



Alınış tarihi (Received): 30.12.2022

Kabul tarihi (Accepted): 07.03.2023

17- α -Metiltestosteron Hormonu Kullanımının Lepistes (*Poecilia reticulata*) Balıklarında Renklenme, Cinsiyet Dönüşümü ve Üreme Performansı Üzerine Etkisi^[*]

Ebru YILMAZ^{1,**}, Muammer ERDEM²

¹Ordu Üniversitesi, Fatsa Deniz Bilimleri Fakültesi, Balıkçılık Teknolojisi Mühendisliği, 52400, Fatsa, Ordu, Türkiye

²Sinop Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Su Ürünleri Mühendisliği, 57000, Sinop, Türkiye

**Sorumlu yazar: ebruyilmaz@odu.edu.tr

ÖZET: Bu çalışmada, yeme ve suya 17 α -metiltestosteron hormonu katılarak lepistes balıklarında (*Poecilia reticulata*) renklenme, cinsiyet dönüşümü ve üreme üzerine etkileri araştırılmıştır. Deneme grupları; kontrol grubu (K), suya hormon (S) ve yeme hormon (Y) grupları olarak 3 grupta 3 tekerrürlü olacak şekilde planlanmıştır. 3 aşamalı olan çalışma toplam 12 hafta sürmüştür. Denemenin 1. ve 2. aşamalarında haftalık periyotlarda renk skalası kullanılarak 10 panelist ile görsel renk tayini yapılmıştır. 1 ml'inde 0.1 mg MT bulunan stok çözeltiden suya ve yeme katılmış, kontrol grubuna ise hormon uygulanmamıştır. Denemenin 1. aşaması sonunda renk skalası değerleri ortalaması en yüksek S grubunda (29.90 ± 0.23) tespit edilmiş olup, bunu Y (29.10 ± 0.18) ve K (20 ± 0.00) grupları takip etmiş, gruplar arasında istatistiksel farkın önemli olduğu belirlenmiştir ($p < 0.05$). Denemenin 2. aşaması sonunda da renk skalası değerleri ortalaması en yüksek S grubunda (30.83 ± 0.13) tespit edilmiş olup, bunu Y (29.60 ± 0.11) ve K (20 ± 0.00) grupları takip etmiş, gruplar arasında fark istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur ($p < 0.05$). Denemede S grubunda 1. aşamada 5 adet, 2. aşamada 1 adet toplam 6 adet balıkta, Y grubunda ise 1. ve 2. aşamalarda 1'er adet, toplam 2 adet balıkta gonopodium oluşumu gözlemlenmiştir. S grubunda androjen hormonun daha fazla cinsiyet dönüşümüne neden olduğu görülmüştür. Üremeye etkisi bakımından çalışma sonucuna baktığımızda S ve Y gruplarında üreme olmazken K grubunda 2 balıktan toplam 18 yavru elde edilmiştir. Sonuç olarak 17 α -MT hormon kullanımının lepistes balıklarında renklenme ve cinsiyet dönüşümü üzerinde etkisinin olumlu olduğu, üreme üzerine etkisinin ise olumsuz olduğu tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler- Cinsiyet Dönüşümü, Lepistes, *Poecilia reticulata*, Renklenme, Üreme, 17- α -metiltestosteron

Effects of 17- α -Methyltestosterone usage on Coloration, Sex Reversal and Reproductive Performance in Guppy (*Poecilia reticulata*) Fish

ABSTRACT: In this study, 17 α -methyltestosterone hormone was added to the feed and water, and the effects of coloring, sex reversal and reproduction were investigated in guppy fish (*Poecilia reticulata*). Experimental groups were planned as control group (C), water hormone (W) and feeding hormone (F) groups in 3 groups with 3 replicates. The 3 -stage study lasted a total of 12 weeks. In the 1st and 2nd stages of the experiment, visual color determination was performed with 10 panelists using a color scale at weekly intervals. 1 ml of the stock solution containing 0.1 mg MT was added to water and feed, while the control group was not treated with hormone. At the end of the 1st phase of the experiment, the highest mean color scale values were found in the S group (29.90 ± 0.23), followed by the Y (29.10 ± 0.18) and K (20 ± 0.00) groups, and significant differences were determined between the groups ($p < 0.05$). At the end of the 2nd phase of the experiment, the highest mean

*Bu araştırma, TÜBİTAK tarafından 2209-A Üniversite Öğrencileri Araştırma Projeleri Destekleme Programınca desteklenmiştir.

*Bu çalışma, ilk yazarın doktora tezinden üretilmiştir.

*This study was produced from the doctorate thesis of first author.

color scale values were found in the S group (30.83±0.13), followed by the Y (29.60±0.11) and K (20±0.00) groups, and the difference between the groups was found statistically significant ($p<0.05$). In the experiment, gonopodium formation was observed in S group in the 1st stage in 5 fish and in the 2nd stage in 1 fish in total 6 fish, and in Y group in the 1st and 2nd stages in 1 fish in total 2 fish. In group S, androgen hormone was found to cause more sex reversal. The results of the current study in terms of the effect of hormone on reproduction, while there was no reproduction in the S and Y groups, a total of 18 fry were obtained from 2 fish in the K group. As a result, it was determined that the effect of 17 α -MT hormone use on coloration and sex reversal in guppies was positive, while its effect on reproduction was negative.

Keywords- Sex reversal, Guppy, *Poecilia reticulata*, Coloration, Reproduction, 17 α -methyltestosterone

1. Giriş

Süs balıklarının çarpıcı ve canlı renklere sahip olmaları onların akvaristler tarafından talep görmesini sağlar. Süs balıklarının piyasa değerini belirleyen en önemli faktörlerden biri olan renklenme, endokrin ve sinir sistemi tarafından kontrol edilmektedir (Asimi, 2009). Balıkların rengi esasen deride bulunan pigmentlerce oluşturulur, zemin rengi ve genel görünüm ise alttaki dokulara, vücut sıvılarına ve bağırsak içeriğine göre değişebilmektedir (Demir, 2006). Bununla beraber yemdeki pigment kaynakları da balık renginin belirlenmesinde rol oynar. Balıklarla ilgili sürekli deri rengini iyileştirme ve daha çekici olması amacıyla araştırmalar gerçekleştirilmektedir (Asimi, 2009; Fabanjo ve Abdullah, 2021; Sathyaruban ve ark. 2021; Octaviani ve ark. 2022; Perera ve Bhujel, 2022).

