

**T.C.**  
**ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**GÖKKUŞAĞI ALABALIĞI (*Oncorhynchus mykiss*)**  
**YUMURTALARINA FARKLI SÜRELERDE**  
**UYGULANAN ISI ŞOKUNUN TRİPLOİD**  
**OLUŞUMA VE YAŞAMA ORANINA ETKİSİ**

**Osman Nezh KENANOĞLU**

**Su Ürünleri Anabilim Dalı**

Tezin Sunulduğu Tarih: **28/06/2012**

**Tez Danışmanı:**

**Doç. Dr. Sebahattin ERGÜN**

**ÇANAKKALE**

## YÜKSEK LİSANS TEZİ SINAV SONUÇ FORMU

OSMAN NEZİH KENANOĞLU tarafından DOÇ. DR. SEBAHATTİN ERGÜN yönetiminde hazırlanan “GÖKKUŞAĞI ALABALIĞI (*Oncorhynchus mykiss*) YUMURTALARINA FARKLI SÜRELERDE UYGULANAN ISI ŞOKUNUN TRİPLOİD OLUŞUMA VE YAŞAMA ORANINA ETKİSİ” başlıklı tez tarafımızdan okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Doç.Dr. Sebahattin ERGÜN

Danışman

Yrd.Doç.Dr. Hanife GENÇ

Jüri Üyesi

Yrd.Doç.Dr. Neslihan DEMİR

Jüri Üyesi

Sıra No :

Tez Savunma Tarihi: 28/06/2012

Prof. Dr. İsmet KAYA

Müdür

Fen Bilimleri Enstitüsü

Hazırlanan bu Yüksek Lisans tezi Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu Tarafından 2010/146 no’lu proje ile desteklenmiştir.

## İNTİHAL (AŞIRMA) BEYAN SAYFASI

**Bu tezde görsel, işitsel ve yazılı biçimde sunulan tüm bilgi ve sonuçların akademik ve etik kurallara uyularak tarafımdan elde edildiğini, tez içinde yer alan ancak bu çalışmaya özgü olmayan tüm sonuç ve bilgileri tezde kaynak göstererek belirttiğimi beyan ederim.**

Osman Nezih KENANOĞLU

## TEŞEKKÜR

Bu tezin gerçekleŐtirilmesinde, çalıŐmam boyunca benden yardımlarını hiç eksik etmeyen saygı değer danışman hocalarım Doç. Dr. Sebahattin ERGÜN ve Doç. Dr. Cüneyt AKI 'ya, hayatımın her evresinde maddi ve manevi desteğini gördüğüm değerli ailem; Mehmet Akif KENANOğLU, Birsen KENANOğLU ve Burcu Begüm KENANOğLU 'na sonsuz teŐekkürlerimi sunarım. ÇalıŐmamda gerek bilgi gerekse de kaynak yardımlarından dolayı ArŐ. Gör. Sevdan YILMAZ ve Yrd. Doç. Dr. Hasan KAYA'ya, ayrıca laboratuvar çalıŐmalarımındaki yardımlarından dolayı, ArŐ. Gör. Nihan AKINCI, Yüksek Lisans Öęrencisi Nergiz SOYTAŐ, Fatih TAPAN, Aykut DOğAN, Sonay ATMACA' ya ve bana her zaman destek olan arkadaşlarım Mustafa KARGA, Osman KESBİÇ, ArŐ. Gör. Ümit ACAR, ArŐ. Gör. Özlem KIPRAK, ArŐ. Gör. Selin ERTÜRK ve Ahmet SEPİL 'e teŐekkürlerimi borç bilirim.

Osman Nezih KENANOğLU

## SİMGELER VE KISALTMALAR

FAO	: Gıda ve Tarım Örgütü
TÜİK	: Türkiye İstatistik Kurumu
GFCM	: Akdeniz Genel Balıkçılık Konseyi
NASCO	: Kuzey Atlantik Salmon Koruma Örgütü
ICES	: Uluslararası Deniz Araştırma Konseyi
AB	: Avrupa Birliği
%	: Yüzde
L.Lat.	: Yanal çizgideki pul sayısı
°C	: Santigrat derece
ml	: Mililitre
L	: Litre
mg	: Miligram
g	: Gram
kg	: Kilogram
µm	: Mikrometre
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
2n	: Diploid kromozom sayısı
3x	: Triploid kromozom sayısı
4x	: Tetraploid kromozom sayısı
5x	: Pentaploid kromozom sayısı
M	: Metasentrik
SM	: Submetasentrik
T	: Telosentrik
ST	: Subtelosentrik
A	: Akrosentrik
NF	: Kromozom kol sayısı
β	: Beta

$\gamma$	: Gama
$\alpha$	: Alfa
cm	: Santimetre
ppm	: Milyonda bir
rpm	: Dakika başına dönüş
dk.	: Dakika
E.T.K.K.	: Evciler Tarımsal Kalkınma Kooperatifi
$N_2O$	: Diazot Monoksit
NaCl	: Sodyum Klorür
KCl	: Potasyum Klorür
$C_{22}H_{25}NO_6$	: Kolşisin
$CaCO_3$	: Kalsiyum karbonat
UV	: Ultraviyole
GH	: Büyüme Hormonu
DS	: Dölllenme sonrası
US	: Uygulama süresi
YO	: Yaşama oranı
TO	: Triploid oran
TV	: Triploid verim
Mp	: Megapixel
pci	: İnç kareye pound cinsinden uygulanan basınç
H-NS	: Histon Benzeri Protein
X ve Y	: Gonozom kromozomlar
HGE	: Hücre Geniş Eksen
ÇGE	: Çekirdek Geniş Eksen
HDE	: Hücre Dar Eksen
ÇDE	: Çekirdek Dar Eksen
mS	: Milisiemens
PBS	: Sorenson fosfat tampon çözeltisi

## ÖZET

### **GÖKKUŞAĞI ALABALIĞI (*Oncorhynchus mykiss*) YUMURTALARINA FARKLI SÜRELERDE UYGULANAN ISI ŞOKUNUN TRİPLOİD OLUŞUMA VE YAŞAMA ORANINA ETKİSİ**

Osman Nezih KENANOĞLU

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Su Ürünleri Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Doç. Dr. Sebahattin ERGÜN

28/06/2012, 58

Bu çalışmada, yeni döllenmiş olan gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) yumurtalarına farklı sürelerde uygulanan ısı şokunun, yüzde triploidiye ve yaşama oranlarına etkisi araştırılmıştır. Araştırmada sağım yoluyla elde edilen *O. mykiss* yumurtalarına, döllendikten 10 dk. sonra, 26 °C’de 5, 10, 15 ve 20 dk. olmak üzere farklı sürelerde ısı şoku uygulanmış ve yumurtalar bu sürelerle göre deneme gruplarına ayrılmıştır. Kontrol ve deneme gruplarının klasik inkübasyon şartlarında kuluçkaya alınmasından itibaren 60 gün süreyle yaşama oranları tespit edilmiştir. Embriyonik dönemdeki gözlü larvalardan yapılan kromozom analizleri sonucu; diploid  $2n=56$  ve triploid  $3x=84$  adet kromozom tespit edilmiştir. Ayrıca deneme gruplarındaki triploid yüzdeyi belirleyebilmek için, kandan yayma yöntemiyle preparatlar hazırlanmış ve eritrosit ölçümleri yapılarak sonuçlar değerlendirilmiştir. 5, 10, 15 ve 20 dakikalık ısı şoklamaları sonucu triploid yüzdeler sırasıyla, %10, %40, %90 ve %95 olarak tespit edilmiş; 10, 15 ve 20 dk. ısı şoku uygulanan gruplardaki triploid bireylerin eritrosit hücre ve çekirdeklerinde, geniş eksen uzunlukları kontrole göre istatistiksel açıdan önemli farklılıklar göstermiştir ( $p<0,05$ ). Ayrıca gruplara göre yaşama oranları, kontrol grubundan itibaren artan ısı şoku sürelerine göre sırasıyla, %81,46, %75,55, %71,25, %66,01 ve %55,76 olarak belirlenmiştir.

Araştırmamızda 26 °C’de 15 ve 20 dk. sürelerde termal şok uygulanan *O. mykiss* yumurtalarında %90 ve %95 triploid oluşum belirlenmiştir. Yaşama oranlarını göz önünde bulundurduğumuzda, en iyi triploid verim %59 ile 15 dakikalık ısı şoku sonucu elde edilmiştir. Ayrıca eritrosit hücre ve çekirdek ölçümlerinin sonucunda, geniş eksen

ölçümleri triploid bireyleri açığa çıkartmıştır.

**Anahtar sözcükler:** Gökkuşığı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*), Isı şoku, Triploid, Eritrosit ölçümü, Kromozom analizi.



## ABSTRACT

### EFFECT OF HEAT SHOCK APPLIED IN DIFFERENT PERIOD ON TRIPLOID FORMATION AND VIABILITY RATE IN RAINBOW TROUT (*Oncorhynchus mykiss*) EGGS

Osman Nezh KENANOĞLU

Çanakkale Onsekiz Mart University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Advisor: Assoc. Prof. Dr. Sebahattin ERGÜN

28/06/2012, 58

In this study, effects to triploid percentage and survival ratio of thermal shock that applied to recently impregnated eggs of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) at different periods have been investigated. Application process realized 10 minutes later after the fertilization, thermal shock have been performed to *O. mykiss* eggs that getting by use of stripping for different time periods at 26°C for 5, 10, 15 and 20 minutes and eggs were separated to experimental groups with regard to these time periods. Survival ratio at the classical incubation situations, have been established throughout 60 days in control and experimental groups. Chromosome analysis results of eyed periods larvae of thermal shocked eggs were detected as diploid  $2n=56$  and triploid  $3x=84$ . In addition, blood preparation were prepared with thin smear method and results of erythrocyte measurements were determined for creation of triploid percentage. As the result of 5, 10, 15, 20 min time periods thermal shocks, triploid percentages of experimental groups were detected as %10, %40, %90 ve %95 respectively. In the wide axis length of erythrocyte, cell and nucleus of 10, 15, 20 min thermal shocked groups, there were no statistically significant differences obtained according to control groups ( $p<0,05$ ). In addition, survival ratio according to groups beginning from control groups according to thermal shock periods were appeared as %81,46, %75,55, %71,25, %66,01 and %55,76 respectively.

In our study, *O. mykiss* eggs that thermal shocked at 26 °C for 15 and 20 minutes time periods were determined %90 and %95 triploid creation. When we consider survival rates, the most fine triploid product were obtained with % 59 and 15 minutes thermal shocked. In addition to, as the result of cell and nucleus of erythrocyte measurements, measurements of wide axis have been exhibited to triploid individuals.

**Keywords:** Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), Heat shock, Triploidy, Erythrocyte measurement, Chromosome analyses.

<b>YÜKSEK LİSANS TEZİ SINAV SONUÇ FORMU</b> .....	<b>ii</b>
<b>İNTİHAL (AŞIRMA) BEYAN SAYFASI</b> .....	<b>iii</b>
<b>TEŞEKKÜR</b> .....	<b>iv</b>
<b>SİMGELER VE KISALTMALAR</b> .....	<b>v</b>
<b>ÖZET</b> .....	<b>vii</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>ix</b>
<b>BÖLÜM 1 GİRİŞ</b> .....	<b>1</b>
1.1. Dünyada ve Ülkemizde Su Ürünleri Üretimi .....	1
1.2. Su Ürünleri Yetiştiriciliğinde Biyoteknolojik Uygulamalar .....	1
1.3. Su Ürünlerinde Triploid Üretimin Avantajları .....	3
1.4. Triploid Oluşumun Tespit Edilmesi .....	3
<b>BÖLÜM 2 ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR</b> .....	<b>4</b>
2.1. Gökkuşacağı Alabalığı Hakkında Genel Bilgiler .....	4
2.1.1. Gökkuşacağı Alabalığının Sistematikteki Yeri ve Morfolojik Özellikleri .....	4
2.1.2. Gökkuşacağı Alabalığının Kökeni, Dünyada ve Ülkemizdeki Üretimi .....	5
2.1.3. Gökkuşacağı Alabalığının Biyolojisi .....	7
2.2. Kromozomlar .....	8
2.2.1. Kromozomların Yapısı .....	8
2.2.1.1. Prokaryotik Kromozom Yapısı .....	8
2.2.1.2. Ökaryotik Kromozom Yapısı .....	9
2.2.2. Kromozom Sayısı ile Türler Arasındaki İlişki .....	15
2.2.3. Kromozom Sayısı Değişimleri .....	16
2.2.3.1. Öploidi .....	16
2.2.3.1.1. Monoploidi. ....	16
2.2.3.1.2. Poliploidi .....	16
2.2.3.2. Anöploidi .....	17
2.2.3.2.1. Hipoploidi .....	17
2.2.3.2.2. Hiperploidi. ....	18
2.2.4. Çeşitli Balık Türlerinde Kromozom Sayıları .....	18
2.3. Balıklarda Biyoteknolojik Uygulamalar .....	20
2.3.1. Cinsiyet Kontrolü .....	20
2.3.1.1. Dişileştirme .....	20

2.3.1.2. Erkekleştirme .....	21
2.3.1.3. Kısırlaştırma .....	21
2.3.2. Gen Manipulasyonu .....	21
2.3.3. Kromozom Manipulasyonu .....	22
2.3.3.1. Ginogenez .....	22
2.3.3.2. Androgenez.. .....	23
2.3.3.3. Triploidizasyon .....	23
2.3.3.4. Tetraploidizasyon .....	25
2.4. Sitogenetik Araştırmaların Su Ürünleri Çalışmalarına Kattığı Değerler .....	26
<b>BÖLÜM 3 MATERYAL VE YÖNTEM .....</b>	<b>27</b>
3.1. Materyal .....	27
3.1.1. Balık Materyali .....	27
3.1.2. Isı Şoku Ekipmanı.....	28
3.1.3. Kuluçka ve Büyütme Tankları .....	28
3.1.4. Kromozom Çalışmasında Kullanılan Kimyasal Maddeler .....	29
3.1.4.1. Kolşisin (C <sub>22</sub> H <sub>25</sub> NO <sub>6</sub> ) .....	29
3.1.4.2. Potasyum Klorür (KCl).....	29
3.1.4.3. Carnoy Fiksatif .....	29
3.1.5. Diseksiyonda Kullanılan Alet ve Malzemeler .....	29
3.1.6. Mikroskop .....	30
3.2. Yöntem .....	31
3.2.1. Yumurtaların Döllenişmesi .....	31
3.2.2. Isı Şoku ile Triploidizasyon Uygulaması .....	31
3.2.3. Yumurtaların Adaptasyonu ve Kuluçkalanması .....	32
3.2.4. Kromozom Analizi ..	34
3.2.4.1. Kolşisin Uygulaması .....	34
3.2.4.2. Embriyo ve Larvaların Diseksiyonu .....	35
3.2.4.3. Hipotonik İşlem .....	36
3.2.4.4. Hücrenin Fiksasyonu .....	36
3.2.4.5. Atışlar .....	36
3.2.4.6. Preparatların Boyanması .....	36
3.2.5. Eritrosit Analizi .....	37
3.2.6. Eritrosit Ölçümleri İle Triploid Tespiti.....	37

<b>BÖLÜM 4 ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA .....</b>	<b>38</b>
4.1. Deneme Ortamında Su Kalitesi Fiziksel Değerleri .....	38
4.2. Kontrol ve Deneme Gruplarında Yaşama Oranları .....	38
4.3. Kuluçka Döneminin Sonuna Kadar Gruplardaki Ölüm Miktarları .....	39
4.4. Kromozom Sayısı İle Eritrosit Büyüklüğü İlişkisi .....	40
4.5. Triploid, Kromozom ve Eritrosit Çekirdeklerinde Farklı Oluşumlar .....	42
4.6. Deneme Gruplarında Triploid Oranlar .....	43
<b>BÖLÜM 5 SONUÇ VE ÖNERİLER .....</b>	<b>50</b>
<b>KAYNAKLAR .....</b>	<b>51</b>
<b>ÇİZELGELER.....</b>	<b>I</b>
<b>ŞEKİLLER .....</b>	<b>II</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ .....</b>	<b>IV</b>

**BÖLÜM 1****GİRİŞ****1.1. Dünyada ve Ülkemizde Su Ürünleri Üretimi**

Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) tarafından dünyada en hızlı büyüyen gıda sektörü olarak belirlenen su ürünleri yetiştiriciliği, dünya balıkçılık üretiminin yaklaşık %30'unu karşılamakta ve yılda % 10'dan fazla artarak büyümektedir (Aydın ve ark., 2005).

Dünyada yetiştiricilik yoluyla üretilen balık miktarı yaklaşık 72 milyon ton olup, bu üretimin 732.432 tonunu deniz ve tatlı suda yetiştiriciliği yapılan alabalık türleri oluşturmaktadır. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Balıkçılık ve Su Ürünleri Genel Müdürlüğü'nün verilerine göre 2001-2010 yılları arasındaki 10 yıllık dönemde yetiştiricilik üretimimizin 67.244 tondan, yaklaşık %149 artarak 167.141 tona ulaştığı ve bu üretimin, teknik gelişmeler ve mevcut kapasitenin etkin bir şekilde kullanımına bağlı olarak artış gösterdiği belirtilmiştir. Yine aynı araştırma verilerine dayanarak Türkiye'nin 25 Avrupa Birliği ülkesi arasında yetiştiricilik üretiminde 5. sıraya, alabalık üretiminde AB ülkeleri arasında 1. sıraya yükseldiği belirtilmiştir. Ayrıca Akdeniz Genel Balıkçılık Konseyi ile Gıda ve Tarım Örgütü (GFCM-FAO) tarafından yapılan bir çalışmada, Avrupa çipura ve levrek pazarında % 25'lik paya ulaştığı tespit edilmiştir (TÜİK, 2012).

Artan dünya nüfusu ile birlikte besin ihtiyacının karşılamasındaki sıkıntılar ve balıkçılığın dünyaca kabul edilen besin değeri her geçen gün daha iyi anlaşıldığından, biyoteknoloji ile yapay balık üretiminin önemi daha da artmaktadır (Hamalosmanoğlu ve Kuru, 2004). Yetiştiricilikte hızlı büyüme yeteneğine sahip, hastalıklara karşı dayanıklı ve ortam şartlarına iyi uyum sağlayabilen balıkların tercih edilmesi nedeniyle, ıslah çalışmaları dünyada hızla devam etmekte ve önemli gelişmeler kaydedilmektedir (Ulupınar ve Okumuş, 2002). Kısa sürede verimli ve sağlıklı ürün elde edebilmek için; yem teknolojilerinden, büyüme hormonlarından, üreme teknolojisi ve genetik mühendislik uygulamaları vb. yararlanılmaktadır (Başçınar ve Sonay, 2009).

**1.2. Su Ürünleri Yetiştiriciliğinde Biyoteknolojik Uygulamalar**

Su ürünleri yetiştiriciliğinde ilk biyoteknolojik uygulamanın, 1980'li yılların ortasında, sentetik büyüme hormonlarının kullanılmasıyla başladığı ve bu hormon uygulanan balıkların, normal balıklardan iki kat daha fazla ağırlık artışı gösterdiğini belirtilmiştir (Şahin, 2003).

Özden ve ark. (2003)'da balık yetiştiriciliğinde uygulanan bazı biyoteknolojik yöntemleri; cinsiyet kontrolü, kromozom manipülasyonu ve gen manipülasyonu olarak ana başlıklar altında sıralamıştır.

Thorgaard (1983), poliploid balık üretmek için kromozom manipülasyonlarının, 1970'lerin ortalarından itibaren araştırılmaya başlandığını rapor etmiştir.

Balıkların çoğunda dış döllenme meydana geldiğinden kromozom setlerinin manipülasyonu ile kromozom sayısını kısmen değiştirilerek, ginogenetik, androgenetik, triploid ve tetraploid balıklar üretmek mümkündür. Aynı türden balıkların, farklı cinsiyetli bireylerinde görülebilen gelişme farklılıklarının (örneğin; kültürü yapılan türlerden gökkuşacağı alabalığında, dişiler erkeklere göre daha hızlı büyür) önüne geçebilmek için, tek cinsiyetli stoklar üretilmekte, fakat yine de olgunlaşma evresinde veya sonrasında olgunlaşmayla birlikte meydana gelen kayıplar devam etmektedir. Bu sorunların giderilmesi için çeşitli kısırlaştırma yöntemleri uygulanmakta olup, bunlardan triploidizasyonun en geçerli yöntem olduğu belirtilmektedir (Sheperd ve Bromage, 1990; Jungalwalla, 1991).

Triploid (kromozom set takımı 3x) balıklar, yaşayabilir olduğu kadar gonadal gelişimlerinin olmamasından dolayı kısırdırlar. Böylece gonadal gelişim için harcamaları gereken enerjiyi somatik gelişmeye yönlendirerek diploidlere göre daha fazla büyüme gösterebilmektedir (Vicdanlı, 2007). Örneğin; Bye ve Lincoln (1986) iki yaşına ulaşan diploid *Oncorhynchus mykiss*'de büyümenin yavaşladığını; triploid bireylerin ise diploidlere nazaran daha büyük olduğunu belirtmişlerdir. Balıklarda triploidi kolay bir şekilde uyarılabilmekte olup, normal spermatazoa ile döllendikten hemen sonra yumurtadan ikinci polar cisimciğin ayrılmasının engellenmesi prensibine dayanmaktadır. Bu uygulama için yüksek sıcaklık veya düşük sıcaklıkta ısı şoku, yüksek hidrostatik basınç şoku ya da kimyasal uygulamak gerekmektedir (Arai, 2000). Kimyasal şoklar çok sayıda mozaik (çeşitli ploidi seviyeli bireyler) oluşumuna sebep olduğundan, çoğu araştırmacı ve balık yetiştiricisi ısı ya da basınç şoku kullanmakta olup, triploid üretim için en kolay, en ucuz ve en güvenli yol olarak ısı şokları uygulanmaktadır (Kankaya, 1998). Ayrıca çeşitli şoklama yöntemlerinin yanında, tetraploid ve diploid balıkların çaprazlanmasıyla da triploid balık üretmek mümkündür (Aydın, 2008).

### **1.3. Su Ürünlerinde Triploid Üretimin Avantajları**

Triploid fertler doğal olarak nesil veremeyen, kısır fertler olduğu için; normal diploid fertlere göre cinsel olgunluk döneminde daha hızlı büyürler, yaşama oranları daha yüksektir, normal fertlerin üreme sonrası maruz kaldıkları hastalıklara yakalanmazlar ve metabolizma enerjisinin gonad gelişimi için harcayacakları kısmını büyümeye sarf ederler (Kankaya, 1998).

Triploid organizmanın kısır olması ve doğal popülasyona kaçmasıyla oluşacak genetik etkinin sınırlanmasından dolayı çeşitli uluslararası organizasyonlar (NASCO, FAO, ICES) tarafından yetiştiricilikte ve balıklandırma çalışmalarında kullanılması tavsiye edilmektedir (Aydın, 2008). Ayrıca Avrupa Birliği mevzuatına göre (90/220/CEE 23 Nisan 1990) triploid bireylerin, genetiği değiştirilmiş organizma (GDO) olarak düşünülmemesi triploid balık üretimini olumlu yönde etkilemektedir (Piferrer ve ark., 2006).

Su ürünleri yetiştiriciliğinde triploid uygulamalar birçok araştırmacı tarafından çalışılmış, özellikle *O. mykiss*'de büyüme oranı ve et kalitesi açısından olumlu sonuçlara ulaşıldığı belirtilmiştir. (Lincoln ve Scott, 1984; Kim ve ark., 1988; Güner ve Özden, 1997; Sheehan ve ark., 1999; Poontawee ve ark., 2007). Bu tür olumlu sonuçlarla birlikte, triploid üretimin uygulama maliyetinin düşük olması, günümüzde ticari işletmelerin bu konuya olan ilgisini daha da arttırmaktadır.

