

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**Farklı Kromozomlara (XX ve XY) Sahip Erkek
Gökkuşuğu Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*)
Spermlerinin Dölleme Kalitesi**

Halil YAVUZ
YÜKSEK LİSANS TEZİ
Anabilim Dalı: Su Ürünleri Yetiştiriciliği
Danışman: Doç. Dr. Kenan KÖPRÜCÜ

ELAZIĞ, 2012

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Farklı Kromozomlara (XX ve XY) Sahip Erkek Gökkuşığı Alabalığı
(*Oncorhynchus mykiss*) Spermlerinin Dölleme Kalitesi

YÜKSEK LİSANS TEZİ
Halil YAVUZ

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih: 21.06.2012

Tezin Savunulduğu Tarih: 19.07.2012

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Kenan KÖPRÜCÜ (F.Ü.)

Diğer Jüri Üyeleri: Prof.Dr. Metin ÇALTA (F.Ü.)

Doç. Dr. Seyfettin GÜR (F.Ü.)

ELAZIĞ, 2012

ÖNSÖZ

Bu çalışmanın planlanması, yürütülmesi, bulguların değerlendirilmesi ve tezin yazımı sırasında yardımlarını esirgemeyen danışman hocam sayın Doç. Dr. Kenan KÖPRÜCÜ'ye, Yüksek Lisans Tezime sağladıkları katkılarından dolayı Fırat Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Temel Bilimler Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Metin ÇALTA'ya ve Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dölerme ve Suni Tohumlama Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç. Dr. Seyfettin GÜR'e, tezde kullanılan araç ve gereçleri, sarf malzemelerini, balık materyalini sağlayan ve denemelerin yapılması için yer imkanı sunan Uzunyayla Alabalık Üretim Çiftliği (Pınarbaşı/Kayseri)'ne ve Kent Alabalık Yaz Yumurtası Üretim Ltd. Şti. (Pınarbaşı/Kayseri)'ne, denemenin yürütülmesinde yardımlarını gördüğüm Su Ürünleri Mühendisi Sayın Yaşar TUR'a ve tüm emeği geçenlere teşekkürü bir borç bilirim. Bunun yanında tez çalışmam süresince desteğini her zaman yanımda hissettiğim değerli eşim Fatma YAVUZ'a ve tüm aile fertlerime sonsuz şükranlarımı sunarım.

Halil YAVUZ
Elazığ-2012

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖNSÖZ.....	I
ÖZET	VI
SUMMARY	VII
ŞEKİLLER LİSTESİ	VIII
TABLolar LİSTESİ	X
1. GİRİŞ.....	1
2. SPERM - YUMURTA KALİTESİ VE DEĞERLENDİRME KRİTERLERİ	5
2.1. Sperm Morfolojisi.....	5
2.2. Yumurta Morfolojisi	7
2.3. Döllenme Öncesi Kalite Değerlendirme Kriterleri.....	9
2.3.1. Sperma	9
2.3.1.1. Spermanın makroskopik muayenesi	10
2.3.1.1.1. Spermanın miktarı.....	10
2.3.1.1.2. Spermanın rengi.....	10
2.3.1.1.3. Spermanın kıvamı	10
2.3.1.2. Spermanın mikroskopik muayenesi.....	10
2.3.1.2.1. Kitle hareketi	11
2.3.1.2.2. Spermatozoa motilitesi	12
2.3.1.2.3. Spermatozoa yoğunluğu	12
2.3.1.2.4. Ölü-canlı spermatozoon oranı.....	13
2.3.1.3. Spermanın fiziksel ve kimyasal özelliklerinin muayenesi	14
2.3.1.3.1. pH değeri	14
2.3.1.3.2. Dayanıklılık testi.....	14
2.3.1.3.3. Spermanın bileşimi	15
2.3.2. Yumurta.....	15
2.4. Dölleme ve Döllenme Başarısı.....	18

2.5. Embriyo Yaşama Oranı.....	19
3. MATERYAL VE METOT	20
3.1. Materyal	20
3.1.1. Çalışma Yeri.....	20
3.1.2. Balık Yemi	20
3.1.3. Sarf Malzemeleri	20
3.1.4. Kullanılacak Araç-Gereçler.....	20
3.1.5. Anaç Balık Materyali.....	21
3.2. Metot.....	22
3.2.1. Denemenin Planlanması ve Uygulanması.....	22
3.2.2. Araştırmada Kullanılan Kaynak Suyunun Analizi	22
3.2.3. Gökkuşuğu Alabalığında Dışiden Erkekleştirme İşlemi.....	22
3.2.4. Damızlıklarda Cinsel Olgunluğun Belirlenmesi	23
3.2.3.1. Sperma kontrolü	23
3.2.3.1.1. Cortland sıvısı.....	24
3.2.3.2. Yumurta kontrolü.....	25
3.2.4. Anaç Balıkların Sağımı	25
3.2.4.1. Elle sağılarak yumurta ve spermaların alınması.....	26
3.2.5. Sperma Kalitesi.....	26
3.2.5.1. Döllemede kullanılan sperma kalitesinin belirlenmesi	26
3.2.5.2. Spermanın hacim ve pH'sının belirlenmesi	26
3.2.5.3. Spermatozoa hareketlilik oranı ve hareketlilik süresinin belirlenmesi	27
3.2.5.4. Spermatozoa yoğunluğunun belirlenmesi	28
3.2.6. Gonadosomatik İndeks.....	28
3.2.7. Sperma Muhafazası.....	29

3.2.8. Dölleme	29
3.2.9. Yumurta Dolaplarının Düzenlenmesi ve Hazırlanması	29
3.2.10. Dölleme Oranı	30
3.2.11. Gözlenme Oranı.....	31
3.2.12. Kuluçka Süresi ve Larva Çıkış Oranı	31
3.2.13. Larva Yaşama Oranı	31
3.2.14. Verilerin Değerlendirilmesi.....	32
4.BULGULAR.....	33
4.1. Araştırmada Kullanılan Suyun Sıcaklık, Çözünmüş Oksijen ve pH Değerleri.....	33
4.2. Anaç Balıkların Canlı Ağırlıkları İle İlgili Bulgular	33
4.3. Gonadosomatik İndeks (GSI) Değerlerine İlişkin Bulgular.....	33
4.4. Sperma Özelliklerine Ait Bulgular	34
4.4.1. Spermanın Makroskopik Muayenesine Ait Bulgular	34
4.4.2. Spermanın Mikroskopik Muayenesine Ait Bulgular	35
4.5. Sipermanın Fiziksel ve Kimyasal Özelliklerine Ait Bulgular.....	35
4.6. Mutlak ve Nisbi Yumurta Verimliği İle Yumurta Çapına Ait Bulgular	39
4.7. Yumurtaların Dölleme ve Fizyolojik Gelişimleriyle İlgili Bulgular	39
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	42
5.1. Kullanılan Suyun Sıcaklık, pH ve Çözünmüş Oksijen Değerleri	42
5.2. Gonadosomatik İndeks.....	42
5.3. Spermatolojik Özellikler	42
5.3.1. Spermanın Makroskopik Muayenesi	42
5.3.2. Spermanın Mikroskopik Muayenesi.....	43
5.4. Dölleme Oranı	44
5.5. Kuluçkalanan Yumurtaların Gözlenme Oranı.....	45

	Sayfa No
5.6. Döllenen Yumurtalardan Larva Çıkış Oranları.....	45
5.7. Besin Keseli Larvalarda Yaşama Oranları.....	46
6. ÖNERİLER.....	47
KAYNAKLAR	49
ÖZGEÇMİŞ	

ÖZET

Hızla artan dünya nüfusu ve teknolojik gelişmelerdeki artışa paralel olarak çevre kirliliği ve ekolojik sorunların artması hayvansal protein kaynaklarının azalmasına neden olmaktadır. Bu sorunlar birim alandan daha fazla hayvansal protein elde edilmesini zorunlu hale getirmiştir. Bu noktada su ürünleri yetiştiriciliği ön plana çıkmaktadır. Yetiştiricilikte verimi artırmaya yönelik çalışmalar son yıllarda oldukça önem kazanmıştır. Özellikle bu yönde yapılan biyoteknolojik çalışmalar büyük öneme sahiptir. Bu çalışmalar arasında ıslah araştırmaları her zaman birinci sırada gelmektedir. Bu çalışmada, XX ve XY kromozomlarına sahip erkek gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) spermalarının dölleme kalitesi tespit edildi. Bu amaçla, sperma kalitesi (sperma hacmi, sperm yoğunluğu, hareketlilik oranı, hareketlilik süresi, pH ve toplam sperm sayısı), gonadosomatik indeks değeri ile birlikte iki spermanın yumurtayı dölleme oranları incelendi. Ayrıca, bu spermle döllenen yumurtaların dölleme, gözlenme, larva çıkış oranları ile larva çıkış süreleri belirlendi.

Denemede, ortalama ağırlıkları 1550 ± 50 g olan 3 yaşındaki XY kromozomlu (normal) erkek ve 3 yaşındaki 1470 ± 35 g ağırlığında olan XX kromozomlu (dönüştürülmüş) erkek balıklar ile 4 yaşındaki ve ortalama ağırlığı, 2685 ± 55 g olan dişi damızlık balıklar kullanıldı. Bu dişi balıkların mutlak ve nispi yumurta verimliliklerine ait ortalama değerler sırasıyla 4730 ± 50 ve 2156 ± 18 adet olarak hesaplandı. Bu yumurtalar spermaların dölleme kalitesinin belirlenmesinde kullanıldı. Çalışmada, incelenen sperm kalite parametreleri (sperma hacmi, spermin yoğunluğu, ilk hareketlilik oranı, hareketlilik süresi ve toplam sperm sayısı), döllenen yumurtalarda dölleme, gözlenme ve larva çıkış oranları bakımından en iyi sonuçlar XX kromozomlu balık spermallerinden elde edildi ($P < 0,05$). Aynı zamanda, XX kromozomlu balıkların gonadosomatik indeks değerlerinin, XY kromozomlu balıklarınkine göre önemli derecede yüksek olduğu ($P < 0,01$) belirlendi. Bununla birlikte, yumurtanın gözlenme süresi ve larva çıkış süresine ait farklılıklar önemsiz ($P > 0,05$) bulundu.

Bu çalışmada, alabalık üretiminde XX kromozomlu sperm ile döllemenin XY kromozomlu sperm ile döllemeden daha verimli olduğu açıkça görülmüştür. XX kromozomlu olan damızlık erkek gökkuşağı alabalıklarının ülke genelinde üretimde kullanılması durumunda; verimlilik artacak, daha yüksek sayı ve kalitede yavru elde edilebilecektir.

Anahtar Kelimeler: Gökkuşağı Alabalığı, Damızlık, Dölleme, Kalite, Kromozom, Sperm.

SUMMARY

Fertilization Quality of Sperm with Different Chromosomes (XX and XY) from Male Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*)

An increase in the levels of environmental pollution and ecological problems due to rapidly growing global population and technological developments leads to a decrease in the sources of animal protein. These problems make it necessary to obtain more animal protein from a unit area. At this point, aquaculture comes to the forefront. In recent years, the studies aiming to increase the yield in aquaculture have gained considerable importance. Especially, biotechnological studies in this way have a great importance. Among these studies, breeding researches have always the first place. In this study, the fertilization quality of the sperms with XX and XY chromosomes from male rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) was determined. For this purpose, the quality of the sperms (semen volume, sperm density, sperm motility ratio, sperm motility duration, pH and total sperm number), gonadosomatic index value and fertilization ratio of the sperms for two ovum were investigated. In addition, fertilization, eyed and hatching rates of eggs and hatching duration of larvae fertilized by these sperms were observed.

In the experiment, it was used the ovum from female brood fish which were identified to be 2685 ± 55 g at age 4 and male with XY chromosomes (ordinary) with mean weight of 1470 ± 35 g at age 3 and male with XX chromosomes (transformed) weighting 1470 ± 35 g and at age 3. The mean values for absolute and relative fertility rates in these females were 4730 ± 50 and 2156 ± 18 respectively. These ova were used to determine the sperm's quality to fertilize. In this study, the best results with regard to the sperm quality parameters (semen volume, first motility ratio, motility duration, and total sperm numbers) examined, fertilisation, eyed and hatching rates of eggs and hatching duration were obtained from the sperms with XX chromosomes ($P < 0.05$). It was also found that the gonadosomatic index values of the fish with XX chromosomes were significantly higher than those of the fish with XY chromosomes ($P < 0.01$). However, eyed and hatching duration of eggs were not found to be significant statistically ($P > 0.05$).

In this study, it is obvious seen that fertilisation by sperms with XX chromosomes is more productive than fertilization by sperms with XY chromosomes in the trout culture. When the brood male rainbow trout with XX chromosomes are used throughout the country, the yield will substantially increase. This will provide in higher number and quality offspring.

Key words: Rainbow Trout, Brood, Fertilization, Quality, Chromosome, Sperm.

ŞEKİLLER LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 1.1. 2009 Yılı itibariyle, Türkiye’de balık yetiştiriciliği üretiminin türlere göre dağılımı (TÜİK, 2010)	2
Şekil 2.1. Gökkuşaağı alabalığı (<i>Oncorhynchus mykiss</i>)’na ait olgun bir spermium	5
Şekil 2.2. Gökkuşaağı alabalığı (<i>Oncorhynchus mykiss</i>)’na ait olgun bir spermium’un ışık mikroskopunda şematik görünüşü	6
Şekil 2.3. Olgun bir gökkuşaağı alabalığı (<i>Oncorhynchus mykiss</i>) yumurtası	7
Şekil 2.4. Mikroskop altında sperm hareketlerinin değerlendirilmesi	11
Şekil 2.5. Yumurta, sperma ve larva kalitesini etkileyen faktörler	17
Şekil 2.6. Döllenmiş gökkuşaağı alabalığı (<i>Oncorhynchus mykiss</i>) yumurtasının; yandan (A) ve üstten (B) görünüşü	19
Şekil 3.1. Anaç gökkuşaağı alabalıklarının lateral görünüşü	21
Şekil 3.2. XX Kromozomlu erkekten sperm alımı: A) Gonadların balıktaki konumu B) Gonadların görünümü	24
Şekil 3.3. Anaç balıkların sağımı A) Yumurta sağımı B) Sperm (XY) sağımı	25
Şekil 3.4. Dölleme için ölçülerek hazırlanmış spermalar	27
Şekil 3.5. Spermatozoa hareketlilik oranı ve hareketlilik süresinin belirlenmesi	28
Şekil 3.6. Gökkuşaağı alabalığı yumurtasının: A) İzotonik solüsyonla yıkanması B) Sperm katılması C) Döllenmesi	29
Şekil 3.7. A) Dikey konumlu yumurta kuluçka dolabı B) Yumurta tablasına yerleştirilmiş olan döllenmiş yumurtaların görünüşü	30
Şekil 3.8. A) XX kromozomlu spermle dölenen yumurtalar B) XY kromozomlu spermle dölenen yumurtalar	31
Şekil 3.9. Larvaların görünüşü: A) Kuluçka dolaplarında B) Tava (kaset) içerisinde	32
Şekil 4.1. XX ve XY kromozomlu damızlık gökkuşaağı alabalığı gonatlarının görünüşü	34
Şekil 4.2. XX ve XY kromozomlu damızlık gökkuşaağı alabalıklarından alınan spermilerin renk görünüşü	35

Şekil 4.3. Farklı kromozomlara ait gökkuşağı alabalığı sperma hacmi	37
Şekil 4.4. Farklı kromozomlara ait gökkuşağı alabalığı sperminin başlangıç hareketlilik oranı.....	37
Şekil 4.5. Farklı kromozomlara ait gökkuşağı alabalığı spermelerinde toplam sperm sayısı	38
Şekil 4.6. Farklı kromozomlara ait gökkuşağı alabalığı sperminin hareketlilik süresi ve %'de oranı.....	38
Şekil 4.7. A) Yumurta seçme makinası ve yumurta boyutu B) Döllenmiş gökkuşağı alabalığı yumurtasının kuluçka tablasındaki görüntüsü	39
Şekil 4.8. XY ve XX kromozumlu gökkuşağı alabalığı spermeleriyle döllenmiş yumurtalarda döllenme, gözlenme, larva çıkış ve keseli yavru yaşama oranları.....	40

TABLÖLAR LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 1.1. 2009 Yılı verilerine göre, Türkiye’de yetiştiriciliği yapılan balık türleri ve üretim miktarları	2
Tablo 2.1. Gökkuşığı alabalığı, deniz levreği, çipura ve kalkan anaçlarının yumurta verimleri ile yumurtaların döllenme ve çıkış oranları	16
Tablo 4.1. Kaynak suyunun aylara göre ortalama sıcaklık, çözünmüş oksijen ve pH değerleri.....	33
Tablo 4.2. XY ve XX kromozomlu damızlıklarda gökkuşığı alabalıklarının gonadosomatik indeks değerleri.....	34
Tablo 4.3. XY ve XX kromozomlu damızlıklarda gökkuşığı alabalığı spermalarının kalite parametrelerine ait değerler.....	36
Tablo 4.4. XY ve XX kromozomlu gökkuşığı alabalığı spermalarıyla döllenmiş yumurtalardan döllenme, gözlenme, larva çıkış ve keseli yavru yaşama oranları....	40

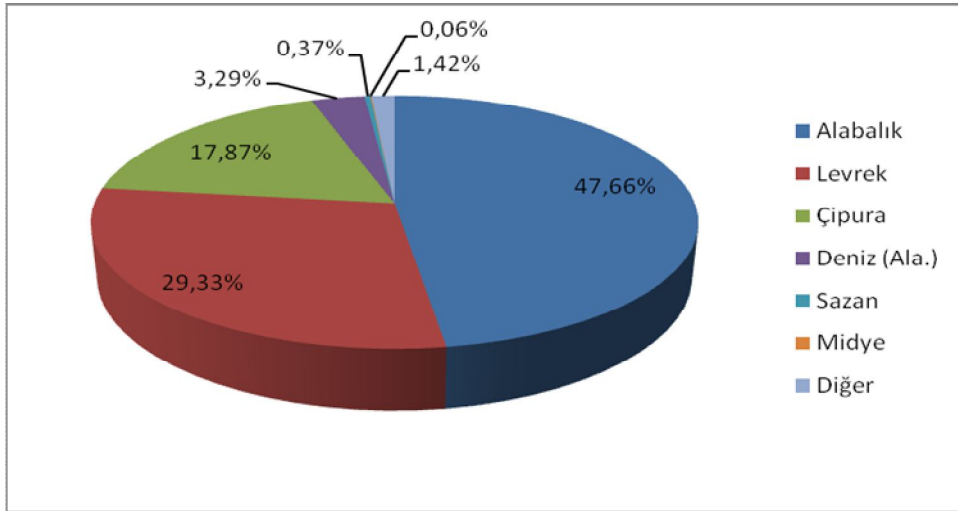
1. GİRİŞ

Gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*), ekonomik değerinin yüksek oluşu nedeniyle üzerinde en fazla araştırma yapılan balık türlerinden birisidir. Muhtemelen sazan (*Cyprinus carpio*) dan sonra kültürü yapılan ilk türdür. Yetiştiriciliği ile ilgili ilk çalışmaları, Kuzey Amerika'da 1874 yılında gökkuşağı alabalığı yumurtalarının, McCloud Irmağı'ndan Kuzey Kaliforniya'daki özel bir kuluçkahaneye taşınarak kuluçkalanmasıyla başlamıştır. Daha sonraları ise 1877 yılında Japonya'ya, 1885 yılında İngiltere ye getirilmiştir (Akhan ve Canyurt, 2005).

Türkiye'de gökkuşağı alabalığı üretimi, 1970'li yıllarda dışarıdan getirilen yumurtalarla başlamıştır (Canyurt, 1985). Günümüzde ise gökkuşağı alabalığı kültürü yapılan en önemli tür konumundadır. Gökkuşağı alabalığı üretimi, gerek potansiyel su kaynaklarının üretime alınması gerekse yetiştiricilikte karşılaşılan problemlerin (kaliteli yem, hastalıklara karşı mücadele, vb.) çözülmüş olması nedeniyle her geçen yıl artarak devam etmektedir (Akhan ve Canyurt, 2005).

Hızla artan dünya nüfusu ve teknolojik gelişmelerdeki artışa paralel olarak çevre kirliliği ve ekolojik sorunların artması hayvansal protein kaynakların azalmasına neden olmaktadır. Bu sorunlar birim alandan daha fazla hayvansal protein elde edilmesini zorunlu hale getirmiştir. Bu noktada su ürünleri yetiştiriciliği ön plana çıkmaktadır. Yetiştiricilikte verimi artırmaya yönelik çalışmalar da son yıllarda oldukça önem kazanmıştır. Bu yönde yapılan biyoteknolojik çalışmalar büyük potansiyele sahiptir. Elde edilecek başarı, bu konuda yapılacak daha fazla sayıda ve detaylı çalışmalar ile artacaktır (Dreanno vd., 1999b; Okumuş, 2003).

Kültür balıklarının türlere göre dağılımında en yüksek yetiştiriciliği yapılan balık, içsulardaki alabalık miktarı olup, toplam su ürünleri yetiştiriciliğinin %47.66'sını oluşturmaktadır. Bunu %29,33 ile levrek, %17,87 ile çipura takip etmektedir (Şekil 1.1). Midye, alabalık (deniz) ve aynalı sazan (iç su) üretimleri de diğerlerini takip etmektedir. Yine 2009 yılında elde edilen istatistiki verilere göre (Tablo 1.1); Türkiye'deki toplam balık yetiştiriciliği miktarının türlere göre dağılımına baktığımızda, yine alabalığın en önemli tür olduğu görülmektedir.



Şekil 1.1. 2009 Yılı itibariyle, Türkiye’de balık yetiştiriciliği üretiminin türlere göre dağılımı (TÜİK, 2010).

Tablo 1.1. 2009 Yılı verilerine göre, Türkiye’de yetiştiriciliği yapılan balık türleri ve üretim miktarları (TÜİK, 2010).

İçsu				Deniz										Toplam	
Alabalık		Aynalı Sazan		Deniz Alabalığı		Çipura		Levrek		Midye		Diğer		Ton/Yıl	%
Ton/Yıl	%	Ton/Yıl	%	Ton/Yıl	%	Ton/Yıl	%	Ton/Yıl	%	Ton/Yıl	%	Ton/Yıl	%		
75657	47,7	591	0,4	5229	3,3	28362	17,9	46554	29,3	89	0,1	2247	1,4	158729	100

Ülkemizdeki su potansiyelinin değerlendirilmesiyle birlikte tatlı sularda alabalık (*O. mykiss*), denizde ise çipura (*Sparus aurata*) ve levrek (*Dicentrarchus labrax*) yetiştiriciliği her geçen yıl artarak sürdürülmektedir. Ancak, üreticiler yetiştiricilikle ilgili birçok sorunu çözmüş olsalar bile halen damızlık ve damızlıklardan elde edilen kaliteli gamet temininde sorunlar yaşamaktadırlar (Okumuş, 2003; Emre ve Kürüm, 2007).

