



Akuakültür ve Biyoteknoloji

Doç.Dr.Yusuf Bozkurt

Mustafa Kemal Üniversitesi Deniz Bilimleri ve Teknolojisi Fakültesi
İskenderun, Hatay

Özet

Tarımsal üretim faaliyetleri arasında yer alan akuakültür, özellikle son yıllarda büyük bir gelişme göstererek dünyada en hızlı gelişen sektörlerden birisi konumundadır. Hiç şüphesiz akuakültür sektörünün bu konuma gelmesinde; doğal stokların azalması ve sağlıklı beslenme amacıyla su ürünlerine olan talebin artması önemli rol oynamaktadır.

Canlı organizmaları ve onların yapıtaşlarının kullanan bir teknik olan biyoteknoloji sağlık, tarım, gıda ve diğer endüstriyel alanlarda oldukça yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Tarımsal üretime katkı bakımından çok büyük bir potansiyele sahip olan biyoteknoloji, akuakültür alanında da özellikle son yıllarda giderek artan bir önem kazanmıştır. Akuakültür alanında biyoteknolojik uygulamalar; cinsiyet kontrolü, kromozom manipülasyonları, gen transferi, DNA hasarı ve kriyoprezervasyon konularında yoğunlaşmaktadır.

1. Giriş

Toprak varlığının sınırlı olması ve çevresel stres faktörlerinin giderek artması nedeniyle, artan dünya nüfusunun, yakın bir gelecekte yeterli düzeyde beslenemeyeceği endişesi giderek yaygınlaşmaktadır. Dünyada tarım yapılan toprakların artması söz konusu olamayacağına göre bu düzeydeki verim artışının mevcut tarım alanlarından sağlanması gerekmektedir. Ancak, günümüzde toprakların büyük bir bölümü, bitkisel üretimi sınırlayan çok değişik sorunlara sahiptir. Dünya Tarım Örgütü FAO'ya göre dünyada kültür altındaki toprakların yaklaşık % 90'lık bir bölümünde bitkisel üretimi sınırlayan değişik fiziksel ve kimyasal problemler bulunmaktadır.

İnsanoğlunun beslenmesinde özellikle hayvansal protein ihtiyacının karşılanmasında çok önemli rol oynayan akuakültür, insanların sağlıklı beslenmesi, sanayi sektörüne hammadde temini, istihdam oluşturmaya katkı sağlaması, yüksek

ihracat imkanı ve doğal kaynakların daha etkin yönetimi ile biyolojik çeşitliliğin muhafazası konularında önemli fırsatlar yaratmakta ve önemi her geçen gün artış göstermektedir. Nitekim akuakültür veya diğer ismi ile su ürünleri yetiştiriciliği, FAO tarafından dünyada en hızlı büyüyen gıda sektörü olarak belirlenmiştir. Günümüzde akuakültür, dünya balıkçılık üretiminin yaklaşık %30'unu karşılamakta (1) ve yılda %10'dan daha fazla artarak büyümektedir.



Bitki, hayvan veya mikroorganizmaların tamamı yada bir parçası kullanılarak yeni bir organizma (bitki, hayvan yada mikroorganizma) elde etmek veya var olan bir organizmanın genetik yapısında arzu edilen yönde değişiklikler meydana getirmek amacı ile kullanılan yöntemlerin tamamına Biyoteknoloji denilmektedir. İnsanlık tarihiyle eşdeğer bir geçmişe sahip olan geleneksel biyoteknoloji, son elli yılda moleküler biyoloji ve genetik alanlarında gerçekleşen bilimsel ilerlemeler sayesinde, yepyeni bir anlam ve önem kazanmıştır. Bu nedenle biyoteknoloji, insanlığın refahında en önemli katkıyı sağlaması beklenen teknolojilerin başında gelmektedir (2).

Günümüzde biyoteknoloji aynı zamanda akuakültürün gelişmesine önemli katkı sağlayan bir araç konumundadır. Dünya nüfusunda meydana gelen artış ve hayvansal protein kaynağı olarak önemi her geçen gün artan su ürünlerine olan aşırı talep, biyoteknolojinin akuakültür alanında oldukça yaygın bir şekilde kullanılır hale gelmesine neden olmaktadır.



