

Gökkuşuğu Alabalıklarına (*Oncorhynchus Mykiss*) Estradiol Valerat Uygulanması Sonucu Meydana Gelen Gonadal Değişikliklerin Histolojik Olarak İncelenmesi

Mecit YÖRÜK¹Mehmet KANTER¹Kenan GÜLLÜ²Şenol GÜZEL²¹Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı-VAN²Yüzüncü Yıl Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Su Ürünleri Bölümü-VAN

ÖZET

Bu çalışma, gökkuşuğu alabalıklarının cinsel olgunluğa erişmeden önce yem ile birlikte estradiol valerat (Schering) hormonunun verilmesi sonucu (direkt cinsiyet değiştirilmesi) dişi olması beklenen bireylerin gonadlarında meydana gelen histolojik değişikliklerin incelenmesi amacıyla yapıldı.

Besin kesesi yeni çekilmiş (1 aylık) alabalık larvaları, estradiol valerat katkılı (20 mg/kg yem) yem ile 80 gün boyunca ad libitum olarak yemlendi. Kontrol grubu ise normal yem ile beslendi. Yemleme dönemleri bittikten yedi gün sonra örnekleme metodu ile her grupta 20 adet olmak üzere balık numuneleri alındı. Balıklar dekapite edilerek gonadları diseke edildi. Alınan doku parçaları Bouin tespit solüsyonunda tespit edildi. Rutin doku takibinden sonra 6 µm kalınlığında seri kesitler alınarak Crossmon'un üçlü boyaması ile boyandı.

Hazırlanan seri kesitlerin histolojik olarak incelenmesi sonucu deneme grubunu oluşturan balıkların % 45'inin her iki gonadının tamamen ovaryum dokusu özelliğinde olduğu, geri kalan balıkların gonadlarından birinin tamamına yakınının, diğerinin ise yaklaşık olarak yarısının ovaryum dokusuna dönüştüğü görüldü. Kontrol grubunu oluşturan balıkların ise % 45'nin gonadlarının ovaryum, geri kalanların gonadlarının ise testis dokusu özelliğinde olduğu gözlemlendi.

Anahtar Kelimeler: Gökkuşuğu alabalığı, estradiol valerat, gonadal değişiklik, histoloji

A Histological Examination of Gonadal Differentiations in Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) after Treatment with Estradiol Valerat

SUMMARY

This experiment was carried out to determine the histological changes in gonads of rainbow trouts which were thought to be transformed to females by adding estradiol valerat (schering) in their food.

Rainbow trout larvae, one month old, were given estradiol valerat (20 mg/kg feed) in their food (ad libitum) for 80 days. Control group was feed by commercial pelleted food. Seven days after these feeding periods, 20 fish samples were taken in each group. Fishes were, then, decapitated and their gonads were dissected. Tissue samples were fixed in a Bouin's solution. After the tissue fixation, serial sections (6 µm thick) were obtained and stained with Crossmon's trichrome.

It was found by histological examination of serial sections that 45 % of both gonads of rainbow trouts in treatment group were in the form of ovarium tissue. It was also found that one gonad (almost totally) and 50 % of the other gonad of the rest of the rainbow trouts in the treatment groups were transformed to ovarium. In control group 45 % of gonads were in the form of ovarium tissue, and 55 % of gonads were, on the other hand, in the form of testis tissue.

Key Words: Rainbow trout, estradiol valerat, gonadal differentiation, histology

GİRİŞ

Bir balık türünün iyi büyüyen cinsiyeti hangisi ise stokun tamamının o cinsiyete dönüştürülmesi, cinsiyet hormonları kullanılarak gerçekleştirilmektedir (4).

Alabalık yetiştiriciliğinde erkek balıkların 14-15 ay sonra cinsel olgunluğa ulaşması yetiştiricilik açısından bir problemdir. Balıklar büyümenin yanı sıra cinsel olgunluk için de enerji harcarlar. Cinsel olgunluğun erken başlaması, büyüme için kullanılacak enerjinin bir kısmının cinsel faaliyetlerin gerçekleşmesinde kullanılmasına neden olmaktadır (8). Alabalık ve salmonlarda erkekler cinsel olgunluğa ulaştıklarında, yetiştiricilikte istenmeyen; balığın vücut şekillerinin değişmesi (çenenin çıkıntı yapması gibi), et kalitesinin değişmesi, balıkların kavgacı bir hal alması gibi durumlar ortaya çıkmaktadır (4).

