

## *Cyphotilapia frontosa*'da Cinsiyete Ba lı ekil Farklılıklarının Geometrik Morfometri Yöntemiyle Belirlenmesi

Ayhan ALTUN\*, ehriban ÇEK, Eren ÇEMBERTA

skenderun Teknik Üniversitesi, Deniz Bilimleri ve Teknolojisi Fakültesi, 31200, skenderun, Hatay.

\* Sorumlu yazar: Tel: +90 533 540 36 57  
E-posta:altun7@yahoo.com

Geli Tarihi: 10.06.2014  
Kabul Tarihi: 04.03.2015

### Abstract

#### Sexual Dimorphism in *Cyphotilapia frontosa* Determined by Geometric Morphometry

Sexual dimorphism in fishes is not always easily observable. There are some exemptions where dimorphism is obvious. Males in some species, especially the ones that the egg development undergoes inside female body, have a specialized structure called gonopodium, which distinguishes the males from the females. The first anal fin-ray has become a probe like organ to channel semen into the female's cloaca during mating. Another example of the clear sexual dimorphism is presence of stripes on the males of *Aphenius*, a cyprinid. These stripes do not exist on the females, at all. Besides these rare occurrences, some sexual morphological differentiation may take place in the adults of some fish during reproduction period. The best example of this situation is the males of trout whose mouth shapes change and elongate to take almost the shape of a beak. Despite such limited examples sexual determination in fish needs a thorough examination of an expert eye and/or an autopsy of the reproductive organs of the specimens which usually means the death of the specimen.

*Cyphotilapia frontosa* used in this study is a favorable aquarium fish belongs to Tilapia family. A horn-like extension over the head develops in adult males. Investigation of sexual dimorphism in *C. forontosa* was carried out on 27 specimens. They were analyzed using geometric morphometrics methods where landmarks are used to evaluate the shape of the fish which does not necessitate the death of the fish however autopsy was also carried out to ascertain the results. For geometric morphometrics analysis the pictures of fish were taken and they were digitized using landmarks to determine the shape differences statistically. As a result sexual shape variation in *Cyphotilapia frontosa* individuals were determined.

**Keywords:** *Cyphotilapia frontosa*, sexual dimorphism, geometric morphometry.

### Özet

Balıklarda erkek-di i ayrımını dı görünümünden belirleyebilmek her zaman kolay de ildir. Cinsiyet ayrımının belirgin oldu u bazı balık türlerinin erkeklerinde, özellikle de yumurta geli imi di i karnında gerçekte en balıkların erkeklerinde gonopodium adı verilen kolay fark edilebilen morfolojik farklılık bulunmaktadır. Bu tür balıklarda anal yüzgecin ilk 1 mı di i karnındaki yumurtaları dölleyecek ekilde dikenle mi tir. Belirgin e ysel ekil farklılı ma di er bir örnekte cyprinidlerde di li sazancık diye bilinen *Aphenius* türünün erkeklerindeki çizgilerin varlı ıdır. Bu çizgiler di ilerde asla bulunmamaktadır. Bu nadir örneklerin dı nda balıklarda cinsiyet ba lı belirgin ekil farklılıkları üreme dönemlerinde ortaya çıkmaktadır. Üreme döneminde cinsiyete ba lı morfolojik farklılı ın en güzel örneklerinden biri de Alabalık erkeklerinde a lız yapısının de i erek uzayıp gaga görünümünü almasıdır. Bu gibi örneklerin dı nda balıklarda cinsiyetin belirlenmesi ancak uzman biri tarafından detaylı inceleme sonucunda ya da otopsiyle balıkların üreme organlarına bakılarak belirlenebilir ki bu da ço u zaman incelenen balı ın ölümüyle sonuçlanan bir i lem olmaktadır.

Bu çalı mada kullanılan *Cyphotilapia frontosa* akvaryum balıkçılı ında be eni kazanımı bir tilapia türüdür ve yeti kin erkeklerde ba daha fazla uzayarak bir çıkıntı olu turmaktadır. Bu türün 27 bireyi geometrik morfometri yöntemi kullanılarak incelenmi tir. Bunun için balıkların ölçmesine gerek kalmadan yapılan foto raflamayla elde edilen resimlerden yararlanılmı tir. Bu digital örnekler üzerinde ekil farklılı ını istatistiksel olarak ortaya çıkaracak nirengi noktaları belirlenmi . Nirengi noktalarının analizleri sonucunda *Cyphotilapia frontosa* bireylerinde di i-erkek ekil farklılıkları ve bu farklılı ın konumu belirlenmi tir.

