

2003 - 357



TÜBİTAK

TÜRKİYE BİLİMSEL VE TEKNİK ARAŞTIRMA KURUMU
THE SCIENTIFIC AND TECHNICAL RESEARCH COUNCIL OF TURKEY

TARP

TÜRKİYE TARIMSAL ARAŞTIRMA PROJESİ

Tarım Orman ve Gıda Teknolojileri Araştırma Grubu
Agriculture Forestry and Food Technologies Research
Grant Committee



TÜRKİYE BİLİMSEL VE
TEKNİK ARAŞTIRMA KURUMU

THE SCIENTIFIC AND TECHNICAL
RESEARCH CONCIL OF TURKEY

**DOĞU AKDENİZ'DE SÜREGELLEN
LAGOS (*Ephinephelus aeneus*)'UN ÖLÜM
NEDENLERİ VE BAZI BİYO-EKOLOJİK
ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ**

Proje No: TARP-2042

Tarım ve Ormancılık Araştırma Grubu
Agriculture and Forestry Research Grant Committee

2003-357

**DOĞU AKDENİZ'DE SÜREGELEN
LAGOS (*Ephinephelus aeneus*)'UN ÖLÜM
NEDENLERİ VE BAZI BİYO-EKOLOJİK
ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ**

Proje No: TARP-2042

(62)

1-45

PROF.DR. İBRAHİM CENGİZLER
YRD.DOÇ.DR. M. ALİ GÖKÇE
DR. LAURENT PASCO
DR. BAUDIN LAURENCIN
YRD.DOÇ.DR. AYSEL ŞAHAN (AZİZOĞLU)
ARŞ.GÖR. A. ARGUN ÖZAK
ARŞ.GÖR. ERCÜMENT GENÇ

HAZİRAN, 2001
ADANA

ÖNSÖZ

Lagos (*Epinephelus aeneus*) Akdeniz'in en lezzetli ve değerli balık türlerinden bir tanesidir. 2001 Mayıs ayı itibariyle kilogram fiyatı 15 \$ civarındadır. Bu kadar değerli bir balık türü ne yazık ki son yıllarda az bulunur hale gelmiştir. Bunda en büyük etken, her yıl yaz aylarında sahillere vuran ölü yada baygın bireylerdir. Nedeni bilinmeyen bu ölümler ile ilgili olarak değişik kişi ve kuruluşlarca bazı araştırmalar, ayrıntılı olmasa da yapılmış ve değişik spekülatif birtakım yaklaşımlar ortaya atılmıştır. Aynı konu yaklaşık 10 yıldan beridir tarafımızdan da araştırılmaktadır.

1998 yılı içerisinde TÜBİTAK (TOAG) tarafından desteklenen bir proje ile konunun bilimsel bazda ele alınıp incelenmesi olanağı bulunmuştur.

Ayrıca Lagos'un ölüm nedenlerinin araştırılmasının yanısıra üreme biyolojisi de araştırılmış olup bundan sonraki araştırmalara temel oluşturması açısından ayrıca önem taşımaktadır.

Böylesine önemli bir konuda desteklerini esirgemeyen TÜBİTAK ve TOAG Sekreterliğine teşekkürlerimizi ve şükranlarımızı sunmaktan ben ve ekibim bir kere daha zevk duyarız.



Prof. Dr. İbrahim CENGİZLER
Proje Yöneticisi

İÇİNDEKİLER

ÖZET	1
ABSTRACT	1
1. GİRİŞ	2
2. ÇALIŞMA ALANI	3
3. MATERİYAL VE YÖNTEM	6
3.1 Patolojik İncelemeler	6
3.1.1 Parazitolojik İncelemeler	6
3.1.2 Bakteriyolojik İncelemeler	6
3.1.3 Virolojik, Hematolojik ve Histo- patolojik İncelemeler	6
3.2 Üreme Biyolojisi İncelemeleri	8
4. ARAŞTIRMA BULGULARI	9
4.1 Patolojik İncelemeler	10
4.1.1 Bakteriyolojik İncelemeler	11
4.1.2 Virolojik, Hematolojik ve Histo- patolojik İncelemeler	11
4.2 Üreme Özelliklerinin İncelenmesi	17
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	41
KAYNAKLAR	46
TEŞEKKÜR	51
EKLER	52

RESİM LİSTESİ

Resim 1. <i>Epinephelus aeneus</i>	2
Resim 2. Sahile Vurmuş ve Bozulmuş <i>Epinephelus aeneus</i> Bireyi	9
Resim 3. <i>Epinephelus aeneus</i> Bireyinin Ovaryumunda Rastlanan Philometrais	10
Resim 4. <i>Epinephelus aeneus</i> 'tan Alınan Karaciğer Dokusu	11
Resim 5. <i>Epinephelus aeneus</i> 'tan Alınan Duodenum Dokusu	12
Resim 6. <i>Epinephelus aeneus</i> 'tan Alınan Karaciğer Dokusu	12
Resim 7. <i>Epinephelus aeneus</i> 'tan Alınan Dalak Dokusu	13
Resim 8. <i>Epinephelus aeneus</i> 'tan Alınan Kalp Kası	13
Resim 9. <i>Epinephelus aeneus</i> 'un Mide Çeperinin Transversal Kesiti	14
Resim 10. <i>Epinephelus aeneus</i> 'un Barsak Çeperi	14
Resim 11. <i>Epinephelus aeneus</i> 'un Mide İç Çeperi	15
Resim 12. <i>Epinephelus aeneus</i> 'un Mide Dış Çeperi	15
Resim 13. <i>Epinephelus aeneus</i> 'un Duodenum İç Çeperi	16
Resim 14. <i>Epinephelus aeneus</i> 'un Havakesesi Dokusu	16
Resim 15. Farklı Büyüklükteki Yumurtalar Arasında Görülen Oogonialar	26-27
Resim 16. I. Oosit Gelişim Fazının İlk Aşaması Olan Kromatin Nukleolus Aşaması	26-27
Resim 17. Farklı Büyüklükteki Yumurtalarda Görülen Kromatin Nukleolus	28-29
Aşamasındaki Oositler	
Resim 18. Erken Perinukleolus Aşamasındaki Bir Yumurta	28-29
Resim 19. Çok Sayıda Geç Perinukleolus Yumurtalar	30-31
Resim 20. Lipid Damlacık Aşaması	30-31
Resim 21. Protein Aşamasındaki Yumurtalar ve I. Büyüme Aşamaları	32-33
Resim 22. Protein Aşamalarının Çeşitli Evrelerine Ait Yumurtalar	32-33

Resim 23. Her Üç Protein Aşamasındaki Yumurtaların Üçlü Yapıdaki Zarları ve Protein Tanecikleri Arasındaki Büyüklük Farkları	35-36
Resim 24. Üçüncü Protein Aşamasındaki Yumurtalar	35-36
Resim 25. Olgunlaşmakta Olan Yumurtanın Genel Görünümü	37-38
Resim 26. Olgun Yumurta	37-38
Resim 27. Atrezya'nın İleri Aşaması	39-40

ÇİZELGELER LİSTESİ

Çizelge 1. Araştırma Süresince Elde Edilip İncelenen <i>Epinephelus aeneus</i> Bireylerinin Total Boy ve Ağırlık Değerleri	10
Çizelge 2. Lagos (<i>Epinephelus aeneus</i>) 'un Makroskopik Gözleme Dayalı Dişi Gonad Gelişim Aşamaları	24

HARİTA LİSTESİ

Harita 1. Araştırmanın Gerçekleştirildiği Alan Haritası	5
Harita 2. Akdeniz Levant Havzasında Mevsimsel Sıcaklık Değişimi	44
Harita 3. Süveyş Kanalı'nın Tuzluluk ve Sıcaklık Dağılımı	44
Harita 4. Akdeniz Levant Havzasının Yüzey İzotermi	45

GRAFİK LİSTESİ

Grafik 1. Temmuz Ayı Örneklerinden Alınan Bir Dişi Lagos'un Gonadlarından Elde Edilmiş Yumurta Ölçüm (μ) Sonuçları	18-19
Grafik 2. Lagoslar İçin Üreme Dönemi ortaları Olan Temmuz Ayında Elde Edilen Bireylerden Birinden Alınmış Olan Gonaddan Saptanan Yumurta Büyüklük (μ) Dağılım Histogramı	20-21
Grafik 3. Üreme Mevsiminde Elde Edilen Gonadlardan Ölçülen Son Yumurta Büyüklük (μ) Dağılım Histogramı	22-23

ÖZET

Bu araştırma Doğu Akdeniz Türkiye sahillerinde bilinmeyen bir nedenle ölü, baygın bulunan Lagos (*Epinephelus aeneus*)'ların ölüm nedenlerini ve bazı biyo-ekolojik özelliklerini belirlemek amacıyla 1998-2000 tarihleri arasında gerçekleştirilmiştir. 1998 yılında 9, 1999 yılında 11 ve 2000 yılında ise 8 taze birey bulunarak bakteriyolojik, virolojik, parazitolojik, ve histopatolojik incelemelerden geçirilmişlerdir. İncelenen bireylerde herhangi bir etiyolojik ajana rastlanılmamıştır. Ancak üreme biyolojisi ile ilgili çalışılan bir bireyde Philometriasis görülmüştür. Bu parazitin ise ölüme neden olabileceği düşünülmemektedir.

Lagosların üreme biyolojileri ilgili olarakta makroskobik ve mikroskobik incelemeler sonunda yaz aylarında yoğun olarak Haziran, Temmuz ve Ağustos aylarında üredikleri ve nispeten uzun bir süreç içerdikleri bulunmuştur.

Anahtar Sözcükler : *Epinephelus aeneus*, üreme biyolojisi, ölüm nedeni, etiyolojik ajan.

ABSTRACT

Research on the reason of death of Lagos (*Epinephelus aeneus*) occurring along the Eastern Mediterranean coast of Turkey and their bio-ecology, was completed between the dates 1998-2000. Bacteriological, Virological, Parasitological and Histological studies were completed on the fish and 9 fish sample in 1998, 11 fish in 1999 and 8 fish in 2000 were found and examined. All laboratory results showed that there is no ethyological agent, which could cause the death of *E. aeneus*. Only Philometriasis was found in the gonads of a sample but generally this agent could not be the reason of the seasonal deaths of *E. aeneus*.

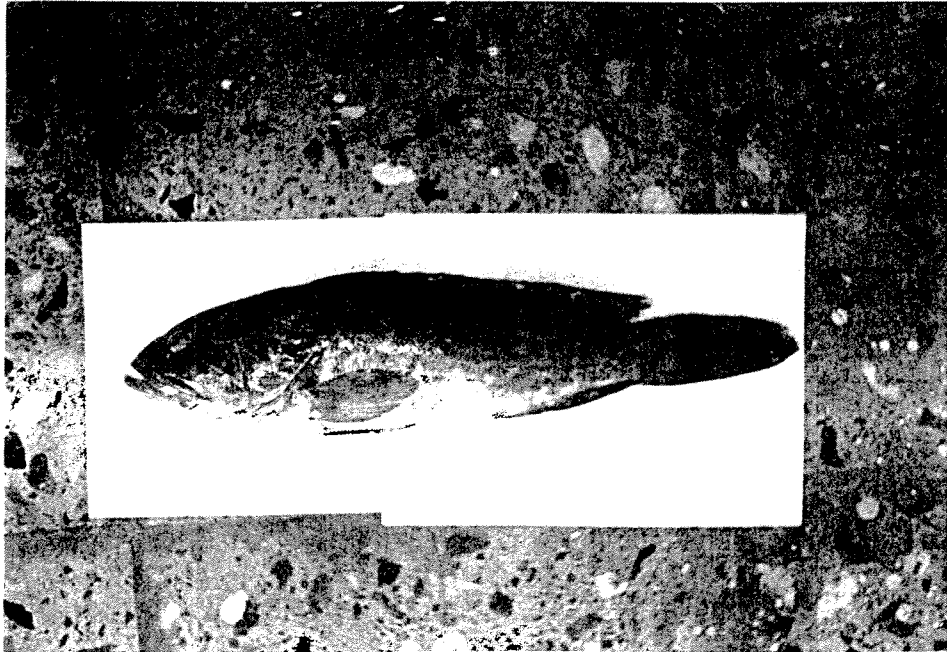
As a results of the reproductive biology studies, microscopic and macroscopic examinations showed that *Epinephelus aeneus* reproduction occurs between June, July and August with an asynchronous characteristic.

Key Words: *Epinephelus aeneus*, reproductive biology; reason of death, ethyological agent

1. GİRİŞ

Sayılarının son yıllarda iyice azaldığı düşünölen Lagos (*Epinephelus aeneus*) Akdeniz'in önemli ekonomik türlerinden bir tanesidir. Omurgalı hayvanlar içerisinde yaklaşık 7000 türle en kalabalık ordoyu oluşturan Perciformes'in Percoidei subordosunda Serranidae familyasında yer alır. Operkulumları üzerindeki dikenler tipiktir. Son derece güçlü yakalama dişlerine sahiptirler. Karnivor beslenirler ktenoid tip pula sahiptirler. Fizoklist tip yüzme keseleri bulunmaktadır. Taşlık Litoral bölgede 5-10 m'den daha derin sularda yaşarlar. Kaudal yüzgeçleri konkavdır. Uzunca ve yanlardan hafif basıktırlar (Resim 1). Yumurtalarını kıyı bölgelere bırakırlar. Eşeyssel transformasyon gösterirler. Bu Protogynus hermafroditizm olarak (ilk yıllarda dişi sonraki yıllarda işlevsel erkeklığe dönüş) gerçekleşir.

1990'lı yılların başlarında Adana Tarım İl Müdürlüğünün Çukurova Üniversitesi Su ürünleri Fakültesi Hastalıklar Anabilim Dalına, Doğu Akdeniz Türkiye sahillerinde yoğun bir şekilde ölü yada baygın Lagos bireylerinin bulunduğunun bildirilmesi üzerine gerekli araştırmalar derhal başlatılmıştır. Yapılan Retroperspektif soruşturmada bu olayın yüzyıldan fazla bir süredir devam ettiğı anlaşılmıştır (Balıkçılarla ve sahil bölgesindeki yaşlılarla özel görüşmeler). 1998 yılı içerisinde TÜBİTAK (TOAG)'a sunulan bir proje ile konunun tekrar araştırılması gündeme getirilmiştir. Araştırma, hem ölüm nedenlerini, hem de Lagosun biyo-ekolojik (özellikle üreme biyolojisi) özelliklerinin belirlenmesi amacıyla kurgulanmıştır.



Resim 1. *Epinephelus aeneus*

Lagos (*E. aeneus*) ile ilgili ülkemizde daha önce yapılan çalışmalar yok denecek kadar azdır. Gökçe (1991) Yumurtalık kıyılarındaki Lagos'un gelişme performansını araştırmıştır. Cengizler ve Ark.(1991) Lagos ve Orfoz türlerinin Pyloric ceacum'larını karşılaştırdıkları anatomik bir çalışma gerçekleştirmişlerdir. Yine Cengizler ve Sarıhan (1995)'ın yaptıkları bir çalışma Orfoz (*E. gigas*) ovaryumunda philometrosis olgusunu araştırmışlardır. Yurtdışında ise Lagos'la ilgili değişik araştırmacılar tarafından yapılan bir çok araştırma bulunmaktadır. Bunlardan konuyla ilgili olanlar ise aşağıda özetlenmiştir: Caveriviere ve Toure (1993) Senegal'in Uluslararası sularında çok miktarda *E. aeneus*, *E. guaza* ve *Myeteroperca rubra* bireyinin ölü veya baygın olarak deniz yüzeyine çıktığını ve olayın Ekim- Kasım aylarında olduğunu bildirmişlerdir. Hassin ve Ark.(1997) *E. aeneus*'un üreme biyolojisi, büyümesi ve yetiştiriciliği üzerine ayrıntılı bir araştırma gerçekleştirmişlerdir. Weaver (1996) yaptığı bir araştırmayla, *E. morio*'nun beslenme ekolojisini ve biyolojik özelliklerini ortaya koymuştur. Petter ve Maillard (1987) Batı Akdeniz'den yakalanmış bazı balık türlerinde Askarid'leri ele almışlar ve *E. aeneus*'ta bulunan askarid'leri saptamışlardır. Cury ve Roy (1988), Mauritanya ve Senegal kıyılarında görülen up-welling olayının *E. aeneus*'un mevsimsel göçü üzerine etkilerini incelemişlerdir. Cury ve Worms (1982) ise *E. aeneus*'un biyolojisi dinamiği ve avcılığını ele almışlardır. Johnson ve Ark. (1998) *E. morio*'da gonadal gelişmenin mevsimsel gelişimini ve plasma seks steroid düzeylerini araştırmışlardır. Phromkunthong ve ark.(1993), *E. malabaricus* türünde askorbik asit eksikliğinin solungaçlar üzerine etkisini histopatolojik olarak değerlendirmişlerdir. Fukuda ve ark. (1996) yetiştiriciliği yapılan *E. septemfasciatus* bireylerinde yoğun ölümlere neden olan viral nervous nekrosis üzerine Japonya'da bir çalışma gerçekleştirmişlerdir. Yii ve ark. (1997) Tayvan'da kültür ortamında bulunan *E. coidides* türünde rastlanılan *Vibrio carcharide*'nin neden olduğu gastroenteritisini araştırmışlardır. Vidal-Martinez ve ark. (1997) Meksika'da Yukatan sahillerinde yakalanan *E. morio* türünde bir monogea'nın görülme sıklığı ve yoğunluğunu incelemişlerdir. Yoawanit ve Sathaporn (1988), Tayland'ın güney sahillerinde yakalanan *E. malabaricus* türünde ektoparazitler ve eksternal gram negatif bakteri saptamışlardır. Chi ve ark. (1997) *E. fuscogutatus* ve *E. akaara* türlerinde yoğun ölüme neden olan viral nervous nekrosis üzerinde araştırma yapmışlardır. Gracia-Lopez ve Castello-Orvay (1995) *E. guaza* türünün farklı kültür koşullarında büyümesini izlemişlerdir. Lee (1995) yaptığı bir araştırma ile *E. malabaricus*'da *Vibrio alginolyticus*'un patogenesisini ortaya koymuştur. Brusle-Sicard ve ark. (1992), *E. mikrodon* türünde seks dönüşümü üzerin ultrastruktural bir çalışma gerçekleştirmişlerdir. Ong (1988) hastalandırılmış *E. salmoides* türünden izole edilen bakterilerin karakteristiklerini incelemiştir. Özellikle ılıman sularda yaşayan balık türlerinin pek çoğu bir yıl

içerisinde dönemsel üreme özelliği göstermektedir. Bu dönemsel üreme ise birkaç aylık bir periyodu kapsayacak kadar uzun olabilmektedir (Bye, 1989; Jobling, 1995). Yumurta gelişim modeli türlere özgü olabilmektedir. Aynı zamanda bu model yumurta katılım ve dolayısıyla yumurtlama modelini de içermektedir. Üç farklı yumurta gelişim modeli ilk olarak Marza (1938) tarafından tanımlanmış olup daha sonra Wallace (1978), West (1990), McEvoy ve McEvoy (1992), Tyler ve Sumpter (1996) tarafından irdelenmiştir.

Teleostlarda synchronous üreme modelinde yumurtlama bir defalık bir olay olup yumurtaların tümü aynı anda gelişmeye başlarlar. Bunu takiben olgunlaşma ve yumurtlamada tek bir defada gerçekleşir. Bu model dışında asynchronuos model en yaygın üreme modellerindendir. Bu gonadal döngüde ogonidan olgun yumurta aşamasına kadar sürekli bir katılım vardır ve yumurtlama üreme sezonu boyunca devam eder. Bu üreme modeline aynı zamanda; çoklu, seri veya heterocronal üreme de denir. Üçüncü model ise grup-synchronous denen model olup, en az iki büyüklük grubu yumurta, gonadda bulunur.

Özellikle yetiştiriciliğe alınacak türler için büyük önem taşıyan bu veriyi elde etmek, yumurta büyüklük dağılım yöntemini kullanmakla mümkün olabilmektedir. Bu yöntem direk yumurtalıktan alınan yumurtaların çaplarının ölçülmesi veya yumurtalıkların üreme döneminde histolojik kesitlerinin alınmasıyla mümkün olabilmektedir. Teleost'lar da ki oosit gelişimi pek çok araştırmacı tarafından değerlendirilmiştir; Wallace ve Selman (1983), de Vlaming (1983), Nagahama (1983), Guraya (1986), Wallace ve ark.(1987) ve West (1990).

