

MELEK BALIĞI (*Pterophyllum scalare*, Schultze 1823) OVARYUMUNUN MİKROSKOPİK ÖZELLİKLERİ

Burak NALCI¹, Şehriban ÇEK^{2*}

¹ Mustafa Kemal Üniversitesi, Deniz Bilimleri ve Teknolojisi Fakültesi, 31200, İskenderun/Hatay, burak_nalci@hotmail.com

^{2*} Mustafa Kemal Üniversitesi, Deniz Bilimleri ve Teknolojisi Fakültesi, 31200, İskenderun/Hatay, sehriban101@hotmail.com

ÖZET

Bu çalışmada Amazon nehri kökenli Melek balıklarının (*Pterophyllum scalare*) ovaryumlarının morfolojik yapısı ışık mikroskobu altında incelenmiştir. Cinsel olgunluk aşamasındaki balıkların ovaryumları histolojik yöntemler uygulanarak bloklar haline getirilmiştir. Melek balığı (*P. scalare*) ovaryumunun histolojik yapısı incelendiğinde kromatin evre, nükleolus evre, perinükleolar evre, kortikal alveolar evre, vitellogenik evre ve olgunlaşma evresi tespit edilmiştir. Bu çalışmanın melek balıklarının yapay üretimi konusunda yarar sağlayacağı önerilmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Melek balığı, ovaryum, histoloji*

MICROSCOPIC FEATURES OF ANGEL FISH (*Pterophyllum scalare*, SCHULTZE 1823) OVARY

ABSTRACT

In this study, the morphological structure of ovaries of Angel fish (*Pterophyllum scalare*) which are originated from Amazon River was observed under light microscopy. Fish ovaries at the maturation stage, were mounted using by histological techniques. When the structure of the ovaries of freshwater angel fish (*P. scalare*) observed, ovaries at chromatin nucleolar, perinucleolar, cortical alveolar, vitellogenetic, and maturation stage were detected. It is suggested that, the present study will be helpful for the artificial production of Angelfish.

Key Words: *Freshwater angel fish, ovary, histology.*

1. GİRİŞ

Doğal ve akvaryum koşullarında balıkların üreme biyolojileri ile ilgili anatomik, histolojik, fizyolojik özelliklerin ve kontrol mekanizmalarının araştırılması akvaryum koşullarında üretim çalışmaları açısından oldukça önemlidir. Türkiye’de 40-50 yıllık bir geçmişe sahip akvaryum sektörü son yıllarda çok hızlı bir şekilde gelişme göstermiş ve buna bağlı olarak ithal edilen canlı türü ve miktarı da artmıştır. Ülkemiz, akvaryum balıklarının yetiştiriciliği açısından birçok tür için oldukça uygun iklim koşullarına sahiptir. Bu nedenle akvaryum hobisi içerisinde yer alan yüzlerce türün ithal edilmesi yerine ülkemizde üretilmesi tercih edilmelidir.

Ekonomik anlamda yetiştiriciliğinin yapılması gereken türlerden biri de Melek balığı (*P. scalare*)dır ve akvaryistler arasında oldukça popülerdir [1]. Tür ithal edilen akvaryum balıkları arasında önemli bir yere sahiptir. Yetişkin bir melek balığı 10-20 TL arasında bir değere sahiptir. Talebin ve ekonomik değerinin yüksek oluşu bu türün yapay yetiştiriciliğini daha da önemli hale getirmektedir. Güney Amerika'nın tatlı suları anavatanlarıdır. Doğal olarak Amazon Nehri'nin Peru'daki kollarında ve Ekvator'da bulunurlar. 15 cm ye kadar büyüebilirler. Vücutları yanlardan basıktır. Son derece zarif balıklardır ve Melek balığı adını hak etmiş bir balıktır. Seçici üretim yöntemleri ile çeşitli varyeteleri üretilmişse de en değerli olanları kırmızı gözlü olanlardır. Mavi, yeşil, sarı gibi değişik renklerde olabilirler. Neotropikal bölge kaynaklı bu tür ilk defa 1909 yılında Sigelkow tarafından Hamburg'da akvaryumda üretilmiş olup son 50 yıldır ticari olarak üretilmektedir.

