



Sıcaklık Şoku Uygulaması ile Triploid Karadeniz Alabalığı (*Salmo trutta labrax*) Üretimi ve Kuluçka Performansının Belirlenmesi ^[*]

Fatma DELİHASAN SONAY^{1*} Nadir BAŞÇINAR² Süleyman AKHAN³

¹ Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Yetiştiricilik Bölümü, Rize, Türkiye

² Karadeniz Teknik Üniversitesi, Sürmene Deniz Bilimleri Fakültesi, Balıkçılık Teknolojisi Mühendisliği Bölümü, Trabzon, Türkiye

³ Antalya Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Yetiştiricilik Bölümü, Antalya, Türkiye

Geliş/Received: 28.06.2021

Kabul/Accepted: 28.10.2021

Yayın/Published: 31.12.2021

Atıf yapmak için: Sonay Delihasan, F., Başçınar, N. & Akhan, S. (2021). Sıcaklık Şoku Uygulaması ile Triploid Karadeniz Alabalığı (*Salmo trutta labrax*) Üretimi ve Kuluçka Performansının Belirlenmesi. *Anadolu Çev. ve Hay. Dergisi*, 6(4), 635-641.

How to cite: Sonay Delihasan, F., Başçınar, N. & Akhan, S. (2021). Triploid Black Sea Trout (*Salmo trutta labrax*) Production by Using Heat Shocks and Determination of Incubation Performance. *J. Anatolian Env. and Anim. Sciences*, 6(4), 635-641.

*ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0511-4782>
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5295-0871>
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9122-1495>

***Sorumlu yazarın:**

Fatma DELİHASAN SONAY

Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Su

Ürünleri Fakültesi, 53100 Rize-Türkiye

✉: fatma.delihasan@erdogan.edu.tr

Öz: Bu çalışmada, triploid Karadeniz alabalığı (*Salmo trutta labrax*) üretmek için termal şok protokolünün optimizasyonu amaçlanmıştır. Triploidizasyon işlemi için yumurtalar döllendikten sonra 10, 15 ve 20. dakikalarda dört farklı sıcaklıkta (26, 28, 30 ve 32 °C) şok uygulanmıştır. Deneysel gruplarda ploidi oranı NOR (Nükleolar Organizatör Bölgeleri) boyama ve eritrosit büyüklüğü yöntemleri ile belirlenmiştir. En yüksek triploid oranları, döllendikten 15 dakika sonra 10 dakika sıcaklık şoku uygulamasıyla 32 °C'de %86,15 ve 28 °C'de %81,26 olarak tespit edilmiştir. Kuluçka randımanı 28 °C sıcaklık şoku grubunda daha başarılı bulunmuştur. Çalışmadan elde edilen bulguların, Karadeniz alabalığında triploid stok üretimi için kullanılabileceği kanaatine varılmıştır.

Anahtar kelimeler: Eritrosit büyüklüğü, NOR, *Salmo trutta labrax*, triploid oranı.

Triploid Black Sea Trout (*Salmo trutta labrax*) Production by Using Heat Shocks and Determination of Incubation Performance ^[*]

Abstract: In this study, optimization of thermal shock protocol for triploid Black Sea trout (*Salmo trutta labrax*) production was aimed. In total, four different temperature regimes (26, 28, 30, and 32°C) were applied to fertilized eggs following fertilization at 10th, 15th, and 20th minutes for the triploidization process. Ploidy rate in experimental groups was determined by NOR (Nucleolar Organizer Regions) and measures of erythrocyte size. The highest triploid rates were determined to be 86.15% at 32°C and 81.26% at 28°C with a 10 minutes shock treatment 15 minutes after fertilization. Hatching efficiency was more successful at the 28°C heat shock group. It was concluded that the findings of the study could be used for the production of triploid Black Sea trout stock.

***Corresponding author's:**

Fatma DELİHASAN SONAY

Recep Tayyip Erdogan University, Faculty

of Fisheries, 53100, Rize, Turkey

✉: fatma.delihasan@erdogan.edu.tr

Keywords: Erythrocyte size, NOR, *Salmo trutta labrax*, triploid rate.

GİRİŞ

Balık yetiştiriciliğinde temel amaç, mümkün olan en kısa zaman diliminde verimli ve sağlıklı ürünler elde etmektir. Bu amaçla, son yıllarda alabalık üretiminde triploidizasyon uygulamaları yaygın olarak kullanılmaktadır. Triploid balıklar kısır olduğu için diploid balıklara göre önemli avantajları vardır. Metabolik enerjinin gamet üretimi yerine somatik büyüme için

kullanılması, daha fazla biyokütle elde edilmesi, daha kaliteli balık eti üretimi, hastalıklara karşı direncin artması ve doğal popülasyonlara kaçması durumunda genetik ve ekolojik olarak daha az tehdit etmeleri en önemli avantajlardandır (Johnson vd., 2004; Sonay, 2013). Genetik etkinin sınırlı olmasından dolayı birçok uluslararası organizasyon (NASCO, FAO, ICES)

^[*] Bu çalışma, doktora tezinden üretilmiştir.