Gökkuşuğu alabalıklarında dişi bireylerin erkeklere göre hızlı büyüdüğü, hastalıklara karşı direncinin ve et kalitesinin daha iyi olduğu bilinmektedir. Cinsel olgunlukla beraber erkek ve dişi balıkların gelişmelerinde farklılıkların olması

yetiştiricilikte populasyonun tamamının dişi bireylerden oluşmasını (monosex) zorunlu hale getirmiştir (8).

Alabalık işletmelerinde cinsiyet değiştirme uygulamaları kullanılarak önemli gelişmeler sağlanmıştır (9,11). Dişileştirme hormonlarından 17 estradiol, 20 mg/kg-yem oranıyla Salmon yavrularına 60 gün süre ile verilen balıkların tümünün dişileştiği, elde edilen bu dişilerin gonadları ile normal dişilerin gonadları arasında histolojik olarak bir farkın görülmediği bildirilmektedir (2,10). Piferrer ve ark. (1994) 6 günlük salmon prelarvalarını 400 µl östrojen çözeltisi içersine 2 saat süre ile daldırarak %73.1 oranında dişi bireyler elde ettiklerini belirtmektedirler.

Bu çalışma, gökkuşuğu alabalıklarının cinsel olgunluğa erişmeden önce yem ile birlikte estradiol'un bir esteri olan estradiol valerat (Schering) hormonunun verilmesi sonucu (direkt cinsiyet değiştirilmesi) dişi olması beklenen bireylerin gonadlarında meydana gelen histolojik değişikliklerin incelenmesi amacıyla yapıldı.

MATERYAL VE METOT

Denemeler Yüzüncü Yıl Üniversitesi Ziraat Fakültesi Su Ürünleri Bölümü Araştırma Uygulama ve Üretim Tesislerinde, 80 x 70 x 250 cm boyutlarında fiberglas tanklarda yapıldı. Deneme süresince ortalama su sıcaklığı 12.2 °C, çözülmüş oksijen miktarı 7.2 mg/kg ve pH 8.2 olarak ölçüldü.

Besin kesesi yeni çekilmiş (1 aylık) alabalık larvaları, estradiol valerat (Estradiol-17-valerat, $C_{23}H_{32}O_3$) (Schering) katkılı (20mg/kg yem) yem ile 80 gün boyunca ad libitum olarak yemlendi. Kontrol grubu ise normal yem ile beslendi. Yemleme dönemleri bittikten yedi gün sonra örnekleme metodu ile her grupta 20 adet olmak üzere balık numuneleri alındı. Balıklar dekapite edilerek gonadları diseke edildi. Alınan doku parçaları Bouin tespit solüsyonunda tespit edildi. Rutin doku takibinden sonra 6 µm kalınlığında seri kesitler alınarak Crossmon'un üçlü boyaması ile boyandı (1). Daha sonra bu preparatlar Nikon Optiphot-2 ışık mikroskopunda incelenerek gerekli görülen bölgelerin fotoğrafları çekildi.

