



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



Yüksek Lisans Tezi

**ELEKTRİK ŞOKU UYGULAMASININ GÖKKUŞAĞI
ALABALIĞINDA (*Oncorhynchus mykiss*, WALBAUM, 1792)
BÜYÜME ve CİNSİYET DÖNÜŞÜMÜ ÜZERİNE ETKİSİ**

José Antonio AZPILCUETA VÁSQUEZ

Su Ürünleri Yetiştiriciliği ve Hastalıkları Anabilim Dalı

Su Ürünleri Yetiştiriciliği Programı

**DANIŞMAN
Doç. Dr. Aygül EKİCİ**

Mayıs, 2025

İSTANBUL

Bu alışma, 8.07.2015 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Su Ürünleri Yetiştiriciliğı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Su Ürünleri Yetiştiriciliğı Programında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Jürisi

Doç. Dr. Aygöl EKİCİ(Danışman)
İstanbul Üniversitesi
Su Bilimleri Fakóltesi

Prof. Dr. Ertan ERCAN
Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi
Su Ürünleri Fakóltesi

Dr. Öğr. Üyesi Özgür ÇANAK
İstanbul Üniversitesi
Su Bilimleri Fakóltesi

İntihal Programı Beyanı

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

Proje Destekleri

Bu tez, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yürütücü Sekreterliğinin 40303 numaralı projesi ile desteklenmiştir.

Tezden Üretilmiş Yayınların Künye Bilgileri

--

ÖNSÖZ

Tez çalışmam boyunca gösterdiği her türlü destek ve rehberlikten dolayı değerli danışman hocam Doç. Dr. Aygöl EKİCİ'ye; ayrıca yüksek lisans eğitimim boyunca bilgi, tecrübe ve destekleriyle akademik gelişimime katkıda bulunan İstanbul Üniversitesi Su Bilimleri Fakültesi'nin tüm değerli hocalarıma teşekkürlerimi sunarım.

Deney süresince verdikleri desteklerden dolayı başta Biyolog Muhammed Ali BALTACI ve Mühendis Rumeysa BEKTAŞ olmak üzere, İstanbul Üniversitesi Su Bilimleri Fakültesi Sapanca İçsu Ürünleri Üretim Araştırma ve Uygulama Birimi'nin tüm personeline ve ayrıca denemede kullanılan ekipmanların tedarikinde sağlamış olduğu katkı ve destekten ötürü Su Ürünleri Yüksek Müh. Merhum Süleyman DAYI'ya teşekkürlerimi sunarım.

Laboratuvar çalışmalarımı gerçekleştirdiğim İstanbul Üniversitesi Su Bilimleri Fakültesi Histopatoloji Laboratuvar'ında benden yardımlarını esirgemeyen Dr. Öğr. Üyesi Özgür ÇANAK'a teşekkür ederim.

Ayrıca yüksek lisans programı boyunca birlikte bu yolu yürüdüğümüz, değerli dostlarım ve arkadaşlarıma da paylaştığımız tüm anılar, dayanışma ve destekleri için içten teşekkür ederim.

En önemlisi, bu süreç boyunca bana verdikleri sonsuz destek ve güç için başta sevgili babam Manuel Benito AZPILCUETA SANDOVAL'a, sevgili annem Gloria Consuelo VÁSQUEZ FERNANDEZ'e ve kıymetli kardeşlerim Hugo Juan GUEVARA VÁSQUEZ, Manuel Enrique AZPILCUETA VÁSQUEZ ve Kevin AZPILCUETA VÁSQUEZ'e en derin teşekkürlerimi ve minnettarlığımı sunarım. Onlara sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Temmuz 2025

José Antonio AZPILCUETA
VÁSQUEZ

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖNSÖZ	iv
İÇİNDEKİLER.....	v
ŞEKİL LİSTESİ	viii
TABLO LİSTESİ	x
SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ	xi
ÖZET	xiv
SUMMARY	xvi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL KISIMLAR	5
2.1. GÖKKUŞAĞI ALABALIĞININ (<i>Oncorhynchus mykiss</i>) GENEL ÖZELLİKLERİ	5
2.1.1. Gökkuşığı Alabalığının Üreme Biyolojisi	6
2.1.2. Gökkuşığı Alabalığı Üretimi	7
2.2. BALIKLARDA GONAD ÖZELLİKLERİ	8
2.3. GAMET ÖZELLİKLERİ	9
2.3.1. Sperm Hücresinin Özellikleri	11
2.3.2. Yumurta Hücresinin Özellikleri	11
2.4. SU ÜRÜNLERİ YETİŞTİRİCİLİĞİNDE CİNSİYET ORANI ÖNEMİ	12
2.5. KROMOZOM MANİPULASYONU	14
2.5.1. Balık Kromozomları ve Yapısı	15
2.5.2. Poliploidi Uygulamaları.....	15
2.5.3. Kromozom Çalışmaları.....	17
2.6. POLİPLOİDİ TANI YÖNTEMLERİ	17
2.6.1. Karyotip Analizi	17
2.6.2. Eritrosit Çap Ölçümü	18
2.7. BALIKLARDA YAĞ ASİDİ PROFİLİ	18
3. MALZEME VE YÖNTEM.....	20
3.1. MALZEME.....	20
3.1.1. Çalışma Yeri ve Süresi	20
3.1.2. Çalışmada Kullanılan Balıklar	20

3.1.3.	Çalışmada Kullanılan Yem.....	20
3.1.4.	Çalışmada Kullanılan Su Kaynağı, İnkübasyon Sistemi ve Yavru Büyütme Tankları	22
3.1.5.	Su Parametrelerinin Ölçülmesinde Kullanılan Cihaz	24
3.1.6.	Sperm Motilitesinin Analizinde Kullanılan Bilgisayar Destekli Sperm Analiz Sistemi	24
3.1.7.	Osmometre ve Santrifüj cihazları.....	25
3.1.8.	Yumurta Örneklerinin Analizinde Kullanılan Stereo Mikroskop	26
3.1.9.	Elektrik Akımı Deney Düzeneği	26
3.1.10.	Balık Ağırlıklarının Ölçümünde Kullanılan Teraziler	27
3.1.11.	Işık Mikroskobu	28
3.1.12.	Mikrotom	28
3.2.	YÖNTEM	29
3.2.1.	Denemede Kullanılan Balıklardan Gamet Eldesi	29
3.2.2.	Sperm Kinematik Parametrelerinin Belirlenmesi	30
3.2.3.	Deneme Yumurtalarının Morfolojik Özelliklerinin Belirlenmesi.....	30
3.2.4.	Dölleme Çalışmaları	31
3.2.5.	Deneme Gruplarının Oluşturulması	32
3.2.6.	Döllenmiş Yumurtalara Elektrik Akımının Uygulanması	33
3.2.7.	Denemede Kullanılan Suyun Hazırlanması.....	34
3.2.8.	Denemede Kullanılan Su Kalitesi Analizleri	35
3.2.10.	Deneme Balıklarının Beslenmesi ve Büyüme Parametrelerinin Belirlenmesi.....	35
3.2.11.	Deneme Balıklarının Büyüme Performansı	36
3.2.12.	Ploidi Seviyesi Belirlenmesi	36
3.2.13.	Eritrosit Çap Ölçümü	38
3.2.14.	Histolojik Çalışmalar.....	39
3.2.15.	Yağ Asidi Analizleri.....	41
3.2.16.	Gonadosomatik İndekslerinin (GSI) Belirlenmesi	42
3.2.17.	İstatistiksel Analizler	42
4.	BULGULAR.....	43
4.1.	SPERMATOOA MOTİLİTESİNE AİT KİNEMATİK PARAMETRELER.....	43
4.2.	FERTİLİZASYON VE LARVA ÇIKIŞ ORANLARI	43
4.3.	SU PARAMETRELERİ ANALİZLERİ.....	44
4.4.	PLOİDİ SEVİYESİ BELİRLENMESİ.....	47

4.5. BESLENME PROGRAMI VE BÜYÜME PERFORMANSI ANALİZLERİ	52
4.6. CİNSİYET ORANI VE HİSTOLOJİ ANALİZİ.....	54
4.7. DENEME GRUPLARINA AİT DOKULARIN YAĞ ASİDİ PROFİLİ	57
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	63
KAYNAKLAR.....	72
ÖZGEÇMİŞ	82



ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 1.1: Ülkemizde akuakültürü en çok yapılan türler (TÜİK, 2022).	2
Şekil 2.1: Erkek anaç gökkuşağı alabalığı (Özgün).	6
Şekil 2.2: Teleost balıklarda oosit gelişim aşamalarının şematik açıklaması, (Karayücel ve Karayücel, 2016) uyarlanmıştır.	10
Şekil 2.3: Teleost balıklarda spermatozoa gelişim aşamalarının şematik açıklaması, (Karayücel ve Karayücel, 2016) uyarlanmıştır.	10
Şekil 2.4: Döllenme öncesi gökkuşağı alabalığı yumurtaları (Özgün).	12
Şekil 3.1: Fertilizasyonda kullanılan anaç gökkuşağı alabalığı (Özgün).	20
Şekil 3.2: Gökkuşağı alabalığı beslenmesinde kullanılan farklı büyüklükteki yem (MoyFeed) (Özgün).	21
Şekil 3.3: Döllenmiş yumurtaların inkübasyonunda kullanılan vertikal akışlı sistem (Özgün).	22
Şekil 3.4: Her kaset 40x33 cm ölçülerinde olup, 20x16,5 cm boyutlarında dört bölgeye ayrılmıştır (Özgün).	23
Şekil 3.5: 270x60 cm boyutlarındaki fiberglas tanklar (Özgün).	23
Şekil 3.6: Su parametrelerinin ölçülmesinde kullanılan multiparametre cihazı (Özgün).	24
Şekil 3.7: Sperm motilitesine ait parametrelerin bilgisayar destekli sperm analiz (CASA) sistemi kullanılarak belirlenmesi (Özgün).	25
Şekil 3.8: Fiske® 210 Mikro-Numune osmometre ve Hettich Universal 32 R santrifüj cihazları (Özgün).	25
Şekil 3.9: Stereo mikroskop Leica DFC 290 (Özgün).	26
Şekil 3.10: Döllenmiş yumurtaların elektrik akımına maruz bırakılmasında kullanılan deneysel sistem (Özgün).	27
Şekil 3.11: Balık ağırlıklarının ölçümünde kullanılan teraziler (Özgün).	27
Şekil 3.12: Işık mikroskobu (Özgün).	28
Şekil 3.13: Leica RM 2125 RT manual mikrotom (Özgün).	29
Şekil 3.14: Gökkuşağı alabalığından gamet eldesi (Özgün).	30

Şekil 3.15: Döllenenmiş gökkuşuğu alabalığı yumurtası (Özgün).....	31
Şekil 3.16: Elektrik akımı uygulaması süresince döllenmiş yumurtaların muhafaza edildiği sepet (Özgün).	33
Şekil 3.17: Elektrik şoku uygulaması için deneysel model sistemin şeması (Özgün).	34
Şekil 3.18: Deneme gruplarına ait kan örneklerinin May-Grünwald & Giemsa ile boyanması (Özgün).....	37
Şekil 3.19: Mikroskop altında gökkuşuğu alabalığı kan froti preparatlarının incelenmesi (Özgün).....	37
Şekil 3.20: Mikroskop altında eritrosit boyutlarının incelenmesi (Özgün).....	38
Şekil 3.21: Alkol serisi (Özgün).	40
Şekil 3.22: Balıklardan yağ asidi analizleri için karaciğer, kas ve gonad örneklerinin alınması (Özgün).....	42
Şekil 4.1: Deneme grupları arasındaki döllenme oranları.....	44
Şekil 4.2: Deneme süresince kullanılan su parametrelerine ait değerler.....	45
Şekil 4.3: Eritrosit temel bileşen analizi (PCA).....	51
Şekil 4.4: Deneme gruplarına ait büyüme performansı değerleri.	52
Şekil 4.5: Deneme sürecinde gruplarda gözlemlenen ağırlık artışları.....	53
Şekil 4.6: Döllenenmeden 5 ay sonra gökkuşuğu alabalığı gonadlarının histolojik kesitleri.	57

TABLO LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 1.1: 2021 yılında tür gruplarına göre küresel su ürünleri yetiştiriciliği üretimindeki değişiklikler (FAO, 2023).	1
Tablo 2.1: Su ürünleri yetiştiriciliğinde hormon uygulama yöntemleri.	14
Tablo 2.2: Poliploidi indüksiyonu yöntemleri.	16
Tablo 3.1: Denemede kullanılan yem içeriği.	21
Tablo 3.2: Denemede kullanılan yemin vitamin içerikleri.	22
Tablo 3.3: Denemede kullanılan deney grupları ve uygulamaları.	32
Tablo 3.4: Denemede kullanılan Instant Ocean Sea Salt tuzunun değerleri.	35
Tablo 3.5: %10 fosfat tamponlu formalinle fiksasyon sonrası gerçekleştirilen işlemler.	40
Tablo 3.6: Histolojik preparatlara ait boyama prosedürü.	41
Tablo 4.1: Sperm motilitesine ait kinematik parametreler ($\mu\text{m}/\text{sn}$).	43
Tablo 4.2: Genel sperm motilitesi değerleri (%).	43
Tablo 4.3: Deney gruplarına ait döllenme ve yumurtadan larva çıkış oranları.	44
Tablo 4.4: Deneme süresi boyunca su parametreleri değerleri.	45
Tablo 4.5: Elektrik şoku uygulanan gruptaki su parametre değerleri.	45
Tablo 4.6: Elektrik şokunun uygulanmasından sonra su parametreleri (mg/L) değerleri.	46
Tablo 4.7: Diploid gökkuşağı alabalığının eritrosit özellikleri.	48
Tablo 4.8: Diploid gökkuşağı alabalığının eritrosit değerlerinin aralıkları.	48
Tablo 4.9: Gökkuşağı alabalığının eritrositlerine ait temel bileşen analizi sonuçları.	50
Tablo 4.10: Büyüme performansı parametreleri.	54
Tablo 4.11: Cinsiyet oranı sonuçları.	54
Tablo 4.12: Deneme gruplarının kas ve karaciğer dokularında yağ asidi profilleri.	59
Tablo 4.13: Gökkuşağı alabalığı karaciğerinde cinsiyete bağlı yağ asidi profilleri.	61

SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ

Simgeler	Açıklama
%	: Yüzde
<	: Küçüktür
>	: Büyüktür
≤	: Küçük ya da eşittir
±	: Artı eksi
°	: Derece

Kisaltmalar	Açıklama
°C	: Celsius
2N	: Diploid
3N	: Triploid
4N	: Tetraploid
Ba	: Baryum
Be	: Berilyum
Bi	: Bizmut
Ca	: Kalsiyum
CA	: Hücre alanı / Cortical alveoli
CAR	: Hücre eksen oranı
CMaA	: Hücre majör eksen
CMiA	: Hücre minor eksen
Co	: Kobalt
Cr	: Krom
Cu	: Bakır
CV	: Hücre hacmi
DHA	: Dokosahekzaenoik asit
dk	: Dakika
E1	: Döllenmeden 20 dakika sonra elektrik şoku uygulaması
E2	: Döllenmeden 30 dakika sonra elektrik şoku uygulaması
E3	: Döllenmeden 40 dakika sonra elektrik şoku uygulaması

E1-0	: Döllenenmeden 20 dakika sonra elektrik şoku uygulaması, 0 ppt tuzluluk
E1-5	: Döllenenmeden 20 dakika sonra elektrik şoku uygulaması, 5 ppt tuzluluk
E2-0	: Döllenenmeden 30 dakika sonra elektrik şoku uygulaması, 0 ppt tuzluluk
E2-5	: Döllenenmeden 30 dakika sonra elektrik şoku uygulaması, 5 ppt tuzluluk
E3-0	: Döllenenmeden 40 dakika sonra elektrik şoku uygulaması, 0 ppt tuzluluk
E3-5	: Döllenenmeden 40 dakika sonra elektrik şoku uygulaması, 5 ppt tuzluluk
EPA	: Eikosapentaenoik asit
Fe	: Demir
FCR	: Yem dönüşüm oranı
FC	: Foliküler hücreleri
FW	: Son vücut ağırlığı
G	: Units of gravity
GC	: Gaz Kromatografisi
GSI	: Gonadosomatik indeksleri
IW	: Başlangıç vücut ağırlığı
K	: Potasyum
L	: Lamellae / Litre
mOsm/kg	: Çözücünün kilogramı başına çözünen parçacık ozmolü
Mg	: Magnezyum
mg	: Milligram
mg/L	: Milligram per liter
M-G	: May-Grunwald eosin-methylene mavi solusyonu
mm	: Millimetre
MT	: 17-methyltestosterone
MUFA	: Tekli Doymamış Yağ Asidi
Na	: Sodyum
N	: Haploid
NAR	: Nükleer eksen oranı
NA	: Nükleer alanı
Ni	: Nikel
NC-0	: Negatif kontrol (herhangi bir işlem uygulanmamış, sadece yumurtlama dönemine kadar izlenmiştir)
NMaA	: Nükleer majör ekseni
NMiA	: Nükleer minör ekseni
NV	: Nükleer hacmi

OHA	: 11 β -hydroxyandrostenedione
PCA	: Temel Bileşen Analizi
PC-5	: Pozitif kontrol (elektrik uygulanmadan dölleme, 5 ppt tuzluluk)
PC	: Temel Bileşen
PG	: Primer oosit
pH	: Potansiyel Hidrojen
ppt	: Trilyonda bir
PUFA	: Çoklu Doymamış Yağ Asidi
S	: Sertoli hücreleri
sn	: saniye
Se	: Selenyum
SFA	: Doymuş Yağ Asidi
SG	: Stroma
SGR	: Özgül büyüme oranı
Sg	: Spermatogonia A
t	: Tubular
TFI	: Toplam tüketilen yem miktarı
TWG	: Toplam kilo artışı
V	: Volt
V/cm	: Volt/santimetre
VAP	: Ortalama yol hızı
VCL	: Eğrisel hız
VSL	: Doğrusal hız
μm/s	: Mikrometre bölü saniye

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ELEKTRİK ŞOKU UYGULAMASININ GÖKKUŞAĞI ALABALIĞINDA (*Oncorhynchus mykiss*, WALBAUM, 1792) BÜYÜME ve CİNSİYET DÖNÜŞÜMÜ ÜZERİNE ETKİSİ

José Antonio AZPILCUETA VÁSQUEZ

İstanbul Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Su Ürünleri Yetiştiriciliği ve Hastalıkları Anabilim Dalı

Danışman : Doç. Dr. Aygül EKİCİ

Su ürünleri yetiştiriciliğinde cinsiyet kontrolü, büyüme performansı ve ekonomik değeri açısından taşıdığı önem nedeniyle üzerinde çalışmalar yapılan bir konudur. Salmonid türlerde, dişilerin genellikle erkeklere kıyasla daha hızlı büyüme performansı göstermesi, hastalıklara toleranslı olması ve daha kaliteli fileto eldesi nedeniyle, tamamı dişi popülasyonların üretimi tercih edilmektedir. Bu nedenle; bu çalışma, gökkuşağı alabalığında (*Oncorhynchus mykiss*) 5 ppt tuzluluk düzeyinde döllenmeden 20, 30 ve 40 dakika sonra 10 dakika süreyle 12Volt elektrik şokuna maruz bırakılmıştır. Her bir grubun tuz içermeyen su ile eşleştirilen versiyonlarında döllenme ve yumurtadan çıkış oranları, cinsiyet oranı, büyüme performansı, ploidi düzeyi, yağ asidi profili (kas ve karaciğer) ile gonad gelişimi üzerindeki etkilerini değerlendirmeyi amaçlamıştır. Elektrik şokuna maruz bırakılan gruplarda döllenme, yumurtadan çıkış ve cinsiyet oranı üzerinde anlamlı bir etki gözlenmemiştir ($P > 0.05$). Elektrik şoku uygulanan grupların eritrosit ölçüm sonuçlarında triploid bireylerin oluşmadığı doğrulanmıştır. Döllenmeden 5 ay sonra gonad gelişiminin her iki cinsiyet için de kontrol grubu ile paralel olduğu tespit edilmiştir. Bununla birlikte, döllenmeden 30 dakika sonra tuz içermeyen suda 12V elektrik şokuna maruz bırakılan grupta son ağırlık anlamlı derecede daha yüksek bulunmuştur (39.07 ± 0.088 g), bu da gelişmiş bir büyüme performansına işaret etmektedir ($P < 0.05$). Gruplar arasında toplam doymuş yağ asidi (SFA), tekli doymamış yağ asidi (MUFA), çoklu doymamış yağ asidi (PUFA) veya trans yağ asitleri içeriği açısından anlamlı bir fark gözlenmemiştir ($P > 0.05$). Ancak, kas ve karaciğer dokularının yağ asidi profillerinde anlamlı farklılıklar tespit edilmiştir. Özellikle elektrik şokuna maruz kalan

gruplarda linoleik asit (C18:2), linolenik asit (C18:3) ve eikosapentaenoik asit (C20:5) seviyeleri daha yüksek bulunmuştur ($P < 0.05$). Bu bulgular, belirli koşullar altında uygulanan elektrik şokunun, gökkuşağı alabalığında gelişimsel ve fizyolojik diğer parametreleri etkilemeden büyüme performansını ve yağ asidi içeriğini etkileyebileceğini göstermektedir.

Temmuz 2025, 100 sayfa.

Anahtar kelimeler: Cinsiyet kontrolü, Elektrik şoku, Büyüme performansı, Yağ asidi profili, Ploidi düzeyi



SUMMARY

M.Sc. THESIS

EFFECT OF ELECTRIC SHOCK ON GROWTH and SEX REVERSAL IN RAINBOW TROUT (*Oncorhynchus mykiss*, WALBAUM, 1792)

José Antonio AZPILCUETA VÁSQUEZ

İstanbul University

Institute of Graduate Studies in Sciences

Department of Aquaculture and Fish Diseases

Supervisor : Assoc. Prof. Dr. Aygül EKİCİ

Sex control in aquaculture has been widely studied due to its relevance to growth performance and economic value. In salmonids, the production of all-female populations is preferred because females generally exhibit faster growth, greater disease resistance, and higher fillet quality compared to males. Therefore, this study aimed to evaluate the effects of electric shock (12V for 10 minutes) applied at different times post-fertilization (20, 30, and 40 minutes) at 5 ppt salinity level, and each group has a salt-free water on the fertilization and hatching rates, sex ratio, growth performance, ploidy level, fatty acid profile (muscle and liver), and gonad development of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). The groups exposed to an electric shock had no significant effect on fertilization, and hatching rate, or sex ratio ($P > 0.05$). Despite the application of electric shock to fertilized eggs, ploidy analysis based on erythrocyte measurements confirmed that no triploid individuals were produced, as intended in this study. Gonadal development at 5 months post-fertilization showed normal differentiation for both sexes. However, the group exposed to 12V at 30 minutes post-fertilization with salt-free water showed significantly higher final weight (39.07 ± 0.088 g), suggesting improved growth performance ($P < 0.05$). While no significant differences were observed in the total contents of saturated fatty acid (SFA), monounsaturated fatty acid (MUFA), polyunsaturated fatty acid (PUFA), or trans fatty acid among the groups ($P > 0.05$), significant differences were found in the fatty acid profiles of muscle and liver tissues, with higher levels of linoleic acid (C18:2), linolenic acid (C18:3), and eicosapentaenoic acid (C20:5) in the groups exposed to electric

shock ($P < 0.05$). These findings indicate that electric shock under specific conditions can influence growth performance, as well as the content of fatty acids without affecting other developmental and physiological parameters in rainbow trout.

July 2025, 100 pages.

Keywords: Sex control, Electric shock, Growth performance, Fatty acid profile, Ploidy level



1. GİRİŞ

Dünya çapında su ürünleri yetiştiriciliği üretimi, 2022 yılında canlı ağırlık olarak 130,9 milyon tona ulaşmış; bunun 94,4 milyon tonu, esas olarak insan tüketimine yönelik sucul canlılardan oluşmuştur. Bu toplam üretime ayrıca çeşitli amaçlarla kullanılan algler, kabuklular ve istiridyeler de dâhildir (FAO, 2024). OECD/FAO'ya (2024) göre, 2033 yılına kadar küresel su ürünleri arzının %55'inin akuakültür kaynaklı olması beklenmekte olup, bu oran 2021-2023 dönemine kıyasla %12'lik bir artışı temsil etmektedir.

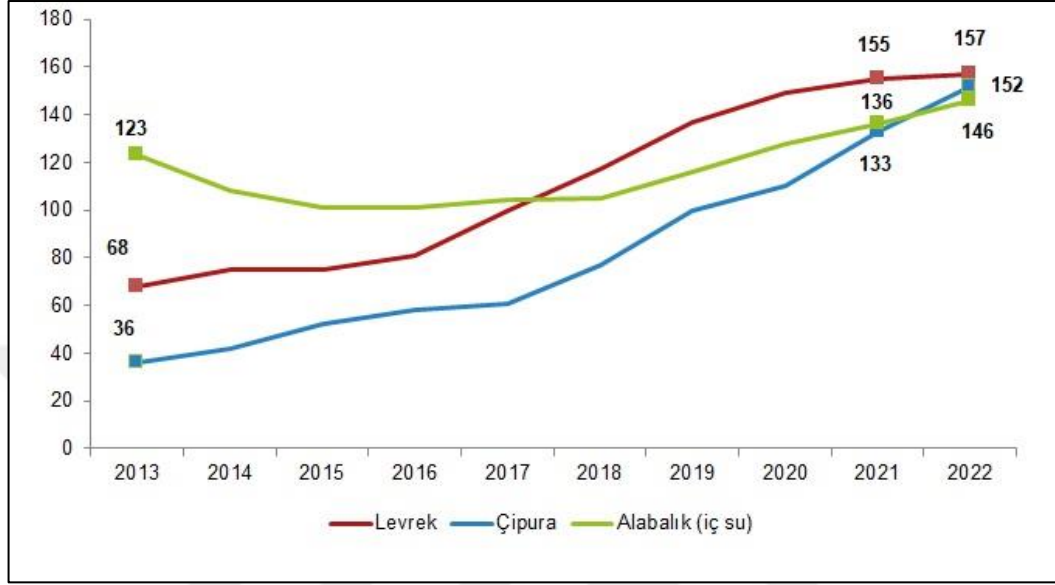
Aşağıdaki Tablo 1.1'de, 2021 yılında küresel su ürünleri yetiştiriciliğinde farklı tür gruplarının üretimindeki değişimler vurgulanmaktadır. Bu değişimler arasında, küresel ortalamanın üzerinde veya altında büyüme gösteren türlerin yanı sıra, üretiminde düşüş gözlemlenen türler de yer almaktadır (FAO, 2023).

Tablo 1.1: 2021 yılında tür gruplarına göre küresel su ürünleri yetiştiriciliği üretimindeki değişiklikler (FAO, 2023).

Sıra	Tür/grup	Durum
1	Sazangiller	Dünya ortalamasının üzerinde artış
2	Kahverengi algler	%1,6 artış
3	Kırmızı algler	Üretimde azalma
4	Deniz karidesleri ve büyük karides	Ortalama üzeri artış
5	İstiridyeler	Ortalama üzeri artış
6	Tilapia ve diğer çiklit türleri	%4,5 artış
7	Yayın balıkları	Dünya ortalamasının altında artış
8	Deniz tarağı, istiridyeye ve benzer kabuklular	Dünya ortalamasının altında artış
9	Salmonlar, alabalıklar	Ortalama üzeri artış

Türkiye'de akuakültür üretimi ağırlıklı olarak üç türe odaklanmaktadır: çipura (*Sparus aurata*), levrek (*Dicentrarchus labrax*) ve gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*). Son yıllarda ise denizlerde yetiştiriciliği yapılan türler öne çıkmaktadır (Şekil 1.1). Türkiye'de, deniz ve tatlı su türlerini kapsayan toplam su ürünleri yetiştiriciliği üretimi 514,805 tona ulaşmış olup, bunun %71,5'i denizlerde, %28,5'i ise tatlı sularda gerçekleştirilmiştir. Ayrıca, su ürünleri yetiştiriciliği üretimi 2022 yılında önceki yıllara kıyasla %60,6 oranında artış göstermiştir (TÜİK, 2022; Doğan ve Çanak, 2024). Ayrıca bu tür, diğer alabalık türlerine kıyasla üretim

koşullarına daha yüksek tolerans göstermesi nedeniyle birçok ülkenin su koşullarına adapte edilmiştir (Woynarovich ve ark., 2011). Türkiye'de genelde gökkuşağı alabalığı başta Muğla, Elâzığ ve Kayseri illerinde yetiştirilmektedir (FAO, 2022; TÜİK, 2022).



Şekil 1.1: Ülkemizde akuakültürü en çok yapılan türler (TÜİK, 2022).

Akuakültürde üreme kontrolü ve tek cinsiyetli popülasyonların üretimi gibi ihtiyaçlar nedeniyle, balıklarda cinsiyet kontrolü dolayısıyla da cinsiyet belirlenmesi ve cinsiyet farklılaşmasının anlaşılması büyük önem taşımaktadır. Bazı türlerde cinsiyetler arasında büyüme oranları ya da ekonomik değer bakımından farklılıklar bulunması, tek cinsiyetli popülasyonların üretimini özellikle önemli hâle getirmektedir (Yamazaki, 1983; Budd ve ark., 2015). Tilapia, salmonidler, kalkan balığı (*Scophthalmus maximus*) ve Avrupa levreği (*Dicentrarchus labrax*) gibi türlerde cinsiyet kontrolünü sağlamak amacıyla hormonal uygulamalar, kromozomal manipülasyon, melezleme ve selektif yetiştirme gibi çeşitli yöntemler kullanılmaktadır (Wang ve ark., 2018). Bu yöntemler arasında, hormonal uygulamalar ile cinsiyet dönüşümü en yaygın şekilde uygulanan yöntemlerden biri olmuştur. Şimdiye kadar, steroidler ve enzim inhibitörleri (örneğin Fadrozole) de dâhil olmak üzere 27'den fazla cinsiyet dönüşümü amacıyla kullanılan kimyasal 100'ün üzerinde balık türünde dişileştirme veya erkekleştirme amacıyla kullanılmıştır (Budd ve ark., 2015). Bununla birlikte, yetiştiriciliği yapılan canlılarda hormon kullanımına ilişkin düzenlemeler dünya genelinde farklılık göstermektedir. Avrupa Birliği'nde gıda güvenliğini sağlamak ve yasal standartlara

uyumu temin etmek amacıyla hormon bazlı maddelerin, tirostatik ajanların ve β -agonistlerin hayvancılık ve akuakültürde kullanımı sıkı politikalarla yasaklanmıştır (Hoga ve ark., 2018). Sonuç olarak, alternatif cinsiyet kontrol yöntemlerine yönelik ilgi giderek artmaktadır. Bu zorluklara rağmen, kromozomal manipülasyon balık yetiştiriciliğinde hassas ve sürdürülebilir cinsiyet kontrolü için umut verici bir yaklaşım olmaya devam etmektedir.

Salmonid yetiştiriciliğinde ana sorunlarından biri, seksüel olgunlaşmanın balıkların büyümesi, yaşama oranı ve piyasa değeri üzerindeki istenmeyen etkisidir (Lincoln ve Scott, 1983). Bu bağlamda, hepsi dişi olan popülasyonların üretimi özellikle faydalıdır; çünkü dişiler genellikle erkeklere kıyasla gecikmiş seksüel olgunlaşma, daha iyi büyüme performansı ve daha yüksek fileto kalitesi sergilerler (Manor ve ark., 2015). Gökkuşığı alabalığında (*O. mykiss*), hepsi dişi stoklar, androjenler (17α -metiltestosteron) ile uygulanan erkekleştirilmiş dişi anaç balıklar kullanılarak başarıyla üretilmiştir (Johnstone ve ark., 1979). Ayrıca, salmonidlerde dişileştirme işlemi 17β estradiol uygulamasıyla da gerçekleştirilmiştir (Hunter ve ark., 1986). Ancak hormonal uygulamalar, özellikle böbrek ve karaciğer gibi organlarda hipertrofiye ve yüksek ölüm oranlarına neden olabilen olumsuz yan etkilere yol açabilmektedir (Herman ve Kincaid, 1988).

Bu tekniklerin yanı sıra, kırmızı hibrid tilapia da olduğu gibi elektrik şoklarının da cinsiyet oranlarını etkileyebileceği bildirilmiştir (Okomoda ve ark., 2020a). Bu yöntem, erken embriyonik gelişim sırasında hücre bölünmesini manipüle etmek için kontrollü elektrik akım uygulamalarını içerir ve bu sayede üç kromozom setine sahip bireylerin oluşması sağlanabilir, bazı durumlarda bu, cinsiyet değişimlerini tetikleyebilmektedir. Bu bulgular ışığında, çalışmamızda gökkuşığı alabalığında triploid popülasyon üretiminden kaçınarak elektrik şokunun cinsiyet manipülasyonu için potansiyel bir yöntem olarak uygulanabilirliği araştırılmıştır.

