

Balık Gametlerinin Moleküler ve Hücresel Özellikleri, Kalite Kriterleri ve Ölçüm Teknikleri

Kenan KÖPRÜCÜ

Fırat Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi, 23119 Elazığ, Türkiye
kkoprucu@firat.edu.tr

(Geliş/Received: 30.03.2017; Kabul/Accepted: 11.09.2017)

Özet

Erkek ve dişi balıkların gamet kalitesi yavru balık üretiminde çok önemli bir rol oynamaktadır. Üretimde kaliteli gametlerin kullanılması başarı oranını ve verimliliği arttırmaktadır. Balıklarda gamet (yumurta ve sperma) kalitesini belirlemede kullanılan bir çok kriter mevcuttur. Biyolojik olarak gamet kalitesi, spermin dölleyebilme kapasitesi veya yumurtanın döllenebilme ve normal bir embriyoya dönüşebilme yeteneğidir. Bu derlemede, balık gametlerinin moleküler ve hücresel özellikleri, kalite kriterleri ve bunların ölçüm metotları ele alınmıştır.

Anahtar Kelimeler: Balık, Gamet, Kalite, Moleküler-Hücresel Özellikler, Ölçüm Teknikleri.

Molecular and Cellular Properties of Fish Gametes, Quality Criteria and Measurement Techniques

Abstract

The gamete quality of male and female fish plays a very important role in juvenile fish production. The use of quality gametes in production increases the success rate and productivity. There are many criteria use in determine the gamet (egg and sperm) quality in fish. Biologically, the gamete quality is sperm fertilization capacity or egg fertilization and the ability to transform into a normal embryo. In this review, molecular and cellular properties of fish gametes, quality criteria and their measurement methods are discussed.

Keywords: Fish, Gamet, Quality, Molecular-Cellular Properties, Measurement Techniques.

1. Giriş

Su ürünleri üretiminde erkek ve dişi gametlerin kalitesi birinci derecede rol oynamaktadır. Doğal ortamda veya kültür şartlarında bulunan balıkların gamet kalitesi biyotik ve abiyotik birçok faktör tarafından etkilenmektedir. Bu nedenle, yavru balık üretiminde gamet kalitesi giderek artan bir ilgiyle izlenmekte, yumurta, sperma ve larva kalitesi üzerinde etkili olan faktörler araştırılmaktadır [1-7]. Biyolojik olarak gametin kalitesi; spermin dölleyebilme veya yumurtanın döllenebilme ve normal bir embriyoya dönüşebilme yeteneği olarak tanımlanabilir. Bununla birlikte gamet kalitesi; çekirdek transferi veya androenez gibi gametlerin kullanımına bağlı olarak, yapılan uygulamalardaki özel biyoteknik farklılıklarla da açıklanabilir [8, 9]. Balıklarda gamet (yumurta ve sperma) kalitesini miktar olarak değerlendirmek için kullanılan bir çok kriter

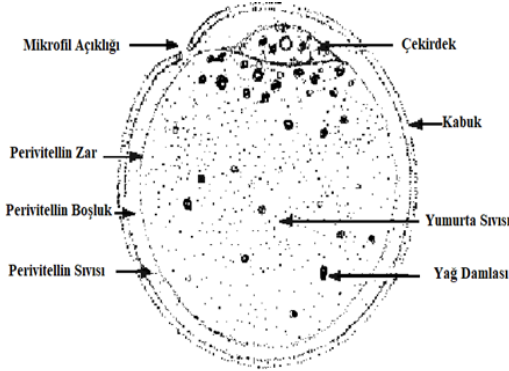
mevcut olup, bunlardan bazıları tür veya uygulama özelliğidir. Bu derlemede, balık gametlerinin moleküler ve hücresel özellikleri, gamet kalite kriterleri ve bunların ölçüm teknikleri araştırılmıştır.

2. Balık Gametlerinin Moleküler ve Hücresel Özellikleri

2.1. Yumurta

Dişi balığın gameti veya döllenen yumurtası, ikinci mayotik bölünmenin metafazında yer alan ve oogenetik sürecin son ürünü olan sabit bir ovositir (Şekil 1). Oogenetik boyunca ovaryum ile birlikte meydana gelir. Balıklarda yumurtanın koordineli birleşimi bazı türlerde yıllarca sürebilir. Bu nedenle oogenetik süreçte meydana gelen birleşim, sentez ve yumurta bileşenleri; döllendiğinde normal bir embriyoya dönüşecek kaliteli bir ovositin oluşmasında anahtar rol oynamaktadır [10, 11].

Bu özelliklerin yanı sıra yumurta sarısı proteinleri ve ovosit (döllenen yumurta), maternal mRNA, protein, vitamin ve hormonlar (cinsiyet steroidleri, kortizol ve tiroid hormonları vs.) gibi birçok bileşeni içerir. [12, 13]. Maternal olarak aktarılan mRNA'lar ve proteinler oogenetik boyunca ovositte birleşirler [14]. Zigotik transkripsiyonun başlangıcı “maternal embriyo değişimi” esnasında meydana gelir. Diğer omurgalılarda olduğu gibi balıklarda da “maternal embriyo değişimi” orta-blastula safhasında meydana geldiğinden dolayı bu durum “orta blastula değişimi” adıyla da anılır [15].



