

Çipura (*Sparus aurata* L.) Larvalarında Otolitlerin Günlük Gelişimi

Gülnur Metin¹, Cüneyt Süzer², H. Tuncay Kınacıgil¹, Akın T. İlkyaz¹

¹ Ege Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi, Avlama ve İşleme Teknolojisi Bölümü, 35100
Bornova, İzmir, Türkiye

² Ege Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi, Su Ürünleri Yetiştiriciliği Bölümü, 35100 Bornova, İzmir, Türkiye

Abstract: *Daily growth of otoliths on gilthead sea bream (Sparus aurata L.) larvae.* In this study, daily growth of otoliths was observed on gilthead seabream larvae when 1-65 days old, under the controlled conditions. In daily sampling, standart length of larvae and two different otolith, sagittae and lapillus, lengths were measured. Power regression analysis was applied on determining the lengths of larvae between sagittae and lapillus. Result of the analysis, it was found a positive relationship, allometrically. It was also tried to determine the daily growth rings on otoliths and to be present of daily growth ring of lapillus as well as sagittae was also observed.

Key Words: *Sparus aurata*, Larvae, Otolith, Daily growth.

Özet: Bu çalışmada çipura larvalarının otolitlerindeki günlük gelişimler kontrollü şartlar altında yetiştirilen 1-65 gün arasındaki bireylerde gözlenmiştir. Günlük olarak alınan örneklerde standart boy ile iki farklı otolit türü sagitta ve lapillus boyları ölçülmüştür. Larva boyu-sagitta boyu ve larva boyu-lapillus boyu arasında, power regresyon analizi sonucunda pozitif allometrik ilişki olduğu tespit edilmiştir. Otolit incelemelerinde günlük yaş halkalarında gözlenmeye çalışılmış ve sagittada olduğu gibi lapillusta da günlük halka oluşumunun mevcut olduğu görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: *Sparus aurata*, Larva, Otolit, Günlük gelişim.

Giriş

Özellikle ergin bireylerde mevsimsel oluşan halkaların sayılmasına dayanan yaş belirleme çalışmalarına son yıllarda günlük yaş halkalarının belirlenmesinde eklenmiştir. Panella (1971,1974) larval otolitlerde otolitteki artışın varlığını ispatlamış, Brothers ve diğ.(1976), ilk kez otolitlerde günlük yaş okuma tekniğini ortaya koymuştur. Daha sonraki çalışmalarda ise halka birikiminin günlük artış oranları tespit edilmiştir (Ré 1984, Geffen 1982, Campana ve Neilson 1982, Dulcic 1993,1998). Metin ve diğ., (1998) levrek larvalarında otolitlerin çıkarılması ve günlük yaş halkalarının gözlenmesi üzerine çalışmışlardır.

Larvalarda mikroartışlar bir organik matrikste periyodik olarak biriken kalsiyum karbonat kristali tabakalarından oluşur. Biriken kristal tabakalara “artış zonu” ve kesikli kristal şekline “kesikli zon” adı verilir (Campana ve Neilson 1985). Bu iki ardışık zon ışık altında açık (artan) bant ve koyu (kesik) bant olarak görülür. Günlük artış periyodu, her 24 saat veya hergün için iki parçanın birleştiği zaman anlamındadır (Geffen 1987). Brothers (1978), artışın otolit özelliğine göre kısa periyotlu (1 günden kısa), Panella (1971) ise gelgit dönemi yada kamer ayında uzun periyotlu olabileceğini belirtmişlerdir.

Brothers (1979), larval otolit çalışmalarını genel olarak, günlük yaş

halkalarının sayımı ve halka yapısının karakteristiğini araştırmak şeklinde iki grup altında toplamaktadır. İlk grup; yaş ve büyüme çalışmalarında, günlük gelişim oranlarının çözümlenmesinde, yumurta- dan çıkış zamanı ve ölüm çalışmalarında değerlendirilir. Halka karakteristiği yani halka kalınlığı ve protein içeriği ise günlük gelişim yapısı, çevresel değişikliklerin etkisi, beslenme- deki farklılıklar gibi özelliklerin açıklanmasında değerlendirilmektedir.

