



MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
SU ÜRÜNLERİ ANABİLİM DALI

KAFEİN UYGULAMASI İLE TRİPLOİD KARABALIK
(*Clarias gariepinus*, BURCHELL 1822) ÜRETİMİ

RENGİN GÜRAĞAÇ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Antakya/ HATAY

Eylül – 2012

MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
SU ÜRÜNLERİ ANABİLİM DALI

KAFEİN UYGULAMASI İLE TRİPLOİD KARABALIK
(*Clarias gariepinus*, BURCHELL 1822) ÜRETİMİ

Rengin GÜRAĞAÇ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Antakya/ HATAY

Eylül – 2012

MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KAFEİN UYGULAMASI İLE TRİPLOİD KARABALIK
(*Clarias gariepinus*, BURCHELL 1822) ÜRETİMİ

Rengin GÜRAĞAÇ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

SU ÜRÜNLERİ ANABİLİM DALI

Doç. Dr. Funda TURAN danışmanlığında hazırlanan bu tez 12/09/2012 tarihinde aşağıdaki jüri üyeleri tarafından oy birliği ile kabul edilmiştir.

İmza.....

İmza.....

İmza.....

Başkan

Üye

Üye

Bu tez Enstitümüz Su Ürünleri Anabilim Dalında hazırlanmıştır.

Kod No:

Prof. Dr. İlhan ÜREMİŞ
Enstitü Müdürü
İmza ve Mühür

Bu çalışma M.K.Ü. Bilimsel Araştırma Projesi tarafından desteklenmiştir.

Proje No: 1204 Y 0102

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunu'nda ki hükümlere tabidir.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
İÇİNDEKİLER.....	I
ÖZET.....	III
ABSTRACT.....	IV
ÇİZELGELER DİZİNİ	V
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VI
1. GİRİŞ.....	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	7
2.1.Triploidizasyon.....	7
2.1.1. Triploidizasyon Yöntemleri.....	9
2.1.2. Triploidlerin Belirlenmesi.....	10
2.2. Triploidizasyonun Etkileri.....	11
2.2.1. Triploid Uygulamasının Büyümeye Etkisi.....	11
2.2.2. Triploid Uygulamasının Yem Dönüşümüne Etkisi.....	12
2.2.3. Triploid Uygulamasının Hastalıklara Etkisi.....	12
2.2.4. Triploid Uygulamasının Balık Morfoloji Üzerine Etkisi.....	12
2.2.5 Triploid Uygulamasının Balık Davranışı Üzerine Etkisi.....	13
2.2.6. Triploid Uygulaması Yapılan Türler.....	13
2.3. Triploid Uygulamalar.....	14
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	20
3.1.Materyal.....	20
3.1.1 Balık Materyali.....	20
3.1.2 Su Materyali.....	20
3.1.3 Akvaryum Materyali.....	21
3.1.4. Tank Materyali.....	21
3.1.5. Yem Materyali.....	21
3.1.6. Akım Sitometri.....	22
3.2.Yöntem.....	23
3.2.1 Sağım ve Dölleme İşlemi.....	23

3.2.2	Triploidizasyon.....	25
3.2.3	Deneme Planı.....	25
3.2.4	Larval Besleme.....	26
3.2.5	Balıkların Tartılması.....	27
3.2.6	Su Kalitesi Parametrelerinin Belirlenmesi.....	27
3.2.7	Triploid Oranı ve Triploid Verimliliğinin Belirlenmesi.....	27
3.2.8	Yaşama ve Kanibalizm Oranı.....	28
3.2.9	Büyüme Parametrelerinin Belirlenmesi.....	29
3.2.9.1	Canlı Ağırlık Kazancı.....	29
3.2.10	Yazım ve İstatistiki Analizler.....	29
4.	ARAŞTIRMA BULGULARI.....	30
4.1.	.Döllenme ve Çıkış Oranları.....	30
4.2.	Triploid Oranı ve Triploid Verimliliği.....	32
4.3.	Yaşama ve Kanibalizm Oranı.....	36
4.4.	Büyüme Parametrelerinin Belirlenmesi.....	38
5.	SONUÇ ve ÖNERİLER.....	41
5.1.	Triploid Oranı ve Triploid Verimliliği.....	41
5.2.	Yaşama ve Kanibalizm Oranı.....	42
5.3.	Büyüme Parametrelerinin Belirlenmesi.....	42
	KAYNAKLAR.....	43
	TEŞEKKÜR.....	51
	ÖZGEÇMİŞ.....	52

ÖZET

KAFEİN UYGULAMASI İLE TRİPLOİD KARABALIK

(*Clarias gariepinus*, BURCHELL 1822) ÜRETİMİ

Bu çalışmada kafein uygulamasının triploid karabalık (*C. gariepinus* Burchell,1822) üretimi üzerine etkileri araştırılmıştır. Karabalık (*C. gariepinus*)'ta triploid bireyler elde etmek için döllenmiş yumurtalara, dölleme işleminden 3 dakika sonra 20 dakika süre ile farklı konsantrasyonlarda (5 mM, 10 mM ve 15 mM) kafein kullanılarak kimyasal şoklama yapılmıştır.

İki aylık deneme periyodu sonunda, farklı dozlarda kafein uygulaması ile elde edilen triploid karabalıklarda; triploid oranı, triploid verimliliği, kanibalizm ve yaşama oranları verileri elde edilmiştir.

Araştırma sonucunda, en düşük triploid oranı (%20,40±1,13) ile 5mM'lık kafein uygulaması yapılan grupta; en yüksek triploid oranı ise (%69,10±2,18) ile 15mM'lık kafein uygulaması yapılan grupta gözlenmiştir. Yine muamele grupları arasında en yüksek yaşama oranı (%72,58±0,45) ve en düşük kanibalizm oranı (%14,44±0,49) ile 5mM kafein şoku uygulanan grupta tespit edilmiştir. Sonuçta; gruplar arasındaki en iyi triploid oranını da göz önünde bulundurarak yaşama ve kanibalizm oranı bakımından en iyi grubun 15mM'lık kafein grubu olduğu sonucu ortaya çıkmıştır. Ayrıca kafeinin karabalıklarda triploid üretim için kullanılabileceği sonucu ortaya konmuştur.

2012, 58 sayfa

Anahtar kelimeler: Karabalık, *Clarias gariepinus*, Triploid, Kanibalizm, Kafein

ABSTRACT

TRIPLOID PRODUCTION WITH CAFFEIN APPLICATION IN

AFRICAN CATFISH (*Clarias gariepinus*, BURCHELL 1822)

In this study, it was investigated the effects of triploid production with caffeine application in African catfish (*C. gariepinus*, Burchell 1822). To suppress the second meiotic division, fertilized eggs were exposed to three different concentrations (5- 10 and 15-mM) of caffeine solution for 20 min beginning at 3 min after fertilization.

At the end of the two-month trial periods triploid rate, triploid efficiency, cannibalism and survival rates were obtained by the application of three different concentrations of caffeine.

As a result, the lowest rate of triploid ($20.40 \pm 1.13\%$) in the group with a 5 mM caffeine treatment, the highest rate of triploid ($69.10 \pm 2.18\%$) was observed in the group with 15 mM caffeine treatment. In addition, the highest survival rate among treatment groups was $72.58 \pm 0.45\%$ and the lowest rate of cannibalism was ($44 \pm 0.49\%$) in the group treated with 5 mM caffeine shock. In conclusion, the best triploid rate among groups in terms of survival and cannibalism rate is the result of 15 mm caffeine group. In addition, as a result of caffeine can be used for the production of triploid catfish.

2012, 58 pages

Keywords: African catfish, *Clarias gariepinus*, Triploidy, Cannibalism, Caffeine

ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa
Çizelge 3.1. Denemede kullanılan suyun analizi.....	20
Çizelge 3.2. Denemede kullanılan alabalık yemlerinin besin madde içeriği.....	22
Çizelge 3.3. Deneme planı.....	26
Çizelge 3.4. Deneme süresince ölçülen su kalitesi parametreleri.....	27
Çizelge 4.1. Farklı konsantrasyonlardaki kafein uygulamalarında <i>C. gariepinus</i> yumurtalarına ait döllenme oranı, çıkış oranı ve larval dönem yaşama oranları.....	30
Çizelge 4.2. . Farklı konsantrasyonlarda kafein uygulaması ile elde edilen <i>C.</i> <i>gariepinus</i> larvalarının triploid oranları ve triploid verimliliği.....	32
Çizelge 4.3. Farklı Konsantrasyonlarda şok uygulaması ile elde edilen <i>C.</i> <i>gariepinus</i> yavrularının yaşama ve kanibalizm oranı.....	37
Çizelge 4.4. Farklı konsantrasyonlarda kafein uygulaması ile elde edilen <i>C.</i> <i>gariepinus</i> yavrularının canlı ağırlık kazancı	39

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 2.1. Tetraploid (dişi) ve diploid (erkek) bireyden triploid birey eldesinin gösterimi.....	7
Şekil 2.2 . Balıklarda poliploidi (triploid, tetraploid) oluşumu.....	8
Şekil 2.3. Triploid şok uygulama yöntemleri.....	10
Şekil 3.1. Deneme materyali Karabalık (<i>C. gariepinus</i>)♂.....	20
Şeki 3.2. Denemde kullanılan akvaryum ünitesi.....	21
Şekil 3.3. Akım sitometri.....	22
Şekil 3.4. Sonuçların grafiğe aktarılması.....	23
Şekil 3.5. Yumurta üzerine sperm sıvısının eklenmesi.....	24
Şekil 3.6. Dölleme işlemi.....	24
Şekil 3.7. Deneme grupları.....	25
Şekil 3.8. Örneklerin hazırlanması ve akım tüplerine yerleştirilmesi.....	28
Şekil 4.1. Farklı konsantrasyonlarda kafein uygulaması yapılan <i>C.</i> <i>gariepinus</i> larvalarının triploid oranları.....	32
Şekil 4.2. Kontrol grubu <i>C. gariepinus</i> larvalarının akım sitometri analizi sonuç grafiği.....	33
Şekil 4.3. 5mM kafein uygulaması yapılan <i>C. gariepinus</i> larvalarının akım sitometri analizi sonuç grafiği.....	33
Şekil 4.4. 10mM kafein uygulaması yapılan <i>C. gariepinus</i> larvalarının akım sitometri analizi sonuç grafiği.....	34
Şekil 4.5. 15mM kafein uygulaması yapılan <i>C. gariepinus</i> larvalarının akım sitometri analizi sonuç grafiği.....	34
Şekil 4.6. Farklı konsantrasyonlarda kafein uygulaması yapılan <i>C.</i> <i>gariepinus</i> larvalarının triploid verimliliği	35

1. GİRİŞ

Su ürünleri yetiştiriciliği, gıda üretim sistemleri içerisinde en hızlı büyüyen sektör olup, ülkemizin 2010 yılı su ürünleri toplam üretimi, bir önceki yıla göre %4,83 oranında artış göstererek 653 bin tona ulaşmıştır. Yetiştiricilik yolu ile üretim miktarı 167,141 ton olup, bu miktarın % 47 'si iç sulardan sağlanmaktadır (TUİK, 2011).

Günümüzde, hızla artan dünya nüfusu, çevre kirliliği ve ekolojik sorunlar nedeniyle üretime ilave kaynaklar geliştirilmesi, pazara olan talebin giderek artmasıyla birlikte bunların verimli kullanımının sağlanması önem kazanmıştır. Su ürünleri üretiminin sınırlı seviyede olması ve talebin artması su ürünleri yetiştiriciliğinde verim artışına önemli katkı sağlayan, biyoteknolojik yöntemlerin hızla uygulamaya konmasını ve bu konuyla ilgili bilimsel çalışmaların artmasını zorunlu hale getirmiştir. Bu yönde yapılan biyoteknolojik çalışmalar büyük bir potansiyele sahiptir (Lymbery, 2000).

Son yıllarda genetik alanındaki hızlı ilerlemeler sayesinde, balık kültüründe uygulanan biyoteknolojik yöntemler önemli gelişmeler katedmiş olup bunlardan bir kısmı pratikte bir kısmı da laboratuvar koşullarında yapılabilecek düzeydedir. Biyoteknolojik yöntemlerin su ürünleri sektöründe uygulamaya konmasıyla, yetiştiricilikten elde edilen su ürünleri üretiminin ileriki yıllarda insanlığın besin ihtiyacını karşılamada önemli bir role sahip olacağı tahmin edilmektedir. Su ürünleri yetiştiriciliğinde biyoteknolojinin kullanımı ile canlının büyüme hızının artması, canlının yumurta veriminin artması, hastalık yapıcı enfeksiyonların etkilerinin en aza indirilmesi, larval safhadaki yaşama oranının artması gibi faydalar sağlanmış olur (Lymbery, 2000; Turan, 2000).

Su ürünleri yetiştiriciliğinde uygulanan biyoteknolojik yöntemler;

- a) Tek cinsiyetli popülasyonların üretimi, cinsiyet farklılaşmasının kontrolü
- b) Kromozom manipülasyonları
- c) Transgenik canlı üretimi
- d) Kriyoprezervasyon (Gamet muhafaza) şeklinde sıralanır.

Su ürünlerinde biyoteknolojik çalışmalar arasında kromozomal manipülasyonlar en çok kullanılan uygulamalardan biridir. Balıkların çoğunda dış döllenme meydana geldiğinden kromozom setlerinin manipülasyonu kromozom sayısını kısmen

değiştirmek kolaydır. Kromozom manipölasyon uygulamaları ile ginogenetik, androgenetik, triploid ve tetraploid balıklar üretilebilmektedir (Tave, 1993).

Triploid birey elde etmek amacıyla, kromozom manipölasyonu ve poliploidizasyon yöntemleri, birçok sucul organizmaların deneysel ve ticari üretiminde yaygın olarak uygulanmaktadır (Teskered ve ark., 1993; Maclean ve ark., 1999; Linhart ve ark., 2001). Bu yöntemlerle elde edilen triploid bireylerin genellikle kısır olduğu bilinmektedir. Triploid organizmalarda, gonad gelişimi, ebeveyn bakımı, kur yapma ve diğere üreme faaliyetleri ile ilgili olarak enerji tüketiminin azaldığı ve üretimde yem dönüşümü oranının arttığı da kaydedilmektedir (Foresti ve ark., 1996). Su ürünleri yetiştiriciliğinde işletme giderlerinin büyük bir bölümünü yem giderlerinin oluşturması nedeniyle, triploid bireylerde yem dönüşümü oranının fazla oluşu önemli bir avantaj olarak bildirilmektedir (Linhart ve ark., 2001). Triploid birey üretiminin bir diğere avantajı da, endemik olmayan triploid türlerin doğal popölasyona zarar vermeden üretiminin kolaylıkla yapılabilieceğı şeklindedir (Maclean ve ark., 1999). Endemik olmayan triploid türlerin üretim sistemlerinden doğaya kaçması durumunda kısır olmaları nedeniyle doğal türler üzerinde risklerinin sınırlı olduğu, doğal popölasyonun yapısını bozmayacağı bildirilmektedir (Peruzzi ve Chatain, 2000; Hulata, 2001; Zanuy, 2001).

Karabalık (*C. gariepinus*) Afrika orjinli sıcak su balıklarındandır. Biyolojik açıdan incelendiğinde dünyada kültüre alınacak ideal türler arasında olduğu söylenebilir. Tropikal alanların %70'inde yayılış gösteren karabalık, farklı bölgelerde farklı doğal besinlerle beslenebilen, düşük su kalitesine sahip sularda akış hızının az olduğu sularda yaşayabilen, fazla miktarda yumurta verebilen ve kontrollü koşullarda kolay bir şekilde yumurta alımı ve döllenmenin sağlanabildiğı balıklar arasında yer alır (Hecht ark., 1996).

Karabalık (*C. gariepinus*)'ın sistematikteki yeri;

Şube (phylum): Vertabrata

Alt şube (subphylum): Pisces

Sınıf (class): Osteichthyes

Altsınıf (subclass): Actinopterygii

Üsttakım (super- order): Ostariophysi

Takım (order): Siluriformes

Familya (family): Clariidae

Cins (genus): Clarias

Tür (species): gariepinus

Dünyada Güney ve Orta Afrika'dan Orta Doğu ve Türkiye'ye kadar geniş bir yayılıma sahiptir. Ülkemizde özellikle Akdeniz sahil kuşağının bir bölümünün, ekolojik koşullarının elverişli olması nedeniyle karabalık üretimine uygun olduğu söylenebilir. Karabalık ülkemizin, Antalya'dan Antakya'ya kadar olan sahil kuşağında bulunan tatlı su kaynaklarında ve kuzey kesiminde bulunan Sakarya Nehri'nde doğal olarak bulunmakta ve ülkemizde bu cinsin yaşayan tek türünü temsil etmektedir Hatay yöresinde ise karabalık, Asi Nehri ve Asi Nehri'ne bağlı su kaynaklarında doğal olarak bulunmaktadır (Turan ve ark., 2005; Turan, 2005).

Ülkemizde ticari anlamda karabalık yetiştiriciliği yapılmamaktadır. Karabalık (*C. gariepinus*) dünyada, Afrika kedi balığı olarak tanınmasının yanı sıra, sekiz bıyık, gelin balığı ve kara yayın gibi isimlerle de adlandırılmaktadır. *C. gariepinus* subtropik, bentopelajikte, 8-35 °C aralığında, tatlı sularda yaşayan, bilateral solungaç kemerlerinin dorso-ventralindeki labirent organları ile uzun süre nemli koşullarda su dışında hayatta kalma (Demirsoy, 1993; Sarıhan ve Cengizler, 1997), ayrı eşeyli ve ovipar üreme özelliğine sahip olduğu bildirilmektedir. Ortalama 40-50 cm boy ve 1 kg ağırlığa ulaşabilirler. Bir çifti üst çenede, üç çifti de alt çenede olmak üzere dört çift bıyıkları vardır. Baş büyük, gözler küçük ve dudakları kalındır. Vücut rengi bulunduğu ortama göre değişmekle birlikte genellikle sırtı zeytini kahverengi veya koyu, yanlar gri-

kahverengi, karın bulanık beyaz renklidir (Demirsoy, 1993; Çelikkale,1991; Geldiay ve Balık, 1996; Demirsoy, 1996).