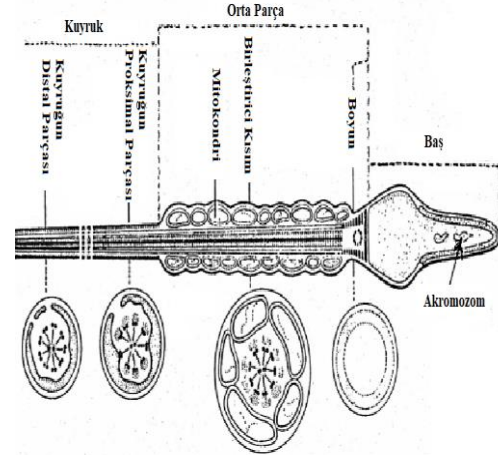
Şekil 1. Gökkuşluğu alabalığı'na ait olgun bir yumurtanın yapısı [10].

Yapılan moleküler analizlerde, farklı kalitedeki balık yumurtalarının bazı maternal mRNA miktarlarının farklılık gösterdiği belirlenmiştir [16, 17]. Bu nedenle yumurtalarda bulunan maternal mRNA'ların yapısı ve miktarı, oositin tam gelişimi için önemlidir. Aynı şekilde, özel maternal mRNA'ların oosit içerisinde bulunduğu yer embriyonun ön ve arka eksenlerinin tanımı için önemlidir [18]. Bu moleküller balıklarda yumurta kalitesini düzenleyici role sahiptirler. Gökkuşluğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) yumurtasında ovulasyon sonrası yaşlandırma sürecinde, çekirdek plazmasının mRNA seviyelerinde hızlı bir düşüşle birlikte yumurta kalitesinin de düştüğü tespit edilmiştir [16]. Bu durum, çekirdek plazma mRNA'sının plazmanın nükleer yapılılaşmasında ve embriyonik gelişimde önemli bir role sahip olduğunu göstermektedir [19]. Ayrıca, gökkuşluğu alabalığının farklı kalitedeki yumurtalarının prohibitin 2 mRNA miktarları arasında da

farklılıklar olduğu belirlenmiştir [17]. Prohibitin 2 mRNA koruyucu bir protein olup, hücresel fonksiyonlar için gereklidir [19]. Balık ovositi maternal mRNA'ların yanısıra, oogenesis sürecinde sentezlenen proteinleri de içermektedir. Zebra (*Danio rerio*) ve Çipura (*Sparus aurata*) balıklarında gelişen ovositin protein düzeyleri tespit edilmiştir [21]. Bununla birlikte, yumurta kalitesini düzenleyen bu proteinlerle ilgili çalışmalar yoğunlaştırılmalıdır.

2.2. Sperm

Spermium adı verilen erkek germ hücresi (Şekil 2); baş kısmı, orta parça ve kuyruk olmak üzere üç bölümden oluşan ve canlı iken çok hareketli olan bir cisimcikdir [22, 23].



Şekil 2. Gökkuşluğu alabalığı'na ait olgun bir spermium'un bölümleri ve kesitlerin şematik görünüşü [22].

2.2.1. Baş

Karşıdan bakıldığında oval, yandan bakıldığında armut biçimindedir. Boyanmış preparatlarda ise başın arka kısmı nüve boyaları ile çok koyu olarak boyanır. Çünkü bu kısımda çok miktarda DNA bulunmaktadır. Başın bu kısmı, spermium epitelinde olgunlaşırken ortaya çıkan enzimleri taşıdığı için fertilizasyonda önemli rol oynamaktadır [22].

2.2.2. Orta parça

Boyun ve birleştirici kısım olmak üzere iki bölümden oluşmuştur. Boyun çok kısadır ve baş

plağı (Moduli anteriores) ile ara kitle (Massa intermedia)'den oluşur. Boyun bir oynak görevi yaptığından dolayı baş bölümü spermiumun geri kalan kısımlarına karşı hareket yeteneği kazanmaktadır. Birleştirici kısımda; enine disk (Discus transversalis), son halka, eksen ipliği, spiral iplik ve sitoplasmik kılıf bulunmaktadır. Enine disk, ara kitlenin (Massa intermedia) hemen altında bir plaktan yapılmıştır. Son halka (dip çemberi veya kapatıcı halka) arka sentriolden oluşan bir plaktır. Eksen ipliği, enine diskten başlayarak kuyrukta da devam eden bir lifçikten oluşur. Spiral iplik, eksen ipliğinin etrafında bulunan ince plasmatik kılıfı saran ve mitokondriyelerden yapılmış olan 8-9 kıvrımlı bir ipliktir. Sitoplasmik kılıf ise en dışta bulunan ince bir zardır [22, 23].

