

EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

ÇİPURA (*Sparus aurata* , Linneaus , 1758)
SPERMLERİNİN KISA SÜRELİ KORUNUMU
VE YOĞUNLUK, HACİM, HIZ,
KONSANTRASYON – EBEVEYN İLİŞKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI

Serhat ENGİN

Su Ürünleri Yetiştiricilik Anabilim Dalı
Bilim Dalı Kodu: 504.04.01
Sunuş Tarihi: 10 / 07 / 2007

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Şahin SAKA

Bornova – İZMİR

III

Sayın **Serhat ENGİN** tarafından YÜKSEK LİSANS tezi olarak sunulan **“Çipura (*Sparus aurata* , Linneaus , 1758) Spermlerinin Kısa Süreli Korunumu ve Yoğunluk, Hacim, Hız, Konsantrasyon – Ebeveyn İlişkilerinin Araştırılması”** başlıklı bu çalışma E.Ü. Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği ile E.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Eğitim ve Öğretim Yönergesi’nin ilgili hükümleri uyarınca tarafımızdan değerlendirilerek savunmaya değer bulunmuş ve 10/07/2007 tarihinde yapılan tez savunma sınavında aday oybirliği/oyçokluğu ile başarılı bulunmuştur.

Jüri Üyeleri:

İmza

Jüri Başkanı :

Raportör Üye :

Üye :

ÖZET

**ÇİPURA (*Sparus aurata* , Linneaus , 1758) SPERMLERİNİN KISA
SÜRELİ KORUNUMU VE YOĞUNLUK, HACİM, HIZ,
KONSANTRASYON – EBEVEYN İLİŞKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

ENGİN, Serhat

Yüksek Lisans Tezi, Su Ürünleri Yetiştiricilik Anabilim Dalı

Tez Yöneticisi: Doç. Dr. Şahin SAKA

Temmuz 2007, 83 Sayfa

Ekim 2006'da İzmir ili Balıklıova beldesinde bulunan bir üretim çiftliğinden temin edilen çipuralardan alınan sperm örnekleri 0 °C'de buz içinde muhafaza edildikten sonra her altı saatte bir faz kontras tip mikroskopta incelenmiştir. Çalışmada sperm muhafaza süreleri, hız, konsantrasyon, meristik karakterler ve sperm hacmi ile ilgili datalar elde edilmiş ve bu sonuçlar ebeveyn ile ilişkilendirilmiştir. Denemelerde kullanılan balıkların ağırlıklarının değişim aralığı 405-625 g, boylarının değişim aralığı ise 25-37 cm olarak tespit edilmiştir. Sperm hacmi 3.1-8.3 ml.kg⁻¹ arasında bulunmuştur. En yoğun konsantrasyon 5.35x10⁹ spz.ml⁻¹ ile 2 numaralı denekte, en düşük sperm konsantrasyonu 0.16x10⁹ spz.ml⁻¹ ile 24 numaralı denekte tespit edilmiştir. Çalışma süresince tüm denek ve zamanlarda baş boyuna endeksli en yüksek hız 35.5 baş boy.sn⁻¹ (210.16 µm.sn⁻¹), en düşük hız 2.6 baş boy.sn⁻¹ (15.39 µm.sn⁻¹) olarak saptanmıştır. Çalışma toplam 126 saat sürmüştür. En kısa muhafaza süresi 26-50 saat arasında, en uzun muhafaza süresi 126-150 saat arasında tespit edilmiştir.

Anahtar Sözcükler: Çipura (*Sparus aurata*), sperm, hacim, konsantrasyon, hız

ABSTRACT

**PRESERVATION OF GILTHEAD SEABREAM SPERMATAZOA
(*Sparus aurata* Linneaus , 1758) IN SHORT TERM AND EXAMINING
THE RELATIONS OF DENSITY, VOLUME, VELOCITY,
CONCENTRATION – PARENT**

ENGİN, Serhat

Master Thesis, In Faculty of Fisheries, Aquaculture Department

Supervisor: Assoc. Prof.Dr. Şahin SAKA

July 2007, 83 Pages

After the spermatazoa samples of gilthead seabreams are preserved in ice of 0°C, which are obtained from in İzmir Balıkliova in October 2006, they are observed with a phase contrast microscope in each six hours period. In the study, the data about the speed, concentration, volume and preservation durations of the preserved spermatazoa are obtained and the results are related with the parent. The fish used in the experiments vary 405-625 gramms of weight and 25-37 centimeters of length. The spermatazoa volume is detected as 3.1-8.3 ml.kg⁻¹. the maximum concentration value is observed as 5.35x10⁹ spz.ml⁻¹. in tube 2 and the minimum concentration value is observed as 0.16x10⁹ spz.ml⁻¹ in tube 24. During study, all experiment and on times indexed to headlength of highest speed values are determined as 35.5 headlength.sn⁻¹ (210.16 µm.sn⁻¹), lowest speed values are determined as 2.6 headlength.sn⁻¹ (15.39 µm.sn⁻¹). The study has taken 126 hours to accomplish and the shortest preservation time is detected as an interval of 26 – 50 hours, where the longest preservation time is detected as an interval of 126 – 150 hours.

Keywords: Gilthead seabreams (*Sparus aurata*), spermatazoa, volume, concentration, velocity.

IX

TEŞEKKÜR

Beni bu günlere getiren ve maddi manevi desteklerini esirgemeyen sevgili anne ve babama, sadece tez aşamasında değil, lisans öğrenimim sırasında gerek ders içi gerekse ders dışında ilgi ve alakalarını benden esirgemeyen ve her konuda yardımlarını aldığım başta danışmanım ve sevgili hocam Doç. Dr. Şahin SAKA ve sevgili hocam Prof. Dr. M. Kürşat FIRAT'a sonsuz teşekkürü bir borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	V
ABSTRACT.....	VII
TEŞEKKÜR.....	IX
ŞEKİLLER DİZİNİ	XIII
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	XV
 1. GİRİŞ	 1
 2. LİTERATÜR BİLDİRİŞLERİ	 15
2.1. Çipura (<i>Sparus aurata</i>) Balığının Biyolojik Özellikleri	15
2.2. Çipuraların Gonad Gelişimi	17
2.3. Erkek Üreme Sistemi, Sperm ve Spermilerin Korunumu	20
 3. MATERYAL ve METOD	 43
3.1. Sperm Hız Ölçümü	45
3.2. Sperm Hacminin Hesaplanması	46
3.3. Sperm Konsantrasyonunun Hesaplanması.....	47
3.4. Spermilerin Muhafaza Süreleri	48
3.5. Spermilerin Baş Boyu	50
3.6. Verilerin Değerlendirilmesi	50

İÇİNDEKİLER (devamı)

	<u>Sayfa</u>
4. BULGULAR.....	51
4.1. Meristik Karakterler	51
4.2. Hacim	52
4.3. Konsantrasyon	54
4.4. Hız	57
4.5. Muhafaza Süresi	61
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	65
KAYNAKLAR DİZİNİ.....	71
ÖZGEÇMİŞ	83

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
Şekil 1.1	Dünyadaki Avcılık ve Yetiştiricilik Orijinli Su Ürünleri Üretim Projeksiyonu7
Şekil 1.2	Yetiştiricilik Üretiminin Türlerle Göre Dağılımı10
Şekil 2.1	Çipura Genel Görünümü15
Şekil 2.2	Çipura (<i>Sparus aurata</i>) Balıklarının Gonad Gelişimleri.18
Şekil 2.3	Sperm Oluşumu Spermatogenez22
Şekil 3.1	İşletmedeki Ağ Kafesler43
Şekil 3.2	Sperm Örneklemesi İçin Kullanılan Çipura Balığı44
Şekil 3.3	Spermilerin Buz İçinde Muhafazası45
Şekil 3.4	Çalışmada Kullanılan Faz-Kontras Mikroskop47
Şekil 3.5	Thoma Sayma Kamarası48
Şekil 3.6	Çipura Spermlerinin Mikroskop Altında Görünümü49
Şekil 4.1	Çipura Anaçlarının Boy Ve Ağırlık Dağılımları51
Şekil 4.2	Sperm Hacmi53
Şekil 4.3	Sperm Hacmi-Balık Ağırlığı İlişkisi.53
Şekil 4.4	Sperm Hacmi-Balık Boyu İlişkisi.54
Şekil 4.5	Thoma Sayma Kamarasında Spermilerin Sayımı.....54
Şekil 4.6	Sperm Konsantrasyonu.....55
Şekil 4.7	Sperm Konsantrasyonu – Ağırlık İlişkisi.56
Şekil 4.8	Sperm Konsantrasyonu – Boy İlişkisi.56
Şekil 4.9	Sperm Konsantrasyonu – Hacim İlişkisi.56

ŞEKİLLER DİZİNİ (devamı)

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
Şekil 4.10 Çipura Spermlerinin Hız Dağılımı ($\mu\text{m.sn}^{-1}$).....	57
Şekil 4.11 Çipura Spermlerinin Hız Dağılımı (başboy.sn ⁻¹).....	58
Şekil 4.12 Ortalama hız ($\mu\text{m.sn}^{-1}$) – Ağırlık İlişkisi.	59
Şekil 4.13 Ortalama hız ($\mu\text{m.sn}^{-1}$) – Boy İlişkisi	59
Şekil 4.14 Ortalama Hız ($\mu\text{m.sn}^{-1}$) – Hacim İlişkisi.	60
Şekil 4.15 Ortalama Hız ($\mu\text{m.sn}^{-1}$) – Konsantrasyon İlişkisi	60
Şekil 4.16 Muhafaza Süresi	61
Şekil 4.17 Muhafaza Süresi – Ağırlık İlişkisi	62
Şekil 4.18 Muhafaza Süresi – Boy İlişkisi	62
Şekil 4.19 Muhafaza Süresi – Sperm Hacmi İlişkisi	63
Şekil 4.20 Muhafaza Süresi – Sperm Hızı İlişkisi	63
Şekil 4.21 Muhafaza Süresi – Sperm Konsantrasyonu İlişkisi	64

ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
Çizelge 1.1 Bazı Deniz Balığı Türlerinin Üretim Miktarları ve Üretimi Gerçekleştiren Ülkeler.....	6
Çizelge 1.2 Dünyada Avcılık ve Yetiştiricilik ile Elde Edilen Su Ürünleri Miktarlarının Yıllara Göre Dağılımı	8
Çizelge 1.3 1986-2004 Yılları Arasında Türkiye'deki Deniz ve İç Su Balıkları Üretiminin Toplam Balık Üretimine Olan Oranları	9
Çizelge 1.4 Türkiye’ deki Onaylı İşletme Sayıları, Kapasiteleri ve 2002 Yılına Ait Üretimleri.....	11
Çizelge 2.1 Hareketlilik Parametreleri.....	27
Çizelge 4.1 Deneklerin Ağırlık ve Boy Değerleri.....	52

1. GİRİŞ

Günümüzde doğal kaynakların giderek yok olması, bununla beraber erozyon sonucu işlenebilir toprak alanlarının gün geçtikçe azalması insanoğlunu farklı besin kaynaklarını bulmaya zorlamıştır. Eski çağlardan beri insanoğlu su ve dolayısıyla içinde yaşayan canlılar ile sürekli bir iletişim içerisinde olmuştur. Başta avcılık yoluyla yararlanılan bu durum geçen yüzyılın ikinci yarısından sonra yapay yollarla su ürünleri üretimi ile yoğun olarak artmış ve özellikle bu yüzyılın sonlarına doğru teknolojinin ilerlemesiyle birlikte farklı yetiştiricilik metotlarının doğmasına olanak sağlamıştır.

Denizlerde ve iç sularda, su ürünleri türlerinin yetiştiriciliğine ait ilk bulgular M.Ö 2000’li yıllarda Çin’de ortaya çıkmıştır. Balık çiftlikleri üzerine elde edilen ilk bilimsel bulgular ise Çin’de M.Ö 475 yılında bu bölgede balık çiftliği olduğuna dairdir (Milne, 1972).

Yetiştiricilik konusunda ilk olarak sazan balıklarının (*Cyprinus* sp.) ve alabalıkların (*Salmo trutta* sp.) ele alındığı bilinmektedir. Bunun yanında midye (*Mytilus* sp.) ve istiridye (*Oysteria* sp.) yataklarının korunması ve insan denetimine alınması, yetiştiriciliğin ilk zamanlarında ele alınan canlılar olarak görülür. Bununla birlikte doğal kaynakların korunması, doğal stokların zenginleştirilmesi ve var olan canlıların avcılık ve diğer nedenlerle yok olmaması amacıyla birtakım uğraşlar içersine girildiği görülmüştür. Örneğin yumurtlamak için denizlerden nehirlere gelen som balıklarının (*Oncorhynchus* sp.) nesillerinin devamı için yakalanan som balıklarından yumurtlarının sağlanması ve daha sonra suni

tohumlama yapılması 1900'lü yıllarda ele alınan konulardır ve bu uygulamalar günümüze değin devam etmektedir.

Deniz balıkları yetiştiriciliğinin ilk uygulamaları Endonezya da 1400 yıllarında başlamıştır. Bu dönemde süt balığı (*Chanos chanos*) yavruları sahil kıyılarındaki havuzlarda stoklanmıştır. Java' da bu balığın deniz ile bağlantısı olan azmaklarda ortama yem girilmeden yetiştirilmesi uzun yıllar devam etmiştir. Su ortamında oluşan yoğun alg kümelerini tüketen bireyler gelişimlerini devam ettirmişlerdir. Daha sonra havuzların gübrelenmesi ortamdaki yem yoğunluğunu arttırmış ve yeni bir dönem başlamıştır. Sonraki yıllarda dışarıdan besleme uğraşları sonucu günümüzdeki modern balık yetiştiriciliğine geçilmiştir. Bu gün dahi yıllar önce uygulanan yöntemler geçerliliğini korumaktadır. 15. yüzyılda Adriatik kıyılarında geniş ölçekli ekstansif yetiştiricilik (vallikültür) çalışmalarına rastlanmaktadır. Dinsel olarak Cuma günleri et yemenin yasaklanması ile Avrupa kültüründe balık yetiştiricilik aktivitelerini geliştirmiştir. 19. yüzyıl da kabuklu kültürü bir kez daha güncel hale gelerek batı Akdeniz ve Adriatik' te yayılım göstermiştir. Deniz balıkları yetiştiriciliğindeki gelişmeler 1960' lı yıllarda Japonya'da sarı kuyruk balığının (*Seriola* sp) yetiştiriciliğe alınması ile başlamıştır. Daha sonraki dönemde mercan (*Pagrus major*) ve orkinos (*Thunnus thynnus*) yetiştiriciliği yoğun biçimde ele alınmıştır. Balık ve istirdyede modern yetiştiricilik günümüzden 30 yıl kadar önce başlamıştır. Bir çok Akdeniz ülkesi bu gelişimde yerini almıştır. Günümüze gelindiğinde Kuzey Avrupa salmon konusunda ilerlemeler göstermiş, 1980 li yıllarda ise Akdeniz Ülkelerinde çipura (*Sparus aurata*) ve levrek (*Dicentrarchus labrax*) yetiştiriciliği ile ilgili çalışmalar başlamıştır.

1980 li yıllardan sonra deniz balıkları üretimiyle ilgili çalışmalar ilerlemiş ve 1984 yılında kurulan ilk deniz balıkları kuluçkahanesinden sonra larva üretim tesislerine olan ihtiyaç giderek artmış ve larva üretim tesisleri sayısı 2000 yılında 21 adete kadar yükselmiştir. Fakat girdilerin yükselmesi, ekonomik krizler ve teknik yetersizliklerden dolayı bu rakam 2004 yılında 9 adete kadar gerilemiştir. Bununla birlikte tesis sayısındaki azalma üretilen yavru miktarında azalmaya neden olmamıştır. Sadece teknolojik olarak kendini yenileyemeyen küçük firmalar ortadan kalkmış, sistemde mevcut olan firmalar üretim kapasitelerini, teknolojilerini ve pazarlama sistemlerini düzenleyerek geliştirmişlerdir. Larva üretimi özellikle 2000’li yıllardan sonra hızla artış göstermiş, 2000 yılında 29 milyon iken 2002 ve 2003 yıllarında 70 milyondan fazla yavru üretilmiştir (TÜGEM, 2003). 2004 yılından itibaren yavru üretim miktarının 100 milyon adedi aştığı, 2007 yılında yavru balık üretiminin 150-200 milyon arasında olduğu tahmin edilmektedir.

Akdeniz Ülkelerinde yetiştiricilik sektörüne yeni türler kazandırılmasına yönelik çabalar, 1990’lı yıllardan itibaren özellikle Avrupa Birliği tarafından finanse edilen araştırma projelerinin uygulamaya konulmasıyla birlikte başlamıştır. Akdeniz Ülkelerinde tür çeşitliliği konusunda yapılan araştırma çalışmalarında yaklaşık 20 adet balık türü ele alınmıştır (Abellan ve Basurco 1999). Bu balık türleri, genel olarak hızlı büyüyen buna karşın nispeten düşük fiyatlı balıklar (sarı kuyruk (*Seriola dumerili*), lambuka (*Coryphaena hippurus*) vd.) ve yavaş büyüyen yüksek fiyatlı balıklar (Fangri, dil, sinagrit vd.) şeklinde gruplandırılabilir (Kentouri ve diğ.,1995). Ülkemizde de özellikle son 4-5 yılda çipura ve levrek balıklarına alternatif olarak kalkan (*Psetta maetica*), lahos (*Ephinephelus* sp), sinagrit (*Dentex dentex*), sivriburun

karagöz (*Diplodus puntazzo*), sargos (*Diplodus sargus*), fangri (*Pagrus pagrus*), minekop (*Umbrina cirrosa*), dil (*Solea vulgaris*) ve ışkine (*Sciena umbra*) balıkları üzerinde araştırma çalışmaları ve deneme üretimleri başlamıştır. Avrupa'daki deniz balıkları üretim miktarları Çizelge 1'de verilmiştir. Bu çizelgede çipura ve levrek üretiminin ciddi miktarlara ulaştığı, 2000'li yıllardan itibaren alternatif türlerin yetiştiriciliğinin de önem kazanmaya başladığı görülmektedir.

Dünya nüfusunun kullandığı proteinin %6'sı balık tüketiminden karşılanmaktadır. Toplam hayvansal proteinlerin ise %24'ü su ürünlerinden sağlanmaktadır. Yetiştiricilik yolu ile elde edilen miktarlardaki artışa rağmen avcılık stoklarından elde edilen miktarlarda önümüzdeki yıllarda artış beklenmemektedir.

Çizelge 2.1 Bazı Deniz Balığı Türlerinin Üretim Miktarları ve Üretimi Gerçekleştiren Ülkeler (Basurco, 1999).

Tür	Üretim Miktarı (Ton)	Üretimi Yapan Ülkeler
Çipura	66.997	İspanya, İtalya, Fransa, Türkiye, Yunanistan, Mısır, İsrail, Hırvatistan, Monako, Portekiz, Kıbrıs, Tunus, Cezayir
Levrek	53.256	İspanya, İtalya, Fransa, Türkiye, Yunanistan, Mısır, İsrail, Hırvatistan, Monako, Portekiz, Kıbrıs, Tunus
Kefal	48.168	İtalya, Yunanistan, Mısır, İsrail, Tunus,
Kalkan	4.085	Fransa, İspanya, Portekiz, Kıbrıs
Sivriburun	378	İtalya, Kıbrıs
Sargos	112	Fransa, Yunanistan
Fangri	101	İsrail
İşkine	30	Fransa
Dil	18	İspanya, Portekiz
Minakop	1	Kıbrıs

Yapılan analizler yetiştiricilik üretiminin gittikçe arttığını göstermiştir. Bu artışın sebebi aşağıda özetlenmiştir.

1. Dünyadaki doğal stokların kullanımının maksimum kapasiteye yaklaşmasına bağlı olarak doğal ortamdan avcılık yolu ile su ürünleri temininin talebi karşılayamaması; Dünya nüfusunun artışına paralel olarak hayvansal protein ihtiyacının gün geçtikçe artmasından dolayı su ürünleri avcılığı talebi karşılayamaz hale gelmiştir.

2. Su ürünlerinin artan nüfusun nitelikli besin ihtiyacını karşılayacak bir kaynak olması ve toplumların su ürünlerinin besin değerini anlamış olması; yapılan araştırmalar anne sütünde son derece önemli olan besin maddelerinin balık etinde de mevcut olduğunu göstermiştir. Balık etinde çok bağlı doymamış yağ asitleri miktarı diğer hayvansal besin kaynaklarına göre daha yüksektir.

3. 200 millik Münhasır Ekonomik Bölge ilanları balık avcılığında kısıtlamalara neden olmuş ve açık deniz balıkçılığı giderek daha pahalı ekonomik faaliyete dönüşmüştür; Bu bölgelerde yapılan balıkçılık faaliyetleri için ilgili ülkeler ile antlaşmalar yapmak gerekmektedir buda ek yükümlülükler getirmektedir. Bu sorun ülkemiz için daha ciddi boyutlardadır. Bilindiği üzere halen Yunanistan ile olan kara suları problemi devam etmektedir. Yunanistan'ın gerek Avrupa Birliği gerek Birleşmiş Milletler nezdinde Türkiye karşıtı tutumu kıyı ötesi balıkçılığı ile ilgili problemlerin derinleşmesine neden olabilir.

4. Sucul ortamların kirlenmesi ve ortamdan yoğun balık avcılığı; Balıkçı gemilerinin teknolojik yönden ilerlemesine paralel olarak balık sürülerinin bulunması için kullanılan sonar ve ecosounder gibi cihazlar

sayesinde sucul ortamlardan daha fazla miktarda balık avlanmaktadır. Özellikle az gelişmiş ülkelerde bu av gücü ile popülasyonun durumu bilinmeden ve boy sınırlaması yapılmadan avcılık yapılması doğal stoklara zarar vermiş bazı türler yok olma tehlikesi ile karşı karşıya getirmiştir. Bununla birlikte artan sanayileşmeye bağlı olarak üretilen atıkların rafine edilmeden sucul ortama bırakılması, artan kentleşme ve tarımsal faaliyetler sonucu oluşan kirlilik doğal stokların yenilenmesini güçleştirmektedir.

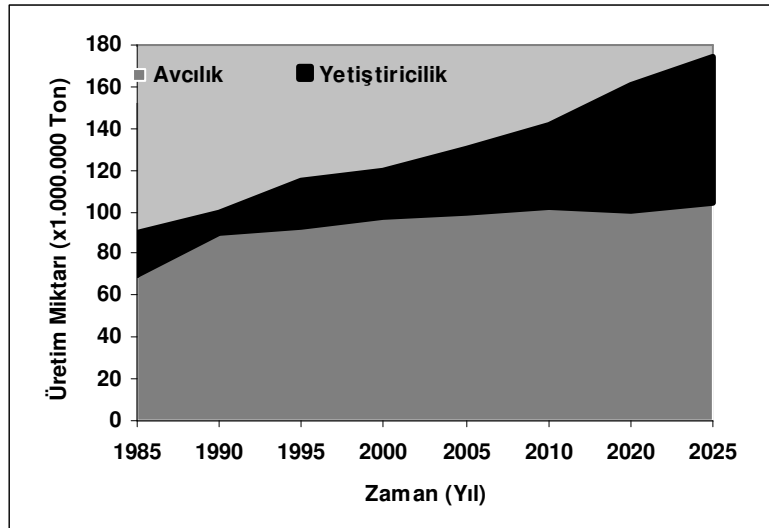
5. Pazar talebinin artması ve doğal üretimin azalması sonucu pazar fiyatlarındaki yükselme; Toplumun tüketim alışkanlıklarının gelişmesi ve ihtiyaca yönelik doğal üretimin talepleri karşılayamaz duruma gelmiş olması yetiştiricilik çalışmalarının önemini gün geçtikçe arttırmaktadır.

