

**T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ANTALYA KÖRFEZ'İNDE YAŞAYAN *PATELLA* (MOLLUSCA:
GASTROPODA) TÜRLERİNDE GAMETLERİN GELİŞİMİ VE İNCE
YAPILARININ KARŞILAŞTIRILMASI**

Deniz AKŞİT

**DOKTORA TEZİ
SU ÜRÜNLERİ MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**

2014

**T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ANTALYA KÖRFEZ'İNDE YAŞAYAN *PATELLA* (MOLLUSCA: GASTROPODA)
TÜRLERİNDE GAMETLERİN GELİŞİMİ VE İNCE YAPILARININ
KARŞILAŞTIRILMASI**

Deniz AKŞİT

**DOKTORA TEZİ
SU ÜRÜNLERİ MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**

**Bu tez Bu tez Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi
tarafından 2010.03.0121.012 nolu proje ile desteklenmiştir.**

2014

**T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ANTALYA KÖRFEZ'İNDE YAŞAYAN *PATELLA* (MOLLUSCA: GASTROPODA)
TÜRLERİNDE GAMETLERİN GELİŞİMİ VE İNCE YAPILARININ
KARŞILAŞTIRILMASI**

Deniz AKŞİT

**DOKTORA TEZİ
SU ÜRÜNLERİ MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**

Bu tez 19/06/2014 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Oybirliği/Oyçokluğu ile kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Beria FALAKALI MUTAF
Prof. Dr. Ramazan İKİZ
Prof. Dr. Necdet DEMİR
Prof. Dr. Melike ERKAN
Prof. Dr. Güler ÜNAL

ÖZET

ANTALYA KÖRFEZ'İNDE YAŞAYAN *PATELLA* (MOLLUSCA: GASTROPODA) TÜRLERİNDE GAMETLERİN GELİŞİMİ VE İNCE YAPILARININ KARŞILAŞTIRILMASI

Deniz AKŞİT

Doktora Tezi, Su Ürünleri Mühendisliği Anabilim Dalı
Danışman: Prof. Dr. Beria FALAKALI MUTAF
Haziran 2014, 172 Sayfa

Bu çalışmanın amacı Türkiye denizlerinde yaygın olarak yaşayan *Patella* türlerinin gametogenez süreçlerinin ve gamet yapılarının belirlenmesidir.

Üç limpet türü *Patella rustica*, *P. caerulea*, *P. ulyssiponensis*, Antalya Körfez'i kayalık kıyılarından toplanmıştır. Ovaryum ve testislerinden küçük parçalar alınarak ışık mikroskobu için Bouin tespit sıvısına, geçirmeli (TEM) elektron mikroskobu için ikili glutaraldehit ve osmium-tetroksit ikili tespit sıvılarına konmuştur. Parafin kesitler hematoksilin-eosin ile boyanmıştır. Yarı ince kesitler toluidin mavisi ve ince kesitler uranil asetatı takiben kurşun sitrat ile boyanmıştır.

Üç *Patella* türünde erkek ve dişi gametogenez safhalarında yapılar tanımlanmıştır. İlk olarak üreme biyolojilerinde gonad gelişimleri belirlenmiş, ikinci aşamada gamet oluşumları tartışılmıştır.

Şimdiki çalışmamıza göre *Patella* türlerinin kabuk ve yumuşak vücut yapılarına bakılarak eşeyssel ayrımları söz konusu değildir. İncelediğimiz türlerine ve cinsiyetlerine bakılmaksızın, limpetlerin gonadları kısmen olgun (1), olgun (2), kısmen boşalmış (3), boşalmış (4) olmak üzere dört safhaya ayrılmıştır.

Spermatogenez süreçleri boyunca *P. rustica*, *P. caerulea*, *P. ulyssiponensis*'te; spermatogonyum, primer ve sekonder spermatosit, spermatid ve olgun spermier gözlenmiştir. İncelenen türlerin spermierii ilkel tiptir. İlkel sperm tipi, gametlerini serbestçe suya bırakan, döllenmeleri suda gerçekleşen türlerde gelişmiştir. Bu üç türün spermii; nükleus ve akrozom uzunlukları birbirinden farklı olabilen bir baş bölgesine, basit mitokondriyal bir orta bölge ve 9+2'lik bir mikrotübül düzeninde kuyruk yapısından oluşmuştur. İncelediğimiz *Patella* türlerinin akrozom şekilleri birbirinden farklıdır. *P. rustica*'nın spermii'nin baş bölgesi incelenen üç türe göre daha uzundur. Bu türlerin spermierii uzamış nükleus yapıları ile karakterize edilmektedir. İncelenen tüm türlerin spermierii'nin orta bölgeleri birbirleriyle benzer bulunmuş olup, kristaları iyi gelişmiş dört tane küresel mitokondriileri vardır. Spermii'nin orta bölgesinin merkezinde bulunan mitokondriyal yüzüğü proksimal ve distal sentriyoller oluşturmaktadır. Proksimal sentriyol, küçük posteriyor nüklear çıkıntıda yer almaktadır ve distal sentriyol aksonemanın oluşmasını sağlar.

P. rustica, *P. caerulea*, *P. ulyssiponensis* türlerinin oogenez süreçleri boyunca; oogonyum, vitellojenik ve olgun oosit gözlenmiştir. Vitellojenik oositlerde erken ve geç olarak adlandırılan safhalar tanımlanmıştır. İncelenen Patellid türlerinde oogenez süreçleri boyunca olgun oositlerin çapları türler arasında farklı olarak belirlenmiştir. Kortikal granüller, lipid tanecikleri, mitokondri, yumurta sarısı proteini gibi sitoplazmik maddeler, geç vitellojenik ve olgun oositin esas elemanlarıdır. Kortikal granüller ovaryum zarında oolemmmanın altında yerleşmişlerdir. Her bir oosit, vitellin katman ve kalın bir jelatin örtü ile çevrelenmiştir. *P. caerulea*'nın oositinde jelatin örtünün diğer iki türe göre daha kalın olduğu belirlenmiştir. Sayısız mikrovillus jelatin örtüde gömülü olarak bulunmaktadır.

Bulgulardan elde edilen *Patella* türleri üreme döngülerinin yapısal özellikleri ileri bilimsel çalışmalara ön bilgi oluşturması söz konusudur.

Şimdiki çalışmamızın sonucu olarak limpet ovaryumu ve testis yapısının diğer prosobranşlardan önemli ölçüde farklı olması nedeniyle daha gelişmiş çalışmalarda, filogenetik analiz gibi veri setlerinde kullanılmaları önerilmektedir. Bu çalışma bilgilerimiz hibridizasyon yaklaşımları ile araştırmaların genişlemesi yoluyla gametlerin yapısal faktörlerinin türler arası farklılıklara nasıl yol açtığına kolaylıkla anlaşılmasına imkan vermektedir. Son yıllarda sıcaklık ve kirlilik gibi türlerin gamet yapılarını ve üreme döngülerini etkileyen ekolojik faktörler populasyonların azalmasına sebep olmuştur.

ANAHTAR KELİMLER: *Patella*, Antalya Körfezi, gametogenez, spermatogenez, oogenez

JÜRİ: Prof. Dr. Beria FALAKALI MUTAF (Danışman)

Prof. Dr. Ramazan İKİZ

Prof. Dr. Necdet DEMİR

Prof. Dr. Melike ERKAN

Prof. Dr. Güler ÜNAL

ABSTRACT

GAMET DEVELOPMENT AND ULTRASTRUCTURE IN *PATELLA* (MOLLUSCA: GASTROPODA) LIVING IN ANTALYA BAY

Deniz AKŞİT

PhD Thesis in Department of Basic Science and Aquatic Engineering
Supervisor: Prof. Dr. Beria FALAKALI MUTAF
June 2014, 173 pages

The purpose of the present investigation is to describe the process of gametogenesis and gametic structures in *Patella* species common in Turkish seawaters.

Three species of limpet; *Patella rustica*, *P. caerulea*, *P. ulyssiponensis* were collected from rocky shores of Antalya Bay. Small portions of the ovary and testis were excised from animals and fixed in Bouin's fixative for light microscopy, double fixed in glutaraldehyde and osmium tetroxide for transmission (TEM) electron microscopy. Paraffin sections were stained in hematoxylin eosin. Semi-thin sections were stained in 1% toluidine blue and the thin sections with aqueous uranyl acetate followed by lead citrate.

The ultrastructural stages of male and female gametogenesis were described in three *Patella* species. Firstly, the gonadal development in reproduction cycles is analyzed and secondly gametic formations are discussed.

According to the present observations shell or soft body structures are not significant cues to differentiate sex characters of *Patella*, except their gonads. Regardless of the species and the gender of the organisms the gonads of limpets showed four stages (1) "partially ripe", (2) "ripe", (3) "partially spawned" and (4) "spawned" stages.

During the process of spermatogenesis in *P. rustica*, *P. caerulea*, *P. ulyssiponensis*; spermatogonium, primer-secondary spermatocytes, spermatids and mature sperms were observed. The spermatozoa of examined *Patella* species are of a primitive type which generally developed in organisms that spawn their gametes free laying to the water where fertilization occurs. There are some variations in the morphology of the mid piece of the sperms of three species but there are considerable differences in the head regions. The sperm consist of a head of variable length, which is composed of a nucleus and acrosome, a simple mitochondrial midpiece and a flagellum with a 9+2 arrangement of microtubules. The acrosomal forms are these *Patella* species are different from each others. The *P. rustica*'s spermatozoan head was determined the longest among three species. Their spermatozoa are characterized by an elongated nucleus. The mid-piece of all species examined found similar and consists of a ring of four spherical mitochondria with well developed cristae. In the centre of the

mitochondrial ring are the proximal and distal centrioles, the proximal lying in a small posterior nuclear fossa and the distal giving rise to the axoneme.

During the process of oogenesis in *P. rustica*, *P. caerulea*, *P. ulyssiponensis*; oogonia, vitellogenic and mature oocytes were observed. So-called early and late stages of vitellogenic oocytes were recognized. Mature oocytes diameters were determined different in oogenesis process in examined *Patella* species. Cytoplasmic inclusions such as cortical granules, lipid droplets, mitochondria and yolk granules constituted the fundamental components of the late vitellogenic and mature oocyte. The cortical granules were arranged beneath the oolemma at the cortex of the oocyte. Each oocyte is surrounded by a vitelline layer, a thick jelly coat. Jelly coat was found the thickest in *P. caerulea*'s oocytes. Numerous microvilli were embedded in the jelly coat.

The present results obtained on structural elements of the reproductive cycle of three *Patella* species examined provide basic information for further studies on the subject.

So, results from the present study should be considered when morphological data sets are assembled for advanced research such as phylogenetic analysis. This work proposes the expansion of research via approach to hybridization applications which would strengthen our understanding of how gametic structural factors drive interspecific variations. In recent years some ecological factors such as climatic and pollutions affected species' gamete structure and reproductive cycle and cause that these species' populations decline.

KEY WORDS: *Patella*, Antalya Bay, gametogenesis, spermatogenesis, oogenesis

COMMITTEE: Prof. Dr. Beria FALAKALI MUTAF (Supervisor)

Prof. Dr. Ramazan İKİZ

Prof. Dr. Necdet DEMİR

Prof. Dr. Melike ERKAN

Prof. Dr. Güler ÜNAL

ÖNSÖZ

Üreme bütün canlıların en temel özelliklerinden birisi olup, her bir organizma belli bir üreme şekline adapte olmuştur. Eşeyli üreyen canlılarda eşeyssel olgunlaşma karşıt bireyleri ayıran gonadın fonksiyonel özellikleri ile gerçekleşir. Bu gonadların ürettikleri gametlerin birleşmesi tür devamlılığının garantisidir. Bazı sucul organizmalar benzer süreçlerde ürettikleri gametleri suya bırakma davranışı gösterirler. Archeogastropodlardan olan Patellidler bu davranışı benimsemiş organizmalardır. Ülkemiz denizlerinde üç türle temsil edildiği belirlenmiş *Patella* cinsi, kayalık kıyısız bölgelerde dağılım göstermeleri nedeniyle denizel ekosistemin şekillenmesinde önemli role sahiptirler. Bu nedenle değişen çevresel koşullarda bu canlıların türlerini devam ettirmeleri gerekmektedir. Ancak ülkemiz denizlerinde yaşayan *Patella* türlerinin üreme biyolojileri, gonad ve gamet yapıları hakkında herhangi kapsamlı bir çalışma bulunmamaktadır. Bu nedenle Antalya Körfezinde yaşayan *P.caerulea*, *P.rustica* ve *P.ulyssiponensis* türlerinde üremenin, spermatogenez ve oogenez süreçleri ile sperm ve ovum yapılarının öğrenilmesi bu çalışmanın temel amacıdır. Bu amaca ulaşmak için toplanan örneklerdeki süreçler ve ince yapılar ışık mikroskobu ve transmission elektron mikroskobunda (TEM) incelenerek, üç türde benzerlik ve farklılıklar araştırılmış, türlerin üreme biyolojilerinin tam olarak öğrenilmesi ve taksonomik açıdan da belirsizliklerin giderilmesi yönünde bilgi temeli oluşturulması hedeflenmiştir.

Bilgi birikimleri ile beni yönlendiren danışman hocam sayın Prof. Dr. Beria FALAKALI MUTAF'a, çalışmalarımdaya ilerlerken fikirleri ve bilimsel katkıları ile tezimi şekillendirmemde destekleri olan Tez İzleme Komitesi üyeleri, bağlı olduğum Su Ürünleri Temel Bilimler Bölüm başkanı Prof. Dr. Ramazan İKİZ ve mikroskopik çalışma yaptığım dönemde TEMGA Ünitesi başkanı Prof. Dr. Necdet DEMİR'e saygılarımla teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca çalışmalarımın bir kısmını yürüttüğüm ve TEM uygulamalarını bizzat yapmama olanak sağlayan Güney Afrika Rhodes Üniversitesi Zooloji Bölümünde Elektron Mikroskopi Ünitesi başkanı Prof. Dr. Alan N. HODGSON'a, üniteye bilgilerini paylaşan teknisyen arkadaşlarıma ve beni maddi manevi destekleyen anneme ve babama teşekkürü bir borç bilirim.

Yurt dışında geçirdiğim süreçte beni maddi yönden destekleyen Yüksek Öğretim Kurulu Başkanlığı'na teşekkür ederim.

Bu tez 2010.03.0121.012 Proje numarası ile Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	iii
ÖNSÖZ.....	v
İÇİNDEKİLER.....	vi
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	x
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xiv
1. GİRİŞ.....	1
2. KURAMSAL BİLGİLER ve KAYNAK TARAMALARI.....	3
2.1. <i>Patella</i> Cinsinin Sistematikteki Yeri.....	3
2.2. Akdeniz’de Dağılım Gösteren <i>Patella</i> Türleri.....	3
2.3. Ülkemizde Dağılım Gösteren <i>Patella</i> Türleri.....	3
2.4. <i>Patella</i> Türlerinin Morfolojisi ve Anatomisi.....	4
2.4.1. <i>P. rustica</i> , <i>P. caerulea</i> , <i>P. ulyssiponensis</i> türlerinin tayin anahtarı.....	5
2.5. <i>Patella</i> Türlerinde Eşeyssel Gelişim ve Üreme Zamanı.....	5
2.5.1. Gonad yapısı.....	7
2.5.2. Gametogenez.....	9
2.5.3. Testis.....	9
2.5.4. Spermatogenez basamakları.....	10
2.5.4.1. Spermiyogenez.....	11
2.5.4.1.1. Golgi fazı.....	11
2.5.4.1.2. Akrozomal faz.....	12
2.5.4.1.3. Olgunlaşma fazı.....	12
2.5.4.1.4. Spermatozoon çeşitleri.....	13
2.5.4.1.5. Sperm anatomisi.....	17
2.5.4.1.5.1. Plazma zarı.....	19
2.5.4.1.5.2. Baş bölgesi.....	19
2.5.4.1.5.2.1. Akrozom.....	19
2.5.4.1.5.2.2. Subakrozomal madde.....	20
2.5.4.1.5.2.3. Nükleus.....	20
2.5.4.1.5.3. Orta Bölge (boyun bölgesi).....	20
2.5.4.1.5.3.1. Sentriol.....	21
2.5.4.1.5.3.2. Mitokondri.....	21
2.5.4.1.5.4. Kuyruk bölgesi.....	21
2.5.5. Spermin fonksiyonel özelliği.....	21
2.5.6. Spermatogenez ve sperm ince yapılarıyla ilgili elektron mikroskopik çalışmalar.....	22
2.6. Ovaryum ve Gelişimi.....	26
2.6.1. Yardımcı hücreler.....	28
2.6.2. Oogenez basamakları.....	30
2.6.2.1. Vitellojeniz.....	33
2.6.2.1.1. Vitellojeniz tipleri.....	34
2.6.3. Yumurta sarısı içeren diğer hücreler.....	35
2.6.4. Folikül hücresinin kaynağı ve gelişimi.....	36
2.6.4.1. Gonadal kök hücre (GSC).....	36
2.6.4.2. Folikül hücreleri ve vitellojeniz.....	38

2.6.4.2.1. Folikül Hücreleri ve yumurta zarının oluşumu..	39
2.6.4.2.2. Folikül hücreleri ve fagositoz.....	39
2.6.4.2.3. Folikül hücreleri ve ovulasyon.....	39
2.6.5. Vitellus granülleri.....	39
2.6.5.1. Yumurta sarısı bileşimi.....	40
2.6.6. Vitellus sentezi.....	41
2.6.6.1. Proteinik vitellus üretimi.....	41
2.6.6.2. Lipid içerikli vitellus üretimi.....	42
2.6.7. Vitellusun fonksiyonel önemi	42
2.6.8. Oosit absopsiyonu.....	42
2.6.9. Ovaryum ince yapısı ve oogenez ile ilgili elektron mikroskopik çalışmalar.....	42
3. MATERYAL VE METOD.....	45
3.1. Örneklerin Toplanması.....	45
3.2. Tür Tayini.....	45
3.3. Eşey Tayini.....	46
3.4. Histolojik İncelemeler.....	46
3.5. Transmission (Geçirmeli) Elektron Mikroskopunda İncelemeler	46
3.6. Morfolojik Ölçümler.....	47
4. BULGULAR.....	48
4.1. <i>Patella</i> 'da Gonad Yapısı.....	48
4.1.1. Erkek gonadların gelişim safhaları ve sperm yapısı	50
4.1.1.1. Spermatogenez.....	54
4.1.1.2. Spermiyogenez.....	66
4.1.1.2.1. Nükleusta yapısal değişiklikler.....	66
4.1.1.2.2. Akrozom Oluşumu.....	72
4.1.1.2.3. Orta bölge oluşumu ve diğer sitoplazmik özellikler...	73
4.1.1.3. Spermin uzamış baş bölgesiyle testiste yerleşimi.....	73
4.1.1.3.1. Sperm yapısı.....	76
4.1.2. <i>Patella</i> türlerinde ovaryum ve gelişim safhaları	83
4.2.2.1. Oogenez ve oosit yapısı	87
5. TARTIŞMA.....	124
5.1. Eşeyssel Gelişim ve Üreme Biyolojisi.....	124
5.2. Testis ve Spermatogenez Süreci.....	128
5.3. Ovaryum ve Oogenez Süreci	
6. SONUÇLAR.....	143
7. KAYNAKLAR.....	146
ÖZGEÇMİŞ	

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

μm Mikrometre

Kısaltmalar

A	Akrozom
aç	Aksiyal çubuk materyal
AD	Asinal duvar
AH	Yardımcı hücreler
Ak	Akrosomal kese
Asg	Tip A spermatogonyum
BL	Basal lamina
bm	Basal membran
BNu	Büyük nükleolus
Bsg	Tip B spermatogonyumu
Bt	Basal tabaka
BY	Bağlanma yeri
ds	Distal sentriyol
EPO	Erken previtellojenik oosit
ER	Endoplazmikretikulum
Esp	Erken spermatid
EvO	Erken vitellojenik oosit
FB	Foliküler boşluk
FH	Folikül hücresi
G	Golgi kompleksi
GER	Granüllü endoplazmik retikulum
GPO	Geç previtellojenik oosit,
GVO	Geç vitellojenik oosit
GI	Glikojen
H&E	Hematoksilen-eosin
JÖ	Jelatin örtü
k	Kuyruk
KG	Kortikal granül
KNu	Küçük nükleolus
L	Lipid tanesi
M	Mitokondri
Mv	Mikrovillus
N	Nükleus
Nu	Nükleolus
Ol	oolemma
OO	Olgun oosit
PA	Posteriyor akrosomal boşluk
P.c	<i>Patella caerulea</i>
Pg	Protogonyum
pm	Periferal mikrotübül

PO₁₋₅	Postvitellojenik oosit,
POg	Primer oogonyum
P.r	<i>Patella rustica</i>
Ps	Proksimal sentriyol
Pst	Primer spermatoisit
P.u	<i>Patella ulyssiponensis</i>
PvO	Previtellojenik oosit
Pz	Plazma zarı
R	Radiyal kol
SA	Subakrozomal kese
sg	Spermatogonyum
sit	Sitoplazmik parçalar
sm	Sentriyol mikrotübül
SOg	Sekonder oogonyum
sp	Spermatid
Sst	Sekonder spermatoisit
st	Spermatoisitler
tk	Tübüler krista
TM	Toluidin mavisi
y	Yumurta sarısı proteini
Y	Yaka
YK	Yassı kesecikler
Yz	Yumurta zarı

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1.	<i>Patella sp</i> 'nin kabuk yapısı ve yumuşak vücut yapısının ventralden görünüşü.....	5
Şekil 2.2	Erkek gonadının gelişim sürecini çizimsel gösterimi.....	10
Şekil 2.3	Aplacophoran neomeniomorp'tan <i>Epimania australis</i> erken, orta ve geç spermiyogenik safhalar.....	13
Şekil 2.4	Mollusca sperm formlarının çeşitliliği.....	14
Şekil 2.5	Euspermin orta bölgesinin enine kesitlerinin diyagramı.....	17
Şekil 2.6	Archaeogastropodlarda sperm genel yapısı.....	18
Şekil 2.7	<i>Patella vulgata</i> 'nın sperm yapısının şematize hali.....	18
Şekil 2.8	<i>Perotrochus westralis</i> 'in akrozomal bölgesi.....	19
Şekil 2.9	Hidrotermal ventgastropodlardan <i>Lepetodrilus fucensis</i> 'in sperm yapısı.....	20
Şekil 2.10	Patellid limpetlerin 5 farklı sperm morfolojilerinin temsilcilerinin boylamsal semidiyagramatik şekli.....	24
Şekil 2.11	<i>Patella sp.</i> 'de dişi gonadın gelişim sürecini çizimsel gösterimi.....	27
Şekil 2.12	Bivalvlerde bulunan yardımcı hücre tipleri.....	30
Şekil 2.13	<i>Amiantis umbonella</i> 'nın ovaryumunda elektron ve ışık mikroskopik görüntülere göre belirlenmiş olan oogenez süreçlerinin şematize edilmiş çeşitli safhalar.....	33
Şekil 2.14	Pulmonat salyangozlardan <i>Lymnea stagnalis</i> 'in oogenez safhaları. ..	36
Şekil 2.15	Prosobranş <i>Viviparus viviparus</i> oositinin farklılaşma şeması.....	37
Şekil 2.16	Bivavlerden <i>Sphaerium striatum</i> 'un ovaryumunun şematize hali, oogenez safhaları.....	37
Şekil 2.17	Farklı metazoonlarda, yumurta sarısı öncü maddelerinin kaynakları ve gelişmekte olan oositlere alınış yolları.....	41
Şekil 3.1	Antalya Körfezi'ndeki çalışma alanının haritası.....	45
Şekil 3.2	Patellid sperm yapısı, (Hodgson vd 1996).....	47
Şekil 4.1	<i>P. caerulea</i> 'da gonad morfolojileri.....	49
Şekil 4.2	Aylara göre <i>P. rustica</i> ve <i>P. caerulea</i> 'da eşey dağılım oranları.....	50
Şekil 4.3	<i>P.rustica</i> testisinin enine kesitinde farklı gelişim durumları.....	52
Şekil 4.4	<i>P. caerulea</i> testisinde gelişim safhaları.....	53
Şekil 4.5	<i>P.ulyssiponensis</i> testisinde tam olgun safha.....	54
Şekil 4.6	<i>P.rustica</i> testisinin yarı ince kesitinde spermatogenez aşamaları.....	55
Şekil 4.7	<i>P.caerulea</i> testisinin yarı ince kesiti, spermatogenez sürecinde tüm germinal hücrelerin birlikte görüldüğü tübüller.....	56
Şekil 4.8	<i>P.caerulea</i> testisinin yarı ince kesitinde spermatogenez aşamaları....	57
Şekil 4.9	<i>P.ulyssiponensis</i> , testisinde spermatogenez aşamaları.....	58
Şekil 4.10	<i>P. rustica</i> spermatogenez erken aşamalarının elektron mikrografları.....	59
Şekil 4.11	<i>P.rustica</i> , testisin ince kesitinde spermatogenez safhalarında komşu alanlar farklı hücre tipleri.....	60
Şekil 4.12	<i>P. caerulea</i> , Tip A spermatogonyum (Asg) yerleşimi, nükleusunda kromatin materyalinin heterokromatin yapıya geçişi.....	61
Şekil 4.13	<i>P. caerulea</i> , testisinde spermatogenez.....	62
Şekil 4.14	<i>P. caerulea</i> , spermatogenezden spermiyogeneze geçiş aşaması.....	63
Şekil 4.15	<i>P.ulyssiponensis</i> , testis tübülünde farklılaşma aşamalarında sperm	64

	hücrelerine farklılaşım.....	
Şekil 4.16	<i>P.ulyssiponensis</i> spermiohistogenez aşaması a: spermilerin (s) farklılaşma aşamaları.....	65
Şekil 4.17	<i>P. rustica</i> testisinde spermatositlerin spermatid'e dönüşüm aşaması.....	67
Şekil 4.18	<i>P.rustica</i> sitokinez aşaması devam eden birbirinden henüz ayrılmamış spermatositler ve spermatidler.....	68
Şekil 4.19	<i>P.rustica</i> , spermatidde kuyruk gelişimi.....	69
Şekil 4.20	<i>P. rustica</i> , testisinde spermiyogenez.....	70
Şekil 4.21	<i>P. rustica</i> , spermilerin (s) olgunlaştığı dönemde halen sitokinez tamamlanmamış spermatidler.....	71
Şekil 4.22	<i>P. caerulea</i> , sperm gelişim safhasında nükleusun uzaması, mitokondri yapısı, akrozom, proksimal sentriyol belirginleşmesi görülmektedir.....	71
Şekil 4.23	<i>P.ulyssiponensis</i> , spermatidleri olgunlaşmaya başladıklarında nükleuslarının çevresindeki sitoplazma materyallerinde artma görülmüştür.....	72
Şekil 4.24	<i>P. caerulea</i> testisinde spermiohistogenez.....	74
Şekil 4.25	<i>P. rustica</i> , testisinde gelişmekte olan spermatidlerde akrozomun ve nükleusun uzamaya başladığı aşama.....	75
Şekil 4.26	<i>P. rustica</i> , spermatit uzamış ve oval şekilli granüler kromatin yapıda nükleus, uzamış akrozom, proakrozomal boşluk.....	76
Şekil 4.27	<i>P. caerulea</i> , sperm gelişimin daha ileri safhasında nükleus uzamış ve granüler yapıda heterokromatin materyali, kuyruk iyice belirginleşmiştir.....	76
Şekil 4.28	Üç türde sperm yapısı.....	78
Şekil 4.29	Ayrıntılı akrozom ve subakrozomal yapıları.....	79
Şekil 4.30	<i>P. rustica</i> , sperm orta bölgesi, mitokondri, glikojen tanecikleri... ..	80
Şekil 4.31	<i>P. rustica</i> testisinde sperm farklı bölgelerinin kesitleri.....	81
Şekil 4.32	<i>P.ulyssiponensis</i> , olgun sperm yapısında orta bölge enine kesiti.....	82
Şekil 4.33	<i>P.rustica</i> ovaryumunda gelişim safhaları.....	84
Şekil 4.34	<i>P. rustica</i> 'da dişi gonadda sıkı paketlenmiş oositler.....	85
Şekil 4.35	<i>P. rustica</i> olgun safhada elde edilen yumurta süspansiyonu.....	85
Şekil 4.36	<i>P.caerulea</i> ovaryumunda gelişim safhaları.....	86
Şekil 4.37	<i>P. ulyssiponensis</i> ovaryumunda gelişim safhaları.....	87
Şekil 4.38	<i>P. rustica</i> ovaryumunun ince kesitinde hücresel yapı.....	89
Şekil 4.39	<i>P. ulyssiponensis</i> erken dönem ovaryumun hücresel yapısı.....	90
Şekil 4.40	<i>P. rustica</i> oogenezinde previtellojenik oosit yapısı.....	91
Şekil 4.41	<i>P. caerulea</i> 'da ovaryum yapısı.....	92
Şekil 4.42	<i>P. caerulea</i> ovaryumunda previtellojenik oosit sitoplazmasında golgi kompleksi.....	93
Şekil 4.43	<i>P. rustica</i> oogenezinde erken vitellojenik oositler.....	95
Şekil 4.44	<i>P. rustica</i> oogenezinde erken ve geç vitellojenik oositler.....	96
Şekil 4.45	<i>P. caerulea</i> vitellogenezinde erken vitellojenik oosit, olgun oosit.....	97
Şekil 4.46	<i>P. caerulea</i> vitellogenezinde erken vitellojenik oosit.....	97
Şekil 4.47	<i>P. caerulea</i> vitellogenezinde erken ve geç vitellojenik oosit yapısı....	98
Şekil 4.48	<i>P. rustica</i> 'nın ovaryumunun yarı ince kesitinde görüntülenen hücreler.....	100
Şekil 4.49	<i>P. rustica</i> 'nın olgun ovaryumunda yarı ince kesitinde hücresel yapı..	101

Şekil 4.50	<i>P. rustica</i> postvitellojenik oositlerin elektron migrografi.....	102
Şekil 4.51	<i>P. rustica</i> olgun oositinin ayrıntılı periferik yapısı.....	103
Şekil 4.52	<i>P. rustica</i> 'da postvitellojenik oosit yapısı.....	104
Şekil 4.53	<i>P. rustica</i> , olgun oosit sitoplazması.....	105
Şekil 4.54	<i>P. caerulea</i> 'nın ovaryumunun yarı ince kesiti, olgun oositler.....	106
Şekil 4.55	<i>P. caerulea</i> 'nın ovaryumunda postvitellojenik oositin yarı ince kesiti.....	107
Şekil 4.56	<i>P. caerulea</i> 'nın ovaryumunda birbirlerine yakın konumlu olgun oositler ve geç vitellojenik oositler, previtellojenik oositler.....	108
Şekil 4.57	<i>P. caerulea</i> geç vitellojenik oositin oblik kesiti.....	109
Şekil 4.58	<i>P. caerulea</i> geç vitellojenik oosit EM mikrografi.....	110
Şekil 4.59	<i>P. caerulea</i> ovaryumunda postvitellojenik oosit sitoplazması.....	111
Şekil 4.60	<i>P. ulyssiponensis</i> 'te gelişmiş ovaryumunun yarı ince kesiti.....	112
Şekil 4.61	<i>P. ulyssiponensis</i> ovaryum enine kesitinde olgun oositler.....	113
Şekil 4.62	<i>P. ulyssiponensis</i> ovaryumunda postvitellojenik oosit.....	114
Şekil 4.63	<i>P. ulyssiponensis</i> ovaryumunda olgun oositin ayrıntılı yapısı.....	116
Şekil 4.64	<i>P. ulyssiponensis</i> ovaryumunda olgun oositte salgı keseciği.....	117
Şekil 4.65	<i>P. ulyssiponensis</i> ovaryumunda olgun oositin jelatin örtüsü dışında dejenere yapılar.....	118
Şekil 4.66	<i>P. ulyssiponensis</i> ovaryumunda postvitellojenik oositin ayrıntılı sitoplazma yapısı.....	119
Şekil 4.67	<i>P. rustica</i> ovaryumunda follikül hücreleri.....	120
Şekil 4.68	<i>P. rustica</i> ovaryumunda olgun bir oosite yakın konumlu follikül hücresi.....	121
Şekil 4.69	<i>P. caerulea</i> ovaryumunda geç vitellojenik oosite yakın konumlu folikül hücresi.....	122
Şekil 4.70	<i>P. caerulea</i> ovaryumunda ovaryum duvarı, arasında foliküler hücrelerin dağılımı.....	122
Şekil 4.71	<i>P. caerulea</i> ovaryumunda yassı folikül hücreleri desmozomlar ile birbirlerine bağlantılıdır.....	123

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1	Patellidlerde dişi gonadda gelişim safhalarının tanımlanması (McCarthy vd 2008).....	28
Çizelge 2.2	Oogenezin Safhaları (Wourms 1987).....	32
Çizelge 4.1	<i>Patella</i> 'da gonad gelişim safhaları.....	49
Çizelge 4.2	<i>P. rustica</i> , <i>P. caerulea</i> ve <i>P. ulyssiponensis</i> türlerinde sperminin bazı morfolojik ölçümlerinden elde edilen ortalama değerler (N=20).....	77
Çizelge 4.3	<i>P. rustica</i> , <i>P. caerulea</i> ve <i>P. ulyssiponensis</i> türlerinde ovaryumda gelişim safhalarına göre oogonyum ve oositlerin ölçümü.....	114
Çizelge 5.1	Patellidae ¹ familyasından (Hodgson ve Bernard 1988), Lottidae ² Fissurellidae ³ (Hodgson ve Chia 1993, Buckland-Nicks ve Howley 1997, Hodgson ve Morton 1998), Trochidae ⁴ (Hodgson vd 1990), Acmaeidae ⁵ (Hodgson ve Morton 1998) sperm baş bölgesinin (B.U), nükleusun (N.U.) ve akrozomun (A.U.) ortalama uzunlukları.....	134
Çizelge 5.2	Euspermatozoa yapısına sahip bazı gastropod türlerinin akrozom ve nükleus uzunlukları (Healy ve Jamieson 1989).	135

1.GİRİŞ

Canlılar türlerini devam ettirebilmek için üreme aktivitelerini gerçekleştirir. Dolayısıyla üreme süreçleri biyolojinin temel konularından birisidir. Temelde tüm canlılarda üremenin eşeysiz ve eşeyli olarak iki grupta ele alınması yanında, hayvanlar alemi üyeleri de farklı gelişmişlik durumları ve yaşadıkları ortamların farklı olması nedeniyle üremeleri ile ilgili konularda morfolojik, fizyolojik ve davranımsal çeşitlilik gösterirler.

İlke olarak eşeyli üreme gösteren tüm hayvanlarda eşey hücreleri olan gametlerin oluşum mekanizmaları benzer görülse de oluşum yerlerinin farklılığı, bu hücrelerin şekilsel durumları onların ayrı ayrı araştırılmasına değer kılmaktadır. Zira biyolojide spermin yumurtayı bulması ve yumurta zarını geçerek kalıtsal materyalini aktarması gibi temel problemler tamamen sperm ve yumurta hücrelerinin şekilsel özellikleri ve bu şekli kazanmalarındaki gelişim süreçleri ile ilgilidir.

Gonadların gelişim özellikleri ve morfolojileri ile gametlerin oluşumları, vitellogenizasyon aşamaları ve gametlerin morfolojik özellikleri, türler üzerindeki evrimsel baskılar ile ortaya çıkmış olup ve önemli farklılıklar yansıtır. Hayvanlar sucul veya karasal ortamlarda veya amfibik özelliklerle yaşamlarını sürdürür ve bu yaşamsal özelliğe uygun olarak gametlerin dış veya iç dölleme mekanizmaları gelişmiştir (Serrao ve Haveland 2009).

Patellidler denizel ortamda yaşayan ve ayrı eşeyli davranışı ortaya koyan gastropodlardır. Ancak dölleme olayının suda gerçekleşmesi gibi istisna bir durumla diğer pekçok Gastropoda üyelerinden ayrılmaktadır. Bu bakımdan *Patella* cinsi bireylerde üreme biyolojisi oldukça önemli bulunmuştur.

Taksonomik açıdan ayırt edilmesi zor olan *Patella* türlerinin sınıflandırılması çalışmalarında kabuk morfolojisi (Akşit ve Falakalı Mutaf 2009, Cabral ve Silva 2003, Cabral ve Jorge 2007), yumuşak doku anatomisi (Akşit ve Falakalı Mutaf 2009, Akşit ve Falakalı Mutaf 2011), radula diş yapısı (Falakalı Mutaf ve Akşit 2009, Öztürk ve Ergen 2006) gibi özelliklerden yararlanılmıştır. Bu yapılar bugünkü taksonomi ve evrimsel malakolojinin temelini oluşturmaktadır. Fakat sınıflandırma çalışmalarında bu ayırıcı özelliklerin yanında testis ve ovaryum yapısının ve gametik özelliklerinin incelenmesiyle, taksonomik açıdan oluşan bazı belirsizliklerin ortadan kalkması sağlanmaktadır (Hodgson ve Bernard 1988, 1989, Jamieson vd 1991, Hodgson ve Morton 1998, Ridgway vd 1998).

Bilhassa Güney Afrika kıyılarında yaşayan ve bazı Akdeniz, Atlantik Patellid limpetlerin üreme biyolojileri ile testis ve ovaryum yapılarına yönelik pek çok çalışma vardır (Branch 1974, Lasiak 1987, Dunmore ve Schiel 2000, Curdia vd 2005, Ribeiro vd 2009). Buna rağmen ülkemiz denizlerinde yaşayan Patellid türler ile ilgili olarak testis ve ovaryumun ince yapıları hakkında kapsamlı bir çalışma bulunmamaktadır. Diğer ayırıcı özellikler yanında Patellid limpetlerin testis ve ovaryum yapıları ile gametik özelliklerinin incelenmesi, bazı sınıflandırma çalışmalarında kullanılmaktadır. (Hodgson vd 1996, Ridgway vd 1998)

Gametlerin ince yapı özelliklerinin birçok sistematik derleme de evrimsel ve filogenetik analizlerde kullanılabildiği gösterilmiştir (Hodgson vd 1996, Jamieson vd 1991, Ridgway vd 1998, Goldstein vd 2006, White-Cooper ve Bausek 2010). Yine ülkemiz sularında bulunan *Patella* ve yakın türlerde gamet gelişimleri ve yapıları açısından yapılmış herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu sebeple Türkiye denizlerinde ve bilhassa Antalya Körfezinde yaşayan patellidlerden kabuk morfolojileri ile kesin olarak ayırt edilemeyen *Patella caerulea*, *P. rustica* ve *P. ullyssiponensis* türlerinde testis ve ovaryum yapıları, gametlerin gelişim süreçleri olan spermatogenez ve oogeneze aşamalarının, sperm ve ovumun ince yapılarının ışık ve elektron (TEM) mikroskoplarında incelenerek benzerlik veya farklılıkların belirlenmesi yönünde çalışmanın gerçekleştirilmesi ve mevcut kaynaklar yardımı ile bulguların değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Patella türlerinin ülkemiz sularında ve dünya denizlerinde kaybolma tehlikesinde olduğu son yıllarda özellikle üzerinde durulan bir konu olup (Guerra-Garcia vd 2004, Lasiak 2006, Cabral 2007, Fauvelot vd 2009, Çulha ve Bat 2010, Lima vd 2006) korunması için çeşitli çalışmalar yürütülmektedir (Paracuellos vd 2003, Guerra-Garcia vd 2004, Espinosa 2009, Curdia vd 2005).

Bu tez çalışması ile ulaşılabilecek bilgilerin, Türkiye denizlerinde yaşayan *Patella* türlerinin üreme biyolojisi konularında katkıda bulunarak yakın gelecekte yüksek olasılıkla koruma gerekliliği söz konusu olacağından yapılacak üretim denemeleri için kaynak bilgiler sağlayacağına da inanılmaktadır.

2. KURAMSAL BİLGİLER ve KAYNAK TARAMALARI

2.1. *Patella* Cinsinin Sistematikteki Yeri

Patella türleri, sistematikteki yeri açısından Prosobranchia'nın üç takımından en ilkel olan Archaeogastropodlara dahildir.

Phylum	: Mollusca
Classis	: Gastropoda
Subclassis	: Prosobranchia
Ordo	: Archaeogastropoda
Subordo	: Patellina
Fam	: Patellidae Rafinesque, 1815
Genus	: <i>Patella</i> Linnaeus, 1758

2.2. Akdeniz'de Dağılım Gösteren *Patella* Türleri

Patella genusunun dünyada isimlendirilen 105 türünden (WORMS 2012) Akdeniz'de; aşağıdaki ilk beş tür ile temsil edildiği bildirilmesine karşın, daha sonraki yıllarda bunlara *P. intermedia* Murray,1857 türü de ilave edilmiştir (Öztürk ve Ergen 1996). Ülkemiz sularında en yaygın olarak bulunan *P. caerulea* Linnaeus,1758 (Öztürk ve Ergen 1996, Çulha ve Bat 2010) endemik bir Akdeniz türüdür. *P. ulyssiponensis* Gmelin,1791, *P. rustica* Linnaeus,1758 hem Akdeniz hem de Atlantik kıyılarında bulunmaktadır (Mauro vd 2003, Cabral 2007). Dolayısıyla Akdeniz kıyılarında bulunan *Patella* türleri aşağıdaki gibidir.

- *P. caerulea* Linnaeus,1758
- *P. rustica* Linnaeus,1758 (Syn: *P. gorgonica* da Costa 1771, *P. lusitanica* Gmelin 1791)
- *P. ulyssiponensis* Gmelin,1791(Syn: *P. aspera* Lamarck 1819, *P. athletica* Bean1844)
- *P. ferruginea* Gmelin,1791
- *P. safiana* Lamarck,1819 (Syn: *Cymbula nigra* da Costa 1771)
- *P. intermedia* Murray,1857 (Syn: *P. depressa* Pennant 1777)

Avrupa denizlerinde yaygın olarak bulunan *P. vulgata* türü ise (Cabral 2007) Akdeniz'de bulunmamaktadır.

2.3. Ülkemizde Dağılım Gösteren *Patella* Türleri

P. caerulea ve *P. rustica* Türkiye denizlerinde geniş bir yaşam sahasına sahiptir (Öztürk ve Ergen 1996, Ayas vd 2008).

P. caerulea türü, ülkemizin tüm sahillerinde yayılmış durumdadır. *P. rustica* ve *P. ulyssiponensis* türleri Akdeniz ve Ege Denizinde daha kısıtlı bir dağılım göstermekte (Ayas vd 2008), dolayısıyla Marmara ve Karadeniz sahillerimizde ise yalnızca *P. caerulea* türü bulunmaktadır (Öztürk ve Ergen 1996). *P. safiana* Lamarck 1819 ve *P. intermedia* Murray 1857 türlerinin Türkiye denizlerinde bulunduğu dair bir kayda rastlanılmamıştır.

2.4. *Patella* Türlerinin Morfolojisi ve Anatomisi

Patella türlerine dahil organizmalar iyi gelişmiş bir baş ve simetrik olmayan bir vücut yapısına sahiptir. Başın dorsal tarafında bir çift tentakül ile bir çift göz bulunur. Gözler tentaküllerin diplerindeki kabarıklıkların uçlarındadır (Fretter ve Graham 1994).

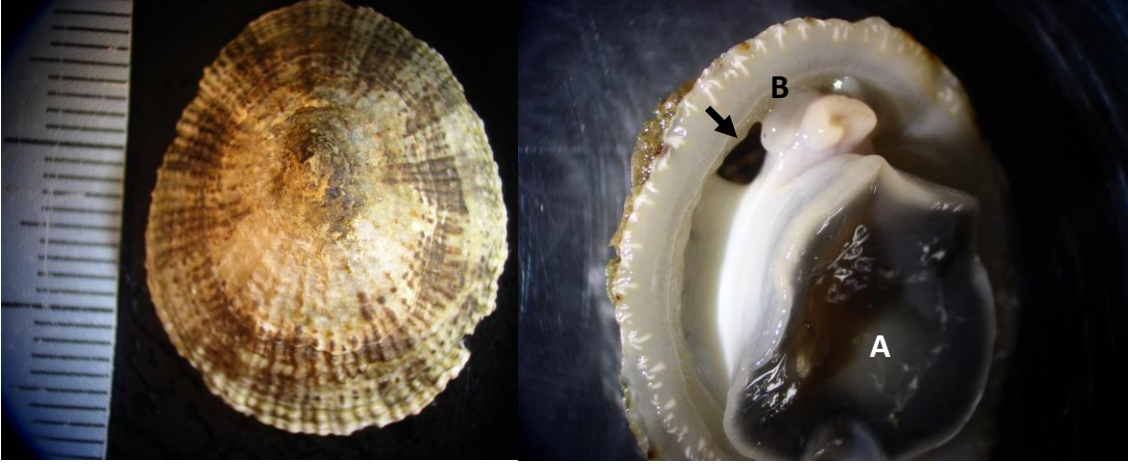
Patella türleri sarmal yapı göstermeyen tas şeklinde, solunum suyu çıkış deliği, kabuk kapağı ve epipodiyumu bulunmayan tek kabuğa sahip salyangozlardır (Demirsoy 2001). Kabuk apeksten kenarlara doğru damarlanmış yapıda konik şekillidir. Bu durum hayvanın, vücudunun yumuşak dokularını kabuk içine saklayarak, kayalara yapışmasını sağlar (Fretter ve Graham 1994).

Patella'lar genç evrelerinde bilateral simetridir ve gelişimleri sırasında torsiyon olayı ile birlikte vücudun her iki yanının eşit büyümemesinden dolayı bilateral simetri bozulur. Sol taraf daha fazla büyür. Diğer taraf ise ya hiç büyümmez ya da çok az büyür. Torsiyon olayıyla, iç organlar kitlesi 180° dönerek, arkada bulunması gereken manto boşluğu ve buradaki organlar öne yönelir, baş üstü bölgede toplanır. Torsiyondan sonra vücut asimetrik bir yapı alır (Fretter ve Graham 1994, Demirsoy 2001). Anüs manto boşluğunun sağ tarafında yer alır (Şekil 2.1). Manto, kabuğun gelişiminden sorumludur.

Patella türleri farklı ekolojik faktörlerden dolayı, kendilerine koruma durumları oluşturur. Böylece şekil ve büyüklüklerinde oldukça çeşitlilik gösterirler (Akşit ve Falakalı Mutaf 2009a). Kabuk morfolojisi Patellidlerin yaşadığı habitatdaki çevresel koşullardan etkilenebilmektedir. Vertikal zonasyon, kuruluğa maruz kalma derecesi ve dalga şiddeti, kabuğun şeklini ve boyutunu belirleyen faktörlerdendir. Dalga stresine maruz kalan türlerde, bu duruma dayanabilmek için kabuklarında düzleşme meydana gelmektedir. Dik, konik formlar, gel-git zonunun yüksek kısımlarında yaşayan türlerden, daha düz formlar ise düşük seviyedeki zonlarda yaşayan türlerde görülür (Orton 1929, Bannister 1975, Fretter ve Graham 1994). Ayrıca azalan yükseklikte, apeks anteriör bölgesinin hemen yakınına yerleşir (Cabral ve Silva 2003, Cabral ve Jorge 2007).

Sublittoral zonda, düşük kıyı seviyesine ve sonra da yüksek seviyeye geçerken *Patella* kabuğunda büyüme görülür (Cabral ve Silva 2003). *Patella* türleri gel-git zonunun yüksek kısımlarında yaşarken yüzeylerindeki gereksiz yere ortaya çıkan sıcaklık artışını azaltmak için, kabuğun kenarlarında pek çok çıkıntılı yapı oluşumu vardır (Fretter ve Graham 1994).

Sürünmeye uyum sağlamış ayak yapısı; sürünme yüzeyi boyunca çok fazla sayıda pedal bez içerir (Akşit vd 2012). Bu bezlerin çıkardığı kaygan salgı, hareketin kolaylaştırılmasına ve yapışmaya yardımcı olur. Kayaların üzerine tutunarak, yaşayabilmeleri için ayakları vakum yapabilecek şekil kazanmıştır. Ayak mukus salgısı aynı zamanda besin oluşturmakta etken olabilmektedir (Falakalı Mutaf vd 2009b).



Şekil 2.1. *Patella sp*'nin kabuk yapısı ve yumuşak vücut yapısının ventralden görünüşü.
A: ayak, ok: manto boşluğu, B: baş bölgesi (orjinal)

2.4.1. *P. rustica*, *P. caerulea*, *P. ulyssiponensis* türlerinin tayin anahtarı

- 1a. Hayvanın ayağı gri renkli ise.....2
 b. Hayvanın ayağı krem, somon renklerindeyse; kabuk üzerinde düzensiz çıkıntılar varsa, kabuğun iç kısmı beyaz olup, portakal rengi iz bulunuyor ise*P. ulyssiponensis*.
- 2a. Kabuk yüzeyinde çıkıntılar ile genellikle siyah benekler varsa; kabuğun iç kısmında ışınal kahverengi çizgiler bulunuyorsa*P. rustica*.
 b. Kabuk yüzeyinde pek çok düzensiz düz çıkıntı bulunuyor, kabuğun iç yüzeyinde kahverengi ışınal çizgiler yoksa, şekil ve kabuk içinin rengi bakımından çok çeşitlilik söz konusu ise*P. caerulea*.
 (Cachia vd 1991).

2.5. *Patella* Türlerinde Eşeyssel Gelişim ve Üreme Zamanı

Mollusca üyelerinin çoğu gibi *Patella* türleri ayrı eşeyli canlılardır (Calow 1983). Prosobranchia'da birçok türde eşeye bağlı kabuk ve radula morfolojilerinde değişiklikler görülürken Patellidlerde morfolojik olarak belirgin bir eşey farklılığının olmadığı bilinmektedir. *Patella* türlerinde kabuk veya yumuşak vücut kısımlarına bakılarak erkek ve dişi birey ayırımı yapılmasının söz konusu olmadığı belirlenmiş, kabuk morfolojisinin çevresel koşullarda değişebildiği dikkate alınarak (Bannister 1975, Cabral 2007) eşeyssel dimorfizmin sadece kabuk boyutları ile morfometrik olarak kısmen yapılabileceği, limpetlerin erkek olarak gelişimine başladığı, vücut boyutlarının artışı ile dişi özellik kazandığı açıklanmıştır (Orton 1928, Le Quesne ve Hawkins 2006). Farklı eşeylerdeki bireylerin büyüklükleri farklıysa dişi bireyler genelde daha büyük olmaktadır (Webber 1977, Fretter 1984, Akşit ve Falakalı 2009a). Boyutları küçük olan bireylerde erkek eşey çoğunluğu görülmektedir (Thomson 1980). Ancak bazı limpet türlerinde daima erkek/dişi oranı 1:1 olarak belirtilmiştir (Niu ve Fuji 1989).

Bazı türlerde bu eşey dönüşümünün birbirini takip eder bir şekilde gerçekleştiği belirtilmiştir. *P. vulgata* ve *P. caerulea* gibi türlerde protandrik hermafroditliğin olduğu

vurgulanmıştır (Dodd 1956, Branch 1974, Le Quesne ve Hawkins 2006). *P. ferruginea* türünde de eşey dönüşümünün çok az olsa da rastlanabildiği belirtilmiştir (Laborel-Deguen ve Laborel 1990, Espinosa vd 2009, Guallart vd 2013). Gonad gelişiminde testis yapısından ovaryum haline dönüşüm şeklinde bir gelişim olduğu ve bu dönüşümün olgun spermelerin suya verilmesini takiben gerçekleştiği ve gonad yapısının kompakt veya ayrı loblar şeklinde olabildiği, bir eşey körelirken diğer eşeyin gelişim gösterdiği açıklanmıştır (Dodd 1956, Lasiak 1990, Creese vd 1990). *P. candei* türüne ait ise eş zamanlı fonksiyonel hermafroditlik belirlenmiş ancak bu durumun normalden bir sapma olduğu vurgulanmıştır (Cunha vd 2007).

Patella cinsinin dahil olduğu Archaeogastropoda üyelerinde viseral kitle ve ayak arasında uzanan tek bir gonad bulunur (Morton 1979). Dolayısıyla bu gonad testis veya ovaryumdur. Gonad kanalı doğrudan nefridyum içine uzanır ki devamı olan renal kanal anüsün sağında manto boşluğuna açılır (Şekil 2.1). Bu durum iç döllemeyi engelleyen bir faktör olarak değerlendirilmiştir (Purchon 1977). Ayrı eşeyli olma veya hermafroditlik bu canlılarda gametlerin karşılıklı dölleme mekanizmasını değiştirmemektedir (Branch 1974, Purchon 1977). Bu hayvanlarda kesin ayrılan iki evre vardır. İlk dönem canlının büyümesine paralel olarak gonadların gelişimi, diğeri ise gametlerin suya verilme dönemidir ki su sıcaklığı, dalga ve besin bolluk dereceleri gibi çevresel faktörlerden etkilenmektedir (Orton ve Southward 1961, Branch 1974, Dunmore ve Schiel 2000, Delany vd 2002, Curdia vd 2005, McCarthy vd 2008).

Patella türlerinde yumurta ve spermin rüzgarlı ve fırtınalı havalarda dalganın yoğun olduğu zamanlarda çok sayıda suya verilmesi sonucu dölleme gerçekleşir. Deniz suyunda gamet yoğunluğunun fazla olması maksimum düzeyde döllemenin gerçekleşmesini sağlar (Orton vd 1956, Rupert ve Barnes 1994). Patellidlerin çoğu yılda bir kez olan üreme dönemi ile sınırlanmıştır ve daha sonra uzun bir dinlenme dönemine girer. Birkaç türde ise yıl boyu uzamış veya çoklu gamet bırakma dönemi vardır (Branch 1974, Dunmore ve Schiel 2000, Curdia vd 2005). Patellidlerde genelde oldukça düzenli yıllık gamet bırakma durumu söz konusudur (Branch 1981).

Gastropoda sınıfından yalnızca *Patella* cinsinde yumurtalar döllemeden suya bırakılırlar. Diğer salyangozların aksine, Patellidlerde dölleme sonradan su içinde gerçekleşir (Demirsoy 2001, Orton vd 1956). Döllemiş yumurtalar parşömen gibi kapsüllerin içinde bulunur. Her bir kapsül çok sayıda yumurta bulundurması yanında, gelişen embriyolara besin görevi yapan, albuminli bir sıvı içerir. Kapsül içindeki yumurtaların bir kısmı gelişim gösterirken, diğerleri gelişen embriyolar tarafından besin olarak kullanılır. Kapsüller grup halinde taşlara ve deniz yosunları üzerine tespit edilirler (Demirsoy 2001). Burada embriyo gelişerek serbest yüzen trokofora larvasına dönüşür (Purchon 1977).

Limpetlerin makroskopik özellikleri, üreme döngüleri ve gonadlarının gelişim süreçlerini belirlemek amacı ile kullanılmıştır. İlk defa Orton vd (1956) diseksiyona dayalı makroskopik inceleme ile gonadların rengine göre bireylerin eşey ve gelişim durumlarını safhalara ayırmıştır. Bu yöntem sonraları da uygulanmıştır (Guerra ve Gaudencio 1986, Rocha-Barreira 2002). Daha sonra makroskopik incelemenin oluşturabileceği marjinal hataları önlemek amacı ile mikroskopik incelemeler ön plana çıkmıştır. Hayvanlara zarar vermeden gonaddan biyopsi alarak yapılan örnekleme

çalışmaları doğrudan mikroskopik inceleme yöntemi olarak geliştirilmiş ve markalanan örneklerin bir sonraki yılda tekrar incelenmesine ve eşey dönüşümlerinin takibine olanak sağladığı için uygulanmıştır (Wright ve Lindberg 1979, 1982, Le Quesne ve Hawkins 2006, Espinosa vd 2009). Histolojik yöntemlerin geliştirilmesi ile doku kesitlerinin incelenmesi sonucu patellidlerin üreme döngülerinin ve gonad gelişim safhalarının belirlenmesinde daha doğru ve kesin değerlendirme olanağı ortaya konmuştur (Dunmore ve Schiel 2000, Delaney vd 2002, McCarthy vd 2008). Daha ileri elektron mikroskopik incelemelerle de Patellid gonadlarındaki gametogenez süreçleri ve gametlerin ince yapı özellikleri öğrenilmeğe başlanmıştır (Hodgson 1995, Hodgson vd 1996, Hodgson ve Eckelbarger 2000, Hodgson vd 2009).

2.5.1. Gonad yapısı

Canlılarda eşeyli üreme (gonokorizm) bireylerin yumurta ve sperm oluşturması ve bu karşıt gametlerin birleşmesi ile diploid zigottan gelişen yeni döller oluşturmasıdır. Her birey kendi özel üreme sistemine sahip olup tek tip gamet oluşturur. Gametleri oluşturan organlar gonadlardır. Bunlar primer eşey organlarıdır. Gonadlar eşeylerde yapısal olarak farklılık göstermektedir. Mollusca filumuna dahil türlerin çoğunda gonadlar bir çift olarak bulunur (Demirsoy 2001). Gastropodlarda ise gonad her zaman tektir ve ayağın dorsalinde yer alır. Genelde ovalimsidir, şekil ve boyutlar türe göre değişir (Branch 1974, Morton 1979). Hermafrodit gastropodlarda gonadı oluşturan bez çoğunlukla ovotestis özelliğinde loblanmıştır. Dişi üreme hücreleri genellikle periferale doğru uzanır ve erkek üreme hücreleri merkezi konumludur. Prosobranchia hermafrodit gonadında aynı tübülün içinde spermler ve ova gelişir veya gonad dişi ve erkek loblara ayrılabilir. Farklı üreme hücreleri üreten gonad kısımlarının ayrı tutulması en çok Opisthobranchia ve Pulmonata'da görülmektedir (Maxwell 1983). Gonad aktivitesi genellikle **Gonad İndeksi** denilen ve gonad kütlelerinin vücut kütlelerine oranı olarak (**GSI= Gonado Somatik İndeks**) ifade edilir (Gonar 1972). Bu değer gonad gelişimi ile artar fakat gamet dökümünü takiben gonad boşaldığı için hızlı bir düşüş gösterir. Gonad gelişimi gonad kütlelerinin artışı ile belirlenmektedir (Henninger 1998, Dunmore ve Schiel 2000). Gonadların histolojik incelenmesi GSI'yi tamamlayıcı olarak değerlendirilir. Bu iki yöntem türlerde üreme biyolojileri hakkında geniş bilgi vermektedir.

Gastropoda'nın Neogastropoda grubundan *Buccinum undatum* (Martel vd 1986), derin su küçük gastropodlarından *Amphissa acutecostata*, *Gymnobela subaraneosa* (Olabarria ve Ramirez-Llodra 2004), pulmonatlardan *Siphonaria capensis* ve *S. serrata* (Pal ve Hodgson 2005), *Nassarius festivus* (Chan ve Morton 2005), *Buccinanops cochlidium* (Averbuj vd 2010) gibi türlerin üreme döngüleri ve mevsimsel beslenme aktiviteleri üzerine çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Voltzow (1994) Prosobranchia gastropodlardaki üreme sistemi farklılaşmalarını daha önceki kaynaklar çerçevesinde ayrıntılı olarak açıklamıştır.

Patellidlerde üreme sistemi oldukça basittir. Sistem, bir gonad ve sağ nefridyum yanına açılan gonad kanalından ibarettir (Hyman 1967, Branch 1981). Her iki eşeyde de gonadın boyut ve kalınlık artışı doku içerisinde germ hücrelerinin hızla çoğalması sonucu gerçekleşir (Rocha- Barreira 2002).

