

78942

YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
SU ÜRÜNLERİ ANABİLİM DALI

GÖKKUŞAĞI ALABALIĞINDA (*Oncorhynchus mykiss* W., 1792) ISI ŞOKU  
UYGULAMASIYLA TRİPLOİDİ OLUŞTURULMASI ÜZERİNE BİR  
ARAŞTIRMA

Hazırlayan  
Ertuğrul KANKAYA

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Danışman  
Doç. Dr. Osman ÇETİNKAYA

VAN-1998

78942

YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
SU ÜRÜNLERİ ANABİLİM DALI

GÖKKUŞAĞI ALABALIĞINDA (*Oncorhynchus mykiss* W., 1792) ISI ŞOKU  
UYGULAMASIYLA TRİPLOİDİ OLUŞTURULMASI ÜZERİNE BİR  
ARAŞTIRMA

Hazırlayan  
Ertuğrul KANKAYA

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Jüri Üyeleri

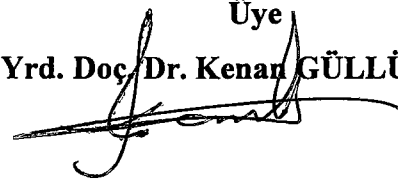
Başkan

Doç. Dr. Osman ÇETİNKAYA



  
Doç. Dr. Hayrettin OKUT

Üye  
Yrd. Doç. Dr. Kenan GÜLLÜ



Tez Kabul Tarihi 18/11/1998

# İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
İÇİNDEKİLER .....	I
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	III
ÇİZELGELER DİZİNİ .....	IV
SİMGELER DİZİNİ .....	V
ÖNSÖZ .....	VI
ÖZ .....	VIII
ABSTRACT .....	VIII
1. GİRİŞ .....	1
2. LİTERATÜR BİLDİRİŞLERİ .....	4
3. MATERYAL ve METOT .....	13
3.1. Materyal .....	13
3.1.1. Deneme ortamı .....	13
3.1.2. Balık materyali .....	13
3.1.3. Kolşisin (Colchicine) .....	15
3.2. Metot .....	16
3.2.1. Yumurta sağımı, dölleme, ısı şoku uygulaması ve yumurtaların kuluçkalanması .....	16
3.2.2. Embriyodan kromozom preparasyonu .....	19
3.2.3. Balıkların büyütülmesi, kan alımı ve kandan sürtme froti preparasyonu .....	19
3.2.4. Kolşisin (Colchicine) uygulaması .....	20
3.2.5. Böbrekten kromozom preparasyonu .....	20
3.2.6. Deneme bulgularının istatistiksel olarak değerlendirilmesi .....	21
4. BULGULAR .....	22
4.1. Deneme Gruplarında Belirlenen Dölleme Oranları .....	22
4.2. Deneme Gruplarında Belirlenen Çıkış Oranları .....	22
4.3. Deneme Gruplarında Gözlenen Morfolojik Farklılıklar .....	24
4.4. Embriyo Kromozom Preparasyonları ve Kromozom Sayılarının Belirlenmesi .....	24
4.5. Deneme Gruplarında Beslenme Döneminde Görülen Morfolojik Farklılıklar, Boy ve Ağırlık Ortalamaları .....	24

4.6. Deneme Gruplarında Böbrekten Yapılan Kromozom Preparasyonları ve Belirlenen Kromozom Sayıları.....	24
4.7. Deneme Gruplarında Eritrosit Büyüklükleri .....	28
5. TARTIŞMA ve SONUÇ.....	36
6. ÖZET .....	41
7. SUMMARY .....	44
KAYNAKLAR.....	47
ÖZGEÇMİŞ.....	54



**ŞEKİLLER DİZİNİ****Sayfa**

Şekil 1. Balıklarda şok uygulamasıyla triploid bireylerin elde edilmesinin şematik olarak gösterilmesi.....	5
Şekil 2. Kontrol ve ısı şoku uygulanan grupların kuluçkalandığı ortam. ....	13
Şekil 3. Denemede kullanılan damızlık balıklar; a) 1nolu dişi, b) 2 nolu dişi, c) 3 nolu erkek. ....	14
Şekil 4. Deneme balıklarında sağım ve dölleme.....	17
Şekil 5. Deneme işlemleri akış diyagramı .....	18
Şekil 6. IV. deneme gruplarında yumurtadan çıkan prelarva örnekleri; a) Kontrol grubu, b) 10 dakika grubu, c) 15 dakika grubu.....	23
Şekil 7. 10 dakika ısı şoku uygulanan gruptan, böbrek kromozom preparasyonunda ve eritrosit incelemesinde kullanılan balık örnekleri; a, b, c (kromozom fotoğrafı çekilen fert, 3n(triploid)). ....	26
Şekil 8. Kontrol grubunda böbrekten hazırlanan kromozom preparasyonu, (Giemsa x500), 2n=60 olarak belirlenmiştir.....	27
Şekil 9. 28 °C de 10 dakika ısı şokuna maruz bırakılmış gruptan bir fertte böbrekten hazırlanan kromozom preparasyonu, (Giemsa x500),3n=90 olarak belirlenmiştir.....	27
Şekil 10. Kontrol grubunda bir ferde ait eritrositler, (Giemsa x200).....	28
Şekil 11. Isı şoku uygulanan (10 dakikalık) triploidi oluşturulmuş gruptan bir ferde ait eritrositler, (Giemsa x200).....	28

**ÇİZELGELER DİZİNİ****Sayfa**

Çizelge 1. Araştırmada kullanılan damızlık balıkların ağırlık, boy ve yaş kompozisyonu.....	15
Çizelge 2 Denemelere ait ısı şoku süreleri, gruptaki yumurta sayıları, deneme süresi, deneme boyu sıcaklık ve çözülmüş oksijen ortalamaları. ....	16
Çizelge 3. Isı şoku uygulanan (TRP) ve kontrol (KONT) gruplarında, ölçülen eritrosit sayısı, ortalamalar, minimum-maksimum değerler ile %95'lik güven sınırları. ....	29
Çizelge 4. Deneme gruplarında belirlenen eritrosit büyüklüklerine ait tek yönlü varyans analizi (ANOVA) sonuçları .....	30
Çizelge 5. Isı şoku uygulanan (TRP) ve kontrol (KONT) gruplarında, ölçülen eritrosit sayısı, ortalamalar ve %95'lik güven sınırları.....	30
Çizelge 6. Deneme gruplarında ortalama eritrosit büyüklükleri için yapılan “Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi” sonuçları (Duncan gruplandırmaları) ....	31
Çizelge 7. Isı şoku uygulanan (TRP) ve kontrol (KONT) gruplarında, ölçülen eritrosit sayısı, hesaplanan eritrosit hacim ortalamaları ve %95'lik güven sınırları .....	32
Çizelge 8. Isı şoku uygulanan (TRP) ve kontrol (KONT) gruplarında, ölçülen eritrosit sayısı, küçük eksen (en) ortalamaları ve %95'lik güven sınırları .....	34
Çizelge 9. Isı şoku uygulanan (TRP) ve kontrol (KONT) gruplarında, ölçülen eritrosit sayısı, büyük eksen (boy) ortalamaları ve %95'lik güven sınırları.....	35

**SİMGELER DİZİNİ**

°C	: Santigrat derece
μ	: Mikron
μ <sup>3</sup>	: mikron küp, eritrosit hacmini ifade ederken
μl	: Mikrolitre
2n	: Ploidy seviyesi, diploid
3n	: Ploidy seviyesi, triploid
4n	: Ploidy seviyesi, tetraploid
ark.	: Arkadaşları
cm	: Santimetre
ÇB	: Çatal boy
dk	: Dakika
EDTA	: Etilen Diamin Tetra Asetik Asit
g	: Gram
kg	: Kilogram
KONT	: Kontrol grubu
kPa	: kilo Paskal (basınç birimi)
l	: Litre
m	: Metre
m <sup>3</sup>	: Metreküp
ml	: Mililitre
mm	: Milimetre
n	: Ölçülen eritrosit sayısı
SB	: Standart boy
T <sub>0</sub>	: Döllenen yumurtalara su ilavesi anı, sıfır zamanı
T <sub>1</sub>	: Isı uygulamasının başlangıç zamanı
T <sub>2</sub>	: Isı uygulamasının bitiş zamanı
TB	: Total boy
T <sub>D</sub>	: Dölleme zamanı
TRP	: Isı şoku uygulanan grup

## ÖNSÖZ

Ülkemizde kültür balıkçılığı 25 yıl gibi oldukça kısa bir geçmişe sahiptir. Önce tatlı su balıklarının iç sularımızda yetiştiriciliği ile başlayan bu üretim dalı son 10 yıldır deniz balıklarının ağ kafeslerde yetiştirilmeye başlaması ile büyük bir gelişme göstermiştir. Deniz balıklarının kültürü yanında iç sularımızda yapılan yetiştiricilikte süratle bütün ülkeye yayılmakta ve üretim işletmelerinin sayısı artmaktadır.

Biyoteknolojik uygulamalar arasında yer alan genetik manipülasyon, hücrelerin kromozomları ve genleri üzerindeki amaçlı değişiklikleri kapsar. Birçok balık türünde dölllenme su ortamında (dış ortamda) olduğundan, kromozom sayılarıyla oynamak nispeten kolaydır. Balık yetiştiriciliğinde, üretime alınan balığın daha hızlı gelişmesi, hastalıklara karşı daha dirençli olması, yem değerlendirme kabiliyetinin iyileştirilmesi, üreme dönemindeki istenmeyen morfolojik değişikliklerin ortadan kaldırılması (alabalıklarda alt çenenin yukarıya kıvrılması) gibi, yetiştiricilik açısından önemli konular üzerinde biyoteknolojik faaliyetler günümüzde devam etmektedir. Bununla birlikte bu konu ülkemiz için ele alınması ve gereken önemin verilmesi beklenen yeni bir alandır.

Triploidi; hücrelerde normalde  $2n$  şeklinde bulunan kromozom sayısının  $3n$ 'e çıkarılmasıdır. Triploid fertler doğal olarak nesil veremeyen steril 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. Metabolize enerjinin gonad gelişimine harcayacakları kısmını büyümeye sarfederler.

Bu çalışma ile kültür balıkçılığında diğer bazı ülkelerde pratik uygulama alanı bulunmuş olan triploid fertler üretiminin ülkemiz şartlarında da başlatılması, istenilen yetiştirme avantajlarına sahip bireylerin elde edilmesinde kullanılacak metotlara katkıda bulunulması ve bu metotların ülkemiz şartlarına adapte edilmesi amaçlanmıştır.

Bu araştırmada çalışmam boyunca bana yol gösteren, her konuda yardımlarını esirgemeyen tez danışmanım Sayın Doç. Dr. Osman ÇETİNKAYA'ya, kromozom ve kan preparasyonlarının hazırlanması ve fotoğraflama işlemlerinde yardımlarını esirgemeyen YYÜ Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünden Sayın Yrd. Doç. Dr. Güler ÜNAL, İstatistik analizlerdeki katkılarından dolayı YYÜ Ziraat Fakültesi Zootekni Bölümünden Sayın Doç. Dr. Hayrettin OKUT'a, YYÜ Veteriner



Fakóltesinden Yrd. Doç. Dr. İdris TÜREL, Yrd. Doç. Dr. Yavuz GÜLBAHAR ve Yrd. Doç. Dr. Ferda BELGE, Mersin Üniversitesi Fen Edebiyat Fakóltesi Biyoloji Bölümünden Yrd. Doç. Dr. Serap ERGENE'ye, araştırmam boyunca beni yalnız bırakmayan arkadaşlarım YYÜ Ziraat Fakóltesi Su Ürünleri Bölümünden Arş. Gör. Fazıl ŞEN, Arş. Gör. Mehmet KOCABAŞ'a, anaç balık materyali temininde yardımlarını gördüğüm Gürpınar Alabalık Tesisi sahibi Hayrullah ARVAS ve Çatak Alacayar Alabalık Tesisi sahibi Erdal YELTEKİN'e, araştırmaya finansal destek sağlayan Y.Y.Ü. Araştırma Fonu Başkanlığına teşekkürlerimi sunmayı bir borç bilirim.



**ÖZ**

Bu çalışmada, gökkuşuğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) yumurtalarına ısı şoku uygulamasıyla triploidi oluşturulması incelenmiştir. Gökkuşuğu alabalığının gametleri olgun anaçlardan elde edildi ve suni olarak döllendi. Döllenen yumurtalar 3 gruba ayrıldı. Birinci grup kontrol olarak kullanıldı. Diğer iki gruba  $28 \pm 0.5$  °C'de 10 ve 15 dk ısı şoku uygulandı. Döllenen ve şoklanan yumurtalar klasik inkübasyon şartlarında kuluçkalandı. Yavrular 23 hafta boyunca beslendi. Deneme gruplarında döllenme ve yumurtadan çıkış oranları belirlendi. Uygulanan ısı şoku metodunun etkinliği direk kromozom sayımı ve eritrosit büyüklük ölçümüyle araştırıldı. Kromozom preparasyonları embriyolardan ve fingerlinglerin ön böbrek kısmı kullanılarak hazırlandı. Deneme gruplarında eritrositlerin küçük ve büyük eksenleri oküler mikrometrede ölçüldü, hücre hacimleri hesaplandı. Kromozom sayısı kontrol grubunda  $2n=60$  ve 10 dk şok uygulanan grupta  $3n=90$  bulundu. Eritrosit büyüklük ve hacmi şok uygulanan grupta kontrol grubundan önemli olarak daha büyük bulundu. Eritrosit büyüklük ve hacimlerinin istatistik analizi diğer iki gruptan ayırt edilebilen (diploid ve triploid) ve tetraploid olarak adlandırılan diğer bir poliploidi grubunun varlığını gösterdi. Gökkuşuğu alabalığında triploidi oluşturmak için  $28$  °C'de 10 dk ısı şoku uygulaması başarıyla kullanılabilir. Eritrosit büyüklüğü ve hacminin incelenmesi bu türde ploidy seviyelerinin ayırımında kullanılabilir.

**Anahtar Kelimeler:** Gökkuşuğu alabalığı, *Oncorhynchus mykiss*, Isı şoku, Ploidi, Triploidi, Kromozom, Eritrosit büyüklüğü

**ABSTRACT**

**A STUDY ON INDUCING OF TRIPLOIDY BY HEAT SHOCK IN  
RAINBOW TROUT (*Oncorhynchus mykiss* W., 1792)**

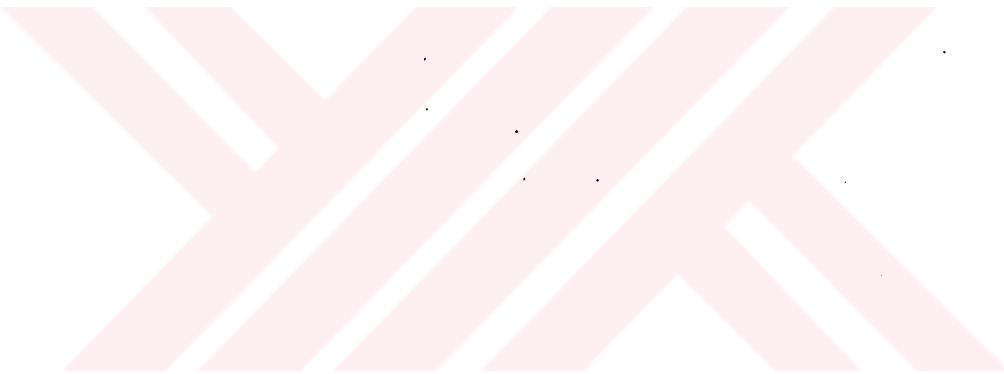
In this study, inducing triploidy in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) by applying heat shock on the eggs was investigated. Gametes of rainbow trout were stripped from ripe adults and fertilized artificially. Fertilized eggs were divided into 3 groups. The first group used as control, heat shock at  $28 \pm 0.5$  °C were applied to two others groups for 10 and 15 minutes. Fertilized and shocked eggs were incubated until to hatching of sac fry in ordinary incubation conditions. The hatched fry were raised for 23 weeks. Fertilization and hatching ratios were determined for trial groups.

Effectiveness of applied heat shock method were investigated by chromosome counts and erythrocyte size and volume measurements. Chromosome preparations were made from whole embryos and head kidney of the raised fingerlings. Minor and major axes of erythrocytes were measured in ocular micrometer and cell volumes were calculated.

Chromosome counts were found  $2n=60$  for untreated control group and  $3n=90$  for 10 minutes shock applied group. Erythrocyte sizes and volumes were found bigger in shock applied groups significantly than control group. The statistical analysis of erythrocytes size and volumes were showed that another polyploidy group, namely tetraploid, can be distinguish other two groups (diploid and triploids).

Applying of the heat shock in 28 °C for 10 minutes for inducing triploidy in rainbow trout can be used with succes. Erythrocyte size and volume investigations can be used to differ ploidy levels in this species.

**Key Words:** Rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, Heat shock, Ploidy, Triploid, Chromosome count, Erythrocyte size



## 1. GİRİŞ

Türkiye su ürünleri üretimi bakımından 161 dünya ülkesi arasında 30'uncu ve Avrupa ülkeleri arasında 6'ncı sırada yer almaktadır (Acara, 1992).

Ülkemizdeki su ürünleri yetiştiriciliği konusundaki gelişmeler, üretim faaliyetleri 1970'li yılların başında iç su balıkları, 1980'li yıllarda ise deniz balıkları yetiştiriciliği ile başlamıştır.

1996 yılı verilerine göre Türkiye'deki yetiştiricilik çalışmaları sonucu elde edilen su ürünleri üretimi 33.201 tondur, ancak bu miktar toplam su ürünleri üretimimiz (549.646 ton) içinde %6 ile temsil edilmektedir. Üretilen 33.201 ton balığın başlıca balık türlerine göre dağılımı şöyledir; 17.180 tonu alabalık (tatlı suda yetiştirilen), 1.330 tonu alabalık (denizde yetiştirilen), 780 tonu sazan, 6.320 tonu çipura, 5.210 tonu levrek, 193 tonu salmon balığı, 1.918 tonu midye ve 270 tonu da karidestir (Anonim, 1997).