**Anahtar Kelimeler:** *Cyphotilapia frontosa*, e eysel dimorfizm, geometrik morfometri.

## Giri

Balıklarda cinsiyet belirlenmesi her zaman kolay de ildir. Birçok balık türünde di i ve erkek ayırımı nerdeyse olanaksızdır. Ekonomik öneme sahip olan çipura, levrek, lâhos, dil, kalkan mercan balıkları, zebra, çiklit, tetra ve japon gibi akvaryum balıkları ile ya balıkları, cobitis gibi ekonomik önemi olmayan balık türleri de dâhil olmak üzere pek çok balık türünde morfolojik olarak di i-erkek ayırımı yapılamamaktadır. Buna ra men sınırlı da olsa bazı balık türlerinde belirgin cinsiyete ba lı ekil farklılıkları görülmektedir. Örne in canlı do uran akvaryum balıklarından, plati, lepiştes, moli, kılıçkuyruk gibi türlerde morfolojik olarak gözlenebilen gonopodiyumlar geli mi tir. Sularımızda yaygın bulunan kıkırdaklı balıklardan olan kemane vatoz erkekleri morfolojik olarak gözlenebilen klasper adı verilen organı geli tirmi tir. Di li sazancık (*Aphenius*) erkekleri de di ilerinden ekilsel olarak farklıla mı ve çizgili bir görünüm almı lardır. Bazen üreme dönemlerinde fenotipik elastiklikten kaynaklanan cinsiyete ba lı farklılıklar ortaya çıkabilmektedir. Bu alabalık erkeklerinde alt çenenin uzaması ve yukarı do ru, gagaya benzer ekilde bükülmesi ekinde belirgin ekilsel bir farklılık olabildi i gibi di iyi cezpe edecek renk dönü ümleri biçiminde de olabilmektedir. Oysa balık popülasyonları arasında kar ıla tırma yapmak (Altun vd., 2007) kadar türlerin ekolojisini, davranı larını ve ya am döngülerini anlamak için cinsiyet ayırımı esastır.

Sitotilapyta frontoza (*Cyphotilapia*

*frontosa*) Cichlidae familyasına ait Tankanyika gölüne endemik bir türdür (Takahashi vd., 2007). Orjini Tanganyika gölüdür (Boulenger, 1906). Ülkemizde ekonomik olarak oldukça büyük öneme sahiptir. Türün taksonomik sınıflandırması Takahashi vd. (2007) tarafından yapılmı tir. Erkek ve di ilerinin ba larının üzerinde hörgüç ekinde yükselti ler olu makla birlikte bu yükselti ler erkeklerde daha büyük çaplı ve belirgindir (Takahashi vd., 2007). Ayrıca erkekler di ilerden daha iyi büyüme performansı göstermektedir ve di ilere nazaran daha büyük boyludur (Takahashi vd., 2007). ki cinsiyet arasındaki bu farklılıklara ra men bu özellikler iki cinsiyeti birbirinden ayırt etmek için yeterli de ildir. Türün yeti tiricili inde erkek di i stoklama oranı ba arı için önemlidir. Bu nedenle çalı ma için özellikle seçilmi tir. Ayrıca *C. frontosa* da iki cinsiyet arasında ekilsel farklılıkların bulunması, morfometrik yöntemlerin çalı ılması ve geli tirilmesi için oldukça önemlidir. Yürütülen bu çalı mada *C. frontosa* e eysel dimorfizme ba lı farklılıkları geometrik morfometrik yöntemlerle çalı mak amacıyla model tür olarak kullanılmı tir.

## Materyal ve Yöntem

Bu çalı mada yerel bir akvaryumcudan sa lanan toplam 27 adet *C. frontosa* anacı kullanılarak e ye ba lı ekil farklılı ı ortaya çıkarılmı tir. Popülasyon bireyleri arasındaki geli ime ba lı (ontogenetik) ekil farklılıklarının çalı mayı etkilememesi için ara tır-

