

Tatlı su midyesinin (*Unio terminalis*) farklı iki bölgesine yapılan greft naklinin karşılaştırılması

Comparison of graft transplantation into two different regions of freshwater mussel (*Unio terminalis*)

ÖZET

Bu çalışmada, tatlı su midyesinin (*Unio terminalis*) iki farklı implantasyon bölgesinde, iki farklı greft malzemesi kullanılarak en iyi inci kesesi oluşumu incelenmiştir. Araştırmada ortalama dorso-ventral uzunluğu 7.80 ± 0.22 cm, yüksekliği 4.12 ± 0.21 cm, genişliği 3.14 ± 0.19 cm ve ağırlığı 45.74 ± 0.23 g olan *Unio terminalis* midye türü kullanılmıştır. İnci kese oluşumu için implantasyon bölgesi olarak manto boşluğu ve gonad içi bölgesi belirlenmiş ve her bir bölgeye 2'şer adet greft uygulanmıştır. Graft malzemesi olarak manto dokusunun pallial bölümünden 3×3 mm büyüklüğünde elde edilen manto doku dilimleri ile 3 mm çapında sedefli midye kabuğu kullanılmıştır. Her bir uygulama için 50'şer adet olmak üzere, üç tekerrürlü toplamda 300 adet midye kullanılmıştır. 3 aylık inci kültürü sonunda, manto boşluğu ve gonad içi bölgesinde inci kesesi oluşumu karşılaştırıldığında; nitelikli inci kesesi oluşum oranı (%60) ve sayısının (35) en iyi olduğu bölgenin manto boşluğu bölgesi olduğu belirlenmiştir. Ancak, midye tarafından greft ve nükleus atımı bakımından gonad içi uygulaması daha başarılı sonuç vermiştir (%20). Bu araştırma, kültür inci üretiminde önemli görülen sedef oluşum süresi ve en uygun greft implantasyon bölgesi konusunda, ticari inci üretim çalışmaları için önem taşımaktadır.

Anahtar Kelimeler: *Unio terminalis*, nacre, inci kesesi, manto, greft

ABSTRACT

The relationship between the rate of incidence for ketosis seen in the livestock in this study, the best pearl sac formation was investigated in two different implantation areas of the freshwater mussel (*Unio terminalis*) using two different graft materials. Average dorso-ventral length, height, width and weight of used *Unio terminalis* mussel were 7.80 ± 0.22 cm, 4.12 ± 0.21 cm, 3.14 ± 0.19 cm and 45.74 ± 0.23 g, respectively. The mantle cavity and intra-gonad regions were determined as pearl pouch formation implantation site and 2 grafts were applied to each region. Mantle tissue slices obtained from the pallial part of the mantle tissue in the size of 3×3 mm and the same species mussel shell with 3 mm diameter were used as the graft material. 50 different mussels were used in each application with a total of a total of 300 mussels, three replicated. At the end of the 3-month pearl culture, highest rate of formation (60%) and number (35) of the pearl sac was observed in mantle cavity region compared to intra-gonad region. However, the muscular graft and nucleus removal was detected at the lowest rate (20%) in the region of the gonad which is the best obtained result. This research is important for commercial pearl production studies on the most suitable graft implantation site in the production of cultured pearls.

Keywords: *Unio terminalis*, nacre, pearl pouch, mantle, graft

How to cite this article

Şereflişan, H. (2020). Tatlı su midyesinin (*Unio terminalis*) farklı iki bölgesine yapılan greft naklinin karşılaştırılması. *Journal of Advances in VetBio Science and Techniques*, 5(3), 96-105. <https://doi.org/10.31797/vetbio.751681>

Research Article

Hülya ŞEREFLİŞAN^{1a}

¹Department of Aquaculture, Faculty of Marine Sciences and Technology, Iskenderun Technical University, Iskenderun, Turkey

ORCID-

^a[0000-0002-2510-3714](https://orcid.org/0000-0002-2510-3714)

Correspondence

Hülya ŞEREFLİŞAN

hulya.sereflisan@iste.edu.tr

Article info

Submission: 25-04-2020

Accepted: 07-09-2020

Online First: 28-10-2020

e-ISSN: 2548-1150

doi prefix: 10.31797/vetbio

• <http://dergipark.org.tr/vetbio>

This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0

International License



GİRİŞ

İnci, tatlı su midyesi de dahil olmak üzere yumuşakça türleri tarafından üretilen, sevilen mücevherlerin en eski ve en evrenseli olan doğal bir mücevherdir (Gogoi ve Mandal, 2011). Doğada, inci yumuşakça gövdesine yanlışlıkla giren yabancı bir parçacık (kum, parazit vb.) üzerine 'sedef' adı verilen doğal bir sekresyon sonucu oluşmaktadır. Bu uzun soluklu savunma mekanizması sonucunda çeşitli renk, büyüklük ve şekillerde inci oluşumu gerçekleşmektedir (Dan ve Ruobo 2002). Bu doğal süreç, dünya çapında kültüre alınan midyelere, cerrahi prosedürlerle midye gövdesine çekirdek implant ederek çok çeşitli doğal inciler üretmek için kullanılmıştır. İnci kültürü teknolojisi Çin ve Japonya gibi ülkelerde gelişmiş bir sektördür. Çin, pembe-morumsu renkte kaliteli incilerin üretildiği, üçgen midye denilen (*Hyriopsis cumingi*) tatlı su midyesinde inci üretimini geliştirmiştir (Yan vd., 2009). Çin, dünya toplamının % 99'unu oluşturan en büyük tatlı su inci üreticisidir (Li vd., 2007; Mamangkey vd., 2009). Dünya inci piyasalarındaki arz-talep dengesinde doğal inci elde edilmesi yeterli olmadığı için kültür inci üretimi ile bu talep karşılanmaya çalışılmaktadır. Ekonomik değeri yüksek olan inciler, geleneksel Çin tıbbında ve bazı kozmetik ürünlerinde kullanılan önemli malzemelerdir. (Li, 2007; Nagai, 2013). Kültür incilerindeki dünya ticaretinin, esas olarak tatlı su incileri ile yapıldığı ve ticaretin yıllık 2 milyar \$'dan fazla olduğu bildirilmektedir. Ayrıca, Hindistan'da incilere olan talebin her yıl artmasıyla, başta Çin ve Japonya'dan olmak üzere her yıl yaklaşık 0,2 milyar \$' değerinde inci ithal ettiği bildirilmektedir (Ninawe, 2006).

