

İZMİR KATİP ÇELEBİ ÜNİVERSİTESİ ★ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BÜYÜK ÖLÇEKTE GÖKKUŞAĞI ALABALIĞI (*Oncorhynchus mykiss*)
ÜRETİMİNİN CİNSİYET KONTROLÜNDE GİNOGENEZ VE SICAKLIĞIN
UYGULANABİLİRLİĞİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Zerife PEKER

Su Ürünleri Anabilim Dalı

Yetiştiricilik Programı

Tez Danışmanı: Yrd. Doç. Dr. Muhammet ALTUNOK

OCAK 2014

İZMİR KATİP ÇELEBİ ÜNİVERSİTESİ★ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BÜYÜK ÖLÇEKTE GÖKKUŞAĞI ALABALIĞI (*Oncorhynchus mykiss*)
ÜRETİMİNİN CİNSİYET KONTROLÜNDE GİNOGENEZ VE SICAKLIĞIN
UYGULANABİLİRLİĞİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**Zerife PEKER
(Y120107001)**

Su Ürünleri Anabilim Dalı

Su Ürünleri Yetiştiriciliği Programı

Tez Danışmanı: Yrd. Doç. Dr. Muhammet ALTUNOK

OCAK 2014

İKÇÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü'nün Y120107001 numaralı Yüksek Lisans Öğrencisi **Zerife PEKER**, ilgili yönetmeliklerin belirlediği gerekli tüm şartları yerine getirdikten sonra hazırladığı “**Büyük Ölçekte Gökkuşuğu Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) Üretiminin Cinsiyet Kontrolünde Ginogenez ve Sıcaklığın Uygulanabilirliği**” başlıklı tezini aşağıda imzaları olan jüri önünde başarı ile sunmuştur.

Tez Danışmanı : **Yrd. Doç. Dr. Muhammet ALTUNOK**
İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi

Jüri Üyeleri : **Prof. Dr. Ahmet Adem TEKİNAY**
İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi

Prof. Dr. Osman ÖZDEN
Ege Üniversitesi

Teslim Tarihi : 30 Aralık 2013

Savunma Tarihi : 13 Ocak 2014

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam boyunca maddi manevi tüm imkânlarıyla yardımını esirgemeyen, en olumsuz anlarımda bile moral ve mativasyonumu yükselterek çalışmamı, değeri ölçülemeyecek deneyimlere dönüştüren tez danışmanım değerli hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. Muhammet ALTUNOK'a emekleri için sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Hocama tez çalışmalarım yanı sıra bana göstermiş olduğu sabır, kazandırmış olduğu bireysel sorumluluk bilinci ve bilimsel duruştan dolayı minnet borçluyum.

Araştırma görevlisi olarak çalıştığım İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi değerli yönetici ve hocalarına desteklerinden dolayı teşekkür ederim. Tez çalışmamın uygulama aşamasını Durmaz Alabalık ve Çobanlar Alabalık ait alabalık çiftliklerinde gerçekleşmesinde bana yardımcı olan öncelikle çiftlik sahiplerine ve çalışanlarına çok teşekkür ederim.

Arazi çalışmalarında ve literatür taramalarında her zaman yanımda olan, bana her fırsatta çalışma azmi aşıl原因an sevgili arkadaşım değerli dostum Melike ÜRPER ve çalışmalarında bana gerektiğinde koşulsuz yardım eden Ferhat Can ÖZKAYA çok teşekkür ederim. Sizin deneyimleriniz, yardımseverliğiniz ve desteğiniz beni daima rahatlatmıştır. Yoğunluğum sebebiyle ihmal ettiğim bütün yakın dost ve arkadaşlarıma desteklerinden ötürü teşekkür ediyorum.

Son olarak tüm eğitim hayatımda olduğu gibi tez çalışmalarında da hiçbir yardımını esirgemeyen varlıkları ile varlığımı anlamlı kılan annem ve babama teşekkür ederim. Bana olan inanç ve güveniniz ile hayatımı her daim motive ettiniz.

OCAK/2014

ZERİFE PEKER

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
TEŞEKKÜR.....	v
İÇİNDEKİLER.....	vii
KISALTMALAR.....	ix
ÇİZELGELER LİSTESİ.....	x
ŞEKİLLER LİSTESİ	xi
ÖZET	xii
SUMMARY.....	xiv
1. GİRİŞ	1
1.1. Literatür Araştırması	5
1.1.1. Gökkuşuğu Alabalıklarının Genel Özellikleri ve Biyolojisi	5
1.1.1.1. Gökkuşuğu Alabalığında Büyüme	6
1.1.2. Balıklarda Cinsiyet ve Etkileyen Faktörler	7
1.1.2.1. Gonadal Gelişim	7
1.1.2.2. Eşey Tayini	8
1.1.2.3. Eşey Tayinini Etkileyen Faktörler	9
1.1.2.4. Çevresel Faktörler ve Sıcaklığın Cinsiyete Etkisi	9
1.1.2.5. Eşey Tayininde Kritik Hassas Periyot	10
1.1.3. Balıklarda Cinsiyet Kontrolü.....	10
2. MATERYAL ve METOT	14
2.1. Materyal.....	14
2.2. Metot	21
2.2.1. Çalışma yerleri.....	21
2.2.2. Anaçların Sağımı	22
2.2.3. Sperm İnaktivasyonu	22
2.2.4. Haploid bireylerin elde edilmesi	23
2.2.5. Ginogenetik diploid bireylerin elde edilmesi	24
2.2.6. Triploid Bireylerin Elde Edilmesi	24
2.2.7. Sıcaklığın Cinsiyet Üzerine Etkisinin Araştırılması.....	25
2.2.8. Cinsiyet Oranlarının Belirlenmesi ve Gonad Analizleri.....	27
2.2.9. İstatistik Analiz.....	28
3. BULGULAR.....	28
3.1. Ginogenez Uygulamaları.....	28
3.1.1. 15 cm yükseklikten 2 dk UV şoku ile 10 ve 20 dk süreli sıcaklık şoku denemesi (UV15cm/2dk)	28
3.1.2. 15 cm yükseklikten 4 dk UV şoku ile 10 ve 20 dk süreli sıcaklık şoku denemesi (UV15cm/4dk)	30
3.1.3. 5 cm yükseklikten 2 dk UV şoku ile 10 ve 20 dk süreli sıcaklık şoku denemesi (UV5cm/2dk)	32
3.1.4. 5 cm yükseklikten 3 dk UV şoku ile 10 ve 20 dk süreli sıcaklık şoku denemesi (UV5cm/3dk)	34
3.1.5. 10 cm yükseklikten 2 dk UV şoku ile 10 ve 20 dk süreli sıcaklık şoku denemesi (UV10cm/2dk)	35
3.1.6. 45 cm yükseklikten 3 dk UV şoku ile 10 ve 20 dk süreli sıcaklık şoku denemesi (UV45cm/3dk)	37
3.2. Tamamı Dişi Üretim.....	39
3.3. Triploid Uygulamaları.....	39
3.4. Cinsiyet Kontrolünde Sıcaklık Uygulamaları.....	42

3.4.1. Yaşama oranları	42
3.4.2. Cinsiyet Oranları	44
4. TARTIŞMA	45
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	53
KAYNAKLAR	55
EKLER	63

KISALTMALAR

NaCl	: Sodyum Klorür
GSD	: Genetic Sex Determination
ESD	: Enviromental Sex Determination
TSD	: Temperature Sex Determination
UV	: Ultraviole
DPF	: Days Post-fertilization
E	: Erkek
D	: Dişi
YO	:Yaşam Oranı

ÇİZELGELER LİSTESİ

Sayfa

Çizelge 2.1: Ekstrude alabalık başlangıç (larva) yemi.....	20
Çizelge 2.2: Ekstrude alabalık yavru yemi.....	21
Çizelge 2.3: Çalışmalarda uygulanan değişkenler	23
Çizelge 2.4: Ginogen, haploid ve triploid eldesi	25
Çizelge 2.5: Deneme gruplarında sıcaklık ortalamaları.....	25
Çizelge 2.6: Sıcaklık deneme grupları ve sayıları	26
Çizelge 3.1: Ginogenez; UV15cm/2dk ortalamaları.....	29
Çizelge 3.2: Ginogenez; UV15cm/4dk ortalamaları.....	31
Çizelge 3.3 : Ginogenez; UV5cm/2dk ortalamaları.....	33
Çizelge 3.4: Ginogenez; UV5cm/3dk ortalamaları.....	34
Çizelge 3.5: Ginogenez; UV10cm/2dk ortalamaları.....	36
Çizelge 3.6: Ginogenez; UV45cm/3dk ortalamaları.....	37
Çizelge 3.7: Ginogenez; kış-yaz, en iyi keseli-larva yaşama oranları (Kontrol=%100)	38
Çizelge 3.8: Triploid-yaz sağımı 20 dk şoklama süresi sonuçları	40
Çizelge 3.9: Triploid-kış sağımı 20 dk şoklama süresi sonuçları.....	41
Çizelge 3.10: Triploid yaz ve kış sağımları; 20 dk şoklama süresi ortalamaları.....	42
Çizelge 3.11: Sıcaklık denemesine alınan grupların yaşama oranları	43
Çizelge 3.12: Kontrol gruplarının yaşama oranları.....	43

ŞEKİLLER LİSTESİ

Sayfa

Şekil 1.1: Gökkuşığı alabalıklarında büyüme evreleri [3]	7
Şekil 1.2: Balıklarda kromozom manipulasyonları [96]	12
Şekil 1.3: Balıklarda ginogenez uygulamaları	13
Şekil 2.1: Gökkuşığı alabalık anaçlarının sağımları	14
Şekil 2.2: Hassas terazi ve NaCl	15
Şekil 2.3: Işık mikroskobu, UV lamba, manyetik karıştırıcı	15
Şekil 2.4: Isıtmalı su banyosu ve balık yumurtaları için hazırlanan soğuk su havuzu	16
Şekil 2.5: Denemelerde kullanılan buz, süzgeç, petri kabı, örneklem tasları	16
Şekil 2.6: Çalışmada kullanılan kronometreler	17
Şekil 2.7: Termostatlı su ısıtıcısı ve sıcaklık kontrol panosu	17
Şekil 2.8: Hava motoru ve zaman ayarlayıcı	18
Şekil 2.9: Su pompası	18
Şekil 2.10: Fethiye (solda) ve Bergama'da (sağda) kullanılan kuluçka dolapları	19
Şekil 2.11: Sıcaklık uygulamalarının yapıldığı tank düzeneği	19
Şekil 2.12: Haploid, ginogen ve kontrol gruplarının döllenme aşamaları	24
Şekil 2.13: Sıcaklık denemeleri ve sonrasında büyütme tankları	27
Şekil 2.14: Dişilerde yumurta oluşumu başlamış bir ovaryumun görünüşü	27
Şekil 3.1: Ginogenez; UV15cm/2dk, sıcaklık şoku süresi; 20 dk (kontrol=%100)	30
Şekil 3.2: Ginogenez; UV15cm/4dk, sıcaklık şoku süresi;20dk (kontrol=%100)	32
Şekil 3.3: Ginogenez; UV5cm/2dk, sıcaklık şoku süresi;20dk (kontrol=%100)	33
Şekil 3.4: Ginogenez; UV5cm/3dk, Sıcaklık şoku süresi;20dk (kontrol=%100)	35
Şekil 3.5: Ginogenez; UV 10cm/2dk, sıcaklık şoku süresi;20dk (kontrol=%100)	36
Şekil 3.6: Ginogenez; UV45cm/3dk, sıcaklık şoku süresi;10dk (kontrol=%100)	37
Şekil 3.7: Ginogenez; yaz (sol) ve kış (sağ) sağımlarında elde edilen en iyi yaşama oranları (% Kontrol)	38
Şekil 3.8: Diploid ginogenlerde cinsiyet ve kontrolle ilişkili yaşama oranları	39
Şekil 3.9: Triploid; kış-yaz sağımı; Sıcaklık şoku 20 dk	42
Şekil 3.10: Sıcaklık gruplarının ve kontrollerin yaşama oranları	44
Şekil 3.11: Sıcaklık denemelerinden sonraki cinsiyet oranları	44

BÜYÜK ÖLÇEKTE GÖKKUŞAĞI ALABALIĞI (*Oncorhynchus mykiss*) ÜRETİMİNİN CİNSİYET KONTROLÜNDE GİNOGENEZ VE SICAKLIĞIN UYGULANABİLİRLİĞİ

ÖZET

Balık türleri içerisinde dişileri daha hızlı gelişen ve erkeklerine göre cinsel olgunluğa daha geç ulaşan gökkuşağı alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) tamamı dişi yavru üretimi tercih edilmektedir. Bugüne kadar tek cinsiyetli üretim için çeşitli kromozom manipulasyonları, hibrit denemeleri ve hormonlar kullanılmıştır. Bu çalışmada ginogenez, triploidizasyon ve sıcaklık etkisinin gökkuşağı alabalığının büyük ölçekli ticari üretimlerinde cinsiyet kontrolü için uygulanabilirliği araştırılmıştır.

Çalışmamızda gökkuşağı alabalıklarında ginogenetik bireylerin üretiminde en başarılı uygulama için üreme mevsimi, UV şoku, döllenmeden sonraki şok uygulama zamanı ve sıcaklık şoku süreleri araştırılmıştır. Bu amaçla kış ve yaz sağımlarında, döllenmeden sonra 5, 10 ve 20. dakikalarda, 26 °C sıcaklıkta 10 dk ve 20 dk şoklama süreleri incelenmiştir. Ginogenetik bireylerde en yüksek keseli larva yaşama oranları kış sağımında 15 cm / 2 dk UV şokunda, döllenmeden 20 dakika sonra uygulanan 26 °C'lık 20 dk süreli sıcaklık şokuyla % 86.3 olarak bulunurken; yaz sağımında bu oran 15 cm yükseklik ve 2 dk UV şokunda, döllenmeden 20 dakika sonra uygulanan 26 °C'lık 10 dk sıcaklık şokuyla % 47.7 olarak tespit edilmiştir. Kontrol gruplarının yaşama oranları kış sağımında % 82.4 olarak bulunurken, yaz sağımında bu oran % 47.4 olarak tespit edilmiştir ve mevsimler arası gözlenen bu farklar istatistiki olarak önemli bulunmuştur.

Çalışma kapsamında triploid alabalıkların üretilmesi için 10 ve 20 dakikalık iki farklı sürede 26 °C sıcaklık şoku uygulanmıştır. Triploid gruplar içinde en yüksek oranlar kış sağımında ve döllenmeden 20 dk sonraki gözlenmiş yumurtada % 80.1, keseli larvada % 68.3 olarak kaydedilmiştir. Yaz sağımı sonuçlarına göre triploid üretiminde en yüksek oranlar döllenmeden 20 dk sonra sıcaklık şoku uygulanan grupta gözlenmiş yumurta ve keseli larva için sırasıyla ortalama % 47.5 ve % 35.9

olmuştur. Kış sağımında triploid gruplar ile kontrol grupları arasında istatistikî olarak önemli bir fark bulunmamıştır ($p>0.05$).

Çalışmada ayrıca erken gelişme döneminde uygulanan yüksek sıcaklığın altı farklı aileden gelen alabalıklarda cinsiyet oranları üzerine etkisi de araştırılmıştır. Yüksek sıcaklık 18 °C olarak 2/3 besin kesesine sahip larvalara tedrici uygulanmış ve 40 gün boyunca devam ettirilmiştir. Bireylerde yapılan gonad analizleri sonucunda sıcaklık uygulanan gruplar ile kontrolleri karşılaştırıldığında sıcaklığın cinsiyet oranlarını değiştirmedeği görülmüştür ($p>0.05$).

GINOGENESIS AND TEMPERATURE IN THE SEX CONTROL OF LARGE-SCALE RAINBOW TROUT (*Oncorhynchus mykiss*) PRODUCTION

SUMMARY

The production of all-female monosex populations in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) whose females reach sexual maturity later and grow faster than males is preferred. Up to date, various chromosome manipulations, hybridisations and hormones have been used to product monosex populations. In this study, feasibility and applicability of the gynogenesis, triploidisation and temperature effects to sex ratio were investigated in the large-scale rainbow trout farming for sex control.

In our study we focused on spawning season, UV irradiation, the time of shock treatment after fertilization of and duration of thermal shocks to find the most successful application for production of diploid gynogenetic larvae. For this purpose, thermal (26 °C) shock durations from 10 to 20 min, shock timing at 5, 10 and 20th minutes (af) were investigated in spawning time of winter season and under a photoperiod. Among gynogenetic groups the highest survival rate of 86.3% in yolk-sac larvae was found when the sperm was irradiated under UV from 15 cm height for 2 min during winter spawning season and the thermal shock was treated at 20th min (af) lasting 20 min while 47.7 % was found under summer photoperiod by similar UV irradiation and through thermal shock at 20th min (af) lasting 10 min. The highest survival rate of control group was 82.4% during winter season whereas 47.4% under the photoperiod and the differences between the seasons were statistically important.

Within the scope of the study, thermal shock at 26 °C was applied in two different durations ranging from 10 to 20 min to induce triploidy in rainbow trout. The highest rates were recorded as 80.1% and 68.3% in the eyed egg and yolk-sac larvae

respectively by winter spawns treated with initiation time of 20th min (af) and duration of 20 min heat shock. According to the results of spawns, the highest rates in the production of triploid were 47.5% for eyed eggs and 35.9% for yolk-sac larvae treated with heat shock for 20 min and initiation time was 20 min (af). When the survival rates were compared between triploids and their corresponding controls, there was no statistical significance by means of winter spawns ($p < 0.05$).

Furthermore, in the study, the effect of high temperature treatment on sex ratio in progenies of rainbow trout originated from six different family was also investigated. Thermal treatment (18 °C) was applied gradually to the larvae which have 2/3 yolk sac at 18 °C and lasted in 50 dpf. As a result of gonadal examinations, it was concluded that high temperature did not affect the sex ratio ($p < 0.05$).

1. GİRİŞ

Avcılık yoluyla yapılan su ürünleri üretiminin sınırlarına dayanmış olması yanında, nüfus artışı ve ekonomik sebeplerle su ürünlerine olan talebin de etkisiyle su ürünleri yetiştiriciliğini besin üretim sistemleri içinde en hızlı büyüyen (% 10) sektör haline getirmiştir. Bu yüzden su ürünleri sektörünün, gelecek yıllarda besin ihtiyacının karşılanmasında birincil üretim sistemleri içinde en büyük potansiyele sahip olacağı öngörülmektedir [1]. Dünya genelinde kültürü hızlı bir şekilde yaygınlaşan gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*), yetiştiriciliği yapılan en önemli balık türleri arasındadır. Gökkuşağı alabalığı Türkiye’deki yetiştiriciliğin yarısını oluşturmaktadır ve ekonomik açıdan büyük bir paya sahiptir [2, 3].

Su ürünleri yetiştiriciliğinde değişen ihtiyaçlara cevap vermek ve gelişen teknolojik olanaklarla birlikte verimliliğin artırılması için ıslah ve cinsiyet kontrolü gibi çalışmalar önemli hale gelmiştir [4]. Ekonomik sebepler, farklı cinsiyetlerin büyüme oranındaki etkileri nedeniyle cinsiyet kontrolünü zorlamaktadır. Ancak bu farklılıklar türden türe değişim göstermektedir. Gökkuşağı alabalığı XX-XY cinsiyet belirleme sistemine sahiptir, ayrı eşeylidir ve fenotipik cinsiyetler geliştirebilmektedirler [5]. Alabalıklar vücut ağırlığı ve olgunlaşmaya ulaşma zamanı yönünden yüksek derecede cinsiyete bağlı farklılık gösterirler. Gökkuşağı alabalıklarının erkek bireylerinde eşeyssel olgunluk öncesinde başlayan ve üreme döneminde ortaya çıkan ikincil eşeyssel özellikler gelişimin yavaşlamasına, kondisyon kaybına, renk koyulaşmasına ve et kalitesinin bozulmasına neden olmaktadır [6-8]. Stokta erken olgunlaşan bireylerin bulunması özellikle büyük boy alabalıkların yetiştiriciliğinin yapıldığı işletmelerde verimliliği düşürmektedir. Bu nedenle düşük ürün kalitesi işletme açısından büyük ekonomik kayıplara yol açmaktadır.

Yetiştiriciliği yapılan gökkuşağı alabalıklarında dişi balıklar erkek balıklara göre daha iyi et kalitesine sahiptir, hızlı büyüme ve hastalıklara karşı dayanıklıdır [6]. Bu nedenle erkeklere göre daha geç ve daha büyük boyda olgunlaşan dişiler alabalık üretiminde tercih edilmektedir [9]. Dolayısıyla gökkuşağı alabalıklarında cinsiyet

dönüşümü ile monoseks stokların üretilmesi et kalitesi, büyüme, hastalıklara karşı mücadele gibi birçok olumsuzlukların azaltılmasını sağlamaktadır [4]. Bunun sonucu olarak avantajlı olan cinsiyetin tek cinsiyet olarak üretilmesi önem kazanmıştır.

Balıkların cinsiyet dönüşümünde genellikle hormonal yöntemler uygulanır [10]. Hormon uygulaması başarılı olmakla birlikte ve larva döneminde kullanıldığı için balığın pazarlanmasından çok önce dokulardan yok olmasına rağmen hormon kullanılmış balığın pazarlanması sorunlu olmaktadır [11]. Bundan daha önemlisi ise kullanılan hormonların doğaya karışması ve doğal yaşamı etkilemesi ile çevre sağlığını tehdit etmesidir. Ayrıca, hormon kullanılan çevrede beslenen doğal su canlılarının insanlar tarafından tüketilmesi de insan sağlığını tehdit etmektedir.

Su ürünleri sektöründe fenotipik benzerlikleri en yüksek olan populasyonlar, kaynak kullanımı ve iş gücünün azaltılması açısından tercih edilmektedir [12]. Yüksek fenotipik benzerlikler bulunan balık populasyonlarında klonal hatların oluşturulmasıyla sahip olmak mümkündür [13]. Üretim veriminin artışında izogenik klonal hatlara sahip bireyler kullanılabileceği gibi farklı izogenik klonal hatların birbiri ile çaprazlanması ile oluşturulacak melez azmanlığından da ciddi fayda sağlanabilir [14]. Klonal hatların elde edilmesinde amaç popülasyondaki genetik değişkenleri azaltılıp, ekonomik olarak değerli hatların elde edilmesidir [13]. Ginogenez ve androgenez klonal hatları oluşturmak için kullanılan yöntemlerdir [12, 13, 15] ve Gökkuşığı alabalıklarında başarıyla uygulanmaktadır [16, 17]. Gökkuşığı alabalıkları yüksek üretkenlikleri, yetiştiriciliğinin kolay olması ve kromozom manipülasyonlarına olan toleransları onların deneysel araştırmalarda klonal hatların üretilmesi için kullanılmalarına izin vermiştir [18, 19]. Ayrıca kromozom haritalarının çıkarılması, karyotiplerin çalışılmasında ve mutagenез gibi balımsel çalışmaların da temelinde yer almaktadır [20-24]. Hızlı büyüme gibi özelliklerin genetik analizlerine yönelik olarak genetik haritalarının çıkarılması ve geliştirilmesinde ginogenetik klonal hatların oluşturulması ve kullanılması çok iyi sonuçlar vermektedir [25-28]. Gökkuşığı alabalıklarında ginogenezis tekniği kullanılarak inbred klonal hatlar üretilmiştir [29-31]. Bu tip klonlarda bireylerin performansları oldukça çeşitlilik gösterir. Aşırı homozigoteye sahip bireyler çevresel değişkenlere karşı tepkilerini kaybederler ve hatta mikro çevresel farklılıklar bireyler arasındaki performansı etkileyebilir. Alabalıklarla yapılan çalışmalar klonal

hatlarla üretilen populasyonlar arasında gelişme oranı ve hastalıklara karşı direnç gibi unsurlarda uygunluklar olduğunu göstermiştir [26]. Klonal alabalık hatları arasında bazı fenotipik değişkenleri ortaya çıkarmak için doğrudan klonlar ya da saf bireylerle olan çaprazlamalarının karakteristik özellikleri karşılaştırılmıştır [26]. HNV enfeksiyonuna karşı olan direnç ve evcilleştirmeye ilgili davranışlarda da klonal hatlar arasında farklılıklar bulunmaktadır [32]. Alabalık klonal hatları Y kromozom yapılarında da farklılıklar göstermektedirler [33, 34].

