

# **PROJE SONUÇ RAPORU**

Pasifik Beyaz Karidesinin (*Litopenaeus vannamei*) Mevsim-Dışı  
Olgunlaştırılıp Yumurtlatılması

**PROJE KODU: 109O004**

Prof. Dr. Metin KUMLU  
Yüksek Lisans Öğrencisi Serhat TÜRKMEN  
Yüksek Lisans Öğrencisi Mehmet KUMLU

**EYLÜL 2009/ADANA**

## ÖNSÖZ

Dünya'da karides yetiştiricilik sektörü hızla büyümeye devam etmektedir. FAO'nun verilerine göre, 2006 yılında, özellikle Güneydoğu Asya ülkeleri başta olmak üzere, dünyada 50'nin üzerinde ülkede yetiştirilen karides miktarının 3.164.384 tona kadar çıktığı ve ekonomik değerinin yılda 12.485.824 milyar ABD\$'nı bulduğu bildirilmektedir. Aslında, yan sanayi kollarıyla (yem, imalat, kimyasallar, işleme, depolama, ticari faaliyetler, pazarlama vb.) bu rakamın çok daha yüksek olduğu ve hatta bazı ülkeler için (Tayland, Ekvator, Vietnam vb.) temel gelir getirici sektör haline dönüştüğü bilinmektedir. İslah çalışmaları ile daha hızlı büyüyeabilen (CPF-Turbo Genetically Improved) ve hastalıklara daha dirençli [SPF veya SPR (Specific Pathogen Free veya Specific Pathogen Resistant)] varyeteleri geliştirilen Pasifik beyaz karidesi (*Litopenaeus vannamei*), son 5 yıl içerisinde hızla yaygınlaşarak, açık ara farkla (2006 yılında 2.133.381 ton) yetiştiriciliği en çok yapılan karides türlerinden birisi haline gelmiştir.

Bilindiği gibi, ülkemizde son 5 yıl içerisinde su ürünleri yetiştiricilik sektörü çok hızlı bir büyüme göstermiş ve bu alanda alabalık ve çipura/levrek yetiştiriciliğinde büyük mesafeler kat edilmiştir. Ancak son zamanlarda, yurtiçi piyasasının bu ürünlerle aşırı doyurulması, yetiştiriciliği yapılan bu ürünlerin fiyatlarının düşmesi ve üreticilerin sürdürülebilir üretim yapmakta zorlanmalarına neden olmuştur. Ülkemizde yeni bazı su ürünleri türlerinin üretimine geçilmesi (örneğin başka balık türleri, midye ve özellikle de ekonomik değeri yüksek olan karides gibi) piyasayı rahatlatacak ve üreticilerin daha yüksek kazançlarla satış yapabilmelerine olanak yaratacaktır.

Ülkemizin Akdeniz kıyıları; yarı-tropik iklim koşulları, uzun kıyısız bölgeleri, temiz suları ve Avrupa piyasasına yakınlığı ile karides yetiştiriciliğine uygun koşullara sahip bir coğrafya üzerinde yer almaktadır. Tropik ülkelerde mevsim sınırlaması olmadığı için, 3 aşamada (kuluçkahane, ön-büyütme ve büyüme) gerçekleştirilen karides yetiştiriciliği yılın herhangi bir döneminde yapılabilmektedir. Oysa ülkemizin Akdeniz kıyılarında sezon sınırlaması vardır ve büyüme aşamasının ekonomik olabilmesi için karides yavrularının Mayıs ayında havuzlara stoklanmaları ve Ekim ayı sonunda da hasat edilmeleri (5-6 aylık bir büyüme periyodundan sonra) gerekmektedir. Sezon sınırlamasının temel nedeni karideslerin biyolojik gereksinimleriyle ilgilidir; karidesler en hızlı büyümeyi 28-30 °C su sıcaklığında gösterirler, ancak su sıcaklığı 20 °C'nin altına indiğinde büyümeleri yavaşlar ve kış aylarında su sıcaklığının 11-12 °C'nin altına inmesi halinde ise ölüm riski ile karşı karşıya kalırlar. İşte bu nedenlerden dolayı, Akdeniz Bölgesi'nde karides yetiştiriciliğinin başarılı olabilmesi öncelikle üretimin sürekliliğinin sağlanmasına (yıl boyunca yayılması) ve soğuk kış ayları süresince karidesin üremesinin kontrol altına alınarak yavru üretiminin gerçekleştirilebilmesine bağlıdır. Bu hedefe ulaşılabilmesi; kuluçkahane ve ön-büyütme aşamalarının kış aylarında bina veya seralar içerisinde, özel ısıtma yöntemleri kullanılarak, resirküle sistemlerde yürütülmesiyle olanaklı hale gelebilir. Dolayısıyla, tropik ülkelerde uygulanan üretim yöntemlerinden farklı olarak, bu sektörün geliştirilebilmesi ve sürekliliği için ülkemizin Akdeniz koşullarına uygun olabilecek yetiştiricilik modelleri ve stratejilerinin geliştirilmesi son derece önem arz etmektedir. Bu proje ile ilk ve en önemli adımlardan birisi olarak üniversitemizde anaç stoku oluşturulan bu karides türünün üremesinin kontrol altına alınabilmesi ve yıl boyunca yavru üretiminin (özellikle mevsim-dışında) başarılabilmesi hedeflenmiştir.

Bu projenin gerçekleştirilmesine finansal destek veren başta TÜBİTAK olmak üzere, SARUS Deniz ve Su Ürünleri Limited Şirketi'ne, deneme esnasında yardımlarını esirgemeyen Çukurova Üniversitesi Öğretim elemanlarından Doç. Dr. O. Tufan EROLDOĞAN'a, Ar. Gör. Asuman YILMAZ'a ve Yumurtalık Deniz Ürünleri Araştırma İstasyonu'nun değerli personeline teşekkürlerimi bir borç bilirim.

5 Ekim 2009

**Prof. Dr. Metin KUMLU**

## İÇİNDEKİLER

	<b><u>SAYFA</u></b>
TABLolar LİSTESİ .....	4
ŞEKİLLER LİSTESİ .....	5
ÖZET .....	6
ABSTRACT .....	7
1. GİRİŞ .....	8
2. GENEL BİLGİLER .....	9
3. GEREÇ VE YÖNTEM .....	11
3.1. İstatistik Analizler .....	17
4. BULGULAR .....	18
4.1. Resirküle Sistem .....	18
4.2. Ovaryum Gelişimi ve Çiftleşme .....	18
4.3. Yumurtaların Morfolojisi ve Embriyonik Gelişim .....	25
5. TARTIŞMA .....	28
6. SONUÇ VE ÖNERİLER .....	34
7. LİTERATÜR .....	36

## TABLolar LİSTESİ

	<u>SAYFA</u>
Tablo 1. Çalışmada yürütölen denemedeki koşullar (Grup 1: Kontrol, Grup 2: Serotonin Enjeksiyonu, Grup 3: Gözsapı Kesimi, Grup 4: Sıcaklık Dalgalanması, Grup 5: Gözsapı Kesimi).	13
Tablo 2. Deneme süresince elde edilen yumurtlama sayısı, her yumurtlamada elde edilen ortalama yumurta sayısı, döllölük oranı, açılma oranı ve kabuk değıştirme sayısı K: hiçbir muameleye tabi tutulmamış ve E: serum fizyolojik solüsyon enjekte edilmiş gruplara aittir. Yumurta sayısı, döllölük ve açılma oranları ile ilgili her değeri bir ortalama ± standart sapmayı göstermektedir. Farklı harflerle işaretlenen ortalamalar birbirlerinde istatistiki olarak farklıdır ( $P<0.05$ ).	25

#### IV. ŞEKİLLER LİSTESİ

	<b><u>SAYFA</u></b>
Şekil 1. Projemizde yrtlen deneme için kurulan sera-kuluçkahane ve içerisinde bulunan anaç bekletme tankları (solda), anaç tankları (solda arkada), yumurtlatma ve yumurta inkübasyon tankları (sağda küçük).	11
Şekil 2. Grup 1, 2, 3 ve 4'n stoklandığı tank sistemi. nde biyo-filtre ve arkada ise torba filtreler grlmektedir.	14
Şekil 3. Tank içerisinde taze yengeç ile beslenen anaçlar.	15
Şekil 4. ukurova niversitesi'ne ait Yumurtalık Deniz rnleri Araştırma İstasyonu'nda bulunan ve denememizde kullandığımız kum filtreleri ve deniz suyu ısıtma/soğutma sistemi.	16
Şekil 5. ukurova niversitesi'ne ait Yumurtalık Deniz rnleri Araştırma İstasyonu'nda kuluçkahane içerisinde bulunan kartuş filtreler ve ısıtma/soğutma sisteminin aksamaları.	16
Şekil 6. Projemizde yrtlen deneme için kurulan sera-kuluçkahane ve içerisinde bulunan anaç bekletme tankları (sağda), yumurtlatma ve yumurta inkübasyon tankları (solda küçük).	17
Şekil 7. A: Olgunlaşmış ve yumurtlamaya hazır bir dişi, B: spermatofor olgunlaştırmış bir erkek ve C: erkek bir karides tarafından spermatofor aktarılmış bir dişi.	19
Şekil 8. Denemenin başlangıcından sonuna kadar Grup 1 (Kontrol)'de gerçekleşen yumurtlamaların tarihi ve dişi başına bireysel yumurta miktarları. E: serum fizyolojik enjekte edilen karidesler.	20
Şekil 9. Denemenin başlangıcından sonuna kadar Grup 2 (Hormon Enjeksiyonu)'de gerçekleşen yumurtlamaların tarihi ve dişi başına bireysel yumurta miktarları.	21
Şekil 10. Denemenin başlangıcından sonuna kadar Grup 3 (Gözsapı Kesimi)'de gerçekleşen yumurtlamaların tarihi ve dişi başına bireysel yumurta miktarları.	22
Şekil 11. Denemenin başlangıcından sonuna kadar Grup 4 (Sıcaklık Dalgalanması)'de gerçekleşen yumurtlamaların tarihi ve dişi başına bireysel yumurta miktarları.	23
Şekil 12. Denemenin başlangıcından sonuna kadar Grup 5 (Gözsapı Kesimi)'de gerçekleşen yumurtlamaların tarihi ve dişi başına bireysel yumurta miktarları.	24
Şekil 13. A:Yeni yumurtlanmış bir yumurta, B: ilk bölünme (yumurtlamadan 1-1.5 saat sonra), C: dörde bölünmüŐ yumurta, D: Morula dönemi, E: 9 saat sonraki embriyonik gelişim, F: 11 saat sonraki embriyonik gelişim.	26
Şekil 14. Yumurtadan yeni çıkmış bir Naupli (N1) (yumurtlamadan 15 saat sonra) ve ilk Protozoa (PZ1) dönemine geçen bir larva.	27
Şekil 15. Deneme sonrasında PL60-65 civarına kadar büyütülen post-larvalar.	27

## ÖZET

Bu proje, Amerikan orijinli bir karides türü olan ve 2008 yılında post-larvaları tarafımızca Tayland'tan getirilerek tesislerimizde anaç oluncaya kadar büyütülen *Litopenaeus vannamei* karides türünün üremesinin kontrol altına alınabilmesi amacıyla farklı teknikler kullanılarak mevsim-dışı olgunlaştırılması ve yumurtlatılması ile ilgili araştırmaları kapsamaktadır. Denemede kullanılacak anaçlar, Nisan (2009) ayında, 5 ayrı gruba (1. Grup: Kontrol, 2. Grup: Serotonin enjekte edilenler, 3. Grup: Gözsapı kesilenler, 4. Grup: Sıcak/soğuk dalgalanması uygulananlar ve 5. Grup: Gözsapı kesilenler) ayrılmıştır. İlk dört grubun herbiri 2-m çapında birer adet yuvarlak tanka m<sup>2</sup>'ye 9.55 karides (2:1, dişi/erkek oranı), 5. Grup ise 3-m çapında bir tanka m<sup>2</sup>'ye 5.67 karides (1:1, dişi/erkek oranı) olacak şekilde stoklanmışlardır. Anaçlar; kuluçkahanede kurulan bir resirküle sistemde 2 ay süren deneme boyunca 28°C'ye kadar ısıtılmış suda taze yemlerle beslenerek olgunlaştırılmışlardır. Her dişi karides markalanmış ve olgun-spermatofor taşıyan dişiler anaç tanklarından yumurtlama tanklarına alınarak bireysel olarak yumurtlatılmışlardır.

Olgunlaşmış dişilerin gün batımında çiftleşerek spermatofor aldıkları ve genellikle gece yarısına doğru yumurtladıkları gözlenmiştir. Gözsapı kesilen gruplar daha hızlı ovaryum olgunlaştırmış, ancak tüm gruplarda da ilk yumurtlamalar denemenin 25-28. günlerinde elde edilmiştir. Deneme boyunca en yüksek dişi yumurtlama oranı (%55-90) ve yumurta verimliliği (79778-125015 adet) gözsapı kesilen gruplarda kaydedilmiştir (P< 0.05). Serotonin uygulaması (Grup 2) dişilerin %35'inde ovaryum gelişimini uyarılmış ve bu grupta her dişi ortalama 60277 yumurta üretmiştir. Sıcaklık dalgalanması (Grup 4) dişilerin %39'unda ovaryum gelişimini uyarılmış ve bu grupta ortalama dişi başına 28500 adet yumurta elde edilmiştir (P<0.05). Tüm gruplarda yumurta döllülük oranı %63.08 ile %96, açılma oranı ise %8.53 ile %31 arasında çıkmıştır. Gözsapı kesimi yapılan gruplarda (Grup 3 ve 5) yumurtlama oranı, yumurta verimliliği ve açılma oranı açısından önemli farklılıklar belirlenmiş ve bunun nedenlerinin tank büyüklüğü, anaç stok oranı ve cinsiyet oranından kaynaklandığı yargısına varılmıştır. Anaçlarımız, anormal yumurta morfolojisi ve düşük açılma oranları şeklinde kendini gösteren zayıf bir üreme performansı sergilemişlerdir. Anaçların mevsim-dışı üremeye zorlanmaları neticesinde ortaya çıkan stresin ve ayrıca anaçlardaki düşük genetik varyasyonun yumurta kalitesini düşürerek yumurta açılma oranını olumsuz etkilediği sonucuna varılmıştır. Bu çalışma *L. vannamei*'nin Akdeniz iklim koşullarında resirküle sistemler kullanılarak özellikle gözsapı kesim tekniğiyle mevsim dışında rahatlıkla olgunlaştırılıp yumurtlatılabileceğini göstermiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Karides, *Litopenaeus vannamei*, üreme, olgunlaştırma, yumurtlatma, yumurta

## ABSTRACT

This project covers investigations on how to control off-season maturation and spawning of an American shrimp species, of which post-larvae were brought into our country for the first time by us from Thailand in 2008, by using various maturation techniques. For the experiment, the broodstock were separated into five groups (Group 1: Control, Group 2: Serotonin-injected, Group 3: Ablated, Group 4: Temperature fluctuated and Group 5: Ablated group) in April 2009. Each group of the first four (Group 1-4) were stocked into a 2-m diameter round tank at density of 9.44 shrimps/m<sup>2</sup> (2:1, female/male) while Group 5 were stocked into a 3-m diameter tank at density of 5.67 shrimps/m<sup>2</sup> (1:1, female/male). The animals were fed with fresh seafood and kept at heated water temperature of about 28°C for 2 months until maturation in a recirculation system. Each female was tagged and ripe-spermatophore carrying females in the maturation tanks were removed to spawn individually in the spawning tanks.