Kültür inci üretiminde standartlaştırılmış olan temel teknoloji kullanılmakta olmasına rağmen, farklı midye türleri ile farklı implantasyon yöntemlerini içeren inci kültürü teknolojilerinin geliştirilmesi için daha fazla araştırma yapılması gerekmektedir (Sakpal ve Singh, 2000; Janakiram, 2003). Hindistan'daki inci kültürü teknolojisi ise henüz başlangıç aşamasında olup, ülkenin genel tatlı su kaynaklarında yaygın olarak bulunan

Lamellidens marginalis'te parlak inciler üretilmektedir (Janakiram vd., 1994).

Deniz suyu inci üretiminin en büyük sınırlayıcı faktörü, yetiştirme sürecinin 1.5 - 3 yıl arasında uzun bir süre olmasından dolayı yüksek bir maliyete sahip olmasıdır (Rahayu, 2013). Tatlı su inci üretimi, deniz suyu inci üretimine göre, inci oluşum süresinin kısa oluşundan dolayı, düşük üretim maliyeti ile alternatif bir üretimdir (Rachman vd., 2006). Japonya'da, 1949'dan beri *Hyriopsis schlegeli* ve *Hyriopsis cumingii* türü tatlı su midyelerinde inci üretimi, yaygın olarak yapılmaktadır (Dan ve Ruobo 2002; Rachman vd., 2006; Rahayu vd., 2009). *Hyriopsis sp.* morfolojisine benzeyen *Anodonta woodiana* fizyolojik olarak, sedef ve prizmatik kristal, inci üretme yeteneğine sahip olan diğer bir tatlı su midye türüdür (Ram ve Gayatri 2003). İnci oluşumu üzerine hem denizel (*Pinctada fucata*, *Mytilus edulis*) hem de tatlı su (*Margaritifera margaritifera*) çift kabuklularında çalışmalar yapılmıştır (Nagai, 2013). İstiridye ve tatlı su midye inci üretiminde, Nishikawa tekniği (bir inci şekillendirme yöntemi) kullanılarak, çekirdeksiz manto doku dilimlerinin implantasyonu ile inci kesesi oluşumu sağlanmaktadır (George, 1978; Taylor ve Strack, 2008). İnci kesesi oluşumunda implant bölgesinin önemli olduğu bildirilmektedir (Şereflişan, 2019). Kültür inci üretimi, doğal inci oluşum sürecine benzediği için elde edilen inciler mücevher kullanımında tercih edilmektedir (Hanni, 2012)

Midyelerin yaşadığı çevrenin besin miktarı, suyun kalitesi ve derinliğinin, inci üretimi ve elde edilen incinin kalitesi üzerine etkili olduğu; midye türü ve yaşının ise sedef salgılayan manto dokusunun bölgesel olarak salgı miktarı üzerine etkili olduğu bildirilmektedir (Hossain vd., 2004).

Bu çalışmada, kabuk kalınlığı ve kabuk içi sedef yoğunluğu yüksek olan ancak ekonomik değeri olmasına rağmen tüketilmeyen *U.*

terminalis midye türü (İşcan ve Şereflişan, 2014; Şereflişan, 2014) seçilerek, inci kesesi oluşumunda manto boşluğu ve gonad içi bölgesine implantasyon gerçekleştirilmiştir. Bu araştırma, Türkiye de inci üretimi konusunda greft implantasyonunun gonad içine ilk kez uygulandığı bir çalışma özelliğini taşımaktadır.

MATERYAL VE METOT

Midyelerin toplanması

Bu çalışmada araştırma konusu olan tatlı su midyesi (*U. terminalis*) Hatay'ın Kırıkhan İlçesine bağlı Gölbaşı gölünden temin edilmiştir. Midyeler, gölün derin olmayan, zemini çamur ve kumluk olan sığ bölgesinden el tırnağı yardımıyla toplanırken, derin olan bölgelerinden SCUBA dalışı yapılarak toplanmıştır. Toplanan midyeler soğutuculu kaplarla laboratuvara nakledilmiş ve taşıma sırasında kabuk yapısına zarar görmemesine özen gösterilmiştir. Midyelerin morfometrik ölçümleri (kabuk uzunluğu, kabuk genişliği ve yüksekliği) Graf (2002)'e göre, 0,05 mm hassasiyetli kumpas ile yapılmıştır.

