

EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

**TOPAN KEFAL (*Mugil cephalus*) SPERMLERİNİN
FARKLI ORTAMLARDA KISA SÜRELİ
KORUNUMU**

Onurkan ANTEPLİ

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Şahin SAKA

Su Ürünleri Yetiştiriciliği Anabilim Dalı

Sunuş Tarihi: 16.08.2018

Bornova-İZMİR

2018



JÜRİ DEĞERLENDİRME

Onurkan ANTEPLİ tarafından Yüksek Lisans tezi olarak sunulan “Topan Kefal (*Mugil cephalus*) Spermelerinin Farklı Ortamlarda Kısa Süreli Korunumu” başlıklı bu çalışma EÜ Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği ile Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Eğitim ve Öğretim Yönergesi'nin ilgili hükümleri uyarınca tarafımızdan değerlendirilerek savunmaya değer bulunmuş ve 16 Ağustos 2018 tarihinde yapılan tez savunma sınavında aday oybirliği ile başarılı bulunmuştur.

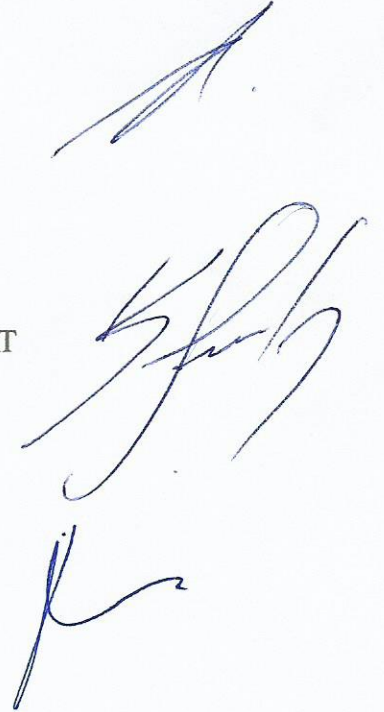
Jüri Üyeleri:

İmza

Jüri Başkanı : Prof. Dr. Şahin SAKA

Raportör Üye : Prof. Dr. Muammer Kürşat FIRAT

Üye : Prof. Dr. Esin SUZER





EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI

Ege Üniversitesi Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin ilgili hükümleri uyarınca Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “Topan Kefal (*Mugil cephalus*) Spermilerinin Farklı Ortamlarda Kısa Süreli Korunumu” başlıklı bu tezin kendi çalışmam olduğunu, sunduğum tüm sonuç, doküman, bilgi ve belgeleri bizzat ve bu tez çalışması kapsamında elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara atıf yaptığımı ve bunları kaynaklar listesinde usulüne uygun olarak verdiğimi, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını, bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya diğer bir üniversitede başka bir tez çalışması içinde sunmadığımı, bu tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda bilimsel etik kurallarına uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul edeceğimi beyan ederim.

16 / 08 / 2018



Onurkan ANTEPLİ



ÖZET**TOPAN KEFAL (*Mugil cephalus*) SPERMLERİNİN FARKLI ORTAMLARDA KISA SÜRELİ KORUNUMU**

ANTEPLİ, Onurkan

Yüksek Lisans Tezi, Su Ürünleri Yetiştiriciliği Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Şahin SAKA

Ağustos 2018, 70 Sayfa

Bu araştırmada, Ege Üniversitesine bağlı Homa Dalyanından topan kefaller hasat edilmiştir. Temin edilen sperm örnekleri 0-2 °C'deki buz kalıpları içinde muhafaza edilmiştir. Daha sonra her saatte bir faz kontrast tip mikroskopta incelenmiştir.

Bu çalışmada, topan kefal (*Mugil cephalus* L. 1758) spermasının doğal üreme mevsimi süresince pH, hacim, yaşama kabiliyeti ve muhafaza süresi gibi spermatolojik özelliklerin belirlenmiştir. Ayrıca kısa süreli koruma işleminde 4 farklı inaktivatörün (Hepes, Tris, BSA, DMSO) etki mekazimalarını saptanmıştır.

Çalışmada, toplam 5 adet anaç balık sperma alımı için kullanılmıştır. Kullanılan anaçların ortalama ağırlıkları $753,6 \pm 47,21$ g, ortalama boyları $40,6 \pm 1,14$ cm olarak saptanmıştır. Çalışmada kullanılan topan kefal spermin pH değeri 6,7 olarak saptanmıştır. Anaçlardan elde edilen spermlerin ortalama hacmi $2 \pm 0,5$ ml.kg⁻¹ olarak tespit edilmiştir. Spermlerin yaşama kabiliyeti taze sperma da 6 dk, hepes de 6 dk 30 sn, bsa da 5 dk 20 sn, tris de 3 dk 20 sn ve dms0 da 8 dk 30 sn olarak tespit edilmiştir. 36 saatlik çalışma periyodu sonunda, spermlerin muhafaza süreleri taze sperma da 28 saat, inaktivatörlerden tris de 2 saat, diğer inaktivatörlerde (Hepes, BSA ve DMSO) 36 saat hareketlilik tespit edilmiştir.

Anahtar sözcükler: Topan kefal, *Mugil cephalus*, sperm, canlılık uzatıcı, kısa süreli koruma



ABSTRACT**SHORT TERM STORAGE OF GREY MULLET****(*Mugil cephalus*) SPERM ON DIFFERENT MEDIA**

ANTEPLİ, Onurkan

MSc Thesis, Department of Aquaculture

Supervisor: Prof. Dr. Şahin SAKA

August 2018, 70 pages

In this research, grey mullets was harvested from Homa Dalyan affiliated to Ege University. Sperma samples obtained 0-2 °C has been retained in ice molds. Afterwards were examined under phase contrast type a microscope every hour.

In this study, grey mullet (*Mugil cephalus* L. 1758) semen during with the natural breeding season were determined spermological properties such as pH, volume, the ability to live and storage period. Also short-term protection in the process has been identified the mechanisms of action of 4 different inactivation (Hepes, Tris, BSA, DMSO).

In the study, a total of 5 pieces of broodstock fish has been used for sperma retrieval. Broodstocks has been identified as average weights 753,6±47,21 gram, average height 40,6±1,14 cm. Grey mullet sperma to be used in the study was found pH value of 6,7. Broodstocks obtained from semen has been identified as the average of volume 2±0,5 ml.kg⁻¹. The viability of the sperma has been identified as fresh semen also 6 min, Hepes also 6 min 30 sec, BSA also 5 min 20 sec, Tris also 3 min 20 sec and DMSO also 8 min 30 sec. 36-hour working period ends, sperma storage period has been identified fresh semen also 28 hour, from inaktivator Tris also 2 hour, in other inaktivator (Hepes, BSA and DMSO) 36 hour activity.

Key Words: Grey mullet, Flathead grey mullet, sperma, extender, short-term protection



TEŞEKKÜR

Öncelikle Yüksek Lisans tezimin oluşturulmasında çok önemli katkı sağlayan Ege Üniversitesi Bilimsel Araştırma Komisyonuna (16-SÜF-021 nolu ve “Topan Kefal (*Mugil Cephalus*) Spermelerinin Farklı Ortamlarda Kısa Süreli Korunumu” isimli Araştırma Projesi) teşekkür ederim.

Akademik çalışmalarında yardımlarını ve desteklerini esirgemeyen, her zaman her konuda yardımcı olan başta danışmanım Prof. Dr. Şahin SAKA’ya, Prof. Dr. M. Kürşat FIRAT’a ve Öğr. Gör. Dr. Serhat ENGİN’e teşekkürü bir borç bilirim.

Tez yazımında ve biçimlendirilmesinde değerli katkılarını aldığım sevgili arkadaşım Müh. İlker MUĞLALILAR’a ve kuzenim Yük. Müh. Ufuk ERDOĞAN’a teşekkür ederim.

Hayatım boyunca yardım ve desteğini esirgemeyen, bugünlerimin mimarı annem Ayten ANTEPLİ’ye, babam Muammer Ali ANTEPLİ’ye, dedem Halit İÇEN’e ve anneannem Zahide İÇEN’e çok teşekkür ederim.

Onurkan ANTEPLİ
2018



İÇİNDEKİLERSayfa

ÖZET.....	vii
ABSTRACT	ix
TEŞEKKÜR.....	xi
İÇİNDEKİLER	xiii
ŞEKİLLER DİZİNİ	xv
ŞEKİLLER DİZİNİ (devam).....	xvi
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xvii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xix
1. GİRİŞ.....	1
2. LİTERATÜR BİLDİRİŞLERİ.....	15
2.1. Topan Kefal (<i>Mugil cephalus</i>) Balığının Biyolojik Özellikleri	15
2.2. Balıklarda Üreme Sistemi.....	17
2.3. Seminal Plazma	20
2.4. Balık Spermlerinin Muhafazası	23
3. MATERYAL VE METOD	34
3.1.Sperm pH Ölçümü.....	37
3.2. Sperm Hacminin Hesaplanması	37
3.3. Spermilerin Yaşama Kabiliyeti Süreleri	38
3.4. Spermilerin Muhafaza Süreleri	38
3.5. Verilerin Değerlendirilmesi	38
4. BULGULAR.....	39
4.1. Meristik Karakterler	39
4.2. Sperm Ph'sı	40
4.3. Sperm Hacmi.....	40
4.4. Sperm Yaşama Kabiliyeti.....	43
4.5. Sperm Muhafaza Süresi	46
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	51
KAYNAKLAR DİZİNİ	57
ÖZGEÇMİŞ.....	70



ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
1. 1 Su ürünleri yetiştiricilik tesislerinin kapasitelerine göre dağılımları (TÜİK 2016).....	6
1. 2 Dünya su ürünleri üretimi (TÜİK 2016).....	7
1. 3 Türkiye su ürünleri üretimi (TÜİK 2016).....	7
1. 4 Türkiye’de yetiştiriciliği en çok yapılan türlerin üretim miktarları (TÜİK 2016).....	8
2. 1 Topan kefal (Mugil cephalus) genel görünümü.....	15
3. 1 Ege Üniversitesi Homa Dalıanı	34
3. 2 Ağırlık Ölçümü.....	35
3. 3 Anaç Balıktan Sperma Alımı.....	35
3. 4 Olympus marka CX-31 model faz-kontras mikroskop.....	36
3. 5 PH Ölçümü	37
4. 1 Topan Kefal anaçlarının ağırlık-boy ilişkisi.....	39
4. 2 Tespit edilen sperm hacimleri (ml.kg-1)	41
4. 3 Topan Kefal Anaçlarının Ağırlık-Sperm Hacmi ilişkisi.....	42
4. 4 Topan Kefal Anaçlarının Boy-Sperm Hacmi ilişkisi.....	42
4. 5 İnaktivatör-Spermlerin Yaşama Kabiliyeti İlişkisi.....	43
4. 6 Spermlerin Yaşama Kabiliyeti-Sperm Hacmi İlişkisi	44

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
4. 7 Spermilerin Yaşama Kabiliyeti-Balık ağırlıkları İlişkisi	45
4. 8 Spermilerin Yaşama Kabiliyeti-Balık boyları ilişkisi	46
4. 9 İnaktivatör-Sperm Muhafaza Süresi ilişkisi.....	46
4. 10 Sperm Muhafaza Süresi-Balık boyları ilişkisi	47
4. 11 Topan kefal spermilerinin muhafaza süresi ile balık ağırlıklarının ilişkisi....	48
4. 12 Sperm muhafaza süresi ile sperm hacmi ilişkisi	49
4. 13 Sperm muhafaza süresi ile sperm yaşama kabiliyeti ilişkisi.....	50

ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
1. 1 Türkiye'deki iç su kaynakları	6
2. 1 Bazı deniz balığı türlerinde kullanılan extender kompozisyonları	21
4. 1 Çalışmada kullanılan anaçların ağırlıkları ile boylarının tanımlayıcı istatistikleri.....	39
4. 2 Deneklerin ağırlık ve boy değerleri	40
4. 3 Sperm hacmi tanımlayıcı istatistikleri	41
4. 4 Çalışmada kullanılan anaçların spermlerinin yaşama kabiliyeti ile sperm hacimlerinin tanımlayıcı istatistikleri	43
4. 5 Çalışmada kullanılan anaçların spermlerinin yaşama kabiliyeti ile balık ağırlıklarının tanımlayıcı istatistikleri.....	44
4. 6 Çalışmada kullanılan anaçların spermlerinin yaşama kabiliyeti ile balık boylarının tanımlayıcı istatistikleri	45
4. 7 Çalışmada kullanılan anaçların spermlerinin muhafaza süresi ile balık boylarının tanımlayıcı istatistikleri	47
4. 8 Çalışmada kullanılan anaçların spermlerinin muhafaza süresi ile balık ağırlıklarının tanımlayıcı istatistikleri.....	48
4. 9 Çalışmada kullanılan anaçların spermlerinin muhafaza süresi ile sperm hacimlerinin tanımlayıcı istatistikleri	49
4. 10 Çalışmada kullanılan anaçların spermlerinin muhafaza süresi ile spermilerin yaşama kabiliyetinin tanımlayıcı istatistikleri	50



SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<u>Simgeler</u>	<u>Açıklama</u>
Na ⁺	Sodyum iyonu
K ⁺	Potasyum iyonu
Ca ⁺⁺	Kalsyum iyonu
Mg ⁺⁺	Magnezyum iyonu
Cl ⁻	Klorür

<u>Kısaltmalar</u>	<u>Açıklama</u>
dk	Dakika
sn	Saniye
g	Gram
kg	Kilogram
m	Metre
km	Kilometre
cm	Santimetre
mm	Milimetre
ml	Mililitre
ha	Hektar
MÖ	Milattan Önce

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ (devam)

<u>Kısaltmalar</u>	<u>Açıklama</u>
µm	Mikrometre
µm ²	Mikrometrekare
spz	Spermatozoa
TEM	Transmission Electron Microscope
SEM	Scanning Electron Microscope
ASMA	Automated Sperm Morphometry Analysis
CASA	Computer Assisted Sperm Analysis
SSP	Suni Seminal Plazma
CP	Cryoprotectant
DMSO	DimetilSülfooksit
PG	Propilen glikol
BSA	Bovine serum albümin
HEPES	4-(2-hidroksi etil)-1-piperazin ethanosulfonic asit

1. GİRİŞ

Dünya nüfusu son iki yüzyılda büyük artış göstermiştir. Genel olarak daha iyi yaşam koşulları (su, gıda, sağlıklı koşullar, ilaç vb.) sayesinde yaşam süresinin uzaması insan nüfusundaki artışı beraberinde getirmiştir. Dünya Sağlık Örgütü, 2035 yılı itibariyle dünya nüfusunun yaklaşık 10 milyar olacağını bildirmektedir. Artan nüfus sebebi ile kişi başına ekim alanı 1950 yılından bu yana %50 azalmıştır ve son 10 senede kişi başına düşen tahıl üretiminde durgunluk yaşanmaktadır. Dünya nüfusundaki artış ve beraberinde oluşan aşırı tüketim diğer doğal kaynaklarda da hızlı bir kötüye gidiş meydana getirmiştir. Ekim alanlarının erozyon sonucunda azalması ile doğal kaynaklar gün geçtikçe yok olmaya başlamıştır. Bu nedenle insanoğlu farklı ortamlarda besin kaynakları aramaya yönelmiştir. Geçmişte insanoğlu besin ihtiyacını avcılık yoluyla elde ederken, günümüzde teknolojinin gelişmesi sayesinde farklı yetiştiricilik metodlarını geliştirmeye başlamışlardır.

Su ürünleri yetiştiriciliği; insanların sağlıklı beslenmesi, sanayi sektörüne hammadde temini, istihdam yaratması, kırsal kalkınmaya katkı sağlaması, yüksek ihracat imkanı ve doğal kaynakların daha etkin yönetimi ile biyolojik çeşitliliği koruması hususunda önemli fırsatlar sağlamaktadır. Sucul (akuatik) ortamda su bitkileri ve hayvanları (balıklar, yumuşakçalar, kabuklular ve sucul bitkiler) ile yapılan tarıma su ürünleri yetiştiriciliği yada akuakültür adı verilmektedir. Yetiştiricilik; hızla artan su ürünleri talebinin karşılanması, açlığın önlenmesi, dengeli ve nitelikli beslenme, doğal balık rezervleri üzerindeki av yükünün azaltılması, kırsal kalkınmaya katkı, istihdam ve döviz getirisi sağlanması, su kaynaklarının balıklandırılması amaçlarını taşıması yönünden tarım sektörü içinde yer alan önemli bir alt sektördür.

Günümüzde ucuz protein ve enerji kaynağı gereksinimi her geçen gün artış gösterirken balık etinin önemide buna paralel bir şekilde artmaktadır. Önemli bir hayvansal protein kaynağı olan balık, bünyesinde %17-21 oranında protein içermektedir. Bu sebeplerle su ürünlerinin önemi gün geçtikçe artmakta ve dünya gıda platformlarında balıkçılık geleceğin sektörü olarak değerlendirilmektedir. Doğal balık rezervlerindeki aşırı avcılık ve kirlilik gibi etkenler sebebiyle bir

azalma yaşandığı bilinmektedir. Su ürünleri üretiminin artması için kültür balıkçılığı teşvik edilmektedir. Özellikle geride kalan yirmi senede su ürünleri yetiştiriciliği sektörü, bu aralığı kapatabilecek potansiyele sahip bir sektör haline geldiğini artan üretim hacmi ile göstermektedir. Günümüzde bulunduğu nokta itibariyle dünyada su ürünleri yetiştiriciliği, toplam su ürünleri üretiminin yaklaşık %40'ına denk gelmektedir. Ülkemiz için de aynı orana yaklaşıldığını söylememiz mümkündür. Ülkemizde özellikle geçtiğimiz yıllarda yetiştiricilik sistemlerinde çok büyük gelişmeler kaydedilmiştir. Bilhassa orta ve büyük ölçekli işletmelerde modern ve ileri teknoloji ürünler kullanılmaya başlanmıştır. Denizlerdeki balık çiftliklerinin açık ve derin sulara taşınmaları, bu sulara uygun yeni teknolojilerin kullanılmasını mecbur kılmıştır. Hem ağ kafes boyutlarında ve yapılarında, hem de mooring (sabitleme, bağlama) sistemlerinde yetiştiricilikte söz sahibi ülkelerden daha ileri teknikler kullanılmaya başlanmıştır. Barge (platform, duba) sistemlerinin ve otomatik yemleme ünitelerinin devreye girmesi ile lojistik desteklerden yararlanılması kolaylaşmış, koruma ve dijital izleme sistemleri oluşturulmuştur. Kuluçkahanelerde kullanılan mekanizmalar açısından çok büyük mesafeler katedilmiştir. Özellikle yan sanayinin gelişmesi ile birlikte alt yapı ve teknikler açısından ileri adımlar atılmıştır.

Su ürünlerine ilişkin kayıtlı belgeler MÖ 2000'li yıllarda Çin'de ortaya çıkmıştır. Bununla birlikte yapılan son kazılarda akuakültürün ilk olarak Mısır'lılar tarafından bulunduğu dair kanıtlar mevcuttur. Eski Mısır'da MÖ 2500 tarihlerinde insanların tilapia (*Tilapia sp.*) balıklarını havuzdan çıkarırken gösteren figürler mezar resimlerinde mevcut olup, duvar süslemelerinde ise balık çizimlerine rastlanılmıştır. Yine MÖ 2000 yıllarında Japonya kıyılarında istiridye (*Ostridea sp.*) yetiştiriciliğinin uygulandığı bilinmektedir. Ekstansif deniz çiftlikleri ise ilk olarak MÖ 6. yüzyılda ortaya çıkmıştır. Kabuklu yetiştiriciliğine ait türler MÖ 5. yüzyılda Yunanistan'da denenmiştir. Eski Roma'da levrek (*Dicentrarchus labrax*), çipura (*Sparus aurata*), kefal (*Mugil sp.*) ve istiridye (*Crassostrea gigas*) kültürüne ait çalışmalara rastlanmaktadır. MÖ 475 yılında Fan Lai, sazan (*Cyprinidae sp.*) yetiştiriciliği ile ilgili ilk bilgileri sunmuştur. MÖ 100'lü yıllarda Yunanlı'ların istiridye kültürü üzerine yoğun çalışmaları olduğuna ilişkin bilgiler vardır. Roma döneminde sahil kısmında uygulanan yetiştiricilik çalışmaları ortaya çıkmıştır. Bu çalışmalar halen İtalya'da kullanılan tekniklerin

temelini oluşturmaktadır. Roma imparatorluğunun son dönemlerinde akuakültüre ilişkin izler 12. yüzyılda merkez Avrupa'da tatlı su balıklarının yetiştiriciliği görülmüştür. Orta çağ dönemine gelindiğinde ise şatoların ve manastırların çevresinde bulunan su ortamında yıl boyunca tüketilmek üzere stoklanmış sazan türlerine rastlanmaktadır. İlk olarak yetiştiriciliği yapılan tür ise soğuk sularda yer alan somon (*Salmonidae sp.*) balığıdır. İlk somon kuluçkahanesi Almanya'da 1741 yılında kurulmuş ve bu tarihten itibaren gelişen kültür sistemleri ile bu türün yetiştiriciliği artmıştır (Alpbaz, 1991).

Deniz balıkları yetiştiriciliğinin ilk uygulamaları Endonezya'da 1400'lü yıllarda 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 seneler devam etmiştir. Su ortamında oluşan yoğun alg popülasyonunu tüketen bireyler gelişimlerini sürdürmüşlerdir. Daha sonra havuzların kümelenmesi ortamdaki yem yoğunluğunu arttırmış ve yeni bir dönem başlamıştır. İlerleyen yıllarda dışarıdan besleme çalışmaları sonucu günümüzdeki modern balık yetiştiriciliğini korumaktadır. 15. yüzyılda Adriyatik kıyılarında büyük ölçekli ekstansif akuakültür (vallikültür) çalışmaları görülmektedir. Dinsel açıdan cuma günleri et yemenin yasaklanması sonucu Avrupa kültüründe balık yetiştiriciliğinin gelişmesini sağlamıştır. Japonya'da 1960 tarihlerinde sarı kuyruk (*Seriola quinqueradiata*) balığının yetiştiriciliğine başlanmıştır. Daha sonraki yıllarda mercan (*Pagrus major*) ve orkinos (*Thunnus thynnus*) yetiştiriciliği yoğun biçimde ele alınmıştır. Balık ve istiridye ile modern akuakültür günümüz tarihinden 40 yıl kadar önce başlamıştır. Birçok Akdeniz ülkesi bu gelişimde yerini almıştır. Günümüze gelindiğinde Kuzey Avrupa somon (*salmo salar*) konusunda gelişmeler göstermiş, 1980'li yıllarda ise Akdeniz ülkeleri çipura ve levrek yetiştiriciliğini ekonomik sisteme kazandırmışlardır. İtalya geleneksel vallikültür yöntemleri ile pazarda öncü konuma gelmiştir. Birçok ülkede su ürünleri yetiştiriciliği tarım sektörleri ile karşılaştırıldığında önemli ölçüde gelişim göstermiştir. 19. yüzyılda kabuklu kültürü bir kere daha güncel hale gelerek Batı Akdeniz ve Adriyatik'te yayılım göstermiştir.