Casselman (1990), teleost balıklarda otolit, pul gibi kalsifiye yapıların boy ilişkilerinin büyüme için hassas bir gösterge sağladığını belirtmektedir. Eğer otolit boyu ve larva boyu önemli ilişki sergiliyorsa, bireyin büyüme oranındaki değişimlerle, otolit büyüme oranındaki değişimler aynı olacaktır (Wilson ve Larkin, 1982). Bu nedenle çeşitli araştırmacılar balık boyu otolit boyu ilişkisini ortaya koymak amacı ile çalışmalar yapmışlardır (Secor ve diğ.1989, Lagardère 1989, Cihangir ve Kaya 1988, Akyol ve diğ. 1997).

Kontrollü şartlar altında yetiştirilen çipura (*Sparus aurata* L.) larvalarında otolit gelişiminin gözlenmesi üzerine yapılan bu çalışmada larva standart boyu ve iki farklı otolit arasında regresyonel ilişki ortaya koyulmuştur. Ayrıca günlük yaş halkaları gözlenmeye çalışılmıştır.

Materyal ve Yöntem

Bu çalışmada örnek çipura larvaları, anaçlardan doğal yolla elde edilmiştir. Çipura anaçlarının bulunduğu tanklar 20 m³'lük silindirik tanklar olup %20 debi kullanılmıştır. Tüm tanklardaki yumurtlama sıcaklığı 16 °C olarak ölçülmüştür. Elde edilen yumurtalar inkubato-rlara stoklanarak 16,5 °C'de yaklaşık 65 saatte yumurtadan çıkmıştır. Açılım oranı %80 dolayında gerçekleşmiştir Vitellüs kesesi hacmi ve yağ damlası hacmi ortalamaları sırasıyla 0.2163±0.081 ve

0.0071 ± 0.0004 mm³ olarak tespit edilmiştir. Yumurtalar çatladıktan sonra larvalar hacimsel yöntemle sayılarak litrede 100 adet larva olacak şekilde larva tanklarına stoklanmıştır. Larva tankları 16 m³'lük silindirik yapıda olup tabanı ortaya doğru eğimli konik yapıdadır. Larvalar vitellüs keselerini tüketip ağız açılımları 3. günde gerçekleşmiştir. Larvaların ağızlarını açmasıyla birlikte ortalama 60000-80000 hücre/ml yoğunluğunda alg girilmiş ve ardından Small tip Rotifer 10 adet/ml yoğunluğunda verilmiştir. Tanklara Rotiferin verildiği süre boyunca tanklara sürekli alg girişi yapılmış ve bu dönemde debi %2-5 arasında değişmiştir. Otolit gözlemleri için 1-65 gün arasındaki larvalar örneklenerek %80 etil alkol içinde muhafaza edilmiştir. Larvalarda boy ölçüsü olarak standart boy tercih edilmiştir.

Otolit gözlemlerinde lapillus ve sagitta değerlendirilmiş üçüncü otolit asteriskus gözlenmemiştir. Otolitlerin çıkarılması için ince uçlu iğnelerden yararlanılmıştır Larva lam üzerine alınarak baş kısmından iğneler yardımıyla açılarak otolitler çıkarılmıştır. Larvalarda otolitler gözle görülemeyecek boyutta olduğundan çok hassas çalışmak gereklidir. Lam üzerinde balık dokusundan ayrılan otolitlerin üzerine gliserin damlatılarak lamel kapatılmış ve mikroskop altında incelenmiştir. Larva-sagitta boyu ve larva-lapillus boyu arasında power regresyon uygulanarak aralarındaki ilişki ortaya koyulmaya çalışılmıştır.

