



Çipura (*Sparus aurata*, Linnaeus, 1758) Spermalarının Kısa Süreli Saklanması ve Spermatolojik Özellikleri ile Ebeveyn İlişkilerinin Araştırılması

Serhat Engin*, Şahin Saka, Kürşat Fırat

Ege Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Yetiştiricilik Bölümü, 35100 İzmir, Türkiye

MAKALE BİLGİSİ

Araştırma Makalesi

Geliş 14 Aralık 2017
Kabul 23 Şubat 2018

Anahtar Kelimeler:

Çipura
Sperm
Kısa süreli muhafaza
Gonad
Biyoteknoloji

* Sorumlu Yazar:

E-mail: serhat.engin@ege.edu.tr

ÖZET

Araştırmada İzmir ili Balıklıova beldesinde bulunan bir üretim çiftliğinden temin edilen çipuralardan alınan sperm örnekleri 0°C’de buz içinde muhafaza edildikten sonra her altı saatte bir faz kontrast tip mikroskopta incelenmiştir. Çalışmada sperm muhafaza süreleri, hız, konsantrasyon, meristik karakterler ve sperm hacmi ile ilgili datalar elde edilmiş ve bu sonuçlar ebeveyn ile ilişkilendirilmiştir. Denemelerde kullanılan balıkların ağırlıkları 405-625 g, boyları ise 25-37 cm sperm hacmi 3,1-8,3 ml.kg⁻¹ olarak tespit edilmiştir. En yoğun konsantrasyon 5,35x10⁹ spz.ml⁻¹ ile 2 numaralı denekte, en düşük sperm konsantrasyonu 0,16x10⁹ spz.ml⁻¹ ile 24 numaralı denekte saptanmıştır. Çalışma süresince tüm denek ve zamanlarda baş boyuna endeksli en yüksek hız 35.5 baş boy.sn⁻¹ (210,16 µm.sn⁻¹), en düşük hız 2,6 baş boy.sn⁻¹ (15,39 µm.sn⁻¹) olarak belirlenmiştir. Çalışma toplam 126 saat sürmüştür. En kısa muhafaza süresi 26-50 saat, en uzun muhafaza süresi 126-150 saat olarak tespit edilmiştir.

Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology, 6(3): 372-379, 2018

Short Term Storage of Gilthead Sea Bream (*Sparus aurata*, Linnaeus, 1758) Spermatazoa and Investigation of Spermatological Characteristic with Parental Relationships

ARTICLE INFO

Research Article

Received 14 December 2017
Accepted 23 February 2018

Keywords:

Gilthead seabreams (*Sparus aurata*)
Spermatazoa
Short term storage
Gonad
Biotechnology

*Corresponding Author:

E-mail: serhat.engin@ege.edu.tr

ABSTRACT

Sperm samples taken from gilthead sea bream obtained from a production farm located in the province of Balıklıova in İzmir were examined under one phase contrast type microscope every six hours after they were kept in ice at 0°C. Data related to sperm maintenance durations, speed, concentration and sperm volume were obtained in the study and these results were related to the parent. The fish weighed 405-625 g and the sperm volume 25-37 cm was 3.1-8.3 ml.kg⁻¹. The most intense concentration was found in the second experiment with 5.35x10⁹ spz.ml⁻¹ and the lowest sperm concentration in the second test with 0.16x10⁹ spz.ml⁻¹. During the study, the highest head speed index was determined for all subjects and time as 35.5 head height.sn⁻¹ (210.16 µm.sn⁻¹) and the lowest head speed was 2.6 head height.sn⁻¹ (15.39 µm.sn⁻¹). The study lasted a total of 126 hours. The shortest storage period is 26-50 hours and the longest storage period is 126-150 hours.

Giriş

Günümüzde dünya nüfusunun kullandığı proteinin %6'sı balık tüketiminden karşılanmakta olup toplam hayvansal proteinlerin %24'ü su ürünlerinden sağlanmaktadır. 2007 yılı avcılık verilerine göre toplam su ürünleri avcılığı miktarı 518,201 ton iken, 2016 yılında bu sayı 263,724 tona gerilemiştir. Deniz ve iç sulardan elde edilen yetiştiricilik miktarımız 2016 verilerine göre 253,395 tondur (TÜİK, 2017) Bu veriler göz önünde bulundurulduğunda yetiştiricilik çalışmalarının gün geçtikçe daha çok önem kazanacağı görülmektedir. Rolende (2004)'nin yaptığı projeksiyonda 2025 yılında yetiştiricilik yoluyla elde edilen ürün miktarının toplam avcılığın yarısından fazla olacağını, avcılık yolu ile elde edilen üretim miktarının artırılmasının mümkün olmadığını buna karşın yetiştiricilik yoluyla elde edilen su ürünleri miktarının yüksek bir ivme ile 2025 yılına kadar artacağını tahmin etmiştir.

Ülkemizde çipura ve levrek balığı üretiminin artışına paralel olarak alternatif türlerin yetiştiriciliğinin de ele alınması kaçınılmazdır. Son yıllarda kalkan, lahos, sinarit, sivriburun karagöz, karagöz, sargos ve fangri balıkları üzerinde çalışmalar ve deneme üretimleri başlamıştır. Ancak burada ki en büyük sorunlardan biri anaç balık temininde karşılaşılan zorluklardır. Yeni türler için bu sorun daha çok doğadan anaç balık temin etme ile ortadan kaldırılmaya çalışılmaktadır. Fakat bu durum anaç balıkların tank ya da kafes ortamına adapte olamamasını ve yeni türlerden yumurta alımının güçleşmesine sebep olmaktadır. Buna paralel olarak yetiştiricilik işletmelerinin anaç odaları için ayırdıkları özel yerler büyük yer kaplamakta aynı zamanda kullanılan tankların bakımı günlük rutin kontrolleri için teknik eleman ihtiyacı doğurmaktadır.

Yetiştiriciliğin genel prensibi türlerden maksimum verimlilik almaktır. Ancak bu sadece iyi gametlerin elde edilmesiyle gerçekleşmemektedir. Gamet kontrolü açısından soğuk muhafaza tekniklerinin geliştirilmesi nicel ve nitelik olarak verimlilikte bir artış sağlamaktadır. Bu avantajların yanında iyi hatlara sahip bireylere her an üretime alınabilmesi ve akrabalı yetiştirme sonucunda genetik yönden çıkabilecek olumsuz durumlar ortadan kalkacaktır. Ülkemiz su ürünleri üretimi açısından Dünyanın önde gelen ülkeleri arasına girmiştir. Ancak balık spermalarının korunması ülkemiz açısından çok yeni bir konudur. Bu konu üzerinde yapacağımız araştırmalar ve çalışmalar ile ileride sperm ve gametlerin uzun süreli koruma prosedürlerinin geliştirilmesine olanak sağlanacaktır.

Bu çalışmada yoğun olarak yetiştiriciliği yapılan çipura spermaları 0°C de muhafaza edilmiş, spermatolojik özellikleri (sperm morfolojisi, sperm hızı, yaşama süresi, sperm konsantrasyonu) saptanmış olup bu özelliklerin ebeveyn ilişkisi de tespit edilmiştir.