Günümüzde su ürünleri üretimi yapan kuluçkahane sayısı binlerle ifade edilecek sayıya ulaşmıştır. Yetiştiricilerin genel eğilimi daha fazla yavru üretmektir. Bu nedenle, üretimde kullanılan damızlıkların verim özellikleri dikkate alınmamaktadır. Üretim yapılacak yeni potansiyel alanların giderek azalması, su ürünleri yetiştiriciliğindeki artış hızını ileride sınırlandıracaktır. Bu nedenle üretimin sürdürülebilmesi için üretimde üstün verim özelliklerine sahip gamet kullanılması zorunlu olacaktır. Yetiştiricilikte kaliteli gametler, ıslah edilmiş hatlardan veya biyoteknolojik olarak manipüle edilmiş hatlardan elde edilmektedir.

Örneğin; kısa sürede büyüyen ve hastalıklara karşı dayanıklı ve yem değerlendirme katsayısı yüksek gökkuşağı alabalığı hatları geliştirilmiştir. Aynı zamanda erkek alabalığa kıyasla daha fazla karkas ağırlığına sahip, % 100 dişi populasyon üretiminde kullanılan, XX kromozomlu erkek (dişiden dönüştürülmüş erkek) damızlıklar üretilmektedir (Aegerter, 2004).

Bundan önce ise XY kromozoma sahip, 2–3 yaşlı erkek damızlıklar kullanılmış ve halen kullanılmaktadır. Alabalıklarda genellikle erkekler, dişilerden daha erken cinsel olgunluğa ulaşırlar. (Büyükhatipoğlu ve Holtz, 1984; Billard, 1995). XY kromozoma sahip erkeklerin spermaları testisin kanal boşluklarında toplanır ve uygun çevre şartları oluşuncaya kadar dinlenme durumunda kalırlar. Erkek balık üreme mevsiminde gonadotropinlerin etkisi ile sperma vermeye hazır hale gelir. Testislerde hareketsiz durumda bulunan spermatozoa in vitro koşullarda su ile temasa geçince hareket kabiliyeti kazanır. Spermatozoanın suda aktif olduğu periyot oldukça kısadır ve su sıcaklığına bağlı olarak bu süre yaklaşık 30 saniye ile 2 dakika arasında değişim göstermektedir. Bu familyaya ait balıkların çoğunluğunda sperma üretimi oldukça yüksektir (5×10^{12} spermatozoon /kg vücut ağırlığı). Ancak, doğal şartlarda balık tarafından üretilen spermanın %20-40'ı kullanılabilmekte, kalan kısım ise vücut tarafından emilmektedir (Aegerter, 2005). Salmonidae familyasına ait balıklarda sperma miktarı farklı cinslere göre değişim göstermektedir. Bunun yanında aynı cinsin bireyleri arasında da farklılıklar olabilmektedir. Yine üreme sezonunun başı, ortası ve sonunda spermanın diğer kalitatif özelliklerinde olduğu gibi miktarında da farklılıklar gözlemlenmektedir. Gökkuşağı alabalığında ortalama sperma miktarı 6-12ml arasında değişmektedir. Ancak, bu miktar birçok faktöre bağlı olarak değişmektedir. Bunların başında suyun sıcaklığı, sperma sağım aralığı, yaş ve özellikle de bakım ve besleme şartları sperma miktarı üzerinde oldukça etkin faktörler olarak bildirilmektedir (Büyükhatipoğlu ve Holtz, 1984). Gökkuşağı alabalığında sperma miktarındaki değişim aralığı oldukça yüksektir.

Erkek gökkuşağı alabalıkları, yıl içerisinde 22 hafta süreyle sperma üretme yeteneğine sahiptirler. Yıl içerisindeki toplam sperma verimleri ortalama 129 ml olup, sağım başına ortalama 12-15 ml düşmektedir. Ayrıca, bu sperma hacminde toplam 991×10^9 spermatozoon bulunmaktadır. XY kromozoma sahip damızlıklardan abdominal masaj ile toplanan sperma örneklerinde üre kontaminasyonu (sperm kanalı ve üriner kanalın yakınlığından dolayı) kaçınılmazdır. Bundan dolayı sperm yoğunluğu ve seminal plazma kompozisyonundaki değişim yanlış yorumlanabilir (Aegerter, 2005). Bu konuda yapılan araştırmalar, üre kontaminasyonunun spermanın konsantrasyonunu %80'lere varan oranda seyreltebildiğini ve osmotik basıncını azalttığını ortaya çıkarmıştır. Bu tür kontaminasyonlar seminal plazmanın iyonik konsantrasyonunu değiştirmektedir. Örneğin; üre kontaminasyonu sonucunda Atlantik

salmon (*Salmo sala*) balığının seminal plazmasındaki K⁺ konsantrasyonu 1382 mg/L'den 792 mg/L'ye düşmüştür (Breton vd., 1990; Bromage vd.,1994; Aegerter, 2005).

Üretim açısından bakıldığında, kullanılan spermanın üstün dölleme özelliklerine sahip balık hatlarından veya XX kromozoma sahip erkek damızlıklardan elde edilen spermalar üretim için kullanılmalıdır. Yetiştiriciliği yapılan alabalıkların üreme dönemi çevresel şartlara bağlı olarak Kasım-Mart ayları arasında gerçekleşmektedir. Ancak birçok işletmede dişi ve erkek damızlıklar arasında, üreme döneminde görülen senkronizasyon bozukluğu nedeniyle bazen dişilerden yumurta alındığı halde erkek bireylerden sperma alınamamakta veya bunun tersi olmaktadır. Bu durumda üretici, dişilerden yumurta sağımı yaptığında erkek anaçlar sperma vermediği için, sağılan yumurtalar döllenememektedir. Sonuç olarak, yumurtalar ziyan olmakta veya erkekler olgunlaştığı halde dişilerden yumurta alınamadığında ise sperma kaybı söz konusu olmaktadır. Bu da üreticilerin, ekonomik kayıplara uğramasına yol açmaktadır (Canyurt vd., 2005). Üretici için çok fazla işgücü ve maliyete neden olan XY kromozomlu erkek damızlıklardan ziyade, %100 dişi ve XX kromozoma sahip dişiden dönüştürülmüş olan erkek damızlıklar kullanılabilir. Bu damızlıkların vücudundaki bütün hücreler XX kromozom taşıyor olsa da, dıştan verilen testosteron hormonu sonucu gelişen testislerin ürettiği spermaların yapısındaki kromozomlar X cinsiyet kromozomudur. Bu alabalık yavrularının erkekleştirilmesi için, ilk yem almaya başlayan yavrulara 17 α -metil-testosteron hormonu içeren yemlerle 750 GD (Gün Derece) yemlenir. Daha sonra balık cinsel olgunluğa kavuşuncaya kadar normal yemle beslenir. Bu yavrular yaklaşık iki yıl sonra cinsel olgunluğa erişir. Gerçek erkek damızlıklar ile bu erkek damızlıkları birbirlerinden ayırt etmenin tek yolu, sağım işlemini gerçekleştirmektir. Sağım sonucunda, gerçek erkekler sperma verirken; erkekleştirilmiş dişiler, testislerin anormal olması ve boşaltım kanallarının bulunmaması nedeniyle sperma veremeyeceklerdir. Bunlardan sperma temin etmek için, bir bistüri yardımıyla, sekonder olarak, gelişen testisler karnın açılması ile alınır. Testisten alınan sperma sıvısından küçük bir damla, mikroskop altında kontrol edilir. Elde edilen spermin canlılığına, yoğunluğuna bakıldıktan sonra yumurtanın döllenmesi için kullanılır (Akhan ve Canyurt, 2005; Emre ve Kürüm, 2007).

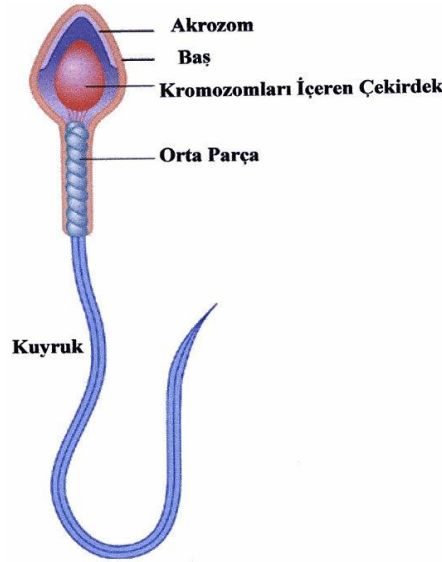
Bu nedenle, çalışmada; farklı kromozomlara (XX ve XY) sahip erkek gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) spermalarının dölleme kalitesi araştırıldı. Böylece, gökkuşağı alabalığı üretiminde hangi kromozoma sahip anaç erkeklerin kullanılmasının daha uygun olacağı belirlenmeye çalışıldı.

2. SPERM - YUMURTA KALİTESİ VE DEĞERLENDİRME KRİTERLERİ

Biyolojik olarak yaklaşırsa, gametin kalitesi; dölleyebilme, döllenebilme ve normal bir embriyoya dönüşebilme yeteneği olarak tanımlanabilir. Bu nedenle; erkek germ hücresi (spermium) küçük ve çok hareketlidir. Dişi germ hücresi (ovum) aynı zamanda gelişecek yavru için bir besin deposu görevi de yapmaktadır. Bu nedenle de büyük ve hareketsizdir (Kayalı vd., 1992; Dreanno vd., 1999c). Bununla birlikte, gametlerin kalitesi; çekirdek transferi ya da androenez gibi gametlerin kullanımına bağlı olarak, yapılan uygulamalardaki özel biyoteknik farklılıklarla da açıklanabilir. Yumurta ve sperma kalitesini miktar olarak değerlendirmek için kullanılan bir çok kriter vardır. Bunlardan bazıları tür-özellikli ya da uygulama-özelliklidir. Bu bölümde, dölleme öncesi gamet kalite değerlendirme kriterleri ele alınmaktadır (Kayalı vd., 1992).

2.1. Sperm Morfolojisi

Spermium adı verilen erkek germ hücresi, 1677 yılında *Johann Ham* tarafından ilk defa görülmüştür. Baş, orta parça ve kuyruk olmak üzere üç kısımdan oluşan ve canlı iken çok hareketli bir cisimciktir (Şekil 2.1).



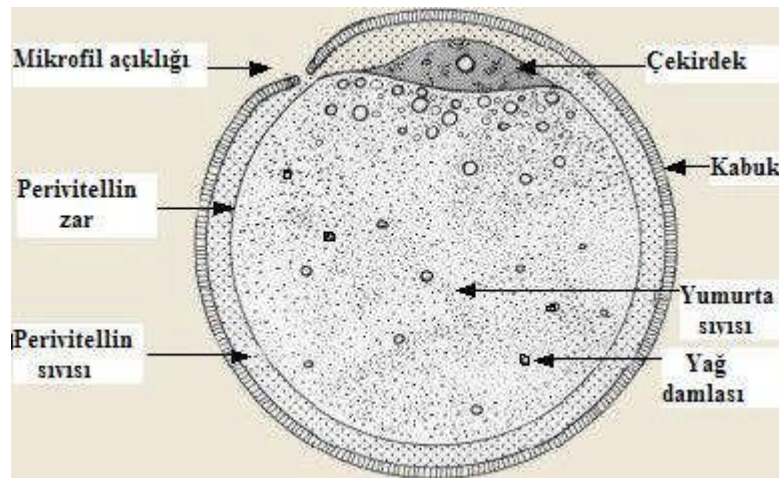
Şekil 2.1. Gökkuşaağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*)'na ait olgun bir spermium (Kayalı vd., 1992).

6

Spermium bir hücre olarak incelendiğinde; baş, nüveye, bütün diğer kısımlar da hücre gövdesine uyar. Genlerin bulunması nedeniyle fekondasyon esnasında asıl önemli rolü oynayan baştır, enine disk ise sadece bir motor durumundadır. Bu plağın sağlam olması spermiumun hareket edebilmesi için şarttır. Kuyruk, geminin pervanesi gibi sadece hareketi sağlayan bir kısımdır. Başlı bulunmayan bir spermium, eğer enine plağı sağlam ise hareket edebilir. Bundan anlaşılacağı üzere hareket yeteneği ile dölleme yeteneği farklı şeylerdir. Bir spermiumun yaşama süresi, içinde bulunduğu ortamın pH'ına bağlıdır. Spermiumlar asit ortamlarda çok çabuk hareket niteliklerini çok çabuk kaybeder ve ölürlür (Munkittrick vd., 1987; Kayalı vd., 1992).

2.2. Yumurta Morfolojisi

Döllenmemiş yumurta ya da dişi gamet, ikinci mayotik bölünmenin metafazında yeralan sabit ovosittir. Bu metafaz 2 ovosit, oogenetik sürecin son ürünü olup, oogenetik boyunca ovaryum ile birlikte meydana gelir (Tata, 1986). Sonuç olarak, yumurtanın koordineli birleşimi bazı türlerde yıllara varan çok uzun bir süre devam edebilir. Bu yüzden, oogenetiğin sürecinde meydana gelen birleşim, sentez ve yumurta bileşenleri (Şekil 2.3); bir defa döllendiğinde normal bir embriyoya dönüşecek iyi kaliteli bir ovositin düzenli oluşmasında anahtar rol oynamaktadır. Vitellojen süresince yumurta hacminin artması ile sonuçlanan yumurta sarısı (besin kesesi) proteinlerinin birleşmesini de içeren yumurta oluşumunun ana özellikleri üzerinde çalışılmıştır (Wallece ve Selman; 198, 1985; Brooks vd., 1997; Patino ve Sullivan, 2002; Mommsen ve Korsgaard, 2008).



Şekil 2.3. Olgun bir gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) yumurtası (Tata, 1986).

Bunun yanı sıra, yumurta sarısı proteinleri ve ovosit (döllenmemiş yumurta), maternal mRNA, protein, vitamin ve hormonlar gibi birçok bileşen içerir. Günümüzde, döllenmemiş yumurtaların hormonal bileşikleri hakkındaki bilgiler sınırlıdır. Çeşitli cinsiyet steroidleri (Feist vd., 1990), tiroid hormonları (Tagawa ve Hirano, 1987) ve kortizol (Hwang vd., 1992) konularında birçok çalışma yapılmıştır. Yumurta içeriğinin hormonal durumunu kontrol etme amaçlı birçok çalışma yapılmasına rağmen, günümüze kadar yumurta içi hormon fonksiyonları üzerine yeterli düzeyde araştırmayapılmamıştır. Maternal olarak aktarılan mRNA'lar ve proteinler oogenesiz boyunca oositte birleşirler (Tata, 1986, Howley ve Ho, 2000; Pelegri, 2003). Zigotik transkripsiyonun başlangıcı “maternal embriyo değişimi (MET)” esnasında meydana gelir. Balıklar ve diğer omurgalılarda da olduğu üzere, MET orta-blastula safhasında meydana gelir bu durum ayrıca “orta blastula değişimi (MBT)” adıyla anılır (Kane ve Kimmel, 1993). Son model genetik anaçların kullanılması ile yapılan çalışmalarda moleküler analizler, bazı maternal mRNA'ların değişken kalitedeki yumurtalarda farklı miktarlar sergilediklerini göstermiştir (Aegerter vd., 2005; Bonnet vd., 2007b). Bu yüzden yumurtalarda bulunan maternal mRNA'ların yapısı ve miktarı, oxositin tam gelişimi için önemlidir. Aynı şekilde, özel maternal mRNA'ların oxosit içerisinde bulunduğu yer itibari ile embriyonun ön ve arka eksenlerinin tanımı için önemlidir (Bally-Cuif vd., 1998; Howley ve Ho, 2000). Bu son dönem çalışmaları, balık yumurtasının kalitesinin düzenlenmesi kapsamına giren moleküler mekanizmalar üzerinde yeni ipuçları sağlamıştır. Örneğin; gökkuşağı alabalığının yumurtasında ovulatör sonrası yaşlandırma sürecinde çekirdek plazmasının mRNA seviyelerinde hızlı bir düşüş gözlemlenmiştir ki bu süreçte yumurta kalitesi de sürekli bir düşüş halindedir (Aegerter vd., 2005). Çekirdek plazmasının nükleer yapılanmada ve embriyonik gelişmede önemli bir maternal etki geni olduğu sonucu çıkmaktadır (Burns vd., 2003; McHay ve Clarke, 2003). Aynı şekilde, gökkuşağı alabalığının değişik kalitelilerdeki yumurtaları arasında değişken miktar gösteren prohibitin 2 mRNA'da gözlemlenmiştir (Bonnet vd., 2007b). Prohibitin 2 (Phb2) yüksek korumalı bir protein olup, aslında koruyucu protein olarak bilinir ve hücrel fonksiyonların geniş kapsamına yayılmıştır (Aegerter vd., 2005).

Maternal mRNA'lara ilaveten, oxosit oogenezis sürecinde sentezlenen proteinleri de içerir. Son dönemlerde, gelişen oxositin proteomik analizi, tam yetişkin bir zebra (*Danio rerio*) ve çipura (*Sparus aurata*) balığının proteinlerinin tanımlanmasına öncülük etmiştir (Knoll-Gellida vd., 2006; Zilli, 2003). Bu çalışmalar, döllenmemiş yumurtaların protein içeriğini göstermektedir. Bununla birlikte, yumurta kalitesinin düzenlenmesine katkı sağlayan proteinler konusunda daha çok çalışma yapılmalıdır.

2.3. Döllenme Öncesi Kalite Değerlendirme Kriterleri

2.3.1. Sperma

Aktif olan spermatozoanın yüzdesi, hareketlilik süresi, sperm konsantrasyonu ve spermatokrit ve seminal plazma kompozisyonu, sperma kalitesini ölçmede kullanılmaktadır (Billard ve Cosson, 1984; Köprücü ve Gür, 1999; Aegerter vd., 2005). Sperma kompozisyonu üzerine yapılan araştırmalar, spermatozoa konsantrasyonu ve seminal plazma kompozisyonunda büyük intraspesifik ve interspesifik değişimler olduğunu gösteriyor. Bu değişimler, genetik değişkenlik, spermatozoanın intratestiküler yaşı, mevsimler (Benau ve Turner, 1980), yumurtlama durumu ve stratejisine (Aegerter vd., 2005) göre olmaktadır.

Yumurtlama sezonu süresince levrek ve salmon balıklarının sperma kalitesinin arttığı belirlenmiştir. Diğer yandan, üreme mevsimi sonrası gökkuşağı alabalığı spermasının yoğunluğu düşmektedir (Büyükhatipoğlu ve Holtz, 1984).

Oncorhynchus mykiss, *Salmo trutta*, *Salvelinus fontinalis* ve *Salmo salar* üzerine yapılan araştırmalar, bunların sperm hareketlilik süresinin mevsimlere göre değiştiğini göstermektedir. Yumurtlama mevsiminde aktif olan gökkuşağı alabalığı spermatozoaları 30-35 saniye hareketlidirler. Yumurtlama sezonu sonuna doğru hareketlilik süresi 15 sn gibi bir süreye düşer (Benau ve Turner, 1980). Ayrıca, gökkuşağı alabalıklarında yumurtlama sezonunda aktif olan spermatozoa oranı yumurtlama dönemi sonrası büyük oranda düşer (Büyükhatipoğlu ve Holtz, 1984).

Seminal plazmanın inorganik ve organik kompozisyonundaki değişimler (Benau ve Turner, 1980; Piironen ve Hyvarinen, 1983; Kruger vd., 1984; Munkittrick ve Moccia, 1987) aynı zamanda spermanın korunmasını da etkileyebilir. Sperm hareketliliği ile yakından ilgili olan K^+ ve Na^+ (Morisawa ve Suzuki, 1980) gibi iyonların oranı ve konsantrasyonu mevsim sonunda düşer (Munkittrick ve Moccia, 1987).

Abdominal masaj ile toplanan sperma örneklerinde üre kontaminasyonu (sperm kanalı ve üriner kanalın yakınlığından dolayı) kaçınılmazdır. Bundan dolayı sperma vizkozitesi ve seminal plazma kompozisyonundaki değişim yanlış yorumlanabilir (Bromage ve Roberts, 1992; Dreanno vd., 1999b).

Bu konuda yapılan araştırmalar, üre kontaminasyonunun spermanın konsantrasyonunu %80'lere varan oranda seyreltebildiğini ve ozmotik basıncını azalttığını ortaya çıkarmıştır. Bu tür kontaminasyonlar seminal plazmanın iyonik konsantrasyonunu değiştirmektedir. Örneğin; üre kontaminasyonu sonucunda *Salmo salar*'ın seminal plazmasındaki K^+ konsantrasyonu 1382 mg/L'den 792 mg/L'ye düşmüştür (Bromage ve Roberts, 1992).

2.3.1.1. Spermanın Makroskopik Muayenesi

2.3.1.1.1. Spermanın miktarı

Sperma miktarı bir sağımda dışarı verilen spermanın tamamının hacmidir. Sperma alma işleminden hemen sonra, genellikle derecelendirilmiş sperma toplama kadehlerinden okunarak, gerektiğinde ise ölçüm pipetleri veya silindirleri yardımıyla saptanır ve "ml" olarak belirtilir. Spermanın hacmi spermatozoa ve eklenti bezlerinin salgılarından oluşur. Hayvan türüne, ırkına, yaşına, çevre koşullarına ve sperma alma yöntemine bağlı değişiklik gösterebilir (Büyükhatipoğlu vd., 1984; Munkittrick vd., 1987; Alaçam vd., 1994).

2.3.1.1.2. Spermanın rengi

Hayvan türüne ve ırkına göre farklılıklar göstermekle beraber, normal sperma genellikle açık kremden koyu krem rengine kadar değişir. Rengin oluşmasında sperma içinde bulunan spermatozoa sayısının etkisi fazladır. Patolojik durumlar dışında sperma renginin oluşmasında hayvan türüne ve beslenmeye bağlı, normal sayılabilecek farklılıklar izlenebilir. Spermada normalin dışında renklere de rastlanabilir. Bu durumlar, genital organlarda anormal bir durumun olduğunu veya spermaya yabancı maddelerin karıştığının belirtisidir. Spermanın sarı-yeşilimsi renkte gözükmesi, spermada irin bulunduğunu (pyospermie), sarı renkte olması idrar karıştığını, kırmızı-kahverengi olması kan karıştığını (hemospermie) gösterir, partikül veya benzeri tortuların gözükmesi ise dışkı veya diğer yabancı maddelerin bulunduğunun belirtisidir (Holtz vd., 1984; Alaçam vd., 1994).

2.3.1.1.3. Spermanın kıvamı

Spermanın akışkanlığını ve viskozitesini gösterir. Sperma sulu kıvamdan krem kıvamına kadar değişen viskozite gösterebilir. Spermanın kıvamı, büyük ölçüde içerdiği spermatozoa sayısı ile ilişkilidir. Örneğin; az yoğun bir sperma, açık krem renginde, sulu kıvamda ve akışkan olduğu halde, daha yoğun sperma ($\times 10^9/\text{ml}$) krem renginde, koyu süt kıvamındadır ve bunun akışkanlığı daha azdır (Büyükhatipoğlu vd., 1984; Munkittrick vd., 1987).