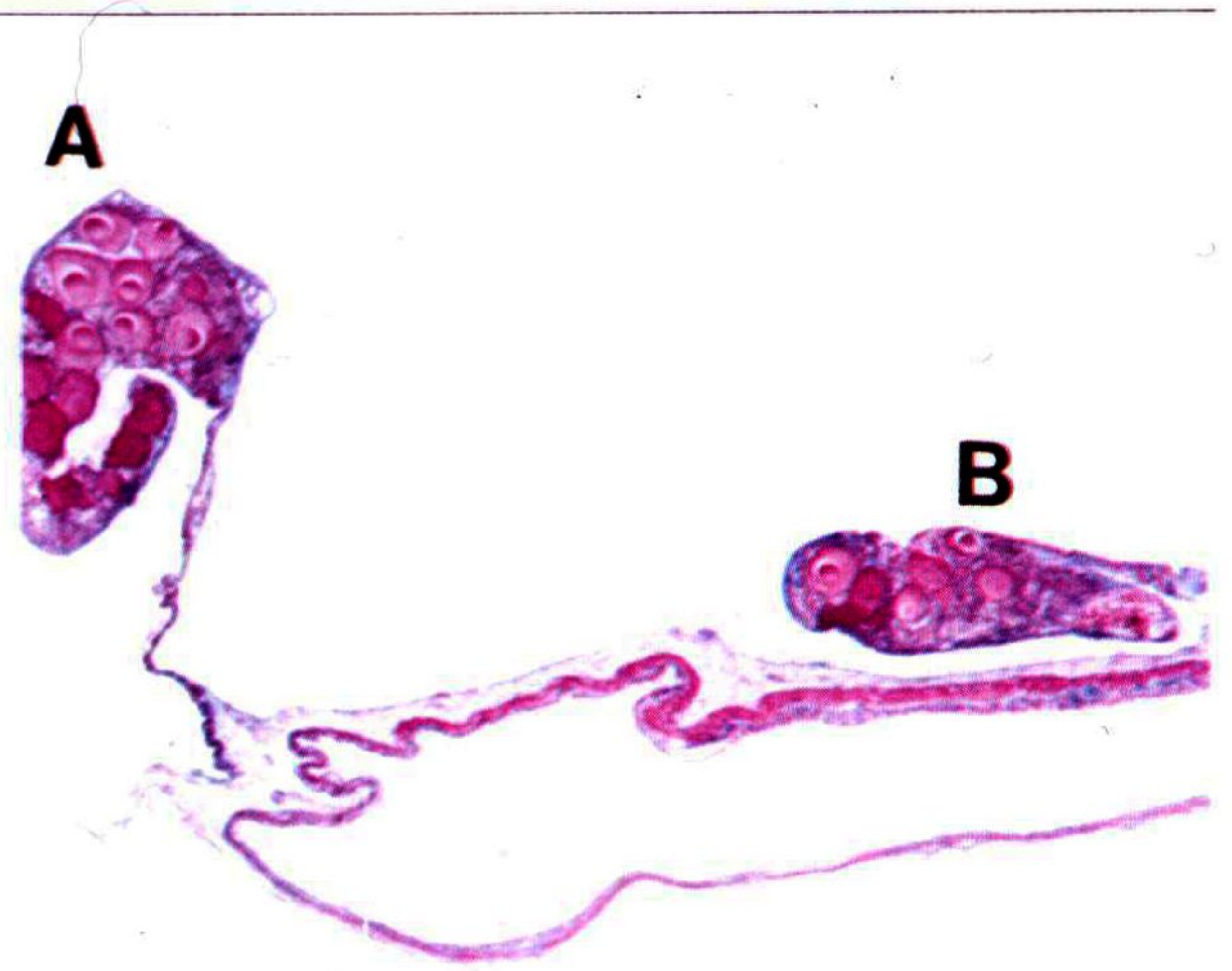
BULGULAR

Hazırlanan seri kesitlerin histolojik olarak incelenmesi sonucu deneme grubunu oluşturan balıkların % 45'inin her iki gonadının tamamen ovaryum dokusu özelliğinde olduğu (şekil 1), geri kalan balıkların gonadlarından birinin tamamına yakınının (şekil 2,3), diğerinin ise yaklaşık olarak yarısının (şekil 2, 4) ovaryum dokusuna dönüştüğü görüldü. Kontrol grubunu oluşturan balıkların ise % 45'inin gonadlarının ovaryum (şekil 5), geri kalanların gonadlarının ise testis dokusu özelliğinde (şekil 6) olduğu gözlemlendi.