Materyal ve Metot

Balık ve Gametlerin Toplanması

Bu çalışmada, İzmir ili Balıklıova mevkiinde bulunan bir ağ kafes işletmesinden türün üreme döneminde (Ekim-Aralık) temin edilen toplam 24 adet çipura (*Sparus aurata*) balığı kullanılmıştır.

Ağ kafeslerden temin edilen çipura anaçları öncelikle fenoksiletanol (0,5 ml.lt⁻¹) ile bayıltılarak, balıkların canlı ağırlıkları 1 g hassasiyetli arazi tipi terazi (Denver MXX-5) ile, uzunluk ölçüleri ise boy ölçüm tahtası kullanılarak (cm) ölçülmüştür. Balıklar sağım işleminden önce havlu ile kurulanmıştır ve idrar torbasına hafif baskı yapılarak idrar torbasının boşalması sağlanmıştır. Kısa süreli korumada kullanılacak gametler büyük bir dikkatle su, dışkı, mukus, salgı, idrar vb. kontaminasyonlara karşı özen gösterilerek abdominal bölgeye yapılan hafif masaj hareketleriyle sağılarak 15 ml'lik ağız kapaklı steril tüplere aktarılmıştır. Örnekler 0°C'deki buz içinde muhafaza edilmiştir.

Sperm Motilite Analizi

Buz içerisinde muhafaza edilen sperm örnekleri bir öze yardımı ile lam üzerine aktarılarak vücut sıcaklığı ile aynı olan deniz suyu ile 1:1000 oranında aktive edilmiştir. 24 adet anaçtan alınan ve aktive edilen spermeler, Olympus marka JX-31 model faz-kontrast mikroskop kullanılarak 40X büyütmede altı saatte bir görüntülenmiştir. Aktive edilmiş spermelerin görüntüleri video kamera (Panasonic NV-GS180) ile saat ve tarih belirtilerek kaydedilmiştir. Çalışma sonunda 11.910 adet sperm altı saat arayla izlenmiştir. Sperm hareketi en son tüpteki sperm aktivasyonu sonlanana kadar değerlendirilmiştir.

Sperm Hızı

Ölçümde kullanılmak üzere, toplam 24 adet damızlık balıktan alınan spermelerden her bir tüp örneği için rastgele 30'ar adet sperm seçilmiştir. Aktive olan sperm t zamanda aldığı yol hesaplanmış, aynı zamanda sperm baş boyu uzunluğu ölçülmüş ve sonuçta baş boy.sn⁻¹ cinsinden birim zamandaki hızı tespit edilmiştir. Hız ölçümü için kullanılan formül;

$$\text{Sperm bir saniyede almış olduğu yol} = \frac{b/a}{t}$$

Burada; a: Sperm baş boyu, b: Alınan yol, t: Kameranın sabit kaldığı süredir.

Sperm hızının $\mu\text{m.sn}^{-1}$ cinsinden hesaplanabilmesi için daha önce baş boy.sn⁻¹ cinsinden hesaplanan sperm hızlarının her altı saatteki ortalamaları alınmıştır. Çalışmada 100 adet sperm baş boy uzunlukları TPS-DIG programıyla ölçülmüş ve elde edilen değerlerin ortalaması alınmıştır. Baş boyu ortalaması baş boy.sn⁻¹ ile çarpılarak $\mu\text{m.sn}^{-1}$ cinsinden sperm hızı hesaplanmıştır.

Sperm Hacmi

Hacim hesabı için hareketliliğini kaybetmiş spermalar kullanılmıştır. Örneklerin bulunduğu ölü sperm tüplerini 15 ml'ye tamamlamak için 10'luk, 5'lik ve 2'lik pipetler kullanılmıştır. Eklenen su miktarı toplam tüp hacminden çıkarılarak tüp içindeki sperm hacmi hesaplanmıştır. Ancak bu hacim gerçek sperm hacmi değildir. Sağım esnasında istenmeyen sperm aktivasyonunu engellemek amacıyla su ya da idrar ile temas eden spermeler tüplere aktarılmamıştır. Dışarıya akıtılan bu spermelerin kaçır damla olduğu sağım esnasında not edilmiştir. Daha sonra

bir damla sperm kaç ml olduğu hesaplanmıştır. Bulunan değer damla sayısı ile çarpılmış ve ilk sperm hacmiyle toplanmıştır. Bu sonuç toplam hacmi vermektedir. Toplam hacim anaç ağırlığına oranlanarak 1 kg anaçtan elde edilecek sperm miktarı ml.kg^{-1} cinsinden hesaplanmıştır.

Sperm Konsantrasyonu

Sperm konsantrasyonu, sperm %0,7 NaCl ile 1:1000 oranında seyreltildikten sonra, 40×10 büyütme ile mikroskop altında Thoma haemocytometer kullanılarak saptanmıştır. Bir damla seyreltilmiş sperm, lam (Thoma haemocytometer, derinlik 0,1 mm) üzerine konulmuş ve arada hava boşluğu kalmayacak şekilde lamel kapatılmıştır (Barbato ve ark., 2003). Sperm konsantrasyonu (ml^{-1}) aşağıda ki formülasyona göre hesaplanmıştır.

$$\text{Sperm yoğunluğu} = \frac{1000 \times \text{Sayılan sperm miktarı}}{A \times D \times \text{seyreltme oranı}}$$

A: Alan (mm^2), D: Derinlik (mm)

Muhafaza Süresi

Tüplerdeki sperm örneklerinin aktivasyonu sonlanana kadar sperma hücreleri video kamerada incelenmiştir. İlk hareket başlangıcının kaydedildiği tarih ve saatten son hareket zamanına kadar olan süre hesaplanmış ve canlılık süreleri saptanmıştır.

Sperm Akrozom Çapı

Sperm konsantrasyonu hesaplamak amacıyla Thoma sayma kamarasında sayılan ölü spermelerden 100 tanesinin fotoğrafı çekilmiştir. Elde edilen görüntüler TPS DIG adlı programa aktarılmıştır. Bu programda örnek olarak seçilen her bir ölü sperm boy ve eni μm cinsinden ölçülmüştür.