This study was produced from the doctoral thesis.

tarafından yetiştiricilikte ve balıklandırma uygulamalarında triploidizasyonun kullanılması önerilmektedir. Ayrıca, triploid balıkların Avrupa Birliği mevzuatına göre genetiği değiştirilmiş organizma (GDO) olarak kabul edilmemesi triploid balık üretimini artırmıştır (Yılmaz vd., 2017). Triploid balık üretmek için ısı şoku (sıcaklık, soğukluk), hidrostatik basınç ve kimyasal uygulamaları gibi çeşitli çevresel şoklar kullanılmaktadır (Felip vd., 1997; Özden vd., 2003). Kahverengi alabalıklarda (*Salmo trutta*) sıcaklık şoku ile birçok triploidizasyon çalışması yürütülmüş ve bu çalışmalarda şok için uygun sıcaklık ve yaşama oranları belirlenmiştir (Arai & Wilkins, 1987; Crozier & Moffett, 1989; Quillet vd., 1991). Ayrıca, Karadeniz alabalığında (*Salmo labrax*) (Çakmak vd., 2019), kaynak alabalığında (*Salvelinus fontinalis*) (Dubé vd., 1991), Aras alabalığında (*Salmo trutta caspius*) (Kalbassi vd., 2009), gökkuşuğu alabalığında (Dillon, 1988; Happe vd., 1988) sıcaklık şoku uygulanarak triploid balık elde edilmiştir.

Triploid oranını belirlemede; kromozom sayımı veya karyotipleme, nükleolar bölgelerin gümüş nitrat ile boyanması (NOR (Nucleolar Organizer Region)), proteinlerin elektroforezi, çekirdek ve hücre boyutunun ölçümü, eritrosit büyüklüğü ve DNA içeriği yöntemleri kullanılmaktadır (Felip vd., 2001; Bai vd., 2011; Kenanoğlu vd., 2013; Kim vd., 2017).

Karadeniz alabalığı, Doğu Karadeniz’de yayılım gösteren anadrom ve endemik bir salmonid türüdür (Akhan vd., 2011a; Çakmak vd., 2019). Yüksek ekonomik değere sahip olan türün Türkiye'nin Doğu Karadeniz Bölgesi'nde bazı alabalık çiftliklerinde ticari olarak kültürü yapılmaktadır (Canyurt & Akhan, 2009; Akhan vd., 2011b; Sonay, 2013), ancak kültür koşullarında gökkuşuğu alabalığına oranla daha yavaş büyüdüğü için üretim miktarı yeterli düzeye ulaşamamıştır (Aksungur vd., 2005).

Bu çalışmada, triploid Karadeniz alabalığı üretimi için sıcaklık şoku derecesi, şok zamanı ve süreleri belirlenerek Karadeniz alabalığının kuluçka randımanı üzerine etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL VE METOT

Materyal: Bu çalışmada, 2⁺ yaşlı damızlık Karadeniz alabalıkları Karadeniz Teknik Üniversitesi Deniz Bilimleri Fakültesi Prof. Dr. İbrahim Okumuş Araştırma Ünitesi'nden temin edilmiştir. Araştırmada ortalama boyu 64,8 ± 6,2 cm (53,9 - 73,8 cm), ortalama ağırlığı 4094,6±800,4 g (2789 - 5335 g) olan 9 adet dişi damızlık ile ortalama boyu 62,0 ± 1,6 cm (59,5 - 63,9 cm) ve ortalama ağırlığı 2731,0 ± 484,7 g (2012-3130 g) olan 6 adet erkek damızlık kullanılmıştır. Damızlık balıklar %10'luk benzokain çözeltisinden 0,5 ml/l kullanılarak bayıltılmıştır (Serezli vd., 2005). Boy-ağırlık verileri

alındıktan sonra sağım ve dölleme işlemi gerçekleştirilmiştir. Her bir sıcaklık şok uygulaması için farklı damızlık balıklar kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan yumurtaların ortalama çapı 5,6±0,3 mm ve kuluçka suyu ortalama 11,3±0,64 (9,9-12,4) °C olarak belirlenmiştir.

Yumurtaları dölleme işlemi sonrasında her bir grupta ortalama 1080±344,19 adet olacak şekilde üç tekerrürlü 16 grup (4 diploid ve 12 triploid) oluşturulmuştur. Kontrol (diploid) grubu 10-12 °C su sıcaklığında tutulmuş, diğer gruplara ise döllenikten sonra 10, 15, 20. dakikalarda 26, 28, 30 ve 32 °C sıcaklık şoku uygulanmıştır. Sıcaklık şok süresi tüm triploid gruplarda 10 dakika sürmüştür (Arai & Wilkins, 1987; Crozier & Moffett, 1989). Döllülük oranını belirlemek amacıyla 10-12 saat sonra 50 adet yumurta örneklenmiş ve glasiyel asetik asit, aseton, saf su (1:1:1) çözeltisinde 3-5 dakika bekletildikten sonra mikroskop altında çekirdek bölünmesi tespit edilmiştir (Serezli, 2004). Kuluçka dolabına yerleştirilen döllenmiş yumurtaların her gün düzenli olarak su sıcaklık parametreleri ve ölü yumurta sayıları belirlenmiştir. Kuluçka dönemi süresince elde edilen verilerden döllülük oranı, çıkış oranı ve kuluçka randımanı değerleri belirlenmiştir (Tablo 1) (Hisar vd., 2003; Baki, 2006):