Mature females were observed to mate and receive spermatofors at dusk and spawn mostly around midnight. Eyestalk-ablated groups developed their gonads faster than the other groups but first spawnings were achieved on 25-28<sup>th</sup> days of the experiment in all the groups. Throughout the experiment, the highest female spawning rate (55-90%) and fecundity (79778-125015 eggs) were obtained from the eyestalk-ablated groups (P<0.05). Serotonin (Group 2) induced ovarium development in 35% of the females generating a mean fecundity of 60277 eggs per female. Cyclic temperature fluctuation (Group 4) stimulated ovarium maturation in 39% of the females with a fecundity of 28500 eggs per female (P<0.05). Mean egg fertility rates ranged from 63.08% to 96%, and hatching rates from 8.53% to 31%. Spawning, fecundity and hatching rates were found to be different between the eyestalk-ablated groups (Group 3 and 5), and the reasons were thought to be due to tank size, broodstock stocking density and sex ratio. Our broodstock displayed poor reproductive performance with abnormal egg morphology and low egg hatching rates. The stress caused by off-season reproduction and low genetic variation of our broodstock due to past selective breeding programs might have seriously hampered the reproductive performance of our broodstock. The results of this project has demonstrated that, under Mediterranean climatic conditions, the broodstock of this non-indigenous shrimp species can be readily matured and spawned out of season in recirculating systems.

**Key Words:** Shrimp, *Litopenaeus vannamei*, reproduction, maturation, spawning, egg

## 1. GİRİŞ

Bu proje, Amerikan orijinli bir karides türü olan ve ülkemize ilk kez tarafımızca Tayland'tan 2008 yılında getirtilen *Litopenaeus vannamei*'nin, üreme mevsimi dışında, farklı teknikler kullanılarak olgunlaştırılması ve yumurtlatılması ile ilgili araştırmaları kapsamaktadır. Bu karides türü, halen, dünyanın tropik bölgelerinin hemen hemen tamamında en yaygın olarak yetiştiriciliği yapılan ve ticari değeri çok yüksek olan bir türdür. Çiftlik koşullarında kolay üreyebilen, çevresel koşullara toleransı yüksek, düşük proteinli yemleri ete çevirme yeteneği iyi olan ve hızlı büyüeyebilen bir türüdür (WYBAN, 2007).

İslah çalışmaları ile daha hızlı büyüeyebilen ve hastalıklara daha dirençli varyeteleri geliştirilen *L. vannamei* karides türü, son on yılda, doğal yayılış alanı olan Amerika kıtası dışında özellikle de Güney-Doğu Asya ülkelerinden Tayland, Viet Nam, Endonezya, Çin ve son olarak Hindistan gibi pek çok ülkeye götürülerek yetiştirilmeye başlanmıştır. Genel olarak bakıldığında, karides yetiştiriciliği ile ilgili olarak ülkemizin en deneyimli ekibi olan araştırma ekibimiz, yetiştiricilik potansiyeli yüksek olan bu karides türünün ülkemiz koşullarında da denenmesi gerektiği noktasından hareketle, bu türün post-larvalarını (0.1 g ağırlığında) 2008 yılının Temmuz ayında Tayland'tan getirtmiş ve Çukurova Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi'nin araştırma tesislerinde 4 ay süreyle büyütülmüştür. Bu süre zarfında, tesislerimizde 0.1 g'dan 25-30 g ağırlığa ulaştırılabilen karideslerden en irileri seçilmiş ve sera-kuluçkahaneye alınmıştır. Kontrollü koşullarda sera içerisinde 2 ay daha büyütülen karidesler anaç olabilecek boyutlara ulaştırılarak denemelerde kullanılacak hale getirilmişlerdir.

Tropik iklim kuşağında bulunan ülkelerde olgun anaçların doğadan yakalanması veya kuluçkahanelerde olgunlaştırıldıktan sonra yumurtlatılması ve yavru üretimi tüm yıl boyunca kesintisiz olarak sürdürülebilmektedir. Ancak, ülkemizin Akdeniz iklim koşullarının hüküm sürdüğü bölgelerde (yarı-tropik iklim kuşağında) anaçların doğada gonad geliştirmesi ve üreme faaliyetinde bulunması veya kuluçkahanelerde yavru üretimi yılın ancak belli dönemlerinde yürütülebilmektedir (KUMLU ve ark., 2003). Yarı-tropik bölgelerde üremenin yıl boyunca yaygınlaştırılması ve kontrol altına alınması ancak kuluçkahanelerde karidesler için uygun koşulların sağlanması ve su sıcaklığının ekonomik bir şekilde ayarlanabilmesi ile mümkün olabilmektedir.

Bir karides türünün ticari faaliyetlere konu olabilmesi ve özellikle de ülkemiz gibi yarı-tropik iklim kuşağında karides yetiştiriciliğinin başarısı üremenin mevsim dışında da kontrol edilebilmesine bağlıdır. Akdeniz kıyılarında karideslerin ticari boyutlara ulaşabilmesine olanak sağlayan sıcak aylar (25-33°C) Mayıs ile Ekim ayları arasındadır (5-6 ay) (KUMLU ve ark., 2003; KUMLU ve



Kır, 2005). Bu sınırlı büyütme periyodundan en etkin şekilde yararlanabilmek için karideslerin kış aylarında, yani üreme mevsimi dışında, yumurtlatılmaları ve larva yetiştiriciliklerinin de bu esnada yapılması gereklidir (KIR ve Kumlu, 2008a,b). Araştırma ekibimiz yerel türlerimizden yeşil kaplan karidesinin (*P. semisulcatus*) mevsim-dışı olgunlaştırılarak yumurtlatılması (AKTAŞ ve Kumlu, 1998; AKTAŞ ve ark., 2003) ve kışlatılması ile ilgili birçok çalışma yürütmüştür (KIR ve Kumlu, 2006; 2008a,b). Ancak, bu projede kullanılan karides türünün (*L. vannamei*) mevsim-dışı olgunlaştırılıp yumurtlatılması ile ilgili çalışmalar henüz hiçbir yerde yapılmamıştır.

Bu proje ile Akdeniz koşullarında, kış veya ilkbahar aylarında, Pasifik beyaz karidesinde mevsim-dışı yavru üretiminin hangi anaç olgunlaştırma tekniği ile başarılabileceği belirlenecek ve böylece üremenin kontrol altına alınabilmesi mümkün olabilecektir. Mevsim-dışı yumurtlatma, yarı-tropik bölgelerde soğuk kış aylarında kuluçkahanelerin aktif üretimde bulunmalarına imkân verecek ve böylece üretimin yıl boyunca sürdürülebilmesi olanağı elde edilebilecektir. Ayrıca, mevsim-dışı üreme sayesinde Ocak-Mayıs ayları arasında sera-içi havuzlarda birkaç gram (1-3 g) ağırlığa kadar büyütülebilen yavruların, sınırlı olan büyütme sezonunda (Mayıs-Ekim arasında), daha yüksek canlı ağırlık kazancı elde edebilmelerine imkân da verilebilmiş olacaktır. Bu projenin ülkemizde karides yetiştiricilik sektörünün geliştirilebilmesine önemli katkılar getireceği ve özel sektöre model teşkil edebileceği düşünülmektedir.

## 2. GENEL BİLGİLER

Gözsapı kesim tekniği karideslerde üremenin uyarılması amacıyla hemen hemen tüm ticari kuluçkahanelerde ve araştırma istasyonlarında kullanılan çok yaygın bir yöntemdir (CAILLOUET, 1973; SANTIAGO, 1977; MUTHU ve Laximinarayana, 1977; LUMARE, 1979; HILLIER, 1984; BROWDY ve Samocha, 1985; BROWDY, 1992; Aktaş ve Kumlu, 1998). Birçok avantajına rağmen, bu tekniğin daha düşük kalitede larva üretimine neden olduğu, her yumurtlamada yumurta verimliliğini düşürdüğü ve tek gözsapı kesilen anaçların kondisyonlarının bozularak daha erken bir tarihte elden çıktığı da bilinmektedir (EMMERSON, 1980; CHAMBERLAIN, 1985; PRIMAVERA, 1985; MAKINOUCI ve Primavera, 1987). Gözsapı kesimine alternatif bazı metotların geliştirilmesi amacıyla yapılan çalışmalar genellikle çeşitli hormonların enjeksiyonu ve sıcaklık/fotoperiyot çalışmaları üzerine yoğunlaşmıştır.

Karideslerde üremenin uyarılabilmesi için hormon enjeksiyonu uygulamaları sınırlı sayıda çalışmaya konu olmuştur. Bugüne kadar yapılan çalışmalarda, Serotonin (5-hydroxytryptamine veya 5-HT) hormonunun kerevitlerden *Procambarus clarkii* ve istakozlardan *Homarus americanus*

(KULKARNI ve ark., 1992; FINGERMAN, 1997), tatlısu karideslerinden *Macrobrachium rosenbergii* (MEERATANA ve ark., 2006) ve karideslerden *Penaeus monodon* (WONGPRASERT ve ark., 2006), *Litopenaeus vannamei*, *L. stylirostris* (VACA ve Alfaro, 2000; ALFARO ve ark., 2004) ve *P. semisulcatus* (AKTAŞ ve ark., 2004) gibi birçok dekapod krustase türünde ovaryum gelişimini uyardığı belirlenmiştir. TINIKUL ve ark., (2008) neurotransmitter olarak serotoninin gözsapında bulunan X-organ/sinüs bezi kompleksinden salınan GIH'ı (gonad inhibiting hormone) inhibe ederek veya GSH'yi (gonad stimulating hormone) uyararak gonad gelişimini sağladığını bildirmiştir (SAROJINI ve ark., 1995; FINGERMAN, 1997). Yeni basılan yayınlarda da benzer şekilde, GnRH hormonunun *P. monodon* anaçlarında ovaryum gelişiminde önemli bir rol oynadığı (NGERN-SOUNGNERN ve ark., 2008) ve serotoninin *Fenneropenaeus indicus* karides türünde yumurtalarda vitellojen birikimini artırarak ovaryum gelişimini uyardığı (SANTOSHI ve ark., 2009) belirtilmiştir. Progesteron hormonunun *Metapenaeus ensis* türünün gonad gelişim ve yumurtlatılmasında etkili olduğu (YANO, 1985), 17-alpha hydroxyprogesteronun *Penaeus japonicus*'ta vitellojen üretimini arttırdığı (YANO ve ark., 1988) ve aynı zamanda *L. vannamei*'nin sperm kalitesini etkilediği (ALFARO, 1996) ortaya konmuştur. YANO ve Wyban (1993) HCG'nin karideslerde üremeyi etkileyen bir hormon olduğunu bildirmiş, AKTAŞ ve ark., (2004) ise HCG ve LHRH-a hormonlarının *P. semisulcatus* karidesinin üremesi üzerinde belirgin etkilere sahip olmadığı sonucuna varmışlardır. Bugüne kadar bu tip hormonların karideslerin mevsim-dışı üreme performanslarına nasıl etki edecekleri konusu henüz hiçbir çalışmada ele alınmamıştır.

Kuluçkahanelerde çevresel faktörlerin penaeid karideslerde üreme üzerinde etkili olduğu bilinmektedir. Genelde, uzun-gün fotoperiyotlarının ve yüksek su sıcaklıklarının *Penaeus japonicus* (LAUBIER-BONICHON, 1978), *P. setiferus* (BROWN ve ark., 1979), *P. esculentus* (CROCOS ve Kerr, 1986) ve *P. duorarum* (CRIPE, 1994) gibi pek çok karides türünde üreme için gerekli olduğu belirlenmiştir. *P. stylirostris* (ROBERTSON ve ark., 1991), *P. esculentus* (CROCOS ve Kerr, 1986) ve *P. semisulcatus* (AKTAŞ ve ark., 2003) gibi karides türleriyle yapılan çalışmalarda düşük su sıcaklıklarının (< 25°C) çiftleşme, gonad geliştirme ve yumurtlama üzerinde olumsuz etkilerde bulunduğu bildirilmiştir. Karideslerde yumurtlamanın uyarılması, yumurtlamaların belli bir periyoda yoğunlaştırılması ve yumurtlama sıklığının artırılabilmesi için sadece uygun fotoperiyot ve su sıcaklıklarının sağlanması yeterli değildir. Sıcaklığın 20 ile 28°C'ler arasında 10'ar günlük aralıklarda döngülü bir şekilde dalgalandırılmasının *P. duorarum* (CRIPE, 1994) ve *P. semisulcatus* (AKTAŞ ve ark., 2003) karides türlerinde etkin bir şekilde gonad gelişimi ve yumurtlama sağladığı bildirilmiştir. Bu araştırmacılar, yarı-tropik iklim kuşağında bulunan ülkelerde karideslerin mevsim-dışı gonad olgunlaştırıp yumurtlatılabilmesi için döngülü dalgalı-sıcaklık uygulama tekniğinin önerilebi-

leceğini belirtmişlerdir. Bu bilgiler ışığında, projemiz kapsamında, dünyada yetiştiriciliği en yaygın olarak yapılan *L. vannamei* türünde de bu tekniğin mevsim-dışı üremeyi uyarıp uyarmayacağını belirlenmesi amaçlanmıştır.

Bu projenin temel amacı; ticari değeri yüksek ve yabancı bir tropik karides türü olan *Litopenaeus vannamei*'nin Akdeniz'in yarı-tropik iklim kuşağında üremesinin üç farklı yöntemle (gözsapı kesimi, sıcaklık dalgalandırması ve serotonin enjeksiyonu) mevsim dışına kaydırılıp kaydırılmayacağını belirlenmesidir.

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma Çukurova Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi'nin Yumurtalık Deniz Ürünleri Araştırma İstasyonu'nda, bu araştırma için özel olarak, bir firma tarafından (SARUS Ltd. Adana) kurulan bir adet sera-kuluçkahane (taban alanı 220 m<sup>2</sup>) (Şekil 1) 60 gün süreyle (Nisan 15 - Haziran 15, 2009) yürütülmüştür. Sera içerisine yerleştirilmiş olan tanklarda istenen deneme su sıcaklıklarının (özellikle 20-28°C'ler arasında dalgalandırılan grupta) daha kolay sabitlenebilmesi ve anaçların daha titiz kontrol edilebilmeleri amacıyla (çifteşme, spermatozor mevcudiyeti, kabuk değişimi, anaç aktarımı vb.) deneme ağırlıklı olarak 2 m çapında tanklarda (Grup 1 - 4 için) yürütülmüştür (Şekil 2). Tesiste iki adet 3 m çapında yuvarlak anaç bekletme tankları içerisinde bulunan anaçlar (ortalama 33.5-34.5 g) tesadüfi olarak dört ayrı 2 m çapında fiberglas tank içerisine ve her tanka 20 adet dişi ve 10 adet erkek birey olacak şekilde stoklanmışlardır (9.44 adet/m<sup>2</sup>) (Tablo 1).