Türkiye'deki ilk yetiştiricilik uygulaması Abant Gölü'nde alabalık yetiştiriciliği ile ilgili olarak 1956-1957 yıllarında İstanbul Üniversitesi Fen Fakültesi bünyesindeki Hidrobiyoloji Araştırma Enstitüsü tarafından gerçekleştirilmiştir. Türkiye'de göllere ilk defa balık aşılması yine Hidrobiyoloji Araştırma Enstitüsü tarafından 1958 yılında Marmara Gölü ile Eğirdir Gölü'nde gerçekleşmiştir. Türkiye'de ilk sazan ve alabalık yetiştirme uygulamaları 1958-1965 tarihlerinde hayat bulmaya başlamıştır. Ülkemizde deniz balıkları üretimi ise ilk defa 1984 senesinde Çeşme-İldır'da kurulan Pınar Deniz A.Ş. Yavru Balık Üretim Tesisi'nde başlamıştır. Ege Denizi'nde çipura ve levrek besiciliği uygulamaları doğadan yavru balık toplama uygulamasıyla 1985 senesinden itibaren yoğunlaşmaya başlamıştır. Ege Bölgesi sahip olduğu coğrafik özelliklerden dolayı toplam üretimin yaklaşık %55'lik bölümünü karşılayarak ilk sırada yer almaktadır. Bu bölge hem alabalık hem de deniz balıkları açısından ilk sıradadır. Türkiye'de Tarım ve Köyişleri Bakanlığı'nın ilk deniz balıkları kuluçkahanesi olan Güvercinlik Üretim Tesisi 1992 yılında faaliyete geçmiştir. Bu üretim tesisinden sonra 1993 yılında Beymelek-Demre'de başka bir tesis açılmıştır.

Avrupa akuakültürü, bilhassa da Akdeniz akuakültürü son 30 yıl içerisinde oldukça hızlı büyüme göstermiştir. Akdeniz'de sahili bulunan ve know-how üretmekte başarılı olan ülkeler deniz balıkları lavra yetiştiriciliğinde önemli yol katetmişlerdir. Elde edilen bilgi ekonomik sisteme ve oradan da gelişmekte olan ülkelere kaydırılarak sektörün genişlemesi sağlanmıştır. Akdeniz akuakültür üretiminde ise baskın durumda olan ülkeler İspanya, Fransa, İtalya ve Mısır'dır. Bu ülkeler havzadaki toplam üretimin %80-85'lik bölümünü üretmektedirler. İspanya, İtalya, Fransa yumuşakça yetiştiriciliğinde daha baskın halde iken, Mısır balık üretiminde ilk sırada yer almaktadır. Mısır kefal türlerinin yetiştiriciliğinde söz sahibi ülkedir. Bilhassa doğal ortamdan temin edilen kefal yavruları balık yetiştiriciliğinin temel kaynağını oluşturmaktadır. Kefal yetiştiriciliğini kısıtlayan faktör bahsedildiği üzere yavruların doğal ortamdan toplanmasıdır. Bunun için üretim miktarları doğal ortamdan temin edilen yavru ile sınırlı kalmaktadır.

Akdeniz ülkelerinde yetiştiricilik sektörüne yeni türler kazandırılmasına yönelik çalışmalar, 1990'lı tarihlerden itibaren bilhassa Avrupa Birliği tarafından

finansse edilen araştırma projelerinin uygulamaya konulmasıyla birlikte başlamıştır. Akdeniz ũlkelerinde tũr çeşitliliği ile ilgili yapılan araştırma çabalarında yaklaşık 25 adet balık tũrũ ele alınmıştır. Bu balık tũrleri, genel itibarı ile hızlı bũyũyen ancak buna karşın nisbeten dũřũk fiyatlı balıklar (sarıkuyruk, lambuka, sarı ağız gibi) ve yavaş bũyũyen yũksek fiyatlı balıklar (fangri, mercan, dil, kalkan gibi) olarak guruplandırılmıştır. Geçtiğimiz yıllarda ũzellikle ihracata bağlı olarak yaşanan ekonomik sıkıntılar ve ipura-levrek balıklarının artan ũretim miktarları sonucunda azalan ekonomik getirisi ũreticileri yeni tũrlerin arayışına itmiştir. ũlkemizde de ũzellikle geçtiğimiz 10 senede sinarit (*Dentex dentex*), fangri (*Pagrus pagrus*), kalkan (*Psetta maxima*), sarıağız (*Argyrosomus regius*), sivriburun karagŕz (*Diplodus puntazzo*), orkinos (*Thunnus thynnus*), eşkine (*Sciaena umbra*), minekop (*Umbrina cirrosa*), sargoz (*Diplodus sargus*), lahoz (*Epinephelus alexandrinus*), akya (*Lichia amia*), mırmır (*Lithognathus mormyrus*) ile kırmızı bantlı mercan (*Pagrus auriga*) tũrleri ũzerinde araştırma çalışmaları ilerlemekte olup bazı tũrlerde ũretim devam etmektedir. Bu tũrlerin birçoğunda oldukça başarılı sonuçlar elde edilmiş olmakla birlikte, bilhassa sarıağız, sinarit, sivriburun karagŕz gibi tũrlerde oldukça iyi sonuçlar elde edilmiştir. ũzellikle Sparidae familyasına ait tũrlerin ũreme, larva yetiştirme ve bũyũtme teknikleri ipura ũretimine benzerlik gŕstermesi açısından araştırma ve ũretim çalışmalarında başarılı sonuçlar alınmasında etkili olmuştur.

Tũrkiye, su ũrũnlerine elverişli ũretim alanları yŕnũnden azımsanmayacak bir potansiyele ve kapasiteye sahiptir. Tũrkiye bir yarımada yapısındadır. Kuzeyinde Karadeniz, Kuzey Batısında Marmara, Batısında Ege ve Gũneyinde de Akdeniz yer almaktadır. Tũrkiye'nin 8.333 km'lik kıyı şeridi ve 117.714 km uzunluğunda nehirleri bulunmaktadır. Sahip olduğumuz kıyı şeridi alanlarının bũyũklũęũ 24.607.200 ha'dır. Sŕz konusu kıyılar Akdeniz, Ege, Marmara ve Karadeniz bŕlgelerini içermekte olup, birbirlerinden farklı ekolojik ũzellikler gŕstermektedir. Tũrkiye'nin su ũrũnleri ũretimi açısından denizler haricinde, diğer ŕnemli kaynakları da gŕl ve akarsulardan oluşmaktadır. Sahip olduğumuz gŕl tanımına giren rezervuarları, doğal gŕller ve yapay gŕller şeklinde iki ana gruba; doğal gŕlleri, i gŕller ve sahil gŕlleri (lagũnler), yapay gŕlleri de baraj gŕlleri ve daha çok sulama amacıyla yapılmış gŕletler olarak guruplandırmak olasıdır.

Ülkemizin sahip olduğu iç su kaynakları çizelge 1.1’de verilmiştir (D.İ.E., 2003; İşgören ve Elbek, 2006).

Çizelge 1.1 Türkiye’deki iç su kaynakları

	Sayısı	Büyüküğü (ha)	Uzunluğu (km)
Doğal Göller	200	906118	
Baraj Gölleri	168	344234	
Göletler	>750	15500	
Nehir – İrmaklar	33		177714
Yeraltı Suları			$9 \times 10^9 \text{ m}^3$

Türkiye’de endüstriyel anlamda su ürünleri yetiştiriciliği, 1970’li yıllarda ilk alabalık çiftliğinin faaliyete geçmesiyle ile başlamış ve 2017 tarihinde yetiştiricilik yapılan toplam işletme sayısı 2.308’e yükselmiştir. Yetiştiriciliğin toplam su üretimindeki oranı ise hızla yükselmiş ve yaklaşık olarak toplam üretimin %40’ına ulaşmıştır.

Su ürünleri yetiştiriciliğinde 2017 yılı itibariyle gelinen nokta: İç sularda 1.881 adet işletmesi ile 233.419 ton kapasite; denizlerde ise 427 adet işletmesi ile 254.440 ton balık üretimi kapasitesine ulaşılmıştır. Toplamda 2.308 adet tesisin kapasitesi 487.859 ton üretim gerçekleştirilmiştir.

Grup	Kapasite Grubu (ton)	Tesis Sayısı (adet)	Toplam Proje Kapasitesi (ton/yıl)
Deniz	0-50	173	3.939
	51-100	17	1.415
	101-250	18	3.324
	251-500	68	23.368
	501-1000	71	61.524
	1001>	80	160.870
TOPLAM		427	254.440
İçsu	0-50	1.352	21.497
	51-100	108	9.460
	101-250	175	35.164
	251-500	118	51.689
	501-1000	125	108.209
	1001>	3	7.400
TOPLAM		1.881	233.419
Deniz+İçsu	0-50	1.525	25.436
	51-100	125	10.875
	101-250	193	38.488
	251-500	186	75.057
	501-1000	196	169.733
	1001>	83	168.270
TOPLAM		2.308	487.859

Şekil 1.1 Su Ürünleri Yetiştiricilik Tesislerinin Kapasitelerine Göre Dağılımları (TÜİK 2016)

Dünya Gıda ve Tarım Organizasyonu (FAO) tarafından 2015 yılında derlenen verilere göre, 2015 yılı itibariyle, 170.345.641 tonluk üretime ulaşılmıştır. Bu miktarın 76.641.025 tonluk kısmı su ürünleri yetiştiriciliği ile geriye kalan 93.704.616 tonluk kısmı ise avcılık yolu ile elde edilmiştir.

	AVCILIK (ton)			YETİŞTİRİCİLİK (ton)			TOPLAM (ton)
	Deniz	İçsu	Toplam	Deniz	İçsu	Toplam	
2010	77.828.396	11.271.565	89.099.961	22.310.734	36.790.052	59.100.786	148.200.747
2011	82.623.550	11.124.401	93.747.951	23.366.371	38.698.805	62.065.176	155.813.127
2012	79.719.854	11.630.320	91.350.174	24.707.343	41.948.313	66.655.656	158.005.830
2013	80.899.153	11.687.507	92.586.660	25.536.710	44.686.846	70.223.556	162.810.216
2014	81.564.094	11.895.922	93.460.016	26.727.687	47.104.420	73.832.107	167.292.123
2015	81.179.323	12.525.293	93.704.616	27.879.872	48.761.154	76.641.025	170.345.641

Şekil 1.2 Dünya Su Ürünleri Üretimi (TÜİK 2016)

Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK) ve Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığına bağlı Balıkçılık ve Su Ürünleri Genel Müdürlüğü tarafından 2016 yılında derlenen verilere göre, 2016 yılı itibariyle, 588.715 tonluk üretime ulaşılmıştır. Bu miktarın 253.395 tonluk kısmı su ürünleri yetiştiriciliği ile geriye kalan 335.320 tonluk kısmı ise avcılık yolu ile elde edilmiştir.

Yıllar	AVCILIK (ton)			YETİŞTİRİCİLİK (ton)			TOPLAM (ton)
	Deniz	İçsu	Toplam	Deniz	İçsu	Toplam	
2000	460.521	42.824	503.345	35.646	43.385	79.031	582.376
2001	484.410	43.323	527.733	29.730	37.514	67.244	594.977
2002	522.744	43.938	566.682	26.868	34.297	61.165	627.847
2003	463.074	44.698	507.772	39.726	40.217	79.943	587.715
2004	504.897	45.585	550.482	49.895	44.115	94.010	644.492
2005	380.381	46.115	426.496	69.673	48.604	118.277	544.773
2006	488.966	44.082	533.048	72.249	56.694	128.943	661.991
2007	589.129	43.321	632.450	80.840	59.033	139.873	772.323
2008	453.113	41.011	494.124	85.629	66.557	152.186	646.310
2009	425.275	39.187	464.462	82.481	76.248	158.729	623.191
2010	445.680	40.259	485.939	88.573	78.568	167.141	653.080
2011	477.658	37.097	514.755	88.344	100.446	188.790	703.545
2012	396.322	36.120	432.442	100.853	111.557	212.410	644.852
2013	339.047	35.074	374.121	110.375	123.019	233.394	607.515
2014	266.078	36.134	302.212	126.894	108.239	235.133	537.345
2015	397.731	34.176	431.907	138.879	101.455	240.334	672.241
2016	301.464	33.856	335.320	151.794	101.601	253.395	588.715

Şekil 1.3 Türkiye Su Ürünleri Üretimi (TÜİK 2016)

Türkiye’de yetiştiriciliği en çok yapılan türler, alabalık, levrek ve çipuradır. 2016 yılında 117.013 tonluk üretim ile alabalık ilk sırada yer almaktadır. İkinci sırada ise 80.847 tonluk üretimi ile levrek gelmektedir. Üçüncü olarak 58.254 tonluk üretimi ile çipura yer almaktadır.

Yıllar	Alabalık			Çipura	Levrek
	İçsu	Deniz	Toplam		
2000	42.572	1.961	44.533	15.460	17.877
2001	36.827	1.240	38.067	12.939	15.546
2002	33.707	846	34.553	11.681	14.339
2003	39.674	1.194	40.868	16.735	20.982
2004	43.432	1.650	45.082	20.435	26.297
2005	48.033	1.249	49.282	27.634	37.290
2006	56.026	1.633	57.659	28.463	38.408
2007	58.433	2.740	61.173	33.500	41.900
2008	65.928	2.721	68.649	31.670	49.270
2009	75.657	5.229	80.886	28.362	46.554
2010	78.165	7.079	85.244	28.157	50.796
2011	100.239	7.697	107.936	32.187	47.013
2012	111.335	3.234	114.569	30.743	65.512
2013	122.873	5.186	128.059	35.701	67.913
2014	107.983	5.610	113.593	41.873	74.653
2015	101.166	6.872	108.038	51.844	75.164
2016	101.297	5.716	107.013	58.254	80.847

Şekil 1.4 Türkiye’de Yetiştiriciliği En Çok Yapılan Türlerin Üretim Miktarları (TÜİK 2016)

Dünya nüfusunun kullandığı proteinin yaklaşık %6’sı balık tüketiminden elde edilmektedir. Toplam hayvansal proteinler ise %24 oranında balıklardan karşılanmaktadır. Yetiştiricilik yolu ile elde edilen miktardaki artışa rağmen avcılık stoklarından elde edilen miktarda gelecek yıllarda artış beklenmemektedir. Yapılan çalışmalar su ürünleri yetiştiriciliğine olan talep artışında farklı sebepler ortaya çıkmaktadır. Bu artışın nedenleri aşağıda özetlenmiştir.

1. Dünyadaki doğal rezervlerin kullanımının maksimum kapasiteye yaklaşmasına bağlı olarak doğal ortamdan avcılık yolu ile su ürünleri temininin talebi karşılayamaması; dünya nüfusunun artışına paralel olarak hayvansal protein ihtiyacının günden güne artmasından dolayı su ürünleri avcılığı talebi karşılayamaz duruma gelmiştir.
2. Su ürünlerinin artan popülasyonun nitelikli besin ihtiyacını karşılayacak bir kaynak olması ve toplumların su ürünlerinin besin değerini anlamış olması;

yapılan çalışmalar 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 fazladır.

3. 200 millik Münhasır Ekonomik Bölge ilanları balık avcılığında kısıtlamalara sebep olmuş ve açık deniz balıkçılığı giderek daha pahalı ekonomik faaliyete dönüşmüştür; Bu alanlarda yapılan balıkçılık faaliyetleri için ilgili ülkeler ile anlaşmalar yapmak gerekmekte olup ek sorumluluklar getirmektedir. Bu sorun ülkemiz için daha ciddi büyüklüktedir. Bilindiği gibi halen Yunanistan ile olan kara suları sorunu devam etmektedir. Yunanistan'ın gerek Avrupa Birliği gerek Birleşmiş Milletler nezdinde Türkiye karşıtı tutumu kıyı ötesi balıkçılığı ile ilgili sorunların derinleşmesine sebep olabilir.
4. Sucul ortamların kirlenmesi ve ortamdaki yoğun balık avcılığı; balıkçı gemilerinin teknolojik yönden gelişmesine paralel olarak balık sürülerinin tespiti için kullanılan sonar ve ecosounder gibi cihazlar sayesinde sucul ortamlardan daha yüksek miktarda balık avlanmaktadır. Özellikle az gelişmiş ülkelerde bu av gücü ile popülasyonun durumu bilinmeden ve boy sıralaması yapılmadan avcılık yapılması doğal rezervleri tahrib etmiş ve bazı türlerin yok olma tehlikesi ile karşılaşmıştır. Bunun neticesinde artan sanayileşmeye bağlı olarak üretilen atıkların rafine edilmeden sucul ortama atılması, artan kentleşme ve tarımsal faaliyetler sonucu meydana gelen kirlilik doğal rezervlerin yenilenmesini zorlaştırmaktadır.
5. Pazar talebinin artması ve doğal üretimin azalması neticesinde pazar fiyatlarındaki artış; toplumun tüketim alışkanlıklarının gelişmesi ve ihtiyaca yönelik doğal üretimin talepleri karşılayamaz hale gelmiş olması yetiştiricilik çalışmalarının önemini günden güne arttırmaktadır.
6. Balık tüketiminin yıl içinde yayılması; su ürünleri tüketimine alışmış toplumlar sadece av sezonlarında değil tüm yıl boyunca talep artışına neden 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 ilerlemeler yetiştiricilik sonucu elde edilen ürünlerin kalite ve kantitesini arttırmış, buna bağlı olarak üretim fiyatlarını azaltmıştır. Buda pazara daha ucuz ürün sunumunu sağlamıştır.

Bu bilgiler ve su ürünleri ile ilgili yapılan araştırmalar göz önüne alındığında yetiştiricilik çalışmalarının günden güne daha çok önem kazanacağı görülmektedir.

Ülkemizde içsularda bilhassa alabalık yetiştiriciliği üzerine üretimin yoğunlaştığı görülmektedir. Bundan dolayı Türkiye, Avrupa ülkesi içerisinde alabalık yetiştiriciliğinde öncü ülke konumundadır. Deniz balığı yetiştiriciliğinde ise Avrupa ve ülkemizde levrek (*Dicentrarchus labrax*) ve çipura (*Sparus aurata*) türlerinin kültürü üzerine yapılan araştırmalarda artış gözlemlenmiştir. Ülkemizde alabalık üretimi başarısına paralel olarak deniz balığı larval yetiştiricilik alanında da Akdeniz ülkeleri içerisinde en fazla üretim yapan ülkeler sıralamasında yerini almıştır. Bütün bu gelişmelere rağmen sektörün bu türlere olan talebin doygunluğa ulaşması ve arz talep arasındaki dengesizlik deniz balığı yetiştiriciliğinde özellikle geçtiğimiz yıllarda alternatif tür olarak isimlendirilen ekonomik değeri yüksek bazı türlerin üretime alınma mecburiyetini ortaya çıkarmıştır. Günümüzde alternatif tür olarak üretime dahil edilen türler arasında, lahos (*Epinephelus auneus*), sinarit (*Dentex dentex*), kırma mercan (*Pagellus erythrinus*), mırmır (*Lithognathus mormyrus*), sivriburun karagöz (*Diplodus puntazzo*), fangri (*Pagrus pagrus*), kalkan (*Psetta maxima*) ve sariağız (*Argyrosomus regius*) türleri sayılmaktadır.

Alternatif türlerin üretiminin başarılı bir şekilde gerçekleştirilmesi bu türlerin üreme biyolojilerinin tam olarak bilinmesi ve bilhassa anaç bireylerin elde edilmesi ile doğrudan ilişkilidir. Kültürü yapılan deniz balıklarında anaç bireyler ya doğadan avcılık yolu ile yakalanarak ya da yetiştiricilik yöntemi ile elde edilmektedir. Özellikle dişi ve erkek karakterleri bir arada barındıran farklılaşmamış gonokorist özellik gösteren türlerde doğadan anaç elde etmek oldukça zordur. Bunun yanı sıra yakalanan türlerin tank ortamına adaptasyonu en sık görülen sorunların başında gelmektedir. Bununla birlikte yetiştiricilik yöntemi

ile anaç temin eden işletmelerde farklı sorunlarla karşı karşıya gelinmektedir. Anaç odaları için işletmelerin çok geniş alanlar kullanma mecburiyeti anaç yönetimi için kalifiyeli teknik eleman bulma zorluğu görülen en sık problemlerin başında gelmektedir. Bununla birlikte özellikle erkek bireylerin kaliteli sperma verebilmesi tamamen beslenme ile bağlantılıdır. Anaç balıkların yüksek protein ve esansiyel yağ asidi barındıran canlı ve yaş yemlerle beslenmesi gerekmektedir. Bu yemler işletmeye ekstra gider oluşturmakta ve üretim maliyetlerini arttırmaktadır. Bu sebeple geçtiğimiz yıllarda balık spermi, yumurta ve embriyo dondurulması ile ilgili araştırmalar hız kazanmaktadır. Ancak balık spermasının saklanması ve muhafaza işlemlerinin memeli spermalarının korunmasına oranla çok daha geride kaldığı görünmektedir. Bunun en büyük nedenlerinden biri işletmelerin sperm kalitesinden çok yumurta ve larva kalitesi üzerine yoğunlaşmış olmalarıdır.

Sperm hücrelerinin dondurulması ile ilgili ilk araştırmalar memeli spermleri üzerine uygulanmıştır. Sperm ve dondurucu hava sıcaklığı ile ilgili ilk yapılan gözlemlerin 1770'li yıllarda gerçekleştiği belirtilmiştir. İlk kez 1866 tarihinde insan sperminin dondurularak saklanması fikri ortaya atılmıştır. 1940 senesinde Londra'da Sir Alan Parker ve arkadaşları kümes hayvanı spermatozoasını dondurarak saklamak istemişlerdir. Ancak çok başarılı olamamışlardır. Araştırmacılar sperm örneğini dondurmak için levülos (fruktoz) içine koyarlarken, tesadüfen gliserol, albümin ve sudan oluşan karışımın içerisine koymuşlar ve dondurmada başarılı olmuşlardır. Dondurulmuş ve çözölmüş sperm kullanılarak elde edilen ilk gebelik 1953 tarihinde belirtilmiştir. 1960 senesinde sperm dondurma ve saklama işlemlerinde sıvı nitrojen kullanılmaya başlanmıştır. 1961 tarihinde Audrey Smith yayınladığı bir makalede boğa spermini gliserol yardımı ile dondurduğunu ve çözdürölmüş spermlerle başarılı bir gebelik elde ettiğini belirtmiştir. Bu çalışma memelilerde suni tohumlamanın önünü açmış ve ilk sperm bankası 1972 senesinde kurulmuştur. Günümüzde insan spermalarının uzun süreli korunumu yaygın olarak uygulanmakta ve sperm bankaları kurulmaktadır. Bununla beraber boğa, at, keçi, köpek vb. memeli spermaları da günümüzde ticari olarak uzun süreli saklanmaktadır. Günümüzde sucul ortamda yaşayan türlerde de bu başarının sağlanması için farklı araştırmalar yürütölmektedir.