mada sadece e eyesel olgunlu a gelmi 9 erkek ve 18 di i balık kullanılmı tır. Her bir e ey için örnek sayısının minimum 10 olması önerilmesine ra men örnek sayısının azlı ndan dolayı erkek bireylerin sayısı 9 ile sınırlı kalmı tır. Anaçlar bireysel olarak %0,04, 2- phenoxethanol (Sigma Chem. Dorset, UK) ile anestezi maddeye tabii tutulduktan sonra dijital foto raf makinesiyle foto raflanmı tır. Cinsiyetlerin belirlenmesi öncelikle dı tan morfolojik olarak yapılmı , daha sonra do rulama amaçlı olarak 5 balıkta gonatların direk incelenmesi de gerçekleştirilmi tir. Cinsiyete ba lı dimorfizmi göstermek amacıyla verilerin olu turulması için nirengi noktalarından faydalanan geometrik-morfometrik yöntemi kullanılmı tır (Zelditch vd., 2004). Çalı mada kullanılan nirengi noktaları bireyler için e kökenli olan noktalardır ve evrimde önemli oldukları ileri sürülmü tür (Zelditch vd., 2004; Costa ve Cataudella, 2007). Her bir balık foto raflandıktan sonra, balıkların e eyesel morfolojilerini ayrıntılı bir biçimde ortaya koyabilecek e kökenli 20 nirengi noktası belirlenmi tir. Bu nirengi noktaları TpsDig ver. 2.10 yazılımı (Rohlf, 2006) kullanılarak sayısalla tırılmı tır. Her bir nirengi noktasının x ve y düzlemlerinde koordinat olu turan iki noktasal kar ılı mın olması istatistiki de i kenlerinin sayısını iki katına çıkararak sonuçların güvenilirli ini artıracak niteliktedir. Gruplar-içi ve gruplar-arası farklılıklar NTSys 2.2 programı kullanılarak Çok De i kenli Varyans Analizi (MANOVA) ile de erlendirilmi ve bunun içinde Temel Ögeler Analizi (PCA) de gerçekleştirilmi tir.

Balıkların görüntüleri ekil olan ve olmayan ö eler barındırır (Kassam vd., 2004). Farklı büyüklükteki balıklardan, farklı konumlarda ya döndürülmü ekilde elde edilen görüntülerden kaynaklanan farklılıklar ekilsel olmayan ögelerdir. Bu ögelerin ortadan

kaldırılması için örtü türme diye bilinen Genel Procrustes Analizi (GPA) gerçekleştirilerek örnekler ekilsel olmayan farklılıklardan arındırılırlar (Rohlf, 2003). Bu i lem ve Thin-Plate Spline (TPS) diye bilinen örtü türülme grafikleri Morpheus yazılımı Slice (1998) ile elde edilmi tir. GPA, boyut ve rotasyonel/dönü ümsel farklılıkları ortadan kaldırılarak, bütün ekilsel alanların bütün bireylerde ya da gruplarda hizalanmasında kullanılmaktadır. Bu i lem, öncelikle nokta koordinatlarının genel bir a ırlık merkezine (X=0, Y=0) dönü türülmesi ve sonra her bir balık örne inin nokta koordinatlarının a ırlık merkezi boyutuna ölçeklenmesi eklinde gerçekleştirilmektedir.

Böylelikle ekil olmayan ögelerden arındırılmı bir analiz gerçekleştirilmekte ve örtü türme sonucu x-y koordinatlarından olu an bir veri matrisi elde edilmektedir (Bookstein, 1991).

## Bulgular

E eye ba lı farklılıklarının belirlenmesi amacıyla gerçekleştirilen bu çalı mada 9 erkek ve 18 di i olmak üzere toplam 27 *C. frontosa* bireyinin dijital foto rafları üzerine TPSDig2 (Rohlf, 2006) yazılımı yardımıyla yerle tirilen 20 nirengi noktasının ( ekil 1) analizi, bu türün bireyleri arasında cinsiyete ba lı farklılıkların oldu unu göstermektedir.

Nirengi noktalarının olu turdu u veri matrisinin Çok De i kenli Varyans Analizi (MANOVA) ile de erlendirilmesi sonucunda gruplar-içi Temel Ögeler Analizinin (PCA) bireyler arasındaki ekil farklı lının ço unu ilk düzlemde belirledi i ve ekil farklı lının % 90'dan fazlasının ilk dört Eigen de eriyle gösterilebildi i ortaya konulmu tur (Tablo 1).