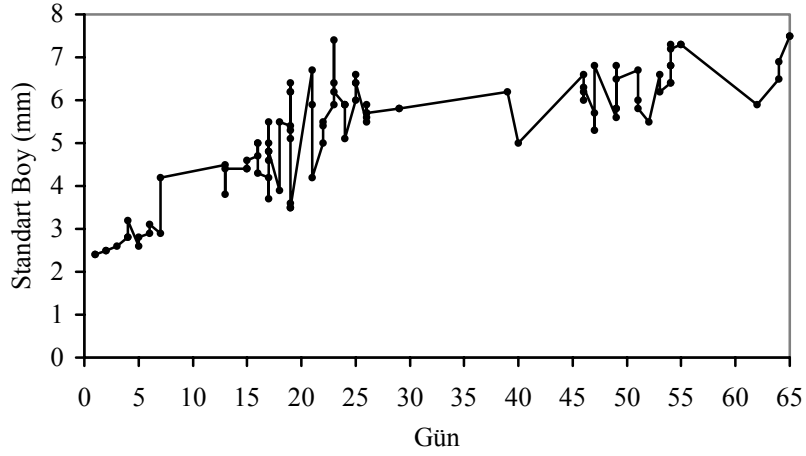
Larva boyları ve otolit çapları mikrometrik düzeyde ölçülmüştür. Ölçümlerde ve otolit gözlemlerinde 400x-1000x büyütme fotoğraf makinesi ataçmanlı Olympus ışık mikroskobu kullanılmıştır.

Bulgular

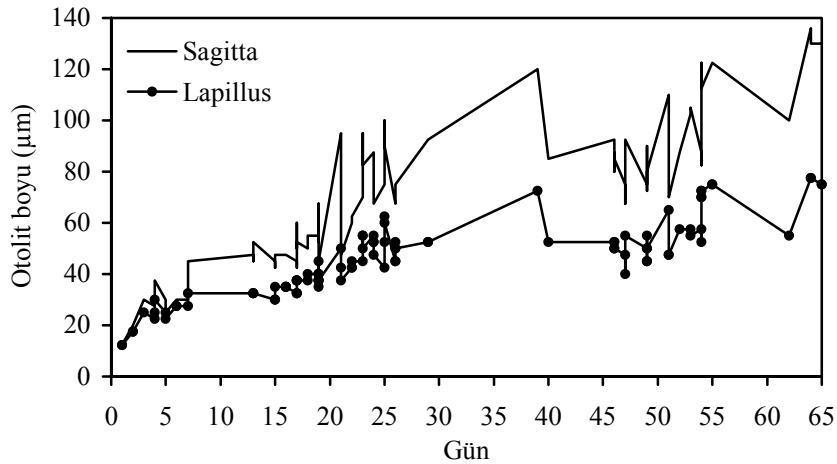
Günlük olarak örneklenen larvalarda standart boy değişimi ve sagittal otolit

boyundaki değişimler Şekil 1 ve 2'de sunulmuştur. İlk günlerde otolit boyları birbirine çok yakın değerlerde gözlenirken 12. Günden sonra aradaki boy farkı artmaya başlamıştır. Sagittadaki boy artışı lapillusa göre daha fazladır. Çipura larvalarında otolit şekli ergin bireyden farklı olarak yuvarlak bir yapıdadır. İlk günlerde, ergin bireylerde olduğu gibi rostrum kısımları belirgin değildir. 55 günlük sagittada otolit şeklinin değiştiği ve rostrum kısmının belirmeye başladığı görülmektedir (Şekil 3). Sagitta ile

