

DURGUN SU YÖNTEMİ KULLANARAK ÇİPURA (*Sparus aurata*) YUMURTALARININ EMBRİYOLOJİK GELİŞİMİNİN İNCELENMESİ

Deniz ÇOBAN^{1,}, Cüneyt SUZER², Şükrü YILDIRIM², Birsen KIRIM¹, Şahin SAKA², Kürşat FIRAT²*

ÖZET

Bu çalışmada durgun su yöntemiyle, karanlık ortamda, farklı stok miktarları üzerine çalışılmıştır. Çalışmada 10 L'lik su sirkülasyonu olmayan inkibatörler kullanılmıştır. 4 değişik stok miktarı mevcuttur. Bu stoklar 250, 500, 750 ve 1000 yum/L'dir. Kuluçkalama işlemi yapıldıktan sonra oksijen ve sıcaklık değerleri alınmıştır. Yumurtalar 39 saatte açılım göstermiş ve yumurtadan çıkan larvalar hacimsel metotla sayılmış ve yaşama yüzdeleri hesaplanmıştır. Buna göre en iyi açılım oranı 250 adet/L'ye % 92 açılım gösteren A gurubunda tespit edilmiş, bunu 500 adet/L'ye % 86 açılım gösteren B gurubu takip etmiştir. Açılım oranı C ve D guruplarında ise % 62 ile % 59 arasında değişim göstermiştir. Durgun su yöntemi ile yapılan çalışmada bu açılım yüzdeleri bize stok miktarı artıkça açılımın düştüğünü belirtmektedir.

Anahtar Kelimeler: *Sparus aurata*, yumurta, inkübasyon, açılım oranı.

Embryonic Development of Gilthead Seabream (*Sparus aurata*) in Non-Flow Sea Water Incubation Systems

ABSTRACT

In this study, different stock densities were investigated at dark conditions by non-circulated method. Non-circulated incubators which have 10 litres-per were used and 4 different stock densities were examined in this study. These stock densities were 250, 500, 750 and 1000 egg/lit. Temperatures and oxygen parameters were measured every hour during this study. Eggs were hatched at 39th hours. Newly hatched larvae were counted by 'volume method' and viability rate was observed. The best results were found in group A which has 250 egg/lit stock density and 92% hatching rate and group B which has 500 egg/lit stock densities and 86% hatching rate. In group C and D, hatching rates were found 62% and 59%. These results show that when stock density is increased, hatching rate will decrease at same rate.

Keywords: *Sparus aurata*, egg, incubation, hatching rate.

Giriş

İnsanlar deniz ürünlerinden 1970'li yılların ikinci yarısına kadar ancak avcılık yoluyla yararlanıyordu. Bu süre zarfında günümüze kadar hatalı ve fazla avlanma, mevcut stokların süratle azalmasına neden olmuştur. Bunun üzerine ekonomik olan türlerin kontrollü olarak yetiştiriciliğe alınması gündeme gelmiştir. Deniz balıkları yetiştiriciliği ülkemizde son yıllarda hızla gelişen bir sektör olarak dikkat çekmiştir. Günümüzde yetiştiricilik genellikle iki tür üzerinde durulmakta olup bunlar çipura (*Sparus aurata* L.1758) ve levrek (*Dicentrarchus labrax* L. 1758) türleridir (Çoban ve ark., 2009). Bu türlerin yanında alternatif tür kapsamında sinarit, fangri, sivriburun karagöz, kalkan ve granyoz türlerinin yumurtadan itibaren yetiştiriciliği başarı ile yapılabilmektedir (Suzer ve ark., 2007).

Çipura, Akdeniz ve Atlantik Okyanusu'nda geniş yayılım göstermesi ve bu bölgelerde sevilerle tüketilmesinden dolayı su ürünleri yetiştiricilik sektörü içerisinde yüksek ekonomik değere sahip bir türdür. Çipura üzerine bir çok çalışma yapılmıştır, bu çalışmalar daha çok anaç bakımı ve beslemesi (Bromage and Roberts, 1995), embriyolojik gelişim