Ülkemizde kültür balıkçılığı havuzlarda ve ağ kafes sistemlerinde sürdürülmektedir. Doğal göller ve barajlarımızın ağ kafeslerde yetiştiricilik yolu ile alabalık veya diğer balıklar için kullanılıp kullanılmayacağı konusunda bilimsel çalışmalar çok azdır. Su ürünleri yetiştiriciliğinde ele alınabilecek daha bir çok gelişme alanları bulunmaktadır. Dalyanlar, kıyı havuzları, karides yetiştiriciliği kabuklu su canlıları üretimleri ve yosun kültürleri konusunda ileriki yıllarda yeni gelişmeler olması beklenmektedir (Alpbaz, 1997).

Biyoteknolojik çalışmalar, yetişmiş teknik eleman, iyi donatılmış laboratuvarlar ve mali olanaklara bağımlıdır. Gelişmiş ülkeler veya bu konuya önem ve gerekli parasal imkanları sağlayabilen ülkelerde gerçek anlamda biyoteknolojik çalışmalar yapılabilmektedir. Bu yönden, Türkiye'nin durumu hiç de iç açıcı değildir. Son 10-15 yıl içinde çok hızlı gelişen ve çok fazla yararlar sağlayan Biyoteknoloji'de böyle bir karakter taşımaktadır. Biyoteknoloji, biyolojik teknoloji veya teknolojinin biyolojiye uygulanması olarak tanımlanabilir. Bu yeni alan, Tıp, Veteriner Hekimlik, Tarım, Orman, Gıda, Çevre, Biyokimya, Endüstri gibi bir çok sahaya başarı ile uygulanabilmektedir. Türkiye'de biyoteknolojik uygulamalar hemen hemen yok denecek kadar azdır. Varolanlar da, bugünkü teknikler karşısında çok yetersiz kalmaktadır. Bilimsel araştırmalar yönünden, dünya ülkeleri arasında 40. sırada bulunan Türkiye, biyoteknoloji alanında ise daha da geride yer almaktadır. Bunun başlıca

nedenleri arasında, konu üzerinde deneyimli personelin ve gelişmiş laboratuvarların bulunmaması, bu amaca yönelik mali destek sağlanamaması ve özel sektörün bu tür çalışmalara katılmaması sayılabilir (Arda, 1995).

Su ürünleri yetiştiriciliğinde biyoteknolojinin kullanıldığı alanlardan bazıları Bekcan ve Atar (1996), tarafından şöyle sıralanmaktadır.

- a- Gen aktarımı yoluyla transgenik su ürünlerinin üretilmesiyle üstün özelliklerin artırılması.
- b- Salmon, alabalık gibi bazı su ürünlerinde görülen hibrid üretiminin esas olarak hibridize olması imkansız olan türlerin hibrid yetiştiriciliği üzerinde çalışmalar.
- c- Triploid fertlerin üretimiyle steril populasyonlar oluşturmak.
- d- Su ürünlerinin bakteriyel, viral, protozoan ve metazoan patojenlerine karşı aşuların ve bağışıklık sistemlerinin geliştirilmesi gibi su ürünleri hastalıklarına karşı önlemlerin artırılması.
- e- Kromozom manipasyonu tekniği ile su ürünlerinde cinsiyet kontrolü, türlerin ve nesillerin korunması, istenen özelliklerin ortaya çıkarılıp kötü olanların yok edilmesi çalışmaları.

Günümüzde balık yetiştiriciliğinde, yumurta, sperm ve zigotlara uygulanan genetik manipasyonlarla bunların ploidy seviyeleri değiştirilebilmektedir. Yine aynı uygulamalarla, dışiden veya erkekten gelen kromozomlar haploid, triploid ve tetraploid yapılabilmektedir. Triploidi, yeni döllenmiş balık yumurtalarına ısı, basınç ve kimyasal şok uygulanarak sağlanmaktadır. En yaygın kullanılanı ısı şoku metodudur (Liu ve Quillet 1989; Quillet ve ark. 1991; Ingram, 1988; Tave, 1993).

Yetiştiricilikte kullanılan populasyonun biyolojik potansiyeli optimum değilse optimum üretim yapılamayabilir. Daha hızlı büyüme oranına, daha büyük fletto yüzdesine, daha düşük yem dönüşümüne ve daha yüksek hastalık direncine sahip balığın yetiştiriciliği daha ekonomiktir. Bu yüzden işletme idaresinin hedeflerinden biri de balığın biyolojik potansiyelini maksimize etmek için rutin işletme idaresindeki temel genetik ve ıslah kavramlarını birleştirmek olmalıdır (Tave, 1993).

DNA'nın oluşturduğu kromozom adı verilen yapılar, hücrenin nükleusunda bulunurlar. Kromozom sayıları türden türe değişir, fakat tür içinde sabit kalır. Bu kuralın dışında olan bazı istisnalar da vardır. Çoğu balıkta kromozomlar çiftler

halindedir ve böyle kromozomlara sahip fertlere diploid ( $2n$ ) denir. Kromozom çiftlerinden birisi babadan diğeri anneden gelir (Tave, 1993).

Kromozom araştırmaları doğal ortamda yaşayan türlerin biyolojileri, sistematik konumlarının aydınlatılması, kirlenmenin canlının genetik özelliklerine etkileri ve populasyon genetiklerinin aydınlatılmasında da büyük öneme sahiptir (Ulupınar, 1997a).

Bu çalışma ile kültür balıkçılığında diğeri bazı ülkelerde pratik uygulama alanı bulmuş olan triploid fertler üretiminin ülkemiz şartlarında da başlatılması, istenilen yetiştirme avantajlarına sahip bireylerin elde edilmesinde kullanılacak metotlara katkıda bulunmak ve bu metotları ülkemiz şartlarına adapte etmek amaçlanmıştır.



## 2. LİTERATÜR BİLDİRİŞLERİ

Bir çok balık türünde döllenme dışta olduğundan, kromozom sayısının değiştirilmesi nispi olarak kolaydır. Haploid, triploid ve tetraploid balık üretmek ve hatta yalnız ya anneden (gynogens) yada babadan (androgens) gelecek kromozomlara sahip balık üretmek için (gynogenesis ve androgenesis) bir çok teknik geliştirilmiştir. Bu alandaki çalışmalarda en büyük payı triploidlerin üretimi oluşturmaktadır (Tave, 1993).

Kromozom sayısını değiştirmede kullanılan teknikler benzerdir ve üç kategoriye ayrılabilir: Sıcaklık, basınç ve kimyasal şoklar. Araştırmacıların çoğu basınç yada sıcaklık kullanıyor. Bu fiziksel şoklar yeni döllenmiş yumurtalara tatbik edilir. Şokun zamanlaması ve süresinin doğruluğu, hem mayoz (ikinci polar cisimciğin çıkarılması) hem de mitoz (2 hücreli bir embriyo oluşumu için zigotun bölünmesi) ile alakalıdır. Doğru sıcaklık yada basınç uygulanması sadece başarı oranını belirlemez aynı zamanda kromozom manipulasyon tipini de belirler (Tave, 1993).

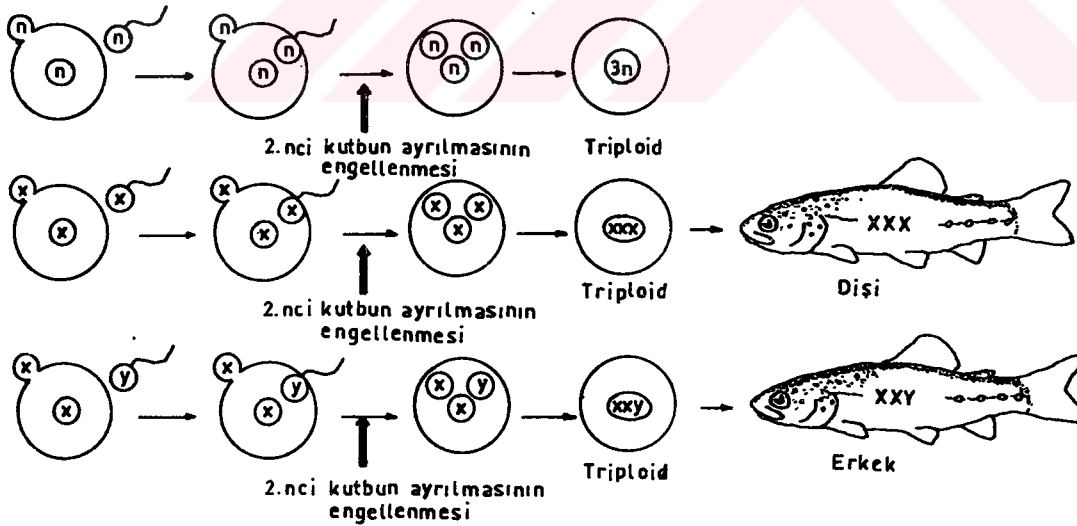
Basınç şoku tatbikinde basınç odaları kullanılır. Bu odaların değişik modelleri vardır. Bir kaç dakika yumurtaları şoklamak için uygulanan basınç 50-70 kPa (kilo paskal) arasında değişir. Bir defada şoklanabilen yumurtaların sayısı silindirik büyüklüğü artırılarak çoğaltılabilir (Tave, 1993).

Ancak bir çok kuluçkahanede yumurtaların şoklanmasında ısı banyoları daha yaygın olarak kullanılır. Ploidy seviyesi değiştirmede düşük ve yüksek sıcaklıkların her ikisi de kullanılabilir. Her ne kadar ılık ve soğuk su balıkları için sıcak ve soğuk şokların her ikisi de kullanılabilirse de; soğuk su türleri için sıcak şok daha iyi sonuçlar verirken, ılık su türleri için soğuk şokun daha iyi sonuçlar verdiği görülür (Thorgaard ve Allen, 1988). Genelde, en iyi sonuçlar almak için ihtiyaç duyulan ısı derecesi, o tür için lethal olan sıcaklık limitine yakındır. Kromozom sayısı değişikliğinde ihtiyaç duyulan sıcaklık derecesi oldukça hassas olduğundan, yumurtaların şoklanması esnasında sıcaklık dalgalanmalarını önlemek için sıcaklık kontrol mekanizması ve banyo hacmi çok önemlidir (Tave, 1993).

Kromozom manipulasyonlarının başarısını belirlemede halen 7 metodun kullanılabildiği bildirilmektedir. Birinci metot, kromozom sayımıdır. İkinci metot, eritrosit (kırmızı kan hücresi) büyüklüğünü incelemektir (Beck ve Biggers, 1983). Üçüncü metot, eritrosit çekirdek hacmini incelemektir (Wolters ve ark. 1982); bu

çoğunlukla bir Coulter sayıcıyla mümkündür (Johnson ve ark. 1984; Wattendorf, 1986). Dördüncü metot flow sitometrisi ile eritrosit çekirdeklerindeki DNA içeriğini belirlemektir (Johnson ve ark.1984). Beşinci metot, çekirdekçiklerin boyanması ve sayılması (Phillips ve ark. 1986; May ve ark. 1988). Altıncı metot, Coulter sayıcısı kullanarak hücre yoğunluğunu analiz etmektir. Yedinci ise triploid hibritlerin incelenmesinde kullanılan elektroforez metodudur (Dawley ve ark. 1985; Arai, 1988; Seeb ve ark. 1988).

Triploidler döllenmeden hemen sonra yeni döllenmiş yumurtaların şoklanmasıyla oluşturulur. Balık yumurtaları döllenmeden ikinci polar cisimcik ortaya çıkmaz. Spermin yumurtaya girip döllenmenin gerçekleşmesi ikinci polar cisimciğin ayrılması için bir stimülasyon oluşturmaktadır. Ancak yeni döllenmiş bir yumurta şoklanacak olursa, bu şok yumurtadan 2. polar cisimciğin ayrılmasına engel olmaktadır. Bunun sonucu olarak döllenmiş yumurta, biri spermden, diğer ikisi yumurtadan (birinci ve ikinci polar cisimcikler) olmak üzere üç haploid çekirdekçik kapsayacaktır. Üç haploid çekirdekçik daha sonra, triploid ferdi oluşturacak olan, triploid zigot nükleusu şekillendirmek için kaynaşır (Tave, 1993; Ingram, 1988; Schreck ve Moyle, 1990) (Şekil 1).



Şekil 1. Balıklarda şok uygulamasıyla triploid bireylerin elde edilmesinin şematik olarak gösterilmesi.



*Cyprinus carpio* (Wu ve ark. 1986; Cherfas ve ark. 1990), *Tilapia aurea* (Valenti 1975; Don ve Avtalion, 1988), *Tilapia nilotica* (Don ve Avtalion, 1988), *Oncorhynchus keta* (Benfey ve ark. 1988), *Oncorhynchus masou* (Arai, 1988), *Oncorhynchus mykiss* (Chourrout, 1984; Lincoln ve Scott 1983; Kim ve ark. 1986, 1988; Happe ve ark. 1988; Ueda ve ark. 1988), *Salvelinus fontinalis* (Arai, 1988; Happe ve ark. 1988), *Plecoglossus altivelis* (Taniguchi ve ark. 1986), balıklarını içine alan bir çok türlerde triploid oluşturulmaktadır.

Ayrıca, Tave (1993)'nin bildirdiğine göre; *Ctenopharyngodon idella* (Cassani ve Caton, 1985, 1986; Thompson ve ark. 1987), *Aristichthys nobilis* (Aldridge ve ark. 1990), *Labeo rohita* (Reddy ve ark. 1990), *Tilapia mossambica* (Penman ve ark. 1987; Pandian ve Varadaraj, 1988; Varadaraj ve Pandian, 1990), *Ictalurus punctatus* (Wolters ve ark. 1981; Chrisman ve ark. 1983; Bidwell ve ark. 1985), *Clarius batrachus* (Manickam, 1991), *Clarias gariepinus* (Richter ve ark. 1987), *Silurus glanis* (Krasznai ve Marian, 1986), *Salmo salar* (Benfey ve Sutterlin, 1984; Johnstone, 1985, 1987; Johnstone ve ark. 1989), *Oncorhynchus tshawytscha* (Utter ve ark. 1983), *Oncorhynchus kisutch* (Johnson ve ark. 1986), *Oncorhynchus gorbuscha* (Utter ve ark. 1983), *Salmo trutta* (Arai ve Wilkins, 1987), *Acipenser transmontanus* (Kowtal, 1987), *Misgurnus anguillicaudatus* (Suzuki ve ark. 1985; Chao ve ark. 1986), *Pleuronectes platessa* (Purdom, 1972), *Gasterosteus aculeatus* (Swarup, 1959), *Morone sp.* (Curtis ve ark. 1987), *Morone saxatilis* (Curtis ve ark. 1987), *Oryzias latipes* (Naruse ve ark. 1985), ve *Micropterus salmoides* (Garrett ve ark. 1992) balıklarında triploid oluşturulmaktadır.

Triploidler, ısı şokları (Valenti, 1975; Lincoln ve Scott, 1984; Don ve Avtalion, 1988; Kim ve ark. 1986; Taniguchi ve ark. 1986; Wu ve ark. 1986; Happe ve ark. 1988; Cherfas ve ark. 1990), basınç şokları (Chourrout, 1984; Benfey ve ark. 1988), ve kimyasal şoklar (Ueda ve ark. 1988) kullanılarak oluşturulmaktadır.

Çoğu araştırmacı ve balık yetiştiricisi ya ısı yada basınç şoku kullanır. Kimyasal şoklar çok sayıda mozaik (çeşitli ploidy seviyeli bireyler) üretimine sebep olduğundan (Allen ve Stanley, 1979; Smith ve Lemoine, 1979), termal şoklar triploid üretiminin en kolay, en ucuz ve en güvenli yoludur. Bu nedenle bu metot çoğu ticari kuluçkahane de kullanılır. Triploid üretimi için ihtiyaç duyulan doğru sıcaklık derecesi ve uygulama süresi deneme yanılma ile belirlenir. Başlangıç adımı lethal sıcaklık değerinin

belirlenmesidir. Belli bir tür için muhtemelen optimal sıcaklık lethal sınırın bir kaç derece üzeri ile altı arasında olabilir. Şokun ne zaman başlayacağı ve biteceği döllenmeden sonra ikinci polar cisimciğin ne kadar sonra ayrılacağına bağlıdır. Şok uygulaması ikinci polar cisimciğin ayrılmasından önce başlamalı ve müdahale edilmediğinde ikinci polar cisimciğin ayrılmış olacağı zamana kadar devam ettirilmelidir (Tave 1993).

Triploidler, büyüme artışı ve steriliten nedenleriyle oluşturulur. Teoride, triploidler akranları diploidlerden, daha büyük olmalıdır. Çünkü triploidlerin hücre büyüklükleri daha fazladır. Nükleusları büyüme için % 33 daha fazla allel taşır ve büyüme için gerekli enerjiyi gamet üretimine, üremeye ve yavru bakımına harcamazlar. Ancak triploidlerin daha iyi büyüdüğü nadiren görülebilmektedir. Daha iyi büyüme *Tilapia aurea* (Valenti, 1975), *Ictalurus punctatus* (Wolters ve ark. 1982), *Oncorhynchus mykiss* (Kim ve ark. 1988), *Cyprinus carpio*'da (Taniguchi ve ark. 1986) belirlenmiştir.