Oosit gelişim aşamalarını belirlemek için pek çok kriter kullanılmaktadır. Bu kriterler yumurta büyüklüğü hücre içindeki oluşların dağılım ve miktarlarıdır. Tüm bunlar dikkate alınarak yumurta gelişimi, iki ana aşamada ele alınmaktadır. Bunlardan ilki I. Büyüme Fazıdır. Bu faz gonadotropinden bağımsız olarak meydana gelmekte ve oogoniyaların bölünmesi, kromatin nukleolus aşaması, erken perinukleolus aşaması ve geç perinukleolus aşamasını içermektedir. Birinci. gelişim Aşamasının en önemli özelliklerinden bir tanesi balbiyani vitellin kütlesidir. Aynı zamanda bu kütle yolk çekirdeği cytocentrum olarakta adlandırılmaktadır. Bu kütlenin çekirdek tarafından üretildiği ve mitokondri, golgi cisimciği, endoplazmik retikulum gibi önemli hücresel organelleri barındırdığı düşünülmektedir Guraya (1979).

Yumurtanın büyümesi ile birlikte folikülde oluşmaktadır. Folikül granül hücreler temel membran ve theca katmanından oluşmaktadır. Bu oluşlar, I. Büyüme fazında görülmezken II. Büyüme fazının yani vitellogenesisin başlamasıyla birlikte ortaya çıkmakta ve bu tüm bu gelişmeler gonadotropinin etkisi altında oluşmaktadır(Guraya,1978; Matsuyama ve ark. 1991). Folikül hücrelerin II. Büyüme aşamasında oluşması yumurtada besleyici maddelerin birikmesiyle direk olarak ilgilidir. Bu aşamada oluşan koriyon zona radiata interna ve zona radiata eksterna ve

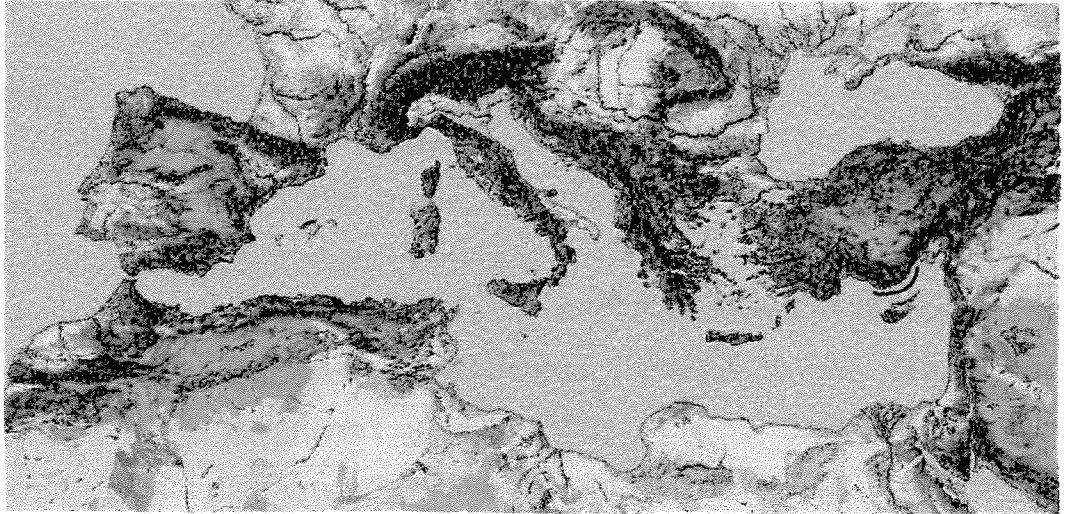
en dışta da granül hücreler olmak üzere üç katmandan oluşmaktadır. İkinci büyüme aşamasının ilk oluşumu lipidlerdir. Bu oluşumlar önce çekirdek çevresinde görülür ve yumurtanın büyümesi ile birlikte tüm yumurta sitoplazmasına dağılırlar. İkinci oluşum ise karaciğerden kan yolu ile taşınan protein parçacıklarıdır. Her iki oluşta zamanla büyüüp birleşerek olgunlaşmaya doğru tek bir karışım haline gelir ve evolusyona uğrarlar.

Uzun yıllardır Ülkemizin Akdeniz sahillerinde görülen *E. aeneus* ölümlerinin araştırılması çok önemli bir konu olarak görülmektedir. Nitekim Lagos ölümleri Ekim-Kasım 2000 tarihlerinde Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti sahillerinde görülmüş (Belge 1,2,3,4,5) ve merak konusu olmuştur. Konuyla ilgili olarak FAO balıkçılık dairesi ile görüşülmüş olup, ancak gerekli işbirliği sağlanamamıştır.

Bu proje çalışması ile, konun uluslar arası bir proje ile multidisipliner ekip tarafından ele alınmasının çok yararlı olacağının ortaya konulduğuna inanılmaktadır.

2. ÇALIŞMA ALANI

Araştırma il bazında Adana, Mersin, Hatay ve Antalya'yı kapsamaktadır. Bu illerde bulunan Tarım ve Köy İşleri İl ve İlçe Müdürlükleri ile balıkçılarla düzenli ilişkiler kurulmuş, gerekli yardımlar sağlanmıştır. Ölü yada baygın balığın nereden kıyıya vuracağı bilinemediğinden basın yoluyla da halktan yardım istenmiştir (Belge 6). Çalışma alanı harita 1.'de gösterilmiştir.



Harita 1. Araştırmanın Gerçekleştirildiği Alanın Haritası

3.MATERYAL VE YÖNTEM

Kıyılara vuran ölü veya baygın *E. aeneus* bireyleri hem patolojik yönden, hem de biyo-ekolojik özelliklerinin belirlenmesi amacıyla incelenmeye alınmışlardır. Ayrıca üreme biyolojisi araştırmaları içinde, avlama yoluyla veya balıkçılardan Lagos örnekleri temin edilmiştir.

3.1 Patolojik İncelemeler

Elde edilen örnekler soğuk zincir altında laboratuara ulaştırılmış ve derhal incelemeye alınmışlardır. İncelemeler başlamadan önce bireylerin gerekli ölçümleri yapılmıştır.

3.1.1 Parazitolojik İncelemeler

Özellikle eksternal incelemeler için henüz yeni ölmüş taze örnekler kullanılmıştır. Deri, yüzgeç, yüzgeç tabanları, solungaç doku, ağız boşluğu, göz çevresi gibi bölgeler öncelikle mikroskopik olarak incelenmiş ve kazıma yoluyla elde edilen taze preparatlar Faz-kontrast mikroskop altında incelenmişlerdir. İnternal bakı için gerekli disseksiyonları yapılarak, vücut boşluğu, karaciğer, safra kesesi, mide-barsaklar, gonadlar, böbrekler ve beyin önce makroskopik daha sonra ise hazırlanan preparatlar halinde incelenmişler ve gerekli kayıtlar alınmıştır.

3.1.2 Bakteriyolojik İncelemeler

Balıklarda bakteriyolojik diagnoz süreci temel olarak yüksek organizasyonlu hayvanlara benzese de, sucul ortam ve balıkların poikloterm özellikleri gözden kaçırılmamalıdır. Balık öldükten kısa bir süre sonra post-mortem invazyonlara maruz kalacağından, esas etiyolojik alan maskelenebilir.

Balıklardan alınan örneklerin primer izolasyonu için % 2'lik sodyum klorürü TSA (trypticase soy agar) ortamı kullanılmıştır. İnkübasyon sıcaklığı, 25°C'ye ayarlanmıştır. Primer inkübasyon süresin de 48 saat olarak belirlenmiştir. Aseptik koşullarda balıkların karaciğer, kalp, dalak, böbrek ve beyin dokularından alınan örnekler TSA ortamına ekilmişlerdir. Hasta olduğu düşünülen balıklarda eksternal ve internal lezyona rastlanmadığı için lezyondan örnek alımı yapılamamıştır. Üreyen kültürlerden gram boyama, motilite ve biyokimyasal testler yapılarak identifikasyona gidilmiştir. Ayrıca biyokimyasal testler için API-ZONE (Biemirieux) seti de kullanılmıştır.

3.1.3 Virolojik, Hemotolojik ve Histopatolojik İncelemeler

Ölmek üzere olan bireylerden kalp, dalak, böbrek, karaciğer, gonad, beyin, bağırsak gibi organlardan alınan örnekler, % 40 Formaldehit-100cc Distilesu 900cc-NaH₂PO₄H₂O şeklinde

hazırlanan fosfat-buffered formalin fiksatif i içerisinde, Dr. Baudin Laurencin (Laboratoire de Pathologie des Animaux Aguaticues Paris- Fransa)'e virolojik, histopatolojik incelemeler için gönderilmiştir. Laboratuvar olanaklarının elvermemesi nedeniyle viral incelemeler yapılamamıştır.

Hasta olduğu düşünölen Lagos bireylerinde histo-patolojik incelemeler için doku takip yöntemi Roberts (1978) 'den alınmış, ancak bazı süreler değiştirilerek kullanılmıştır. Formol içerisinde fikse edilen dokular, su ile yıkanmış ve 8-12 saat % 70 'lik etil alkolde, 8 saat %90'lık etil alkolde 3-4 saat aralıklarla 3 seri %98'lik etil alkol içerisinde tutulmuştur. Daha sonra ise 12 saat chloroform içerisinde bekletilerek şeffaflaştırılmıştır. Dokular 60°C'lik üç seri parafin (4 saatlik) içerisinde bekletilmiş ve gömölmeğe hazır hale getirilmişlerdir. Mikron marka mikrotom ile 5 m'lik kesitler elde edilerek Hemotoksilen ve Eosinle boyanıp mikroskop altında incelenmiş ve fotoğrafları alınmıştır. Bu fotoğraflardan rasgele yöntemiyle alınan örnekler bulgular kısmında verilmiştir. Hematolojik incelemeler için ise kaudal aortadan 1ml'lik plastik bir şırınga yardımıyla (antikoagölentsiz) kan alınmış ve lama yayılmıştır. Kan frotilerinde, temiz bir lam üzerine dikkatli bir şekilde kanın çok ince bir damlası diğer bir lam aracılığı ile yayılmıştır. Böylece lam üzerinde ince bir kan tabakası oluşturulmuştur. Daha sonra her bir bireyden ortalama beş adet yaymalar, havada kurumaya bırakılmıştır. Kuruma sonrası, preparatlar üzerine May Grünwald-Giemsa karışık boyası tekniğine uygun olarak yapılmıştır. Lökosit hücre çekirdeklerinin yeterince boyanabilmesi için Giemsa boyası hazırlanırken her ml. distile suya 1,5 damla Giemsa boyası ilave edilmiştir. Tekniğe göre; daha önceden hazırlanmış, havada kurutulmuş yaymalar üzerine hazır olarak satın alınmış 5 cc. May Grünwald boyası dökölerek 3-5 dk. beklenmiş ve sonra distile su ile yıkanmıştır. Yıkayıp, suları süzülen preparat üzerine önceden hazırlanan Giemsa boyası 20 dk. süreyle uygulanmış, sonra preparatlar distile su ile yıkanarak boyasından arındırılmıştır. Yıkayan preparatlar havada kurumaya bırakılmıştır. Kuruduktan sonra incelemeye hazır hale gelen boyalı preparatlar ışık mikroskobunun x100 büyütmesinde immersiyon yağı kullanılarak incelemeye alınmıştır.

Bir kısım preparat ise, fotoğraf çekimi için daimi preparat haline getirilerek saklanmıştır. Bu işlem için boyalı preparatlar üzerine bir damla Kanada Balsamı damlatılmış ve böylece yaklaşık lamın bütün bir yüzeyini kapatacak boyuttaki lamelin lama yapışması sağlanmıştır. Lökosit hücre formüllerinin belirlenebilmesi için her bir lam dört eşit parçaya bölünmüş ve her parçadan 50 lökosit hücresi sayılmıştır. Sayım işlemi, preparatın bir kenarından başlanıp, aşağı-yukarı olacak şekilde ok yönünde yapılmıştır. Her bir preparattan toplam 200 lökosit hücresi sayılmış ve bunlar gerek hücre tipine göre (lenfosit, monosit, nötrofil, eosinofil) ve gerekse morfolojik yapılarına göre sınıflandırılmışlardır (bozulmaya uğramış hücre veya sağlam hücre şeklinde). Lökosit hücre

tipleri ayırt edilirken sayılan toplam 200 hücre ikiye bölünerek, her hücre miktarı yüzde olarak ifade edilmiştir. Preparatlar incelenmesi sırasında Olympus marka CH-40 model Faz-Kontrast mikroskop kullanılmıştır. Elde edilen verilerin değerlendirilmesinde Duncan çoklu aralık testi (Duncan Multiple Range Test) uygulanmıştır.

Yumurtalık (Adana) sahillerinden tarafımızca yakalanan 2450gr ağırlığındaki baygın bir birey, Ç.Ü. Su Ürünleri Fakültesi Yumurtalık Araştırma İstasyonunda bir havuz içerisinde bırakılmış, davranışı ve eksternal yüzeyi kameraya alınmıştır. Bu birey canlılığını birkaç saat korumuş, ancak yaşatılamamıştır.

3.2 Üreme Biyolojisi İncelemeleri

Balık örnekleri Yumurtalık (Adana) balıkçı limanına bağlı ticari teknelerden ve Ç.Ü. Su Ürünleri Fakültesi Araştırma Teknesi ile aylık örneklemler şeklinde elde edilmeye çalışılmıştır. Ancak yıl içinde zaman zaman başka ürünlere yöneltilen avcılık, bölgede yakalanan lagosların Ankara, İstanbul gibi büyük kentlere sevk edilmesi ve dönemsel olarak oluşan büyük fiyat farkları örnekleminin aksamasına, veya yeterli miktar ve büyüklükteki bireylerin elde edilememesine neden olmasına karşın projede üreme biyolojisi ile ilgili olarak amaçlanan çalışmanın önemli bir kısmı gerçekleştirilmiştir. Beslenme ekolojisi çalışmalarının çok çeşitli büyüklükte ve geniş örneklerle gerek duyması nedeniyle, bazı veriler elde edilmiş olmasına karşın, verilerin istatistiki anlamda yetersiz kalması nedeniyle yer verilmemiştir. Üreme modelini saptayabilmek için kesitleri alınmış gonadlardaki yumurta örneklerinden yalnızca çekirdekleri görünenlerin çapları ölçülerek histogramları çıkarılmıştır. Her gonaddan yaklaşık 200 - 300 yumurta ölçülerek bu histogramlar elde edilmiştir. Aynı zamanda söz konusu olan türün makroskopik gelişim aşamaları Kestevan (1960), Nikolsky (1963), Waynarowich (1980) ve Lampton (1983)'a göre elde edilmiştir.

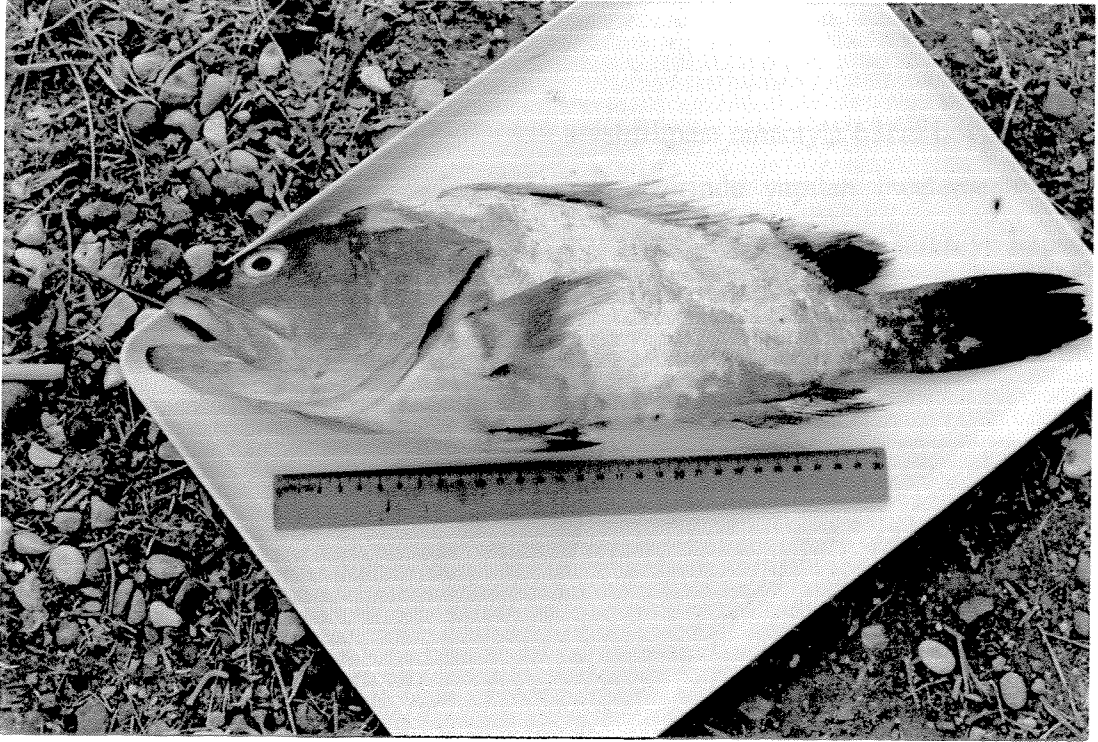
Gonad örnekleri uzun süre saklanabilecekleri formol-kalsiyum da fiksede edilmişlerdir. Bu fiksatif özellikle yumurtadaki lipid içeriğini erimeden saklanabilmesi açısından tercih edilmektedir. Gonad dokuları histo-rezin veya plastik gömme materyali olarak da bilinen 2-hydroxyethyl metachrilat'a gömülmüşlerdir. Parafin wax gonad gelişiminin erken aşamalarında olumlu cevap verirken, ikinci gelişim aşamasında (vitellogenesis) yumurtanın kalınlaşan çeperinden dolayı yeterince içine geçemeyerek kalitesiz kesit alınmasına yol açmaktadır. Ayrıca rezin kullanımı, dehidrasyon, infiltrasyon ve boyama aşamalarının kısa sürelerde kolayca yapılabilmesi açısından da avantaj sağlamaktadır. Kesitler 3 µ kalınlığında Mikrom marka historenc mikrotomla alınmış ve Harris Haematoksilin ve eosinle boyanmıştır. Yumurta çapları her üç gonad içinde posterior, orta ve anterior kısımlarından ölçülerek istatistiksel olarak

karşılaştırılmıştır. Böylece yumurtalıkta uzunlamasına herhangi bir zon farklılığın olup olmadığı test edilmiştir.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

Araştırmadan elde edilen bulgular hem patolojik hem de lagosun biyolojisine yönelik olmak üzere ayrı ayrı ele alınmıştır.

Patolojik incelemeler için sahillere vuran baygın yada ölü balıklar kullanılmıştır. Ancak materyal temininde ciddi sıkıntılar yaşanmıştır. Bulunan balıkların çoğu bozulmuş durumdadır (Resim 2). Çizelge 1'de yıllara göre elde edilen patolojik yönden incelenebilecek durumda dahi balık bireyleri ile total boy ve ağırlıkları verilmiştir.



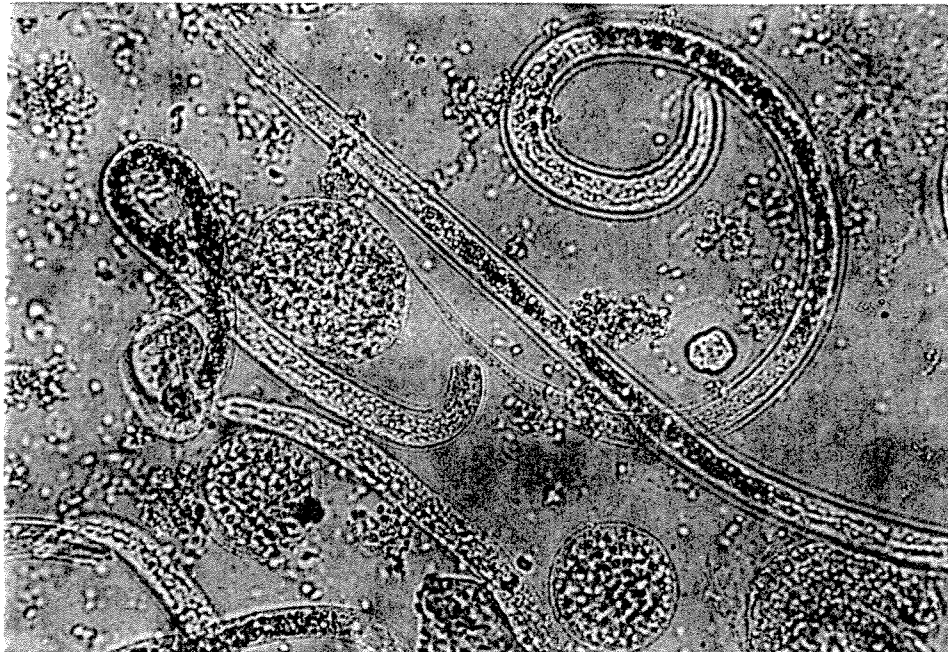
Resim 2. Sahile Vurmuş ve Bozulmuş *Epinephlus aeneus* bireyi.

Çizelge1. Araştırma süresince elde edilip patolojik yönden incelenen *Epinephelus aeneus* bireylerin total boy ve ağırlık değerleri.