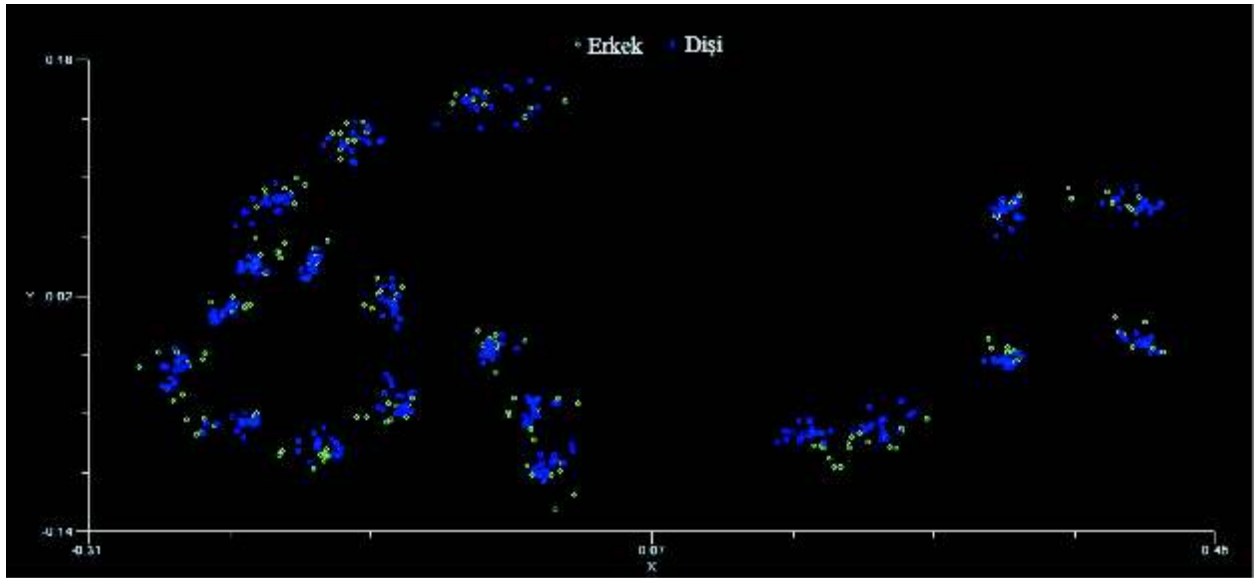
Bireylerin tamamını göz önüne alan bu analiz bireyler arasındaki farklılı ı ( ekil 2) belirleyerek bir ortalama ekil olu turma için kullanılmaktadır.



**ekil 1.** *Cyphotilapia frontosa* bireylerinin eysel ekil farklılı ı için kullanılan nirengi noktaları.

**Tablo 1 .** Birleştirilmiş Gruplar-içi varyans-covaryans matrisinin PCA'sı

Düzlem (i)	Eigen de eri	%	Toplam
1	2511633.36853312	69.0353	69.0353
2	877824.89786513	24.1281	93.1633
3	209317.78492401	5.7534	98.9167
4	12468.43612968	0.3427	99.2594



**ekil 2.** *C. frontosa* bireylerinin nirengi noktalarının genel dağılımı.

**Tablo 2.** Gruplar-arası varyans-kovaryans matrisinin PCA'sı

D Düzlem (i)	Eigen de eri	%	Toplam
1	7319338856266.99023000	100.0000	> 100%
2	0.07799664	0.0000	> 100%

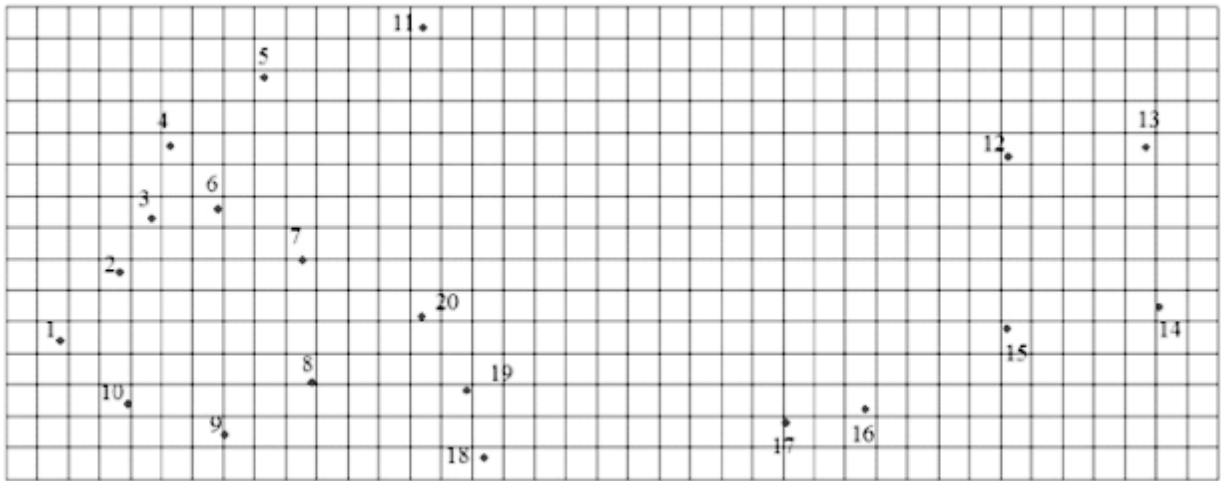
Benzer ekilde gerçeikle tirilen Gruplar- arası Temel Ögeler Analizi (PCA) sonuçları di i ve erkeklerdeki ekil farklılı mın % 100'ünün ilk Eigen de eriyle belirlendi ini göstermektedir (Tablo 2). Bu durum e eysel olgunlu a eri mi *C. frontosa* bireylerinin di i ve erkekleri arasında belirgin ekil farklılı mın oldu unun açık bir belirtisidir.