Mollusca'da üreme sikluslarını belirleyebilmek için histolojik yöntemler ilk sırada gelmektedir ve öncelikle bivalvlerde çalışılmıştır (Katkansy ve Sparks 1966, Rodriguez-Rua vd 2003, Juhel vd 2003). Gonad gelişimi histolojik olarak birçok Patellid türünde de incelenmiştir. Avrupa limpeti olarak bilinen *Patella vulgata*'nın üreme döngüsü ayrıntılı çalışılmıştır (Orton 1928, Orton vd 1956, Blackmore 1969, Baxter 1983, Le Quesne ve Hawkins 2006, Hodgson vd 2007, McCarthy vd 2008). Diğer limpetlerin üreme döngüsüne yönelik de pek çok çalışma bulunmaktadır. *Cellana radiata* (Balaparameswara Rao 1973), *Cellana tramoserica* (Fletcher, 1984) *Collisella heroldi* (Niu ve Fuji 1989), *Nacella concinna* (Brêthes vd 1994, Stanwell-Smith ve Clarke 1998), *Cellona ornata* (Dunmore ve Schiel 2000), *Helcion pruniosus* (Henninger ve Hodgson 2001), *Collisella subrugosa* (Rocha-Barreira 2002), *Patella ferruginea*, (Brazão vd 2003a, Espinosa vd 2009), *P. depressa* (Brazão vd 2003a), *P. candei gomesii* (Curdia vd 2005, Cunha vd 2007), *Scutellastra flexuosa* (Lindberg 2007) üreme biyolojileri çalışılan limpet türleridir.

Patellid veya Acmeid limpetler genellikle belli bir üreme mevsimi ile sınırlandırılmıştır. Çoğunlukla bir defa gamet dökümünü takiben uzun bir dinlenme süresi söz konusudur (Branch 1981, Dunmore ve Schiel 2000).

Her iki eşeyde gamet üretiminde benzer etkinliği gösterse de erkek limpetlerde gamet dökümünün daha fazla olduğu belirtilmiştir (Branch 1974). Gonad gelişim süreçlerinde coğrafik lokalitenin gametogenez ve gametleri dökme zamanını etkilediği belirlenmiştir. Zira aynı ülkenin doğu ve batı bölgeleri ile kuzey ve güney yarıküre farklılıklarının üreme döngüleri bakımından değişime sebep olduğu çeşitli Patellid veya Patelloid türlerde gösterilmiştir (Branch 1981, Creese ve Ballantine 1983, Lasiak 1987, 1990, Gray 1996, Robson 1986, Henninger 1998). Örneğin Portekiz kıyılarındaki *P. depressa* populasyonlarında, bulunduğu bölgeye göre çoklu gamet dökümünün olabildiği (Orton ve Southward 1961) veya iki defa gamet dökümünün olduğu (Guerra ve Gaudencio 1986, Brazao vd 2003a,b) açıklanmıştır.

Histolojik olarak incelendiğinde Patellidlerde gonad Orton vd (1956), McCarthy vd (2008) ve Vasconcelos vd (2008)'in çalışmalarına göre **dinlenme (0), erken aktif (1), geç aktif veya kısmen olgun (2), olgun (3), gamet dökme durumu (4), tamamen boşalmış gonad (5)** olmak üzere altı safhaya ayrılmıştır. Diğer çalışmalarda farklı türlerle yapılan araştırmalarda gonaddaki gelişim sürecinin histolojik olarak safhalara ayrılması değişmektedir. Gonadın olgunluk ve yumurta dökme durumları dikkate alınarak; **kısmen olgun (0), olgun (1), kısmen boşalmış (2), boşalmış (3)** şeklinde dört safhaya (Rocha-Barreira 2002, Pal ve Hodgson 2005, Chan ve Morton 2005), **çoğalma ve gelişme (0), gelişme (1), gamet döküm öncesi (2), gamet dökümü (3), geri emilim** şeklinde beş safhaya (Kingston 1974, Morriconi 1999, Averbuj vd 2010) veya **erken gelişim safhası (0), gelişim (1), olgun safha; asidofilik ve basofilik üreme hücresi (2), olgun safha; eosinofilik üreme hücresi (3), kısmen gamet dökümü ve geri dönüşüm (4), kısmen gamet dökümü ve geri dönüşüm yok (5), tamamen gamet dökümü (6), üreme hücrelerinin bozulması, (7)** şeklinde sekiz safhaya (Morriconi 1999) ayrımları gerçekleştirilmiştir.

2.5.2. Gametogenez

Olgun gametlerin oluşumu için gerçekleşen bir seri hücrel dönüşümler olarak tanımlanan **gametogenez**, hayvanlar aleminde eşeyli üreme mekanizmasında önemli bir yer tutar. Belli eşeydeki bir bireyin gonad tipine bağlı olarak her iki eşeyde de benzer süreçlerde gerçekleşir. Gametogenez farklı hayvan gruplarında şaşırtıcı bir benzerlik gösterir ve kaynak hücre popülasyonları ile ergin yaşamlarda devamlılığı sağlanır (White-Cooper ve Bausek 2010). Primordial germinal hücreler birçok türde daha gonad histolojik olarak farklılaşmadan önceden bazı yapısal özellikleri ile somatik hücrelerden ayrılır (Extavour ve Akam 2003). Bu süreç sonrasında oluşturulan yumurta ve sperm üremenin en temel elemanları olup genetik materyali yeni dölle aktarma araçlarıdır. Bu süreçler mitoz ve mayoz hücre bölünmelerine dayanır (Hickman vd 2001). Gonad gelişiminin ilk aşamalarında germ hücreleri mitoz bölünmeler geçirerek hızlı bir doku gelişimi sağlar. Prosobranchia dahil çoğu Gastropodlarda germ hücrelerinin mezodermal kaynaklı oldukları bildirilmiştir (Voltzow 1994, Extavour ve Akam 2003). İkinci aşamalar ise bu germ hücrelerinin programlanmış belli dönüşüm aşamalarından geçerek sperm veya ovum oluşumunu sağlamasıdır. Gonaddaki diğer hücreler somatik olup, gametogenez sırasında germinal hücrelerin desteklenmesi, korunması ve beslenmesi için gereklidir. Eşeyli üremede en gerekli süreç mayoz bölünme yani gamet oluşumuna olanak sağlayan nükleus bölünmesidir ki sonuçta haploid genomlu hücrelerin oluşturulması şeklinde tanımlanmıştır (Hickman vd 2001, Demirsoy 2001). Bu hücreler daha sonraki işlevselliklerine uygun bir hücrel farklılaşmaya girer. Tam olgun gamet oluşumunun döllenmede gerçekleştiği belirtilmiştir (Schuetz ve Samson 1979). Dolayısıyla gametogenez gonadda çok sayıda hücrenin eş zamanlı veya ardışık olarak belirli bir düzen içerisinde girdiği yapısal ve morfolojik süreçler dizisidir. Birçok denizel omurgasız hayvanda gelişimlerini tamamlamakta olan gametler deniz suyu ile temasta farklılaşmalarını sürdürmektedir (Schuetz ve Samson 1979).

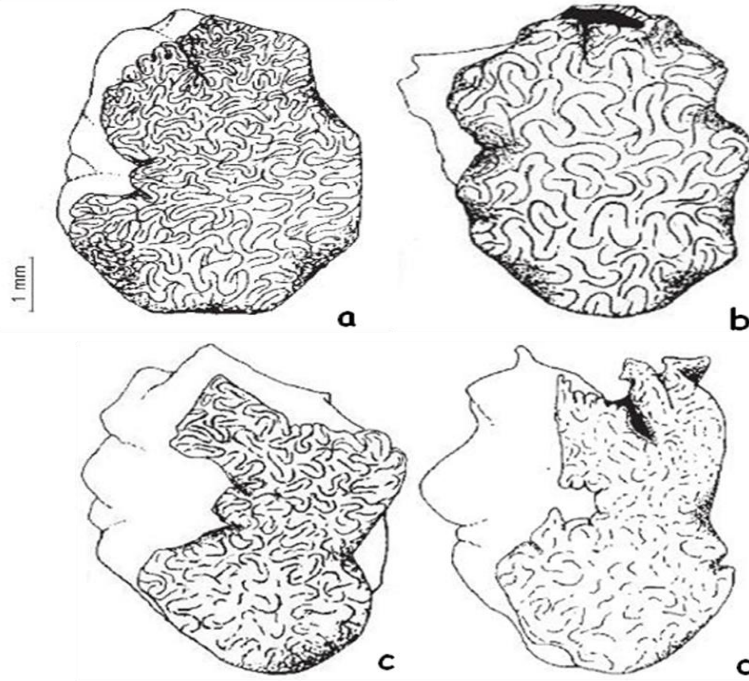
A tipi spermatogonyumlar veya oogonyumların bölünmesiyle ortaya çıkan hücreler, B tipi spermatogonyum ve oogonyuma dönüşüme dek ayrı kalır. Bu hücrelerin bölünmesinden kaynaklanan hücreler ise tamamen ayrılmayıp ve sitoplazmik köprülerle birbirine bağlı kaldığı ve bu köprüler ile oluşan primer ve sekonder spermatosit veya oositler arasındaki ilişkileri sağladığı belirtilmiştir (Gou ve Zheng 2004). Gametogenez süreci tamamlandığında sitoplazma parçaları ve sitoplazmik köprülerin artık cisimler olarak atılmasıyla olgun üreme hücrelerin de bir ayrılma olur (Jungueira ve Carneiro 2006).

2.5.3. Testis

Mollusca üyelerinden Pelecypoda'nın çoğunluğu ayrı eşeyli olup, testis genellikle çifttir (Roosen-Runge 1977). Cephalopoda sınıfının testisleri basit kese yapısındadır (Maxwell 1983). Gastropodlarda tek olan testisin embriyonik kaynağı tam olarak bilinmemektedir. Prosobranchia üyelerinde perikardiyal duvardan türevlenmiş bir yapı olarak belirtilmiş olan testis ortak bir kanala açılan mezodermal kaynaklı birçok tübül veya kesecikten oluşmuştur (Hickman vd 2001). Genel olarak testis ayağın dorsalinde anteriora doğru uzanır. Testis duvarı ince katlantılı veya dallanmış yapıdadır. İnce bir kas ve bağ dokusu ile desteklenmiştir. Tübül içi germinal epitelyum ile örtülüdür. Spermatogenez süreçleri tübüllerde gerçekleşir. Prosobranchia'da testis

histolojik açıdan incelendiğinde spermatogonia tübüllerin periferinde grup halinde bulunurken spermatosit ve spermatidlerin tübülün içinde dağıldığı, spermatozoa'nın da tübülün merkezi konumunda öbekler halinde olduğu belirtilmiştir. Spermiler bazı türlerde demet oluştururken bazılarında demet gözlenmemiştir (Branch 1974). Spermatidler erken dönemde testis boşluğuna geçer ve orada gelişimlerini sürdürürler (Walker ve MacGregor 1968, Branch 1974).

Erkek gonadların dıştan morfolojik olarak gelişim aşamaları incelendiğinde, ventral yüzeylerindeki tübüllerin yapısal durumları dikkate alınarak **kısmen olgun, olgun, kısmen boşalmış** veya **tamamen boşalmış** olma durumlarına göre yapısal farklılıklar gözlenmiştir (Şekil 2.2) (Rocha-Barreira 2002).



Şekil. 2.2. Erkek gonadın gelişim sürecinin çizimsel gösterimi; (a) kısmen olgun, (b) olgun, (c) kısmen boşalmış, (d) boşalmış (Rocha-Barreira 2002)

2.5.4. Spermatogenez basamakları

Spermatogenez, spermatozoon üretim sürecidir. Süreç ilkel bir germ hücresi olan spermatogonyum ile başlar. Spermatogonyumlar tübül bazal laminasının hemen üstünde yer alır. İlerleyen safhalarda spermatogonyum hücreleri mitoz bölünmeyle çoğalmaya devam eder ve yeni hücreler oluşur. Bu yeni hücreler iki yoldan birini izleyebilir. **A tipi spermatogonyumlar** olarak da adlandırılan kök hücreler bölünmeyi sürdürebilir ya da daha ileri mitotik döngüler boyunca farklılaşarak **B tipi spermatogonyumları** oluştururlar (Walker ve MacGregor 1968). B tipi spermatogonyumlar **primer spermatositlere** farklılaşan öncül hücrelerdir. Oluşmalarından hemen sonra bu hücreler birinci mayoz bölünmenin profazına girerler. Primer spermatositler spermatogenik gelişim safhalarındaki en büyük hücrelerdir Testis kesitlerinde sekonder

spermatositlerin gözlenmesi zordur. Çünkü bunlar interfazda çok kısa süre kalan ve hızlı bir şekilde ikinci mayoz bölünmeye giren kısa ömürlü hücrelerdir (Jungueira ve Carneiro 2006).

Her bir spermatogonyum küresel bir nükleusa, elektronca yoğun nükleolusa ve küçük uzamış mitokondrilere sahiptir. Spermatositlerin nükleusları, spermatogonyumunkilerle benzerlik gösterirler. Fakat nükleolusları bulunmamaktadır. Kromatin materyalleri yayılmıştır. Spermatogenez devam ederken kromatin homojen hale gelir. Nükleus da ovalden daha uzamış bir hal alır. Proakrosomal kese erken spermatidlerin her birinde şekillenir ve zar ile sınırlandırılır. Proakrosomal kese genellikle sentriyol ve mitokondrinin yakınlarında konumlanır. Spermatid olgunlaştığında, kese hücrenin sonundan anteriörüne doğru hareket ederek, hücre olgun şeklini almaya başlar. Geç spermatid safhasının sonuna doğru şekli tamamlanır. Sayısı ve büyüklüğü artan mitokondriler küresel hale gelir (Voltzow 1994, Hodgson vd 2012). Gelişmekte olan spermatosit ve spermatidler hücrelerarası köprülerle birbirine bağlanmaktadır (Griffond 1980, Hodgson ve Bernard 1986a,b, 1988).

2.5.4.1. Spermiyogenez

Spermiyogenez spermatozoon üretiminin son aşaması ve spermatidlerin, erkek DNA'sını ovuma aktarmak için son derece özelleşmiş hücreler olan spermatozoona dönüşme sürecidir. Bu süreçte hücre bölünmesi gerçekleşmez sadece yapısal farklılaşma ortaya çıkar.

Spermatidler, küçük boyutları ve yoğunlaşmış kromatin bölgeleri içeren nükleusları ile ayırt edilebilirler. Semifer tübüllerde lümen yakınında yerleşmişlerdir. Spermiyogenez, akrozom oluşumunu, nükleus yoğunlaşması ve uzamasını, flagellum gelişmesi ve sitoplazmanın çoğunun kaybolmasını içeren karmaşık bir süreç olarak tanımlanmıştır ve spermiyogenez üç faza ayrılmaktadır (Jungueira ve Carneiro 2006, Hess ve de Franca 2008).

Patellidlerde erken spermatogenez boyunca testiste dallanmış tübüllerde spermatogonyumlar ve spermatositler bir hat oluşturur (Hodgson ve Bernard 1988). Sperm olgunlaştığında testis tübülünün merkezine doğru ilerleme gerçekleşir.

2.5.4.1.1. Golgi fazı

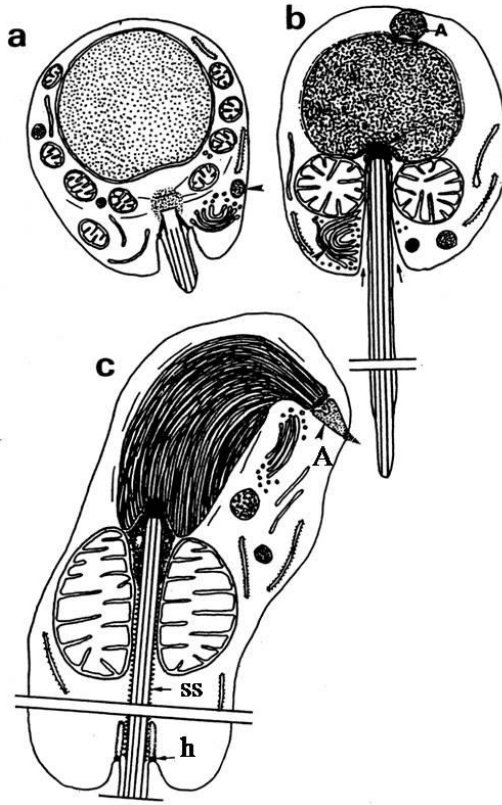
Spermatid sitoplazması, nükleusun yakınında yer alan belirgin bir golgi kompleksi, mitokondriler, bir çift sentriyol, serbest ribozomlar ve düz endoplazmik retikulum yassı tübüllerini içerir. Proakrosomal granüller olarak adlandırılan küçük PAS-pozitif granüller golgi kompleksinde birikir ve daha sonra birleşerek zarla sınırlı bir **akrozomal vezikülün** içinde yer alan tek bir akrozomu oluştururlar. Sentrioller göç ederek oluşan akrozomun karşı tarafında hücre yüzeyine yakın bir konuma gelirler. Flagellar aksonem kamçı eksenini oluşmaya başlar. Sentrioller yeniden nükleusa doğru göç hareketi yaparken aksonemal bileşenleri çevresini sarar (Jungueira ve Carneiro 2006, Hess ve de Franca 2008).

2.5.4.1.2. Akrozomal faz

Akrozomal vezikül ve granül, yoğunlaşan nükleusun ön yarısını kaplayacak şekilde yayılır ve bundan sonra **akrozom** adını alır. Akrozomun, hiyalüronidaz, nöraminidaz, asit fosfotaz ve etkisi tripsine benzer bir proteaz gibi bazı hidrolitik enzimler içerdiği belirtilmektedir. Akrozom bu yüzden lizozomun özelleşmiş tipi gibi iş görür. Bu enzimlerin oositleri çevreleyen korona radyata hücrelerini birbirinden ayırdığı ve zona pelisudayı sindirdiği belirlenmiştir (Podolsky 2002). Spermatozoonlar bir oosite karşılaştığında, akrozomun dış zarının birçok bölgede spermatozoonun plazma membranı ile kaynaşarak akrozomal enzimlerin hücre dışına boşalmasını sağlar. Bu işlem **akrozomal reaksiyon** olarak bilinir ve döllemenin ilk basamaklarından biridir (Nijima ve Dan 1965, Jungueira ve Carneiro 2006).

2.5.4.1.3. Olgunlaşma fazı

Spermiyogenezin bu fazında, spermatidler seminifer tübülünün tabanına doğru yönelir ve aksonem lümenine doğru uzanır. Ayrıca, nükleus uzadığı ve yoğun bir hale geldiği gösterilmiştir (Şekil 2.3). Aynı zamanda sentriollerden bir tanesi gelişerek kamçıyı oluşturur. Spermatidin posteriöründe dört tane küresel mitokondri birleşip, kamçının proksimal kısmı etrafında toplanarak **orta bölge** adı verilen kalınlaşmış bir yapıyı oluştururlar. Kuyrukta, flagellar filament posteriör sentriyolden mitokondriye doğru büyür (Buckland Nicks ve Sheltema 1995). Bu bölge, spermatozoon hareketlerinin enerji gereksinimini karşılamaktadır (Voltzow 1994). Mitokondrilerin bu şekilde yerleşmesi, bu organellerin hücre hareketi ile ilgili olduğu ve yüksek enerji tüketimi olan bölgelerde yoğunlaşmasının bir başka örneği olarak kamçı hareketinin; mikrotübüller, ATP ve dinein denilen ATPaz aktivitesine sahip bir proteinin etkileşimi sonucunda olduğu belirtilmiştir (Anderson ve Personne 1970, 1976, Kamp vd 1996). Jungueira ve Carneiro 2006). Geriye kalan sitoplazma artıkları Sertoli hücreleri tarafından fagosite edilir ve spermatozoonlar tübülün lümenine doğru bırakılırlar (Jungueira ve Carneiro 2006, Hess ve de Franca 2008).



Şekil 2.3. Aplousophoran tür *Epimania australis*'te erken, orta ve geç spermiyogenik safhalar; a. erken akrozomun plazma zarına yapıştığını gösterir. b. ilkel sperm safhası, c. spermatozoa, A: akrozom, ss: spiral sırt, h: halka (Buckland-Nicks ve Sheltema 1995).

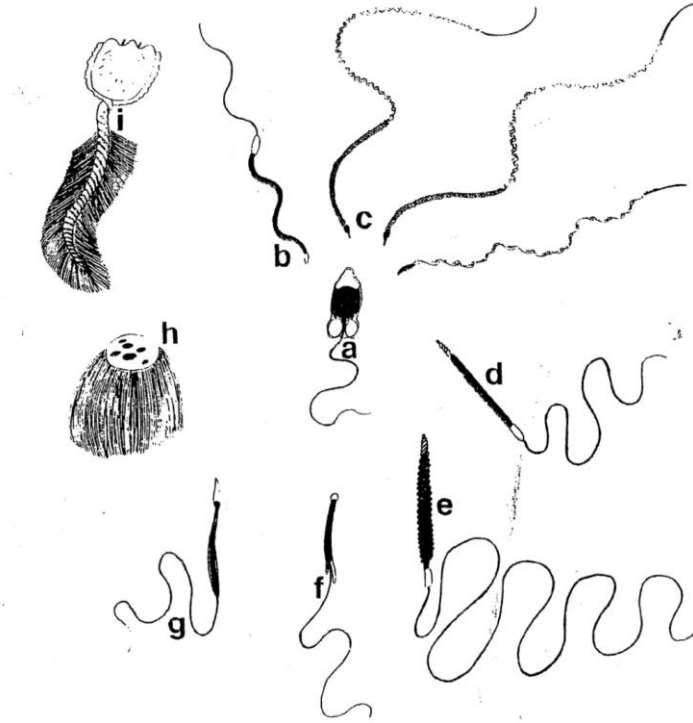
2.5.4.1.4. Spermatozoon çeşitleri

Sperm morfolojisindeki temel farklılık vücut içi ve dışı döllenme durumlarına bağlı bulunmuştur. Dış döllenme durumunda **ilkel spermatozoa** formu tanımlanmıştır (Franzen 1955). Sucul ortama (tuzlu veya tatlı su ortamı) bırakılan spermatozoa, yuvarlak veya konik şekilli ve hızlı hareket gücüne sahip hücreler olarak belirlenmiştir (Franzen 1970, Afzelius 1972).

Sperm yapısı omurgalı ve omurgasız hayvanlarda genel olarak baş, boyun ve kuyruk yapısından oluşmaktadır. Retzius, spermi çok hücreli hayvanlarda inceleyerek geniş bir dağılım alanına sahip olan spermleri **ilkel** (vücut dışı döllenme yapan) ve **gelişmiş** (vücut içi döllenme yapan) olarak iki gruba ayıran ilk araştırmacıdır (Maxwell 1983).

Sperm morfolojileri döllenme biyolojilerinde belirleyici yapılardır (Baccetti ve Afzelius 1976). Hayvanlar aleminde spermatozoa şekilleri açısından en fazla farklılık Filum Mollusca üyelerinde görülür (Anderson ve Personne 1976). Pulmonata, Neogastropoda, Octopoda ve Decapoda taksonları arasında önemli farklılıklar bulunmaktadır (Anderson ve Personne 1976). Mollusca sperm yapısındaki en büyük

farklılık spermin kuyruk bölgesinin özelliğidir ki bazı taksonlarda aflagellat sperm yapısı bulunmaktadır (Maxwell 1983) (Şekil 2.4).



Şekil 2.4. Mollusca sperm formlarının çeşitliliği; a: ilkel form; b: gelişmiş form (Mesogastropoda, Neogastropoda); c: gelişmiş form (Euthyneura); d: *Octopus*, e: *Eledone*, f: Decapoda, g: *Nautilus*; h: spermatozeugmata *Littorina*, i: *Clathrus*'da spermatozeugmata (Maxwell 1983)

Yapısal olarak **ilkel tip spermler** ışınsal simetriye sahip küçük hücrelerdir. Baş, orta bölge, kuyruk bölgenin çok basit yapılı olması nedeniyle bu isim verilmiştir (Koch ve Lambert 1990). **Baş**; yuvarlak veya kurşun biçiminde olup, akrozom ve nükleus içerir. **Orta bölge**; iki sentriolle çevrili birkaç tane mitokondriden oluşmaktadır. **Kuyruk**; kamçı şeklindedir ve posterior sentriolden çıkmaktadır. (Baccetti ve Afzelius 1976).

İlkel tip spermatozoa kavramını sperm morfolojisi ve döllenme biyolojileri arasındaki ilişki ile açıklayan araştırmaya dayalı birçok derleme söz konusudur (Franzen 1956, Afzelius 1972, Baccetti 1979, 1985, Jameison 1987). İlkel spermatozoanın önemi, bu hücrelerinin aktarımı için herhangi özel bir yapıya gereksinim duyulmaması ve döllenme başarısının korunmasında etkin olması yönüyle açıklanmıştır (Baccetti ve Afzelius 1976). Sperm, canlıının bulunduğu sucul ortama bırakıldığı için bunlara **aquasperm** adı verilmiştir (Jamieson 1987, Baccetti 1979).

Bunlara en belirgin örnekler nemertinler, priapulid, *Xenoturbella*, brankiopod, spinkulid, ekurianlar, bazı Echinodermata üyeleri, birçok annelid solucanlar ve Mollusca'dır (Baccetti ve Afzelius 1976, Koch ve Lambert 1990). Mollusca filumunda ilkel sperm yapısına Pelecypoda, Amphineura ve bazı Archaeogastropodlar,

Scaphopoda ve *Neopilina* sahiptir. Bütün ilkel yumuşakça spermatozoasında nükleusun anteriöründe uzanan bir akrozom bulunmaktadır (Maxwell 1983). Akrozom genellikle birleşik tipte, oldukça geniş (1-2µm çapında) ve aşağı yukarı konikal formdadır. Bazı türler aksiyal cisimciğe sahiptir ve bu yapı *Mytilus*, *Crassostrea*, *Spisula*, *Dreissenia* cinslerindeki gibi akrozomal zarın anteriörüne kadar girmektedir, fakat son kısmında posteriorde nüklear kitleye uzanmamaktadır. *Gibbula* ve *Patella*'da aksiyal cisim gelişmemiştir (Maxwell 1983).

İlkel tip spermin nükleusu diğer tiplerde olduğu gibi elektron yoğunluğu bakımından homojen değildir. Basit formlu sperm yapısına sahip *Dreissenia*, *Gibbula* gibi cinslerde nükleus küçük silindirik yapıda olup, bir ya da iki tane nükleoprotein içeren küçük boşlukları bulunmaktadır. *Patella*'nın nükleusu sütunumsudur (Maxwell 1983, Healy 1987, Hodgson vd 1996).

Gelişmiş tip spermelerin önemli temsilcisi Gastropoda ve Cephalopoda sınıfıdır ve bu gruplarda sperm yapıları arasında önemli farklılıklar görülmektedir (Maxwell 1983).

Spermatogenez boyunca nükleusta fibrilli, lamellar yapı ve kromatin yoğunlaşması olması gruplar arasında farklılık göstermektedir. Cephalopoda sınıfında Nautiloidea hariç olgun nükleusun kromatini oldukça yoğun paketlenmiş olup, tüm yapılarda maskelenmiştir (Maxwell 1983).

Diğer Metazoa'da döllenmenin farklı biçimlerinin görüldüğü ve bu nedenle gelişmiş bir sperm morfolojileri olduğu bildirilmiştir (Franzén 1955). Pek çok durumda ilkel spermelerin basit taslağı sperm bileşenleri arasında farklılık olmasından dolayı kolaylıkla tanımlanabilirler. Genellikle mitokondriyal materyal genişlemiş olup kuyruğun bir kısmına veya tamamına uzanabilir. İlkel bir spermin tipi, spermatozoanın değişimiyle böcekler başta olmak üzere yumuşakçalar ve omurgalılarda ve pek çok hayvan türünde karakteristiktir (Baccetti ve Afzelius 1976). Spermatidler, spermiyogenezin belli safhasında tipik bir ilkel spermle çarpıcı bir benzerlik gösterirler.

Prosobranchia spermeleri döllenme kapasitelerine göre **tipik** veya **atipik** olarak sınıflandırılırlar (Franzen 1955). Heally ve Jamieson (1981) bunları temsilen **euspermatozoa** ve **paraspermatozoa** terimlerini tanımlamıştır. Euspermatozoon veya tipik spermatozoon filiform ve hareketli olup, genetik materyali içerir ve döllenme yeteneğine sahiptir. Paraspermatozoon veya atipik spermatozoon daha geniş olup, genetik materyalden yoksundur ve döllenme yeteneği yoktur (Dohman 1983, Franzen 1955, Fretter 1984, Maxwell 1983, Buckland-Nicks vd 2000).

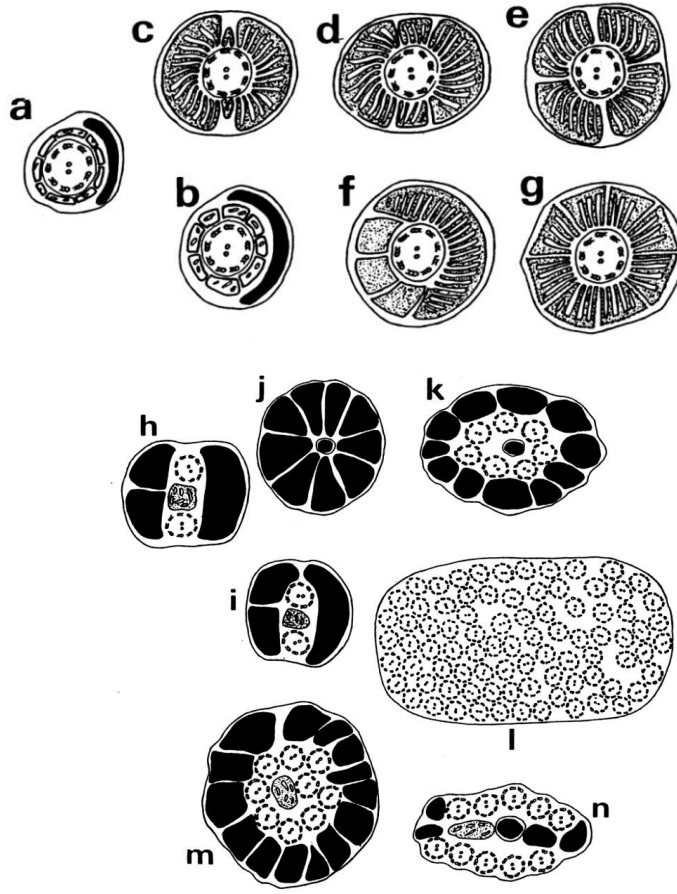
Euspermatozoa tipine örnek spermeler, Röpstorff vd (2001) tarafından Baicallidae familyasında ayrıntılı olarak verilmiştir, bu sperm tipinde belirgin bir glikojen bölgesi bulunmaktadır. Bu iki tip euspermatozoa aynı türde ve aynı bireyde olabilmektedir. Pek çok Caenogastropoda türünde spermatogenez ve sperm ince yapıları incelendiğinde iki tip sperm yapısının da var olduğu görülmüştür (Healy 1982, 1983a, 1986a,b). Bu spermelerin orta bölgelerinde, zar kısımları ve sarmal şeklinde olan glikojen yapıları oldukça belirgindir.

İki tip paraspermatozoa yapısı bulunmaktadır. Bunlardan büyük olan, **taşıyıcı paraspermatozoa** olup birçok euspermatozoa'ya yapışmış bir solucan tipindedir. Geniş yoğun keselere ve yaklaşık 112 aksonoma sahiptir. İkinci tip paraspermatozoa ise daha küçük büstürü şeklinde olan ve euspermatozoa ile herhangi bir ilişkisi bulunmayan paraspermatozodur. Solucan tip Paraspermatozoa yapısı Neotaenioglossa ve Neogastropod'ların çoğunda bulunmaktadır. *Adelomelon ancilla* türünde paraspermatozası büstürü tipindedir (Zabala vd 2009, 2012).

Prosobranş gastropodların taşıyıcı formundaki paraspermatozoasının yüzeyinde granül ürünlerinin boşaldığı yer olan delikler bulunmaktadır. Euspermler paraspermaya buradan yapışmaktadır. Büstürü tipli paraspermatozoaya eusperm yapışmamaktadır ve her iki sperm tipinde de bol miktarda salgı maddesi bulunmaktadır (Hayakawa 2007).

Euspermatozoa ve paraspermatozoa yapısı ilkel sperm tipinden oldukça farklı olup, mitokondri yapıları U şeklindedir, aksiyal çubuk materyali bulunmaktadır (Healy 1993a).

Caenogastropod türlerinin eusperminin orta ve baş bölgesinin anteriyöre doğru kesitleri ile paraspermin enine kesitleri, spermlerin türlere göre ayırt edilmesinde önemli birer anahtar görev üstlendikleri görülmüştür. ***Campaniloidea-Campanilidae*** ve ***Plesiotrochidae*** familyalarının euspermlerinin orta bölgesinin ve paraspermin enine kesitlerinin diyagramına bakıldığında belirgin farklılıklara sahip oldukları görülmektedir (Şekil 2.5).



Şekil 2.5. Euspermin orta bölgesinin enine kesitlerinin diyagramı, a-b. Campailidae, c-e. Cerithoidea, g. Liaridae, a: (Healy 1993a); b: (Healy 1986b); c-e: (Healy 1983a); f: (Gall, 1961); g: (Healy 1988a), h-i: Campailidae (Healy 1993a), j-l. Cerithoidea (Healy 1986a), m: Viviparidae (Gall 1961), n: Cochlostomatidae (Selmi ve Giusti 1980)

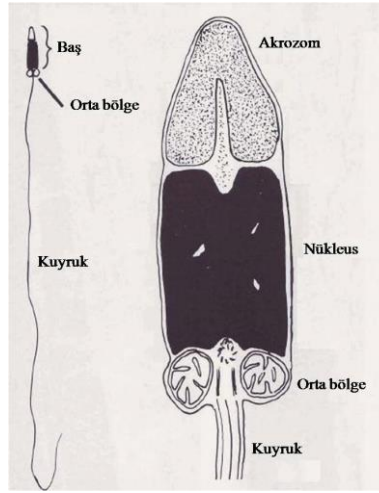
2.5.4.1.5. Sperm anatomisi

Sperm yapısı ile ilgili mevcut çok sayıda çalışma hayvanlar aleminde ortak bir yapısal planın olduğunu ortaya koymuştur. Euspermatozoa plazma zarı ile çevrili olarak haploid bir nükleus, enerji kaynağı ve hareket elemanlarına sahiptir. Bu elemanlar baş, orta bölge ve kuyruk olmak üzere üç bölgede yer alır (Fawcett 1970, Fawcett vd 1971, Koch ve Lambert 1990, Jamieson vd 1999). Sperm morfolojisindeki spesifik farklılıklar bu bölgeler çerçevesinde açıklanmıştır (Hodgson ve Bernard 1989).

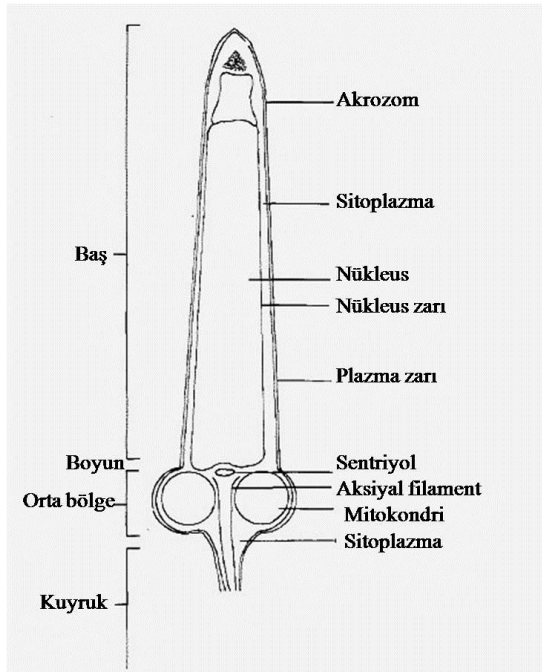
Son yıllarda hayvanların taksonomik sınıflandırılmasında ve filogenetik çalışmaların daha açık hale gelmesinde karşılaştırmalı spermatolojinin önemi büyüktür. Spermatozoa, dış morfolojileri ve ince yapılarının vermiş olduğu ipuçları sayesinde taksonların birbirinden ayrılmasında, filogenetik ilişkilerinin incelenmesini de en çok çeşitlilik gösteren hücre tiplerinin arasında yer almaktadır (Dallai 1979, 1991; Dallai ve Afzelius 1990, 1995, Jamieson 1987, Jamieson vd 1995, 1999, Carpucino vd 1995, Dallai vd 2001, Lino-Neto ve Dolder 2001).

Karşılaştırmalı çalışmalarda türler arası sperm yapısı farklılıkları çok fazladır ve diğer hücre tipleriyle paralellik göstermezler. Spermatozoa iki hayvan türünde şekilsel benzerlik gösterebilir fakat hiçbir zaman tamamen aynı değildir. Spermin spesifikliği sadece genetik materyale dayanmamakta, her bir spermatozoonun uç bölgesindeki farklılıklar hücrenin morfolojisinde kendisini yansıtmaktadır (Baccetti ve Afzelius 1976, Maxwell 1983).

Archeogastropodların sperm yapılarında belirgin olarak baş, orta bölge ve kuyruk kısımları yer almaktadır. Bu takıma en iyi örneklerden biri de Patellidlerdir (Healy 1987) (Şekil 2.6, 2.7).



Şekil 2.6. Archeogastropodlarda sperm genel yapısı (Healy 1987)



Şekil 2.7. *Patella vulgata*'nın sperm yapısının şematize hali (Healy 1987)

2.5.4.1.5.1. Plazma zarı

Olgun spermiler asimetrik üç katmanlı bir zar ile çevrili olup dıştaki yoğunluk tabakasının genellikle $50A^0$ ve orta tabakası $30A^0$ daha açık, içteki tabakasının da opak ve $20A^0$ kalınlığında olduğu belirlenmiştir (Bedfort vd 1972).

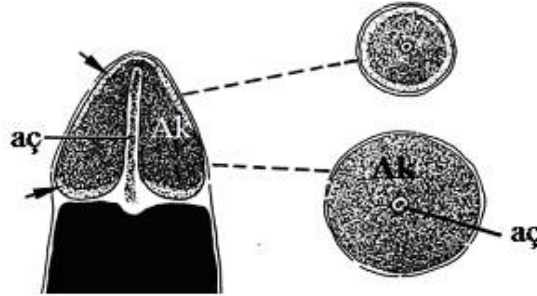
2.5.4.1.5.2. Baş bölgesi

Olgun bir spermın baş bölgesi akrozom ve nükleus kısımları ve bunlarla ilgili yapılardan oluşmaktadır. Spermilerin şeklini belirleyen temel bölgedir.

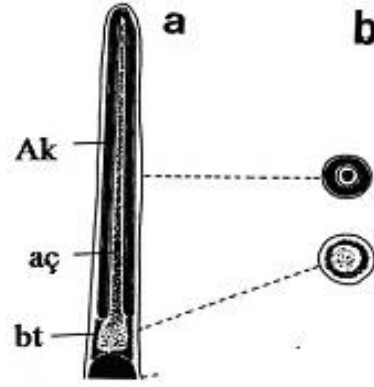
2.5.4.1.5.2.1. Akrozom

Spermın yumurtanın içine nüfus etmesinden sorumlu yapının akrozom olduğu konusunda birçok fizyolojik çalışma vardır. Spermın anterior bölgesinde yer alan bu yapı genellikle konik şeklinde olup, nükleusa yapışık bir konumdadır. İlkel bazı sperm tiplerinde; Porifera ve Coelentrata spermilerindeki gibi akrozom bulunmamaktadır (Baccetti ve Afzelius 1976). İç koni içeren çoğunlukla şapka biçiminde farklılık gösteren bir yapısı vardır. Bir zar ile sınırlandırılmış olan akrozom, genellikle dıştan periakrosomal sitoplazmik materyal ile kuşatılmıştır. Akrosomal zar golgi organelinin zarıdır. Akrozom spermatogenezin erken safhalarında golgi organelinin yapısının farklılaşması sonucu oluşmaktadır (Baccetti ve Afzelius 1976, Koch ve Lambert 1990).

Yumurta üzerindeki etkinliği dolayısıyla döllenmenin gerçekleşmesi için golgi veziküllerinin aktivitesi gereklidir. Zira yapısında yumurta zarını delemek enzimler içermektedir. Golgi kompleksinin akrozomu oluşturması sonrasında spermanın ön kısmında yer alan bir çıkıntı belirir (Baccetti ve Afzelius 1976, Koch ve Lambert 1990). Akrozom yapısı Mollusca filumunda değişikliğe uğramaktadır. Bazı türlerde aksiyal kese ve aksiyal çubuk belirgin (Şekil 2.8), bazı türlerde ise aksiyal çubuk bulunmamaktadır (Şekil 2.9).



Şekil 2.8. *Perotrochus westralis*'in akrozomal bölgesi, Ak: akrosomal kese, aç: aksiyal çubuk materyal, (Healy 1988b)



Şekil 2.9. Hidrotermal vent gastropodlardan *Lepetodrilus fucensis*'in sperm yapısı a: akrosomal bölge, b: sitoplazmik kılıf bölgelelerinin enine kesiti, Ak: akrosomal kese, aç: aksiyal çubuk materyal, bt: basal tabaka, (Hodgson vd 1997)

2.5.4.1.5.2.2. Subakrozomal madde

Birçok hayvan grubunda akrozomla nükleus arasında çubuk şeklinde fibrilli bir yapı bulunur. Bu bölgede herhangi bir enzimatik aktivite açık olarak belirlenmemiştir (Baccetti ve Afzelius 1976). Patellidlerin hemen hepsinde spermde subakrozomal madde bulunmaktadır (Hodgson vd 1996).

2.5.4.1.5.2.3. Nükleus

Nükleus bölgesi genellikle düzenli bir şekilde olup, normal nükleus materyalinin (kromatin materyali) yer aldığı bölgeyi oluşturur. Porları olmayan nükleus zarı ile sarılmıştır. Uzun ya da küresel yapıda olabilir. Genellikle küresel olanlar ilkel formlardır, uzamış nükleuslar daha gelişmiş yapıli spermelerde görülmektedir (Baccetti ve Afzelius 1976). Sperm DNA'sı oldukça sıkı bir şekilde paketlenmiştir. Nükleus temel proteinleri de bu paketlenmede etkindir (Baccetti ve Afzelius 1976, Eirin-Lopez ve Ausio 2009). Bu olay, türe özgü sperm şekli oluşurken gerçekleşmektedir (Braun 2001, Johnson vd 2011).

2.5.4.1.5.3. Orta bölge (boyun bölgesi)

Spermde boyun bölgesi; kuyruk ve baş bölgelerinin bağlanmasını sağlayan orta kısımdır. Bu bölgede sentrioller ve mitokondriler yer almaktadır. Ayrıca proteinler ve glikojen materyali bulunmaktadır. Olgun spermatozoonda 2 sentriol bulunabilmektedir. Bunlardan bir tanesinde **aksonom** adı verilen bir uzantı yapı yer almakta ve kuyruktaki aksonemaya bağlantısı nedeniyle basal cisim olarak ta bilinmektedir (Baccetti ve Afzelius 1976, Fawcett 1970).

2.5.4.1.5.3.1. Sentirol

Spermlerin sentirolleri, normal bir hücre sentrozomunu oluşturan sentiroller ile benzer bir yapıya sahiptir. Dokuz tane üçlü mikrotübül grubunun silindir şeklini verecek düzende yerleşimi ile oluşmuştur (Baccetti ve Afzelius 1976).

2.5.4.1.5.3.2. Mitokondri

Boyun bölgesinde yer alan diğer bir yapı mitokondridir. Bazı yumuşakçalarda ve deniz kestanelerinde olduğu gibi bir yada birkaç tane mitokondri bulunabilir. Mitokondriler kristalarında solunum enzimlerine sahip olduklarından spermin hareketliliği için gerekli olan enerjiyi üretebilirler (Baccetti ve Afzelius 1976).

2.5.4.1.5.4. Kuyruk bölgesi

Kuyruk bölgesi birçok türde oldukça benzerdir en uzun ve harekette en etkin bölgedir (Fawcett 1970). Spermler biflagellat veya uniflagellat olabilir; ilkel spermatozoa'da genellikle tek kuyruk vardır. Boyun bölgesinde yer alan sentirol ile başlayan 9 mikrotübül, kuyruk yapısında da devam etmekte ve merkezi konumdaki 2 mikrotübül ile 9+2 sistemi kuyruk bölgesinin eksenini oluşturmaktadır ki buna **aksonema** denilmektedir (Baccetti ve Afzelius 1976, Fawcett 1970). Ayrıca bu kararlı filament sistemi dışında, gastropodlarda dahil olmak üzere birçok canlı sperminin kuyruk bölgesinde ilave fibriller ve tübüllerin bulunduğu belirtilmiştir (Baccetti ve Afzelius 1976).

2.5.5. Spermin fonksiyonel özelliği

İlkel sperm tipine sahip hayvanlarda sperm doğrudan suya bırakıldığı için vücut dışında gerçekleşen bir döllenme söz konusudur. Spermatozoa deniz suyuna bırakılıp, yüzmeye başladığında, tamamen ürettikleri enerjiye bağımlıdır ve metabolizmaları aerobiktir (Anderson ve Personne 1970). Spermatozoonlar genellikle aktif DNA ve sitoplazmik enzim materyaline hidrogeniz ve mitokondri fosfolipidlerine sahip olmadıkları için biyosentetik yeterlilikleri yoktur. Ancak belli bir metabolizma ve hareketlilik için enerji gereksinimlerini karşılayacak fizyolojik kapasiteye sahiptir. Enerji stokları hücre içi glikojendir. Suyu bırakıldıktan sonra, bu enerji deposu karbonhidratları aerobik veya anaerobik olarak metabolize edilmesi ile hücrelerin kısa bir süre (2-5sa) yüzmesine olanak sağlar (Anderson ve Personne 1970). Bu süre boyunca spermler 180mm uzaklığa kadar yüzme kapasitesine sahiptirler (Baccetti vd 1976). Bu da göstermektedir ki vücut dışı döllenme sadece gametlerini suya bırakan hayvanların birbirlerine yakın konumlu olduğunda, sperm ve yumurtaların suya dökülmelerinin senkronize olabildiği durumlarda başarılıdır (Riffell ve Zimmer 2007, Zimmer ve Riffel 2011). Su akıntıları ve dalgalar, gametleri bir araya getirerek vücut dışı döllenmenin oranını etkili bir şekilde artırırlar (Baccetti ve Afzelius 1976).

2.5.6. Spermatogenez ve sperm ince yapılarıyla ilgili elektron mikroskopik çalışmalar

Bilhassa ekonomik öneme sahip olanlar başta olmak üzere farklı hayvan gruplarında özellikle Mollusca üyelerinde spermatozoon ince yapısı ve spermatogenez süreçleri son 30-40 yılda ilgi çeken konular olmuştur. Spermatozoon morfolojisi taksonomik durumların belirlenmesinde, spermatogenez ise bilhassa evrimsel gelişimin açıklanabilmesi ve populasyon durumlarının etkilerinin takibi için dikkatle çalışılmış ve halen çalışmalar sürdürülmektedir. Bivalvia bu konuda en geniş çalışılan yumuşakça grubudur. Gastropoda üyelerinde de çeşitli çalışmalar vardır.

Hodgson ve Bernard (1986a,b) İngiltere'nin Güney batı kıyılarında Mytilid'lerden *Mytilus edulis* ve *M. galloprovincialis* türlerinin sperm ince yapılarını ve spermatogenez süreçlerini incelemiştir. *M. edulis*'in sperminin baş bölgesi fiçi şeklinde 3-5µm uzunluğunda bir nükleusa ve 2µm uzunluğunda akrozoma sahiptir. *M. galloprovincialis*'in sperminin baş bölgesi daha uzun olup; 6-7µm ve akrozomu 5µm olduğu belirtilmiştir. Aynı lokalitede yaşayan bu iki türün taksonomik açıdan ayırımının, sperm yapılarına bakılarak ta yapılabileceğini belirtmişlerdir.

Akdeniz kıyılarından farklı lokalitelerden toplanan *Murex brandaris*'te spermatogenez süreçleri incelendiğinde, erken evrelerinde belirli bir nükleus ve sitoplazmasında birçok mitokondri, sayısız sentriol bulunduran atipik sperm yapısına sahip olduğu ve spermatogenez evreleri boyunca nükleus yapılarında önemli değişiklikler olduğu belirlenmiştir (Amor ve Durfort 1988, 1990a,b).

Hodgson ve Bernard (1988) üç genusa ait (*Patella*, *Helicon*, *Cellana*) 16 türün spermatogenez ve sperm yapılarını incelemiş patellid limpetlerin spermalarının baş uzunluklarının 3-13µm arasında dağılım gösterdiğini ve her türün sperm yapısının tek bir morfolojik özelliğe sahip olduğunu belirlemiştir. Filogenetik çalışmalarda taksonomik bir karakter olarak kullanılabilmesi gösterilmiştir.

Healy ve Jameison (1989) Pulmonatlardan *Helix aspersa* ve *H. pomatia* salyangozlarını Avustralya'dan toplayarak spermatogenez ve sperm yapılarını incelemişler, bu türlerin euthynöron spermatozoa'ya sahip olduklarını ve Pulmonatlarda ilk defa spermatofor yapısını (*H. aspersa*) belirlemişlerdir. İki türün sperminin nükleus bölgesinin kısa olduğu ve orta bölgelerinde glikojenin bulunmadığını vurgulamışlardır.

Hodgson vd (1990b) Prosobranchia'dan *Oxystella* genusundan beş türün sperm yapısını incelemiştir. Bu genus üyeleri ilkel tip sperm yapısına sahip olup, döllenmeleri vücut dışında gerçekleşmektedir (Franzen 1955). Bu beş türde spermatogenez süresince meydana gelen morfolojik değişiklikler türlerde oldukça benzerdir ve ilkel sperm yapısının tanımlayıcı özelliklerini bulundurmamaları gözlenmiştir. Sperm yapıları diğer Trochidlerin spermalarına oldukça benzerlik göstermelerine karşın, incelenen beş türünde farklı morfolojilerde spermelere sahip oldukları ortaya konmuştur (Kohnert ve Storch 1983, Azevedo vd 1985, Koike 1985). Türler arasında, spermelerde yapılan morfolojik ölçümlerde orta ve kuyruk bölgelerinde morfolojik olarak çok az veya hiç fark bulunmazken, nükleus ve akrozomun boyutu ve

morfolojileri çeşitlilik göstermektedir. Bu yapıların türlerin birbirinden ayırımında tanımlayıcı birer özellik olabileceği vurgulanmıştır.

Hodgson ve Heller (1990) Asya ve Afrika boyunca yayılım gösteren, partogenetik olarak üreyen tatlısu salyangozu olan *Melanoides tuberculata* türünde iki tip spermatozoa yapısı belirlemiştir. Bunlardan euspermatozoa filiform yapıda olup yaklaşık 230 µm uzunluğundadır ve diğer Cerithian türlerin tersine nükleus alışılmışın dışında uzamıştır (31µm uzunluğunda x 1µm çapında) ve aksonom intranükleer kanalın içine yerleşmiştir. Paraspermatozoa'nın baş bölgesi elektron yoğunluğuna sahip bloklardan oluşmuştur ve 15 aksonomla çevrelenmiştir. Orta bölgesinde uzamış mitokondri ve diğer Cerithian türlerdeki gibi püskül kuyruk yapısına sahiptir. Spermatogenez boyunca meydana gelen yapısal değişiklikler diğer dimorfik spermatozoa'ya sahip gastropodlarla benzerlik gösterdiğini tanımlamışlardır.

Hodgson ve Foster (1992) Güney Afrika Archaeogastropodlarından Haliotoidea, Fissurellidae ve Trochoidea superfamilyalarına dahil beş familyaya ait 11 türün sperm ince yapılarını inceleyerek morfolojik ölçümlerini türler arasında karşılaştırmıştır. Haliotoidea sperminin silindirik bir baş bölgesine sahip olduğu ve nükleusunun silindirik ve anterör çıkıntıya doğru daraldığı belirtilmiştir. Akrozom spermin baş uzunluğunun yaklaşık %40-50'sini oluşturduğu ve posterör çıkıntısında dar bir kanal şeklinde aksiyal çubuk içerdiği gösterilmiştir. Fissurellidae'nın sperm yapısı incelendiğinde de silindir bir nükleusun bulunduğu ve akrozomun nükleusa kıyasla oldukça küçük olduğu belirtilmiştir (akrozom uzunluğu= baş bölgesi uzunluğu <%35). Trochoidea'nın sperm yapısında anterörde nükleer çıkıntının genişlemiş olduğu ve baş bölgesinin %50'den fazlasını oluşturan uzamış konik bir akrozoma sahip olduğu belirlenmiştir.

Lottiid limpetlerin sperm yapılarının karakteristik özelliğinin baş bölgesinin 5-9 µm uzunluğunda, konik bir akrozomdan meydana gelmiş olduğunu, spermin uzunluğunun %50'sinden fazlasını silindirik bir nükleusa sahip baş bölgesinin oluşturduğunu tanımlanmıştır. Kuzey Amerika Prosobranchia, Lottiidae (Patellagastropoda), Fissurellidae (Archaeogastropoda) familyasında genel sperm yapıları incelenmiştir. *Lottia pelta*, *L. digitalis*, *L. strigatella*, *Tectura scutum* türleri limpetlerin spermalarının akrozomlarında farklılık belirlenmiş olup, 0.9-1 µm derinliğinde posterior çıkıntılarının bulunduğu ve uzamış akrozomal lobların çıkıntı oluşturduğu gösterilmiştir. Fissurellidae familyasında ise baş bölgesinin uzunluğu spermin uzunluğunun %25'inden daha az ve silindirik nükleusun küçük bir akrozomla çevrilmiş olduğu belirlenmiştir (Hodgson ve Chia 1993).

Healy (1995), Mathildidae familyasına ait heterogastropodların ilk defa (*Mathilda brevicula* Bavay ve *Mathilda* sp.) sperm ve spermatogenez yapılarını inceleyerek; bu türlerin spermalarının ovoid yapıda akrozomal keseye sahip olduklarını, ve nükleuslarının ip şeklinde ve *Mathilda* sp.'de helezonumsu ve morfolojik olarak Architectonicoidea familyasının türlerine çok benzerlikleri ortaya konmuştur.

Hodgson (1995) Patellogastropoda ve Vetigastropoda ordolarını inceleyerek Patellidae familyasında 5 sperm tipinin olduğunu belirlemiş ve diğer familyalara ait spermaları şematize etmiştir.

Hodgson vd (1996) Indo-Pasifik, Doğu-Kuzey Atlantik, Güney Atlantik (Güney Afrika), Akdeniz Patellid limpetlerinden 19 türün sperm genel yapısını inceleyerek, morfolojik ölçümlerle türler arası karşılaştırma yapmışlardır. İncelenen 19 türün spermleri ilkel tiptedir. Sperm yapılarında en belirgin farklılık baş bölgesinde bulunmuş ve Patellid limpetlerin sperm yapıları morfolojik yapılarına göre Hodgson vd (1996) tarafından türler bazında 5 farklı tipte sınıflandırılmıştır (Şekil 2.10).

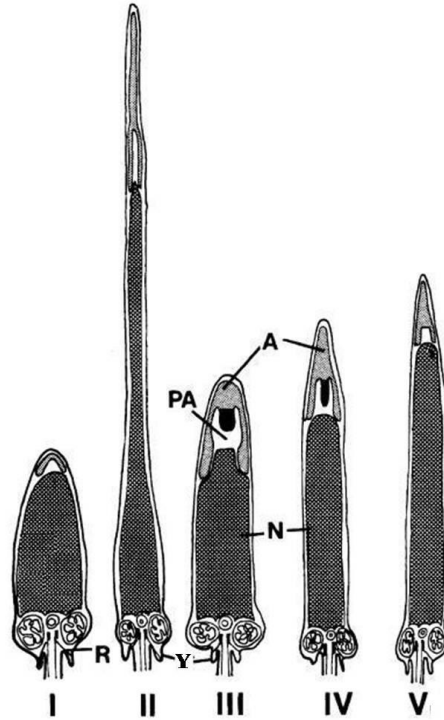
I Tip. spermatozoa ve türler: Silindirik nükleus ve basit akrozom yapısı ile gösterilmiş sperm; *P. tabularis*, *P. aphanes*, *P. oblecta*, *P. barbara*, *P. argenvillei*, *P. cochlear*, *P. longicosta*, *P. chapmani*, *P. laticostata*, *P. pica*, *P. flexuosa*, *P. mexicana*, *P. kermadecensis*.

II Tip. spermatozoa ve türler: Uzamış nükleus ve karmaşık akrozom yapısı gösteren sperm; *P. granularis*, *P. peronii*, *Patella miliaris*, *P. mexicana*.

III Tip. spermatozoa ve türler: Şişe şeklinde nükleus ve karmaşık akrozomlu sperm; *P. oculus*, *P. granatina*, *P. concolor*, *P. miniata*, *P. compressa*, *P. safiana*, *P. adansonii*, *Patella cf. miniata* (Angola), *P. canescens*, *Helcion dunkeri*, *H. pellucidum*

IV Tip. spermatozoa ve türler: Silindirik nükleus ve karmaşık akrozom yapısı ile merkezde mikrofilamentlerin bulunması şeklinde karakterize olan sperm; *H. pruinus*, *H. pectunculus*.

V Tip. spermatozoa ve türler: Akrozomda enine çizgi taşıyan ve üçgenimsi biçimde uzamış sperm; *P. rustica*, *P. vulgata*, *P. depressa*, *P. aspera*, *P. candei*, *P. ferruginea*, *P. caerulea*, *P. lugubri*.



Şekil. 2.10. Patellid limpetlerin 5 farklı sperm morfolojilerinin temsilcilerinin boylamsal semidiyagramatik şekli, R: radyal kol, Y: yaka, N: nükleus, A: akrozom, PA: posteriyor akrozomal boşluk (Hodgson vd 1996)

Hodgson ve Morton (1998) Patellogastropodlardan *Patelloida*'dan üç ve *Nipponacmae*'dan bir tane türün spermatogenez ve sperm yapılarını incelemişler ve Lottiidae familyasıyla benzer sperm yapısına sahip olduklarını göstermişlerdir. *Patelloida pygamaea* ve *Nipponacmaea shrenkii* türlerinde elektronca yoğun yüzük yapısı akrozomun temelinde bulunmaktadır (Healy 1988a,b). Bu yapı diğer Patellogastropodlarda daha önceden gözlenmemiştir. İncelenen türlerin spermatogenez safhaları diğer Patellogastropodların safhalarına çok benzemektedir (Hodgson ve Bernard 1988).

Prosobranşlara dahil Nerititacea familyasından bir gastropod olan *Bathymeryta naticoidea* türü Meksika Körfezi için endemik bir türdür. Neritidae familyasında birçok türün sperm yapısı dimorfik özellikte olmasına rağmen bu çalışmada eusperm ve öspermatogenez safhaları üç bireyde gözlenmiştir. Dolayısıyla derin su neritidlerinin dimorfik sperm yapısında olmadıklarını veya paraspermilerin oluşumunun mevsimsel olabileceği belirtilmiştir (Hodgson vd 1998).

İsrailden toplanan Melanopsidae familyasına ait *Melanopsis buccinoidea*, *M. saulcyi*, *M. costata*, *M. meiotoma* türlerinin iki tip spermatozoa yapısına sahip oldukları belirlenmiş, sperm yapıları ve spermatogenetik süreçleri incelenmiştir (Hodgson ve Heller 2000). Türler arası spermilerin morfolojik karakterleri karşılaştırılmış ve sperm boyutlarında önemli bir farklılık bulunmamıştır.

Röpstorf vd (2001), Baicaliidae familyasından yedi türün euspermatozoa yapısını incelemiş, paraspermatozoa yapısı bu türlerde gözlenmediğinden, Rissoidlerde bunun yoksun olma fikrini desteklemiştir. Bu türlerde euspermatozoa yapısı diğer Caenogastropodların sperm yapıları ile benzer özellikte bulunmuştur.

Nudibrans gastropodlardan Chromodoridae familyasından Avusturalya'nın batı kıyılarından toplanan *Chromodoris magnifica*, *Glossodoris pallida*, *Hypesodoris obscura*, *Pectenodoris trilineata*, *Risbecia tryoni* türlerinde sperm ince yapıları incelenerek, Chromodorit türleri spermilerinin küresel akrozom yapılarına sahip olduğu, akrozomal kese uzunluğunun incelenen türlerde oldukça benzerlik gösterdiği ve akrozomlarında düzenli enine çizgiler bulunduğu belirtilmiştir (Wilson ve Healy 2002).

