

## İskenderun Körfezinden Yakalanan Lagos (*Epinephelus aeneus*)'larda Üreme Modeli ve Gonat Histolojisi

Mahmut Ali GÖKÇE, İbrahim CENGİZLER, A. Argun ÖZAK  
Çukurova Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Adana - TÜRKİYE

Geliş Tarihi: 24.05.2002

**Özet:** Lagos (*Epinephelus aeneus*)'un gonat histolojisi ve yumurtlama modeli ticari amaçla avlanmış balıklardan elde edilmiş örneklerden saptanmıştır. *E. aeneus* yumurtalıklarını incelemede histolojik, mikroskopik ve makroskopik yöntemler kullanılmıştır. Morfolojik gözlemlere dayanarak, lagoslarda gonat gelişimi altıya kadar derecelendirilmiştir. Çalışma sonunda lagos'ların eşzamanlı olmayan üreme modeline sahip oldukları sonucuna varılmış ve lagos'daki oosit gelişimi ile ilgili olarak yapılan histolojik çalışmayla, oositlerin vitellogenesis süresince önce lipit ve sonra protein oluşumu olmak üzere iki inkülsiyon oluşumu saptanmıştır. Olgunlaşmaya yaklaşıldıkça protein granülleri ve lipit damlacıklarının sayısı ve büyüklükleri artmış ve birleşmeye başlamışlardır. Oosit gelişimi ile ilgili olarak yapılan histolojik çalışmayla çeşitli oosit gelişim aşamaları tanımlanabilmektedir.

**Anahtar Sözcükler:** Lagos, *Epinephelus aeneus*, üreme, histoloji.

### Gonad Histology and Spawning Pattern of the White Grouper (*Epinephelus aeneus*) from İskenderun Bay (Turkey)

**Abstract:** The gonad histology and spawning pattern of the white grouper (*Epinephelus aeneus*) were determined from fish sampled from commercial catches. Histological, microscopic and macroscopic techniques were used to examine the ovaries of *E. aeneus*. A six stage maturity scale based on morphology was proposed to classify ovarian development. The results showed that the white grouper has an asynchronous mode of ovarian development, and the histological study of oocyte development in the white grouper indicated that two types of inclusion, first lipid and then protein, are formed during vitellogenesis. Towards maturation, protein granules and lipid droplets increased in size and number and also started to coalesce. From the histological study of oocyte development a number of distinct developmental stages can be delineated.

**Key Words:** White grouper, *Epinephelus aeneus*, reproduction, histology.

### Giriş

Özellikle ılık sularda yaşayan balık türlerinin pek çoğu bir yıl içerisinde, birkaç aylık bir periyodu kapsayabilen dönemsel üreme özelliği göstermektedir (1,2). Türler özgü olan yumurtlama modeli, ilk olarak Marza (3) tarafından (eşzamanlı, eşzamanlı olmayan ve grup-eşzamanlı) tanımlanmış olup daha sonra Wallace ve Selman (4), West (5), McEvoy ve McEvoy (6), Tyler ve Sumpter (7) tarafından irdelenmiştir. Yetiştiriciliğe alınacak türler için büyük önem taşıyan yumurtlama modelinin belirlenmesi, yumurta büyüklük dağılım yöntemini kullanmakla mümkün olabilmektedir (4,5,8).

Oosit gelişim aşamalarını belirlemek için ise yumurta büyüklüğü, hücre içindeki oluşların dağılım ve miktarları gibi ölçütler kullanılmaktadır (9).

Lagos balığı yüksek bir ticari değere sahip olması, hızlı büyüme performansı ve yetiştiricilik koşullarına dayanıklılığı nedeniyle, özellikle son yıllarda üzerinde oldukça yoğun çalışmalar yapıldığı bir tür haline gelmiştir (10). Ayrıca *Epinephelus* cinsinin, Dünyayı Koruma Birliği'nin Denizleri Koruma Merkezi kayıtlarına göre, 1996 yılından beri IUCN'nin kırmızı bülteninde yer alması ve açık bir şekilde soylarının tükenmekte olduğunun bildirilmesi de (11) bu türe olan ilgiyi artırmıştır.

Bu araştırma, TÜBİTAK TARP-2042 No. lu projenin bir kısmıdır.

