



Determination of Rainbow Trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792) Sperm Quality During Adaptation to the Short Term Preservation Conditions

Ali Özcan Babaoğlu^a

Department of Aquaculture, Faculty of Fisheries, Ege University, 35100 Bornova/İzmir, Turkey

ARTICLE INFO	ABSTRACT
<p><i>Research Article</i></p> <p>Received : 21/12/2018 Accepted : 28/01/2019</p> <p>Keywords: Rainbow trout Sperm Quality Short term preservation Adaptation</p>	<p>In this study, it was aimed to examine the rainbow trout <i>Oncorhynchus mykiss</i> (Walbaum, 1792) sperm quality during adaptation to the short term preservation conditions and to evaluate the obtained analysis results. Within the scope of research, average sperm yield and range of sperm concentration of male broodstocks that had $921,50 \pm 244,86$ g average weight value and $41,79 \pm 2,98$ cm average length value were measured as $9,56 \pm 5,30$ ml and $0,27-4,57 \times 10^9$ spz.ml⁻¹, respectively. It has been determined that spermatozoas which short term preserved without using any extenders or additives between 0-4°C in laboratory were included in the scope of minimum motility categories class. In order to reach high levels of sperm quality rates in rainbow trout sperm preservation studies according to the collected data and results; paying attention to breeding season, genetic factors and building of broodstock and sperm preservation units having good quality genetic characteristics of males and females by farm owners are expected to be beneficial for sustainability and efficiency of these types of studies.</p>

Türk Tarım – Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi 7(3): 441-446, 2019

Gökkuşığı Alabalığı *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792) Sperminin Kısa Süreli Muhafaza Koşullarına Adaptasyon Sürecinde Kalitelerinin Belirlenmesi

MAKALE BİLGİSİ	ÖZ
<p><i>Araştırma Makalesi</i></p> <p>Geliş : 21/12/2018 Kabul : 28/01/2019</p> <p>Anahtar Kelimeler: Gökkuşığı alabalığı Sperm Kalite Kısa süreli muhafaza Adaptasyon</p>	<p>Bu çalışmada, gökkuşığı alabalığı <i>Oncorhynchus mykiss</i> (Walbaum, 1792) spermalarının kısa süreli muhafaza koşullarına adaptasyonu sürecinde sperm kalitesinin incelenmesi ve elde edilen analiz sonuçlarının değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Araştırma kapsamında, ortalama $921,50 \pm 244,86$ g ağırlık ve $41,79 \pm 2,98$ cm boya sahip erkek damızlıkların ortalama süt verimi $9,56 \pm 5,30$ ml, sperm konsantrasyonu değişim aralığı $0,27-4,57 \times 10^9$ spz.ml⁻¹ olarak ölçülmüştür. Hiçbir koruyucu ya da katkı maddesi kullanılmadan 0-4°C'de kısa süreli muhafaza edilen spermatozoaların minimum motilite (hareketlilik) kategorileri sınıfına girdikleri belirlenmiştir. Elde edilen veriler ve sonuçlar doğrultusunda Gökkuşığı alabalıkları ile gerçekleştirilecek sperm muhafaza çalışmalarında sperm kalitesi oranları açısından yüksek düzeylere ulaşılabilmesi için üreme dönemine, genetik faktörlere dikkat edilmesi ve üreticilerin kaliteli erkek ve dişilerden oluşan anaç stoğu ve sperm muhafaza birimlerini kendilerinin oluşturmaları, bu tip çalışmaların sürdürülebilirliği ve verimliliği açısından yararlı olacaktır.</p>

^a ozcanbabaoğlu@hotmail.com

<https://orcid.org/0000-0003-1639-9880>



Giriş

Gökkuşığı alabalığı, Türkiye’de ve dünyada yetiştiriciliği en yaygın yapılan alabalık türüdür (Alpbaz, 1995). Ayrıca Sazan balığı *Cyprinus carpio* (Linnaeus, 1758) haricinde yetiştiriciliği yapılan en eski tür olma özelliğine sahiptir (Gall ve Crandell, 1992). Tür ile ilgili ilk kültür çalışmalarının gökkuşığı alabalığı yumurtalarının 1874 yılında Kuzey Kaliforniya’daki bir kuluçkahanede kuluçkalanmasıyla başladığı, daha sonraki yıllarda ise türün 1877 yılında Japonya’da, 1885 yılında İngiltere’de yetiştirilmeye başlandığı, Türkiye’deki üretimin ise 1970’li yıllarda dışarıdan getirilen yumurtalarla başladığı belirtilmiştir (Akhan ve Canyurt, 2005).

İstatistikî verilere göre alabalıklar günümüzde yetiştiriciliği en çok yapılan balık türleri arasındadır. TÜİK 2017 yılı verilerine göre Türkiye’deki yetiştiricilik üretiminin türlere göre dağılımında, %40 oranı ile alabalığın (deniz ve iç su dahil) ilk sırada olduğu, bunu levrek (%36), çipura (%22) ve diğer türlerin (%2) takip ettiği görülmektedir (TÜİK, 2017).

