



**T.C.
RECEP TAYYİP ERDOĞAN ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
SU ÜRÜNLERİ ANABİLİM DALI**

**DÖLLENMEMİŞ GÖKKUŞAĞI ALABALIĞI
(*Oncorhynchus mykiss*) YUMURTALARININ YAPAY
MUHAFAZA ORTAMLARI İÇERİSİNDE KISA SÜRELİ
MUHAFAZASI**

(Yüksek Lisans Tezi)

Murat KARAASLAN

**Danışman
Prof. Dr. İlker Zeki KURTOĞLU**

**RİZE
2024**

KABUL VE ONAY

Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Su Ürünleri Anabilim Dalında, Prof. Dr. İlker Zeki KURTOĞLU danışmanlığında, Murat KARAASLAN tarafından hazırlanan “*Döllenmemiş Gökkuşığı Alabalığı (Oncorhynchus mykiss) Yumurtalarının Yapay Muhafaza Ortamları İçerisinde Kısa Süreli Muhafazası*” adlı bu tez çalışması 28/08/2024 tarihinde yapılan savunma sınavı sonucunda oy birliği / ~~oy çokluğuyla~~ başarılı bulunarak jürimiz tarafından **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri	Ünvanı, Adı SOYADI	İmza
Başkan	: Prof. Dr. İlker Zeki KURTOĞLU	
Üye	: Prof. Dr. Şevki KAYIŞ	
Üye	: Dr. Öğretim Üyesi Rafet Çağrı ÖZTÜRK	

ETİK BEYAN

Su Ürünleri Anabilim Dalı Tezli Yüksek Lisans Programından mezun olmak üzere teslim ettiğim “Dölllenmemiş Gökkuşığı Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) Yumurtalarının Yapay Muhafaza Ortamları İçerisinde Kısa Süreli Muhafazası” adlı tezim, bilim ve araştırma etiği prensiplerine riayet edilerek tarafımdan yazılmıştır.

Tez çalışmamda, başka kaynaklardan aktarılan bütün bilgi ve alıntılar, Enstitünüz Tez Yazım Kılavuzuna uygun olarak açıkça gösterilmiştir. Kaynağı gösterilenler dışında kalan bütün bilgiler uygun araştırma yöntemi kullanılarak tarafımdan edinilmiş ve esere bu şekilde yansıtılmıştır. Şahsıma ait olmayan hiçbir bilgi, kasıt veya kusurlar, şahsıma aitmiş gibi gösterilmemiştir. İnternet kaynakları dâhil, sahibine/kaynağına atıf yapılmaksızın hiçbir bilgi kullanılmamıştır. Aksinin ortaya çıkması halinde doğacak bütün hukuki, idari, akademik ve etik sorumluluk tarafıma ait olacaktır. Eserin tesliminden sonra herhangi bir zamanda, bilim etiğine aykırılık tespit edilmesi ve / veya eserimle ilgili intihal veya intihal şeklinde anlaşılacak bir durumun ortaya çıkması halinde; Üniversiteniz ve eğitim kadronuzun hiçbir şekilde sorumlu tutulmayacağını hür irademle kabul, beyan ve taahhüt ederim.

28/08/2024

Murat KARAASLAN

ÖN SÖZ

Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Su Ürünleri Anabilim Dalında Yüksek Lisans Tezi olarak hazırlanan bu çalışmada; Dölllenmemiş Gökkuşığı Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) Yumurtalarının Yapay Muhafaza Ortamları İçerisinde Kısa Süreli Muhafazası araştırılmıştır.

Bu tezin hazırlanmasında yardımcı ve desteğini esirgemeyen, değerli bilgi ve deneyimlerinden faydalanmamı sağlayan danışman hocam sayın Prof. Dr. İlker Zeki KURTOĞLU ve Prof. Dr. Temel ŞAHİN'e teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca tezimde değerli katkılarda bulunan mesai arkadaşlarım Su Ürünleri Yüksek Mühendisleri Kamil AY ile Tuğba KULA'ya ve Su Ürünleri Mühendisi Mehmet Nuri BOZYEL'e teşekkür ederim.

Eğitim hayatım boyunca maddi ve manevi yardımlarını esirgemeyen Babam Ali KARAASLAN'a, Annem Zekiye KARAASLAN'a ve Kardeşim Biyolog Beyzanur KARAASLAN'a sonsuz teşekkürü bir borç bilirim.

Bu tezin yazım aşamasında beni sabırla bekleyen kızım Emine Deren KARAASLAN'a ve Eşim Zehra Ayça KARAASLAN'a şükranlarımı sunarım.

Murat KARAASLAN

RİZE / 2024

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	I
ETİK BEYAN.....	II
ÖN SÖZ	III
İÇİNDEKİLER	IV
ÖZET	VI
ABSTRACT.....	VII
KISALTMALAR	VIII
TABLolar LİSTESİ	IX
ŞEKİLLER LİSTESİ	X
GİRİŞ	1
1. GENEL BİLGİLER	3
1.2. Gökkuşuğı Alabaluğının Genel Özellikleri.....	3
1.2.1. Türün Üretimi	3
1.2.2. Damızlık Balıkların Sağıma Hazırlanması	3
1.2.3. Sağım ve Dölleme.....	4
1.2.3.1. Dişi Balıklarda Ovaryumlar.....	5
1.2.3.2. Oogenezis	5
1.2.4. Alabalık Yumurtası ve Yapısal Özellikleri.....	6
1.2.5. Gamet Muhafazası	7
1.3. Literatür Özetleri	8
1.4. Çalışmanın Amacı.....	9
2.YAPILAN ÇALIŞMALAR.....	10
2.1. Materyal	10
2.1.1. Deneme yeri	10
2.1.2. Araştırma Materyali	11
2.1.3. Yumurtaların Muhafaza Edildiğı Soğutucu	11
2.1.4. Kuluçka Ortamı.....	12
2.1.5. Araştırmada Kullanılan Araç ve Gereçler.....	12
2.2. Metot	13
2.2.1. Denemede Kullanılan Damızlık Balıklar.....	133

2.2.2. Boy ve Ağırlık Ölçümü.....	13
2.2.3. Yumurtanın Alınması.....	14
2.2.4. Yumurta Miktarı	144
2.2.5. Ovaryum Sıvısının Uzaklaştırılması	15
2.2.6. Yapay Muhafaza Ortamı.....	15
2.2.7. Muhafaza Ortamlarının Hazırlanması ve Deneme Gruplarının Oluşturulması	16
2.2.8. Dölleme.....	16
2.2.9. Yumurta Ağırlığı ve Çaplarının Ölçülmesi.....	16
2.2.10. Yumurtaların İnkübasyonu	17
2.2.11. Döllenme, Gözlenme ve Çıkış Oranlarının Belirlenmesi	17
2.3. İstatistiki Analiz	18
3. BULGULAR.....	19
3.1. Su Kalitesi	19
3.2. Ovaryum Sıvısının Analizi Sonuçları	19
3.3. Gruplarda Yaşama Oranları Gelişimi.....	20
3.3.1. Kontrol Grubu Döllenme, Gözlenme Ve Çıkış Oranları Yaşama Oranı	200
3.3.2. YM-1 Yapay Muhafaza Ortamında 4, 24 ve 48 Saatlik Muhafaza Sonrası Döllenme, Gözlenme ve Çıkış Oranları.....	200
3.3.3. YM-2 Yapay Muhafaza Ortamında 4, 24 ve 48 saatlik Muhafaza Sonrası Döllenme, Gözlenme ve Çıkış Oranları.....	21
3.3.4. YM-3 Yapay Muhafaza Ortamında 4, 24 ve 48 saatlik Muhafaza Sonrası Döllenme, Gözlenme ve Çıkış Oranları.....	222
4. TARTIŞMA VE SONUÇ	23
5. ÖNERİLER.....	27
KAYNAKÇA.....	27

Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Anabilim Dalı : Su Ürünleri

Tez Türü : Yüksek Lisans Tezi

Danışman : Prof. Dr. İlker Zeki KURTOĞLU

Hazırlayan : Murat KARAASLAN

Yıl : 2024

Sayfa Sayısı : 30

ÖZET

DÖLLENMEMİŞ GÖKKUŞAĞI ALABALIĞI (*Oncorhynchus mykiss*) YUMURTALARININ YAPAY MUHAFAZA ORTAMLARI İÇERİSİNDE KISA SÜRELİ MUHAFAZASI

Bu çalışmada Türkiye akuakültürünün baskın türü olan gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) ile yürütülmüştür. Henüz sağılan döllenmemiş ham yumurtaların dölleninceye kadar soğutucuda (+4°C) muhafazasının kuluçkahane performansına etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır. Bu amaçla analiz edilen ovaryum sıvısı yoğunluğuna özdeş 3 farklı yapay muhafaza solüsyonu (YM) tasarlanmıştır. YM solüsyonlarında elektrolit dengesinin sağlanabilmesi amacıyla KCl, NaCl, CaCl₂, MgCl₂ ve NaHCO₃ farklı oranlarda kullanılmıştır.

Denemelerde, stoktan rastgele örneklenen 4 yaşlı balıklardan 51,2±0,812 cm boyunda ve 1945,2±178,969 gr ağırlığında 5 adet dişi balıklar kullanılmıştır. Balıklardan alınan yumurta çapları 5,03-5,13 arasında değişim göstermiştir (5,1±0,05).

Yumurta gruplarından eşit miktarda alınan yumurtalarla hazırlanan yumurta havuzundan, grup başına 150'şer yumurta olacak şekilde, üç Kontrol (K) grubu, 3 adet 1 nolu Yapay Muhafaza (YM1) grubu, 3 adet YM2 ve 3 adet YM3 grubu oluşturulmuştur. Gruplar +4°C sıcaklıkta soğutucuda üç farklı sürede muhafaza edilmiştir.

Kontrol grubunda ve YM gruplarında dölleme işlemi 38,9±4,510 cm boyunda, 798,4±305,107 gr erkek balıklardan alınan sperm sıvısından eşit miktarda karıştırılan sperm havuzu ile dölleme gerçekleştirilmiştir.