(Jennings and Pawson, 1991), larval ontogeni (Çoban ve ark., 2009) ve besiciliği (Shields, 2001) üzerinedir. Deniz balıklarında yumurtadan çıkan larvaların yaşama oranı büyük oranda yetiştiricilik koşullarına bağlıdır. Bu koşulların başında anaçların besinlerinin kalitesi, orijini, yumurta alım yöntemi (mevsim dışı yumurtlatma veya hormon müdahalesi vb.) ve inkübasyon parametreleri gelmektedir (Boulineau, 1974; Nash and Kuo, 1975 ; Polo ve ark., 1990). Özellikle mevsim dışı yumurtlatma deniz balıkları yumurtalarında yumurta boyutunda ve kalitesinde olumsuz etki yapmaktadır (Çoban ve ark., 2011). Diğer bir önemli faktörde inkübasyon sırasında ortam koşullarında meydana gelen değişimlerdir. Bu değişimlerin başında sıcaklık, tuzluluk, ışık ve suyun debisi gelmektedir. Bu parametrelerde meydana gelecek değişimler yumurta ve yumurtadan çıkan larvanın yaşama oranı üzerinde doğrudan etkilidir (Freddi, 1985; Saka ve ark., 2004a; Kamacı ve ark., 2005; Çoban ve ark., 2011). İnkübasyon sırasında meydana gelen değişimler embriyolojik gelişim basamaklarında gelişim bozukluklarına, hücresel bölünmelerde asimetriye veya yağ damlasında eksiklik fazlalık veya şekilsel bozukluklara yol açmaktadır (Jennings and Pawson, 1991; Saka ve ark.,

^{1,*} Adnan Menderes Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Su Ürünleri Mühendisliği Bölümü, Güney Kampüs, 09100, AYDIN.

² Ege Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Yetiştiricilik Bölümü, 35100 BORNOVA, İZMİR.

2006; Çoban ve ark., 2011).

Bu çalışmanın amacı durgun su yöntemi kullanarak farklı stok yoğunluklarında çipura yumurtalarının embriyolojik gelişim ve yaşama oranlarını tespit ederek optimum limitleri ortaya çıkarmaktır.

Materyal ve Yöntem

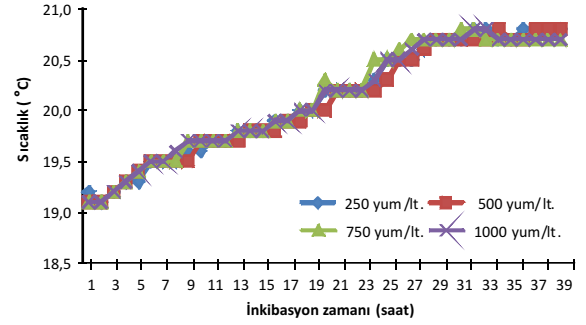
Çalışma özel bir su ürünleri üretim tesisinde yapılmıştır. Tesis bünyesindeki kapalı devre sistem ünitesinde bulunan, 4 tonluk silindir-konik tanklara deneme için hazırlanan inkibatörler konulmuştur. İnkibatör olarak 10 L'lik 8 adet plastik kova kullanılmıştır. Her bir kovaya yumurtaların homojen şekilde karışması için havalandırma konulmuş ve yumurtaların inkubatörlere sert bir şekilde çarpmayacağı oranda hava verilmiştir. Yumurta ve larvaların sayımı için 10 ml'lik ve 1 ml'lik pipet, 500 ml'lik beher ve 10 L'lik bir kova kullanılmıştır. Oksijen ve sıcaklık değişimleri dijital bir ölçüm cihazı ile saatte bir yapılmıştır. Yumurta ve larva ölçümleri mikroskopta milimetrik okülerle yapılmış ve gelişim not edilmiştir.

Doğal üreme periyodunda, sabaha karşı geldiği saptanan yumurtaların inkubatörlere alınmasıyla deneme başlamıştır. İnkibatörlere farklı yoğunlukta yumurta konmuştur. A gurubu inkibatörlere 250 yum/L, B gurubuna 500 yum/L, C gurubuna 750 yum/L, D gurubuna 1000 yum/L, olmak üzere yumurta konulmuştur. Yumurtaların sayımı hacimsel metotla yapılmıştır. Her saat başı tüm inkibatörlerden oksijen ve sıcaklık değerleri ölçülmüştür. Embriyolojik gelişimin optimum koşullarda devam edebilmesi için denemenin yapıldığı yerin sürekli karanlık olması sağlanmıştır. Yumurtalar % 90-95 açılım gösterdikten sonra ölçümler durdurulmuş açılım oranını hesaplamak için, inkibatörlerin havaları çekilerek ölü yumurta ve prelarvaların dibe çökmesi, canlı prelarvaların yüzeyde toplanması sağlanmıştır. Her inkibatördeki açılım oranını bulmak içinde hacimsel metot uygulanmış ve yaşama oranı Fisher'in Ki Kare testi uygulanarak SPSS 15.0 programı ile hesaplanmıştır. Tüm veriler Ort±S.H olarak sunulmuştur.