### **1.4. Triploid Oluşumun Tespit Edilmesi**

Balıklarda doğal yolla ya da suni yollarla meydana gelen kromozom sayısı ve yapı farklılıklarının belirlenebilmesi için, canlının doku örneğine birtakım işlemler uygulanarak kromozomların mikroskopta incelenebilecek şekilde açığa çıkarılması sağlanmıştır. Triploid oluşum kromozom preparasyonları ile tespit edildikten sonra, farklı sürelerde ısı şoku uygulanan gruplarda yüzde triploidinin belirlenebilmesi için, kandan simir hazırlanmış ve eritrosit ölçümleri yapılmıştır.

Bu çalışmada, yeni döllenmiş olan *O. mykiss* yumurtalarına uygulanan 26 °C 'lik ısı şokunun farklı uygulama sürelerinin, balıklarda triploidiye ve yaşama oranına etkileri araştırılmış ve farklı sürelerde şoklanan gruplar arasındaki yaşama oranlarına göre sonuçlar değerlendirilmiştir. Bu amaçla kontrol ve deneme gruplarından alt örneklemeler yapılarak balıkların yüzde triploid oranları, eritrosit ölçümleri ile karşılaştırılmış ve kromozom analizleri ile desteklenmiştir.



## BÖLÜM 2

### ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

#### 2.1. Gökkuşığı Alabalığı Hakkında Genel Bilgiler

##### 2.1.1. Gökkuşığı alabalığının sistematikteki yeri ve morfolojik özellikleri

Gökkuşığı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) pasifik salmon cinsine bağlı olup Salmonidae familyasına dahildir. Atlantik salmonu (*Salmo salar*), alp alaları (*Salvelinus spp*), buzul alası (*Salvelinus alpinus*), buzul tymalusu (*Thymallus arcticus*) ve beyaz balıklar (*Coregonus sp.*) da bu familyaya dahil olan türlerdir (Yanık, 2009).

Alem: Animalia (Hayvanlar)

Şube: Chordata (Kordalılar)

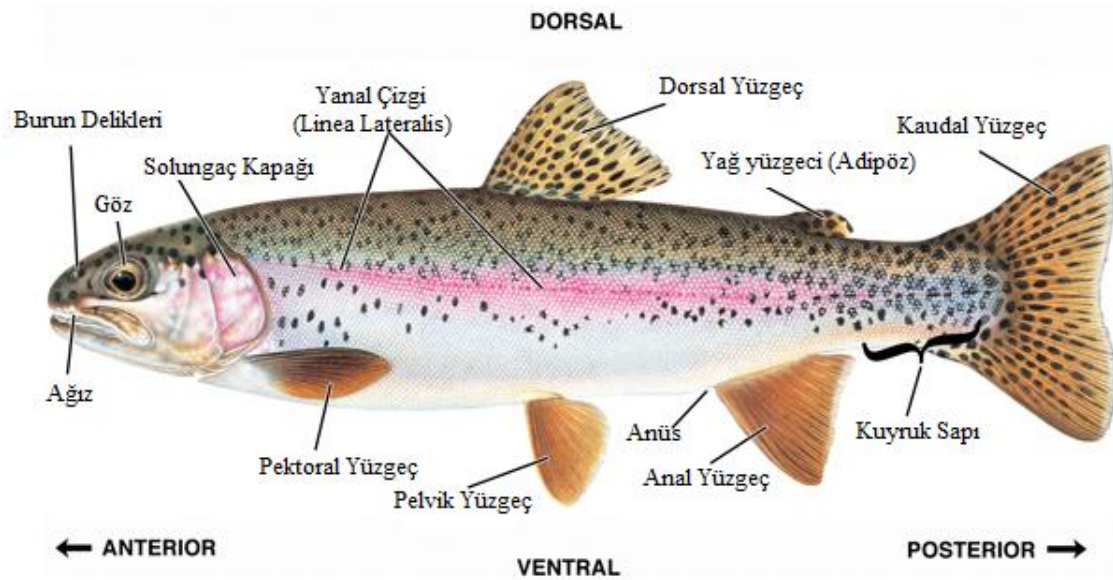
Sınıf: Actinopterygii (Işınsal yüzgeçliler)

Takım: Salmoniformes

Familya: Salmonidae (Somongiller)

Cins: *Oncorhynchus*

Tür: *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792)



Şekil 1. *O.mykiss* morfolojisi (<http://aquaticpath.php.ufl.edu>).

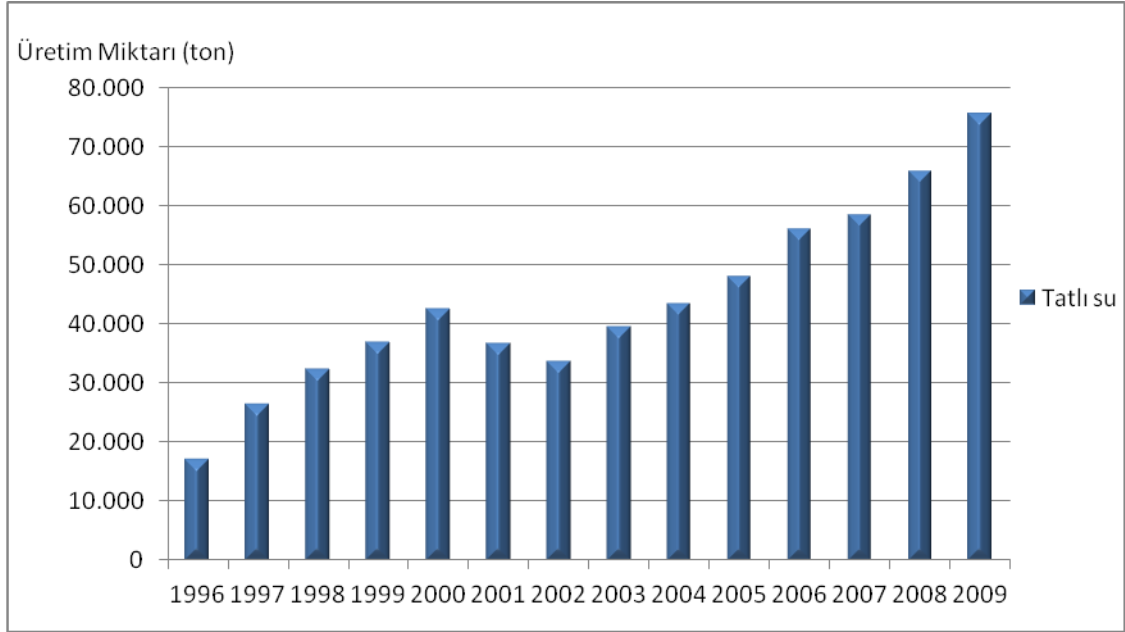
*O. mykiss*'in sırt bölgesinde ve yanlarında yer alan çok sayıdaki siyah benekler en belirgin özelliğidir (Şekil 1). Gıda olarak oldukça kaliteli olan *O. mykiss*'in et rengi beslenme tipine bağlı olarak kırmızı (pigmentli) veya beyaz (pigmentsiz) özellikte olabilir (Yanık, 2009).

*O. mykiss* yüzgeçlerindeki sert / yumuşak ışın sayıları sırasıyla, dorsal yüzgeç; III / 12; anal yüzgeç; II-III/10-11 ve pektoral yüzgeç; I/12'dir. Ayrıca yan çizgisindeki (*Linea lateralis*) pul sayısı: 126 ile 135, pilorik uzantı sayısı: 25 ile 28, arasında değişmekte olup, omur sayısı 61 veya 62 adettir (Küçük ve İkiz, 2004).

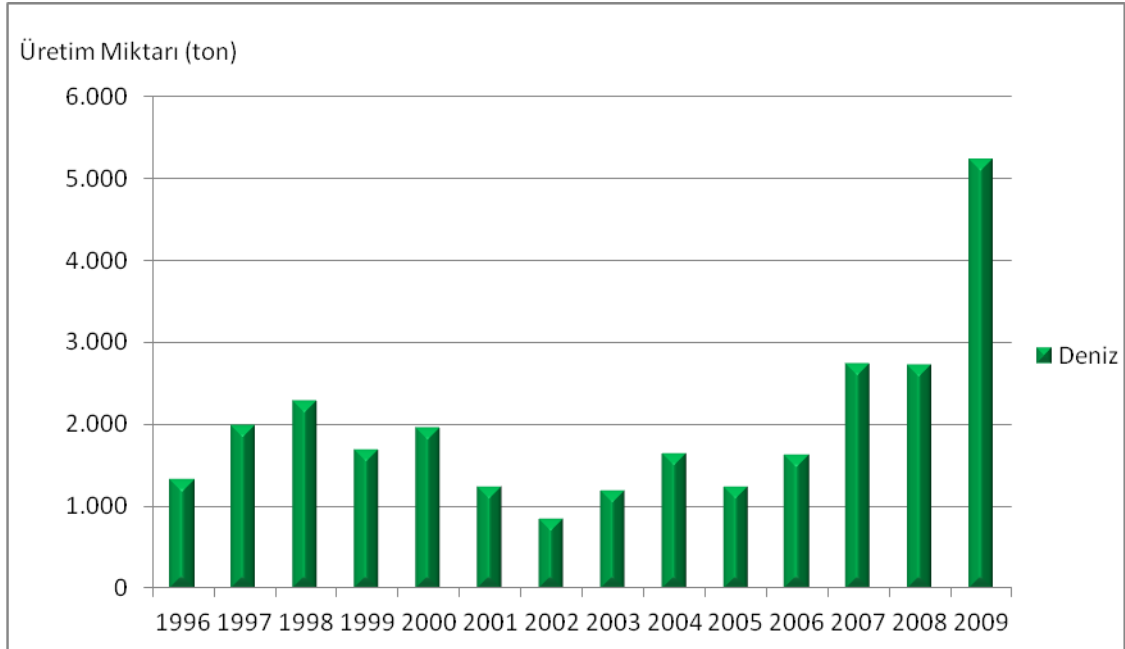
### **2.1.2. Gökkuşığı alabalığının kökeni, dünyada ve ülkemizdeki üretimi**

Gökkuşığı alabalığı Kuzey Pasifik okyanus civarı bölgelerde, güney Kaliforniya'dan Alaska'ya (Aleutians bölgesi, Kamchatka'nın yarım adasının Batı Pasifik bölgeleri ve Okhotska denize boşalma havza akıntılarında) kadar doğal olarak bulunmaktadır (Yanık, 2009). Holcik ve Mihalik (1970)'e göre gökkuşığı alabalıklarının (*Salmo gairdneri*) ilk yetiştiricilik çalışmaları Kaliforniya'daki McCloud adlı küçük bir nehirde başlatılmış, bu tür daha sonra 1882'de Avrupa'ya (Almanya), 1883'de Yeni Zellanda'ya, 1889 yılında da Avustralya'ya getirilmiştir. 1885 yılında gökkuşığı alabalıklarının Latince adı Pasifik orijinli olması (Asya kökenli) nedeniyle *Oncorhynchus mykiss* olarak değiştirilmiştir (Bilgin, 2004). 1870'li yıllarda *O. mykiss* 'den alınan döllenmiş yumurtalar önce Avrupa, daha sonra Japonya olmak üzere tüm dünyaya yayılmaya başlamış, 1890 yılında Danimarka'daki alabalık yetiştiriciliğinde modern sistemlere geçilmiştir (Aydın, 2008). Ülkemize ise 1969 yılında getirilmiş ve ilk olarak Bilecik (Bozöyük)'te kurulan özel bir alabalık işletmesinde üretimine başlanmıştır. *O. mykiss* yetiştiriciliğinin deniz balıklarında olduğu gibi, denize kıyısı olan belirli iller ile sınırlı olmayışı ve ülkemizin her tarafına yayılmış olması bu türün yetiştiriciliğinin sosyoekonomik önemini daha da arttırmaktadır (Baki, 2006). Ülkemizde *O. mykiss* türünün tatlı sularda (Şekil 2) ve denizlerdeki (Şekil 3) üretimi yıllara göre değişmekte, özellikle tatlı suda genel olarak artış görülmektedir.

Doğan ve Güven (2005)'e göre ülkemizde *O. mykiss* yetiştiriciliği yapan işletmelerin, bölgeler bazında dağılımı; Karadeniz Bölgesi'nde %38, Akdeniz Bölgesi'nde %25, Marmara Bölgesi'nde %11, İç Anadolu Bölgesi'nde %11, Ege Bölgesi'nde %10, Doğu Anadolu Bölgesi'nde %4 ve Güney Doğu Anadolu Bölgesi'nde ise %1 oranında yer aldığı belirtilmiştir (Baki, 2006).



Şekil 2. Türkiye içsularında yetiştiriciliği yapılan alabalık türlerinin tümünün, yıllara göre üretim miktarları (FAO, 2010).



Şekil 3. Türkiye denizlerinde yetiştiriciliği yapılan alabalık türlerinin tümünün, yıllara göre üretim miktarları (FAO, 2010).

**2.1.3. Gökkuşığı alabalığının biyolojisi**

*O. mykiss* 6-25 °C aralığında gelişimini sürdürebilmekte olup, en iyi 13-18 °C arasında büyürler. Yaşama alanları genellikle tatlı sular olan *O. mykiss* türünün Doğu ve Batı Kuzey Pasifik anadrom stoklarının da mevcut olduğu bilinmektedir. Anadrom türleri, hayatlarının belli bir döneminde okyanusta bulunurken, yumurtlamak için göllere ve derelere dönerek, burada fry ve juvenil dönemlerini geçirmektedirler. Üremeleri yetiştirildiği suyun sıcaklığına bağlı olarak değişim gösterse de, doğal ortamlarında genellikle ilkbahar aylarında, kıyı bölgelerde ise Aralık ayının sonlarına doğru gerçekleşmektedir. 2-15 °C’de yumurtlayabilme özelliğine sahip olan dişileri kum ve çakıllı yerlere 500-2500 adet iri yumurta (50-150 mg yumurta/L) bırakmakta, erkekleri ise bunları hemen döllemektedir (Yanık, 2009).

*O. mykiss* ‘de yumurtaların açılmaları, çevre suyu sıcaklığıyla doğrudan ilişkili olup bu değerler, 4,5 °C’de 80 gün, 10 °C’de 31 gün ve 15 °C’de 19 gün olarak belirtilmiştir (Yanık, 2009).

Çizelge 1. Alabalık kuluçkahanesinde kullanılacak su için önerilen bazı değerler (Emre, 2004)

<b>DEĞİŞKEN</b>	<b>DEĞERLER (ppm)</b>
Çözünmüş Oksijen	5-Doygunluk
Karbondioksit	0-10
pH	6,5-8,0
Total Sertlik (CaCO <sub>3</sub> )	10-400
Kalsiyum	4-100
Manganez	0-0,01
Demir (Toplam)	0-0.15
Fosfor	0,01-3,0
Nitrat	0-3,0
Çinko	0-0,05

## 2.2. Kromozomlar

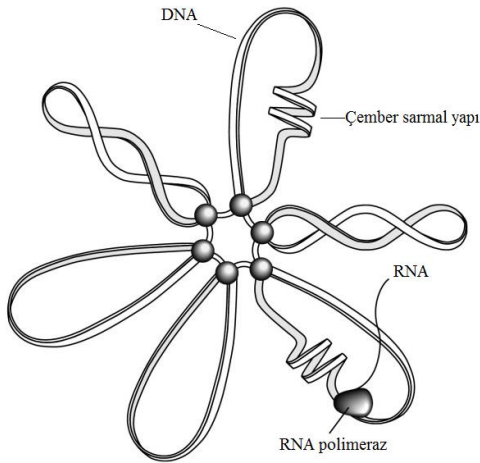
Kalıtımı sağlayan genetik birimler olan “kuvvetli boyanan cisim” anlamına gelen kromozom adını 1888 yılında Wilhelm Waldeyer tarafından almış olsa da, ilk defa 1840 yılında Hofmeister tarafından gözlenmiştir. 1944 yılına kadar kromozomlardaki hangi kimyasal bileşenin genleri ve genetik materyali oluşturduğu net olarak bilinmemekte olup, ilk defa bakteri ve bakteriyofajlarla yapılan çalışmalar sırasında DNA’nın genetik materyal olduğu yönünde bulgular elde edilmiştir (Akı, 2011).

Kromozomlar her canlı türü için belirli şekil, sayı ve yapıda olup, canlılarda karakterleri oluşturan genleri, nesilden nesile taşıyan, DNA ve temel olarak bazik proteinden (histon veya protamin) meydana gelmiş bir nükleoprotein yapısına sahip oluşumlardır (Topaktaş ve Rencüzoğulları, 2010). Demirsoy (1995), kromozomların hiçbir zaman yeniden yapılanmadığını, ya eskiden var olan kromozomun bölünmesinden oluştuğunu ya da tamamlama sentezleri ile meydana geldiğini belirtmiştir.

### 2.2.1. Kromozomların yapısı

#### 2.2.1.1. Prokaryotik kromozom yapısı

Prokaryotik organizmalarda bir adet çift sarmal halkasal kromozom bulunur. Bu çift sarmal yapı kendi üzerinde kıvrılıp katlanarak daha az yer kaplayan süpersarmal yapıyı meydana getirir (Şekil 4). Prokaryotik genom *Escherichia coli* kromozomu tarafından temsil edilmektedir. *E. coli* kromozomu nükleotid olarak adlandırılan hücresel bölgede bulunan kapalı halkasal bir DNA olup, 4.6 milyon baz çifti uzunluğundadır ve normal çoğalmada DNA sürekli olarak eşlenmektedir (Turner ve ark., 2004)

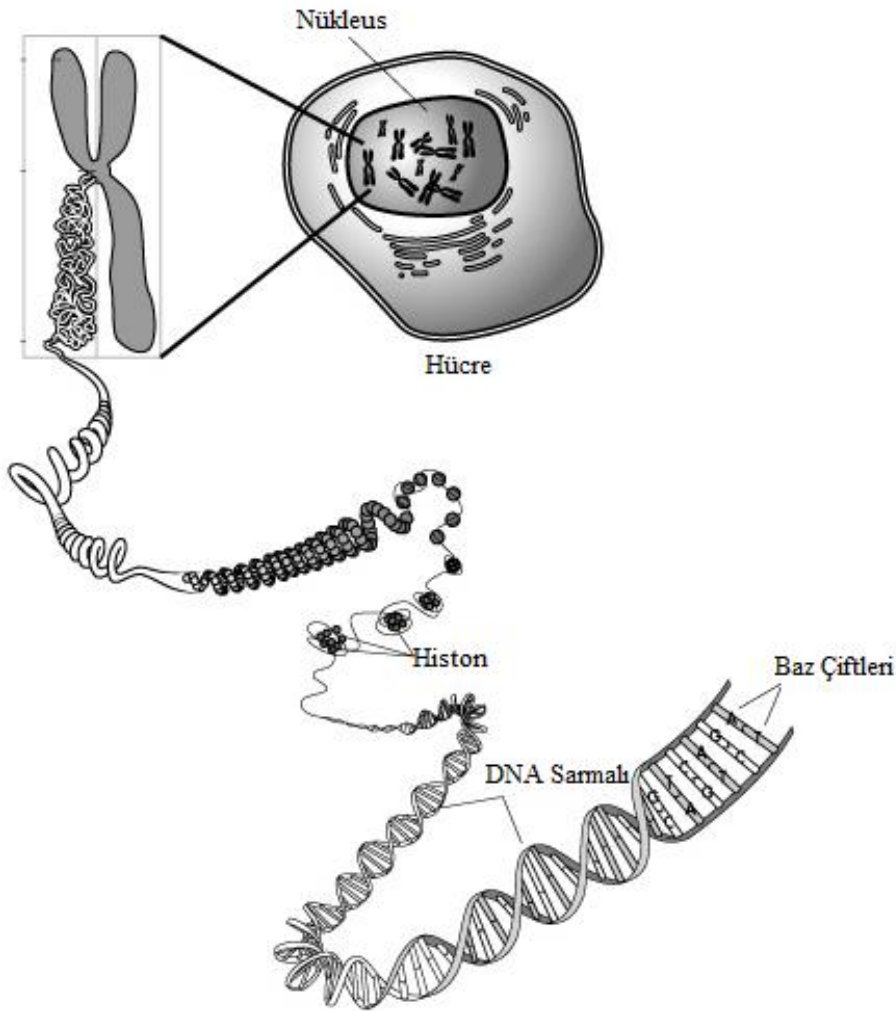


Şekil 4. Prokaryotik kromozom yapısı ([http:// www.genomebiology.com](http://www.genomebiology.com)).

Prokaryotik kromozomlarda DNA domeinleri, HU ve H-NS (histon benzeri proteinler) gibi spesifik olmayan DNA bağlayıcı proteinlerin etrafına sarılmak suretiyle sıkıştırılmıştır (Turner ve ark., 2004).

### 2.2.1.2. Ökaryotik kromozom yapısı

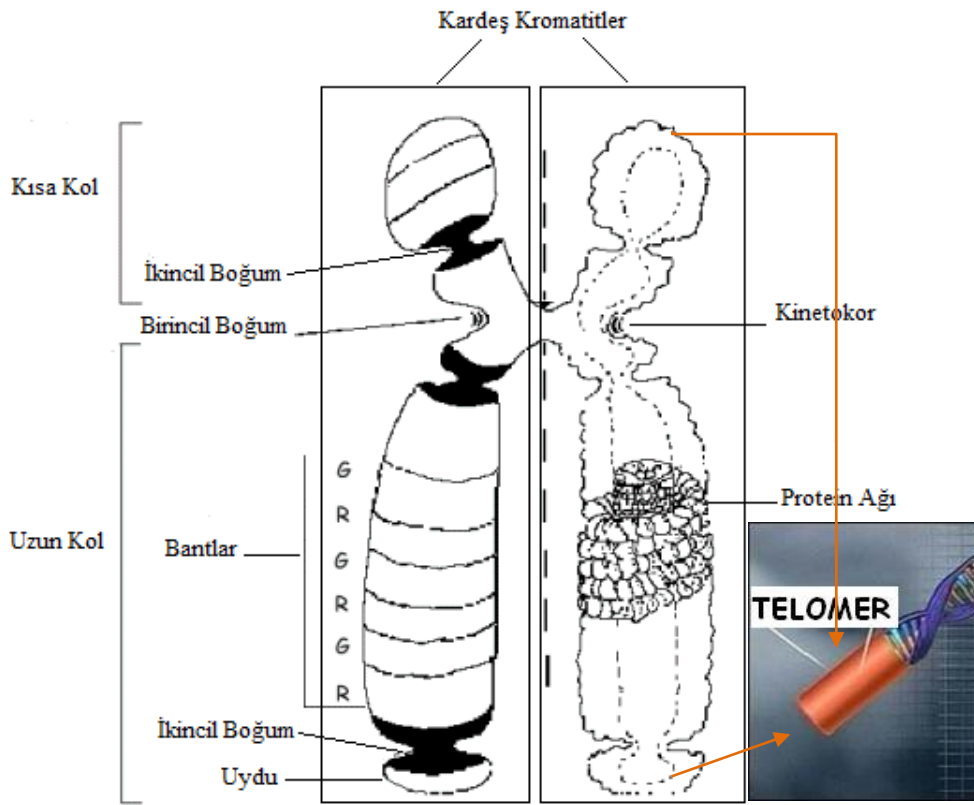
Ökaryotik hücrelerde, gerçek çekirdek ve çekirdek zarı ile sitoplazmadan ayrılmış olan DNA, mitoz bölünmenin interfaz evresinde kromatin ağı şeklinde bulunurken, hücre bölünmesinin profaz evresinden itibaren gittikçe kıvrılarak kısalıp kalınlaşır ve kromozom şeklini alarak belirgin hale gelir (Şekil 5). Metafaz evresinde ait olduğu canlıya özgü sayıya ve şekle ulaşırlar.



Şekil 5. Kromozomun içeriği ve oluşumu (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>).