Goodwin (1951), balıkların karotenoidleri sentezleme yeteneğine sahip olmadığını tespit etmiştir (Das ve Biswas, 2016; Withers, 1992). Balıkların karotenoid pigmentasyonu, yemde bulunan pigmentten kaynaklanmaktadır (Hata ve Hata, 1973). Bununla birlikte, dışarıdan hormon takviye edilmiş yem kaynakları da balığın rengini arttırmada rol oynar (Biswas ve ark. 2014). Hormonların tipi, uygulanış şekli ve miktarı ile balıkların büyüme, üreme ve yaşama oranları üzerine yapmış olduğu etkiler her zaman araştırma konusu olmuştur (Sezgi ve Bekcan, 2008). Akvaryum endüstrisinde balıklarda cinsiyet değişikliğini uyarmak için hormonların kullanılması, birçok akvaryum balığı üreticisinin, fiyatları cinsiyete göre değişen pahalı varyetelerin üretiminde hormon kullanımına yönelmesine yol açmıştır (Karlı ve ark. 2018).

Hormon uygulamasında; yeme katma, ağızdan uygulama, enjeksiyon ve silastik implantasyon gibi çeşitli yöntemler bulunmaktadır (Biswas ve ark. 2014). Hormonlar, ticari ve süs balıklarının çoğunda; erkekleştirme, cinsiyet kontrolü, büyüme, yem dönüşüm oranı, davranış, hastalıklara karşı hassasiyet, vücut ve ette renklenme ve anabolik aktiviteyi arttırmak için uygulanmıştır (Sezgi ve Bekcan, 2008; Biswas ve ark. 2014). Dişi balıkların eş seçiminde erkek balığın görsel çekiciliği ve davranışları etkilidir. Örneğin lepistes balıklarında erkeklerin rengi dişilerin üreme zamanı eş seçiminde etkilidir (Houde, 1997). Dişiler özellikle karotenoid renklere (turuncu, kırmızı ve sarı) sahip erkekleri eş olarak seçmektedirler (Evans ve ark. 2004). Bu özelliklerin çoğu sekonder cinsiyet özellikleri olarak kabul edilir ve kandaki hormon oranlarının etkisi altındadır (Endler, 1980; Kodric-Brown, 1985; Shahidian ve ark. 2014). Erkek lepistesin renklenmesi ve juvenil erkeklerde gonopodium gelişimi gonodal androjenler tarafından düzenlenmektedir (Hopper, 1965; Pandey, 1969).

17 α -metilttestosteron (MT), medaka balığında (*Oryzias latipes*) dişi genotipten fonksiyonel erkek balıkları üretmek için kullanılan ilk başarılı hormondur (Yamamoto, 1958). Balıklar üzerinde anabolik madde kullanımı hakkında yapılan çalışmalarda MT, olumlu sonuçlar veren, etkili ve üzerinde en çok durulan steroittir (Matty, 1985). Bu çalışmada, 17 α -MT hormonu lepistes balıklarına (*Poecilia reticulata*) yeme ve suya katılmak suretiyle




























uygulanarak renklenme, cinsiyet dönüşümü ve üreme performansı üzerine etkileri araştırılmıştır.

2. Materyal ve Yöntem

Araştırmada 40x30x30 cm boyutlarında 9 adet cam akvaryum ve özel bir işletmeden temin edilen 18 adet erkek ve 45 adet dişi ergin lepistes (*Poecilia reticulata* Peters, 1860) balığı kullanılmıştır. Deneme grupları; kontrol grubu (K), suya hormon (S) ve yeme hormon (Y) grupları olarak 3 grupta 3 tekerrürlü olacak şekilde planlanmıştır. 3 aşamalı olan çalışmanın her bir aşaması 4 hafta olmak üzere toplam 12 hafta sürmüştür. Deneme grupları ve özellikleri Çizelge 1’de gösterilmiştir.

Çizelge 1. Deneme grupları ve özellikleri

Table 1. Experimental groups and characteristics

Grup Özellikleri	Deneme Grupları					
	K		S		Y	
1. Aşama <ul style="list-style-type: none"> K grubunda MT uygulaması yok, S grubunda suya ve Y grubunda yeme MT uygulaması var, K ve S grubu normal yem ile Y grubu MT’li yem ile besleme, Her bir tekerrürde 5 dişi balık, 4 hafta. 	K1		S1		Y1	
	K2		S2		Y2	
	K3		S3		Y3	
2. Aşama <ul style="list-style-type: none"> Tüm gruplarda MT uygulaması yok, Tüm gruplar normal yem ile besleme, Her bir tekerrürde 5 dişi balık, 4 hafta, 	K1		S1		Y1	
	K2		S2		Y2	
	K3		S3		Y3	
3. Aşama <ul style="list-style-type: none"> Tüm gruplarda MT uygulaması yok, Tüm gruplar normal yem ile besleme, Her bir tekerrürde 5 dişi + 2 erkek balık, 4 hafta, 	K1		S1		Y1	
	K2		S2		Y2	
	K3		S3		Y3	

Akvaryumlara 20 L dinlendirilmiş çeşme suyu koyulmuş, hava taşı yerleştirilerek merkezi bir hava motoru vasıtasıyla 24 saat havalandırma sağlanmıştır. Denemede yem olarak %26.4 ham protein ve %5.2 ham yağ içerikli özel ticari bir lepistes yemi, androjen hormon olarak da özel bir firmadan temin edilen 17 α -metiltestosteron (MT, Sigma) kullanılmıştır. Denemede balıklar doyuncaya kadar sabah ve akşam (08:00-17:00) olmak üzere günde iki defa elle yemleme yapılmıştır. Haftada iki kez akvaryumların tabanındaki dışkı ve yem artıkları için sifon yöntemi uygulanmıştır. Ölçekli bir kaba sular toplanmış, K ve Y gruplarına alınan su kadar dinlendirilmiş musluk suyu, S grubuna ise önceden hazırlanmış olan stok çözeltiden sifon yöntemi ile alınmış miktar kadar eklenmiştir.