Çalışma sonunda grup içinde ve gruplar arasında farklılıklar irdelenerek, yaşama oranların uygulanabilirlikleri irdelenmiştir. Tüm grupların içinde açılmaya kadar en iyi kuluçkahane performansı %88,4 ile K grubunda gerçekleşmiştir. Bir günlük muhafaza sonrasında %55,8±6,34 yaşama oranıyla en iyi başarıyı gösteren grup YM1 grubu olmuştur. Bu sonuçlar, zorunlu hallerde YM1 solüsyonu ile soğutucu ortamda 24 saat tutulabileceğini göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: *Oncorhynchus mykiss*, Kısa süreli muhafaza, Yapay muhafaza ortamı

Recep Tayyip Erdoğan University Institute of Graduate Studies

Department : Department of Fisheries

Thesis Type : Master's Thesis

Supervisor : Prof. Dr. İlker Zeki KURTOĞLU

Author : Murat KARAASLAN

Year : 2024

Pages : 30

ABSTRACT

SHORT TERM STORAGE OF UNFERTILIZED RAINBOW TROUT (*Oncorhynchus mykiss*) EGGS IN ARTIFICIAL CONTAINMENT ENVIRONMENT

This study was conducted with rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), the dominant species in Turkish aquaculture. The aim was to investigate the effects of storing freshly stripped unfertilized raw eggs in a refrigerator (+4°C) until fertilization on hatchery performance. For this purpose, 3 different artificial preservation solutions (YM) identical to the analyzed ovarian fluid density were designed. KCl, NaCl, CaCl₂, MgCl₂ and NaHCO₃ were used at different rates in YM solutions to ensure electrolyte balance.

5 female fish, 51.2±0.812 cm long and 1945.2±178.969 g in weight, were used from 4-year-old fish randomly sampled from the stock. Egg diameters taken from the fish varied between 5.03-5.13 (5.1±0.05).

Three Control (K) groups, 3 Artificial Storage (YM1) groups, 3 YM2 and 3 YM3 groups were formed from the egg pool prepared with equal amounts of eggs taken from the egg groups, with 150 eggs per group. The groups were stored in a refrigerator at +4°C for three different periods.

In the control group and YM groups, fertilization was performed with sperm pools mixed with equal amounts of sperm fluid taken from male fish of 38.9±4.510 cm length and 798.4±305.107 g.

At the end of the study, differences within and between groups were examined and the applicability of survival rates were examined. The best hatchery performance up to hatching among all groups was in the K group with 88.4%. The YM1 group showed the best success with a survival rate of 55,8±6.34% after one day of storage. These results showed that in cases of necessity, they can be kept in a refrigerator for 24 hours with YM1 solution.

Keywords: *Oncorhynchus mykiss*, Short term storage, Artificial containment

KISALTMALAR

%	:	Yüzde
°C	:	Derece Santigrat
‰	:	Binde
ANOVA	:	Analysis of Variance
Ca	:	Kalsiyum
CaCl ₂	:	Kalsiyum Klorür
Cl	:	Klor
K	:	Potasyum
KCl	:	Potasyum Klorür
L	:	Litre
mg/L	:	Miligram Litre
MgCl ₂	:	Magnezyum Klorür
Na ⁺	:	Sodyum
NaCl	:	Sodyum Klorür
NaHCO ₃	:	Sodyum Bikarbonat
TÜİK	:	Türkiye İstatistik Kurumu
YM	:	Yapay Muhafaza
YMO	:	Yapay Muhafaza Ortamı

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 1. Türkiye su ürünleri üretiminin 2014-2024 yılları gerçekleşmesi (ton/yıl) (TÜİK, 2023)	2
Tablo 2. Türkiye akuakültür üretiminde gökkuşaklı alabalığı yetiştiriciliğini gerçekleştirmesi (ton/yıl) (TÜİK, 2023)	2
Tablo 3. 24 ve 48 süreyle 12-13 °C’de Cortland solüsyonu içinde muhafaza edilen yumurtalara ait gözlenme ve açılma oranları	9
Tablo 4. Yumurtaların kısa süreli muhafazası için hazırlanan yapay muhafaza ortamlarının bileşimleri (g/l).....	15
Tablo 5. Ovaryum sıvısı analiz sonuçları	19
Tablo 6. Gruplar arasında döllenme, gözlenme ve açılma evrelerinde hesaplanan yaşama oranları.....	24

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. Alabalık yumurtasının şematik görüntüsü (Güleç, 2012)	7
Şekil 2. Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi İyidere Araştırma ve Uygulama Araştırma Merkezi	10
Şekil 3. Deneme gruplarının +4°C ‘deki görüntüleri	11
Şekil 4. Döllenen yumurtaların kuluçkasının sağlandığı modifiye Zuger şişeleri	12
Şekil 5. Yumurta çaplarının belirlenmesinde kullanılan Von-Bayer teknesi (Piper, 1983)	12
Şekil 6. Düzenli sistem suyu sıcaklığının ölçülmesinde kullanılan muhafazaya alınmış cıvalı termometre.	13
Şekil 7. Balık tartımlarında kullanılan ± 1 gr hassasiyetli DESIS T28 marka terazi.	14
Şekil 8. Yumurta tarımında kullanılan $\pm 0,01$ gr hassasiyetli PRECISA XB 3200C marka terazi.	15
Şekil 9. Su sıcaklığı değişim grafiği.	19
Şekil 10. Kontrol grubunun döllenme, gözlenme ve çıkış Oranları.	21
Şekil 11. YM-1 yapay muhafaza ortamında 4, 24 ve 48 saatlik muhafaza sonrası döllenme, gözlenme ve çıkış oranları	21
Şekil 12. YM-2 yapay muhafaza ortamında 4, 24 ve 48 saatlik muhafaza sonrası döllenme, gözlenme ve çıkış oranları	21
Şekil 13. YM-3 yapay muhafaza ortamında 4, 24 ve 48 saatlik muhafaza sonrası döllenme, gözlenme ve çıkış Oranları.	22

GİRİŞ

İnsanoğlunun en eski besin kaynaklarından biri olan su ürünleri insan beslenmesindeki en önemli protein kaynaklarından biridir (Şahin, 2003).

Akuakültür veya su ürünleri yetiştiriciliği, balıklar, çift kabuklu yumuşakçalar, algler ve eklembacaklılar gibi su canlılarını en azından hayatlarının belirli bir evresinde ıslah, muhafaza, besleme, büyütme ve stoklama amacıyla kontrollü şartlar altında yetiştirilmesi olarak ifade edilmektedir (Akbulut, 2004).

Hızla artan dünya nüfusuna paralel olarak artan hayvansal protein ihtiyacı ve avcılık yoluyla elde edilen su ürünleri miktarının azaldığı veya bir başka deyişle teknoloji ne kadar gelişirse gelişsin artmayacağı göz önünde bulundurulduğunda su ürünleri yetiştiriciliğinin öneminin her geçen gün arttığı görülmektedir. Sindirilebilirlik, protein değeri, enerji miktarı, mineral maddeler ve vitamin değerleri bakımından son derece üstün olan su ürünleri, hayvansal protein açığının giderilmesi ve sağlıklı beslenme yönünden oldukça önemli bir kaynaktır (Çakmak ve Çolak 2004).

TÜİK 2023 yılı verilerine göre, Türkiye avcılık yoluyla elde edilen su ürünleri üretim miktarı 454.059 ton/yıl, yetiştiricilik yoluyla elde edilen su ürünleri miktarı 556.287 ton/yıl olmak üzere toplam su ürünleri üretimi 1.010.346 ton/yıl olarak gerçekleşmiştir. Yetiştiricilik yoluyla elde edilen su ürünleri miktarının avcılık yoluyla elde edilen su ürünleri üretimini geçmiş olması, su ürünleri yetiştiriciliğine verilen önemi ortaya koymaktadır. İlerleyen yıllarda artışın devam edeceği öngörülmektedir (Akbulut ve ark., 2009). Türkiye avcılık ve yetiştiricilik yoluyla elde edilen toplam su ürünleri miktarları artışı, 2014-2023 yılları arasındaki son on yıllık dönem için Tablo 1’de verilmiştir.

Tablo 1. Türkiye su ürünleri üretiminin 2014-2023 yılları gerçekleşmesi (ton/yıl)
(TUİK, 2023)

Yıllar	Avcılık	Yetiştiricilik	Toplam
2014	302.212	235.133	537.345
2015	431.907	240.334	672.241
2016	335.320	253.395	588.715
2017	354.318	276.502	630.820
2018	314.094	314.537	628.631
2019	463.168	373.356	836.524
2020	364.400	421.411	785.811
2021	328.158	471.686	799.844
2022	335.003	514.805	849.808
2023	454.059	556.287	1.010.346

Ülkemizde yetiştirilen su ürünlerinin 218621 ton/yıllık kısmını iç su ve denizlerimizde yetiştirilen gökkuşaağı alabalığı oluşturmaktadır. Tablo 2’ de deniz ve iç sularımızda yetiştiriciliği yapılan gökkuşaağı alabalığının son on yıl içerisindeki toplam üretimimizdeki payı gösterilmiştir (TUİK, 2023)

Tablo 2. Türkiye akuakültür üretiminde gökkuşaağı alabalığı yetiştiriciliğini
gerçekleşmesi (ton/yıl) (TUİK, 2023)

Tür	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020	2021	2022	2023
Gökkuşaağı Alabalığı	107.533	100.411	99.712	101.761	103.192	113.678	126.101	134.174	144.347	154.991
Gökkuşaağı Alabalığı (Deniz)	4.812	6.187	4.643	4.972	9.235	9.411	18.182	31.509	45.454	66.055
Toplam	112.345	106.598	104.355	106.733	112.427	123.089	144.283	165.683	189.801	218.621

1. GENEL BİLGİLER

1.2. Gökkuşığı Alabalığının Genel Özellikleri

Gökkuşığı alabalığının üyesi olduğu Salmonidae familyası Salmoniformes takımındaki tek familya olup üç alt familyaya sahiptir. Bu alt familyalar 11 türden oluşan Thymallinae, 82 türden oluşan Coregoninae ve 109 türden oluşan Salmonidae'dir (Doğan, 2023);

Alem	: Vertebrata
Altalem	: Pisces
Sınıf	: Osteichthyes
Takım	: Salmoniformes
Aile	: Salmonidae
Cins	: <i>Oncorhynchus</i>
Tür	: <i>Oncorhynchus mykiss</i> (Walbaum,1972)

1.2.1. Türün Üretimi

Dişi alabalıkların genellikle 3 yılda cinsel olgunluğa eriştikleri bilinmesine rağmen erkek balıklarda ilk yılın sonunda dişi balıklarda ikinci yılda cinsel olgunluğa erişen bireylere rastlanılmaktadır. Ancak yemden kazanılan enerjinin önemli bir bölümü üreme enerjisine harcandığından dolayı, erken cinsi olgunluğa ulaşılması işletme ekonomisini olumsuz etkilemektedir. Damızlık balık seçiminde diğer özelliklerinin yanında, endüstriyel yetiştiricilikte yemden efektif yararlanma ve iyi gelişim performansının elde edilebilmesi için, erkek balıklarda 2, dişi balıklarda 3 yaşında cinsel olgunluğa ulaşan balıklar tercih edilmektedir (Çelikkale, 1988; Emre ve Kürüm, 1990).