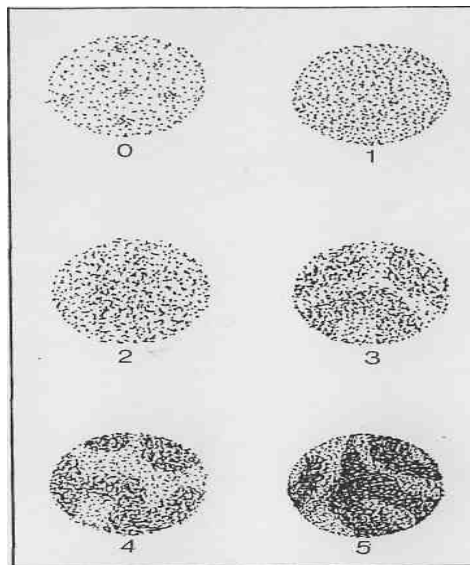
2.3.1.2. Spermanın mikroskopik muayenesi

Taze spermada muayeneler sperma alımından hemen sonra ve spermatozoonların çevre koşullarından en az etkileneceği bir ortamda (laboratuvar) sürdürülür. Muayene

sırasında spermanın temas edeceği lam, lamel, pipet, vb. gibi tüm malzemeler temiz, steril ve ortam sıcaklığında olmalıdır (Alaçam vd., 1994). Alabalık çiftliklerinde hehüz laboratuvar şeklinde tam teşekküllü bir çalışma alanları kurulmamıştır. Fakat laboratuvar ve malzemelerinin önemi gün geçtikçe artmaktadır.

2.3.1.2.1. Kitle hareketi

Spermatozoa yoğunluğu fazla olan spermalarda gözlemlenebilen bir hareket çeşididir. Kitle hareketi, spermada bulunan ileri yönlü, güçlü harekete sahip spermatozoonların yoğunluğuna ve motilitesine bağlı olarak oluşur. Spermada ileri yönde ve hızlı hareket eden spermatozoa sayısı çok fazla ve motilite çok iyiye, kitle hareketi koyu hatlar halinde kaynama veya dalgalanma şeklinde görülür. Spermatozoa hareketleri yavaş veya az sayıda ileri yönlü ise kitle hareketi ya çok yavaş dalgalanma veya kaynama şeklindedir ya da hiç görülmez. Kitle hareketi 0-5 arasında puanlama ile değerlendirilir. Eğer spermada hiçbir kitle hareketi gözlenmiyorsa; 0 (sıfır), kitle hareketi çok hızlı, kalın hatlarla kaynama veya dalgalanma şeklinde ise 5 (beş) ile değerlendirilir. Değerlendirmeler türe özgü özellikler dikkate alınarak yapılır (Şekil 2.4). Muayene için yaklaşık mercimek büyüklüğünde bir damla sperma, kapiller pipet veya bagetle lam üzerine konur. Hareketler mikroskopun küçük büyütme objektifiyle (x400), lamel kapatılmaksızın, doğrudan değerlendirilir. Muayene kısa sürede yapılmalı, gerektiğinde tekrarlanmalıdır (Alaçam vd., 1994).



Şekil 2.4. Mikroskop altında sperm hareketlerinin değerlendirilmesi: (0) Yok, (1) çok zayıf, (2) zayıf, (3) orta, (4) iyi, (5) çok iyi (Alaçam vd., 1994).

2.3.1.2.2. Spermatozoa motilitesi

Spermatozoa motilitesi; bir yönde ve güçlü hareket eden spermatozoonların, hareketsiz veya diğer hareket biçimi gösterenlere oranıdır. Bir yönde ve güçlü hareket niteliği gösteren tek hücreye ise, motil spermatozoon denir. Motil spermatozoonların spermadaki sayıları, toplam spermatozoa içindeki yüzde oranlarıyla hesaplanabilir. Yalnızca motil spermatozoonların dölleme (fertilizasyon) güçleri olduğu kabul edildiğinden, yapılacak muayenelerde motilite saptanması önemli yer tutar. Motilite oranının belirlenmesiyle, hem erkek hayvanların dölleme güçleri büyük ölçüde belirlenir hem de spermanın değişik amaçlarla kullanılması ve değerlendirilmesi olanağı sağlanır. Bu nedenle spermatozoa motilitesinin saptanmasında çok dikkatli olmak gerekir. Motilitenin düşük saptanması halinde spermadan daha az veya hiç yararlanılamayacağı, yüksek saptanması halinde ise infertilite veya steriliteye yol açabileceği düşünülmelidir (Büyükhatipoğlu vd., 1984; Munkittrick vd., 1987; Alaçam vd., 1994; Dreanno vd., 1999c).

Spermatozoa motilitesinin saptanmasında lam, lamel, ve pipet gibi malzemelerin temiz ve vücut sıcaklığında veya ortam sıcaklığında olmasına dikkat edilmelidir. Spermatozoa motilitesinin saptanması taze ve sulandırılmış spermada yapılır. Bunun için spermadan küçük bir damla alınarak lam üzerine konur ve bu damla üzerine lamel kapatılmadan ışık mikroskopunda genellikle orta büyütmede (x400), spermatozoonlar tek tek izlenerek bunların hareketlerinin değerlendirilmesi yapılır. Çoğunlukla, taze balık spermalarında yüksek motilite (%90) ve hareket hızına rastlanılır. Spermanın motil spermatozoa yönüyle değerlendirilmesi, toplam motil spermatozoa sayısı göz önünde bulundurularak yapılmalıdır. Spermada düşük motilite (%60) durumunda bu gibi spermalar dölleme için tercih edilmez. Kullanılması halinde dölleme oranı düşük olur (Büyükhatipoğlu vd., 1984; Munkittrick vd., 1987).

2.3.1.2.3. Spermatozoa yoğunluğu

Birim hacim spermada bulunan spermatozoa sayısı olarak tanımlanabilir. Spermanın bir mm³ veya cm³'ünde bulunan toplam spermatozoa sayısının bilinmesiyle ancak, motil spermatozoon oranı veya diğer spermatolojik özellikler sayısal olarak ifade edilebilir. Özellikle spermanın kullanılmasında ve değerlendirilmesinde spermatozoa yoğunluğu ve motilitesi yanında çok önemli bir spermatolojik özelliği oluşturur. Spermatozoa yoğunluğu çok değişik yöntemlerle belirlenebilirse de uygulamada genellikle üç temel yöntem kullanılır. Bunlar;

Hemositometrik Yöntem: Kan hücrelerinin sayımında olduğu gibi, spermada bulunan eşey hücrelerinin sayısal miktarının belirli oranlarda sulandırılması, eritrosit sayımında kullanılan pipetlerle yapılır. Spermatozoa sayımında çeşitli sayım lamaları kullanılabilir. Ancak, daha çok kullanılanı "Thoma" sayım lamıdır. Thoma lamında biri üstte, diğeri altta olmak üzere iki sayım sahası vardır. Her sayım sahasında 16 büyük kare, her büyük karede ise 25 küçük kare bulunur. Thoma lamı her iki sayım sahasını örtecek şekilde özel lamelle kapatılır. Lamelin yapıştırılması, sayım sahalarının yanlarında bulunan ayakların hafif nemlendirilmesiyle sağlanır. Yapışmanın uygunluğu her iki yapışma yerinde oluşan Newton renk halkasıyla kontrol edilir. Sayım lamına sayım sahaları yanlarından önceden hazırlanmış solüsyon damlatılarak lam ve lamel arasında oluşan hacim tamamen doldurulur. Spermatozoonların çökmeleri için lam yaklaşık 5 dakika yatay konumda bekletilir. Spermatozoa sayımı, mikroskopta sahanın bulunması için önce küçük büyütme (x 400) objektifler kullanılarak yapılır.

Fotolemetrik Yöntem: Bu yöntem fotoelektrokolorometrik ya da nefalometrik adı da verilir. Oldukça yaygın kullanım sahası vardır. Pratik oluşu ve kısa sürede sonuç vermesi yönüyle tercih edilir.

Elektronik Sayaç Yöntemi: Spermatozoa yoğunluğu son zamanlarda geliştirilen elektronik aletlerle de belirlenebilmektedir. Bu yöntemde kullanılan alet, elektrolit bir sıvı içinde bulundurulmuş iki elektrod arasındaki elektrik akımının, ortamda bulunan partiküllerin sayısı ve büyüklüklerine göre değişmesi esasına göre çalışır.

2.3.1.2.4. Ölü-canlı spermatozoon oranı

Spermada yer alan ölü ve canlı spermatozoa oranını saptamak amacıyla araştırılır. Bu saptama, boyama testleriyle ölü spermatozoonların boyayı alma, canlı olanların ise, boyayı almama özelliğine dayandırılarak yapılır. Boyama işleminde genellikle eosin kullanılmakla beraber, eosin-nigrosin, opalblue ve fast green gibi boyalardan da yararlanılabilir. Ölü spermatozoon oranının saptanması spermatolojik özellikler bakımından ancak tamamlayıcı bilgi verir. Eğer spermada ölü spermatozoa oranı düşükse, bu çok şey ifade etmez. Çünkü yerinde sallanan, çember hareketliler de canlı spermatozoon özelliği gösterebilirler. Spermada yüksek miktarda bulunan ölüm oranı ise olumsuzluk işaretidir. Bu durumda diğer spermatolojik özellikler tekrar gözden geçirilmelidir. Spermada genellikle %20-25'in üzerinde ölü spermatozoa bulunması istenmeyen bir özelliktir (Labbe vd., 2001).

2.3.1.3. Spermanın fiziksel ve kimyasal özelliklerinin muayenesi

Spermanın fiziksel ve kimyasal özelliklerinin muayenesi kapsamında spermanın pH değeri ve dayanıklılığı (direnci) incelenmektedir (Büyükhatipoğlu vd., 1984; Munkittrick vd., 1987; Alaçam vd., 1994).

2.3.1.3.1. pH değeri

Spermanın pH değeri, taze spermada ve sulandırma işlemi sonrasında indikatör kağıtları veya pH ölçüm aletleriyle saptanır. pH ölçümü sırasında kullanılan ölçüm tekniğine kesinlikle uyulmalıdır. Spermada saptanan pH değeri değişimleri, spermaya dışarıdan herhangi bir maddenin karıştığının göstergesi olabilir. Ayrıca, spermatozoonların metabolik faaliyetler sonucu ortama verdikleri artık maddeler de (laktik asit gibi) pH değişimine yol açabilmektedir. Bilimsel çalışmalarda ve spermanın değişik amaçlı kullanımlarında spermatozoon metabolizmasına bağlı olarak belirli süre içinde pH değerinin değişmesi, spermanın değerlendirilmesinde kriter olarak kullanılabilir (Büyükhatipoğlu vd., 1984; Munkittrick vd., 1987; Alaçam vd., 1994).

2.3.1.3.2. Dayanıklılık testi

Bu amaçla, "tuzlu su testi", "termorezistens testi" ve "soğuk şok testi" kullanılmaktadır.

Tuzlu Su Testi: Bu testte %1'lik tuzlu su ortamında tutulan spermatozoonların aktivitelerini koruma süreleri araştırılır (Holtz vd., 1984; Munkittrick vd., 1987).

Termorezistens Testi: Bu deneyde, değişik sıcaklık ortamlarında belirli süre tutulan spermalarda spermatozoa motilitesi ya da hareket biçimleri değerlendirilir. Spermatozoa hareketlerinin yanısıra morfolojik yapının da (özellikle akrozom yapısı) incelendiği testtir (Holtz vd., 1984).

Soguk Şok Testi: Gerek doğal, gerekse dondurulmuş spermaların değerlendirilmesinde kullanılan testte spermanın soğuk ortamdan etkilenişi araştırılır. Bunun için sperma 0 °C'ye kadar soğutulur ve 10 dakika bekletildikten sonra sıcaklık tekrar +15°C'ye çıkarılır. Spermatozoonlar eosin ya da eosin-nigrosin gibi boyalarla boyama ile ölü-canlı oranına göre değerlendirilir (Büyükhatipoğlu ve Holtz vd., 1984; Munkittrick vd., 1987; Alaçam vd., 1994).

2.3.1.3.3. Spermanın bileşimi

Spermanın bileşimi, spermatozoa ve seminal plazmadan meydana gelir. Gerek spermatozoa gerekse seminal plazmayı oluşturan maddeler, hayvan türüne, ırkına hatta yaşa ve çevre koşullarına bağlı bir takım değişiklikler gösterir. Spermada yer alan elemanlar ve değerleri tıpkı kan ve serumunda olduğu gibi muayene edilebilmektedir. Günümüzde geliştirilmiş santrafuj ve filtrasyon teknikleriyle spermada bulunan spermatozoa ve plazma kısımları ayrılabilenkte, uygun biyokimyasal laboratuvar yöntemleriyle bunların analizleri yapılabilmektedir (Büyükhatipoğlu ve Holtz vd., 1984; Munkittrick vd., 1987; Alaçam vd., 1994).

Spermada bulunan elemanlar, spermatozoonlarda ve seminal plazmada değişik oranlarda yer alırlar. Ancak, hücre membranlarında oluşan herhangi bir bozukluk nedeniyle oranlar değişebilir. Bu durumlar plazmadan hücreye, ya da hücreden plazmaya madde geçmesine yol açar. Genellikle, hücreden seminal plazmaya magnezyum ve potasyum, plazmadan hücreye ise sodyum ve kalsiyumun geçtiği bildirilmiştir (Alaçam vd., 1994; Labbe vd., 2001). Spermatozoonda bulunan başlıca kimyasal bileşiklerden deoksiribonükleik asit (DNA) mukopolisakkarid, aldehidrogenik lipid (plasmalogen), keratin-protein, enzim ve koenzimler önemli yer tutarlar. Bu maddeler hayvan türleri arasında farklılıklar gösterirler.

2.3.2. Yumurta

Balık üretiminde, en yüksek sayı ve kalitede yumurta ve larva elde etmek temel amaçtır. Normal şartlar altında yumurtaların döllenmesi, embriyonal gelişimi ve çıkan larvaların yaşama oranı üzerinde, yumurta özellikleri olarak tanımlanan yumurta kalite parametreleri belirleyici rol oynamaktadır (Brooks vd., 1997). Kültürü yapılan veya yapılmaya çalışılan birçok balık türü için kaliteli yumurta üretimi önemli bir problemdir. Levrek, çipura, kalkan ve birçok yassı balıklara ait yumurtaların yaşama oranı oldukça düşük olup, bu oran genellikle %5'den daha azdır (Tablo 2.1). Salmon balıklarının yumurtaları ve dolayısıyla larvaları kaliteli olmakla birlikte, yumurtaların 2/3'si ve larvalar kuluçkalamada ilk birkaç ay esnasında kaybedilebilir (Bromage vd., 1992; Okumuş vd., 1998; Dreanno vd., 1999c; Zilli, 2003).

Tablo 2.1. Gökkuşığı alabalığı, deniz levreği, çipura ve kalkan anaçlarının yumurta verimleri ile yumurtaların döllenme ve çıkış oranları (Okumuş vd., 1997).

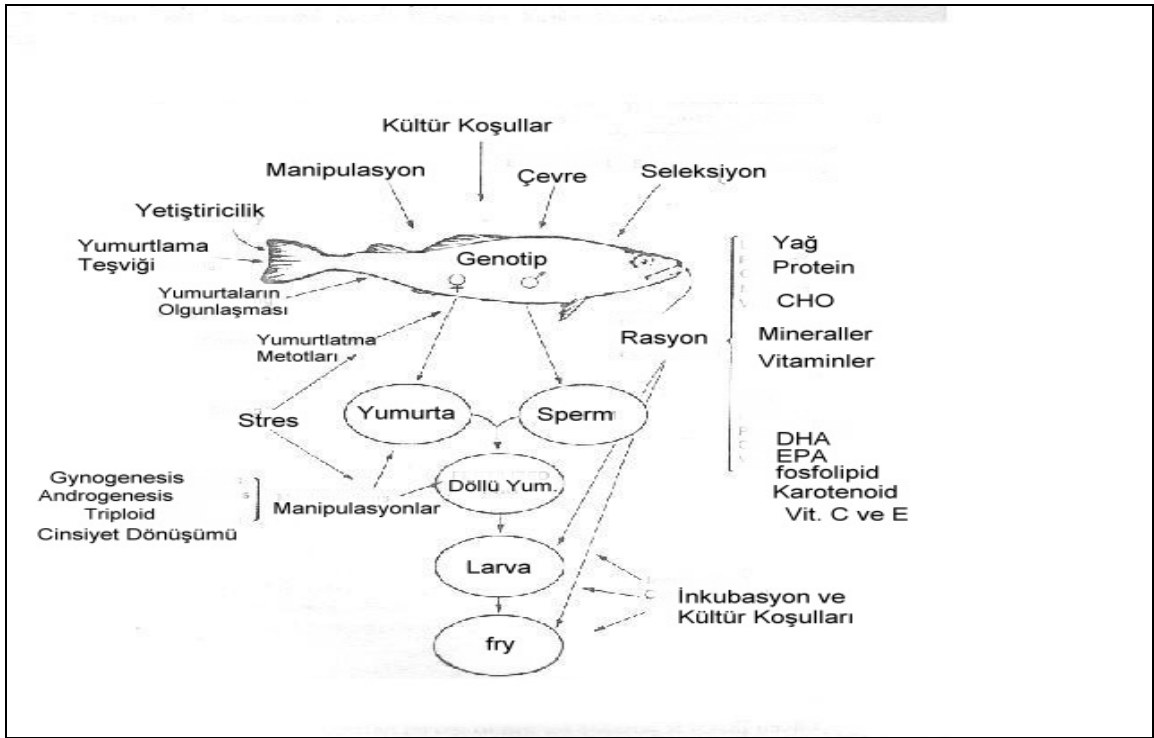
Tür	Yumurta Verimi		Döllenme Oranı (%)	Çıkış Oranı (%)	Larva (adet/kg anaç yıl)
	Adet/kg anaç	Anaç ağırlığı (%)			
Alabalık	1.600	20 - 30	75 - 95	60 - 90	1.000
Levrek	300.000	20 - 25	90 – 95	75 - 85	220.000
Çipura	800.000	50 - 80	90 – 95	70 - 80	560.000
Kalkan	500.000	20 - 50	35 – 52	25 - 45	100.000

Gökkuşığı alabalıklarındaki fertilizasyon oranı, ya döllenmeden sonraki ilk 12 saatte ya da embriyonun gelişiminden 7 gün sonra oluşan ölü veya gelişmeyen yumurtaların belirlenmesiyle tespit edilebilir (Springate vd., 1984; Sower vd., 1992; Bromage vd., 1992; Brown vd., 1995). Sonuç olarak gözlenmiş ve döllenmiş oran arasındaki korelasyonun belirlenmesi ile kalite kontrolü yapılır. Yumurta kalitesi, çoğunlukla gözlenmiş yumurta oranı olarak kullanılır (Turner, 1962; Withler vd., 1968; Willers., 1981; Bromage vd., 1992; Zilli vd., 2004).

Bununla beraber, deniz balıklarında yumurta kalitesini belirleme metotları açısından çok az ortak görüş vardır. Deniz balıklarına ait yumurtaların üstünlükleri genellikle deniz suyunda yüzme veya batma durumlarına göre tespit edilerek “düşük kaliteli” veya “iyi kaliteli” yumurta olarak ayrılırlar (McEvoy, 1984; Carrillo vd., 1989; Kjorsvik vd., 1990). Diğer yandan korion görünüşü, yumurta şekli, şeffaflığı ve yağ damlacıklarının dağılımı gibi bir çok faktörün yumurta kalitesi ile ilgili olduğu ileri sürülmektedir (Kjorsvik vd., 1990). Bununla birlikte, yassı deniz balıklarının morfolojik karakterlerinin de kalite ile ilgili olduğu bildirilmektedir (Labbe vd., 1995; Kime vd., 1996; Okumuş vd., 1997; Oda vd., 1998). Dölleme oranı, deniz salmonlarında yumurta kalitesinin iyi bir göstergesidir (Inaba vd.,1993; Itoh vd.,2003; Kjorsvik vd., 2003; King vd., 2003).

Balıklar ve diğer evcil hayvanların arasındaki önemli bir farklılık, balıkların yüksek fekunditeye sahip olması ve çok miktarda yumurta vermesidir. Balık türleri arasında da fekundite oldukça farklılık gösterebilir. Yassı deniz balıkları milyonlarca yumurta üretirken, salmonlarda bu değer binler düzeyindedir (Bromage, 1994; Caille vd., 2006). Ayrıca, çoğu deniz balıkları 2-3 ay sürebilen yumurtlama mevsiminde haftalık olarak yumurta üretirken, salmonlar yılda sadece bir kere yumurta üretebilirler. Anaç yönetimi ve planlaması salmonlar gibi düşük fekunditeye sahip olan balık türleri için büyük önem taşımaktadır (Büyükhatoğlu vd., 1978; Bromage vd., 1994; Crespel vd., 2008).

Ayrıca, yumurta sayısı veya fekundite ile birlikte yumurta büyüklüğü de kalitenin belirlenmesinde kullanılmaktadır. Yumurta büyüklüğü yumurta kalitesini belirleyen önemli kriterlerdendir (Gillet, 1991; Dörücü vd., 2001). Anaç balığın büyüklüğü yumurta sayısını ve büyüklüğünü etkileyen en önemli faktördür. Genel olarak, balık büyüklüğü fekundite ve yumurta çapını artırır. Bu özellik salmonlarda belirgin olarak gözlenir. Bununla beraber gökkuşağı alabalıklarında, artan balık büyüklüğüyle birlikte fekunditede bir düşüş gözlenmektedir (Gillet vd., 1996; Koldros vd., 1996; Labbe vd., 1997). Fekundite ve yumurta büyüklüğü üzerinde; balığın büyüklüğü ve genotipi, stoklama yoğunluğu, stres oluşturan durumlar, besin kalitesi ve miktarı ile suyun fiziksel ve kimyasal özellikleri (Şekil 2.5) etkili olmaktadır (Bromage ve Roberts, 1995).



Şekil 2.5. Yumurta, sperma ve larva kalitesini etkileyen faktörler (Bromage ve Roberts, 1995).

Fekundite üzerine dolaylı etkilerine ilaveten, anaç balıkların günlük ve mevsimsel beslenme oranları da fekundite ve yumurta büyüklüğünü doğrudan etkilemektedir (Springate vd., 1984; Jensen, 1984; Lahnsteiner vd., 1992; Bromage vd., 1992; Kho vd., 2001). Bundan dolayı, tavsiye edilen günlük yemleme oranının yarısı veya çeyreği kadar yemle beslenen anaç alabalıkların yumurta sayısı %25 oranında azalmaktadır (Jones ve Bromage, 1987).