Denemenin birinci aşamasında; her akvaryuma 5 adet dişi lepistes balığı yerleştirilmiştir. Her bir tekerrüre 5 balık, her bir gruba ise toplam 15 balık koyulmuştur. S ve Y gruplarında 4 hafta süresince hormon uygulaması yapılmıştır. Duyusal analizler 10 panelist tarafından gerçekleştirilmiştir. Renk dönüşümünü panelistler renk skalası ile değerlendirmişlerdir. Haftalık periyotlar şeklinde balıkların fotoğrafları çekilmiş cinsiyet dönüşümü tespit

edilmeye çalışılmıştır. Birinci aşamanın sonunda suya ve yeme hormon uygulamasına son verilmiştir. İkinci aşamada; deneme gruplarına 4 hafta süresince hormon uygulanmamış, balıklar kontrol grubu yemi ile beslenmiştir. Renklenme ve cinsiyet dönüşümünde herhangi bir değişme olup olmadığı incelenmiştir. Panelistler renk dönüşümünü renk skalası kullanarak tespit etmeye çalışmıştır. Bu aşamada da haftalık fotoğrafları çekilmiş cinsiyet dönüşümü tespit edilmeye çalışılmıştır. Fenotipik cinsiyet değiştiren bireyler ikincil cinsiyet karakteri olan gonopodium oluşumu ile saptanmıştır. Üçüncü ve son aşamada ise; her bir deneme akvaryumuna 2 adet erkek lepistes yerleştirilmiştir. 4 hafta süren bu aşamada hormon uygulanmayarak, balıklar kontrol grubu yemi ile yemlenmiş ve 17 α -MT'un üremeye etkisi araştırılmıştır. Üremenin hangi gruplarda olduğu ve gruplarda yavruların sayısı tespit edilmiştir.

Hormon solüsyonunun hazırlanması: 0.1 mg hassasiyetli dijital terazide, 0.1 g 17 α -MT tartılmış ve %70'lik 100 ml etil alkolde çözülmüştür. Bu solüsyona 900 ml saf su ilave edilmiş ve 1 L'ye tamamlanmıştır. Homojen hale gelmesi için kapalı bir şişede karıştırılmıştır (Axelrod, 1983; Degani ve Gallagher, 1985; Degani, 1986). Bu stok hormon solüsyonu gölge ve serin yerde saklanmıştır. Stok çözeltinin 1 ml'sinde 0.1 mg MT bulunmaktadır.

Hormon solüsyonunun suya katılması: Hormon solüsyonu, 4.5 L'ye 2 damla olacak şekilde uygulanmıştır. Akvaryumların her biri 20 L dinlenmiş çeşme suyu içermektedir. Solüsyondan dereceli bir damlalık ile 20 litrelik akvaryum için yaklaşık 9 damla alınmış ve S grubu akvaryumlarına damlatılmıştır (Axelrod, 1983).

Hormon solüsyonunun yeme katılması: 17 α -MT'nin yeme karıştırılması; hormonun alkolde çözdürülüp, yeme püskürtülerek, yemden alkolün buharlaştırılıp uzaklaştırılması prensibi ile yapılmıştır. Stok solüsyondan 100 ml alınmış, öğütülerek tepsiye serilmiş yemin üzerine, yüzeyi tamamen ıslatacak şekilde sprey kutusu ile püskürtülmüştür. Bu yemler yem içerisinde hormonun homojen dağılımını sağlamak amacıyla spatula ile karıştırılmıştır. Yemler oda sıcaklığında 24 saat kurutularak, etil alkolün buharlaşarak yemden uzaklaşması sağlanmıştır (Guerrero, 1975; Riley ve ark. 2002). K ve S grubu akvaryumlarına verilecek yem de öğütülerek etil alkol püskürtülmüş ve hormon ilavesi yapılmamıştır.

Görsel renk tayini: Araştırmanın 1. ve 2. aşamalarında haftalık periyotlar şeklinde renk skalası ile görsel renk tayini yapılmıştır. Bu çalışmada, model balık olarak kullanılan lepistes balığı, genellikle 2-3 cm ortalama boya ulaşabildiği için, daha büyük balıklarda daha doğru ölçüm yapılabilen spektrofotometrik yöntemle renk tayini yapılamamıştır. Ayrıca araştırma üç aşamalı şekilde planlandığından, araştırmanın diğer aşamalarının oluşturulabilmesi için görsel renk tayini metodu tercih edilmiştir.

Lepisteslerde hormon uygulama sonucu oluşan pigmentasyonun derecesini tespit etmek için renk skalasından faydalanılmıştır (Foss ve ark. 1984; Johnson ve Wathne, 1989). Roche firması tarafından üretilmiş ve üzerinde 20'den 34'e kadar numaralandırılmış 15 renk tonu bulunan renk skalası bu çalışmada kullanılmıştır. Lepisteslerde hormon uygulama sonucu elde edilen renkler bu renk skalasında belirtilen aralıkta bulunmaktadır. Görsel renk tayini, direkt güneş ışığı almayacak şekilde ve floresan lambayla aydınlatılmış laboratuvar ortamında beyaz zemin üzerinde yapılmıştır (Johnson ve Wathne, 1989; Smith ve ark. 1992). Renk kartlarında tavsiye edilen laboratuvar şartlarına ve ışık ortamına uyulmuştur.

Skaladan renk tespit ederken 10 panelist görevlendirilmiş ve araştırma boyunca bu panelistler değiştirilmeden uygulama tamamlanmıştır. Panelistlerin renk körü olmamalarına dikkat edilmiş ve renk kartındaki renklere en uygun tonu tespit etmeleri istenmiştir (Ergün,

1997). Renk skalasıyla ölçümler haftalık olarak belirlenmiş beş gözlem döneminde (deneme başlangıcı, 1., 2., 3. ve 4. hafta) yapılmıştır. Daha sonra grupların her birinden alınan balıklar akvaryum içine bırakılmıştır. Akvaryumun karşısındaki panelistler balıkları, akvaryumda üzerinde numaralar olan renk skalasından dikkatlice takip ederek her biri ayrı bir puanlama cetveline birbirlerini görmeyerek ve etkilemeden balık renginin hangi numaraya yakın olduğunu yazmışlardır. Panelistlerin verdikleri puanların ortalaması alınmış, ortalamaya en yakın renk değeri skaladan belirlenmiştir.

İstatistiksel analiz: Elde edilen verilerin istatistik analizinde Minitab 17 paket programı kullanılmıştır. Normal bir dağılım gösteren verilere Oneway-Anova (tek yönlü varyans analizi) yapılarak ortalama değerler arasındaki farklar Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi ile $P<0.05$ önem düzeyinde değerlendirilmiştir.