Türkiye de Akdeniz'in güneyinde, özellikle Hatay ili sınırları içindeki Amik Gölü'nün kurutulmasından sonra, açılmış olan sulama kanallarında ve göletlerde genellikle üreme sezonunda karabalığın aşırı ve bilinçsiz avcılığı yapılmaktadır. Bu da karabalık popülasyonuna her geçen gün zarar vermektedir. 2006 yılında 478 ton, 2008 yılında 339 ton, 2009 yılında 310 ton, 2010 yılında ise 341 ton avcılığı yapılmış olan karabalık her geçen yıl yapılan bilinçsiz avcılıktan dolayı avlanma miktarın da önemli düşüşler olduğu görülmektedir (TUIK, 2011). Bu sebepten dolayı ihtiyaç duyulan karabalık miktarı yakın gelecekte avcılık yolu ile sağlanamayabilir. Gerek doğal popülasyonun korunması gerekse karabalığa olan talebi karşılamak ve üretim miktarını artırmak amacıyla zaman kaybedilmeden bu balığın yörede kültüre alınması büyük önem arz etmektedir. Bölgemizde bu türün yetiştiriciliğinin yaygınlaştırılması gerekmektedir. Karabalık dünyada yetiştiricilik sektöründe önemli türler arasında olup, yetiştiricilik açısından hızlı büyüme ve düşük oksijen toleransı gibi önemli avantajları bulunmaktadır (Pillay, 1990; Appelbaum ve Mcgeer, 1998; Appelbaum ve Kamler, 2000). Ancak kontrollü yetiştiricilik faaliyetlerinde larval dönemlerinde görülen kanibalistik davranışından dolayı düşük yaşama oranı gibi sorunla karşılaşmaktadır.

Bu sorunun nedenleri, canlı büyüklüklerinde görülen çeşitlilik, alternatif avın elde edilebilirliği, besin madde içeriği, avın balığın enerji gereksinimini karşılayamaması, popülasyon yoğunluğu, sığınak durumu, su berraklığı, ışık şiddeti, yemleme sıklığı şeklinde sıralanabilir (Hecht ve ark., 1996).

Kanibalizm, Fox (1975)'a göre bazı canlıların gelecekte var olabilme ve çevre koşullarına uyum sağlayabilmek için geliştirdiği bir mekanizmadır. Doğal balık stoklarında kanibalizm düzenleyici bir rol oynarken yüksek yoğunlukta yapılan balık yetiştiriciliğinde sorun yaratabilmektedir. (Aluko ve ark., 2001). Yapılan çalışmalarda kalkan balığı (*Scophthalmus maximus*) (Smith, 1979), Levrek (*Dicentrarchus labrax*), yılan balığı (*Anguilla anguilla*) (Degani ve Levanon, 1983), karabalık (*C. gariepinus*) (Hecht ve Appelbaum, 1988) türlerinde kanibalizm davranışının görüldüğü bildirilmiştir.

Kanibalizmin "intracohort" ve "intercohort" olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Intracohort kanibalizm, aynı tür içinde ve aynı yaş grubundaki bireylerin birbirini

yemesi olarak tanımlanır ve en çok balık larvalarında ve jüvenil kafadanbacaklılarda yaygındır. İntercohort kanibalizim ise kontrollü koşullarda kafadanbacaklılarla yapılan çalışmalarda, daha büyük ve yaşlı bireylerin kendilerinden daha küçük ve genç bireyleri yemesi şeklinde tanımlanan kanibalizm türü olduğu bildirilmiştir (Wootton, 1990).

Karabalıklarda kanibalizm davranışları avcının avını yakalama şekline göre tip 1 (T1) ve tip 2 (T2) olmak üzere ikiye ayrılır. T1 kanibalistik davranışta av ve avcı arasında büyüklük farkı yoktur ve avcı avını kuyruktan yakalar, ısırır ve avını bir süre sonra yutar. T2 kanibalistik davranışta ise av ve avcı arasında büyüklük farkı olup, avcı avını baş kısımdan yakalar ve avının tümünü yutar. Karabalık üzerinde yapılan çalışmalarda her iki kanibalistik davranışın da gözlemlendiği ancak birinci tip davranışın daha yaygın olduğu bildirilmiştir (Appelbaum ve Kamler, 2000). Karami ve ark. (2009), karabalıklarda kanibalistik davranışın 13-15. günlerde (8 mm ortalama boy) başlayıp, aktif olarak yem almaya başladıktan sonraki 47. güne (ort. 80 mm boyda) kadar devam ettiğini bildirmişlerdir. Genel olarak kedibalıklarında kültür koşullarında uygun şartların sağlanmaması durumunda kanibalizm oranının %65'e kadar çıktığı bildirilmiştir (Appelbaum ve Kamler, 2000). Kanibalizm sorununun, karanlık veya loş ışıklı yetiştiricilik ortamının sağlanması, düzenli ve besin içeriği zengin yem ile yemleme yapılması ile maksimum hızda büyümenin sağlanması, yetiştiricilik yapılan alanlara daha fazla korunakların yerleştirilmesi, uygun yoğunlukta stokların yapılması ile azaltılabilir olduğu bildirilmiştir (Mukai, 2011; Turan, 2005b; Appelbaum ve Kamler, 2000). Ancak tüm bu önlemlere rağmen %16 – 20 oranları arasında devam ettiği tespit edilmiştir (Karami, 2009). Triploid uygulaması yapılan bir çok balık türünde triploid bireylerin, diploidlerine oranla daha az agresif davranış gösterdiklerini, sese ve ışık gibi çeşitli çevresel uyarıcılara karşı daha az duyarlı olduklarını tespit etmişlerdir. Hücre başına düşen hemoglobin içeriğinin yüksek olduğunu, türe göre değişim gösterdiğini tespit etmişlerdir (Tiwary ve ark., 2004).

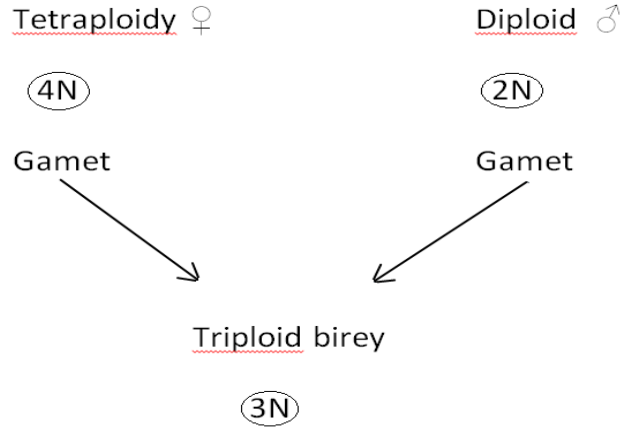
Bu noktadan hareketle karabalık yetiştiriciliğinde yaşanan bu sorunun aşılabilmesi ve üretimin yaygınlaştırılabilmesi amacıyla kimyasal şok uygulaması ile triploid üretimin gerçekleştirilmesi planlanmaktadır. Ayrıca bu çalışma ile daha önce karabalıklar ve diğer balık türleri üzerinde uygulanmamış olan, çevreye zarar vermeyen, güvenli ve ucuz bir kimyasal olan kafeinin farklı dozlarının kullanılabilirliği araştırılacaktır.

Çalışmamız sonunda $3n$ kromozom setine sahip bireylerin elde edilebilmesi ile birlikte triploidzasyonun karabalıklarda büyüme, yaşama oranı ve kanibalizm üzerine olası etkileri ve diploid karabalıklar arasındaki farklılıklar incelenecektir.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

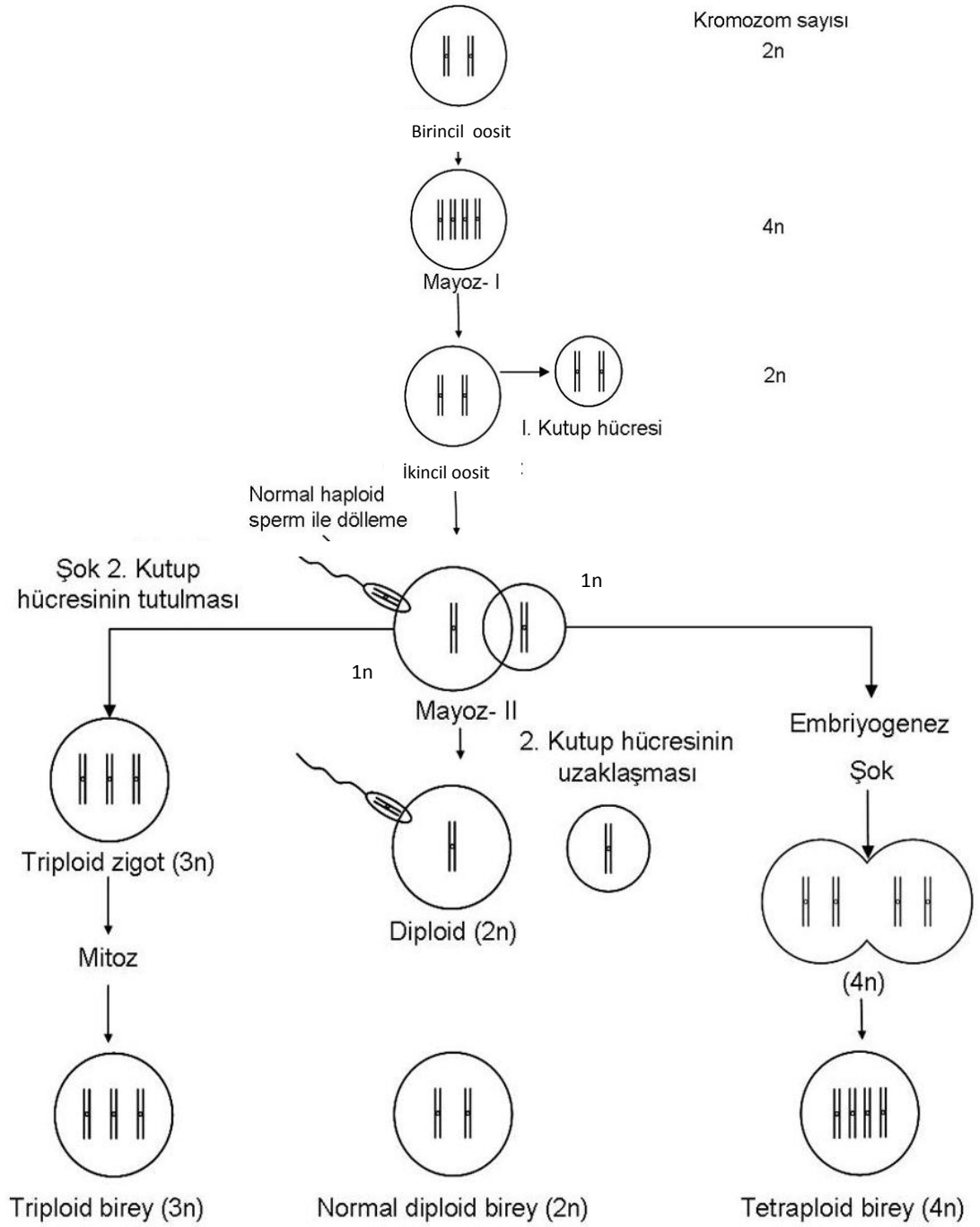
2.1. TRİPLOİDİZASYON

Triploid, balık yetiştiriciliğinde kullanılan yaygın bir kromozomal manipulasyon yöntemi olup canlının bir hücre çekirdeğinde normalde bulunması gereken iki set kromozom yerine üç set kromozom bulundurması halidir ve $3N$ ile gösterilir (Tave, 1993). Triploid balık üretimi döllenmeden kısa bir süre sonra fiziksel ve kimyasal şoklar ile tetraploid ve diploid balıkların çaprazlanması sonucu elde edilir (Şekil 2.1.).



Şekil 2.1. Tetraploid (dişi) ve diploid (erkek) bireyden triploid birey elde edilmesi

Bilindiği gibi balık yumurtaları döllenene kadar ikinci kutup hücresi dışarı bırakmaz. Bu nedenle, eğer yeni döllenmiş yumurta şoklanacak olursa şok ikinci polar cisimciğin yumurtadan ayrılmasını önlemiş olur. Sonuç olarak döllenmiş yumurta 3 haploid nükleus içerir. Bunlardan biri yumurtadan, biri spermden ve diğeri de ikinci polar cisimcikten gelir. Böylece triploid balıkta iki kromozom seti yumurtadan, bir kromozom seti spermden gelir. Bu üç haploid nükleus, triploid zigot oluşturmak üzere kaynaşır ve triploid birey elde edilmiş olur (Şekil 2.2). Poliploid uygulamalarının başarısı, balık türü, su sıcaklığı, şokun başlama zamanı, yoğunluğu ve süresine bağlıdır. Şok uygulaması için uygun zaman türler arasında farklılık göstermekle birlikte; gelişmenin hızı, özellikle triploid için ikinci mayoz bölünmenin zamanı ve tetraploid için birinci mitoz bölünme zamanına bağlıdır (Arai ve Wilkins, 1987; Shepherd ve Bromage, 1988; Purdom, 1993; Tave, 1993).



Şekil 2.2 . Balıklarda poliploidi (triploid, tetraploid) oluşumu (Aydın, 2008).

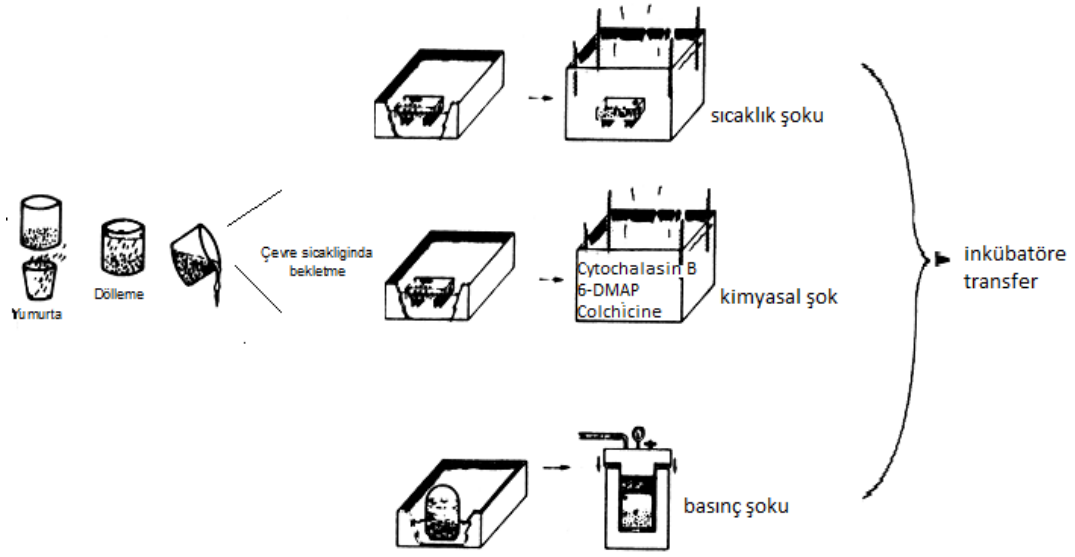
Triplod organizmanın steril oluşu ve doğal popülasyona kaçmasıyla oluşacak genetik etkinin sınırlı oluşundan dolayı çeşitli uluslararası organizasyonlar (NASCO,

FAO, ICES) tarafından yetiştiricilikte ve balıklandırma çalışmalarında kullanılması tavsiye edilmektedir. Ayrıca poliploidi, Avrupa Birliği mevzuatına göre (90/220/CEE 23 Nisan 1990) genetiği değiştirilmiş organizma (GDO) olarak tanımlanmamaktadır. Triploid uygulama, genetiği değiştirilmiş organizmaların (GDO) doğal stoklara bulaşması probleminin çözümü için önerilmekte olup, triploid balıkların doğaya açık ortamlarda yetiştiriciliğinin yapılması ile birlikte, organizmanın %100 steril olarak üretilmesi ve kontrol edilmesi sağlanacaktır (Piferrer ve ark., 2006)

Ekonomik ve ekolojik faydalarından dolayı triploid uygulamaları son yıllarda Cypriniformes'ten Pleuronectiformes'e kadar birçok tatlı su ve deniz balıklarında yaygınlaşmıştır. Triploid büyük ölçekte steril balık üretmek için etkili, ekonomik ve çok pratik yol olarak bilinmektedir. Sterillik, cinsel olgunluğun somatik büyümede, yaşam oranı ve et kalitesinde meydana getirdiği olumsuz etkileri engeller. Yapay triploidnin uygulanmasıyla doğal ve kültür balığında genetik ve ekolojik etkilerin interaksyonu önemli düzeyde azaltılır (Cotter ve ark., 2000).

2.1.1. Triploidizasyon Yöntemleri

Triploid normal gametlerin döllenmesini takiben; basınç şokları, termal (sıcak veya soğuk ısı) şoklar, kimyasal maddelerle yapılan şoklar (6-dimetilaminopurin (6-DMAP), colchicine, cytochalasin B), elektrik şokları, X ışınları ile şoklama gibi metotların kullanılması ile ikinci kutup cisimciğin yumurtadan ayrılmasının durdurulması, diploid (2N) ve tetraploid (4N) balıkların çiftleştirilmesiyle elde edilir (Özden ve ark., 2003; Okumuş, 2008).



Şekil 2.3. Triploid şok uygulama yöntemleri (Turan, 2000'den alınarak yeniden düzenlenmiştir.)