Türün biyolojisi ile ilgili geniş bir değerlendirme Brusle (12) tarafından yapılmış ve Bouain ve Siau (13) tarafından da yumurtlamanın partiler halinde gerçekleştiği ifade edilmiştir. Ayrıca protogynous hermafrodit üreme gösterdiği de Brusle ve Brusle (14) ve Shapiro (15) tarafından bildirilmiştir. Söz konusu türün üreme özellikleri ilgili çalışmaların eksikliği nedeniyle, çalışmanın önemli katkılar sağlayacağı umulmaktadır.

### Materyal ve Metot

Balık örnekleri Adana-Yumurtalık balıkçı limanına bağlı ticari teknelerden yıl boyunca izlenerek, olgun bireylerin en yoğun olarak rastlandığı Temmuz ve Ağustos aylarında elde edilmiştir. Gonat örnekleri uzun süre saklanabilecekleri formal-kalsiyum (90 ml saf su, 5 g CaCl<sub>2</sub> ve % 10'luk 10 ml formaldehit) karışımı çözeltide tesbit edilmişlerdir. Gonat dokuları histo-rezin (2-hydroxyethyl metachrylate)'e gömülmüşler, historenc mikrotomla, 3 µ kalınlığında kesilerek Harris haematoksilen ve eosinle boyanmışlar ve ışık mikroskopu altında incelenmişlerdir (16).

Yumurtlama modeli, büyüklük dağılım frekans yöntemiyle saptanmıştır. Bu amaçla, kesitleri alınmış

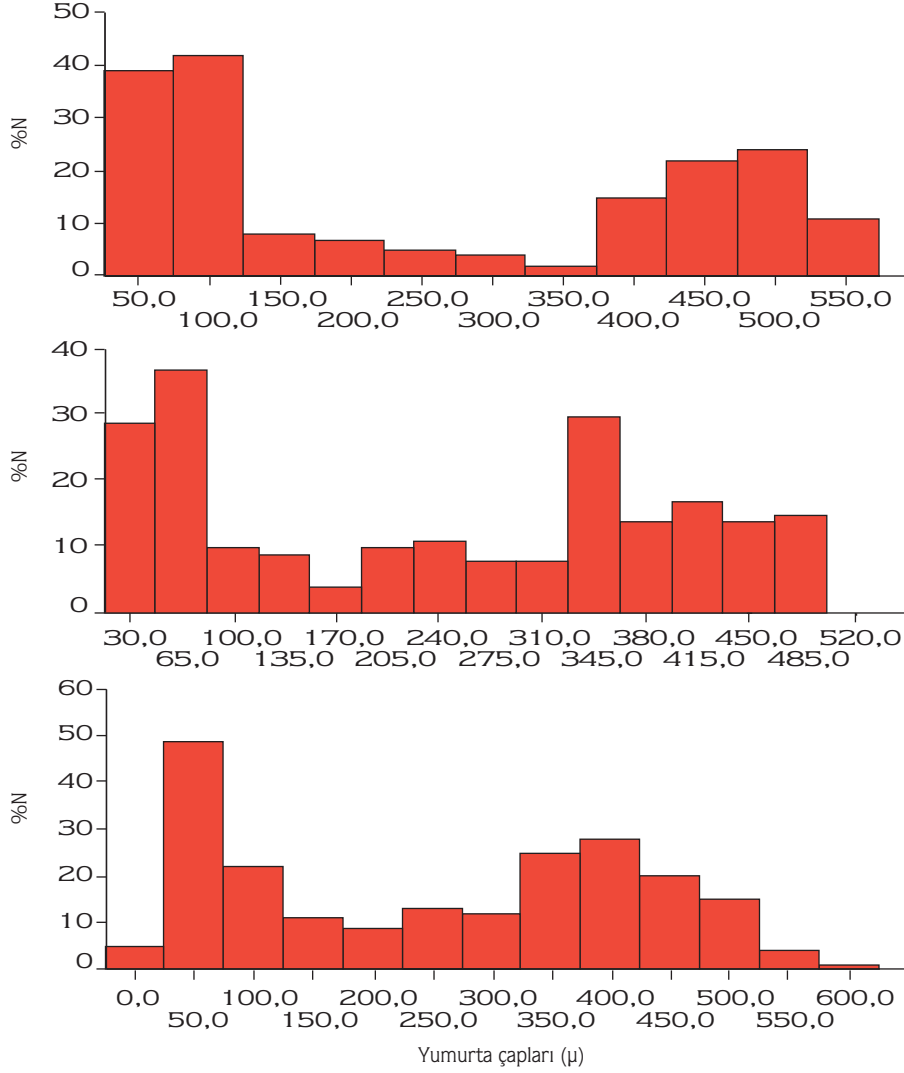
olgun gonatlarda yalnızca çekirdekleri görülen 200-300 yumurtanın çapları ölçülerek histogramları çıkarılmıştır (17). Aynı zamanda söz konusu olan türün makroskopik gelişim aşamaları Kestevan (18) ve Lampton (19)'a göre elde edilmiştir. Yumurta çapları her üç gonat içinde, posterior, orta ve anterior kısımlarından örneklenerek ölçülmüş ve ortalama büyüklük değerleri "Tek Yönlü Varyans Analizi" ve "Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi" ile % 5 önem seviyesinde değerlendirilmiştir. İstatistiksel analizler ve histogramlar SPSS paket programı yardımı ile gerçekleştirilmiştir.

