

Farklı Basınç Şoku Uygulamalarının Ginogenetik Gökkuşığı Alabalığının (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) Erken Hayat Evrelerine Etkisi*

Doğan ATAY¹ Süleyman BEKCAN¹ Murtaza ÖLMEZ¹ Hasan H. ATAR¹

Geliş Tarihi : 22.01.2000

Özet: Bu araştırmada, ginogenetik gökkuşığı alabalığı (*O. mykiss*) bireyleri elde etmek amacıyla genetik olarak etkisiz hale getirilen inaktif spermalarla dölenen yumurtalara farklı basınç şokları (7000, 8000, 9000 psi) döllenmeden 300, 320, 330 dakika sonra 3 dakika süreyle uygulanmıştır.

Gözlükeli yumurta, keseli larva ve yem almaya başlamış yavru açısından en yüksek başarı oranı sırasıyla %44.9, %36.1 ve %32.8 olarak döllenmeden 300 dakika sonra 7000 psi, en düşük ise sırasıyla %6.4, %1.8 ve %1.1 olarak döllenmeden 320 dakika sonra 9000 psi basınç uygulanan grupta bulunmuştur (P<0.05). Kontrol gruplarında ise aynı veriler sırasıyla %82.7-87.9, %73.3-75.7, %62.7-67.31 olarak bütün muamele gruplarından daha yüksek ve farklı olmuştur (P<0.05). Deneme koşulları içinde döllenmeden sonra muamele zamanı ve basınçtaki artışa paralel olarak başarı oranında bir azalma gözlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Gökkuşığı alabalığı (*O. mykiss*), ginogenezis, basınç şoku, inaktif sperma, kuluçka

The Effect of Different Pressure Shocks on The Early Life Stages of Gynogenetic Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum)

Abstract: In this research, different pressure shocks (7000, 8000 and 9000 psi) applied 300, 320 and 330 min after insemination for 3 min duration to eggs fertilized by genetically inactivated sperm to produce gynogenetic rainbow trout (*O. mykiss*).

The best result regarding eyed eggs, yolk-sac larvae, feed started fry were obtained at 300 min after insemination and 7000 psi pressure as 44.9%, 36.1% and 32.8%, respectively. In contrast, the lowest result were obtained at 320 min after insemination and 9000 psi pressure as 6.4%, 1.8% and 1.1%, respectively (P<0.05). Same data in control groups were as 82.7-87.9%, 73.3-75.7%, 62.7-67.31% respectively and higher than all other treatments and the differences were statistically important (P<0.05). It was concluded from the experiments that increases in treatment time and pressure reduced the achievement ratio.

Key Words: Rainbow trout (*O. mykiss*), gynogenesis, pressure shocks, inactivated sperm, hatching

Giriş

Ginogenezis, genetik olarak inaktif hale getirilmiş erkek eşey hücresi (sperm) ile dölenen yumurtanın gelişmesiyle meydana gelen partogenetik üremenin özel bir durumudur (Palti, 1997). Ginogenezis uzun zamandan beri yapılan geleneksel metodlarla karşılaştırıldığında aynı soydan hatların üretimi için oldukça hızlı bir metoddur (Refstie, 1983).

Ginogenetik tekniklerin uygulanmasıyla erken olgunlaşan ve üremeleri kontrol edilemeyen balıkların yetiştiriciliğinde % 100 monoseks populasyonların oluşturulması sırasında meydana gelen aksaklıkların giderilmesi, monoseks populasyonun bozulmaması için hormon muamelesi ile cinsiyeti saptırılan balıkların erkek damızlık stoğu yerine geçerek tüm sistemlerde erkek genotip olmaksızın üretimin sürdürülmesi mümkün olabilir. Ayrıca selektif yetiştiricilik sistemleriyle karşılaştırıldığında;

zaman tasarrufu sağlanması, popüler akvaryum balıklarının aynı soydan olan hatlarının üretimine olanak sağlanması, alternatif üretim metodlarına yer verilerek tamamen dişi ve triploid stoklarının oluşturulması ile erken seksüel olgunlaşmadan dolayı meydana gelen ekonomik kaybın azaltılması gibi yararlar sağlar (Pandian and Varadaraj, 1990).

Ginogenezis uygulamalarında yumurta içine nüfuz eden erkek eşey hücresinin nükleusu, yumurta plazmasında genetik olarak aktif olmayan bir yapıdadır ve embriyonun genetik yapısının gelişimi sadece anneye ait kalıtım ile kontrol edilir.

Ginogenetik bireylerin olgun yumurtaları ortamda erkek eşey hücresi bulunmadığı zaman embriyoyu oluşturmak için harekete geçmemektedir. Bu nedenle

* Bu araştırma Ankara Üniv. Araştırma Fonu ile TÜBİTAK VHAG tarafından desteklenmiştir.

¹Ankara Üniv. Ziraat Fak. Su Ürünleri Bölümü-Ankara

ginogenetik üremede olgun yumurtaları aktif hale getirecek erkek eşey hücrelerinin bulunması başarı için zorunludur. Bununla birlikte ginogenetik üremede, genetik olarak etkisiz olan erkek eşey hücrelerinin, tam olarak rolü belirlenememiştir. Ancak hücre bölünmesi için gerekli olan sentrozomun iletilmesinin, olgun yumurtaların harekete geçmesinde etkili olabileceği düşünülmektedir (Kırpichnikov, 1981).

