Gasparini ve diğ., 2017). Testislerde yer alan spermin, spermatozoa motilitesi ve hızı, sperm kalitesinin önemli belirleyicisidir (Gage ve diğ., 2004; Cheng ve diğ., 2021a). Spermatozoa motilitesinin yüzdesi başarılı bir dölleme için önemli değişken olarak kabul edilmektedir (Linhart ve diğ., 2000a; Rurangwa ve diğ., 2001, 2004; Gallego ve diğ., 2013). Seminal plazmadaki spermatozoa hareketsizdir. Ancak idrarın ozmotik basınç seviyesi seminal plazmadaki spermatozoanın osmolarite, pH ve spesifik iyon içeriği gibi çevresel koşullar spermatozoanın hareketinin değişmesine neden olmaktadır (Rurangwa ve diğ., 2004; Alavi ve diğ., 2006; Cosson ve diğ., 2008; Morisawa, 2008; Alavi ve diğ., 2009; Demoy-Schneider ve diğ., 2014; Vilchez ve diğ., 2017; Boulais ve diğ., 2018). Kontrollü koşullar altında dölleme için sperm alımı sırasında spermatozoanın kendiliğinden aktive olması istenmeyen bir durumdur (Linhart ve diğ., 1987; Alavi ve Cosson, 2006; Alavi ve diğ., 2019). Sağım sırasında spermatozoanın, idrar bulaşması ile erken aktive olması olumsuz etki göstermekte ve dölleme başarısının hızlı bir şekilde düşmesine neden olmaktadır. Birçok balık türünde ise idrar mesanede birikmekte ve sağım sırasında sperm ile gelmektedir (Linhart ve diğ., 2003; Linhart ve diğ., 2004; Gonzalez-Lopez ve diğ., 2020). Sağım sırasında idrarla bulaş olmuş zebra (*Danio rerio*), Avrupa yayın balığı, kadife balığı (*Tinca tinca*), koca ağız balığı (*Leuciscus aspius*), sudak balığı (*Sander lucioperca*) ve tilapia balığı (*Oreochromis mossambicus*) gibi ılık su balıklarının spermatozoasının aktive olduğu ve bu hareketliliği önlemek, osmolariteyi kontrol etmek için bir IS kullanılmazsa spermin dölleme yeteneğinin düşmesine sebep olduğu yapılan

çalışmalar sonucunda bildirilmiştir (Linhart ve diğ., 1987; Linhart, 1991; Linhart ve diğ., 1999; Linhart ve diğ., 2003; Cardona-Costa ve diğ., 2009; Wilson-Leedy ve diğ., 2009; Korbuly ve diğ., 2009; Cejko ve diğ., 2010; Wasden ve diğ., 2017; Kristan ve diğ., 2018; Matthews ve diğ., 2018). Bu olumsuz etkiyi azaltmak için sperm hareketini azaltan türe uygun immobilizasyon solüsyon içine alınarak spermin motilitesi korunmaktadır (Horvath ve diğ., 1992; Linhart ve diğ., 2004). Bu yüzden dölleme yeteneğini koruyan uygun bir immobilizasyon solüsyon içine spermin alınması çok önemlidir (Linhart ve Kvasnicka, 1992; Rodina ve diğ., 2004; Kobayashi ve diğ., 2004).

Spermatozoa idrar bulaşması ile aktive olduğunda, IS'ye maruz kalmadan önceki birkaç saniye içinde bir miktar enerji kaybolmaktadır (Alavi ve diğ., 2019). Sperm motilitesi, solunum ve ATP üretimi arasındaki ilişki Avrupa yayın balığı (*Silurus glanis*), sazan balığı (*Cyprinus carpio*) ve levreklerde (*Perca fluviatilis*) genellikle ATP'nin %50'sinin aktivasyondan sonraki ilk 5-10 saniye içinde tükendiği tespit edilmiştir (Perchev ve diğ., 1995; Billard ve diğ., 1997; Boryshpolets ve diğ., 2009). Bu kaybolan enerji, spermin IS içinde saklanması ile dakikalar içinde geri kazanılabilmektedir (Linhart ve diğ., 2008; Cejko ve diğ., 2018; Xin ve diğ., 2020). Optimum ozmotik basınç, iyon ve pH koşulları altında spermin daha uzun süre saklanması spermin kalitesini koruyarak, spermin enerjisini yeniden oluşturduğu bildirilmiştir (Cabrita ve diğ., 2014; Trigo ve diğ., 2015; Contreras ve diğ., 2017; Cheng ve diğ., 2021a).

Çalışmada 0, 24 ve 168 saat (7 gün) IS'da saklanan sperm ve 5×10^4 adet/ml, 5×10^5 adet/ml, 5×10^6 adet/ml yoğunluklarında dölleme işlemi gerçekleştirilmiştir. Dölleme işlemi sonucunda spermin immobilizasyon solüsyonu içerisinde saklama süresinin artmasıyla, spermatozoa yoğunluğundan bağımsız olarak, tüm gruplarda dölleme oranında bir düşüş olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.4 ve Şekil 4.7).

Tüm deneme gruplarında IS kullanımı açısından 5×10^4 adet/ml yoğunluğundaki spermin 24 saat saklanması ve 5×10^6 adet/ml yoğunluğundaki spermin 168 saat saklanması sonucunda sırasıyla en düşük (% 11,13) ve en yüksek (% 82,19) dölleme oranı elde edilmiştir.

Balıklarda spermin kısa süreli saklanması, spermatozoa motilitesinin yüksek olmasına ve yüksek dölleme oranına neden olur. Sazan balığı sperminin *in vitro* koşullarda 6 gün

saklanması sonucunda dölleme ve larva çıkış oranları sırasıyla; %92,5 ile %91,4 olarak bildirilmiştir (Cheng ve diğ., 2023). Cejko ve diğ., (2022)'nin çalışması göre ise sazan sperminin 14 gün boyunca *in vitro* saklanması sonucunda dölleme ve larva çıkış oranı sırasıyla; %80 ile %40 olarak belirlenmiştir. Hassan ve diğ., (2013)'ne göre Hindistan sazan balığının (*Labeo calbasu*) *in vitro* koşullarda, dölleme ve kuluçka oranı sırasıyla %76 ile %61 olarak bildirilmiştir.

Bu denemenin sonuçlarına baktığımızda Avrupa yayın balığı sperminin *in vitro* koşullarda 24 saat boyunca IS'da saklanmasında dölleme ve yumurtadan larva çıkış oranı sırasıyla %58,2 ve %54,68, 168 saat boyunca IS'da saklanmasında ise %82,19 ile %78,47 olarak belirlenmiştir. Gruplar arasında yapılan istatistiki değerlendirmelerde hem saklama süresi hem de farklı sperm yoğunlukları açısından anlamlı şekilde farklılık olduğu tespit edilmiştir ($p<0,05$). Bu denemelerden elde edilen sonuçların literatürde bildirilen sonuçlarla benzer olduğu tespit edilmiştir.

Sperm hareketlilik parametreleri, spermatozoanın yumurtayı dölleme kapasitesini belirlemektedir (Kime ve diğ., 2001; Cosson, 2004). Literatürdeki çalışmalara baktığımızda motilite parametrelerinden VCL ve VSL'nin sperm kalitesini değerlendirmede ve dölleme performansında önemli bir rol oynadığı vurgulanmaktadır (Rodina ve diğ., 2004; Rurangwa ve diğ., 2004; Silva ve diğ., 2006; Hafez ve diğ., 2013; Gallego ve diğ., 2017; Xia ve Niu, 2017; Gallego ve Asturiano, 2019). Literatüre baktığımızda, *in vitro* saklanan spermin VCL ve VSL'si, sazan balığı, zebra balığı ve levrek balığında artan saklama süresiyle azaldığı bildirilmiştir (Cheng ve diğ., 2021a,b; Bokor ve diğ., 2021). Gage ve diğ., (2004)'in çalışmasına göre, Atlantik somonunda (*Salmo salar*) saklanan spermatozoanın VCL ve VSL'sinin genel olarak yavaşladığı bildirilmiştir. Linhart ve diğ., (2004)'in çalışmasına baktığımızda Avrupa yayın balığı gibi diğer balık türlerinde immobilizasyon solüsyonunda saklanan spermin aktive edildiğinde dölleme oranı, sperm motilitesi, VCL'nin ve VSL'nin arttığı rapor edilmiştir. Avrupa yayın balığı sperminin dondurmadan önce 5 saat boyunca IS'de saklanması, çözülme sonrası döllemede kullanılan spermin motilitesini ve dölleme oranını arttırdığı rapor edilmiştir (Linhart ve diğ., 2005).

Mevcut çalışmanın sonucunda IS içinde 24 saat boyunca saklanan Avrupa yayın balığı sperminin, taze sperm (0. saat) kalite parametrelerine kıyasla, motilite oranı, VCL ve VSL’inde bir artış gözlenmiştir. Bu üç parametre için IS içinde 168 saat (7 gün) boyunca saklama sonucunda da benzer bir sonuç tespit edilmiştir. Tespit edilen motilite, VSL ve VCL açısından gruplar arasında anlamlı farklılık olduğu ($p<0,05$) belirlenmiştir (Şekil 4.1 ve 4.2). Yumurtaların dölleme başarısının sperm kalite parametreleri ile ilişkili olduğu belirlenmiştir.

Balıklarda spermin kısa süreli saklanması, kontrollü koşullar altında akuakültürde kullanılan yaygın bir uygulamadır (Contreras ve diğ., 2020; Dietrich ve diğ., 2021). Balık türlerine bağlı olarak, genellikle 0-4°C arasındaki sıcaklıkta bekletilen spermde bakteri oluşumu gözlemlenmemektedir (Rurangwa ve diğ., 2004; Bobe ve Labbe, 2008). Spermin *in vitro* saklanması sırasında, sıcaklığın değişmemesi çok önemlidir (Stoss ve Refstie, 1983; Brown ve Mims, 1995; Garcia ve diğ., 2016; Parodi ve diğ., 2017). Birçok ılık su balığı [Nil tilapyası, kanal yayın balığı (*Ictalurus punctatus*), sazan balığı] spermi 0-4°C sıcaklıkta kısa süreli saklanabilmektedir (Rana ve diğ., 1990; Christensen ve Tiersch, 1996; Marinovic ve diğ., 2021). Spermatozoa motilite yüzdesi, *in vitro* sperm saklamasından etkilenmektedir (Billard ve diğ., 1995; Kidd ve diğ., 2001; Linhart ve diğ., 2003; Shaliutina-Kolešová ve diğ., 2014; Zhang ve diğ., 2022). Spermatozoa yoğunluğundaki değişiklikler, anaç balık kalitesine, sulandırıcı kullanımına ve saklama süresine bağlıdır (Cheng ve diğ., 2021a). *In vitro* koşullarda sazan ve mersin sperminin saklanması yoğunluğu, motilite ve dölleme kapasitesini arttırmıştır (Linhart ve diğ., 2008; Xin ve diğ., 2020).

Genel olarak, daha yüksek ATP konsantrasyonu ve oksijen değişimi ile seyreltilmiş spermatozoa, seyreltilmemiş spermatozoaya göre daha yüksek bir canlılığa sahiptir (Park ve Chapman, 2005; Jing ve diğ., 2009; Contreras ve diğ., 2017; Ulloa-Rodríguez ve diğ., 2018; Contreras ve diğ., 2020; Cheng ve diğ., 2022). Cheng ve diğ., (2022)’nin yaptığı çalışmaya göre sazan balığı sperminin seyreltme çözümü olmadan, birkaç saat saklamanın mümkün olduğu ve 4°C’de solüsyon içerisinde 8 gün saklanan sperm motilitesinin %67 olduğu rapor edilmiştir. Cejko ve diğ. (2018) sazan sperminin *in vitro* kuşullarda 4°C’lik sıcaklıkta 3 gün saklanması ile sperm motilitesini %72,6 olarak bildirilmiştir. Sazan sperminin 14 gün boyunca saklanması sonucunda (10°C) sperm motilitesi %55 olarak bildirilmiştir (Cejko ve diğ., 2022). Sarosiek ve diğ., (2014)’nin çalışmasına göre, levrek (*Perca fluviatilis*) sperminin 4°C’de *in vitro*

saklanması (12 gün) sperm motilitesi %64 tespit edilmiştir. Kobayashi ve diğ., (2004)'in çalışmasına göre ise levrek sperminin 17 gün *in vitro* olarak depolanabilir ve sperm motilitesinin %56,9 olduğu bildirmiştir. Shaliutina ve diğ., (2013)'in çalışmasına göre, Rus mersin balığı (*Acipenser gueldenstaedtii*) ve Sibirya mersin balığı (*Acipenser baerii*), sperminin *in vitro* saklanması (6 gün) sonrası sperm motilitesi %50 olarak rapor edilmiştir. Avrupa yayın balığı sperminin, IS içinde 2-3 gün (4°C) depolanabileceği bildirilmiştir (Linhart ve Billard, 1994; Saad ve Billard, 1995). Linhart ve diğ., (2020)'nin çalışmasında Avrupa yayın balığı sperminin, IS'de 14 gün boyunca saklanması sperm motilitesinin %60 oranında olduğu rapor edilmiştir.

Bu tez çalışmasından Avrupa yayın balığı sperminin IS'da 24 saat saklanması sonucunda ile sperm motilitesi %90, 168 saat sonunda ise %80 olduğu tespit edilmiştir. Spermin kısa süreli saklanması açısından, elde edilen bulgular literatürdeki çalışmalarla benzer olduğu görülmüştür. Mevcut çalışmada ise Avrupa yayın balığı sperminin IS içerisinde 0-2°C sıcaklıkta bekletilmesinin 168 saat boyunca sperm motilitesini koruduğu tespit edilmiştir. Balıklarda yumurta/spermatozoa oranının, kontrollü üretim koşullarında *in vitro* döllemenin standardizasyonu için çok önemli bir faktör olduğu bilinmektedir (Butts ve diğ., 2009,2014; Gallego ve diğ., 2013; Nynca ve diğ., 2014,2015; Blawut ve diğ., 2018; Beirao ve diğ., 2019; Ramos-Judez ve diğ., 2019; Cejko ve diğ., 2019; Cheng ve diğ., 2022; Cejko ve diğ., 2022). Bu çalışmada dölleme işleminde *in vitro* koşullarda saklanan sperm kullanıldığında, dölleme oranının sperm saklama süresinin uzamasıyla azaldığı, ancak spermatozoa sayısının artırılmasıyla, dölleme oranındaki azalmayı telafi ettiği tespit edilmiştir.

Mevcut çalışmanın sonuçlarına baktığımızda I ve II denemelerde, Avrupa yayın balıklarından alınan sperm *in vitro* koşullarda IS 'da 168 saat boyunca saklanabilirken spermin motilite oranının dölleme için yeterli olduğu fakat dölleme oranının ve kuluçka oranının azaldığı ancak bu azalmanın döllemede kullanılan spermatozoa sayısının on kat artırılmasıyla, %80 oranında dölleme başarısına ulaştığı tespit edilmiştir.

Bu tez çalışmasının III. denemesinde, kontrollü üretim aşamasında dişi anaçların yumurtlatılması ve döllememiş yumurtaların dölleme işleminden önce farklı saklama sıcaklıklarına bağlı olarak farklı saklama sürelerinin etkisi araştırılmıştır.

Çalışmada elde edilen sonuçlara göre üç farklı dişi balığın döllememiş yumurtaları farklı sıcaklıklarda (17°C ve 21°C) ayrı ayrı saklanmış ve dölleme işlemi, yumurta toplama işleminden 1 saat, 3 saat, 5 saat ve 7 saat sonra farklı zaman aralıklarında gerçekleştirilmiştir. Yumurtaların saklama süresinin artmasıyla birlikte, saklama sıcaklığından bağımsız olarak tüm gruplarda dölleme oranında bir düşüş olduğu görülmüştür (Şekil 4.10). Literatürde yapılan araştırmalarda Avrupa yayın balığına ait farklı dişi bireylerden alınan yumurtalar bir araya getirilerek dölleme yapıldığında, dölleme başarısının hangi dişi bireyden kaynaklandığının tahmin edilmesinin zorlaştığı görülmüştür (Linhart ve diğ., 2005; Bokor ve diğ., 2010; Bokor ve diğ., 2019).

Bu çalışmada ise, farklı dişilerden alınan yumurtalar bir araya getirilmemiş ve dişi bireyler arasında yumurta kalitesi açısından istatistiksel fark gözlenmiştir ($p<0,05$). Tüm deneme gruplarında %49,57 ile 90,72 arasında değişen dölleme oranları tespit edilmiştir. En yüksek dölleme oranları, döllememiş yumurtaların saklama sıcaklığına bakılmaksızın, yumurtaların sağımından sonraki 3 saat içinde dölleme işleminin yapıldığı gruplarda elde edilmiştir. Bu saklama süresinde, dölleme oranı test edilen tüm gruplarda en yüksek %90,72 olmuştur. Döllemiş yumurtaların saklama sıcaklığı ve süresinin etkileşimi dölleme oranı üzerinde anlamlı farklılık göstermiştir ($p<0,05$).

Avrupa yayın balığı yumurtalarının idrar bulaşmasına karşı çok hassastır ve bulaşmadan sonraki dakikalar içinde yumurtadan çıkma oranının düşürmektedir (Linhart ve Billard 1995; Linhart ve diğ., 2004). Sağım işleminden sonra artan süre ile yumurta canlılık oranlarındaki azalmaya ilişkin bilgilerin daha önce Avrupa yayın balığı (Linhart ve Billard, 1995) ve diğer birkaç balık türü için benzer olduğu vurgulanmıştır (Kiselev, 1980; Samarin ve diğ., 2015a). Yumurtaların dölleme işlemi öncesinde bekletilme süresi, balık türüne, saklama sıcaklığına, inkübasyon sistemine ve yumurtaların kalitesine bağlı olarak dakikalardan günlere kadar değiştiği tespit edilmiştir (Stoss, 1983; Rizzo ve diğ., 2003; Niksirat ve diğ., 2007; Bobe ve Labbe, 2010; Samarin ve diğ., 2015a; Bobe, 2015). Anaç balıkların ovaryumunda gelişen yumurtaların olgunlaşması, ılık su veya tropikal balıklarda, soğuk su balıklarına göre daha hızlı gerçekleşmektedir (Niksirat ve diğ., 2007; Bobe ve Labbe, 2010; Lubzens ve diğ., 2010).

Bu çalışmada dölleme öncesinde yumurtaların farklı zamanlarda *in vitro* saklanması elde edilen verilere bakıldığında dölleme ve yumurtadan larva çıkış oranlarının süre uzadıkça düştüğü (Tablo 4.3) ve yumurtaların bekletilmesinde gruplar arasında istatistiki açıdan anlamlı bir fark olduğu belirlenmiştir ($p<0,05$).