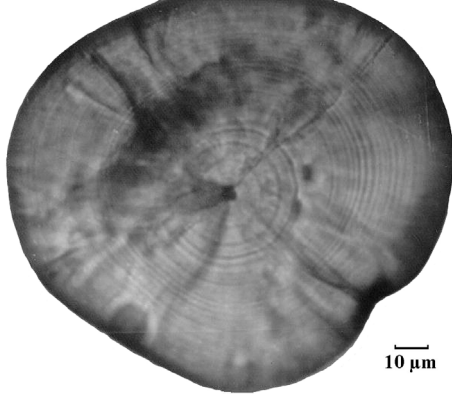
beraber ikinci büyük otolit lapillusta gözlenerek boy ölçümleri alınmıştır. Lapillus şeklininde ilk günlerde yuvarlak yapıda olduğu ve gün artışıyla beraber oval bir yapı aldığı tespit edilmiştir (Şekil 4). Standart boy-sagitta boyu ve standart boy-lapillus boyu arasında uygulanan power regresyon sonuçlarına göre, yüksek bir R^2 'ye sahip olan modele artıklar analizi uygulandığında varsayımların gerçekleştiği görülmüştür. Bundan dolayı bulunan model iyi bir model olarak ifade edilebilir (Şekil 5, 6).



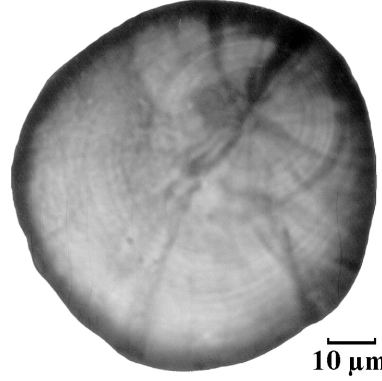
Şekil 1. Larvaların günlük standart boy değişimleri.



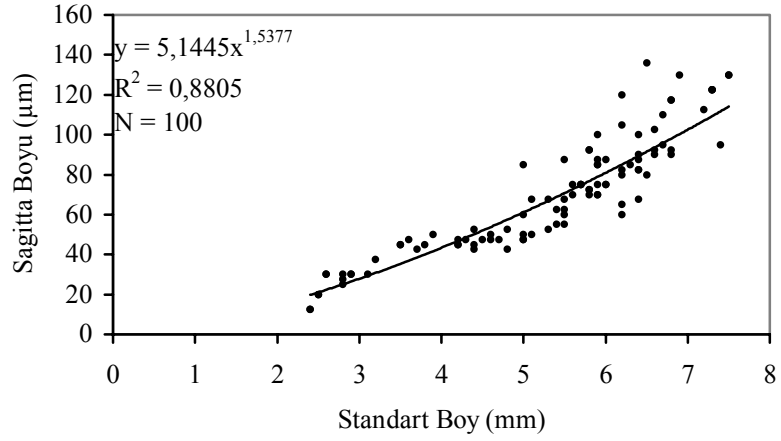
Şekil 2. Sagitta ve lapillusun günlük boy değişimleri.



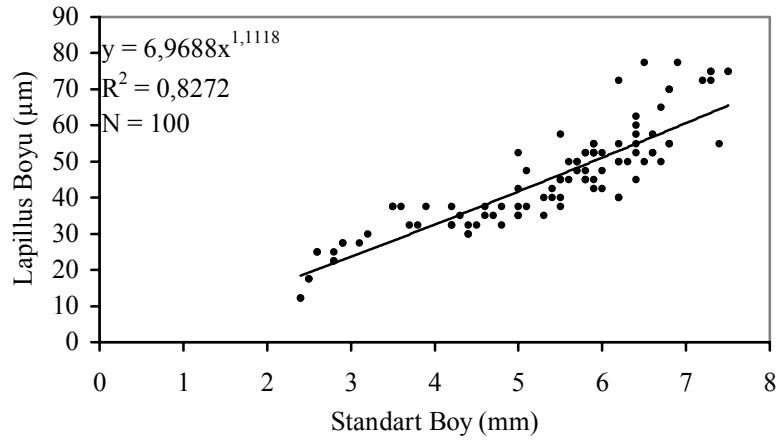
Şekil 3. 55 günlük larvada sagitta (ölçek 10µ).



Şekil 4. 55 günlük larvada lapillus (ölçek 10µ).