Greft implantasyonu ve malzemeleri

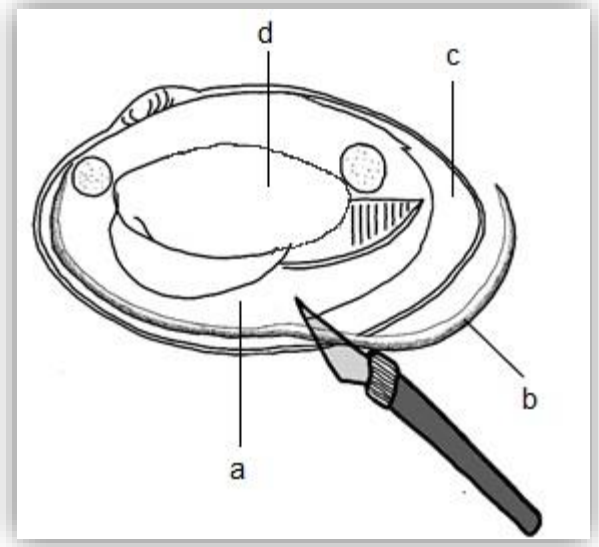
Operasyon ekipmanları

Midye üzerinde çalışmak için özel bazı ekipmanlar kullanılmıştır. Bunlar; kabuk açıcı (midye kabuklarını açmak için), greft kesici (greft dokularının hazırlanmasında kullanmak için), kesi bıçağı (gonad üzerinde yarıklar açmak için), nükleus taşıyıcı (gonad içine sokulacak çekirdeği taşımak için), greft taşıyıcı (manto dokusunun bir parçasını gonadın içine taşımak için), kancalı spatula (operasyon sırasında bir kesi yaparken midyenin ayak dokusunu tutmak için), midye tutacağı (çalışılacak midyenin oturtulduğu ayak), ahşap takoz (operasyon sırasında midye kabuğunun kapanmaması için kabuk arasına sokulan ahşap) ve greft kesme tahtası (manto dokusunun istenilen ebatta ve şekilde kesilmesinde kullanılan ahşap bir blok).

Greft ve nükleus

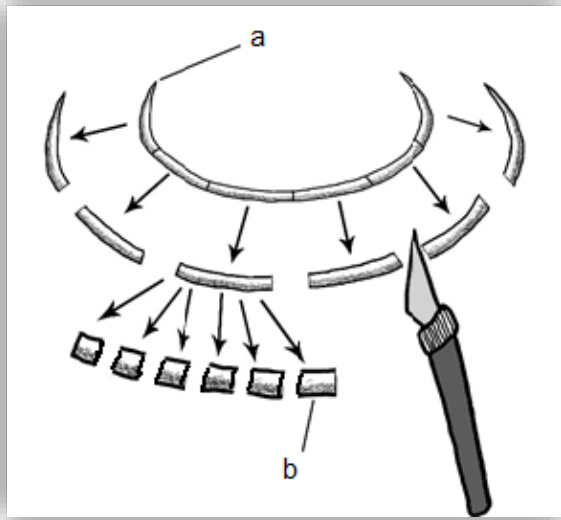
Midyelerde inci üretimi için kullanılan greft; kare şeklinde manto dokusunun pallial bölgesinden kesilerek elde edilmiş manto doku dilimidir (allogreft). Manto doku dilimi için sağlıklı ve güçlü durumdaki 30 adet midye (*U. terminalis*)'nin addüktör kasları kesilerek kapakları açılmış, manto dokusu pallial çizgi boyunca kesilmiştir (Şekil 1). Daha sonra bir cam plakaya aktarılan şerit şeklindeki manto dokusu, 3×3 mm büyüklüğünde küçük kare parçacıklar şeklinde dilimlenmiştir (Şekil 2). Greftin nakledileceği iki farklı bölge seçilmiştir. Birinci bölge manto boşluğu, ikinci bölge ise gonad içi olarak belirlenmiştir (Şekil 3).

Nükleus; gonad içi implantasyonunda kullanılmak üzere 2-3 mm'lik midye kabuğundan elde edilen parçacıklardır.



Şekil 1. Pallial çizgi boyunca kesilen manto dokusundan elde edilen manto doku dilimi.

a-Manto dokusu, b- pallial çizgi boyunca kesilen manto doku şeridi, c-midye kabuğu, d-gonad



Şekil 2. Küçük kare parçacıklar (3×3 mm) şeklinde dilimlenmiş, manto dokusu şeridi a-pallial çizgi boyunca kesilen manto doku şeridi, b-manto doku dilimi (greft)

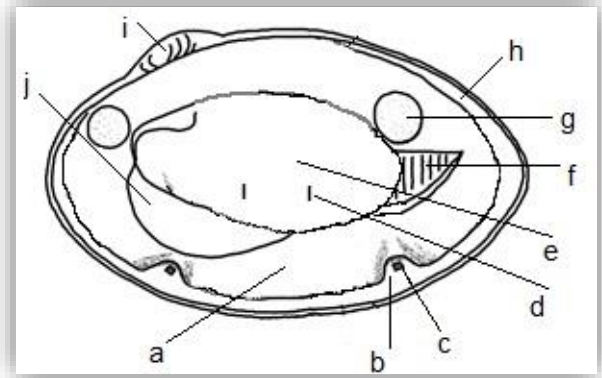
Greftlerin implantasyonu

Birinci ve ikinci bölge implantasyonunda, her bir uygulama için 50'şer adet olmak üzere, üç tekerrürlü toplamda 300 adet midye kullanılmıştır. Manto doku diliminin greft olarak nakli için geniş ve belirgin büyüme çizgisine sahip sağlıklı midyeler seçilmiştir.

Birinci bölge uygulaması; midye tutacağına oturtulan midyenin kapağı 0,8-1 cm açılarak kabuk arasına ahşap takoz yerleştirilmiştir. Greft taşıyıcı ile taşınan manto doku dilimleri, implant bölgesi olarak seçilen manto dokusunun palial şeridinin altına (manto boşluğuna) anterior ve posterior yönünde iki adet allogreft özenle yerleştirilmiştir. (Şekil 3).