Balık spermi ile ilgili araştırmalar 1800'lü tarihlere kadar gitmektedir. Spallanzani 1853 senesinde sazan spermini gözleyerek (*Cyprinus carpio*) 15 dakika ile 8 saat arasında değişen motilite periyotlarını kaydetmiştir. Bu tip teknikler suni dölleme de ki gelişmeleri tetiklemiş bilhassa alabalık üretimindeki problemlerin çözülmesini sağlamıştır. Ayrıca benzer bir araştırma alabalık yumurtalarının döllemede ki sperm temas süresine açıklık getirmek için 1773 senesinde yapılmıştır. Ayrıca balıkçılıkla ilgilenen iki araştırmacı da 19. yüzyılın ortalarında Fransa'da (Remy, Gehin) önemli biyolojik veriler elde etmişlerdir.

Büyük zorluklarla toplanan anaçlardan elde edilen gametlerin korunumu son yıllarda gündeme gelmiştir. Bununla birlikte balık spermlerinin muhafazasının diğer önemli avantajlarını aşağıdaki şekilde sıralayabiliriz;

1. Erkek ve dişi gametlerin senkronizasyonunun sağlanması; dişi ve erkek damızlıklar arasında üreme periyodunda görülen senkronizasyon bozukluğu sebebi 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 elde edilemediği takdirde yumurtalar kullanılamamaktadır. Bunun tersi durumda ise yani erkek bireylerden sperm alımı yapıldığında dişi bireylerden yumurta alımı gerçekteşmediği durumda ise sperm kaybı söz konusu olmaktadır. Spermlerin soğuk muhafazaya alınması neticesinde gametler arası senkronizasyon sağlanmaktadır.
2. Yeterli miktardaki spermin istenilen vakitte kullanılması; önceden sağımı yapılan ve muhafaza edilen spermler, ihtiyaç duyulduğu takdirde istenilen zamanda ve istenilen miktarda rahatlıkla çözdürülerek kullanılabilirler.
3. Anaç yönetiminin kolaylaştırılması; birçok balık türü fotoperiyot veya sıcaklık döngüsü manipulasyonları neticesinde yumurtlatılmaktadır. Ancak bu tekniğin maliyeti oldukça fazladır. Spermlerin soğuk muhafaza edilmesi sonucunda maliyeti oldukça fazla olan mevsim dişi yumurtlatma işlemleri sadece dişi anaçlarla kısıtlı kalacaktır.

4. Gametlerin transferi; yetiştiricilik ortamındaki stoğun çeşitlendirilmesi ve oluşabilecek akrabalığın önüne geçilmesi açısından farklı bölgelerdeki anaçlardan gamet temini daha yararlıdır. Spermanın muhafazası sayesinde gamet transferi daha kolay gerçekleştirilebilmektedir. Yüksek verime sahip hatlara ait spermlerin diğer işletmelere nakledilmesi veya yabancı formlara ait genlerin kuluçkahane stoklarına aktarımında muhafaza teknikleri kullanılmaktadır.
5. Spermlerin yaşlanmasının önlenmesi; damızlık balıklarda testislerde gelişen sperma ilerleyen zaman içerisinde kullanılmadığı sürede yaşlanarak kalitesi düşmektedir. Muhafaza sayesinde spermanın yaşlanmasının önüne geçmek ve kalitesini üst düzeyde tutmak mümkündür.
6. Bilimsel araştırmalarda yıl boyu ihtiyaç duyulan sperm karşılanması; genetik araştırmalarda beslenme performanslarının karşılaştırılmasında sperm örneklerinden yararlanılır. Spermelere yapılan analizler beslenme özelliklerini ortaya çıkarmaktadır. Ayrıca üreme biyolojisi ve üreme biyolojisinin çevreye etkisi gibi araştırmalarda ihtiyaç duyulan sperm rahatlıkla çözdürülerek kullanılabilir.
7. Evcilleştirilmiş populasyonlardaki genetik farklılığın korunması; evcilleştirilmiş stoklardaki soğuk muhafaza edilmiş spermler genetik yönden selekte edilebilir. Balık populasyonlarının genetik çeşitliliği soğuk muhafazalanmış spermlerin gen bankasında korunması ile sağlanır. Dondurulmuş sperm kullanılarak bir sonraki nesillerde daha iyi gelişme ve büyüme sağlayan bireyler elde edilebilmektedir.
8. Nesli tükenmekte olan türlerin koruma altına alınması erkek bireylerin nadir bulunduğu durumlarda bilhassa lahoslar gibi ticari türlerin protogenik hermafrodit olduğu durumlarda yada kalkan gibi sperm üretim miktarının ve teminin düşük olduğu türlerde sperm sonradan kullanımlar için muhafaza edilerek stoklanabilir.

9. Salgın hastalıkların önlenmesinde; anaçlardan alınan spermeler çok düşük sıcaklıklarda dondurulduğunda hastalığın yeni bireylere transferi önenebilir. Bu sayede hastalıkların taşınmasının engellenmesinde kullanılabilir (Sansone et al., 2002).

Geçmiş yıllardan günümüze kadar balık spermelerinin soğuk muhafazası memeli spermelerinin soğuk muhafazasının yanında geride kalmıştır. Su ürünleri yetiştiriciliğinin gelişmesi ile birlikte balık spermalarının soğuk korumasının önemi ortaya çıkmıştır. Yetiştiriciliğin ana prensibi yetiştiriciliği yapılan türlerden maksimum verimlilik almaktır. Ancak bu durum yalnızca iyi gametlerin elde edilmesiyle gerçekleşmemektedir. Gamet kontrolü bakımından soğuk muhafaza tekniklerinin geliştirilmesi nicel ve nitelik olarak türlerdeki verimlilikte bir artış göstermektedir. Ayrıca iyi hatlara sahip bireylere her an üretime alınabilmesi ve akrabalı yetiştirme neticesinde genetik yönden meydana gelebilecek olumsuz durumlar ortadan kalkacaktır. Balık spermelerinin korunması ve taşınması ülkemizde yapılan araştırmalara bakıldığında henüz yeni bir konudur. Yapacağımız araştırmalar ile gelecekte su ürünleri yetiştiriciliğinde yükselen üretim hızımızı ve miktarımızı daha yukarılara taşımayı hedeflemekteyiz.

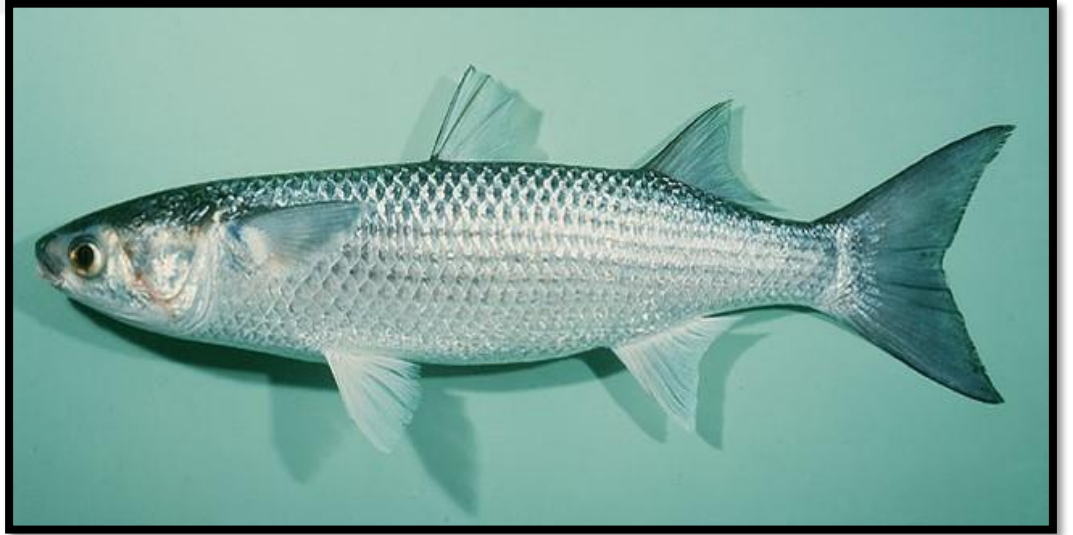
Bu amaç doğrultusunda yapılan çalışmada, topan kefal (*Mugil cephalus* L. 1758) spermasının doğal üreme mevsimi süresince pH, hacim, yaşama kabiliyeti ve muhafaza süresi gibi spermatolojik özelliklerin belirlenmesi, kısa süreli koruma işleminde 4 farklı inaktivatörün (Hepes, Tris, BSA, DMSO) etki mekanizmalarını saptamak amacıyla yapılmıştır.

2. LİTERATÜR BİLDİRİŞLERİ

2.1. Topan Kefal (*Mugil cephalus*) Balığının Biyolojik Özellikleri

Topan Kefalin sistematığı aşağıdaki gibidir;

Kingdom	: Animalia
Phylum	: Chordata
Subphylum	: Vertebrata
Superclass	: Gnathostomata
Class	: Actinopterygii
Order	: Mugiliformes
Family	: Mugilidae
Genus	: Mugil
Species	: <i>Mugil cephalus</i> Linnaeus, 1758.



Şekil 2.1 Topan kefal (*Mugil cephalus*) Genel Görünümü

Kefal balıkları özellikle Akdeniz ülkeleri açısından son derece önemli balık türleridir ve bu nedenle yetiştiriciliklerine başta İtalya, Fransa, Tunus, Mısır, İsrail gibi ülkelerde yüksek düzeyde önem verilmektedir. Mugilidae familyasına bağlı

olan kefallerin 100'den fazla türü vardır. Bu türler eurytherm ve euryhalin özellik gösterir. Sıcaklığı 3 °C'den 35 °C'ye kadar değişen sulara uyum sağlarlar. Tuzluluğu %60-70 tuzlu lagünler ile tatlı sularda yaşayabilmektedir. Denizlerin yanı sıra denizlere üreme göçü yapan (Katadrom) balıklardır. Yavruları acı suların bulunduğu lagüner bölgelerde, nehir ağızlarında bulunur. Yaşamını sığ sularda ve otluk-kumluk-çamurluk zeminde sürdürür. Kanalizasyon çıkışlarına yaklaşır. Yetişkin bireyler daha çok derin sularda zaman geçirirler. Genç bireyler büyük sürüler halinde, erginler daha küçük sürüler halinde dolaşmaktadırlar.

Has kefal, topan veya paçoz olarak da bilinmektedir. Pasifik ve atlantik okyanuslarını içine alan çok geniş bir alanda yayılım göstermektedir. Ülkemizin bütün sahilleri ve Atlantik okyanusunun Avrupa kıyılarında yaygın olarak bulunmaktadır. Tropik ve ılıman bölgelerde yaşayabilen bu tür ısı, oksijen, tuzluluk gibi biyolojik etkenlere karşı geniş ölçüde dayanıklıdır. Bu etkenlere toleransından dolayı daha çok lagünlerde ve nehir ağızlarında yayılım gösteren pelajik bir türdür. Ürkek ve çevik bir tür olup yaz aylarında besin gereksinimlerini karşılamak için sahil sularına göç ederler ve bol miktarda besin bulunan küçük körfez ve limanlara girmektedirler. Kış aylarında ise derin sulara sürüler halinde göç ederek yaşamlarını sürdürmektedirler.

Topan kefalın doğal üreme periyodu ülkemizde Temmuz – Ekim ayları arasındadır. Sahilden biraz uzakta 100-150 m derinliğe kadar olan deniz suyunda yumurta bırakırlar. Küresel ve saydam bir görünümde olan yumurtaların çapları 1 mm civarındadır. Yumurta kabuğu pürüzlüdür. Yumurtanın sarı kısmı bölümsüz bir kitle görünümündedir. Perivitellin boşluğu küçüktür. Yumurtalar pelajik olup 4-5 gün içerisinde açılır. Larvalar 6 veya 7 günlük olunca besin kesesi kaybolur. Laboratuvar şartlarında yumurtalar 22-23 °C de 20-22 saat sonra kuluçka teknesinin dibine çöktükleri tespit edilmiştir. Bu nedenle yumurtaların ve yumurtadan yeni açılmış larvaların plankton ağı ile toplanması zordur. Erkekler 6-7, dişiler 7-8 yaşlarında cinsi olgunluğa ulaşırlar. Yumurta verimi her kg canlı ağırlık için 1-1.5 milyon arasında değişir.

Beslenme açısından omnivordurlar. Bentik organizmalar, zooplanktonlar, algler ve detrituslar ile beslenir. Boyları ortalama 35-50 cm olup maksimum

boyları 120 cm'dir. Ağırlıkları 1-5 kg arasında değişebilir. Maksimum ağırlıkları 8 kg'dır. Topal kefalın beyaz etinin lezzetli olması ve muflanarak pazarlanan havyar yumurtasıyla ekonomik değeri oldukça yüksek bir türdür.

Vücut ince ve uzundur. Bütün yüzgeçler açık renktedir. Yüzgeç formülü D1 IV; D2 I+7-9, AIII+8-9 şeklindedir. Vücut sırtta zeytin yeşilinden maviye kadar değişen tonlardadır. Vücudun yanları metalik gri, karın beyazdır. Burun gözler arası mesafeden uzundur. Ağız küçük ve terminal konumdadır. Dudaklar incedir. Gözler iri ve üzerinde yağlı göz kapakları bulunur. Yanal çizgileri bulunmaz. 9-10 kadar uzunlamasına açık renkli çizgi bulunur. 2 dorsal yüzgeç bulunmaktadır. Omur sayıları 24-26 arasındadır. Kuyruk yüzgeçi çatallıdır. Yetişkinlerde ctenoid pul bulunur. Gözleri etrafında gözbebeğine kadar uzanan gayet iyi gelişmiş yağ kapaklarının bulunması, pektorallerin kaidesinde üçgenimsi şekilde sertleşmiş bir pulun olması, başın üstten basık ve geniş yapılı olması, uzunluğunun maksimum vücut yüksekliğine eşit ve başın üzerinin büyük pullarla kaplı olması bu türü diğerlerinden kolaylıkla ayırmamızı sağlamaktadır.

2.2. Balıklarda Üreme Sistemi

Balıklarda üreme sistemi, gonadlar (üreme organları) ile gonoduktlerden (üreme organları kanalları) oluşur. Diğer omurgalılarda olduğu gibi, balıklarda da gonadlar, sölomun mediyo-dorsalinde uzunlamasına ve çift olarak oluşur. Çoğunlukla da çift olarak yer alırlar. Fakat bazen gelişme sırasında iki gonadın birleşmesi ya da birinin gelişip, diğerinin körelmesi sonucu tek de olabilirler. Gonadlar, sölomun dorsal çeperine mezenterler ile bağlanırlar. Ovaryumları bağlayan mezentere, mezovaryum; testisleri bağlayana da, mezokiryum denir (Demir, 1992).

2.2.1. Testisler ve Spermatogenesis

Balıkların üreme sistemi gonadlar ve gonadlara bağlı kanal sisteminden oluşmakta olup gonadlara erkek balıklarda testis adı verilmektedir. Testisler vücut boşluğunun medio-dorsalinde, uzunlamasına ve çift olarak yer almaktadır.

Testisler vücut boşluğunun çeperine ‘Mesorchium’ adı verilen ligament ile bağlıdır (Billard, 1992; Suquet et al., 1993).

Üreme mevsimine bağlı olarak testislerin boyutları ve renkleri değişiklik göstermektedir. Olgun testislerin ağırlıkları vücut ağırlıklarının %12’sinden daha fazlasına ulaşabilmektedir. Ayrıca olgun testislerin renkleri çoğunlukla kremimsi-beyaz ve taneciksiz bir yapıda olmaktadır (Demir, 1992; Akçay vd., 1995; Geldiay ve Balık, 1999).

Testisler, etrafları ince bir bağ dokusu tabakasıyla çevrelenmiş çok sayıdaki spermatogenetik birimlerden meydana gelmektedir. Birbirleriyle retetestis adı verilen bir kanal ağıyla ilişkili olan spermatogenetik birimler kemikli balıklarda tüpcük biçimindedir. Bu birimlerin içerisinde üreme hücreleri (spermatogonium) ve sertoli hücreleri olmak üzere iki tip hücre bulunmaktadır. Sertoli hücrelerinin, besleyici rolleri ve hormon sentez etme yetenekleri bulunmaktadır (Billard, 1988; Demir, 1992; Ciereszko and Dabrowski, 1993).

Erkek balıklarda spermatozoalar sperm ana hücreleri veya spermatogonia hücrelerinden meydana gelmektedir. Spermatogonia hücrelerinden spermatozoaların oluşumuna kadar meydana gelen olaylar zincirine sitoloji birimi dalında ‘Spermatogenesis’ adı verilmektedir. Spermatogenesis sırasında ilk olarak spermatogonialar, tekrarlanan mitotik bölünmelerle proliferasyona maruz kalmaktadırlar. Prolifere olan spermatogonialardan gelişen primer spermatozitler mayoz bölünmeye uğrayarak sekonder spermatositleri oluşturmaktadırlar. Oluşan sekonder spermatositlerin tekrar mayoz bölünmesiyle spermatidler, meydana gelen spermatidlerinde metamorfoz geçirmesiyle spermatozoalar şekillenmektedir. Oluşan spermatozoalara spermia veya sperm adı verilmektedir. Ayrıca spermatidlerdeki metamorfoz olayına ise ‘Spermiogenesis’ adı verilmektedir. Söz edilen bütün bu oluşumların hepsi testis dokusu tübülleri içinde meydana gelmektedir (Evans, 1998).

Balık spermalarının fizyolojik ve morfolojik yapısı türden türe farklılık göstermektedir. Örneğin alabalık spermatozoasının baş kısmı ince ve uzun bir yapıya sahipken sazan, kefal, tilapia ve kalkan spermatozoasının baş kısmı

küremsi bir yapıdadır. Balık spermasının akrozom bölgesinde mevcut olan mitokondrinin yapısal işlevi memeli spermlerinden farklı bir görev yüklenmiştir. Memeli spermlerinde mitokondri spermin döl yatağında ilerlemesini ve yumurta zarını eritmesi için gerekli enzimleri ve enerjiyi sağlamaktadır. Fakat balık yumurtasında mikropil bulunmasından dolayı, mitokondrinin böyle bir görevi bulunmamaktadır. Balık spermasında hücre çekirdeğinin görünümü iğ, küre ve bıçak şeklindedir. Histonların yerini protaminlerin aldığı lepistes ve alabalık spermatozoasında kromatin oldukça yoğun bir yapı şeklinde görülmektedir. Ayrıca tilapya ve sazan spermatozoasında ise kromatin yoğunluğu lepistes ve alabalığa göre daha az yoğun olduğu bilinmektedir (Jamieson, 1991).

Spermatozoanın orta kısmı; dış dölleme yapan türlerde kısa, iç dölleme yapan türlerde ise uzundur. Spermatozoanın orta kısmında düzensiz ve asimetric bir yapılaşma mevcut olup 8-10 adet mitokondri bulunmaktadır (Billard, 1983; Billard, 1988; Mattei, 1988).

Geçmiş senelerde sperm morfolojisi ile ilgili yapılan araştırmalarda ışık mikroskopunun kullanıldığı görülmektedir. Fakat boyutsal bakımdan balık spermasının küçük oluşu spermin ultra yapısal durumu hakkında kısıtlı miktarda bilgi sahibi olunmasına sebep olmuştur. Bundan dolayı günümüzde ışık mikroskopunun yerine elektron mikroskoplarının aldığı (TEM, SEM) görülmektedir. Fakat bazı araştırmacılara göre bu yöntem pahalı ve zaman alıcıdır. Elektron mikroskopunun bu dezavantajına karşılık daha az zaman harcayan ve net sonuçlar elde eden bilgisayar yazılımı kullanılmaya başlanmıştır. Memeli spermlerinde uygulanan bir metod olan sperm morfoloji analiz programı (ASMA) ilk defa Japon süs balıklarına uygulanmıştır. Günümüze geldiğimizde ise yılan balığı, gökkuşuğu alabalığı gibi türlerin morfometrik analizlerinde kullanıldığı görülmektedir (Suquet et al., 1993).

Erkek balıklarda sperm üretiminin faaliyetinin harekete geçmesi, yumurtadan çıktıktan sonra belli bir vücut gelişimine erişmesi, elverişli sıcaklık derecesinin olması, ışık ve hormonal düzenek ile doğrudan bağlantılıdır. Çoğunlukla erkekler, dişilerden daha erken cinsel olgunluğa ulaşmaktadırlar. Cinsel olgunluğa ulaşan

erkek bireyler hemen sperma vermezler. İlk olarak spermatozoalar testisin kanal boşluklarında toplanırlar. Daha sonra uygun çevre şartları oluşuncaya kadar dinlenme durumunda beklerler. Daha sonra erkek balık üreme mevsiminde gonadotropin hormonlarının tesiriyle sperma vermeye hazır duruma gelir. Testislerde hareketsiz şekilde bulunan spermatazoa in vitro koşullarda su ile temasa geçince hareket yeteneği kazanır. Spermatazoanın suda aktif olduğu zaman oldukça kısadır ve su sıcaklığına bağlıdır. Bu süre 1-6 dk arasında değişiklik göstermektedir (Zohar et al., 1984).

Balıklarda üreme faaliyetinin başlayabilmesi için gerekli olan cinsi olgunluk düzeyi; yaş, belli bir vücut büyüklüğüne ulaşma, genetik yapı, uygun su sıcaklığı, ışık ve hormonal mekanizma ile doğrudan ilişkilendirilmektedir. Ayrıca cinsi olgunluk seviyesi türlere göre oldukça fazla değişkenlik göstermektedir. Örneğin tilapya türü bazı balıklar birkaç ayda cinsi olgunluğa ulaşabilirken, bu süre mersin ve yılan balığı türlerinde ise 8-10 yıla kadar çıkabilmektedir (Çelikkale, 1991).

2.3. Seminal Plazma

Seminal plazma ile ilgili ilk araştırma 1855 yılında gerçekleştirilmiştir. Bütün araştırmaların ortak sonucu sperm in vivo (canlı ortam) formda immotil (hareketsiz) olduğu ve aktivatör ekzojenlerle karşılaştığında da motil olduğudur. Yirminci yüzyılın başlarında kuru dölleme üzerine olan araştırmalarda büyük bir artış gözlenmiştir. Salmonid spermleri ile dölleme hususunda iyonların rolü hakkında araştırmalar yapılmıştır. İyonlar ve ortamdaki sıvının elektrolitesi özellikle spermdeki ATP döngüsü ve kullanımı direkt olarak etki etmektedir. Seminal sıvıdaki ortamın mekanokimyasal ve mekatronik özelliklerinin araştırılmasıyla sperm motilitesini arttırıcı yapay solüsyonlar hazırlanmaktadır. Ekstender olarak isimlendirilen bu solüsyonlar uzun süreli muhafazada kullanılmaktadır (Scheuring, 1924; Gaschott, 1928; Schlenk and Kahmann, 1938).