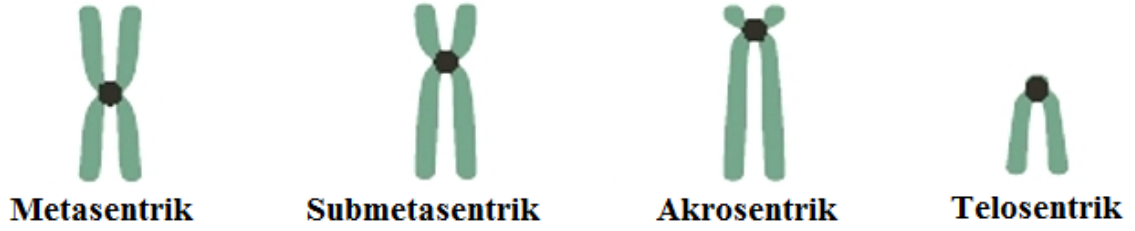
Vücut kromozomları (otozom), diploid türlerde çift halinde bulunan ve vücut özellikleriyle ilgili genleri taşıyan; eşey kromozomları (gonozom) ise cinsiyetle ilgili bilgiyi taşıyan ve canlının eşeyine göre farklı ya da aynı biçimlerde olan kromozomlardır. Otozomlar sayı ile ifade edilirken, gonozomlar “X” ve “Y” harfiyle sembolize edilmektedir.

Metafazda her kromozom, tamamen birbirinin aynısı olan iki ipliğin sentromer bölgelerinden birbirine bağlanmasıyla meydana gelmekte olup, bu iki ipliğin her birine kromatid adı verilmektedir. Kardeş kromatidlerin birbirlerinden ayrılarak zıt kutuplara çekildiği anafaz evresinde kromozomlar tek iplik halindedir ve bir DNA molekülü içerirler (Topaktaş ve Rencüzoğulları, 2010).



Şekil 6. Metafaz kromozomunun dış ve iç yapısı (<http://www.dwb4.unl.edu>).

Kromozomal DNA'nın uçları kılma ve yıkılmaya karşı telomerler tarafından korunur. Normal DNA replikasyonundan bağımsız olarak, telomerler telomeraz adı verilen özel enzimlerce kısa tekrar sekansların senteziyle gerçekleşir. Birincil boğum bölgesi adı verilen, kromozom kollarının birleştiği ve boğum yaptığı bölgeye sentromer adı verilir (Şekil 6) ve bu bölgeye göre kromozomlar 4 gruba ayrılır (Şekil 7).



Şekil 7. Sentromer konumlarına göre kromozom şekilleri (<http://www.nature.com>).

- Metasentrik kromozom (Median kromozom): Sentromer kromozomun hemen hemen ortasında yer almaktadır.
- Submetasentrik kromozom (Submedian kromozom): Sentromer kromozomun ortasında yer almayıp, kolun biri kısa diğeri daha uzundur.
- Akrosentrik kromozom: Sentromer bir uca çok yakındır.
- Telosentrik kromozom: Sentromer tam uçta yer almaktadır.

Ayrıca türe özgü olarak sentromeri bulunmayan kromozomlara da holosentrik kromozom denilmekte olup, doğada çok az canlı sentromer içermeyen holosentrik kromozom taşır (Yüce ve ark., 2010).

Kromozomların sentromer konumları karyotip oluşturulmasında önemli bir işleve sahiptir. Bir hücrede bulunan kromozomların kol uzunlukları, sentromer konumu, sekonder darlığı, bant ve otoradyografik özellikleri gibi çeşitli özelliklere göre belli bir düzen içerisinde sıralanmasına karyotip denir (Vicdanlı, 2007). Karyotip kromozomların morfolojik görünümünü ve sayılarını, varsa türler arasındaki evrimsel farklılıkları makro düzeyde görmemizi sağlar (Örs, 2003). Son zamanlarda ihtiyolojide de kullanılmaya başlanan karyotip analizleri, problem teşkil eden taksonların ayırımı için başvurulan yöntemlerden birisidir (Saygun, 2005). Çeşitli araştırmacılar tarafından, Türkiye iç sularındaki bazı türler üzerine yapılan kromozom çalışmalarıyla, farklı türlerin eşit sayıda kromozoma sahip olabildiği, fakat sentromer konumlarıyla oluşturulan karyotip yapılarının türlere özgü olduğu görülmektedir. Ayrıca aynı türde olup farklı bölgelerde yaşayan balıkların kromozom sayılarında farklılıklar olabildiği gibi (Örn; *Chalcalburnus mossulensis*) eşit kromozom sayısına sahip olup, sentromer konumlarında farklılıklar da oluşabilmektedir (Örn; *Clarias sp.*). Bu durum kromozom sayı ve yapılarının türlere ve doğal yaşama alanlarına göre değişebildiğini bize göstermektedir (Çizelge 2).



Çizelge 2. Türkiye iç sularındaki çeşitli türlerin karyotip yapıları

TÜR	BÖLGE	2n	M*	SM*	A*	ST*	NF	KAYNAK
Gümüş balığı ( <i>Chalcalburnus mossulensis</i> )	Karakaya Baraj Gölü	50	6	8	6	5	88	Gaffaroğlu ve Yüksel, 2005
Gümüş balığı ( <i>Chalcalburnus mossulensis</i> )	Kızılırmak	48	6	10	8	-	-	Gül ve ark., 1998
Çöpçü balığı ( <i>Orthrias angorae</i> )	Kura-Aras Havzası	50	7	7	11	-	78	Gül, 2008
Çöpçü balığı ( <i>Orthrias tigris</i> )	Kura-Aras Havzası	50	9	9	7	-	86	Gül, 2008
Çöpçü balığı ( <i>Orthrias panthera</i> )	Kura-Aras Havzası	50	-	-	-	-	-	Gül, 2008
Aynalı sazan ( <i>Cyprinus carpio</i> )	Mogan Gölü	100	6	-	25	19	-	Hamalosmanoğlu ve Kuru, 2003
Japon balığı ( <i>Carassius auratus</i> )	Kızılırmak	104	12	17	23	-	162	Aydın ve Kuru, 2001
Siraz balığı ( <i>Capoeta capoeta umbla</i> )	Dicle Nehri	150	43		32		236	Kılıç Demirok ve Ünlü, 2000
İnci Kefali ( <i>Chalcalburnus tarichi</i> )	Van Gölü	50	8	5	12	-	-	Gül ve ark., 2002
Doktor balığı ( <i>Garra rufa</i> )	Müftü Deresi	44	11	10	1	-	85	Gözükara ve Çavaş, 2002
Doktor balığı ( <i>Cyprinion macrostomus</i> )	Karakaya Baraj Gölü	50	3	12	4	6	92	Gaffaroğlu ve Yüksel, 2004
Çizgili sazan ( <i>Pseudorasbora parva</i> )	Kızılırmak	50	7	10	-	8	100	Gaffaroğlu ve ark., 2009
Kedi balığı ( <i>Clarias lazera</i> )	Göksu Deltası	56	9	13	6	-	100	Ergene ve ark., 1998
Kedi balığı ( <i>Clarias gariepinus</i> )	Göksu Deltası	56	14	3	6	5	100	Karahan ve Ergene, 2009
Kedi balığı ( <i>Clarias gariepinus</i> )	Asi Nehri	56	12	5	6	5	100	Karahan ve Ergene, 2009
İnci balığı ( <i>Alburnus filippii</i> )	Kura-Aras Havzası	50	8	8	9	-	82	Nur, 2006
İnci balığı ( <i>Acanthalburnus microlepis</i> )	Kura-Aras Havzası	50	8	7	10	-	80	Nur, 2006

2n: Diploid, M: Metasentrik, SM: Submetasentrik, A: Akrosentrik, ST: Subtelosentrik. \*Kromozom çifti olarak belirtilmektedir.

Kromozom sayısı ve morfolojisi, çevresel faktörlerin etkisiyle değişime uğrayan diğer karakterlere oranla daha iyi muhafaza edilmekte olup, özellikle popülasyonların karakterize edilmelerinde önemli olarak değerlendirilmektedir (Saygun, 2005).

Saygun (2005), herhangi bir türün coğrafik varyasyonlarının belirlenmesinde kromozom morfolojisinin taksonomik karakter olarak kullanılabilirliğini belirtmiş. Vicdanlı (2007), kromozom sayısından daha iyi muhafaza edilme özelliğiyle, taksonomik çalışmalarda kromozom kol sayısından (NF) faydalandığının üzerinde durmuştur.

Balıkçılık alanındaki çiftlikler, kayıt altına almadan, aralarında yumurta, yavru ve damızlık alışverişi yaparak, bunları kendi stokları ile bilinçsizce çiftleştirmekte, sonuç olarak stokların genetik yapıları iyice içinden çıkılmaz bir hale gelmektedir. Oysaki doğadaki ve çiftlik stoklarındaki genetik yapının bilinmesinin, gelecekte daha iyi stokların elde edilebilmesinde ve mevcut genetik kaynakların korunabilmesinde yarar sağlayabileceği düşünülmektedir (Ulupınar ve Okumuş, 2002).

Bilgin (2004) yaptığı çalışmada Düzce ili ve çevresindeki *O. mykiss* işletmelerindeki balıkların diploid (2n) kromozom sayılarının 54 ile 62 arasında değiştiğini belirlemiş (Çizelge 3) ve bu çeşitlilik nedeninin balıklarda görülen polimorfizmden kaynaklandığını ileri sürmüştür. Bilgin (2004)'in çalışmasına paralel olarak, Ulupınar ve Okumuş (2002), Kuzey Doğu Karadeniz bölgesindeki *O. mykiss* türünde kromozom sayısının  $2n=58-64$  arasında değişim gösterdiğini fakat NF'nin genellikle 104 olduğunu belirleyerek incelenen örneklerde Robertsonian translokasyonun yaygın olarak görüldüğünü tespit etmiştir.

Robertsonian translokasyonunda homolog olmayan iki akrosentrik kromozom sentromerlerine yakın bir yerden kırılır ve iki uzun kol birleşerek metasentrik kromozomu, iki kısa kol birleşerek çok küçük başka bir kromozomu meydana getirir veya kaybolur. Bunun sonucunda kromozom sayısı değişirken, NF sabit kalır (Al-Sabti, 1991; Ulupınar ve Okumuş, 2002).

Çizelge 3. Bazı alabalık türlerinin karyotip yapıları

Tür	İstasyon	2n	M	SM	T	ST	A	NF	Kaynak
Gökkuşığı Alabalığı ( <i>Oncorhynchus mykiss</i> )	Aydınpınar Köyü/ Düzce	58	22	2	3	-	2	-	Bilgin, 2004
	Aydınpınar Köyü/ Düzce	62	23	2	2	-	4	-	
	Uğur Köyü/ Düzce	54	21	1	2	-	3	-	
	Aydınpınar Köyü/ Düzce	56	22	2	2	-	2	-	
	Akçakoca	54	21	1	1	-	4	-	
	Yığılıca	56	22	1	3	-	2	-	
Dere Alabalığı ( <i>Salmo trutta fario</i> )	Kuzey İspanya	80	11	-	-	-	29	102	Moran ve ark., 1989
Kaynak Alabalığı ( <i>Salveinus fontinalis</i> )	Japonya	84	9	-	-	2	31	102	Ueda ve ark., 1984
Atlantik Salmonu ( <i>Salmo salar</i> )	İskoçya	58	8		-	-	21	101-102	Hartley ve Horne., 1984
Koho Salmonu ( <i>Oncorhynchus kistuch</i> )	Polcura/Şili	60	20	5	5		-	110	Nelson, 1999
	Castro/Şili	60	20	5	5		-	110	
	Coyhaique/Şili	60	20	4	6		-	108	

### 2.2.2. Kromozom sayısı ile türler arasındaki ilişki

Her canlı türünde, türe özel şekil ve sayıda kromozom bulunduğu gibi (Çizelge 4), farklı türlerde eşit sayıda kromozoma rastlanılabilir fakat bu durumda şekil ve yapılar arasında farklılıklar vardır. Eşeyli üreyen canlılarda, gametlerin içerdiği kromozomlara bir takım veya bir genom adı verilmekte ve sayısı “n” ile ifade edilmektedir, somatik hücrelerde ise bu sayı iki katına çıktığından “2n” ile gösterilir.

Kromozom sayısı çeşitliliği açısından, bir karınca türü olan *Myrmecia pilosula*  $2n=2$  (Imai ve Taylor, 1989) ve parazitik bir nematod türü olan *Parascaris univalens*  $2n=2$  kromozoma sahipken (Goday ve ark., 1985), Hindistan’da varyeteleri bulunan  $2n= 480-1140$  arasında kromozoma sahip bir çeşit eğrelti otu *Ophyoglossum vulgatum* (Löve ve Kjellqvist, 1972) örnek verilebilir (Şekil 8).



Şekil 8. a- *Myrmecia pilosula*; b- *Parascaris univalens*; c- *Ophyoglossum vulgatum* (<http://www.eol.org>; <http://www.quizlet.com>; <http://www.fotki.yandex.ru>).

Çizelge 4. Bazı türlerin somatik hücrelerindeki kromozom sayıları (Topaktaş ve Rencüzoğulları, 2010)

Tür	Kromozom Sayısı (2n)	Tür	Kromozom Sayısı (2n)
İnsan	46	Karasinek	12
Şempanze	48	Soğan	16
Rhesus Maymunu	42	Arpa	14
Köpek	78	Mısır	20
Kedi	38	Domates	24
At	64	Fasulye	22
Fare	40	Bezelye	14
Sıçan	42	Bakla	12

### **2.2.3. Kromozom sayısı değişimleri**

Kromozom sayısının kendiliğinden yahut dış etkenlerle değişmesi sonucunda, kromozom sayısı yönünden normal olmayan, öploid veya anöploid bireyler meydana gelmektedir.

#### **2.2.3.1. Öploid**

Bir takımdaki toplam kromozom sayısının tam katlar halinde yükselmesi veya organizmada sadece tek takım kromozom bulunmasına öploid denir. Öploid; monoploid ve poliploid olmak üzere iki çeşide ayrılmaktadır.

##### **2.2.3.1.1. Monoploidi**

Normalde “2n” olan hücrede sadece bir takım yani “n” sayıda kromozom bulunması olayına “monoploidi”, böyle bireylere de “monoploid” bireyler denilmektedir

Monoploid bireyler morfolojik yönden diploidlere benzer fakat onlardan daha küçük yapıya sahiptirler. Monoploid bireylerin hücrelerinde, mayoz bölünme sırasında kromozom eşleşmesi olmadığından kromozomların kutuplara çekilmeleri düzensizdir, bu durum dengesiz eşey hücrelerinin meydana gelmesine sebep olur ve monoploid bireylerin kısır olmasına yol açar (Vicdanlı, 2007).

##### **2.2.3.1.2. Poliploidi**

Bir takımdaki toplam kromozom sayısının ikiden fazla katlar halinde yükselmesine poliploidi denilmektedir, bu olayın sonunda kromozom sayısına göre bireyler 3x (triploid), 4x (tetraploid), 5x (pentaploid) vs. şeklinde gruplara ayrılmaktadır. Poliploid hayvanlarda eşeyi belirleyen kromozomların sayısının artması, eşey tayini mekanizmalarında dengesizliğe yol açar, bunun sonucunda da bireyde kısırlık meydana gelir (Vicdanlı, 2007). Tabiatта çok yaygın olmamasına karşın doğal olarak gözlenen poliploid türler rapor edilmiştir.

Anjum ve Jankun (1994)’un yaptıkları sitogenetik incelemelerde yetiştiriciliği yapılan  $2n=100$  kromozumlu bir sazan balığı popülasyonunda,  $3x=150$  kromozoma sahip doğal triploid bir bireye rastlamışlardır. Varkonyi ve ark. (1998), yayın balığı (*Silurus glanis*) yumurtalarından çıkan larvalarda görülen ödem ve omur eğikliği gibi fenotipik anormallikleri olan bir bireyde tetraploid ( $4x=120$ ) kromozom sayısına rastlamışlardır (Vicdanlı, 2007).

**Poliploidi üçe ayrılır;**

**Otopoliploidi:** Bir poliploidin içerdiği genomların hepsi bir türden geliyor ise bu olaya otopoliploidi, böyle fertlere de otopoliploid denir. Bu durumdaki poliploidi aynı türün bireyleri arasındaki çaprazlamalar sırasında meydana gelmiştir.

**Allopoliploidi:** Bir poliploidin içerdiği genomların bir kısmı bir türden, diğer kısmı başka bir türden geliyorsa bu olaya allopoliploidi, böyle fertlere de allopoliploid fertler denir. Bu tür organizmaların meydana gelebilmesi için farklı türlere ait bireylerin eşleşmesi gerekmektedir. Tabiatта en fazla rastlanan allopoliploid çeşitleri; allotetraploid (*Triticum durum*=makarnalık buğday) ve alloheksaploidlerdir (*T. aestivum*=ekmeklik buğday).

**Endopoliploidi:** Farklılaşmış ve bölünme yeteneğini kaybetmiş olan hücrelerde nükleus zarı kaybolmadığı halde kromozomlar hücre bölünme fazına girecekmiş gibi iki iplikli hale geçer ve mitozun anafazındaki gibi kromatidleri birbirinden ayırırlar, çekirdek içerisinde gerçekleşen ve endomitoz adı verilen bu olay sonucunda poliploid hücrenin meydana gelmesine endopoliploidi denir.

**2.2.3.2. Anöploidi**

Mayoz veya mitozdaki anormallikler sonucu ortaya çıkan anöploidi, bir takımdaki kromozomlardan birinin veya birden fazlasının sayısının değişmesi sonucu meydana gelir.

Anöploid bir birey çoğu zaman, mayoz sırasındaki bir hata sonucu haploid sayıdan eksik veya fazla sayıda kromozom taşıyan eşey hücrelerinin döllenmeye katılmasıyla meydana gelir (Vicdanlı, 2007). Öploiden daha sık görülen ve birçok sendromun sebebi olan anöploidi; hipoploidi ve hiperploidi olacak şekilde ikiye ayrılır.

**2.2.3.2.1. Hipoploidi:** Kromozom sayısının azalmasıyla oluşan hipoploidi; monosomi ve nullisomi olarak ikiye ayrılır.

**Monosomi:** Diploid bir bireyde tek bir kromozomun eksik olması durumudur. Bu durum mayoz sırasında kromozomların ayrılmaması nedeniyle, bir kromozomu eksik olan n-1 bir gametle, normal bir gametin birleşmesi sonucu gerçekleşir. Monosomi meydana gelen bireyde 2n-1 sayıda kromozom görülür.

**Nullisomi:** Bir kromozom çeşidinin homoloğu ile birlikte kaybolması sonucu oluşan nullisomi, diploid bir bireyde tek bir kromozomun eksik olması durumudur.  $2n-2$  formülü ile gösterilen nullisomik bireyler, aynı çeşit kromozomu kaybetmiş iki anöploid  $n-1$  gametin birleşmesi sonucu meydana gelir.

**2.2.3.2.2. Hiperploidi:** Bir takımdaki kromozomlardan birinin veya bir kaçının sayısının yükselmesine hiperploidi denir, trisomi ve tetrasomi olmak üzere ikiye ayrılır.

**Trisomi:** Bireyde bir kromozomun fazla bulunması olayıdır,  $n+1$  gamet ile  $n$  kromozom sayısındaki gametin birleşmesiyle meydana gelir.

**Tetrasomi:** Tesadüfen aynı kromozomu bir fazla bulunduran iki gametin birleşmesi sonucu oluşan bireyin, bir takımındaki kromozomlarının birinden dört tane bulunmasıdır. Tetrasomik fertlere trisomiklerin neslinde rastlanılmaktadır.

#### 2.2.4. Çeşitli balık türlerinde kromozom sayıları

Post (1965)'e göre balıklarda diploid kromozom sayıları bir Cyprinodontid türü olan *Notobranchius rachovii*'de  $2n=16$ 'dan, Fontana ve ark. (1996)'nın belirttiği bir Acipenserid türü olan, *Acipenser gueldenstaedti*'de  $2n=258\pm 4$ 'e kadar değişmektedir.

Çizelge 5. Türkiye'de bazı balık türlerinde yapılan çalışmalarda belirlenen kromozom sayıları (Bilgin, 2004)

Latince Adı	2n	Kaynak
<i>Cyprinion macrostomum</i>	48	Çolak ve ark. (1985)
<i>Oreochromis niloticus</i>	46	Ergene ve ark. (1998)
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	58-62	Ulupınar ve Okumuş (1998)
<i>Barbus plejebus lacerta</i>	48	Ergene ve ark. (1998)
<i>Cyprinus carpio</i>	100	Pekol (1999)
<i>Cyprinus carpio</i>	100	Hamalosmanoğlu ve Kuru (2004)
<i>Clarias lazera</i>	56	Ergene ve ark. (1998)
<i>Chalcalburnus mossulensis</i>	48	Gül ve ark. (2000)
<i>Capoeta cumbla</i>	150	Demirok ve Ünlü (2001)
<i>Capoeta trutta</i>	150	Demirok ve Ünlü (2001)
<i>Tinca tinca</i>	48	Hamalosmanoğlu ve Kuru (2004)
<i>Alburnus heckeli</i>	50	Gül ve ark. (2004)

Çizelge 6. Salmonidae familyasından Salvenius, Salmo ve Oncorhynchus cinslerine ait türlerin kromozom sayıları (Roberts, 1968; Ulupınar ve Okumuş, 2002)

	Tür	Kromozom Sayısı (2n/2n±1)	Kaynak
SALVELINUS	<i>S. alpinus</i>	78	Viktorovsky, 1978
		80	Nygren ve ark., 1971
	<i>S. fontinalis</i>	84	Arai, 1984
		84	Ueda ve ark., 1984
SALMO	<i>S. apache</i>	56, 58	Miller, 1972
	<i>S. clarki bouvieri</i>	64	Loudenslager, Thorgaard, 1979
	<i>S. c. clarki</i>	68	Gold, 1977
	<i>S. c. hephawi</i>	64	Gold, 1977
	<i>S. c. lewisi</i>	64	Simon ve Dollar, 1963
	<i>S. c. lewisi</i>	66	Loudenslager, Thorgaard, 1979
	<i>S. fario</i>	84	Prokofieva, 1934
	<i>S. aguabonita</i>	58	Gold ve Gall, 1975
	<i>S. gilae</i>	56	Beamish ve Miller, 1977
	<i>S. irideus</i>	58-65	Ohno ve ark., 1965
	<i>S. marmoratus</i>	80	Al-Sabti, 1983, 1985
	<i>S. salar</i>	58	Garcia-Vazquez, 1988
	<i>S. salar</i>	56-58	Hartley ve ark., 1984
	<i>S. trutta</i>	80	Hartley ve Horne, 1984
<i>S. t. lacustris</i>	80	Svardson, 1945	
ONCORHYNCHUS	<i>O. gorbuscha</i>	52-53	Phillips ve ark., 1987, 1988
	<i>O. keta</i>	74	Sasaki ve ark., 1968
	<i>O. kisutch</i>	60	Ueda, 1983
	<i>O. masau</i>	66	Ueda, 1983
	<i>O. masau</i>	66	Arai, 1984
	<i>O. nerka</i>	58	Muramoto ve ark., 1974
	<i>O. mykiss</i>	58	Flajshans ve ark., 1990
	<i>O. mykiss</i>	59- 63	Hartley ve ark., 1984
	<i>O. tschawischa</i>	68	Muramoto ve ark., 1974



### **2.3. Balıklarda Biyoteknolojik Uygulamalar**

Balık kültüründe uygulanan bazı biyoteknolojik yöntemler, üç ana başlık altında ele alınmaktadır (Özden ve ark., 2003)

- Cinsiyet kontrolü
- Gen manipülasyonu
- Kromozom manipülasyonu

#### **2.3.1. Cinsiyet kontrolü**

Balıkların erken cinsi olgunluğa ulaşması sonucu; büyüme, yem değerlendirme oranı, davranış, sağlık, vücut ve et renginde olumsuz değişiklikler meydana gelebilmekte olup bu durumun önüne geçebilmek için cinsiyet kontrolü uygulamaları yapılmaktadır (Başçınar ve Sonay, 2009).

Balıklarda cinsiyet kontrolü üç farklı metotla yapılır.