İkinci bölge uygulaması; kesi bıçağı ile gonad üzerinde açılan 3mm'lik kesi ile iki adet cep oluşturulmuş, nükleus taşıyıcı aparatı ile taşınan nükleus (2-3 mm'lik midye kabuğu parçacıkları) açılan bu cebe yerleştirilirken, aynı cebe greft taşıyıcı ile taşınan manto doku dilimi de eş zamanlı yerleştirilmiştir (Şekil 3). Bu işlem çabuk ve zarar verilmeden yapılmıştır. Gametleri dolu olan midyelerde gonadal implantasyon nükleus atımına neden olduğu için, *U. terminalis*'in yumurtlama mevsimi olan

Nisan-Haziran aylarından sonra gonadal implantasyon yapılmıştır (Çek ve Şereflişan, 2006).



Şekil 3. Midyenin vücut bölümleri ve greft implantasyon bölgeleri

a-Manto dokusu, b-Manto boşluğu, c-Manto doku dilimi (greft), d-Gonad üzerinde açılan 3mm'lik kesi ile oluşturulmuş iki adet cep, e- Gonad, f- Solungaç, g- Addüktör kas, h- Midye kabuğu, i- Umbo, j- Ayak dokusu

İmplantasyon gerçekleşen midyelerin kültüre alınması

Cerrahi işlem uygulanan midyeler, önce laboratuvarında bir hafta gözlem altında tutularak midye davranışı, nükleus atımı ya da midye ölümü olup olmadığı kontrol edilmiştir. Daha sonra araştırma için midyeler, 115 cm çapında, 25 cm yüksekliğinde, kapaklı, metal sepetlere aktarılarak (Şekil 4), kaynağı Gölbaşı Gölü'nden alan, derinliği 1.5 m olan sulama kanalının tabanına yerleştirilmiştir. Kanalın dip yapısı ince kum olduğu için midye sepetleri sedimente 5-10 cm gömülmüştür. Midyelerin araştırma süresince (3 ay) beslenmesi, kanal ortamında mevcut olan planktonlarla sağlanmıştır.



Şekil 4. Midyeler için kültür inci üretim sürecinde kullanılan sepetler

Su kalitesi parametreleri ve plankton analizi

Midyelerin yetiştirildiği sulama kanalında su kalitesi parametreleri, 3 aylık çalışma süresi boyunca iki haftalık sürelerle izlenmiştir. Oksijen, pH ve sıcaklık parametreleri düzenli olarak ölçümlenmiştir. Midye yaşamı için önemli görülen klorofil a Fluorometrik yöntemi (APHA, AWWA, 1980), nitrat, nitrit, amonyak ve fosfat analizi Spektofotometrik yöntemi, kimyasal ve biyolojik oksijen ihtiyacı, askıda katı madde Fluorometrik yöntemi, kalsiyum ve magnezyum analizi EDTA titrasyon yöntemi ile analiz edilmiştir (APHA, 1999). Midye yaşamı için önemli görülen klorofil a, Nitrat+nitrit azotu, amonyum azotu, toplam fosfor, silikat, organik madde, kalsiyum, magnezyum, alkalinite, BOİ (Biyolojik oksijen ihtiyacı) ve KOİ (Kimyasal Oksijen İhtiyacı) parametreleri, alınan su örneklerinde tespit edilmiştir. Klorofil a spektrofotometrik, Nitrat+nitrit azotu kadmiyum indirgeme yöntemi, amonyum azotu fenat yöntemi, ortofosfat fosforu askorbik asit yöntemi, silikat molibdosilikat yöntemi, organik madde permanganat yöntemi, kalsiyum ve magnezyum EDTA titrasyon yöntemi alkalinite titrasyon yöntemi ile çalışılmıştır). Ayrıca plankton çekimleri için 45 µm göz açıklığına sahip plankton kepçesi kullanılarak su

örnekleri, 4L hacimli kaplara alınmış ve +4°C'de muhafaza edilerek laboratuvara getirilmiştir. Analiz aşamasına kadar standart metodlara göre alt örnekleme yapılarak ve koruma yöntemi uygulayarak her bir parametre, uygun yöntem çerçevesinde incelenmiştir (Guiry ve Guiry, 2019).

Etik Beyan

Midyeler, 15.02.2014 tarih ve 28914 sayılı resmi gazetede yayınlanan hayvan deneyleri etik kurullarının çalışma usul ve esaslarına dair yönetmeliğe göre omurgasız canlılardan oldukları için etik kurul iznine tabi değildirler.

BULGULAR

Su kalite analizi

Bu çalışmada, su sıcaklığı (29.06-34.15°C), pH (7.66-8.32), çözülmüş oksijen (5.49-6.8 mg/l), NO₃ (9.10-12.50), NH₃ (0.016-0.038.), NO₂ (0.25-0.49) ve PO₄ (0.01-0.02.) değerleri, Janakiram'ın (2003) belirttiği gibi optimum büyümeyi desteklemek için uygun aralık dahilinde tespit edilmiştir (Tablo 1). Liu (1993)'nun bildirdiğine göre, tatlı su midyelerinin inci üretim sürecindeki su sıcaklığının 15-28 °C arasında olabileceği, 10 °C'nin altında ki sıcaklıklarda midye fizyolojisinin etkilenerek nacre salgısı azalmaktadır. Ortalama sıcaklığın 23-36 °C arasında olması gerektiği bildirilmektedir (Pandey ve Singh, 2015). Graft ve nükleus üzerine nacre salgısının birikimi su sıcaklığından güçlü bir şekilde etkilendiği için yüksek sıcaklıklar sedef birikimini hızlandırırken, düşük sıcaklıklar sedef kaplamayı azaltmakta, ancak incilerin kalitesini artırmaktadır (Barik vd., 2004). İnci kese oluşumunda sedef salgısı hızına katkıda bulunan ideal sıcaklığın 25.10 ile 25.90 °C arasında olduğu bildirilmiştir (Winanto vd., 2009). Tatlı su midyelerinin inci üretiminde suyun pH'ının 7.0-8.6 aralığında uygun olduğunu rapor edilmiştir (Ram ve Tripathi 1992; Sengupta,1994; Bhowmick, 1996;