Cinsiyet oranlarını kontrol etmek için ginogenezisin bir metot olarak balık çiftliklerinde uygulanma potansiyeli vardır [9, 35]. Genel olarak ginogenetik diploidlerde açılım oranlarının normal döllemeye göre düşük olduğu bilinmektedir ve basınç şoku uygulamasının da sıcaklık şokuna göre daha yüksek yaşama oranları sağladığı rapor edilmiştir [36]. Ginogenetik hatlarla yapılan ilk performans testlerinde ginogen gruplar ile kontrol grupları arasında çok farklılık görülmemiştir [21, 37, 38]. Ancak bazı hatlar arasında farklı özelliklerde değişkenler tespit edilmiştir [39].

Günümüzde ticari alabalık işletmelerinin çoğunluğu cinsiyet kontrolü yapmamaktadır. Çok az sayıda büyük ölçekli alabalık üreticisinin erkek-dişi karışık populasyonları hormon vererek erkekleştirdiği ve bunların içinden dişiden erkeğe dönüşmüş olanları tespit ederek tamamı dişi yavru üretiminde kullandığı bilinmektedir. Ancak bu yöntemin hem gereksiz olarak fazla hormon kullanımına neden olması ve çevreye verdiği zarar hem de üretim dönemine kadar genetik ve fenotipik erkeklerin birlikte stoklanarak, fazla yem kullanımı, yer ihtiyacı ve sonuçtaki dönüştürülmüş erkek sayısının belirsizliği gibi olumsuzlukları beraberinde getirmesiyle verimlilikten uzak bir uygulama olarak görülmektedir. Bu nedenle özellikle büyük ölçekli işletmeler ve yavru üreticileri için tamamı dişi yavru populasyonlarının erkeğe dönüştürülmesi önemli görülmektedir. Ginogenezisin direkt dişileştirme ya da dolaylı dişileştirme (hormonla erkekleştirme) için bu işletmelerde kullanılması mümkündür [40]. Bu amaçla, hem sadece dişiye bağlı kalıtsal özellik taşıması hem de tamamı dişi yavru üretiminde kullanılabilmesi sebebiyle ginogenezisin ticari uygulamadaki potansiyeli araştırılmıştır.

Su ürünleri yetiştiriciliğinde cinsiyet kontrolünde kullanılan tekniklerden biri de triploidizasyon tekniğidir. Triploidizasyon uygulamaları yetiştiriciliği yaygın olan

salmonlarda steril birey üretimi için kullanılmaktadır [9, 41, 42]. Yapılan çalışma sonuçlarına bakıldığında triploid balıkların diploidlere göre de daha iyi yaşama oranı, büyüme oranı ve yem dönüşüm oranı sergiledikleri rapor edilmiştir [20]. Ancak bu durum eşeyssel olgunluğun başlarına kadar kendini göstermediği, gonadal gelişim için harcayacakları enerjiyi büyüme için kullandıklarında farkların ortaya çıktığı belirtilmiştir [43]. Gökkuşığı alabalıklarında triploid bireylerin üretimi ile ilgili birçok çalışma yapılmıştır [44-46]. Türkiye'deki işletmelerde triploid alabalık üretimi yapılmamaktadır. Buna rağmen birçok alabalık üreticisi gerek denizde ve gerekse iç sularda alabalık somonu ismiyle büyük boy alabalık ($>1\text{kg}$) üretimi yapmaktadır [47]. Büyük boy alabalık üretiminde kısır balık veya kısır-dişi balık üretiminin verimliliği artırdığı bilinmektedir [48]. Bu amaçla çalışmamızda ticari işletmelerin alabalık somonu ihtiyaç miktarlarına yönelik olarak işletme koşullarında triploidizasyonun uygulanabilirliği denenmiştir.

Fenotipik farklılıklara genetik olmayan faktörlerin neden olduğu varsayılmaktadır [49]. Diğer bir ifade ile balıklarda cinsiyet oluşumunun sadece cinsiyet kromozomlarına bağlı olmayıp, cinsiyet üzerine çevresel koşulların da etkili olduğu araştırmalarla belirlenmiştir [11, 19, 24, 50]. Alabalık ve salmonlarda çevresel koşulların cinsiyet değişimi üzerine etkileri ile ilgili çok sayıda çalışma bulunmamakla birlikte [51-54] son yıllarda yapılan iki çalışma popülasyona bağlı olarak sıcaklığın alabalıklarda cinsiyet üzerinde etkili olabileceğini göstermiştir [55].

Tez çalışması kapsamında gökkuşığı alabalığı yetiştiriciliğinde verimin arttırılması ve sürdürülebilir üretimin geliştirilmesi hedefleri doğrultusunda cinsiyet kontrolü için ginogenez ve triploidizasyon yöntemleri yanında sıcaklık etkisi ticari üretim kriterleri ve beklentileri doğrultusunda işletme koşullarında çalışılmıştır. Ginogenez çalışmaları kapsamında sperm inaktivasyonu için uygulanan UV ışın süresi ve uygulama yüksekliği ile ilgili birçok varyasyon denenerek en uygun metot belirlenmiştir. Buna ek olarak döllenmeden hemen sonra uygulanan ısı şoku için farklı zamanlama ve süreler denenerek yöntem geliştirilmiştir. Farklı sıcaklık şoku zamanları ve süreleri yine triploidizasyon için denenerek yöntem geliştirilmeye çalışılmıştır. Ayrıca sıcaklığın cinsiyet oranları üzerine etkisi aileye bağlı genetik faktörler yönüyle incelenmiştir. Özet olarak bu çalışmada, ticari işletmeler için ginogenetik dişi popülasyonların oluşturulması ve triploid balık üretimi

potansiyelleri ile cinsiyete kontrolünde genotip-çevre etkileşiminin kullanılabilirliği araştırılmıştır.

1.1. Literatür Araştırması

1.1.1. Gökkuşığı Alabalıklarının Genel Özellikleri ve Biyolojisi

Gökkuşığı alabalığı kemikli balıklar (teleostei) sınıfında ve 'salmonidae' familyasının içinde yer alan bir türdür [56]. Genellikle erkekler 2, dişiler ise 3 yılda cinsi olgunluğa ulaştığı bildirilse de işletme koşullarında büyük oranda dişilerin 2, erkeklerin 1 yaşında cinsi olgunluğa ulaştıkları görülmektedir. Bu türün genel olarak üreme zamanı Aralık-Şubat ayları arasındadır. Yumurtaların gelişmeleri ve açılmaları için gerekli süre suyun sıcaklığıyla doğrudan ilişkilidir. Yumurtalarda 360 Gün-Derece, 310 Gün-Derece ve 285 Gün-Derece gibi farklı kuluçka süreleri görülmektedir [57]. Karnivor olan bu balık türü, hızlı gelişmekte ve uygun kültür şartları altında ortalama 8 ayda 300-350 gr ortalama canlı ağırlığa ulaşmaktadır. Doğal şartlarda oniki yıl kadar yaşar, 15 kg ağırlık ve 150 cm boya kadar büyürler [58].

Gökkuşığı alabalıkları kaynak suları, dere veya ırmak suları, göl ve gölet suları ve yeraltı sularında yaşamaktadırlar [59]. Su kalitesi bakımından yüksek derecede oksijenli su isterler. Çok geniş sıcaklık toleransına sahip (0-27 °C) olmakla birlikte üreme ve gelişme 9-14 °C aralığında ve yetiştiriciliği için su sıcaklığının 21°C'nin altında olması tavsiye edilmektedir [60, 61]. Diğer balık türleri gibi nötr ve nötre yakın 7-8 pH dereceli sularda iyi gelişirler. Tatlı su balığı olmakla birlikte tuzlu suya karşı dayanıklıdır ve bu nedenle hem tatlı hem de tuzlu suda yetiştirilebilir. Suda çözülmüş oksijenin 5-9 ppm civarında olması idealdir. Bu sınırın altına düşme durumunda ise gelişme gerilemektedir.

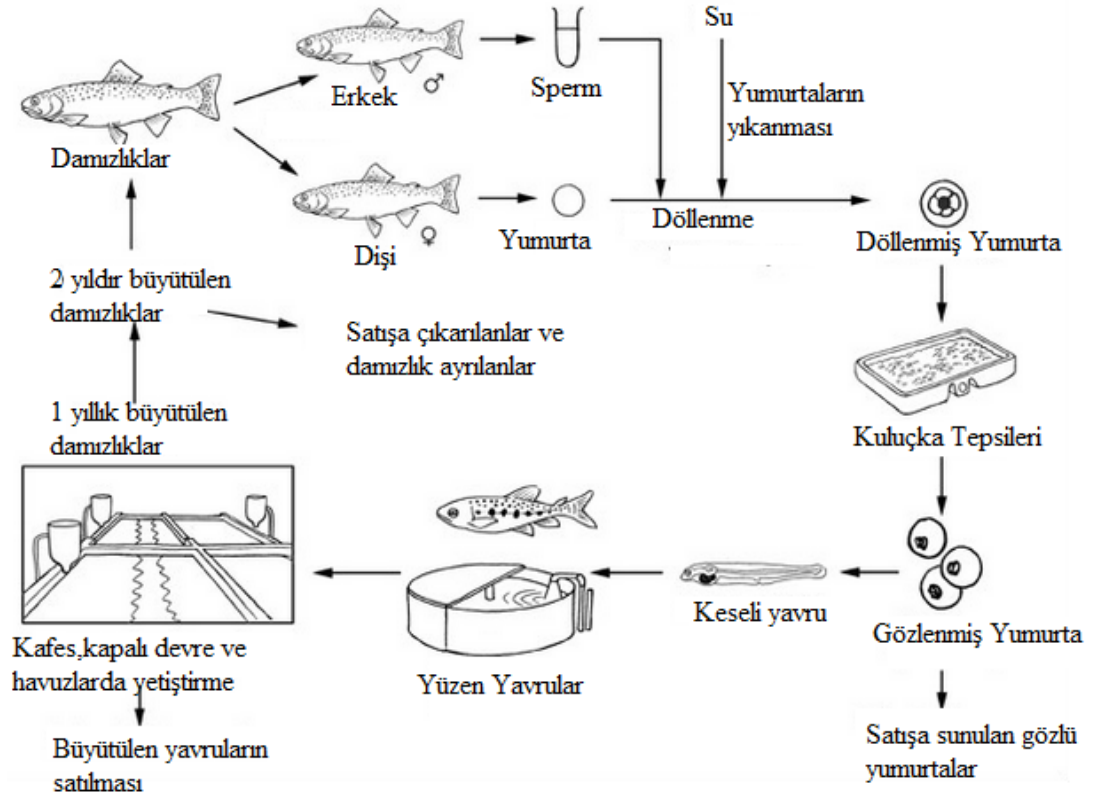
Gökkuşığı alabalığı kolay adaptasyon ve yem değerlendirme kabiliyetinin fazla oluşu, yapay yöntemlerle yumurta alımının kolaylığı ile kuluçka süresinin kısalığı, hastalıklara karşı dayanıklılığı gibi özelliklerinden dolayı yetiştiricilikte tercih edilmektedir. Gökkuşığı alabalığının Türkiye'de yetiştiriciliği ise 1970'li yıllarda kamu ve özel girişimciler tarafından başlatılmıştır. Önceleri küçük işletmeler

tarafından gerçekleştirilen üretimi, 1990'lı yıllardan itibaren entegre üretim tesislerine dönmüştür [62].

1.1.1.1. Gökkuşığı Alabalığında Büyüme

Gökkuşığı alabalıklarında erkek balıklarda 14-15 ay sonra cinsel olgunluğa ulaşması büyümelerinde gerilemelere yol açmaktadır. Cinsel olgunlukla birlikte büyüme için kullanılacak enerjinin bir kısmının cinsel faaliyetler için kullanılması alabalıklarda erkek ve dişiler arasında büyüme yönünden farklılıkların ortaya çıkmasına neden olmaktadır [7, 63]. Dişi balıklar büyüme açısından erkeklerden çok daha iyidir ve yetiştiricilikte tercih edilirler. Birçok balık yumurtalarında olduğu yumurtaları su ısısına bağlı olarak inkübasyon sürelerini tamamlarlar ve bu sürenin yaklaşık yarısında yumurtalarda gözlenme oluşur. Çıkıştan sonra, larvaların karın kısmında besin kesesi vardır. Bu kese 150-180 gün/derece sürer. Yani 12-15 güne kadar larva bu keseden besinini alabilir. Daha sonra dışsal beslenmeye geçilebilir [62].

Larvaların yumurtadan çıkıştan sonraki 40. günde ortalama canlı ağırlığı 305 mg civarında olduğu ve 133. günde 19.2 gr'a ulaştığı bildirilmiştir [64]. Döllenmeden sonra 120-130 günde 10 °C su sıcaklığında 4-5 gram canlı ağırlığa, 14 °C su sıcaklığında 140. günde 20 gram canlı ağırlık performansları da rapor edilmiştir [65]. Büyütme için yemlemeye en uygun su sıcaklığı ise 14-16 °C'dır (Şekil 1.1). Gökkuşığı alabalıklarının larva yeminde % 40, yavru yeminde % 30 ve sofralık balıkların yeminde ise % 30 protein bulunması genel kullanım oranlarıdır. Alabalık yemlerinde yağ içeriği başlangıçta % 4-5 oranında önerilmektedir. Rasyonda protein miktarının yüksekliği ile birlikte yağ oranı % 8'e kadar artırıldığında, yem değerlendirme ve balığın et kalitesi iyileşir. Alabalık pelet yemlerinde % 8-12 oranında yağ ve % 42-50 oranında protein üst sınır olarak kabul edilmektedir [66].



Şekil 1.1: Gökkuşağı alabalıklarında büyüme evreleri [3]

1.1.2. Balıklarda Cinsiyet ve Etkileyen Faktörler

Balıklarda cinsiyet belirleme sistemi memelilerin sabit cinsiyet belirleme sisteminin tam tersine çok değişkendir ve bireylerin genotipik olarak belirlenen cinsiyetleri bile dış faktörlerin etkisine maruz kalabilirler [67]. Balıklarda cinsiyet belirleme mekanizmaları ve cinsiyet farklılaşması modelleri büyük çeşitlilik gösterir, bu nedenle bilimsel olarak büyük ilgi uyandırır [68]. Balıklarda cinsiyet belirleme ve farklılaşma süreçlerine bilenen genetik yapıya ek olarak, sıcaklık, pH ve sosyal şartlar gibi çevresel faktörlerin güçlü etkileri vardır [11, 51].

1.1.2.1. Gonadal Gelişim

Birçok balık türünde cinsiyet genetik cinsiyet belirleme (GSD) mekanizması tarafından genotipik olarak belirlenmektedir. Balıkların üreme organları genellikle gonadlar olup bunlar dişide ovaryum, erkekte ise, testis adını alırlar. Ovaryumların ağırlıkları türlere göre değişmekle beraber, olgun oldukları zaman balık ağırlığının %

25'i kadar olabilirler. Ovaryumda gelişen yumurtalar genellikle yumurta kanalı ile vücut dışına atılırlarsa da bazı balıklarda (örneğin, yılan balıkları, alabalıklar) yumurta kanalı tamamen körelmiş olup, yumurtalar ve spermiler sadece bir delikle dışarı atılabilirler. Testisler ise, erkek üreme organları olup genellikle bütün tatlı su balıklarında çifttir. Ağırlıkları da ovaryuma nazaran daha az olup, ergin halde iken en çok vücut ağırlığının % 12 'si kadar olabilirler [10].

Balıklarda eşey tayin mekanizması bazı türlerde tamamen kromozomal temellere dayanırken, diğer bazı türlerde ise eşey tayini üzerine çevresel faktörlerin etkileri görülür [24]. Balıklarda cinsiyet farklılaşmasına gelince hermafrodit ve ayrı eşeyli şeklinde dağılım gösterirler [69]. Birçok ayrı eşeyli türde farklılaşmamış bipotent gonad içerisinde testis ya da ovaryum doğrudan gelişir.

1.1.2.2. Eşey Tayini

Eşey tayini bipotent gonad hücresinin ovaryum ya da testis olarak gelişmesi ile meydana gelmektedir [70]. Balıklarda cinsiyet belirleme mekanizması genetik cinsiyet belirleme mekanizması, poligenik cinsiyet belirleme mekanizması ve çevresel cinsiyet belirme mekanizmalarından oluşur [71].

Genetik eşey tayini bir seri karmaşık biyokimyasal etkileşimler içerir ve bunlar genetik eşey tayinine ve farklılaşmasına yol açarlar. Genetik eşey tayin mekanizmasında dişi/erkek (1:1) oranı eşit olmaktadır [72]. Gökkuşağı alabalıklarında cinsiyet kromozomlarında heterogametik erkekler (XY) bulunur [73]. Poligenik cinsiyet belirleme mekanizmasında ise cinsiyet belirleyici genlerin cinsiyet kromozomlarında (heterokromozomlar) olduğu gibi cinsiyet ile ilgili tüm genetik faktörlerin toplandığı otozom kromozomlarında bulunmasıyla cinsiyet belirlenebilmektedir [18, 71].

Çevresel cinsiyet belirleme mekanizmasında (ESD), bazı canlılarda embriyonik ya da larval gelişim boyunca cinsiyeti etkileyen sıcaklık, pH, gün ışığı gibi çevresel faktörler tespit edilmiştir. Çevresel faktörler cinsiyet belirlemede etkindir ve genetik olarak cinsiyet farklılaşmasında (gonadal safhada) direkt etkide bulunmaktadır. Çevresel etkiler ile genotipik dişi bireyler fenotipik olarak erkek özellikleri göstererek sperm ya da genotipik erkek bireyler fenotipik dişi özellik göstererek yumurta

üretebilmektedirler. Ayrıca erkek ve dişi bireyler fenotipik bazı özelliklerini kaybederek steril olmaktadır [29, 51].

1.1.2.3. Eşey Tayinini Etkileyen Faktörler

Az gelişmiş omurgalıların fenotipik cinsiyetin farklılaşması, memelilerdekine oranla sıcaklık (balıklar, amfibiyanlar ve sürüngenler), sosyal faktörler (balıklar), ksenobiyotikler (balıklar ve sürüngenler) ve hormonal müdahaleler (balıklar, amfibiyanlar, sürüngenler ve kuşlar) gibi çevresel faktörlere karşı çok daha hassastırlar. Steroid hormonları kullanılan uygulamalarda kısmen ya da tamamen fonksiyonel fenotipik cinsiyete dönüşümlerin teşvik edildiği ve bu yüzden memeli olmayan omurgalıların eşey farklılaşması sürecinde hormonların önemli rol oynadığı bilinmektedir [74, 75]. Eşey tayin sistemi üzerine sıcaklık [50], pH, gün ışığının süresi, radyasyon, su kalitesi, stok yoğunluğu gibi çevresel faktörlerin, türlerde bireysel davranışlara bağlı sosyal faktörlerin [51, 76] çok güçlü etkileri vardır.

1.1.2.4. Çevresel Faktörler ve Sıcaklığın Cinsiyete Etkisi

Sıcaklık, canlılarda cinsiyeti belirleyen en önemli çevresel faktördür [77]. Sıcaklık ile cinsiyet belirlenmesi (TSD) birçok kaplumbağa [78], timsah [79, 80] ve bazı balık türlerinde [55, 81, 82] rapor edilmiştir. Bu omurgalılarda, larval veya embriyonik gelişimin özel bir safhası boyunca gonadal cinsiyet inkübasyon sıcaklığı ile belirlenmektedir. Bazı türlerde, düşük sıcaklıkta erkek bireyler üretilirken, yüksek sıcaklıkta dişi bireyler üretilmektedir. Devlin ve Nagahama (2002)'ya göre balıkların yetiştirildikleri ya da yaşadıkları ortamlardaki sıcaklık dalgalanmaları, onların eşey tayinini belirleyen biyokimyasal yol izini değiştirebilir ve bireylerde erkek ya da dişi gelişimlerini tetikleyebilir [24].

Birçok sıcaklığa duyarlı balık türünde sıcaklık arttığında erkek oranı artarken, düşük sıcaklıklarda ise ovaryumun gelişimi tetiklenmektedir [50]. Sıcaklıkla cinsiyet belirlenmesi (TSD) birçok balık türünün farklı cinslerinde tespit edilmiştir [77, 81, 83, 84]. Bununla birlikte kemikli balıklarda genetik olarak cinsiyeti belirlenen türler üzerinde sıcaklığın etkisi fazlasıyla rapor edilmiştir [50]. XY cinsiyet kromozomlarına sahip gökkuşağı alabalıklarında, cinsiyetin larval gelişimi süresince

oluşan sıcaklık değişimlerinden etkilendiği yönünde önemli deliller bulunmuştur [11, 55, 82].

1.1.2.5. Eşey Tayininde Kritik Hassas Periyot

Cinsiyet farklılaşmasında sıcaklığın etkisinin başarısı uygulama zamanı ile doğrudan orantılıdır. Sürüngenler [85] ve amfibiyenler [86] için çevresel faktörlerin cinsiyet farklılaşmasına etkisi yumurtaların veya yavruların gonadal eşey farklılaşması sürecinde ya da öncesinde uygulanması ile gerçekleştiği rapor edilmiştir. Balık türlerinde çevresel faktörlerin cinsiyet farklılaşması üzerine etkileri türden türe farklılıklar göstermektedir. Balıklar erken gelişim evresi boyunca morfolojik, anatomik, fizyolojik ve davranış olarak büyük değişimler geçirirler. Bunlar embriyodan sonra larvaya ve sonra juvenile olan değişimler gibi özetlenebilir. Bu yüzden sıcaklık uygulamasının süresi balığın yaşından çok boyutuyla ilişkilidir [87]. Balıkların metamorfozisin ortasına farklı kronolojik zaman ve yaşlarda ulaştıklarını ve bunun sıcaklığın gelişim ve büyümeye olan etkisinden kaynaklandığı bildirmiştir [88]. Bununla birlikte sıcaklıkla müdahaleler hormonal müdahalelere benzer şekilde kritik duyarlı periyotta uygulanmalıdır [51]. Fonksiyonel erkekleştirme eşey farklılaşmasının kritik bir periyodunda yetiştirme ortamında yüksek sıcaklıkların uygulanması ile sağlanabilmektedir [72, 89]. Yapılan çalışmalardan biri pasifik salmonunda embriyonik gelişim sırasında % 50 açılımın tamamlanmasından sonra başlayıp, yumurtaların tamamının açıldığı günden sonraki 17. güne kadar çevresel faktörlere maruz bırakılarak cinsiyet farklılaşması takip edilmiştir [90-92]. Gökkuşaklı alabalıklarında döllenmeden sonraki 40. ve 70. günler arası uygulanan ortalama 16.5 °C'lık yüksek sıcaklığın populasyonlarda tek yönlü cinsiyet geliştirmede önemli bir etkisi görülmemiştir [11].

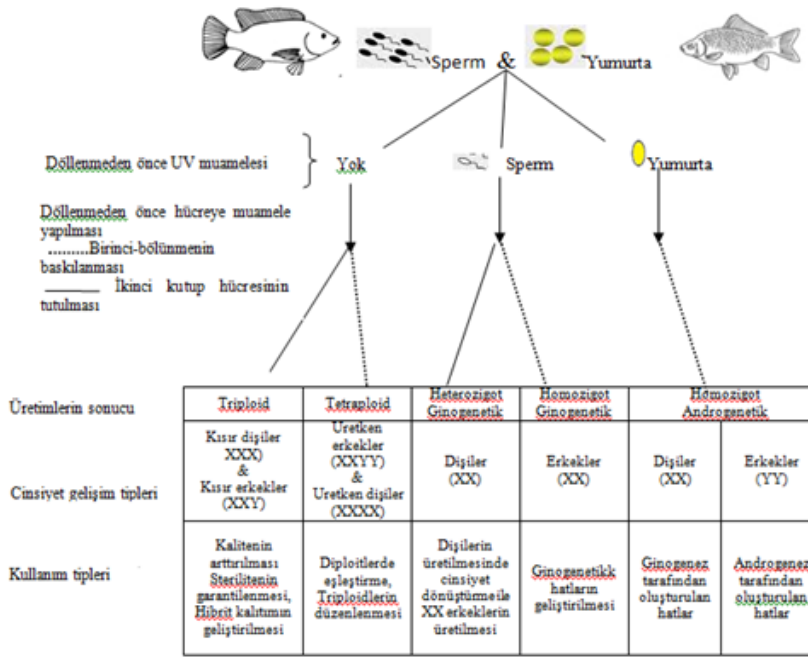
1.1.3. Balıklarda Cinsiyet Kontrolü

Yetiştiricilikte genellikle cinsiyetlerden birinin veya her ikisinin erken cinsiyet olgunluğuna ulaşması ve bunun sonucu; büyüme, yem değerlendirme oranı, davranış, hastalık direnci, vücut ve et renginde meydana gelen olumsuz değişiklikler nedeniyle cinsiyet kontrolü uygulamaları yapılır [93]. Balıklarda memeliler ve kuşların aksine döllenme ve embriyonun gelişimi dış ortamda gerçekleşmektedir [41]. Ekonomik olarak değerli olan ve yetiştiriciliği yapılan bazı türlerde bu özelliklerinden

yararlanılarak döllenmiş yumurta ya da embriyoya müdahale edilerek cinsiyet kontrolü yapılmaktadır. Fenotipik cinsiyetin değiştirilmesi ile oluşan ikincil eşeysel özelliklerin bir sonucu olarak bazı türlerde gelişim farklılıkları görülür. Ekonomik olarak dişi ve erkekler arasındaki bu farklar önemlidir ve cinsiyet kontrolünü zorunlu kılmaktadır. Yetiştiriciliği yapılan türlerde monoseks veya kısır bireyler üretmek için cinsiyet kontrolü (dişileştirme, erkekleştirme, kısırlaştırma), hibridizasyon, ginogenezis, androgenezis, poliploidi gibi biyoteknolojik metotlardan faydalanılır [94].