Tayland'ın güneyinde mangrov ormanlarından toplanan Caenogastropodlardan *Cerithidea cingulata* türünün dimorfik sperm ve spermatogenez yapısına sahip olduğu hem histolojik hem de elektron mikroskopik çalışmalarda gösterilmiştir (Suwanjarat ve Suwaluk 2003). Aynı türün spermlerinde dölleme yeteneğine sahip ve genetik materyali taşıyan euspermatozoa ve kısır olan paraspermatozoa yapısı ve bunlarda euspermatogenez ve paraspermatogenez safhaları ayrıntılı olarak incelenmiştir.

Buckland-Nicks ve Hodgson (2005) Cerithioidea familyasından farklı lokalitelerden toplanan *Cerithium columna* (Heron Adası, Avusturalya), *Cerithidea decollata* (Doğu Londra, Güney Afrika), *Bittium zebrum* (Güneybatı Oahu, Hawaii), *B. eschrichtii* (USA) türlerinde parasperm yapıları ve paraspermatogenezini incelemişlerdir.

Asya Mollusca türlerinden biri olan çamur salyongozu *Bullacta exarata* Philippi etinin lezzetli olmasından dolayı ticari öneme sahiptir. Bu nedenle üreme sistemi

anatomi ve spermatozoa ince yapıları incelenerek, farklı taksonomik seviyelerde diğer gastropodlarla filogenetik olarak karşılaştırma yapılmıştır (Ying vd 2004).

Diğer protandrik neogastropod türlerinden farklı olarak *Coralliophila meyendorffii*'nin testisi iki farklı sperm tipine; eusperm ve parasperme sahiptir. Olgun parasperm yapısı diğer murisidlerdeki yapıya benzerlik göstermekte olup solucan şeklinde, hareketsiz olup nükleusu yoktur. Olgun ösperm yapısı ve süreçleri diğer Caenogastropodlardaki gibi gözlenmiştir (Maria Jose vd 2007).

Hodgson vd (2009) hidrotermal gastropodlardan *Rhynchopelta concentrica* türünün sperm ve spermatogenez süreçlerini inceleyerek sadece eusperm yapısı tespit etmişlerdir. Eusperm yapısı filiform introsperm özelliğinde olup, döllenme içte gerçekleşmektedir. Spermin orta bölgesi sayısız mitokondri içermektedir. Tipik vetigastropod ve neritimorf sperm yapısı gibi glikojen kısımları yoktur. Spermatogenez pek çok diğer gastropodla benzer tanımlanmıştır.

Zabala vd (2009, 2012) Volutidae familyasından *Adelomelon ancilla*'nın euspermatozoa ve paraspermatozoa yapısı tanımlanmış olup, Maxwell (1983) tarafından belirtilen diğer Caenogastropod'a sperm yapılarıyla benzer bulunmuştur.

2.6. Ovaryum ve Gelişimi

Canlılarda ovaryum ve testis ince yapılarının belirlenmesi, türler üzerinde evrimsel baskının anlaşılabilmesini ve diğer omurgasız grup modellerinin yaşam izlerinin şekillendirmesini sağlamaktadır. Yaşam şekillerinin ortaya çıkmasında ovaryum ve vitellogenez mekanizmasının önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir (Eckelbarger 1994a).

Ovaryum yapısı Mollusca filumunda oldukça farklılık göstermektedir. Döllenmenin dışsal (Monoplacophora, Scaphopoda, çoğunlukla Polyplacophora, bazı Aplacophora, Bivalvia, Gastropoda) veya içsel (Cephalopoda, çoğunlukla Aplacophora, Gastropoda) olmasına bağlı olarak ovaryumun morfolojisi değişikliğe uğramaktadır.

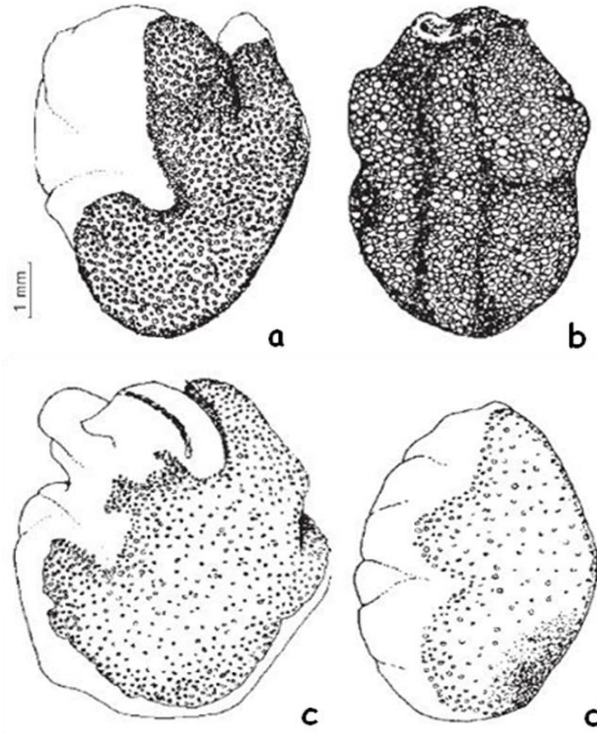
Çoğu dış döllenmeye sahip türde, ovaryum basit bir tüpten oluşmaktadır. İçsel döllenmeye sahip türlerde ise, ovaryum genellikle belirgin yardımcı eşey bezleri efferent kanalıyla ya bağlantılıdır ya da bir kısmını oluşturmaktadır.

Patellid limpetlerde ovaryum karmaşık bir organ olup, dallanmış bölmeler ile veya lümeden ovaryum duvarına kadar iç yüzeye uzanan ışnsal boşluklardan meydana geldiği ve ovaryum duvarının germinal epitelyum ile desteklendiği belirtilmiştir (Hodgson ve Eckelbarger 2000). Patellidlerin ovaryumlarında, trabeküllerinin bulunmasından dolayı Neritidler ve Caenogastropodlardan önemli ölçüde ayrılırlarken, Vetigastropodlar'ın ovaryum morfolojilerinden tamamen farklıdır. Caenogastropodlardan *Colus stimpsoni* (West 1981), *Ilyanassa obsoleta* (Taylor ve Anderson 1969), *Viviparus contectus* (Bottke 1972, 1973) türlerinde çok sayıda dallanmış tübüller bulunmaktadır. Neritid gastropodlarda *Bathynnerita naticoidea*'da, Patellagastropod'larda ovaryum dışta düz kas bantları, arada bağ dokusu ve en iç

tabakada dallanmış boşluklar bırakacak şekilde yerleşmiş hücreler bulunmaktadır (Healy 1987).

Dişi gonadların gelişim aşamalarında ventral yüzeylerindeki morfolojik yapılarına göre **kısmen olgun**, **olgun**, **kısmen boşalmış** veya **tamamen boşalmış** olma durumlarına göre yapısal farklılıklar gözlenmiştir (Şekil 2.11, Çizelge 2.1) (Niu ve Fuji 1989, Rocha-Barreira 2002).

McCarthy vd (2008) tarafından Patellidlerde gonadların safhaları histolojik açıdan incelendiğinde altı safhaya ayrılmıştır.



Şekil 2.11. *Patella* sp'de dişi gonadın gelişim sürecini çizimsel gösterimi (a) kısmen olgun, (b) olgun, (c) kısmen boşalmış, (d) boşalmış (Rocha-Barreira 2002)

Çizelge 2.1. Patellidlerde dişi gonadda gelişim safhalarının tanımlanması (McCarthy vd 2008)

Safha No.	Tanımlama	Dişi gonad gelişimi
0	Dinlenme	Ovaryumlar gevşek, boştur ve merkezde geniş bir lümen ve ayrı bir germinale sahiptir. Bağ doku gonadda mevcuttur. Tek tük ova'dan ve pek çok kan damarlarından kalan hücreler ovaryumun çatlağındaki boşluklarda gözlenirler.
1	Erken aktif	Ovaryumlar küçüktür ve içerisinde asinus kenarlarında ova ve oositin erken safhalarını bulundurlar. Lümenin merkezine doğru germinal epitelyumlar tamamen bir hat halindedirler. Lümenin merkezinde ve ovaryum çatlağı arasındaki dokularda birkaç kan hücresi gözlenmiştir.
2	Geç aktif (kısmen olgun)	Ovaryumlar laterale doğru şişkindir ve vitellogenezin son safhasında boyuna yerleşimli pek çok ova ve birkaç oosit içerir. Germinal epitelyum artık aktif formda değildir, aralıklı bir tabaka oluşturmaktadır
3	Olgun	Ovaryum şişkindir ve oosit yoktur fakat pek çok ova mevcuttur. Germinal epitelyum artık aktif durumda değildir, aralıklı bir tabaka oluşturmaktadır ve sıklıkla lümenin merkezinde bir germ hücresi ile bulunur.
4	Gamet dökme	Saplı oositler; ovaryum ve olgun oositte ovaryumun dışında bağ dokusunun içerisinde bulunmaktadır. Ovaryum geniştir ve gevşek olmanın işaretlerini göstermektedir. Germinal epitelyum yeniden gelişmeye başlar.
5	Tamamen boşalmış	Pekçok kan damarı, ovaryumların çatlak dokularında ve bağ dokularında bulunur. Ovaryumlar gevşektir ve dokuların yıkımının işaretlerini göstermektedir.

2.6.1. Yardımcı hücreler

Omurgasızların çoğunluğunda oositler yardımcı hücreler olarak isimlendirilen bir takım hücrelerle ilişkilidir. Yardımcı hücreler ve gelişen oositler arasındaki topografik, yapısal ve fonksiyonel ilişkiler çoğu türde az anlaşılabilir olsa da, bu hücrelerin oogenez sırasında;

- 1) Yumurta sarısı bileşenlerinin sentezlenmesi, depolanması ve nakledilmesi,
- 2) Yumurta sarısı yapısına katılmayan metabolitlerin sentezlenmesi ve nakledilmesi,
- 3) Ribozom ve mitokondri gibi sitoplazmik organellerin gelişimi, bileşenlerin sentezlenmesi ve nakledilmesi,
- 4) Ovaryum dışında meydana gelen metabolit ve yumurta sarısı bileşenlerinin nakledilmesi,
- 5) Oosit veya embriyo tarafından fagosite edilme,
- 6) Hormonların ve diğer düzenleyici moleküllerin üretilmesi,
- 7) Hücre dışı yumurta örtülerinin sentezlenmesi ve salınması,
- 8) Yumurta örtülerinin yapısına katılma ve

9) Oositte polarite ve sitoplazmik yerleşim gibi gelişimsel bilginin üretilmesi rollerini oynadıkları düşünülmektedir (Eckelbarger 1994a). Ancak, bunları destekleyici ince yapı çalışmalarına dayalı kesin kanıtlar yoktur.

Yardımcı hücreler dört farklı kategoride ele alınır (Eckelbarger 1994a):

- a) Folikül hücreleri,
- b) Besin (nurse) hücreleri,
- c) Besleyici yumurtalar,
- d) Diğer çeşit yardımcı hücreler.

Folikül hücreleri oosit ya da oosit gruplarının etrafında yer alan hücrelerdir. Folikül hücrelerinin oosit etrafında yerleşimi üç farklı şekilde olabilir. Oosit tamamen sayıca artan folikül hücreleri tarafından kuşatılır, oosit az sayıda folikül hücreleri ile sarılır veya oogenezin erken safhalarında artan folikül hücresi oositi kısa süreli kuşatır (Jong-Brink vd 1983, Kang vd 2010) Bu hücrelerin;

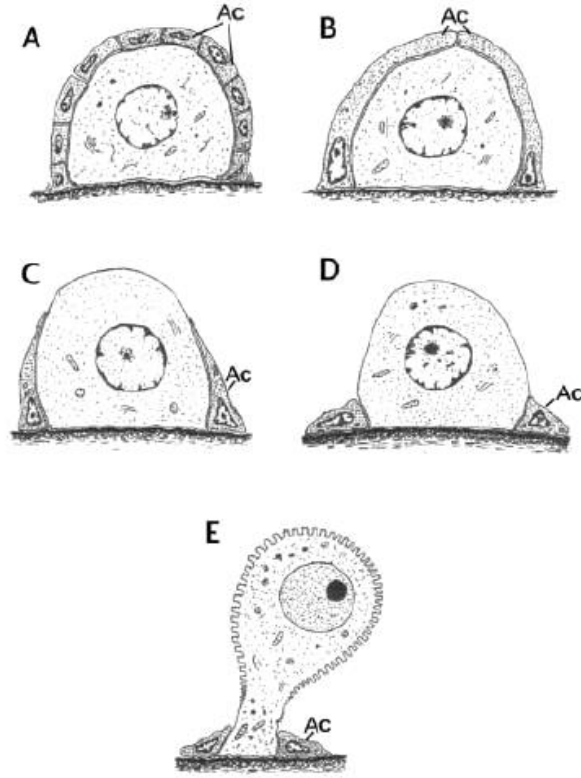
- 1) Gelişen oosite mekanik destek sağlamak veya erken oogenez sırasında oositleri korumak,
- 2) Oositler etrafında kimyasal bir bileşik halinde veya hücrel bir sekonder yumurta örtüsü oluşturmak,
- 3) Oositler için besin kaynağı oluşturmak ve vitellogenезде metabolitleri veya yumurta sarısı öncü maddelerini sentezlemek,
- 4) Bozulan (atretik) oositleri yok etmek gibi, en azından dört farklı fonksiyona sahip olduklarına inanılır (Wourms 1987, Griffond ve Gomot 1979).

Folikül hücreleri belki de en yaygın yardımcı hücrelerdir; özellikle sölomatlarda yaygındırlar. Çünkü bu hücreler ovaryumla sıkıca ilişkili olan peritondan kökenlenirler, yani somatiktirler. Bazı annelidlerde, yumuşakcalarda, kabuklularda ve böceklerde folikül hücreleri, vitellogenезде önce ve vitellogenезде sırasında hipertrofiye uğrar ve bol miktarda, muhtemelen yumurta sarısı öncü maddesi üretimine katılan proteosentetik organeller içerirler (Eckelbarger 1975, 1979, Griffond ve Gomot 1979).

Özelleşmiş besin hücreleri germinal hücre kökenlidir; sitokinezin tamamlanmaması nedeniyle sitoplazmik köprülerle gelişmekte olan oosite bağlı kalan ve olgun oosite dönüşmeyen hücrelerdir. Besin hücreleri, oositin biyosentetik aktivitesini destekler veya üstlenir; oosite mitokondri gibi organeller, ribonukleoproteinler ve/veya yumurta sarısı öncü maddeleri ya da tamamen oluşmuş yumurta sarısı cisimleri vererek trofik bir fonksiyon yapabilirler (Wourms 1987).

Prosobranş gastropodlar, özellikle neogastropodlar post-oogenik yumurta sarısı taşınmasına iyi bir örnektir. Bu hayvanlarda yumurta kapsülü içinde yer alan ve canlı olmayan besleyici yumurtalar, gelişen embriyolar için yedek besin kaynağı olarak görev yaparlar. Örneğin; *Buccinum undatum*'da yumurta kapsülü içinde birkaç yüz yumurta varken, kapsulden sadece 10-20 embriyo gelişir (Rivest 1983).

Bivalvlerde yardımcı hücre tipleri çeşitli şekillerde bulunabilmektedir (Şekil 2.12).



Şekil 2.12. Bivalvlerde bulunan yardımcı hücre tipleri (A) Tip 1. Yardımcı hücre oosti tamamen sarmıştır. (B) Tip 2. hücre çoğunlukla oositi sarmıştır (Jong-Brink vd 1983). (C) Tip 3. hücre kısmen oositin çecresini sarmıştır (Pipe1987). (D & E). Tip 4. yardımcı hücre ile oosit arasında bir sınır vardır AC: yardımcı hücre (Jong-Brink 1983)

2.6.2. Oogenez basamakları

Gonad gelişim aşamalarına paralel olarak oogenezde de birbirini takip eden safhalar vardır.

Oogenez altı safhadan oluşmuştur; ovaryumdaki olgunlaşmamış eşey hücreleri oogonyumlar sürekli olarak mitozla bölünmek suretiyle yeni **oogonyumları** (oogonia) oluşturur ve bunu takiben **sinaptik oosit**, **previtellogenik oosit**, **yağ damlacıklı oosit**, **vitellogenik oosit**, **olgun oosit** safhaları gelmektedir (Niu and Fuji 1989). Tam gelişmiş dişi gonad, amorf bazofilik sitoplazmalı previtellogenik oosit ve vakuolar eosinofilik sitoplazmalı vitellogenik oosit içermektedir. (Dodd 1956).

Oogenez, gelişimin başında primordiyal üreme hücreleri (**gonosit**) popülasyonunun ortaya çıkmasıyla başlar (Extavour ve Akam 2003). Gonositler, ilk üreme hücreleri mitozla oogonyumları oluşturmak üzere çoğalırlar. Genelde iki tip oogonyum ayırt edilir. **Primer (çoğalan) oogonyumlar** büyük nükleuslu küçük hücrelerdir. Bu hücreler, kromatin iplikleri içerirler ve nükleusları küçük ve homojen yapılıdır. Bunlar bir seri mitotik bölünmeye uğrarlar ve çok sayıda **sekonder oogonyum** oluştururlar. Bu hücre nükleusunda ve kromatin dağınık halde olup nükleolus daha büyüktür. Sekonder oogonyumlar sürekli olmayan geçici hücrelerdir;

jeneratif faz sona erdiğinde, oogonyumlar büyüyerek primer oositlere dönüşürler. Primer oositler mayozun başladığı evredir. Oosit farklılaşması mayoz öncesi (**premayotik**), vitellogeniz öncesi (**previtellogenik**) ve vitellogeniz olmak üzere üç basamakta gerçekleşir. Mayoz öncesi safha, birinci mayozun profazı sırasında meydana gelen nükleer olaylarla karakterize edilir ve bu fazda büyüme belirsizdir. Vitellogeniz öncesi fazda kromozomlar lamba fırçası şekline geçerek nükleoplazma içine yayılır. Nükleus gittikçe büyüyüp genişleyerek germinal vesikül halini alır. Yoğun RNA sentezinin meydana geldiği bu fazda mitokondri gibi organellerin de sayısı arttırılır. Bu fazdaki oositte yumurta sarısı ya hiç yoktur ya da çok azdır (Raven 1961). Vitellogeniz başlayan oositte yumurta sarısı üretimi başlar; glikojen ve lipid biriktirir. Pek çok organel üretilir ve kortikal granüller, pigment granülleri ve dalgalı lamella oluşturulur. Hayvanlar aleminde bu faz, yumurta sarısı bileşenlerinin kimyasal bileşimi, total yumurta sarısı içeriği ve yardımcı hücrelerin rolleri nedeniyle oldukça çeşitlilik gösterir. Vitellogenizin sona ermesi ile oosit olgunlaşmasına ait olaylar başlar: Germinal vesikül parçalanarak nükleer içerik ile sitoplazmik içerik birbirine karışır. Kromozomlar yoğunlaşır, bölünme mekiği oluşur ve mayoz bölünme meydana gelir. Kısa sürede hızla büyüyüp, tam ölçüsüne ulaşan primer oosit, haploid yumurtayı oluşturmak üzere iki bölünmeden ibaret mayoz bölünmeyi geçirir. Çizelge 2.2’de oogeneizde, primordiyal germ hücresinden ovuma kadar meydana gelen gelişimsel olayları özetlenmiştir (Cowden 1976, Riley vd 1977, Wourms 1987).

Oosit farklılığı ve devam eden süreçlerden olgunlaşması;

1. Premayotik fazda nükleus: nükleus, genellikle iki tane nükleolus içerir ki bu üreme hücresi şişer, nükleoluslardan bir tanesi birçok türde çok geniştir (amfinükleolus), kromozomları lamba fırçası özelliğindedir (Jong-Brink vd 1983).
2. Germinal kesede RNA sentezine (rRNA, mRNA ve tRNA) sitoplazmada depolama: sitoplazma basofilik olur.
3. Yumurta sarısı protein çeşitlerinin oluşumu (vitellogeniz): bu süreçten dolayı sitoplazma asidofilik hale gelir.
4. Kortikal granüllerin oluşumu: hücre dışı maddelerin serbest bırakılması (perivitellin boşlukta); dölleme rol oynamaktadır. Böyle granüller tüm Mollusca yumurtalarında bulunmamaktadır.
5. Foliküler hücrelerin oositi çevrelenmesi: Oositler, çevrelenen doku tarafından kapalı hale geldiklerinde, sayısız foliküler hücreler bu sürecin içerisinde yer almaktadır.
6. Oosit olgunlaşması: Ovulasyondan sonradır; polar cisimciğin ayrılması gerçekleşir.

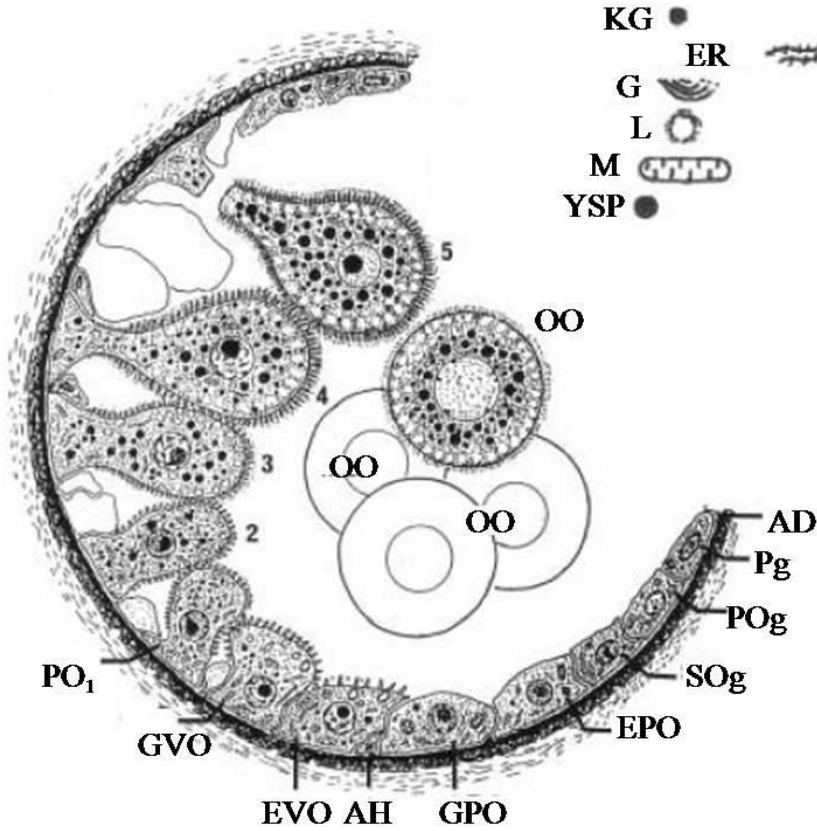
Bu oogeneiz süreçlerini şematik olarak *Amiantis umbonella* görülmektedir (Al-Mohanna vd 2003) (Şekil 2.13).

Çizelge 2.2. Oogenezin Safhaları (Wourms 1987)

OOGENEZ	
GERM HÜCRELERİNİN DURUMU Primordiyal Germ Hücreleri Primer Oogonyum Sekonder Oogonyum	GELİŞİMSEL OLAYLAR <ul style="list-style-type: none"> ▪ Mitoz ▪ Genital sırta veya gonada göç ▪ Mitoz ▪ Mayoz ve farklılaşmaya başlama
Primer Oosit a) Premayotik b) Previtellojenik c) Vitellojenik	<ul style="list-style-type: none"> ▪ DNA sentezi ▪ Mayotik profazın başlaması ▪ Diplotende bekleyiş ▪ Lamba fırçası kromozomları ▪ Germinal vesikül ▪ RNA sentezi ▪ Vitellojeniz ve büyüme
Sekonder Oosit ve Birinci Kutup Hücreleri	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Olgunlaşma olayları ▪ Birinci mayoz bölünmenin başlaması ▪ Birinci mayoz bölünmenin sona ermesi ▪ Birinci kutup hücresinin atılması

Oositler olgunlaştıkça, lümeneye doğru çıkıntı yaparlar ve sonunda lümeni doldurup, birbirlerini sıkıştırarak düzensiz şekil alırlar. Olgun oositler, büyük bir germinal vesiküle ve geniş bir sitoplazmaya, dışta jel örtü ve vitellin tabakadan ibaret bir yumurta örtüsüne sahiptir; koryon taşımazlar (Jong-Brink vd 1983). Plazma zarının yüzeyinde uzunluğu türe göre değişen (0.5-2.0µm) mikrovilluslar bulunur. Mikrovilluslar vitellin tabakayı oluşturan amorf materyalden ibaret bir tabaka ile ilişkilidir (Jong-Brink vd 1983).

Oosit olgunlaştığında vitellin örtü oosit yüzeyinden ayrılarak perivitellin aralığı oluşturur. *Mytilus edulis*'de bu aralık çok sayıda apokrin salgı şeklinde atılmış vesikül içerir. Vitellin tabakanın üzerinde jel örtü oluşur (Pipe 1987).



Şekil 2.13.. *Amiantis umbonella*'nın ovaryumunda elektron ve ışık mikroskobik görüntülere göre belirlenmiş olan oogenez süreçlerinin şematize edilmiş çeşitli safhalar: Pg: protogonyum, POg: primer oogonyum, SOg: sekonder oogonia, EPO: erken previtellogenik oosit, GPO: geç previtellogenik oosit, EVO: erken vitellogenik oosit, GVO: geç vitellogenik oosit, PO₁₋₅: postvitellogenik oosit, OO: olgun oosit. AD: Asinal duvar, olgun oosit hariç tüm safhalarda oositleri tutar. Bazı yardımcı hücreler (AH) gelişen oositlere yakın konumdadır. KG: kortikal granül, ER: endoplazmik retikulum, G: golgi kompleksi, L: lipid tanesi, M: mitokondri, YSP: yumurta sarısı proteini (Al-Mohanna vd 2003).

2.6.2.1. Vitellogenez

Yumurta hücresinin, en karakteristik özelliği tüm hayvan gruplarında özellikle sperme ve ait olduğu organizmadaki diğer hücelere göre çok daha büyük olmasıdır. Büyüklüğünün sebebi besin maddesi olan yumurta sarısının sitoplazmada biriktirilmesinden dolayıdır (McAlister ve Moran 2012). Ooplazmik enerji deposu olan yumurta sarısının biyosentezi ve birikimi (**vitellogenez**), dışı tarafından yapılan büyük bir enerji yatırımdır ve bu yatırım hem genetik hem de endokrin kontrol ile düzenlenen oldukça karmaşık bir olaydır (McAlister ve Moran 2012). Evrimsel sürece bakıldığında, ilkel koşullarda oositin kendi metabolik faaliyeti ile yeterli miktarda yumurta sarısı oluşturduğu görülmektedir. Büyük yumurtalarda daha kısa büyüme fazı ve daha fazla yumurta sarısı içerilmesinden dolayı oogenez süreçleri çok daha karmaşık bir hale

gelmektedir. Vitellogeniz, oosit farklılaşmasının en uzun süren fazıdır. Yumurta sarısının bileşimi hayvan türleri arasında farklı olduğundan, vitellogenizin uzunluğu da bir hayvan türünden diğerine farklılık gösterir. Vitellogeniz hızı da, bu fazın uzunluğunda etkilidir. Vitellogeniz hızı, oosit ve yardımcı hücrelerin yumurta sarısı öncü maddelerini elde edip, onları yumurta sarısı cisimlerine çevirme kapasitesine bağlıdır. Bu kapasite ovaryumun yapısı ve türe özgü bir vitellogeniz mekanizması ile belirlenir (Wourms 1987). Yumurta sarısı kaynağının oosit dışında olduğu ifade edilmektedir (Norrevang 1968, Raven 1970, Cowden 1976). Oosit, yumurta sarısı veya yumurta sarısı öncü maddelerini çevresinden alır. Eğer vitellogenik oosit ya sölom ya da gonad lümenindeki vücut sıvıları ile temas ediyorsa, bu alım difüzyon, aktif taşıma ve endositoz yolu ile doğrudan olur. Fakat oosit, folikül ve/veya besin hücreleri ile çevrilmişse vitellogenik materyalin oosite taşınması, hücreler arası köprüler ve fagositoz yolu ile bu hücreler tarafından düzenlenmektedir (Norrevang 1968, Raven 1970, Cowden 1976, Sticker vd 1992).

2.6.2.1.1. Vitellogeniz tipleri

Vitellogeniz tipleri çeşitli araştırmacılara göre farklı adlandırılmıştır. Bazı araştırmacılar üç tip vitellogeniz tanımlamışlardır (Huebner ve Anderson 1976, Eckelbarger 1980). Vitellogeniz, düşük molekül ağırlıklı dış kaynaklı öncü maddeleri aldıktan sonra oosit yumurta sarısını kendisi üretiyorsa otosentetik vitellogeniz; yumurta sarısı proteinleri diğer hücreler tarafından sentezlenir ve oosite nakledilirse heterosentetik vitellogeniz; bu iki vitellogeniz tipinin birlikte kullanılması söz konusu ise karışık veya otosentetik vitellogeniz olarak adlandırmışlardır (Eckelbarger 1979, 1994, 2005). Otosentetik yumurta üretimi omurgasızlar arasında özellikle Spiralia'da oldukça yaygındır (Anderson 1974, Huebner ve Anderson 1976). Mollusca'da ovaryumun içsel proteinik yumurta sarısı oluşumu vitellogenizin esas tipi olarak belirtilmiştir (Jong-Brink vd 1983). Bu şube üyelerinde otosentez heterosenteze göre daha yaygındır (Wourms 1987, Eckelbarger ve Blades- Eckelbarger 1989). Ancak sonradan yapılan çalışmalar, bazı prosobranşlarda heterosentetik vitellogenizin kayda değer olduğunu göstermiştir (Eckelbarger ve Young 1997, Hodgson ve Eckelbarger 2000). Bazı gastropodlarda her iki tip vitellogeniz birbirini takiben görülebilmektedir (Pal ve Hodgson 2002). Bazı bivalve türlerinde de heterosentetik vitellogeniz moleküler çalışmalarla belirlenmiştir (Matsumoto vd 2003).

Barre vd (1991) ve Bride vd (1992)'nin bahçe salyangozları üzerine yapmış oldukları immünolojik ve biyolojik çalışmalar da, temel yumurta sarısı öncü proteinin ve bir kısım diğer öncü madde sentezinin sindirim bezleri ve ovaryumlarda sırası ile gerçekleştirildiğini göstermişlerdir. Yumurta sarısı proteinin otosentetik ve heterosentetik ilişkileri arasında bir denge olduğunu ileri sürmüşlerdir.

Otosentetik vitellogeniz deniz omurgasızları arasında oldukça yaygın olup, ince yapı çalışmalarında birçok şubede gösterilmiştir (Wourms 1987). *Mytilus edulis* (Pipe 1987) ve *Crassostrea gigas* (Suzuki vd 1992), *Bathymodiolus childressi* (Eckelbarger and Young 1999)'de granüllü endoplazmik retikulumun ve sayısız golgi elemanlarının oosit içerisinde gelişmesi izlenerek proteinimsi yumurta sarısı granüllerinin otosentetik oluşumu ortaya atılmıştır. Heterosentetik yumurta oluşumu, birçok böcekte, amfibide, balık, sürüngen ve kuşlarda karakteristiktir (Anderson 1974). Heterosentezin midyelerde

olduğu gibi birçok deniz omurgasızında da gösterilmiştir (Wourms 1987, Le Pennec vd 1991, Beninger vd 2003). *Crassostrea virginica* protosentetikli zengin organellere sahip olup heterosentetik olarak büyük moleküler ağırlıklı öncü maddelerini homosölden oosit içine aldıkları görülmüş ve vitellogenenezin otosentetik ve heterosentetik yolla devam ettiği öne sürülmüştür (Eckelbarger ve Davis 1996). Ancak vitellojeninin doğrudan sentezine yönelik bir kanıt yoktur ve temel yumurta proteininin sentezinin oto ya da heterosentetik yolla yapıp yapılmadığı bivalvlerde hala açık değildir. Bivalvlerde yumurta sarısı proteinin larva ve embriyonik gelişimi için depolandığı düşünülmektedir (Li vd 1998). Gastropodlarda proteinimsi yumurta sarısında önemli bir bileşik olan ferritin'in sindirim bezi kaynaklı olduğu belirtilmiştir (Bottke vd 1988, Bottke ve Tiedtke 1988, Andrews vd 1992). Bazı gastropodlarda dişi üreme sisteminde albumin bezinde yumurta sarısı sentez edilmektedir (Dreon vd 2006). Oligoetler ve poliketler, bazı karından bacaklılar, kabuklular, böcekler ve çeşitli omurgalı sınıfları otoheterosentetik vitellogenenezin gerçekleştiği hayvan gruplarıdır.

Otosentetik vitellogenenez tipine sahip olan türlerde oosit bol miktarda granüllü endoplazmik retikulum ve golgi aygıtı içerir. Bu canlılarda, büyük moleküler ağırlıklı yumurta sarısı öncü maddelerinin oosit dışı kaynaklardan alındığıyla ilgili herhangi bir morfolojik bulguya rastlanılmamıştır. Bununla birlikte, yumurta sarısı oluşumuna katılan düşük moleküler ağırlıklı öncü maddelerin oosit yüzeyinde bol sayıda bulunan mikrovilluslar aracılığıyla alındığı farz edilmektedir. Otosentetik vitellogenenez kullanan canlılarda oosit büyümesi, dolayısıyla yumurta üretimi çok yavaştır ve üreme dönemleri arasındaki süre uzundur (Eckelbarger 1994a-b).

Eckelbarger (1994a, 2005) heterosentetik vitellogenenez tipini kullanan türlerde yumurta üretiminin hızlı ve üreme dönemleri arasındaki süre kısarken, otosentetik türlerde yumurta üretiminin ise oldukça yavaş olduğu belirtilmiştir. Bu türlerdeki ince yapı çalışmalarında, büyük molekül ve dış kaynaklı yumurta sarısı öncü maddelerinin oosite alındığı, oosit yüzeyi boyunca görülen örtülü çukurlar ve endositotik vesiküllerin (endozom) varlığıyla anlaşılmaktadır. İnce yapı çalışmaları, bazı türlerde endozomların granüllü endoplazmik retikulum ve golgi aygıtı ile birleştiğini (A tipi endositoz), bazı türlerde ise endozomların doğrudan yumurta sarısı cisimleri ile birleştiğini (B tipi endositoz) göstermiştir. B tipi endositoz oosit dışı moleküllerin yumurta sarısı oluşumuna katıldığı, dolayısıyla heterosentetik vitellogenenezin kesin kanıtıdır. Yine, endositotik aktivitenin yokluğu her zaman otosentetik mekanizmayı işaret etmez. Çünkü endositozun yavaş gerçekleştiği ve bu nedenle ince yapı çalışmalarında endositoz bulgusu ile karşılaşılmayan *Nereis virens* ve *Perinereis cultrifera*'daki immunolojik çalışmalarla vitellogeninin sölositlerde sentezlendiğini ve yavaş bir şekilde sölo sıvısından oositlere geçtiğini, dolayısıyla vitellogenenezin heterosentetik olduğu gösterilmiştir (Fischer ve Dhainaut 1985).

2.6.3. Yumurta sarısı içeren diğer hücreler

İç ve dışsal faktörlerden etkilenen yumurta sarısı sentezi, önemli enerji gerektiren bir süreçtir. Yumurta sarısı oositte ve foliküllerin şekillenmesinde kullanılan hücrelerdir ve yardımcı hücre, besin hücresi, destek hücresi gibi birçok sinonimle adlandırılırlar fakat en çok folikül hücre terimi kullanılmaktadır.

2.6.4. Folikül hücresinin kaynağı ve gelişimi

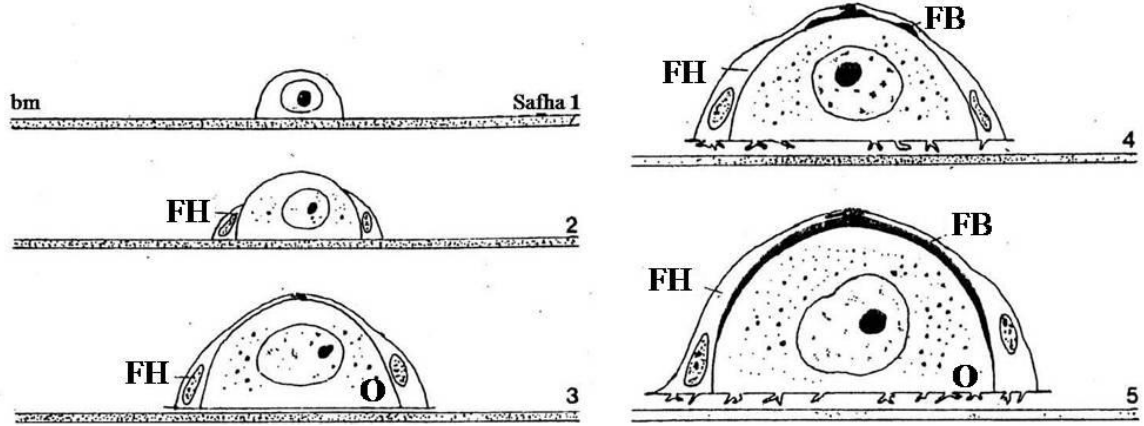
2.6.4.1. Gonadal kök hücre (GSC)

Folikül hücreleri çoğunlukla gonadal kök hücrelerinden (**GSC=gonadal stem cells**) gelişen oositlere yakın konumdadırlar. Polyplacophora (Selwood 1968) ve Cephalopoda üyelerinde (Cowden 1969, Bottke 1974) oosit gelişiminde mitotik bölünmeler boyunca folikül hücrelerinin sayısı artış gösterir. Opisthobranchlar ve Pulmonatlar da poliploid yaşamları boyunca çeşitli hücre tipleri meydana gelmiştir (Boer vd 1977). Folikül hücrelerinin düzeni ve sayısı Mollusca filimunda oosit farkıyla ilişkilidir. Üç tip ayırt edilebilir.

1.Tip: Gelişen oosit genellikle sinsisyum biçimindedir ki, sayıları artan folikül hücreleriyle tamamen sarılmıştır. Bu durum *Octopus vulgaris*'te, Chitonlardan *S. septentriones*'te foliküler hücrelerin karşılaştırılabilir düzenleri bulunmaktadır ki, asinar duvarda kalın salkım şeklinde oositler korunmaktadır (Raven 1970).

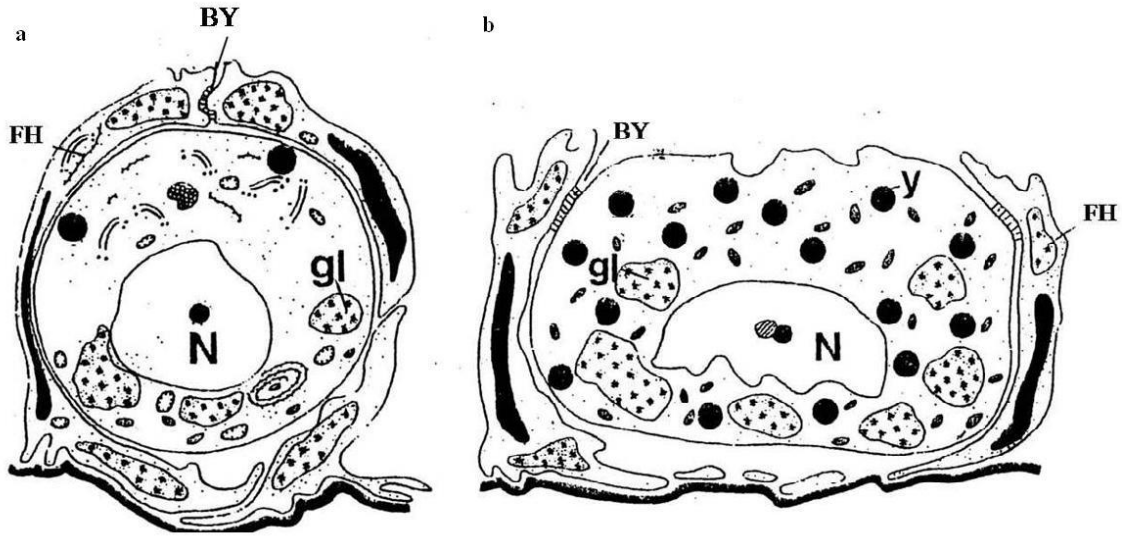
2.Tip: Farklı sayıda bulunan folikül hücrelerin oositi çevrelemesiyle oluşur. Fakat oosit asinar duvarın alt zarıyla temasını korumaktadır. Oosit ve foliküler hücreler arasında foliküler boşluk oluşmaktadır. *L. stagnalis* bu tipe açık bir örnektir. Oosit başına altı tane foliküler hücre belirlenmiştir (Raven 1970) (Şekil 2.14).

3.Tip: Sınırlı sayıda foliküler hücreler, oositin gelişiminin erken safhalarını tamamen çevreler. Daha ileriki safhalarda foliküler hücreler asinusun lümeninden serbest olarak sisen oositin apeksinden ayrılırlar (Griffond ve Gomot 1979) (Şekil 2.15).

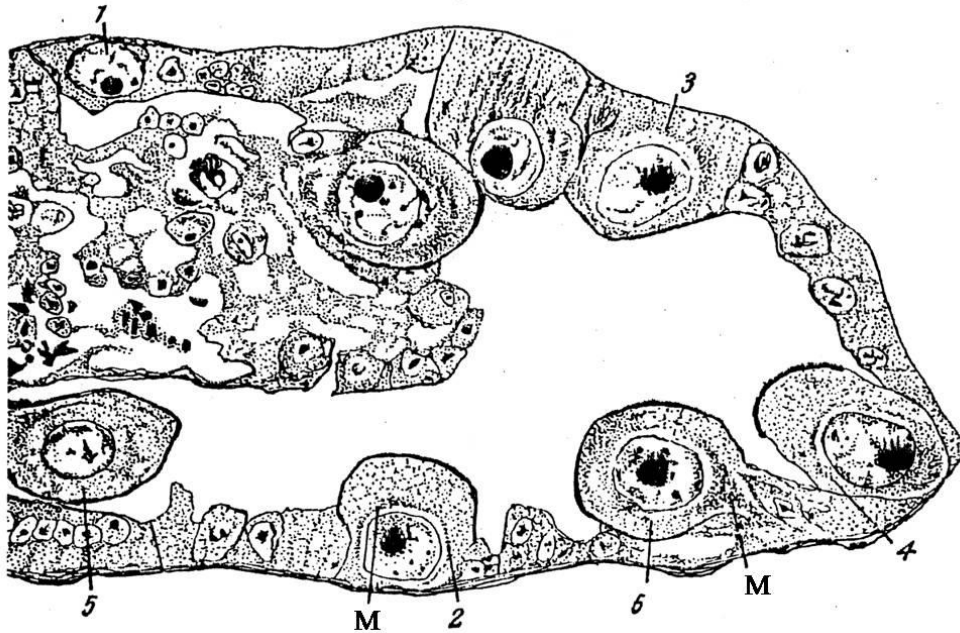


Şekil 2.14. Pulmonat salyangozlarından *Lymnea stagnalis*'in oogenez safhaları. Oosit (O) az sayıdaki foliküler hücreler (FH) tarafından çevrelenerek oluşur, bm: bazal membran, FB: foliküler boşluk (Raven 1970)

Bivalvlerden bazı türlerde oosit gelişimi ovaryumda bir arada, karşılaştırmalı düzende bulunur. Bu türlerde oosit bir sap ile asinar duvarla temasını korumaktadırlar (Şekil 2.16) (Woods 1931).



Şekil 2.15. Prosobranş *Viviparus viviparus* oositinin farklılaşma şeması, a: genç oositler, apikalden birbirlerine bağlanan (BY: bağlanma yeri) folikül hücreleri (FH) ile tamamen çevrenmesi, b. folikül hücrelerinin (FH) oositten ayrıldığı ileri safha, oosit asinar lumende serbestçe şişmiştir ve bu safhada foliküler hücreler lateral birleşme noktalarından (BY) oositlere bağlıdır. Gl: glikojen, y: yumurta sarısı proteini, N: nukleus (Griffond ve Gomot 1979)



Şekil 2.16. Bivavlerden *Sphaerium striatimum*'un ovaryumunun şematize hali, oogenez safhaları (1-6), foliküller oositlerden ayrılmışlardır, olgun oositler sadece bir sap ile sarılmışlardır, oositler asinar duvarla temas halindedirler, M: mitokondri (Woods 1931).

2.6.4.2. Folikül hücreleri ve vitellogenez

Folikül hücrelerinin vitellogeneze katkıda bulunup bulunmadığı yumuşakçalar, diğer omurgasız ve omurgalılarda da incelenmiş olup özellikle mollusklarda oositin dışında makromolekülerden yumurta sarısı bileşiklerinin (vitellogenez) üretilip üretilmediği konusu halen genel bir sorudur (Jong-Brink vd 1983).

Cephalopoda'da folikül hücrelerinin vitellogeneze katkısının olduğunu, bu hayvanlarda ekzojenik vitellogenez meydana gelmesi ve yumurta sarısı bileşiklerinin sentezinde folikül hücreler içerdiği vurgulanmıştır (Selman ve Wallace 1972). İnce yapı ve autoradiografik çalışmalar foliküler hücrelerin, protein üreten hücreler olduğunu göstermiştir (O'Dor ve Wells 1973, 1975, Selman ve Wallace 1978). Sentezlenen proteinler yumurta sarısı öncülerdir (Arnold 1971, Selman ve Wallace 1972, Eckelbarger ve Young 1997). Hücrelerin aktivitesi optik bezin gonodotropik hormonunun kontrolü altındadır. Oositlerde pinositotik kesecikler olmasına rağmen, oositin plazma membranı boyunca pinositotik keseciğin meydana gelmesi çoğunlukla dışsal vitellogenez için esas morfolojik kriter olarak alınmıştır (Selman ve Wallace 1978).

Folikül hücreleri aynı zamanda mollusklarda protein üreten diğer hücrelerin morfolojik özelliklerine sahiptirler (Coggeshall 1970, Selwood 1970, Bottke 1974, Jong-Brink vd 1976, Hill 1977). Yumurta sarısı öncüsü olan proteinlerin folikül hücreleri tarafından üretilip üretilmediği şüpheli görülmektedir. *Agriolimax reticulatus* (Hill ve Bowen 1976), *V. viviparus* (Griffond 1977) türlerinde foliküler hücreler incelenmiş ve oositin plazma membranı boyunca pinositotik olaylar bulunmamıştır. *B. glabrata*'nın (Jong-Brink vd 1976) elektron mikroskopik incelenmesinde oositin hareketleri ve oositlerin peş peşe gelişim safhalarında folikül hücreler arasında ilişki bulunmamıştır. Bu incelemeler folikül hücrelerin yumurta sarısı proteinleri ürettiğini olası sayılsa da, hücrelerin oosite besin (küçük moleküller ve iyonlar) geçişleri ile içsel yumurta sarısı oluşumunda katkıda bulunduğunu ileri sürmektedir (Griffond ve Gomot 1979). Poliketlerden *Capitella jonesi*'nin oositinde folikül hücrelerin ekstra-oositik madde kaynağı olarak belirlenmiş olup (Eckelbarger ve Grassle 1983) Limpetlerden *Siphonaria capensis* ve *S. Serrata* türlerinin oositlerinde de folikül hücrelerin büyük bir olasılıkla ekstra oosit kaynağı olduğu düşünülmüştür (Pal ve Hodgson 2002). Folikül hücrelerinin; yumurta taşınması, ovülasyon, hormon üretimi, besin maddesi karşılığı, yumurta sarısı öncüllerini üretme gibi birçok fonksiyonun olduğu belirtilmiştir (Taylor ve Anderson, 1969, Bottke 1973; Jong-Brink vd 1976, West 1981, Eckelbarger ve Young 1997).

Morfolojik incelemeler, folikül hücreleri ve oosit arasındaki yakın ilişkiyi desteklemektedir. İlk olarak, apekte; oosit, folikül hücrelerinin plazma membranına doğru mikrovilluslar uzatabilmektedir. Ayrıca, folikül hücreleri oositin lateral kısmına doğru sitoplazmik çıkıntılar oluşturabilmektedir (Bottke1972, Rigby 1979). Sonuç olarak, foliküler hücreler ve oositler, bölmeli desmosomlar gibi hücrelerin birleşim yerleri tarafından birbirlerine bağlanmışlardır. Bunların varlığı, küçük moleküllerin ve iyonların folikül hücreler ve oositler arasında yer değiştirmesini kolaylaştırmaktadır (Griffond 1977, Griffond ve Gomot 1979). Oldukça sıra dışı olarak Bivalvlerden *Sphaerium striatinum* ve prosobranşlardan *Lamellaria perspicua* foliküler hücrelerinde

oosittekinе benzer besin maddeleri içerdiği rapor edilmiştir (Jong-Brink vd 1983). Bu hayvanlarda foliküler hücreler gelişen oositler tarafından tamamen yeniden emilirler. *Pecten maximus*'ta bu yardımcı hücrelerin jelatin örtüsünün oluşumu sırasında vitellojenik oositle yakın ilişki içerisinde olduğu ve vitellin içerdiği grlmştir (Dorange ve Le Pennec 1989).

2.6.4.2.1. Folikül hücreleri ve yumurta zarının oluşumu

Cephalopoda ve Polyplacophora'nın bazı üyelerinde ikincil yumurta zarını oluşturan maddelerin üretimini foliküler hücrelerde gerçekleştirildiği grlmştir. Sefalopodlarda folikül hücreler tarafından üretilen yumurta sarısı proteini ve yumurta zarı öncüsü olan iki tip materyali morfolojik olarak ayırmak çok zordur (Jong-Brink vd 1983). Bazı gastropodlarda da yumurta sarısı içindeki ve oositin çevresinde oluşan glikokaliks tabakasındaki glikojenin kaynağı olduğu belirtilmiştir (Pal ve Hodgson 2002).

2.6.4.2.2. Folikül hücreleri ve fagositoz

Folikül hücrelerin sitoplazmalarında lizozom, lipid ve glikojen depolarının varlığı, fagositoz materyallere sahip olduklarını yansıtmaktadır. Fagositoz özellikle yaşlı folikül hücrelerinde açıkça görülebilmektedir. Oositlerin salınımından sonra folikül hücreler, bozulmuş olan oositleri çevreleyerek, oosit artıkları bu hücreler tarafından sitoplazmaları içinde yıkıma uğratılmaktadırlar (Griffond ve Gomot 1979, Jong-Brink vd 1983).

2.6.4.2.3. Folikül hücreleri ve ovulasyon

Biomphalaria glabrata'daki morfolojik incelemelere göre folikül hücreler; folikül oyukların oluşumunu sağlamaktadır (Jong-Brink vd 1976). Bu süreç boyunca, kesecikler daha çok granüllü endoplazmik retikulumun lateral plazma zarı ile uzamasıyla oluşmaktadırlar ve bunların içeriğinin hücreler arası boşlukta folikül hücreler ve oosit arasında salınmasıyla folikül boşluk oluşmaktadır. Omurgalılarda boşluğun oluşumu, ovulasyon sürecinin önemli bir safhası olarak sayılır. Bu hayvanlarda granül hücreleri, yüksek moleküler ağırlıkta olan asit mukopolisakkaritleri ile folikül boşluğa doğru serbest bırakılırlar. Hiyaduronidaz tarafından depolarize edilen bu mukopolisakkaritler granül hücreleri tarafından oluşturulmakta olup, beraberinde folikül hücrelerinde şişe oluştururlar (Zachariae ve Jensen 1958, Zachariae 1959). Gastropodlarda da benzer bir süreç meydana gelebilmektedir. Ubbels (1968) *Lymnea stagnalis*'in folikül boşluklarında mukopolisakkaritleri rapor etmesine rağmen, *B. glabrata* ve *L. stagnalis*'te yapılan diğer çalışmalarda benzer durum onaylanmamıştır. Aynı zamanda omurgalıların folikül hücrelerinde bulunan hidrolitik enzimlerin varlığına da gastropodlarda rastlanmamıştır (Jong-Brink vd 1983).

2.6.5. Vitellus granülleri

Yumurta sarısı, yumurta hücre sitoplazmasında bulunan ve embriyogenezin desteklenmesi için yumurtanın aktivasyonunda kullanılan besleyici veya nc maddelerdir ve vitellus olarak isimlendirilmiştir. (Anderson 1974).

Vitellusların birikim miktarı ve oositlerin büyüklükleri Mollusca şubesi üyelerinde çok çeşitlilik göstermektedir. Tüm sefalopodlar ve bazı prosobranşlar büyük miktarda yumurta sarısı üretirler. Diğer molluskların oositleri orta veya küçük miktarlarda vitellus üretirler. Proteinik ve lipidik yumurta sarısı olarak iki tip vitellus ayırt edilebilir (Raven 1961, 1972, 1975). Lipid yumurta sarıları damlacık halinde veya bir zarı olmayan globüllerde depo edilirler. Lipid ve proteinik vitellusların oransal miktarları türler arasında oldukça çeşitlilik gösterir (Jong-Brink vd 1983).

2.6.5.1. Yumurta sarısı bileşimi

Raven (1961) ve Williams (1965) üç esas yumurta sarısı bileşeni ayırt etmiştir. Bunlar, vitellogenездеki ortaya çıkış sırasına göre karbohidratlar, lipidler ve proteinlerdir.

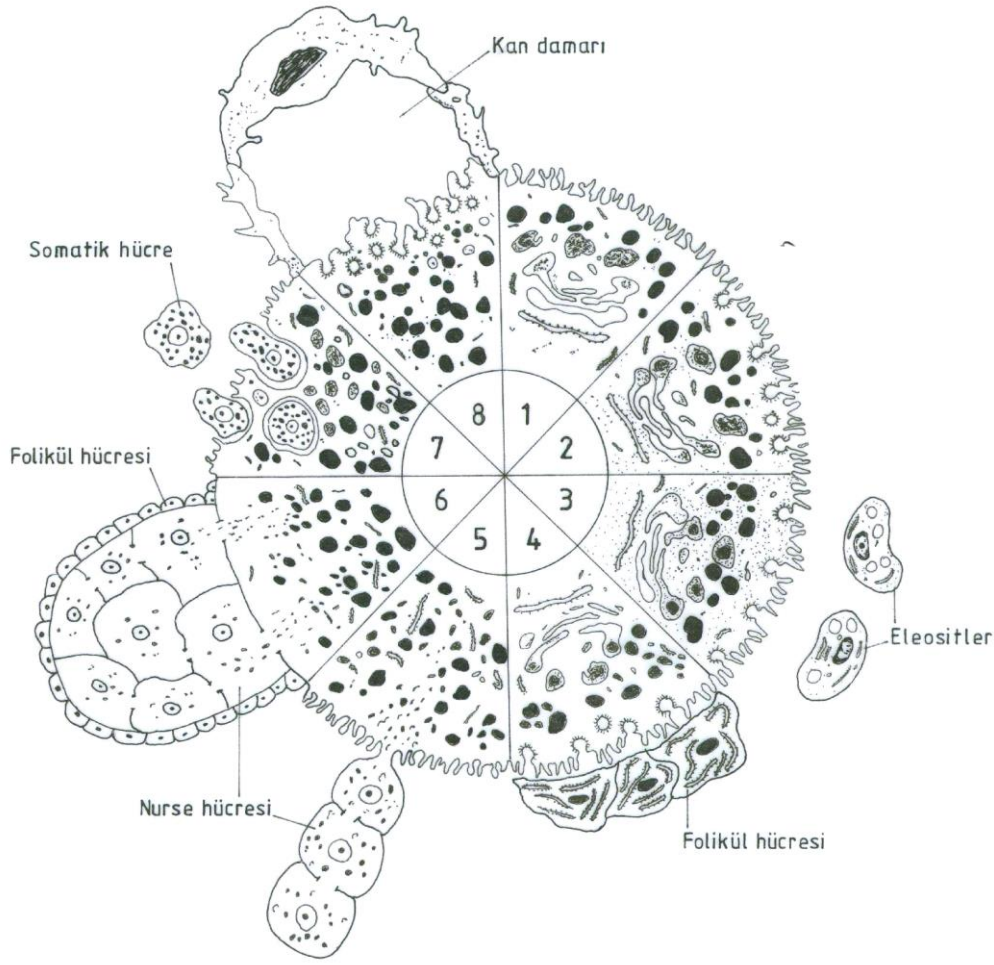
Yumurta sarısı karbohidratları glikojen, galaktojen ve çeşitli polisakkarit-protein kompleksleri ile ilişkili olan mukopolisakkaritlerden ibarettir. İnce yapısal düzeyde glikojen, α veya β partikülleri şeklinde görülür. Vitellogenéz sırasında yumurta sarısının karbohidrat içeriği artabilir, azalabilir veya sabit kalabilir (Raven 1961, Wourms 1987).

Yumurta sarısı proteinleri; bazik, lipo, fosfo (vitellojeninler), demir içeren proteinler (ferritin) ve protein-polisakkarit komplekslerini de içerirler (Bretschneider ve Raven 1951, Ubbels 1968, Bottke ve Tiedtke 1988). Vitellogenéz sırasında yumurta sarısı proteinleri karmaşık bir iç yapıya sahip olup, zarla çevrili yumurta sarısı cisimleri içinde biriktirilirler. Elips veya küre şeklinde olan bu cisimler vesiküller olup, ya homojen ya da tanecikli olabilirler.

Lipid, yumurta sarısı granüllerinde genellikle nötral yağ bileşenlidir (Ubbels 1968). Farklı metazoanlarda, yumurta sarısı öncü maddelerinin kaynakları ve gelişmekte olan oositlere alınış yolları değişmektedir ki bunlar Şekil 2.17’te ayrıntılı verilmiştir (Eckelbarger 1994a).

1. Düşük moleküler ağırlıklı öncü maddeler oosite yüzeydeki mikrovilluslardan alınır.
2. Büyük moleküler ağırlıklı öncü maddeler oosite reseptör aracılı endositoz ile alınır.
3. Söloomik eleositlerden kökenlenen öncü maddeler oosite endositoz yoluyla girer.
4. Folikül hücre kökenli öncü maddeler oosite endositik alım yoluyla girer.
5. Besin hücreleri hücreler arası köprüler ile oosite metabolit ve/veya organel sağlar.
6. Hem folikül hücreleri hem de besin hücreleri oosit büyümesinde rol oynar.
7. Oosit büyüme fazında germ veya somatik hücreleri fagosite eder.
8. Kan damarları ile taşınan öncü maddeler oosite endositoz yoluyla alınır.

Ek olarak, temel proteinler granüllerin içerisinde mevcuttur. Ayrıca, belirli aminoasitler (tirosin, triptofan, arjinin)’in histokimyasal reaksiyonlarda pozitif sonuçlar verdikleri görülmüştür. *L. stagnalis*’te oosit gelişimi boyunca, arjinini içeren temel proteinler histidin içeren proteinlerle yer değiştirebilirler. Bazı türlerde morfolojik ve histokimyasal incelemelere göre iki tip yumurta sarısı granülü ayırt edilmiştir. *L. stagnalis*’te, bu granüller β ve γ -granülleri olarak adlandırılır (Ubbels 1968).



Şekil 2.17. Farklı metazoonlarda, yumurta sarısı öncü maddelerinin kaynakları ve gelişmekte olan oositlere alınış yolları (Eckelbarger 1994a).

2.6.6. Vitellus sentezi

2.6.6.1. Proteinik vitellus üretimi

Mollusca oositinin yumurta sarısı granüllerinin oluşumunda, ER, golgi cisimcikleri, mitokondri, otofajik vakuoller, çok kesecikli cisim gibi çeşitli hücre organelleri rol almaktadır (Raven 1961, Osada vd 2003).

Oosit nükleusunun çevresinde, vitellogenizden önce oluşan ilk yapı, “**Balbani body**” terimi ile tanımlanmış olup, basofilik hücresel yapı (RNA-içeren) çeşitliliğini göstermektedir. Pek çok Mollusca türünde, yumurta sarısı granülleri, böyle cisimciklerle yakın ilişkiler içerisindedir (Longo ve Anderson 1970, Sachs 1971). Bu durum pek çok Mollusca oositinde görülmekte ve vitellogenizde rol oynadığı farz edilmektedir (Popham 1975, Gérin 1976a, Gomez-Roblez vd 2005). Bu yapının hayvanlar aleminde çok geniş bir spektrumla oosit gelişiminde izlendiği belirtilmiştir (Guraya 1979).