Spermiasyon sırasında; hipoozmotik şok, iyon dengesi, pH, nitrik oksit, siklik adenosin monofosfat (cAMP), serbest radikaller ve kalmodulin gibi faktörlerin aracılık ettiği bir dizi aktivasyon süreci başlamaktadır (Tabares ve ark., 2016). Alabalık spermatozoonları testis sıvısı içinde hareketsizdir (Alavi ve Cosson, 2005) ve spermatozoa motilitesinin aktivasyonu, Hamamah ve Gatti (1998) tarafından salmonid balıklarda bildirildiği üzere dış ortamdaki iyonlara (H^+ , K^+ ve Ca^{2+}) bağlıdır. Bu nedenle, elektrik şoku uygulamasıyla birlikte, elektrotların polaritesine bağlı olarak aktivasyon çözeltisinin bileşenlerinde değişiklikler

meydana gelebilir; bu durum iyon konsantrasyonlarını etkileyerek sperm motilitesinin aktivasyonunu tetikleyebilmektedir.

Ayrıca, karaciğer ve kas dokuları da dâhil olmak üzere dokuların yağ asidi bileşimi balığın cinsiyetine, fizyolojik safhasına ve türüne bağlı olarak da önemli farklılıklar göstermektedir (Satué ve López, 1996; Johnston ve ark., 2020). Birçok çalışma, çeşitli balık türlerinin yağ asidi profilleri üzerinde cinsiyetin etkisini vurgulamıştır (Cai ve ark., 2021; Bao ve ark., 2023). Karaciğer dokusundaki yağ asidi bileşiminde balık cinsiyetine bağlı olarak farklılıklar gözlemlenmektedir. Ayrıca; balık karaciğeri mevsimsel değişikliklerden ve cinsiyet farklılaşmasından etkilenmekte olup, gonad gelişimi sırasında omega-3 çoklu doymamış yağ asitlerinde artış görülmektedir (Uysal ve ark., 2006).

Bu tez çalışmasının amacı; gökkuşağı alabalığı embriyolarında elektrik akımının gonad gelişimi üzerindeki etkilerini, uygulanan elektrik akımının döllenme sonrasındaki zamanlamasını değiştirerek araştırmaktır. Bu amaçla cinsiyet oranı ölçülmüş, büyüme performansı ve yağ asidi bileşimi nicel olarak değerlendirilmiş; bu parametrelerin nihai olarak tüketiciler için besin değerlerini etkileyebileceği belirlenmiştir. Bu çalışma, bilimsel açıdan önemli bir özgünlük taşımakta olup, bulguları gelecekteki araştırmalarda uygulanabilirlik açısından güçlü bir potansiyel göstermektedir.

2. GENEL KISIMLAR

2.1. GÖKKUŞAĞI ALABALIĞININ (*Oncorhynchus mykiss*) GENEL ÖZELLİKLERİ

Gökkuşağı alabalığı, Kuzey Amerika'daki Pasifik drenaj havzalarına özgü olup Alaska'dan Meksika'ya kadar uzanmaktadır. 1874 yılından itibaren, sportif balıkçılık ve su ürünleri yetiştiriciliği gibi rekreasyonel amaçlarla Antarktika hariç tüm kıtalardaki su kaynaklarına tanıtılmıştır. Pelet yemlerin geliştirilmesiyle 1950'lerde üretimi büyük ölçüde artmıştır. Avcılık ve yetiştiriciliği ise; Asya, Doğu Afrika ve Güney Amerika'daki birçok tropikal ve subtropikal yüksek ova havzasında sürdürülmektedir (FAO, 2024).

Gökkuşağı alabalığının sistematığı aşağıdaki gibi verilmektedir (ITIS, 2024).

Alem: Animalia

Şube: Chordata

Alt-Şube: Vertebrata

Üst-sınıf: Actinopterygii

Sınıf: Teleostei

Üst-takım: Protacanthopterygii

Takım: Salmoniformes

Aile: Salmonidae

Cins: *Oncorhynchus*

Tür: *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792)



Şekil 2.1: Erkek anaç gökkuşaağı alabalığı (Özgün).

Gökkuşaağı alabalığının gövdesi uzun ve iğ şeklindedir; *Linea lateralis* boyunca pembe bir bantla birlikte mavi ile zeytin yeşili tonlarında renklere sahiptir ve bu bantın altında gümüşü bir renk bulunur. Dorsal sırt, vücut geneli, baş ve yüzgeçler küçük siyah beneklerle kaplıdır. Renklenme; yaşadığı ortam, büyüklüğü ve cinsiyete bağlı olarak değişkenlik gösterir. Kaydedilen en büyük boy ve ağırlık sırasıyla 122 cm ve 25.4 kg'dır (Şekil 2.1). Çevresel koşullara toleranslı bir balık türü olan gökkuşaağı alabalığı kolayca üreme ve hızlı büyüme özelliklerine sahip olması yanı sıra çeşitli çevre koşullarına ve müdahalelere karşı toleranslıdır. Genellikle zooplankton ile beslenen yavru balıklar ticari yemlere kolaylıkla alıştırılabilir (FAO, 2024; Froese ve Pauly, 2023).

Gökkuşaağı alabalığı, su kalitesi gibi çeşitli çevresel etkenleri ve geniş bir su sıcaklığı aralığını tolere edebilir. Ancak; yüksek oksijen içeriğine sahip suyu tercih eder ve 13-18°C arasındaki su sıcaklıklarında en iyi şekilde gelişme gösterir. Besinsel değeri açısından kaliteli bir protein kaynağı olup, diyetlerine bağlı olarak pigmentli (kırmızı) veya pigmentsiz (beyaz) et üretebilirler (Hardy, 2002).

2.1.1. Gökkuşaağı Alabalığının Üreme Biyolojisi

Dişi gökkuşaağı alabalığı; vücut ağırlığının kilogramı başına 2000 adete kadar yumurta üretebilmekte olup, yumurta çapları 3 ila 7 mm arasında değişmektedir. Doğal ortamlarda, dişi alabalıkların genellikle üç erkek ile birlikte bulunduğu ve yumurta yaşama oranlarının %0,5 ile %2 arasında değiştiği gözlemlenmektedir. Diğer yandan, ağ kafeslerde yapılan yetiştiricilikte yaklaşık 10 dişi yumurtasını döllemek üzere iki ya da üç erkekten elde edilen sperm kullanılmaktadır. Dişi alabalıklarda abdomen bölgesi şişkin olup genital açıklık kızarıklık ve dış

bükey bir görünüm almaktadır. Alabalıklarda üreme genellikle dişilerde ortalama 30 cm, erkeklerde ise 25 cm boya ulaşıldığında başlar (FAO, 2024; MINAM, 2021; PRODUCE, 2022).

2.1.2. Gökkuşağı Alabalığı Üretimi

Salmonidae familyasına ait balıkların yetiştiriciliğinde; gamet miktarı ve kalitesi ile yavruların canlılığı, kuluçkahane teknik ve ekonomik performansına bağlıdır (Billard ve Jensen, 1996). Anaç seçimi, kültürün başarısında önemli bir rol oynar (FONDEPES, 2022). Huet (1973); anaç balık seçim sürecinin, anaç balıkların olgunlaşma sürecine dair özellikleri taşıdığını gösteren morfolojik değerlendirilmesini de içerdiğini belirtmiştir.

Dişilerde abdomen bölgesi yumuşak ve şişkin olup, genital açıklık pembe-kırmızı renkli ve dışa doğru çıkıntılıdır. Olgun balıkların genital açıklığına hafif bir baskı uygulanarak olgun yumurtalar kolaylıkla vücut dışına bırakılır. Olgun yumurtalar; parlak sarı veya turuncu renkte olmalı ve birbirine yapışık değil aksine serbest halde bulunmalıdır. Olgunlaşma aşamasını tamamlayan yumurtalar, etrafında göz benzeri bir halka ile kolayca ayırt edilir ve su ile temas ettiğinde süt benzeri bir sıvı salar. Erkeklerde ise belirgin bir alt çene ve güçlü parlak renklenme görülür. Genital açıklığa uygulanan baskı ile spermanın salınımı gerçekleşir; sperm ne çok koyu ne de çok seyrek, beyazımsı renkte olmalıdır (Billard ve Jensen, 1996; FAO, 2014; FONDEPES, 2022).

Salmonidae familyasına ait türlerin üretiminde üç farklı yumurtlama tekniği kullanılmaktadır. Bunlardan biri olan yaş dölleme tekniği, eski zamanlardan beri kullanılmaktadır. Bu yöntemde yumurtalar su bulunan bir kaba bırakılır, ardından erkeğin spermi eklenir ve döllemenin gerçekleşmesi için bir süre bekletilir. Ancak bu yöntemde elde edilen düşük döllenme oranının nedeni, yumurtaların suyla temas ettiklerinde osmoz yoluyla hidrasyona uğramasıdır (FONDEPES, 2022).

Yaş dölleme tekniğinin yerine geçen kuru dölleme tekniği, doğal ya da geleneksel yumurtlama olarak da bilinmekte olup, %100'e varan döllenme oranlarının elde edilmesine olanak sağlamıştır (Huet, 1973). Bu yöntemde, olgunlaşmış birkaç balıktan alınan yumurtalar, suyun kaba girmesi engellenerek kuru bir kapta toplanır. Daha sonra sperm eklenir ve karıştırılır; su eklenmeden önce bu işlem gerçekleştirilir. Huet (1973) ve diğer araştırmacılara göre (Billard ve Jensen, 1996; FONDEPES, 2022), kuru yöntemin avantajı, yumurta ve spermin canlılık süresini yalnızca 90 saniyeye, spermatozoanın hareket kabiliyetini ise sadece 30 saniyeye

ıkarabilmesidir. Yumurtaların canlılığına göre, Leitritz (1980) mikrofil aıklığıının yumurtaların suya bırakıldıktan 3 dakika sonra kapandığı ve bu sreden sonra döllenmenin mümkün olmadığını belirtmiştir. Ancak, yumurtalar içerisinde su bulunan bir ortama bırakılmadığında 10 dakika süre boyunca döllenme kabiliyeti mümkün olabilmektedir. Yumurtalarda çatlaklar bulunduğunda izotonik çözelti ile döllenme yöntemi önerilmektedir. Bu yöntemin prensibi, albuminlerin çözeltide kalmasını sağlamak için elektrolitlerin, dllenebilir yumurtaların döllenmesini engellemeyecek şekilde konsantre edilmesidir. Bu yöntem uygulandığında, %100'e yakın verimlilik oranlarına ulaşılabilmektedir (Leitritz, 1980).

2.2. BALIKLARDA GONAD ÖZELLİKLERİ

Tüm omurgalılarda gonadlar, periton boşluğunun dorsolateral astarında, dorsal mezenterin her iki yanında bir çift olarak gelişir. Teleost balıklarda ise, embriyonik gonadal primordiumda bu çift yapılar belirgin değildir ve ön-arka eksen boyunca konumlanmıştır (Sharma ve ark., 2023).

Balıklarda gonadlar, gaz kesesinden peritoneal mezenter tarafından asılır ve bu mezenter, ovaryum veya testisleri içeren bir kese ya da zar oluşturur. Bu zar ile gonadların kendi zarı, *tunica albuginea* olarak adlandırılır; bu yapıya damarlar, arterler, lenfatik ve sinir kanalları ulaşır. Arka kısımda, gonadlar birbirine bağlanır ve gametler, anüs ile idrar deliği arasında bulunan genital açıklıktan dışarıya tek bir kanalla çıkar. Gonadlar; erkeklerde sperm, dişilerde ise ovum olarak adlandırılan üreme birimleri veya gametleri üretir. Gametlere ek olarak, spesifik hormonlar da sentezlenir. Teleostların gonadları tek bir primordiyumdan gelişir ve tüm gonad doğrudan periton epitelinde gelişir; bu yapı diğer omurgalılardaki kortekse karşılık gelir (Gmez, 1995; Hoar, 1969).

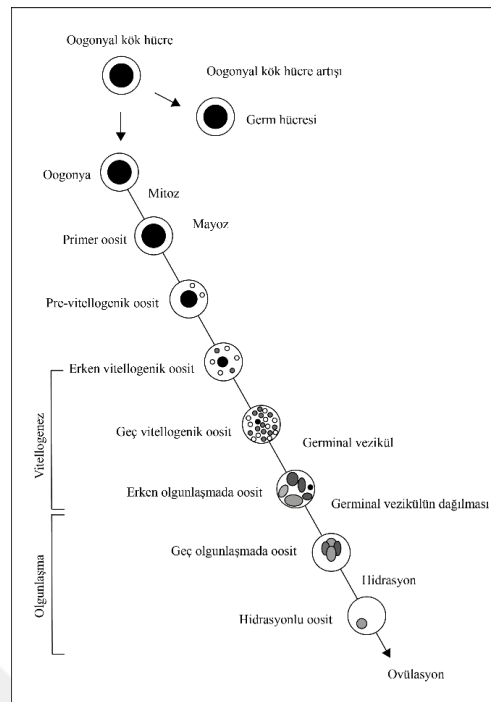
Gökkuşağı alabalığında testis ve ovaryumlar, vücut boşluğunda çift olarak bulunan organlardır. Gonadın n ucu, bulunduğu vücut boşluğunun antero-dorsal bölgesine tutunmuştur ve bu noktada, hücre göçüne olanak sağlayabilecek şekilde mesonefros ile bazı bağlantılar mevcuttur (Billard, 1992).

2.3. GAMET ÖZELLİKLERİ

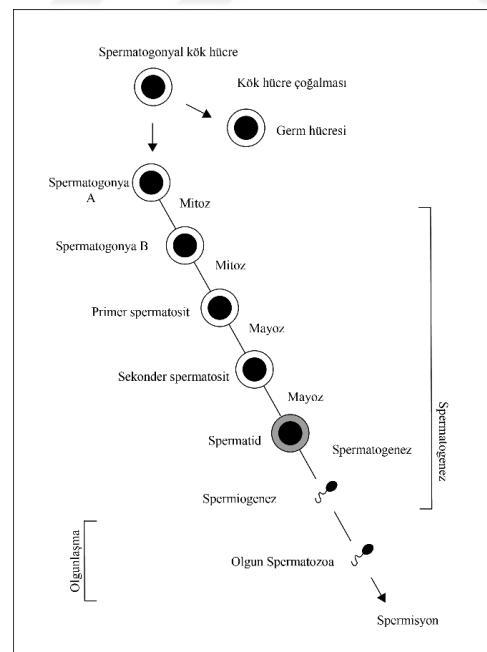
Genetik bilginin nesiller boyunca aktarımı, sperm veya yumurta hücrelerine dönüşebilen haploid gametleri üreten germ hücreleri tarafından sağlanır. Omurgalı testisinde farklılaşan ilk somatik hücre türleri, testis gelişimi ve spermatogenez sürecinde kritik rol oynayan Sertoli hücreleri olarak bilinir. Buna karşılık, yumurta üretimi (oogenezi) ise, over foliküllerinin bir parçası olan ve destekleyici bir hücre türü olan pre-granüloza hücreleri aracılığıyla gerçekleşir (Lubzens ve ark., 2010; Schulz ve ark., 2010).

Oogenezi, ovaryumda dört aşamadan oluşur: oogonia proliferasyonu, oositlerin besin biriktirdiği birincil büyüme, folikül uyarıcı hormonun etkisiyle gerçekleşen ikinci büyüme (vitellogenesis) ve oositlerin olgun yumurtalara dönüştüğü olgunlaşma aşamasıdır (Şekil 2.2). Buna karşılık, testislerde spermatogenez üç aşamada gerçekleşir: spermatogonia proliferasyonu, mayotik bölünme sonucu spermatositlerin oluşumu ve olgunlaşma aşamasıyla haploid spermatidlerin ve hareketli spermatozoanın üretimi (MacLatchy, 2020) (Şekil 2.3).

Gökkuşağı alabalığında, Moore (1937) germ hücrelerinin embriyonik gelişim sırasında, 9. günün splanknotüründe erken dönemde ayrıldığını gözlemlemiş ve cinsiyet farklılaşmasının döllenmeden sonra 95 ile 104. günler arasında gerçekleştiğini belirtmiştir. Benzer sonuçlar Van den Van den Hurk ve Slof (1981) tarafından da rapor edilmiştir; burada cinsiyet farklılıklarının döllenmeden sonra 45 ile 55 gün arasında ilk kez görülebildiği bildirilmiştir. Aynı şekilde, Lebrun ve ark. (1982) genç gökkuşağı alabalığında cinsiyet farklılaşmasının ilk belirtilerini yumurtadan çıktıktan 5 hafta sonra tespit etmiştir. Mayotik aktivite, yumurtalık farklılaşmasının ilk tanınabilir işareti olarak rapor edilmiş ve Takashima ve ark. (1980) tarafından gökkuşağı alabalığında belirgin bir biseksüel cinsiyet farklılaşma modeli gösterilmiştir.



Şekil 2.2: Teleost balıklarda oosit gelişim aşamalarının şematik açıklaması, (Karayücel ve Karayücel, 2016) uyarlanmıştır.



Şekil 2.3: Teleost balıklarda spermatozoa gelişim aşamalarının şematik açıklaması, (Karayücel ve Karayücel, 2016) uyarlanmıştır.

2.3.1. Sperm Hücresinin Özellikleri

Spermatozoa; sperm ana hücreleri ya da spermatogonium'lardan, "spermatogenez" olarak adlandırılan bir sitolojik aşama serileri yoluyla oluşur. Teleost balıklarda spermatozoonlar genellikle akrozom içermez; koryon ise, oosit zarına erişim sağlayan bir mikrofil açıklığı içermektedir. Spermatozoa; genellikle homojen ve yüksek derecede yoğunlaşmış kromatine sahip küresel bir çekirdek, nuclear fossa, değişken büyüklükte sitoplazmik kanallı ya da kanalsız bir orta parça ve bir ya da iki flagellum ile karakterize edilir. Ayrıca balık spermatozoası, dış ya da iç dölleme şekline göre sırasıyla aquasperm ve introsperm olmak üzere iki morfolojik tipe ayrılır (Hoar, 1969; Schulz ve ark., 2010). Çoğu balık türünde spermatozoonun baş bölgesi küresel bir şekle sahiptir (çapı 2–4 μm) ve sperm flagellum'unun uzunluğu türe bağlı olarak 20 ile 100 μm arasında değişir (Cosson, 2019).

Sperm kalitesi ve dölleme kapasitesini belirlemede, özellikle alabalık gibi salmonidlerde sperm hareketliliği önemli bir rol oynar ve bu hareketlilik esas olarak K^+ iyonları tarafından kontrol edilir. Sıcaklık ve pH da alabalık spermatozoonlarının toplam hareket süresi ve ilerleyici hareketi üzerinde önemli etkiye sahiptir. Sperm hareketliliği için optimal koşullar pH 9 ve 5 - 21°C arasındaki sıcaklıklarda gözlemlenmiştir (Alavi ve Cosson, 2005).

2.3.2. Yumurta Hücresinin Özellikleri

Balıklarda yumurta çapı değişkendir (3.5 ila 5.5 mm) ve dişinin yaşı, boyutu ile beslenme rejimine bağlıdır. Teleost balıkların yumurtaları, koryon olarak bilinen koruyucu özellikteki zar ile çevrilidir. Bu zar, bir hücresel plazma membranı ile oosit tarafından salgılanan iki hücresiz tabaka olmak üzere üç ana katmandan oluşur. Bu koryon birçok hayati işlevi yerine getirir: gelişmekte olan embriyoyu koruyan bir bariyer görevi görür, su kaybını önler ve embriyonal solunum için gerekli olan gaz değişimini sağlamaktadır. Ayrıca, koryon üzerinde bulunan mikrofil açıklığından sperm hücresinin içeri girerek yumurtayı döllemesine olanak tanımaktadır. Yumurta salınımı sonrası, olgunlaşmış yumurta metafaz II oosit evresindedir ve sonraki embriyonik gelişim için gerekli tüm moleküller ve besleyici rezervlerle tam olarak donatılmıştır (Billard, 1992; Lubzens ve ark., 2010).

Verimli yumurtalar genellikle turuncu veya soluk sarı renkte olup yarı saydam bir görünüme sahiptir (Şekil 2.4). Opak veya anormal renkli yumurtalar, dölleme başarısızlığı veya sağlık sorunlarının bir göstergesi olabilmektedir. Verimli yumurtalar genellikle şekil ve boyut

bakımından homojendir. Şekilsiz veya çok küçük yumurtalar ise gelişimsel bozukluklar ya da kalite problemlerine işaret edebilmektedir (FONDEPES, 2022).



Şekil 2.4: Döllenme öncesi gökkuşağı alabalığı yumurtaları (Özgün).

2.4. SU ÜRÜNLERİ YETİŞTİRİCİLİĞİNDE CİNSİYET ORANI ÖNEMİ

Akuakültürde, cinsiyet kontrolü aracılığıyla birçok hedefe ulaşılabilmektedir. Bu hedefler arasında; tilapia gibi bazı türlerde erken seksüel olgunluğun ve kontrolsüz üremenin önlenmesi, cinsiyetler arasındaki büyüme hızı ve ekonomik değer farklılıkları nedeniyle tek cinsiyetli popülasyonların yetiştirilmesine yönelik talep, yerli olmayan türlerin veya genetik olarak iyileştirilmiş hatların çevresel ve/veya fikri mülkiyet haklarının korunması, çiftleşme sistemlerinde artan stabilite ile Atlantik salmonu (*Salmo salar*) ve istiridye (*Crassostrea gigas*) gibi türlerde fenotipik cinsiyetin ürün kalitesi üzerindeki etkisinin azaltılması yer almaktadır. Bu nedenle, balıklarda cinsiyet belirleme ve farklılaşmasının temel amacı, daha yüksek büyüme oranları ve üstün et kalitesi gibi tek cinsiyetli üretimin potansiyel faydalarını gerçekleştirmektir (Budd ve ark., 2015; Wang ve ark., 2018).

Kromozom manipülasyonu ve mühendislik teknikleri, yukarıda belirtilen hedeflere ulaşmak için klasik ıslah yöntemleri (seleksiyon) yerine tercih edilmektedir. Bunun temel nedeni, balıkların dış döllenme özellikleri sayesinde gametlerinin manipülasyonu ve *in vitro*

döllenmesinin kimyasal, fiziksel ya da ışınlama uygulamaları ile daha kolay gerçekleştirilebilmesidir. Bu durum, söz konusu tekniklerin su ürünleri yetiştiriciliği endüstrisinde ticari bir araç haline gelmesini sağlamıştır (Carrillo, 2001). Tek cinsiyetli balık popülasyonlarının üretimi uzun yıllardır araştırılan bir konu olmasına rağmen, bu çalışmaların çoğu steroid hormonlar kullanılarak gerçekleştirilmektedir (Turan, 2000). Ancak, hormonal uygulamalar özellikle böbrek ve karaciğer gibi organlarda hipertrofiye yol açabilen yüksek mortalite oranları gibi olumsuz yan etkilere neden olabilmektedir (Herman ve Kincaid, 1988).

Tek cinsiyetli balık popülasyonlarının üretiminde, hormon katkıları veya belirli doz ve sürelerde yapılan banyo uygulamaları yoluyla hormon banyosu uygulamaları ve yem aracılığıyla uygulama gibi yöntemler kullanılmaktadır (Tablo 2.1). Bu yöntemlerde, gelişmekte olan embriyoda endojen cinsiyet belirleme mekanizmasını baskılamak veya gonad gelişiminde başarısızlığa neden olmak amacıyla androjen veya östrojen tedavileri uygulanmaktadır (Donaldson ve Hunter, 1982).

Erkekleştirme ve dişileştirme amacıyla, sırasıyla testosteron türevi olan 17 α -metiltestosteron ve östrojen türevi olan 11- β hidroksiandrostenedion, balıklarda tek cinsiyetli popülasyonların elde edilmesinde kullanılan hormonlardır. Yapılan birçok çalışma, Amerika Birleşik Devletleri tarafından belirlenen protokollerin şekillenmesinde etkili olmuştur. Bu protokollere göre, gökkuşağı alabalığında tamamen erkek bireylerden oluşan popülasyon elde etmek amacıyla, 60 gün süreyle kilogram başına 3 mg 17-metiltestosteron (17MT) uygulanması tavsiye edilmektedir (Johnstone ve ark., 1978).

Ayrıca, sentetik hormonların yerine doğal bitki özlerinin kullanıldığı alternatif hormon banyosu teknikleri de araştırılmaktadır. *Tribulus terrestris* gibi bitkiler, *Cichlasoma nigrofasciatum* (Çek ve ark., 2007) ve *Clarias gariepinus* (Turan ve Çek, 2007) türlerinin maskülinizasyonu çalışmalarında gözlemlenmiştir.

Alabalık üretiminde, erkek alabalıkların 7 - 12 ay arasında seksüel olgunluğa ulaştığı ve yemden alınan enerjinin önemli bir kısmının büyüme yerine gonad gelişimine yönlendiği bilinmektedir. Dişi alabalıklar, erkeklerle kıyasla daha iyi et kalitesi, daha yüksek büyüme hızları ve hastalıklara karşı daha yüksek tolerans göstermektedir (Pérez ve ark., 1999; Güzel ve ark., 2008). Tek cinsiyetli balık üretimi üzerine yapılan çalışmalarda, dişi diploid (2N) ve triploid alabalıkların yağ asidi kompozisyonları arasında minimal farklılıklar gözlenmiştir. Ayrıca,

sadece dişi triploid (3N) Atlantik salmonunun diploid balıklara kıyasla daha hızlı büyüme gösterdiği, hayatta kalma oranlarında ise küçük farklılıklar olduğu bulunmuştur (Galbreath ve ark., 1994; Karayücel ve ark., 2018). Bu nedenle, alabalık yetiştiriciliğinde tamamen dişi popülasyonların üretimi tercih edilmektedir.

Tablo 2.1: Su ürünleri yetiştiriciliğinde hormon uygulama yöntemleri.

Yöntem	Balık türü	Doz	Sonuçlar	Kaynaklar
Hormon Banyosu (17 α -MT)	<i>O. mykiss</i>	400 μ g/L (Yumurtadan çıktıktan 1 hafta sonra) - 2 saat	Testise sahip balıkların %97,2'si arasında, bireylerin %50'si fonksiyonel erkek olarak belirlenmiştir.	Weber ve ark., 2020.
Hormon Banyosu (17 α -MT)	<i>O. mykiss</i>	400 μ g/L (Yumurtadan çıktıktan 4 - 7 gün sonra) - 1 saat	Balıkların %94'ünde testis tespit edilmiştir.	Weber ve Leeds, 2022.
Yem (17 - α MT / 11 - β hydroxyandrostenedione)	<i>O. mykiss</i>	6 ppm - MT / 20 ppm - OHA	OHA (%95 Dişi neo-erkek / % 1,6 biseksüel) - MT (%57,9 Dişi neo-erkek / %1,8 biseksüel)	Kuzminski ve Dobosz, 2010.
Yem (17 α - MT)	<i>O.mykiss</i>	3 mg/Kg	0 - 30 Gün (%79 ♂) / 0 - 90 gün (%98 ♂)	Johnstone ve ark., 1978.
Yem ve Hormon Banyosu (17 α - MT)	<i>O. mykiss</i>	1, 2 ve 3 mg/Kg (MT) / 0,5mg/L (MT) -	1mg/Kg (MT) - %100 ♂ / 2mg/Kg (MT) - %98,4 ♂ / 3mg/Kg (MT) - 98% ♂ / Banyo uygulamalarının hiçbiri etkili olmamıştır.	Arslan ve ark., 2010.
Hormon banyosu (17 α - MT / 11 - β hydroxyandrostenedione / 17 α - MDHT)	<i>O. mykiss</i>	0,5mg/L (MT) / 0,5mg/L (OHA) / 0,5mg/L (MDHT)	0 hafta (%76 ♂) - 1 hafta (%75,5 ♂) - 2 hafta (%79 ♂) / 0 hafta (%66,5 ♂) - 1 hafta (%67 ♂) / 1 hafta (%33 ♂) - 2 hafta (%57,9 ♂)	Arslan ve ark., 2012.

OHA: Hidroksiandrostenedion; MT: Metiltestosteron; MDHT: Metildihidrotestosteron.

2.5. KROMOZOM MANİPULASYONU

Kromozom veya kromozom setlerinin manipülasyonu, bitki genetiğinde güçlü bir araç olmasına rağmen, hayvan ıslahında yaygın olarak uygulanmamaktadır (Denton, 1973). Ancak, çoğu balık türünde döllenmenin dış ortamda gerçekleşmesi nedeniyle, kromozom sayılarını manipüle etmek nispeten kolaydır. Ayrıca, kromozom sayısının değiştirilmesiyle haploid (N), diploid (2N), triploid (3N) ve tetraploid (4N) balıklar üretmek için çeşitli teknikler geliştirilmiştir. ginogenez ve androgenez yöntemleriyle manipülasyonlar gerçekleştirilebilmektedir (Thorgaard, 1983; Chourrout, 1987; Lozano ve ark., 1987).

Purdom (1983), kromozomların manipölasyonunun, hücre bölünmesinin nükleer döngüleri sırasında mümkün hale geldiğini; bu sürecin, kromozomların yoğunlaşması ve hareketini sağlamak için iğ benzeri yapılara organize olmasıyla kolaylaştığını belirtmiştir.

2.5.1. Balık Kromozomları ve Yapısı

Balık türüne bağlı olarak kromozom sayısı değişiklik göstermektedir. Çoğu balıkta bir kromozom balığın anaç erkek balıktan, diğer kromozom ise anaç dişi balıktan miras alınarak diploid ($2N$) olarak adlandırılan çiftler oluşturmaktadır (Tave, 1986). Aynı familyaya ait farklı türler arasında bile kromozom sayısı farklılık gösterebilmektedir. Kromozom sayısına ek olarak, bu varyasyonlar kromozomların sentromerin konumu ve şekli ile de karakterize edilebilmektedir (Timur ve Ekici, 2009). Kromozomların metasentrik, submetasentrik, akrosentrik ve telosentrik olarak sınıflandırılması, sentromerlerin pozisyonuna bağlı olduğunu göstermektedir (Cremer ve Cremer, 1988).

Balık epitel dokusundan elde edilen kromozomlar, tüm dış ve iç vücut yüzeylerini kaplayan bölücü epitelin varlığı nedeniyle optimal olarak kabul edilmektedir. Bu nedenle, kromozomlar genellikle bu bölgelerden doğrudan veya dolaylı olarak incelenebilmektedir (Denton, 1973). Balıklarda kromozom çalışmaları için canlıyı öldürmeden çeşitli dokuların eldesi gerçekleştirilebilmektedir. Balık kromozomları; yüzgeç veya pul epiteli, solungaç epiteli, dalak, böbrek, karaciğer, kornea ve konjonktiva epiteli, embriyolar, testis materyalleri ve doku kültürü teknikleri kullanılarak çeşitli kaynaklardan elde edilebilmektedir (McPhail ve Jones, 1966; Denton, 1973). Genellikle, kromozom çalışmaları için 20 ila 200 gram ağırlığındaki alabalıklar $14\text{ }^{\circ}\text{C}$ sıcaklıktaki suda tutulmaktadır (Timur ve Ekici, 2009).

Gökkuşaağı alabalığının diploid kromozom sayısının $2N = 58 - 63$ olduğu bildirilmektedir. Sitogenetikte bu sayı, hücrelerin metafaz evresindeki kromozomların sayılmasıyla belirlenir; bu da bu tür için haploid organizmanın $N = 29 - 32$, triploid organizmanın $3N = 87 - 94$ ve tetraploid organizmanın $4N = 116 - 126$ kromozoma sahip olduğu anlamına gelmektedir (Pineda ve ark., 2004).

2.5.2. Poliploidi Uygulamaları

Balıklarda poliploidi indüksiyonu için birkaç yöntem bulunmaktadır. Bu yöntemler genellikle germ hücrelerinin (yumurta ve sperm) manipölasyonunu içermekte olup, ekstra kromozom

setine sahip bireylerin oluşturulmasını sağlamaktadır (Thorgaard, 1983). Aşağıdaki Tablo 2.2’de bu yöntemler ayrıntılı olarak gösterilmektedir.

Tablo 2.2: Poliploidi indüksiyonu yöntemleri.