### Bulgular

Oosit büyüklük dağılım frekans grafiklerinde görüleceği gibi IV. ve V. aşama gonatlarda oositlerin bir kısmı ikinci gelişim fazına katılmışlardır. Bu geç aşamada, tüm gelişim aşamalarındaki yumurtalar gonatda bulunmaktadır. Birinci ve ikinci gelişim aşamasına veya herhangi iki gelişim aşamasına ait yumurtaların büyüklük dağılımları arasında hiçbir boşluk görülmemektedir (Şekil 1). Doğu Akdeniz bölgesinde avlanmış olan dişi lagosların üremeleri ile ilgili makroskopik izlenimler Tablo'da verilmiştir.

Tablo. Logos (*Epinephelus aeneus*)'un makroskopik gözleme dayalı dişi gonat gelişim aşamaları.

Aşama	Yumurtalık döngüsünün makroskopik tanımı
I-Olgunluğa erişmemiş Yumurtalık	Yumurtalık çok ince görümlü, açık sarı renkte ve hiç yumurta görülüyor.
II-Gelişen yumurtalık (1)	Yumurtalık daha uzun ve belirgin, kan damarları belirmeye 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.



Şekil 1. Üreme döneminde (Temmuz ve Ağustos), üç ayrı olgun lagos bireyinde saptanan yumurta büyüklük dağılım frekansları.

Yumurtalıkların posterior ( $254,916 \mu \pm 190,214$ ), orta ( $239,630 \mu \pm 159,181$ ) ve anterior ( $252,009 \mu \pm 168,774$ ) kısmından alınan yumurta örneklerinin büyüklük ortalamaları arasında istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmamıştır ( $P > 0,05$ ).