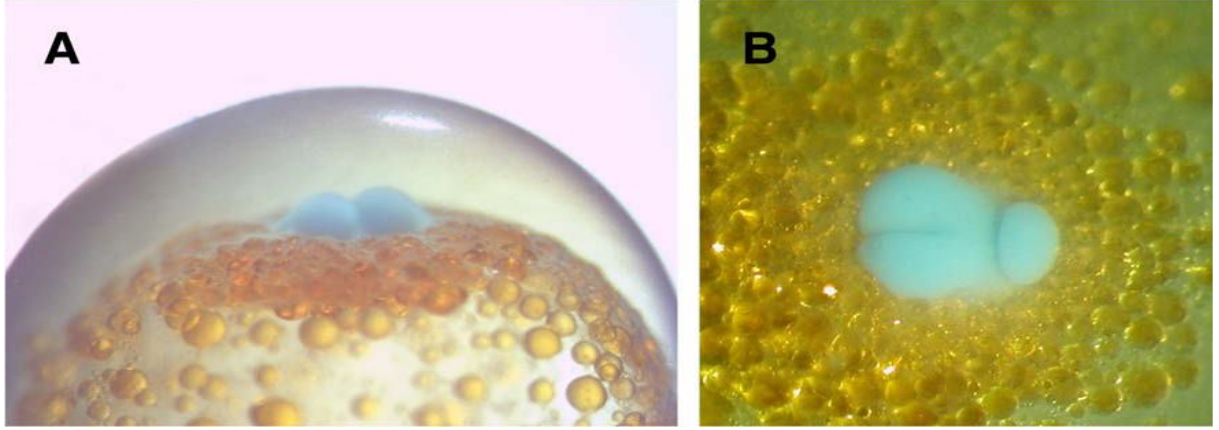
Mevsimsel değişimlere bağlı olarak sudaki besin maddelerinin kalitesi ve miktarındaki değişimler, düşük veya yüksek besleme oranları, balıkların olgunlaşma oranı ve fekunditesi üzerinde belirli etkilere sahiptir (Bromage vd., 1992; Labbe vd., 1996), üreme periyotlarının ilk 4 ayı için yüksek kalitedeki rasyonlarla beslemenin fekunditeyi arttırdığını, üretim döngüsünün daha sonraki safhalarında ise yüksek kalitedeki rasyonlarla beslemenin yumurta sayısında görünür bir etki yapmadığını bildirmiştir. Balık yumurtalarının olgunlaşması ve yumurta kalitesi arasında da bir ilişki mevcuttur. Döllenmemiş yumurtalar ovulasyonu takiben, yaygın bir şekilde olgunlaşma olarak tanımlanan bir gelişim dönemi geçirir (Kjorsvik vd., 1990; Bromage vd., 1994; Lansteiner vd., 1998; Labbe vd., 2001).

2.4. Dölleme ve Döllenme Başarısı

Döllenme başarısı, yumurta kalitesi ve bunun en belirgin değerlendirme kriteri olan sperm kalitesinin değerlendirilmesi için kullanılan erken değerlendirme kriteridir. Aslında; dölleme ve döllenebilme yeteneği gamet kalitesinin anahtar unsurlarından biridir. Bazı türlerde döllenme oranlarını kaydetmek kolaydır. Bu durum; morina (*Gadus Morua*), kalkan ve sarı kuyruklu dil balığı (*Limanda ferruginea*) gibi şeffaf yumurtalı balık türleri için geçerlidir. Bunun aksine, mat yumurtalı balık türleri için oldukça zordur. Geçmişte ‘döllenme oranı’ tabirini kullanan birçok çalışma, çok sonraki aşamalarda görülen yaşayan embriyo durumunu tasvir etmiştir. Bu durum; spermin dölleme yeteneğinin yüzde bazında gelişen embriyolara bakılarak kaydedildiği sperm çalışmaları için geçerlidir. Böylece, dölleme oranının erken gelişim dönemi için iyi bir kriter olduğu anlaşılmaktadır ancak türlere bağlı olarak bunun gözlemlenmesi zordur (Holtz vd., 1984; Munkittrick vd., 1987).

Ayrıca, birçok deniz türünde de görüldüğü üzere ileriki gelişim durumları için, döllenme başarısı çok belirleyici bir unsur değildir (Shields vd., 1997; Lahnsteiner vd., 2008). Döllenmeden sonra embriyo hücreleri bölünmeye başlar (Şekil 2.6). İlk embriyo hücrelerinin şekli ve anormal hücre bölünmelerinin meydana gelmesi şeffaf yumurtalı balıkların kalitesini gösteren bir kriterdir. Sarıkuyruklu dil balığında anormal klivaj erken embriyo ölümleriyle sonuçlanır (Büyükhatoğlu vd., 1978; Beck vd., 1992; Contreras-Sanches vd., 1998; Avery ve Brown, 2005). Aynı zamanda blastomer şekli, sonraki aşamalarda görülen gelişimsel başarı ile ilişkindir (Shields vd., 1997; Kjorsvik vd., 2003; Inaba, 2008). Atlantik morinaları üzerinde yapılan son dönem çalışmaları; anormal klivaja uğrayan embriyoların yaşam süresinin normal embriyolarınkinden daha kısa olduğunu göstermiştir. Bununla birlikte, hem normal hem de anormal yumurtaların yaşama eğilimleri ve kuluçka başarıları arasında çok

ciddi farklılıklara rastlanmamıştır. Sonuç olarak anormal klivaj görünümünün embriyonik başarısızlıkla da sonuçlanmadığını ortaya koymuştur (Avery vd., 2008; Izguero vd., 2001). Sonuç olarak, pelajik yumurtalarının yüzebilir olması; tüm türler (Brooks vd., 1997) bazında olmasa da, mercan balığı (*Pagrus major*) (Takeuchi vd., 1982; Sakai vd., 1985) ve diğer türlerin (Hokanson vd., 1973; Kjörsvik vd., 2003) normal olarak gelişebilen yumurtaları için daha iyidir.



Şekil 2.6. Döllenmiş gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) yumurtasının; yandan (A) ve üstten (B) görünüşü (Knoll-Gellida vd., 2008).

2.5. Embriyo Yaşama Oranı

Embriyonik aşamada; embriyonun hayatta kalması, başarılı bir biçimde gelişen yumurtanın döllenme ve spermatozoanın dölleme yeteneğini karakterize eden en yaygın dönemdir. Bu devrede hayatta kalma durumu; bir çok balık türünde görülen gözlenme aşaması, kuluçka, besin kesesi emilimi aşaması gibi özel aşamalarda değerlendirilebilir. Ayrıca bu durum; farklı deneysel çalışmaların arasında farklılık gösteren embriyonik yaşam sürelerinin karakterize edilerek gelişim süreçlerinde hayatta kalma durumunun izlenebilmesi için çok değerli bilgiler sunar (Campbell vd.,1992; Kopeika vd., 2003; Bonnet vd., 2007; Cosson., 2008).

3. MATERİYAL VE METOT

3.1. Materyal

3.1.1. Çalışma Yeri

Çalışma, Kayseri Pınarbaşı İlçesinde bulunan Uzunyayla Alabalık Üretim Çiftliği'nde gerçekleştirildi. Çalışmada 5x1,5x1,2 m boyutlarındaki 2 adet ve 10x3x1,2 m boyutlarında olan 1 adet beton havuz kullanıldı. Balık yumurtalarının kuluçkalanması işlemi bu tesise ait kuluçkahanede gerçekleştirildi.

3.1.2. Balık Yemi

Araştırma süresince XY ve XX kromozumlu erkek ve dişi damızlık gökkuşağı alabalıkları'nın beslenmesinde; %50-52 ham protein, %18 ham yağ, 4150 kkal/kg toplam enerji içeren ve 12 mm çapında olan ticari bir alabalık damızlık yemi (Skretting Yem Üretim ve Ticaret A.Ş.) kullanılmıştır. Ayrıca yapılan ön çalışmada, dişiden erkekleştirme işleminde kullanılan yavrubalıkların beslenmesinde; %56 ham protein, %14 ham yağ, 4380 kkal/kg toplam enerji içeren ve 0,3-0,5 mm çapında olan ticari bir alabalık yavru yemi (Skretting Yem Üretim ve Ticaret A.Ş.) kullanılmıştır.

3.1.3. Sarf Malzemeleri

Potasyum klorit (KCl), sodyum klorit (NaCl), sodyum dihidrojen ortofosfat (NaH_2PO_4), magnezyum sülfat ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), kalsiyum klorit ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) ve sodyum hidrojen karbonat (NaHCO_3), glukoz ($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$) ve kalsiyum klorür (CaCl) kullanıldı. Balıkların anestezisi için; fenoksietanol kullanıldı. Yumurtaların dezenfeksiyonu için; kloramin –T ve formaldehid (%37) kullanıldı.

3.1.4. Kullanılan Araç-Gereçler

Sıcaklık, pH ve oksijen metre (OxyGuard marka Handy Alpha model), ışık mikroskobu (ZEISS Primo Star), lam ve lamel, 0,01 hassasiyetli hassas terazi (Sartorius gold OS – KA), 3 adet çiftli ve 10 sıralı yumurta dolabı (FET marka yuvarlak tepsi model), yumurta seçme makinası, kumpas, sağımlar malzemeleri (Tulum, eldiven, yün havlu, plastik leğen, dereceli mezür, huni, plastik kova, ağ kepçe vb.) kullanıldı.

3.1.5. Anaç Balık Materyali

Çalışmada kullanılacak olan anaç, XY kromozoma sahip erkek gökkuşağı alabalıkları, ticari bir balık işletmesinden temin edildi. XX kromozoma sahip olan dişiden erkekleştirilmiş balıklar ise daha önceden yapılan bir n çalışma sonucunda elde edildi (Bkz. Bölüm 3.2.3). Aynı çalışmada 3. yaş grubunda olan toplam 30 adet XY, 30 adet XX kromozoma sahip erkek ve 4. yaş grubunda olan toplam 60 adet dişi gökkuşağı alabalığı (şekil 3.1) kullanıldı.



A



B



C

şekil 3.1. Anaç gökkuşağı alabalığının lateral görünüşü A) XY kromozomlu erkek B) XX kromozomlu erkek C) Dişi damızlık.

3.2. Metot

3.2.1. Denemenin Planlanması ve Uygulanması

Araştırma, Kayseri Pınarbaşı İlçesinde bulunan Uzunyayla Alabalık Üretim Çiftliği'nde gerçekleştirildi.

Deneme erkek anaç balıklar 5x1,5x1,2 m boyutlarındaki 2 adet beton havuza ayrı ayrı stoklandı. Dişi anaç balıklar ise 10x3x1,2 m boyutlarındaki beton havuza stoklandı. Stoklama yoğunluğu 5 kg/m³ olacak şekilde ayarlandı. Bu havuzlardaki anaçlar damızlık yemiyle beslendi. Damızlıkların kuru yöntemle sağılmasıyla elde edilen yumurtaların döllenip, yuvarlak yumurta dolaplarına stoklanması planlanmıştır. Kuluçka dolabına, ortalama sıcaklığı 10,4-11°C ve yaklaşık 9,6-11,2 mg/L çözülmüş oksijeni olan kaynak suyu kullanıldı.

Araştırmada; 4 yaşında olan dişi damızlıklardan sağılmış yumurtaları XX ve XY kromozoma sahip damızlık spermleriyle döllendi. Balıklara, ağırlıkları ile boylarının ölçülmesi ve sağım işlemlerinden önce anestezi (5 ml fenoksietanol /L) uygulandı (Werthemer, 1984; Rurangwa vd., 2001).

3.2.2. Araştırmada Kullanılan Kaynak Suyunun Analizi

Çalışmanın başlangıcında, anaçların (erkek ve dişi) stoklandığı ve kuluçka dolaplarında kullanılan kaynak suyunun fiziksel ve kimyasal kalite parametreleri belirlenecektir. Ayrıca, araştırma süresince araştırma havuzlarındaki suyun sıcaklığı 1 °C taksimatlı termometre, çözülmüş oksijen miktarı (mg/L) portatif oksijen metre ve pH'sı portatif pH metre kullanılarak günlük olarak tespit edildi (APHA, 1985).

3.2.3. Gökkuşaağı Alabalığında Dişiden Erkekleştirme İşlemi

Belirtilen bu ön çalışmada, dişiden erkekleştirme işlemi aşağıda belirtildiği şekilde yapılmıştır: 17 α -metiltestesteronun uygulanmasının etkili olması zamana ve dozaja bağlıdır. Gerekli olan hormon miktarı 1 kg yem için 3 mg/kg yem'dir. Bu hormonu; 1kg yeme homojen bir şekilde karıştırmak için hormonu alkol içinde iki aşamada çözdük. Birinci aşama; 2 ml bütül-alkol içerisine konulan 17 α -metiltestesteron eriyene kadar beklendi. İkinci aşama; bu alkol hormon karışımı 150 ml olana kadar üzeri etil alkolle tamamlandı. Bu karışım 1kg yemle homojen bir şekilde karıştırıldı. 17 α -metiltestesteron karıştırılmış yem 24 saat kuru ve direk güneş ışığı almayan yerde kurutuldu. Besin kesesini tüketmiş olan yavruya 750 GD uygulandı. Bu yavrular anaç boya gelene kadar normal yemle yemlendi. Yapılan arakontroller

sonucu 24 ayda spermleri olduğu tespit edildi. Bu ön çalışma sonucu elde edilen 30 adet XX kromozomlu damızlık gökkuşağı alabalığı bu çalışmada kullanıldı.

3.2.4. Damızlıklarda Cinsel Olgunluğun Belirlenmesi

Cinsel gelişim safhasının tayini için öncelikle balığın dış görünüşüne bakılmaktadır. Erkek damızlık gökkuşağı alabalığında vücut daha yassı olup, üreme zamanı alt çene öne doğru uzamış bir kanca şeklinde yukarı kıvrılmıştır. Yanal çizgi boyunca daha koyu ve parlak kırmızı bir şerit taşırlar. Ayrıca, erkeklerde karın daha koyu renktedir. Dişi damızlıkların renkleri daha açık olup karın daha şişkin ve cinsiyet deliğinin yeri daha büyüktür (Morisawa vd., 1987; Ohta vd., 1993; Inaba vd., 1997; Nagler, 2000; Zilli vd., 2003; 2004).

Bu çalışmada, hem normal (XY), hemde fonksiyonel erkekler (XX) kullanıldığı için bu erkekleri de birbirinden ayırt edici özelliklerle ayırmak gerekmektedir. Bu çalışmada 3 yaşında XX kromozomlu erkeklerle, aynı şekilde 3 yaşında XY kromozomlu normal erkekler kullanılmıştır.

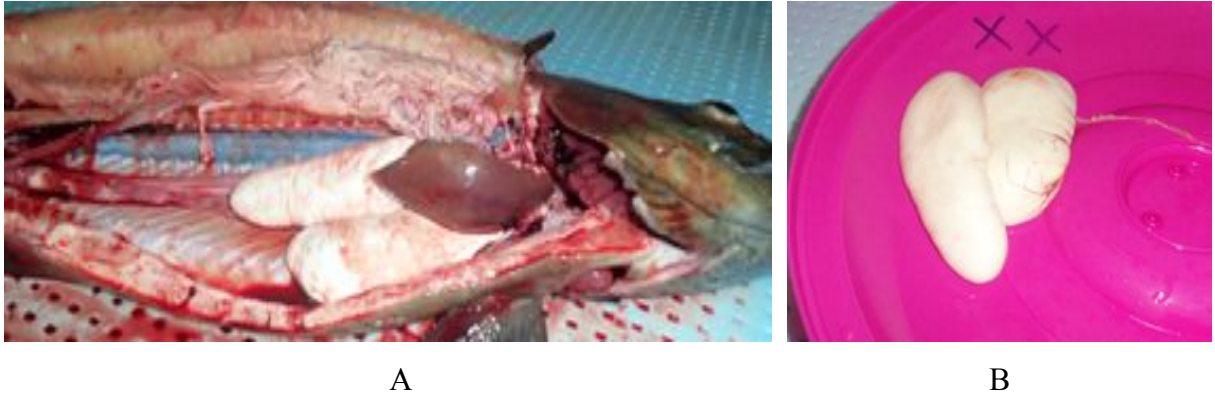
Normal erkek damızlık (XY) ile dönüştürülmüş erkek damızlıkların (XX) birbirinden ayrılmasında aşağıdaki özellikler saptanmıştır (Stickney, 1991; Mylonas vd., 1992):

- Cinsiyeti değiştirilmiş ergin damızlığın renginin yumurtlama mevsiminde normal damızlıktan daha koyu olduğu saptanmıştır.
- Balık sağıldığında normal erkeklerden (XY) sperm geldiği halde, dönüştürülmüş erkeklerden (XX) gelmediği gözlenmiştir.
- Balık sağıldığında sperm gelmeyen erkek balıkların otopsisinde, gonadlar incelendiğinde, testislerin beyaz, şişkin olduğu ve sperm kanalının olmadığı, varsa bile seyreltik bir sıvı içerdiği gözlenmiştir.
- Cinsiyeti değişen alabalıklarda testisler loplu yapıda, yuvarlak ve genellikle bir tek testis veya biri daha büyük olarak gözlenmiştir. Bu testislerin normal erkeğin testisinden daha büyük olduğu saptanmıştır (Şekil 3.2).

3.2.3.1. Sperma kontrolü

Sperma kontrolü için; erkeğin karnı yukarı gelecek şekilde çevrilip, anüs çevresi bir havlu ile silinerek kurutuldu. Erkek alabalıkların (XY kromozomlu) sperma vermeye hazır oldukları, göğüs yüzgeçleri ile anüs arasındaki karın bölgesine nazik bir şekilde basınç uygulanarak, spermanın sağılmasıyla anlaşıldı. Bu tip erkeğin spermasının ilk birkaç damlası yere sağıldı.

Dişiden erkekleştirilen (XX kromozomlu) damızlıklarda sperm kanalı olmadığı için, balığın kesilerek spermasının alınması işleminden önce balıklara anestezi uygulandı. Anestezi edilen balıklar bir bistüri yardımı ile otopsi yapılarak gonatları alındı (Şekil 3.2). Bu tip erkeklerin spermalarına kesinlikle idrar, dışkı ve kanın bulaşma riski yoktur. Fakat, XY kromozomlu erkeklerden alınan spermalarda bu risk her zaman vardır. Diğer yandan, XX kromozomlu erkeklerin 24 ayı doldurmuş olması gereklidir. Her iki şekilde elde edilen spermaların mikroskop altında canlılıkları ve hareket yetenekleri gözlemlendi (Morisawa, 1986; 1994; Breton vd 1990; Rurangwa vd., 2001).



Şekil 3.2. XX Kromozomlu erkekten sperm alımı. A) Gonadların balıktaki konumu
B) Gonadların görünümü

3.2.3.1.1. Cortland sıvısı

Cinsiyeti dönüştürülmüş olan erkek balıklardan (XX) sağım yöntemi ile sperm alınamadığından anestezi edilen balıklar bir bistüri yardımı ile kesilerek gonatları alındı. Bu gonadlar, 0°C buz üzerinde bulunan kuru bir kaba bırakıldı. Daha sonra, Cortland sıvısı ile 5:1 oranında (sulandırıcı: sperm) seyreltme yapıldı.

Cortland sıvısının hazırlanması:

1. Solüsyon.....	gr/L
Potasyum Klorit KCl	9,00
Sodyum Klorit NaCl	2,35
Sodyum dihidrojen ortofosfat NaH_2PO_4	0,51
Magnezyum sülfat $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,29
Kalsiyum klorit $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0,29

2. Solüsyongr/L

Sodyum hidrojen karbonat	NaHCO_3	5,00
Glukoz	$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$	5,00

Her iki solüsyonda saf su ile hazırlandı. Bu solusyonlar ayrı kaplarda saklandı. Daha sonra kullanılacağı zaman, bu iki solüsyon 4:1 oranında karıştırılarak kullanıldı. Cortland sıvısı ile seyreltilmiş olan spermatozoa, spermatozoaların homojen şekilde karışması için 1 saat önce 0°C de tutuldu.

3.2.3.2. Yumurta kontrolü

Damızlık balıkların her hafta el ile kontrolleri yapıldı. Bu işlem için, önceden anestezi edilmiş olan dişi damızlıklar alınıp, karınları kuru bir havlu ile kurulandı. Olgun dişi bir balıkta karın torba şeklinde sarkar ve karın hafif bir şekilde sıvazlandığında yumurtalar akmaya başladı. Olgunlaşmamış yumurta ise hafif sıvazlamayla alınmaz. Yumurta kontrolünü yapan personel tecrübeli olmalı ve çok dikkatli şekilde balığın karnını sıvazlanmalıdır. Aksi halde, yumurta kanalı zarar görür ve yumurtalar karın boşluğuna akar (Billard, 1981;1983; Çelikkale, 1994).

3.2.4. Anaç Balıkların Sağımı

Anaç, sağım işleminden 48 saat önce aç bırakıldı. Erkek ve dişi damızlıklar ayrı havuzlarda sağım için hazırlandı. Alabalık sağımlarında bu güne kadar başlıca 4 yöntem uygulanmıştır. Bunlar; "hava basıncı", "karnın yarılması", "ıslak ve yaş" ve "kuru" yöntemlerdir. Bu yöntemler içerisinde en çok kullanılanı kuru yöntemdir (Şekil 3.3).



A

B

Şekil 3.3. Anaç balıkların sağımı A) Yumurta sağımı B) Sperm (XY) sağımı.

3.2.4.1. Elle sağılarak yumurta ve spermaların alınması

Bu çalışmada, anestezi uygulandıktan sonra canlı ağırlığı tartılmış ve kurulanmış olan dişi ve erkek (XY kromozomlu) anaç balıklar kuru yönteme göre sağıldı. Balıkların vücudu havlu ile kurulandıktan sonra yumurta ve spermalar kuru bir plastik kap içine sağıldı (şekil 3.3). Sağım işlemi karın bölgesine nden arkaya doğru "elle masaj" yapılarak gerçekleştirildi (Hayashi vd., 1987; Munkittrick ve Moccia, 1987; Geffen vd., 1993).

Dişiden erkekleştirdiğimiz (XX kromozomlu) damızlıklarda sperm kanalının olmayışı bu tip erkek damızlıklardan spermanın alınması için uyulşturulan balıklar bir bistüri yardımı ile kesilerek gonatları alındı. Bu gonatlardaki spermalar ışık mikroskobunda hareketliliği kontrol edildikten sonra dölleme işleminde kullanıldı.

3.2.5. Sperma Kalitesi

Aktif olan spermatozoanın yüzdesi, hareketlilik süresi, sperm konsantrasyonu, spermatokrit ve seminal plazma kompozisyonu sperma kalitesini ölçmede kullanıldı (Billard vd., 1984; Köprücü ve Gr, 1999). Sperma kompozisyonu üzerine yapılan araştırmalar, spermatozoa ve seminal plazma kompozisyonlarında büyük intraspesifik ve interspesifik değişimler olduğunu göstermektedir. Bu değişimler, genetik değişkenlik, spermatozoanın intratestiküler yaşı, mevsimler (Munoz-Guerra vd., 1982; Breton vd., 1990), yumurtlama durumu ve stratejisine (Campbell vd., 1992; Miura vd., 1992) göre olmaktadır.