Şekil 5. Standart boy ve sagitta boyu arasındaki üssel ilişki $Y=aX^b$.



Şekil 6. Standart boy ve lapillus boyu arasındaki üssel ilişki $Y=aX^b$.

Her iki otolitte de günlük halkalar gözlenebilmiştir. İlk 5 güne kadar olan bireylerde halka oluşumu tespit edilmiştir. Sagitta da ilk halka nukleustan itibaren 5μ , II. halka 6.25μ ve III. halka 6.9μ 'da gözlenmiştir. Otolitlerde ilk günlerde kalsiyum karbonat birikiminin az olması nedeniyle ışık geçirgenliği fazla olup halkalar daha rahat gözlenmiştir. Ancak gün artışıyla beraber otolit kalınlaşmaya başladığından halkaları gözlemek güçleşmektedir. 12 günlük bir larvada 7 halka gözlenirken 15 günlük bir larvada 11 halka sayılabilmektedir. Halka kalınlıkları yaklaşık 1μ olarak belirlenmiştir.

Tartışma ve Sonuç

Yapılan bu çalışma sonucunda kontrollü şartlar altında çipura (*Sparus aurata*) larvalarında otolit gelişimi izlenmiş ve değerlendirilmiştir. Sonuçta larva standart boy değişimi ile sagitta ve lapillus boyları arasında pozitif allometrik ilişki olduğu tespit edilmiştir. Bu sonuçlar Palomera ve diğ. (1988), Husenot ve diğ. (1991), Regner ve Dulcic (1994), ve Dulcic (1997)'in sonuçlarına benzerlik göstermektedir.

Ré (1983), sagittadaki en küçük büyüme artışının nukleusun yanındaki halka olduğunu belirtmiş, aynı araştırmacı halka kalınlıklarının $0.5-1\mu$ arasında değiştiğini kaydetmiştir. Yaptığımız çalışmada sonucunda halka kalınlıkları $1-1.5\mu$ arasında değişmektedir. Brothers (1987), günlük halkaların yıllık evrelerde olduğu gibi otolitin üzerinde simetrik ve uniform bir biçimde bulunmadığını belirtmektedir. Bazı bölümler hızlı bir büyüme ve geniş gelişme evreleri gösterirken diğerleri yer yer kesintiler gösterebilir. Guitérez ve Nin (1986), otolit gelişimini etkileyen en önemli dış faktörün sıcaklık olduğunu, Jones (1986), sıcaklığın yanında fotoperiyot değişimleri ve beslenmesinde etkili olduğunu belirtmiştir. Bütün bu faktörler, doğal ortamda

bulunan larvadaki halka oluşumu ve otolit büyümesinin kültür koşullarındaki bireylerde farklı oluşmasına neden olacaktır.

Larvalarda ilk halkalar 5 Günden sonra gözlenmiştir. Larvalarda vitellüs kesesinin tüketilip ağzın açılması yaklaşık 3 gün içinde tamamlanmaktadır. Bu durumda ilk halkaların 3 gün içinde görülmemesi larvanın vitellüs kesesi ile beslenmesinden dolayı olabilir. Ré ve diğ. (1986), farklı iki ışık rejiminde gelişen *Dicentrarchus labrax* larvalarında besin kesesi tükendikten ve *Artemia* sp. verilmeye başlandıktan sonra otolitteki mikrobüyüme gelişimlerinin daha keskin bir hatla belirlendiğini kaydetmiştir. Bu sonuç gözlemlerimizi desteklemektedir. Geffen (1983, 1987), embriyo otolitlerinde de halka birikimlerinin kontrol edilmesi gerektiğini ilk halka birikimindeki değişimleri tanımlamak için kuluçkadan besin kesesi absorpsiyonuna kadar süren periyot boyunca hassas örnekleme yapmak gerektiğini belirtmiştir.