Yöntem	Tür	Açıklama	Kaynaklar
Sıcaklık Şoku	Gökkuşağı alabalığı (<i>O. mykiss</i>)	Döllenmeden kısa bir süre sonra uygulanan soğuk veya sıcak şok, mayoz bölünmenin bozulmasına neden olarak triploid veya tetraploid bireylerin oluşumuna yol açmaktadır.	Solar ve ark., 1984.
Hidrostatik Basınç Şoku	Coho Salmon (<i>O. kisutch</i>)	Döllenme sonrası uygulanan yüksek basınç, kutup hücresi çıkışını engelleyerek triploidi indüklemektedir.	Teskeredžić ve ark., 1993b.
Elektrik Şoku	Kırmızı hybrid Tilapia (<i>Oreochromis mossambicus</i> × <i>O. niloticus</i>), Afrika yayın balığı (<i>Clarias gariepinus</i>), coho salmon (<i>Oncorhynchus kisutch</i>) ve yumuşakçalar.	İkinci mayoz bölünmeyi baskılamak için kullanılan elektrik şokları, triploid bireyler oluşmasını sağlamaktadır.	Okomoda ve ark., 2020a; Okomoda, ve ark., 2020b; Teskeredžić ve ark., 1993a; Cadorel, 1992.
Hipotonik Şoku	İstiridiye (<i>Crassostrea gigas</i>)	Poliploidi bireyleri oluşturmak için döllenmiş yumurtalara uygulanan hipo / hipertonic şoklar.	Vignier ve ark., 2024.
Kimyasal Uygulamalar	Pasifik abalone (<i>Haliotis rufescens</i>)	İğ ipliği oluşumunu bozarak poliploidi oluşturan kimyasallar (sitokalsin B) kullanılmaktadır.	Maldonado-Amparo ve ark, 2001.
Ginogenez	Atlantic salmon (<i>Salmo salar</i>)	Genetik olarak inaktive edilmiş spermle (ışınlanmış sperm) yumurta aktivasyonu sağlanır ve ardından diploidi yeniden sağlamak için bir şok uygulanır; bu işlem sonucunda tamamı dişi birey elde edilmektedir.	Johnstone ve Stet, 1995.
Androgenez	Gökkuşağı alabalığı (<i>O. mykiss</i>)	UV ile ışınlanmış yumurtalar normal sperm ile döllenir ve ardından diploidi yeniden sağlamak amacıyla bir şok uygulanmaktadır. Bu yöntem, tüm genetik materyalin babaya ait olduğu bireylerin (tam paternal kalıtım) elde edilmesini sağlamaktadır.	Parsons ve Thorgaard, 1984.
Kafein	Afrikan yayın balığı (<i>Clarias gariepinus</i>)	Kafein, hücre bölünmesini değiştirerek triploidi oluşumunu indükleyebilmektedir.	Turan ve Guragac, 2014.

2.5.3. Kromozom Çalışmaları

Alabalıkta kromozom seti manipölasyon teknikleri ve genetik analizler, ticari önemi nedeni ile yoğun şekilde araştırılmıştır. Triploidi ve tetraploidi indüksiyonu için sıcaklık veya basınç şoku gibi yöntemler uygulanmıştır. Ayrıca, ginogenez ve androgenez yöntemleri de alabalıkta başarı ile gerçekleştirilmiştir. Buna ek olarak, DNA belirteçlerinin ve gen transfer tekniklerinin son dönemde kullanımı, bu türde genetik analizlerin önemli ölçüde gelişmesini sağlamıştır (Thorgaard, 1992).

Kromozom manipölasyonunun alternatif yöntemleri, çeşitli türlerde poliploidi indüksiyonu için araştırılmıştır. Cadorel (1992), elektriksel alan kullanarak yumuşakça embriyolarında poliploidi indüksiyonunu göstermiştir. Son yıllarda, döllenmiş balık yumurtalarına elektrik şoku uygulanarak triploid balık üretimi üzerine çalışmalar yapılmaktadır. Bu çalışmalar, tilapia (*Oreochromis niloticus*) ve Afrika yayın balığı (*Clarias gariepinus*) gibi sıcak su türlerinde başarıyla gerçekleştirilmiştir. Tilapia (Hassan ve ark., 2018; Okomoda ve ark., 2020a) ve yayın balığı yumurtaları (Okomoda ve ark., 2020b) elektrik akımına maruz bırakılarak triploid bireyler elde edilmiştir. Öte yandan, Teskeredžić ve ark. (1993a) tarafından yapılan çalışmada, coho salmonunda triploidi indüksiyonu için sıcaklık ve elektrik şokları uygulanarak sağlanmıştır.

2.6. POLİPLOİDİ TANI YÖNTEMLERİ

2.6.1. Karyotip Analizi

Sitogenetik çalışmalar için etkili bir kromozom hazırlama yöntemi gereklidir (Denton, 1973). Ancak, balıklardan kromozom elde etme tekniklerinin standartlaştırılması türlere göre değişiklik göstermektedir (Karami ve ark., 2015). Genel yöntemlerde, hücrelerin metafazda durdurulması için kolşisin gibi mitotik iğ ipliği inhibitörleri kullanılmaktadır. Ardından, hücreler şişme ve çekirdek parçalanmasını sağlamak amacıyla uygun bir hipotonik çözelti içinde inkübe edilmektedir (Kligerman ve Bloom, 1977). Bunu takiben, hücresel süspansiyon Carnoy solüsyonu (3:1 metanol ve buzlu asetik asit) ile fikse edilmektedir. Lamın hazırlanması aşamasında fiksatifin buharlaşması ve önceden ısıtılması, mitotik kromozomların dağılım kalitesi ve miktarı ile boyama işlemini etkileyebileceğinden, doğru hazırlık büyük önem taşımaktadır (Denton, 1973; Moore ve Best, 2001).

2.6.2. Eritrosit ap lümü

Balıklarda kan analizinin gerçekleştirilmesi için çeşitli yöntemler bulunmaktadır; bunlar arasında hemoglobın tayini, eritrosit sayımı, hematokrit belirlenmesi ve Romanowsky ile boyanmış kan preparatlarının incelenmesi yer almaktadır. Hematolojide rutin analizlerde kullanılan diğerk yöntemler, hücre sayısının ve hücrelerle ilgili diğerk parametrelerin değerkendirilmesini, ayrıca plazma bileşenlerinin derişimleri veya aktiviteleri gibi biyokimyasal indekslerin lölmesini içermektedir (Witeska ve ark., 2022). Eritrosit lölmleri, balıklarda ploidi seviyelerini belirlemek için yaygın şekilde kullanılmaktadır. Eritrositin büyük ve küçük eksen lölmlerine dayanan formüller geliştirilmiş olup, bu yöntem çeşitli balık türlerinde uygulanmıştır (Benfey ve ark., 1984; Hassan ve ark., 2018).

2.7. BALIKLARDA YAĞ ASIDI PROFİLİ

Hayvansal organizmalarda (karasal veya sucul), bir yağ asidinin hidrokarbon zincirinde bulunan terminal metil grubu ile ilk çift bağ arasına çift bağ yerleştirmemektedir. Bunun yerine, karbon zincirini uzatabilir ve oriğinal bağların ötesinde, molekülün karboksil ucuna doğru ilerleyerek ilave çift bağlar oluşturabilmektedir (Masson ve Mella, 1985). Bu terminal yapıya dayanarak, hayvansal organizmalar 20 - 22 karbon atomu içeren ve üç, dört, beş veya altı çift bağa sahip uzun zincirli yağ asitlerini sentezleyebilmektedir. Bunlar, hücreyel yapıların oluşumu, tüm dokuların düzgün çalışması, prostaglandinlerin sentezi ve diğerk hayati fizyolojik süreçler için gerekli olan omega-3 ve omega-6 ailelerine aittir (Masson ve Mella, 1985).

Omega-3 ve Omega-6 ailesine ait yağ asitleri, sırasıyla desaturazlar ve elongazlardan oluşan ortak bir enzimatik sistem aracılığıyla öncüllerinden sentezlenmektedir. Bu enzimler sırasıyla doymamışlık derecesini artırmak ve karbon zincirinin uzunluğunu uzatmak için görev yapmaktadır (Higgs ve Dong, 2000). Tatlı su balığı türleri, örneğin gökkuşağı alabalığı, linoleik asidi $\Delta 6$ -desaturaz enzimi aracılığıyla γ -linolenik aside dönüştürebilmekte ve ardından $\Delta 5$ -desaturaz etkisiyle araşidonik aside metabolize edebilmektedir (Bell ve ark., 2002). Gökkuşağı alabalığı eti, doymuş yağ asitleri %20 ila %35, tekli doymamış yağ asitleri (MUFA) %15 ila %40 ve özellikle omega-3 türleri olmak üzere çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA) %38 ila %51 oranında dengeli bir yağ asidi içeriğine sahiptir. PUFA'lar arasında, hem eikosapentaenoik asit (EPA) hem de dokosaheksaenoik asit (DHA) ne çıkmaktadır; bunlar uzun zincirli omega-3 yağ asitleridir. Kolesterol, balık kasında bulunan başlıca steroldür ancak oranı türler arasında

değişiklik göstermektedir. Vitamin ve mineral düzeyleri de türlere özgüdür ve mevsime bağlı olarak değişebilmektedir (Glomset, 1985).



3. MALZEME VE YÖNTEM

3.1. MALZEME

3.1.1. Çalışma Yeri ve Süresi

Bu tez çalışması, Ocak 2024-Temmuz 2024 tarihleri arasında, İstanbul Üniversitesi Su Bilimleri Fakültesi, Sapanca İç Su Ürünleri Araştırma ve Uygulama Biriminde gökkuşağı alabalığının deneysel olarak incelenmesine odaklanarak yürütülmüştür.

3.1.2. Çalışmada Kullanılan Balıklar

Bu çalışmada, gamet eldesi ve deneysel işlemler için üç erkek ve beş dişi gökkuşağı alabalığı *O. mykiss* (Walbaum, 1792) kullanılmıştır (Şekil 3.1).

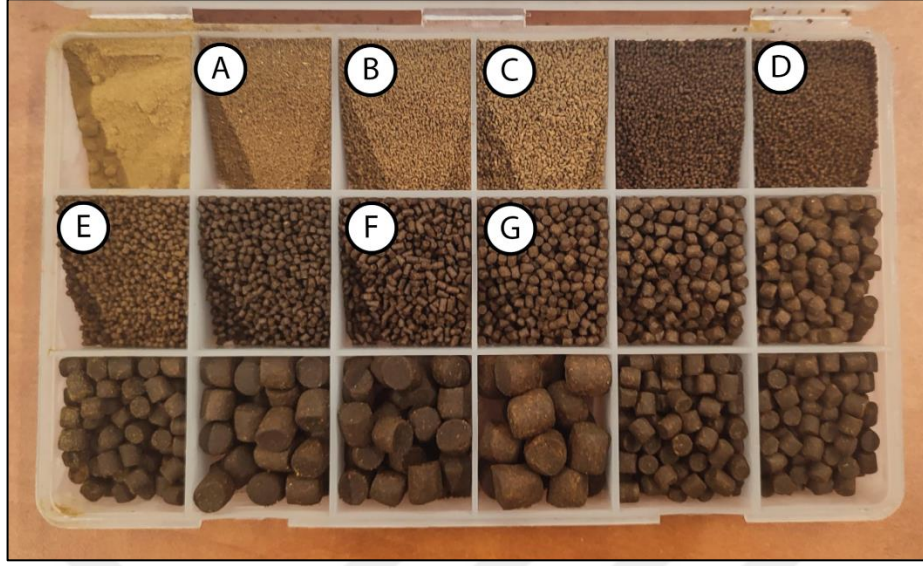
İstanbul Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu İzin No: 2023/27.



Şekil 3.1: Fertilizasyonda kullanılan anaç gökkuşağı alabalığı (Özgün).

3.1.3. Çalışmada Kullanılan Yem

Bu çalışmada kullanılan yemin granül boyutu (ÖZPEKLER İNŞ. TAAH. DAV. TÜK. MALL. SU ÜRÜNLERİ SAN. VE TİC. LTD. ŞTİ. tarafından sağlanan MoyFeed), balığın gelişim aşaması göz önünde bulundurularak değişiklik göstermiştir. Yumurtadan yavru çıkışı ve vitellus kesesi emilimi (2/3'ü) sonrasında kullanılan yemin boyutları 0,3 - 3,0 mm arasında değişiklik göstermiş ve balık büyüdükçe kademeli olarak artırılmıştır (Şekil 3.2).



Şekil 3.2: Gökkuşuğı alabalığı beslenmesinde kullanılan farklı büyüklükteki yem (MoyFeed).

A: 0.3-0.5 mm; B: 0.5-0.8 mm, C: 0.8-1.0 mm, D: 1.2 mm, E: 1.5 mm, F: 2.0 mm ve G: 3.0 mm (Özgün).

Kullanılan yemin besin bileşimi; protein (%53-55), ham yağ (%12-13), selüloz (%0,81-1,65), kül (%10,25-11,5), kalsiyum (%1,45-1,90), fosfor (%1,14-1,15) ve sodyum (%0,50-0,70) içermektedir (Tablo 3.1). Ayrıca; A vitamini (E672), D3 vitamini (E671), E vitamini (3a700), manganez (E5), çinko (E6), demir (E1), iyot (E2), bakır (E4) ve selenyum (E8) da dahil olmak üzere temel vitamin ve mineralleri ihtiva etmektedir.

Tablo 3.1: Denemede kullanılan yem içeriğı.

Yem (mm)	Protein (%)	Yağ (%)	Selüloz (%)	Kül (%)	Kalsiyum (%)	Fosfor (%)	Sodyum (%)
0,3-0,5	55	12	0,81	11,15	1,45	1,14	0,70
0,5-0,8	55	12	0,81	11,15	1,45	1,14	0,70
0,8-1,0	55	12	0,81	11,15	1,45	1,14	0,70
1,2	53	13	1,65	10,25	1,90	1,15	0,50
1,5	51	16	1,90	10,25	2,00	0,55	0,60
2,0	48	17	1,80	10,50	1,80	0,80	0,65
3,0	46	18	1,90	11	1,80	0,79	0,65

Tablo 3.2: Denemede kullanılan yemin vitamin içerikleri.

Yem (mm)	A vitamini (E672)	D3 vitamini (E671)	E vitamini (3a700)	Mangane z (E5)	Çinko (E6)	Demir (E1)	İyot (E2)	Bakır (E4)	Selenyum (E8)
0,3-0,5	10650	4000	465	60	120	40	4	12	0,3
0,5-0,8	10650	4000	465	60	120	40	4	12	0,3
0,8-1,0	10650	4000	465	60	120	40	4	12	0,3
1,2	8000	3000	350	30	60	20	2	6	0,2
1,5	8000	3000	350	30	60	20	2	6	0,2
2,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-

3.1.4.Çalışmada Kullanılan Su Kaynağı, İnkübasyon Sistemi ve Yavru Büyütme Tankları

Ocak-Temmuz ayları arasında gerçekleşen deney süresince kuyu suyu kullanılmıştır. Bu çalışmada, sekiz adet tepsiden oluşan dikey akışlı kuluçka dolabı döllenmiş yumurtaların inkübasyonu amacıyla kullanılmıştır (Şekil 3.3). Bu sistem içerisindeki kasetler 40x33 cm ölçülerinde ve her bir kaset dahili olarak 20x16,5 cm'lik dört bölmeye ayrılmıştır (Şekil 3.4).



Şekil 3.3: Döllenmiş yumurtaların inkübasyonunda kullanılan vertikal akışlı sistem (Özgün).



Şekil 3.4: Her kaset 40x33 cm ölçülerinde olup, 20x16,5 cm boyutlarında dört bölgeye ayrılmıştır (Özgün).

İnkübasyon döneminin ardından gökkuşağı alabalığı larvaları, fertilizasyondan 3-4 hafta sonra, ortasından plastik bir ağ ile bölünmüş 270x60 cm boyutlarındaki fiberglas tanklara aktarılmıştır (Şekil 3.5). İki ay sonra balıklar, bölme kullanılmayan aynı boyutlardaki fiberglas tanklara aktarılmıştır.



Şekil 3.5: 270x60 cm boyutlarındaki fiberglas tanklar (Özgün).

3.1.5. Su Parametrelerinin Ölçülmesinde Kullanılan Cihaz

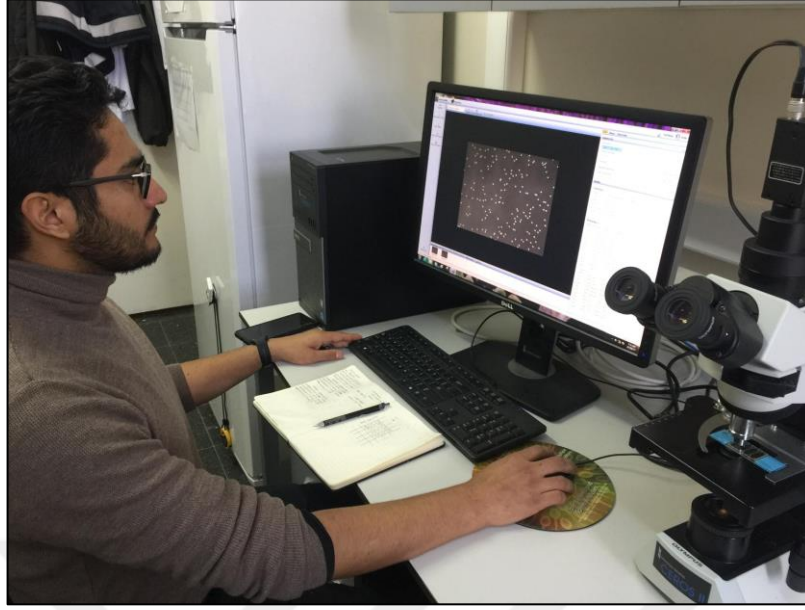
Balıkların uygun koşullarda tutulmasını sağlamak amacıyla tüm deney gruplarında çözünmüş oksijen, pH, sıcaklık ve iletkenlik gibi günlük su parametre değerlerini ölçmek için multi-parametre cihazı (HANNA, HI98194) kullanılmıştır (Şekil 3.6).



Şekil 3.6: Su parametrelerinin ölçülmesinde kullanılan multiparametre cihazı (Özgün).

3.1.6. Sperm Motilitesinin Analizinde Kullanılan Bilgisayar Destekli Sperm Analiz Sistemi

Sperm motilitesine ait kinematik parametreler, CX41 mikroskobuna (Olympus) bağlı bir dijital kamera (U-TV1X-2 Tokyo) kullanılarak CEROS II (Hamilton-Thorne) Bilgisayar Destekli Sperm Analizi (CASA) sisteminde analiz edilerek kaydedilmiştir (Şekil 3.7).



Şekil 3.7: Sperm motilitesine ait parametrelerin bilgisayar destekli sperm analiz (CASA) sistemi kullanılarak belirlenmesi (Özgün).

3.1.7. Osmometre ve Santrifüj cihazları

Fiske® 210 Mikro-Numune Osmometre cihazı, sperm örneklerinin osmolalite değerlerini belirlemek için kullanılmıştır. Hettich Universal 32 R santrifüj cihazı, sperm ve plazma örneklerinin ayrıştırılmasında kullanılmıştır (Şekil 3.8).



Şekil 3.8: Fiske® 210 Mikro-Numune osmometre ve Hettich Universal 32 R santrifüj cihazları (Özgün).

3.1.8. Yumurta Örneklerinin Analizinde Kullanılan Stereo Mikroskop

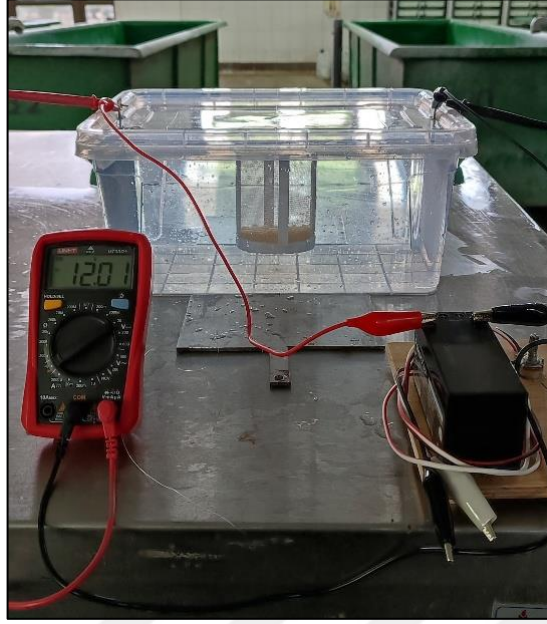
Her bir balıktan elde edilen yumurta hücrelerinin çapı stereo mikroskop altında (Leica DFC 290) (20X) ayrı ayrı incelenmiş ve kaydedilmiştir (Şekil 3.9).



Şekil 3.9: Stereo mikroskop Leica DFC 290 (Özgün).

3.1.9. Elektrik Akımı Deney Düzeneği

Elektriksel alan, 35x25x15 cm boyutlarındaki plastik bir kabın içindeki kabın kesit alanına uyacak şekilde 30 cm aralıklarla yerleştirilmiş dikdörtgen alüminyum elektrik problemlere bağlı şarj edilebilir VRLA Pil (PEXC 12V 1,2 AH) kullanılarak oluşturulmuştur (Teskeredžić ve ark., 1993; Bohl ve ark., 2010). Elektriksel alanın şiddetini ve uygulama süresini izlemek amacıyla UNI-T UT33A+ voltmetre, potansiyometre ve kronometre kullanılmıştır (Şekil 3.10).



Şekil 3.10: Döllenmiş yumurtaların elektrik akımına maruz bırakılmasında kullanılan deneysel sistem (Özgün).

3.1.10. Balık Ağırlıklarının Ölçümünde Kullanılan Teraziler

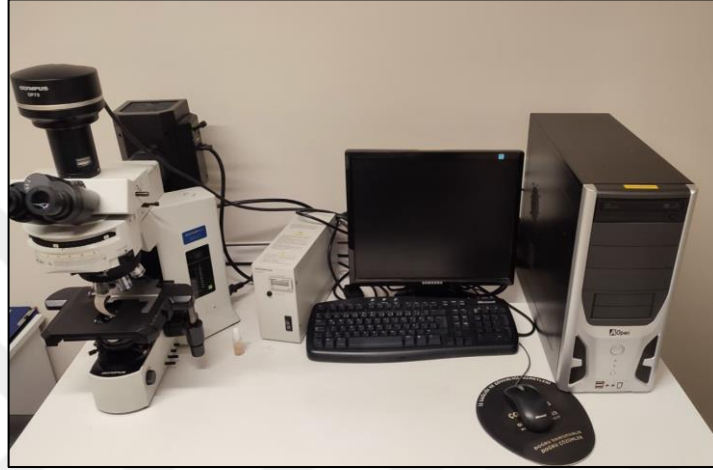
Larva çıkışından sonraki 1,5 aylık süreçte 0,001 g'a duyarlı ISOLAB marka terazi ve daha büyük balıklar için ise TEM 28*35 terazisi kullanılmıştır (Şekil 3.11).



Şekil 3.11: Balık ağırlıklarının ölçümünde kullanılan teraziler (Özgün).

3.1.11. Işık Mikroskobu

Kan örnekleri, histolojik kesitler, gonadal yapıların ve gelişim aşamalarının ayrıntılı olarak görüntülenmesine olanak tanıyan bir Olympus DP72 dijital kamera ile donatılmış bir Olympus BX51 mikroskobu kullanılarak incelenmiş ve fotoğraf çekimi yapılarak kayıt altına alınmıştır (Şekil 3.12).



Şekil 3.12: Işık mikroskobu (Özgün).

3.1.12. Mikrotom

Leica RM 2125 RT manual mikrotom cihazı parafin bloklara gömülü dokulardan 4-5µm kalınlığında histolojik kesit alınması amacıyla kullanılmıştır (Şekil 3.13).



Şekil 3.13: Leica RM 2125 RT manual mikrotom (Özgün).

3.2. YÖNTEM

3.2.1. Denemede Kullanılan Balıklardan Gamet Eldesi

Anaç balıklara anestezi uygulaması amacıyla 0,3 ml/L 2-fenoksietanol (Velísek ve Svobodová, 2004) kullanılmış ve gametler Billard ve Jensen protokolü (1996) izlenerek elde edilmiştir. Anestezi altındaki balıklar tanklara aktarılmadan önce temiz suda bir süre tutuldu. Yumurtalar abdominal bölgedeki genital açıklığın yakınına baskı uygulanarak elde edildi ve suyla temasını önlemek için kuru bir plastik kaptaki toplandı (Şekil 3.14). Sperma eldesi amacıyla da benzer bir yöntem kullanılmıştır. Kuru ve temiz cam beherlere alınan sperma içerisinde buz kasetleri bulunan strafor kutulara aktarılmış ve buz kasetleri ile doğrudan teması engellenmiştir.



Şekil 3.14: Gökkuşağı alabalığından gamet eldesi (Özgün).

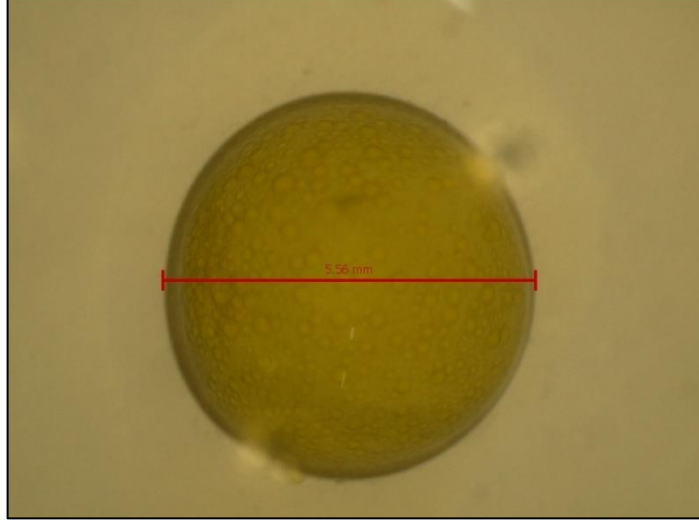
3.2.2. Sperm Kinematik Parametrelerinin Belirlenmesi

Her bir balığa ait spermanın pH'ı, pH indikatör kâğıdı (Merck pH kâğıdı 0-14) kullanılarak ölçülmüştür. Seminal plazmanın ozmolalitesini belirlemek için 1 mL sperm örneği 4°C'de on dakika boyunca 10.000 G'de santrifüj edilmiştir. Santrifüjden sonra mikrotüpten 20 µL süpernatant alınarak seminal plazmanın ozmolalitesi osmometre cihazı kullanılarak (mOsm/kg) belirlenmiştir (Yamaner ve ark., 2022).

Sperm örneklerinin aktivasyonu için inkübasyon suyu kullanılmıştır. Spermatozoa motilitesi (%), ilerleyici hareketlilik (%) ve sperm motilitesine ait kinematik parametreler (Ortalama yol hızı, VAP; eğrisel hız VCL ve doğrusal hız, VSL, µm/s) standart sayım kamerası (4 bölmeli, 20 µm, Leja) kullanılarak belirlenmiştir. Sperm motilite süresi, spermin aktivasyonunu takiben inkübasyon suyuyla ilk temasından itibaren hesaplanmıştır. Sperm motilite süresi bir kronometre ile ölçüldü ve saniye (sn) olarak kaydedilmiştir. Sperm motilitesine ait parametrelerin analizleri üç kez tekrarlanmıştır.

3.2.3. Deneme Yumurtalarının Morfolojik Özelliklerinin Belirlenmesi

Denemede kullanılan beş dişi balıktan elde edilen yumurta örnekleri morfolojik özelliklerinin belirlenmesi amacıyla analiz edilmiştir (Şekil 3.15) ve heterojen protein dağılımı gösteren yumurtalar kullanılmamıştır (Billard ve Jensen, 1996).



Şekil 3.15: Döllenenmemiş gökkuşağı alabalığı yumurtası (Özgün).

3.2.4. Dölleme Çalışmaları

Dölleme işlemi Billard ve Jensen (1996)'ın protokolüne göre yapılmıştır. Üç erkek balıktan alınan ve biraraya toplanan sperm örnekleri kullanılarak dişilerden elde edilen yumurtalarla karıştırılmıştır. Sperm ve yumurtalar nazikçe karıştırıldıktan sonra, spermatozoa aktivasyonu ve dölleme için kuyu suyu kullanılmış ve 20x16,5 cm'lik bölmelere yerleştirilmiştir. Fertilizasyon ve yumurtadan larva çıkış oranları aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır (Okomoda ve ark., 2020b):

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

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

Deney grupları, dölleme sonrası zamanlamaya göre düzenlenmiştir. Billard ve Jensen (1996) tarafından önerilen dakikada 12 L akışlı su hızı inkübasyon süresince kullanılmıştır. Mantar enfeksiyonlarının kontrolü, her hafta giriş suyuna 150 mL formalin (%37 formaldehit çözeltisi) eklenerek gerçekleştirildi (FAO, 2009). Ölü yumurtalar gerektiğinde bir sifon kullanılarak günlük olarak ortamdan uzaklaştırılmıştır. Beyaz ışığın ultraviyole spektrumu yumurtaların DNA'sına zarar vererek yüksek ölüm oranlarına yol açtığından (Mendoza, 2007) ölü yumurtalar toplanırken ışık koşulları kontrol altına alınmıştır.

3.2.5. Deneme Gruplarının Oluşturulması

Döllenen yumurtalar; 5 ppt tuzluluğa sahip kuyu suyu yanı sıra tuz içermeyen kuyu suyuna maruz bırakılarak pozitif ve negatif kontrol grupları oluşturulmuştur. Bu gruplar arasında döllenme oranında önemli bir fark tespit edilmemiştir (t-testi, $p = 0,90$). 5 ppt tuzlu su ve tatlı su için ortalama döllenme oranları sırasıyla $71,2 \pm 26,2$ ve $70,5 \pm 26,4$ ifade edilmiştir. Bu sonuçlar, 5 ppt'deki tuzluluğun gökkuşağı alabalığı yumurtalarının döllenme başarısını önemli ölçüde etkilemediğini göstermektedir. Bu sonuca bağlı olarak 5 ppt tuzluluğa maruz bırakılan kontrol grubu, gruplar arasındaki tüm karşılaştırmalarda kullanılmıştır.

Her grup için, beş dişi balığa ait yumurtalar biraraya getirilerek her bir grupta 350 adet yumurta olacak şekilde denemelerde kullanılmıştır. Fertilizasyondan sonraki 20., 30. ve 40. dakikalarda 10 dakika süre ile 12V elektrik akımı uygulanmıştır. Döllenen yumurtalara uygulanan elektrik akımı şiddeti, döllenmeden sonraki uygulama zamanı ve elektrik akımına maruz kalma süresi embriyonun hayatta kalmasını etkilemediği için coho salmonu (Teskeredžić ve ark., 1993a), tilapia Okomoda ve ark. (2020a) ve Afrika yayın balığı (Okomoda ve ark., 2020b) ile elde edilen bulgulara dayanılarak seçilmiştir. Elektriksel iletkenliği test etmek için, her deney grubuna ait embriyolar elektrik akımı uygulanırken 0 ve 5 ppt olacak şekilde tuz içermeyen ve tuz içeren iki farklı su ortamında tutulmuştur (Tablo 3.3). Her bir deneme 3 kez tekrarlanmıştır.

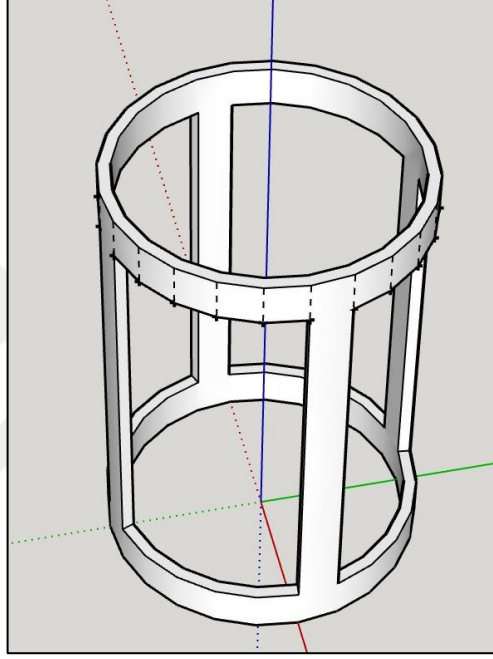
Tablo 3.3: Denemede kullanılan deney grupları ve uygulamaları.

Gruplar	Tuzluluk (ppt)	Elektrik Akımı (12V, 10 min)	Uygulama zamanı (Dakika, fertilizasyon sonrası)	Analiz
NC-0	0	Hayır	—	Yok
PC-5	5	Hayır	—	Var
E1-5	5	Evet	20	Var
E1-0	0	Evet	20	Var
E2-5	5	Evet	30	Var
E2-0	0	Evet	30	Var
E3-5	5	Evet	40	Var
E3-0	0	Evet	40	Var

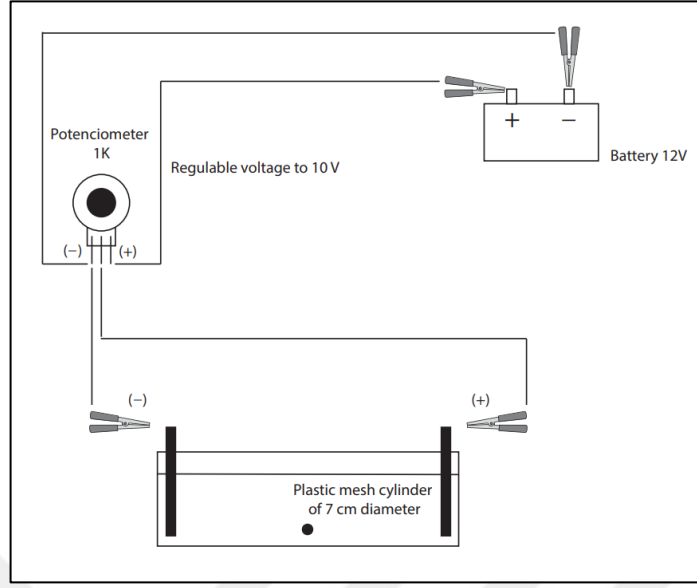
NC-0: Negatif kontrol (herhangi bir işlem uygulanmamış, sadece yumurtlama dönemine kadar izlenmiştir), PC-5: Pozitif kontrol (elektrik uygulanmadan döllenme, 5 ppt tuzluluk), E1-5: Döllenenmeden 20 dakika sonra elektrik şoku uygulaması, 5 ppt tuzluluk, E1-0: Döllenenmeden 20 dakika sonra elektrik şoku uygulaması, 0 ppt tuzluluk, E2-5: Döllenenmeden 30 dakika sonra elektrik şoku uygulaması, 5 ppt tuzluluk, E2-0: Döllenenmeden 30 dakika sonra elektrik şoku uygulaması, 0 ppt tuzluluk, E3-5: Döllenenmeden 40 dakika sonra elektrik şoku uygulaması, 5 ppt tuzluluk ve E3-0: Döllenenmeden 40 dakika sonra elektrik şoku uygulaması, 0 ppt tuzluluk.