3. Bulgular ve Tartışma

Çalışma boyunca K, S ve Y gruplarında sırasıyla; ortalama su sıcaklığı $21.64\pm 1.67^{\circ}\text{C}$, $21.56\pm 1.64^{\circ}\text{C}$ ve $21.61\pm 1.66^{\circ}\text{C}$, çözülmüş oksijen 8.75 ± 0.35 mg/l, 8.59 ± 0.33 mg/l, 8.64 ± 0.33 mg/l ve pH değerleri 7.78 ± 0.24 , 7.93 ± 0.07 ve 7.89 ± 0.18 olarak tespit edilmiştir.

Araştırmada renklenme, cinsiyet dönüşümü ve üremenin araştırılması için 12 haftalık süre uygulanmıştır. Bu süre Owusu-Frimpong ve Nijhar, (1981) *Tilapia nilotica* türünde 6 hafta, Kayım, (1997) *Xiphophorus helleri* türünde 12 hafta, Larsson ve ark. (2002) *Poecilia reticulata* türünde 6 hafta, Atar ve ark. (2009) *Oncorhynchus mykiss* türünde 12 hafta, Karşlı ve ark. (2018) *Labidochromis caeruleus* türünde 8 hafta, Karşlı ve ark. (2022) *Labidochromis caeruleus* türünde 12 hafta, Widyawati ve ark. (2021) *Oreochromis niloticus* türünde 8 hafta olarak bildirilmiştir. Denemede uygulanan süre Kayım, (1997), Atar ve ark. (2009), Karşlı ve ark. (2022)'nin süreleri ile uyumludur.

3.1. Denemenin 1. Aşamasına İlişkin Bulgular

Araştırmanın 1. aşamasında, S ve Y gruplarına 17 α -MT hormonu uygulaması yapılmıştır. Panelistler bireysel puanlama cetveline renk skalasından okudukları değeri yazmışlardır, bu değerler ortalamaları ile K, S ve Y gruplarında gösterilmiştir. Kontrol grubunda okunan değerler deneme boyunca deneme başında (1. gün) okunan değerler (20) ile aynıdır. Denemenin 1. aşaması sonu itibarıyla (4. hafta) renk skalası değerleri ortalaması en yüksek S grubunda (29.90 ± 0.23) tespit edilmiş olup, bu grubu sırasıyla Y (29.10 ± 0.18) ve K (20 ± 0.00) grupları takip etmiştir (Çizelge 2).

Çizelge 2. 1. Aşama süresince gruplarda renk skalası değerleri ortalaması

Table 2. Mean color scale values in groups during the phase 1

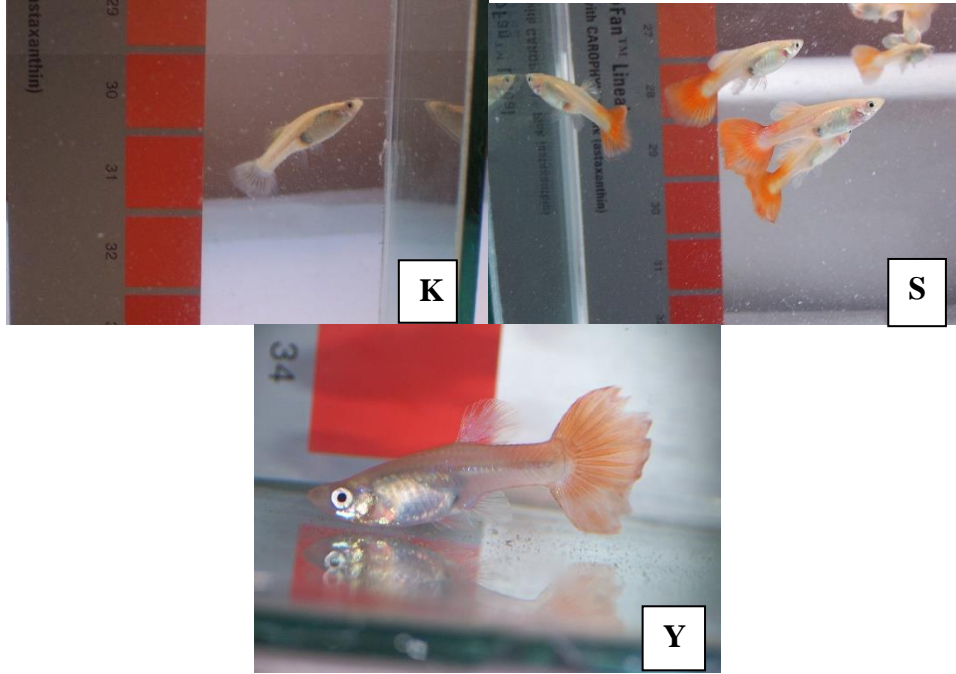
Deneme Grupları			
Haftalar	K	S	Y
1	20 ± 0.00^b	20.43 ± 0.09^a	20.13 ± 0.06^b
2	20 ± 0.00^b	20.93 ± 0.11^a	20.67 ± 0.09^a
3	20 ± 0.00^c	25.87 ± 0.15^a	24.80 ± 0.15^b
4	20 ± 0.00^c	29.90 ± 0.23^a	29.10 ± 0.18^b

*Aynı satırda farklı harf taşıyan ortalama değerler arasındaki fark istatistiki olarak önemlidir ($p<0.05$).

**Değerler 5 balığa ait ortalamaları göstermektedir.

Yapılan istatistiki analiz sonuçlarına göre; 4. haftada renk skalası değerleri ortalaması bakımından gruplar arasındaki istatistiksel farkın önemli olduğu belirlenmiştir.

($p < 0.05$), S grubu balıklarının diğer gruplardan daha koyu renklere sahip olduğu gözlenmiştir. Bu renklenmenin özellikle kırmızı turuncu renk tonlarında olduğu, balıkların kuyruk, sırt, anal yüzgeçlerinde ve kuyruk sapında 3. haftadan itibaren belirginleştiği görülmüştür (Şekil 1).