Yumurtaların saklama sırasında sıcaklığın sabit tutulması, yumurtaların kurummasının önlenmesi ve daha küçük hacimlerde saklanması çok önemlidir (Linhart ve Billard 1995; Lahnsteiner ve Weismann, 1999; Samarin ve diğ., 2015a, 2016). Fizyolojik süreçlerin hızı çoğunlukla sıcaklıktan etkilendiğinden, döllememiş yumurtaların genellikle yumurtlama sıcaklıklarından 10-15°C daha düşük olan sıcaklıklarda *in vitro* koşullarda saklanması, Avrupa yayın balığı, sazan, kalkan (*Psetta maxima*), curimatas (*Prochilodus marggravii*), sarıkuyruk tetra (*Alestopetersius caudalis*) ve Mozambik tilapyasında (*Sarotherodon mossambicus*) başarılı olmadığı bildirilmiştir (Harvey ve Kelley 1984; Linhart ve Billard 1995; Rothbard ve diğ., 1996; Dinnyes ve diğ., 1998; Suquet ve diğ., 1999; Rizzo ve diğ., 2003; Yasui ve diğ., 2015). Çok düşük yumurta saklama sıcaklıkları, yumurta canlılık oranlarında düşüşe neden olmakta, ayrıca *in vitro* yumurta saklanmasında çok düşük sıcaklıkların kullanılması anomalilere neden olmaktadır (Varkonyi ve diğ., 1998; Flajshans ve diğ., 2007; Samarin ve diğ., 2016). Genellikle yumurtlama sıcaklıklarından daha yüksek olan sıcaklıkların, düşük sıcaklıklara kıyasla yumurta canlılığında azalmaya neden olmaktadır (Aegerter ve Jalabert, 2004; Samarin ve diğ., 2017). Bu yüzden, yumurtalar için en uygun saklama sıcaklığı türler arasında farklılık göstermekle birlikte belirli türlerin yumurtlama sıcaklığına bağlı olarak değişmektedir (Linhart ve Billard, 1995; Rothbard ve diğ., 1996; Samarin ve diğ., 2015a). Yumurtlama sıcaklığı 25°C olan Mozambik tilapyasında, yumurta saklama için en uygun sıcaklığın 20-22°C olduğu bildirilmiştir (Harvey ve Kelley, 1984). Sazan balığı yumurtalarının yumurtlama sıcaklığının 20-22°C olduğu ve 15-20°C sıcaklıklarda iyi muhafaza edildiği (Jahnichen, 1978; Kiselev, 1980; Rothbard ve diğ., 1996; Samarin ve diğ., 2019a,b), Japon balıklarında (*Carassius auratus*) ise, 20°C su sıcaklığının hem yumurtlama hem de yumurta saklanması için başarıyla kullanılabileceği rapor edilmiştir (Samarin ve diğ., 2019c). Soğuk su balıklarında ise, *in vitro* yumurta saklama için uygun sıcaklık, yumurtlama sıcaklığından çok daha düşük olup, genellikle 4-10°C'dir. Mersin balığı (*Acipenser ruthenus*) yumurtalarının *in vitro* koşullarda saklanması için 7-11°C'lik sıcaklık uygun kabul edilirken, 15°C'lik sıcaklık ise yumurtlama için ideal kabul edilmiştir (Linhart ve diğ., 2016). İran mersin balığında (*Acipenser persicus*)

da benzer sonuçlar bildirilmiştir (Sohrabnezhad ve diğ. 2006; Hajirezaee ve Niksirat, 2009). Avrasya levreği (*Perca fluviatilis*) 12-14°C sıcaklıkta yumurtlarken ve *in vitro* yumurta saklama için ideal sıcaklık 4°C iken; gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) için yumurtlama sıcaklığının 10-12°C, yumurta saklama için ise su sıcaklığı 2-3°C’de olarak bildirilmiştir (Samarin ve diğ., 2017).

Bazı balık türlerinin yumurtalarının sağım işleminden sonra birkaç saatten birkaç güne kadar canlı kalabildiği tespit edilmiştir (Samarin ve diğ., 2015b). Bu durum ılık su balığı türlerinde 30 dk-8,5 saat arası iken soğuk su balıklarında 3-9 gün arası değişmektedir (Rizzo ve diğ., 2003; Samarin ve diğ., 2015a; Linhart ve diğ., 2016). Linhart ve diğ., (2001)’ne göre kadife balığı yumurtalarının 21°C’de 30 dk; Sohrabnezhad ve diğ., (2006) ve Hajirezaee ve Niksirat (2009)’ın çalışmalarına göre mersin balığı yumurtaları 18°C’de 3 saat, Gisbert ve Williot (2002)’a göre 15°C’de 2-4 saat, Linhart ve diğ., (2016)’nin çalışmasına göre ise 7 ve 11°C’lerde 10 saate kadar saklanabildiği tespit edilmiştir. Suquet ve diğ., (1999)’ne göre kalkan balığı yumurtaları 8-13°C arası sıcaklıkta 3 saat; Zlabek ve Linhart (1987) ve Linhart ve diğ., (2023)’in çalışmalarına göre, sazan yumurtaları 19°C’de 6 saat, Linhart ve Billard, (1995)’e göre Avrupa yayın balığı yumurtaları 19°C’de 8,5 saat, Niksirat ve diğ., (2007)’nin çalışmasına göre ise, gökkuşağı alabalığı yumurtaları 2-12°C arasında 3-9 gün arasında saklanabileceği bildirilmiştir.

Linhart ve Billard (1995), Avrupa yayın balığı döllenmemiş yumurtalarının yumurtlamadan sonra 3 saat boyunca 18-20°C’de döllenme oranında önemli bir düşüş olmadan saklanabileceğini bildirilmiştir. Andoniu (2019)’un çalışmasına göre; kadife balıklarının yumurtaları 5°C’de 10 saatlik saklamadan sonra en yüksek döllenme oranı %20 olarak bildirilmiştir. Linhart ve diğ., (2016)’nin çalışmalarına göre mersin balığı yumurtaları 7 ve 11°C sıcaklıklarda 10 saatlik saklanmasından sonra, dölleme oranı %54-69 arasında tespit edilmiştir. Bu tez çalışmasında elde edilen mevcut sonuçlar Avrupa yayın balığı yumurtalarının 17°C’de 7 saat saklanabileceği literatür sonuçları ile paralellik göstermektedir. Çalışmamızda yumurtlamanın 22°C’de meydana geldiği ve yumurta saklama için en iyi sıcaklığın 17°C olduğu tespit edilmiştir. Literatür sonuçlarına baktığımızda, ılık su balığı türlerinde yumurtaların dölleme işlemi öncesinde bekleme süresi için en uygun sıcaklığın yumurtlamanın meydana geldiği sıcaklıktan yaklaşık 0-5°C daha düşük olabileceğini göstermektedir. Avrupa

yayın balığı yumurtalarının sağım sonrasında 3 saat bekletilmesi sonucunda en yüksek dölleme oranının (%90) elde edilebilirliğini mevcut çalışma göstermiştir.

Yumurtaların hayatta kalma süresi artan sıcaklıkla birlikte azaldığından, sağım zamanı daha yüksek sıcaklıklar kritik önem kazanmaktadır (Hogendoorn ve Vismans, 1980; Legendre ve diğ., 1996; Samarin ve diğ. 2015a,b, 2019b). Sağım zamanının ovulasyondan sonra geciktirilmesi, yumurtaların aşırı olgunlaşmasına ve bunun sonucunda düşük dölleme oranına, yüksek deforme larva oranına neden olmaktadır (Hogendoorn ve Vismans, 1980; Legendre ve diğ., 1996; Samarin ve diğ., 2015a, b, 2019b). Bu araştırmadan elde edilen sonuçlar, yumurta saklama sıcaklığının (17-22°C) ve spesifik dişi etkisinin, deforme larva oranında önemli bir etkiye sahip olduğu istatistiki olarak gösterilmiştir ($p < 0,05$). Sıcaklık $> 17^{\circ}\text{C}$ olduğunda, yumurtadan çıkan larva ve deforme larva oranını etkilenmektedir. Fakat yumurta saklama süresinin (1'inci, 3'üncü, 5'inci ve 7'inci saat) deforme larva oranı üzerinde istatistiki olarak etkisi olmadığı belirlenmiştir ($p > 0,05$). Samarin ve diğ. (2015a) ve Samarin ve diğ. (2019a)'nin çalışmalarına göre spesifik dişi ve *in vitro* saklama süresinin deforme larva oranı üzerinde önemli etkisi olduğu bildirilmiştir. Dişiler arasında gözlenen deforme larva oranı farklılıklarının balığın sağlık durumu, beslenmesi ve yaşı ile ilgili olduğu bilinmektedir (Horvath ve Tamas 1976; Linhart ve Billard, 1995; Linhart ve diğ., 2004).

Deneme III çalışmasında tespit edilen en düşük deforme larva oranının, hormon uygulamasından önce toplam dişi popülasyonunun sadece %30'unun kontrol edilmesiyle, yumurta kanalından rutin oosit toplanmasından sonra deneme için en iyi dişilerin seçilmesiyle ilgili olduğu düşünülmektedir.

Tezin deneme III çalışmasında elde ettiğimiz verilere göre, Avrupa yayın balığı yumurtalarının *in vitro* koşullarda dölleme zamanına kadar kısa süreli muhafaza etme süresinin, yumurtlamadan sonraki 5 saati (17°C) geçmemesi gerektiği sonucuna varılmıştır. Avrupa yayın balığında yumurta kalitesinin, *in vitro* saklama süresi uzadıkça düşmüş yumurtaların *in vitro* olarak ne kadar süre tutulabileceğine dair kuluçkahane yönetimi için çok önemli olduğu belirlenmiş ve yumurta kalitesinin dişiler arasındaki farklılıktan kaynaklandığı görülmüştür.

Bu tez çalışmasının IV denemesinde, sağımlı sonrası elde edilen yumurtaların farklı zamanlarda alınan sperm ile (0. saat ve 24 saat) dölleme işleminden sonra, yumurtaların yapışma özelliğini gideren alkalaz enzim kullanımının, dölleme başarısına etkisi araştırılmıştır. Deneme V'e ait çalışmada ise döllemlenmiş yumurtalarda farklı oranlarda (3 ml, 3,5 ml, 4,0 ve 5,0 ml) alkalaz enzimi kullanımının dölleme başarısına etkisi araştırılmıştır.

Ilık su balık yumurtalarının çoğu, yumurta zarı veya koryon olarak adlandırılan ve yumurta yapışkanlığının ana kaynağı olan proteinli tabaka ile kaplıdır (Cherr ve Clark, 1982; Robles ve diğ., 2007). Kontrollü koşullar altında kültür yapılan birçok tatlı su türünde (sazan balığı, Avrupa yayın balığı ve sudak balığı), döllemlenmiş yumurtaların inkübasyon sistemine yerleştirilmeden önce yumurtadaki yapışkanlığın tamamen giderilmesi çok önemlidir (Krise ve diğ., 1986; Al Hazzaa ve Hussein 2003; Linhart ve diğ., 2003; Demska-Zakęs ve diğ., 2005; Siddique ve diğ., 2016). Avrupa yayın balığı yumurtaları, diğer birçok balık türünün yumurtalarına nispeten daha yüksek bir viskoziteye sahip olduğundan, yapışkanlığı giderilmez ise döllemlenmiş yumurtaların yaşam oranı düşmektedir (Linhart ve diğ., 2005). Yumurtaların yapışkanlığı dölleme için sorun teşkil etmez, ancak inkübasyon sırasında yumurtalar birbirine yapışarak kitleler oluşturduğundan patojen organizmaların gelişimini artırır (Al Hazzaa ve Hussein, 2003; Kristan ve diğ., 2016). Yumurtaların birbirine yapışması oksijen alımını engellediğinden, yumurtalarda ölüm oranı artmaktadır (Paxton ve Willoughby, 2000; Demska-Zakęs ve diğ., 2005; Siddique ve diğ., 2016).

Avrupa yayın balığı, kadife balığı ve sazan başta olmak üzere ılık su türlerinin yumurtaları için en etkili yapışkanlığı yok etme yöntemi proteolitik enzimlerin uygulanmasıdır. Proteolitik enzimler proteinli tabakayı yok ettiğinden yumurta yapışkanlığını ortadan kaldırır ve embriyonik gelişim ile yumurtadan larvaların çıkışını önemli ölçüde kolaylaştırır (Gela ve diğ., 2003; Mansour ve diğ., 2009). Fakat yumurta yapışkanlığının giderilmesinde yumurtaların yüksek oranda kimyasala uzun süre maruz kalması koryona zarar verebilir (Psenicka, 2016, 2018; Psenicka ve Franek, 2021). Bu yüzden bu kimyasalların kullanım oranlarına dikkat etmek gerekmektedir. Yumurta yapışkanlığının giderilmesi için yaygın olarak kullanılan enzimler; alkalaz, maksataz, tripsin ve kimotripsindir. Kontrollü koşullar altında yapılan üretimde alkalaz, adi sazan, kadife balığı ve Avrupa yayın balığı yumurtalarındaki yapışkanlığın giderilmesi için başarıyla kullanılmıştır (Gela ve diğ., 2003; Linhart ve diğ., 2004).

Zakes ve diğ., (2006)'nin yaptığı çalışmada, sudak yumurtalarının aktivasyondan 2, 5 ve 10 dakika sonra %0,05, 0,1 ve 0,5 oranında proteaz çözeltileri test etmiştir. En yüksek kuluçka oranı (%80) 2 dakika sonra %0,5 grubunda elde edilmiştir. Krise ve diğ., (1986)'nin çalışmasında ise sudak balığı yumurtalarının 30 dakika boyunca %0,01 oranında proteaz muamelesiyle yaklaşık %80'lik bir kuluçka oranı bildirilmiştir. Kristan ve diğ., (2016)'nin çalışmasına göre, turna balığında 5 ml, 2 ml ve 1,5 ml oranlarında alkalaz enzimi kullanılarak 2 dakika içinde %100 lük yumurta yapışkanlığı giderilmiştir. Linhart ve diğ., (2003) kadife balığında 10 ml alkalaz enzimi ile %87,1 kuluçka oranı, Avrupa yayın balığında döllenmeden 3 dakika sonra 20 ml alkalaz enzimi, sazan balığında ise döllenmeden 8 ve 20 dakika sonra 2 ml ve 20 ml alkalaz enzimi uygulaması sonucunda döllenme ve kuluçka oranını sırasıyla %80 ve 87 olarak bildirilmiştir. Linhart ve diğ., (2004)'in, Avrupa yayın balığında yumurta yapışkanlığının ortadan kaldırılması için en iyi zaman, döllenme işleminden 3 dakika sonra 20 ml alkalaz enziminin 2 dakika boyunca uygulama olduğu bildirilmiştir. Bu çalışmada ise Avrupa yayın balığı yumurtalarının yapışkanlığının giderilmesinde alkalaz enziminin kullanılması sonucunda yüksek bir döllenme oranı (%94,42-94,93) tespit edilmiştir.

Deneme IV ve V'de (Şekil 4.13; Şekil 4.16), döllenmiş yumurtalara alkalaz enziminin uygulanmasıyla birlikte, farklı zamanlarda alınan sperm ve farklı oranlarda kullanılan alkalaz enziminin tüm gruplarda döllenme oranında yapılan istatistiki analizi sonucunda anlamlı bir fark oluşmadığı belirlenmiştir ($p>0,05$).

Çalışmamızda alkalaz enzimi kullanımının yumurtaların yapışkanlığının giderilmesi konusunda literatürü destekleyici bir sonuç tespit edilmiştir. Ancak, döllenme başarısı açısından farklı oranlarda alkalaz enzimi kullanımının önemli bir fark oluşturmadığı belirlenmiştir.

İkinci dönem çalışmalarında, Türkiye'de dişi Avrupa yayın balığının yumurtaları, farklı iki metot kullanılarak (testisler kesilerek ve sağım yoluyla) alınan sperm ile döllenmişlerdir. Ardından larvaların ilk besleme çalışması yapılmıştır. Cerrahi işlem uygulanarak testisleri alınan sperm grubunun, döllenme oranında, sağım ile alınan sperm grubuna göre bir düşüş olduğu görülmüştür (Şekil 4.19).

Anaç balıklardan sperm elde etmek için çeşitli yöntemler kullanılmaktadır. Erkek balıklardan sperm alımı abdominal masaj ile sağım ya da testis diseksiyonu ile yapılmaktadır. Her bir yöntemin etkili olup olmadığı, balıkların türüne, kullanılan yönteme, mevsime ve bireysel farklılıklara bağlı olarak değişebilmektedir. Bu nedenle, sperm elde etme sürecinde seçilen yöntemin dikkatlice değerlendirilmesi ve uygulanması oldukça önemlidir. Geçmişte hayvan koruma mevzuatının gelişmediği bazı ülkelerde, Avrupa yayın balığının ağzına dikiş atılarak saldırganlıktan kaynaklanan yaralanmalar azaltılmıştır (Horvath ve diğ., 1992). Avrupa ve Asya'daki birçok ülkede, Avrupa yayın balığı üretiminde erkek anaç balıkların öldürülmesi sonucunda testislerin çıkarılarak sperm elde edilmesi ile bu uygulama sırasında bira erkek birey kullanılması genetik çeşitliliğin korunması ve sürdürülmesine ilişkin Bern Sözleşmesi'ne aykırı olduğu belirtilmiştir (Zibiene ve Zibas, 2019).

Erkek Avrupa yayın balığı sperm eldesinde uygulanan sağım yöntemi, ek Cumhuriyeti ve Fransa haricinde, Avrupa lkelerinde yaygın olarak uygulanmamaktadır (Linhart ve diğ., 2000a). Dişi yayın balığından yumurta alınmadan önce erkek yayın balığının testisleri çıkarılarak sperm elde edilmektedir. Avrupa yayın balığının sağımında elde edilen yetersiz sperm miktarı, erkek anaç balıkların öldürülmesinin sebeplerinden biridir. Erkek Avrupa yayın balıklarından sperm elde etmek için iki yöntem kullanılmaktadır. Cerrahi yöntem, laparotomi yoluyla erkek yayın balıklarında testis dokusunun tamamen veya kısmen çıkarılmasıyla öldürücü olmayan cerrahi tekniklerin kullanılmasını içerir (Diyaware ve diğ., 2010; Sanap ve diğ., 2018). Fakat laparotomi ameliyat sonrası balıklarda hastalıklara neden olabilir ve sürekli gözlem yapılması gerekmektedir (Romanova ve diğ., 2017). Testisi alınmış balıklar üreme için kullanılamamakta ve bir süre sonra ölmektedir. Diğer yöntem ise, sağım yoluyla sperm elde edilen yöntemdir. Bu yöntemde sperm, erkek bireyi öldürülmeden vakum yardımıyla elde edilmektedir. Bu uygulama daha avantajlıdır ve bireyin yaşamasını ve üreme faaliyetlerini yıllarca sürdürmesini sağlamaktadır (Tinkir ve diğ., 2022). Bazı balık türlerinde, sperm kanalı ve idrar kanalının birbirine yakın olması veya hem spermin hem de idrarın salındığı bir ürogenital gözenek bulunması nedeniyle, sağım sırasında spermin idrar bulaşması kaçınılmazdır (Linhart ve diğ., 1986; Linhart ve diğ., 2003; Rurangwa ve diğ., 2004). Ancak sağım ile alınan sperme idrar bulaşması iki dakika içinde sperm motilitesinin azalmasına neden olmaktadır (Linhart ve diğ., 1987). Sperm toplama sırasında sperme idrar bulaştığında spermatozoa aniden harekete geçer (Linhart ve diğ., 1987; Linhart ve diğ., 2004). İdrar

bulaşmasına bağlı olarak sperm kalitesinin bozulması, birçok ılık su balığında (turna balığı, Avrupa yayın balığı) rapor edilmiştir (Legendre ve diğ., 1996; Kristan ve diğ., 2014). Sağım sırasında balıklar idrar, bakteriyel bulaşma ve diğer mikroflorayı en aza indirmek amacıyla erkek anaç balıkların papillalarından vakumla elde edilen sperm IS solüsyonu içine alınarak kullanılmıştır (Linhart ve diğ., 2004; Linhart ve diğ., 2020; Tinkir ve diğ., 2021).