2.6.6.2. Lipid içerikli vitellus üretimi

Proteinik yumurta sarısı granülleri gibi lipid granülleri de çeşitli yollarla oluşabilirler. Lipid taneleri sık sık, proteinimsi yumurta sarısı sentezi başlamadan önce oositin sitoplazmasında ortaya çıkmaktadır. Her zaman bu oluşumu da belirli hücre organelleri olduğunun belirtisi yoktur. *M. edulis*'in oositinde olduğu gibi lipidlerin perinükleolar sitoplazmada yerleşimi yani nükleusu sarmasının yanı sıra, mitokondriye yakın konumlarda da ortaya çıkmaktadır (Humphreys 1962). *M. edulis*'te aynı zamanda lipid taneciklerinin oluşumunu kapsayan, perinükleolar bölgede bulunan golgi aygıtı bulunmaktadır. Buna ek olarak, golgi, mitokondri ve Balbiani cisimciği, özellikle düz endoplazmik retikulumun yoğun membran içeriğinin lipid tanelerinin oluşumunu kapsadığı düşünülmektedir (Bedford 1966, Gérin 1976b). Gastropodların farklı türlerinin arasında protein ve lipid içeriklerinin çeşitliliği olağan dışı değildir (Wourms 1987). Siphonaria ve Acmaea'da lipid oluşumunun düz endoplazmik retikulum ve mitokondriler ile ilişkili olduğu vurgulanmıştır (Kessel 1982, Pal ve Hodgson 2002).

2.6.7. Vitellusun fonksiyonel önemi

Gelişen embriyo için dışarıdan besleyici madde eklenemeyen yumurta hücrelerinde tek besin kaynağı oositin içerisindeki yumurta sarısıdır. Genç hayvanların yumurtadan çıkma dönemlerine bağlı olarak, yumurta hücrelerinin büyüklüğü depoladıkları madde miktarına göre değişir. Gelişmenin ilerlemiş safhalarında yumurtadan çıkan Sefhalopodlardan Octopoda'ya ait türler büyük yumurta sarısı içeren yumurtaya sahipken, erken safhada yumurtadan çıkan ahtopodlarda ise orta boy veya küçük yumurta sarılı yumurtaya sahiptirler (Jong-Brink vd 1983).

2.6.8. Oosit absorpsiyonu

Mollusca'da oosit dejenerasyonu ve tekrar absorbe edilmesi çeşitli çevresel etkilerle, örneğin ortam sıcaklığının artışı, kuruma veya besin azlığı gibi durumlarda ortaya çıkar (Dorange ve Le Pennec 1989).

Bozulmuş oositler histolojik kesitlerde sağlıklı oositlerin daha kuvvetli ve farklı renklerde boyanmaları ile kolaylıkla ayırt edilebilirler. Gelişen embriyolarda döllenen yumurtaların yardımcı hücreler tarafından sindirilmesi oosit absorpsiyonu (oosorption) olarak ifade edilmektedir (Grifond ve Gomot 1979) ve özellikle bazı Prosobranch üyelerinde gerçekleşmektedir (Jong-Brink vd 1983).

2.6.9. Ovaryum ince yapısı ve oogenez ile ilgili elektron mikroskopik çalışmalar

Mollusca şubesinde çeşitli türlerin ovaryum yapıları ve oogenez aşamaları incelenmiştir. Ovaryum karışık bir organ olup, radial olarak kesildiğinde sayısız bölmeler içermektedir. Oositler, trabekula duvarının içerisinde oluşmaya başlarlar ve ovaryum lümeninin içerisinde artan bir şekilde dışarıya doğru kabarmaktadır ve gelişim boyunca folikül hücreleri tarafından sarılmaktadır. Erken vitellogeniz boyunca, folikül hücreleri oositin altından yüzeye doğru taşınmakta ve mikrovilluslar previtellin boşlukta ortaya çıkmaktadırlar (Martin vd 1983).

Haliotid'lerden *Haliotis varia*'nın ovaryum yapısı ve oogenez süreçleri incelenmiş olup, dişi üreme hücreleri; previtellogenik, erken vitellogenik, geç vitellogenik ve olgun oosit olmak üzere beş safhaya ayrılmıştır. Vitellogenik oositler tek bir katman içeren vitellin kılıfla çevrelenmişlerdir. Lipid taneleri ve protein yumurta sarısı granüllerinin çapları ölçülmüş olup bu yapılar özellikle geç vitellogenik safhalarda ve olgun oositlerde incelenmiştir. Sayısız mikrovillius vitellin kılıfa gömülmüş olarak bulunmaktadır. Sitoplazmaya dahil olan kortikal granüller, lipid taneleri, mitokondriler ve yumurta granülleri olgun oositin en gerekli bileşenlerini oluşturdukları belirtilmiştir. Oosit dejenerasyonu *Haliotis varia*'ta oogonial hücreler ve previtellogenik oosit haricinde tüm oosit gelişim safhalarında gözlenmiştir. (Najmudeen 2008).

Cephalopodlardan *Alloteuthis subulata* türünün ovaryumlarındaki folikül hücreleri ve üreme safhaları, yumurta sarılarının sentezlenme özellikleri (Bottke 1974), ve soğuk su türü olan loligolardan *Loligo gahi*'nin oogenez ve gonad gelişimleri üzerinde çalışılmıştır (Laptikhovsky ve Arkhipkin 2001).

Bivalvlerden *Mytilus edulis* (Humphreys 1962), *Pinna nobilis* (Gaulejac vd 1995), *Crassostrea virginica*'da oogenez süreçleri (Eckelbarger ve Davis 1996), *Pisidium amnicum* dişi gametlerinin safhaları ve oosit dejenerasyonu (Aroujo ve Ramos 1997), *Bathymodiolus childressi*'nin oositlerinin gelişim süreçleri (Eckelbarger ve Young 1999), *Amianthis umbonella* (Mohanna vd 2003), *Donax trunculus* (Yılmaz 2005), *Neotrigonia margaritacea* (Glavinic vd 2011) ovaryumunun morfolojisi ve oogenezi ayrıntılı olarak incelenmiştir.

Birçok omurgasız türlerinde de özellikle, poliketlerde çok çeşitlilik gösteren oogenez ve ayrıntılı ovaryum yapılarını inceleyerek ovaryumun karmaşıklığını, türlerde belirtilen oogenez tiplerine göre değiştiğini ve yumurta farklılıkları çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (Olive 1971, Eckelbarger 1975, 1980, Eckelbarger ve Grassle 1983, Eckelbarger 2005). Sycphozoa sınıfından *Linuche unguiculata* ve *Stomolophus meleagris* türü denizanelerinin ovaryum ve oogenez safhaları incelenmiştir (Eckelbarger ve Larson 1992).

Derin su gastropodları neritidlerden *Bathynnerita naticoidea*'nın ovaryum ve oogenez ince yapıları incelenmiş olup, vitellogenezin karışık bir süreci kapsamakta olduğu, hem otosentetik ve hem de heterosentetik özellikte ve üç tip yumurta cisimciği içerdiği belirlenmiştir (Eckelbarger ve Young 1997). Bu türlerde vitellogenez daha önceden tanımlanmış Caenogastropod ve bazı Heterobranch (Opistobranch ve Pulmonat) ile benzerlik gösterdiği belirtilmiştir (Eckelbarger ve Young 1997).

Tatlı su salyongozlarından oovovivipar olan *Melanoides tuberculata* ve ovipar *Melanopsis buccinoidea*'da ovaryum morfolojisi ve oogenezinin ince yapısı incelenmiştir (Hodgson vd 2002). Her iki türde de yumurta sarısı oluşumunun öncelikli otosentetik olduğu belirtilmiştir.

Tatlı su gastropodlarından *Viviparus viviparus*'un folikül hücreleri hem ışık hem de elektron mikroskopunda incelenmiştir. Folikül hücrelerinin glikojen, yağ ve sıklıkla lizozom ve heterojen kalıntılar bulundurduğu tanımlanmış ve bu hücrelerde fagositotik

aktivitelerinin olduğu ve depo görevi gördüğü kanısına varılmıştır (Griffond ve Gomot 1979).

Pulmonatlardan *Siphonaria capensis* ve *S. serrata* türlerinin karşılaştırmalı oogeneze ve vitellogenenez süreçleri incelenmiştir. Birkaç kış ayı dışında yıl boyunca gonada oogeneze safhalarının çoğu gözlenmiştir. Previtellojenik oosit birkaç organel içermekte olup, folikül hücreleri ile çevrelenmiştir. Vitellogenenez boyunca üç tip depo ürünü ooplazmaya toplanmaktadır ki bunların yumurta sarısı proteini, lipid ve glikojen oldukları belirtilmiştir (Pal ve Hodgson 2002).

Muricidlerden *Bolinus brandaris* türünde oogeneze süreçleri incelenmiş ve vitellogenenezin türe özgü spesifik karakterlerinin olabileceği düşünülmüştür. Oogeneze bu türde dört ana safhadan oluşmuş olup bunlar, premitoz, mitoz, vitellogenenez ve olgun oositir. Premitoz ve mitozun en karakteristik özelliği nükleus bulundurmasıdır, heterokromatin nükleoplazma boyunca yayılmıştır. Sitoplazma birkaç mitokondri ve diktiyozom haricinde boş olduğu belirtilmiştir (Amor vd 2004).

Güney Afrika'da bulunan altı Patellid limpet türünün ovaryumları vetigastropodlardan *Haliotis rufescens*'e çok benzemekte olduğu ortaya konmuştur (Martin vd 1983, Hodgson ve Eckelbarger 2000).

3. MATERYAL VE METOD

3.1. Örneklerin Toplanması

Çalışmanın materyali Akdeniz bölgesinde yayılış gösteren *Patella caerulea*, *P. rustica*, *P. ulyssiponensis* türleridir. *Patella* örnekleri Antalya Körfezi'nde Yat limanı ve Phaselis bölgelerinden toplanmıştır. Örnekler supralittoral zondan itibaren yaklaşık 3 m. derinliğe kadar olan kıyı şeridinden elle toplanmış ve alınan bu *Patella* örnekleri çalışmada kullanılmıştır. Canlı olarak Akdeniz Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Araştırma laboratuvarına getirilen *Patella*'lar, akvaryumda deniz suyu içerisinde yaşatılmış ve teker teker ışık ve elektron mikroskopik incelemeler için işlemlerden geçirilmiştir.



Şekil 3.1. Antalya Körfezi'ndeki çalışma alanının haritası

3.2. Tür Tayini

Toplanan örneklerin, kabuk ve radula morfolojilerine bakılarak ve daha önceki çalışmalarımız dikkate alınarak tür düzeyinde tanımlanmaları gerçekleştirilmiştir (Falakalı Mutaf ve Akşit 2009, Akşit ve Falakalı Mutaf 2009a,b).

3.3. Eşey Tayini

Örneklerin ventralinde ayak kası kesilip çıkarılarak gonad incelenebilir hale getirilmiştir. Gonad erkek bireylerde beyazımsı krem renkli tübüler görünümünde iken, dişilerde pembe, kahverengi, yeşil tonlarında granüler bir yapıda olması nedeniyle olgun bireylerde makroskopik olarak ayrımlar yapılmıştır. Gonadın dış morfolojisinden cinsiyeti belirlenemediği durumlarda, bireylerin gonadlarından alınan örnekler, deniz suyu damlatılmış lamlarda mikroskopta incelenerek bireylerin eşeyi belirlenmeye çalışılmıştır.

3.4. Histolojik İncelemeler

Gonad gelişimi ve gametogenez süreçlerini ışık mikroskopunda incelemek için 5-6 birey örneklenmiştir. Örneklerden testis ve ovaryum disekte edilerek ayrı ayrı Bouin sıvısına aktarıldı. En az 24 saat tespit edilen dokular ilk önce %30' luk alkolde iyice yıkanarak tespit sıvısından arındırılmış ve %50, 70, 90, 100 alkol serilerinde dehidre edilip, ksilolde şeffaflaştırmayı takiben parafine gömülmüştür. Bu parafin bloklarından Leica RM 2135 marka mikrotom ile 5µm-6µm'lik kesitler alınmıştır.

Bu kesitler ksilolde parafinden arındırılarak, alkol serilerinden geçirilip dehidratasyonu takiben Ehrlich'in Hematoksilen ve Eosin boyaları (H&E) ile boyanmış, dehidratasyon ve şeffaflaştırma sonrasında Kanada balsamı ile kapatılmıştır (Demir 2001). Bazı dokularda yapısal farklılaşmayı belirlemek amacıyla Gomori Trikrom boyası (GT) uygulanmıştır ve Hematoksilin boyasına ek olarak ikinci boya basamağında Eosin yerine Fast green- Kromotrop 2R- Fosfotungustik asit karışımı trikrom boyası kullanılmıştır (Drury ve Wallington 1973). Her bir doku Olympus CX40, CX50 ve Zeiss marka fotomikroskop sisteminde incelenerek gonadların farklı gelişim aşamalarını belirleyip fotoğrafları çekilmiştir.

3.5. Transmission (Geçirmeli) Elektron Mikroskopunda İncelemeler

Dokularda elektron mikroskopik çalışmalar, Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Elektron Mikroskobu Ünitesi'nde (TEMGA) ve Rhodes Üniversitesi Entomoloji ve Zooloji Bölümü, Elektron Mikroskobu Ünitesi ile gerçekleştirilmiştir.

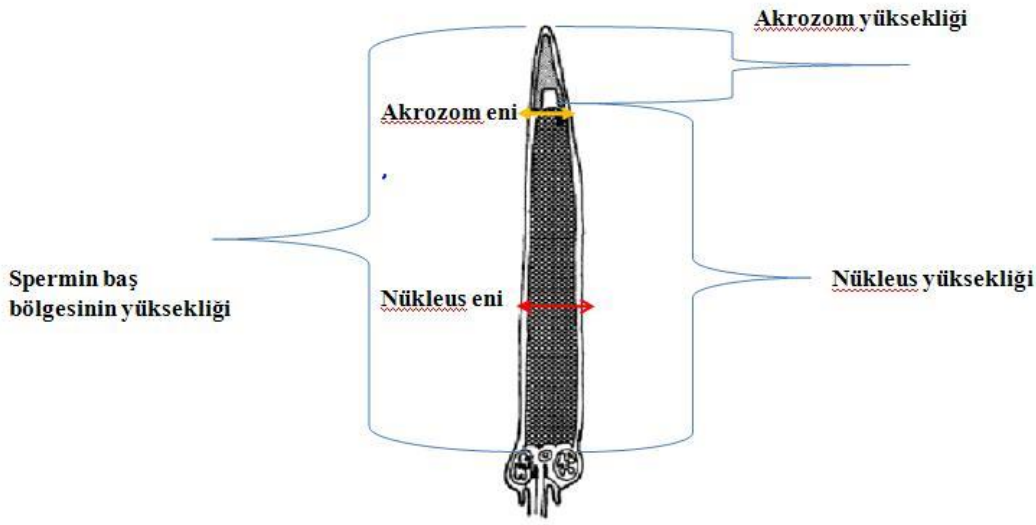
Disekte edilen gonadların ilk tespit işlemi, deniz suyunda 0.1M'lık sodyum kakodilat tamponunda (pH:7,4) hazırlanan %2,5'luk glutaldehit'le +4°C'de buzdolabında 2 saatde gerçekleştirilmiştir. Daha sonra sodyum kakodilat tamponu ile yıkanan dokular ikinci tespit işlemi için aynı tampon kullanılarak hazırlanan %1'lik osmium tetraoksit alını ve bir saat süreyle postfiksasyon yapıldı. Tespit işleminin ardından tekrar sodyum kakodilat tamponu ile yıkama yapılarak % 30, 50, 70, 90, 100 alkol serilerinde dehidre edilip, su ve alkolün dokudan tamamen uzaklaşması için propilen oksitten geçilmiştir.

Gömme işleminden önce dokuya yavaş yavaş resinin işlemesi için (3:1), (1:1), (1:3) oranlarında propilen oksit: resin (Araldit CY212, DDSA, BDMA) karışımlarının içerisine alınmış, oda sıcaklığında rotatorda döndürülerek resinin dokuya tamamen nüfuz etmesi sağlanmıştır. Ardından gömme işlemine geçilerek, araldite gömülen dokular polimerizasyon için 60°C'deki etüvde 36-48 saat bırakılmışlardır. Kalıplara veya kapsüle gömülen doku bloklarından çıkartılıp, trimlemeleri yapıldıktan sonra cam ve elmas bıçaklar ile ultramikrotomda öncelikle yarı ince (1-2µm) kesitleri alınmıştır. Yarı ince kesitler %0.5'lik toluidin mavisi ile boyanıp, entellan ile kapatıldıktan sonra ışık mikroskopunda incelenmiştir. Kesitin hangi bölgesinin gerekli olduğu kararlaştırıldıktan sonra tekrar trimleme işlemi uygulanıp ultra ince (100-200 Å⁰) kesitler 300 bölmeli bakır kafes taşıyıcıya (grid) alınmıştır.

100-200 A⁰'luk kesitler %5'lik uranil asetat ve kurşun sitrat ile boyanarak Zeiss Leo-906 ve Jeol JSM IOOCX II Transmission Elektron Mikroskopunda (TEM) incelenerek migrografları oluşturulmuş ve arşivlenmiştir.

3.6. Morfolojik Ölçümler

P. caerulea, *P. rustica* ve *P. ulyssiponensis* türlerine ait spermatozoa baş bölgesinin toplam uzunluğu, nükleusun ve akrozomun boyu ve eni 20 ayrı spermde ölçülmüş, istatistiki değerlendirmeler Microsoft Excell programları ile gerçekleştirilmiştir. Benzer şekilde olgun yumurta çapları ölçülmüş ve aritmetik ortalamalar hesaplanmıştır.



Şekil 3.2. Patellid sperm yapısı, (Hodgson vd 1996)

4. BULGULAR

4.1. *Patella*'da Gonad Yapısı

Aynı eşeyli olan *Patella*'da morfolojik olarak eşeyin ayırt edilmesine imkan sağlayacak yapısal bir özellik görülmemiştir. Sadece hayvanlar ayak kasını kesme süretiyle disekte edilerek gonadları ile eşeyssel olarak ayırt edilmeye çalışılmıştır (Şekil 4.1, 4.2). Bu canlılarda tipik olarak gonadlar bir tanedir. Testis veya ovaryum, hayvanın vücudunun sol tarafında ve viseral kitle ventral yüzeyinin anteriöründe yer almaktadır. Tek büyük bir lob halinde görünen olgun gonad dorsalde sindirim bezi, ventralde ayak ile yakın ilişkide olup viseral alanın geniş bir bölgesini kaplamaktadır. Gonadlar *Patella*'nın dış morfolojileri ve büyüklüğüne, hayvanın yaş ve üreme dönemine bağlı olarak farklı özelliklerde olabilmektedir.

Gonad gelişimi sırasında pigment dağılımı tamamlandıktan sonra olgun bireylerde renk farklılığı şeklinde eşeyin belirlenmesi daha keskin bir şekilde gerçekleşmektedir. Testiste krem renginden koyu sarı renge kadar farklılıklar gözlenmiş olup gelişmiş testisin çok katlanmış tübüler yapısı çıplak gözle görülebilmektedir (Şekil 4.1a).

Ovaryumda ise yeşilden kırmızı ve kahverengine kadar renk değişimi gözlenmiş olup gelişmiş ovaryumda oositler tek tek seçilebilmektedir (Şekil 4.1b).

Şüpheli durumlarda stereo mikroskopta inceleme yapılarak bireyin eşeyi hakkında karar verilmeye çalışılmıştır. Makroskopik olarak belirlenemeyen safhalar, mikroskobik kesitlerde de çoğunlukla **dinlenme** (nötr) veya **boşalma safhası** olarak değerlendirilmiştir. Kalıntı hücreler gözlenebilirse eşey durumu belirtilmiştir. Bireylerde nötr gonad varlığı gonadın henüz boşalmış ve dinlenme safhasına geçmiş olmasından kaynaklandığı belirlendi. Bu gonadlar böbrek şeklinde çok ince zarsı yapılar olarak gözlendi (Şekil 4.1c). Gonadları saran bağ dokusu kılıf, özellikle bu nötr safhada en belirgin şekilde ayırt edildi (Şekil 4.1d). Çok küçük bireyler eşeyssel olgunluğa erişmemiş oldukları için gonad değerlendirilmesi yapılmamıştır.

Gonad gelişimi ve gametogenez safhalarının belirlenmesi ancak histolojik kesitler alındıktan sonra mikroskobik incelemelerle gerçek anlamda sağlanabilmiştir. Gelişim süreçleri erkek ve dişi bireylerde benzer olarak gözlenmiştir. Bu nedenle bu çalışmada gonad gelişimi dört safhaya ayrılmıştır (Çizelge 4.1.).

P. rustica'da deniz suyu sıcaklığının artmaya başladığı Nisan, Mayıs aylarında dişi gonad nötr safhada (dinlenme) bulunmaktadır. Sıcaklığın en yüksek olduğu Ağustos ayında dişi gonadda geri dönüşüm başlamıştır.

P. caerulea'da ise Ocak ayında dişi gonadta rejeneratif bir yapı görülmektedir. Nisan ayında su sıcaklığının artmaya başlamasıyla olgunlaşan gonad yumurtalarını bırakmaktadır. Ağustos ayında gonad dejeneratif bir yapı gösterir ve geri dönüşüm olmaktadır (Şekil 4.2).

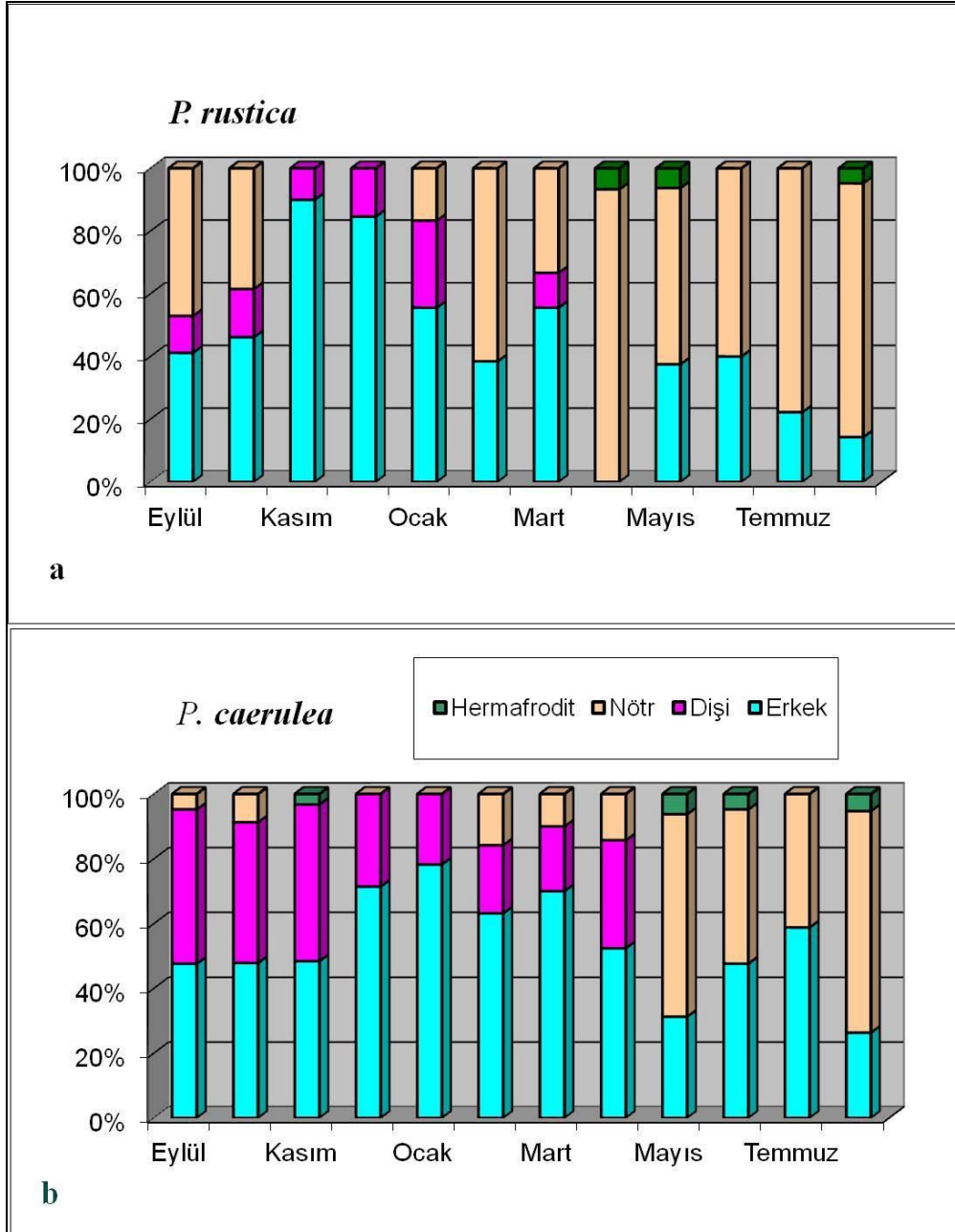


Şekil 4.1. *P. caerulea*'da gonad morfolojileri. a: gelişmiş testisin çok katlanmış tübüler yapısı, b: gelişmiş ovaryumda oositler, c: nötr (N) safhadaki gonad, d: nötr safhada gonadı saran bağ dokusu kılıfı (*)

Çizelge 4.1. *Patella*'da gonad gelişim safhaları

Gelişim safhası	Gonad özelliği
I.	Gelişim başlamış, eşey belirlenebilir
II.	Gonad tam boyutunun 1/3-2/3 kadar.
III.	Tam olgun (Eşey durumu kesin)
IV.	Boşalma veya dinlenme safhası (Eşey belirlenmesi zor)

P. rustica ve *P. caerulea* türlerinde testis Ekim (erken)-Kasım aylarında gelişim gösterir, Aralık ayında her iki türde de eşeysel olgunluğa erişir. *P. rustica*'da testis Ocak ayında tam olgunluğa erişip, Şubat-Mart aylarında tamamen boşalmıştır. Haziran-Temmuz aylarında gonad dinlenme safhasındadır. *P. caerulea*'da testis Ocak- Nisan ayları arasında tam olgun safhadadır ve geri dönüşüm başlamıştır. Mayıs ayında spermeler yoğun olarak bırakılmıştır. *P. rustica* ve *P. caerulea* türü Eylül ayında tekrar ovaryum gelişimine başlamaktadır (Şekil 4.2).



Şekil. 4.2. Aylara göre *P. rustica* (a) ve *P. caerulea*'da (b) eşey dağılım oranları

4.1.1. Erkek gonadların gelişim safhaları ve sperm yapısı

Ergin erkek bireyin gonadı labirent gibi görünen, çok sayıda lobul içeren bir özelliktedir. Çünkü testis, uzun tüpsü yapının katlanarak lobular bir hale gelmesi şeklinde olup, tübüller birbirleri ile ve vas deferens ile bağlantılıdır. Bu tübüller ince bir bağ dokusundan oluşmuş katman tarafından kuşatılmıştır (Şekil 4.3, 4.4, 4.5).

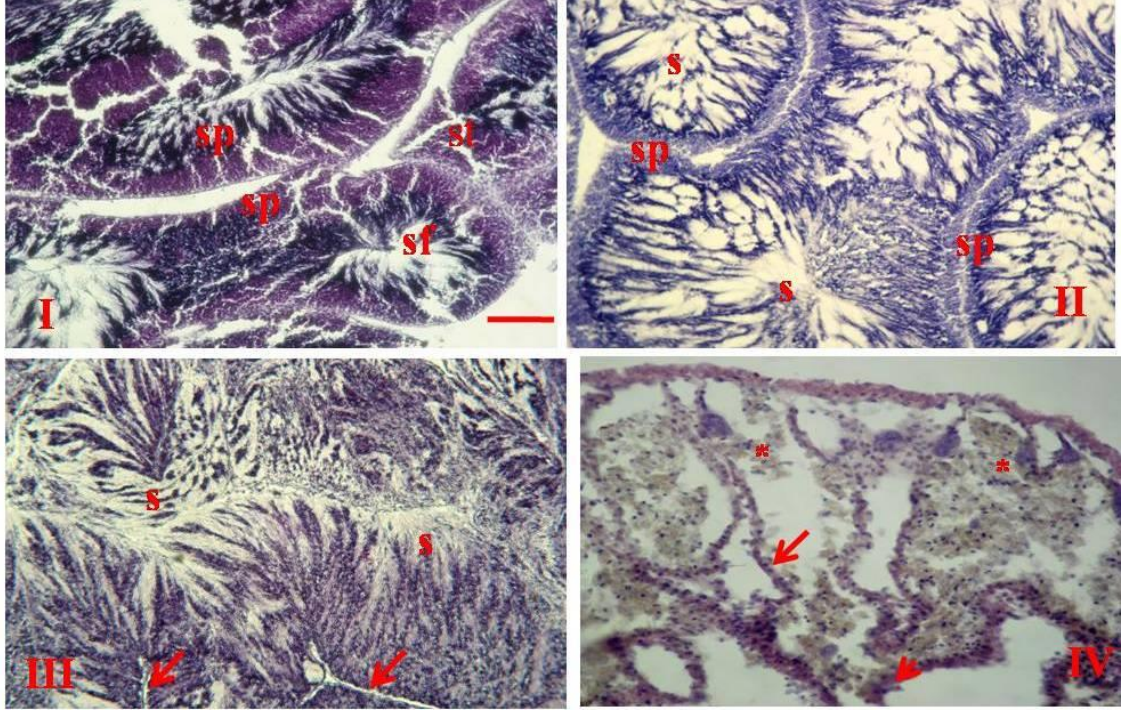
Patella rustica ve *P. caerulea* ve *P. ulyssiponensis*'in testis yapısı incelendiğinde gonad gelişim safhaları; **erken aktif (I)**, **geç aktif veya kısmen olgun (II)**, **tam olgun (III)**, **tamamen boşalmış (IV)** safhalar olarak dört safhaya ayrılmıştır (Şekil 4.3, 4.4, 4.5).

P. rustica, *P. caerulea*, *P. ulyssiponensis* türlerinin gonadının **erken aktif safhada (I)** makroskopik olarak çıplak gözle ayırt edilmesi kolay değildir. Testis yapısı dıştan morfolojik olarak incelendiğinde tübüller çok belirgin olmayıp, hafif pembemsi ve krem renklerindedir. Histolojik incelemelerde ise gonad ince periferden içe uzanan tübüller şeklindedir. Kalın germinal epitelyum tabakası testis loblarının kenarlarında bir hat oluşturmakta ve foliküller küçük, yuvarlak veya oval şekillidir. Primer ve sekonder spermatogonyumların oluşturduğu kalın tabaka, trabekulaya bağlı görünmektedir. Çok sayıda spermatozitin gelişmeye başladığı gözlenmiştir (Şekil 4.3, 4.4).

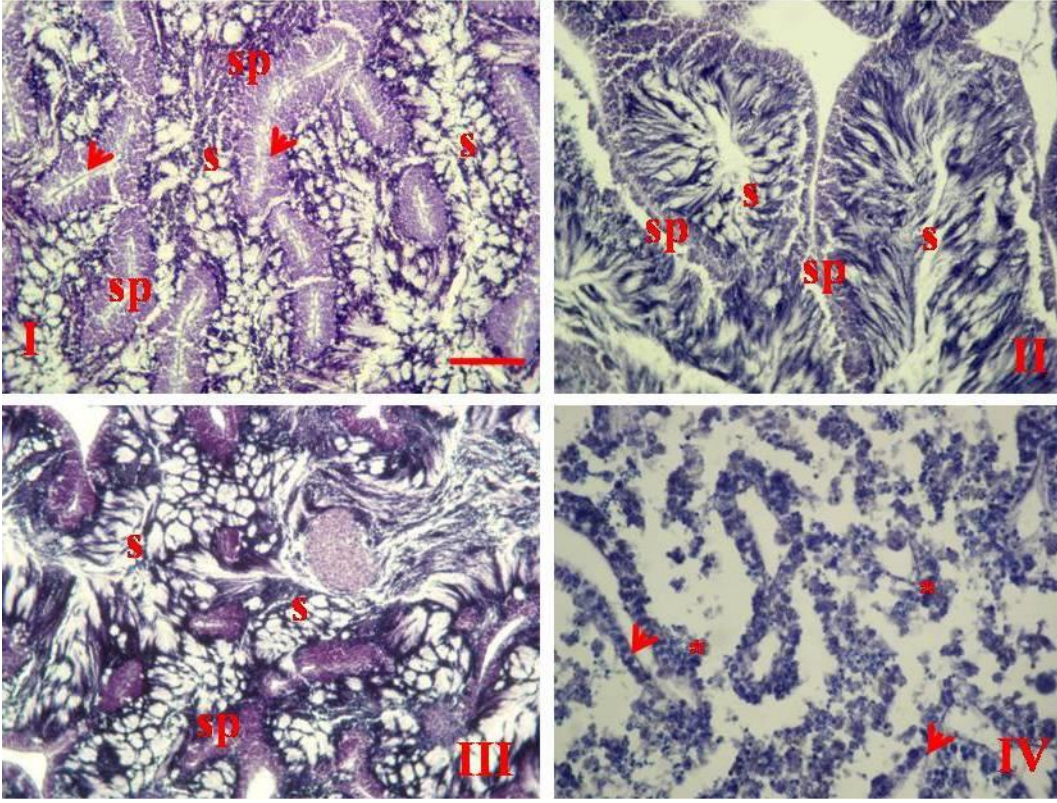
Geç aktif (kısmen olgun) safhada gonad yapısı dıştan morfolojik olarak incelendiğinde her üç türde de tübüller iyice belirginleşmeye başlamış olup, tam dallanmış bir özellik göstermektedir ve memeli beyni görünümünde bir yapısal özellik kazanmaya başlamıştır. Doku kalınlığının artışı nedeniyle gonad çıplak gözle incelendiğinde testis olduğu rahatlıkla anlaşılabilir. Testisin rengi kremsidir. Histolojik kesitlerde testiste, üreme hücrelerinin tübülleri tamamen doldurduğu görülmektedir. Bu hücreler farklı gelişim safhalarında olgunlaşmaktadır. Spermatogonium, spermatozit ve spermatid hücreleri tabakalar halinde tübül duvarından lümenine doğru yerleşim göstermektedir (Şekil 4.3, 4.4). Spermatozitin geliştiği koyu renk boyanan ince bir tabaka da ayırt edilmektedir.

Olgun safhada (III) testis, makroskopik olarak geç aktif safhadan ayırt etmek güçtür. Ancak rengi kremsi beyazdan tamamen süt beyaza dönmüştür. Visceral kitlede canlılığın sağ kısmını tamamen kaplamakta ve tübüller çok belirgin olup, tam bir beyin görünümünü kazanmıştır ve olgun testis kesitlerinde gözlenen hücreler özellikle spermatozittir. Gelişimin en olgun safhasındaki üreme hücreleri merkezde ve tübülün periferinde kalın tabaka halinde bulunmaktadır. Çok sayıda spermatozitoz tübül lümeninde görülmektedir. Her üç türde testisin olgun safhası benzer özellik göstermektedir (Şekil 4.3, 4.4, 4.5). Foliküller boşalmaya başlamıştır.

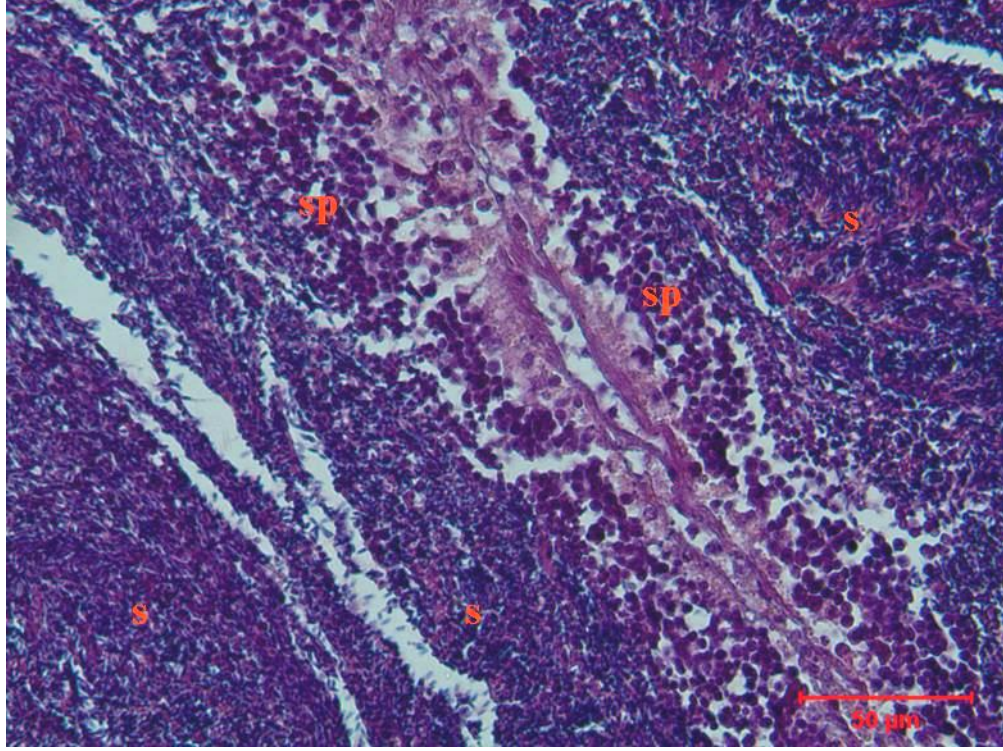
Tamamen boşalmış veya dinlenme safhasında (**IV**) her üç türün testisinde önemli bir küçülme olmuş olup, kırmızı bir benek görünümünde zarsı bir yapı şeklindedir. Mikroskopik incelemelerde tübül yapısında bağ dokusu ve folikül hücreleri ve birkaç kalıntı spermatozitoz bulunmaktadır (Şekil 4.3, 4.4).



Şekil 4.3. *P. rustica* testisinin enine kesitinde farklı gelişim durumları; I. erken aktif safha: sperm folikülü (sf), spermatositler (st) ve spermatidler (sp), II. geç aktif (kısmen olgun), III. tam olgun safha: epitelyum bağ dokusu (→), IV. tamamen boşalmış safha: folikül hücreleri (*) H&E (Bar: 50µm)



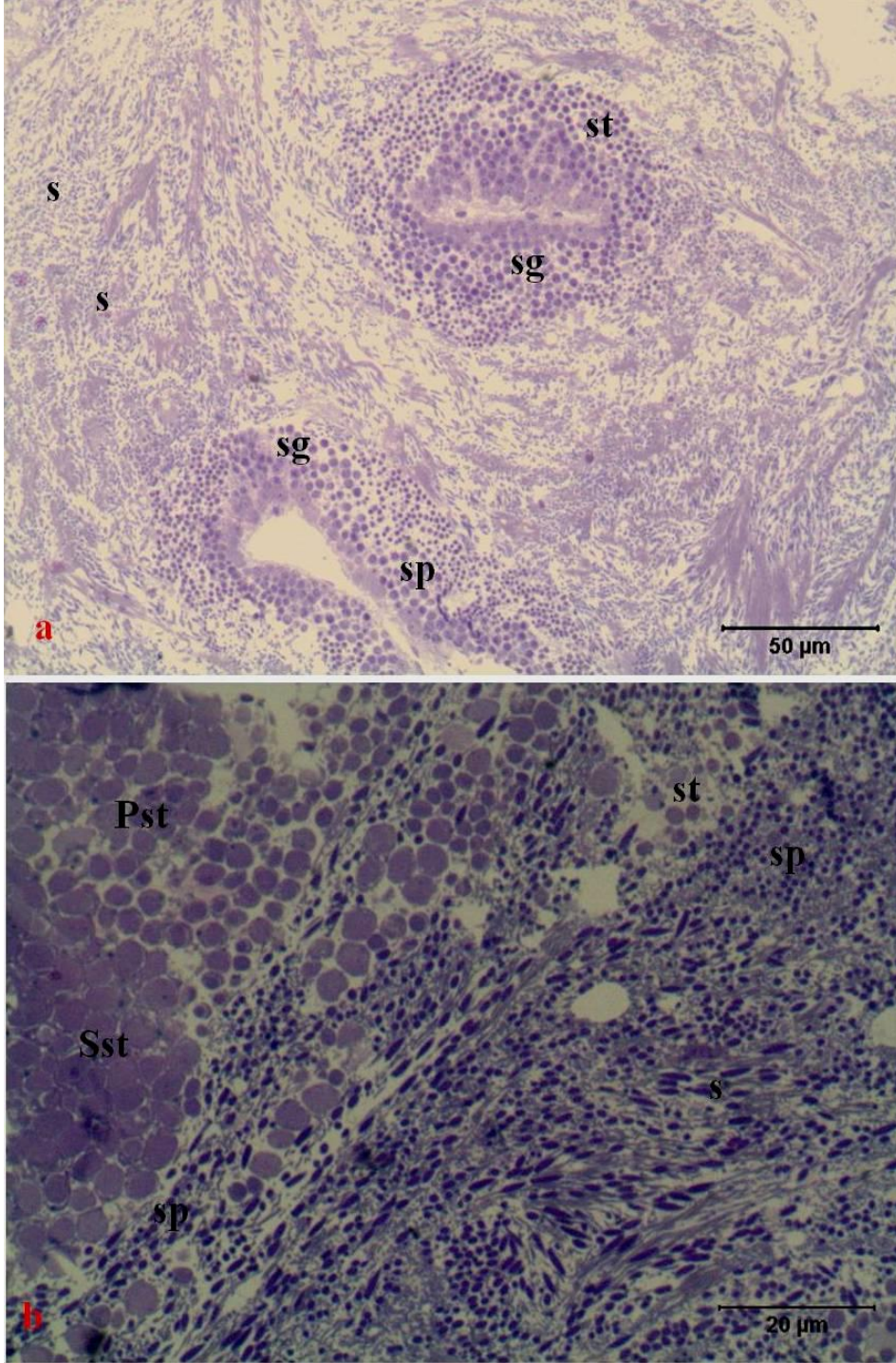
Şekil. 4.4. *P. caerulea* testisinde gelişim safhaları; I. erken aktif safha: sperm folikülü (sf), spermatositler (st) ve spermatidler (sp), II. geç aktif (kısmen olgun), III. tam olgun safha: epitelyum-bağ dokusu kompleksi (→), IV. tamamen boşalmış safha: folikül hücreleri (*), H&E (Bar:50µm)



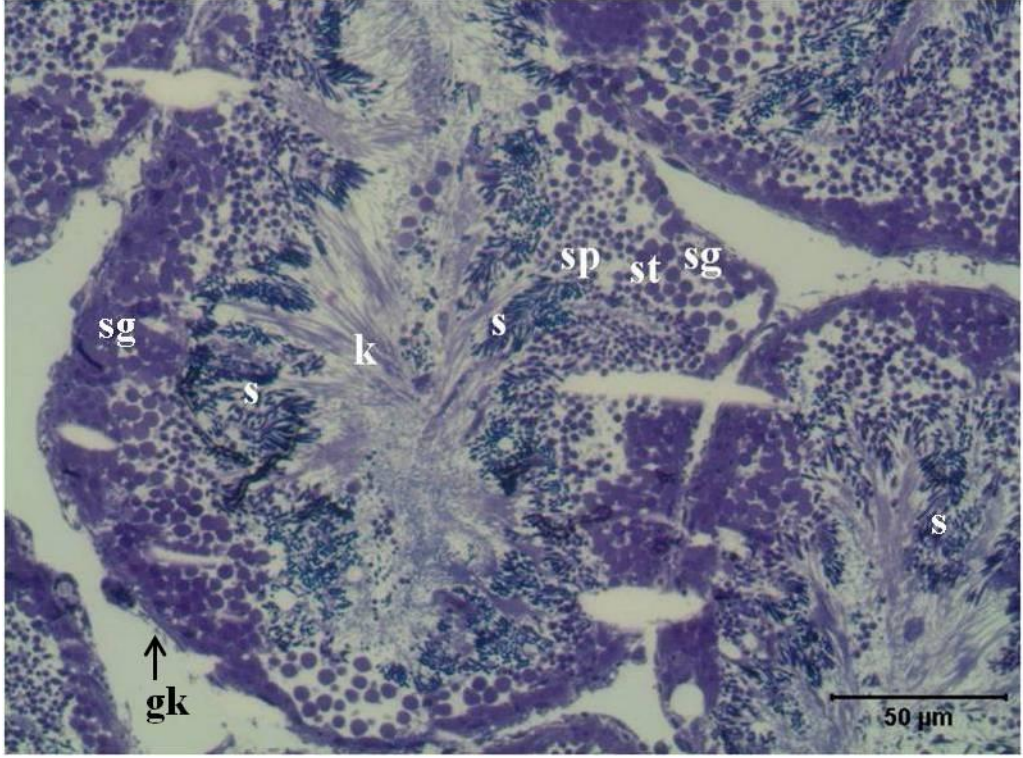
Şekil. 4.5. *P.ulyssiponensis* testisinde tam olgun safha sp: spermatosit, s: sperm H&E (Bar: 50µm)

4.1.1.1. Spermatogenez

Patella rustica, *P. caerulea* ve *P. ulyssiponensis*'in testislerinin yarı ince ve ince kesitleri incelenmiş olup, spermatogenez sürecindeki değişimler belirlenebilmiştir. Yarı ince kesitlerde spermatogonyumların tübüllerin en dış kısmında kübik-silindirik epitelyum tabakasına bağlı olarak bağ dokusu elemanları ile birlikte yer aldığı ve gametogenezin farklı safhalarını takip eden tabakalar halinde olduğu açıkça görüldü. Tübüller içinde spermatogenez safhaları epitelden merkeze doğru, spermatidlerin gelişimine kadar bölünme aşamalarındaki hücreler (**spermatositler**) ve daha küçük olan spermatidler ve ayrıca spermatozoa şekillenmesine kadar safhalar halinde ayırt edilebilmiştir (Şekil 4.6-4.9). Spermatogenez safhalarının yerleşim özellikleri bakımından üç tür arasında belirli bir fark izlenmedi. İnce kesitler TEM'de incelenerek hücresel yapı farklılıkları araştırıldı.

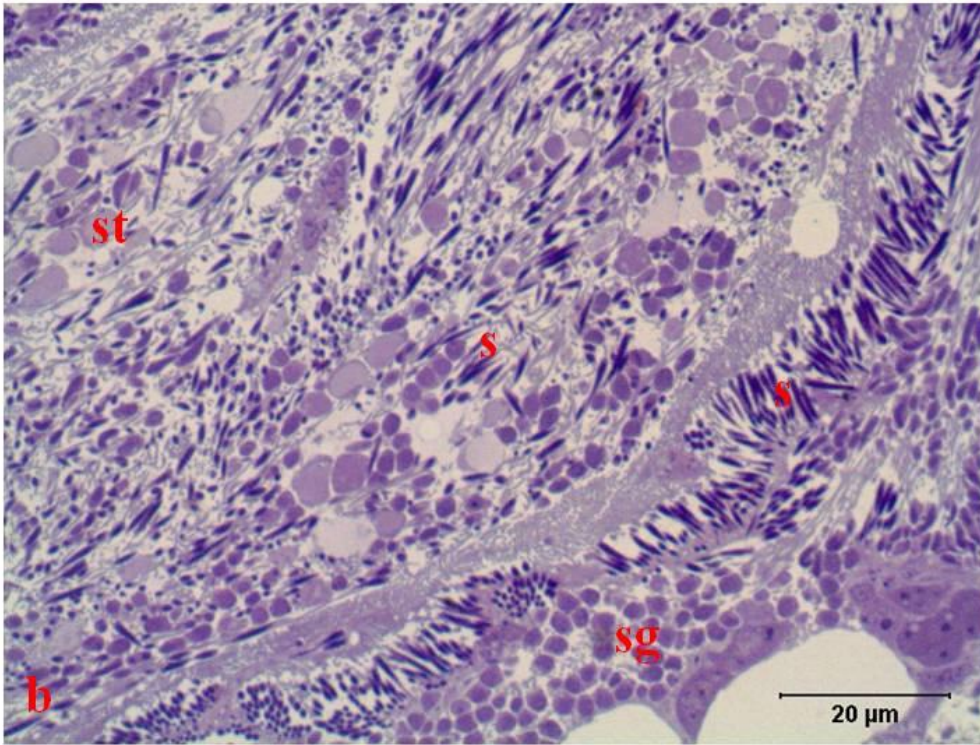
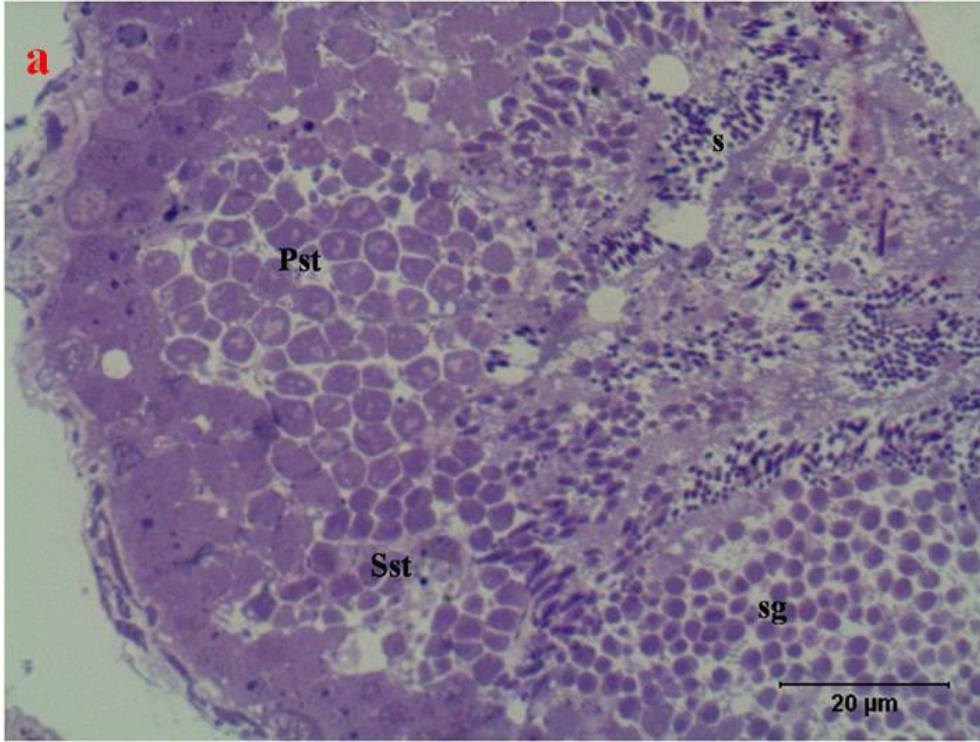


Şekil 4.6. *P. rustica* testisinin yarı ince kesitinde spermatogenez aşamaları
a: Hücresel tabakalaşma (Bar: 50µm) b: Hücresel tabakalaşmanın ayrıntılı görünümü sg: spermatogonyum, st: spermatozoid, sp: spermatid, s: olgun sperm, sg: spermatogonyum, Pst: primer spermatozoid, Sst: sekonder spermatozoid TM (Bar: 20µm)

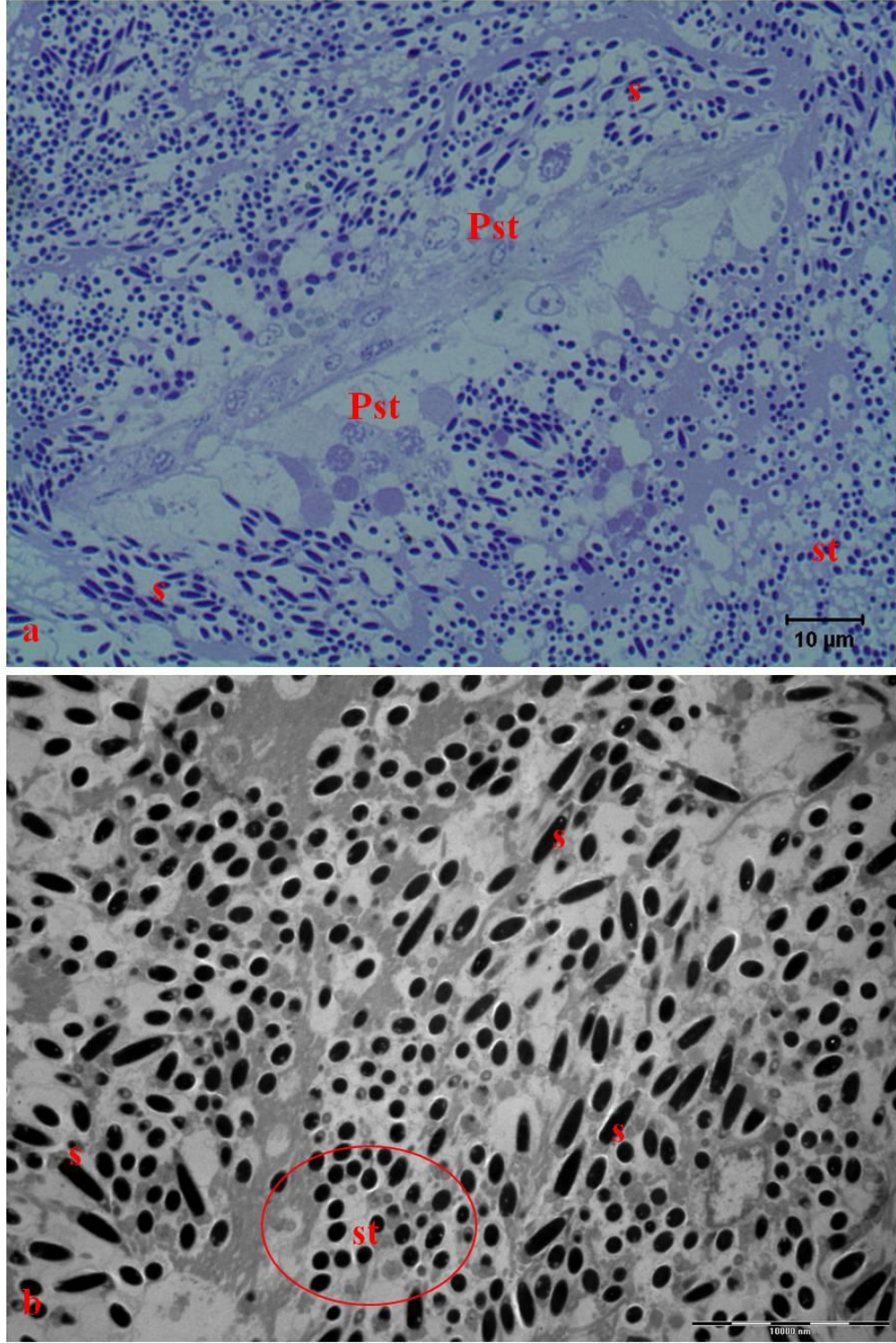


Şekil. 4.7. *P. caerulea* testisinin yarı ince kesiti, spermatogenez sürecinde tüm germinal hücrelerin birlikte görüldüğü tübüller. Spermatogonyum (sg), spermatosit (st), spermatid (sp), olgun sperm başları (S), kuyruk (k) bölgeleri ve gonad kılıfı (gk) görülmektedir TM (Bar: 50µm)

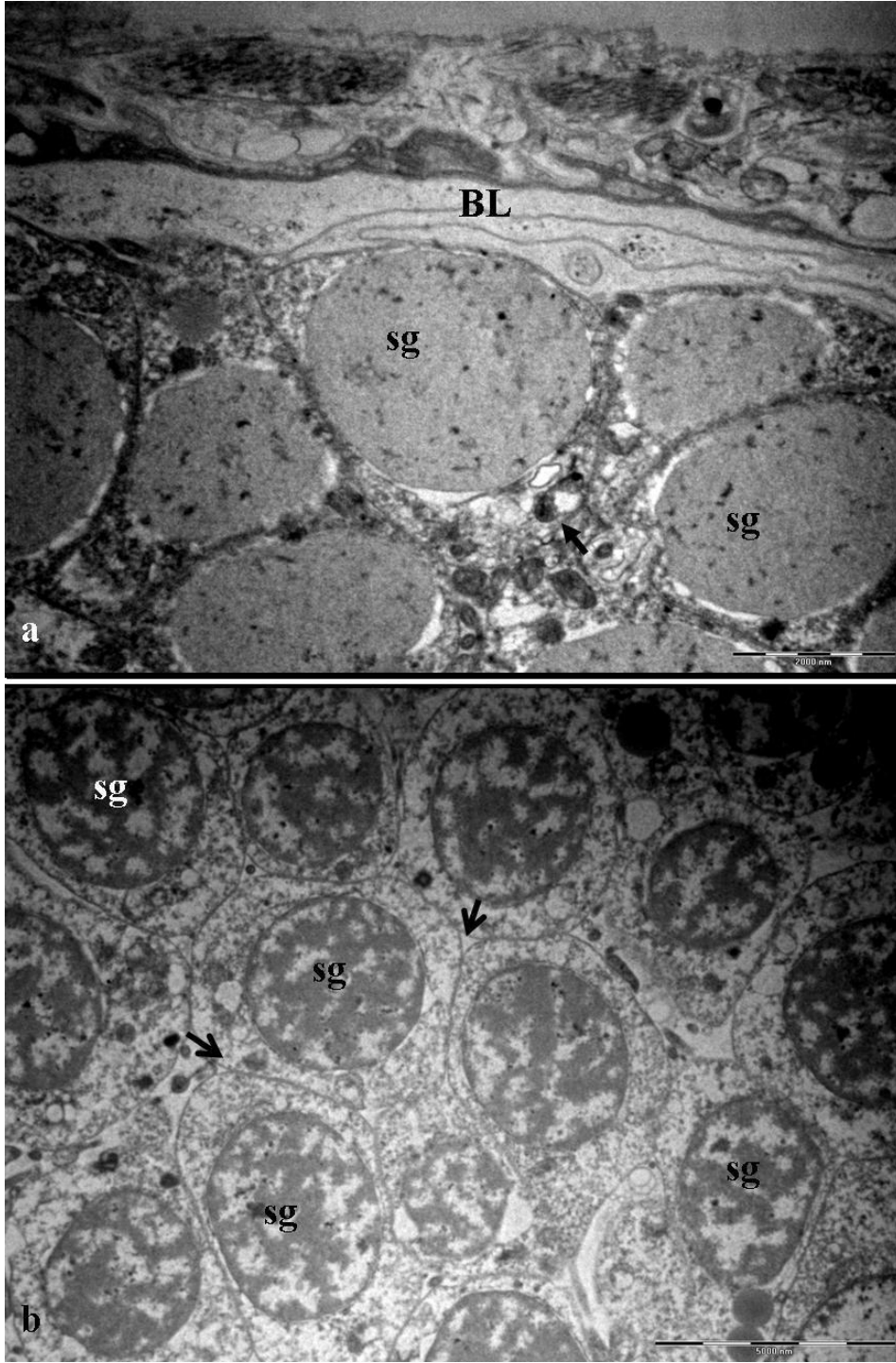
P. rustica'da spermatogonyumlar basal laminaya yakın konumlanmışlanmıştır (Şekil 4.10a). Spermatogonyumlar büyük küresel nükleusu ile dikkat çekmektedir ve yaklaşık 2-4.5µm büyüklüğünde ölçülmüştür. Nükleusları, içsel nüklear zar ile bağlantılı küçük elektronca yoğun kromatin kümeler içerirler (Şekil 4.10ab). Geniş olan ve az materyal içeren sitoplazma içerisinde çok sayıda küçük uzamış şekilde ve büyüklükleri 0.1-0.5µm arasında değişen mitokondri bulunmaktadır (Şekil 4.10a). Spermatogonyumlar sitoplazmik köprülerle sıkı bağlantılı yoğun gruplar halinde gözlendi (Şekil 4.10b).