1.2.2. Damızlık Balıkların Sağıma Hazırlanması

Gökkuşığı alabalığı, Türkiye şartlarında herhangi bir seleksiyon ve ayıklama çalışması yürütülmemiş ise, sonbaharın sonundan ilkbaharın başlangıcına kadar olan kış döneminde üreyen balıklardır. Üreme sezonu başında balıklar elden geçirilerek dişi ve erkek balıkların ayrı havuzlara alınması tavsiye edilir. Erkek balıklardan üreme sezonu boyunca 15 gün aralıklarla sperm sıvısı almak mümkün olsa da dişi balıklardan tek seferde yumurta alınmaktadır. Anaç balıkların cinsel olgunlukları beş evrede gerçekleşmektedir (Soetignya, 2017). Üçüncü evrenin sonuna vardığında gonad içinde

yumurtalar ovule olmakta ve dördüncü olgunluk seviyesinde tüm gonad içindeki yumurtaların büyük bir kısmı sağılarak anaç balıktan alınabilmektedir.

Sezon boyunca 15 gün aralıklarla sağıma hazır olan balıklar ayrılırlar ve yemlemeden kesilirler. Sağım hijyeni ve anaç balık sağlığı açısından üç gün aç bırakılan anaç balıklar sağım işlemine alınırlar. Tercih edilen, olgun dişiler yumurtaların kuluçkalanacağı su kalitesindeki, bol oksijenli suya alınması ve burada sağım öncesi ve sonrasında muameleye tabi tutulmasıdır (Çelikkale, 1988; Emre ve Kürüm, 1990).

1.2.3. Sağım ve Dölleme

Gökkuşağı alabalıklarında olgun diş balıklar bir seferde sağılmakta ve rehabilitasyon havuzuna alınması tercih edilmektedir. Tatlı su balıklarının büyük çoğunluğunda olduğu gibi alabalıklarda da dış dölleme (ovipar) gerçekleşmektedir. Yumurta su ile temas ederse, anaç karnında patlak top misali büzüşmüş yumurta yapısı su alarak şişer ve mikrofil deliği kapanır. Artık bu aşamadan sonra dölleme işlemi gerçekleşmez. Bundan dolayı, anaç balığın sağımında balık sudan çıkarıldıktan sonra iyice kurularak sağım kabına su damlaması engellenir (Emre, 1998). Yumurtanın su ile temasından itibaren döllebilmek yeteneğini kaybetme süresi yalnızca birkaç dakika olmasına rağmen izotonik (%0.8'lik NaCl) solüsyon içinde birkaç saat tutularak döllebilmek yeteneğinin daha uzun süre korunabileceği bildirilmiştir (Coward 2002).

Döllemede spermatozoa, mikrofil deliği olarak bilinen açıklığa akron kısmından yapışır. Spermatozoa içindeki genetik materyal yumurta içerisine geçer ve dölleme işlemi gerçekleşir. Endüstriyel alabalık sağımında farklı uygulamalar gerçekleştirilmektedir;

Yaş Yöntem: Bu yöntemde erkek ve diş bireyler, doğada gerçekleşene özdeş olarak, içerisinde su bulunan bir kaba sağılırlar. Eş zamanlı olarak yapılan erkek ve diş balık sağımında sperm ve yumurtanın su içindeki dölleme ve dölleme süresinin kısıtlılığı başarı oranını oldukça düşürmektedir (Emre ve Kürüm, 1990).

Kuru Yöntem: Endüstriyel alabalık yetiştiriciliğinde en çok kullanılan bu yöntem yüksek dölleme oranı sağladığından dolayı tercih edilen yöntemdir. Bu yöntemde, iyice kurularak diş alabalıklar kuru ve boş bir kaba sağılır. Yumurtalarının üzerine birkaç erkekten sağılan sperm sıvısı dökülür ve karıştırılır. Dölleme için

birkaç dakika beklendikten sonra, damızlık balıkların bulundukları su sıcaklığında temiz kuluçkahane suyu ilave edilerek dölleme işlemi tamamlanır. Su alıp şişmelerinin ardından, döllemiş yumurta grupları temizlenerek inkübatörlere yerleştirilir (Çelikkale, 1988).

Bir başka kuru yöntemde ise dişi balıktan sağılan yumurtaların içinden ovaryum sıvısı bir tülbent veya süzgeç yardımıyla uzaklaştırıldıktan sonra erkek balıklardan alınan sperm sıvısı direk veya seyreltme solüsyonu ve/veya olgunlaştırma solüsyonu ile kullanılmaktadır. Bileşenleri sperm motilite oranını ve süresini artırdığı için giderek daha yaygın hale gelmektedir. Özellikle son dönemlerde fonksiyonel erkek kullanımını amaçlayan üretim protokollerinde olgunlaştırma ve seyreltme solüsyonları başarıyı oldukça artırdığı bildirilmektedir (İsa ve Arslan, 2021).

1.2.3.1. Dişi Balıklarda Ovaryumlar

Ovaryumlar, karın boşluğunun her iki yanında, çoğunlukla çift olarak bulunurlar. Ovaryumlar olgunlaşma seviyelerine göre kırmızıdan turuncuya ya da yeşilden sarıya kadar farklı renklerde ve granüllü bir yapıdadır. Olgunlaştıkları dönemlerde vücut ağırlığının %30-70 ine kadar ulaşarak karın boşluğunun büyük kısmını kaplarlar.

Kemikli balıklarda ovaryumlar genellikle çift ve kese şeklindedir. Bu şekildeki ovaryumlarda lümen ortadadır ve ovidukt lümenin devamı şeklindedir. Olgunlaşmış yumurtalar lümen üzerinden ovidukt kanalı ile atılır (Çevik, 2021).

1.2.3.2. Oogenezis

Dişi alabalıklarda yumurta gelişimini bazı çalışmalarda 5 (Soetignya ve ark., 2017), bazı çalışmalarda 7 evrede (Çevik 2021) incelemek mümkündür. Ovaryum gelişimini oluşturan 7 evre;

- I. Dönem: 8-12 mikron boyutundaki oogoniumlar mitoz bölünme yoluyla çoğaldığı ve nükleus hacminin artışının gözlemlendiği dönemdir.
- II. Dönem: folikülogenezisin başladığı II. Dönemde oositler 12-20 mikron boyutlarına ulaşırlar.
- III. Dönem: folikülogenezisin tamamlandığı ve oositlerin 40-200 mikron boyutlara ulaştığı gözlemlenir.

IV. Dönem: Yumurta sarısının üretimi ve depolanması manasına gelen vitellogenesis bu evrede başlayarak yumurta büyüklüğünü 200-350 mikron seviyelerine ulaştırır.

V. Bu dönem sitoplazmanın lipoid damlacıkları ile dolarak 350-500 mikrona ulaştığı vitellogenesisin ikinci aşamasıdır.

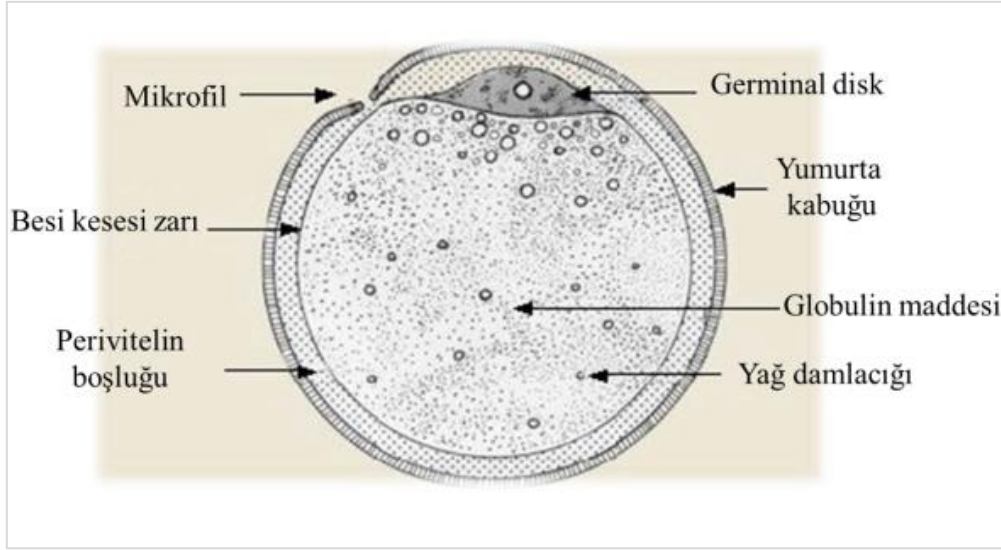
VI. Dönem: Vitellogenesisin üçüncü aşaması olan bu dönemde oosit çapı 600-900 mikrona kadar ulaşır ve lipoid damlacıkları hücre kenarlarına doğru itilir.

VII. Dönem: yumurta çapının 800-1000 mikrona ulaştığı, mikrofilin oluştuğu ve vitellogenesisin tamamlandığı evredir.

Bu dönemin son bulmasını takiben ovum değişiklik olmaksızın birkaç ay dinlenme fazında kalır. Uygun çevresel koşullar (Sıcaklık, ışık gibi) oluştuğunda ovulasyon ile sonuçlanan bu süreç aksi koşullarda ise yumurtaların adsorpsiyonu ve foliküler deformasyon ile noktalanır (Çevik 2021).

1.2.4. Alabalık Yumurtası ve Yapısal Özellikleri

Ovum, bir örtü, miktarı değişkenlik gösteren yumurta sarısı ve koryondan oluşmaktadır. Alabalık yumurtalarının özgül ağırlıklarının suyunkinden fazla olması nedeniyle batarlar. Bu yumurtalara demersal yumurta denilmektedir. Gökkuşığı alabalıklarında yumurta çapı balığın yaşına, büyüklüğüne ve beslenmesine bağlı olarak 3,5-5,5 mm arasında değişmektedir (Çelikkale, 1988). Alabalık yumurtası %27 protein, % 10 lipid ve % 7 oranında kül ihtiva etmektedir. Gökkuşığı alabalığı yumurtalarının in vitro yaşam süreleri 0 °C de 3 gün, buzdolabı koşullarında (+4°C) birkaç gün, 18 °C de 2-8 gün olarak ifade edilmektedir. Alabalık ve somon gibi balıklarda spermatozoanın bağlanarak genetik materyali yumurtaya aktardıkları mikrofil açıklığı konik bir huni yapısındadır. Mikrofil açıklığı etrafındaki koryon yüzeyine sıkı bir şekilde bağlı bir glikoproteine sahiptir (Yanagimachi ve ark., 2017). Su ile temas eden patlak top benzeri yumurta, dışarıdan yumurta içine su alarak şişer ve muntazam oval bir yapı alır. Bu aşamaya kadar döllenemeyen yumurta bu aşamadan sonra artık döllenemez. Bu süre alabalıklar su ile temas ettikten sonra 30-90 saniye kadar bir süre olarak bilinmektedir (Çelikkale, 1988).