İç su balıkları yetiştiriciliği açısından bu kadar önemli tür olan alabalıklarla ilgili genetik ve sperm muhafaza çalışmaları her geçen gün önemini arttırmaktadır. Canyurt ve ark. (2003), kültürü gerçekleştirilen alabalıkların üreme periyodunun Kasım-Mart ayları arasında gerçekleştiğini ancak pek çok işletmede üreme döneminde görülen senkronizasyon bozukluğu sebebiyle bazen dişi anaçlardan yumurta alındığı halde erkek damızlıklardan sperm alınmadığını ya da bunun tam tersinin olduğunu bildirmiş ve bu durumun da üreticilerin, ekonomik zararlara uğramasına sebep olduğunu belirtmiştir.

Gerek Türkiye’de gerekse dünyada balık spermlerinin kalitesini ortaya koyan (Glogowski ve ark., 2000; Kopeika ve ark., 2007; Lahnsteiner, 2000; Lahnsteiner ve ark., 1998; Rurangwa ve ark., 2004; Sansone ve ark., 2002) ve bunların muhafazası (Basavaraja ve Hegde, 2005; Canyurt ve Akhan, 2003; Canyurt ve ark., 2003; Hayes ve ark., 2005; Linhart ve ark., 2005; Robles ve ark., 2003; Suquet ve ark., 2000) ile ilgili çeşitli araştırmalar olmasına karşın Manisa ilindeki işletmede alışıl gelmiş kısa süreli muhafaza yöntemleri dışında hiçbir katkı maddesi ve ilave sperm koruyucu eklenmeden gökkuşığı alabalıkları ile gerçekleştirilen çalışma, bu açıdan da farklılık ve önem arz etmektedir.

Bu çalışmada, Gökkuşığı alabalıklarının üreme dönemlerinde yumurtaların döllenmesi konusunda üreticilerin sorun yaşamaması için Gökkuşığı alabalığı spermalarının kısa süreli muhafaza koşullarına adaptasyonu ve bu süreçte sperm kalitesinin incelenerek sonuçların değerlendirilmesi ve sürdürülebilir yetiştiricilik açısından sperm muhafaza çalışmalarına yön verecek olan ve dikkat edilmesi gereken kritik faktörlerin ortaya çıkarılması amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Çalışmada kullanılan sperma örnekleri Manisa ilinde faaliyet gösteren özel bir alabalık işletmesinden temin edilmiştir. Ekim 2006’da gerçekleştirilen çalışmada, ağırlıkları 590 - 1318 g, total boyları 37,6 - 46,6 cm arasında değişen 20 adet Gökkuşığı alabalığı düşük

konsantrasyonda fenoksietanol ile sakınleştirilmiş (Christen ve ark., 1987) ve bu balıklardan abdominal masaj yöntemiyle (Fabbrocini ve ark., 2000) sperm örnekleri sağılarak alınmıştır.

Sağım süresince spermanın temiz kalması için olası su, dışkı, üre, kan ve mukusun tüplere girmemesine özen gösterilmiştir. Bu nedenle hemen sağım öncesinde erkek balıkların ürogenital bölgesi kuru ve temiz havlu ile iyice kurulanıp temizlendikten sonra, sperm 15 ml’lik steril ağız kapaklı ve üzerine numara yazılmış tüplere sağılmıştır. Genital kanaldan sağımın ilk aşamasında çıkan dışkı ve üre bulaşmış ve yoğunluğu az olan sperm kullanılmamıştır (Canyurt ve ark., 2003). Sperm aktivasyonu için işletmeden temin edilen tatlı su kullanılmıştır. İşletmedeki ortam suyunun ve çalışmadaki ilgili sıcaklık ve pH değerlerini tespit etmek için termometre ve pH metre kullanılmıştır. İçerisinde sperm örneklerinin bulunduğu tüpler, faz kontrast mikroskop altında (Ravinder ve ark., 1997) hemen incelenmek üzere 0°C’deki buz üzerinde (Basavaraja ve Hegde, 2005) ve içlerine hiçbir koruyucu ya da katkı maddesi ilave edilmeden ağız kapaklı ve ısı yalıtımlı taşıma kabında laboratuvara getirilmiş ve sperm analiz işlemleri esnasında 0-4°C sıcaklıkta muhafaza edilmiştir (Linhart ve ark., 2005). Sperm, vakit kaybedilmeden laboratuvar ortamında öze kullanılarak lam üzerine konulmuş (Engin, 2007) ve işletme sahasından alınan ortam suyu örneğinden her örnek için iki damla kullanılmak suretiyle hemen mikroskop altında incelenmiştir.

Minimum motilite kategorisinde (Lahnsteiner, 2000; Sansone ve ark., 2002) yer aldığı gözlenen 20 adet tüpteki sperm örnekleri, hacim hesaplaması için kullanılmıştır. Aktivasyon denemeleri sonrasında içerisinde minimum motilite sınıfında olduğu tespit edilen sperm örneklerinin bulunduğu tüpler, 2, 5 ve 10 ml hacim kapasitesine sahip özel boyutlu pipetler yardımıyla 15 ml’ye tamamlanmış ve 15 ml’lik tüp hacminden eklenen su miktarı çıkarılarak tüp içindeki sperm hacmi hesabı gerçekleştirilmiştir. Daha sonra tüp dışarısına damlatılan idrar, su, dışkı vb. ile temas etmiş spermelerin bir damlasının kaç ml olduğu hesaplanarak çıkan sonucun damla sayısı ile çarpılması ve ilk sperm hacmiyle toplanması ile toplam hacim tespit edilmiştir. (Engin, 2007).