#### Birinci Büyüme Aşaması

##### Oogonia

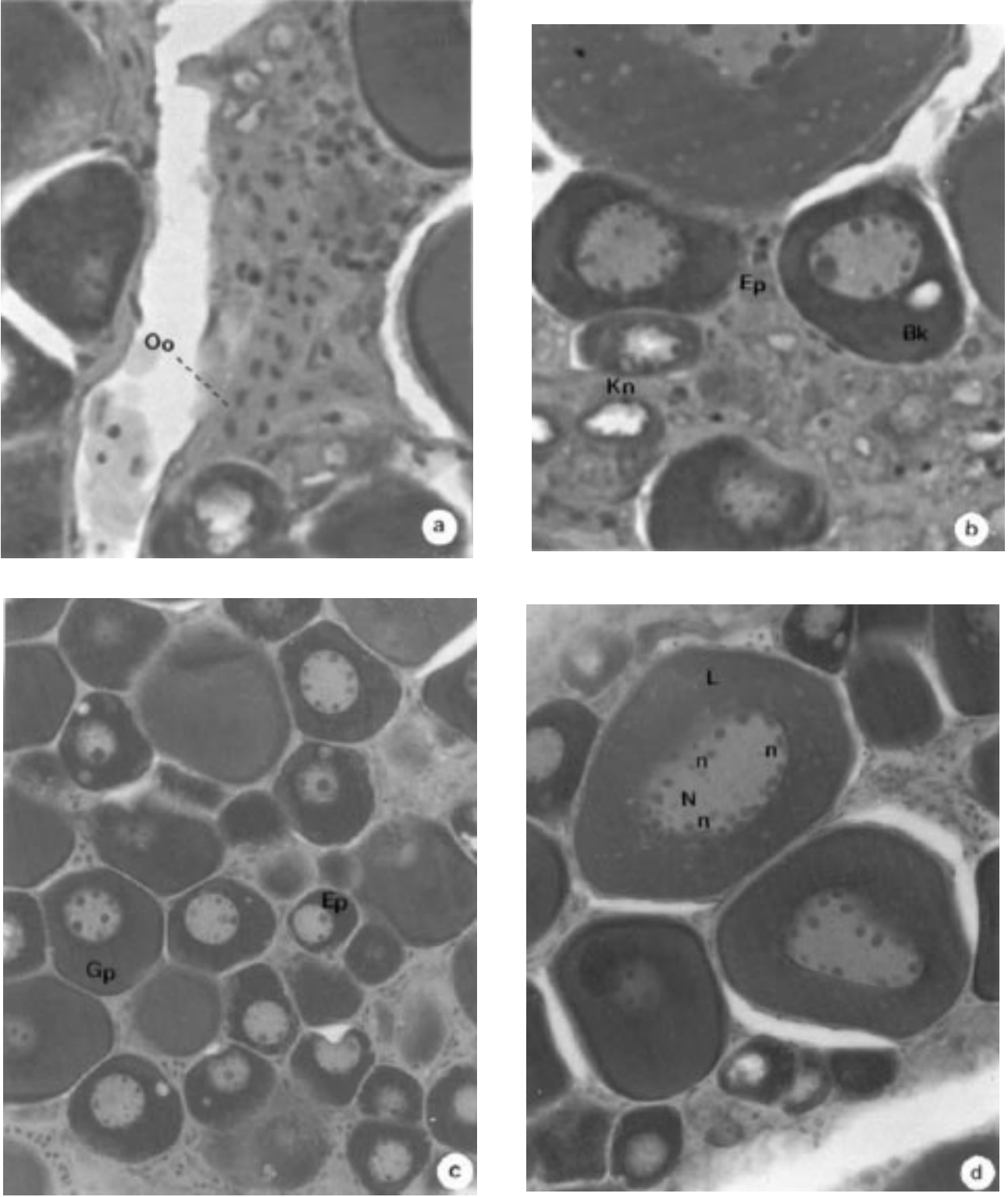
Lagosda oogoniyalar küçük ve yuvarlak hücreler olarak gözükmemekte ( $8,056 \mu \pm 2,083$ ) ve en yoğun oogonia oluşumu birinci büyüme fazında olmaktadır (Şekil 2a).

#### Kromatin Nükleolus Aşaması

Oogonia bölünmeden sonra ortaya çıkan, çekirdek/sitoplazma oranı yüksek (yaklaşık % 69) birincil oositlerdir (Şekil 2b). Hücre büyüklükleri ortalama  $20,833 \mu \pm 4,483$  olup, nükleusları genellikle tek ve belirgin bir nükleolus içermekte ve belirgin bir şekilde bazofilik olarak görünmektedir.

#### Erken Perinükleolus Aşaması

Bu aşamada oositlerin çekirdek/sitoplazma oranı küçük olup (% 55), sitoplazma ve çekirdekçikler bazofilik bir görünüme sahiptirler. Bu aşamanın en belirgin özelliği



Şekil 2. Üreme dönemine yaklaşmakta olan lagos bireylerinin ovaryum histolojileri. a) Oogonia (Oo), X40. b) Kromatin nukleolus (Kn), Erken perinukleolus (Ep) aşamaları, balbiani kütleleri (Bk), X20. c) Erken (Ep) ve geç (Gp) perinukleolus aşamaları, X10, H&E. d) Lipit aşaması (L), Nükleus (N), nukleolus (n), X20.

çekirdeğin hemen yanında, yuvarlak ve beyaz bir oluşum olarak ortaya çıkan balbiani (Şekil 2b) kütesinin üretimidir. Çalışmada çok net olarak görülmemesine karşın olasılıkla, yumurta geliştikçe sitoplazma içinde dağılarak bu görünümünü kaybetmektedir (Şekil 2b, 2c). Hücre büyüklüğü  $57,273 \mu \pm 7,862$  olarak ölçülmüştür.

#### Geç Perinukleolus Aşaması

Bu evrede oositler daha da büyümüş, çekirdek/sitoplazma oranı biraz daha azalmış (% 45) ve yumurta büyüklüğü  $93,636 \mu \pm 12,863$  olarak saptanmıştır. Ayrıca büyük çekirdek pek çok sayıda küçük ve yuvarlak görünüşlü periferik nukleoli içermektedir (Şekil 2c). Sitoplazma önceki aşamalara göre çok daha az bazofilik görülmektedir. Yumurtalar bu aşamada ikinci büyüme aşamasına geçinceye kadar değişmeden kalmakta ve genel olarak bu aşamada yumurtaların ilk mayoz bölünmenin profaz aşamasının diplotom fazında kaldığı düşünülmektedir.