Ayrıca yine triploidlerin daha iyi büyüdüğü *Silurus glanis* (Krasznai ve Marian, 1986), *Misgurnus anguillicaudatus* (Suzuki ve ark. 1985), *Morone saxatilis* ve *Morone sp.* melezlerinde (Kerby ve ark. 1991) belirlenmiştir. Bununla birlikte bazı triploidler farklı hayat dönemlerinde kısa bir süre üstün performans göstermişlerdir. Benfey ve Sutterlin (1984) triploid Atlantik salmonlarının (*Salmo salar*) akranları olan diploidlerden daha uzun, ancak ağırlıklarının daha az olduğunu bulmuştur. Ueno ve ark. (1986) triploid *Plecoglossus altivelis*'lerin diploidlerden daha fazla et verimine sahip olduğunu bulmuştur. Diploidler cinsi olgunluğa girdikten sonra triploidlerde daha yüksek bir büyüme beklenmekte ancak triploidler bu dönemde de beklendiği kadar büyüme avantajı göstermemektedir. Örneğin, Lincoln (1981) yassı balık (*Pleuronectes platessa*) X pisi balığı (*Platichthys flesus*) triploid melezlerinin enerjiyi gamet gelişimine ve üremeye dönüştüremediğini, 4 ay boyunca (gamet gelişimi ve üreme dönemi) diploidler büyümezken triploidlerin büyüdüğünü ancak diploidlerin üremeyi takiben iyi bir büyüme göstererek istenen büyüklüklerini tekrar kazandıklarını bulmuştur (Tave, 1993).

Büyüme avantajından daha önemlisi, triploidler; çevresel yan etkilere sebep olmayacak türler çiftliklerde üretilsün veya doğal kaynakların yönetiminde kullanılabilsin diye steril balık üretmek için oluşturulurlar. Triploidlerin steril olması

basitçe, triploidlerin üç kromozom setine sahip olmaları nedeniyle mayoz esnasında gametik uyumsuzlukların meydana gelmesiyle açıklanabilir (Mayoz oluşumunda zorluk çıktığı için kromozomlar gereği gibi çiftleşemezler ve kendi kendilerine dizilirler, çünkü kromozomlar iki eşit haploid sete bölünemezler). Üretilen gametler genellikle düzenlenmemiş (ayarlanmamış) kromozom sayıları ihtiva eden aneploiddirler. Aneploid gametler uzun süre yaşayamayan anormal ve kısa ömürlü nesiller üretirler (Tave, 1993).

Yaşayabilen triploid balıkların gonadlarının yapısını histolojik olarak belirlemek için bazı çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmalar triploidlerin genellikle anormal gonad yapısına sahip olduklarını, bu gonadların çok az gamet ürettiğini ve üretilen gametlerin de genelde anormal yapıda olduğunu göstermiştir (Dawley ve ark. 1985; Lincoln ve Scott, 1983, 1984; Taniguchi ve ark. 1986; Kim ve ark. 1988).

Triploid fertler yapay gametogenesis ve hormonal enjeksiyon yoluyla üretimde kullanıldığında bile elde edilen nesiller anormal olmakta ve embriyolojik gelişme esnasında ölmektedirler (Dawley ve ark. 1985).

Tave (1993)'nin bildirdiğine göre; Lincoln (1981) triploid pisi balıklarında çalışmıştır. Fakat yumurtaların hiç birinin açılmadığını bildirmiştir. Triploidlerin yaşayabilir ve üreyebilir döller üretmesi ihtimali genelde olmamasına rağmen bazen gelişme kabiliyeti olan döller elde etmek mümkündür. Mesela cinsiyeti değiştirilmiş triploid gynogenetik gümüş sazanı (*Hypophthalmichthys molitrix*) erkekleriyle diploid sazan (*Cyprinus carpio*) dişileri çiftleştirilmiş ve ilk besleme dönemi sonuna kadar yaşayan her ikisi de triploid olan iki fert üretilmiştir. Ancak her iki fert bir süre yaşayabilseler bile döl verebilmeleri mümkün olmamıştır (Nagy, 1987).

Lincoln ve Scott (1984), triploid gökkuşuğu alabalığında cinsel olgunlukta belirlenen özellikler üzerinde çalışmalar yapmış, diploid ve triploid erkek ve dişilerin morfolojik ve endokrinolojik karakteristiklerini karşılaştırmıştır. Triploid ve diploid fertler arasında gonadosomatik indeks, kondisyon, barsak ve karaciğer ağırlığı fletto verimi bakımından önemli farklılıklar belirlemiştir.

Olumsuz çevresel etkiler en aza indirildiğinden triploidlerin elde edilmesi, balıkçılık yönetimi programlarında eksotik balıkların kullanımı için veya balık üretim endüstrisi için mükemmel bir yoldur. Örneğin, Birleşik Devletler Eyaletinin birçok havuzlardan kaçma, doğada üreme, ortama alışma ve doğal türlerin yerini alma gibi korkular nedeniyle ot sazanının (*Ctenopharyngodon idella*) ithalatı yasaklanmıştır.

Bununla birlikte bu eyaletlerin bazılarında steril olmaları nedeniyle triploid ot sazanının ithalatına izin verilmiştir (Tave, 1993).

Allen ve ark. (1986) hormon enjeksiyonu yoluyla triploid ot sazanında gametogenezis ve üretimini gerçekleştirmiştir ve görünürde bütün spermilerin anormal olduğunu bildirmiştir. Bu araştırmacılar, triploid erkeklerin üreyebilen nesiller oluşturabilme ihtimalinin çok uzak olduğunu, dolayısıyla balıkçılık yönetimi amaçları için triploid ot sazanının steril olarak değerlendirilebileceğini göstermişlerdir (Tave, 1993).

Quillet ve ark. (1991) yaptıkları çalışmalarında, kahverengi alabalıkta (*Salmo trutta*) farklı sıcaklık ve süre değerlerini kullanmışlardır. 28 °C de 10 ve 20 dakika sürede triploidi başarısını sırasıyla %94.7, %84.2 bulmuşlardır.

Liu ve Quillet, (1989) çalışmalarında, kahverengi alabalıkta en yüksek triploidi oranını 28 °C'de 10 dakika süreyle %94.2 olarak belirtmişlerdir. Aynı sıcaklık değerinde 15 dakika 'da %93.8, 20 dakika 'da %83.8 olarak triploidi başarısını vermişlerdir.

Thorgaard ve Disney, (1990) kromozom preparasyonları ve analizi çalışmalarında balıkların; gözlü yumurta dönemi, embriyo dönemi, yavru ve ergin dönemlerinde yeni metotlar geliştirmişlerdir.

Alpagut ve Falakalı (1995), amfibilerden *Rana ridibunda* türünde karyotip çalışması yapmışlardır.

Ulupınar ve Okumuş (1998), Ticari bir çiftlikten alınan gökkuşağı alabalığının kromozom yapıları üzerine yaptıkları bir araştırmada, 30 fertte böbrekten hazırladıkları kromozom preparatlarında 120 hücrede yaptıkları karyotip analizlerinde diploid  $2n=58$  ve  $2n=62$  sayıda kromozom belirlemişlerdir. Karyotip analizinde yaygın olarak kromozom sayısını  $2n=60$  belirtmişler ve bunların 22 çifti metasentrik-submetasentrik, 1 çifti subtelosentrik ve 7 çiftini de telosentrik yada akrosentrik olarak bildirmişlerdir.

Ergene ve ark. (1998a), Yetiştiricilikte kullanılan *Oreochromis niloticus*'un karyolojik analizi çalışmalarında, 10 balıkta, kromozom analizlerinde, modifiye edilmiş, havada kurutma tekniğini kullanarak kromozom sayısını  $2n=46$ , 44'ü akrosentrik ve 2'si submeta/metasentrik morfolojide olduğunu belirtmişlerdir. Kullandıkları modifiye havada kurutma tekniğinin solungaç epitelinden çok yüksek sayıda metafaz plağı içerdiğini bildirmişlerdir.

Güner ve Özden (1997), Gökkuşığı alabalığı yumurtalarına uygulanan sıcaklık şokuyla kısır balık üretimi çalışmalarında, yumurtalara sıcaklık şoku (26.5 °C., 20 dakika) uygulamış, yumurta ve balıklarda yaşama ve gelişme oranlarını incelemiştir. Triploid yumurta ve yavrulardaki yaşama oranlarını sırasıyla %87.8-89.1, 81-78; kontrol grubunda ise %87.4-92.2, 94.5-90 olarak belirtmişlerdir. Kuluçka ve besi dönemindeki yaşama oranları bakımından iki grup arasında fark bulunmadığı ( $p > 0.05$ ), sıcaklık şokunun yumurta ve yavrular üzerine olumsuz bir etkisinin olmadığını bildirmişlerdir. Triploid ve kontrol grubunda yavruların gelişimi 15 ay takip edilmiş ve sırasıyla ortalama canlı ağırlıkları ve günlük canlı ağırlık artışları triploid balıklarda  $877 \pm 54.1$ , 1.94 g, kontrol grubunda ise  $355 \pm 16.9$ , 0.78 g olarak bildirmişlerdir.

Sarı ve Ulakoğlu (1992), Akuatik kabuklulardan olan ostrakodlar; *Cyprinotus inaequalis*, *Cyprinotus salinus*, *Heterocypris incongruens* ve *Cypridopsis vidua*'nın kromozom sayılarını tesbit etmişler ve ayrıca *Heterocypris incongruens*'e ait değişik lokal popülasyonlarda kromozom sayıları incelenmiş ve her iki örnek çeşidinde sayı olarak pek büyük fark olmadığını bildirmişlerdir.

Rencüzoğulları ve Topaktaş (1991), Chromosome medium B için kardeş kromatidlerin farklı boyanmasını en iyi sağlayan Bromodeoxyuridine ve kan miktarları arasındaki ilişki üzerine bir araştırma yapmışlardır.

Ulupınar ve Okumuş (1997a), Balıklarda sitojenik yöntemler yardımıyla sularındaki mutajenik ve kanserojenik kirleticilerin belirlenmesi üzerine bir araştırma yapmışlar ve Kardeş kromatid değiştirme (SCE), Anafaz hatası (CA) ve Mikronükleus (M) testlerinin yapılması gerektiğini bildirmişlerdir.

Çolak ve ark. (1985), Sazangiller familyasına ait Beni balığında (*Cyprinion macrostomum*) kromozomal araştırmalarda, böbrekten besi kültürü yapmışlar ve

20'şer dakika fiksasyon işleminden sonra pH 6.8 Sorenson fosfat tampon solüsyonunda hazırlanmış %5'lik Giemsa ile oda sıcaklığında boyandığını bildirmişlerdir.

Ergene ve ark. (1998b), *Barbus plebejus lacerta*'nın karyolojik analizi çalışmalarında havada kurutma tekniğini değişikliğe uğratarak hazırladıkları kromozom preparatlarında sayının  $2n=48$ ; 32 metasentrik ve 16 akrosentrik morfolojisine sahip olduğunu bildirmişlerdir.

Kim ve ark. (1986), Triploid gökkuşuğu alabalığı üretimi üzerine yaptıkları çalışmalarında, 10 °C'de döllenmiş yumurtalara 10 dakika sonra 27 °C'de 10 ve 14 dakika ısı şoku uygulamışlardır. Sonuçta 10 ve 14 dakika ısı şoku uygulamasıyla triploidi başarısını sırasıyla %45 ve %57 olarak bulduklarını ve uygulama zamanıyla triploidi oranının biraz arttığını bildirmişlerdir. Ayrıca triploid ve diploidlerin ilk büyüme safhalarında büyüme oranları bakımından fark olmadığını ve bu sonucun bu tür üzerinde yapılan diğer çalışmaların sonuçlarıyla aynı olduğunu bildirmişlerdir. Isı şoku tekniğinin steril triploid gökkuşuğu alabalığı popülasyonları üretiminde kullanılabilirliği üzerinde önemli gelişmeler gösterebileceğini bildirmişlerdir.

Wolters ve ark. (1982), Eritrosit ölçümlerinin balık türlerinde (Swarup, 1959; Cherfas, 1966; Purdom, 1972; Cimino, 1973; Valenti, 1975; Allen ve Stanley, 1978; Thorgaard ve Gall, 1979; Lemoine ve Smith, 1980), ploidy seviyelerinin belirlenmesinde yaygın olarak kullanıldığını bildirmişlerdir.

Valenti (1975), Isı şoku uygulamasıyla *Tilapia aurea*'da poliploidy oluşturulması çalışmasında, poliploidy başarısını belirlemede eritrosit çekirdek hacim artışının incelenmesinin bir başarı kriteri olarak kullanılabileceğini bildirmiştir.

Beck ve Biggers (1983), Diploid ve triploid *Ctenopharyngodon idella* X *Hypophthalmichthys nobilis* melezlerinin ploidy seviyelerini belirlemede eritrosit büyüklüklerinin kullanılabildiğini bildirmişlerdir. Elde ettiği eritrosit büyüklüklerinde Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi, Kolmogorov-Smirnov Testi, "t" testi, çekirdek ve hücre ölçümlerini logaritmiğe çevirerek ve çevirmeden (Nei ve ark. 1975) Discriminant analizi yaptığını bildirmiştir.

Al-Sabti (1984), *Salmo gairdneri* ve *Thymallus thymallus* kromozom çalışmalarında in vitro kolşisin kullanması üzerine çalışmasında, kromozom preparasyonlarında kolşisin uygulamasıyla solungaç filamentlerinin in vitro muamelesi

metodunu kullandığını ve sonuçta diploid kromozom sayısını *Salmo gairdneri*'de  $2n=60$ , *Thymallus thymallus*'da  $2n=98$  olarak bulunduğunu bildirmiştir.

Kligerman ve Bloom (1977), Balıkların katı dokularından hızlı kromozom preparasyonları çalışmalarında; doku parçalama, santrifüj etme, sindirim enzim dokularına yada doku kültürüne dayalı metodoloji kullanılmaksızın balıkların katı dokularından metafaz safhası iyi ortaya çıkanlarında tanımlandığını ve çok sayıda balık kromozom preparasyonları bu işlemi kullanarak kolayca ve hızlıca yapılabildiğini bildirmişlerdir.

Chourrout ve Happe (1986), Gökkuşığı alabalığında direkt kromozom preparasyonlarında geliştirilmiş metodlar çalışmalarında, genç balıkların böbrek hücrelerini kullanmışlardır. Geleneksel KCl hipotonik kullanımı yerine oda sıcaklığında % 0.8 trisodyum sitratla 20 dakika uygulamayı denemiş ve diploid kromozom sayısını  $2n=59-64$  olarak bulmuştur. Ayrıca 170 gün-dereceden küçük yaşta embriyolardan yüksek sayıda okunabilir metafaz sağlanabildiğini bildirmişlerdir.

Ingram (1988), Tatlı su tank ve havuzlarında gökkuşığı alabalığı yetiştiriciliği çalışmasında, triploid gökkuşığı alabalığının oluşturulmasında ısı şoku uygulamasını detaylarıyla vermiştir.

Triploid ve diploidler arasında büyüme farklılığı görülmezken triploid dişi gökkuşığı alabalıklarının daha yüksek kondisyon faktörüne, fletto verimine ve organlar arası yağ kapsamına ancak daha düşük hepatosomatik indekse sahip olduğu bulunmuştur (Lincoln ve Scott, 1984).

### 3. MATERYAL ve METOT

#### 3.1. Materyal

##### 3.1.1. Deneme ortamı

Denemeler Yüzüncü Yıl Üniversitesi Ziraat Fakültesi Su Ürünleri Bölümü Laboratuvarları ve Uygulama-Araştırma Tesis'i'nde gerçekleştirilmiştir. Isı şoku uygulaması 60x40x30 cm ebatlarında, 70 litre hacminde, termostatlı akvaryum ısıtıcılarıyla ısıtılan akvaryumlarda gerçekleştirilmiştir. Yumurtalar şoklandıktan sonra açılıncaya kadar yine aynı ebatlardaki akvaryumlarda kuluçkalanmıştır (Şekil 2). Kuluçkalamada oksijenle zenginleştirilmiş şebeke suyu kullanılmıştır. Yumurtalar açıldıktan sonra yavrular Uygulama ve Araştırma Tesis'i'ndeki 3x0.9x0.7 m ebatlarında, 1.89 m<sup>3</sup> hacminde fiberglas "Yavru Geliştirme Tankları"na aktarılmıştır.



Şekil 2. Kontrol ve ısı şoku uygulanan grupların kuluçkalandığı ortam.

##### 3.1.2. Balık materyali

Balık Materyalini Gökkuşluğu Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*, W.1792) oluşturmaktadır. Araştırmada kullanılan damızlık balıklar Van'ın Gürpınar ve Çatak ilçelerinde kurulu bulunan alabalık üretim tesislerinden temin edilmiştir (Şekil 3). Çizelge 1.'de 4 denemede kullanılan damızlık balıklara ait ağırlık, boy ve yaş değerleri görülmektedir.





1



2



3

Şekil 3. Denemede kullanılan damızlık balıklar; a) 1nolu dişi, b) 2 nolu dişi, c) 3 nolu erkek.

Çizelge 1. Araştırmada kullanılan damızlık balıkların ağırlık, boy ve yaş kompozisyonu.

	Ağırlık (g)	TB (cm)	ÇB (cm)	SB (cm)	Yaş
Erkek	1220	45	44.2	38	
Erkek	182	25	24.3	18.2	
Erkek	960	43.7	43.7	36.7	4+
Erkek	960	43.7	42.9	36.7	4+
Dişi	782.8	38.5	38	32	
Dişi	638	37.5	36.8	31	
Dişi	1000	42	41.3	36.5	
Dişi	1700	50.5	49.5	43	4+

Araştırmada kullanılan gökkuşağı alabalığının büyüklüğü ve dış görünüşü yaşadığı habitata ve beslenme durumuna göre değişir. 70 cm boy ve 7 kg ağırlığa kadar ulaşabilirler. Gökkuşağı alabalığı vücudun daha tıknaz (tombul), baş vücut, sırt ve kuyruk yüzgeçleri üzerinde koyu nokta şekilli benekler taşımaması, yanıl çizgi üzerinde gökkuşağını andıran kırmızımsıtrak bir bant taşımaması ile karakteristiktir (Atay, 1980; Aras, 1988).