Sonuçlar

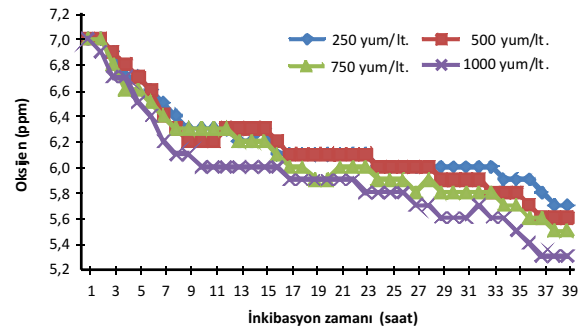
Deneme süresince ölçülen sıcaklık değişimlerinde belirli bir oranda artış gözlenmiş ve daha sonra değişiklik meydana gelmemiştir (Şekil 1). Görülen bu değişikliğin sebebi olarak, inkubatörlere taze su girişi olmadığından dolayı, ortamın sıcaklığından etkilendikleri düşünülmüştür. İnkibatörlerden ki sıcaklık değişimleri çalışmayı olumsuz yönde etkilememiştir. Sadece yumurtadan çıkma süresini kısaltmıştır. Sıcaklık hiç bir zaman letal sınırı geçmemiştir. A gurubu 250 yum/L'de sıcaklık 19,1 °C ile 20,8 °C arasında değişiklik göstermiş ve

ortalama değer olarak 20,2±0,8 °C bulunmuştur. B gurubu 500 yum./lt.'de 19,1 °C ile 20,8 °C arası değişim göstermiş ve ortalama değeri 20,1±0,8 °C olarak hesaplanmıştır, C gurubu 750 yum./lt.'de 19,1 °C ile 20,7 °C arası değişim olmuş ve sıcaklık ortalaması 20,1±0,1 °C olarak tespit edilmiştir. Son grup olan D gurubu 1000 yum./lt.'de 19,1 °C ile 20,8 °C arasında değişmiş ve ortalama değer 20,1±0,1 °C olarak hesaplanmıştır.



Şekil 1. Denemeler süresince inkibatörlerde meydana gelen sıcaklık değişimi.

Deneme süresince her saat başı ölçülen oksijen değerlerinde belirli bir değişim gözlenmiş fakat hiçbir zaman letal sınırı geçmemiştir (Şekil 2). Buna göre A gurubu 250 yum/L olan deneme grubunda değerler 7,1 ile 5,8 arasında değişim göstermiş ve A gurubunun oksijen ortalama değeri 6,2±0,1 olarak bulunmuştur. B gurubu 500 yum/L'de 7,1 ile 5,7 arasında minimum ve maksimum değerler seyretmiştir, ayrıca B gurubunun ortalama oksijen değeri 6,2±0,1 olarak hesaplanmıştır. C gurubu 750 yum/L'de oksijen değerleri maksimum 7,2 ile minimum 5,6 arasında değişmiş ve ortalama oksijen değeri 6,1±0,1 olarak hesaplanmıştır. D gurubu 1000 yum/L'de maksimum ve minimum 7,0 ile 5,4 arasında değişim göstermiş ve ortalama değerler 5,9±0,1 olarak hesaplanmıştır.