6. Balık tüketiminin yıl içine yayılması; Su ürünleri tüketimine alışmış toplumlar sadece av sezonlarında değil tüm yıl boyunca talep artışına sebep olmuşlardır. Avcılık yolu ile yapılan üretim mevsimseldir. Yetiştiricilik yolu ile her mevsim ürün elde etmek mümkündür.

7. Yetiştiricilik tekniklerinin gelişmesi; Biyoloji, mühendislik ve genetik alanındaki gelişmeler yetiştiricilik sonucu elde edilen ürünlerin kalite ve kantititesini artırmış, buna bağlı olarak üretim maliyetlerini azaltmıştır. Buda pazara daha ucuz ürün sunumunu sağlamıştır.

Bu bilgiler ve su ürünleri ile yapılan projeksiyonlar göz önüne alındığında yetiştiricilik çalışmalarının gün geçtikçe daha çok önem kazanacağı görülmektedir (Şekil 1.). Rolende (2004)'nin yaptığı projeksiyonda 2025 yılında yetiştiricilik yoluyla elde edilen ürün

miktarının toplam avcılığın yarısından fazla olacağı tahmin edilmektedir. Yine grafikte avcılık yolu ile elde edilen üretim miktarının artırılmasının mümkün olmadığını buna karşın yetiştiricilik yoluyla elde edilen su ürünleri miktarının yüksek bir ivme ile 2025 yılına kadar artacağını göstermiştir.



Şekil 1.1 Dünyadaki Avcılık ve Yetiştiricilik Orijinli Su Ürünleri Üretim Projeksiyonu (Ralonde, 2004)

Yetiştiricilik Asya, Güney Amerika ve Afrika'nın gelişmekte olan ülkelerinde hızlı gelişim göstermektedir. Dünya üretiminin %75 fazlası gelişmekte olan ülkeler tarafından gerçekleştirilmektedir. Yetiştiricilik yolu ile sağlanan miktarın %90'ı Asya ülkelerinden elde edilmektedir. Çin tek başına 2001 yılında üretimin %43'ünü gerçekleştirmiştir. Bu ülkeyi Hindistan, Endonezya ve Japon' ya izlemektedir. Asya'yı Avrupa, Kuzey Amerika, Güney Amerika, Afrika ve Okyanusya takip etmektedir.

Avcılık yolu ile elde edilen balık üretimi iç sularda 2000 yılında 8.8 milyon ton iken bu oran 2005 yılında 9.6 milyon tona ulaşmıştır. İç su

sularda yapılan su ürünleri yetiştiriciliği 2000 yılında 21.2 milyon ton iken 2005 yılında 28.9 milyon tona ulaşmıştır. 2000 yılında 30 milyon ton olan toplam iç su üretimi, 2005 yılında 38.5 milyon olarak gerçekleşmiştir. Bu beş yıllık süre içinde toplam iç su ürünleri üretiminde yaklaşık %28'lik bir artış gözlenmiştir. Bu artışın temel kaynağı iç su ürünleri yetiştiriciliğinde olan artıştır. Denizlerde ise avcılık ile elde edilen su ürünleri miktarı 2000 yılında 86.8 milyon ton iken 2005 yılında bu oran 84.2 milyon tona gerilemiştir. 2000 yılında deniz balığı yetiştiriciliği 14.3 milyon ton iken bu rakam 2005 yılında 18.9 milyon tona ulaşmıştır. Avcılığın toplam deniz balığı üretimine katkısı azalırken yetiştiricilik yolu ile elde edilen ürün miktarı artmaktadır (Çizelge 2). Bu üretimin yaklaşık 100 milyon tonu insan gıdası olarak tüketilirken yaklaşık 40 milyon tonu başka amaçlarla kullanılmaktadır (FAO, 2006).

Çizelge 1.2 Dünyada Avcılık ve Yetiştiricilik ile Elde Edilen Su Ürünleri Miktarlarının Yıllara Göre Dağılımı (FAO, 2006).

Üretim (x 1.000.000 ton)	2000	2001	2002	2003	2004	2005
<i>İç Su Üretimi</i>						
Avcılık	8,8	8,9	8,8	9,0	9,2	9,6
Yetiştiricilik	21,2	22,5	23,9	25,4	27,2	28,9
Toplam	30,0	31,4	32,7	34,4	36,4	38,5
<i>Deniz Üretimi</i>						
Avcılık	86,8	84,2	84,5	81,5	85,8	84,2
Yetiştiricilik	14,3	15,4	16,5	17,3	18,3	18,9
Toplam	101,1	99,6	101,0	98,8	104,1	103,1
<i>Toplam Üretim</i>						
Avcılık	95,6	93,1	93,3	90,5	95,0	93,8
Yetiştiricilik	35,5	37,9	40,4	42,7	45,5	47,8
Toplam	131,1	131,0	133,7	133,2	140,5	141,6

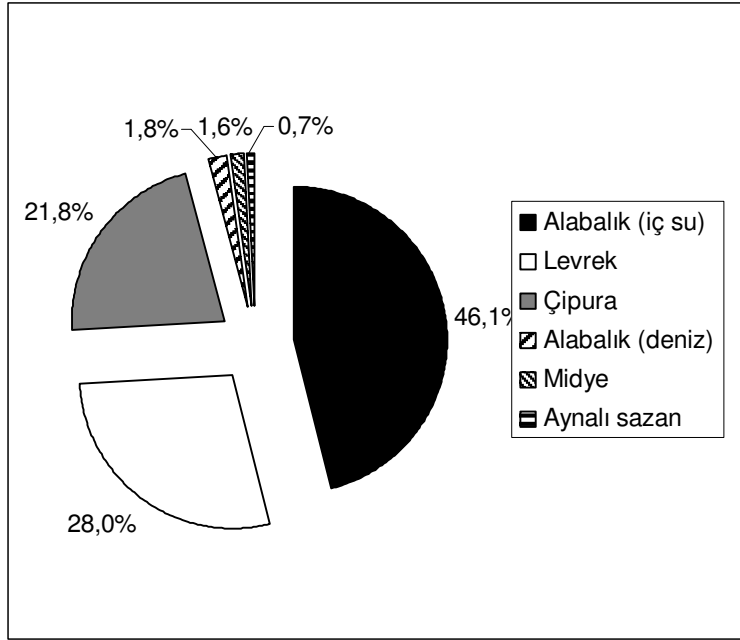
Çizelge 1.3 1986-2004 Yılları Arasında Türkiye'deki Deniz ve İç Su Balıkları Üretiminin Toplam Balık Üretimine Olan Oranları (DİE, 2006).

Yıl	Toplam Su Ürünleri Üretimi (ton/yıl)	Toplam Yetiştiricilik Üretimi (ton/yıl)	Toplam Yetiştiricilik Üretimi İçindeki Payı (%)	
			İç Su	Deniz
1986	582.920	3.075	98,86	1,14
1987	627.913	3.300	97,1	2,9
1988	676.004	4.100	96,7	3,3
1989	457.116	4.354	80,5	19,5
1990	385.114	5.782	73,3	26,7
1991	364.661	7.835	57,6	42,4
1992	454.346	9.210	72,2	27,8
1993	556.044	12.438	59,4	40,6
1994	601.104	15.998	45,4	54,6
1995	649.200	21.607	60,7	39,3
1996	549.646	33.201	54,1	45,9
1997	500.260	45.450	60,1	39,9
1998	543.900	56.700	58,7	41,3
1999	636.824	63.000	60,0	40,1
2000	582.376	79.031	54,9	45,1
2001	594.977	67.244	55,8	44,2
2002	525.637	61.163	65,2	58,0
2003	462.628	79.128	86,9	84,1
2004	517.695	92.497	85,2	93,4

Ülkemizde 1986-2004 yılları arasında ortalama toplam su ürünleri üretimi 511.511 ton/yıl olarak belirtilmiştir (DİE, 2006). Yaklaşık 20 yıllık bu dönemde sadece 4 yıl su ürünleri üretimi 500 bin tonun altına düşmüştür. Yine bu dönemde üretimin 600 bin tonu aştığı dönemler sınırlıdır. Yetiştiricilik üretimi ise 90'lı yıllardan itibaren düzenli bir ivme ile artmış 2004 yılında 92 bin tona ulaşmıştır (Çizelge 3). 2007 yılında yetiştiricilik üretiminin ise 120 bin ton civarında gerçekleşeceği öngörülmektedir.

Kültür balıklarının türlere göre dağılımında en yüksek yetiştiriciliği yapılan balık, iç sulardaki alabalık miktarı olup toplam su ürünleri yetiştiriciliğinin %46.19'nu oluşturmaktadır. Bunu % 27.97 ile levrek, % 21.74 ile çipura takip etmektedir. Midye, alabalık (deniz) ve

aynalı sazan (*Cyprinus carpio*) (iç su) üretimleri gerçekleştirilen diğer türlerdir (Şekil 1.2).



Şekil 1.2 Yetiştiricilik Üretiminin Türlerine Göre Dağılımı (DİE, 2004).

Akdeniz ülkelerinde ve ülkemizde deniz balıkları üretimini ağırlıklı olarak çipura ve levrek balıkları oluşturmaktadır (Çizelge 1.3). Ülkemizde 1.000 adetten fazla ruhsatlı su ürünleri yetiştiriciliği yapan işletme bulunmaktadır (TÜGEM, 2003). Deniz balığı üretimi yapan işletmelerden 50 tanesi 100 ton/yıl üzerinde üretim kapasitesine sahiptir. 1000 ton kapasiteye sahip işletme sayısı ise sadece 2 adettir. 100 ton kapasitesinin üstünde Karadeniz’de 6 adet tesis bulunmakta olup, bunlardan bir tanesi denizde üretim yapmaktadır. Diğerleri ise levrek üretim tesisidir. Orta ve Kuzey Ege’de 12 adet, Güney Ege’de ise 26 adettir. Bunların dışında Akdeniz’de 2, Ege’de 2 adet olmak üzere 4 adet orkinos yetiştiriciliği yapan ağ kafes tesisi mevcuttur (Yıldırım, 2005).

Çizelge 1.4 Türkiye’ deki Onaylı İşletme Sayıları, Kapasiteleri ve 2002 Yılına Ait Üretimleri (TÜGEM, 2003).

Tür/Ortam	Onaylı İşletme Sayısı (adet)	Onaylı Kapasite (ton/yıl)	Üretim (ton)
Alabalık (Havuz&Kafes)	1,215	29,998	33,705
Alabalık (Deniz&Kafes)	11	1,139	846
Sazan (Havuz&Kafes)	86	2,613	590
Çipura&Levrek (Deniz&Kafes)	345	51,211	26,020
Midye (Deniz)	2	320	2
Toplam	1,659	85,281	61,163

Ülkemizde çipura ve levrek balığı üretiminin artışına paralel olarak alternatif türlerin yetiştiriciliğinin de ele alınması kaçınılmazdır. Son yıllarda kalkan, lahos, sinarit, sivriburun karagöz, karagöz, sargos ve fangri balıkları üzerinde araştırma çalışmaları ve deneme üretimleri başlamıştır. Ancak burada ki en büyük sorunlardan biri anaç balık temininde karşılaşılan zorluklardır. Yeni türler için bu sorun daha çok doğadan anaç balık temin etme ile ortadan kaldırılmaya çalışılmaktadır. Fakat bu durum anaç balıkların tank yada kafes ortamına adapte olamamasını ve yeni türlerden yumurta alımının güçleşmesine sebep olmaktadır. Buna paralel olarak yetiştiricilik işletmelerinin anaç odaları için ayırdıkları özel yerler büyük yer kaplamakta aynı zamanda kullanılan tankların bakımı günlük rutin kontrolleri için teknik eleman ihtiyacı doğurmaktadır.

Güçlkle temin edilen anaçlardan alınan gametlerin korunumu özellikle son yıllarda gündeme gelmiştir. Bunun yanında balık spermalarının korunumunun diğer önemli avantajları şu şekilde sıralanabilir;

1. Erkek ve dişi gametlerinin senkronizasyonunun sağlanması; dişi ve erkek damızlıklar arasında üreme döneminde görülen senkronizasyon bozukluğu nedeni ile bazen dişi bireylerden yumurta alındığı halde erkek bireylerden sperm alınamamakta veya erkek bireylerden sperm alındığı halde dişi bireylerden yumurta alınamamaktadır. Dişilerden yumurta sağımı yapıldığında erkek bireylerden sperm alınamadığı takdirde yumurtalar kullanılamamaktadır. Bunun tersi durumda ise yani erkek bireylerden süt alımı yapıldığında dişi bireylerden yumurta alımı gerçekleşmediği takdir ise sperm kaybı söz konusu olmaktadır. Spermilerin soğuk muhafazaya alınması sonucunda gametler arası senkronizasyon sağlanmaktadır.

2 Yeterli miktardaki spermın istenilen zamanda kullanılması; önceden sağımı yapılan ve muhafaza edilen spermier, gerek duyulduğu takdir de istenilen zaman da ve istenilen miktar da kolaylıkla çözdürölerek kullanılabilmektedirler.

3. Anaç yönetiminin kolaylaştırılması; birçok balık türü fotoperiyot veya sıcaklık döngüsü manipulasyonları sonucunda yumurtlatılmaktadır. Ancak bu tekniğin maliyeti oldukça yüksektir. Spermilerin soğuk muhafaza edilmesi sonucunda maliyeti oldukça yüksek olan mevsim dışı yumurtlatma işlemleri sadece dişi anaçlarla sınırlı kalacaktır.

4. Gametlerin transferi; yetiştiricilik ortamındaki stoğun çeşitlendirilmesi ve oluşabilecek akrabalığın önlenmesi açısından farklı bölgelerdeki anaçlardan gamet toplanması daha faydalıdır. Spermanın muhafazası sayesinde gamet transferi daha rahat gerçekleştirilebilmektedir. Üstün verime sahip hatlara ait spermilerin

başka işletmelere nakledilmesi veya yabani formlara ait genlerin kuluçkahane stoklarına aktarımında muhafaza teknikleri kullanılmaktadır.

5. Spermlerin yaşlanmasının önlenmesi; damızlık balıklarda testislerde gelişen sperma ilerleyen zaman içerisinde kullanılmadığı takdirde yaşlanarak kalitesi düşmektedir. Muhafaza sayesinde spermanın yaşlanmasını önlemek ve kalitesini üst düzeyde tutmak mümkündür.

6. Bilimsel çalışmalarda yıl boyu ihtiyaç duyulan spermin karşılanması; genetik çalışmalarda, beslenme performanslarının karşılaştırılmasında sperm örneklerinden faydalanılır. Spermilere yapılan analizler beslenme özelliklerini ortaya koymaktadır. Ayrıca üreme biyolojisi ve üreme biyolojisinin çevreye etkisi gibi çalışmalarda ihtiyaç duyulan sperm kolaylıkla çözdürülerek kullanılabilir.

7. Evcilleştirilmiş popülasyonlardaki genetik çeşitliliğin korunması; evcilleştirilmiş stoklardaki soğuk muhafaza edilmiş sperm genetik yönden selekte edilebilir. Balık populasyonlarının genetik çeşitliliği soğuk muhafazalanmış sperm gen bankasında korunması ile sağlanır. Dondurulmuş sperm kullanılarak gelecek nesillerde daha iyi gelişme ve büyüme sağlayan bireyler elde edilebilmektedir.

8. Nesli tükenmekte olan türlerin güvenlik altına alınması; erkek bireylerin nadir bulunduğu durumlarda, özellikle lahoslar gibi ticari türlerin protogenik hermafrodit olduğu durumlarda yada kalkan gibi sperm üretim miktarının ve teminin az olduğu türlerde sperm sonradan kullanımlar için muhafaza edilerek stoklanabilir.

9. Salgın hastalıkların engellenmesinde; anaçlardan alınan spermeler çok düşük sıcaklıklarda dondurulduğunda hastalığın yeni bireylere taşınması engellenebilir. Bu şekilde hastalıkların taşınmasının engellenmesinde kullanılabilir.

Tarihsel gelişim içerisinde balık spermlerinin soğuk muhafazası memeli spermlerinin soğuk muhafazası yanında çok geride kalmıştır. Su ürünleri yetiştiriciliğinin gelişimiyle birlikte balık spermalarının soğuk korumasının önemi ortaya çıkmıştır. Yetiştiriciliğin genel prensibi türlerden maksimum verimlilik almaktadır. Ancak bu sadece iyi gametlerin elde edilmesiyle gerçekleşmez. Gamet kontrolü açısından soğuk muhafaza tekniklerinin geliştirilmesi nicel ve nitelik olarak verimlilikte bir artış sağlar. Bu avantajların yanında iyi hatlara sahip bireylere her an üretime alınabilmesi ve akrabalı yetiştirme sonucunda genetik yönden çıkabilecek olumsuz durumlar ortadan kalkacaktır. Ülkemiz su ürünleri üretimi açısından Dünyanın önde gelen ülkeleri arasına girmiştir. Ancak balık spermalarının korunması ülkemiz açısından çok yeni bir konudur. Bu konu üzerinde yapacağımız araştırmalar ve çalışmalar ile ileride su ürünleri yetiştiriciliğinde yükselen üretim ivmemizi daha yukarılara taşıyacağımıza olan inancımız yüksektir.

Bu amaç doğrultusunda yapılan çalışmada, yoğun olarak yetiştiriciliği yapılan çipura spermeleri 0 °C de muhafaza edilmiş ve sperm morfolojisi, sperm hızı, yaşama süresi, sperm konsantrasyonu saptanmıştır. Ayrıca bu özelliklerin ebeveyn ilişkisi de araştırılmıştır.

2. LİTERATÜR BİLDİRİŞLERİ

2.1. Çipura (*Sparus aurata*) Balığının Biyolojik Özellikleri

Çipuranın sistematigi aşağıdaki gibidir;

Regnum	: Animale
Subregnum	: Metazoa
Phylum	: Chordata
Subphylum	: Vertebrata
Superclassis	: Osteichthyes
Classis	: Teleostei
Ordo	: Perciformes
Familya	: Sparidae
Genus	: Sparus
Species	: <i>Sparus aurata</i> L. 1758



Şekil 2.1 Çipura Genel Görünümü (Orijinal)

Tüm Akdeniz'den İngiltere'nin kuzey sahillerine ve Kanarya Adaları'na kadar yayılım gösteren çipura, özellikle kumlu, çamurlu sığ biyotoplarda, sıcaklığa ve tuzluluğa karşı gösterdiği tolerans ile nehir ağzları ve lagüner sahalarda bulunan demersal bölge balığıdır.

Çipuraların doğal üreme periyodu ülkemizde Ekim-Aralık ayları arasında olup, genç bireylerin en iyi gelişim gösterdiği sıcaklık 22-25°C, pH değeri ise 7.5-8.5 arasında değişmektedir. Eurytherm özellik gösterir ve 6-32 °C sıcaklık aralığında yaşayabilir. Ancak limitlere yaklaşıldıkça adapte olma özelliğini kaybeder. Euryhalin türler arasında olan çipuralar ‰5-40 arasındaki tuzluluk düzeylerinde uzun süreli yaşayabilir (Ramos, 1978).

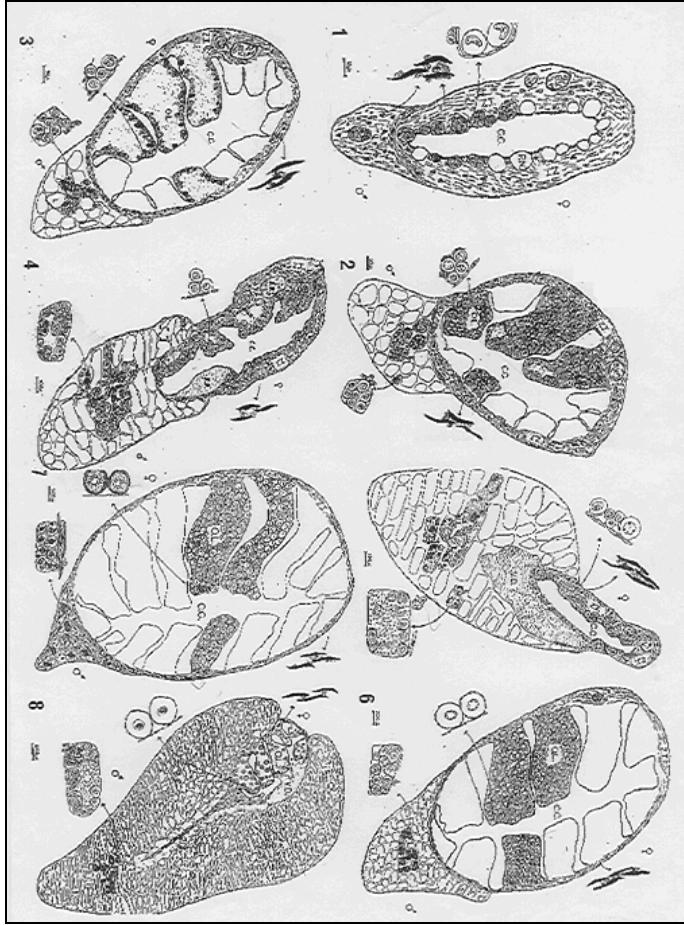
Çipuralar sırt yüksekliği fazla olup lateralden yassılaşmış, simetrik bir yapıya sahiptir. Baş iri, burun küt ve ağız terminal konumlu olup düzdür. Alt çenede dişler önde 4 adet kanin, arkada 4 sıra molar, üst çenede 4 adet kanin, arkada ise 3 sıra molar şeklindedir. Üst dudak alt dudağa oranla daha kalın olup gözün başladığı noktanın paralelinde biter. Gözler orta derecede gelişmiştir. Göz çukuru önündeki mesafe, göz çapından en az iki kat daha uzundur. Operkulum ve preoperkulum pullarla kaplıdır. Yanal çizgi hafif eğimli olarak operkulumdan kaudal yüzgece kadar kesintisiz olarak devam eder. Yanal çizgi üzerinde 73-85 adet pul bulunur. Dorsal yüzgeç anal yüzgeçten daha uzundur. Pektoral yüzgeç anüse kadar uzanır. Kaudal yüzgeç homoserk yapıdadır. Bu tür için yüzgeç formülü DXI/13-14, AIII/11-12, PI/5, AV/5 şeklindedir. Renk dorsalde gri-esmer, ventralde gümüşidir. Pektoral yüzgecin dorsalinde ve operkulum üzerinde kırmızı-menekşe renkli bir leke karakteristiktir. Maksimum boyları 70 cm'ye ulaşan çipuraların ortalama uzunlukları 25-

40 cm arasındadır. 0-3 yaş arası çipuralarda yapılan bir çalışmada, bu türün karnivor bir form olduğu ve özellikle ergin bireylerin kabuklu ve kafadan bacaklılar ile beslendiği bildirilmiştir (Alpbaz, 1990).