Erkek eşey hücrelerinin genetik olarak inaktif hale getirilmesi, dişi kromozomların redüksiyonunun önlenmesi ve haploid ya da diploid embriyoların ilk mitoz bölünmesinin engellenmesine yönelik çeşitli uygulamalar ginogenezisteki başarının temel ölçütleridir (Chourrout, 1984).

Erkek eşey hücrelerindeki kromozomların genetik olarak etkisiz hale getirilmesi kimyasal mutajenlerle (dimetil sülfat) yapılabilmektedir. Fakat kimyasal mutajenlerin öldürücü etkileri olduğundan kullanım sınırları çok dardır (Düzgüneş ve Ekingen, 1983). Bu nedenle son zamanlarda X ışınları, gama ışınları ve UV ışınları kullanılmaktadır (Don Avtalion, 1988). En yaygın kullanılan teknik ise UV ışını radyasyonudur (Chourrout, 1984). Şekil 1 incelendiğinde erkek eşey hücrelerinin ışınlanıp, genetik olarak etkisiz hale getirilmesi ve normal bir yumurtanın dölleneceği sonucunda, haploid ginogenetik bireyler oluşmaktadır. Fakat bu bireylerde haploid sendromu olarak adlandırılan, vücutlarında deformasyonlar ve kısalma gibi tipik kusurlar, perikardiumun aşırı su toplaması ve pigmentasyon azalmaları gibi gelişme ile ilgili bozukluklar meydana gelebilmektedir. Bu yüzden haploidler, embriyonik gelişmenin sürdüğü dönemde sağlıklı olup, yumurtadan çıkışta ya da birkaç gün sonra ölürler (Kırpichnikov, 1981).

Balık yumurtalarının, yumurta olgunluğu mayozun ikinci metafazındadır ve kromozom sayısının redüksiyonunu içerir. Erkek eşey hücresi yumurtaya dahil olduğu zaman yumurta hücresi henüz ikinci metafaz safhasındadır. Bu dönemde, ışınlarla genetik olarak etkisiz hale getirilmiş erkek eşey hücreleriyle dölleneceği ve sıcaklık ya da basınç şokuyla polar cismin tutulması sonucu diploid heterozigot ginogenetik döllere elde edilmektedir (Şekil 1).

Işınlarla genetik olarak etkisiz hale getirilmiş erkek eşey hücreleriyle döllenen yumurtaların birinci mitoz bölünmesinin sıcaklık ya da basınç şokuyla engellenmesiyle anaya ait kromozom takımının ikiye katlanması sağlanır. Bu tür döllere diploid homozigot ginogenetik döllere denir ve bu döllerin tamamı anneye ait kalıtları taşır (Şekil 1).

Ginogenetik döllere elde etmek amacıyla spermayı genetik olarak inaktif hale getirmede uygulanan muameleler de oldukça önemli olup, bu amaçla Chourrout (1984) tarafından kobalt-60 kullanılarak 100 ve 135 krad radyasyona maruz bırakılan spermalarla yumurtaları döllemeden 290, 320 ve 350 dakika sonra 3 dakika süreyle 7000 psi basınç uygulamasında kuluçka randımanı (%0,%0; %2, %7; %5,%8) ve ilk yem alma

dönemindeki yaşama oranı (%1,%1; %0,%4; %1,%3) en yüksek 135 krad radyasyon uygulanan spermalarla döllenen ve döllemeden sonra 320 ile 350. dakikada basınca maruz bırakılan gruplarda olmuştur.

Tür farklılığı da ginogenetik döllere elde etmede önemli olup, türlere göre başarı oranında geniş bir varyasyon söz konusudur. Onozato (1984) genetik olarak inaktif hale getirilmiş *O. keta* türünde erkek eşey hücreleriyle yumurtaların dölleneceğinden 300 ve 330 dakika sonra 6 dakika süreyle 650 kg/cm² (yaklaşık 9285 psi) basınç uygulamasıyla sırasıyla % 33.3 ile %16.7 oranında normal emriyo elde etmiştir. Aynı muamelelerin *O. masou* türüne uygulanması ise tamamen başarısızlıkla sonuçlanmıştır.

Chourrout (1992), gökkuşağı alabalığında (*O. mykiss*) genetik olarak inaktif hale getirilmiş erkek eşey hücreleri ile yumurtaların 10 °C'de dölleneceğinden sonra 300, 320 ve 330. dakikalarda 8500 ve 10000 psi basınç şokunu ayrı ayrı 3 dakika süreyle uygulamış, kuluçka randımanını sırasıyla %0, %4, %3 ve % 7.5, %13, %23 olarak, ilk yem alma dönemindeki yaşama oranını ise 320. dakikada 8500 psi'de %3, 10000 psi'de %11 olarak tespit etmiştir.