Di i ve erkekler arasındaki belirgin ekil farklılı mı, olu turulan ortalama ekle ( ekil 3) göre kar ıla tırdı mızda, di i bireylerin sırt yüzgecinin arkasıyla kuyruk yüzgeci arasında kalan kaudal pedinkülünün öne do ru kısaldı ı görülmektedir. Yüzgeçler yerlerini korumu

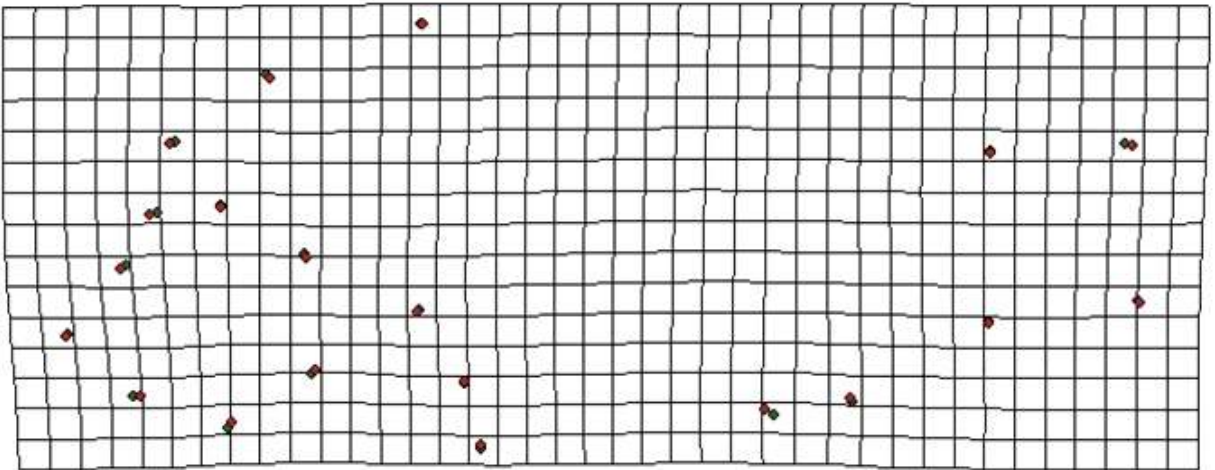
olmalarına kar ın 17. nirengi noktasıyla belirtilen anüs bölgesinin ventral yönde geni ledi i görülmektedir ( ekil 4). Asıl belirgin farklılık ba bölgesindedir ve burun (2. Nirengi), göz (6. Nirengi) arasında içe do ru de i mi durumdadır.

Erkek bireylerinin ekil farklılıklarının daha net oldu u ekil 5.'te görülmektedir.

Buna göre erkeklerde kaudal pedinkül geriye ve a a ıya do ru daha uzunla mı olmasına kar ın anal yüzgecide içine alan anal bölgenin dorsala do ru giderek karın bölge- sinin daha daraldı ı görülmektedir.



ekil 3. Nirengi noktalarıyla ortaya çıkarılmı ortalama *C. frontosa* ekli.



ekil 4. *C. frontosa* di ilerinin ortalama ekle göre gösterdikleri farklı lımın TPS görüntüsü.