Döllülük oranı (%)=(Döllü yumurta adedi/ Toplam yumurta adedi) x100

Çıkış oranı (%)=(Canlı yavru adedi/ Döllü yumurta adedi) x100

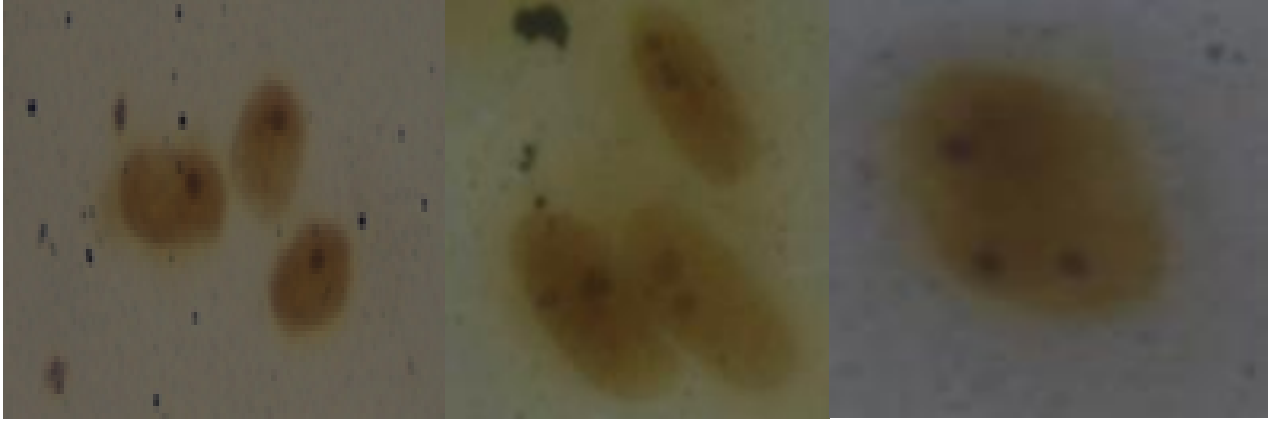
Kuluçka randımanı (%)=(Çıkan canlı yavru adedi/ Toplam yumurta adedi) x 100

Sıcaklık şoku uygulaması sonucu elde edilen triploid oranını belirlemek amacıyla iki farklı yöntem (NOR boyama, eritrosit büyüklüğü) kullanılmıştır. NOR bölgesinin gümüş nitrat boyama tekniği besin kesesini tamamen tüketip aktif yüzmeye ve yem almaya başlayan larvalarda (n=50) (Howell & Black, 1980; Saygun, 2005), eritrosit boyama yöntemi ise ortalama diploidlerde boy 4,98±1,69 cm ve ağırlık 1,41±1,19 g, triploidlerde boy 5,57±0,67 cm ve ağırlık 1,45±0,65 g olan yavrularda (n=50) gerçekleştirilmiştir (URL 1; Gao vd., 2007; Dorafshan vd., 2008). Eritrositleri boyanan balıkların aynı zamanda NOR oranlarına da bakılarak triploid bireyler kontrol edilmiştir. NOR boyamada her bir balıktan üç tekerrürlü preparatlar hazırlanmış ve her preparattan 1000x büyütmede 50 adet hücre sayılmıştır. Elde edilen verilerden, tek nükleoli içeren hücreler haploid, bir ve iki nükleoli içerenler diploid ve bir, iki, üç ve daha fazla nükleoli içeren hücreler ise triploid olarak kabul edilmiştir (Şekil 1) (Piferrer vd., 2000; Okumura vd., 2001; Jankun vd., 2007). Eritrosit çap ve çekirdek ölçümlerinden ploidiyi belirlemek için her balıktan üç tekerrürlü preparatlar hazırlanmış ve her preparattan 50 eritrosit hücresinin major aksis, minor aksis, çekirdek major aksis ve çekirdek minor aksis ölçümleri yapılmıştır. Elde edilen verilerden; eritrosit yüzey alanı (µm²), eritrosit hacmi (µm³), çekirdek yüzey

alanı (μm^2) ve çekirdek hacmi (μm^3) belirlenmiştir (Tablo 2) (Akhan vd., 2011a; Akhan vd., 2011b; Dorafshan vd., 2008).

Çalışma sonunda verilerin değerlendirilmesi için Excel ve SigmaPilot 11. paket programı kullanılmıştır.

Diploid ve triploid eritrosit ölçümlerinin karşılaştırılması t testi veya Mann Whitney testiyle, grupların karşılaştırılması tek yönlü varyans analizi (one-way ANOVA) ve Tukey çoklu karşılaştırma testi ile değerlendirilmiştir.



Şekil 1. NOR preparatları (A: tek nukleoli, B:iki nukleoli, C: üç nukleoli).
Figure 1. NOR preparations (A: one nucleoli, B: two nucleoli, C: three nucleoli).

BULGULAR VE TARTIŞMA

Bu çalışmada dört farklı sıcaklık şoku uygulanan yumurtaların kuluçka performansı ve triploid oranları belirlenmiştir (Tablo 1). Döllenen triploid ve diploid yumurtalarda; gözlenme 220,4 gün-derece (GD), yumurtadan çıkış 386,1 GD ve çıkıştan sonra besin kesesi tüketimi 414,2 GD'de gerçekleşmiştir, gruplar arasında gözlemsel olarak bir fark görülmemiştir. Sıcaklık şoku uygulamasının döllenme oranı üzerine etkisi görülmemiştir. En iyi döllenme oranı 28 °C şok uygulanan triploid deneme grubunun kontrol grubunda belirlenmiştir. Çalışma sonuçları Kankaya, (1998)'nin yaptığı triploid gökkuşağı alabalıklarında sıcaklık şok uygulaması ile benzerlik göstermiş ve şok uygulamasının döllenme oranı üzerine olumsuz etkisi gözlemlenmemiştir. Çıkış oranı ve kuluçka randımanı gruplar arasında farklılıklar göstermiştir ($P<0,05$) (Tablo 1). Çıkış oranı ve kuluçka randımanı değerleri diploid gruplarda triploidlerden daha başarılı olmuştur. Karadeniz alabalığında (Akhan vd., 2011b; Çakmak vd., 2019), kahverengi alabalıkta (Quillet vd., 1991; Crozier & Moffett, 1989; Arai & Wilkins, 1987), kaynak alabalığı (*S. fontinalis*) (Dubé vd., 1991), diploid ve triploid salmonid hibritlerde (Gray vd., 1993), gökkuşağı alabalığında (Solar vd., 1984; Kankaya, 1998; Blanc vd., 2000) benzer sonuçları elde etmişlerdir. Triploid gruplarda meydana gelen yaşama oranındaki düşüklük yüksek sıcaklık şoku ve süresi (Kalbassi vd., 2009), yumurta kalitesi veya farklı menşeli yumurtaların triploidizasyon uygulamalarına karşı duyarlı olduğu düşünülmektedir (Arai & Wilkins, 1987).