- Dişileştirme
- Erkekleştirme
- Kısırlaştırma

##### **2.3.1.1. Dişileştirme**

Dişileştirme, yem almaya başlamış larvalara östrojen uygulanmasıyla gerçekleştirilmektedir. Östradiol-17 $\beta$  ile Etinil-östradiol dişileştirme için kullanılabilen ve yaygın olarak bulunabilen, yüksek etkilere sahip hormonlardır. Östrojenlerin uygulanması androjenlerde olduğu gibidir, fakat dişileşmeye doğru dönüş, erkekleşmeye göre daha az olduğundan daha yüksek doza ihtiyaç duyulmaktadır, ayrıca tavsiye edilen dozların aşılmasına da özen gösterilmesi gerekmektedir (Özden ve ark., 2003). 1 kg yem içindeki 20 mg'lık hormon düzeyi birçok salmonid yavrusunun dişileştirilmesini sağladığı gibi bütün uygulamalarda en dikkat edilmesi gereken nokta, yavrunun yeterli düzeydeki hormonu ilk yemlemeden başlayarak eşeyssel farklılaşma periyodu boyunca almasının sağlanmasıdır (Başçınar ve Sonay, 2009).

Sheperd ve Bromage (1990) yüksek seviyelerdeki östrojenin, Salmonidae türlerinde karaciğer hasarına ve ölümlere sebep olduğunu belirterek, balıklarda östrojen hormonu uygulanmasında dozun önemini vurgulamıştır.

**2.3.1.2. Erkekleştirme**

Balıkların erkekleştirilmesi için genellikle, doğal testosteron hormonunun bir türevidir olan  $17\alpha$ -metiltestosteron uygulanmaktadır. Sheperd ve Bromage (1990)'a göre erkekleştirme için uygulanacak hormon Salmonidae türlerinde  $3 \text{ mg.kg}^{-1}$  dozunda yeterli görülürken, çoğu tilapia türünde bu doz  $30-60 \text{ mg.kg}^{-1}$ 'a kadar çıkmaktadır (Özden ve ark., 2003). Turan (2000)'e göre Cravedi ve ark. (1989), *O. mykiss* tarafından 24 saat içerisinde alınan  $17\alpha$ -metiltestosteron'un %67'sinin dışkı ile dışarı atıldığını belirtmişlerdir. Balıkta androjen steroidlerin uygulanması genel olarak, protein sentezinde artış, sindirim kanalının proteolitik aktivitesinde gelişme, bağırsaktan aminoasit emilimini ve kaslardaki proteolitik aktivitenin yükselmesini sağlayabilmektedir (Güzel ve Güllü, 2006).

**2.3.1.3. Kısırlaştırma**

Balık üretiminde olgunlaşma sonucu meydana gelen kayıpların önüne geçilebilmesinde kısırlaştırma işlemi uygulanmaktadır. Kısırlaştırma metotları kimyasal, hormonal, triploidizasyon ve radyasyon uygulamaları şeklinde olup, bunların içerisinde en geçerli kısırlaştırma metodu triploidizasyon uygulaması olarak görülmektedir (Sheperd ve Bromage, 1990; Jungalwalla, 1991; Özden ve ark., 2003).

**2.3.2. Gen Manipulasyonu**

Gen manipulasyonu yönteminde, istenilen karakteri temsil eden genin frekansının artırılması amacıyla hedef türün genomunda bir takım değişiklikler yapılmakta olup bu değişimlerin sonucunda, türün istenilen yönde genetik özellikler kazanması sağlanmaktadır (Yılmaz ve ark., 2009).

Balıklarda gerçekleştirilen gen transferi çalışmalarında izlenen yol sırayla; uygun gene karar verilmesi, genin elde edilmesi, vektör (taşıyıcı) seçimi, enzimlerin seçimi, yabancı genin vektöre aktarılması, oluşturulan rekombinant vektörün konağa aktarılması şeklindedir. Bu yapıların istenen türe aktarılabilmesi için su ürünleri sektöründe kullanılabilecek gen transferi yöntemlerini aşağıdaki gibi sıralamıştır.

- Mikroenjeksiyon (Houdebine, 2002; Sarmaşık, 2003)
- Elektroporasyon (Kamdar ve ark., 1992)
- Retrovirüsler aracılığıyla (Houdebine, 2002)

- Lipofeksiyon (Sarmaşık, 2003)
- Spermatozoa taşınımıyla (Houdebine, 2002; Sarmaşık, 2003; Sato, 2005)
- Testis aracılığıyla (Shamila ve Mathavan 1999)
- Partikül (Biyolistik) bombardımanı (Rocha ve ark., 2004)

Gen manipülasyonunun salmonid balıklarda uygulanmasına örnek olarak; elde edilen genle hazırlanan sokeye salmon (*Oncorhynchus nerka*) metallotionin promotörü + sokeye salmon GH geni vektörü, salmonlara aktarılmış ve büyümede artış görülmesini sağlamıştır (Yılmaz ve ark., 2009).

### **2.3.3. Kromozom Manipulasyonu**

Balıkların çoğunda dış döllenme meydana geldiğinden çeşitli yöntemlerle kromozom setlerinin manipülasyonu sağlanarak, kromozom sayısı kısmen değiştirilebilmekte ve böylelikle ginogenetik, androgenetik, triploid ve tetraploid balıkların üretimi mümkün olabilmektedir. Johnstone (1992) balık hücrelerinin çoğunun ebeveynlerden gelen 2 kromozom setine sahip olduğunu ve bu setlerden sadece birinin döllere geçerek kromozom sayısının yarıya düştüğünü belirtmiş ve bu indirgeme işleminin kromozom manipülasyonlarının anlaşılmasında temel nokta olduğunu vurgulamıştır.

Balıklarda kromozom sayılarını değiştirebilmek için; ısı, hidrostatik basınç ve çeşitli kimyasallar (kolşisin, sitokalsin B, N<sub>2</sub>O) ile farklı şoklama yöntemleri kullanılmakta olup, ekipmanlarının ağır ve pahalı olmasına karşın en verimli yöntem basınç şoku olarak görülmektedir (Jungalwalla, 1991; Manickman, 1991; Diter ve ark., 1993; Purdom, 1993; Teskeredzic ve ark., 1993; Malison ve ark., 1993).

Aydın (2008)'a göre Thorgaard (1983), poliploid balık üretmek için kromozom manüplasyonlarının 1970'lerin ortalarından itibaren araştırılmaya başlandığını ve ilk yıllarda yapılan çalışmaların salmonlar üzerine yoğunlaştığını belirtmiştir.

#### **2.3.3.1. Ginogenez**

Ginogenezdeki amaç, balıkların kromozomlarını sadece anneden almasının sağlanması ve böylece akraba hatlarının korunarak, tek cinsiyetli populasyonların üretilmesidir. Bu işlem için yumurtaların döllenmesi, genetik materyali yok edilmiş spermatozoitler tarafından sağlanır. Böylece hiçbir şekilde sperm kalıtım materyalinin katkısı olmadan yumurtanın embriyonik gelişimi devam eder.

Spermatozoitlerin genetik materyalinin nötralize edilmesinde,  $\gamma$ -ışınları, X-ışınları, UV kullanılmakta olup, bunlardan en çok, ucuz ve kullanışlı olması nedeniyle ultraviyole kullanılmaktadır (Refstie, 1983; Cherfas ve ark., 1990; Goryczko ve ark., 1991; George ve ark., 1994; Malison ve ark., 1993; Rothbard, 1994; Özden ve ark., 2003). Purdom (1993)'a göre spermlerin kalıtım materyalinin yok edilmesi sayesinde, yumurtaların döllenmesi için farklı balık türlerinden alınan spermler kullanılabilir.

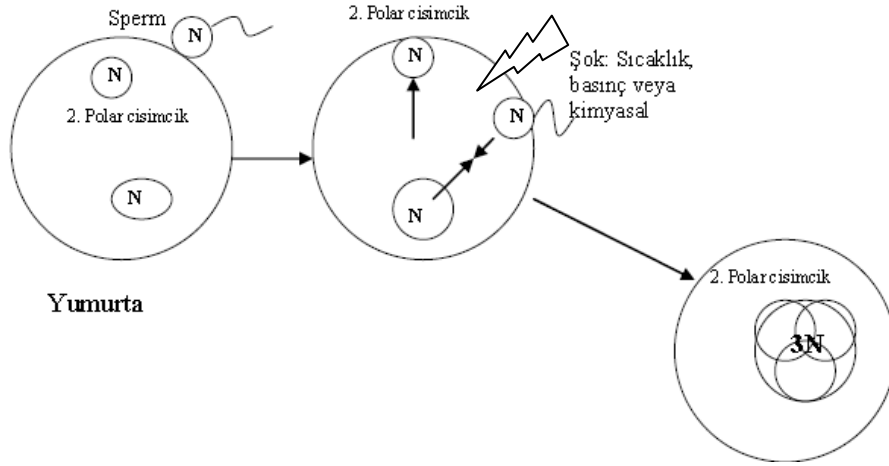
### **2.3.3.2. Androenez**

Androenezde amaç; genetik materyali yok edilmiş yumurtanın, normal spermatozoa ile döllendikten sonra, embriyonik gelişimini spermatozoanın kromozom setinden devam ettirmesidir (Özden ve ark., 2003).

Androenez için yaygın olarak kullanılan yöntem;  $\gamma$  (gama) veya x ışınları ile genetik materyali yok edilmiş yumurtaların normal spermatozoa ile döllenerek haploid zigot oluşturulması ve bu zigotun ilk bölünmeyi geçireceği zaman şoklanarak hücre bölünmesinin engellenmesi prensibine dayanır. Böylece iki haploid çekirdek, diploid çekirdeği meydana getirmek için birleşir ve döllere tüm kromozomların babadan gelmesi sağlanmış olur (Turan, 2000). Androjenetik uygulamalar *O. mykiss*, ot sazanı (*Ctenopharyngodon idellus*), adi sazan (*Cyprinus carpio*), kaynak alabalığı (*Salvelinus fontinalis*) ve beyaz mersin (*Acipenser transmontanus*) türlerinde başarıyla uygulanmıştır (Rothbard ve ark., 1999; Turan, 2000).

### **2.3.3.3. Triploidizasyon**

Triploidi; yumurtanın döllenmesinin hemen ardından çeşitli yöntemler ile şoklanarak sadece döllenme esnasında ortaya çıkan 2. polar cisimciğin yumurta içerisinde hapsolmesinin sağlanması ile gerçekleşir (Şekil 9). Triploidi işleminin gerçekleştirildiği döllenmiş yumurtada biri spermden, diğer ikisi yumurtadan olmak üzere üç haploid çekirdekçik bulunmaktadır, daha sonra bu çekirdekçikler kaynaşarak triploid zigot nükleusunu meydana getirirler (Ingram, 1988; Schreck ve Moyle, 1990; Tave, 1993; Kankaya,1998).



Şekil 9. Triploid oluşumu (Lutz, 2001).

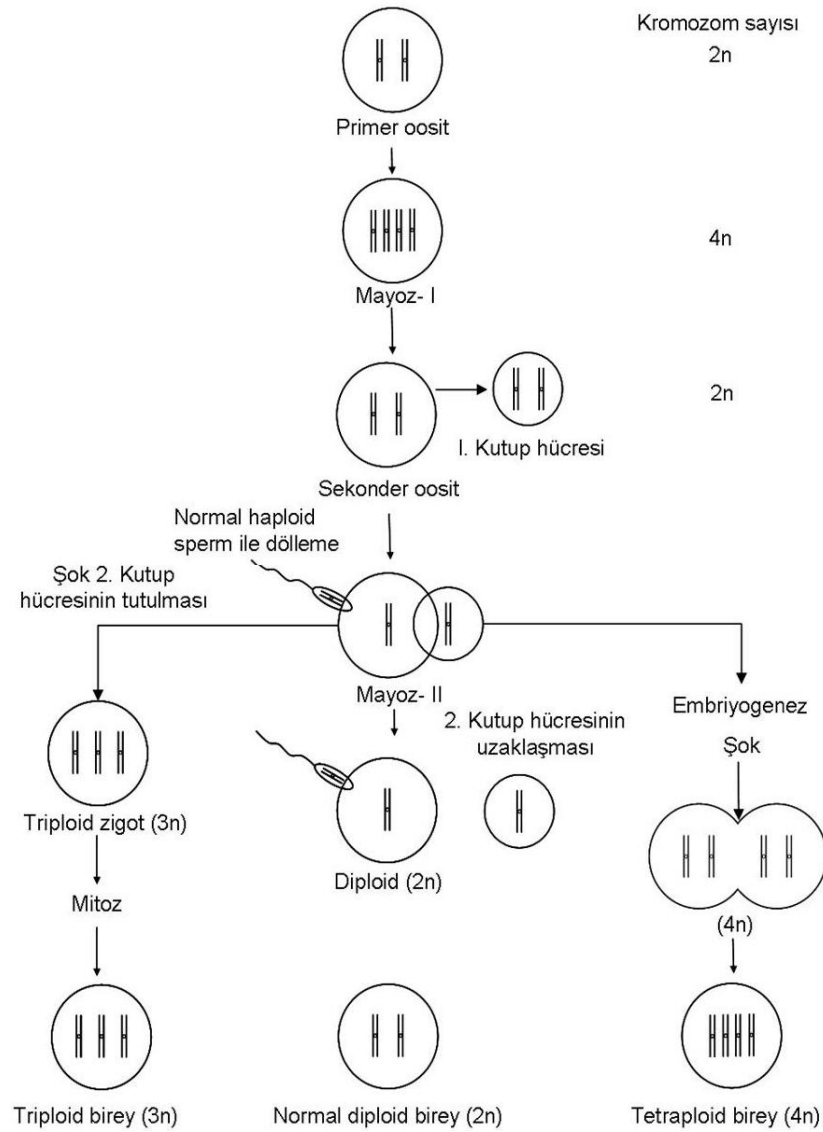
Malison ve ark. (1993) triploid birey elde etmek için, ısı (sıcak veya soğuk), hidrostatik basınç ve çeşitli kimyasallar (kolşisin, sitokalsin B,  $N_2O$ ) ile şoklama yöntemi uygulanabildiği gibi, tetraploid ve diploid bireylerin çiftleştirilmesiyle de triploid bireylerin üretiminin mümkün olduğunu belirtmişlerdir. Johnstone (1992), *S. salar* yumurtalarında triploidiyi teşvik etmek için ısı şoku, kimyasal şok ve basınç şokunu denemiş, triploid ürün oluşumunda; ısı şokunun en az, kimyasal şokun orta, basınç şokunun ise en iyi sonuç verdiğini belirtmiştir. Kalbassi ve ark. (2009), *Salmo trutta caspius* yumurtalarına yaptıkları ısı şoku denemesinde şoklama sıcaklığının ve başlatma sürelerinin; yaşama oranına, triploid orana ve triploid verime önemli derecede etki ettiğini vurgulamışlardır.

Kimyasal şoklar çok sayıda mozaik (çeşitli ploidi seviyeli bireyler) oluşumuna sebep olduğundan, çoğu araştırmacı ve balık yetiştiricisi ya ısı ya da basınç şoku kullanmakta olup, triploid üretimi için en kolay, en ucuz ve güvenli yol olarak termal şoklar görülmektedir (Kankaya, 1998). Özellikle ucuz ve kullanılan materyal açısından tehlikesi olmayan ısı şoku yönteminde, yüksek sıcaklık genellikle soğuk su türlerine uygulanırken, soğuk şok ise ılık su türlerine uygulanmaktadır (Beaumont ve Hoare, 2003; Gjedrem, 2005; Aydın, 2008). Piferrer ve ark. (2006) soğuk şok ve basınç uygulamasının küçük yumurtalı balıklar (sazanlar, deniz levreği, kalkan, çipura) için uygun olduğunu belirtmiştir. Çeşitli yöntemler ile balıklarda triploid oluşumun sağlanabildiği gibi doğada da bu tip bireylere rastlamak mümkündür. Doğal olarak triploid oluşumu ilk kez Cuellar ve Uyeno (1972) tarafından *O. mykiss*'de tespit edilmiştir (Dillon, 1988).

### 2.3.3.4. Tetraploidizasyon

Tetraploidizasyon; normal bir yumurtanın, aktif bir spermatozoa ile döllenmesinin ardından, ilk mitotik bölünmeyi geçirdiği esnada, şok uygulanarak  $4n$  kromozomlu hale getirilmesi işlemidir (Şekil 10). Tetraploid balık üretimindeki amaç, bunların diploid balıklarla çaprazlandığında triploid bireylerin elde edilebilmesidir (Özden ve ark., 2003).

Johnstone (1991) tetraploid üretiminin kolay olmadığını, fakat *O. mykiss*'de tetraploid üretiminin gerçekleştirilebildiğini belirtmiştir.



Şekil 10. Balıklarda poliploid (triploid ve tetraploid) oluşumu için ortak şema (Reddy ve ark., 1990; Aydın, 2008).

**2.4. Sitogenetik Araştırmaların Su Ürünleri Çalışmalarına Kattığı Değerler**

Yetiştiricilikte hızlı büyüme yeteneğine sahip, hastalıklara karşı dayanıklı ve ortam şartlarına iyi uyum sağlayabilen balıkların tercih edildiğini belirten Ulupınar ve Okumuş (2002), bu amaçla yapılan ıslah çalışmalarının dünyada hızla devam ettiğini ve önemli gelişmeler kaydettiğini belirtmiştir. Ulupınar ve Okumuş (2002)'a göre Thorgaard (1992) doğadaki ve çiftlik stoklarındaki genetik yapının bilinmesinin, gelecekte daha iyi stokların elde edilebilmesi ve mevcut genetik kaynakların korunması çalışmalarında çok yararlı olacağını belirtmiştir.

Sistematik çalışmalarda birbirine yakın ve morfolojik olarak ayırt edilemeyen türlerin, alttürlerin ve izole olmuş grupların sınıflandırılmasında metrik ve meristik karakterler yetersiz kalmakta olup, bu yetersizliklerin giderilebilmesi için sitogenetik, moleküler ve biyokimyasal çalışmalar da yapılmaktadır (Gaffaroğlu ve Yüksel, 2004). Türün genetik potansiyellerinin belirlenmesi, melezleme çalışmalarında kullanılacak alt yapının meydana getirilmesinde yardımcı olur (Saygun, 2005).

Balık kromozomları üzerine yapılmış ve yapılacak çalışmalar, çevresel kirlenmenin insan sağlığı üzerine etkilerinin fark edilmesi bakımından bir tür erken uyarı sistemi olabilmektedir (Gül, 2008). Buna paralel olarak Al-Sabti (1991)'ye göre sağlıklı olan türlerin üretiminin yönlendirilmesinde, çevresel kanserojenlerin belirlenmesinde ve sitotoksik kimyasalların izlenebilmesinde karyotip çalışmalarının önemi giderek artmaktadır (Gül ve ark., 1998).

Genel olarak kromozom çalışmaları, tür tayininde, kromozom sayısı ve morfolojisindeki benzerlik durumundan türler arası yakınlık derecesini belirlemede; poliploidliği teşvik etmek suretiyle veya jinogenezis yardımıyla kısırlaştırmada, yüksek popülasyonu önleme ve cinsi olgunluk yaşından sonra balıklarda büyüme ve hayatta kalma süresini arttırma amacıyla balıkçılık yönetimi ve yetiştiricilikte; balıklarda kromozomal hatalara sebep olan, su yoluyla taşınan kirleticileri metabolize edebilen, toplayabilen ve depolayabilen organizmalar olması nedeniyle su kirliliği göstergesi olarak kullanılabilmektedir (Ulupınar, 1998).

## BÖLÜM 3

### MATERYAL VE YÖNTEM

#### 3.1. Materyal

##### 3.1.1. Balık materyali

Denemelerde kullanılan *O. mykiss* yumurtaları Çanakkale'nin Bayramiç ilçesindeki Evciler Tarımsal Kalkınma Kooperatifinden (E.T.K.K.) (Şekil 11) alınan anaçlardan elde edilmiştir.



Şekil 11. E.T.K.K.'nin Türkiye topografik haritasındaki yeri (<http://maps.google.com>) ve anaç havuzu.

Üretim tesisine gelen kaynak suyunun sıcaklık değeri 8-10 °C arasında olup üretim için kış yumurtası alınmaktadır. Bu sebeple anaçların sağımı Aralık ayında gerçekleştirilmiştir (Şekil 12). Gelişmesi normal ve sağlıklı olan *O. mykiss* dişi ve erkek anaçları arasından, sağım için 2 adet dişi, 2 adet erkek seçilmiştir.



Şekil 12. a) Damızlık dişi *O. mykiss*'den yumurta sağımı, b) Damızlık erkek *O. mykiss*'den sperm sağımı (Orjinal).

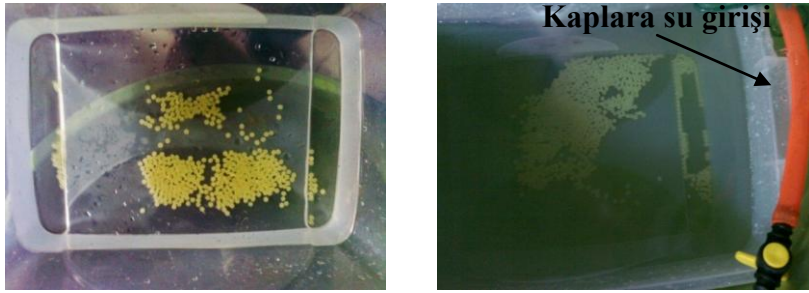


### 3.1.2. Isı şoku ekipmanı

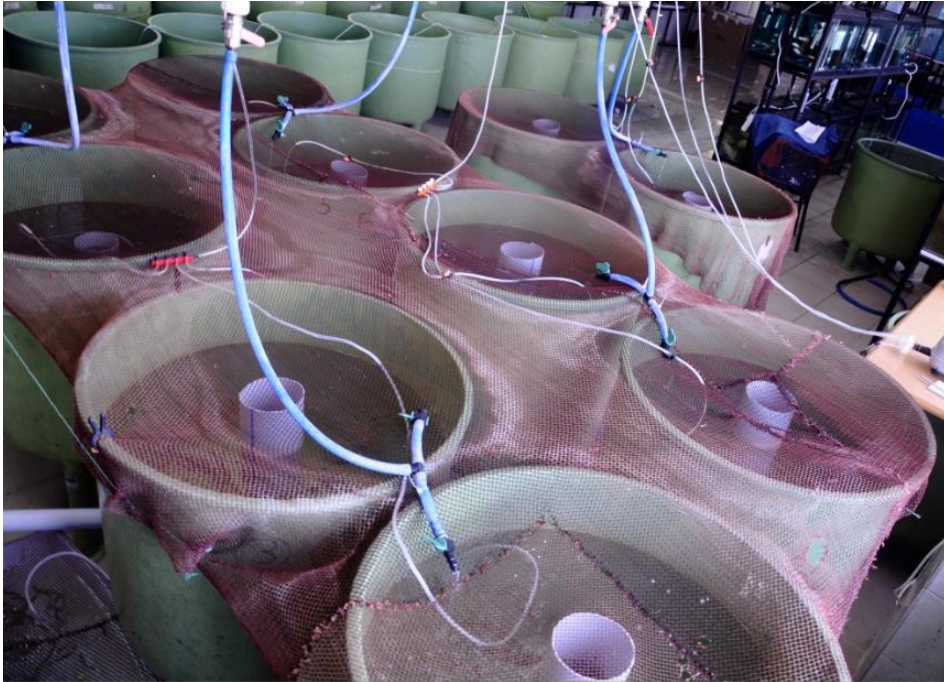
Yumurtalara ısı şoku uygulaması sırasında sıcaklığın değişmemesi önemli olduğundan, ısı şoku işlemi sıcaklığı ayarlanabilir, termostatlı su kazanı (Heidolph marka) kullanılarak yapılmıştır.

### 3.1.3. Kuluçka ve büyütme tankları

Kuluçkalama için taze su girişi olan 20’şer litrelik kaplar kullanılmıştır (Şekil 13). Olası ani su sıcaklığı değişiminin engellenebilmesi amacıyla, bu kaplar 500’er litrelik tanklara yerleştirilmiş ve kaplardan taşan suyun tanktaki suyu yenilemesi sağlanmıştır. Kuluçka evresinden sonra, balıklar büyütme tanklarına alınmıştır (Şekil 14).



Şekil 13. Kuluçka tankları (Orjinal).



Şekil 14. Büyütme tankları (Orjinal).