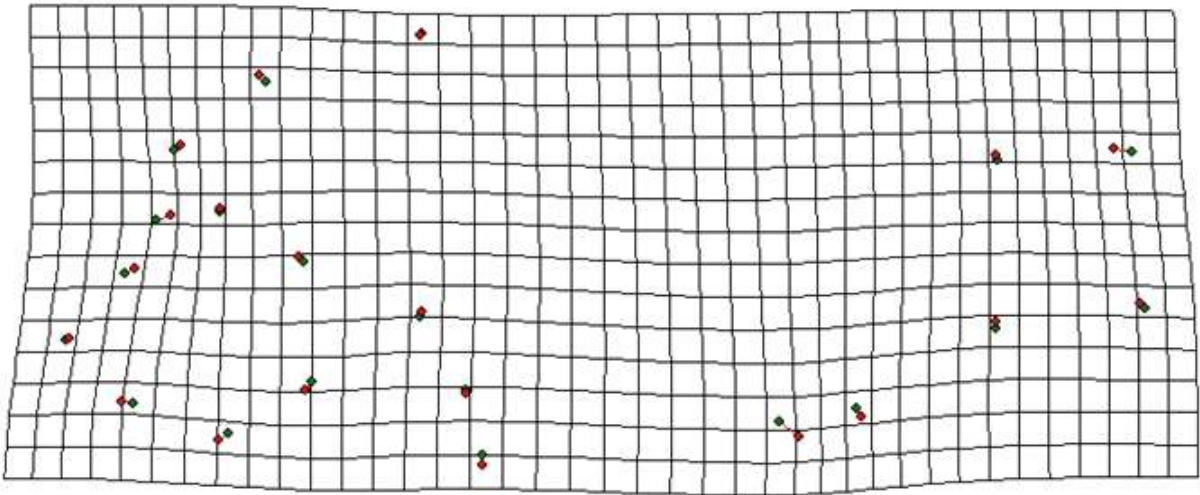
Ba bölgesinde 2, 3 ve 4 numaralı nirengi noktaları öne do ru (anterior olarak), 7, 8 ve 9 numarayla temsil edilen solungaç kapıda arkaya do ru (posterior olarak) yer de i tirerek ba bölgesini di iye kıyasla daha büyük bir ekle dönü türmü tür. Nirengi noktalarının 4'üncüsünün antero-ventral ve 5'incisinin postero-ventral farklılaşması erkeklerde hörgüc denilen boynuzumsu bir yapının daha belirgin hale gelmesini sa lamı tır.

ekil 6, erkeklerdeki ba bölgesi geni - lemesini daha açık bir ekilde göstermektedir.

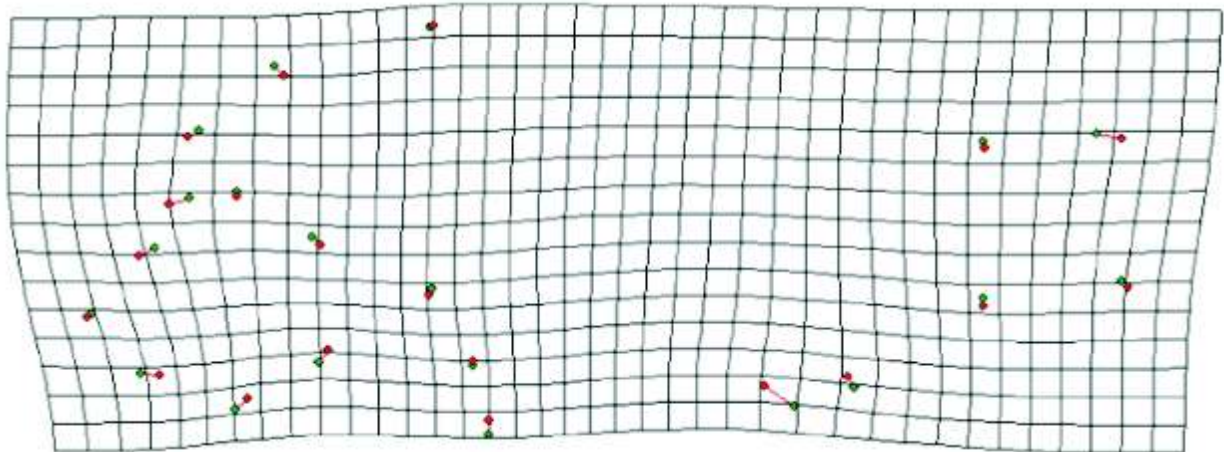
Aynı ekilde erkeklerin vücut geni -

li inin karın bölgesinde azalması da oldukça belirgindir. Kuyruk bölgesindeki geriye do ru uzama ise genelde erkeklerin di ilerden daha büyük oldu unun bir göstergesidir.