Ülkemizde balıkların anatomi ve histolojileri ile ilgili; Zebra Çiklet in, *Cichlasoma nigrofasciatum* bazı üreme özelliklerinin belirlenmesi [2]. Standart laboratuvar koşullarında yetiştirilen Karabalıkların, (*Clarias gariepinus*)gonad gelişimi ve cinsiyet oranı [3]; Lagoslar da, (*Epinephelus aeneus*) üreme modeli ve gonad histolojisi [4]; İnci Kefalinde, (*Chalcalburnus tarichi*) oogenez sürecinde ovaryum foliküllerinin yapısı ve ovaryum steroid seviyelerinin değişimi [5]; Çipura'da, (*Sparus aurata*) gonadların anatomi, histolojisi ve eşeyssel steroid seviyeleri [6] gibi çalışmalar yapılmıştır. Melek balıkları üzerine ise farklı tür yemler verilerek, balıkların büyüme ve üreme performansları incelenmiştir [7, 8].Yapılan bu çalışmalarda canlı yemlerin büyüme ve gonad gelişimlerini olumlu yönde etkilediği sonuçları çıkarılmıştır. Melek balıklarının çiftleşme davranışları fazla sayıda yazar tarafından araştırılmıştır [9, 10, 11]. Yapılan çalışmalarda seçici olan cinsiyetin dişi olduğu sonucu çıkarılmıştır. *P. scalare*'nin üreme sıklığı, yumurta verimliliği ve cinsiyet oranı laboratuvar koşulları altında çalışılmıştır [12]. Çalışmada üreme döneminin Nisan ve Temmuz ayları arasında olduğu, yumurta verimliliğinin 22400 ile 90700 arasında değiştiği saptanmıştır. Yumurtlama döngüsünde eşeyssel hormonların seviyeleri ve oogenez Degani ve diğ. [13] tarafından çalışılmıştır. Yazarlar türün her bir yumurta bırakımı arasındaki süreyi 11 gün olarak kaydetmiş ve oogenezi altı farklı aşamada incelemişlerdir. Bu türün laboratuvar koşullarında üretimi zor olmamasına rağmen ülkemizde yeterli düzeyde üretilmemektedir. Türün üreme fizyolojisiyle ilgili çalışmaların artması ve türün üreme özelliklerinin ülkemiz çevre şartlarında bilinmesi üretimi arttıracaktır. Bu nedenle yeni çalışmanın amacı histolojik yöntemlerle oogenez süresince farklı gelişim aşamalarında olan oositleri inceleyerek türün yapay yetiştiriciliğine katkıda bulunmaktır.

2. MATERYAL VE YÖNTEM

Çalışma Mustafa Kemal Üniversitesi Su Ürünleri fakültesi akvaryum ünitesinde ve laboratuvarında yürütülmüştür. Temin edilen 6 adet örneğin ağırlıkları (dijital terazide), uzunlukları (1mm hassasiyetindeki kumpasta) tespit edilmiştir. Balıkların ortalama ağırlıkları;13,19± 0.5 gr, ortalama uzunlukları; 8,4±0.7 cm'dir . Balıklar 2-phenoxethanol (0.004 %) ile öldürüldükten sonra gonadları çıkarılmıştır. Gonadlar sırasıyla %10 nötr tampon formalinle fikse edildi, su ile yıkama işleminden sonra etil alkol ile dehidrasyon işlemi yapıldı. Daha sonra parafin emdirme işlemi yapıldı ve doku, kasetlere yerleştirilip parafine gömüldü. Blok haline gelen kitle mikrotom denilen aletle kesilip traşlandı. Doku örneği hemotoksilen ve eozinle boyandı. Bütün bu işlemlerden sonra örnekler ışık mikroskobunda incelenmiş ve farklı aşamalarda olan hücrelerin fotoğrafları çekilmiştir.