2.1.2. Triploidlerin Belirlenmesi

Triploidlerin tanımlanmasında kullanılan yöntemler indirekt yöntemler ve direkt yöntemler olmak üzere ikiye ayrılır (Purdom, 1993)

İndirekt yöntemler;

- Protein elektroforezi,
- Çekirdekçik sayımı,
- Hücre büyüklüğü
- Çekirdek büyüklüğünün ölçümüdür.

Direkt yöntemler ise;

- DNA içeriğinin belirlenmesi
- Kromozom sayımı şeklinde sıralanabilir (Tiwarı ve ark., 2004).

Bu yöntemler arasında yaygın olarak kullanılan metotlardan biri de direkt yöntemlerden olan DNA içeriğinin akım sitometri cihazı ile belirlenmesidir. Akım sitometri, çeşitli hücrelerin süspansiyon halinde bir kanal boyunca tek tek bir sıra haline gelerek ince bir kanaldan geçmesiyle, hücre büyüklüğü ve granülaritesine bağlı olarak

sınıflandırılması ilkesine dayanan bir cihazdır. Sitometri, hücrelerin veya biyolojik parti-küllerin fiziksel ya da kimyasal karakterlerinin ölçülmesidir. Akım sitometri’de ölçümler, süspansiyon içindeki hücrelerin ölçüm yapacak olan aparattan birer birer geçmesiyle yapılır (Alice, 2004).

Akım sitometrinin çalışma prensipleri 1870’li yıllara kadar dayanmakla birlikte 1969 yılında argon lazerinin kullanılmaya başlanması, 1980 yılında ayırma işleminin bulunması ve son 10 yıldır sürekli olarak geliştirilerek günümüze kadar gelişmiştir (Dunphy, 2004). Akım sitometrinin temel yaklaşımı, hücrelerin boyut, şekil, DNA ve RNA içeriği, sitoplazmik granüleritesi açısından değerlendirilmesidir (Demirel, 1995). Bu amaçla hedeflenen yapı ya da hücre önce flüoresan madde ile işaretli bir antikor veya özel bir boya (nükleik asitlere özel propidium iodide) kullanılarak işaretlenir. Bazı canlılarda ise, klorofil gibi maddelerin kendilerinin flüoresan özelliğe sahip olduğu görülmektedir (Collier, 2000). Akım sitometri cihazı ile analizi hedeflenen yapı ve hücrelerinin sayısı, türü çok kısa sürede, ucuz ve etkin bir şekilde belirlenebilir (Karaboz ve ark., 2008).

2.2.Triploidizasyonun Etkileri

2.2.1. Triploid Uygulamasının Büyümeye Etkisi

Ticari balık üretimi için büyüme oranı, yem değerlendirme oranı balıktaki morfolojik yapılar önemli bir özelliktir. Triploid balık üretimi ile kanal kedibalığı (*Ictalurus punctatus*) Nil tilapyası (*Oreochromis niloticus*), Hint kedibalığı (*Heteropneustes fossilis*), *Oreochromis aureus*, yayın balığı (*Siluris glanis*) çizgili levrek (*Morone saxatilis*)’te kısırlık ve düşük gonadal gelişimleri nedeniyle daha yüksek bir büyüme potansiyeli sağlanmaktadır. Gökkuşluğu alabalığında (*O. mykiss*) triploidlerinin büyüme performansı diploidlerine göre daha düşük, triploid kedibalıklarında ise 14. haftadan sonra daha iyi büyüme olduğu bildirilmiştir. (Tiwary ve ark., 1999). Somatik büyüme, kas dokusuyla ilişkilidir ve triploid bunu etkilemektedir (Maxime, 2008).

2.2.2. Triploid Uygulamasının Yem Dönüşümüne Etkisi

Yem dönüşümü balıkların farklı boylarına, farklı yetiştirme koşullarına ve verilen yemin içeriğine göre değişmekte olup, balıklarda büyüme performansını belirlemede en çok kullanılan değerlerden birisidir (Aquamedia, 2006). Ot sazanı (*Ctenopharyngodon idella*), karabalık (*C. gariepinus*) ve gökkuşağı alabalığı (*O. mykiss*)’nda triploid uygulaması sonucu yemi daha iyi değerlendirdikleri yönelik çalışmalar bulunmaktadır (Wiley ve Wike, 1986; Henken ve ark.,1987; Oliva-Teles ve Kaushik,1990).

Triploid uygulanan balıklarda gonadal gelişimin olmamasından beklendiğinden dolayı balık tarafından alınan yem sadece ete dönüşebilmekte, bu da triploid balıkların hızlı bir şekilde pazar boyuna ulaşabilmesini sağlamaktadır. Ayrıca bazı balık türlerinin dışı triploidlerinde yağ birikimi ve kas pigmentasyonunun dışı diploidlerine göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (Tiwarı ve ark., 1999).

2.2.3. Triploid Uygulamasının Hastalıklara Etkisi

Triploid uygulanan balıklarda *Vibrio*, *Aeromonas*, *Renibacterium*, enfeksiyöz hematopoetik nekrozis hastalığı gibi hastalıklarına olan tolerans diploidleri ile aynıdır. Ancak triploid gökkuşağı alabalığının diploidlerine göre *Flavobacterium branchiophilum* enfeksiyonuna karşı daha savunmasız olduğu bununla birlikte kanser hücrelerinin gelişiminin triploid alabalıklarda daha az görüldüğü bildirilmiştir (Tiwarı ve Ray 2004). Yine yapılan çalışmalarda, kedi balıklarında bazı triploid bireylerde görülen kusurlu ve küçülmüş solungaç yüzeyi yanında omurgada eğrilik ve omur sayısında azalma olduğu kaydedilmiştir (Maxime, 2008).

2.2.4. Triploid Uygulamasının Balık Morfolojisi Üzerine Etkisi

Yapılan çalışmalarda triploid balıklar diploidleri ile karşılaştırıldığında bazı morfolojik farkların olduğu gözlemlenmiştir. Örneğin Asya kedibalığında (*Hemibagrus nemurus*) vücut uzunluğunun vücut derinliğine oranında azalma, Atlantik salmonlarda (*Salmo salar*) alt çene deformitesi, iskelette anormallik, erkek kanal

kedibalıkları (*Ictalurus punctatus*) küçük kafa yapısı, Hint kedibalığında (*Heteropneustes fossilis*) kamburluk olduğu gözlemlenmiştir (Tiwary ve ark., 2005; Peruzzi ve ark., 2010)

2.2.5. Triploid Uygulamasının Balık Davranışları Üzerine Etkisi

Tüm canlılarda olduğu gibi balıklarda da her türlü davranış, hormonların salgılanması, koordinasyonu ve yürütülmesi merkezi sinir sistemi tarafından düzenlenir. Triploid uygulaması yapılmış balıklarda merkezi sinir sistemi üzerinde etkili olan hormonların seviyelerinde düşmeye bağlı olarak triploid balıkların çeşitli çevresel uyarıcılara karşı duyarlılıklarının azaldığı bildirilmektedir. Bu nedenle; triploid uygulaması yapılan ayu balıkları (*Plecoglossus altivelis*) Gökkuşaağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*), kavgacı siyam balığı (*Betta splendens*), Atlantik salmonlar, Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytsch*) gibi saldırgan davranış ve kanibalistik özelliklik gösteren balıklarda bu davranışların en aza indiğı, daha sakin ve uysal davranış sergilediğı kaydedilmiştir (Tiwary ve ark., 2004).

2.2.6. Triploid Uygulaması Yapılan Balık Türleri

Ctenopharyngodon idella (Cassani ve Caton, 1985,1986;), *Tilapia mossambica* (Penman ve ark., 1987; Pandian ve Varadaraj 1990), *Ictalurus punctatus* (Wolters ve ark., 1987; Chrisman ve ark., 1983; Bidwell ve ark., 1985), *Clarias batrachus* (Manickam, 1991), *C. gariepinus* (Henken ve ark., 1987), *Silurus glanis* (Krasznai ve Marian, 1986), *Salmo salar* (Benfey ve Sutterlin, 1984; Johnstone ve ark., 1989), *Oncorhynchus kisutch* (Johnson ve ark., 1986), *Oncorhynchus gorbuscha* (Utter ve ark., 1983), *Salmo trutta* (Arai ve Wilkins, 1987), *Acipenser transmontanus* (Suzuki ve ark., 1985; Chao ve ark., 1986), *Gasterosteus aculeatus* (Swarup, 1959), *Oryzias latipes* (Naruse ve ark., 1985), *Micropterus salmoides* (Garrett ve ark., 1992), *Oncorhynchus mykiss*, *Clarias batrachus*, *Perca flavescens*, *Salvelinus fontinalis*, *D. labrax*, *Puntius gonionotus* ve *S. aurata* gibi balık türlerinde uygulanmıştır (Manickman, 1991; Teskeredzic ve ark, 1993).

Triploid, yassı balıklardan kalkan (*Psetta maxima*) ve pisi balığı (*Pleuronectes platessa*)’nda başarıyla kullanılmaktadır. (Shepherd ve Bromage, 1988).

2.3. Triploid Uygulamalar

Lawson ve Ishola (2010), Karabalık (*C. gariepinus*) ile yaptıkları 8 haftalık triploid çalışmasında balıklara döllenmeden 4 dk sonra 5 °C’de 40 dk boyunca soğuk şok uygulamıştır. Uygulama yapılmış yumurtaların larval dönemlerinde %4’ünde büyük gövde görülmüş ve bu larvaların öldüğü gözlenmiştir. Çalışma sonucunda soğuk şok uygulanan balıklarda yaşama oranı %62,3, kontrol grubunda ise %93,5 olduğu, soğuk şok uygulanan gruptaki larvalar da 0,20 g, kontrol grubunda ise 0,16 g ağırlık artışı olduğunu bildirmişlerdir.

Okumura ve ark., (2007) Abalon (*Haliotis discus hannai*) üzerinde yapmış oldukları kafein uygulaması ile triploid üretim çalışmasında kontrol grubu dahil üç farklı muamele grubu oluşturmuştur. Abalon yumurtalarına döllenmeden 12 dk sonra 24 dk boyunca 0 - 10 mM - 15 mM oranında kafein ile kimyasal şok uygulaması yapılmış ve deneme sonunda triploid oranı %91 ile %100 arası bulunmuştur. Çalışmada en iyi yaşama oranının ise %31,7 ile 10 mM’lık kafein şoku uygulanan grupta olduğunu bildirmişlerdir.

Karami ve ark., (2009) Karabalık (*C. gariepinus*) ile yaptıkları triploid çalışmasında yumurtalara döllenmeden 3 dk sonra 5 °C’ sıcaklıkta 40 dk soğuk şok uygulamıştır. Sonuç olarak soğuk şok uygulaması yapılan gruptaki yavru çıkış oranı %42 kontrol grubunda ise %76 oranında sağlanmıştır. Triploid balıkların boyları, diploid balıklardan %11 oranında daha kısa, ağırlıklarının ise %18 oranında daha az, triploidlerin eritrositleri diploidlerin eritrositlerinden %25 daha fazla yoğunluğa sahip %38 oranında daha geniş olduğu bildirilmiştir. Ayrıca triploid balıklarda kanibalizm oranının (%17,52 ± 1,5) diploid balıkların kanibalizm oranı (%14,95 ± 2,1) ile arasında önemli bir fark olmadığını tespit etmişlerdir.

Hammed ve ark., (2010) Karabalık (*C. gariepinus*) yumurtalarının döllenmesinden 3 dk sonra yumurtalara 0 °C’de 4 farklı sürede (0, 15, 25, 30 dk) soğuk şok uygulamışlardır. Uygulama sonunda en iyi triploid oranının 15 ve 20 dk boyunca

soğuk şok uygulanan grupta yumurtadan çıkış oranı %15, 30 dk'lık soğuk şok uygulamasında yumurta çıkış oranının %30 olduğunu tespit etmişlerdir. Uygulama gruplarından en iyi sonucun ise %55 yumurta çıkışı, %43,5 yaşama oranı ve %55 - %75 arası triploid oranı ile 25 dk'lık soğuk şok uygulamasıyla sağlandığını bildirmişlerdir.

Tiwary ve ark., (1997) Hint kedibalığı (*Heteropneustes fossilis*) yumurtalarının döllenmesinden sonra 4 °C'de 10 dk, 20 dk, 30 dk, 40 dk olmak üzere 4 farklı sürede soğuk şok uygulaması yapılmış ve sonuç olarak 10 ve 20 dk soğuk şok uygulanan yumurtaların triploid oranları arasında pek bir fark olmadığı ve diğer gruplara göre daha az olduğu, 30 dk ve 40 dk süre ile soğuk şok uygulanan yumurtalarda diğer gruplara göre daha yüksek triploid sağlandığı ancak en iyi oranın % 94,13 ile 30 dk soğuk şok uygulanan grupta olduğu bildirilmiş, ancak yumurtadan çıkış oranının triploid oranıyla ters orantılı olarak yükseldiği görülmüştür.

Manickam (1991) Asya kedibalıkları (*Clarias batrachus*) yumurtalarının döllenmesinden sonra yumurtalara 5 °C'de 1 saat boyunca soğuk şok uygulamıştır. Uygulamada %100 triploid yavru elde etmiş ancak 1 saat ve daha fazla soğuk şok uygulamasında yavruların ölüm oranlarının %100 olduğu bildirilmiştir.

Linhart ve ark., (2001) yayın balığı (*Silurus glanis*) triploid üretiminde soğuk şok, sıcak şok ve basınç şoku uygulamışlardır. Sıcak şok uygulaması gamet aktivasyonundan 9 dk sonra 41 °C'de 45 sn boyunca uygulanmış, %88 oranında başarı sağlanmış ve triploid verimi %38 olduğu bildirilmiştir. Soğuk şok uygulaması ise gamet aktivasyonundan 9 dk sonra 6 °C'de 20 dk boyunca uygulanmış, %100 oranında başarı sağlanmış ve triploid veriminin %33,4 olduğu görülmüştür. Basınç şoku ise gamet aktivasyonundan 3 dk sonra 600 kg-cm² 4 dk boyunca uygulanmış ve % 97,8 triploid elde edilmiş, triploid veriminin ise %33,7 olduğu görülmüştür. Böylece, sıcak-soğuk ve hidrostatik basınç şokuyla triploidlerin yüksek oranda gelişimi için yayın balıklarında triploid indüksiyonları uygulamada uygun hale getirilmiştir. Bir yaşındaki diploid ve triploidlerin büyüme performansları değerlendirilmiş, farklı metotlarla kromozom sayısı seviyesi saptanmıştır.

Da Silva ve ark., (2007) yapmış oldukları triploid karabalık (*C. gariepinus*)'ta soğuk şok uygulamışlardır. Uygulamayı döllenmeden 3 dk sonra 4 °C'de 20 dk, 30 dk, 40 dk ve 7 °C'de 20 dk, 30 dk, 40 dk olmak üzere 3'erli grupta denemişlerdir. Döllenmeden sonra 4°C'de yapılan 20 dk'lık soğuk şok uygulamasında triploid %97,2

yaşam oranı %65, 30 dk'lık soğuk şok uygulamasında triploid %42 yaşam oranı %7,8, ve 40 dk'lık uygulamada ise triploid ve yaşama oranının %0 olduğu görülmüştür. Döllenmeden sonra 7 °C'de yapılan 20 dk'lık soğuk şok uygulamasında triploid %92 yaşama oranı %52,6, 30 dk'lık soğuk şok uygulamasında triploid %0 ve yaşama oranı %1,2, 40 dk'lık uygulamada triploid %0 ve yaşam oranı %0 olarak görülmüştür. Yapılan bu denemeler sonucu 4 °C'de 20 dk'lık soğuk şok uygulamasının en iyi triploid birey çıkış ve yaşam oranını verdiği görülmüştür.

Henken ve ark., (1987) karabalık (*C. gariepinus*) ile akvaryumda bir kontrol ve bir şok uygulaması ile birlikte iki deneme grubu oluşturmuşlardır. Denemede balık yumurtalarının döllenmesinden 3 dk sonra 5 °C'de 40 dk boyunca soğuk şok uygulamışlardır. Deneme sonunda %95 oranında triploid birey elde etmişlerdir. Daha sonra triploid ve diploid bireylerin beslenme düzeyi hesaplanmaksızın vücut kompozisyonları ve ağırlıkları karşılaştırıldığında triploid bireylerin diploidlerine göre daha fazla olduğunu tespit etmişlerdir.

Gheyas ve ark., (1998) Hint kedibalgı (*Heteropneustes fossilis*) yumurtalarının döllenmesinden 3 dk sonra soğuk şoku 2 °C ve 4 °C'de ayrı ayrı 5, 10, 15, 20, 25, 30 ve 35 dk'lık farklı sürelerde uygulamışlardır. Uygulama sonunda en iyi sonucun %57,32'lik yaşama oranı, %95,14 triploid oranı ile 2 °C'de 10 dk boyunca soğuk şoka maruz kalan grupta olduğu bildirilmiştir.

Zhang ve ark., (1998) Pasifik istiridyelerine (*Crassostrea gigas*) kimyasal şoku (kafein; 10, 15, 20mM/L) ve sıcak şokunu (32, 34, 38 °C) birlikte uygulayarak triploid denemesi yapmışlardır. Deneme sonunda en iyi triploid veriminin %41,5 ile 20 mmol/L kafein şoku ile birlikte uygulanan 10 dk'lık 34 °C sıcak şok uygulanan grupta olduğunu tespit etmişlerdir.

Ruihai ve ark., (2001) pasifik istiridyesi (*C. gigas*) üzerinde kimyasal şok (kafein; 2 g/L) ve sıcak şokunu (33 °C) birlikte uygulayarak yaptıkları triploid çalışmasında kafein şokunun D biçimli larva çıkış oranını azalttığı, triploid birey oranını artırdığını, sıcak şoku ile triploid oranının azaldığını tespit etmişlerdir. Çalışma sonunda ise %80 triploid birey elde edildiği ve %45 oranında D biçimli larva çıkışı olduğunu bildirmişlerdir.