Şekil 1. Projemizde yürütülen deneme için kurulan sera-kuluçkahane ve içerisinde bulunan anaç bekletme, olgunlaştırma, yumurtlatma ve yumurta inkübasyon tankları.

Proje önerisinde bulunmamakla birlikte, daha düşük anaç stok yoğunluğunun üreme performansları üzerine etkisini belirlemek amacıyla grubun birisi (5. Grup) 3 m çapında bir tank içerisinde stoklanmıştır (5.67 adet/m<sup>2</sup>) (Tablo 1). Stoklama öncesinde, tüm karidesler 0.01 g hassasiyette bir elektronik terazi ile bireysel olarak tartılmışlardır.

Tüm tankların üzeri siyah renkli branda ile kapatılarak karideslerin fazla ışıktan rahatsız olmaları önlenmiş ve uygun ışık yoğunluğu sağlanmıştır. Deneme öncesinde, ortama alışmaları amacıyla karidesler 1 hafta süreyle (alıştırma periyodu) bu tanklarda 28°C’de tutulmuş ve taze (zaman zaman donmuş) yemlerle (kalamar, sübye ve yengeç etleriyle) beslenmişlerdir.

Alıştırma periyodu sonrasında;

1. Grupta (Kontrol): serotonin enjekte edilen gruba kontrol oluşturmak amacıyla bu gruptaki karideslerin yarısı serum fizyolojik solüsyonu (%0.8.5 NaCl) ile enjekte edilmiş, diğer yarısı ise herhangi bir muameleye tabi tutulmamıştır.
2. Grupta (Hormon enjeksiyonu yapılanlar); serotonin (5-hydroxytryptamine, 5-HT, and creatinine sulfate complex, Sigma, St. Louis, MO, USA) hormonu her dişinin 2. abdominal segmentinin sternitinden 1-mL’lik bir mikro enjektör ile 50 µg/g’lık bir doz ile enjekte edilmiştir (AKTAŞ ve Kumlu, 2005). Hormon enjeksiyonu 10’ar günlük aralıklarla ovaryum gelişimi sağlanıncaya kadar devam ettirilmiştir.
3. Grupta (Gözsapı kesilen); her dişinin gözsapı tabandan bağlandıktan sonra bir makas ile kesilmiştir. Erkek bireylerde gözsapı kesimi uygulanmamıştır.
4. Grupta (Sıcaklık dalgalanması); 28°C’de olan karideslerin tank suyu sıcaklığı 2°C/gün oranında 20°C’ye kadar indirilmiş ve bu sıcaklıkta 2 gün bekletildikten sonra, yeniden aynı oranda bir ısıtma ile tekrar 28°C’ye kadar yükseltilmiştir. Bu sıcaklıkta da 2 gün bekletildikten sonra sıcaklık dalgalanması, 10’ar gün aralıklarla, ovaryum gelişimi ve yumurtlama başlayıncaya kadar, aynı şekilde tekrar ettirilmiştir (CRIPE, 1994; AKTAŞ ve ark., 2003).
5. Grupta; düşük stoklama (5.67 adet karides/m<sup>2</sup>) yoğunluğunda gözsapı kesilen grup (Gözsapı kesilen) daha önce 1. Grupta anlatıldığı gibi muameleye tabi tutulmuşlardır. Bu grupta cinsiyet oranı 1:1 (dişi/erkek) tutulmuştur (20 adet dişi ve 20 adet erkek karides).

Anaç seçiminde özellikle ovaryum gelişimi göstermeyen ve benzer boyutta bireylerin seçilmesine gayret edilmiştir. İlgili gruplar tanklara stoklandıktan sonra elle muamele nedeniyle ölenlerin yerine ilk 2 gün içerisinde benzer boyutta karidesler yerleştirilmiştir. Grup 1, 2, 3 ve 4’te dişi/erkek oranı 2:1, 5. Grupta ise 1:1 olarak ayarlanmıştır. Denemede kullanılan dişi karideslerin bireysel performanslarının belirlenebilmesi amacıyla, her dişinin gözsaplarından birisinin etrafına içerisinde elastik bir ip geçirilen ve farklı renklerde boncuklardan oluşan birer halka yerleştirilmiş-

tır. Deneme süresince karidesler sürekli olarak gözlenerek kabuk değıştirenler ve ovaryum geliştirenler kaydedilmiştir.

Tablo 1. Çalışmada yrtlen denemedeki koşullar (Grup 1: Kontrol, Grup 2: Serotonin Enjeksiyonu, Grup 3: Gözsapı Kesimi, Grup 4: Sıcaklık Dalgalanması, Grup 5: Gözsapı Kesimi).

Gruplar	Stok Yoğunluğu	Dişilerin Ortalama Ağırlığı	Dişi/Erkek Oranı	Sıcaklık
Grup 1	9.55 adet/m <sup>2</sup>	34.30 ± 3.99	2:1	28°C
Grup 2	9.55 adet/m <sup>2</sup>	33.49 ± 3.61	2:1	28°C
Grup 3	9.55 adet/m <sup>2</sup>	35.25 ± 3.40	2:1	28°C
Grup 4	9.55 adet/m <sup>2</sup>	35.08 ± 3.01	2:1	20-28°C (10'ar günlük döngüler halinde)
Grup 5	5.67 adet/m <sup>2</sup>	34.60 ± 3.09	1:1	28°

Anaçların beslenmesinde ağırlıklı olarak taze ve zaman zaman da dondurulmuş kalamar, sübye (mürekkep balığı), yengeç ve midye eti kullanılmıştır (Şekil 3). Besleme günde 4 kez (09:00, 14:00, 19:00 ve 24:00 saatlerinde) ve *ad libitum* olarak yrtlmştir. Tanklar her gün sabah yememesinden önce sifonlanarak atıkların uzaklaştırılması sağlanmış ve tank tabanında bulunan kabukların (zellikle karapaks) sayımı yapılmıştır. Açık telikumlu olan bu karides türünde, dişilerde kabuk değişimi ile spermatofor alımı arasında herhangi bir ilişki olmadığı için, kabuk değişim periyodu yerine her sabah tanklarda kabuk değiştiren bireylerin sayımı yapılmıştır.

Denemede kullanılan anaç tanklarından (Grup 1 - 4'ten) ıkan su merkezi bir biyo-filtreden geçirildikten sonra yeniden anaç tanklarına pompalanarak resirküle bir sistem ile günlük su değişimi 10 kat olarak ayarlanmıştır. Resirküle sistem içerisine taze deniz suyu günlük %5-10 civarında eklenerek suda olası aşırı nitrat birikimi engellenmiştir. Taze deniz suyu önce kum filtresi ve ardından da torba filtrelerden geçirildikten sonra tanklara aktarılmıştır. Yumurtlama ve açtırma tanklarına stoklanacak olan deniz suyu ise 1 µm'ye kadar kartuş ve torba filtrelerle filtre edildikten sonra UV sisteminden geçirilerek sterilize edilmiştir (Şekil 4 ve 5). Yumurtlama ve açtırma tanklarında kullanılacak olan deniz suyu bir depo tank ile UV sistemi arasında kurulan ikinci bir su döngüsü ile en az 5-6 kez 1 µm'lik kartuş filtre ve UV'den geçecek Şekilde ayarlanarak suyun en iyi Şekilde sterilize edilmesine çalışılmıştır. Her tankın su yüzeyindeki işik yoğunluğu bir işikmetre (Model Li-250,

USA) kullanılarak ölçülmüş ve üzerleri plastik örtü ile kapatılan tanklarda ışıklandırma VACA ve Alfaro (2000)'nin önerdiği şekilde  $<5 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$  ışık alacak şekilde ayarlanmıştır.



Şekil 2. Grup 1, 2, 3 ve 4'ün stoklandığı tank sistemi. Önde biyo-filtre ve arkada ise torba filtreler görülmektedir.

Yumurtlamak üzere olan dişiler (4. ovaryum evresinde ve spermatofor taşıyan) akşam saatlerinde (19:00 ile 21:00 saatleri arasında) bir el feneri yardımıyla kontrol edilmiş ve seçilenler anaç tanklarından kepçe ile alınarak 500-L hacimli (içine 200-L su doldurulan) yuvarlak yumurtlama tanklarına bireysel olarak yerleştirilmişlerdir (Şekil 6). Yumurtlamanın gerçekleşip gerçekleşmediği gece saat 24:00 civarında kontrol edilmiştir. Yumurtlama tanklarının su sıcaklığı 300 watt'lık akvaryum ısıtıcılarıyla 28°C civarlarında tutulmuştur. Yumurtlamanın gözlenmesi halinde dişiler derhal yeniden alındıkları anaç tanklarına geri konmuşlar ve yumurtalar 100  $\mu\text{m}$ 'lik plankton bezi üzerine sifonlanarak önce 100 ppm formalin ile 30 sn, ardından 50 ppm iodine ile 60 sn banyo ettirilmiş ve 200 L su doldurulmuş olan başka bir tanka açtırılmak üzere stoklanmıştır. Açtırma tanklarında ağır metalleri bağlamak için EDTA (20 ppm) ve profilaktik dozda bir antibiyotik (furazoli-done: 0.5 ppm) kullanılmıştır (ANONİM, 2005; 2007). Sabah saat 09:00'a kadar yumurtlamayan dişiler kepçe ile alınarak yeniden anaç tanklarına aktarılmıştır.



Şekil 3. Tank içerisinde taze yengeç ile beslenen anaçlar.

Yumurtlamının gerçekleştiği tanklarda yumurta verimliliği ve döllülük oranının belirlenmesi amacıyla sudan 50 mL'lik örnekler alınmış ve petri kutusu içerisine yerleştirilerek bir stereo mikroskop altında incelenmiş; toplam yumurta ve döllu yumurta sayımı yapılmıştır. Böylece her dişinin bireysel yumurta verimliliği ve yumurtalarının döllülük oranı hesaplanmıştır. Bu işlemlerden sonra yumurta açılma oranının belirlenebilmesi için 36 saat beklenmiş ve ardından açtırma tanklarındaki (500 L hacimli) su homojen bir şekilde karıştırıldıktan sonra 100 mL hacimli cam kaplarla en az 5 tekerrürlü olacak şekilde örnek alınarak petri kutusuna yerleştirilen larvaların (nauplilerin) sayımı yapılmıştır. Nauplilerin yüzme hareketlerinin durdurulması için nauplilerin bulunduğu petri kutusuna 1-2 damla sodyumhipoklorit damlatılmıştır.





Şekil 4. Araştırma İstasyonumuzda bulunan ve denememizde kullandığımız kum filtreleri ve deniz suyu ısıtma/soğutma sistemi.



Şekil 5. Araştırma İstasyonumuzda kuluçkahane içerisinde bulunan kartuş filtreler ve ısıtma/soğutma sisteminin aksamaları.





Şekil 6. Projemizde yürütülen deneme için kurulan sera-kuluçkahane ve içerisinde bulunan anaç bekleme tankları (sağda), yumurtlatma ve yumurta inkübasyon tankları (solda küçük).

Tanklardaki tuzluluk, sıcaklık, çözülmüş oksijen değerleri haftada 2-3 kez ve pH total amonyak, nitrit ve nitrat değerleri ise 2 haftalık aralıklarla düzenli olarak ölçülmüştür. Tuzluluk bir refraktometre, çözülmüş oksijen ve sıcaklık oxyguard oksijenmetre (Danimarka) ile, pH ise Orion 3 star (USA) marka bir pH-metre ile ölçülmüştür. Total amonyak, nitrit ve nitrat değerleri MERCK Nova 60 fotometre ile ölçülmüştür.

### 3.1. İstatistik Hesaplamalar

Deneme öncesi ve sonrasında elde edilen tüm veriler (anaç boyutları, yumurta verimliliği, döllülük ve açılma oranları) SPSS Programının 17. sürümündeki tek yönlü varyans analizi (Oneway Anova) ile incelenmiş ve deneme grup ortalamaları arasındaki farklılıklar post-hoc kıyaslama testlerinden Duncan çoklu karşılaştırma testi ile  $P = 0.05$  önem seviyesine göre karşılaştırılmıştır. Varyansların eşitliği Levene's testi, verilerin normal olup olmadığı ise Shapiro–Wilk's testi ile belirlenmiştir.

## 4. BULGULAR

### 4.1. Resirküle Sistem

Deneme kurulmadan önce tüm kış boyunca karides anaçlarının kışlatıldığı resirküle sistemde uzun süredir çalışmakta olan biyolojik filtre materyali (bio-ball) denemede kullanılacak olan yeni biyo-filtre içerisine yerleştirilerek bakteri gelişiminin kısa sürede gerçekleşmesi sağlanmıştır. Tüm tanklar (Grup 5 hariç) biyo-filtreye bağlanarak günde tank kapasitelerinin 10 katı civarında bir su döngüsü sağlanmış, ayrıca sisteme günlük %5-10 civarında taze deniz suyu girdisi de ilave edilmiştir. Grup 5'te su sıcaklığı 3000 Watt'lık su ısıtıcılarıyla optimal düzeylerde tutulmuş ve su değişkenliği günlük %20-30 civarlarında gerçekleştirilmiştir.

Deneme esnasında su sıcaklıkları Grup 1 ile Grup 4'te 27.5 ile 28.5°C, Grup 5'te ise 26.5 ile 28.5 arasında değişmiştir. Denemenin yürütüldüğü tarihler arasında (15 Nisan – 15 Haziran, 2009), çalışmayı yürüttüğümüz sera dışında gerçekleşen doğal su sıcaklığı 18 ile 22°C'ler arasında değişmiştir. Deneme tanklarında pH değerleri 8-8.2, tuzluluk ise %38-39.4 arasında kalmıştır. Amonyak (NH<sub>4</sub>-N), nitrit (NO<sub>2</sub>-N) ve nitrat (NO<sub>3</sub>-N) değerleri sırasıyla 0.04-0.09 mg/L, 0.05-0.17 mg/L ve 0.5-0.6 mg/L aralıklarında seyretmiştir. Çözünmüş oksijen sürekli gerçekleşen havalandırma sayesinde her zaman 5.0 mg/L'nin üzerinde tutulmuştur. Grup 5'te de amonyak miktarı 0.07 mg/L'nin üzerine çıkmamıştır.