**3.1.4. Kromozom Çalışmasında Kullanılan Kimyasal Maddeler****3.1.4.1. Kolşisin (C<sub>22</sub>H<sub>25</sub>NO<sub>6</sub>)**

Çalışmada kullanılan kolşisin (Sigma, EC Number 200-598-5), beyaz renkte toz şeklindedir. Kolşisin bölünmekte olan somatik doku hücrelerinin iğ ipliklerinin uyuşmasını sağlayarak, metafaz kromozomlarının kutuplara çekilmesini engeller, böylece metafaz kromozomlarının rahatlıkla incelenebilmesini sağlar.

**3.1.4.2. Potasyum Klorür (KCl)**

Suda yüksek çözünürlüğe sahip bir tuz olan potasyum klorür (KCl), beyaz kristallerden oluşur ve saf hali kokusuzdur. Hipotonik solüsyon olarak kullanılan KCl hücre çekirdeğinin sıvı alıp şişmesini ve kromozomların büyüyerek daha net görünmelerini sağlar (Örs, 2003).

**3.1.4.3. Carnoy fiksatif**

3 kısım metanol, 1 kısım glasiyal asetik asitten meydana gelen Carnoy fiksatif her türlü dokunun tespitinde kullanılan ve hızlı penetrasyon gösteren bir kimyasaldır. Glikojen ve plazma hücreleri için iyi bir fiksatifdir. Tespit işlemi için, dokuyu hücresel enzimlerin neden olduğu otolizden korur ve çürüme gibi değişiklikleri önler, böylece doku bileşenlerini sabitleştirir.

**3.1.5. Diseksiyonda kullanılan alet ve malzemeler**

Embriyo ve larva dönemdeki balıklarda yapılan kromozom analizinin ilk aşaması için balıkların diseksiyonu ve dokularının homojenizasyonu çeşitli alet ve ekipmanlar ile yapılmaktadır. Bu cam malzeme ve aletler (Şekil 15);

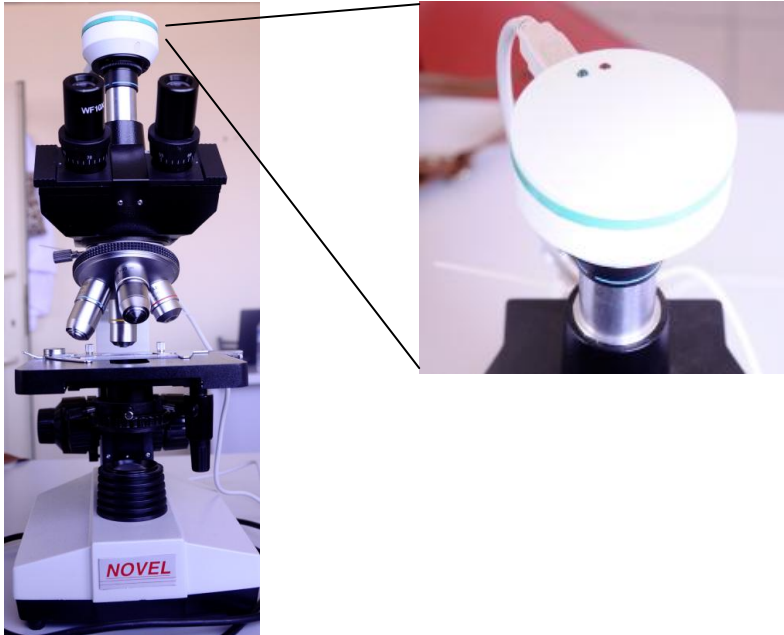
- 1) Vorteks
- 2) Beherler
- 3) Falkon tüpleri ve tüp sporları
- 4) Saat camları
- 5) Plastik pastör pipetleri
- 6) Cam pastör pipetleri
- 7) Bistüri sapı ve neşter
- 8) Pens
- 9) Makaslar
- 10) Mikropipet
- 11) Mikropipet uçları



Şekil 15. Balıkların diseksiyonu ve dokuların homojenizasyonu için ekipmanlar (Orjinal).

### 3.1.6. Mikroskop

Kromozom görüntülerinin fotoğraflanması ve eritrosit ölçümlerinin yapılabilmesi için bilgisayara bağlanabilen Novel marka, ScopImage 9.0 ® yazılım ile desteklenmiş, 2 mp. kameralı mikroskop kullanılmıştır (Şekil 16).



Şekil 16. Kameralı mikroskop (Orjinal).

### 3.2. Yöntem

#### 3.2.1. Yumurtaların döllemesi

Bu işlem için 2 adet dişi ve 2 adet erkek damızlık *O. mykiss* kullanılmıştır. Kuru yöntem ile gerçekleştirilen dölleme işleminde, temiz plastik bir kap içerisine önce dişilerin yumurtaları, ardından erkeklerin spermeleri sağılmış ve yavaşça karıştırılmıştır (Şekil 13). Döllemesi için 5 dk. bekletilen yumurtalar süre sonunda temiz su ile yıkanarak; fazla spermden, döllememiş yumurtalardan ve yumurta kalıntılarından arındırılmış, 10 °C’lik suda 10 dk. bekletilerek su alıp şişmesi sağlanmıştır.

#### 3.2.2. Isı şoku ile triploidizasyon uygulaması

Yumurtalara uygulanan ısı şoku yöntemi, Ingram (1988); Kalbassi ve ark. (2009)’nın kullandıkları metotlardan modifiye edilmiştir. Bu yöntemde yumurtalara su alıp şişmesinin hemen ardından, termostatlı ısıtma sistemine sahip su kazanında 26 °C’de 5, 10, 15 ve 20 dk. süreyle ısı şoku uygulanmıştır (Şekil 17).



Şekil 17. 26 °C’ye ayarlanmış termostatlı su kazanında yumurtalara ısı şoku uygulaması (Orjinal).

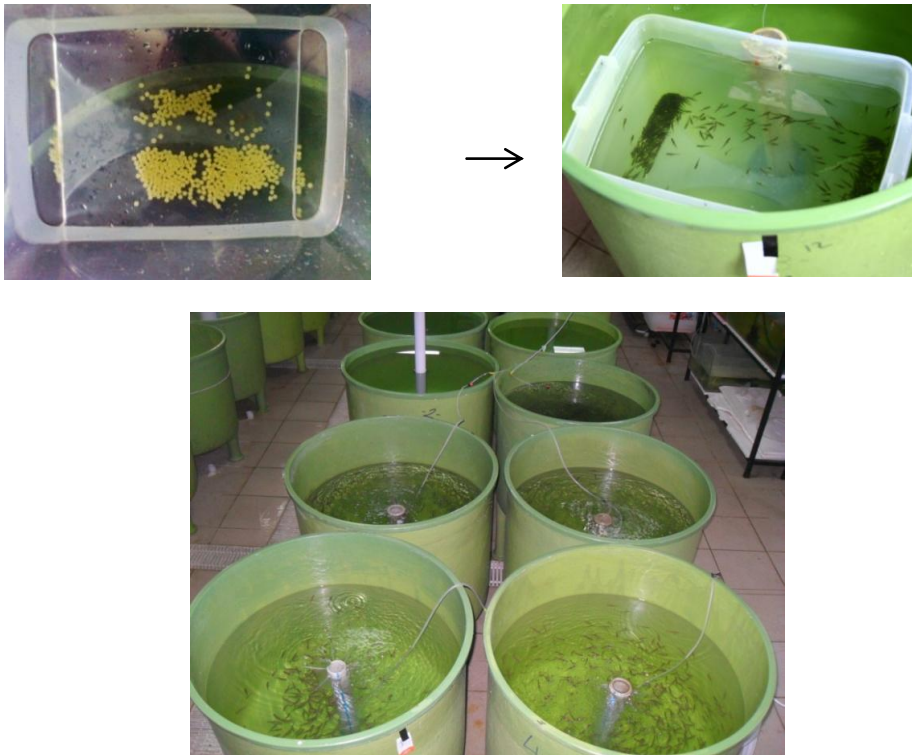
Isı şoku uygulaması sonunda yumurtalar, şoklanma sürelerine göre gruplara ayrılarak (Çizelge 7), kontrol dahil 5 grubu olan 2 tekrarlı bir deneme modeli oluşturulmuştur.

Çizelge 7. Gruplara göre birey sayıları ve ısı şoku süreleri

	Başlangıç Yumurta Sayısı	Isı şoku süresi (dk.)
<b>Kontrol</b>	1068	-
<b>1.Grup</b>	945	5
<b>2. Grup</b>	981	10
<b>3. Grup</b>	968	15
<b>4. Grup</b>	902	20

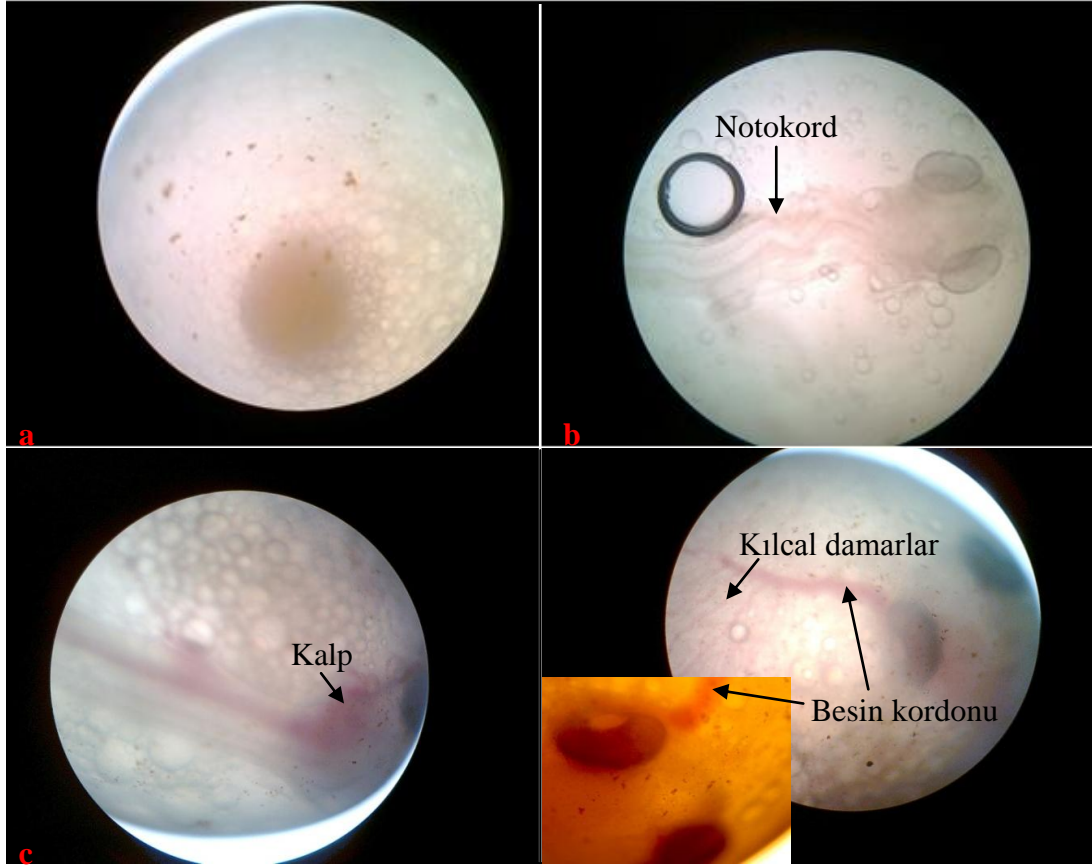
### 3.2.3. Yumurtaların adaptasyonu ve kuluçkalanması

Şoklanma sürelerine göre gruplara ayrılan yumurtaların kuluçka ortamına adaptasyonları sağlanmış (Şekil 18) ve ölen yumurtaların sayısı kayıt altına alınmıştır. Yumurtaların kuluçkalandığı ortamda su sıcaklığı değeri 11,4 °C olarak ölçülmüştür.

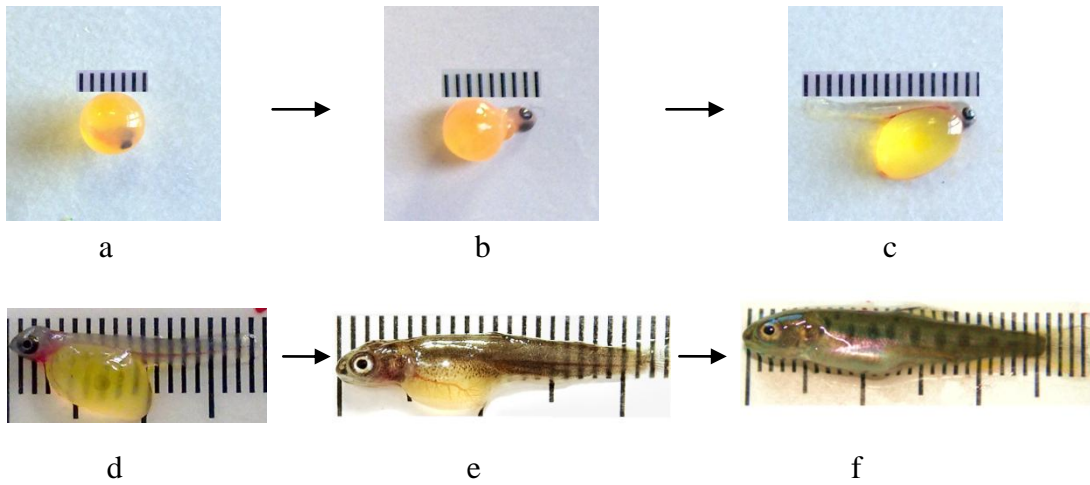


Şekil 18. Yumurtaların adaptasyonu, kuluçkalanması ve büyütme tanklarına dağıtımı (Orjinal).

1. gününden itibaren incelemeye alınan *O. mykiss*'in önce mikroskop altında embriyo dönemi (Şekil 19), daha sonra makro çekim ile larva dönemleri (Şekil 20) zaman zaman fotoğraflanmıştır.



Şekil 19. a) Döllenenmiş *O. mykiss* yumurtası, b) Embriyonik dönemin 14. gününde *O. mykiss*'de notokord c) Embriyonik dönemin 20. gününde *O. mykiss*'de kalp, damar sistemi ve besin kordonu (Orjinal).



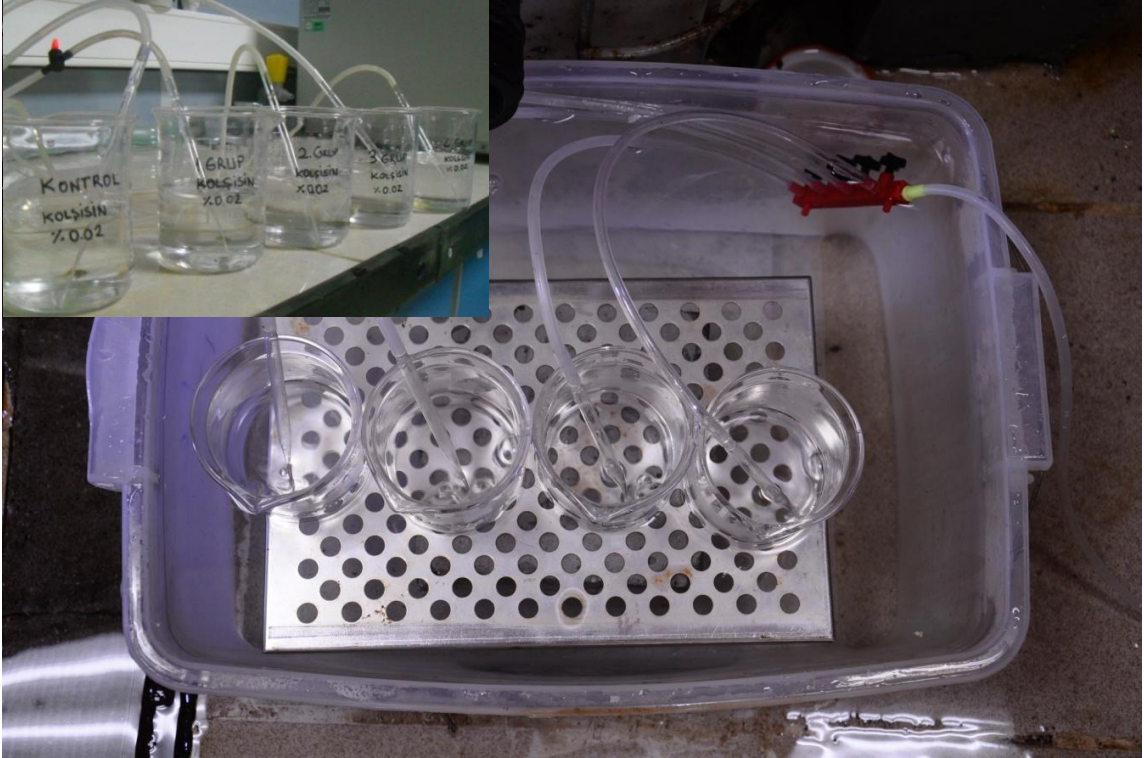
Şekil 20. *O. mykiss* gelişim evreleri, a) 22. günde gözlenen embriyo, b) 27. günde larva çıkışı, c) 31. günde keseli larva, d) 33. günde keseli pre-larva, e) 47. günde post-larva, f) 60. günde juvenil birey (Orjinal).

### 3.2.4. Kromozom analizi

Isı şokunun, *O.mykiss* kromozomlarındaki poliploidi seviyesine etkisini görebilmek için, balıkların embriyo döneminden gelişkin dönemine kadar doğrudan preparasyon yöntemi ile kromozom analizi yapılmıştır. Bu yöntem için gözlenmiş olan embriyo ve larva dokularından örneklemeler yapılmış, havada kurutma tekniği ile preparatlar hazırlanmıştır.

#### 3.2.4.1. Kolşisin uygulaması

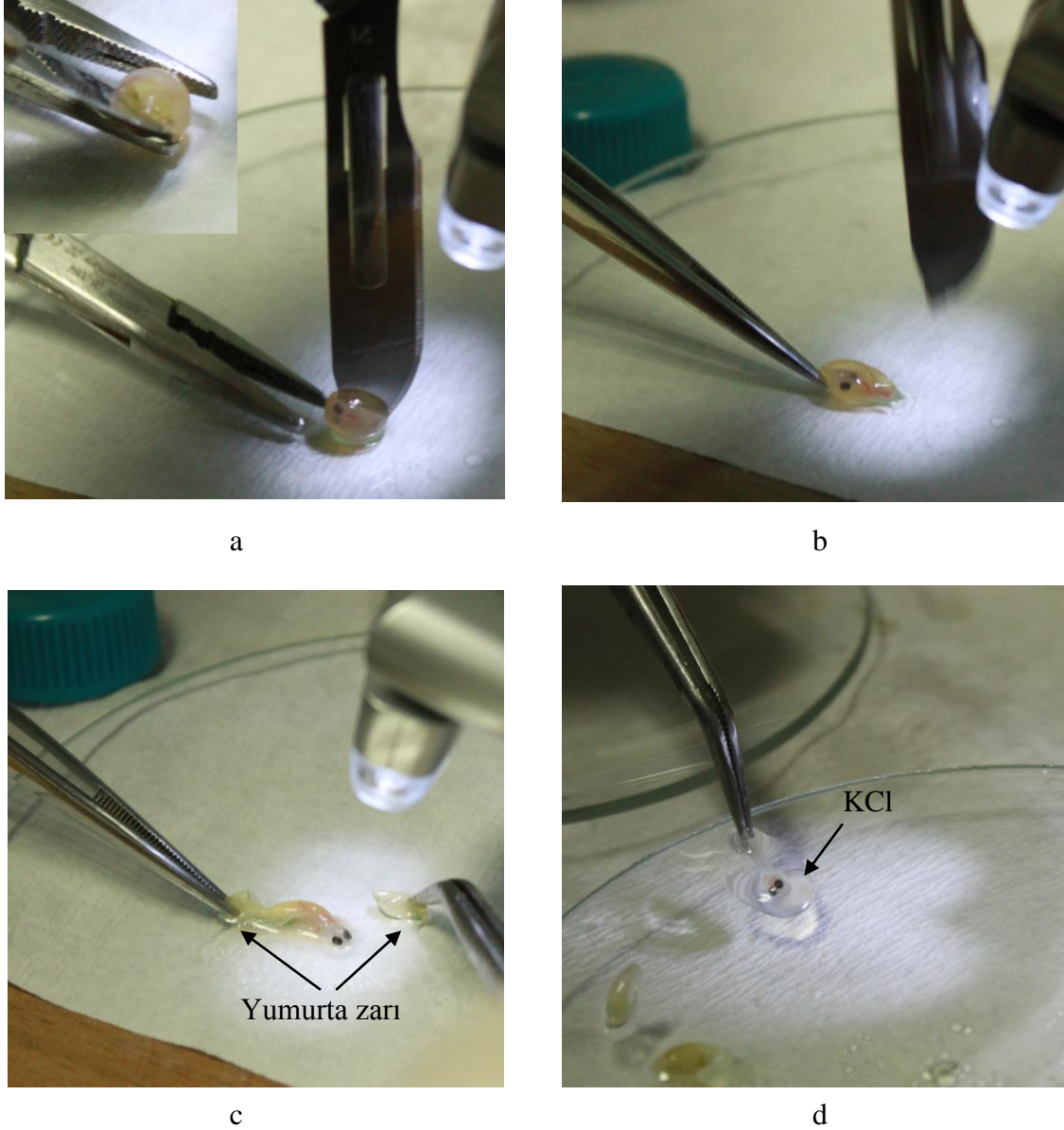
Bu amaçla *O. mykiss* embriyo ya da larvalarına yüzdürme metodu ile %0.02'lik kolşisin uygulanmıştır (Shao ve ark., 2010). Bu uygulama için hazırlanan kolşisin çözeltisine 2-3 adet gözlenmiş embriyo ya da larva aktarılıp, 2 saat yaşatılmaları sağlanmış ve hazırlanan düzeneğin iyi havalandırılmasına dikkat edilmiştir (Şekil 21).



Şekil 21. Yumurta ve larvalara yüzdürme metodu ile %0.02'lik kolşisin uygulanan sistem (Orjinal).

### 3.2.4.2. Embriyo ve larvaların diseksiyonu

Kolşisinde iki saatlik bekleme süresinden sonra, diseksiyona alınan gözlenmiş *O. mykiss* embriyolarının önce yumurta zarları neşter ile açılmış ve içerisinden larvalar çıkartılmıştır, ardından %0.9'luk soğuk NaCl çözeltisinden geçirilerek hem anestezi edilmiş hem de kan ve yağdan arınması sağlanmıştır (Şekil 22).



Şekil 22. a) Larvaya zarar vermeden neşterle yumurta zarının delinmesi, b) Yumurta zarının açılması c) Larvanın çıkartılması, d) Soğuk NaCl ile anestezi edilerek yağdan arındırılan larvaya hipotonik işlem için KCl ilave edilmesi (Orjinal).



**3.2.4.3. Hipotonik işlem**

Bunun için başlangıç olarak larva üzerine bir miktar KCl (0.075 M) ilave edilmiş (Şekil 23/d) ve neşterle saat camı içerisinde küçük parçalara ayrılmıştır. Parçalanan doku 15 ml'lik falkon tüplerine aktarılarak yine KCl ile 5 ml'ye tamamlanmıştır.

Falkon tüplerinde süspansiyon edilen doku etüve alınmış ve 24 °C'de 40 dk. bekletilerek hipotonik inkübasyonu sağlanmıştır. Süre sonunda 1-2 damla taze hazırlanmış soğuk Carnoy fiksatif (3:1, metanol: asetik asit) damlatılarak prefiks işlemi gerçekleştirilmiş ve tüpler 2000 rpm 'de 10 dk santrifüj edilmiştir.

**3.2.4.4. Hücrenin fiksasyonu**

Santrifüj sonrası, dibe çöken pelet kısım hareket etmeyecek şekilde hücre süspansiyonunun süpernatantı uzaklaştırılmış ve hücrelerin fiksasyonu için tüpler soğuk Carnoy fiksatif ile 5 ml 'ye tamamlanmıştır. Fikse edilen dokular +4 °C'de 15 dk beklemeye bırakılmış, süre sonunda tekrar 2000 rpm'de 10 dk santrifüj edilerek fiksasyon işlemi bir kez daha tekrarlanmıştır. Son santrifüjden sonra tüplerdeki doku çözeltisi 2 ml kalacak şekilde süspansiyon edilmiş ve atış işlemine geçilmiştir.