2.2. Çipuraların Gonad Gelişimi

21 ± 3 °C'de 4 aylık çipuraların gonadlarında sitolojik ve topografik olarak hiçbir farklılaşma olmadığı bildirilmiştir (Zohar, 1984). 5. ayda topografik farklılaşma başlar. Bu dönemin başlangıcında konjektif (bağ doku-ZT) gonadın dorsalinde ve ventralinde gelişimi başlatır. Ortada merkezi bir boşluk (CC) vardır. Bu kısmın dorsalinde ovaryum ventralinde testiküllerin oluşumu başlayacaktır. Ancak bu farklılaşma mikroskopla bile ayırt edilemez. Bu iki kısım germinal hücre yuvaları ile birleşir.

8 ayda gonadın dorsal kısmında genç bir ovaryum yapısı gözlenmektedir. Çok sayıda ovogonium birleşmesi ile oluşan ovijel lameller (OL) görülür. Ancak bu ayda oositler deformasyona uğrar ve gonad merkezinin kenarında ovijel lameller şeklinde bir yatakta kalır. Gonadın ventralinde 5 aylık balığa göre daha fazla spermatogonium mevcuttur .



Şekil 2.2 Çipura (*Sparus aurata*) Balıklarının Gonad Gelişimleri (Zohar, 1984).

9. ayda dorsal tarafta ovijel lameller boş gibi görünürler ve ovogoniumların dejenerasyonu tamamlanmıştır. Ovogoniumlar bir yatak içinde hap solmuştur. 10-11. aylarda, gonadın ventral kısmında spermatogenez aktivitesi gelişerek sürmektedir. Testiküller tüplerdeki spermatozoitler spermatogoniumlardan yola çıkarak germinal hücrelerin bulunduğu bölüme yerleşir. Testiküller kısım gonadın dorsal kısmını çevirmeye başlar ve büyür. Spermatozoit kanalı (VD) uzayan merkezde olup spermatozoitlerin toplandığı kısımdır ve ovaryum ile testiküllerin arasındadır. 1-2 dişi germinal hücre yatağı merkezin kenarında sıkışıp

kalır. Bunlar ovogoniumlardır ve oocytleri mayoz bölünmesi ile primer vitellogenesisin oluşmasını sağlayacaklardır. 12. ay üremenin ilk sezonudur. Populasyonun tüm bireyleri erkek özelliği gösterir. Gonadın ventral kısmında olgun bir testikül vardır. Ancak düşük bir RGS değerine sahiptir. Spermatozoitlerin doldurduğu tüplerde spermiasyon (Spermilerin su alması) olayı meydana gelir. Gonadın dışı kısmında ise hiçbir değişme gözlenmez ve iyice küçülmüş olduğu gözlenir.

13-16. aylar arasında cinsiyet dönüşümü başlar. Gonadın spermatozoit kısmında dinlenme fazı başlar. Testiküler tüplerde yalnızca spermatogoniumlar vardır. Ovaryum kısmında ise ovogoniumlar hızlı bir şekilde çoğalmaya başlar. Primer oocyt'ler hızlı bir şekilde previtellogenesis dönemine girer. 16. ayda ovaryum gonadın % 80'lik bölümünü kaplar.

17. ayda populasyonda %80 oranında dönüşüm gerçekleşir. Dorsal kısımda oocyt hücreleri previtellogenesisini tamamlar ve vitellogenesisine geçer. Aynı zamanda ventraldaki spermatogoniumlarda dejenerasyon başlar. 23-24. aylarda üremenin ikinci periyodunda dişiler olgun bir gonada sahiptir. Ventral kısımda ise dejenere olmuş bir testikül yer alır. Populasyonun geriye kalan %20'lik kısmında cinsiyet dönüşümü durur. Gonadın dorsal kısmındaki oocyt'ler atresiye uğrar ve dorsaldaki gelişim ventraldeki gelişimin içine hapsolür (Şekil 2.2.).

Doğal koşullarda iki yaşında erkek özelliği gösteren çipura anaçları üç yaşında intersex özelliği taşırlar. Bu bireylere hormon müdahalesi yapılırsa erkek olarak görev yaparlar. Yapılmamışsa 4

yaşında dişi özelliği gösterirler. Bu cinsiyet dönüşümleri bulundukları popülasyonun dişi erkek oranına göre gecikmeler gösterebilir.

2.3. Erkek Üreme Sistemi, Sperm ve Spermilerin Korunumu

Testis: Testisler küresel veya silindirik şekilli organlardır. Balıklarda büyüklük ve renkleri üreme mevsimi ile ilgili olarak değişiklik gösterir ve olgunlaştıklarında vücut ağırlığının %12'sinden daha fazlasına erişebilirler. Tüm omurgalılarda genellikle çift halde bulunurlar fakat bazı omurgalılarda, iki testis arasında tam veya tam olmayan birleşme de gözlenmiştir. Ovaryuma kıyasla testisin genel yapısı daha komplekstir. En dışta bağ dokusu liflerinden yapılmış kalın sık bir örtü halinde tunica albuginea bulunur. Bu örtünün altında seminifer boruları (seminifer ampulleri), bunların arasını dolduran bağ dokusu elamanları ve testisin bir ucunda ağ şeklinde dağılmış kanalcıklar vardır. Ergin testisin içi seminifer tüpçükleri ile doludur. Komşu tüpçüklerin arasında kalan ara doku, bağ dokusu, hücre ve lifleri, kan damarları, sinir ve lenf dokusu, hormon salgılayan endokrin hücreleri içerir. Seminifer tüpçüklerinin epitel kısmı sperm ana hücreleri (spermatogoniumlar), mayoz bölünme sonunda meydana gelmiş spermatidler ve olgun spermeleri içerir. Epitel içinde ayrıca sertoli hücreleri de bulunmaktadır. Testisler mezokiryumlarla vücut boşluğuna bağlıdırlar.

Sperm üretimi oldukça uzun ve karmaşık bir süreçtir. Germ hücrelerinin çeşitli aşamalardan geçtikten sonra sperm hücresi haline gelmesi "spermatogenez" olarak adlandırılır. Bu süreç içinde germ hücreleri mayoz bölünme sonrası $2n$ kromozomlu diploid halden n kromozomlu haploid hale gelirler ve yine n kromozom içeren haploid

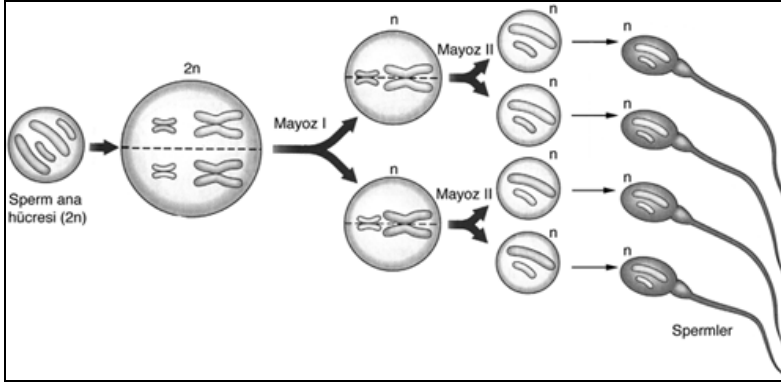
yumurta hücresi ile birleşerek $2n$ kromozomlu yeni bir bireyin oluşmasına olanak sağlarlar. Spermatogenez aşağıdaki aşamalarda incelenebilir:

a) Proliferasyon fazı: Sperm hücrelerinin en olgunlaşmamış şekli olan spermatogonia adı verilen hücreler seminifer epitelinin en alt tabakasında bulunur. Bu hücreler mitoz bölünme ile sürekli çoğalarak birbirinin aynısı hücreler oluştururlar. Mitoz ile çoğalan bu hücreler seminifer epitelin daha üst tabakalarına doğru ilerlerler.

b) Redüksiyon-Bölünme fazı: Çoğaldıktan sonra spermatosit adını alan hücreler DNA içeriklerini yani genetik materyallerini iki katına çıkardıktan sonra 4 ayrı hücreye bölünürler. Mayoz bölünme adı verilen bu süreç uzun bir zaman alır ve bu nedenle seminifer tübüllerin hemen her alanında mayoz bölünmenin değişik evrelerindeki spermatositler görülebilir.

c) Farklılaşma fazı: Bölünerek genetik materyallerini yarıya indiren bu yeni hücreler uzun bir süreç sonunda farklılaşırlar. Buna spermiogenez adı verilir. Spermiogenez süresince üreme hücreleri hem dölleme yeteneklerini kazanırlar hem de spermlerin hareket yeteneğini sağlayan kuyruk gelişir (Şekil 2.3.).

Tüm bu fazlar sırasında sperm öncülü hücreler seminifer epitelinin derinliklerinden yüzeye yani seminifer tübüllerin iç boşluğuna doğru ilerler.



Şekil 2.3 Sperm Oluşumu Spermatogenez (William T. Keeton, James L. Gould, Carol Grant Gould, 2000).

Spermilerin ilk ana hücresi spermatogonialardır. Testislerde seminifer tübüllerin içi bu hücrelerle astarlanmış durumdadır. Henüz özelleşmemiş bu eşeyssel (germinatif) hücreler ergenlik çağına ulaşmadan önce bölünerek yenilerini meydana getirirler. Bunun sonucu olarak da testisler büyür. Bunların arasında da **sertoli hücresi** adı verilen ve daha çabuk çoğalan hücreler vardır.

Spermatogenez sırasında oluşan spermatidler bu sertoli hücrelerine gömülü vaziyette bulunurlar. Ayrıca sertoli hücreleri androjen (erkeklik hormonu) bağlayıcı protein salgırlar. Eşeyssel olgunluğa ulaşıldıktan sonra spermatogonialar **spermatogenez** geçirerek ergin spermeleri meydana getirirler. Spermatogenezde ilk basamak spermatogoniumların hacim olarak büyüyerek **primer spermatositleri** oluşturmalarıdır. Bu hücreler birinci mayoz bölünmeyi geçirerek **sekonder spermatositleri** meydana getirirler. Bunlar da ikinci mayoz bölünme ile **spermatidleri** oluştururlar.

Spermatidler farklılaşmış, (n) kromozomlu ve bol sitoplazmalı küremsi eşey hücreleridir. Ancak henüz daha olgunlaşmamışlardır.

Spermatidler uzun zaman bu durumlarını korurlar. Daha sonra kendilerine özgü sperm olgunlaşması geçirerek kuyruklu **spermatozoaları (spermiler)** meydana getirirler. Bunun için önce hücre çekirdeği küçülerek spermin baş kısmını oluşturur. Sitoplazmanın büyük bir kısmı dışarı atılır. Önde akrozom bölgesi meydana gelir. Çekirdeğin hemen arkasından çıkan aksiyal filamentler geriye uzayarak kuyruğu oluştururlar. Bu olaya da **spermiogenez** denir (William T. Keeton, James L. Gould, Carol Grant Gould, 2000).

Balık spermeleri bilinen sperm yapısına uygun olarak, nükleus içeren bir baş, kısa bir boyun bölgesi ve hareket yeteneği olan bir kuyruktan oluşan ökaryot bir hücredir. Türler göre baş bölgesi ince uzun, elips veya küresel şekilli olabilir. Erkek balıklarda sperm üretiminin etkinliğin başlaması, yumurtadan çıktıktan sonra belli bir vücut gelişimine ulaşması, uygun sıcaklık derecesinin varlığı, ışık ve hormonal mekanizma ile doğrudan ilişkilidir. Genellikle erkekler, dişilerden daha erken cinsel olgunluğa ulaşırlar. Cinsel olgunluğa ulaşan erkek balıklar hemen sperma vermezler. İlk önce spermatozoalar testisin kanal boşluklarında toplanır ve uygun çevre şartları oluşuncaya kadar dinlenme durumunda kalırlar. Daha sonra erkek balık üreme mevsiminde gonadotropin hormonları etkisi ile sperma vermeye hazır hale gelir. Testislerde hareketsiz durumda bulunan spermatozoa in vitro koşullarda su ile temasa geçince hareket kabiliyeti kazanır. Spermatozoanın suda aktif olduğu periyot oldukça kısadır ve su sıcaklığına bağlı olup bu süre 1-6 dakika arasında değişmektedir (Zohar, 1984).

Balık spermelerinin dondurulması, muhafazası ve korunması ile ilgili çalışmalar memeli spermelerine kıyasla daha geç başlamış olup

yapılan bilimsel araştırmalar son yıllarda gelişim göstermektedir. Bu çalışmalar daha çok balık spermlerinin uzun süreli soğuk muhafazası yönündedir. Spermin uzun süreli korunum teknikleri özellikle Cyprinidae, Siluridae (Billard, R., Cosson, J., Crim, L.W., Suquet, M., 1992) ve Salmonidae (Scott&Baynes., 1980) türlerinde çalışılmıştır.

Warnecke ve Pluta (2002), sazan balığı spermlerinin hareketlilik, dölleme kapasiteleri üzerine yapmış oldukları çalışmada, spermilerin dondurulup çözölmelerini sağlamışlardır. Sazan spermeleri -196°C 'ye kadar dondurulmuştur. Spermilerin çözödürölmesi 0.25 ml'lik kapiler tüplerin 3 saniye boyunca 40°C 'deki su banyosuna batırılması suretiyle gerçekleştirilmiştir. En ideal çözödürme sonrası sperm hareketlilik sonuçları 200 mM sukroz, %15 DMA (dimetil asetamid) ve 200mM trehaloz, %20 DMA, ($10^{\circ}\text{C}/\text{dk}$) ile elde edilmiştir. Aktivasyon sonrası (15-20 sn) başlangıç hareketliliği $\%40\pm6$ olarak belirlenmiştir. Bu değer taze spermilerin aktivasyon değerlerinin yarısına karşılık gelmiştir. Sperm hızı canlı spermelerde $70\text{-}90\ \mu\text{m s}^{-1}$, dondurulmuş spermelerde $60\text{-}65\ \mu\text{m s}^{-1}$ maksimum olarak bulunmuştur. Yapılan son denemelerde dölleme ve hareketlilik kapasiteleri incelenmiştir. Toplam yumurta üzerinden yapılan hesaplamada 10 gün dondurulup sonra çözölmüş spermilerin dölleme oranı $\%80\pm2$ ve açılım oranı ise 78 ± 2 olarak bulunmuştur.

Robles ve diğ., (2003) cinsiyet değışikliğine uğramış alabalıkların spermeleri üzerine yapılan soğuk muhafaza çalışmasında taze spermilerin hareketliliğinin ilkbaharda $\%88\text{-}100$ oranında, kışın ise bu oranın $\%69\text{-}94$ arasında olduğunu bildirmişlerdir. Bu spermeler sağım yöntemiyle elde edilmiştir. Gonadın çıkarılması yöntemiyle elde edilen taze spermelerde hareketlilik ilkbaharda $\%99\text{-}100$, kışın $\%69\text{-}77$ değerleri arasında

bulunmuştur. Taze sperm hareketliliğinin kışın ilkbahara oranla bir düşüş gösterdiği saptanmıştır. İlkbaharda spermleri dondurma-çözdürme işleminden sonra spermelerde damla şeklinde hareketlilik görülmüştür. Bu mevsimde dondurulan ve sonra çözdürülen spermelerde hareketliliğin %1-6 gibi çok düşük bir seviyede olduğu, kışın ise %18-29 gibi bir değerle ilkbahardaki denemelere göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Elde edilen verilere göre gonadın çıkarılması yöntemiyle sperm toplama metodunda her iki mevsimdeki sağım metoduna oranla sperm hareketliliğinin daha fazla olduğu görülmüştür. Taze spermlerle yumurtaların dölleme oranı kışın %74-84, ilkbaharda %72-78 olarak tespit edilmiştir. Çalışmada dondurulan-çözdürülen spermelerin dölleme yeteneğinde düşüş saptanmıştır. Kışın dondurulan spermelerin dölleme yeteneğinin ilkbaharda dondurulanlara göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir.

Babiak ve diğ., (2002) gökkuşağı alabalıklarında soğuk muhafazanın popülasyonun genetik alt yapısında, özellikle F_1 ve F_2 melezlemelerinde, üreme performansı üzerinde etkiye sahip olup olmadığını araştırmışlardır. Özellikle gamet hücrelerinin (sperm) dondurulması esnasında kromatinin (DNA) etkilenip etkilenmediğini, etkileniyorsa bu etkinin kalıtsal olup olmadığını saptamak amacıyla spermeler üzerinde çalışma yapmışlardır. Üç gökkuşağı alabalığından alınan yumurtalar ayrı ayrı dondurulup çözdürülmüş spermelerle ve normal spermelerle döllelenmiştir. Bunun sonucunda döllemenin soğuk muhafazadan etkilenmediği bildirilmiştir. Normal spermatozoa ve dondurulmuş spermatozoaların dölleme oranları oldukça yakın bulunmuştur. Hatta dondurulmuş spermelerden nispeten iyi sonuç alınmıştır. Bununla birlikte soğuk korunmuş spermelerin dölleme

kapasitelerinde her hangi bir olumsuzluk gözlenmediği gibi normal hatlara (denenme grubuna) kıyasla da daha iyi bulunduğu bildirilmiştir. Soğuk koruma sonrası gökkuşakđı alabalığı spermelerinde kalıtsal bir bozukluk saptanmamıştır.

Chereguini ve diğ., (1999) kalkan (*Scoptalmus maximus*) balığı spermelerinde 3 farklı suni dölleme metodu (kuru dölleme, yaşı dölleme 1, yaşı dölleme 2) kullanmışlar ve bu spermeleri kısa süreli dondurmuşlardır. Dölleme oranı kuru dölleme için %71.3, yaşı dölleme 1 için %61.9, yaşı dölleme 2 için %78.2'dir. En yüksek dölleme oranı yumurta/deniz suyu (v/v) eşit birimde kullanıldığında, en düşük dölleme oranı ise yumurta hacminin ortam hacminin 2 katı olacak şekilde (2v/v) kullanıldığında görölmüştür. 2 yaşı dölleme grubu arasında önemli farklılıklar tespit edilmiştir. Kuru dölleme ve yaşı dölleme 2 arasında ise önemli farklılıklar bulunamamıştır. Kuru döllemede en yüksek dölleme oranı %87.2 olarak bulunmuştur. Yaşı dölleme 2 de en yüksek dölleme oranı %86.8 olarak tespit edilmiştir.

Chereguini ve diğ., (2003) kalkan balığı spermi üzerine yaptıkları çalışmada sperm yoğunluğunu 4.4×10^9 mL olarak tespit etmişlerdir. Araştırmada taze ve soğuk korunmuş spermelerin dölleme yeteneği ve yumurtadan çıkış oranları karşılaştırılmış, önemli bir fark bulunmamıştır.

Lahnsteiner ve Patzner, (1998) 4 farklı deniz balığı olan istavrit (*Trachurus mediterraneus*), barbun (*Mullus barbatus*), sargos (*Diplodus sargus*) ve kopez (*Boops boops*) türlerinin spermelerini uzun süreli korumuşlardır. Dondurup çözödürölen spermelerin hareketlilik oranları, yüzme biçimi, yüzme hızı, baş hareketi ve kuyruk vuruşı sıklığı tespit

edilmiştir. Sperm hareketlilik oranı kendi içinde hareketsiz, lokal hareketli ve hareketli olmak üzere üçe ayrılmıştır. Elde edilen verilere göre kopezde en yüksek hareketsizlik oranı, sargosda en yüksek lokal hareketlilik oranı, istavritte ise en yüksek hareketlilik oranı saptanmıştır. Çalışmada sperm yüzme hızı da kendi içinde dairesel hareketlilik, doğrusal olmayan ve doğrusal hareketlilik olmak üzere üçe ayrılmıştır. Dairesel hareketlilik, doğrusal olmayan hareketlilik ve doğrusal hareketlilik sırasıyla istavrit, sargos ve yine istavritte en yüksek değeri almıştır. Sperm yüzme hızı $\mu\text{m}/\text{sn}$ cinsinden hesaplanmış ve toplam dairesel hız, toplam ortalama hız olarak iki aşamada incelenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre en yüksek toplam dairesel hız ve toplam ortalama hız barbunda tespit edilmiştir. En yüksek sperm baş hareketliliği barbunda saptanmış, kuyruk atış sıklığında ise istavrit, barbun ve sargosda önemli farklılık gözlenmemiştir (Çizelge 2.1.).

Çizelge 2.1 Hareketlilik Parametreleri (Lahnsteiner ve Patzner, 1998).

Parametre	<i>T.mediterraneus</i>	<i>M.barbatus</i>	<i>B.boops</i>	<i>D.sargus</i>
*hareketlilikOranı(%)				
1)hareketsiz	13±9.4 ^a	14.7±5.3 ^a	14.9±11.7 ^a	11.4±9.8 ^a
2)local hareketli	3.9±3.4 ^b	2.4±7.2 ^b	8.0±9.9 ^b	8.6±10.7 ^b
3)hareketli	83.1±15.8 ^c	82.9±15.2 ^c	77.1±12.1 ^c	80.0±17.1 ^c
*yüzme biçimi(%)				
1)sirküle hareketlilik	46.7±12.8 ^d	42.3±5.7 ^d	42.3±11.5 ^d	40.9±13.7 ^d
2)doğrusal olm. har.	8.7±6.3 ^e	14.4±4.8 ^e	13.6±2.7 ^e	19.2±8.4 ^e
3)doğrusal har.	44.6±10.5 ^f	43.3±5.3 ^f	44.1±7.1 ^f	39.8±12.0 ^f
*yüzme hızı($\mu\text{m s}^{-1}$)				
1)total survilineer hız	119.4±22.4 ^g	161.4±25.5 ^h	125.5±13.6 ^g	127.2±22.6 ^g
2)total ortalama hız	69.5±13.8 ⁱ	92.2±9.2 ^j	70.2±2.7 ⁱ	76.6±19.3 ⁱ
*baş hareketi	48.9±7.1 ^k	69.9±7.0 ^l	50.3±10.6 ^k	43.6±9.2 ^k
*atış sıklığı	0.8±0.6 ^k	0.8±0.3 ^k	0.7±0.4 ^k	0.8±0.7 ^k

Canyurt ve diğ., (2003) gökkuşağı alabalıkları üzerinde yapmış oldukları çalışmada gökkuşağı alabalıklarından sağım yoluyla alınan süt, suni seminal plazma (SSP; 1.6 mM CaCl_2 , 120 mM NaCl, 30 mM KCl, 1

mM MgCl₂, 10 mM NaHCO₃, pH 8) ile 1:1 ve 1:2 oranında spermleri seyreltmışler ve açılıp kapatılabilen nemli kaplar içerisinde, buzdolabında +4°C' de 14 gün süre ile muhafaza etmişlerdir. Çalışmanın başlangıcında deney için ayrılan spermlerde ortalama hareket süresi 50.5±8.4 sn olarak kaydedilmiştir. İki hafta buzdolabında muhafaza edilen spermlerde hareketlilik süreleri oldukça düşük bulunmuştur. SSP ile 1:1 ve 1:2 oranında seyreltilen spermlerin hareketlilik süresi, sırasıyla 19.2±4.8 sn ve 23±4.8 sn olarak saptanmıştır. Kontrol için sağılan taze spermde ise hareketlilik süresi 48.33±6.19 sn olarak tespit edilmiştir. Bir hafta süre ile soğutucuda muhafaza edilen spermlerde hareketli spermatozoa oranları 1:1 seyreltmede %73.8±6.99, 1:2 seyreltmede %55±6.98 ve kontrol grubunda %82.67±9.02 olarak bulunmuştur. İki hafta sonunda sperm hareketliliği 1:1 oranında seyreltilen spermada 23.4±6.98, 1:2 oranında seyreltilen spermada 30.4±6.99 olarak kaydedilmiştir. 1:1 ve 1:2 oranında seyreltilerek buzdolabında 7 gün tutulan spermlerin taze sağılmış yumurtaları dölleme oranları %71.6±7.6 ve %49.8±7.6 olarak tespit edilmiştir. Bir hafta sonra hareket süresi 1:1 oranında seyreltilen örneklerde 41±4.79sn, 1:2 oranında seyreltilen örneklerde 32±4.79 sn olarak belirlenmiştir.