Şekil 1. Gruplarda renk farklılaşmaları (1. aşama 4. hafta)
Figure 1. Color differences in groups (1st stage, 4th week)

Foss ve ark. (1984), balıklarda yapılan pigmentasyon çalışmalarında renk kartları ile görsel analizin yapılmasının yetiştiricilikte kalite kontrolü açısından önemli olduğunu belirtmiştir. 17 α -MT hormonunun lepistes balıklarında pigmentasyon etkisine sahip olduğu Smith, (1976) tarafından belirtilirken, Axelrod, (1983) pigmentasyonun 2-6 hafta içinde oluştuğunu, Kayım, (1997) da bu hormonun renklenmeyi artırdığını ve pigmentasyon üzerinde pozitif bir etkisinin olduğunu ifade etmiştir. Karslı, (2021) araştırmasında 17 α -MT ile beslenen kırmızı imparator çiklitlerde, diğer gruplara göre farklılığın önemli olduğunu ve belirgin parlak kırmızı tonların oluştuğunu belirtmiştir. Larsson ve ark. (2002) lepisteslerde yaptıkları çalışmada 17 α -MT içeren grupta daha yoğun bir renklenme ile 8. günden sonra kuyruk bölgesi daha kırmızı bireylerin görüldüğünü, Karslı ve ark. (2016) da ahli çiklitlerde çalışmalarının 8. gününden itibaren 17 α -MT içeren gruplarda belirgin bir renklenme gözlemlediklerini bildirmiştir. Turan, (2001) suya ve yeme kattığı 17 α -MT hormonunun lepisteslerde kırmızı ve turuncu pigmentasyonu artırdığını, özellikle suya hormon grubunda yeme hormon grubuna göre daha erken dönemde renklenme görüldüğünü belirtmiştir. Bu çalışmada da benzer şekilde androjen hormonun balıklarda pigmentasyonu artırdığı, özellikle S grubunda Y grubuna göre daha belirgin bir turuncu - kırmızı tonlarda renklenmeye sebep olduğu ve 3. haftadan itibaren balıkların anal yüzgecinin uzayarak gonopodium şeklinde farklılaştığı tespit edilmiştir (Şekil 2).



Şekil 2. S grubu akvaryumundaki dişi balıklarda gonopodium oluşumu
Figure 2. Gonopodium formation in female fish in S aquarium

1. aşama sonunda S grubunda 5 balıkta, Y grubunda ise 1 balıkta fenotipik cinsiyet dönüşümü gerçekleşmiştir.

3.2. Denemenin 2. Aşamasına İlişkin Bulgular

2. aşamada, S ve Y gruplarına 1. aşamada uygulanan 17 α -MT hormonu uygulaması yapılmamıştır. Panelistlerin yaptığı puanlamalar ortalamalarıyla birlikte K, S ve Y gruplarında gösterilmiştir. Denemenin 2. aşaması sonu itibariyle (4. hafta) renk skalası değerleri ortalaması en yüksek S grubunda (30.83 ± 0.13) tespit edilmiş olup, bu grubu sırasıyla Y (29.60 ± 0.11) ve K (20 ± 0.00) grupları takip etmiştir. 4. haftada renk skalası değerleri ortalaması bakımından gruplar arasında fark istatistiksel bakımdan önemli bulunmuştur ($p < 0.05$) (Çizelge 3).

Çizelge 3. 2. Aşama süresince gruplarda renk skalası değerleri ortalaması

Table 3. Mean color scale values in groups during the phase 2

Deneme Grupları			
Haftalar	K	S	Y
1	20 ± 0.00^c	31.03 ± 0.18^a	30.03 ± 0.10^b
2	20 ± 0.00^c	30.93 ± 0.16^a	29.93 ± 0.13^b
3	20 ± 0.00^c	30.93 ± 0.14^a	29.73 ± 0.11^b
4	20 ± 0.00^c	30.83 ± 0.13^a	29.60 ± 0.11^b

*Aynı satırda farklı harf taşıyan ortalama değerler arasındaki fark istatistiki olarak önemlidir ($p < 0.05$).

**Değerler 5 balığa ait ortalamaları göstermektedir.

Bu aşamanın 1. haftasında S ve Y gruplarında renklenmenin devam ettiği, takip eden diğer haftalarda ise renklenmenin artan yönde devam etmediği tespit edilmiştir. Axelrod, (1983) hormon uygulaması sonlandırıldıktan birkaç hafta ile bir ay sonra dişi lepistes balıklarında hormon ile elde edilen rengin kaybolduğunu bildirmiştir. Bu araştırmada da benzer şekilde bir haftadan sonra renkte azalma olduğu gözlenmiştir. 2. aşama sonunda S ve Y grubu akvaryumlarında 1'er balıkta gonopodium oluşumu saptanmıştır. Gonopodium oluşumu görülmesi bir süre de olsa hormon etkisinin sürdüğünün bir göstergesi olabilir. Tüm aşamalarda gonopodium oluşumu toplu halde Çizelge 4'te gösterilmiştir.

Çizelge 4. Deneme gruplarında gonopodium oluşumu gösteren balıklar
Table 4. Gonopodium formation in experimental groups

Deneme Grupları									
Deneme Aşamaları	K1	K2	K3	S1	S2	S3	Y1	Y2	Y3
1	-	-	-	1	2	2	-	1	-
2	-	-	-	1	-	-	1	-	-
3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Toplam sayı				2	2	2	1	1	

Arslan ve ark. (2010) oral yolla uyguladıkları üç farklı MT dozunda gruplardaki balıkların tamamının veya tamamına yakınının erkekleştiğini, Karşı ve ark. (2016) 17 α -MT hormonu uygulanan gruplarda cinsiyet dönüşüm oranının %100 erkek şeklinde olduğunu bildirmişlerdir. Jessy ve Varghese, (1988) 17 α -MT içeren yemle besledikleri balıkların %80 ve üzerindeki oranlarda erkeğe dönüştüğünü, Turan, (2001) cinsiyet dönüşüm oranının suya hormon grubunda yeme hormon grubuna göre daha yüksek olduğunu belirtmiştir. Bu araştırmada da benzer şekilde cinsiyet dönüşüm oranının S grubunda, Y grubuna göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bu araştırmacıların elde ettikleri erkekleşme oranı yüzdeleri deneme sonucundan yüksektir. Cinsiyet dönüşüm oranı yüksekliğinin; yeme katılan hormonun dozuna, yapısına, uygulama sıcaklığına, uygulama süresine, yeme, balık türüne, yaş ve büyüklüğe bağlı olarak değişebileceği bilinmektedir (Nagy ve ark. 1981).