Olufeagba ve ark., (1999) *Heterobranchus longifilis* üzerinde denemiş oldukları soğuk şok ile triploid üretim çalışmalarında balık yumurtalarına döllendikten 5 °C'de 4

dk boyunca soğuk şok uygulamışlardır. Bir kontrol grubu ve bir uygulama grubu olmak üzere iki gruptan oluşan denemenin sonunda uygulama grubunda kromozom sayım yöntemi ile triploid oranının %100, diploid ve triploid bireylerin yaşama oranlarının ise sırasıyla ; %91,6 ve %66,1 olduğunu tespit etmişlerdir. Ayrıca triploid bireylerin diploid bireylere göre daha iyi büyüme gösterdiğini bildirmişlerdir.

Huergo ve Zaniboni - Filho (2003) kasım (T1) ve aralık (T2) aylarında Güney Amerika kedibalgı (*Rhamdia quelen*) üzerinde basınç şoku ile triploid birey üretim çalışması için her bir ay için 7 farklı grup oluşturmuşlardır (T1) ve (T2)'de yapılan uygulamada balık yumurtalarına (1) döllendikten 5 dk sonra 5 dk boyunca $2,7579760 \times 10^7 \text{ Pa}^1$, (2) döllendikten 5 dk sonra 2 dk boyunca $3,4473950 \times 10^7 \text{ Pa}^1$, (3) döllendikten 2 dk sonra 5 dk boyunca $3,4473950 \times 10^7 \text{ Pa}^1$, (4) döllendikten 5 dk sonra 5 dk süre ile $3,4473950 \times 10^7 \text{ Pa}^1$, (5) döllendikten 8 dk sonra 5 dk süre ile $3,4473950 \times 10^7 \text{ Pa}^1$, (6) döllendikten 5 dk sonra 8 dk süre ile $3,4473950 \times 10^7 \text{ Pa}^1$ ve son olarak (7) döllendikten 5 dk sonra 5 dk süre ile $4,1368740 \times 10^7 \text{ Pa}^1$ basınç uygulaması yapmışlardır. Deneme gruplarının (T1 ve T2) sonuçları karşılaştırıldığında en yüksek triploid oranı (T1)'de yapılan 3. ve 4. grupta %100 olduğu , en yüksek çıkış oranının (T1)'de yapılan 2. grupta %44,3 , yaşama oranının ise yine (T1)'de 4. ve 5. grupta %100 olduğunu bildirmişlerdir.

Gima, (2009) Yassibaş kedibalgı (*Pylodictis olivaris*) üzerinde basınç uygulaması ile yapmış oldukları triploid çalışmasında triploid birey, büyüme ve yaşama oranlarını incelemişlerdir. Denemede yaklaşık 100 g döllenmiş yumurtaya 5 dk sonra 5 dk süre ile ayrı ayrı ve sırayla 0; 5,500; 6,000; 6,500; 7,000; 7,500 psi. basınç uygulaması yapmışlardır. Deneme sonunda en yüksek triploid oranının 6,500; 7,000 ve 7,500 psi. basınç uygulaması ile %100 olduğunu, en iyi çıkış sağlanan grubun ise %16,7 oranı ile 6,500 psi basınç grubunda olduğunu bildirmişlerdir.

Garner ve ark., (2008) Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*)' unda triploid uygulamasıyla birlikte yavru chinook salmonların diploid ve triploidleri arasında saldırgan ve yeme davranışları, büyüme oranları, kortizol seviyelerini incelemişlerdir. Triploid balık üretimi için salmon yumurtalarına döllenmeden 30 dk sonra 5 dk boyunca $6,89 \times 10^4 \text{ kPa}$ basınç şoku uygulaması yapmışlardır. Yapmış oldukları basınç şoku uygulamasında %83 oranında triploid birey elde etmişlerdir. Yapılan grup karşılaştırmalarında triploid ve diploid bireyler arasında büyüme

oranlarında ve plazmadaki kortizol düzeylerinde farkın olmadığı, ancak triploid chinook salmonların beslenme sırasında diploidlerine göre daha az agresif davranış gösterdiğini tespit etmişlerdir.

Haniffa ve ark., (2004) Hint kedibalgı (*Heteropneustes fossilis*) yumurtalarına döllendikten 2,5 dk sonra 4 dk boyunca 40 °C’de sıcaklık şoku uygulaması ile 82 ± 7 oranında triploid birey ve yine balık yumurtalarının bir kısmına döllendikten 30 dk sonra 4 dk boyunca 40 °C’de sıcaklık şoku uygulaması ile 40 ± 8 oranında tetraploid birey elde etmişlerdir. Deneme sonunda diploid ve triploid balıkların kırmızı kan hücrelerinin çekirdek hacimleri karşılaştırıldığında büyüklüğün 1,4 katı olduğunu tespit etmişlerdir.

Fukushima ve ark., (2012) Güney Amerika kedibalgı (*Rhamdia quelen*) üzerinde yapmış oldukları triploid uygulamasında diploid ile triploid balıklar arasında hematolojik farklılıkları incelemişlerdir. Güney Amerika kedibalgılarına döllenmeden 4 dk sonra 5 dk boyunca 5000 psi basınç şoku uygulamışlardır. Yapmış oldukları basınç şoku uygulamasında %100 oranında triploid birey elde etmişlerdir. Diploid ve elde ettikleri triploid balıkların kırmızı kan hücrelerinin morfolojik analizi yapıldığında; sonuç olarak triploid balık hücreleri ve hücre çekirdeğinin uzunluğu, genişliği ve hacimlerinin diploid balık hücrelerinden daha büyük olduğunu bildirmişlerdir.

Turan ve ark., (2012) Gökkuşaağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) üzerinde yapmış oldukları kafein uygulaması ile triploid üretim çalışmasında kontrol grubu dahil olmak üzere dört farklı muamele grubu oluşturmuşlardır. Gökkuşaağı alabalığı yumurtalarına döllenmeden 15 dk sonra, 10 dk boyunca 0 - 5 - 10 ve 15 mM oranında kafein ile kimyasal şok uygulaması yapmışlardır. Deneme sonunda yaşama oranları incelendiğinde; 5 mM’lık kafein uygulaması ile %77,54, 10 mM’lık kafein uygulaması ile %82,51, 15 mM’lık kafein grubunda %82,31, kontrol grubunda ise %83,24 olduğu görülmüştür. En iyi triploid oranının 15 mM’lık kafein uygulaması ile %45,40 olduğunu bildirmişlerdir.

Turan ve ark., (2012) Gökkuşaağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) üzerinde yapmış oldukları sıcaklık ve kafein şoku kombinasyonu ile triploid üretim çalışmasında kontrol grubu dahil olmak üzere iki farklı muamele grubu oluşturmuşlardır. Uygulama yumurtalar döllendikten 15 dk sonra 10 dk boyunca 28 °C sıcaklık şokuyla beraber 15

mM kafein şokuna tabi tutularak yapılmıştır. Deneme sonunda muamale grubu yaşama oranının %52,15, ve triploid oranının % 59,21 olduğunu bildirmişlerdir.

Lilyestrom ve ark., (1999) dişi kanal kedibalığı (*Ictalurus punctatus*) x erkek mavi kedibalığı (*Ictalurus furcatus*) (3n), kanal kedibalığı x beyaz kedibalığı (*I. catus*) (3n) hibridleri üzerinde triploid çalışması yapmışlardır. Çalışmada O₂ toleransı, yaşama oranı, morfolojik yapılar incelenmiştir. İlk hibrid grubu yumurtalarına döllenmeden 10 dk sonra 30, 45, 60 dk boyunca 5 °C’de soğuk şok, ikinci hibrid grubuna yumurtaların döllenmesinden 5 dk sonra 5 dk boyunca 4,83 x 10⁴ ve 5,52 x 10⁴ Pa basınç şoku uygulayarak triploid birey elde etmişleridir. Sonuç olarak gruplar karşılaştırıldığında diploidlerde düşük O₂ toleransı triploidlere göre daha yüksek, kafa ağırlıkları aynı, yaşama oranları açısından incelendiğinde triploidler ile diploidler arasında benzer sonuçların ortaya çıktığını bildirmişleridir.

Na-Nakorn ve Lakhaanantakun, (1993) Büyükbaş kedibalığı (*Clarias macrocephalus*) üzerinde yapmış oldukları triploid çalışmasında balık yumurtalarına döllendikten hemen sonra 7 °C’de 25 dk boyunca soğuk şok uygulamışlardır. Beş aylık sonunda triploid bireylerin yaşama oranı %34,7, kontrol grubunun yaşama oranının %62,1 olduğunu tespit etmişlerdir. Çalışma sonunda vücut ağırlıkları ve yem dönüşüm oranları incelendiğinde diploid bireylerin vücut ağırlığı (60,9 g) ve YDO (3,40) değerlerinin triploid bireylerin vücut ağırlığı (30,6g) ve YDO (5,2) değerlerinden daha iyi olduğu, onbir aylık deneme sonunda karkas ağırlıkları, hastalık etkeni (*Aeromonas hydrophila*) bulaştırılması sonucu ölüm oranları arasında önemli bir farkın olmadığını bildirmişleridir.

3. MATERİYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Balık Materyali

Tezde, Hatay ili Asi Nehri'nden temin edilen, damızlık karabalıklar, (*C. gariepinus*, BURCHELL, 1822) kullanılmıştır.

Damızlık balıklar Mustafa Kemal Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Tatlı Su Balıkları Araştırma Ünitesi'ne getirilip yumurta sağım ve dölleme işlemleri yapılmıştır.



Şekil 3.1. Deneme materyali karabalık (*C. gariepinus*).

3.1.2 Su Materyali

Çalışmada kullanılan su artezyen suyu olup, kullanılmadan önce içerisinde bulunması muhtemel olan zararlı gazları uçurmak amacıyla 48 saat süreyle dinlendirilmiştir. Deneme süresince su sıcaklığı termostatlı ısıtıcılar kullanılarak 25 ± 1 °C'de sabit tutulmuş, pH ise 8,2 - 8,5 arasında değişim göstermiştir. Denemede kullanılan suyun kimyasal analizi yapılmış ve analiz sonuçları Çizelge 3.1'de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Denemede kullanılan suyun analizi

Ölçülen Parametreler(*)	Miktar
Sertlik	54,4 (Fransız sertliği)
O ₂ - ortalama	5.2 ppm
pH- ortalama	8.2
NO ₃ ⁻	3 mg/L
NO ₂ ⁻	0,09 mg/L
Sıcaklık (ortalama)	26,8 °C

3.1.3. Akvaryum Materyali

Araştırmada, (80x40x40) cm ebatlarında 12 adet cam akvaryum kullanılmıştır. Havalandırma maksadıyla hava taşları, su sıcaklığını sabit tutmak için termostatlı ısıtıcılar ve sıcaklık ölçümlerini yapabilmek içinde dijital termometreler yerleştirilmiştir.



şekil 3.2. Denemede kullanılan akvaryum nitesi

3.1.4 Tank Materyali

Çalışmada, (200x50x40) cm ebatlarındaki 300 litrelik tanklar kullanılmıştır. Her bir tanka havalandırma maksadıyla hava taşları, su sıcaklığını belirli bir düzeyde tutmak için termostatlı ısıtıcılar ve sıcaklık ölçümlerini yapabilmek içinde dijital termometreler yerleştirilmiştir.

3.1.5. Yem Materyali

Çalışmada yem materyali olarak yaklaşık 2 gün içerisinde besin keselerini çekmiş karabalık larvaları için ilk 10 günlük dönemde tubifex daha sonraki dönemlerde ise, alabalık başlangıç yemi (400-600 m) (Akuamaks, Türkiye) kullanılmış olup yemin besin madde içeriği izelge 3.2’de gösterilmiştir.

Çizelge 3.2. Denemede kullanılan alabalık yemlerinin besin madde içeriği (Akuamaks)

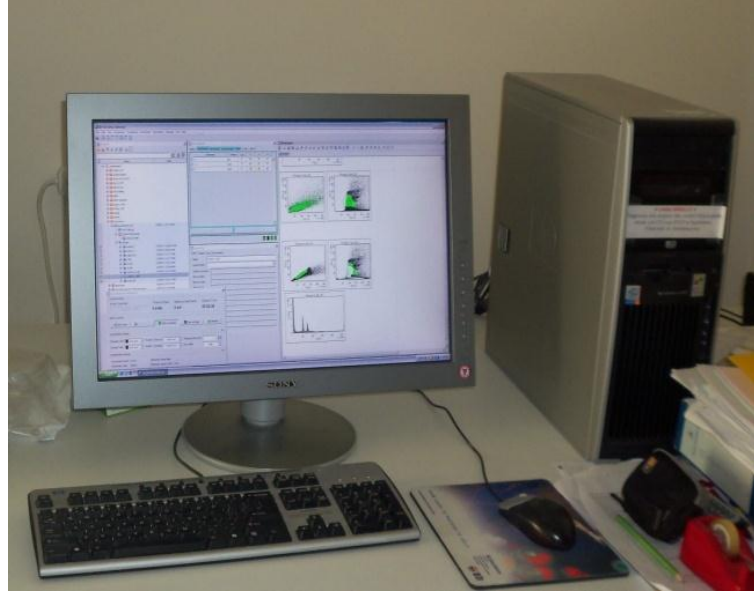
Besin Madde İçerikleri	Toz yem (%)
Nem	7
Protein	56
Ham yağ	15
Ham kül	12
Selüloz	1
Fosfor	1.7
Vitamin A	12.500 IU/kg
Vitamin D ₃	2.500 IU/kg
Vitamin E	150 mg/kg
Vitamin C	1.000 mg/kg

3.1.6. Akım Sitometri

Muamele gruplarına ait triploid oranlarını belirlemek için akım sitometri cihazı [BD FACS Canto Flow Cytometer (Beckton Dickinson Immunocytometry Systems San Jose, CA, USA)] kullanılmıştır (Şekil 3.3; Şekil 3.4).



Şekil 3.3. Akım sitometri



Şekil 3.4. Sonuçların grafiğe aktarılması

3.2. Yöntem

3.2.1. Sağım ve Dölleme İşlemleri

Mayıs ayının ortalarında su sıcaklığının yükselmesi ile birlikte doğada üreme dönemine giren damızlık karabalıklar yakalanarak suni dölleme yoluyla larvalar elde edilmiştir. Döl alma işlemi Tekelioğlu (1980)'nin bildirdiği yöntemle yapılmıştır. Sağımda sırasında bir dişi (820 ± 34 g) ve en az iki erkek karabalık (946 ± 24 g) kullanılmış olup, bireyler Asi nehrinden temin edilmiştir. Damızlık karabalıklar, nemli (doğrudan su içerisinde olmaksızın) koşullarda avlanmayı takiben bir saat içerisinde laboratuvara ulaştırılmışlardır. Aseptik koşullar içinde, damızlık karabalıklar; önce erkek ve sonra dişi olmak üzere sırayla 5 mg/L quinaldin uygulamasıyla anesteziye alınmışlardır (İkizdoğan, 2006). Anesteziye giren erkek karabalıklardan mümkün olduğunca hızlı hareket edilmek koşuluyla, kurutma kâğıdı ile kurulandıktan sonra, posteriyörden anteriye, perikart boşluğuna kadar ventral insizyon sonrası, testisleri çıkartılmıştır. Testisler steril petri kaplarına alınmış, kapakları kapatılarak muhafaza edilmiştir. Her insizyondan sonra, Son işlem olarak, sakinleştirilen dişi yavaş hareketlerle kurulanmış ve anteriye'den posteriyöre doğru uygulanan baskı ile ovaryumlardaki olgun yumurtaların kaba olabildiğince yakın bir mesafeden sağımı gerçekleştirilmiştir. Sağım sonrası yumurtaların üzerine testislerden hızlı bir şekilde

bisturi ile kesitler yapılarak sperm sıvısı akıtılmış ve bir telek yardımıyla dairesel hareketlerle karıştırılmıştır. Daha sonra karışımın üzerine %9'luk (NaCl) dölleme eriyiği dökülerek 3 dk daha karıştırma işlemine devam edilmiştir. Dölleme eriyiği ile yumurtaların yapışkanlığı giderilip spermilerin yumurtalara daha iyi nüfuz etmesi sağlanmıştır.



Şekil 3.5. Yumurta üzerine sperm sıvısının eklenmesi

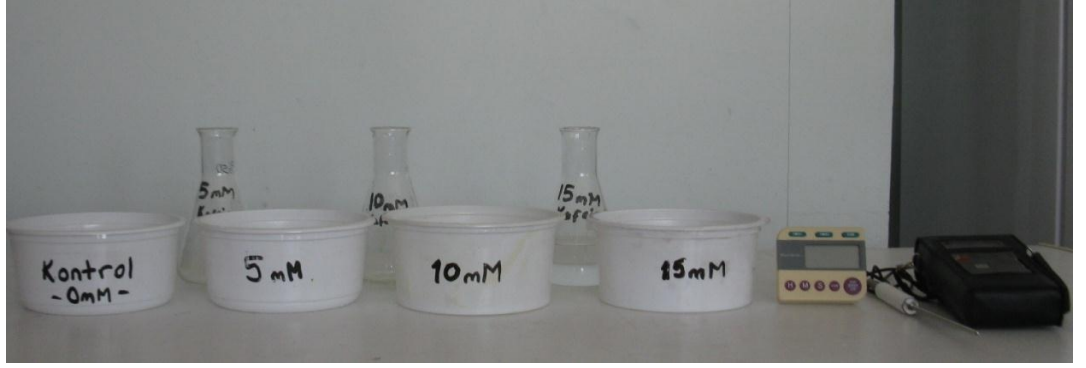


Şekil 3.6. Dölleme işlemi

3.2.2. Triploidzasyon

Karabalık (*C. gariepinus*)’ta triploid bireyler elde etmek için karabalığın dölllenmiş yumurtalarına kimyasal şok uygulaması yapılmıştır. Kimyasal şok uygulaması dölleme işleminden 3 dk sonra farklı konsantrasyonlarda (5 mM, 10 mM ve 15 mM) kafein kullanılarak yapılmıştır (Okumura ve ark., 2007). Döllendikten sonra teflon tavalarda tutulan yaklaşık 12 g yumurta dört kısma ayrılmıştır. Her bir uygulama için kullanılacak yaklaşık 3 g yumurta yıkanmış ve solüsyonların bulunduğu 25 ± 1 °C’de plastik kaplara dökülmüştür.