Janakiram, 2003; Pandey ve Singh, 2015). Midye kabuğu ve inci üretimi için CaCO₃ en önemli bileşendir. Bu bileşenin en önemli elemanı olan kalsiyum, inci üretiminde sentez yeteneğine bağlı olarak önemli rol oynamaktadır (Şereflişan, 2019). İmplantasyon

işleminde sonra midyenin büyüme ve inci üretim evresinde suyun kalsiyum içeriğinin 10 mg/L'nin üzerinde olması tavsiye edilmektedir (Dan vd., 2001). Bu çalışmada kalsiyum değerleri uygun aralık değerlerinde tespit edilmiştir (Tablo 1).

Tablo 1. İnci üretim sürecinde kaydedilen bazı su parametreleri

Parametreler	Haziran		Temmuz		Ağustos	
	2.Hafta	4.Hafta	2.Hafta	4.Hafta	2.Hafta	4.Hafta
Sıcaklık	29.06±0.25	28.75±0.80	31.23±0.60	31.75±0.50	33.76±0.40	34.15±0.50
Oksijen	6.80±0.19	6.58±0.15	5.95±0.38	5.72±0.10	5.49±0.18	5.59±0.10
pH	7.82±0.02	7.66±0.02	8.15±0.02	8.21±0.02	8.38±0.03	8.32±0.03
Kalsiyum	23.88±7.65	23.15±8.01	10.79±5.05	11.61±5.58	13.73±6.30	13.89±7.74
Magnezyum	13.54±0.02	13.02±0.02	10.32±0.02	10.98±0.02	12.45±0.02	12.98±0.03
Klorofil a	0.79±0.02	0.62±0.02	0.42 ±0.01	0.45±0.02	0.39±0.01	0.42±0.01
AKM	35.8±0.01	39.5±0.01	39.2±0.02	38.5±0.02	40.1±0.02	40.8±0.04
NO₃	9.10±0.02	9.92±0.01	9.55±0.01	9.76±0.02	12.50±0.02	11.95±0.01
NH₃	0.038±0.01	0.034±0.01	0.020±0.01	0.021±0.01	0.016±0.01	0.018±0.01
NO₂	0.49±0.00	0.40±0.00	0.28±0.00	0.27±0.01	0.25±0.00	0.26±0.01
PO₄	0.01±0.01	0.02±0.00	0.01±0.00	0.01±0.00	0.01±0.00	0.01±0.00
BOİ	10.00±0.02	11.00±0.02	17.25±0.02	19.45±0.01	10.15±0.02	10.85±0.02
KOİ	46.15±2.11	28.44±2.78	35.52±3.50	34.75±3.20	25.24±3.50	27.33±3.01

Midyelerin beslenmesi

Midyelerin 3 aylık inci üretim sürecinde, sulama kanalından alınan su örneklerinde tespit edilen bazı plankton ve zooplankton türleri ile (Tablo 2) beslenmişlerdir. Pandey ve Singh (2015)'nin bir çalışmasında, inci üretimi sürecinde midyelerin (*Lamellidens marginalis*), Chlorophyta (*Chlorella*, *Chlorococcum*, *Scenedesmus*, *Spirogyra*, *Oocystis*, *Cosmarium*), Bacillariophyta (*Nitzschia*, *Navicula*, *Pinnularia*, *Synedra*), Cynophyta (*Spirulina*) ve zooplankton Rotifera (*Brachionus*) ile beslendikleri bildirilmiştir. Bu çalışma, midyelerin besin olarak süzebileceği fito ve zooplankton çeşitliliğinin fazlaca olduğu göl bağlantılı sulama kanalında yapılmış olup inci üretim sürecinde besin filtrasyonu konusunda olumsuzluk yaşanmamıştır (Tablo 2).

İmplantasyon gerçekleştirilen midyelerde inci kesesi oluşumu ve yaşama oranı

Pandey ve Singh (2015) inci üretim çalışmasında, manto boşluğu implantasyonunda %85, gonad içi uygulamada %70 yaşama oranı elde etmişlerdir. Araştırmada, operasyon yapılan midyelerde yaşama oranı, manto boşluğu (birinci implantasyon bölgesi) implantasyonunda %100, gonad içi (ikinci implantasyon bölgesi) implantasyonunda ise %80 olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışmada elde edilen yüksek yaşama oranının; implantasyon sürecinin hassasiyetine ve inci üretim sürecinin doğal ortamında gerçekleşmesine bağlı olduğu düşünülmektedir.