2.2.3. Kuyruk

Spermium'un en ince ve uzun olan kısmıdır. Uzun olan bir esas parça (Pars principalis) ve kısa bir son parçadan (Pars terminalis) oluşmuştur. Bütün kuyruk boyunca eksen iplikçiği uzanır. Kuyruk, yılan gibi hareketler ile spermiumun ileriye doğru hareket etmesini sağlar. Spermium bir hücre olarak incelendiğinde; başın nüveye (DNA), bütün diğer kısımların da hücre gövdesine uyduğu görülür. Genleri içermesi nedeniyle fekondasyon esnasında asıl önemli rolü oynayan baştır. Enine disk ise sadece bir motor durumundadır. Bu plağın sağlam olması spermiumun hareket edebilmesi için şarttır. Kuyruk, geminin pervanesi gibi sadece hareketi sağlayan bir kısımdır. Baş bulunmayan bir spermium, eğer enine plağı sağlam ise hareket edebilir. Burdan anlaşılacağı gibi hareket yeteneği ile dölleme yeteneği farklı olaydır. Bir spermiumun yaşama süresi, içinde bulunduğu ortamın pH'ına bağlıdır. Spermiumlar asit ortamlarda hareket niteliklerini çok çabuk kaybederek ölürlere [22, 23].

2.2.4. Sperm zarının özellikleri

Sperm hücresinin plazma zarı, çekirdeği sıkı bir biçimde örter ve çekirdek ile plazma zarı arasında sadece ince bir sitoplasmik katman kalır. Salmonidae ailesinde akrozomu çevreleyen plazma çeperi kuyruk boyunca uzanan burgulu

yüzgece benzeyen yanal uzunluklara sahiptir [23]. Sperm hücresinin zarı hareket aktivitesinde önemli bir rol oynar. İyonik değişimlerin hissedilmesi, spermilerin suya salınma başlangıcı bu çeper üzerinden yapılır. Deniz alabalığında (*Cynoscion nebulosus*) sperm hareketliliği konusu; progesterin reseptörleri ve balık sperm plazma çeperindeki bir çok iyonik kanalın varlığıyla açıklanmıştır [24]. Gökkuşluğu alabalığı spermının baş kısmında bulunan monosialodihexosylgangliosid (GM3) sperm yumurtaya bağlanmasında rol oynamaktadır. Baş bölgesinde bulunan karakterize edilmemiş proteinler de dölleme işleminde etkilidir [25].

Biyofiziksel düzeyde çeper yağları çeperin akışkanlığını belirler. Bununla birlikte proteinler ve yağlar genel olarak su ve iyon geçirgenliğine katkı sağlamaktadır. Gökkuşluğu alabalığı sperm plazmasının çeperinde yer alan yağlarla ilgili detaylı çalışmalar yapılmıştır: Fosfolipitlerdeki molar kolesterol oranı %0,4-0,6 arasında seyretmektedir. Bu fosfolipid grupları arasında, dış yaprakçıkta bulunan fosfatidil ve kolin, toplam fosfatidilin %50'sini oluşturmaktadır. Buna ilaveten, iç yapraklarda bulunan fosfatidil serin %10, fosfatidil etanolamin ise %30'luk bir oranı kapsamaktadır. Çoklu doymamış yağ asitlerinden dokosaheksaenoik asit (22:6n-3)'de yüksek oranda (toplam yağ asitlerinin %10'undan fazla) bulunmaktadır. Doymamış yağ asitlerinin doymuş yağ asitlerine oranı (1,30) oldukça yüksektir [26, 27].

2.2.5. Çekirdek

Sperm çekirdeğinin yapısı balık türlerine göre önemli derecede farklılık gösterir. Birçok çekirdek, değişim göstererek aksonim'in dayanak noktası olmasını sağlar. Sonuç olarak, çekirdeğin şekli, başa bağlı olan kamçının gücünü belirler. Gökkuşluğu alabalığı [28] ve somon türlerinde ince ve uzun bir şekle sahip olan çekirdekte invaginasyon oranı çekirdek uzunluğunun 1/3'ü kadardır. Diğer türlerde ise bu oran çekirdek boyunun 2/3'üne kadar çıkar. Barbun (*Mullus barbatus*), çopra (*Misgurnus anguillicaudatus*) ve havuz (*Carassius auratus*) balıklarında çekirdekteki invaginasyon oranı çok küçüktür [29].

Ayrıca balık spermindeki çekirdek proteinleri de türlere göre farklılık

göstermektedir. Örneğin; turna (*Esox lucius*)'nın sperm çekirdeği protamin içerirken, sazan (*Cyprinus carpio*), çupra (*Sparus aurata*) ve tekir (*Mullus surmuletus*) balıklarının sperm çekirdekleri sadece histonları içerir [30]. Bununla birlikte, gökkuşağı alabalığı sperminin çekirdeği hem protaminleri hem de histonları içerir. Çekirdek protein tiplerinin kromatin yoğunluğunu artırmaktadır. Kromatin yoğunluğu, DNA'nın kimyasal ve mekanik hasarlara karşı güçlenmesini sağlamaktadır. DNA stabilitesinde gözlemlenen değişimler, kromatin yapılarındaki farklılıklara bağlanabilir [31].