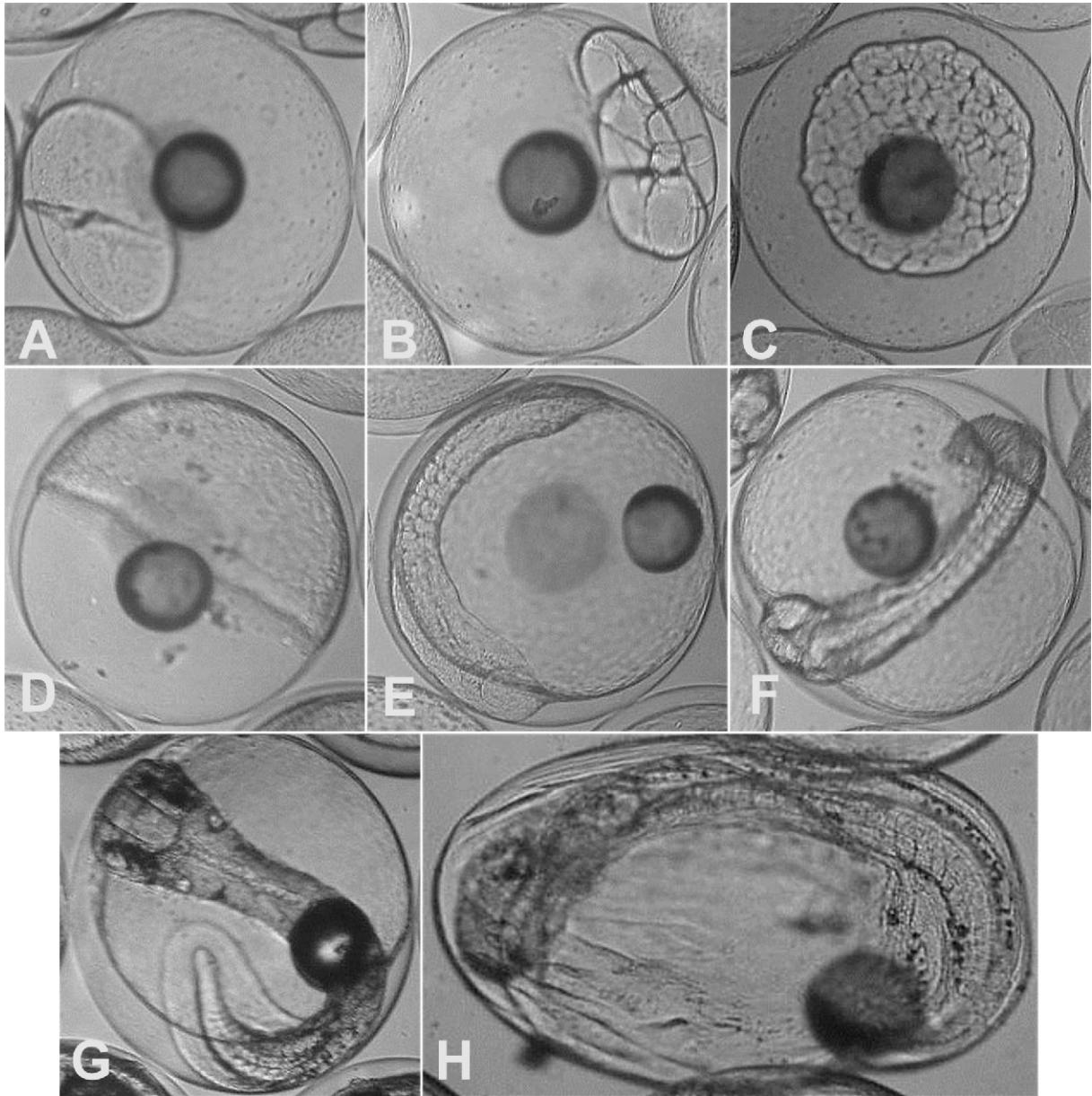


Şekil 2. Denemeler süresince inkibatörlerde meydana gelen oksijen değişimi.

İnkubasyon denemesinde kullanılan çipura yumurtalarının ortalama çapı 1,01±0,04 mm olup şeffaf ve tek yağ damlalıdır (Şekil 3). Tüm deneme gruplarında yumurtalar döllenikten 0:50 saat sonra ikili hücre bölünmesi gerçekleşmiş, dörtlü hücre

bölünmesi 1:05 saat sonra gözlenmiş ve sekizli hücre bölünmesi ise 1:45 saat sonra tespit edilmiştir. İnkübasyon süresince morula safhası yumurtalar döllenikten 2:35 saat sonra, gastrulasyon safhası ise 9:00 saat sonra gerçekleşmiştir. Deneme gruplarında döllenmeden 11:00 saat sonra nörula safhası açıkça gözlenmiştir. Yumurta içerisinde embriyo profili döllenmeden 11:40 saat sonra gözükmüş, 16:00 sonra ise 5-6 çift somit ve kupfer cisimciği tespit edilmiştir. Embriyo içerisinde ilk kalp oluşumu döllenmeden 22:00 saat sonra, premordial yüzgeç oluşumu 24:200 saat sonra gözlenmiştir. Çipura larvalarının %10'u döllenmeden 37:00 saat sonra, %100'ü ise 39:00 sonra