Alabalıklarda farklı sıcaklık, şok süresi ve zamanı uygulamaları ile triploid balık üretimi birçok çalışma ile

ortaya konulmuştur (Solar vd., 1984; Arai & Wilkins, 1987; Crozier & Moffett, 1989; Liu & Quillet, 1989; Dubé vd., 1991; Ojolic vd., 1995; Kankaya, 1998; Blanc vd., 2000; Kalbassi vd., 2009; Akhan vd. 2011a; Akhan vd., 2011b; Kızak vd., 2013; Çakmak vd., 2019). Bu çalışmada, döllenmiş yumurtalara dört farklı sıcaklık şoku uygulanmış, en yüksek triploid oranı 28 ve 32 °C'lerde elde edilmiştir. Ancak 32 °C grubunda yaşama oranı diğer gruplara göre düşük bulunmuştur. Gruplar arasındaki triploid oranı değerleri 28 °C ve 32 °C sıcaklık şoku uygulamalarında istatistiksel farklılık ($P<0,05$), 26°C ve 30°C uygulamalarında ise benzerlik göstermiştir. 28°C döllenme işleminden 10 dakika sonra 10 dakika sıcaklık şoku ile %79,26±1,05 ve döllenme işleminden 15 dakika sonra 10 dakika sıcaklık şoku ile %81,26±3,94 triploid oranı elde edilmiştir ($P<0,05$) (Tablo 1). Kahverengi alabalıklarda 28 °C de triploid oranını; Quillet vd., (1991) %84,2-94,7 olarak, Crozier & Moffett, (1989) %60-100 ve Kalbassi vd., (2009) %27-84 olarak bildirmiştir.

Ploidy oranını belirlemek amacıyla iki farklı yöntem (NOR boyama ve eritrosit ölçümü) kullanılmıştır. NOR boyama tekniği larval safhadan damızlık boyuta kadar farklı büyüklüklerde uygulanabilen basit, ucuz ve kısa sürede ploidi oranını belirlemede kullanılan yöntemlerden bir tanesidir. NOR bölgeleri AgNO_3 ile boyanmaktadır (Felip vd., 1997; Piferrer vd., 2000; Gündoğdu, 2016). NOR boyama yöntemi salmonidlerde (Lozano vd., 1992; Jankun vd., 2007), kalkanda (*Scophthalmus maximus*) (Piferrer vd., 2000; Piferrer vd., 2003), levrekte (*Dicentrarchus labrax*), (Sola vd., 1993; Felip vd., 1997), ve turna balığında (*Esox lucius*) (Jankun vd., 1998) uygulanmıştır. Bu çalışmada, NOR lokasyonları incelenerek hücrelerin nukleolileri sayılarak ortalamaları

alınmıştır. Diploid hücrelerin nukleoli ortalaması 1,10 ile 1,96 arasında belirlenirken, triploid hücrelerin nukleoli ortalaması 1,60 ile 2,83 arasında değişmiştir. Ortalama 1,52 ile 1,96 arasında ploidy oranlarında belirsizlik görüldüğünden dolayı yavru balıklardan örnekleme yapılmış NOR lokasyonları ve eritrosit çapları da kullanılarak ortalama NOR>1,80 olan bireyler triploid, diğerleri ise diploid olarak kabul edilmiştir. Ortalama nukleoli sayısı triploidlerde diploidlerden önemli ölçüde daha yüksektir. Kalkan balıklarında (*S. maximus*) ploidi

oranının belirlenmesinde kullanılan NOR boyama yöntemi sonucu; 1,10 ile 1,85 arasında olanları diploid, 1,50 ile 2,35 arasında olanları triploid olarak bildirmiş, fakat 1,50 ile 1,85 arasında diploid ve triploidlerin çakışmasından dolayı NOR>1,735 olanları triploid olarak kabul etmiştir (Piferer vd., 2000). Salmonlarda (*Oncorhynchus mykiss*, *O. kisutch*) ortalama nukleoli ortalaması triploidlerde 2,75 olarak belirlenirken diploidlerde 1,63 olarak belirlenmiştir (Lozano vd., 1992).

Table 1. 26, 28, 30 ve 32°C’lerde uygulanan sıcaklık şok zamanı, şok süresi, triploid oranı, döllenme oranı, çıkış oranı ve kuluçka randımanı verileri. **Table 1.** Data of heat shock time, shock duration, triploid rate, fertilization rate, hatching rate and hatching efficiency at 26, 28, 30, and 32°C.