Şekil 4.8. *P.caerulea* testisinin yarı ince kesitinde spermatogenez aşamaları, a: Spermatogenezde erken aşama hücresel tabakalaşma b: Spermatogenezde geç aşama hücresel tabakalaşma sg: spermatogonyum, st: spermatosit, sp: spermatid, s: olgun sperm başları, Pst: primer spermatosit, Ssp: sekonder spermatosit, vd: vasküler doku, bd: bağ dokusu, gk: gonad kılıfı TM (Bar: 20μm)



Şekil 4.9. *P.ulyssiponensis*, testisinde spermatogenez aşamaları, a: testisin yarı ince kesitinde hücresel tabakalaşma, TM (Bar: 10µm), b: testisin ince kesitinde hücresel tabakalaşmanın ayrıntılı görünümü, Pst: Primer spermatosit, st: spermatid, s: olgun sperm (Bar: 0.1 µm)



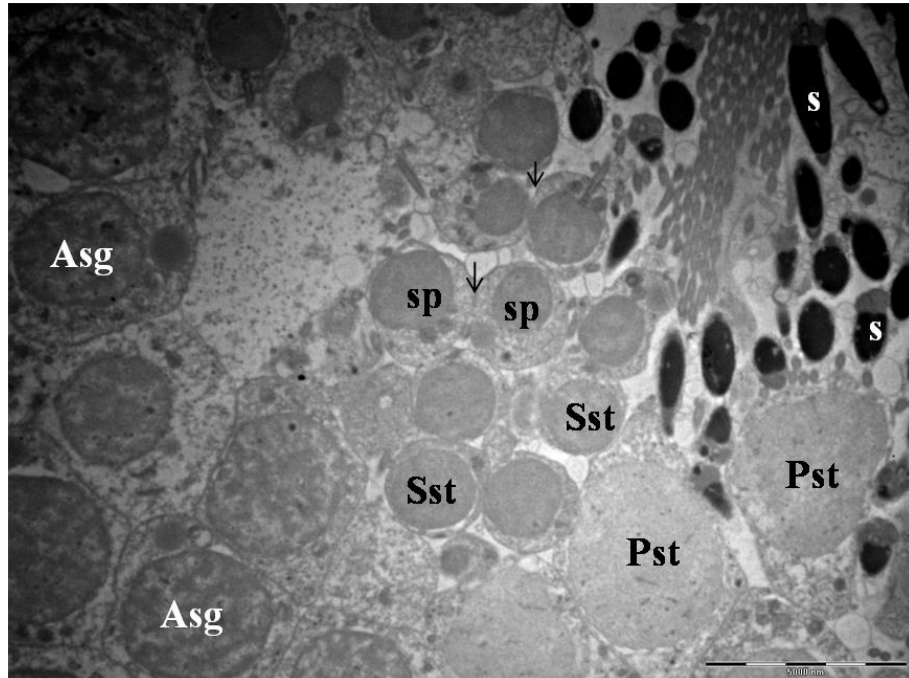
Şekil 4.10. *P.rustica* spermatogonez erken aşamalarının elektron mikrografları. a: testiste dağılım gösteren spermatogonyumlar (sg), bazal lamina (BL) (Bar: 2 μ m), b: spermatogonyumların (sg) yoğun olduğu bölge. spermatogonial hücrelerin (sg) birbirleri ile sitoplazmik köprülerle sıkı bağlantısı, ok: hücre sitoplazma sınırı (Bar: 5 μ m)

P. rustica'da yaklaşık 3.8x5.4µm çapında **A tipi spermatogonyumlar**, nükleusu (2.7-3.7µm çapında) oldukça heterokromatin özelliğinde olan, çok az sayıda gördüğümüz sekonder spermatozoid (2.5x2.7µm çapında) ve spermatozoidlere yakın konumlanmış olarak bulunmaktadır (Şekil 4.11).

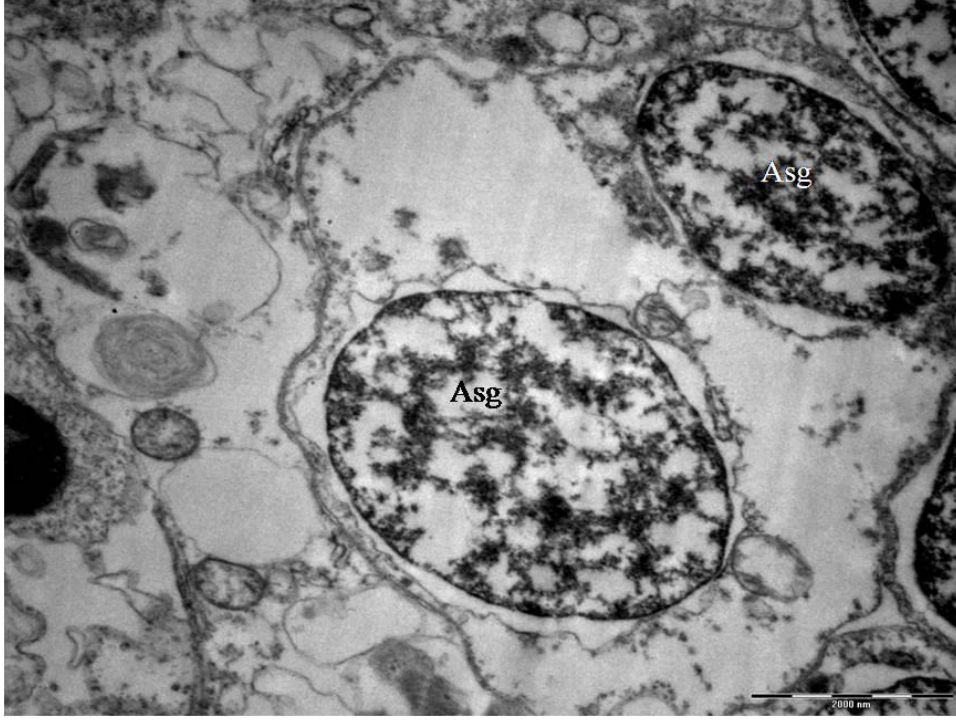
P. caerulea'da spermatogenez gelişim safhasında seyrek bulunan, 3.3x4.4 - 2.0x3.6µm çaplarında A tipi (Şekil 4.12) ve 3.8x4.0µm B tipi spermatogonyumlar görülmektedir. B tipi spermatogonyumların nükleusları hetero kromatin özelliğindedir (Şekil 4.13ab).

P. caerulea'da spermatogonyumların mitoz bölünme geçirerek oluşturdukları primer spermatozoidler yaklaşık 4.4x5.8µm çaplarıyla, seminifer tübülündeki en büyük hücreler oldukları görülmektedir ve elektronca yoğun nükleusları ile ayırt edilmiştir (Şekil 4.12ab, 4.13b). Her bir primer spermatozoid (**2n**), birinci mayoz geçirerek sekonder spermatozoid hücreleri (n) oluşturur ve kromatin materyalinde yoğunluk artışı olmuştur. Sekonder spermatozoidler primer spermatozoid hücrelerinin yaklaşık yarısı büyüklüğünde olup, daha az sayıda gözlenmiştir. Spermatozoidlerin sitoplazma miktarları azalırken, nükleus-sitoplazma oranları artmaktadır. Hücrelerin dış hatları düzenli bir yapı gösterdiği ve nükleuslarının elektronca yoğun olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.11, 4.14a, 4.15a).

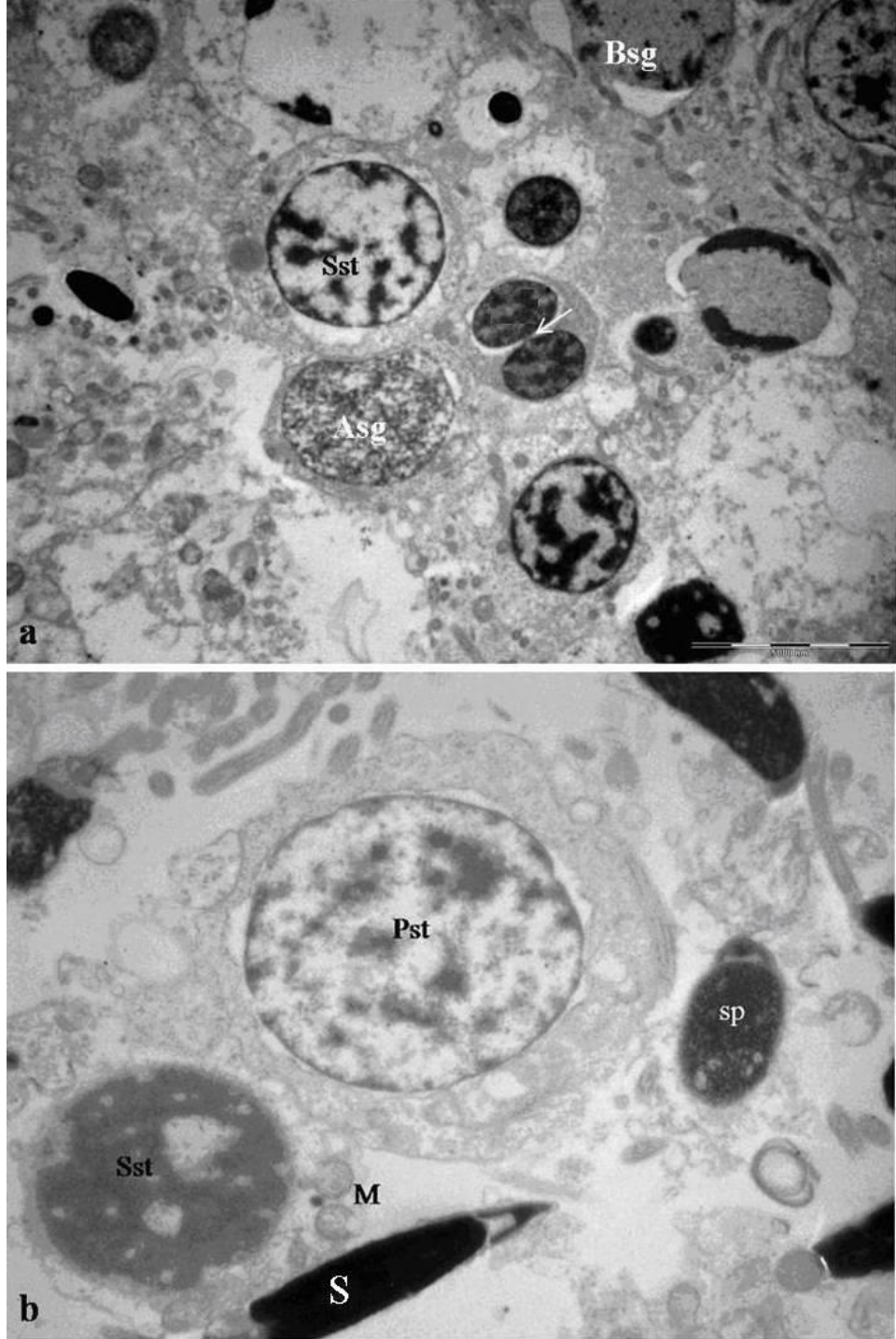
P. ulyssiponensis'te genç spermatozoidler bol sitoplazmik materyal ile ayırt edilirken aralarında bazı noktalarda sitoplazmik köprü varlığı gözlemlendi. Olgunlaşmaya başlama ile hücre içi sitoplazmik materyalinde azalma izlendi (Şekil 4.16).



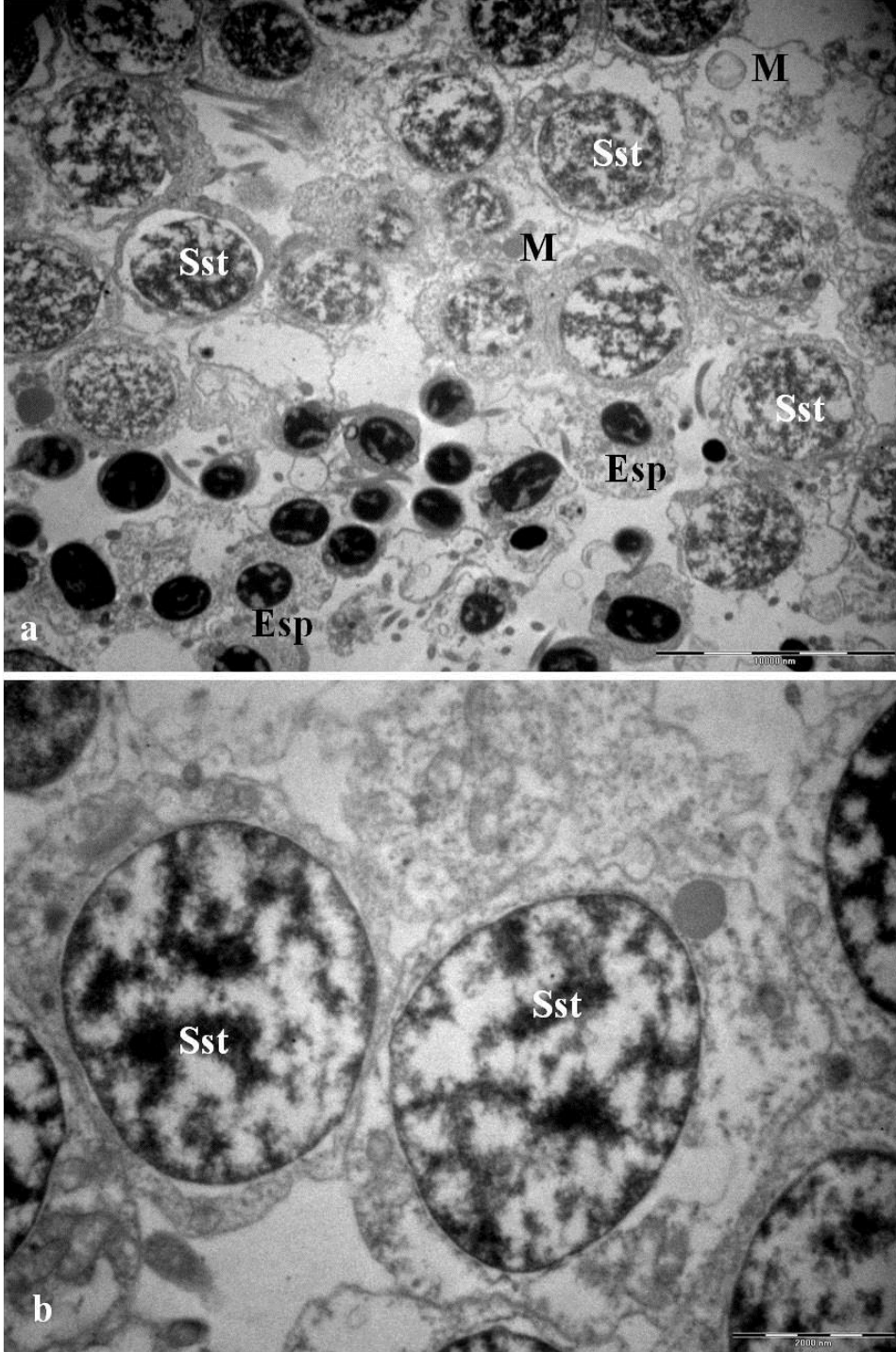
Şekil 4.11. *P. rustica*, testisin ince kesitinde spermatogenez safhalarında komşu alanlarda farklı hücre tipleri (hüresel farklılaşma). Asg: A₁ tip spermatogonyum, Pst: primer spermatozoid, Sst: sekonder spermatozoid, sp: spermatozoid, s: sperm (Bar: 5µm)



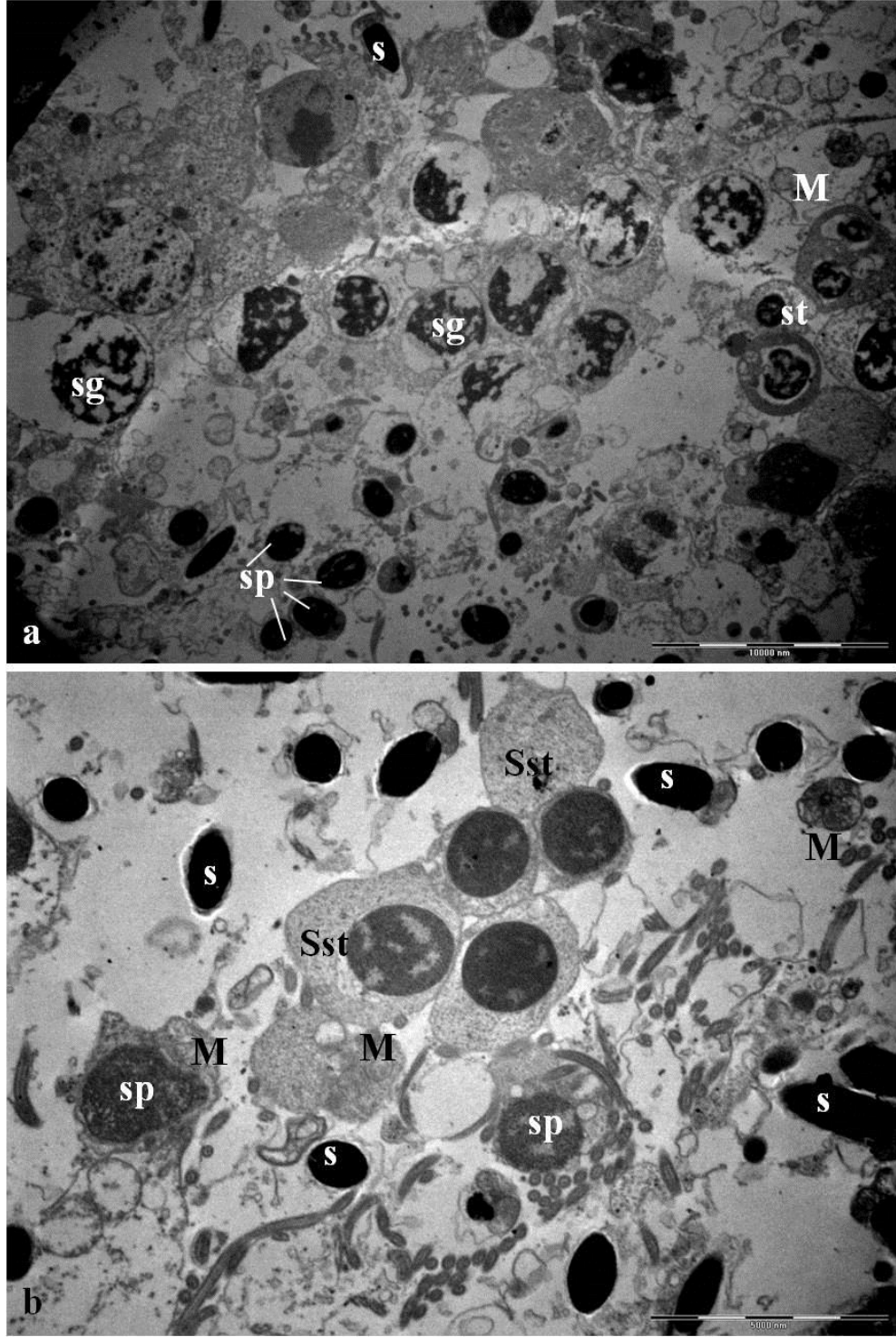
Şekil 4.12. *P. caerulea*, Tip A spermatogonyum (Asg) yerleşimi, nükleusunda kromatin materyalinin heterokromatin yapıya geçişi (Bar: 2 μ m)



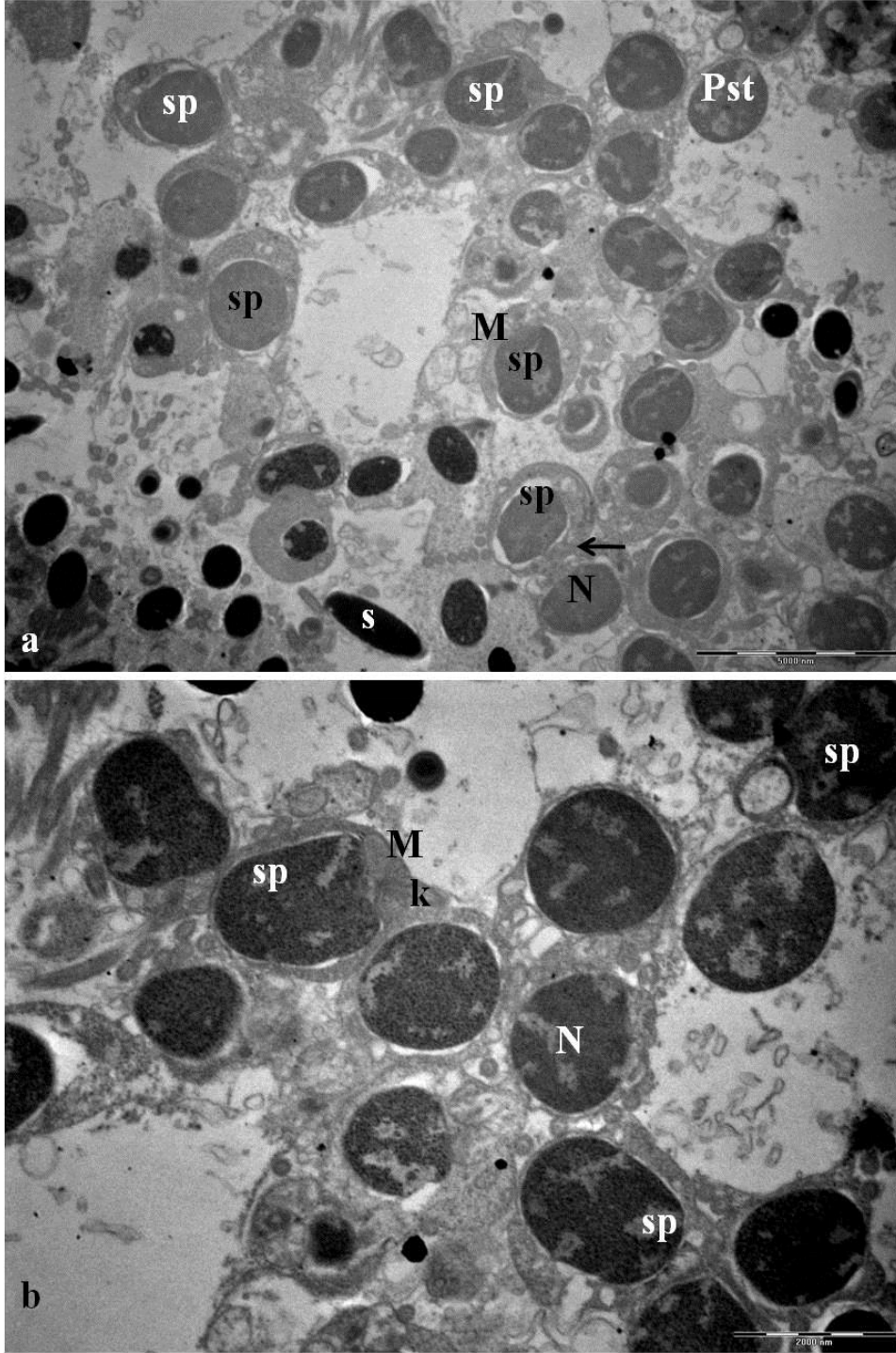
Şekil 4.13. *P. caerulea*, testisinde spermatogenez. a: A, B tip spermatogonyumlar (Asg, Bsg) ve sekonder spermatositlerin yayılımı (Sst), b: primer spermatosit (Pst) ve sekonder spermatosit (Sst), spermatid (sp), sperm (s) ince yapı hücresel özellikleri. Ok: bölünmekte olan hücre (Bar: 5µm)



Şekil 4.14. *P. caerulea*, spermatogenezden spermiyogenez geçiş aşaması a: sekonder spermatosit (Sst) ve erken spermatitlerin (Esp) dağılımı (Bar: 10µm), b: sekonder spermatositin (Sst) ince yapı özellikleri, M: mitokondri (Bar: 2µm)



Şekil 4.15. *P.ulyssiponensis*, testis tübülünde farklılaşma aşamalarında sperm hücrelerine farklılaşım. a: farklılaşma aşamalarında genel görünüm, spermatid (sp), spermatosit (st), spermatogonyumlar (sg) gelişim aşamalarına göre görülmektedir, (Bar: 10µm), b: nükleusları elektronca daha yoğun görünen hücreler Sekonder spermatosit (Sst) ve spermatitler (sp) ve olgun spermilerin (s) dağılımı M: mitokondri (Bar: 5µm)



Şekil 4.16. *P.ulyssiponensis* spermiogenez aşaması a: spermilerin (s) farklılaşma aşamaları, (Bar: 5µm), b: ayrıntılı yapısal farklılık. Pst: primer spermatosit, sp: genç spermatidler, ok: sitoplazmik köprü, N: nükleus, k: kuyruk, M: mitokondri (Bar: 2µm)

4.1.1.2. Spermiyogenez

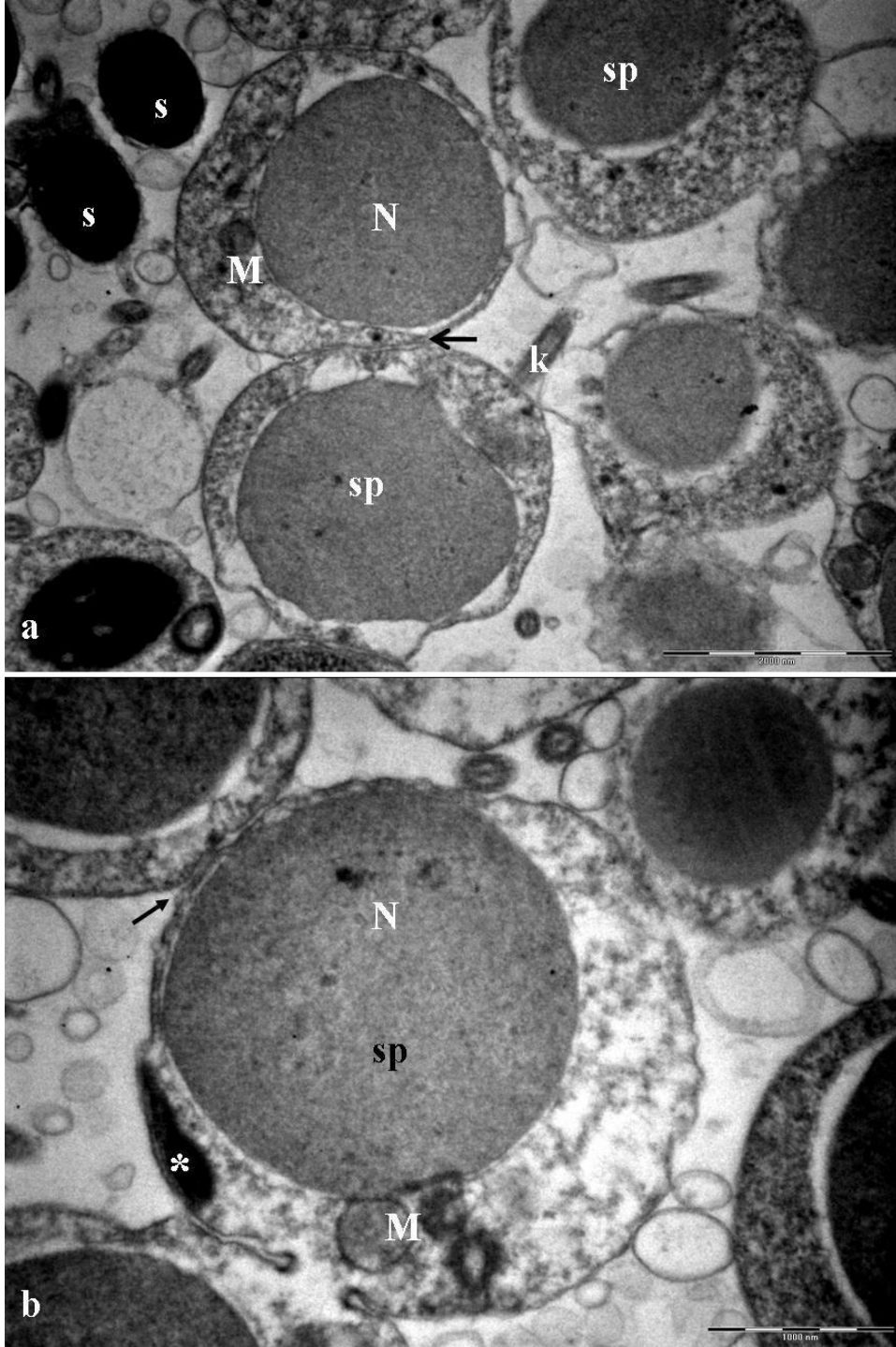
Spermatidlerin farklılaşma süreçleri, hücre ve nükleusta yapısal ve şekilsel değişimler ile sitoplazma içi yeni yapısal oluşumlar şeklinde gözlenmiştir.

4.1.1.2.1. Nükleusta yapısal değişiklikler

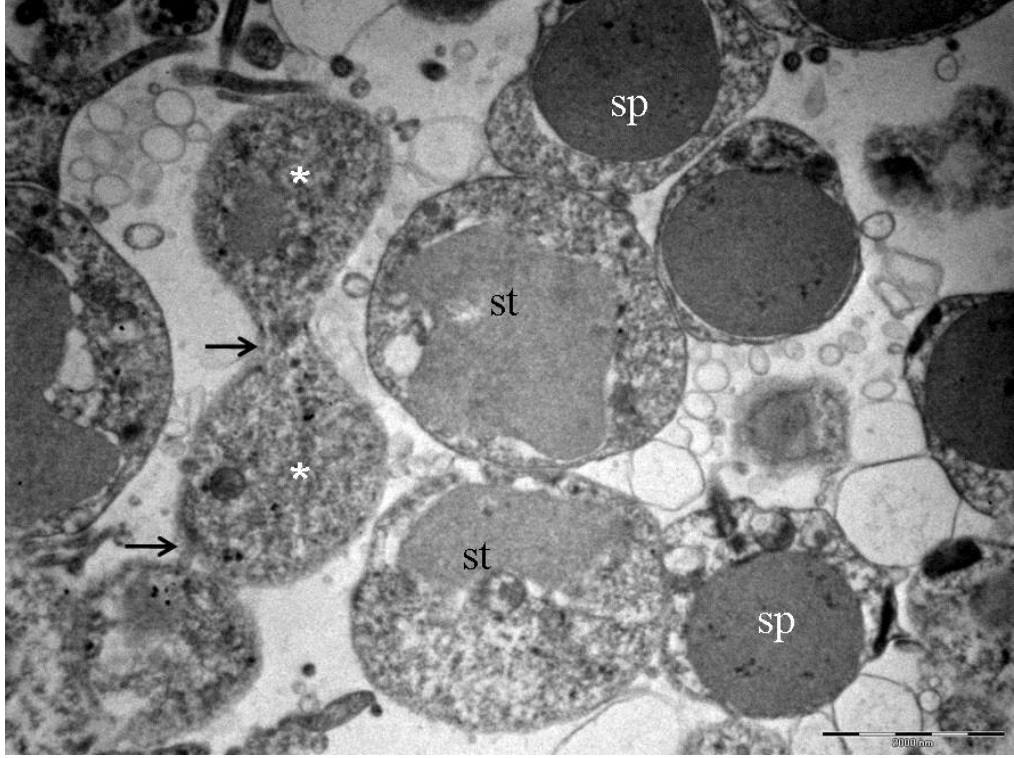
Her üç türde de genç spermatidlerin nükleusu hücrenin merkezini kaplar, küreseldir ve toplanmış heterojen yapıda kromatin maddesi içerirler (Şekil 4.17ab). Spermatidlerin orta safhalarında nükleusun kromatin materyali daha yoğun ve homojen görümlü hale gelmektedir (Şekil 4.17-4.19). Spermatidler olgunlaşmaya başladıkları sırada nükleuslarının çevresindeki sitoplazma materyallerinde artma gözlenmiş olup, sitoplazmik köprülerle bazıları birbirlerine halen bağlı konumdayken bazılarının ayrılmak üzere olduğu izlenmiştir (Şekil 4.17, 4.18).

Spermatidlerin ilerleyen gelişim safhalarında nükleus; uzun eksenine anterior ve posterior doğrultusunda konumlanarak oval hale gelmiş ve kromatin yoğunlaşması, küresel kromatin granüllerinin oluşması ile belirgin olarak izlenmiştir (Şekil 4.21ab, 4.25, 4.27). Yoğunlaşmanın artmasıyla birlikte fibrillerin uzunluğu da artarak nükleusun eksenine boyunca dağılım gösterdiği açıkça izlenmiştir. (Şekil 4.21, 4.22). Hücreler olgun sperm özelliği kazanmaya başlarken her üç türde de, nükleus boyu daha uzamakta ve kromatin yoğunluğu hafifçe değişmektedir (Şekil 4.19b, 4.20, 4.21, 4.22, 4.23, 4.24ab). Olgun spermde kromatin heterokromatin özelliğinden (Şekil 4.27) daha homojen elektron yoğunluğuna sahip bir yapıya dönüşmüştür (Şekil 4.28).

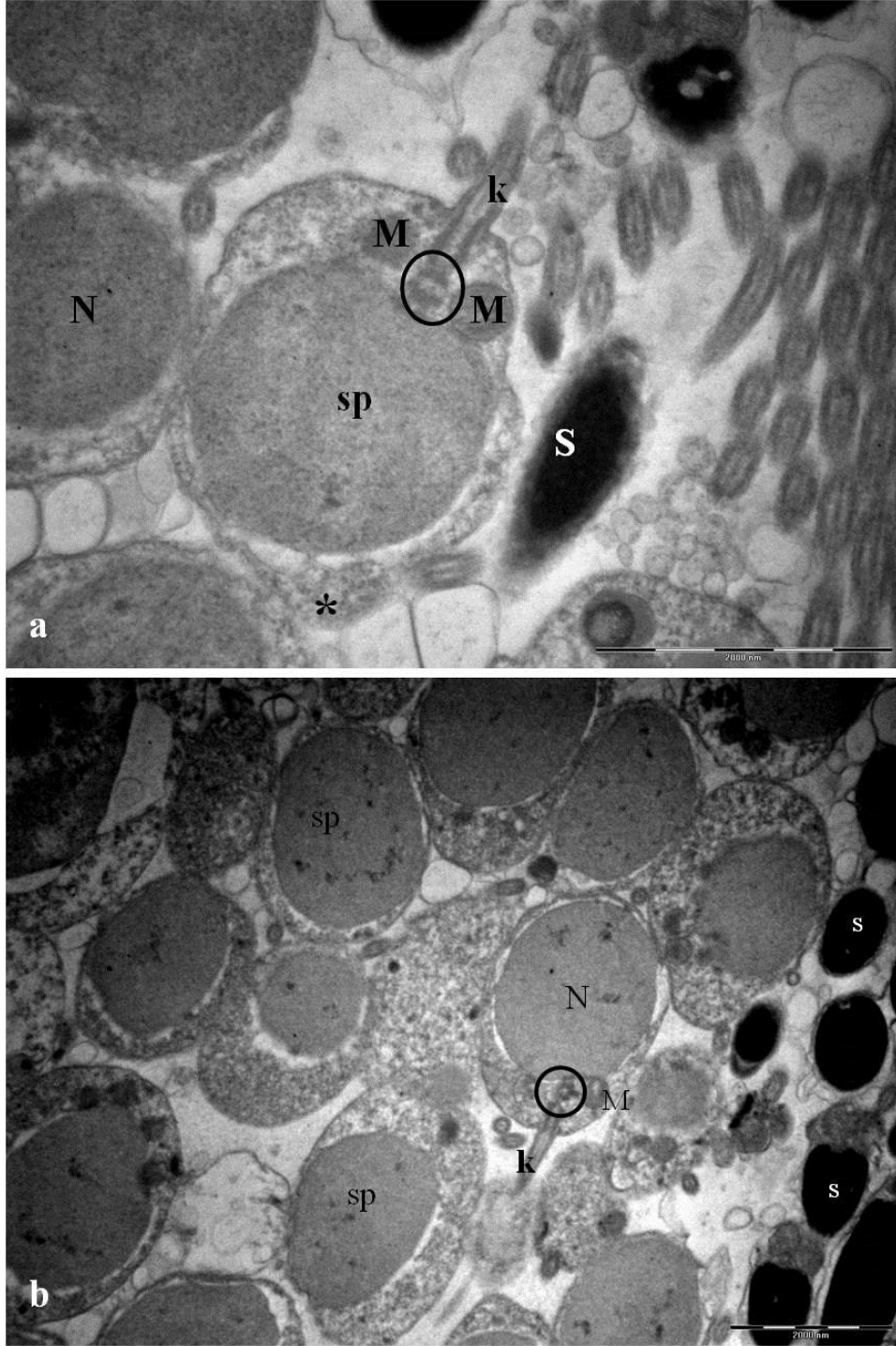
P. rustica'nın testisinde primer spermatosit, spermatidlerin bazılarının birbirlerine sitoplazmik zarlarla bağlı olduğu gözlemlendi. Sitokinezin oldukça geç tamamlandığı ve spermatitlerin oluşum aşamasında sitokinezin henüz tamamlanmadığı, bu hücreler arası belirgin sitoplazmik köprülerle halen bağlantılı olduğu durumlarla gözlemlenmiştir (Şekil 4.20, 4.21). Spermatidlerin ileri aşamasında bile halen sitokinezin yeterince tamamlanmadığı sitoplazmik köprüyle bağlanma yerleri belirgin olduğu durum görülmektedir (Şekil 4.20b).



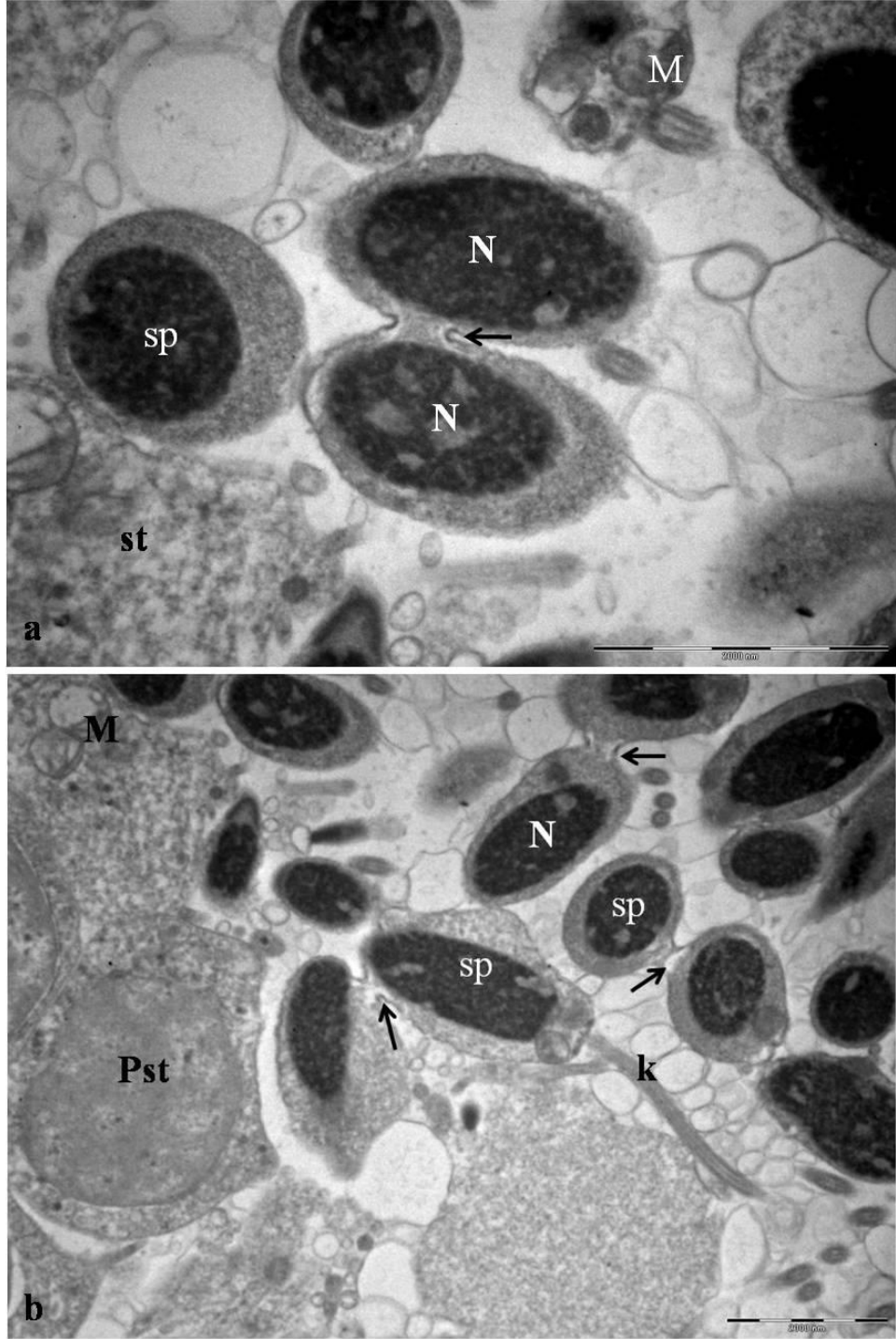
Şekil 4.17. *P. rustica* testisinde spermatositlerin spermatid'e dönüşüm aşaması, a: erken dönem spermatidlerin dağılımı ve spermatidlerin birbirlerine bağlantı yerleri (ok), spermatosit (st), spermatid (sp) (Bar: 1µm). b: Spermatidin ince yapısı. spermatitte akrozom oluşmaya başladığı gelişim aşaması. *: proakrozomal kese, N: ovalimsi yuvarlak nükleus, M: mitokondri (Bar: 2µm)



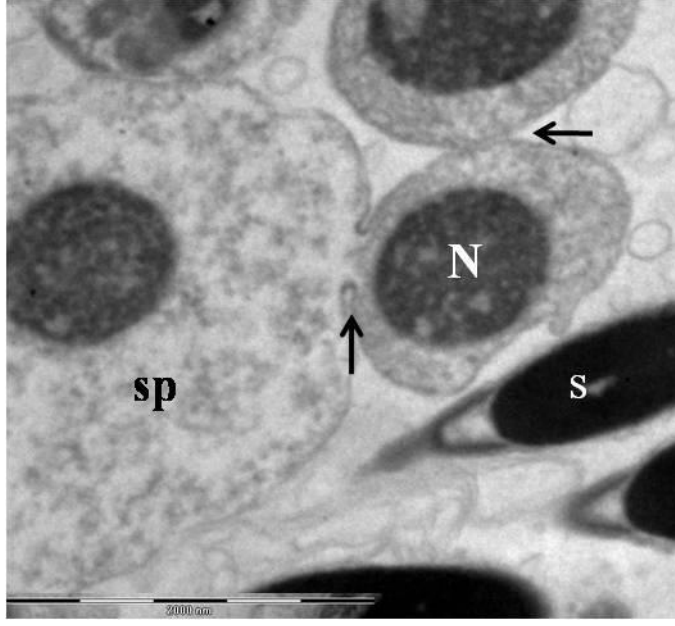
Şekil 4.18. *P. rustica* Sitokinez aşaması devam eden birbirinden henüz ayrılmamış spermatositler (st) ve spermatidler (sp) *: bölünen hücre, ok: hücrelerin sitoplazmik bağlantısı (Bar: 2 μ m)



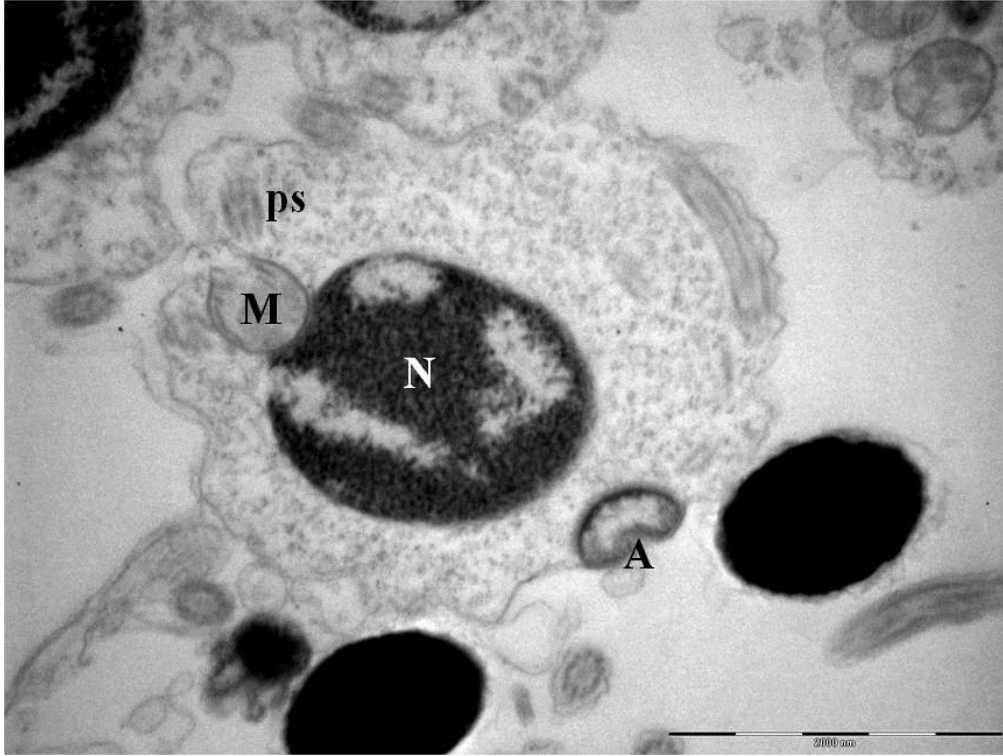
Şekil 4.19. *P.rustica*, spermatidde kuyruk gelişimi (k) a: spermatid (sp) ve sperm farklılığı b: spermatit (sp) ve olgun spermelerin (s) birbirine bitişik iki alanda dağılımı. N: küresel nükleus, halka: sentriyol, *: akrozom (Bar: 2µm)



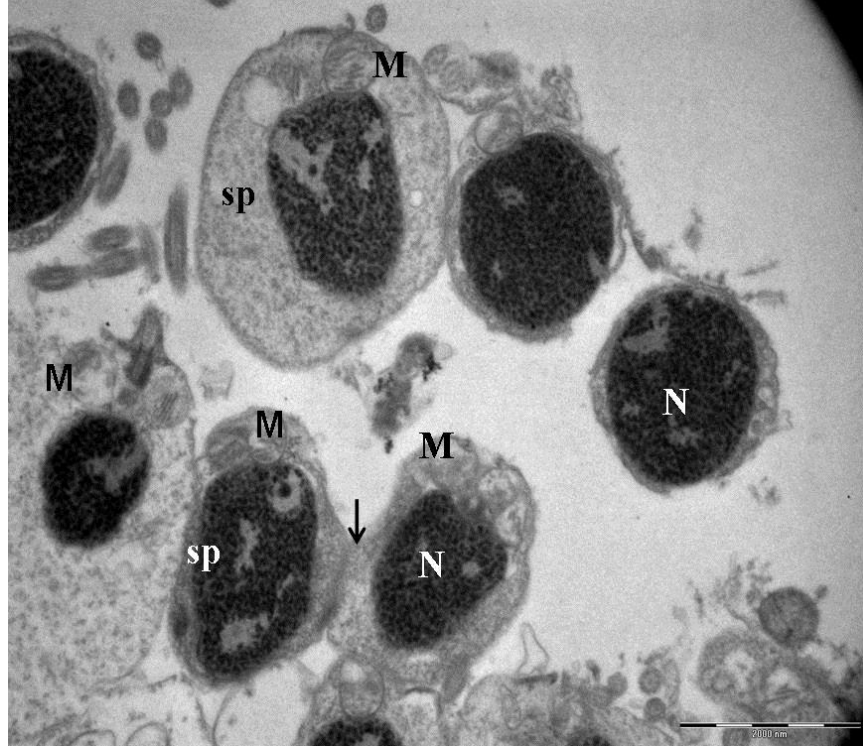
Şekil 4.20. *P. rustica*, testisinde spermiyogenez. a: spermatitlerin sitoplazmik köprüyle bağlanma yerleri görülmektedir (ok), b: hücrelerin bazıları hala birbirlerine sitoplazmik köprülerle bağlı görülmekte (ok), *: farklılaşmış sperm, primer spermatosit (Pst), spermatitler (sp), st: sitoplazma (Bar: 2µm)



Şekil 4.21. *P. rustica*, spermlerin (s) olgunlaştığı dönemde halen sitokinez tamamlanmamış spermatidler (sp), N: nükleus, ok: spermatidlerin sitoplazmik köprülerle bağlantı yerleri (Bar: 2µm)



Şekil 4.22. *P. caerulea*, spermin gelişim safhasında nükleusun uzaması (N), mitokondri (M) yapısı, akrozom (A), proksimal sentriyol (ps) belirginleşmesi görülmektedir (Bar: 5µm)



Şekil 4.23. *P.ulyssiponensis*, spermatidleri (sp) olgunlaşmaya başladıklarında nükleuslarının (N) çevresindeki sitoplazma materyallerinde artma görülmüştür, ok: sitoplazmik köprü, M: mitokondri (Bar: 2µm)

4.1.1.2.2. Akrozom oluşumu

Spermiyogenezde akrosomal yapı farklılaşması gözlemlendi. Spermatid olgunlaştığında akrosomal kese, hücrenin posteriöründen anterör kısmına doğru göç etmektedir (Şekil 4.19a). Akrozom anteriörden gelişmeye başlayarak olgun şeklini alırken, akrozomda uzama meydana gelmektedir. Bu arada subakrozomal bölgenin ayırtıldığı gözlenmiştir (Şekil 4.25ab, 4.26). Subakrozomal kese elektronca az yoğun amorf ve fibriller materyal içermektedir. Akrozom koni şeklinde bir yapı oluşturarak olgun sperm şeklini almasını sağlamaktadır (Şekil 4.25ab, 4.26). Akrozomun içeriği elektronca yoğun homojen bir görünümde ve kesenin altındaki boşluk subakrozomal madde ile doludur (Şekil 4.25ab, 4.26).

Erken spermatidler daha küresel yapıda iken proakrosomal kesenin farklılaşması ve bu kesenin hücre zarının iç tarafında elektronca yoğun materyal içeriği dikkati çekmektedir. Kesede ince bir zar sınırı oluşturulmuştur. Spermatidlerin erken gelişimlerinde proakrosomal kese hücrenin orta bölgesinde bulunurken daha sonradan yerleşim kazanan gelişen mitokondrilere yakın konumlu bulunmaktadır (Şekil 4.17b).

Spermatid olgunlaşma sürecinde posteriörde hücre zarına çok yakın konumda bulunan proakrosomal kesenin hücrenin anteriörüne yönlendiği belirlenmiştir (Şekil 4.17, 4.22, 4.24a). Nükleus uzamasına paralel olarak akrozomda bir uzamanın olduğu ve konik bir şekil aldığı gözlemlendi (Şekil 4.25ab, 4.26). Bu arada nükleus anteriorü ile

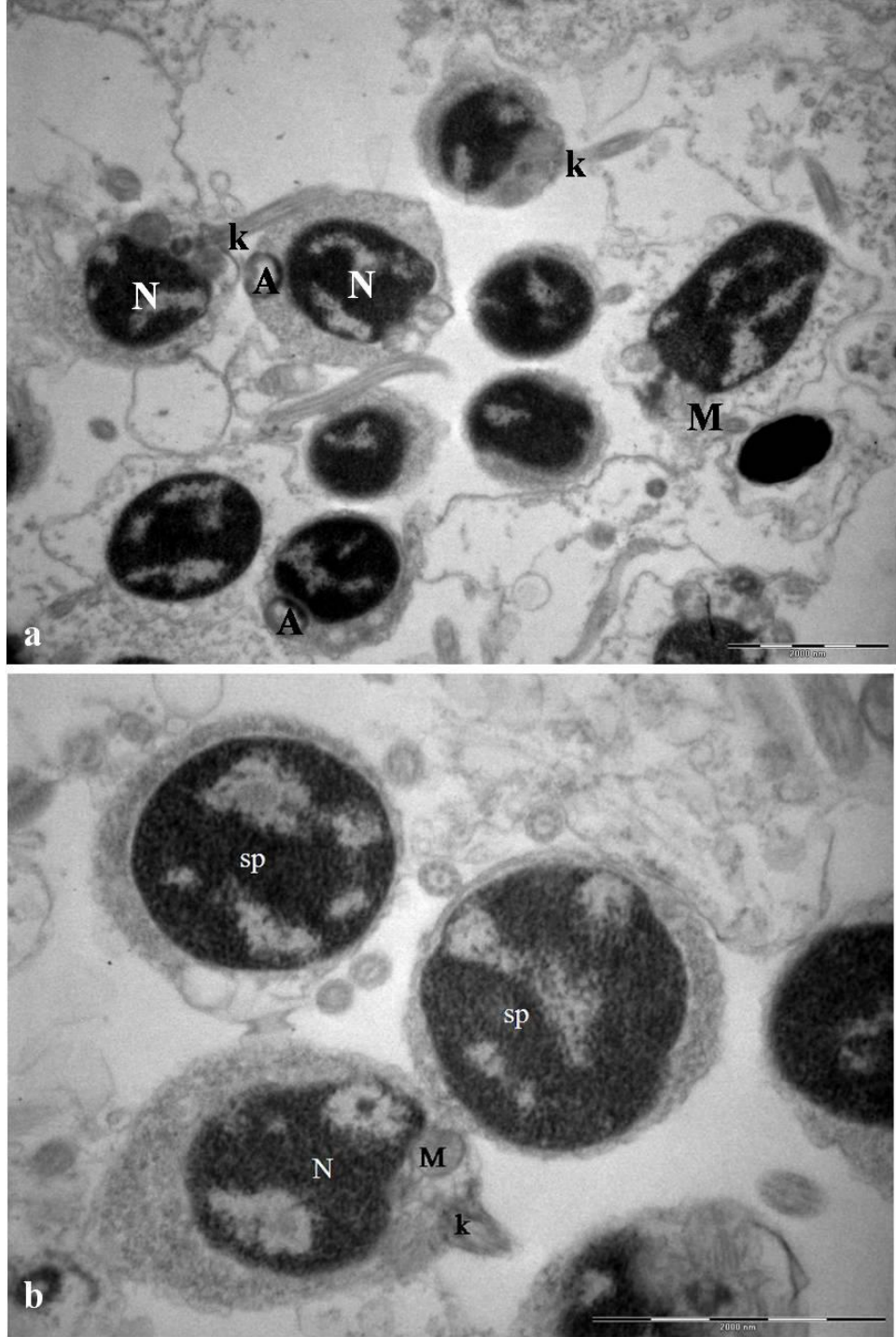
akrozom arasında subakrozomal bölge ayırt edilmeye başlandı (Şekil 4.25b, 4.26). Akrozom içeriğinin amorf elektron yoğunluğu bakımından farklı olabildiği belirlendi. *P. rustica*'da homojen bir yoğunluk oluşurken *P. caerulea*'da ve *P. ulyssiponensis*'te periferde oldukça yoğun bir halkasal çerçeve gözlemlendi. Ayrıca *P. ulyssiponensis*'te akrosomal çerçevenin nükleus kenarı boyunca uzadığı belirlendi.

4.1.1.2.3. Orta bölge oluşumu ve diğer sitoplazmik özellikler

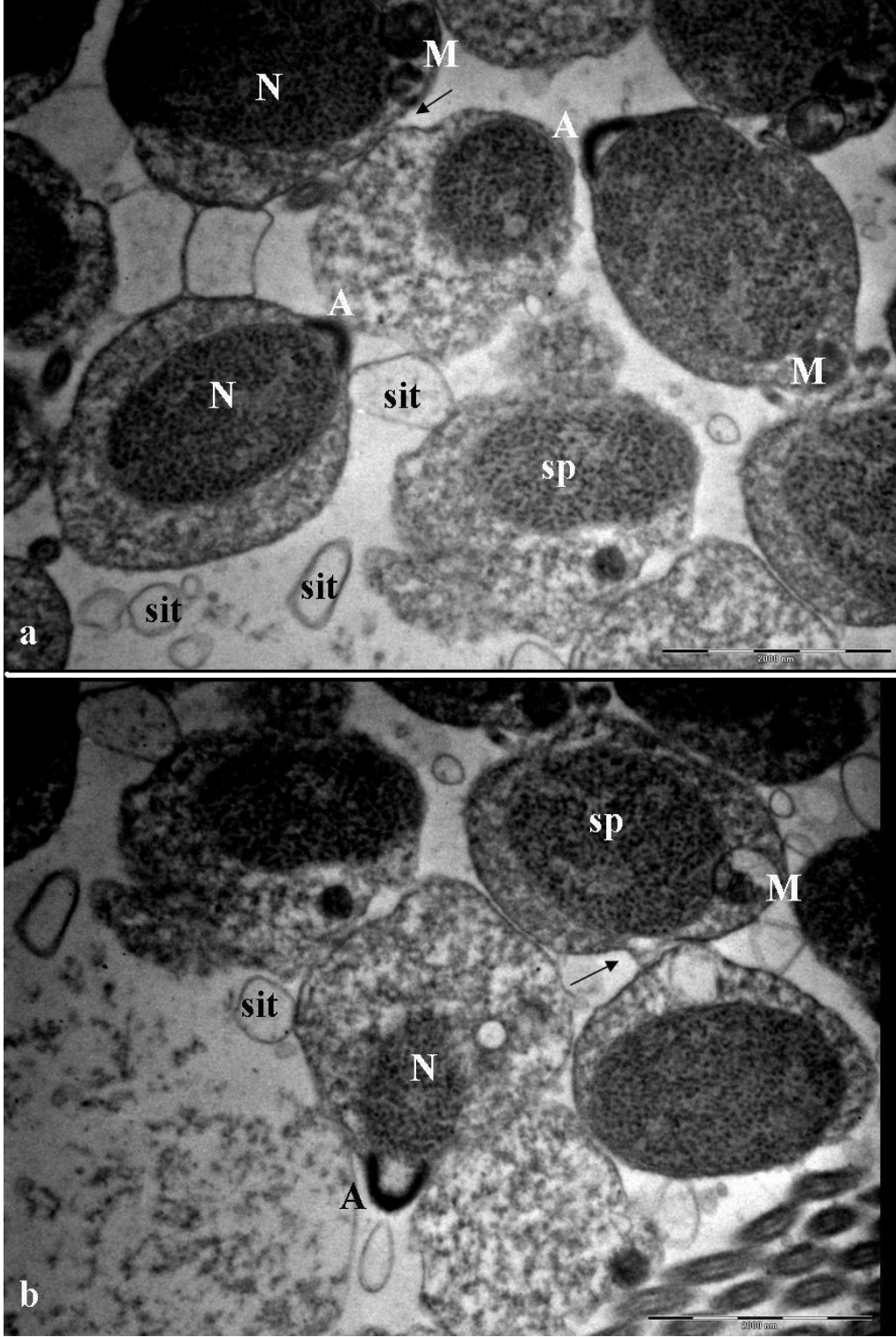
Mitokondriler, spermatogenezin gelişiminin erken safhalarında elipsoide yakın yuvarlak yapıda ve çok sayıda ve sitoplazma boyunca dağınık halde bulunmaktadır. Olgunlaşma başladığında, mitokondriler proksimal ve distal sentriyole yakın olarak toplanmaktadır (Şekil 4.19ab, 4.20, 4.21ab, 4.24, 4.25ab). Mitokondrinin sayısında azalma olmasına karşın büyüklüğünde bir artış gözlenmiştir. Orta spermiyohistogenez aşamasında tam küresel yapıda olup, nüklear kılıfın yakınında sıkıca konumlanmaktadır. Mitokondride tübüller krista iyi gelişmiştir (Şekil 4.32). Spermatidlerin orta safhalarından itibaren kuyruk yapısı gelişmeye başlamıştır (Şekil 4.19ab, 4.20, 4.21ab, 4.22, 4.23, 4.25ab).