Seminal plazmanın inorganik ve organik kompozisyonundaki değişimler (Muller ve Labbe, 1994) aynı zamanda spermanın korunmasını da etkileyebilir. Spermatozoa hareketliliği ile yakından ilgili olan K^+ ve Na^+ (Morisawa vd., 1980; 1993) gibi iyonların oranı ve konsantrasyonu mevsim sonunda düşer (Morisawa vd., 1988; Tanimoto, 1988).

3.2.5.1. Döllemede kullanılan sperma kalitesinin belirlenmesi

Ticari balık yetiştiriciliğinde sperma kalitesinin tespiti, yapay döllemenin verimliliğini arttırabilmek için kaçınılmazdır. Bu yüzden, sperm kalitesini hızlı ve sağlıklı bir şekilde tespit edebilen analiz metodu, büyük ölçüde üretimi garanti altına alabilecek bir rol oynayacaktır. Sperma kalitesinin belirlenmesinde, "subjektif metot" ve "yarı sayısal metot" kullanıldı (Alaçam vd., 1994; Canyurt, 1985).

3.2.5.2. Spermanın hacim ve pH'sının belirlenmesi

Deneyde kullanılan XX ve XY kromozoma sahip damızlık balıkların spermaları plastik bir leğen içerisine sağıldı (Şekil 3.4). Daha sonra, sağılan spermalar ölçülü bir erlene alınıp hacimleri belirlendi. Hemen ardından diğer sperma özellikleri incelendi. Sperma sıvısının pH'sı dijital pH metre ile elektrotların sperma sıvısı içerisine daldırılması suretiyle ölçüldü (Turner vd., 1963b; Gibbons vd., 1983; Büyükhatipoğlu ve Holtz, 1984; Gür ve Köprücü, 1999).



Şekil 3.4. Dölleme için ölçülerek hazırlanmış spermalar.

3.2.5.3. Spermatozoa hareketlilik oranı ve hareketlilik süresinin belirlenmesi

Farklı kromozom (XX ve XY) yapısına sahip damızlık balıklardan alınan sperma örneklerinde spermatozoa hareketlilik oranının belirlenmesi için, 119 mmol NaCl solüsyonundan 2 ml alınıp tüp içerisine bırakıldı. Daha sonra, üzerine 1 damla sperma ilave edilip karıştırıldı. Bu karışımdan bir damla alınıp, üzerine lamel kapatılmadan 400x büyütmeli ışık mikroskobunda hareketlilik oranı (%) tespit edildi (Şekil 3.5). Bu orandaki değişim süreye bağlı olarak da incelendi. Ayrıca, spermatozoa hareketinin tamamen durduğu an tespit edilerek hareketlilik süresi belirlendi (Turner, 1963a; Thorgaard., 1977; Büyükhatipoğlu ve Holtz, 1984; Beck vd., 1992; Billard ve Cosson, 1992; Gür ve Köprücü, 1999; Canyurt ve Akhan, 2008).



Şekil 3.5. Spermatozoa hareketlilik oranı ve hareketlilik süresinin belirlenmesi.

3.2.5.4. Spermatozoa yoğunluğunun belirlenmesi

Spermatozoa yoğunluğu ($\times 10^9/\text{ml}$) belirlenirken, mikroskopta sayımı kolaylaştırmak için 119 mmol NaCl solüsyonundan 10 ml alınarak, içerisine %3'lük eosin'den 1-2 damla damlatıldı. Hazırlanan bu sulandırıcı ile sperma 1/500 oranında sulandırılıp, Thoma lamı ile hemositometrik metot kullanılarak tayin edildi (Büyükhatipoğlu ve Holtz, 1984).

3.2.6. Gonadosomatik İndeks

Gonadosomatik indeks (GSI) balıklarda gonadal gelişimin belirlenmesinde kullanılan bir indekstir. Balığın gonat ağırlığının canlı ağırlığına oranı olarak ifade edilmektedir. Deneyde kullanılan XY ve XX kromozoma sahip damızlık balıklar gonatları çıkarılıp ağırlıkları belirlendi. Daha sonra, GSI değerleri aşağıdaki formül kullanılarak hesaplandı (Bromage ve Roberts, 1992).

$$GSI (\%) = (GA / CA) \times 100$$

GA: Gonat ağırlığı (g)

CA: Balığın canlı ağırlığı (g)

3.2.7. Spermanın Muhafazası

Alabalık spermalarının yapay ortam koşullarındaki dölleyebilme yeteneği ile canlılıklarının muhafaza etme süreleri sıcaklık ve pH'a bağlıdır. Bu çalışmada kullanılan

spermalar özel kuru plastik kaplara ölçülerek bölündü ve yumurta sağılana kadar buzlu leğen içinde bekletildi (Beck vd.,1992; Çelikkale., 1994)

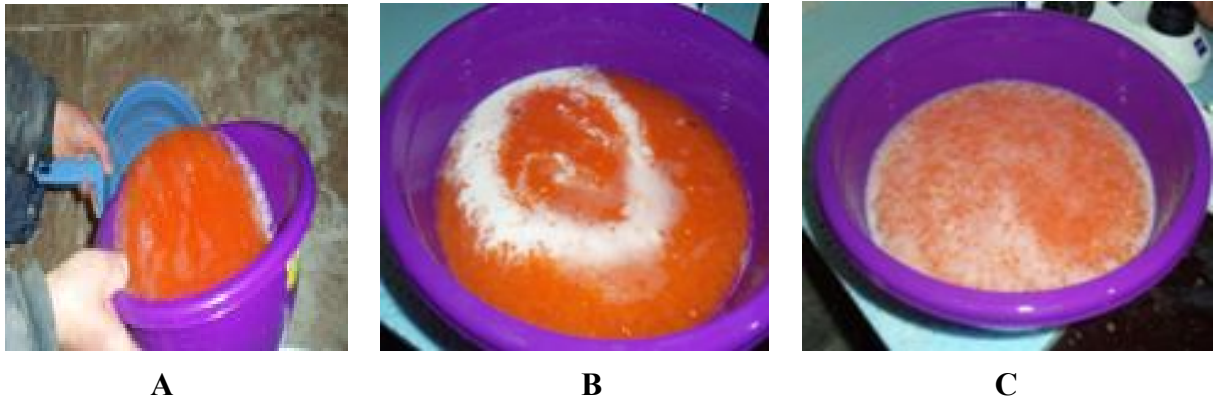
3.2.8. Dölleme

Çalışmada kuru sağım yöntemiyle dölleme işlemi gerçekleştirildi. Olgun yumurtalar temiz, kuru ve koyu renkli sağım kaplarına sağılarak alındı. Bu yumurtalar izotonik eriyikle yıkandı. Böylece, kırık yumurtaların proteini ve vücut sıvısı kalıntısı yumurta üzerinden uzaklaştırılarak yumurtanın sperma ile birleşimi kolaylaştırıldı (Şekil 3.7). Bikarbonat ilavesiyle de ortamın pH'sı 7'ye ayarlandı (Çelikkale, 1994; Korkut vd., 2007).

İzotonik eriyiğin bileşimi aşağıda verilmiştir:

- | | |
|--|--------|
| 1) Tuz (NaCl) | 90,4 g |
| 2) Kalsiyum Klorür (CaCl_2) | 2,6 g |
| 3) Potasyum Klorür(KCl) | 2,4 g |
| 4) Su | 10 L |

Her dişi balıktan elde edilen yumurtalar aynı kalite ve miktarda olmak üzere ayrı kaplara alındı. Bu kaplardaki yumurtalar, aynı sağım yöntemiyle başka bir kaba sağılan erkek damızlık (XY kromozomlu) balıklardan elde edilen spermalar ve dişiden erkekleştirilmiş (XX kromozomlu) damızlık balıklardan karınları kesilerek alınan spermalar ile ayrı ayrı döllendi (Vilella, vd., 2003; 2004).



Şekil 3.6. Gökkuşáğı alabalığı yumurtasının: A) Izotonik eriyikle yıkanması B) Sperm katılması C) Döllenmesi.

3.2.9. Yumurta Dolaplarının Düzenlenmesi ve Hazırlanması

Çalışmada dikey konumlu yumurta dolapları kullanıldı. Bu yumurta dolapları 110 cm yüksekliğinde, 60 cm eninde olmak üzere on sıra üst üste sıralanmış alüminyum tavalardan

oluşmaktadır. Bu tavalar içten içe 50 cm çaplı, 5,5 cm derinliğinde olup yaklaşık 5,6 L su almaktadır. Dolaplara sıcaklığı 10,4-11 °C ve çözünmüş oksijen düzeyi 9,6-11,2 ppm arasında değişen kaynak suyu 6 L/dak. akış sağlayacak şekilde bağlandı. Her bir kasete yaklaşık 5000 adet yumurta ölçülerek stoklandı. Yaklaşık 60 damızlıktan 250000-300000 adet yumurta alındı. Bunun için 50-60 adet yumurta tavaşı kullanıldı. Bu amaçla toplam 6 adet yumurta dolabı kullanıldı. Yumurtalar dış ortamdan gelebilecek mantar vb. gibi enfeksiyonlara karşı 36 saat ara ile %37'lik formalin ve kloramin-T ile banyo yaptırıldı. Bozulmuş yumurtalar günlük olarak kontrol edilip, bozuk olan yumurtalar ortamdan uzaklaştırılıp, sayıları belirlendi. Bu işlem sağlam yumurtalardan larvalar (keseli yavru) çıkana kadar sürdürüldü (Şekil 3.8). Bu da yaklaşık 10,5 °C'de 30 gün olarak tespitedildi (Erdahl vd., 1984; Navarro vd., 1999).



A



B

Şekil 3.7. A) Dikey konumlu yumurta kuluçka dolabı B) Yumurta tablasına yerleştirilmiş olan döllenmiş yumurtaların görünüşü.

3.2.10. Dölleme Oranı

Spermanın kalitesini hızlı ve sağlıklı bir şekilde tespit edebilen “*subjektif metot*” kullanılarak dölleme oranı spermanın %'si olarak belirlendi. Dölleme işlemi sadece spermalar arasında olan bir işlem değildir. Dölleme işlemi sperma ile yumurtanın etkileşimi olduğu için yumurtanın da döllenebilme oranıyla birlikte ele alındı.

Dölleme oranının belirlenmesinde; ilk üç gün içinde ölen yumurtalar ayıklanarak sayıldı. Dölleme oranı aşağıda verilen formül kullanılarak hesaplandı (Okumuş vd., 1997).

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

Elde edilen değerler aşağıdaki formüle konularak spermanın dölleme oranı bulundu.

$$\text{Dölleme oranı (\%)} = [\text{Spermanın kalitesi (\%)} + \text{Dölleme oranı (\%)}] / 2$$

3.2.11. Gözlenme Oranı

Yumurtanın döllenme ve gözlenme oranları, larva çıkış ve serbest yüzmeye geçiş oranları yumurta kalitesini ortaya koyan kriterler olarak kabul edilmektedir (Alpbaz, 1987; Sümbüloğlu, 1998). Yumurtaların döllendikten gözlenme evresine kadar geçen süredeki yaşama oranı yaşama oranı "gözlenme oranı" olarak hesaplandı. Bu evrede mevcut kullanılan kaynak suyundaki ile yumurtalar 160 GD (Gün-derece)'de gözlenmeye başladı. Yumurtalarda çift göz 220 GD'de gerçekleşti. Ölü yumurtalar hergün ayıklandı, sayıldı. Bu işlem yumurtadan keseli larvaların çıkaçağı güne kadar devam etti.



A



B

Şekil 3.8. A) XX kromozomlu spermle döllen yumurtalar B) XY kromozomlu spermle döllen yumurtalar.

3.2.12. Kuluçka Süresi ve Larva Çıkış Oranı

Gökkuşağı alabalığında kuluçka süresi, 310-320 GD'dir. Bu süre su sıcaklığı ile direk etkilidir. Kullanmış olduğumuz kaynak suyu ile 31-28 gündür, kuluçka süresi; yumurtanın döllendikten sonra keseli yavrunun oluşmasına kadar geçen süredir. Larva çıkış oranı ise aşağıda belirtilen formül kullanılarak hesaplandı;

$$\text{Larva Çıkış Oranı (\%)} = [\text{Çıkan larva sayısı} / \text{Toplam yumurta sayısı}] \times 100$$

3.2.13. Larva Yaşama Oranı

Kuluçka süresi ile birlikte toplam 480-500 GD'de larvaların besin keselerini bitirmesi için gerekli olan 16-18 gün sonunda; ölen larvalar sayılıp ve larva yaşama oranı için gerekli olan canlı larva sayısı bulundu. Larva yaşama oranı aşağıda belirtilen formül kullanılarak hesaplandı;

$$\text{Larva Yaşama Oranı (\%)} = [\text{Yaşayan larva sayısı} / \text{Toplam yumurta sayısı}] \times 100$$



A



B

Şekil 3.9. Larvaların görünüşü. A) Kuluçka dolaplarında B) Tava (Kaset) içerisinde.

3.2.14. Verilerin Değerlendirilmesi

XY ve XX kromozomlu damızlık gökkuşağı alabalığı gruplarına ait ağırlık, total boy, kondisyon faktörü, gonadosomatik indeks değerleri, sperma hacmi ve pH'sı, spermatozoa hareketliliği, hareketlilik süresi, spermatozoa yoğunluğu, spermlerin dölleme oranı, yumurtanın dölleme oranına ve döllenen yumurtalardan larva çıkış oranına, çalışmada kullanılan kaynak suyunun sıcaklığı, çözünmüş oksijen düzeyi ve pH'sına ait değerlerin aritmetik ortalaması ve standart hatasının hesaplanması, bu parametrelere ait değerler arasındaki farklılığın önemli olup olmadığının tespit edilmesi amacıyla "*Two Sample T-test*" kullanıldı. Gruplar arası farklılıklar 0,05 önem derecesine göre değerlendirildi.

Ayrıca belirtilen parametreler arasındaki ilişkinin derecesini belirlemek amacıyla "korelasyon analizi" yapıldı. Yukarıda belirtilen parametrelere ait grup içi değerlendirmelerde, ve ayrıca kullanılan kaynak suyunun sıcaklık, çözünmüş oksijen ve pH'sına ait tespit edilen günlük değerler arasındaki farklılığın önem derecesinin belirlenmesinde ise "one sample t-testi" uygulandı. Belirtilen istatistiksel analizler bilgisayar ortamında SPSS 15.0 paket programı (SPSS Inc. Chicago, Illinois, USA) kullanılarak yapıldı.

4. BULGULAR

4.1. Araştırmada Kullanılan Suyun Sıcaklık, Çözünmüş Oksijen ve pH Değerleri

Çalışmada kullanılan kaynak suyunun sıcaklığı 1 °C taksimatlı termometre, çözünmüş oksijen düzeyi portatif oksijen metre, pH'sı ise yine portatif bir pH metre kullanılarak ölçüldü. Çalışma süresince günlük olarak tespit edilen parametrelere ait aylık ortalama değerler aşağıda verilmiştir (Tablo 4.1).

Tablo 4.1. Kaynak suyunun aylara göre ortalama sıcaklık, çözünmüş oksijen ve pH değerleri.

Aylar	Sıcaklık (°C)	Oksijen (mg/L)	pH
Eylül	10,8	9,4	7,47
Ekim	10,4	9,5	7,52
Kasım	10,4	9,7	7,76
Aralık	9,8	10,2	7,71
Ocak	9,7	10,4	7,89

Deneme süresi içerisinde kullanılan kaynak suyunun sıcaklık, çözünmüş oksijen ve pH düzeylerinde istatistiksel olarak önemli bir farklılık görülmedi ($P>0,05$).

4.2. Anaç Balıkların Canlı Ağırlıkları İle İlgili Bulgular

Sağımdan 48 saat önceden aç bırakılan anaç balıklar anestezi edildikten sonra 5 g hassasiyetli bir dijital terazide tartıldı. Denemede kullanılan üç yaşındaki XY kromozomlu anaç balıkların ortalama 1550 ± 50 g XX kromozomlu balıkların ise ortalama 1470 ± 35 g ağırlığında olduğu belirlendi. Ayrıca, çalışmada kullanılan dişi damızlık balıkların ortalama ağırlıklarının ise 2687 ± 55 g olduğu saptandı.

4.3. Gonadosomatik İndeks (GSİ) Değerlerine İlişkin Bulgular

Çalışmada, en yüksek GSİ değeri ($6,12 - 8,78$) XX kromozomlu erkeklerden sağlandı. XY kromozomlu erkeklerde ise GSİ değerinin ise $2,85 - 4,50$ arasında değiştiği belirlendi. Araştırma gruplarındaki balıkların GSİ değeri arasındaki farklılıkların istatistiksel olarak önemli ($P<0,05$) olduğu belirlendi (Şekil 4.2, Tablo 4.2).



Şekil 4.1. XX ve XY kromozomlu damızlık gökkuşağı alabalığı gonatlarının görünüşü

Tablo 4.2. XY ve XX kromozomlu damızlık gökkuşağı alabalıklarının gonadosomatik indeks değerleri

Parametre (%)	N	XY kromozomlu damızlıklar	XX kromozomlu damızlıklar
Gonadosomatik indeks	10	Ortalama : $3,68 \pm 0,82^a$ (Min. – Mak.): 2,85 – 4,50	Ortalama : $7,45 \pm 1,33^b$ (Min. – Mak.): 6,12 – 8,78

* Aynı satırdaki farklı değerler arasındaki farklılıklar önemli ($P < 0,05$, Two sample T - testi)

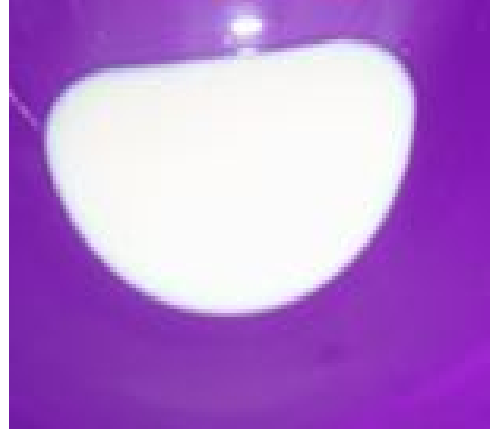
4.4. Sperma Özelliklerine Ait Bulgular

4.4.1. Spermanın Makroskopik Muayenesine Ait Bulgular

Bu çalışmada kullanılan XY kromozomlu balıkların spermalarının kırmızımsı gri renkte, XX kromozomlu olanlarınkinin ise krem renginde olduğu tespit edildi (Şekil 4.2). Ayrıca, XY kromozomlarına sahip normal erkek damızlık balıklardan 7-15 ml arasında sperma elde edildi. XX kromozoma sahip erkek damızlıklardan ise 520-630 ml solüsyonlu sperma elde edildi (Şekil4.3). XY kromozomlarına sahip normal balık spermasının viskozitesi sulu kıvam içerirken, XX kromozomlu balık spermalarının viskozitesi ise yoğun kıvamlı olarak tespit edildi.



XY



XX

Şekil 4.2. XY ve XX kromozomlu gökkuşağı alabalıklarından alınan spermilerin renk görünüşü

4.4.2. Spermanın Mikroskopik Muayenesine Ait Bulgular

Çalışmada kullanılan spermier mikroskop altında incelendi ve XY kromozomlu balık spermierinde başlangıç hareketlilik oranı ortalama %96,5 iken XX kromozomlu balık spermierinde bu oran %98 olarak bulundu (Tablo 4.3 ve Şekil 4.4).

Toplam sperm sayısına bakıldığında XY kromozomlu balık sperminde 395,79 ($\times 10^9/\text{ml}$) iken XX kromozomlu balık sperminde 453,81 ($\times 10^9/\text{ml}$) olarak bulundu (Tablo 4.3 ve Şekil 4.5).

4.5. Spermanın Fiziksel ve Kimyasal Özelliklerine Ait Bulgular

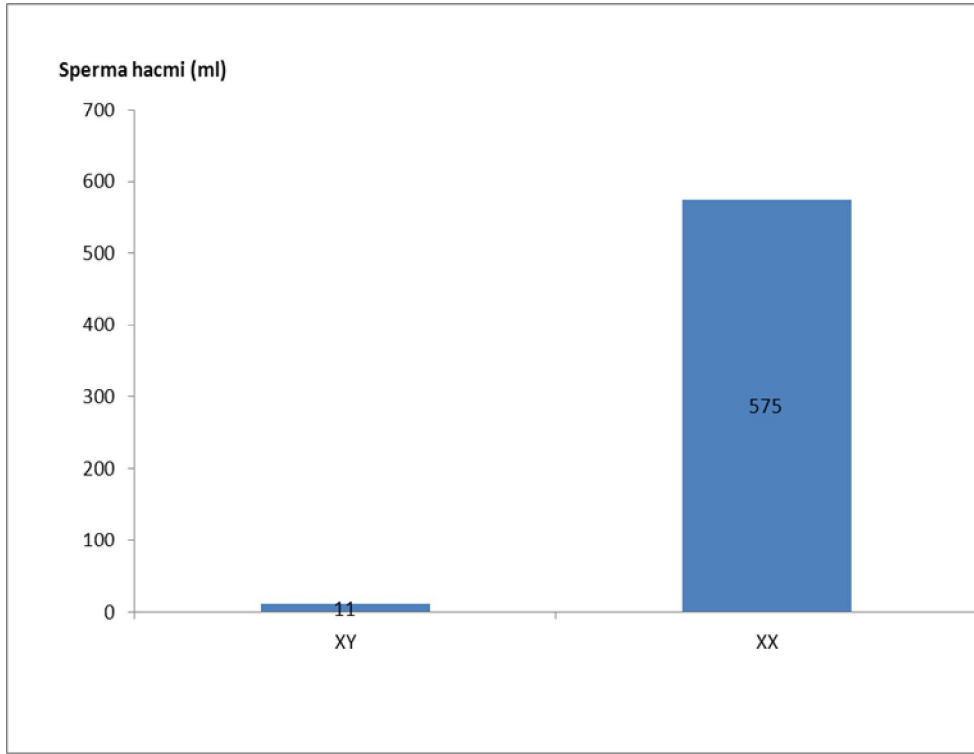
XY kromozomuna sahip spermasının pH değeriinin ortalama $8,23 \pm 0,05$ olduğu tespit edildi. XX kromozomlu balık sperminde ise gonad alındığıındaki pH değeriinin ortalama $8,18 \pm 0,03$ olduğu Cortland sıvısı ilavesi sonrasında ise bu değeriin ortalama $7,80 \pm 0,10$ olduğu belirlendi.

Dayanıklılık testi olarak tuzlu su testi kullanıldı. Bu testte XY kromozomlu spermierin %10'luk kısmı 140 ± 5 sn %50'lik kısmı 246 ± 10 sn %90'dan yukarısı ise 450 ± 10 sn'de ve tamamı ise 500 ± 10 sn'de canlılık aktivitesini kaybetmiştir. XX kromozomlu olan spermierden elde edilen spermatozoanın %10'luk kısmının 220 ± 5 sn %50'lik kısmının 453 ± 10 sn %90'dan yukarısının 805 ± 10 sn ve tamamının ise 900 ± 10 sn'de canlılık aktivitesini kaybettiği belirlendi (Tablo 4.3 ve Şekil 4.6).