Cinsiyet kontrolü metodu ile monoseks ve kısır populasyonlar oluşturulmaktadır [4, 65]. Bu metotta kısaca i) Doğrudan hormonal uygulama ile yapılan dişileştirme ve erkekleştirme, ii) Dolaylı hormonal uygulama olarak XX genotipli erkek damızlık üretimi ve YY genotipli süper erkek damızlık üretimi, iii) Kimyasal, hormonal, ploidizasyon ve radyasyon uygulamalarıyla yapılan kısırlaştırma metotlarıdır. Erken embriyonik dönemde embriyo testisler ve ovaryumların yapı taşlarını içerir ancak fenotipik olarak testis ya da ovaryum değildir. Balıklarda embriyonun gelişimini tamamlaması ile balık fenotipik dişi ya da fenotipik erkek olur. Fenotipik cinsiyetin değiştirilebileceği belli bir dönem vardır ve türden türe değişir [41]. Bu dönemde yapılabilecek bir manipulasyon cinsiyet kontrolünü mümkün kılar [41, 65]. Fenotipik cinsiyet üretmek için yavru balıklar talebe göre androjen ya da östrojen içeren diyetle beslenirler. Hormon uygulamalarında hiçbir sağlık problemi gözlenmemesine rağmen pazarlamada sorunlar yaşanmakta ve tüketici talepleri azalmaktadır. Bu nedenle monoseks stokların üretiminde hormonlar dolaylı olarak kullanılarak tek cinsiyetli döller meydana getirme yeteneğine sahip olan damızlık stoklar üretilmektedir [95]. Bu yüzden potansiyel erkekler östrojenlerle dişileştirilir ve potansiyel dişiler androjenlerle erkekleştirilebilir [10]. İlk yem almaya başlayan larvalara belli bir süre androjen hormonları uygulandığında XX genotipli erkek bireyler elde edilir. Östrojenlerle yapılan uygulamalarda ise XY genotipli dişi bireyler elde edilir. Hormonal uygulamada hormonun yapısı, diyetteki konsantrasyonu, uygulamaya başlama zamanı, yemleme oranı ve süresi önemli faktörlerdir [4]. Cinsiyet dönüşümünde hormon kullanımı çok farklı yöntemlerle olabilmektedir.

Balıklarda cinsiyet dönüşümleri için hormonal uygulamalar, çevresel etkiler yanı sıra kromozom manipulasyonları ile de yapılmaktadır. Kromozom manipulasyonları ile haploid, triploid, tetraploid, ginogenez ve androgenez teknikleri geliştirilmiştir. Kromozom manipulasyonu tekniklerinde kromozom sayıları sıcaklık şokları, basınç şokları ya da kimyasal şoklarla değiştirilebilmektedir. Bu fiziksel şoklar yeni döllenmiş yumurtalara, mitoz ve mayoz bölünmeye bağlı olarak şoklama zamanı, süresi ve doğru sıcaklık veya basınç oranına bağlı olarak uygulanmaktadır.

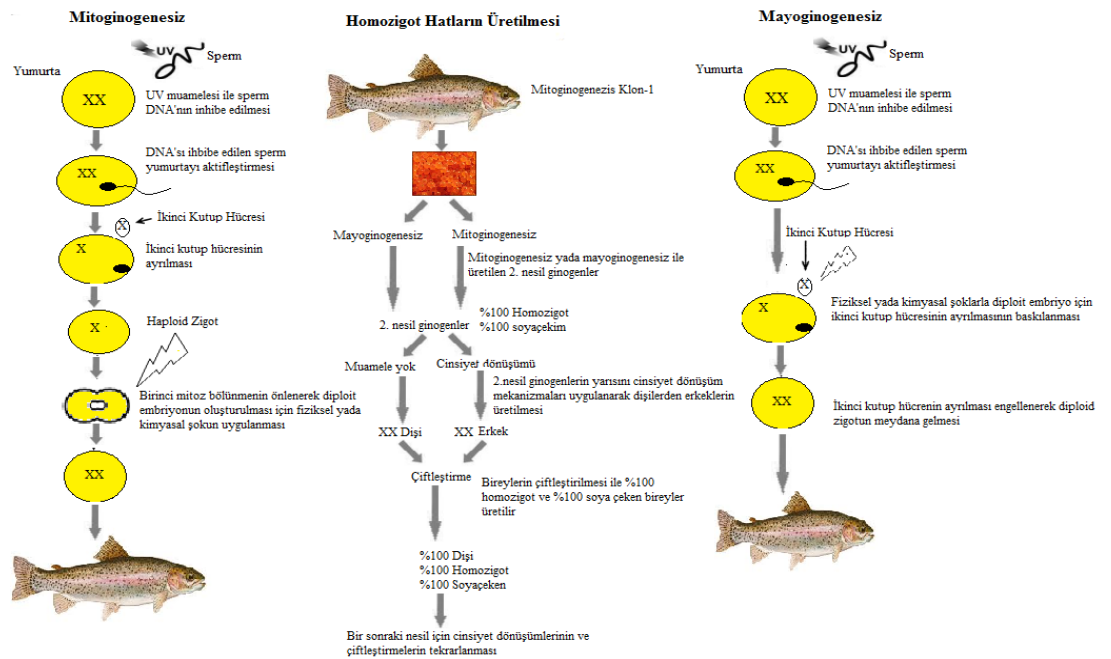


Şekil 1.2: Balıklarda kromozom manipulasyonları [96]

Triploid üretim tekniğinde amaç popülasyonlarda kısırlaştırma ve büyümeyi hızlandırmaktır [29, 94]. Bu nedenle döllenmiş yumurtalar şoklanarak triploidler meydana getirilir [97]. Gonad gelişimi olmadığından gonad gelişimi için harcanacak enerji büyümeye harcanır ve gelişme oranı arttırılmış olur [43]. Gökkuşluğu alabalıklarında [98] ve diğer bazı türlerde başarı ile uygulanmıştır.

Haploidler ebeveynlerden birinin genetik materyalinin X, γ , UV ışınları ya da kimyasal ile inhibe edilmesiyle tek kromozomlu bireylerin üretilmesidir. Kromozom manipulasyon tekniklerinde X, γ , UV ışınları kullanılıyor olsada ucuz ve kullanışlı olması nedeniyle en sık kullanılanı UV ışınlarıdır [18, 29, 99].

Ginogenez akraba hatların ve tek cinsiyetli dişi popülasyonların üretilmesi amacıyla uygulanır [12, 39, 100]. Bu teknikte UV ışınları ile DNA materyali inhibe edilen sperm hücreleri ile normal yumurta hücresinin döllenmesi ve arkasından embriyonun diploidlik durumunu sağlamak amacıyla fiziksel veya kimyasal şokların uygulanmasıyla gerçekleştirilir [30, 101]. Ginogenez ile üretilen bireyler sadece dişi bireyden gelen kalıtım materyali içerirler. Ginogenez tekniği embriyonun gelişimi sırasında farklı zamanlarda uygulanan fiziksel ya da kimyasal nedeniyle ikiye ayrılmaktadır. Mayoginogenez döllenmeden hemen sonra fiziksel veya kimyasal şoklar ile ikinci kutup hücresinin ayrılmasının durdurulması ve 2N kromozomlu ginogenetik embriyoların elde edilmesi ile gerçekleşir [102, 103]. Üretilen mayotik ginogenler yüksek derecede akrabadırlar, fakat bunlar mayoz sırasında gerçekleşen krosing-over nedeniyle kısmen heterozigottur [104]. Mayoginogenez bireyler bu nedenle akrabalı yetiştirme aracı olarak çok kullanılmamakla beraber, kromozom haritalanması ve cinsiyet belirleme sisteminde kullanılabilmektedir [4]. Mitoginogenez ise genomum kendini eşlemesinden sonra ilk mitotik bölünmenin engellenmesiyle oluşur ve tamamen homozigot bireyler üretilir. Mitoginogenez ile 2 nesil sonrasında genetiksel olarak benzer balıkların homozigot hatları oluşturulur [105]. Ginogenez tekniği gökkuşağı alabalıklarında birçok defa uygulanmıştır [106, 107].



Şekil 1.3: Balıklarda ginogenez uygulamaları

2. MATERYAL ve METOT

2.1. Materyal

Bu çalışma İzmir ili Bergama ilçesi ve Muğla ili Fethiye ilçesinde bulunan iki ayrı gökkuşığı alabalığı üretim çiftliğinde yürütülmüştür. Denemeler hem kış döneminde normal sağım koşullarında hemde yaz döneminde fotoperiyod koşullarında yapılmıştır.

Nihai deneme dizaynının oluşturulması için kış yumurtası ile Bergama'da bulunan çiftlikte ön denemeler yürütülmüş ve buradan elde edilen sonuçlara göre Fethiye yaz (fotoperiyot) ve kış sağım denemeleri planlanmıştır.

Ön denemelerde ploidizasyon için 10 erkek ve 16 dişi anaç ve sıcaklık denemeleri için ön çalışmalarda 9000 adet besin keseli alabalık yavrusu kullanılmıştır. Fethiye'de yapılan çalışmalarda yaz döneminde 32 erkek ve 13 dişi anaçtan, kış döneminde yapılan çalışmalarda 22 erkek ve 16 dişi anaçtan sağım yapılmış (Şekil 2.1) ve ayrıca sıcaklık denemelerinde 14400 adet besin keseli alabalık yavrusu kullanılmıştır.



Şekil 2.1: Gökkuşığı alabalık anaçlarının sağımları

Çalışmada kimyasal madde olarak sadece NaCl kullanılmıştır. Balık sperm hücreleri normal su ile temaslarında motilitelerini kaybederler. Denemelerde UV muamelesine tabi tutulacak sperm hücreleri % 0.7'lik NaCl solüsyonu ile seyreltilmiştir [101]. Böylelikle spermilerin muamele sırasında ve sonrasında kullanım zamanına kadar canlılığı sağlanmıştır. % 0.7'lik NaCl solüsyonunun hazırlanmasında NaCl tartılmasında 0.01 hassasiyette terazi kullanılmıştır (Şekil 2.2).



Şekil 2.2: Hassas terazi ve NaCl

Alabalık spermeleri ışık mikroskobu (Şekil 2.3) altında UV muamelesi öncesi ve sonrasında motiliteleri incelenmiştir. Spermilerin inaktivasyonları için 254 nm UV lamba düzeneği ve ışığın tam altına da 60-80 rpm kapasiteli bir manyetik karıştırıcı düzeneği kurulmuştur (Şekil 2.3). UV lamba düzeneği farklı yüksekliklerde hareket edecek şekilde tasarlanmıştır.



Şekil 2.3: Işık mikroskobu, UV lamba, manyetik karıştırıcı

UV ışık altında DNA'sı inaktive edilen sperm hücreleri normal yumurtalarla dölleme işlemi yapılmıştır. Döllenmeden sonra sıcaklık şoku (26-27 °C) 5, 10 ve 20.

dakikalarda olmak üzere farklı zamanlarda başlatılarak diploid embriyo eldesi sağlanmıştır. Bu aşamada 10 ve 20 dakika olarak iki farklı sıcaklık şoku süreleri denenmiştir. Sıcaklık şoku için ısıtılmalı su banyosu kullanılmıştır (Şekil 2.4). Sıcaklık şokundan hemen sonra embriyolar soğuk su (13-14 °C) içine alınmıştır. Su sıcaklıkları alkollü iki termometre ile sürekli kontrol altında tutulmuştur.



Şekil 2.4: Isıtmalı su banyosu ve balık yumurtaları için hazırlanan soğuk su havuzu

Çalışma boyunca yumurtalar ve sperm hücreleri buz üzerinde muhafaza edilmiştir. Kullanılan tüm malzemelerin kuru ve temiz olmasına dikkat edilmiştir. Etiketlemeler detaylı bir şekilde takip edilmiştir. Tuzlu su solüsyonu ve sperm için ayrı plastik pipetler kullanılmış ve normal spermilerin inaktive sperm uygulamalarına karışma riski ortadan kaldırılmıştır (Şekil 2.5).



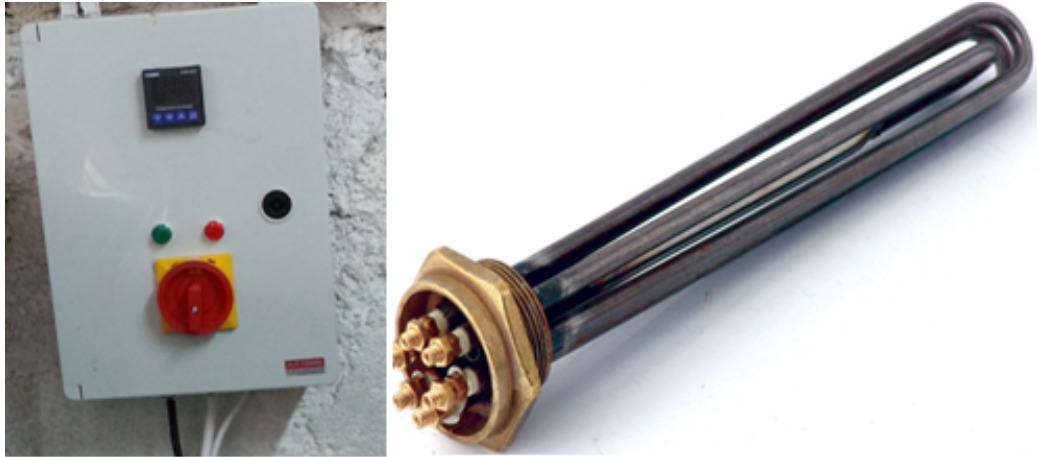
Şekil 2.5: Denemelerde kullanılan buz, süzgeç, petri kabı, örneklem tasları

Dölleme işlemleri, UV süreleri, şoklama zamanı ve şok sürelerinin takibi için ayrı kronometreler tutulmuştur (Şekil 2.6).



Şekil 2.6: Çalışmada kullanılan kronometreler

Sıcaklığın cinsiyet oranlarına etkisinin takip edildiği denemede kapalı devre bir sistem oluşturulmuştur ve suyun sıcaklığını sabit olarak 18 °C tutmak için 3000 Watt termostatlı su ısıtıcısı kullanılmıştır (Şekil 2. 7).



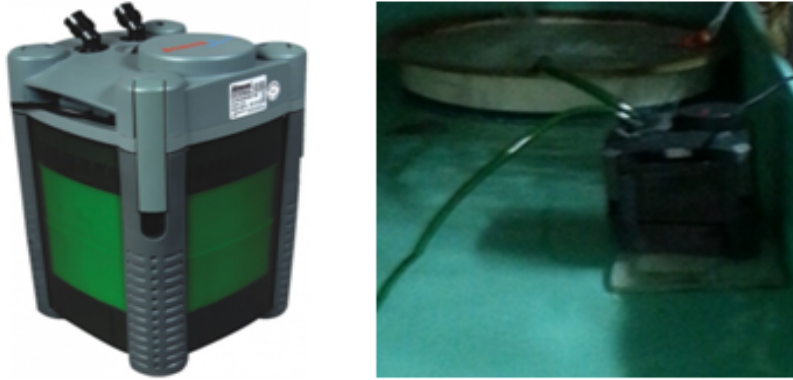
Şekil 2.7: Termostatlı su ısıtıcısı ve sıcaklık kontrol panosu

Oluşturulan kapalı devre sistemde suyun havalandırılması için hava motoru kullanılmıştır. Hava motorunun sürekli çalışmasının motora zarar verebilme ihtimali düşünülerek motor zamanlayıcı ile birlikte çalıştırılmıştır. Bir saatlik dilimde 45 dk çalışan motor 15 dk duracak şekilde programlanarak oksijen seviyesi takip edilmiştir (Şekil 2.8).



Şekil 2.8: Hava motoru ve zaman ayarlayıcı

Kapalı devre tank sisteminde toplam su hacmi 750 litre olup tankın giriş kısmından çıkış kısmına doğru ayarlanan su motoru ve filtre ile sistemin filtrasyonu sağlanmıştır. Sistem içinde tankın her noktasındaki sıcaklık değeri aynı olmuştur (Şekil 2.9).



Şekil 2.9: Su pompası

Dişi erkek oranı 1:1 veya 1:2 olarak oluşturulan ailelerle deney grupları oluşturulduktan sonra elde edilen yumurtalar etiketlenen kuluçka dolaplarına yerleştirilmiştir (Şekil 2.10).



Şekil 2.10: Fethiye (solda) ve Bergama’da (sağda) kullanılan kuluçka dolapları

Sıcaklık denemesi 3000 Watt ısıtıcı, su motoru, havalandırma motoru ve Şekil 2.11’de görüldüğü gibi tasarlanan tank içerisinde gerçekleştirilmiştir.



Şekil 2.11: Sıcaklık uygulamalarının yapıldığı tank düzeneği

Çalışmada kullanılan yem alabalıklarda rutin olarak larvalarda ilk yeme başlamada kullanılan standart ticari larva yemi ve sonrasında büyüme aşamasınca takip edilen ticari büyütme yemleri Çizelge 2.1’de verilmektedir.

Çizelge 2.1: Ekstrude alabalık başlangıç (larva) yemi

TEMEL BESİN DEĞERLERİ		
Nem	max. (%)	8
Ham protein	min. (%)	60
Ham Yağ	Max (%)	10
Ham selüloz	max. (%)	1,5
Ham kül	max. (%)	11
Sindirilebilir enerji	kcal / kg	4087
AMİNOASİTLER		
Lisin	Min	3
Metionin	Min	1,4
Sistin	Min	0.60
MAKRO ELEMENTLER		
Kalsiyum	min / max	1-2
Toplam fosfor	Min	1,5
VİTAMİNLER		
W3 HUFA	(mg/g)	15
Vitamin A	IU / kg	15000
Vitamin C	mg / kg	350
Vitamin D ₃	IU / kg	2500
Vitamin E	mg / kg	350
Vitamin K3	IU / kg	20

Çizelge 2.2: Ekstrude alabalık yavru yemi

TEMEL BESİN DEĞERLERİ		
Nem	max. (%)	9
Ham protein	min. (%)	55
Ham Yağ	Max (%)	14
Ham selüloz	max. (%)	1,5
Ham kül	max. (%)	11
Sindirilebilir enerji	kcal / kg	4087
AMİNOASİTLER		
Lisin	min	3
Metionin	min	1,4
Sistin	min	0.60
MAKRO ELEMENTLER		
Kalsiyum	min / max	1-2
Toplam fosfor	min	1,5
VİTAMİNLER		
W3 HUFA	(mg/g)	15
Vitamin A	IU / kg	15000
Vitamin C	mg / kg	350
Vitamin D ₃	IU / kg	2500
Vitamin E	mg / kg	350
Vitamin K ₃	IU / kg	20

2.2. Metot

2.2.1. Çalışma yerleri

Tez çalışmaları iki farklı işletmede farklı zamanlarda yapılmıştır. Kış döneminde ilk ön çalışmalar Bergama’da yürütülmüştür. Ocak-Nisan arasında yapılan bu çalışmalarda su sıcaklığı 3-8 °C arasında oksijen değeri ise 9 mg/ml olarak ölçülmüştür. Tez çalışmalarına ön deneme verileri dikkate alınarak hazırlanan planlama çerçevesinde Fethiye’de bulunan özel bir alabalık çiftliğinde devam edilmiştir. Bu çalışmalar yaz dönemi ve kış döneminde olmak üzere iki aşamadan oluşmaktadır. Yaz döneminde fotoperiyot uygulanan anaç alabalıklardan

yararlanılmıştır. Haziran-Ağustos ayları arasında yapılan bu çalışmalarda suyun sıcaklığı 13.4 ± 0.95 °C, oksijen 8.3 ± 1.7 mg/lt ve pH 7.73 ± 0.4 olarak ölçülmüştür. Kış döneminde yapılan çalışmalarda suyun sıcaklığı 10 ± 1.2 °C, oksijen 9 ± 0.89 mg/lt ve pH 7.6 ± 0.3 olarak ölçülmüştür.

2.2.2. Anaçların Sağımı

Yumurta ve sperm sağımları için temiz ve kuru kaplar kullanılmıştır. Sperm hücrelerinin içerisinde bir damla su bile olması sperm hücrelerinin motilitesini etkileyebilmektedir. Bu nedenle özellikle sperm sağımından önce anacın anüs kısmı kurulanmış ve kuru bir beher içine sağım gerçekleştirilmiştir.

2.2.3. Sperm İnaktivasyonu

Sperm genetik materyalinin inaktivasyonunda 254 nm ve 15 W UV lamba kullanılmıştır. UV lamba düzeneği denemeden 15 dk önce çalıştırılmıştır. Sperm hücreleri UV lamba muamelesine tabi tutulmadan önce % 0.7'lik NaCl solüsyonu ile 1:1 oranında seyreltilmiştir. UV muamelesinin başarılı olması için 80 mm petri kabında maksimum 2 mm yükseklikte olacak şekilde sperm karışımı kullanılmıştır [28, 108]. Bu çalışmada UV uygulamaları birkaç farklı yükseklik ve sürede denenmiştir. UV muamelesinde ve diğer tüm aşamalarda süreler kronometre ile dikkatlice takip edilmiştir.

Çizelge 2.3: Çalışmalarda uygulanan değişkenler

Uygulama Yeri	Sağım	Sperm (ml)	%7 NaCl (ml)	UV	
				Yükseklik (cm)	Süre (dk.)
Ön Çalışmalar-Bergama Kış Yumurtası	1,2,3	1	1	5,5	2
	4	0,5	0,5	10	2
	5			15	2
	6			5	2
	6,7			3	2
	7			7	3
Fethiye Yaz Yumurtası	1,2,3	1	1	15	2
	4			15	4
	5			5	2
	6			5	3
	7			10	2
	8			42	3
Fethiye Kış Yumurtası	1,2,3	1	1	15	2
	3			15	4
	4			5	2
	5			5	3
	6			10	2
	7			42	3

2.2.4. Haploid bireylerin elde edilmesi

Çalışmada haploid bireylerin takibi UV aşamasının başarısı ve ginogen grupların kontrolü olmasından dolayı önemlidir. DNA materyali UV ışınları ile inaktive edilen ve solüsyonla seyreltilmiş sperm, haploid ve ginogen olarak etiketlenmiş örneklem taslarında bulunan yumurtalar üzerine her bir gruba eşit miktarda olacak şekilde 1'er ml eklenmiştir. Kontrol grupları olarak etiketlenen örneklem tasındaki yumurtalar üzerine ise inaktive edilmemiş (normal) sperm (haploid ve ginogenle eş zamanlı olarak) yine NaCl (%7) solüsyonu ile seyreltilmiş ve toplamda 1 ml karışım olarak eklenmiştir. Yumurta ve spermier dikkatlice karıştırılmış ve üzerine su eklenerek 5 dk döllenmeye bırakılmıştır. Her bir aşamada tutulan süreler önemli olduğundan her grup için ayrı bir kronometre tutulmuş ve sürelerin sağlıklı takip edilmesi için kaydedilmiştir. Sürelerin bitiminde yumurtalara yıkama işlemi yapılmış ve grupların üzeri su ile doldurulmuştur. Çalışmanın başlamasından hemen önce inkübasyon

dolaplarında gerekli planlamalar ve etiketlemeler yapılmıştır. Kontrol grubu ile haploid grup inkübasyon dolaplarında kendileri için etiketlenmiş gözlere konulmuştur.