4.1.1.3. Spermin uzamış baş bölgesiyle testiste yerleşimi

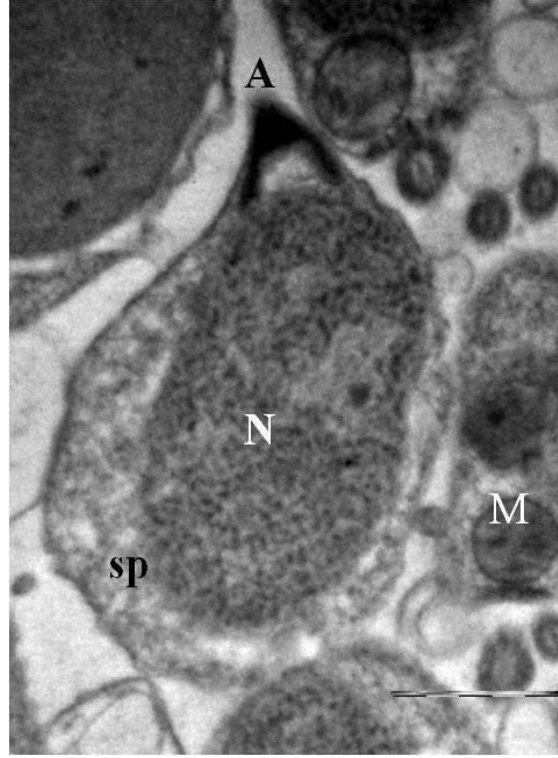
Işık mikroskopik incelemelerde görüntülenen spermlerin başlarının, tübül içerisinde bir sıra halinde konumlandığı görülmüştür (Şekil 4.28). Elektron mikroskopik olarak incelendiğinde de bu durum aynen geçerli gözlenmiştir. Spermler arasında sıklıkla sitoforlar yer almaktadır (Şekil 4.28).



Şekil 4.24. *P. caerulea* testisinde spermiohistogenez a: Spermatidlerin (sp) farklı gelişim safhaları b: spermiohistogenez’de akrozom (A) yapısının ve kuyruğun farklılaşmaya başlaması, N: nükleus, k : kuyruk, M: mitokondri (Bar: 2µm)



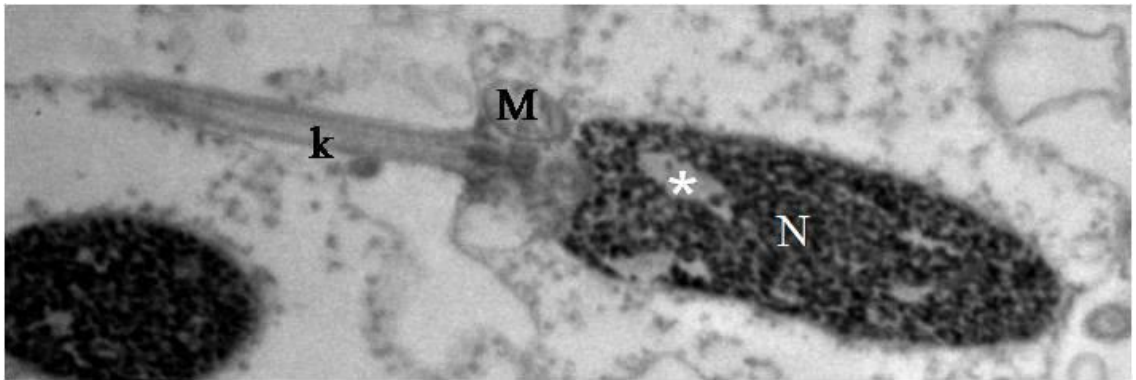
Şekil. 4.25. *P. rustica*, testisinde gelişmekte olan spermatidlerde (sp) akrozomun (A) ve nükleusun (N) uzamaya başladığı aşama. a: Nükleusun heterokromatin özelliği ve akrozom farklılaşması b: Subakrozomal boşluğun oluşmaya başlama aşaması, ok: spermatidlerin bağlantı yerleri, sit: sitoplazmik parçalar (Bar: 2µm)



Şekil 4.26. *P. rustica*, spermatit (sp) uzamış ve oval şekilli granüler kromatin yapıda nükleus (N), uzamış akrozom (A), *: proakrozomal boşluk (Bar: 2µm)

4.1.1.3.1. Sperm yapısı

Spermin gelişimin daha ileri safhasında, nükleus uzamış ve nükleus içi granüler yapıda heterokromatin materyali, kuyruk iyice belirginleşmiş olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.27).



Şekil. 4.27. *P. caerulea*, spermin gelişimin daha ileri safhasında nükleus (N) uzamış ve granüler yapıda heterokromatin materyali, kuyruk (k) iyice belirginleşmiştir, *: vakuol boşluk (Bar: 2µm)

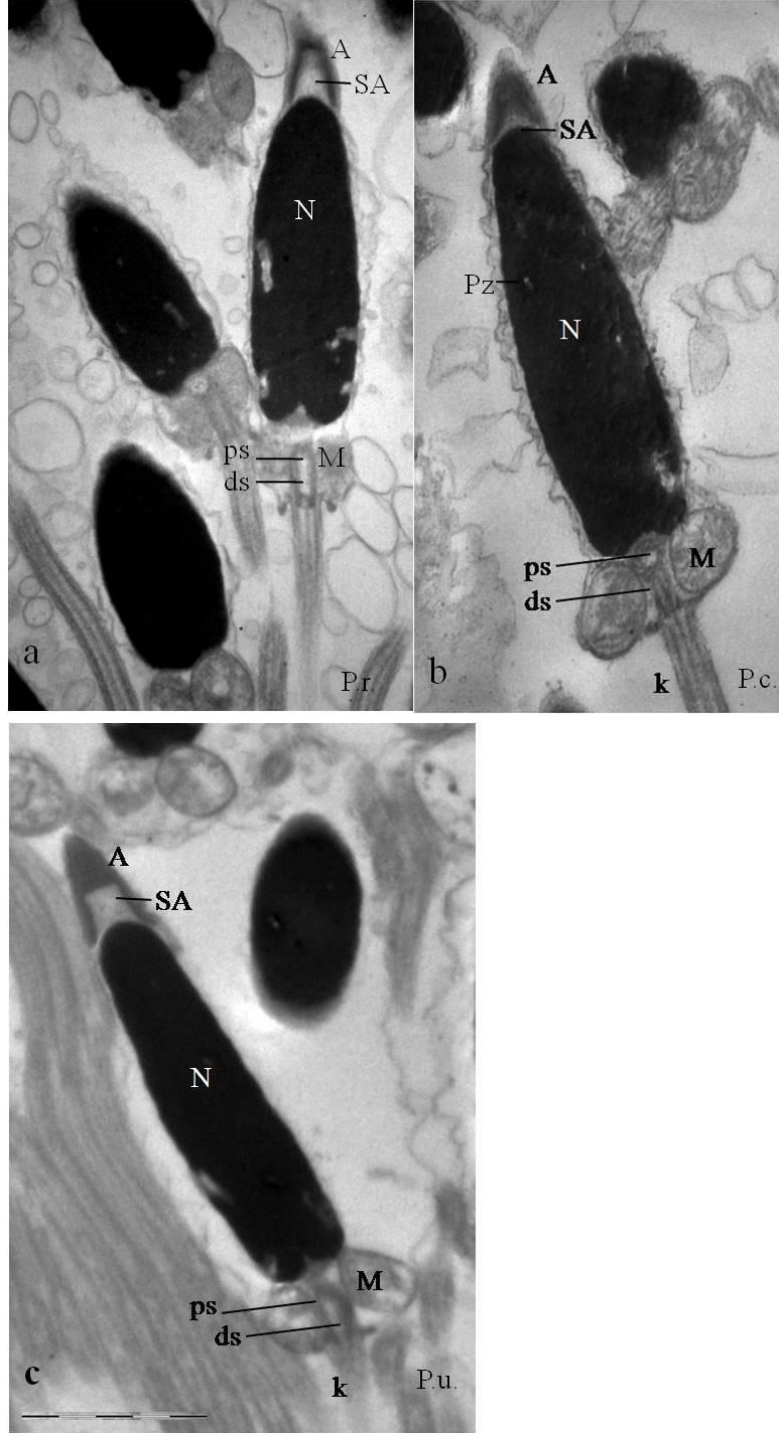
Çizelge 4.2. *P. rustica*, *P. caerulea* ve *P. ulyssiponensis* türlerinde sperminin bazı morfolojik ölçümlerinden elde edilen ortalama değerler (N=20)

Türler	Sperm baş bölgesinin (µm)	Nükleus (µm)	Nükleus genişliği (µm)	Akrozom uzunluğu (µm)	Akrozom genişliği (µm)
<i>P. r.</i>	3.9	2.9	0.9	0.9	0.9
<i>P. c.</i>	3.8	3.1	0.9	0.7	0.7
<i>P. u.</i>	3.5	2.7	0.8	0.8	0.6

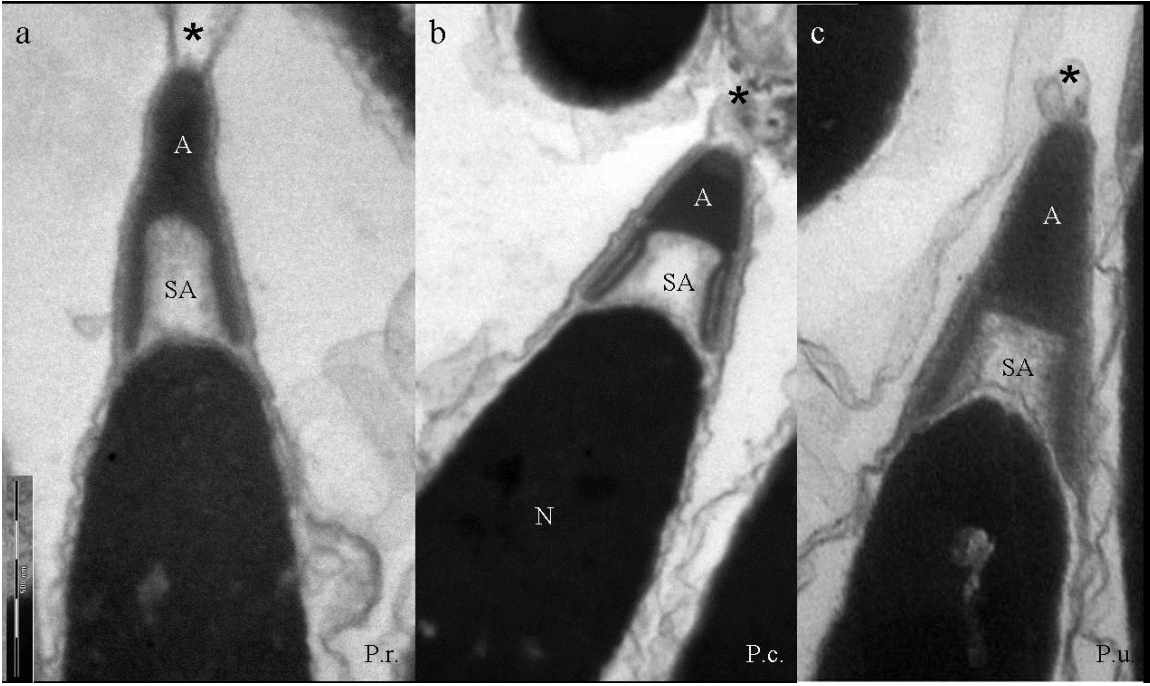
Olgun bir spermatozoonun, silindirik anteriöre doğru uzamış ve oldukça yoğun kromatin içerikli bir nükleusa sahip olduğu ve her türün sperminde nükleusu şekilsel benzerlik gösterdiği görüldü. Nükleuslarda düzgün bir şekil göstermeyen bazı boşluklar her üç türde de gözlemlendi (Şekil 4.28, 4.29). Bunlar nükleus içi yoğun kromatin materyali içinde retikular bölgeler veya nüklear vakuoller şeklinde görüldü. İncelediğimiz Patellid türlerinde sperminin bazı morfolojik ölçümlerine bakıldığında nükleus uzunluğu *P. caerulea*'da 3.1µm, *P. rustica* 2.9µm ve *P. ulyssiponensis* 2.7µm olup, nükleuslarının genişlikleri ise *P. caerulea* ile *P. rustica*'nın 0.9µm *P. ulyssiponensis*'se 0.8µm'dur (Çizelge 4.2). Nükleuslar ve sitoplazmik vakuollerin bir zarla çevrili oldukları belirlendi. Her üç türün sperminde nükleusun posteriyör yüzeyinde hafif bir girinti karakterize edildi. Bu girinti bölgesi proksimal sentriyol ile bağlantı bölgesi olarak belirlendi (Şekil 4.28). **Akrozom** her üç türe ait spermatozoa'da konik biçimdedir ve posteriyörde **subakrozomal kese** belirgin olarak gözlenebilmektedir. (Şekil 4.28, Çizelge 4.2). Akrozom ve nükleusun çevresini plazma zarı çevrelemektedir (Şekil 4.28, 4.29, 4.31b). Plazma zarı her üç türde de baş uzunluğu boyunca gevşek ve dalgalı bir yapıda gözlemlendi ve orta bölgeyi daha düzgün bir şekilde sardığı belirlendi. *P. rustica*'nın akrozom uzunluğu 0.9µm, *P. ulyssiponensis*'in 0.8µm olup her iki tür *P. caerulea*'ya (0.7µm) göre akrozomları daha uzamıştır. Akrozomların genişliklerine bakıldığında uzunluklarıyla *P. rustica*'da akrozom genişliği en uzun olup; 0.9µm iken *P. caerulea* 0.7µm ve *P. ulyssiponensis*'te 0.6µm'dur (Çizelge 4.2). *P. rustica*'da subakrozomal kesenin anteriörü daha oval görünümlüdür (Şekil 4.29a). *P. caerulea*'da subakrozomal kesenin anteriör kısmı hafif bir bombe yapmış olup, kesenin her iki yanında açık koyu katmanlı kalınca bir tabaka ayırt edilmiştir (Şekil 4.29b). *P. ulyssiponensis*'te subakrozomal kese tam bir kübik özellikte olup anteriör kısmı tamamen düz bir yapı şeklindedir. İçi diğer iki tür spermatozoasına göre daha partiküler görülmüştür (Şekil 4.29c). Her üç türünde akrozomunun en uç kısmında sitoplazmik zar farklı büyüklüklerde izlenen baloncuk benzeri bir yapı oluşturmuştur (Şekil 4.29).

Her üç türde de spermin orta bölgesinin benzer olduğu gözlenmiştir ve dört tane iyi gelişmiş ve kristalleri tübüler yapıda tam küresel **mitokondriye** sahip oldukları gözlemlenmiş olup; *P. rustica*'da 0.6µm, *P. caerulea*'da 0.5µm, *P. ulyssiponensis*'te 0.6µm çapında ölçülmüştür (Şekil 4.28, 4.30). Mitokondriyal yüzüğün merkezi proksimal sentriyoldür, küçük bir nüklear çıkıntının posteriyöründe ise distal sentriyol bulunmakta ve kuyruk kökü olarak görülmektedir (Şekil 4.28a).

Her üç türün spermlerinin orta bölgelerinin enine kesitlerine bakıldığında 9+2 mikrotübüler düzeninde proksimal ve distal sentriyolleri belirgin bir şekilde görülmektedir (Şekil 4.28).



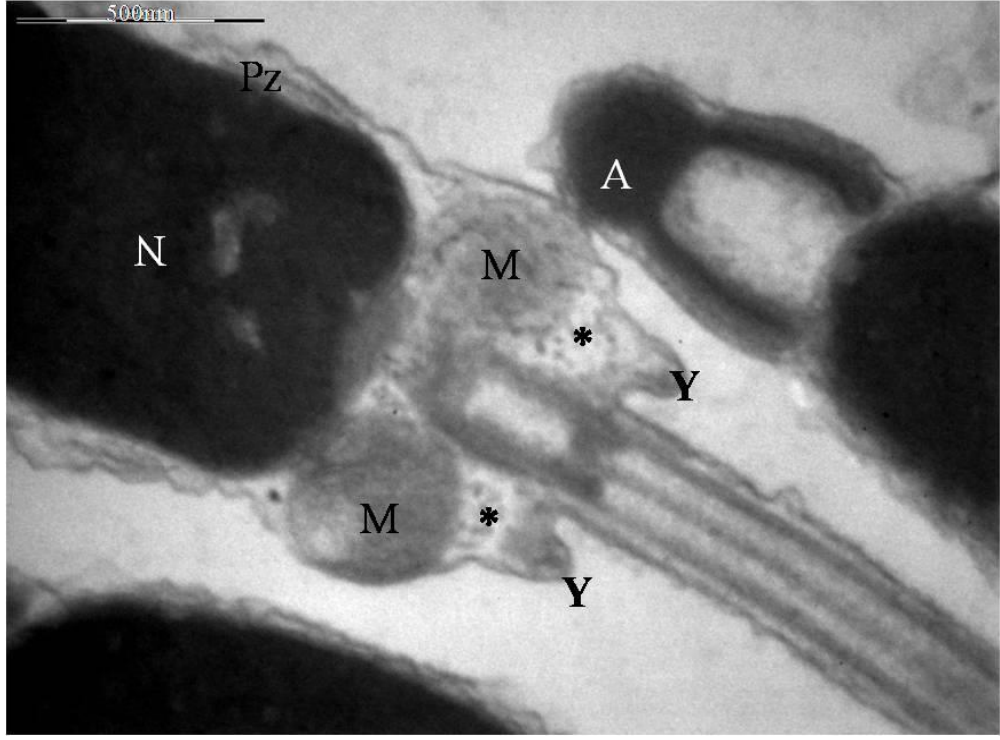
Şekil 4.28. Üç türde sperm yapısı a: *P. rustica*, b: *P. caerulea*, c: *P. ulyssiponensis* sperm yapıları A: akrozom, SA: subakrozomal kese, N: nükleus, ps: proksimal sentriyol, ds: distal sentriyol, Pz: plazma zarı, M: mitokondri, k: kuyruk, *: sitoplazmik parçalar, ok: yaka (Bar: 2µm)



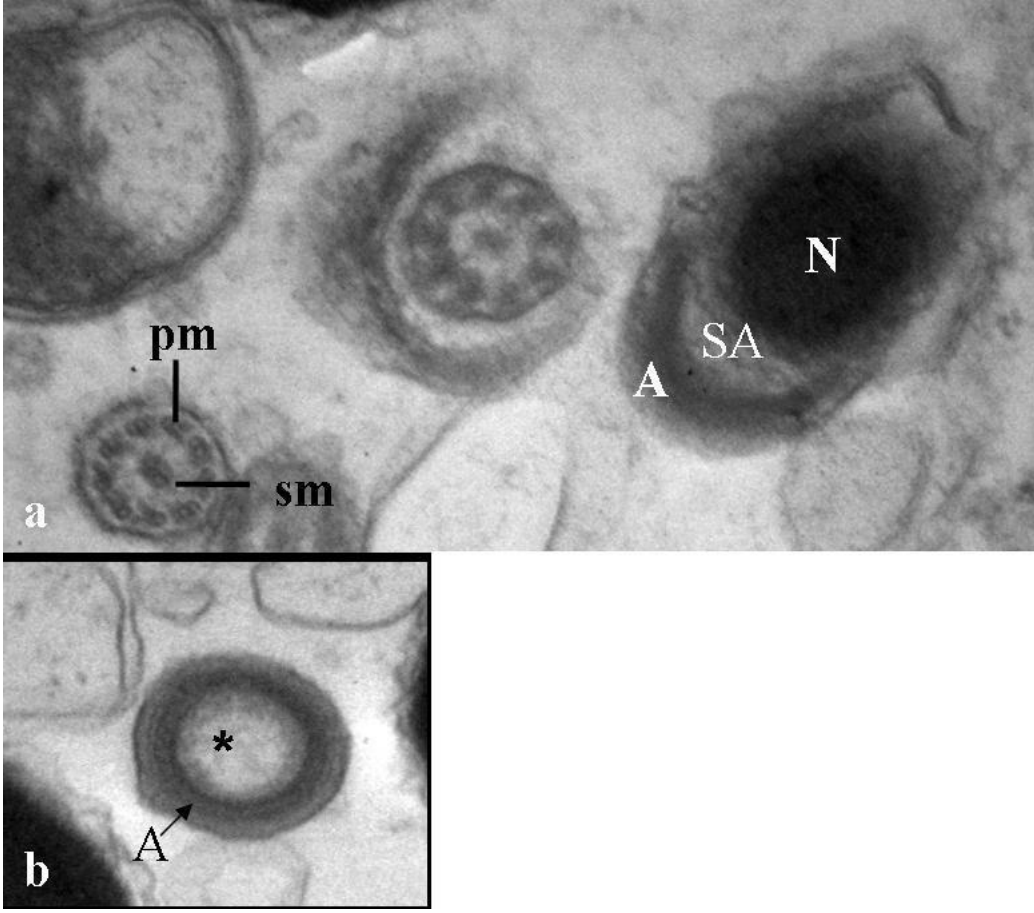
Şekil 4.29. Ayrıntılı akrozom (A) ve subakrozomal yapıları (SA). a: *P. rustica*, b: *P. caerulea*, c: *P. ulyssiponensis* türleri, N: nükleus, *: akrozom uzantısı (Bar: 5µm)

P. rustica'da spermin orta bölgesinde, mitokondrilerin haricinde sağlı sollu enerji kaynağı olarak görev yapan glikojen granülleri depo halinde bulunmaktadır (Şekil 4.32). Türlerden sadece *P. rustica*'da spermin orta bölgesinden ortaya çıkan ve kuyruğun iki tarafında uzanan sitoplazmik yaka (0.2µm) bulunmaktadır (Şekil 4.29a, 4.31). Mitokondrilerde tübular krista ve ortada distal sentriyol görünmektedir (Şekil 4.33).

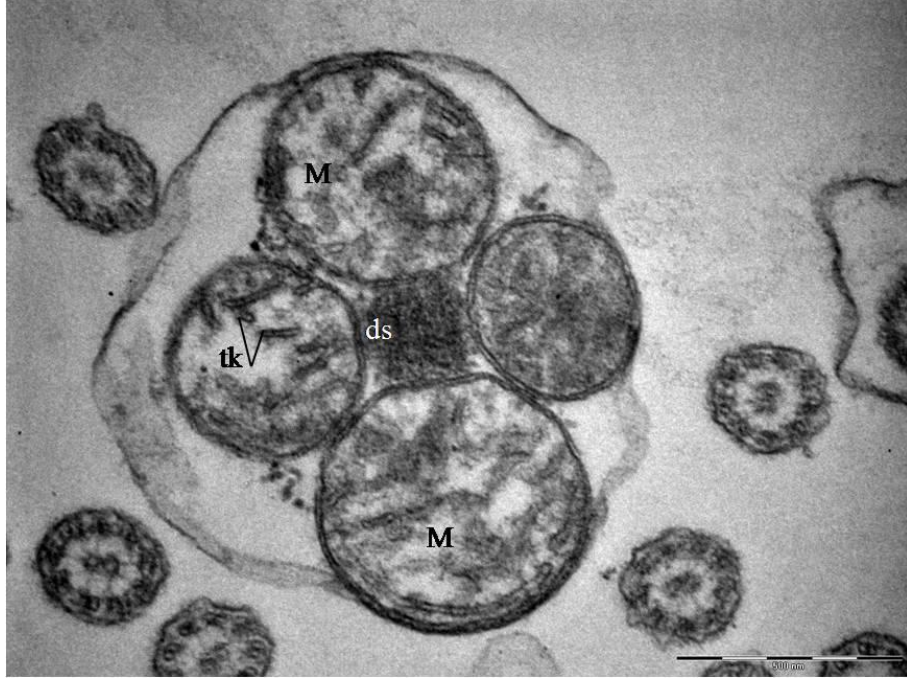
İncelediğimiz Patellid türlerinin sperm yapısı ilkel sperm yapısı özelliğine sahip olduğundan tek kuyrukları vardır. Her üç türde de boyun bölgesinde yer alan sentriol ile başlayan 9 mikrotübül, kuyruk yapısında da devam etmekte ve merkezi konumdaki 2 mikrotübül ile 9+2 sistemi kuyruk bölgesinin eksenine olan aksonemayı oluşturmaktadır (Şekil 4.30, 4.31a).



Şekil 4.30. *P. rustica*, spermin orta bölgesi, mitokondri (M), glikojen tanecikleri (*), plazma zarı (Pz) yaka benzeri çıkıntılar (Y) ve ikinci bir sperm başında akrozomal bölge (A) (Bar: 0.5µm)



Şekil 4.31. *P. rustica* testisinde spermin farklı bölgelerinin kesitleri, a: akrozomal bölge eğik açılı kesiti, solda: spermin orta bölgesinin enine kesiti, 9+2'lik mikrotübüler yapı, periferal (pm) ve sentriyol (sm) mikrotübüller, sağ tarafta: akrozom (A), subakrozomal kese (SA) ve nükleusun (N) boyuna kesiti görünmektedir, b: akrozomal bölgenin enine kesiti (Bar: 0.5µm)



Şekil 4.32. *P.ulyssiponensis*, olgun sperm yapısında orta bölge enine kesiti. tübüler krista (tk), mitokondri (M) ve distal sentriyol (ds) görünmektedir (Bar: 0.5 μ m)

4.1.2. *Patella* türlerinde ovaryum ve gelişim safhaları

Dişi bireylerde ovaryum, erkek bireylerdeki gonad ile aynı konumda ve bilhassa hepatopankreasın dorsalinde yer almaktadır. Dişi bireyden gonad örneklerinde bütün gelişim aşamaları histolojik olarak izlenmiş ve oogenezdaki hücre farklılıkları ince yapı incelemeleri ile belirlenebilmiştir. İnce bir kapsülle sarılı ovaryum içinde gelişim süreçlerine uygun olarak oogenezin farklı aşamalarındaki germinal hücreler foliküller içerisinde yer aldığı gözlenip, bağ dokusu elemanları bu foliküller arasına trabekulalar halinde dallanarak uzanmaktadır. Tam gelişmiş dişi gonadta; previtellojenik oositin, amorf bazofilik sitoplazma, vitellojenik oositin ise vakuolar eosinofilik sitoplazma içerdiği görüldü. Kesitte oositlerin düzgün yuvarlak yapılarını kaybetmiş ve yardımcı hücrelerin bağ dokusu retikulumu içinde yer aldığı gözlendi. Aynı gonadta farklı olgunluklardaki yumurtaların gruplar halinde yer aldığı gözlenmiştir (Şekil 4.34).

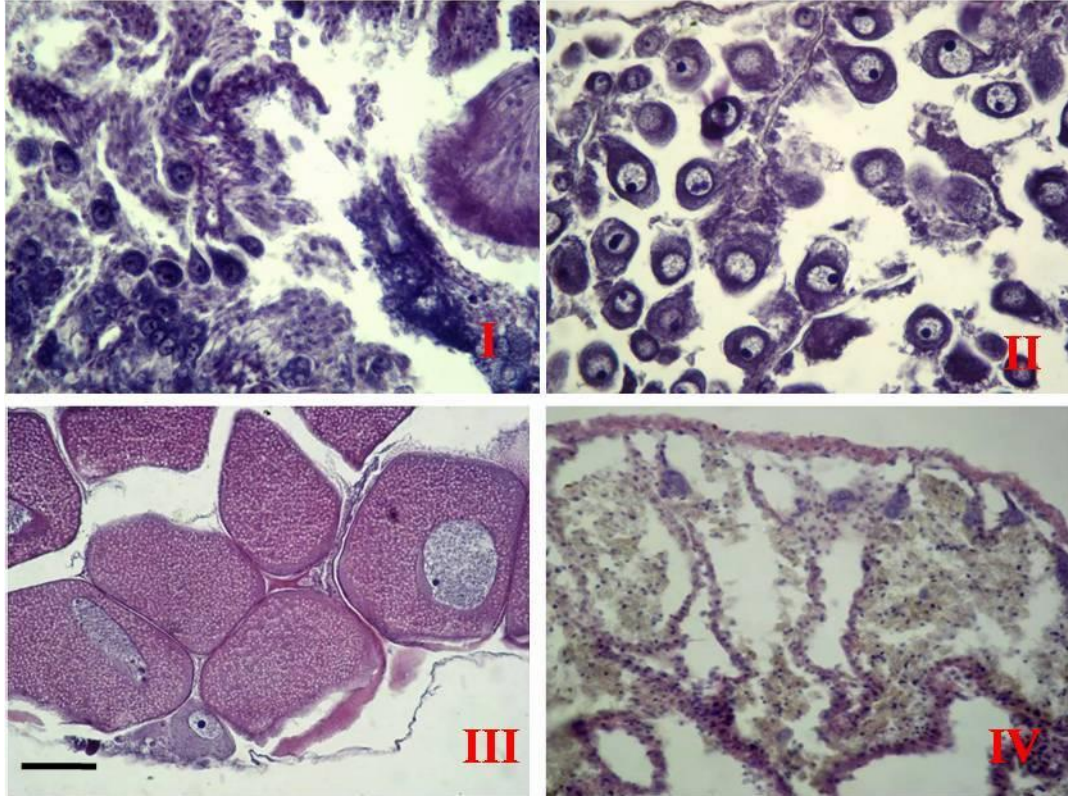
Patella rustica ve *P. caerulea* ve *P. ulyssiponensis* türlerinin ovaryumları histolojik açıdan incelendiğinde gonad gelişim safhaları erken aktif (I), geç aktif veya kısmen olgun (II), olgun (III), tamamen boşalmış veya dinlenme (IV) safhalar olarak dört safhaya ayrılmıştır (Şekil 4.33, 4.36, 4.37).

Erken Aktif (I) safhada dallanmış bağ dokusu, gonadı foliküller halinde bölmüş yassı hücreler ve fibriller materyalinden ibaret görünmektedir. Foliküllerin içinde bilhassa (asinus) folikül duvarına bağlı protogonia halinde oositler oluşmaya başlamıştır. Folikül lümeninde serbest oosit bulunmamaktadır (4.33-I, 4.36-I, 4.37-I).

Geç aktif veya kısmen olgun (II) safhada bağ dokuda azalma olduğu tespit edilmiştir. Çok sayıda oogonyum, folikül duvarına yakın temasla yer almakta ve az sayıda oosit folikül boşluğu içerisinde serbest olarak bulunmaktadır (4.33-II, 4.36-II).

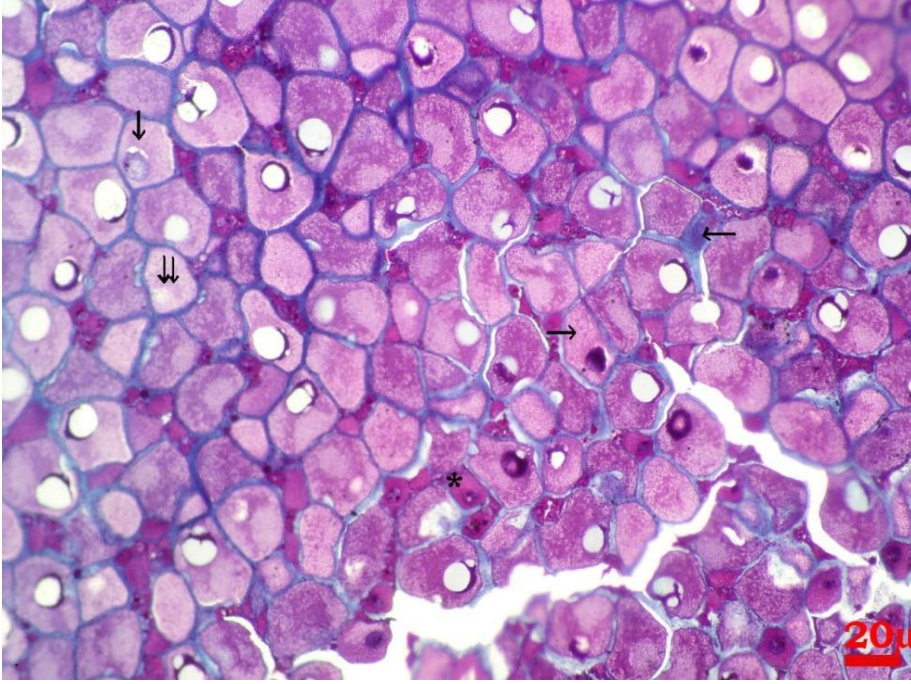
Olgun safhada (III) gonadın büyümesine paralel olarak foliküllerin iç boşluğu olgun oositlerle dolu olup, bu oositlerin nükleusları rahatlıkla görülmektedir. Foliküller arasında bağ doku iyice azalmıştır (4.33-III, 4.36-III, 4.37-III).

Tamamen boşalmış veya dinlenme safhasında (IV) foliküllerde sadece birkaç tane serbest oosit gözlemlenmektedir. Ovaryum gevşek yapı kazanmış, doku farklılaşması görülmekte ve bağ dokusu gonadı kaplamaktadır. Gametogenez bitmiş ve eşeyssel gonadta germinal hücreler bazında bir dinlenme safhası başlamıştır (4.33-IV, 4.36-IV).

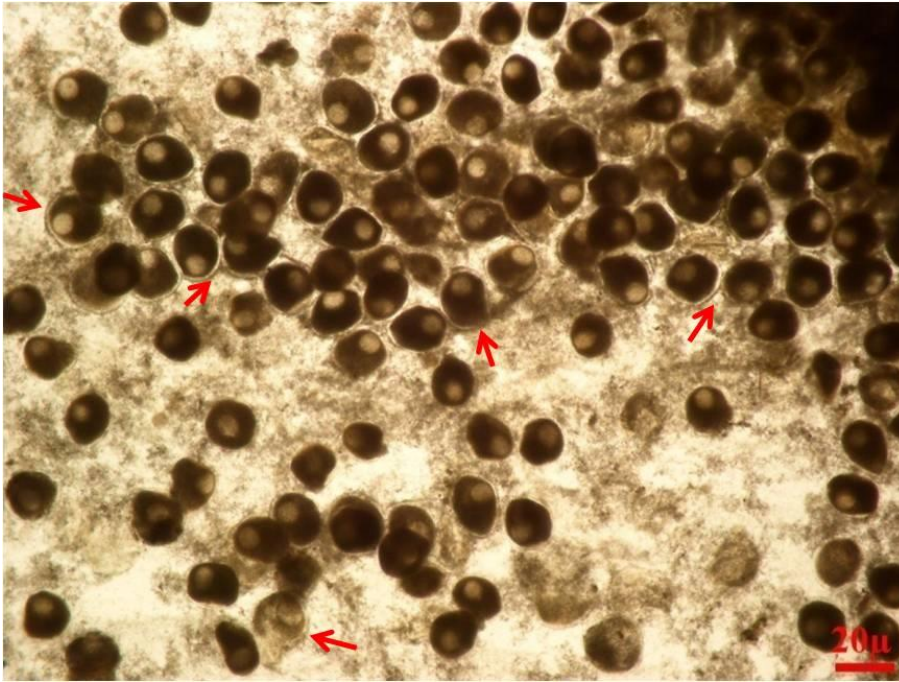


Şeki 4.33. *P.rustica* ovaryumunda gelişim safhaları; I. erken aktif safha, II. geç aktif (kısmen olgun), III. tam olgun safha, IV. tamamen boşalmış safha. H&E (Bar:50µm)

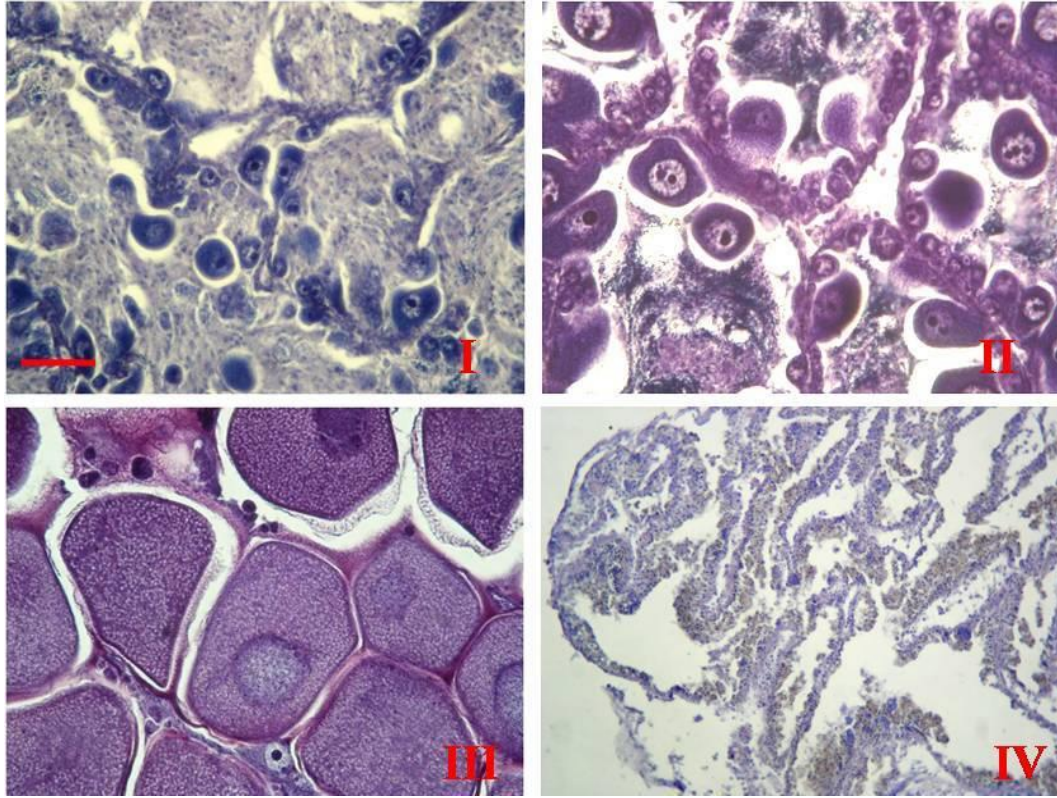
Tam olgun safhadaki gonadın histolojik kesitlerinde ovum özelliği kazanmış veya vitellogenizin son basamağındaki oositler doku içerisinde sıkı yerleşimli oldukları için düzgün olmayan şekilsel durumda görünmektedir (Şekil 4.35). Oositler olgun duruma geçtiklerinde, disekte edilerek gonaddan deniz suyuna döküldükleri zaman, süspansiyon haline geçen yumurtalar, kısa sürede tamamen yuvarlak şekil kazanmışlardır. Kalın jelatin kılıf ve germinal vezikül belirgin olarak gözlenmiştir (Şekil 4.35). Yardımcı hücreler bağ dokusu retikulumu içinde yer almaktadır.



Şekil. 4.34. *P. rustica*'da dişi gonadda sıkı paketlenmiş oositler, ↓:previtellogenik oosit, *: amorf bazofilik sitoplazma, →: vitellogenik oosit, ⇓:vakuolar eosinofilik sitoplazma, GT (Bar 20μm)



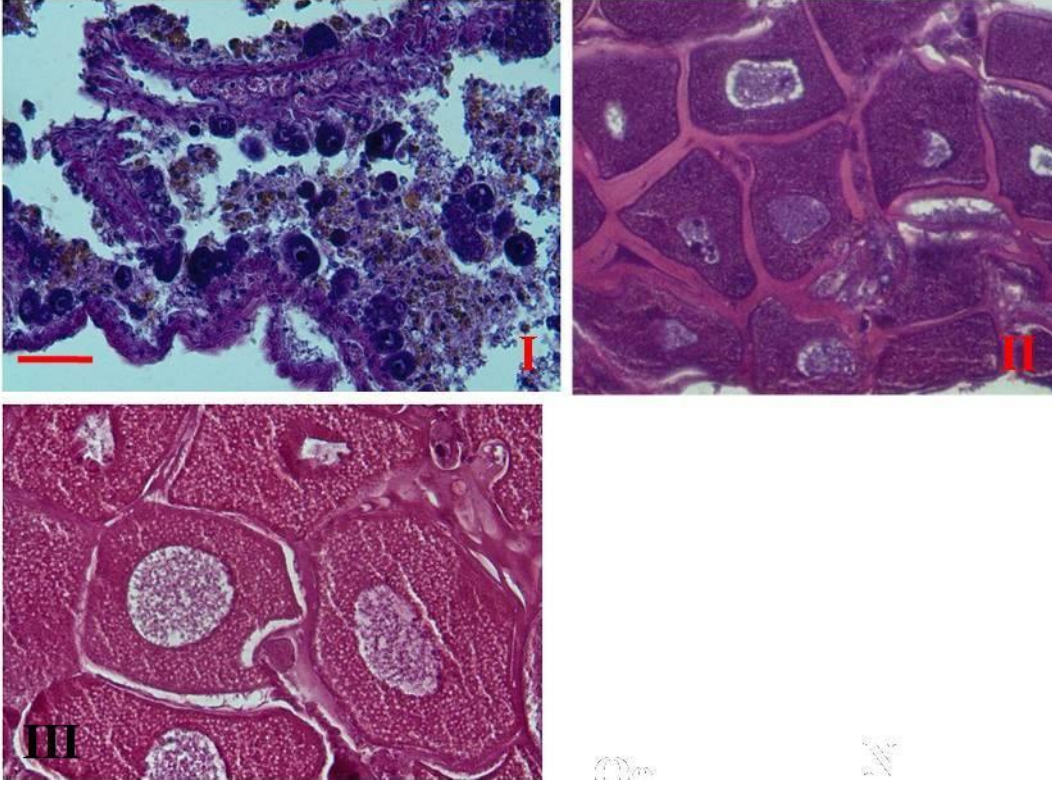
Şekil 4.35. *P. rustica* olgun safhada elde edilen yumurta süspansiyonu, ok: jelatin tabaka, (Boyanmamış) (Bar: 20μm)



Şekil. 4.36. *P. caerulea* ovaryumunda gelişim safhaları; I. erken aktif safha, II. geç aktif (kısmen olgun), III. tam olgun safha, IV. tamamen boşalmış safha. H&E (Bar: 50µm)

P. caerulea ve *P. ulyssiponensis* ovaryumları histolojik açıdan incelendiğinde gonad gelişim safhaları *P. rustica* türünün gelişim safhalarıyla benzer bulunmuştur ve erken aktif (I), geç aktif veya kısmen olgun (II), olgun (III), tamamen boşalmış veya dinlenme (IV) olarak dört safhaya ayrılmıştır (Şekil 4.33, 4.36, 4.37).

P. ulyssiponensis ovaryumu olgun safhasında (III) foliküllerin içi olgun oositlerle doludur. Tam olgun safhada oositler yaklaşık 90x150µm çapında olup, 50-65µm çapında belirgin nükleusları vardır, bağ dokusu retikulumu çok belirgindir (Şekil 4.37-III). Tamamen boşalmış veya dinlenme safhası gonad yapısı ancak çıplak gözle gözlenmiş olup, histolojik kesitlerde elde edilememiştir.



Şekil. 4.37. *P. ulyssiponensis* ovaryumunda gelişim safhaları; I. erken aktif safha, II. geç aktif (kısmen olgun), III. tam olgun safha H&E (Bar:50µm)

4.2.2.1. Oogenez ve oosit yapısı

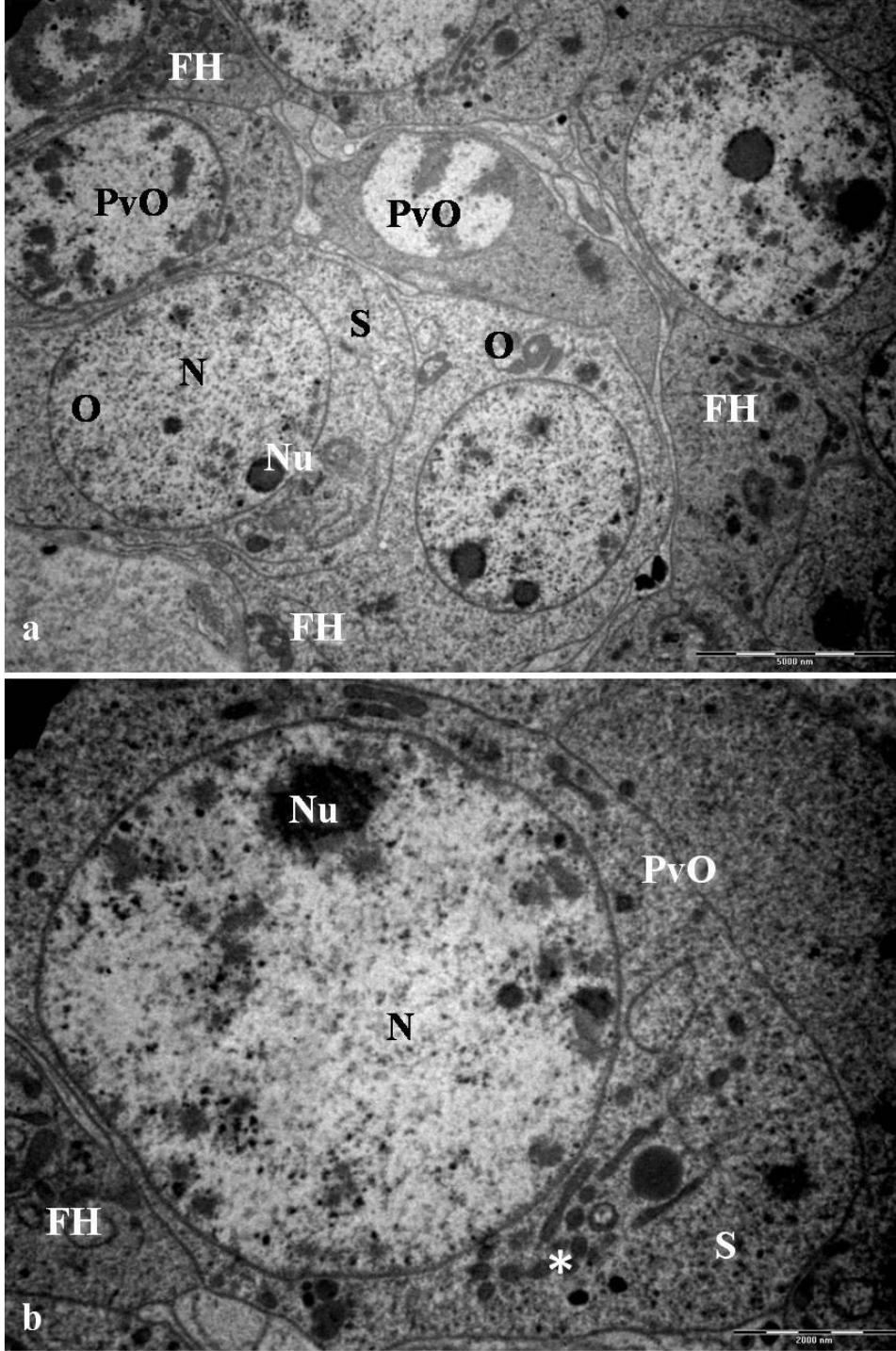
Üç *Patella* türünün dişi gonad ince kesitlerinde oogenez elektron mikroskopunda incelenmiş olup oogonyumdan başlayarak oosit gelişimi ve olgunlaşması takip edildi.

P. rustica'nın ovaryumunun ince kesitleri incelendiğinde, germinal epitelyumun ovaryum duvarının içinde yer aldığı gözlemlendi. Ovaryum olgunlaşma sürecinde şekilsel farklılaşma, germinal vezikül oluşumu, sitoplazmik içerik değişimleri gibi durumları belirlenen farklı hücre tipleri gözlemlendi. Bu süreçte **oogonyum**, **previtellojenik**, **vitellojenik** (erken ve geç vitellojenik), **postvitellojenik** (olgun) oositler ayırt edilmiştir.

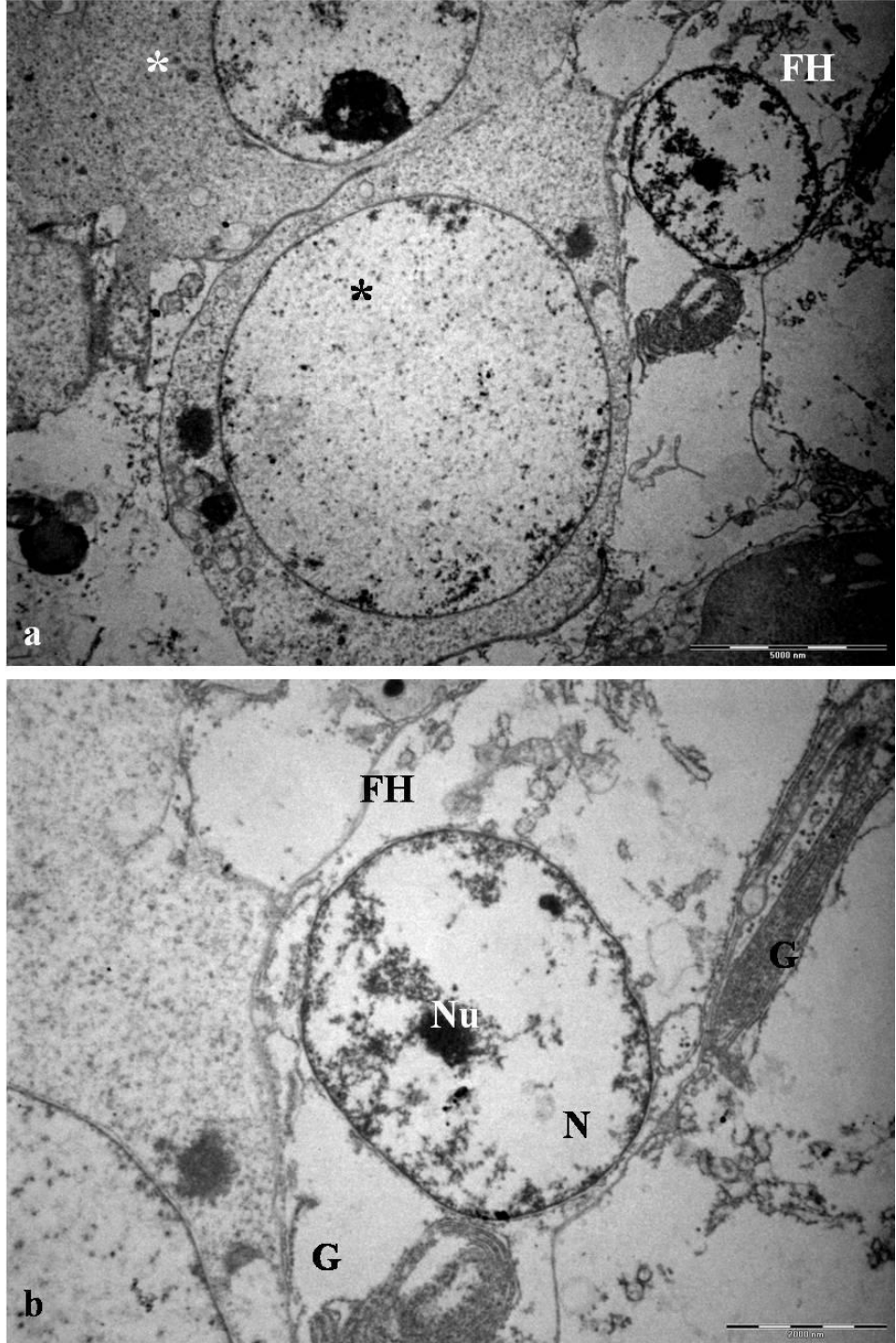
P. rustica'da germinal epitelyumdaki hücreler başlangıçta küp şeklinde olup, genişledikçe oval veya yuvarlağımsı **oogonyumlar** halini almıştır (Şekil 4.38a). Oogonyumlar (yaklaşık 9-11µm çapında) asinüs duvarında birbirine yakın yerleşimli 3-5'li gruplar halinde bulunmaktadır (Şekil 4.38a). Oogonyumların nükleusları küreseldir (6-7.5µm çapında) ve sitoplazmaya göre daha büyük bir alana sahip olup, bir veya iki tane merkez dışı yerleşimli nükleolusları (0.7-1.6µm) bulunmaktadır. Kromatin materyali retikular dağılımlıdır ve nükleus zarı altında yer yer daha belirgindir. Oogonyumların nükleolusu fibrilli ve granüllü bir yapı özelliği göstermektedir. Oolemma düz olup, bu safhada zarla ilgili herhangi bir morfolojik özellik izlenmemiştir (Şekil 4.38a).

P. rustica'da yaklaşık 12x19 çapında olan **previtellojenik oositin** sitoplazması sayısız serbest ribozom, mitokondri ve elektronca yoğun bazı granül kümeleri bulunduğu gözlenmiştir (Şekil 4.38). Oogonyumların arasında yer alan previtellojenik oositler daha yoğun nükleus materyali ve sitoplazma ile karakterize edilmiştir (Şekil 4.38). Oogonyumların çevresinde folikül hücreleri sıralanmış olarak bulunmaktadır (Şekil 4.38).

P. ulyssiponensis'te yaklaşık 12x16µm çapında oogonyumlar previtellojenik oositlere yakın konumlu bulunmakta olup çevrelerini **foliküler hücreler** (nükleus: 4.1x4.9, nükleolus 0.8x0.7 çapında) sarmıştır (Şekil 4.39). Oogonyumların nükleusları kromatin materyal bakımından diğer türlerinkine kıyasla oldukça fakirdir (Şekil 4.39a).



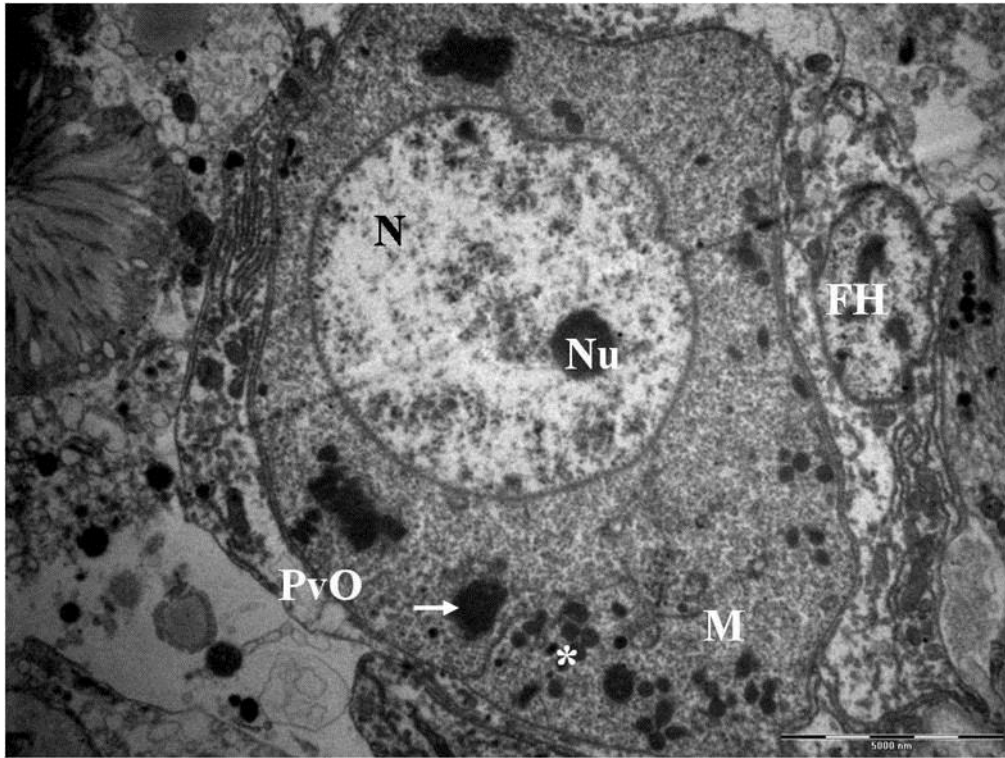
Şekil 4.38. *P. rustica* ovaryumunun ince kesitinde hücresel yapı. a: erken dönemde oogonyumlar (O) previtellojenik oosit (PvO) ve folikül hücreleri (FH) (Bar: 5 μ m). b: previtellojenik oosit yapısı, yoğun salgı granülleri (*), S: sitoplazma, N: nükleus, Nu: nukleolus (Bar: 2 μ m)



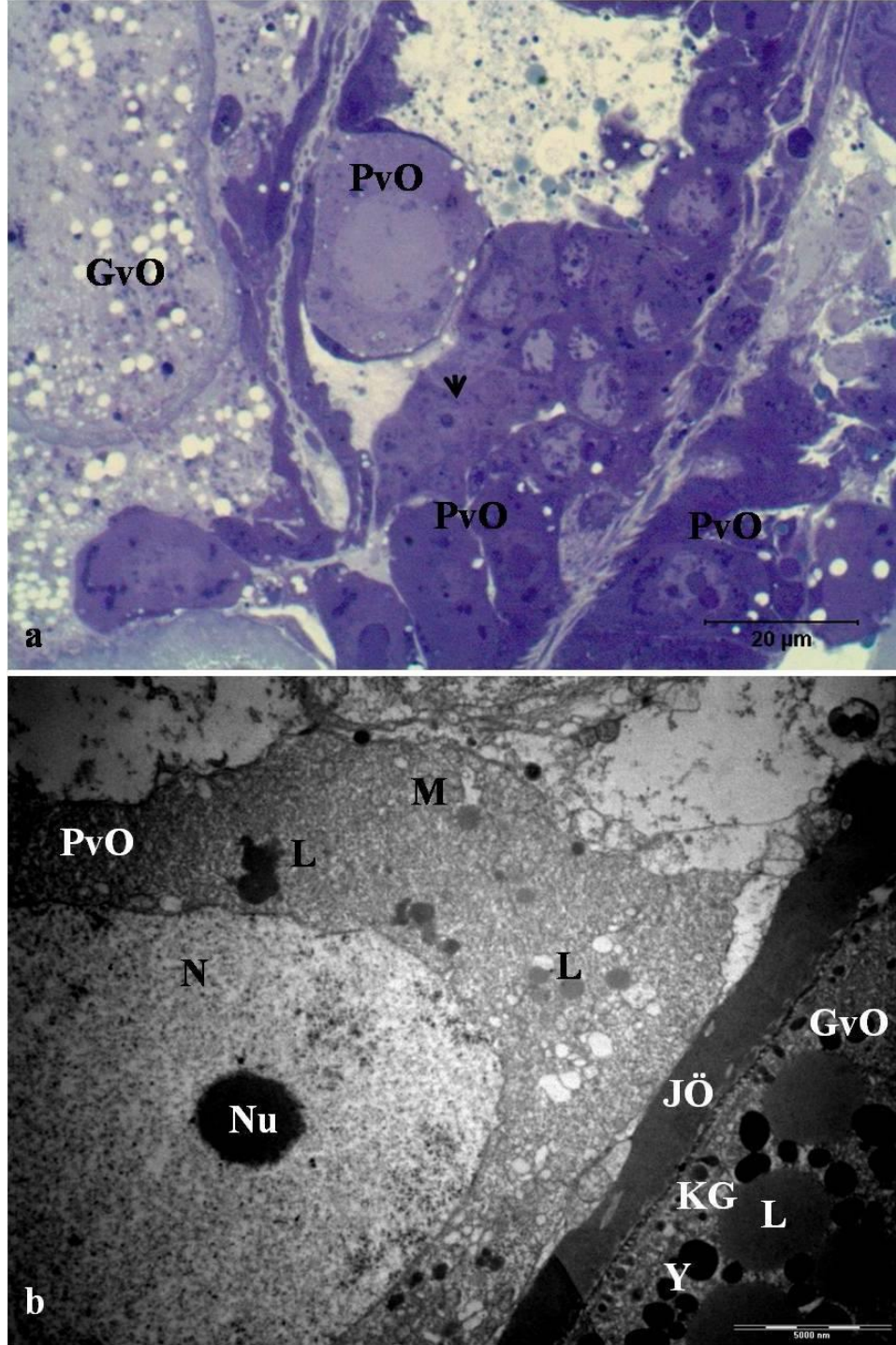
Şekil 4.39. *P. ulyssiponensis* erken dönem ovaryumun hücresel yapısı a: oogonyumlar ve (*) çevresinde yer alan folikül hücreleri (FH) (Bar: 5 μ m). b: folikül hücresinin ayrıntılı yapısı ve sitoplazmasında yer alan nükleus (N), nükleolus (Nu) (Bar: 2 μ m)

P. rustica'da previtellojenik oositler, küresele yakın 9µm çapında bir nükleus içinde bir nükleolus (1,5µm) içermektedir. Previtellojenik oositler oogonyuma göre daha uzamış hücreler olup yaklaşık 12x19µm boyutunda ölçülmüştür. Nüklear hacimleri artmıştır. Previtellojenik oositler genişlemeye başladıkça germinal epitelyumdan uzaklaşarak sitoplazmaları oldukça basofilik hale gelmektedir (Şekil 4.39). Sitoplazmaları elektronca yoğun olması nedeniyle koyu görünmekte olup, mitokondri ve yoğun salgı granülleri göze çarpmaktadır (Şekil 4.38b, 4.40). Previtellojenik oositlerin sitoplazmasında mitokondrilerin sayısı oogonyumdakilere göre arttığı gözlemlendi. Oositlerin çevresini **folikül hücreler** ve bunların ince, yalancı ayak benzeri uzantıları ile kuşatıldığı görüldü. Genelde uzamış şekilleri ile tanımladığımız folikül hücreleri farklı büyüklükte (yaklaşık 2.7x5µm çapında bir nükleus) ve farklı şekilde olabildiği gözlenmiştir (Şekil 4.39b).