2.2.6. Sperm hareketini sağlayan mekanizmalar

Salmonlarda, testislerdeki sperm hareketli değildir. Sperm kanallarından aşağıya doğru inen sperm bu sırada hareket kabiliyeti kazanır. Bu olgunlaşma pH değerinin yükselmesi ile meydana gelmektedir [32]. Bu durum ise hücre içi AMPc'nin artmasını sağlamaktadır. Bu husus, diğer türlerde gerektiği kadar araştırılmamıştır. Ancak, genellikle pH'ın 8 veya üzerindeki bir değerde olması durumu, testislerdeki spermin tampon bölgede harekete geçmesini sağlamaktadır [33]. Olgun sperm serbest bırakıldığında, hücre dışı iyon değişimleri hareketliliği tetikler [34]. Birçok türde, spermler plazma ile su arasındaki osmotik basınç, sperm hareketliliğini tetikleyen ana unsurdur. Buna ilaveten salmonlarda hücre dışı K⁺ değerinin düşüşü sperm hareketliliğini sağlamaktadır [35]. Ringa balığında (*Clupea palasii*) belirlendiği üzere, bazı yumurta faktörleri de sperm hareketliliği üzerinde etkilidir [36]. Sperm hareketinin başlaması ile iyon değişimi arasındaki bağlantıyı moleküler olaylar sağlamaktadır. Bu değişim, özellikle Cyprinidae ve Salmonidae familyasına ait balıklarda araştırılmıştır. Yine aksonim düzeyinde, hareketlilik başlangıcı ile AMPc artışı arasındaki bağlantı Salmonlarda detaylı bir biçimde incelenmiştir. Bu tip bağlantı aktörleri henüz kısmi olarak incelenmiş olup, karmaşık bir fosforilasyon-defosforilasyon sıralamasını içinde barındırmaktadır. Salmonidae familyasına ait balıklarda protein fosforilasyonu proteasomlar tarafından düzenlenmektedir [37, 38].

3. Balık Yumurtası Kalite Kriterleri

Yavru balık üretiminde temel amaç yüksek kalitede ve sayıda yumurta ve dolayısıyla larva elde etmektir. Yumurta özellikleri olarak tanımlanan yumurta kalite parametreleri; uygun şartlar altında yumurtanın döllenebilmesi, embriyonal gelişim ve larva yaşama oranı üzerinde belirleyici rol oynamaktadır [2, 39]. Kültürü yapılmakta olan veya yapılmaya çalışılan birçok balık türü için kaliteli ve yüksek sayıda yumurta üretimi çok önemli bir problemdir. Levrek (*Dicentrarchus labrax*), kalkan (*Psetta maxima*), çipura ve birçok yassı balık yumurtaları oldukça düşük bir yaşama oranına (genellikle %5'den az) sahiptir. Salmonların yumurta ve larvaları yüksek kalitede olmakla birlikte, kuluçkalanan yumurtaların 2/3'si bozulabilir, çıkan larvaların ve ilk birkaç ay içerisinde yavru balıkların önemli bir kısmı kaybedilebilir [2].

Balıklarda yumurtanın dölleme yeteneği gamet kalitesinin anahtar unsurlarından biridir. Bazı türlerde dölleme oranlarını kaydetmek kolaydır. Bu durum kalkan, morina (*Gadus morua*) ve sarıkuyruklu dil balığı (*Limanda ferruginea*) gibi şeffaf yumurtalı balık türleri için geçerlidir. Bunun aksine, mat yumurtalı balık türleri için oldukça zordur. Geçmişte "dölleme oranı" tabirini kullanan birçok çalışma, çok sonraki aşamalarda görülen canlı embriyo durumunu tasvir etmiştir. Bu nedenle dölleme oranı, erken gelişim dönemi için iyi bir kriterdir. Fakat türlere bağlı olarak bunun gözlemlenmesi zordur. Ayrıca birçok deniz balığında görüldüğü üzere ileriki gelişim durumları için, dölleme başarısı çok belirleyici bir unsur değildir [40]. Döllemeden sonra, embriyo hücreleri bölünmeye başlar. İlk embriyo hücrelerinin şekli ve anormal hücre bölünmelerinin meydana gelmesi şeffaf yumurtalı balıkların kalitesini gösteren bir kriterdir. Turbot (*Scophthalmus maximus*) balıklarında blastomer şekli, sonraki aşamalarda görülen gelişimsel başarıyla yakından ilişkilidir [41]. Atlantik morinası (*Limanda ferruginea*)'nda anormal klivaja uğrayan embriyoların yaşam süresinin normal embriyolarınkinden daha kısa olduğunu belirlenmiştir. Bununla birlikte, normal veya anormal yumurtaların yaşama oranları ve kuluçka başarıları arasında önemli bir farklılık bulunmamıştır. Bu durum, anormal klivaj

görünümünün embriyonik süreci etkilemediğini göstermektedir. Sarıkuyruklu dil balığında anormal klivaj erken embriyo ölümleriyle sonuçlanır [42].

Turbot [3] ve mercan (*Pagrus major*) [43] gibi pelajik balık yumurtaları için dölleme başarısı önemli bir kalite kriteridir. Gökkuşuğu alabalığında, yumurtanın döllenenmesinden sonraki ilk 12 saatte veya embriyonal gelişimin 7. gününde sonra oluşan ölü veya gelişmeyen yumurtaların tespit edilmesiyle fertilizasyon oranı belirlenebilir. Diğer bir ifadeyle, yumurtanın dölleme ve gözlenme oranları arasındaki korelasyon belirlenerek kalite kontrolü yapılabilir [44]. Genellikle yumurta kalitesi, gözlenmiş yumurta oranı ile ifade edilir [45]. Fakat, deniz balıklarının yumurta kalitesini belirlemeye yönelik olarak kullanılan metotlar üzerine ortak bir görüş bulunmamaktadır. Deniz balıklarının yumurta kalitesi, genellikle yumurtaların deniz suyunda yüzmesine veya batmasına göre belirlenip, düşük veya iyi kaliteli olarak sınıflandırılırlar. Balık yumurtasının şekli, şeffaflığı, korion görünüşü ve yağ damlacıklarının dağılımı gibi birçok faktör yumurta kalitesiyle ilgilidir. Bununla birlikte, deniz salmonlarında yumurtanın döllenebilme oranı onun kalitesini göstermektedir. Yassı deniz balıklarının morfolojik karakterleri de kaliteyle ilgilidir [46]. Ayrıca, fekundite veya yumurta sayısının yanısıra yumurta büyüklüğü de yumurta kalitesinin belirlenmesinde kullanılan önemli kriterlerdir [47].