Gökkuşağı alabalığı doğal ortamda genellikle kış aylarında yumurtlar. Dişiler 3-5 mm çapında, 4-7 hafta kuluçka devresinden sonra açılan 1500-2000 (adet/kg balık) yumurta üretirler. Yumurtalar doğal ortamda 0.3 °C ile 12.8 °C arasında gelişebilirler. Kültür ortamında ise ideal üreme sıcaklıkları 7-13 °C arasındadır. Büyüme için optimum sıcaklıklar 12-20 °C arasında (Laird ve Needham, 1988) olmasına rağmen, sıcaklıklar tedrici olarak artırılırsa 22-23 °C civarına kadar yetiştirilebilir (Çelikkale 1988).

Nispeten yüksek su sıcaklıklarına ve düşük oksijen düzeylerine toleranslarından dolayı ve hızlı büyüme oranı nedeniyle, sofralık tatlı su balığı yetiştiriciliğinde gökkuşağı alabalığı en çok tercih edilen türdür (Laird ve Needham, 1988).

### 3.1.3. Kolşisin (Colchicine)

Kromozom preparatı hazırlamak için balıklara enjekte edilen Kolşisin (C<sub>22</sub> H<sub>25</sub> NO<sub>6</sub>), ticari bir firma aracılığıyla, 1 gramlık ambalaj içinde SIGMA CHEMICAL CO firmasından temin edilmiştir. Beyaz renkte, toz halinde ve kokusuzdur. Prospektüsünde; %95 safılıkta (HPLC), %5 Etil asetat ve %0.4 Aseton içerdiği bildirilmiştir. Kromozom preparasyonunun ilk aşamalarından biri, kullanılan doku ve yöntemine göre kolşisin uygulamasıdır. Kolşisin uygulama, mitotik veya mayotik kromozomların izlenebilmesi için, aynı zamanda en önemli aşamasıdır (Alpagut, 1992).

Embriyolardan kromozom preparasyonu için bir ilaç firmasından temin edilen sağlığı ve spesifikasyonu belirtilmeyen kolşisin kullanılmıştır.

### 3.2. Metot

Araştırmada, farklı zamanlarda 4 ayrı deneme kurulmuştur. Denemelere ait ısı şoku süreleri, gruplardaki yumurta sayıları, deneme süresi, deneme boyu sıcaklık ve çözünmüş oksijen ortalamaları Çizelge 2.'de yer almaktadır.

Çizelge 2 Denemelere ait ısı şoku süreleri, gruplardaki yumurta sayıları, deneme süresi, deneme boyu sıcaklık ve çözünmüş oksijen ortalamaları.

	Deneme Tarihleri			
	17.03.1997	31.03.197	19.01.1998	24.02.1998
Isı şoku süreleri (dakika)	10-15	10-15	10-15	10-15
Kontrol grubu yumurta sayıları (adet)	973	392	435	310
10 dakika süreli grubun yumurta sayıları (adet)	340	687	477	660
15 dakika süreli grubun yumurta sayıları (adet)	412	882	519	475
Deneme süresi (gün)	43	36	33	182
Deneme boyu sıcaklık ortalamaları (°C)	10.4	11.3	9.8	13.1
Deneme boyu çözünmüş oksijen ortalamaları (mg/l)	6.8	7.2	8.2	8

#### 3.2.1. Yumurta sağımı, dölleme, ısı şoku uygulaması ve yumurtaların kuluçkalanması

Olgunluk kontrolü yapılarak yumurta vermeye hazır damızlık dişi balığın yumurtası temiz bir plastik kaba sağılmış ve üzerine erkek balığın spermi sağılarak, kuru dölleme ile döllenme sağlanmıştır. Yumurtalar ve spermier iyice karıştırılıp 5 dakika beklemeye bırakılmıştır ( $T_b$ ) (Şekil 4). Yumurtaların üzerine yavaşıca su ilave edilmiş ve su ilavesinin yapıldığı zaman ( $T_0$ ) not edilmiştir. Bu zaman "Sıfır zamanı" olarak adlandırılarak daha sonraki işlemlerin planlanması için başlangıç zamanı olarak kullanılmıştır. İçinde dölennmiş yumurtaların bulunduğu kaplar ısı şoku uygulanacak ortama taşınmışlardır. Bu ortamın tüm sistemlerinin çalışır olması, geçici de olsa herhangi problemin ortaya çıkmaması sağlanmıştır. Bütün kaplar (yumurta kapları) belirgin, görülebilir şekilde rakamla ve harfle işaretlenmiştir. Böylelikle ısı uygulanmasının atlanmadan yapılması ve ısı uygulanan kapların listede kontrolü

sağlanmıştır. Her bir kap için aşağıdaki bilgilerin kaydedildiği birer kart hazırlanmıştır (Ingram, 1988).

1. Grup ve kap numarası
2. Döllenme zamanı,  $T_D$
3. Döllenmiş yumurtalara su ilave edildiği zaman,  $T_0$
4. Isı uygulamasının başlangıç zamanı,  $T_1$
5. Isı uygulamasının bitiş zamanı,  $T_2$

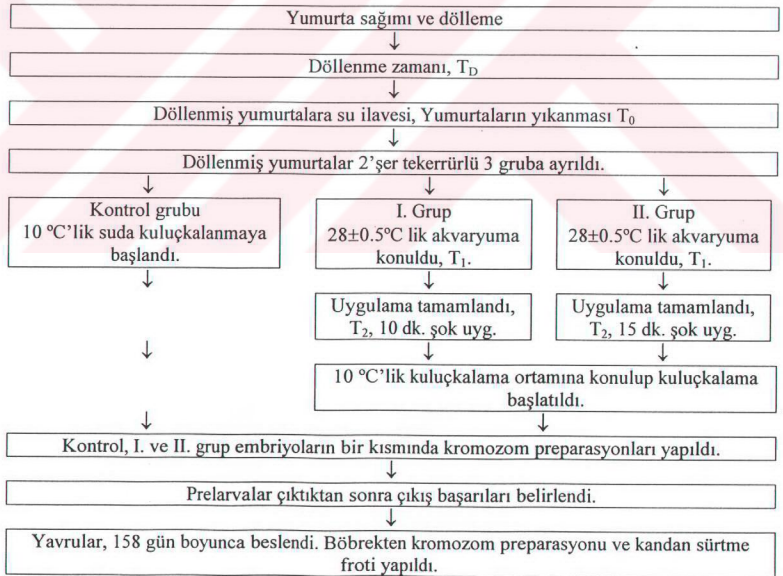


Şekil 4. Deneme balıklarında sağım ve döleme

Su ilave edildikten ( $T_0$ ) yaklaşık 10 dakika sonra yumurtalar kuluçkalıklara verilen suyla aynı sıcaklıkta olan ( $10\text{ }^\circ\text{C}$  civarında) suyla yıkanmıştır. Yumurtalar ısıtılmış akvaryuma daldırılmadan önce, üzerlerinde önceden kalmış su damlacıklarının iyice süzülmesi sağlanmıştır.  $T_0$  ve  $T_1$  arasında geçen süre 15 dakika olarak uygulanmıştır (Ingram, 1988; Liu ve Quillet, 1989;). Isı şoku uygulaması  $28\pm 0.5\text{ }^\circ\text{C}$  de yapılmıştır (Ingram, 1988; Liu ve Quillet, 1989; Quillet ve ark. 1991; Lincoln ve Bye, 1984; Lincoln ve Scott, 1983). Isı şokunun uygulanacağı akvaryum termostatlı ısıtıcılarla kontrol edilmiş ve sıcaklık  $28\pm 0.5\text{ }^\circ\text{C}$  de sabit tutulmuştur. Üzerindeki sular süzülmüş yumurtalar ısı şokunun uygulandığı akvaryuma yavaşça yerleştirilmiş ve yumurtaların tek bir sıra halinde bulunmaları sağlanmıştır. Isı uygulaması esnasında akvaryumun bütün kısımlarında sıcaklık  $0.1\text{ }^\circ\text{C}$  hassasiyetle ölçüm yapan pH metre

sıcaklık sensörüyle test edilmiştir. Sistem çalışır durumda iken sürekli olarak sıcaklık ve diğer bilgiler kaydedilmiştir.  $T_1$  zamanından itibaren 10 ve 15 dakika süreli ısı şoku uygulaması yapılmıştır (Ingram, 1988; Liu ve Quillet, 1989; Quillet ve ark. 1991; Lincoln ve Bye, 1984; Lincoln ve Scott, 1983). Uygulama zamanı dolduktan sonra yumurta kasetleri dikkatlice sudan çıkartılmıştır. Suyun sızması beklenmiş ve  $10\text{ }^{\circ}\text{C}$  sıcaklığa sahip akvaryuma konulmuştur. Bu noktadan itibaren, ısı şoku uygulanan ve kontrol grubu yumurtalar, iki tekerrürlü olarak standart teknik uygulanırlar kuluçkalanmıştır (Ingram, 1988). Denemelerde uygulanan işlemlere ait akış diyagramı Şekil 5'te verilmiştir.

Deneme gruplarında; dölleme oranları döllemeden 2 gün sonra ölü bulunan yumurtalar ayıklanıp sayılarak, kasetlere konulan yumurta sayısından çıkartılıp bu değer kasete konulan yumurta sayısına bölünerek belirlenmiştir. Çıkış oranları, çıkan prelarva sayıları kasetlere konulan yumurta sayısına bölünerek belirlenmiştir (Happe ve ark. 1988). Yumurtalarda göz lekesi oluşumu ve çıkış süreleri de kaydedilmiştir.



Şekil 5. Deneme işlemleri akış diyagramı

### 3.2.2. Embriyodan kromozom preparasyonu

Deneme yumurtalarında, göz lekesi oluşmadan önceki embriyo aşamasında Chourrout ve Happe 1986, tarafından detayları verilen metotla kromozom preparasyonu hazırlanmıştır.

Henüz göz lekesi oluşmamış 12-15 günlük döllenmiş yumurtalar 10 °C'de %0.02'lik kolşisin solusyonunda gece boyunca tutulmuş ve daha sonra embriyolar % 0.8'lik NaCl ortamında disekte edilip ayrılmıştır. Bu embriyolar oda sıcaklığında 30 dk % 0.8'lik trisodyum sitrat'a maruz bırakılmış ve 4 °C'de 2 saat süreyle etanol:asetik asit (3:1)'de fikse edilmiştir. Fiksatif periyodik olarak değiştirilmiştir. Her bir embriyodan epithelyal hücreler 50µl %50'lik asetik asit kullanılarak alınmıştır. Bu süspansiyonun 50µl'si 50 °C'de önceden ısıtılmış 50 °C'de bir lam üzerine bitişik üç hücre halkası oluşacak şekilde damlatılmış ve hemen pipetlenmiştir (Kligerman ve Bloom, 1977). Lamalar kodlanıp numaralandırılmış ve bir hafta sonra kromozom preparasyonları incelenmiştir (Chourrout ve Happe, 1986).

### 3.2.3. Balıkların büyütülmesi, kan alımı ve kandan sürme froti preparasyonu

Balıklar, yumurtalar açıldıktan sonra 23 hafta büyütülmüştür. Balıklar postlarva ve yavru döneminde %50 ham proteinli granüle ticari alabalık yemiyle; fingerling döneminde I nolu %45 ham proteinli pelet yemle beslenmiş, yemleme doyuncaya kadar (ad-libitum) yapılmıştır. Tanklara verilen su havalandırılmış, düzenli olarak temizlik ve kontroller yapılmıştır.

Isı şoku uygulanan gruplarda ve kontrol grubunda işlemin başarısını belirlemek için balıklardan, kuyruk kesilerek EDTA'lı tüpler içine kan alınmış, buzdolabında muhafaza edilmiştir. Eritrosit hücre büyüklüklerini tesbit etmek amacıyla sürme froti hazırlamada kullanılmıştır (Beck ve Biggers, 1983).

EDTA'lı tüpte tutulan kandan bir damla lam üzerine damlatılmış; lamel, lamla 45° açı yapacak şekilde froti çekilmiş ve kanın kuruması beklenmiştir. Kuruyan froti üzerine 5 ml metanol yayılmış, 7 dakika beklenmiş ve dökülerek, havada kurutulmuştur. 5 ml saf suya 5 damla giemsa damlatılarak, karıştırılmış ve froti üzerine giemsa boya yayılmış ve 30 dakika boyanmıştır. Boyama süresi dolunca, boya dökülmüş, preparat saf suyla yıkanmıştır. Preparatın arka yüzündeki boya kalıntısı alkolli pamukla silinmiş

ve preparatın kuruması beklenmiştir. İncelemede, Nikon mikroskopta, oküler mikrometre ile her bir preparat için 100 eritrositin eni ve boyu ölçülmüştür. Eritrositin en ve boyu toplanarak ikiye bölünmüş ve objektif mikrometreyle belirlenen katsayıyla çarpılarak büyüklükleri belirlenmiştir. Fotoğraflaması Olympus araştırma mikroskobunda 200 büyütmeyle yapılmıştır (Yaman, 1993).

#### 3.2.4. Kolşisin (Colchicine) uygulaması

Balıklar, stresi ve yaralanmayı önlemek, enjeksiyonu kolaylaştırmak amacıyla, kolşisin enjeksiyonundan önce 0.05 ml/l Kinaldin banyosunda anestezi edilmiştir (Stickney, 1989). % 0.5'lik kolşisin solusyonu, % 0.8 NaCl ortamında hazırlanmış, buzdolabında muhafaza edilmiştir. Uygulama, oda sıcaklığında yapılmıştır. Enjeksiyon; 2ml'lik enjektör kullanılarak, 3 ml/kg balık dozunda dorsal kas (intramusküler) ve karın içine (intrapertonal) yaklaşık 3mm girilerek yapılmıştır. Kolşisin enjekte edildikten sonra 4 saat boyunca balıklar 15 °C'de tatlı suda tutulmuştur (Chourrout ve Happe, 1986).

#### 3.2.5. Böbrekten kromozom preparasyonu

Isı şoku işleminin başarısı ayrıca; Chourrout ve Happe 1986; Thorgaard ve Disney 1990; Ulupınar ve Okumuş, 1997b tarafından açıklanan metotlarla hazırlanan kromozom preparatlarından yararlanarak belirlenmiştir.

Kolşisin uygulamasından 4 saat sonra balıklar kesilmiştir. Ön böbrek (yaklaşık 100g'lık bir balığın, böbrek uzunluğunun dörtte biri) 2 ml hipotonik ortam içine (%0.8 trisodyum sitrat) alındı ve süratle, kırılmış bir pastör pipetiyle tekrar tekrar pipetlenerek, 2ml'lik plastik bir enjektörden birkaç defa geçirilerek ayrıştırılması sağlanmıştır. 5 ml'lik tüp ağzına kadar dolduruldu, kapatıldı ve 20 °C'de, sürekli periyodik olarak çalkalandı. 67 devir/dakika'da 7 dakika santrifüjlenmiştir. Bu aşamaya kadar geçen süre toplam 20 dakikayı geçmemiştir. Sonra süpernatant uzaklaştırıldı. 4 °C'de taze olarak hazırlanan etanol:asetik asit (3:1) ile ortam değiştirildi, ilk fiksasyon 30 dakika sürdü. Son işlem iki kere tekrarlandı ve tüplerde 2ml fikasif bırakılarak gece boyunca 4 °C'de muhafaza edildi. Lam operasyonundan önce, hücreleri tekrar süspanse etmek için 4 °C'de 10 dakika tutularak fiksatif 3 kez değiştirildi. Lamlar 20 dakika deterjan içinde kaynatılıp, musluk suyu ile tamamen durulandı, % 95'lik etanole 2 kez daldırıldı, silinerek kurutuldu, deiyonize suya daldırıldı ve buzdolabının buzuğuna konuldu. İnce

bir tabaka deiyonize su ile kaplanmış lam üzerine üç damla hücre süspansiyonu 15 cm yükseklikten lam üzerine 45°'lik açı ile damlatıldı, havada kurutuldu ve 30 dakika boyunca Sorenson fosfat tampon solusyonunda (pH=6.8) hazırlanmış %5'lik Giemsa ile boyandı. Saf suyla yıkandı, preparatın arka kısmında kalan boya kalıntısı % 95'lik alkolle silinerek temizlendi. Preparatlar kuruduktan sonra entellanla kapatılarak kalıcı hale getirildi (Chourrout ve Happe 1986; Ulupınar ve Okumuş 1997b). Hazırlanan kromozom preparatları Nikon ve Olimpus araştırma mikroskoplarında 1000 büyütmeyle incelendi. Preparatların fotoğrafları ise 500 büyütmeyle, 50 ASA İlfort siyah-beyaz fotoğraf filmi kullanılarak çekildi. Kromozom sayıları, fotoğraf baskısından sonra kromozomlar sayılarak belirlenmiştir.

### **3.2.6. Deneme bulgularının istatistiksel olarak değerlendirilmesi**

Deneme gruplarında belirlenen eritrosit büyüklükleri için, Kolmogorov-Smirnov normallik testi yapılmıştır (Sokal ve Rolf, 1980). Tek yönlü varyans analizi (ANOVA) Minitab paket programı kullanılarak (Ryan ve ark., 1985); Grupların karşılaştırması ise SAS paket programı kullanılarak "Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi" ile yapılmıştır (SAS, 1985). Deneme gruplarında fingerlinglerin boy ve ağırlık değerleri arasındaki farklılık "t" testiyle Minitab kullanılarak test edilmiştir.



## **4. BULGULAR**

### **4.1. Deneme Gruplarında Belirlenen Döllenme Oranları**

Farklı zamanlarda kurulan denemelerde döllenme oranları şöyle belirlenmiştir.