Larval otolitlerde halka oluşumlarının gözlenmesinde ışık mikroskopundan geniş ölçüde yararlanılmaktadır. Ancak halka sayımlarının doğru bir şekilde belirlenebilmesi 1μ 'dan küçük halkaların dahi gözlenebilmesi Scanning (tarama) elektron mikroskobu gibi yüksek ayrışım teknikleri kullanılarak giderilebilir (Campana ve Neilson 1985). Otolitin kalınlaşması ışık geçirgenliğini azalttığından halkaların gözlenmesi güçleşmektedir. Bunun için Panella (1974), hidroklorik asit ile otolitlerin inceltilebileceğini; Brothers (1987), elektron mikroskobu incelemeleri için otolitlerin asitle işlenmesinin zorunlu olduğunu ve bunun ışık mikroskobu içinde önerildiğini belirtmiştir. Otolitin asitle işlenmesi daha sonraki çalışmalarda denenerek otolitlerle ilgili gözlemlerde büyük kolaylıklar yaratacaktır.

McGurk (1984), kısa süreli laboratuvar denemeleri ile larva büyüme oranındaki değişimlerle otolitte oluşan

farklılığın tespit edilebileceğini belirtmiştir. Yetiştiricilik çalışmaları ile paralel olarak yürütülecek otolitlerdeki günlük artışların gözlenme çalışmaları, farklı besin, farklı ışık şiddeti, farklı sıcaklık gibi ortam faktörlerinin etkisinin belirlenmesinde büyük ölçüde yararlı olacaktır.

Kaynakça

- Akyol, O., Metin, G., Ünsal, S., 1997. İzmir Körfezi'nde (Ege Denizi) sardalya (*Sardina pilchardus* Walbaum, 1792) balığının çatal boy-otolit boyu arasındaki ilişki. In: Akdeniz Balıkçılık Kongresi, B. Hoşsu (Ed.), E.Ü. Su Ürün. Fak., 925-929.
- Brothers, E.B., Mathevs, C.P., Lasker, R., 1976. Daily growth increments in otoliths from larval and adult fishes. Fishery bulletin, U.S. 74: 1-8.
- Brothers, E.B., 1978. Exogenous faktors and the formation of daily and subdaily increments in fish otoliths. American zoologist, 18: 631.
- Brothers, E.B., 1979. What can otolith microstructure tell us about daily and subdaily events in the early. ICES/ELH Symp. /SD, 266-267.
- Brothers, E.B., 1987. Methodological approaches to the examination of otoliths in ageing studies. In: Age and Growth of Fish, R.C. Summerfelt and G.E. Hall, (eds), Iowa State University Press, Ames Iowa, USA: 319-330.
- Campana, S.E., Neilson, J.D., 1982. Daily growth increments in otoliths of starry flounder (*Platichthys stellatus*) and the influence of some environmental variables in their production. Can. Jour. Fish Aquat. Sci., 39: 937-942.
- Campana, S.E., Neilson, J.D., 1985. Microstructure of fishes otoliths. Can.J. Aquat. Sci., 42: 1014-1032.
- Casselmann, J.M., 1990. Growth and relative size of calcified structures of fish. Transactions of the American Fisheries Society. 119: 673-688.
- Cihangir, B., Kaya, M., 1988. Relationship between otolith to total lengths of *Merlangius merlangus euxinus* (Nordmann, 1840) in the Black Sea. CIESM. Rapp. Comm. Int. Mer Medit. 31, 2. pp. 268.
- Dulčić, J., 1993. Larval growth of sardine *Sardina pilchardus* W. 1792 in the Eastern Adriatic. Oebalia, XIX:115-125.
- Dulčić, J., 1997. Growth of anchovy, *Engraulis engrasicolus* (L.), larvae in the Northern Adriatic Sea. Fis. Res., 31: 189-195.
- Dulčić, J., 1998. Larval growth of *Sprattus sprattus phalericus*, larvae in the Northern Adriatic. Fis. Res., 36: 117-126.
- Geffen, A.J., 1982. Otolith ring deposition in relation to growth rate in herring (*Clupea harengus*) and turbot (*Scophthalmus maximus*) larvae. Mar. Biol. 71: 317-326.
- Geffen, A.J. 1987. Methods of validating daily increment deposition in otoliths of larval fish. In: Age and Growth of Fish. Summerfelt and G.E. Hall, (eds), Iowa State Univ. Press, Iowa, USA.p: 223-240.
- Geffen, A.J., 1983. The deposition of otolith rings in Atlantic salmon, *Salmo salar* L., embryos. J. Fish. Biol., 23: 467-474.
- Gutiérrez, E., Morales-Nin, B., 1986. Time series analysis of daily growth in *Dicentrarchus labrax* L. otoliths. J. Exp. Mar. Biol. Ecol., 103: 163-179.
- Hussenot, J., Le Moine, O., Lagardère, F., 1991. L'élevage larvaire extensif du bar (*Dicentrarchus labrax*) et de la daurade royale (*Sparus aurata*) en milieu naturel stimulé par fertilisation dans les marais salés de la cote Atlantique, France. ICES mar. Sci. Symp. 192: 127-136.
- Jones, C., 1986. Determining age of larval fish with the otolith increment technique. Fish. Bull., 84: 91-103.
- Lagardère, F., 1989. Influence of feeding conditions and temperature on the growth rate and otolith-increment deposition of larval Dover sole (*Solea solea* L.). Rapp. P.-v.Réun.Cons.Int.Exp.Mer, 191: 390-399.
- Mc Gurk M.D., 1984. Ring deposition in the otoliths of larval pacific herring, *Clupea harengus pallasii*. Fish. Bull., 82: 113-120.
- Metin, G., Kınacıgil, H.T., Süzer, C., 1998. Levrek *Dicentrarchus labrax* (L., 1758) larvası otolitlerinin çıkarılması ve günlük yaş halkalarının tespiti üzerine bir çalışma. Su Ürünleri Dergisi. 15 (3-4): 1-6.
- Palomera, I., Morales-Nin, B., Leonart, J., 1988. Larval growth of anchovy, *Engraulis engrasicolus*, in the Western Mediterranean Sea. Mar. Biol., 99: 283-291.