Yılı	N	Boy (cm)	Ağırlık(gr)
1998	9	33,36,40,43,46,48, 51,55,57	756, 805, 1040, 1150, 1355, 1508, 2040, 2110, 2500
1999	11	35,37,38,41,43,44, 48,49,52,53,56	830, 900, 940, 1020, 1100, 1150, 1700, 2050, 2300, 2450, 2600
2000	8	26,34,35,47,48,53 55	515, 750, 890, 1250, 2400, 2780

4.1 Patolojik İncelemeler

Lagos bireylerinin üreme biyolojilerinin araştırılması amacıyla 63cm boyunda ve 4250gr ağırlığında ve sağlıklı olduğu düşünülen bir birey üzerinde yapılan incelemede ovaryumda philometraisis görülmüştür. Ovaryum içerisinde bir yumak gibi ovaryumu saran ve kapsoloid bir yapı oluşturan *Philometra sp* yapılan disseksiyonla ortaya konulmuştur (Resim3). Tür tayininde çekilen zorluk, tek cinsiyete rastlanılmış olmasından kaynaklanmıştır. Bunun dışında incelenen lagos bireylerinde protozoon ve metazoon parazite rastlanılmamıştır.



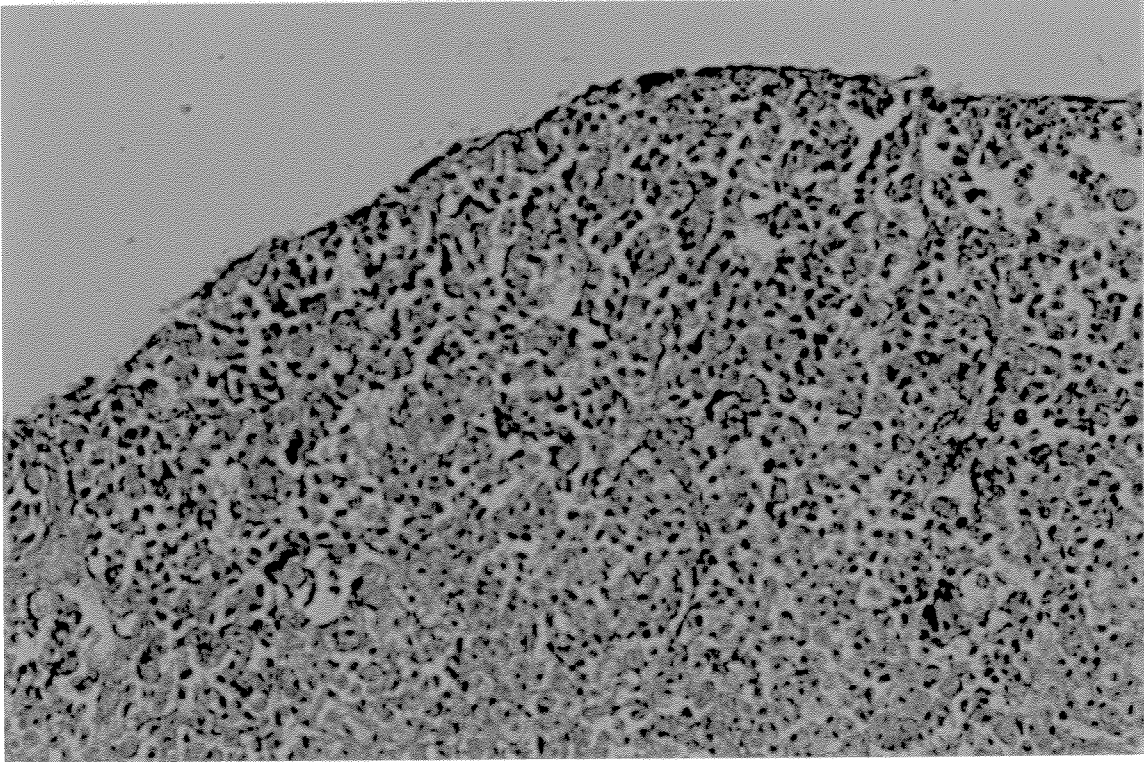
Resim3. *Epinephelus aeneus* bireyinin ovaryumunda rastlanan philometraisis

4.1.1 Bakteriyolojik İncelemeler

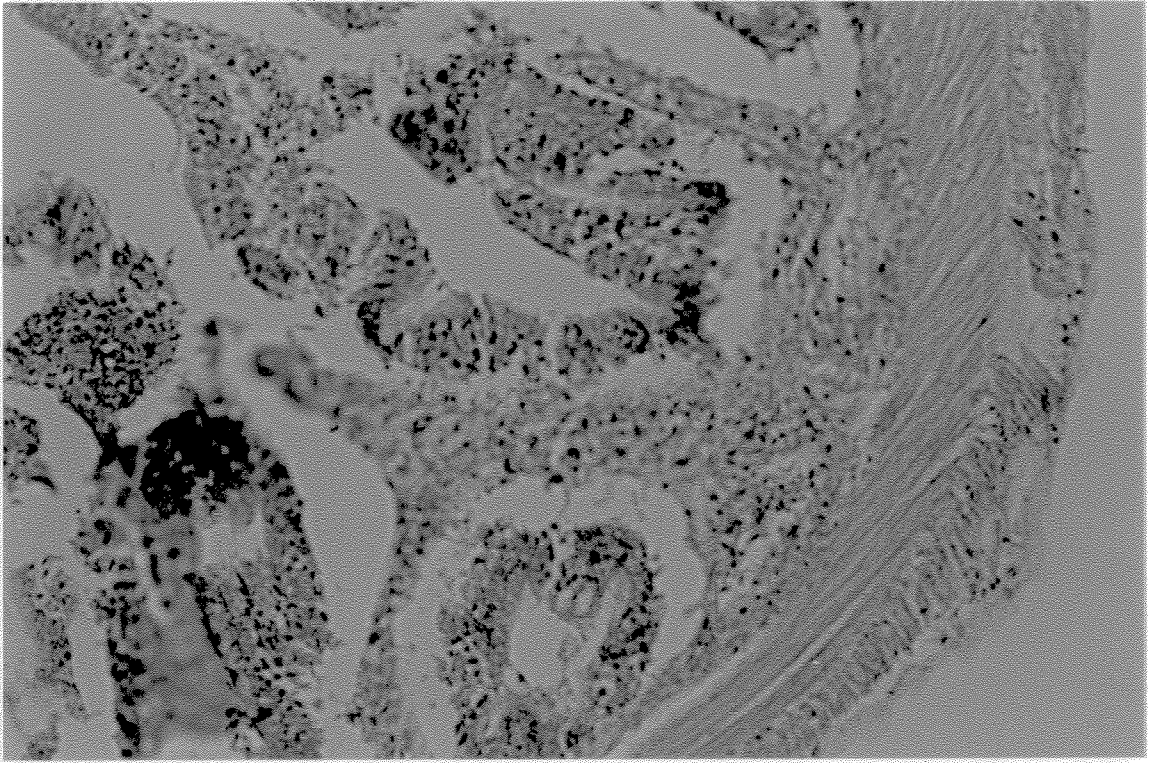
1999 yılı Eylül ayında yakalanan bir bireyde TSA ortamına yapılan ekiminden 40 saat sonra düz, hafif kabarık kirli beyaz renkte koloniler olduğu görülmüştür. Yapılan gram boyamada negatif ve hareketli basit oldukları anlaşılmıştır. Daha sonra yapılan biyokimyasal testlerde O/F fermentatif, katalaz (+) sitokrom oksidaz (-) , nitrat (+) olarak saptanmıştır. Daha sonra yapılan değerlendirmelerde Enterobacteriaceae familyasında bir tür ve bağırsak kontaminantı olabileceği düşünülmüştür. Nitekim daha sonraki ekimlerde böyle bir koloniye rastlanılamamıştır. Araştırma sonuçlarına göre Lagos bireylerinde ölüme neden olabilecek etiyolojik bir ajan saptanamamıştır.

4.1.2 Virolojik, hematolojik ve histopatolojik incelemeler

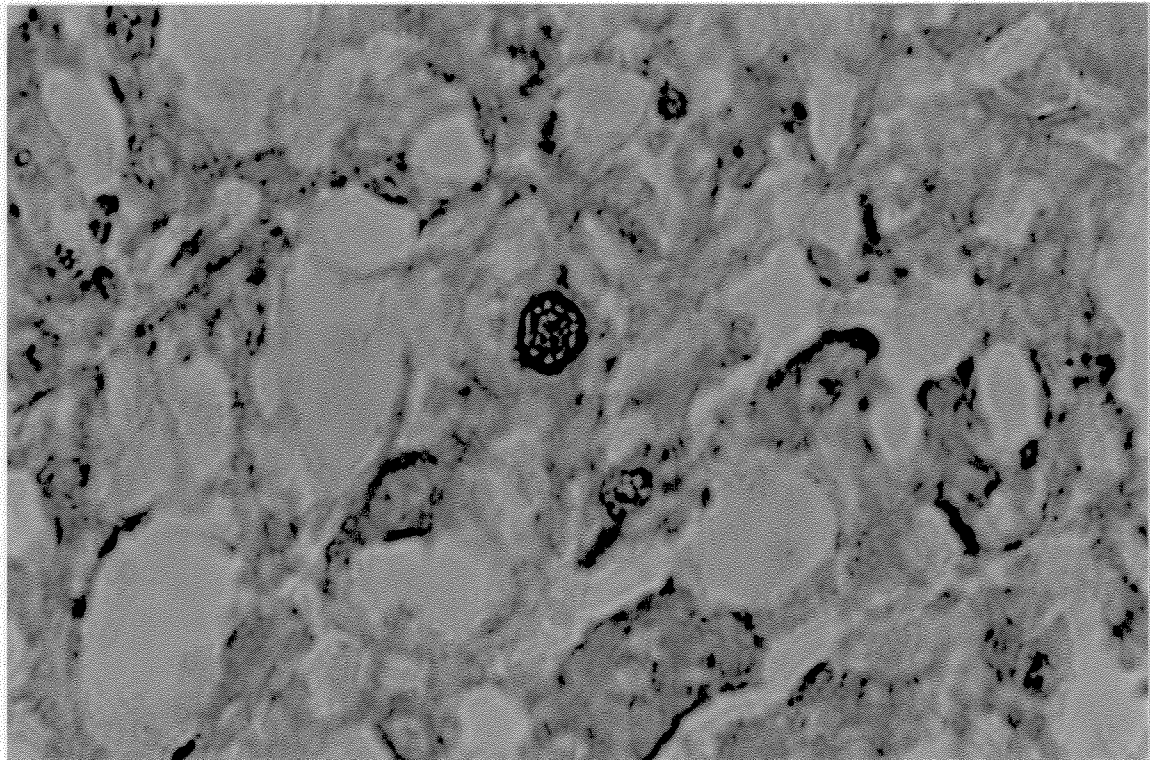
Virolojik ve histopatolojik incelemeler için Parise gönderilen materyallerle ilgili bir bulgu bulunmadığı bildirilmiştir. Yapılan hematolojik incelemelerle ilgili sonuçlara bakıldığında boyalı kan yaymalarında yapılan incelemelerde lökosit hücre tipleri miktarı ile bunlarla ilgili hücre büyüklükleri ortaya çıkarılmıştır. Bu doğrultuda yapılan incelemelerde ortalama %70 lenfosit, %24 monosit, %3 nötrofil ve %3 eosinofil hücresi tespit edilmiştir. Aynı yaymalardan yapılan hücre büyüklüklerinin ölçümünde ortalama lenfosit hücrelerin 11µm, monosit 8,6 µm, nötrofil 10,5 µm, eosinofil, 10,3 µm, ve eritrosit hücrelerin ise 10,3 µm, olduğu belirlenmiştir. Yapılan histolojik çalışmalarla da ele alınan dokularda her hangi bir bulguya rastlanılamamıştır. Aşağıda verilen mikroskopik resimlerde de ele alınan dokular görülmektedir (Resim 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14).



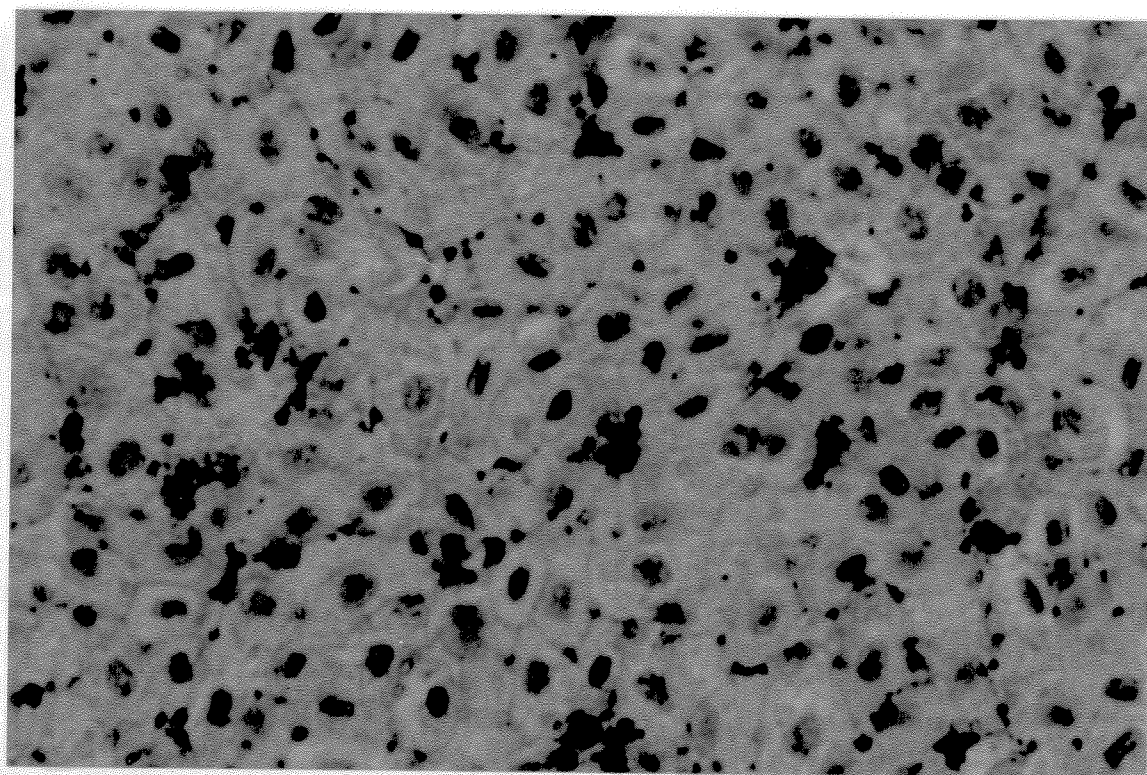
Resim 4. *Epinephelus aeneus* 'tan alınan karaciger dokusu H+E x 20



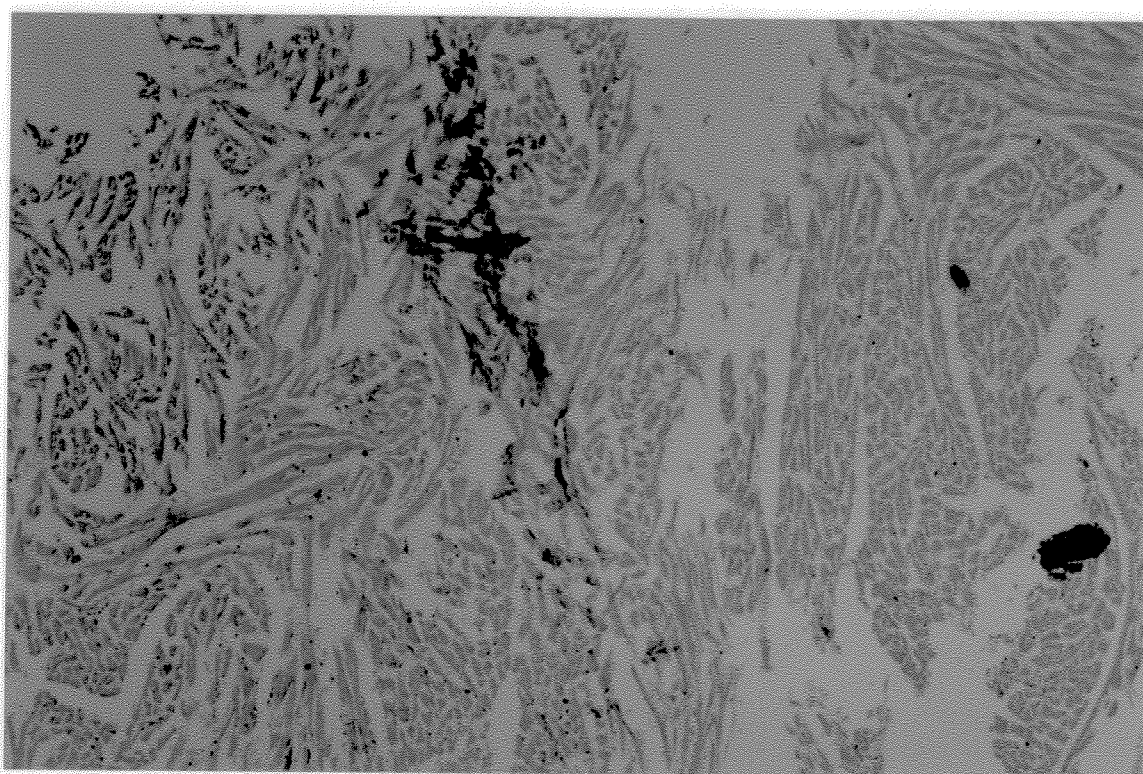
Resim 5.*Epinephelus aeneus* 'tan alınan duodenum dokusu(transversal kesit) H+E x 20



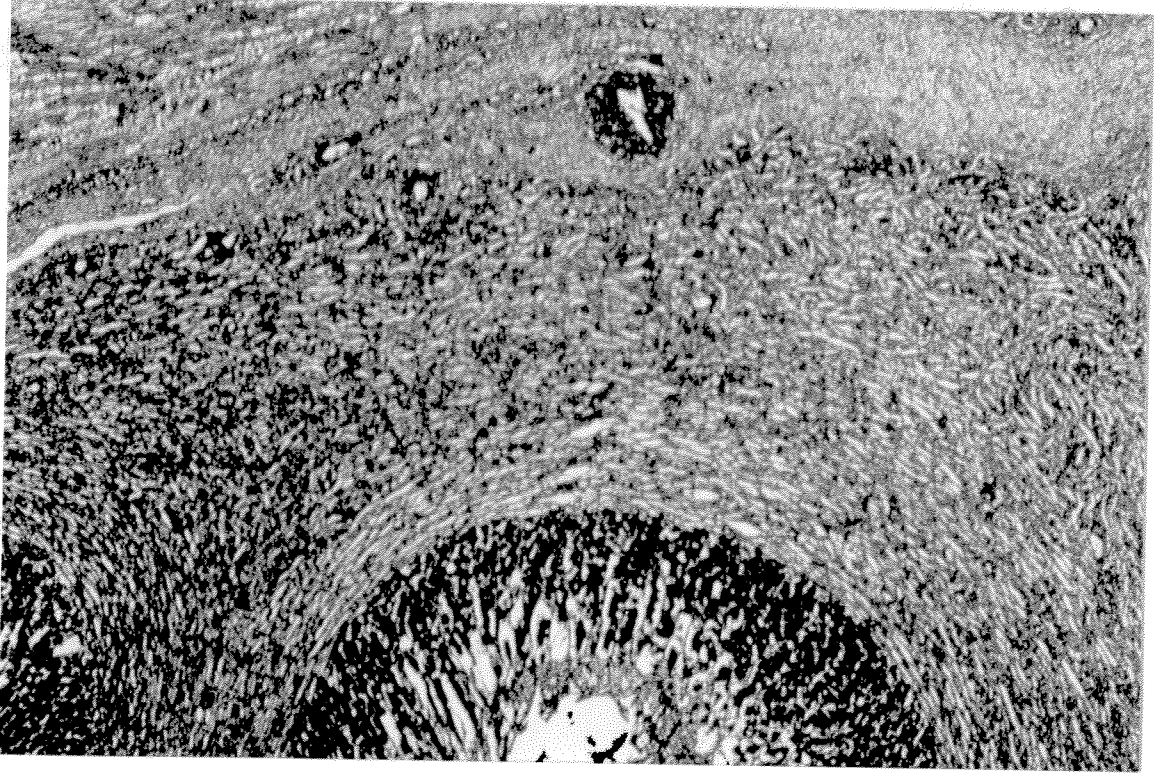
Resim 6.*Epinephelus aeneus* 'tan alınan karaciger dokusu H+E x 100