Şekil 1. Alabalık yumurtasının şematik görüntüsü (Güleç, 2012).

1.2.5. Gamet Muhafazası

Su ürünleri yetiştiriciliğinde başarının arzu edilen zamanda, kalite ve miktarda yavrunun sağlanabilmesi ile sağlanacağı bilinmektedir. Balık yetiştiriciliğinde bu hedefe ulaşmak için damızlık balıklardan elde edilecek olan yumurta ve spermin istenilen kalitede olması gerekmektedir. Balık yetiştiriciliğinin temelini oluşturan yavru teminini sağlayabilmek maksadıyla doğal üretimin yanı sıra balıkların suni olarak üretilmesi metotları geliştirilmiştir. Yeterli sayı ve kalitede larva temin edilebilmek amacıyla kurulan modern kuluçkahanelerde yüksek kaliteli sperm ve yumurtalardan istenilen miktarlarda larva edilmeye başlanmıştır (Bromage, 1992; Çelikkale, 1988).

Ülkemizdeki birçok işletmede ekonomik yavru üretimi yapmanın önüne üretim döneminde dişi ve erkek bireyler arasında gamet üretiminde meydana gelen senkronizasyon bozuklukları geçmektedir. Son yıllara kadar beslenme, büyüme, hastalıklar gibi konularda yoğunlaşan kültür balıkçılığı çalışmalarına son yıllarda gamet kalitesi ile gametlerin kısa ve uzun süreli muhafaza edilmesi gibi çalışmalar eklenmiştir (Bozkurt, 2010).

Balık gametlerinin muhafazası çalışmaları daha çok spermanın dondurulması üzerinde yoğunlaşmıştır. Balık yumurtasının bazı yapısal özellikleri nedeniyle henüz dondurularak muhafazası gerçekleştirilememiştir. Bu nedenle yumurtaların kısa süreli muhafazasında donma noktasının üzerindeki sıcaklıklar denenmektedir.

Kuluçkahanelerde kısa süreli muhafaza yumurtaların kısa mesafelere transfer edilmesi ve kromozom manipölasyonlarına olanak sağlaması yönünden önemlidir. Öte yandan yumurtaların dışının vücut boşluğundan başlayarak zamanla döllenme kabiliyetini kaybettiği bilinmektedir. Yumurtaların gonadlardan salınımını takiben canlılık süresinin uzatılması ticari su ürünleri yetiştiriciliği hem de bu alandaki biyoteknolojik çalışmalar açısından kısa süreli muhafazanın önemini ortaya koymaktadır.

1.3. Literatür Özetleri

Salmonidlerde ovulasyondan sonra yumurtaların vücut boşluğunda sölom veya ovaryum sıvısı adı verilen bir sıvı içerisinde döllenebilme kabiliyetini kaybetmeden bir hafta kadar muhafaza edildiği bilinmektedir (Springate ve ark. 1984).

Withler ve Marley (1968) ve Jenesen ve Aldirdice (1984), döllenmemiş Salmonid yumurtalarının vücut dışında ovaryum sıvısı içerisinde muhafaza ortamının sıcaklığına bağlı olarak birkaç gün kalite kaybı olmaksızın muhafaza edilebildiği ortaya konmuştur.

Yapay muhafaza ortamlarında benzer sürelerde kısa süreli muhafaza denemelerinin daha az etkili olduğu kaydedilmiştir, ancak bu konunun kapsamlı olarak araştırılmadığı ortaya konmuştur (Takano et al., 1973).

İsa ve Arslan (2021), gökkuşağı alabalığında tüm dişi üretim verimliliğini artırmak amacıyla iki ardışık deney yürütmüşlerdir. İlk deneyde, testis sperminin invitro olgunlaşma başarısını, 30-150 dakika boyunca dört farklı yapay ortamda 4°C’de inkübe etmişlerdir. İkinci deneyde, modifiye Cortland besiyerine ekstra bir tampon ve bir antioksidanın dahil edilmesinin, hareketlilik ve dölleme kapasitesi açısından testis sperminin kalitesine etkisini irdelemişlerdir. Besiyerine hepes veya sığır serum albümini eklenmesinin etkisinin zayıf olduğunu, bununla birlikte ürik asitle desteklenmesinin inkübe edilen spermin ortalama hareketlilik oranını ve dölleme kapasitesini önemli ölçüde artırabileceğini tespit etmişlerdir.

Goetz ve Coffman (2000), çalışmalarında 12-13 °C’de 24-48 saat sürelerle Hepes ve Tris ile tamponlanarak oluşturulan yapay muhafaza ortamlarında saklanarak döllenme ve gözlenme oranları karşılaştırılarak önemli farklılıklar göstermeden muhafazanın gerçekleştiği ortaya konulmuştur.

Tablo 3. 24 ve 48 süreyle 12-13 °C’de Cortland solüsyonu içerisinde muhafaza edilen yumurtalara ait gözlenme ve açılma oranları

	Sağım sonrası dölleme		24 saat Cortland/Hepes sonrası dölleme		48 saat Cortland/Hepes sonrası dölleme	
	Gözlenme %	Açılma %	Gözlenme %	Açılma %	Gözlenme %	Açılma %
1	55.0	48.3	85.0	75.0	81.7	78.3
2	66.7	63.3	91.7	76.7	78.3	71.7
3	61.7	56.7	80.0	78.3		

Döllenmemiş balık yumurtalarının kısa süreli muhafazası çalışmalarının yumurtlama sonrası gamet ömrünü uzatma, kuluçkahane yönetiminin iyileştirilmesi, akrabalı yetiştirmeden kaynaklanan sorunların en aza indirilmesi, dişi gametlerin kısa mesafelere taşınabilmesine ve kromozom seti manipülasyonlarına olanak sağladığı bildirilmiştir (Bozkurt, 2019).

1.4. Çalışmanın Amacı

Literatürde yapılan çalışmalarda, daha çok çalışmaların uzun süreli muhafazada spermin sıvı azotta -176°C sıcaklıkta dondurulmasına odaklandığı görülmektedir. Ancak yumurta muhafazası konusunda elle tutulur bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Üretim yapan balık çiftliklerinde, sağım aktiviteleri önemli bir iş yükünü gerektirmektedir. Küçük işletmelerde genetik daralmayı önlemek amacıyla başka işletmeden ham yumurta nakli yapmak amacıyla birkaç günlük mesafeye nakil gereksinimi duyulmaktadır. Bazı durumlarda da iş gücünü daha efektif kullanma amacıyla sağılan yumurtaları toplu döllemek için günün sonuna kadar bekletilmesi düşüncesi söz konusu olmaktadır.

Bu tez çalışmasında, henüz sağılmış ancak döllenmemiş gökkuşağı alabalığı yumurtalarının ovaryum sıvısından uzaklaştırılmış ve ovaryum sıvısına benzer olarak hazırlanmış 3 farklı yapay muhafaza solüsyonu içerisinde soğutucuda (+4°C) 4 saat, 24 saat ve 48 saat sürelerde muhafazasının yumurta gruplarının kuluçkahane performansına yansımalarının araştırılması amaçlanmıştır.

2. YAPILAN ÇALIŞMALAR

2.1. Materyal

2.1.1. Deneme Yeri

Bu tez çalışması Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi İyidere Araştırma ve Uygulama Araştırma Merkezi'nde yürütülmüştür (Şekil 2). Merkez Üniversite kampüsüne kuş bakışı 10 km mesafededir. Merkezde normal ve albino gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*), Sibirya (*Acipenser baerii*) ve karaca (*Acipenser gueldenstaedtii*) mersin balıkları, Abant alabalığı (*Salmo abanticus*), Karadeniz alabalığı (*Salmo labrax*) türlerinin bakım, besleme, üretim ve araştırma çalışmaları rutin olarak yürütülmektedir.



Şekil 2. Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi İyidere Araştırma ve Uygulama Araştırma Merkezi.

Merkezde damızlık balıklar 3 m çapında ve 90 cm derinliğinde fiberglas havuzlarda muhafaza edilmektedir. Balık havuzlarında ihtiyaç duyulan su Merkeze yakın mesafede bulunan Sarayköy deresinden boru sistemi ile sağlanmaktadır. Merkez kampüste bulunan rezervde borularla getirilen su rezerve edildikten sonra sisteme yine boru sistemi ile kontrollü dağıtımı gerçekleştirilmektedir. Sistemde su kullanımı akışlı (tek sefer kullanılan suyun alıcı ortama geri bırakılması) düzeniyle gerçekleştirilmektedir.

2.1.2. Araştırma Materyali

Çalışmada daha önce gamet alınmış, 3-4 yaşında damızlık erkek ve dişi damızlık gökkuşağı alabalıkları kullanılmıştır. Merkezde gökkuşağı alabalığı sağımı kasım başında başlayıp, şubat sonuna kadar devam etmektedir. Dişi balıklardan 3 yaşında ilk gamet alınırken, erkek balıklar üretimde ilk defa 2 yaşında kullanılmaktadır. Damızlık balıklar 5 yaşına ulaştıklarında damızlıktan çıkarılarak genç bireyler damızlığa ilave edilmektedir.

2.1.3. Yumurtaların Muhafaza Edildiği Soğutucu

Balıklardan sağılan yumurtalar deneme protokolüne göre hazırlanan saklama kaplarıyla Merkezin İyidere birimindeki laboratuvarında bulunan Altus marka çift kapılı soğutucunun (Şekil. 3) soğutma ($4\pm1^{\circ}\text{C}$) bölmesinde muhafaza edilmiştir.



Şekil 3. Deneme gruplarının $+4^{\circ}\text{C}$ 'deki görüntüleri

2.1.4. Kuluçka Ortamı

Döllenlen yumurtalar Merkez kulukahanesinde bulunan deneme kuluçka sisteminde inkübe edilmiştir. Sistem, modifiye Zuger şişesi olarak tasarlanmıştır (Şekil 4). Sistem kaynak suyu ile çalışmaktadır. Sağımdan sonra kontrol grubu direkt kuluçka sistemine yerleştirilirken, deneme grupları sırasıyla 4, 24 ve 48 saat süresince soğutucuda muhafaza edilmiştir.



Şekil 4. Döllenlen yumurtaların kulukasının sağlandığı modifiye Zuger şişeleri

2.1.5. Araştırmada Kullanılan Araç ve Gereçler

Damızlık balıkların ağırlıkları ± 1 g hassasiyetli terazi ile yardımıyla boyları ise ± 1 mm hassasiyetli balık ölçüm cetveli yardımıyla ölçülmüştür.