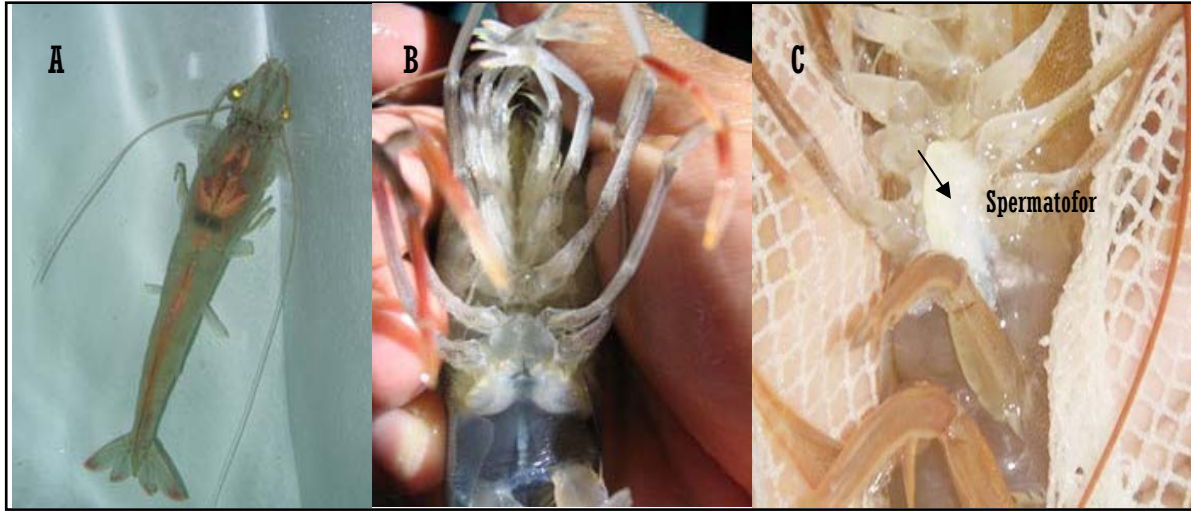
Tanklara stoklanan dişi karideslerin ortalama ağırlıkları 34.53 ± 0.81, erkek bireylerin ise 32.15± 0.75 g arasında değişmiştir (P>0.05).

### 4.2. Ovaryum Gelişimi ve Çiftleşme

Deneme başlatıldıktan sonra gruplar arasında ilk ovaryum gelişimi öncelikle gözsapı kesilen bireylerde gözlenmeye başlanmıştır. Ovaryum gelişimi yoğun bir şekilde özellikle sefalotoraks içerisinde (Şekil 7A), erkek bireylerde ise olgun spermatoforlar 5. çift yürüme bacaklarının kaidelerinde beyaz kitleler halinde gözlenmiştir (Şekil 7B). Çiftleşme neticesinde erkek bireylerden aktarılan spermatoforların dişilerin 4 ve 5. yürüme bacakları arasında çok belirgin beyaz lekeler halinde olduğu görülmüştür (Şekil 7C).

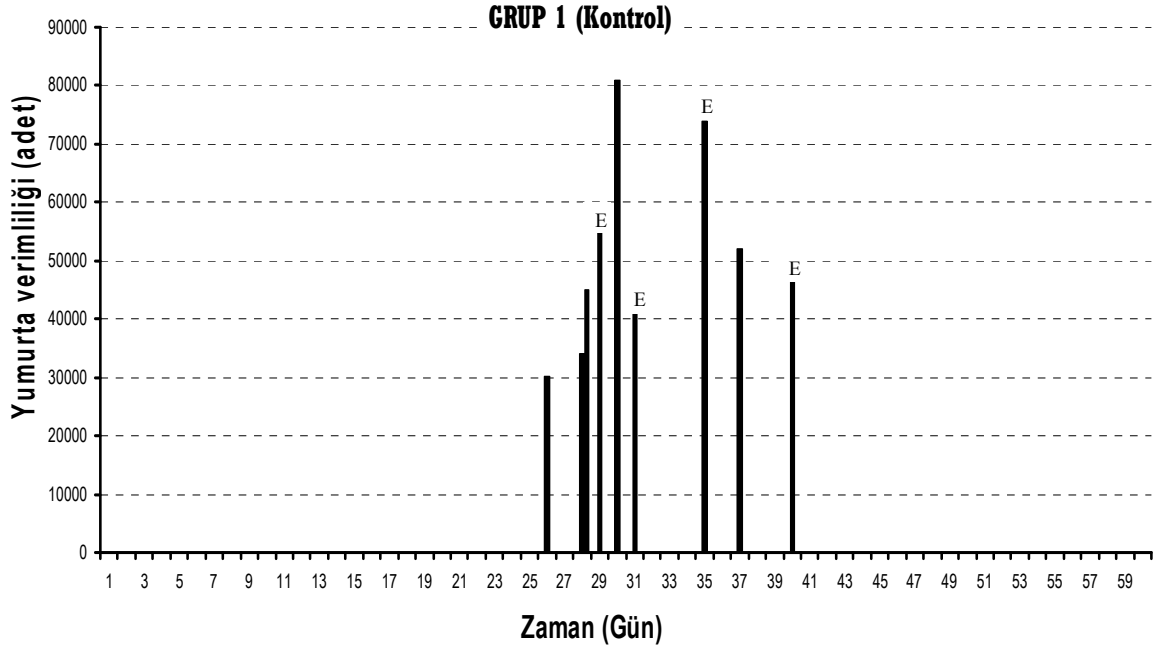
Ovaryum gelişimini tamamlamış dişilerin ağırlıklı olarak gün batımında (saat 19:00 - 21:00 civarlarında) çiftleşerek spermatofor aldıkları belirlenmiştir. Saat 21:00 civarlarında anaçların kontrol edilmesi neticesinde ovaryum gelişimini tamamlamış ve ayrıca spermatofor taşıyan dişilerin kepçe ile alınarak bireysel yumurtlama tanklarına stoklanmaları yüksek bir başarı oranıyla dişilerin kontrolümüz altında yumurtlamasına imkan vermiştir. Denemenin ilk haftalarında bazı dişilerde

kontrol dışı bazı çiftleşme ve yumurtlama davranışları gerçekleşmiş, ancak ilerleyen dönemlerde bunlar minimize edilmiştir. Denemenin başlangıcından itibaren ilk başarılı yumurtlamalar 25. ile 28. günler arasında elde edilmiştir (Şekil 8 – 12). Denemede uygulanan muameleler grupların ilk yumurtlama tarihinde herhangi önemli bir farklılığa neden olmamıştır. Ancak yapılan gözlemler ve alınan kayıtlardan, gözsapı kesilen grupların diğer gruplara kıyasla çok daha erken bir tarihte (6 ve 7. günlerden itibaren) ovaryum olgunlaştırmaya başladıkları anlaşılmıştır. Bu gruplarda muhtemelen gecenin geç saatlerinde gerçekleşen çiftleşme neticesinde bazı yumurtlamaların gözden kaçırıldığı tahmin edilmektedir. Zira her gün anaç tanklarından alınan su örneklerinin birisinde, denemenin 22. gününde, ilk kez döllü olmayan yumurtalara rastlanmıştır.



Şekil 7. A: Olgunlaşmış ve yumurtlamaya hazır bir dişi, B: spermatofor olgunlaştırmış bir erkek ve C: erkek bir karides tarafından spermatofor aktarılmış bir dişi.

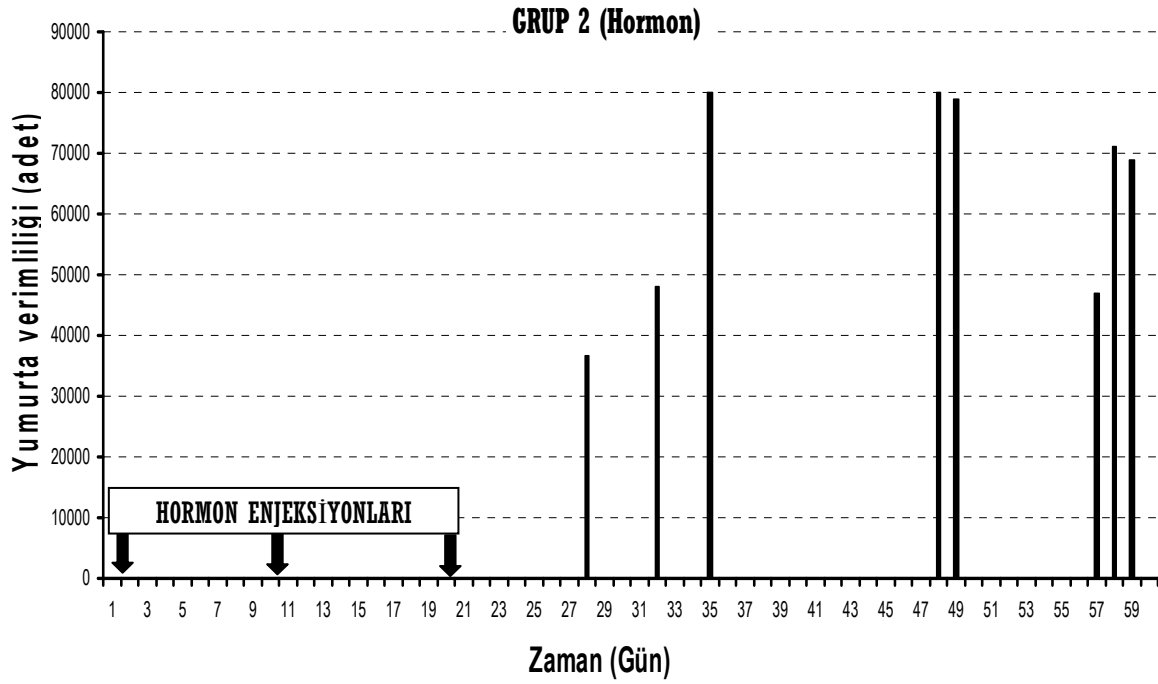
Deneme süresince Kontrol grubunda (Grup 1) toplam 9 adet yumurtlama gerçekleşmiş ve bunlardan 5 adedi hiç muamele edilmemiş dişiler (K), diğer 4 adedi ise serum fizyolojik solüsyon enjekte edilen grupta (E) görülmüştür. Bu karideslerin K grubunda dişi başına ortalama yumurta verimliliği  $48483.40 \pm 12980.10$  adet, E grubunda ise  $52000.00 \pm 16512.62$  adet olarak gerçekleşmiştir.



Şekil 8. Denemenin başlangıcından sonuna kadar Grup 1 (Kontrol)'de gerçekleşen yumurtlamaların tarihi ve dişi başına bireysel yumurta miktarları. E: serum fizyolojik enjekte edilen karidesler.

Kontrol grubunda genel olarak dişi başına elde edilen en yüksek yumurta sayısı 81000 adet (K grubunda) olarak kaydedilmiştir. Döllülük oranı ortalama %86-96, yumurtaların açılma oranı ise %16-31 olarak gerçekleşmiştir (Şekil 8 ve Tablo 2). Deneme boyunca, bu grupta dişilerin %40-50'si ovaryum geliştirerek yumurtlamış ve toplamda 78 adet karides kabuk değiştirmiştir.

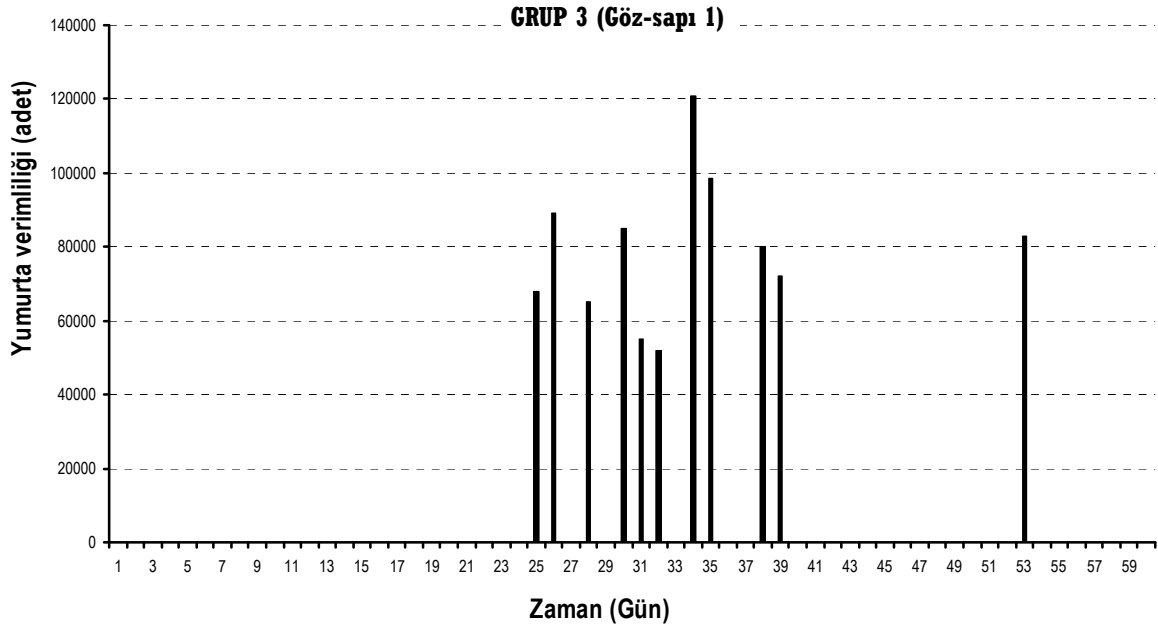
Serotonin enjeksiyonu (Grup 2) yapılan grupta elde edilen toplam yumurtlama sayısı 8 adet olup, ortalama yumurta verimliliği  $60277.83 \pm 17745.06$  olarak hesaplanmıştır. Bu grupta ilk yumurtlama 3. hormon enjeksiyonu uygulaması gerçekleştirildikten sonra denemenin 28. gününde elde edilmiştir (Şekil 9). Yumurtaların döllülük oranı %63 ve yumurtalardan larva çıkış oranı %18.5 olarak gerçekleşmiştir (Tablo 2). Grupta dişi başına elde edilen en yüksek yumurta verimliliği 80000 adettir. Deneme süresince dişilerin %35'i yumurtlama eyleminde bulunmuş ve popülasyonda 68 adet karides kabuk değiştirmiştir.



Şekil 9. Denemenin başlangıcından sonuna kadar Grup 2 (Hormon Enjeksiyonu)'de gerçekleşen yumurtlamaların tarihi ve dişi başına bireysel yumurta miktarları.

Gözsapı kesimi (Grup 3) yapılan grupta toplamda 11 adet dişi yumurtlamış ve bu yumurtlamalardan dişi başına ortalama  $79778 \pm 19933.38$  adet yumurta elde edilmiştir. Gözsapı kesimi dişilerde ovaryum gelişimini denemenin ilk haftasından itibaren uyarmaya başlamış ve ancak ilk başarılı yumurtlama denemenin 25. gününde elde edilebilmiştir (Şekil 10). Daha önce de belirtildiği gibi, bu grupta en az 1 dişinin anaç tankında yumurtladığı ve bunun gözden kaçırıldığı belirlenmiştir. Söz konusu bu yumurtalarda mikroskop altında yapılan incelemelerde yumurtaların dömlü olmadıkları anlaşılmıştır. Anaç tanklarının tümünde de deneme süresince yapılan kontrollerde hiçbir zaman karides larvasına rastlanmamıştır.