Seminal plazma, sperm hücrelerini destekleyen maddeler ile üreme sistemi ve spermatozoanın fonksiyonunu yerine getirmesini sağlayan maddeleri içermektedir (Akçay et al., 1995). Seminal plazmanın ana görevinin testislerde spermatozoanın korunması için optimum bir ortamı sağlamak olduğu

belirtirmekle birlikte, dölleme esnasında spermanın hareketini kolaylaştırıcı bir ortam hazırladığı da bildirilmiştir (Billard, 1986; Ciereszko et al., 2000).

Çizelge 2. 1 Bazı deniz balığı türlerinde kullanılan extender kompozisyonları

Türler	Extender Kompozisyonu	Araştırmacılar
<i>Micropogonias undulatus</i>	NaCl, Glüköz veya sükroz	Gwo et al., (1991)
<i>Hippoglossus hippoglossus</i>	NaCl, Glisin, NaHCO ₃	Bolla et al., (1987)
Barramundi (<i>Chitala blanci</i>)	Ringer Solüsyonu	Leung, (1987)
Lahos (<i>Epinephelus aeneus</i>)	NaCl	Gwo, (1993)
<i>Gadus morhua</i>	Sükroz, NaHCO ₃	Mounib, (1978)
Topan kefal (<i>Mugil cephalus</i>)	Ringer Solüsyonu	Chao et al., (1987)
<i>Hippoglossus stenolipus</i>	Ringer Solüsyonu	Tabata ve Mizuta., (1997)
<i>Zoarces americanus</i>	Yumurta sarısı	Yao et al., (1995)

Sperm özellikle kimyasal kompozisyonu bakımından oldukça kritik bir yapıya sahiptir. Seminal plazmanın bileşimini Na⁺, K⁺, Ca⁺², Mg⁺², Cl⁻, glukoz, sakroz gibi şekerler ve protein komponentleri oluşturmaktadır (Piironen, 1985; Marshall, 1986; Schmehl et al., 1987; Suquet et al., 1993). Seminal plazmayı oluşturan maddeler balık türüne, yaşam ve çevre koşullarına bağlı olarak farklılık göstermektedir. Spermayı oluşturan bileşikler seminal plazmada farklı oranlarda bulunmaktadır (Piironen, 1985). Bu iyonlar direkt olarak elektrolitik ortamın pH ve pOH'ını kontrol ederek sperm için gereken sinerjik elemanların hareketini sağlar. Organik bileşik olarak sperm pek çok cyprinidae familyasında görecelik göstermektedir.

Seminal Plazmada Na⁺ (75-175 mM), K⁺ (32-86 mM) ve Cl⁻ (112-183 mM) iyonları baskın olarak bulunduğu, Ca⁺² ve Mg⁺² iyonlarının ise 1-2 mM düzeylerinde olduğu belirtilmektedir (Morisawa, 1985; Suquet et al., 1994; Koldras et al., 1996).

Birçok balıkta, sperm motilitesi dışsal ortamın osmolaritesine bağlıdır. Birçok deniz balığı teleostları ve sazangillerde intraselüler iyon konsantrasyonunda ki farklılıkların sperm motilitesini düzenlediği tespit edilmiştir. Mersin balıkları ve alabalıklarda K⁺ iyon konsantrasyonu motiliteyi

düzenleyen başlıca faktör olarak görülür. Denizel teleostlarda seminal sıvı içinde Ca^{+2} iyon konsantrasyonunun yüksek miktarda olduğu ortaya konmuştur. Intraselüler parametreler; örneğin ATP, Ca^{+2} , sıcaklık ve pH motilite zamanını ve kapasitesini etkiler (Alavi et al., 2006).

Çeşitli türlerde osmolarite, aktivasyon solüsyon kompozisyonu, Ph ve sıcaklığa bakılmaksızın tek başına bir hareket tetikleyici olarak görev yapar. Deniz balığı ve tatlı su türlerinde sperm aktivasyonu hipotenik ortamla temas neticesinde oluşur. Bazı türlerde, örneğin çipura (Cabrita et al., 2006,2007), Senegal dil balığı (*Solea senegalensi*) (Martinez et al., 2006) ve balon balığında (*Takifugu niphobles*) (Krasznai et al., 2003) sperm motilitesi için hiperozmotik solüsyon kullanılmıştır.. Alabalıklar ve mersin balıklarının yanı sıra deniz balığı türlerinde de seminal plazmada kilit rol alan Ca^{+2} ve K^{+} iyonlarıdır (Alavi et al., 2006).

Seminal plazmayı oluşturan iyonların spermatozoa motilitesinin düzenlenmesinde ve seminal plazmanın ozmolitesinin ayarlanmasında gerekli olduğu bildirilmektedir (Scott and Baynes, 1980; Billard and Cosson, 1992). Ancak hücre membranlarında meydana gelen herhangi bir bozukluk sebebiyle seminal plazmayı oluşturan iyonların oranları değişebilmektedir. Bu durum plazmadan hücreye ya da hücreden plazmaya madde geçişine sebep olmaktadır. Genel olarak hücreden sperma plazmasına magnezyum ve potasyum, plazmadan hücreye ise sodyum ve kalsiyumun geçtiği belirtilmektedir (Ciereszko, 2000).

Balıklarda spermin suni seminal plazmayla seyreltilmesi ile ilgili yapılan çalışmalar, meydana gelebilecek bakteriyel üremenin önlenmesi ve bakterilerin meydana getirdikleri metabolik atıkların sperm kalitesini etkilememesi için seyrelticilere antibiyotik katmanın önemli olduğunu göstermektedir (Viveiros et al., 2003).

Balıklarda sperm kalitesinin laboratuvar koşullarında seminal plazma benzeri seyrelticilerde muhafaza edilerek artırıldığı ve bu seyrelticilere hücre kültüründe oldukça fazla kullanılan antioksidan, bovin serum albümin (BSA), 4-(2-hidroksi etil)-1-piperazin ethanosulfonic asit (hepes) ve antibiyotik gibi katkı maddeleri eklenerek sperm kalitesini daha da iyileştirilebildiği çeşitli

araştırmacılar tarafından belirtilmektedir (Maxwell ve Johnson, 1999; Kobayashi et al., 2004).

Alabalıklarda spermın suni seminal plazmayla seyreltilmesi ile ilgili yapılan araştırmalarda, seyrelticinin pH'sının sperm motilitesini ve motilite süresini etkilediği belirtilmektedir (Honeyfield and Krise, 2000). Ayrıca en yüksek motiliteler, pH'nın 8,5 ve 9 olduğu ortamlarda elde edilmiştir (Kobayashi et al., 2004). Seyrelticilerde bekletilen spermın metabolik faaliyetleri sonucunda pH değişimleri olabilmektedir. Bu değişimler spermı olumsuz etkileyebilmektedir (Boitano and Omoto, 1991). Spermdeki pH değişimlerinde meydana gelen hasarı engellemek için seyreltici ortamı içerisine hepes gibi bir tampon konulması gerekebilmektedir (Miura et al., 1992; Boitano and Omoto, 1991). Bununla ilgili literatür taraması yapıldığında spermın seyreltilmesinde kullanılan tampon çözeltilerin direkt etkilerinin incelendiği çalışmalar bulunmasa da yumurtalar üzerinde yapılmış çalışmalar mevcuttur (Niksirat et al., 2007; Goetz and Coffman, 2000).

2.4. Balık Spermlerinin Muhafazası

Balık spermalarının fizyolojisi esas olarak soğuk muhafaza için bilinmesi gereken hayati bir konudur. Fakat spermın in vitro ortamdaki özelliği kadar in vivo özelliği, testislerde nasıl bir fizyoloji içerisinde olduğu da oldukça önemlidir. Genitallerdeki spermın fizyolojisi in vitro ortamdaki spermın durumunu anlamaya yardımcı olmaktadır. Sperm kalitesi oldukça değişken ve farklı koşullara tabidir. Ayrıca beslenme rejimi, yem kalitesi, sıcaklık gibi faktörler de etkilidir. Spermaların kalitesi in vivo ortamda çok daha yüksektir. Ancak in vitro ortamda bu kalite oldukça düşüktür.

Sperm niteliği ile ilgili gerek popülasyonlar arasında gerekse bireyler arasında hatta aynı bireyin sperm hücreleri arasında büyük çeşitlilik bulunmaktadır. Spermın saklanması, döllemede kullanılması birçok içsel ve dışsal değişken tarafından belirlenmektedir. Ayrıca bu değişkenlerin araştırılmasından elde edilecek bulgular spermaların kriyoprezervasyonunda; dondurma çözdürme aşamalarında, motilite ve döllemede kullanılacak dilüsyon oranlarının tespitinde faydalı olacaktır.

Stoklama periyodu sonunda gametlerin yaşayabilmesi de birçok faktöre bağlıdır. Başarılı bir stoklama çalışması; gametlerin temel biyolojik değişkenliğinden, toplama teknikleri, bulaşma, gamet ve ortamın seyreltilme oranı, taşıma kabı ve stoklama sıcaklığı gibi birçok stoklama prosedürlerinden etkilenmektedir. Günümüzde spermeler kısa süreli ve uzun süreli olmak üzere 2 şekilde muhafaza edilmektedirler.

Geçmişten günümüze kadar alabalık, sazan, yayın ve mersin balıkları gibi bazı tatlı su balıklarında sperma kriyoprezervasyonunda protokol oluşturulabilecek çalışmalar yapılmıştır. Ayrıca yapılan çalışmalara deniz balığı türleri de eklenmiştir (Fabbrocini et al., 2000; Kopeika et al., 2008; Cabrita et al., 2008).

2.4.1. Kısa Süreli Koruma

Genellikle düşük sıcaklıklarda gametlerin birkaç saatten birkaç haftaya kadar uzanan kısa süreli mufazası ve stoklanması, gametlerin taşınması, hastalıkların kontrol edilmesi için kullanılabilir. Balık spermelerinin kısa süreli muhafazasında stoklama sıcaklıkları 0-12 °C arasında değişiklik göstermektedir. Fakat yaygın olarak kullanılan stoklama sıcaklığı 0-4 °C arasındadır. Spermanın kısa süreli saklanması için amaç, spermatozoon metabolizmasını yavaşlatıp, harcadığı hareket enerjisini azaltarak dölleme yeteneğini uzatmaktır. Kısa süreli saklama metodu damızlık erkek balıklardan spermanın alınıp, gerekli spermatolojik muayenelerin ve değerlendirilmelerin yapılmasının ardından tekniğine uygun olarak sulandırılıp +4 °C de muhafaza edilip dölleme amacıyla kullanılmasına olanak sağlamaktır (Bozkurt, 2004). Ayrıca üstün verime sahip bireylerin spermelerinin başka işletmelere nakledilmesinde veya yabancı flora için genlerin kuluçkahane stoklarına aktarımında da muhafaza tekniklerine ihtiyaç duyulmaktadır (Cloud et al., 1990). Spermelerin stoklama süreleri ise 1-21 gün arasında değişim göstermektedir.

Sperm çoğunlukla kısa dönemli olarak in vitro olarak saklanmaktadır. Fakat bu durumda sperm kalitesi türe bağlı olarak büyük bir farklılık göstermektedir. Sıcaklığın düşmesi ile korunum süresi artışı doğru orantılıdır. Bununla birlikte spermelerin yaşama süresinin uzatılması için inaktivatörler kullanılmaktadır.

Aas et al., 1991; yaptıkları çalışmada atlantik salmonlarında birden fazla sağımda sperma yoğunluğunun belirgin ölçüde azalma gösterdiğini saptamışlardır.

Astuirano et al., 2001; yaptıkları çalışmada levrek (*Dicentrarchus labrax*) balığı levrek sperm hacmini 2.1-5.3 ml.kg⁻¹ arasında değiştiğini bildirilmiştir. Ayrıca sperm canlılık süresinin 0,6 - 2 dk olduğunu tespit etmişlerdir.

Babaoğlu, 2007; çalışmada Manisa'daki bir alabalık işletmesinden elde edilen alabalıkların spermlerinin 0 °C'de kısa süreli muhafaza koşullarına adaptasyonunu incelemişlerdir. Fakat spermlerde herhangi bir hareketlilik görmemişlerdir. Fethiye'de fotoperiyot uygulayan bir alabalık işletmesindeki araştırmada, 0 °C'deki buz üzerinde bekletilen spermlerde yaklaşık 5 saatlik süre boyunca hareketlilik tespit etmişlerdir. Fakat daha sonra denenen kuru buz ile sperm muhafaza yönteminde sperm hareketliliği gözlemlenmemiştir. Bütün araştırmalar sonucunda spermlerin hareketli olmamasının en önemli sebebinin genetik sorunlar ve ülkemize çoğunlukla yabancı ülkelere gelen yumurta ve yavrularda gerçek anlamda saf erkek bireyler bulunmaması olduğunu bildirmişlerdir. Bundan dolayı işletmelerin, kendi damızlık ünitelerini kurmaları gerektiği vurgulanmış ve bireyleri kendilerinin yetiştirmesi ile bu sorunların aşılabileceği gerçeğini bildirmişlerdir.

Barbato et al., 1998; çalışmada çipuralardan (*Sparus aurata*) 0-3,1 ml sperma elde ettiklerini bildirmişlerdir.

Barbato et al., 2003; çalışmada çipura (*Sparus aurata*) spermlerini 0-2 °C'de yaşam sürelerinin 4-6 gün olduğu bildirilmektedir. Ayrıca sperm hacmi 2.6-7 ml.kg⁻¹ olarak bildirilmiştir.

Basavaraja and Hegde, 2005; yapmış oldukları çalışmada cyprinidae familyasından olan *Tor khudree* spermlerinde hormon uygulanmış gruptaki erkek balıklarda sperm hacminin daha yüksek olduğunu tespit ederken, sperm motilitesi, konsantrasyonu ve yaşama süresi üzerinde istatistiksel açıdan önemli bir fark olmadığını saptamışlardır.

Billard et al., 1983; yaptıkları çalışmada gökkuşuğu alabalığı spermelerinin canlılık süresini 3,6 dk olarak tespit etmişlerdir.

Bozkurt vd., 2005; gökkuşuğu alabalığında vücut büyüklüğünün sperma kalitesi parametreleri ve döllenme başarısı arasındaki ilişkisi ile ilgili yaptığı çalışmada sperma miktarını $9,3 \pm 3,33$ olarak belirlemiştir. Sperma miktarındaki bu farklılıkların özellikle besleme şartları, besleme metodu, işletme suyunun yapısı ve diğer çevre şartlarına bağlı olarak şekillendiği düşünmüşlerdir.

Büyükhatipoğlu ve Holtz, 1978; alabalıklar (*Oncorhynchus mykiss*) üzerinde yapmış oldukları çalışmada 4 °C'de 21 gün alabalık spermelerinin canlılıklarını sürdürdüklerini bildirmişlerdir.

Büyükhatipoğlu ve Holtz, 1984; yaptıkları çalışmada gökkuşuğu alabalığında sperma verimi üzerine sağımlık aralıkları, sağımlık zamanı, yaş ve dişi balık varlığının etkisini inceledikleri çalışmalarında sperma miktarını sezon başı, ortası ve sonunda aldıkları spermalara göre karşılaştırmışlar ve sırasıyla 24,6 ml; 13,4 ml; 8,9 ml olarak tespit etmişlerdir. Sperma yoğunluğunun üreme mevsiminin başından sonuna doğru düzenli bir azalma gösterdiğini tespit etmişlerdir.

Cabrita et al., 2005; yaptıkları çalışmada çipurada (*Sparus aurata*) abdominal masaj yöntemi ile 1 ml sperma elde ettiklerini bildirmişlerdir.

Canyurt vd., 2003; yaptıkları çalışmada gökkuşuğu alabalıkları üzerine araştırma yapmışlardır. Sağımlık ile alınan süt, suni seminal plazma (SSP; 1.6 mM CaCl_2 , 120 mM NaCl, 30 mM KCl, 1 mM MgCl_2 , 10 mM NaHCO_3 pH 8) ile 1:1 ve 1:2 oranında spermeleri seyreltmışlerdir. Buzdolabında +4 °C'de 14 gün süre muhafaza etmişlerdir.

Chao et al., 1975; topan kefal (*Mugil cephalus*) türü ile ilgili çalışmalar yürütmüşler ve 5 °C'de spermeleri muhafaza ederek 23 gün boyunca motilite oranlarını gözlemlemişlerdir.

Chao et al., 1987; yaptıkları çalışmada *Tilapia* sp. sperm hacmini 0.3-3 ml.kg⁻¹ olarak saptamışlardır.

Chauvaud et al., 1995; kalkan (*Psetta maxima*) balığında yaptıkları çalışmada sperm canlılık süresini 2-3 dk olarak bildirmişlerdir.

Chen et al., 2004; yaptıkları çalışmada kalkan (*Psetta maxima*) balığındaki sperm hacmi 0.4-1.25 ml.kg⁻¹ olarak tespit edildiği bildirilmiştir.

DeGraaf et al., 2004; yaptıkları çalışmada gökkuşuğu alabalığından alınan sperma miktarı ortalama 6 -12 ml olarak bildirilmiştir. Bu miktarın pek çok faktöre göre değişebildiği belirtmişlerdir. Suyun sıcaklığı, spermanın sağım aralığı, yaş, ortamdaki dişi varlığı ve özellikle de bakım besleme şartları sperma miktarı üzerinde oldukça etkili faktörler olarak bildirilmektedir.

Dreanno et al., 1997; kalkan (*Psetta maxima*) balığında yaptıkları çalışmada sperm canlılık süresini 3-5 dk olarak tespit etmişlerdir.

Engin, 2007; yaptığı çalışmada çipura (*Sparus aurata*) balıklarından alınan sperm örneklerini 0 °C'de buz içinde muhafaza etmiştir. Her altı saatte bir faz kontras tip mikroskopta inceleme yapmıştır. Çalışmada sperm muhafaza süreleri, hız, konsantrasyon, meristik karakterler ve sperm hacmi ile ilgili datalar elde edilmiş ve bu sonuçlar ebeveyn ile ilişkilerini araştırmıştır. Çalışmada kullanılan balıkların ağırlıklarının değişim aralığı 405-625 g, boylarının değişim aralığı ise 25-37 cm olarak tespit edilmiştir. Çalışmadaki sperm hacmi 3.1-8.3 ml.kg⁻¹ arasında olduğu tespit edilmiştir. Çalışmadaki 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 olduğu tespit edilmiştir. Çalışma boyunca tüm denek ve zamanlarda baş boyuna endeksli en yüksek hız 35.5 baş boy.sn⁻¹(210.16 µm.sn⁻¹) olarak tespit edilmiştir. En düşük hız 2.6 baş boy.sn⁻¹ (15.39 µm.sn⁻¹) olarak bulunmuştur. Bu çalışmayı toplam 126 saat sürdürmüşlerdir. En kısa muhafaza süresi 26-150 saat arasında. en uzun muhafaza süresi 126-150 saat arasında tespit edilmiştir.

Fauvel et al., 1999; çalışmada levrek balığında (*Dicentrarchus labrax*) 0,7-2,9 dk canlılık süresini tespit ettiklerini bildirmişlerdir.

Felip et al., 2006; yaptıkları çalışmada levrek (*Dicentrarchus labrax*) balığının sperm hacminin 1-2 ml.kg⁻¹ arasında olduğunu belirtmişlerdir. Sperm canlılık süresinin ise 1,4-2,6 dk arasında olduğunu tespit etmişlerdir.

Geffen and Evens, 2000; yaptıkları çalışmada gökkuşığı alabalığının (*Oncorhynchus mykiss*) sperm hacmini 4.8-6.5 ml.kg⁻¹ olarak tespit etmişlerdir.

Gjerde, 1984; gökkuşığı alabalığının sperma verimindeki değişimleri incelediği çalışmasında ortalama sperma miktarı ve vücut ağırlığına oranını 5 ml/kg vücut ağırlığı olarak tespit etmiştir. Ayrıca bir haftalık aralıklarla 3 kez yaptığı sağımlarda ortalama sperma miktarını sırasıyla 10,2±6,3; 6,9±5,4; 5,8±4,6 olarak saptamıştır. Yapılan çalışmada bireyin vücut ağırlığı ve vücut uzunluğu ile sperma verimi arasında pozitif bir ilişkinin var olduğunu da belirlemiştir.

Hatipoğlu vd., 2007; yaptıkları çalışmada Abant alabalığının bazı reproduktif özelliklerini, taze sperma ve kısa süreli saklanan sperma ile yapılan suni tohumlamalar sonucunda dölverimini incelemişlerdir. Abant alabalığının sperması süt beyaz- açık krem renğinde, sperma miktarı 7,39±0,25 ml; canlılık süresi 72,06±1,68 sn; ve pH değeri 7,46±0,07 olarak tespit edilmiştir.. Spermanın kısa süreli saklanmasında iki deneme grubu oluşturulmuş ve biri 0,3 M Glikoz diğeri Ringer solusyonu ile 1:2 oranında sulandırılarak +4 °C buzdolabında 48 saat saklanmıştır.

Hatipoğlu ve Akçay, 2010; çalışmada Abant alabalığı (*Salmo trutta abanticus*) spermlerini iki farklı extender (sulandırıcı) ilave ederek kısa süreli muhafaza etmişlerdir. Çalışmada 30 adet Abant alabalığı damızlıklarından aldıkları spermaları 1:2 oranında sulandırdıktan sonra +4 °C'de 48 saat muhafaza etmişlerdir.

Hulata and Rothbard, 1979; yaptıkları çalışmada sazan balığı (*Cyprinus carpio*) spermlerini 2-5 °C'de 2-3 gün muhafaza ettiklerini bildirmişlerdir.

Lahnsteiner and Patzner, 1998; çalışmada sargos balığında (*Diplodus sargus*) 1,5-2 dk canlılık süresi bildirmişlerdir.

Lahnsteiner et al., 1993; yaptıkları çalışmada gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) sperm miktarını 1,5-4,5 ml olarak tespit etmişlerdir.

Liu et al., 2006; çalışmada Çin mersin balığı (*Acipenser sinensis*) spermasının kriyoprezervasyonu ile ilgili incelemeler yapmışlardır. Çalışmada araştırmacılar 6 farklı sulandırıcı kullanarak spermayı sulandırmışlar ve +4 °C'de buzdolabında muhafazaya aldıktan sonra 12 saat ara ile 86. saate kadar motiliteyi gözlemlemişlerdir. Kullanmış oldukları D-5 (8,85 g/L NaCl; 0,40 g/L NaHCO₃) içerikli sulandırıcının diğer sulandırıcılara göre daha iyi sonuç verdiğini bildirmişlerdir.

Munkittrick and Moccia, 1987; ise Gökkuşağı alabalığı spermasındaki mevsimsel değişimleri inceledikleri çalışmalarında Şubat, Mart ve Nisan aylarında sperma miktarlarını sırasıyla 7,2±1,1; 7,0±1,0 ve 4,7±1,0 olarak tespit etmişlerdir. Sezon sonuna doğru sperma veriminin belirgin ölçüde azaldığını tespit etmişlerdir.

Mylonas et al., 2003; yaptıkları çalışmada fangri (*Pagrus pagrus*) balığının sperm hacmini 1.7-5.3 ml.kg⁻¹ olarak saptamışlardır. Ayrıca sperm canlılık süresinin 2,6-3,9 dk arasında olduğunu belirtmişlerdir.