Yumurta çaplarını ölçmek için ± 1 mm hassasiyetli Von-Bayer teknesi kullanılmıştır (Şekil 5). Yumurtalar Zuger şişelerinden esinlenerek yapılan kuluçka şişeleri kullanılmıştır (Şekil 4). Su sıcaklığı cıvalı termometre ile ölçülmüştür (Şekil 6).



Şekil 5. Yumurta çaplarının belirlenmesinde kullanılan Von-Bayer teknesi (Piper, 1983)



Şekil 6. Düzenli sistem suyu sıcaklığının ölçülmesinde kullanılan muhafazaya alınmış cıvalı termometre.

2.2. Metot

2.2.1. Denemede Kullanılan Damızlık Balıklar

Araştırmada 3 ve 4 yaşlarındaki damızlık balıklar kullanılmıştır. Damızlık balıkların uzuvlarının tam olmasına, sağlıklı görünmesine dikkat edilmiştir. Ergin ve gamet veren bireyler ayrıldıktan sonra rastgele örneklemeyle gamet alınacak bireyler tespit edilmiştir.

Yumurta sağımı gerçekleştirildikten sonra erkek balıkların etkisi göz ardı edilebilmesi için her bir döllemede 5 farklı erkek balıktan alınan sperm sıvısı döllemede kullanılmıştır. Sperm sıvısı taze olarak dölleme işlemine alınmıştır.

Damızlık balıkların boyları ve ağırlıkları sağımdan önce ve sonra alınmış, sağımdan sonra tekrar tartılarak nispi yumurta verimi hesaplamak amacıyla kaydedilmiştir. Araştırmada 4 yaşında, $51,2 \pm 0,812$ cm boyunda ve $1945,2 \pm 178,969$ gr ağırlığında dişi ve $38,9 \pm 4,510$ cm boyunda, $798,4 \pm 305,107$ gr ağırlığında erkek balıklar kullanılmıştır.

2.2.2. Boy ve Ağırlık Ölçümü

Bu çalışmada kullanılan balıkların ağırlıkları DESIS T28 marka terazi ile tartılmıştır. (Şekil. 7) Boy ölçümleri ise ± 1 mm ölçekli balık ölçüm cetveli kullanılarak ölçülmüştür. Yumurta çapı ölçümleri plastik cetvellerin birleştirilmesi ile imal edilen ± 1 mm ölçekli Von-Bayer teknesinde yan yana dizilerek yapılmıştır. 30 adet yumurta ölçülerek işlem 3 kez tekrarlanmış ve yumurta çapı $5,1 \pm 0,05$ olarak kaydedilmiştir.



Şekil 7. Balık tartımlarında kullanılan ± 1 gr hassasiyetli DESIS T28 marka terazi.

2.2.3. Yumurtanın Alınması

Çalışmada kullanılmak üzere seçilen balıkların yemlenmesi 72 saat önceden sağım esnasında metabolizma artıklarının oluşmaması amacıyla kesilmiştir. Sağım öncesinde temiz havlu ile balıklar kurulanmıştır.

2.2.4. Yumurta Miktarı

5 dişi bireyden elde edilen yumurtalar karıştırılarak her bir deneme grubu için 10 g yumurta alınarak muhafaza ortamları içerisine alınarak belirlenen sürelerde $+4^{\circ}\text{C}$ de bekletilmiş ve sırasıyla döllenerek kuluçka şişelerinde inkübasyonu sağlanarak döllenme, gözlenme ve çıkış oranları belirlenmiştir. Deneme grupları oluşturulurken yumurta grupları **PRECISA XB 3200C** marka terazi ile tartılmıştır (Şekil 8).



Şekil 8. Yumurta tarımında kullanılan $\pm 0,01$ gr hassasiyetli PRECISA XB 3200C marka terazi.

2.2.5. Ovaryum Sıvısının Uzaklaştırılması

Plastik süzgeç kullanılarak elde edilen yumurtalar ovaryum sıvısından ayrılmıştır. Ovaryum sıvısı soğuk zincir korunarak daha sonraki çalışmalarda hazırlanacak yapay muhafaza ortamlarına alt yapı oluşturması amacıyla özel bir laboratuvarında analiz edilmiştir.

2.2.6. Yapay Muhafaza Ortamı

Yapay muhafaza ortamı olarak 3 farklı solüsyon aşağıdaki Tablo. 4’de içeriklere uygun olarak Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Laboratuvarında hazırlanmıştır.

Tablo 4. Yumurtaların kısa süreli muhafazası için hazırlanan yapay muhafaza ortamlarının bileşimleri (g/L)

YMO	NaCl	KCl	CaCl ₂	MgCl ₂	NaHCO ₃	Glikoz
S-1	8.75	0.20	0.20	-	0.30	-
S-2	8.75	0.20	0.10	0.10	0.40	-
S-3	7.25	0.40	-	-	0.80	2.0

2.2.7. Muhafaza Ortamlarının Hazırlanması ve Deneme Gruplarının Oluşturulması

Çalışmada 5 adet dişi balıktan elde edilen yumurtalar ovaryum sıvısından ayrıştırılarak oluşturulan yapay muhafaza ortamlarına aktarılmıştır.

Bu çalışmada gruplar üç tekrarlı olarak hazırlanmıştır. Kontrol Grubunda sağılan yumurtalar dölleme işleminin ardından inkübasyon sistemine yerleştirilmiştir. Yapay muhafaza 1 grubu (YM-1), yumurtalardan ovaryum sıvısı uzaklaştırıldıktan sonra S-1 solüsyonu ilave edilerek soğutucuya yerleştirilmiştir. Yapay muhafaza 2 (YM-2), ovaryum sıvısı uzaklaştırılan yumurta grubuna S-2 solüsyonu ilave edilerek soğutucuya yerleştirilmiştir. Yapay Muhafaza 3 (YM-3) grubu da ovaryum sıvısı uzaklaştırılan yumurta grubuna S-3 solüsyonu ilave edilerek soğutucuya yerleştirilmiştir.

Soğutucuya yerleştirilen her bir Yapay Muhafaza grubundan 4 saat, 24 saat ve 48 saat sonra alınan yumurtalar benzer dölleme protokolünden sonra inkübatörlere yerleştirilmişlerdir.

Yumurtaları döllemede kullanılacak olan spermier 5 erkek bireyden alınmıştır. Erkek balıklarda vücut hasarı olmayanlar, görünümü normal olan sağlıklı balıklar tercih edilmiştir. Yara bere olan, omurga deformasyonu olan, yüzgeç eksiklikleri olan bireyler sağım ve dölleme çalışmalarında kullanılmamıştır.

2.2.8. Dölleme

Kontrol grubu üç tekrarlı olacak şekilde sağım anında diğer gruplar ise deney düzenin de belirlenen süreler sonunda birkaç ml sperm eklenerek klasik dölleme (kuru dölleme) prosedürüne uygun olarak dikkatlice karıştırıldıktan sonra yumurta ve spermden oluşan karışımın üzerini örtecek kadar su ilave edilerek 15-20 dk beklenildikten sonra birkaç kez kan ve sperma artıklarını bertaraf etmek için yıkanmış ve temiz su ilave edilerek 45 dk yumurtaların şişerek sertleşmeleri için beklenmiştir.

2.2.9. Yumurta Ağırlığı ve Çaplarının Ölçülmesi

Yumurta ağırlıkları hassas terazi yardımıyla ölçülmüştür. Yumurta çapları ise Von-Bayer teknesi kullanılarak ölçülmüştür. Sağılmış ve spermle buluşturulan yumurta gruplarına su ilave edilmiştir. Su alarak şişen ve muntazam yapıya kavuşan

yumurta grubundan 30 adet yumurta alınarak Von-Bayer teknesinin içinde çap ölçümü yapılmıştır. Birbirine dokunan ve baskı yaptığında hataya sebebiyet verebilecek büzüşmenin önlenmesi amacıyla, şişen ve muntazam hale gelen yumurtalar su içerisinde çap ölçümüne alınmıştır. Böylece muameleden kaynaklanabilecek hatanın en aza indirilmesi amaçlanmıştır.

2.2.10. Yumurtaların İnkübasyonu

Kontrol grubu ile 3 farklı muhafaza solüsyonu ilave edilen deneme gruplarından 4, 24 ve 48 saat soğutucuda muhafaza edilen yumurta grupları benzer dölleme protokolüne tabi tutulmuştur. Dölleme işleminden sonra su alıp şişen ve mekanik etkilere dayanıklı hale gelen yumurtalar zaman geçirilmeden daha önce hazır hale getirilen modifiye Zuger şişelerine yerleştirilmişlerdir. Burada açılıncaya kadar gözlenmişlerdir.

2.2.11. Dölleme, Gözlenme ve Çıkış Oranlarının Belirlenmesi

Olgunluğu tespit edilmiş damızlık dişi balıklar (Anaç balıklar) içi pürüzsüz bir kaba sağılmışlardır. Sonrasında bir plastik bir süzgeç yardımıyla ovaryum sıvısı uzaklaştırılmıştır. Yumurta havuzundan bir grup ayrılarak direkt dölleme işlemine geçilmiştir. Bu grup 3 kısma ayrılarak 5 farklı erkek balıktan alınan sperm sıvısı ile döllemişlerdir. Dölleme işleminden sonra iyice temiz su ile yıkanarak patojen yataklanmasına sebep olabilecek organik yükten arındırılmıştır. Yumurta grupları 10 g olacak şekilde inkübatörlere yerleştirilmiştir. Dölleme işleminden 24 saat sonra opaklaşan yumurtalar pens yardımıyla ortamdan alınarak döllememiş yumurta olarak kayıt altına alınmıştır. Aynı işlem, YM-1, YM-2 ve YM-3 gruplarına 4ncü, 24üncü ve 48inci saatlerde uygulanarak toplamda 30 grup gözlem altına alınmıştır.

Sarsıntıya karşı yüksek hassasiyetinden dolayı, döllemiş yumurtalara ilk günün ardından gözlenme evresine kadar mekanik etki oluşturabilecek bir müdahale yapılmamıştır. Gözlenen ve artık etkilere dayanıklı hale gelen embriyolara sahip yumurtaların içinden opaklaşan yumurtalar sayılarak uzaklaştırılmış ve kaydedilmiştir. Böylece yumurta gruplarının gözlenme oranları belirlenmiştir.

Çıkış dönemine kadar ölü yumurtalar ayıklanarak kaydedilerek çıkış oranları belirlenmiştir.