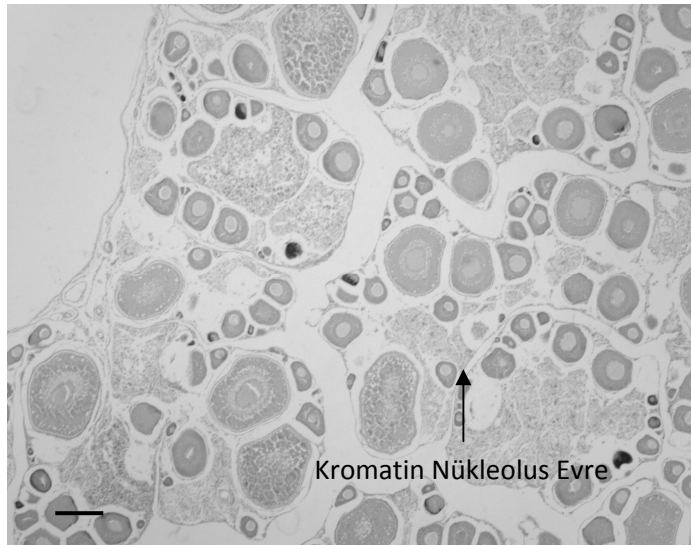
3. BULGULAR

P. scalare anaçları 26±1°C sıcaklıkta tutulmuştur. *P. scalare* de gonadlar iki bölümlü ve simetrik olarak gözlemlendi. Makroskobik olarak yapılan incelemelerde, ovaryumlar oval, kese görünümünde ve sarı renklidir.

Ovaryumların her iki lobunun da aynı büyüklükte olduğu tespit edilmiştir. Ortalama gonad ağırlıkları $3,25 \pm 2,25$ g olarak kaydedilmiştir. İncelenen ovaryumlar da oogenez süresince histolojik olarak 5 farklı evre görüldü. Bunlar: Kromatin nükleolus, Peri nükleolar, Kortikol alveolar, vitellogenik ve olgunlaşma evresidir.

3.1. Kromatin Nükleolus Evre

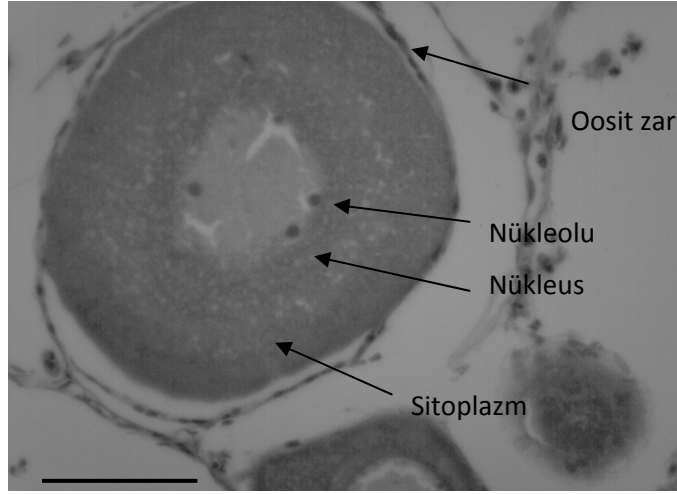
Bu evre en yaygın olarak Şubat-Mart aylarında tespit edilmiştir. Bireylerde ovaryumlarda oogonial mitoz tamamlanmış haldedir. Primer oogoniumlar bölünerek sekonder oogoniumları oluşturur. Primer oogoniumların çapları ortalama $105 \pm 0,7 \mu\text{m}$ olarak kaydedilmiştir. Sekonder oogoniumlar ise $215 \pm 1,12 \mu\text{m}$ olarak saptanmıştır. Oogoniumlar açık sarı renkli boyanan sitoplazma ve iri nükleusları görülmektedir. Stromayı oluşturan bağ dokusu hücreleri koyu boyanmakta ve nükleusları kolaylıkla ayırt edilebilmektedir (Şekil 1A).



Şekil 1A. Kromatin nükleolus evre.