Şok sıcaklığı (°C)	Şok süresi (Dakika)	Döllenme sonrası şok zamanı (Dakika)	Triploid oranı (%)	Döllenme oranı (%)	Çıkış oranı (%)	Kuluçka randımanı (%)
Kontrol	-	-	0	78,33±2,88	75,82±7,72 ^a	56,01±5,31 ^a
26	10	10	66,67±3,09	80,00±5,00	47,35±7,56 ^b	30,22±8,16 ^b
26	10	15	63,22±5,28	75,00±5,00	46,93±8,19 ^b	29,06±6,99 ^b
26	10	20	41,33±2,26	76,68±2,89	64,92±5,72 ^a	46,89±2,49 ^a
Kontrol	-	-	0	86,68±2,89	81,87±3,59 ^a	64,37±0,68 ^a
28	10	10	79,26±1,05 ^a	81,68±2,89	49,48±10,22 ^b	39,44±7,01 ^b
28	10	15	81,26±3,94 ^a	78,33±2,89	46,75±11,73 ^b	36,19±8,07 ^b
28	10	20	67,44±9,29 ^b	73,33±14,43	47,84±16,99 ^b	35,71±9,23 ^b
Kontrol	-	-	0	80,00±5,00	70,74±6,64 ^a	30,98±3,97 ^a
30	10	10	72,96±4,60	78,33±2,89	28,32±6,09 ^b	20,02±4,06 ^{ab}
30	10	15	52,52±6,39	83,33±2,89	19,59±12,40 ^b	12,72±7,66 ^b
30	10	20	59,35±3,52	78,33±5,77	14,81±11,29 ^b	9,26±9,12 ^b
Kontrol	-	-	0	83,33±5,77	66,40±6,14 ^a	43,20±3,50 ^a
32	10	10	62,73±11,06 ^a	85,00±5,00	14,47±9,89 ^b	10,61±7,16 ^b
32	10	15	86,15±8,74 ^b	81,67±2,89	16,09±16,29 ^b	19,15±12,02 ^b
32	10	20	74,08±5,43 ^c	81,67±5,77	19,84±7,39 ^b	18,31±4,18 ^b

Kontrol grubuna (diploid) ait yumurtaların döllenme işlemi 10-12 °C su sıcaklığında gerçekleştirilmiştir.

NOR boyama ile elde edilen verilerin kontrol edilmesi amacıyla yavru balıklardan alınan kan örneklerinin eritrosit büyüklüklerinin ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Triploid ve diploid Karadeniz alabalıklarının eritrosit ve çekirdek büyüklükleri ölçülmüş, elde edilen verilerden eritrosit ve çekirdek yüzey alanı ve hacmi hesaplanmıştır (Tablo 2). Triploid balıklara ait eritrosit ve çekirdek bulguları diploidlerden daha yüksek değerlerde hesaplanmıştır (P<0,001) (Tablo 2). Triploid balıkların eritrosit büyüklükleri, hücre hacimleri ve yüzey alanları diploid balıklardan daha büyük olduğu birçok

araştırmacı tarafından ortaya konulmuştur. Karadeniz alabalığında (Akhan vd., 2011a; Çakmak vd., 2019), kaynak alabalığında (*S. fontinalis*) (Woznicki & Kuzminski, 2002), Aras alabalığında (*S.t. caspius*) (Dorafshan vd., 2008), kalkan balığında (*S. maximus*) (Cal vd., 2005), levreklerde (*D. labrax*) (Peruzzi vd., 2005), Sibiry mersin balığında (*Acipenser baeri*) (Dorota vd., 2006), tilapia balığında (*Tilapia aurea*) (Valenti, 1975) ve kanal yayın balığında (*Ictalurus punctatus*) (Wolters vd., 1982) yapılan çalışmalarda triploidler diploidlerden daha yüksek eritrosit büyüklüğüne sahip olduğu belirlenmiştir.

Table 2. Triploid ve diploid bireylerde eritrosit ve çekirdeklere ait veriler.

Table 2. Data of erythrocytes and nucleus in triploid and diploid individuals.

	Triploid	Diploid	Oran (T/D)	P
Eritrosit minor aksis (µm)	10,93±0,06	7,58±0,09	1,44	<0,001
Eritrosit major aksis (µm)	17,08±0,16	14,66±0,86	1,16	<0,001
Eritrosit yüzey alanı (µm ²)	146,99±6,41	87,25±1,20	1,68	<0,001
Eritrosit hacmi (µm ³)	1074,75±28,37	446,45±12,87	2,40	<0,001
Çekirdek minor aksis (µm)	5,10±0,34	4,00±0,03	1,28	<0,001
Çekirdek major aksis (µm)	8,01±0,04	7,05±0,05	1,14	<0,001
Çekirdek yüzey alanı (µm ²)	32,29±2,43	22,16±0,15	1,46	<0,001
Çekirdek hacmi (µm ³)	112,56±7,46	59,05±1,90	1,90	<0,001

Mayotik triploid balık üretimi; yumurtaların döllenmesinden hemen sonra çevresel şok (sıcaklık şoku, basınç, kimyasallar) uygulanarak, mayoz bölünme bloke edilip, ikinci kutup hücresinin döllenmeden sonra tutulması ile gerçekleşmektedir. Şok uygulamasının

zamanı ve süresi farklı balık türlerinde triploid oranını etkilemektedir.