Şekil 2.12: Haploid, ginogen ve kontrol gruplarının döllenme aşamaları

2.2.5. Ginogenetik diploid bireylerin elde edilmesi

Diploid ginogenetik embriyonun elde edilmesinde fiziksel ya da kimyasal şoklar uygulanmaktadır. Ginogenesis; inaktive edilen spermle yumurtaların döllenmesi ve arkasından basınç veya sıcaklık şoku uygulanarak diploid ($2n$) üretimin sağlanmasıdır [109]. Çalışmadan diploid ginogenetik embriyo elde edilmesinde fiziksel şoklardan biri olan sıcaklık şoku uygulanmıştır. Haploid üretimde kullanılan inaktive spermle döllenmiş ve şoklama için beklemeye alınan ginogen gruplar döllenmeden sonraki üç farklı zamanda 5. dk., 10. dk. ve 20. dk olacak şekilde sıcaklık şokuna alınmışlardır. Çalışmada 26°C sıcaklıktaki su banyosunda 10 dk ve 20 dk olmak üzere iki farklı şok süresinde sıcak su içinde bekletilmiştir. Süreler kronometre ile takip edilmiştir. Süre bitiminde tüm gruplar inkübasyon dolaplarına yerleştirilmiştir ve titizlikle etiketlemeleri yapılmıştır.

2.2.6. Triploid Bireylerin Elde Edilmesi

Çalışmada alabalık somonu üretiminde önemli olan triploid (kısır) bireylerin üretilmesi çalışmaları için Bergamada ön denemeler yapılmıştır ve buradaki sonuçlara göre Fethiye denemeleri planlanmıştır. Erkek bireylerden sağılan spermle, kontrol ve triploid örneklem taslarında bulunan yumurtalar üzerine 1'er ml olacak şekilde eşit olarak eklenmiştir. Yumurta ve spermle dikkatlice karıştırılmış ve su eklenerek 5 dk döllenmeye bırakılmıştır. Döllenme süresinden sonra yıkanan triploid grubu yumurtalara döllenmeden sonraki üç farklı zamanda 5. dk., 10. dk. ve 20. dk olacak şekilde sıcaklık şoku uygulanmıştır. 26°C sıcaklıktaki su banyosunda 10 dk ve

20 dk olmak üzere iki farklı şok süresi uygulanmıştır. Sıcaklık şokundan sonra hemen soğuk suya alınan yumurtalar inkübasyon dolaplarındaki yerlerine kuluçka için yerleştirilmiştir.

Çizelge 2.4: Ginogen, haploid ve triploid eldesi

Dişi ♀ Gökkuşuğu Alabalığı (<i>O. Mykiss</i>) Erkek ♂	Oncorhynchus mykiss	
	UV ile DNA'sı inhübe edilen sperm	Normal Sperm
Muamele görmemiş yumurta	Haploid ginogenetik	Diploid Kontrol Grubu
Döllenmeden sonra ısı şoku (26°C- 27°C)	Diploid ginogenetik bireyler	Triploid Bireyler

2.2.7. Sıcaklığın Cinsiyet Üzerine Etkisinin Araştırılması

Çalışmada gökkuşuğu alabalıklarının cinsiyet kontrolünde sıcaklığın etkisinin test edilmesi için sıcaklık denemeleri yapılmıştır. Ön denemeler içi Bergama'da oluşturulan sıcaklık gruplarının hepsi hastalık sebebiyle ölmüştür. Bu nedenle sıcaklık denemeleri Fethiye'de tekrarlanmıştır. Sıcaklık uygulamaları bir dişi bir erkek anaçtan sağılarak normal döllenme yapılan keseli yavrular keselerini 2/3 oranında tükettikleri erken larval dönemde 13 °C su sıcaklığından 18 °C su sıcaklığına alınmış ve 40 gün burada beslenmiştir. Larvalar bu süre sonunda tekrar geri normal su sıcaklığına (12.5 °C) büyütölmek üzere stoklanmıştır. Su sıcaklığı günde en az 3 kez olmak üzere civalı termometre ile ölçölmüştür. Çözönmüş oksijen değeriinin tespitinde Oxyguard marka oksijenmetre cihazı kullanılmıştır.

Çizelge 2.5: Deneme gruplarında sıcaklık ortalamaları

	Sıcaklık (°C)				
	N	Minimum	Maksimum	Ortalama	Standart Hata
Deneme Havuzu	40	17	18,5	17,9	0,4
Kontrol Havuzu	40	12,5	14	13,5	0,3

Sıcaklık denemesindeki tüm grupların su sıcaklıkları ortalaması 17.9 ± 0.4 °C olarak gerçekleşmiştir. Deneme gruplarının çözülmüş oksijen değerleri balıklar için 5-8 mg/l arasında değişiklik göstermiştir.

Çizelge 2.6: Sıcaklık deneme grupları ve sayıları

Deneme Grupları (Aile)	Tekerrür sayısı	Grup larva sayısı	Toplam
S-A1	3	300	900
K-A1			
S-A2			
K-A2			
S-A3			
K-A3			
S-A4			
K-A4			
S-A5			
K-A5			
S-A6			
K-A6			

Sıcaklık deneme gruplarını oluşturan yavruların her biri kontrollü olarak bir dişi ve bir erkek anaçtan üretilmiş ve etiketlenmiştir. Yavru populasyonlarının her birinden kontrol ve sıcaklık denemeleri için rastgele 300'er keseli larva alınmıştır. Kontrol grupları 12.5-14 °C arasında değişen soğuk suya ve deneme grupları ise 18 °C termostat ayarlı sıcak su deneme havuzuna kademeli alıştırılarak alınmıştır.

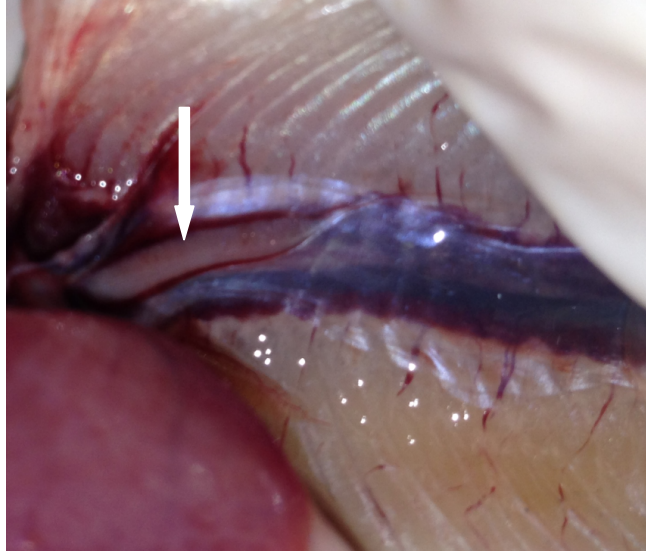
Bütün sıcaklık deneme grupları Fethiye'deki alabalık çiftliğinde oluşturulan ve su sıcaklığı termostatlı elektrikli ısıtıcı ile sabit tutulan 18 ± 0.4 °C ve kapalı devre su sistemine sahip bu havuzda stoklanmıştır. Gruplandırmalar için boyutları birbirinin aynı (50cmX40cmX40cm) tel kafesler kullanılmıştır (Şekil 2.13). Sisteme taze su girişi debi havuzundaki su sıcaklığının etkilenmeyeceği ve günde 1 kez havuz suyunun yenileneceği şekilde ayarlanmıştır. Tankın suyu havalandırma motoru ile sürekli havalandırılmıştır. Havalandırma ünitesi yanı sıra tankın içine yerleştirilen bir su motoru yardımıyla da tankın içindeki sıcak suyun tankın her noktasına sürekli dağıtılması sağlanmıştır. Kapalı devre sistemin filtrasyonu bir dış filtre kullanılarak sağlanmıştır. Balıkların beslenmesi günde 3 kez ticari alabalık yemleri kullanılarak yapılmıştır. Sıcaklık uygulaması bittikten sonra balıklar işletmede bulunan 750 litrelik tanklara transfer edilmiştir.



Şekil 2.13: Sıcaklık denemeleri ve sonrasında büyötmelerin yapıldığı tanklar

2.2.8. Cinsiyet Oranlarının Belirlenmesi ve Gonad Analizleri

Denemeler sonunda balıkların tamamı cinsiyet oranlarının tespiti için öldürölmüştür. Gonadların görölebilmesi için balıkların karınları kesilmiş ve gonadlardan alınan parçalar ışık mikroskobu altında incelenmiştir (Şekil 2.15). Gonadlardan yumurta oluşumu gösterenler dişi olarak geri kalanların tamamı erkek olarak kaydedilmiştir [110, 111]. Cinsiyetine karar verilemeyen bireyler için kesin yargıya varabilmek amacıyla histolojik kesitler alınmıştır. Cinsiyet oranı, her gruptan incelenen balıkların erkek-dişi sayıları tespit edildikten sonra belirlenmiştir.



Şekil 2.14: Dişilerde yumurta oluşumu başlamış bir ovaryumun görünüşü

2.2.9. İstatistik Analiz

Çalışma sonunda elde edilen ginogen, haploid ve kontrol gruplarındaki gözlenmiş yumurta ve keseli yavru ortalamaları ve standart sapma ($\pm$ SS) değerleri SPSS programı kullanılarak hesaplanmıştır. Gruplar arasındaki farklar varyans analizi (ANOVA) kullanılarak SPSS paket programıyla yapılmıştır. Sıcaklık denemelerinde; kontrol grupları ile deneme grupları arasındaki yaşama oranlarına ve cinsiyet oranlarına ait farkların karşılaştırmaları Ki-kare testi ile SPSS paket program kullanılarak yapılmıştır.

3. BULGULAR

3.1. Ginogenez Uygulamaları

Fethiye yaz ve kış sağımlarında uygulanan ginogenezis ve triploidizasyon için şoklama zamanı ve süresinin etkileri bütün denemelerde standart olarak döllenmeden sonraki 5, 10 ve 20. dakikalarda uygulanan üç farklı şoklama zamanı ve 10 ve 20 dk. uygulanan iki farklı şoklama süresiyle tespit edilmiştir. Şoklama sıcaklığı olarak 26 °C sıcaklık derecesi seçilmiştir.

3.1.1. 15 cm yükseklikten 2 dk UV şoku ile 10 ve 20 dk süreli sıcaklık şoku denemesi (UV15cm/2dk)

15 cm yükseklikten 2 dakika uygulanan UV şoku ile 10 ve 20 dakika olarak uygulanan iki farklı sıcaklık şoku sonucu tespit edilen gözlenme ve keseli larva oranları Çizelge 3.1’de verilmiştir.

Kontrol gruplarının keseli yavru yaşama oranları ortalama yaz sağımında % 45 civarında gerçekleşirken kış sağımında bu oran % 73.0 olarak ve haploid gruplar incelendiğinde canlı keseli larva oranları % 3 ve altında kalmıştır. Bu uygulamada haploid gruplarda keseli larva oranının ortalama % 3 altında kalması 15 cm yükseklikten 2 dakika süreyle UV uygulamasının inaktivasyonda başarılı olduğunu göstermektedir.

UV15cm/2dk ve 10 dk sıcaklık şoku süresi uygulanan ginogen gruplarda ortalamalar incelendiğinde yaz sağımında en iyi gözlü yumurta oranı % 45.0 ve keseli larva oranı % 21.5 olarak döllenmeden 20 dakika sonra uygulanan şoklama zamanında bulunmuştur. 10 dakikalık sıcaklık şoku uygulamaları sonucunda en yüksek değerler döllenmeden 20 dakika sonra kış sağımında % 69.6 gözlenmiş yumurta ve % 47.7 keseli yavru olarak tespit edilmiştir.

Çizelge 3.1: Ginogenezi; UV15cm/2dk ortalamaları

	Sıcaklık Şoku Süresi	Yaz Sağımı				Kış Sağımı			
		Gözlenmiş Yumurta		Keseli Yavru		Gözlenmiş Yumurta		Keseli Yavru	
		N	%	N	%	N	%	N	%
Kontrol	10	518±60,1	57,5 ^a	399±39,6	44,3 ^a	589±48	84,1 ^a	511±53,7	73,0 ^a
Haploid		313±166,2	34,7 ^b	32±33,9	3,6 ^b	339±122,3	48,4 ^b	21±24,7	3,0 ^b
Ginogen (5x10)		160±7,1	17,8 ^c	17±24	1,9 ^b	345±120,5	49,2 ^b	207±154,6	29,6 ^c
Ginogen (10x10)		373±180,3	41,4 ^{ab}	55±19,8	6,1 ^b	430±118,7	61,5 ^c	220±132,9	31,5 ^c
Ginogen (20x10)		405±205,1	45,0 ^{ab}	194±24,2	21,5 ^c	487±113	69,6 ^c	334±159,4	47,7 ^d
Kontrol	20	533±50,6	59,3 ^a	422±49,2	46,9 ^a	589±48	84,1 ^a	511±53,7	73,0 ^a
Haploid		337±124,7	37,4 ^b	50±38,9	5,5 ^b	313±91,9	44,7 ^b	24±33,1	2,7 ^b
Ginogen (5x20)		413±202,1	45,9 ^a	137±130,3	15,3 ^c	468±45	66,9 ^c	359±87,1	51,3 ^c
Ginogen (10x20)		455±134,3	50,6 ^a	117±87,3	13 ^{ab}	484±93,8	69,1 ^c	322±119,4	46,0 ^c
Ginogen (20x20)		357±63,1	39,6 ^b	64±52,8	7,1 ^b	536±44,5	76,6 ^{ac}	440±91,1	62,8 ^d

*Aynı kolondaki farklı harfler istatistikî olarak farkların önemli bulunduğunu ifade etmektedir.

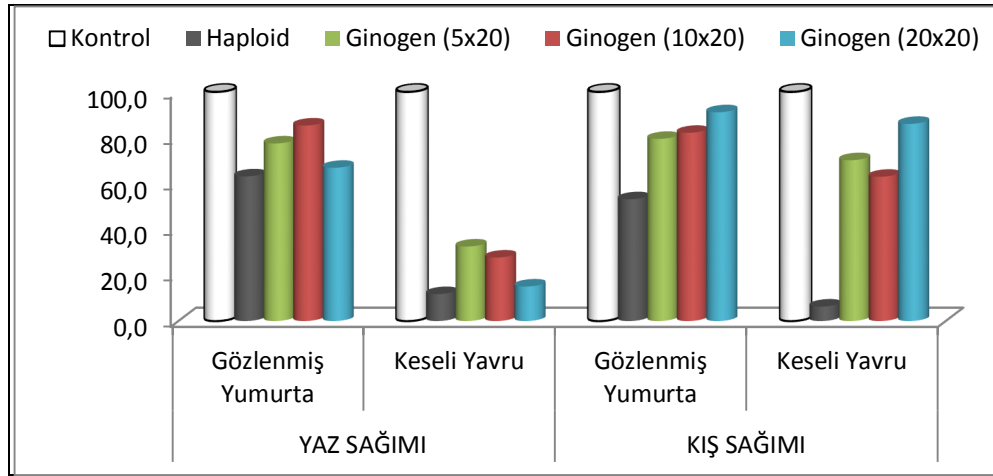
UV15cm/2dk ve 10 dakikalık sıcaklık şoku süresi uygulanan yaz ve kış sağımının ortalamaları karşılaştırıldığında ise kış sağımının tüm uygulamalarda yaz sağımına göre daha başarılı sonuçlar verdiği görülmüştür.

Sıcaklık şoku süresi 20 dk uygulanan ginogen gruplarda hesaplanan ortalamalar incelendiğinde ise yaz sağımında en iyi gözlü yumurta oranı % 50.6 ve keseli larva oranı % 15.3 olarak sırasıyla döllenmeden 10. ve 5. dk sonra uygulanan 20 dakikalık şoklamada elde edilmiştir. Kış sağımı ortalamaları incelendiğinde ise % 76.6 gözlenmiş yumurta ve % 62.8 keseli larva oranlarıyla döllenmeden 20. dakika sonra uygulanan 20 dakikalık şoklama çalışma genelindeki en yüksek canlı keseli yavru oranını vermiş ve en başarılı UV dozu, şoklama zamanı ve süresi olarak tespit edilmiştir.

Yaz sağımı ortalamalarında kontrol grupları ile haploid gruplar arasında istatistikî olarak fark önemli bulunmuştur (p<0.05). Şoklama süresinin 20 dakikaya çıkarılması

10 dakikalık şoklama süresine göre yaz sağımindaki yaşama oranını % 6.2 azaltırken, kış sağımında başarı oranını % 15.2 artırdığı tespit edilmiştir.

UV15cm/2dk ve 20 dakikalık sıcaklık şoku süresi uygulanan yaz ve kış sağımlarının ortalamaları karşılaştırıldığında ise kış sağımının tüm uygulamalarda yaz sağımına göre daha başarılı sonuçlar verdiği görülmüştür ($p<0.05$). Şekil 3.1 incelendiğinde en yüksek diploid ginogen keseli yavru oranlarının yaz sağımında döllenmeden 5 dakika, kış sağımında ise döllenmeden 20 dakika sonra başlatılan sıcaklık şoku zamanlarıyla oluştuğu görülmektedir.



Şekil 3.1: Ginogenez; UV15cm/2dk, sıcaklık şoku süresi; 20 dk (kontrol=%100)

3.1.2. 15 cm yükseklikten 4 dk UV şoku ile 10 ve 20 dk süreli sıcaklık şoku denemesi (UV15cm/4dk)

Yaz ve kış sağımlarında 15 cm yükseklikten 4 dakika süreyle uygulanan UV inaktivasyonu ile 10 ve 20 dakika olarak uygulanan iki farklı sıcaklık şoku (26 °C) sürelerinin gözlenme ve keseli larva yaşama oranlarına olan etkileri Çizelge 3.2’de verilmiştir.

Kontrol gruplarının yaşama oranları ortalama % 85.7 olarak gerçekleşirken haploid gruplar incelendiğinde canlı keseli larva oranları % 2’nin altında kalmıştır. Bu uygulamada haploid gruplarda keseli larva oranının ortalama % 2’nin altında kalması 15 cm yükseklikten 4 dakika süreyle UV uygulamasının inaktivasyonda başarılı olduğunu göstermektedir.

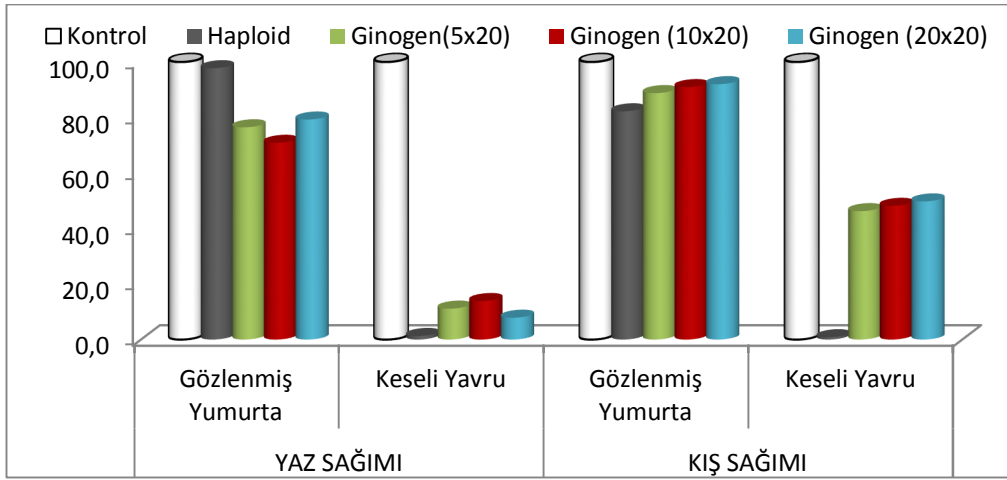
Çizelge 3.2’ de ortalamalar incelendiğinde kış sağımı % 85.5 gözlenmiş yumurta ve % 42.6 keseli larva oranlarıyla yine döllenmeden 20 dakika sonra 20 dakika olarak uygulanan sıcaklık şoku en başarılı sonucu vermiştir. En yüksek keseli yavru oranının elde edildiği kış sağımında ginogen gruplar arasında farklar önemli bulunmazken ($p>0.05$), ginogen gruplar ile kontrol grupları arasındaki farklar önemli bulunmuştur ($p<0.05$).

Çizelge 3.2: Ginogenez; UV15cm/4dk ortalamaları

Gruplar	Sıcaklık Şoku Süresi	Yaz Sağımı				Kış Sağımı			
		Gözlenmiş Yumurta		Keseli Yavru		Gözlenmiş Yumurta		Keseli Yavru	
		N	%	N	%	N	%	N	%
Kontrol	10	752±32	83,6 ^a	700±10	77,8 ^a	650±17	93,0 ^a	600±32	85,7 ^a
Haploid		735±15	81,7 ^a	9±0,6	1,0 ^b	645±5	92,1 ^a	11±0,7	1,6 ^b
Ginogen (5x10)		247±3	27,4 ^b	15±2	1,7 ^b	482±8,7	68,9 ^c	257±7,5	36,8 ^c
Ginogen (10x10)		474±16	52,7 ^c	19±2,5	2,1 ^b	558±12	79,7 ^{cd}	259±9,5	37,1 ^c
Ginogen (20x10)		513±27	57,0 ^c	138±12	15,3 ^c	571±9	81,6 ^d	319±11	41,2 ^c
Kontrol	20	752±32	83,6 ^a	700±10	77,8 ^a	650±2,7	93,0 ^a	600±32	85,7 ^a
Haploid		735±15	81,7 ^a	9±0,6	1,0 ^b	535±10	76,4 ^b	5±0,7	0,7 ^b
Ginogen (5x20)		575±5	63,9 ^b	78±2	8,7 ^b	577±20,3	82,5 ^b	277±3	39,6 ^c
Ginogen (10x20)		533±27	59,2 ^b	97±13	10,8 ^b	590±1,7	84,5 ^b	289±11	41,3 ^c
Ginogen (20x20)		596±4	66,2 ^b	55±5	6,1 ^b	598±8,7	85,5 ^a	298±22	42,6 ^c

* Aynı kolondaki farklı harfler istatistikî olarak farkların önemli bulunduğunu ifade etmektedir.

Kontrole bağlı başarı oranlarını gösteren Şekil 3.2 incelendiğinde ise en yüksek keseli yavru ginogen oranının kış sağımında ve döllenmeden 20 dakika sonra başlatılan sıcaklık şokuyla elde edildiği görülmektedir.



Şekil 3.2: Ginogenez; UV15cm/4dk, sıcaklık şoku süresi;20dk (kontrol=%100)

3.1.3. 5 cm yükseklikten 2 dk UV şoku ile 10 ve 20 dk süreli sıcaklık şoku denemesi (UV5cm/2dk)

Kış ve yaz sağımları kontrol gruplarında yaşama oranları sırasıyla % 91.1 ile % 93.3 arasında değişmiştir ve haploid gruplarda ise yaşama oranları % 1' in altında gerçekleşmiştir. Haploidler ile kontroller arasındaki bu fark UV5cm/2 dk uygulamasında inaktivasyonun başarılı olduğunu göstermektedir.

Şoklama zamanının etkisi bütün denemelerde standart olarak döllenmeden sonraki 5, 10 ve 20. dakikalarda uygulanan 26 °C sıcaklık şoklarıyla tespit edilmiştir. Yumurtalarda gözlenme ve keseli larva oranlarına ait ortalamalar Çizelge 3.3'de görülmektedir. En iyi keseli yavru oranını % 45.0 ile döllenmeden 20 dakika sonra 20 dakika olarak uygulanan sıcaklık şoku vermiştir.

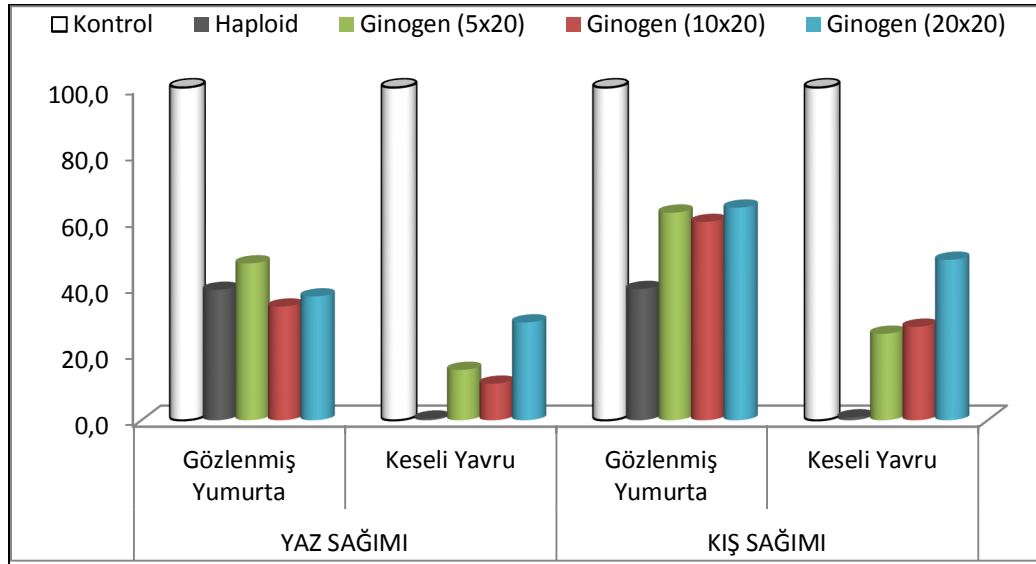
Şoklama süresinin 20 dakikaya çıkarılmasıyla yaz ve kış sağımlarındaki keseli yavru yaşama oranlarını 10 dakikalık şoklama süresine göre sırasıyla yaz sağımında % 16.3 ve kış sağımında % 12.3 civarında artırdığı tespit edilmiştir. Her iki şoklama sürelerinde de ginogen gruplar ile kontrol gruplar arasındaki keseli yavru yaşam oranları önemli bulunmuştur ($p<0.05$).