baş bölgelerinden salgıladıkları bir enzim yardımıyla yumurta çeperini delerek yumurtadan çıkıp pelajik formda su yüzeyinde tespit edilmişlerdir. Çipura yumurtalarının embriyolojik gelişimi üzerine yapılan çalışmada A, B, C ve D gruplarında yumurtadan çıkış oranı sırasıyla % 92, %86, %62 ve %59 olarak tespit edilmiştir. Burada A ve B grupları ile C ve D grupları arasında embriyolojik gelişim ve yumurtadan çıkıştaki yaşama oranları üzerinde istatistiki olarak herhangi bir farklılık tespit edilmemiştir ($p>0,05$) (Tablo 1). Bununla birlikte A ve B grupları C ve D gruplarından istatistiki açıdan farklı olduğu belirlenmiştir ($p<0,05$).



Şekil 3. Embriyolojik gelişim dönemleri. A, ikili blastomer; B, sekizli blastomer; C, morula; D, gastrula; E, embriyo ve somit oluşumu; F, premordial yüzgeç oluşumu; G, çıkış öncesi; H, yumurtada larva çıkışı.

Tablo 1. Farklı stok yoğunluklarına sahip *S. aurata* yumurtalarının inkibasyon parametreleri.

	A	B	C	D
İnkibatör hacmi (L)	10	10	10	10
Stok (yumurta/L)	250	500	750	1000
İnkibe edilen yumurta sayısı	2500	5000	7500	10000
İnkibasyon süresi (saat)	39	39	39	39
İnkibasyon sıcaklığı (°C)	20.08±0.55	20.06±0.54	20.09±0.55	20.08±0.54
İnkibatörlerdeki O ₂ değeri (mg/L)	6.20±0.32	6.16±0.36	6.08±0.37	5.94±0.40
Yumurtadan çıkış oranı (%)	92 ^a	86 ^a	62 ^b	59 ^b

Tartışma

Doğal üreme periyodunda anaç tanklarından elde edilen çipura yumurtaları ile yapılan denemede yumurtaların hepsi aynı safhada iken denemeye alınmıştır. Bu durum tanktaki anaçların aynı anda yumurtladıklarının bir göstergesidir. Kültür koşullarında yumurtaların bir kerede yoğun miktarda salınması türden türe farklılık göstermektedir. Genellikle sparidae familyası üyelerinin içerisinde yer alan çipura, sinarit, fangri gibi kültürü yapılan türler yumurtalarını belirli bir zaman dilimi içerisinde birden fazla bir sürede verirken, levrek anaçları yumurtasını bir kerede yoğun bir şekilde bırakır (Fırat ve ark., 2004). Genellikle yoğun miktarda yumurtlama, hiç yumurtlamamış anaç balıklarında tank içerisindeki idrar, sperm veya yumurtaların içerisindeki feromonlar ile yumurtlamaya teşvik edilir (Scott ve Vermeir, 1994). Bu şekilde anaçların yoğun miktarlarda yumurta bırakması sağlanır ve bu durum kültürü yapılan türler için önem arz etmektedir.

Denemede kullanılan çipura yumurtaları şeffaf, tek yağ damlalı ve oval şekildedir. Benzer şekilde bir çok araştırmacının tanımladığı çalışmalarda ki yumurtalara benzerlik göstermektedir (Glamuzina ve ark., 1988; Kamacı, ve ark., 2005; Saka ve ark., 2004b; Çoban ve ark., 2009). Bu durum aynı türe ait yumurtaların bir birlerine benzer özellik gösterdiğini bildirirken yumurtaların kalitesi hakkında da bilgi verebilmektedir. Kaliteli yumurta tanımı birçok araştırmacı tarafından birçok balık türünde çalışılmış ve tanımlanmıştır (Brooks ve ark., 1997; Lahnsteiner ve Patarnello, 2003; Çoban ve ark., 2009). Kısa ve en çok kullanılan tabiriyle “Yumurta Kalitesi” döllemeden yumurtadan çıkışa kadar olan dönemi sağlıklı bir şekilde tamamlayan ve bu sürecin sonunda canlı, su üstünde kalabilen larva çıkaran yumurtaya denmektedir (Kjorsvik ve ark., 1990; Brooks ve ark., 1997; Nocillado ve ark., 2000).