Park and Chapman, 2005; yaptıkları çalışmada Meksika Körfezi mersin balığı (*Acipenser oxyrinchus desotoi*) ve kısa burunlu mersin balığı (*A. Brevirostrum*) spermlerini soğuk koruyucu ilave ederek kısa süreli muhafaza etmişlerdir. Çalışmada spermlerin bir kısmı buzdolabında kısıtlı oksijen ile 4 °C'de muhafaza etmişlerdir. Çalışmada canlılık uzatıcı ilave edilmiş ve 3-18 gün korunmuştur.

Penaranda et al., 2010; Avrupa yılan balığı (*Anguilla anguilla*) sperminin kısa süreli muhafazası için farklı seyreltici ortamlar hazırlamış ve bu seyrelticilere %2'lik BSA ilavesinin etkisini araştırmışlardır. Depolamanın 24. saatinde,

seyreltilmeyen spermier BSA içeren farklı ortamlarda seyreltilen spermilere göre daha düşük hareketlilik ve yaşam oranı göstermişlerdir. Ortama BSA ilavesinin kısa süreli sperm muhafazasında sperm hareketlilik kapasitesini korumaya yardımcı olduğu sonucuna varmışlardır.

Piironen and Hyvarinen., 1983; yaptıkları çalışmada tatlı su levreğinin sperm hacmi 0.5-1.5 ml.kg⁻¹ olarak tespit edilmiştir.

Saka vd., 2008; yaptıkları çalışmada sivriburun karagöz (*Diplodus puntazzo*) anaçlarından elde edilen spermieri kısa süreli korumuşlardır. Bu alışma toplam 54 saat srmuştr. İncelemenin sonunda 6 saatlik periyotlar halinde görüntülenen sivriburun karagöz spermieri başlangıçta doğrusal hareket göstermiş çalışmanın sonlarına doğru spiral dönme ve titreme ile hareket sonlanmış ve sperm aktivasyonunu yitirmiştir. Çalışma sonunda anaç balıklardan alınan sperm örneklerinden bir tanesi 6, dört tanesi 12, üç tanesi 18, altı tanesi 24, iki tanesi 30, üç tanesi 36, üç tanesi 48 ve bir tanesi 54 saat hareketliliklerini srdrmuştr. Çalışmadaki sperm hacmi ortalama olarak 5±1.75 ml.kg⁻¹ olarak saptanmıştır.

Sansone et al., 2001; yaptıkları çalışmada levrek balığının (*Dicentrarchus labrax*) spermierini 0-2 C stoklama sıcaklığında 3-5 gün arasında muhafaza ettiklerini bildirmişlerdir.

Scott and Baynes, 1980; yaptıkları çalışmada alabalık (*Oncorhynchus mykiss*) spermierini 0-5 C'de 8 gün, 5-10 C'de 2-3 gün, 12 C'de bir günden daha az canlılıklarını sürdürdüklerini bildirmişlerdir.

Suquet et al., 1994; kalkan (*Psetta maxima*) balığında yaptıkları çalışmada sperm canlılık süresini 1-17 dk olarak tespit etmişlerdir.

Suquet et al., 2000; çalışmada kalkan balığındaki (*Psetta maxima*) sperm hacmini 2.2 ml.kg⁻¹ olarak saptamışlardır.

şahin vd., 2013; çalışmada gökkuşağı alabalığının (*Oncorhynchus mykiss*) spermatolojik özellikleri ve spermmanın kısa süreli muhafazası incelenmiştir.

Çalışmada araştırmacılar, üreme sezonunda 12 erkek bireyden aldıkları spermalarda; sperma miktarı, motilite oranı, motilite süresi, spermatokrit oranı, yoğunluk ve pH'sı sırasıyla $16,20 \pm 14,15$ ml; $97,50 \pm 4,52$; $114,5 \pm 31,64$ sn; $22,1 \pm 10,15$; $9,40 \pm 4,48 \times 10^9$ spz.ml⁻¹; $7,1 \pm 0,16$ olarak tespit etmişlerdir. İki farklı sulandırıcı ile sulandırdıkları ve +4 °C'de muhafaza ettikleri spermalarda 12 saat ara ile motilite bakılmış ve glikoz içeren sulandırıcının diğer sulandırıcıya oranla daha yüksek bir motiliteye sahip olduğunu bildirmişlerdir.

Taddei et al., 2001; çalışmada sivriburun karagözde (*Diplodus puntazzo*) spermin canlılık süresi 1-3 dk olarak tespit edilmiştir.

Yanagimachi et al., 1992; yaptıkları çalışmada gökkuşuğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) sperminin canlılık süresi 0,4-2 dk arasında olduğu tespit edilmiştir.

Yılmaz, 2004; çalışmada levrek balığında (*Dicentrarchus labrax*) farklı yaş gruplarında spermasyon ve sperm kalitesi incelenmiştir. Herhangi bir katkı maddesi kullanmaksızın, levrek spermalarının +4 °C'de 16 gün yaşayabildikleri saptamışlardır.

2.4.2. Uzun Süreli Koruma

Uzun süreli sperm korunumu karmaşık işlemler dizini içermektedir. Spermayı kriyoprezervasyon yöntemi ile uzun süreli muhafaza etmenin amacı, spermatozoanın metabolizmasını yavaşlatıp hareket enerjisini azaltarak fertil ömrünü arttırmaktır. Kriyoprezervasyon biyoteknolojisi; damızlık erkek balıklardan spermanın alınıp gerekli spermatolojik muayenelerin ve değerlendirilmelerin yapılması, tekniğine uygun olarak sulandırılması ve paketlenmesinin ardından ultra düşük sıcaklık değerlerinde (-79 °C veya -196 °C) dondurularak muhafaza edilmesine ve fertilizasyon için kullanılmasına olanak sağlamaktadır. Dondurma ve çözündürme aşamaları boyunca hücre içi buz kristallerinin oluşumunu engellemek ya da minimize etmek gerekir. Bununla birlikte çözündürme aşamasında hücre zarının deplazmolize uğraması ve çökmesi gibi durumlar da gerçekleşebilmektedir. Bu konuyla ilgili pek çok çalışma

olmasına rağmen, eksik bilgi ve yarım kalan belirsiz sonuçlardan dolayı tam bir literatür oluşturulamamıştır. Bunun en önemli sebeplerinin başında denizel türlerin çeşitliliği gelmektedir. Bununla beraber ekonomik değeri olan türler üzerine yapılan çalışmalar incelendiğinde, bazı çalışmaların taze sperm ile dondurulup saklanmış sperm yumurtayı dölleme oranı ve larva açılım oranlarının karşılaştırılması üzerine çalışmaların yürütüldüğü, bazı çalışmaların ise balık spermının ne kadar uzun süreli saklanabileceği yönünde araştırmaların yapıldığı anlaşılmaktadır. Sonuç olarak, her ne kadar geçmişten günümüze kadar yapılan çalışmalar uzun süreli koruma olarak adlandırılmış olsa da bu çalışmaların anlık çözündürme ile bir kaç hafta arasında sınırlı kaldığı görülmektedir.

Memeli spermalarının doğal koşullarda döllemesi gereken yumurta sayısı balık spermaları ile karşılaştırıldığında binlerce hatta yüz binlerce kez balık spermalarının döllemesi gerekenden daha az sayıdadır. Ayrıca dış dölleme ile üreyen canlılar döllemenin meydana geldiği güvenli bir ortamdan, anne rahminden mahrumdur. Buna karşın balıklardaki yumurta sayısı olağanüstü derecede fazladır. Ancak sperm sayısı ve sperm yaşamı bu denli uzun değildir. Bu kısıtlılığın olumlu yanı doğadaki popülasyonu sağlamasıdır. Fakat yetiştiricilik koşullarında bu durum dezavantaja dönüşmektedir. Spermaların uzun süreli korunması, bu dezavantajı ortadan kaldırarak yetiştiricilik metodlarını destekleyebilecek olan en önemli biyoteknolojik metodlardan biridir. Bu yöntem ile spermaların 200 ile 32.000 yıl arasında zararlı etkilerden arındırılarak teorik olarak depolanması mümkündür.

Günümüze kadar yapılan çalışmalar genellikle türe has olmakla beraber pratikliği ve başarısı göreceli sonuçlar olarak kalmıştır. Ancak yer yer uygulamalarda kayıtlı edilen başarı ve gen bankacılığının yaygınlaşması bu konuyu önemli hale getirmiştir. 1970'lerden bu yana pek çok tür üzerinde soğuk muhafaza çalışmaları devam etmektedir. Günümüze kadar 200'ün üzerinde balık türünde soğuk muhafaza çalışmaları yapılmıştır. Özellikle salmonid türlerinde uygulaması oldukça yaygındır.

Dilüsyon oranları, sıcaklığın düşürülme hızı ve süresi, seyreltici içeriği, oranları gibi pek çok farklı etmen uzun süreli koruma prosedürünü etkiler. Ayrıca

spermlerin üreme mevsiminin hangi periyodunda toplandığı da çok önemlidir. Günümüzde bu konularda halen çalışmalar devam etmektedir.



3. MATERYAL VE METOD

Bu çalışmada, İzmir ili Çiğli mevkiinde bulunan Ege Üniversitesine bağlı olan Homa Dalyanından üreme döneminde (Temmuz-Ekim) temin edilen toplam 5 adet topan kefal (*Mugil cephalus*) balığı kullanılmıştır.



Şekil 3.1 Ege Üniversitesi Homa Dalyanı

Homa Dalyanındaki kuzuluklardan temin edilen topan kefal anaçları ilk olarak hassas terazi ile ağırlıkları alınmıştır (Şekil 3.2). Balıkların canlı ağırlıkları 1 g hassasiyetli arazi tipi terazi ile g cinsinden, uzunluk ölçüleri boylama aleti ile cm cinsinden ölçülmüştür.



Şekil 3.2 Ağırlık Ölçümü

Balıklar sağım işleminden önce havlu ile kurulanmıştır. Hemen ardından 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 3.3).



Şekil 3.3 Anaç Balıktan Sperma Alımı

Elde edilen sperm her biri numaralandırılmış 1ml'lik steril şırıngalara aktarılmıştır. Çalışmada sperm örneklerini içeren şırıngalar 0-2 °C'deki buz kalıpları ile dolu olan soğuk zincir taşıma çantasına konulmuştur. Örnekler ısı geçirmeyen soğuk zincir taşıma çantası ile taşınarak zaman kaybedilmeden incelenmek üzere Ege Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi'ne getirilmiştir. Burada ısı geçirmeyen taşıma çantası +4 °C'deki buzdolabında muhafaza edilmiştir.

Çalışmada kullanılacak inaktivasyon solüsyonları (Hepes, Tris, BSA, DMSO) laboratuvar ortamında hazırlanmış ve 1 ml taze spermaya 3 ml inaktivasyon solüsyonu ile sulandırılmıştır. 1:3 oranında hazırlanan solüsyonlar buzdolabında saklanmıştır.

Buzdolabı 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 CX-31 model faz-kontras mikroskop kullanılarak 100X büyütmede her saatte bir görüntülenmiştir. Bu işlem her saat 3 kez tekrarlanarak ortalamaları alınmıştır. Aktive edilmiş spermelerin video kamera ile saat ve tarih belirtilerek kaydedilmiştir.



Şekil 3.4 Olympus marka CX-31 model faz-kontras mikroskop

3.1.Sperm pH Ölçümü

Çalışmada incelenen topan kefal spermelerinin pH ölçümünde; pH indikatör kağıdı (Merck 5,5-9,0) kullanılarak sperm pH değeri saptanmıştır.



Şekil 3.5 PH Ölçümü

3.2. Sperm Hacminin Hesaplanması

Her saatte bir incelenen toplam 5 adet tüpteki sperm örnekleri hareketliliklerini yitirdikten sonra hacim hesaplanması 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. Fakat bu hacim gerçek sperm hacmi olmamaktadır. Sağım esnasında istenmeyen sperm aktivasyonunu engellemek amacıyla su ya da idrar ile temas eden sperm tüplere aktarılmamıştır. Dışarıya akıtılan bu spermelerin kaç damla olduğu sağım esnasında kayıt edilmiştir. Ardından bir damla sperm 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.

3.3. Spermilerin Yaşama Kabiliyeti Süreleri

Çalışmada hazırlanan taze ve inaktivatörlü solüsyonlar her saat incelenmek üzere 1 ml sperma 1 ml doğal deniz suyu ile aktif edilmiştir. Hareketin başladığı andan son ana kadarki hareket kronometre yardımıyla kayıt altına alınmıştır.

3.4. Spermilerin Muhafaza Süreleri

Çalışmada kullanılan 5 adet topan kefal spermi içeren tüpler 0-2 °C'deki soğuk zincir taşıma çantasında dik olarak (etrafı tamamen buz kalıplarıyla 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 spermelerin aktive olması sağlanmıştır. Aktive olan spermeler vakit kaybedilmeden Olympus marka CX-31 model faz-kontras mikroskopta görüntülenmiştir. Görüntüler mikroskoba entegreli video kamera ile kaydedilmiştir. Bu işlem 36 saatlik periyotta taze ve inaktivatörlü her bir tüpteki örnek için her saat 3 tekrar ile hesaplanmıştır. Tüplerdeki sperm örneklerinin aktivasyonu sonlanana kadar bu işlem devam etmiştir. Ayrıca tüplerde bulunan spermelerin hangi gün ve hangi saatte görüntüledikleri video kameraya sesli olarak kaydedilmiş ve not alınmıştır. Kayıt edilen süreler hesaplanarak sperm örneklerinin muhafaza süreleri saptanmıştır.

3.5. Verilerin Değerlendirilmesi

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

Anaçların ağırlık - boy, ağırlık - sperm hacmi, boy - sperm hacmi, sperm yaşama kabiliyeti - sperm hacmi, sperm yaşama kabiliyeti - balık ağırlıkları, sperm yaşama kabiliyeti - balık boyları, sperm muhafaza süresi - balık boyları, sperm muhafaza süresi - balık ağırlıkları, sperm muhafaza süresi - sperm hacmi ve sperm muhafaza süresi - sperm yaşama kabiliyeti ilişkileri regresyon analizi ile incelenmiştir.

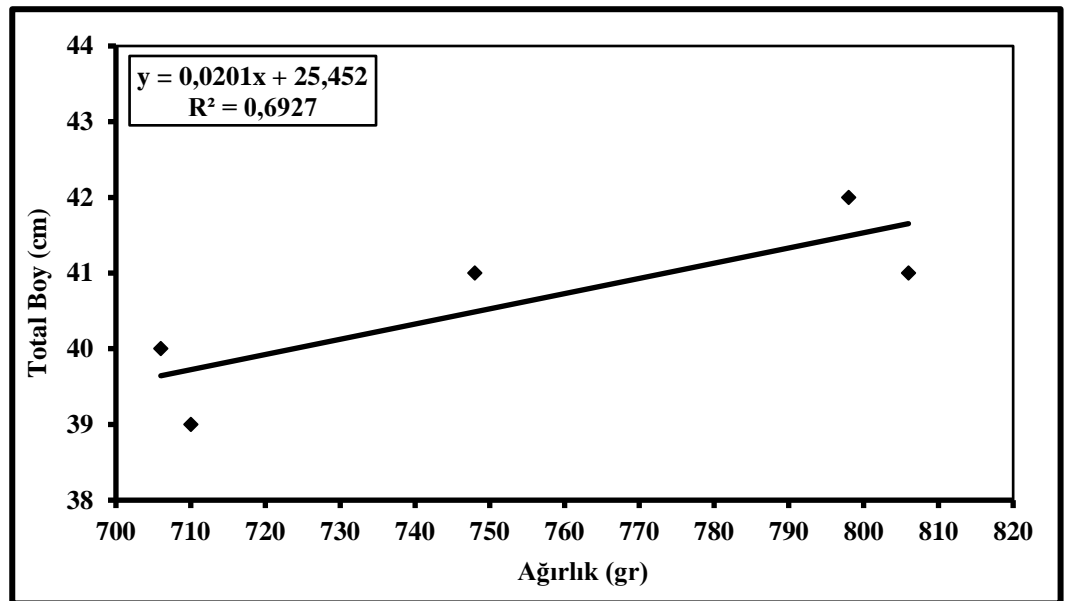
4. BULGULAR

4.1. Meristik Karakterler

Denemelerde kullanılan balıkların ağırlıklarının değişim aralığı 706-806 g, boylarının değişim aralığı ise 39-42 cm olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.1). Bu balıkların ortalama ağırlıkları 753.6 ± 47.21 g, ortalama boyları 40.60 ± 1.14 cm olarak saptanmıştır.

Çizelge 4.1 Çalışmada kullanılan anaçların ağırlıkları ile boylarının tanımlayıcı istatistikleri

	Ağırlık (gr)	Total Boy (cm)
Ort	753,6	40,6
Xmax	806,00	42,00
Xmin	706,00	39,00
Sd	47,210	1,140
Se	9,258	0,223
% V	6,3	2,8



Şekil 4.1 Topan kefal anaçlarının ağırlık-boy ilişkisi

Kullanılan total kefal balıklarının boy-ağırlık ilişkisi incelenmiş korelasyon katsayısı ($r: 0.84$) yüksek bulunmuştur. Bu ilişki $y= 0,0201x \pm 25,452$ olarak tanımlanmıştır. Deneklerin boy-ağırlık ilişkisinin pozitif allometri gösterdiği tespit edilmiştir. Deneme süresince sperm örnekleri alınan topan kefal balıklarının meristik özellikleri gösterilmiştir (Çizelge 4.2).

Çizelge 4.2 Deneklerin Ağırlık ve Boy Değerleri

<u>ÖRNEK</u>	<u>AĞIRLIK(gr)</u>	<u>BOY (cm)</u>
1	710	39
2	748	41
3	798	42
4	706	40
5	806	41

4.2. Sperm Ph'sı

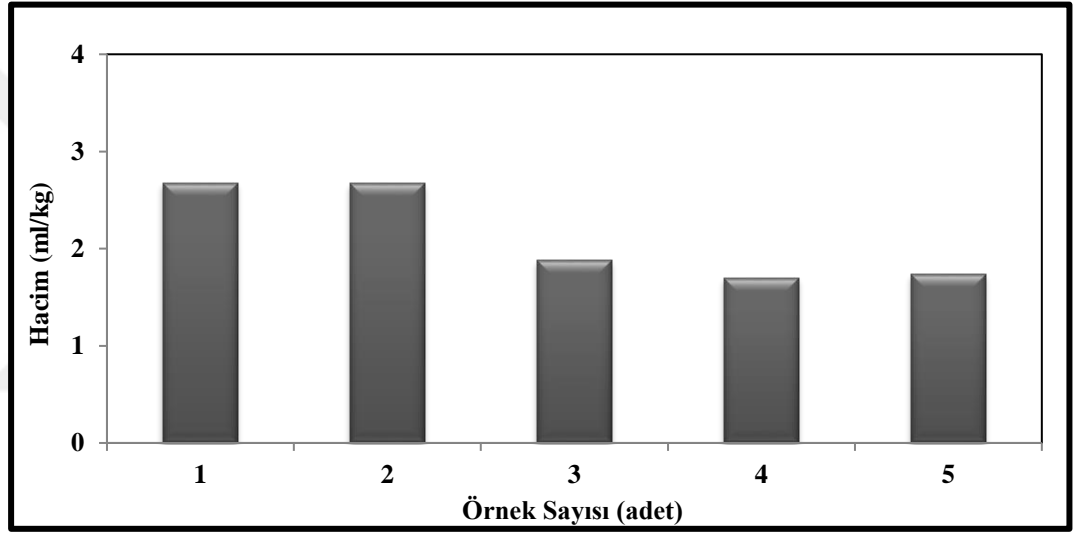
Çalışmada pH indikatör kağıdı (Merck 5,5-9,0) kullanılarak sperm pH değeri 6,7 olarak saptanmıştır.

4.3. Sperm Hacmi

Elde edilen verilere göre en yüksek sperm hacmi 2 numaralı anaçtan (2.8 ml/kg) temin edilmiş, en düşük sperm hacmi ise 4 numaralı anaçtan (1.7 ml/kg) elde edilmiştir. Ortalama olarak bu değer $2 \pm 0.5 \text{ ml.kg}^{-1}$ olarak saptanmıştır. Temin edilen sperm hacimleri şekil 4.2'de verilmiştir. Sperm hacmi tanımlayıcı istatistiği çizelge 4.3'de gösterilmiştir.

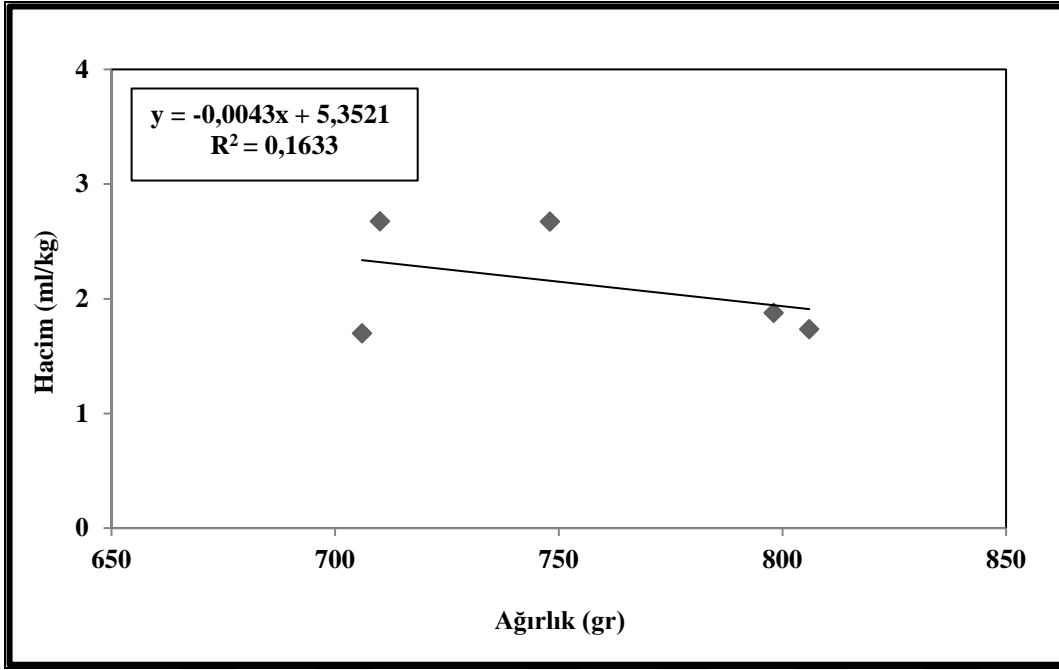
Çizelge 4.3 Sperm hacmi tanımlayıcı istatistikleri

	Hacim (ml / kg)
Ort	2,00
Sd	0,499
Se	0,098
% V	23,4



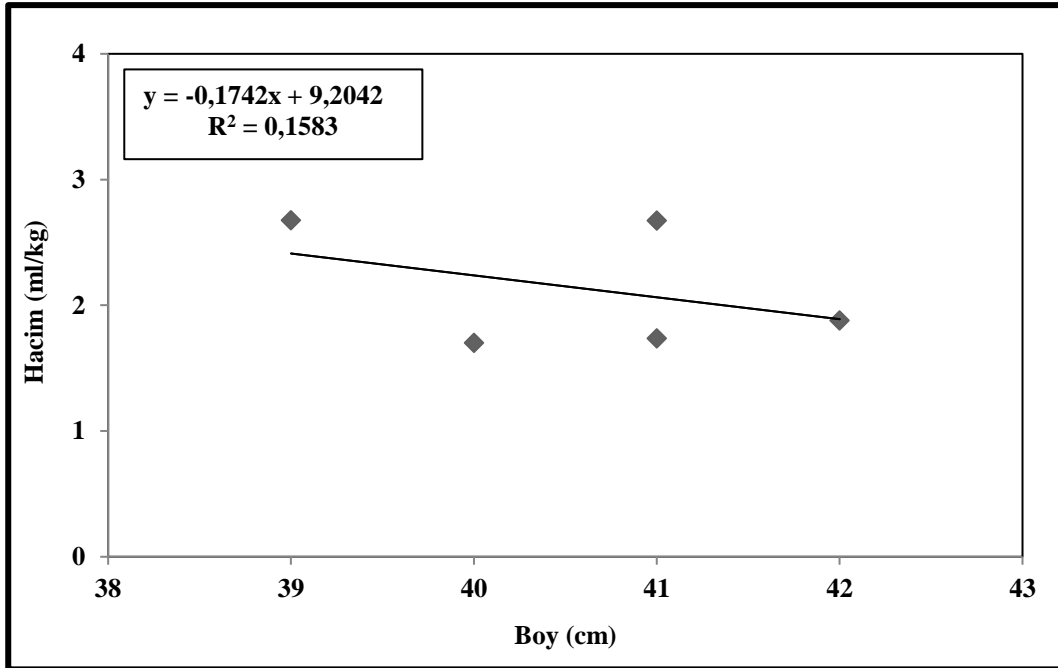
Şekil 4.2 Tespit edilen sperm hacimleri (ml.kg-1)

Elde edilen verilere göre sperm hacmi 1.7-2.8 ml/kg olarak saptanmıştır. Bununla birlikte yapılan incelemede sperm hacmi-ağırlık arasında korelasyon katsayısının (r: 0.40) zayıf ilişki olduğu tespit edilmiştir.