4. Balık Spermisi Kalite Kriterleri

Genel olarak, sperm yumurtayı dölleyebilme kapasitesi sperm kalitesini gösterir. Sperm sıvısındaki hücrelerin sayısı ve hareketliliği sperm dölleyebilme kapasitesini etkileyen en önemli unsurlardır. Bununla birlikte, sperm kalitesini tanımlamada kullanılan en yaygın kriter sperm hareketliliğidir. Diğer kriter parametreleri; sperm hücresinin gücü, hızı ve ileri doğru aktif hareket edebilme yeteneğidir. Ayrıca, sperm dölleme kapasitesiyle doğrudan ilişkili olan; sperm sıvısının başta pH'sı olmak üzere kimyasal yapısı, osmotik ve morfolojik yapıları, adozin trifosfat konsantrasyonu, enzimatik aktiviteler ve diğer bazı özellikler sperm

kalitesini ifade etmede kullanılmaktadır [1, 48-53]. Çevresel faktörlerdeki farklılıklara bağlı olarak, damızlık balık spermalarının dölleme kapasiteleri de değişmektedir. Bu nedenle, damızlık balıklarda sperm kalitesinin tam olarak tanımlanabilmesi oldukça güçtür [52].

4.1. Sperm kalitesinin belirlenmesi

Balıklarda sperm kalitesinin tespiti, yapay döllemede verimliliği artırabilmek için gereklidir. Balık kuluçkahanelerinde üretimin garanti altına alınabilmesi için, yumurtayı dölleme işleminde kullanılan sperm kalitesi hızlı ve güvenilir şekilde tespit edilmelidir. Bu amaçla “subjektif”, “yarı sayısal” ve “bilgisayar kontrollü sperm analiz (CASA: Computer-Assisted Sperm Analysis)” metotları kullanılmaktadır [49-57].

4.1.1. Subjektif metot

Bu metodun temelini hareketli sperm hücrelerinin yüzdesi ve bu hareketliliğin genel durumuna ait özellikler oluşturmaktadır. Subjektif metotta; 0-5 rakamları arasında değişen bir derecelendirme yöntemi kullanılmaktadır. Sınıflandırmada kullanılan sıfır değeri hiçbir hareketliliğin gözlenmediğini, bir değeri %20, iki değeri %40, üç değeri %60 ve dört değeri %80'e varan bir hareketlilik olduğunu, beş değeri ise tüm hücrelerin hareketli olduğunu göstermektedir. Bu amaçla, yaklaşık bir damla sperm kapiller pipet yardımıyla lam üzerine alınır, üzerine lamel kapatılmaksızın mikroskop altında (x400) kitle hareketi incelenir. Muayene kısa sürede yapılmalı ve gerektiğinde tekrarlanmalıdır. Bununla birlikte, araştırmacının tecrübesine ve laboratuvar şartlarına bağlı olarak bu tekniğin farklı sonuçlar verebilme ihtimali mevcuttur [53, 54].

4.1.2. Yarı sayısal metot

Balıklarda sperm hareketlilik oranının belirlenmesinde; subjektifliğin üstesinden gelebilmek, ölçüm hassasiyetini ve analiz yönteminin inandırıcılığını artırabilmek, analizi standardize edebilmek amacıyla çok sayıda uygulama yapılmış ve birçok teknik geliştirilmiştir. Yarı-sayısal metot bu amaçla

kullanılmakta olup, sperm hareketliliğinin kaydedildiği video görüntülerinin iki veya daha fazla gözlemci tarafından incelenmesi esasına dayanmaktadır. Sperma hareketinin kaydedildiği video yavaşlatılmış şekilde sürekli ileri ve geri sarılarak incelenmektedir. Bu teknikte, bulunduğu yerde titreşen veya kendi eksenini etrafında dönen spermlerin hareketsiz, sadece ileriye doğru hareket edebilen spermlerin ise hareketli olduğu kabul edilir [55]. İlk önce hareketli spermler sayılır. Bu işlemden önce ekran üzerine ızgara şeklinde çizgiler çizilerek, spermin gerçekten hareketli olup olmadığı kolayca anlaşılabilir. Tüm spermanın %50'sinin hareketli olduğu andan %95'inin hareketi bıraktığı ana kadar geçen süre kronometre ile ölçülerek toplam hareketlilik süresi belirlenmektedir. Subjektif metoda göre bu yöntem daha yüksek bir doğruluk yüzdesine sahiptir. Bununla birlikte sperma hareketliliğinin belirlenmesi ve hızının ölçülmesi gözlemi yapan araştırmacının deneyimine bağlı olup, bu durum zaman kaybına neden olabilmektedir [50, 53].