Verilerin Değerlendirilmesi

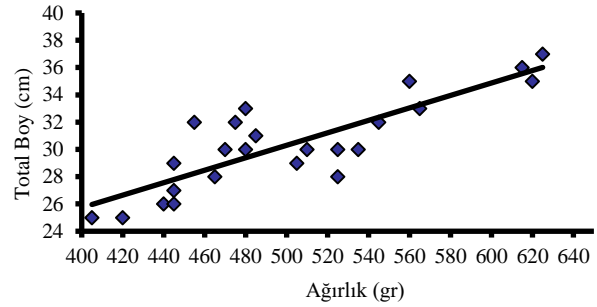
Çalışmalarda elde edilen verilerin tanımlayıcı istatistikleri yapılmıştır. Verilerin anlatımında bütün ortalamalar $\text{Ort} \pm \text{sd}$ olarak verilmiştir. Anaçların boy ağırlık ilişkileri regresyon analizi ile incelenmiştir. Hız ile ilgili verilerin varyanslarının homojenliği Levene testi ile normal dağılım ise Komogorov-Simironov testi kullanılarak incelenmiştir. Varyansların değişkenliği ve dağılımın anomalitesi tespit edilmiş, dataların değerlendirilmesinde Krusgal-Wallis testini takiben Mann-Whitney U testi kullanılmıştır. Anaç özellikleri ile hız, yoğunluk, muhafaza süresi, konsantrasyon arasındaki ilişkiler regresyon analizi kullanılarak sınanmıştır. Bununla birlikte hız, yoğunluk, muhafaza süresi, konsantrasyon verileri arasındaki ilişkilerin sınanmasında da aynı metod kullanılmıştır.

Bulgular

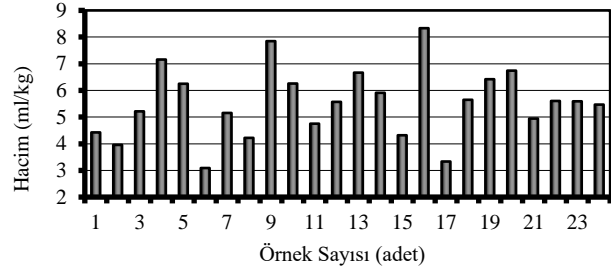
Meristik Karakterler

Denemelerde kullanılan balıkların ağırlıkları; 405-625 g (ort: $501,67 \pm 62,39$ g), boyları ise 25-37 cm (ort: $30,38 \pm 3,39$ cm) olarak tespit edilmiştir. Kullanılan deneklerin kondüsyon faktörü 1,31-2,69 (ort: $1,86 \pm 0,45$)'dur.

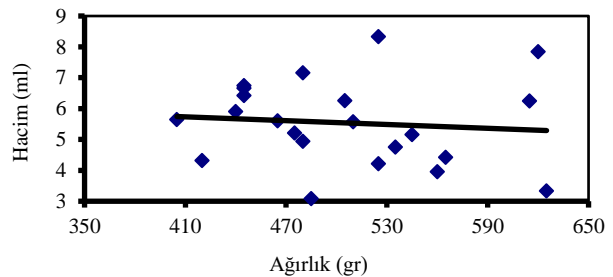
Kullanılan çipura balıklarının boy-ağırlık ilişkisi incelenmiş korelasyon katsayısı $r: 0,837$ olarak tespit edilmiş olup ilişki $y: 0,0457L + 7,4582$ olarak tanımlanmıştır. Deneklerin boy-ağırlık ilişkisinin pozitif allometri gösterdiği tespit edilmiştir (Şekil 1).



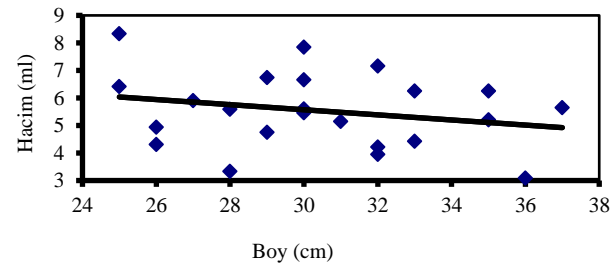
Şekil 1 Çipura anaçlarının boy ve ağırlık dağılımları
Figure 1 Length and weight distributions of gilthead sea bream broodstock



Şekil 2 Sperm hacmi
Figure 2 Sperm volume



Şekil 3 Sperm hacmi-balık ağırlığı ilişkisi
Figure 3 Sperm volume – fish weight relationship



Şekil 4 Sperm hacmi-balık boyu ilişkisi
Figure 4 Sperm volume – fish length relationship

Hacim

Elde edilen verilere göre en yüksek sperm hacmi 16 numaralı anaçtan (8,3 ml/kg), en düşük sperm hacmi ise 6 numaralı anaçtan (3,1 ml/kg) elde edilmiştir. Ortalama sperm hacmi $6 \pm 1,31 \text{ ml.kg}^{-1}$ dir (Şekil 2,3 ve 4).

Sperm hacmi-ağırlık arasındaki ilişki; $y: 0,0927V+8,3516$ korelasyon katsayısı $r:0,22$ 'dir ve oldukça zayıf bir ilişkinin varlığı saptanmıştır. Çipura balıkları için sperm hacmi-ağırlık arasında bir ilişki olmadığı tespit edilmiştir.

Sperm hacmi-boy arasında $y:-0,0021+6,5793$ şeklinde bir ilişki tespit edilmiş olup korelasyon katsayısı $r:0,30$ 'dur. Her iki karakterin sperm hacmi arasında negatif allometri saptanmıştır.

Konsantrasyon

Çalışmada elde edilen verilere göre çipura spermlerinde en yoğun konsantrasyon $5,35 \times 10^9$ spz.ml⁻¹ ile 2 numaralı denekte, en düşük sperm konsantrasyonu $0,16 \times 10^9$ spz.ml⁻¹ ile 24 numaralı denekte tespit edilmiştir.

Sperm konsantrasyonu-ağırlık ilişkisi $y: 1,7755C+2151,8$, korelasyon katsayısı ($r:0,09$)'dur. Sperm konsantrasyonu-boy arasındaki ilişki $y: 17,163+739,76$, korelasyon katsayısı $r:0,04$ 'dür. Sperm konsantrasyonu – hacim arasındaki ilişki $y: 0,0003+5,9559$ korelasyon katsayısı $r:0,30$ olarak saptanmıştır. Üç özellik arasında ilişki olmadığı tespit edilmiştir (Şekil 5,6,7 ve 8).

Hız

Çalışmada çipura spermlerinin hızı; hem metrik, hem de baş boyu uzunluğu cinsinden olmak üzere iki farklı şekilde hesaplanmıştır. Her denekten alınan sperm örneklerinin hızları 6 saatte bir ölçülmüştür. Bu sisteme göre en düşük ortalama hız 22 numaralı denekte $9,3 \pm 1,28$ başboy.sn⁻¹ ($55,2 \pm 7,58$ $\mu\text{m.sn}^{-1}$), en yüksek ortalama hız ise 11,5 $\pm 2,44$ başboy.sn⁻¹ ($67,9 \pm 14,46$ $\mu\text{m.sn}^{-1}$) olarak 20 numaralı denekte tespit edilmiştir.

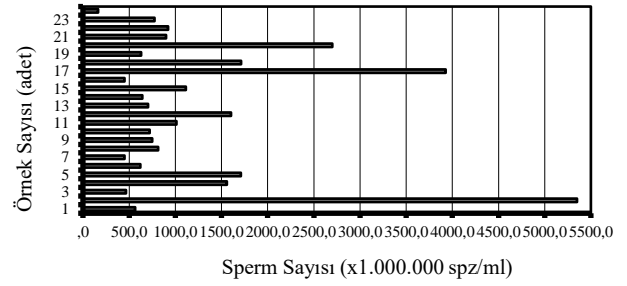
Çalışma süresince tüm denek ve zamanlarda baş boyuna endeksli en yüksek hız $35,5$ başboy.sn⁻¹ ($210,16$ $\mu\text{m.sn}^{-1}$), en düşük hız $2,6$ başboy.sn⁻¹ ($15,39$ $\mu\text{m.sn}^{-1}$) olarak saptanmıştır.