P. caerulea'nın ovaryumunun ince kesitleri incelendiğinde yaklaşık 24x31µm çapında olan previtellojenik oosit, geç vitellojenik oosite (45x72µm) yakın konumlanmıştır. Oldukça büyük bir nükleusa sahip, bir veya iki tane nükleolusu (3µm) elektronca daha yoğun görünmektedir. Sitoplazmasında az sayıda lipid granülü (0.7µm) ve yumurta sarısı proteini (0.4µm) ve mitokondriler (0.8µm) bulunmaktadır (Şekil 4.41).

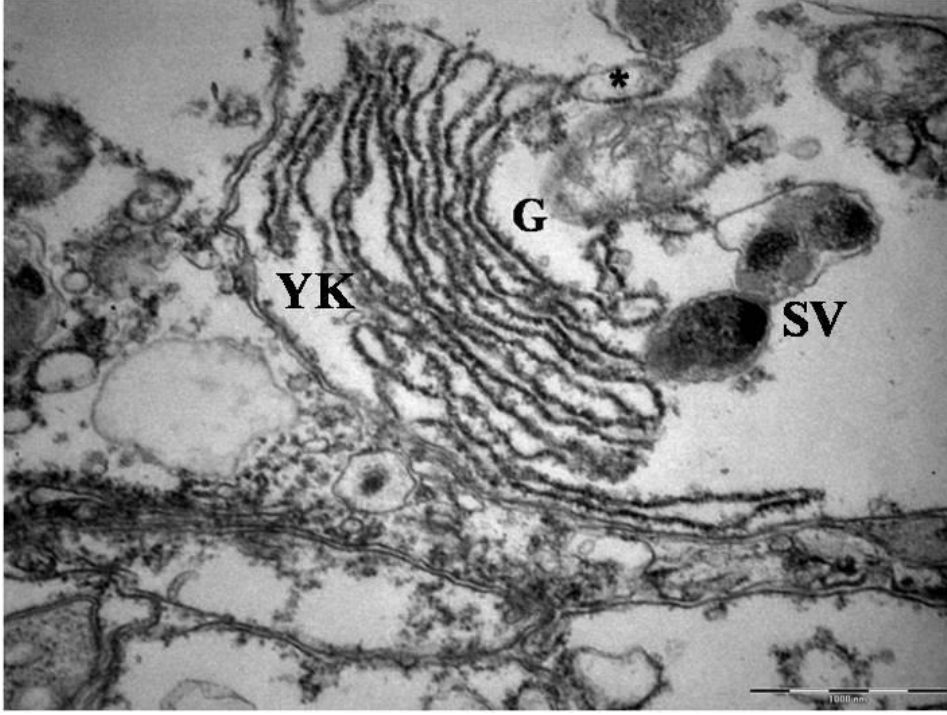


Şekil 4.40. *P. rustica* oogenezinde previtellojenik oosit (PvO) yapısı, nükleus (N) ve nükleolus (Nu), salgı granülleri (*), mitokondri (M) ve foliküler hücre (FH), ok: salgı granül grupları (Bar: 5µm)



Şekil 4.41. *P. caerulea*'da ovaryum yapısı a.; yarı ince kesiti; folikül hücreleri (ok) TM, (Bar: 20µm), b: previtellojenik oositin ayrıntılı yapısı, L: lipid ve Y: yumurta sarısı proteini, M: mitokondri, previtellojenik oosit (PvO), ve geç vitellojenik oosit (GvO) yapısı, JÖ: jelati örtü, KG: kortikal granül (Bar: 5µm)

Previtellojenik oositlerin sitoplazmasında golgi aygıtları yassı kesecikler gözlenmiş olup, yassı kesecikler uç bölgede şişkinleşmiş ve salgı içeren vakuoller dikkati çekmektedir (Şekil 4.42).



Şekil 4.42. *P. caerulea* ovaryumunda previtellojenik oosit sitoplazmasında golgi kompleksi (G). *: salgı keseleri, YK: yassı kesecikler, SV: salgı vakuölü (Bar: 1µm)

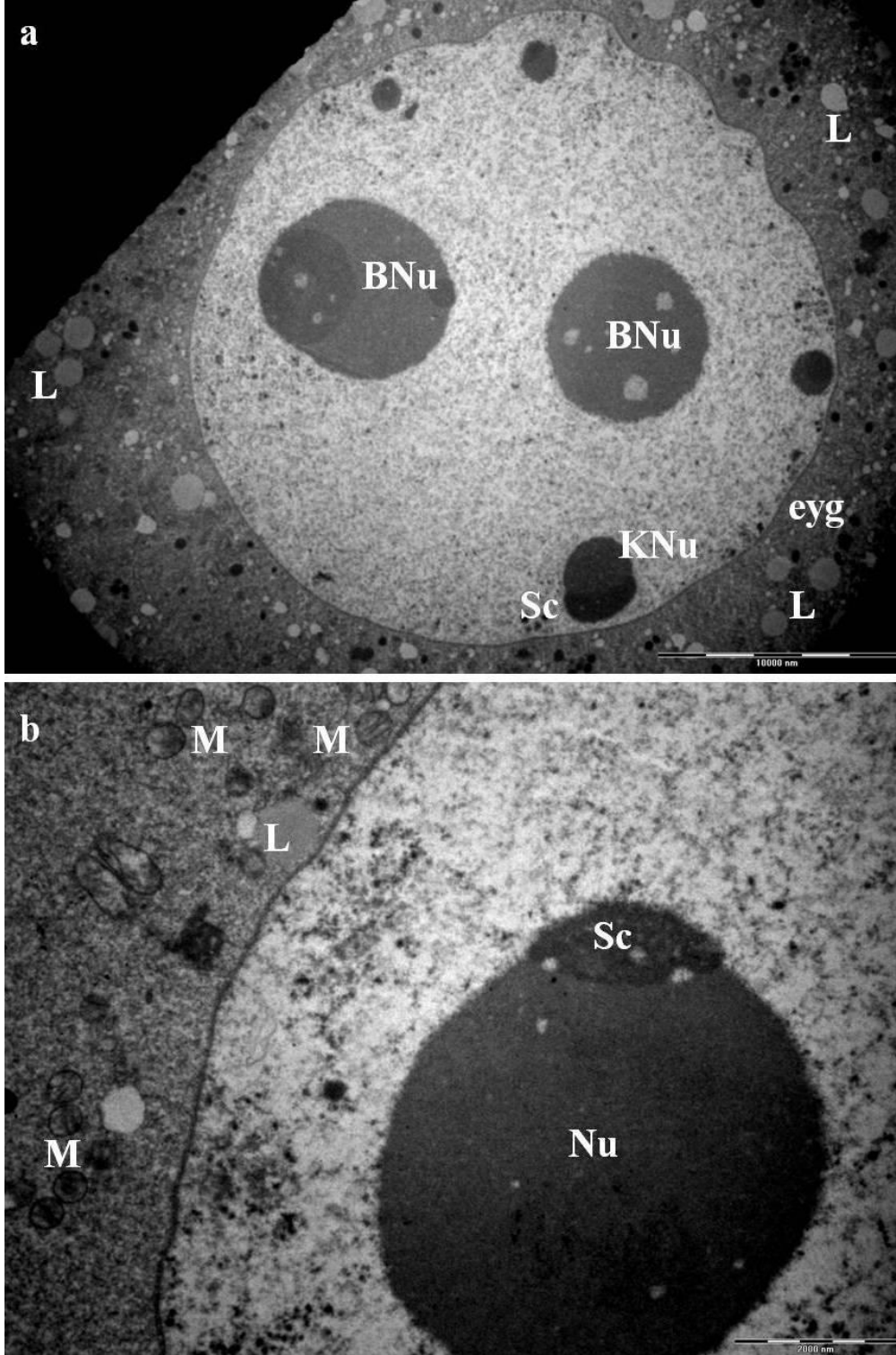
Vitellojenik oositler gelişim durumlarına, nükleus materyallerinin ve sitoplazmalarının yoğunluklarına bağlı olarak erken ve geç vitellojenik olarak ayırt edilmişlerdir.

P. rustica'da erken vitellojenik oositler, geniş ve yuvarlak nükleusa sahip olup, nükleoplazma içerisine heterokromatin madde saçılmış durumundadır (Şekil 4.48a). Oositler büyümeye başladıkça, nükleus genişlemekte (27µm) ve birden fazla nükleolus içermektedirler ve bazı oositlerde iki büyük (8 µm), bir veya iki küçük nükleolus (3µm) bulunduğu gözlenmiştir (Şekil 4.43a). Erken vitellojenik oositin nükleolusunun yüzeyinde 1.1x2.3µm çapında sarmal cisim özellikli yapılar rastlanmıştır ve bu yapı nükleolusla daha koyu elektron yoğunluğa sahiptir (Şekil 4.43b). Bazı küçük nükleoluslar da sarmal cisim benzeri yapılarla ilişkilidir. Böylece nükleolusun granüler ve fibriller yapısı ortaya çıkmıştır (Şekil 4.43).

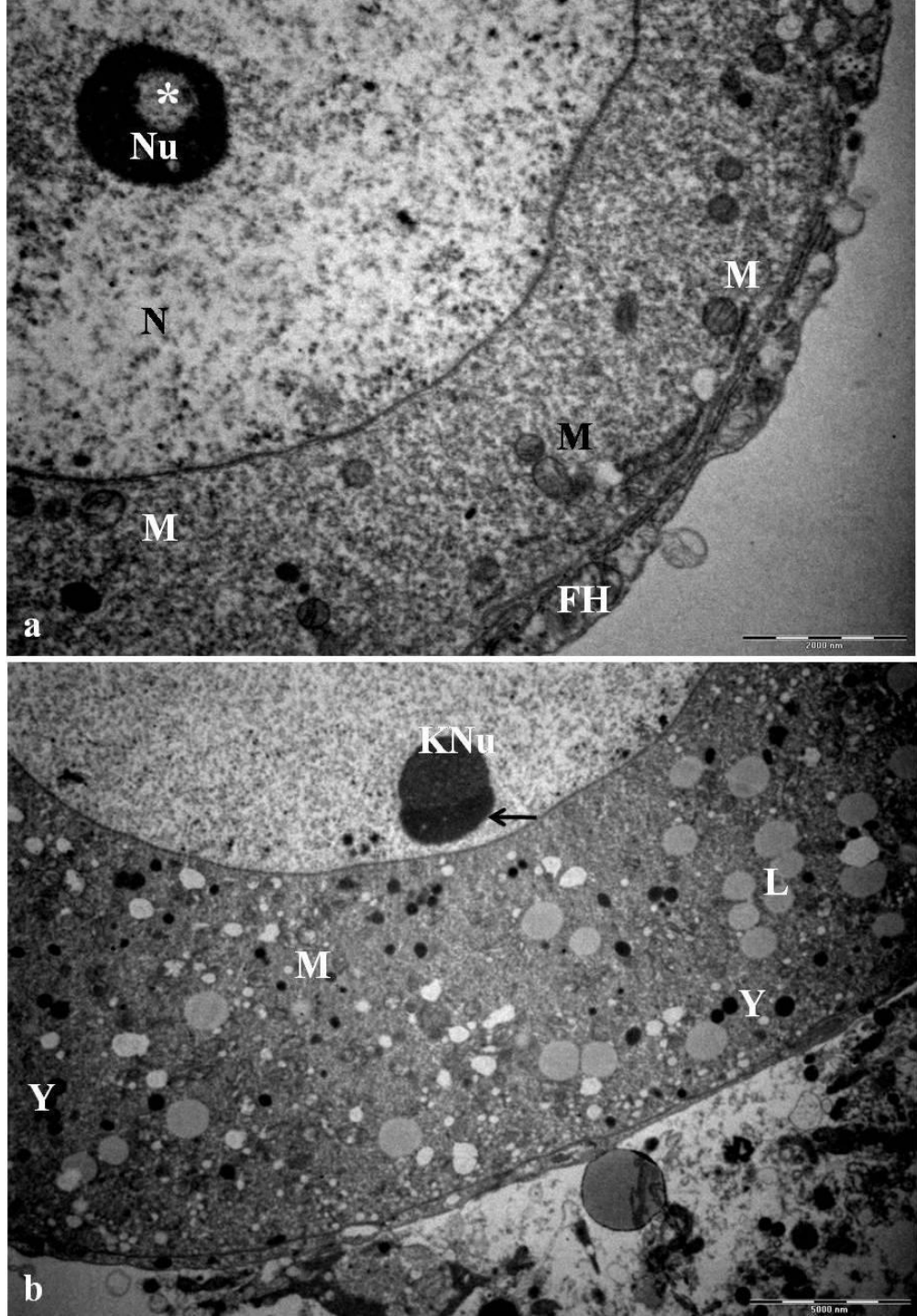
P. rustica'da erken vitellojenik oositin sitoplazmasında farklı büyüklükte mitokondriler (yaklaşık 0.5µm çapında), yumurta sarısı proteinleri ve lipid granülleri sayıca artmıştır (Şekil 4.44b). Vitellojenik hücreler büyümeye başladıkça nükleolus genişler ve iki parçalı hale gelir. İçte fibrilli bir çekirdek varken dışta granüler kabuk

bulunmaktadır. Fibrilli kısmın, granüllü kısma göre elektronca daha az yoğun olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.44a). Geç vitellojenik oositin sitoplazmasındaki yumurta sarısı proteini ve lipid granülleri yoğunluğunun arttığı gözlenmiştir (Şekil 4.50, 4.51, 4.52a, 4.53).

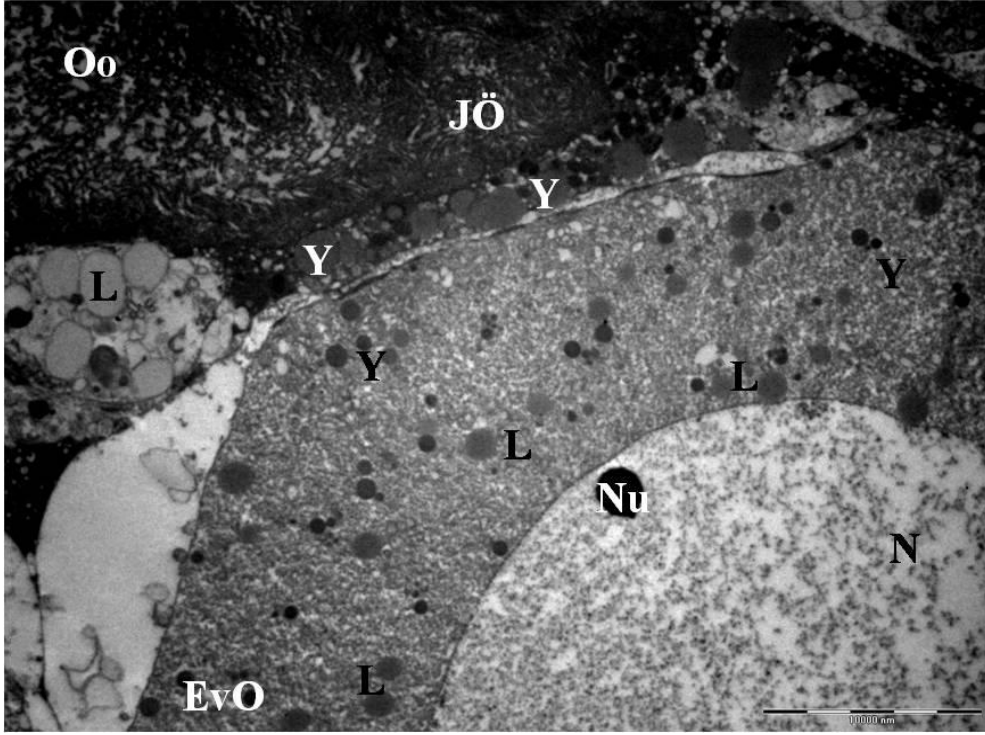
P. caerulea türünde yaklaşık 32x45µm çapında olan erken vitellojenik oositler nükleusları kromatin materyalce zengin olup küçük bir nükleolusu (2,3µm) vardır. Sitoplazmasında seyrek olarak glikojen (1µm) ve lipid (1,6µm) granülleri dağılım göstermektedir (Şekil 4.45). Nükleoplazma içerisine heterokromatin materyal saçılmış olup fibrilli yapı özelliği de gözlenmiştir. Sitoplazmalarında nükleoplazmaya yakın konumlu bol miktarda mitokondri bulundurmaktadırlar (Şekil 4.45, 4.46, 4.47).



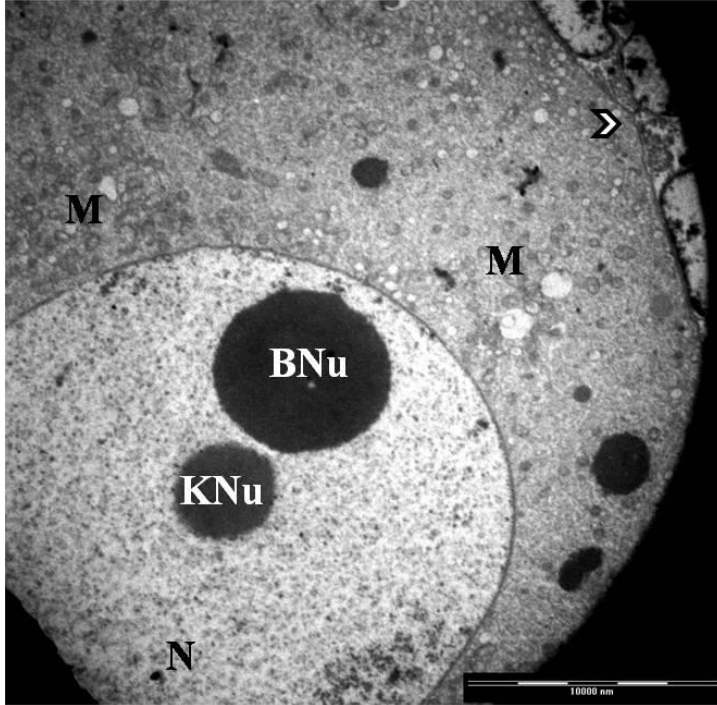
Şekil 4.43. *P. rustica* oogenezinde erken vitellojenik oositler, a: nükleolus sayısında artış (Bar: 10 μ m) b: ayrıntılı nükleolus (Nu) ve sitoplazma yapısı. BNu/KNu: büyük/küçük nükleolus, Sc: sarmal cisim, M: mitokondri, L: lipid granülü (Bar: 2 μ m)



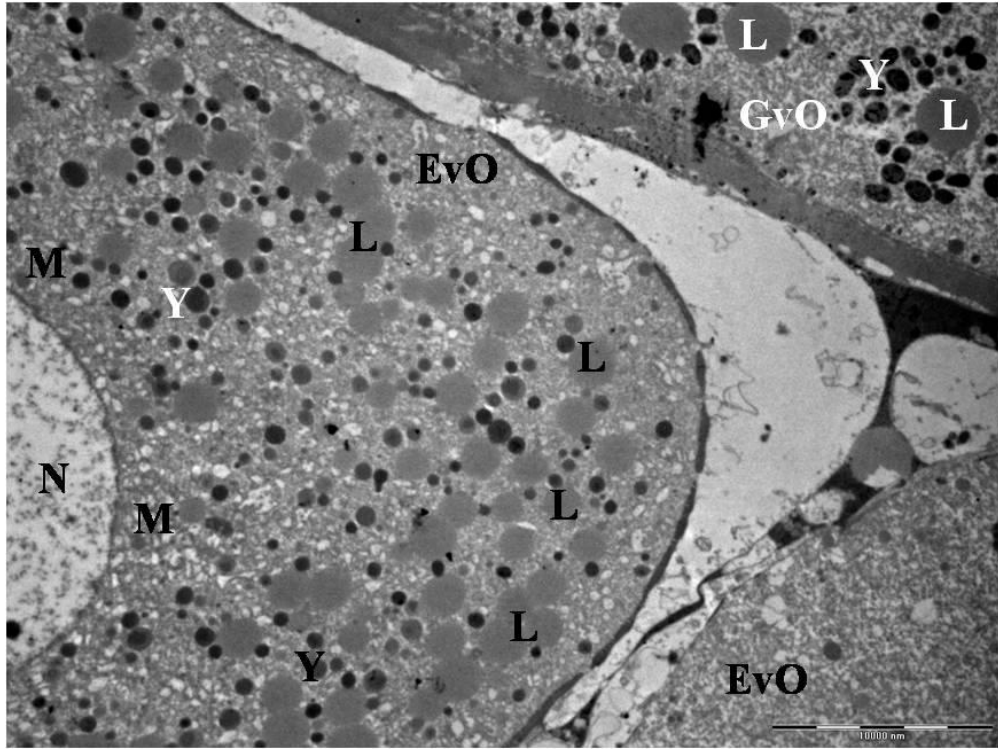
Şekil 4.44. *P. rustica* oogenezinde erken ve geç vitellojenik oositler, a: erken vitellojenik oosit nükleusu (N), nükleolusu (Nu), elektronça az yoğun bölge (*) ve mitokondriler (M), (Bar: 2 μ m), b: geç vitellojenik oosit, küçük nükleolusa (KNu) yapışmış sarmal cisim (Sc), L: lipid, Y: yumurta sarısı proteini, M: mitokondri, ok: sarmal cisim (Bar: 5 μ m)



Şekil 4.45. *P. caerulea* vitellogenezinde erken vitellojenik oosit (EvO), Oo: olgun oosit, N: nükleusu, Nu: nükleolus, L: lipid, Y: yumurta sarısı proteini, JÖ: jelatin örtü (Bar: 10µm)



Şekil 4.46. *P. caerulea* vitellogenezinde erken vitellojenik oosit (EvO), N: nükleus, BNu: büyük nükleolus, KNu: küçük nükleolus, M: mitokondri, ok: oolemma (Bar:10µm)



Şekil 4.47. *P. caerulea* vitellogenezinde erken (Evo) ve geç vitellojenik oosit (GvO) yapısı, N: nükleus, M: mitokondri, Y: yumurta sarısı proteini, L: lipid granülü (Bar: 10µm)

P. rustica'nın geç vitellojenik oositi yaklaşık 30x60µm çapında olup oval bir nükleusa ve büyük bir nükleolusa sahiptir. Jelatin örtü gelişmiş oositdekine göre daha ince olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.48a,b).

P. rustica'da postvitellojenik oositlerin çapları yaklaşık 85-165µm arasında değişmekte olup, nükleuslarının çapı ise 30-60µm'dir (Şekil 4.49). Oositler iyice olgunlaşmaya başladıklarında jelatin örtü kalınlaşmaktadır (7-9µm). Farklı olgunluklar ve büyüklüklerdeki oositlerin jelatin kılıfları birbirleri ile yakın konumlu görünmektedirler (Şekil 4.50).

Postvitellojenik oositlerin nükleusları bir veya iki tane nükleolus (yaklaşık 8µm) içerebilmektedir. Oositlerin sitoplazmasında yumurta sarısı proteini ve lipid tanecikleri bol miktarda dağılım gösterdiği yarı ince kesitte de görülmektedir (Şekil 4.49, 4.50). *P. rustica*'nın postvitellojenik oositin yarı ince kesitinde oval nükleusunda irili (15µm) ufaklı (8µm) yapısı granüllü olan iki tane nükleolus görünmekte olup sitoplazma tamamen yumurta sarısı proteini (4µm) ve lipid (1,3µm) granülleri ile doludur (Şekil 4.53).

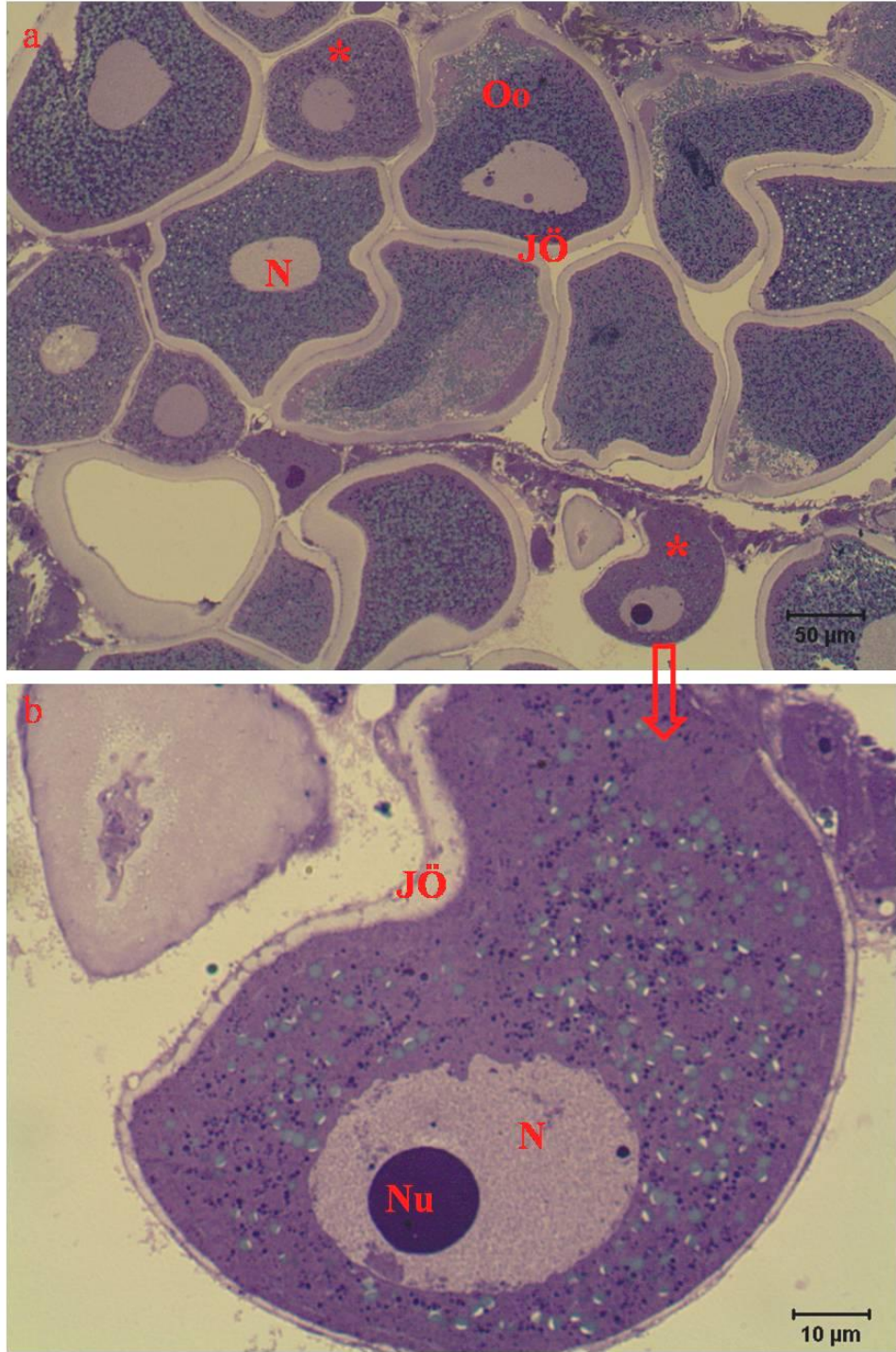
Lipid granülleri daha açık renkte boyanma özelliği gösterirken yumurta sarısı proteinleri daha koyu renkte görünmektedir (Şekil 4.50, 4.51, 4.52, 4.53).

P. rustica'nın ovaryumunda postvitellojenik oositlerde sayısız mikrovillus vitellin örtüye gömülmüş bir şekilde konumlanmıştır. Mikrovillusların serbest uçları,

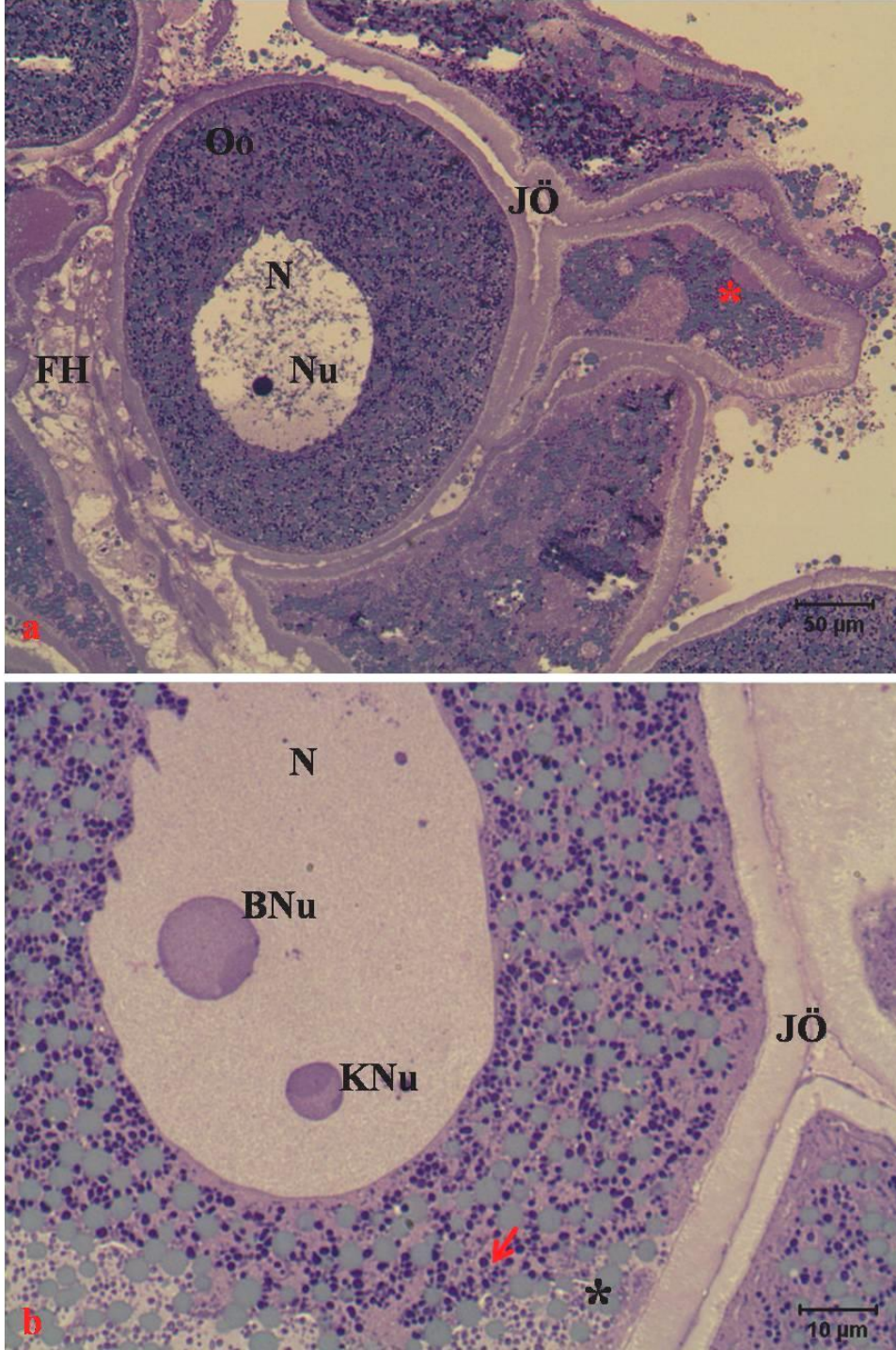
vitellin örtüden dışarıya doğru çıkmaktadır (Şekil 4.51). Postvitellojenik oositlerin ooplazmasında, tüm sitoplazmaya dağılmış, çok sayıda lipid, yumurta sarısı proteini ve yumurta zarına yakın konumlu kortikal granüller (0,3x0,6µm) yer almaktadır (Şekil 4.50,4.51). İrili ufaklı mitokondriler özellikle perinükleer alanda bol miktarda bulunmaktadır. Jelatin örtü bütün postvitellojenik evredeki oositlerde mevcuttur (Şekil 4.50, 4.51).

Postvitellojenik oositlerin nükleusları oldukça geniştir ve nükleolusa göre daha az elektron yoğunluğuna sahip olup, bazılarının nükleolusunda sarmal cisim benzeri yapı konumlanmıştır. Nükleolusun granüllü yapısı çok belirgindir (Şekil 4.52).

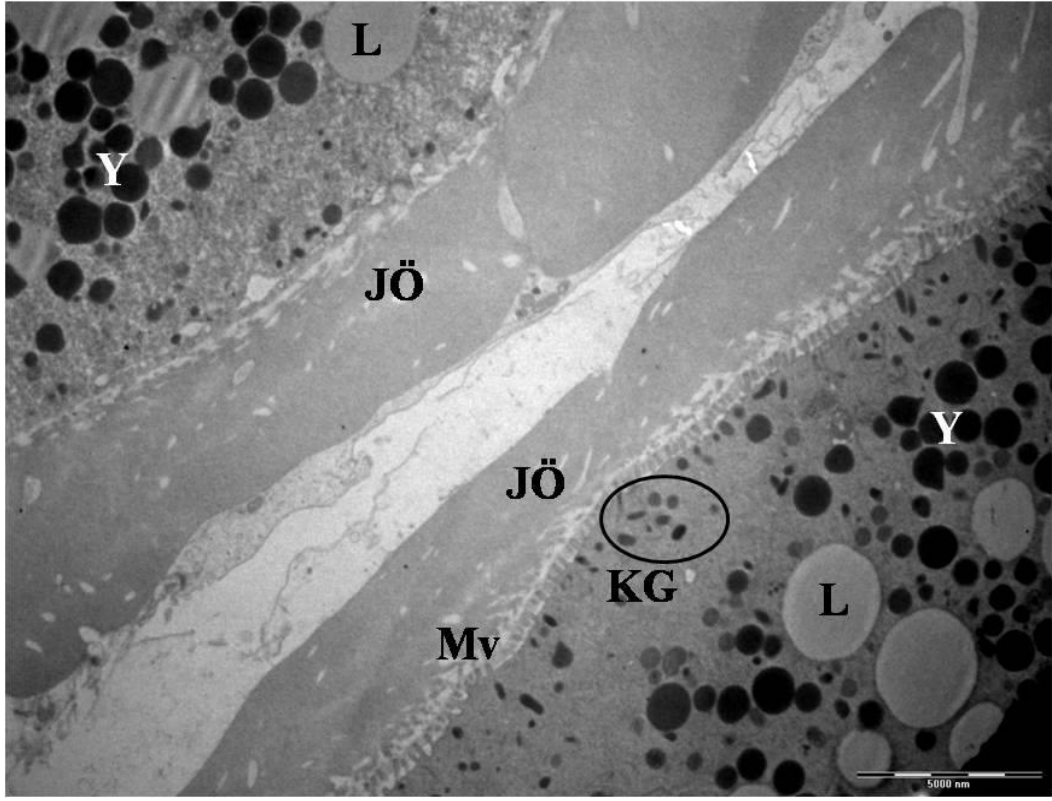
Postvitellojenik oositin sitoplazmasında Balbiani cisimciği gözlemlendi (Şekil 4.51b). Postvitellojenik oositin sitoplazmasında yer alan lipid taneciklerin etrafında ince bir tabaka halinde ve bazen kutup oluşturacak şekilde yığılmış durumda elektronca yoğun glikojen birikimi benzeri yapılar tespit edilmiştir (Şekil 4.53).



Şekil. 4.48. *P. rustica* 'nın ovaryumunun yarı ince kesitinde görüntülenen hücreler, a: olgun oositler (Oo), geç vitellojenik oosit (*) yapısı, jelatin örtü (JÖ), (Bar: 50µm), b: daha büyük büyütmede geç vitellojenik oosit, Nu: nükleolus, N: nükleus TM (Bar: 10µm)

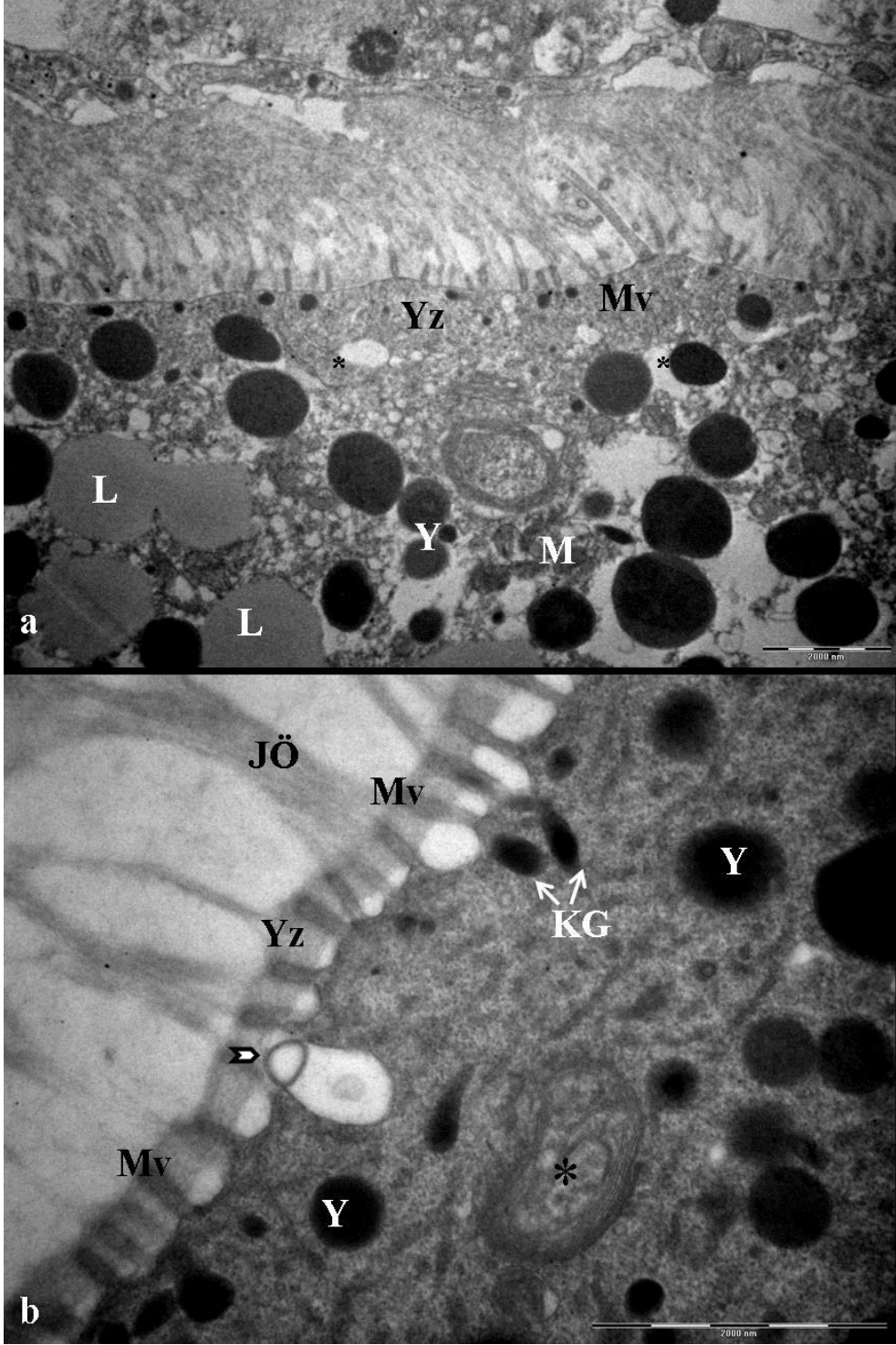


Şekil. 4.49. *P. rustica*'nın olgun ovaryumunda yarı ince kesitinde hücresel yapı. a: olgun oositler (Oo, *), ve yakın konumda folikül hücreleri (FH), N: nükleus, (Bar 50µm), b: postvitellojenik oositin ayrıntılı yapısı, BNu: büyük nükleolus, KNu: küçük nükleolus, ok: yumurta sarısı proteini, *: lipid, Nu: nükleolus, JÖ: jelatin örtü (Bar: 10µm)

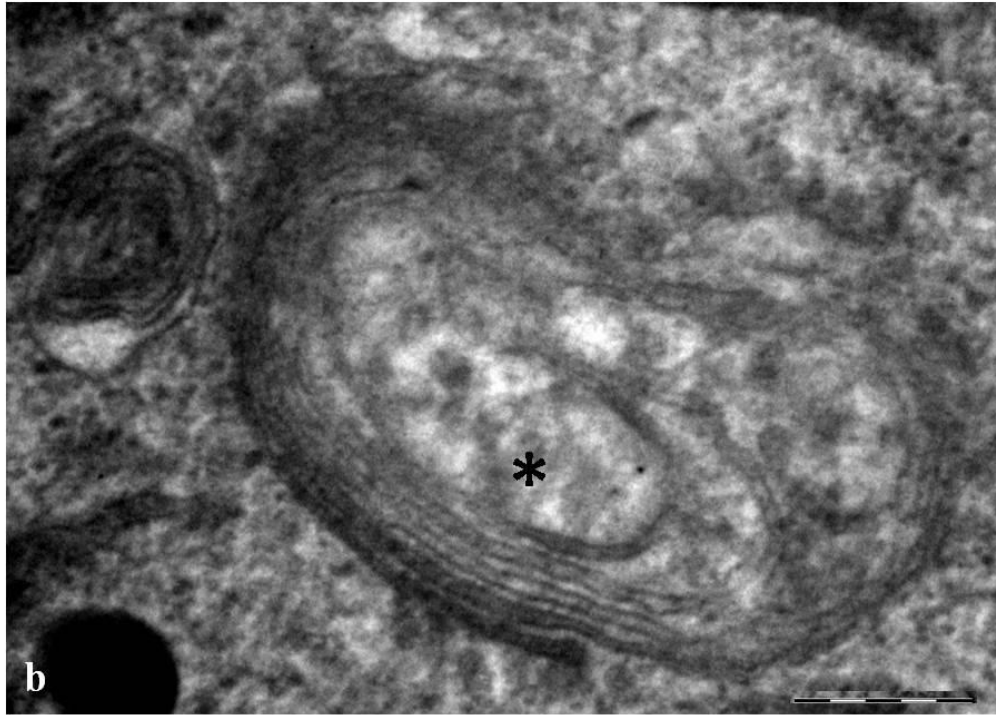
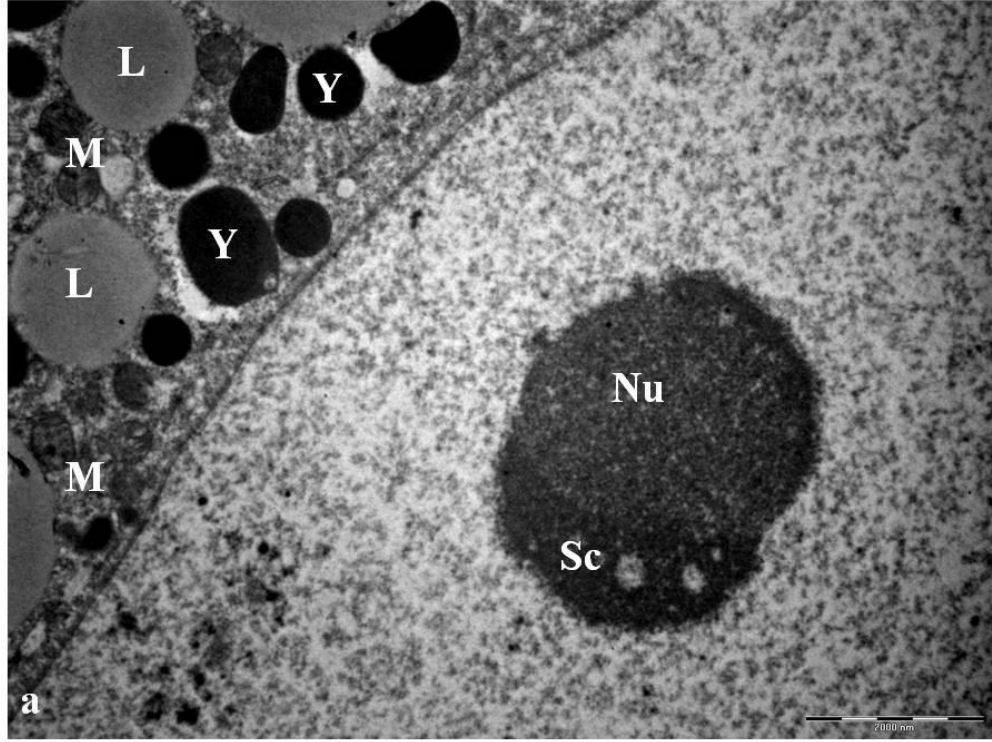


Şekil 4.50. *P. rustica* postvitellogenik oositlerin elektron migrogramı, KG: kortikal granül, L: lipid, Y: yumurta sarısı proteini, JÖ: jelatin örtü, Mv: mikrovilluslar (Bar: 5µm)

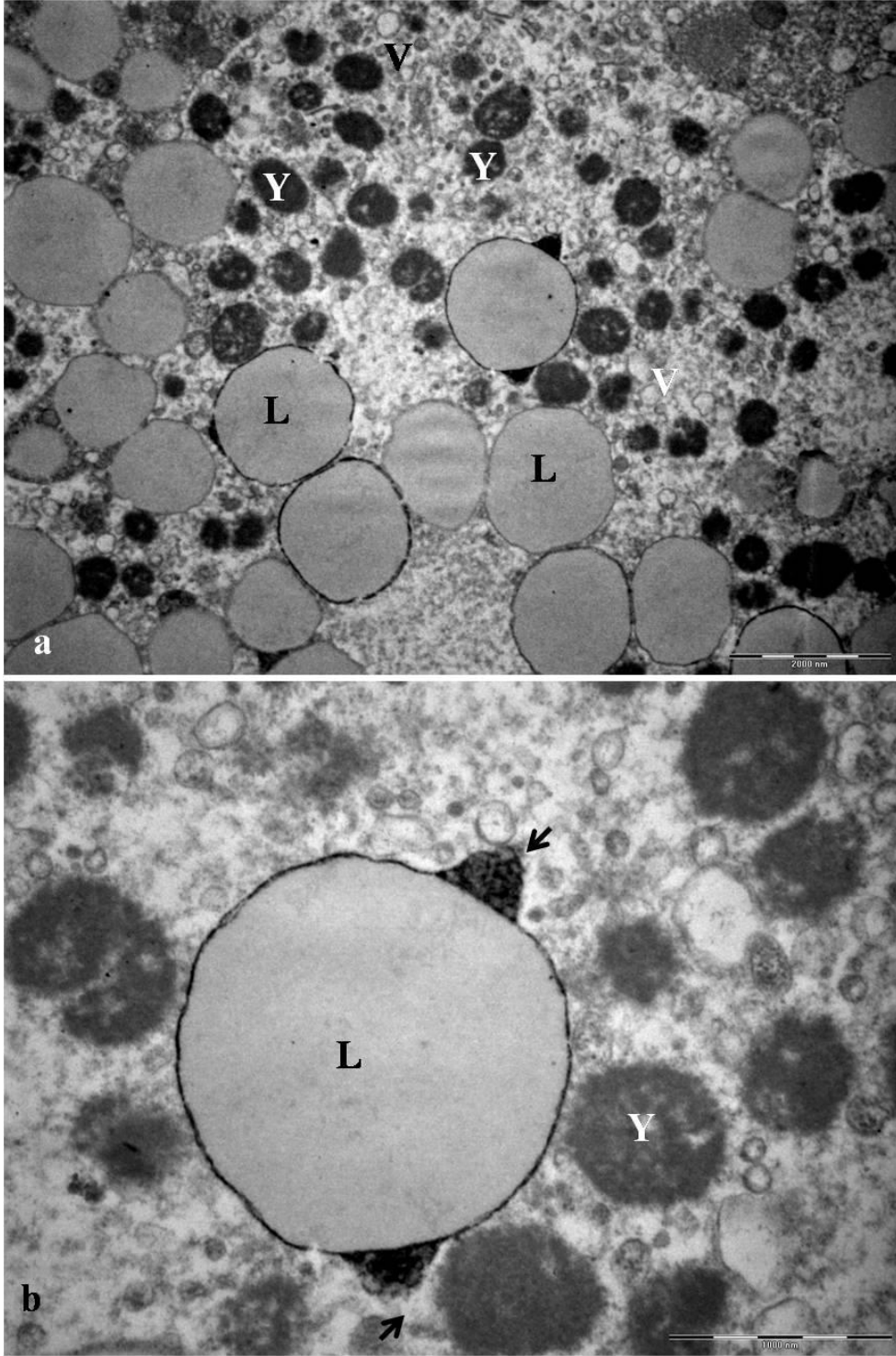
P. rustica'nın olgun evredeki oositlerinde yumurta zarı, iyice belirginleşmiştir. Mikrovilluslar vitellin örtüyü delerek jelatin kılıfa doğru uzanmaktadır ve sitoplazmanın içerisinde içi boşalmış salgı kesesi gözlenmiştir (Şekil 4.51).



Şekil 4.51. *P. rustica* olgun oositinin ayrıntılı periferik yapısı. a: hücrenin sitoplazmik ve zar farklılaşmaları, Yz: yumurta zarı, Mv: mikrovillusları, Pz: plazma zarı, ok: kortikal granüller, JÖ: jel örtü, Y: yumurta sarısı proteini, L: lipid, M: mitokondri, b: büyük büyütmede oosit periferi, KG: kortikal granül, *:endoplazmik retikulum, ok: içi boşalmış salgı kesesi (Bar: 2µm)



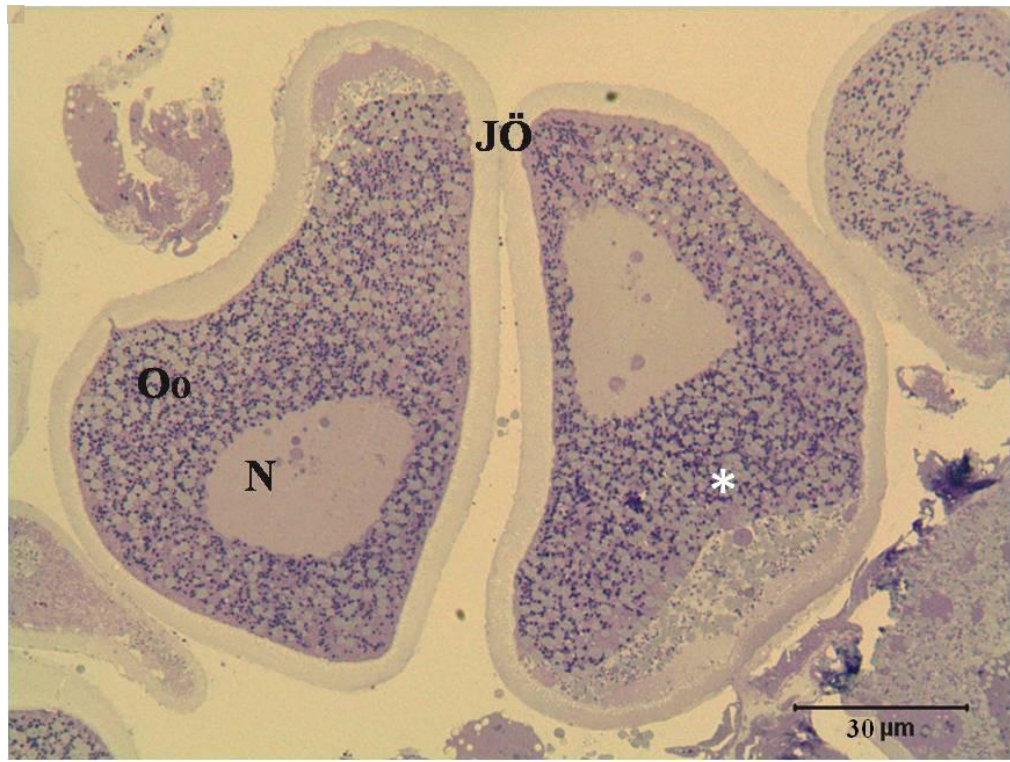
Şekil 4.52. *P. rustica*'da postvitellogenik oosit yapısı, a: hücre nüklear bölgesi. Nu: nükleolus, Sc: sarmal cisim, L: lipid, Y: yumurta sarısı proteini, M: mitokondri, (Bar: 2µm), b: postvitellogenik oositin sitoplazmasında Balbiani cisimciği (*) (Bar: 1µm)



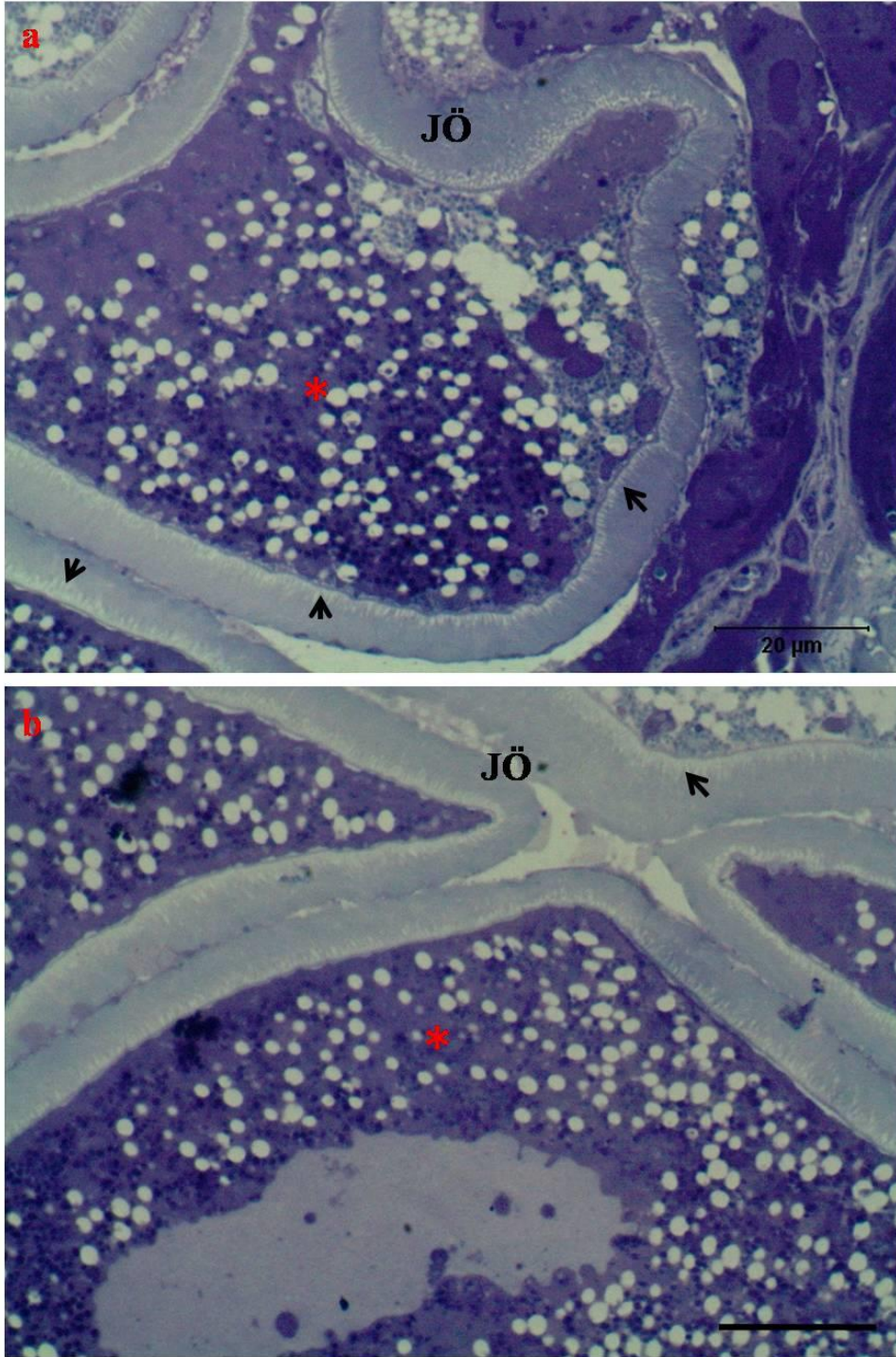
Şekil 4.53. *P. rustica*, olgun oosit sitoplazması, a: sitoplazmada dağılım gösteren lipid (L), yumurta sarısı proteini (Y) , vakuol (V), (Bar: 2 μ m), b: lipid granülü çevresinde konumlanmış olan elektronca yoğun glikojen birikimi (ok) (Bar: 10 μ m)

P. caerulea'nın ovaryumunun yarı ince kesitleri incelendiğinde, yaklaşık 120x190µm çapında postvitellojenik oositler gözlenmiştir. Oositlerin ovalimsi bir nükleusları (40x60µm) vardır. Olgun oositlerde jelatin kılıf belirgin olarak görülmektedir (Şekil 4.54). *P. rustica*'da olgun oositin sitoplazmasında bulunan lipid granüllerinde elektronce yoğun glikojen birikimleri ve yumurta sarısı proteinlerinin de glikojen içerikli olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.53). Oositin sitoplazması tamamen yumurta sarısı proteini (yaklaşık 1µm çapında) ve lipid tanecikleriyle (1.5-3µm çapında) doludur (Şekil 4.54, 4.55).

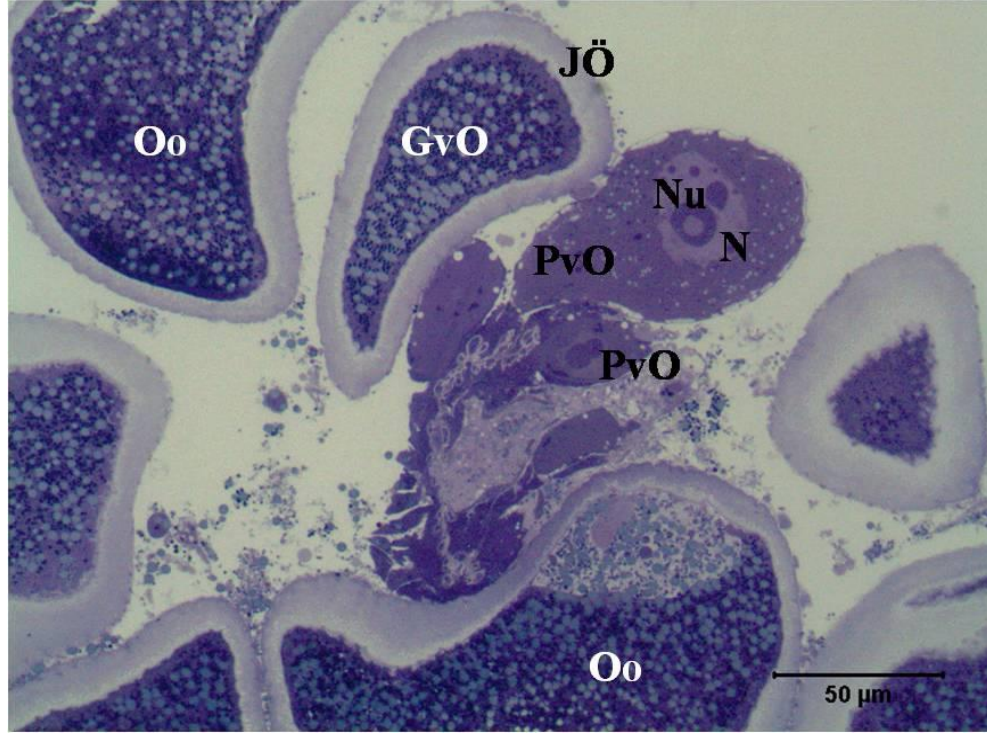
Postvitellojenik oositi çevreleyen yumurta zarından jelatin kılıfa (yaklaşık 8µm kalınlığında) doğru uzanan mikrovilluslar daha fazla büyümeli mikrograflarda belirgin olarak görülmüştür. (Şekil 4.55). Postvitellojenik oositler, jelatin örtüleri ile birbirlerine yakın konumlu görünmektedirler (Şekil 4.55b).