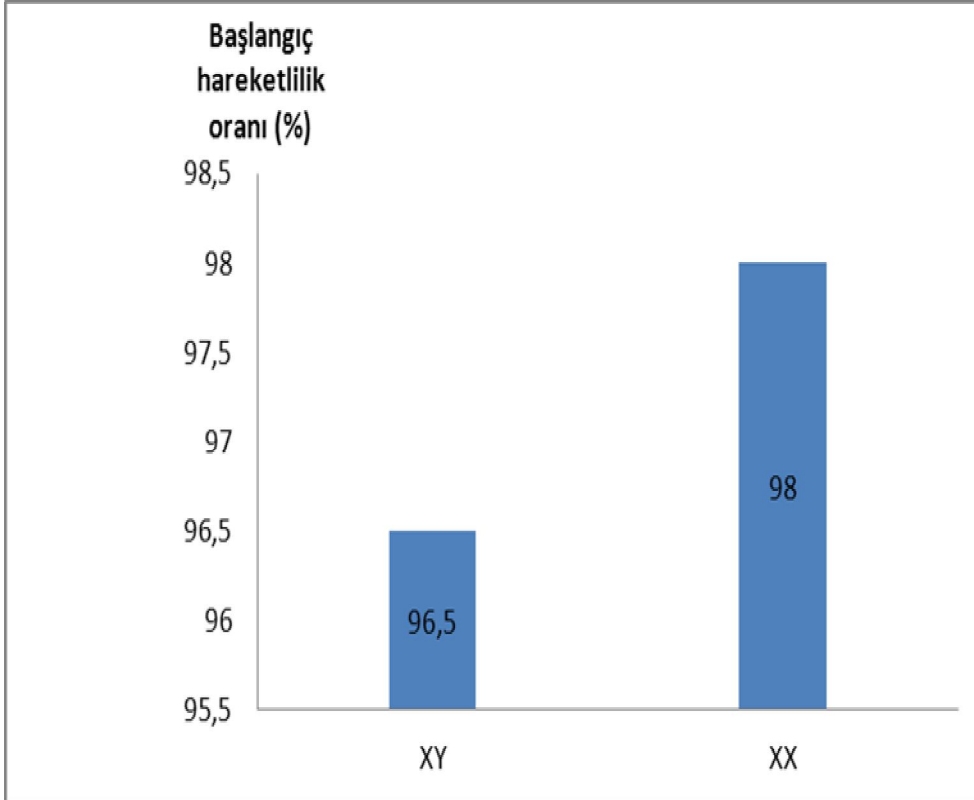
Tablo 4.3. XY ve XX kromozomlu gökkuşuğu alabalığı spermalarının kalite parametrelerine ait değerler

Parametreler	N	XY kromozomlu damızlıklar	XX kromozomlu damızlıklar
Sperma hacmi (ml)	10	11±4 ^a (7 – 15)	575±55 ^b (520– 630)
Başlangıç hareketlilik oranı (%)	10	96,5±1,5 ^c (95 – 98)	98±1 ^c (97 – 99)
Hareketlilik (%10'a kadar) süresi (sn)	10	140	220
Hareketlilik (%50'ye kadar) süresi (sn)	10	245	453
Hareketlilik (%90'a kadar) süresi (sn)	10	450	805
Toplam hareketlilik süresi (sn)	10	500	900
Sperma pH'sı	10	8,23±0,6 ^d (8,17 – 8,29)	8,18±0,3 ^f (8,15 – 8,20) Solüsyonlu 7,8±0,1 ^f (7,70 – 7,90)
Sperm rengi	10	Kırmızı – kahverengi Açık kahverengi	Krem veya koyu krem
Toplam sperm sayısı (...x10 ⁹)	10	395,79	453,81

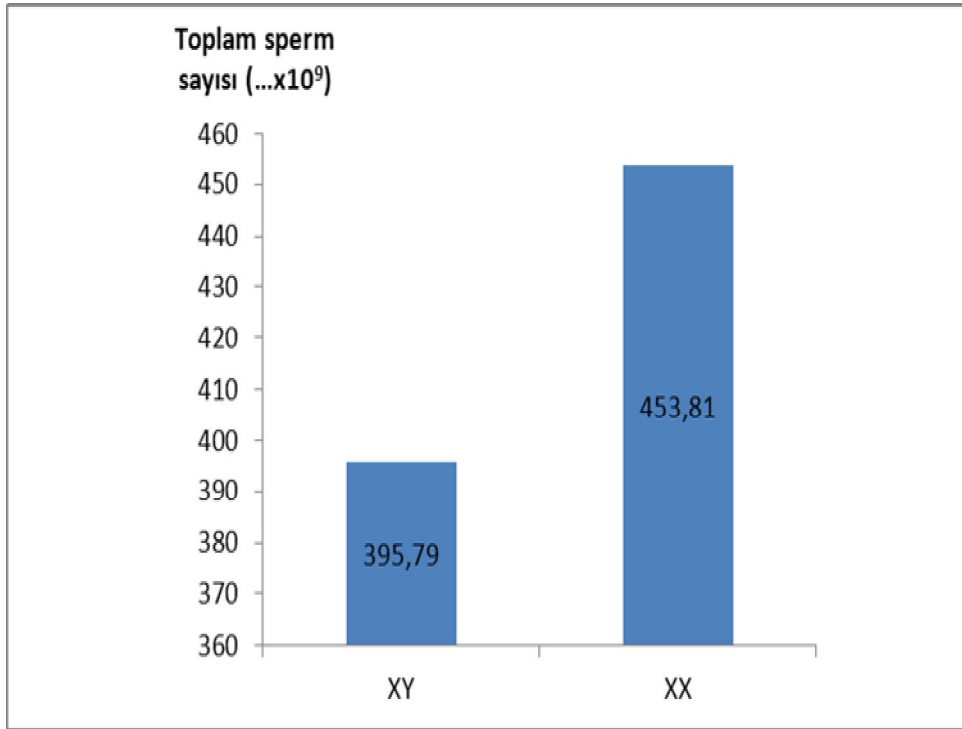
* Aynı satırdaki farklı harflere ait ortalama ± standart hata (min. – mak.) değerler arasındaki farklılıklar önemli (P<0.05, Two sample T - testi)



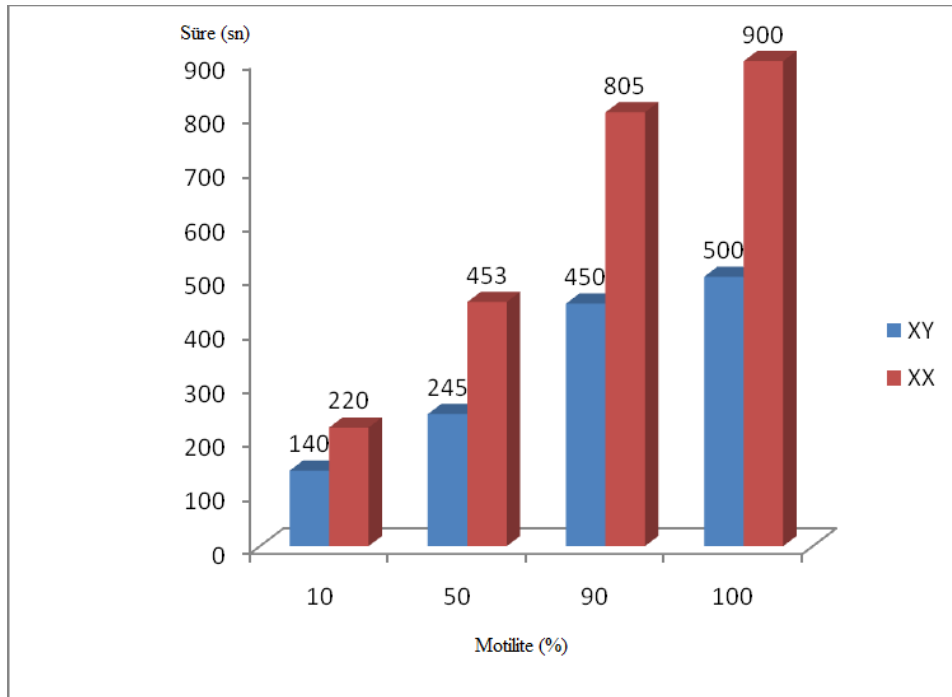
Şekil 4.3. Farklı kromozomlara ait gökkuşağı alabalığı sperma hacmi.



Şekil 4.4. Farklı kromozomlara ait gökkuşağı alabalığı sperminin başlangıç hareketlilik oranı.



Şekil 4.5. Farklı kromozomlara ait gökkuşağı alabalığı spermelerinde toplam sperm sayısı.



Şekil 4.6. Farklı kromozomlara ait gökkuşağı alabalığı sperminin motilite süresi ve %'de oranı.

4.6. Mutlak ve Nisbi Yumurta Verimliliği ile Yumurta Çapına Ait Bulgular

Anaç gökkuşağı alabalıklarından elde edilen yumurtaların verimi; mutlak ve nispi yumurta verimliliği olarak ele alındı. Denemede, ortalama mutlak yumurta verimliliği 4730±50 adet, ortalama nispi yumurta verimliliği ise 2156±18 adet olarak saptandı. Denemede döllendikten sonra şişme işlemine bırakılan yumurtalardan, yaklaşık 100 adedinin büyüklükleri 0,1 mm tahsimatlı kumpas ve yumurta seçme makinasının diskleri ile ölçülerek çapları belirlendi. Bu şekilde ölçülen yumurtaların çapları 4,7 - 5,8 mm olarak belirlendi (Şekil 4.7).



A



B

Şekil 4.7. A) Yumurta seçme makinası ve yumurta boyutu B) Döllenmiş gökkuşağı alabalığı yumurtasının kuluçka tablasındaki görüntüsü.

4.7. Yumurtaların Döllenmesi ve Fizyolojik Gelişimleriyle İlgili Bulgular

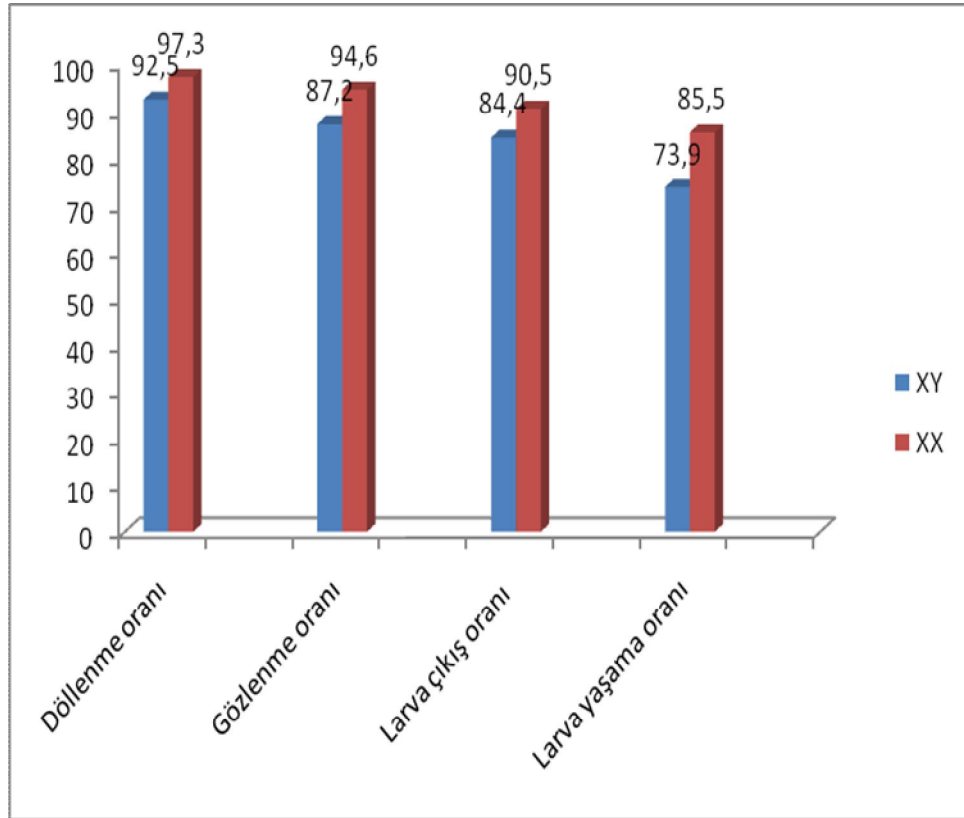
Deneme peryodunda yumurtaların inkübasyonu ve fizyolojik gelişimleriyle ilgili olarak mutlak ve nisbi yumurta verimliliği ve yumurta çapı her iki kromozoma sahip balık spermleriyle döllenmiş yumurtalarda aynı olmasına rağmen, XY kromozomlu spermin yumurtaları dölleme oranı %92,5±0,5'dir. XX kromozomlu spermlerin dölleme oranı %97,3±0,5 olarak bulunmuştur. Her iki kromozoma ait balık spermlerinin dölleme oranları arasında %4,8 oranında bir fark görülmektedir. (Tablo 4.4). Bu farkın nedeni olarak XY kromozomlu spermlere dışkı ve kan pıhtılarının karışması spermatozoanın canlılık süresini azalttığı gibi dölleme yeteneğini de etkilemektedir.

Her iki balık grubuna ait spermlerle döllenmiş yumurtalarda; döllenme oranı, gözlenme oranı, gözlenme süresi, döllenmiş yumurtalardan larva çıkış oranı ve keseli dönemde yaşama oranı ile ilgili değerler Tablo 4.4 ve Şekil 4.8'de gösterildi. Ayrıca, her dönem için ölü yumurta ve larva sayıları yaşama oranlarının belirlenmesi amacıyla kaydedildi.

Tablo 4.4. XY ve XX kromozomlu gökkuşuğu alabalığı spermliyle döllenlen yumurtalardan döllenme, gözlenme, larva çıkış ve keseli yavru yaşama oranları.

Parametre	N	XY	XX
Döllenme oranı (%)	30	92,5	97,3
Gözlenme oranı (%)	30	87,2	94,6
Gözlenme süresi (gün)	30	16 - 22	16 – 22
Larva çıkış oranı (%)	30	84,4	90,5
Larva çıkış süresi (gün)	30	28 - 32	28 – 32
Larva yaşama oranı (%)	30	73,9	85,5

* Aynı satırdaki farklı değerler arasındaki farklılıklar önemli ($P < 0,05$, Two sample T - testi)



Şekil 4.8. XY ve XX kromozomlu gökkuşuğu alabalığı spermliyle döllenlen yumurtalarda döllenme, gözlenme, larva çıkış ve keseli yavru yaşama oranları.

Tablo 4.4’de görüldüğü gibi, XY kromozomlu spermliyle döllenlen yumurtalarda döllenme oranı %92,5, gözlenme oranı %87,2, gözlenme süresi 16-22 gün, larva çıkış oranı %84,4, larva çıkış süresi 28-32 gün ve larva yaşama oranı %73,9 olarak hesaplandı.

XX kromozumlu spermlemlerle döllenen yumurtalarda döllenme oranı %97,3, gözlenme oranı %94,6, gözleme süresi 16-22 gün, larva çıkışı oranı %90,5, larva çıkışı süresi 28-32 gün ve larva yaşama oranı %85,5 olarak bulundu.

İstatistiksel analizler; XY – XX kromozumlu spermlemlerle döllenmiş yumurtalarda döllenme oranı, gözlenme oranı, larva çıkışı oranı ve larva yaşama oranı arasında önemli farklılıklar olduğunu gösterdi ($P<0,01$).

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

5.1. Kullanılan Suyun Sıcaklık, pH ve Çözünmüş Oksijen Değerleri

Alabalıkların üreme döneminde optimum su sıcaklık isteklerinin kuluçka döneminde 8-12 °C ve pH'sının 6,5-8,5 aralığında olması, çözünmüş oksijen miktarının ise 8-10 mg/L'den az olmaması gerektiği bildirilmektedir (Sedgwick, 1978; Karaca, 1987).

Çalışmada kullandığımız su, kaynak suyudur. İşletmeye 650 m açık beton kanalla getirilmiştir. Yapılan ölçümler sonucunda sıcaklık ortalama $10,3 \pm 0,2^{\circ}\text{C}$, çözünmüş oksijen değeri ortalama $9,9 \pm 0,5$ mg/L ve pH değeri ortalama $7,68 \pm 0,2$ 'dir. Bu değerler Tablo 4.1'de ayrıntılı olarak verilmiştir. Değerlerin literatürlerde belirtilen optimum değerler aralığında bulundu.

5.2. Gonadosomatik İndeks

Çalışmada en yüksek GSİ değeri ortalama $7,45 \pm 0,05$ (min. 6,12 – mak. 8,78) ile XX kromozomlu erkeklerden sağlandı. XY kromozomlu erkeklerde ise GSİ değeri ortalama $3,68 \pm 0,05$ (min. 2,85 – mak. 4,5) arasında hesaplandı. Araştırma gruplarındaki balıkların GSİ değeri arasındaki farklılıkların istatistiksel olarak önemli ($P < 0,05$) olduğu belirlendi.

Burada görüldüğü gibi XX kromozomlu balıklarda GSİ değeri XY kromozomlu olan balıklardan daha büyük hesaplandı. Gökkuşuğu alabalığı üzerine yapılan diğer çalışmalarda gonadosomatik indeks değerini; Kennedy vd. (2007) %4,5-4,8 ve Engin (2008) %3,7-4,5 olarak tespit etmişlerdir. Çalışmada; XY kromozomlu balıklardan elde edilen gonadosomatik indeks değerleri Kennedy vd. (2007)'nin bildirdiği değerlerden düşük olup, Engin (2008)'in bulguları ile paralellik göstermektedir. Çalışmadaki XX kromozomlu balıklardan elde edilen gonadosomatik indeks değeri ise tüm çalışmalardan yüksektir. Bunun nedeni ise XX kromozomlu damızlıkların sperm kanalı olmadığı için üretmiş olduğu spermi depolamasıdır.

5.3. Spermatolojik Özellikler

5.3.1. Spermanın Makroskopik Muayenesi

Çalışmada kullanılan XY kromozomlarına sahip normal erkek damızlık balıklardan 7-15 ml arasında sperma sıvısı verdi. XX kromozoma sahip erkek damızlıklarda 520-630 ml arasında sperma elde edildi. Benzer bir çalışmada, Büyükhatipoğlu ve Holtz (1984), üreme sezonu başı, ortası ve sonunda aldıkları spermaları sırayla 8,6 ml, 13,4 ml, 7,1 ml olarak tespit etmişlerdir. Munkittrick ve Moccia (1987) ise Aralık, Ocak ve Şubat aylarında sperma

miktarını sırayla 7,2 ml, 11,8 ml ve 7,8 ml olarak tespit etmişlerdir. Yukardaki çalışmalarda da görüldüğü gibi sezon başında ve sonuna doğru sperma verimi düşmektedir. Sperma miktarındaki farklılıkların nedeni; beslenme, çevresel şartlar başta olmak üzere sağımlı aralığının uzun olmasına bağlıdır. Bu çalışmalarda XY kromozomlu erkeklerden alınan spermanın ortalama miktarıyla yukarıda belirtilen araştırmacıların bulguları paralellik göstermektedir. Fakat XX kromozomlu balıkların sperma hacmi XY kromozomlu olanlarınkinden yaklaşık 50 kat daha yüksektir.

Kullanılan spermanın krem renginde olmasına dikkat edildi. Çünkü spermanın rengi spermanın içinde bulunan spermatozoa ve seminal plazmasının kalitesini belirler. Aynı zamanda spermatozoa sayısı spermanın kıvamını da belirler. Az yoğun sperma sulu kıvamda ve akışkan olur. Yoğun olan sperma ($\times 10^9/\text{ml}$)'ise krem rengindedir. Dölleme işleminde kullanılan spermaların yoğun olmasına dikkat edildi. Ayrıca kullanılan spermanın pis ve çürük kokulu olmamasına özen gösterildi. Fakat, genede XY kromozomlu balık spermalarına balıkların dışkı, idrar ve kanının bulaşmasına engel olunamadığı için, bazen renklerde kırmızılık ve kahverengimsi grilik oluştu.

5.3.2.Spermanın Mikroskopik Muayenesi

Anaç balıklardan elde edilen spermanın mikroskopik muayenesi; yoğunluk, hareketlilik oranı, toplam sperm sayısı olarak ele alınmıştır. Hareketlilik oranı %'de olarak verilmiştir. Bu çalışmada başlangıç hareketlilik oranı; XY kromozomlu balıklarda %96,5 ve XX kromozomlu gökkuşığı alabalıklarında ise %98'dir. İki sperm arasında başlangıç hareketlilik oranı istatistiksel olarak XY – XX kromozomlu spermeler arasında kayda değer bir farklılığın olmadığını ortaya koymuştur ($P>0,05$). Gökkuşığı alabalığı üzerine yapılan diğer çalışmalarda spermde başlangıç hareketlilik oranını; Morisawa vd., (1983) %80-85; Billard ve Cosson (1991) %81; Miura vd. (1992) %78; Mansour vd. (2009) %74 olarak bildirmişlerdir. Toplam sperm sayısı (adet sperma/birey... $\times 10^9$) XY kromozomlu alabalıklarda $395,79 \pm 5$ iken XX kromozomlu olan alabalıklarda bu sayı $453,81 \pm 5$ olarak bulundu. XY ve XX kromozomlu balık spermalarının toplam sperm sayıları arasında, istatistiksel olarak önemli farklılık olduğu belirlenmiştir ($P<0,05$).

Uygulanan dayanıklılık testi sonucunda ve mikroskop altında incelenmesinde başlangıç hareketlilik oranı, %10, %50, %90 ve toplam hareketlilik süresi incelendi. Bu inceleme sonucu XY kromozomlu spermın toplam hareketlilik süresi 500 ± 10 sn ve XX kromozomlu gökkuşığı alabalıklarında ise toplam hareketlilik süresi 900 ± 10 sn olarak hesaplandı. İstatistiksel olarak bakıldığında önemli farklılık ($P<0,05$) vardır. Her iki sperm de

dölleme esnasında biraz daha canlılık gösterebilir. Spermilerin hareketlilik süresi bakımından yapılan diğer çalışmalar ise; Morisawa vd., (1983) 25-30 sn; Billard ve Cosson (1986) 60 sn; Billard vd. (1987) 45-60 sn; Cosson vd. (1991) 20-25 sn; Miura vd. (1992) 60 sn; Aydın ve Çelebi (2000) 320 sn; Güner ve Tekinay (2002) 300 sn; Mansour vd. (2009) 120 sn olarak bildirmişlerdir. Bu çalışmada ise hem XY ve hemde XX kromozomlu spermier için tespit edilen sperm hareketlilik süreleri yukarıda belirtilen araştırmalardakine göre daha yüksek bulunmuştur.