3.2.6. Döllenmiş Yumurtalara Elektrik Akımının Uygulanması

Gökkuşığı alabalığı döllenmiş yumurtalarına elektrik akımı uygulaması, bu deney için özel olarak tasarlanan bir sistem kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.17). Ek olarak, Crealty K1 Max yazıcı cihazı kullanılarak döllenmiş yumurtalar için; 11 cm yüksekliğinde ve 7 cm çapında, 3 mm kalınlığında 3 boyutlu yazıcıda yapılmış plastik bir silindir ve plastik ağ ile kaplanmış bir sepet tasarlanmıştır (Şekil 3.16).



Şekil 3.16: Elektrik akımı uygulaması süresince döllenmiş yumurtaların muhafaza edildiği sepet (Özgün).



Şekil 3.17: Elektrik şoku uygulaması için deneysel model sistemin şeması (Özgün).

Döllenmiş gökkuşağı alabalığı yumurtaları, farklı tuzluluk seviyelerine (5ppt ve 0ppt) sahip kuyu suyu kullanılarak, döllenme sonrası belirli zaman noktalarında (20 dk., 30 dk. ve 40 dk.) 10 dk. süre ile 12V'luk doğrudan elektrik akımına maruz bırakılmıştır. Döllenme sonrası zamanlama, voltaj ve elektrik şokunun süresi, Teskeredžić ve ark. (1993a), Okomoda ve ark. (2020a), Okomoda ve ark. (2020b) tarafından yapılan çalışmalara dayanarak seçilmiştir. Döllenmiş yumurtalar, deney sırasında elektrotlar arasına uygulanan 12 V'luk doğru akım altında tutulmuş; elektrotlar arasındaki 30 cm'lik mesafe dikkate alınarak elektrik alan şiddeti $0,40 \pm 0,11$ V/cm olarak belirlenmiştir.

3.2.7. Denemede Kullanılan Suyun Hazırlanması

Bu çalışmada, tuz içeren gruplara ait suyun tuzluluğu refraktometre kullanılarak (ppt) ölçülmüştür. Kullanılan tuzluluk değerini 5 ppt'ye yükseltmek için Instant Ocean Sea Salt markalı tuz kullanılmıştır (Tablo 3.4). Tuzluluğu 5 ppt'ye ayarlamak için aşağıdaki formül uygulanmıştır:

$$\text{Tuz miktarı (gr)} = \text{İstenen tuzluluk (ppt)} \times \text{Suyun ağırlığı (gr)} / 1000.$$

Bu nedenle, 8 litre su kütleinde (her plastik kabın kapasitesi) 5 ppt tuzluluk elde etmek için, her deney tekrarı için 40 gram tuz kullanılmıştır. Bu yöntem, inkübasyon süresince tutarlı

koşulların sağlanmasını garantilemiştir. Her bir uygulama için kullanılacak su taze hazırlanmıştır ve bir kez kullanılmıştır.

Tablo 3.4: Denemede kullanılan Instant Ocean Sea Salt tuzunun değerleri.

Parametre	Değer (mg/L)
Kalsiyum	380 – 400
Magnezyum	1180 – 1220
Potasyum	359

3.2.8. Denemede Kullanılan Su Kalitesi Analizleri

Deney süresince, uygun enstrüman kullanılarak, sudaki çözünmüş oksijen, pH, sıcaklık ve iletkenlik ölçümleri, elektrik akımı uygulaması yapılarak ve elektrik akımına maruz bırakılmadan gerçekleştirilmiştir. Nitrat (SM 4500 NO₃⁻ - B), klorür (SM 4500 Cl⁻ - B) ve karbonat/bikarbonat (SM 2320 - B) da standart yöntemler kullanılarak test edilmiştir. Potasyum (K), magnezyum (Mg), sodyum (Na), kobalt (Co), baryum (Ba), berilyum (Be), bizmut (Bi), selenyum (Se), krom (Cr), demir (Fe), nikel (Ni), bakır (Cu) ve kalsiyum (Ca) için element analizi, Yöntem 200.7'yi (U.S. EPA. 1994) izleyerek ve bir ICP-OES sistemi (Perkin Elmer Optima 7000DV), bir multimetre (Mettler Toledo S213) ve bir Thermo Orion Star T910 cihazı kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

3.2.10. Deneme Balıklarının Beslenmesi ve Büyüme Parametrelerinin Belirlenmesi

Denemede; su sıcaklığına ve toplam alabalık biyokütlesine dayalı günlük besleme yüzdesi Leitritz (1980)'e göre hesaplanmıştır. Bu çalışmada, ilk beslemenin yapıldığı günden itibaren 45 gün boyunca balığın vücut ağırlığının %5,1'i oranında yemleme yapılmış ve günde sekiz kez beslenmiştir. Deneyin sonuna kadar vücut ağırlığının %3'ü oranında olacak şekilde bir beslenme oranı uygulanmış ve yemleme sıklığı günde dört kez olacak şekilde programlanmıştır (FAO, 2024). Denemenin tüm aşamaları için günlük besleme oranı FAO (2014)'de aşağıda belirtilen formül kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\text{Toplam balık ağırlığı} \times \text{Besleme dozu (\%)} = \text{Günlük yemleme miktarı}$$

Balık ağırlıkları (n=50, Okomoda ve ark., 2020a) 15 günde bir kez ölçülmüştür. Her tank için balık başına ortalama ağırlık hesaplandı ve toplam 9 besleme periyodu elde edilmiştir (Şekil 3.14). Toplam balık sayısı ve ağırlıklar deneyin sonunda ölçüldü. Bu veriler her bir tank için

hayatta kalma oranını, ortalama ağırlığı ve ağırlık için varyasyon katsayısının hesaplanmasında kullanılmıştır.

Larval dönemde temizlik günlük olarak sifonla ve sonraki aşamalarda ise fırça kullanılarak iki haftada bir genel temizlik yapılmıştır.

3.2.11. Deneme Balıklarının Büyüme Performansı

Büyüme performansı analizleri için deney sonunda; canlı ağırlık artışı, yaşama oranı, toplam yem tüketimi ve özgül büyüme oranı Ricker (1979) tarafından önerilen formüller kullanılarak hesaplanırken, yem dönüşüm oranı (FCR) ise De Silva ve Anderson (1995) tarafından tanımlanan formüle göre hesaplanmıştır.

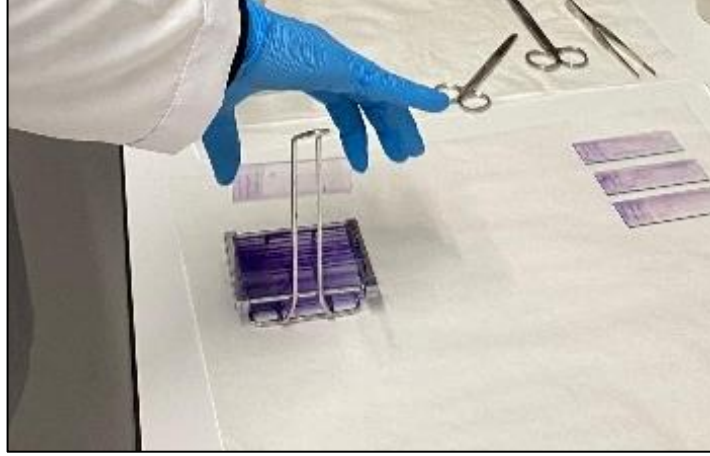
$$FCR = \text{Tüketilen yem miktarı (kuru ağırlık)} / \text{Üretilen hayvan ağırlık artışı (Yaş ağırlık)}$$

$$\text{Kilo artışı} = \text{Son vücut ağırlığı} - \text{Başlangıç vücut ağırlığı}$$

$$\text{Özgül büyüme oranı (SGR)} = [(\ln \text{son ıslak ağırlık} - \ln \text{başlangıç ıslak ağırlık}) / \text{gün}] \times 100$$

3.2.12. Ploidi Seviyesi Belirlenmesi

Deney gruplarının ploidi seviyelerinin tespiti amacıyla döllenmeden iki ay sonra deneme gruplarının her birinden 5'er adet balık örneği kullanılmıştır. Ötenazi uygulanan balıkların kuyruk yüzgeçlerinden bistüri ile kesilmek sureti ile kan örneği alınmıştır. Eritrosit analizi için kan örnekleri yayma tekniği kullanılarak hazırlanmıştır (Culling, 1963). Her bir deneme grubu balıklarından alınan kan örnekleri daha önce etanol ile yıkanmış ve %100 metanolde 20 dakika fiksasyon yapılmış temiz lamlara damlatılmış ve froti yapılmıştır. Boyama için, eritrositleri ayırt etmek için May-Grunwald eozin-metilen mavisi solüsyonu (M-G) ve Giemsa'nın azure eozin metilen mavisi solüsyonları kullanılmıştır. İlk boyama, M-G solüsyonu ile 5 dakika süre ile gerçekleştirilmiştir, ardından fazla solüsyonu uzaklaştırmak için damıtılmış suyla yıkanmıştır (Şekil 3.18).



Şekil 3.18: Deneme gruplarına ait kan örneklerinin May-Grünwald & Giemsa ile boyanması (Özgün).

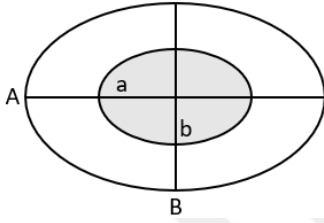
İkinci boyama 20 dakika süre ile Giemsa solüsyonu kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bu işlemin ardından fazla solüsyonu uzaklaştırmak için distile suyla yıkanmış ve preparatlar oda sıcaklığında havada kurutulmuştur. Preparatlar, entellan ile kaplanmış ve dijital fotoğraf makinesi eklentili Olympus marka BX-51 model ışıklı mikroskobu altında incelenmiştir (Şekil 3.19).



Şekil 3.19: Mikroskop altında gökkuşağı alabalığı kan froti preparatlarının incelenmesi (Özgün).

3.2.13. Eritrosit Çap Ölçümü

Ploid seviyelerini değerlendirmek için aşağıdaki eritrosit çap ölçümü amacıyla bazı parametreler belirlenmiştir. Bunlar; hücre majör eksen (μm), hücre minör eksen (μm), hücre alanı (μm^2), hücre hacmi (μm^3), hücre eksen oranı, nükleer majör eksen (μm), nükleer minör eksen (μm), nükleer alan (μm^2), nükleer hacim (μm^3), nükleer eksen oranı, hücre-nükleer alan oranı ve hücre-nükleer hacim oranı (tüm veriler kan yaymalarından elde edilmiştir) (Şekil 3.20). Aşağıdaki formüle göre hesaplama yapılmıştır (Benfey ve ark., 1984; Hassan ve ark., 2018):



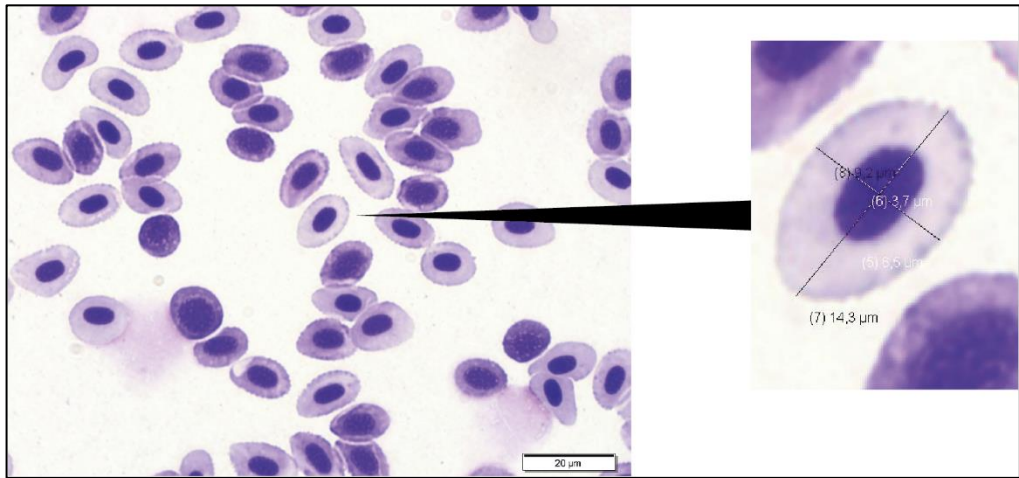
$$\text{Hücre Alanı} = A \times B$$

$$\text{Hücre hacmi} = 4/3 \times \pi \times (A/2) \times (B/2)^2$$

$$\text{Axis oranı} = \text{minor axis} / \text{major axis}$$

$$\text{Hücre-nükleer alan oranı} = \text{nükleer alan} / \text{hücre alanı}$$

$$\text{Hücre-nükleer hacim oranı} = \text{nükleer hacim} / \text{hücre hacmi}$$



Şekil 3.20: Mikroskop altında eritrosit boyutlarının incelenmesi (Özgün).

Eritrosit veri setinin boyutluluğunu azaltmak ve daha önce belirtilen parametrelere dayalı ploidiyi belirlemek için Temel Bileşen Analizi (PCA) gerçekleştirilmiştir. PCA, veri normalizasyonu ve standardizasyonunun ardından R ve sürüm 4.4.1 kullanılarak gerçekleştirilmiştir. İlk iki temel bileşen (PC1 ve PC2), varyans yapısını görselleştirmek ve gruplar arasındaki kümelenmeyi değerlendirmek için kullanılmıştır. Özdeğerler, her bileşen tarafından açıklanan varyans yüzdesi ve yükleme puanları, her değişkenin temel bileşenlere katkısını yorumlamak için kullanılmıştır.

3.2.14. Histolojik Çalışmalar

Yumurtadan larva çıkışını takip eden 6. ayda, her bir gruptan rastgele seçilen 20 adet balık grup içerisindeki cinsiyet oranlarının tespiti amacıyla histolojik analizlerinde kullanılmak üzere gonad doku örnekleri diseke edilerek %10'luk formaldehit solüsyonuna alınmıştır (Akaylı ve ark., 2014). Spermatogenez / oogeneze yer alan hücre tiplerini belirlemek için örnekler Hematoksilen-Eozin ile boyanmış ve daha sonra ışık mikroskobu altında incelenmek üzere Entellan ile kapatılmıştır.

Histoloji analizi amacıyla balık vücudundan diseksiyonla alınan doku örneklerinden, doku sıvılarının uzaklaştırılması amacıyla en az 24 saat boyunca %10 formaldehitte fiksasyona tabi tutulmuştur. Dokular yavaş fakat sürekli akan musluk suyunda bir saat süre ile tutulduktan sonra, bir dizi alkol solüsyonu kullanılarak dehidrate edilmiştir: %70 ve %90 etanolde 4 saat, ardından %100 etanolde (üç kez) ve ardından kloroform solüsyonuna tutulmuştur (Şekil 3.21 ve Tablo 3.5). Doku sıvıları uzaklaştırıldıktan sonra, örnekler sıvı parafin serilerine tabi tutulmuş ve en son aşamada parafine gömülmüştür. Parafin bloklarda yer alan dokulardan miktrotomda 4-5 µm kalınlığında kesitler alınmıştır ve Hematoksilen-Eozin ile boyanmıştır (Tablo 3.6).

Elektrik maruziyetine göre kategorilere ayrılan gruplar arasındaki cinsiyet oranlarının tespiti, gonad dokularının histolojik incelemesi yoluyla gerçekleştirilmiştir. Boyama işlemi için örnekler her biri 15 dakika olmak üzere üç Ksilen serisine tabi tutulmuş, ardından sırasıyla 5 dakika boyunca farklı konsantrasyonlarda (%90, %70 ve %50) 3 alkol serisi uygulandı ve distile su ile yıkanmıştır (Cullings, 1963; Bancroft ve Stevens, 1977).

Tablo 3.5: %10 fosfat tamponlu formalinle fiksasyon sonrası gerçekleştirilen işlemler.

Aşama	Reaktif	Süre
1	%70 Etanol	4 saat
2	%90 Etanol	4 saat
3	%100 Etanol	2 saat
4	%100 Etanol	3 saat
5	%100 Etanol	3 saat
6	Kloroform	Gece boyu
7	60° C Parafin Boncuk	1 saat
8	60° C Parafin Boncuk	1 saat
9	60° C Parafin Boncuk	1 saat
10	Parafin Gömme	-
11	Kesim	-

**Şekil 3.21:** Alkol serisi (Özgün).

Tablo 3.6: Histolojik preparatlara ait boyama prosedürü.

Aşama	Reaktif	Süre
1	Ksilen	10 dk
2	Ksilen	10 dk
3	Ksilen	10 dk
4	%90 Etanol	5 dk
5	%70 Etanol	5 dk
6	%50 Etanol	5 dk
7	Akan çeşme suyu	5 dk
8	Hematoxylin	3-8 dk
9	Akan çeşme suyu	2-3 dk
10	%1 Asitli alkol	5-10 saniye (3 tekrarı)
11	Akan çeşme suyu	1 dk
12	Scott's Tap Water	2-3 dk
13	Eosin	1-3 dk
14	100% Etanol	30-60 saniye
15	Ksilen	10 dk
16	Ksilen	10 dk
17	Ksilen	10 dk

Deneme gruplarına ait gonad dokularına ait histoloji preparatları cinsiyet tespiti amacıyla ışık mikroskobu altında analiz edilmiştir.

3.2.15. Yağ Asidi Analizleri

Yumurtadan larva çıkışını takip eden 6. ayda, her bir gruptan 9 adet balığa ait kas doku örnekleri alınmış ve Gaz Kromatografisi (GC) cihazı kullanılarak yağ asidi içeriği açısından analiz edilmiştir (Şekil 3.22). Karaciğer dokusundan yapılacak yağ asidi analizi için ise her bir gruptan 5'er adet dişi ve erkek balıktan karaciğer örneği alınmış ve bu örnekler bir araya getirilerek (her bir cinsiyet ayrı ayrı olacak şekilde) yağ asidi analizi gerçekleştirilmiştir (AOAC, 1990).



Şekil 3.22: Balıklardan yağ asidi analizleri için karaciğer, kas ve gonad örneklerinin alınması (Özgün).

3.2.16. Gonadosomatik İndekslerinin (GSI) Belirlenmesi

Yağ asidi analizleri için kullanılan balıkların gonadosomatik indekslerinin (GSI) belirlenmesi amacıyla balığın gonad ağırlığının vücut ağırlığına oranı aşağıdaki formüle göre tespit edilmiştir (Erickson ve ark., 1985).

$$GSI = (\text{Gonad ağırlığı} / \text{Toplam vücut ağırlığı}) \times 100.$$

3.2.17. İstatistiksel Analizler

Veri analizi Minitab 18 ve RStudio (4.4.1) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Homoskedastisite ve normallik kontrol edildikten sonra, gruplar (5 ppt tuzlu su ve tatlı su) arasındaki döllenme oranlarını karşılaştırmak için iki örneklemlili t-testi kullanılmıştır. Sperm kinematik parametreleri ve sperm motilitesinin genel değerleri ile deneysel çalışma sırasında su parametreleri tanımlayıcı istatistiklerle özetlenmiştir (Minitab 18). Döllenme ve yumurtadan çıkma oranlarındaki farklılıklar, elektrik akımına maruz kalan su parametrelerine ait iyon değerleri, büyüme performansı, fileto ve karaciğer dokularının yağ asidi profillerinin arasında analizinde Tukey'in post-hoc testini ($P < 0.05$) takip eden tek yönlü ANOVA kullanılmıştır. Ploidi tayini, Fisher'in post-hoc testi ($P \leq 0.05$) ile tek yönlü ANOVA kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Eritrositlerin temel bileşen analizi (PCA) RStudio kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. SPERMATOOZOA MOTİLİTESİNE AİT KİNEMATİK PARAMETRELER

Gökkuşığı alabalığı spermatozoonlarının kinematik analizi, farklı kategoriler arasında belirgin hareketlilik paternlerini ortaya çıkarmıştır (Tablo 4.1). İlerleyici hareketlilik için Ortalama yol hızı (VAP) $40,5 \pm 10,81 \mu\text{m/sn}$, doğrusal hız (VSL) $30,84 \pm 11,67 \mu\text{m/sn}$ ve eğrisel hız (VCL) $48,89 \pm 11,8 \mu\text{m/sn}$ olarak belirlenmiştir. İleri hızlı spermatozoonlar ise anlamlı derecede daha yüksek hızlar sergilemiş olup, VAP, VSL ve VCL değerleri sırasıyla $64,22 \pm 7,31 \mu\text{m/sn}$, $59,4 \pm 7,03 \mu\text{m/sn}$ ve $70,23 \pm 10,69 \mu\text{m/sn}$ olarak belirlenmiştir.

Tablo 4.1: Sperm motilitesine ait kinematik parametreler ($\mu\text{m/sn}$).

Parametre	VAP ($\mu\text{m/sec}$)	VSL ($\mu\text{m/sec}$)	VCL ($\mu\text{m/sec}$)
Spermatozoa motilitesi	$40,5 \pm 10,81$	$30,84 \pm 11,67$	$48,89 \pm 11,8$
İlerleyici hareketlilik	$64,22 \pm 7,31$	$59,4 \pm 7,03$	$70,23 \pm 10,69$

Değerler Ortalama $\pm$ Standart Sapma olarak sunulmuştur. VAP: Ortalama yol hızı; VSL: Doğrusal hız; VCL: Eğrisel hız

Genel hareketlilik analizine göre, sperm popülasyonunun $\%63,95 \pm 27,92$ 'si hareketli, $\%36,05 \pm 27,92$ 'si ise hareketsiz olarak belirlenmiştir. Hareketli spermatozoa arasında ise yalnızca $\%13,69 \pm 16,94$ 'ü ileri hareketli olarak sınıflandırılmıştır (Tablo 4.2).

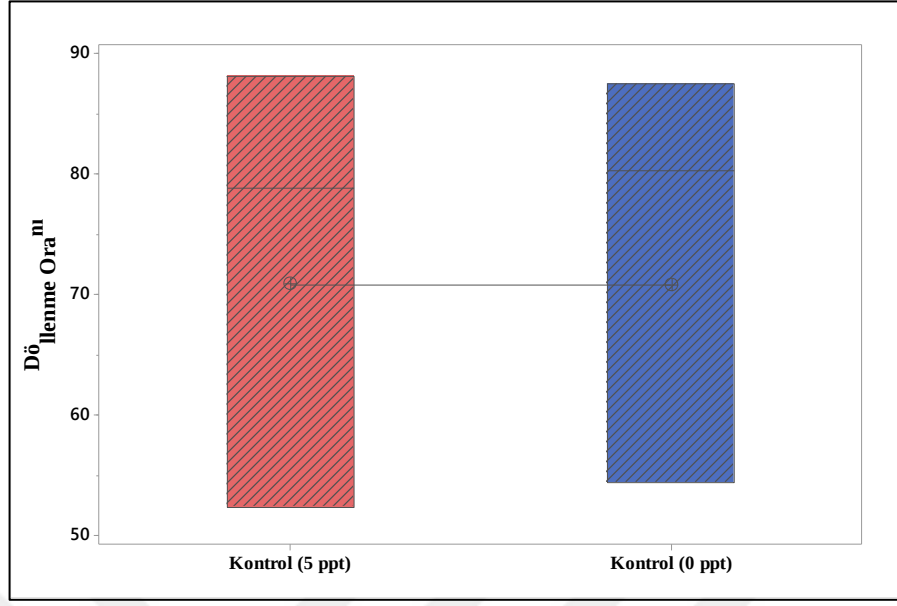
Tablo 4.2: Genel sperm motilitesi değerleri (%).

Parametre	(%)
Spermatozoa motilitesi	$63,95 \pm 27,92$
İlerleyici hareketlilik	$13,69 \pm 16,94$

Değerler Ortalama $\pm$ Standart Sapma olarak sunulmuştur.

4.2. FERTİLİZASYON VE LARVA ÇIKIŞ ORANLARI

Döllenme sonrası farklı zamanlarda (20, 30 ve 40 dk) ve farklı tuzluluk seviyelerinde (0 ve 5 ppt) uygulanan elektrik şokunun, gökkuşığı alabalığında döllenmiş yumurtaların döllenme veya yumurtadan çıkış oranları üzerinde anlamlı bir etkisi bulunamamıştır ($P > 0,05$) (Tablo 4.3). Ayrıca, 5 ppt tuzluluğa sahip su ve tatlı su için ortalama döllenme oranları sırasıyla $\%71,2 \pm 26,2$ ve $\%70,5 \pm 26,4$ olarak belirlenmiştir ($P > 0,05$). Bu sonuçlar, 5 ppt seviyesindeki tuzluluğun gökkuşığı alabalığı yumurtalarının döllenme başarısı üzerinde anlamlı bir etkisinin olmadığını göstermiştir (Şekil 4.1).



Şekil 4.1: Deneme grupları arasındaki döllenme oranları.

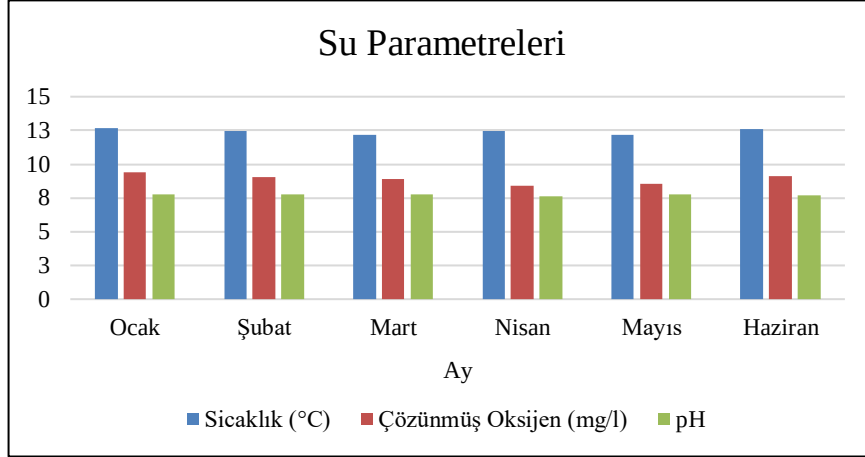
Tablo 4.3: Deney gruplarına ait döllenme ve yumurtadan larva çıkış oranları.

	E1-5	E1-0	E2-5	E2-0	E3-5	E3-0	PC-5
Döllenme oranı (%)	66,6 ± 11,32 ^a	56,10 ± 18,9 ^a	56,84 ± 14,33 ^a	53,93 ± 13,96 ^a	55,32 ± 8,53 ^a	57,02 ± 11,81 ^a	78,20 ± 2,83 ^a
Yumurtadan larva çıkış oranı (%)	30,30 ± 10,53 ^a	37,66 ± 18,68 ^a	32,26 ± 16,76 ^a	29,54 ± 17,53 ^a	28,72 ± 10,58 ^a	30,04 ± 15,84 ^a	38,93 ± 3,19 ^a

Değerler Ortalama ± SE olarak sunulmuştur. Aynı satırda farklı üst harflerle gösterilen değerler arasındaki istatistiksel fark Tukey çoklu karşılaştırma testine göre %95 doğruluk düzeyinde önemli bulunmuştur. (Tukey, P<0,05).

4.3. SU PARAMETRELERİ ANALİZLERİ

Ocak ayından Temmuz ayına kadar süren deney boyunca su parametreleri düzenli olarak izlenmiş ve elde edilen veriler şu şekilde olmuştur: Su sıcaklığı aylar boyunca nispeten sabit kalmıştır. Çözünmüş oksijen değerleri aylar arasında değişkenlik göstermiş olup, en düşük değer Nisan ayında ($8,42 \pm 0,94$ mg/l), en yüksek değer ise Ocak ayında ($9,39 \pm 0,57$ mg/l) ölçülmüştür. Ayrıca, pH değerleri 7,64 ile 7,8 arasında sabit kalmıştır. Elektriksel iletkenlik değerleri ocak ayında en yüksek ($367,79 \pm 13,22$ mVORP), Mayıs ayında ise en düşük ($313,93 \pm 27,16$ mVORP) olarak kaydedilmiştir. Veriler Şekil 4.2 ve Tablo 4.4'te sunulmuştur. Bu sonuçlar, parametrelerde bazı dalgalanmalar gözlenmiş olsa da deney süresince su koşullarının gökkuşağı alabalığı yetiştiriciliği için uygun aralıklar içinde kaldığını göstermektedir (FAO, 2014).



Şekil 4.2: Deneme süresince kullanılan su parametrelerine ait değerler.

Tablo 4.4: Deneme süresi boyunca su parametreleri değerleri.

Parametre	Ocak	Şubat	Mart	Nisan	Mayıs	Haziran
Sıcaklık (°C)	12,64 ± 0,14	12,43 ± 0,6	12,2 ± 0,27	12,48 ± 0,49	12,17 ± 0,27	12,58 ± 0,49
Çözünmüş Oksijen (mg/l)	9,39 ± 0,57	9,03 ± 0,74	8,91 ± 0,57	8,42 ± 0,94	8,53 ± 0,65	9,13 ± 0,62
pH	7,73 ± 0,13	7,78 ± 0,3	7,76 ± 0,15	7,64 ± 0,23	7,8 ± 0,11	7,7 ± 0,11
Elektriksel İletkenlik	367,79 ± 13,22	350,13 ± 27,3	356,35 ± 22,32	317,53 ± 31,67	313,93 ± 27,16	317,48 ± 29,1

Değerler Ortalama ± Standart Sapma olarak sunulmuştur.

Elektrik akımı uygulamasından hemen sonra döllenmiş yumurtaların konmuş olduğu noktadan multiparametre cihazı kullanılarak su sıcaklığı, çözünmüş oksijen ve iletkenlik değerleri ölçülmüştür (Tablo 4.5). Sıcaklık tüm gruplarda benzer seviyelerde kalmıştır (12,19–13,01 °C). Çözünmüş oksijen değeri E-0 grubunda azalmış ($2,81 \pm 0,07$), E-5 grubunda ise belirgin şekilde artmıştır ($5,24 \pm 0,42$). Elektriksel iletkenlik (mV/cm) değerleri kontrol gruplarında yüksek iken (NC: $317,8 \pm 12,52$; PC: $340,5 \pm 12,3$), E-0 grubunda önemli ölçüde düşmüş ($116,6 \pm 5,94$), E-5 grubunda ise negatif bir değer ($-90 \pm 7,91$) ölçülmüştür. Bu durum, özellikle tuzluluk ve elektrik alanının birlikte uygulanmasının iletkenlik ölçümlerini etkilediğini göstermektedir.

Tablo 4.5: Elektrik şoku uygulanan gruplardaki su parametre değerleri.

Parametre	NC	PC	E-0	E-5
Sıcaklık (°C)	12,57 ± 0,2	12,19 ± 0,2	13,01 ± 0,11	12,57 ± 0,12
Çözünmüş Oksijen (mg/l)	3,81 ± 0,19	3,58 ± 0,13	2,81 ± 0,07	5,24 ± 0,42
Elektriksel İletkenlik	317,8 ± 12,52	340,5 ± 12,3	116,6 ± 5,94	(-) 90 ± 7,91

Değerler Ortalama ± Standart Sapma olarak sunulmuştur. NC: Negatif kontrol (herhangi bir işlem uygulanmamış), PC: Pozitif kontrol (5 ppt tuzluluk), E-0: 10 dakika süreyle 0 ppt tuzlulukta maruz bırakılmış grup, E-5: 10 dakika süreyle 5 ppt tuzlulukta maruz bırakılmış grup.