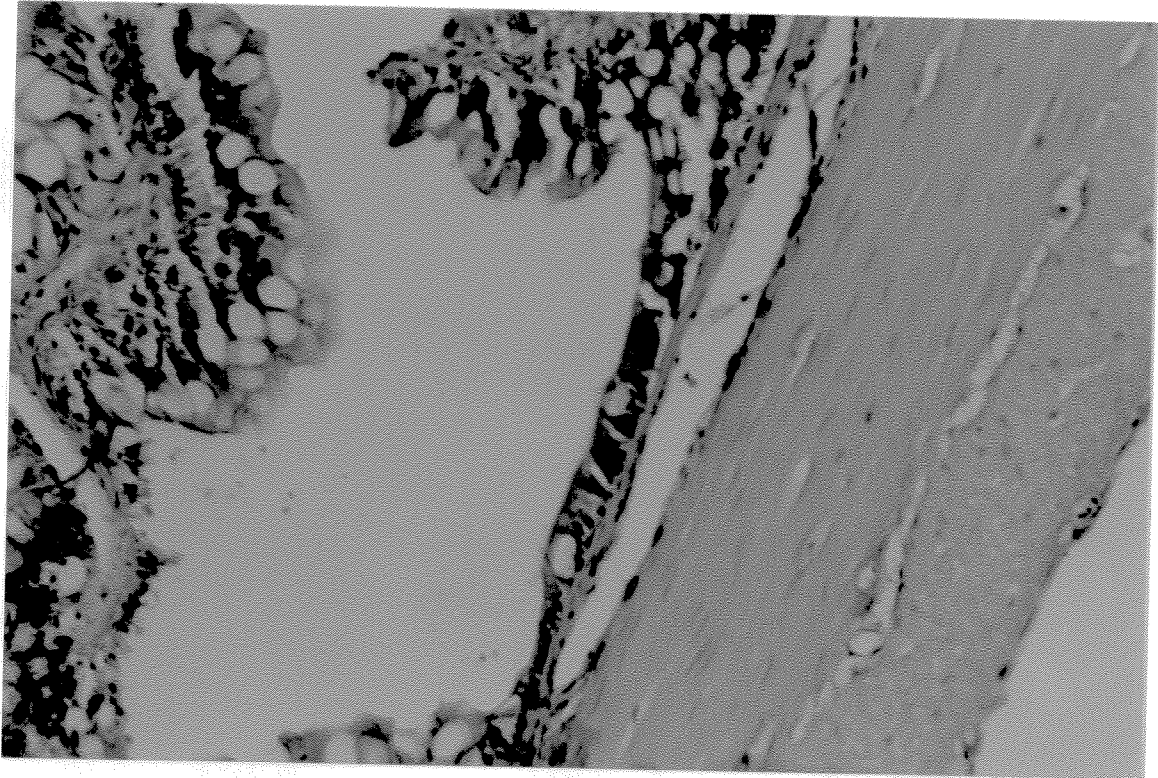
Resim 7.*Epinephelus aeneus* 'tan alınan dalak dokusu ,H+E x 100



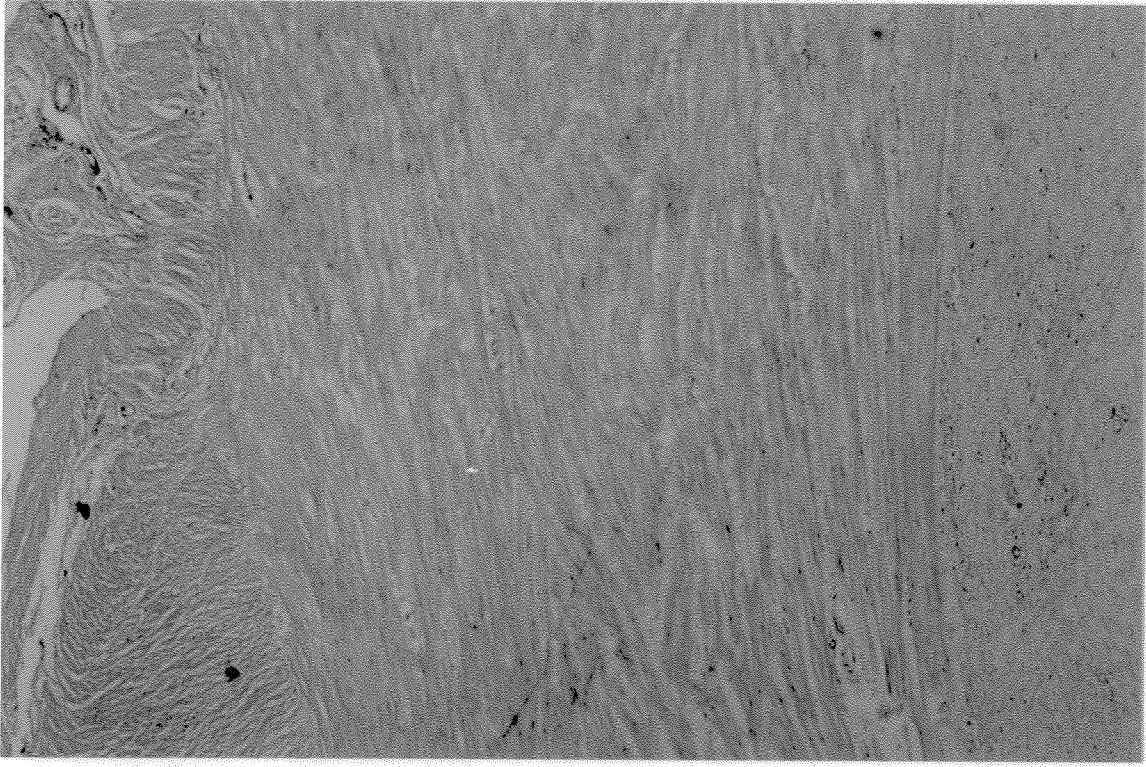
Resim 8.*Epinephelus aeneus* 'tan alınan kalp kası H+E x 20



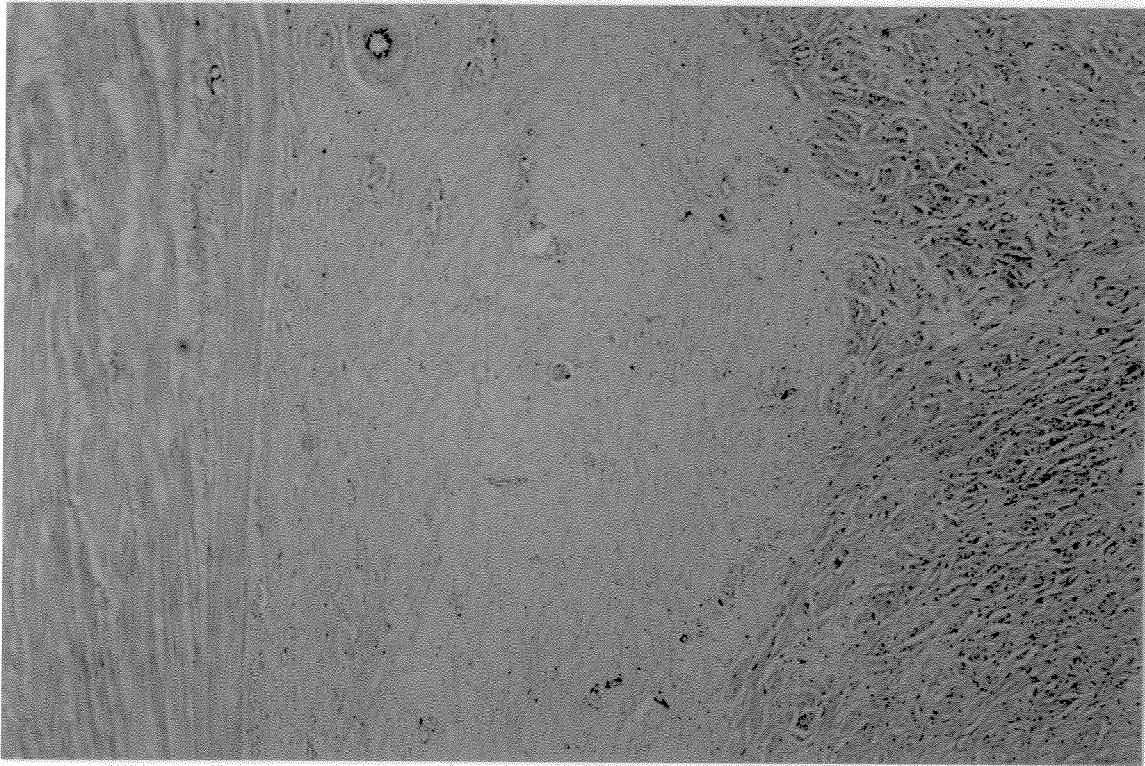
Resim 9.*Epinephelus aeneus* 'un mide çeperinin transversal kesiti H+E x 20



Resim 10.*Epinephelus aeneus* 'un barsak çeperi dokusu, H+E x 60

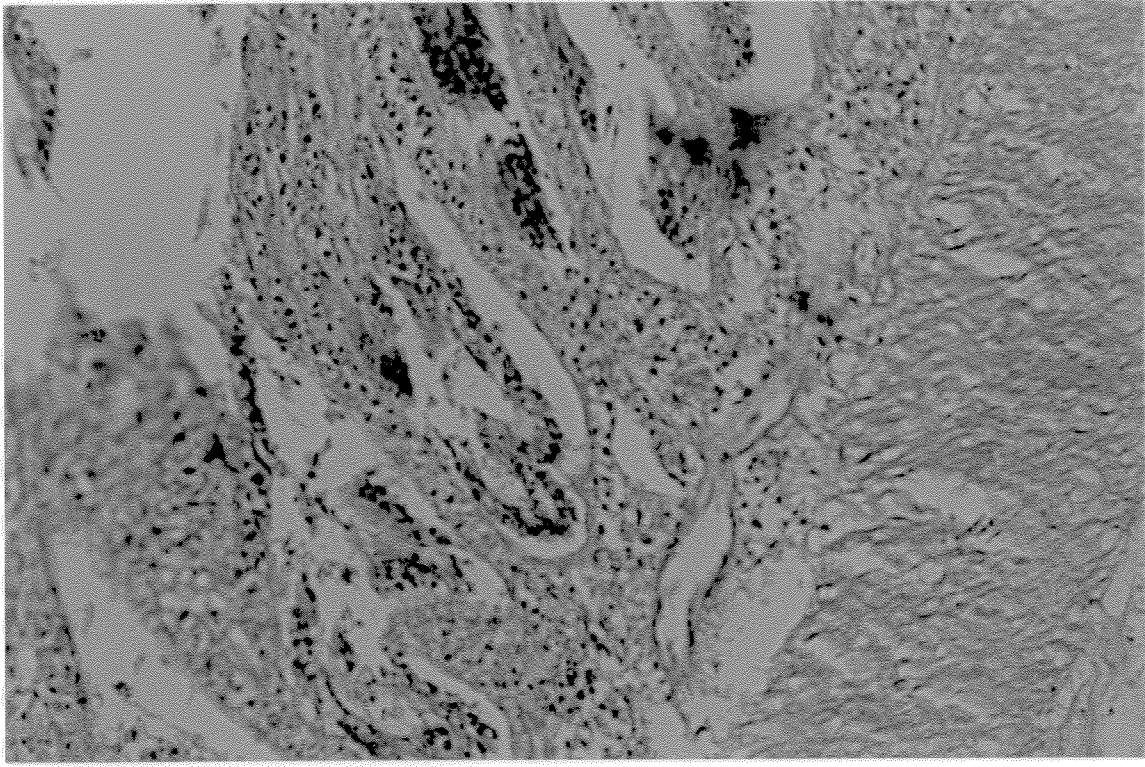


Resim 11. *Epinephelus aeneus* 'un mide iç çeperi H+E x 40

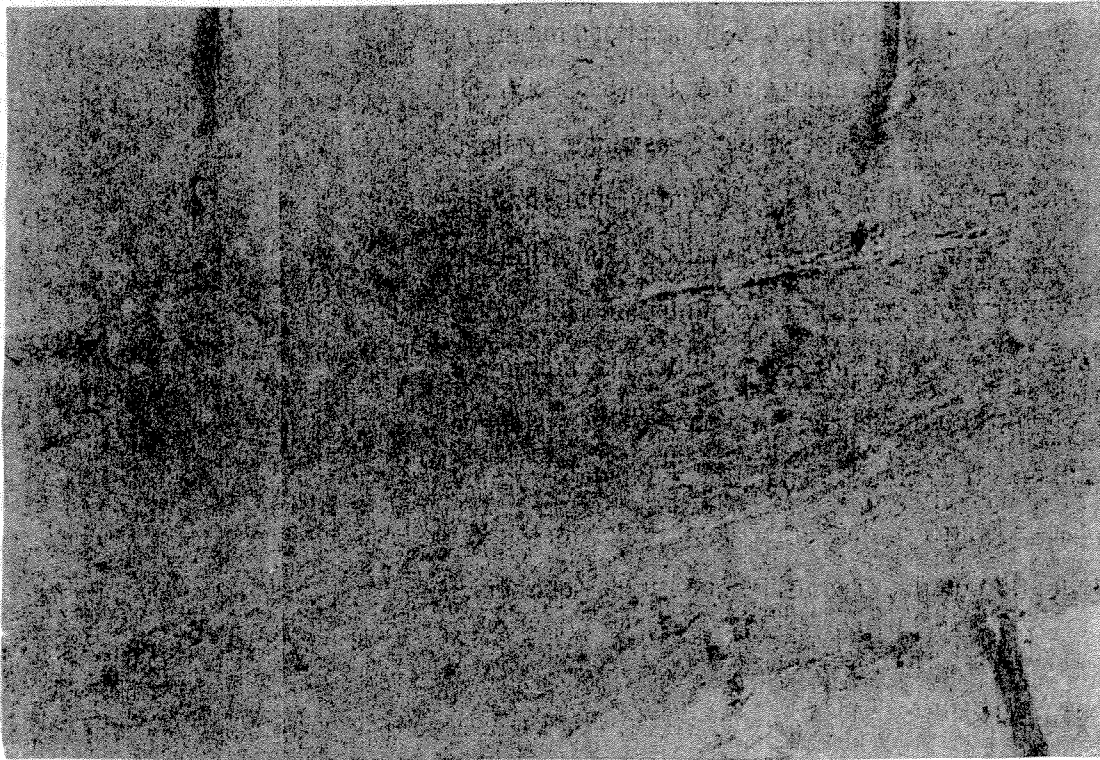


Resim 12. *Epinephelus aeneus* 'un mide dış çeperi H+E x 40

Resim 12. *Epinephelus aeneus* 'un mide dış çeperi H+E x 40



Resim 13. *Epinephelus aeneus* 'un duodenum iç çeperi H+E x40



Resim 14. *Epinephelus aeneus* 'un hava kesesi dokusu H+E x 20

Ayrıca baygın ve ölü bulunan tüm bireylerde fungustik araştırmalarda gerçekleştirilmiş olup, yine bir bulguya rastlanılmamıştır.

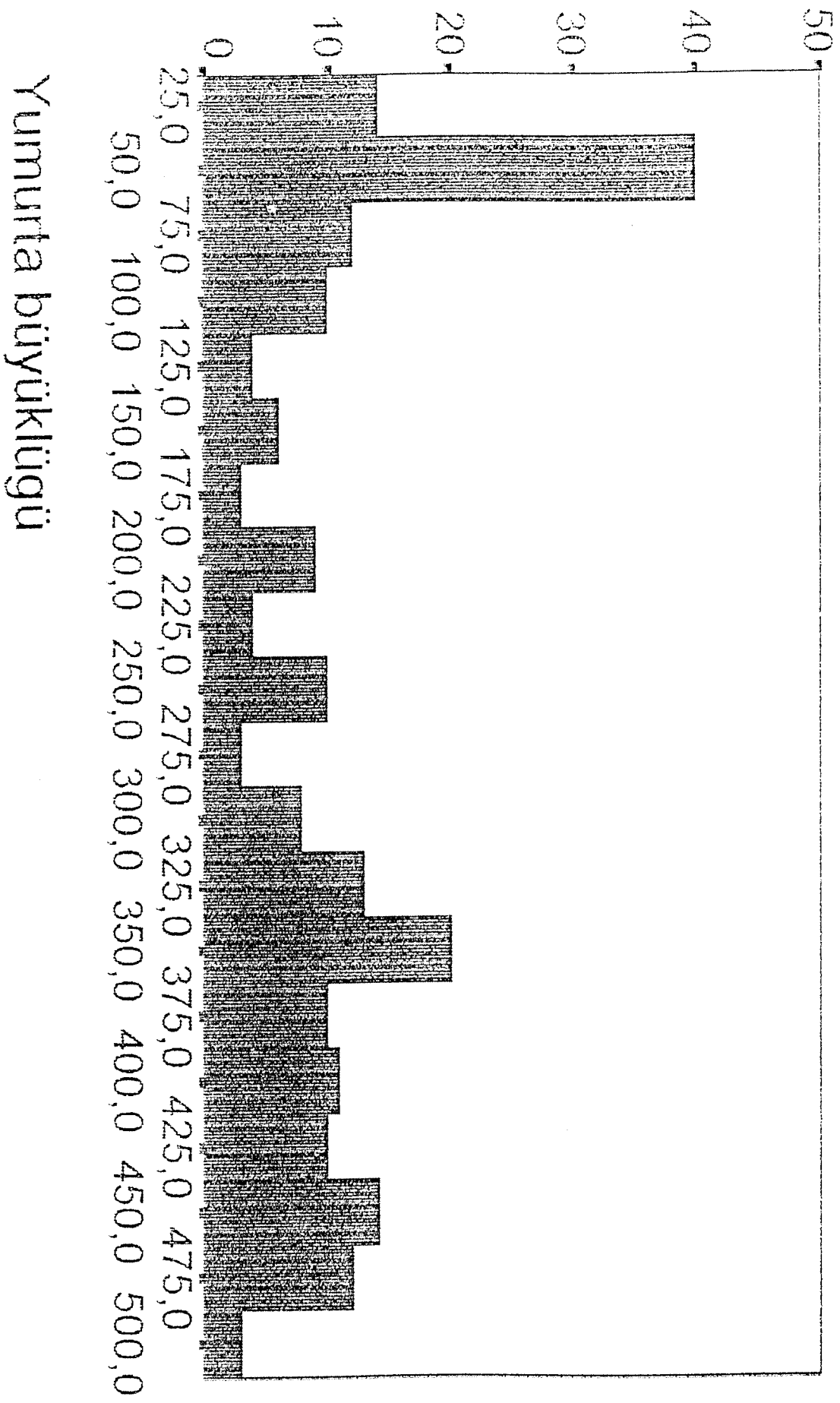
4.2 Üreme Özellikleri İncelemeleri

Oosit büyüklük dağılım frekans grafiklerinde görüleceği gibi IV. ve V. Aşama gonadlardan elde edilen verilere göre oositler bir kısmı ikinci gelişim fazına katılmışlardır. Gonad gelişiminin bu geç aşamasında tüm gelişim aşamalarındaki yumurtalar gonadda bulunmaktadır. Birinci ve ikinci gelişim aşamasına veya herhangi iki gelişim aşamasına ait yumurtaların büyüklük dağılımları arasında hiçbir bir boşluk görülmemektedir (Grafik 1,2 ve 3). Bu gelişim özelliği asinkronus gelişim özelliğini işaret etmektedir.