Şekil 4.3 Topan Kefal Anaçlarının Ağırlık-Sperm Hacmi ilişkisi

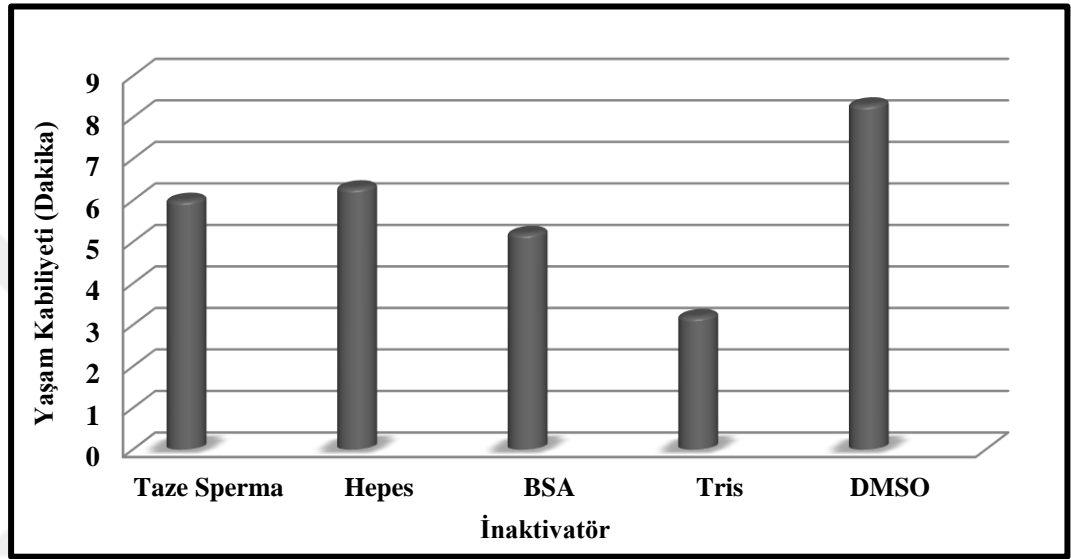
Sperm hacmi-boy arasındaki ilişki incelendiğinde de aynı sonuç ($r: 0.40$) ile karşılaşılmıştır. Her iki karakterin sperm hacmi arasında negatif allometri saptanmıştır.



Şekil 4.4 Topan Kefal Anaçlarının Boy-Sperm Hacmi ilişkisi

4.4. Sperm Yaşama Kabiliyeti

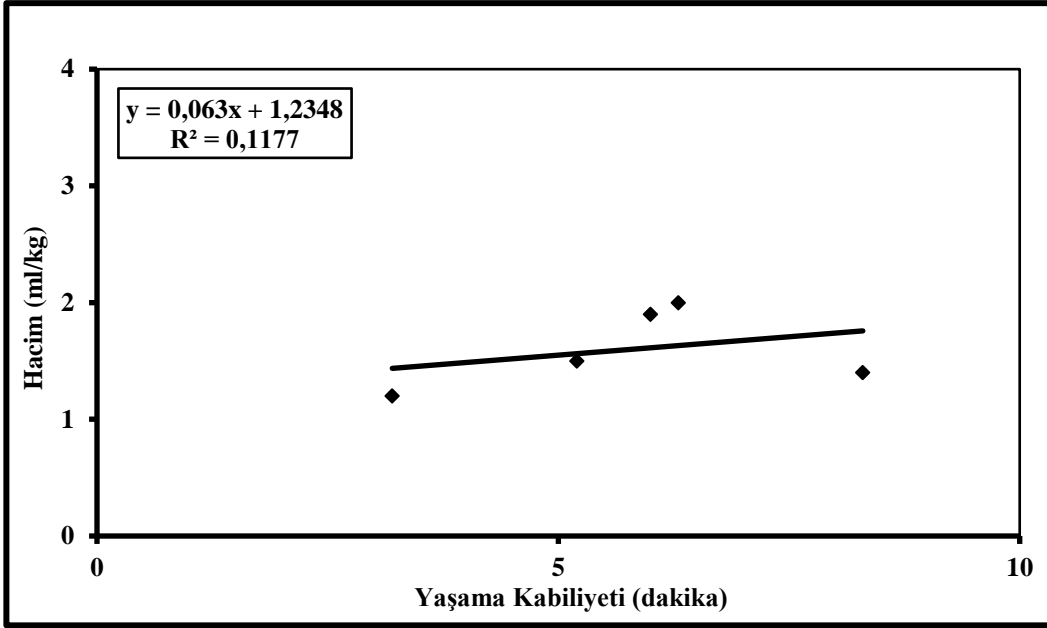
Topan Kefal Spermalarının Yaşama Kabiliyeti ve İnaktivatör Dağılımlarına bakacak olursak 1ml sperma 1ml doğal deniz suyu aktif edilerek hareketin başladığı andan son ana kadarki hareketin ilk dataları taze spermada 6 dk, Hepes’de 6,5 dk, BSA’da 5 dk 20 sn, Tris’de 3 dk 20 sn ve DMSO’da 8,5 dakika olarak tespit edilmiştir.



Şekil 4.5 İnaktivatör-Spermaların Yaşama Kabiliyeti İlişkisi

Çizelge 4.4 Çalışmada kullanılan anaçların spermalarının Yaşama Kabiliyeti ile sperm hacimlerinin tanımlayıcı istatistikleri

	Yaşama Kabiliyeti (dk)	Hacim(ml/kg)
Ort	5,8	1,6
Xmax	8,3	2,0
Xmin	3,2	1,2
Sd	1,848	0,339
Se	0,362	0,067
% V	31,9	21,2

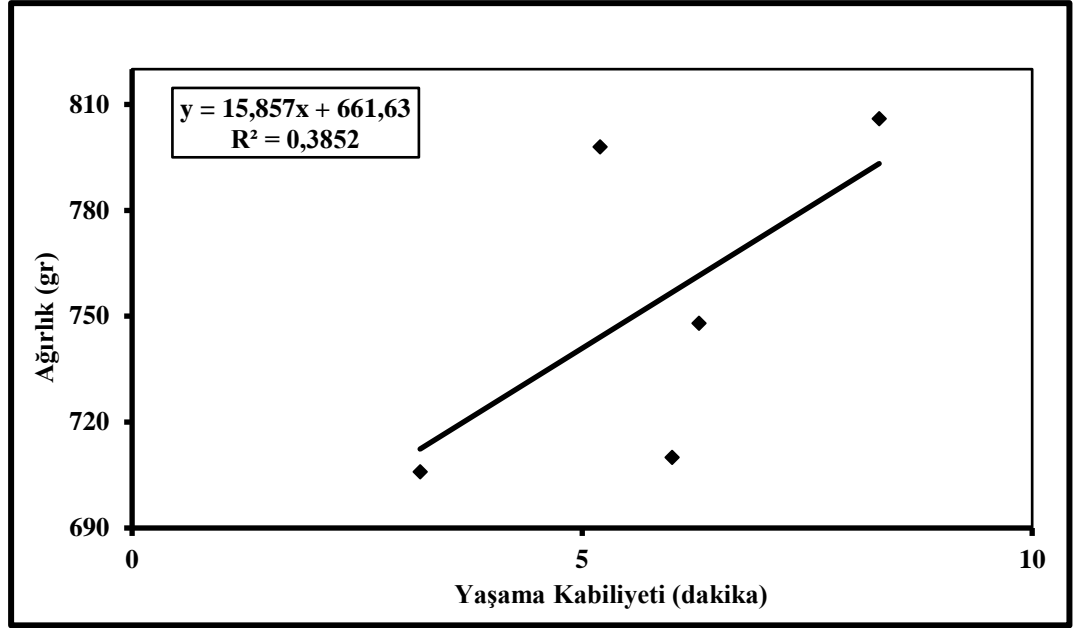


Şekil 4.6 spermlerin yaşama kabiliyeti-sperm hacmi ilişkisi

Topan kefal spermlerinin yaşama kabiliyeti ve sperm hacmi arasındaki ilişki incelendiğinde korelasyon katsayısı (r : 0.34) zayıf bulunmuştur. Bu ilişki $y = 0,063x + 1,2348$ olarak tanımlanmıştır.

Çizelge 4.5 Çalışmada kullanılan anaçların spermlerinin Yaşama Kabiliyeti ile balık ağırlıklarının tanımlayıcı istatistikleri

	Yaşama Kabiliyeti (dk)	Ağırlık (gr)
Ort	5,8	753,6
Xmax	8,3	806,0
Xmin	3,2	706,0
Sd	1,848	47,210
Se	0,362	9,259
% V	31,9	6,3

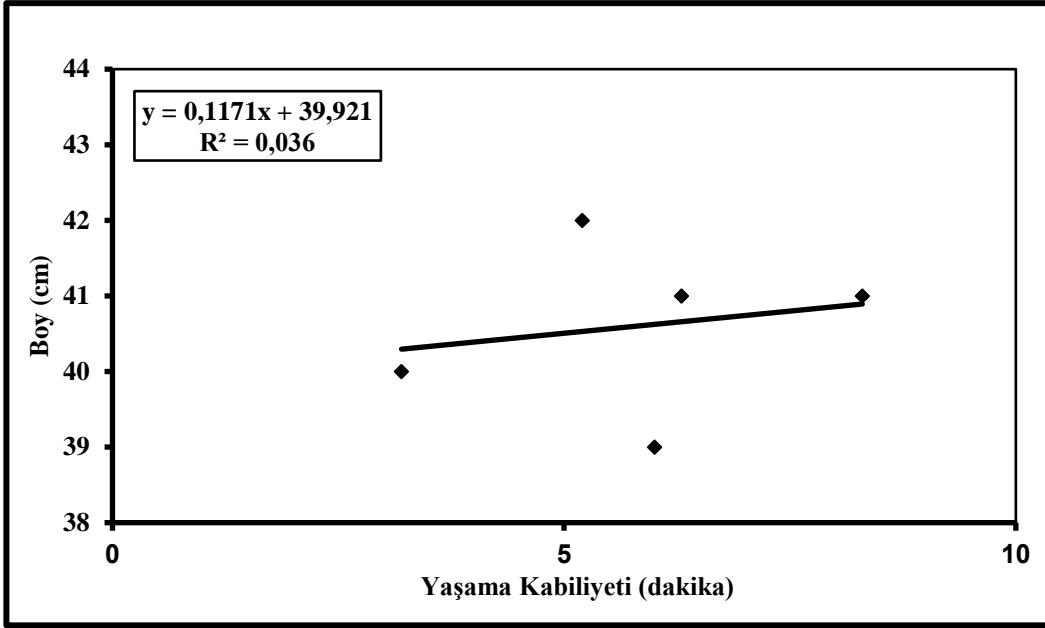


Şekil 4.7 Spermlerin Yaşama Kabiliyeti-Balık ağırlıkları ilişkisi

Topan kefal spermlerinin yaşama kabiliyeti ve balıkların ağırlıkları arasındaki ilişki incelendiğinde korelasyon katsayısı (r : 0.62) orta bulunmuştur. Bu ilişki $y = 15,857x + 661,63$ olarak tanımlanmıştır.

Çizelge 4.6 Çalışmada kullanılan anaçların spermlerinin Yaşama Kabiliyeti ile balık boylarının tanımlayıcı istatistikleri

	Yaşama Kabiliyeti (dk)	Boy (cm)
Ort	5,8	40,6
Xmax	8,3	42,0
Xmin	3,2	39,0
Sd	1,848	1,140
Se	0,362	0,224
% V	31,9	2,8

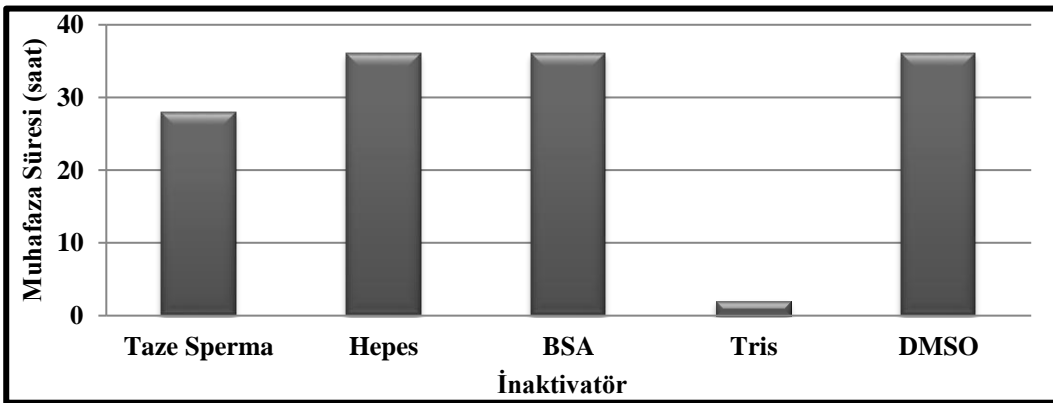


Şekil 4.8 Spermilerin Yaşama Kabiliyeti-Balık boyları ilişkisi

Topan kefal spermelerinin yaşama kabiliyeti ve balıkların boyları arasındaki ilişki incelendiğinde korelasyon katsayısı (r : 0.19) çok zayıf bulunmuştur. Bu ilişki $y = 0,1171x + 39,921$ olarak tanımlanmıştır.

4.5. Sperm Muhafaza Süresi

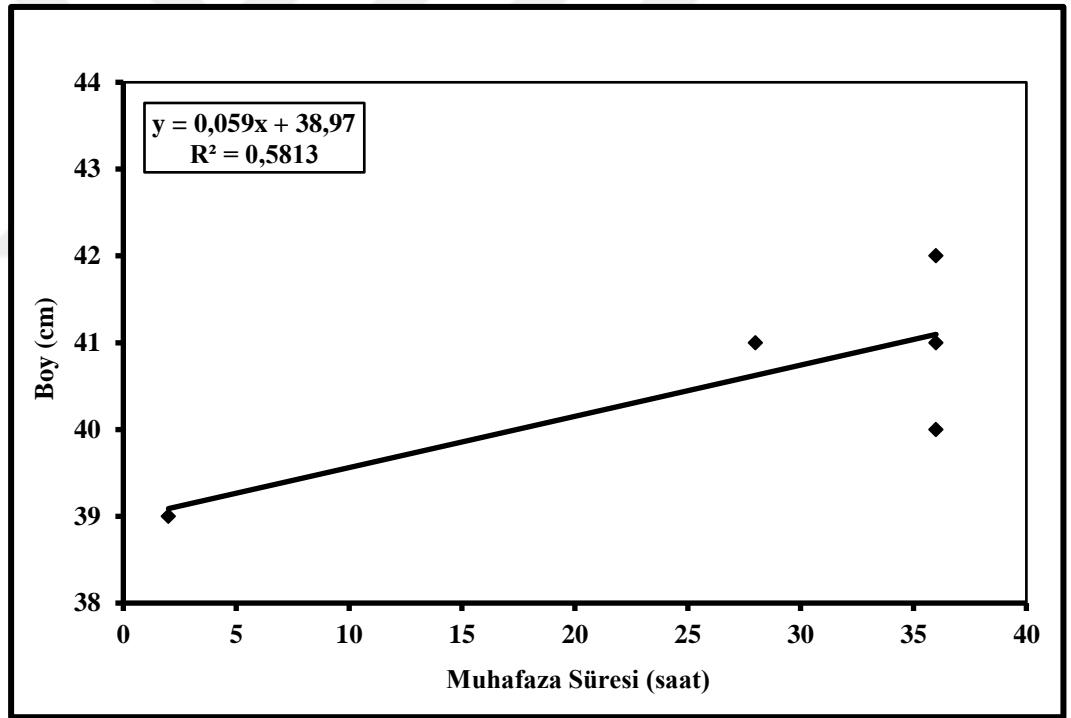
Topan Kefal Spermelerinin Muhafaza Süresi ve İnaktivatör Dağılımları incelendiğinde çalışma sonunda Tris 2 saat, taze sperma 28 saat hareketliliklerini sürdürürken; Hepes, BSA ve DMSO inaktivatörleri 36 saat hareketliliklerini sürdürmüşlerdir.



Şekil 4.9 İnaktivatör-Sperm Muhafaza Süresi ilişkisi

Çizelge 4.7 Çalışmada kullanılan anaçların spermlerinin muhafaza süresi ile balık boylarının tanımlayıcı istatistikleri

	Muhafaza Süresi (saat)	Boy (cm)
Ort	27,6	40,6
Xmax	36	42,0
Xmin	2	39,0
Sd	14,724	1,140
Se	2,888	0,224
% V	53,3	2,8

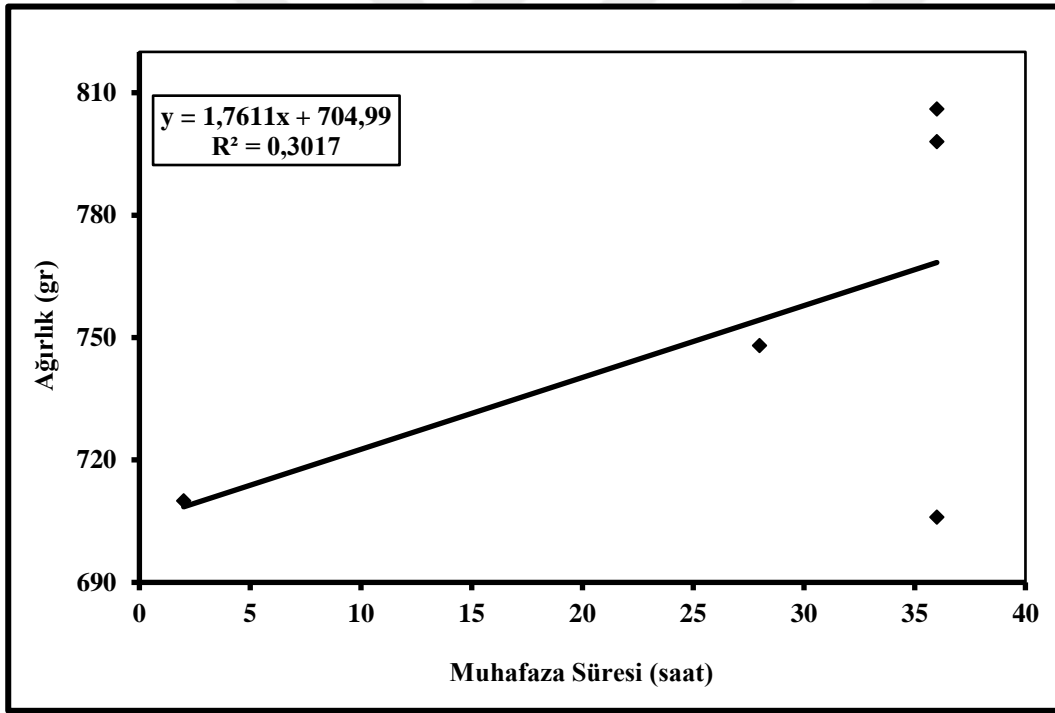


Şekil 4.10 Sperm Muhafaza Süresi-Balık boyları ilişkisi

Topan kefal spermalarının muhafaza süreleri (taze sperma, inaktivatör) ve balıkların boyları arasındaki ilişki incelendiğinde korelasyon katsayısı ($r: 0.76$) yüksek bulunmuştur. Bu ilişki $y = 0,059x + 38,97$ olarak tanımlanmıştır.