Tablo 2. İnci üretim sürecinde ortamda tespit edilen bazı fito ve zooplankton türleri

Fitoplankton		
Amphiprora alata	Anomoeoneis sphaerophora	Coelastrum closterium
Diatomella bolfouriana	Dinobryon sartularia	Cocconeis placentula
Compylodiscus clypeus	Caloneis amphisbaena	Cymatopleura solea
Pediastrum tetras	Coelastrum closterium	Gamphosphaeria Ceratum
Scenedesmus sp.	Surriella sp.	Pediastrum duplex
Surriella striculata	Peridinium spirogyra	Pediastrum bonyanum
Sphaerocystis schroeteri	Stephanodiscus niagarae	Pediastrum clathratum
Pediastrum tetras	Pediastrum duplex	Treubaria triappendiculat
Zooplankton		
Asplanchna riadonta	Brachionus angularis	Cyclops sp.
Filinia erminali	Colurella oblusa	Chronogaster ovalis
Filinia erminali	Filinia longiseta	Keratella cochlearis
Lepadella patella	Lepadella ovalis	Polyarthra vulgaris
Synchaeta oblonga	Synchaeta stylata	

İmplantasyon gerçekleştirilen midyelerde inci kesesi oluşumu ve yaşama oranı

Pandey ve Singh (2015) inci üretim çalışmasında, manto boşluğu implantasyonunda %85, gonad içi uygulamada %70 yaşama oranı elde etmişlerdir. Araştırmada, operasyon yapılan midyelerde yaşama oranı, manto boşluğu (birinci implantasyon bölgesi) implantasyonunda %100, gonad içi (ikinci implantasyon bölgesi) implantasyonunda ise %80 olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışmada elde edilen yüksek yaşama oranının; implantasyon sürecinin hassasiyetine ve inci üretim sürecinin doğal ortamında gerçekleşmesine bağlı olduğu düşünülmektedir.

Tatlı su inci midyelerinde manto doku transplantasyonu konusunda, kaliteli inci kese oluşumu elde etmek için birçok çalışma yapılmıştır (Alagarwami,1968; Sakpal ve Singh, 2000; Bhusan, 1997; Liu, 1993; Pandey ve Singh,2015; Şereflişan 2019). Midyelerin cerrahi operasyonda addüktor kasının koparılmadan ve zorlamadan açılması en önemli konulardan biridir. Bunun için implantasyon işleminde kabukların kolay açılmasını sağlamak amacıyla midyelerin musluk suyunda 2-3 gün bekletilmesi, addüktör

kaslarını yumuşatarak daha kolay açılmasını sağlayacağı bildirilmektedir (Dan ve Ruobo 2002). Bu çalışmada, manto doku nakli yapılmadan önce midyelerin (*U. terminalis*) musluk suyunda 3 gün bekletilmesi, addüktör kaslarının gevşemesine yol açarak implantasyon sürecine olumlu etkisi görülmüştür. Greft uygulamasında aynı tür midyeden alınan manto doku dilimleri ile gerçekleştirilen implantasyon (alotransplantasyon uygulaması) sonucunda, kaliteli inci oluşumu gerçekleştiği bildirilmiştir (Pahna ve Kasavittkul 1997). Bu çalışmada, greft olarak kullanılan manto doku dilimleri yine *U.terminalis* türünden elde edilmiş ve allotransplantasyon gerçekleştirilmiştir. Mian vd., (2000)'nın yapmış olduğu bir çalışmada, *Lamellidens marginalis*'in inci kesesi üretiminde, greft olarak 2 mm boyutunda manto doku dilimi ile nükleus olarak 1-2 mm çapında seramik çekirdek kullanılmış, gerçekleştirilen implantasyonda başarılı sonuçlar elde edilmiştir. Bu çalışmada *U. terminalis* kabuğundan 2-3 mm'lik kesilen parçacıklar nükleus olarak, 3×3 mm büyüklüğünde küçük kare parçacıklar şeklinde dilimlenmiş olan manto doku dilimleri ise greft olarak kullanılmış, literatüre benzer başarılı sonuçlar elde edilmiştir.

Ülkemizde tatlı su midyelerinde inci kesesi oluşumu konusunda yapılan bir çalışmada, *U. terminalis*'in manto boşluğu bölgesine implant edilen manto doku dilimlerinin başarılı bir sonuç verdiği bildirilmiştir (Şereflişan, 2019). Tatlı su midyesinin manto epitel dokusu, bölgesel olarak farklı yoğunlukta sedef üretebildiği (Dix, 1973), manto dokusunun pallial çizgi çeperi, sedef sekresyon kapasitesi bakımından en güçlü bölge olduğu için, konakçı

midyeye nakledilecek olan manto doku diliminin bu bölgeden kesilmesinin daha uygun olduğu bildirilmektedir (Berni vd., 2004). Bu çalışmada, manto doku dilimleri literatürde bildirildiği gibi farklı sedef salgısının olabileceği anterior ve posterior yönündeki manto dokusunun pallial doku şeridi kullanılmış ve her bir midye için 2'er adet manto doku dilimi nakledilmiştir.

Tablo 3. Midyede greft implantasyon bölgelerine göre (manto boşluğu-birinci bölge/gonad içi-ikinci bölge) inci kesesi oluşumu ve yaşama oranı

<i>Unio terminalis</i>	Birinci İmplant Bölgesi	İkinci İmplant Bölgesi
Uzunluk (ort.)	7.78±0.20	7.82±0.25
Yükseklik (ort.)	4.08±0.22	4.16±0.20
Genişlik (ort.)	3.05±0.18	3.24±0.20
Canlı Ağırlık (ort)	45.36±0.24	46.13±0.22
Operasyon yapılan midyenin sayısı	50	50
Yaşama oranı %	100	80
Midyelere implantasyon sayısı	50	50
Midyelerde inci kesesi oluşumu (%)	60	30
Midyelerde oluşmuş nitelikli inci kesesi sayısı	35	26
Midyenin greft ve nükleus atım oranı (%)	30	20