Lepisteslerde fenotipik cinsiyet, doğumdan sonra yaklaşık 16 hafta süren juvenil dönemde meydana gelen gonad farklılaşması ve sekonder seks karakterlerinin gelişimi ile gebeliğin son 10 gününde belirlenir (Goodrich ve ark. 1934). Sekonder cinsiyet karakterleri; anal yüzgecin çiftleşme organı olarak kullanılan gonopodiuma dönüşümünü, kur yapma davranışının ortaya çıkışını ve rengin belirginleşmesini içermektedir (Bayley ve ark. 2002). 17 α -MT kullanıldığında gonopodium oluşumunu Axelrod, (1983) dişi lepistes balıklarında 2-6 hafta içinde anal yüzgecin kalınlaştığını, Jenkins ve ark. (2001) ile Larsson ve ark. (2002) hormon uyguladıkları dişi lepistes balıklarında anal yüzgecin gonopodiuma dönüştüğünü, sekonder cinsiyet karakterlerinin oluştuğunu ve bu balıklarda klasik erkek davranışları gözlemlediklerini bildirmişlerdir. Pawlowski ve ark. (2004) bu hormona maruz kalan dişi balıkların koyulaşan vücut rengi yanı sıra, erkeğe özgü cinsiyet davranışını da sergilediklerini belirtmişlerdir. Bu araştırmada da gonopodium oluşumu (3. haftadan itibaren) Axelrod, (1983)'un bildirdiği hafta aralığı (2-6 hafta) ile uyum içerisinde.

3.3. Denemenin 3. Aşamasına İlişkin Bulgular

3. aşamada hormonun üreme üzerine etkisini araştırmak için akvaryumların her birine iki adet erkek lepistes eklenmiştir. Araştırma sonunda S ve Y gruplarındaki akvaryumların hiçbirinde üreme görülmemiştir. Üreme yalnızca kontrol grubundaki K1 (13 yavru) ve K3 (5 yavru) akvaryumlarında görülmüş, toplam 18 yavru alınmıştır. Üremenin S ve Y gruplarında olmaması, hormonun balıklarda üremeye olumsuz etki ettiğinin bir göstergesi olabilir. Lim ve ark. (1990) 17 α -MT uygulandığında balıkların kendiliğinden yumurtlama davranışı sergilemediğini, Larsson ve ark. (2002) ise aynı hormonu uyguladıkları lepistes balıklarında üremenin görülmediğini ancak kontrol grubundan yavru aldıklarını belirtmişlerdir. Söz konusu çalışmalar bu çalışmanın bulgularını destekler niteliktedir. Araştırma süresince grupların hiçbirinde balık ölümü görülmemiştir. Turan, (2001) en yüksek yaşama oranını, 17 α -MT'yi yeme katma yönteminde 15 ppm grubunda %84.55, immersiye yönteminde ise en

yüksek yaşama oranını 300 µg/L olan grupta %96.36 olarak tespit etmiştir. Karşılı ve ark. (2016) yeme 20, 40 ve 60 mg 17 α-MT kattıkları gruplarda yaşama oranlarını sırasıyla %77.78, %84.44 ve %84.44 olarak belirlemişlerdir. Karşılı, (2021) çalışmasında en yüksek yaşama oranlarını kontrol grubunda %93.33 ve 50 mg/kg 17 α-MT içeren grupta %86.67 olarak bildirmiştir. Yaşama oranları çalışmalarda farklılık gösterirken, bazı araştırmacılar hormon oranı arttıkça yaşama oranının düştüğünü ifade etmektedirler (Turan 2001; Karşılı ve ark. 2018).

4. Sonuç ve Öneriler

Bu çalışmada, lepistes balıklarında (*Poecilia reticulata*) 17 α-MT hormonunun yeme ve suya katılmak suretiyle renklenme, cinsiyet dönüşümü ve üreme üzerine etkileri araştırılmıştır. Akvaryum balıklarının ticaretinde renk her zaman önemli bir yer tutmuştur. Günümüzde renksiz veya sade görünen balıklara ilgi azken, renkli akvaryum balıklarına talep daha fazla olmaktadır.

Denemede 4 hafta süresince S grubundaki balıklar, Y grubundaki balıklara göre hormona daha fazla maruz kalmışlardır. S grubundaki balıklar belirli miktarda su içtikleri gibi, solungaç ve derileri aracılığıyla da hormon etkisinde kalmışlardır. Y grubundaki balıklar ise hormonu yalnızca ağız vasıtasıyla yem ile sindirim esnasında almışlardır.

Çalışma sonucunda 17 α-MT hormonun renklenme üzerine olumlu etkisi olduğu tespit edilmiştir. Bu hormonun dişi lepistes balıklarına 4 hafta süreyle suya katılarak verilmesi, yem yolu ile verilmesinden daha erken ve daha koyu bir renklenme sağlamıştır. Ayrıca denemede uygulanan bu hormonun her iki grupta da cinsiyet dönüşümüne etki ettiği, özellikle S grubunda (6 adet) Y grubuna (2 adet) göre daha fazla cinsiyet dönüşümünün gerçekleştiği görülmüştür. Üremeye etkisi bakımından çalışma sonucuna baktığımızda S ve Y gruplarında üreme olmazken K grubunda 2 balıktan toplam 18 yavru elde edilmiştir. Androjen hormon cinsiyet dönüşümünü tetiklediği için hormon verilen gruplarda üremeyi olumsuz etkilemiştir.

Yapılacak daha sonraki araştırmalarda süre daha uzun tutularak, hormon ile elde edilen ikincil cinsiyet ve rengin ne kadar kalıcı olacağı, hormon kesildikten sonra üremenin ne kadar sürede elde edileceği, yavru elde ediliyorsa hangi cinsiyetlerin meydana geleceği de araştırılabilir. Farklı tür balıklarda da 17 α-MT denenerek farklı uygulama yolları ile etkilerinin neler olacağı, hangi uygulamanın daha kalıcı ve daha etkili olduğu da incelenebilir. Bu androjen hormonun diğer akvaryum balığı türlerinde de renklenme, cinsiyet dönüşümü ve üreme üzerine etkilerinin araştırılması ülkemiz akvaryum balıkları sektörünün gelişimine önemli katkılar sağlayabilir.