Çizelge 4.8 Çalışmada kullanılan anaçların spermalarının muhafaza süresi ile balık ağırlıklarının tanımlayıcı istatistikleri

	Muhafaza Süresi (saat)	Ağırlık (gr)
Ort	27,6	753,6
Xmax	36	806,0
Xmin	2	706,0
Sd	14,724	47,210
Se	2,888	9,259
% V	53,3	6,3

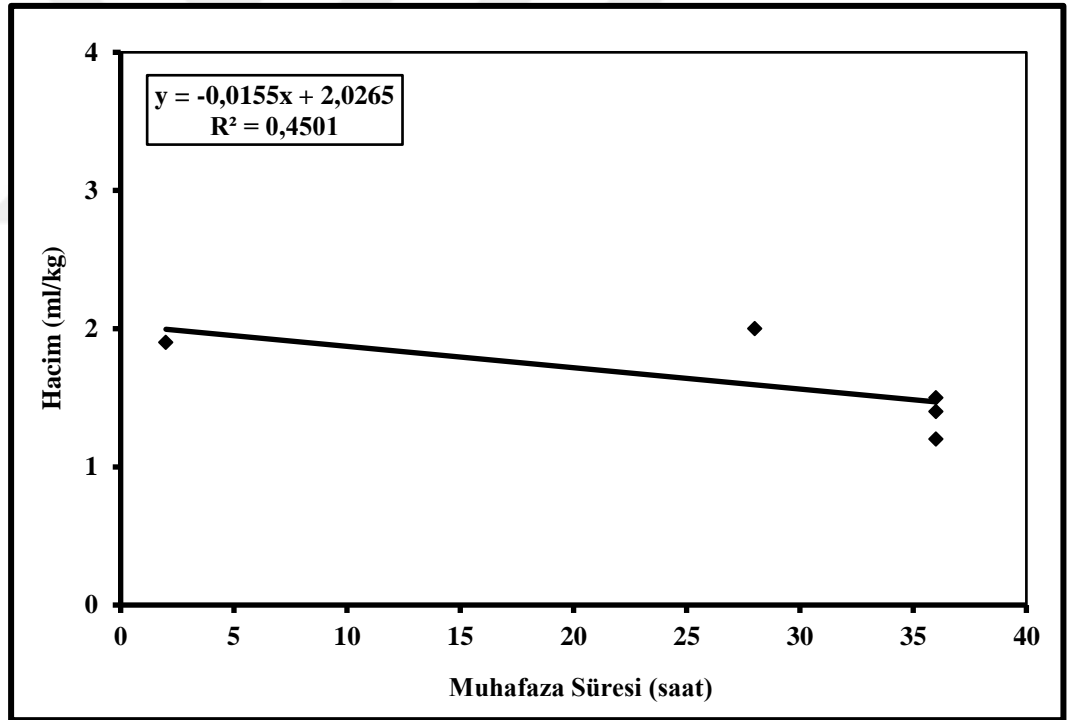


Şekil 4.11 Topan kefal spermalarının muhafaza süresi ile balık ağırlıklarının ilişkisi

Topan kefal spermalarının muhafaza süreleri(taze sperma, inaktivatör) ve balıkların ağırlıkları arasındaki ilişki incelendiğinde korelasyon katsayısı (r : 0.55) orta bulunmuştur. Bu ilişki $y = 1,7611x + 704,99$ olarak tanımlanmıştır.

Çizelge 4.9 Çalışmada kullanılan anaçların spermalarının muhafaza süresi ile sperm hacimlerinin tanımlayıcı istatistikleri

	Muhafaza Süresi (saat)	Hacim (ml/kg)
Ort	27,6	1,6
Xmax	36	2,0
Xmin	2	1,2
Sd	14,724	0,339
Se	2,888	0,067
% V	53,3	21,2

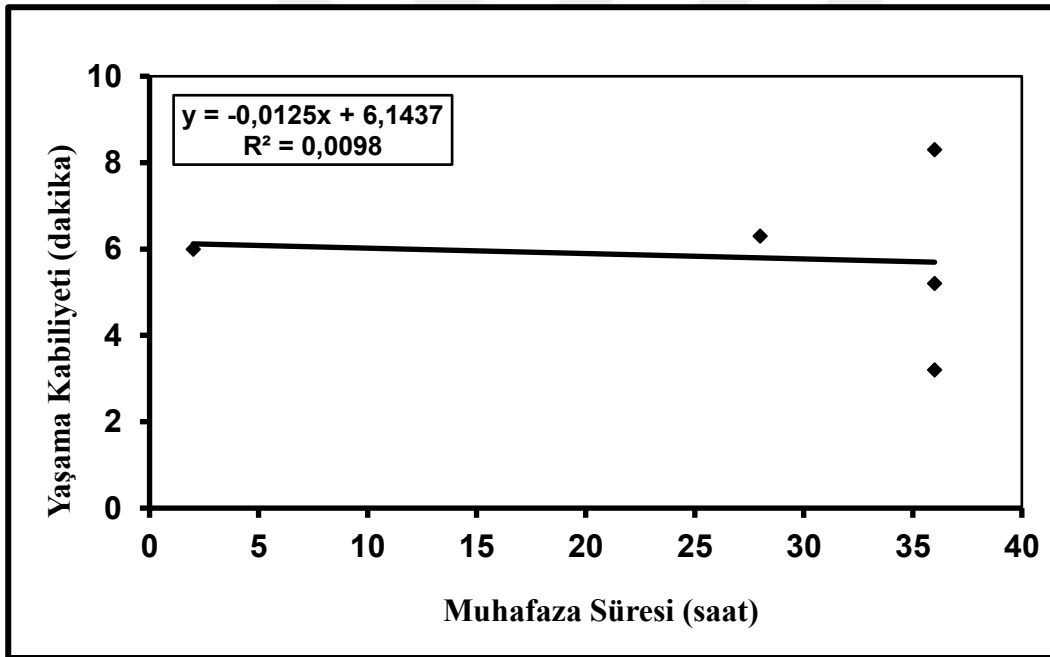


Şekil 4.12 Sperm muhafaza süresi ile sperm hacmi ilişkisi

Topan kefal spermalarının muhafaza süreleri(taze sperma, inaktivatör) ve spermaların hacimleri arasındaki ilişki incelendiğinde korelasyon katsayısı (r : 0.67) orta bulunmuştur. Bu ilişki $y=-0,0155x + 2,0265$ olarak tanımlanmıştır.

Çizelge 4.10 Çalışmada kullanılan anaçların spermalarının muhafaza süresi ile spermaların yaşama kabiliyetinin tanımlayıcı istatistikleri

	Muhafaza Süresi (saat)	Yaşama Kabiliyeti (dk)
Ort	27,6	5,8
Xmax	36	8,3
Xmin	2	3,2
Sd	14,724	1,848
Se	2,888	0,362
% V	53,3	31,9



Şekil 4.13 Sperm muhafaza süresi ile sperm yaşama kabiliyeti ilişkisi

Topan kefal spermalarının muhafaza süreleri(taze sperma, inaktivatör) ve spermaların yaşama kabiliyeti arasındaki ilişki incelendiğinde korelasyon katsayısı (r: 0.10) çok zayıf bulunmuştur. Bu ilişki $y=-0,0125x + 6,1437$ olarak tanımlanmıştır.

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Dünya nüfusunun artmasına paralel olarak insanların proteine olan ihtiyacı su ürünlerine olan talebi fazlalaştırmaktadır. Su ürünlerine olan talebin karşılanması ancak yetiştiricilik alanlarının büyümesine ve işletme sayısının arttırılmasına bağlıdır. Su ürünleri üretimi yapan işletmelerin ana sorunlarından biri anaç balık temininde karşılaşılan sorunlardır. Özellikle deniz balıkları yetiştiriciliğinde anaç bulunması, anaçların tank ortamına adaptasyonu, beslenmesi, anaç tanklarının işletmede kapladığı alan ve iş gücü temini maddi problemleri beraberinde getirmektedir. Ayrıca üretim çiftliklerinde ticari açıdan dişi balığa olan ilginin yoğun olması balıklar üzerinde yapılan genetik oynamalar ve dişileştirme çalışmaları erkek anaç bulma sorununu ortaya çıkarmıştır. Örneğin; Fransa'da alabalık çiftliklerinde balık popülasyonunun %85'i dişi geri kalan ise neredeyse işlevi olmayan erkek bireyleri oluşturmaktadır. Bundan dolayı dişi bireyleri dölleyecek erkek bireylerin yok olması kaçınılmazdır. Böylece balık spermalarının korunmasının nesli yada genetik saflığının tehlikede olan balık türlerinin gametlerinin saklanması için spermaların kısa ve uzun süreli muhafazasının önemi artmıştır. Son yıllarda balık spermalarının kısa ve uzun süreli muhafaza çalışmalarının artarak devam ettiği görülmektedir. Günümüze kadar balık spermalarının cryopreservasyonu ile ilgili birçok çalışma yapılmasına rağmen alternatif deniz balıkları ile ilgili çalışmaların eksikliği göze çarpmaktadır.

Bu çalışmada ülkemizdeki bütün sahillerde yaygın olarak bulunan topan kefal (*Mugil cephalus*) balığı spermalarının farklı ortamlarda kısa süreli korunumu ve spermatolojik özellikleri incelenmiştir. Anaçların meristik karakterleri, sperm hacimleri, spermaların yaşama kabiliyeti, spermaların muhafaza süreleri ve aralarındaki ilişkiler bu çalışmada ele alınan konulardır.

Çalışmanın amacı; spermatolojik özelliklerin ortaya konması, kısa süreli depolama ile sperm transferi, farklı inaktivatörlerin etki mekanizmasının ortaya konulması ve uzun süreli soğuk koruma çalışması için ön protokol oluşturmaktır. Bu amaçla ortalama ağırlıkları 753.6 ± 47.21 g, ortalama boyları 40.60 ± 1.14 cm olarak tespit edilen anaçlardan doğal üreme periyodu olan Eylül ayında, herhangi bir hormon müdahalesi yapılmadan sağım yöntemi ile spermalar alınmıştır. Farklı bir

çalışmada, hormon uygulaması yapılan erkek balıklarda sperm hacminin daha yüksek olduğu tespit edilirken, sperm motilitesi, konsantrasyonu ve yaşama süresi üzerinde istatistiksel açıdan önemli bir fark olmadığını saptamışlardır (Basavaraja and Hegde, 2005). Diğer bir çalışmada, sperma yoğunluğunun (konsantrasyon) üreme mevsiminin başından sonuna doğru düzenli bir azalma gösterdiği tespit edilmiştir (Büyükhatipoğlu ve Holtz, 1984). Atlantik salmonlar ile ilgili yapılan çalışmada, birden fazla sağımda sperma yoğunluğunun belirgin ölçüde azalma gösterdiğini saptamışlardır (Aas et al., 1991). Bu çalışmada anaçlar bir defada sağılarak işlemler gerçekleştirilmiştir.

Sperm hücre morfolojisi ve ultra yapısı çevresel faktörlerden ve yönlendirmelerden dolayı farklı özellikler gösterebilmektedir. Balık spermlerinde bu farklı özellikler TEM (transmission electron microscopy) veya SEM (scanning electron microscopy) mikroskopları kullanılarak görüntülenmektedir (Alavi et al., 2008; Gwo et al., 2005; Psenicka et al., 2008; Wei et al., 2007). Yapılan çalışmalarda muhafaza sonrasında sperm baş, gövde ve kuyruk bölgesinde meydana gelen morfolojik ve morfometrik değişimler *Pagrus major*, *Diplodus puntazzo* ve *Macrozoarces americanus*'da gözlenmiştir (Liu et al., 2007; Taddei et al., 2001; Yao et al., 2000). Günümüzde ise sperm morfometrik analizlerinde ASMA (bilgisayarlı sperm morfometri analiz programı) kullanılmaktadır (Marco-Jimenez et al., 2006,2008; Peñaranda et al., 2009; Tuset et al., 2008).

Diğer türlerde olduğu gibi balıklarda da spermanın pH'sının bilinmesi spermaya uygulanacak işlemler açısından önemlidir (Akçay vd., 1995; Suquet et al., 1993). Çalışmada sperma pH'sının ölçümünde birçok araştırmacının (Munkittrick ve Moccia, 1987; Suquet et al., 1993; Billard and Cosson, 1992; Çevik vd., 2000; Hatipoğlu vd. 2007) yaptığı gibi 5,5-9,0 aralıklı pH indikatör kağıtları kullanılmıştır. Çalışmada elde edilen spermin pH değeri 6,7 olarak saptanmıştır.

Balık spermleri ejakulasyon esnasında ve öncesinde hareketsiz olarak seminal sıvı içerisinde saklanmıştır. Hareketlilik spermin su ile temas ederek başlar. Çoğu tatlı su balıklarında sperm canlılık süresi 2 dakikadan az sürmektedir (Morisawa et al., 1983; Billard et al., 1995; Kime et al., 2001).

Ülkemizde de yaygın olarak kültürü yapılan deniz balıklarından levrek (*Dicentrarchus labrax*) balığında; 0,6-2 dk (Astuirano et al., 2001), 1,4-2,6 dk (Felip et al., 2006) ve 0,7-2,9 dk (Fauvel et al., 1999) canlılık sürelerini tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Gökkuşığı alabalığında ise bu süre 0,4-2 dk (Yanagimachi et al., 1992) ve 3,6 dk (Billard et al., 1983) olarak canlılık süreleri tespit edilmiştir. Sargos balığında (*Diplodus sargus*) 1,5-2 dk canlılık süresi bildirmişlerdir (Lahnsteiner ve Patzner, 1998). Fangri balığında (*Pagrus pagrus*) 2,6-3,9 dk sperm canlılık süresi bildirilmiştir (Mylonas et al., 2003). Sivriburun karagözde (*Diplodus puntazzo*) canlılık süresi 1-3 dk olarak saptanmıştır (Taddei et al., 2001). Kalkan balığında; 3-5 dk (Dreanno et al., 1997), 1-17 dk (Suquet et al., 1994) ve 2-3 dk (Chauvaud et al., 1995) sperm canlılık sürelerini tespit etmişlerdir. Çipura balığında (*Sparus aurata*) canlılık süresi $6,9 \pm 0,8$ dk olarak tespit edilmiştir (Engin, 2012). Çalışmadaki topan kefal (*Mugil cephalus*) spermalarının canlılık süreleri; taze spermada 6 dk, Hepes'de 6,5 dk, BSA'da 5 dk 20 sn, Tris'de 3 dk 20 sn ve DMSO'da 8,5 dakika olarak tespit edilmiştir.

Balıklarda sperm hacmi veya miktarı; üreme periyodu, balığın türü, damızlık balığın ağırlığı ve yaşı, sağım metodu, sağım aralığı, ortamda dişi balığın varlığı, bakım ve besleme koşulları ile su sıcaklığı gibi çevresel koşulların oldukça etkili olduğu belirtilmektedir (Kazakov, 1981; Büyükhatipoğlu ve Holtz, 1984; Gjerde, 1984; Suquet et al., 1994).

Levrek (*Dicentrarchus labrax*) balığı ile ilgili sperm çalışmalarında sperm hacmi $2.1-5.3 \text{ ml.kg}^{-1}$ arasında olduğu tespit edilmiştir (Astuirano et al., 2001). Diğer bir çalışmada ise $1-2 \text{ ml.kg}^{-1}$ arasında olduğu bildirilmiştir (Felip et al., 2006). Alabalık (*Oncorhynchus mykiss*) ile ilgili sperm çalışmalarında ise sperm hacmi $4.8-6.5 \text{ ml.kg}^{-1}$ arasında olduğu tespit edilmiştir (Geffen ve Evens, 2000). Gökkuşığı alabalığında sperm hacmi $1,5-4,5 \text{ ml.kg}^{-1}$ (Lahnsteiner et al., 1993), $9,3 \pm 3,33$ olarak tespit edilmiştir (Bozkurt et al., 2005). Diğer bir çalışmada, sperma miktarını sezon başı, ortası ve sonu olarak sırasıyla $24,6 \text{ ml.kg}^{-1}$; $13,4 \text{ ml.kg}^{-1}$; $8,9 \text{ ml.kg}^{-1}$ olarak tespit etmişlerdir (Büyükhatipoğlu ve Holtz, 1984). Başka bir çalışmada, şubat, mart ve nisan aylarında aldıkları sperma miktarlarını sırasıyla $7,2 \pm 1,1$; $7,0 \pm 1,0$ ve $4,7 \pm 1,0$ olarak tespit etmişlerdir (Munkittrick ve Moccia, 1987). Yine aynı türe ait yapılan bir çalışmada, bir haftalık aralıklarla 3

kez yapılan sağımlarda ortalama sperma miktarını sırasıyla $10,2\pm 6,3$; $6,9\pm 5,4$; $5,8\pm 4,6$ olarak saptamıştır (Gjerde, 1984). Fangri (*Pagrus pagrus*) balığında ise sperm hacmi $1.7-5.3 \text{ ml.kg}^{-1}$ olarak bildirilmiştir (Mylonas et al., 2003). Kalkan (*Psetta maxima*) balığı ile ilgili sperm çalışmalarında sperm hacmi $0.4-1.25 \text{ ml.kg}^{-1}$ (Chen et al., 2004) ve 2.2 ml.kg^{-1} (Suquet et al., 2000) olarak saptanmıştır. Çipura (*Sparus aurata*) balığı ile ilgili sperm çalışmalarında sperm hacmi $0-3,1 \text{ ml}$ (Barbato et al., 1998), $2.6-7 \text{ ml.kg}^{-1}$ (Barbato et al., 2003), $3-8 \text{ ml.kg}^{-1}$ (Engin, 2007) ve $3,17-5,88 \text{ ml.kg}^{-1}$ olarak saptanmıştır (Engin, 2012). Sivriburun karagöz (*Diplodus puntazzo*) ile ilgili sperm çalışmasında sperm hacmi $5\pm 1.75 \text{ ml.kg}^{-1}$ olarak saptanmıştır (Saka vd., 2008). Ayrıca; tatlı su levreğinde sperm hacmi $0.5-1.5 \text{ ml.kg}^{-1}$ (Piironen ve Hyvarinen, 1983), *Tilapia* sp. türünde sperm hacmi $0.3-3 \text{ ml.kg}^{-1}$ (Chao et al., 1987), *Lota lota* türünde sperm hacmi $0.5-2.5 \text{ ml.kg}^{-1}$ (Piironen ve Hyvarinen, 1983), *Ctenopharyngodon idella* türünde sperm hacmi $1-9 \text{ ml.kg}^{-1}$ (Belova., 1981) olarak tespit edilmiştir. Erişkin teleost balıklarının erkekleri yaşca ileri ve tecrübeli erkeklerin daha genç olanlara oranla daha fazla miktarda sperma verdiği bildirilmiştir (DeGraaf et al., 2004). Çalışmadaki topan kefal (*Mugil cephalus*) anaçlarından elde edilen sperm hacmi $1.7-2.8 \text{ ml.kg}^{-1}$ olarak tespit edilmiştir.

Daha önce literatür bildirişinde değinildiği gibi, bireylerinin gamet üretimi ve verimi özellikle mevsimsel değişiklikler olmak üzere birçok etkene bağlı olarak farklılık göstermektedir. Bu çalışma, üreme sezonunun sonlarına doğru yapılmıştır. Elde edilen sperma miktarının az olmasının sebebi, daha çok buna ve aynı zamanda da bir önceki sağım aralığının kısa olmasına bağlıdır.

Spermanın kısa süreli saklanmasıyla yönelik olarak yürütülen çalışmalar ile bu araştırmada belirlenen bulgular arasındaki farklılıkların; balık türü, çevre şartları, bölgedeki su kaynağının özellikleri, beslenme rejimi, sperma sulandırıcıları, sulandırıcılara ilave edilen katkı maddelerinin miktar ve oranları ile spermanın sulandırılmasında ve saklanmasında kullanılan yöntemlerin farklı olmasından kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir.

Kriyoprezervasyon yoluyla, stoklar daha ekonomik olarak tutulacaktır. Erkek damızlık popülasyonunun az olması sonucu elektrik, su filtrasyonu, tank temizliği, bakım-onarım, yem ve personel giderleri en aza indirilecektir. Kriyoprezervasyon çalışmalarında kaliteli spermalar kullanıldığından hastalıklara ve ortam koşullarına dayanıklı stoklar elde edilecektir. Erkek anaçların spermalarından daha uzun süre yararlanılabilecektir. Dişi ve erkek senkronizasyon problemi nedeniyle oluşabilecek yumurta zararlarının engellenmesi sağlanacaktır. Yıl boyunca erkek gamet hücrelerinden yararlanılabilecektir. Erkek anaçların uzun yıllar beslenmesi külfetinden kaçınılabilecektir. Sperma kalitesinde üreme sezonu süresince oluşabilen değişimlerden etkilenmesi engellenecektir. Monoseks kültür teknolojisinde erkekleştirilmiş dişi gonadların geç olgunlaşması ile ilgili kayıpları engellenecektir. Genetik materyalin kolayca taşınması ve saklanması mümkün olacaktır.

Soğuk dondurma esnasında 4 kritik durumdan söz edilmektedir. Bunlar, buz kristallerinin hücreye olan etkisi, uygulanan dondurma işlemi tipi, kritik periyod olan -10 ile -40 °C aralığı ve buna bağlı hücre dışı su hareketlerinin hücre içi tuz konsantrasyonunu yükseltmesi ve son olarak sıvı nitrojen tankı içindeki gazın zamanla azalması olarak sıralanabilir. Bütün bu süreçler spermın dölleme kapasitesini de olumsuz etkilemektedir. Soğuk dondurma işlemi sonrası sperm hücre membranı, mitokondri, kromatin yapı ve akrozom zarar görebilmektedir. Bu zararların çoğunun -10 ile -40 °C arasında gerçekleştiği saptanmıştır (Cabrita et al., 2007).

Kısa süreli koruma işlemlerinde spermalar sıvı nitrojen içinde (- 196 °C) dondurulmadığından motilite ve yaşam oranları 24 saate varan sürelerde hesaplanabilmektedir. Bu durum özellikle üreme biyolojisi ve çevre üreme ilişkisi çalışmalarının gerçekleştirilmesi açısından son derece önemlidir.

Daha önce yapılan çalışmalar incelendiğinde topan kefal (*Mugil cephalus*) türü için konu ile ilgili mevcut çalışmaların güncelliğini yitirdiği ve tam bir standartın oluşmadığı göze çarpmaktadır.

36 saatlik kısa süreli koruma çalışması sonrası kullanılan 4 inaktivatör arasında Tris'in kısa süreli koruma çalışmasında etkin olmadığı tespit edilmiştir. Çalışmada kullanılan inaktivatörlerden DMSO, BSA ve HEPES kullanılan grupta muhafaza süresi açısından başarılı olduğu ortaya konmuştur. Bununla birlikte gamet transferi protokolü oluşturmak için bu 3 inaktivatörün kendi arasında karşılaştırma yapılmasının gerekliliği görülmektedir.

Kısa süreli sperm muhafazası ile birlikte, laboratuvar koşullarında yapılacak embriyo eldesi, üreme biyolojisi ve çevre-üreme ilişkisi çalışmaları için gerekli taze spermaya eş kalitede sperm sağlanmış olacaktır.