2.3. İstatistiki Analiz

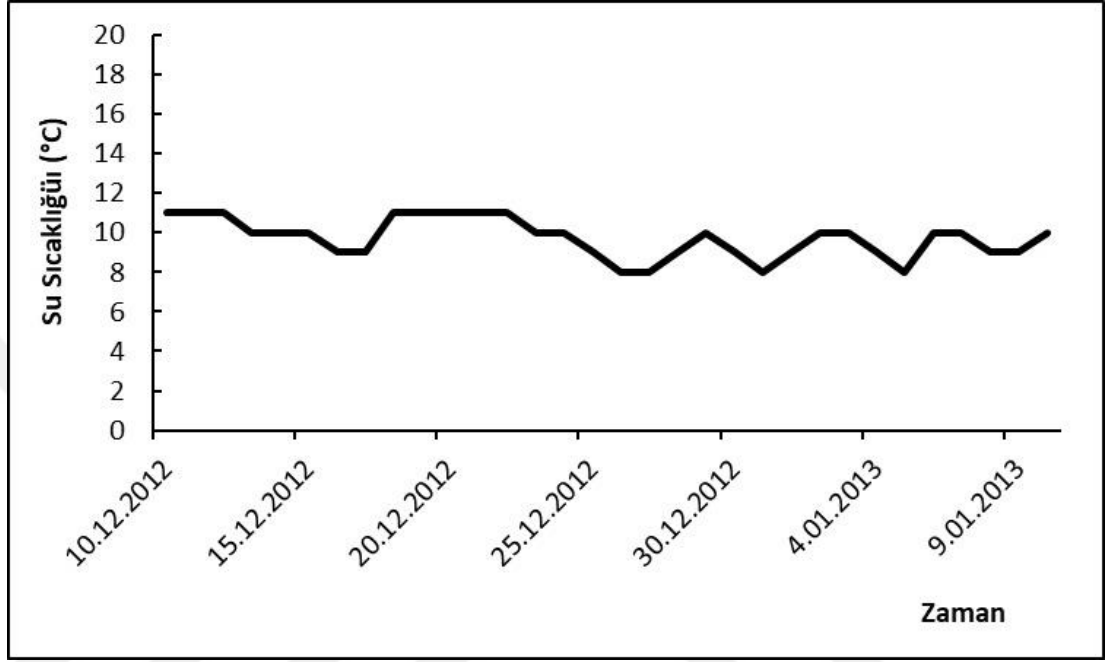
İstatistiksel analizler, deneyden elde edilen verilerin yorumlanmasında Excell, SigmaPlot 11.0 paket programı ile hesaplanmıştır. Grafikler ortalama ve standart hataları hesaplanarak oluşturulmuştur. Gruplar arası istatistiksel farklılığı ortaya koymak için Normal Dağılım, T testi ve One-Way ANOVA testleri kullanılarak yapılmıştır. Sonuçlar ($p < 0,05$) anlamlılık düzeyinde incelenmiştir.



3. BULGULAR

3.1. Su Kalitesi

Su sıcaklığı 8-11 °C arasında değişmiştir ($9,7 \pm 0,99$). Su sıcaklığı değişim grafiği Şekil 9’da verilmiştir.



Şekil 9. Su sıcaklığı değişim grafiği.

3.2. Ovaryum Sıvısının Analiz Sonuçları

Ovaryum sıvısı soğuk zincir korunarak özel bir laboratuvarı (Türk Kalp Vakfı Biyokimya Laboratuvarı) analiz edilmiştir. Analiz sonuçları Tablo 5.’de sunulmuştur.

Tablo 5. Ovaryum sıvısı analiz sonuçları

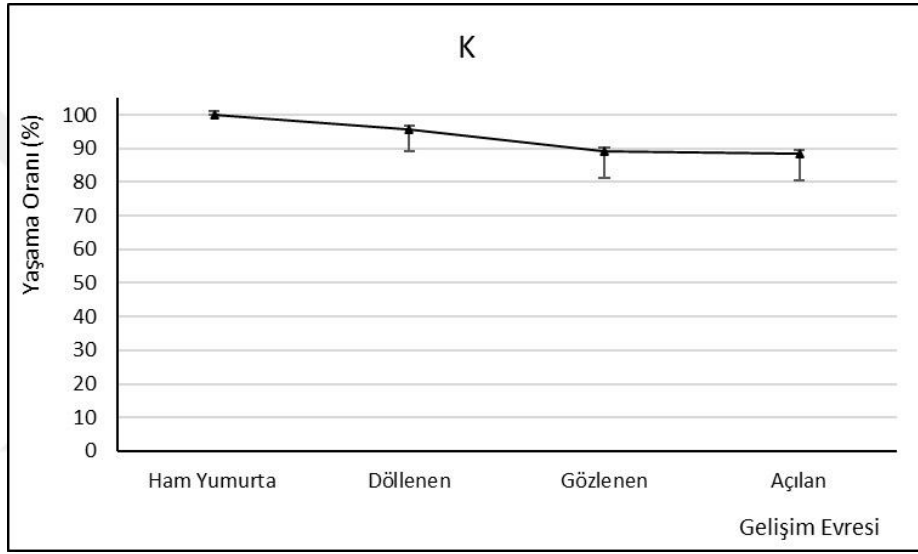
Parametre	Birim	Ovaryum Sıvısı
Kalsiyum	mg/dl	8,1
Klorür	mmol/L	124
Glikoz	mg/dl	29
Magnezyum	mg/dl	1,355
Potasyum	mmol/L	2,65
Sodyum	mmol/L	140,5
Ovaryum Sıvısı Tuzluluğu	ppt	8,7

3.3. Gruplarda Yaşama Oranları Gelişimi

Kontrol Grubu ve Yapay muhafaza solüsyonu ortamları içerisinde +4°C sıcaklıkta saklanan yumurtaların kuluçka performanslarının irdelenmesi amacıyla her bir grupta üç periyot boyunca ölen yumurtalar sayılarak kaydedilmiştir.

3.3.1. Kontrol Grubu Döllenme, Gözlenme ve Çıkış Oranları

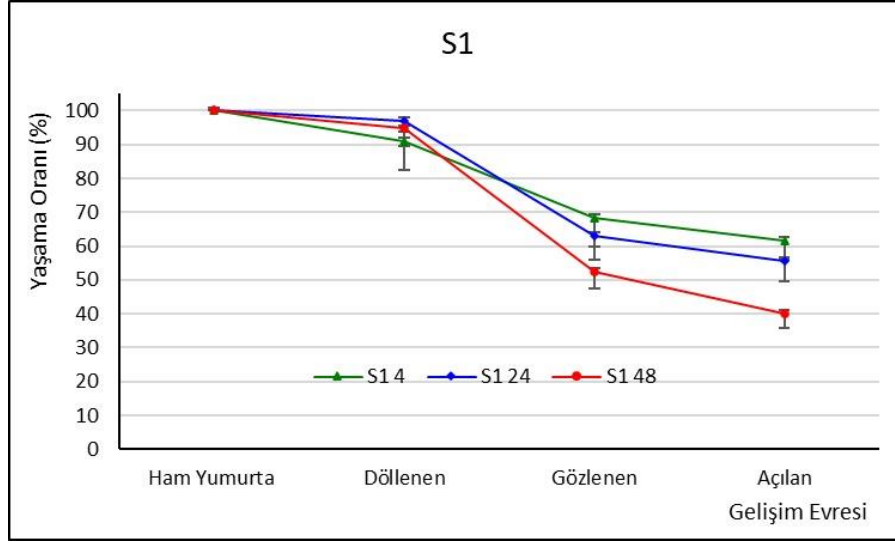
Sağım anında döllen K Kontrol grubunda döllenme oranı $95,78 \pm 6,74$, Gözlenme oranı $89,11 \pm 7,95$, Çıkış Oranı ise $88,44 \pm 7,95$ olarak kaydedilerek gösterilmiştir (Şekil 9).



Şekil 10. Kontrol Grubunun Döllenme, Gözlenme ve Çıkış Oranları

3.3.2. YM-1 Yapay Muhafaza Ortamında 4, 24 ve 48 Saatlik Muhafaza Sonrası Döllenme, Gözlenme ve Çıkış Oranları

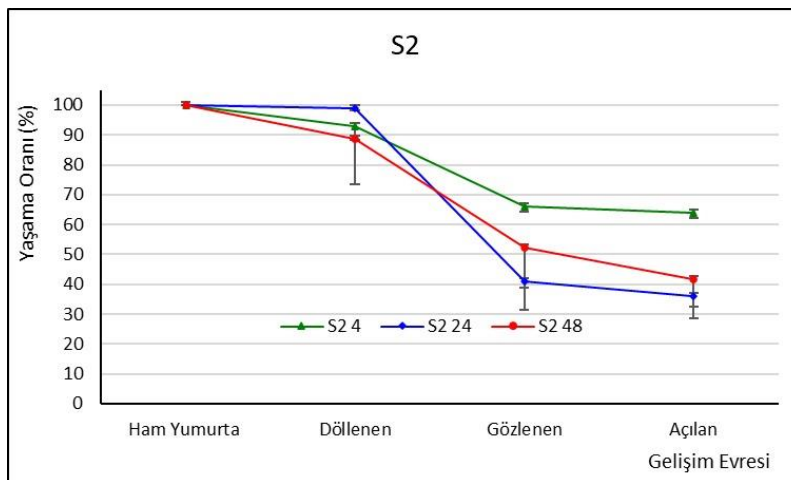
YM-1 grubunda 4, 24 ve 48 saat muhafaza sonrası döllen gruplarda Döllenme Oranları sırasıyla $90,89 \pm 8,44$, $97,11 \pm 3,29$, $94,67 \pm 5,03$ olarak belirlenmiştir. Gruplarda Gözlenme Oranları sırasıyla $68,22 \pm 8,28$, $63,11 \pm 7,00$ ve $52,44 \pm 4,91$ olarak gözlemlenmiştir. Gruplarda aynı sırayla Çıkış Oranları ise sırasıyla $61,56 \pm 5,67$, $55,78 \pm 6,34$ ve $40 \pm 4,16$ olarak gerçekleşmiştir (Şekil 10).