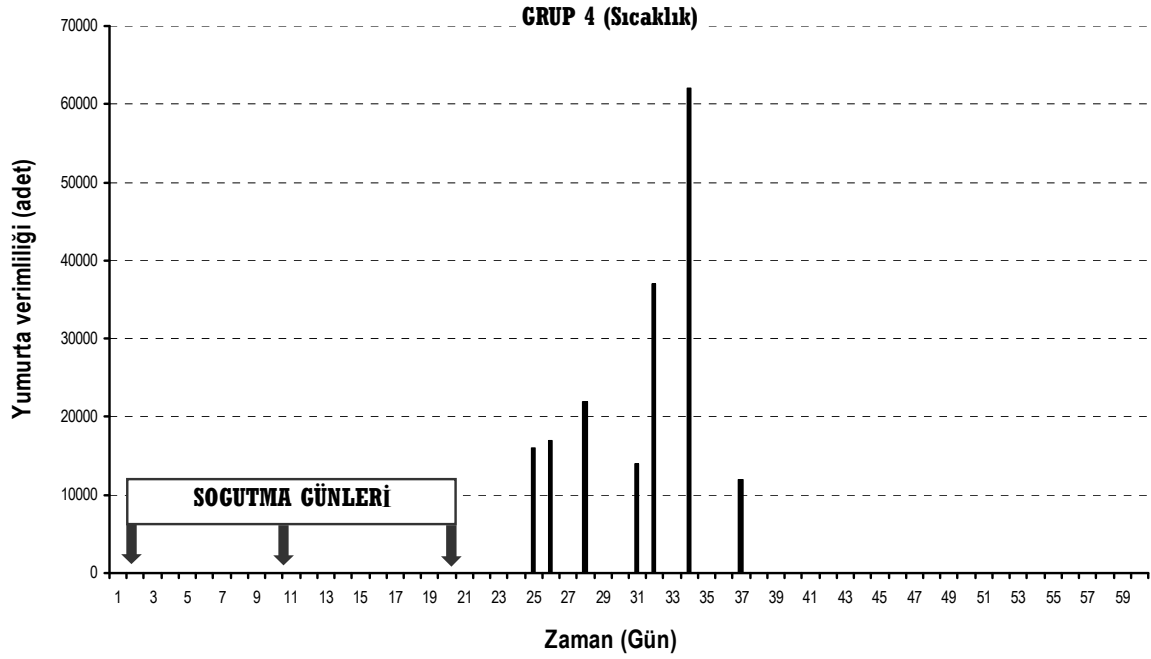
Bu grupta dişi başına elde edilen en yüksek yumurta verimliliği 121000 adet olarak kaydedilmiştir (Şekil 10). Yumurtaların dömlülük oranı %88'in üzerinde gerçekleşmiş ve ancak bu yumurtaların sadece %8.53'ünde larva çıkışı sağlanabilmiştir (Tablo 2). Grupta elde edilen en yüksek yumurta açılma oranı %10.05 olarak belirlenmiştir. Deneme süresince dişilerin %55'i yumurtlamış ve kabuk değiştirme sayısı 70 adet olarak belirlenmiştir.



Şekil 10. Denemenin başlangıcından sonuna kadar Grup 3 (Göz-sapı Kesimi)'de gerçekleşen yumurtlamaların tarihi ve dişi başına bireysel yumurta miktarları.

Sıcaklık dalgalanması (Grup 4) yapılan grupta toplamda 7 adet dişi yumurtlamış ve bu yumurtlamalardan dişi başına ortalama  $28500.00 \pm 18623.96$  adet yumurta elde edilmiştir. Dişilerde ovaryum gelişimi 3. sıcak/soğuk döngüsünden sonra uyarılmış ve ilk yumurtlama 25. günde gerçekleşmiştir (Şekil 11).

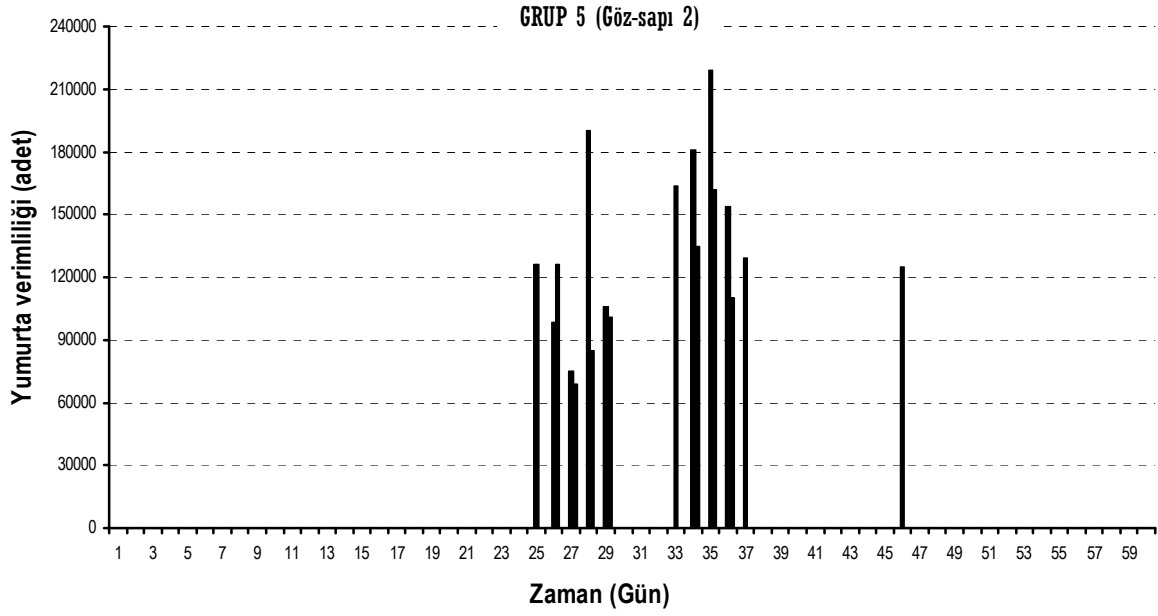
Bu grupta dişi başına elde edilen en yüksek yumurta verimliliği 62000 adet olarak kaydedilmiştir. Yumurtaların döllülük oranı %86'nın üzerinde gerçekleşmiş, ancak bu yumurtaların sadece %10'nunda larva çıkışı sağlanabilmiştir (Tablo 2). Deneme esnasında dişilerin %39'u yumurtlamış ve kabuk değiştirme sayısı 75 adet olarak belirlenmiştir.



Şekil 11. Denemenin başlangıcından sonuna kadar Grup 4 (Sıcaklık Dalgalanması)'de gerçekleşen yumurtlamaların tarihi ve dişi başına bireysel yumurta miktarları.

Gözsapı kesimi (Grup 5) yapılan 2. grupta toplamda 18 adet dişi yumurtlamış ve bu yumurtlamalardan dişi başına ortalama  $125014.94 \pm 29275.60$  adet yumurta elde edilmiştir. Bu grupta da gözsapı kesimi dişilerde ovaryum gelişimini denemenin ilk haftasından itibaren uyarmaya başlamış, ancak ilk başarılı yumurtlama denemenin 25. gününde elde edilebilmiştir (Şekil 12).

Bu grupta dişi başına elde edilen en yüksek yumurta verimliliği 219000 adet (ki bu rakam çalışmada elde edilen en yüksek yumurta verimliliğidir) olarak kaydedilmiştir. Yumurtaların döllülük oranı %79 ve ortalama açılma oranı %28.55 olarak gerçekleşmiştir (Tablo 2). Grupta elde edilen en yüksek yumurta açılma oranı %32.24 ve deneme süresince kabuk değiştiren karides sayısı 64 adet olarak belirlenmiştir. Deneme süresi boyunca, bu grupta olgunlaştırılan dişi anaçların %90'ı yumurtlamıştır.



Şekil 12. Denemenin başlangıcından sonuna kadar Grup 5 (Gözsapı Kesimi)'de gerçekleşen yumurtlamaların tarihi ve dişi başına bireysel yumurta miktarları.

Genel olarak bakıldığında; 60 gün süren denememizde dişi başına düşen ortalama en yüksek ( $125014.94 \pm 29275.60$  adet) ve en düşük yumurta verimliliği ( $28500.00 \pm 18623.96$  adet), sırasıyla, Grup 5 ve Grup 4'te elde edilmiştir ( $P < 0.05$ ) (Tablo 2). Tüm gruplar içerisinde Grup 5'te daha fazla sayıda dişi ovaryum geliştirmiş ve yumurtlama eyleminde bulunmuşlardır. Döllülük oranı açısından gruplar arasında sadece serotonin enjeksiyonu yapılan grupta (Grup 2) istatistik olarak düşük bir değer (%63.08) elde edilmiştir ( $P < 0.05$ ). Yumurta açılma oranları tüm gruplarda beklenenin altında çıkmıştır (%9-31). En yüksek yumurta açılma oranları Grup 1 (K) ile Grup 5'te (%29-31), en düşük açılma oranları ise Grup 3 ile Grup 4'te gerçekleşmiştir ( $P < 0.05$ ). Deneme süresince anaçlardaki yaşama oranları %90'nın üzerinde gerçekleşmiştir.

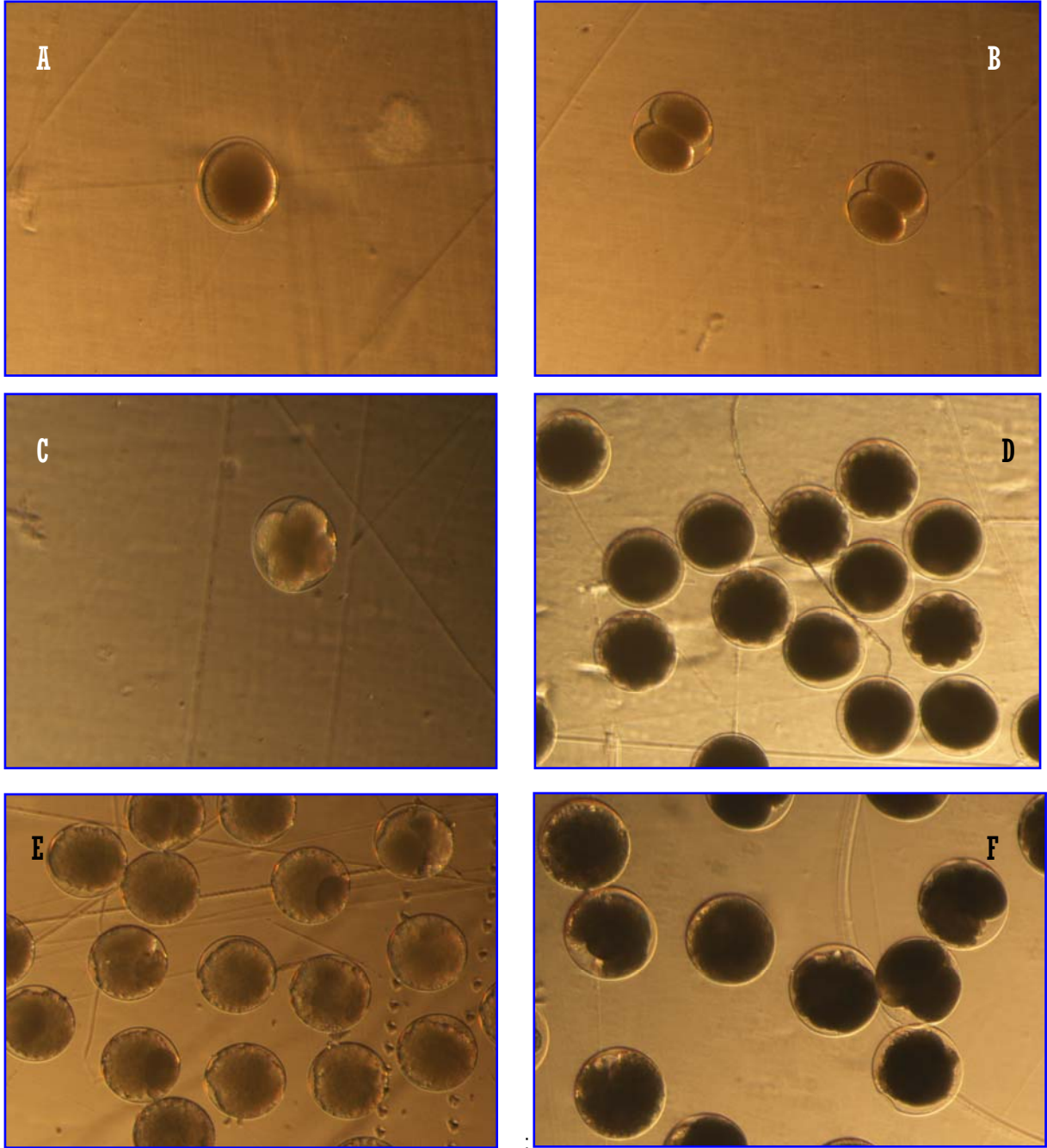


Tablo 2. Deneme süresince elde edilen yumurtlama sayısı, her yumurtlamada elde edilen ortalama yumurta sayısı, döllülük oranı, açılma oranı ve kabuk değiştirme sayısı K: hiçbir muameleye tabi tutulmamış ve E: serum fizyolojik solüsyon enjekte edilmiş gruplara aittir. Yumurta sayısı, döllülük ve açılma oranları ile ilgili her değer bir ortalama  $\pm$  standart sapmayı göstermektedir. Aynı sütunda farklı harflerle işaretlenen ortalamalar birbirlerinde istatistiki olarak farklıdır ( $P<0.05$ ).