2. Biyoteknolojinin Akuakültürde Kullanım Alanları

2.1. Cinsiyet Kontrolü

Cinsiyetlerden birinin veya her ikisinin erken cinsi olgunluğa ulaşması ve bunun sonucu olarak; büyüme, yem değerlendirme oranı, davranış, sağlık, vücut ve et renginde meydana gelen olumsuz değişiklikler nedeniyle cinsiyet kontrolü uygulamaları yapılmaktadır (3). Yetiştiricilikte tek cins veya steril populasyonlar üretmek için çeşitli teknikler kullanılmaktadır. Balıklarda tek cinsiyetliliği sağlamak amacıyla; sterilizasyon, hibridizasyon, gynogenesis, androgenesis, poliploidi, cinsiyet dönüşümü tekniklerinden faydalanılmaktadır (4). Balıklarda cinsiyet kontrolü üç farklı metot uygulanarak yapılmaktadır.

2.1.1. Dişileştirme:

Dişileştirme, yavruların ilk beslenmesinde 17 β -Estradiol uygulanması ile gerçekleştirilmektedir. Dişileştirme için diğer oestrogenler (ethyl-oestradiol) de kullanılmaktadır; ancak oestradiol ve oestron doğal olarak balıklarda bulunduğu için tercih edilen bir steroid değildir. Cinsiyet değişiminde oestradiol, genellikle oestrondan daha etkili olduğu bildirilmektedir (5).

Çeşitli oestradiol seviyeleri ve uygulama periyotları dişileştirme amacıyla kullanılmaktadır. Bir kg yem içindeki 20 mg'lık hormon düzeyi birçok salmoneid yavrusunun dişileştirilmesi için yeterli olmaktadır. Bütün uygulamalardaki en önemli nokta yavrunun yeterli düzeydeki hormonu ilk yemlemeden başlayarak eşeyssel farklılaşma periyodu boyunca almasıdır. Bu periyot, salmoneidlerde muhtemelen 10°C'de ilk beslenmeden sonraki 50 gündür (6).

2.1.2. Erkekleştirme:

Endirekt cinsiyet değiştirme yönteminde tamamı dişi bireyleri elde etmek için fonksiyonel erkek (XX) bireylere ihtiyaç olduğundan, yumurtadan çıkmış ve besin kesesini tüketmiş olan balıkların kan dolaşımına 17 α -metiltestosteron gibi androjen hormonlarının verilmesi gerekmektedir. Bu hormon, belli oranlarda yeme ilave edilerek besin kesesini tüketmiş balık larvalarının bu yemi tüketmesinin sağlanması veya hormon suya ilave edilerek balık larvalarının banyo edilmesinin sağlanması mümkün olabilmektedir (7).

2.1.3. Kısırlaştırma:

Akuakültürde kısır balık üretimi kromozom sayılarının değiştirilmesi ile mümkün olabilmektedir. Döllenen kısa süre sonra yumurtalara çevresel şoklardan birinin uygulanmasıyla meydana getirilir. Triploidizasyon ve radyasyon uygulamaları içinde geçerli kısırlaştırma metodu triploidizasyon işlemidir. Kısırlaştırmada amaç metabolik enerjinin gamet gelişimi yerine büyümeye harcanmasını sağlamaktır. Bunun sonucunda balıklarda üreme aktivitesinin büyüme, yaşama ve et kalitesi üzerindeki olumsuz etkileri önlenebilmektedir (8).



2.2. Kromozom Maniplasyonları

Erkekli ve dişili çoğalan canlılar, ebeveynlerine ait eşey hücrelerinin birleşerek meydana getirdikleri döllenmiş yumurtalardan gelişmektedirler. Ebeveynlerin bir sonraki generasyonla bağlantılarını eşey hücreleri sağlamaktadır. Bir eşey hücresinin en önemli varlığını kalıtım faktörlerini generasyondan generasyona taşıyan kromozomlar oluşturmaktadır. Biri anadan diğeri babadan gelen aynı şekil ve büyüklükteki homolog kromozomlar, gametler meydana gelirken birbirinden ayrılmakta ve her gamete her eşten biri gitmektedir. Erkek ve dişi gametlerin birleşmesi ile eşler tekrar bir araya gelmekte ve generasyonlar arasında kromozom sayıları sabit kalmaktadır (9).