I. 17.03.1997 tarihinde; kontrol, 10 ve 15 dakika ısı şoku uygulanan deneme gruplarına göre sırasıyla; %99.1, 93.9 ve 94.1 ;

II. 31.03.1997 tarihinde; kontrol, 10 ve 15 dakika ısı şoku uygulanan deneme gruplarına göre sırasıyla; %99.7, 100 ve 97.6 ;

III. 19.01.1998 tarihinde; kontrol, 10 ve 15 dakika ısı şoku uygulanan deneme gruplarının her üçünde de %100 ;

IV. 24.02.1998 tarihinde; kontrol, 10 ve 15 dakika ısı şoku uygulanan deneme gruplarının her üçünde de %100 ;

Yapılan ısı şoku uygulamalarının döllenme üzerinde olumsuz bir etkisinin olmadığı görülmektedir.

### **4.2. Deneme Gruplarında Belirlenen Çıkış Oranları**

Kontrol ve ısı şok uygulanan gruplardaki yumurtalar döllenmeden ortalama  $24 \pm 1$  gün sonra açılmıştır. Deneme gruplarında açılma süreleri birbirine çok yakındır. Kontrol ve şok uygulanan yumurtalardan çıkan prelarvalarda büyüklük farkı önemsiz bulunmuştur ( $p > 0.05$ ). IV. denemede yumurtadan çıkan prelarva örnekleri Şekil 6'da görülmektedir.

17.03.1997 tarihinde yapılan denemede, kuluçkalamada kullanılan sudan kaynaklanan klor probleminden dolayı kontrol, 10 ve 15 dakika ısı şoku uygulanan deneme grupları açılmadan toplu halde öldükleri için çıkış oranları belirlenememiştir.

31.03.1997 tarihli denemede; kontrol, 10 ve 15 dakika ısı şoku uygulanan deneme gruplarına göre çıkış oranları sırasıyla; %5.9, 4.5 ve 1.7 olarak belirlenmiştir.

19.01.1998 tarihinde; kontrol, 10 ve 15 dakika ısı şoku uygulanan deneme gruplarına göre çıkış oranları sırasıyla; %98.9, 93.9 ve 91.7 olarak belirlenmiştir.

24.02.1998 tarihinde; kontrol, 10 ve 15 dakika ısı şoku uygulanan deneme gruplarına göre çıkış oranları sırasıyla; %21.6, 17.0 ve 4.0 olarak belirlenmiştir.

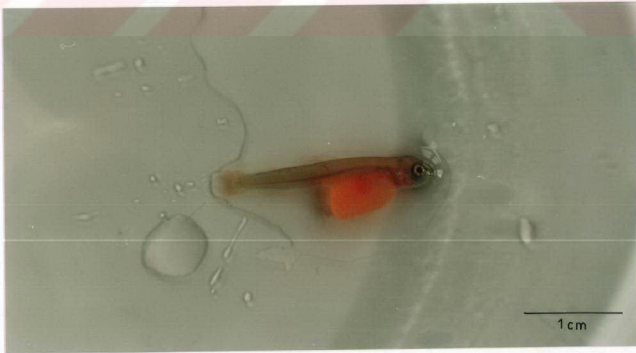
II. ve IV. denemede tüm gruplarda çıkış oranlarının düşük; gruplarda elde edilen çıkış oranlarının da bir birinden önemli düzeyde farklı olduğu görülmektedir. III. denemede ise çıkış oranları yüksek ve gruplar arası fark önemsiz bulunmuştur ( $p > 0.05$ ).



a



b



c

Şekil 6. IV. deneme gruplarında yumurtadan çıkan prelarva örnekleri; a) Kontrol grubu, b) 10 dakika grubu, c) 15 dakika grubu

### 4.3. Deneme Gruplarında Gözlenen Morfolojik Farklılıklar

Birinci deneme, yumurtalarda açılma olmadan; ikinci deneme ise açılmadan 7 gün sonra larvaların ölmesiyle sona erdirildiğinde yavrularda morfolojik gözlemler yapılamamıştır.

Üçüncü ve dördüncü denemelerde kontrol, 10 ve 15 dakikalık ısı şoku uygulanan deneme gruplarında yapılan morfolojik gözlemler (gruplardaki bireylerde renk, şekil, vücut oranları, yüzgeçler, baş bölgesi) sonucunda herhangi bir farklılığa rastlanmamıştır.

### 4.4 Embriyo Kromozom Preparasyonları ve Kromozom Sayılarının

#### Belirlenmesi

Kontrol ve diğer gruplardan alınan embriyolardan hazırlanan kromozom preparasyonu incelenmiş ancak her hangi bir kromozom dağılımı ve metafaz plağı elde edilememiştir. Bu nedenle embriyonik dönemde kromozom sayıları ve ploidy durumu belirlenememiştir.

### 4.5 Deneme Gruplarında Beslenme Döneminde Görülen Morfolojik

#### Farklılıklar, Boy ve Ağırlık Ortalamaları

Deneme gruplarında, beslenme döneminde morfolojik gözlemler son denemede (IV.) yapılmış ve her hangi bir fark görülmemiştir. Dördüncü denemede, kan ve böbrekten preparat hazırlanan, kontrol ve ısı şoku uygulanan gruplardaki bazı balıklarda gonad gelişiminin olduğu görülmüştür.

Çatal boy ve ağırlık değerleri kontrol ve 10 dakika ısı şoku uygulanan gruplarda, yumurtalar açıldıktan 4 ay sonra belirlenmiş, ortalama değerler çatal boy için;  $8.69 \pm 0.28$  cm,  $9.28 \pm 0.55$  cm, ağırlık için;  $7.79 \pm 0.88$  g;  $7.56 \pm 0.72$  g olarak bulunmuştur. 15 dakika ısı şoku uygulanan grup beyaz benek hastalığına bağlı olarak tamamen öldüğü için boy ve ağırlık değerleri alınamamıştır. Kontrol ve 10 dakika ısı şoku uygulanan grubun boy ve ağırlık değerleri arasındaki fark "t" testiyle incelenmiş, farklılık önemsiz bulunmuştur ( $p > 0.05$ ).

### 4.6. Deneme Gruplarında Böbrekten Yapılan Kromozom Preparasyonları ve Belirlenen Kromozom Sayıları

Böbrek kromozom preparasyonunda ve eritrosit incelemesinde kullanılan 10 dakikalık gruptan balık örnekleri Şekil 7'da görülmektedir. Şekil 7.c de görülen ferдин kromozom fotoğrafı da çekilmiş, triploid (3n) olduğu görülmüştür.

Böbrekten kromozom preparasyonu hazırlamak amacıyla kontrol grubundan 5; 10 dakika ısı şoku uygulanan gruptan 29 balık kullanıldı. Balıklar, 0.05 ml/l kinaldin kullanılarak hazırlanan anestezik banyosunda bayıltılıp, kolşisin enjeksiyonu yapıldı. Enjeksiyondan hemen sonra balıklarda ölümler olduğundan kontrol grubunda 1 balıkta ve 10 dakika ısı şoku uygulanan grupta ancak 13 balıktan kromozom preparasyonu yapılabildi. Kontrol grubundan hazırlanan preparasyonlardan sayılabilir metafaz plakları sayılarak belirlenen kromozom sayısı  $2n=60$  olarak bulunmuştur (Şekil 8). 10 dakikalık ısı şoku uygulanan grupta ise yalnız bir balıktan hazırlanan preparasyonda sayılabilir metafaz dağılımı görülmüş ve metafaz plakları sayılarak, kromozom sayısı  $3n=90$  olarak belirlenmiştir (Şekil 9).



a

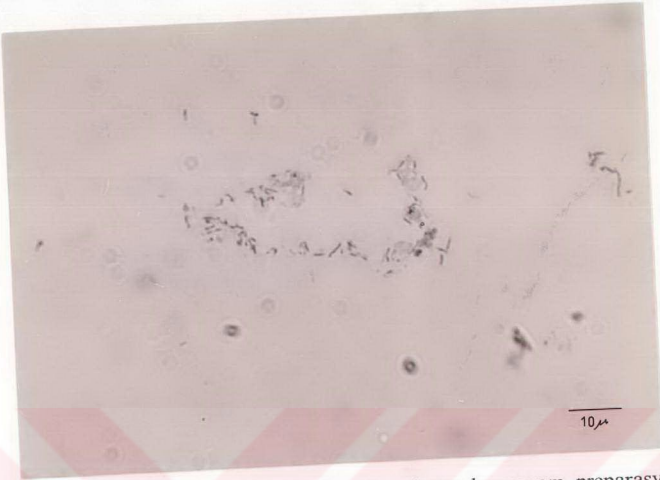


b



c

Şekil 7. 10 dakika ısı şoku uygulanan gruptan, böbrek kromozom preparasyonunda ve eritrosit incelemesinde kullanılan balık örnekleri; a, b, c (kromozom fotoğrafı çekilen fert,  $3n$ (triploid)).



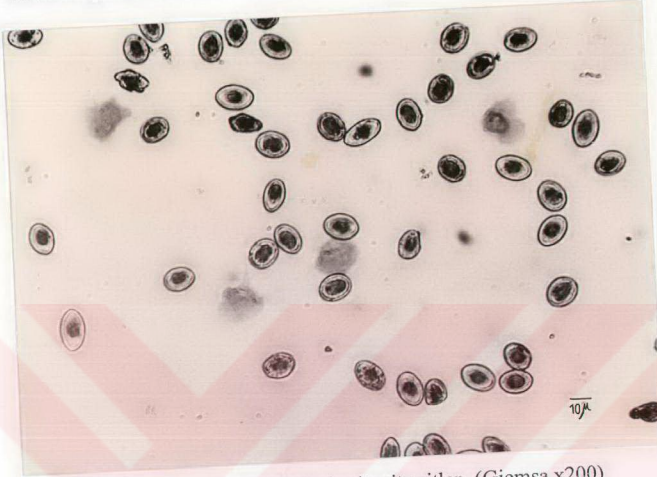
Şekil 8. Kontrol grubunda böbrekten hazırlanan kromozom preparasyonu, (Giemsa x500),  $2n=60$  olarak belirlenmiştir.



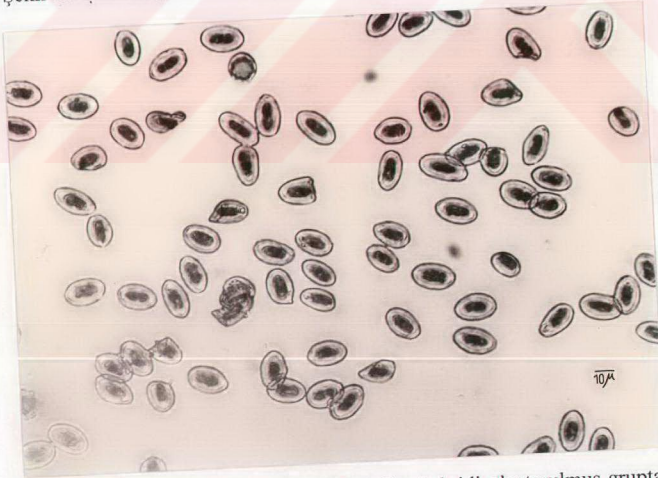
Şekil 9. 28 °C de 10 dakika ısı şokuna maruz bırakılmış gruptan bir fertte böbrekten hazırlanan kromozom preparasyonu, (Giemsa x500),  $3n=90$  olarak belirlenmiştir.

#### 4.7. Deneme Gruplarında Eritrosit Büyüklükleri

Kontrol ve deneme gruplarından birer ferde ait eritrosit preparasyonları Şekil 10 ve 11'de görülmektedir.



Şekil 10. Kontrol grubunda bir ferde ait eritrositler, (Giemsa x200)



Şekil 11. Isı şoku uygulanan (10 dakikalık) triploidi oluşturulmuş gruptan bir ferde ait eritrositler, (Giemsa x200)

On dakika ısı şoku uygulanan gruptan 25, kontrol grubundan 5 fertte yapılan eritrosit büyüklüğü ölçümlerinin sonuçları Çizelge 3’de verilmiştir.

Çizelge 3. Isı şoku uygulanan (TRP) ve kontrol (KONT) gruplarında, ölçülen eritrosit sayısı, ortalamalar, minimum-maksimum değerler ile %95’lik güven sınırları.

Deneme grupları	Ölçülen eritrosit sayısı (n)	Ortalama eritrosit büyüklüğü $\pm$ Standart hata ( $\mu$ )	Minimum ve Maksimum değerler ( $\mu$ )	% 95 Güven sınırları ( $\mu$ )
TRP1	100	14.53 $\pm$ 0.16	10.00-17.50	14.21-14.85
TRP2	100	13.28 $\pm$ 0.11	11.25-17.50	13.06-13.50
TRP3	100	13.48 $\pm$ 0.15	8.75-17.50	13.17-13.78
TRP4	100	12.70 $\pm$ 0.13	9.60-15.60	12.44-12.95
TRP5	100	13.31 $\pm$ 0.16	9.60-18.00	12.99-13.63
TRP6	100	12.65 $\pm$ 0.14	9.60-15.60	12.37-12.93
TRP7	100	12.84 $\pm$ 0.13	9.60-15.60	12.58-13.10
TRP8	100	13.34 $\pm$ 0.13	10.80-16.80	13.08-13.61
TRP9	100	12.37 $\pm$ 0.11	9.60-14.40	12.16-12.59
TRP10	100	13.25 $\pm$ 0.16	8.40-16.80	12.92-13.57
TRP11	100	13.45 $\pm$ 0.12	9.60-15.60	13.22-13.68
TRP12	100	14.83 $\pm$ 0.09	12.00-16.80	14.65-15.01
TRP13	100	13.28 $\pm$ 0.11	10.80-15.60	13.01-13.50
TRP14	100	14.20 $\pm$ 0.08	12.00-15.60	14.05-14.34
TRP15	100	12.65 $\pm$ 0.11	9.60-14.40	12.44-12.86
TRP16	100	12.91 $\pm$ 0.09	10.80-14.40	12.73-13.09
TRP17	100	14.30 $\pm$ 0.09	12.00-15.60	14.12-14.49
TRP18	100	14.59 $\pm$ 0.07	13.20-15.60	14.45-14.74
TRP19	100	12.37 $\pm$ 0.11	8.40-14.40	12.16-12.59
TRP20	100	12.74 $\pm$ 0.10	10.80-14.40	12.55-12.93
TRP21	100	13.75 $\pm$ 0.13	10.80-15.60	13.50-14.01
TRP22	100	13.26 $\pm$ 0.08	10.80-15.60	13.09-13.43
TRP23	100	13.00 $\pm$ 0.09	10.80-15.60	12.81-13.18
TRP24	100	12.96 $\pm$ 0.11	8.40-15.60	12.74-13.19
TRP25	100	13.43 $\pm$ 0.11	10.80-15.60	13.20-13.65
KONT1	100	10.81 $\pm$ 0.10	8.40-12.00	10.62-11.00
KONT2	100	11.33 $\pm$ 0.11	8.40-13.20	11.11-11.54
KONT3	100	11.38 $\pm$ 0.13	8.40-14.40	11.12-11.63
KONT4	100	10.88 $\pm$ 0.12	8.40-13.20	10.64-11.12
KONT5	100	11.44 $\pm$ 0.11	7.50-12.50	11.23-11.65

Deneme gruplarında belirlenen eritrosit büyüklüklerine ait tek yönlü varyans analizi (ANOVA) sonuçları Çizelge 4’te verilmiştir. Gruplar arasındaki farklılığın çok önemli ( $p<0.0001$ ) olduğu görülmektedir.



Çizelge 4. Deneme gruplarında belirlenen eritrosit büyüklüklerine ait tek yönlü varyans analizi (ANOVA) sonuçları

Varyasyon kaynakları	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F değeri	P değeri
Muameleler arası	29	3138.44	108.22	79.15	0.000
Muameleler içi (hata)	2970	4060.80	1.37		
Genel	2999	7199.25			

F hesap (79.15) > F cetvel (2.13) p=0.001

Isı şoku uygulanan (TRP) ve kontrol (KONT) gruplarında, ölçülen eritrosit sayısı, ortalamalar ve ortak varyansa göre %95'lik güven sınırları Çizelge 5'te verilmiştir.

Çizelge 5. Isı şoku uygulanan (TRP) ve kontrol (KONT) gruplarında, ölçülen eritrosit sayısı, ortalamalar ve %95'lik güven sınırları

Gruplar	Ölçülen eritrosit sayısı (n)	Ortalama eritrosit büyüklüğü ± Standard hata (μ)	Ortalamaların % 95 lik güven sınırları (Ortak varyansa göre)
TRP1	100	14.53±0.16	(*)
TRP2	100	13.28±0.11	(*)
TRP3	100	13.48±0.15	(*)
TRP4	100	12.70±0.13	(*)
TRP5	100	13.31±0.16	(*)
TRP6	100	12.65±0.14	(*)
TRP7	100	12.84±0.13	(*)
TRP8	100	13.34±0.13	(*)
TRP9	100	12.37±0.11	(*)
TRP10	100	13.25±0.16	(*)
TRP11	100	13.45±0.12	(*)
TRP12	100	14.83±0.09	(*)
TRP13	100	13.28±0.11	(*)
TRP14	100	14.20±0.08	(*)
TRP15	100	12.65±0.11	(*)
TRP16	100	12.91±0.09	(*)
TRP17	100	14.30±0.09	(*)
TRP18	100	14.59±0.07	(*)
TRP19	100	12.37±0.11	(*)
TRP20	100	12.74±0.10	(*)
TRP21	100	13.75±0.13	(*)
TRP22	100	13.26±0.08	(*)
TRP23	100	13.00±0.09	(*)
TRP24	100	12.96±0.11	(*)
TRP25	100	13.43±0.11	(*)
KONT1	100	10.81±0.10	(*)
KONT2	100	11.33±0.11	(*)
KONT3	100	11.38±0.13	(*)
KONT4	100	10.88±0.12	(*)
KONT5	100	11.44±0.11	(*)

12.0 13.5 15.0 (μ)

Deneme gruplarında ortalama eritrosit büyüklükleri için yapılan “Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi” sonuçları (Duncan gruplandırmaları) Çizelge 6’da verilmiştir. Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçlarına göre üzerinde durulan 25 ısı şoku uygulanmış ferdin 20 sinin triploid (%80) ve 5’inin tetraploid (%20) fertler olduğu sonucuna varılmıştır.