SONUÇ

Balık yetiştiriciliğinde triploidizasyon uygulanabilir bir üretim yöntemidir. Üreticiler daha kısa

sürede fazla ürün elde etmek için triploid balık üretimini tercih etmektedir. Fakat triploid balık üretimi bazı zorluklar içermektedir. Sıcaklık şoku uygulaması ile triploid balık elde edilmesi en fazla kullanılan ve en pratik uygulanabilir yöntemdir. Sağlıklı bir triploidizasyon uygulaması için balık türüne göre uygun zamanda ve uygun sıcaklıkta uygulama yapmak esastır. Bu çalışmada Karadeniz alabalığı olarak bilinen *Salmo trutta labrax* türünde sıcaklık şoku ile triploid uygulaması çalışılarak, uygun sıcaklık ve uygulama zamanları belirlenmiştir. Sonuç olarak, triploid Karadeniz alabalıklarında döllenmiş yumurtalara uygulanacak sıcaklık şokunun döllenme işleminden 15 dakika sonra 28°C'de 10 dakika uygulama şeklinde yapılması durumunda en ideal döllenme ve yaşama oranları elde edilmiştir. Elde edilen sonuçlar, ülkemiz endemik türü olan Karadeniz alabalığı triploid uygulamalarında kullanılabilir. Ayrıca, triploid birey oranını belirlemede hızlı, kolay ve en yaygın olarak kullanılan eritrosit ölçümü yanı sıra, NOR boyama yönteminin erken safhada (larval safhada) ploidi oranını belirlemede kullanılabileceği de bu çalışma ile ortaya konulmuştur.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma doktora tezinden üretilmiş ve Karadeniz Teknik Üniversitesi BAP tarafından 2009.117.001.5 nolu proje ile desteklenmiştir.

KAYNAKLAR

- Akhan, S., Serezli, R. & Delihasan Sonay, F. (2011a).** Hematology of diploid and triploid rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), Black Sea trout (*Salmo labrax* Pallas, 1814) and their F₁ hybrids. *The Israeli Journal of Aquaculture, Bamidgeh*, **63**, 4.
- Akhan, S., Delihasan Sonay, F., Okumus, I., Köse, Ö. & Yandi, I. (2011b).** Inter-specific hybridization between Black Sea trout (*Salmo labrax* Pallas, 1814) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792). *Aquaculture Research*, **42**, 1632-1638. DOI: 10.1111/j.1365-2109.2010.02755.x
- Aksungur, M., Yılmaz, C., Tabak, İ., Aksungur, N. & Mısır, D.S. (2005).** Karadeniz alabalığı (*Salmo trutta labrax*, 1811)'nin kültür şartlarına adaptasyonu. *Fırat Üniversitesi, Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, **17**, 349-359.
- Arai, K. & Wilkins, N.P. (1987).** Triploidization of brown trout (*Salmo trutta*) by heat shocks. *Aquaculture*, **64**, 97-103. DOI: 10.1016/0044-8486(87)90345-0
- Bai, Z., Liu, F., Li, J. & Yue, G.H. (2011).** Identification of triploid individuals and clonal lines in *Carassius auratus* complex using microsatellites. *International Journal of Biological Sciences*, **7**(3), 279-285. DOI: 10.7150/ijbs.7.279
- Baki, B. (2006).** Gökkuşluğu alabalıklarından (*Oncorhynchus mykiss*, W., 1792) elde edilen yumurtaların iki farklı su kaynağında açılma süreleri, larva çıkışı ve büyümelerinin karşılaştırılması. Doktora Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Samsun, Türkiye, 88s.
- Blanc, J.M., Vallée, F. & Dorson, M. (2000).** Survival, growth and dressing traits of triploid hybrids between rainbow trout and three charr species. *Aquaculture Research*, **31**, 349-358. DOI: 10.1046/j.1365-2109.2000.00446.x
- Cal, R.M., Vidal, S., Camacho, T., Piferrer, F. & Guitian, F.J. (2005).** Effect of triploidy on turbot haematology. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A: Molecular and Integrative Physiology*, **141**, 35-41. DOI: 10.1016/j.cbpb.2005.03.007
- Canyurt, M.A. & Akhan, S. (2009).** Development and situation of trout culture in Turkey. pp. 90-94. In: *15th Annual 15th International Scientific Conference Proceedings: Research for Rural Development 2009. 20-22 May 2009*, Jelgava, Latvia.
- Crozier, W.W. & Moffett, I.J.J. (1989).** Experimental production of triploid brown trout, *Salmo trutta* L., using heat shock. *Aquaculture & Fisheries Management*, **20**, 343-353. DOI: 10.1111/j.1365-2109.1989.tb00362.x
- Çakmak, E., Çankırılıgil, E.C., Düzgüneş, Z.D., Özel, O.T., Eroğlu, O. & Firidin, Ş. (2019).** Triploid Black Sea trout (*Salmo labrax* Pallas, 1814) induced by heat shock and evaluation of triploidy with different techniques. *Genetics of Aquatic Organisms*, **3**(1), 01-07. DOI: 10.4194/2459-leticf 831-v3_1_01
- Dillon, J.C. (1988).** Production of triploid rainbow trout for evaluation in South Dakota waters. The Degree Master of Science, South Dakota State University, Wildlife and Fisheries Sciences. South Dakota. 69 p.
- Dorafshan, S., Kalbassi, M.R., Pourkazemi, M., Amiri, B.M. & Karimi, S.S. (2008).** Effects of triploidy on the Caspian salmon *Salmo trutta caspius* haematology. *Fish Physiology & Biochemistry*, **34**, 195-200.
- Dorota, F.B., Jankun, M. & Wosnicki, P. (2006).** Chromosome number and erythrocyte nuclei length in triploid Siberian sturgeon *Acipenser baeri* Brandt. *Caryologia*, **59** (4), 319-321. DOI: 10.1080/00087114.2006.10797932
- Dubé, P., Blanc, J.M., Chouinard, M. & Noüe, J. (1991).** Triploidy induced by heat shock in brook trout (*Salvelinus fontinalis*). *Aquaculture*, **92**, 305-311. DOI: 10.1016/0044-8486(91)90036-7
- Felip, A., Zanuy, S., Carrillo, M. & Piferrer, F. (2001).** Induction of triploidy and gynogenesis in teleost fish with emphasis on marine species.