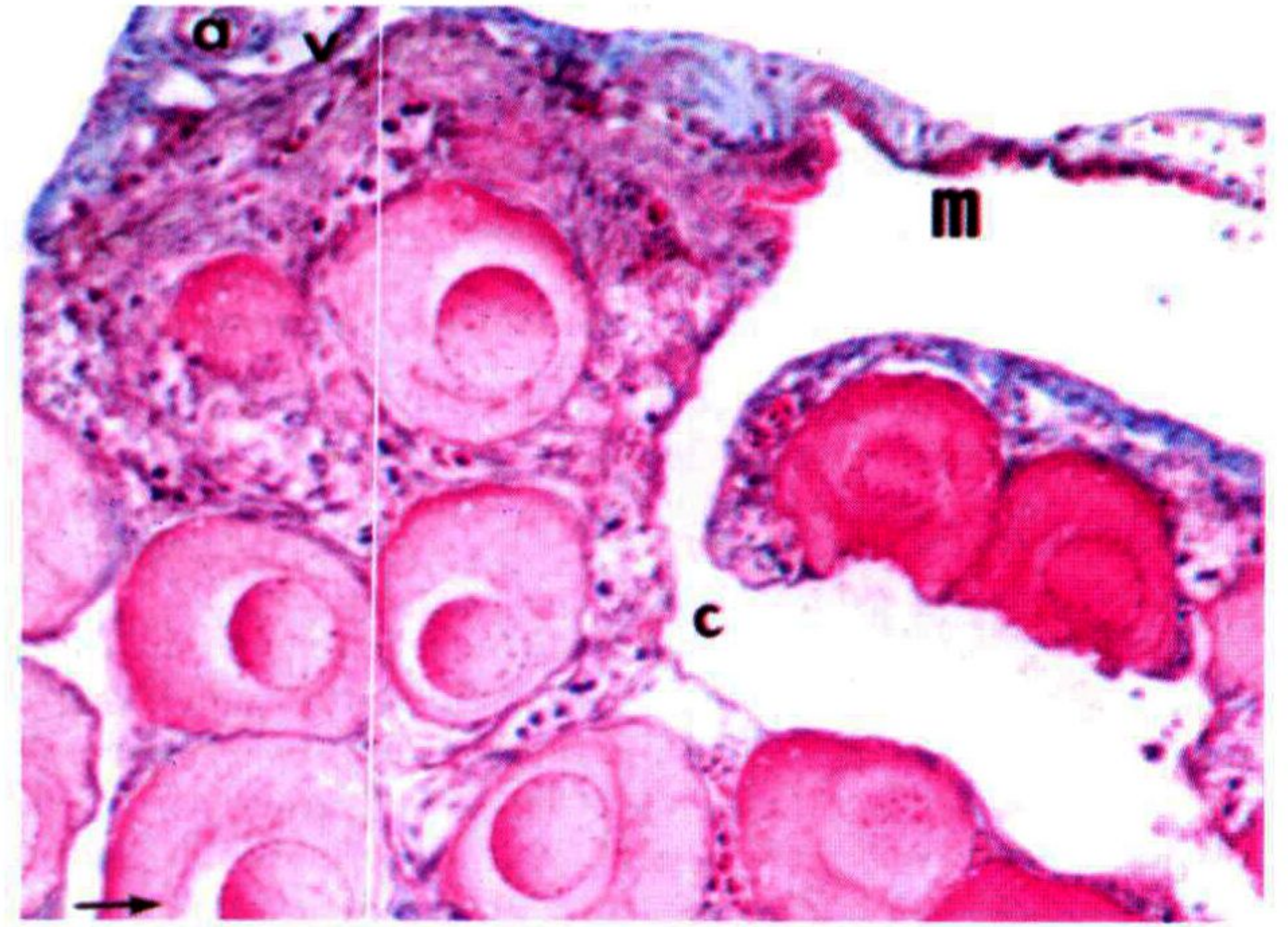
Deneme ve kontrol grubunu oluşturan balıkların ovaryum dokusu özelliğinde olan gonadlarında arter, ven, ovariyal kavite artığı, ovositler ile mezovaryum (şekil 3), testis dokusu özelliğinde olan gonadlarında ise arter, ven, sperm kanalı, spermatogonyumlar ile mezorşiyum'un (şekil 6) bulunduğu tespit edildi.