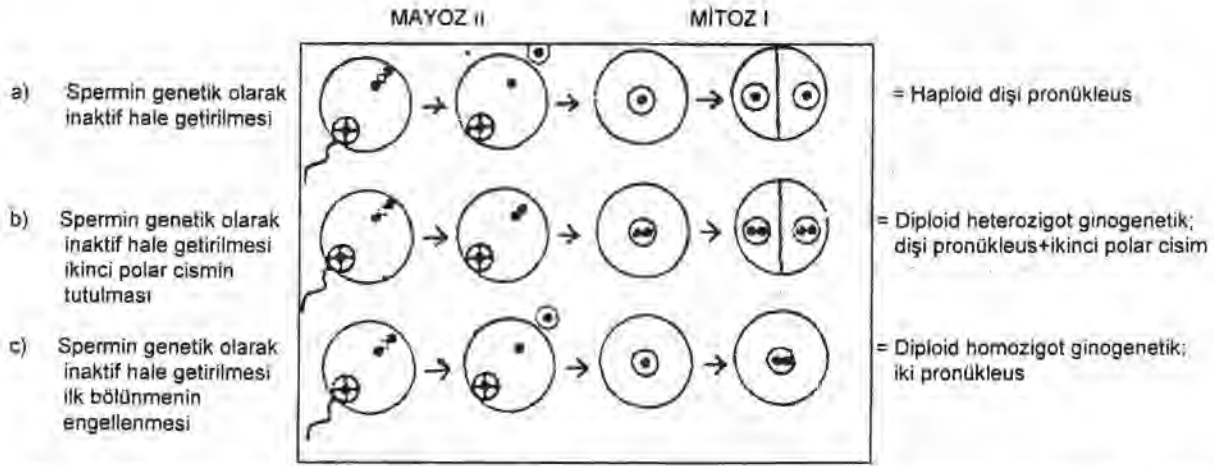
Palti et al (1997) ise gökkuşağı alabalıklarında (*O. mykiss*) genetik olarak inaktif hale getirilen erkek eşey hücreleri ile 9.1 °C de döllemeden sonra 300. dakikada 3 dakika süreyle 9000 psi basınç uygulamasında kuluçka randımanının %0.44 olduğunu belirtmiştir. Dölleneceği sıcaklığı 8.8, 9.3 ve 9.6 °C döllemeden sonraki uygulama zamanını 330 dakikaya çıkararak her bir uygulama için farklı damızlık kullanarak 3 dakika süreyle 9000 psi basınç uyguladığında; dölleme sıcaklığına göre sırasıyla %25-%28.81, %3.49-4.20 ve %2.85 oranlarında kuluçka randımanı elde etmiştir.

Yukarıdaki literatür verilerinden görüldüğü gibi, spermanın inaktif hale getirilmesi, dölleme sıcaklığı, basınç şokunun döllemeden sonra uygulama zamanı, şok süresi, seçilen damızlıkların özelliği ve türe bağlı olarak ginogenetik döllere elde etmedeki başarı oranında önemli farklılıklar görülebilmektedir. Bu nedenle söz konusu faktörlerin ayrı ayrı ya da bir arada deneyerek en başarılı olabilecek uygulamaların tespiti oldukça önemlidir. Bu çalışmayla mitotik ginogenetik tekniklerin geliştirilmesine yönelik olarak; dölleme sıcaklığı, döllemeden sonraki uygulama zamanı ve basınç şokunun farklı kombinasyonları deneyerek gözlenmiş yumurta oranı, keseli larva oranı ve yem almaya başlamış yavruların yaşama oranı tespit edilmiştir.

Materyal ve Yöntem

Damızlık olarak T.C. Orman Bakanlığı Çerkeş Orman Fidanlık Müdürlüğünden temin edilen 4 yaşında 6 erkek, 9 dişi gökkuşağı alabalığı (*O. mykiss*) kullanılmıştır.

Basınç şoku için 130 mm uzunluğunda 40 mm çapında paslanmaz çelikten haznesi olan ve 10.000 psi'ye kadar basınç uygulanabilen hidrostatik basınç ünitesi kullanılmıştır.



Şekil 1. Spermin genetik olarak inaktif hale getirilmesi (a), ikinci polar cismin tutulması (b) ve ilk hücre bölünmesinin engellenmesi (c) (Chourrout 1984).

Yumurtaların kuluçkası; bir soğutma sistemi yardımıyla su sıcaklığı yaklaşık 13.5 °C de tutulan, 210 litrelik fiberglas tank üzerine yerleştirilen ve kapalı dolaşım ile ayrı ayrı su akışı verilen her biri 7 bölmeye ayrılmış 4 adet yuvarlak kuluçka tablası kullanılarak sağlanmıştır.

Sağım işlemi her seferinde 3 dişi 2 erkek damızlık kullanılarak elle yapılmıştır. Spermaların inaktif hale getirilmesi için (4 mM KCl, 135.5 mM NaCl, 4.2 mM $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 1.25 mM $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 1.25 mM $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) ve (%0.5 NaHCO_2 ile %0.5 glukoz) içeriğinde iki ayrı çözelti hazırlanarak 4 °C de muhafaza edilmiş, kullanımdan önce 1 ve 2. çözelti (99+1) oranında karıştırılmıştır. Erkek damızlıklardan sağılan eşey hücreleri %5 oranında bu iki çözeltiden hazırlanan karışımla seyreltilmiş, 5 cm çapında bir petri kutusuna 3 ml koyulup, manyetik karıştırıcı ile karıştırılarak 15 W'lık UV lambasıyla (254 nm) 45 cm yükseklikten 3 dakika süreyle ışınlanmıştır. Dişilerden sağımla alınan ve kontrol grubu dışındaki muamele gruplarını oluşturan yumurtalar bu spermalarla 13.5 °C ortam sıcaklığında döllenmiştir (Paltı et al, 1997).