Sperm hızı ile ağırlık, boy, sperm hacmi ve sperm konsantrasyonu arasında ilişki; Sperm hızı-ağırlık ilişkisi $y: 0,0227x+18,012$ korelasyon katsayısı ($r:0,27$) tespit edilmiştir. Sperm hızı ile ağırlık, boy, sperm hacmi ve sperm konsantrasyonu arasında zayıf bir ilişki saptanmıştır.

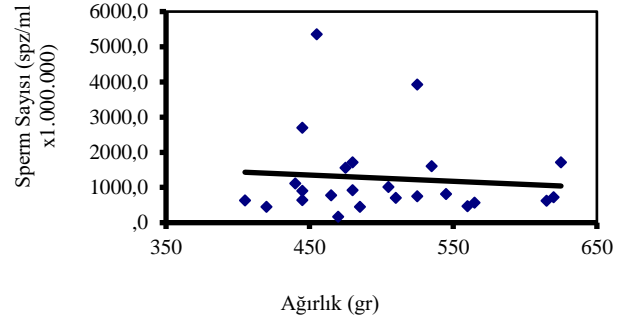
Sperm hızı-boy arasında ilişki $y: 0,8x+5,0894$ olarak saptanmıştır. Bununla birlikte yapılan incelemede sperm hızı-boy arasında korelasyon katsayısı ($r:0,52$) çok düşük bir değer bulunmuştur. Bunun sonucunda sperm hızı-boy arasında bir ilişki olmadığı saptanmıştır.

Benzer sonuçlar sperm hızı-sperm hacmi ($y: 5,0753x+357,63$, $r:0,41$) ve sperm hızı-sperm konsantrasyonu arasında ($y: 12,535x+1002,6$, $r:0,05$) tespit edilmiştir. (Şekil 13 ve 14). Elde edilen sonuçlara göre sperm hızının meristik karakterler, hacim ve konsantrasyon ile pozitif allometri gösterdiği saptanmıştır.

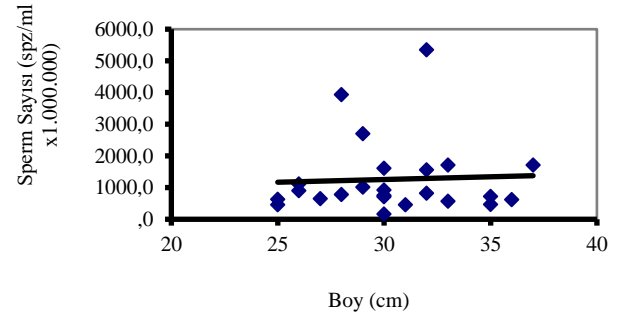
Spermlerin saatlere bağlı olarak hızları karşılaştırıldığında farklılık önemli bulunmuştur ($P<0,05$). 15 deneğin zamana bağlı hız değişimlerinde farklılık olmamasına rağmen 3. denek ile 1,2,9 ve 20. deneklerin arasında farklılıklar önemlidir ($P<0,05$). Bu deneklerin diğer deneklerle ilişkisi ayrı ayrı incelendiğinde ilişkinin önemsiz ($P>0,05$) olduğu saptanmıştır.



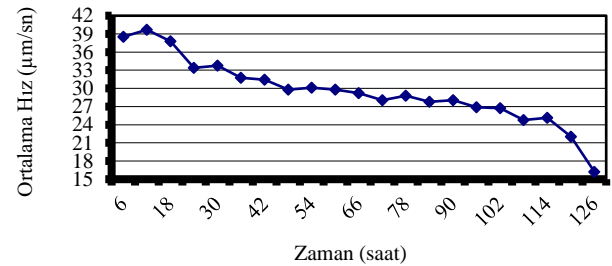
Şekil 5 Sperm konsantrasyonu
Figure 5 Sperm concentration



Şekil 6 Sperm konsantrasyonu – Ağırlık ilişkisi.
Figure 6 Sperm concentration – weight relationship



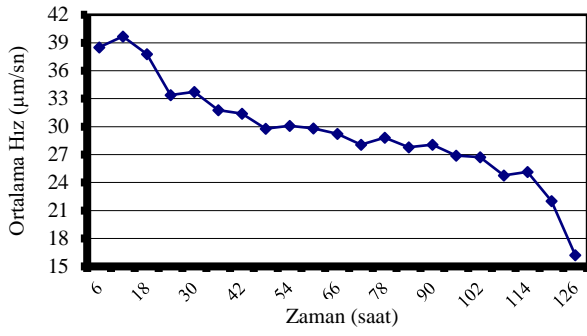
Şekil 7 Sperm konsantrasyonu – Boy ilişkisi.
Figure 7 Sperm concentration – length relationship



Şekil 8 Sperm konsantrasyonu – Hacim ilişkisi.
Figure 8 Sperm concentration – volume relationship

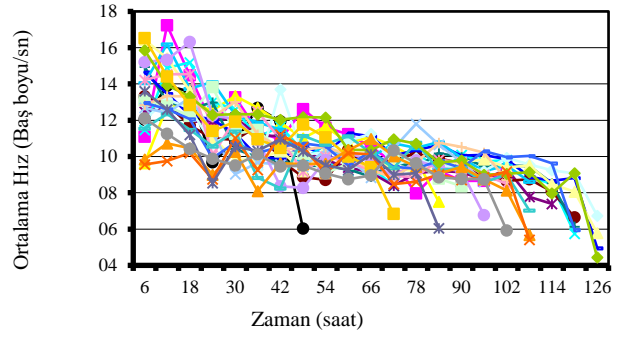
Aktivasyon Süresi

Çipura anaçlarından elde edilen spermlerin kısa süreli korunumu ile ilgili çalışma toplam 126 saat sürmüştür. İncelemenin sonunda anaç balıklardan alınan sperm örneklerinden bir tanesi 26-50 saat, bir tanesi 51-75 saat, beş tanesi 76-100 saat, 13 tanesi 101-125 saat ve 4 tanesi 126-150 saat arası hareketliliklerini sürdürmüştür. En düşük aktivasyon süresi 48, en yüksek aktivasyon süresi ise 126 saat (ort: $104,5 \pm 19,13$) olarak tespit edilmiştir.