Gamet kalitesi; döllenme başarısında, embriyo kalitesinde ve larva büyüme performansında önemli bir faktördür (Migaud ve diğ., 2013; Valdebenito ve diğ., 2015). Embriyonik deformasyon, pestisitlere ve diğer toksik bileşiklere maruz kalan erkek bireylerden alınan spermle ilişkilendirilmiştir (Labbe ve diğ., 2017). Bu çalışmada deforme larva oranı ile sperm toplama yöntemi arasında istatistiki olarak anlamlı bir fark gözlenmemiş ($p>0,05$) ancak farklı sperm toplama yöntemlerinin döllenme ve yumurtadan çıkma oranını etkilediği tespit edilmiştir ($p<0,05$).

Adebayo ve diğ., (2012) Afrika yayın balığında (*Clarias gariepinus*) farklı metot kullanılarak erkek anaç balıktan elde edilen spermde, döllenme oranlarına etkisi araştırılmış ve sağım ile elde edilen grupta %71,5 ve testis dokusu çıkarılarak (%50) elde edilen grupta ise %81 olarak tespit edilmiştir. Kristan ve diğ., (2020), turna balığında (*Exos lucius*), sağım metoduyla alınan sperm ile döllenen yumurtalarda ve testis spermi ile döllenen yumurtalarda larva çıkış oranları sırasıyla %79 ve %78 olarak elde edilmiştir. Linhart ve diğ., (1987), Avrupa yayın balıklarında, sağım yoluyla elde edilen sperm kullanıldığında döllenme oranını %85,1 olarak belirlenmiş ve bu oran testis dokusundan alınan sperm ile tespit edilen dölleme oranından (%65,6) daha yüksek bulunmuştur. Geffen ve Evans (2000)'ise gökkuşağı alabalığının erkek anaçlarında testis spermi ve sağım yoluyla elde edilen sperm ile yapılan dölleme sonucunda döllenme oranları sırasıyla; %81 ve %39,2 olarak tespit edilmiştir.

Tez çalışmasının bu denemesinde elde edilen bulguların, literatürdeki diğer araştırma bulguları ile benzerlik göstermiştir. Sağım yöntemiyle alınan sperm ve testis dokusunun alınmasıyla elde edilen sperm ile döllenme oranı sırasıyla; %81,87 ve %66,18 olarak belirlenmiştir. Erkek Avrupa yayın balığı anaçlarından vakum kullanılarak sağım yapılmasıyla spermin IS solüsyonu içine alınmasının daha avantajlı olduğu ve sonuçta balığın bir sonraki üreme döneminde hayatta kalması sağladığı belirlenmiştir.

Bu tez çalışmasının larva besleme sıklığı denemesinde, Avrupa yayın balığı post-larvalarının farklı yemleme sıklığının(günde 4, 6, 8 ve 12 kez) büyüme performansı ve yaşam oranına etkisi araştırılmıştır.

Yemleme, balıkların büyüme performansını ve hayatta kalmasını etkileyen ana faktörlerden biridir (Deng ve diğ., 2003). Postlarvalar, çoğu doku ve organın farklılaşma ile gelişiminin önemli döneminde olması nedeniyle ideal olmayan beslenme koşullarına karşı savunmasızdır. Bu yüzden yeterli beslenme oranı ve sıklığı larva döneminde oldukça önemlidir (Gisbert ve diğ., 2008). Bu durum özellikle ılık su balıkları için geçerlidir çünkü yüksek su sıcaklıkları metabolizmayı ve dolayısıyla açlığı hızlandırır (Dabrowski ve Portella, 2005). Kısa süreli yem eksikliği anormal davranışlara, metamorfoz süresinin uzamasına, kas dejenerasyonuna, bağırsak emiliminin azalması gibi sindirim sistemi dejenerasyonu ve verimliliğin azalmasına neden olmaktadır (Gisbert ve diğ., 2008). Bu nedenle, türlere göre beslenme çalışmalarından önce larvalarda yemleme oranı ve sıklığı ile ilgili araştırmalar yapılmalıdır (Cho ve diğ., 2003). Avrupa yayın balıklarında yapılan larva besleme çalışmaları incelendiğinde literatürde larvaların ilk beslenme döneminde besleme sıklığı ile ilgili çalışmalara rastlanmamıştır.

Tatlı su balıklarının larval dönemlerinde besleme değerlendirilmesine ilişkin çalışmaların çoğu, canlı yem olarak *Artemia nauplii* kullanılarak yapılmıştır. *Artemia* örihalin olmasına rağmen tatlı suda üremekte ve yaşamını sürdürmektedir. Ancak tatlı suda normalden daha kısa süre hayatta kalmaktadır (Beux ve Zaniboni-Filho, 2006; Soundarapandian ve Saravanakumar, 2009; Gonçalves ve diğ., 2019). Bununla birlikte, üretim performansında bir artışa yol açmadan tüketilen canlı yem miktarının bir sınırı vardır ve idealin üzerinde miktarların sağlanması, post-larvaların sindirim kapasitesine fazla gelebilir (Rabe ve Brown, 2000; Zeytin ve diğ., 2016), ayrıca fazla canlı yem kullanımı post-larva biyokütlesine dahil edilmediğinde kayıplara neden olabilir ve metabolik süreçler için daha fazla oksijen tüketimine ek olarak daha fazla amonyak ve dışkı atılımı nedeniyle su kalitesinin bozulmasına sebep olurlar (Veras ve diğ., 2016). Yapılan çalışmalarda ideal minimum beslenme oranının balık türüne göre değişebileceği bildirilmiştir (Abe ve diğ., 2015; Santos ve diğ., 2015; Abe ve diğ., 2019; Campelo ve diğ., 2019).

Optimum yemleme oranı, yani balıkların maksimum büyüme performansını sağlayan minimum yem miktarı, türe, balık büyüklüğüne, üreme aşamasına, besin kaynağının besin değerine göre değişmektedir. Larva yetiştiriciliği sırasında balıkların hızlı büyümesi göz önüne alındığında, genellikle post-larvaların yeterli büyüme ve hayatta kalma için optimum besleme oranlarına ihtiyaç duyduğu varsayılır (Zuanon ve diğ., 2011; Abe ve diğ., 2016). Genel olarak, yüksek besleme oranları larvaların büyüme performansı ve hayatta kalmasında olumlu sonuçları sağlar (Rabe ve Brown, 2000) fakat sınırlı sindirim kapasitesine sahip larvaların bu yaşam evresindeki olumsuz etkilerinin olduğu bildirilmiştir. (Conceição ve diğ., 2010; Zeytin ve diğ., 2016).

Larvalar yetersiz veya aşırı beslendiğinde, büyümeleri ve gelişimleri olumsuz etkilenir, bu da üretim maliyetlerinin artmasına ve özellikle balıklar aşırı beslendiğinde su kalitesinin bozulmasına neden olmaktadır. Bu nedenle, larvalardaki dışkı oranı ve yeme olan ilginin takip edilmesi, uygun yemleme sıklığının tahmin edilmesine katkı sağlamaktadır (Lee ve diğ., 2000). Balık post-larvaları, hızlı bağırsak geçişine ek olarak yüksek metabolik hız, besin gereksinimleri ve düşük sindirim kapasitesi nedeniyle genellikle yüksek bir besleme sıklığına ihtiyaç duymaktadır (Xie ve diğ., 2011). Bununla birlikte, post-larvalar fazla veya az beslenirse, hastalıklara ve parazitlere karşı duyarlılığını arttırmaktadır. Bu durum larvaların ölüm oranında artışa, su kalitesinde düşüşe ve üretim maliyetlerinde artışa sebep olması sonucunda larvaların gelişimini etkilemektedir (Lee ve diğ., 2000).

Karnivor balıkların larva üretimi sürecinde hayatta kalma oranı kanibalizm nedeniyle olumsuz etkilenmektedir (Loadman ve diğ., 1986; Katavić ve diğ., 1989; Baras, 2003). Ekonomik değeri yüksek olan Avrupa yayın balığının larva döneminde karşılaşılan en önemli sorunun başta kanibalizm sorunu olmak üzere diğer sorunların çözülmesi için detaylı araştırmalara ihtiyaç vardır (Altaff ve Janakiraman, 2013). Larvaların beslenme programlarının ayarlanması yemin miktarı, enerji içeriği ve tekdüze dağılımı yoğun ortamlarda kanibalizmden kaynaklanan kayıpları büyük ölçüde azaltmaktadır (Kubitza ve Lovshin, 1999). Larvanın büyüme sürecinde oluşan boy farkı karnivor balıklarda görülen kanibalizmi önemli ölçüde etkilemektedir (Baras ve Jobling 2002; Baras, 2003). Bu dönemde ortaya çıkabilecek boyut farklılıkları iyi bir beslenme protokolü ile birkaç ay sonra kaybolmaktadır. Kültür koşullarında, kanibalizmin, özellikle Avrupa yayın balığı gibi hızlı büyüyen karnivor türlerin larvalarında ve yavrularında balıkların hayatta kalmasını belirleyen ana faktör olduğu bilinmektedir. İçsu balıkları ile

yapılan bazı araştırmalarda da bildirildiği gibi (Altaff ve Janakiraman, 2013), bu çalışmada belirlenen balık ölümlerinin doğal ölüm sebeplerine dayanmasının yanı sıra, kanibalizmde ölüm sebeplerinden biridir.

Avrupa yayın balığının verimli üretimi, özellikle larva yetiştirme aşamasında kontrollü koşullar gerektirmektedir (Ulikowski ve Borkowska, 1999). Larvaların ilk dönem beslenmesinde yeterli yem alabilmesi homojen bir büyüme için gereklidir. Yetiştiriciliğin ilk aşamalarında yeterli yem alamayıp populusyona oranla küçük kalan larvalar çeşitli nedenlerden dolayı (açlık, kanibalizm) lmekte ve yetiştiricilik başarı oranı da düşmektedir. Balık yetiştiriciliğinde, özellikle de larva ve yavru aşamasında, çeşitli biyotik (stoklama yoğunluğu, boy farklılığı) ve abiyotik faktörler (su sıcaklığı, ışık yoğunluğu, yem kalitesi) bazı balık türlerinde kanibalizmi tetikleyen unsurlardır. Yem ve yemleme rejimi, larvaların ilk dönem yetiştiriciliğinde farklı oran ve boylarda büyümelerine neden olmakta, küçük kalan larvalar gerek yeterli yem alamamaları gerekse büyük larvalar tarafından av olarak görülmeleri sebebiyle, bu dönemde balıklarda önemli kayıplar görülmektedir (Kestemont ve diğ., 2003; Altaff ve Janakiraman, 2013; z ve diğ., 2016).

Bu çalışmadaki elde edilen veriler ile, larva dönemindeki balıklarda yemleme sıklığının etkisinin araştırıldığı benzer çalışmalar ile karşılaştırıldığında; yemleme sıklığının büyüme parametrelerini etkilediği (yaşama oranı ve boyut farklılığı yem değerlendirme oranı ve yaşama oranı ve büyüme parametrelerinin incelendiği bazı araştırmalarda ise etkilenmediği belirlenmiştir (Zakes ve diğ., 2006; Daudpota ve diğ., 2016). Araştırmalar arasındaki bu farklılıkların başta balık türü olmak üzere, balık büyüklüğü, stoklama yoğunluğu, su ve yemleme koşulları gibi nedenlerden kaynaklandığı düşünülmektedir. Afrika yayın balığı gibi kanibalizm özelliği gösteren larvaların beslenmesinde, besleme sıklığının fazla olması, diğer türlerle yapılan çalışmalarda olduğu gibi, balık boyları arasındaki boy farklılığını azaltabileceği bildirilmiştir (Booth ve diğ., 2008). Okomoda (2019)'nın yaptığı çalışmada, yemleme sıklığının etkisinin balığın yaşına göre değişebileceğini belirtmiştir. Kanibalizm zellik gösteren Avrupa yayın balığında besleme sıklığının fazla olması, kanibalizmi azaltmakta ve balığın daha iyi büyümesi ve aynı zamanda hayatta kalma oranını artırmaktadır. Pillay ve Kutty (2005)'a göre, besleme sıklığının balığın mide büyüklüğü ile ilişkili olduğu belirtilmiştir. Bunun nedeni, daha küçük bir mideye sahip küçük boylu balıkların, yaşlı balıklara kıyasla maksimum büyümenin

elde edilmesi için temel olarak daha sık beslenmesini gerektirmesidir. Pillay ve Kutty (2005), Afrika yayın balığı yavrularında besleme sıklığı en fazla günde sekiz kez yapılabilir. Ancak; zaman içinde balıkların büyümesi ve gelişmesi ilerledikçe kademeli olarak bunun yaklaşık yarısına düşürülmesi gerektiği bildirilmektedir. Schnaittacher ve diğ., (2005) ve Okomoda ve diğ., (2019)'in çalışmalarına göre ise, Afrika yayın balığında besleme sıklığı günde altı defaya kadar çıkarılabileceği belirlenmiştir. Sonuç olarak balık larvalarında günlük optimum yemleme sıklığının doğru tespit edilmesi, yem alımında ortaya çıkabilecek rekabeti ve kanibalizmi azaltmaktadır. Campelo ve diğ., (2019), Afrika yayın balığı larva yetiştiriciliğinde yemleme sıklığı oranı yanında günlük yem miktarının da belirlenmesinin önemli olduğunu bildirilmişlerdir. Yemleme sıklığının türe ve yaşam döngüsüne bağlı olarak, larvanın büyüme performansını farklı şekilde etkilediği ve bu nedenle uygun bir yemleme protokolü belirlenmesinin gerekli olduğu vurgulanmıştır (Eiras ve diğ., 2019).

Bu tez çalışmasının II. Dönem çalışmasına göre, yemleme sıklığının, Avrupa yayın balığı post-larvalarının büyüme performansını önemli ölçüde etkilediği belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, post-larvalarının ilk beslenme süresince günde 8 kez doyana kadar (*ad-libitum*) beslemenin büyüme performansını (canlı ağırlık artışı, spesifik büyüme oranı ve yaşam oranı) olumlu yönde etkilediği ve gruplar arasında anlamlı şekilde farklılık gösterdiği tespit edilmiştir ($p<0,05$).

Ülkemizde bu tez çalışması ile ilk kez Avrupa yayın balığı erkek anaçlarından sağım yoluyla sperm alımı başarıyla gerçekleştirilmiş ve bu sperm döllemeye kullanılmıştır. Bu sayede su ürünleri yetiştiriciliği sektöründe alternatif bir iç su balığı türü olan Avrupa yayın balığı erkek anaçlarının testisleri cerrahi operasyon ile çıkarılmasına gerek kalmadan ülkemizde ilk kez vakum yöntemiyle yeni bir sağım metodu kullanılarak başarıyla sektöre kazandırılmıştır. Kuluçkahane yönetiminde Avrupa yayın balığı gametlerinin *in vitro* koşullarda saklamanın önemi gösterilmiştir. Avrupa yayın balığı larvalarının kanibalizm özelliği nedeniyle artan besleme sıklığı ile kontrol grubuna göre daha yüksek yaşama oranları gösterdikleri belirlenmiştir.

Bu tez çalışması, ülkemiz su ürünleri üretiminde, Avrupa yayın balığı yetiştiriciliği gamet yönetimi konusunda erkek anaç balıktan sağım yoluyla gamet alım yönteminin uygulandığı ve

başarılı bir dölleme gerçekleştirilen ilk araştırma niteliğini taşımaktadır. Tez çalışmasının temel hipotezi Avrupa yayın balığı yetiştiriciliğinde, sağım yapılarak sağlıklı gamet eldesi ile uygun dölleme metodu ve post larvaların ilk besleme sıklığının ortaya konulması olmuştur.

Özetle;

- Tez çalışmasında yetiştiricilik için yeni bir tür olarak, Tarım ve Orman Bakanlığı tarafından desteklenen Avrupa yayın balıklarında gamet yönetimi ile kaliteli larva üretilmesi olanakları araştırılmıştır.
- Avrupa yayın balığı erkek anaç bireyinden elde edilen spermin, immobilizasyon solüsyonunda bir hafta süreyle saklanabileceği ve spermin dölleme başarısının %80'e kadar korunabileceği belirlenmiştir.
- Immobilizasyon solüsyonu içerisinde saklanan yüksek kaliteli spermilerin korunması ve düşük kaliteli spermilerin kalitesinin artırılması, Avrupa yayın balıklarının yetiştiriciliğinde önemli olacağı vurgulanmıştır.
- Avrupa yayın balığı yumurtalarının saklama süresinin *in vitro* koşullarda uzamasının, yumurta kalitesini düşürdüğü ve anaç balıkların yumurtlama sıcaklığından yaklaşık 5°C daha düşük sıcaklıkta saklanmasının daha uygun olduğu sonucuna varılmıştır.
- Ticari değeri olan bu türün gamet yönetimine yönelik çalışmaların su ürünleri sektörü için faydalı olacağı düşünülmektedir. Aynı zamanda dölleme başarısı, embriyo kalitesi ve larvaların büyüme performansının büyük ölçüde yumurta ve sperm kalitesine bağlı olduğu tespit edilmiştir. Vakum yardımıyla sperm elde edilmesinin dölleme oranını arttıracak ve erkek balıkların bir sonraki sağımda kullanılmasının mümkün olacağı belirlenmiştir.
- Sağlıklı larva gelişiminin sağlanması ve özellikle sindirim ve beslenme fizyolojisine göre daha iyi büyüme ve hayatta kalma oranını arttırmak için besleme protokollerinin türe özgü olarak geliştirilmesi gerektiği vurgulanmıştır. Yayın balığı larvalarının ilk

yem almaya başladığı dönemde günde 8 kez beslemenin larvaların büyümesi ve hayatta kalma oranını arttırdığı tespit edilmiştir.