Salmon vd. (2005), hem denizde (*Pinctada* sp.) hemde tatlı suda (*A. woodiana*) yaşayan çift kabukluların, fizyolojik metabolizmaları ve buldukları ortam farklı bir bileşimde olmasına rağmen, vücutlarında aynı protein ve enzime sahip oldukları ve manto dokularının sedef tabakası üretiminde rol üstlendiğini bildirmişlerdir. *Anodonta* sp. türünün kabuğunun kristalize yapısı aragonit kristalleri şeklinde olup kalsiyum karbonat (CaCO₃) biriktirebilen ve iç kabuk tabakası üzerinde altıgen prizmatik kristal katman içermektedir. Bu tür midye kabuklarının, tatlı su incileri üretmek için kullanılmasının potansiyel bir biyolojik avantaj olduğu bildirilmektedir (Aldridge 1999; Berni vd., 2004). Bu çalışmada kullanılan *U.terminalis*'in daha önce kabuk yapısı kristalize düzeyde incelenmiş (İşcan ve Şereflişan, 2014) ve altıgen prizmatik kristal

yapıda olduğu belirlenmiştir. Literatürde belirtildiği gibi bu avantaj bu çalışmada değerlendirilmiş ve olumlu sonuç alınmıştır.

Janakiram (2003), tatlı su midyelerinde, inci kese oluşum başarı oranını; gonadal implantasyonunda %25-30, manto boşluğu implantasyonlarında %60-70 oranında tespit etmiştir. Bu çalışmada, literatüre paralel olarak manto dokusu boşluğuna ve içine açılan ceplere uygulanmış en iyi sonuç manto boşluğu implantasyonunda %60 oranında elde edilmiştir (Tablo 3).

Çalışma sonucunda, manto boşluğu bölgesinin nitelikli inci kesesi oluşumu için en uygun bölge olduğu ancak, greft ve nükleus atım oranının en az olduğu bölgenin gonad içi bölgesi olduğu belirlenmiştir. Bu çalışma, ticari

inci üretiminde greft nakli için önem taşımaktadır.

AÇIKLAMALAR

Yazar, bu makale için gerçek, potansiyel veya algılanan bir çıkar çatışması olmadığını beyan eder.

KAYNAKLAR

- Alagarswami, K. (1968).** Pearl culture in Japan and its lessons for India. *Proceedings Symposium on Mollusca*, Part III, January, 1968, page 975-993.
- Aldridge, D. C. (1999).** The morphology, growth and reproduction of Unionidae (Bivalvia) in a fenland waterway. *Journal of Molluscan Studies*, 65(1), 47-60. <http://dx.doi.org/10.1093/mollus/65.1.47>.
- APHA, (1999).** Standard methods for examination of water and waste water. American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation New York, U.S.A.
- APHA-AWWA-WPCF. (1981).** American Public Health Association Standart Methods for The Examination of Water and Wastewater. 15th ed. Washington, D.C.
- Barik, S. K., Jena, J. K., & Ram, K. J. (2004).** CaCO₃ crystallization in primary culture of mantle epithelial cells of freshwater pearl mussel. *Current Science*, 730-734.
- Berni, P., Bitossi, S., Salvato, M., Orlandi, M., Salviati, J., Silvestri, M., & Billiard, R. (2004).** Enhancing the Local Production of Alternative Freshwater Pearls, High quality, Environmentally Sustainable Mixed Farming Techniques. Italy: Freshwater Pearl Culture. Ceresole d'Alba Pr. p, 179-185.
- Bhowmick, G.C. (1996).** *Effect of water calcium on freshwater pearl culture*. M.F.Sc., Dissertation submitted to Central Institute of Fisheries Education (Deemed University), Mumbai, 49 pp.
- Bhusan, P. (1997).** *Multiple implantation trials in freshwater pearl culture*. M.F.Sc., Dissertation submitted to Central Institute of Fisheries Education (Deemed University), Mumbai, 47 pp.
- Çek, Ş. & Şereflişan, H. (2006).** Certain reproductive characteristics of the freshwater mussel *Unio terminalis delicatus* (Lea, 1863) in Gölbaşı Lake, Turkey. *Aquaculture Research*, 37: 1305-1315.
- Dan, H., Mazid, M.A., & Hussain, M.G. (2001).** Freshwater Pearl Culture: Principles and Techniques. Bangladesh Fisheries Research Institute, Mymensingh 2201. 104 pp.
- Dan, H., & Ruobo, G. (2002).** Freshwater pearl culture and production in China. *Aquaculture Asia*, 7(1), 6-8.
- Dix, T. G. (1973).** Histology of the mantle and pearl sac of the pearl oyster *Pinctada maxima* (Lamellibranchia). *Journal of the Malacological Society of Australia*, 2(4), 365-375.
- George, D.C. (1978).** Debunking a Widely Held Japan Myth –Historical aspects on the early discovery of the pearl cultivating technique. *The International Pearling Journal*, 10-16.
- Gogoi, S., & Mandal, S. C. (2011).** Present status and future prospects of freshwater pearl production in India. *World Aquaculture*, 42(2), 21.
- Graf, D. L. (2002).** Molecular phylogenetic analysis of two problematic freshwater mussel genera (Unio and Gonidea) and a re-evaluation of the classification of Nearctic Unionidae (Bivalvia: Palaeoheterodonta: Unionoidea). *Journal of Molluscan Studies*, 68(1), 65-71.
- Guiry, M.D., & Guiry, G.M. (2019).** AlgaeBase. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. Available from: <http://www.algaebase.org>.
- Hanni, H. A. (2012).** Natural pearls and cultured pearls: A basic concept and its variations. *The Australian Gemmologist*, 24(11), 256-266.
- Hossain, M.A., Sultana, N., Azimuddin, K., Hussain, M.G., & Mazid, M.A. (2004).** Selection of freshwater pearl mussel species for mantle transplantation in Bangladesh, *Journal of Fisheries Research*, 8(2): 113-116.
- İşcan, Y., & Şereflişan, H. (2014).** Investigation of Shell Structure of Lake Gölbaşı Freshwater Mussels in the Crystallized Level. *Aquaculture Studies*, 14(3), 013-021.
- Janakiram, K., Kumar, K., & Misra, G. (1994).** Possible use of different graft donors in freshwater pearl mussel surgery. *Indian journal of experimental biology*, 32(5), 366-368.
- Janakiram, K. (2003).** Freshwater Pearl Culture Technology Development in India. *Journal of Applied Aquaculture*, 13 (3-4), 341-349.
- Li, J., Y. Li, Q. Liu, & Zhang, G. (2007).** Aquaculture in China-freshwater pearl culture. Aquaculture 2007-Meeting Abstract. (Available from: (<http://www.was.org/Meetings/AbstractData.asp?AbstractID=14278>).
- Liu, F.G. (1993).** Freshwater pearl culture. *Infofish. International*, 1, 49-51.
- Mamangkey, N.G.F., Salmon, H.A., & Southgate, P.C. (2009).** Use of Anaesthetics with the Silver Lip Pearl Oyster, *Pinctada maxima* (Jameson). *Aquaculture* 288, 280-284. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.12.008>.
- Mian, M.I., Rahman, A.S.M.K., Rahmatullah, S.M., Saha, J.K., Islam, M.A. (2000).** Culture of pearl in freshwater mussels (Lamellidens marginalis). *Bangladesh. Fisheries . Research*, 4, 57-61.