**3.2.4.5. Atışlar**

Hücre süspansiyonunun lamlara damlatılmasıyla gerçekleştirilen atış işlemi çalışmanın en önemli kısımlarından biri olup, net bir metafaz görünümü elde edilmesinde önemli rol oynamaktadır. Bu da kromozom kollarının üst üste binmesinin engellenmesiyle mümkündür.

Bu amaçla atış mesafesinin iyi ayarlanmasına ve atış yapılacak ortamdaki havanın nemsiz olmasına dikkat edilmiştir. Atış işleminden önce falkon tüpünde süspansiyon edilen dokudan cam pastör pipeti yardımıyla pipetaj yapılarak bir miktar alınmış ve önceden temizlenen soğuk lamların üzerine 2-3 damla kadar hücre süspansiyonu damlatılmıştır.

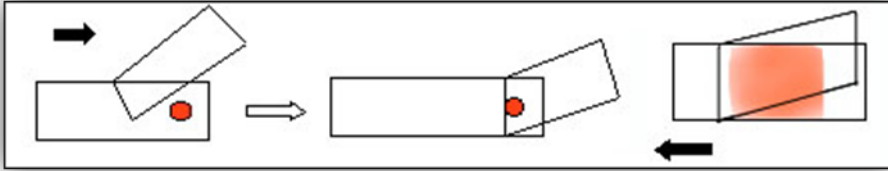
**3.2.4.6. Preparatların boyanması**

Preparatların boyanmasında %5'lik Giemsa kullanılmıştır. Kromozomların boyayı daha iyi kabul etmesi için kullanılacak olan Giemsa, Sorenson Fosfat Tampon Çözeltisi (PBS) ile pH'sı 6,8 olacak şekilde hazırlanmıştır. Araştırmamızda boyama işlemi için optimum değer 24°C de 20 dk olarak belirlenmiş bu süre aşıldığında kromozomların fazla boyandığı ve ayırt edilmesinin zorlaştığı gözlenmiştir.

Boyama işleminin ardından 3 er kez saf sudan geçirilerek fazla boyadan arındırılan lamalar 45 derece açıyla kurumaya bırakılmış, sonrasında entellan ya da D.P.X yapıştırıcı ile lamellerle kapatılmıştır.

### 3.2.5. Eritrosit analizi

Eritrosit analizleri  $1,87 \pm 0,35$  g ağırlığındaki 4 aylık juvenil alabalıklarda yapılmıştır. Bu amaçla ilk olarak tüm balıkların eritrositlerinin büyüklükleri karşılaştırılmıştır. Ayrıca denemedeki küçük ( $1,10 \pm 0,14$ ) ve büyük ( $1,93 \pm 0,22$ ) balıkların eritrosit büyüklükleri arasındaki farka bakılmıştır. Eritrosit analizi kromozom analizine nispeten daha az zahmetli ve kısa süreli bir metottur. Bu analiz için balıklar karanfil yağı ile bayıldıktan sonra kuyruk kısmı alkolle temizlenmiş ve neşter yardımıyla kuyruk sapı kesilmiştir. Kaudal venadan alınan kan direk olarak lam üzerine damlatılarak yayma preparat hazırlanmıştır (Şekil 23). Metilen mavisi ve Giemsa kullanılarak gerçekleştirilen boyama işleminin ardından boyanan eritrositler 100x’de incelemeye alınmış ve fotoğrafları çekilen eritrositlerin ScopImage 9.0® programıyla boyutları ölçülmüştür.



Şekil 23. Yayma preparat yöntemi (<http://irvingcrowley.com>).

### 3.2.6. Eritrosit ölçümleri ile triploid tespiti

Triploid oranın tespiti için; 2 tekerrürlü olan her gruptan toplam 40’ar adet bireyden kan örneği alınmış ve her örnekten rastgele 30’ar adet eritrosit seçilerek HGE, ÇGE, HDE, ÇDE ölçümleri yapılmıştır. Deneme gruplarından elde edilen sonuçların kontrol grubuna göre karşılaştırılması, Dunnett t-testi ile %5 önem düzeyinde gerçekleştirilmiştir.

**BÖLÜM 4  
ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA****4.1. Deneme Ortamında Su Kalitesi Fiziksel Değerleri**

Denemenin başladığı Aralık ayından itibaren su sıcaklığı 10-15 °C arasında olup, oksijeni 7,8 mg/lt, iletkenliği 302±10 mS ve pH 7,4 olarak tespit edilmiştir.

**4.2. Kontrol ve Deneme Gruplarında Yaşama Oranları**

26 °C’de 5, 10, 15 ve 20 dk. olmak üzere farklı sürelerde ısı şoku uygulanarak gruplara ayrılan yumurtaların yaşama oranlarının belirlenebilmesi için, denemenin başlangıcından itibaren 60 gün süreyle ölen bireylerin sayıları kayıt altına alınmıştır. Başlangıçtaki ile 60. gündeki canlı birey sayısı değerlendirmeye alınarak balıkların gruplara göre yaşama oranları tespit edilmiş, en yüksek yaşama oranı kontrol grubundayken en düşük yaşama oranı 15 dk. ısı şoku uygulanan 4. grupta tespit edilmiştir (Çizelge 8).

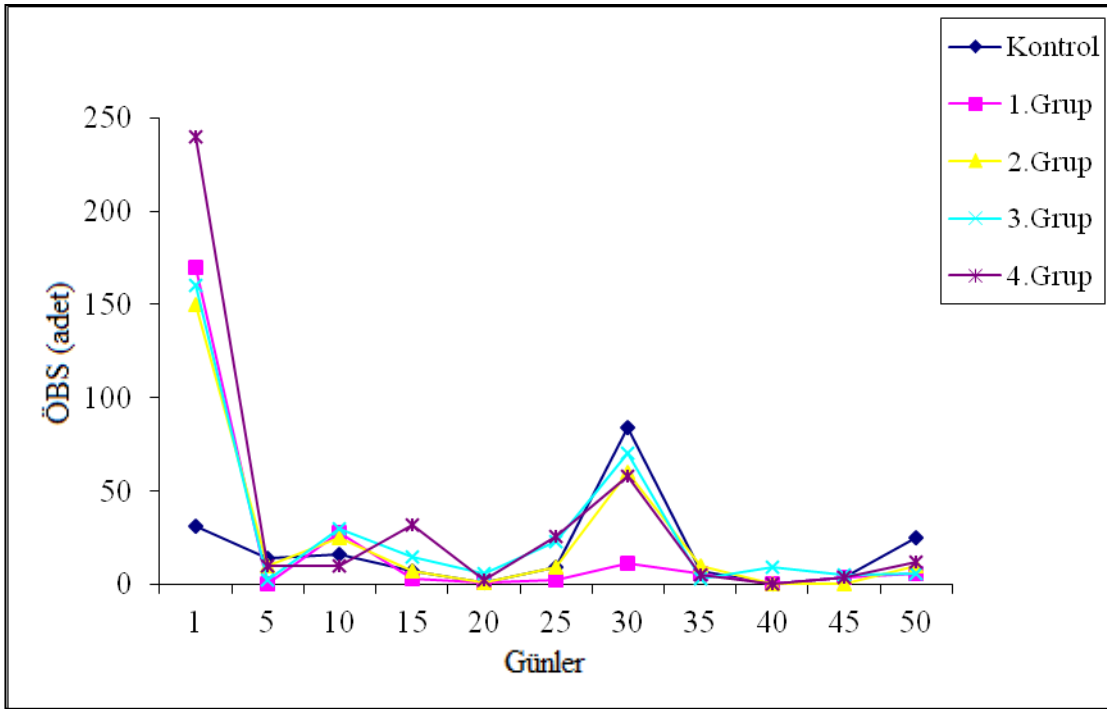
Çizelge 8. Denemenin 60. gününde gruplara göre yaşama oranları

<b>Grup</b>	<b>Isı Şoku Süresi (dk)</b>	<b>Başlangıçtaki Yumurta Sayısı</b>	<b>60. gündeki Balık Sayısı</b>	<b>Yaşama Oranı (%)</b>
<b>Kontrol</b>	-	1068	866	81,46
<b>1</b>	5	945	604	75,55
<b>2</b>	10	981	510	71,25
<b>3</b>	15	968	361	66,01
<b>4</b>	20	902	491	55,76

Piferrer ve ark. (2006) yetiştiriciliği yapılan türlerin çoğunun triploid uygulamasına uygun olduğu ve özellikle büyük yumurtaya sahip balıklarda, sıcaklık şokuyla yapılan uygulamaların sonuçlarında farklılıklar görüldüğünü belirtmişlerdir. Bu durum bizim çalışmamızla da paralellik göstermekte olup ısı şokunun, yumurtalara farklı sürelerde uygulanmasıyla yaşama ve triploid oranlarında farklı sonuçlar elde edilmiştir.

### 4.3. Kuluçka Döneminin Sonuna Kadar Gruplardaki Ölüm Miktarları

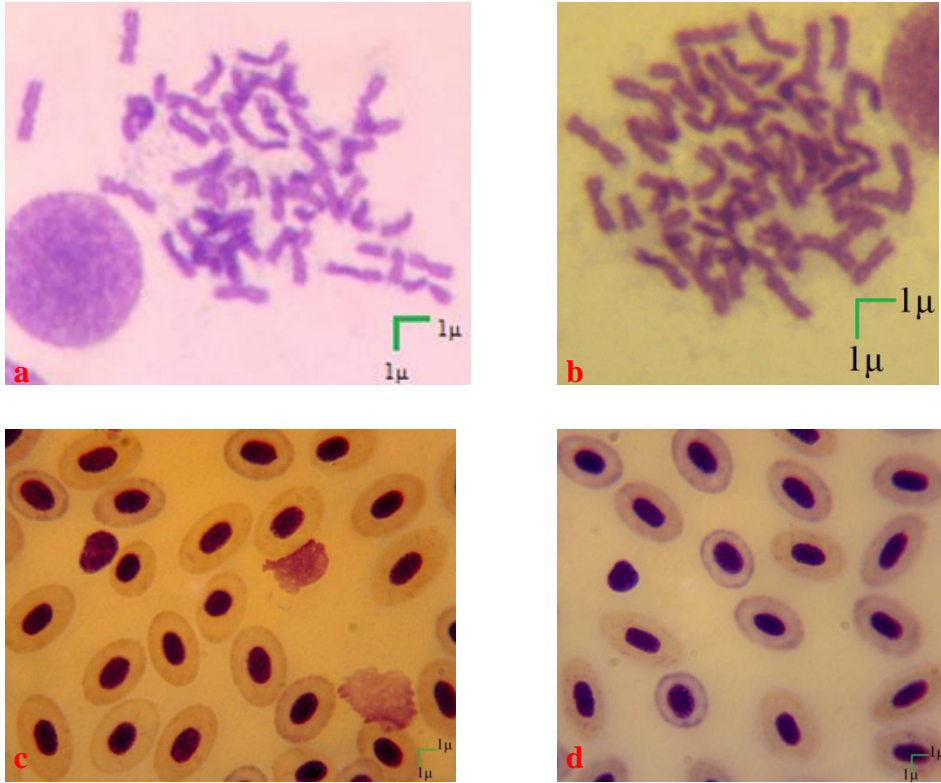
Kuluçka dönemi, balıkların fiziksel ve kimyasal su parametreleri değişimlerine ayrıca bakteriyel, fungal (mantar) ve viral (virüs) enfeksiyonlara karşı hassas olduğu bir evredir. Bu nedenle balıklarda embriyo döneminin başlangıcından itibaren, larvaların besin kesesini tükettiği 51. güne kadar ölen bireylerin sayısı (ÖBS) tespit edilmiş ve günlere göre dağılımı belirlenmiştir (Şekil 24). Bu dağılım sonucunda deneme grubundaki yumurtaların döllendiği gün içerisinde, kontrol grubuna göre fazla miktarda fire verdiği, diğer günlerde ise ölüm miktarlarının zaman zaman ani artış gösterdiği tespit edilmiştir.



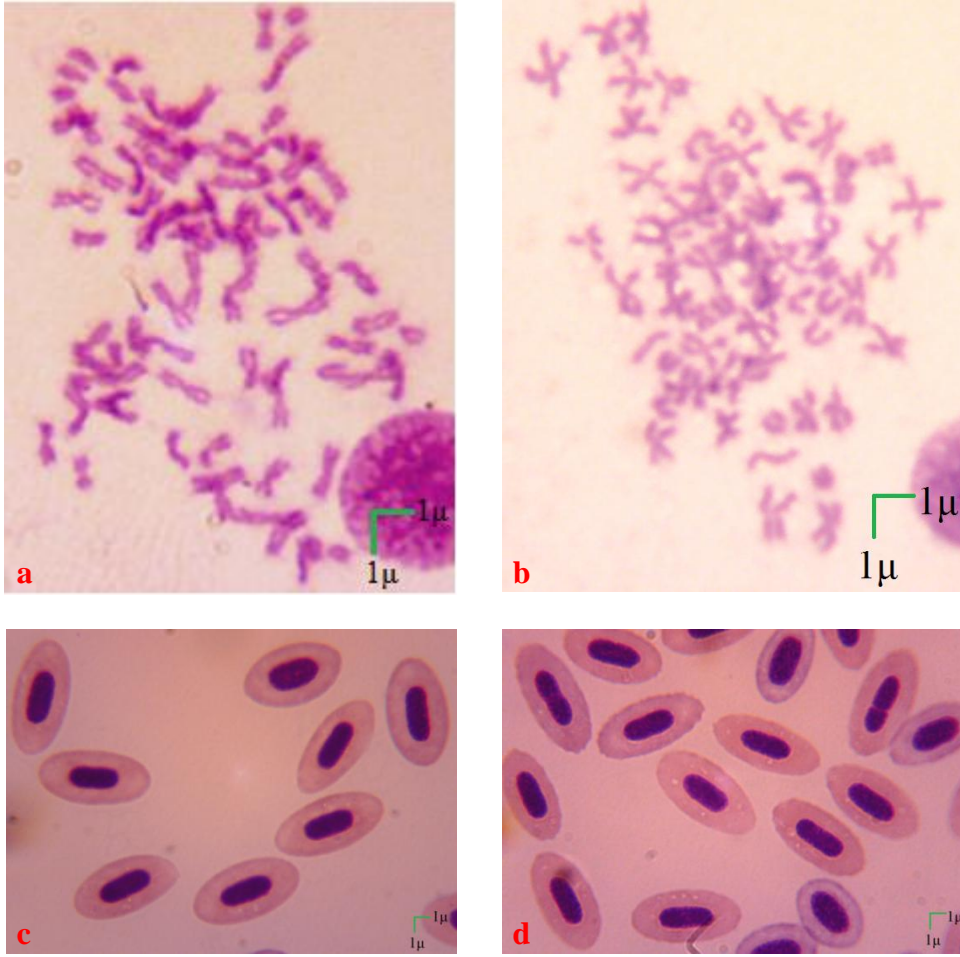
Şekil 24. Denemenin başlangıcından itibaren 50 gün boyunca ölen birey sayılarının gruplara ve günlere göre dağılımı.

**4.4. Kromozom Sayısı ile Eritrosit Büyüklüğü İlişkisi**

Eritrosit hücre büyüklüklerinin karşılaştırılabilmesi için, 40'ar adet diploid ve triploid balıkların her birinden örneklenen 30'ar adet eritrositin hücre geniş eksen (HGE), hücre dar eksen (HDE), çekirdek geniş eksen (ÇGE) ve çekirdek dar eksen (ÇDE) ölçümleri yapılmış ve ortalamalar karşılaştırılmıştır. Diploid eritrositlerin ortalama eksen genişlikleri; 5,15  $\mu\text{m}$  (HGE), 3,08  $\mu\text{m}$  (HDE) ve 2,46  $\mu\text{m}$  (ÇGE), 1,34  $\mu\text{m}$  (ÇDE) iken, triploid eritrositlerde bu değerler; 6,81  $\mu\text{m}$  (HGE), 3,49  $\mu\text{m}$  (HDE) ve 3,32  $\mu\text{m}$  (ÇGE), 1,45  $\mu\text{m}$  (ÇDE) olarak belirlenmiştir. Eritrosit hücre ve çekirdeklerinde yapılan ölçümler sonucu kromozom sayısındaki artışın eritrosit hücre ve çekirdek büyüklüğünü arttırdığı tespit edilmiştir (Şekil 25 ve Şekil 26). Diploidlere göre triploidlerin eritrositlerinde görülen bu farklılık HDE ve ÇDE genişliklerinde 1,1 kat iken, HGE ve ÇGE genişliklerinde ise 1,3 kat olarak belirlenmiştir.



Şekil 25. a-b) Kontrol grubu diploid *O. mykiss* metafaz kromozomları  $2n=56$ , c-d) Kontrol grubu diploid *O. mykiss* eritrositleri (Orjinal).

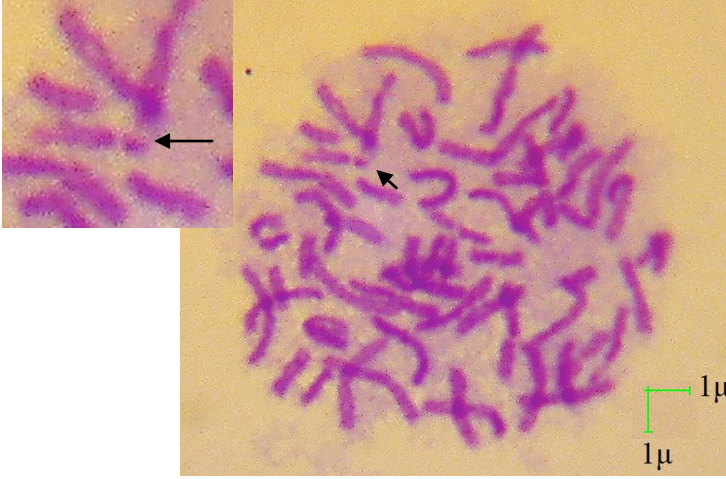


Şekil 26. a-b) Isı şoku uygulanmış triploid *O. mykiss* metafaz plağı 3x=84, c-d) Isı şoku uygulanmış *O. mykiss* eritrositleri (Orjinal).

Benfey (1999) *S. fontinalis* türünde triploid balıkların eritrosit hücre ve çekirdek boyutlarında, diploid balıklara göre artış meydana geldiğini ve bu artışın eritrosit hücre ve çekirdeklerin enine göre boylarında daha fazla olduğunu belirtmiştir. Çoğu araştırmacı balıklarda poliploidinin tespiti için, eritrosit boyut farklılığından yararlanmışlardır (Benfey ve Sutterlin, 1984; Benfey ve ark., 1984; Chourrout ve ark., 1986; Boron, 1994; Felip ve ark., 1996; Kankaya, 1998; Woznicki ve Kuzminski, 2002; Jankun ve ark., 2007; Aydın, 2008; Kalbassi ve ark., 2009).

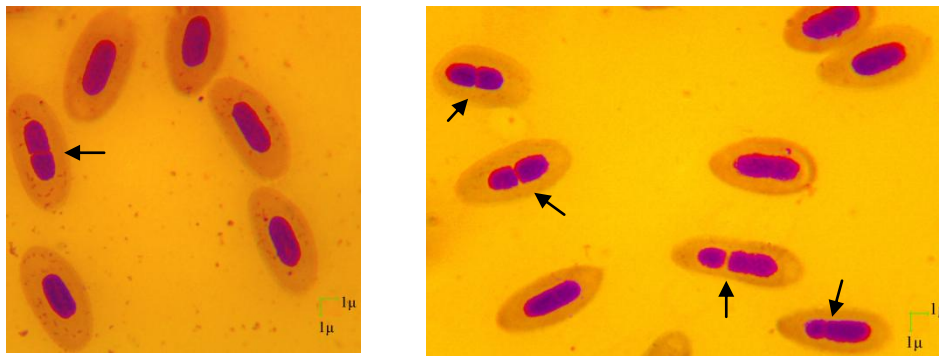
#### 4.5. Triploid, Kromozom ve Eritrosit Çekirdeklerinde Farklı Oluşumlar

10 dk. ısı şoku uygulanan grupta bir adet fragmente rastlanılmıştır (Şekil 27). Üstüner (2011), bu çeşit bir fragmentin kromozom tipi kırık sonucu oluşabileceğini ve tekrar birleşmeyen kırığın delesyonlu bir kromozom ile birlikte asentrik bir fragment meydana getirdiğini belirtmiştir.



Şekil 27. Kromozom tipi kırılma sonucu fragment oluşumu (Orjinal).

Triploid balıkların eritrositlerinde çok sayıda bölünmüş çekirdek yapıları tespit edilmiştir (Şekil 28). Jankun ve ark. (2007) ve Benfey (1999), *S. fontinalis* türünde yaptıkları benzer çalışmalarda diploid eritrositte de bölünmüş çekirdek yapısına rastlamıştır. Wlasow ve ark. (2004) aynı türde yaptıkları çalışmada, diploid eritrosit çekirdeklerinde bölünmüş yapıyı %0,3 oranında ve triploidlerde % 19,1 oranında tespit ederek, triploidlerdeki bu oran farklılığının diploidlere göre istatistiksel açıdan önemli olduğu ( $p<0,05$ ) sonucuna varmışlardır.



Şekil 28. Segment oluşturmuş (bölünmüş) triploid eritrosit çekirdekleri (Orjinal).

**4.6. Deneme Gruplarında Triploid Oranlar**

Eritrosit ölçümleri sonucunda 10, 15 ve 20 dakika ısı şoku uygulanan gruplarda, eritrosit hücre ve çekirdeği geniş eksen uzunlukları, kontrole göre istatistiksel açıdan önemli farklılık göstermiştir ( $p<0,05$ ). Ayrıca 15 ve 20 dk. şok uygulanan gruplarda hücrenin, 20 dk. şok uygulanan grupta da çekirdeğin dar eksen uzunluğu kontrole göre farklılık göstermektedir ( $p<0,05$ ) (Çizelge 9).

Çizelge 9. Gruplara göre balıkların eritrosit büyüklükleri

Deneme Grupları	Hücre Ölçümleri ( $\mu\text{m}$ )			
	HGE	HDE	ÇGE	ÇDE
<b>Kontrol</b>	5,15±0,06	3,08±0,03	2,46±0,03	1,34±0,02
<b>5 dk.</b>	5,33±0,09	3,13±0,03	2,54±0,05	1,32±0,02
<b>10 dk.</b>	5,89±0,17*	3,22±0,06	2,83±0,09*	1,37±0,02
<b>15 dk.</b>	6,45±0,13*	3,42±0,04*	3,17±0,08*	1,37±0,02
<b>20 dk.</b>	6,65±0,12*	3,43±0,03*	3,26±0,06*	1,44±0,02*

\*Aynı sütunda yıldız simgesiyle gösterilen gruplar kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli derecede farklıdır ( $p<0,05$ ).

Hücre ve çekirdeklerin geniş eksen boyutlarındaki farklılıklara göre deneme gruplarında yüzde triploid oran (TO) belirlenmiş ve bu oran ile 60 günlük deneme süresindeki yaşama oranı (YO) birlikte değerlendirilerek triploid verim (TV) (Brydges ve Benfey (1991)'in  $TV = YO (\%) \times TO (\%) / 100$  formülüne göre) hesaplanmıştır.

Çizelge 10. Gruplara göre balıkların yüzde triploid oranları, yüzde yaşama oranları ve triploid verimleri

Gruplar	TO (%)	YO (%)	TV
<b>Kontrol</b>	0	81,46	0
<b>5dk</b>	10	75,55	8
<b>10dk</b>	40	71,25	29
<b>15dk</b>	90	66,01	59
<b>20dk</b>	95	55,76	53



15 dk. ve 20 dk. ısı şoku uygulanan gruplarda en yüksek triploid oran ve triploid verim gözlenirken, 5 dk. süreyle ısı şoku uygulamasının triploid oluşumunu tetiklemede yetersiz kaldığı görülmektedir (Çizelge 10).