- Avrupa yayın balığı larva yetiştiriciliğinde ileride yapılacak çalışmalarda kullanılacak yemlerin üretim stratejisine bağlı olarak içeriklerinin geliştirilmesi ve su kalitesi ile birlikte farklı çalışmaların planlanması yetiştiricilik başarısını arttıracığı düşünülmektedir.



KAYNAKLAR

- Aas, G.H., Refstie, T., Gjerde, B., 1991, Evaluation of milt quality of Atlantic salmon. *Aquaculture*, 95(1-2), 125-132.
- Abe, H.A., Dias, J.A.R., Cordeiro, C.A.M., Ramos, F.M., Fujimoto, R.Y., 2015, *Pyrrhulina brevis* (Steindachner, 1876) como uma nova opção para a piscicultura ornamental nacional: larvicultura. *Boletim do Instituto de Pesca*, 41(1), 113-122.
- Abe, H.A., Dias, J.A.R., Reis, R.G.A., SOUSA, N.D.C., Ramos, F.M., Fujimoto, R.Y., 2016, Manejo alimentar e densidade de estocagem na lavricultura do peixe ornamental amazônico *Heros severus*.
- Abe, H.A., Dias, J.A.R., Sousa, N.D.C., Couto, M.V.S.D., Reis, R.G.A., Paixão, P.E.G., Fujimoto, R.Y., 2019, Growth of Amazon ornamental fish *Nannostomus beckfordi* larvae (Steindachner, 1876) submitted to different stocking densities and feeding management in captivity conditions. *Aquaculture Research*, 50(8), 2276-2280.
- Abubakar, M.Y., Ipinjolu, J.K., 2019, Spawning Performance of *Heterobranchius bidorsalis* in Sokoto Dry Sub Humid Nigeria using Ovaprim C and Ovatide Hormones. *Asian Journal of Emerging Research*, 1(4): 141-153.
- Adebayo, O.T., Fasakin, E.A., Adewumi, J.A., 2012, Reproductive performance of partial gonadectomized male African catfish, *Clarias gariepinus* broodstocks. *Theriogenology*, 77(6), 1050-1055.
- Aegerter, S., Jalabert, B., 2004, Effects of post-ovulatory oocyte ageing and temperature on egg quality and on the occurrence of triploid fry in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture*, 231, 59–71.
- Akyurt, İ., 1988, A research on the bioecology and economic value of catfish (*Silurus glanis* L.) living in the Karasu Stream of the Iğdır Plain. Ataturk University. *Journal of the Faculty of Agriculture*, 19(1-4), 175-188.
- Al Hazzaa, R., Hussein, A., 2003, Stickiness elimination of himri barbel (*Barbus lutes*, Heckel) eggs. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 3(1).
- Alavi, S.M.H., Cosson, J., 2005, Sperm motility in fishes. I. Effects of temperature and pH: a review. *Cell biology international*, 29(2), 101-110.
- Alavi, S.M.H., Cosson, J., 2006, Sperm motility in fishes.(II) Effects of ions and osmolality: a review. *Cell biology international*, 30(1), 1-14.
- Alavi, S.M.H., Cosson, J., Kazemi, R., 2006, Semen characteristics in *Acipenser persicus* in relation to sequential stripping. *Journal of Applied Ichthyology*, 22, 400-405.
- Alavi, S.M.H., Linhart, O., Coward, K., Rodina, M., 2007, Fish spermatology: implications for aquaculture management, *Fish Spermatology*, Chapter 12, Alpha Science International Ltd, Oxford, U.K, 397-461.

- Alavi, S.M.H., Rodina, M., Cosson, J., PSeniCka, M., Linhart, O., 2008, Roles of extracellular Ca^{2+} and pH on motility and flagellar wave form parameters in sturgeon spermatozoa. *Cybium*, 32(2), 124-126.
- Alavi, S.M.H., Rodina, M., Viveiros, A.T., Cosson, J., Gela, D., Boryshpolets, S., Linhart, O., 2009, Effects of osmolality on sperm morphology, motility and flagellar wave parameters in Northern pike (*Esox lucius* L.). *Theriogenology*, 72(1), 32-43.
- Alavi, S.M.H., Cosson, J., Bondarenko, O., Linhart, O., 2019, Sperm motility in fishes:(III) diversity of regulatory signals from membrane to the axoneme. *Theriogenology*, 136, 143-165.
- Almeida, F.L., 2013, Endocrinologia aplicada na reprodução de peixes. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, Belo Horizonte, 37(2), 174-180.
- Alp, A., Kara, C. Büyükçapar, H.M., 2004, Reproductive biology in a native european catfish, *Silurus glanis* L.,1758, population in menzelet reservoir. *Turkish Journal of Veterinary Animal Sciences*, 28, 613-622.
- Alp, A., Kara, C., Üçkardeş, F., Carol, J., Garcia-Berthou, E., 2011, Age and growth of the European catfish (*Silurus glanis*) in a Turkish Reservoir and comparison with introduced populations. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 21(2), 283–294.
- Altaff, K., Janakiraman, A., 2013, Impact of different feeds on cannibalism in early larval stages of Koi carp (*Cyprinus carpio*). *Journal of Applied Biology and Biotechnology*, 1(4), 035-039.
- Andoniu, A., 2019, Vliv teploty na udržení schopnosti oplození a líhnivosti při přechovávání neoplozených jiker u lína obecného.
- Araújo, J.Ê.X.S., Streit Jr, D.P., Ribeiro, J.S.D.A., Martins, E.D.F.F., Souza, F.N., Oliveira, C.A.L.D., Povh, J.A., 2014, Ovopel and carp pituitary extract as spawning inducers in males of the Amazon Catfish *Leiarius marmoratus* (Gill, 1970). *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 57, 882-886.
- Arda, Y., 2014, Ordu ve Trabzon İllerinde Deniz Balığı Yetiştiriciliği Yapan İşletmelerin Yapısal Analizi. Yüksek Lisans Tezi, Ordu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Balıkçılık Teknolojisi Mühendisliği Anabilim Dalı.
- Avery, T.S., Brown, J.A., 2005, Investigating the relationshipamong abnormal patterns of cell cleavage, egg mortality and early larval conditionin *Limanda ferruginea*. *Journal of Fish Biology*, 67, 890-896.
- Avery, T.S., Killen, S.S., Hollinger, T.R., 2009, The relationship of embryonic development, mortality, hatching success, and larval quality to normal or abnormal early embryonic cleavage in Atlantic cod, *Gadus morhua*. *Aquaculture*, 289, 265– 273.
- Aydın, O., Sayılı, M., 2009, Samsun ilinde alabalık işletmelerinin yapısal ve ekonomik analizi. *Gazi Osmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 26, 97-107.

- Baruš, V., Oliva, O., 1995a, Mihulovci a ryby, I. díl. Academia Praha, 698 s.
- Baruš, V., Oliva, O., 1995b, Mihulovci a ryby, II. díl. Academia Praha, 623 s.
- Baras, E., Jobling, M., 2002, Dynamics of intracohort cannibalism in cultured fish. *Aquaculture Research*, 33(7), 461-479.
- Baras, E., Kestemont, P., Mélard, C., 2003, Effect of stocking density on the dynamics of cannibalism in sibling larvae of *Perca fluviatilis* under controlled conditions. *Aquaculture*, 219(1-4), 241-255.
- Bekbergenov, Z.H., Sagitov, N.I., 1984, Feeding habits of juveniles of some commercial fishes in the Amu Dar'ya River. *Journal of Ichthyology*, 24, 18–22 s.
- Berg L.S., 1949, Freshwater fishes of the USSR and adjacent countries. Part 2. Moscow, Leningrad, Academy of Sciences of the USSR, Part 2, 469-925. (In Russian).
- Beirão, J., Boulais, M., Gallego, V., O'Brien, J.K., Peixoto, S., Robeck, T.R., Cabrita, E., 2019, Sperm handling in aquatic animals for artificial reproduction. *Theriogenology*, 133, 161-178.
- Beux, L.F., Zaniboni Filho, E., 2006, Influência da baixa salinidade na sobrevivência de náuplios de *Artemia* sp., Boletim do Instituto de Pesca, 32(1), 73-77.
- Billard, R., Bry, C., Gillet, C., 1981, Stress, environment and reproduction in teleost fish.
- Billard, R., 1986, Spermatogenesis and spermatology of some teleost fish species. *Reproduction Nutrition Développement*, 26(4), 877-920.
- Billard, R., 1992, Reproduction in rainbow trout: sex differentiation, dynamics of gametogenesis, biology and preservation of gametes. *Aquaculture*, 100(1-3), 263-298.
- Billard, R., Cosson, J., Perchec, G., Linhart, O., 1995, Biology of sperm and artificial reproduction in carp. *Aquaculture*, 129(1-4), 95-112.
- Billard, R., Linhart, O., Fierville, F., Cosson, J., 1997, Motility of European catfish *Silurus glanis* spermatozoa in testes and in milt. *Polskie Archiwum Hydrobiologii*, 44(1-2).
- Billard, R., Cosson, J., Fierville, F., Brun, R., Rouault, T., Williot, P., 1999, Motility analysis and energetics of the Siberian sturgeon *Acipenser baerii* spermatozoa. *Journal of Applied Ichthyology*, 15(4-5), 199-203.
- Blawut, B., Wolfe, B., Moraes, C.R., Ludsin, S.A., da Silva, M.A.C., 2018, Increasing saugeye (*S. vitreus* and *S. canadensis*) production efficiency in a hatchery setting using assisted reproduction technologies. *Aquaculture*, 495, 21-26.
- Bobe, J., Labbe, C., 2008., Chilled storage of spermand eggs. *Methods in reproductive aquaculture: marine and freshwater species*, 219.
- Bobe, J., Labbe, C., 2010, Egg and sperm quality in fish. *Gen. Comp. Endocrinol.* 165, 535–548.

- Bobe, J., 2015, Egg quality in fish: Present and future challenges. *Animal Frontiers*, 5(1), 66-72.
- Bokor, Z., Urbányi, B., Horváth, L., Horváth, Á., 2010, Commercial-scale cryopreservation of wels catfish (*Silurus glanis*) semen. *Aquaculture Research*, 41(10), 1549-1551.
- Bokor, Z., Bernáth, G., Várkonyi, L., Molnár, J., Láng, Z.L., Tarnai-Király, Z., Urbányi, B., 2019, The applicability of large-scale sperm cryopreservation in wels catfish (*Silurus glanis*) optimized for hatchery practice. *Aquaculture*, 506, 337-340.
- Bokor, Z., Żarski, D., Palińska-Żarska, K., Krejszeff, S., Król, J., Radóczy, J. I., Bernáth, G., 2021, Standardization of sperm management for laboratory assessment of sperm quality and in vitro fertilization in Eurasian perch (*Perca fluviatilis*). *Aquaculture International*, 29(5), 2021-2033.
- Bonnet, E., Fostier, A., Bobe, J., 2007, Characterization of rainbow trout egg quality: A case study using four different breeding protocols, with emphasis on the incidence of embryonic malformations. *Theriogenology*, 67, 786–794.
- Booth, M. A., Allan, G. L., Fielder, D. S., & Anderson, A., 2008, Aquafin crc project 1b. 3: increasing the profitability of snapper farming by improving hatchery practices and diets volume 1: diet development. *Aquafin CRC project 1B. 3: increasing the profitability of snapper farming by improving hatchery practices and diets. Volume 1: diet development*.
- Bora, N.D., Gül, A., 2004, Feeding biology of *Silurus glanis* (L., 1758) living in Hirfanlı Dam Lake. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*, 28(3), 471-479.
- Boryshpolets, S., Dzyuba, B., Stejskal, V., Linhart, O., 2009, Dynamics of ATP and movement in Eurasian perch (*Perca fluviatilis* L.) sperm in conditions of decreasing osmolality. *Theriogenology*, 72(6), 851-859.
- Boryshpolets, S., Dzyuba, B., Rodina, M., Alavi, S. M. H., Gela, D., Linhart, O., 2011, Cryopreservation of sterlet (*Acipenser ruthenus*) spermatozoa using different cryoprotectants. *Journal of Applied Ichthyology*, 27(5), 1147-1149.
- Boujard, T., 1995, Diel rhythms of feeding activity in the European catfish, *Silurus glanis*. *Physiology & Behavior*, 58(4), 641-645.
- Boulais, M., Suquet, M., Arsenault-Pernet, E.J., Malo, F., Queau, I., Pignet, P., Cosson, J., 2018, pH controls spermatozoa motility in the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*). *Biology Open*, 7(3), bio031427.
- Boulhic, M., Gabaudan, J., 1992, Histological study of the organogenesis of the digestive system and swim bladder of the Dover sole, *Solea solea* (Linnaeus 1758). *Aquaculture*, 102(4), 373-396.
- Britton, J.R., Cucherousset, J., Davies, G.D., Godard, M.J., Copp, G.H., 2010, Non-native fishes and climate change: predicting species responses to warming temperatures in a temperate region. *Freshwater Biology*, 55(5), 1130-1141.

- Bromage, N.R., Jones, J., Randall, C., Thrush, M., Davies, B., Springate, J., Duston, J., Barker, G., 1992, Broodstock management, fecundity, egg quality and the timing of egg production in the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 100, 141–166.
- Bromage, N.R., Roberts, R.J., 1995, Broodstock Management and Egg and Larval Quality. Blackwell Science, Oxford, 424 pp.
- 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, 387-416.
- Brown, G.G., Mims, S.D., 1995, Storage, transportation, and fertility of undiluted and diluted paddlefish milt. *The Progressive Fish-Culturist*, 57(1), 64-69.
- Bruch, R.M., Binkowskii F.P., 2002, Spawning behavior of lake sturgeon (*Acipenser fulvescens*). *Journal of Applied Ichthyology*, 18, 570–579.
- Bruton, M.N., 1996, Alternative life-history strategies of catfishes. *Aquatic Living Resources*, 9, 35–41 s.
- Brzuska, E., Adamek, J., 1999, Artificial spawning of European catfish, *Silurus glanis* L.: stimulation of ovulation using LHRH-a, Ovaprim and carp pituitary extract. *Aquaculture Research*, 30(1), 59-64.
- Brzuska, E., 2001, Artificial spawning of European catfish *Silurus glanis* L.: differences between propagation results after stimulation of ovulation with carp pituitary and Ovopel. *Aquaculture Research*, 32(1), 11-19.
- Brzuska, E., 2004, Artificial spawning of carp (*Cyprinus carpio* L.); differences between the effects of reproduction in females of Hungarian, Polish and French origin treated with carp pituitary homogenate or [D-Tle6, ProNHet9] GnRH (Lecirelin). *Aquaculture Research*, 35(14), 1318-1327.
- Buddington, R.K., Christofferson, J.P., 1985, Digestive and feeding characteristics of the chondrosteans. *Environmental Biology of Fishes*, 14, 31-41.
- Butts, I. A., Trippel, E. A., Litvak, M. K., 2009, The effect of sperm to egg ratio and gamete contact time on fertilization success in Atlantic cod *Gadus morhua* L. *Aquaculture*, 286(1-2), 89-94.
- Butts, I. A., Sørensen, S. R., Politis, S. N., Pitcher, T. E., Tomkiewicz, J., 2014, Standardization of fertilization protocols for the European eel, *Anguilla anguilla*. *Aquaculture*, 426, 9-13.
- Cabrita, E., Martínez-Páramo, S., Gavaia, P.J., Riesco, M.F., Valcarce, D.G., Sarasquete, C., Robles, V., 2014, Factors enhancing fish sperm quality and emerging tools for sperm analysis. *Aquaculture*, 432, 389-401.
- Cahu, C., Infante, J.Z., 2001, Substitution of live food by formulated diets in marine fish larvae. *Aquaculture*, 200(1-2), 161-180.

- Campelo, D.A.V., Marques, M.H.C., Marim, O.P., de Moura, L.B., Eiras, C.F., Brabo, M.F., Veras, G.C., 2019, Effects of feeding rates and feeding frequencies on growth performance, uniformity of the batch and survival rate of Amazon ornamental fish larvae. *International Journal of Fisheries and Aquaculture*, 11(2), 23-28.
- Cardona-Costa, J., Perez-Camps, M., Garcia-Ximenez, F., Espinos, F.J., 2009, Effect of gametes aging on their activation and fertilizability in zebrafish (*Danio rerio*). *Zebrafish*, 6(1), 93-95.
- Carol, J., Benejam, L., Alcaraz, C., 2007a, The effects of limnological features on fish assemblages of 14 Spanish reservoirs. *Ecology of Freshwater Fish*, 15, 66–77 p.
- Carol, J., Zamora, L., García-Berthou, E., 2007b, Preliminary telemetry data on the patterns and habitat use of European catfish (*Silurus glanis*) in a reservoir of the River Ebro, Spain. *Ecology of Freshwater Fish*, 16, 450-456.
- Carol J., Clutton-Brock, E., 2010, Siluro-*Silurus glanis* Linnaeus, 1758. In: Enciclopedia Virtual de los Vertebrados Españoles. ed. A. Salvador & B. Elvira B, Museo Nacional de Ciencias Naturales, Madrid, 1-8 - španělsky
- Cejko, B.I., Kowalski, R.K., Kucharczyk, D., Targońska, K., Krejszeff, S., Źarski, D., Glogowski, J., 2010, Influence of the length of time after hormonal stimulation on selected parameters of milt of ide *Leuciscus idus* L. *Aquaculture Research*, 41(6), 804-813.
- Cejko, B.I., Horváth, Á., Kollár, T., Kása, E., Lujčić, J., Marinović, Z., Kowalski, R.K., 2018, Optimisation of sodium and potassium concentrations and pH in the artificial seminal plasma of common carp *Cyprinus carpio* L. *Fish Physiology and Biochemistry*, 44, 1435-1442.
- Cejko, B.I., Źarski, D., Palińska-Źarska, K., Słowińska, M., Kowalski, R.K., 2019, Artificial seminal plasma improves motility and fertilisation capacity of common carp *Cyprinus carpio* L. sperm during one hour of storage. *Aquaculture*, 506, 224-228.
- Cejko, B.I., Źarski, D., Sarosiek, B., Dryl, K., Palińska-Źarska, K., Skorupa, W., Kowalski, R.K., 2022, Application of artificial seminal plasma to short-term storage of a large volume of common carp (*Cyprinus carpio*) sperm for two weeks under controlled conditions. *Aquaculture*, 546, 737385.
- Cheng, Y., Franěk, R., Rodina, M., Xin, M., Cosson, J., Zhang, S., Linhart, O., 2021a, Optimization of sperm management and fertilization in Zebrafish (*Danio rerio* (Hamilton)). *Animals*, 11(6), 1558.
- Cheng, Y., Vechtova, P., Fussy, Z., Sterba, J., Linhartová, Z., Rodina, M., Linhart, O., 2021b, Changes in phenotypes and DNA methylation of in vitro aging sperm in common carp *Cyprinus carpio*. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(11), 5925.
- Cheng, Y., Zhang, S., Linhartová, Z., Shazada, N.E., Linhart, O., 2022, Common carp (*Cyprinus carpio*) sperm reduction during short-term in vitro storage at 4° C. *Animal Reproduction Science*, 243, 107017.