2.2.1. Triploidi

Yumurta içerisindeki kromozomların son bölünmesi, döllemede spermlerin penetrasyonundan hemen sonra meydana gelmektedir. Bu işlemde çevresel şok etkisiyle yumurtadaki kutup hücrelerinin döllemeden sonra yumurtadan atılması engellenmektedir. Haploid sperm ile yapılan dölleme üç grup kromozomu içeren bir yumurta üretmektedir. Üretilen bu yumurtada embriyonik gelişim başlamaktadır. Ancak bu tür yumurtalarda kromozomlar kutuplara eşit olarak dağılmazlar. Triploid bir yumurtadan elde edilen yavru XXX kromozomu taşırsa kısır dişiler, XXY kromozomu taşırsa üreyebilen erkek bireyler oluşur. Triploidi konusunda yapılan çalışmaların birçoğu, triploid homogametik cinsiyetin kısır olması ve daha iyi büyümesi esasına dayandırılmaktadır (6).

2.2.2. Tetraploidi

Tetraploidizasyonda amaç dört kromozoma sahip balık üretim işlemidir. Ayrıca tetraploid balıklar diploid balıklarla çaprazlandığına triploid bireylerin elde edilebilir. Normal bir yumurtanın aktif bir spermatozoa tarafından döllenirken sonra ilk mitotik bölünme esnasında şok uygulanması ile 4N kromozumlu bireyler elde edilmektedir. Diploid dişilerin tetraploid erkekler tarafından dölleme oranı normal erkeklerle kıyasla daha düşüktür. Bu durum, spermatozoitin çapıyla ilgili tetraploid dişilerin diploid erkekler tarafından döllemesi daha mantıklıdır. Bununla birlikte, tetraploid üretimi kolay değildir, ancak gökkuşağı alabalıklarında tetraploid üretimi gerçekleştirilebilmiştir (4).

2.2.3. Ginogenez

Ginogenez, inaktive edilmiş sperma ile normal yumurtanın fertilize edilmesi sonucunda tüm bireylerin XX kromozomu taşımalarına yani dişi birey elde edilmesine olanak sağlayan bir tekniktir. Ginogenezde yumurta içerisine nüfuz eden erkek eşey hücresinin nükleusu, yumurta plazmasında genetik olarak aktif olmayan bir yapıdadır ve embriyonun gelişimi sadece anneye ait kalıtım ile kontrol edilmektedir (10).

Ginogenetik türlerin olgun yumurtaları, ortamda erkek eşey hücresi bulunmadığı zaman embriyoyu oluşturmak için harekete geçmemektedir. Bu nedenle ginogenetik üremede, başarı için olgun yumurtaları aktif hale geçirecek erkek eşey hücrelerinin bulunması gerekmektedir. Ginogenezdeki amaç, akraba hatların ve tek cinsiyetli popülasyonların üretimidir. Ginogenezde yumurtaların döllemede genetik materyali yok edilmiş spermatozoitler kullanılır. Spermatozoitlerin genetik materyalinin nötralize edilmesinde, γ -ışınları, X-ışınları ve ultraviyole (UV) kullanılmaktadır. Bunlardan en çok, ucuz ve kullanışlı olması nedeniyle ultraviyole tercih edilmektedir (11).

Spermanın kalıtım materyali yok edildiğinden farklı balık türlerinden alınan spermada yumurtaların döllemede kullanılabilir. Yumurtaların aktive edilmesi için UV radyasyonlu sperm kullanımıyla yapay bir üreme gereklidir ve ardından embriyonun diploidlik durumunu tekrar sağlamak için fiziksel veya kimyasal şok uygulamaları gerekmektedir. Bu şoklar, mikrotübülleri tahrip ederek çekirdek bölünmeyi engellemektedir. Çevresel şokun uygulanmadığı durumlarda haploid embriyolar deforme özellikte olur (7).