Döllenme anından itibaren şok sürelerinin takibi yapılmış, şok başladıktan 20 dk sonra yumurtalar normal inkübasyon suyuna bırakılmıştır.



Şekil 3.7. Deneme grupları

Kontrol grubu yumurtaları ise döllenme işleminden hemen sonra 25 ± 1 °C’de kuluçkalandırılmıştır. Şok uygulanmış yumurtalar kuluçkalara yerleştirilip su sıcaklığı dijital termometre ile takip edilmiş ve su sıcaklığı 25 °C’ye ayarlanarak yaklaşık olarak 36 saat içerisinde çıkış sağlanmıştır.

3.2.3. Deneme Planı

Deneme de; biri kontrol, üçü kimyasal şok olmak üzere toplam 4 deneme grubundan, üç tekerrürlü 12 alt grup oluşturulmuştur (Çizelge 3.3).

Çizelge 3.3. Deneme planı

Gruplar	Tekerrür sayısı	Toplam yumurta sayısı	Şok Cinsi	Şok Düzeyi (mM)	Döllenmeden sonra şoklama zamanı (dk)	Şok Süresi (dk)
Kontrol grubu	I II III	750	—	—	—	—
Kf ₁	I II III	750	Kimyasal	5	3	20
Kf ₂	I II III	750	Kimyasal	10	3	20
Kf ₃	I II III	750	Kimyasal	15	3	20

3.2.4. Larval Besleme

Yumurtadan çıkan larvalar 2 gün içerisinde besin keselerini çekmiş ve dıştan yemlenmeye başlamıştır. Larvalara ilk 10 gün canlı olarak temin edilen tubifeksler araştırma ünitemizde bir iki gün süre ile temiz suda bekletilmiş ve iyice temizlendikten sonra 1 – 2 dk süre ile formalinde tutularak dezenfekte edilerek larvaların alabileceği büyüklüğe getirmek amacı ile robottan geçirilip iyice küçük parçalar halinde kıyılarak verilmiştir (Hung ve ark., 1999). Daha sonra 400-600 µm büyüklüğündeki alabalık başlangıç yemine geçilmiştir. Balığın büyümesine bağlı olarak da yemin partikül büyüklüğü artırılmıştır. Balıklara verilecek günlük yem miktarı, tubifeks için her bir grubun toplam canlı ağırlığının (Yaş ağırlık esasına göre) %160'ı, kuru yem için ise ilk bir aya kadar canlı ağırlıklarının %20'si olacak şekilde günde dört öğün yemleme yapılmıştır (Hung ve ark., 1999). Son ay ise toplam canlı ağırlıklarının % 6'sı olarak belirlenip günde üç öğün yemleme yapılmıştır (Al-Hafedh ve Ali, 2004). Tüm balıkların yem alabilmesi için tankın her noktasından yemleme yapılmıştır. Deneme, karabalıklarda gözlenen kanibalistik davranışın, aktif olarak yem almaya başladıkları

dönemden 47 gün sonra sona erdiği göz önünde bulundurularak deneme süresi 2 ay olarak planlanmıştır (Ort. 80 mm boyda) .

3.2.5. Balıkların Tartılması

Denemede, balıklar ayda bir anestezik madde (3-5 mg L⁻¹ Quinaldin) ile uyuşturularak tartımları yapılmıştır (Yıldırım ve ark., 2010). Balıkların ağırlıkları 0,1 g'a hassas elektrikli dijital terazi ile belirlenmiştir.

3.2.6. Su Kalitesi Parametrelerinin Belirlenmesi

Akvaryumlardaki su sıcaklığı 25±1 °C olacak şekilde termostatlı ısıtıcılarla sağlanmıştır. Su sıcaklığı her gün 09.00 ve 16.00 saatlerinde ölçülmüş ve ortalamaları hesaplanmıştır (Çizelge 3.4). pH ölçümleri, pH metre cihazı ile oksijen ölçümleri ise (YSI 5750) oksijen metre cihazı ile haftada bir yapılmış ve ölçümler alınmıştır. Deneme süresince elde edilen su kalitesi parametrelerinden sıcaklık, çözünmüş oksijen ve pH değerleri Çizelge 3.4'de verilmiştir.

Çizelge 3.4. Deneme süresince ölçülen su kalitesi parametreleri ($\bar{x}$ ±standart hata).

	Dozlar (mM)	Ortalama Sıcaklık (°C)	Ortalama Çözünmüş Oksijen mg/L	Ortalama pH
Kafein	0	27,7	5,20±0,25	8,1±0,25
	5	26,6	5,56±0,23	8,06±0,07
	10	28,5	5,76±0,17	7,94±0,24
	15	27,1	5,46±0,28	8,25±0,05

3.2.7. Triploid Oranı ve Triploid Verimliliğinin Belirlenmesi

Triploid oranı, kafein uygulamalarını takiben yumurtadan çıkış yapmış 2-3 günlük karabalık larvalarında akım sitometri yöntemi kullanılarak belirlenmiştir

(Çakmak 2011). Yem almaya başlamış yavruların yaşama oranı ile triploid yüzde oranı kullanılarak triploid verimliliği hesaplanmıştır (Purdom 1993).

Her bir muamele grubundan 20' şer adet larva alınarak %70'lik etanol içerisinde örneklenmiş ve numuneler analizler yapılncaya kadar -80 °C'de muhafaza edilmiştir (Nomura ve ark., 2004; Lawson ve Ishola 2010). Hazırlanmış olan örnekler kurubuz içerisinde İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü, Biyoteknoloji ve Biyomühendislik Araştırma Merkezi'ne götürülerek akım sitometri cihazı ile DNA analizleri yapılmıştır. Akım sitometri cihazında diploid standart ve örneklerin analizinden önce, kalite kontrol parçacıkları (DNA QC Particles Cat No: 349623) ile cihazın doğruluğu ve kalibrasyonu yapılmıştır. Diploid popülasyon 1 birim, tetraploid popülasyon 2 birim kanalında olacak şekilde kalibrasyon gerçekleştirilmiştir. 1,5 birim kanalına düşen triploid popülasyonu oranları FacsDiva programı kullanılarak hesaplanmıştır.

Floresan boyanın (propidium iodide: PI) ışması mavi C kanalından lineer skalada toplanarak gerçekleştirilmiştir. Verilen oranlarda çift geçen hücre popülasyonunun elemine edilmesi için pik alanına karşı pik genişliği grafiği kullanılarak ve tek geçen hücreler seçilerek değerlendirme yapılmıştır. Tüm veriler Becton Dickinson Facs Canto A cihazı ile toplanmış, analizler Facs Diva versiyon 5.0.3 kullanılarak gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3.8. Örneklerin hazırlanması ve akım sitometri tüplerine yerleştirilmesi

3.2.8.Yaşama ve Kanibalizm Oranı

Yaşama oranı; deneme sonunda akvaryumlarda kalan canlı balık sayısının deneme başındaki canlı balık sayısına oranlanmasıyla hesaplanmıştır (Watanabe ve ark., 1990b).

Kanibalizm oranı ise her gün balık sayımları yapılarak ölümler kaydedilip ölüm dışındaki herhangi bir azalma kanibalizm olarak kabul edilmiştir. Ayrıca su hacmi kanibalizm ve ölü sayılarına orantılı olarak azaltılmıştır (Karami ve ark., 2009).

3.2.9. Büyüme Parametrelerinin Belirlenmesi

İki aylık deneme periyodu sonunda triploid uygulamasının karabalıkların büyümeleri üzerine etkisini ortaya çıkarmak için kontrol ve deneme gruplarındaki balıklarda canlı ağırlık kazancı değerlendirilmiştir.

3.2.9.1. Canlı Ağırlık Kazancı

CAK, gruplara göre başlangıç canlı ağırlık ortalamalarının, son canlı ağırlık ortalamalarından farkı alınarak hesaplanmıştır (Watanabe ve ark. 1990).

$$CAK = CA_s - CA_b$$

$$CAK = \text{Canlı Ağırlık Kazancı (g)}$$

$$CA_s = \text{Deneme sonu toplam Canlı Ağırlık Ortalaması (g)}$$

$$CA_b = \text{Başlangıç toplam Canlı Ağırlık Ortalaması (g)}$$

3.2.10. Yazım ve İstatistiki Analizler

Çalışmada elde edilen verilerin değerlendirilmesinde Varyans analizi (ANOVA), grup ortalamalarının karşılaştırılmasında Duncan testi kullanılmış, biyolojik araştırmalarda en çok kullanılan ($P=0.05$) önem seviyesi seçilmiştir (Düzgüneş ve ark., 1983). Deneme gruplarında saptanan yaşama oranları ve kanibalizm oranlarına ait yüzde değerlere varyans analizinden önce açığa transformasyonu yapılmıştır. Ayrıca verilerin değerlendirilmesinde SPSSv10 istatistik paket programı kullanılmıştır (Norusis, 1993).

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

Bu çalışmada kafein uygulamasının triploid karabalık (*C. gariepinus*) üretimi üzerine etkileri araştırılmıştır. İki aylık deneme periyodu sonunda, farklı dozlarda kafein uygulaması ile elde edilen triploid karabalıkların triploid oranı, triploid verimliliği, kanibalizm ve yaşama oranları ile birlikte büyüme verileri tespit edilmiştir.

4.1. Döllenme ve Çıkış Oranları

Her gruptan alınan ortalama 250 yumurtanın incelenmesi sonucu döllenme oranlarına ait değerler; kontrol grubunda %94,45±0,85; 5mM kafein grubunda %95,16±0,70; 10 mM kafein grubunda %94,70±0,60; 15 mM kafein grubunda ise %92,09±1,56' dır. Döllenme oranı açısından kontrol grubu ile muamele grupları arasında önemli bir farklılık gözlenmemiştir (Çizelge 4.1).

Çizelge 4.1. Farklı konsantrasyonlardaki kafein uygulamalarında *C. gariepinus* yumurtalarına ait döllenme oranı, çıkış oranı ve larval dönem yaşama oranları ($\bar{x}$ ±standart hata).

Deneme Grubu	Kimyasal şok düzeyi (mM)	Döl. sonraki şoklama zamanı (dk)	Şoklama süresi (dk)	Toplam Yumurta miktarı (Adet)	Döllenme oranı (%)	Yumurta çıkış oranı (%)	Larval dönem yaşama oranı (%)
Kontrol	-	-	-	241,67±9,28	94,45±0,85 ^a	92,85±0,34 ^b	92,14±0,29 ^a
Kf ₁	5	3	20	261,67±10,14	95,16±0,70 ^a	89,17±0,14 ^a	93,16±0,85 ^a
Kf ₂	10	3	20	253,33±14,53	94,70±0,60 ^a	90,12±0,12 ^a	92,28±0,53 ^a
Kf ₃	15	3	20	259,00±14,47	92,09±1,56 ^a	89,50±1,13 ^a	95,87±2,16 ^a

*Farklı harfler, gruplar arasındaki farklılığın önemli olduğunu göstermektedir (P<0.05)

Gruplar arasında yumurta çıkış oranları incelendiğinde en iyi çıkışın %92,85±0,34 ile kontrol grubundan elde edildiği görülmüştür. Diğer muamele gruplarında ise yumurta çıkış oranları, 5 mM kafein grubunda %89,17±0,14, 10 mM kafein grubunda %90,12±0,12; 15 mM kafein grubunda ise %89,50±1,13 olarak elde edilmiştir (Çizelge 4.1). Yapılan analiz sonucunda kontrol grubu yumurta çıkış oranı ile muamele

gruplarından elde edilen yumurta çıkış oranları arasındaki farkın önemli olduğu gözlenmiştir ($P<0.05$).

En yüksek larval dönem yaşama oranı $95,87\pm2,16$ ile 15 mM kafein grubundan elde edilmiştir. Diğer gruplarından elde edilen oranların 5 mM kafein grubunda $93,16\pm0,85$; 10 mM kafein grubunda $92,28\pm0,53$ ve kontrol grubunda $92,14\pm0,29$ olduğu ve istatistiksel anlamda gruplar arası larval dönem yaşama oranları arasında önemli bir farkın olmadığı görülmüştür.

Karabalık (*C. gariepinus*) üzerinde yapılan triploid çalışmasında yumurtalara döllenmeden 3 dk sonra 5 °C' sıcaklıkta 40 dk soğuk şok uygulanmıştır. Sonuç olarak soğuk şok uygulaması yapılan gruptaki yavru çıkış oranı %42 kontrol grubunda ise %76 oranında sağlanmıştır (Karami ve ark., 2009). Elde edilen bu sonuçlar ile çalışmamızın sonuçları karşılaştırıldığında sonuçların benzerlik göstermediği görülmektedir. Bu farklılığın şok uygulamasından ileri geldiği düşünülmektedir.

Okumura ve ark., (2007) Abalon (*Haliotis discus hannai*) üzerinde yapmış oldukları çalışmada abalon yumurtalarına döllenmeden 12 dk sonra 24 dk boyunca 0-10mM - 15 mM oranında kafein ile kimyasal şok uygulaması yapmışlardır. Deneme sonunda kontrol grubu ve muamele grupları arasında larval dönem yaşama oranlarının birbirine yakın olduğunu bildirmişlerdir. Yapmış olduğumuz çalışma ile bu çalışmanın sonucu benzerlik göstermektedir.

Turan ve ark., (2012) Gökkuşığı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) üzerinde yapmış oldukları kafein uygulaması ile triploid üretim çalışmasında kontrol grubu dahil olmak üzere dört farklı muamele grubu oluşturmuşlardır. Gökkuşığı alabalığı yumurtalarına döllenmeden 15 dk sonra, 10 dk boyunca 0 - 5 - 10 ve 15 mM oranında kafein ile kimyasal şok uygulaması yapmışlardır. Deneme sonunda yaşama oranları incelendiğinde kontrol grubu ve muamele grupları arasında bir fark olmadığını bildirmişlerdir. Çalışmamızın sonuçları ile bu sonuçlar paralellik göstermektedir.

4.2. Triploid Oranı ve Triploid Verimliliği

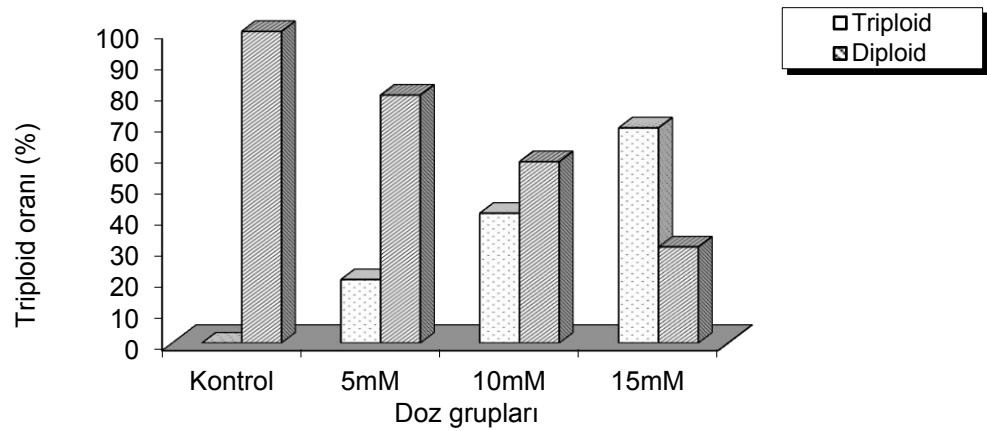
İki aylık deneme periyodu sonunda, farklı konsantrasyonlarda kafein uygulaması ile elde edilen triploid karabalıklara ait triploid oranı ve triploid verimliliği verileri Çizelge 4.2’de gösterilmiştir.

Çizelge 4.2. Farklı konsantrasyonlarda kafein uygulaması ile elde edilen *C. gariepinus* larvalarının triploid oranları ve triploid verimliliği ($\bar{x} \pm$ standart hata)

Deneme Grubu	Kimyasal şok düzeyi (mM)	Döl. sonraki şoklama zamanı (dk)	Şoklama süresi (dk)	Triploid Oranı (%)	Triploid verimliliği (%)
Kontrol	-	-	-	-	-
Kf ₁	5	3	20	20,40 $\pm$ 1,13 ^b	19,01 $\pm$ 1,18
Kf ₂	10	3	20	41,72 $\pm$ 080 ^c	38,50 $\pm$ 0,73
Kf ₃	15	3	20	69,10 $\pm$ 2,18 ^d	66,33 $\pm$ 3,51

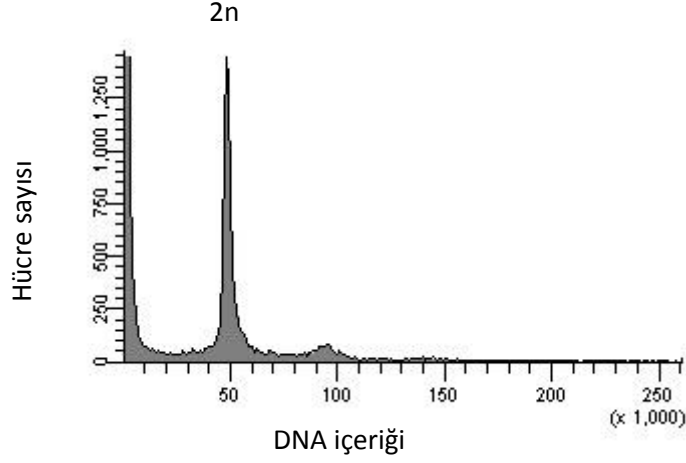
*Farklı harfler, gruplar arasındaki farklılığın önemli olduğunu göstermektedir ($p < 0,001$)

Deneme gruplarından elde edilen triploid oranları sırasıyla, 5 mM kafein uygulamasında % 20,40 $\pm$ 1,13; 10 mM kafein uygulamasında %41,72 $\pm$ 080; 15 mM kafein uygulamasında %69,10 $\pm$ 2,18 olarak belirlenmiştir. En düşük triploid oranı % 20,40 $\pm$ 1,13 ile döllenmeden 3 dk sonra. 20 dk süreyle 5 mM’lık kafein uygulaması yapılan grupta; en yüksek triploid oranı ise % 69,10 $\pm$ 2,18 ile döllenmeden 3 dk sonra 20 dk süreyle 15 mM’lık kafein uygulaması yapılan grupta gözlenmiştir (Çizelge 4.2) (Şekil 4.1).