5. Kaynaklar

- Arslan, T., Güven, E., Baltacı, M.A., 2010. Hormonal cinsiyet dönüşüm metodu kullanılarak monoseks gökkuşuğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) üretimi. Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 16(Suppl-B), 361-368, <https://doi.org/10.9775/kvfd.2010.2678>.
- Asimi, O.A., 2009. To study the effect of photosensitizer on melanophore responses of blue gourami (*Trichogaster trichopterus*). Journal of Cell & Animal Biology, 3(5), 083-087.
- Atar, H.H., Bekcan, S., Dogankaya, L., 2009. Effects of different hormones on sex reversal of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum) and production of all-female populations. Biotechnology & Biotechnological Equipment, 23(4), 1509-1514, <https://doi.org/10.2478/V10133-009-0002-X>.
- Axelrod, H.R., 1983. Guppies in color. T.F.H. Publications, Inc. Ltd., US, 32p.

- Bayley, M., Junge, M., Baatrup, E., 2002. Exposure of juvenile guppies to three antiandrogens causes demasculinization and a reduced sperm count in adult males. *Aquatic Toxicology*, 56, 227–239, [https://doi.org/10.1016/s0166-445x\(01\)00210-7](https://doi.org/10.1016/s0166-445x(01)00210-7).
- Biswas, A., Behera, S., Das, P., Meena, D.K., Behera, B.K., 2014. Effect of methyl testosterone (17 α -MT) on the phenotype, bioindices and gonads of adult male dwarf gourami (*Colisa lalia*). *Emirates Journal of Food & Agriculture (EJFA)*, 26(5), 459-464, <https://doi.org/10.9755/ejfa.v26i5.16365>.
- Das, A.P., Biswas S.P., 2016. Carotenoids and pigmentation in ornamental fish. *Journal of Aquaculture & Marine Biology (JAMB)*, 4(4), 00093, <https://doi.org/10.15406/jamb.2016.04.00093>.
- Degani, G., Gallagher, M.L., 1985. Effect of dietary 17 α -methyltestosterone and bovine growth hormone on growth and food conversion of slow and normal growing american elvers (*Anguilla rostrata*). *Canadian Journal of Fisheries & Aquatic Sciences*, 42, 185-189.
- Degani, G., 1986. Effect of combined dietary 17 β -estradiol and 17 α -methyltestosterone on growth and body composition of european eels (*Anguilla anguilla*). *Aquaculture*, 59, 169-175.
- Demir, N., 2006. İhtiyoloji, Nobel Yayın Dağıtım, Yayın No: 924, Fen ve Biyoloji Yayınları Dizisi: 31, 3. Basım, Ankara, Türkiye, 423s.
- Endler, J.A., 1980. Natural selection on color patterns in *Poecilia reticulata*. *Evolution*, 34(1), 76-91, <https://doi.org/10.2307/2408316>.
- Ergün, S., 1997. Doğal ve sentetik karotenoid kaynaklarının gökkuşağı alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) pigmentasyona etkisi. Doktora Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Sinop, 77.
- Evans, J.P., Bisazza, A., Pilastro, A., 2004. Female mating preferences for colourful males in a population of guppies subject to high predation. *Journal of Fish Biology*, 65, 1154–1159, <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2004.00502.x>.
- Fabanjo, M.A., Abdullah, N., 2021. Effect of addition of pro-enzymes and Spirulina flour on growth and color intensity of betta fish (*Betta* sp). 2nd International Conference on Fisheries and Marine, IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science 890, 012025, <https://doi.org/10.1088/1755-1315/890/1/012025>.
- Foss, P., Storebakken, T., Schiedt, K., Liaaen-Jensen, S., Austreng, E. Streiff, K., 1984. Carotenoids in diets for salmonids. 1. pigmentation of rainbow trout with the individual optical isomers of astaxanthin in comparison with canthaxanthin. *Aquaculture*, 41, 213-226.
- Goodrich, H.B., Dee, J.E., Flynn, C.M., Mercer, R.N., 1934. Germ cells and sex differentiation in *Lebistes reticulatus*. *Biological Bulletin*, 67(1), 83-96.
- Goodwin, T.W., 1951. Carotenoids in fish. In: *The biochemistry of fish*. Biochemical Society Symposia, USA.
- Guerrero, R.D., 1975. Use of androgens for the production of all male (*Tilapia aurea*). *Transactions of the American Fisheries Society*, 104(2), 342-348.
- Hata, M., Hata, M., 1973. Studies on astaxanthin formation in some freshwater fishes. *Tohoku Journal of Agricultural Research*, 24(4), 192-196.
- Hopper, A.F., 1965. Inhibition of Regeneration of the gonopodium of the guppy by treatment with thiouracil. *The Journal of Experimental Zoology*, 159, 231-240.
- Houde, A.E., 1997. Sex, color, and mate choice in guppies. Princeton University Press. Princeton, NJ., 210p.
- Jenkins, R.J., Angus, R.A., McNatt, H., Howell, W.M., Kempainen, J.A., Kirk, M., Wilson, E.M., 2001. Identification of androstenedione in a river containing paper mill effluent. *Environmental Toxicology & Chemistry*, 20, 1325-1331, [https://doi.org/10.1897/1551-5028\(2001\)020<1325:ioaiar>2.0.co;2](https://doi.org/10.1897/1551-5028(2001)020<1325:ioaiar>2.0.co;2).
- Jessy, D., Varghese, T.J., 1988. Hormonal sex control in *Betta splendens* (Regan) and *Xiphophorus helleri* (Heckel). Paper presented to First Indian Fisheries Forum, Asian Fisheries Society, Indian Branch, Mangalore, India, pp 26-31.
- Johnson, G., Wathne, E., 1989. Color measurements in farmed salmon and trout. (Translated and Reprinted Form: Norsk Fiskeoppdrett, 4, 45-47). Roche Print. Animal Nutritional and Health, Basel, Switzerland.
- Karslı, Z., Aral, O., Yeşilayer N., 2016. The effects of different proportions of the 17 β -estradiol and 17 α -methyltestosterone on growth, sex reversal and skin colouration of the electric blue hap (*Sciaenochromis ahli* Trewavas, 1935). *Aquaculture Research*, 47, 640–648, <https://doi.org/10.1111/are.12524>.
- Karslı, Z., Şahin, D., Öz, M., Aral, O., 2018. The effect of hormone (17 α -methyltestosterone, 17 β -estradiol) usage on development, sex inversion and pigmentation of electric yellow cichlid (*Labidochromis caeruleus* Fryer, 1956). *Applied Ecology and Environmental Research*, 16(6), 8093-8103, https://doi.org/10.15666/aeer/1606_80938103.