2.2.4. Androgenez

Androgenez, ginogenezden farklı olarak yumurtanın genetik materyalinin elimine edilmesinin ardından, döllemlenmiş embriyo gelişiminin spermatozoanın kromozom setinden devam



etmesidir (9). Androgenetik zigot ilk bölünmeyi geçireceği zaman şok uygulanmakta ve hücre bölünmesi engellenmektedir. Böylece bireylerde babadan gelen kromozom setlerine sahip olmaktadır (12). Döllemlenmiş yumurtada anneden gelen nükleer DNA iyonize veya ultraviyole radyasyonla başarıyla yok edilmektedir. Androgenez, inaktive edilmiş yumurta ile normal sperm hücrelerinin fertilize edilmesi sonucunda tüm bireylerin XY kromozomu taşımalarına yani erkek birey elde edilmesine olanak sağlayan bir tekniktir (5).

2.3. Gen Transferi

Genetik mühendisliği teknikleri kullanılarak genetik materyalin temeli olan deoksiribonükleik asidin (DNA) yapısına belirli uzunlukta özel gen dizilerinin aktarılması işlemine gen transferi denir (13). Yabancı bir genin, gen transfer teknikleri ile genoma aktarılmasıyla transgenik canlılar elde edilmektedir. Transgenik canlılar kendi genomunda başka bir organizmaya ait rekombinant bir geni taşıyan canlılar olarak tanımlanmaktadır (14).

Gen aktarımının yapılabileceğini gösteren ilk deneysel çalışma, 1928 yılında Griffith tarafından gerçekleştirilmiştir. Yapılan deneysel çalışmada patojen olmayan pneumokok bakterilerinin, ısı etkisi ile öldürülmüş patojen pneumokoklar ile aynı ortama konduğunda patojenik özellik kazandığı tesbit edilmiş ve genetik materyal transferinin mümkün olduğu fikri ilk kez ortaya konmuştur (15). Avery ve ark. (1979) (16), yaptıkları çalışma sonunda genetik materyal olan DNA'nın transforme edilebileceğini, bir başka deyişle gen aktarımının mümkün olabileceğini belirlemişlerdir. Ayrıca rekombinant DNA teknolojisindeki süratli gelişmeler gen aktarım teknolojilerinin önemini her geçen gün artırmaktadır. Gen transferi; mikroenjeksiyon, viral vektör tekniği, embriyonik kök hücre, klonlama ve elektroporasyon yöntemleri ile yapılmaktadır.

2.4. Spermatozoa DNA Hasarı

Bilgi taşıyıcısı olarak görev yapan DNA, RNA'ya göre daha önemli ve geniş ölçüde dikkat çekmektedir. Organizmalarda ve fajların çoğunda DNA karakteristik bir molekül meydana getirmektedir. Kalıtımda aktif olarak rol alan DNA, her zaman çekirdeğin içinde ve bazen de hücrenin diğer bölümlerinde bulunmakta olup gelişmiş canlılarda kalıtsal materyalin temelini oluşturmaktadır (17).

Çeşitli iç ve dış nedenlerden dolayı DNA'da farklı düzeyde hasarlar meydana gelmektedir. DNA'da oluşan bu hasarların başlıcaları; kromatin yapısının bozulması, DNA bazlarının oksidasyonu, yanlış eşleşmesi ve tubulin polimerizasyonunun baskılanması, bazların kimyasal olarak değişmesi, kromatin

yapısındaki anomaliler, DNA zincirinin kırılması, DNA-DNA, DNA-protein çaprazlaşmaları ve DNA da mutasyonlar gibi bir takım yapısal bozulmalardır. Spermatozoa DNA'sında şekillen-ben bu hasarların tespiti amacıyla hücre jel elektroforezi, tünel yöntemi, spermatozoa kromatin yapısı ve 8-hidroksi 2-deoksi-guanozin'in ölçümü gibi biyoteknolojik metotlar kullanılmaktadı-r. (18).

2.5. Gamet Kriyoprezervasyonu

Balık gametlerinin muhafaza edilmesi balık yetiştiriciliğinin de uygulanan seleksiyon programlarında büyük önem taşımaktadır. Çünkü aynı tür balıkların generasyonlar boyunca aynı ortam ve koşullarda yetiştirilmesi mevcut popülasyonda az bulunan genlerin kaybolmasına ve heterozigotluğun azalmasına neden olmaktadır. Genetik varyasyondaki bu azalma, mevcut balık stoğunun ileri dönemlerdeki seleksiyon programlarında kullanılma potansiyelini sınırlamakta olup bu durum düşük yaşama oranı, düşük büyüme oranı, yem dönüşüm etkinliğinde azalma, hastalıklara yakalanma riskinde artış ve yavru balıklarda ölüm oranının artması şeklinde kendini göstermektedir (19).