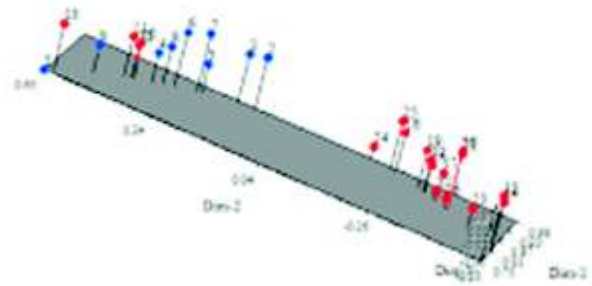
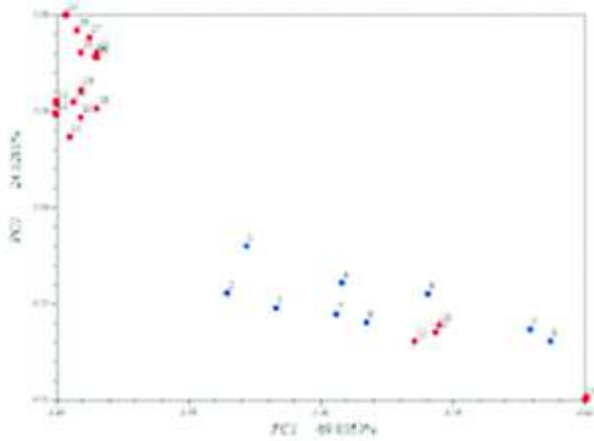
*C.frontosa* bireyleri arasındaki ekil farklılıklarını, x ve y eksenini boyunca ekilde i imini gözlemleyerek özetlemek mümkündür. Bunu sa lamanın en iyi yolu, X-ekseni ve Y-ekseninde ekilleri gözlemlemektir. Bu ba lamda PC1 (x axis) ve PC2 (y axis) kullanılarak cinsiyetler arası vücut ekli varyasyonları 2 ve 3 boyutlu ( ekil 7) olarak verilmi tir.



**ekil 5.** *C. frontosa* di ilerinin ortalama ekle göre gösterdikleri farklı lımın TPS görüntüsü.



**ekil 6.** *C. frontosa* di i ve erkeklerinin ekisel farklılıklarının birbirine göre kar ıla tırması.



**ekil 7.** PCA sonuçlarına göre *C.frontosa* 'da e eye ba lı ekil farklılıklarının 2 ve 3 boyutlu gösterimi. Mavi; Erkek, Kırmızı; Di i.

Ortaya çıkan sonuç, di ilerle erkekler arasında belirgin ekil farklı lının oldu unu göstermekle birlikte di ilerin kendi içindeki ekil farklı lının erkekler içindeki varyasyondan daha dü ük oldu unu belirtmektedir. Ayırt edici ekilsel farklı lı ma erkeklerde erginlikle belirginle ti inden dolayı bu durum erkeklerin erginlik düzeyi dolayısıyla ya ları ile ba lantılı olabilir.

### Tartı ma

Nirengilerden (landmarklardan) yararlanan geometrik morfomeri, ekil farklılıklarından yararlanarak arası ayırımının yapılmasında kullanılan etkin bir sayısal analiz yöntemi haline gelmektedir (Rohlf, 1990; Adams vd., 2002). Sınıflandırmaları üpheli bazı türlerin bu yöntemle sınıflandırmalarının daha kolay olaca na yönündeki ara tırmaların sayıları (Baran vd., 2011) artmaktadır. Park vd. (2013) *Gasterosteus aculeatus* türünün farklı popülasyonları üzerinde yaptıkları çalı malar sonucunda geometrik morfometri yönteminin, balık popülasyonların büyüklük ve ekil de i ikliklerini ortaya çıkarmada güçlü bir araç oldu unu belirtmektedir. Vücut ekinde ortaya çıkan evrimsel de i iklikler kadar cinsiyete ba lı de i iklikleri de belirlemek için bu yöntem

oldukça etkili bir yöntemdir ve farklı balık türlerinde cinsiyete ba lı morfolojik farklılıkların ortaya çıkarılmasında kullanılmı tır (Kitano vd., 2007; Spoljaric ve Reimchen, 2008; Sherwin vd., 2012; Dorado vd., 2012). *Cyphotilapia frontosa* türünün erkek ve di ileri üzerinde yapt ımız ekil farklı lını ortaya koyan bu çalı ma, iki cinsiyet arasındaki ekil farklı lının oldukça açık oldu unu göstermi tir. Bu türün erkeleri di ilerinden daha fazla büyümektedirler. Balıklarda cinsiyetin belirlenbilmesinin çe itli avantajlar sa layabilece i dikkate alınmalıdır. Burada ortaya çıkan sonuç, akvaryum balıkçılı ı için di ilerin daha kolay erkeklerden ayırt edilerek daha fazla döl alımında faydalı olabilecek niteliktedir. Benzer çalı maların ekonomik türler üzerinde yapılması, hangi cinsiyetin daha hızlı geli ti ini belirleme de ve dolayısıyla hızlı geli en cinsiyetin besiyeye alınarak daha fazla et verimi alınmasını sa layacak niteliktedir. Özellikle sayısal taksonomide yaygın olarak kullanılan bu yöntemlerin yeti tiricili e de uygunlu u açıktır. Tam olarak belirlenemeyen, yeti tiricilikte kar ılanılabilecek deformasyon gibi genetik bozuklukların ya da farklı kaynakların sebep olabilece i ekilsel farklı lı a neden olan sorunlara maruz kalan bireylerin belirlenmesi,

stokların yenilenmesi gerektiğinin bir göstergesi olabilir ve yeti tircilerin daha sorunlarla karşılaşmadan önce çözüm olu turmalarına yardımcı olabilir.