Sperm konsantrasyonu ise Thoma hemositometresi hesaplama yöntemine göre tespit edilmiştir (Barbato ve ark., 1998). Bu kapsamda Gökkuşığı alabalığı spermeleri 1:5000 oranında seyreltilmiş ve seyreltme işlemi 1 ml örnek alımı ve mezürlere ilavesi ile önce 100 ml’lik daha sonra 50 ml’lik mezürlerde gerçekleştirilmiştir. Bu işlem sonrasında faz kontrast mikroskop altında Thoma lamı ile hücre sayımı yapılmıştır.

Analiz ve incelemeler sürecinde sperm sayımı işlemleri de gerçekleştirilmiştir.

Araştırma sonunda kaydedilen veriler bilgisayar ortamında SPSS 20.0 ve EXCEL 2016 paket programı kullanılarak istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. Araştırmada kullanılan Gökkuşığı alabalığı spermalarının hacim ve konsantrasyon ölçümlerinin ortalaması ve standart sapması hesaplanmış (Ort ± SD), erkek bireylerden temin edilen sperm örneklerinin Thoma lamında sayım sonuçlarının istatistiksel olarak

değerlendirilmesinde Kolmogorov-Smirnov ve Levene testlerini takiben Kruskal-Wallis testi kullanılarak analiz yapılmıştır ($P<0,05$). Önemlilik ise %95 güven aralığında araştırılmıştır (Sümbüloğlu ve Sümbüloğlu, 2000).

Bulgular ve Tartışma

Yapılan çalışmada sağılan her balığın ağırlık, total boy ve sperm hacim değerleri düzenli bir şekilde kaydedilmiştir. Buna göre erkek alabalıkların kaydedilen ağırlıklarının ortalaması $921,50 \pm 244,86$ g, total boylarının ortalaması $41,79 \pm 2,98$ cm ve tüp içindeki sperm hacim değerlerinin ortalaması $9,56 \pm 5,30$ ml olarak bulunmuştur (Tablo 1).

Manisa ilindeki işletmede Ekim 2006'da gerçekleştirilen çalışmada, damızlık erkek Gökkuşuğu alabalıklarının yaşatıldığı ortam suyu sıcaklığı 16°C , pH ise 7,9 olarak tespit edilmiştir. Araştırma için gerekli balık temininin gerçekleştiği Ekim 2006'daki ışık süresine bakıldığında ise işletmedeki damızlık erkek bireylerin, bekletildikleri beton havuzlarda, doğal suda, üstü açık alanda ve doğal fotoperiyot ortamında yaklaşık 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık sürelerine maruz kaldıkları belirlenmiştir.

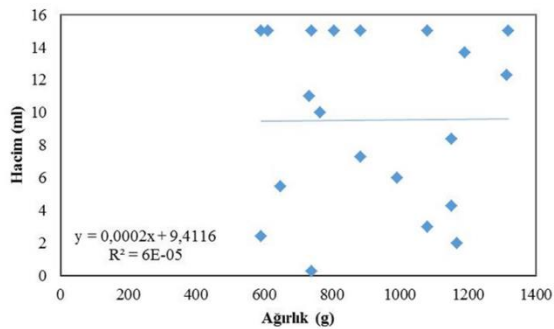
Araştırmada kullanılan balıkların sperm hacmi-ağırlık

ve sperm hacmi-total boy ilişkileri de incelenmiştir (Şekil 1). Buna göre erkek alabalıkların sperm hacmi-ağırlık ilişkisine bakıldığında bu değişkenlerin arasında bir ilişki olmadığı tespit edilmiştir. Sperm hacmi-total boy arasındaki ilişki incelendiğinde ise bu iki niteliğin arasında negatif yönlü allometri olduğu belirlenmiştir.

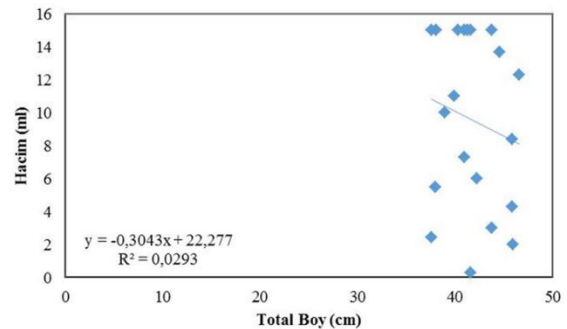
Çalışmada kullanılan erkek alabalıklardan alınan spermelerin sayılmasıyla elde edilen bulgulara ilişkin veriler, sperm örneklerinin Thoma lamında sayım sonuçlarının tümünün ortalama ve standart sapmalarının da hesaplanmasıyla elde edilen değerlerle birleştirilmiştir. Yapılan 3 tekrarlı incelemelerde ortalaması en yüksek sperm miktarı $513 \pm 31,08$ adet sperm sayısı ile 7 numaralı tüpte, en düşük miktar ise $13 \pm 6,24$ adet sperm sayısı ile 6 numaralı tüpte tespit edilmiştir (Şekil 2). Erkek alabalıklardan alınan sperm örneği 1, 2 ve 3'e ait Thoma lamında sayım sonuçlarına ait veriler incelendiğinde tüm örneklerin, normallik şartı sağlanmadığı için ($p<0,05$) normal dağılıma uygun olmadığı belirlenmiştir. Bu örneklerin varyans homojenliğine bakıldığında ($p>0,05$), örnek 1, örnek 2 ve örnek 3'ün varyansları homojen olarak saptanmıştır. Örnekler arasındaki farklılık incelendiğinde, bu üç örnek arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadığı tespit edilmiştir ($P<0,05$).