Araştırmada, (3x3x2) faktöriyel deneme planına uygun olarak 3 farklı basınç şoku (7000, 8000, 9000 psi) döllenmeden 300, 320, 330 dakika sonra 3 dakika süreyle uygulanmış ve yumurtalar kuluçka tablasına yerleştirilmiştir. Kuluçka süresince ortalama su sıcaklığı 13,8±0,48 °C olmuştur.

Kuluçka dönemindeki gözlekeli yumurta, keseli larva ve yem almaya başlamış yavru miktarı direk sayımla belirlenmiş ve her dönem için oransal (%) olarak ifade edilmiştir.

Oransal olarak hesaplanan verilere arcsin transformasyonu uygulandıktan sonra varyans analizi yapılmış, grup ortalamalarının karşılaştırılmasında Duncan testi kullanılmıştır (Komen et al., 1991). Bu amaçla Minitab

for Windows 10.5 ve MSTAT-C paket programlarından yararlanılmıştır ($\alpha=0,05$).

Bulgular ve Tartışma

Genetik olarak inaktif hale getirilmiş spermalarla 13.5 °C ortam sıcaklığında döllenmiş yumurtalara döllenmeden 300, 320, 330 dakika sonra farklı basınç (7000, 8000, 9000 psi) kombinasyonlarının 3 dakika süreyle uygulanmasının gözlekeli yumurta, keseli larva ve yem almaya başlamış yavru elde edilmesine ilişkin sonuçları Çizelge 1'de verilmiştir.

7000 psi basınç uygulamasında yumurtaların gözlenme oranı, keseli larva ve yem almaya başlamış yavru oranı en yüksek döllenmeden 300 dakika sonra uygulanan basınç şoku ile sırasıyla %44.9, %36.1 ve %32.8 olarak; en düşük ise döllenmeden 330 dakika sonra uygulanan basınç şoku ile %25.2, %18.4 ve %14.8 olarak belirlenmiştir (Şekil 2). Bu iki grup istatistik olarak farklı ($P<0.05$) olmakla birlikte, ikisi arasında değişen değerler gösteren 320. dakikadaki uygulama (2. grup) gözlekeli yumurta açısından 1. gruba benzer ($P>0.05$), keseli larva ve yeni yem almaya başlamış yavru açısından her iki gruptan da farklı olmuştur ($P<0.05$).

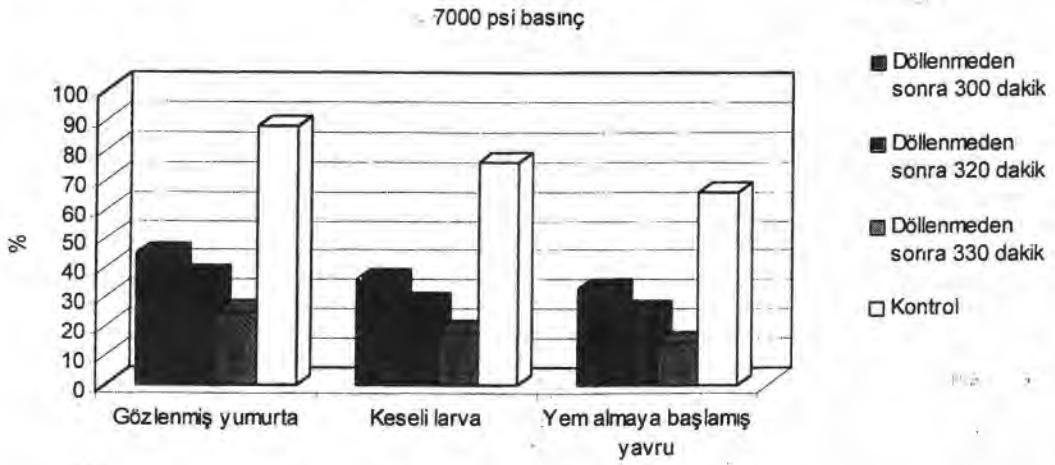
8000 psi basınç uygulamasında her üç parametre açısından döllenmeden 300 dakika sonra muamele edilen 4. grup sırasıyla %29.6, %17.9, %16.7 olarak en yüksek değerleri almış, bunu 330 (6. grup) ile 320 (5. grup) dakika sonra şok uygulanan gruplar (%26.1, %14.9, %12.8) ve (%19.0, %13.4, %11.6) şeklinde takip etmiştir (Şekil 3). Sadece göz lekeli yumurta döneminde 5. grup diğer iki gruptan (4 ve 6) istatistik farklılık göstermiş ($P<0.05$) diğer dönemlerde önemli bir farklılık olmamıştır ($P>0.05$).