Farklı tuzluluk koşullarında (5 ppt ve 0 ppt) 12V elektrik akımına 10 dakika boyunca maruz bırakılan su örneklerinde yapılan iyon konsantrasyonu analizi, anlamlı farklılıklar ortaya çıkarmıştır (Tablo 4.6). Tuzluluk içeren 5 ppt olup uygulamalarda (E-5 ve PC-5), B^+ , Ba^+ , Ca^+ , Fe^+ ve K^+ iyonlarının konsantrasyonları daha yüksek bulunurken, tuzluluk içermeyen uygulamalarda (E-0 ve NC-0) bu iyonların düzeyleri anlamlı şekilde daha düşüktür. Buna karşılık, Mg^{2+} ve Na^+ iyonlarının konsantrasyonları tuzluluk içermeyen uygulamalarda anlamlı derecede daha yüksek bulunmuştur. Bununla birlikte, Cl^- , Cr^{3+} , Cu^{2+} , Ni^{2+} ve Se^- gibi iyonlarda ise uygulamalar arasında anlamlı bir fark gözlenmemiştir ($P > 0,05$), bu da deneysel koşulların bu iyonlar üzerinde sınırlı bir etkisi olduğunu göstermektedir. Dolayısıyla, elektrik akımının etkisi uygulamalar arasında tutarlı olmamış, gözlemlenen farklılıklar esas olarak tuzluluk ile ilişkilendirilmiştir. Bu bulgular, iyon konsantrasyonlarının belirlenmesinde tuzluluğun kritik bir rol oynadığını, test edilen koşullar altında ise elektrik akımının sınırlı bir etkiye sahip olduğunu göstermektedir.

Tablo 4.6: Elektrik şokunun uygulanmasından sonra su parametreleri (mg/L) değerleri.

	E-5	E-0	PC	NC	P-value
B^+	$0,46 \pm 0,03^a$	$0,01 \pm 0,00^b$	$0,49 \pm 0,05^a$	$0,01 \pm 0,00^b$	0,00
Ba^+	$0,04 \pm 0,00^a$	$0,02 \pm 0,00^b$	$0,04 \pm 0,00^a$	$0,02 \pm 0,00^b$	0,00
Be^{2+}	$0,02 \pm 0,00^c$	$0,02 \pm 0,00^a$	$0,02 \pm 0,00^b$	$0,02 \pm 0,00^a$	0,00
Bi^{3+}	$0,03 \pm 0,00^a$	$0,03 \pm 0,00^a$	$0,03 \pm 0,00^b$	$0,03 \pm 0,00^a$	0,00
Ca^+	$69,16 \pm 1,60^a$	$31,78 \pm 2,74^b$	$68,13 \pm 5,520^a$	$34,70 \pm 2,32^b$	0,00
Cl^-	$0,02 \pm 0,00^a$	$0,02 \pm 0,00^a$	$0,020 \pm 0,001^a$	$0,02 \pm 0,00^a$	0,29
Co^{2+}	$0,02 \pm 0,00^a$	$0,02 \pm 0,00^c$	$0,02 \pm 0,00^{ab}$	$0,02 \pm 0,00^{bc}$	0,00
Cr^{3+}	$0,02 \pm 0,00^a$	$0,02 \pm 0,00^a$	$0,02 \pm 0,00^a$	$0,02 \pm 0,00^a$	0,35
Cu^{2+}	$0,02 \pm 0,00^a$	$0,02 \pm 0,00^a$	$0,02 \pm 0,00^a$	$0,02 \pm 0,00^a$	0,23
Fe^+	$0,01 \pm 0,00^a$	$0,01 \pm 0,00^c$	$0,01 \pm 0,00^b$	$0,01 \pm 0,00^c$	0,00
Mn^{2+}	$0,02 \pm 0,00^a$	$0,02 \pm 0,00^b$	$0,02 \pm 0,00^a$	$0,02 \pm 0,00^b$	0,00
Ni^{2+}	$0,002 \pm 0,00^a$	$0,003 \pm 0,00^a$	$0,003 \pm 0,00^a$	$0,003 \pm 0,00^a$	0,36
Se^-	$0,02 \pm 0,00^a$	$0,03 \pm 0,00^a$	$0,02 \pm 0,01^a$	$0,02 \pm 0,01^a$	0,02
K^+	$15,80 \pm 0,47^a$	$0,70 \pm 0,01^b$	$14,58 \pm 1,88^a$	$0,72 \pm 0,03^b$	0,00
Mg^{2+}	$1,36 \pm 0,22^b$	$4,99 \pm 0,03^a$	$1,45 \pm 0,13^b$	$5,05 \pm 0,06^a$	0,00
Na^+	$(-)4,55 \pm 0,12^b$	$3,89 \pm 0,16^a$	$(-)10,65 \pm 5,20^b$	$4,15 \pm 0,80^a$	0,00

Değerler Ortalama $\pm$ Standart Sapma olarak sunulmuştur. Aynı satırda farklı üst harflerle gösterilen değerler arasındaki istatistiki fark Tukey çoklu karşılaştırma testine göre %95 doğruluk düzeyinde önemli bulunmuştur. (Tukey, $P < 0,05$). NC: Negatif kontrol (herhangi bir işlem uygulanmamış), PC: Pozitif kontrol (5 ppt tuzluluk), E-0: 10 dakika süreyle 0 ppt tuzlulukta maruz bırakılmış grup, E-5: 10 dakika süreyle 5 ppt tuzlulukta maruz bırakılmış grup.

4.4. PLOİDİ SEVİYESİ BELİRLENMESİ

Ölçülen hücre boyutları, çekirdek boyutları ve çekirdek–sitoplazma oranları, triploid organizmaların bu parametreler açısından daha yüksek değerlere sahip olmasının aksine, diploid organizmalara özgü özelliklerle uyumluluk göstermektedir (Tablo 4.7 ve 4.8).

Hücre majör eksen (CMaA) 13,46 ile 14,76 μm arasında, hücre alanı (CA) ise 123,81 ile 139,64 μm^2 arasında değişmekte olup, bu değerler diploid salmonid türleri için tipik aralıklarla uyumludur; triploidlerde CMaA genellikle 15 μm ve üzerinde olup, CA değerleri de daha yüksektir. Benzer şekilde, 607,49 ile 709,43 μm^3 arasında değişen hücre hacmi (CV) de beklenen diploid aralıklar içerisinde kalmaktadır.

Nükleer majör eksen (NMaA) 6,50 ile 7,22 μm , çekirdek alanı (NA) 24,84 ile 28,87 μm^2 ve nükleer hacim (NV) 49,12 ile 61,07 μm^3 arasında değişmekte olup, bu değerlerin tümü diploid bireylere özgü karakteristik özelliklerdir; triploid bireylerde çekirdek genellikle daha büyüktür. Hücre-nükleer alan oranları da diploid sınıflandırması ile uyumludur; hücre-nükleer alan oranı (CNAr) 0,20 ile 0,25 arasında, hücre-nükleer hacim oranı (CNVr) ise 0,08 ile 0,10 arasında değişmektedir. Özellikle CNAr değeri E2-5 grubunda en yüksek olarak gözlemlenmiş olsa da bu değerler yine de diploid bireylere işaret etmektedir; çünkü triploidlerde orantısız sitoplazmik büyüme nedeniyle CNAr ve CNVr genellikle daha düşük olmaktadır. İstatistiksel analiz, deney grupları arasında anlamlı farklılıklar olduğunu göstermiştir; ancak elde edilen değerler tutarlı bir şekilde diploid aralıkta kalmakta ve gözlemlenen özelliklerin diploid organizmalara özgü olduğunu göstermektedir.

Tablo 4.7: Diploid gökkuşağı alabalığının eritrosit özellikleri.

	E1-5	E1-0	E2-5	E2-0	E3-5	E3-0	PC
CMaA	14,65 ± 0,19 ^{ab}	13,99 ± 0,38 ^{abc}	14,76 ± 0,37 ^a	13,47 ± 0,30 ^c	13,93 ± 0,26 ^{abc}	13,46 ± 0,31 ^c	13,90 ± 0,29 ^{bc}
CMiA	9,21 ± 0,16 ^a	9,65 ± 0,34 ^a	9,47 ± 0,30 ^a	9,27 ± 0,26 ^a	9,22 ± 0,244 ^a	9,49 ± 0,28 ^a	9,60 ± 0,22 ^a
NMaA	6,73 ± 0,10 ^{bc}	6,60 ± 0,11 ^{bc}	7,22 ± 0,25 ^a	6,50 ± 0,09 ^c	6,63 ± 0,11 ^{bc}	6,72 ± 0,10 ^{bc}	6,89 ± 0,12 ^{ab}
NMiA	3,97 ± 0,06 ^a	4,07 ± 0,09 ^a	3,96 ± 0,08 ^{ab}	3,91 ± 0,06 ^{ab}	3,75 ± 0,07 ^b	4,06 ± 0,11 ^a	3,93 ± 0,07 ^{ab}
CA	134,7 ± 2,6 ^{ab}	134,22 ± 4,94 ^{abc}	139,64 ± 5,62 ^a	123,81 ± 2,90 ^c	127,29 ± 2,14 ^{bc}	127,43 ± 4,64 ^{bc}	132,77 ± 3,07 ^{abc}
CV	652,83 ± 20,19 ^{ab}	689,59 ± 43,37 ^{ab}	709,43 ± 50,72 ^a	607,49 ± 28,73 ^b	618,87 ± 24,49 ^{ab}	645,47 ± 42,21 ^{ab}	672,16 ± 27,15 ^{ab}
NA	26,8 ± 0,68 ^{abc}	26,9 ± 0,80 ^{abc}	28,87 ± 1,43 ^a	25,42 ± 0,56 ^{bc}	24,84 ± 0,60 ^c	27,2 ± 0,80 ^{ab}	27,16 ± 0,75 ^{abc}
NV	56,15 ± 2,27 ^{abc}	57,95 ± 2,89 ^{ab}	61,07 ± 4,16 ^a	52,34 ± 1,86 ^{bc}	49,12 ± 1,93 ^c	58,79 ± 3,26 ^{ab}	56,45 ± 2,40 ^{abc}
Car	0,63 ± 0,02 ^b	0,70 ± 0,04 ^{ab}	0,65 ± 0,03 ^{ab}	0,70 ± 0,03 ^{ab}	0,67 ± 0,03 ^{ab}	0,72 ± 0,03 ^a	0,70 ± 0,03 ^{ab}
Nar	0,59 ± 0,01 ^{abc}	0,62 ± 0,02 ^a	0,56 ± 0,02 ^c	0,60 ± 0,01 ^{ab}	0,57 ± 0,02 ^{bc}	0,61 ± 0,02 ^{ab}	0,57 ± 0,01 ^{bc}
CNAr	0,20 ± 0,01 ^b	0,20 ± 0,01 ^b	0,25 ± 0,02 ^a	0,21 ± 0,01 ^b	0,20 ± 0,01 ^b	0,22 ± 0,01 ^b	0,21 ± 0,01 ^b
CNVR	0,09 ± 0,00 ^{ab}	0,09 ± 0,00 ^{ab}	0,09 ± 0,01 ^{ab}	0,09 ± 0,01 ^{ab}	0,08 ± 0,00 ^b	0,10 ± 0,01 ^a	0,09 ± 0,00 ^{ab}

Aynı satırda farklı üst harflerle gösterilen değerler arasındaki istatistiksel fark Fisher'in LSD testine göre %95 doğruluk düzeyinde önemli bulunmuştur. ($P \leq 0,05$). CMaA= Hücre majör eksen; CMiA= Hücre minör eksen; NMaA= Nükleer majör eksen; NMiA= Nükleer minör eksen; CA= Hücre alanı; CV= Hücre hacmi; NA= Nükleer alan; NV= Nükleer hacim; CAR= Hücre eksen oranı; NAR= Nükleer eksen oranı; CNAR= Hücre-nükleer alan oranı; CNVR= Hücre-nükleer hacim oranı.

Tablo 4.8: Diploid gökkuşağı alabalığının eritrosit değerlerinin aralıkları.

	E1-5	E1-0	E2-5	E2-0	E3-5	E3-0	PC
CMaA	12,89 – 16,69	11,24 – 17,41	11,27 – 18,81	10,97 – 16,69	11,71 – 16,36	11,23 – 16,12	11,99 – 17,52
CMiA	8,21 – 11,18	7,28 – 11,67	7,38 – 12,7	7,25 – 12,06	7,58 – 11,51	7,5 – 12,33	7,87 – 11,31
CA	118,21 – 157,65	104,81 – 183,63	95,97 – 217,49	96,74 – 151,07	111,2 – 146,91	88,63 – 194,45	102,18 – 167,41
CV	520,91 – 892,09	410,13 – 1013,93	400,28 – 1372,09	389,82 – 941,39	452,8 – 836,66	347,98 – 1255,16	420,95 – 965,33
CAr	0,49 – 0,82	0,49 – 1,04	0,46 – 0,88	0,47 – 0,98	0,47 – 0,98	0,5 – 0,96	0,48 – 0,9
NMaA	5,97 – 7,68	5,37 – 7,45	5,83 – 10,55	5,57 – 7,3	5,44 – 7,61	5,97 – 8,13	5,96 – 8,22
NMiA	3,69 – 4,72	3,4 – 4,92	3,35 – 4,76	3,4 – 4,45	3,19 – 4,77	2,98 – 5,36	3,38 – 4,42
NA	22,38 – 33,95	20,82 – 33,41	19,74 – 48,59	19,89 – 30,31	17,73 – 31,3	20,18 – 36,3	20,77 – 33,76
NV	43,94 – 82,82	38,85 – 84,19	34,66 – 117,2	36,08 – 70,55	30,25 – 70,56	32,41 – 101,83	36,73 – 77,08
NAr	0,49 – 0,66	0,52 – 0,77	0,39 – 0,69	0,49 – 0,72	0,46 – 0,86	0,43 – 0,79	0,46 – 0,7
CNAr	0,16 – 0,26	0,15 – 0,25	0,16 – 0,47	0,16 – 0,3	0,15 – 0,23	0,14 – 0,37	0,16 – 0,25
CNVR	0,06 – 0,13	0,06 – 0,12	0,05 – 0,17	0,05 – 0,16	0,05 – 0,11	0,04 – 0,24	0,06 – 0,12

Aynı satırda farklı üst harflerle gösterilen değerler arasındaki istatistiksel fark Fisher'in LSD testine göre %95 doğruluk düzeyinde önemli bulunmuştur. ($P \leq 0,05$). CMaA= Hücre majör eksen; CMiA= Hücre minör eksen; NMaA= Nükleer majör eksen; NMiA= Nükleer minör eksen; CA= Hücre alanı; CV= Hücre hacmi; NA= Nükleer alan; NV= Nükleer hacim; CAR= Hücre eksen oranı; NAR= Nükleer eksen oranı; CNAR= Hücre-nükleer alan oranı; CNVR= Hücre-nükleer hacim oranı.

İki temel bileşen analizi (PC1 ve PC2), tüm gruplarda toplam varyansın %71,64 ile %78,93'ünü açıklamış olup, PC1 her zaman en yüksek oranı (%42,38–%48,39) açıklamış ve bunu PC2 (%23,93–%36,12) takip etmiştir. Sonuçlar Tablo 4.9 ve Şekil 4.3'te verilmiştir.

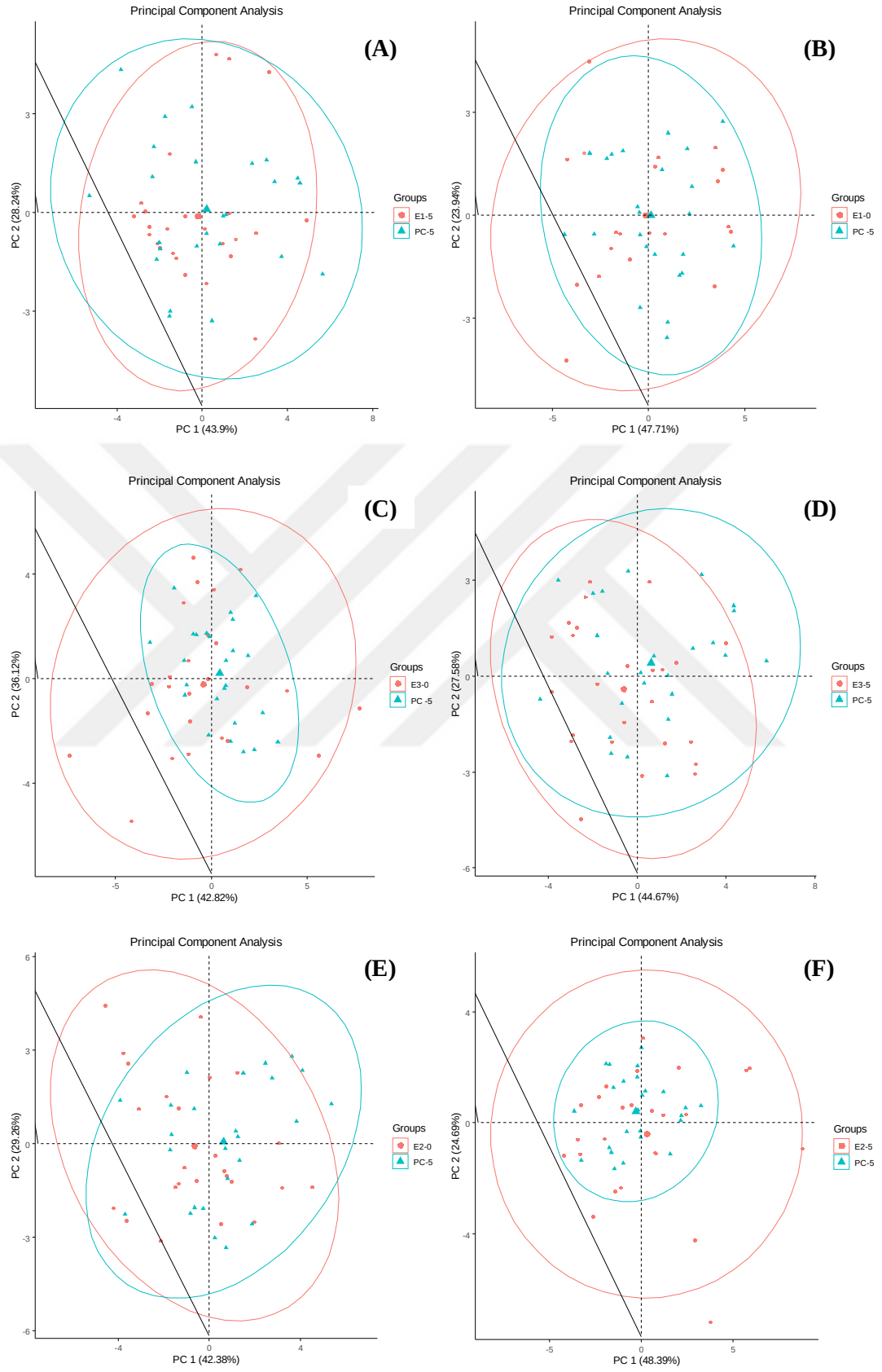
Tüm gruplarda, PC1 ağırlıklı olarak hücre alanı (CA), hücre hacmi (CV), nükleer alanı (NA) ve nükleer hacmi (NV) gibi genel hücre boyutu ve hacimle ilişkili değişkenlerle ilişkilendirilmiştir. Bu bulgular, PC1'in eritrosit morfolojisindeki genel farklılıkları gösterdiğini düşündürmektedir. PC2 ise öncelikle nükleer–sitoplazma oranı parametrelerinden, özellikle hücre-nükleer alan oranı (CNAr) ve hücre-nükleer hacim oranı (CNVr) tarafından etkilenmiştir.

Gelişimin daha ileri aşamalarında elektrik şokuna maruz kalan deneysel gruplar (E3-5, E3-0), PC1 ve PC2 tarafından açıklanan en yüksek kümülatif varyansı göstermiştir (E3-0: %78,93), bu da eritrosit morfolojisinin bu aşamada daha belirgin hale geldiğini göstermektedir. Ayrıca, 5 ppt tuzlulukta şoklanan gruplar (E1-5, E2-5, E3-5), PC1'de genel eritrosit boyutu (CV, CA, NA, NV) için daha yüksek yüklemeler sergilemiş olup, bu durum elektrik şoku sırasında tuzluluk maruziyetinin genel hücre boyutlarında değişikliklere katkıda bulunmuş olabileceğini düşündürmektedir. Öte yandan, tuz içermeyen şoklanan gruplar (E1-0, E2-0, E3-0) ise PC2 için CNAr ve CNVr değerlerinde daha yüksek değerler göstermiştir; bu da tatlı su koşullarında elektrik şokunun eritrosit yapısını daha fazla etkileyebileceğini işaret etmektedir. Ancak, triploid bireylerin hücre ve eritrosit boyutlarının anlamlı şekilde daha büyük olması (Hassan ve ark., 2018) nedeniyle, triploidiye işaret eden anlamlı bir eğilim gözlemlenmemiştir.

Tablo 4.9: Gökkuşığı alabalığının eritrositlerine ait temel bileşen analizi sonuçları.

	E1-5		E1-0		E2-5		E2-0		E3-5		E3-0	
Değişkenler	PC1	PC2	PC1	PC2	PC1	PC2	PC1	PC2	PC1	PC2	PC1	PC2
CMaA	-0,06	-0,16	-0,01	-0,28	0,16	-0,31	-0,01	-0,14	-0,09	0,15	0,21	0,22
CMiA	0,35	-0,1	-0,35	0,04	0,3	0,29	0,36	0,04	0,36	-0,15	0,26	-0,3
CA	0,31	-0,25	-0,34	-0,2	0,37	0,02	0,38	-0,07	0,34	-0,04	0,39	-0,11
CV	0,37	-0,18	-0,38	-0,09	0,37	0,15	0,41	-0,01	0,39	-0,1	0,36	-0,21
CAr	0,25	0,02	-0,22	0,17	0,12	0,37	0,24	0,09	0,27	-0,17	0,06	-0,33
NMaA	0,21	0,18	-0,16	0,16	0,3	-0,28	0,19	0,18	0,12	0,35	0,2	-0,1
NMiA	0,32	0,24	-0,29	0,27	0,21	-0,19	0,12	0,43	0,29	0,24	-0,13	-0,41
NA	0,32	0,26	-0,29	0,29	0,31	-0,29	0,2	0,39	0,27	0,37	0,01	-0,39
NV	0,33	0,26	-0,31	0,3	0,29	-0,28	0,18	0,43	0,3	0,33	-0,06	-0,41
NAr	0,1	0,06	-0,12	0,09	-0,15	0,14	-0,06	0,2	0,14	-0,06	-0,21	-0,28
CNAr	0,09	0,49	0,06	0,53	-0,11	-0,31	-0,15	0,44	0,01	0,47	-0,31	-0,24
CNVr	0	0,48	0,16	0,43	-0,07	-0,47	-0,25	0,38	-0,09	0,48	-0,33	-0,18
CyA	0,25	-0,35	-0,31	-0,29	0,35	0,11	0,36	-0,17	0,3	-0,15	0,4	-0,03
CyV	0,36	-0,22	-0,38	-0,12	0,36	0,18	0,41	-0,04	0,38	-0,14	0,37	-0,18
Özdenklem	6,15	3,95	6,68	3,35	6,78	3,46	5,93	4,1	6,25	3,86	5,99	5,06
% Varyans	43,9	28,24	47,71	23,93	48,39	24,69	42,38	29,26	44,67	27,58	42,82	36,12
Toplam % Varyans	43,9	72,14	47,71	71,65	48,39	73,08	42,38	71,64	44,67	72,24	42,82	78,93

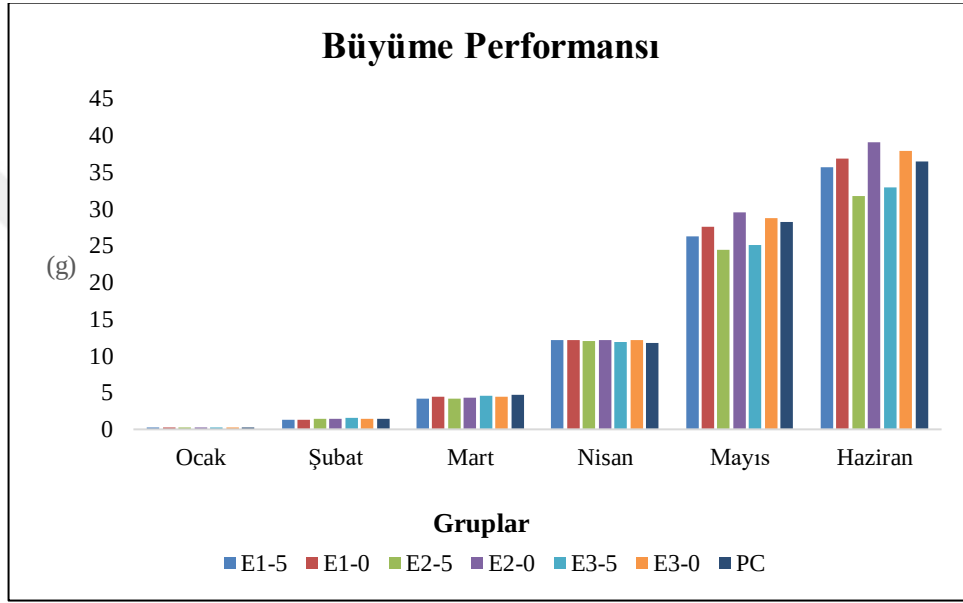
CMaA= Hücre majör eksen; CMiA= Hücre minör eksen; NMaA= Nükleer majör eksen; NMiA= Nükleer minör eksen; CA= Hücre alanı; CV= Hücre hacmi; NA= Nükleer alan; NV= Nükleer hacim; CAR= Hücre eksen oranı; NAR= Nükleer eksen oranı; CNAR= Hücre-nükleer alan oranı; CNVR= Hücre-nükleer hacim oranı, PC1: Temel Bileşen 1 ve PC2: Temel Bileşen 2.



Şekil 4.3: Eritrosit temel bileşen analizi (PCA).

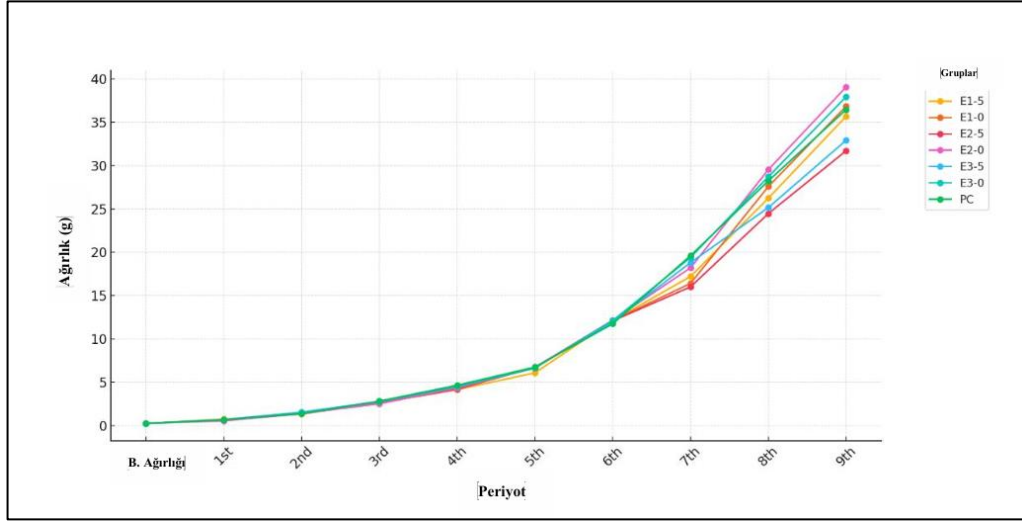
4.5. BESLENME PROGRAMI VE BÜYÜME PERFORMANSI ANALİZLERİ

Farklı deneysel koşullara tabi tutulan gökkuşağı alabalığının büyüme performans parametreleri Tablo 4.10 ve Şekil 4.4'te özetlenmiştir. Başlangıç ağırlıkları gruplar arasında anlamlı farklılık göstermemiştir ($P > 0,05$) ve $0,22 \pm 0,006$ g ile $0,27 \pm 0,02$ g arasında değişmiştir. Ancak, son vücut ağırlığı ve toplam ağırlık artışında anlamlı farklılıklar gözlemlenmiştir ($P < 0,05$). En yüksek son ağırlık, $39,07 \pm 0,09$ g ile E2-0 grubunda kaydedilmiştir.



Şekil 4.4: Deneme gruplarına ait büyüme performansı değerleri.

Gökkuşağı alabalığının büyüme performansı, tüm deneysel gruplar ve kontrol grubunda ağırlık parametrelerinin ölçüldüğü dokuz dönem boyunca izlenmiştir. Başlangıç ağırlıkları gruplar arasında benzer olup, 0,22 g ile 0,27 g arasında değişti. Dokuzuncu ve son dönemde en yüksek ortalama ağırlık E2-0 grubunda (39,07 g) gözlemlenirken, bunu sırasıyla E1-0 (36,84 g), PC (36,46 g) ve E3-0 (37,95 g) grupları takip etmiştir (Şekil 4.5). Deney sonunda, E2-5 (31,71 g) ve E3-5 (32,92 g) grupları diğer gruplara kıyasla daha düşük son ağırlıklar sergileyerek elektrik şoku zamanlaması ile tuzluluk arasındaki olası etkileşime işaret etmiştir. Bu nedenle, deney grupları arasında gözlemlenen farklılıklar, farklı koşullar altında uygulanan elektrik şokunun büyüme etkilediğini göstermiştir.



Şekil 4.5: Deneme sürecinde gruplarda gözlemlenen ağırlık artışları.

Toplam ağırlık artışı en yüksek değeri E2-0 grubunda ($38,83 \pm 0,10$ g), en düşük değeri ise E1-5 grubunda ($31,51 \pm 0,26$ g) göstermiş olup, döllenmeden 30 dakika sonra uygulanan tuzluluğun büyüme performansı üzerinde olumsuz etkisi olduğu görülmüştür. Yem Dönüşüm Oranı (FCR) değerleri 1,15 ile 1,28 arasında değişmiş; en iyi değer E2-0 (1,15), en düşük değer ise E3-5 (1,28) grubunda saptanmıştır. Kontrol grubu (PC-5) ise 1,22 verimlilik değeri göstermiştir. Özgül büyüme oranı (SGR) bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamış ($P > 0,05$) ve değerler %3,39 ile %3,55 arasında değişmiş olup, en yüksek SGR değeri E3-0 grubunda (%3,55) elde edilmiştir. Gonadosomatik İndeks (GSI) değerleri ise gruplar arasında farklılık göstermiştir; bu durum üreme gelişiminde potansiyel varyasyonlara işaret etmektedir. En yüksek GSI değeri E3-5 grubunda (0,21) gözlemlenmiş olup, bu grupta gonadal gelişimin arttığını göstermektedir. Buna karşı, en düşük GSI değerleri E1-0 (0,07) ve E2-0 (0,07) gruplarında bulunmuş ve diğer gruplara kıyasla gonadal gelişimde gecikme olduğunu göstermiştir. Kontrol grubu ise 0,08 GSI değeri sergilemiştir.

Tablo 4.10: Büyüme performansı parametreleri.

	E1-5	E1-0	E2-5	E2-0	E3-5	E3-0	PC
TFI (g)	5401,64	5511,58	5136,6	5799,09	5429,4	5807,56	5754,77
IW (g)	0,24 ± 0,02 ^a	0,27 ± 0,02 ^a	0,23 ± 0,01 ^a	0,24 ± 0,01 ^a	0,23 ± 0,01 ^a	0,22 ± 0,01 ^a	0,25 ± 0,01 ^a
FW (g)	35,69 ± 0,46 ^c	36,84 ± 0,29 ^{bc}	31,71 ± 0,27 ^d	39,07 ± 0,09 ^a	32,92 ± 0,32 ^d	37,95 ± 0,22 ^{ab}	36,46 ± 0,15 ^c
TWG (g)	35,46 ± 0,47 ^c	36,59 ± 0,30 ^{bc}	31,51 ± 0,26 ^d	38,83 ± 0,10 ^a	32,7 ± 0,31 ^d	37,71 ± 0,21 ^{ab}	36,22 ± 0,13 ^c
FCR	1,17	1,16	1,25	1,15	1,28	1,18	1,22
SGR	3,45	3,39	3,40	3,51	3,42	3,55	3,44
GSI	0,09	0,07	0,1	0,07	0,21	0,09	0,08

Değerler Ortalama ± Standart Sapma olarak sunulmuştur. TFI: Toplam yem tüketimi, IW: Başlangıç vücut ağırlığı, FW: Son vücut ağırlığı, TWG: Kilo artışı, FCR: Yem dönüşüm oranı; SGR: Özgül büyüme oranı; GSI: Gonadosomatik indeksleri. Aynı satırda farklı üst harflerle gösterilen değerler arasındaki istatistiki fark Tukey çoklu karşılaştırma testine göre %95 doğruluk düzeyinde önemli bulunmuştur. (Tukey, P<0,05).

4.6. CİNSİYET ORANI VE HİSTOLOJİ ANALİZİ

Cinsiyet oranı sonuçları, deneysel gruplar ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığını göstermiştir (P > 0,05). Bulgular, deney koşullarının cinsiyet dağılımı üzerinde herhangi bir etkisi olmadığını ortaya koymakta; oranların tüm gruplar arasında nispeten stabil ve tutarlı kaldığı tespit edilmiştir (Tablo 4.11).

Tablo 4.11: Cinsiyet oranı sonuçları.