Doku ve hücrelerin kriyoprezervasyonu 1700'lü yıllardan itibaren uygulanmakta olan bir tekniktir. Bilimsel ve modern anlamda canlı hücre dondurma çalışmaları, 1949 yılında Polge ve arkadaşlarının gliserolün koruyucu özelliğini keşfetmesinden sonra başlamış olup ilk dondurulan hücre spermatozoa olmuştur. Bu anlamda kriyobiyoloji; hücre, doku, organ ve organizmaların dondurulmasını inceleyen bilim dalı olarak önemini artırmış ve dondurulan çözdürülen hücrelerin fonksiyonel özelliklerinin daha iyi anlaşılması, kriyobiyolojinin gelişmesine neden olmuştur (20, 21). Günümüzde kriyoprezervasyon tekniği sperma, embriyo, doku ve hücrelerin muhafaza edilmesinde rutin olarak uygulanmakta olup akuakültür alanında uzmanlaşan araştırmacılar özellikle balık spermasının dondurulması üzerinde çalışmaktadır (22).

Kriyoprezervasyon tekniği akuakültür alanında ilk kez 1953 yılında ringa (*Clupea harengus*) balığı yumurtalarının dondurulmuş sperma ile fertilize edilmesi ile amacıyla uygulanmış olup günümüzde pek çok balık türünde başarılı bir şekilde kullanılmaktadır (23). Kriyobiyolojinin akuakültürde kullanım amaçlarından en önemlisi, kültüre alınan türlere ait sperm bankası veya gen havuzu oluşturmaktır. Kültüre alınan türler doğada daha az yaşama şansı bulduğundan kriyoprezervasyon işlemi uygulanarak genlerinin kontrol altına alınması bir gereklilik haline almıştır. Ayrıca doğada varolan türlerin genetik çeşitliliğini korumak amacıyla kriyoprezervasyon işlemi uygulanmaktadır. Kriyobiyolojik yöntemleri uygulayarak gen havuzunun oluşturulması genlerin muhafaza edilmesine olanak sağlaması yanında hibridizasyon, genetik manipülasyon ve stok zenginleştirme programları içinde bir gereklilik olmaktadır (24, 25).

3. Sonuç

Akuakültürde uygulanan biyoteknolojik yöntemler sayesinde canlılarda büyüme ve üreme oranlarında artış sağlandığı gibi, hastalık ve DNA hasarı gibi durumların ortaya çıkışında ise azalma sağlanmakta, daha sağlıklı, verimli ve arzu edilen özelliklere sahip bireyler elde edilebilmekte ve soyu tükenmekte olan türlerin genleri yıllarca muhafaza edilebilmektedir. Modern biyoteknolojik yöntemlerin çiftlik hayvanlarında olduğu gibi akuakültür alanında da etkili bir şekilde kullanılabilir hale gelmesi hem sektörün oldukça gelişmesine olanak sağlayacaktır.

hem de ülke ekonomisine önemli katkı sağlayacaktır.