Marques ve Godinho (2004) 6 balık türünün (*Brycon lundii*, *Piaractus mesopotamicus*, *Leporinus elongatus*, *Leporinus friderici*, *Prochilodus lineatus* and *Prochilodus marggravii*.) spermleri üzerinde yaptıkları kısa süreli korunum çalışmasında örnekler 1.7-4.9 °C' de muhafaza edilmiştir. Çalışmada 50mM NaCl aktivasyon solüsyonu kullanılarak sperm hareketliliği hesaplanmıştır. En kısa sperm hareketliliği 7 saat ile *Leporinus friderici* türünde gözlenmiş ve bu oran

%30 olarak tespit edilmişken, *Prochilodus lineatus*'da sperm hareketliliği 20 saat devam etmiştir. Dölleme testinde 8 saat süre ile dondurularak muhafaza edilmiş *Prochilodus marggravii* spermeleri kullanılmış ve dölleme sonunda yaşayabilen embriyo oranı %88-90 olarak ölçülmüştür. Marques ve Godinho (2004) balık spermelerini kısa süreli dondurularak, özellikle balık üretme merkezlerinde bu dondurulmuş spermelerin kolay bir şekilde kullanılabileceğini belirtmişlerdir.

Basavaraja ve diğ., (2005) Cyprinidae familyasından olan *Tor khudree* spermelerini %5, %10 ve %15 DMSO kullanarak uzun süreli korumuşlardır. Çalışma sonunda dondurulup-çözdürülen spermelerin hareketlilik oranları, döllenen yumurtaların açılım oranları ve larvaların yaşama oranları tespit edilmiştir. Sperm hareketliliği %5-10 oranında DMSO kullanılarak %92-98 tespit edilmişken, %15 DMSO ile bu oranda düşüş görüldüğü bildirilmiştir. %15 DMSO ile korunmuş spermatozoların döllediği yumurtalardan larva çıkış oranı %41 olarak tespit edilmiştir. En yüksek larva yaşama oranı %74.6 oranında saptanmıştır.

Park ve Chapman (2005) Meksika Körfezi mersin balığı olan *Acipenser oxyrinus desotoi* ve kısa burunlu mersin balığı *A. brevirostrum* spermelerini soğuk koruyucu ilave ederek kısa süreli muhafaza etmişlerdir. Çalışmada spermelerin bir kısmı geleneksel olarak buzdolabında kısıtlı oksijen ile ve 4 °C'de korunmuştur. Çalışmada canlılık uzatıcı ilave edilmiş ve 3-18 gün korunmuş spermelerle taze spermeler arasında dölleme kapasitesi yönünden bir farklılık gözlenmemiştir. Çalışmada *Acipenser oxyrinus desotoi* 1.2×10^9 spermatozoa.ml⁻¹, *A. brevirostrum* 8.5×10^9 spermatozoa.ml⁻¹ sperm

konsantrasyonu tespit edilmiştir. *Acipenser oxyrinus desotoi* sperminin rengi beyaz, *A. brevirostrum*'un ise hafif yeşilimsi renkte olduğu bildirilmiştir. Meksika Körfezi mersin balığında sperm hareketliliği 2.00 ± 0.17 dakika, kısa burunlu mersin balığında 3.17 ± 0.11 dakika olarak hesaplanmıştır.

Horvath ve Urbanyi, (2003) 5 farklı canlılık uzatıcı (sükroz, glikoz, fruktoz, KCl, ve tuz) ve 2 farklı soğuk koruyucu (DMSO ve metanol) kullanarak sazan balığı (*Cyprinus carpio*) spermelerinin uzun süreli koruması üzerinde çalışmışlardır. Araştırma sonunda glikoz ve metanol kullanılan ortamda en yüksek dondurma-çözdürme sonu hareketlilik saptanmış, bunun yanında en yüksek dölleme oranları da bulunmuştur. Metanol ile birleştirilmiş basit şekerli canlılık uzatıcıların, DMSO ile birleştirilenlere göre hareketlilik, dölleme ve açılım oranlarının daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Basit şekerlerle dondurulan örneklerde çözmeden sonra sperm jelatimsi yapışık bir hal almış ancak bu durum dölleme ve yumurtadan çıkma oranını düşürmemiştir. Çalışmada dondurulup çözülmüş spermelerin 500 µl'sinin 10gr (8000 adet) yumurtayı başarıyla dölleyebildiği bildirilmiştir.

Dreanno ve diğ., (1997)'nin yaptıkları çalışmada kalkan balığı spermelerini uzun süreli korumuşlardır. Spermelerin dondurulmasında DMSO, gliserol, etilen glikol ve metanol olmak üzere 4 farklı soğuk koruyucu kullanılmıştır. Çalışma sonunda soğuk koruyuculardan her birinin 3 farklı konsantrasyonu karşılaştırarak 10. ve 60. sn'lerdeki sperm hareketliliği tespit edilmiştir. Dondurma-çözdürme işleminden sonra en yüksek sperm hareketlilik oranını 10. ve 60. sn'lerde DMSO'nun %15'lik konsantrasyonu, gliserolün %10'luk konsantrasyonu ve metanolün

%10'luk konsantrasyonunun sağladığı tespit edilmiştir. Ayrıca etilen glikol kullanımı sonrası sperm hareketliliği saptanamamıştır. 4 farklı koruyucu kendi içinde karşılaştırıldığında en yüksek sperm hareketlilik oranını %15'lik DMSO'in sağladığı tespit edilmiştir. Çalışma sonunda kalkan spermelerini 1:2 oranında (sperm hacmi:extender hacmi) seyreltmenin en yüksek hareketlilik oranını verdiği saptanmıştır. Dondurulmuş spermelerin 20 ve 30 °C'de çözündürülmesi sonucu, 10. ve 60. sn'lerdeki sperm hareketlilik oranı arasında bir fark gözlenmezken, 40°C'deki çözündürme işleminde daha yüksek sperm hareketlilik oranı saptanmıştır.

Miyaki ve diğ., (2005) Japonya için ticari öneme sahip olan Hani balığı (*Epinephelus moara*) spermelerini sadece trehalose'un %15'lik konsantrasyonunu kullanılarak uzun süreli korumuşlardır. Çalışma sonunda sperm hareketlilik ve döllemeyebilme oranlarına bakılmıştır. Hareketlilik oranı dondurmadan 343 gün sonra %52, dölleme oranı ise dondurmadan 11 gün sonra %94.6 olarak tespit edilmiştir.

Yılan balığı (*Anguilla anguilla*) sperm konsantrasyonu 0.4×10^{10} – 0.6×10^{10} spermatozoa.ml⁻¹ olarak bildirilmiştir (Müller ve diğ., 2004). Soğuk muhafazan önce ortalama hareketlilik % 32, çözme işleminden sonra ortalama hareketlilik %10 olarak tespit edilmiştir.

Linhart ve diğ., (2005)'nin yapmış oldukları çalışmanın amacı eski usullerle korunan Avrupa yayın balığı (*Silurus glanis*) spermelerinin soğuk muhafaza metotlarının detaylıca incelenmesidir. Spermelerin soğuk korunması işleminin başarısı, dondurulmuş/çözündürülmüş spermelerde çözme sonrası sperm hareketliliği ve hızı, canlı sperm yüzdesi ve

 retkenliği (yumurtadan çıkma hızı) ile değerlendirilmiştir. Dondurmadan önce 5 saat boyunca immobilizasyon çözeltisinde saklanan ve Me₂SO'nın %8, %10, %12 gibi farklı konsantrasyonlarıyla veya %5 Me₂SO ve %5 Propandiol karışımıyla dondurulmuş spermlele döllenen yumurtaların açılım oranı %82-86 arasındadır. Dondurma-  zd rmeden sonra sperm yaşama oranı %8-59 arasında değişmektedir. En yüksek yaşam yüzdesi %6 Me₂SO-%6 propandiol karışımında bulunmuştur. En yüksek sperm hareketlilik yüzdesi %8-62 arasında olup taze spermlede bu oran %96 olarak bildirilmiştir. Dondurma-  zd rmeden sonra en yüksek sperm hızı %7.5-10 metanol kullanımı ile 105  m/sn olarak saptanmıştır. Çalışmada yumurta açılım oranı ile dondurulan sperm hacmi arasında bir ilişki olup olmadığı karşılaştırılmıştır. 1 veya 1.8ml spermle döllenen yumurtaların açılım oranlarının 4ml spermle döllenen yumurtalardan daha iyi olduğu saptanmıştır.

Rideout ve diğ., (2004) Haddock *Melanogrammus aeglefinus* ve Atlantik cod *Gadus morhua* spermlelerinin soğuk muhafazası için bir protokol geliştirmek üzere her bir tür için üç soğuk koruyucu (DMSO, propilen glikol ve gliserol) + taze sperm ve iki seyreltici (sukroz ve tuz) kullanılarak sperm hızı, maksimum sperm hızı ve hareketlilik oranını karşılaştırmışlardır. Çalışma sonunda *Melanogrammus aeglefinus* için en yüksek sperm hareketlilik oranı %84.2 3.6 gliserol+tuz karışımı, *Gadus morhua* için en yüksek sperm hareketlilik oranı %86.2 4.0 propilen glikol+tuz karışımı ile elde edilmiştir. *Melanogrammus aeglefinus* için en yüksek sperm ortalama hızı DMSO+tuz karışımı ile 162  m/sn, *Gadus morhua* için en yüksek ortalama sperm hızı yine DMSO+tuz karışımı kullanılarak 157  m/sn olarak tespit edilmiştir. *Melanogrammus aeglefinus* için maksimum sperm hızı 231 m/sn propilen glikol+sukroz,

,*Gadus morhua* için maksimum sperm hızı DMSO+sukroz karışımı ile 197µm/sn olarak saptanmıştır. Seyreltilmeyen spermelerde ise bu oranlar sırasıyla *Melanogrammus aeglefinus*'da %82.6±3.8, 160 µm/sn ve 227 µm/sn tespit edilmişken, *Gadus morhua*'da %77.9±4.4, 149 µm/sn ve 192 µm/sn olarak tespit edilmiştir.

Maria ve diğ., (2006) Characidae familyasına ait bir tür olan *Brycon orbignyanus*'un spermelerini önce 4-6 °C'de depolamışlar daha sonra -196 °C'de uzun süre korumuşlardır. Canlılık uzatıcı olarak 154mM NaCl, 200mM NaCl, Saad (200mM NaCl, 30mM Tris) ve hindistan cevizi suyu, soğuk koruyucu olarak DMSO, metanol ve metilglolikol kullanılmıştır. Kontrol grubundaki spermeler seyreltilmeden korunmuştur. Dondurma işleminden sonra en yüksek sperm hareketliliği Saad solüsyonunda, 200mM NaCl ve 154mM NaCl-DMSO ile sağlanmıştır. Seyreltilmemiş spermelerde hareketlilik %53 olarak saptanmıştır. Dondurma-çözdürmeden sonraki en yüksek sperm hareketliliği 154mM NaCl-yumurta sarısı-metil glolikol karışımı ile sağlandığı bildirilmiştir.

Keeran ve Woods (2002) çizgili levrek (*Morone saxatilis*) spermeleri üzerinde uzun süreli koruma çalışması yapmışlardır. Çizgili levrek spermelerini farklı dondurma sıcaklıklarında seyrelterek sperm hareketlilik oranlarını karşılaştırmışlar, ayrıca taze spermelerin sperm hareketlilik yüzdesi ve dölleme oranlarını tespit etmişlerdir. Elde edilen sonuçlara göre seyreltilmiş spermelerde en yüksek sperm hareketlilik oranı -40 °C'de %5 DMSO ile dondurmadan 30 gün sonra %30 olarak tespit edilmişken, seyreltilmeyen taze spermde bu oran %72 olarak saptanmıştır. Seyreltilmeyen spermin en yüksek dölleme oranı ise %28 olarak bulunmuştur.

Kanal yayın balığı (*Ictalurus punctatus*) spermelerini 4 °C’de kısa süreli korunumunu sağlamaya yönelik bir çalışma yapılmıştır (Christensen ve Tiersch, 1996). Çalışmada kanal yayın balıklarından sağım yoluyla sperm elde edilemeyeceği bildirilmiştir. Bu nedenle gonadın çıkarılması yöntemiyle sperm elde edilmiştir. Çalışma sonucunda glikoz, glikoz + %5 metanol, %5 metanol ve seyreltilmeyen spermelerin hareketlilik oranları karşılaştırılmıştır. Elde edilen verilere göre en yüksek hareketlilik %5 metanol kullanımı ile dondurmanın 2. gününde, en düşük hareketlilik oranı seyreltilmemiş ve soğuk koruyucu kullanılmamış spermelerde gözlenmiştir. Her bir denemede bakteriyel büyüme ile sperm hareketliliğinin düşüşü arasında bir ilişki olduğu belirtilmektedir.

Billard ve diğ., (2000) Sibiry mersin balığı (*Acipenser baerii*) spermelerini dondurup çözündürerek kuyruk morfolojisindeki değişiklikleri incelemişlerdir. Çalışmada çözünmüş spermelerde aktivasyondan sonra kuyruk dalgalı bir hal almıştır; fakat 27-42 sn sonra bu durum asimetrik ve başarısız bir dalgalanma göstermiştir. Yüzme yörüngesi 1 sn gibi çok kısa bir zaman süresince kaydedilmiştir ve 26-28 sn sperm hareketliliğini devam ettirmiştir. Çözdürmeden 47 sn sonra kuyruk sağa açılacak olarak sapma göstermiş ve bu durumunu tüm hareketlilik süresince korumuştur. Çoğu spermde dondurma ve çözdürme işleminden sonra kuyruktaki salınım azalmış fakat bu spermelerin halen yer değiştirebildiği saptanmıştır. Çalışma sonunda kuyruğun hareketi sırasındaki morfolojik değişimlerin, sperm hareketliliğindeki değişik davranışların etkilerinin değerlendirilmesinde dikkate alınması gereken bir parametre olduğu bildirilmiştir.

Rideout ve diğ., (2003) bir dil balığı türü olan (*Pseudopleuronectes americanus*) spermeleri ile uzun süreli koruma protokolleri üzerinde çalışmışlardır. Üç soğuk koruyucu (propilen glikol, dimetil sülfosid ve gliserol) ve iki seyreltici (sükroz ve tuz) karıştırılmıştır. Spermeler 1:3 oranında seyreltilmiştir ve 20 dakika canlılık uzatıcı maddelere dondurulmadan maruz bırakılmış ve bu süre içinde sperm hareketliliğinde toksit bir etki görülmemiştir. Propilen glikol kullanımı sonrası, DMSO veya gliserol kullanımına oranla dondurma-çözdürmeden sonra çok daha yüksek sperm hareketi sergilemiştir. Soğuk koruyucu olarak DMSO kullanıldığı zaman sükroz ile seyreltme, tuz ile seyreltmeden daha iyi bir performans göstermiştir. Fakat diğer soğuk koruyucular için dondurma-çözdürme ile seyreltme arasında bir farklılık olmadığı bildirilmiştir. Sadece deniz suyu yerine, deniz suyu ve ovaryum sıvısı ile spermelerin aktive edilmesinin tek başına çözünme sonrası hareketliliğe etkisi yoktur. Dölleme denemelerinde, meni bir saat boyunca yumurta ve deniz suyu ile etkileşim halinde bulunmuştur. Deneme sonrası spermin dölleme yeteneğinde herhangi bir farklılık gözlenmemiştir. Taze sperm ve dondurulmuş sperm ile döllenmiş yumurtada, açılım oranı arasında bir fark olmadığı bildirilmiştir. Ayrıca larvanın morfolojisinde de bir farklılık yoktur.

Lahnsteiner ve diğ., (2004) mersin balıklarından *Acipenser ruthenus* spermelerini uzun süreli korumuşlardır. Sperm hareketliliği 4 dakika süreyle incelenmiş ve yüzme tipi doğrusal hareket sergilemiştir. $12.5 \text{ mosmol kg}^{-1}$ osmolaritede hareketlilik devam etmiştir. Kalsiyum iyonları dondurulan spermelerde bir etki göstermemiş, bunun yanında magnezyum iyonları kullanılarak dondurulan spermelerde ise hareketin sonlanmadığı gözlenmiştir. Bunun yanı sıra pH 7-9'un sperm

hareketliliğine etkisi olmadığı bildirilmiştir. Çalışmada canlılık uzatıcı 50mML^{-1} NaCl, 5mML^{-1} KCl, 10mML^{-1} Tris kullanılmıştır. Testlerde soğuk koruyucu madde olarak DMSO ve metanol kullanımı daha uygun bulunmuştur. Dondurma-çözdürmeden sonra DMSO kullanımı metanol kullanımına oranla sperm hareketlilik oranı ve yüzme hızı bakımından daha yüksek değerlere ulaşmıştır. Ama döllemede metanol kullanımı taze spermlemlerle benzer sonuçları verirken, DMSO kullanımı spermlemlerin dölleme yeteneğini düşürmüştür. 10. sn'de hareketlilik en üst seviyedeyken 4. dakikada sperm hareketliliği büyük düşüş göstermiştir. Spermin dairesel hareketi 4. dakikada en yüksek orana ulaşırken ortalama hızın 10. sn'de en yüksek olduğu bildirilmiştir.

Carolsfeld ve diğ., (2003)'nin yaptığı çalışmada beş tropik göçücü balık türü (*Brycon orbignyanus*, *Prochilodus lineatus*, *Piaractus mesopotamicus*, *Salminus maxillosus* ve *Leporinus elongatus*) ve bir Brezilya yayın balığı (*Pseudoplatystoma corruscans*) spermlemlerinin soğuk muhafazası için basit ve etkin protokoller tanımlanmıştır. Spermlemler, arazideki kullanımlarını kolaylaştırmak için toplandıktan hemen sonra dondurulmuş ve saklanmıştır. Tropik türler için %5lik glikoz, %10luk dimetil sülfoksit ve %10luk yumurta sarısı seyreltileri ve yayın balığı için de %10luk metanol ve %15lik süt tozu seyreltileri etkili olmuştur. Meniler $28\text{ }^{\circ}\text{C}$ sıcaklıkta bir su banyosunda çözdürülmüştür. Çözdürülmüş menilerin aktivasyonu hem tuz (%0,9 ya da %0,45 NaCl) hem de bikarbonatla (%1 NaHCO_3) iyi sonuçlar vermiştir.

Tanaka ve diğ., (2002) Japon yılan balığı (*Anguilla japonica*) spermlemlerini NaHCO_3 'ün farklı konsantrasyonlarında seyreltmisler ve %10 DMSO kullanılarak uzun süreli korumuşlardır. Çalışma sonucunda

NaHCO₃ kullanılmadan %10 DMSO ile en yüksek sperm hareketlilik oranı elde edilirken, 150mM NaHCO₃ + %10 DMSO kullanıldığında sperm hareketliliği görülmemiştir.

Urbanyi ve diğ., (2005) Avrupa cyprinidae familyasına ait Kızılğöz (*Rutilus rutilus*), Çapak balığı (*Abramis brama*), Tahta balığı (*Blicca bjoerkna*) ve Bıyıklı balık (*Barbus barbus*) spermelerini uzun süre korumayı başarmışlardır. Dondurma işleminde beş farklı canlılık uzatıcı (350 mM fruktoz, 30 mM Tris, pH 8.0; 350 mM glukoz, 30 mM Tris, pH 8.0; 300 mM sukroz, 30 mM Tris, pH 8.0; 200 mM KCl, 30 mM Tris, pH 8.0) ve iki farklı soğuk koruyucu (%10 metanol, %10 dimetil sülfosid) kullanılmıştır. Çalışma sonunda her bir türün sperm hareketliliği ve döllemeden sonra yumurta açılım oranları tespit edilmiştir. Elde edilen verilere göre çözdürme sonrası en yüksek sperm hareketlilik yüzdesi çapak balığı ve tahta balığında bulunmuş, en yüksek dölleme oranı çapak balığı spermelerinde saptanmıştır. Çapak balığı sperm hareketliliği en yüksek metanol+glukoz karışımı, tahta balığı için metanol+fruktoz karışımı ile sağlanmıştır. Çapak balığı için en yüksek dölleme oranı ve yumurta açılım oranına ise metanol+glukoz karışımı ile elde edilmiştir.

Taitson ve diğ., (2007) tropikal bir balık olan *Leporinus obtusidens* spermelerini sağım yolu ile elde ederek dondurmuşlardır. Alınan spermelerin ortalama hacmi 1.3 ± 0.3 mL, taze spermelerin hareketlilik oranı $\%93.3 \pm 2.5$ ve sperm konsantrasyonu 10.9×10^9 seprmatozoa/mL olarak saptanmıştır. Çalışmada soğuk koruyucu olarak DMSO, metanol, etilen glikol ve propandiol kullanılmıştır. Çözdürmeden sonra en yüksek sperm hareketliliği DMSO ve 119mM NaHCO₃ aktivasyon solüsyonu kullanılarak elde edilmiştir. Yaklaşık 112.000

hareketli sperm ile yumurtalar döllelenmiş ve dölleme oranı %74 olarak saptanmıştır.

Bir kanal yayın balığı türü olan *Ictalurus punctatus* spermeleri uzun süreli korunmuştur (Paulland&Riley, 2003). Çalışmada dört farklı soğuk koruyucu kullanılmış ve bunların 0, 15, 30 dk arasında sperm hareketlilik oranları incelenmiştir. Çalışma sonunda en yüksek sperm hareketliliği %5 dimetil asetamid ile sağlanmış, en düşük hareketlilik oranı ise %5 DMSO ile 30. dakikada saptanmıştır.

Kwantong ve Bart (2003) bir akvaryum balığı türü olan *Pengasius hypophthalmus* spermelerini dondurarak canlılık uzatıcı ve soğuk koruyucuların döllemeye etkisini araştırmışlardır. Çalışma sonunda en yüksek sperm hareketlilik oranı %12 DMSO, %0.9 NaCl ile %41 olarak tespit edilmiştir.

Richardson ve diğ., (2000) *Salvelinus alpinus* türünün spermelerini uzun süreli koruyarak spermelerin dölleme yeteneğini incelemişlerdir. Spermeler 0.5ml ve 0.7ml'lik tüplere konmuştur. Çözdürmeden sonra en yüksek dölleme oranı 0.5ml tüplerde saklanan spermelerde DMSO veya DMA+0.3M glukoz içeren soğuk koruyucu kullanımında elde edilmiştir. Çalışmada tüm soğuk koruyucu ile yapılan denemelerde canlılık uzatıcı olarak kullanılan gliserolün, spermelerin dölleme oranlarında çok az bir etkiye sahip olduğu saptanmıştır.