#### İkinci Büyüme Aşaması

##### Lipit Aşaması

Lipit oluşum evresi lagoslar için ikinci büyüme aşamasının ilk adımını oluşturmaktadır. Çekirdek/sitoplazma oranında önceki aşamaya göre önemli bir fark gözlemlenmemiştir (% 45). Bu aşamada küçük ve yuvarlak yağ damlacıklarının sitoplazmada dağınık olarak ortaya çıkmakta ve zona radiata ilk kez belirgin olarak görülmektedir (Şekil 2d). Lipid aşamasındaki yumurtaların büyüklükleri  $130,769 \mu \pm 19,348$  olarak belirlenmiştir.

##### Birinci protein Aşaması

Bu aşamada çekirdek/sitoplazma oranı biraz daha azalmış (% 43) ve kırmızı renkteki (asidofilik) protein damlacıkları yumurta çeperine yakın bölgeden itibaren görülmeye başlamıştır. Zona radiata'nın ikili katman oluşumu belirgin hale gelmeye başlamış olup, yumurta büyüklüğü artmış ( $241,250 \mu \pm 21,002$ ) ve lipit damlacıkları büyüyerek daha da belirgin bir hale gelmiştir (Şekil 3a).

##### 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 olan, granül hücre, zona radiata interna ve zona radiata eksterna'dan oluşan üçlü yapısını meydana

getirmektedir (Şekil 3a). 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). Protein ve lipit damlacıkları artmakta ve birleşerek bir bütün olarak gözükmeğetedirler. Yumurta zarı tipik üçlü yapısını göstermektedir (Şekil 3a). Bu aşamada yumurta olgunlaşmaya geçmeden önceki en büyük halini almıştır ( $506,662 \mu \pm 34,448$ ).

#### Yumurtanın Olgunlaşması

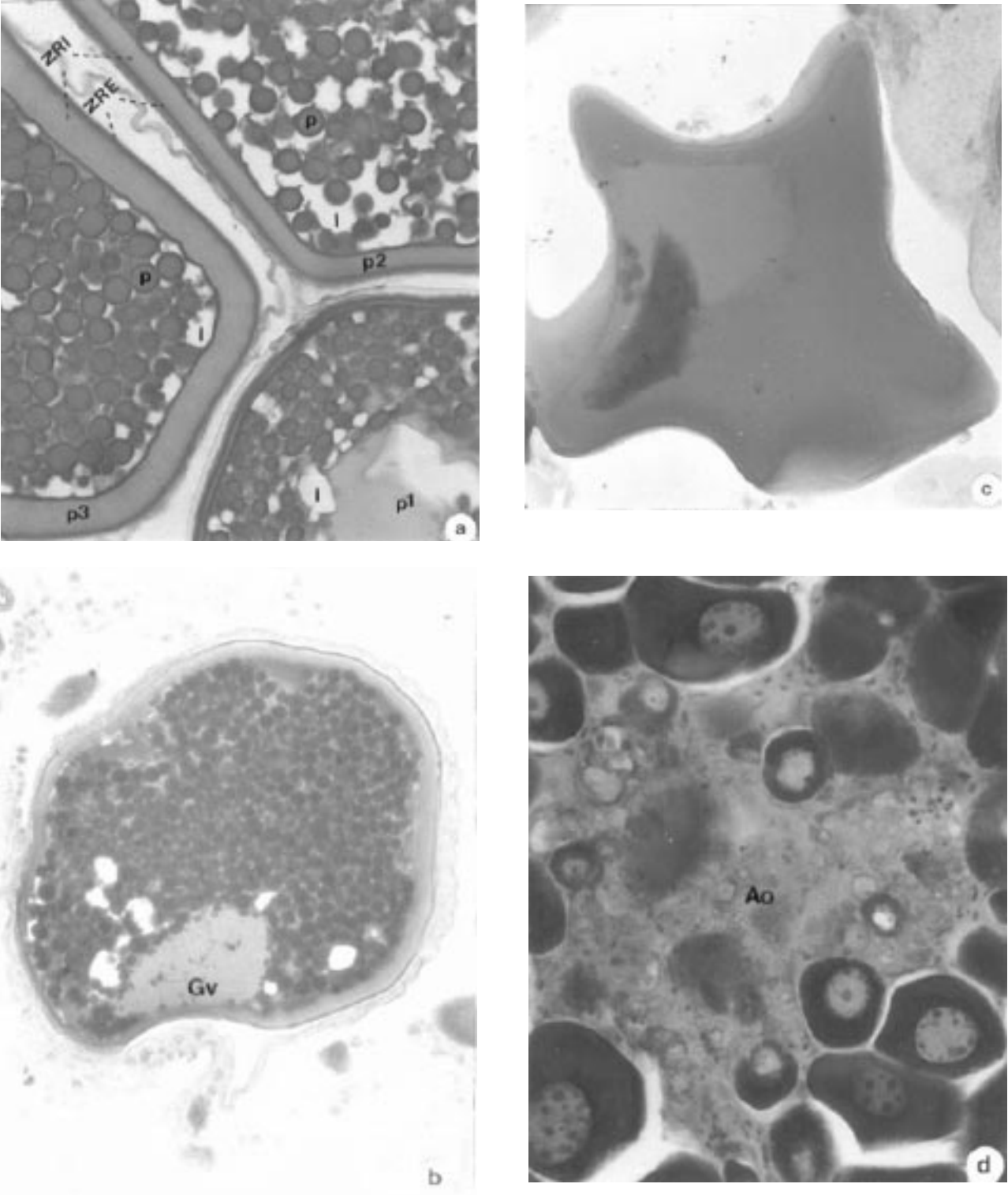
Olgunlaşma sırasında çekirdek mikrofil açıklığına doğru göç etmekte ve daha sonra da parçalanarak yumurta içeriğine karışmaktadır (Şekil 3b, 3c). Daha ileri aşamada ise yumurtanın bütün lipit ve protein içeriği karışarak homojen bir yapı almakta ve yumurtanın fazlaca büyümesinden dolayı korion çok incelmektedir.