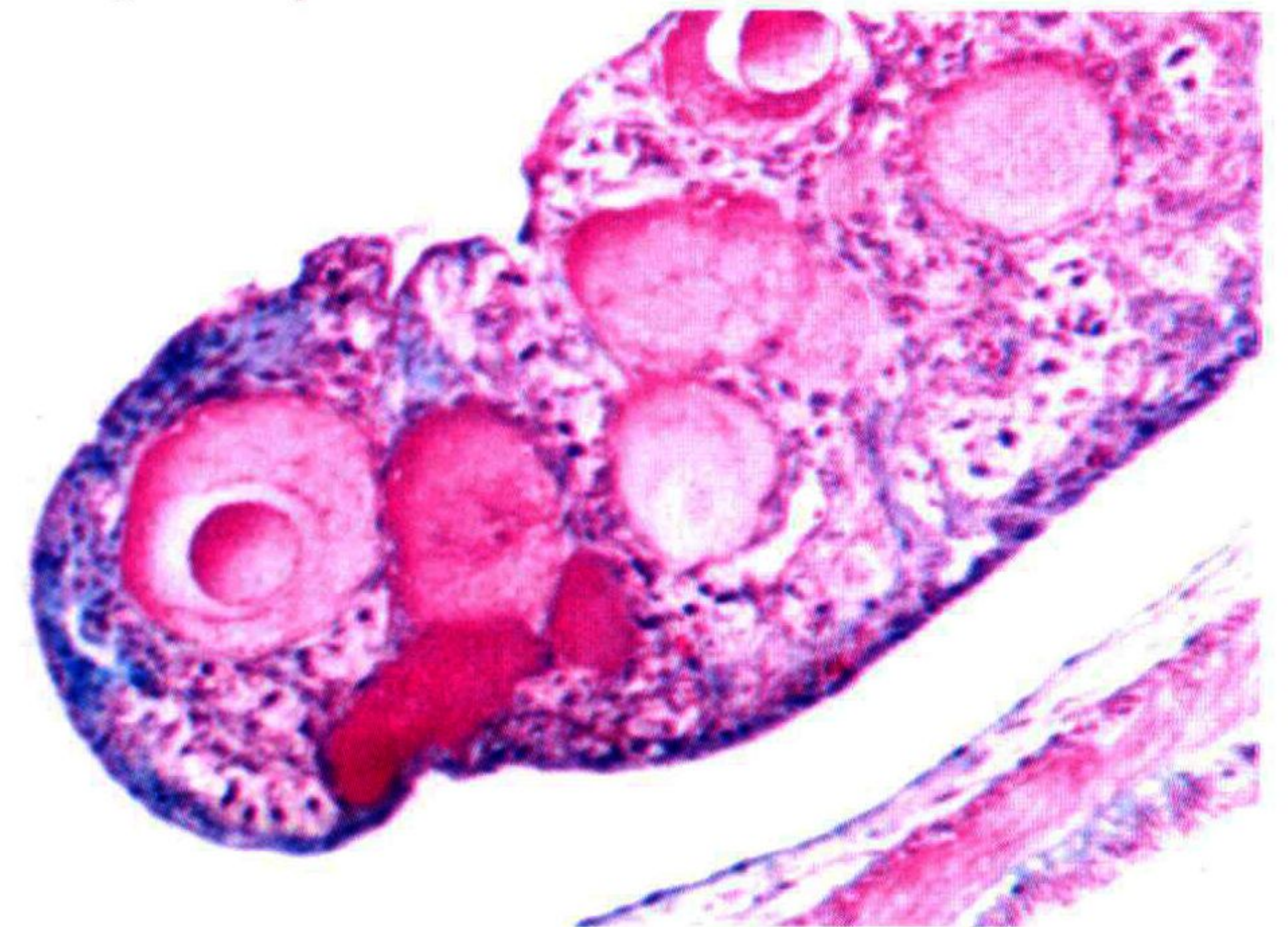
Şekil 1: Estradiol valerat uygulanan alabalıkların tamamen ovaryum dokusu görünümündeki gonadları. Triple, 36X.



Şekil 2: Estradiol valerat uygulanan alabalıkların birinin tamamen (A), diğerinin yaklaşık olarak yarısının (B) ovaryum dokusuna dönüşümü. Triple, 36X.