Anaçların yumurtlaması, yumurtaların embriyolojik gelişimi ve larval büyüme uygun su

sıcaklığına sahip tanklarda türe ve türün gelişim dönemine özgü belirli bir su akışı ile yürütülmektedir (Saka ve ark., 2004b; Çoban ve ark., 2004). İnkübasyon sıcaklığı yumurtanın embriyolojik gelişim süresine doğrudan etkide bulunurken, su sıcaklığı ile tanktaki suyun debisi yumurtanın yaşama oranını etkiler (Fırat ve ark., 2004, Kamacı ve ark., 2005). Su debisi ve uygun kuru havalandırma, yumurtaların birbirine yapışmasını engelleyerek su içerisinde bir akıntı oluşmasını ve dolayısıyla bakteri oluşumuna bağlı oluşabilecek enfeksiyon ve ölümleri engellemektedir (Çoban ve ark., 2004). İnkübasyon sırasında suni olarak oluşturulan havalandırma ve tank içerisindeki taze su girişi ile oluşan su debisi, inkibatör içerisinde bir akıntı meydana getirir. Bu akıntı ile hem yumurta ve su yüzeyi arasında gaz alışverişinin artması sağlanır, hem de inkibatör içerisinde ki biyolojik aktiviteden meydana gelen atık ürünler ortamdan uzaklaştırılır. Birçok balık yumurtası mekanik şoka karşı oldukça hassas olup, yumurtadan çıkış oranı ve yaşama oranı üzerine de doğrudan etkilidir (Saka ve ark., 2004a; Fırat ve ark., 2004; Çoban ve ark., 2004). Su debisi, stok yoğunluğu ve havalandırma miktarı ile birlikte şiddeti, yetiştiriciliği yapılan türün yumurtasının biyolojik isteklerine göre belirlenir (Saka ve ark., 2004b; Kamacı ve ark., 2005; Çoban ve ark., 2009).

Bütün bu çalışmadan çıkarılacak sonuç, her hangi bir işletmede üretim periyodu içerisinde su problemi yaşıyor ve anaçlarından bol miktarda yumurta alınıyorsa, % 86 açılım gösteren B gurubunu yani litreye 500 yumurtayı kuluçkalamak suretiyle bu sıkıntılı süreci atlatabilirler. Eğer su probleminin yanında birde yumurta kalitesi ile ilgili problem yaşıyorsa, o zaman % 92 açılım gösteren A gurubu yani litreye 250 yumurta stoklamak koşuluyla bu ticari açıdan stresli dönemi rahatlıkla geçirebilirler. C ve D guruplarında ise stok miktarı artmasına rağmen açılım oranının düşmesi ve çıkan larvalarda ilerde deformiteler ile karşılaşma ihtimalinin yüksek olması bu iki gurubun başarı oranını düşürmektedir.

Genellikle bu gibi problemlerle karşı karşıya kalan işletme sahipleri gelen yumurtaları sorun halledilinceye kadar kollektörlerde bekletip problem giderildikten sonra inkibatörlere almaktadır. Bu durum yumurtaların yarısından fazlasının ölmesine, geri kalanlarda ise deformasyonlar görülmesine sebep olmaktadır. Çipura, yumurtadan yetiştiriciliği levrek balığına kıyasla biraz daha zor yapılan bir tür olmasının yanında birde bu gibi etkenler üreticileri zor duruma sokmaktadır. İnkübasyon sırasında meydana gelebilecek aksaklıklarda işletmelerin zarar görmesi bu çalışma ile önlenmesi mümkün olabilecektir. Bundan sonraki çalışmalarda prelarval ve larval dönem için benzer çalışmalar yapılarak ortaya çıkabilecek stok yoğunluğunun oluşturulması ve ortaya çıkacak çözüm önerilerinin üreticilerle paylaşılması gerekliliği kaçınılmazdır.