Tablo 1 Erkek alabalıkların abdominal sağım sonucunda kaydedilen ağırlık, total boy ve sperm hacmi değerleri
Table 1 Weight, total length and sperm mass values of male trouts recorded after abdominal stripping

Örnek No	Ağırlık (g)	Total Boy (cm)	Sperm Hacmi (ml)
1	1318	41,3	15,0
2	590	37,6	15,0
3	590	37,6	2,4
4	731	39,9	11,0
5	740	41,6	15,0
6	740	41,6	0,3
7	1151	45,9	8,4
8	1151	45,9	4,3
9	611	38,1	15,0
10	883	41,0	15,0
11	883	41,0	7,3
12	765	39,0	10,0
13	1167	46,0	2,0
14	991	42,3	6,0
15	1081	43,8	15,0
16	1081	43,8	3,0
17	647	38,0	5,5
18	806	40,3	15,0
19	1190	44,6	13,7
20	1314	46,6	12,3

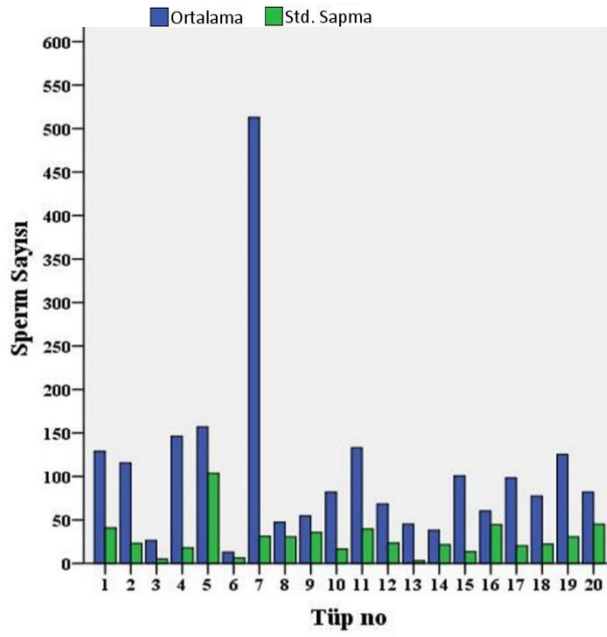


(a)



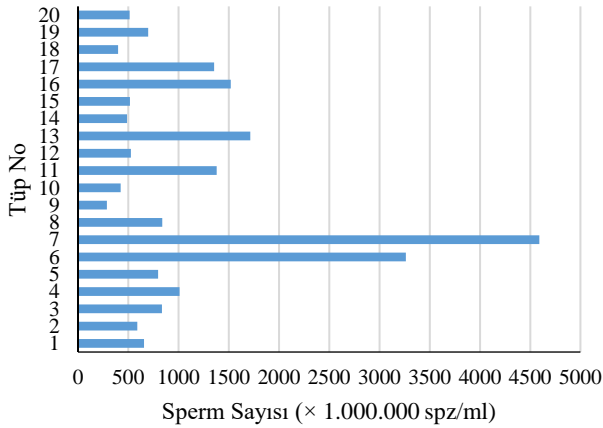
(b)

Şekil 1 Araştırmada kullanılan balıkların sperm hacmi-ağırlık (a) ve sperm hacmi-total boy (b) ilişkileri
Figure 1 Sperm mass-weight and sperm mass-total length correlations of studied fishes



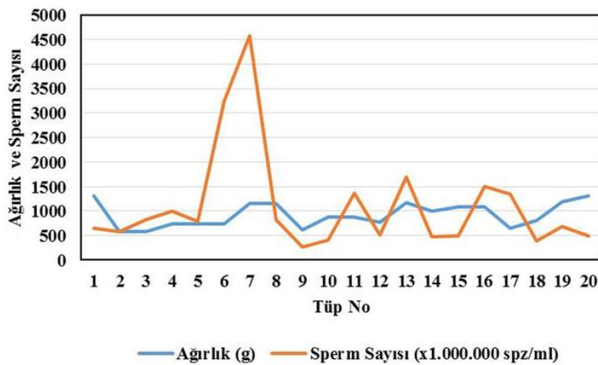
Şekil 2 Erkek alabalıkları sperm örneklerinin Thoma lamında sayım sonuçlarına göre ortalamaları ve standart sapmaları

Figure 2 Averages and standard deviations of male trouts' sperm samples according to Thoma slide counts



Şekil 3 Çalışmada kullanılan erkek alabalıkların sperm konsantrasyonu değerleri

Figure 3 Sperm concentration values of studied male trouts



Şekil 4 Uygulamada kullanılan erkek alabalıkların sperm konsantrasyonu-ağırlık ilişkisi

Figure 4 Sperm concentration-weight correlation of studied male trouts

Uygulamada kullanılan damızlık bireylerin, 1 ml'deki sperm konsantrasyonu değerleri de hesaplanmıştır (Şekil 3). Gökkuşluğu alabalıklarının sperm konsantrasyonu ortalaması $1,107 \times 10^9 \pm 1,061 \times 10^9$ spz.ml⁻¹ olarak bulunmuştur. Araştırmada elde edilen verilere göre alabalıkların 1 ml'deki sperm konsantrasyonu en yoğun $4,577 \times 10^9$ spz.ml⁻¹ ile 7 numaralı tüpte, en düşük ise $0,273 \times 10^9$ spz.ml⁻¹ ile 9 numaralı tüpte tespit edilmiştir.