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

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Aas, G.H., Refstie, T. and Gjerde, B.,** 1991, Evaluation of milt quality of atlantic salmon. *Aquaculture*, 95; 125-132.
- Akçay, E., Tekin, N. ve Seçer, S.,** 1995, Balık spermasının prezervasyonu. Ege Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Su Ürünleri Dergisi. 12 (3-4): 367-373.
- Alavi S.M.H., Psenicka M., Policar T. and Linhart O.,** 2008, Morphology and fine structure of *Barbus barbus* (Teleostei : Cyprinidae) spermatozoa. *J. Appl. Ichthyol.* 24(4): 378-381.
- Alavi, S.M. and Cosson, J.,** 2006, Sperm motility in fishes. (II) Effects of ions and osmolality: A review, *Cell Biol Int*, 30, 1.
- 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. and 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.
- Babaoğlu, Ö.,** 2007, Alabalık Spermlerinin Kısa Süreli Muhafaza Koşullarına Adaptasyonu, Yüksek Lisans Tezi, Su Ürünleri Fakültesi Yetiştiricilik Bölümü, 120s.
- 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.
- Barbato, F., Canese, S., Moretti, F., Misiti, S., Laconi, F. and Rana, K.,** 1998, Preliminary experiences for cryopresevation of *Sparus aurata* and *Diplodus puntazzo* semen. <http://ressources.ciheam.org/om/pdf/c34/98606211.pdf>
- Basavaraja, N. and 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.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Belova, N.V.**, 1981, The ecological and physiological peculiarities of sperm in pond cyprinids. *J. Ichthyol.*, 21; 90-102.
- Billard, R. and Cosson, M.P.**, 1992. Some problems related to the assesment of sperm motility in freshwater fishes. *Journal of Experimental Zoology*, 261; 122-131.
- Billard, R.**, 1983, Ultrastructure of trout spermatozoa: changes after dilution and deepfreezing. *Cell and Tissue Research*, 228; 205-218.
- Billard, R.**, 1986, Spermatogenesis and spermatology of some teleost fish species. *Reproduction, Nutrition and Development*, 26; 877-920.
- Billard, R.**, 1988, Artificial Insemination and gamete management. *Mar. Behav. Physiol.* 14; 1-21.
- Billard, R.**, 1992, Reproduction in rainbow trout: sex differentiation, dynamics of gametogenesis, biology and preservation of gametes. *Aquaculture*, 100; 263-298.
- Billard, R., Cosson, J., Crim, L.W. and Suquet, M.**, 1995, Sperm physiology and quality. N. Bromage., R, Roberts, Broadstock Management and Egg and Larval Quality. Blackwell, Oxford, pp. 25-52.
- Boitano, S. and Omoto, C.**, 1991, Membrane hyperpolarisation activates trout sperm without an increase in intracellular pH, *J Cell Sci*,98: 343-349.
- Bolla, S., Holmefjord, I. and Refstie T.**, 1987, Cryogenic preservation of Atlantic halibut sperm, *Aquaculture* 65 371–374.
- Bozkurt, Y.**, 2004, Aynalı sazan (*Cyprinus carpio* L. 1758) spermasının bazı spermatolojik özelliklerinin belirlenmesi ve farklı sulandırıcılar ile kısa süreli saklanması değerlendirilmesi. Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Su Ürünleri Anabilim Dalı, Ankara. 176 s.
- Bozkurt, Y., Akçay, E., Tekin, N. ve Seçer, S.**, 2005, Effect of freezing techniques, extenders and cryoprotectants on the fertilization rate of frozen rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) sperm. *The Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgeh*, 57 (2): 125-130.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Büyükhatipoğlu, S. and Holtz, W.**, 1984, Sperm output in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) effect of age, timing and frequency of stripping and presence of females. *Aquaculture*, 37; 63-71.
- Cabrita, E., Martínez Pastor, F., Soares, F., and Dinis, M.T.**, 2007, Motility activation and subpopulation analysis in *Solea senegalensis* spermatozoa, presented at 8th International Symposium on Reproductive Physiology of Fish, Saint-Malo, France, June 3-8.
- Cabrita, E., Martínez-Páramo, S., Pérez-Cerezales, S., Anel, L., and Herráez, M.P.**, 2006, Motility of cryopreserved seabream spermatozoa: effect of channel blockers, presented at 10th International Symposium on Spermatology, Madrid, Spain, September 17-22.
- Cabrita, E., Robles, V. and Herráez, M.P.**, 2008, *Methods in Reproductive Aquaculture: Marine and Freshwater Species*. Taylor and Francis, USA. 549 pp.
- Cabrita, E., Robles, V., Rebordinos, L., Sarasquate, C. and Herraez, M.P.**, 2005, Evaluation of DNA damage in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and gilthead sea bream (*Sparus aurata*) cryopreserved sperm *Cryobiology* 50, 144-153.
- Canyurt, M.A., Akhan, S. ve Takma, Ç.**, 2003, Gökkuşığı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss* W.) spermalarının kısa süre saklanması üzerine bir çalışma, *E.U. Journal of Fisheries & Aquatic Sciences Cilt/Volume 20, Sayı/Issue (3-4): 537-542*.
- Chao, N. H., Chen, H. P., and Liao, I. C.**, 1987, Study on cryogenic preservation of grey mullet sperm. *Aquaculture* 5, 389-406.
- Chao, N.H., Chao, W.C., Liu, K.C. and Liao, I.C.**, 1987, The properties of tilapia sperm and its cryopreservation. *J. Fish Biol.*, 30; 107-118.
- Chao, N.H., Chen, H.P. and Liao, I.C.**, 1975, Study on cryogenic preservation of grey mullet sperm. *Aquaculture*, 5, 389-406.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Chauvaud, L., Cosson, J., Suquet, M. and Billard, R.,** 1995, Sperm motility in turbot, *Scophthalmus maximus*: initiation of movement and changes with time of swimming characteristics. Environ. Biol. Fishes 43, 341-349.
- Chen, S., Ji, X., Yu, G., Tian, Y. and Sha, Z.,** 2004, Cryopreservation of sperm from turbot (*Scophthalmus maximus*) and application to large-scale fertilization Aquaculture 236, 547-556.
- Ciereszko, A. and Dabrowski, K.,** 1993, Estimation of sperm concentration of rainbow trout, white fish and yellow perch using a spectrophotometric technique. Aquaculture, 109; 367-373.
- Ciereszko, A., Glogowski, J. and Dabrowski, K.,** 2000, Biochemical characteristics of seminal plasma and spermatozoa of freshwater fishes. Cryopreservation in Aquatic Species. Tiersch, T.R. and P.M. Mazik, Editors. World Aquaculture Society, p. 20-48. Baton Rouge, Louisiana.
- Cloud, J.G., Miller, W.H. and Levanduski, M.J.,** 1990, Cryopreservation of sperm as a means to store Salmonid germ plasm and to transfer genes from wild fish to hatchery populations. The progressive Fish-Culturist, 52: 51-53.
- Çelikkale, M.S.,** 1991, Balık Biyolojisi. Karadeniz Teknik Üniversitesi Sürmene Deniz Bilimleri ve Teknolojisi Yüksekokulu, Yayın No:101, 387 s., Trabzon.
- Çevik, M.,** 2000, Alabalık (*Gökkuşluğu Alabalığı*) Spermasının Dondurulması ve Değerlendirilmesi. Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Ankara.
- Degraaf, J.D., King, W.V., Benton, C. and Berlinsky, D.L.,** 2004, Production and storage of sperm from the black sea bass. Aquaculture Research, 35: 1457-1465.
- Demir, N.,** 1992, İhtiyoloji. İstanbul Üniversitesi Fen Fakültesi Yayın No: 219. 391 s. İstanbul.
- Devlet İstatistik Enstitüsü,** 2003, Su Ürünleri İstatistikleri. T.C. Başbakanlık Devlet İstatistik Ens., Ankara.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- 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.
- Engin, S.,** 2007, Çipura (*Sparus aurata*) Spermlerinin Kısa Süreli Korunumu ve Yoğunluk, Hacim, Hız, Konsantrasyon-Ebeveyn İlişkilerinin Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, E.Ü. Su Ürünleri Yetiştiricilik Anabilim Dalı, 83s.
- Engin, S.,** 2012, Çipura (*Sparus aurata*) Spermlerinin Uzun Süreli Korunumu, Doktora Tezi, E.Ü. Su Ürünleri Yetiştiricilik Anabilim Dalı, 131s.
- Evans, D.,** 1998. The Physiology of Fishes. Second Edition. ISBN. 0-8493-8427-3. CRC Press., Salem, USA.
- Fabbrocini, A., Lavadera, L., Rispoli, S. and Sansone, G.,** 2000, Cryopreservation of seabream (*Sparus aurata*) spermatozoa. Cryobiology; 40:46 –53.
- FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations)** 2015, Fisheries Department. Databases and Statistics: <http://www.fao.org>
- Fauvel, C., Savoye, O., Dreanno, C., Cosson, J. and Suquet, M.,** 1999, Characteristics of sperm of captive sea bass (*Dicentrarchus labrax*) in relation to its fertilization potential. J. Fish Biol. 54, 356-369.
- Felip, A., Zanuy, S. and 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.
- Gaschott, O.,** 1928, Beiträge zur Reizphysiologie des Forellenspermas. I. Die optimalen Konzentrationen einiger Salzlösungen. Archiv für Hydrobiologie Supplement 4: 441–478.
- 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.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Geldiay, R. ve Balık, S.**, 1999, Türkiye Tatlısu Balıkları. Ege Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Yayınları No:46. Ders Kitabı Dizini No:16., 532 s., İzmir.
- Gjerde, B.**, 1984, Variation in semen production of farmed Atlantic salmon and rainbow trout. *Aquaculture*; 40:109 –14.
- Goetz, F.W. and Coffman, M.A.** 2000, Storage of unfertilized eggs of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in artificial media, *Aquaculture*, 184: 267–276.
- Gwo, J.C. and Arnold, C.R.**, 1993, Cryopreservation of Atlantic croaker spermatozoa: evaluation of morphological changes, *J. Exp. Zool.* 264: 444–453.
- Gwo, J.C., Chiu, J.Y., Lin, C.Y., Su, Y. and Yu, S.L.**, 2005, Spermatozoal ultrastructure of four Sparidae fishes: *Acanthopagrus berda*, *Acanthopagrus australis*, *Lagodon rhomboids* and *Archosargus probatocephus*. *Tissue Cell* 37(2): 109-115.
- Gwo, J.C., Strawn, K., Longnecker, M.T. and Arnold, C.R.**, 1991, Cryopreservation of Atlantic croaker spermatozoa. *Aquaculture*; 94: 355-375.
- Hatipoğlu, T. ve Akçay, E.**, 2010, Fertilizing ability of short-term preserved spermatozoa Abant trout (*Salmo trutta abanticus* T, 1954). *Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg.*, 57, 33-38.
- Hatipoğlu, T.**, 2007, Abant Alabalığı (*Salmo trutta abanticus*) Bazı Reprodüktif Özelliklerin Saptanması, Spermanın Kısa Süreli Saklanması ve Döl Verimi, Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Dölerme ve Suni Tohumlama Anabilim Dalı, 75s.
- Honeyfield, D.C. and Krise, W.F.** 2000, Measurement of milt quality and factors affecting viability, ed:Tiersch T.R., Mazik P.M., *Cryopreservation in aquatic species*, World Aquacult Soc, Baton Rouge-Louisiana, Pp:49-58.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Hulata, G. and Rothbard, S.,** 1979, Cold storage of carp semen for short periods Aquaculture, 16, 267-269.
- İşgören, D. ve Elbek, A.G.,** 2006, Genel Ekonomi Ders Kitabı. Su Ürünleri Fakültesi Yayın No: 73, Dizin: 35, İzmir.
- Jamieson, B.G.M.,** 1991, Fish Evolution and Systematics: Evidence from spermatozoa. Cambridge University Press.
- Kazakov, R.V.,** 1981, Peculiarities of sperm production by anadromous parr Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) and fish cultural characteristics of such sperm. J. Fish Biol. 18; 1-8.
- Kime, D.E., Van Look, K.J.W., McAllister, B.G., Huyskens, G., Rurangwa, E. and Ollevier, F.,** 2001, Computerassisted sperm analysis (CASA) as a tool for monitoring sperm quality in fish. Comp. Biochem. Physiol. 130, 425– 433.
- Kobayashi, T., Fusiki, S. and Ueno, K.,** 2004, Improvement of sperm motility of sex- reversed male rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, by incubation in high-pH artificial seminal plasma, Environ Biol Fishes, 69: 419- 425.
- Koldras, M., Loir, M., Maise, G. and Le Gac, F.,** 1996, Study of the composition and of sperm motility along the genital tract during a spawning season in the rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. Aquatic Living Resources, 9; 337-345.
- Kopeika, E., and Kopeika, J.,** 2008, Variability of sperm quality after cryopreservation in fish. editors. Fish spermatology. In: Alavi SMH, et al. Oxford: Alpha, Science, Ltd.;, p. 347–96.
- Krasznai, Z., Morisawa, M., Krasznai, Z.T., Morisawa, S., Inaba, K., Bazsane, Z.K., Rubovsky, B., Bodnor, B., Borsos, A., and Marian, T.,** 2003, Gadolinium, a mechano-sensitive channel blocker, inhibits osmosis-initiated motility of sea-and freshwater fish sperm, but does not affect human or ascidian sperm motility, *Cell motil Cytoskel*, 55, 232.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- 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., Patzner, R.A. and Weismann, T.**, 1993, Energy resources of spermatozoa of the rainbow trout, *O. mykiss*, Pisces Teleostei, Reprod Nutr Develop, 33: 349-360.
- Leung, L.**, 1987, Cryopreservation of spermatozoa of the barramundi, *Lates calcarifer* (Teleostei: Centropomidae). Aquaculture 64, 243–247
- Liu, Q.H., Li, J., Xiao, Z.Z., Ding, F.H., Yu, D.D. and Xu, X.Z.**, 2007, Use of computer-assisted sperm analysis (CASA) to evaluate the quality of cryopreserved sperm in red seabream (*Pagrus major*). Aquaculture 263(1-4): 20-25.
- Liu, L., Wei, Q., Gua, F., Zhang, J. and Zhang, T.**, 2006, Cryopreservation of Chinese sturgeon (*Acipenser sinensis*) sperm, Journal of Applied Ichthyology, 1, 384-388.
- Marco-Jiménez, F., Peñaranda, D.S., Pérez, L., Viudes-de-Castro, M.P., Mylonas, C.C., Jover, M. and Asturiano, J.F.**, 2008, Morphometric characterization of sharpnose sea bream (*Diplodus puntazzo*) and gilthead sea bream (*Sparus aurata*) spermatozoa using computer-assisted spermatozoa analysis (ASMA). J. Appl. Ichthyol. 24 (4): 382-385.
- Marco-Jiménez, F., Pérez, L., Castro, M.P.V., Garzón, D.L., Peñaranda, D.S., Vicente, J.S., Jover, M. and Asturiano, J.F.**, 2006, Morphometry characterisation of European eel spermatozoa with computer-assisted spermatozoa analysis and scanning electron microscopy. Theriogenology 65 (7): 1302-1310.
- Marshall, W.S.**, 1986, Sperm duct epithelium of brook trout: Na⁺ transport and seminal plasma composition. Can. J. Zool., 64; 1827-1830.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Martinez-Pastor, F., Cabrita, E., Soares, F., and Dinis, M.T.,** 2006, Definition and changing patterns of *Solea senegalensis* spermatozoa after activation, presented at 10th Int. Symp. on Spermatology, Madrid, Spain, September 17-22.
- Mattei, X.,** 1988, The flagellar apparatus of spermatozoa in fish: Ultrastructure and evolution. *Biology of the Cell.* 63; 151-158.
- Maxwell, W.M.C. and Johnson, L.A.,** 1999, Physiology of spermatozoa at high dilution rates: the influence of seminal plasma, *Theriogenology*, 52: 1352-1362.
- Miura, T., Yamauchi, K., Takahashi, H. and Nagahama, Y.** 1992, The role of hormones in the acquisition of sperm motility in salmonid fish, *J Exp Zool*, 261: 359-363.
- Morisawa, M.,** 1985, Initiation mechanism of sperm motility at spawning in teleosts. *Zoological Science*, 2; 605-615.
- Morisawa, M., Suzuki, K. and Morisawa, S.,** 1983, Effects of potassium and osmolality on spermatozoon motility of salmonid fishes. *The Journal of Experimental Biology*, 107: 105-113.
- Mounib, M.S.,** 1978, Cryogenic preservation of fish and mammalian spermatozoa. *J. Reprod. Fertil.* 53, 13-18.
- Munkittrick, K.R. and Moccia, R.D.,** 1987, Seasonal changes in the quality of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) semen: effect of a delay in stripping on spermatocrit, motility, volume and seminal plasma constituents. *Aquaculture* 64, 147-156.
- Mylonas, C., Papadaki, M. and Divanach, P.,** 2003, Seasonal changes in sperm production and quality in the red porgy (*Pagrus pagrus* L.) *Aquaculture Research* 34: 1161-1170.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Niksirat, H., Sarvi, K., Mojazi, Amiri B. and Hatef, A.,** 2007, Effects of storage duration and storage media on initial and post-eyeing mortality of stored ova of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*, *Aquaculture*, 262: 528–531.
- Park, C.H. and 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.
- Peñaranda, D.S., Pérez, L., Gallego, V., Jover, M. and Asturiano, J.F.,** 2010, Improvement of European eel sperm cryopreservation method by preventing spermatozoa movement activation caused by cryoprotectants. *Cryobiology* 59: 119 –26.
- Piironen, J. and Hyvarinen, H.,** 1983, Composition of the milt of some teleost fishes. *J. Fish Biol.* 22; 351-361.
- Piironen, J.,** 1985. Variation in the properties of milt from the Finnish landlocked salmon (*Salmo salar* *Salmo salar* m. sebago Girard) during a spawning season. *Aquaculture*, 48; 337-350.
- Psenicka, M., Alavi, S.M.H., Rodina, M., Cicova, Z., Gela, D., Cosson, J., Nebesarova, J. and Linhart, O.,** 2008, Morphology, chemical contents and physiology of chondrosteian fish sperm: a comparative study between Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*) and sterlet (*Acipenser ruthenus*). *J. Appl. Ichthyol.* 24(4): 371-377.
- Saka, vd.,** 2008, Sivriburun karagözlerin (*Diplodus puntazzo*) sperm özelliklerinin incelenmesi, Bilimsel Araştırma Projesi, Ege Üniversitesi, 50s.
- Sansone, G., Fabbrocini, A., Ieropoli, S., Langellotti, A.L., Occidente, M. and Matassino, D.,** 2002, Effects of extender composition, cooling rate, and freezing on the motility of sea bass (*Dicentrarchus labrax*, L.) spermatozoa after thawing. *Cryobiology* 44: 229– 239.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Sansone, G., Fabbrocini, A., Zupa, A., Lubrano L.S., Rispoli, S. and Matassino, D.**, 2001, Inactivator media of sea bass (*Dicentrarchus labrax*) spermatozoa motility, *Aquaculture* 202 (2001) 257-268.
- Scheuring, L.**, 1924, Biologische und physiologische Untersuchungen an Forellensperma. *Archiv fur Hydrobiologie Supplement* 4: 181–318.
- Schlenk, W. and Kahmann, H.**, 1938, Die chemische Zusammensetzung des Spermaliqors and ihre physiologische Bedeutung. Untersuchung am Forellensperma. *Biochemie Zeitung* 295: 283–301.
- Schmehl, M.K., Graham, E.F. and Erdahl, D.A.**, 1987, Chemical constituents of trout seminal plasma after minimal and maximal cell damage treatments with possible applications to semen evaluation assay. *Aquaculture*, 62; 311-318.
- Scott, A.P. and Baynes, S.M.**, 1980, A review of the biology, handling and storage of salmonid spermatozoa. *Journal of Fish Biology*, 17: 707-739.
- Suquet, M., Dorange, G., Omnes, M.H., Normant, Y., Le Roux, A. and Fauvel, C.**, 1993, Composition of the seminal fluid and ultrastructure of the spermatozoon of turbot (*Scophthalmus maximus*) *Journal of Fish Biology*, 42; 509-516.
- Suquet, M., Dreanno, C., Fauvel, C., Cosson, J. and Billard, R.**, 2000, *Cryopreservation of sperm in marine fish*, *Aquatic Research*, 31: 231–243.
- Suquet, M.R., Billard, R., Cosson, J., Dorange, G., Chauvaud, L., Mugnier, C. and Fauvel, C.**, 1994, Sperm features in turbot *Scophthalmus maximus*: A comparison with other freshwater and marine fish species. *Aquatic Living Resources*, 7; 283- 294.
- Şahin, T., Köse, Ö. ve Kurtoğlu, İ.Z.**, 2013, Gökkuşığı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*)’nın spermatolojik özellikleri ve spermanın kısa süreli muhafazası, *Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 25 (1), 87-92.
- Tabata, K. and Mizuta, A.**, 1997, Cryopreservation of sex reversed gynogenetic females sperm in hirame. *Fisheries Science* 63, 482-483.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Taddei, A.R., Barbato, F., Abelli, L., Canese, S., Moretti, F., Rana, K.J., Fausto, A.M. and Mazzini, M.,** 2001, Is cryopreservation a homogeneous process? Ultrastructure and motility of untreated, prefreezing, and postthawed spermatozoa of *Diplodus puntazzo* (Cetti). *Cryobiology* 42 (4): 244-55.
- Tuset, V.M., Trippel, E.A. and Monserrat, J.,** 2008, Sperm morphology and its influence on swimming speed in Atlantic cod. *J Appl Ichthyol*; 24:398–405.
- TÜİK (Türkiye İstatistik Kurumu)** 2016, Su Ürünleri İstatistikleri: <http://www.tuik.gov.tr>
- Viveiros, A.T.M., Jatzkowski, A. and Komen, J.,** 2003, Effects of oxytocin on semen release response in African catfish (*Clarias gariepinus*). *Theriogenology* 59, 1905– 1917.
- Wei, J., Li, Y.J., Yin, J., Wang, J.B., Yuan, X., Sun, X.W. and Arai, K.,** 2007, A study on the distribution of polyploidy loaches in China. *Nippon Suisan Gakkaishi* 74: 177-182.
- Yanagimachi, R., Cherr, G.N., Pillai, M.C. and Baldwin, J.D.,** 1992, Factors controlling sperm entry into the micropyles of salmonid and herring eggs. *Development, Growth & Differentiation* 34: 447–461.
- Yao, Z., Crim, L.W., Richardson, G.F. and Emerson, C.J.,** 1995, Cryopreservation, motility and ultrastructure of sperm from the ocean pout (*Macrozoarces americanus* L.) an internally fertilizing marine teleost, in: F.W. Goetz, P. Thomas (Eds.), *Proceedings of the Fifth International Symposium, Reproductive Physiology of Fish*, Austin, TX, pp. 149.
- Yao, Z., Crim L.W., Richardson, G.F. and Emerson, C.J.,** 2000, Motility, fertility and ultrastructural changes of ocean pout (*Macrozoarces americanus* L.) sperm after cryopreservation. *Aquaculture* 181(3-4): 361-375.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Yılmaz, Ö.**, 2004, Deniz Levreğinde (*Dicentrarchus labrax*) Farklı Yaş Gruplarında Spermiasyon ve Sperm Kalitesinin Karşılaştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi Su Ürünleri Anabilim Dalı, 51s.
- Zohar, Y., Billard, R. and Weil, C.**, 1984, La reproduction de la daurade (*Sparus aurata*) et du bar (*Dicentrarchus labrax*): connaissance du cycle sexuel et controle de la gametogenese et de la ponte. In: *L'Aquaculture du bar et des Sparides* (eds. G. Barnabe & R. Billard), pp. 3–24. INRA, Paris.



ÖZGEÇMİŞ

Türkiye Cumhuriyeti vatandaşı olan Onurkan ANTEPLİ, 20.08.1991 tarihinde İzmir'in Bornova ilçesinde doğdu. İlk ve orta öğrenimini İzmir'de tamamladıktan sonra 2009 yılında E.Ü. Su Ürünleri Fakültesini kazandı. Adı geçen fakülteyi 2014 yılında bitirerek Su Ürünleri Mühendisi unvanını aldı. Aynı E.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Su Ürünleri Yetiştiricilik Anabilim Dalında yüksek lisans eğitimine başladı. Halen yüksek lisansa devam eden Onurkan ANTEPLİ, bekardır.