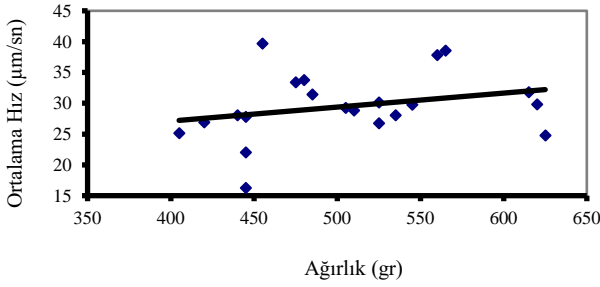
Şekil 9 Çipura spermelerinin hız dağılımı ($\mu\text{m}\cdot\text{sn}^{-1}$)

Figure 9 Velocity distribution of gilthead sea bream sperm ($\mu\text{m}\cdot\text{sn}^{-1}$)



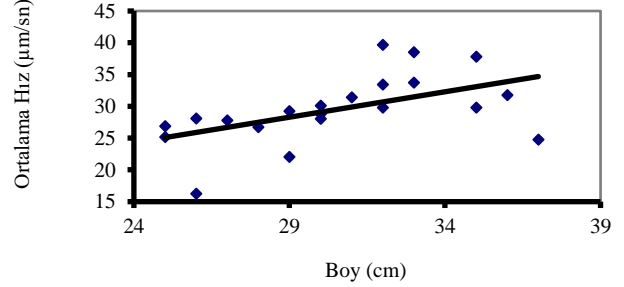
Şekil 10 Çipura spermelerinin hız dağılımı (başboy. sn^{-1})

Figure 10 Velocity distribution of gilthead sea bream sperm (headlength. sn^{-1})



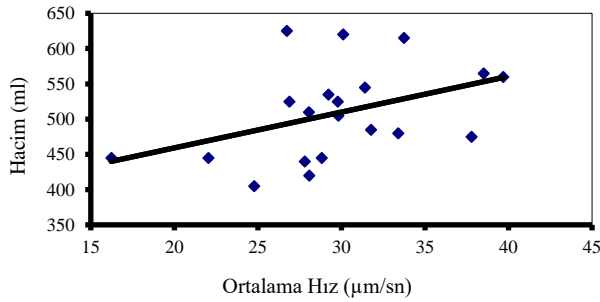
Şekil 11 Ortalama hız ($\mu\text{m}\cdot\text{sn}^{-1}$) – Ağırlık ilişkisi.

Figure 11 Average speed - weight relationship



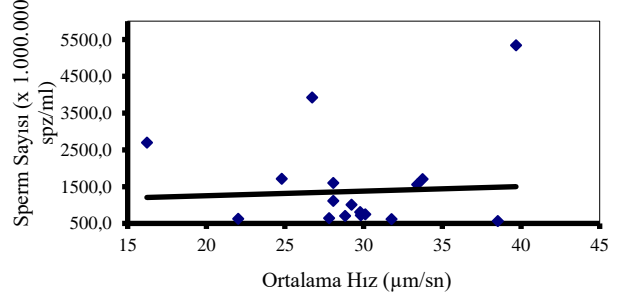
Şekil 12 Ortalama hız ($\mu\text{m}\cdot\text{sn}^{-1}$) – Boy ilişkisi

Figure 12 Average speed - length relationship



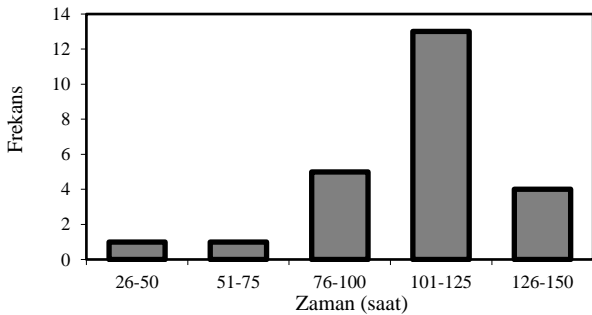
Şekil 13 Ortalama hız ($\mu\text{m}\cdot\text{sn}^{-1}$) – Hacim ilişkisi

Figure 13 Average speed - volume relationship



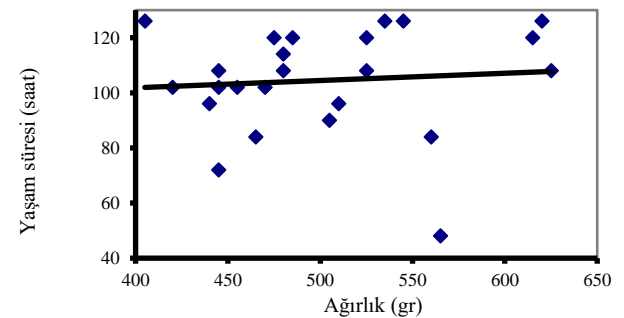
Şekil 14 Ortalama hız ($\mu\text{m}\cdot\text{sn}^{-1}$) – Konsantrasyon ilişkisi

Figure 14 Average speed - concentration relationship



Şekil 15 Sperm yaşama süresi

Figure 15 Long term period



Şekil 16 Yaşam Süresi – Ağırlık ilişkisi

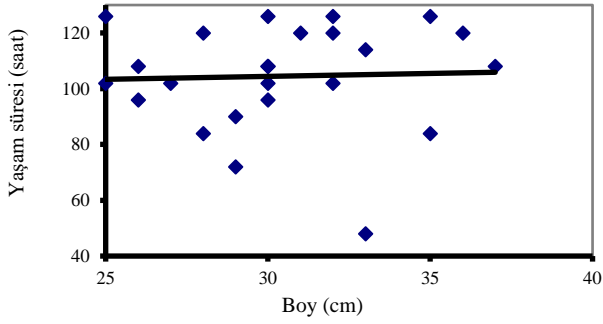
Figure 16 Long term period - weight relationship

Yaşam süresi-ağırlık arasında ilişki $y: 0,0264x+4791,277$, korelasyon katsayısı $r:0,08$ olarak tespit edilmiştir.

Yaşam süresi-boy arasındaki ilişki $y: 0,2105x+98,105$, korelasyon katsayısı ($r:0,03$) olarak elde edilmiştir. Yaşam süresi-meristik karakterler arasında pozitif zayıf

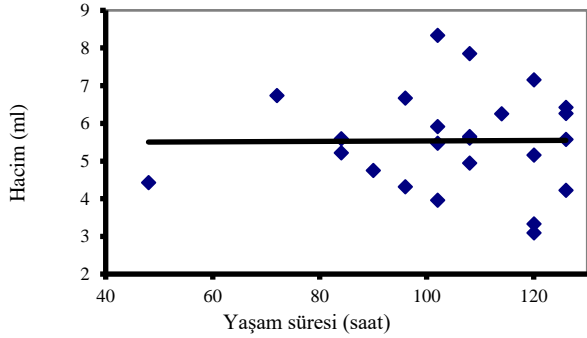
ilişki bulunmuştur.

Yaşam süresi-sperm hacmi arasında da benzer ilişki saptanmıştır. Buna göre iki özellik arasında ilişki $y: 0,0006x+5,4753$, korelasyon katsayısı ($r:0,01$) olarak saptanmış olup oldukça düşük bir değer olduğu görülmektedir.