Taddei ve diğ., (2001) dondurma öncesi ve çözündürme sonrası Sivriburun karagöz (*Diplodus puntazzo*) balığında sperm hareketliliği ile sperm fizyolojinde değişiklik olup olmadığını saptamak üzere çalışmışlardır. Denemelerde iki farklı soğuk koruma solüsyonu

kullanılmıştır. 0.17M sodyum klorür ve %15 dimetil sülfüsid (solüsyon A) kullanılarak yapılan soğuk korumada, dondurma sonrası sperm baş bölgesinde hücre zarı ve plazmasında anomaliler saptanmıştır. 0.1M sodyum sitrat ve %10 DMSO (solüsyon B) kullanımının hücre zarına daha fazla zarar verdiği görülmüştür. Solüsyon B kullanılarak çözündürmeden sonra spermde damla şeklinde hareketlilik gözlenmiştir.

Dong ve diğ., (2006) yapmış oldukları çalışmada, iki lepidopteres türü olan *Xiphophorus helleri* ve *Xiphophorus couchianus* spermelerini soğuk koruyucu ve canlılık uzatıcı kullanarak kısa süreli korumuşlardır. Çalışma sonunda sperm hareketliliği karşılaştırıldığında, taze spermle dondurulan sperm arasında zıt bir etki saptanmamıştır. Taze sperm örneklerinde Hank denge tuz solüsyonu (HBSS) kullanımının hareketliliğe etkisi olmadığı ancak HBSS hazırlanırken kalsiyum ya da potasyum ilavesinin sperm hareketliliğini düşürdüğü bildirilmiştir. Taze ve çözündürülmüş spermelerde glukoz kullanımının çok daha uzun hareketliliğe sebep olduğu saptanmıştır.

Huang ve diğ., (2003) *Xiphophorus helleri* spermelerini DMSO kullanarak uzun süreli korumuşlardır. Çalışmada seyreltme oranı arttıkça sperm hareketliliğinde bir düşüş görüldüğü bildirilmiştir. %10 DMSO kullanımı sonrası çözündürülen spermelerde en yüksek hareketlilik oranı saptanmıştır.

Viveiros ve diğ., (2001) Afrika yayın balığı (*Clarias gariepinus*) spermelerini yavaş dondurma protokolü uygulayarak korumuşlardır. Spermeleri metanol kullanarak seyretmişler ve iki aşamalı koruma protokolü uygulamışlardır. İlk olarak sperm -2 den -10 °C /dk arası

dondurulmuş, daha sonra -32 ila -50 °C'deki sıvı nitrojen buharına daldırılmıştır. Denemeler sonunda yumurta açılım oranları karşılaştırılmıştır. En iyi yumurta açılım oranı önce -5 °C'de dondurulan ve sonra -50 °C sıvı nitrojen buharına daldırılıp korunan spermelerde saptanmıştır.

Billard ve diğ., (2004) mersin balığı spermelerini (*Acipenser ruthenus*, *A. Baeri*, *A. sturio*) kısa süreli ve uzun süreli olarak korumuşlardır. Çalışmada soğuk koruyucu olarak DMSO, metanol, etilen glikol kullanılmıştır. Üç balıktan alınan spermelerde, çözündürme işleminden sonra dölleme kapasitesinde düşüş saptanmıştır.

Cabrita ve diğ., (1998) gökkuşuğu alabalığı spermeleri üzerinde yaptıkları çalışmada uzun süreli muhafaza süresince sperm morfolojisinde meydana gelen zararları tespit etmişlerdir. Dondurma/çözündürme işleminde dimetil sülfosid, dimetil asetamid ve metanol kullanılmıştır. Spermeler -20 °C'de dondurulmuş ve 25 °C su içinde çözündürülmüştür. Dimetil sülfosid kullanımının spermde en az tahribata sebep olduğu bildirilmiştir.

Dreanno ve diğ., (1998) kalkan (*Psetta maxima*) spermelerini kısa süreli koruyarak ürenin sperm kalitesine etkisini araştırmışlardır. Sperm toplanmasında iki yöntem izlenmiştir. Sağım metodunda spermin üre ile teması, üreter kanaldan sperm çekme yöntemine göre daha yüksektir. %30 oranında üre ile kontaminasyona uğramış olan dondurulmuş spermelerde aktivasyonun 10. sn kadar $160-230 \mu\text{m.sn}^{-1}$ sperm hızı ölçülmüştür. Bu oran %15 üre ile kontaminasyona uğramış spermelerde daha yüksek tespit edilmiştir.

Gökkuşığı alabalığı spermeleri ile yapılan bir başka çalışmada, spermelere dondurma çözündürme işlemi uygulanmış ve çalışma sonunda plazma membranındaki değişiklikler gözlenmiştir (Labbe ve diğ., 1997). Soğuk koruyucu olan DMSO kullanımı gliserolden daha iyi sonuç vermiştir. Fakat dimetil sülfat, tris yada fosfat gibi canlılık uzatıcılar ile kullanıldığında plazma membranında negatif bir etki görülmüştür.

Uzun süreli korunan gökkuşığı alabalığı spermeleri ile yumurtalar kuru ve yaş metotla döllelenmiştir (Lahnsteiner ve diğ., 2002). 100 g (1790±15 yumurta) yumurta için 1 ml sperm kullanılmıştır. Çalışma sonunda yaş dölleme ile en yüksek oran %73.3, kuru döllemede %89.5 olarak tespit edilmiştir.

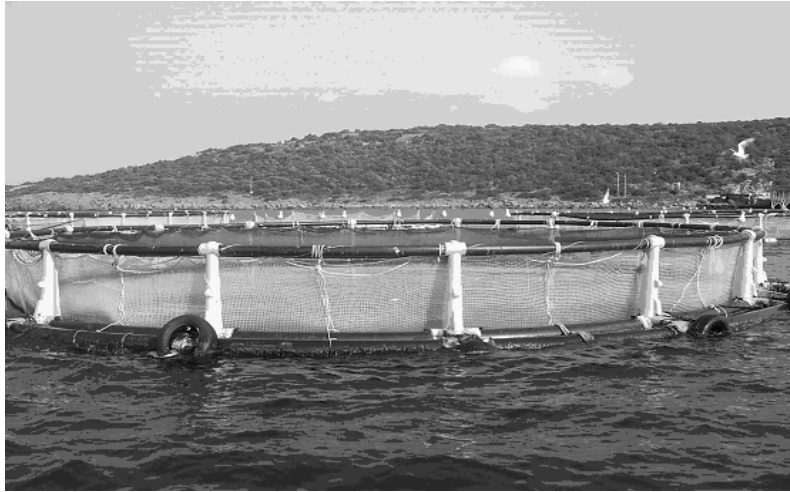
Lahnsteiner ve diğ., (2003) sazangillerden *Chalcalburnus chalcalburnus* spermeleri üzerine yapılan çalışmada, dondurulan spermelerin çözündürme sonu dölleyebilme oranında dölleme tekniklerinin etkisini araştırmışlardır. Ayrıca her dölleme tekniğinde kontrol grubu ile dondurup/çözdürülen spermelerin dölleme kapasiteleri karşılaştırılmıştır. Kontrol grubu için morula safhasına ulaşan en yüksek embriyo oranı ve dondurma/çözdürme sonrası spermelerle döllenen yumurtalardan morula safhasına gelebilen en yüksek embriyo oranı kuru dölleme metodu kullanılarak sağlanmıştır. Kontrol grubu için en yüksek yumurta açılım oranı ile dondurma/çözdürme sonrası en yüksek yumurta açılım oranı yine kuru dölleme metodu kullanılarak elde edilmiştir. Çalışmada dondurulup/ çözdürülen spermelerle yaş metot kullanılarak yapılan dölleme işlemi sonrası en düşük yumurta açılım oranı saptanmıştır.

Ohta ve diğ., (2000) Japon acı balığı olarak bilinen *Tanakia limbata* spermelerini metanol, FBS (fetal bovine serum) ve DMSO'in farklı konsantrasyonlarını deneyerek uzun süreli korumuşlardır. En uzun hareketlilik oranını -40 °C korunan %10 metanol, %90 FBS ile seyreltilen spermelerde gözlenmiştir.

Nil tilapyası balığı (*Oreochromis niloticus*) spermeleri üzerine yapılan çalışmada taze ve dondurulmuş spermelerin yumurta dölleme oranları birbiriyle karşılaştırılmıştır. En yüksek yumurta dölleme oranı taze spermelerle gerçekleştirilmiştir. Soğuk koruma işleminde metanol kullanımı sonrası dölleme başarısızlıkla sonuçlanmıştır (Poleo ve diğ, 2004).

3. MATERYAL ve METOD

Bu çalışmada, İzmir ili Balıklıova mevkiinde bulunan bir ağ kafes işletmesinden üreme döneminde (Ekim-Aralık) temin edilen toplam 24 adet çipura (*Sparus aurata*) balığı kullanılmıştır.



Şekil 3.1 İşletmedeki Ağ Kafesler

Ağ kafeslerden temin edilen çipura anaçları önce fenoksiletanol (0.5 ml.lt^{-1}) ile bayıltılarak hassas terazi ile ağırlıkları alınmıştır (Şekil 3.1). Balıklar canlı ağırlıkları 1 g hassasiyetli arazi tipi terazi (Denver MXX-5) ile g cinsinden, uzunluk ölçüleri boylama aleti ile cm cinsinden ölçülmüştür. Balıklar sağım işleminden önce havlu ile kurulanmıştır ve idrar torbasına hafif baskı yapılarak idrar torbasının boşalması sağlanmıştır. Kısa süreli korumada kullanılacak gametler büyük bir dikkatle su, dışkı, mukus, salgı, idrar vb. kontaminasyonlara karşı özen

gösterilerek abdominal bölgeye yapılan hafif masaj hareketleriyle sağılarak elde edilmiştir (Şekil 3.2).



Şekil 3.2 Sperm Örneklemesi İçin Kullanılan Çipura Balığı (Orijinal).

Elde edilen sperm her biri numaralandırılmış 15ml'lik tüplere aktarılmıştır. Çalışmada sperm örneklerini içeren tüplerin boyutuna göre şarjlı matkap kullanılarak buz kalıbına tüp sayısı kadar delik açılmıştır. Tüpler 0 °C'deki buz içine dik olarak yerleştirilmiştir. Örnekler ısı geçirmeyen taşıma kapları ile taşınarak zaman kaybedilmeden incelenmek üzere Ege Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi'ne getirilmiştir. Burada ısı geçirmeyen taşıma kapları +4 °C'deki buzdolabında muhafaza edilmiştir (Şekil 3.3).

Buz içerisinde muhafaza edilen sperm örnekleri bir öze yardımı ile lam üzerine aktarılmış ve vücut sıcaklığı ile aynı olan deniz suyu ile aktive edilmiştir. Aktive olan sperm vakit kaybedilmeden Olympus marka JX-31 model faz-kontras mikroskop kullanılarak 40X büyütmede

her altı saatte bir görüntülenmiştir (Şekil 3.4). Aktive edilmiş spermilerin görüntüleri video kamera (Panasonic NV-GS180) ile saat ve tarih belirtilerek kaydedilmiştir. Çalışma sonunda 11.910 adet sperm altı saat arayla izlenmiştir. Sperm hareketi en son tüpteki spermin aktivasyonu sonlanana kadar değerlendirilmiştir.



Şekil 3.3 Spermilerin Buz İçinde Muhafazası

3.1. Sperm Hız Ölçümü

Hız ölçümü için daha önce deniz suyu ile aktive edilerek her altı saatte bir video kasete kaydedilen sperm görüntüleri özel bir cihaz sayesinde dvd'ye aktarılmıştır. Dvd'ye aktarılan görüntülerden AVS DVD to GO adlı özel bir dvd oynatıcı programı kullanılarak spermin aldığı yol incelenmiştir. Ölçümde kullanılmak üzere, toplam 24 adet damızlık balıktan alınan spermierden her bir tüp örneği için rastgele 30'ar adet sperm seçilmiştir. Seçilen bu spermier asetat kağıdı üzerinde bir noktadan sabitlenmiştir. 2 saniye boyunca izlediği yol asetat kağıdı üzerinde işaretlenmiştir. Böylece t zamanda spermin aldığı yol saptanmış, aynı zamanda spermin baş boyu uzunluğu ölçülmüş ve sonuçta baş

boy.sn⁻¹ cinsinden birim zamandaki hızı tespit edilmiştir. Hız ölçümü için kullanılan formül şu şekildedir:

a : Spermin baş boyu

b: Alınan yol

t : Kameranin sabit kaldığı süre olmak üzere,

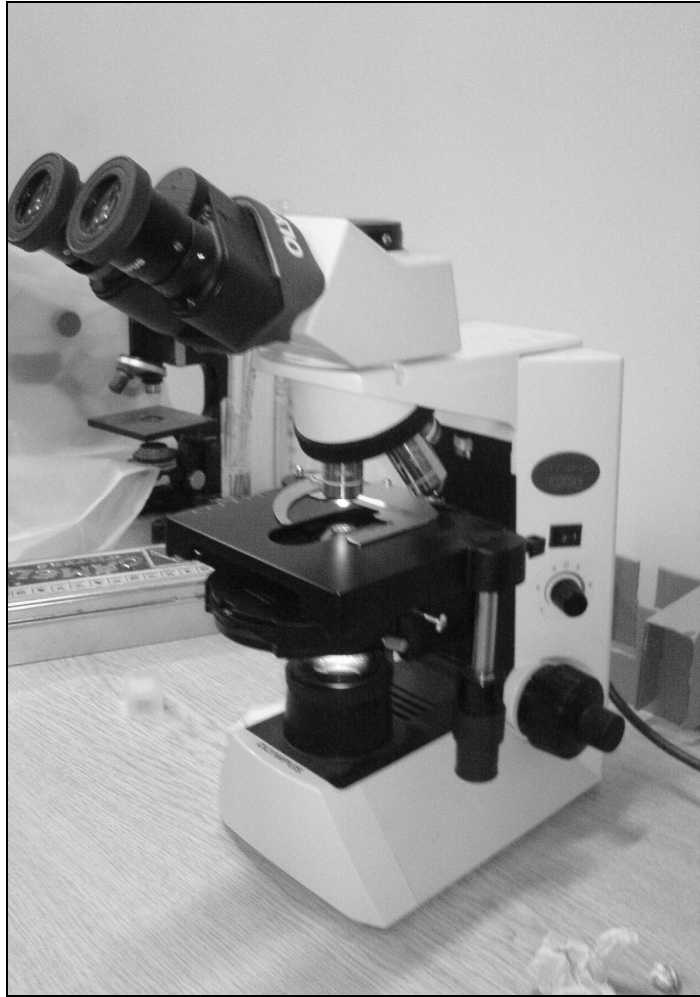
$$\text{Spermin bir saniyede almış olduğu yol} = \frac{b/a}{t}$$

Sperm hızının µm.sn⁻¹ cinsinden hesaplanabilmesi için daha önce baş boy.sn⁻¹ cinsinden hesaplanan sperm hızlarının her altı saatteki ortalamaları alınmıştır. Çalışmada 100 adet spermin baş boy uzunlukları TPS-DIG programıyla ölçülmüş ve elde edilen değerlerin ortalaması alınmıştır. Baş boyu ortalaması baş boy.sn⁻¹ ile çarpılarak µm.sn⁻¹ cinsinden sperm hızı hesaplanmıştır.

3.2. Sperm Hacminin Hesaplanması

Her altı saatte bir incelenen toplam 24 adet tüpteki sperm örnekleri hareketliliklerini yitirdikten sonra hacim hesaplaması için kullanılmıştır. Örneklerin bulunduğu ölü sperm tüplerini 15 ml'ye tamamlamak için 10'luk, 5'lik ve 2'lik pipetler kullanılmıştır. Eklenen su miktarı toplam tüp hacminden çıkarılarak tüp içindeki sperm hacmi hesaplanmıştır. Ancak bu hacim gerçek sperm hacmi değildir. Sağım esnasında istenmeyen sperm aktivasyonunu engellemek amacıyla su ya da idrar ile temas eden spermeler tüplere aktarılmamıştır. Dışarıya akıtılan bu spermelerin kaçır damla olduğu sağım esnasında not edilmiştir. Daha sonra bir damla spermin kaç ml olduğu hesaplanmıştır. Bulunan değer

damla sayısı ile çarpılmış ve ilk sperm hacmiyle toplanmıştır. Bu sonuç toplam hacmi vermektedir. Toplam hacim anaç ağırlığına oranlanarak 1 kg anaçtan elde edilecek sperm miktarı ml.kg^{-1} cinsinden hesaplanmıştır.



Şekil 3.4 Çalışmada Kullanılan Faz-Kontras Mikroskop

3.3. Sperm Konsantrasyonunun Hesaplanması

Çalışmada, önceki aşamada sperm hacmini hesaplamak için 15 ml'ye tamamlanmış tüplerden sperm konsantrasyonunu hesaplamak

amacıyla otomatik pipet yardımı ile 1 ml aktivasyonunu yitirmiş sperm alınıp 100 ml deniz suyu içeren mezürün içine aktarılmıştır. Aktarılan ölü spermelerin mezür içinde homojen olarak dağılması amacıyla örnekler deniz suyu içeren mezür içinde pipet yardımıyla karıştırılmıştır. Karıştırma işlemi sırasında hücrelerin parçalanmamasına dikkat edilmiştir. Bu karışımdan tekrar 1 ml örnek alınarak thoma sayma kamarasında ölü hücreler sayılmıştır (Şekil 3.5). Sayım işleminin doğruluğunu teyit etmek amacıyla bu işlem 3 kere tekrarlanarak elde edilen sonuçların ortalaması alınmıştır. Bulunan değer bir milyon ile çarpılarak 1 ml'deki hücre sayısı hesaplanmış, bu değer de 15 ile çarpılarak 15 ml'deki hücre sayısı bulunmuştur. Elde edilen değer sperm hacmine oranlanarak gerçek sperm konsantrasyonu hesaplanmıştır. Bu işlem her bir tüpteki örnekler için tekrarlanmıştır.

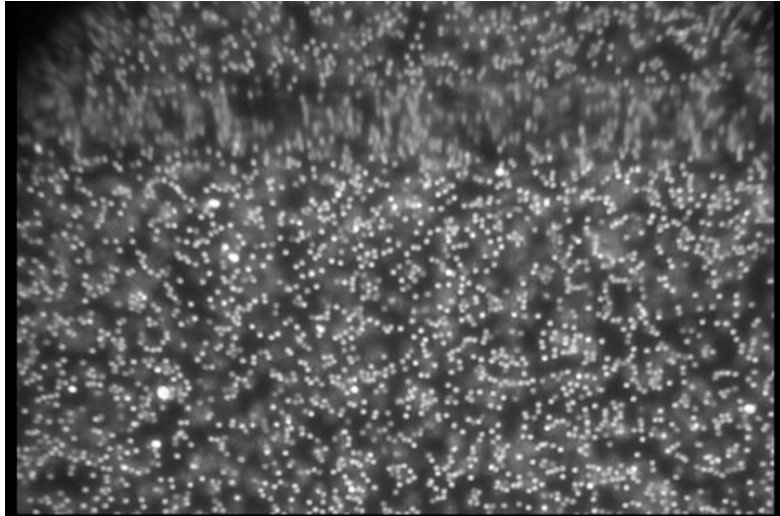


Şekil 3.5 Thoma Sayma Kamarası

3.4. Spermilerin Muhafaza Süreleri

Çalışmada kullanılan 24 adet çipura spermi içeren tüpler 0 °C'deki buzda dik olarak (etrafı tamamen buzla kaplı olacak şekilde) muhafaza edilmiştir. Bir öze kullanılarak muhafaza edilen spermelerden lam üzerine örnek alınmıştır. Daha sonra bir pipet yardımıyla alınan deniz suyundan

lam üzerinde bulunan sperm örneğine bir damla eklenmiş ve spermilerin aktive olması sağlanmıştır. Aktive olan spermier vakit kaybedilmeden Olympus marka JX-31 model faz-kontras mikroskopta görüntülenmiştir (Şekil 3.6). Görüntüler mikroskoba entegreli video kamera ile kaydedilmiştir. Bu işlem her bir tüpteki örnek için her altı saatte bir tekrarlanmıştır. Ayrıca buz içerisindeki tüplerde bulunan spermilerin hangi gün ve hangi saatte görüntülendikleri video kameraya sesli olarak kaydedilmiş ve not alınmıştır.



Şekil 3.6 Çipura Spermierinin Mikroskop Altında Görünümü

Tüplerdeki sperm örneklerinin aktivasyonu sonlanana kadar bu işlem devam etmiştir. İlk hareket başlangıcının kaydedildiği tarih ve saatten son hareket zamanına kadar olan süre hesaplanarak sperm örneklerinin muhafaza süreleri saptanmıştır.

3.5. Spermilerin Baş Boyu

Sperm konsantrasyonu hesaplamak amacıyla Thoma sayma kamarasında sayılan ölü spermlerden 100 tanesinin fotoğrafı çekilmiştir. Elde edilen görüntüler TPS DIG adlı programa aktarılmıştır. Bu programda örnek olarak seçilen her bir ölü sperm boy ve eni μm cinsinden ölçülmüştür. Ölçülen bu değerlerin ortalaması alınarak sperm baş boyu μm cinsinden hesaplanmıştır.

3.6. Verilerin Değerlendirilmesi

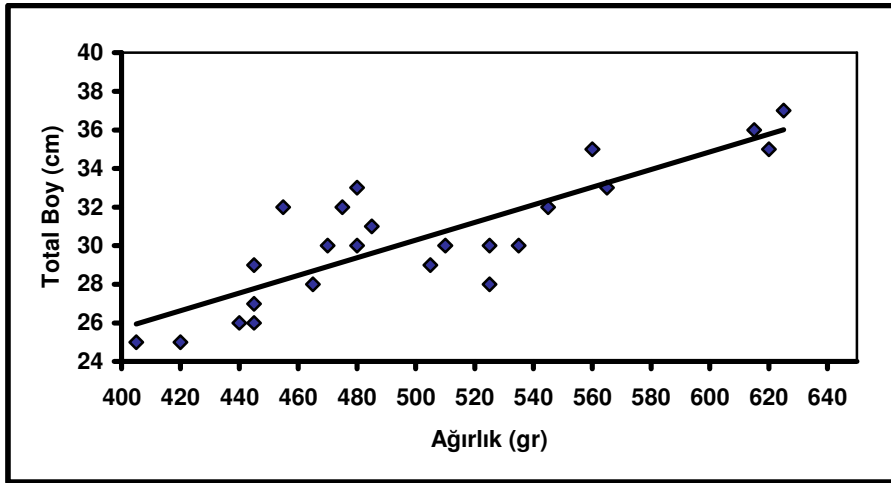
Çalışmalarda elde edilen verilerin tanımlayıcı istatistikleri yapılmıştır. Verilerin anlatımında bütün ortalamalar $\text{Ort} \pm \text{sd}$ olarak verilmiştir.

Anağların boy ağırlık ilişkileri regresyon analizi ile incelenmiştir. Hız ile ilgili verilerin varyanslarının homojenliği Levene testi ile normal dağılım ise Komogorov-Smirnov testi kullanılarak incelenmiştir. Varyansların değişkenliği ve dağılımın anomalitesi tespit edilmiş, dataların değerlendirilmesinde Krusgal-Wallis testini takiben Mann-Whitney U testi kullanılmıştır. Anaç özellikleri ile hız, yoğunluk, muhafaza süresi, konsantrasyon arasındaki ilişkiler regresyon analizi kullanılarak sınanmıştır. Bununla birlikte hız, yoğunluk, muhafaza süresi, konsantrasyon verileri arasındaki ilişkilerin sınanmasında da aynı metod kullanılmıştır.