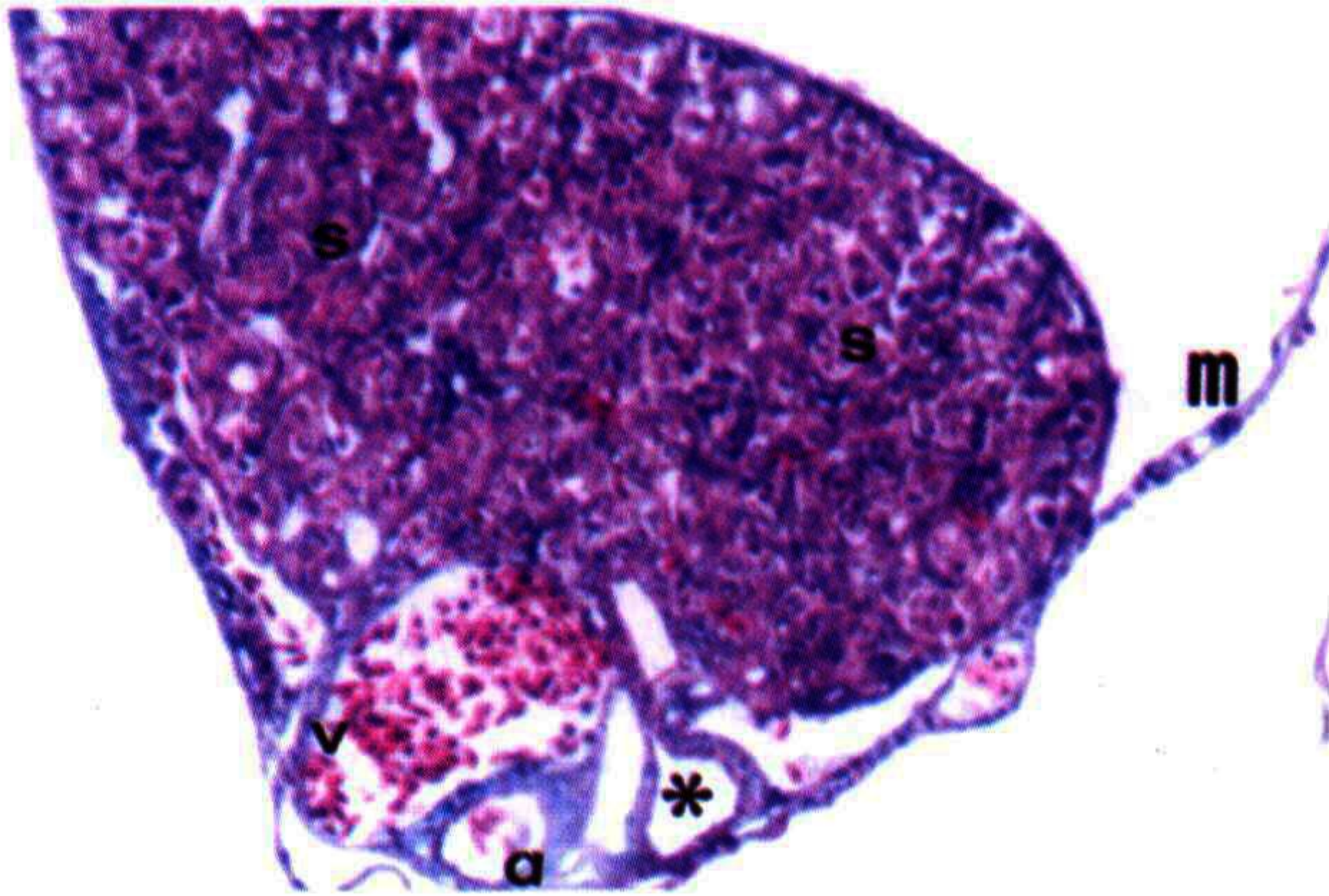
Şekil 3: Şekil 2-A'nın büyük büyütmedeki görünümü. a: arter, v: ven, c: ovariyal kavite artığı, oklar: ovositler, m: mezometriyum. Triple, 180X.



Şekil 4: Şekil 2-B'nin büyük büyütmedeki görünümü. Triple, 180X.



Şekil 5: Kontrol grubundaki ovaryumun genel görünümü. Triple, 72X.



Şekil 6: Kontrol grubundaki testisin genel görünümü. a: arter, v: ven, s: sperm kanalı, s: spermayogonyum, m: mezovaryum. Triple, 180X.

TARTIŞMA ve SONUÇ

Mélard (1995) 40 gün süre ile 17 α -ethinylestradiol hormonunu 100, 150, 200 mg.kg-1/yem dozlarında yem ile birlikte vererek sırası ile gonadların % 94, 93, 98 oranlarında ovaryum dokusuna dönüştüğünü bildirmektedir. Benzer bulguları Hopkins ve ark. (1979)'da elde etmişlerdir. Dişileştirme hormonlarından 17 estradiol, 20 mg/kg-yem oranıyla salmon yavrularına 60 gün süre ile verilen balıkların tümünün dişileştiği, elde edilen bu dişilerin gonadları ile normal dişilerin gonadları arasında histolojik olarak bir farkın görülmediği bildirilmektedir (2,10). Piferrer ve ark. (1994) 6 günlük sahmon prelarvalarını 400 μ l östrojen çözeltisi içerisinde 2 saat süre ile daldırarak %73.1 oranında dişi bireyler elde ettiklerini

belirtmektedirler. Ayrıca, Krisfalusi ve Cloud (1999) 17 beta estradiol verilen gökkuşağı alabalıklarının % 90 oranında dişileştiklerini bildirmişlerdir.