- Karlı, Z., 2021. Effects of synthetic androgen (17 α -methyltestosterone) and estrogen (17 β -estradiol) on growth and skin coloration in emperor red cichlid, *Aulonocara nyassae* (Actinopterygii: Cichliformes: Cichlidae). *Acta Ichthyologica et Piscatoria*, 51(4), 357–363, <https://doi.org/10.3897/aiep.51.70223>.
- Karlı, Z., Şahin, D., Öz, M., Öz, Ü., Aral, O., 2022. The effect of dietary supplementation of 17 α -methyltestosterone and 17 β -estradiol hormones on growth, sex conversion and reproduction in electric yellow cichlid (*Labidochromis caeruleus*). *Pakistan Journal of Zoology*, 54(1), 213-218, <https://dx.doi.org/10.17582/journal.pjz/20210105110138>.
- Kayım, M.H., 1997. 17 α -metilttestosteronun kılıçkuyruk (*Xiphophorus helleri* H. 1848) balığında büyüme üzerine etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir, 150.
- Kodric-Brown, A. (1985). Female preference and sexual selection for male coloration in the guppy (*Poecilia reticulata*). *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 17, 199-205.
- Larsson, D.G.J., Kinnberg, K., Sturve, J., Stephensen, E., Skön, M., Förlin, L., 2002. Studies of masculinization, detoxification and oxidative stress responses in guppies (*Poecilia reticulata*) exposed to effluent from a pulp mill. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 52, 13-20, <https://doi.org/10.1006/eesa.2001.2139>.
- Lim, L.C., Chao, T.M., Khoo, L.T., 1990. Observations on the breeding of brown- marbled grouper, *Epinephelus fuscoguttatus* (Forsk.). *Singapore journal of Primary Industries*, 18, 66-84.
- Matty, A.J., 1985. *Fish endocrinology*. Timber Press Ltd. Portland, USA, 272p.
- Nagy, A., Bercsenyi, M. Csanyi, V., 1981. Sex reversal in carp (*Cyprinus carpio*) by oral administration of methyltestosterone. *Canadian Journal of Fisheries & Aquatic Sciences*, 38, 725- 728.
- Octaviani, D.A., Armando, E., Jaelani, A.Q. 2022. Effect of carrot flour (*Daucus carota*) to increase growth and color brightness in lemon cichlid fish (*Labidochromis caeruleus*). *Asian Journal of Aquatic Sciences*, 5(2), 264-270.
- Owusu-Frimpong, M., Nijjar, B., 1981. Induced sex reversal in *Tilapia nilotica* (Cichlidae) with methyl testosterone. *Hydrobiologia*, 78, 157-160.
- Pandey, S., 1969. Effects of hypophysectomy on the testis and secondary sex characters of the adult guppy *Poecilia reticulata* Peters. *Canadian Journal of Zoology*, 47, 775-781.
- Pawlowski, S., Sauer, A., Shears, J.A., Tyler, C.R., Braunbeck, T., 2004. Androgenic and estrogenic effects of the synthetic androgen 17 α -methyltestosterone on sexual development and reproductive performance in the fathead minnow (*Pimephales promelas*) determined using the gonadal recrudescence assay. *Aquatic Toxicology*, 68(3), 277–291, <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2004.03.018>.
- Perera, G.S.C., Bhujel, R.C., 2022. Replacement of fishmeal by house cricket (*Acheta domesticus*) and field cricket (*Gryllus bimaculatus*) meals: Effect for growth, pigmentation, and breeding performances of guppy (*Poecilia reticulata*). *Aquaculture Reports*, 25, 101260, <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2022.101260>.
- Riley, L.G., Richan III. N.H., Hirano, T., Grau, E.G., 2002. Activation of the growth hormone insulin-like growth factor axis by treatment with 17 α - methyltestosterone and seawater rearing in the tilapia, *Oreochromis mossambicus*. *General and Comparative Endocrinology*, 127, 285-292, [https://doi.org/10.1016/s0016-6480\(02\)00051-5](https://doi.org/10.1016/s0016-6480(02)00051-5).
- Sezgi, H.B., Bekcan, S., 2008. Farklı periyotlarda 17- α -metilttestosteron ile beslemenin tilapya balıklarının (*Oreochromis niloticus* L.) cinsiyet dönüşümü üzerine etkileri. *Tarım Bilimleri Dergisi*, 14(3), 222-229, https://doi.org/10.1501/Tarimbil_0000001034.
- Sathyaruban, S., Uluwaduge, D.I., Yohi, S., Kuganathan, S. 2021. Potential natural carotenoid sources for the colouration of ornamental fish: a review. *Aquaculture International*, 29, 1507–1528. <https://doi.org/10.1007/s10499-021-00689-3>.
- Shahidian, M., Jamili, S., Rezaiee, F., Amri, N., 2014. Investigating the effect of 17 α -methyl testosterone hormone on hue and color measurement of *Scatophagus argus*. *Marine Science*, 4(1), 21-25, <https://doi.org/10.5923/j.ms.20140401.03>.
- Smith, H.T., 1976. Various aspects of reproductive control in freshwater fishes. Master Thesis, Virginia Polytechnic Institute and State University, Blacksburg, VA, 76p.
- Smith, B.E., Hardy, R.W., Torrissen, O.J., 1992. Synthetic astaxanthin deposition in pan-size coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *Aquaculture*, 104(1-2), 105-119, [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(92\)90141-7](https://doi.org/10.1016/0044-8486(92)90141-7).
- Turan, F., 2001. Farklı düzeylerde suya ve yeme katılan androjen hormonunun (17 α -methyltestosterone) lepistes balıklarında (*Poecilia reticulata*) cinsiyet dönüşümü ve büyüme üzerine etkileri. Yüksek Lisans Tezi, Mustafa Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Antakya, 69.
- Widyawati, Y., Fakhri, M., Dailami, M., Arifin, N.B., 2021. Masculinization of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) using 17 α -methyltestosteron. *Tomini Journal of Aquatic Science*, 2(1), 9–13.

- Withers, P.C., 1992. Comparative Animal Physiology. Brooks Cole-Tomson Learning. Saunders College Publishing/harcourt Brace Jovanovich College, USA, 949p.
- Yamamoto, T., 1958. Artificial induction of functional sex-reversal in genotypic females of the medaka (*Oryzias latipes*). The Journal of Experimental Zoology, 137, 227-263.