#### Atresia

Histolojik gözlemlerde, üreme dönemi sonunda yumurtalıktan atılmayarak emilime uğrayan az sayıdaki atretik oosite rastlanmıştır. Şekil 3'de son aşamadaki bir atretik yumurta görülmektedir.

#### Tartışma

Yumurta büyüklük dağılım histogramlarında, herhangi iki grup arasında hiçbir boşluk bulunmaması lagosların eş zamanlı olmayan yumurtlama modeline sahip olduklarını işaret etmektedir. Bu tip yumurtlama modeli, Akdeniz koşullarında olduğu gibi, daha çok ılık karakterdeki sularda görülmekte ve 2-3 aya kadar uzayabilen bir üreme periyodunda gerçekleşmektedir. Yani lagoslar oldukça uzun denebilecek bir üreme süreci içerisinde, sürekli bırakılmak üzere yumurta üretmektedirler. Yapılan histolojik çalışmalarla, oosit gelişimi boyunca lagos yumurtalarında bir çok morfolojik değişim gözlenmiştir. Follikül epitel hücreler yumurtanın büyümesiyle daha belirgin hale gelmiş olmalarına rağmen, birinci oositlerle de varlıklarını göstermişlerdir. Oosit gelişimiyle beraber bu hücreler mitotik bölünmeye uğramakta ve hücresel olmayan temel membranın ayırdığı granül hücreler ve teka katmanını oluşturmaktadır. Benzeri gelişimler diğer bazı teleostlar için de



Şekil 3. Üreme dönemi ve hemen sonrasında lagos bireylerinin ovaryum histolojileri.  
a) 1., 2. ve 3. protein aşamaları (p1, p2, p3), Zona Radiata Interna (ZRI) ve Zona Radiata Externa (ZRE), protein (p) ve lipit (l) tanecikleri. X40. b) Olgunlaşmakta olan yumurta. Germinal vesikül (Gv). X20. c) Olgunlaşmış yumurta. X20. d) İleri atresia durumundaki yumurta (Ao) X10, H&E.

saptanmıştır (20,21). Follikül granül hücrelerinin işlevleri çeşitli araştırmacılar tarafından belirtilmiştir. Guraya (22) follikül hücreler içindeki yoğun sitoplazmik organellerin protein sentezinin belirtisi olduğunu rapor etmiştir. Wourms (23) ise zona radiatanın follikül kökenli olduğunu ifade etmiştir. Shackley ve King (21) follikül hücrelerin büyük olasılıkla vitellüsün oluşumunda taşıma veya üretim yoluyla katkıda bulunabileceklerini belirtmişlerdir.