4. BULGULAR

4.1. Meristik Karakterler

Denemelerde kullanılan balıkların ağırlıklarının değişim aralığı 405-625 g, boylarının değişim aralığı ise 25-37 cm olarak tespit edilmiştir. Bu balıkların ortalama ağırlıkları 501.67 ± 62.39 g, ortalama boyları 30.38 ± 3.39 cm olarak saptanmıştır. Kullanılan deneklerin kondüsyon faktörü değişim aralığı 1.31-2.69 olarak tespit edilmiştir. Ortalama olarak bu değer 1.86 ± 0.45 olarak saptanmıştır.



Şekil 4.1 Çipura Anaçlarının Boy Ve Ağırlık Dağılımları

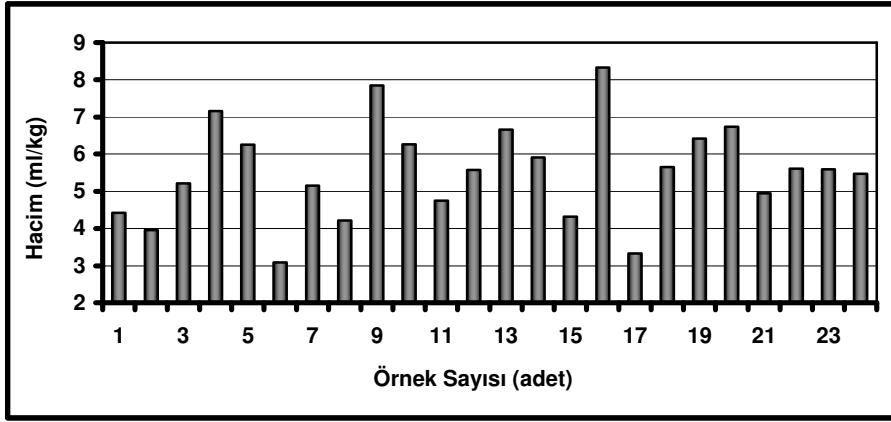
Kullanılan çipura balıklarının boy-ağırlık ilişkisi incelenmiş korelasyon katsayısı (r : 0.837) çok yüksek bulunmuştur. Bu ilişki $y:0.0457x+7.4582$ olarak tanımlanmıştır. Deneklerin boy-ağırlık ilişkisinin pozitif allometri gösterdiği tespit edilmiştir (Şekil 4.1).

Çizelge 4.1 Deneklerin Ağırlık ve Boy Değerleri

<u>ÖRNEK</u>	<u>AĞIRLIK(gr)</u>	<u>Boy (cm)</u>
1	565	33
2	455	32
3	560	35
4	475	32
5	480	33
6	615	36
7	485	31
8	545	32
9	525	30
10	620	35
11	505	29
12	535	30
13	510	30
14	445	27
15	440	26
16	420	25
17	525	28
18	625	37
19	405	25
20	445	29
21	445	26
22	480	30
23	465	28
24	470	30

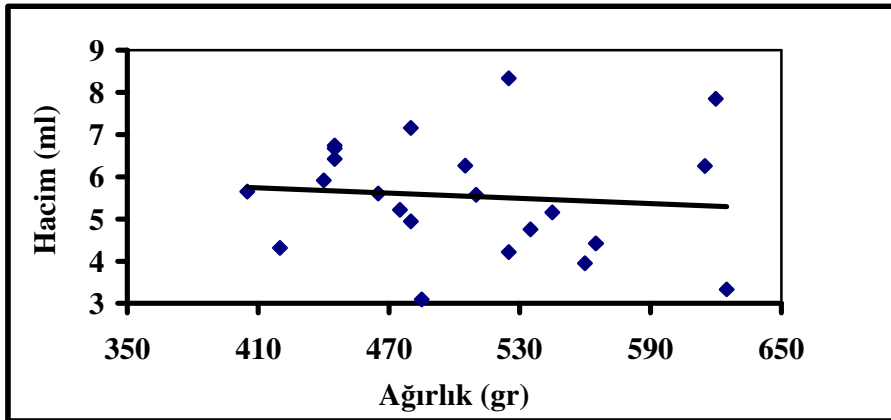
4.2. Hacim

Elde edilen verilere göre en yüksek sperm hacmi 16 numaralı anaçtan (8.3 ml/kg) temin edilmiş, en düşük sperm hacmi ise 6 numaralı anaçtan (3.1 ml/kg) elde edilmiştir (Şekil 4.2). Ortalama olarak bu değer $6 \pm 1.31 \text{ ml.kg}^{-1}$ olarak saptanmıştır.

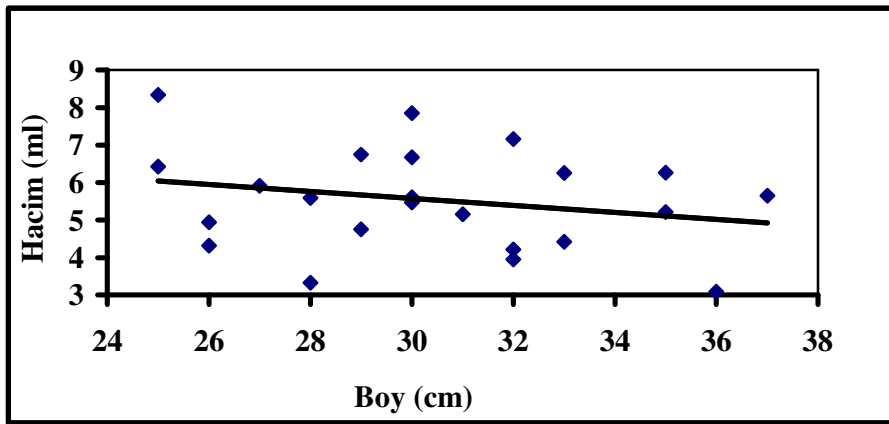


Şekil 4.2 Sperm Hacmi

Çalışmada alınan sperm miktarı ile deneklerin meristik karakterleri arasındaki ilişki incelenmiştir. Sperm hacmi-ağırlık arasındaki ilişki $y: -0.0927x + 8.3516$ olarak tanımlanmıştır. Bununla birlikte yapılan incelemede korelasyon katsayısının ($r: 0.22$) çok zayıf ilişki olduğu tespit edilmiştir. Çipura balıkları için sperm hacmi-ağırlık arasında bir ilişki olmadığı tespit edilmiştir (Şekil 4.3).



Şekil 4.3 Sperm Hacmi-Balık Ağırlığı İlişkisi.

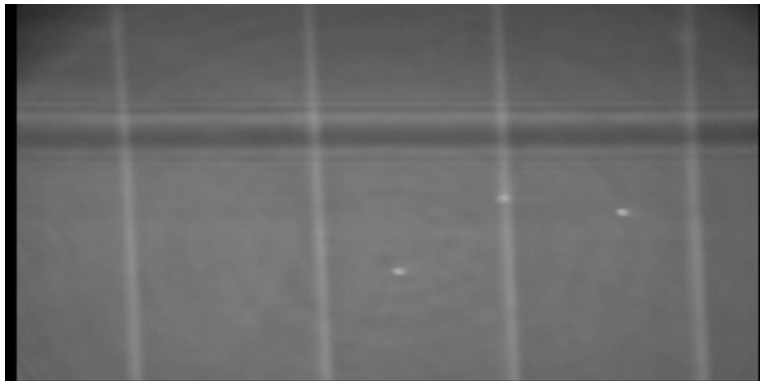


Şekil 4.4 Sperm Hacmi-Balık Boyu İlişkisi.

Sperm hacmi-boy arasındaki ilişki incelendiğinde de benzer sonuç ile karşılaşılmıştır. Bu ilişki $y: -0.0021 + 6.5793$ olarak tanımlanmış korelasyon katsayısı $r: 0.30$ olarak saptanmıştır. Her iki karakterin sperm hacmi arasında negatif allometri saptanmıştır (Şekil 4.4).

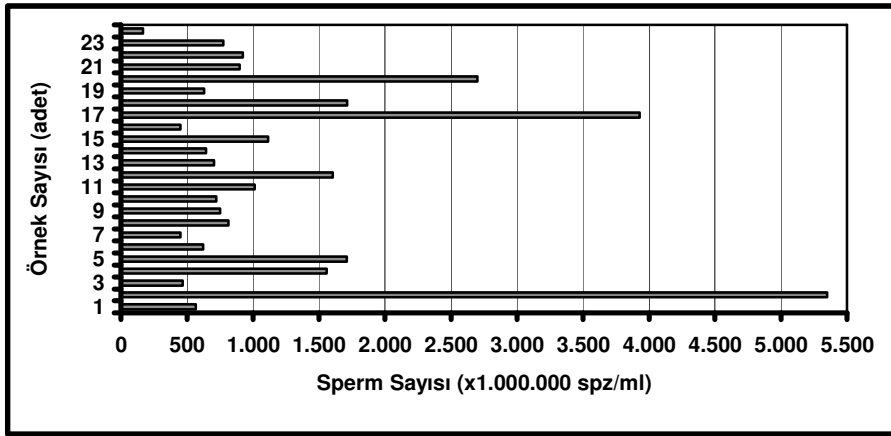
4.3. Konsantrasyon

Bu bölümde seminal plazma içindeki spermatozoa yoğunluğu thoma sayma kamarasında incelenmiştir (Şekil 4.5).



Şekil 4.5 Thoma Sayma Kamarasında Spermilerin Sayımı.

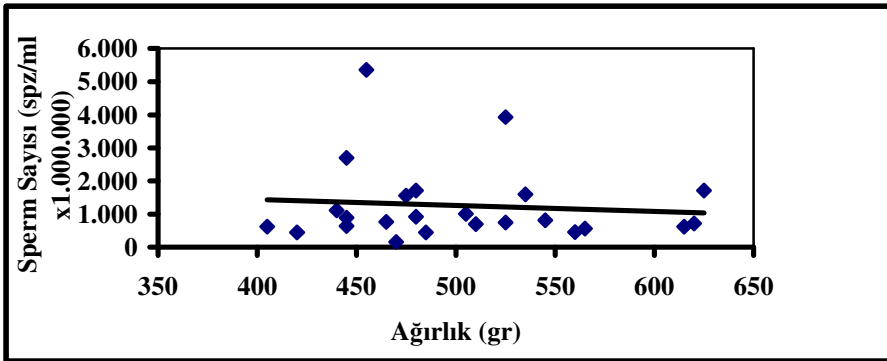
Çalışmada elde edilen verilere göre çipura spermlerinde en yoğun konsantrasyon 5.35×10^9 spz.ml⁻¹ ile 2 numaralı denekte, en düşük sperm konsantrasyonu 0.16×10^9 spz.ml⁻¹ ile 24 numaralı denekte tespit edilmiştir (Şekil 4.6).



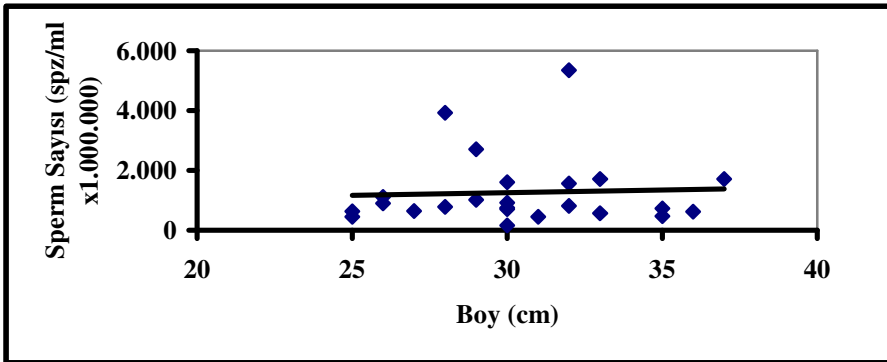
Şekil 4.6 Sperm Konsantrasyonu.

Sperm konsantrasyonu ağırlık, boy ve sperm hacmi arasındaki ilişki incelenmiştir. Sperm konsantrasyonu-ağırlık arasındaki ilişki tanımlanmıştır. Elde edilen sonuçlara göre sperm konsantrasyonu-ağırlık ilişkisi $y: -1.7755x + 2151.8$ olarak saptanmıştır. Aynı zamanda korelasyon katsayısının çok zayıf olduğu ($r: 0.09$) tespit edilmiştir (Şekil 4.7).

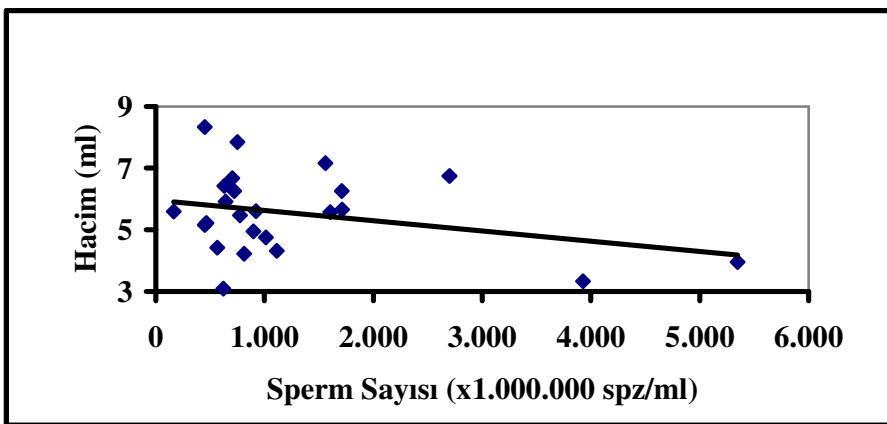
Sperm konsantrasyonu-boy arasındaki ilişki incelendiğinde ($y: 17.163 + 739.76x$, $r: 0.04$) sperm konsantrasyonu-ağırlık arasındaki ilişkide olduğu gibi korelasyon katsayısının çok zayıf olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.8). Sperm konsantrasyonu – hacim arasındaki ilişki $y: -0.0003 + 5.9559x$ olarak tespit edilmiştir. Sperm konsantrasyonu-sperm hacmi arasında korelasyon katsayısı $r: 0.30$ olarak saptanmıştır. Üç özellik arasında ilişki olmadığı tespit edilmiştir (Şekil 4.9).



Şekil 4.7 Sperm Konsantrasyonu – Ağırlık İlişkisi.



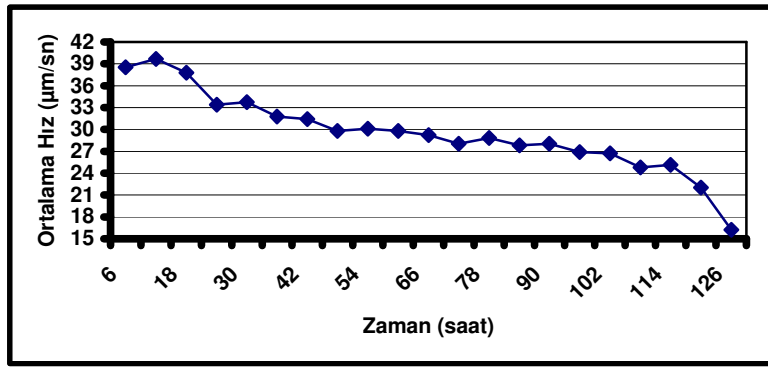
Şekil 4.8 Sperm Konsantrasyonu – Boy İlişkisi.



Şekil 4.9 Sperm Konsantrasyonu – Hacim İlişkisi.

4.4. Hız

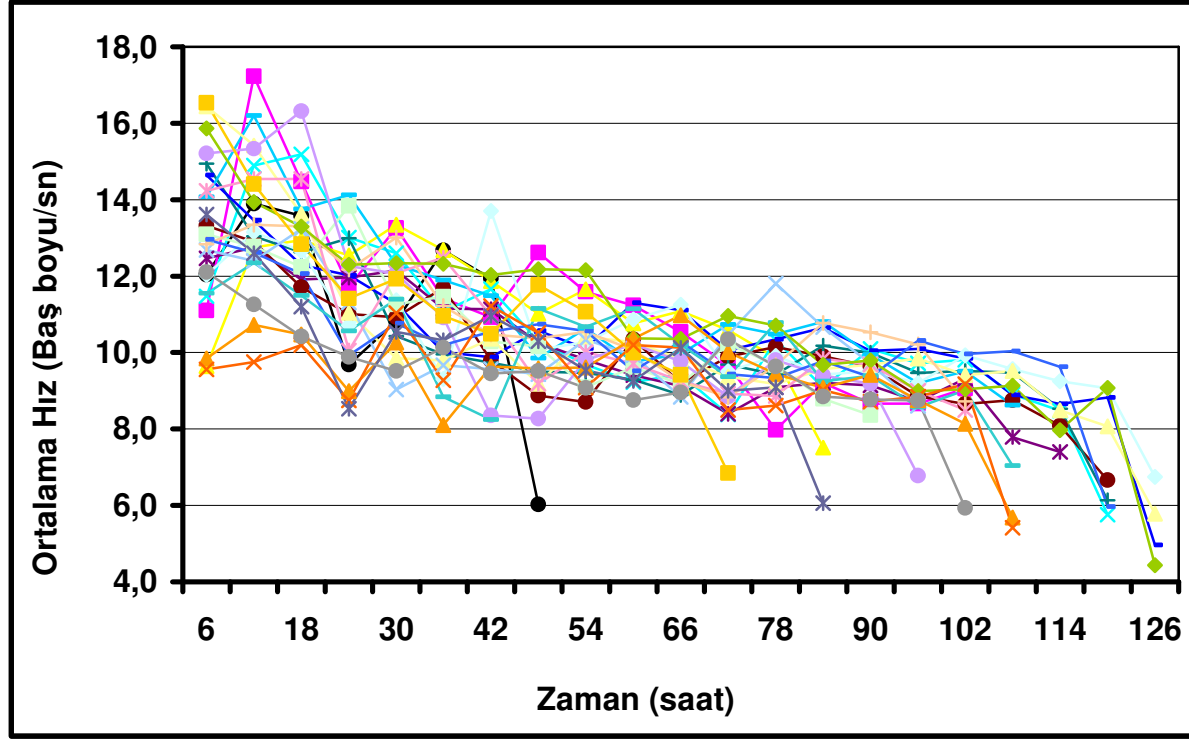
Çalışmada çipura spermelerinin hızı hem metrik (Şekil 4.10), hem de baş boyu uzunluğu cinsinden (Şekil 4.11) olarak iki farklı şekilde hesaplanmıştır. Her denekten alınan sperm örneklerinin hızları 6 saatte bir ölçülmüştür. Bu sisteme göre en düşük ortalama hız 22 numaralı denekte 9.3 ± 1.28 başboy.sn⁻¹ (55.2 ± 7.58 µm.sn⁻¹), en yüksek ortalama hız ise 11.5 ± 2.44 başboy.sn⁻¹ (67.9 ± 14.46 µm.sn⁻¹) olarak 20 numaralı denekte tespit edilmiştir.



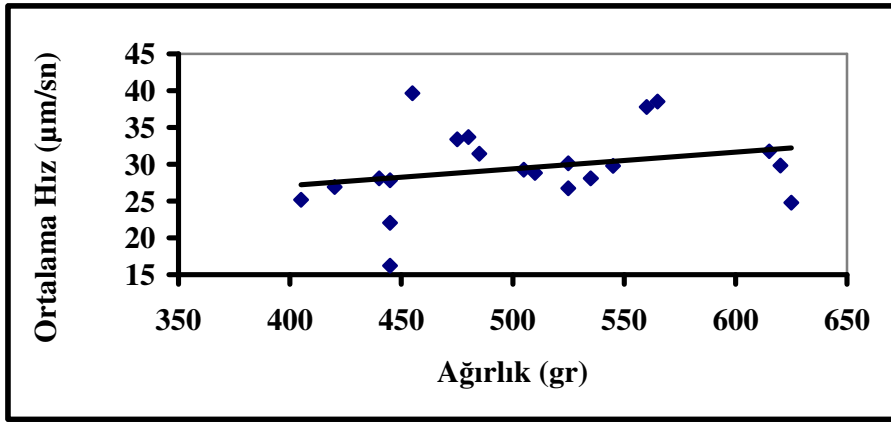
Şekil 4.10 Çipura Spermelerinin Hız Dağılımı (µm.sn⁻¹)

Çalışma süresince tüm denek ve zamanlarda baş boyuna endeksli en yüksek hız 35.5 başboy.sn⁻¹ (210.16 µm.sn⁻¹), en düşük hız 2.6 başboy.sn⁻¹ (15.39 µm.sn⁻¹) olarak saptanmıştır.

Bu bölümde sperm hızı ile ağırlık, boy, sperm hacmi ve sperm konsantrasyonu arasında ilişki incelenmiştir. Sperm hızı-ağırlık ilişkisi y: $0.0227x + 18.012$ olarak tespit edilmiştir. İki özellik arasında çok zayıf korelasyon katsayısı ($r:0.27$) tespit edilmiştir (Şekil 4.12).

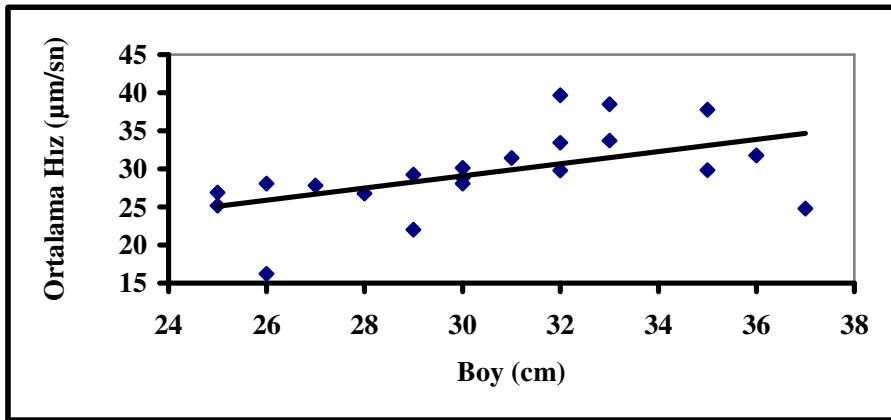


Şekil 4.11 Çipura Spermlerinin Hız Dağılımı (başboy.sn⁻¹).



Şekil 4.12 Ortalama hız ($\mu\text{m}.\text{sn}^{-1}$) – Ağırlık ilişkisi.