Sperm konsantrasyonu-ağırlık arasındaki ilişki ise çizgi grafiği ile tanımlanmıştır (Şekil 4). Elde edilen sonuçlara göre uygulamada kullanılan erkek alabalıkların 1 ml'deki sperm konsantrasyonları ile ağırlıkları arasında pozitif yönlü bir ilişki olduğu belirlenmiştir. Sonuç olarak ağırlık azaldığında sperm konsantrasyonu azalmakta ya da tam tersi olarak ağırlık arttığında ise sperm konsantrasyonu artmaktadır.

Balık spermalarının kısa süreli muhafazası ve kalitesi ile ilgili Türkiye ve dünyada çeşitli araştırmalar gerçekleştirilmiştir. Canyurt ve ark. (2003), Balık (1978)'in yaptığı çalışmada, gökkuşluğu alabalığı spermalarını 1°C'de 10 gün, 6°C'de 13 gün ve 10°C'de 10 gün yaşatabildiğini belirtmiş, Büyükhatipoğlu ve Holtz (1978)'un ise gökkuşluğu alabalığı spermalarını izotonik plazma ile 1:1, 1:16 oranlarında sulandırarak 4°C'de 15 gün saklamayı başardığını bildirmişlerdir. Christen ve ark. (1987), alabalıkların sperm motiliteleri ile ilgili yaptıkları araştırmada damızlık erkek bireylerin seleksiyonlarının, sperm mitokondrilerinin daha verimli olma durumlarına göre değerlendirilebileceğini vurgulamışlardır. Lahnsteiner ve ark. (1998), gerçekleştirdikleri çalışma sonucunda gökkuşluğu alabalığında dölleme oranının en iyi şekilde sperm motilite oranıyla açıklanabileceğini ve yüksek kaliteye sahip sperm (dölleme oranı > %80) yüksek motilite oranıyla (motilite oranı ≥ 75) karakterize edileceğini bildirmişlerdir. Robles ve ark. (2003), yaptıkları çalışma sonucunda gökkuşluğu alabalığı spermının muhafazasının başarıya ulaşması konusunda doğal üreme döneminde temin edilen gökkuşluğu alabalığı spermının anahtar role sahip olduğunu belirtmişlerdir. Diğer bir araştırmada ise Cabrita ve ark. (2001), gökkuşluğu alabalığı spermı muhafaza çalışmalarında yüksek hacimde sperm saklama özelliğine sahip makrotüplerin kullanılmasının ticari balık çiftlikleri açısından çok faydalı ve önemli olduğunu ve tespit edilen dölleme oranlarının %70-75 gibi yüksek seviyelere ulaştığını bildirmişlerdir. Hayes ve ark. (2005), gökkuşluğu alabalığı yavruları ile ilgili yaptıkları çalışmalarında yeni uygulanacak olan sperm muhafaza yöntemlerinin test edilmesi gerektiğini ve sperm muhafaza teknikleri sonucu elde edilen bireylerin sağlık durumlarının ve performanslarının genel balıkçılık çerçevesinde değerlendirilmeden önce tam olarak gözden geçirilmesi gerektiğini belirtmişlerdir. Lahnsteiner (2000), bilgisayar desteğiyle gerçekleştirdiği sperm motilite analizi sınıflandırmasında, yüzme hızı < 5 $\mu\text{m/sn}$ olan spermatozoaları (%) hareketsiz spermatozoa olarak, yüzme hızı > 20 $\mu\text{m/sn}$ olan spermatozoaları (%) hareketli spermatozoa olarak, yüzme hızı 5 - 20 $\mu\text{m/sn}$ olan spermatozoaları ise (%) lokal hareketli spermatozoa olarak bildirmiştir. Yapılan çalışmada, alabalık işletmesinden temin edilen gökkuşluğu alabalığı spermatozoalarının, yüzme hızı < 5 $\mu\text{m/sn}$ olan spermatozoa sınıfına girdiği belirlenmiştir. Bunun dışında Sansone ve ark. (2002), ortaya koydukları motilite sınıflandırması tablosunda,

motiliteyi 0 ila 5 arasında rakamsal değerlerle kategorize etmiş, 0 rakamı ile hiç motilite görülmeyen spermatozoa yüzdesini ifade ederken 5 rakamını %100 hızlı, enerjik ve ileri hareketli spermatozoa yüzdesini belirtmek için kullandıklarını göstermişlerdir. Bu sınıflandırma ile karşılaştırma yapıldığında da gerçekleştirilen araştırmada elde edilen sonuçlara göre uygulama için alınan spermatozoa örneklerinin 0 rakamı kategorisine girdiği tespit edilmiştir. Tüm bu çalışmalarla kıyaslandığında özette belirtmek gerekirse, gökkuşağı alabalığı spermalarının kısa süreli muhafaza koşullarına adaptasyonu sürecinde Manisa ilinde yer alan bir alabalık işletmesinde sperm kalitesinin araştırılması üzerine gerçekleştirilen çalışmada, içlerine hiçbir koruyucu ya da katkı maddesi ilave edilmeden, Basavaraja ve Hegde (2005)'nin çalışmalarında yaptıkları şekilde 0°C'deki buz üzerinde incelemek üzere hemen laboratuvara getirilen, 0-4°C'de muhafaza edilen (Linhart ve ark., 2005) ve ortam suyu ile aktive edilmeye çalışılan spermaların motilitelerinin minimum düzey kategorilerinde yer aldıkları tespit edilmiştir.