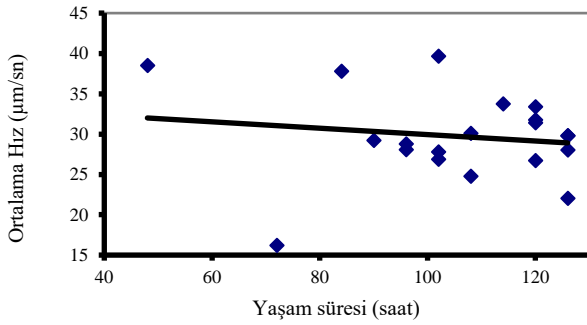
Şekil 17 Yaşam süresi – Boy ilişkisi

Figure 17 Long term period - length relationship



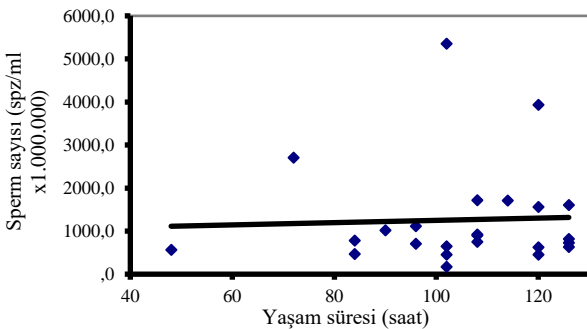
Şekil 18 Yaşam süresi – Sperm hacmi ilişkisi

Figure 18 Long term period – sperm volume relationship



Şekil 19 Yaşam süresi – Sperm hızı ilişkisi

Figure 19 Long term period – sperm speed relationship



Şekil 20 Yaşam süresi – Sperm konsantrasyonu ilişkisi

Figure 20 Long term period – sperm concentration relationship

Elde edilen verilere göre yaşam süresi-sperm hızı arasında ilişki $y:0,0396x+34,901$ korelasyon katsayısı; $r:0,14$ gibi çok zayıf gibi oldukça düşük bir değerdir. Bunun sonucu olarak yaşam süresi-sperm hızı arasında ilişki yoktur denilebilmektedir.

Yaşam süresi-sperm konsantrasyonu arasında ilişki $y:2,6293x+986,34$, korelasyon katsayısının çok zayıf olduğu tespit edilmiştir ($r:0,04$).

Tartışma ve Sonuç

Bu çalışmada ülkemizde deniz balığı yetiştiriciliği alanında üretimi başarıyla yapılan çipura (*Sparus aurata*) balığının sperm morfolojisi ve kısa süreli korunumu incelenmiştir. Ebeveynlerin meristik karakterleri, sperm hacimleri, sperm konsantrasyonu, sperm hızı, spermelerin muhafaza süreleri ve aralarındaki ilişkiler bu çalışmada ele alınan konulardır.

Tatlı su balıkları ile ilgili yapılan sperm çalışmaları deniz balıklarının sperm özelliklerinin belirlenmesinde araştırmacılara bir yol açmış ve bununla ilgili çalışmalar 2000'li yıllara bakıldığında giderek artmıştır. Levrek (*Dicentrarchus labrax*) balığı ile ilgili sperm çalışmalarında levrek sperm hacmi $2,1-5,3 \text{ ml.kg}^{-1}$ arasında değiştiği bildirilmiştir (Astuirano ve diğ., 2001). Başka bir çalışmada ise bu sayısının $1-2 \text{ ml.kg}^{-1}$ arasında olduğu belirtilmiştir (Felip ve ark., 2006). Yine sperm hacmi ile ilgili olarak alabalık (*Oncorhynchus mykiss*) de bu sayı $4,8-6, \text{ ml.kg}^{-1}$ (Geffen ve Evens, 2000) dir. Fangri (*Pagrus pagrus*) balığında $1,7-5,3 \text{ ml.kg}^{-1}$ (Mylonas ve diğ., 2003), kalkan (*Psetta maxima*) balığında ise $0,4-1,25 \text{ ml.kg}^{-1}$ (Chen ve ark., 2004) ve $2,2 \text{ ml.kg}^{-1}$ (Suquet ve ark., 2000) olarak tespit edilmiştir. Çipura (*Sparus aurata*) balığı sperm hacmi üzerine yapılmış olan çalışmalarda ise bu miktar $2,6-7 \text{ ml.kg}^{-1}$ olarak bildirilmiştir (Barbato ve ark., 2003). Çalışmada sperm hacmi $3,1-8,3 \text{ ml.kg}^{-1}$ olarak bulunmuştur. Alınan sonuçlarda değişim oranının diğer çalışmalarda da olduğu gibi yüksek olduğu gözlemlenmiştir. Elde edilen bu bulgular yapılan diğer çalışmalar ile paralellik göstermektedir.

Levrek balığı sperm konsantrasyonu $2,1-7,5 \times 10^9 \text{ spz.ml}^{-1}$ (Astuirano ve ark., 2001), $5-55 \times 10^9 \text{ spermatozoa/ml}$ (Felip ve ark., 2006) ve $50-60 \times 10^9 \text{ spz.ml}^{-1}$ (Fauvel ve ark., 1999) olarak üç farklı çalışmada ortaya konmuştur. Alabalıkta bu oran $11,7-17,25 \times 10^9 \text{ spz.ml}^{-1}$ (Babiak ve diğ., 2002), $48-114 \times 10^9 \text{ spz.ml}^{-1}$ (Cabrita ve diğ., 1998) ve $6-10 \times 10^9 \text{ spz.ml}^{-1}$ (Glogowski ve diğ., 2000) olarak değişmektedir. Mylonas ve diğ., (2003) fangri balığı spermeleri üzerine yaptıkları çalışmada sperm konsantrasyonu $8,6-23,7 \times 10^9 \text{ spz.ml}^{-1}$ bildirmiştir. Chereguini ve diğ., (1999) kalkan balığında $0,4-5,18 \times 10^9 \text{ spz.ml}^{-1}$, Fauvel ve diğ., (1992) $0,7-11 \times 10^9 \text{ spz.ml}^{-1}$ ve Suquet ve ark. (2000) $20-55 \times 10^9 \text{ spz.ml}^{-1}$ olarak konsantrasyonu tespit etmişlerdir. İki farklı araştırmacı çipura balığı için bu oranın $11,6-26,7 \times 10^9 \text{ spz.ml}^{-1}$ (Barbato ve ark., 2003) ve $5,5-17,5 \times 10^9 \text{ spz.ml}^{-1}$ (Cabrita ve ark., 2005) olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmada ise çipura sperm konsantrasyonunun ortalama $0,16-5,35 \times 10^9 \text{ spz.ml}^{-1}$ arasında olduğu tespit edilmiştir. Alınan sonuçlar konsantrasyonun diğer çalışmalara göre kısmen düşük olduğu saptanmıştır. Bu farklılığın; genetik faktörler, besleme, üretim periyodu uzunluğu ve yetiştiricilik koşullarından kaynaklı olabileceği düşünülmektedir.