Çizelge 3.3 : Ginogenez; UV5cm/2dk ortalamaları

Gruplar	Sıcaklık Şoku Süresi	Yaz Sağımı				Kış Sağımı			
		Gözlenmiş Yumurta		Keseli Yavru		Gözlenmiş Yumurta		Keseli Yavru	
		N	%	N	%	N	%	N	%
Kontrol	10	855±9,2	95,0 ^a	820±0,8	91,1 ^a	481±5,3	96,3 ^a	467±9,4	93,3 ^a
Haploid		335±11,1	37,2 ^b	4±0,4	0,4 ^b	190±3,2	38,0 ^b	4±1,4	0,8 ^b
Ginogen (5x10)		177±8	19,7 ^c	30±11	3,3 ^b	240±2,2	48,1 ^b	75±5,6	15,1 ^c
Ginogen (10x10)		318±4,6	35,3 ^b	96±23	10,7 ^b	291±2,1	58,2 ^c	124±7,1	24,8 ^d
Ginogen (20x10)		497±25,3	55,2 ^d	94±4,9	10,4 ^b	355±4,6	71,1 ^{cd}	164±9,8	32,7 ^d
Kontrol	20	855±9,2	95,0 ^a	820±0,8	91,1 ^a	481±5,3	96,3 ^a	467±9,4	93,3 ^a
Haploid		335±11,1	37,2 ^b	4±0,4	0,4 ^b	190±3,2	38,0 ^b	4±1,4	0,8 ^b
Ginogen (5x20)		403±13	44,8 ^b	124±18	13,8 ^c	300±8,2	60,0 ^c	121±3,1	24,2 ^c
Ginogen (10x20)		292±9,6	32,4 ^c	90±0,7	10,0 ^c	287±1,5	57,3 ^c	131±3,7	26,2 ^c
Ginogen (20x20)		318±14	35,3 ^{ab}	241±16	26,8 ^d	307±2,0	61,5 ^c	225±6,2	45,0 ^d

* Aynı kolondaki farklı harfler istatistikî olarak farkların önemli bulunduğunu ifade etmektedir.

UV 5 cm yükseklikten 2 dk süreyle ve sıcaklık şoku 20 dakika uygulanan yaz ve kış sağımalarının ortalamaları karşılaştırıldığında ise kış sağımının tüm uygulamalarda yaz sağımına göre daha başarılı sonuçlar verdiği görülmüştür (Şekil 3.3).



Şekil 3.3: Ginogenez; UV5cm/2dk, sıcaklık şoku süresi;20dk (kontrol=%100)

3.1.4. 5 cm yükseklikten 3 dk UV şoku ile 10 ve 20 dk süreli sıcaklık şoku denemesi (UV5cm/3dk)

Haploid grupları incelendiğinde canlı keseli larva oranları % 2 civarında kalmıştır. Bu sağımlarında kontrol gruplarının yaşama oranları yaz ve kış sağımlarında sırasıyla ortalama % 87.3 ve % 90.5 olarak gerçekleşirken haploid gruplar incelendiğinde canlı keseli larva oranları % 2 nin altında kalmıştır. Bu sonuçlar UV uygulamasının inaktivasyonda başarılı olduğunu göstermektedir (Çizelge 3.4).

Bu uygulamada en yüksek keseli yavru oranı (% 30.3) kış sağımlarında döllenen 20 dakika sonra uygulanan 20 dakikalık şoklama süresiyle elde edilmiştir.

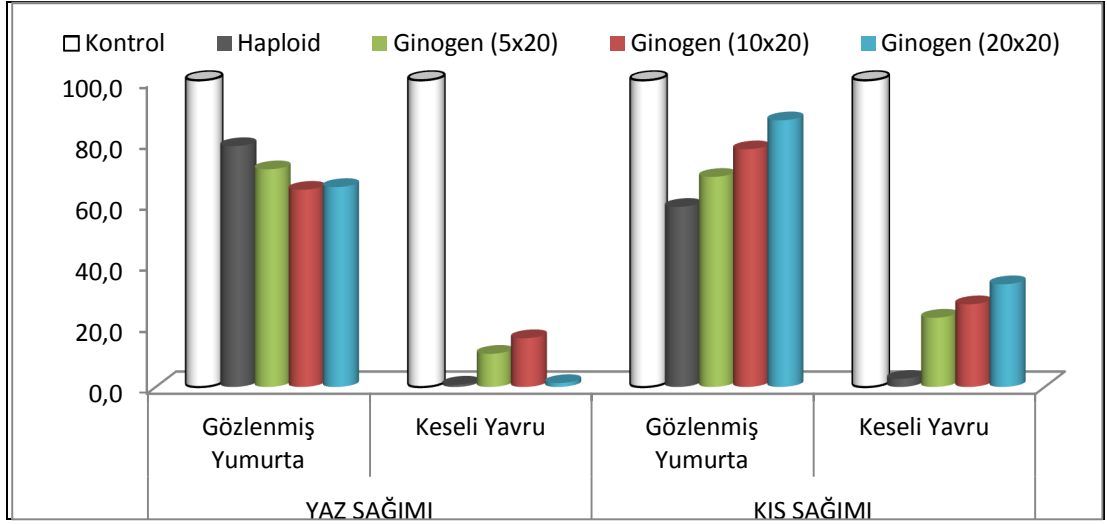
Şoklama süresinin 10 dakikadan 20 dakikaya çıkarılmasıyla yaz sağımlarında düşüş gözlenirken ($p < 0.05$) bu değişiklik kış sağımlarında yaşama oranları üzerinde istatistikî olarak önemli bir farklılık oluşturmamıştır ($p > 0.05$).

Çizelge 3.4: Ginogenez; UV5cm/3dk ortalamaları

	Sıcaklık Şoku Süresi	Yaz Sağımı				Kış Sağımı			
		Gözlenmiş Yumurta		Keseli Yavru		Gözlenmiş Yumurta		Keseli Yavru	
		N	%	N	%	N	%	N	%
Kontrol	10	675±50	75,0 ^a	786±37	87,3 ^a	406±26,2	81,3 ^a	400±38,9	90,5 ^a
Haploid		530±48	58,9 ^b	6±0,3	0,7 ^b	239±10,2	47,7 ^b	4±1,4	0,8 ^b
Ginogen (5x10)		510±27	56,7 ^b	31±15	3,4 ^b	322±42,1	64,4 ^c	36±8,7	7,3 ^c
Ginogen (10x10)		380±53	42,2 ^c	227±45	25,2 ^c	335±33,4	66,9 ^c	72±10,2	14,4 ^d
Ginogen (20x10)		529±29	58,8 ^b	30±18	3,3 ^b	347±22,7	69,3 ^{ac}	134±41,7	26,8 ^e
Kontrol	20	675±50	75 ^a	786±37	87,3 ^a	406±26,5	81,3 ^a	453±13,4	90,5 ^a
Haploid		530±48	58,9 ^b	6±0,3	0,7 ^b	239±10,2	47,7 ^b	12±12,7	2,4 ^b
Ginogen (5x20)		479±90	53,2 ^b	85±22	9,4 ^c	278±15,9	55,7 ^{cb}	102±13,7	20,4 ^c
Ginogen (10x20)		434±87	48,2 ^c	125±14	13,9 ^d	315±1,7	63,0 ^{dc}	122±12,7	24,4 ^{cd}
Ginogen (20x20)		440±43	48,9 ^b	10±1,5	1,1 ^c	353±9,2	70,6 ^{ad}	152±54,4	30,3 ^d

* Aynı kolondaki farklı harfler istatistikî olarak farkların önemli bulunduğunu ifade etmektedir.

Kontrole bağlı yaz ve kış sağımlarının ortalamaları karşılaştırıldığında ise kış sağımlarının tüm uygulamalarda yaz sağımlarına göre daha başarılı sonuçlar verdiği görülmüştür. Şekil 3.4 incelendiğinde en yüksek diploid ginogen grup oranının kış sağımlarında döllenen 20 dakika sonra başlatılan 20 dakikalık sıcaklık şokuyla oluştuğu görülmektedir.



Şekil 3.4: Ginogenez; UV5cm/3dk, Sıcaklık şoku süresi;20dk (kontrol=%100)

3.1.5. 10 cm yükseklikten 2 dk UV şoku ile 10 ve 20 dk süreli sıcaklık şoku denemesi (UV10cm/2dk)

Haploid gruplarda yaşama oranları % 11 civarında gerçekleşmiştir. Kontrol gruplarında ise yaşama oranları % 66-85 arasında değişmiştir. Haploidler ile kontroller arasındaki bu fark UV dozunun 10 cm yükseklikten 2 dk süreyle uygulanmasının inaktivasyonda diğer uygulamalara göre daha başarısız olduğunu göstermektedir (Çizelge 3.5). Bu uygulamada en yüksek keseli yavru oranı (% 31.5) kış sağımindan döllenmeden 20 dakika sonra uygulanan 20 dakikalık şoklama süresiyle elde edilmiştir.

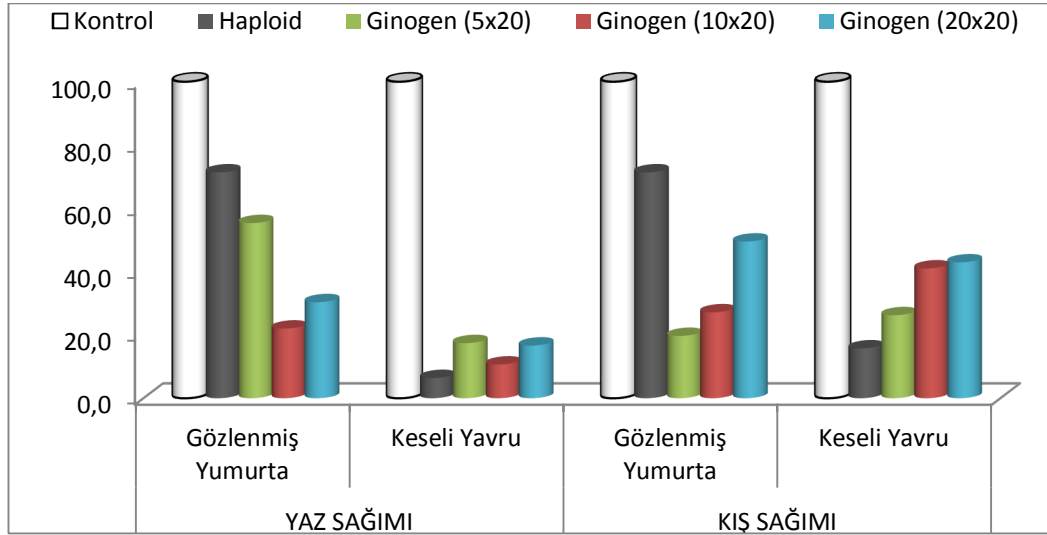
Şoklama süresinin 20 dakikaya çıkarılması yaşama oranlarında 10 dakikalık şoklama süresine göre kış sağımindan azalmaya neden olurken, yaz sağımindan % 11 civarında artış sağlamıştır ($p<0.05$).

Çizelge 3.5: Ginogenez; UV10cm/2dk ortalamaları

	Sıcaklık Şoku Süresi	Yaz Sağımı				Kış Sağımı			
		Gözlenmiş Yumurta		Keseli Yavru		Gözlenmiş Yumurta		Keseli Yavru	
		N	%	N	%	N	%	N	%
Kontrol	10	600±32	66,7 ^a	517±32	57,4 ^a	426±33,9	85,2 ^a	367±29,2	73,4 ^a
Haploid		428±23	47,6 ^b	33±5	3,7 ^b	304±24,2	60,8 ^b	58±11,7	11,6 ^b
Ginogen (5x10)		370±13	41,1 ^b	35±2,1	3,9 ^b	161±12,6	32,3 ^c	61±12,4	12,3 ^b
Ginogen (10x10)		254±19	28,2 ^c	51±12	5,7 ^b	235±18,3	47,0 ^d	89±18	17,9 ^{bc}
Ginogen (20x10)		390±42	43,3 ^b	58±20	6,4 ^b	248±19,3	49,5 ^d	102±20,5	20,3 ^c
Kontrol	20	600±32	66,7 ^a	517±32	57,4 ^a	426±33,9	85,2 ^a	367±29,2	73,4 ^a
Haploid		428±23	47,6 ^b	33±5	3,7 ^b	304±24,2	60,8 ^b	58±11,7	11,6 ^b
Ginogen (5x20)		332±35	36,9 ^b	90±17,3	10 ^b	84±6,5	16,8 ^c	96±19,4	19,3 ^c
Ginogen (10x20)		132±14	14,7 ^c	55±21	6,1 ^{bc}	116±9	23,1 ^d	151±30,4	30,1 ^d
Ginogen (20x20)		182±6	20,2 ^b	86±11	9,6 ^c	211±16,4	42,2 ^e	158±31,8	31,5 ^d

* Aynı kolondaki farklı harfler istatistikî olarak farkların önemli bulunduğunu ifade etmektedir.

Şekil 3.5 incelendiğinde en yüksek diploid ginogen grup oranının kış sağımında döllenen 20 dakika sonra başlatılan 20 dakikalık sıcaklık şokuyla oluştuğu görülmektedir.



Şekil 3.5: Ginogenez; UV 10cm/2dk, sıcaklık şoku süresi;20dk (kontrol=%100)

3.1.6. 45 cm yükseklikten 3 dk UV şoku ile 10 ve 20 dk süreli sıcaklık şoku denemesi (UV45cm/3dk)

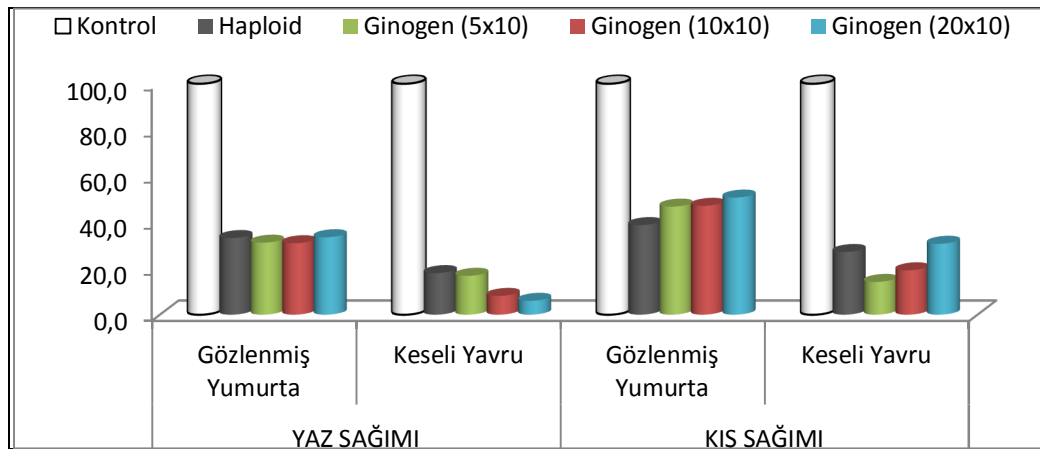
Bu uygulama verileri incelendiğinde hem yaz hemde kış sağımlarında haploid gözlenmiş yumurta (% 31.3- % 35.2) ve canlı larva oranları (% 10.3- % 22.3) genel olarak yüksek gerçekleşmiştir. Bu bulgular 45 cm mesafeden UV ile 3 dakika yapılan inaktivasyonda başarının düşük olduğunu göstermiştir.

Çizelge 3.6: Ginogenez; UV45cm/3dk ortalamaları

	Sıcaklık Şoku Süresi	Yaz Sağımı				Kış Sağımı			
		Gözlenmiş Yumurta		Keseli Yavru		Gözlenmiş Yumurta		Keseli Yavru	
		N	%	N	%	N	%	N	%
Kontrol	10	850±40	94,4 ^a	517±16	57,4 ^a	453±51,3	90,7 ^a	411±8,1	82,3 ^a
Haploid		282±13	31,3 ^b	93±13	10,3 ^b	176±13,1	35,2 ^b	112±19,7	22,3 ^b
Ginogen (5x10)		265±21	29,4 ^b	87±8	9,7 ^b	212±20,9	42,4 ^{bc}	58±5,8	11,7 ^c
Ginogen (10x10)		263±18	29,2 ^b	42±5,6	4,7 ^c	214±21,1	42,7 ^{bc}	79±7,8	15,8 ^c
Ginogen (20x10)		285±7	31,7 ^b	31±17,	3,4 ^c	230±22,7	46,0 ^c	126±12,5	25,3 ^b
Kontrol	20	850±40	94,4 ^a	517±16	57,4 ^a	453±51,3	90,7 ^a	411±8,1	82,3 ^a
Haploid		282±13	31,3 ^b	93±13	10,3 ^b	176±13,1	35,2 ^b	112±19,7	22,3 ^b
Ginogen (5x20)		350±25	38,9 ^c	35±20,2	3,9 ^c	62±4,9	12,4 ^c	61±12,4	12,3 ^c
Ginogen (10x20)		98±12	10,9 ^d	38±7,2	4,2 ^c	145±11,3	29,1 ^d	67±13,4	13,3 ^c
Ginogen (20x20)		229±31	25,4 ^e	42±17	4,7 ^c	222±17,3	44,5 ^d	74±14,8	14,7 ^d

* Aynı kolondaki farklı harfler istatistikî olarak farkların önemli bulunduğunu ifade etmektedir.

Şoklama süresinin 10 dakikadan 20 dakikaya çıkarılmasıyla yaz ve kış sağımlarındaki yaşama oranlarında düşüş gözlenmiştir (p>0.05).



Şekil 3.6: Ginogenez; UV45cm/3dk, sıcaklık şoku süresi;10dk (kontrol=%100)

Şekil 3.6 incelendiğinde en yüksek diploid ginogen oranının kış sağımlarında döllenen 20 dakika sonra başlatılan ve 10 dk süreyle uygulanan sıcaklık şokuyla oluştuğu görülmektedir.

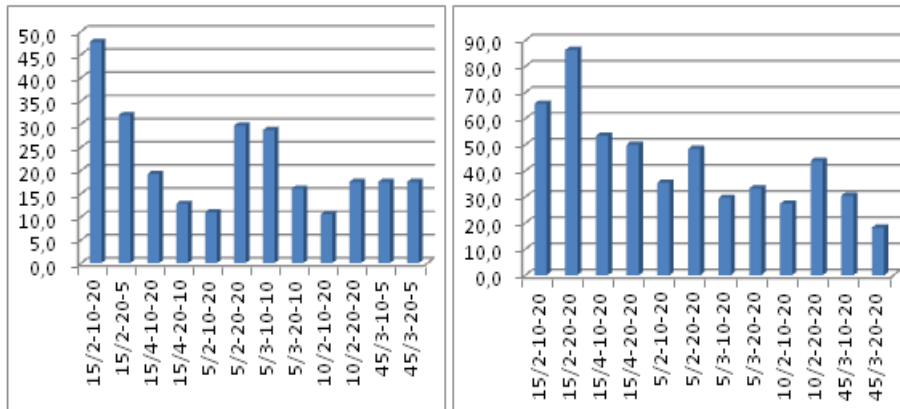
Genel olarak UV uygulamaları ve ginogenetik başarı oranları değerlendirildiğinde kontrol gruplarına ilişkili olarak hesaplanan en iyi keseli yavru oranları Çizelge 3.7 ve Şekil 3.7’de görülmektedir.

Çizelge 3.7: Ginogenez; kış-yaz, en iyi keseli-larva yaşama oranları (Kontrol=%100)

Kış Sağımı		Yaz Sağımı	
Gruplar	% Kontrol	Gruplar	% Kontrol
15/2-10X20	65,8 ^a	15/2-10X20	47,7 ^a
15/2-20X20	86,3 ^b	15/2-20X5	31,9 ^b
15/4-10X20	53,5 ^c	15/4-10X20	19,2 ^c
15/4-20X20	50,0 ^c	15/4-20X10	12,8 ^c
5/2-10X20	35,5 ^d	5/2-10X20	11,0 ^c
5/2-20X20	48,4 ^{ce}	5/2-20X20	29,7 ^b
5/3-10X20	29,7 ^d	5/3-10X10	28,7 ^b
5/3-20X20	33,3 ^d	5/3-20X10	16,1 ^c
10/2-10X20	27,4 ^d	10/2-10X20	10,5 ^c
10/2-20X20	43,8 ^{ce}	10/2-20X20	17,5 ^c
45/3-10X20	30,5 ^d	45/3-10X5	17,5 ^c
45/3-20X20	18,3 ^f	45/3-20X5	17,5 ^c

* Aynı kolondaki farklı harfler istatistikî olarak farkların önemli bulunduğunu ifade etmektedir.

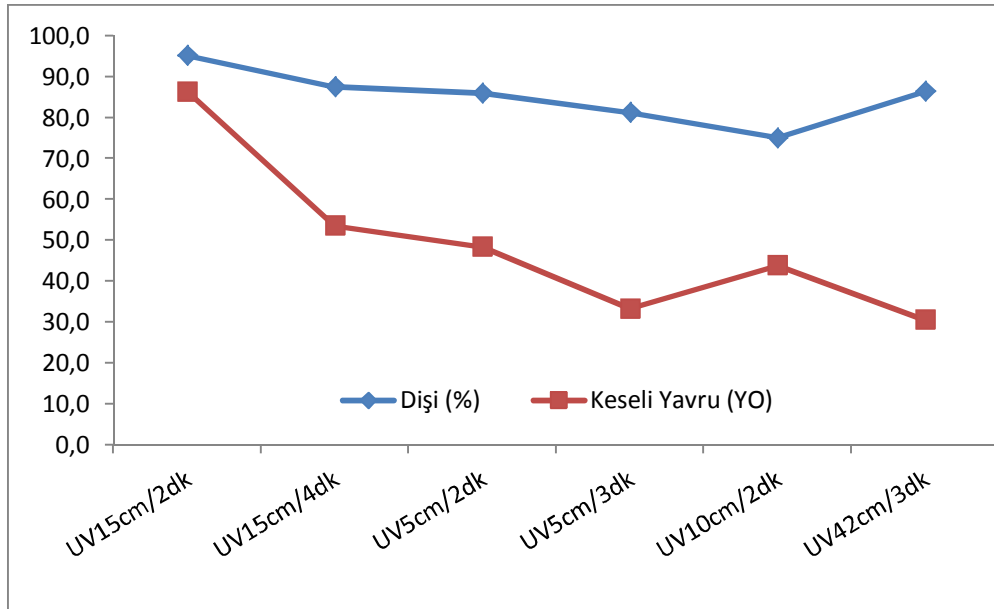
Buna göre en başarılı sonuç kış sağımlarında % 86.3 açılım oranıyla UV15cm/2 dk inaktivasyon uygulanan ve 20. dk 20 dk süreyle uygulanan sıcaklık şokuyla elde edilmiştir.(p<0.05).



Şekil 3.7: Ginogenez; yaz (sol) ve kış (sağ) sağımlarında elde edilen en iyi yaşama oranları (% Kontrol)

3.2. Tamamı Dişi Üretim

Deneme gruplarının tamamında 6 aylık büyütme aşamasının sonunda ginogen gruplar ile kontrol gruplardan en az 50 balık alınarak gonad analizi yapılmıştır. Dişi cinsiyet ve yaşama oranları karşılaştırmalı olarak Şekil X te görülmektedir. Bu verilere göre en başarılı sonucu UV15cm/2dk uygulamasında ginogen gruplarda dişi oranı %92.7 olarak tespit edilirken hiç erkek bireye rastlanmamıştır. Ancak %7.3 oranında cinsiyeti belirsiz bireyler gözlenmiştir. Bu ginogen grubun kontrollerinde ise dişi oranı %42.9, erkek oranı % 57.1 olarak bulunmuştur. Grupların tamamında diploid ginogen gruplar ile kontrollerin cinsiyet oranları arasında istatistiki olarak önemli farklar hesaplanmıştır ($p<0,05$).