- Genetica*, **111**, 175-195. DOI: [10.1023/a:1013724322169](https://doi.org/10.1023/a:1013724322169)
- Felip, A., Zanuy, S., Carrillo, M., Martinez, G., Ramos, J. & Piferrer, F. (1997)**. Optimal conditions for the induction of triploidy in the sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.), *Aquaculture*, **152**, 287-298. DOI: [10.1016/S0044-8486\(96\)01509-8](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(96)01509-8)
- Gao, Z., Wang, W., Abbas, K., Zhou, X., Yang, Y., Diana, J.S., Wang, H., Wang, H., Li, Y. & Sun, Y. (2007)**. Haematological characterization of loach *Misgurnus anguillicaudatus*: Comparison among diploid, triploid and tetraploid specimens. *Comparative Biochemistry & Physiology, Part A: Molecular & Integrative Physiology*, **147**, 1001-1008. DOI: [10.1016/j.cbpa.2007.03.006](https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2007.03.006)
- Gray, A.K., Evans, M.A. & Thorgaard, G.H. (1993)**. Viability and development of diploid and triploid salmonid hybrids. *Aquaculture*, **112**, 125-142. DOI: [10.1016/0044-8486\(93\)90439-6](https://doi.org/10.1016/0044-8486(93)90439-6)
- Gündoğdu, H. (2016)**. *Endemik Beyşehir kababurun balığı, Chondrostoma beysehirense (Bogutskaya, 1997) üzerine sitogenetik araştırmalar*. Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Konya, Türkiye, 43s.
- Happe, A., Quillet, E. & Chevassus, B. (1988)**. Early life history of triploid rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richardson). *Aquaculture*, **71**, 107-118. DOI: [10.1016/0044-8486\(88\)90278-5](https://doi.org/10.1016/0044-8486(88)90278-5)
- Hisar, S.A., Yanık, T. & Hisar, O. (2003)**. Hatchery and growth performance of two trout pure breeds, *Salvelinus alpinus* and *Salmo trutta fario*, and their hybrid. *The Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgeh*, **55**(3), 154-159. DOI: [10.46989/001c.20357](https://doi.org/10.46989/001c.20357)
- Howell, W.M. & Black, D.A. (1980)**. Controlled silver-staining of nucleolar organizer regions with a protective colloidal developer: A 1-step Method. *Experientia*, **36**, 1014-1015. DOI: [10.1007/BF01953855](https://doi.org/10.1007/BF01953855)
- Jankun, M., Kuzminski, H. & Furgala-Selezniow, G. (2007)**. Cytologic ploidy determination in fish-an example of two salmonid species. *Environmental Biotechnology*, **3**(2), 52-56.
- Jankun, M., Woznicki, P., Dajnowicz, G., Demska-Zakes, K., Luczynski, M.J. & Luczynski, M. (1998)**. Heterochromatin and NOR location in Northern Pike (*Esox lucius*), *Aquatic Science*, **60**, 17-21.
- Johnson, R.M., Shrimpton, J.M., Heath, J.W. & Heath, D.D. (2004)**. Family, induction methodology and interaction effects on the performance of diploid and triploid chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). *Aquaculture*, **234**, 123-142.
- Kalbassi, M.R., Dorafshan, S., Pourkazemi, M. & Amiri, B.M. (2009)**. Triploidy induction in the Caspian Salmon, *Salmo trutta caspius*, by heat shock. *Journal of Applied Ichthyology*, **25**, 104-107. DOI: [10.1111/j.1439-0426.2008.01177.x](https://doi.org/10.1111/j.1439-0426.2008.01177.x)
- Kankaya, E. (1998)**. *Gökkuşuğu alabalığında (Oncorhynchus mykiss W., 1792) ısı şoku uygulamasıyla triploidi oluşturulması üzerine bir araştırma*. Yüksek Lisans Tezi, Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 53s.
- Kenanoğlu, O.N., Yilmaz, S., Ergun, S. & Aki, C. (2013)**. A preliminary study on the determination of triploidy by chromosome analysis at the different stages of development in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Marine Science & Technology Bulletin*, **2**(2), 17-21.
- Kızak, V., Güner, Y., Türel, M. & Kayım, M. (2013)**. Comparison of growth performance, gonadal structure and erythrocyte size in triploid and diploid brown trout (*Salmo trutta fario* L., 1758). *Turkish Journal of Fisheries & Aquatic Sciences*, **13**, 571-580. DOI: [10.4194/1303-2712-v13_4_02](https://doi.org/10.4194/1303-2712-v13_4_02)
- Kim, H.S., Chung, K.H. & Son, J.H. (2017)**. Comparison of different ploidy detection methods in *Oncorhynchus mykiss*, the rainbow trout. *Fisheries & Aquatic Sciences*, **20**, 29. DOI: [10.1186/s41240-017-0074-8](https://doi.org/10.1186/s41240-017-0074-8)
- Liu, F.G. & Quillet, E. (1989)**. Preliminary results on triploidy induced by heat shocks in the brown trout (*Salmo trutta*). *Journal of the Fisheries Society of Taiwan (JFST)*, **16**(2), 91-95.
- Lozano, R., Rejón, C.R. & Rejón, M.R. (1992)**. A comparative analysis of NORs in diploid and triploid salmonids: implications with respect to the diploidization process occurring in this fish group. *Heredity*, **69**, 450-457.
- Ojolic, E.J., Cusack, R., Benfey, T.J. & Kerr, S.R. (1995)**. Survival and growth of all-female diploid and triploid rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) reared at chronic high temperature. *Aquaculture*, **131**, 177-187. DOI: [10.1016/0044-8486\(94\)00338-0](https://doi.org/10.1016/0044-8486(94)00338-0)
- Okumura, S.I., Furukawa, S., Kawai, T., Takahashi, S. & Yamamori, K. (2001)**. Comparison of nucleoli number in diploid and triploid larva of Pacific abalone *Haliotis discus hannai*. *Fisheries Science*, **67**, 176-178. DOI: [10.1046/j.1444-2906.2001.00217.x](https://doi.org/10.1046/j.1444-2906.2001.00217.x)
- Özden, O., Güner, Y. & Kızak, V. (2003)**. Tatlısu balık kültüründe uygulanan bazı biyoteknolojik yöntemler. *Ege Üniversitesi, Su Ürünleri Dergisi*, **20**(3-4), 563-574.
- Peruzzi, S., Varsamos, S., Chatain, B., Fauvel, C., Menu, B., Falguière, C., Sèvere, A. & Flik, G. (2005)**. Haematological and physiological characteristics of diploid and triploid sea bass, *Dicentrarchus labrax* L. *Aquaculture*, **244**(1-4), 359-367. DOI: [10.1016/j.aquaculture.2004.11.028](https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2004.11.028)
- Piferrer, F., Cal, R.M., Álvarez-Blázquez, B., Sánchez, L. & Martínez, P. (2000)**. Introduction of triploidy in the turbot (*Scophthalmus maximus*) I. Ploidy determination and the effects of cold