9000 psi basınçta bütün parametreler en yüksek 300. (7. grup) en düşük 320. (8. grup) dakikalardaki uygulamalarda olmuş (Şekil 4), ancak gruplar arasındaki farklılıklar istatistik olarak önemsiz bulunmuştur ($P>0.05$).

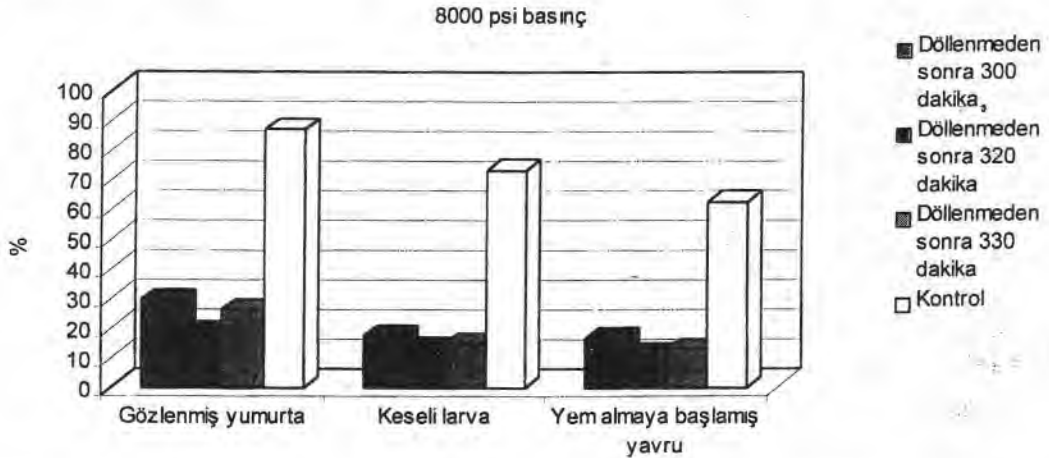
Çizelge 1. Farklı basınç ve sürelerde uygulanan mitotik ginogenez sonuçları

Muamele grupları	Basınç	Döllenmeden sonra şoklama zamanı	Şok süresi	Toplam yumurta	Gözlenmiş yumurta		Keseli larva		Yem almaya başlamış yavru	
	(psi)	(dk)	(dk)	(adet)	(adet)	(%)	(adet)	(%)	(adet)	(%)
Kontrol I				667±43,98	589±6,50	87,9 a*	505±44,00	75,7 a	438±61,00	65,7 a
1	7000	300	3	1212±7,99	544±45,00	44,9 b	437±36,00	36,1 b	398±33,00	32,8 b
2	7000	320	3	1079±7,00	406±18,99	37,6 bc	302±14,00	28 c	273±13,00	25,3 c
3	7000	330	3	973±30,41	245±37,00	25,2 cd	179±27,00	18,4 d	144±22,00	14,8 d
Kontrol II				686±62,50	598±15,50	87,2 a	503±42,00	73,3 a	430±52,50	62,7 a
4	8000	300	3	742±8,49	220±9,99	29,6 cd	133±6,00	17,9 d	124±6,00	16,7 d
5	8000	320	3	821±4,95	156±33,00	19,0 de	110±23,00	13,4 d	95±20,00	11,6 d
6	8000	330	3	744±2,97	194±14,00	26,1 cd	111±8,00	14,9 d	95±7,00	12,8 d
Kontrol III				730±18,53	604±9,00	82,7 a	547±2,00	74,9 a	491±8,50	67,3 a
7	9000	300	3	1326±5,02	131±26,00	10 ef	47±9,00	3,5 e	37±7,00	2,8 e
8	9000	320	3	1339±3,47	86±26,99	6,4 f	24±7,00	1,8 e	15±4,00	1,1 e
9	9000	330	3	1360±7,99	101±13,00	7,4 f	38±5,00	2,8 e	31±4,00	2,3 e

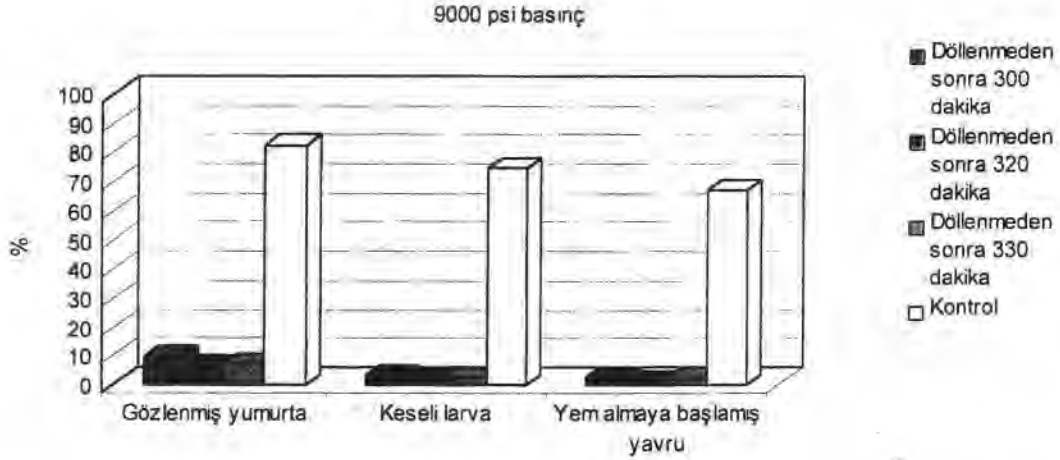
- Farklı harfler gruplar arası farklılığın önemli olduğunu göstermektedir (P<0,05)