Deniz levreği için Fauvel ve ark., (1999) baş boyunu $6,6-14,3 \mu\text{m}^2$ Lahnsteiner ve Patzner, (1998) sargos (*Diplodus sargus*) balığı sperm baş boyunu $9,4-10,2 \mu\text{m}^2$ Taddei ve ark. (2001) Sivriburun karagöz (*Diplodus puntazzo*) balığında $3-5 \mu\text{m}^2$, Dreanno ve ark. (1999)

kalkan balığında 15 μm^2 olarak tespit etmişlerdir. Çipura spermalarının baş boyu ile ilgili herhangi bir çalışma yapılmamıştır. Çalışmada çipura sperm baş boyu 5,9-6,4 μm^2 olarak tespit edilmiştir. Sonuçlar diğer *Sparidae* türlerinin baş boyu sonuçları ile benzerdir.

Yapılan çalışmalarda spermatozoa hızının aktivasyon süresiyle pozitif bir ilişki halinde olduğu görülmektedir. Yüzme hızı $<5 \mu\text{m}\cdot\text{sn}^{-1}$ olan spermatozoalar, (%) hareketsiz spermatozoa olarak, yüzme hızı $>20 \mu\text{m}\cdot\text{sn}^{-1}$ olan spermatozoalar, (%) hareketli spermatozoa olarak (Lahnsteiner, 2000). Günümüze kadar yapılan çalışmalarda tatlı su ve deniz balıklarının sperm hızları ile ilgili çok az bilimsel çalışma yapıldığı görülmektedir. Linhart ve ark., (2005) yayın balığında (*Silurus glanis*) sperm hızını $37-85 \mu\text{m}\cdot\text{sn}^{-1}$, Lahnsteiner ve Patzner (1998) İstavrit (*Trachurus mediterraneus*) balığında sperm hızını $119 \mu\text{m}\cdot\text{sn}^{-1}$, barbun (*Mullus barbatus*) balığında $161 \mu\text{m}\cdot\text{sn}^{-1}$, kopez (*Boops boops*) balığında $125 \mu\text{m}\cdot\text{sn}^{-1}$ ve sargos (*Diplodus sargus*) balığında $127 \mu\text{m}\cdot\text{sn}^{-1}$ olarak, Dreanno ve ark. (1999) kalkan balığında ise sperm hızını $160-230 \mu\text{m}\cdot\text{sn}^{-1}$ olarak saptamışlardır. Çipura sperm hızı ile ilgili çalışmalara göz atıldığında iki ayrı çalışma yapıldığı görülmektedir. Fabbrocini ve ark. (2015) çipura sperm hızını $250 - 350 \mu\text{m}\cdot\text{sn}^{-1}$, Zilli ve ark. (2008) $42,33 \pm 2,06 \mu\text{m}\cdot\text{sn}^{-1}$ olarak bulmuşlardır. Çalışmamızda çipura sperm hızı $15,39-210,16 \mu\text{m}\cdot\text{sn}^{-1}$ tespit edilmiştir.

Balık spermalarının kısa süreli stoklama sıcaklıkları $0-12^\circ\text{C}$ arasında değişiklik göstermektedir. Fakat yaygın olarak kullanılan stoklama sıcaklığı $0-4^\circ\text{C}$ arasındadır. Spermaların stoklama süreleri ise 1-21 gün arasında değişim göstermektedir. Büyükhatipoğlu ve Holtz (1978) alabalıklar üzerinde yapmış oldukları çalışmalarda 4°C 'de 21 gün alabalık spermalarının canlılıklarını sürdürdüğü bildirilmişlerdir. Scott ve Baynes (1980) $0-5^\circ\text{C}$ de 8 gün, $5-10^\circ\text{C}$ 'de 2-3 gün, 12°C 'de alabalık spermalarının bir günden daha az canlılıklarını sürdürdüğünü saptamışlardır. Canyurt ve ark. (2003) 4°C 'de 17 gün alabalık spermalarını canlı tutmuşlardır. Sazan balığı (*Cyprinus carpio*) spermaları $2-5^\circ\text{C}$ sıcaklıkta 2-3 gün muhafaza edilmiştir (Hulata ve Rothbard, 1979). Muhafaza süresi ile ilgili farklı türlerde de çalışmalar mevcuttur. Örneğin *Sarotherodon mossambicus* spermi 5°C sıcaklıkta 2-5 gün (Harvey ve ark., 1984), *Myxus gulis* 4°C stoklama sıcaklığında 7-8 gün (Sunitha ve Jayaprakas, 1997), *Labeo fimbriatus* 4°C 'de 1 gün (Akash, 2001), *Tor khudree* 4°C sıcaklıkta 4-5 gün muhafaza edildiği bildirilmiştir (Basavaraja ve Hegde, 2005). Levrekte ise bu $0-2^\circ\text{C}$ stoklama sıcaklığında 3-5 gün arasında muhafaza edildiği araştırmacılar tarafından belirtilmiştir (Sansone ve ark., 2002). Çipura balığı spermaları $0-2^\circ\text{C}$ 'de yaşam sürelerinin 4-6 gün olduğu Barbato ve diğ., (2003) tarafından bildirilmektedir. Çalışmada 0°C sıcaklıkta 126 saat çipura spermalarının yaşadıkları tespit edilmiştir. Çalışmamızda elde ettiğimiz veriler Barbato ve ark., (2003) yapmış olduğu çalışmayla benzerlik göstermektedir.

Ebeveyn ağırlığı ve boyu ile sperm hacimleri, sperm konsantrasyonu, sperm hızı, spermaların muhafaza süreleri arasında ilişki olmadığı tespit edilmiştir. Aynı zamanda sperm hacimleri, sperm konsantrasyonu, sperm hızı ve

spermaların muhafaza süreleri arasındaki ilişki incelenmiş fakat anlamlı bir ilişki bulunamamıştır. Kullanılan ebeveynler aynı yetiştiricilik ortamından, aynı üretim ve besleme koşullarından temin edilmiştir. Bütün damızlıkların orijini yetiştiricilik kökenli olup +1 yaşındadır. Buna rağmen ebeveynler ile belirtilen özellikler arasında ilişki kurulamaması bu özelliklerin genetik koşullar ile ilişkili olduğu sonucunu ortaya koymuştur.

Bu çalışmadan elde edilen diğer bir sonuç ise çipura spermalarının 0°C de 126 saat hiç bir sulandırıcı eklenmeden kısa süreli saklanabileceğidir. Bu sonuç göz önüne alınarak özellikle ilk 24 saat üreme biyolojisi-çevre ilişkilerinin sınanmasında bu metodun kullanılmasının mümkün olduğu sonucunu ortaya koymuştur. Bununla birlikte sperma kalitesi ile ilgili çalışmalarda kalite kriterlerinin sınanmasında bu metodun kullanılabilceği de tespit edilmiştir.