Gruplar	Yumurtlama Sayısı (adet)	Yumurtlayan Dişi Oranı (%)	Ortalama Yumurta Sayısı (adet)	Ortalama Döllülük Oranı (%)	Ortalama Açılma Oranı (%)	Kabuk Değiştirme Sayısı (adet)
<b>Grup 1</b>	5 adet K	50.00	48483.40 <sup>bc</sup> $\pm$ 12980.10	86.25 <sup>a</sup> $\pm$ 11.25	31.00 <sup>a</sup> $\pm$ 7.12	78
	4 adet E	40.00	52000.00 <sup>bc</sup> $\pm$ 16512.62	95.75 <sup>a</sup> $\pm$ 5.06	16.22 <sup>b</sup> $\pm$ 6.73	
<b>Grup 2</b>	6 adet	35.29	60277.83 <sup>bc</sup> $\pm$ 17745.06	63.08 <sup>b</sup> $\pm$ 13.23	18.50 <sup>b</sup> $\pm$ 3.81	68
<b>Grup 3</b>	11 adet	55.00	79777.78 <sup>b</sup> $\pm$ 19933.38	88.37 <sup>a</sup> $\pm$ 8.02	8.53 <sup>c</sup> $\pm$ 2.15	70
<b>Grup 4</b>	7 adet	38.89	28500.00 <sup>d</sup> $\pm$ 18623.96	86.54 <sup>a</sup> $\pm$ 12.57	10.13 <sup>c</sup> $\pm$ 1.83	75
<b>Grup 5</b>	18 adet	90.00	125014.94 <sup>a</sup> $\pm$ 29275.60	79.06 <sup>ab</sup> $\pm$ 13.21	28.55 <sup>a</sup> $\pm$ 7.06	64

### 4.3. Yumurtaların Morfolojisi ve Embriyonik Gelişim

Deneme esnasında elde edilen yumurtaların mikroskopik incelemeleri esnasında özellikle döllülük oranı düşük çıkan yumurtaların morfolojik yapılarının bozuk olduğu; bazılarının elipsoit yapıda, iri ya da çok küçük ve bazılarının da hücre zarının parçalanmış halde olduğu görölmüştür. Deneme süresince de yumurtaların morfolojilerindeki bu anormallikler devam etmiştir. Normal embriyonik gelişim gösteren yumurtalar, larvalar (N1 ve PZ1 ) ve post-larvalar Şekil 13, 14 ve 15'te görölmektedir.



Şekil 13. *Litopenaeus vannamei* yumurtalarında embriyonik gelişim. A) yeni yumurtlanmış yumurta, B) iki hücreli dönem (yumurtlamadan 1-1.5 saat sonra), C) dört hücreli dönem, D) morula dönemi, E) blastula dönemi, F) açılmak üzere olan naupliiler (yumurtlamadan 11 saat sonra).



Şekil 14. Yumurtadan yeni çıkmış bir Naupli (N1) (yumurtlamadan 15 saat sonra) ve ilk Protozoa (PZ1) dönemine geçen bir larva.



Şekil 15. Deneme sonrasında PL60-65 civarına kadar büyütülen post-larvalar.

## 5. TARTIŞMA

Gözsapı kesimi penaeid karideslerde ovaryum gelişimi üzerine etki eden bilinen en etkili teknik olup, halen tüm dünyada ticari kuluçkahanelerin hepsinde de çok yaygın olarak kullanılmaya devam edilmektedir. Diğer türlerde olduğu gibi (BROWDY ve Samocha, 1985; BRAY ve Lawrence, 1992; BROWDY, 1992; AKTAŞ ve ark., 2003), çalışmamızda da test ettiğimiz teknikler içerisinde, Pasifik beyaz karidesinin (*L. vannamei*) mevsim-dışı ovaryum gelişimi ve yumurtlatılmasında yine en etkili yöntem olarak gözsapı kesim tekniği öne çıkmıştır. Denememizde, üreme dönemi dışında olunmasına rağmen, gözsapı kesimi yapılan dişilerin 2 aylık bir süre zarfında %55-90'ının başarıyla ovaryum geliştirerek yumurtlayabildiği belirlenmiştir. Aynı anaç stok yoğunluğunda (9.55 adet/m<sup>2</sup>) bulunan dört deneme grubu arasında (Grup 1-4), gözsapı kesilen dişiler (Grup 3) daha yüksek bir yumurtlama oranı ve yumurta verimliliği ile diğer gruplardan daha üstün bir performans sergilemişlerdir. Denememiz süresince özellikle düşük yoğunlukta stoklanan anaçların bulunduğu tankta (Grup 5) bulunan dişilerin %90'ı yumurtlamış ve bu dişiler %79 döllülük oranıyla ortalama dişi başına 125000 adet civarında yumurta üretmişlerdir. Genel olarak, gözsapı kesiminin kuluçkahanelerde tutulan anaçlarda daha güvenilir ve kısa sürede ovaryum gelişimi sağladığı ancak yumurta verimliliği, döllülük oranı ve açılma oranları üzerine etkilerinin her zaman olumlu olmadığı bilinmektedir (BRAY ve Lawrence, 1992; BROWDY, 1992). Çalışmamızda yürütülen denemede gözsapı kesiminin dişilerde yumurta verimliliğini, diğer gruplara kıyasla, belirgin bir şekilde arttırdığı ancak döllülük ve açılma oranlarında böyle bariz artışlara neden olmadığı görülmektedir (BROWDY ve Samocha, 1985; AKTAŞ ve Kumlu, 1998).

Anaç tank büyüklüğü ve stok yoğunluğunun deniz karideslerinde başarılı bir çiftleşme ve ovaryum gelişimi için önemli olabileceği bildirilmektedir (PRIMAVERA, 1979; CROCOS ve Kerr, 1986). Çalışmamızda da, gözsapı kesilen gruplardan olan Grup 3 ile Grup 5 arasında üreme performansı açısından elde edilen belirgin farklılıkların anaç stok yoğunluğu, cinsiyet oranı ve tank büyüklüğünden kaynaklandığı öngörülmektedir. Karideslerle yapılan çalışmalarda, tank büyüklüğü ve stoklama yoğunluğunun farklı karides türlerinin üreme performansları üzerinde değişik etkilerde bulunduğu bilinmektedir. Örneğin, yeşil kaplan karidesi (*P. semisulcatus*) ile yaptığımız bir çalışmada 1.2-m çapında tanklarda, 1:2 erkek/dişi oranında ve 10 adet/m<sup>2</sup> stoklama yoğunluğunda bile çok başarılı sonuçlar alınabileceği görülmüştür (AKTAŞ ve ark., 2003). Bu araştırmacılar 1.2 m ile 4 m çapında tanklarda ovaryumları olgunlaştırılan dişilerin yumurtalarının döllenme ve açılma oranlarının benzer olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmamızda, 3-m çapında tankta 1:1 cinsiyet oranında (Grup 5) ovaryum geliştiren dişilerin oranının 2 aylık bir süre içerisinde %90'nın üzerine çıktığı,

dişi başına yumurta verimliliğinin 2 m çapında tanklarda tutulan Grup 1 (kontrol) ve Grup 3'e (gözsapı kesilen) göre %36-60 arttığı belirlenmiştir. Ancak, çalışmamızda tank büyüklüğü, cinsiyet ve stoklama oranının yumurtaların döllülük oranı veya açılma oranı üzerine olumlu herhangi bir yansıması görülmemiştir. Yine de gerek literatür bildirişlerinde (BROWDY, 1985; CROCOS ve Kerr, 1986) gerekse bu çalışmadan elde edilen veriler ışığında Pasifik beyaz karidesinde büyük tankların anaç populasyonunda ovaryum geliştiren ve yumurtlayan dişilerin oranını arttırdığı ve bu tür için en az 3 m çapında tankların tercih edilmesi gerektiği anlaşılmıştır. CHEN ve ark., (1991) *L. vannamei* anaçları için 6 m<sup>2</sup> taban alanına sahip tanklar kullanmışlardır.

*L. vannamei* için minimum anaç boyutunun 25 g ve optimum <35 g olduğu bildirilmiştir (YANO, 1993). Zaten çalışmamızda da kullandığımız anaçların tamamının bu boyutlarda (30-35 g) olmasına dikkat edilmiştir. Genellikle 1:1 (dişi/erkek) cinsiyet oranı yaygın olmakla birlikte, bazı kuluçkahanelerde 1.5-2.5:1 (dişi/erkek) oranları da kullanılmaktadır. *L. vannamei*'nin anaç tanklarına stoklanma oranları 5-10 adet/m<sup>2</sup> de olabilmektedir (CHAMBERLAIN ve Lawrence, 1985; TREECE, 1999). Çalışmamızda kullandığımız anaç stok yoğunluğu olan 10 adet karides/m<sup>2</sup> oranını CHEN ve ark., (1991) da resirküle sistemde anaç olgunlaştırma çalışmalarında kullanarak başarılı sonuçlar almışlardır.

Karideslerde kuluçkahane koşullarında üremenin başarılı bir şekilde kontrol edilebilmesi için bazı çevresel faktörlerden yararlanılabileceği bilinmektedir. Genel olarak uzun fotoperiyot ve 25°C'nin üzerindeki su sıcaklıklarının birçok karides türünde [örneğin *Penaeus japonicus* (LAUBIER-BONICHON, 1978), *P. setiferus* (BROWN ve ark., 1979), *P. esculentus* (CROCOS ve Kerr, 1986), *P. duorarum* (CRIPE, 1994) ve *P. semisulcatus* (AKTAŞ ve ark., 2003)] ovaryum gelişimi ve yumurtlama için uygun olduğu belirlenmiştir. Yarı-tropik bölgelerde yaz mevsimi dışında karşılaşılan düşük sıcaklıkların (< 25°C) karideslerde gonad gelişimi ve yumurtlamayı (gözsapı kesimi yapılsa bile) tamamıyla engellediği bilinmektedir (CROCOS ve Kerr, 1986; ROBERTSON ve ark., 1991; AKTAŞ ve ark., 2003). Kuluçkahanelerde çevresel faktörlerin optimal düzeylerde dahi olsa düzenli bir ovaryum gelişimi ve yumurtlama sağlayamayacakları, bunun başarılabilmesi için fotoperiyottan ziyade özellikle su sıcaklığının belirli periyotlarda optimal ve sub-optimal aralıklarla düzenli olarak dalgalandırılması (20°C ile 28°C'ler arasında) gerektiği belirlenmiştir (CRIPE, 1994; AKTAŞ ve ark., 2003). Yeşil kaplan karidesi (*P. semisulcatus*) ile yürüttüğümüz bir çalışmada, sıcaklığın döngülü olarak 20-28°C arasında dalgalandırılmasının kış aylarında bile (12 saat aydınlıkta) karideslerde ovaryum gelişimi ve yumurtlamayı uyardığı ve bu tekniğin optimal koşullarda tutulan dişilerde gerçekleştirilen gözsapı kesimi tekniğine yakın sonuçlar verdiği görülmüştür (AKTAŞ ve ark., 2003). Bu araştırmacılar, yarı-tropik iklim kuşağında bulunan ülkelerde karideslerin

mevsim-dışı gonad olgunlaştırıp yumurtlatılmasında döngülü dalgalı sıcaklık uygulama tekniğinin kullanılabileceğini belirtmişlerdir. Bu bilgiler ışığında, dünyada yetiştiriciliği en yaygın olarak yapılan *L. vannamei* türünde de bu tekniğin mevsim-dışı üremeyi uyarıp uyarılmayacağını belirlemek amacıyla kurgulanan denememizin bir grubunda (Grup 4), 10'ar günlük döngülerle su sıcaklığının dalgalandırılması (20-28°C) (doğal fotoperiyotta, 13-14 saat aydınlıkta) 3. döngüden sonra yumurtlamaları uyarılmış ancak bu uygulamadan beklenen başarı elde edilememiştir. Bu grupta yumurtlayan dişi oranı (%39) ve yumurta verimliliği (28500 adet/dişi) kontrol grubuna göre (%50 yumurtlama oranı ve dişi başına 50000 adet civarında yumurta verimliliği) daha düşük çıkmıştır ( $P<0.05$ ). Üreme mevsimi dışında bu çalışmanın yürütülmüş olması ve ayrıca türsel farklılıktan da kaynaklanabileceği düşünülen bu olumsuzluklar nedeniyle, denememizde uyguladığımız koşullarda, döngülü sıcaklık dalgalandırma tekniğinin *L. vannamei* türü için mevsim-dışı üremede kullanımının herhangi bir avantaj sağlamayacağı ortaya çıkmıştır.

Karideslerde üremenin uyarılmasında hormon uygulamaları sınırlı sayıda çalışmaya konu olmuştur. Bugüne kadar farklı dekapod krustase türleriyle yapılan çalışmalarda; Serotonin (5-hydroxytryptamine veya 5-HT) hormonunun kerevitlerden *Procambarus clarkii* (KULKARNI ve ark., 1992) ve istakozlardan *Homarus americanus* (FINGERMAN, 1997), tatlısu karideslerinden *Macrobrachium rosenbergii* (MEERATANA ve ark., 2006) ve karideslerden *Penaeus monodon* (WONGPRASERT ve ark., 2006), *L. vannamei*, *L. stylirostris* (VACA ve Alfaro, 2000; ALFARO ve ark., 2004), *P. semisulcatus* (AKTAŞ ve ark., 2004) genel olarak bu krustaselerde ovaryum gelişimini uyardığı ortaya çıkarılmıştır. TINIKUL ve ark., (2008) neurotransmitter olarak serotoninin gözsapında bulunan X-organ/sinüs bezi kompleksinden salınan GIH'ı (gonad inhibiting hormone) inhibe ederek veya GSH'yi (gonad stimulating hormone) uyararak gonad gelişimini sağladığını bildirmiştir (SAROJINI et al., 1995; FINGERMAN, 1997). Son zamanlarda benzer şekilde, GnRH hormonunun da *P. monodon* anaçlarında ovaryum gelişiminde önemli bir rol oynadığı (NGERN-SOUNGNERN ve ark., 2008) ve serotoninin *Fenneropenaeus indicus* karides türünde yumurtalarda vitollojen birikimini artırarak ovaryum gelişimini uyardığı (SANTOSHI ve ark., 2009) belirlenmiştir. Bugüne kadar, dekapodlarda üreme üzerinde etkide bulunan bu tip hormonların özellikle de karideslerde mevsimi-dışı üreme performansına nasıl etki edeceği henüz hiçbir çalışmada ele alınmamıştır. Bu eksikliğin giderilmesi amacıyla proje kapsamında serotonin uyguladığımız bir deneme grubunda (Grup 2) serotoninin *L. vannamei*'nin mevsim-dışı üremesinde belirgin bir etkiye sahip olmadığı ortaya çıkmıştır. Denememizde serotonin enjekte edilen dişiler ancak 3. hormon enjeksiyonundan sonra ovaryum geliştirebilmiş ve denemenin 28. gününde ilk yumurtlama elde edilmiştir. Hormon uygulaması yumurtalarda döllülük oranını olumsuz etkilemiş ancak döllü yumurtalarda

açılma oranı nispeten yüksek çıkmıştır. Çalışmamızda serotoninin *L. vannamei* anaçlarında beklenenin aksine üremeyi zayıf bir şekilde uyarmasının mevsim ile ilgili olabileceği düşünülmektedir. Zira, Vaca ve Alfaro (2000) doğal üreme sezonunda yine Pasifik beyaz karidesinde yürüttükleri çalışmalarında serotonin enjeksiyonunun bu karides türünde gözsapı kesim tekniğine yakın bir üreme performansı sağlayabildiklerini bildirmişlerdir.