Zona radiata oluşumu ikinci büyüme fazı boyunca oluşmaktadır. Lagosta da diğer pek çok teleostta olduğu gibi belirgin bazı farklı bölgeler görülmektedir (24). Önceleri zona radiata homojen bir yapı gösterirken, gelişim ilerledikçe zona radiata externa ve zona radiata interna olmak üzere birbirinden farklı iki yapı oluşmaktadır. Yapılmış olan önceki çalışmalarda zona radiatanın karbonhidrat ve protein yapıda olduğu belirtilmiştir (24,25). Tam olarak bilinmemekle beraber zona radiatanın esnek yapılı bir filtre ve sonraki aşamalarda da inkübasyon boyunca embriyoyu koruma görevini üstlendiği tahmin edilmektedir.

Teleostlarda farklı balbiani kütle oluşumları gözlenmiştir. Lagoslarda görülen balbiani kütle yapısı deniz levreklerindeki benzer bir yapıda olup, tek bir yuvarlak kütle (26) şeklindedir.

Lipit 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 edilmektedir. Lipit oluşumu önceleri yumurta sitoplazmasında dağınık olarak meydana gelirken, daha sonra çekirdek çevresinde artarak ve birleşerek toplanmaya başlamaktadır.

Protein taneciklerinin vitellogene katılımının başlamasıyla yumurta büyüklüğü önemli oranda artmaktadır. Vitellogenesis sırasında, östrojene bir yanıt olarak protein, karaciğerden kan yoluyla yumurtalıklara taşınmaktadır (27). Diğer teleostlara benzer olarak,

lagoslarda da protein oluşumu endogenous lipit oluşumunun ardından, önce küçük ve kırmızı tanecikler olarak, yumurta çeperine yakın yerlerde oluşmaya başlamakta ve daha sonra tüm sitoplazmaya yayılarak ve birleşerek irileşmektedir. Bundan sonra ise artık germinal vesicül olarak adlandırılan çekirdek, mikrofıl açıklığının olduğu yere doğru göç etmekte, bunun ardından lipit ve protein tanecikleri karışarak homojen bir görünüm almakta ve yumurta ovulasyon ve yumurtalamaya hazır hale gelmektedir.

Atretik oositlere, lagos gonadında da çok az miktarda da olsa rastlanmıştır. Atresia, teleostlarda üreme döneminin bitmesi yada üreme dönemindeki olumsuz bir çevresel etki ile ortaya çıkmaktadır (8,28). Bu çalışmada çok az miktarda atresia'ya rastlanması, üreme döneminin bitmesinden dolayı bir anormallik olarak değerlendirilmemiştir.

Sonuç olarak, lagosta da yumurta oluşumu, şimdiye kadar teleostlarda yapılmış olan çalışma sonuçları ile uyum içerisinde olup, yumurta gelişiminin temel özellikleri bu türde de göze çarpmaktadır. Ayrıca, istatistiksel bir değer taşımamasına karşın, makroskopik gözlemlere dayanarak elde edilen sonuçlar lagosların yaz aylarında ve özellikle Haziran ayı başlarından Ağustos ayı sonlarına dek süren bir dönemde ürediğini göstermektedir. Bu aylarda alınan gonad örneklerinden yapılan gonad histolojisi çalışmalarından bu bireylerin eşzamanlı olmayan üreme sergiledikleri saptanmıştır. Bu veriler yetiştiricilik açısından büyük önem taşımakta olup, bu türün Doğu Akdeniz koşullarında yapılacak üretiminin su sıcaklığının en yüksek ve gün uzunluklarının en fazla olduğu dönemlerde yapılması gerektiğini ifade etmektedir.

### Teşekkür

Araştırma süresince çok büyük yardımlarını gördüğümüz TÜBİTAK'a teşekkür ederiz.

### Kaynaklar

1. Bye, V.J.: The role of environmental factors in the timing of reproductive cycles. Fish reproduction: strategies and tactics. London, Academic Press, 187-206, 1989.
2. Jobling, M.: Environmental Biology of Fishes. London, Chapman & Hall, 1995.
3. Marza, V. D.: Histophysiologie de l'ovogenese. Paris, Herrman, 1938.
4. Wallace, R.A., Selman, K.: Cellular and dynamic aspects of oocyte growth in teleosts. Am. Zool. 1981; 21: 325-343.