Şekil 3.8: Diploid ginogenlerde cinsiyet ve kontrole ilişkili yaşama oranları

3.3. Triploid Uygulamaları

Yaz ve kış sağımları ile yapılan çalışmalarda triploid bireylerin elde edilmesinde döllenmeden 5, 10 ve 20 dk sonra 26 °C sıcaklıkta 20 dakika süreyle uygulanan şoklamanın sonuçları Çizelge 3.37, 3.38 ve 3.39’da verilmiştir.

Çizelge 3.8: Triploid-yaz sağımları 20 dk şoklama süresi sonuçları

	Gruplar	Sıcaklık (°C)	Döllenmeden sonraki şoklama zamanı	Şok süresi	Toplam yumurta	Gözlenmiş Yumurta		Keseli larva	
			(dk)	(dk)	(adet)	(adet)	(%)	(adet)	(%)
Sağım-1	Kontrol-1				900	565	62,8	469	52,1
	T1	26	5	20	900	400	44,4	230	25,6
	T2	26	10	20	900	480	53,3	370	41,1
	T3	26	20	20	900	476	52,9	319	35,4
Sağım-2	Kontrol-2				900	560	62,2	427	47,4
	T4	26	5	20	900	370	41,1	68	7,6
	T5	26	10	20	900	310	34,4	259	28,8
	T6	26	20	20	900	430	47,8	359	39,9
Sağım-3	Kontrol-3				900	475	52,8	371	41,2
	T7	26	5	20	900	460	51,1	299	33,2
	T8	26	10	20	900	320	35,6	255	28,3
	T9	26	20	20	900	395	43,9	315	35
Sağım-8	Kontrol-8				900	850	94,4	517	57,4
	T10	26	5	20	900	385	42,8	154	17,1
	T11	26	10	20	900	315	35	240	26,7
	T12	26	20	20	900	410	45,6	301	33,4

Yaz sağımları sonuçları değerlendirildiğinde yapılan sağımların hepsinde kontrol grupları hem gözlenmiş yumurta oranı hemde keseli larva oranı triploid gruplara göre daha yüksek bulunmuştur. Kontrol gruplarında elde edilen en yüksek oranlar gözlenmiş yumurta ve keseli larva oranları sırasıyla % 94,4, % 57,4 iken triploid gruplarda bu oranlar sırasıyla % 53,3 ve % 41,1 olmuştur. Yaz sağımları sonuçlarına göre triploid üretiminde en yüksek oranlar döllenmeden 20 dk sonra gözlenmiş yumurtada % 45,6 ve keseli larva % 33,4 olmuştur.

Çizelge 3.9: Triploid-kış sağımı 20 dk şoklama süresi sonuçları

	Gruplar	Sıcaklık (°C)	Döllenmeden sonraki şoklama zamanı	Şok süresi	Toplam yumurta	Gözlenmiş Yumurta		Keseli larva	
			(dk)	(dk)	(adet)	(adet)	(%)	(adet)	(%)
Sağım 1	Kontrol-1				700	647	92,4	574	82,0
	T1	26	5	20	700	468	66,9	345	49,3
	T2	26	10	20	700	562	80,2	555	79,3
	T3	26	20	20	700	557	79,6	479	68,4
Sağım 2	Kontrol-2				700	547	78,1	460	65,7
	T4	26	5	20	700	363	51,8	170	24,3
	T5	26	10	20	700	433	61,8	389	55,5
	T6	26	20	20	700	503	71,9	431	61,5
Sağım 5	Kontrol-5				500	444	88,7	416	83,1
	T7	26	5	20	500	323	64,6	306	61,2
	T8	26	10	20	500	399	79,8	378	75,6
	T9	26	20	20	500	465	92,9	359	71,8
Sağım 6	Kontrol-6				500	426	85,2	367	73,4
	T10	26	5	20	500	369	73,7	216	43,1
	T11	26	10	20	500	480	95,9	336	67,2
	T12	26	20	20	500	450	90,1	421	84,3
Sağım 7	Kontrol-7				500	453	90,7	411	82,3
	T13	26	5	20	500	305	61	261	52,2
	T14	26	10	20	500	327	65,4	290	58,0
	T15	26	20	20	500	330	66	278	55,6

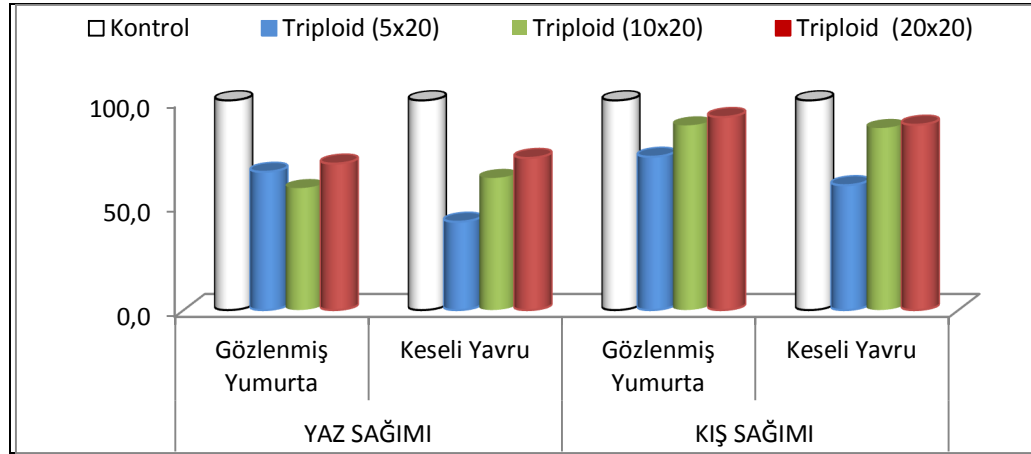
Kış sağımı kontrol gruplarında en yüksek gözlenmiş yumurta ve keseli larva oranları % 92.4 ve % 82.3 olmuştur. Triploid gruplarda ise gözlenmiş yumurta ve keseli larva oranları sırasıyla % 51.8- % 95.9 arasında değişirken, keseli larva oranları % 24.3- % 84.3 arasında gerçekleşmiştir. Triploid gruplarda en yüksek oranlar döllenmeden 20 dk sonra uygulanan şoklama zamanında kaydedilmiştir.

Çizelge 3.10’da elde edilen ortalamalar incelendiğinde, en yüksek keseli yavru oranı (% 68.3) kış sağımında döllenmeden 20 dakika sonra uygulanan 20 dakikalık şoklama süresiyle elde edilmiştir. Kış sağımında şoklama zamanının 10 ve 20 dk olarak başlatılması kontrol grubuyla benzer başarı oranları sağlamıştır ($p>0.05$).

Çizelge 3.10: Triploid yaz ve kış sağımları; 20 dk şoklama süresi ortalamaları

	Yaz Sağımı				Kış Sağımı			
	Gözlenmiş Yumurta		Keseli Yavru		Gözlenmiş Yumurta		Keseli Yavru	
	(Adet)	(%)	(Adet)	(%)	(Adet)	(%)	(Adet)	(%)
Kontrol	613±163,6	68,1 ^a	446±62,1	49,6 ^a	503±92,9	87,0 ^a	446±78,9	77,3 ^a
Triploid (5x20)	404±39,4	44,9 ^b	188±99,4	20,9 ^b	365±63,2	63,6 ^c	260±69,7	46,0 ^b
Triploid (10x20)	356±82,6	39,6 ^b	281±59,9	31,2 ^c	440±87,8	76,6 ^b	390±100,4	67,1 ^a
Triploid (20x20)	428±35,2	47,5 ^b	324±24,9	35,9 ^c	461±84,1	80,1 ^{ab}	394±77,4	68,3 ^a

* Aynı kolondaki farklı harfler istatistikî olarak farkların önemli bulunduğunu ifade etmektedir.



Şekil 3.9: Triploid; kış-yaz sağımı; Sıcaklık şoku 20 dk
(kontrol=%100)

3.4. Cinsiyet Kontrolünde Sıcaklık Uygulamaları

Yüksek sıcaklığın cinsiyet oranları üzerine etkisi hem kış hemde yaz sağımında araştırılmıştır. Kış sağımında kurulan sıcaklık gruplarının hepsi ölmüştür. Yaz sağımında 6 farklı aile ile sıcaklığa bağlı cinsiyet oranları takip edilmiştir.

3.4.1. Yaşama oranları

Sıcaklık uygulamaları sonucunda sıcaklığa alınan gruplar ve onların kontrollerinin sıcaklık denemesinin sonlandırıldığı açılımdan sonraki 50. gün tespit edilen yaşama oranları Çizelge 3.12 de verilmiştir. Sıcaklık denemesine alınan 6 farklı ailede yaşama oranları incelendiğinde en yüksek değer A1’de % 97,4, en düşük değer A4’de % 58,0 olarak kaydedilmiştir. Kontrol gruplarının yaşama oranlarına bakıldığında sıcaklık denemesindeki gruplara benzer olarak en yüksek değer A1’de % 97,6 ve en düşük değer A4’de % 62,3 olarak bulunmuştur.

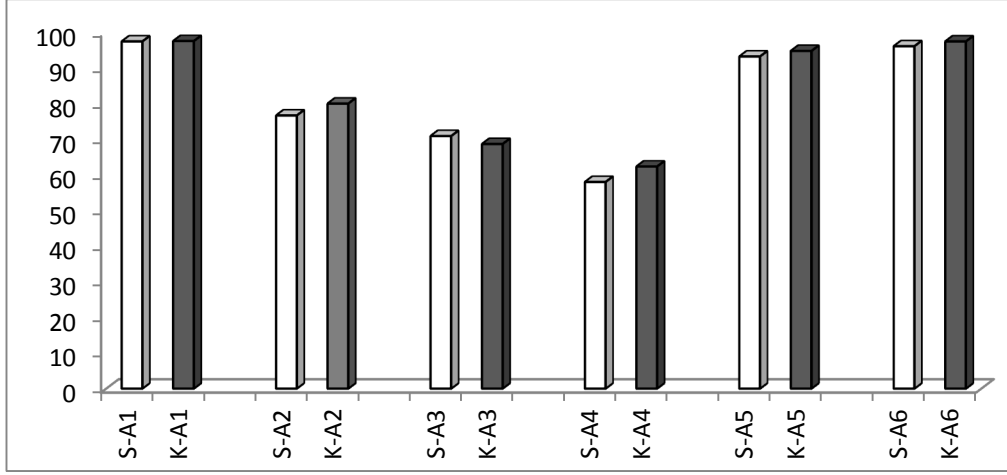
Çizelge 3.11: Sıcaklık denemesine alınan grupların yaşama oranları

Gruplar	Başlangıç Adet	Deneme Sonu Adet	Yaşama Oranı (%)	Ortalama (adet)	Ortalama (%)
S-A1	300	295	98,3	292	97,4
	300	287	95,7		
	300	295	98,3		
S-A2	300	223	74,3	230	76,7
	300	228	76,0		
	300	239	79,7		
S-A3	300	252	84,0	213	70,9
	300	195	65,0		
	300	191	63,7		
S-A4	300	181	60,3	174	58,0
	300	174	58,0		
	300	167	55,7		
S-A5	300	284	94,7	280	93,2
	300	291	97,0		
	300	264	88,0		
S-A6	300	283	94,3	288	96,1
	300	289	96,3		
	300	293	97,7		

Çizelge 3.12: Kontrol gruplarının yaşama oranları

Gruplar	Başlangıç Adet	Deneme Sonu Adet	Yaşama Oranı (%)	Ortalama (adet)	Ortalama (%)
K-A1	300	295	98,3	293	97,6
	300	290	95,7		
	300	293	98,3		
K-A2	300	253	74,3	240	80,0
	300	228	76,0		
	300	239	79,7		
K-A3	300	232	84,0	206	68,7
	300	195	65,0		
	300	191	63,7		
K-A4	300	171	60,3	187	62,3
	300	189	58,0		
	300	201	55,7		
K-A5	300	284	94,7	284	94,8
	300	294	97,0		
	300	275	88,0		
K-A6	300	295	94,3	292	97,4
	300	289	96,3		
	300	293	97,7		

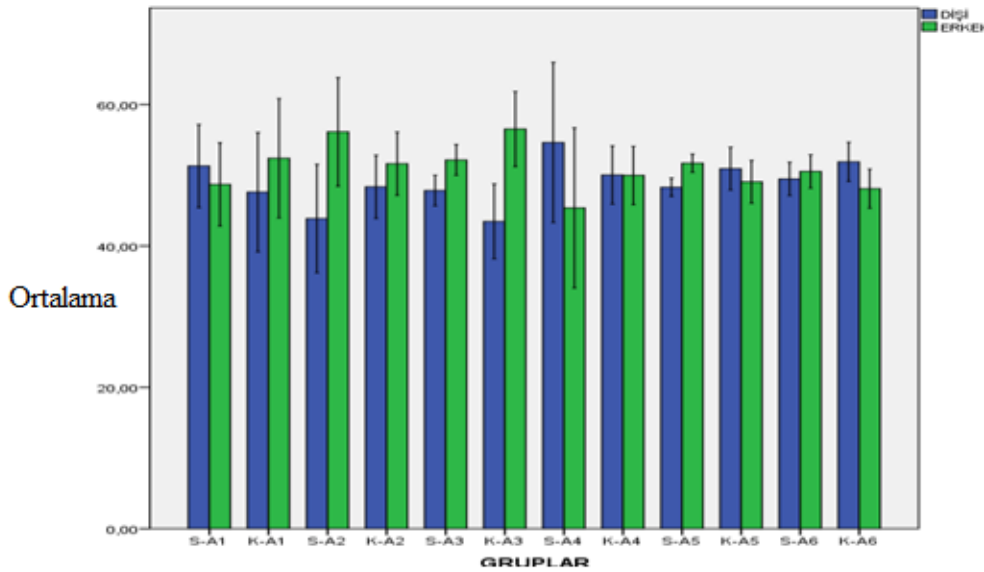
Şekil 3.9 incelendiğinde her bir ailede kontrol grupları ile sıcaklık muamelesi grupları kendi aralarında karşılaştırılmıştır. Yaşama oranlarının kontrol ve sıcaklık gruplarında benzer olduğu gözlenmiştir ($p>0,05$).



Şekil 3.10: Sıcaklık gruplarının ve kontrollerin yaşama oranları

3.4.2. Cinsiyet Oranları

Sıcaklık uygulanan gruplar ile bunlara ait kontrollerinin cinsiyet oranları Şekil 3.9'da görülmektedir. Cinsiyet oranlarını belirlemek için bireylerde gonad analizi yapılmıştır. Gonad analizleri sonucunda sıcaklık uygulanan gruplar ile kontrolleri karşılaştırıldığında sıcaklığın cinsiyet oranlarını değiştirmedığı görülmüştür ($p>0,05$).



Şekil 3.11: Sıcaklık denemelerinden sonraki cinsiyet oranları

4. TARTIŞMA

Sperm hücrelerinin ve yeni döllenmiş embriyonun fiziksel ve kimyasal şoklar ile kromozom sayılarında manipölasyonlara izin veren kromozom mühendisliği ile ginogenez, androgenez, triploid, tetraploid v.b. poliploidy üretilmesi mümkündür. Balıklarda geleneksel olmayan bu üretim yöntemleri teorik ve uygulamalı bilimsel araştırmaların ve pratik balık ıslahının değerini büyük oranda artırmıştır [100].

Çalışmamızda gökkuşağı alabalıklarında ginogenetik bireylerin üretimi kış ve yaz sağımalarında, farklı UV şoklarında, döllenmeden 5, 10 ve 20. dakikalarda, 10 dk ve 20 dk olarak 26 °C'de uygulanan sıcaklık şoku sonuçları incelenerek en uygun üreme dönemi, UV dozu, döllenmeden sonraki şok uygulama zamanı, sıcaklık şoku süresi araştırılmıştır. Çalışmamızda ginogenetik bireylerde en yüksek keseli larva yaşama oranları kış sağımında UV15cm/2dk dozda, döllenmeden 20 dakika sonra uygulanan 26 °C'lik 20 dk süreli sıcaklık şokuyla % 86.3 olarak bulunurken; yaz sağımında en yüksek ginogenetik bireylerin yaşama oranları yine aynı UV uygulamasında, döllenmeden 20 dakika sonra uygulanan 26 °C'lik 10 dk sıcaklık şokunda % 47.7 olarak tespit edilmiştir.

Ginogenetik bireylerin elde edilmesinde en önemli aşamalardan biri sperm inaktivasyonudur. Sperm inaktivasyonunda şimdiye kadar yapılan çalışmalarda X ışınları, gama ışınları ve UV ışınları kullanılmıştır. Son yıllarda yapılan çalışmaların çoğunda hem ucuz hemde kullanım kolaylığından dolayı UV ışınları tercih edilmiştir. Çalışmamızda 15 W 254 nm UV lamba farklı yükseklik ve sürelerde denenerek en uygun UV dozunun belirlenmesine çalışılmıştır. Sperm sıvısı % 7 lik NaCl ile 1:1 oranında dilue edilerek UV şokuna maruz bırakılmıştır. Spermanın dilue edilmesiyle UV inaktivasyonunun daha etkili bir şekilde gerçekleştiği önceki çalışmalarda rapor edilmiştir [18, 101]. UV şoku uygulamasında en iyi sonuçlar 15 cm yükseklik ve 2 dk uygulamada haploid gruplarda % 3 civarında ve ginogen oranı % 62.8 olarak gözlemlenmiştir. Haploid gruplarda bireylerin tamamen ölmesi ya da yaşama oranlarının minimum kalması beklenir [117]. Bu çalışmada haploid gruplarda keseli larva oranının ortalama % 3 civarında gerçekleşmesi 15 cm yükseklikten 2 dakika süreyle UV uygulamasının inaktivasyonda başarılı olduğunu

göstermektedir. Çalışmada ortaya çıkan haploid gruplardaki yaşama oranları daha önceki çalışmalarla benzerlik göstermektedir [117, 118].

Sperm inaktivasyonu için farklı süreler, farklı solusyonlar ve farklı yüksekliklerdeki UV ışına denemeleri yapılmıştır. Gökkuşuğu alabalıklarında ginogenetik bireylerin elde edilmesi amacıyla yapılan sperm inaktivasyonunda 15 W 254 nm UV ile 6 cm yükseklikten 0.5-10 dakika uygulanan ışık şokunda % 0.2 KCl ile dilue edilen sperm hücrelerinde başarı elde edilmiştir [112]. Yine aynı ışık kaynağı ile 6 cm yükseklikten 1-4 dakika arasında bu kez 2 g/l KCl ile dilue edilen sperm inaktivasyonunda yüksek başarı elde edilmiştir [18]. Bu çalışmalar sonucunda sperm inaktivasyonunda 2 dakikalık sürenin en başarılı olduğu rapor edilmiştir [101]. UV ışık şiddeti ve kullanılan dilueller farklı olmakla birlikte gökkuşuğu alabalık spermelerinde uygulanan 2 dk UV şokunda elde edilen yüksek sonuçlar çalışmamızla benzerlik göstermektedir. Sperm inaktivasyonuna yönelik yapılan diğer bir çalışmada 30 W 254 nm UV lamba ile sperm 20 cm ile 1 m mesafeden 1, 5, 8, 10, 12, 15 dakika şoklama yapılmıştır [113]. Bu çalışmada spermaların 1:40 ve 1:20 oranlarında Billard ve Ringer solüsyonu ile dilue edildiği ve çalışmanın sonucunda yüksek yaşama oranı gösteren kontrol grupları ile hiç yaşamayan haploid gruplara bakılarak 1:40 dilue spermelerin 5 dakikada, 1:20 dilue spermaların 10 dakikada inaktive edildiği bildirilmiştir. Aynı çalışmada en yüksek ginogen yaşama oranı % 19 olarak belirtilmiştir [113].

UV inaktivasyonunda yüksek ve düşük dozun yaşama oranlarına etkisi oldukça yüksektir ve bu etki Hertwig olarak adlandırılmaktadır [114]. Bu etki kısaca sperm hücresindeki kromatinin düşük dozlama sonucu kısmi inaktivasyona ve dolayısıyla embriyonun anöplid kromozom yapısıyla gelişimini sürdürmesi olarak açıklanabilir. Bu durum hayatta kalma üzerinde zararlı bir etki oluşturmaktadır. Yüksek dozda ise kromatin tamamen inaktive veya tahrib edildiğinden sadece dışıdan gelen haploid kromozomlar gelişimin devamında yer alırlar. Bu şekilde olan bir ginogenetik haploid koşul anöplidiye göre gelişme üzerinde daha az zararlı görülmektedir. Bizim çalışmamızda 45 cm yükseklikten 3 dakika uygulanan UV dozunun böyle bir etkiden dolayı düşük yaşama oranıyla sonuçlanması muhtemeldir.

Ginogenetik bireylerin elde edilmesinde ikinci önemli aşama diploidizasyonun sağlanmasıdır. Diploid ginogenlerin elde edilmesinde döllenmeden sonraki zaman ile

sıcaklık şokuna başlama süresi arasındaki zaman aralığı başarıyı önemli derecede etkilemektedir. Bu kritik dönem için en uygun zamanın belirlenmesine yönelik bazı çalışmalar yapılmıştır. Gökkuşluğu alabalıklarında diploid ginogenlerin üretiminde inaktive sperm ile döllenmiş yumurta döllenmeden sonra 30 dakika ile 12 saat aralığında değişen sürelerden sonra 10 dakikalık 28 °C sıcaklık şokuna tabi tutulmuştur [108]. Bu çalışmanın sonucunda döllenmeden sonra 30 dakikadan 1 saate kadar geçen zamanda uygulanan sıcaklık şoku sonucu yaşama oranları % 50'lerde iken döllenmeden 4.5-5 saat sonra uygulanan sıcaklık şoku sonucunda bu oran % 7'lerde bildirilmiştir [108]. Gökkuşluğu alabalıklarında yapılan diğer bir çalışmada döllenmeden 1 ve 5 dakika sonra 20 dk süreyle tatbik edilen 26 °C sıcaklık şoku uygulamaları sonucunda sırasıyla % 47.5 ve % 51.9 yaşama oranları rapor edilmiştir [115]. Önceki çalışmalarda da görüldüğü gibi döllenmeden 5 dk sonrası ve döllenmeden 20 dk sonraki uygulamalarda ginogen gruplarda yaşam oranları düşmektedir. Niketim çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlarda en iyi yaşama oranlarının çoğunlukla döllenmeden 20 dk sonra uygulanan sıcaklık şoku zamanında olduğu görülmüştür. Genel olarak daha önce yapılan çalışmalarda şoklama zamanının önemli bir faktör olduğu ve başarıyı etkilediği bildirilmiş olup, bizim çalışmamızın sonuçları da bu değerlendirmeleri desteklemiştir.

Ginogenetik bireylerin yaşama oranlarını önemli ölçüde etkileyen diğer bir parametre uygulanan sıcaklık şoku derecesi ve süresidir. Bir somon balığı türünde (*Oncorhynchus gorbuscha*) ginogenetik bireyler üretmek için döllenmeden 10 dakika sonra başlanan 15-30 dakika aralığında değişen sürelerde 26 °C sıcaklık şoku sonucunda ginogenetik salmonlardan yüksek verim elde edilmiştir [116]. Çalışmada kontrol grupları için 6 dişiden alınan larvaların ortalama yaşama oranları % 32 iken tek dişiden alınan larvaların 20 dakika sıcaklık şokuna tabi tutulması ile elde edilen ginogenlerin yaşama oranı % 70 olmuştur. 10-16 dakikalık 28 °C sıcaklık şoku uygulamasında ginogenen yaşama oranı % 25, 6-12 dakikalık 30 °C sıcaklık şokun süresi sonucunda ginogen yaşama oranı % 10 bildirilmiştir. Çalışmanın sonucunda uygulanan farklı süre ve derecelerdeki sıcaklık şoklarında en iyi sonuçlar % 15-70 arasında 26 °C ve 20 dakika olarak belirtilmiştir [116]. Bizim çalışmamızda da yine 26 °C'de 10 dk ve 20 dk sürelerde şok uygulamaları denenmiştir. Daha başarılı bulunan 20 dk sıcaklık şoku süresiyle kış sağımindan % 86.3, yaz sağımindan % 47.7

oranında ve önceki çalışmalarda bildirilenlerden daha yüksek ginogen yaşama oranları elde edilmiştir.