Ayrıca aynı deneme grubundaki balıklarda eritrosit büyüklüğünün, balık boyuna bağlı olarak değişip değişmediğinin belirlenebilmesi için Student's t-testi ile istatistiksel değerlendirme yapılmış ve sadece 10 dk. ısı şoku uygulanan grupta bu değişimin önemli olduğu sonucuna varılmıştır ( $p<0,05$ ) (Çizelge 11).

Çizelge 11. Balıkların büyüklüklerine göre hücre ölçümlerinin karşılaştırılması

Gruplar	Hücre Ölçümleri ( $\mu\text{m}$ )				
	Gram	HGE	HDE	ÇGE	ÇDE
<b>Kontrol K</b>	0,92±0,16 <sup>a</sup>	5,25±0,20	3,08±0,05	2,51±0,09	1,34±0,02
<b>Kontrol B</b>	1,62±0,16 <sup>b</sup>	5,21±0,11	3,04±0,06	2,46±0,03	1,33±0,02
<b>5dk K</b>	1,29±0,18 <sup>a</sup>	5,33±0,08	3,04±0,04	2,50±0,04	1,27±0,02
<b>5dk B</b>	2,19±0,28 <sup>b</sup>	5,60±0,14	3,15±0,04	2,58±0,09	1,31±0,02
<b>10dk K</b>	1,07±0,08 <sup>a</sup>	5,35±0,19 <sup>b</sup>	3,12±0,06	2,48±0,10 <sup>b</sup>	1,26±0,02
<b>10dk B</b>	1,94±0,27 <sup>b</sup>	6,21±0,31 <sup>a*</sup>	3,22±0,07	2,94±0,14 <sup>a</sup>	1,35±0,02
<b>15dk K</b>	1,17±0,08 <sup>a</sup>	6,42±0,20 <sup>*</sup>	3,46±0,07 <sup>*</sup>	3,13±0,11 <sup>*</sup>	1,40±0,04 <sup>*</sup>
<b>15dk B</b>	1,93±0,20 <sup>b</sup>	6,89±0,14 <sup>*</sup>	3,32±0,08 <sup>*</sup>	3,24±0,04 <sup>*</sup>	1,40±0,02 <sup>*</sup>
<b>20dk K</b>	1,03±0,19 <sup>a</sup>	6,84±0,07 <sup>*</sup>	3,52±0,04 <sup>*</sup>	3,33±0,03 <sup>*</sup>	1,45±0,04 <sup>*</sup>
<b>20dk B</b>	1,99±0,17 <sup>b</sup>	6,84±0,14 <sup>*</sup>	3,54±0,04 <sup>*</sup>	3,29±0,06 <sup>*</sup>	1,48±0,03 <sup>*</sup>

\*Aynı sütunda olup aynı balık büyüklüğünde yıldız simgesiyle gösterilen gruplar, kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli derecede farklıdır ( $p<0,05$ ).

Aynı sütunda aynı deneme grubu içerisinde farklı küçük üstel harflerle gösterilen gruplar arasında istatistiksel açıdan önemli derecede fark vardır ( $p<0,05$ ).

Galbreath ve Samples (2000), *S. fontinalis* türünde döllenme sonrası (DS) ve uygulama süresi (US) olarak 7-22 dk. arasında belirledikleri ısı şokunu 26-29 °C arasındaki farklı değerlerde deneyerek triploid orana, yaşama oranına ve triploid verime etkilerini karşılaştırmışlardır. Sonuç olarak en iyi triploid yüzdeye ve yaşama oranına, yumurtlar döllendikten 10-16 dk. sonra 10 dk. süreyle uyguladıkları 28 °C'lik ısı şoku sonucu ulaştıklarını belirtmişlerdir. Solar ve ark. (1984) *O. mykiss*'de triploid oluşumunu sağlayabilmek için DS 1-40 dk. arasında farklı sürelerde beklettikleri yumurtalara 24-30 °C arasında farklı sıcaklıklarda, 10 dk süreyle ısı işlem uygulamışlar ve en iyi sonuca yumurtalar döllendikten 1 dk. sonra 26 °C'lik ısı şoku uygulayarak ulaşmışlardır. Benfey ve Sutterlin (1984), 10 °C'de 20 dk. döllenmeye bırakılan *S. salar* yumurtalarına, 32 °C'de 5 dk. ısı şoku uygulanmasının %100 triploid oran sağladığını, bunun yanında yumurtalar döllendikten sonra 25 ile 45 dk. arasında geçen sürenin ısı şoku uygulaması için geç olduğunu ve triploid oranı çok fazla düşürdüğünü belirtmişlerdir. Teskeredzic ve ark. (1993) *Oncorhynchus kisutch* yumurtalarına 10 ile 20 dk. süreyle uyguladıkları 24 ve 28 °C'lik ısı şoku için 20, 40, 60 ve 80 dk. olmak üzere farklı DS sürelerini denemişler, yumurtalar döllendikten 20 dk. sonra, 20 dk. süreyle uyguladıkları 28°C'lik ısı şokunun %100 triploidiyi teşvik ettiğini ve en iyi triploid verimin yumurtalar döllendikten 20 dk. sonra 26°C'de 20dk. US ile oluştuğunu belirtmişlerdir. Dube ve ark. (1991), *S. fontinalis* türünde DS 5-25 dk. arasında farklı sürelerde beklettikleri yumurtalara, 20-33 °C arasında değişik sıcaklık ve 5-20 dk. arasında US ile şoklama yaparak sonuçları değerlendirmişler, en iyi triploid orana ve en yüksek triploid verime yumurtalar döllendikten 15 dk. sonra 10 dk US ile 28 °C'lik ısı şoku sonucunda ulaşmışlardır.

Arai ve Wilkins (1987), *S. trutta* yumurtalarına 29°C sıcaklıkta 5-15 dk. U.S, 10 dk. D.S şeklinde uyguladıkları ısı şokunun %50-63 oranında triploid oluşumu sağladığını; 32°C'de 6 dk. uygulanan şokun ise %100 oranda triploid başarı sağladığını belirtmişlerdir. Ayrıca, 26 °C'de 30 dakikalık ısı şoku uyguladıkları balıklarda %57 oranında triploid tespit ettiklerini belirtmişlerdir. Crozier ve Moffett (1989), *S. trutta* yumurtalarına 5-15 dk. DS, 10dk. US ile 28 °C'lik ısı şokunun %100-88 triploidiyi teşvik ettiğini eritrosit nükleusu ölçümleri sonucunda belirlemişler, ayrıca yumurtalar döllendikten sonra geçen sürenin 20-25 dakikaya çıkarılması durumunda bu değer %60 ve altına düştüğü sonucuna varmışlardır. Ayrıca Crozier ve Moffett (1989), *S. trutta* yumurtalarında denedikleri ısı

şoku yöntemiyle en yüksek triploid verime; 10 ya da 20 dk DS, 28°C’de 10 dk. US sonucu ulaşımlardır. Johnstone (1992), *S. salar* yumurtalarına 30 °C’lik ısı şokunu, 20 dk. D.S, 10 dk. US şeklinde uygulayarak; %46.8± 29,9 yaşama oranı, %97,7±2,9 triploid oran; %51,0±26,4 triploid verim elde etmiştir.

Kalbassi ve ark. (2009), *S. trutta caspius* yumurtalarında farklı ısı şoku değerlerini, farklı başlatma ve uygulama süreleri ile deneyerek çeşitli kombinasyonlar yapmış ve en iyi triploid verime ulaşmaya çalışmışlardır. Bu kombinasyonlar neticesinde yumurtalara döllendikten 40 dk. sonra 10 dk. süreyle uygulanan 26 °C’lik ısı şokunun triploid verim elde etmek için optimum değer olduğunu, fakat bu uygulamanın diğer salmonid türlerinde farklı etkiler gösterdiğini belirtmiş ve çeşitli araştırmacıların yaptıkları çalışmalardan örnekler vermişlerdir. Buna göre Scheerer ve Thorgaard (1983) *O. mykiss* türünde 28-29 °C ‘de 10 dk. US, (10 dk. DS); Dube ve ark. (1991) *S. fontinalis* türünde 28 °C’de 10 dk. US, (15 dk. DS); Scheerer ve Thorgaard (1983) *S. trutta* türünde 28 °C’de 10 dk. US, (10 dk. DS); Arai ve Wilkins (1987) ise yine *S. trutta* türünde 29 °C’de 10 dk. US, (5 ya da 45 dk. DS) ısı şoklarının triploid oluşumu için optimum değerler olduğunu belirtilmişlerdir. Kalbassi ve ark. (2009) *S. trutta caspius* yumurtalarında döllenme sonrası ısı şoku başlatma sürelerinden 5 ile 40 dakikanın, 10 ile 20 dakikaya göre daha iyi triploid yüzde ve verim sağladığını; 26 °C’de 5 dk. US, (20 dk. DS) şeklinde yapılan uygulamanın negatif kontrol (%68) ve pozitif kontrole göre (%66) daha yüksek yaşama oranı sağladığını belirtmiş, ayrıca 30 °C’de 5 dakikadan fazla yapılan ısı şoku uygulamasının yumurtalar için lethal doz olduğunu belirtmişlerdir (Çizelge 12).

Galbreath ve Samples (2000), *S. fontinalis* yumurtalarına, döllendikten 10-16 dk. sonra 28 °C’de 10 dk. süreyle uyguladıkları ısı şoku neticesinde yumurtaların yaşama oranlarının % 68-71 arasında değişim gösterdiğini belirtmişlerdir (Çizelge 12). Kalbassi ve ark. (2009) farklı ısı şoku uyguladıkları *S. trutta caspius* yumurtalarında % 0-10 arasında değişen en düşük yaşama oranını, 30 °C’de şoklanan grupta tespit etmişlerdir ve şoklama için denedikleri tüm sıcaklıkların 20 dk. süreyle uygulanmış gruplarında, en düşük yaşama oranlarına rastladıklarını belirtmişlerdir. Benfey ve Sutterlin (1984), 10 °C’de 20 dk. süreyle döllenmiş *S. salar* yumurtalarına, 32 °C’de 5 dk. süreyle ısı şoku uygulayarak %100 triploid elde ettiklerini ve bu bireylerde %70-90 arasında yaşama oranı tespit ettiklerini belirtmişlerdir. Dube ve ark. (1991) *S. fontinalis*, Quillet ve ark. (1991), *S. trutta* türünde

özellikle yüksek sıcaklıkta uzun süre uygulanan şoklamanın yaşama oranını olumsuz yönde etkilediğini belirtmişlerdir. Dube ve ark. (1991); Quillet ve ark. (1991); Teskeredzic ve ark. (1993) ve Kalbassi ve ark. (2009)'nın, ısı şoku uygulama süresindeki artışın yaşama oranlarını düşürdüğü yönündeki bulguları, bizim çalışmamızla da paralellik göstermektedir. Johnstone (1992), *S. salar* yumurtalarında 20 dk. D.S, 10 dk. US ile denedikleri 30 °C'lik ısı şoku sonucunda %46.8± 29,9 yaşama oranı elde etmiştir. Benfey ve Sutterlin (1984) 10 °C'de 20 dk. döllenmeye bırakılan *S. salar* yumurtalarına 3 veya 6 dk. süreyle  $7.0 \times 10^4$  kPa (10 150 p.s.i.) basınç uygulamasının %100 triploid ve %70-90 yaşama oranı sağladığını belirtmişlerdir. Johnstone (1992), *S. salar* yumurtalarında 3 farklı şoklama yöntemi deneyerek, bu yöntemlerin triploid verime etkisini; ısı şokuyla %60±12,4, kimyasal şokla (N<sub>2</sub>O) %80±2,1 ve basınç şokuyla elde ettikleri %99±0,3 triploid verimle göstermişlerdir. Peruzzi ve Chatain (2000), mayotik ginogenez yöntemi ile döllenmesini sağladıkları *Dicentrarchus labrax* yumurtalarının bir kısmına, döllendikten 6 dk. sonra, 13 °C'de 8000, 8500, 9000 ve 9500 psi'de 2 dk. süreyle basınç şoku uygulamışlar, diğer kısmına da döllendikten 5 dk. sonra, 1 °C'de 10, 15, 20, 25 dk. süreyle soğuk şoka maruz bırakmışlardır. Deneme sonunda grupları karşılaştıran Peruzzi ve Chatain (2000) 2 dk. süreyle 8500 psi basınç uyguladıkları grup ile, 15 dk. süreyle 1 °C soğuk şok uygulanan grupların %100 triploid oluşum gösterdiğini belirtmişlerdir. Woznicki ve Kuzminski (2002), *S. fontinalis* yumurtalarının 10 °C'de döllenmesinden 20 dk. sonra 5 dk. süreyle, 9500 psi ( $65.5 \times 10^3$  kPa) basınç şoku uygulayarak, 2n=84 olan kromozom sayısını 3x=126'ya çıkarmışlardır.

Çizelge 12. Salmonidae familyasına dahil bazı türlerin ısı şoku yöntemiyle triploidleştirilmesi ve elde edilen sonuçlar

Tür	Döllenme Sıcaklığı (°C)	Şoklama Sıcaklığı (°C)	T <sub>D.S.</sub> (dk.)	T <sub>U.S.</sub> (dk.)	Triploid oranı (%)	Yaşama oranı (%)	Triploid verim	Kaynak
<i>Salvelinus fontinalis</i>	11.6	28	10-16	10	79-99	68-71	54-70	Galbreath ve Samples, 2000
<i>Salmo trutta caspius</i>	9-10	26	20	5	42	<b>70</b>	29	Kalbassi ve ark (2009)
	9-10	26	40	10	84	<b>68</b>	<b>57</b>	
	9-10	26	40	20	<b>97</b>	52	<b>50</b>	
	9-10	28	20	20	<b>13</b>	2	1	
	9-10	30	5-20	20	0	<b>0-10</b>	<b>0</b>	
<i>Salmo salar</i>	-	30	20	10	96,7±2,9	46,8±29,9	51,0±26,4	Johnstone,1992
<i>Salmo salar</i>	10	32	20	5	100	70-90	-	Benfey ve Sutterlin (1983)
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	10	26	10	5	10	75,55	8	Bu çalışma
	10	26	10	10	40	71,25	29	
	10	26	10	15	90	66,01	59	
	10	26	10	20	95	55,76	53	

\*Kalbassi ve ark. (2009)'nın çalışmaları sonucunda vurguladığı noktalar koyu renkle belirtilmiştir.

Triploitlerin tanımlanması için araştırmacılar çeşitli metotlardan yararlanmışlardır. Kromozom sayısının belirlenmesi, eritrosit hücre ve çekirdek boyutlarının incelenmesi (Beck ve Biggers, 1983), eritrosit çekirdek hacminin incelenmesi (Wolters ve ark. 1982), hücre yoğunluğunun analizi için Coulter sayacı kullanılması (Wattendorf, 1986), eritrosit çekirdeğindeki DNA içeriğinin flow sitometri yoluyla belirlenmesi (Johnson ve ark., 1984), hibritlerin incelenmesinde kullanılan elektroforez metodu (Dawley ve ark., 1985) ve gonad dokusunun histolojik olarak analizi gibi yöntemler triploid tespitinde yardımcı olmaktadır (Purdom, 1993).

Dube ve ark., (1991); Galbreath ve Samples (2000) *S. fontinalis* türünde triploid oranı belirleyebilmek için, yavru balıklardan aldıkları kan örneklerini flow sitometri ile analiz ederek sonuçlarını değerlendirmişlerdir. Espinosa ve ark. (2005), *O. mykiss*'de triploid bireylerin tanımlanması için geliştirdikleri bilgisayar destekli program ile eritrosit hücrelerinin ve çekirdeklerinin ölçümlerini yapmış ve bu metodun balıklarda triploidin belirlenmesinde flow sitometri yöntemine alternatif olarak kullanılabileceğini belirtmişlerdir. Espinosa ve ark. (2005), *O. mykiss* eritrositlerinde yaptıkları ölçümler neticesinde diploidlerde  $12,87 \pm 1,26 \mu\text{m}$  (HGE) ve  $6,18 \pm 0,61$  (ÇGE)  $\mu\text{m}$ ; triploidlerde ise  $15,59 \pm 1,23 \mu\text{m}$  (HGE) ve  $7,97 \pm 0,77 \mu\text{m}$  (ÇGE) olarak eksen büyüklüklerini belirtmişlerdir. Araştırmamız ile aynı tür çalışılmış olmasına rağmen Espinosa ve ark. (2005)'nin 2 yaşında olan diploid ve triploid balıklardan elde ettikleri, eritrosit hücre ve çekirdek geniş eksen büyüklükleri araştırmamız sonucunda bulunan değerlerin iki katından fazla sonuç göstermekte olup bu farklılığın balıkların yaşlarından kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Woznicki ve Kuzminski (2002), *S. fontinalis*'in diploid ve triploid genç bireylerinde yaptıkları eritrosit çekirdeği geniş eksen (ÇGE) ölçümlerinde diploidlerde ortalama  $7,0-7,1 \mu\text{m}$  (ÇGE), triploidlerde ise ortalama  $9,4-9,9 \mu\text{m}$  (ÇGE) olarak belirlemişlerdir. Woznicki ve Kuzminski (2002)'nin çalışmasındaki eritrosit çekirdek ölçümlerinin, *O. mykiss*'de yaptığımız ölçümlerden farklı olması, balıkların türüne göre eritrosit büyüklüğünün değişebildiğini göstermektedir.

## **BÖLÜM 5**

### **SONUÇ VE ÖNERİLER**

Birçok çalışmada balıklarda çeşitli triploidizasyon yöntemleri ve uygulama süreleri denenmiş ve uygulamaların balıklarda yaşama oranlarına ve triploidleşme oranlarına etkileri araştırılmıştır. Triploidizasyon yöntemlerinden özellikle ısı şoku tekniği; düşük maliyeti ve uygulama kolaylığı nedeniyle yaygın olarak kullanılmıştır.

Bu çalışmada; 10°C’de yaşayan bireylerinden elde edilen ve aynı sıcaklıkta döllenmesi gerçekleştirilen *O.mykiss* yumurtalarına 26 °C’de 5, 10, 15 ve 20 dk. uygulanan ısı şoku sürelerinin balıklarda yaşama oranına, triploid oranına ve triploid verime etkileri araştırılmıştır. Böylece; sıcaklık sabit tutularak örneklere farklı sürelerde ısı şoku uygulamasının etkisi araştırılmış ve literatüre destek sağlanmaya çalışılmıştır.

Aynı deneme grubundaki balıklarda eritrosit büyüklüğünün balık boyuna bağlı olarak değişip değişmediğinin belirlenebilmesi için yapılan istatistiksel değerlendirmede sadece 10 dk. ısı şoku uygulanan grupta değişimin önemli olduğu ( $p<0,05$ ) sonucuna varılmıştır. Bunun nedeni bu grupta triploid birey sayısının %40 olmasıyla açıklanabilir. Çünkü triploid birey sayısı 5 dk. grupta %10, 15 dk. grupta %90 ve 20 dk. grupta ise %95 olarak bulunmuştur. Böylece balık büyüklüğü ile eritrosit büyüklüğünün sadece 10 dk. grupta farklı çıkması triploid birey sayısının 15 ve 20 dk. gruplardan düşük olmasıyla, yani daha fazla diploid balık sayısı içermesiyle açıklanabilir.

Isı şoku ile triploidizasyon yöntemi türlere ve yaşadığı sıcaklıklara göre değişmekte ve farklı sonuçlar vermektedir. Bu çalışmada alınan sonuçlar neticesinde; 10°C’de döllenmiş *O. mykiss* yumurtalarına, döllendikten 10 dk. sonra, 26°C’de, 20 dk. ısı şoku uygulaması ile %95 lik triploid oran sağlanmıştır. Ancak bu grupta verimin diğer gruplara göre daha düşük olduğu görülmektedir. 15 dk. ısı şoku uygulamasının daha fazla verim sağladığı tespit edilmiş ve bu süre optimum olarak değerlendirilmiştir. Alınan bu sonucun ve diğer bulguların, gerek yapılacak bilimsel araştırmalara katkı sağlayacağı, gerekse ticari alanların pratik uygulamalarında faydalı olacağı düşüncesindeyiz.

Balık türü ve yaşadığı çevre koşullarıyla birlikte triploidinin teşviki için uygulanan ısı şoku derecesi, uygulama süresi ve uygulanma şeklinin değişmesi, bu alanda halen birçok araştırma yapılmasını gerekli kılmaktadır.

## KAYNAKLAR

- Akı C., 2011. *Genel Genetik*. Kriter Yayıncılık. ISBN: 978-605-5863-685.
- Al-Sabti, K., 1991. *Handbook of Genotoxic Effects and Fish Chromosomes*. J. Stefan Institute Press, 221 pp.
- Anjum R. ve Jankun M., 1994. Spontaneous Triploid Common carp (*Cyprinus carpio*) in a Farm Population. *Cytobios*, 78: 153-157.
- Arai K., Wilkins N.P., 1987. Triploidization of Brown Trout (*Salmo trutta*) by Heat Shocks. *Aquaculture*, 64 (2): 97-103.
- Aydın F., Köksal G., Demir N., Bekcan S., Kırkağaç M., Gözgözoğlu E., Erbaş S., Deniz H., Maltaş Ö., Arpa H., 2005. *Su Ürünleri Yetiştiriciliği ve Politikalar*. 15 Mayıs 2012, [http://ormanweb.sdu.edu.tr/dersler/egundogdu/orman\\_ici\\_su.pdf](http://ormanweb.sdu.edu.tr/dersler/egundogdu/orman_ici_su.pdf).
- Aydın İ., 2008. Karadeniz Kalkan Balığı (*Psetta maxima* Linnaeus,1758) Yumurta Kalitesinin Blastomer Morfolojisi İle Tahmin Edilmesi ve Triploid Uygulamasının Yumurta Kalitesine Etkilerinin Belirlenmesi (Yüksek Lisans Tezi). Rize Üniversitesi, Rize.
- Baki B., 2006. Gökkuşluğu Alabalıklarından (*Oncorhynchus mykiss*, W., 1792) Elde Edilen Yumurtaların İki Farklı Su Kaynağında Açılma Süreleri, Larva Çıkışı ve Büyümelerinin Karşılaştırılması (Doktora Tezi). Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Samsun.
- Başçınar N. ve Delihasan-Sonay F., 2009. Balıklarda Biyoteknolojik Uygulamalar ve Hibridasyon. *Doğal Alabalık Çalıştayı*. Trabzon.
- Benfey T. J. ve Sutterlin A.M., 1984. Triploidy Induced by Heat Shock and Hydrostatic Pressure in Landlocked Atlantic Salmon (*Salmo salar* L.). *Aquaculture*, 36(4): 359-367.
- Benfey T.J., 1999. The Physiology and Behavior of Triploid Fishes *Fisheries Science*, 7(1): 39-67.
- Beaumont A.R. ve Hoare K., 2003, *Biotechnology and Genetics in Fisheries and Aquaculture*. Blackwell Science, UK, 158 p.
- Bilgin B., 2004. Düzce İli ve Çevresindeki Gökkuşluğu Alabalık (*Oncorhynchus mykiss*) Üretim Tesislerindeki Balıklarda Kromozom Farklılıklarının Belirlenmesi (Yüksek Lisans Tezi). İstanbul Üniversitesi.