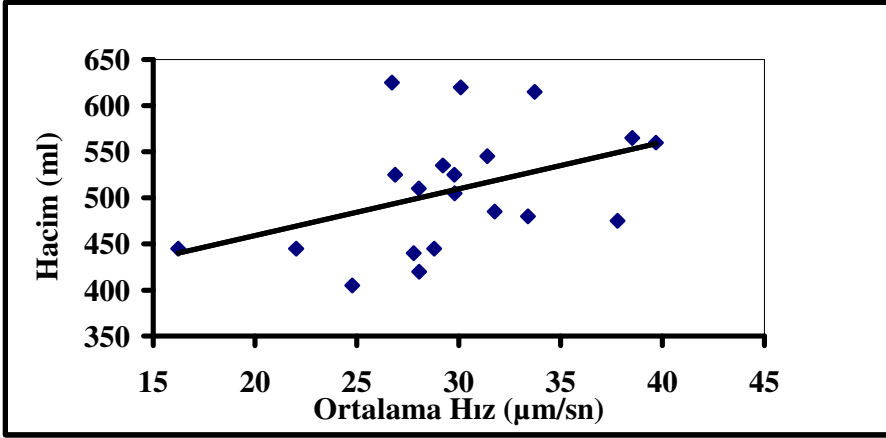
Sperm hızı-boy arasında ilişki $y: 0.8x+5.0894$ olarak saptanmıştır. Bununla birlikte yapılan incelemede sperm hızı-boy arasında korelasyon katsayısı ($r:0.52$) çok düşük bir değer bulunmuştur. Bunun sonucunda sperm hızı-boy arasında bir ilişki olmadığı saptanmıştır (Şekil 4.13).



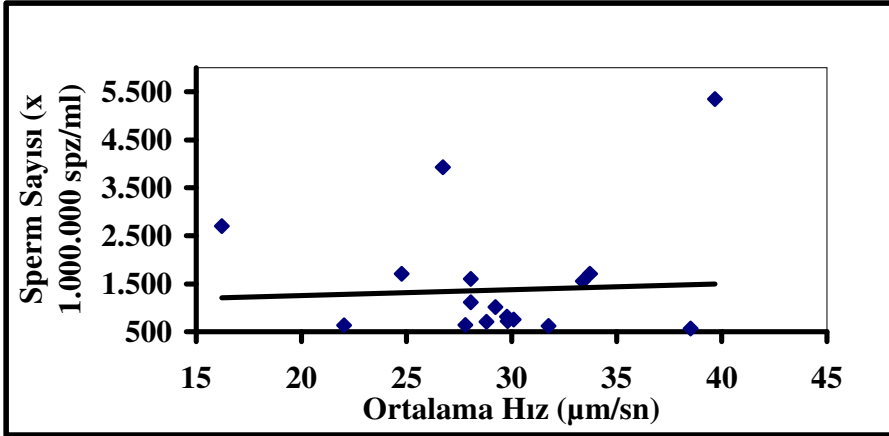
Şekil 4.13 Ortalama hız ($\mu\text{m}.\text{sn}^{-1}$) – Boy ilişkisi

Benzer sonuçlar sperm hızı-sperm hacmi ($y: 5.0753x+357.63$, $r:0.41$) ve sperm hızı-sperm konsantrasyonu arasında ($y:12.535x+1002.6$, $r:0.05$) tespit edilmiştir (Şekil 4.14, 15). Elde edilen sonuçlara göre sperm

hızının meristik karakterler, hacim ve konsantrasyon ile pozitif allometri gösterdiği saptanmıştır.



Şekil 4.14 Ortalama Hız ($\mu\text{m}.\text{sn}^{-1}$) – Hacim İlişkisi.



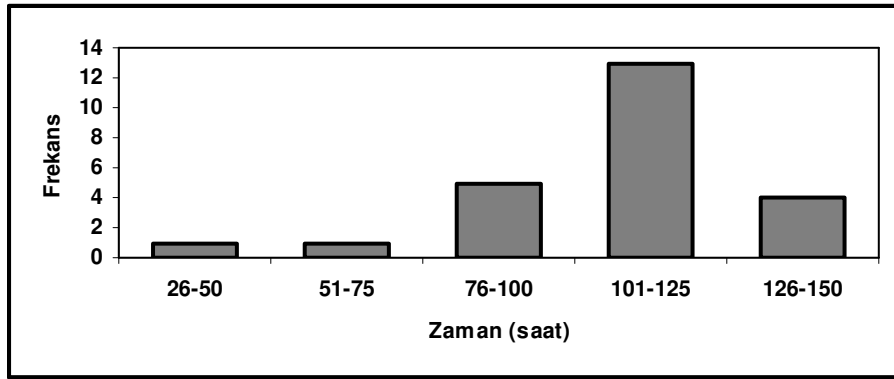
Şekil 4.15 Ortalama Hız ($\mu\text{m}.\text{sn}^{-1}$) – Konsantrasyon İlişkisi

Spermilerin saatlere bağlı olarak hızları karşılaştırıldığında farklılık önemli bulunmuştur ($p < 0.05$). 15 denneğin zamana bağlı hız değişimlerinde farklılık olmamasına rağmen 3. denek ile 1,2,3,9 ve 20. deneklerin arasında farklılıklar önemlidir ($p < 0.05$). Bu deneklerin diğer

deneklerle ilişkisi ayrı ayrı incelendiğinde ilişkinin önemsiz ($p>0.05$) olduğu saptanmıştır.

4.5. Muhafaza Süresi

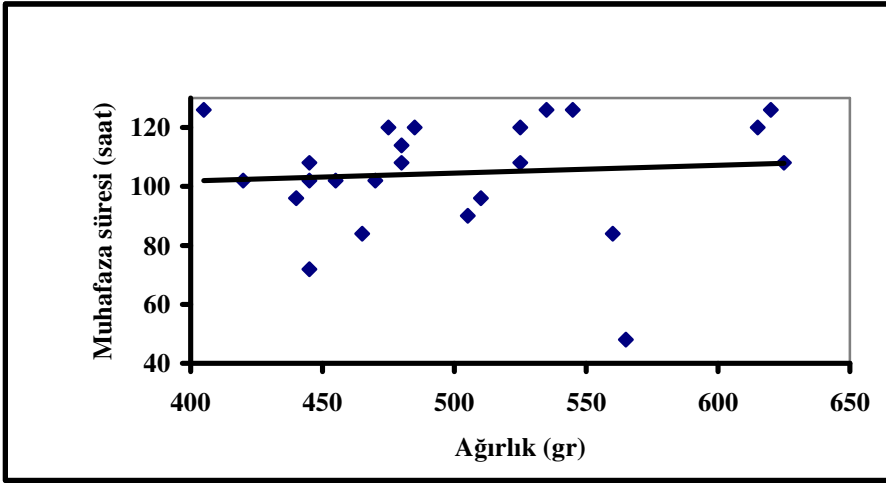
Çipura anaçlarından elde edilen spermilerin kısa süreli korunumu ile ilgili çalışma toplam 126 saat sürmüştür. İncelemenin sonunda anaç balıklardan alınan sperm örneklerinden bir tanesi 26-50 saat, bir tanesi 51-75 saat, beş tanesi 76-100 saat, 13 tanesi 101-125 saat ve 4 tanesi 126-150 saat arası hareketliliklerini sürdürmüştür. En düşük aktivasyon süresi 48, en yüksek aktivasyon süresi ise 126 saat olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.16). Ortalama olarak bu değer 104.5 ± 19.13 olarak tespit edilmiştir.



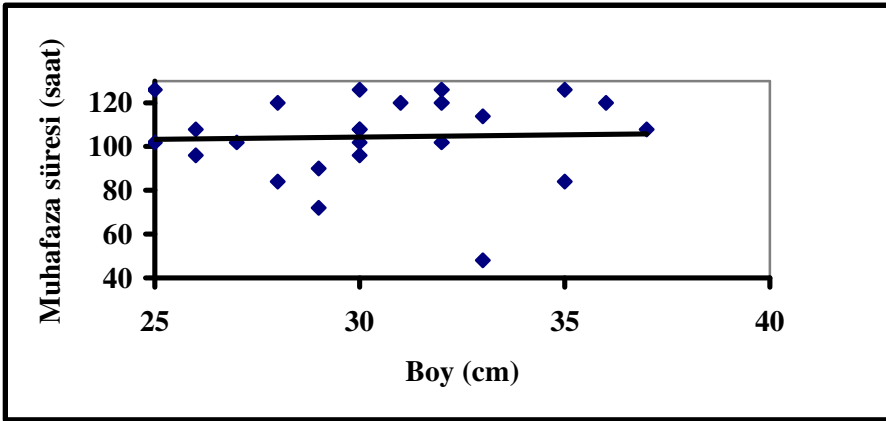
Şekil 4.16 Muhafaza Süresi

Muhafaza süresi-ağırlık arasında ilişki $y: 0.0264x+4791.277$ olarak saptanmıştır. Korelasyon katsayısı $r: 0.08$ olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.17).

Muhafaza süresi-boy arasında $y: 0.2105x+98.105$ ilişki saptanmış ve çok düşük korelasyon katsayısı ($r: 0.03$) elde edilmiştir (Şekil 4.18). Muhafaza süresi-meristik karakterler arasında pozitif allometri bulunmuştur.



Şekil 4.17 Muhafaza Süresi – Ağırlık İlişkisi

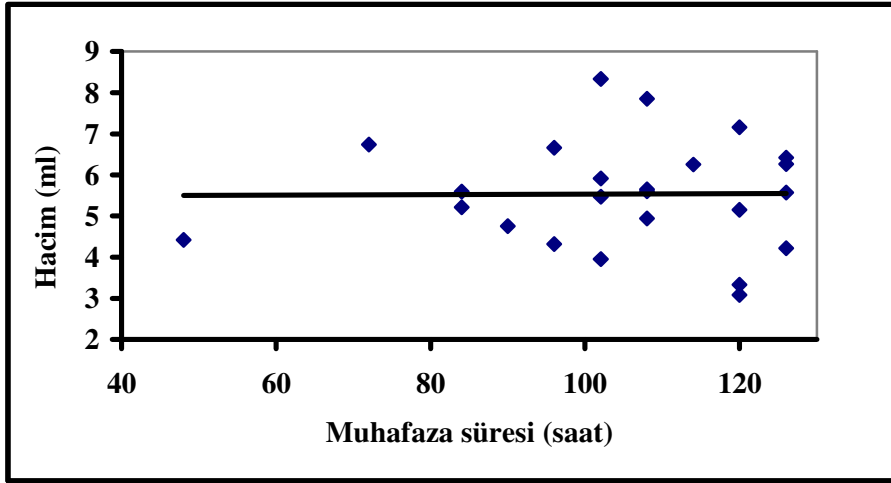


Şekil 4.18 Muhafaza Süresi – Boy İlişkisi

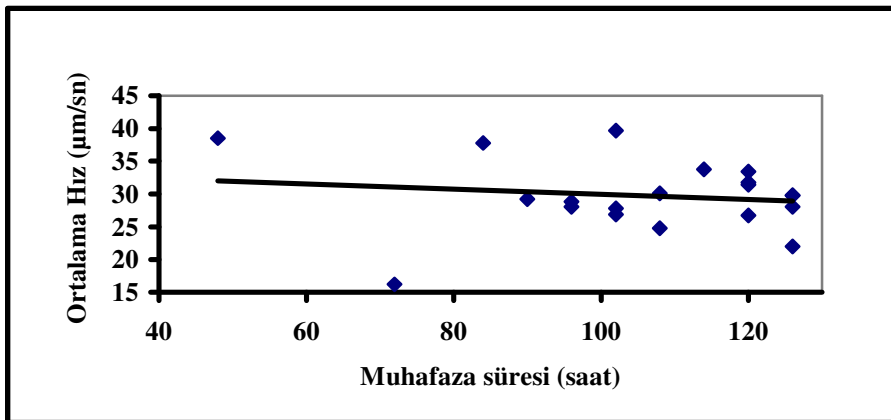
Muhafaza süresi-sperm hacmi arasında da benzer ilişki saptanmıştır. Buna göre iki özellik arasında ilişki $y: 0.0006x+5.4753$

tespit edilmiştir. Muhafaza süresi-sperm hacmi arasında korelasyon katsayısı (r : 0.01) çok düşük bir değerde bulunmuştur (Şekil 4.19).

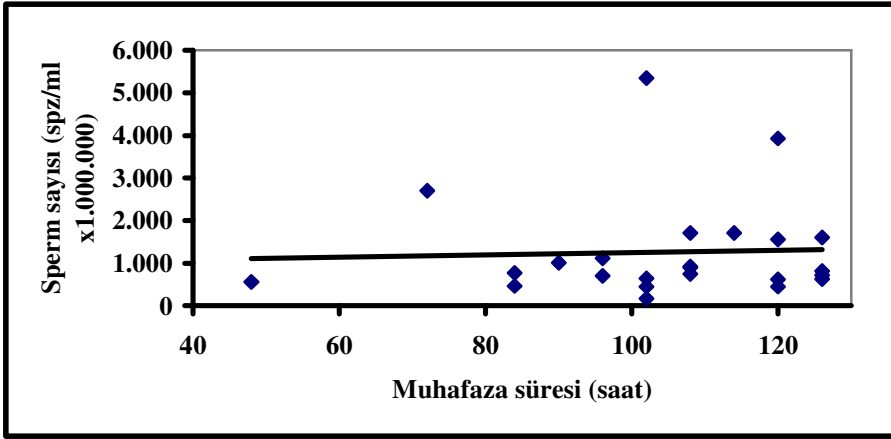
Elde edilen verilere göre muhafaza süresi-sperm hızı arasında ilişki $y:0.0396x+34.901$ olarak tespit edilmiştir. Bununla birlikte yapılan incelemede $r:0.14$ gibi çok zayıf korelasyon katsayısı saptanmıştır. Bunun sonucu olarak muhafaza süresi-sperm hızı arasında ilişki yoktur (Şekil 4.20).



Şekil 4.19 Muhafaza Süresi – Sperm Hacmi İlişkisi.



Şekil 4.20 Muhafaza Süresi – Sperm Hızı İlişkisi



Şekil 4.21 Muhafaza Süresi – Sperm Konsantrasyonu İlişkisi

Muhafaza süresi-sperm konsantrasyonu arasında ilişki $y: 2.6293x+986.34$ saptanmıştır (Şekil 4.21). Korelasyon katsayısı muhafaza süresi-sperm hızında olduğu gibi ilişkinin çok zayıf olduğu tespit edilmiştir ($r: 0.04$).

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Akuakültürün gelişimiyle birlikte özellikle son yıllarda denizel türlerin genetik ıslahı, korunması ve anaç yönetiminde kısa süreli ve uzun süreli muhafazasının önemi ortaya çıkmıştır. Bununla birlikte üretim çiftliklerinde ticari açıdan dişi balığa olan ilginin yoğun olması balıklar üzerinde genetik oynamaların yapılarak popülasyonun dişileştirilmesine neden olmuştur. Örneğin; Fransa’da alabalık çiftliklerinde balık popülasyonunun %85’i dişi geri kalan ise neredeyse fonksiyonel olmayan erkek bireylerden oluşmaktadır. Bunun sonucu olarak dişi bireyleri dölleyecek erkek bireylerin yok olması kaçınılmazdır.

Ayrıca balık spermlerinin korunmasının nesli yada genetik saflığı tehlikedeki canlıların gametlerinin saklanması için de çok uygun bir metot olduğu görülmektedir. Hastalıklara, mevsimsel üreme sorunlarına karşı muhafaza teknikleri oldukça avantajlıdır. Bununla birlikte anaç sayısının bu yolla azaltılması kontrolü arttırırken hastalık oranlarını da düşürecektir.

Bu çalışmada ülkemizde deniz balığı yetiştiriciliği alanında üretimi başarıyla yapılan çipura (*Sparus aurata*) balığının sperm morfolojisi ve kısa süreli korunumu incelenmiştir. Ebeveynlerin meristik karakterleri, sperm hacimleri, sperm konsantrasyonu, sperm hızı, spermelerin muhafaza süreleri ve aralarındaki ilişkiler bu çalışmada ele alınan konulardır.

Tatlı su balıkları ile ilgili yapılan sperm çalışmaları deniz balıklarının sperm özelliklerinin belirlenmesinde araştırmacılara bir yol açmış ve bununla ilgili çalışmalar 2000’li yıllara bakıldığında giderek

artmıştır. Levrek (*Dicentrarchus labrax*) balığı ile ilgili sperm çalışmalarında levrek sperm hacmi $2.1-5.3 \text{ ml.kg}^{-1}$ arasında değiştiği bildirilmiştir (Astuirano ve diğ., 2001). Başka bir araştırmada ise bu sayısının $1-2 \text{ ml.kg}^{-1}$ arasında olduğu belirtilmiştir (Felip ve diğ., 2006). Yine sperm hacmi ile ilgili olarak alabalık (*Oncorhynchus mykiss*) de bu sayı $4.8-6.5 \text{ ml.kg}^{-1}$ (Geffen ve Evens, 2000) dır. Fangri (*Pagrus pagrus*) balığında $1.7-5.3 \text{ ml.kg}^{-1}$ (Mylonas ve diğ., 2003), kalkan (*Psetta maxima*) balığında ise $0.4-1.25 \text{ ml.kg}^{-1}$ (Chen ve diğ., 2004) ve 2.2 ml.kg^{-1} (Suquet ve diğ., 2000) olarak tespit edilmiştir. Çipura (*Sparus aurata*) balığı sperm hacmi üzerine yapılmış olan çalışmalarda ise bu miktar $2.6-7 \text{ ml.kg}^{-1}$ olarak bildirilmiştir (Barbato ve diğ., 2003). Çalışmada sperm hacmi $3-8 \text{ ml.kg}^{-1}$ olarak bulunmuştur. Alınan sonuçlarda değişim oranının diğer çalışmalarda da olduğu gibi yüksek olduğu gözlenmiştir. Elde edilen bu bulgular yapılan çalışmalar ile paralellik göstermektedir.

Levrek balığı sperm konsantrasyonu $2.1-7.5 \times 10^9 \text{ spz.ml}^{-1}$ (Astuirano ve diğ., 2001), $5-55 \times 10^9 \text{ spermatozoa/ml}$ (Felip ve diğ., 2006) ve $50-60 \times 10^9 \text{ spz.ml}^{-1}$ (Fauvel ve diğ., 1999) olarak üç farklı çalışmada ortaya konmuştur. Alabalıkta bu oran $11.7-17.25 \times 10^9 \text{ spz.ml}^{-1}$ (Babiak ve diğ., 2002), $48-114 \times 10^9 \text{ spz.ml}^{-1}$ (Cabrita ve diğ., 1998) ve $6-10 \times 10^9 \text{ spz.ml}^{-1}$ (Glogowski ve diğ., 2000) olarak değişmektedir. Mylonas ve diğ., (2003) fangri balığı spermleri üzerine yaptıkları çalışmada sperm konsantrasyonu $8.6-23.7 \times 10^9 \text{ spz.ml}^{-1}$ bildirmiştir. Chereguini ve diğ., (1999) kalkan balığında $0.4-5,18 \times 10^9 \text{ spz.ml}^{-1}$, Fauvel ve diğ., (1992) $0.7-11 \times 10^9 \text{ spz.ml}^{-1}$ ve Suquet ve diğ., (2000) $20-55 \times 10^9 \text{ spz.ml}^{-1}$ olarak konsantrasyonu tespit etmişlerdir. İki farklı araştırmacı çipura balığı için bu oranın $11.6-26.7 \times 10^9 \text{ spz.ml}^{-1}$ (Barbato ve diğ., 2003) ve $5.5-17.5 \times 10^9 \text{ spz.ml}^{-1}$ (Cabrita ve diğ., 2005) olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmada ise çipura sperm konsantayonunun ortalama

$0.16-5.35 \times 10^9$ spz.ml⁻¹ arasında olduğu tespit edilmiştir. Alınan sonuçlar konsantrasyonun diğer çalışmalara göre kısmen düşük olduğu saptanmıştır. Bu olay genetik faktörler, besleme, üretim periyodu uzunluğu ve yetiştiricilik koşulları ile ilgili olabilir.

Deniz levreği için Fauvel ve diğ., (1999) baş boyunu $6.6-14.3 \mu\text{m}^2$ değiştiğini bildirmiştir. Lahnsteiner ve Patzner, (1998) sargos (*Diplodus sargus*) balığı sperm baş boyunu $9.4-10.2 \mu\text{m}^2$ olduğunu belirtmiştir. Sivriburun karagöz (*Diplodus puntazzso*) balığında $3-5 \mu\text{m}^2$ (Taddei ve diğ., 2001), kalkan balığında $15 \mu\text{m}^2$ olduğu yapılan çalışmalarda tespit edilmiştir (Dreanno ve diğ., 1999). Çipura spermlerinin baş boyu ile ilgili bir çalışma yapılmamıştır. Çalışmada çipura sperm baş boyu $5.9-6.4 \mu\text{m}^2$ arasında değiştiği gözlenmiştir. Sonuçlar diğer *Sparidae* türlerinin baş boyu sonuçları ile benzerdir.

Yapılan çalışmalarda spermatozoa hızının aktivasyon süresiyle pozitif bir ilişki halinde olduğu görülür. Motilite sınıflandırmasında spermelerin yüzme hızlarından yararlanılır. Yüzme hızı $< 5 \mu\text{m}.\text{sn}^{-1}$ olan spermatozoalar, (%) hareketsiz spermatozoa olarak, yüzme hızı $>20 \mu\text{m}.\text{sn}^{-1}$ olan spermatozoalar, (%) hareketli spermatozoa olarak, yüzme hızı $5-20 \mu\text{m}.\text{sn}^{-1}$ olan spermatozoalar, (%) local hareketli spermatozoalar olarak tanımlanırlar (Lahnsteiner, 2000). Günümüze kadar yapılan çalışmalarda tatlı su ve deniz balıklarının sperm hızları ile ilgili çok az bilimsel çalışma yapıldığı görülmektedir. Linhart ve diğ., (2005) yayın balığı (*Silurus glanis*) sperm hızı $37-85 \mu\text{m}.\text{sn}^{-1}$ olduğunu yapmış oldukları çalışmada tespit etmişlerdir. Lahnsteiner ve Patzner (1998) dört deniz balığı spermlerinin hızlarını tespit etmişlerdir. İstavrit (*Trachurus mediterraneus*) balığı sperm hızını $119 \mu\text{m}.\text{sn}^{-1}$, barbun (*Mullus barbatus*)

balığı sperm hızını $161 \mu\text{m.sn}^{-1}$, kopez (*Boops boops*) balığı sperm hızını $125 \mu\text{m.sn}^{-1}$ ve sargos (*Diplodus sargus*) balığı sperm hızını $127 \mu\text{m.sn}^{-1}$ olduğunu belirtmişlerdir. Dreanno ve diğ., (1999) kalkan balığı sperminin hızını $160\text{-}230 \mu\text{m.sn}^{-1}$ olarak saptamışlardır. Çipura spermlerinin hızı ile ilgili bir çalışma yoktur. Çalışmada çipura sperm hızı $15.39\text{-}210.16 \mu\text{m.sn}^{-1}$ tespit edilmiştir.