Atlantik salmonu ve gökkuşağı alabalıkları ile klonal hatlar elde etmek için uygulanan ginogenez çalışmalarında, yumurtalar döllenmeden sonraki ilk 30 dakika boyunca 10 dk ya da 20 dk süreyle hem 24° C hem de 26 ° C sıcaklık şokuna maruz bırakılmıştır [117]. Bu araştırmacılar döllenmeden sonraki sürenin sonucu etkilemediğini, en yüksek ginogen yavru oranı için şoklama sıcaklığının sırasıyla atlantik salmonunda 24 °C ve gökkuşağı alabalıklarında 26 °C olduğunu tespit etmişlerdir. Çalışma sonuçları gökkuşağı alabalıklarında 26 °C sıcaklık şokunun başarısı yönüyle bizim tespitlerimizle benzerlik gösterirken döllenmeden sonraki şoklama zamanının etkisi açısından farklılık göstermiştir. Döllenmeden sonra yumurta gelişimi dikkate alındığında bu sürenin etkili olması kaçınılmazdır ancak çok soğuk sularda gelişim yavaş olacağından bu sürenin aralığı sıcak sulara göre daha geniş olabilir. Bizim çalışmamızda da yaz sağımindaki nispeten sıcak olan su sıcaklığında süreler arasında bu fark görülmüştür.

Oncorhynchus kisutch türünde yapılan bir çalışmada ginogenetik bireyler elde edilmesinde – 0.5 °C ve 4 saat soğuk şok uygulaması sonucunda tamamı diploid dişi bireyler elde edilmiştir. Diploid ginogenetik balıklar kontrol gruplarına göre yumurtadan çıktıktan 230 gün sonra büyüme oranı olarak daha yavaş, ölüm oranı olarak da daha yüksek bildirilmiştir [118]. Çalışmamızda iyi sonuç aldığımız UV15cm/2dk ve 20 dk sıcaklık şoku süresi uygulamalarında keseli larva oranları kontrol gruplarında % 73 ve ginogen gruplarında % 62.8 olarak gözlenmiş ve yapılan çalışma ile benzer bulunmuştur. Kral sombalığında (*Oncorhynchus tshawytscha*) diploid ginogenetik eldesinde döllenmeden 8, 16 ve 24 dakika sonra farklı sürelerde 25 °C ve 29 °C de iki farklı sıcaklık şoku uygulanmıştır. Döllenmeden sonraki sürelerin etkileri benzer bulunurken 5 dk, 10 dk ve 15 dk sıcaklık şoklarına göre 20 dk sıcaklık şoku sonucunda en yüksek ginogen yaşama oranları bildirilmiştir. Uygulanan iki farklı sıcaklık derecesinden 25° C'deki grupların kuluçka yaşama oranları ortalaması 29 °C' deki grupların ortalamalarından önemli derecede yüksek olduğu bildirilmiştir [119].

Gökkuşağı alabalıklarında yapılan diğer bir çalışmada yüksek diploid ginogen yaşama oranlarının elde edilmesinde embriyo oluşumunda uygulanan en uygun

sıcaklık şoku araştırılmıştır [29]. Döllenmeden 25 dakika sonra uygulanan 26 °C ve 20 dakikalık sıcaklık şoku süresi sonucunda % 80 oranında ginogenetik bireyler elde edildiği, ancak yeme başlayıncaya kadar geçen süreçte bu oranın % 26'lara kadar düştüğü bildirilmiştir. Aynı çalışmada normal sperm ile yumurtalar döllenmeden 25 dakika sonra 26 °C sıcaklık şokuna tabi tutulduklarında tüm bireylerin triploid olduğu ve triploidlerin yaşama oranlarının da ilk yem almaya başladıkları zamana kadar geçen süre dikkate alındığında kontrollerine göre çok farklılık gösterdiği bildirilmiştir.

Çalışmada gökkuşağı alabalıklarında triploid bireylerin üretilmesi için 10 ve 20 dk sürelerde 26 °C sıcaklık şoku uygulanmıştır. Triploid uygulamalarında yaz-kış sağimlarında gözlenmiş yumurta ve keseli larva oranları karşılaştırılmıştır. Triploid gruplar içinde en yüksek oranlar kış sağimında ve döllenmeden 20 dk sonraki gözlenmiş yumurtada % 80.1, keseli larvada % 68.3 olarak kaydedilmiştir. Yaz sağımı sonuçlarına göre triploid üretiminde en yüksek oranlar döllenmeden 20 dk sonra gözlenmiş yumurtada % 47.5 ve keseli larva % 35.9 olmuştur. Triploid gruplarda olduğu gibi kontrollerde de en yüksek yaşama oranları kış periyodunda elde edilmiştir.

Ticari olarak önemli birkaç türde triploid çalışmaları yapılmış ve farklı çalışmalarla en uygun sıcaklık derecesi ve şoklama süreleri araştırılmıştır. Gökkuşağı alabalıklarında yapılan çalışmalardan birinde triploid bireylerin elde edilmesinde döllenmeden 25 dakika sonra 26 °C sıcaklıkta 20 dakika süreyle şoklama uygulanmıştır. Sonuçta % 98 triploid bireylerin elde edildiği ve bunların % 87'sinin yaşadığı rapor edilmiştir [29]. Çalışmamızda 26 °C sıcaklıkta 20 dakikalık şoklama süresi sonucunda elde edilen % 80.1 yaşama oranı ile bu çalışmaya benzer sonuçlar elde edildiği görülmüştür.

Triploid gökkuşağı alabalığı üretiminde döllenmeden sonra 0-70 dakika arasında değişen sürelerde uygulanan 27-30 °C sıcaklıklarda 10 dk süreyle uygulanan şoklama sonuçlarında % 50 oranında yaşama oranları bildirilmiştir [120]. Yine gökkuşağı alabalıklarında döllenmeden 10 dakika sonra 36 °C de bir dakikalık sıcaklık şokunda % 43 oranında triploid birey elde edilmiş ve bunların % 33'ünün yaşadığı rapor edilmiştir [121]. Diğer bir çalışmada araştırmacılar gökkuşağı alabalıklarında döllenmeden sonra 1-40 dakika arasında değişen sürelerde 26-28 °C 10 dk sıcaklık

şoku uygulamışlar ve % 83-100 arasında triploid birey elde ederken, bunlarda % 50-70 oranında yaşama oranı gözlemlenmiştir [122]. Atlantik salmonunda 1990 yılında yapılan çalışmada da döllenmeden 5 dakika sonra 29°C 10 dk sıcaklık şoku uygulamasında yaşama oranları % 86.4 olarak en yüksek bulunmuştur [115]. Triploid bireylerin elde edilmesi ile ilgili yayınlanan çalışmalara bakıldığında genel olarak benzer sonuçlar elde edildiği ve kontrol gruplarına göre düşük yaşama oranı sebebinin uygulanan sıcaklık ya da mekanik şoktan kaynaklı olduğu bildirilmiştir [46, 115, 123].

Ginogenezis ve triploidizasyonda tüm gruplarda kış sağımında yani normal üreme periyodunda elde edilen değerler yaz sağımına göre daha başarılı sonuçlar vermiştir. Fotoperiyot uygulanan anaçlarda cinsiyet kontrolü sonucunda en büyük problem yaşama oranlarının düşük gerçekleşmesi olarak tespit edilmiştir. Buradaki en önemli faktörler fotoperiyottaki anaçlardan sağılan yumurtaların normal periyottaki yumurtalara göre kalite probleminin olması (örneğin küçük yumurta çapı) yanında spermilerin de kalitesiz, örneğin canlı hücre sayısının, motilitesinin ve yaşama süresinin normal periyoda göre çok daha düşük olması sayılabilir. Gökuşağı alabalıklarında fotoperiyot ve doğal sağım dönemlerinin yumurta kalitesi araştırıldığı bir çalışmada her iki periyot içinde yumurta kalitesi için gözlü yumurta ve keseli larva oranları karşılaştırılmıştır [124]. Gözlü yumurta oranı fotoperiyotta 49 ± 18 , doğal periyotta 93 ± 3 , keseli larva oranları fotoperiyotta 37 ± 1 ve doğal periyotta 84 ± 5 olarak belirtilmiş ve fotoperiyotta yumurta kalitesinin düştüğü sonuç olarak verilmiştir [124].

Bu çalışmanın hedeflerinden sonuncusu alabalığın erken gelişme döneminde uygulanan yüksek sıcaklığın kalıtsal özelliklere bağlı olarak cinsiyet üzerine etkili olup olamayacağının bir ön çalışma olarak ortaya konması olmuştur. Balıklarda cinsiyet farklılaşması sadece cinsiyet kromozomlarına bağlı değildir ve cinsiyet oranı üzerinde sıcaklık, pH gibi çevresel koşulların etkili olduğunu gösteren araştırmalar mevcuttur [11, 50, 125]. Çalışmamızda erken embriyonik dönemde 18 °C sıcaklık denemesine alınan ve her biri 1 dişi-1 erkekten oluşan 6 farklı aileden gelen sıcaklık grupları ile kontrol grupları arasında cinsiyet oranları açısından fark görülmemiştir. Gruplar arasındaki cinsiyet oranı 1:1 dişi/erkek oranına yakın çıkmıştır. Günümüze kadar balıkların cinsiyeti üzerine sıcaklığın etkisi ile ilgili birçok çalışma yapılmıştır.

Alabalıklar için sıcaklığın cinsiyete etkisinin olmadığını bildiren çalışmalarda bulunmaktadır [52] ve bu durum bizim denemelerimizi desteklemektedir.

Sıcaklık, metabolik faaliyetler üzerinde steroidlerin biyosentezi için veya balıklarda bu farklılaşmada öncelikli taraf olan beyin üzerinde etki göstermektedir ve alabalıklarda cinsiyetin larval gelişimi süresince oluşan sıcaklık değişimlerinden etkilendiği yönünde önemli deliller bulunmuştur [55,82]. Gökkuşığı alabalıklarında döllenmeden sonraki 40. ve 70. günler arası uygulanan ortalama 16.5 °C yüksek sıcaklığın populasyonlarda tek yönlü cinsiyet geliştirmede bir grupta erkek diğer bir grupta dişi yönünde eğilime neden olmasına rağmen gözlenen bu eğilimlerin hem iki farklı cinsiyete yönelik olması ve hem de istatistikî olarak farklı bulunmamasından dolayı deneme sonucunda elde edilen değerlerin kesin yargılara varmak için yetersiz kaldığı bildirilmiştir [11].

Gökkuşığı alabalıklarında yapılan diğer bir çalışmada erken embriyonik dönemde 18 °C sıcaklığa maruz bırakılan alabalık yavrularının 4 grupta dişi cinsiyet yönünde bir eğilim gerçekleşirken, bir grupta erkek cinsiyet yönünde eğilim gösterdiği belirtilmiş ve bu sonuçlar cinsiyet mekanizması üzerinde genotip ve çevresel faktörlerin birlikte etkili olabileceği şeklinde yorumlanmıştır [82]. Gökkuşığı alabalıklarında normal bireyler ile ginogenetik dişi bireyler döllenmeden 42 gün sonra 30 gün süreyle 18 °C su sıcaklığına maruz bırakılmış ve normal bireylerde dişi oranları en yüksek % 58 olarak, en düşük % 44 olarak bildirilmiştir [55]. Ginogenezi yöntemi ile elde edilen salmon yavrularında aynı sıcaklık denemeleri yapılmış ve % 16 oranında erkek cinsiyet gözlemlenmiştir [55].

Oncorhynchus nerka türünde ısı kararsızlıkla cinsiyet dönüşümüne yönelik yapılan çalışmada döllenmeden 57 gün sonra 9 °C normal yaşadığı su sıcaklığından 18 °C yüksek sıcaklığa alınan larvalarda % 85.7 oranında cinsiyet değişimi rapor edilmiştir [126]. *Oncorhynchus nerka* türünde yapılan diğer bir çalışmada da embriyonik gelişme sırasında uygulanan yüksek su sıcaklığının cinsiyet oranını dişiler yönünde arttırdığı bildirilmiştir [53]. Levrek balıklarında (*Dicentrarchus labrax*) erken embriyonik dönemde cinsiyet dönüşümü üzerine sıcaklığın etkisi ile ilgili yapılan bir çalışmada da düşük sıcaklıklarda dişi cinsiyet yönünde eğilimler olduğu bildirilmiştir [87]. Yayın balıklarında yapılan bir çalışmada yine yüksek sıcaklıkta dişi veya erkek

yönünde, düşük sıcaklıkta erkek veya dişi şeklinde bir eğilim olduğu rapor edilmiştir [77].

Türkiye’de tamamı dişi üretim yapan işletme sayısı bulunmamakta ve bunun yerine yurt dışından yumurta ithali yapılmaktadır. Bazı işletmelerde üretim protokolü olarak yerleşmemiş ve deneme olarak devam ettirilen dolaylı dişileştirme faaliyetleri ise istenen verimden çok uzak kalmaktadır. Bu tez çalışması ile büyük bir alabalık üretim işletmesinin tamamı dişi populasyon üretimindeki potansiyeli görülmeye çalışılmıştır. Karşılaşılan zorlukların başında kullanım alanı ve yetişmiş personel eksikliği gelmektedir. Verim artırıcı alanlarda yetişmiş personel ve yönetici eksikliği çalışmaların takip ve sonuçlandırılmasında gerekli önlem ve hassasiyetlerin devamında çok büyük problemler oluşturmaktadır. Bu nedenle en acil ihtiyaç olarak Türkiye’deki balık üreticilerinin işletmelerin AR-GE faaliyetleri ve inovasyonun gerekliliği konusundaki bilinçlilik düzeyi ayrıca önemli görülmüştür. Bunun dışında sürekli ve yeterli enerji kaynağının bulunması önemli bir faktör olarak görülmüştür. Bergama ön denemelerinde jeneratör yardımıyla çalışmaların yürütülmesi, işletme kapasitesinden ve alanından kaynaklanan deneme materyali stoklama ve takip prosedürlerinin uygulanamaması küçük işletmelerin en büyük problemi olarak görülmüştür. Bu nedenle bu tür faaliyetleri ancak büyük kapasiteli işletmelerin yürütebileceği anlaşılmıştır. Hatta birkaç büyük kapasiteli alabalık üretim işletmesinin biraraya gelerek ortak proje kapsamında bu ve benzeri verimli stokların oluşturulması faaliyetini birlikte yürütmesi gerekebilir. Bu amaçla dünyadaki ve somon markası Norveç benzerleri gibi üniversite araştırma faaliyetlerinin desteklenmesi ve ya üniversitelerden danışmanlık yoluyla destek alınması su ürünleri sektörünün dünya ile rekabeti için artık kaçınılmaz hale gelmiştir. Gelecekte verimlilik, sürdürülebilirlik ve rekabet unsurlarının pazar oluşturma ve pazar riski üzerine etkileri daha belirgin hale geleceği günümüzdeki tartışmalara bakıldığında çok açıktır.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Türkiye koşullarında birkaç işletmenin karışık populasyonları erkekleştirme için kullandığı bilinmektedir. Sunulan çalışmanın sonuçları tamamı dişi yavruların bu işletmelerdeki erkekleştirme çalışmaları için üretilebileceğini ve büyük kapasiteli bir işletmede ginogenezis metodunun dolaylı cinsiyet kontrolü ve tamamı dişi üretime yönelik olarak yapılabilirliğini açıkça göstermiştir.

Sunulan çalışma ile kış ve yaz üretiminde sağılan yumurta ve spermle gökkuşağı alabalığı yetiştiriciliğinde ginogenez, triploid ve sıcaklık uygulamalarındaki kuluçka ve larval dönem yaşama oranları başarılı işletme şartlarında denenmiştir.

Hem yaz hem de kış yumurtasında UV (15W, 254 nm) aşamasının özellikle 15 cm yükseklikten ve 2 dk süreyle uygulanmasının etkili sonuç verdiği bulunmuştur. Ginogenetik bireylerin eldesinde 26 °C sıcaklık şoku ile 10 dakika ve 20 dakikalık sürelerde bütün UV değişkenleriyle birlikte denenmiştir. Çalışmalar boyunca döllenmeden 5, 10 ve 20 dk sonraki zamanlarda yapılan şoklamalardan en yüksek değerler genel olarak döllenmeden 20 dk sonra başlayan şoklama zamanı ile elde edilmiştir. Kış sağımında yani normal üreme periyodunda elde edilen değerler tüm uygulamalarda yaz sağımına göre daha yüksek kaydedilmiştir. Buna göre fotoperiyot uygulanmış anaçlarda cinsiyet kontrolünün çalışılmasında en büyük problem yaşama oranlarının düşük gerçekleşmesi olarak tespit edilmiştir. Bu problemdeki en büyük etkenler olarak fotoperiyottaki anaçlardan sağılan yumurtaların normal periyottaki yumurtalara göre kalite probleminin olması yanında spermilerin de kalitesiz, örneğin canlı hücre sayısının, motilitesinin ve yaşama süresinin normal periyoda göre çok daha düşük olması sayılabilir. Triploid üretiminde 26 °C ve 20 dk süreli sıcaklık şoklarına maruz bırakılan triploid gruplarında yaşama oranlarının ginogen bireylere göre daha yüksek ancak kontrol gruplarına göre ise düşük olduğu görülmüştür.

Birçok sektörde olduğu gibi su ürünlerinde de amaç; mümkün olan en kısa sürede verimli ve sağlıklı ürün elde etmektir. Bu verimliliği elde etmek için üreme teknolojisi ve genetik mühendislik uygulamalarından yararlanılır. Tek cinsiyetli üretim, cinsiyetler arası ortaya çıkan farklılıklardan dolayı yetiştiricilikte verimi arttırmak amacıyla tercih edilmektedir. Alabalıklarda dişiler büyüme, yem değerlendirme oranı, çevresel koşullara adaptasyon, hastalık direnci, vücut ve et

renginde erkeklerden daha avantajlıdır ve bu nedenle alabalık kültüründe tamamı dişi populasyonlar tercih edilir. Bu amaçla yeni teknolojiler son on yılda aktif olarak gökkuşağı alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) uygulanmıştır.

Bu çalışma ile tamamı dişi popülasyon üretiminin ticari işletmeler için yaşama oranları yönüyle normal üreme mevsiminde yapılmasının daha faydalı olacağını göstermiştir. Ancak hala yöntemlerin ticari işletmeler için pratik hale getirilmesine ihtiyaç vardır. Bunun için işletmelerde bulunması gerekli en önemli özellikler;

- Yetişmiş personel gücü ve ya desteği
- Yeterli işletme alanı
- Anaç ve stok takip sisteminin işletme genelinde kabul görmesi ve geliştirilmesi
- Sürekli enerji kaynağının bulunması
- AR-GE faaliyetleri ve yararlılığı bilincinin taşınması
- Kapsamlı işletme ve üretim verimliliği sisteminin geliştirilmesi ve buna bağlı kalite sisteminin oluşturulması
- Profesyonel yönetim anlayışı

Sonuç olarak bu tekniklerin uygulanabilirlik ve tekrarlanabilirliklerinin pratikleşmesi ve üretimde kullanımının yaygınlaşması ile;

- Özellikle büyük ölçekli üretimlerde hissedilir verimlilik ve karlılık artışı,
- Sektör çalışanlarına, ulusal ekonomiye ve toplumsal refaha katkı sağlayacağı,
- Özellikle alabalık çiftliklerinin kırsal bölgelerde yerleşik olduğu düşünüldüğünde işletme bazında yaşanacak en ufak iyileşmenin bu bölgelerdeki etkileri ve bölgesel kalkınmadaki payının tahminlerden çok daha büyük olacağı,
- Kaliteli ve verimli stoklar maliyetleri düşüreceğinden rekabet gücünü artıracığı,
- Sürdürülebilirliği ve kaynakların verimli kullanımını destekleyeceği beklenmektedir.

KAYNAKLAR

1. **Lymbery, A.J.**(2000). Genetic improvement in the Australian aquaculture industry. *Aquaculture Research*,31(1): p. 145-149.
2. **TUIK** (2012). Su Ürünleri İstatistikleri.
3. **FAO**, (2012).The State of World Fisheries and Aquaculture. P. 38.
4. **Purdom, C.E.** (1993). Genetics and fish breeding. Vol. 8. Springer.
5. **Thorgaard, G.H. ve G.A. Gall** (1979). Adult triploids in a rainbow trout family. *Genetics*, 93(4): p. 961-973.
6. **Gjedrem, T.** (1992). Breeding plans for rainbow trout. *Aquaculture*, 100(1): p. 73-83.
7. **Crandell, P.A. ve G.A. Gall** (1992). Body weight analysis for individually tagged rainbow trout: males, females and precocious males. *Aquaculture*, 100(1): p. 99.
8. **Aksnes, A., B. Gjerde, ve S.O. Roald** (1986) Biological, chemical and organoleptic changes during maturation of farmed Atlantic salmon,*Salmo salar*. *Aquaculture*, 53(1): p. 7-20.
9. **Bye, V.J. ve R.F. Lincoln** (1986). Commercial Methods for the Control of Sexual-Maturation in Rainbow-Trout (*Salmo-Gairdneri* R). *Aquaculture*, 57(1-4): p. 299-309.
10. **Feist, G.,Yeoh, C., Fitzpatrick M. S., Schreck, C. B.** (1995). The production of functional sex-reversed male rainbow trout with 17 α -methyltestosterone and 11 β -hydroxyandrostenedione. *Aquaculture*, 131(1): p. 145-152.
11. **Altunok, M., Kızak, V., Özden, O., Türel, M.** (2008). Çevresel Faktörlerin Balıklarda Cinsiyet Dönüşümüne Etkisi. *EÜ Su Ürünleri Dergisi*, 2008. 25(3): p. 247-251.
12. **Bellinger, K.L., G.H. Thorgaard, ve P.A. Carter** (2014) Domestication is associated with reduced burst swimming performance and increased body size in clonal rainbow trout lines. *Aquaculture*, 420: p. 154-159.
13. **Komen, H. ve G.H. Thorgaard** (2007). Androgenesis, gynogenesis and the production of clones in fishes: a review. *Aquaculture*, 2007. 269(1): p. 150-173.
14. **Magnan, P., Reinbold, D., Thorgaard, G., Carter, P. A.** (2009). Reduced swimming performance and increased growth in domesticated rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 66(7): p. 1025-1032.
15. **Thorgaard, G.H., Scheerer, P. D., Hershberger, W. K., Myers, J. M.** (1990), Androgenetic rainbow trout produced using sperm from tetraploid males show improved survival. *Aquaculture*, 85(1): p. 215-221.
16. **Sundin, K., Brown, K. H., Drew, R. E., Nichols, K. M., Wheeler, P. A., Thorgaard, G.H.** (2005) Genetic analysis of a development rate QTL in backcrosses of clonal rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 247(1): p. 75-83.
17. **Bencsik, I., Pacala, N., Caprita, R., Dronca, D., Dumitrescu, G., Bencsik-Theilen, A. A.** (2011). Diploid Gynogenesis Induced by Heat Shock after Activation with UV-Irradiated Sperm in Rainbow Trout (*Oncorhynchus Mykiss*).