4.1.3. Bilgisayar destekli sperm analiz metodu

Bu metot, görüntüleme yazılımı olan bir bilgisayar kullanılarak fotomikrografi ve videomikrografi tekniklerinin uygulanmasıyla sperma hareketliliğinin ölçülmesi esasına dayanır. Sistem temel olarak, mikroskop üzerine monte edilmiş olan ve monitöre sinyal gönderen bir CCD sensörlü kamera, kayıt cihazı ve görüntüleme yazılımı olan bir bilgisayardan oluşmaktadır. Sperma hareketliliği videoya kaydedilip daha sonra analiz edilmektedir [56, 57]. Sperma hareketliliğini ölçmede, yörünge boyunca süren eğik hız (EH) veya hareketliliğin başlama ve bitiş noktaları arasındaki doğrusal hız (DH) bir kriter olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır. Yörüngeyi doğrusal bir hat oluşturması durumunda EH ve DH birbirine eşittir. Bununla birlikte, DH/EH oranı spermanın hareketlilik oranı ve kalitesi hakkında bilgi vermektedir. Kemikli balıklarda, sperm sıvısıyla birlikte ortama salınan sperm hücreleri doğrusal veya hafif eğik bir yörünge çizerek hareket ederler. Bilgisayar destekli sperm analiz metoduna göre sperm sayısı belirlenirken, kullanılan en önemli iki parametre hareketli

sperm hücrelerinin oranı ve hareketlilik miktarıdır [49, 53].

5. Embriyo Yaşama Oranı ve Şekil Bozukluğu

Embriyonik aşamada embriyonun hayatta kalması, başarılı bir biçimde gelişen spermin dölleme ve yumurtanın dölleme yeteneğini karakterize eden en yaygın dönemdir. Bu devrede hayatta kalma durumu birçok balık türünde görülen gözlenme, kuluçka ve besin kesesi emilimi gibi özel aşamalarda değerlendirilebilir. Bu parametre embriyonal gelişim süreçlerinin izlenebilmesi için önemlidir. Embriyonik şekil bozuklukları da döllemiş yumurtaların gelişimini değerlendirebilmek için kullanılmaktadır [10].

6. Sonuçlar

Yavru balık üretiminde balık gametlerinin moleküler ve hücresel özelliklerinin ve kalitesinin bilinmesi büyük önem taşımaktadır. Kaliteli yumurta ve spermin üretimde kullanılması başarı oranını ve verimliliği artırır. Bununla birlikte spermin dölleme ve yumurtanın döllemesi işleminden önce bu gametlerin kalitesini net olarak belirlemek güçtür. Bunun için spermin dölleme ve yumurtanın dölleme gücünün biyolojik olarak test edilmesi, elde edilen embriyo ve larvaların morfolojik gelişimlerinin ve yaşama oranlarının izlenmesi gerekmektedir.

7. Kaynaklar

1. Munkittrick, R.K., Moccia, D.R. (1987). Seasonal changes in the quality of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) semen: effect of a delay in stripping on spermatocrit, motility, volume and seminal plasma constituents. *Aquaculture*, **64(2)**: 147-156.
2. Bromage, N.R., Jones, J., Randall, C., Thrush, M., Davies, B., Springate, J.R.C., Duston, J., Barker, G. (1992). Broodstock management, fecundity, egg quality and the timing of egg production in the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, **100**: 141-166.
3. Kjörsvik, E., Hoehne-Reitan, K., Reitan, K.I. (2003). Egg and larval quality criteria as predictive measures for juvenile production in turbot (*Scophthalmus maximus*, L.). *Aquaculture*, **227**: 9-20.