- Cheng, Y., Waghmare, S.G., Zhang, S., Vechtová, P., Schumacher, F., Kleuser, B., Linhart, O., 2023, Aging of common carp (*Cyprinus carpio* L.) sperm induced by short-term storage does not alter global DNA methylation and specific histone modifications in offspring. *Aquaculture*, 571, 739484.
- Cherr, G.N., Clark Jr, W.H., 1982, Fine Structure of the Envelope and Micropyles in the Eggs of the White Sturgeon, *Acipenser transmontanus* Richardson: (micropyle/chorion/egg envelopes/sturgeon/egg jelly). *Development, Growth & Differentiation*, 24(4), 341-352.
- Cho, S.H., Lim, Y.S., Lee, J.H., Lee, J.K., Park, S., Lee, S.M., 2003, Effects of feeding rate and feeding frequency on survival, growth, and body composition of ayu post-larvae *Plecoglossus altivelis*. *Journal of the World Aquaculture Society*, 34(1), 85-91.
- Christensen, J.M., Tiersch, T.R., 1996, Refrigerated storage of channel catfish sperm. *Journal of the World Aquaculture Society*, 27(3), 340-346.
- Ciereszko, A., Dabrowski, K., 1993, Estimation of sperm concentration of rainbow trout, whitefish and yellow perch using a spectrophotometric technique. *Aquaculture*, 109(3-4), 367-373.
- Ciolac, A., 2004, Migration of fishes in romanian danube river (Nº 1). *Applied Ecology and Environmental Research*, 2(1), 143-163.
- Conceição, L.E., Yúfera, M., Makridis, P., Morais, S., Dinis, M.T., 2010, Live feeds for early stages of fish rearing. *Aquaculture Research*, 41(5), 613-640.
- Contreras, P., Ulloa, P., Merino, O., Valdebenito, I., Figueroa, E., Farías, J., Risopatrón, J., 2017, Effect of short-term storage on sperm function in Patagonian blenny (*Eleginops maclovinus*) sperm. *Aquaculture*, 481, 58-63.
- Contreras, P., Dumorne, K., Ulloa-Rodríguez, P., Merino, O., Figueroa, E., Farias, J. G., Risopatron, J. (2020). Effects of short-term storage on sperm function in fish semen: a review. *Reviews in Aquaculture*, 12(3), 1373-1389.
- Copp, G.H., Britton, J.R., Cucherousset, J., García-Berthou, E., Kirk, R., Peeler, E., Stakenas, S., 2009, Voracious invader or benign feline? A review of the environmental biology of European catfish *Silurus glanis* in its native and introduced ranges. *Fish and Fisheries*, 10(3), 252-282.
- Cosson, J., 2004, The ionic and osmotic factors controlling motility of fish spermatozoa. *Aquaculture International*, 12(1), 69-85.
- Cosson, J., 2008, Methods to analyse the movements of fish spermatozoa and their flagella. Alavi, S. MH, JJ Cosson, K. Coward & G. Rafiee (Eds.). *Fish spermatology*. UK, Alpha Science Intl. Ltd, 63-102.
- Cosson, J., Groison, A.L., Suquet, M., Fauvel, C., Dreanno, C., Billard, R., 2008, Studying sperm motility in marine fish: an overview on the state of the art. *Journal of Applied Ichthyology*, 24(4), 460-486.

- Crean, A.J., Bonduriansky, R., 2014, What is a paternal effect?. *Trends in Ecology & Evolution*, 29(10), 554-559.
- Crespel, A., Zambonino-Infante, J. L., Mazurais, D., Koumoundouros, G., Fragkoulis, S., Quazuguel, P., Claireaux, G. 2017, The development of contemporary European sea bass larvae (*Dicentrarchus labrax*) is not affected by projected ocean acidification scenarios. *Marine Biology*, 164, 1-12.
- Çakmak, E., Aksungur, N., Firidin, Ş., Aksungur, M., Çavdar, Y., Kurtoğlu, İ.Z., Başçınar, N.S., Akbulut, B., Savaş, H., Üstündağ, E., Alkan, A., Ergün, H., Ertekin, A., Zengin, B., Serdar, S., Fidan, D., Özkan, B., 2011, Karadeniz Alabalığı (*Salmo trutta labrax* Pallas, 1811)'nın Özel Sektöre Kazandırılması, Proje Sonuç Raporu Kitabı, TAGEM/HAYSÜD/2006/ 09/03/02, Trabzon, 147 s.
- Dabrowski, K., Portella, M.C., 2005, Feeding plasticity and nutritional physiology in tropical fishes. *Fish Physiology*, 21, 155-224.
- Daudpota, A. M., Abbas, G., Kalhor, I. B., Shah, S. S. A., Kalhor, H., Hafeez-ur-Rehman, M., Ghaffar, A., 2016, Effect of feeding frequency on growth performance, feed utilization and body composition of juvenile Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.) reared in low salinity water. *Pakistan Journal of Zoology*, 48(1).
- Darszon, A., Labarca, P., Nishigaki, T., Espinosa, F., 1999, Ion channels in sperm physiology. *Physiological Reviews*, 79(2), 481-510.
- DeLonay, A.J., Papoulias, D.M., Wildhaber, M.L., Annis, M.L., Bryan, J.L., Griffith, S.A., Holan, S.H. and Tillitt, D.E., 2007, Use of behavioral and physiological indicators to evaluate Scaphirhynchus sturgeon spawning success. *Journal of Applied Ichthyology*, 23, 428-435.
- Demir, O., 2017, Endemik İçsu Balıkları Yetiştiriciliğinin Önemi: Eğirdir Sirazı (Capoeta pestai Pietschmann, 1933). *Süleyman Demirel Üniversitesi Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi Dergisi*, 13(1), 88-98.
- Demoy-Schneider, M., Schmitt, N., Suquet, M., Labbé, C., Boulais, M., Prokopchuk, G., Cosson, J., 2014, Biological characteristics of sperm in two oyster species: the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*, and the black lip pearl oyster, *Pinctada margaritifera*. *Spermatozoa: Biology, Motility and Function and Chromosomal Abnormalities*, 15-74.
- Demska-Zakęś, K., Zakęś, Z., Roszuk, J., 2005, The use of tannic acid to remove adhesiveness from pikeperch, *Sander lucioperca*, eggs. *Aquaculture Research*, 36(14), 1458-1464.
- Deng, D.F., Koshio, S., Yokoyama, S., Bai, S.C., Shao, Q., Cui, Y., Hung, S.S., 2003, Effects of feeding rate on growth performance of white sturgeon (*Acipenser transmontanus*) larvae. *Aquaculture*, 217(1-4), 589-598.
- Dietrich, M.A., Judycka, S., Słowińska, M., Kodzik, N., Ciereszko, A., 2021, Short-term storage-induced changes in the proteome of carp (*Cyprinus carpio* L.) spermatozoa. *Aquaculture*, 530, 735784.

- Dinnyes, A., Urbanyi, B., Baranyai, B., Magyary, I., 1998, Chilling sensitivity of carp (*Cyprinus carpio*) embryos at different developmental stages in the presence or absence of cryoprotectants: work in progress. *Theriogenology*, 50(1), 1-13.
- Diyaware, M.Y., Haruna, A.B., Abubakar, K.A., 2010, Determination of testes regeneration period for African catfish (*Clarias anguillaris*) after milt (semen) collection through ablation. *Current Research Journal of Biological Sciences*, 2(6), 375-379.
- Donaldson, E.M., Hunter, G.A., 1983, Induced Final Maturation, Ovulation, and Spermiation in Cultured Fish. In *Fish Physiology* (Vol. 9, pp. 351-403). Academic Press.
- Dubský, K., Šrámek, V., Kouřil, J., 2003, Obecné rybářství, Praha: Informatorium. ISBN 80-7333-019-9.
- Dzyuba, B., Boryshpolets, S., Rodina, M., Gela, D., Linhart, O., 2010, Spontaneous activation of spermatozoa motility by routine freeze-thawing in different fish species. *Journal of Applied Ichthyology*, 26(5), 720-725.
- Eiras, B.J., Veras, G.C., Alves, A.X., Da Costa, R.M., 2019, Effect of artificial seawater and feeding frequency on the larval culture of freshwater Amazonian ornamental fish banded cichlid *Heros severus* (Heckel, 1840) and angelfish *Pterophyllum scalare* (Schultze, 1823). *Spanish Journal of Agricultural Research*, 17(2), e0604-e0604.
- Epler, P., Bieniarz, K., Popek, W., Sokołowska-Mikołajczyk, M., Mikołajczyk, T., 1997, Studies on mechanisms of releasing pituitary gonadotropin (GtH2) from carp (*Cyprinus carpio*) hypophysis. *Fisheries & Aquatic Life*, 5(1), 37-50.
- Gage, M.J., Macfarlane, C.P., Yeates, S., Ward, R.G., Searle, J.B., Parker, G.A., 2004, Spermatozoal traits and sperm competition in Atlantic salmon: relative sperm velocity is the primary determinant of fertilization success. *Current Biology*, 14(1), 44-47.
- Gallego, V., Pérez, L., Asturiano, J.F., Yoshida, M., 2013, Relationship between spermatozoa motility parameters, sperm/egg ratio, and fertilization and hatching rates in pufferfish (*Takifugu niphobles*). *Aquaculture*, 416, 238-243.
- Gallego, V., Cavalcante, S.S., Fujimoto, R.Y., Carneiro, P.C.F., Azevedo, H.C., Maria, A.N., 2017, Fish sperm subpopulations: changes after cryopreservation process and relationship with fertilization success in tambaqui (*Colossoma macropomum*). *Theriogenology*, 87, 16-24.
- Gallego, V., Asturiano, J.F., 2019, Fish sperm motility assessment as a tool for aquaculture research: a historical approach. *Reviews in Aquaculture*, 11(3), 697-724.
- Gallis, J.L., Fedrigo, E., Jatteau, P., Bonpunt, E., Billard, R., 1989, Siberian sturgeon, *Acipenser baeri*, spermatozoa: effects of dilution, pH, osmotic pressure, sodium and potassium ions on mobility. Bordeaux: Cemagref, 143-151.
- Garcia, R.R.F., Vasconcelos, A.C.N., Povh, J.A., Oberst, E.R., Eloy, L.R., Streit Junior, D.P., 2016, Different extenders solutions for tambaqui semen cooling. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 51, 780-784.

- Gasparini, C., Dosselli, R., Evans, J.P., 2017, Sperm storage by males causes changes in sperm phenotype and influences the reproductive fitness of males and their sons. *Evolution Letters*, 1(1), 16-25.
- Gawlicka, A., Teh, S.J., Hung, S.S.O., Hinton, D.E., De La Noüe, J., 1995, Histological and histochemical changes in the digestive tract of white sturgeon larvae during ontogeny. *Fish Physiology and Biochemistry*, 14, 357-371.
- Geffen, A.J., Evans, J.P., 2000, Sperm traits and fertilization success of male and sex-reversed female rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 182(1-2), 61-72.
- Gela, D., Linhart, O., Flajšhans, M., Rodina, M., 2003, Egg incubation time and hatching success in tench *Tinca tinca* (L.) related to the procedure of egg stickiness elimination. *Journal of Applied Ichthyology*, 19(3), 132-133.
- Gisbert, E., Williot, P., 1997, Larval behaviour and effect of the timing of initial feeding on growth and survival of Siberian sturgeon (*Acipenser baeri*) larvae under small scale hatchery production. *Aquaculture*, 156(1-2), 63-76.
- Gisbert, E., Williot, P., 2002, Advances in the larval rearing of Siberian sturgeon. *Journal of Fish Biology* 60: 1071-1092
- Gisbert, E., Ortiz-Delgado, J.B., Sarasquete, C., 2008, Nutritional cellular biomarkers in early life stages of fish. *Histology and Histopathology*, (23), 1525-1539p.
- Glogowski, J., Kolman, R., Szczepkowski, M., Horváth, Á., Urbányi, B., Sieczyński, P., Ciereszko, A., 2002, Fertilization rate of Siberian sturgeon (*Acipenser baeri*, Brandt) milt cryopreserved with methanol. *Aquaculture*, 211(1-4), 367-373.
- Gonçalves, L.U., França, L.A., Epifânio, C.M., da Fonseca, F.A.L., de Alcântara, A.M., Do Nascimento, R.G., da Conceição, L.E.C., 2019, Ostracoda impairs growth and survival of *Arapaima gigas* larvae. *Aquaculture*, 505, 344-350.
- Gonzalez-Lopez, W.Á., Ramos-Júdez, S., Giménez, I., Duncan, N.J., 2020, Sperm contamination by urine in Senegalese sole (*Solea senegalensis*) and the use of extender solutions for short-term chilled storage. *Aquaculture*, 516, 734649.
- Govoni, J.J., Boehlert, G.W., Watanabe, Y., 1986, The physiology of digestion in fish larvae. *Environmental Biology of Fishes*, 16(1), 59-77.
- Greenhalgh, M., 1999, Freshwater Fish. Mitchell Beazley, London.
- FAO., 1987, African Regional Aquaculture Centre, Port Harcourt, Nigeria Centre Regional African D'aquaculture, Port Harcourt, Nigeria, Arac/Rep/87/Wp/11.
- FAO., 2022, Food and Agriculture Organization of the United Nations. Fish Stat Plus. <http://www.fao.org/fi/statist/fisoft/FISHPLUS.asp> (Accessed 03.03.2023).
- FAO., 2023, The State of World Fisheries and Aquaculture, Rome.

- Ferraris, R.P., Tan, J.D., De La Cruz, M.C., 1987, Development of the digestive tract of milkfish, *Chanos chanos* (Forsskal): histology and histochemistry. *Aquaculture*, 61(3-4), 241-257.
- Fijan, N., 1975, Induced spawning, larval rearing and nursery operations (*Silurus glanis*). EIFAC Technical Papers (FAO).
- Flajshans, M., Kohlmann, K., Ráb, P., 2007, Autotriploid tench *Tinca tinca* (L.) larvae obtained by fertilization of eggs previously subjected to postovulatory ageing in vitro and in vivo. *Journal of Fish Biology*, 71:868–876.
- Freyhof, J. and Kottelat, M., 2008, *Silurus glanis*. The IUCN Red List of Threatened Species 2008, e. T40713A10356149.
- Froese, R., Pauly, D., 2012, Fish Base. <http://www.fishbase.org>. (Son erişim tarihi: 07 Haziran 2022).
- Froese R, Pauly D., 2019, FishBase. World Wide Web electronic publication; [accessed on 2019 Sep 20]. Available from www.fishbase.org.
- Frommel, A. Y., Maneja, R., Lowe, D., Pascoe, C. K., Geffen, A. J., Folkvord, A., Clemmesen, C. 2014, Organ damage in Atlantic herring larvae as a result of ocean acidification. *Ecological Applications*, 24(5), 1131-1143.
- Hajirezaee, S., Niksirat, H., 2009, In vitro storage of ova of Persian sturgeon, *Acipenser persicus* in ovarian fluid: the changes in the pH and osmolality of the ovarian fluid, fertilization and hatching rates. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 3(4), 3438-3442.
- Hanel, L., Lusk, S., 2005, Ryby a mihule České republiky: rozšíření a ochrana = Fishes and lampreys of the Czech Republic: distribution and conservation. Vlašim: Český svaz ochránců přírody Vlašim. ISBN 80-86327-49-3.
- Hassan, M.M., Nahiduzzaman, M., Al Mamun, S.N., Taher, M.A., Hossain, M.A.R., 2013, Fertilization by refrigerator stored sperm of the Indian major carp, *Labeo calbasu* (Hamilton, 1822). *Aquaculture Research*, 45(1), 150-158.
- Hardy, R.W., 1983, Salmonid broodstock nutrition. In International Symposium on Salmonid Reproduction, Bellevue, Washington (USA), 31 Oct-2 Nov 1983. Washington Sea Grant Program. Univ. of Washington.
- Harvey, B., Kelley, R.N., 1984, Short-term storage of *Sarotherodon mossambicus* ova. *Aquaculture*, 37(4), 391-395.
- Hatef, A., Alavi, S.M.H., Golshan, M., Linhart, O., 2013, Toxicity of environmental contaminants to fish spermatozoa function in vitro-a review. *Aquatic Toxicology*, 140, 134-144.
- Herbison, A.E., 2016, Control of puberty onset and fertility by gonadotropin-releasing hormone neurons. *Nature Reviews Endocrinology*, 12(8), 452-466.

- Hilge, V., 1985, The influence of temperature on the growth of the European catfish (*Silurus glanis* L.). *Journal of Applied Ichthyology*, 1, 27–31 s.
- Hochman, L., 1966, Zum wachstum dem Welses. *Acta Universitatis agriculturae*, Brno XIV 559, 597–615 s.
- Hochman, L., 1967, Fertility in the sheat-fish (*Silurus glanis* L.). *Acta Universitatis Agriculturae Brno*. XV: 333–355.
- Hogendoorn, H., Vismans, M.M., 1980, Controlled propagation of the African catfish, *Clarias lazera* (C. & V.): II. Artificial reproduction. *Aquaculture*, 21(1), 39-53.
- Horoszewicz L., 1971, Sum. PWRil, Warszawa, 191 s.
- Horvath, L., Tamas, G., 1976, The reproduction of the sheat fish (*Silurus glanis* L.) and raising of the sheat fish forced fry. *Halasz Tudom Mellék*, 2, 11-13.
- Horvath, L., Tamas, G., Segrava, C.H., 1992, Carp and pond fish culture. Fishing News Books, Osney Mead, Oxford OX2 0EL, England (155 pp.).
- Horváth, Á., Wayman, W.R., Urbányi, B., Ware, K.M., Dean, J.C., Tiersch, T.R., 2005, The relationship of the cryoprotectants methanol and dimethyl sulfoxide and hyperosmotic extenders on sperm cryopreservation of two North-American sturgeon species. *Aquaculture*, 247(1-4), 243-251.
- Horvath, L., Hegyi, A., Lefler, K.K., Csorbai, B., Kovacs, E., Szabo, T., Urbanyi, B., 2023, Review of Central-Eastern European Propagation and Larvae Nursing Method for Common Carp (*Cyprinus carpio* L.). *Life*, 13(12), 2334.
- Imanpoor, M.R., Kordjazi, M., Fendereski, F., 2011, Seminal plasma and coelomic fluid compositions in Persian sturgeon (*Acipenser persicus* Borodin 1897). *Journal of Applied Ichthyology*, 27(2), 706-708.
- Jamroz, M., Kucharczyk, D., Hakuc-Blazowska, A., Krejszeff, S., Kujawa, R., Kupren, K., Kwiatkowski, M., Targońska, K., Zarski, D., Cejko, B.I., Glogowski, J., 2008, Comparing The Effectiveness of Ovopel, Ovaprim, and Lh-Rh Analogue Used in The Controlled Reproduction of Ide, *Leuciscus idus* (L.). *Archives of Polish Fisheries*, 16(4): 363-370.
- Jähnichen, H., 1978, Untersuchungen über Veränderungen der Qualität ovulierter Eier bei der künstlichen Vermehrung von Karpfen (*Cyprinus carpio* L.). *Zeitschrift für die Binnenfischerei DDR*, 25, 23-25.
- Jing, R., Huang, C., Bai, C., Tanguay, R., Dong, Q., 2009, Optimization of activation, collection, dilution, and storage methods for zebrafish sperm. *Aquaculture*, 290(1-2), 165-171.
- Kanda, S., 2019, Evolution of the regulatory mechanisms for the hypothalamic-pituitary-gonadal axis in vertebrates—hypothesis from a comparative view. *General and Comparative Endocrinology*, 284, 113075.