Şekil 11. YM-1 Yapay muhafaza ortamında 4, 24 ve 48 saatlik muhafaza sonrası döllenme, gözlenme ve çıkış oranları

3.3.3. YM-2 Yapay Muhafaza Ortamında 4, 24 ve 48 Saatlik Muhafaza Sonrası Dölllenme, Gözlenme ve Çıkış Oranları

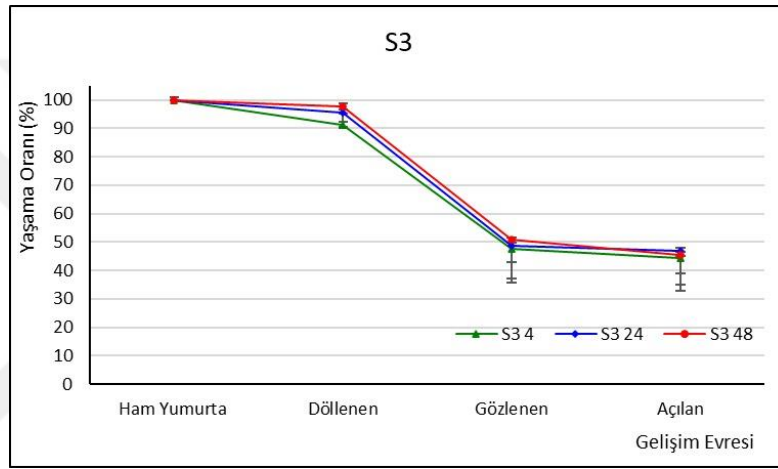
Döllenen gruplarda Dölllenme Oranları sırasıyla $92,89 \pm 4,68$, $98,89 \pm 0,77$ ve $88,67 \pm 15,14$ olarak belirlenmiştir. Döllenen gruplarda Gözlenme Oranları sırasıyla $66,22 \pm 2,04$, $41,11 \pm 9,71$ ve $52,44 \pm 13,47$ olarak belirlenmiştir. 4,24 ve 48 saat muhafaza sonrası döllenmiş bu gruplarda Çıkış Oranları ise sırasıyla $64 \pm 1,76$, $36 \pm 7,51$ ve $41,78 \pm 9,37$ olarak belirlenmiştir (Şekil 11).



Şekil 12. YM-2 Yapay muhafaza ortamında 4, 24 ve 48 saatlik muhafaza sonrası döllenme, gözlenme ve çıkış Oranları

3.3.4. YM-3 Yapay Muhafaza Ortamında 4, 24 ve 48 Saatlik Muhafaza Sonrası Döllenme, Gözlenme ve Çıkış Oranları

Gruplarda 4, 24 ve 48 saatlik muhafaza sonrasında döllenme oranları aşama oranları sırasıyla $91,11 \pm 1,02$, $95,56 \pm 4,91$ ve $97,78 \pm 2,78$ olarak belirlenmiştir. Gruplarda gözlenme oranları aynı sırayla $91,11 \pm 4,68$, $48,67 \pm 11,57$ ve $50,67 \pm 15,07$ olarak belirlenmiştir. Çalışmada 4,24 ve 48 saat muhafaza sonrası döllen gruplarda çıkış oranları sırasıyla $44,22 \pm 5,43$, $46,89 \pm 11,74$ ve $45,56 \pm 12,76$ olarak belirlenmiştir (Şekil 12).



Şekil 13. YM-3 Yapay muhafaza ortamında 4, 24 ve 48 saatlik muhafaza sonrası döllenme, gözlenme ve çıkış Oranları

4. TARTIŞMA VE SONUÇ

Çalışmada, birkaç günlük mesafeye nakil gereksinimi veya yoğun sağım sonrasında biriktirilen ham yumurtaların topluca dölleme amacıyla dölleme kadar soğutucuda (+4°C) döllemenin kuluçkahane performansına etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır. Dölleme başarısını artırabilmek amacıyla, ovaryum sıvısına özdeş olarak hazırlanan KCl, NaCl, CaCl₂, MgCl₂, NaHCO₃, Glikoz ilave edilen 3 farklı solüsyonda soğutucuda muhafazasının etkilerinin ortaya konulması amaçlanmıştır. Yapılan inceleme ve araştırma çalışmalarında ham yumurta muhafazasına dönük bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Literatüre bakıldığında daha çok sperm muhafazası yönteminin yaygın olarak kullanıldığı görülmektedir. Enfeksiyon bulaşışının önlenmesi, yetiştiricilik performansı yüksek hibrit geliştirme, genetik daralmaların önüne geçilebilmesi, seleksiyon çalışmaları, genetik materyalin taşınması, enfeksiyonların yayılma riskinin azaltılması, üreme mevsimleri farklı olan türlerde melezleme çalışmaları, gen havuzunun korunması, biyolojik çeşitliliğin korunması, seçici üreme faaliyetleri, tehlike altındaki türlerin korunması gibi bir çok amaçla sperm muhafazası çalışılmıştır (Akçay ve ark. 2002; Kutluyer ve ark., 2014). Sperm dondurulmasında çözündürme sonrası başarıyı arttırmak için sperm hareketliliğini bazı ekstenderlerle azaltarak enerji tüketiminin azaltılması yönteminden yararlanıldığı bildirilmiştir. Ekstender olarak isimlendirilen solüsyonların balık türleri arasında farklılık gösterdiği bildirilmektedir (Bozkurt ve ark.,2005). Uzun süreli saklama amaçlı sperm muhafazasında özellikle dölleme amacıyla eritme sonrası başarı balık türlerine göre oldukça değişkenlik göstermektedir (Scott ve Baynes, 1980; Stoss, 1983). Türkiye’de tatlısu balıklarından alabalıklarda, sazanlarda sperm muhafazası çalışmaları mevcuttur (Bozkurt ve ark.,2005).

Goetz ve Coffman (2000), Kasım-Aralık döneminde, 1,5-2,5 kg/adet ağırlığında dişi balıklardan aldığı ham yumurtaları, aynı balıklardan aldıkları ovaryum sıvısını santrifüje ederek elde ettikleri sıvı içerisinde 12–13°C ortam sıcaklığında 48 saate kadar muhafaza saklayarak kuluçka performansını karşılaştırmışlardır. Kurt ve Quimby (1969) tarafından önerilen Cortland çözeltisi içerisinde muhafaza ettiklerini bildirmişlerdir. Çalışmalarında Cortland çözeltisinde bulunan sodyum bikarbonat ve sodyum fosfatı, pH 8 üzerinde çökelediği için kullanmadıklarını bildirmişlerdir.

Kontrol grubunda %55-66 aralığında gözlenme ve %48,3-63,3 aralığında açılma elde etmişlerdir. Cortland/Hepes solüsyonunda, 24 saatlik muhafaza sonunda kuluçka performansının kontrol grubuna nazaran oldukça başarılı olduğu, gözlenmede %80-91,7, açılmada ise %75-78,3 yaşama oranına ulaşıldığı görülmüştür. Aynı solüsyonda 48 saatlik muhafaza sonrasında ise gözlenmede %78,3-81,7, açılmada ise %71,7-78,3 yaşama oranı elde ettiklerini bildirmişlerdir.

Bu çalışmada döllenme, gözlenme ve açılma aşamasında kaydedilen kayıp yumurtalardan evrelere göre gruplar arasında yaşama oranları hesaplanmıştır. Yapılan istatistiki irdelemeye göre gruplar arasındaki benzerlik Tablo 6’da sunulmuştur.

Tablo 6. Gruplar arasında döllenme, gözlenme ve açılma evrelerinde hesaplanan yaşama oranları.

	H. Y.	Döllenme	D. O. (%)*	Gözlenme	G. O. (%)*	Açılma	A. O. (%)*
K	150	143,7±10,11 ^a	95,8	133,7±11,93 ^a	93,0	132,7±11,93 ^a	99,3
S1 4	150	136,3±12,66 ^a	90,9	102,3±12,42 ^{ab}	75,1	92,3±8,50 ^{bc}	90,2
S2 4	150	139,3±7,02 ^a	97,1	99,3±3,05 ^{abc}	65,0	96,0±2,64 ^b	88,4
S3 4	150	136,7±1,52 ^a	94,7	71,3±7,02 ^{bc}	55,4	66,3±8,14 ^{bcd}	76,3
S1 24	150	145,7±4,93 ^a	92,9	94,7±10,50 ^{abc}	71,3	83,7±9,50 ^{bcd}	96,6
S2 24	150	148,3±1,15 ^a	98,9	61,7±14,57 ^c	41,6	54,0±11,27 ^d	87,6
S3 24	150	143,3±7,37 ^a	88,7	73,0±17,34 ^{bc}	59,1	70,3±17,61 ^{bcd}	79,7
S1 48	150	142,0±7,55 ^a	91,1	78,7±7,37 ^{bc}	52,2	60,0±6,24 ^{cd}	93,0
S2 48	150	133,0±22,70 ^a	95,6	78,7±20,20 ^{bc}	50,9	62,7±14,04 ^{bcd}	96,3
S3 48	150	146,7±4,16 ^a	97,8	76,0±22,60 ^{bc}	51,8	68,3±19,14 ^{bcd}	89,9

H.Y: Ham yumurta, D.O.: Döllenme Oranı, G.O.: Gözlenme Oranı, A.O.: Açılma oranı.

*= Bir önceki evreye göre yaşama oranı olarak hesaplanmıştır.

Anlamlılık düzeyi p <0,05’e göre üst indis olarak belirtilmiştir.

En başarılı gözlenme oranı sağım anında döllenmesi gerçekleştirilen Kontrol (K) grubunda %89,1±7,95 olarak gerçekleşmiştir. Gruplarda 24 saat muhafaza sonunda %63,1±7,00 ile YM1 grubunda elde edilirken, en düşük yaşama oranı %41,1±9,71 ile YM2 solüsyonunda elde edilmiştir. Bu çalışmanın Kontrol (K) grubu gözlenme oranı Goetz ve Coffman (2000)’in Cortland/Hepes solüsyonu ile benzer bulunmuştur. Ancak yapay muhafaza solüsyonu olarak oluşturulan YM1, YM2 ve YM3 solüsyon gruplarının gözlenme oranları Goetz ve Coffman’ın çalışmalarında uyguladıkları Cortland/Hepes solüsyonunda, 12–13°C ortam sıcaklığında 24 ve 48

saat muhafaza etme solüsyonlarından nispeten düşük bulunmuştur. Bu gözlenme evresine kadar gözlemlenen her bir 9 muhafaza solüsyonu ve farklı saatlerde muhafaza grupları içinde grup içinde değerlendirmede YM3 grubunda 4, 24 ve 48 saat muhafaza gruplarında stabil bir yaşama oranı elde edilirken YM1 ve YM2 toplamda daha başarılı yaşama oranı gözlemlense de süreye bağlı düzenli bir kötüleşme dikkate değer bulunmuştur.