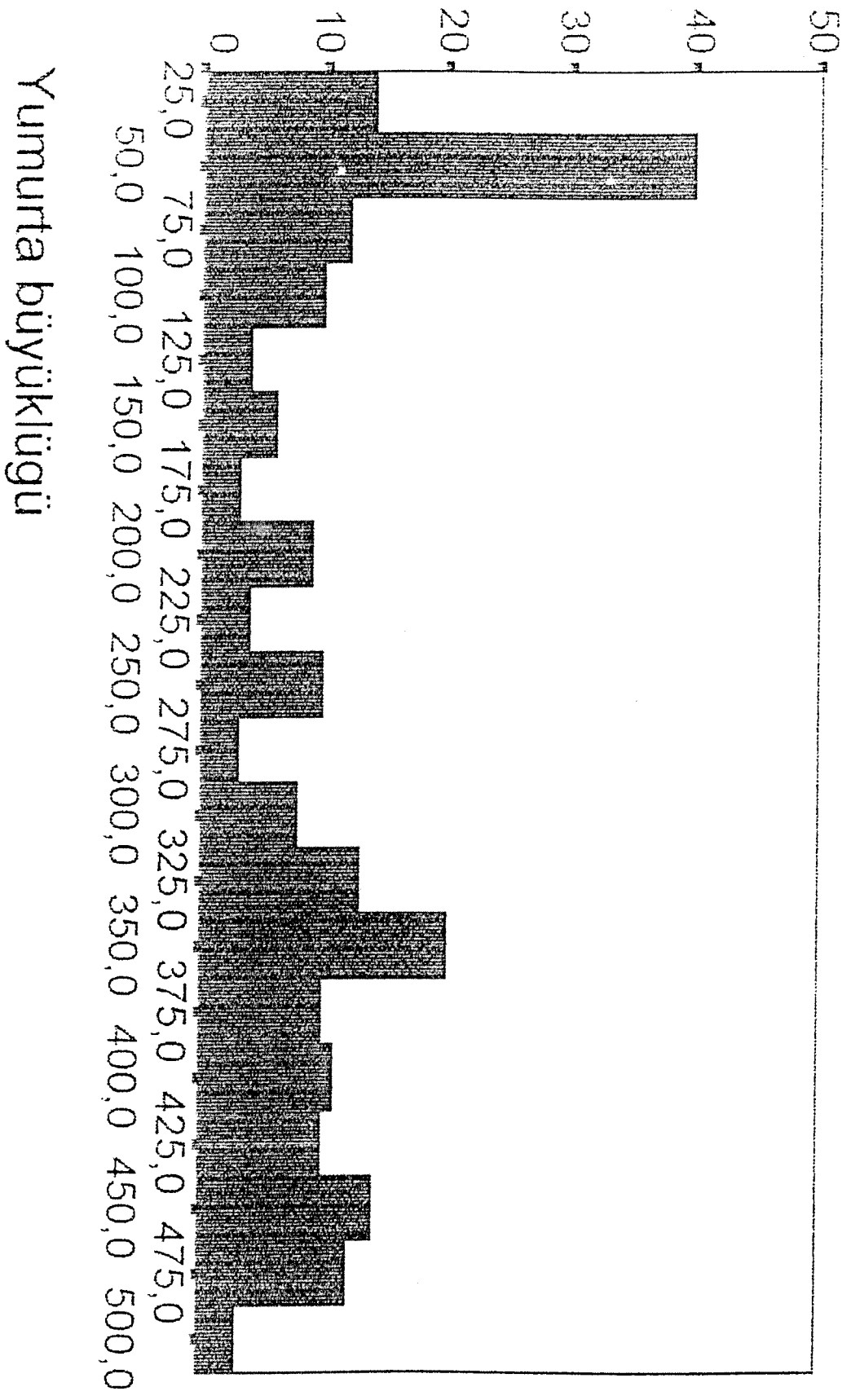
Doğu Akdeniz bölgesinde avlanmış olan dişi Lagosların üremeleri ile ilgili makroskopik izlenimler çizelge 2.'de verilmiştir. İstatistiki anlamda ifade edilebilecek nitelikte ve miktarda örnek elde edilememesine karşın, Lagosların doğu akdeniz koşullarında yazın üredikleri gözlemlenmiştir. Buradan yola çıkılarak Lagosların yaz aylarında ve yoğun olarak Haziran, Temmuz ve Ağustosta üredikleri gözlemlenmiştir.

Bu aylarda elde edilen örneklerden yumurtalıkların tam olarak dolu olduğu ve bol miktarda vitellogenesis aşamasında ve olgun yumurta aşamasında bireyler ürettikleri gözlemlenmiştir. Bu noktadan hareketle bu yumurtalıklardan alınan örneklerle Lagosların üreme modelleri saptanmıştır (Grafik 1,2,3). İlk önce yumurtalıkların posterior, anterior ve orta kısmından alınan örneklerin çapları ölçülerek istatistiksel olarak karşılaştırılmış ($p<0,05$) ve yumurtalıkların bu farklı bölümlerinde yumurta büyüklüğü açısından herhangi bir fark olmadığı saptanmıştır. Daha sonra tesadüfi olarak seçilmiş üreme dönemindeki üç yumurtalıktan histolojik kesitler alınarak yalnızca çekirdekli olan yumurtaların çapları ölçülmüş, gerek farklı büyüklükteki ve gelişim aşamasındaki yumurtaların özellikleri saptanmış ve gerekse üreme modeli belirlenmiştir. Buradan elde edilen sonuçlara göre elde edilen histogramlar değerlendirilmiştir. Histogramlarda görüldüğü gibi yumurta büyüklük grupları arasında herhangi bir boşluk bulunmamaktadır. Buda asynchronus üreme modelini ifade etmektedir. Yani Lagoslar oldukça uzun denebilecek üreme süreçleri içerisinde yumurtlanmak üzere sürekli yumurta üretmektedirler.

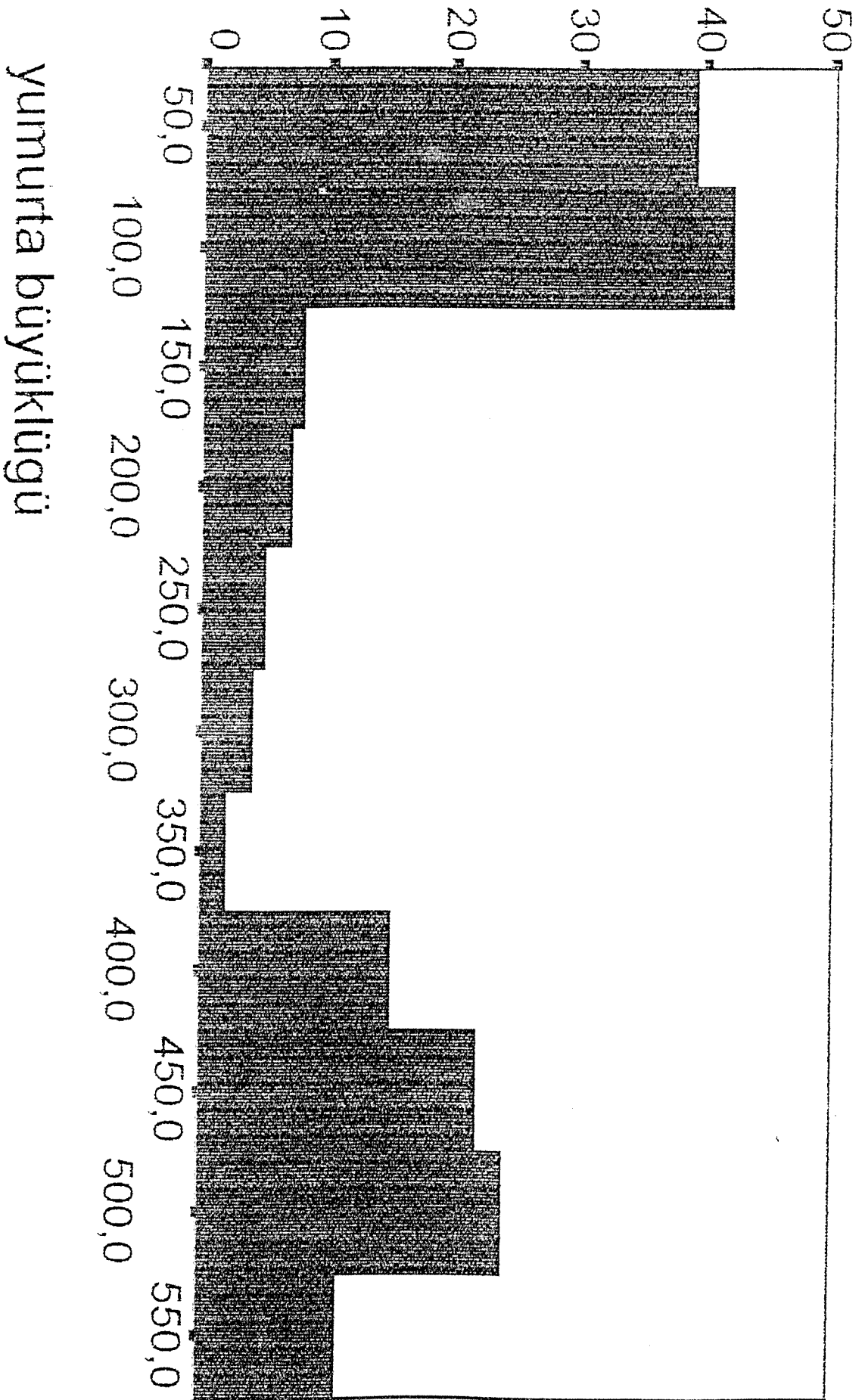
Grafik 1. Temmuz ayı örneklerinden alınan bir dişi Lagos'un gonadlarından elde edilmiş Yumurta ölçüm (μ) sonuçları.



Grafik 2. Lagoslar için üreme dönemi ortaları olan Temmuz ayında elde edilmiş bireylerin birinden alınmış olan gonaddan saptanan yumurta büyüklük (μ) dağılım histogramı. Histogram, gonadda her büyüklükten yumurtanın üreme döneminde gonadda bulunduğunu ve üremenin asynchronous modelde gerçekleştiğini göstermektedir.



Grafik 3. Üreme mevsiminde elde edilen gonadlardan ölçülen son yumurta büyüklük (μ) dağılım histogramı. Her üç grafikte de yumurta gelişim aşamasının son adımındaki yumurtaların 500 μ olduğu ve yumurta büyüklük grupları arasında hiç boşluk olmadığı görülmektedir.



Çizelge 2. Lagos (*Epinephelus aeneus*)' un makroskopik gözleme dayalı dişi gonad gelişim aşamaları.

Aşama	Yumurtalık döngüsünün makroskopik tanımı
I -Olgunluğa erişmemiş Yumurtalık	Yumurtalık çok ince görünümlü, açık sarı renkte ve hiç yumurta görülüyor.
II -Gelişen yumurtalık (1)	Yumurtalık daha uzun ve belirgin, kan damarları belirlemeye başlıyor ve sarı-açık sarı renkteki yumurtalıkta çok ince taneli yumurtalar seçiliyor.
III Gelişen yumurtalık (2)	Yumurtalık artık iyice şişkin ve daha damarlı görünüyor. Renk sarı, turuncu ve opak yumurtalar çok belirgin ancak hiç su almış yumurta yok.
IV Yumurtlamaya yakın	Yumurtalık karın boşluğu içerisinde çok şişkin bir görüntü veriyor, sarı renkte ve damarlı bir görünüme sahip. Yumurtalar opak ancak bazı su almış yumurtalar gözüküyor.
V Yumurtlayan birey	Yumurtalık çok şişkin ve yumurtalık duvarı çok ince. Yumurtalıkta hem opak ve hemde su almış yumurtalar bol miktarda var. Yumurtalık kalın damarlarla çevrili.
VI Yumurtlamış birey	Yumurtalık boş, gevşek, damarlı ve koyu renkli görünüyor.

I.Büyüme Fazı

Oogonia

Lagos'da oogonialar küçük yuvarlak hücreler olarak görülmektedir ($8.056 \mu \pm 2.083$) Oogonialar yüksek çekirdek/sitoplazma oranı olan hücreler olarak görülmektedir. Yoğun oogonia oluşumu birinci büyüme fazında yoğun olarak görülmektedir (Resim 15).

Kromatin Nükleolus Aşaması

Oogonial bölünmeden sonra ortaya çıkan birincil oositlerdir (Resim 16). Bu aşamadaki oositlerde çekirdek/sitoplazma oranı en yüksek seviyesinde olup (yaklaşık %69), hücre büyüklüğü $20.833 \mu \pm 4.483$ 'dür. Nükleus genellikle tek ve belirgin bir nükleolus içermekte ve nükleus belirgin bir şekilde bazofilik görülmektedir.

Erken Perinukleolus Aşaması

Bu aşamada oositlerin çekirdek/sitoplazma oranı küçük olup (%55) sitoplazma ve çekirdekçikler bazofilik bir görünüme sahiptirler. Bu aşamanın en belirgin özelliği balbiani (Resim 18) kütlesinin üretimidir. Bu kütle şekilde de görüldüğü gibi çekirdeğin hemen yanı başında yuvarlak beyaz bir oluşum olarak ortaya çıkmaktadır. Çalışmada çok net olarak görülmemesine karşın muhtemelen yumurta geliştikçe sitoplazma içinde dağılarak görünümünü kaybetmektedir (Resim 17). Hücre büyüklüğü $57.273 \mu \pm 7.862$ olarak bulunmuştur.

Geç Perinukleolus Aşaması

Bu aşamada oositler daha da büyümüş ve çekirdek/sitoplazma oranı daha da düşmüş (%45) ve yumurta büyüklüğü $93.636 \mu \pm 12.863$ olarak saptanmıştır. Ayrıca büyük çekirdek pek çok sayıda küçük ve yuvarlak görünümlü periferik nukleoli içermektedir (Resim 17). Sitoplazma önceki aşamalara göre çok daha az bazofilik görülmektedir. Bu aşama Forberg (1982) tarafından dinlenme aşaması olarak adlandırılmıştır. Çünkü yumurtalar bu aşamada ikinci büyüme aşamasına geçinceye kadar değişmeden kalırlar ve genel olarak bu aşamada yumurtaların ilk mayoz bölünmenin profaz aşamasının diplotom fazında kaldığı düşünülmektedir.

İkinci Büyüme Aşaması

Lipit Aşaması

Bu aşama Lagoslar için ikinci büyüme aşamasının ilk adımını oluşturmaktadır ve çekirdek/sitoplazma oranında önceki aşamaya göre önemli bir fark gözlemlenmemiştir (%45). Bu aşamanın en belirgin özelliği küçük ve yuvarlak yağ damlacıklarının sitoplazmada dağınık olarak görülmesidir. Bu aşamada sitoplazma çok daha az bazofilik görülmektedir ve aynı zamanda bu aşama zona radiatanın görüldüğü ilk aşama olması nedeniyle ayrı bir öneme sahiptir (Resim 19). Lipid aşamasındaki yumurtaların büyüklükleri $130.769 \mu \pm 19.348$ olarak belirlenmiştir.

Birinci protein Aşaması

Bu aşamada çekirdek/sitoplazma oranı daha da azalmış (%43) ve protein damlacıkları yumurta çeperine yakın bölgeden itibaren görülmeye başlanmıştır. Zona radiatanın ikili katman oluşumu belirgin hale gelmeye başlamış olup protein granülleri Hemotoksilen ve Eosin ile asidofilik olarak kırmızımsı pembe bir renkle boyanmaktadır. Ayrıca hem yumurta büyüklüğü artmış ($241.250 \mu \pm 21.002$) ve lipit damlacıkları büyüyerek daha da belirgin bir hale gelmektedir (Resim 20, 21, 22).

Resim 15. Farklı büyüklükteki yumurtalar arasında görülen oogonialar.

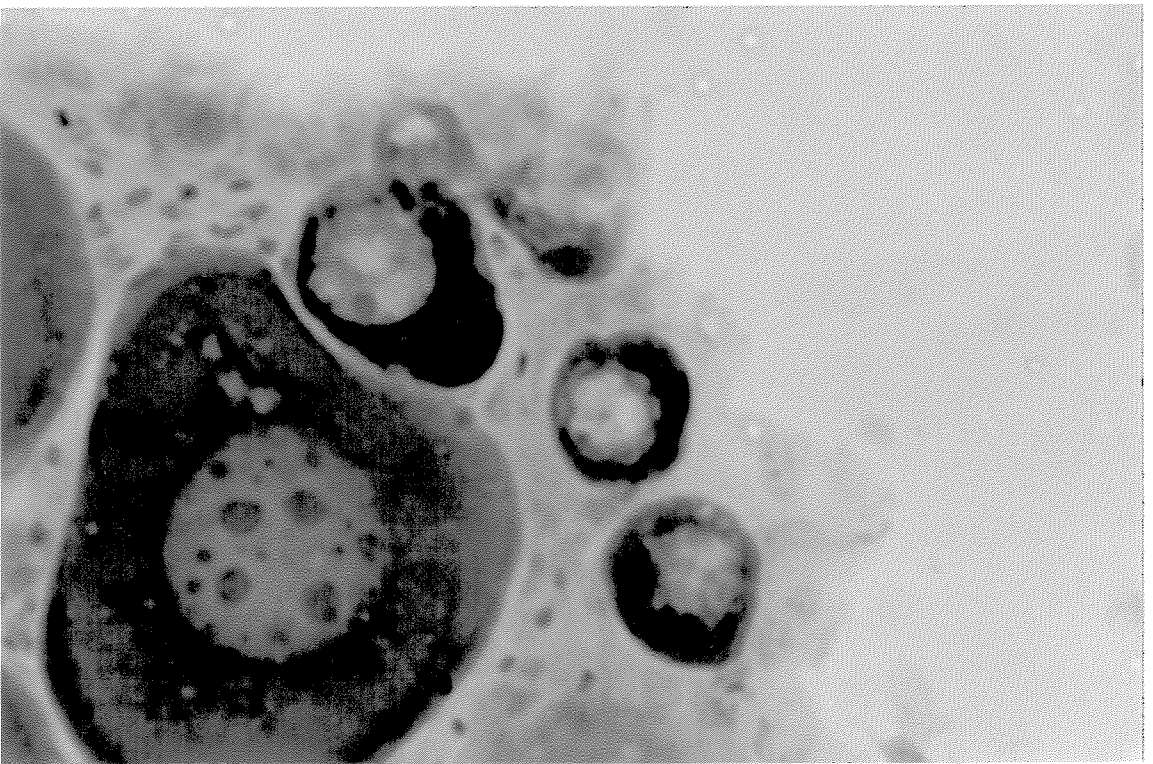
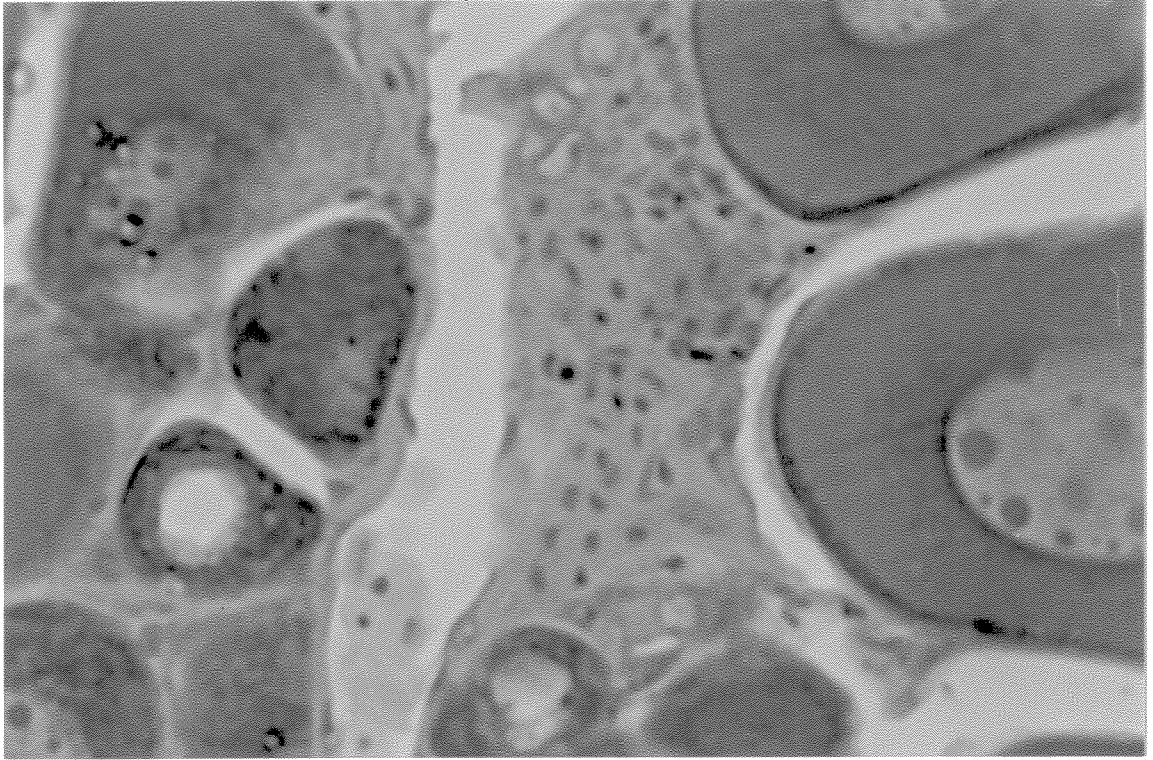
H & E X10

Oo : Oogonia

Resim 16. Oogonal çoğalmanın ardından oluşan 1. Oosit gelişim fazının ilk aşaması olan kromatin nukleolus aşaması. Çekirdekçikler genellikle birkaç adet ile sınırlı olup sitoplazma/çekirdek oranı oldukça yüksektir.

H & E X100

Cn : Kromatin nukleolus aşamasındaki yumurta



Resim 17. Farklı büyüklükteki yumurtalarla birlikte görülen kromatin nukleolus aşamasındaki oositler. Nukleolus ortasında tek ve belirgin nukleolus bu aşamanın en belirgin ayırtıcı özelliklerindendir.

H & E X100

N : Nukleus, n : nukleolus, Cn : kromatin nukleolus

Resim 18. Erken perinukleolus aşamasındaki bir yumurtanın görünümü. Sitoplazma/çekirdek oranı nispeten azalmış, çekirdekçiklerin sayıları artarak çekirdek çeperine yakın yerlerde yerleşmiş durumdadırlar. Bu aşamanın en belirgin özelliği olan Balbiani vitellin kütlesi yumurta sitoplazmasında çekirdeğe yakın bir konumda görülmekte.