- shocks. *Aquaculture*, **188**, 79-90. DOI: [10.1016/S0044-8486\(00\)00306-9](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(00)00306-9)
- Piferrer, F., Cal, R.M., Gómez, C., Bouza, C. & Martinez, P. (2003).** Introduction of triploidy in the turbot (*Scophthalmus maximus*) II. Effects of cold shock timing and induction of triploidy in a large volume of eggs, *Aquaculture*, **220**, 821-831. DOI: [10.1016/S0044-8486\(02\)00535-5](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(02)00535-5)
- Quillet, E., Foisil, L., Chevassus, B., Chourrout, D. & Liu, F.G. (1991).** Production of all-triploid and all-female brown trout for aquaculture. *Aquatic Living Resources*, **4**, 27-32. DOI: [10.1051/alr:1991002](https://doi.org/10.1051/alr:1991002)
- Saygun, S. (2005).** *Karadeniz'de yaşayan çeşitli yassı balıkların (Pisces, Pleuronectiformes) kromozom yapılarının karşılaştırılması.* Doktora Tezi, On Dokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Samsun, Türkiye, 130s.
- Serezli, R. (2004).** *Doğu Karadeniz Bölgesi'nde gökkuşuğu alabalığı (Oncorhynchus mykiss) damızlık stoklarının sağım zamanı, damızlık performansı ve kuluçka randımanlarının belirlenmesi.* Doktora Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Trabzon, Türkiye, 104s.
- Serezli, R., Okumuş, İ. & Akhan, S. (2005).** Akuakültürde anestezinin kullanımı. *Türk Sucul Yaşam Dergisi*, **4**, 475-480.
- Sola, L., Bressanello, S., Rossi, A.R., Iaselli, V., Crosetti, D. & Cataudella, S. (1993).** A karyotype analysis of the genus *Dicentrarchus* by different staining techniques, *Journal of Fish Biology*, **43**, 329-337. DOI: [10.1111/j.1095-8649.1993.tb00567.x](https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.1993.tb00567.x)
- Solar, I.I., Donaldson, E.M. & Hunter, G.A. (1984).** Induction of triploidy in rainbow trout (*Salmo gairdneri* RICHARDSON) by heat shock, and investigation of early growth. *Aquaculture*, **42**, 57-67. DOI: [10.1016/0044-8486\(84\)90313-2](https://doi.org/10.1016/0044-8486(84)90313-2)
- Sonay, F. (2013).** *Triploid Karadeniz alabalığı (Salmo trutta labrax Pallas, 1811) üretimi ve büyüme potansiyeli ve et kalitesinin belirlenmesi.* Doktora Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Trabzon, Türkiye, 137s.
- URL 1. (2012).** <http://ressources.ciheam.org/om/pdf/b63/00800917pdf> (22 Eylül 2012).
- Valenti, R.J. (1975).** Induced polyploidy in *Tilapia aurea* (Steindachner) by means of temperature shock treatment. *Journal of Fish Biology*, **7**, 519-528. DOI: [10.1111/j.1095-8649.1975.tb04627.x](https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.1975.tb04627.x)
- Wolters, W.R., Chrisman, C.L. & Libey, G.S. (1982).** Erythrocyte nuclear measurement of diploid triploid channel catfish, *Ictalurus punctatus* (Rafinesque). *Journal of Fish Biology*, **20**, 253-258. DOI: [10.1111/j.1095-8649.1982.tb04706.x](https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.1982.tb04706.x)
- Woznicki, P. & Kuzminski, H. (2002).** Chromosome number and erythrocyte nuclei length in triploid brook trout (*Salvelinus fontinalis*). *Caryologia*, **55** (4), 295-298. DOI: [10.1080/00087114.2002.10797879](https://doi.org/10.1080/00087114.2002.10797879)
- Yılmaz, S., Çelik, E.Ş., Kenanoğlu, O.N. & Ergün, S. (2017).** Asidik stresin triploid ve diploid gökkuşuğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*)'nın hematolojik, immunolojik ve biyokimyasal kan parametreleri üzerine etkileri. *Alınleri Journal of Agricultural Sciences*, **32**(2),17-24. DOI: [10.28955/alinterizbd.320262](https://doi.org/10.28955/alinterizbd.320262)