- Nagai, K. (2013).** A History of the Cultured Pearl Industry. *Zoological Science*, 30, 783-793.
- Ninawe, A.S. (2006).** Pearl culture-promises lucrative returns. *Infish International* 5, 9-12.
- Pahna, S., & Kosavitkul, P. (1997).** Mantle transplantation in freshwater pearl mussels in Thailand. *Aquaculture International*, 5, 1-10.
- Pandey, A. & Singh, A. (2015).** Effect of different pearl nuclei implantation and rearing methods on survival, growth and pearl formation in freshwater mussel, *Lamellidens marginalis* in Punjab. *Eco. Env. & Cons.* 21 (August Suppl.): 2015; pp. (AS331-AS335) Copyright@ EM International ISSN 0971-765X.
- Rachman, B., Winanto, T., & Maskur (2006).** Effect of various depth against implantation process and nucleus coating pearls in oysters *Margaritifera* sp. on controlled pool. *Impasja* 2, 86-95.
- Rahayu, S. Y. S., Duryadi, D., Affandi, R., & Manalu, W. (2009).** Ekobiologi kerang mutiara air tawar (*Anodonta woodiana*, Lea). *Omni Akuatika*, 8, 27-32.
- Rahayu, S. Y. S., Solihin, D. D., Manalu, W., & Affandi, R. (2013).** Nucleus pearl coating process of freshwater mussel *Anodonta woodiana* (Unionidae). *HAYATI Journal of Biosciences*, 20(1), 24-30.
- Ram, J.K., & Tripathi, S. D. (1992).** Manual on freshwater pearl culture. Central Institute of Freshwater Aquaculture 1, 44 pages.
- Ram, J.K., & Gayatri, M. (2003).** Homogenic and xenogenic implantation in pearl mussel surgery. *Current Science*, 85(6), 727-729.
- Sakpal, R.R., & Singh, H. (2000).** Effect of different methods on implantation of nucleus in freshwater mussel *Lamillidens marginalis*. Proc. of the National Symposium in Fish Health Management and Sustainable Aquaculture, Pantnagar, India, November 1-2, 2000.
- Salmon, A.H., Fernandez, E.M., & Southgate, P.C. (2005).** Use of relaxants to obtain saibo tissue from the blacklip pearl oyster (*Pinctada margaritifera*) and the Akoya pearl oyster (*Pinctada fucata*). *Aquaculture* 246, 167-172.
- Sengupta, R.C. (1994).** Check list of freshwater pearl culture. p.15-17 In : *Pearl Culture in Freshwater Mussels (Lamellidens marginalis, Lamarck)* (Ed by K.K.Sengupta), Kulia Kalyani, India.
- Şereflişan, H. (2014).** Gölbaşı Gölü (Hatay) tatlı su midyelerinin ekonomik değer taşıyan özelliklerinin araştırılması. *Yunus Araştırma Bülteni*, 3, 43-49.
- Şereflişan, H. (2019).** Comparison of Pearl Sac Formation in Four Mussel Species (Mollusca: Bivalvia: Unionoidea) at the Graft Implantation. *Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology*, 7(10), 1699-1704.
- Taylor, J., & Strack, E. (2008).** Pearl Production. The Pearl Oyster, eds. Southgate PC and Lucas J, pp 273-301.
- Yan, L. L., Zhang, G. F., & Liu, Q. G. (2009).** Optimization of culturing the freshwater pearl mussels, *Hyriopsis cumingii* with filter feeding Chinese carps (bighead carp and silver carp) by orthogonal array design. *Aquaculture*, 292(1-2), 60-66.
- Winanto, T., Soedharma, D., Affandi, R., Sanusi, H. (2009).** Effect of temperature and salinity on physiological response *pinctada maxima* pearl oyster larvae (Jameson). *Journal Biology Indonesia*, 6, 51-69.