Çizelge 6. Deneme gruplarında ortalama eritrosit büyüklükleri için yapılan “Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi” sonuçları (Duncan gruplandırmaları)

Deneme grupları	Ölçülen eritrosit sayısı (n)	Ortalamalar	Duncan Gruplamaları		Ploidy Grubu	
TRP12	100	14.832	A		Tetraploidler	
TRP18	100	14.592	A	B		
TRP1	100	14.527	B			
TRP17	100	14.304	C	B		
TRP14	100	14.196	C			
TRP21	100	13.752	D		Triploidler	
TRP3	100	13.475	D	E		
TRP11	100	13.452	E			
TRP25	100	13.428	E			
TRP8	100	13.344	E			
TRP5	100	13.308	E			
TRP13	100	13.284	F	E		
TRP2	100	13.275	F	E		
TRP22	100	13.260	F	E		
TRP10	100	13.248	F	E		G
TRP23	100	12.996	F	H		G
TRP24	100	12.960	I	H		G
TRP16	100	12.912	I	H		J
TRP7	100	12.840	I	H		J
TRP20	100	12.744	I	H		J
TRP4	100	12.696	I	J		
TRP15	100	12.648	K	J		
TRP6	100	12.648	K	J		
TRP19	100	12.372	K			
TRP9	100	12.372	K			
KONT30	100	11.437			L	
KONT28	100	11.376			L	
KONT27	100	11.328			L	
KONT29	100	10.884			M	
KONT26	100	10.812			M	

Aynı harfi taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemsizdir ( $p>0.05$ )

Triploid fertlerin ortalama eritrosit büyüklüğü (uzun eksen (boy)+kısa eksen (en)/2) diploid (kontrol grubu) fertlerinkine göre 1.1686 kat (%16.86) daha büyüktür. Tetraploid oldukları kabul edilen fertlerde eritrosit büyüklükleri diploidlerden 1.2975kat (%29.75); triploidlerden ise 1.1103 kat (%11.03) büyük olduğu belirlenmiştir. Yapılan “t” testinde tetraploidlerin triploidler ve diploidlerden çok önemli ( $p<0.0001$ ); triploidlerin diploidlerden aynı şekilde çok önemli düzeyde ( $p<0.0001$ ) daha büyük oldukları belirlenmiştir.

Deneme gruplarında eritrositlerin uzun eksenleri (a), kısa eksenleri (b) ve bu eksenler kullanılarak  $(4/3) \times \pi \times a \times b^2$  eşitliği ile bulunan hacim değerlerine ait varyans analizleri, ortalamalar ve şematik güven sınırları Çizelge 7 de verilmiştir. Kısa eksen ve hacim değerlerinin dağılımı eritrosit büyüklüğü dağılımı ile benzer bir Çizelge oluşturmaktadır.

Çizelge 7. Isı şoku uygulanan (TRP) ve kontrol (KONT) gruplarında, ölçülen eritrosit sayısı, hesaplanan eritrosit hacim ortalamaları ve %95'lik güven sınırları

Gruplar	Ölçülen eritrosit sayısı (n)	Ortalama eritrosit hacmi $\pm$ Standart hata ( $\mu^3$ )	Ortalamaların % 95 lik güven sınırları (Ortak varyansa göre)	
			-----+-----+-----+-----+	
TRP1HAC	100	10808 $\pm$ 3838		(*-)
TRP2HAC	100	7605 $\pm$ 2516	(*-)	
TRP3HAC	100	8260 $\pm$ 3340	(*-)	
TRP4HAC	100	6436 $\pm$ 2053	(*-)	
TRP5HAC	100	7981 $\pm$ 4079	(*-)	
TRP6HAC	100	6476 $\pm$ 1980	(*-)	
TRP7HAC	100	7056 $\pm$ 2105	(*-)	
TRP8HAC	100	7491 $\pm$ 2894	(*-)	
TRP9HAC	100	5838 $\pm$ 1312	(*-)	
TRP10HAC	100	7685 $\pm$ 2915	(*-)	
TRP11HAC	100	8105 $\pm$ 2052	(*-)	
TRP12HAC	100	10490 $\pm$ 1415		(*-)
TRP13HAC	100	6606 $\pm$ 855	(*-)	
TRP14HAC	100	9731 $\pm$ 1284		(*-)
TRP15HAC	100	6110 $\pm$ 836	(*-)	
TRP16HAC	100	6345 $\pm$ 946	(*-)	
TRP17HAC	100	9934 $\pm$ 1349		(*-)
TRP18HAC	100	10365 $\pm$ 890		(*-)
TRP19HAC	100	6062 $\pm$ 1440	(*-)	
TRP20HAC	100	6504 $\pm$ 1511	(*-)	
TRP21HAC	100	8212 $\pm$ 2209	(*-)	
TRP22HAC	100	7044 $\pm$ 1604	(*-)	
TRP23HAC	100	6552 $\pm$ 1436	(*-)	
TRP24HAC	100	6790 $\pm$ 1743	(*-)	
TRP25HAC	100	7677 $\pm$ 2134	(*-)	
KONT1HAC	100	4616 $\pm$ 1232	(*-)	
KONT2HAC	100	4975 $\pm$ 1586	(*-)	
KONT3HAC	100	5050 $\pm$ 1728	(*-)	
KONT4HAC	100	4030 $\pm$ 1337	(*-)	
KONT5HAC	100	5356 $\pm$ 1160	(*-)	

-----+-----+-----+-----+

5000      7500      10000      12500 ( $\mu^3$ )

Duncan testine göre tetraploid olarak kabul edilen fertlerde ortalama eritrosit hacmi  $10265.5 \pm 193.7 \mu^3$ ; triploidlerde  $7041.8 \pm 173.5 \mu^3$  ve diploidlerde  $4805.4 \pm 226.8 \mu^3$  olarak belirlenmiştir. Çeşitli ploidy seviyelerine ait hacim değerlerinin bir birlerine oranları ise; Tetraploid/Triploid için 1.45779, Triploid/Diploid için 1.46539 ve Tetraploid/Diploid için 2.1362 olarak hesaplanmıştır.



Isı şoku uygulanan (TRP) ve kontrol (KONT) gruplarında, ölçülen eritrosit sayısı, küçük eksen (en) ortalamaları ve %95'lik güven sınırları (ortak varyansa göre) Çizelge 8'de görülmektedir.

Çizelge 8. Isı şoku uygulanan (TRP) ve kontrol (KONT) gruplarında, ölçülen eritrosit sayısı, küçük eksen (en) ortalamaları ve %95'lik güven sınırları

Gruplar	Ölçülen eritrosit sayısı (n)	Eritrosit küçük eksen (en) ortalama $\pm$ Standart hata ( $\mu$ )	Ortalamaların % 95 lik güven sınırları (Ortak varyansa göre)	
TRP1EN	100	12.125 $\pm$ 2.143		(-*)
TRP2EN	100	10.550 $\pm$ 1.403		(-*)
TRP3EN	100	10.875 $\pm$ 1.754		(-*)
TRP4EN	100	9.816 $\pm$ 1.369		(-*)
TRP5EN	100	10.608 $\pm$ 2.215		(-*)
TRP6EN	100	9.912 $\pm$ 1.165		(-*)
TRP7EN	100	10.368 $\pm$ 1.316		(-*)
TRP8EN	100	10.272 $\pm$ 1.639		(-*)
TRP9EN	100	9.504 $\pm$ 0.830	(-*)	
TRP10EN	100	10.512 $\pm$ 1.555		(-*)
TRP11EN	100	10.920 $\pm$ 1.248		(-*)
TRP12EN	100	11.832 $\pm$ 0.615		(-*)
TRP13EN	100	9.672 $\pm$ 0.411	(-*)	
TRP14EN	100	11.832 $\pm$ 0.615		(-*)
TRP15EN	100	9.672 $\pm$ 0.411	(-*)	
TRP16EN	100	9.672 $\pm$ 0.411	(-*)	
TRP17EN	100	11.880 $\pm$ 0.526		(-*)
TRP18EN	100	12.000 $\pm$ 0.000		(-*)
TRP19EN	100	9.768 $\pm$ 0.980	(-*)	
TRP20EN	100	9.936 $\pm$ 0.837	(-*)	
TRP21EN	100	10.728 $\pm$ 1.204		(-*)
TRP22EN	100	10.056 $\pm$ 0.946	(-*)	
TRP23EN	100	9.792 $\pm$ 0.945	(-*)	
TRP24EN	100	10.032 $\pm$ 1.045	(-*)	
TRP25EN	100	10.464 $\pm$ 1.158		(-*)
KONT1EN	100	9.408 $\pm$ 1.166	(-*)	
KONT2EN	100	9.312 $\pm$ 1.289	(-*)	
KONT3EN	100	9.408 $\pm$ 1.513	(-*)	
KONT4EN	100	8.376 $\pm$ 1.206	(-*)	
KONT5EN	100	9.850 $\pm$ 0.857	(-*)	

8.4 9.6 10.8 12.0 ( $\mu$ )

Isı şoku uygulanan (TRP) ve kontrol (KONT) gruplarında, ölçülen eritrosit sayısı, büyük eksen (boy) ortalamaları ve %95'lik güven sınırları (ortak varyansa göre) Çizelge 9'da görülmektedir.

Çizelge 9. Isı şoku uygulanan (TRP) ve kontrol (KONT) gruplarında, ölçülen eritrosit sayısı, büyük eksen (boy) ortalamaları ve %95'lik güven sınırları

Gruplar	Ölçülen eritrosit sayısı (n)	Eritrosit büyük eksen (boy) ortalama ± Standart hata ( $\mu$ )	Ortalamaların % 95 lik güven sınırları (Ortak varyansa göre)			
			-----+-----+-----+-----			
TRP1BOY	100	16.900±1.884		(*-)		
TRP2BOY	100	16.000±1.628		(*-)		
TRP3BOY	100	16.075±2.049		(*-)		
TRP4BOY	100	15.480±2.057		(*-)		
TRP5BOY	100	16.032±1.865		(*-)		
TRP6BOY	100	15.384±2.291		(*-)		
TRP7BOY	100	15.312±1.983		(*-)		
TRP8BOY	100	16.416±1.730		(*-)		
TRP9BOY	100	15.240±1.817		(*-)		
TRP10BOY	100	15.960±2.247		(*-)		
TRP11BOY	100	15.984±1.812		(*-)		
TRP12BOY	100	17.832±1.645		(*-)		
TRP13BOY	100	16.896±2.261		(*-)		
TRP14BOY	100	16.512±1.243		(*-)		
TRP15BOY	100	15.624±2.197		(*-)		
TRP16BOY	100	16.152±1.735		(*-)		
TRP17BOY	100	16.728±1.580		(*-)		
TRP18BOY	100	17.184±1.476		(*-)		
TRP19BOY	100	14.976±1.776		(*-)		
TRP20BOY	100	15.552±1.544		(*-)		
TRP21BOY	100	16.776±2.197		(*-)		
TRP22BOY	100	16.464±1.322		(*-)		
TRP23BOY	100	16.176±1.658		(*-)		
TRP24BOY	100	15.864±1.769		(*-)		
TRP25BOY	100	16.416±1.696		(*-)		
KONT1BOY	100	12.216±1.325	(*-)			
KONT2BOY	100	13.344±1.460	(*-)			
KONT3BOY	100	13.296±2.114	(*-)			
KONT4BOY	100	13.368±1.967	(*-)			
KONT5BOY	100	13.025±1.751	(*-)			
			-----+-----+-----+-----			
			12.0	14.0	16.0	18.0 ( $\mu$ )

## 5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Poliploidi oluşturulması ekstra kromozom setine sahip fertlerin üretimi anlamına gelmektedir. Bu işlem döllenmiş yumurtalara; ısı şoku, hidrostatik basınç veya kimyasal işlemler uygulanarak sağlanabilmektedir (Valenti, 1975; Lincoln ve Scott, 1983; Don ve Avtalion, 1988; Kim ve ark. 1986; Taniguchi ve ark. 1986; Wu ve ark. 1986; Goudie ve ark. 1995; Myers ve ark. 1995; Happe ve ark. 1988; Cherfas ve ark. 1990; Chourrout, 1984; Benfey ve ark. 1988; Ueda ve ark. 1988; Thorgaard, 1986).

Eğer bu işlemler döllenmeden hemen sonra uygulanırsa yumurtadaki ikinci polar cisimciğin ayrılmadan kalması nedeniyle triploidler üretilebilir. Bu işlemler ilk zigot bölünmesinden hemen önce uygulanırsa tetraploidler üretilebilmektedir (Thorgaard, 1986; Tave, 1993; Myers ve Hershberger, 1991; Guo ve ark 1996; Myers ve ark. 1995; Ueda ve ark. 1988).

Isı şoku uygulaması, çok sayıda yumurtaya uygulama yapılma zorunluluğunda özellikle avantajlı olmaktadır. Isı şoku uygulaması sonunda yüksek yaşama oranına sahip triploid gökkuşağı alabalıkları yüksek oranlarda üretilebilmektedir (Thorgaard, 1986; Tave, 1993; Diaz ve ark. 1993; Kim ve ark. 1986; Lincoln ve Bye, 1984; Linhart ve Flajshans, 1995; Liu ve Quillet, 1989)

Triploid balıklar elde etmenin temel amacı onların steril olmaları ve olgun balıkta daha iyi bir büyüme ve daha yüksek yaşama oranı beklentisidir. Steril triploidlerin performansları üzerinde bilgiler gün geçtikçe artmaktadır. Gökkuşağı alabalığı ile ilgili elde edilen sonuçlar olgun triploidlerin diploidlere göre daha iyi büyüme sağlamalarıdır. Sterilite, üremenin istenmediği kontrol edilmesi gerektiği durumlarda da avantajlara sahiptir (Thorgaard, 1986; Tave, 1993).

Triploid ot sazanları veya ot sazanı hibritleri su kaynaklarındaki aşırı bitki üremesini kontrol programlarında kullanılmaktadır (Beck ve Biggers, 1983).

Triploid fertler aynı zamanda aşırı populasyonun ve buna bağlı olarak şiddetli açlığın olduğu türler için uygundur. Triploidi oluşturmanın diğer bir amacı ise triploid hibritlerin tipik olarak diploid hibritlerden daha yüksek yaşam oranına sahip olmalarıdır (Thorgaard, 1986).

Bu çalışmada eritrosit büyüklüğü ve hacmi kriter alındığında,  $28 \pm 0.5$  °C'de 10 dk süreyle ısı şoku uygulanmış olan grupta %100'lük bir poliploidi gerçekleşmiş görülmektedir (Çizelge 5 ve 7). Deneme gruplarında elde edilen döllenme oranları

oldukça yüksektir ve kontrol grubuyla ısı şoku uygulanan gruplar arasında fark bulunmamıştır.

Çıkış oranı bakımından III. deneme sonuçlarına göre çıkış oranlarının yüksek; kontrol ve şok uygulanan grupların önemli ölçüde benzer olduğu görülmektedir.

II. ve IV. denemelerde çıkış oranlarının düşük olması ve oranlar arasındaki farklılıkların deneme ortamında kullanılan suyun kalitesi ve bu kalitenin kontrolümüz dışında sapmalar göstermesinden kaynaklandığı sanılmaktadır. Ayrıca, IV. denemede, yumurtalarının bir kısmını bırakmış damızlık bir balıktan alınan yumurtaları kullanılmıştır. Deneme zorunlu olarak üreme sezonunun sonunda yapılmıştır. Bu fertten elde edilen yumurtaların olgunluk bakımından homojen olmayışının bu farklılığa yol açtığı sanılmaktadır. 10 dakika ısı şoku uygulanan grupta incelenen ve ploidi gerçekleştiği belirlenen 25 fertten 5'inin (%20) tetraploid fertler olduğu belirlenmiştir (Çizelge 6). Bu durum muhtemelen ısı şoku uygulama zamanının biraz geciktirilmiş olmasından kaynaklanmaktadır. Uygulanan şok sıcaklığı bir çok çalışmada salmonidler için tavsiye edilen ve yüksek oranda triploidi sağladığı ifade edilen 28-29 °C aralığında ve süresi ise genelde tavsiye edilen 10 dk 'da tutulmuştur (Lincoln ve Scott 1984; Ingram, 1988; Thorgaard, 1986). Bununla birlikte şok uygulamasının mozaik ploidi oluşturduğu bilinmektedir (Tave, 1993).

Uygulanan ısı şokunun ploidi üzerindeki etkisinin belirlenmesinde hazırlanan kromozom preparatlarından, yeterli sayıda elde edilemediği için etkin olarak yararlanılamamıştır. Kontrol grubundan hazırlanan bir kromozom preparatında  $2n=60$  adet kromozom belirlenirken; ısı şoku uygulanan gruptan hazırlanan bir preparatta kromozom sayısı  $3n=90$  olarak sayılmıştır (Şekil 8 ve 9) Gökkuşluğu alabalıklarında diploid fertler için kromozom sayılarının 58 ila 62 arasında değişim gösterdiği görülmektedir (Hörstgen-Schwark, 1993; Chourrout ve Happe 1986; Ulupınar ve Okumuş 1997b; Tave, 1993; Al-Sabti, 1984). Bu çalışmada bulunan değer genellikle bildirilen aralığa düşmektedir.

Tetraploid kromozom sayısına sahip fertlerden kullanılabilir kromozom preparatı elde edilememiştir. Kromozom preparatlarının hazırlanmasında genel kabul görmüş (Chourrout ve Happe, 1986; Kligerman ve Bloom, 1977) metotlar verilen kural ve sürelerle uygun uygulandığı halde elverişli preparatların elde edilemeyişinin nedeni bilinmemektedir. Öte yandan kromozom preparasyonlarında yaygın metotlarda bile sık



sık kişisel modifikasyonlara gidildiği kaydedilmektedir (Ulupınar ve Okumuş, 1997b; Ergene ve ark. 1998a; Ergene ve ark. 1998b).