Araştırmalardan elde edilen sonuçlara bakıldığında spermallerdeki motilitenin minimum düzeylerde görülmesinin en önemli sebeplerinden biri olarak, balık spermallerindeki kaliteyi etkileyen faktörler arasından genetik faktörler (Rurangwa ve ark., 2004) gösterilebilir. Bu durumun görülmesinde, işletme yetkililerinin, dışarıdan aldıkları yumurtaların ve erkeklerin genetik olarak kaliteli erkek bireyler olup olmadığını bilmemesinin büyük rol oynadığı düşünülmüştür. Ayrıca işletmelere ya da tesislere getirilen balıklar arasında, cinsiyeti değiştirilmiş bireyler de olabilir. Bu tip sorunları önlemek için işletme yetkilileri kendi damızlık ve sperm muhafaza ünitelerini kurup kendi alabalık yumurtalarını kendileri almalıdır. Böylelikle işletme sahipleri ürettikleri alabalıkların cinsiyet kontrolünü kolaylıkla sağlayabilir. Ayrıca sperm muhafaza ile ilgili Türkiye'deki alabalık işletmelerindeki balıkların gen haritası çıkarılıp kaliteli erkek temini ile ilgili sorunun ne boyutlarda olduğu da ortaya çıkarılabilir. Böylece konuyla ilgili gerekli tedbirler alınarak yurt dışından işletmelere getirilen, kaliteli olmayan bireylere karşı önlem alınması ve bu konuda çalışmalar yapılması kolaylaşacaktır. Üreme döneminin ortasının yakalanamaması da sperm kalitesinin düşük çıkmasının sebeplerinden biri olabilir. Rurangwa ve ark. (2004), üreme döneminin balık türlerine göre sperm kalitesi açısından önemli olduğunu ve bunun da sperm muhafaza başarısını etkilediğini belirtmiş, örnek olarak verdikleri sazan balığının sperm üretimi ve kalitesinin üreme döneminin başında ve sonunda düşük düzeyde olduğunu bildirmiş ve sperm analizinin, balıklarda spermallerin optimal temin zamanının belirlenmesi açısından yol gösterici olacağını belirterek konunun önemine dikkat çekmişlerdir. Kopeika ve ark. (2007) da sperm muhafaza başarısının büyük ölçüde sperm kalitesine bağlı olduğunu ve yüksek kalitede sperm, damızlık bireylerden, üreme döneminin ortasında alınabileceğini bildirmişlerdir. Yapılan çalışma, 2006 yılının Ekim ayında (alabalık üreme döneminin öncesinde) gerçekleştiği için toplanan spermallerden beklenen verim alınmadığı ve spermallerin bu sebepten dolayı da kalitesinin düşük kalmış olabileceği ifade edilebilir. Damızlık balıkların beslenme kalitesi de, sperm ve üreme veriminde çok etkilidir (Rurangwa ve ark., 2004). Uygulamadaki örneklerin iyi ve etkili bir şekilde

beslenememiş olma olasılığı da sperm kalitesinin iyi olmama sebeplerinden biri olabilir. Ancak çalışmanın yapıldığı alabalık çiftliğinde, yem protokolü konusunda uygulanan gizlilik politikasından ötürü bu konuda kesin bir yargıya varmak güçleşmiştir. Ayrıca yetiştiricilik yapılan su sıcaklığı, hijyeni, yem kalitesi, stres, hastalıklar ve yaş gibi etkenler de sperm kalitesini etkileyen diğer faktörler olarak bildirilmiştir (Rurangwa ve ark., 2004). Bu faktörler de çalışmadaki spermallerin kalitelerinin istenen yüksek seviyelerde görülememesinin diğer etkenleri olabilir. Bunlar yanında Babiak ve ark. (1996), gerçekleştirdikleri denemelerde sperm tüpleri içine oksijen takviyesi yapmıştır ama yapılan araştırmada bu takviye yapılmadan gerçekleştirilen muhafaza sebebiyle de spermallerin motilitesi minimum düzeyde olabilir. Ancak bu ihtimal, biraz zayıf bir ihtimal olarak değerlendirilebilir. Çünkü Engin (2007)'in yapmış olduğu çipura (*Sparus aurata* Linnaeus, 1758) spermallerinin korunumu ile ilgili araştırmada, buz üzerinde, ağzı kapalı tüpler içerisinde ve oksijen takviyesi yapılmadan muhafaza edilen spermallerde motilite gözlemlenmiştir. Bir başka çalışmada, Cabrita ve ark. (1998), sperm muhafaza ile ilgili yaptıkları çalışmada gökkuşağı alabalığı sperm konsantrasyonunu $48-114 \times 10^9$ spz.ml⁻¹ olarak bildirirlerken, Glogowski ve ark. (2000), çalışmalarında bu oranı $6,03-10,01 \times 10^9$ spz.ml⁻¹ olarak, Babiak ve ark. (2002) ise araştırmalarında sperm konsantrasyonunu $11,70-17,25 \times 10^9$ spz.ml⁻¹ olarak belirtmişlerdir. Yapılan çalışmada ise sperm konsantrasyonu $0,27-4,57 \times 10^9$ spz.ml⁻¹ olarak tespit edilmiştir ve bu oranın diğer araştırmalardaki oranlara kıyasla oldukça düşük olduğu gözlemlenmiştir. Tüm bu sonuçlar incelendiğinde spermallerin muhafaza sonrasında kalitelerinin yüksek olmamasının en önemli sebepleri arasında, başta genetik problemler olmak üzere üreme zamanı problemleri ile alabalık işletmelerine ithal edilen yumurta ve yavruların kaliteli erkek birey barındırmamış olmasından kaynaklanan problemler gösterilebilir.