Şekil 2. 7000 psi basınç uygulanan ginogenetik gökkuşuğu alabalığı yumurtalarında gözlenme, keseli larva ve yem almaya başlamış yavru oranı



Şekil 3. 8000 psi basınç uygulanan ginogenetik gökkuşuğu alabalığı yumurtalarında gözlenme, keseli larva ve yem almaya başlamış yavru oranı



Şekil 4. 9000 psi basınç uygulanan ginogenetik gökkuşağı alabalığı yumurtalarında gözlenme, keseli larva ve yem almaya başlamış yavru oranı

Yumurtaların döllenmesinden sonraki zaman ve basınç şoku (Şekil 5) dikkate alınarak genel bir değerlendirme yapıldığında; göz lekeli yumurta, keseli larva ve yem almaya başlamış yavru itibarıyla en iyi sonuçlar %49.9, %36.1 ve %32.8 olarak döllenmeden 300 dakika sonra 7000 psi basınç uygulanan grupta, en kötü sonuçlar ise %6.4, %1.8 ve %1.1 olarak döllenmeden 320 dakika sonra 9000 psi basınç uygulanan grupta tespit edilmiştir.

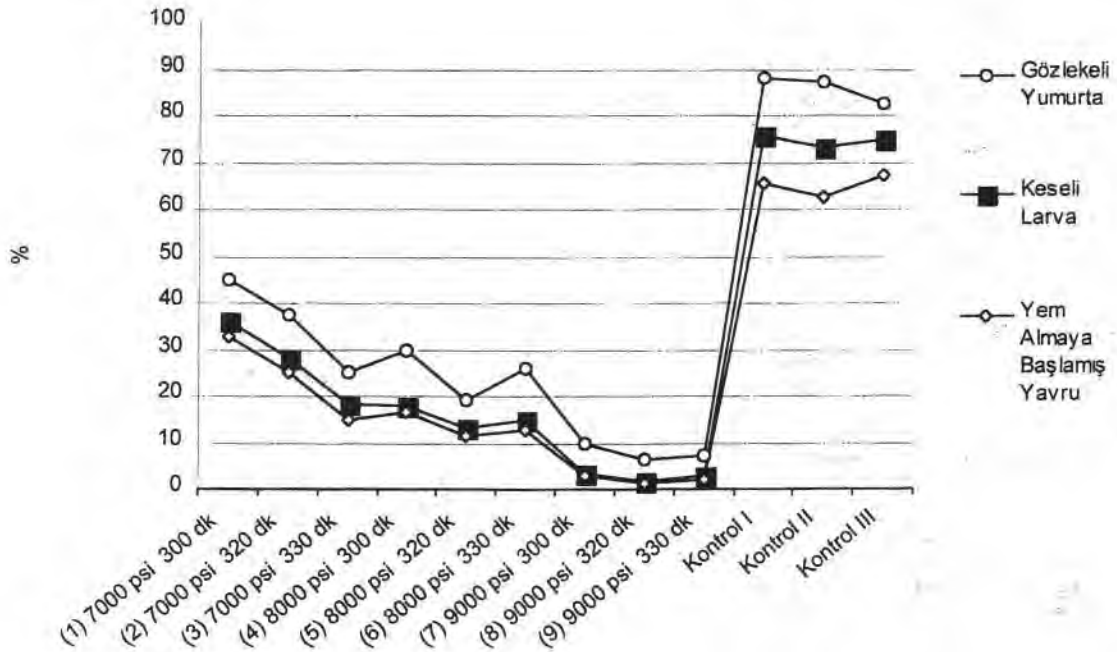
Çalışmamızda, 7000 psi basınç şokunda elde ettiğimiz bulgular Chourrout (1984)'un kobalt-60 radyasyonu ile inaktif hale getirdiği spermalarla döllenmeden 290, 320 ve 350 dakika sonra 7000 psi basınçla elde ettiği değerlerden oldukça yüksektir. Döllenme sorası basınç şokunun uygulama zamanı aynı olmasına rağmen bulgularda ortaya çıkan önemli farklılıklara damızlık farklılığı yanında spermaları inaktif hale getirmek için kullanılan metodlardaki değişiklikler yol açmış olabilir ve muhtemelen kobalt-60 radyasyonu spermalara zarar vererek yumurtaların döllenmemiş olmasına yol açabilir. Ancak bu iki uygulamanın (kobalt-60 ve UV radyasyonu) bir arada aynı koşullarda denenmesi şüphesiz daha gerçekçi yorumlara imkan sağlayacaktır.