4. Aegerter, S., Jalabert, B. (2004). Effects of post-ovulatory oocyte ageing and temperature on egg quality and on the occurrence of triploid fry in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture*, **231**: 59-71.
5. Palace, V.P., Werner, J. (2006). Vitamins A and E in the maternal diet influence egg quality and early life stage development in fish: a review. *Scientia Marina*, **70**: 41-57.
6. Mansour, N., Lahnsteiner, F., Patzer, R.A. (2007). Distribution of lipid droplets is an indicator of egg quality in brown trout, *Salmo trutta fario*. *Aquaculture*, **273**: 744-747.
7. Crespel, A., Rime, H., Fraboulet, E., Bobe, J., Fauvel, C. (2008). Egg quality in domesticated and wild seabass (*Dicentrarchus labrax*): a proteomic analysis. *Cybiurn*, **32**: 205.
8. Brooks, S., Tyler, C.R., Sumpter, J.P. (1997). Egg quality in fish: what makes a good egg? *Revi. Fish Biol. Fish.*, **7**: 387-416.
9. Bobe, J., Labbe, C. (2010). Egg and sperm quality in fish. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **165**(3): 535-548.
10. Tata, J.R. (1986). Coordinated assembly of the developing egg. *Bioessays*, **4**: 197-201.
11. Bonnet, E., Fostier, A., Bobe, J. (2007). Characterization of rainbow trout egg quality: a case study using four different breeding protocols, with emphasis on the incidence of embryonic malformations. *Theriogenology*, **67**: 786-794.
12. Feist, G., Schreck, C.B., Fitzpatrick, M.S., Redding, J.M. (1990). Sex steroid profiles of coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) during early development and sexual differentiation. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **80**: 299-313.
13. Hwang, P.P., Wu, S.M., Lin, J.H., Wu, L.S. (1992). Cortisol content of eggs and larvae of teleosts. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **86**: 189-196.
14. Pelegri, F. (2003). Maternal factors in zebrafish development. *Dev. Dyn.*, **228**: 535-554.
15. Kane, D.A., Kimmel, C.B. (1993). The zebrafish midblastula transition. *Development*, **119**: 447-456.
16. Aegerter, S., Jalabert, B., Bobe, J. (2005). Large scale real-time PCR analysis of mRNA abundance in rainbow trout eggs in relationship with egg quality and postovulatory ageing. *Mol. Reprod. Dev.*, **72**: 377-385.
17. Bonnet, E., Fostier, A., Bobe, J. (2007). Microarray-based analysis of fish egg quality after natural or controlled ovulation. *BMC Genomics*, **8**: 55.
18. Howley, C., Ho, R.K. (2000). MRNA localization patterns in zebrafish oocytes. *Mech. Dev.*, **92**: 305-309.
19. Burns, K.H., Viveiros, M.M., Ren, Y., Wang, P., DeMayo, F.J., Frail, D.E., Eppig, J.J., Matzuk, M.M. (2003). Roles of NPM2 in chromatin and nucleolar organization in oocytes and embryos. *Science*, **300**: 633-636.
20. Mishra, S., Murphy, L.C., Murphy, L.J. (2006). The prohibitins: emerging roles in diverse functions. *J. Cell Mol. Med.*, **10**: 353-363.
21. Knoll-Gellida, A., Andre, M., Gattegno, T., Forgue, J., Admon, A., Babin, P.J. (2006). Molecular phenotype of zebrafish ovarian follicle by serial analysis of gene expression and proteomic profiling, and comparison with the transcriptomes of other animals. *BMC Genomics* **7**: 46.
22. Kayalı, H., Satiroglu, G., Tasyürekli, M. (1992). The effects of fluctuating seasonal and constant water temperatures on the photoperiodic advancement of reproduction in female rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture*, **205**: 193-204.
23. Lahnsteiner, F., Patzner, R.A. (2008). Sperm morphology and ultrastructure in fish. In: Alavi, S.M.H., Cosson, J.J., Coward, K., Rafiee, G. (Eds.), *Fish Spermatology*, Alpha Science International Ltd., Oxford, pp. 2-61.
24. Tubbs, C., Thomas, P. (2008). Functional characteristics of membrane progesterin receptor alpha (mPRalpha) subtypes: a review with new data showing mPRalpha expression in sea trout sperm and its association with sperm motility. *Steroids*, **73**(9-10): 935-41.
25. Beck, J.C., Fulcher, K.D., Beck, C.F., Cloud, J.G. [1992]. Sperm surface antigen required for fertility: identification on spermatozoa of rainbow trout by use of monoclonal antibodies. *Trans. Am. Fish. Soc.*, **121**: 333-339.
26. Pustowka, C., McNiven, M.A., Richardson, G.F., Lall, S.P. (2000). Source of dietary lipid affects sperm plasma membrane integrity and fertility in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum) after cryopreservation. *Aquacult. Res.*, **31**: 297-305.
27. Muller, K., Muller, P., Pincemy, G., Kurz, A., Labbe, C. (2008). Characterization of sperm plasma membrane properties after cholesterol modification: consequences for cryopreservation of rainbow trout spermatozoa. *Biol. Reprod.*, **78**: 390-399.
28. Billard, R. (1983). Ultrastructure of trout spermatozoa: changes after dilution and deepfreezing. *Cell Tissue Res.*, **228**: 205-218.
29. Ohta, T., Kato, K.H., Abe, T., Takeuchi, T. (1993). Sperm morphology and distribution of intramembranous particles in the sperm heads of selected freshwater teleosts. *Tissue Cell*, **25**: 725-735.
30. Saperas, N., Lloris, D., Chiva, M. (1993). Sporadic appearance of histonesn histonelike proteins, and protamines in sperm chromatin of bony fish. *J. Exp. Zool.*, **265**: 575-586.
31. Christensen, M.E., Rattner, J.B., Dixon, G.H. (1984). Hyperacetylation of histone H4 promotes chromatin decondensation prior to histone replacement by protamines during spermatogenesis in rainbow trout. *Nucleic Acids Res.*, **12**: 4575-4592.