Açılma aşamasına gelindiğinde Gözlenme evresine benzer olarak en başarılı yaşama oranı %88,5 ile Kontrol (K) grubunda gerçekleşmiştir. YM1 grubunda muhafaza süresine bağlı olarak, 4üncü saatte $61,5 \pm 5,67$ olan yaşama oranı 48 saat sonunda $40 \pm 4,16$ değerine gerilemiştir. YM2 grubunda 24 saat muhafazanın 4 ve 48 saatten daha başarılı bir yaşama oranına sahip olduğu ve açılma evresinde bu grupta $64,0 \pm 1,76$ yaşama oranı hesap edilmiştir. YM3 grubunda ise çalışmanın en düşük yaşama oranları gerçekleşmiştir. YM3 için 4, 24 ve 48 saatlik muhafaza gruplarında %44,2, 46,9 ve 45,5 olarak tespit edilen yaşama oranlarının benzer olduğu ve irdelenmesi gereken bir bulgu olduğu kanaatine varılmıştır. Açılma aşamasında kontrol grubunda elde edilen yaşama oranı değerleri Goetz ve Coffman (2000)'ın açılma değerlerinden daha başarılı bulunmuştur. Bu da çalışmada kullanılan damızlık ve çevre şartlarının başarısına atfedilmiştir. Ancak, yapay muhafaza solüsyonlarının 4 saatlik, 24 saatlik ve 48 saatlik açılma aşamasına kadarki başarının Goetz ve Coffman (2000)'ın saklama solüsyonlarından önemli derecede düşük bulunması dikkate değer bulunmuştur. Araştırmacılar çalışmalarında kullandıkları solüsyon farklılığına ilaveten, hafif salınlı bir muhafaza ortamı ve bu çalışmada gerçekleştirilen ortam sıcaklığından (44°C) daha yüksek bir sıcaklık (11-12°C) ortam sıcaklığında denemelerini yürütmüşlerdir. Withler ve Morley (1968), oldukça eski çalışmalarında gonad sıvısıyla yumurtaları döllemeden birkaç gün bekletilebileceğini belirtmiştir. Jensen ve Alderdice (1984), çalışmalarında %90 dölleme başarısına 15°C ortam sıcaklığında muhafazada 19 saatte ulaşırken, 3°C ortam sıcaklığında yaklaşık 124 saatte ulaşıldığını, dolayısıyla düşük sıcaklıklarda daha uzun süre nispeten düşük muhafaza şartlarında yumurta muhafazanın nispeten yüksek ortamlara göre daha başarılı olabileceğini bildirmişlerdir.

Sonuç olarak, bu çalışmada buzdolabı şartlarında muhafazanın suni olarak oluşturulan üç farklı sıvı ortamda ham yumurta muhafaza uygulamasının dölleme,

gözenme ve açılma başarısı araştırılmıştır. En başarılı grubun henüz döllenmiş yumurta grubu olan Kontrol (K) grubunun başarısının en iyi olduğu gözlemlenmiştir. Bununla birlikte, uzun süreli muhafaza amacıyla oluşturulan YM1, YM2 ve YM3 muhafaza solüsyonlarının 4, 24 ve 48 saatlik muhafaza süresi sonunda döllenmenin yumurta kuluçka performanslarına bakarak nispeten başarılı döllenmenin gerçekleştirilebildiği sonucuna varılmıştır. Aynı zamanda 24 saatlik muhafazanın sonunda en iyi gözenme başarısı %63,1 ile YM1’de elde edilirken, en başarılı 48 saatlik muhafaza başarısı %52,2 ile YM1 ve YM2 gruplarında elde edilmiştir.

Açılma başarıları test edildiğinde ise 24 saatlik muhafazada % 55,8 ile YM1 solüsyonunda, 48 saatlik muhafazanın en başarılı grubu olarak YM3 grubunda %45,5 olarak gerçekleştirilmiştir.

Bütün bu sonuçlara bakarak, en başarılı döllenmenin henüz sağlanmış yumurta gruplarından elde edileceği, bir günlük saklama gerektiğinde YM1 solüsyonunun daha etkin olacağı, ancak iki gün saklama durumu söz konusu olduğunda ise YM3 solüsyonunun daha başarılı sonuçlara ulaşmayı sağlayacağı kanaatine varılmıştır.

5. ÖNERİLER

Çalışmada en başarılı grubun henüz sağılmış yumurta gruplarının döllenmesiyle oluşturulan kontrol gurubu olduğu görülmüştür.

İşletmeler arası transfer veya kuluçkahane içindeki uygulamalarda bir günlük taze sağılmış yumurtaların saklama zorunluluğu söz konusu olduğunda, YM1 solüsyonun kullanımı ile açılma aşamasına kadar yapılan gözlemlerde $55,8 \pm 6,34$ yaşama oranı ile tavsiye edilmektedir.

Nakil veya başka bir zorunluluktan dolayı iki gün sonra döllenmesi gereken sağılmış gökkuşağı alabalığı yumurtalarında $+4^{\circ}\text{C}$ sıcaklıkta bu çalışmada YM3 olarak verilen NaCl, KCl, NaHCO_3 ve Glikoz ile desteklenen solüsyonla $45,6 \pm 12,76$ açılım sağlanabileceği ön görülmektedir.

Bütün bunların yanında, ileri çalışmalarda ovaryum sıvısı içinde muhafazanın, farklı yaş guruplarında dişilerden elde edilen yumurtaların, yumurtlama sezonunun farklı dönemlerinde yapılacak denemelerin, muhafazaya alınan yumurtaların saklama süresince hafif sarsıntı oluşturulmasının kuluçkahane performansına etkileri gibi konuların ortaya konulması, döllenmemiş yumurta muhafazasının sektörel uygulamalara katkı sağlayabileceği öngörülmektedir.

KAYNAKÇA

- Akbulut, B., 2004. Su Ürünleri Merkez Araştırma Enstitüsü Yunus Araştırma Bülteni, 4:1, Mart 2004.
- Akbulut, B., Kurtoğlu, I. Z., Üstündağ, E., & Aksungur, M. (2009). Karadeniz Bölgesi'nde Balık Yetiştiriciliğinin Tarihsel Gelişimi ve Gelecek Projeksiyonu. *Journal of Fisheries Sciences*, 3(2), 76.
- Akçay, E., Bozkurt, Y., & Kayam, S. (2002). Cryopreservation of mirror carp (*Cyprinus carpio* L. 1758) semen: with emphasis on post-thaw motility. In 1st International Congress on Aquaculture, Fisheries Technology and Environmental Management (pp. 8-10).
- Bozkurt, Y., 2019. Hatching success of koi carp (*Cyprinus carpio*) embryos following short-term storage of unfertilized eggs. *Acta Aquatica Turcica*, 15(4), 481-486. <https://doi.org/10.22392/actaquatr.557364>.
- Bozkurt, Y., Seçer, S., Tekin, N., & Akçay, E. (2005). Cryopreservation of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and mirror carp (*Cyprinus carpio*) sperm with glucose based extender. *Süleyman Demirel Üniversitesi Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi Dergisi*, 1(1), 21-25.
- Bozkurt, Y., 2010. Balık Yetiştiriciliğinde Gamet Kalitesinin Önemi. *Ziraat Mühendisliği*, Sayı:355, 28-33.
- Bromage, N., Jones, J., Randall, C., Thrush, M., Davies, B., Springate, J., Duston, J., Barker, G., 1992. Brood stock management, fecundity, egg quality and the timing of egg production in the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 100, 141-166.
- Coward, K., Bromage, R., Hibbitt, O., 2002. Parringtonj. gamete physiology, fertilization and egg activation in teleost fish. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*. 2002; 12: 33–58.
- Çelikkale, M.S., 1988. İç su balıkları ve yetiştiriciliği. K.T.Ü. Sürmene Deniz Bilimleri ve Teknolojisi Yüksekokulu, Fakülte Yayın no:2, Trabzon, 419 s.
- Çevik, M., Akar, M., Kaya, C., 2021. Tatlısu Balıklarında Reprodüksiyon. <https://www.researchgate.net/publication/355185756>.
- Doğan, M., 2023. Fonksiyonel Erkekleştirilmiş Gökkuşuğu Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) Spermasının Dondurulması, Çözdürme Sonrası Motilite ve DNA Hasarının İncelenmesi
- Emre, Y., Kürüm, V., 1990. Havuz ve kafeslerde alabalık yetiştiriciliği teknikleri. Minpa matbaacılık, Ankara.

- Emre, Y., & Kürüm, V. (1998). Havuz ve kafeslerde alabalık yetiştiriciliği teknikleri. Minpa Matbaa. Tic Ltd Şti, Ankara, 232.
- Goetz, F. W., & Coffman, M. A. (2000). Storage of unfertilized eggs of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in artificial media. *Aquaculture*, 184(3-4), 267-276.
- Güleç, F., 2012. Alabalık yumurtalarının döllenme veriminin artırılması, Yüksek Lisans Tezi S 16
- İsa, M. H., & Arslan, T., 2021. The comparison and improvement of artificial media used for the maturation of testicular sperm of rainbow trout neomales. *Aquaculture*, 533, 736115.
- Jensen, J. O. T., & Alderdice, D. F. (1984). Effect of temperature on short-term storage of eggs and sperm of chum salmon (*Oncorhynchus keta*). *Aquaculture*, 37(3), 251-265.
- Kutluyer, F., Kayim, M., Öğretmen, F., Büyükleblebici, S., & Tuncer, P. B. (2014). Cryopreservation of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* spermatozoa: effects of extender supplemented with different antioxidants on sperm motility, velocity and fertility. *Cryobiology*, 69(3), 462-466.
- Scott, A. P., & Baynes, S. M. (1980). A review of the biology, handling and storage of salmonid spermatozoa. *Journal of Fish Biology*, 17(6), 707-739.
- Soetignya, W. P., Suryobroto, B., Kamal, M. M., and Boediono, A., 2017. Ovarian development and spawning of Bornean endemic fish *Hampala bimaculata* (Popta, 1905). *Aquaculture, Aquarium, Conservation & Legislation*, 10(5), 1376-1385.
- Stoss, J. (1983). 6 Fish Gamete Preservation and Spermatozoan Physiology. *Fish Physiology*, 9, 305-350.
- Şahin, T., 2003. Su Ürünleri Yetiştiriciliğinde Biyoteknoloji, Su Ürünleri Merkez Araştırma Enstitüsü Yunus Araştırma Bülteni, Cilt:2003 Sayı:1 01.02.2003.
- TUİK, 2023. Türkiye İstatistik Kurumu, Su Ürünleri Üretimi ve Avcılığı. <https://data.tuik.gov.tr/Bulten/Index?p=Su-Urunleri-2023-53702>.
- Withler, F. C., & Morley, R. B. (1968). Effects of chilled storage on viability of stored ova and sperm of sockeye and pink salmon. *Journal of the Fisheries Board of Canada*, 25(12), 2695-2699.
- Yanagimachi, R., Harumi, T., Matsubara, H., Yan, W., Yuan, S., 2017. Hirohashi net al. Chemical and physical guidance of fish spermatozoa into the egg through the micropyle. *Biology of Reproduction*. 2017;96:780-99.