Kaynakça

- Boulineau, C. F. 1974. Ponte naturelle et ponte induite par injections hormonales chez *Dicentrarchus labrax* en Captivité Collog. Aquaculture, 151156.
- Bromage, N.R., and R. Roberts. 1995. Broodstock Management and Egg and Larval Quality. Blackwell Science, USA, 424 pp.
- Brooks, S., Tyler, C. R. and Sumpter, J. P. 1997. Egg quality in fish: what makes a good egg? Reviews in Fish Biology and Fisheries, 7, 387-416.
- Çoban, D., Saka, Ş., Fırat, K. 2004. Türkiye'de ki çipura (*Spraus aurata* L., 1758) larva üretim tesislerinin anaç yönetim teknikleri. E. Ü. Su Ürünleri Dergisi, 21 (1-2) 133-138.
- Çoban, D., Kamacı, H. O., Suzer, C., Saka, Ş., Fırat, K. 2009. Allometric growth in hatchery-reared gilthead seabream. North American Journal of Aquaculture 71:189196.
- Çoban, D., Kamacı, H. O., Suzer, C., Yıldırım, Ş., Arda, G., Korkut, A.Y., Saka, Ş., Fırat, K. 2011. Effect of morphometric parameters on egg quality in *Dentex dentex*. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 11:3, 425-431.
- Fırat, M., Saka, Ş., Çoban, D. 2004. Türkiye'deki levrek (*Dicentrarchus labrax* L., 1758) larva üretim tesislerinin anaç yönetim teknikleri. E. Ü. Su Ürünleri Dergisi, 21 (1-2), 123-128.
- Freddi, A. 1985. Sea Bass (*D. labrax*) and Gilthead Sea Bream (*S. aurata*) larval rearing. F. A. O. Project Regional Mediterranean de Development de L' aquaculture, pp: 62.
- Glamuzina, B., and J. Jug. Dujakovic. 1988. Preliminary results of temperature shock effects on newly fertilized eggs of Gilthead Sea Bream (*S. aurata*, L.1758). Institute of Oceanography and Fisheries, Split, Yugoslavia, No:71, 5pp.
- Jennings, S., M., and G. Pawson. 1991. The Development of sea bass, *Dicentrarchus labrax*, eggs in relation to temperature. Journal of Marine Biology, 71: 107-116.
- Kamacı, H. O., Saka, Ş., Fırat, K. 2005. The cleavage and embryonic phase of gilthead sea bream (*Sparus aurata*, L. 1758) eggs. E. Ü. Su Ürünleri Dergisi, 22 (1-2): 205-209.
- Kjorsvik, E., Mangor-Jensen, A. and Holmefjord, I. 1990. Egg quality in fishes. Advances in Marine Biology, 26: 71113.
- Lahnsteiner, F. and Patarnello, P. 2004. Egg quality determination in the gilthead seabream, *Sparus aurata*, with biochemical parameters. Aquaculture, 237: 443-459.
- Nash, C. E., and C. Kuo. 1975. Hypothesis for problems impeding the mass propagation of Grey Mullet and Other Finfish. Aquaculture, 5: 119-133.
- Nocillado, J.N., Penafiorida, V.D. and Borlongan, I.G. 2000. Measures of egg quality in induced spawns of the Asian sea bass, *Lates calcarifer* (Bloch). Fish Physiol. Biochem., 22: 1-9.
- Polo, A., M. Yufera, and E. Pascual. 1990. Effects of temperature on egg and larval development of *Sparus aurata* L. European Aquaculture Society Special Publication 1989, Bredene, Belgium; No:10, pp. 207-208.
- Saka, Ş., Fırat, M., Çoban, D., 2004a. Development of the common dentex (*Dentex dentex*) eggs in relation to temperature. Aquaculture Research, 35, 224-231.
- Saka, Ş., Çoban, D., Fırat, M. 2004b. The study on the technology of producing sea bream (*Sparus aurata* L. 1758) larvae in marine fish hatcheries in Turkey. E. Ü. Su Ürünleri Dergisi, 21 (3-4), 215-218.
- Saka, Ş., Fırat, M., Çoban, D. 2006. Embryonic development of Common Dentex (*Dentex dentex*) Eggs. Turk. J. Vet. Anim. Sci.30; 35-40.
- Shields, R. J. 2001. Larviculture of marine finfish in Europe. Aquaculture 200:5588.
- Suzer, C., Aktülün, S., Çoban, D., Kamacı, H. O., Saka, Ş., Fırat, K. ALpbaz, A. 2007. Digestive enzyme activities in larvae of sharpnout seabream (*Diplodus puntazzo*). Comparative Biochemistry and Physiology, Part A 148: 470 477.

Sorumlu Yazar

Deniz ÇOBAN
deniz.coban@adu.edu.tr

Geliş Tarihi : 12.03.2012
Kabul Tarihi : 19.04.2012