Balık spermlerinin kısa süreli stoklama sıcaklıkları $0\text{-}12\text{ }^{\circ}\text{C}$ arasında değişiklik göstermektedir. Fakat yaygın olarak kullanılan stoklama sıcaklığı $0\text{-}4\text{ }^{\circ}\text{C}$ arasındadır. Spermilerin stoklama süreleri ise $1\text{-}21$ gün arasında değişim göstermektedir. Büyükhatipoğlu ve Holtz, (1978)'un alabalıklar üzerinde yapmış olduğu çalışmalarda $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de 21 gün alabalık spermilerinin canlılıklarını sürdürdüğü bildirilmiştir. Scott ve Baynes, (1980) $0\text{-}5\text{ }^{\circ}\text{C}$ de 8 gün, $5\text{-}10\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de $2\text{-}3$ gün, $12\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de alabalık spermilerinin bir günden daha az canlılıklarını sürdürdüğünü bildirmiştir. Canyurt ve diğ., (2003) $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de 17 gün alabalık spermelerini canlı tutmuşlardır. Sazan balığı (*Cyprinus carpio*) spermeleri $2\text{-}5\text{ }^{\circ}\text{C}$ sıcaklıkta $2\text{-}3$ gün muhafaza edilmiştir (Hulata ve Rothbard, 1979). Muhafaza süresi ile ilgili farklı türlerde de çalışmalar mevcuttur. Örneğin *Sarotherodon mossambicus* spermi $5\text{ }^{\circ}\text{C}$ sıcaklıkta $2\text{-}5$ gün (Harvey ve diğ., 1984), *Mystus gulio* $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ stoklama sıcaklığında $7\text{-}8$ gün (Sunitha ve Jayaprakas, 1997), *Labeo fimbriatus* $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de 1 gün (Akash, 2001), *Tor khudree* $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ sıcaklıkta $4\text{-}5$ gün muhafaza edildiği bildirilmiştir (Basavaraja ve Hegde, 2005). Levrekte ise bu $0\text{-}2\text{ }^{\circ}\text{C}$ stoklama sıcaklığında $3\text{-}5$ gün arasında muhafaza edildiği araştırmacılar tarafından belirtilmiştir (Sansone ve diğ., 2001). Çipura balığı spermeleri $0\text{-}2\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de yaşam sürelerinin $4\text{-}6$ gün olduğu Barbato ve diğ., (2003) tarafından bildirilmektedir. Çalışmada 0

⁰C sıcaklıkta 126 saat çipura spermlerinin yaşadıkları tespit edilmiştir. Çalışmada elde ettiğimiz veriler Barbato ve diğ., (2003) yapmış olduğu çalışmayla benzerlik göstermektedir.

Ebeveyn ağırlığı ve boyu ile sperm hacimleri, sperm konsantrasyonu, sperm hızı, spermelerin muhafaza süreleri aralarında ilişki olmadığı tespit edilmiştir. Aynı zamanda sperm hacimleri, sperm konsantrasyonu, sperm hızı ve spermelerin muhafaza süreleri arasındaki ilişkiler incelenmiş fakat anlamlı bir ilişki bulunamamıştır. Kullanılan ebeveynler aynı yetiştiricilik ortamından, aynı üretim ve besleme koşullarından temin edilmiştir. Bütün damızlıkların orijini yetiştiricilik kökenli olup +1 yaşındadır. Buna rağmen ebeveynler ile belirtilen özellikler arasında ilişki kurulamaması bu özelliklerin genetik koşullar ile ilişkili olduğu sonucunu ortaya koymuştur.

Bu çalışmadan elde edilen diğer bir sonuç ise çipura spermlerinin 0 °C de 126 saat hiç bir katkı maddesi eklenmeden saklanabileceğini ortaya koymasındır. Bu sonuç göz önüne alınarak özellikle ilk 24 saat üreme biyolojisi-çevre ilişkilerinin sınanmasında bu metodun kullanılmasının mümkün olduğu ortaya konmuştur. Bununla birlikte spermelerin kalitesi ile ilgili çalışmalarda kalite kriterlerinin sınanmasında bu metodun kullanılabileceğide tespit edilmiştir.

Memeli spermlerinin doğal koşullarda döllemesi gereken yumurta sayısı balık spermeleri ile kıyaslandığında çok daha az olduğu görülmektedir. Bununla birlikte dış dölleme ile üreyen canlılar döllemenin gerçekleştiği ortamdan yani anne rahminden yoksundur. Balıklardan elde edilen yumurta sayısı çok fazla olmasına karşın, balık

spermlerinin yaşamı sucul ortamda çok kısadır. Bu kısıtlılık doğal ortamda avantaj sağlarken, yetiştiricilikte dezavantaja dönüşmektedir. Yapay döllenmenin tam kontrollü labaratuvar ve kültür koşullarından yoksunluğu yetiştiricilikte pratik ve uygulanabilir çözümlerin getirilmesini zorunlu hale getirmektedir. Ancak üretimi yapılan tür sayısının çok fazla olması standart bir soğuk muhafaza metodunun oluşturulmasını olanaksız kılmaktadır.

Spermilerin uzun süreli soğuk muhafazası, bir dizi karmaşık fiziksel ve kimyasal olayları içermektedir. Dondurma ve çözündürme aşamaları süresince hücre içi buz kristallerinin oluşumunu önlemek yada minimize etmek gerekir. Bununla birlikte çözündürme aşamasında hücre zarının deplazmolize uğraması ve çökmesi gibi durumlar da gerçekleşebilir. Bu konuyla ilgili halen pek çok çalışma eksik bilgi ve yarım kalan belirsiz sonuçlar nedeniyle tam bir literatür oluşturamamıştır.

Ülkemiz akuakültüründe balık spermilerinin korunumunun oldukça yeni bir konu olması, bu çalışmanın orijinalliğini ortaya koymuştur. Bundan sonra yapılacak olan çalışmalarda yetiştiriciliği yapılan alternatif türlerin spermilerinin uzun süreli muhafazası çalışılmalı ve çalışmaların yoğunlaştırılarak soğuk muhafaza protokolleri standartlaştırılmalıdır.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Abellan, E. And Basurco, B.,** 1999, Finfish species diversication: Current situtation and prospects in Mediterranean Aquaculture. CIHEAM/FAO, Options Mediterraneennes, 24 (B): 139p.
- Akash, N.,** 2001, Preservation of gametes and fertilization methodology in fringe-lipped carp, (*Labeo fimbriatus* B.) MFSc thesis, University of Agricultural Sciences, Bangalore, India, p: 54.
- Alpbaz, A.,** 1990, Deniz Balıkları Yetiştiriciliği. Ege Üniv. Yayınları, sayı: 20, Ege Üniversitesi Basımevi, İzmir.
- Asturiano, J.F., Sorbera, L.A., Carrillo, M., Zanuy, S., Ramos, J., Navarro, J.C., Bromage N.,** 2001, Reproductive performance in male European sea bass_*Dicentrarchus labrax*, L./fed two PUFA-enriched experimental diets: a comparison with males fed a wet diet Aquaculture 194, 173–190.
- Babiak, I., Glogowski, J., Dobosz, S., Kuzmimski, H., and Goryczko, K.,** 2002, Semen from rainbow trout produced using cryopreserved spermatozoa is more suitable for cryopreservation *Journal of Fish Biology* (2002) 60, 561–570.
- Barbato, F., Canese, S., Moretti, F., Misiti, S., Laconi F., and Rana, K.,** 2003, Preliminary experiences for cryopreservation of *Sparus aurata* and *Diplodus puntazzo* semen Technology of Aquaculture in the Mediterranean p: 281-287.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devamı)

- Basavaraja, N., Hedge, S.N.,** 2005, Cryopreservation of the endangered mahseer (*Tor khudree*) spermatozoa: Effect of extender composition, cryopreservation, cryoprotectant, dilution ratio and storage period on post thaw viability.
- Basurco,** 1999, Finfish species diversification the context of Mediterranean marine fish farming development. Options Mediterraneennes, Series Cahiers, Serie B No:24. pp17 .
- Billard, R., Cosson, J., Crim, L.W., Suquet, M.,** 1992, Sperm physiology and quality.
- Billard R., Cosson J. & Linhart O.** 2000, Changes in the flagellum morphology of intact and frozen/thawed Siberian sturgeon sperm during motility. Aquaculture Research 10, 283-287.
- Billard, R., Cosson, J., Noveiri, S.B., Pourkazemi, M.,** 2004, Cryopreservation and short-term storage of sturgeon sperm, a review Aquaculture 236, 1-9.
- Büyükhatipoğlu, S., & Holtz, W.,** 1978, Preservation of trout sperm in liquid and frozen state Aquaculture 14, 49-56.
- Cabrita, E., Alvarez, R., Anel, L., Rana, K.J., and Herraiez, M.P.,** 1998, Sublethal damage during cryopreservation of rainbow trout sperm Cryobiology 37, 245–253.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devamı)

- Cabrita, E., Robles, V., Rebordinos, L., Sarasquate, C., Herraiez, M.P.,** 2005, Evaluation of DNA damage in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and gilthead sea bream (*Sparus aurata*) cryopreserved sperm Cryobiology 50, 144-153.
- Chen, S., Ji, X., Yu, G., Tian, Y., Sha, Z.,** 2004, Cryopreservation of sperm from turbot (*Scophthalmus maximus*) and application to large- scale fertilization Aquaculture 236, 547-556.
- Canyurt, M.A., Akhan, S., Takma, Ç.,** 2003, Gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss* W.) spermlerinin kısa süre saklanması üzerine bir çalışma E.U. Journal of Fisheries & Aquatic Sciences Cilt/Volume 20, Sayı/Issue (3-4): 537 – 542.
- Carolsfeld, J., Godinho, H.P., Zaniboni, E., Harvey, B.J.,** 2003, Cryopreservation of sperm in Brazilian migratory fish conservation Journal of Fish Biology Volume: 63, Issue: 2, Page: 472-489.
- Chereguini, O., Garcí'a de la Banda, I., Rasines, I. & Fernandez, A.** 1999, Artificial fertilization in turbot, (*Scophthalmus maximus* L.): different methods and determination of the optimal sperm-egg ratio Aquaculture Research 30, 319–324.
- Chereguini, O., Garcí'a de la Banda, I., Herrera, C., Martinez & De la Hera, M.** 2003, Cryopreservation of turbot (*Scophthalmus maximus* L.) sperm: fertilization and hatching rate Aquaculture Research 34 739-747.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devamı)

- Christensen J.M. & Tiersch T.R.** 1996, Refrigerated storage of channel catfish sperm. Journal of the World Aquaculture Society 27, 340-346.
- DİE**, 2004, Su Ürünleri İstatistikleri. T.C. Başbakanlık Devlet İstatistik Ens., Ankara
- DİE**, 2006, Su Ürünleri İstatistikleri. T.C. Başbakanlık Devlet İstatistik Ens., Ankara
- Dreanno, C., Cosson, J., Suquet, M., Seguin, F., Dorange, G., and Billard, R.**, 1999, Nucleotide content, oxydative phosphorylation, morphology, and fertilizing capacity of turbot (*Psetta maxima*) spermatozoa during the motility period Molecular Reproduction And Development 53: 230-243.
- Dong, Q., Huang, C., Tiersch, T.**, 2006, Sperm cryopreservation of a live-bearing fish, the platyfish *Xiphophorus couchianus* Theriogenology, Volume 62, Issue 6, Pages 971-989.
- Dreanno, C., Suquet, M., Desbruyeres, E., Cosson, J., Delliou, H., Billard, R.**, 1998, Effect of urine on semen quality in turbot (*Psetta maxima*) Aquaculture 169, 247-262.
- Dreanno, C., Suquet, M., Quemener, L., Cosson, J., Fierville, F., Normant, Y., and Billard R.**, 1997, Cryopreservation of turbot (*Scophthalmus maximus*) spermatozoa Theriogenology 48: 589-604.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devamı)

FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations)

2006, Fisheries Department. Databases and Statistics:
<http://www.fao.org/fi/statist/statist.asp>.

Fauvel, C., Omnes, M.H., Suquet, M., Normant, Y., 1992, Reliable assessment of overripening in turbot (*Scophthalmus maximus*) by a simple pH measurement , Aquaculture 117, 107-113.

Fauvel, C., Suquet, M., Dreanno, C., Zonno, V., Menu, B., 1999, Cryopreservation of the sea bass (*Dicentrarchus labrax*) spermatozoa in experimental and production simulating conditions Aquat. Living Resour. 11, 387-394.

Felip, A., Zanuy, S., Carrillo, M., 2006, Comparative analysis of growth performance and sperm motility between precocious and non-precocious males in the European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) Aquaculture Volume: 256 Issues: 1-4 Pages: 570-578.

Geffen, A.J., and Evans, J.P., 2000, Sperm traits and fertilization success of male and sex-reversed female rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) Aquaculture 182, 61-72.

Glogowski, J., Kwasnik, M., Piros, B., Dabrowski, K., Goryczko, K., Dobosz, S., Kuzminski, H., Ciereszko, A., 2000, Characterization of rainbow trout milt collected with a catheter: semen parameters and cryopreservation success Aquaculture Research 31, 289-296.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devamı)

- Harvey, B., Kelley, RN., Ashwood-Smith, MJ.,** 1984, Cryopreservation of zebra fish spermatozoa using methanol. Can J 2001 1984;60: 1867-1870.
- Horvath, A., and Urbanyi, B.,** 1999, The effect of cryoprotectants on the motility and fertilizing capacity of cryopreserved *Cyprinus carpio* sperm. *Aquacult. Res.* 31, 317–324.
- Huang, C., Dong, Q., Walter, B.,Tiersch, R.,** 2003, Initial studies on sperm cryopreservation of a live-bearing fish, the green swordtail *Xiphophorus helleri* Theriogenology 62, 179-194.
- Hulata, G., & Rothbard, S.,** 1979, Cold storage of carp semen for short periods Aquaculture16, 267-269.
- J. Carolsfeldt, H.P. Godinho, E. Zaniboni, B.J. Harvey,** 2003, Cryopreservation of sperm in Brazilian migratory fish conservation, Journal of Fish Biology 63 472–489.
- Keeran, K., and Woods, L.C.,** 2002, The Cryopreservation of Striped Bass *Morone saxatilis* Semen Journal of the World Aquaculture Society Vol. 33, No. 1
- Kentouri, M., Papandroulakis, N., and Divanach, P.,** 1995, Specific diversification in Grek finfish mariculture. Cah. Options Mediterr., 14: 129-136.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devamı)

- Kwantong, S., Bart, A.N.,** 2003, Effect of cryoprotectants, extenders and freezing rates on the fertilization rate of frozen striped catfish, (*Pangasius hypophthalmus* S.), sperm, Aquaculture Research 34 (2003) 887–893.
- Labbe, C., Crowe, L.M., and Crowe J.H.,** 1997, Stability of the lipid component of trout sperm plasma membrane during freeze–thawing Cryobiology 34, 176–182.
- Lahnsteiner F. and Patzner R.A.** 1998, Sperm motility of the marine teleosts *Boops boops*, *Diplodus sargus*, *Mullus barbatus* and *Trachurus mediterraneus* Journal of Fish Biology 52, 726-742.
- Lahnsteiner, F.,** 2000, Semen cryopreservation in the salmonidae and in the Northern pike Aquaculture Research 31, 245-258.
- Lahnsteiner, F., Mansour, N., Weismann T.,** 2002, A new technique for insemination of large egg batches with cryopreserved semen in the rainbow trout Aquaculture 209, 359-367.
- Lahnsteiner, F., Berger, B., Weismann, T.,** 2003, Effects of media, fertilization technique, extender, straw volume, and sperm to egg ratio on hatchability of cyprinid embryos, using cryopreserved semen Theriogenology 60, 829-841.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devamı)

- Lahnsteiner, F., Berger, B., Horvath, A., Urbanyi, B.,** 2004, Studies on the semen biology and sperm cryopreservation in the sterlet, (*Acipenser ruthenus* L.) Aquaculture Research, 35, 519-528.
- Land, R.P., Riley, K.L.,** 2003, The use of dairy protocols for sperm cryopreservation of catfish *Ictalurus punctatus* Journal of the World Aquaculture Society 34 (2003) 66-75.
- Linhart, O., Rodina, M., Flajshans, M., Gela, D., and Kocour, M.,** 2005, Cryopreservation of European catfish *Silurus glanis* sperm: Sperm motility, viability, and hatching success of embryos Aquaculture 235 (2005) 619–632.
- Maria, A.N., Viveiros, A.T.M., Orfao, L.H., Oliveira, A.V., Moraes, G.F.,** 2006, Effects of cooling and freezing on sperm motility of the endangered fish piracanjuba *Brycon orbignyanus* (Characiformes, Characidae) Anim. Reprod., v.3, n.1, p.55-60, Jan./Mar. 2006.
- Marques S, Godinho HP.** 2004, Short-term cold storage of sperm from six neotropical characiformes fishes. *Braz Arch Biol Technol*, 47:799-804.
- Milne, P.H.,** 1972, Fish and shellfish farming in coastal waters. Fishing News Boks LTD., Farnham.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devamı)

- Miyaki, K., Nakano, S., Ohta, H., and Kurokura, H., 2005,** Cryopreservation of kelp grouper *Epinephelus moara* sperm using only a trehalose solution Fisheries science 2005, 71: 457-458.
- Müller, T., Urbanyi, B., Varadi, B., and Horn, P., 2004,** cryopreservation of sperm of farmed European eel *Anguilla anguilla* Journal of the world aquaculture society Vol. 35, No: 2.
- Mylonas, C., Papadaki, M., Divanach, P., 2003,** Seasonal changes in sperm production and quality in the red porgy (*Pagrus pagrus* L.) Aquaculture Research 34, 1161-1170.
- N. Basavaraja, S.N. Hegde, N. Akash, K.S. Udupa, 2002,** The fertility of cryopreserved Deccan mahseer, Tor khudree spermatozoa, Asian Fish Sci. 15 (2002) 193–202.
- Ohta, H., Kawamura, K., Unuma, T., and Takegoshi, Y., 2000,** Cryopreservation of the sperm of the Japanese bitterling *Journal of Fish Biology* 58, 670–681.
- Park, C. H., Chapman, F. A., 2005,** An extender solution for the short-term storage of sturgeon semen. North American Journal of Aquaculture Vol. 67 No. 1 52-57.
- Poleo, G.A., Godke, R.A., Tiersch R., 2004,** Intracytoplasmic sperm injection using cryopreserved, fixed, and freeze-dried sperm in eggs of Nile Tilapia Marine Biotechnology Volume: 7 Pages: 104-111.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devamı)

Ramos, J., 1978, Experiencias de cultivo en dorada (*Sparus aurata* L.) en tanques. Inf. Tecn. Inst. Inv. Pesq. 55, 3-20.

Richardson, G.F., Miller, T.L., McNiven, M.A., 2000, Cryopreservation of Arctic charr *Salvelinus alpinus* semen in various extenders and in three sizes of straw, Aquac. Res. 31 307-315.

Rideout, R. M., Litvak, M. K. & Trippel, E. A., 2003, The development of a sperm cryopreservation protocol for winter flounder, (*Pseudopleuronectes americanus* W.) evaluation of cryoprotectants and diluents. Aquaculture Research 34, 653-659.

Rideout, R.M., Trippel, E.A., and Litvak., K., 2003, The development of haddock and Atlantic cod sperm cryopreservation techniques and the effect of sperm age on cryopreservation success Journal of Fish Biology (2004) 65, 299–311.

Robles, V., Cabrita, S., Cunado, M.P., 2003, Sperm cryopreservation of sex-reversed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): parameters that affect its ability for freezing Aquaculture 224 (2003) 203–212.

Rolende, 2004, State of Aquaculture On The West Coast : 2004 Annual Report.

Scott, A.P., & Baynes, S.M., 1980, A review of the biology, handling and the storage of salmonid spermatozoa. Journal of Fish Biology 17, 707-739.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devamı)

- Sunitha, M.S., & Jayaprakas, V.,** 1997, Infuence of pH, temperature, salinity and media on activation of motility and short-term preservation of spermatozoa of an estuarine fish, *Mystus gulio* Indian Journal of Marine Sciences 26, 361-365.
- Suquet, M., Dreanno, C., Fauvel, C., Cosson J., Billard R.,** 2000, Cryopreservation of sperm in marine fish Aquaculture Research 31, 231-243.
- Taddei, A.R., Barbato, F., Abelli, L., Canese, S., Moretti, F., Rana, J., Fausto, A.M., and Mazini, M.,** 2001, Is cryopreservation a homogeneous process? Ultrastructure and motility of untreated, preefreezing, and postthawed spermatozoa of (*Diplodus puntazzo* C.) Cryobiology 42, 244-255.
- Taitson, P.F., Chami, E., Godinho, H.P.,** 2007, Gene banking of the neotropical fish (*Leporinus obtusidens* V.): A protocol to freeze its sperm in the field Animal Reproduction Science
- Tanaka, S., H. Zhang, N., Hone, Y. Yamada, A., Okamura, T. Utoh, N., Mikawa. H. P. Oka, and H. Kurokura.** 2002, Long-term cryopreservation of sperm of Japanese eel. Journal of Fish Biology 60: 139-146.
- TÜGEM,** 2003, Su Ürünleri Üretim Kayıtları, Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, Tarımsal Üretimi Geliştirme Genel Müdürlüğü, Ankara.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devamı)

- Urbanyi, B., Szabo, Z., Miskolczi, E., Mihalfy, S., Vranovics, K., and Horvath, A.,** 2005, Successful fertilization and hatching of four European cyprinid species using cryopreserved sperm. Journal of Applied Ichthyology Volume 22 Issue 3 Page 201-204.
- Viveiros, A.T.M., So, N., Komen, J.,** 2001, Sperm cryopreservation of African catfish, *Clarias gariepinus*: cryoprotectants, freezing rates and sperm:EGG dilution ratio, Theriogenology 54, 1395–1408.
- Warnecke, D., Pluta, H. J.,** 2002, Motility and fertilizing capacity of frozen/thawed common carp (*Cyprinus carpio* L.) sperm using dimethylacetamide as the main cryoprotectant. Aquaculture 215, 167–185.
- William, T., Keton, James, L., Gould.,** 2000, çev. Ali Demirsoy, İsmail Türkan, Genel biyoloji, Palme yayıncılık, 5. bsk, s: 977-980, ISBN: 9757477591 Ankara.
- Yıldırım, Ş.,** 2005, Türkiye Denizlerinde 100 Ton/Yıl ve Üstü Üretim Kapasitesi Olan Balık Çiftliklerinin Ağ Kafes Sistemlerinin Bazı Özellikleri Üzerine Bir Çalışma, E.U Journal of Fisheries & Aquatic Sciences 2005 Cilt/Volume 22, Sayı/Issue (1-2) : 49-52.
- Zohar, Y., R.** 1984, La reproduction de la daurade (*Sparus aurata* L.) et du bar (*Dicentrarchus labrax* L.): connaissance du cycle sexuel et controle de la gametogenese et de la ponte. *L'aquaculture du bar et des sparides*, pp. 3-24. INRA Publ., Paris.

ÖZGEÇMİŞ

Türkiye Cumhuriyeti vatandaşı olan Serhat ENGİN, 20.09.1979 tarihinde Muğla'nın Fethiye ilçesinde doğdu. İlk ve orta öğrenimini İstanbul'da tamamladıktan sonra 1998 yılında E.Ü Su Ürünleri Fakültesini kazandı. Adı geçen fakülteyi 2004 yılında iyi derece ile bitirerek Su Ürünleri Mühendisi unvanını aldı. Aynı yıl E.Ü Fen Bilimleri Enstitüsü, Su Ürünleri Yetiştiricilik Anabilim Dalında yüksek lisans eğitimine başladı. Ağustos 2005 yılında E.Ü Tire Kutsan Meslek Yüksek Okulunun açtığı sınavı kazanarak Balık Yetiştiriciliği Bölümünde Öğretim Görevlisi olarak göreve başladı. Halen E.Ü Tire Kutsan Meslek Yüksek Okulu Balık Yetiştiriciliği bölümünde Öğretim Görevlisi olarak çalışmaya devam eden Serhat ENGİN, bekardır.