H & E X100

Ep : Erken perinukleolus aşaması

Bb : Balbiani kütlesi

Resim 19. Çok sayıda geç perinukleolus yumurta görülmekte. Yumurtanın büyümesiyle sitoplazma/çekirdek oranı daha da azalmış olup, çekirdekçikler çok sayıda ve çekirdek çeperine yakın olarak bulunurlar.

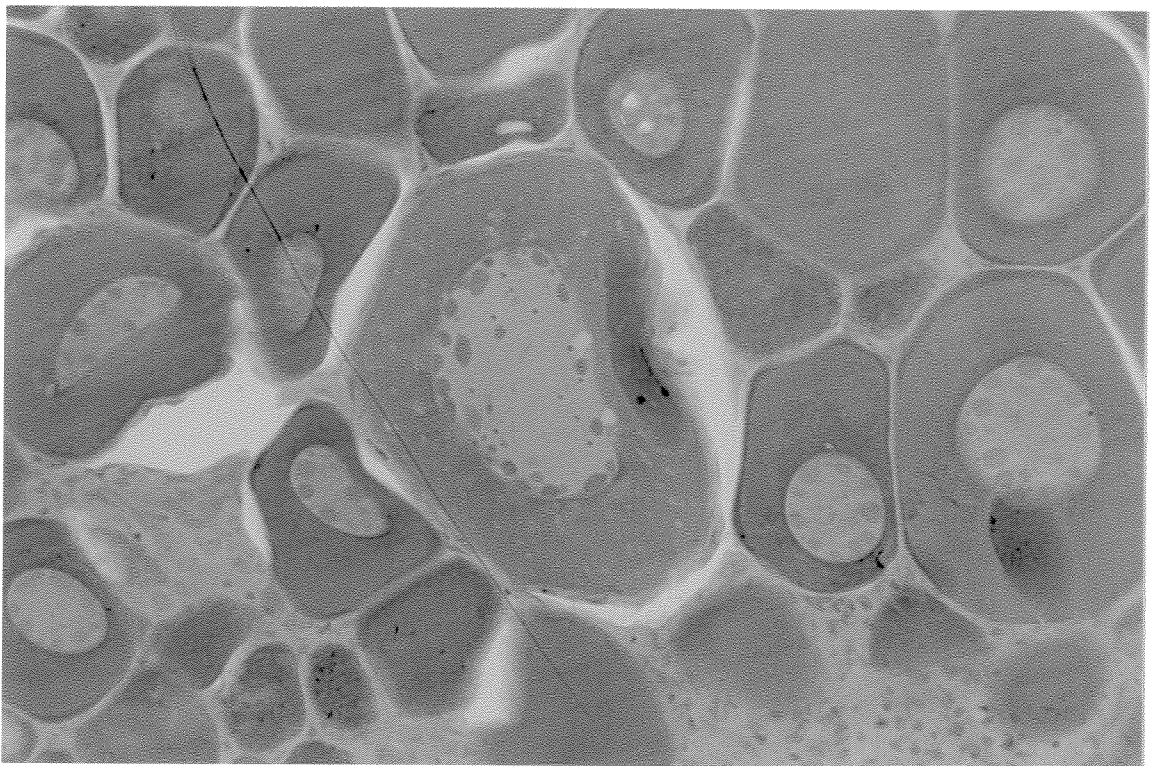
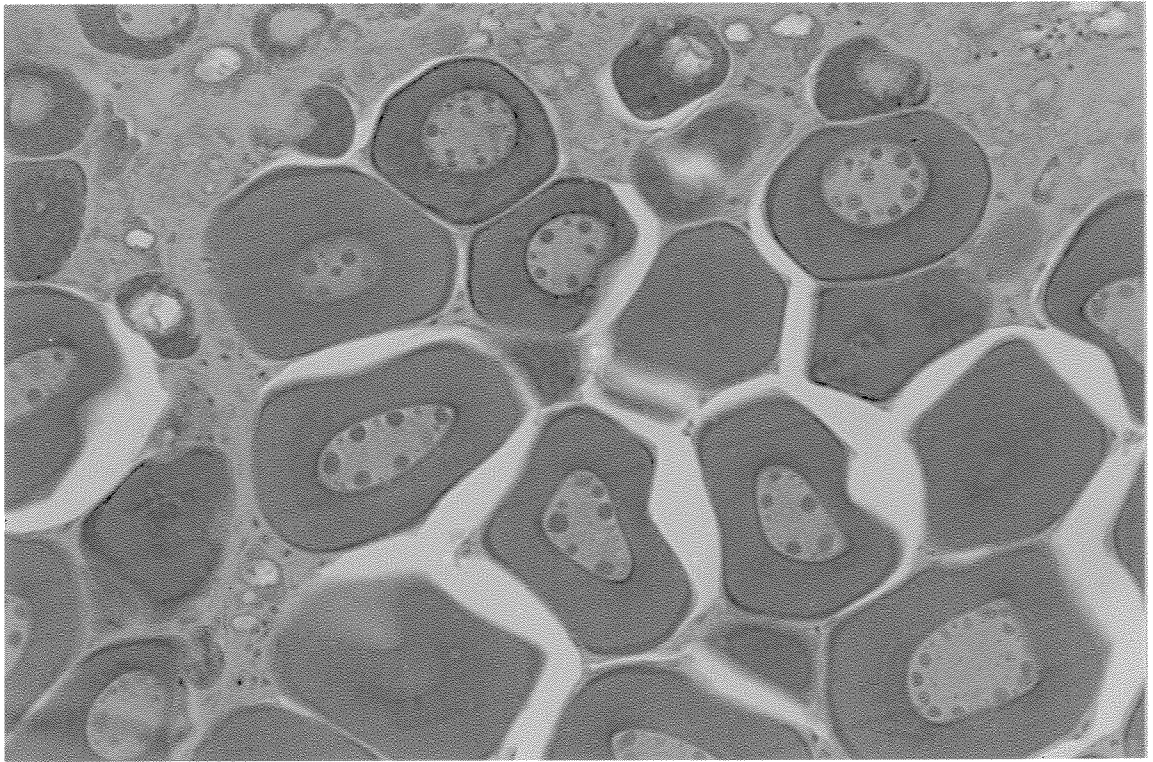
H & E X 40

Resim 20. İkinci yumurta gelişim aşamasının ilk adımı olan lipid damlacık aşamasında yumurta sitoplazmasında oluşan beyaz renkli noktacıklar olarak beliren lipid parçacıklarına sahip olmaya başlamış ve yumurta çeperi daha belirgin hale gelmiştir. Çekirdekçik sayıları daha da artmış ve sitoplazma daha az bazofilik bir grn almıştır.

H & E X 40

Ld : Lipid damlacık aşaması

l : Lipid



Resim 21. İkinci büyüme fazının en önemli aşamalarından olan protein aşamasındaki yumurtalar henüz birinci büyüme aşamasında olan bazı yumurtalarla birlikte görülmektedir. Sitoplazma/çekirdek oranı iyice azalmış ve korion tamamıyla belirgin hale gelmiştir. Lipid damlacıkları çekirdeğe yakın bölgede toplanırken kırmızımsı pembe renkteki protein taneleri sitoplazmaya dağılmış olarak bulunmaktadır.

H & E X 10

Resim 22. Protein aşamasının çeşitli evrelerine ait yumurtaların hepsi bir arada görülmektedir. Değişik protein aşamalarının arasındaki fark, artık zona radiata interna ve zona radiata ekstrena olarak adlandırılan farklı iki tabakadan oluşmuş hücresel yapıda olmayan korion ve en dışta granül hücrelerden oluşan yumurta zarının farklı aşamalardaki kalınlığı ve protein parçacıklarının büyüklükleridir.

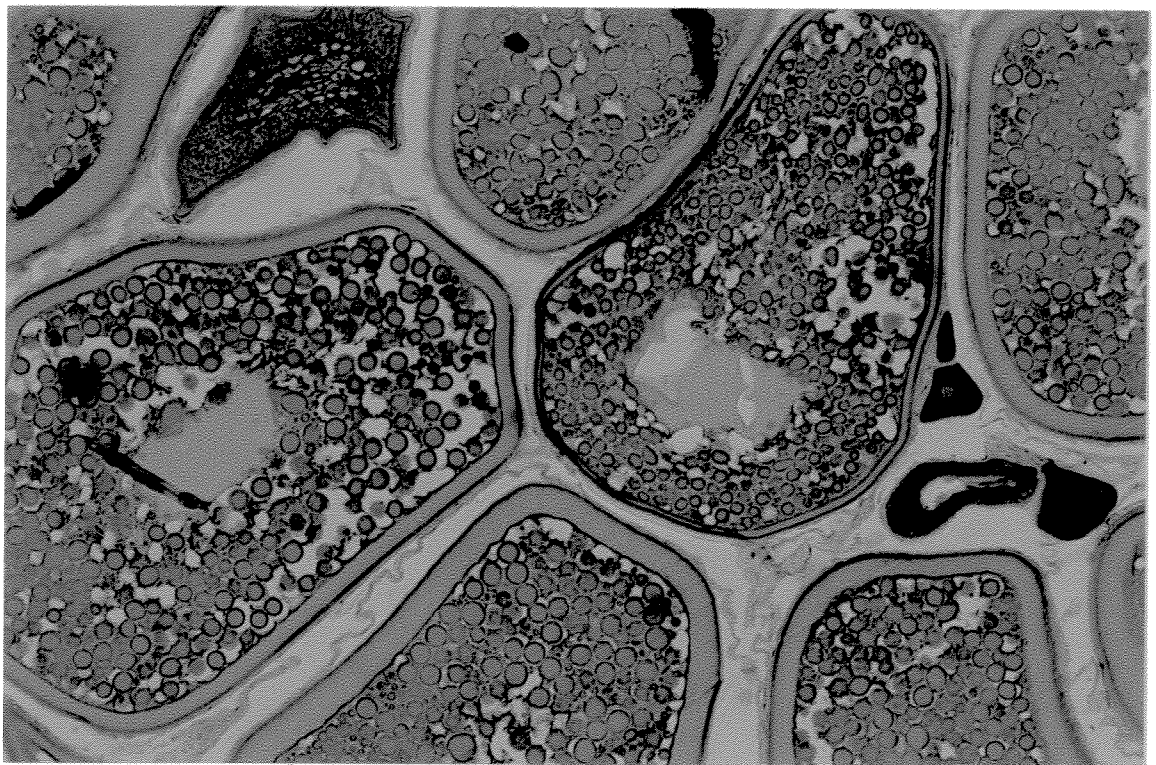
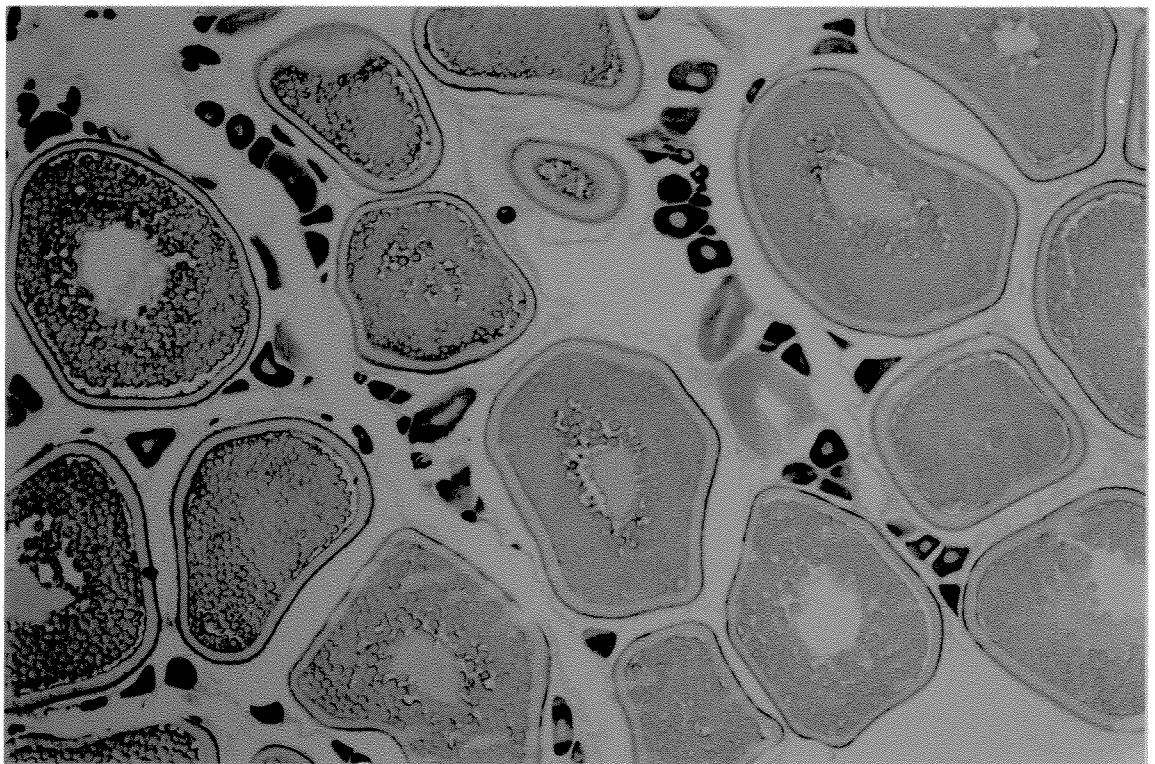
H & E X 20

N : Nucleus

Zr : Zona radiata

P : Protein damlacıkları

L : Lipid damlacıkları



İkinci protein Aşaması

Bu aşamada, protein parçacıkları hem büyüklük hem de sayı olarak daha da artmakta ve lipit parçacıkları ise artarak veya birleşerek daha büyük görünmektedir. Yumurta zarı ise ileriki aşamada daha belirgin bir hale gelecek granül hücre zona radiata interna ve zona radiata eksterna'dan oluşan üçlü yapısını meydana getirmektedir (Resim 23). İkinci protein aşamada çekirdek/sitoplazma oranı %28 olurken, yumurta büyüklüğü $382.500 \mu \pm 60.178'$ e erişmiştir.

Üçüncü protein Aşaması

Bu aşama, Lagoslarda, yumurta olgunlaşmasından hemen önceki aşama olarak ortaya çıkmaktadır. Üçüncü protein aşamasında da, çekirdek/sitoplazma oranı bir önceki aşamadakine yakın ve düşük düzeydedir (%29) ve protein tanecikleri çok yoğun olarak görülmektedir. Aynı zamanda lipit damlacıkları birleşerek bir bütün olarak gözükmekte ve yumurta zarı tipik üçlü yapısını göstermektedir (Resim 24). Bu aşamada yumurta olgunlaşmaya geçmeden önceki en büyük halini almıştır ($506.662 \mu \pm 34.448$).

Yumurtanın Olgunlaşması

Bu aşamada çekirdek mikrofıl açıklığına doğru göç etmekte ve daha sonrada parçalanarak yumurta içeriğine karışmaktadır (Resim 25, 26). Daha ileri aşamada ise yumurtanın bütün lipit ve protein içeriği karışarak homojen bir yapı almakta ve yumurtanın fazlaca büyümesinden dolayı korion çok incelmektedir.

Atresia

Atresia genellikle II. Büyüme aşamasında olan yumurtaların balığın üreme döneminden sonraki günlerde gonaddan atılmayan yumurtaların yada üreme dönemi sırasında balığın herhangi bir olumsuz çevresel etken karşısında yumurtlamayı yarıda keserek içinde vitellus birikmiş olan yumurtaları absorbe etmesiyle ortaya çıkmaktadır. Resim 27'de üreme dönemi sonunda yumurtalıktan atılmayarak emilime uğrayan yumurtanın son aşamaları görülmektedir.

Resim 23. Her üç protein aşamasındaki yumurtaların üçlü yapıdaki zarları ve protein tanecikleri arasındaki büyüklük farkları. En gelişmiş olan yumurtanın üçlü zar yapısı çok belirgin olarak görülmektedir.

H & E X 100

zre : zona radiata eksterna

zri : zona radiata interna

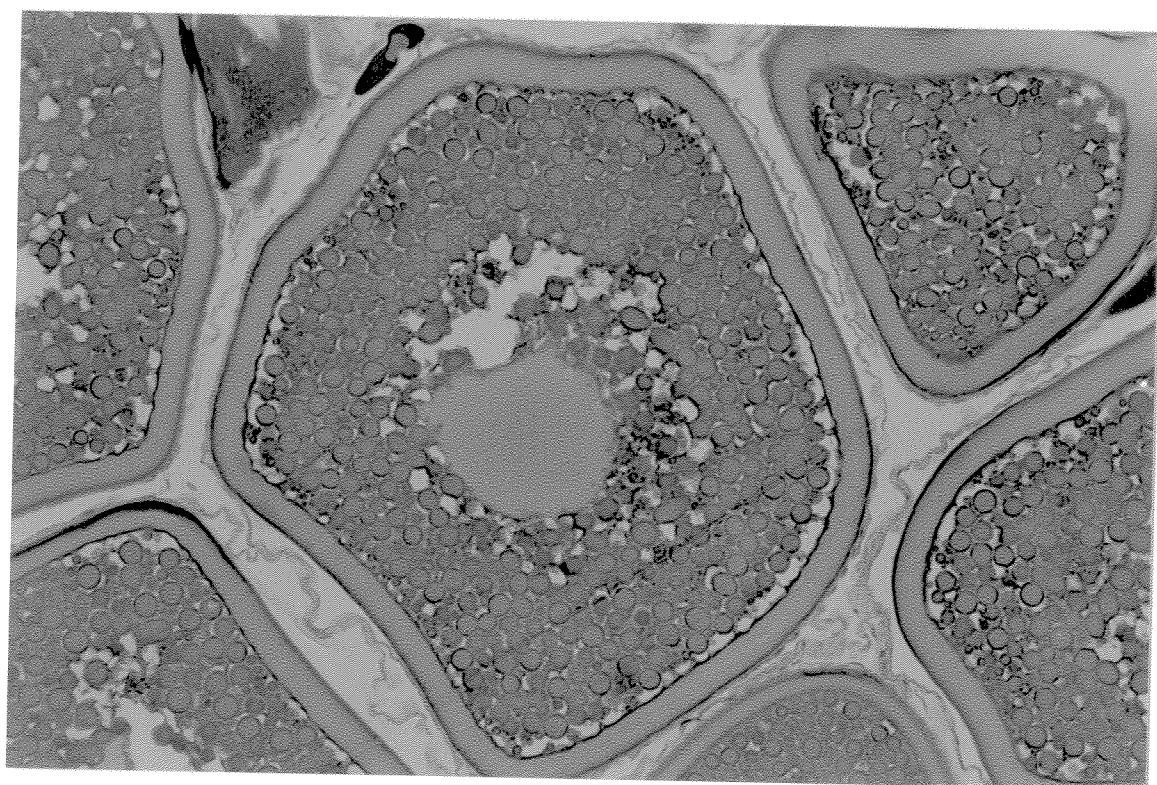
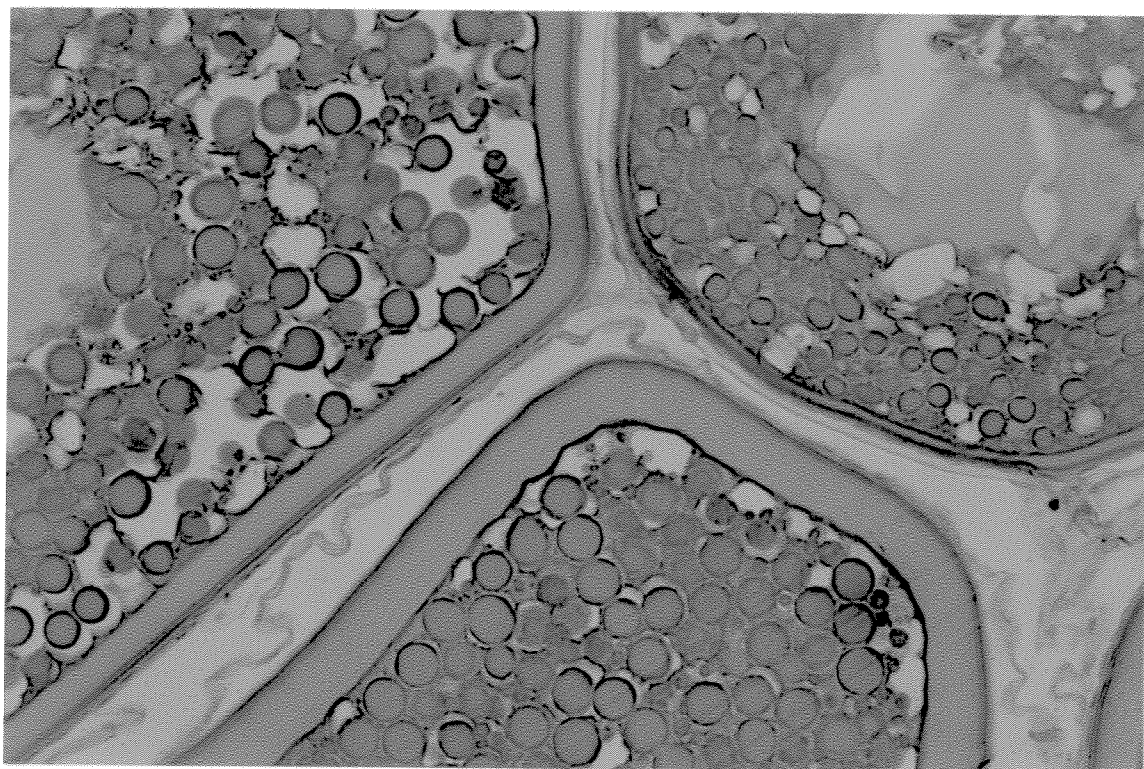
Resim 24. Üçüncü protein aşamasındaki yumurtaların genel görünüşü .