Kaynaklar

- Akash N. 2001. Preservation of gametes and fertilization methodology in fringe-lipped carp, (*Labeo fimbriatus* B.). MFSc thesis, University of Agricultural Sciences, Bangalore, India, p: 54.
- Asturiano JF, Sorbera LA, Carrillo M, Zanuy S, Ramos J, Navarro JC, Bromage N. 2001. Reproductive performance in male European sea bass *Dicentrarchus labrax*, L./fed two PUFA-enriched experimental diets: a comparison with males fed a wet diet. *Aquaculture* 194: 173–190.
- Babiak I, Flegowski J, Dobosz S, Kuzmimski H, Goryczko K. 2002. Semen from rainbow trout produced using cryopreserved spermatozoa is more suitable for cryopreservation. *Journal of Fish Biology*, 60: 561–570.
- Barbato F, Canese S, Moretti F, Misiti S, Laconi F, Rana K. 2003. Preliminary experiences for cryopreservation of *Sparus aurata* and *Diplodus puntazzo* semen. *Technology of Aquaculture in the Mediterranean*, p: 281-287.
- Basavaraja N, Hedge SN. 2005. Cryopreservation of the endangered mahseer (*Tor khudree*) spermatozoa: Effect of extender composition, cryopreservation, cryoprotectant, dilution ratio and storage period on post thaw viability.
- Büyükhatipoğlu S, Holtz W. 1978. Preservation of trout sperm in liquid and frozen state *Aquaculture*, 14: 49-56.
- Cabrera E, Alvarez R, Anel L, Rana KJ, Herraiz MP. 1998. Sublethal damage during cryopreservation of rainbow trout sperm. *Cryobiology*, 37: 245–253.
- Cabrera E, Robles V, Rebordinos L, Sarasquate C, Herraiz MP. 2005. Evaluation of DNA damage in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and gilthead sea bream (*Sparus aurata*) cryopreserved sperm. *Cryobiology*, 50: 144-153.
- Chen, S. Ji, X. Yu, G. Tian, Y. Sha, Z. 2004. Cryopreservation of sperm from turbot (*Scophthalmus maximus*) and application to large- scale fertilization. *Aquaculture*, 236, 547-556.
- Canyurt MA, Akhan S, Takma Ç. 2003. Gökkuşluğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss* W.) spermalarının kısa süre saklanması üzerine bir çalışma. *E.U. Journal of Fisheries & Aquatic Sciences*, Cilt/Volume 20, Sayı/Issue (3-4): 537 – 542.
- Chereguini O, Garcı'a de la Banda I, Rasines I, Fernandez A. 1999. Artificial fertilization in turbot, (*Scophthalmus maximus* L.): different methods and determination of the optimal sperm-egg ratio. *Aquaculture Research*, 30: 319–324.
- Dreanno C, Cosson J, Suquet M, Seguin F, Dorange G, Billard R. 1999. Nucleotide content, oxydative phosphorylation, morphology, and fertilizing capacity of turbot (*Psetta maxima*) spermatozoa during the motility period. *Molecular Reproduction And Development*, 53: 230-243.

- Fabbrocini A, D'Adamo R, Pelosi S, Oliveira LFJ, Del Prete F, Silvestri F, Vitiello V, Sansone G. 2015. Sperm motility evaluation following long-term storage (5 years) of cryopreserved sea bream (*Sparus aurata* L., 1758) semen. *J. Appl. Ichthyol*, 31 (Suppl. 1) (2015), 104–107.
- Fauvel C, Omnes MH, Suquet M, Normant Y. 1992. Reliable assessment of overripening in turbot (*Scophthalmus maximus*) by a simple pH measurement. *Aquaculture*, 117, 107-113.
- Fauvel C, Suquet M, Dreanno C, Zonno V, Menu B. 1999. Cryopreservation of the sea bass (*Dicentrarchus labrax*) spermatozoa in experimental and production simulating conditions. *Aquat. Living Resour*, 11: 387-394.
- Felip A, Zanuy S, Carrillo M. 2006. Comparative analysis of growth performance and sperm motility between precocious and non-precocious males in the European sea bass. (*Dicentrarchus labrax* L.) *Aquaculture*, Volume: 256 Issues: 1-4 Pages: 570-578.
- Geffen AJ, Evans JP. 2000. Sperm traits and fertilization success of male and sex-reversed female rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 182: 61-72.
- Glogowski J, Kwasnik M, Piros B, Dabrowski K, Goryczko K, Dobosz S, Kuzminski H, Ciereszko A. 2000. Characterization of rainbow trout milt collected with a catheter: semen parameters and cryopreservation success. *Aquaculture, Research* 31: 289-296.
- Harvey B, Kelley RN, Ashwood-Smith MJ. 1984. Cryopreservation of zebra fish spermatozoa using methanol. *Can J*, 2001 1984; 60: 1867-1870.
- Hulata G, Rothbard S. 1979. Cold storage of carp semen for short periods. *Aquaculture*, 16: 267-269.
- Lahnsteiner F, Patzner RA. 1998. Sperm motility of the marine teleosts *Boops boops*, *Diplodus sargus*, *Mullus barbatus* and *Trachurus mediterraneus*. *Journal of Fish Biology*, 52: 726-742.
- Lahnsteiner F. 2000. Semen cryopreservation in the salmonidae and in the Northern pike. *Aquaculture Research*, 31: 245-258.
- 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. *Aquaculture*, 235: 619–632.
- Mylonas C, Papadaki M, Divanach P. 2003. Seasonal changes in sperm production and quality in the red porgy (*Pagrus pagrus* L.). *Aquaculture Research*, 34: 1161-1170.
- Rolende. 2004. State of Aquaculture On The West Coast. Annual Report.
- Sansone G, Fabbrocini A, Leropoli 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.
- Scott AP, Baynes SM. 1980. A review of the biology, handling and the storage of salmonid spermatozoa. *Journal of Fish Biology*, 17: 707-739.
- Sunitha MS, Jayaprakas V. 1997. Influence of pH, temperature, salinity and media on activation of motility and short-term preservation of spermatozoa of an estuarine fish, *Mystus gulio*. *Indian Journal of Marine Sciences*, 26: 361-365.
- Suquet M, Dreanno C, Fauvel C, Cosson J, Billard R. 2000. Cryopreservation of sperm in marine fish. *Aquaculture Research*, 31: 231-243.
- Taddei AR, Barbato F, Abelli L, Canese S, Moretti F, Rana J, Fausto AM, Mazini M. 200. Is cryopreservation a homogeneous process? Ultrastructure and motility of untreated, prefreezing, and postthawed spermatozoa of (*Diplodus puntazzo* C.). *Cryobiology*, 42: 244-255.
- TÜİK. Türkiye İstatistik Kurumu Su Ürünleri İstatistikleri. 2017. http://www.tuik.gov.tr/PreTablo.do?alt_id=1005.
- Zilli L, Schiavone R, Storelli C, Vilella S, 2008. Molecular Mechanisms Determining Sperm Motility Initiation in Two Sparids (*Sparus aurata* and *Lithognathus mormyrus*). *Biology of Reproduction*, Volume 79, Issue 2, 1 August 2008, Pages 356–366, <https://doi.org/10.1095/biolreprod.108.068296>.