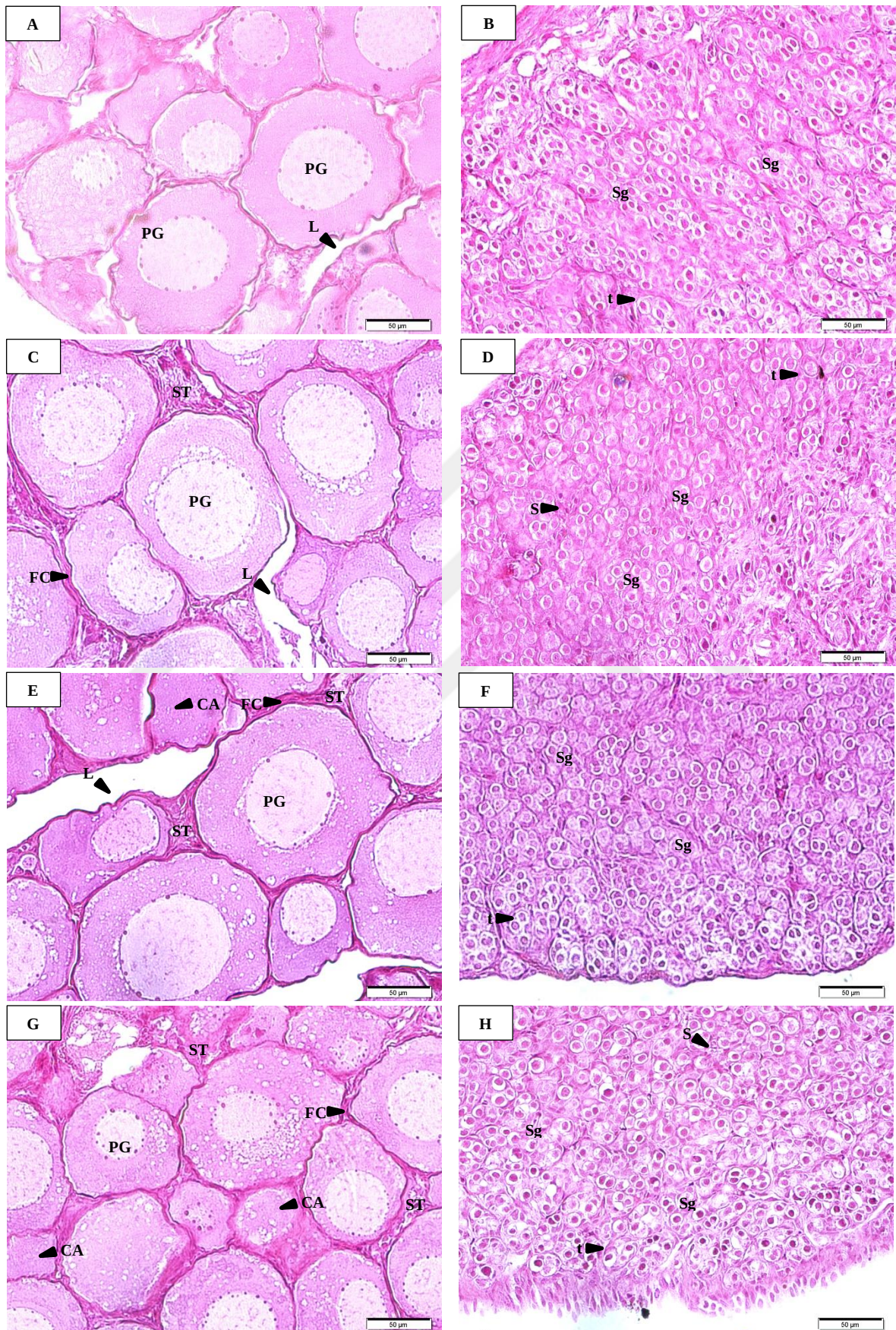
Cinsiyet Oranı (%)	E1	E2	E3	PC
Dişi	52.5 ± 8.54 ^a	52.5 ± 7.5 ^a	55 ± 5 ^a	55 ± 5 ^a
Erkek	52.5 ± 8.55 ^a	47.5 ± 7.5 ^a	45 ± 5 ^a	45 ± 5 ^a

Değerler Ortalama ± SE olarak sunulmuştur. Aynı satırda farklı üst harflerle gösterilen değerler arasındaki istatistiki fark Tukey çoklu karşılaştırma testine göre %95 doğruluk düzeyinde önemli bulunmuştur. (Tukey, P<0,05). PC: Pozitif kontrol, E1: Döllenmeden 20 dakika sonra elektrik şoku uygulaması, E2: Döllenmeden 30 dakika sonra elektrik şoku uygulaması; E3: Döllenmeden 40 dakika sonra elektrik şoku uygulaması.

Deneysel gruplar (E1, E2, E3) ve kontrol grubu (PC) gonadlarının histolojik incelemesi, yumurtadan larva çıkışından beş ay sonra gerçekleşmiştir. Erkek ve dişi bireylerde gonadal yapı açısından deneysel ve kontrol grupları arasında herhangi bir fark gözlemlenmemiştir. Bu gruplarda histolojik analiz yapılmış olmakla birlikte istatistiksel analiz yapılmadığı ve dolayısıyla sonuçlar gözleme dayalı açıklanmıştır.

Tüm gruplarda dişi gonadlarda tutarlı şekilde stromal doku, laminer yapılar, primer büyüme oositleri, foliküler hücreler ve kapiller alveoller gözlemlenirken; erkek gonadlarda ise spermatogonya A, sertoli hücreleri ve tübüler yapılar saptanmıştır (Şekil 4.6). Bu bulgular, farklı zamanlarda uygulanan 12V'luk elektrik şokunun 10 dakika boyunca gökkuşağı alabalığında gonadal gelişimde tanımlanabilir değişikliklere yol açmadığını göstermektedir. Gözlemlenen yapılar, yumurtadan çıkıştan beş ay sonra normal gelişime karşılık gelmekte olup, uygulanan deneysel koşullar altında anlamlı histolojik değişikliklerin olmadığını ortaya çıkarmıştır.





Şekil 4.6: Döllenmeden 5 ay sonra gökkuşağı alabalığı gonadlarının histolojik kesitleri. A: Kontrol balıklarının ovaryumu. B: Kontrol balıklarının testisi. C: Döllenmeden 20 dakika sonra elektrik akımına maruz bırakılan döllenmiş yumurtaların ovaryumu. D: Döllenmeden 20 dakika sonra elektrik akımına maruz bırakılan döllenmiş yumurtaların testisi. E: Döllenmeden 30 dakika sonra elektrik akımına maruz bırakılan döllenmiş yumurtaların ovaryumu. F: Döllenmeden 30 dakika sonra elektrik akımına maruz bırakılan döllenmiş yumurtaların testisi. G: Döllenmeden 40 dakika sonra elektrik akımına maruz bırakılan döllenmiş yumurtaların ovaryumu. H: Döllenmeden 40 dakika sonra elektrik akımına maruz bırakılan döllenmiş yumurtaların testisi. HES staining. PG: Primer oosit; L: Lamella; ST: Stroma; FC: Foliküler hücreleri; CA: Kortikal alveol; Sg: Spermatogonia A; S: Sertoli hücreleri; t: Tubular. Scale bar = 50 μ m.

4.7. DENEME GRUPLARINA AİT DOKULARIN YAĞ ASİDİ PROFİLİ

Döllenmeden sonra farklı zamanlarda elektrik şokuna maruz kalan gökkuşağı alabalığı kasındaki yağ asidi bileşimi (E1, E2 ve E3) analiz edilmiş ve kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır (Tablo 4.12). Bütirik asit (C4:0) ve undekanoik asit (C11:0) hiçbir uygulama grubunda tespit edilmemiştir. Kaproik asit (C6:0), kaprilik asit (C8:0) ve laurik asit (C12:0) gruplar arasında anlamlı farklılık göstermemiştir. Ancak, kaprik asit (C10:0) E1 grubunda önemli derecede yüksek bulunmuştur. Uzun zincirli doymuş yağ asitleri arasında, stearik asit (C18:0) E2 grubunda kontrol grubuna kıyasla anlamlı olarak azalmıştır ($F(3, 32) = 3,67, p = 0,02$). Miristik asit (C14:0), pentadekanoik asit (C15:0), palmitik asit (C16:0) ve heptadekanoik asit (C17:0) için ise önemli farklılık gözlenmemiştir. Tekli doymamış yağ asitleri (MUFA) arasında oleik asit (C18:1), gadoleik asit (C20:1) ve palmitoleik asit (C16:1) gruplar arasında anlamlı fark göstermemiştir. Ancak nervonik asit (C24:1) E2 grubunda E3 grubuna kıyasla anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($F(3, 32) = 4,22, p = 0,01$).

Çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA) önemli değişiklikler göstermiştir. Linoleik asit (C18:2), E1 grubunda ($17,07 \pm 0,58$) kontrol grubuna ($16,27 \pm 0,23$) kıyasla önemli derecede yüksek bulunmuştur ($F(3, 32) = 3,94, p = 0,02$). Benzer şekilde, linolenik asit (C18:3) E1 ($1,60 \pm 0,05$) ve E2 ($1,64 \pm 0,31$) gruplarında kontrol grubuna ($1,31 \pm 0,15$) göre önemli derecede yükselmiştir ($F(3, 32) = 6,05, p = 0,00$). Eikosapentaenoik asit (EPA, C20:5) ise E2 grubunda ($0,534 \pm 0,09$) kontrol grubuna ($0,408 \pm 0,07$) kıyasla anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ($F(3, 32) = 3,70, p = 0,02$). Doymuş yağ asitleri (SFA), tekli doymamış yağ asitleri (MUFA), çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA) ve toplam trans yağ asitlerinin oranlarında ise önemli bir fark gözlenmemiştir; bu durum, uygulanan elektrik şok gruplarının yağ asidi gruplarının genel dengesini değiştirmedikçe göstermektedir.

Deneysel gruplar (E1, E2, E3) ve kontrol grubu (PC) içerisinde hem erkek hem de dişi gökkuşağı alabalığının karaciğerlerindeki yağ asidi bileşimi analiz edilmiş olup, veriler Tablo 4.13'te sunulmuştur. Genel olarak, her grup içinde cinsiyetler arasında yağ asidi profillerinde önemli bir farklılık gözlenmemiştir. Doymuş yağ asitleri, tekli doymamış yağ asitleri ve çoklu doymamış yağ asitleri benzer kalmış, yalnızca bazı gruplarda hafif varyasyonlar tespit edilmiştir. Özellikle kaproik asit (C6:0), kaprilik asit (C8:0), laurik asit (C12:0) ve palmitik asit (C16:0) seviyeleri tüm gruplarda benzer bulunmuş ve cinsiyetler arasında anlamlı fark saptanmamıştır. Bununla birlikte, çoklu doymamış yağ asitlerinde belirgin farklılıklar gözlemlenmiş; özellikle E2 grubunda, dişi bireylerde çoklu doymamış yağ asitlerinin oranı erkeklere kıyasla biraz daha yüksek bulunmuştur. Ayrıca, toplam trans yağ asitlerinde de küçük değişiklikler olmuş ve E2 grubundaki erkeklerde hafif bir artış gözlenmiştir.

Kastaki yağ asidi profiline benzer şekilde, elde edilen sonuçlar hem dişi hem erkek karaciğerinde yağ asidi profillerinde bazı küçük değişiklikler olmasına rağmen, elektrik şok uygulamalarının deneysel ve kontrol grupları arasında genel yağ asidi bileşiminde anlamlı bir değişikliğe yol açmadığını göstermektedir.

Tablo 4.12: Deneme gruplarının kas ve karaciğer dokularında yağ asidi profilleri.

	Kas				Karaciğer			
	E1	E2	E3	PC	E1	E2	E3	PC
(C4:0)	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
(C6:0)	0,02 ± 0,07 ^a	0,02 ± 0,02 ^a	0,04 ± 0,04 ^a	0,05 ± 0,04 ^a	0,004 ± 0,00 ^a	0,004 ± 0,00 ^a	0,004 ± 0,00 ^a	0,004 ± 0,00 ^a
(C8:0)	0,02 ± 0,02 ^a	0,02 ± 0,01 ^a	0,03 ± 0,01 ^a	0,09 ± 0,06 ^a	0,01 ± 0,00 ^a	0,01 ± 0,00 ^a	0,01 ± 0,00 ^a	0,01 ± 0,00 ^a
(C10:0)	0,04 ± 0,03 ^a	0,01 ± 0,01 ^b	0,01 ± 0,01 ^b	0,01 ± 0,01 ^b	0,01 ± 0,00 ^a	0,01 ± 0,00 ^a	0,01 ± 0,00 ^a	0,01 ± 0,00 ^a
(C11:0)	ND	ND	ND	ND	0,004 ± 0,00 ^a	0,004 ± 0,00 ^a	0,004 ± 0,00 ^a	0,003 ± 0,00 ^a
(C12:0)	0,08 ± 0,01 ^a	0,08 ± 0,01 ^a	0,07 ± 0,02 ^a	0,07 ± 0,02 ^a	0,07 ± 0,01 ^a	0,07 ± 0,01 ^a	0,08 ± 0,00 ^a	0,08 ± 0,00 ^a
(C13:0)	0,01 ± 0,00 ^a	0,01 ± 0,00 ^a	0,01 ± 0,01 ^a	0,002 ± 0,01 ^a	0,02 ± 0,00 ^a	0,02 ± 0,00 ^a	0,02 ± 0,00 ^a	0,02 ± 0,00 ^a
(C14:0)	2,41 ± 0,12 ^a	2,45 ± 0,13 ^a	2,37 ± 0,12 ^a	2,38 ± 0,13 ^a	2,38 ± 0,09 ^a	2,41 ± 0,07 ^a	2,42 ± 0,08 ^a	2,40 ± 0,06 ^a
(C14:1)	0,05 ± 0,01 ^a	0,05 ± 0,01 ^a	0,05 ± 0,01 ^a	0,05 ± 0,01 ^a	0,04 ± 0,01 ^a	0,04 ± 0,00 ^a	0,05 ± 0,01 ^a	0,05 ± 0,00 ^a
(C15:0)	ND	ND	ND	ND	0,25 ± 0,01 ^a	0,24 ± 0,01 ^a	0,25 ± 0,01 ^a	0,24 ± 0,02 ^a
(C15:1)	0,24 ± 0,02 ^a	0,24 ± 0,01 ^a	0,22 ± 0,02 ^a	0,22 ± 0,03 ^a	ND	ND	ND	ND
(C16:0)	16,86 ± 0,51 ^a	17,26 ± 0,64 ^a	17,23 ± 0,24 ^a	17,33 ± 0,22 ^a	17,36 ± 0,34 ^a	17,60 ± 0,50 ^a	17,71 ± 0,52 ^a	17,86 ± 0,64 ^a
T(C16:1)	0,75 ± 0,14 ^a	0,76 ± 0,15 ^a	0,76 ± 0,07 ^a	0,81 ± 0,11 ^a	0,77 ± 0,10 ^a	0,78 ± 0,07 ^a	0,85 ± 0,09 ^a	0,83 ± 0,15 ^a
(C16:1)	4,48 ± 0,49 ^a	4,54 ± 0,49 ^a	4,76 ± 0,12 ^a	4,66 ± 0,51 ^a	4,59 ± 0,26 ^a	4,65 ± 0,27 ^a	4,75 ± 0,27 ^a	4,76 ± 0,35 ^a
(C17:0)	0,25 ± 0,04 ^a	0,26 ± 0,02 ^a	0,24 ± 0,02 ^a	0,25 ± 0,03 ^a	0,28 ± 0,01 ^a	0,27 ± 0,02 ^a	0,28 ± 0,01 ^a	0,28 ± 0,02 ^a
(C17:1)	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
(C18:0)	5,88 ± 0,53 ^{ab}	5,66 ± 0,24 ^b	5,78 ± 0,63 ^{ab}	6,31 ± 0,23 ^a	5,87 ± 0,21 ^a	5,97 ± 0,26 ^a	5,982 ± 0,127 ^a	6,179 ± 0,268 ^a
T(C18:1)	0,13 ± 0,03 ^a	0,13 ± 0,02 ^a	0,12 ± 0,02 ^a	0,15 ± 0,04 ^a	0,12 ± 0,01 ^a	0,12 ± 0,01 ^a	0,126 ± 0,017 ^a	0,137 ± 0,023 ^a
(C18:1)	40,55 ± 0,41 ^a	40,52 ± 0,39 ^a	40,62 ± 0,43 ^a	40,40 ± 0,46 ^a	41,80 ± 0,53 ^a	41,46 ± 0,62 ^a	42,15 ± 0,43 ^a	41,86 ± 0,82 ^a
T(C18:2)	0,13 ± 0,02 ^a	0,13 ± 0,04 ^a	0,12 ± 0,03 ^a	0,11 ± 0,04 ^a	0,16 ± 0,02 ^a	0,19 ± 0,04 ^a	0,25 ± 0,17 ^a	0,23 ± 0,07 ^a
(C18:2)	17,07 ± 0,58 ^a	16,66 ± 0,58 ^{ab}	16,47 ± 0,58 ^{ab}	16,27 ± 0,23 ^b	15,99 ± 0,76 ^a	15,59 ± 0,71 ^{ab}	15,14 ± 0,76 ^{ab}	14,60 ± 1,11 ^b
(C18:3)	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
(C18:3)	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
(C18:3)	1,60 ± 0,05 ^a	1,64 ± 0,31 ^a	1,47 ± 0,12 ^{ab}	1,31 ± 0,15 ^b	1,37 ± 0,13 ^a	1,39 ± 0,18 ^a	1,23 ± 0,10 ^{ab}	1,22 ± 0,14 ^b
(C18:3)	0,50 ± 0,05 ^b	0,63 ± 0,12 ^a	0,52 ± 0,13 ^{ab}	0,52 ± 0,08 ^{ab}	0,56 ± 0,05 ^a	0,52 ± 0,05 ^a	0,55 ± 0,03 ^a	0,52 ± 0,08 ^a
(C20:0)	0,27 ± 0,09 ^a	0,22 ± 0,02 ^a	0,21 ± 0,02 ^a	0,22 ± 0,03 ^a	0,25 ± 0,01 ^a	0,25 ± 0,02 ^a	0,23 ± 0,02 ^a	0,25 ± 0,03 ^a
(C20:1)	2,11 ± 0,09 ^a	2,03 ± 0,21 ^a	2,15 ± 0,09 ^a	2,09 ± 0,16 ^a	2,28 ± 0,06 ^b	2,33 ± 0,09 ^{ab}	2,29 ± 0,07 ^b	2,42 ± 0,08 ^a
(C20:2)	1,23 ± 0,14 ^a	1,26 ± 0,14 ^a	1,25 ± 0,12 ^a	1,24 ± 0,11 ^a	1,20 ± 0,06 ^a	1,24 ± 0,07 ^a	1,17 ± 0,05 ^a	1,22 ± 0,07 ^a
(C20:3)	0,78 ± 0,10 ^a	0,71 ± 0,06 ^a	0,73 ± 0,13 ^a	0,73 ± 0,10 ^a	0,71 ± 0,07 ^a	0,72 ± 0,04 ^a	0,65 ± 0,07 ^a	0,73 ± 0,06 ^a
(C20:3)	0,13 ± 0,02 ^a	0,13 ± 0,05 ^a	0,13 ± 0,05 ^a	0,14 ± 0,02 ^a	0,12 ± 0,01 ^{ab}	0,12 ± 0,02 ^a	0,1 ± 0,01 ^b	0,11 ± 0,02 ^{ab}
(C20:4)	0,51 ± 0,10 ^a	0,55 ± 0,15 ^a	0,53 ± 0,07 ^a	0,54 ± 0,08 ^a	0,53 ± 0,08 ^a	0,53 ± 0,06 ^a	0,58 ± 0,06 ^a	0,64 ± 0,17 ^a
(C20:5)	0,48 ± 0,10 ^{ab}	0,53 ± 0,09 ^a	0,514 ± 0,091 ^{ab}	0,41 ± 0,07 ^b	0,36 ± 0,06 ^a	0,38 ± 0,08 ^a	0,30 ± 0,03 ^a	0,31 ± 0,04 ^a
(C21:0)	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
(C22:0)	ND	ND	ND	ND	0,12 ± 0,01 ^a	0,13 ± 0,01 ^a	0,13 ± 0,01 ^a	0,12 ± 0,02 ^a
(C22:1)	0,24 ± 0,03 ^a	0,24 ± 0,08 ^a	0,19 ± 0,04 ^a	0,20 ± 0,05 ^a	0,24 ± 0,01 ^a	0,24 ± 0,02 ^a	0,24 ± 0,01 ^a	0,25 ± 0,01 ^a
(C22:2)	0,07 ± 0,01 ^a	0,08 ± 0,02 ^a	0,08 ± 0,02 ^a	0,08 ± 0,02 ^a	0,08 ± 0,01 ^a	0,09 ± 0,01 ^a	0,08 ± 0,01 ^a	0,08 ± 0,01 ^a
(C22:6)	2,93 ± 0,27 ^a	2,96 ± 0,36 ^a	3,13 ± 0,25 ^a	3,15 ± 0,17 ^a	2,17 ± 0,26 ^a	2,34 ± 0,40 ^a	2,04 ± 0,10 ^a	2,29 ± 0,26 ^a
(C23:0)	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
(C24:0)	ND	ND	ND	ND	0,05 ± 0,01 ^a	0,05 ± 0,01 ^a	0,05 ± 0,01 ^a	0,05 ± 0,01 ^a
(C24:1)	0,12 ± 0,02 ^{ab}	0,23 ± 0,03 ^a	0,18 ± 0,04 ^b	0,21 ± 0,04 ^{ab}	0,25 ± 0,03 ^a	0,27 ± 0,03 ^a	0,26 ± 0,01 ^a	0,26 ± 0,03 ^a

SFA	26,07 ± 0,89 ^a	26,21 ± 0,82 ^a	26,22 ± 0,67 ^a	26,94 ± 0,38 ^a	26,67 ± 0,52 ^a	27,02 ± 0,83 ^a	27,19 ± 0,67 ^a	27,50 ± 0,94 ^a
MUFA	48,50 ± 0,87 ^a	48,5 ± 0,48 ^a	48,84 ± 0,49 ^a	48,58 ± 0,80 ^a	50,09 ± 0,69 ^a	49,89 ± 0,64 ^a	50,71 ± 0,46 ^a	50,54 ± 0,46 ^a
PUFA	25,42 ± 0,85 ^a	25,29 ± 1,14 ^a	24,94 ± 0,73 ^a	24,49 ± 0,63 ^a	23,24 ± 1,13 ^a	23,09 ± 1,34 ^a	22,10 ± 0,82 ^a	21,96 ± 1,26 ^a
T-TYA	1,51 ± 0,21 ^a	1,65 ± 0,27 ^a	1,52 ± 0,20 ^a	1,59 ± 0,14 ^a	1,60 ± 0,15 ^a	1,6 ± 0,10 ^a	1,77 ± 0,24 ^a	1,72 ± 0,25 ^a
Σ n-3	5,14 ± 0,10 ^a	5,27 ± 0,25 ^a	5,24 ± 0,10 ^a	5,00 ± 0,10 ^a	4,19 ± 0,18 ^a	3,76 ± 0,09 ^a	3,89 ± 0,11 ^a	4,23 ± 0,17 ^a
Σ n-6	19,59 ± 0,21 ^a	19,18 ± 0,20 ^{ab}	18,99 ± 0,21 ^{ab}	18,78 ± 0,12 ^b	18,40 ± 0,24 ^a	17,63 ± 0,26 ^a	17,39 ± 0,30 ^a	18,40 ± 0,28 ^a
n-3/n-6	0,26 ± 0,00 ^a	0,27 ± 0,01 ^a	0,28 ± 0,01 ^a	0,27 ± 0,00 ^a	0,23 ± 0,01 ^a	0,21 ± 0,00 ^a	0,22 ± 0,22 ^a	0,23 ± 0,23 ^a

Değerler Ortalama ± SE olarak sunulmuştur. Aynı satırda farklı üst harflerle gösterilen değerler arasındaki istatistiksel fark Tukey çoklu karşılaştırma testine göre %95 doğruluk düzeyinde önemli bulunmuştur. (Tukey, $P < 0,05$). SFA: Doymuş yağ asitleri; MUFA: Tekli doymamış yağ asitleri; PUFA: Çoklu doymamış yağ asitleri; T-TYA: Toplam trans yağ asitleri; Σ n-3: Toplam n-3 yağ asitleri; Σ n-6: Toplam n-6 yağ asitleri; n-3/n-6: n-3 / n-6 yağ asitleri oranı. PC: Pozitif kontrol, E1: Döllenmeden 20 dakika sonra elektrik şoku uygulaması, E2: Döllenmeden 30 dakika sonra elektrik şoku uygulaması; E3: Döllenmeden 40 dakika sonra elektrik şoku uygulaması.

Gökkuşluğu alabalığı karaciğerinde yağ asidi profili sonucunda; oleik (C18:1), palmitik (C16:0) ve linoleik (C18:2) asitlerin baskınlığını göstermiştir. Analiz edilen bileşiklerin çoğu için gruplar veya cinsiyetler arasında anlamlı bir fark gözlenmemiştir ($P > 0,05$). Yalnızca kaprik asit (C10:0) ve gadoleik asit (C20:1) bazı uygulama grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar göstermiştir ($P < 0,05$), bu durum elektrik şokunun belirli az miktarda bulunan doymuş ve tekli doymamış yağ asitlerinin birikimi üzerinde olası bir etkisi olduğunu düşündürmektedir.

Tablo 4.13: Gökkuşığı alabalığı karaciğerinde cinsiyete bağlı yağ asidi profilleri.

	E1		E2		E3		PC	
	Dişi	Erkek	Dişi	Erkek	Dişi	Erkek	Dişi	Erkek
(C4:0)	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
(C6:0)	0,004 ± 0,00 ^a	0,004 ± 0,00 ^a	0,004 ± 0,00 ^a	0,004 ± 0,00 ^a	0,003 ± 0,00 ^a	0,004 ± 0,00 ^a	0,004 ± 0,00 ^a	0,004 ± 0,00 ^a
(C8:0)	0,01 ± 0,00 ^a	0,01 ± 0,00 ^a	0,01 ± 0,00 ^a	0,01 ± 0,00 ^a	0,01 ± 0,00 ^a	0,01 ± 0,00 ^a	0,01 ± 0,00 ^a	0,01 ± 0,00 ^a
(C10:0)	0,01 ± 0,00 ^{ab}	0,01 ± 0,00 ^a	0,01 ± 0,00 ^b	0,01 ± 0,00 ^{ab}	0,01 ± 0,00 ^b	0,01 ± 0,00 ^{ab}	0,01 ± 0,00 ^{ab}	0,01 ± 0,00 ^{ab}
(C11:0)	0,004 ± 0,00 ^a	0,004 ± 0,00 ^a	0,004 ± 0,00 ^a	0,003 ± 0,00 ^a	0,003 ± 0,00 ^a	0,003 ± 0,00 ^a	0,004 ± 0,00 ^a	0,004 ± 0,00 ^a
(C12:0)	0,08 ± 0,00 ^a	0,08 ± 0,00 ^{1a}	0,07 ± 0,00 ^a	0,08 ± 0,00 ^a	0,07 ± 0,00 ^a	0,08 ± 0,00 ^a	0,08 ± 0,00 ^a	0,08 ± 0,00 ^a
(C13:0)	0,02 ± 0,00 ^a	0,02 ± 0,00 ^a	0,02 ± 0,00 ^a	0,02 ± 0,00 ^a	0,02 ± 0,00 ^a	0,02 ± 0,00 ^a	0,02 ± 0,00 ^a	0,02 ± 0,00 ^a
(C14:0)	2,42 ± 0,03 ^a	2,37 ± 0,02 ^a	2,33 ± 0,06 ^a	2,46 ± 0,06 ^a	2,37 ± 0,02 ^a	2,41 ± 0,02 ^a	2,45 ± 0,04 ^a	2,39 ± 0,05 ^a
(C14:1)	0,05 ± 0,00 ^a	0,04 ± 0,00 ^a	0,04 ± 0,00 ^a	0,05 ± 0,00 ^a	0,04 ± 0,00 ^a	0,05 ± 0,00 ^a	0,05 ± 0,00 ^a	0,05 ± 0,00 ^a
(C15:0)	0,25 ± 0,01 ^a	0,24 ± 0,00 ^a	0,24 ± 0,00 ^a	0,25 ± 0,01 ^a	0,24 ± 0,01 ^a	0,24 ± 0,00 ^a	0,25 ± 0,00 ^a	0,24 ± 0,01 ^a
(C15:1)	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
(C16:0)	17,61 ± 0,07 ^a	17,51 ± 0,09 ^a	17,11 ± 0,17 ^a	17,91 ± 0,42 ^a	17,28 ± 0,15 ^a	17,79 ± 0,09 ^a	17,92 ± 0,29 ^a	17,93 ± 0,57 ^a
T(C16:1)	0,79 ± 0,05 ^a	0,81 ± 0,03 ^a	0,75 ± 0,07 ^a	0,90 ± 0,06 ^a	0,76 ± 0,05 ^a	0,90 ± 0,07 ^a	0,79 ± 0,03 ^a	0,75 ± 0,10 ^a
(C16:1)	4,75 ± 0,12 ^a	4,61 ± 0,06 ^a	4,44 ± 0,14 ^a	4,89 ± 0,20 ^a	4,70 ± 0,13 ^a	4,84 ± 0,07 ^a	4,6 ± 0,21 ^a	4,67 ± 0,30 ^a
(C17:0)	0,28 ± 0,01 ^a	0,28 ± 0,01 ^a	0,28 ± 0,01 ^a	0,28 ± 0,01 ^a	0,26 ± 0,01 ^a	0,28 ± 0,01 ^a	0,278 ± 0,001 ^a	0,28 ± 0,02 ^a
(C17:1)	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
(C18:0)	6,00 ± 0,14 ^a	5,97 ± 0,10 ^a	5,75 ± 0,06 ^a	5,99 ± 0,05 ^a	5,85 ± 0,19 ^a	6,14 ± 0,18 ^a	6,09 ± 0,14 ^a	6,22 ± 0,16 ^a
T(C18:1)	0,18 ± 0,01 ^a	0,12 ± 0,01 ^a	0,11 ± 0,01 ^a	0,13 ± 0,01 ^a	0,12 ± 0,01 ^a	0,13 ± 0,01 ^a	0,12 ± 0,01 ^a	0,14 ± 0,02 ^a
(C18:1)	42,02 ± 0,31 ^a	42,39 ± 0,13 ^a	41,59 ± 0,31 ^a	41,92 ± 0,29 ^a	41,32 ± 0,52 ^a	42,19 ± 0,12 ^a	41,60 ± 0,20 ^a	41,52 ± 0,66 ^a
T(C18:2)	0,17 ± 0,02 ^a	0,16 ± 0,03 ^a	0,15 ± 0,01 ^a	0,34 ± 0,12 ^a	0,20 ± 0,03 ^a	0,24 ± 0,04 ^a	0,18 ± 0,01 ^a	0,22 ± 0,05 ^a
(C18:2)	15,40 ± 0,18 ^a	15,38 ± 0,18 ^a	16,59 ± 0,31 ^a	14,9 ± 0,62 ^a	15,81 ± 0,36 ^a	14,37 ± 0,45 ^a	15,36 ± 0,48 ^a	14,83 ± 0,88 ^a
(C18:3)	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
(C18:3)	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
(C18:3)	1,27 ± 0,03 ^a	1,26 ± 0,03 ^a	1,46 ± 0,06 ^a	1,20 ± 0,08 ^a	1,45 ± 0,12 ^a	1,18 ± 0,05 ^a	1,33 ± 0,10 ^a	1,26 ± 0,11 ^a
(C18:3)	0,55 ± 0,03 ^a	0,55 ± 0,02 ^a	0,56 ± 0,03 ^a	0,54 ± 0,00 ^a	0,50 ± 0,02 ^a	0,57 ± 0,06 ^a	0,54 ± 0,04 ^a	0,58 ± 0,02 ^a
(C20:0)	0,25 ± 0,01 ^a	0,25 ± 0,01 ^a	0,25 ± 0,01 ^a	0,26 ± 0,01 ^a	0,24 ± 0,02 ^a	0,25 ± 0,01 ^a	0,25 ± 0,01 ^a	0,26 ± 0,02 ^a
(C20:1)	2,28 ± 0,04 ^{ab}	2,33 ± 0,02 ^{ab}	2,28 ± 0,04 ^{ab}	2,26 ± 0,04 ^b	2,37 ± 0,05 ^{ab}	2,36 ± 0,05 ^{ab}	2,29 ± 0,06 ^{ab}	2,47 ± 0,01 ^a
(C20:2)	1,16 ± 0,04 ^a	1,17 ± 0,03 ^a	1,24 ± 0,02 ^a	1,17 ± 0,04 ^a	1,28 ± 0,01 ^a	1,17 ± 0,02 ^a	1,20 ± 0,05 ^a	1,27 ± 0,04 ^a
(C20:3)	0,70 ± 0,05 ^a	0,68 ± 0,06 ^a	0,72 ± 0,03 ^a	0,62 ± 0,02 ^a	0,72 ± 0,02 ^a	0,76 ± 0,01 ^a	0,73 ± 0,02 ^a	0,70 ± 0,05 ^a
(C20:3)	0,11 ± 0,00 ^a	0,10 ± 0,01 ^a	0,12 ± 0,01 ^a	0,10 ± 0,01 ^a	0,13 ± 0,01 ^a	0,10 ± 0,00 ^a	0,12 ± 0,01 ^a	0,12 ± 0,01 ^a
(C20:4)	0,55 ± 0,05 ^a	0,58 ± 0,04 ^a	0,51 ± 0,05 ^a	0,59 ± 0,03 ^a	0,55 ± 0,05 ^a	0,69 ± 0,12 ^a	0,50 ± 0,03 ^a	0,60 ± 0,10 ^a
(C20:5)	0,32 ± 0,02 ^a	0,31 ± 0,02 ^a	0,40 ± 0,04 ^a	0,29 ± 0,02 ^a	0,41 ± 0,06 ^a	0,31 ± 0,02 ^a	0,35 ± 0,03 ^a	0,32 ± 0,03 ^a
(C21:0)	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
(C22:0)	0,13 ± 0,01 ^a	0,13 ± 0,01 ^a	0,12 ± 0,01 ^a	0,13 ± 0,01 ^a	0,12 ± 0,01 ^a	0,12 ± 0,00 ^a	0,13 ± 0,00 ^a	0,13 ± 0,02 ^a
(C22:1)	0,24 ± 0,00 ^a	0,24 ± 0,01 ^a	0,24 ± 0,01 ^a	0,24 ± 0,00 ^a	0,24 ± 0,01 ^a	0,25 ± 0,01 ^a	0,24 ± 0,02 ^a	0,24 ± 0,00 ^a
(C22:2)	0,08 ± 0,01 ^a	0,08 ± 0,00 ^a	0,08 ± 0,01 ^a	0,08 ± 0,01 ^a	0,09 ± 0,00 ^a	0,08 ± 0,00 ^a	0,08 ± 0,01 ^a	0,09 ± 0,01 ^a
(C22:6)	2,10 ± 0,20 ^a	2,01 ± 0,07 ^a	2,24 ± 0,11 ^a	2,07 ± 0,04 ^a	2,54 ± 0,25 ^a	2,19 ± 0,07 ^a	2,13 ± 0,16 ^a	2,40 ± 0,21 ^a
(C23:0)	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
(C24:0)	0,05 ± 0,00 ^a	0,05 ± 0,01 ^a	0,05 ± 0,01 ^a	0,05 ± 0,01 ^a	0,05 ± 0,01 ^a	0,05 ± 0,00 ^a	0,05 ± 0,01 ^a	0,05 ± 0,01 ^a
(C24:1)	0,26 ± 0,01 ^a	0,26 ± 0,01 ^a	0,24 ± 0,02 ^a	0,26 ± 0,01 ^a	0,27 ± 0,02 ^a	0,25 ± 0,00 ^a	0,27 ± 0,02 ^a	0,27 ± 0,03 ^a