32. Morisawa, S., Morisawa, M. (1988). Induction of potential for sperm motility by bicarbonate and pH in rainbow trout and chum salmon. *J. Exp. Biol.*, **136**: 13-22.
33. Morisawa, S., Ishida, K., Okuno, M., Morisawa, M. (1993). Roles of pH and cyclic adenosine monophosphate in the acquisition of potential for sperm motility during migration from the sea to the river in chum salmon. *Mol. Reprod. Dev.*, **34**: 420-426.
34. Morisawa, M. (1994). Cell signaling mechanisms for sperm motility. *Zoolog. Sci.*, **11**: 647-662.
35. Morisawa, M., Suzuki, K. (1980). Osmolality and potassium ion: their roles in initiation of sperm motility in teleosts. *Science*, **210**: 1145-1147.
36. Oda, S., Igarashi, Y., Manaka, K., Koibuchi, N., Sakai Sawada, M., Sakai, K., Morisawa, M., Ohtake, H., Shimizu, N. (1998). Sperm-activating proteins obtained from the herring eggs are homologous to trypsin inhibitors and synthesized in follicle cells. *Dev. Biol.*, **204**: 55-63.
37. Inaba, K., Morisawa, S., Morisawa, M. (1998). Proteasomes regulate the motility of salmonid fish sperm through modulation of cAMP-dependent phosphorylation of an outer arm dynein light chain. *J. Cell Sci.*, **111**: 1105-1115.
38. Inaba, K. (2008). Molecular mechanisms of the activation of flagellar motility in sperm. In: Alavi, S.M.H., Cosson, J.J., Coward, K., Rafiee, G. (Eds.), *Fish spermatology*, Alpha Science International Ltd., Oxford, pp. 267-279.
39. Okumuş, İ. (2003). Rainbow trout broodstock management and seed production in Turkey: Present practices, constraints and the future. *Turkish J. Fisheries and Aquatic Sciences*, **2**: 41-56.
40. Shields, R.J., Brown, N.P., Bromage, N.R. (1997). Blastomere morphology as a predictive measure of fish egg viability. *Aquaculture*, **155**: 1-12.
41. Kjørsvik, E., Hoehne-Reitan, K., Reitan, K.I. (2003). Egg and larval quality criteria as predictive measures for juvenile production in turbot (*Scophthalmus maximus* L.). *Aquaculture*, **227**: 9-20.
42. Avery, T.S., Brown, J.A. (2005). Investigating the relationship among abnormal patterns of cell cleavage, egg mortality and early larval condition in *Limanda ferruginea*. *Journal of Fish Biology*, **67**: 890-896.
43. Sakai, K., Nomura, M., Takashima, F. (1985). Characteristics of naturally spawned eggs of red sea bream. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish*, **51**: 1395-1399.
44. Springate, J.R.C., Bromage, N.R., Elliott, J.A.K., Hudson, D.L. (1984). The timing of ovulation and stripping and their effects on the rates of fertilization and survival to eying, hatch and swim-up in the rainbow trout (*Salmo gairdneri*, R.). *Aquaculture*, **43**: 313-322.
45. Bromage, N.R., Bruce, M., Basavaraja, N., Rana, K., Shields, R., Young, C., Dye, J., Smith, P., Gillespie, M., Gamble, J. (1994). Egg quality determinants in finfish: the role of overripening with special reference to the timing of stripping in the Atlantic halibut *Hippoglossus hippoglossus*. *J. World Aquacult. Soc.*, **25**: 13-21.
46. Kjørsvik, E., Mangor-Jensen, A., Homefjord, I. (1990). Egg quality in marine fishes. *Adv. Marine Biol.*, **26**: 71-113.
47. Bromage, N.R., Roberts, R.J. (1994). Broodstock Management and Egg and Larval Quality. Wiley-Blackwell, 436 p.
48. Köprücü, K., Gür, S. (1999). Gökkuşluğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*, W.)'nın sperma ve yumurta kalitesinin dölverimi üzerine etkisi. *Hayvancılık Araştırma Dergisi*, **9 (1-2)**: 81-86.
49. Rurangwa, E., Volckaert, F.A., Huyskens, G., Kime, D.E., Ollevier, F. (2001). Quality control of refrigerated and cryopreserved semen using computer-assisted sperm analysis (CASA), viable staining and standardized fertilization in African catfish (*Clarias gariepinus*). *Theriogenology*, **55**: 751-769.
50. Rurangwa, E., Kime, D.E., Ollevier, F., Nash, J.P. (2004). The measurement of sperm motility and factors affecting sperm quality in cultured fish. *Aquaculture*, **234**: 1-28.
51. Aydın, İ. (2011). Kültür balıklarında sperm kalitesi: Kalite parametrelerinin ölçümü ve kaliteyi etkileyen faktörler. *Yunus Araştırma Bülteni*, **1**: 8-13.
52. Cosson, J., Linhart, O., Mims, S.D., Shelton, W.L., Rodina, M. (2000). Analysis of motility parameters from paddlefish and shovelnose sturgeon spermatozoa. *Journal of Fish Biology*, **56**: 1348-1367.
53. Yavuz, H. (2013). Balıklarda sperm ve yumurta kalitesini değerlendirme kriterleri. *Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi Dergisi*, **9(2)**: 22-36.
54. Viveiros, A.T.M., Jatzkowski, A., Komen, J. (2003). Effects of oxytocin on semen release response in African catfish (*Clarias gariepinus*). *Theriogenology*, **59**: 1905-1917.
55. Aas, G.H., Refstie, T., Gjerde, B. (1991). Evaluation of milt quality of Atlantic salmon. *Aquaculture*, **95**: 125-132.
56. Boyer, S.P., Davis, R.O., Katz, D.F. (1989). Automated semen analysis. Current problems in obstetrics. *Gynecol. Fertil.* **12**: 165-200.
57. Fauvel, C., Suquet, M., Cosson, J. (2010). Evaluation of fish sperm quality. *Journal of Applied Ichthyology*, **2(5)**: 636-643.