3.2. Perinükleolar Evre

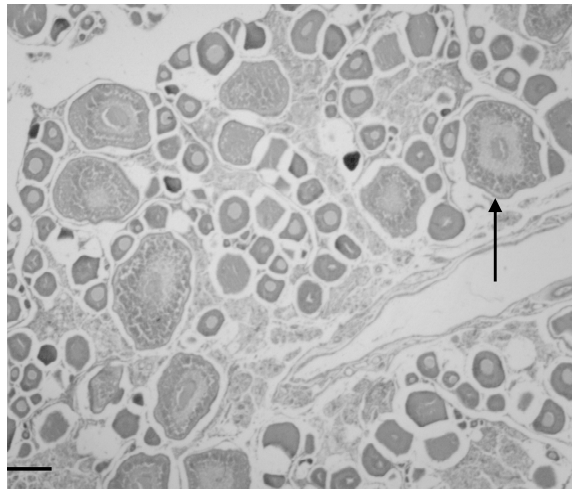
Mitoz bölünmeyi tamamlayan oogoniumlar tek tabakalı yassı hücreler ile çevrildiği ve ovaryum folikülün şekillendiği görülmüştür. Perinükleolar fazda çok sayıda nükleolus görülmektedir. Bu fazda ovaryumun her tarafında primer oositler görülmüştür. Bu hücrelerin iri nükleus ve nükleolusa göre koyu boyanan az miktardaki sitoplazmaya sahip oldukları görülmüştür. Hücreler büyüdükçe nükleus/hücre oranları da artmaktadır. Perinükleolar evrede oositlerin çapı ortalama $328 \pm 1,25 \mu\text{m}$ olarak ölçülmüştür (Şekil 1B).



Şekil 1B. Perinükleolar evre.

3.3. Kortikal Alveolar Evre

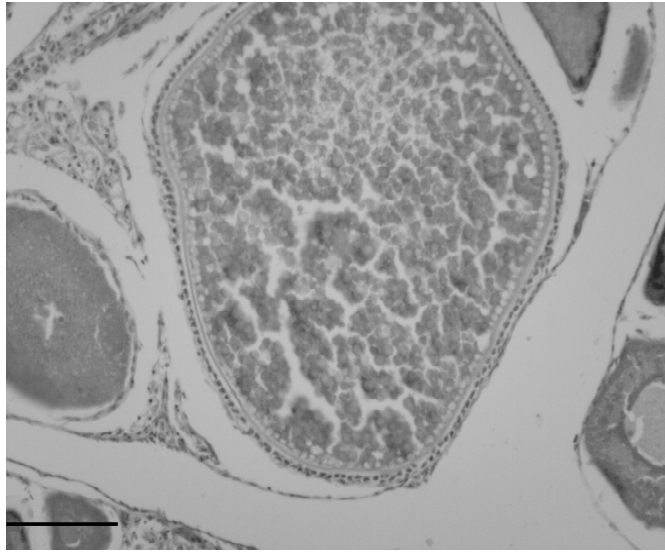
Hücre zarının altında alveollerin görülmeye başlaması ile tanımlanmıştır. Bu evrede, oosit plazmasında (ooplazma) periferden başlayarak kortikal alveoller izlenmiştir. Evre ilerledikçe kortikal alveoller çoğalmış ve oositin içini tamamen doldurmuştur. Nükleus şeklinde ve nükleus zarında düzensizleşme görüldü. Nükleolusların nükleus çeperinden ooplazmaya doğru itildiği gözlemlendi. Vitellin membranının bu evrede şekillendiği izlendi. Nükleus genişlemiş ve düzensiz bir şekil almıştır. Bu fazda oositler büyümeye devam ederken, nükleus büyümesinin durduğu görülmüştür. Perinükleolar fazın sonunda zor görülen nükleoluslar, bu fazda daha belirgin hale geldiği kaydedilmiştir. Bu evrede oositleri ortalama $590 \pm 2,25 \mu\text{m}$ oldukları görülmüştür (Şekil 1C).



Şekil 1C. Kortikal alveolar evre.