SFA	27,10 ± 0,06 ^a	26,93 ± 0,28 ^a	26,24 ± 0,19 ^a	27,46 ± 0,54 ^a	26,51 ± 0,34 ^a	27,38 ± 0,24 ^a	27,53 ± 0,45 ^a	27,62 ± 0,82 ^a
MUFA	50,51 ± 0,40 ^a	50,78 ± 0,15 ^a	49,68 ± 0,27 ^a	50,64 ± 0,39 ^a	49,82 ± 0,46 ^a	50,97 ± 0,03 ^a	49,96 ± 0,35 ^a	50,11 ± 1,00 ^a
PUFA	22,40 ± 0,38 ^a	22,29 ± 0,25 ^a	24,08 ± 0,45 ^a	21,90 ± 0,68 ^a	23,67 ± 0,78 ^a	21,65 ± 0,24 ^a	22,51 ± 0,75 ^a	22,27 ± 1,08 ^a
T-TYA	1,63 ± 0,06 ^a	1,64 ± 0,05 ^a	1,58 ± 0,12 ^a	1,91 ± 0,16 ^a	1,58 ± 0,04 ^a	1,83 ± 0,17 ^a	1,62 ± 0,08 ^a	1,60 ± 0,10 ^a
Σ n-3	3,80 ± 0,20 ^a	4,22 ± 0,19 ^a	4,53 ± 0,43 ^a	3,93 ± 0,24 ^a	3,68 ± 0,03 ^a	3,67 ± 0,14 ^a	3,78 ± 0,07 ^a	4,09 ± 0,25 ^a
Σ n-6	17,80 ± 0,19 ^a	19,06 ± 0,32 ^a	18,36 ± 0,37 ^a	17,79 ± 0,54 ^a	17,81 ± 0,24 ^a	17,28 ± 0,63 ^a	16,99 ± 0,31 ^a	17,36 ± 0,87 ^a
n-3/n-6	0,21 ± 0,01 ^a	0,22 ± 0,01 ^a	0,25 ± 0,02 ^a	0,22 ± 0,01 ^a	0,21 ± 0,0 ^a	0,21 ± 0,00 ^a	0,22 ± 0,01 ^a	0,24 ± 0,01 ^a

Değerler Ortalama ± SE olarak sunulmuştur. Aynı satırda farklı üst harflerle gösterilen değerler arasındaki istatistiksel fark Tukey çoklu karşılaştırma testine göre %95 doğruluk düzeyinde önemli bulunmuştur. (Tukey, P < 0,05). SFA: Doymuş yağ asitleri; MUFA: Tekli doymamış yağ asitleri; PUFA: Çoklu doymamış yağ asitleri; T-TYA: Toplam trans yağ asitleri; Σ n-3: Toplam n-3 yağ asitleri; Σ n-6: Toplam n-6 yağ asitleri; n-3/n-6: n-3 / n-6 yağ asitleri oranı. PC: Pozitif kontrol, E1: Döllenmeden 20 dakika sonra elektrik şoku uygulaması, E2: Döllenmeden 30 dakika sonra elektrik şoku uygulaması; E3: Döllenmeden 40 dakika sonra elektrik şoku uygulaması.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışmada, döllemeden 20, 30 ve 40 dakika sonra 12V ($0,4 \pm 0,11$ V/cm) elektrik akımına 10 dakika süre ile maruz bırakılan gökkuşağı alabalığı yumurtalarından gelişen balıklarda elektrik akımının etkisi incelenmiştir. Elde edilen veriler, elektrik uygulamasının balık embriyo gelişimi üzerindeki etkisini inceleyen birçok çalışma ile tutarlılık gösterdiği tespit edilmiştir. Bu çalışmalar, özellikle yüksek voltaj gradyanlarında elektrik alanlarına maruz kalmanın embriyonun hayatta kalma oranları, yumurtadan çıkış oranları ve sonrasındaki gelişim üzerinde önemli etkileri olabileceğini göstermektedir.

Elektrik akımı uygulaması sonrasında sudaki çözülmüş oksijen değeri; 0 ppt grubunda ($2,81 \pm 0,07$) anot bölgesindeki olası tüketim ve kabarcık oluşumuna bağlı olarak azalma gözlenirken, 5ppt tuzluluğa sahip grupta ise artış ($5,24 \pm 0,42$) kaydedilmiştir. Bu durum, suyun elektrolizi sırasında pratik reaksiyon hızlarında hidrojen ve oksijen gazlarının katot ve anot çevresinde birikmesi ile sulu elektrolitlerdeki sınırlı çözünürlükleri nedeniyle gaz kabarcıklarının oluşumunun kaçınılmaz olduğuna dair bulgularla uyumludur (Shih ve ark., 2022). Elektriksel iletkenlik değeri ise keskin bir şekilde azalmış ve 5 ppt tuzluluk grubunda negatif değerlere ulaşmıştır ($-90 \pm 7,91$). Bu durum, H_2 oluşumu ve oksitleyici türlerin azalmasına bağlı olarak yüksek indirgeme koşullarını göstermektedir (Hsu ve ark., 2015). Tuz içermeyen grupta (E-0) ise elektriksel iletkenlik düşmüş ancak pozitif değerde kalmıştır ($116,6 \pm 5,94$) ve bu, elektroliz şiddetinin daha düşük olduğunu ortaya koymaktadır. Öte yandan, sıcaklık her iki ortamda da hafifçe artış göstermiş (negatif kontrol: $12,57 \pm 0,2$ – $13,01 \pm 0,11$; pozitif kontrol: $12,19 \pm 0,2$ – $12,57 \pm 0,12$) olup, 5 ppt tuzluluk içeren deney gruplarında elektrik direncinin daha düşük olmasına bağlı olarak artışın daha belirgin olduğu gözlemlenmiştir.

Nutile ve ark. (2012) ile Bohl ve ark. (2010), balık embriyolarının özellikle erken gelişim aşamalarında (tek hücreli veya blastula aşaması) elektrik alanlarına karşı yüksek hassasiyet gösterdiğini rapor etmiştir. Uygulanan voltaj gradyanı ($0,4 \pm 0,11$ V/cm), Dwyer ve ark. (1993) ile Nutile ve ark. (2012) gibi daha önceki çalışmalarda kullanılan ($1,0$ V/cm) değerlerle karşılaştırıldığında göreceli olarak düşüktür. Ancak, tüm deneysel gruplarda fertilizasyon ve yumurtadan larva çıkış oranları arasında anlamlı fark gözlenmemiştir ($P > 0,05$). Bu sonuç, Dwyer ve ark. (1993) tarafından bildirilen, Salmonidlerin embriyonik gelişimin erken evrelerinde düşük elektrik maruziyetinin ($0,9$ – $1,0$ V/cm) hayatta kalma oranı üzerinde etkisi

olmadığı bulguları ile uyumlu olduğunu göstermektedir. Buna karşın; sazangiller, chinook somonu (*Oncorhynchus tshawytscha*) ve gökkuşağı alabalığı yumurtalarında erken aşamalarda elektriksel maruziyet sonrası hayatta kalma ve yumurtadan çıkış oranlarında önemli azalmalar rapor edilmiştir (Cho ve ark., 2002; Bohl ve ark., 2010; Nutile ve ark., 2012). Ayrıca, daha düşük voltaj gradyanlarının daha az zararlı olmasına rağmen, hassas gelişim aşamalarında embriyolara uygulandığında hayatta kalma oranında belirgin azalmalara neden olabileceği tespit edilmiştir (Muth ve Ruppert, 1997). Bu durum, nispeten düşük voltaj gradyanlarının bile kritik gelişim aşamalarında embriyo gelişimi üzerinde olumsuz etkiler yapabileceğini göstermektedir. Döllenmeden 20 dakika sonra elektrik alanına maruz kalan deneysel grup (E1), 30 dakika (E2) ve 40 dakika (E3) gruplarına kıyasla en yüksek fertilizasyon ve yumurtadan larva çıkış oranlarını göstermiştir; bu da balık embriyolarının elektrik akımının etkilerine erken gelişim aşamalarında daha hassas olduğunu düşündürmektedir. Benzer sonuçlar, Roach (1999) tarafından Arktik alabalığı (*Thymallus arcticus*) üzerinde yapılan çalışmada, embriyo ölüm oranının embriyolar erken gelişim aşamalarını geçtikçe azaldığı şeklinde rapor edilmiştir. Önceki çalışmalarda, elektrik şokunun embriyo gelişimi üzerinde olası olumsuz etkileri; larva çıkış süresinde gecikme, yavaş büyüme ve balık larvalarında morfolojik anomalilerin gelişimi şeklinde açıklanmıştır (Keefe ve Whitesel, 2000; Cho ve ark., 2002). Bu olumsuz etkiler, larva ve genç balıkların uzun dönem hayatta kalma oranlarını ve sağlık durumunu etkileyebilmektedir.

Teleost balıklarda koryon yüksek derecede geçirgendir, bu nedenle ortamın tuzluluğundaki değişiklikler perivitellin sıvısının bileşimini hızla etkiler ve embriyonik dokular üzerinde doğrudan osmotik değişikliklere yol açmaktadır (Holliday, 1969). *Oncorhynchus keta*'da, döllenme sırasında %4,1–8,3 üzerindeki tuzluluk değerleri yumurtadan çıkış oranını düşürmekte ve -erken larva çıkışı nedeniyle- yumurtadan larva çıkışı aşamasında hayatta kalma oranı etkilenmektedir (Ban ve ark., 2022). Gökkuşağı alabalığı yumurtaları sınırlı bir osmotik kapasiteye sahiptir; çünkü perivitellin sıvısının osmotik basıncı ile Na^+ ve K^+ konsantrasyonları ortamın tuzluluğuna bağlı olarak önemli ölçüde değişmektedir (Shen ve Leatherland, 1978). Elektrik şokunun uygulanması, suyun iyon konsantrasyonunu değiştirerek gökkuşağı alabalığının sperm hücrelerinin kinematik parametreleri ve motilite süresini de etkilemiştir (Ekici ve ark., 2024). Ancak bu çalışmada, önceden döllenmiş gökkuşağı alabalığı yumurtaları kullanılmıştır.

Tuzluluk, suyun iletkenliğini etkileyerek elektriksel alanların davranışını ve embriyolar üzerindeki etkisini değiştirebilmektedir (Muth ve Ruppert, 1997). Tuzluluğun elektrik şok altındaki embriyo gelişimini düzenleyici etkisi, suyun iyonik bileşimindeki değişikliklerden kaynaklanabilir; bu da elektrik iletkenliğini azaltarak embriyolardaki olumsuz etkilerin bir kısmını hafifletebilmektedir. Bu sonuçlar, elektroşok ve elektrobaklıklık uygulamalarının etkilerini incelerken tuzluluk gibi çevresel değişkenlerin dikkate alınmasının önemini vurgulamaktadır.

Manyetoresepsiyon duyusu balık türleri arasında farklılık göstermektedir. Elektromanyetik alanlara maruz kalmak, Foroozandeh ve ark. (2018) tarafından bildirildiği üzere, kalp atış hızında artışa ve melatonin seviyelerinde azalmaya yol açarak üreme sürecini olumsuz etkileyebilmektedir. Ayrıca; elektriksel, manyetik ve elektromanyetik alanlara maruz kalan izole mikroorganizmalar, hücre aktivitesinde artış göstererek biyokütle büyüme hızı ve metabolik kinetik üzerinde etkili olmaktadır (Beretta ve ark., 2019).

Çalışmada; 12V'luk elektrik akımına 10 dakika maruz bırakılan ve 5 ppt tuzluluğa sahip gruplarla tuz içermeyen grupları gerçekleştiren su iyonu değişimleri analiz edilmiş ve pozitif ile negatif kontrol gruplarıyla karşılaştırılmıştır. Eddy ve Talbot (1985) çalışmalarına benzer şekilde, elde ettiğimiz veriler, özellikle Na^+ ve K^+ iyonları için, koryon zararının elektriksel maruziyet sonucu oluşan iyon bozukluklarını hafiflettiğini göstermektedir. 5 ppt gruplarında gözlemlenen negatif Na^+ değerleri, Salmonid yumurtalarında daha önce belgelenmiş olan aktif iyon alım mekanizmasına işaret etmektedir. İyon konsantrasyonlarının stabil kalmasına rağmen, tüm gruplarda yumurtadan larva çıkış oranları düşük seviyede ($\sim\%30$) seyretmiştir. İyon regülasyonu gerekli olmakla birlikte başarılı larva çıkış oranı için yeterli değildir; oksijen ve sıcaklık gibi diğer faktörler baskın rol oynamaktadır. Thomsen ve ark. (1988), gökkuşağı alabalığı yumurtalarında 1 mg/L Ca^+ konsantrasyonunun yaşama oranını etkilediğini ve çıkış süresini uzattığını bildirmiştir. Bizim çalışmamızda, Ca^+ iyon konsantrasyonları 5 ppt tuzluluk içeren gruplarda anlamlı olarak daha yüksektir ($P < 0,05$). Ancak değerler 31,78 ile 69,16 mg/L arasında değişmiştir. Ölçülen tüm B^+ konsantrasyonları ($\leq 0,49$ mg/L), balık embriyoları için belirlenen 5 mg/L toksisite seviyesinin altında kalmış ve bu da doğrudan gelişim üzerine minimal bir etki olduğunu düşündürmektedir (Howe, 1998). Deney grupları arasında Cu^{2+} iyonu açısından önemli bir farklılık gözlemlenmemiştir. Zebra balığı (*Danio rerio*) yumurtalarında 3,9 μM Cu^{2+} dozunun embriyonik hareketliliği baskılayarak çıkışın inhibe

edilmesine neden olduğu bildirilmiştir (Zhang ve ark., 2018); bu dozlar, bu çalışmada kullanılan deney gruplarında gözlenen Cu^{2+} konsantrasyonlarından (0,0207 – 0,0209 mg/L) oldukça yüksektir.

Elektrik şokları uygulanarak triploidi indüksiyonu; coho somonu (Teskeredžić ve ark., 1993a), cutthroat alabalığı ve gökkuşağı alabalığı (Wagner, 1996), kırmızı hibrid tilapia (Hassan ve ark., 2018) ve Afrika yayın balığı (Okomoda ve ark., 2020a) gibi çeşitli balık türlerinde başarıyla gerçekleştirilmiştir. Bu tez çalışmasında; uygulanan elektrik şokunun balıkların ploidi seviyesinde bir değişiklik oluşturup oluşturmadığının anlaşılması amacıyla eritrosit özellikleri incelenmiş ve tamamı diploid dişilerden oluşan bir popülasyon üretmek istenmiştir. Triploid uygulamasının, genomik içeriğin orantılı artışı nedeniyle hücresel ve nükleer boyutlarda artışa yol açtığı iyi bilinmektedir (Benfey ve ark., 1984). Kırmızı hibrid tilapiada (Hassan ve ark., 2018), eritrositlerin en yüksek oranla sahip olduğu parametrenin hücre major eksen olduğu tespit edilmiştir. Deneysel grupların CMaA değerleri, bu çalışmada diploid bireylerin temsilcisi olarak kabul edilen kontrol grubunda gözlemlenen aralık içerisinde yer almaktadır. Benfey ve ark. (1984), diploid ve triploid bireyleri ayırt etmek için temel parametre olarak yalnızca eritrosit nukleusunun major ekseninin ölçülmesinin yeterli olacağını önermiştir. Kim ve ark. (2017) ise gökkuşağı alabalığında nükleer major eksen uzunluğunun diploid ve triploid örnekler arasında farklılık gösterdiğini gözlemlemiştir. Bu çalışmada, nükleer major eksen (NMaA) gruplar arasında anlamlı farklılıklar göstermiş olmasına rağmen, değerler diploid bireylere ait beklenen aralıklarla uyumlu olduğunu gösterilmiştir. Diploid kabul edilen kontrol grubu ile deneysel gruplar arasında fark bulunmamıştır; ayrıca tüm grupların CNAr değerleri de diploid bireyler için beklenen aralıkta yer almıştır. Ayrıca, gökkuşağı alabalığında triploid bireyler doğal olarak diploid bireylerle birlikte var olabilmektedir (Pierrez ve Ronot, 1991). Triploid gökkuşağı alabalığının eritrosit major eksen uzunluğu, diploidlerin 1,33 katı olarak rapor edilmiştir (Alonso ve ark., 2000). Bu çalışmada, E3-0 grubunun en düşük, E2-1 grubunun ise en yüksek değere sahip olduğu ve bu oranların 1,10 kat olduğu belirlenmiştir. Benfey ve ark. (1984), *Salmo salar*'da triploidi eritrosit hacmi temelinde tespit etmiş ve diploid bireylere göre 1,31 kat fark bildirmiştir. Bu çalışmada ise E2-0 grubu en düşük eritrosit hacmine, E2-5 grubu ise en yüksek eritrosit hacmine sahip olup, hacim farkı 1,17 kat olarak bulunmuştur. Ancak, bu değerler diploid ve triploid bireylerin ayırt edilmesi için uygun bulunmamıştır.

Elektriksel alanların büyüme performansı üzerindeki etkileri çeşitli balık türlerinde incelenmiş olup, sonuçlar tür ve deneysel koşullara bağlı olarak değişkenlik göstermektedir. Snyder (2003), balıklara uygulanan elektriksel alanların büyüme performansını potansiyel olarak etkileyebileceğini belirtmiştir. Bu çalışmada, döllenmeden farklı zamanlarda 12V elektrik akımına 10 dakika maruz bırakılan gökkuşağı alabalığında büyüme parametreleri analiz edilmiştir. Elde edilen sonuçlar, Oberlercher ve Wanzenböck'ün (2016) beyaz balıkta (*Coregonus lavaretus*) yaptığı çalışma ile uyumludur; elektriksel maruziyet cinsiyet farklılaşmasına kadar yumurta hayatta kalma oranını ve büyümeyi etkilememiştir ve bizim çalışmamızda da başlangıç ağırlıkları açısından gruplar arasında önemli fark gözlenmemiştir ($P > 0,05$). Ancak, elektrik şokunun büyüme performansı üzerindeki etkisi, son ağırlık ve toplam ağırlık artışı analiz edildiğinde bulunmuştur. En yüksek son ağırlık, E2-0 grubunda ($39,7 \pm 0,09$ g) elde edilmiş ve bu değer çoğu diğer gruplardan önemli derecede yüksek bulunmuştur. Bu durum, elektrik şokunun uygulama zamanlaması ile E2-0 grubunda tuzluluğun (0 ppt) olmamasının daha iyi büyüme performansına yol açtığını göstermekte olup, çalışmamızda gözlemlenen belirli koşulların balık büyümesini optimize edebileceği fikrini desteklemektedir. Ayrıca, kırmızı hibrid tilapiada döllenmiş yumurtalara uygulanan elektrik şokunun ardından triploid bireylerin daha iyi büyüme performansı sergilediği tespit edilmiştir (Okomoda ve ark., 2020). Buna karşılık, Karayücel ve ark. (2018) ise tamamen dişi diploid gökkuşağı alabalıklarının, tamamen dişi triploid bireylere kıyasla daha iyi büyüme gösterdiğini rapor etmiştir. Bu bulgular, elektriksel alanların balık büyüme performansı üzerindeki etkilerinin karmaşıklığını ortaya koymakta olup, sonuçların tür, ploidi durumu, tuzluluk koşulları ve elektriksel maruziyetin uygulandığı gelişim ortamı gibi faktörlere bağlı olarak değiştiğini göstermektedir.

Balıklarda triploid indüksiyonu, özellikle döllenmiş yumurtalara uygulanan elektrik şoku yoluyla, gelişimlerinin çeşitli yönlerini, bunlar arasında cinsiyet oranını da etkilediği gösterilmiştir. Zebra balığında, triploidi geç-aşamalı oosit gelişimini engelleyerek tamamen erkek popülasyonların oluşumuyla ilişkilendirilmiştir (Delomas ve Dabrowski, 2018). Benzer şekilde, gökkuşağı alabalığı üzerinde yapılan çalışmalarda geç döllenmenin erkek lehine artan bir cinsiyet oranına yol açtığı bildirilmiştir (Huxley, 1923). Ancak, bu çalışmada, elektrik şoku uygulamasından sonra hiçbir deney grubunda triploid bireylerin üretildiğine dair bir kanıt bulunmamıştır. Bu sonuç, deneysel gruplarda triploidizasyonun gerçekleşmediğini gösteren önceki çalışmaların bulgularıyla uyumludur.

Ayrıca, deneysel gruplarımız arasındaki cinsiyet oranları arasında önemli bir fark gözlenmemiş olmasına rağmen ($P > 0,05$), döllenme dahil olmak üzere gelişimin farklı aşamalarında uygulanan mekanik şokların cinsiyet belirlenmesi üzerinde etkileri olabileceği bulgularımızla desteklenmektedir. Bu bulgular, balıklarda cinsiyet oranı manipülasyonuna yönelik çeşitli uygulamaların etkilerini inceleyen önceki çalışmalarla uyumlu olduğunu göstermektedir. Örnek olarak, Okomoda ve ark. (2020a), kırmızı hibrid tilapiada (*Oreochromis mossambicus* × *O. niloticus*) 12V elektrik şokunun 10 dakika süreyle uygulanmasının, normal cinsiyet oranından %20'ye kadar değişerek %70 erkek popülasyonu oluşturduğunu göstermiştir; bu parametreler çalışmamızda da kullanılmıştır. Bu benzerlik, elektrik şokunun, en azından belirli koşullar altında, cinsiyet oranını manipüle etmek için potansiyel bir araç olduğunu desteklemektedir.

Buna ek olarak, Magerhans ve Hörstgen-Schwark (2010) tarafından yapılan çalışmalar, erken gelişim aşamalarında uygulanan sıcak şokunun balık popülasyonlarındaki dişi oranını etkileyebileceğini göstermiştir. Yöntemler farklılık göstermesine rağmen, sonuçlar erken gelişim dönemlerindeki çevresel faktörlerin, sıcaklık ya da elektrik şoku dahil olmak üzere, cinsiyet belirlenme mekanizmaları üzerinde etkili olabileceğini açıklanmıştır.

Salmonidlerde interseks durumları, hormonal uygulamalar (Depiereux ve ark., 2014), doğal oluşumlar (Kinnison ve ark., 2000) ve triploidi indüksiyonu (Kuciński ve ark., 2025) gibi çeşitli bağlamlarda rapor edilmiştir. İnterseks genellikle hem erkek hem de dişi gonadal özellikler sergileyen veya üreme özelliklerinin her ikisini de gösteren bireyleri ifade eder ve bu durum gonad olgunlaşması sırasında seksüel farklılaşmayı etkileyebilmektedir. Bu çalışmada, döllenmiş yumurtalara döllenmeden sonra farklı zamanlarda 12V elektrik şoku uygulanarak olgunlaşma koşulları altında interseks durumların indüklenip indüklenemeyeceği araştırılmıştır. Elektrik şoku uygulaması, 10 dakika süreyle gerçekleştirilmiş ve döllenmiş yumurtalar farklı zamanlarda elektrik şokuna maruz bırakılmıştır. Elektrik şoklarının hücresel süreçleri bozma potansiyeli nedeni ile gonadal gelişimde anormalliklere yol açabileceği ve bunun da interseks durumlara yol açabileceği hipotezi öne sürülmüştür (Kuciński ve ark., 2025). Ancak, bu çalışmada gerçekleştirilen histolojik analizler hem erkek hem de dişi balıklarda normal gonadal yapıları göstermiş ve hiçbir deney grubunda interseks durumuna dair bir bulguya rastlanmamıştır. Bu bulgular, şok uygulama zamanlarına bağlı olarak tutarlı bulunmuştur.

Bu tez çalışmasında ayrıca yukarıdaki analizlere ek olarak, elektrik şokunun gökkuşağı alabalığı kas ve karaciğer dokusunun yağ asidi bileşimi üzerindeki etkilerini eritrosit ölçümleriyle triploidi indüksiyonunun olmadığı doğrulanarak incelenmiştir. Uygulanan elektrik şoku ploidi durumunu değiştirmemiştir; ancak özellikle kas dokusunda yağ asidi profillerinde önemli farklılıklar tespit edilmiştir. Bu bulgular, ploidi durumuna bağlı yağ asidi profili farklılıklarının gökkuşağı alabalığında (Bao ve ark., 2023) ve sazan balığı (Cai ve ark., 2021) üzerindeki önceki çalışmalarda da belirlenmiştir.

Farklı balık türlerinde kas kalitesi açısından yapılan çalışmalar değerlendirildiğinde cinsiyete bağlı birçok farklılık bulunduğu tespit edilmiştir. Manor ve ark. (2015), dişi gökkuşağı alabalıklarının erkeklerle kıyasla daha sıkı ve kolay ayrılabilen fileto ürettiğini, ayrıca filetolarında daha yüksek PUFA içeriği bulunduğunu bildirmiştir. Öte yandan, tilapia (*Oreochromis niloticus*) erkekleri daha hızlı büyüme göstermekte ve kas dokusunda daha fazla yağ asidi içermektedir (Sayouh ve ark., 2024). Cinsiyete bağlı et kalitesi farklılıklarına bir diğer örnek ise geniş ağızlı levrek balığında (*Micropterus salmoides*) görülmektedir; erkeklerin kaslarında daha yüksek düzeyde yağ asitleri ve esansiyel aminoasitler bulunmakta, ayrıca daha iyi kolajen lif yapısı sayesinde daha iyi çiğnenebilirlik ve lezzet sunmaktadır (Wang ve ark., 2024).

Kas dokusunda, elektrik şok uygulamaları kontrol grubuna kıyasla kaprik asit (C10:0), linoleik asit (C18:2) ve linolenik asit (C18:3) seviyelerinin artmasına yol açarken, stearik asit (C18:0) E2 grubunda azalmıştır. Özellikle, nervonik asit (C24:1) ve eikosapentaenoik asit (EPA, C20:5) sırasıyla E2 ve E1 şok gruplarında daha yüksek bulunmuştur. Ancak, Bao ve ark. (2023) çalışmasındaki triploid balıklardan farklı olarak, tekli doymamış yağ asitleri (MUFA) veya çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA) toplamalarında ve DHA (C22:6) ile palmitoleik asit (C16:1) gibi bazı yağ asitlerinde önemli farklılıklar gözlenmemiştir. Bu durum, çalışmadaki yağ asidi değişikliklerinin ploidi ile ilişkili varyasyonlardan ziyade, stres kaynaklı metabolik bozukluklarla daha fazla ilişkili olduğunu göstermektedir.

Triploid balıklar genellikle daha yüksek MUFA ve PUFA içeriği sergilemektedir (Bao ve ark., 2023); ancak, bizim deney gruplarımızda anlamlı bir fark gözlenmemiştir ($P > 0,05$). Triploid gökkuşağı alabalıklarında C16:1n-7, C18:1n-9 ve EPA düzeylerinin arttığı bildirilmiştir; ancak bu farklılıklar bizim deney gruplarımızda görülmemiştir. Benzer şekilde, Cai ve ark. (2021),

triploid sazan balıklarında EPA ve DHA gibi n-3 PUFA'ların daha yüksek olduğunu rapor etmişlerdir; fakat çalışmamızda benzer sonuçlar tespit edilememiştir.

Bu çalışmada hem erkek hem de dişi gökkuşağı alabalığı karaciğerlerinde baskın olan palmitik asit (C16:0) ve oleik asit (C18:1) sırası ile baskın SFA ve MUFA olarak tespit edilmiştir. Öte yandan Akpınar ve ark. (2009) stearik asit (C18:0) dişilerinin erkeklerden daha yüksek stearik asit seviyelerine sahip olduğunu belirtmiştir. Ancak, elde edilen sonuçlarda önemli bir fark bulunmamıştır ($P > 0,05$). Bu durumda, elektrik şokuna maruz kalmanın karaciğer dokusundaki bu yağ asid profillerinin oranlarını etkileyebileceğini düşündürmektedir. Satué ve López (1996), gökkuşağı alabalığı karaciğerinin yağ asidi bileşiminde cinsiyete göre farklılıklar bulunmuştur; erkeklerde daha yüksek seviyelerde linoleik asit (C18:2 n-6) ve araşidonik asit (C20:4 n-6) bulunurken, dişilerde dokosaheksaenoik asit (C22:6 n-3) ve eikosapentaenoik asit (C20:5 n-3) konsantrasyonlarının daha yüksek olduğu rapor edilmiştir. Benzer şekilde Johnston ve ark. (2020), dişi walleye balığının (*Sander vitreus*) erkeklerle kıyasla daha yüksek seviyelerde araşidonik asit ve n-3 çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA) içerdiğini bulmuştur. Uysal ve ark. (2006), sudak balığının (*Sander lucioperca*) karaciğerindeki yağ asidi kompozisyonunun mevsimsel değişikliklerden ve gonad olgunlaşmasından etkilendiğini, gonad gelişimi sırasında n-3 PUFA'larda artış olduğunu göstermiştir. Atlantik somonundaki n-3/n-6 PUFA oranındaki artışın, insan sağlığına faydalı olan n-3 yağ asitlerinin kullanılabilirliğini artırdığını belirtmektedir (Bell ve ark., 2002). Thanuthong ve ark. (2011), gökkuşağı alabalığında diyetle verilen n-3/n-6 oranının artırılmasının filetodaki n-3 LC-PUFA birikimini yükselttiğini göstermiş ve biyosentetik yolun substratla sınırlı olduğunu, desatüraz enzimlerinin n-3 substratlarını n-6'ya tercih ettiğini doğrulamıştır. Bu çalışmada 12V elektrik şokuna maruz bırakılan gökkuşağı alabalığının kas, karaciğer dokusu ile dişi ve erkek gruplarında ölçülen n-3/n-6 oranı sonuçları, tüm deneysel gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemiştir. Bu fark, diyet değişikliklerinin lipid profili üzerinde doğrudan ve güçlü bir etkisidir.