Mevsim-dışı yumurtlamalarda denemenin başlangıcı ile ilk yumurtlama arasında geçen süre türden türe değişiklikler göstermektedir. AKTAŞ ve ark., (2003), *P. semisulcatus* ile kış aylarında yürüttükleri çalışmalarında, döngülü sıcaklık dalgalandırma tekniği uyguladıkları karideslerde ilk yumurtlamayı 33. günde, gözsapı kesimi yaptıkları grupta ise 13. günde elde edebilmişlerdir. *P. esculentus* için CROCOS ve Kerr, (1986) de benzer süreler bildirmiştir. Sıcaklık dalgalandırma tekniğini kullanan CRIPE (1994) *P. duorarum* türünde birkaç yumurtlamayı 20-25. günlerde elde etmiş ancak yumurtlamaların büyük çoğunluğunun 90. günden sonra gerçekleştiğini belirtmiştir. *L. vannamei* ile yürüttüğümüz çalışmamızda ise ilk yumurtlamaların 25. ile 28. günler arasında gerçekleştiği ve süre açısından gruplar arasında önemli bir farklılık olmadığı görülmüştür. Deneme esnasında yapılan gözlemlerden, diğer gruplara kıyasla, gözsapı kesimi yapılan dişilerde ovaryum gelişiminin ilk hafta içerisinde belirgin bir şekilde arttığı ancak bunun yumurtlamalar ile sonuçlanmadığı görülmüştür.

Su sıcaklığı, fotoperiyot, hayvan vücut büyüklüğü, stres ve diğer çevresel faktörlerin karideslerde kabuk değişim döngüsünü etkilediği bilinmektedir (EMMERSON, 1980; PRIMAVERA, 1985). Açık telikumlu karideslerde üreme ile kabuk değişimi arasında doğrudan bir ilişki olmadığından, çalışmamızda markalanan karideslerde stresi ve mortaliteyi azaltmak amacıyla, dişilerde özellikle ilk kabuk değişiminden sonra yeniden markalama yapma yoluna gidilmemiş ve kabuk değiştirme döngüsünün belirlenmesine gerek duyulmamıştır. Ancak deneme süresince hem dişi hem de erkek bireylerin kabuk değiştirme sayıları belirlenerek, deneme gruplarının kabuk değiştirme sıklığının uygulanan tekniklerden etkilenip etkilenmediğine bakılmıştır. Sürekli ışıklandırma veya karanlıkta tutma ve düşük sıcaklıkların karideslerde kabuk değiştirme sıklığını azalttığı ancak gözsapı kesimiyle ise arttığı bilinmektedir (DALL ve ark., 1990). Ancak, çalışmamızda elde ettiğimiz bulgular; gözsapı kesimi yapılan ve hatta sıcaklık dalgalanması uygulanan gruplar arasında bile kabuk değiştirme sıklığı anlamında belirgin bir farklılığın oluşmadığını göstermiştir (BROWDY ve Samocho, 1985).

Denememizde test edilen tüm gruplarda yumurta kalitesinde önemli sorunlarla karşılaşmış ve bu sorun deneme süresince azalmadan devam etmiştir. En verimli yumurtlamalarda bile yumurtaların morfolojik yapılarında anormallikler (elipsoid şekilli iri veya çok küçük, yumurta zarı patla-



mış, tam olgunlaşmamış vb. yumurtalar) gözlenmiştir. Buna rağmen gruplar bazında yumurta döllülük oranları oldukça yüksek çıkmış ancak gelişimini normal sürdüren ve tamamlayan yumurtaların oranının düşük kaldığı belirlenmiştir. Yumurtalarda açılma oranının bu kadar düşük çıkmasının birçok sebebi olabilir; kötü su kalitesi, uygun olmayan fotoperiyot, yetersiz veya kaliteli olmayan besinlerle anaçların beslenmesi ve genotipik yapı bunların başında sayılabilir (MENASVETA ve ark., 1994).

Gonad gelişimini etkileyen temel faktörlerin başında beslenme gelmektedir. Genellikle kuluçkahane koşullarında başarılı bir ovaryum gelişimi ve yumurtlamanın sağlanabilmesi için karides türlerinin tamamında yiyebildikleri kadar taze yem (midye, istiridye, kalamar, yengeç ve deniz kurtları) ve bazen de yapay yem kullanılır (PRIMAVERA, 1978; CHAMBERLAIN, 1985; MAKINOUCHE ve Primavera, 1987; PALACIOS ve Racotta, 2003). Çalışmamızda da karideslere yiyebildikleri kadar taze ve zaman zaman da dondurulmuş kalamar, sübye, yengeç ve midye verilerek dengeli bir şekilde besin almaları sağlanmıştır. Bu tip beslenme rejimleri ile AKTAŞ ve Kumlu, (1998) ve AKTAŞ ve ark., (2003) *P. semisulcatus* anaçları ile yürüttükleri çalışmalarında; üreme mevsiminde veya üreme mevsimi dışında bu türün olgunlaştırılıp yumurtlatılmasında oldukça başarılı sonuçlar almışlardır.

Sıcaklık, gün-uzunluğu (foto-periyot), ışık kalitesi ve kantitesi yanında diğer pek çok su kalite parametreleri (salinite, pH, çözülmüş oksijen, azotlu atıklar, ağır metal seviyesi) de karideslerde üreme başarısı üzerinde etkili olabilmektedir (PRIMAVERA, 1985; HARRISON, 1990). Çalışmamız esnasında yumurta açılma oranının düşük çıkmaya başladığı görüldüğünde ilk yapılan müdahale su kalitesi üzerine olmuştur. Normalde yumurtlama tanklarında kullanılacak olan deniz suyu bir kez önce kum filtresi ardından 1µ'na kadar kartuş, torba filtre ve sonrasında da UV sisteminden geçiriliyor iken, kurulan yeni bir resirküle düzenek ile bu su en az 5-6 kez 1 µ'luk kartuş filtre ve UV sisteminden tekrar tekrar geçirilerek daha kaliteli hale getirilmiştir. Yumurtaların açtırılması esnasında suda olası metal bileşiklerini bağlamak için EDTA, yine bakterilerin öldürülmesi için antibiyotik (furazolidone) ve povidone iodine (mantar hastalıklarını önlemek için) kullanılmıştır (ANONİM, 2005; 2007). Bu önlemler neticesinde deneme süresince yumurtalar üzerinde hiçbir zaman herhangi bir hastalık etmenine rastlanmamıştır. Yumurtlama tanklarında kullanılan fotoperiyot, sıcaklık, tuzluluk, pH ve diğer çevresel parametreler (azotlu atıklar) rutin karides kuluçkahanelerinde kullanılan veya karşılaşılan benzer değerlerde olduğu için bu parametrelerin yumurtaların açılma oranı üzerinde herhangi bir olumsuz etkisinin olmadığı düşünülmektedir. Tüm koşullar uygun olmasına rağmen mevsim-dışı anaç olgunlaştırma ve yumurtlatma çalışmalarında zaman zaman beklenmeyen olumsuz sonuçlar da alınabilmektedir. Örneğin; daha önce *P. semisulcatus* ile



kış aylarında yine bir resirküle sistemde yaptığımız bir çalışmada yumurtaların açılma oranlarında sorunlar yaşanmış ve bunun sebeplerinin de ne olduğu tam olarak anlaşılamamıştır (AKTAŞ ve ark., 2003). Tutsaklıkta sıklıkla karşılaşılan stresin erkek ve dişi karideslerin üreme performansı ve gamet kalitesi üzerine olumsuz etkilerde bulunduğu zaten bilinmektedir (CHEN ve ark., 1991; MCVEY, 1993). Bu durumda, tutsaklık stresine ilave olarak, ayrıca mevsim dışında üremeye zorlanmalarının karideslerin üreme performansı üzerine daha da olumsuz etkilerde bulunmuş olması olasılık dahilindedir.

Genel olarak havuzlarda büyütülen karidesler arasından anaç seçimi yapılarak bunların üreme amaçlı kullanıldığı durumlarda gonad gelişimi ve yumurtlamada sıkıntılarla karşılaşılabilir. Karides türleri arasında kuluçkahanelerde üremeleri nispeten kolay olarak kabul edilen *P. japonicus* ve *L. vannamei*'de bile evcilleştirilmiş (yaşam döngüler işletme koşullarında kapatılmış) varyetelerde larva kalitesinde ciddi bozukluklar oluşabildiği bildirilmiştir (BENZIE, 1997). SBORDONI ve ark., (1987) havuzlarda büyütülerek anaç haline getirilmiş bireylerin üremesinde akrabalı yetiştiriciliğin neden olduğu olumsuz genetik bozuklukların (inbreeding depressions) sıklıkla görülebildiğini bildirmektedir. Doğal sularında yetiştiriciliğe konu olan karides türünü barındırmayan bazı ülkelerde (New Claedonia gibi) yaşam döngüsünün kapatılması ve yeni anaç takviyesinde bulunulmaması halinde, düşük genetik varyasyonun anaçların üreme performanslarında ciddi problemlere neden olabileceği görülmüştür (GOYARD ve ark., 2003). Islah programlarında genetik temeli dar olan seleksiyonlar neticesinde 1-2 jenerasyonda bile akrabalı yetiştirme depresyonu oluşabilmektedir. MOSS ve ark., (2008) 2 yıl boyunca sürdürdükleri bir çalışmada; akrabalı yetiştiricilik yapılan *L. vannamei* karideslerinde 2 jenerasyonda bile yumurta açılma oranlarında %33.1 ile %47.1 arasında daha düşük açılma oranları elde etmişlerdir. Bu araştırmacılar stres faktörlerinin (çevresel faktörlerden kaynaklı) yaşama oranı açısından durumu daha da kötüleştirebileceğini bildirmişlerdir. Bu bilgiler ışığında, bizim çalışmamızda da yumurta açılma oranındaki sorunların başlıca nedeninin anaçların genotipik yapısından da kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Dünyanın birçok ülkesinde *L. vannamei*'nin seleksiyon yöntemleriyle daha hızlı büyüye-bilen ve hastalıklara dirençli (SPR: Specific Pathogen Resistant) veya spesifik bazı patojenleri içermeyen (SPF: Specific Pathogen Free) varyeteleri geliştirilmiştir (CUZON ve ark., 2004). Bazı ticari firmaların yürüttükleri genetik programlarda özellikle belli derecede akrabalı yetiştiricilik yapılan anaç stoklarından post-larva üretilmekte ve bunların ticari satışları yapılmaktadır. Doğal sularında bu türe sahip olmayan ülkelerdeki firmalar bu tip post-larvaları havuzlarında büyüttükten sonra yurtdışından artık ithalat yapmak istemeyip kendi yavrularından anaç stoku oluşturmak istediklerinde (bizim de yaptığımız gibi), orijinal stokun pedigree geçmişi bilmedikleri için, derhal akrabalı

yetiştiricilik deformasyonlarına maruz kalmaktadırlar. ABD’de ıslah yapan büyük firmaların, ticari kaygılar nedeniyle, Uzakdoğu ve Çin’e gönderdikleri anaçlarda özellikle bu hususa dikkat ettikleri bildirilmektedir.

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

- *Bu proje neticesinde elde edilen bulgular Akdeniz koşullarında, bu türün anaçlarının, mevsim dışında resirküle sistemlerde rahatlıkla olgunlaştırılarak yumurtlatılabileceği ve böylece üremenin tamamıyla kontrol edilebileceğini göstermiştir.*
- *Test edilen tekniklerden en uygun olanının gözsapı kesim tekniği olduğu ve anaç olgunlaştırma esnasında kullanılacak olan tankların en az 3 m çapında, cinsiyet oranının 1:1 (dişi : erkek) ve anaç stok oranının en fazla 5 adet/m<sup>2</sup> olması gerektiği anlaşılmıştır.*
- *Ovaryum gelişimini tamamlamış dişilerin ağırlıklı olarak gün batımında (saat 19:00-21:00 civarlarında) çiftleşerek spermatofor aldıkları ve genellikle gece yarısına doğru yumurtladıkları belirlenmiştir.*
- *Mevsim dışında bile olsa gözsapı kesilen grupların diğer gruplara kıyasla çok daha erken bir sürede (1. hafta sonunda) ovaryum olgunlaştırmaya başladıkları ancak ilk başarılı yumurtlamaların 25 ile 28. günlerde elde edilebildiği görülmüştür.*
- *Deneme boyunca en yüksek yumurtlama oranı (%55-90) ve dişi başına ortalama yumurta verimliliği (79778-125015 adet) gözsapı kesilen gruplarda kaydedilmiştir.*
- *Sıcaklık dalgalanması yapılan grupta (Grup 4) ovaryum gelişimi 3. sıcak/soğuk döngüsünden sonra uyarılmış ve bunun neticesinde toplamda 7 adet dişi yumurtlayarak (%39) dişi başına ortalama 28500 adet yumurta elde edilmiştir.*
- *Serotonin enjekte edilen grupta (Grup 2) dişilerin %35’i üçüncü hormon enjeksiyonundan sonra ovaryum geliştirerek yumurtlamış ve her dişi ortalama 60277 adet yumurta üretmiştir.*
- *Denemede dişi başına en yüksek yumurta verimliliği (219000 adet/dişi) 5. Grup’ta (Gözsapı kesimi) elde edilmiştir.*
- *Tüm gruplarda yumurta döllülük oranı ortalama %63.08 ile %95.75 arasında çıkmış ancak yumurta açılma oranında beklenenden daha düşük değerler (%8.53-%31) elde edilebilmiştir.*
- *En yüksek yumurta açılma oranları Grup 1 (K) ile Grup 5’te (%29-31), en düşük açılma oranları (%8.53-10.13) ise Grup 3 ile Grup 4’te gerçekleşmiştir.*

- Gözsapı kesimi yapılan iki grup arasında (Grup 3 ile Grup 5) yumurtlayan dişi oranı, yumurta verimliliği ve açılma oranı açısından önemli farklılıklar belirlenmiş ve bunun nedenlerinin tank büyüklüğü, anaç stok oranı ve cinsiyet oranı olduğu anlaşılmıştır.
- Havuzda büyütülerek anaç haline getirilen karides türlerinin birçoğunda sıklıkla karşılaşılan düşük üreme performansı, çalışmamızda da yumurtaların morfolojik yapılarında anormallikler ve düşük açılma oranları şeklinde açıkça ortaya çıkmıştır.
- Anaçların mevsim-dışı üremeye zorlanmaları neticesinde ortaya çıkan stres yumurta kalitesini düşürerek özellikle yumurta açılma oranını olumsuz etkilemiştir.
- Yumurta kalitesi ve açılma oranındaki sorunların başlıca nedeninin anaçların genotipik yapısından da kaynaklanabileceği düşünülmüştür.
- Son zamanlarda daha hızlı büyümeye yönelik olarak sürdürülen ıslah programları neticesinde bazı karides varyetelerinde genetik varyasyonda gerçekleşen düşmelerin bu tip stokların yaşam döngüsünün kapatılması halinde anaçların üreme performanslarında ciddi problemlere neden olabileceği bildirilmektedir.
- Bazı kuluçkahanelerin, ticari çıkarlarını korumak amacıyla, özellikle belli derecede akrabalı yetiştiricilik yapılan anaç stoklarından post-larva üretilip sattıkları bilinmektedir. Bu tip post-larvaları satın alarak havuzlarında büyüten üreticiler, daha sonra bunlardan yavru üretmek istediklerinde (bizim yaptığımız gibi), orijinal stokun pedigree geçmişini bilmedikleri için, derhal akrabalı yetiştiricilik deformasyonlarına (inbreeding depression) maruz kalmaktadırlar.
- Bundan dolayı da; doğal sularımızda bulunmayan bu karides türünün havuzlarda büyütülmesi için ıslah edilmiş yavrularının ya tek kullanımlık amaçlarla ülkemize getirilmesi ya da doğrudan ıslah edilmiş anaçların güvenilir kaynaklardan ithal edilerek ülkemizde bunlardan yavru üretilmesi yoluna gidilmesi önerilmektedir.
- Her şekilde gerek bu tür gerekse yerel türlerimizden örneğin *Penaeus semisulcatus* için zaman içerisinde kendi ıslah programlarımızı oluşturarak hızlı büyüyen varyeteleri ülke içerisinde üretme yoluna gitmemiz gerekmektedir.