Bu çalışmada, deneme grubunu oluşturan balıkların % 45'inin her iki gonadının tamamen ovaryum dokusu özelliğinde olduğu, geri kalan balıkların gonadlarından birinin tamamına yakınının, diğerinin ise yaklaşık olarak yarısının ovaryum dokusuna dönüştüğü görüldü. Kontrol grubunu oluşturan balıkların ise %45'inin gonadlarının ovaryum, geri kalanların gonadlarının ise testis dokusu özelliğinde olduğu

gözlemlendi.

Literatür araştırmalarında gökkuşağı alabalıklarının dişileştirilmesinde estradiol valerat'm kullanıldığını bildiren herhangi bir bilgiye rastlanamadı. Bu nedenle bulgular genel olarak tartışıldı.

Yapılan bu araştırmada gonadların ovaryum dokusuna dönüşme oranları dikkate alındığında, çalışılan balık ve hormon türü ile uygulama yöntem ve sürelerindeki farklılıklara rağmen elde edilen bulgular yukarıdaki araştırmalar (2,3,6,7, 10,12) ile paralellik göstermektedir. Ancak gonadlarda meydana gelen değişikliklerin sürekliliğinin sonraki dönemlerde de devam edip etmediğini saptamak amacıyla daha geniş çalışmalara gereksinim olduğu kanaatindeyiz.

Sonuç olarak, gelişmekte olan gökkuşağı alabalıklarına yem ile birlikte verilen estradiol valerat'ın 80 gün süre ile uygulanmasının cinsiyet değişiminde etkili olduğu ve bunun da yetiştiricilik açısından yararlı olacağı kanısına varıldı.

KAYNAKLAR

1. Bancroft JD, and Cook HC (1984): Manual of Histological Techniques. Churchill Livingstone, New York.
2. Cruz EM, Mair GC (1994): Conditions for Effective Androgen Sex Reversal in *Oreochromis Niloticus*. Aquaculture, 122: 237-248.
3. Hopkins K D, Shelton WL and Engle CR (1979): Estrogen Sex-reversal of *Tilapia Aurea*. Aquaculture, 18:263-268.
4. Ingram M (1988): Farming Rainbow Trout in Fresh Water Tanks and Ponds: In Lindsay Laird and Ted Needham, Salmon and Trout Farming. Ellis Horwood Ltd., England.
5. Matty AJ (1985): Fish Endocrinology. Timber Press Ltd., Portland, USA.
6. Melard C (1995): Production of a High Percentage of Male Offspring with 17 α -Ethinylestradiol Sex-reversed *Oreochromis Aureus*. I.Estrogen Sex-reversal and Production of F2 Pseudofemales. Aquaculture, 130: 25-34.
7. Krisfalusi M, Cloud JG (1999): Gonadal Sex Reversal in Triploid Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) J.Exp. Zool., Sep 1;284 (4):466-72
8. Özden O, Güllü K (1996): Kültür Balıklarında Hormon Kullanılarak Cinsiyet Değiştirme Çalışmaları. Su Ürünleri Derg., 13 (1-2) 199-206
9. Piferrer F, Donaldson EM, (1991): Dosage-dependent Differences in the Effect of Aromatizable and Nonaromatizable Androgens on the Resulting Phenotype of Coho Salmon *Oncorhynchus Kisutch*. Fish Physiol. and Biochem., 9(2) 145-150.
10. Piferrer F, Donaldson EM, (1992): The Comparative Effectiveness of the Natural and a Synthetic Estrogen for the Direct Feminization of Chinook Salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). Aquaculture, 106 183-193
11. Piferrer F, Baker I.J. and Donaldson EM (1993): Effects of Natural, Synthetic, Aromatizable and Nonaromatizable Androgens in Inducing Male Sex Differentiation in Genotypic Female Chinook Salmon *Oncorhynchus Tshawytscha*. Gen. and Comp. Endoc., 91:59-65.
12. Piferrer F, Carillo M, Zanuy S, Solar I and Donaldson E. (1994): Induction of Sterility in Coho Salmon, *Oncorhynchus Kisutch* by Androgen Immersion Before First Feeding. Aquaculture, 119 406-428.