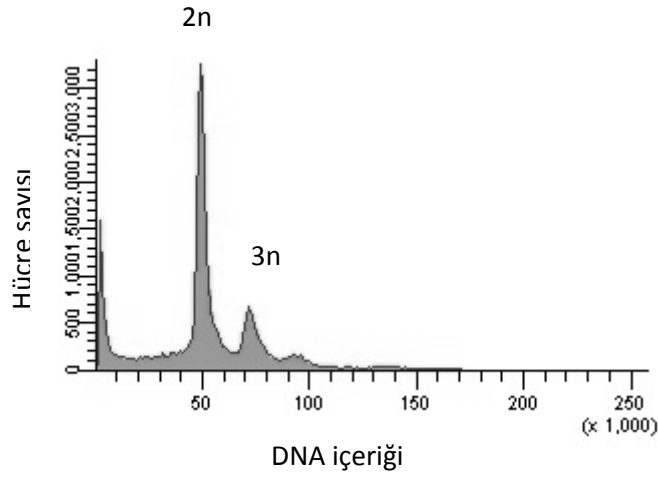


Şekil 4.1. Farklı konsantrasyonlarda kafein uygulaması yapılan *C. gariepinus* larvalarının triploid oranları

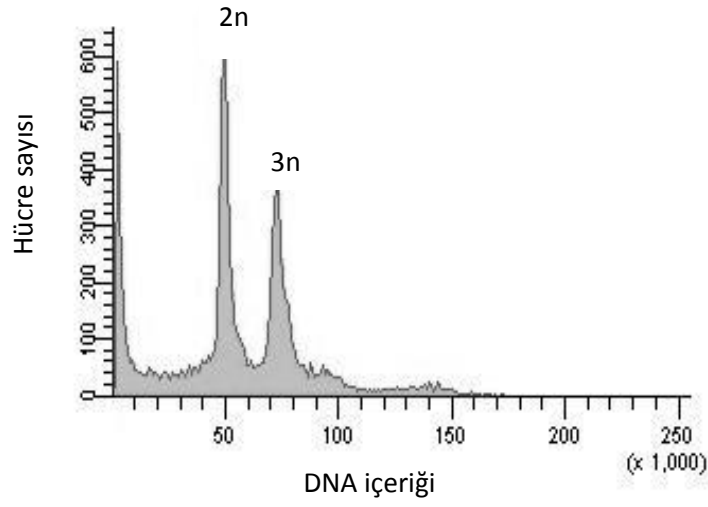
Triploid oranının belirlenmesi için akım sitometrisi yöntemi kullanılmış olup muamele gruplarının triploid oranlarını gösteren grafikler oluşturulmuştur (Şekil 4.2, Şekil 4.3, Şekil 4.4, Şekil 4.5). Tüm veriler Becton Dickinson FacsCanto A cihazı ile toplanmış, analizler FacsDivaversiyon 5.0.3 kullanılarak gerçekleştirilmiştir.



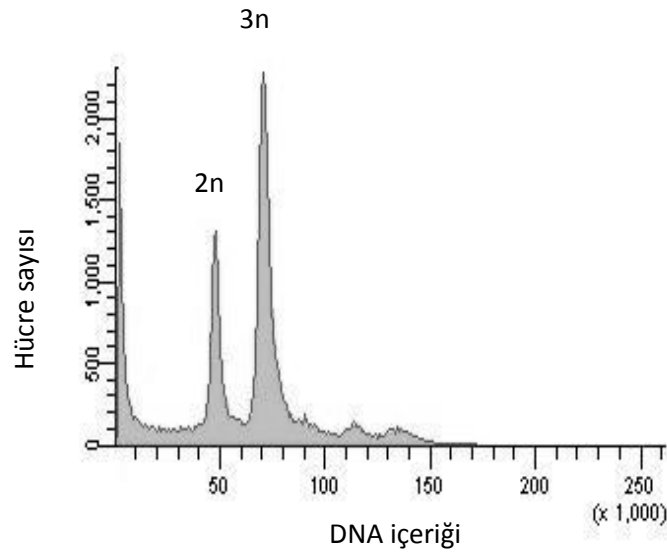
Şekil 4.2. Kontrol grubu *C. gariepinus* larvalarının akım sitometri analizi sonuç grafiği



Şekil 4.3. 5 mM kafein uygulaması yapılan *C. gariepinus* larvalarının akım sitometri analizi sonuç grafiği

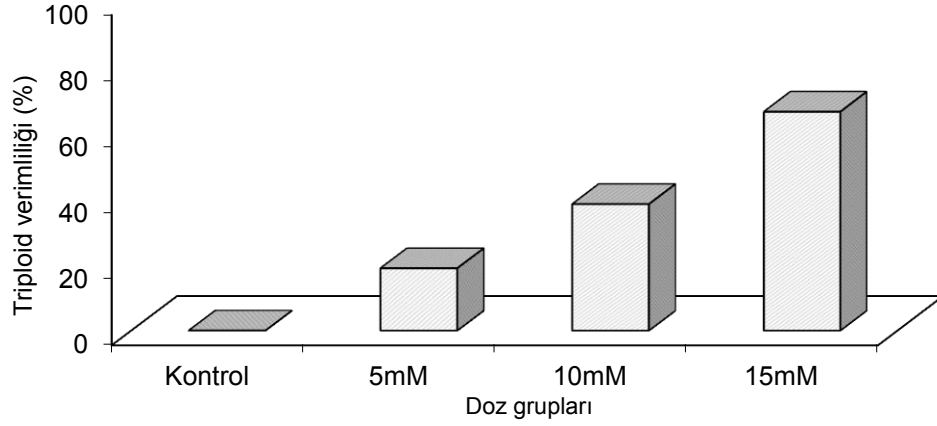


Şekil 4.4. 10 mM kafein uygulaması yapılan *C. gariepinus* larvalarının akım sitometri analizi sonuç grafiği



Şekil 4.5. 15 mM kafein uygulaması yapılan *C. gariepinus* larvalarının akım sitometri analizi sonuç grafiği

Muamele grupları triploid verim oranları, 5 mM kafein uygulamasında %19,01±1,18; 10 mM kafein uygulamasında %38,50±0,73; 15 mM kafein uygulamasında %66,33±3,51'dir. En yüksek triploid verimliliği %66,33±3,51 ile 15 mM kafein uygulamasından elde edilmiştir (Çizelge 4.2) (Şekil 4.5).



Şekil 4.6. Farklı konsantrasyonlarda kafein uygulaması yapılan *C. gariepinus* larvalarının triploid verimliliği

Gökkuşığı alabalığı (*O. mykiss*) yumurtalarına döllenmeden 15 dk sonra, 10 dk boyunca 0 - 5 - 10 ve 15 mM oranında kafein ile kimyasal şok uygulaması yapılmış olan çalışmada deneme sonunda triploid oranlarının, 5 mM kafein grubunda %12,21; 10 mM kafein grubunda %14,71; 15 mM kafein grubunda %45,40 olduğu bildirilmiştir (Turan ve ark., 2012). Bu çalışma sonucunun gerek 15 mM kafein uygulaması ile elde edilen yüksek triploid oranı gerekse gruplar arasındaki yaşama oranlarında bir farkın bulunmaması ile çalışmamızın sonuçları benzerlik göstermektedir.

Turan ve ark., (2012) yine Gökkuşığı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) üzerinde yapmış oldukları sıcaklık ve kafein şoku kombinasyonu ile triploid üretim uygulamasını yumurtalara döllendikten 15 dk sonra 10 dk boyunca 28 °C sıcaklık şokuyla beraber 15 mM kafein şokuna tabi tutarak yapmışlardır. Deneme sonunda muamele grubu yaşama oranının %52,15 ve triploid oranının %59,21 olduğunu bildirmişlerdir. Bu araştırma sonucu yaptığımız çalışma sonucu ile benzerlik göstermektedir.

Abalon (*Haliotis discus hannai*) üzerinde yapılan triploid çalışmasında abalon yumurtalarına döllenmeden 12 dk sonra 24 dk boyunca 0 – 10 mM - 15 mM oranında kafein ile kimyasal şok uygulaması yapılmış ve deneme sonunda triploid oranı %91 ile %100 arasında bulunmuştur (Okumura ve ark., 2007). Bu çalışmada elde edilen triploid oranları ile araştırmamızda elde ettiğimiz sonuçlar, her ne kadar yüksek olmasa da bu çalışma ile paralellik göstermektedir.

Hammed ve ark., (2010) yapmış oldukları triploid çalışmasında karabalık yumurtalarının döllenmesinden 3 dk sonra yumurtalara 0 °C'de 4 farklı sürede (0, 15, 25, 30 dk) soğuk şok uygulamışlardır. Uygulama gruplarından en iyi sonucun ise %55 – 75 arası triploid oranı ile 25 dk'lık soğuk şok uygulaması ile sağlandığını bildirmişlerdir. Yapmış olduğumuz çalışma sonucu bu çalışmanın sonucuyla paralellik göstermektedir.

Da Silva ve ark., (2007) yapmış oldukları triploid çalışmasında karabalık (*C. gariepinus*) yumurtalarına, döllenmeden 3 dk sonra 4 °C'de 20 dk, 30 dk, 40 dk ve 7 °C'de 20 dk, 30 dk, 40 dk olmak üzere toplam 6 grup oluşturarak soğuk şok uygulamışlardır. Deneme sonunda en yüksek sonucun ile %97,2 triploid ve %65,30 yaşam oranı ile döllenmeden sonra 4 °C'de yapılan 20 dk'lık soğuk şok uygulaması ile elde etmişlerdir. Araştırmamızda elde ettiğimiz sonuçlar ile bu çalışmanın sonuçları benzerlik göstermemektedir. Bu farklılığın yapılan şok uygulamasının farklılığından ileri geldiği düşünülmektedir.

Karabalık (*C. gariepinus*) ile yapılan triploid çalışmasında bir kontrol bir şok uygulaması ile birlikte iki deneme grubu oluşturulmuştur. Denemede balık yumurtalarının döllenmesinden 3 dk sonra 5 °C'de 40 dk boyunca soğuk şok uygulamışlardır. Deneme sonunda %95 oranında triploid birey elde etmişlerdir (Henken ve ark., 1987). Çalışmamızda ise en yüksek triploid oranı %69,10±2,18'dir. Elde edilen sonucun çalışmamız ile benzerlik göstermediği görülmektedir. Bu farklılığın şok uygulamasının farklı olması ve uygulanan kafein konsantrasyonunun karabalıklar için düşük seviyede olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

4.3. Yaşama ve Kanibalizm Oranları

İki aylık deneme periyodu sonunda, farklı konsantrasyonlarda kafein uygulaması ile elde edilen triploid karabalık (*C. gariepinus*) yavrularının yaşama ve kanibalizm oranları Çizelge 4.3' de gösterilmiştir.

Çizelge 4.3. Farklı konsantrasyonlarda kafein uygulaması ile elde edilen karabalık (*C. gariepinus*) yavrularının yaşama ve kanibalizm oranları ($\bar{x} \pm$ standart hata)

Deneme grubu	Kimyasal şok düzeyi (mM)	Döl. sonraki şoklama zamanı (dk)	Şoklama süresi (dk)	Yaşama Oranı (%)	Kanibalizm oranı (%)
Kontrol	-	-	-	74,16 $\pm$ 0,52 ^b	16,89 $\pm$ 0,90 ^a
Kf ₁	5	3	20	72,58 $\pm$ 0,45 ^{ab}	14,44 $\pm$ 0,49 ^a
Kf ₂	10	3	20	70,49 $\pm$ 0,76 ^a	15,18 $\pm$ 1,29 ^a
Kf ₃	15	3	20	71,53 $\pm$ 0,71 ^a	15,20 $\pm$ 0,89 ^a

* Farklı harfler, gruplar arasındaki farklılığın önemli olduğunu göstermektedir (p<0,05)

İki aylık deneme periyodu sonunda muamele grupları arasında en yüksek yaşama oranı % 72,58 $\pm$ 0,45 ve en düşük kanibalizm oranı %14,44 $\pm$ 0,49 ile 5 mM kafein şoku uygulanan grupta tespit edilmiştir. Diğer gruplarda yaşama ve kanibalizm oranları sırasıyla; 10 mM kafein grubunda yaşama oranı, %70,49 $\pm$ 0,76 kanibalizm oranı %15,18 $\pm$ 1,29; 15 mM kafein grubunda yaşama oranı % 71,53 $\pm$ 0,71 ve kanibalizm oranı %15,20 $\pm$ 0,89 olarak belirlenmiştir. Kontrol grubunda yaşama oranı %74,16 $\pm$ 0,52, kanibalizm oranı ise %16,89 $\pm$ 0,90 oranında elde edilmiştir (Çizelge 4.3). Yapılan istatistiksel analizler sonucunda kanibalizm oranları bakımından muamele grupları arasında bir fark bulunmazken yaşama oranları bakımından muamele grupları arasında önemli bir farklılık ortaya çıkmıştır (p<005).

Karami ve ark., (2009) karabalık (*C. gariepinus*) ile yaptıkları triploid çalışmasında yumurtalara döllemeden 3 dk sonra 5 °C sıcaklıkta 40 dk soğuk şok uygulamışlardır. Sonuç olarak soğuk şok uygulaması yapılan gruptaki yavru çıkış oranı %42 kontrol grubunda ise %76 oranında sağlanmıştır. Elde edilen triploid balıklarda kanibalizim oranının (%17,52 $\pm$ 1,5) diploid balıkların kanibalizm oranı (%14,95 $\pm$ 2,1) ile arasında önemli bir fark olmadığını tespit etmişlerdir. Çalışmada elde edilen kanibalizm oranları dikkate alındığında yapmış olduğumuz çalışmada elde ettiğimiz kanibalizm oranlarını desteklemektedir.

Tiwary ve ark., (2004) tarafından triploid uygulaması yapılan bir çok balık türünde triploid bireylerin, diploidlerine oranla daha az agresif davranış gösterdiklerini, sese ve ışık gibi çeşitli çevresel uyarıcılara karşı daha az duyarlı olduklarını tespit etmişlerdir.

Turan ve ark., (2012) Gökkuşığı alabalığı (*O. mykiss*) üzerinde yapmış oldukları kafein uygulaması ile triploid üretim çalışmasında kontrol grubu dahil olmak üzere dört farklı muamele grubu oluşturmuşlardır. Gökkuşığı alabalığı yumurtalarına döllenmeden 15 dk sonra, 10 dk boyunca 0 - 5 - 10 ve 15 mM oranında kafein ile kimyasal şok uygulaması yapmışlardır. Deneme sonunda yaşama oranları incelendiğinde yaşama oranları; 5 mM'lık kafein uygulaması ile %77,54, 10 mM'lık kafein uygulaması ile %82,51, 15 mM'lık kafein grubunda %82,31, kontrol grubunda ise %83,24 olduğu görülmüştür. Çalışmamızın sonuçları ile bu sonuçlar paralellik göstermektedir.

Hammed ve ark., (2010) yapmış oldukları triploid çalışmasında karabalık (*C. gariepinus*) yumurtalarının döllenmesinden 3 dk sonra yumurtalara 0 °C'de 4 farklı sürede (0, 15, 25, 30 dk) soğuk şok uygulamışlardır. Uygulama gruplarından en iyi yaşama oranı %43,5 olarak elde edilen 25 dk'lık soğuk şok uygulaması ile sağlandığını bildirmişlerdir. Yapmış olduğumuz çalışma sonucu bu çalışmanın sonucu benzerlik göstermemektedir. Bu durum şok uygulamasının farklılığından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Turan ve ark., (2012) gökkuşığı alabalığı (*O. mykiss*) üzerinde yapmış oldukları sıcaklık ve kafein şoku kombinasyonu ile triploid üretim çalışmasında kontrol grubu dahil olmak üzere iki farklı muamele grubu oluşturmuşlardır. Uygulama yumurtalar döllendikten 15 dk sonra 10 dk boyunca 28 °C sıcaklık şokuyla beraber 15 mM kafein şokuna tabi tutularak yapılmıştır. Deneme sonunda muamele grubu yaşama oranının %52,15 olduğunu bildirmişlerdir. Yapmış olduğumuz çalışma sonucu ile bu çalışmanın sonucu paralellik göstermektedir.

4.4. Büyüme Parametrelerinin Belirlenmesi

İki aylık deneme periyodu sonunda triploid uygulamasının karabalıkların büyümeleri üzerine etkisini ortaya çıkarmak için kontrol ve deneme gruplarındaki balıklarda canlı ağırlık kazancı değerlendirilmiştir (Çizelge 4.4.).