5.4. Dölleme Oranı

Çalışmada aynı gruplardaki anaç gökkuşuğı alabalıklarından elde edilen yumurtaların dölleme oranı, XY kromozomlu gökkuşuğı alabalığı spermiiyle döllenen yumurtalarda %92,5 iken XX kromozomlu gökkuşuğı alabalığı spermiiyle döllenen yumurtalarda %97,3 olarak hesaplandı. Aynı gruplara ait yumurtaların dölleme oranları arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak önemli ($P<0,05$) bulunmuştur. Gökkuşuğı alabalıklarının yumurtalarının dölleme oranı üzerine yapılan diğer çalışmalarda; bu oranın Aydın ve Akyurt (1993) %69.3-90.7, Kurtoğılu vd. (1998) %73.7, Estay vd. (1994) %82, Springate vd. (1985) %86.3, Sharma vd. (1989) %90.8, Bromage ve Cumaranatunge (1988) %90, Güner ve Tekinay (2002) %91.8, Kocaman ve Akyurt (1993) %95.7, Atamanalp vd. (1996) ise %82,9 olduğunu, Springate vd. (1984), Mac vd. (1985) ve Springate ve Bromage (1985) ise dölleme oranının %68-90 arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Bu çalışmamada XX kromozomlu balık spermasıyla döllenen yumurtalardaki dölleme oranları, hem bu çalışmada XY kromozoma sahip balık spermiiyle döllenen yumurtaların dölleme oranından hem de Aydın ve Akyurt (1993), Kurtoğılu vd. (1998), Estay vd. (1994), Springate vd. (1985)'nin belirtmiş olduğı değerlerden daha yüksektir. Mevcut bulgulara ait değerler Sharma vd. (1989), Bromage ve Cumaranatunge (1988), Güner ve Tekinay (2002) ile paralellik göstermekte, Kocaman ve Akyurt (1993)'un sonuçlarından ise düşük bulunmaktadır.

5.5. Kuluçkalanan Yumurtaların Gözlenme Oranı

Bu araştırmada kuluçkalanan yumurtalarda gözlenme oranı, XY kromozomlu balık spermiiyle döllenen yumurtalarda %87,2 olarak bulundu. XX kromozomlu balık spermiiyle döllenen yumurtalarda ise bu oran %94,6 olarak tespit edildi. Yumurtaların gözlenme oranlarına ait değerler arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak önemli ($P<0,05$) bulundu.

Yapılan diğer çalışmalarda gökkuşuğu alabalığı yumurtaların gözlenme oranını; Springate vd. (1985) %74.8-82.5, Kurtoğlu vd. (1998) %84.6, Aydın ve Çelebi (2000) %93.90, Güner ve Tekinay (2002) %86.02 olarak bildirmişlerdir. Bu çalışmada XY kromozomlu balık spermiyle döllenmiş yumurtalarda gözlenme oranı Kurtoğlu vd. (1998), Güner ve Tekinay (2002)'nin bildirdiği değerlerle paralellik gösterirken, Aydın ve Çelebi (2000)'nin buldukları değerden düşük çıkmıştır. Fakat, XX kromozomlu balık spermiyle döllenmiş yumurtalardan sağlanan gözlenme oranının yukarıda belirtilen araştırmacılara göre daha yüksek olduğu görülmüştür.

5.6. Döllenmiş Yumurtadan Larva Çıkış Oranları

Çalışmada kuluçkalanan yumurtaların açılma oranları XY kromozomlu spermle döllenmiş yumurtalarda %84,4 olarak bulunmuştur. XX kromozomlu spermle döllenmiş yumurtalarda açılma oranları %90,5 olarak tespit edilmiştir. Her iki spermle döllenmiş yumurtaların açılma süreleri ise 28-32 gün olarak hesaplanmıştır. Yumurtaların açılma oranlarına ait değerler arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak önemli ($P<0,05$), açılma süreleri arasındaki farklılıkların ise önemsiz ($P>0,05$) olduğu tespit edildi.

Yumurtaların açılma süresi ile ilgili çalışmalarda Aydın ve Çelebi (2000) 11,5-12 °C'de 26 gün, Çelikkale (1998) 7 °C'de 48 gün ve 13 °C'de 24 gün olarak belirtmişlerdir. Mevcut çalışmamızda ise bu süre 10,4-11 °C ve 9,6-11,2 mg/L çözünmüş oksijeni olan kaynak suyu kullanılmış ve 28-32 gün olarak bulunmuştur. Yapılan diğer çalışmalarda gökkuşuğu alabalığı yumurtalarının açılma oranını; Springate ve Bromage (1985) %47.7-58.6, Karataş (1991) %70.8, Uysal ve Alpbaz (2003) %76, Aydın ve Çelebi (2000) %83.8, olarak tespit etmişlerdir.

5.7. Besin Keseli Larvalarda Yaşama Oranları

Yapılan çalışmada yumurtadan çıktıktan sonraki dönem olan besin keseli dönemde yaşama oranları XY kromozomlu spermle döllenmiş yumurtalarda %79,3 olarak bulunmuştur. XX kromozomlu spermle döllenmiş yumurtalarda besin keseli dönemde yaşama oranları %85,5 olarak tespit edilmiştir. Bu değerler arasındaki farklılıkların önemli ($P<0.05$) olduğu tespit edilmiştir.

Keseli döneme ilişkin yaşama oranını, Akyurt (1986) %76.6, Aydın ve Akyurt (1993) %96.41 Atamanalp vd. (1996) %80.79 olarak bildirmişlerdir. Çalışmamızda XY kromozomlu spermle döllenmiş yumurtalardan çıkan larvalarda yaşama oranı Akyurt (1986) ve Atamanalp

vd. (1996) ile paralellik gösterirken Aydın ve Akyurt (1993)'dan düşük çıkmıştır. XX kromozomlu spermle döllenmiş yumurtalardan çıkan keseli larva oranı ise XY kromozomlu spermle döllenmiş yumurtalardan çıkan keseli larva yaşama oranından ve Aydın ve Akyurt (1993) hariç yukarıda belirtilen araştırmacıların bulgularından yüksektir. Bu araştırmada döllenme oranı, larva çıkış oranı ve keseli dönemde, larva yaşama oranına ilişkin elde edilen değerlerle diğer çalışmalarda ifade edilen sonuçlar arasındaki farklılıkların nedeni; denemelerin yapıldığı ortam şartları, suyun fiziksel (sıcaklık vs.) ve kimyasal özellikleri, anaç balıkların büyüklüğü, anaçlara verilen yemin kalitesi ve yemleme özellikleri, balıkların genotipik yapısı, döllenmiş yumurtanın kuluçkalanması ve kültür koşulları gibi faktörlere bağlanabilir (Aydın ve Çelebi, 2000; Güner ve Tekinay, 2002; Aras vd., 2003; Arıman ve Aras, 2003).

6. ÖNERİLER

Hızla artan dünya nüfusu ve teknolojik gelişmelerdeki artışa paralel olarak çevre kirliliği ve ekolojik sorunların artması hayvansal protein kaynakların azalmasına neden olmaktadır. Bu sorunlar birim alandan daha fazla hayvansal protein elde edilmesini zorunlu hale getirmiştir. Bu noktada su ürünleri yetiştiriciliği ön plana çıkmaktadır. Yetiştiricilikte verimi artırmaya yönelik çalışmalar da son yıllarda oldukça önem kazanmıştır. Bu yönde yapılan biyoteknolojik çalışmalar büyük öneme sahiptir. Bu çalışmalar arasında ıslah araştırmaları her zaman birinci sıradadır. Balıklarda dişiler homogametik (XX), erkekler heterogametik (XY) kromozomlarıyla gösterilmişlerdir. Gökkuşaağı alabalığında normalde 60 kromozom olur, bunların spermleri ve yumurtaları ise 30'ar kromozoma sahiptirler.

Alabalıklarda hormonla erkekleştirme işleminde; hormon yeme katılarak tatbik edilmiştir. Bu iki metottan en iyi sonuç hormonun yeme katılmasıyla sağlanmıştır. Alabalık yetiştiriciliğinde ortaya çıkan en önemli problemlerden birisi 14. ve 15. aylara gelindiğinde sürüde olgunlaşmış veya olgunlaşmakta olan balıkların bulunmasının olduğunu, hatta cinsi olgunluktan önce erkekler ve dişiler arasında büyüme yönünden farklılıkların olmasının yetiştiricilikte istenmeyen bir durum olduğunu, dolayısıyla bu farklılığı ortadan kaldırmak açısından, tek veya mono cinsiyetli dişilerin kültürünün yapılmasının zorunlu olduğu görülmüştür.

Bu çalışmada anaç gökkuşaağı alabalıkları olarak kullanılan XY kromozomlu normal erkek gökkuşaağı alabalığı ve yemlerine önceden 17 α -metiltesteron katılarak 750 GD uygulanmış 3 yaş grubunda olan balıkların spermleriyle döllenmiş yumurtaların; döllenme, gözlenme, larva çıkış ve larva yaşama oranları arasındaki farklılıkların istatistiksel olarak önemli ($P<0,05$) olduğu tespit edildi.

Bu çalışmada XX kromozomlu sperm ile dölleme alabalık üretiminde XY kromozomlu sperm ile döllemeden daha verimli olduğu açıkça görülmüştür. XX kromozomlu olan damızlık erkek gökkuşaağı alabalıklarının ülke genelinde üretimde kullanılması durumunda verimlilik önemli derecede artacaktır. Bu durum, ülke ekonomisine ve kültür balıkçılığına daha fazla kazandıracaktır.

Ayrıca gökkuşaağı alabalığı üretiminde; XX kromozomlu balık sperminin kullanılması şu yararları sağlayacaktır:

- XX kromozomlu balık spermiyle döllenmiş yumurtalardan XY kromozomlu balık spermiyle dölenenlere oranla daha fazla yavru elde edilmektedir.
- Yem ve işçilik maliyeti daha az buna karşılık verim daha yüksektir.

- Mevcut üretimin tek cinsiyet (dişi) içermesi ekonomik boyutunun daha fazla olmasına neden olmaktadır.
- Erkek bireylerin üretmiş olduğu spermanın tamamının kullanılmasına olanak sağlamaktadır.
- XX kromozomlu erkek damızlıklarda gelişen spermanın içindeki spermilerin yaşlanması önlenmekte ve kalitesi korunmaktadır. XY kromozomlu damızlık balıklarda ise sperma ilerleyen zaman içerisinde kullanılmazsa spermeler yaşlanmakta ve kalitesi düşmektedir.
- Deneysel çalışmalarda süreklilik sağlar. Genetik ve ıslah çalışmalarında yıl boyu duyulan sperma ihtiyacı karşılanabilir.
- Mevsim dışı yumurtlatma tekniğinde anaç sayısını azaltır (Bu teknik sayesinde mevsim dışı yumurtlatma yöntemlerinde anaç kullanımı, dişi anaçlarla sınırlandırılmaktadır).
- Gamet transferine olanak sağlamaktadır. Üstün verime sahip balık hatlarına ait spermeler başka işletmelere nakledilebilmektedir.

KAYNAKLAR

- Aegerter, S., Jalabert, B.,** 2004. Effects of post-ovulatory oocyte ageing and temperature on egg quality and on the occurrence of triploid fry in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture* **231**, 59–71.
- Aegerter, S., Jalabert, B., Bobe, J.,** 2004. Messenger RNA stockpile of cyclin B, insulinlike growth factor I, insulin-like growth factor II, insulin-like growth factorreceptor Ib, and p53 in the rainbow trout oocyte in relation with developmental competence. *Mol. Reprod. Dev.* **67**, 127–135.
- Aegerter, S., Jalabert, B., Bobe, J.,** 2005. Large scale real-time PCR analysis of mRNA abundance in rainbow trout eggs in relationship with egg quality and postovulatory ageing. *Mol. Reprod. Dev.* **72**, 377–385.
- Akhan, S., Canyurt, M. A.,** 2005. Üç farklı kuluçkahanedeki damızlık gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss Walbaum, 1792*) stokları arasında genetik çeşitliliğin RAPD-PCR yöntemiyle belirlenmesi üzerine bir araştırma. Ege üniversitesi. *Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **22** (1-2), 25-30.
- Arabaci, M., Diler, I., Sari, M.,** 2004. Induction and synchronisation of ovulation in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, by administration of emulsified buserelin (GnRHa) and its effects on egg quality. *Aquaculture* **237**, 475–484.
- Arslan T, Phelps RP, Osbourne JA.,** 2009. Effects of oestradiol17 β or 17 α methyltestosterone administration on gonadal differentiation of largemouth bass *Micropterus salmoides* (Lacepede). *Aquac Res*, **40**, 1813-1822.
- Atay D, Bekcan S, Ölmez M, Atar HH.,** 2002. Ginogenetik teknikler ve hormonun (17 α -metiltestosteron) birlikte uygulanmasıyla dişi gökkuşağıalabalığı (*Oncorhynchus mykiss, Walbaum, 1792*) üretimi. TÜBİTAK Proje Raporu, Proje No:VHAG-1458.

- Avery, T.S., Boyce, D., Brown, J.A., 2004.** Mortality of yellowtail flounder, *Limanda ferruginea* (Storer), eggs: Effects of temperature and hormone-induced ovulation. *Aquaculture* **230**, 297–311.
- Avery, T.S., Brown, J.A., 2005.** Investigating the relationship among abnormal patterns of cell cleavage, egg mortality and early larval condition in *Limanda ferruginea*. *J. Fish Biol.* **67**, 890–896.
- Balık, S., 1978.** A study on preservation of sperm of Rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richardson) (in Turkish). *E.Ü. Fen Fakültesi Dergisi, Seri B, C. II, S.2:* 131-142
- Babiak, I., Dabrowski, K., 2003.** Refrigeration of rainbow trout gametes and embryos. *J. Exp. Zoolog. A Comp Exp. Biol* **300**, 140–151.
- Bally-Cuif, L., Schatz, W.J., Ho, R.K., 1998.** Characterization of the zebrafish Orb/ CPEB-related RNA binding protein and localization of maternal components in the zebrafish oocyte. *Mech. Dev.* **77**, 31–47.
- Baynes, S.M., Scott, A.P., 1985.** Seasonal variations in parameters of milt production and in plasma concentration of sex steroids of male rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Gen. Comp. Endocrinol.* **57**, 150–160.
- Beck, J.C., Fulcher, K.D., Beck, C.F., Cloud, J.G., 1992.** Sperm surface antigen required for fertility: identification on spermatozoa of rainbow trout by use of monoclonal antibodies. *Trans. Am. Fish. Soc.* **121**, 333–339.
- Billard, R., 1983.** Ultrastructure of trout spermatozoa: changes after dilution and deep-freezing. *Cell Tissue Res.* **228**, 205–218.
- Billard, R., Gillet, C., 1981.** Ageing of eggs and temperature potentialization of micropollutant effects of the Aquaculture medium on trout gametes. *Cahier du Laboratoire de Montereau* **12**, 35–42.

- Billard, R., Reinaud, P., Hollebecq, M.G., Breton, B.,** 1984. Advancement and synchronisation of spawning in *Salmo gairdneri* and *S. Trutta* following administration of LRH-A combined or not with pimozone. *Aquaculture* **43**, 57–66.
- Billard, R., Cosson, J., Crim, L.W., Suquet, M.,** 1995. Sperm physiology and quality. In: Bromage, N.R., Roberts, R.J. (Eds.), *Broodstock Management and Egg and Larval Quality*. Cambridge University Press, Cambridge, 53–76.
- Blom, J.H., Dabrowski, K.,** 1995. Reproductive success of female rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in response to graded dietary ascorbyl monophosphate levels. *Biol. Reprod.* **52**, 1073–1080.
- Bonnet, E., Fostier, A., Bobe, J.,** 2007a. Characterization of rainbow trout egg quality: a case study using four different breeding protocols, with emphasis on the incidence of embryonic malformations. *Theriogenology* **67**, 786–794.
- Bonnet, E., Fostier, A., Bobe, J.,** 2007b. Microarray-based analysis of fish egg quality after natural or controlled ovulation. *BMC Genomics* **8**, 55.
- Bonnet, E., Jalabert, B., Bobe, J.,** 2003. A 3-day in vitro storage of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) unfertilised eggs in coelomic fluid at 12 degrees C does not affect developmental success. *Cybio* **27**, 47–51.
- Breton, B., Weil, C., Sambroni, E., Zohar, Y.,** 1990. Effects of acute versus sustained administration of GnRHa on GtH release and ovulation in the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture* **373**–383.
- Bromage, N., Bruce, M., Basavaraja, N., Rana, K., Shields, R., Young, C., Dye, J., Smith, P., Gillespie, M., Gamble, J.,** 1994. Egg quality determinants in finfish: the role of overripening with special reference to the timing of stripping in the Atlantic halibut *Hippoglossus hippoglossus*. *J. World Aquacult. Soc.* **25**, 13–21.
- Bromage, N., Jones, J., Randall, C., Thrush, M., Davies, B., Springate, J.R.C., Duston, J., Barker, G.,** 1992. Broodstock management, fecundity, egg quality and the timing

- of egg production in the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* **100**, 141–166.
- Brooks, S., Tyler, C.R., Sumpter, J.P.**, 1997. Egg quality in fish: what makes a good egg? *Revi. Fish Biol. Fish.* **7**, 387–416.
- Brown, N.P., Shields, R.J., Bromage, N.R.**, 1995. The effect of spawning temperature on egg viability in the Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*). *Aquaculture* **261**, 993–1002.
- Burns, K.H., Viveiros, M.M., Ren, Y., Wang, P., DeMayo, F.J., Frail, D.E., Eppig, J.J., Matzuk, M.M.**, 2003. Roles of NPM2 in chromatin and nucleolar organization in oocytes and embryos. *Science* **300**, 633–636.
- Büyükhatoğlu, S., Holtz, W.**, 1984. Sperm output in rainbow trout (*Salmo gairdneri*)—effect of age, timing and frequency of stripping and presence of females. *Aquaculture* **37**, 63–71.
- Büyükhatoğlu, S., W., Holtz**, 1978. Preservation of trout sperm in liquid or frozen state. *Aquaculture*, **14**: 45-49
- Büyükhatoğlu, S. Holtz, W.**, 1978. Preservation of trout sperm in liquid or frozen state. *Aquaculture*, **14**: 49-56 in Holtz, 1993.
- Caille, N., Rodina, M., Kocour, M., Gela, D., Flajshans, M., Linhart, O.**, 2006. Quantity, motility and fertility of tench *Tinca tinca* (L.) sperm in relation to LHRH analogue and carp pituitary treatments. *Aquacult. Int.* **14**, 75–87.
- Campbell, P.M., Pottinger, T.G., Sumpter, J.P.**, 1992. Stress reduces the quality of gametes produced by rainbow trout. *Biol. Reprod.* **47**, 1140–1150.

- Campbell, P.M., Pottinger, T.G., Sumpter, J.P., 1994.** Preliminary evidence that chronic confinement stress reduces the quality of gametes produced by Brown and rainbow trout. *Aquaculture* **120**, 151–169.
- Canyurt, M. A., 1985.** Trout production (in Turkish). E.Ü. Ziraat Fakültesi Haber Bülteni. 43: 4-6 in Canyurt ve Akhan, 2005.
- Canyurt, M. A., Akhan, S., Takma, Ç., 2003.** Gökkusagı Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) Spermmlerinin Kısa Süre Saklanması Üzerine Bir Arastırma. Ege Üniversitesi. *Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, **20** (3-4) 537 – 542.
- Carpentier, P., Billard, R., 1978.** Conservation à court terme des gamètes de Salmonidés à des températures voisines de 0°C. *Ann. Biol. Anim. Biochim. Biophys.* **18**, 1083–1088.
- Carrillo, M., Bromage, N., Zanuy, S., Serrano, R., Prat, F., 1989.** The effect of modifications in photoperiod on spawning time, ovarian development and egg quality in the sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). *Aquaculture* **81**, 351–365.
- Chen, F. Y., 1969.** Preliminary studies on the sex determining mechanism of *Tilapia aurera*. Trans. *Am. Fish. Soc.*, s**104**, 342-348.
- Christen, R., Gatti, J.-L., Billard, R., 1987.** Trout sperm motility. The transient movement of trout sperm is related to changes in the concentration of ATP following the activation of the flagellar movement. *Eur. J. Biochem.* **166**, 667–671.
- Ciereszko, A., Dabrowski, K., 1994.** Relationship between biochemical constituents of fish semen and fertility: the effect of short-term storage. *Fish Physiol. Biochem.* **12**, 357–367.
- Ciereszko, A., Dabrowski, K., 1995.** Sperm quality and ascorbic acid concentration in rainbow trout semen are affected by dietary vitamin C: an across-season study. *Biol. Reprod.* **52**, 982–988.

- Ciereszko, A., Wojtczak, M., Dietrich, G.J., Kuzminski, H., Dobosz, S., 2009.** A lack of consistent relationship between distribution of lipid droplets and egg quality in hatchery-raised rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture* **289**, 150–153.
- Contreras-Sanchez, W.M., Schreck, C.B., Fitzpatrick, M.S., Pereira, C.B., 1998.** Effects of stress on the reproductive performance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Biol. Reprod.* **58**, 439–447.
- Cosson, J., 2008** The motility apparatus of fish spermatozoa. In: Alavi, S.M.H., Cosson, J.J., Coward, K., Rafiee, G. (Eds.), *Fish Spermatology*, Alpha Science International Ltd., Oxford, pp. **281–316**.
- Cosson, M.-P., Billard, R., Gatti, J.-L., Christen, R., 1985.** Rapid and quantitative assessment of trout spermatozoa motility using stroboscopy. *Aquaculture* **46**, 71–75.
- Crespel, A., Rime, H., Fraboulet, E., Bobe, J., Fauvel, C., 2008.** Egg quality in domesticated and wild seabass (*Dicentrarchus labrax*): a proteomic analysis. *Cybium* **32**, 205.
- Çelikkale, M. S., 1995.** İçsu Balıkları Yetiştiriciliği, Cilt 1, KTÜ Dz. Bil. Fak. Yayın, Trabzon 1994; No 124, 2.Baskı, **420s**.
- Çelikkale, M.S., Düzgünes, E., Okumus, İ., 1999.** Türkiye Su Ürünleri Sektörü:Potansiyeli, Mevcut Durumu, Sorunları ve Çözüm Önerileri. İstanbul Ticaret Odası, İstanbul. Yayın No:1999-2, **414 s**.
- Davies, B., Bromage, N., 2002.** The effects of fluctuating seasonal and constant water temperatures on the photoperiodic advancement of reproduction in female rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture* **205**, 183–200.
- Dietrich, G.J., Wojtczak, M., ska, M., Dobosz, S., ski, H., Ciereszko, A., 2007.** Broken eggs decrease pH of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) ovarian fluid. *Aquaculture* **273**, 748–751.