- Karayücel, İ., Karayücel, S., 2016, Balıklarda Üreme Kitabı, Nobel yayınları yayın no: 1535 Fen Bilimleri no: 118 ISBN: 978-605-320-441-1 Eylül 2016 1. Basım.
- Katavić, I., Jug-dujaković, J., Glamuzina, B., 1989, Cannibalism as a factor affecting the survival of intensively cultured sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fingerlings. *Aquaculture*, 77(2-3), 135-143.
- Kestemont, P., Jourdan, S., Houbart, M., Mélard, C., Paspatis, M., Fontaine, P., Baras, E., 2003, Size heterogeneity, cannibalism and competition in cultured predatory fish larvae: biotic and abiotic influences. *Aquaculture*, 227(1-4), 333-356.
- Kidd, S. A., Eskenazi, B., Wyrobek, A.J., 2001, Effects of male age on semen quality and fertility: a review of the literature. *Fertility and Sterility*, 75(2), 237-248.
- Kime, D.E., 1993, 'Classical' and 'non-classical' reproductive steroids in fish. *Rev. Fish Biology*, 3: 160-180.
- Kime, D.E., Van Look, K.J.W., McAllister, B.G., Huyskens, G., Rurangwa, E., Ollevier, F., 2001, Computer-assisted sperm analysis (CASA) as a tool for monitoring sperm quality in fish. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 130(4), 425-433.
- Kiselev, J.V., 1980, The biological background of fertilization and incubation of fish eggs. *Nauk Dumka*, 1980, p296.
- Kjorsvik, E., Mangor-Jensen, A., Holmefjord, I., 1990, Egg quality in fishes. *In Advances in Marine Biology* (Vol. 26, pp. 71-113).
- Kjorsvik, E., Van der Meeren, T., Kryvi, H., Arnfinnson, J., Kvenseth, P.G., 1991, Early development of the digestive tract of cod larvae, *Gadus morhua* L., during start-feeding and starvation. *Journal of Fish Biology*, 38(1), 1-15.
- Kjorsvik, E., Hoehne-Reitan, K., Reitan, K.I., 2003, Egg and larval quality criteria as predictive measures for juvenile production in turbot (*Scophthalmus maximus* L.). *Aquaculture*, 227:9–20.
- Kobayashi, T., Fushiki, S., Ueno, K., 2004, Improvement of sperm motility of sex-reversed male rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, by incubation in high-pH artificial seminal plasma. *Genetics of Subpolar Fish and Invertebrates*, 419-425.
- Koca, S.B., Terzioğlu, S., Didinen, B.İ., Yiğit, N.Ö., 2011, Sürdürülebilir su ürünleri yetiştiriciliğinde çevre dostu üretim. *Ankara Üniversitesi Çevre Bilimleri Dergisi*, 3(1), 107-114.
- Kolkovski, S., 2001, Digestive enzymes in fish larvae and juveniles—implications and applications to formulated diets. *Aquaculture*, 200(1-2), 181-201.
- Korbuly, B., Grozea, A., Cean, A., Bănăţean-Dunea, I., Păcală, N., Vălean, A., 2009, Milt dilution effectiveness on pikeperch (*Sander lucioperca*) sperm DNA inactivation. *Scientific Papers Animal Science and Biotechnologies*, 42(2), 65-65.

- Korkmaz, A.Ş., Zencir, Ö., Coşkun, T., 2008, Türkiye’de uygulanan alabalık yetiştirme teknikleri. *Süleyman Demirel Üniversitesi Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi Dergisi*, 4(1), 58-64.
- Kottelat, M., Freyhof, J., 2007, Handbook of European Freshwater Fishes. Cornol, Switzerland: Publications Kottelat, 646 pp.
- Kouřil, J., Hamáčková, J., 1977, První úspěšný umělý výtěr sumce v ČSSR. *Rybářství* (12): 268-269 s.
- Kouřil, J., Linhart, O., Hamáčková, J., 1992. Umělý výtěr sumce velkého. Edice Metodik, Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Výzkumný ústav rybářský a hydrobiologický, Vodňany, č. 39, 10 s.
- Kouril, J., Hamackova, J., Linhart, O., Barth, T., Glubokov, A.I., Haffray, P., 1995, Induced ovulation of the European catfish by carp pituitary, GnRH analogue and/or dopamine inhibitor isofloxypethin. *Živočišná výroba*. 41, 205–207 s.
- Kouřil, J., Hamáčková, J., Hulová, I., Barthová, J., 1999. Hormonální indukce ovulace u kapra pomocí čištěného extraktu kapří hypofýzy. Edice metodik, VÚRH JU Vodňany, č. 61, 4 s.
- Kouril, J., M. Svoboda., J. Hamackova., P. Kalab., J. Kolarova., 2007, Repeated administration of different hormonal preparations for artificial propagation and their effects on reproduction, survival and blood biochemistry profiles of female tench (*Tinca tinca* L.). *Czech Journal Animal Science.*, 52: 183-188.
- Kouřil, J., Policar, T., Podhorec. P., Stejskal. V., 2021, Hormonální stimulace vybraných druhů ryb k umělému a poloumělému výtěru. 110 s.
- Koven, W., Barr, Y., Lutzky, S., Ben-Atia, I., Weiss, R., Harel, M., Tandler, A., 2001, The effect of dietary arachidonic acid (20: 4n– 6) on growth, survival and resistance to handling stress in gilthead seabream (*Sparus aurata*) larvae. *Aquaculture*, 193(1-2), 107-122.
- Kowalski, R.K., Cejko, B.I., 2019, Sperm quality in fish: Determinants and affecting factors. *Theriogenology*, 135, 94-108.
- Kozłowski, J., Poczyczyński, P., 1999, The effect of light and stocking density on the results of rearing of European catfish (*Silurus glanis* L.) larvae. *Fisheries & Aquatic Life*, 7(2), 297-306.
- Krasznai, Z., Gy, K., Olah, J., 1980, Technological basis of the intensive sheatfish (*Silurus glanis* L.) culture. *Aquacultura Hungarica*.
- Krasznai, Z., Marian, T., 1986, Shock-induced triploidy and its effect on growth and gonad development of the European catfish, *Silurus glanis* L. *Journal of Fish Biology*, 29(5), 519-527.

- Krejszeff, S., Kucharczyk, D., Kupren, K., Targońska, K., Mamcarz, A., Kujawa, R., Ratajski, S., 2008, Reproduction of chub, *Leuciscus cephalus* L., under controlled conditions. *Aquaculture Research*, 39(9), 907-912.
- Krise, W.F., Bulkowski-Cummings, L., Shellman, A.D., Kraus, K.A., Gould, R.W., 1986, Increased walleye egg hatch and larval survival after protease treatment of eggs. *The Progressive Fish-Culturist*, 48(2), 95-100.
- Křišťan, J., Hatef, A., Alavi, S.M.H., Policar, T., 2014, Sperm morphology, ultrastructure, and motility in pikeperch *Sander lucioperca* (Percidae, Teleostei) associated with various activation media. *Czech Journal of Animal Science*, 59(1), 1-10.
- Kristan, J., Blecha, M., Policar, T., 2016, Alcalase treatment for elimination of stickiness in pikeperch (*Sander lucioperca* L.) eggs under controlled conditions. *Aquaculture Research*, 47(12), 3998-4003.
- Kristan, J., Zarski, D., Blecha, M., Policar, T., Malinovskyi, O., Samarin, A.M., Kucharczyk, D., 2018, Fertilizing ability of gametes at different post-activation times and the sperm-oocyte ratio in the artificial reproduction of pikeperch *Sander lucioperca*. *Aquaculture Research*, 49(4), 1383-1388.
- Kristan, J., Samarin, A.M., Malinovskyi, O., Policar, T., 2020, Gamete management for artificial reproduction of northern pike *Esox lucius* (Linnaeus, 1758). *Aquaculture*, 528, 735575.
- Kubitza, F., Lovshin, L.L., 1999, Formulated diets, feeding strategies, and cannibalism control during intensive culture of juvenile carnivorous fishes. *Reviews in Fisheries Science*, 7(1), 1-22.
- Kucharczyk, D., Nowosad, J., Wyszomirska, E., Cejko, B.I., Arciuch-Rutkowska, M., Juchno, D., Boroń, A., 2020, Comparison of artificial spawning effectiveness of hCG, CPH and GnRHa in combination with dopamine inhibitors in a wild strain of ide *Leuciscus idus* (L.) in hatchery conditions. *Animal Reproduction Science*, 221, 106543.
- Kujawa, R.J., 2004, Biological foundations for rearing rheophilic cyprinid species under controlled conditions - Rozprawy monografie, 88:88.
- Kunz-Ramsay, Y., 2013, Developmental biology of teleost fishes (Vol. 28). Springer Science & Business Media.
- Labbé, C., Robles, V., Herraiz, M.P., 2017, Epigenetics in fish gametes and early embryo. *Aquaculture*, 472, 93-106.
- Lahnsteiner, F., Weismann, T., 1999, Changes in eggs of brown trout, rainbow trout, and grayling during short-term storage. *North American Journal of Aquaculture*, 61(3), 213-219.
- Lahnsteiner, F., 2000, Morphological, physiological and biochemical parameters characterizing the over-ripening of rainbow trout eggs. *Fish Physiol Biochem*, 23:107–118.

- Lahnsteiner, F., Kletzl, M., Weismann, T., 2012, Rearing of burbot, *Lota lota* (Pisces, Teleostei), larvae with zooplankton and formulated microdiets. *Journal of Agricultural Science*, 4(9), 269.
- Lee, S. M., Hwang, U. G., Cho, S.H., 2000, Effects of feeding frequency and dietary moisture content on growth, body composition and gastric evacuation of juvenile Korean rockfish (*Sebastes schlegeli*). *Aquaculture*, 187(3-4), 399-409.
- Legendre, M., Linhart, O., Billard, R., 1996, Spawning and management of gametes, fertilized eggs and embryos in Siluroidei. *Aquat. Living Resour.* 9, 59–80 s.
- Lelek, A., Libosvářský, J., Peňáz, M., Bezděk, R., Macháček, Z., 1964, Observation on fish under ice in winter. *Ekologia Polska* (Seria A) 12, 305–312 s.
- Lelek, A., 1987, The Freshwater Fishes of Europe. Threatened fishes of Europe, AULA Verlag Wiesbaden.
- Lever, C., 1977, The Naturalised Animals of the British Isles. Hutchinson and Company, Limited, London, 600 s.
- Liao, I.C., Su, H.M., Chang, E.Y., 2001, Techniques in finfish larviculture in Taiwan. *Aquaculture*, 200(1-2), 1-31.
- Linhart, O., Kouril, J., Hamackova', J., 1986, The motile spermatozoa of wels (*Silurus glanis* L.) and tench (*Tinca tinca* L.) after sperm collection without water activation. Pr. VURH Vodňany, 5, 28–41 s.
- Linhart, O., Kouřil, J., Hamáčková, J., 1987, Increased rate of egg fertilization in artificial propagation of sheatfish (*Silurus glanis* L.) by means of suppressing the movements of spermatozoa with immobilization solution. *Aquaculture*, 65(3-4), 353-358.
- Linhart, O., 1991, Fish sperm composition and biochemistry. *Bull Inst Zool Acad Sinica*, 16, 285-311.
- Linhart, O., Billard, R., 1992, Gamete activation and fertilization of eggs in salmonid and cyprinid fishes and of European catfish (*Silurus glanis* L.). In: *Fish Reproduction 92* (ed. by Z. Adamek & M. Flajšhans), pp. 85–86. RIFCH, Vodňany.
- Linhart, O., Kvasniška, P., 1992, Artificial insemination in tench, *Tinca tinca* L. *Aquaculture Research*, 23(2), 183-188.
- Linhart, O., Billard, R., 1994, Spermiation and sperm quality of European catfish (*Silurus glanis* L.) after implantation of GnRH analogues and injection of carp pituitary extract. *Journal of Applied Ichthyology*, 10(2-3), 182-188.
- Linhart, O., Billard, R., 1995, Survival of ovulated oocytes of the European catfish (*Silurus glanis*) after *in vivo* and *in vitro* storage or exposure to saline solutions and urine. *Aquatic Living Resources*, 8(4), 317-322.

- Linhart, O., Prod'homme, M., Billard, R., Kouřil, J., Hamáčková, J., 1995, Extended spermatation by repeated injection with carp pituitary gland in the European catfish.
- Linhart, O., Billard, R., Kouril, J., Hamackova, J., 1997, Artificial insemination and gamete management in European catfish, *Silurus glanis* L. *Polskie Archiwum Hydrobiologii*, 44(1-2).
- Linhart, O., Walford, J., Sivaloganathan, B., Lam, T.J., 1999, Effects of osmolality and ions on the motility of stripped and testicular sperm of freshwater-and seawater-acclimated tilapia, *Oreochromis mossambicus*. *Journal of Fish Biology*, 55(6), 1344-1358.
- Linhart, O., Gela, D., Flajshans, M., Duda, P., Rodina, M., Novák, V., 2000a, Alcalase enzyme treatment for elimination of egg stickiness in tench, *Tinca tinca* L. *Aquaculture*, 191(4), 303-308.
- Linhart, O., Mims, S.D., Gomelsky, B., Hiott, A.E., Shelton, W.L., Cosson, J., Gela, D., 2000b, Spermiation of paddlefish (*Polyodon spathula*, Acipenseriformes) stimulated with injection of LHRH analogue and carp pituitary powder. *Aquatic Living Resources*, 13(6), 455-460.
- Linhart, O., Rodina, M., Cosson, J., 2000c, Cryopreservation of sperm in common carp *Cyprinus carpio*: sperm motility and hatching success of embryos. *Cryobiology*, 41(3), 241-250.
- Linhart, O., Gela, D., Rodina, M., 2001, Umělý výtěr sumce velkého s využitím enzymu při odlepkování jiker. Edice Metodik, Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Výzkumný ústav rybářský a hydrobiologický, Vodňany, č. 70, 16 s.
- Linhart, O., Cosson, J., Mims, S.D., Shelton, W.L., Rodina, M., 2002, Effects of ions on the motility of fresh and demembranated paddlefish (*Polyodon spathula*) spermatozoa. *Reproduction-Cambridge*, 124(5), 713-719.
- Linhart, O., Mims, S.D., Gomelsky, B., Hiott, A.E., Shelton, W.L., Cosson, J., Bastl, J., 2003, Ionic composition and osmolality of paddlefish (*Polyodon spathula*, Acipenseriformes) seminal fluid. *Aquaculture International*, 11, 357-368.
- Linhart, O., Gela, D., Rodina, M., Kocour, M., 2004, Optimization of artificial propagation in European catfish, *Silurus glanis* L. *Aquaculture*, 235(1-4), 619-632.
- Linhart, O., Rodina, M., Flajshans, M., Gela, D., Kocour, M., 2005, Cryopreservation of European catfish *Silurus glanis* sperm: sperm motility, viability, and hatching success of embryos. *Cryobiology*, 51(3), 250-261.
- Linhart, O., Alavi, S.M.H., Rodina, M., Gela, D., Cosson, J., 2008, Comparison of sperm velocity, motility and fertilizing ability between firstly and secondly activated spermatozoa of common carp (*Cyprinus carpio*). *Journal of Applied Ichthyology*, 24(4), 386-392.

- Linhart, O., Shelton, W. L., Tučková, V., Rodina, M., Siddique, M. A. M., 2016, Effects of temperature on in vitro short-term storage of sterlet sturgeon (*Acipenser ruthenus*) ova. *Reproduction in Domestic Animals*, 51(1), 165-170.
- Linhart, O., Cheng, Y., Rodina, M., Gela, D., Tučková, V., Shelton, W.L., Tinkir, M., Memiş, D., Xin, M., 2020, Sperm management of European catfish (*Silurus glanis* L.) for effective reproduction and genetic conservation. *Aquaculture*, 529, 735620.
- Linhart, O., Cheng, Y., Zhang, S., Alavi, S. M. H., Rodinová, V., Shazada, N. E., & Linhartová, Z., 2023, Sperm and egg in vitro storage effects on artificial fertilization and hatching in common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Aquaculture Reports*, 29, 101507.
- Loadman, N.L., Moodie, G.E.E., Mathias, J.A., 1986, Significance of cannibalism in larval walleye (*Stizostedion vitreum*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 43(3), 613-618.
- Lubzens, E., Young, G., Bobe, J., Cerdà, J., 2010, Oogenesis in teleosts: how fish eggs are formed. *General and Comparative Endocrinology*, 165(3), 367-389.
- Lugert, V., Thaller, G., Tetens, J., Schulz, C., Krieter, J., 2016, A review on fish growth calculation: multiple functions in fish production and their specific application. *Reviews in Aquaculture*, 8(1), 30-42.
- Maitland, P.S., Campbell, R.N., 1992, *Freshwater Fishes*. Harper Collins Publishers, London.
- Malyukina, G.A., Martem'yanov, V.I., 1981, An electrocardiographic study of chemical sensitivity in some freshwater fishes. *Journal of Ichthyology*, 21, 77–84 s.
- Mananos, E., Duncan, N., Mylonas, C., 2008, Reproduction And Control Of Ovulation, Spermiation and Spawning in Cultured Fish. *Methods in Reproductive Aquaculture Marine and Freshwater Species*. Academia. Accelerating the world's research. *Marine Biology Series*, p. 27-87.
- Mansour, N., Lahnsteiner, F., Patzner, R.A., 2009, Physiological and biochemical investigations on egg stickiness in common carp. *Animal Reproduction Science*, 114(1-3), 256-268.
- Marinovic, Z., Šćekić, I., Lujić, J., Urbányi, B., Horváth, Á., 2021, The effects of cryopreservation and cold storage on sperm subpopulation structure of common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Cryobiology*, 99, 88-94.
- Matthews, J.L., Murphy, J.M., Carmichael, C., Yang, H., Tiersch, T., Westerfield, M., Varga, Z.M., 2018, Changes to extender, cryoprotective medium, and in vitro fertilization improve zebrafish sperm cryopreservation. *Zebrafish*, 15(3), 279-290.
- Migaud, H., G. Bell, E. Cabrita, B. McAndrew, A. Davie, J. Bobe, M.P. Herraiez, Carrillo., 2013, Gamete quality and broodstock management in temperate fish. *Rev. Aquaculture*, 5:194–223.