Çizelge 4.4. Farklı konsantrasyonlarda kafein uygulaması ile elde edilen *C. gariepinus* yavrularının canlı ağırlık kazancı ($\bar{x} \pm$ standart hata)

Deneme grubu	Kimyasal şok düzeyi (mM)	Döl. sonraki şoklama zamanı (dk)	Şoklama süresi (dk)	Son Ağırlık (g)	Ağırlık artışı (g)
Kontrol	-	-	-	2,62 $\pm$ 0,62 ^a	2,61 $\pm$ 0,62 ^a
Kf ₁	5	3	20	2,73 $\pm$ 0,47 ^a	2,72 $\pm$ 0,47 ^a
Kf ₂	10	3	20	2,41 $\pm$ 0,73 ^a	2,40 $\pm$ 0,73 ^a
Kf ₃	15	3	20	1,88 $\pm$ 0,19 ^a	1,88 $\pm$ 0,19 ^a

*Farklı harfler, gruplar arasındaki farklılığın önemli olduğunu göstermektedir (p<0,05)

İki aylık deneme periyodu sonunda muamele grupları arasında canlı ağırlık artışı incelendiğinde 5 mM kafein grubunda 2,72 $\pm$ 0,47 g, 10 mM kafein grubunda 2,40 $\pm$ 0,73 g, 15 mM kafein grubunda 1,88 $\pm$ 0,19 g ve kontrol grubunda 2,61 $\pm$ 0,62 g olduğu tespit edilmiştir.

Gözlemlenen büyüme parametreleri bakımından farklı konsantrasyonlarda kafein uygulaması ile kontrol grubu arasında büyüme parametreleri (ağırlık artışı) bakımından istatistiksel anlamda bir farklılık yoktur (P>0,05) (Çizelge 4.4).

Olufeagba ve ark (1999) *Heterobranchus longifilis* üzerinde denemiş oldukları soğuk şok ile triploid üretim çalışmalarında balık yumurtalarına döllendikten 5°C’de 4 dk boyunca soğuk şok uygulamışlardır. Denemenin sonunda triploid bireylerin diploid bireylere göre daha iyi büyüme gösterdiğini bildirmişlerdir. Yapmış olduğumuz çalışmada 2 aylık süre içerisinde deneme grupları arasında önemli farklılıkların olmadığı görülmüştür. Sonuçların benzerlik göstermemesinin nedeni araştırma süresi, balık türünün ve şok uygulamasının farklılığından ileri geldiği düşünülmektedir.

Karami ve ark., (2009) karabalık (*C. gariepinus*) ile yaptıkları triploid çalışmasında yumurtalara döllenmeden 3 dk sonra 5 °C’ sıcaklıkta 40 dk soğuk şok uygulamışlardır. Yapılan çalışma sonucunda kontrol grubu ile muamele grupları arasında büyüme parametreleri açısından önemli bir fark olmadığını bildirmişlerdir. Çalışmamızda elde ettiğimiz veriler ile bu sonuçlar paralellik göstermektedir.

Tiwary ve ark., (2004) tarafından triploid uygulaması yapılan bir çok balık türünde büyüme parametreleri incelendiğinde triploid bireylerin, diploidlerine oranla triploid yayın balığı ve bazı tilapya türlerinde diploidlerine göre daha yüksek büyüme performansına sahip olduğunu bildirilmiştir. Ancak çalışmamızda büyüme parametreleri arasında önemli bir fark bulunamamıştır.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Dünyada ve ülkemizde su ürünlerinde yapılan genetik çalışmalar özellikle son yıllarda büyük artış göstermiştir. Bu çalışmalardan biri de kromozom manipulasyonudur. Bu gibi manipulasyonların en önemli yararı metabolik enerjinin gamet gelişimi yerine somatik büyümeye harcanmasını sağlamasıdır (Utter ark., 1983). Böylece balıklarda üreme aktivitesinin büyüme, yaşama ve et kalitesi üzerindeki olumsuz etkilerinin önlenmesi amaçlanmaktadır (Diaz ark., 1993).

Kromozom manipulasyonu ile triploidliğin sağlanması, ikinci mayoz bölünme bloke edilip ikinci kutup hücresinin döllenmeden sonra tutulması ile sağlanabilmektedir. Bu işlem için colchicine, cytochalasin B, sıcak şok, soğuk şok ve basınç şoku uygulamalarından yararlanılabilmektedir (Diaz ark., 1993).

Bu nedenle çalışmamızda kimyasal şok yöntemiyle 3N kromozom setine sahip triploid karabalıkların elde edilebilirliği ve kanibalizm üzerine olan etkileri incelenmiştir. Bunun yanı sıra farklı dozlarda uygulanan kafein şoku ile triploid üretimin karabalıklarda yaşama oranı, vücut kompozisyonu ve büyüme performansı araştırılmıştır.

Bu çalışma ile ülkemiz iç su balıkları yetiştiriciliği açısından alternatif bir tür olabilecek karabalıkta larval dönemde karşılaşılan kanibalizm sorunun aşılabilmesi ve üretimin yaygınlaştırılabilmesi amacıyla kimyasal şok uygulaması ile triploid üretimin gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla da daha önce karabalıklar ve diğer balık türleri üzerinde uygulanmamış olan, çevreye zarar vermeyen, güvenli ve ucuz bir kimyasal olan kafeinin farklı dozlarının kullanılabilirliği araştırılmıştır. Elde edilen sonuçlar aşağıda üç ana başlık altında özetlenmiştir.

5.1. Triploid Oranı ve Triploid Verimliliği

Karabalıklarda 3n kromozom setine sahip birey elde etmek amacıyla yapılan farklı konsantrasyonlardaki (0 – 5 – 10 – 15 mM) kafein şoku uygulamasında tüm gruplarda triploid birey elde edilmiştir. Kafein şoku ile en yüksek triploid birey oranı %69,10±2,18, en yüksek triploid verimliliği %66,33±3,51 olarak 15 mM kafein içeren gruptan elde edilmiştir. Böylece çalışmamızda kafein uygulaması ile karabalıklarda triploid birey elde edilebileceği ve en uygun konsantrasyonunda 15 mM kafeinin olduğu sonucu ortaya çıkarmıştır.

5.2. Yaşama ve Kanibalizm Oranı

Karabalıklarda farklı konsantrasyonlarda kafein şoku uygulamasının yaşama oranı ve kanibalizm davranışına olan etkileri incelendiğinde sonuçların birbirlerine benzer olduğu ortaya çıkmıştır. En yüksek yaşama oranı $74,16 \pm 0,52$ ile kontrol grubundan, en düşük kanibalizm oranı ise $14,44 \pm 0,49$ ile 5 mM kafein grubundan elde edilmiştir. Buna göre; gruplar arasındaki en iyi triploid oranını da göz önünde bulundurarak yaşama ve kanibalizm oranı bakımından en iyi grubun 15 mM'lık kafein grubu olduğu görülmektedir.

5.3. Büyüme Parametreleri

Karabalıklarda farklı konsantrasyonlarda kafein uygulamasının ağırlık artışı ve üzerine etkileri ayrı ayrı incelendiğinde, gruplar arasında büyüme bakımından iki aylık dönemde herhangi bir farklılığın olmadığı sonucu ortaya çıkmıştır.

Günümüzde, hızla artan dünya nüfusu, çevre kirliliği ve ekolojik sorunlar nedeniyle üretime ilave kaynaklar geliştirilmesi, pazara olan talebin giderek artmasıyla birlikte bunların verimli kullanımının sağlanması önem kazanmıştır. Bu durum biyoteknolojik yöntemlerin hızla uygulamaya konmasını ve bu konuyla ilgili çalışmaların artmasını zorunlu hale getirmiştir. Bu nedenle çalışmamızda gerek artan talebin karşılanması gerekse yetiştiricilikte karşılaşılabilecek sorunların giderilebilmesi için kromozomal manipülasyon yöntemlerinden biri olan triploid üretim çalışılmıştır.

Karabalıklarda yüksek triploid oranlarının elde edilebilmesi ve kimyasal şok gibi kromozom manipülasyonu uygulamalarında optimum değerlerin tespit edilebilmesi için daha birçok şok zamanı, şok düzeyi, şok süresi kombinasyonlarının değerlendirilmesi gerekmektedir. Bu çalışmanın sonuçları ülkemizde triploid balık üretimine yönelik olarak yapılacak araştırmalara ışık tutacaktır.

KAYNAKLAR

- Al-Hafedh, Y. S. ve Ali, S. S., 2004. Effects of Feeding on Survival, Cannibalism, Growth and Feed Conversion of African catfish, (*C. gariepinus*, Burchell 1822) in Concrete Tanks. **Journal of Applied Ichthyology**, 20: 225-227.
- Alice, L.,G., 2004. Flow Cytometry, **Protocols Methods in Molecular Biology**, 263: 1-31. DOI: 10.1385/1-59259-773-4:001
- Aluko P.O., Nlewadim A.A. ve Aremu A., 2001. Observation of fry cannibalism in *C. gariepinus* (Burchell, 1822). **Journal of Aquatic Sciences** 16: 1 – 6 .Nigerian Association for Aquatic Sciences (ISSN: 0189 – 8779).
- Appelbaum S. ve Kamler E. 2000. Survival, growth, metabolism and behaviour of *C. gariepinus* (Burchell 1822) early stages under different light conditions. **Aquacultural Engineering** 22 ; 2000 269–287.
- Appelbaum, S. and Mcgeer J.C., 1998. Effect of diet and light regime on growth and survival of African catfish (*C. gariepinus*) larvae and early juveniles. **Aquac. Nutr.**, 4: 157-164.
- Aquamedia. 2006 <[http:// www. feap. info/ home/ FAQ/ Answers/ ans8 _en .asp](http://www.feap.info/home/FAQ/Answers/ans8_en.asp) , (December>, 28,).
- Arai K. ve Wilkins N.P., 1987. Triploidization of Brown trout (*Salmo trutta*) by heat shocks. **Aquaculture**, 64, 97- 103.
- Aydın İ. 2008. **Diploid (2n) Ve Triploid (3n) Karadeniz Kalkan Balıklarında (Psetta Maxima Linnaeus, 1758) Erken Dönem Yetiştiricilik Performanslarının Karşılaştırılması: Yaşam Oranı, Anormallik, Büyüme.** Karadaeniz Teknik Üniversitesi, Fen bilimleri Enstitüsü, Balıkçılık Teknolojisi Mühendisliği Anabilim Dalı. Doktora Tezi. Trabzon.
- Benfey, T. J., Sutterlin, A. M., 1984. Growth and gonadal development in triploid landlocked Atlantic salmon (*Salmo salar*). **Canadian journal of fisheries and aquatic science** 41: 1387-1392.
- Bidwell, C. A., Chrisman C. L. ve Libey G. S., 1985. . Polyploidy induced by heat shock in channel catfish. **Aquaculture** 51:25-32.
- Burchell, W. J. 1822. **Travels in the Interior of Southern Africa**. 2 vols. (Interior S. Africa) London.
- Cassani, J. R., Caton, W. E., 1985. Induced triploidy in grass carp, *Ctenopharyngodon idella* Val. **Aquaculture** 46: 31-44.
- Cassani, J.R., Caton,W.E., 1986. Efficient production of triploid grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) utilizing hydrostatic pressure. **Aquaculture** 55, 43–50.
- Chao, N.H., Chen, S.J. ve Liao, I.C., 1986. Triploidy induced by cold shock in cyprinid loach, *Misgurnus anguillicaudatus*. In: **The First Asian Fisheries Forum, Asian Fisheries Society**, Maclean, J.L., Dizon, L.B. and Hosillos, L.V. (eds). Manila, pp. 101-104.
- Chrisman, C. L., Wolters W. R. ve. Libey G. S., 1983. Triploidy in channel catfish. **Journal of the World Mariculture Society** 14:279-293.

- Clark, A.E., Watanabe, W.O., Olla, B.L. And Wicklund, R.I., 1990. Growth, Feed Conversion and Protein Utilization of Florida Red Tilapia Feed Is caloric Diets with Different Protein Levels in Seawater Pools. **Aquaculture**, 88: 75-85.
- Collier, J.,L., 2000. Flow Cytometry and The single cell in Phycology, **Journal of Phycology**, 36: 628-644. doi:10.1046/j.1529-8817.2000.99215.x
- Comparisons with Diploid Fish, **Fish and Fisheries**, 9, 67-78
- Cotter, D., O'Donovan, V., O'Maoileidigh, N., Rogan, G., Roche, N. ve Wilkins, N. P. 2000. An Evaluation of the Use of Triploid Atlantic Salmon (*Salmo Salar* L.) Minimising the Impact of Escaped Farmed Salmon on Wild Populations. **Aquaculture**, 186, 61-75.
- Çakmak, Yılmaz, Ö. 2011 DNA Fragmantasyonu, Hücre Döngüsünün Analizi ve Apotatik Hücre Analizi (Annexin-V). **I.Hücre Ölümü Araştırma Teknikleri Kursu. Dokuz Eylül Üniv.**, İzmir: 223 - 232.ISBN: 978-975-441-349-6.
- Çeliikkale M.S.,1991. Balık Biyolojisi K.T.Ü. **Sürmene Deniz Bilimleri ve Teknolojisi Yüksek Okulu Yayınları**.Yayın No:1,Trabzon,s387.
- Da Silva, F.S., Mareira R.G., Zopata C.R., Hilsdorf A.W.2007. Triploidy Induction by cold shock in the South American catfish (*Rhamdia quelen*). **Aquaculture**. 272: S110 – S 114.
- Degani G. ve Levanon D. 1983. The influence of low density on food adaptation, cannibalism and growth of eels (*Anguilla Anguilla* L.) **Bamidgeh** 35: 53 – 60.
- Demirel, D., 1995. Flow Stimetrik DNA analizinin Temel Prensipleri, **Türk Patoloji Dergisi**, 11(2): 64-65.
- Demirsoy, A., (1996). **Genel ve Türkiye Zoocografyası**. Meteksan yayınları, 630 s., Ankara.
- Demirsoy, A., 1993. **Yasamın Temel Kuralları: Omugahlar/Anamniyota. Cilt III/Kısım I**, 2. Baskı, Hacettepe Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü Meteksan yayınları, 684 s., Ankara.
- Diaz, N.F., Iturra, P., Veloso, A., Estay, F. and Colihueque, N. 1993. Physiological factors affecting triploid production in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. **Aquaculture**, 114: 33-40.
- Düzgüneş, O., Kesici, T. ve Gürbüz, F. 1983. **İstatistik Metotları I**. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, 218 s. Ankara
- Dunphy, C.,H., 2004. Applications of Flow Cytometry and immunohistochemistry to Diagnostic Hematopathology, **Archives of Pathology & Laboratory Medicine**, 128(9): 1004-1022.
- Foresti, F., Filho, S.A.T., Toledo, L.F.A. 1996. Biotecnologia genetica aplicada a piscicultura. **Cadernos de Ictiogenetica**, 3 : 1-27
- Fox L. R., 1975. Factors influencing cannibalism, a mechanism of population limitation in the predator *Notonecta hoffmani*. **Ecology** 56: 933 – 941
- Fukushima, H., Bailone, R.L. Weiss, L.A., Martins, ML., Zaniboni-Filho, E. 2012. Triploidy in the hematology of jundia juveniles (Siluriformes: Heptapteridae). **Brazil Journal Biology**. vol.72 no.1 São Carlos Feb. 2012. <http://dx.doi.org/10.1590/S1519-69842012000100017>

- Garner S. R., Madison B. N., Bernier N. J. ve Neff B. D., 2008. Juvenile growth and aggression in diploid and triploid Chinook salmon *Oncorhynchus tshawytscha* (Walbaum). **Journal of Fish Biolog.** 73, 169–185 doi:10.1111/j.1095-8649.2008.01923.x,
- Garrett, G. P., Birkner M. C. F., ve J. R. Gold., 1992. Triploidy induction in largemouth bass. *Micropterus sulmoicles*. **Journal of Applied Aquaculture** 1:27-34.
- Geldiay, R. ve Balık, S., 1996. **Türkiye Tathsu Bahkları**. Ege Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Yayınları No: 46, Ders Kitabı Dizini No: 16, 532 s.,) İzmir.
- Gheyas A.A., Mollah M.F.A. ve Hussain M.G. 1998. Triploidy Induction in Stinging Catfish *Heteropneustes fossilis* Using Cold Shock **Asian Fisheries Science** 14 (2001): 323-332 Asian Fisheries Society, Manila, Philippines
- Gima, A.E., 2009. **An Evaluation of Triploid Flathead Catfish (Pylodictis Olivaris) Production**. A Thesis Submitted to the Graduate Faculty of Auburn University in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of Masters of Science
- Hammed A. M., Fashina-Bombata H. A. and Osinaike A. O. 2010. The use of cold shock in inducing triploidy in African mud catfish (*C. gariepinus*) **African Journal of Biotechnology** Vol. 9 (12), pp. 1844-1847, 22 March, Available online at <http://www.academicjournals.org/AJB> ISSN 1684–5315
- Haniffa M.A., Sridha S. ve Nagarjan M., 2004. Introduction of triploidy and tetraploidy in stinging catfish, *Heteropneustes fossilis* (Bloch) using heat shock . **Aquaculture Research**, 35:937-942.
- Hecht T. And Appelbaum S. 1988. Observations on intraspecific aggression and coeval sibling cannibalism by larval and juvenile *C. gariepinus* (Claridae: Pisces) under controlled conditions. **Journal of Zoology London**. 214: 21 – 44.
- Hecht, T., Wilson, D., Sogeloos, P. ve De Soete, G., 1996. Notes on Cannibalism in Larvae and Early Juvenile African Catfish. (<http://www.ru.ac.za/catfish/cat227.htm>), Erişim Tarihi: 12 Eylül 2004.
- Henken, A.M., Brunink, A.M. ve Richter, C.J.J. 1987. Differences in growth rate and feed utilization between diploid and triploid African catfish, *C. gariepinus*. **Aquaculture**. Volume 63, Issues 1-4, 1 June 1987, Pages 233-242 doi:10.1016/0044-8486(87)90075-5
- Huergo, G.M. and Zaniboni – Filho, E., 2006. Triploidy Induction Jundia *Rhamdia quelen*, Through Hydrostatic Pressure Shock. **Journal of Applied Aquaculture** Vol. 18 (4). Doi: 10.1300/1028v18n_04.
- Hulata, G. 2001. Genetic manipulations in aquaculture: a review of stock improvement by classical and modern technologies. **Genetica**, 111 (1-3) : 155-173
- Hung, L.T., Tam, B.M., Cacot, P. ve Lazard, J., 1999. Larval Rearing of the Mekong catfish, *Pangasius bocourti* (Pangasiidae, Siluroidei): Substitution of *Artemia nauplii* with Live and Artificial Feed. **Aquatic Living Resource**, 12 (3): 229-232.
- Hydman, C. A., Kieffer, J. D. ve Benfey, T. J., 2003. Physiology and Survival of Triploid Brook Trout Following Exhaustive Exercise in Warm Water, **Aquaculture**, 221, 629-643.