Embriyodan kromozom preparatında ise ne kontrol ne de diğer gruplarda herhangi bir sonuç alınamamıştır. Embriyodan kromozom preparasyonlarında kolşisin olarak, ilaç sanayiinde kullanılan ve saflığı tam bilinmeyen bir preparat kullanılması uygulanan metodun başarısını olumsuz yönde etkilediği sanılmaktadır.

Balıklarda eritrosit ve nükleus hacimleri ploidi seviyesinin belirlenmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Kromozom setlerinin artışı eritrosit hücresinin ve hücre çekirdeğinin de büyüklük ve hacmini teorik artırmaktadır. Teorik olarak ploidi seviyesinin diploid durumdan triploid duruma değişmesi, büyüklükte %50 artışa tekabül etmektedir (Wolters ve ark. 1982; Beck ve Biggers 1983; Valenti, 1975).

Bu çalışmada triploid olarak nitelenen 20 fertte ortalama eritrosit hacminin ( $7041.8 \pm 173.5 \mu^3$ ) diploid kontrol grubundaki 5 ferdin ortalama hacmi olan ( $4805.4 \pm 226.8 \mu^3$ ) oranı 1.46539 olarak belirlenmiştir. Bu değer triploid fertlerde hacmin diploidlere göre yaklaşık %50 arttığını göstermektedir. Deneme gruplarında yer alan ve tetraploid olduğu kabul edilen 5 ferde ait ortalama eritrosit hacmi  $10265.5 \pm 193.7 \mu^3$  dür. Bu değer triploid fertlerin değerine oranı 1.45779 ve diploidlerinkine oranı 2.1362 olarak belirlenmiştir (Çizelge 7). Çalışmada bulunan hacim değerlerinin birbirlerine oranı ploidi seviyelerinde beklenen hacim değişimleriyle uyum içindedir (Valenti, 1975; Beck ve Biggers 1983).

Kanal yayını'nda, triploid fertlerin ortalama nükleus hacimlerinin diploidlerden yaklaşık 1.5 kat daha büyük olduğu ve bu kriterin ploidi sınıflandırmasında muhtemel girişimlere rağmen %86.21 doğrulukta bir sınıflama sağladığı bildirilmiştir (Wolters ve ark. 1982).

Wolters ve ark. (1982), yaptıkları çalışmada eritrosit uzun ekseninin ploidi ayırımında en pratik uygulama olduğunu belirtmişlerdir.

Bu çalışmayla elde edilen bilgilere göre, eritrosit eninin ploidi seviyesini belirlemede daha etkin olduğu, boy değerlerinin ise diploid fertler dışındaki ploidi seviyelerinde muhtemelen daha fazla girişim nedeniyle maskeleyen etkisi yaptığı görülmektedir (Çizelge 8 ve 9).

Bu çalışmada iki eksen değerinin toplanarak ikiye bölünmesi sonucunda belirlenen eritrosit büyüklüğü kriteri her iki unsuru içine almakta ve ploidi seviyesinin ortaya konmasında yeterli bir etkinlik sağlamaktadır (Çizelge 5 ve 6).

Bir çok araştırmacı balık türlerinde kromozom sayımına başvurmaksızın ploidi seviyesini, eritrosit hacmi veya büyüklüğü ile çekirdek hacmi ve büyüklüğünün yeterli doğrulukta ortaya koyduğunu ileri sürmektedirler (Beck ve Biggers, 1983; Valenti, 1975; Wolters ve ark. 1982; Lincoln ve Scott, 1984).

Bu çalışmada diploid fertlere ait eritrositlerin triploidlerin eritrositlerinden çok önemli ölçüde küçük olmaları yanında; şekillerinin de daha yuvarlak-ovalimsi olduğu, kısa eksenin oransal olarak daha uzun olduğu görülmüştür (Çizelge 4, 5, 6; Şekil 10 ve 11). Benzer şekil değişimi başka araştırmacılar tarafından da bildirilmiştir (Kim ve ark. 1986; Wolters ve ark. 1982; Valenti, 1975).

Balıklarda ploidi oluşturma hücre çekirdeğindeki kromozom sayısını artırmakta, bu artış herhangi bir organdaki hücrelerin büyüklüğünü de arttırmaktadır. Ancak yapılan çalışmalar, triploid veya tetraploid fertlerin diploidlerden büyüklük ve morfoloji bakımından farksız olduğunu göstermiştir. Bu sonuç, dokulardaki hücreler büyümekle birlikte sayılarının azalmasıyla organların normal büyüklüklerini korumasından kaynaklanmaktadır (Valenti, 1975).

Yapılan denemede kontrol ve ısı şoku uygulanan fertlerde prelarva, postlarva ve fingerlinglerde herhangi bir morfolojik farklılık belirlenmemiştir. 10 dakika ısı şoku uygulanan gruptaki balıklardan birinde (Şekil 7b) baş bölgesinde bir anomali gözlenmekle birlikte bunun poliploidiyle bağlı olup olmadığı bilinmemektedir. Muhtemelen bunun şansa bağlı bir anomali olduğu sanılmaktadır.

Alabalık ve diğer bir çok balık türünde yapılan çalışmalarda triploidi oluşturma işleminin erken dönemlerde morfolojik bir farklılığa yol açmadığı bildirilmektedir (Lincoln ve Scott, 1984; Valenti, 1975; Thorgaard, 1986; Wolters ve ark. 1982; Beck ve Biggers, 1983).

23 hafta süren büyütme dönemi sonunda diploid, triploid ve tetraploid fertlerde ağırlık ve boy bakımından istatistik olarak önemli bir fark belirlenmemiştir ( $p>0.05$ ). Büyümedeki farklılıkların bir çok balık türünde balığın olgunlaştığı dönemde gözlemlendiği, daha erken dönemlerde ağırlık ve boy büyümesinin farksız olduğu kaydedilmektedir (Valenti, 1975; Tave, 1993; Lincoln ve Scott, 1984).

Diploid ve triploid gökkuşuğu alabalıkları arasında ağırlık artışı olarak, birinci yıl triploidlerde 1.4 kat daha fazla, ikinci yıl ise 2.5 kat daha fazla olduğu bulunmuştur (Güner ve Özden 1997). Ancak bu çalışmada fertlerin cinsiyet durumları hakkında bilgi mevcut değildir.

Araştırmada ilk 3 deneme, kullanılan sudaki kontrolümüz dışında ortaya çıkan kalite bozulmaları (klor) ve kısmi su kesilmeleri nedeniyle, farklı deneme aşamalarında gruplardaki yumurta ve larvalarda ölüme yol açmıştır. Denemede kullanılan suyun zaman zaman kesilmesi, kalitesinin bozulması sağlıklı deneme yapmayı güçleştirmiştir. IV. denemede de deneme sonlarına doğru ortaya çıkan ve etkili bir ektoparazit olan *Ichthyophthirius multifiliis*'in yol açtığı beyaz benek hastalığı, kontrol ve deneme gruplarında yaşama oranlarının belirlenmesini imkansız kılmıştır. Aynı hastalık nedeniyle denemenin sondan 4. haftasında 15 dk lık şok uygulanan grupta tüm balıklar ölmüş olduğundan 15 dk lık şok uygulamasının ploidy üzerindeki etkisi incelenememiştir.

Sonuç olarak doğal ortamların balıklandırılmasında ve ikinci derecede balık yetiştiriciliğinde gün geçtikçe daha yaygın olarak kullanıma giren triploid fertler üretiminde, gökkuşuğu alabalığı için 28 °C de 10 dk lık ısı şoku uygulamasının başarılı olduğu görülmüştür.

Gerçekleşen ploidy seviyelerinin değerlendirilmesinde bir çok araştırmacı tarafından da önerilmiş olan eritrosit büyüklüğü, eritrosit hacmi kullanılabilir.

Isı şoku uygulamasının zamanlaması daha doğru yapılırsa (Thorgaard, 1986) tetraploid fertlerin ortaya çıkma ihtimali azaltılabilir. Kromozom sayılarının belirlenmesine yönelik preparasyon çalışmaları üzerinde daha fazla yoğunlaşılması ve dikkat gösterilmesi gerekmektedir.

## 6. ÖZET

Triploid fertler, yetiştiricilikte ve doğal ortamdaki populasyonların yönetiminde bazı avantajlar sağlamaktadır. Bu nedenle, kültür balıkçılığında yumurtalara ısı şoku uygulamasıyla triploid fertler üretimi diğer bazı ülkelerde pratik bir işlem haline gelmiştir. Bu çalışmada, triploid fertler üretiminin ülkemiz şartlarında da başlatılması, triploid bireylerin elde edilerek, işlemin başarısının belirlenmesi ve değerlendirilmesinde kullanılan metodların uygulanması amaçlanmıştır.

Araştırma Yüzüncü Yıl Üniversitesi Ziraat Fakültesi Su Ürünleri Bölümün'de gerçekleştirilmiştir. Araştırmada ülkemizde yaygın olarak kültürü yapılan gökkuşuğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) kullanılmıştır. Doğal üreme sezonunda olgun anaçlardan elde edilen yumurta ve sperm kuru metotla yapay döllemeyle döllenmiştir. Döllenmiş yumurtalar 3 gruba ayrılarak, I. ci grup kontrol olarak kullanıldı. Diğer iki grupta, döllenmiş yumurtalara su ilavesinden 15 dk sonra,  $28 \pm 0.5$  °C'de 10 ve 15 dk süreli ısı şoku uygulaması yapıldı. Döllenmiş ve şoklanan yumurtalar klasik inkübasyon şartlarında kuluçkalandı. Isı şoku, termostatlı ısıtıcılarla kontrol edilen 70 litrelik cam akvaryumlarda, kuluçkalama yine aynı ebatlardaki akvaryumlarda, büyütme ise  $1.83 \text{ m}^3$  hacminde dikdörtgen fiberglas yavru geliştirme tanklarında gerçekleştirildi.

Deneme gruplarında; döllenme oranları döllenmeden 2 gün sonra ölü bulunan yumurtalar ayıklanıp sayılarak, kasetlere konulan yumurta sayısından çıkartılıp bu değer kasete konulan yumurta sayısına bölünerek belirlenmiştir. Çıkış oranları, çıkan prelarva sayıları kasetlere konulan yumurta sayısına bölünerek belirlenmiştir. Balıklar, yumurtalar açıldıktan sonra 23 hafta büyütülmüştür. Balıklar granüle ve pelet formdaki ticari alabalık yemleriyle günlük doyuncaya kadar yemlenmiştir.

Uygulanan ısı şoku metodunun etkinliği direk kromozom sayımı, eritrosit büyüklüğü ve hacmi ölçümüyle araştırıldı. Kromozom preparasyonları, embriyolardan ve fingerlinglerin ön böbrek kısmı kullanılarak yapılmıştır. Preparatların hazırlanmasında modifiye havada kurutma tekniği kullanılmıştır. Kandan, eritrositlerin büyüklüklerini belirlemek amacıyla sürtme froti hazırlanmıştır. Deneme gruplarında eritrositlerin küçük ve büyük eksenleri oküler mikrometrede ölçüldü, hücre hacimleri  $(4/3) \times \pi \times ab^2$  formülüyle hesaplandı. Bulguların istatistiksel olarak değerlendirmesi, Minitab ve SAS paket programları kullanılarak yapılmıştır.

Deneme gruplarında belirlenen dölllenme oranları, kontrol ve ısı şoku uygulanan gruplarda %100 olarak belirlendi. Çıkış oranları ise kontrol, 10 ve 15 dk ısı şoku uygulanan gruplarda sırasıyla % 21.6, 17.0 ve 4.0 olarak belirlendi. Denemede; kontrol, 10 ve 15 dk ısı şoku uygulanan gruplarda prelarva ve fingerlinglerde yapılan morfolojik gözlemler sonucunda herhangi bir fark görülmemiştir. Kontrol ve ısı şoku uygulanan gruplardaki bazı fingerlinglerde gonad gelişiminin başladığı görülmüştür. Yumurtalar açıldıktan 4 ay sonra, kontrol ve 10 dk ısı şoku uygulanan gruplarda, sırasıyla çatal boy;  $8.69 \pm 0.28$  cm,  $9.28 \pm 0.55$  cm ve ağırlık;  $7.79 \pm 0.88$  g,  $7.56 \pm 0.72$ g olarak bulunmuştur. Gruplar arasında farklılık önemsiz bulunmuştur ( $p > 0.05$ ).

Deneme balıklarında, böbrekten yapılan kromozom preparasyonlarında, kontrol grubunda bir balıktan hazırlanan preparatta kromozom sayısı  $2n=60$  ve yine ısı şoku uygulanan grupta bir balıktan hazırlanan preparatta kromozom sayısı  $3n=90$  olarak bulunmuştur.

Kontrol grubundan 5 fertte, 10 dk ısı şoku uygulanan grupta 25 fertte 100'er tane eritrositen belirlenen eritrosit büyüklüklerinin (uzun eksen+kısa eksen/2), tek yönlü varyans analizi (ANOVA) sonuçlarına göre gruplar arasındaki farklılığın çok önemli ( $p < 0.0001$ ) olduğu belirlenmiştir. Isı şoku uygulananlarda eritrositler kontrol grubundan daha büyüktür. Yapılan Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçlarına göre, ısı şoku uygulanmış 25 ferdin 20'sinin triploid (%80) ve 5'inin tetraploid (%20) fertler olduğu sonucuna varılmıştır.

Triploid fertlerin ortalama eritrosit büyüklüğü diploid fertlerinkine göre 1.1686 kat (%16.86) daha büyük; tetraploid oldukları kabul edilen fertlerde eritrosit büyüklükleri diploidlerden 1.2975 kat (%29.75), triploidlerden ise 1.1103 kat (%11.03) büyük olduğu belirlenmiştir. Yapılan "t" testinde tetraploidlerin triploidler ve diploidlerden çok önemli ( $p < 0.0001$ ); triploidlerin diploidlerden aynı şekilde çok önemli düzeyde ( $p < 0.0001$ ) daha büyük oldukları belirlenmiştir.

Eritrosit hacimleri tetraploidlerde  $10265.5 \pm 193.7 \mu$ ; triploidlerde  $7041.8 \pm 173.5 \mu$  ve diploidlerde  $4805.4 \pm 226.8 \mu$  olarak belirlenmiştir. Çeşitli ploidy seviyelerine ait hacim değerlerinin bir birlerine oranları ise; Tetraploid/Triploid için 1.45779 (Tetraploid hacmi triploidlerden % 47.79 daha fazla), Triploid/Diploid için 1.46539 (Triploidlerin hacmi diploidlerden %45.78 daha fazla) ve Tetraploid/Diploid için 2.1362 (Tetraploidlerin hacmi diploidlerden %113.62 daha fazla) olarak hesaplanmıştır.

Bu çalışmada eritrosit büyüklüğü ve hacmi kriter alındığında,  $28\pm 0.5$  °C'de 10 dk süreyle ısı şoku uygulanmış olan grupta %80 triploidi ve %20 tetraploidi gerçekleştiği görülmektedir. Deneme gruplarında elde edilen döllenme oranları oldukça yüksektir ve kontrol grubuyla ısı şoku uygulanan gruplar arasında fark bulunmamıştır. Çıkış oranı bakımından da kontrol ve şok uygulanan grupların önemli ölçüde benzer olduğu görülmektedir. Deneme gruplarında kaydedilen oransal olarak düşük çıkış oranının, kötü ve ani değişen su kalitesine, denemelerde kullanılan yumurtaların kalitesinin heterojen olmasına bağlı olduğu sanılmaktadır. Tetraploid oranının yüksekliği (%20) ısı şoku uygulama zamanının biraz geciktirilmiş olmasından kaynaklanmaktadır. Uygulanan şok sıcaklığı bir çok çalışmada salmonidler için tavsiye edilen ve yüksek oranda triploidi sağladığı ifade edilen 28-29 °C aralığında ve süresi ise genelde tavsiye edilen 10 dk'da tutulmuştur.

Sonuç olarak; gökkuşuğu alabalığı için 28 °C de 10 dk lık ısı şoku uygulamasının, balık yetiştiriciliğinde gün geçtikçe daha yaygın olarak kullanıma giren triploid fertler üretiminde başarılı olabileceği görülmüştür. Gerçekleşen ploidy seviyelerinin değerlendirilmesinde bir çok araştırmacı tarafından da önerilmiş olan eritrosit büyüklüğü ve eritrosit hacmi değerlerinin kullanılabilirliği görülmüştür.

Tetraploid fertlerin ortaya çıkma ihtimali, ısı şoku uygulamasının zamanlamasının daha doğru yapılmasıyla azaltılabilir. Kromozom sayılarının belirlenmesine yönelik preparasyon çalışmaları üzerinde daha fazla yoğunlaşılması ve dikkat gösterilmesi gerekmektedir.

triploids, to evaluation of the success of process and determination of the effects of the treatments were aimed.

The study was carried out in the Fisheries Department of Agricultural Faculty, The Yüzüncü Yıl University Van-Turkey. In the study rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) which is most commonly cultured fish species in the country was used. Gametes of rainbow trout were stripped from ripe adults in natural spawning season and was fertilised by dry method artificially. The fertilised eggs were divided into 3 groups, the first was used as control, heat shock  $28\pm 0.5$  °C were applied to the two other groups for 10 and 15 minutes after the adding of water to mixed gametes. The fertilized and shocked eggs were incubated until the hatching of sac frys in ordinary salmonid incubation conditions. Heat shock was applied in 70 l glass aquarium which equipped with thermostat combined heater. Incubation was made in glass aquarium and frys were raised in 1.83 m<sup>3</sup> rectangular fibreglass growing tanks. In the trial groups fertilization ratios were determined two days after the fertilization. The hatching ratios were determined by dividing the number of hatched frys to fertilised eggs number. After hatching, frys were grown for 23 weeks. The fish were feed daily with crumble and pellet from of commercial trout feed as ad libitum.