- Bye V.J. ve Lincoln R.F., 1986. Commercial Methods for The Control of Sexual Maturation in Rainbow Trout (*Salmo Gairdneri*). *Aquaculture*, 57: 229.
- Cherfas N.B., Kozinsky O., Rothbard S. ve Hulata G., 1990. Induced Diploid Gynogenesis and Triploidy in Ornamental (KOI) Carp, *Cyprinus carpio* L.. *The Israeli Journal of Aquaculture*, 42(1): 3-9.
- Crozier W.W. ve Moffett I.J.J., 1989. Experimental Production of Triploid Brown Trout, *Salmo trutta* L., Using Heat Shock. *Aquaculture Research*, 20(4): 343–353.
- Cummings M.R. ve Klug, W.S., 2002, *Genetik*, Palme Yayıncılık, Ankara. 25-50.
- Demirsoy, A., 1995. *Kalıtım ve Evrim*, VII. Baskı. Meteksan A. S., Ankara, 206 s.
- Dillon J.C., 1988. Production of Triploid Rainbow Trout For Evaluation in South Dakota Waters (Doktora Tezi). South Dakota State University, South Dakota.
- Diter A., Quillet E., Chourrout D., 1993. Suppression of First Egg Mitosis Induced by Heat Shocks in The Rainbow Trout. *Journal of Fish Biology*. 42, 777-786.
- Doğan K. ve Güven E., 2005. Ülkemizde Su Ürünleri Yetiştiriciliği Yapan İşletmeler, Üretim Kapasiteleri, İllere Göre Dağılımları ve Ekonomik Analizleri. *Su Ürünleri Mühendisleri Dergisi*. 4/24, 39-45 s.
- Dubé P., Blanc J.M., Chouinard M., Noüe J., 1991. Triploidy Induced by Heat Shock in Brook Trout (*Salvelinus fontinalis*). *Aquaculture*, 92: 305–311.
- Emre Y., 2004. Alabalık Yetiştiriciliği. T.C. Başbakanlık Güneydoğu Anadolu Projesi Bölge Kalkınma İdaresi Başkanlığı.
- Ergene S., Portakal E., Karahan A., 1999. Karyological Analysis and Body Proportion of Catfish (Clariidae, *Clarias lazera*, Valenciennes, 1840) in The Göksu Delta, Turkey. *Tr. J. of Zoology*, 23: 423–426.
- Espinosa E., Josa A., Gil L. ve Marti J.I., 2005. Triploidy in Rainbow Trout Determined by Computer-Assisted Analysis. *Journal of Experimental Zoology*, 303A:1007–1012.
- Fontana F., Lanfredi M., Rossi R., Bronzi P. ve Arlati G., 1996. Karyotypic Characterization of *Acipenser gueldenstaedti* with C-, AgNO<sub>3</sub>, and Fluorescence Banding Techniques. *Ital. J. Zool.*, 63: 113-118.
- Gaffaroğlu M., Yılmaz M. ve Yılmaz M., 2009. Karyotype of *Pseudorasbora parva* (Temminck and Schlegel 1846) (Pisces, Cyprinidae) in Kızılırmak River, Turkey. *Kafkas Univ Vet Fak Derg.*, 15 (3): 407-409.

- Gaffaroğlu M. ve Yüksel, E., 2004. *Cyprinion Macrostomus* Heckel, 1843 (Pisces: Cyprinidae)'un Karyotip Analizi. *Gazi Üniversitesi Kırşehir Eğitim Fakültesi*. 5 (2): 235-239.
- Gaffaroğlu M. ve Yüksel E., 2005. *Chalcalburnus mossulensis* Heckel, 1843 (Pisces: Cyprinidae)'in Karyotipi. *F. Ü. Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 17 (1): 114-120.
- Galbreath P.F. ve Samples B.L., 2000. Optimization of Thermal Shock Protocols for Induction of Triploidy in Brook Trout. *North American Journal of Aquaculture*, 62 (4): 249-259.
- George T., Pandian T.J. ve Kavumpurath S., 1994. Inviability of YY Zygots of the Fighting Fish, *Betta splendens*. *The Israeli Journal of Aquaculture*, 42(1): 3-9.
- Gjedrem, T., 2005, *Selection and breeding programs in aquaculture*, Springer, Hollanda, 364 s.
- Goryczko K., Dobożs S., Mäkinen T., Tomasik L., 1991. UV-Irradiation of Rainbow Trout Sperm as A Practical Method for Induced Gynogenesis. *J. Appl. Ichthyol.*, 7: 136-146.
- Gözükara E.S, Çavaş T., 2004. A Karyological Analysis of *Garra rufa* (Heckel, 1843) (pisces, cyprinidae) From The Eastern Mediterranean River Basin in Turkey. *Turk J Vet Anim Sci.*, 28: 497-500.
- Gül S., 2008. Kura-Aras Havzasında Yaygın Olarak Bulunan *Orthrias angorae* Steindachner, 1897), *Orthrias panthera* (Heckel, 1843) ve *Orthrias tigris* (Heckel, 1843)'de Kromozomal Çalışmalar. 105 T 319 nolu proje.
- Gül S., Çolak A., Sezgin İ., 1998. Gümüş Balığında (*Chalcalburnus mossulensis* Heckel, 1843 ) Karyotip Analizi. *Turk J Biol.*, 24 (2000): 657-662.
- Gül S., Çolak A., Sezgin İ., Kaloğlu B., 2002. Van Gölüne Endemik Olan İnci Kefali (*Chalcalburnus tarichi*) Kromozomlarının C, G ve Restriksiyon Endonükleazlar (Alu I, Nhe I, Hae III, Mbo I, Hinf I) ile Bantlanması. *Turk J Vet Anim Sci*, 27 (2003): 1293-1298.
- Güner Y. ve Özden O., 1997. Gökkuşığı Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss* W.,1792) Yumurtalarına Uygulanan Sıcaklık Şokuyla Kısır Balık Üretimi. *Akdeniz Balıkçılık Kongresi*, İzmir. 769-772 s.

- Güzel Ş. ve Güllü K., 2006.  $17\alpha$ -Metiltestosteron'un Gökkuşluğu Alabalığının (*Oncorhynchus mykiss*, W., 1792) Kimyasal kompozisyonu, Fileto Verimi, Viseral Yağ ve Hepatosomatik İndeks Üzerine Etkisi. *E.Ü. Su Ürünleri Dergisi*, 23 (1/2): 233-236.
- Hamalosmanoğlu M., Kuru M., 2004. Mogan Gölü (Ankara)'nda Yaşayan *Cyprinus carpio* L., 1758 (Sazan)'nın Karyotip Analizi. *G.Ü. Gazi Eğitim Fakültesi Dergisi*, 23 (1): 1-10.
- Holcik, J., Mihalik, J., 1970, *Freshwater fishes*, Spring Books, England.
- Houdebine L-M., 2002. The Methods to Generate Transgenic Animals and To Control Transgene Expression. *Journal of Biotechnology*, 98: 145–160.
- Ingram M., 1988. Farming Rainbow Trout in Fresh Water Tanks and Ponds. *In Salmon and Trout Farming*, Ellis Horwood Limited, UK, 155-189 p.
- Jankun M., Kuzminski H., Furgala-Selezniow G., 2007. Cytologic Ploidy Determination in fish – An Example of Two Salmonid Species. *Environmental Biotechnology*, 3 (2): 52–56.
- Johnstone R., 1992. Production and Performance of Triploid Atlantic Salmon in Scotland. *Scottish Aquaculture Research*. ISSN: 0964 9484.
- Jungalwalla P.J., 1991. Production of Non-Maturing Atlantic Salmon in Tasmania. *Proceedings of the Atlantic Canada Workshop on Methods for the Production of Non-maturing Salmonids*, 19-21 p.
- Kalbassi M. R., Dorafshan S., Pourkazemi M. ve Amiri B.M., 2009. Triploidy Induction in The Caspian Salmon, *Salmo trutta caspius*, by Heat Shock. *J. Appl. Ichthyol.*, 25: 104–107.
- Kamdar P., Von Allmen G. ve Finnerty V., 1992. Transient expression of DNA in *Drosophila* via electroporation. *Nucleic Acids Res*, 20: 3526.
- Kankaya E., 1998. Gökkuşluğu Alabalığında (*Oncorhynchus mykiss*, W., 1792) Isı Şoku Uygulamasıyla Triploidi Oluşturulması Üzerine Bir Araştırma (Yüksek Lisans Tezi). Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Van.
- Karakaş H.H. ve Türkoğlu H., 2005. Su Ürünlerinin Dünyada ve Türkiye'deki Durumu. *HR. Ü. Z. F. Dergisi*, 9 (3): 21-28.

- Karahan A. ve Ergene S., 2011. Chromosomal Differentiation Between Populations of *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822) From The Göksu Delta and Orontes River (Turkey). *Turk J Biol.*, 35: 79-87.
- Kılıç B., 2006. Kura-Aras Havzasından *Orthrias tigris* (Heckel, 1843)'de Kromozomal Çalışmalar (Yüksek Lisans Tezi). Kafkas Üniversitesi, Kars.
- Kim D.S., Kim I.B. ve Baik Y.G., 1988. Early Growth and Gonadal Development of Triploid Rainbow Trout (*Salmo gairdneri*). *J. of Aquaculture*, 1 (1): 41-55.
- Küçük F. ve İkiz R., 2004. Antalya Körfezine Dökülen Akarsuların Balık Faunası. *E.Ü. Su Ürünleri Dergisi*, 2 (3-4): 287-294.
- Lincoln R.F. ve Scott A.P., 1984. Sexual Maturation in Triploid Rainbow Trout (*Salmo gairdneri*). *J. Fish Biol.*, 25: 385-392.
- Lutz, C. G. 2001. Practical Genetics for Aquaculture. *Blackwell Science*, 235 p.
- Malison J.A., Kayes T.B., Held J.A., Barry T.B., Amundson C.H., 1993. Manipulation of Ploidy in Yellow Perch (*Perca flavescens*) by Heat Shock, Hydrostatic Pressure Shock, and Spermatozoa Inactivation. *Aquaculture*, 110: 229-242.
- Manickam P., 1991. Triploidy Induced by Cold Shock in The Asian Catfish, *Clarias batrachus* (L.). *Aquaculture*, 94: 377-379.
- Moran P., Pendas A.M., Garcia-Vazquez E. ve Linde A.R., 1989. Chromosomal and Morphological Analysis of Two Populations of *Salmo trutta sbp. fario* Employed in Repopulation. *J. Fish Biol.*, 35: 839-843.
- Nelson C.V., 1999. Chromosomal Characterization of Cultured Populations of Chilean Coho Salmon (*Oncorhynchus kistuch*). *Genet. Mol. Biol.*, 22 (1).
- Nur G., 2006. Kura-Aras Havzasına Endemik *Acanthalburnus microlepis* ve *Alburnus filippii*'de Kromozomal Çalışmalar (Yüksek Lisans Tezi). Kafkas Üniversitesi, Kars.
- Ölmez-Aydın D. ve Kuru., Kızılırmak (Kayseri – Türkiye)'ta Yaşayan *Carassius auratus* (L., 1758)'un Karyotipi. *G.Ü. Gazi Eğitim Fakültesi Dergisi*, 21( 3): 33-37.
- Örs T., 2003. Gökkuşluğu Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum, 1792) Böbrek Doku Örnekleri ile Karyotip Oluşturulması. *E.Ü. Su Ürünleri Dergisi*, 20 (3-4): 497 – 501.
- Özden O., Güner Y., Kızak V., 2003. Tatlısu Balık Kültüründe Uygulanan Bazı Biyoteknolojik Yöntemler. *E.Ü Su Ürünleri Dergisi*, 20 (3-4): 563-574.

- Peruzzi S. ve Chatain B., 2000. Pressure and Cold Shock Induction of Meiotic Gynogenesis and Triploidy in the European Sea Bass, *Dicentrarchus labrax* L.: Relative Efficiency of Methods and Parental Variability. *Aquaculture*, 189: 23–37.
- Piferrer, F., Beaumont, A., Falguière, J.C. ve Colombo, L., 2006. I. Performance improvements by polyploidization in aquaculture. In: “Performance improvements by polyploidisation, gene transfer and DNA vaccination in aquaculture”. Colombo, L., Crosetti, D. and Svaasand T. (eds). *GENIMPACT project: Evaluation of genetic impact of aquaculture activities on native populations. A European network. WPI workshop “Genetics of domestication, breeding and enhancement of performance of fish and shellfish”*, Viterbo, Italy, 12-17th June.
- Poontawee K., Werner C., Müller-Belecke A., Hörstgen-Schwark G. ve Wicke M., 2007. Flesh qualities and Muscle Fiber Characteristics in Triploid and Diploid Rainbow Trout. *J. Appl. Ichthyol.*, 23: 273–275.
- Post A., 1965. Vergleichende Untersuchungen der Chromosomenzahlen bei Susswasser Teleosteem. *Zeits. Fur Zool. Sys. Evol.*, 3: 47-93.
- Purdom C.E., 1993. Genetics and Fish Breeding. Chapman & Hall, Fish and Fisheries Series 8.
- Quillet E., Foisil L., Chevassus B., Chourrout D., Liu F. G., 1991. Production of All-Triploid and All- Female Brown Trout for Aquaculture. *Aquat. Living Resour.*, 4: 27–32.
- Reddy, P.V.G.K., Kowtal, G.V., ve Tantia, M.S., 1990. Preliminary Observations on Induced Polyploidy in Indian Major Carps, *Labeo rohita* and *Catla catla* *Aquaculture*, 87: 215-228.
- Refstie T., 1983. Induction of Diploid Gynogenesis in Atlantic Salmon and Rainbow Trout Using Irradiated Sperm and Heat Shock. *Canadian Journal of Zoology*, 61 (11): 2411-2416.
- Rocha A., Ruiz S., Estepa A., Coll J.M., 2004. Application of Inducible and Targeted Gene Strategies to Produce Transgenic Fish: A Review. *Mar. Biotechnol.*, 6: 118–127.
- Rothbard S. ve Shelton W.L., 1993. Gynogenesis in the Black Carp, *Myliopharyngodon piceus*. *The Israeli Journal of Aquaculture*, 45(2): 82-88.

- Sarmaşık A., 2003. Application of Gene Transfer Technology for Genetic Improvement of Fish. *Turk J Zool*, 27: 1-6.
- Sato M., 2005. Transgenesis via sperm. *J. Mamm. Ova. Res.*, 22: 92-100.
- Saygun S., 2005. Karadeniz’de Yaşayan Çeşitli Yassı Balıkların (*Pisces: Pleuronectiformes*) Kromozom Yapılarının Karşılaştırılması (Doktora Tezi). Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Samsun.
- Scheerer P.D., Thorgaard, G.H., 1983. Increased Survival in Salmonid Hybrids by Induced Triploidy. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 40: 2040–2044.
- Schreck B.C. ve Moyle B.P., 1990. Methods for Fish Biology. *American Fisheries Society Bethesda*, 684 p.
- Shamila Y. ve Mathavan S., 1999. Sperm-Mediated Gene Transfer in the Silkworm *Bombyx Mori*. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 37:168–177.
- Shao C.W., Wu P.F., Wang X.L., Tian Y.S. ve Chen S.L., 2010. Comparison of Chromosome Preparation Methods for The Different Developmental Stages of The Half-Smooth Tongue Sole, *Cynoglossus semilaevis*. *Micron*, 41: 47–50.
- Sheehan R.J., Shasteen S.P., Suresh A.V., Kapuscinski A.R. ve Seeb J.E., 1999. Better Growth in All-Female Diploid and Triploid Rainbow Trout. *Transactions of the American Fisheries Society*, 128(3): 491-498.
- Sheperd J. ve Bromage N., 1990. Intensive Fish Farming. *Oxford, BSP Professional Books*.
- Solar I.I., Donaldson E.M., Hunter G.A., 1984. Induction of Triploidy in Rainbow Trout (*Salmo gairdneri*, Richardson) by Heat Shock, and Investigation of Early Growth. *Aquaculture*, 42(1): 57–67.
- Şahin T., 2003. Su Ürünleri Yetiştiriciliğinde Biyoteknoloji. *SÜMAE YUNUS Araştırma Bülteni*, 3:1, Mart 2003
- Tave D., 1993. Genetics for Fish Hatchery *Managers*. Second edition, p.415.
- Teskeredžić E., Donaldson E.M., Teskeredžić Z., Solar I.I., McLean E., 1993. Comparison of Hydrostatic Pressure and Thermal Shocks to Induce Triploidy in Coho Salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *Aquaculture*, 117(1–2): 47–55.
- Topaktaş M. ve Rencüzoğulları E., 2010. *Sitogenetik* (2.Basım). Nobel Yayın Dağıtım, Ankara. 9-11 p.

- Turan, 2000. Su Ürünlerinde Biyoteknoloji Kullanım Alanları. *Doğu Anadolu Bölgesi IV. Su Ürünleri Sempozyumu*, 28-30 Haziran 2000, Erzurum.
- Turner P.C., McLennan A.G., Bates A.D., White M.R.H., 2004. *Moleküler Biyoloji Önemli Notlar* (2. Baskıdan Çeviri). ISBN: 975-591-596-6.
- T.Ü.İ.K., 2012. Su Ürünleri İstatistikleri. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, Balıkçılık ve Su Ürünleri Genel Müdürlüğü, Nisan 2012.
- Ulupınar M. ve Okumuş İ., 2002. Kuzey - Doğu Karadeniz'de Yetiştiriciliği Yapılan Gökkuşluğu Alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) Kromozom Farklılıklarının Belirlenmesi. *Turk J Vet Anim Sci*, 26: 525-533.
- Üstüner D., 2011. Kromozom Kırıkları ve Mikronükleus-Apoptoz Bağlantısı. *TUBAV Bilim Dergisi*, 4(1): 64-69.
- Vicdanlı S. M., 2007. Sinop Yöresinde Avlanan Ekonomik Öneme Sahip Bazı Deniz Balıklarında Kromozom Çalışmaları (Yüksek Lisans Tezi). Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Samsun.
- Wlasow T., Kuzminski H., Woznicki P., Ziomek E., 2004. Blood Cell Alteration in Triploid Brook Trout *Salvelinus fontinalis*. *Acta Vet. Brno*, 73: 115-118.
- Woznicki P. ve Kuzminski H., 2002. Chromosome Number and Erythrocyte Nuclei Length in Triploid Brook Trout (*Salvelinus fontinalis*). *Caryologia*, 55(4): 295-298.
- Yanık T., 2009. Gökkuşluğu Alabalığı ve Alabalıkların Morfolojik Özellikleri Arazi Çalışmaları. *Doğal Alabalık Çalıştayı: Sürdürülebilir Yetiştiricilik, Koruma ve Balıklandırma*, 22-23 Ekim 2009, Trabzon.
- Yılmaz M., Özbaş M., Kılıç M. A., 2009. Alabalıklarda Gen Transferi. *Doğal Alabalık Çalıştayı*, 22-23 Ekim 2009. Trabzon.

Çizelge 1. Alabalık kuluçkahanesinde kullanılacak su için önerilen bazı değerler .....	7
Çizelge 2. Türkiye iç sularındaki çeşitli türlerin karyotip yapıları .....	12
Çizelge 3. Bazı alabalık türlerinin karyotip yapıları .....	14
Çizelge 4. Bazı türlerin somatik hücrelerindeki kromozom sayıları .....	15
Çizelge 5. Türkiye’de bazı balık türlerinde yapılan çalışmalarda belirlenen kromozom sayıları .....	18
Çizelge 6. Salmonidae familyasından Salvelinus, Salmo ve Oncorhynchus cinslerine ait türlerin kromozom sayıları .....	19
Çizelge 7. Gruplara göre birey sayıları ve ısı şoku süreleri .....	32
Çizelge 8. Denemenin 60. gününde gruplara göre yaşama oranları .....	38
Çizelge 9. Gruplara göre balıkların eritrosit büyüklükleri .....	43
Çizelge 10. Gruplara göre balıkların yüzde triploid oranları, yüzde yaşama oranları ve triploid verimleri .....	43
Çizelge 11. Balıkların büyüklüklerine göre hücre ölçümlerinin karşılaştırılması .....	44
Çizelge 12. Salmonidae familyasına dahil bazı türlerin ısı şoku yöntemiyle triploidleştirilmesi ve elde edilen sonuçlar .....	48



Şekil 1. <i>O. mykiss</i> morfolojisi.....	4
Şekil 2. Türkiye iç sularında yetiştiriciliği yapılan alabalık türlerinin tümünün, yıllara göre üretim miktarları .....	6
Şekil 3. Türkiye denizlerinde yetiştiriciliği yapılan alabalık türlerinin tümünün, yıllara göre üretim miktarları .....	6
Şekil 4. Prokaryotik kromozom yapısı .....	8
Şekil 5. Kromozom içeriği ve oluşumu .....	9
Şekil 6. Metafaz kromozomunun dış ve iç yapısı.....	10
Şekil 7. Sentromer konumlarına göre kromozom şekilleri .....	11
Şekil 8. <i>Myrmecia pilosula</i> , <i>Parascaris univalens</i> , <i>Ophyoglossum vulgatum</i> .....	15
Şekil 9. Triploid oluşumu .....	24
Şekil 10. Balıklarda poliploid (triploid ve tetraploid) oluşumu için ortak şema .....	25
Şekil 11. E.T.T.K.'nin Türkiye topografik haritasındaki yeri ve anaç havuzu.....	27
Şekil 12. Damızlık dişi <i>O. mykiss</i> 'den yumurta sağımı, damızlık erkek <i>O. mykiss</i> 'den sperm sağımı .....	27
Şekil 13. Kuluçka tankları .....	28
Şekil 14. Büyütme tankları .....	28
Şekil 15. Balıkların diseksiyonu ve dokuların homojenizasyonu için ekipmanlar.....	30
Şekil 16. Kameralı mikroskop .....	30
Şekil 17. 26 °C'ye ayarlanmış termostatlı su kazanında yumurtalara ısı şoku uygulaması .	31
Şekil 18. Yumurtaların adaptasyonu, kuluçkalanması ve büyütme tanklarına dağıtımı .....	32
Şekil 19. Döllenenmiş <i>O. mykiss</i> yumurtası, embriyonik dönemin 14. gününde <i>O. mykiss</i> 'de notokord, embriyonik dönemin 20. gününde <i>O. mykiss</i> 'de kalp, damar sistemi ve besin kordonu.....	33
Şekil 20. <i>O. mykiss</i> gelişim evreleri, 22. günde gözlenen embriyo, 27. günde larva çıkışı, 31. günde keseli larva, 33. günde keseli pre-larva, 47. günde post-larva, 60. günde juvenil birey .....	33
Şekil 21. Yumurta ve larvalara yüzdürme metodu ile %0.02'lik kolşisin uygulanan sistem .....	34
Şekil 22. Larvaya zarar vermeden neşterle yumurta zarının delinmesi, yumurta zarının açılması, larvanın çıkartılması, soğuk NaCl ile anestezi edilerek yağdan arındırılan larvaya hipotonik işlem için KCl ilave edilmesi.....	35

Şekil 23. Yayma preparat yöntemi .....	37
Şekil 24. Denemenin başlangıcından itibaren 50 gün boyunca ölen birey sayılarının gruplara ve günlere göre dağılımı .....	39
Şekil 25. Kontrol grubu diploid <i>O. mykiss</i> metafaz kromozomları $2n=56$ , Kontrol grubu diploid <i>O. mykiss</i> eritrositleri.....	40
Şekil 26. Isı şoku uygulanmış triploid <i>O. mykiss</i> metafaz plağı $3x=84$ , ısı şoku uygulanmış <i>O. mykiss</i> eritrositleri .....	41
Şekil 27. Kromozom tipi kırılma sonucu fragment oluşumu.....	42
Şekil 28. Segment oluşturmuş (bölümlenmiş) eritrosit çekirdekleri .....	42

## ÖZGEÇMİŞ

### KİŞİSEL BİLGİLER:

Adı Soyadı: Osman Nezih KENANOĞLU

Doğum Yeri: Muğla

Doğum Tarihi: 04/09/1985

### EĞİTİM DURUMU:

#### LİSANS

Üniversite	:	Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi
Akademik Birim	:	Su Ürünleri Fakültesi
Program/Bölüm/Diğer	:	Su ürünleri
Ülke	:	Türkiye
Mezuniyet Yılı	:	2009
Bildiği Yabancı Diller	:	İngilizce

### BİLİMSEL FAALİYETLERİ:

#### a) Katıldığı Projeler :

2010/146. Diploid ve Triploid Dere Alabalıkları (*Salmo trutta forma fario*)'nda Karyotip Analizi. ÇOMÜ, Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP).

### İŞ DENEYİMİ:

### İLETİŞİM:

Telefon : +90 505 433 87 06

E-mail: osman\_kenanoglu2@yahoo.com, osmannezihkenanoglu@gmail.com.