3.4. Vitellogenik Evre

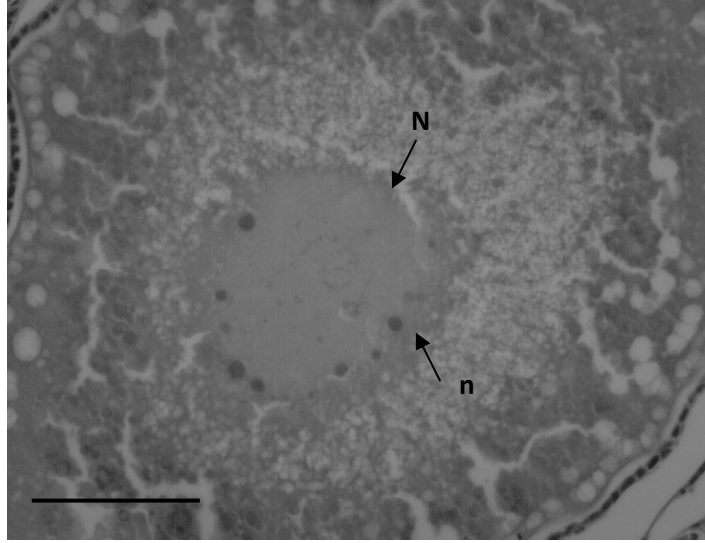
Oosit büyüklüğünün arttığı gözlemlenmiştir. Oosit boyutundaki bu artış stoplazmada gözlenen çok sayıdaki besin birikimiyle uyumlu bulunmuştur. Kortikal alveoller periferde doğru ilerlemiştir. Kortikal alveolar evrede görülen granüler yapılar hücre merkezinde daha iri yapılı ve düzensiz şekilde görülmektedir. Vitellogenik fazın başlaması ile ovaryum zarının histolojik yapısı değişmekte, germinal epitel hücrelerin kübik formdan silindirik forma dönüştüğü gözlenmiştir. Vitellogenik evrede oositlerin ortalama $900 \pm 0,79 \mu\text{m}$ çapında oldukları görülmüştür (Şekil 1D).



Şekil 1D. Vitellogenik evre.

3.5. Olgunlaşma Evresi

Bu faz nükleusun animal kutba göçüyle tanımlanmaktadır. Bu fazda nükleus şeklini kaybetmekte, zarı parçalanmakta, nükleoluslar sitoplazma içine dağılmaktadır. Sitoplazmadaki besin granülleri de besin kitlesini oluşturmaktadır. Alveollerin hücre zarının altında bir tabaka şeklinde toplandıkları görülmektedir. Olgunlaşma fazının sonunda yumurta şekillenmektedir. Ovaryum zarındaki germinal epitelyum hücreleri silindirik formda görülmüştür. Olgunlaşma evresinde oositlerin ortalama çapları $1500 \pm 1,01 \mu\text{m}$ olarak kaydedilmiştir (Şekil 1E).



Şekil 1E. Olgunlaşma Evresi.

Şekil 1. Melek balığı, *Pterophyllum scalare* gonatlarından alınmış ve Haematoksilen-Eosin ile boyanmış farklı gelişim aşamalarında olan oositler verilmiştir. 1A) Kromatin nükleolus evre, skala= 150µm, 1B), Perinükleolar evre, skala= 250 µm, 1C) Kortikal alveolar evre, skala= 175 µm, 1D) Vitellojenik evre, skala= 200 µm, 1E) Olgunlaşma evresi., skala= 250 µm. N, nükleus; n, nükleolus.

4. TARTIŞMA VE SONUÇ

Olgun *P. scalare* fertlerinde ovaryumlar kolayca ayırt edilmiştir. *P. scalare* de ovaryumların histolojik yapısı birçok balık türünde olduğu gibidir. Genç oositler incelenen ovaryumların her safhasında görülmektedir. Olgun bireyler de farklı gelişim safhasında yumurtalar bulunmaktadır. Bu bulgular *P. scalare*’de asenkronize veya çoklu yumurtlama modeli görüldüğüne dair kanıt teşkil etmektedir. Kemikli balıklarda üç üreme modeli görülmektedir [14]. Senkronize üreme modelinde gonadlardaki tüm oositler aynı gelişim aşamasındadır ve bu tür balıklarda bir kez yumurtlama görülür. Bu üreme modeli pasifik salmonlar ve yılan balıklarda görülmektedir. Grup senkronize modelde ovaryumlarda farklı iki gelişim evresinde olan oositler görülür ve yumurtlama dönemi nispeten daha uzundur [14]. Asenkronize modelde ise gonadlarda oositlerin tüm gelişim aşamaları görülür ve bu türler yumurtalarını partiler halinde uzun bir döneme yayarak bırakırlar. Bir türün laboratuvar şartlarında yetiştiriciliğinin başarısı için yumurtlama modelinin bilinmesi elzemdir. Yoğun yetiştiricilikte başarıyı artırmak için türün yumurtlama modeli esas alınır. Olgun *P. scalare*’nin gonadlarında tüm gelişim aşamalarında olan oositlerin görülmesi bulgusu, yapılan önceki çalışmalarla uyum göstermektedir [12, 13].