- Dinnyes, A., Urbanyi, B., Baranyai, B., Magyary, I.,** 1998. Chilling sensitivity of carp (*Cyprinus carpio*) embryos at different developmental stages in the presence or absence of cryoprotectants: work in progress. *Theriogenology* **50**, 1–13.
- Dreanno, C., Cosson, J., Suquet, M., Seguin, F., Dorange, G., Billard, R.,** 1999b. Nucleotide content, oxidative phosphorylation, morphology, and fertilizing capacity of turbot (*Psetta maxima*) spermatozoa during the motility period. *Mol. Reprod. Dev.* **53**, 230–243.
- Dreanno, C., Suquet, M., Fauvel, C., Le Coz, J.-R., Dorange, G., Quemener, L., Billard, R.,** 1999c. Effect of the aging process on the quality of sea bass (*Dicentrarchus labrax*) semen. *J. Appl. Ichthyol.* **15**, 176–180.
- Dörücü, M., Türk, C. ,** 2001, The Determination of Survival Rates of Larvae and The Correlations Between Egg Diameter and Body Size of of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) (in turkish), XI. Ulusal Su Ürünleri Sempozyumu 04-06 Eylül 2001, Hatay.
- Emre, Y., Kürüm, V.,** 2007, Havuz ve Kafeslerde Alabalık Yetiştiriciliği, ikinci baskı 2007, İstanbul. **272**.
- Fauvel, C., Omnès, M.-H., Suquet, M., Normant, Y.,** 1993. Reliable assessment of overripening in turbot (*Scophthalmus maximus*) by a simple pH measurement. *Aquaculture* **117**, 107–113.
- Feist, G., Schreck, C.B., Fitzpatrick, M.S., Redding, J.M.,** 1990. Sex steroid profiles of coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) during early development and sexual differentiation. *Gen. Comp. Endocrinol.* **80**, 299–313.
- Feist G, Yeoh CH, Fitzpatrick M, Schreck CB.,** 1995. The production of functional sex-reversed male rainbow trout with 17 α -methyltestosterone and 11 β -hydroxyandrostenedione. *Aquaculture*, **131**, 145-152, 1995.

- Gardiner, D.M.**, 1978. Utilisation of extracellular glucose by spermatozoa of two viviparous fishes. *Comp. Biochem. Physiol. A: Mol. Integr. Physiol.* **59**, 165– 168.
- Geffen, A.J., Frayer, O.**, 1993. Retention of sperm motility in turbot *Scophthalmus maximus* L.: the effects of time from activation, thermal shock and adenosine triphosphate levels. *Aquacult. Fish. Manag.* **24**, 203–209.
- Gibbons, B.H., Gibbons, I.R., Baccetti, B.**, 1983. Structure and motility of the 9 + 0 flagellum of eel spermatozoa. *J. Submicrosc. Cytol.* **15**, 15–20.
- Gillet, C.**, 1991. Egg production in an Artic charr (*Salvelinus alpinus* L.) brood stock: effects of temperature on the timing of spawning and the quality of eggs. *Aquat. Living Resour.* **4**, 109–116.
- Gillet, C., Breton, B., Mikolajczyk, T.**, 1996. Effects of GnRH α and pimozone treatments on the timing of ovulation and egg quality in Arctic charr (*Salvelinus fontinalis*) at 5 and 10 °C. *Aquat. Living Resour.* **9**, 257–263.
- Guerrero, R. D., III.** 1975 Use of androgens for the production of all-male tilapia mossambica Peters and T. Homorum Trewavas, *Int. Assoc. Theor. Appl. limnol. Proc.* **17**, 719-724.
- Gür, S., Köprücü, K.**, 1999. Gökkuşığı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*, W.)’nin spermatolojik özelliklerindeki değişimler. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, **13** (3), 379-383.
- Harvey, B., Kelley, R.N.**, 1984. Short-term storage of *Sarotherodon mossambicus* ova. *Aquaculture* **37**, 391–395.
- Hayashi, H., Yamamoto, K., Yonekawa, H., Morisawa, M.**, 1987. Involvement of tyrosine protein kinase in the initiation of flagellar movement in rainbow trout spermatozoa. *J. Biol. Chem.* **262**, 16692–16698.

- Hokanson, K.E., McCormick, J.H., Jones, B.R., Tucker, J.H.,** 1973. Thermal requirements for maturation, spawning, and embryo survival of the brook trout, *Salvelinus fontinalis*. *J. Fish. Res. Board Can.* **30**, 975–984.
- Howley, C., Ho, R.K.,** 2000. MRNA localization patterns in zebrafish oocytes. *Mech. Dev.* **92**, 305–309.
- Huet, M.,** 1970, Textbook of Fish Culture, Fishing News (Books) Ltd., England, s69-70.
- Hwang, P.P., Wu, S.M., Lin, J.H., Wu, L.S.,** 1992. Cortisol content of eggs and larvae of teleosts. *Gen. Comp. Endocrinol.* **86**, 189–196.
- Inaba, K.,** 2008. Molecular mechanisms of the activation of flagellar motility in sperm. In: Alavi, S.M.H., Cosson, J.J., Coward, K., Rafiee, G. (Eds.), Fish spermatology, Alpha Science International Ltd., Oxford, pp. 267–279.
- Inaba, K., Akazome, Y., Morisawa, M.,** 1993. Purification of proteasomes from salmonid fish sperm and their localization along sperm flagella. *J. Cell Sci.* **104**, 907–915.
- Inaba, K., Kagami, O., Ogawa, K.,** 1999. Tctex2-related outer arm dynein light chain is phosphorylated at activation of sperm motility. [erratum appears in *Biochem Biophys Res Commun* 2000 Feb 24;268(3):952.]. *Biochem Biophys Res Commun* **256**, 177–183.
- Itoh, A., Inaba, K., Ohtake, H., Fujinoki, M., Morisawa, M.,** 2003. Characterization of a cAMP-dependent protein kinase catalytic subunit from rainbow trout spermatozoa. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **305**, 855–861.
- Izquierdo, M.S., ndez-Palacios, H., Tacon, A.G.J.,** 2001. Effect of broodstock nutrition on reproductive performance of fish. *Aquaculture* **197**, 25–42.

- Jensen, J.O., Alderdice, D.F.,** 1984. Effect of temperature on short-term storage of eggs and sperm of chum salmon. *Aquaculture* **37**, 251–265.
- Kane, D.A., Kimmel, C.B.,** 1993. The zebrafish midblastula transition. *Development* **119**, 447–456.
- Kayalı, H., Satiroglu, G., Tasyürekli, M.,** 1992. The effects of fluctuating seasonal and constant water temperatures on the photoperiodic advancement of reproduction in female rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture* **205**, 193–204.
- Köprücü, K., Gür, S.,** 1999. Gökkuşığı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*, W.)’nın sperma ve yumurta kalitesinin döşverimi üzerine etkisi. Hayvancılık Araştırma Dergisi, **9**(1-2), 81-86.
- Kho, K.H., Tanimoto, S., Inaba, K., Oka, Y., Morisawa, M.,** 2001. Transmembrane cell signaling for the initiation of trout sperm motility: roles of ion channels and membrane hyperpolarization for cyclic AMP synthesis. *Zoolog. Sci.* **18**, 919–928.
- Kime, D.E., Ebrahimi, M., Nysten, K., Roelants, I., Rurangwa, E., Moore, H.D.M., Ollevier, F.,** 1996. Use of computer assisted sperm analysis (CASA) for monitoring the effects of pollution on sperm quality of fish; application to the effect of heavy metals. *Aquat. Toxicol.* **36**, 223–237.
- King, H.R., Pankhurst, N.W., Watts, M., Pankhurst, P.M.,** 2003. Effect of elevated summer temperatures on gonadal steroid production, vitellogenesis and egg quality in female Atlantic salmon. *J. Fish Biol.* **63**, 153–167.
- Kjörsvik, E., Hoehne-Reitan, K., Reitan, K.I.,** 2003. Egg and larval quality criteria as predictive measures for juvenile production in turbot (*Scophthalmus maximus* L.). *Aquaculture* **227**, 9–20.
- Kjörsvik, E., Mangor-jensen, A., Homefjord, I.,** 1990. Egg quality in marine fishes. *Adv. Marine Biol.* **26**, 71–113.

- Knoll-Gellida, A., Andre, M., Gattegno, T., Forgue, J., Admon, A., Babin, P.J., 2008.** Molecular phenotype of *Oncorhynchus mykiss* ovarian follicle by serial analysis of gene expression and proteomic profiling, and comparison with the transcriptomes of other animals. *BMC Genomics* **7**, 46.
- Koldras, M., Loir, M., Maisse, G., Le Gac, F., 1996.** Study of the composition of seminal fluid and of sperm motility along the genital tract, during a spawning season, in the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquat. Living Resour.* **9**, 337–345.
- Kopeika, J., Kopeika, E., Zhang, T., Rawson, D.M., Holt, W.V., 2003.** Detrimental effects of cryopreservation of loach (*Misgurnus fossilis*) sperm on subsequent embryo development are reversed by incubating fertilised eggs in caffeine. *Cryobiology* **46**, 43–52.
- Kurtoğlu, İ. Z., Okumuş, İ., Çelikkale, M. S., Doğu Karadeniz Bölgesi'nde Ticari Bir İşletmedeki Gökkuşığı Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) Anaçlarının Döl Verim Özellikleri ve Yavrularının Büyüme Performansının Belirlenmesi. Türk Veterinerlik Ve Hayvancılık Dergisi, 1998, Cilt, Volume 22, Sayı, 3.Sayfa 489-495.**
- Labbe, C., Crowe, L.M., Crowe, J.H., 1997.** Stability of the lipid component of trout sperm plasma membrane during freeze–thawing. *Cryobiology* **34**, 176–182.
- Labbe, C., Maisse, G., 1996.** Influence of rainbow trout thermal acclimation on sperm cryopreservation: relation to change in the lipid composition of the plasma membrane. *Aquaculture* **145**, 281–294.
- Labbe, C., Maisse, G., 2001.** Characteristics and freezing tolerance of brown trout spermatozoa according to rearing water salinity. *Aquaculture* **201**, 287–299.
- Labbe, C., Maisse, G., Muller, K., Zachowski, A., Kaushik, S., Loir, M., 1995.** Thermal acclimation and dietary lipids alter the composition, but not fluidity, of trout sperm plasma membrane. *Lipids* **30**, 23–33.

- Labbe, C., Martoriati, A., Devaux, A., Maisse, G.,** 2001. Effect of sperm cryopreservation on sperm DNA stability and progeny development in rainbow trout. *Mol. Reprod. Dev.* **60**, 397–404.
- Laird, M., Needham, T.,** 1988. Salmon and Trout Farming. Ellis Horwood Ltd. England.
- Lahnsteiner, F., Patzner, R., Weismann, T.,** 1992. Monosaccharides as energy resources during motility of spermatozoa in *Leuciscus cephalus* (Cyprinidae, Teleostei). *Fish Physiol. Biochem.* **10**, 283–289.
- Lahnsteiner, F., Patzner, R.A.,** 1998. Sperm motility of the marine teleosts *Boops boops*, *Diplodus sargus*, *Mullus barbatus* and *Trachurus mediterraneus*. *J. Fish Biol.* **52**, 726–742.
- Lahnsteiner, F., Patzner, R.A.,** 2008. Sperm morphology and ultrastructure in fish. In: Alavi, S.M.H., Cosson, J.J., Coward, K., Rafiee, G. (Eds.), Fish spermatology Alpha Science International Ltd., Oxford, pp. 2–61.
- Lahnsteiner, F., Berger, B., Weismann, T., Patzner, R.A.,** 1998. Determination of semen quality of the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, by sperm motility, seminal plasma parameters, and spermatozoal metabolism. *Aquaculture* **163**, 163–181.
- McEvoy, L.-A.,** 1984. Ovulatory rhythms and over-ripening of eggs in cultivated turbot, *Scophthalmus maximus* L. *J. Fish Biol.* **24**, 437–448.
- Mishra, S., Murphy, L.C., Murphy, L.J.,** 2006. The prohibitins: emerging roles in diverse functions. *J. Cell Mol. Med.* **10**, 353–363.
- Miura, T., Yamauchi, K., Takahashi, H., Nagahama, Y.,** 1992. The role of hormones in the acquisition of sperm motility in salmonid fish. *J. Exp. Zool.* **261**, 359–363.

- Mommsen, T., Korsgaard, B.,** 2008. Vitellogenesis. In: Rocha, M.J., Arukwe, A., Kapoor, B.G. (Eds.), Fish Reproduction Science Publishers, Enfield, pp. 1–36.
- Morisawa, M.,** 1994. Cell signaling mechanisms for sperm motility. *Zoolog. Sci.* **11**, 647–662
- Morisawa, M., Ishida, K.,** 1987. Short-term changes in levels of cyclic AMP, adenylate cyclase, and phosphodiesterase during the initiation of sperm motility in rainbow trout. *J. Exp. Zool.* **242**, 199–204.
- Morisawa, M., Suzuki, K.,** 1980. Osmolality and potassium ion: their roles in initiation of sperm motility in teleosts. *Science* **210**, 1145–1147.
- Morisawa, M., Tanimoto, S., Ohtake, H.,** 1992. Characterization and partial purification of sperm-activating substance from eggs of the herring, *Clupea palasii*. *J. Exp. Zool.* **264**, 225–230.
- Morisawa, S., Ishida, K., Okuno, M., Morisawa, M.,** 1993. Roles of pH and cyclic adenosine monophosphate in the acquisition of potential for sperm motility during migration from the sea to the river in chum salmon. *Mol. Reprod. Dev.* **34**, 420–426.
- Morisawa, S., Morisawa, M.,** 1986. Acquisition of potential for sperm motility in rainbow trout and chum salmon. *J. Exp. Biol.* **126**, 89–96.
- Morisawa, S., Morisawa, M.,** 1988. Induction of potential for sperm motility by bicarbonate and pH in rainbow trout and chum salmon. *J. Exp. Biol.* **136**, 13–22.
- Mounib, M.S.,** 1967. Metabolism of pyruvate, acetate and glyoxylate by fish sperm. *Comp. Biochem. Physiol. A: Mol. Integr. Physiol.* **20**, 987–992.
- Muller, K., Labbe, C., Zachowski, A.,** 1994. Phospholipid transverse asymmetry in trout spermatozoa plasma membrane. *Biochim. Biophys. Acta* **1192**, 21–26.

- Muller, K., Muller, P., Pincemy, G., Kurz, A., Labbe, C.,** 2008. Characterization of sperm plasma membrane properties after cholesterol modification: consequences for cryopreservation of rainbow trout spermatozoa. *Biol. Reprod.* **78**, 390–399.
- Munoz-Guerra, S., Azorin, F., Casas, T., Marcet, X., Maristany, M.A., Roca, J., Subirana, J.A.,** 1982. Structural organization of sperm chromatin from the fish *Carassius auratus*. *Exp. Cell Res.* **137**, 47–53.
- Munkittrick KR, Moccia RD.,** 1987 Seasonal changes in the quality of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) semen: effect of a delay in stripping on spermatocrit, motility, volume and seminal plasma constituents. *Aquaculture*, **64**:147 - 156
- Mylonas, C.C., Hinshaw, J.M., Sullivan, C.V.,** 1992. GnRHa-induced ovulation of brown trout (*Salmo trutta*) and its effect on egg quality. *Aquaculture* **106**, 379– 392.
- Nagler, J.J.,** 2000. In vivo treatment with cycloheximide or actinomycin D inhibits early embryonic development in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish Physiol. Biochem.* **22**, 61–66.
- Oda, S., Igarashi, Y., Manaka, K., Koibuchi, N., SakaiSawada, M., Sakai, K., Morisawa, M., Ohtake, H., Shimizu, N.,** 1998. Sperm-activating proteins obtained from the herring eggs are homologous to trypsin inhibitors and synthesized in follicle cells. *Dev. Biol.* **204**, 55–63.
- Ohkawa, K., Inaba, K., Morisawa, M.,** 1997. Purification and characterization of 26S proteasome from sperm flagella of chum salmon and its roles in the regulation of sperm motility. *Biomed. Res.—Tokyo* **18**, 353–363.
- Ohta, T., Kato, K.H., Abe, T., Takeuchi, T.,** 1993. Sperm morphology and distribution of intramembranous particles in the sperm heads of selected freshwater teleosts. *Tissue* **25**, 725–735.

- Okumuş, İ.**, 2003. Rainbow Trout Broodstock Management and Seed Production in Turkey: Present Practices, Constraints and the Future. *Turkish J. Fisheries and Aquatic Sciences*, 2: 41-56.
- Okumuş, İ., C. Üstündağ, İ. Z. Kurtoğlu, N. Başçınar**, 1997, Quality Features, Fecundity and Stripping time of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Broodstocks Stocked in Sea Cages and Fresh Water Ponds (in turkish) . IX Ulusal Su Ürünleri Sempozyumu 17-19 Eylül 1997, Isparta.
- Okumuş, İ., N. Başçınar, M. Z. İkan, İ. Z. Kurtoğlu**, 1998, Growth and Culture Potential of Brook Trout (*Salvelinus fontinalis*) in Sea and Fresh Water in The Eastern Black Sea Conditions (in turkish), Doğu Anadolu Bölgesi III Su Ürünleri Sempozyumu 10-12 Haziran 1998, Erzurum.
- Pankhurst, N.W., Purser, G.J., Van der Kraak, G., Thomas, P.M., Forteach, G.N.R.**, 1996. Effect of holding temperature on ovulation, egg fertility, plasma levels of reproductive hormones and in vitro ovarian steroidogenesis in the rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture* **146**, 227–290.
- Patino, R., Sullivan, C.V.**, 2002. Ovarian follicle growth, maturation, and ovulation in teleost fish. *Fish Physiol. Biochem.* **26**, 57–70.
- Pelegri, F.**, 2003. Maternal factors in zebrafish development. *Dev. Dyn.* **228**, 535– 554.
- Perchec, G., Jeulin, C., Cosson, J., André, F., Billard, R.**, 1995. Relationship between sperm ATP content and motility of carp spermatozoa. *J. Cell Sci.* 108, 747– 753.
- Rime, H., Guitton, N., Pineau, C., Bonnet, E., Bobe, J., Jalabert, B.**, 2004. Post-ovulatory ageing and egg quality: a proteomic analysis of rainbow trout coelomic fluid. *Reprod. Biol. Endocrinol.* **2**, 26.

- Rothbard, S., Rubinshtein, I., Gelman, E.,** 1996. Storage of common carp. *Cyprinus carpio* L., eggs for short durations. *Aquac. Res.* **27**, 175–181.
- Rurangwa, E., Volckaert, F.A., Huyskens, G., Kime, D.E., Ollevier, F.,** 2001. Quality control of refrigerated and cryopreserved semen using computer-assisted sperm analysis (CASA), viable staining and standardized fertilization in African catfish (*Clarias gariepinus*). *Theriogenology* **55**, 751–769.
- Sakai, K., Nomura, M., Takashima, F.,** 1985. Characteristics of naturally spawned eggs of red sea bream. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish* **51**, 1395–1399.
- Shields, R.J., Brown, N.P., Bromage, N.R.,** 1997. Blastomere morphology as a predictive measure of fish egg viability. *Aquaculture* **155**, 1–12.
- Sower, S.A., Schreck, C.B., Donaldson, E.M.,** 1982. Hormone-induced ovulation of Coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) held in seawater and fresh water. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **39**, 627–632.
- Springate, J.R.C., Bromage, N.R., Elliott, J.A.K., Hudson, D.L.,** 1984. The timing of ovulation and stripping and their effects on the rates of fertilization and survival to eying, hatch and swim-up in the rainbow trout (*Salmo gairdneri* R.). *Aquaculture* **43**, 313–322.
- Stickney, R., R.,** 1991, Culture of salmonid fishes, CRC pres, Inc., Florida, s31-32.
- Stoddard, J.W., Parsons, J.E., Nagler, J.J.,** 2005. Early onset of embryonic mortality in sub-fertile families of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Reprod. Fertil. Dev.* **17**, 785–790.
- Tagawa, M., Hirano, T.,** 1987. Presence of thyroxine in eggs and changes in its content during early development of chum salmon, *Oncorhynchus keta*. *Gen. Comp Endocrinol.* **68**, 129–135.

- Takeuchi, T., Watanabe, T.,** 1982. Effects of various polyunsaturated fatty acids on growth and fatty acid compositions of rainbow trout *Salmo gairdneri*, coho salmon *Onchorhynchus kisutch*, and chum salmon *Onchorhynchus keta*. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.* **48**, 1745–1752.
- Tata, J.R.,** 1986. Coordinated assembly of the developing egg. *Bioessays* **4**, 197–201.
- Terner, C.,** 1962. Oxidative and biosynthetic reactions in spermatozoa. In: Bishop D.W. (Ed.), *Spermatozoan Motility*, American association for the Advancement of Science, Washington D.C., pp. **89–98**.
- Terner, C., Korsh, G.,** 1963a. The biosynthesis of fatty acids of glycerides and phosphatides by isolated spermatozoa of the rainbow trout. *J. Cell Comp. Physiol.* **62**, 251–256.
- Terner, C., Korsh, G.,** 1963b. The oxydative metabolism of pyruvate, acetate and glucose in isolated fish spermatozoa. *J. Cell Comp. Physiol.* **62**, 243–249.
- Thorgaard, G. H.,** 1977. Heteromorphic sex chromosomes in male rainbow trout, *Science* **196**, 900–902.
- Wallace, R.A., Selman, K.,** 1985. Major protein changes during vitellogenesis and maturation of *Fundulus* oocytes. *Dev. Biol.* **110**, 492–498.
- Weigel, K.A.,** 2006. Prospects for improving reproductive performance through genetic selection. *Anim. Reprod. Sci.* **96**, 323–330.
- Werthemer, A.C.,** 1984. Maturation success of Pink salmon (*Oncorhynchus gorbuscha*) and Coho salmon (*O. kisutch*) held under three salinity regimes. *Aquaculture* **43**, 195–212.
- Withler, F.C., Morley, R.B.,** 1968. Effects of chilled storage on viability of stored ova and sperm of sockeye and pink salmon. *J. Fish. Res. Board Can.* **25**, 2695–2699.

Willers, W. B., 1981. Trout biology, an angler's guide the university of Wisconsin press, London, England, s27

Zilli, L., Schiavone, R., Zonno, V., Storelli, C., Vilella, S., 2003. Evaluation of DNA damage in *Dicentrarchus labrax* sperm following cryopreservation. *Cryobiology* **47**, 227–235.

Zilli, L., Schiavone, R., Zonno, V., Storelli, C., Vilella, S., 2004. Adenosine triphosphate concentration and beta-D-glucuronidase activity as indicators of sea bass semen quality. *Biol. Reprod.* **70**, 1679–1684.

ÖZGEÇMİŞ

Kayseri ilinin Pınarbaşı İlçesine bağlı olan Yarımtepe Köyünde 03.05.1978 tarihinde doğdum. İlköğrenimimi bu ilçeye bağlı Yarımtepe köyü ilkokulunda, orta öğrenimimi Pazarören Kasabasında bulunan Pazarören Lisesinde, lise öğrenimimi aynı kasabada bulunan Mimarsinan Anadolu Öğretmen Lisesinde tamamladım. 1998 yılında Fırat Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi'nde lisans eğitime başladım. Aynı fakülteden 2002 yılında mezun oldum. Uzun bir süre özel sektörde çalıştıktan sonra, 2010 yılında Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Su Ürünleri Yetiştiriciliği Anabilim Dalı'nda yüksek lisans öğrenimine başladım. Evli ve 2 çocuk babasıyım. Halen mesleğimle ilgili özel bir balıkçılık işletmesinde müdür olarak görev yapmaktayım.

Halil YAVUZ