18. **Chourrout, D.** (1986). Techniques of chromosome manipulation in rainbow trout: a new evaluation with karyology. *Theoretical and Applied Genetics*, 72(5): p. 627-632.
19. **Thorgaard, G.H., Bailey, G. S., Williams, D., Buhler, D. R., Kaattari, S. L., Ristow S. S., Hansen, J. D., Winton, J. R., Bartholomew, J. L., Nagler, J. J.** (2002). Status and opportunities for genomics research with rainbow trout. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 133(4): p. 609-646.
20. **Thorgaard, G.H.** (1992) Application of genetic technologies to rainbow trout. *Aquaculture*, 100(1): p. 85-97.
21. **Young, W., Wheeler, P. A., Thorgaard, G. H.** (1995). DNA fingerprinting confirms isogenicity of androgenetically derived rainbow trout lines. *The Journal of heredity*, 87(1): p. 77-80.
22. **Colihueque, N., Iturrac, C. P., Diaz, P.N., Veloso, M. A.** (2001). Diploid chromosome number variations and sex chromosome polymorphism in five cultured strains of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 198(1): p. 63-77.
23. **Robison, B. D., Wheeler, P. A., Sundin, K., Sikka, P., Thorgaard, G. H.** (2001) Composite interval mapping reveals a major locus influencing embryonic development rate in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of Heredity*, 92(1): p. 16-22.
24. **Nagahama, Y.** (2005). Molecular mechanisms of sex determination and gonadal sex differentiation in fish. *Fish physiology and biochemistry*, 31(2-3): p. 105-109.
25. **Scheerer, P. D., Thorgaard, G. H., Allendorf F. W., Knudsen K. L.** (1986). Androgenetic rainbow trout produced from inbred and outbred sperm sources show similar survival. *Aquaculture*, 57(1): p. 289-298.
26. **Robison, B.D., P.A. Wheeler, ve G.H. Thorgaard** (1999). Variation in development rate among clonal lines of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 173(1): p. 131-141.
27. **Nelson, J.A. ve G. Claireaux** (2005). Sprint swimming performance of juvenile European sea bass. *Transactions of the American Fisheries Society*, 134(5): p. 1274-1284.
28. **Müller-Belecke, A. ve G. Hörstgen-Schwark** (2000). Performance testing of clonal (*Oreochromis niloticus*) lines. *Aquaculture*, 184(1): p. 67-76.
29. **Chourrout, D. ve E. Quillet** (1982). Induced gynogenesis in the rainbow trout: sex and survival of progenies production of all-triploid populations. *Theoretical and Applied Genetics*, 63(3): p. 201-205.
30. **Quillet, E., P. Garcia, ve R. Guyomard** (1991). Analysis of the production of all homozygous lines of rainbow trout by gynogenesis. *Journal of Experimental Zoology*, 257(3): p. 367-374.
31. **Thorgaard, G.H., F.W. Allendorf, ve K.L. Knudsen** (1983). Gene-centromere mapping in rainbow trout: high interference over long map distances. *Genetics*, 103(4): p. 771-783.
32. **Barroso, R. M., Wheeler, P. A., LaPatra, S. E., Drew, R. E., ve Thorgaard, G. H.** (2008). QTL for IHNV resistance and growth identified in a rainbow (*Oncorhynchus mykiss*)× Yellowstone cutthroat (*Oncorhynchus clarki bouvieri*) trout cross. *Aquaculture*, 277(3): p. 156-163.

33. **Felip, A., Young, W. P., Wheeler, P. A., ve Thorgaard, G. H.** (2005). An AFLP-based approach for the identification of sex-linked markers in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 247(1): p. 35-43.
34. **Ocalewicz, K., Babiak, I., Kasprzycka, B., Dobosz, S., Kuzminski, H., ve Goryczko, K.** (2007). Occurrence of two forms of Y chromosome in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) males from Rutki strain. *Aquaculture*, 270(1): p. 546-551.
35. **Purdom, C.**(1983). Genetic engineering by the manipulation of chromosomes. *Aquaculture*, 33(1): p. 287-300.
36. **Genet, R.B., N. Colihuequel, P. Iturral, N. Def, A. Veloso and F. Estayz** (1992). Karyological Analysis and Identification of Heterochromosomes in Experimental Gynogenetic Offspring of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Genet.* 15,3, 535-546.
37. **Müller-Belecke, A.** (2005). Relations between egg size, reproductive success and growth performance of progeny in isogenic (*Oreochromis niloticus*) lines. *Aquaculture*, 247(1): p. 127-134.
38. **Young, W.P., P.A. Wheeler, and G.H. Thorgaard** (1995). Asymmetry and variability of meristic characters and spotting in isogenic lines of rainbow trout. *Aquaculture*, 137(1): p. 67-76.
39. **Dupont-Nivet, M., Robert-Granié, C., Le Guillou, S., Tiquet, F., Quillet, E.** (2012). Comparison of isogenic lines provides evidence that phenotypic plasticity is under genetic control in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Journal of Fish Biology*, 81(5): p. 1754-1762.
40. **Chourrout, D., Chevassus, B., Krieg, F., Happe, A., Burger, G., Renard, P.** (1986). Production of second generation triploid and tetraploid rainbow trout by mating tetraploid males and diploid females-potential of tetraploid fish. *Theoretical and Applied Genetics*, 72(2): p. 193-206.
41. **TURAN, C.** (2000). Su ürünlerinde biyoteknoloji ve kullanım alanları. IV. Su Ürünleri Sempozyumu,. 28-30 Haziran,
42. **Benfey, T. J., Solar, I. I., De Jong, G., Donaldson, E. M.** (1986). Flow-cytometric confirmation of aneuploidy in sperm from triploid rainbow trout. *Transactions of the American Fisheries Society*, 115(6): p. 838-840.
43. **Thorgaard, G.H.** (1986). Ploidy manipulation and performance. *Aquaculture*, 57(1): p. 57-64.
44. **Myers, J. ve W. Hershberger** (1991). Early growth and survival of heat-shocked and tetraploid-derived triploid rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 96(2): p. 97-107.
45. **Phillips, R. B., Zajicek, K. D., Ihssen, P. E., & Johnson, O.** (1986) Application of silver staining to the identification of triploid fish cells. *Aquaculture*, 54(4): p. 313-319.
46. **Quillet, E., B. Chevassus, ve A. Devaux** (1988). Timing and duration of hatching in gynogenetic, triploid, tetraploid, and hybrid progenies in rainbow trout. *Genet. Sel. Evol.*, 20(2): p. 199-210.
47. **Güner, Y. ve A.A. Tekinay** (2000). Gökkuşığı Alabalıklarının (*Oncorhynchus mykiss* W., 1792) Dışileştirme Tekniği.
48. **Teuscher, D. M., Schill, D. J., Megargle, D. J., Dillon, J. C.** (2003) Relative survival and growth of triploid and diploid rainbow trout in two Idaho reservoirs. *North American Journal of Fisheries Management*, 23(3): p. 983-988.

49. **Quillet, E., Dorson, M., Le Guillou, S., Benmansour, A., Boudinot, P.** (2007). Wide range of susceptibility to rhabdoviruses in homozygous clones of rainbow trout. *Fish & Shellfish Immunology*, 22(5): p. 510-519.
50. **Baroiller, J.F., Y. Guiguen, ve A. Fostier** (1999). Endocrine and environmental aspects of sex differentiation in fish. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 55(6-7): p. 910-931.
51. **Baroiller, J. ve H. D'cotta** (2001). Environment and sex determination in farmed fish. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 130 (4): p. 399-409.
52. **Van den Hurk, R., J. Lambert, ve J. Peute** (1982). Steroidogenesis in the gonads of rainbow trout fry (*Salmo gairdneri*) before and after the onset of gonadal sex differentiation. *Reproduction, nutrition, development*, 22(2): p. 413.
53. **Craig, J.K., C.J. Foote, ve C.C. Wood** (1996). Evidence for temperature-dependent sex determination in sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 53 (1): p. 141-147.
54. Yada, T., Muto, K., Azuma, T., Ikuta, K. (2004). Effects of prolactin and growth hormone on plasma levels of lysozyme and ceruloplasmin in rainbow trout. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 139 (1): p. 57-63.
55. **Magerhans, A. ve G. Hörstgen-Schwark** (2010). Selection experiments to alter the sex ratio in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) by means of temperature treatment. *Aquaculture*, 306 (1): p. 63-67.
56. **MacCrimmon, H.R.** (1971). World distribution of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Journal of the Fisheries Board of Canada*, 28(5): p. 663-704.
57. **Leitritz, E. ve R.C. Lewis** (1980). Trout and salmon culture: hatchery methods. UCANR Publications.
58. **Çelikkale, M.** (1988). İç su Balıkları ve Yetiştiriciliği, Cilt I, KTÜ. Sürmene DB Tek. Yüksekokulu, Trabzon.
59. **Apitsz, J., Leitritz, H., Kemter, B., Schmaltz, A., Loser, H.** (1974). Pulmonary Atresia With Ventricular Septal-Defect. In *Herz Kreislauf* (Vol. 6, No. 11, pp. 636-636).
60. **Bromage, N., Jones, J., Randall, C., Thrush, M., Davies, B., Springate, J., Barker, G.** (1992). Broodstock management, fecundity, egg quality and the timing of egg production in the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 100 (1), 141-166.
61. **Duncan, N. J., Auchinachie, N., Robertson, D., Murray, R., Bromage, N.** (1998). Growth, maturation and survival of out-of-season 0+ and 1+ Atlantic salmon (*Salmo salar*) smolts. *Aquaculture*, 168(1), 325-339.
62. **Emre, Y. and V. Kürüm** (2004). Alabalık Yetiştiriciliği. TC Başbakanlık Güneydoğu anadolu Projesi Bölge Kalkınma İdaresi Başkanlığı.
63. **Çetinkaya, O., K. Güllü, ve O. Özden** (1996). The Effect of 17 α -Methyltestosterone on Growth, Condition, Feed Conversation and Protein Efficiency of Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *EÜ Su Ürünleri Fakültesi Derg*, 13 (3-4): p. 285-295.
64. **Kurtoğlu, İ.Z., İ. Okumuş, ve M.S. Çelikkale** (1998). Doğu Karadeniz Bölgesi'nde Ticari bir İşletmedeki Gökkuşuğu Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) Anaçlarının Döl Verim Özellikleri ve Yavrularının Büyüme Performansının Belirlenmesi.

65. **Shepherd, C.J. ve N.R. Bromage** (1988). Intensive Fish Farming. Blackwell Scientific Publications Ltd.
66. **Frigg, M., A. Prabucki, ve E. Ruhdel** (1990). Effect of dietary vitamin E levels on oxidative stability of trout fillets. *Aquaculture*, 84(2): p. 145-158.
67. **Bowles, J. ve P. Koopman** (2001). New clues to the puzzle of mammalian sex determination. *Genome Biol*, 2(1025): p. 1-1025.4.
68. **Sandra, G.-E. ve M.-M. Norma** (2010). Sexual determination and differentiation in teleost fish. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 20(1): p. 101-121.
69. **Yamamoto, T. O.** (1969). 3 Sex Differentiation. *Fish physiology*, 3, 117-175.
70. **Hayes, T.B.** (1998). Sex determination and primary sex differentiation in amphibians: genetic and developmental mechanisms. *Journal of Experimental Zoology*, 281(5): p. 373-399.
71. **Piferrer, F.** (2001). Endocrine sex control strategies for the feminization of teleost fish. *Aquaculture*, 197(1): p. 229-281.
72. **Charnov, E.L. ve J.J. Bull** (1989). The primary sex ratio under environmental sex determination. *Journal of theoretical biology*, 139(4): p. 431-436.
73. **Thorgaard, G.H.** (1977). Heteromorphic sex chromosomes in male rainbow trout. *Science*, 196 (4292): p. 900-902.
74. **Hunter, G.A. ve E.M. Donaldson** (1983). Hormonal sex control and its application to fish culture. *Fish physiology*, 9 (Part B): p. 223-303.
75. **Yamazaki, F.** (1976). Application of hormones in fish culture. *Journal of the Fisheries Board of Canada*, 33 (4): p. 948-958.
76. **Luckenbach, J. A., Borski, R. J., Daniels, H. V., Godwin, J.** (2009). Sex determination in flatfishes: mechanisms and environmental influences. In *Seminars in cell & developmental biology* (Vol. 20, No. 3, pp. 256-263). Academic Press.
77. **Patiño, R., Davis, K. B., Schoore, J. E., Uguz, C., Strüssmann, C. A., Parker, N. C., Goudie, C. A.** (1996). Sex differentiation of channel catfish gonads: normal development and effects of temperature. *Journal of Experimental Zoology*, 276(3), 209-218.
78. **Paukstis, G.L., W.H. Gutzke, ve G.C. Packard** (1984). Effects of substrate water potential and fluctuating temperatures on sex ratios of hatchling painted turtles (*Chrysemys picta*). *Canadian journal of zoology*, 62 (8): p. 1491-1494.
79. **Dournon, C., C. Houillon, ve C. Pieau** (1990). Temperature sex-reversal in amphibians and reptiles. *The International journal of developmental biology*, 34 (1): p. 81-92.
80. **Crews, D., Bergeron, J. M., Bull, J. J., Flores, D., Tousignant, A., Skipper, J. K., Wibbels, T.** (1994). Temperature-dependent sex determination in reptiles: Proximate mechanisms, ultimate outcomes, and practical applications. *Developmental Genetics*, 15(3), 297-312.
81. **Conover, M.R. ve G.L. Hunt J.** (1984). Experimental evidence that female-female pairs in gulls result from a shortage of breeding males. *Condor*, p. 472-476.
82. **Magerhans, A., A. Muller-Belecke, ve G. Horstgen-Schwark** (2009). Effect of rearing temperatures post hatching on sex ratios of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) populations. *Aquaculture*, 294 (1-2): p. 25-29.

83. **Strüssmann, C.A., F. Takashima, ve K. Toda (1996).** Sex differentiation and hormonal feminization in pejerrey (*Odontesthes bonariensis*) Aquaculture, 139 (1): p. 31-45.
84. **Ospina-Alvarez, N. ve F. Piferrer (2008).** Temperature-dependent sex determination in fish revisited: prevalence, a single sex ratio response pattern, and possible effects of climate change. PLoS One, 3 (7): p. e2837.
85. **Pieau, C., M. Dorizzi, ve N. Richard-Mercier (1999).** Temperature-dependent sex determination and gonadal differentiation in reptiles. Cellular and Molecular Life Sciences CMLS, 55 (6-7): p. 887-900.
86. **Chardard, D., Desvages, G., Pieau, C., Dournon, C. (1995).** Aromatase activity in larval gonads of *Pleurodeles waltl* (Urodele Amphibia) during normal sex differentiation and during sex reversal by thermal treatment effect. *General and comparative endocrinology*, 99(1), 100-107.
87. **Pavlidis, M., Koumoundouros, G., Sterioti, A., Somarakis, S., Divanach, P., Kentouri, M. (2000).** Evidence of temperature-dependent sex determination in the European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). *Journal of Experimental Zoology*, 287(3), 225-232.
88. **Koumoundouros, G., Pavlidis, M., Anezaki, L., Kokkari, C., Sterioti, A., Divanach, P., Kentouri, M. (2002).** Temperature sex determination in the European sea bass, *Dicentrarchus labrax* (L., 1758)(Teleostei, Perciformes, Moronidae): critical sensitive ontogenetic phase. *Journal of Experimental Zoology*, 292(6), 573-579.
89. **Baras, E., B. Jacobs, ve C. M  lard (2001).** Effect of water temperature on survival, growth and phenotypic sex of mixed (XX–XY) progenies of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Aquaculture, 192(2): p. 187-199.
90. **Piferrer, F. ve E.M. Donaldson (1989).** Gonadal differentiation in coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) after a single treatment with androgen or estrogen at different stages during ontogenesis. Aquaculture, 77 (2): p. 251-262.
91. **Piferrer, F., Zanuy, S., Carrillo, M., Solar, I. I., Devlin, R. H., Donaldson, E. M. (1994).** Brief treatment with an aromatase inhibitor during sex differentiation causes chromosomally female salmon to develop as normal, functional males. *Journal of Experimental Zoology*, 270(3), 255-262.
92. **Kaeriyama, M., Nakamura, M., Edpalina, R., Bower, J. R., Yamaguchi, H., Walker, R. V., Myers, K. W. (2004).** Change in feeding ecology and trophic dynamics of Pacific salmon (*Oncorhynchus spp.*) in the central Gulf of Alaska in relation to climate events. *Fisheries Oceanography*, 13(3), 197-207.
93. **  , O. (2008).** Deniz Balıkları Yetiştiriciliği Ders Notları. KT   Deniz Bilimleri Fakültesi.
94. **Dunham, R.A. (2011).** Aquaculture and Fisheries Biotechnology and Genetics. CABI.
95. **Scott, A., J. Sumpter, ve P. Hardiman (1983).** Hormone changes during ovulation in the rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richardson). *General and Comparative Endocrinology*, 49(1): p. 128-134.
96. **Bromage, N.R. ve R.J. Roberts (1995).** Broodstock management and egg and larval quality. Blackwell Science Ltd.
97. **Ligeon, C., Jolly, C., Crews, J., Martin, R., Yant, R., Dunham, R. (2004).** Whole farm analysis of the introduction of CB hybrid (channel catfish,

- Ictalurus punctatus, female x blue catfish, I. furcatus, male) on farm structure and profitability. *Aquaculture Economics & Management*, 8(5-6), 233-251.
98. **Johnstone, R. ve G. Britain** (1992) Production and performance of triploid Atlantic salmon in Scotland. Great Britain, Agriculture and Fisheries Department.
 99. **Özden, O., Y. Güner, and V. Kızak** (2003) Tatlısu Balık Kültüründe Uygulanan Bazı Biyoteknolojik Yöntemler. Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi, 20(3-4): p. 563-574.
 100. **Lou, Y. ve C. Purdom** (1984). Diploid gynogenesis induced by hydrostatic pressure in rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson. Journal of fish biology, 24(6): p. 665-670.
 101. **Chourrout, D.** (1982). Gynogenesis caused by ultraviolet irradiation of salmonid sperm. Journal of Experimental Zoology, 223(2): p. 175-181.
 102. **Rothbard, S., Rubinshtein, I., David, L., Shelton, W. L.** (1999). Ploidy manipulations aimed to produce androgenetic Japanese ornamental (koi) carp, *Cyprinus carpio* L. *Israeli journal of aquaculture= Bamidgeh*.
 103. **Guyomard, R.** (1984). High level of residual heterozygosity in gynogenetic rainbow trout, *Salmo gairdneri*, Richardson. Theoretical and Applied Genetics, 67(4): p. 307-316.
 104. **Felip, A., Zanuy, S., Carrillo, M., Piferrer, F.** (2001). Induction of triploidy and gynogenesis in teleost fish with emphasis on marine species. *Genetica*, 111(1-3), 175-195.
 105. **Foisil, L. ve D. Chourrout** (1992). Chromosome doubling by pressure treatments for tetraploidy and mitotic gynogenesis in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum): re-examination and improvements. *Aquaculture Research*, 23(5): p. 567-575.
 106. **Quillet, E.**(1994). Survival, growth and reproductive traits of mitotic gynogenetic rainbow trout females. *Aquaculture*, 123(3): p. 223-236.
 107. **Thorgaard, G., P. Scheerer, ve J. Parsons** (1985). Residual paternal inheritance in gynogenetic rainbow trout: implications for gene transfer. *Theoretical and Applied Genetics*, 71(1): p. 119-121.
 108. **Purdom, C., D. Thompson, ve Y. Lou** (1985). Genetic engineering in rainbow trout, *Salmo gairdnerii* Richardson, by the suppression of meiotic and mitotic metaphase. *Journal of fish biology*, 27(1): p. 73-79.
 109. **Galbusera, P., F.A. Volckaert, ve F. Ollevier** (2000) Gynogenesis in the African catfish (*Clarias gariepinus*)(Burchell, 1822): III. Induction of endomitosis and the presence of residual genetic variation. *Aquaculture*, 185(1): p. 25-42.
 110. **Lee, P., H. King, ve N. Pankhurst** (2004). Preliminary assessment of sex inversion of farmed Atlantic salmon by dietary and immersion androgen treatments. *North American Journal of Aquaculture*, 66(1): p. 1-7.
 111. **Quillet, E., L. Labbe, ve I. Queau** (2004). Asymmetry in sexual development of gonads in intersex rainbow trout. *Journal of fish biology*., 64(4): p. 1147-1151.
 112. **Chourrout, D.** (1986). Use of grayling sperm (*Thymallus thymallus*) as a marker for the production of gynogenetic rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Theoretical and Applied Genetics*, 72(5): p. 633-636.
 113. **Goryczko, K., Dososz, S., Mäkinen, T., Tomasik, L.** (1991). UV-irradiation of rainbow trout sperm as a practical method for induced gynogenesis. *Journal of applied ichthyology*, 7(3), 136-146.

114. **Ijiri, K.-I. ve N. Egami** (1980). Hertwig effect caused by UV-irradiation of sperm of (*Oryzias latipes*) (teleost) and its photoreactivation. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 69(2): p. 241-248.
115. **Quillet, E. ve J. Gaignon** (1990). Thermal induction of gynogenesis and triploidy in Atlantic salmon (*Salmo salar*) and their potential interest for aquaculture. *Aquaculture*, 89(3): p. 351-364.
116. **Smoker, W., P. Crandell, ve M. Matsuoka** (1995). Second polar body retention and gynogenesis induced by thermal shock in pink salmon, *Oncorhynchus gorbuscha* (Walbaum). *Aquaculture Research*, 26(3): p. 213-219.
117. **Refstie, T.** (1983). Induction of diploid gynogenesis in Atlantic salmon and rainbow trout using irradiated sperm and heat shock. *Canadian journal of zoology*, 61(11): p. 2411-2416.
118. **Refstie, T., J. Stoss, ve E.M. Donaldson** (1982). Production of all female coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) by diploid gynogenesis using irradiated sperm and cold shock. *Aquaculture*, 29(1): p. 67-82.
119. **Levanduski, M., J. Beck, ve J. Seeb** (1990) Optimal thermal shocks for induced diploid gynogenesis in chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). *Aquaculture*, 90(3): p. 239-250.
120. **Chourrout, D.** (1980). Thermal induction of diploid gynogenesis and triploidy in the eggs of the rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richardson). *Reproduction, nutrition, development*, 20(3A): p. 727.
121. **Thorgaard, G.H., M.E. Jazwin, ve A.R. Stier** (1981). Polyploidy induced by heat shock in rainbow trout. *Transactions of the American Fisheries Society*, 110(4): p. 546-550.
122. **Solar, I.I., E.M. Donaldson, ve G.A. Hunter** (1984). Induction of triploidy in rainbow trout (*Salmo gairdneri*, Richardson) by heat shock, and investigation of early growth. *Aquaculture*, 42(1): p. 57-67.
123. **Happe, A., E. Quillet, ve B. Chevassus** (1988). Early life history of triploid rainbow trout (*Salmo gairdneri*, Richardson). *Aquaculture*, 71(1): p. 107-118.
124. **Bonnet, E., Montfort, J., Esquerre, D., Hugot, K., Fostier, A., Bobe, J.** (2007). Effect of photoperiod manipulation on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) egg quality: A genomic study. *Aquaculture*, 268(1), 13-22.
125. **Devlin, R.H. ve Y. Nagahama** (2002). Sex determination and sex differentiation in fish: an overview of genetic, physiological, and environmental influences. *Aquaculture*, 208(3): p. 191-364.
126. **Azuma, T., Takeda, K., Doi, T., Muto, K., Akutsu, M., Sawada, M., Adachi, S.** (2004). The influence of temperature on sex determination in sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*) *Aquaculture*, 234(1), 461-473.

EKLER

EK A: Bergama’da kış yumurtası ile yapılan ön çalışma değerleri

Sağım	Anaçlar		Yumurta (ad)	Sperm (ml)	% 7 NaCl(ml)	UV		Sıcaklık Şoku		İnkübasyon					
	E	D				Yük. (cm)	Süre (dk)	Sıcaklık ©	Süre (dk)	Gruplar	Döllenmeden sonraki şoklama zamanı (dk.)	Gözlenme (ad.)	Gözlenme (%) oran	Keseli yavru (ad.)	Keseli yavru (%) oran
1	3	3	700	1	1					K1		540	77,1	210	30
			5,5			2			H1		192	27,4	90	12,9	
							27	5	G1	25	156	22,3	113	16,1	
2	3	3	700							K2		700	100,0	345	49,3
			5,5			2			H2		600	85,7	200	28,6	
						2	27	5	G2	25	302	43,1	68	9,7	
3	3	3	700							K3		100	14,3	42	6
			5,5			2			H3		0	0,0	0	0	
							27	5	G3	25	3	0,4	0	0	
4	2	5	700	0,5	0,5					K4		201	28,7	136	19,4
			10			2			H4		202	28,9	156	22,3	
							27	10	G41	25	70	10,0	33	4,7	
								15	G42		79	11,3	43	6,1	
								20	G43		164	23,4	88	12,6	
5	2	4	700							K5		261	37,3	123	17,6
			15			2			H5		44	6,3	39	5,6	
							27	10	G5	25	140	20,0	156	22,3	
	3	4	610			0,5	0,5					K6		350	57,4
			5	2				H6		55	9,0	4	0,7		
					27			10	G61A	25	126	20,7	38	6,2	
								15	G62A		96	15,7	27	4,4	
								20	G63A		52	8,5	9	1,5	
			3	2				H6B		380	62,3	75	12,3		
					27			10	G61B	25	256	42,0	83	13,6	
								15	G62B		276	45,2	134	22,0	
								20	G63B		150	24,6	39	6,4	
7	3	4	400	0.5	0,5					K7		202	50,5	73	18,3
			3			2			H7A		86	21,5	34	8,5	
							27	20	G7A	25	50	12,5	0	0	
						3			H7B		120	30,0	59	14,8	
			27				20	G7B	25	85	21,3	32	8		
			7			3			H7C		96	24,0	55	13,8	
							27	20	G7C	25	102	25,5	39	9,8	