5. West, G.: Method of Assessing Ovarian Development in Fishes: A Review. *Aust. Mar. Freshwater Res.* 1990; 41: 199-222.
6. McEvoy, L.A., McEvoy, J.: Multiple spawning in several commercial fish species and its consequences for fisheries management, cultivation and experimentation. *J. Fish Biol.* 1992; 41 (Supplement B): 125-136.
7. Tyler, C.R., Sumpter, J.P.: Oocyte growth and development in teleost. *Rev. Fish Biol. Fisher.* 1996; 6: 287-318.
8. de Vlaming, V.: Oocyte development patterns and hormonal involvements among teleosts. *Control Processes in Fish Physiology.* London, Croom Helm. 1983.
9. Nagahama, Y.: The functional morphology of teleost gonads. *Fish Physiology.* Volume IX A. New York, Academic Press, 223-275, 1983.
10. Hassin, S., de Monbrison, D., Hanin, Y., Elizur, A., Zohar, Y., Popper, D.M.: Domestication of the White Grouper, *Epinephelus aeneus* 1. Growth and reproduction. *Aquaculture.* 1997; 156: 305-316.
11. Morris, A.V., Roberts, C.M., Hawkins, J.P.: The threatened status of groupers (Epinephelinae). *Biodiversity and Conservation*, 919-942, 2000.
12. Brusle, J.: Expose synoptique des donees bibliographiques sur les merous *Epinephelus aeneus* (Geoffroy Saint Hilaire, 1809) et *E. guaza* (Linnaeus, 1758) de l'Ocean Atlantique et de la Mediterranee, Rome, FAO, 1985.
13. Bouain, A., Siau, Y.: Observation on the female reproductive cycle and fecundity of three species of groupers (*Epinephelus*) from the Southeast Tunisian seashores. *Mar. Biol.* 1983; 73, 211-220.
14. Brusle, J., Brusle, S.: Ovarian and testicular intersexuality in two protogynous Mediterranean groupers, *Epinephelus aeneus* and *Epinephelus guaza*. *Intersexuality in the animal kingdom.* Berlin, Springer, 222-227, 1975.
15. Shapiro, D.Y.: Reproduction in Groupers, In: *Tropical snappers and groupers: biology and fisheries management.* Boulder, Westview Press, 295-326, 1987.
16. Mayer, I., Shackley, S.E., Witthames, P.R.: Aspects of reproductive biology of the bass, *Dichentrarchus labrax* L. II. fecundity and pattern of oocyte development. *J. Fish Biol.* 1990; 36: 141-148.
17. Foucher, R.P., Beamish, R.J.: Production of nonviable oocytes by pacific hake (*Merluccius productus*). *Can. J. Fish. Aq. Sci.* 1980; 37: 41-48.
18. Kestevan, G.L.: *Manual of methods in fisheries biology.* Rome, F.A.O. Man. Fish. Sci., 1960; 1: 152.
19. Lampton, S.S.: *Gonad maturation and fecundity.* Fisheries Techniques. Bethesda, Maryland. American Fisheries Society, 1983.
20. Flugel, H.: Licht und elektronenmikroskopische Untersuchungen an Oozyten und Eiern einiger Knochenfische. *Z. Zeellforsch. Mikrosk. Anat.* 1967; 83: 82-116.
21. Shackley, S.E., King, P.E.: Oogenesis in a marine teleost, *Blennius pholis* L. *Cell Tiss. Res.* 1977; 181: 105-128.
22. Guraya, S.S.: *Maturation of the follicle wall of nonmammalian vertebrates. The Vertebrate Ovary.* New York. Plenum Press. 261-329, 1978.
23. Wourms, J.P.: Annual fish oogenesis. I. Differentiation of the mature oocytes and formation of the primary envelope. *Dev. Biol.* 1976; 50: 338-354.
24. Mayer, I.: *Reproductive biology of the bass, Dichentrarchus labrax* L. Unpublished PhD thesis, University of Wales. 1987
25. Khoo, K.H.: The histochemistry and endocrine control of vitellogenesis in goldfish ovaries. *Can. J. Zool.* 1979; 57: 617-626.
26. Mayer, I., Shackley, S.E., Ryland, J.S.: Aspects of the reproductive biology of the bass, *Dichentrarchus labrax* L. I. A histological and histochemical study of oocyte development. *J. Fish Biol.* 1988; 33: 609-622.
27. Nagahama, Y., Yoshikuni, M., Tokumoto, T., Katsu, Y.: Regulation of oocyte growth and maturation in fish. *Curr. Topics Dev. Biol.* 1995; 30: 104-145.
28. Saidapur, S.K.: Follicular atresia in the ovaries of nonmammalian vertebrates. *Internat. Biochem. Cytol.* 1978; 4: 267.