Açıklanan bilgiler kapsamında değerlendirme yapıldığında sperm kalitesinin yüksek düzeylerde olduğu dönemlerde ve sperm kalitesi iyi olan bireylerde sperm muhafaza tekniklerinin kullanılmasıyla; her iki cinsiyete ait gamet uygunluğunun senkronizasyonu ile ilgili sıkıntılar ortadan kaldırılması, spermanın tamamının kullanılmasına olanak sağlanması, mevsim dışı yumurtlatma yöntemlerinde anaç kullanımının dışı anaçlarla sınırlandırılarak anaç sayısının azaltılması, gamet transferine olanak sağlanması, spermanın yaşlanmasının önlenmesi, deneysel çalışmalarda sürekliliğin sağlanması ve evcilleştirilmiş popülasyonlarda genetik çeşitliliğin korunması gibi yararlar sağlanabilecektir (Suquet ve ark., 2000).

Sonuç olarak; gökkuşağı alabalıkları ile gerçekleştirilecek sperm muhafaza çalışmalarında sperm kalitesi açısından arzu edilen verimli seviyelere ulaşılabilmesi için üreme dönemi ve genetik faktörlere dikkat edilmesi gerektiği ve kaliteli sperm verebilecek nitelikteki damızlık balıkların seleksiyonunun, sperm muhafaza çalışmalarındaki başarıyı arttıracak önemli faktörler olarak öne çıktığı belirlenmiştir. Bu kapsamda Türkiye'deki alabalık işletmelerindeki balıkların gen haritasının çıkarılması ve bu konuda oluşacak bilinçlenme ile üreticilerin kaliteli erkek ve dişilerden oluşan kendi anaç stoğu ve sperm muhafaza birimlerini oluşturmaları, işletmelerin yararına olacak ve bu süreç sonrasında

gökkuşuğu alabalığı yetiştiricilik işletmelerinde gerçekleştirilecek olan öncelikle kısa süreli ve sonraki süreçte uzun süreli sperm muhafaza çalışmaları ile ihtiyaç duyulan dönemlerde, çok sayıda erkek damızlık bireye gerek duyulmadan rahatlıkla gökkuşuğu alabalığı spermi temini gerçekleştirilecektir.

Teşekkür

Bu çalışmadaki uygulamaların gerçekleştirilmesindeki katkılarından dolayı Prof. Dr. Mehmet Ali Canyurt ve Prof. Dr. Şahin Saka'ya ve arazi çalışmalarında ürün temini ve araştırma konusunda gerekli desteği sağlayan tüm işletme yetkilileri ve çalışanlarına teşekkür ederim.

Kaynaklar

Akhan S, Canyurt MA. 2005. Üç farklı kuluçkahanedeki damızlık gökkuşuğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1972) stokları arasında genetik çeşitliliğin RAPD-PCR yöntemiyle belirlenmesi üzerine bir araştırma. Ege J Fish Aqua Sci, 22: 25-30.

Alpbaz A. 1995. Pratik alabalık yetiştiriciliği. III. Baskı, İzmir: Ege Üniversitesi.

Babiak I, Glogowski J, Kozłowski J, Chybowski L, Ulikowski D. 1996. Short-term preservation of European catfish (*Silurus glanis* L.) milt. Arch Pol Fish, 4: 85-90. [15.11.2017].

Babiak I, Glogowski J, Dobosz S, Kuzminki H, Goryczko K. 2002. Semen from rainbow trout produced using cryopreserved spermatozoa is more suitable for cryopreservation. J. Fish Biol., 60: 561-570. DOI: 10.1111/j.1095-8649.2002.tb01684.x.

Balık S. 1978. A study on preservation of sperm of rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richardson). Ege Jfs, 2: 131-142.

Barbato F, Canese S, Laconi F, Misiti S, Moretti F, Rana K. 1998. Preliminary experiences for cryopreservation of *Sparus aurata* and *Diplodus puntazzo* semen. [21.11.2017].

Basavaraja N, Hegde SN. 2005. Some characteristics and short-term preservation of spermatozoa of Deccan mahseer, *Tor khudree* (Sykes). Aquac Res., 36: 422-430. DOI: 10.1111/j.1365-2109.2004.01194.x.

Büyükhatipoğlu S, Holtz W. 1978. Preservation of trout sperm in liquid or frozen state. Aquaculture, 14: 49-56. DOI: 10.1016/0044-8486(78)90139-4.