- Panella, G., 1971. Fish otoliths: Daily growth layers and periodical patterns. Science (Wash., D.C.), 173: 1124-1127.
- Panella, G., 1974. Otolith growth patterns: An aid in age determination in temperate and tropical fishes. In: The ageing of fish. T.B.Bagenal (Ed.), D.: 28-30.
- Ré, P., 1983. Daily growth increments in the sagitta of pilchard larvae *Sardina pilchardus* (Walbaum, 1792) (Pisces: Clupeidae). Cybium, 7(3): 9-15.
- Ré, P., 1984. Evidence of daily and hourly growth in pilchard larvae based on otolith growth increments, *Sardina pilchardus* (Walbaum,1792). Cybium, 8(1): 33-38.
- Ré, P., Rosa, H.C., Dinis, M.T., 1986. Daily microgrowth increments in the sagittae of *Dicentrarchus labrax* (L.) larvae under controlled conditions. Inv. Pesq., 50:397-402.
- Regner, S., Dulcic, J., 1994. Growth of sea bass, *Dicentrarchus labrax*, larval and juvenile stages and their otoliths under quasi-stady temperature conditions. Mar. Biol. 119: 169-177.
- Secor, D.H., Dean., J.M., Baldevarona, R.B., 1989. Comparison of otolith growth and somatic growth in larval and juvenile fishes based on otolith length/fish length relationships. Rapp. P.-v. Réunion. Cons. Int. Explor. Mer, 191: 431-438.
- Wilson, K.H., Larkin, P.A., 1982. Relationship between thickness of daily growth increments in sagittae and change in body weight of sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*) fry. Can J. Fish. Aquat. Sci. 39: 1335-1339.