## 7. LİTERATÜR

- AKTAŞ, M., Kumlu, M., Gonadal maturation and spawning of *Penaeus semisulcatus* (Pena-eidae: Decapoda), *Turkish Journal of Biology*, 23, 61-66, (1998).
- AKTAŞ, M., Kumlu, M., Eroldoğan, O.T., Off-season maturation and spawning of *Penaeus semisulcatus* by photoperiod, and/or temperature and eyestalk ablation in subtropical conditions, *Aquaculture*, 228(1-4), 361-370, (2003).
- AKTAŞ, M., Eroldoğan, O.T., Kumlu, M., Combined effects of temperature and salinity on egg hatching rate and incubation time of *Penaeus semisulcatus* (Decapoda: Penaeidae), *The Israeli Journal of Aquaculture – Bamidgeh*, 56(2), 124-128, (2004).
- AKTAŞ, M., Kumlu, M., Gonadal maturation and spawning of *Penaeus semisulcatus* by hormone injection, *Turk. J. Zool.*, 29, 193-199, (2005).
- ALFARO, J., Effect of 17-alpha-methyltestosterone and 17-alpha-hydroxyprogesterone on the quality of white shrimp *Penaeus vannamei* spermatophores, *J. World Aquacult. Soc.*, 27, 487-492, (1996).
- ALFARO, J., Zúñiga, G., Komen, J., Induction of ovarian maturation and spawning by combined treatment of serotonin and a dopamine antagonist, spiperone in *Litopenaeus stylirostris* and *Litopenaeus vannamei*, *Aquaculture*, 236(1-4), 511-522, (2004).
- ANONİM., Better Management Practices (BMP) Manual for Black Tiger Shrimp (*Penaeus monodon*) in Hatcheries in Viet Nam ([Http://aquanic.org/species/shrimp/documents/ BMP\\_for hatcheries-EN.pdf](http://aquanic.org/species/shrimp/documents/BMP_for_hatcheries-EN.pdf)), 59, (2005).
- ANONİM., Improving *Penaeus monodon* hatchery practices: Manual based on experience in India, *FAO Fisheries Technical Paper*, 446, (2007).
- BENZIE, J.A.H., A review of the effect of genetics and environment on the maturation and larval quality of the giant tiger prawn *Penaeus monodon*, *Aquaculture*, 155, 69-85, (1997).
- BRAY, W.A., Lawrence, A.L., Reproduction of *Penaeus* species in captivity, ed: Fast, A.W., Lester, L.J., *Marine Shrimp Culture: Principles and Practices*. Elsevier, Amsterdam, (1992), pp. 93–172.
- BROWDY, C.L., Samocha, T.M., The effect of eyestalk ablation on spawning, moulting and mating of *Penaeus semisulcatus* De Haan, *Aquaculture*, 49, 19– 29, (1985).
- BROWDY, C. L., A review of the reproductive biology of *Penaeus* species: perspectives on controlled shrimp maturation systems for high quality nauplii production, ed: Wyban, J., *Proceedings of the Special Session on Shrimp Farming*. Florida, USA. (1992), pp. 22-51.

- BROWN, A., McVey, J., Middleditch, B.S., Lawrence, A.L., Maturation of white shrimp (*Penaeus setiferus*) in captivity, *Proc. World Maric. Soc.*, 10, 435–444, (1979).
- CAILLOUET Jr. C.W., Ovarian maturation induced by eyestalk ablation in pink shrimp *Penaeus duorarum* Burkenroad, *Proc. World Maric. Soc.*, 3, 205–225, (1973).
- CHAMBERLAIN, C.W., Biology and control of shrimp reproduction, ed: Chamberlain, C.W., Haby, M.G., Miget, R.J., *Texas Shrimp Farming Manual an Update on Current Technology*, P. I.23, Texas Agricultural Extension Service. Texas A&M. University System Research and Extension Center, Route 2, Box 589. Corpus Christi, TX 78410, (1985).
- CHAMBERLAIN, G.W., Lawrence, A.L., Maturation, reproduction, and growth of *Penaeus vannamei* and *P. stylirostris* fed natural diets, *J. World Maricult. Soc.*, 12(1), 207-224, (1985).
- CHEN, F., Reid, B., Arnold, C.R., Maturing, spawning and egg collecting of the white shrimp *Penaeus vannamei* Boone in a recirculating system, *J. World Aquacult. Soc.*, 22(3), 167-172, (1991).
- CRIFE, G.M., Induction of maturation and spawning of pink shrimp, *Penaeus duorarum* by changing water temperature, and survival and growth of young, *Aquaculture*, 128, 255–260, (1994).
- CROCOS, P.J., Kerr, J.D., Factors affecting induction of maturation and spawning of the tiger prawn, *Penaeus esculentus* (Haswell), under laboratory conditions, *Aquaculture*, 58, 203–214, (1986).
- CUZON, G., Arena, L., Goguenheim, J., Goyard, E., Aquacop., Is it possible to raise, offspring of the 25th generation of *Litopenaeus vannamei* (Boone) and 18th generation *Litopenaeus stylirostris* (Stimpson) in clear water to 40g? *Aquaculture Research*, 35, 1244-1252, (2004).
- DALL, W., Hill, B.J., Rothlisberg, P.C., Staples, D.J., The biology of the Penaeidae. ed: Blaxter, J.H.S., Southward, A.J., *Advances in Marine Biology*, vol. 27, Academic Pres, (1990), 489 p.
- EMMERSON, W.D., Induced maturation of prawn *Penaeus indicus*, *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 2, 121–131, (1980).
- FINGERMAN, M., Roles of neurotransmitters in regulating the reproductive hormone release and gonadal maturation in decapod crustaceans, *Invertebr. Reprod. Dev.*, 31, 47–54, (1997).
- GOYARD, E., Arnaud, S., Vonau, V., Bishoff, V., Mouchel, O., Pham, D., Wyban J., Boudry, P., Residual genetic variability in domesticated populations of the Pacific blue shrimp (*Litopenaeus stylirostris*) of New Caledonia, French Polynesia and Hawaii and some management recommendations, *Aquatic Living Resources*, 16, 501-508, (2003).

- HARRISON, K.E., The role of nutrition in maturation, reproduction and embryonic development of decapod crustaceans: a review, *J. Shellfish Res.*, 9, 1–28, (1990).
- HILLIER, A.G., Artificial conditions influencing the maturation and spawning of sub-adult *Penaeus monodon* Fabricius, *Aquaculture*, 36, 179– 184, (1984).
- KIR, M., Kumlu, M., Acute toxicity of ammonia to *Penaeus semisulcatus* post-larvae in relation to salinity, *J. World Aquacult. Soc.*, 37(2): 231-235, (2006).
- KIR, M., Kumlu, M., Critical thermal minima of *Penaeus semisulcatus* (Decapoda: Penaeidae) acclimated to four temperature levels, *J. World Aquacult. Soc.*, 38(4), 535-540, (2008a).
- KIR, M., Kumlu, M., Effect of temperature and salinity on low thermal tolerance of *Penaeus semisulcatus* (Decapoda: Penaeidae), *Aquaculture Research*, 39(10), 1101-1106, (2008b).
- KULKARNI, G.K., Nagabhushanam, R., Amaldoss, G., Jaiswal, R.G., Fingerman, M., In vitro stimulation of ovarian development in the red swamp crayfish, *Procambarus clarkii* (Girard), by 5-hydroxytryptamine, *Invertebr. Reprod. Dev.*, 21, 231–240, (1992).
- KUMLU, M., AKTAŞ, M., Eroldoğan, O. T., Pond culture of *Penaeus semisulcatus* in sub-tropical conditions of Türkiye, *Ege University Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 20(3/4): 367–372, (2003).
- KUMLU, M., Kır, M., Food consumption, moulting and survival of *Penaeus semisulcatus* during overwintering, *Aquaculture Research*, 36, 137–143, (2005).
- LAUBIER-BONICHON, A., Ecophysiologie de la reproduction chez la crevette *Penaeus japonicus* Trois années d'expérience en milieu contrôlé, *Oceanol. Acta*, 1 (2), 135–150, (1978).
- LUMARE, F., Reproduction of *Penaeus kerathurus* using eyestalk ablation, *Aquaculture*, 18, 203–214, (1979).
- MAKINOUCHI, S., Primavera, J.H., Maturation and spawning of *Penaeus indicus* using different ablation methods, *Aquaculture*, 62, 73– 81, (1987).
- MCVEY, J.P., CRC Handbook of Mariculture, (Ed.), Vol. I, *Crustacean Aquaculture*, CRC Press Inc. Boca Raton, FL. (1983), 442 p.
- MEERATANA, P., Withyachumnarnkul, B., Damrongphol, P., Wongprasert, K., Suseangtham, A., Sobhon, P., Serotonin induces ovarian maturation in giant freshwater prawn broodstock, *Macrobrachium rosenbergii* de Man, *Aquaculture*, 260, 315–325, (2006).
- MENASVETA, P., Sangpradub, S., Piyatiratitivorakul, S., Fast, A.W., Effects of broodstock size and source on ovarian maturation and spawning of *Penaeus monodon* Fabricius from the Gulf of Thailand, *J. World Aquacult. Soc.*, 25, 41–49, (1994).

- MOSS, D.R., Arce, M.S., Otoshi, C.A., Moss, S.M., Inbreeding effects on hatchery and growout performance of Pacific white shrimp, *Penaeus (Litopenaeus) vannamei*, *J. World Aquacult. Soc.*, 39(4), 467–476, (2008).
- MUTHU, M.S., Laximinarayana, A., Induced maturation and spawning of Indian penaeid prawns, *Indian J. Fish.*, 24, 172–180, (1977).
- NGERNSOUNGNERN, A., Ngersoungnern, P., Weerachatanuku, W., Chavadej, J., Sobhon, P., Sretarugsa, P., The existence of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) immunoreactivity in the ovary and the effects of GnRHs on the ovarian maturation in the black tiger shrimp *Penaeus monodon*, *Aquaculture*, 279, 197–203, (2008).
- PALACIOS, E., Racotta, I.S., Effect of number of spawns on the resulting spawn quality of 1-year-old pond-reared *Penaeus vannamei* (boone) broodstock, *Aquaculture Research*, 34, 427–435, (2003).
- PRIMAVERA, H.J., Induced maturation and spawning in five-month-old *Penaeus monodon* Fabricius by eyestalk ablation, *Aquaculture*, 13, 355–359, (1978).
- PRIMAVERA, J.H., Notes on the courtship and mating behavior in *Penaeus monodon* Fabricius (Decapoda: Natantia), *Crustaceana*, 37 (3), 287–292, (1979).
- PRIMAVERA, J.H., A review of maturation and reproduction in closed thelycum penaeids, ed: Taki, Y., Primavera, J.H., Llobrera, J.A., *Proceedings of the First International Conference on the Culture of Penaeid Prawns/Shrimps*, 4–7 December 1984, at Iloilo City, Philippines, (1985), pp. 47–64.
- ROBERTSON, L., Bray, W., Lawrence, A., Reproductive response of *Penaeus stylirostris* to temperature manipulation, *J. World. Aquac. Soc.*, 22 (2), 109–117, (1991).
- SANTIAGO, A., Successful spawning of *Penaeus monodon* Fabricius after eyestalk ablation, *Aquaculture*, 11, 185–196, (1977).
- SANTOSHI, S., Sugumar, V., Munuswamy, N., Serotonergic stimulation of ovarian maturation and hemolymph vitellogenin in the Indian white shrimp, *Fenneropenaeus indicus*, *Aquaculture*, 291, 192–199, (2009).
- SAROJINI, R., Nagabhusanam, R., Fingerman, M., Mode of action of the neurotransmitter 5-hydroxytryptamine in stimulating ovarian maturation in the red swamp crayfish, *Procambarus clarkii*: an in vivo and in vitro study, *J. Exp. Zool.*, 271, 395–400, (1995).
- SBORDONI, V., De Matthaeis, E., Cobolli-Shordoni, M., La Rosa, G., Mattoccia, M., Bottleneck effects and depression of genetic variability in hatchery stocks of *Penaeus japonicus* (Crustacea, Decapoda), *Aquaculture*, 57(1-4), 239–251, (1986).

- TINIKUL, Y., Mercier, A.J., Soonklang, N., Sobhon, P., Changes in the levels of serotonin and dopamine in the central nervous system and ovary, and their possible roles in the ovarian development in the giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii*, *General and Comparative Endocrinology*, 158, 250–258, (2008).
- TREECE, G.D., Shrimp maturation and spawning, In: *Spawning and Maturation of Aquaculture Species*, UJNR Aquaculture, 28th Panel Proceedings, (1999), pp. 121-148.
- VACA, A.A., Alfaro, J., Ovarian maturation and spawning the white shrimp, *Penaeus vannamei*, by serotonin injection, *Aquaculture*, 182, 373-385, (2000).
- WONGPRASERT, K., Asuvapongpatana, S., Potlana, P., Tiensuwan, M., Withyachumnarnkul, B., Serotonin stimulates ovarian maturation and spawning in the black tiger shrimp *Penaeus monodon*, *Aquaculture*, 26(4), 1447–1454, (2006).
- WYBAN, J., Domestication of Pacific white shrimp revolutionizes aquaculture. *Global Aquaculture Advocate*, pp. 42-44, (2007).
- YANO, I., Induced ovarian maturation and spawning in greasyback shrimp, *Metapenaeus ensis*, by progesterone, *Aquaculture*, 47, 223-229, (1985).
- YANO, I., Tsukimura, B., Sweeney, J.N., Wyban, J.A., Induced ovarian maturation of *Penaeus vannamei* by implantation of lobster ganglion, *J. World Aquacult. Soc.*, 19(4), 204-209, (1988).
- YANO, I., Wyban, J.A., Induced ovarian maturation of *Penaeus vannamei* by injection of lobster brain extract, Bull. Natl. Res. Inst. Aquacult. *Japan Yoshokukenhō*, 21, 1-7, (1993).
- YANO, I., Ultraintensive culture and maturation in captivity of penaeid shrimp, ed: McVey, J.P., CRC Handbook of Mariculture: *Crustacean aquaculture*, Vol. 1, (1993), pp. 289-314.