The effectiveness of applied heat shock were investigated by chromosome counts, erythrocyte size and volume measurements. Chromosome preparations were made from whole embryos and head kidney of fingerlings by modified air dry method. Blood smears were prepared, minor and major axes of erythrocytes measured in ocular micrometer and volumes calculated by the formula  $(4/3) \times \pi \times ab^2$ . The obtained dates of the trials were analysed by using MINITAB and SAS statistical computer packages.

Fertilization ratios were found as 100% in trial groups. Hatching ratios for control, 10 minutes and 15 minutes shock applied group were determined as 21.6%,

17.0% and 4.0% respectively. Between the trial groups, both in sac fry and fingerling stage, no morphologic difference were observed. Some developing gonads were identified in control and heat shocked groups fingerlings. After 4 months of hatching mean fork lengths and body weights were found as  $8.69 \pm 0.28$  cm and  $7.79 \pm 0.88$  g for control;  $9.28 \pm 0.55$  cm and  $7.56 \pm 0.72$  g for 10 minutes heat shock applied group. The differences were not significant between the two groups ( $p > 0.05$ ).

Chromosome counts were found as  $2n=60$  for control group and as  $3n=90$  in 10 minutes shock applied group by preparations of head kidney of fingerlings.

According to ANOVA analysis difference between the erythrocyte sizes in trial groups were found extremely significant ( $p < 0.0001$ ). Heat shocked group's erythrocytes were bigger than control's. By performing Duncan Multiple Range Test, 20 of heat shock applied 25 individuals were concerned to be triploid (80%) and 5 as tetraploid (20%).

Mean erythrocyte size of triploids 1.1686 times (16.86%) bigger than of the diploid's; and tetraploid's 1.2975 times (29.75%) bigger than diploid's and 1.1103 times (11.03%) than triploids were found. According to "t" test the erythrocyte size differences were found extremely significant in every cases ( $p < 0.0001$ ).

Erythrocyte volumes in different ploidy groups were found as  $10265.5 \pm 193.7$   $\mu$  for tetraploids;  $7041.8 \pm 173.5$   $\mu$  for triploids and  $4805.4 \pm 226.8$   $\mu$  for diploids. Volume proportions of the ploidy groups were calculated for Tetraploid/Triploid as 1.4779 (Tetraploid's volume larger 47.79% than Triploid's); for Triploid/Diploid 1.45779 (Triploid's larger 45.78% than diploid's) and for Tetraploid/Diploid 2.1362 (Tetraploid's larger 113.62% than diploid's).

In the study, when erythrocyte size and volume count account as the criteria, applying a heat shock at  $28 \pm 0.5$  °C for 10 minutes could be induced 80% triploidy and 20% tetraploidy. Fertilization ratios in trial groups were found high and differences between values not significant. Hatching ratios of trial groups were similar in some extent. Relatively low hatching ratios may be explained by poor and sharply changed water quality and heterogenous quality of the eggs which used in the trials.

Appearing of tetraploids some 20% might be caused by delaying of heat shock time. Applied heat shock temperature and duration were chosen as 28-29 °C and 10-15



timing of heat shock. It must be intensified and care given on chromosome preparation techniques which can use direct chromosome counts to evaluate ploidy levels.



## KAYNAKLAR

- ACARA, A., 1992. Su ürünleri ekonomisi, üretim, miktar ve fiyat değişimleri, 1985-1991, DPT, Yayın ve Temsil Daire Başkanlığı, Yayın ve Basım Şube Müdürlüğü, ANKARA, s.203.
- ALPAGUT, N. and FALAKALI, B., 1995. Karyotype analysis of two *Rana ridibunda* (Ranidae; Anura) populations in Turkey. Israel J. Zoology, Vol.41, pp.523-531.
- ALPAGUT, N., 1992. *Rana ridibunda* (Ranidae; anura) populasyonlarında karyotip incelemesi. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi. 51 s. İZMİR.
- ALPBAZ, A., 1997. Dünyada ve Türkiye’de su ürünleri yetiştiriciliğinin dünü, bugünü ve geleceği. Akdeniz Balıkçılık Kongresi, 9-11 Nisan, s.5-14, İZMİR.
- AL-SABTI, K., 1984. Using the in vitro colchicine treatment for the chromosome studies of the Rainbow trout (*Salmo gairdneri*) and the grayling (*Thymallus thymallus*). Ichthyologia, Vol.16, No. 1-2: 17-22.
- ANONIM, 1997. 1996 Yılı Su Ürünleri İstatistikleri. Yayın No: 2075.
- ARAI, R., SUZUKI, A. and AKAI, Y., 1988. A karyotype of a Chinese bitterling, *Paracheilognathus himantegus* (Cypriniformes, Cyprinidae). Bull. Nath. Sci. Mus., Tokyo, Ser. A, 14(1), pp.43-46.
- ARAS, M.S., 1988. Balık üretim esasları ve genel bilgiler (ders notu), Atatürk Üniv. Ziraat Fakültesi Zootekni Bölümü, ERZURUM. 220s.
- ARDA, M., 1995. Biyoteknoloji. Kükem Derneği Bilimsel Yayınlar No:3, 3. baskı, s.1-432, Ankara.
- ATAY, D., 1980. Alabalık üretim tekniği. Başbakanlık Basımevi, ANKARA. 171s.
- BECK, M.L. and BIGGERS, C.J. 1983. Erythrocyte measurements of diploid and triploid *Ctenopharyngodon idella* X *Hypophthalmichthys nobilis* hybrids. J. Fish Biol., 22: 497-502.

- BEKCAN, S., ATAR, H.H., 1996. Su ürünlerinde biyoteknoloji. Su Ürünleri Vakfı Dergisi, yıl:1, sayı:2, s.17-21.
- BENFEY, T.J., BOSA, P.G., RICHARDSON, N.L. and DONALDSON, E.M., 1988. Effectiveness of a commercial-scale pressure shocking device for producing triploid salmonids. *Aquacultural Engineering*, 7: 147-154.
- CHERFAS, N.B., KOZINSKY, O., ROTHBARD, S., and HULATA, G., 1990. Induced diploid gynogenesis and triploidy in ornamental (KOI) carp, *Cyprinus carpio* L. 1. Experiments on the timing of temperature shock. *The Israeli J. Aquaculture-Bamidgeh*, 42(1): 3-9.
- CHOURROUT, D. and HAPPE, A., 1986. Improved methods of direct chromosome preparation in rainbow trout, *Salmo gairdneri*. *Aquaculture*, 52: 255-261.
- CHOURROUT, D., 1984. Pressure-induced retention of second polar body and suppression of first cleavage in rainbow trout: production of all-triploids, all-tetraploids, and heterozygous and homozygous diploid gynogenetics. *Aquaculture*, 36:111-126.
- ÇELİKKALE, M.S., 1988. İçsu balıkları ve yetiştiriciliği. K.T.Ü. Sürmene Deniz Bilimleri ve Teknolojisi Y.O. yay. no:128, TRABZON. 460s.
- ÇOLAK, A., SEZGIN, İ., SÜNGÜ, Y.S., 1985. Sazangiller familyasına (Cyprinidae) ait beni balığında (*Cyprinion macrostomum* Heckel, 1843) kromozomal araştırmalar. *Doğa Bilim Dergisi*, A<sub>2</sub>, 9: 2: 193-195.
- DAWLEY, R.M., GRAHAM, J.H., SCHULTZ, R.J., 1985. Triploid progeny of pumpkinseedXgreen sunfish hybrids. *Heredity*, 76: 251-257.
- DIAZ, N.F., ITURRA, P., VELOSO, A., ESTAY, F. and COLIHUEQUE, N., 1993. Physiological factors affecting triploid production in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture*, 114: 33-40.
- DON, J. and AVTALION, R.R., 1988. Comparative study on the induction of triploidy in tilapias, using cold-and heat-shock techniques. *J. Fish Biol.*, 32:665-672.

- ERGENE, S., KAYA, F., PEKCAN, İ., ORAL, A., 1998a. A karyological analysis of *Oreochromis niloticus* (L., 1758) (pisces, cichlidae) used in aquaculture. First International Symposium on Fisheries and Ecology, 2-4 Eylül, Trabzon.
- ERGENE, S., KURU, M., ÇAVAŞ, T., 1998b. *Barbus plebejus lacerta* (Heckel, 1843)'nin karyolojik analizi. II. Uluslararası Kızılırmak Fen Bilimleri Kongresi, 20-22 Mayıs, Kırkkale.
- GOUDIE, C.A., SIMCO, B.A., DAVIS, K.B., LIU, Q., 1995. Production of gynogenetic and polyploidy catfish by pressure-induced chromosome set manipulation. *Aquaculture*, 133:185-198.
- GUO, X., DEBROSSE, G.A., ALLEN JR., S.K., 1996. All-triploid Pasific oysters (*Crassostrea gigas* Thunberg) produced by mating tetraploids and diploids. *Aquaculture*, 142:149-161.
- GÜNER, Y., ÖZDEN, O., 1997. Gökkuşığı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss* W., 1792) yumurtalarına uygulanan sıcaklık şokuyla kısır balık üretimi. Akdeniz Balıkçılık Kongresi, 9-11 Nisan, p.769-772, İzmir.
- HAPPE, A., QUILLET, E. and CHEVASSUS, B., 1988. Early life history of triploid rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richardson). *Aquaculture*, 71:107-118.
- HÖRSTGEN-SCHWARK, G., 1993. Initiation of tetraploid breeding line development in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Aquaculture and Fisheries Management*, 24:641-652.
- INGRAM, M., 1988. Farming rainbow trout in fresh water tanks and ponds. In *Salmon and Trout Farming*, (Eds., Laird, L.M., Needham, T.) Ellis Horwood Limited, UK, p.155-189.
- JOHNSON, O.W., RABINOVICH, P.R. and UTTER, F.M., 1984. Comparison of the reliability of a coulter counter with a flow cytometer in determining ploidy levels in Pasific Salmon. *Aquaculture*, 43:99-103.

- KIM, D.S., KIM, I.B. and BAIK, Y.G., 1986. A Report of triploid Rainbow trout production in Korea. *Bull. Korean Fish. Soc.*, vol:19, no:6, 575-580.
- KIM, D.S., KIM, I.B. and BAIK, Y.G., 1988. Early growth and gonadal development of triploid Rainbow trout, *Salmo gairdneri*. *J. of Aquaculture*, vol:1, no:1, 41-51.
- KLIGERMAN, A. D. and BLOOM, S.E., 1977. Rapid chromosome preparations from solid tissues of fishes. *J. Fish Res. Board Can.*, vol.34: 266-269.
- LAIRD, L.M., NEEDHAM, T., 1988. The farmed salmonids in salmon and trout farming (eds: Laird, L.M. and Needham, T.), Ellis Horward, Chichester. 271p.
- LINCOLN, R.F. and SCOTT, A.P., 1984. Sexual maturation in triploid rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson. *J. Fish Biol.*, 25,385-392.
- LINCOLN, R.F., and BYE, V.J. 1984. Triploid rainbows show commercial potential. *Fish Farmer*, September.
- LINCOLN, R.F., and SCOTT, A.P., 1983. Production of all-female triploid rainbow trout. *Aquaculture*, 30:375-380.
- LINHART, O., FLAISHANS, M., 1995. Triploidization of European catfish, *Silurus glanis* L., by heat shock. *Aquaculture Research*, 26: 367-370.
- LIU, F.G. and QUILLET, E., 1989. Preliminary results on triploidy induced by heat shocks in the brown trout (*Salmo trutta*). *J. Fisheries Society of Taiwan*, vol:16, no:2, 91-95.
- MAY, B., HENLEY, K.J., KRUEGER, C.C., and GLOSS, S.P. 1988. Androgenesis as a mechanism for chromosome set manipulation in brook trout (*Salvelinus fontinalis*). *Aquaculture* 75, 57-70.
- MYERS, J.M. and HERSHBERGER, W.K., 1991. Early growth and survival of heat-shocked and tetraploid-derived triploid rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 96: 97-107.

- MYERS, J.M., POWELL, S.F., MCANDREW, B.J., 1995. Induction of tetraploidy in brown trout, *Salmo trutta* L., using hydrostatic pressure. *Aquaculture Research*, 26: 229-232.
- PHILLIPS, R.B., ZAJICEK, K.D., IHSSSEN, P.E., and JOHNSON, O.1986. Application of silver staining to the identification of triploid fish cells. *Aquaculture* 54, 313-319.
- QUILLET, E., FOISIL, L., CHEVASSUS, B., CHOURROUT, D. and LIU, F.G., 1991. Production of all-triploid and all-female brown trout for aquaculture. *Aquat. Living Resour.*, 4, 27-32.
- RENCÜZOĞULLARI, E., TOPAKTAŞ, M., 1991. The relationship between quantities of bromodeoxyuridine and human peripheral blood with determination of the best differential staining of sister chromatids using chromosome medium B. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi, cilt:5, sayı:3, 19-24.
- RYAN, B.F., JOINER, B.L., RYAN, T.A., 1985. *Minitab. Handbook* Second Edition. PWS-KENT Publishing Company. Boston. 385 p.
- SARI, H., ve ULAKOĞLU, G., 1992. Ostrakod populasyonlarında kromozom sayıları. *İst. Üniv. Su Ürün. Derg.*, 2: 43-60.
- SAS INSTITUTE INC., 1985. *SAS User's Guide: Statistics* (5. Ed ) Cary. NC. 956 p.
- SCHRECK, B.C. and MOYLE, B.P., 1990. *Methods for Fish Biology*. American Fisheries Society Bethesda, Maryland, USA. p.684.
- SEEB, J.E., THORGAARD, G.H., and UTTER, F.M. 1988. Survival and allozyme expression in diploid and triploid hybrids between chum, chinook, and coho salmon. *Aquaculture* 72, 31-48.
- SOKAL, R.R., ROHLF, F.J., 1980. *Biometry: The Principles and Practice of Statistics in Biological Research*. (2<sup>nd</sup> Ed.) W. H. Freeman and Co. New York, 859 p.

- STICKNEY, R.R., 1989. Care and Handling of Live Fish. In, Fisheries Techniques (third print), Eds., Nielsen, L. A. and Johnson, D. L., American Fisheries Society, Bethesda, Maryland, USA., pp85-94.
- TANIGUCHI, N., KIJIMA, A., TAMURA, T., TAKEGAMI, K. and YAMASAKI, I., 1986. Color, growth and maturation in ploidy-manipulated fancy carp. *Aquaculture*, 57:321-328.
- TAVE, D., 1993. Genetics for fish hatchery managers. Second edition, Van Nostrand Reinhold, p.415, USA.
- THORGAARD, G.H. and DISNEY, J.E., 1990. Chromosome preparation and analysis. In Methods for fish biology, (Eds., Schreck, C.B. and Moyle, P.B.) American Fisheries Society Bethesda, Maryland, USA. pp.171-190.
- THORGAARD, G.H., 1986. Ploidy manipulation and performance. *Aquaculture*, 57: 57-64.
- UEDA, T., SATO, R. and KOBAYASHI, J., 1988. Triploid Rainbow trout induced by high-pH, high-calcium. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 54(11), 2045.
- ULUPINAR, M., OKUMUŞ, İ., 1997a. Balıklarda sitogenetik yardımıyla sulardaki mutajenik ve kanserojenik kirleticilerin belirlenmesi. S.D.Ü. Eğirdir Su Ürün. Fak., IX. Ulusal Su Ürünleri Sempozyumu, 17-19 Eylül.
- ULUPINAR, M., OKUMUŞ, İ., 1997b. Gökkuşuğu alabalığında (*Oncorhynchus mykiss*) kromozom preparasyonları için ıslah edilmiş bir metot. S.D.Ü. Eğirdir Su Ürün. Fak., IX. Ulusal Su Ürünleri Sempozyumu, 17-19 Eylül.
- ULUPINAR, M., OKUMUŞ, İ., 1998. An investigation on the chromosome structure of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in a commercial farm in Turkey. First International Symposium on Fisheries and Ecology, 2-4 Eylül, Trabzon.
- VALENTI, R.J. 1975. Induced polyploidy in *Tilapia aurea* (Steindachner) by means of temperature shock treatment. *J. Fish Biol.* 7, 519-528.

- WATTENDORF, R.J., 1986. Rapid identification of triploid Grass carp with a Coulter Counter and Channelyzer. *Progressive Fish-Culturist*, 48: 125-132.
- WOLTERS, W.R., CHRISMAN, C.L., and LIBEY, G.S., 1982. Erythrocyte nuclear measurements of diploid and triploid channel catfish, *Ictalurus punctatus* (Rafinesque). *J. Fish Biol.* 20: 253-258.
- WU, C., YE, Y. and CHEN, R., 1986. Genome manipulation in carp (*Cyprinus carpio* L.). *Aquaculture*, 54: 57-61.
- YAMAN, K., 1993. Fizioloji. Ders kitabı, Uludağ Üniversitesi Güçlendirme Vakfı yayın no:83, s.64-65.





## **ÖZGEÇMİŞ**

1971 yılında Konya ilinin, Beyşehir ilçesinin Kayabaşı beldesinde doğdu. İlk, orta, lise öğrenimini İzmir’de tamamladı. 1989 yılında Akdeniz Üniversitesi Eğirdir Su Ürünleri Yüksek Okulu’nda yüksek öğrenimine başladı. 1993 yılında Süleyman Demirel Üniversitesi Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi’nden Su Ürünleri Mühendisi ünvanıyla mezun oldu. 1994-1995 de 237. Dönem Ordu Donatım Asteğmen olarak askerlik hizmetini tamamladı. 1996 yılında Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Su Ürünleri Anabilim Dalı’nda yüksek lisans öğrenimine başladı. Halen Yüzüncü Yıl Üniversitesi Ziraat Fakültesi Su Ürünleri Bölümü’nde Araştırma Görevlisi olarak çalışmaktadır. İngilizce bilir, evli ve 1 çocuk babasıdır.