Kaynaklar

1. Davenport J, Black K, Burnell G, Cross T, Culloty S, Ekaratne S, Furness B, Mulcahy M, Thetmeyer H. (2003). *Aquaculture: The Ecological Issues*. British Ecological Society, Blackwell, Oxford.
2. Şahin, T. (2003). Su ürünleri yetiştiriciliğinde biyoteknoloji. *SUMAE Yunus Bülteni*. 3 (1) 2-5.
3. Okumuş, İ. (2008). *Deniz Balıkları Yetiştiriciliği Ders Notları*, KTÜ Deniz Bilimleri Fakültesi, Trabzon.
4. Dunham, R.A. (2004). *Aquaculture and Fisheries Biotechnology. Genetic approach*. CABI Publishing. USA.
5. Devlin, R.H., Nagahama, Y. (2002). *Sex determination and sex differentiation in fish: an overview of genetic, physiological and environmental influences*. *Aquaculture*, 208: 191-364.
6. Emre, Y., Kürüm, V. (2007). *Havuz ve Kafeslerde Alabalık Yetiştiriciliği Teknikleri*. MİNPA Matbaacılık, Ankara.
7. Özden, O., Güner, Y., Kızak, V. (2003). *Tatlısu balık kültüründe uygulanan bazı biyoteknolojik yöntemler*. *Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi*, 20 (3-4) 563-574.
8. Yeşilayer, N., Doğan, G., Karşlı, Z., Aral, O. (2008). *Triploid alabalık üretimi*. I. Ulusal Alabalık Sempozyumu. 14-16 Ekim, Isparta.
9. Purdom, C.E. (1993). *Genetics and Fish Breeding*. Chapman and Hall, Fish and Fisheries Series No: 8.
10. Palti, Y., Li, J.J., Thorgaard, G.H. (1997). *Improved efficiency of heat and pressure shocks for producing gynogenetic rainbow trout*. *Prog. Fish Cult.* 59 (1): 1-13.
11. Chourrout, D. (1982). *Gynogenesis caused by ultraviolet irradiation of salmonid sperm*. *J. Exp. Zool.* 223, 175-181.
12. Lutz, C.G. (2001). *Practical genetics for aquaculture*. Blackwell Science. 235 p.
13. Babaoğlu, M. (1999). *Bitkilerde gen transferi teknikleri*. *Ziraat Yüksek Mühendisleri Birliği Dergisi*. 322: 24-26.
14. Gordon J.W., Scangos G.A., Plotkin D.J., Barbosa J.A., Ruddle F.H. (1980). *Genetic transformation of mouse embryos by microinjection of purified DNA*. *Proc Natl Acad Sci.* 77: 7380-7384.
15. Griffith, F. (1928). *The significance of pneumococcal types*. *J Hyg.* 27: 113-159.
16. Avery, O.T., Macleod, C.M., McCarty, M. (1979). *Studies on the chemical nature of the substance inducing transformation of pneumococcal types. Inductions of transformation by a desoxyribonucleic acid fraction isolated from pneumococcus type III*. *J Exp Med.* 149: 297-326.
17. Artürk, E. (1977). *Evcil Hayvanlar Genetiği*. Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayınları:9, Ders kitabı:3.
18. Türk, G., Aksu, E.H., Bozkurt, T. (2006). *Spermatozoon DNA Hasarı*. *Fırat Üniv. Sağlık Bil. Dergisi*. 20 (1): 85-95.
19. Bozkurt, Y. (2011). *Cryopreservation and Aquaculture*. 8th Global Conference on the Conservation of Animal Genetic Resources Proceedings. p.389-392. 04-08 October 2011, Tekirdağ, Turkey.
20. Leibo, S.P., Brandley, L. (1999). *Comparative cryobiology of mammalian spermatozoa*. 502-515. In: C Gagnon (Ed), *The Male Gamet*. Cache River Press, St Louis.
21. Bozkurt, Y., Yavuz, U. (2012). *Akuakültürde Balık Embriyolarının Dondurularak Muhafaza Edilmesi*. *Ziraat Mühendisliği Dergisi*. 358: 42-47.
22. Bozkurt, Y., Seçer, S. (2005). *Balık Spermasının Muhafazası*. *Ziraat Mühendisliği Dergisi*. 345: 38-41.
23. Bozkurt, Y. (2010). *Balık Yetiştiriciliğinde Gamet Kalitesinin Önemi*. *Ziraat Mühendisliği Dergisi*. 355: 28-33.
24. Harvey, B. (2000). *The application of cryopreservation in fish genetic conservation in North and South America*. In: Tiersch TR, Mazik PM (eds) *Cryopreservation in aquatic species. Advances in world aquaculture*, vol 7. World Aquaculture Society, Baton Rouge, pp 332-337.
25. Bozkurt, Y., Yavaş, İ., Karaca, F. (2012). *Cryopreservation of brown trout (Salmo trutta macrostigma) and ornamental koi carp (Cyprinus carpio) sperm*. *Current Frontiers in Cryopreservation*, Edited by: Katkov, I. Section IV, p.293-304, Celltronix and Sanford-Burnham Institute for Medical Research USA, ISBN: 978-953-51-0302-8, 462p.