- Migaud, H., 2015, Fish endocrinology of reproduction. Lecture notes, Stirling University, Scotland, UK.
- Mihálik, J., 1982, Der Wels (*Silurus glanis*). Die Neue Brehm-bücherei. A. Ziemsen Verlag, Wittenberg Lutherstadt.
- Mihálik, J., 1995, Der Wels. Die Neue Brehm-Bucherei, 2nd edn. Westarp Wissenschaften, Magdeburg, 71 s.
- Morisawa, M., Suzuki, K., Morisawa, S., 1983, Effects of potassium and osmolality on spermatozoan motility of salmonid fishes. *Journal of Experimental Biology*, 107(1), 105-113.
- Morisawa, S., Morisawa, M., 1986, Acquisition of potential for sperm motility in rainbow trout and chum salmon, *Journal of Experimental Biology*, 126(1), 89-96.
- Morisawa, M., 2008, Adaptation and strategy for fertilization in the sperm of teleost fish. *Journal of Applied Ichthyology*, 24(4), 362-370.
- Mylonas, C.C., Fostier, A., Zanuy, S., 2010, Broodstock management and hormonal manipulations of fish reproduction. *General and Comparative Endocrinology*, 165: 516-534.
- Mylonas, C.C., Mitrizakis, N., Papadaki, M., Sigelaki, I., 2013, Reproduction of hatchery-produced meagre *Argyrosomus regius* in captivity I. Description of the annual reproductive cycle. *Aquaculture*, 414-415: 309-317.
- Mylonas, C.C., Duncan, N.J., Asturiano, J.F., 2017, Hormonal manipulations for the enhancement of sperm production in cultured fish and evaluation of sperm quality. *Aquaculture*, 472, 21-44.
- Niksirat, H., Sarvi, K., Amiri, B.M., Karami, M., Hatef, A., 2007, In vitro storage of unfertilized ova of endangered Caspian brown trout (*Salmo trutta caspius*) in artificial media. *Animal Reproduction Science*, 100(3-4), 356-363.
- Nynca, J., Dietrich, G.J., Dobosz, S., Grudniewska, J., Ciereszko, A., 2014, Effect of cryopreservation on sperm motility parameters and fertilizing ability of brown trout semen. *Aquaculture*, 433, 62-65.
- Nynca, J., Dietrich, G.J., Dobosz, S., Zalewski, T., Ciereszko, A., 2015, Effect of postthaw storage time and sperm-to-egg ratio on fertility of cryopreserved brook trout sperm. *Theriogenology*, 83(2), 253-256.
- Okomoda, V. T., Aminem, W., Hassan, A., Martins, C. O., 2019, Effects of feeding frequency on fry and fingerlings of African catfish *Clarias gariepinus*. *Aquaculture*, 511, 734232.
- Orlova, E.L., Popova, O.A., 1987, Age related changes in feeding of catfish, *Silurus glanis*, and pike, *Esox lucius*, in the outer delta of the Volga. *Journal of Ichthyology*, 27(3), 54-63.

- Orlova, E.L., 1989. Peculiarities of growth and maturation of the catfish, *Silurus glanis*, in the Volga Delta under regulated flow conditions. *Journal of Ichthyology*, 28, 35–45 s.
- Özdemir, R.C., Ekici, A., 2017, Different Heat Shock Application Effect on Gynogenetic Production of Zebrafish (*Danio rerio*). *Fisheries and Aquaculture Journal*, 8(2).
- Öz, M., Şahin, D., Karslı, Z., Öz, Ü., Aral, O., 2016, Koi balığının (*Cyprinus carpio* L., 1758) ilk dönem yetiştiriciliğinde bazı morfometrik ölçümler, büyüme farklılığı ve kanibalizm. *Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gaziosmanpaşa Bilimsel Araştırma Dergisi*, 12, 92-100.
- Paragamian, V.L., Wakkinen, 2002, Temporal distribution of Kootenai river white sturgeon spawning events and effect of flow and temperature. *Journal of Applied Ichthyology*, 18, 542-549.
- Park, C., Chapman, F.A., 2005, An extender solution for the short-term storage of sturgeon semen. *North American Journal of Aquaculture*, 67(1), 52-57.
- Parodi, J., Guerra, G., Cuevas, M., Ramírez-Reveco, A., Romero, F., 2017, Effects of storage time on the motility, mortality and calcium levels of Atlantic salmon *Salmo salar* spermatozoa. *Journal of Fish Biology*, 90(4), 1506-1516.
- Paxton, C.G.M., Willoughby, L.G., 2000, Resistance of perch eggs to attack by aquatic fungi. *Journal of Fish Biology*, 57(3), 562-570.
- Perchec, G., Cosson, J., Andre, F., Billard, R., 1995, Degradation of the quality of carp sperm by urine contamination during stripping. *Aquaculture*, 129(1-4), 135-136.
- Piros, B., Glogowski, J., Kolman, R., Rzemieniecki, A., Domagala, J., Horvath, A., Ciereszko, A., 2002, Biochemical characterization of Siberian sturgeon *Acipenser baeri* and sterlet *Acipenser ruthenus* milt plasma and spermatozoa. *Fish Physiology and Biochemistry*, 26, 289-295.
- Pillay, T. V. R., Kutty, M. N., 2005, Aquaculture: Principles and Practices. Blackwell publishing. 380p.
- Planche, B., 1987, Croissance et reproduction du silure glane (*Silurus glanis*, Cypriniformes, Siluridae) dans la Seille (Saone et Loire, France). Rapport technique de D.E.A. Université de Lyon I, Villeurbanne, 25 str., francouzsky.
- Pohlmann, K., Grasso, F.W., Breithaupt, T., 2001, Tracking wakes: the nocturnal predatory strategy of piscivorous catfish. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 98(13), 7371-7374.
- Poleo, G.A., Denniston, R.S., Reggio, B.C., Godke, R.A., Tiersch, T.R., 2001, Fertilization of eggs of zebrafish, *Danio rerio*, by intracytoplasmic sperm injection. *Biology of Reproduction*, 65(3), 961-966.
- Policar, T., Kozák, P., Hamáčková, J., Lepičová, A., Musil, J., Kouřil, J., 2007, Effects of short-time *Artemia* spp. feeding in larvae and different rearing environments in juveniles of

- common barbel (*Barbus barbus*) on their growth and survival under intensive controlled conditions. *Aquatic Living Resources*, 20(2), 175-183.
- Proteau, J.P., Schlumberger, O., Élie, P., 2008, Le silure glane. Editions Quae, 224 str.
- Psenicka, M., Dietrich, G.J., Wojtczak, M., Nynca, J., Rodina, M., Linhart, O., Ciereszko, A., 2008a, Acrosome staining and motility characteristics of sterlet spermatozoa after cryopreservation with use of methanol and DMSO. *Cryobiology*, 56(3), 251-253.
- Psenicka, M., Hadi Alavi, S.M., Rodina, M., Cicova, Z., Gela, D., Cosson, J., Linhart, O., 2008b, Morphology, chemical contents and physiology of chondrosteian fish sperm: a comparative study between Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*) and sterlet (*Acipenser ruthenus*). *Journal of Applied Ichthyology*, 24(4), 371-377.
- Pšenička, M., 2016, A novel method for rapid elimination of sturgeon egg stickiness using sodium hypochlorite. *Aquaculture*, 453, 73-76.
- Pšenička, M., 2018, Rapid de-adhesion of northern pike *Esox lucius* eggs using sodium hypochlorite. *Fish Physiology and Biochemistry*, 44, 1535-1539.
- Pšenička, M., Franěk, R., 2021, Brief communication: rapid elimination of egg stickiness using sodium hypochlorite in wels catfish *Silurus glanis*. *Fish Physiology and Biochemistry*, 47, 681-685.
- Rabe, J., Brown, J.A., 2000, A pulse feeding strategy for rearing larval fish: an experiment with yellowtail flounder. *Aquaculture*, 191(4), 289-302.
- Ramos-Júdez, S., González, W., Dutto, G., Mylonas, C.C., Fauvel, C., Duncan, N., 2019, Gamete quality and management for in vitro fertilisation in meagre (*Argyrosomus regius*). *Aquaculture*, 509, 227-235.
- Rana, K.J., Muiruri, R.M., McAndrew, B.J., Gilmour, A.N.N., 1990, The influence of diluents, equilibration time and prefreezing storage time on the viability of cryopreserved *Oreochromis niloticus* (L.) spermatozoa. *Aquaculture Research*, 21(1), 25-30.
- Rana, K., 1995, Preservation of Gametes. Brood stock management and egg and larval quality, Chapter 3, Blackwell Science, Cambridge University Press, 53-76 p.
- Rao, T. R., 2003, Ecological and ethological perspectives in larval fish feeding. *Journal of Applied Aquaculture*, 13(1-2), 145-178.
- Rasines, I., Gomez, M., Martín, I., Rodriguez, C., Mananos, E., Chereguini, O., 2012, Artificial fertilization of Senegalese sole (*Solea senegalensis*): Hormone therapy administration methods, timing of ovulation and viability of eggs retained in the ovarian cavity. *Volumes*, 326-329: 129-135.
- Resmî Gazete, 2004, T.C. Su Ürünleri Yetiştiriciliği Yönetmeliği (25507 mükerrer), 29.5.2004, madde 4.

- Rime, H., Guitton, N., Pineau, C., Bonnet, E., Bobe, J., Jalabert, B., 2004, Post-ovulatory ageing and egg quality: a proteomic analysis of rainbow trout coelomic fluid. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 2(1), 1-10.
- Rizzo, E., Godinho, H.P., Sato, Y., 2003, Short-term storage of oocytes from the neotropical teleost fish *Prochilodus marginatus*. *Theriogenology*, 60(6), 1059-1070.
- Robles, V., Cabrita, E., De Paz, P., Herraiz, M.P., 2007, Studies on chorion hardening inhibition and dechorionization in turbot embryos. *Aquaculture*, 262(2-4), 535-540.
- Rodina, M., Cosson, J., Gela, D., Linhart, O., 2004, Kurokura solution as immobilizing medium for spermatozoa of tench (*Tinca tinca* L.). *Aquaculture International*, 12, 119-131.
- Romanova, E.M., Lyubomirova, V.N., Romanov, V.V., Mukhitova, M.E., 2017, Innovative approaches to receiving reproductive products of african sharptooth catfish in pool aquaculture. *Vestnik of Ulyanovsk State Agricultural Academy*.
- Rothbard, S., Rubinshtein, I., Gelman, E., 1996, Storage of common carp, *Cyprinus carpio* L., eggs for short durations. *Aquaculture Research*, 27(3), 175-181.
- Rottmann, R.W., Shireman, J.V., Chapman, F.A., 1991, Hormonal control of reproduction in fish for induced spawning (Vol. 424). Stoneville, Mississippi: Southern Regional Aquaculture Center.
- Rurangwa, E.U.G.É.N.E., Volckaert, F.A.M., Huyskens, G., Kime, D.E., Ollevier, F., 2001, Quality control of refrigerated and cryopreserved semen using computer-assisted sperm analysis (CASA), viable staining and standardized fertilization in African catfish (*Clarias gariepinus*). *Theriogenology*, 55(3), 751-769.
- 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(1-4), 1-28.
- Rzemieniecki, A., Domagała, J., Glogowski, J., Ciereszko, A., Trzebiatowski, R., Kouřil, J., Babiak, I., 2004, Induced spermiation in 3-year-old sterlet, *Acipenser ruthenus* L. *Aquaculture Research*, 35(2), 144-151.
- Saad, A., Billard, R., 1995, Production et gestion des spermatozod' des chez le poisson-chat europe' en (*Silurus glanis*). *Aquat. Living Resour*, 8, 323-328.
- Salami, A.A., Fagbenro, O.A., Edibite, L., Fagbemiro, S.O., 1994, Induced Spawning of the African Catfish *Clarias gariepinus* Using Non-Piscine Pituitary Extracts. *Journal of the World Aquaculture Society*, 25(1), 166-168.
- Samarin, A.M., Policar, T., Lahnsteiner, F., 2015a, Fish oocyte ageing and its effect on egg quality. *Reviews in Fisheries Science & Aquaculture*, 23(3), 302-314.
- Samarin, A.M., Gela, D., Bytyutskyy, D., Policar, T., 2015b, Determination of the best post-ovulatory stripping time for the common carp (*Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758). *Journal of Applied Ichthyology*, 31, 51-55.

- Samarin, A.M., Blecha, M., Uzhytchak, M., Bytyutskyy, D., Zarski, D., Flajshans, M., Policar, T., 2016, Post-ovulatory and post-stripping oocyte ageing in northern pike, *Esox lucius* (Linnaeus, 1758), and its effect on egg viability rates and the occurrence of larval malformations and ploidy anomalies. *Aquaculture*, 450, 431-438.
- Samarin, A.M., Żarski, D., Palińska-Żarska, K., Krejszeff, S., Blecha, M., Kucharczyk, D., Policar, T., 2017, In vitro storage of unfertilized eggs of the Eurasian perch and its effect on egg viability rates and the occurrence of larval malformations. *Animal*, 11(1), 78-83.
- Samarin, A.M., Samarin, A.M., Policar, T., 2019a, Cellular and molecular changes associated with fish oocyte ageing. *Reviews in Aquaculture*, 11(3), 619-630.
- Samarin, A.M., Samarin, A.M., Blecha, M., Kristan, J., Policar, T., 2019b, In vitro storage of pikeperch (*Sander lucioperca*) eggs. *Aquaculture International*, 27, 1037-1044.
- Samarin, A.M., Samarin, A.M., Østbye, T.K.K., Ruyter, B., Sampels, S., Burkina, V., Policar, T., 2019c, The possible involvement of oxidative stress in the oocyte ageing process in goldfish *Carassius auratus* (Linnaeus, 1758). *Scientific Reports*, 9(1), 10469.
- Sanap, B.N., Ambulkar, R.S., Kamble, S.D., Chaturvedi, C.S., 2018, Post-dissection survival, conservation and reutilization of *Clarias batrachus* (Linnaeus, 1758) male broodstock. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 7(2), 2010-2017.
- Santamaria, C.A., de Mateo, M.M., Traveset, R., Sala, R., Grau, A., Pastor, E., Crespo, S., 2004, Larval organogenesis in common dentex *Dentex dentex* L.(Sparidae): histological and histochemical aspects. *Aquaculture*, 237(1-4), 207-228.
- Santos, J.C.E., de Souza Correia, E., Luz, R.K., 2015, Effect of daily artemia nauplii concentrations during juvenile production of *Lophiosilurus alexandri*. *Boletim do Instituto de Pesca*, 41(Special), 771-776.
- Sarasquete, M.C., Polo, A., Yúfera, M., 1995, Histology and histochemistry of the development of the digestive system of larval gilthead seabream, *Sparus aurata* L. *Aquaculture*, 130(1), 79-92.
- Sarosiek, B., Wysocka, J., Wysocki, P., Kowalski, R., Glogowski, J., 2006, Characteristics of acid phosphatase from Russian sturgeon (*Acipenser gueldenstaedtii*) spermatozoa. *Journal of Applied Ichthyology*, 22, 375.
- Sarosiek, B., Dryl, K., Kucharczyk, D., Żarski, D., Kowalski, R.K., 2014, Motility parameters of perch spermatozoa (*Perca fluviatilis* L.) during short-term storage with antioxidants addition. *Aquaculture International*, 22, 159-165.
- Savaş, E., 2001, Diskus balıklarında (*Symphysodon* spp.) larval gelişim ve gelişme üzerine etkili faktörler, İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Saygı, H., Güleç, F., 2019, Fully controlled production and sex control of European catfish (*Silurus glanis* Linnaeus, 1758). *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology*, 7(6), 913-918.

- Saylar, Ö., 1993, Comparative age determination methods and length-weight relationships in *Silurus glanis* (Linnaeus, 1758) population living in Altınkaya Dam Lake and Kabalar Pond. Doctoral dissertation, Doctoral Thesis, Gazi University, Institute of Science, Ankara.
- Schnaittacher, G., King, W., Berlinsky, D. L., 2005, The effects of feeding frequency on growth of juvenile Atlantic halibut, *Hippoglossus hippoglossus* L. *Aquaculture Research*, 36(4), 370-377.
- Schreck, C.B., 2010, Stress and fish reproduction: the roles of allostasis and hormesis. *General and comparative endocrinology*, 165(3), 549-556.
- Segner, H., Rösch, R., Verreth, J., Witt, U., 1993, Larval nutritional physiology: studies with *Clarias gariepinus*, *Coregonus lavaretus* and *Scophthalmus maximus*. *Journal of the World Aquaculture Society*, 24(2), 121-134.
- Shaliutina, A., Hulak, M., Gazo, I., Linhartova, P., Linhart, O., 2013, Effect of short-term storage on quality parameters, DNA integrity, and oxidative stress in Russian (*Acipenser gueldenstaedtii*) and Siberian (*Acipenser baerii*) sturgeon sperm. *Animal Reproduction Science*, 139(1-4), 127-135.
- Shaliutina-Kolešová, A., Gazo, I., Cosson, J., Linhart, O., 2014, Protection of common carp (*Cyprinus carpio* L.) spermatozoa motility under oxidative stress by antioxidants and seminal plasma. *Fish Physiology and Biochemistry*, 40, 1771-1781.
- Sharaf, S.M., 2012, Effect of GnRHa, pimozone and Ovaprim on ovulation and plasma sex steroid hormones in African catfish *Clarias gariepinus*. *Theriogenology*, 77(8), 1709-1716.
- Shikhshabekov M.M., 1978, The sexual cycles of the catfish, *Silurus glanis*, the pike, *Esox lucius*, the perch, *Perca fluviatilis*, and the pikeperch, *Lucioperca lucioperca*. *Journal of Ichthyology*, 18, 457-468.
- Siddique, M.A.M., Psenicka, M., Cosson, J., Dzyuba, B., Rodina, M., Golpour, A., Linhart, O., 2016, Egg stickiness in artificial reproduction of sturgeon: an overview. *Reviews in Aquaculture*, 8(1), 18-29.
- Silva, A.R., Rita de Cássia, S.C., Silva, L.D., Chirinéa, V.H., Lopes, M.D., Souza, F.F., 2006, Prognostic value of canine frozen-thawed semen parameters on in vitro sperm-oocyte interactions. *Theriogenology*, 66(2), 456-462.
- Soundarapandian, P., Saravanakumar, G., 2009, Effect of different salinities on the survival and growth of *Artemia* spp. *Current Research Journal of Biological Sciences*, 1(2), 20-22.
- Sohrabnezhad, M., Kalbassi, M. R., Nazari, R. M., Bahmani, M., 2006, Short-term storage of Persian sturgeon (*Acipenser persicus*) ova in artificial media and coelomic fluid. *Journal of Applied Ichthyology*, 22.
- Stone, R., 2007, The last of the leviathans. *Science*, 316(5832), 1684-1688.