H & E X 20

N : Nucleus

P : Protein

l : Lipid



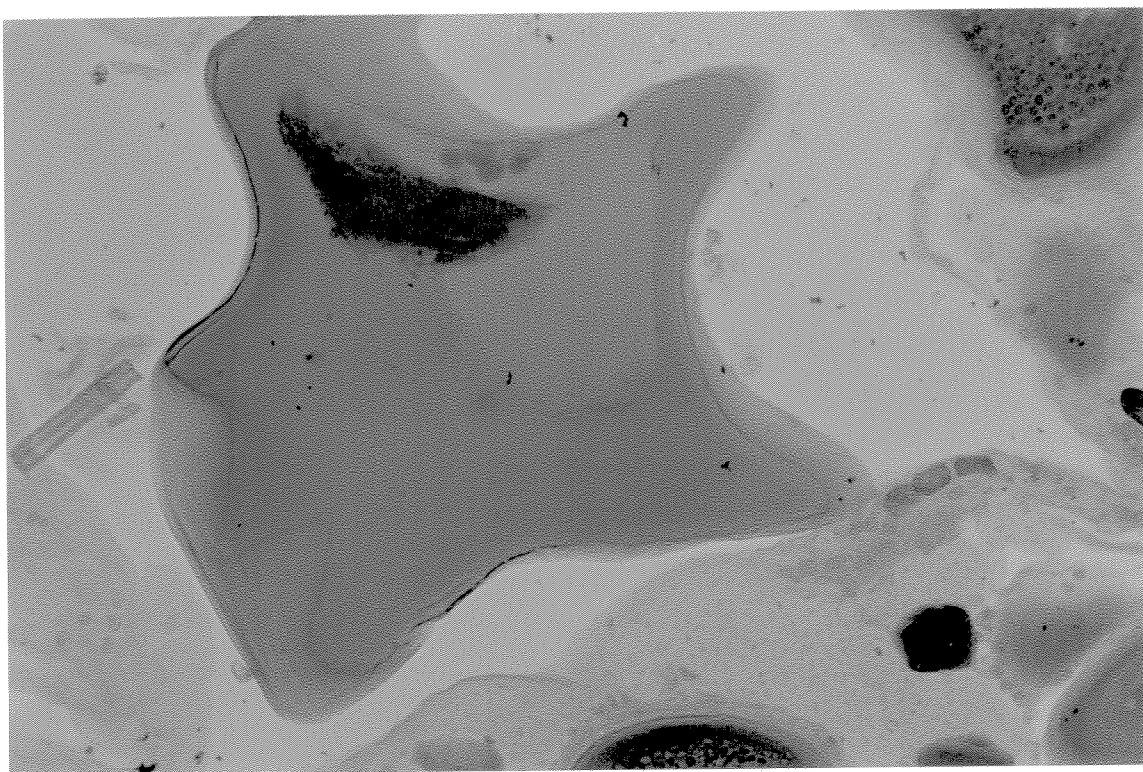
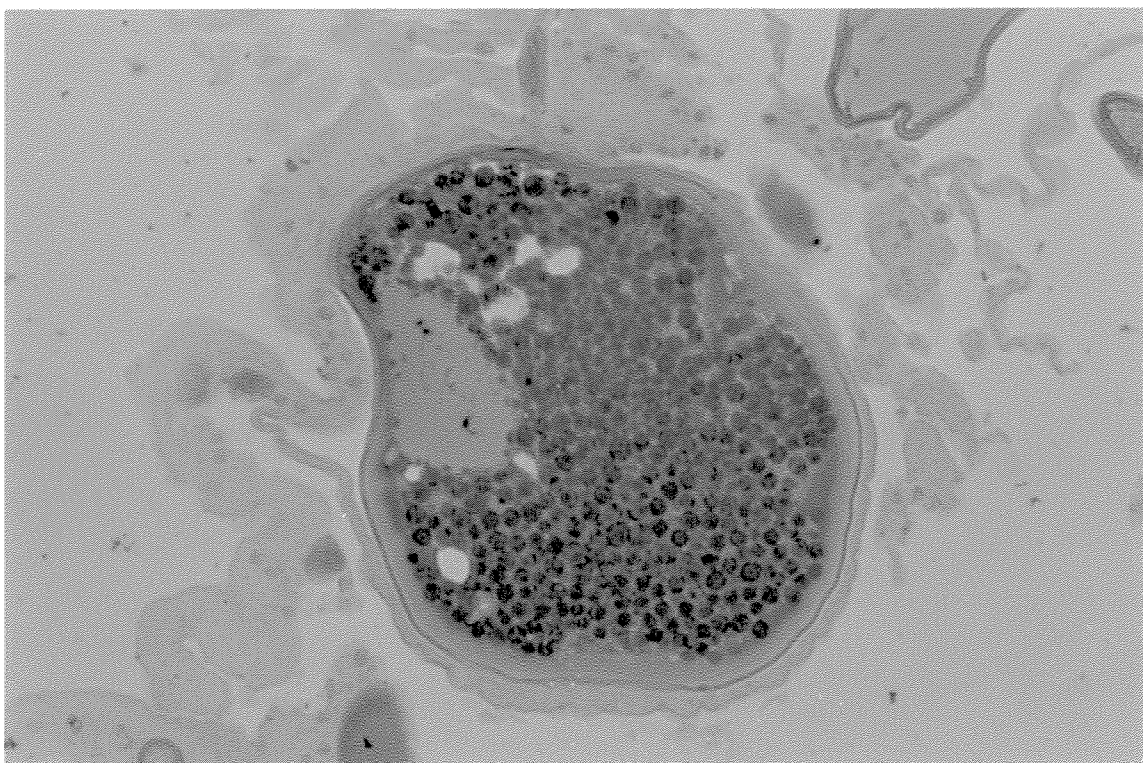
Resim 25. Olgunlaşmakta olan yumurtanın genel görünüşü. Germinal vesikül mikrofıl açıklığına doğru hareket etmiş durumda.

H & E X 20

Gv : Germinal vesikül

Resim 26. Olgun yumurta. Yumurta çekirdeğinin erimesiyle çekirdek içeriği sitoplazmaya dağılmış ve görünümünü yitirmiştir. Protein ve lipid damlacıkları tamamen karışarak yumurta homojen bir görüntü oluşmuş ve yumurta ovulasyon ve sonrasında da yumurtlanarak döllenmeye hazır hale gelmiştir.

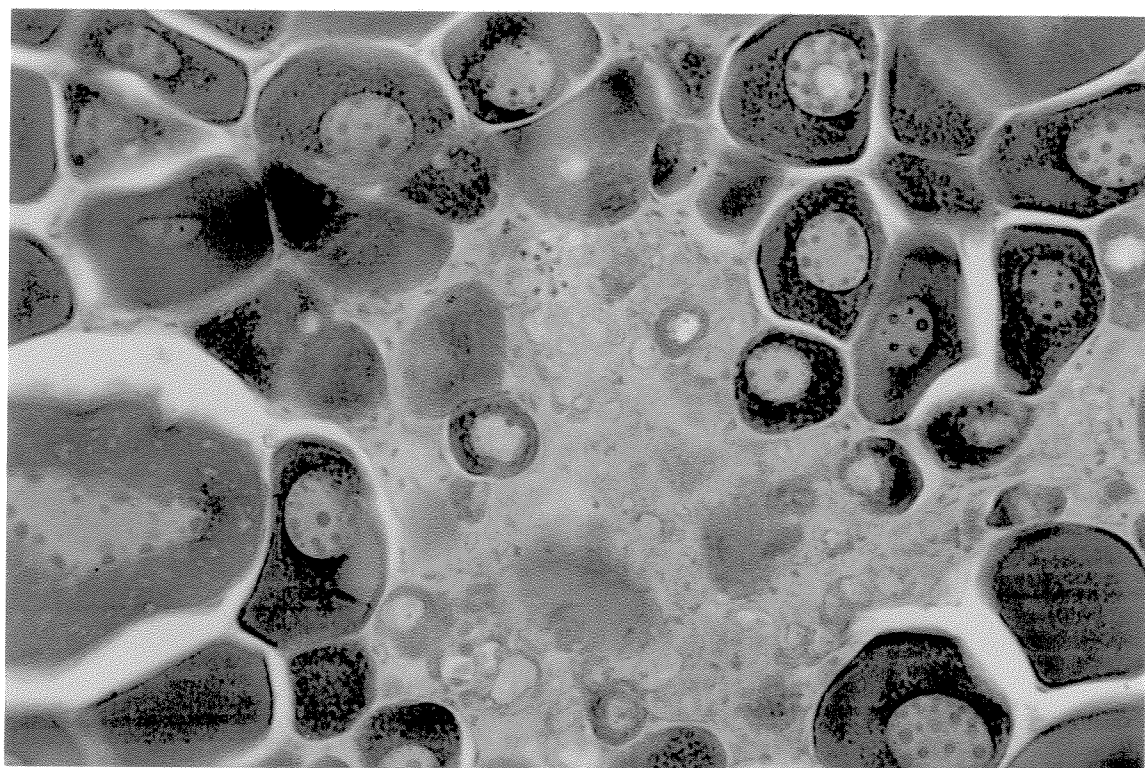
H & E X 20



Resim 27. Atrezyanın ileri aşaması. Yumurtlama sonrası (yumurtlama sezonu sonrası) vitellus içeren ama yumurtlanamayan yumurtanın emiliminin tamamlanmak üzere olduğu durum.

H & E X 20

Ao : Atretik oosit



5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Lagos (*E. aeneus*)'un hızlı büyümesi, etinin çok lezzetli olması ve dolayısıyla birim fiyatının yüksek olması gibi özellikleriyle Akdeniz'in ekonomik balık türlerinden birisidir. Bu nedenlerle son yıllarda yetiştiriciliği için önemli çalışmalar başlatılmıştır (Anonymus 1999). Akdeniz'in Türkiye sahillerinden Temmuz Ekim ayları arasında Lagosların baygın, yarı baygın veya ölü bir şekilde kıyıya vurmaları yıllardır süregelen ilginç bir olay olup araştırmada elde edilen bulgular aşağıda verildiği gibi tartışılmıştır.

Yapılan tüm incelemelerde balıkların baygın hale getirecek veya öldürecek herhangi bir etkene rastlanılmamıştır. Zaten bu kadar geniş bir alanı (Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti sahilleri dahil) kapsayacak ve yıllarca sürecektir bir salgın düşünülmesi olanaksız görülmektedir. Ayrıca böyle bir etken olsa bile diğer Serranidae familyası veya Perciformes ordosunu neden etkilememektedir? Sadece bir bireyde bulunan philometraisis ise balıkta ölüme neden olmayacak ancak üreme sistemini köreltecektir. Bunun dışında hasta olduğu düşünülen balıklardan elde edilen fotoğraflarda da görüldüğü gibi, balıklarda tüm organ ve dokular normal görünüm ve konumdadırlar. Hematolojik incelemelerde de elde edilen sonuçların normal sınırlara yakın olduğu, mikroskobik incelemeler sırasında bir görüş alanına denk gelen bölgede ise fazla sayıda monosit ve lenfosit hücreye rastlanıldığı tespit edilmiştir. Bu tespitlerin ise balığın üreme döneminden kaynaklanabilecek bulgular olabileceği düşünülmektedir. Bu nedenlerle konuyu sadece patolojik olmadığı anlaşılmıştır.

Üreme biyolojisine bakıldığında ise; Teleostlarda yumurtlama modelleri synchronus, grup synchronus ve asynchronus olarak üç şekilde açıklanmaktadır. Bu üç üreme modelinin belirlenmesinde yumurta büyüklük dağılım frekans yöntemi standart bir yöntem olarak kullanılmaktadır. Bu çalışmada elde edilen sonuçlara göre lagoslar asynchronus tip üreme göstermektedirler. Bu tip üreme modeli Akdeniz koşullarında olduğu gibi daha çok ılıman sularda görülmekte ve 2-3 aya kadar uzayabilen bir üreme periyodunda gerçekleşmektedir. Çalışmada istatistiksel bir değer taşımasına karşın, makroskopik gözlemlere dayanarak elde edilen sonuçlar lagosların yaz aylarında ve özellikle haziran ayı başlarından ağustos ayı sonlarına kadar süren bir dönemde ürediğini göstermektedir. Bu aylarda alınan gonad örneklerinden yapılan gonad histolojisi çalışmalarından bu bireylerin oldukça ileri yaşlarda üremeye başladıkları ve asynchronus üreme sergiledikleri saptanmıştır. Bu veriler yetiştiricilik açısından büyük önem taşımaktadır. Bu türün Doğu Akdeniz koşullarında yapılacak üretiminin su sıcaklığının en yüksek ve gün uzunluklarının en fazla olduğu dönemlerde yapılması gerektiğini ifade etmektedir. Yapılan histolojik çalışmalarla, oosit gelişimi boyunca Lagos yumurtalarında bir çok morfolojik değişim gözlenmiştir. Follikül epitel hücreler yumurtanın büyümesiyle daha belirgin hale gelmesine karşın,

birincil oositlerle de varlıklarını göstermektedir. Oosit gelişimiyle beraber bu hücreler mitoz bölünmeye uğramakta ve hücrel olmayan temel membranın ayırdığı granül hücreler ve teke katmanını oluşturmaktadır. Benzeri gelişimler diğer bazı teleostlar içinde saptanmıştır (Gotting, 1967; Flugel, 1967; Shackley ve King, 1977). Oosit büyümesi ve zona materyalinin oluşumu ile beraber follikül granül hücreleri mikrovilar yapılar oluşturmaktadır. Sitoplazmanın bu mikrovilar yapıları zona radiata içindeki kanalcıklara girmektedir (Ng ve Idler, 1983; Wallace ve Salman, 1985). Çeşitli araştırmacılar tarafından follikül granül hücrelerinin işlevleri belirtilmiştir. Guraya (1978), follikül hücreler içindeki yoğun sitoplazmik organellerin protein sentezinin belirtisi olduğunu bildirmiştir. Wourms (1976), zona radiatanın follikül kökenli olduğunu bildirmiştir. Shackley ve King (1977) follikül hücrelerin büyük olasılıkla vitellüsün oluşumunda taşıma veya üretim yoluyla katkıda bulunabileceklerini belirtmişlerdir.

Zona radiata oluşumu ikinci büyüme fazı boyunca oluşmaktadır. Lagos'da da diğer pek çok teleost da olduğu gibi belirgin bazı farklı bölgeler görülmektedir (Gotting, 1974; Mayer, 1987). Önceleri zona radiata homojen bir yapı gösterirken, gelişim ilerledikçe zona radiata externa ve zona radiata interna olmak üzere birbirinden farklı iki yapı görülmektedir. Yapılmış olan önceki çalışmalarda zona radiatanın karbonhidrat ve protein yapıda olduğu belirtilmiştir (Khoo, 1979; Mayer, 1987). Tam olarak bilinmemekle beraber zona radiatanın esnek yapıda filtre ve sonraki aşamalarda da inkübasyon boyunca embriyoyu koruma görevini üstlendiği tahmin edilmektedir.

Teleostlarda farklı balbiani kütlesi oluşumları gözlenmiştir. Bu yapılar levrekte olduğu gibi tek bir yuvarlak yapı (Mayer, 1988), *Tilapia nilotica*'da olduğu gibi önce yuvarlak tek bir yapı ve sonrada çekirdeği çevreleyen bir halka veya doğrudan çekirdek çevresinde oluşan bir halka yapısı olarak ortaya çıkabilmektedir. Lagoslarda görülen balbiani kütle yapısı levreklerdekine benzer bir yapıdadır.

Lipid oluşumu diğer bazı teleostlarda da görüldüğü gibi yumurta gelişiminin ikinci aşamasının ilk oluşumudur. Bu nedenle bu aşama artık gonadotropinin etkisi altında gerçekleşecek olan ikinci büyüme aşamasının ilk işareti olarak kabul edilir. Lipid oluşumu önceleri yumurta sitoplazmasında dağınık olarak oluşurken daha sonra çekirdek çevresinde artarak ve birleşerek toplanmaya başlarlar. Üretimlerinin başlangıcında lipitler çoğunlukla fosfolipid yapıdayken daha sonra bir kısım lipidin hücre dışından da taşınmasıyla trigliserid yapıya dönüşmektedir (Chopra, 1958, Guraya, 1965).

Protein taneciklerinin vitellogene katılımının başlamasıyla yumurta büyüklüğü önemli oranda artmaktadır. Vitellogenesis östrojene bir cevap olarak karaciğerden kan yoluyla yumurtalıklara taşınmaktadır (de Vlaming, 1983; Tyler ve ark., 1991; Nagahama ve ark., 1995). Diğer teleostlarla da benzer olarak, lagoslarda da protein oluşumu endogenous lipit oluşumunun

ardından önce küçük ve kırmızı tanecikler olarak yumurta ceperine yakın yerlerde oluşmaya başlamakta ve daha sonra tüm sitoplazmaya yayılarak birleşerek irileşmektedir. Bundan sonra ise Artık germinal vesicle olarak adlandırılan çekirdek, mikrofıl açıklığının olduğu yere doğru göç etmekte bunu ardından lipid ve protein tanecikleri karışarak homojen bir görünüm almaktadır. Artık yumurta ovulasyon ve yumurtlamaya hazır hale gelmiştir.

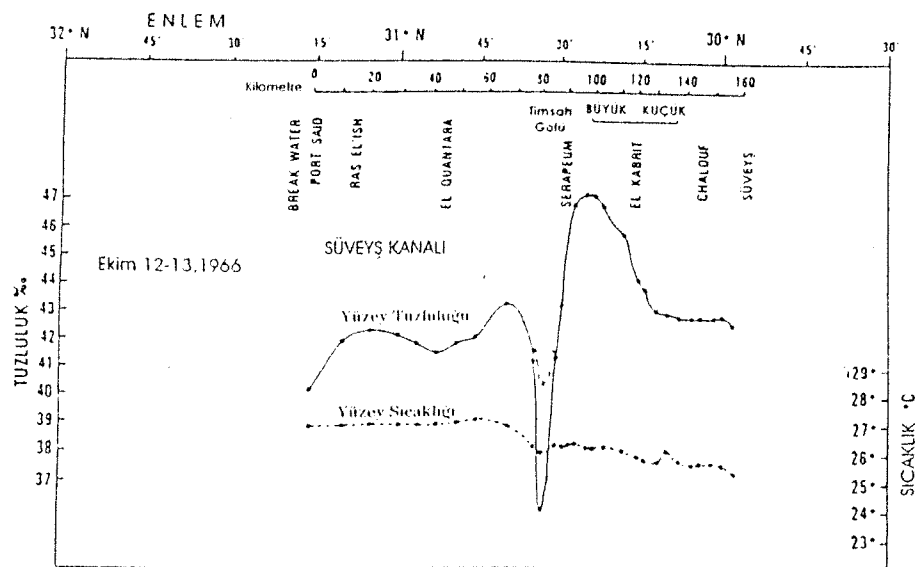
Lagosların gerek ülkemiz ve gerekse ülke dışında yüksek bir ticari değeri vardır. Birim fiyatı dönemsel olarak değişmekle beraber genellikle yoğun olarak yetiştiriciliği yapılan çipura, levrek gibi balıkların fiyatlarının çok üzerinde fiyatlarla alıcı bulabilmektedir. Ayrıca paraketa tekniği ile avlandığından yılın her döneminde avlanabilmektedir. Lagosun böylesine ticari anlamda önemli bir tür olması avcılığı konusunda talebi artırmaktadır. Bunun yanı sıra bütün Akdeniz’de ve hatta aynı genusun tropik bölgelerde de yaşayan türlerinde görülen bayılma ve sonrasında gelen ölümler de avcılıkla beraber bazı kayıplara neden olabilmektedir. Bu nedenlerle lagos ile ilgili araştırmaların desteklenerek devamlılığının sağlanması ve yetiştiriciliğinin teşvik edilmesi, hem yetiştiricilik ürünlerinin çeşitlendirilerek ekonomiye artı bir değer kazandırılması ve hem de lagos popülasyonunda bu etkilerden dolayı süregelen azalmanın önüne geçilmesi açısından büyük önem taşımaktadır.