- İkizdoğan T., 2006. **Farklı Yem Katkılarının Karabalık (C. gariepinus) Larvalarının Büyüme Performansı ile Hepatopankreas ve Barsak Histolojisi Üzerine Etkileri**. Yüksek Lisans Tezi. Mustafa Kemal Üniversitesi. 82 s. Hatay
- Johnson, O.W., Dickhoff, W.W., Utter, F.M., 1986. Comparative Growth and Development of Diploid and Triploid Coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). **Aquaculture** 57: 329-336.
- Johnstone, R., 1985. Induction of triploidy in Atlantic salmon by heat shock. **Aquaculture**, 49, 133-139.
- Johnstone, R., Lincoln, R.F., 1986. Ploidy estimation using erythrocytes from formalin – fixed salmonid fry, **Aquaculture**, 55, 145-8.
- Johnstone, R., Knott, R.M., McDonald, A.G., Walsingham, M.V., 1989. Triploidy induction in recently fertilized Atlantic salmon ova using anaesthetics. **Aquaculture** 78: 229-236.
- Karaboz, İ., Kayar, E., Akar, S., 2008. Akım sitometri ve Kullanım Alanları, **Elektronik Mikrobiyoloji Dergisi TR (Eski adı: OrLab OnLine Mikrobiyoloji Dergisi)** 06(2): 01-18 www.mikrobiyoloji.org/pdf/702080201.pdf.
- Karami, A., Christianus, A., Ishak, Z., Courtenay, S.C., Syed, M.A., Azlina, M. Ve Nooshinah, H. 2009. Effect of triploidization on juvenile African catfish (*C. gariepinus*). **Aquaculture Int.** DOI: 10.007/s10499-0099307-x
- Krasznai, Z. Márian T. 1986. Shock-induced triploidy and its effect on growth and gonad development of the European catfish, *Silurus glanis* L. **Journal of Fish Biology** .Vol. 29, Issue 5, pages 519–527, DOI: 10.1111/j.1095-8649.1986.tb04968.x
- Lawson, E., ve Ishalo H. A. 2010. Effect of cold shock treatment on the survival of fertilized eggs and growth Performance of the Larvae of african Mud catfish (*C. gariepinus*) Research **Journal of Fisheries and Hydrobiology** 5 (2): 85 -91.
- Liljestrom C. G., Wolters W. R., Bury D., Rezk M. and Dunham R. A., (1999). Growth, Carcass Traits, and Oxygen Tolerance of Diploid and Triploid Catfish Hybrids **North American Journal of Aquaculture**, 61:4, 293-303 [http://dx.doi.org/10.1577/1548-8454\(1999\)061<0293:GCTAOT>2.0.CO;2](http://dx.doi.org/10.1577/1548-8454(1999)061<0293:GCTAOT>2.0.CO;2)
- Linhart O., Haffary P., Costaz C., Flajshans M. ve Vondeputte M. 2001. Corporisation of Methods for hatchery – scale triploidization of European catfish (*Silurus glanis*). **J. Appl. Ichthyol.** 17, 247 – 255.
- Lymbery, A.J., 2000. Genetic Improvement in the Australian Aquaculture Industry. **Aquaculture Research**, 2000, 31, 145-149p.
- Maclean, N., Razak, A.S., Hwang, G., Rahman, M.A. 1999. Growth performance and gonadal development of growth enhanced transgenic tilapia *Oreochromis niloticus* (L.) Following heatshock-induced triploidy. **Mar Biotechnol**, 1 : 533-544
- Manickam, P., 1991. Triploidy induced by cold shock in the Asian catfish, *Clarias batrachus* (L.). **Aquaculture**. Volume 94, Issue 4, 15 May 1991, Pages 377-379 doi:10.1016/0044-8486(91)90180-F
- Maxime, V., 2008. The Physiology of Triploid Fish: Current Knowledge and Comparisons With Diploid Fish, **Fish and Fisheries**, 9, 67-78

- Mukai Y., 2011. High Survival Rates of Sutchi Catfish, *Pangasianodon hypophthalmus*, Larvae Reared under Dark Conditions. **Journal of Fisheries and Aquatic Sciences** 6(3): 285 – 290. ISSN 1816 – 4927 / DOI: 10.3923/jfas.
- Na-Nakorn, U., Lakhaanantakun, A., 1993. Comparison between the performance of diploid and triploid *Clarias macrocephalus*. **BIOTROP Spec. Publ.** 52, 79– 86.
- Naruse, K., Ijiri, K., Shima, A. ve Egam, N., 1985. The production of cloned fish in the medaka (*Oryzias latipes*). **J. Exp. Zoo/.**, 236: 335-342.
- Nomura K., Nakajima, J., Ohta, H., Kagawa H., Tanaka H., Unuma T., Yamauchi K. and Arai K., 2004. Induction of triploidy by heat shock in the Japanese eel (*Anguilla japonica*) **Fisheries Science**; 70: 247–255
- Norusis, M. J., 1993. SPSS. **For Windows Advanced statistics release 6.0.** SPSS Inc., 578 p., USA.
- Okumura, S., Arai, K., Harigaya, K., Eguchi, H., Sakai, M., Senbokuya, H., Furukawa, S. and Yamamori, K., 2007 Highly Efficient Induction Of Triploid Pacific Abalone *Haliotis Discus Hannai* By Caffeine Treatment. **Fisheries Science**; 73: 237–243
- Okumuş, İ., 2008. **Deniz Balıkları Yetiştiriciliği Ders Notları.** KTÜ Deniz Bilimleri. Trabzon.
- Oliva-Teles, A. and Kaushik, S.J. 1990 Growth and nutrient utilization by and triploid rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. **J. Fish Biol.** 37, 125–133.
- Olufeagba S.O., Aluko P.S., Omotosho J.S., Oyewole S.O. and Raji A., 1999. Triploidy Induction in *Heterobranchius longifilis* (Family: Claridae) by Cold shock. **In: 13th Annual Conference of the Fisheries Society of Nigeria (FISON)** , 3-8 November New Bussa, Nigeria.
- Özden, O., Güner, Y. And Kızak, V., 2003. Tatlısu Balık Kültüründe Uygulanan Bazı Biyoteknolojik Yöntemler E.U. **Journal of Fisheries & Aquatic Sciences**, 20, (3-4): 563 – 574.
- Pandian, T.J. and Varadaraj, K., 1990. Development of monosex females *Oreochromis mossambicus* broodstock by integrating gynogenetic technique with endocrine sex reversal. **Journal Exp. Zoology.**, 255: 86-96.
- Penman, D.J., Skibinsik D.O.F and. Beardmore J.A, 1987. Survival, growth and maturity in triploid tilapia. In **Proceedings of World Symposium on Selection, Hybridization and Genetic Engineering in Aquaculture II**: 239-253.
- Peruzzi, S., Chatain, B. 2000. Pressure and cold shock induction of meiotic gynogenesis and triploidy. **Aquaculture**, 189 : 23-37
- Peruzzi, S., Wiborg-Dahle, S., Haffray, P., Chatain, B. and Primicerio, R., 2010. Body shape variation in meiotic gynogenetic and triploid sea bass, *Dicentrarchus labrax*. **Aquatic Living Resources**; Volum 23 (3). ISSN 0990-7440.s 297 - 302.s doi: 10.1051/alr/2010024
- Piferrer, F., Beaumont, A., Falguière, J.C. ve Colombo, L., 2006. I. Performance improvements by polyploidization in aquaculture. In: **“Performance improvements by polyploidisation, gene transfer and DNA vaccination in aquaculture”**. Colombo, L., Crosetti, D. and Svaasand T. (eds). GENIMPACT

- project: Evaluation of genetic impact of aquaculture activities on native populations. A European network. WP1 workshop “Genetics of domestication, breeding and enhancement of performance of fish and shellfish”, Viterbo, Italy, 12-17th June.
- Pillay, T.V.R., 1990. Aquaculture, **Principles and Practices**. Blackwell Science Ltd., London, ISBN 0-85238-202-2.
- Purdom, C.E. 1993. Genetic engineering by the manipulation of cromosomes, **Aquaculture**, 33: 287-300, Amsterdam.
- Ruihai Y. Zhaoping W. Rucai W Chuanyuan T. 2001 Induced Triploid in the Pacific Oyster Using Caffeine Combined with Thermal Shock. **Journal of Ocean University of Qingdao**.
- Sarihan, E. ve Cengizler İ. 1997. **Balık Anatomisi.**, Ç.Ü. Su Ürünleri Fakültesi, Ders Kitabı, Adana. 126s.
- Shelton, C.J., Macdonald, A.G. and Johnstone, R. 1986. Induction of triploidy in rainbow trout using nitrous oxide. **Aquaculture**, 58: 155-159.
- Shepherd, J., Bromage, N., 1988. Intensive Fish Farming , **First ed., BSP Professional Boks**, Billing and sons Ltd., Worcester, 0-632-01904-2.
- Smith P.L. 1979. The development of a nursery technique for rearing Turbot *Scophthalmus maximus*, from the metamorphosis to on growing size – progress since 1970 by the British White Fish Authority. In: **Advences in Aquaculture Pillay,T.V.R. and Dill, Wm. A. (Eds).Fishing News Books**, UK. Pp 143 – 149.
- Suzuki, R., Nakanishi, T, and Oshiro, T., 1985. Survival, growth and sterility of induced triploids in the cyprinid loach *Misgurnus anguilli caudatus*. **Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.** 5 1, 889-894.
- Swarup, H. 1959. Production of triploidy in *Gasterosteus aculeatus* (L.). **J Genet**, 56, 129142.
- Tave D., 1993. **Genetics for fish hatchery managers**. Second edition, Van Nostrand Reinhold, p415,USA.
- Tekelioğlu, N. 1980. **Çukurova Bölgesindeki Tatlı Su Kaynaklarında Bulunan Karabalıkların Doğal Koşullarındaki Bazı Vücut Özellikleri ve Yumurta Verimliliği ile Ç.Ü. Ziraat Fakültesi Balık Üretim Tesislerinde Yetiştirme Olanakları Üzerine Bir Araştırma**. Ç.Ü. Zootekni ABD Doktora Tezi, Adana.
- Teskeredzic, E., Donaldson, E.M., Teskered, Z., Solar, I.I., McClean, E. 1993. Comparison of hydrostatic pressure and thermal shocks to induce triploidy in Coho salmon (*Oncorhynchus kitsutch*). **Aquaculture**, 117 : 47-55
- Tiway, B.K., Kirubakaran, R. and Ray, A.K 2004. The biology of triploid fish. **Reviews İn Fish Biology and Fisheries**. 14: 391–402 _DOI 10.1007/s11160-004-8361-8.
- Tiway, B.K., Kirubakaran, R. and Ray, A.K. 1997. Induction of triploidy by cold shock in Indian catfish (*Heteropneustes fossilis*). **Asian Fisheries Science** 10 : 123 – 129.
- Tiway, B.K., Kirubakaran, R. and Ray, A.K. 1999. Altered body shape as a morphometric indicator of triploidy in Indian catfish, *Heteropneustes fossilis* (Bloch). **Aquacult. Res.** 30, 907–910.

- TUİK, 2011. **Su Ürünleri İstatistikleri**. T.C. Başbakanlık Türkiye İstatistik Kurumu. Ankara. <http://www.tuik.gov.tr> .
- Turan, C., Yalçın Ş., Turan F., Okur E. ve Akyurt İ. 2005 Morphometric comparisons of African catfish, *C. gariepinus*, populations in Turkey. **Folia Zoology** – 54 (1-2):165-172.
- Turan, F., 2005b. The effects of stocking density on the growth and survival of African catfish (*Clarias gariepinus*, Burchell, 1822) fingerlings. **International Congress on Information Technology in Agriculture, Food and Environment**, Adana, Turkey, October 12-14 2005, Zeynel Cebeci, Alexander Sideridis, Sait M.Say, Nazan Darcan, Ed., 823-825 pp.
- Turan F., Gurağaç R., Seyhan D., Turan C., 2012. Triploidy Induction by combination of Caffeine – Thermal Shock Treatments in the Trout. **First National Workshop on Biotechnology and Genomics**. 24 -25 May 2012, Bodrum,Muğla-Turkey.
- Turan F., Gurağaç R., Yiğitarslan K. D., Turan C., 2012. A Preliminary Study on Induction of Triploidy by Caffeine Treatment in the Trout. **First National Workshop on Biotechnology and Genomics**. 24 -25 May 2012, Bodrum,Muğla-Turkey.
- Turan, C., 2000. Applications of Biotechnology in Aquaculture, (in turkish). **IV.Su Ürünleri Sempozyumu**, 28-30 Haziran, Erzurum.
- Utter, M.F., Johnson, O.W., Thorgaard, G.H. and Rabinovitch, P.S., 1983. Measurement and potential applications of induced triploidy in Pacific salmon, **Aquaculture**, 35: 1:25-135.
- Watanabe, W.O., Clark, J.H., Dunham, J.B., Wicklund, R.I. ve Olla, B.L., 1990. Culture of Florida Red Tilapia in Marine Cage. The Effect of Stocking Density and Dietary Protein on Growth. **Aquaculture**, 90:123-124.
- Watanabe,W.O. Olla, B.L., Ellingson, L.J., Ernst, D.H. ve Wicklund, R.I., 1990b. Salinity Tolerance and Sea Water Survival Vary Ontogenetically in Florida Red Tilapia. **Aquaculture**, 87: 311-321.
- Wiley, M.J. ve Wike, L.D.1986. Energy balances of diploid, triploid, and hybrid grass carp. **Trans. Amer. Fish. Soc.** 115, 853–863.
- Wolters, W. R. , Libey, G.S., and Chrisman, C.L. 1987. Induction of Triploidy in Channel Catfish. **Transactions of the American Fisheries Society** 1981; 110: 310-312 doi: 10.1577/1548-8659(1981)110<310:IOTICC>2.0.CO;2
- Wootton, R.J., 1990. **Ecology of Teleost Fishes**. London: Chapman and Hall.
- Yıldırım Bırcan Y., Genc E., Turan F, Cek S. ve Yanar M., 2010. The Anaesthetic Effects of Quinaldine Sulphate, Muscle Relaxant Diazepam and Their Combination on Convict cichlid, *Cichlasoma nigrofasciatum* (Günther, 1867) Juveniles. **Journal of Animal and Veterinary Advances** 9 (3), 547-550.
- Zhang G-F, Chang Y-Q, Song J, Ding J, Shen J-K and Wang Y-P 1998. Triploidy induction in Pacific oyster *Crassostrea gigas* by caffeine with thermal shock Chinese

Journal of Oceanology Limnology . Volume: 16, Issue: 3, Pages: 249-255
ISSN: 02544059

Zanuy, S. 2001. Genetic, hormonal and environmental approaches for the control of reproduction in the European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). **Aquaculture**, 202 : 187-203

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca bana yol gösteren tez çalışmamın belirlenmesinden sonuçların değerlendirilmesine kadar çalışmamın her aşamasında büyük bir sabır ve özveri ile desteğini hiçbir zaman esirgemeyen değerli danışman hocam Sayın Doç. Dr. Funda TURAN' a, sonsuz teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım.

Çalışmalarım sırasında değerli görüş ve bilgilerini esirgemeyen değerli hocam Prof. Dr. Cemal TURAN'a teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım.

Yüksek lisans eğitimim süresince her türlü yardımını ve desteğini gördüğüm değerli hocam Doç. Dr. Yasemin YILDIRIM'a teşekkürlerimi sunarım.

Elde edilen örneklerin analizinin yapılmasında yardımcı olan Uzm. Özgür YILMAZER ÇAKMAK'a (İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü Biyoteknoloji ve Biyomühendislik Araştırma Merkezi) teşekkürlerimi belirtirim.

Yüksek lisans eğitimim boyunca manevi desteğini esirgemeyen hayatımın her aşamasında bana destek olan aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Öğrenimim süresince manevi desteklerini ve çalışmalarım sırasında yardımlarını esirgemeyen arkadaşım Gökşen HAKÖZÜ'ne ve Meltem ÜNAL'a teşekkürlerimi belirtirim.

ÖZGEÇMİŞ

1987 yılında Adana’da doğdum. İlk, orta ve lise öğrenimini Adana’da tamamladım. 2005 yılında girdiğim Mustafa Kemal Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi’nden 2009 yılında mezun oldum. 2010 yılında Mustafa Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Su Ürünleri Anabilim Dalı Yetiştiricilik Bölümü’nde yüksek lisans öğrenimine başladım. Halen yüksek lisans öğrenimine devam etmekteyim.