Cabrita E, Alvarez R, Anel L, Rana K, Herraez M. 1998. Sublethal damage during cryopreservation of rainbow trout sperm. Cryobiology, 37: 245-253. DOI: 10.1006/cryo.1998.2121.

Cabrita E, Robles V, Alvarez R, Herraez MP. 2001. Cryopreservation of rainbow trout sperm in large volume straws: application to large scale fertilization. Aquaculture, 201: 301-314. DOI: 10.1016/S0044-8486(01)00636-6.

Canyurt MA, Akhan S. 2003. Gökkuşuğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) spermlerinin kısa süre saklanması amfisiilin kullanımının etkisi üzerine bir araştırma. XII. Ulusal Su Ürünleri Sempozyumu. Elazığ, Türkiye, 2-5 Eylül 2003, ss: 68-72.

Canyurt MA, Akhan S, Takma Ç. 2003. Gökkuşuğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) spermlerinin kısa süre saklanması üzerine bir araştırma. Ege J Fish Aqua Sci., 20: 537-542. DOI: 10.12714/egejfas.2003.20.3.5000157110.

Christen R, Gatti J, 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. DOI: 10.1111/j.1432-1033.1987.tb13565.x.

Engin S. 2007. Çipura (*Sparus aurata*, Linnaeus, 1758) spermlerinin kısa süreli korunumu ve yoğunluk, hacim, hız, konsantrasyon-ebeveyn ilişkilerinin araştırılması. Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 83 s. [25.04.2017].

Fabbrocini A, Lavadera SL, Rispoli S, Sansone G. 2000. Cryopreservation of seabream (*Sparus aurata*) spermatozoa. Cryobiology, 40: 46-53. DOI: 10.1006/cryo.1999.2220.

Gall G, Crandell P. 1992. The rainbow trout. Aquaculture, 100: 1-10. DOI: 10.1016/0044-8486(92)90333-g.

Glogowski J, Kwasnik M, Piros B, Dabrowski K, Goryczko K, Dobosz S, Kuzminki H, Cierieszko A. 2000. Characterization of rainbow trout milt collected with a catheter: semen parameters and cryopreservation success. Aquac Res., 31: 289-296. DOI: 10.1046/j.1365-2109.2000.00400.x.

Hayes MC, Rubin SP, Hensleigh JE, Reisenbichler RR, Wetzel LA. 2005. Performance of juvenile steelhead trout (*Oncorhynchus mykiss*) produced from untreated and cryopreserved milt. Aquaculture, 249: 291-302. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2005.04.035.

Kopeika E, Kopeika J, Zhang T. 2007. Cryopreservation of fish sperm. In: Day JG, Stacey GN (Eds.). Cryopreservation and Freeze-Drying Protocols. (Second Edition). Humana Press. pp: 203-217. ISBN: 978-1-59745-362-2. DOI: 10.1007/978-1-59745-362-2_14.

Lahnsteiner F. 2000. Semen cryopreservation in the Salmonidae and in the Northern pike. Aquac Res., 31: 245-258. DOI: 10.1046/j.1365-2109.2000.00452.x.

Lahnsteiner F, Berger B, Weismann T, Patzner R. 1998. Determination of semen quality of the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, by sperm motility, seminal plasma parameters, and spermatozoal metabolism. Aquaculture, 163: 163-181. DOI: 10.1016/S0044-8486(98)00243-9.

Linhart O, Rodina M, Flajshans M, Gela D, Kocour M. 2005. Cryopreservation of European catfish *Silurus glanis* sperm: Sperm motility, viability, and hatching success of embryos. Cryobiology, 51: 250-261. DOI: 10.1016/j.cryobiol.2005.07.005.

Robles V, Cabrita E, Cuñado S, Herraez MP. 2003. Sperm cryopreservation of sex-reversed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): parameters that affect its ability for freezing. Aquaculture, 224: 203-212. DOI: 10.1016/S0044-8486(03)00221-7.

Ravinder K, Nasaruddin K, Majumdar KC, Shivaji S. 1997. Computerized analysis of motility, motility patterns and motility parameters of spermatozoa of carp following short-term storage of semen. J. Fish Biol., 50: 1309-1328. DOI: 10.1111/j.1095-8649.1997.tb01655.x.

Rurangwa E, Kime DE, Ollevier F, Nash JP. 2004. The measurement of sperm motility and factors affecting sperm quality in cultured fish. Aquaculture, 234: 1-28. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2003.12.006.

Sansone G, Fabbrocini A, Ieropoli S, Langellotti A, Occidente M, Matassino D. 2002. Effects of extender composition, cooling rate, and freezing on the motility of sea bass (*Dicentrarchus labrax*, L.) spermatozoa after thawing. Cryobiology, 44: 229-239. DOI: 10.1016/S0011-2240(02)00026-3.

Suquet M, Dreanno C, Fauvel C, Cosson J, Billard R. 2000. Cryopreservation of sperm in marine fish. Aquac Res., 31: 231-243. DOI: 10.1046/j.1365-2109.2000.00445.x.

Sümbüloğlu K, Sümbüloğlu V. 2000. Biyoistatistik. 9. Baskı, Ankara: Hatiboğlu Yayınları. ISBN: 975-7527-12-2.

TÜİK. 2017. Su ürünleri istatistikleri. Türkiye İstatistik Kurumu. http://www.tuik.gov.tr/PreTablo.do?alt_id=1005 [19.01.2019].