- Stoss, J., 1983, Fish Gamete Preservation and Spermatozoan Physiology. *Fish Physiology*, 9, 305-350.
- Stoss, J., Refstie, T., 1983, Short-term storage and cryopreservation of milt from Atlantic salmon and sea trout. *Aquaculture*, 30(1-4), 229-236.
- Subasinghe, R., Soto, D., Jia, J., 2009, Global aquaculture and its role in sustainable development. *Aquaculture*, 1: 2-9.
- Suquet, M., Chereguini, O., Omnes, M.H., Rasines, I., Normant, Y., Souto, I.P., Quemener, L., 1999, Effect of temperature, volume of ova batches, and addition of a diluent, an antibiotic, oxygen and a protein inhibitor on short-term storage capacities of turbot, *Psetta maxima*, *Aquatic Living Resources*, 12(4), 239-246.
- Szczerbowski, A., Kucharczyk, D., Mamcarz, A., Łuczyński, M.J., Targońska, K., Kujawa, R., 2009, Artificial off-season spawning of Eurasian perch *Perca fluviatilis* L. *Archives Polish Fisheries*, 17:95-98.
- Targonska, K., Kucharczyk, D., Kujawa, R., Mamcarz, A., Zarski, D., 2010, Controlled reproduction of asp, *Aspius aspius* (L.) using luteinizing hormone releasing hormone (LHRH) analogues with dopamine inhibitors. *Aquaculture*, 306: 407-410.
- Tinkir, M., Memiş, D., Cheng, Y., Xin, M., Rodina, M., Gela, D., Linhart, O., 2021, Level of in vitro storage of the European catfish (*Silurus glanis* L.) eggs at different temperatures. *Fish Physiology and Biochemistry*, 47, 163-171.
- Trigo, P., Merino, O., Figueroa, E., Valdebenito, I., Sánchez, R., Risopatrón, J., 2015, Effect of short-term semen storage in salmon (*Oncorhynchus mykiss*) on sperm functional parameters evaluated by flow cytometry. *Andrologia*, 47(4), 407-411.
- TÜİK, 2023, Su Ürünleri İstatistikleri, Ankara. www.tuik.gov.tr/bilgi@tuik.gov.tr
- Ulikowski, D., Borkowska, I., 1999, The effect of initial stocking density on growth of european catfish (*Silurus glanis* L.) larvae under controlled conditions. *Fisheries & Aquatic Life*, 7(1), 151-160.
- Ulloa-Rodríguez, P., Contreras, P., Dumorné, K., Lee-Estevez, M., Díaz, R., Figueroa, E., Farías, J.G., 2018, Patagonian blenny (*Eleginops maclovinus*) spermatozoa quality after storage at 4 °C in Cortland medium. *Animal Reproduction Science*, 197, 117-125.
- Urbányi, B., Horváth, Á., Kovács, B., 2004, Successful hybridization of Acipenser species using cryopreserved sperm. *Aquaculture International*, 12, 47-56.
- Uysal, R., Apaydın Yağci, M., Yeğen, V., Cesur, M., Yağci, A., Çetinkaya, S., Bostan, H., 2009, Growth Properties of European Catfish (*Silurus glanis* L., 1758) Population in İznik Lake (Bursa-Turkey). *Journal of Natural and Applied Sciences*, 13(3), 221-228.
- Ünlü, E., Değer, D., Çiçek, T., 2012, Comparision of morphological and anatomical characters in two catfish species, *Silurus triostegus* Heckel, 1843 and *Silurus glanis* L., 1758 (Siluridae, Siluriformes). *North-Western Journal of Zoology*, 8(1), 119-124.

- Váarkonyi, E., Bercsényi, M., Ozouf-Costaz, C., Billard, R., 1998, Chromosomal and morphological abnormalities caused by oocyte ageing in *Silurus glanis*. *Journal of Fish Biology*, 52(5), 899-906.
- Valdebenito, I.I., Gallegos, P.C., Effer, B.R., 2015, Gamete quality in fish: evaluation parameters and determining factors. *Zygote*, 23(2), 177-197.
- Veras, G.C., Brabo, M.F., Dias, J.A., Abe, H.A., Nunes, Z.M.P., Murgas, L.D.S., 2016, The effect of photoperiod and feeding frequency on larval of the Amazonian ornamental fish *Pyrrhulina brevis* (Steindachner, 1876). *Aquaculture Research*, 47(3), 797-803.
- Verreth, J.A., Torreele, E., Spazier, E., Van der Sluiszen, A., Rombout, J.H., Booms, R., Segner, H., 1992, The development of a functional digestive system in the African catfish *Clarias gariepinus* (Burchell). *Journal of the World Aquaculture Society*, 23(4), 286-298.
- Vílchez, M.C., Morini, M., Peñaranda, D.S., Gallego, V., Asturiano, J.F., Pérez, L., 2017, Role of potassium and pH on the initiation of sperm motility in the European eel. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 203, 210-219.
- Villamizar, N., Blanco-Vives, B., Migaud, H., Davie, A., Carboni, S., Sanchez-Vazquez, F.J., 2011, Effects of light during early larval development of some aquacultured teleosts: A review. *Aquaculture*, 315(1-2), 86-94.
- Wasden, M.B., Roberts, R.L., DeLaurier, A., 2017, Optimizing sperm collection procedures in zebrafish. *Journal of the South Carolina Academy of Science*, 15(2).
- Watanabe, T., 1985, Importance of the study of broodstock nutrition for further development of aquaculture. In *Proceeding of international symposium on nutrition and feeding in fish*. (pp. 395-414).
- Wheeler, A., 1969, *The Fishes of the British Isles and North*.
- Williot, P., Kopeika, E.F., Goncharov, B.F., 2000, Influence of testis state, temperature and delay in semen collection on spermatozoa motility in the cultured Siberian sturgeon (*Acipenser baeri* Brandt). *Aquaculture*, 189(1-2), 53-61.
- Wojtczak, M., Dietrich, G.J., Irnazarow, I., Jurecka, P., Słowińska, M., Ciereszko, A., 2007, Polymorphism of transferrin of carp seminal plasma: relationship to blood transferrin and sperm motility characteristics. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 148(4), 426-431.
- Wolter, C., Vilcinskis, A., 1996, Fish fauna of the Berlinian waters – their vulnerability and protection. *Limnologica*, 26, 207–213 s.
- Wolter, C., Freyhof, J., 2004, Diel distribution patterns of fishes in a temperate large lowland river. *Journal of Fish Biology*, 64, 632–642 s.
- Wilson-Leedy, J.G., Kanuga, M. K., Ingermann, R.L., 2009, Influence of osmolality and ions on the activation and characteristics of zebrafish sperm motility. *Theriogenology*, 71(7), 1054-1062.

- Xia, J., Niu, C., 2017, Acute toxicity effects of perfluorooctane sulfonate on sperm vitality, kinematics and fertilization success in zebrafish. *Chinese Journal of Oceanology and Limnology*, 35(4), 723-728.
- Xin, M., Cheng, Y., Rodina, M., Tučková, V., Shelton, W.L., Linhart, O., 2020, Improving motility and fertilization capacity of low-quality sperm of sterlet *Acipenser ruthenus* during storage. *Theriogenology*, 156, 90-96.
- Xie, F., Ai, Q., Mai, K., Xu, W., Ma, H., 2011, The optimal feeding frequency of large yellow croaker (*Pseudosciaena crocea*, Richardson) larvae. *Aquaculture*, 311(1-4), 162-167.
- Yamaner, G., Memis, D., Baran, A., 2015, Sperm quality and effects of different cryomedia on spermatozoa motility in first-time spawning of cultured Russian sturgeon (*Acipenser gueldenstaedtii*). *Journal of Applied Ichthyology*, 31(5), 976-976.
- Yaron, Z., Bogomoinaya, A., Drori, S., Biton, I., Aizen, J., Kulikovsky, Z., Levavi-Sivan, B., 2009, Spawning induction in the carp: past experience and future prospects-a review.
- Yayan, D.T., 2015, Durgun sularda balık yetiştiriciliğinin besin elementleri açısından etkilerinin azaltılması Uzmanlık Tezi, Orman ve Su İşleri Bakanlığı, Ankara, 2s.
- Yasui, G.S., Senhorini, J.A., Shimoda, E., Pereira-Santos, M., Nakaghi, L.S.O., Fujimoto, T., Silva, L.A., 2015, Improvement of gamete quality and its short-term storage: an approach for biotechnology in laboratory fish. *Animal*, 9(3), 464-470.
- Yılmaz, S., Yılmaz, M., Polat, N., 2007, A research on age-length, age-weight and length-weight relationships of *Silurus glanis* L., 1758 population in Altinkaya Dam Lake (Samsun). *SDÜ J Sci (E-Dergi)*, 2(1), 18-26.
- Yu, X., Wu, C., Gjøen, H.M., 2017, Artificial fertilization and generating families for a selective breeding programme of large yellow croaker (*Larimichthys crocea*). *International Aquatic Research*, 9, 161-167.
- Yufera, M., Kolkovski, S., Fernández-Díaz, C., Rinchard, J., Lee, K.J., Dabrowski, K., 2003, Delivering bioactive compounds to fish larvae using microencapsulated diets. *Aquaculture*, 227(1-4), 277-291.
- Zajitschek, S., Hotzy, C., Zajitschek, F., Immler, S., 2014, Short-term variation in sperm competition causes sperm-mediated epigenetic effects on early offspring performance in the zebrafish. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 281(1785), 20140422.
- Zakes Z., Demska-Zakes K., Roszuk K. Kowalska A., 2006, Removing adhesiveness from pikeperch eggs using tannin and protease. In: *Reproduction, Rearing and Prophylactics of Cyprinid Fish and Other Species* (ed. by Z. Zakes, K. Demska-Zakes & J. Wolnicki), pp. 239–249. IRS, Olsztyn (in Polish).
- Zarski, D., Kucharczyk, D., Targonska, K., Jamroz, M., Krejszeff, S., Mamcarz A., 2009, Application of ovopel and ovaprim and their combinations in controlled reproduction of two reophilic cyprinid fish species. *Polish Journal of Natural Science*, 24(4): 235–244.

- Żarski, D., Targońska, K., Krejszeff, S., Kwiatkowski, M., Kupren, K., Kucharczyk, D., 2011, Influence of stocking density and type of feed on the rearing of crucian carp, *Carassius carassius* (L.), larvae under controlled conditions. *Aquaculture International*, 19, 1105-1117.
- Zepeda, A.B., Miranda, I.B., Valdebenito, I., Moreno, R. D., Farías, J.G., 2020, GnRHa treatments of Atlantic Salmon broodstock suppresses effects of endocrine disruptors, benefitting offspring quality. *Animal Reproduction Science*, 217, 106470.
- Zeytin, S., Schulz, C., Ueberschär, B., 2016, Diurnal patterns of tryptic enzyme activity under different feeding regimes in gilthead sea bream (*Sparus aurata*) larvae. *Aquaculture*, 457, 85-90.
- Zhang, S., Cheng, Y., Linhartová, Z., Rodinová, V., Shazada, N.E., Wu, Q., Linhart, O., 2022, In vivo and in vitro aging of common carp *Cyprinus carpio* sperm after multiple hormonal application and stripping of males. *Fish Physiology and Biochemistry*, 48(5), 1235-1250.
- Zibiene, G., Zibas, A., 2019, Impact of commercial probiotics on growth parameters of European catfish (*Silurus glanis*) and water quality in recirculating aquaculture systems. *Aquaculture International*, 27(6), 1751-1766.
- Zlabek, A., Linhart, O., 1987, Short-term storage of non-inseminated and unfertilized ova of the common carp, grass carp and silver carp. *Bulletin VURH Vodnany*, 23, 3-11.
- Zohar, Y., Mylonas, C.C., 2001, Endocrine manipulations of spawning in cultured fish: From hormones to genes. *Aquaculture*, 197, 99-136.
- Zuanon, J.A.S., Salaro, A.L., Furuya, W.M., 2011, Produção e nutrição de peixes ornamentais. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 40(1), 165-174.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı	Merve TINKIR UZER
Doğum Yeri	
Doğum Tarihi	
Uyruğu	☒ T.C. ☐ Diğer:
E-Posta Adresi	
Web Adresi	

Eğitim Bilgileri	
Lisans	
Üniversite	Sinop Üniversitesi
Fakülte	Su Ürünleri Fakültesi
Bölümü	Su Ürünleri Mühendisliği
Mezuniyet Yılı	10.06.2012

Yüksek Lisans	
Üniversite	Sinop Üniversitesi
Enstitü Adı	Fen Bilimleri Enstitüsü
Anabilim Dalı	Su Ürünleri Yetiştiriciliği
Programı	Su Ürünleri Yetiştiriciliği

Doktora	
Üniversite	İstanbul Üniversitesi
Enstitü Adı	Fen Bilimleri Enstitüsü
Anabilim Dalı	Su Ürünleri Yetiştiriciliği ve Hastalıkları Anabilim Dalı
Programı	Su Ürünleri Yetiştiriciliği Programı

Makale ve Bildiriler	
<u>SCI, SSCI ve AHCI İndekslerine Giren Dergilerde Yayımlanan Makaleler</u>	
Tinkir M., Memiş D., Cheng Y., Xin M., Rodina M., Gela D., Tučková V. & Linhart O. (2021). Level of <i>in vitro</i> storage of the European catfish (<i>Silurus glanis</i> L.) eggs at different temperatures. Fish physiology and biochemistry, 47, 163-171. Linhart O., Cheng Y., Rodina M., Gela D., Tučková V., Shelton W.L., Tinkir M., Memiş D. & Xin M. (2020). AQUA_2020_1080: Sperm management of European catfish (<i>Silurus glanis</i> L.) for effective reproduction and genetic conservation. Aquaculture, 529, 735620.	

Hakemli Dergilerde Yayımlanan Makaleler

- Tınkır M.**, Yılayaz A. & Memiş D. (2023). Two different methods of sperm collection in European catfish (*Silurus glanis* Linnaeus, 1758). *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 40(2), 126-131.
- Memiş D., Tunçelli G., **Tınkır M.** & Erk, M. H. (2023). Investigation of different lighting (LED, HPS and FLO) in aquaponics systems for joint production of different plants (Lettuce, Parsley and Cress) and koi carp. *Aquatic Research*, 6, 1-1.
- Yamaner G., Tosun D.D., **Tınkır M.** & Tunçelli G. (2022). Effect of duo-culture on the first feeding transition success and growth performance for black sea trout (*Salmo trutta labrax*, pallas, 1811) with rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, walbaum, 1792). *Sustainable Aquatic Research*, 1(1).
- Demircan M.D., Ekici A., Tunçelli G., **Tınkır M.**, Keskin İ. & Memiş D. (2022). Using the thick-shelled river mussel (*Unio crassus*) filtering ability for water treatment process in aquaculture systems: An *in vitro* study on removal of the bacteria from the water. *Aquatic Sciences and Engineering*, 37(4), 212- 219.
- Memiş D., Yamaner G., Tosun D.D., Tunçelli G. & **Tınkır M.** (2020). Current status of economically important diadromous fish species of Turkey; European eel, Black Sea trout and sturgeon species. *Aquatic Research*, 3(4), 188-196.

Ulusal ve Uluslararası Kongre Bildirileri

- Eryalçın K.M., Sayar M., Pınarbaşı Z.S., Türk S.S. & **Tınkır M.** Investigation of proximate and micromineral compositions of *Rapana welk* *Rapana venosa* meal for fish feed industry. Aquaculture Europe, Vienna, Avusturya, 18-21 Eylül 2023, ss. 402-403.
- Tınkır M.**, Memiş D. & Yılayaz A. Two different methods of sperm collection in European catfish (*Silurus glanis*). 8th International Workshop on the Biology of Fish Gametes, Gdansk, Polonya, 20-23 Eylül 2022, ss.1.
- Memiş D., Tunçelli G., **Tınkır M.** & Erk M.H. Akuaponik sistemde farklı aydınlatma kullanılımasının (led, hps ve floresan) bazı bitkilerin (marul, maydanoz ve tere) büyüme performansına etkisi. 20.Ulusal Su Ürünleri Sempozyumu, Mersin, Türkiye, 24-26 Eylül 2019, ss.97.
- Memiş D., **Tınkır M.**, Momin M. & Tuncelli G. Analys of the sperm quality parameters of koi fish in the aquaponic system. 7th International Workshop on the Biology of Fish Gametes, Rennes, Fransa, 2-6 Eylül 2019, ss.82.
- Yamaner G., Tosun D.D., **Tınkır M.**, Tunçelli G., Memiş D. & Akar T. Effects of duoculture on first feeding transition success and growth performance for *Salmo trutta labrax* with *Oncorhynchus mykiss*. 3rd International Congress on Applied

Ichthyology & Aquatic Environment (HydroMediT),Volos, Yunanistan, 8-11 Kasım 2018, ss.1.

Tınkır M., Baki B. Comparison of fatty acids of the rotifer *Brachionus plicatilis* (müler) fed with different microalgae in different salinity conditions. 3rd International Congress on Applied Ichthyology & Aquatic Environment Hydromedit 2018,Volos, Yunanistan, 8-11 Kasım 2018, ss.652-654.

Tosun D.D., Yamaner G., Tunçelli G., **Tınkır M.** & Memiş D. Effect of stocking density on growth performance and feeding behavior of *Salmo trutta labrax* during first feeding. I. International Fisheries Symposium Girne, Kıbrıs (KKTC), 4-8 Kasım 2018, ss. 57-58.

Tınkır M., Baki B. Investigation of growth rates of rotifers (*Brachionus plicatilis*) fed with different phytoplankton species in different salinity rations. I. International Fisheries Symposium IFSC Girne, (KKTC),4 -8Kasım2018, ss.125-126.

Memiş D.,Tunçelli G., **Tınkır M.** & Erk, M.H. Investigation of the effect of different light sources (LED, HPS and Fluorescence) on growth performance of plants (lettuce and parsley) in aquaponics system. I. International Fisheries Symposium, Girne, Kıbrıs (KKTC), 4-8 Kasım 2018, ss.1.

Tınkır M., Memiş D. The future role of algae. 1st International Symposium on Graduate Research in Science Focus on Entrepreneurship and Innovation, İstanbul, Türkiye, 4-6 Ekim 2018, ss.229.

Memiş D., Yamaner G.,Tosun D.D., Tunçelli G. & **Tınkır M.** Diadromous fish species of Turkey: The European eel, Black sea trout and sturgeon species. Sustaining iconic diadromous fishes: The potentialand pitfals of cultivation Impress Conference, Arendal, Norveç, 17-19 Haziran 2018, ss.1.

Memiş D., Tunçelli G., **Tınkır M.** & Gaygusuz Ö. First attent for fisheriesmuseum in turkey and examples of international fisheries museums 5th International University Museums Association Congress-Turkey, Edirne, Türkiye, 3-5 Mayıs 2018, ss.2.