Yapılan histolojik çalışmalarda oosit gelişimi boyunca *P. scalare* oositlerinde morfolojik değişim gözlenmiştir. Oositlerin vitellogenesis evresinde lipid ve protein oluşumu dikkat çekmektedir. Olgun yumurta hücrelerinde protein granülleri ve lipid damlacıklarının sayı ve büyüklükleri artmıştır. Folikül epitelyum hücreleri olgun yumurta hücrelerinde daha belirgin hale gelmiş olmalarına rağmen primer büyüme evresinde varlıkları gözlenmemiştir. Wourms [15], zona radiatanın folikül kökenli olduğunu ifade etmiştir. *P. scalare*’

de zona radiatanın ilerleyen evrelerde oluştuğu saptanmıştır. Bu sırada oosit yüzeyinde sıralanmış folikül hücreleri belirlenmiştir.

Yeni çalışmada, farklı gelişim aşamalarında olan oosit çapları ölçülmüş ve çapların 105 ile 1500 µm arasında değiştiği görülmüştür. Bu sonuç Mazumda ve diğ 'nin [12] yapmış oldukları çalışmaların sonucu ile kıyaslandığında bizim çalışmamızda olgun aşamada olan yumurtaların daha küçük çaplı oldukları saptanmıştır. Bu sonuç farklı çevre şartlarından (beslenme, stres, su kalitesi parametreleri) kaynaklanabilir. Ayrıca çalışmada kullanılan anaçların büyüklükleri de yumurta çapı üzerinde etkili olan faktörlerdendir [16]. Büyük boylu anaçların büyük çaplı yumurtalar üretebildikleri yapılan çalışmalarda kanıtlanmış ve anaç boyu ile yumurta çapı arasında doğrusal bir ilişkinin olduğu ileri sürülmüştür [16]. Genetik faktörlerde oosit çapları üzerine etkili olan diğer faktörlerdendir. Balıklarda en son aşamada olan oosit çaplarını ölçmek oldukça önemlidir çünkü balıkları yumurtlatmak amacıyla hormon uygulamaları yapılmaktadır. Ancak yumurtlatmak amacıyla kullanılacak olan hormonlar kannülasyon yöntemi ile oosit çapları ölçülüp en son gelişim aşamasına gelmiş olan dişi anaçlar belirlendikten sonra hormon uygulamaları yapılır. Çalışmamızda en son gelişim aşamasında olan oosit çapları 1500±1,01µm olarak ölçülmüştür. Oosit çapı bu değer altında olan dişi anaçları yumurtlatmak amacıyla hormon uygulanmamalıdır. Oosit çapı 1500±1,01µm ve üzeri olan anaçlara uygulamanın yapılması önerilmiştir. Sonuç olarak *P. scalare*' de ki ovaryum gelişimleri 5 farklı aşamadan oluşmaktadır. Diğer balık türleri için yapılmış çalışmalarla uyumlu olduğu gözlenmiştir [2, 4, 12,13]. Yumurta gelişiminin temel özellikleri bu türde de göze çarptığı kaydedilmiştir. Elde edilen bulguların ileride diğer akvaryum balık türlerine de uyarlanabileceği düşünülmektedir.

TEŞEKKÜR

Melek (*P. scalare*) balıkları İskenderun Amanos Akvaryum, Fahri NALCI' dan ücretsiz temin edilmiştir.