### Kaynaklar

- Adams, D. C., Rohlf, F. J., ve Slice, D. E. 2002. Geometric Morphometrics: Ten Years of Progress Following the Revolution. *Italian Journal of Zoology*. 71: 5-16.
- Altun, A., Kayım, M., ve Kence, A. 2007. Endemik Ya Balıkları (Pseudophoxinus) Cinsindeki Dört Türün Geometrik Morfometri Yöntemiyle Belirlenen ekil Farklılıkları. 5.Ulusal Zootečni Bilim Kongresi, 5-8 Eylül 2007 Yüzüncü Yıl Üniversitesi.
- Baran, S., Altun, A., Ayyıldız, N., ve Kence A. 2011. Morphometric analysis of oppiid mites (Acari, Oribatida) collected from Turkey. *Experimental and Applied Acarology*. 54(4): 11.
- Boulenger, G. A. 1906. Fourth contribution to the ichthyology of Lake Tanganyika. Report on the collection of fishes made by Dr. W.A. Cunnington during the third Tanganyika expedition, 1904-1905. *Trans Zoological Society of Lond.* 17:537-619.
- Bookstein, F. L. 1991. *Morphometric Tools for Landmark Data: Geometry and Biology*. Cambridge Univ. Press New York. 435pp.
- Costa, C. ve Cataudella, S. 2007. Relationship between Shape and trophic ecology of Selected species of Sparids of the Caprolace coastal Lagoon (Central Tyrrhenian sea). *Environmental Biology of Fishes*. 78: 115-123.
- Dorado, E. L., Torres, M. A. J. ve Demayo, C. G. 2012. Sexual Dimorphism in Body Shape of the spotted barb fish, *Puntius binotatus* of Lake Buluan in Mindanao, Philippines. *AACL, International Journal of the Bioflux Society*. 5(5): 321-329.
- Kassam, D., Mizoiri, S. ve Yamaoka, K. 2004. Interspecific Variation of Body Shape and Sexual Dimorphism in thee Coexisting Species of the Genus *Petrotilapia* (Teleostei: Cichlidae) from Lake Malawi. *Ichthyological Research*. 51: 195-201.
- Kitano, J., Seiichi, M. ve Peichel, C. L. 2007. Sexual Dimorphism in the External Morphology of the Threespine Stickleback (*Gasterosteus aculeatus*). *Copeia*. 2: 336-349.
- Park, P. J., Aguirre W. E., Spikes, D. A. ve Miyazaki, J. M. 2013. Landmark-Based Geometric Morphometrics: What Fish Shapes Can Tell Us about Fish Evolution Tested Studies for Laboratory Teaching Proceedings of the Association for Biology Laboratory Education, 34: 361-371
- Rohlf, F. J. 1990. Morphometrics. *Annual Review of Ecology and Systematics*. 21: 299-316.
- Rohlf, F. J. 2003. TpsDig Version 1.36 Department of Ecology and Evolution, State University of New York at Stony Brook, New York, <http://life.bio.sunysb.edu/morp/>.
- Rohlf, F. J. 2006. TpsDig Version 2. 10. Department of Ecology and Evolution, State University of New York at Stony Brook, New York, <http://life.bio.sunysb.edu/morp/>.
- Sherwin, N., Anthony, T. M. ve Demayo, C. G. 2012. Sexual Dimorphism in Body Shape of *Hypseleotris agilis* (Herre, 1927) from Lake Lanao, Philippines. *ISCA Journal of Biological Sciences*. 1(2): 25-31
- Slice, D. E. 1998. Morpho et al.: software for morphometric research. Revision 01-30-98. Stony Brook, New York: Department of Ecology and Evolution, State University of New York.
- Spoljaric, M. A. ve Reimchen, T. E. 2008. Habitat-dependent Reduction of Sexual Dimorphism in Geometric Body Shape of Haida Gwaii Threespine Stickleback. *Biological Journal of the Linnean Society*. 95: 505-516.
- Takahashi, T., Ngatunga, B. ve Snoeks, J. 2007. Taxonomic status of the six-band morph of *Cyphotilapia frontosa* (Perciformes: Cichlidae) form Lake Tanganyika, Afrika. *Ichthyological Research*. 54: 55-60.
- Zelditch, M. L., Swiderski, D. L. Sheets, H. D. ve Fink, W. L. 2004. *Geometric Morphometrics for Biologists*. Elsevier. California.