Bu çalışma, gökkuşağı alabalığı embriyolarında döllenme sonrası farklı zamanlarda 12V elektrik akımına ($0,4 \pm 0,11$ V/cm) 10 dakika süre ile maruz kalmanın döllenme ve yumurtadan çıkış oranları üzerinde negatif bir etkisinin olmadığını göstermiştir. Düşük voltaj gradyanına (12V) rağmen, elektrik şoku yine de önemli gelişimsel etkiler oluşturmuştur; bu durum, embriyoların erken gelişim aşamalarında duyarlılıklarının var olduğunu göstermektedir. Eritrosit

özellikleri diploid bireyler ile tutarlı kaldığından triploidi indüksiyonu doğrulanmamıştır. Ancak 12V elektrik şoku büyüme performansını etkilemiş ve ploidi kaynaklı etkilerden ziyade metabolik strese bağlı olabilecek spesifik yağ asidi profillerinde farklılıklar göstermiştir. Ayrıca; büyüme, cinsiyet manipülasyon oranı ve elektriksel maruziyet altındaki metabolik tepkilere yönelik uzun vadeli çalışmalar, balık yetiştiriciliğinde kısır bireylerin eldesi veya cinsiyet kontrolü gibi uygulamalardaki pratik yararının değerlendirilmesine katkı sağlayacaktır. Elektriksel stres altında yağ asidi metabolizmasına yönelik ileri çalışmalar, balık sağlığı ve ürün kalitesi üzerindeki etkilerine dair önemli bilgiler sağlayarak sürdürülebilir su ürünleri yetiştiriciliği uygulamalarını destekleyebilmektedir. İleri araştırmalarda, su ürünleri yetiştiriciliğindeki etkileşimleri ve olası uygulamaları daha iyi anlayabilmek için 12V elektrik şokunun sıcaklık, oksijen düzeyi veya tuzluluk gibi diğer çevresel faktörler ile birlikte etkileşimlerinin incelenmesi gerekliliğini ortaya çıkarmıştır. Bu tür çalışmalar, özellikle hormon kullanımına gerek kalmadan monoseks popülasyonların elde edilmesine yönelik alternatif uygulamalar geliştirilmesi açısından önem taşımaktadır. Monoseks üretim, büyüme performansı ve ürün kalitesinin artırılmasıyla birlikte, üreme kontrolü ve biyogüvenlik açısından da su ürünleri yetiştiriciliğinde büyük avantajlar sağlamaktadır. Ayrıca bu çalışmada kullanılan elektrik şoku yöntemi, basit ekipmanlarla uygulanabilmesi sayesinde her türlü üretim ölçeğindeki ticari balık çiftliklerinde kolaylıkla tekrarlanabilir ve yaygınlaştırılabilir niteliktedir.

KAYNAKLAR

- Akpınar, M. A., Gorgun, S., and Akpınar, A. E., 2009, A comparative analysis of the fatty acid profiles in the liver and muscles of male and female *Salmo trutta macrostigma*, *Food Chemistry*, 112 (1), 6–8.
- Alavi, S.M.H. and Cosson, J., 2005, Sperm motility in fishes. I. Effects of temperature and pH: a review, *Cell Biology International*, 29, 101-110.
- Alonso, M., Tabata, Y.A., Rigolino, M.G. and Tsukamoto, R.Y., 2000, Effect of induced triploidy on fin regeneration of juvenile rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, *Journal of Experimental Zoology*, 287, 493-502.
- AOAC, 1990, Official methods of analysis (15TH ed.). Washington, DC, USA: Association of Official Analytical Chemists Inc.
- Arslan T., Guven E., Ortucu S., and Baltacı M.A., 2010, Hormonol cinsiyet dönüşüm metodu kullanarak monoseks gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) üretimi, *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 16 (1), S361-S368.
- Arslan, T., Erdoğan, F., and Erdoğan, M., 2012, Fonksiyonel erkekleştirilmiş gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) üretimi, *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 18 (2).
- Akaylı, T., Çanak, Ö., and Ürkü Atanasov, Ç., 2024, *The old and novel techniques for diagnosis of fish diseases*. In: Present-day Turkish aquaculture and trends in international research, İstanbul: Istanbul University Press, (pp.485-517).
- Ban, M., Itou, H., Nakashima, A., Sada, I., Toda, S., Kagaya, M., and Hirama, Y., 2022, The effects of temperature and salinity of hatchery water on early development of chum salmon (*Oncorhynchus keta*), *Aquaculture*, 549, 737738.
- Bancroft, J.D. and Stevens, A., 1977, *Theory and Practice of Histological Techniques*, Churchill – Livingstone, Edinburgh.
- Bao, S., Zhuo, L., Qi, D., Tian, H., Wang, D., Zhu, B., Meng, Y. and Ma, R., 2023, Comparative study on the fillet nutritional quality of diploid and triploid rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), *Aquaculture Reports*, 28, 101431.
- Bell, J. G., Henderson, J. Tocher, D. R., Mcghee, F. Dick, J. Porter, A. Smullen, R. Y. and Sargent, J. R., 2002, Substituting fish oil with crude palm oil in the diet of Atlantic salmon (*Salmo salar*) affects muscle fatty acid composition and hepatic fatty acid metabolism, *Journal of Nutrition*, 132, 222-230.
- Benfey, T.J., Sutterlin, A.M. and Thompson, R.J., 1984, Use of erythrocyte measurements to identify triploid salmonids, *Canadian Journal Fisheries and Aquatic Science*, 41: 980–984.

- Beretta, G., Mastorgio, A.F., Pedrali, L. et al., 2019, The effects of electric, magnetic and electromagnetic fields on microorganisms in the perspective of bioremediation, *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 18, 29–75.
- Billard, R., 1992, Reproduction in rainbow trout: Sex differentiation, dynamics of gametogenesis, biology and preservation of gametes, *Aquaculture*, 100, 263–298
- Billard, R. and Jensen, J.O.T., 1996, *Gamete removal, fertilization and incubation*, In: Pennell, W. and Barton, B.A. (eds.), *Developments in Aquaculture and Fisheries Science*, 29: *Principles of Salmonid Culture*, Elsevier, Amsterdam, 291-363.
- Blaxhall, P.C. and Daisley, K.W., 1973, Routine haematological methods for use with fish blood, *Journal of Fish Biology*, 5, 771-781.
- Bohl, R.J., Henry, T.B. and Strange, R.J., 2010, Electroshock-induced mortality in freshwater fish embryos increases with embryo diameter: a model based on results from 10 species, *Journal of Fish Biology*, 76, 975-986.
- Budd, A.M., Banh, Q.Q., Domingos, J.A. and Jerry, D.R., 2015, Sex control in fish: Approaches, challenges and opportunities for aquaculture, *Journal of Marine Science and Engineering*, 3, 329-355.
- Cadorel, J.P., 1992, Electric field-induced polyploidy in mollusc embryos, *Aquaculture*, 106, 127-139.
- Cai, L., Tong, F., Tang, T., Ao, Z., Wei, Z., Yang, F., Shu, Y., Liu, S. and Mai, K., 2021, Comparative evaluation of nutritional value and flavor quality of muscle in triploid and diploid common carp: application of genetic improvement in fish quality, *Aquaculture*, 541, 736780.
- Carrillo, M., 2001, Manipulación cromosómica aplicada a la piscicultura, *Instituto Nacional de Pesca y Acuicultura*.
- Cho, G.K., Heath, J.W. and Heath, D.D., 2002, Electroshocking influences chinook salmon egg survival and juvenile physiology and immunology, *Transactions of the American Fisheries Society*, 131(2), 224–233.
- Chourrout, D., 1987, Genetic manipulations in fish review of methods. *Proc. World Symp. Selection, Hybridization and Genetic Engineering in Aquaculture*, Bordeaux 27-30 May, 1986. Vol II. Berlin. p. 111-125.
- Cosson, J. (2019). *Fish sperm physiology: Structure, factors regulating motility, and motility evaluation*. In: Y. Bozkurt (Ed.), *Biological research in aquatic science* (Chap. 2). IntechOpen.
- Cremer, T. and Cremer, C., 1988, Centennial of Wilhelm Waldeyer's. Introduction of the term "chromosome" in 1888, *Cytogenetics and Cell Genetics*, 48(2), 66-67.
- Culling, F.A., 1963, *Handbook of histopathological techniques*, second edition, London, 553 pp.

- Çek, Ş., Turan, F. and Atik, E., 2007, Masculinization of convict cichlid (*Cichlasoma nigrofasciatum*) by immersion in *Tribulus terrestris* extract. *Aquaculture International*, 15(2), 109-119.
- De Silva, S.S. and Anderson, T.A., 1995, '*Fish Nutrition in Aquaculture*', Chapman and Hall, London, pp:319
- Delomas, T.A., Dabrowski, K., 2018, Why are triploid zebrafish all male?, *Molecular Reproduction and Development*, 85(7), 612–621.
- Denton, T.E., 1973, *Fish chromosome methodology*, Library of Congress Cataloging in Publication Data
- Depiereux, S., Liagre, M., Danis, L., De Meulder, B., Depiereux, E., et al., 2014, Intersex occurrence in rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) male fry chronically exposed to ethynylestradiol. *PLOS One*, 9(7), e98531.
- Doğan, K., and Çanak, Ö., 2024, *Impact of Turkish aquaculture sector on economic development*. In: Present-day Turkish aquaculture and trends in international research, Istanbul: Istanbul University Press, pp. 521–555.
- Donaldson, E.M. and Hunter G.A., 1982, "Sex control in fish with particular reference to salmonids." *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 39, 99-110.
- Dwyer, W.P., Fredenburg, W.A., Erdahl, D.A., 1993, Influence of electroshock and mechanical shock on survival of trout eggs, *North American Journal of Fisheries Management*, 13, 839-843.
- Eddy, F.B. and Talbot, C., 1985, Sodium balance in eggs and dechorionated embryos of the Atlantic salmon, *Salmo salar* L. exposed to zinc, aluminium and acid waters, *Comparative Biochemistry & Physiology Part C*, 81, 259–266.
- Ekici, A., Hassan Ahmed, M.A., Keskin, İ., Özkorucuklu, S., 2024, Effect of water exposed to electric current on gamete quality of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and water parameters, *Israeli Journal of Aquaculture – Bamidgah*, 76, 42–55.
- Erickson, D.L., Hightower, J.E. and Grossman, G.D., 1985, The relative gonadal index: an alternative for quantification of reproductive condition, *Comparative Biochemistry and Physiology Part A*, 81, 117–120.
- FAO, 2009, *Oncorhynchus mykiss*. In: Cultured aquatic species fact sheets. Text by Cowx, I. G. Edited and compiled by Valerio Crespi and Michael New. CD-ROM (multilingual).
- FAO, 2014, Manual práctico para el cultivo de la trucha arco iris. Guatemala.
- FAO, 2022, Aquaculture market in the Black Sea: country profiles, *General Fisheries Commission for the Mediterranean*. Rome.
- FAO, 2023, Top 10 species groups in global aquaculture 2021, *World Aquaculture Performance Indicators (WAPI) factsheets*.

- FAO, 2024, *Oncorhynchus mykiss*, Su Ürünleri Tür Bilgi Programı. Metin: Cowx, I. G., *Balıkçılık ve Su Ürünleri Bölümü* [çevrimiçi]. Roma. [Alıntı tarihi: 6 Şubat 2024 Salı].
- FONDEPES, 2022, Manual para una acuicultura sostenible cultivo de trucha. *Sistema Nacional de Acuicultura*. Editado por Ministerio de la Producción.
- Foroozandeh, E. and Derakhshan-Barjoei, P., 2018, Fish behaviors in electromagnetic fields, *Journal of Molecular Biomarkers & Diagnosis*, 9, 377
- Froese, R. and Pauly D., Editors. 2023, FishBase. World Wide Web electronic publication. www.fishbase.org, (10/2023)
- Galbreath, P.F., St Jean, W., Anderson, V. and Thorgaard, G.H., 1994, Freshwater performance of all female diploid and triploid Atlantic salmon, *Aquaculture* 128, 41–49.
- Glomset, J.A., ,1985, Fish, fatty acids, and human health, *The New England journal of medicine*, 312(19), 1253–1254.
- Gómez, A., 1995, Desarrollo gonadal y sexualidad de peces teleosteos, *Saber* 1995, 7, 7–17.
- Güzel, S., Yörük, M., Gullu, K. and Karaca T., 2008, Effects of oral administration of estradiol valerate on gonadal sex differentiation in the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 7(11), 1400-1404.
- Hamamah, S. and Gatti, J.L., 1998, Role of the ionic environment and internal pH on sperm activity, *Human Reproduction*, 13(4), 20-30.
- Hardy, R.W., 2002, *Rainbow trout, Oncorhynchus mykiss*. In: Webster CD, Lim CE (eds) Nutrient requirements and feeding of finfish for aquaculture, CABI Publishing, Wallingford, pp 184–202
- Hartley, S.E., 1987, The chromosomes of salmonid fishes, *Biological Reviews* 62:197–214
- Hassan, A., Okomoda, V.T. and Pradeep, P.J., 2018, Triploidy induction by electric shock in Red hybrid Tilapia, *Aquaculture*. 495, 823–830.
- Herman, R.L. and Kincaid, H.L., 1988, Pathological effects of orally administered estradiol to rainbow trout, *Aquaculture*, 72, 165–172.
- Higgs, J.Y. and Dong, F., 2000, *Lipids and fatty acids*, In: R.R. Stickney (Ed.), The Encyclopedia of Aquaculture, John Wiley and Sons, New York, USA: 476–496
- Hoar, W.S., 1969, *Reproduction*. In: Hoar, W.S., Randall, D.J. (Eds.), *Fish Physiology*, vol. 3. Academic Press, New York, pp. 1- 72.
- Hoga, C.A., Almeida, F.L. and Reyes, F.G.R., 2018, A review on the use of hormones in fish farming: Analytical methods to determine their residues, *CyTA-Journal of Food*, 16(1), 679–691.
- Holliday, F. G. T., 1969, *The effects of salinity on the eggs and larvae of teleosts*. In: W. S. Hoar & D. J. Randall (Eds.), *Fish physiology*, 1, 293–311.

- Howe, P.D., 1998, A review of boron effects in the environment, *Biological Trace Element Research*, 66(1-3), 153–166.
- Hsu, G.-S. W., Hsia, C.-W., & Hsu, S.-Y., 2015, Effects of electrode settings on chlorine generation efficiency of electrolyzing seawater, *Journal of Food and Drug Analysis*, 23(4), 729–734.
- Huet, M., 1973, Textbook of Fish Culture: Breeding and Cultivation of Fish, *Fishing News*
- Hunter, G.A., Solar, I.I., Baker, I.J. and Donaldson, E.M., 1986, Feminization of coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) and chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) by immersion of alevins in a solution of estradiol-17 β , *Aquaculture*, 53, 295-302.
- Huxley, J., 1923, Late fertilisation and sex-ratio in trout, *Nature*, 112, 828–829.
- ITIS, 2024, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792). Taxonomic Serial No.: 161989. Retrieved November 23, 2024, from https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=161989
- Johnston, T.A., Wiegand, M.D., Szmadyła, R.L., Porteous, L.R., Casselman, J.M. and Leggett, W.C., 2020, Sex-based differences in fatty acid composition of adult walleye, *Ecology of Freshwater Fish*, 29(4), 654–664.
- Johnstone, R., Simpson, T.H. and Youngson, A.F., 1978, Sex reversal in salmonid culture, *Aquaculture*, 13, 115-134.
- Johnstone, R., Simpson, T.H., Youngson, A.F., and Whitehead, C., 1979, Sex reversal in salmonid culture. Part II. The progeny of sex-reversed rainbow trout, *Aquaculture*, 18, 13-19.
- Johnstone, R. and Stet, R.J.M., 1995, The production of gynogenetic Atlantic salmon, *Salmo salar* L, *Theoretical and Applied Genetics* 90, 819–826.
- Karami, A., Araghi, P.S., Syed, M.A. and Wilson, S.P., 2015, Chromosome preparation in fish: effects of fish species and larval age, *International Aquatic Research*, 7(3), 201–210.
- Karayücel, İ. ve Karayücel, S., 2016, *Balıklarda üreme*, Nobel akademik yayıncılık, Ankara, ISBN: 978-605-320-441-1.
- Karayücel, İ., Parlak Akyüz A. and Dernekbaşı S., 2018, Comparison of growth performance, biochemical and fatty acid compositions between all-female diploid and triploid rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792), *Journal of Applied Ichthyology*. 34, 142–148.
- Keefe, M., Whitesel, T.A. and Angelone P., 2000, Induced mortality and sublethal injuries in embryonic Brook Trout from pulsed DC electroshock-ing, *North American Journal of Fisheries Management*, 20, 320–327.

- Kligerman, A.D. and Bloom, S.E., 1977, Rapid chromosome preparations from solid tissues of fishes, *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*, 34, 266-269.
- Kim, H., Chung, K.H. and Son, J.H., 2017, Comparison of different ploidy detection methods in *Oncorhynchus mykiss*, the rainbow trout, *Fisheries and Aquatic Science*, 20, 29.
- Kinnison, M.T., Unwin, M.J. and Jara, F., 2000, Macroscopic intersexuality in salmonid fishes, *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research*, 34(1), 125–134.
- Kuciński, M., Trzeciak, P., Pirtań, Z., Jóźwiak, W. and Ocalewicz, K., 2025, The phenotype, sex ratio and gonadal development in triploid hybrids of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) ♀ and brook trout (*Salvelinus fontinalis*) ♂, *Animal Reproduction Science*, 272, 107659.
- Kuzminski, H. and Dobosz, S., 2010, Effect of sex reversal in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum) using 17-methyltestosterone and 11- hydroxyandrostenedione, *Archives of Polish Fisheries*, 18, 45– 49.
- Lebrun, C., Billard, R. and Jalabert, B., 1982, Changes in the number of germ cells in the gonads of the rainbow trout (*Salmo gairdneri*) during the first 10 post-hatching weeks, *Reproduction Nutrition Development*, 22(2), 405–412.
- Leitritz, E., 1980, *Trout and Salmon culture*. University of California, 197 pp.
- Lincoln, R.F. and Scott, A.P., 1983, Production of all-female triploid rainbow trout, *Aquaculture*, 30, 375-380.
- Lozano, R., Rejon, C.R. and Ruiz Rejon Y.M., 1987, *Manipulación cromosómica en organismos acuáticos*, In: Espinosa de los Monteros y U. Labarta (Eds.), *Genética en Acuicultura*. Mundi-Prensa, Madrid, España, 215-246 p.
- Lubzens, E., Young, G., Bobe, J., and Cerda, J., 2010, Oogenesis in teleosts: How eggs are formed, *General and Comparative Endocrinology*, 165(3), 367–389.
- MacLatchy, D, 2020, *Reproduction*. In S. Currie & D.H. Evans (Eds.), *The Physiology of Fishes* (5th ed., pp. 117-128). CRC Press.
- Maldonado-Amparo, R., Ibarra, A.M., Ramirez, J.L., Ávila, S., Vazquez, J.E. and Badilla, L.M., 2001, Successful induction of triploidy in pacific red abalone (*Haliotis rufescens*), *Journal of Shellfish Research*. 20(3), 1071-1075.
- Manor, M.L., Cleveland, B.M., Brett Kenney, P. et al., 2015, Differences in growth, fillet quality, and fatty acid metabolism-related gene expression between juvenile male and female rainbow trout, *Fish Physiology and Biochemistry* 41, 533–547.
- Magerhans, A. and Hørstgen-Schwark, G., 2010, Selection experiments to alter the sex ratio in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) by means of temperature treatment, *Aquaculture*, 306, 63–67.

- Masson, L. and Mella, M.A., 1985, Materia grasa de consumo habitual y potencial en Chile: Composición de ácidos grasos, Universidad de Chile, Santiago, Chile. 31p.
- McPhail, J.D. and Jones, R.L., 1966, A simple technique for obtaining chromosomes from teleost fishes, *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*, 23(5), 767.
- Mendoza, C., 2007, Manual del cultivo de truchas (*Oncorhynchus mykiss*) a nivel intensivo.
- MINAM, 2021, Línea de base de la trucha arcoíris con fines de bioseguridad en el Perú. Primera edición, julio de 2021.
- Moore, G.A., 1937, The Germ Cells of the Trout (*Salmo irideus* Gibbons), *Transactions of the American Microscopical Society*, 56(1), 105–112.
- Moore, C.M. and Best R.G., 2001, Chromosome preparation and banding, *Encyclopedia of Life Sciences*.
- Muth, R.T. and Ruppert, J.B., 1997, Effects of electrofishing fields on captive embryos and larvae of razorback sucker, *North American Journal of Fisheries Management*, 17(1), 160–166.
- Nutile, S., Amberg, J.J., Sepúlveda, M.S. and Goforth, R.R., 2012, Effects of multiple electrical field exposures on cyprinid embryo survival, *North American Journal of Fisheries Management*, 32(5), 875–879.
- Oberlercher, T.M. and Wanzenböck, J., 2016, Impact of electric fishing on egg survival of whitefish, *Coregonus lavaretus*. *Fisheries Management and Ecology*, 23, 540-547.
- OECD/FAO, 2024, OECD-FAO Agricultural Outlook 2024-2033, Paris and Rome.
- Okomoda, V.T., Pradeep, J.P., Oladimeji, A.S., Abol-Munafi, A.B., Alabi, K.I., Ikhwanuddin, M., Martins, C., Umaru, J.A. and Hassan, A., 2020a, Effect of electric induced triploidization on sex ratio, growth and gonad histology of red hybrid tilapia, *Aquaculture* 520, 734991.
- Okomoda, V.T., Aminath, L., Oladimeji, S.A., et al., 2020b, First report on successful triploidy induction in *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822) using electroporation, *Scientific Reports* 10, 2425.
- Parsons, J.E. and Thorgaard, G.H., 1984, Induced androgenesis in rainbow trout, *Journal of Experimental Zoology*, 231, 407-412.
- Pérez, C., Penman, D. and Bromage, N., 1999, Parámetros morfométricos de interés comercial en trucha Arcoíris triploide, *Oncorhynchus mykiss*, *AcuaTIC*, 1(2), 1-20.
- Pierrez, J. and Ronot, X., 1991, Use of diploid and triploid trout erythrocytes as internal standards in flow cytometry, *Cytometry*, 12, 275-278.

- Pineda, H., Jaramillo, J., Echeverri, D. and Olivera M., 2004, Triploidía en trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*): posibilidades en Colombia, *Revista Colombiana de Ciencias Pecuaria.*, 17(1), 45-52.
- PRODUCE, 2022, Manual para una acuicultura sostenible Cultivo de Trucha, *Sistema Nacional de Acuicultura*.
- Purdom, C.E., 1983, Genetic engineering by the manipulation of chromosomes, *Aquaculture* 33, 287–300.
- Ricker, W.E., 1979, *Growth rates and models*. In: Hoar, W.S., Randall, D.J. and Brett, J.R., Eds., *Fish Physiology*, III, Bioenergetics and Growth, Academic Press, New York, 677–743.
- Roach, S.M., 1999, Influence of electrofishing on the mortality of arctic grayling eggs, *North American Journal of Fisheries Management*, 19(4), 923–929.
- Satué, M.T. and Lopez, M.C., 1996, Sex-linked differences in fatty acid composition of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) liver oil, *Food Chemistry*, 57(3), 359–363.
- Sayouh, M., Ali, M., Li, Y., Tao, Y.-F., Lu, S.Q., and Qiang, J., 2024, Differences in growth performance and meat quality between male and female juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) during separate rearing, *Animals*, 14(20), 2954.
- Schulz, R. W., de França, L. R., Lareyre, J. J., Le Gac, F., Chiarini-Garcia, H., Nobrega, R. H. and Miura, T., 2010, Spermatogenesis in fish, *General and Comparative Endocrinology*, 165(3), 390–411.
- Sharma, P., Purohit, S., Kothiyal, S. and Bhattacharya, I., 2023, Germ cell development in teleost gonads, *Aquaculture and Fisheries*, In Press.
- Shen, A. C. Y., & Leatherland, J. F. (1978). Effect of ambient salinity on ionic and osmotic regulation of eggs, larvae, and alevins of rainbow trout (*Salmo gairdneri*), *Canadian Journal of Zoology*, 56(4).
- Shih, A.J., Monteiro, M.C.O., Dattila, F. et al., 2022, Water electrolysis, *Nature Reviews Methods Primers*, 2, 84.
- Snyder, D.E., 2003, Electrofishing and its harmful effects on fish, *USGS/ITR Information and Technology Report*.
- Solar, I.I., Donaldson, E.M., Hunter, G.A., 1984, Induction of triploidy in rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richardson) by heat shock, and investigation of early growth, *Aquaculture*, 42, 57–67.
- Tabares, C.J., Tarazona, A.M., and Olivera A.M., 2016, Fisiología de la activación del espermatozoide en peces de agua dulce, *Revista Colombiana De Ciencias Pecuarias*, 18(2), 13.

- Takashima, F., Patiño, R. and Nomura, M., 1980, Histological studies on the sex differentiation in rainbow trout, *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 46, 1317–1322
- Tave, D., 1986, Genetics for fish hatchery managers, *The AVI publishing company*, 11.
- Teskeredžić, E., Teskeredžić, Z., Donaldson, E.M., McLean, E. and Solar, I., 1993a, Triploidization of coho salmon following application of heat and electric shock, *Aquaculture*, 116, 287–294.
- Teskeredžić, E., Donaldson, E.M., Teskeredžić, Z., Solar, I.I. and McLean, E., 1993b, Comparison of hydrostatic pressure and thermal shocks to induce triploidy in coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*), *Aquaculture*, 117, 47–55
- Thanuthong, T., Francis, D. S., Senadheera, S. P. S. D., Jones, P. L., and Turchini, G. M., 2011, LC-PUFA biosynthesis in rainbow trout is substrate limited: Use of the whole body fatty acid balance method and different 18:3n-3/18:2n-6 ratios, *Lipids*, 46(11), 1111–1127.
- Thomsen, A., Korsgaard, B. and Joensen, J., 1988, Effects of aluminum and calcium ions on survival and physiology of rainbow trout *Salmo gairdneri* (Richardson) eggs and larvae exposed to acid stress, *Aquatic Toxicology*, 12, 291-300.
- Thorgaard, G.H., 1983, *Chromosome set manipulation and sex control in fish*. In: *Fish Physiology*, vol. IX, part B. (W.S. Hoar, D.J. Randall and E.M. Donaldson, eds). pp. 405-434. Academic press, New York. 477 pages.
- Thorgaard, G.H., 1992, Application of genetic technologies to rainbow trout, *Aquaculture*, 100, 85-97.
- Timur, M. and Ekici, A., 2009, *Balık Islahı*, Nobel Yayın Dağıtım, Nobel Basım Evi, 978-605-395-200-8.
- Turan, C., 2000, Su ürünlerinde biyoteknoloji ve kullanım alanları, *Doğu Anadolu Bölgesi IV. Su Ürünleri Sempozyumu*.
- Turan, F. And Çek Ş., 2007, Masculinization of African Catfish (*Clarias gariepinus*) treated with gokshura (*Tribulus terrestris*), *Israeli Journal of Aquaculture: Bamidgeh*, vol. 59, pp. 224–229.
- Turan, F. and Guragac, R., 2014, Induction of triploidy with caffeine treatment in the African catfish (*Clarias gariepinus*), *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 13 (4), 1014-1020
- TÜİK, ,2022, Türkiye Su Ürünleri İstatistikleri <https://biruni.tuik.gov.tr/medas/?kn=97&locale=tr> (Erişim tarihi: 02.11.2024).
- U.S. EPA., 1994, “Method 200.7: Determination of metals and trace elements in water and wastes by inductively coupled plasma-atomic emission spectrometry,” Revision 4.4. Cincinnati, OH

- Uysal, K., Yerlikaya, A., Aksoylar, M.Y., Yöntem, M. and Ulupinar, M., 2006, Variations in fatty acids composition of pikeperch (*Sander lucioperca*) liver with respect to gonad maturation, *Ecology of Freshwater Fish*, 15, 441–445.
- Van den Hurk, R. and Slof, G.A., 1981, A morphological and experimental study of gonadal sex differentiation in the rainbow trout, *Salmo gairdneri*. *Cell and tissue research*, 218(3), 487–497.
- Velíšek, J. and Svobodová, Z., 2004, Anaesthesia of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) with 2-phenoxyethanol: Acute Toxicity and Biochemical Blood Profile. *Acta Veterinaria Brno*, 73, 379-384.
- Vignier, J., Adams, S. and Lovatelli, A., 2024, Production of triploid Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) spat – A practical manual, *FAO Fisheries and Aquaculture Technical Papers*, No. 698. Rome, FAO.
- Wagner, E.J., 1996, Triploid trout production by electroporation, *The Ichthyogram*, 7, 2–6.
- Wang, H.P. and Shen, Z.G., 2018, *Sex control in aquaculture: concept to practice*. In: Sex Control in Aquaculture (Wang HP, Piferrer F, Chen SL, Shen ZG, eds.). Oxford: John Wiley & Sons, Ltd., 2018. pp.1-34.
- Wang, Q., Lu, S., Tao, Y., Hua, J., Zhuge, Y., Chen, W., and Qiang, J., 2024, Characteristic muscle quality parameters of male largemouth bass (*Micropterus salmoides*) distinguished from female and physiological variations revealed by transcriptome profiling, *Biology*, 13(12), 1029.
- Weber, G.M., Leeds, T.D. and Schneider, R.P., 2020, Sex reversal of female rainbow trout by immersion in 17 α -methyltestosterone, *Aquaculture* 528, 735535.
- Weber, G.M. and Leeds, T.D., 2022, Effects of duration and timing of immersion in 17 α -methyltestosterone on sex reversal of female rainbow trout, *Aquaculture Reports*, 23, 101014
- Witeska, M., Kondera, E., Ługowska, K., and Bojarski, B., 2022, Hematological methods in fish – Not only for beginners, *Aquaculture*, 547, 737498.
- Woynarovich, A., Hoitsy, G. and Moth-Poulsen, T., 2011, Small-scale rainbow trout farming. In: *FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper No. Rome, FAO*. 2011; 561.
- Yamaner, G., Tunçelli, G., Tosun, D. D., Çanak, Ö. and Memiş, D., 2022, Sperm activation in Black Sea Trout (*Salmo trutta labrax*): Effect of ions and osmolality on spermatozoa motility, *Aquaculture Research*, vol.53, no.6, 2540-2547.
- Yamazaki, F., 1983, Sex control and manipulation in fish. *Aquaculture*, 33, 329–354.
- Zhang, Y., Zhang, R., Sun, H., Chen, Q., Yu, X., Zhang, T., Yi, M. and Liu, J.X., 2018, Copper inhibits hatching of fish embryos via inducing reactive oxygen species and down-regulating Wnt signaling, *Aquatic Toxicology*, 205, 156–164.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı	José Antonio AZPILCUETA VÁSQUEZ
Doğum Yeri	
Doğum Tarihi	Tarih girmek için tıklayın veya dokununuz.
Uyruğu	☐ T.C. ☒ Diğer:
E-Posta Adresi	
Web Adresi	

Eğitim Bilgileri	
Lisans	
Üniversite	Federico Villarreal National University
Fakülte	Oşinografi, Balıkçılık ve Gıda Bilimleri Fakültesi
Bölümü	Su Ürünleri Yetiştiriciliği Mühendisliği
Mezuniyet Yılı	20.12.2018

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

Makale ve Bildiriler	
Makaleler Yamaner, G., Yıldız, M., Ekici, A., Çanak, Ö., Tosun, D. D., Metin Ö., Azpilcueta Vasquez, J. A., Kolawole, S. O., & Baltıcı M. A., Effects of fishmeal Substitution with Mealworm meal (<i>Tenebrio molitor</i>) on the growth performance, flesh quality, feed utilization, digestibility and digestive system histology of fingerling rainbow trout (<i>Oncorhynchus mykiss</i>). (Bir dergide değerlendirme aşamasında).	
Posterler Ekici, A., Demircan, M. D., Çanak, Ö., Sayar, M., Güneş, D. B., Balcıoğlu, E., Yamaner, G., Özdemir, R. C., Baltıcı M. A., & Azpilcueta Vasquez, J. A. (2025). The first step for probiotic use to increase rainbow trout (<i>Oncorhynchus mykiss</i>) production efficiency: isolation and characterization of probiotic-candidate bacteria. Federation of European Microbiological Societies (FEMS MICRO 2025, Wrocław, Polonia).	

Sempozyumlar

Demircan Akyasan, M. D., Ekici, A., Çanak, Ö., Gümüş, T., Csorbaı, B., Kaszab, E., Farkas, M., Güneş, D. B., Sayar, M., Balcıoğlu, E., Özdemir, R. C., Yamaner, G., Baltıcı M. A., **Azpilcueta Vasquez, J. A.** (2025). Farklı Coğrafi Bölgelede Yetiştirilen Gökkuşaağı Anaç Balıklarının Genel Mikrobiyotasındaki Farklılıklar. Elâzığ, 23.Ulusal Su Ürünleri Sempozyumu, 23-25 Eylül 2025. (Sözlü sunum olarak kabul edildi).

Azpilcueta Vasquez, J. A., & Ekici, A. (2025). Effect of electric shock on growth and sex reversal in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. Valencia, Spain, Aquaculture Europe 2025, European Aquaculture Society (EAS 2025), September 22-25. (Sözlü sunum olarak kabul edildi).