KAYNAKÇA

- [1] Türkmen, G., and Alpbaz, A. Türkiye'ye ithal edilen akvaryum balıkları ve sonuçları üzerine araştırmalar. E.Ü.SuÜrünleri Dergisi, E.Ü. Turk J Fish Aquat Sci. 18(3-4), 483-493 (2001).
- [2] Çek, Ş. , N. R. Bromage, C. Randall and K. Rana. Oogenesis, hepatosomatic indexes, and sex ratio in Rosy barb (*Puntius conchoni*). Turk J Fish Aquat Sci. 1, 133-141(2001).
- [3] Çek, Ş. , Turan , F. & Atik , E. The effects of gokshura, Tribulus terrestris on sex differentiation of Guppy *Poecilia reticulata*. Pakistan J. Biol. Sci. , 10(59), 718-725(2007).
- [4] Gökçe, MA., İ. Cengizler; A. A. Özak. Gonad Histology and Spawning Pattern of the White Grouper (*Epinephelus aeneus*) from İskenderun Bay (Turkey). Turk J. Vet. Anim. Sci. 27, 957 – 964(2003).
- [5] Ünal, G. Çetinkaya.O. M. Alp Histological Investigation of Gonad Development of *Chalcalburnus tarichi* (p., 1811). Turk. J. Zoology, 23 (1), 329 – 338 (1999).
- [6] Çek, Ş. and Gökçe, M.A., The Effects of [D-Ala⁶Pro⁹NET]-LHRHa and LHRHa + Pimozide on Plasma Sex Steroid Profiles in Adult Female Sea bream (*Sparus aurata*) Pakistan Journal of Biological Science, 9(8), 1486-1491 (2006).

- [7] Degani, G. and Yehuda, Y. Effects of diets on reproduction of angelfish, *Pterophyllum scalare* (Cichlidae), Indian J. Fish., 43(2): 121-126 (1996).
- [8] Kasiri, M., Farahi, A., and Sudagar, M. Growth and reproductive performance by different feed types in fresh water angelfish (*Pterophyllum scalare* Schultze, 1823). Veterinary Research Forum. 3(3): 175-179 (2012).
- [9] Yamamoto, M.E., Chellappa, S., Cacho, M.S.R.F., and Huntingford, F.A. Mate guarding in an Amazonian cichlid *Pterophyllum scalare* J. Fish Biol. 55: 888-891 (1999).
- [10] Cacho, M.S.R.F., Chellappa, S., and Yamamoto, M.E. Reproductive success and female preference in the amazonian cichlid *Pterophyllum scalare* (Lichtenstein, 1823). Neotropical Ichthyology. 4(1): 87-91 (2006).
- [11] Araújo, A.S., Nascimento, W.S., Yamamoto, M.E. and Chellappa, S. Temporal Dynamics of reproduction of the Neotropical fish, *Crenicichla menezesi* (Perciformes: Cichlidae). The Scientific World Journal. Doi: 10.1100/2012/579051 (2012).
- [12] Mazumder, F., Nargis, A., Amin R. and Khatun M. Reproductive periodicity, fecundity, sex ratio and parental care of Angelfish *Pterophyllum scalare* (Perciformes: Cichlidae) under laboratory condition. J. Adv. Sci. Res. 4(3): 06-11 (2013).
- [13] Degani, G., Boker, R., Gal, E., and Jackson, K. Oogenesis and steroid profiles during the reproductive cycle of female angelfish *Pterophyllum scalare* (Cichlidae). Indian J. Fish. 44(1): 1-10 (1997).
- [14] Wallace, R.A and Selman, K. Cellular and dynamic aspects of oocyte growth in teleost. Am. Zool. 21: 325 (1981).
- [15] Wourms, J.P. Annual fish oogenesis. I. Differentiation of the mature oocytes and formation of the primary envelope. Dev. Biol. 50, 338-354. (1976).
- [16] Bromage, N.R. Broodstock management and seed quality- General considerations. In: (Bromage, N.R and Roberts, R.J). Broodstock Management and Egg and Larval Quality. Blackwell Science, 1995 page :6-23.