Ancak türün yetiştiriciliği ile ilgili belli başlı zorluklar ayrı bir özen ve yatırım gerektirmektedir. Her şeyden önce bu genusa ait türlerin oldukça ileri yaş ve boylarda eşeysel olgunluğa erişmesi, aynı zamanda protogenous üreme özelliğine sahip olması (Mackie, 2000; Wyanski ve ark., 2000; El-sayed ve Abdel-bary, 1999; Brule ve ark., 1999) anaç kadronun elde edilmesi ve bunların elde tutulabilecek sistemlerin oluşturulması nispeten daha fazla yatırım ve özen gerektirmektedir. Bundan başka yumurta büyüklüklerinin 500 µ civarında oluşu hem yumurtalara müdahaleleri zorlaştırmakta ve hem de çok küçük boyda larva elde edilmesi nedeniyle larvaların beslenmesi ve yaşatılması açısından zorluklar içermektedir.

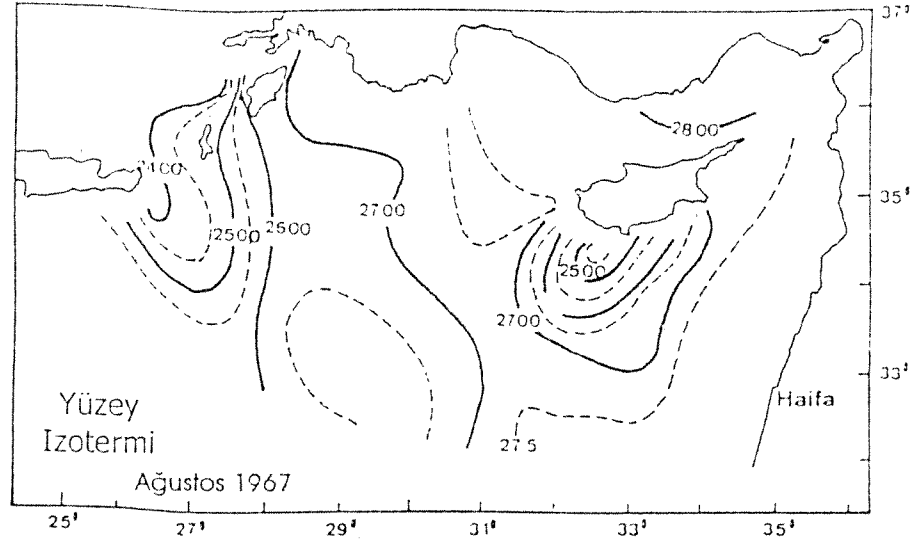
Konunun Hidrolojik ve Biyolojik yönlerden de ele alınması yararlı görülmektedir. Akdeniz’in jeolojik süresince bazı krizlerin olduğu görülmektedir. Bunlardan önemli olanlardan bir tanesi M.Ö 6000’li yıllarda olanıdır. Aşırı yağışlar sonucu Nil nehrinin taşması ve Akdeniz’e olağan üstü tatlı su girişi sonucu yüzeyde bir tatlı su filmi oluşmasına neden olmuştur. 50-60 yıllık bir süre içerisinde deniz suyu ile atmosfer arasındaki ilişkinin kesilmesi sonucu tüm canlılar yok olmuşlardır. 1952 yılında bulunan saprofel olarak bilinen seotment tabakası olayı teyit eder özelliktedir (Por, 1972). Daha sonraları ise Atlantik okyanusundan gelen soğuk iklim balıkları bir sıcak deniz olan Akdeniz’i repopule etmişlerdir. 25 nisan 1959 da yapımına başlanan Süveyş kanalı 25 nisan 1969 da Kızıldeniz ile Akdeniz’i birleştirmiştir. Düşündüğümüz bir senaryoya göre Temmuz ayından sonra iyice ısınan Kızıldeniz’in sıcak ve tuzlu suları Akdeniz’e akmakta

(Kızıldeniz Akdeniz'den ortalama 1.2 metre yüksektir) ve Akdeniz'de olası bir tabakalaşma yapmaktadır. Bu tabakaya rastlayan Lagos ve Orfoz'lar şoke olmakta ve kendilerini toparlayamamaktadırlar. Bu konuyla ilgili Kızıldeniz ve Akdeniz'e ait sıcaklık ve tuzluluk haritaları harita 2 , 3 ve 4 te görülmektedir. Ancak bunların ileri bir çalışmayla kanıtlanması gereklidir. Caveriere ve Toure (1993),1987 ve 1988 yılında çok sayıda *E.aeneus*,*E.guazo* ve *Mycteroperca rubra* bireyinin ölü veya baygın olarak su yüzeyine çıktığını,olayın her iki yılında Ekim-Kasım aylarında gerçekleştiğini bildirmişlerdir. Yapılan tüm incelemelerde patojen bir etken bulamamışlar ve olayın hidrolojik nedenlerle olduğunu vurgulamışlardır.

Harita 2. Akdeniz Levant havzasında mevsimsel sıcaklık değişimi (Oren, 1972)



Harita 3 Süveyş kanalı'nın Tuzluluk ve sıcaklık dağılımı (Miller ve Munns, 1974)



Harita 4. Akdeniz Levant havzası'nın yüzey izotermi (Oren, 1972)

Konuyla ilgili önerilerimizi ise şöyle sıralayabiliriz;

1- Lagos(*E.aeneus*)'ların daha geniş Multidisipliner bir ekiple (Hidrolog, Sedimentalog, Jeolog, Biyolog, Oşinolog, Su Ürünleri Mühendisi, Veteriner vb.) ve olanaklı olursa uluslar arası proje ve katılımlarla ele alınması acilen gerekli görülmektedir.

2- Lagos(*E.aeneus*)'un Doğu Akdeniz'de her geçen gün sayıları azalmaktadır. Soyunun tükenmesi tehdidi altında olduğu düşünülmektedir. Bu nedenle acil bir eylem planı ile stok çalışmalarının yapılması ve izlenmesi gereklidir. Sonuçlara göre avcılığın yasaklanması ilgili bakanlığa öneri getirilebilir.

KAYNAKLAR

- Anonymus, Marine Finfish Diversification, Current Situation and Prospects in Mediter. Aquaculture, *CIHEAM International Centre for Advanced Mediterranean Agronomic Studies*, pp:139 (1999)
- Brule, T., Deniel, C., Colas-Marrufo, T., Sanchez-Crespo, M., Red Grouper Reproduction in the Southern Gulf of Mexico, *Transactions of the American Fisheries Society*, 128,3, 385-402, (1999).
- Brusle-Sicard, S., Debas, L., Fourcalt, B., Fuchs, J., Ultrastructural Study of Sex Inversion in A Protogynous Hermaphrodite *Ephinephelus microdon* (Teleostei, Serranidae) [Primordial Germ cells], *Reproduction-Nutrition-Development(France)*, 32, 4, 393-406, (1992).
- Bye, V. J. The Role of Environmental Factors in the Timing of Repruductive Cycles, *In Fish Production: Strategies and Tactics*. ed: Potts, G. V., Wootthom, R. J., Academic Press London, (1989), p: 187-206.
- Caveriviere, A., Toure, D., Observations on the Death of Serranidea at the End of the 1987 Warm Season. *Study on the octopus fishing in the coastal waters of the Gambia and Senegal: Population explosion in the summer of 1986, Dakar Thiaroye Senegal Institut Senegalis de Recherches Agricoles Crodt*, (1990), pp:43-63.
- Caveriviere, A., Toure, D., Uncommon Mortality of Groupers at the End of the Warm Season in the Costal Aerea of Senegal (West Africa), *Int. Workshop on Tropical Snappers and Groupers (26-29 October) Campeche (Mexico)*, (1993) pp: 96-105.
- Cengizler, İ., Sarihan, E., Gökçe, M.A., Doğu Akdeniz'de Yaşayan Lahoz, (*Ephinephelus aeneus* ve Orfoz (*Ephinephelus gigas*) Türleri (Serranidae)'nin Pyloric Caecumlarının Yapısı Üzerine Bir Araştırma, *Eğitiminin 10. yılında Su Ürünleri Sempozyum, İzmir*, (1991) pp: 376-80.
- Cengizler, İ., Sarihan, E., Orfoz (*Ephinephelus gigas*) Ovaryumunda Rastlanılan Bir nematod (*Philometra* sp. Costa, 1985) Olgusu, *Su Ürünleri Dergisi*, 12, 1-2, 89-90, (1995).
- Chi, S. C., Lo, C. F., Kou, G. H., Chang, P. S., Peng, S. E., Chen, S. N., Mass Mortalities Associated with Viral Nervous Necrosis(VNN) Disease in Two Species of Hatchery-Reared Grouper, *Ephinephelus fuscogutatus* and *Ephinephelus akaara* (Temminck and Schlege), *Journal of Fish Diseases*, 20, 3, 185-193, (1997).
- Chopra, H. C., Morphological and Histochemical Study of Oocytes of the Fish, *Barbus ticto* (Punctius), With Particular Refence to Lipids, *Res. Bull Panjab Univ.*, 152, 211, (1958).

- Cury, P., Worms, J., Fishing Biology and Dynamics of the "Thiof" (*Ephinephelus aeneus*) in Senegal, *Doc.-Sci.-Cent.-Rech.-Oceanogr.-Dakar-Thiaroye*, 82, (1982), pp: 88.
- Cury, Ph., Roy, Cl., Seasonal Migration of Thiof (*Ephinephelus aeneus*) off Senegal: Effect of Senegalese and Mauritanian Upwellings, *Oceanaol.-Acta*, 11, 1, 25-36, (1988).
- El-Sayed, A.-F. M., Abdel-Bary, K., Repruductive Biology of Grouper Fish *Ephinephelus tauvina* (Family Serranidae) in the Arabian Gulf Waters, *Indian Journal of Marine Sciences*, 28, 1, 89-91, (1999).
- Flugel, H., Licht-und Elektronenmikroskopische Untersuchungen an Oozyten und Eiern Einiger Knochenfishe. *Z. Zeelforch. Mikrosk. Anat.*, 83, 82-116, (1967).
- Forberg, K. G., A Histological Study of Development of oocytes in Cephalin *Mollotus villosus villosus* (Muller), *Journal of Fish Biology*, 20, 143-154, (1982).
- Fukuda, Y., Nguyen, H. D., Furuhashi, M., Nakai, T., Mass Mortality of Cultured Sevenband Grouper *Ephinephelus septemfasciatus*, Associated with Nervous Necrosis, *Fish Pathology*, 31, 3, 165-170, (1996).
- Gotting, K. J., Der Follikel und die Peripheren Strukturen der Oocyten der Teleosteer und Aphibien, *Z. Zellforsch*, 79, 481-91, (1967).
- Gotting, K. J., Oocyte Ultrastructure of Oviparus Teleosts as Revealed by Freeze Etching, *8th Int. Cong. On Electron Micros.*, Canberra, 2, 668-69, (1974).
- Gökçe, M.A., *Yumurtalık (Adana) Kıyılarındaki Çipura (Sparus aurata), Karagöz (Diplodus sargus), Levrek (Dicentrarchus labrax) ve Lahoz (Ephinephelus aeneus) Populasyonlarının Gelisme Performasyonları Üzerine Bir Araştırma*, (Yüksek Lisans Tezi) Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Zootečni Anabilim Dalı, (1991).
- Gracia-Lopez, v., Castello-Orvay, F., Growth of *Ephinephelus guaza* Under different Culture Conditions, *Centre International de Hautes Etudes Agronomiques Mediterraneennes, Paris (France); FAO, Roma (Italy); Programme des Nations Unies Pour le Developpement, Tunis(Tunisia); Medrap II, Projet Mediterranéen de Developpement de l'Aquaculture. Marine Aquaculture Finfish Species Diversification, Diversification des Especies de Poissons en Aquaculture Marine, Zaragosa (Spain), CIHEAM-IAMZ*, (1995) pp:149-155.
- Guraya, S. S., A Comperative Histochemical Study of Fish (*Channa maruleus*) and Amphibian (*Bufo stomaticus*) Oogenesis. *Z. Zellforsch*, 65, 662-700, (1965).
- Guraya, S. S., Maturation of the Wall of nonmamlian vertebrates, In: *The Vertebrate Ovary*, ed: Jones, R. E., *Plenum Press, New York*, p: 261-329, (1978).

- Guraya, S. S., Recent Advances in the morphology, Cytochemistry and Function of Balbiani's Vitelline Body in Animal Oocytes, *Int. Rev. Cytol.*, 59, 249-321, (1979).
- Guraya, S. S., The Cell and Molecular Biology of Fish Oogenesis, *Monographs in Developmental Biology*, 18. Karger, (1986).
- Hassin, S., de-Monbrison, D., Hanin, Y., Elizur, A., Zohar, Y., Popper, D. M., Domestication of the White Grouper, *Ephinephelus aeneus* L. Growth and Reproduction, *Aquaculture*, 156, 3-4, 309-20, (1997).
- Jobling, M., Environmental Biology of Fishes, *Chapman & Hall*, London, (1995). pp:455.
- Johnson, A. K., Thomas, P., Wilson, R. R. Jr., Seasonal Cycles of Gonadal Development and Plasma Steroid Levels in *Ephinephelus morio*, A Protogynous Grouper in the Eastern Gulf of Mexico, *Journal of Fish Biology*, 52, 3, 502- 18, (1998).
- Kesteven, G. L., Manual of Methods in Fisheries Biology, *F.A.O. Man., Fish Sci.*, 1, (1960). pp: 152.
- Khoo, K.H., The Histochemistry and Endocrine Control Vitellogenesis in Goldfish Ovaries, *Can. J. Zool.*, 57, 617-626, (1979).
- Lampton, S.S., Gonad Maturation and Fecundity, *Fisheries Techniques*, A.F.S., Bethesda, Maryland, (1983). pp:457.
- Latif, A.F. A., Saadi, B.E., Oogenesis in the Nile Bolti, *Tilapia nilotica* L., *Bull. Inst. Ocean Fish*, Cairo, Egypt, 3, 183-202, (1973).
- Lee-KuoKau., Pathogenesis Studies on *Vibrio alginolyticus* in the Grouper, *Ephinephelus malabaricus*, Bloch and Schneider, *Microbial-Pathogenesis*, 19, 1, 39-48, (1995).
- Mackie, M., Reproductive Biology of the Halfmoon Grouper, *Ephinephelus rivulatus* at Ningaloo Reef, Western Australia, *Environmental Biology of Fishes*, 57, 4, 363-76, (2000).
- Marza, 7V. D., Histophysologie de l'ovogenese, *Hermann*, Paris, (1938).
- Matsuyama, M., Nagahama, Y., Matsuura, S., Observations on Ovarian Follicle Ultrastructure in Marine Teleost, *Pagrus major*, During Vitellogenesis and Oocyte Maturation, *Aquaculture*, 92, 67-82, (1991).
- Mayer, I., Reproductive Biology of the Bass, *Dicentrarchus labrax* L. *Unpu., Ph.D. thesis*, University of Wales, (1987).
- Mayer, I., Shackley, S. E., Ryland, J. S., Aspects of the Reproductive Biology of the Bass, *Dicentrarchus labrax* L., I. A Histological and Histochemical Study of Oocyte Development *Journal of Fisheries Biology*, 33, 609-22, (1988).

- McEvoy, L. A., McEvoy, J., Multiple Spawning in Several Commercial Fish Species and its Consequences for Fisheries Management, Cultivation and Experimentation, *Journal of Fisheries Biology*, 41, (Supplement B), 125-136, (1992).
- Miller, A.R., Munns, R. G.: The Bitter Lake salt barrier. In : l'oceanographie Physique de la Mer Rouge. Symp. Assoc. Int. Sci. Phys. Ocean. CNEXO, Serie : Actes Coll. 2, 295-309 (1974).
- Nagahama, Y., The Functional Morphology of Teleost Gonads, in Fish Physiology. ed: Hoar, W. S., Randall, D. J., Donaldson, E. R., *Academic Press*, New York, (1983). IX A., p: 223-75.
- Nagahama, Y., Yoshikuni, M., Tokumoto, T., Katsu, Y., Regulation of Oocyte Growth, Maturation in Fish, *Current Topics Dev. Biol.* 30, 104-45, (1995).
- Ng, T. B., Idler, D. R., Yolk Formation and Differentiation in the Amago Salmon, *Onchorhynchus rhodurus*, *Aquaculture*, 112, 237-251, (1983).
- Nikolsky, G. V., The Ecology of Fishes, *Academic Press*, London, (1963), pp: 352.
- Ong, B., Characteristics of Bacteria Isolated From Diseased Groupers *Ephinephelus salmoides*, *Aquaculture*, 73, 1, 7-17, (1988).
- Oren, O.H., Hornung, H.: Temperatures and salinities off the Isarel Mediterranean Coast. *Bull. Sea Fish. Res. Stn. Haifa* (59), 17 – 31 ((1972).
- Petter, A.J., Maillard, C., Ascarids of Fishes From Western Mediterranean Sea, *Bull.-Mus.-Nat. France*, 4E., -Ser. A-Zool.-Biol.-Ecol.-Anim., 9, 4, 773-98 (1987).
- Phromkunthong, W., Boonyaratpalin, M., Verakunpiriya, W., Histopathology of the Gills of Ascorbic Acid Deficient Grouper, *Ephinephelus malabaricus*, *Fish Pathology*, 28, 4, 151-9, (1993).
- Por, F. D., Lessepsian Migration, The influx of Red Sea Biota into the Mediterranean by Way of the Suez Canal, Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York, 1978, pp.215.
- Shackley, S. E., King, P. E., Oogenesis in a Marine Teleost, *Blennius pholis* L., *Cell Tiss. Res.*, 181, 105-128, (1977).
- Tyler, C. R., Sumpter, J. P. Oocyte Growth and Development in Teleost, *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 6, 287-318, (1996).
- Tyler, C. R., Sumpter, J. P., Campbell, P. M., Uptake of Vitellogenin into Oocytes During Early Vitellogenic Development in the Rainbow Trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), *Journal of Fish Biology*, 38, 681-9, (1991).
- Vidal-Martinez, V. M., Aguirre-Macedo, L., Mendoza-Franko, E. F., *Pseudorhabdosynochus yucatanensis* sp. N. (Monogenea: Diplectanidae) From the Gills of yhe Red Gouper (Pisces: Serranidae) of the Yucatan Peninsula, Mexico, *Folia-Parasitologica*, 44, 4, 274-8, (1997).

- de Vlaming, V., Oocyte Development Patterns and Hormonal Involvements Among Teleosts. In: Control Process in Fish Physiology, ed Rankin, J.C., Pitcher, T.J., Duggan, R., Croom Helm, London, Wiley, New York, (1983).
- Wallace R. A., Oocyte Growth in Nonmammalian Vertebrates, in *The Vertebrate Ovary*, ed: Jones R. E., Plenum Press, New York, (1978). pp: 469-502.
- Wallace, R. A., Selman, K., Cellular and Dynamic Aspects of Oocyte Growth in Teleosts. *Amer. Zool.*, 21, 325-43. (1981).
- Waynarowich, E., Horvath, L., The Artificial Propagation of Warm Water Finfish as a Manual for Extension, *F.A.O. Fisheries Technical Paper*, Rome, Italy, (1980). pp:201.
- Weaver, D., Fish Heads, Feeding ecology, and Life Histories: A comparison of Gulf Groupers, 24. *Annu. Benthic Ecology Meeting*, (7-10 Mar) Columbia SC – USA, (1996) p.107.
- West, G., Method of Assessing Ovarian Development in Fishes: A Review. *Aust. J. Mar., Freshwater Res.*, 41, 199-222, (1990).
- Wourms, J. P., Annual Fish Oogenesis, I. Differentiation of the Mature Oocytes and Formation of the Primary Envelope, *Dev. Biol.*, 50, 338-354 (1976).
- Wyanski, D. M., White, D. B., Barans, C. A., Growth, Population Age Structure, and Aspects of the Reproductive Biology of Snowy Grouper, *Ephinephelus niveatus*, Off North Carolina and South Carolina, *Fishery Bulletin*, 98, 1, 199-218, (2000).
- Yii, K. C., Yang, T.I., Lee, K.K., Isolation and Characterization of *Vibrio carchariae*, A causative Agent of Gastroenteritis in the Groupers, *Ephinephelus coioides*, *Current Microbiology*, 35, 2, 109-115, (1997).
- Yoawanit, D., Sathaporn, D., Diseases of Grouper (*Ephinephelus malabaricus* Bloch and Schneider) in the Eastcoast of Southern Thailand, *Proceeding of the Seminar on Fisheries (21-23 September)*, Dept. of Fisheries, Bangkok - Thailand (1988) p. 42.

TEŞEKKÜR

Bu araştırmanın her aşamasında yoğun ilgi ve desteklerini gördüğümüz TUBİTAK – TOAG sekreterliğine ve tüm çalışanlarına teşekkürlerimizi sunuyoruz.