9000 psi basınçtaki bulgularımız ise Palti et al (1997)'nin 9.1, 9.3 ve 9.6 °C de döllenmeden 300 ve 330 dakika sonra aynı basınç şokunu uyguladığı sonuçlarla (%0.44-4.20) benzer, 8.8 °C de döllenmeden elde ettiği (%25-28.81) kuluçka randımanından düşüktür ki, bu farklılık söz konusu araştırmacının bulgularından da fark edileceği gibi yumurtaları döleme ve kuluçka sıcaklığındaki farklılıktan kaynaklanmış olabilir. Nitekim Quillet et al (1991) yüksek sıcaklığın embriyonik gelişmeyi artırdığı ve I. mitoz bölünmenin engellenmesinde optimum zamanı yakalayabilmek için şok uygulamasının daha erken döneme alınması gerektiğini bildirmiştir. Aksi

taktirde yumurtalar hasar görmekte ve yüksek düzeyde kayıplar söz konusu olabilmektedir. 13.5 °C ortam sıcaklığında döleme yapıldıktan sonra 300, 320 ve 330 dakikalarda 3 farklı basınç şokunda muamele zamanındaki artışa paralel olarak başarı oranındaki düşüşler bu görüşü desteklemektedir. Basınç farklılıkları ihmal edilip muamele zamanlarına göre bir karşılaştırma yapıldığında gözlekeli yumurta, keseli larva ve yem almaya başlamış yavru oranları; 300 dakikalarda ortalama %28.16, %19.17, %16.73, 320 dakikalarda %21, %14.4, %12.67 ve 330 dakikalarda %19.56, %12.03 ve %9.75 olarak tespit edilmiştir. Söz konusu parametreler muamele zamanı ihmal edilip basınç uygulamalarına göre değerlendirildiğinde ise; 7000 psi'de ortalama % 35.9, %27.5, %24.3, 8000 psi de %24.9, %15.4, %13.7 ve 9000 psi de %7.93, %2.7, %2.06 olarak artan basınçla azalan bir başarı görülmektedir. Bu durumda; deneme koşulları içerisinde 13.5 °C ortam sıcaklığında dölemeden sonraki muamele zamanı ve basınca bağlı olarak başarı oranının azalması 7000 psi basıncın daha erken dönemlerde uygulanması yanında daha düşük basınç şoklarının da test edilmesi gerektiğini ortaya koymaktadır.

Sonuç

Yukarıdaki açıklamalardan da görüleceği üzere ginogenetik döller elde etmek için; spermayı inaktif hale getirmede uygulanan metodlar, damızlık farklılığı, döleme, aşırı olgunlaşma nedeniyle yumurtaların hasar görme riski ve kuluçka sıcaklığı, uygulanan şok cinsi ve miktarı (soğuk, sıcak, basınç), döllenmeden sonraki muamele zamanı ve süresine bağlı olarak çok büyük farklılıklar olabilmektedir (Palti et al., 1997). En yüksek başarının yakalanabilmesi ise farklı kombinasyonların geniş ölçekte bir arada denenmesiyle mümkün görünmektedir.



Şekil 5. Farklı basınç ve sürelerde uygulanan mitotik ginogenez sonuçları (%)

Kaynaklar

- Bidwell, C. A., Chrisman, C. L. and G.S. Libey, 1985. Polyploidy Induced by Heat Shock in Channel Catfish. *Aquaculture*, 51, 25-32.
- Chourrout, D., 1980. Termal Induction of Diploid Gynogenesis and Triploidy in the Eggs of the Rainbow Trout (*Salmo gairdneri* Richardson). *Reprod. Nutr. Dev.*, 20: 727-733.
- Chourrout, D., 1982. Gynogenesis Caused by Ultraviolet Radiation of Salmonid Sperm. *J. Exp Zool* 223:175-181.
- Chourrout, D. and J. Itskovich, 1983. Three Manipulations Permitted by Artificial Insemination in Tilapia: Induced Diploid Gynogenesis, Production of All Triploid Populations and Intergeneric Hybridization. in: *Int Symp on Tilapia in Aquaculture*. Nazareth, Israel, Pp 246-255.
- Chourrout, D., 1984 Pressure - Induced Retention of Second Polar Body and Suppression of First Cleavage in Rainbow Trout Production of All-Triploids and Heterozygous and Homozygous Diploid Gynogenetics. *Aquaculture*, 36, 111 - 126.
- Don J. and R.R. Avtalion, 1986. The Induction of Triploidy in *Oreochromis aureus* by Heat Shock. *Teor. Appl. Genet.* 72:186-192
- Düzgüneş, O. ve H.R. Ekingen, 1983. *Genetik- Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları: 555, Ders kitabı: 187 (ikinci baskı) Ankara Üniversitesi Basımevi-Ankara.*
- Foisil, L. and D. Chourrout, 1992. Chromosome Doubling by Pressure Treatments for Tetraploidy and Mitotic Gynogenesis in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss* (Walbaum)):Re-Examination and Improvements. *Aquaculture and Fisheries Management*, 23, 567-575.
- Hollebecq, M.G., Chourrout, D., Wohlfarth, G. and R. Billard, 1986. Diploid Gynogenesis Induced by Heat Shocks After Activation With UV-Irradiated Sperm in Common Carp. *Aquaculture*, 54, 69-76.
- Ijiri, K.I. and N. Egami, 1980. 'Hertwig Effect' Cause by UV-Irradiation of Sperm *Oryzias Latipes* (Teleost) and Its Photoreactivation. *Mutat Res* 69:241-248.
- Kirpichnikov, V. S. 1981. *Genetic Bases of Fish Selection* Springer-Verlag Berlin Heidelberg Newyork, 255-273.
- Komen, J., Bongers, A.B.J., Richter, C.J.J., Muiswinkel, W.B. and E.A. Huisman, 1991. Gynogenesis in Common Carp (*Cyprinus carpio* L.) II. The Production of Homozygous Gynogenetic Clones and F1 Hybrids. *Aquaculture*, 92 : 127-142.
- Lemoine, H. L. and L.T. Smith, 1980. Polyploidy Induced in Brook Trout By Cold Shock. *Trans. Am. Fish. Soc.*, 109:626-631.
- Lincoln, R. F., Aulstad, D. and A. Grammelvedt, 1974. Attempted Triploid Induction in Atlantic Salmon (*Salmo salar*) Using Cold Shock. *Aquaculture* 4, 287-290.

- Linhart, O., Kvasnicka, P., Slechtova, V. and J. Pokorny, 1986. Induced Gynogenesis By Retention of the Second Polar Body in Common Carp, *Cyprinus Carpio* L., and Heterozygosity of Gynogenetic Progeny in Transferrin and Ldh-B¹ Loci. *Aquaculture*, 54:63-67.
- Nagy, A., Rajki, K., Harvath, L. and V. Csanyi, 1978. Investigation on Carp, *Cyprinus carpio* L. Gynogenesis. *J. Fish Biol.*, 13:215-224.
- Onozato, H. 1982. The "Hertwig Effect" and Gynogenesis in Chum Salmon *Oncorhynchus keta* Eggs Fertilized With ⁶⁰Co γ -Ray Irradiated Milt. *Bull. Jpn. Soc.Sci. Fish.*,48:1237-1244 (in Japanese With English Summary).
- Onozato, H. 1984. Diploidization of Gynogenetically Activated Salmonid Eggs Using Hydrostatic Pressure. *Aquaculture*, 43:91-97.
- Quillet, E., G. Pascale, and R. Guyomard, 1991. Analysis of All Homozygous Lines of Rainbow Trout by Gynogenesis. *Journal of Experimental Zoology* 61:2411-2416.
- Palti, Y., Li J.J. and G.H. Thorgaard, 1997. Improved Efficiency of Heat and Pressure Shocks for Producing Gynogenetic Rainbow Trout. *The Progressive Fish-Culturist*, 59:1-13.
- Pandian, T.J. and K. Varadaraj, 1990. Development of Monosex Female *Oreochromis Mossambicus* Broodstock by Integrating Gynogenetic Technique with Endocrine Sex Reversal. *Thejournal of Experimental Zoology*, 255: 88-96.
- Pogany, G. C. 1971. Effect of Sperm Ultraviolet Irradiation on the Embryonic Development of *Rana pipiens*. *Dev. Biol.* 26:336-345.
- Purdom, C. E. 1969. Radiation Induced Gynogenesis and Androgenesis in Fish. *Heredity*, 24:431-444.
- Reftsie, T., Stoss J. and E.M. Donaldson, 1982. Production of All Female Coho Salmon (*Oncorhynchus kisutch*) by Diploid Gynogenesis Using Irradiated Sperm and Cold Shock. *Aquaculture* 29:67-82.
- Refstie, T. 1983. Induction of Diploid Gynogenesis in Atlantic Salmon and Rainbow Trout Using Irradiated Sperm and Heat Shock. *Canadian Journal of Zoology* 61:2411-2416.
- Stanley, J. G. 1981. Manipulation of Developmental Events to Produce Monosex and Sterile Fish. *Rapp. P.-V. Reun., Cons. Int. Explor. Mer*, 178:485-491.
- Stresinger, G., Walker, C., Dower, N., Knauber D. and E. Singer, 1981. Production of Clones and Homozygous Diploid Zebra Fish (*Brachydanio rerio*). *Nature* 291, 293-296.
- Suzuki, R., Oshiro, T. and T. Nakanishi, 1985. Survival, Growth and Fertility of Gynogenetic Diploids Induced in the Cyprinid Loach, *Misgurnus anguillicaudatus*. *Aquaculture* 48:45-55.
- Thorgaard, G., Jazwin, M.E. and A.R. Stier, 1981. Polyploidy Induced by Heat Shock in the Rainbow Trout. *Trans. Am. Fish. Soc.*, 110:546-550.
- Thompson, D., and A.P. Scott, 1984. An Analysis of Recombination Data in Gynogenetic Diploid Rainbow Trout. *Heredity*, 53:441-452.
- Volckaert, F. A. M., Galbusera, P., Hellemans, B., Van Den Haute, C., Vanstaen, D. and F. Ollevier, 1994. Gynogenesis in the African Catfish (*Clarias Gariepinus*): I. Induction of Meiogynogenesis with Thermal and Pressure Shocks. *Aquaculture*, 128, 221-233.