Şekil 4.54. *P. caerulea*'nın ovaryumunun yarı ince kesiti, olgun oositler (Oo), JÖ: jelatin örtü, *: yumurta sarısı proteini ve lipid tanecikleri, TM (Bar: 30µm)



Şekil 4.55. *P. caerulea*'nın ovaryumunda postvitellojenik oositin yarı ince kesiti, a-b: jelatin örtü (JÖ), sitoplazmaya dağılmış yumurta sarısı proteini ve lipid tanecikleri (*), mikrovilluslar (ok), TM (Bar: 20µm)

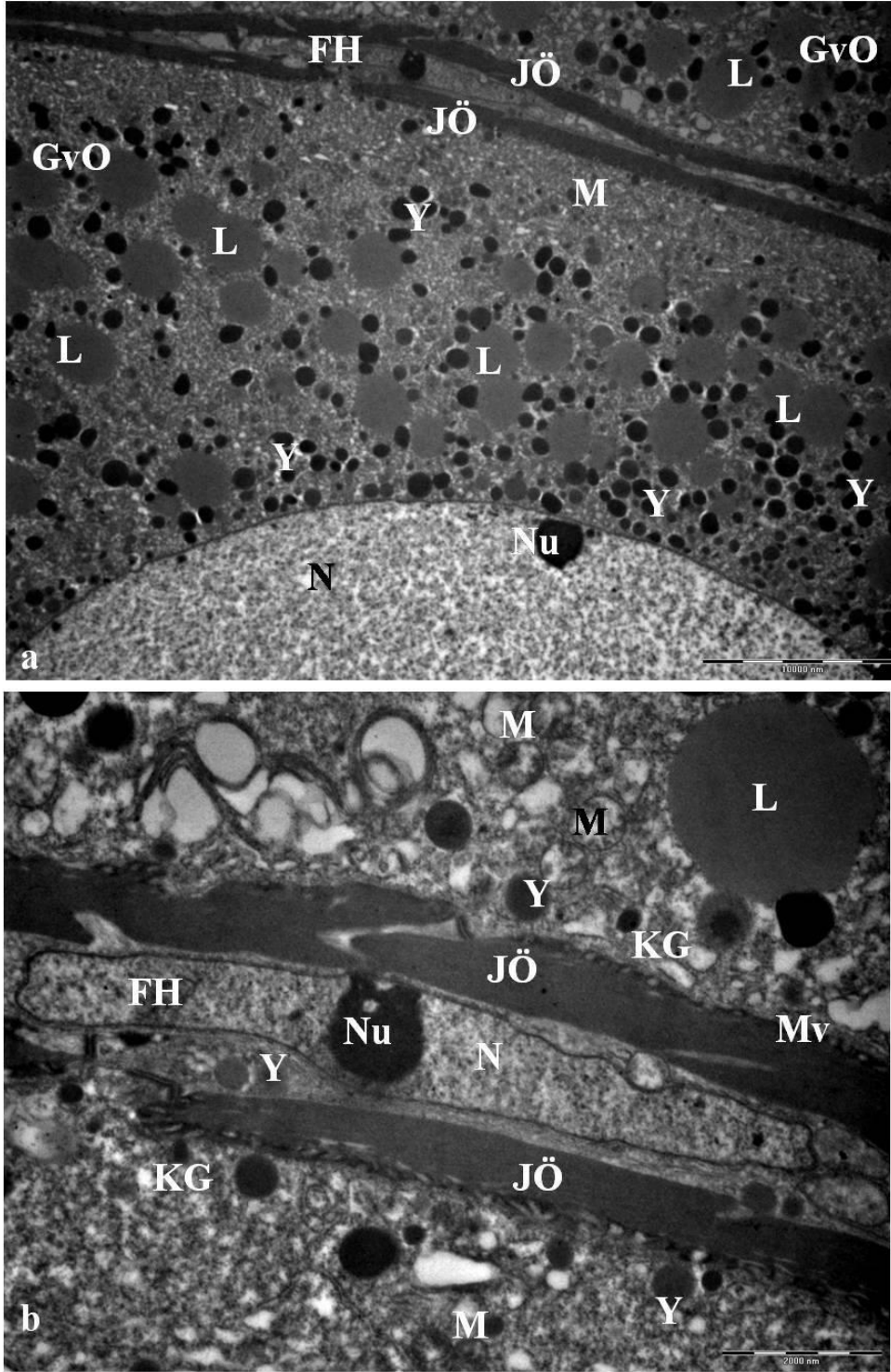


Şekil 4.56. *P. caerulea*'nın ovaryumunda birbirlerine yakın konumlu olgun oositler (Oo) ve geç vitellojenik oositler (GvO), previtellojenik oositler (PvO), N: Nükleus, Nu: nükleolus (Bar: 50µm)

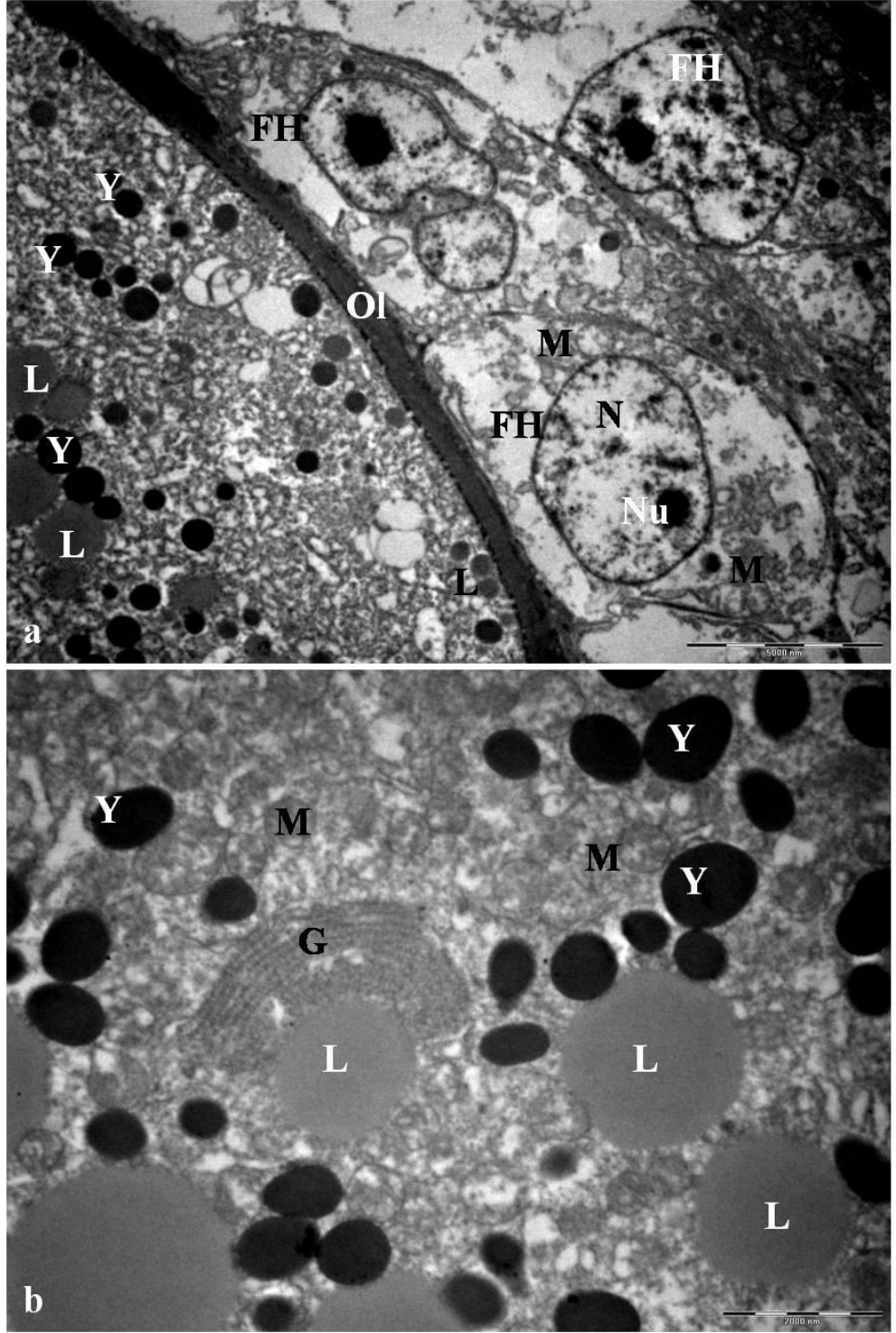
P. caerulea'nın ovaryumunda farklı gelişim aşamalarında bulunan previtellojenik, geç vitellojenik, postvitellojenik oositler birbirlerine yakın konumlu bulunmaktadır (Şekil 4.56).

Postvitellojenik oosit, olgun oositlere yakın konumlanmış olup jelatin kılıflarının geliştiği gözlenmiş olup, olgun oositte de jelatin kılıf kalınlaşmıştır (Şekil 4.54, 4.55).

P. caerulea'nın geç vitellojenik oositlerinin nükleoplazmaları kromatin materyali bakımından oldukça zengindir. Oositlerin gelişmesiyle birlikte sitoplazmalarında lipid granülleri ve yumurta sarısı proteininin sayıca arttığı ve jelatin kılıfın da kalınlaşmaya başladığı gözlenmiştir (Şekil 4.54). Bazı geç vitellojenik oositlerin arasında iyice uzamış nükleusu (1.5x10µm) ve belirgin nükleolusu (1.4 µm) ile dikkat çeken yassı folikül hücreleri bulunmaktadır (Şekil 4.57). Geç vitellojenik oositin sitoplazmasında oolemmaya yakın konumlanmış çeşitli büyüklük ve şekillerde folikül hücreleri bulunmaktadır (Şekil 4.58a).



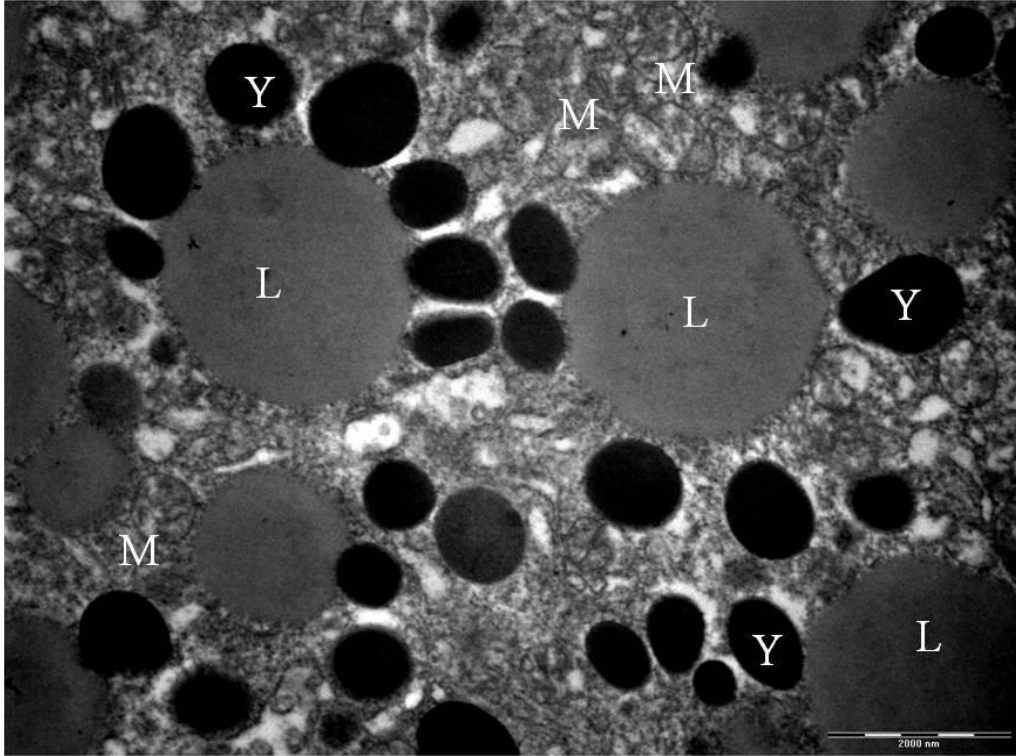
Şekil 4.57. *P. caerulea* geç vitellojenik oositin (GvO) oblik kesiti, a: geç vitellojenik oositin ayrıntılı yapısı (Bar: 10µm), b: geç vitellojenik oositlerin arasında yassı folikül hücresi (FH). KG: kortikal granül, N: nükleus, Nu: nükleolus, L: lipid, Y: yumurta sarısı proteini, JÖ: jelatin örtü (Bar: 2µm)



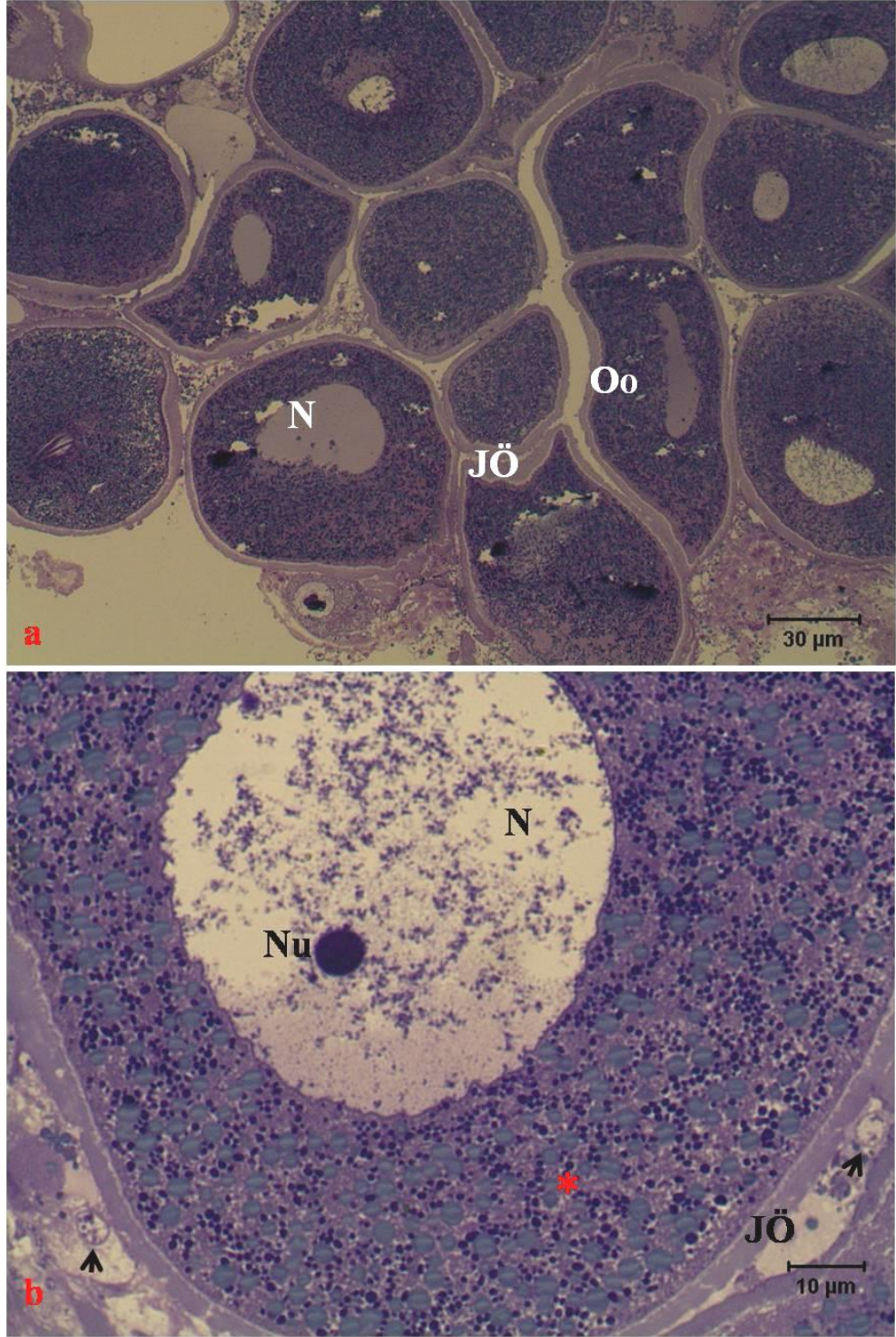
Şekil 4.58. *P. caerulea* geç vitellojenik oosit EM mikrografı, a: geç vitellojenik oosit oolemmasına (Ol) yakın konumlanmış folikül hücreleri (FH), (Bar: 5µm) b: geç vitellojenik oositin ayrıntılı sitoplazma yapısı. G: golgi kompleksi, L: lipid, Y: yumurta sarısı proteini, N: nükleus, Nu: nükleolus (Bar: 2µm)

P. caerulea'nın postvitellojenik oositlerinin sitoplazmasında irili ufaklı çok sayıda mitokondri ve yumurta sarısı proteini (yaklaşık 1µm çapında) ve lipid granülleri (1,9µm) bulunmaktadır. Lipid granüllerinin çevresinde halkasal bir yoğunluk gözlenmemiştir. Ancak lipidlerin çevresi düzgün dizilimli olan yumurta sarısı protein granüllerince çevrelendiği gözlenmiştir (Şekil 4.57, 4.58, 4.59).

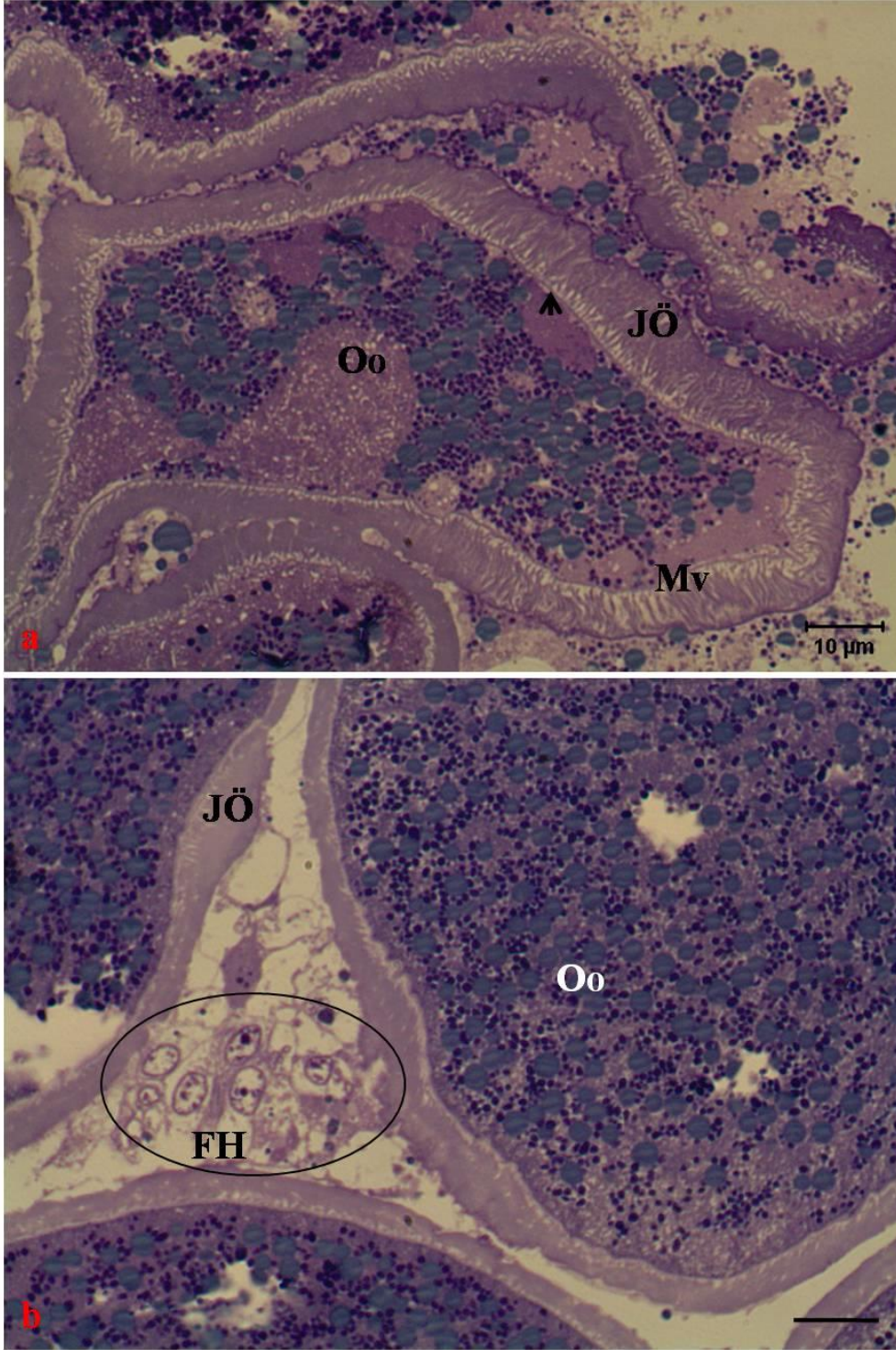
P. ulyssiponensis'in olgun oositi de, belirgin bir nükleus, daha koyu renkli boyanan bir nükleolusa sahiptir. Sitoplazması tamamen, yumurta sarısı proteini ve lipid damlaları ile kaplıdır (Şekil 4.60).



Şekil 4.59. *P. caerulea* ovaryumunda postvitellojenik oosit sitoplazması, Y: yumurta sarısı proteini, L: lipid, M: mitokondri (Bar: 2µm)



Şekil. 4.60. *P. ulyssiponensis*'te gelişmiş ovaryumunun yarı ince kesiti. a: olgun oositler (Oo) (Bar: 30µm), b: olgun oosit ayrıntılı yapısı. N: nükleus, Nu: nükleolus, JÖ: jelatin örtü, *: sitoplazma içerisine dağılmış yumurta sarısı proteini ve lipid granülü, ok: folikül hücreleri (Bar: 10µm)



Şekil. 4.61. *P. ulyssiponensis* ovaryum enine kesitinde olgun oositler (Oo). a: olgun oositin çevresini saran yumurta zarı (ok), mikrovilluslar (Mv), jelatin örtü (JÖ), b: olgun oositlerin çevresinde folikül hücreleri (FH) (Bar: 10µm)

P. ulyssiponensis'in olgun oositinde yumurta zarından çıkan mikrovilluslar jelatin örtüye kadar uzanmaktadır. Oositin olgunluk seviyesine göre jelatin örtünün kalınlığı (6-12µm) değişebilmektedir (Şekil 4.60 4.61).

P. ulyssiponensis'in ovaryumunda olgun oositlerin arasında birbirleriyle bağlantılı farklı büyüklüklerde (2.5-6µm) folikül hücreler (yardımcı hücreler) bulunmaktadır (Şekil 4.61).

P. ulyssiponensis'in postvitellojenik oositinin nükleusu kromatin materyal bakımından zengin olup, nükleolusu elektronca yoğun görünmektedir. Nükleus zarı düzgün bir hat halindedir. Oositin sitoplazmasında; glikojen, lipid, kortikal granüller yaygın halde bulunmaktadır (Şekil 4.62, 4.63). Oosit olgunlaştıkça jelatin örtü ve mikrovilluslar gelişmiş olup ve jelatin örtü kalınlaşmıştır (Şekil 4.62, 4.63).

P. ulyssiponensis'te **postvitellojenik oositin** sitoplazmasında yumurta sarısı proteini (0.8µm), lipid (3µm) granüllerinin sayısı ve büyüklükleri artmıştır. Yumurta zarı kalın bir jel örtü ile çevrelenmiştir (Şekil 4.63ab, 4.64).

P. ulyssiponensis'in postvitellojenik oositin sitoplazmasında özellikle yumurta sarısı proteinlerinin çevresinde farklı büyüklükte mitokondriler yoğun olarak gözlenmiştir (Şekil 4.64a).

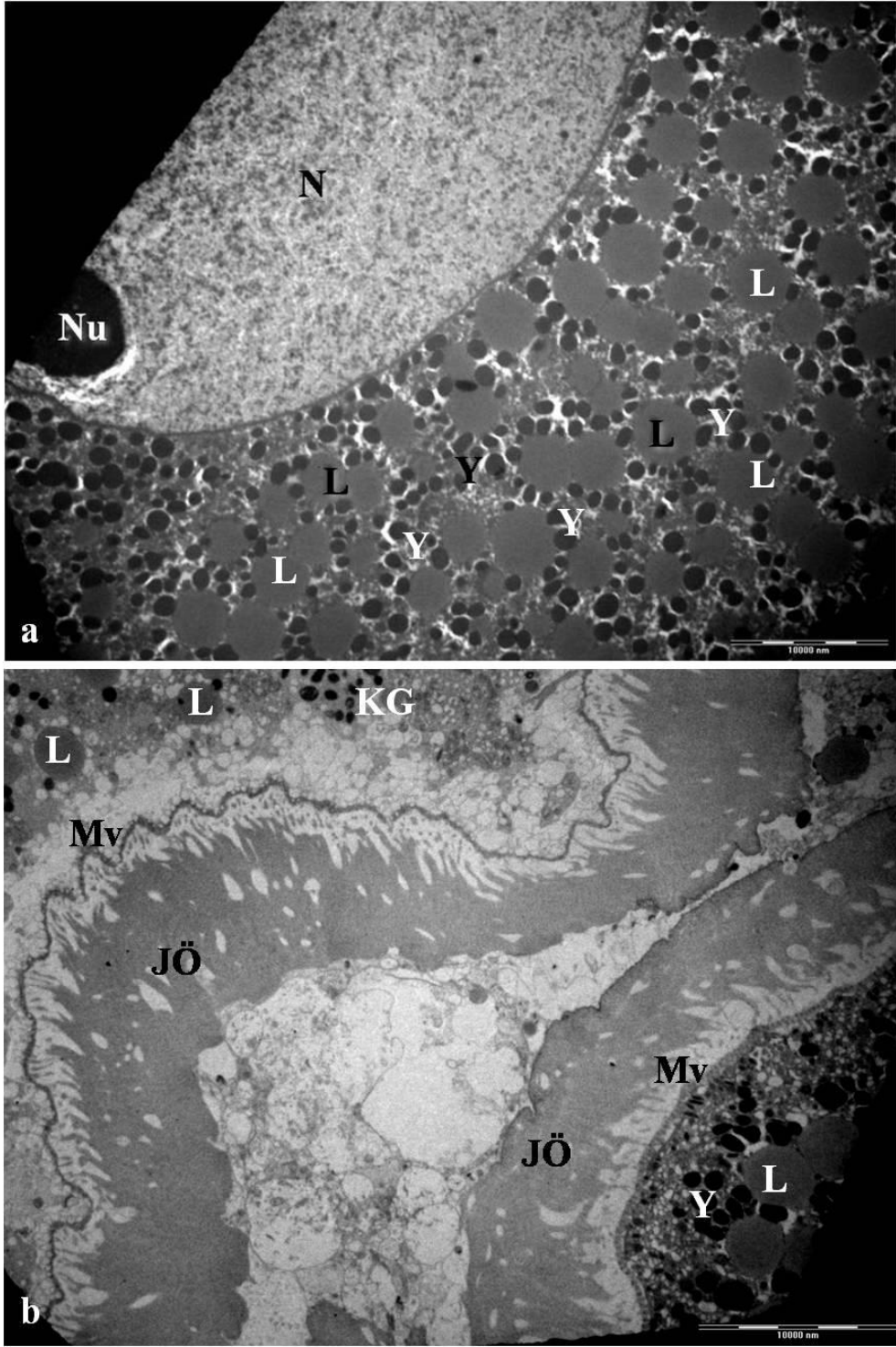
P. ulyssiponensis olgun oositlerindeki yağ damlacıkları etrafında glikojen halkasal yapı bulunduğu gözlenmiştir. Bu yoğunluk damla etrafında düzgün dağılımlı değildir (Şekil 4.63, 4.64b). *P. ulyssiponensis* ovaryumunda olgun oositin jelatin örtüsü dışında dejenere yapılar gözlenmiştir (Şekil 4.65).

Olgun oositte mikrovillusların enine kesitleri ovalimsi ya da yuvarlak görünmektedir (Şekil 4.63b). Olgun oositte yumurta zarından jelatin kılıfa doğru salgı keseciği gözlenmiştir (Şekil 4.64).

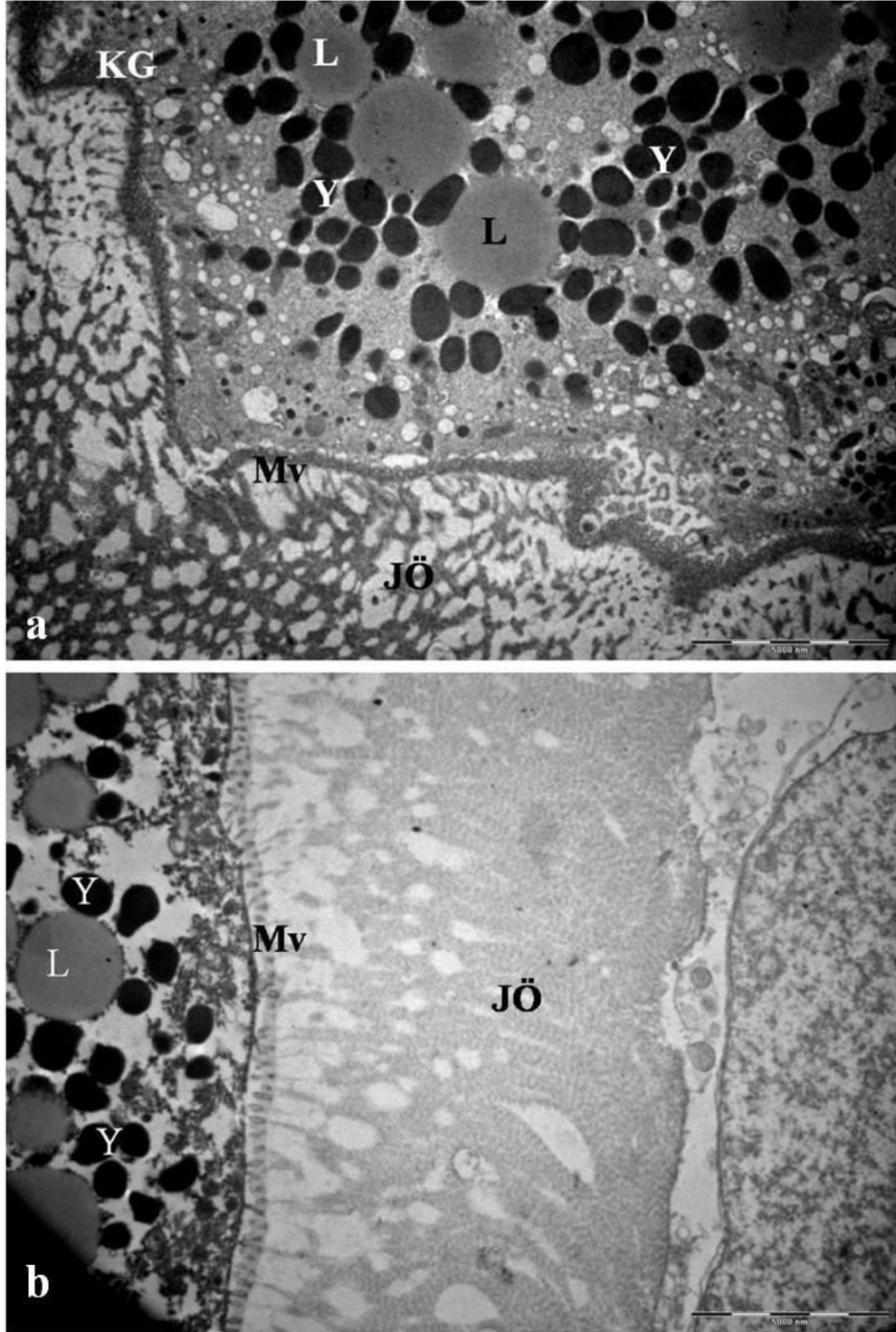
İncelenen üç türün olgun yumurta çapları ölçüldüğünde *P. caerulea*'nın yumurta çapı diğer iki türüne göre daha büyük olup *P. ulyssiponensis*'te en küçük değerde ölçülmüştür (Çizelge 4.3).

Çizelge 4.3. *P. rustica*, *P. caerulea* ve *P. ulyssiponensis* türlerinde ovaryumda oogenez süreçlerine göre oogonyum ve gelişen oositlerin ölçümü

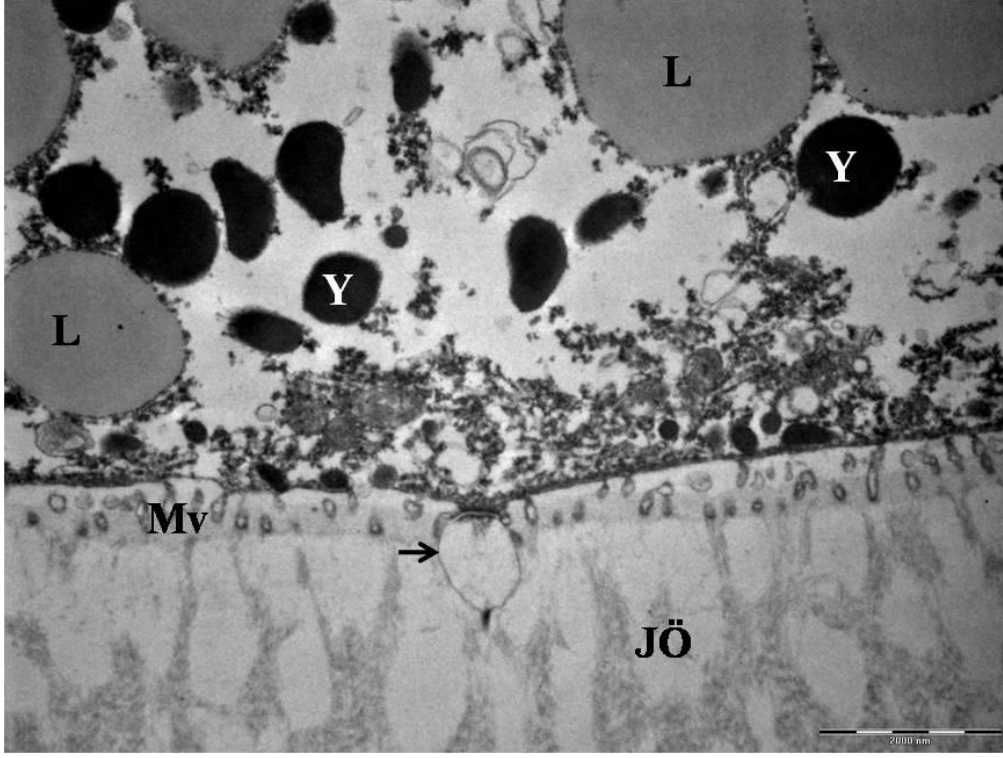
Hücre tipi	<i>P. rustica</i>	<i>P. caerulea</i>	<i>P. ulyssiponensis</i>
Oogonyum	11.3x8.3	-	12x16
Previtellojenik oosit	12x19	24x31	-
Erken vitellojenik oosit	38x42	32x45	23x25
Geç vitellojenik oosit	30x60	45x72	-
Olgun oosit	130x160	120x190	80x140



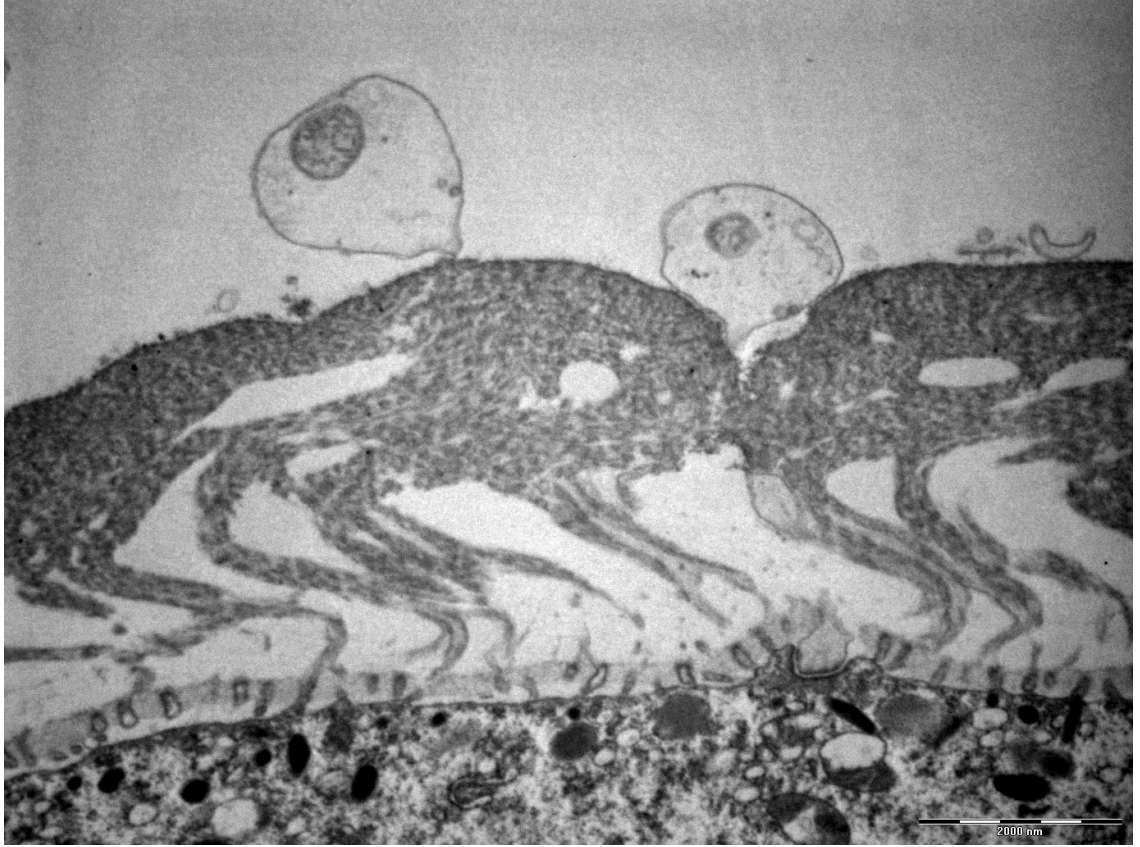
Şekil 4.62. *P. ulyssiponensis* ovaryumunda postvitellogenik oosit, a: olgun oositin ayrıntılı yapısı, b: komşu iki olgun oositin periferel bölgeleri. N: nükleus, Nu: nükleolus, Y: yumurta sarısı proteini, L: lipid, JÖ: jelatin örtü, Mv: mikrovilüs (Bar: 10µm)



Şekil 4.63. *P. ulyssiponensis* ovaryumunda olgun oositin ayrıntılı yapısı, a. enine jelatin örtü, b: boyuna jelatin örtü. Y: yumurta sarısı proteini, L: lipid, KG: kortikal granül, Mv: mikrovillus, JÖ: jel örtü (Bar: 5µm)



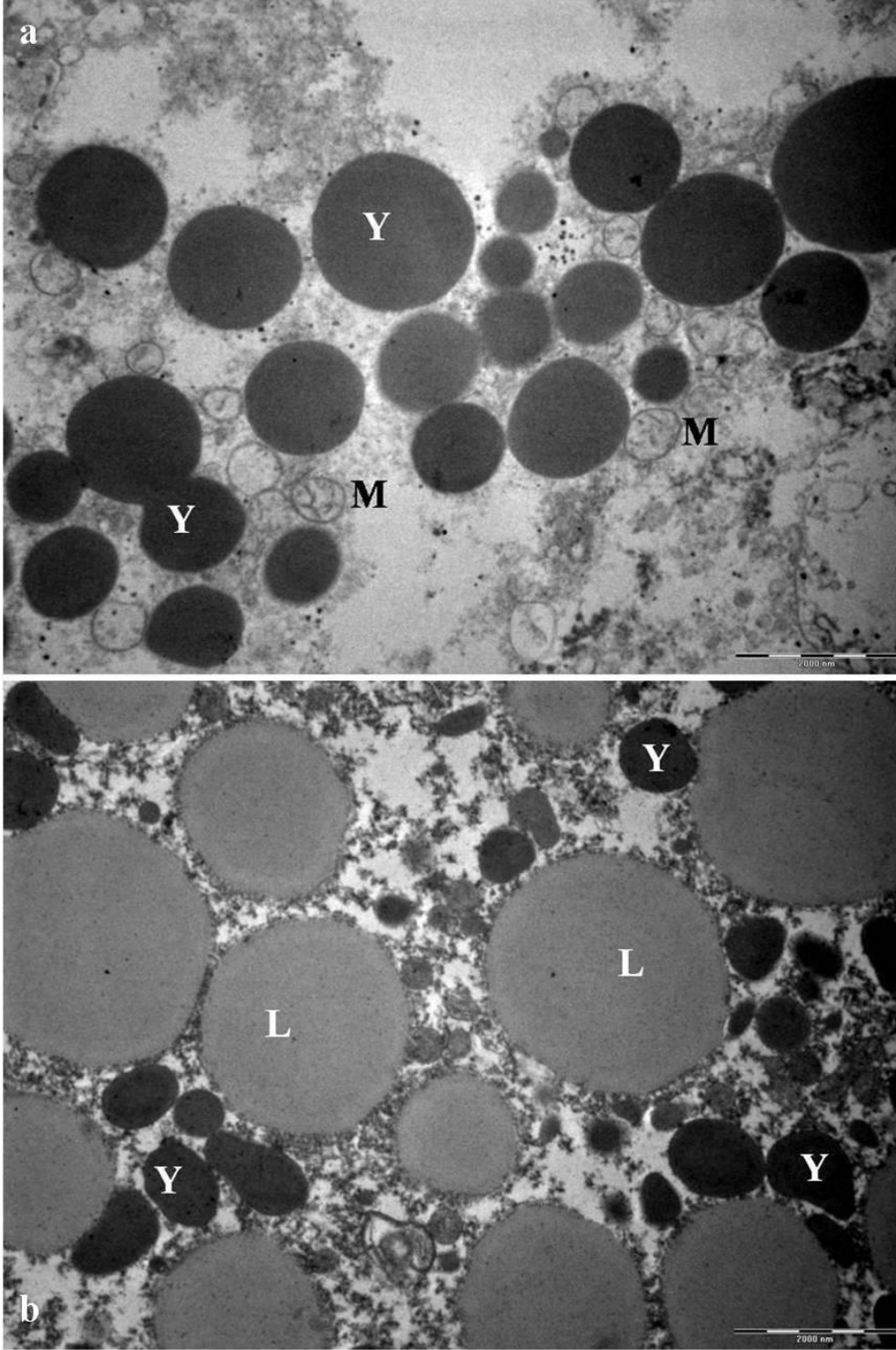
Şekil 4.64. *P. ulyssiponensis* ovaryumunda olgun oositte salgı keseciği (ok), JÖ: jelatin örtü, Mv: mikrovillus, L: lipid, Y: yumurta sarısı proteini (Bar: 2µm)



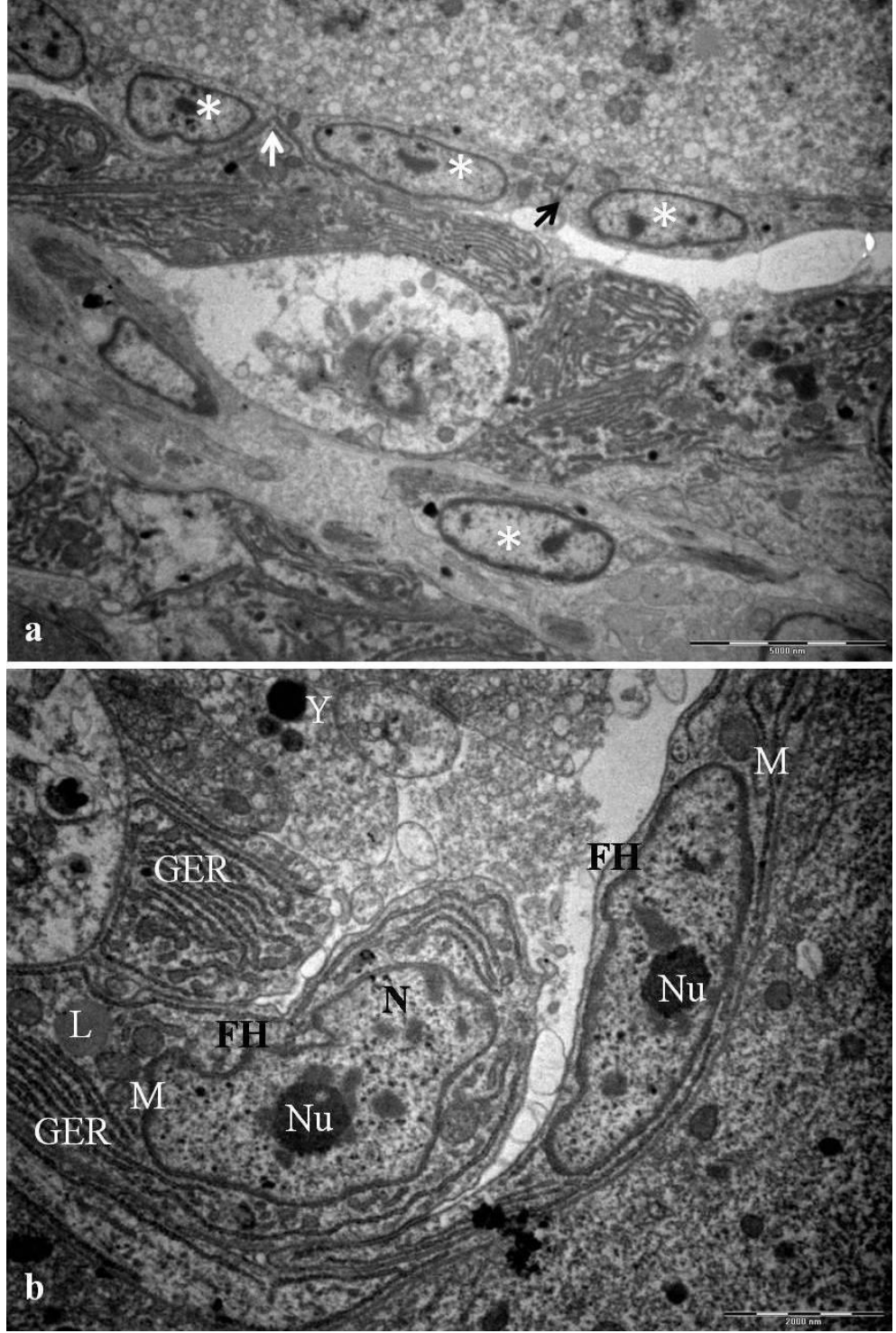
Şekil 4.65. *P. ulyssiponensis* ovaryumunda olgun oositin jelatin örtüsü dışında dejenere yapılar (Bar: 2µm)

P. rustica'nın ovaryumunda folikül hücrelerinin şekilleri ve büyüklükleri farklı (5-7µm) olmasına rağmen genellikle yassıdır ve gelişmekte olan oositlere göre daha az elektron yoğunluğuna sahiptirler. Bu hücreler, previtellogenik ve erken vitellogenik oositleri kısmen kuşatmaktadır. Foliküllerin bazıları hücre zarıyla birbirlerine bağlanarak grup halinde kümelenmiştir (Şekil 4.67a). Hücre şekli gibi, nükleuslarının şekli de pleomorfiktir. Nükleuslarında kromatin saçılmış olup, heterokromatin azdır. Sitoplazmaları organel bakımından oldukça fakirdir (4.67).

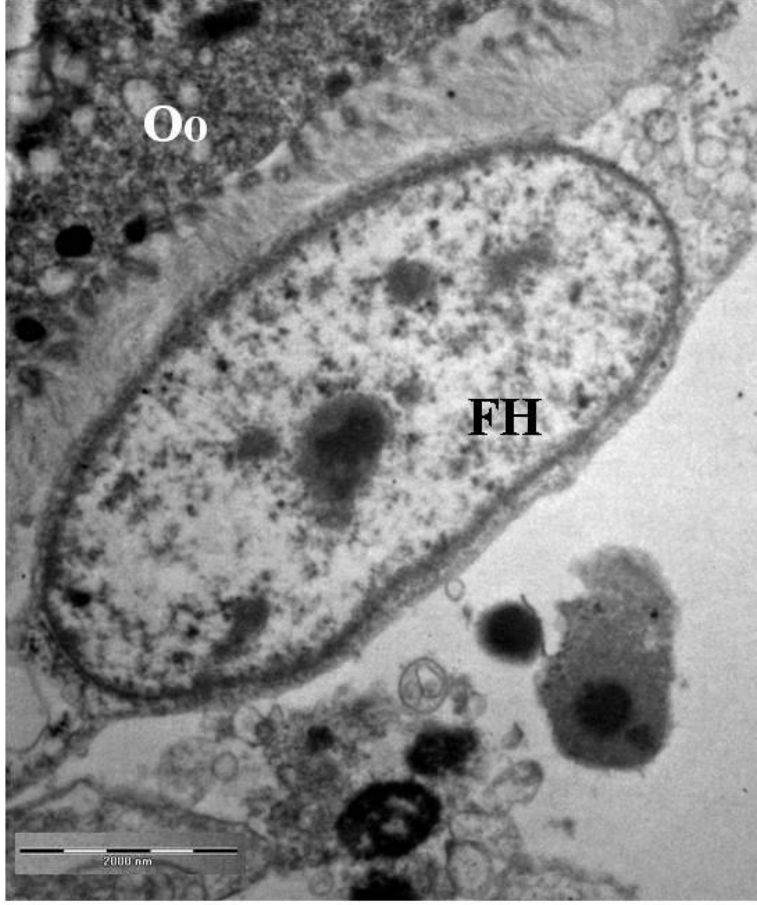
Vitellogenez sırasında folikül hücrelerde GER, miktarında artış gözlenmiştir. Ayrıca folikül hücrelerin sitoplazmasında elektronca yoğun glikojen partikülleri varlığı belirlenmiştir. Folikül hücreleri erken vitellogenik oositleri sıkı bir şekilde kuşatmış durumda iken (Şekil 4.67b) daha sonra jelatin örtünün gelişimine paralel olarak geç vitellogenik ve postvitellogenik oositlerde uzaklaşmıştır (Şekil 4.68).



Şekil 4.66. *P. ulyssiponensis* ovaryumunda postvitellojenik oositin ayrıntılı sitoplazma yapısı, a: yumurta sarısı granülleri (Y) ve mitokondri (M), b: lipid (L) granülü bol miktarda dağılım göstermektedir (Bar: 2µm)

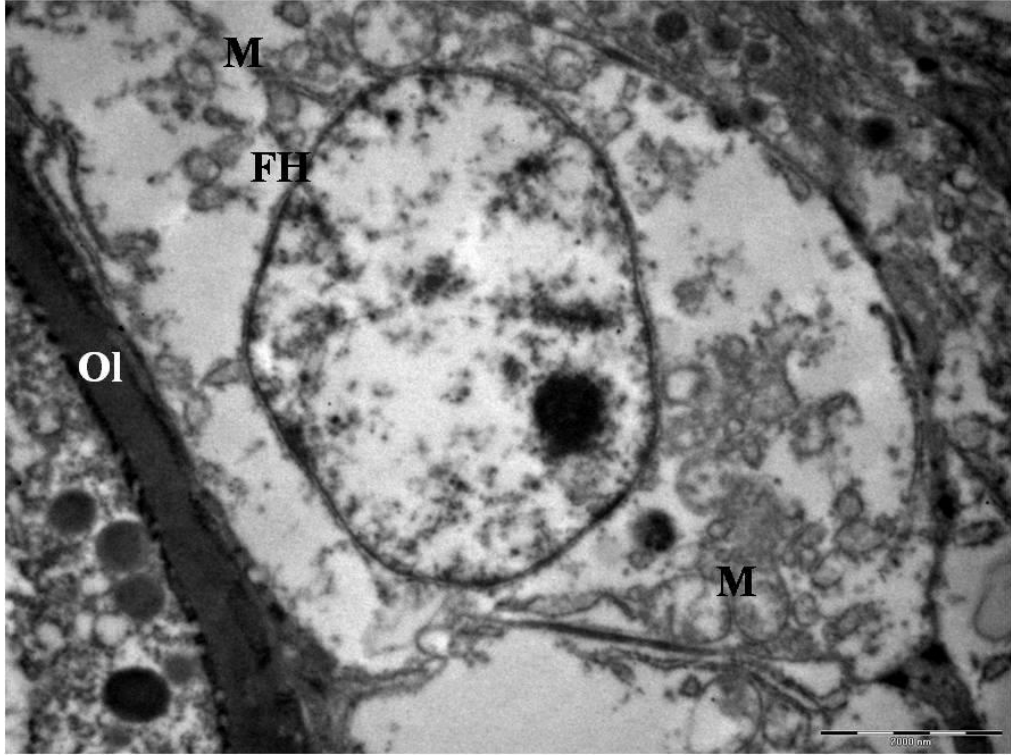


Şekil 4.67. *P. rustica* ovaryumunda follikül hücreleri (FH). a: Oositlerle yakın temasta çok sayıda follikül hücreleri (*) sitoplazmik bağlantı yerleri (ok), (Bar: 5µm), b: Foliküler hücrelerin ayrıntılı yapısı. N: nükleus, Nu: nükleolus, GER: granüllü endoplazmik retikulum, Y: yumurta sarısı proteini, L: lipid, M: mitokondri (Bar: 2µm)

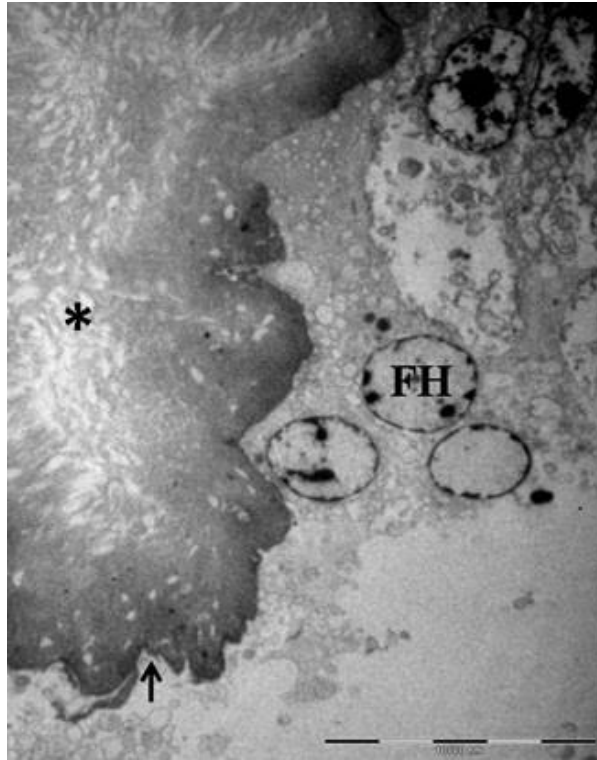


Şekil 4.68. *P. rustica* ovaryumunda olgun bir oosite (Oo) yakın konumlu follikül hücresi (FH) (Bar: 2µm)

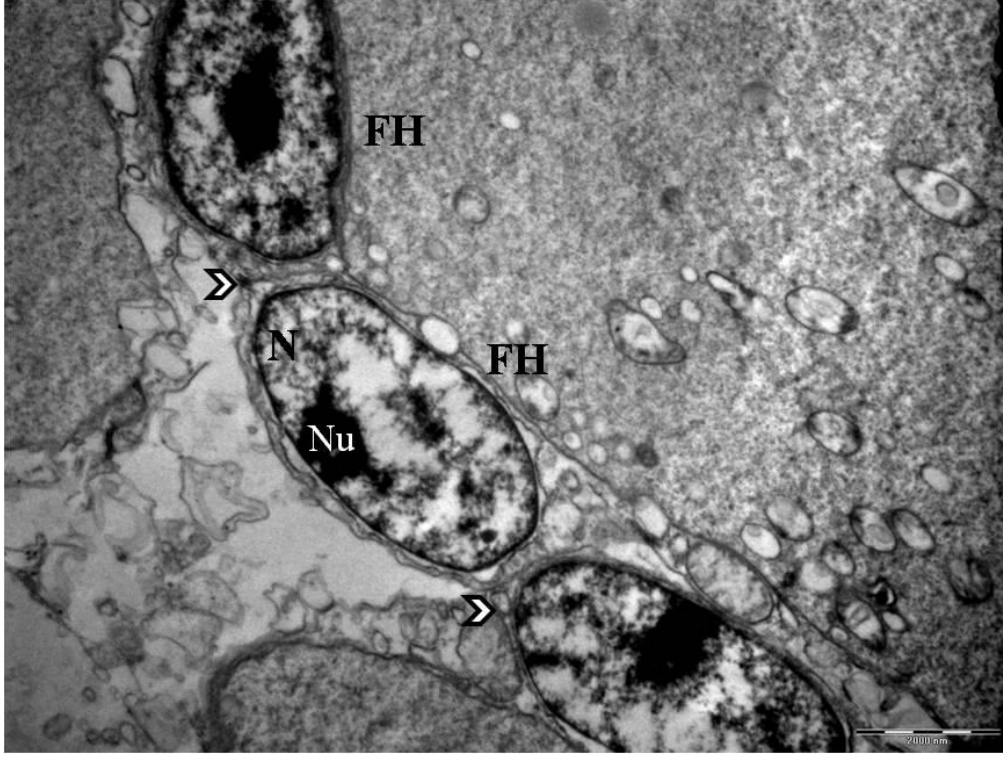
Folikül hücreleri, geç vitellojenik (Şekil 4.69) ve postvitellojenik oositlerin (Şekil 4.68) çevresinde bulunmaktadır. Folikül hücresinin çeşitli şekillerde nükleusu ve belirgin bir nükleolusu bulunmakta olup sitoplazmasında bol miktarda mitokondri yer almaktadır (Şekil 4.69). Olgun oositlerin çevresinde bulunan folikül hücreleri (yassı), gruplar halinde ve birbirlerine desmozomlarla bağlantılıdır (Şekil 4.71).



Şekil 4.69. *P. caerulea* ovaryumunda geç vitellojenik oosite yakın konumlu folikül hücresi (FH), mitokondri (M), oolemma (Ol) (Bar: 2 μ m)



Şekil 4.70. *P. caerulea* ovaryumunda ovaryum duvarı (ok), arasında foliküler hücrelerin (FH) dağılımı, *: ovaryumun iç kısmı (Bar: 10 μ m)



Şekil 4.71. *P. caerulea* ovaryumunda yassı folikül hücreleri (FH) desmozomlar (ok) ile birbirlerine bağlantılıdır, N: nükleus, Nu: nükleolus (Bar: 2 μ m)

5. TARTIŞMA

Birçok ülkede insan besini ve balık yemi olarak kullanılan ve kıyılarımızda geniş bir dağılım gösteren *Patella* türleri denizel ortamda sarmal yapı göstermeyen kabuk morfolojileri ile kolayca ayırt edilebilen gastropodlardır. Bu türlerde kabuk boyutları, yumuşak doku anatomileri ve radula diş yapıları gibi sınıflandırmada yardımcı özellikler oldukça geniş çalışılmıştır (Öztürk ve Ergen 1996, Akşit ve Falakalı Mutaf 2009a-b, Falakalı Mutaf ve Aksit 2009, Çulha ve Bat 2010, Akşit ve Falakalı Mutaf 2011). Prosobranşların birçok türünün kabuk ve radula morfolojilerinde değişiklikler görülürken incelenen Patellid türlerinde morfolojik olarak belirgin bir eşey farklılığının olmadığı görülmüş olup bu türlerin kabuk veya yumuşak vücut kısımlarına bakılarak erkek ve dişi birey ayırımı yapılması söz konusu değildir. Antalya Körfezi'nden toplanan *Patella* örneklerinden en çok *P. caerulea* türüne rastlanmış olup bu türden sonrada baskın olarak *P. rustica* türü bulunmuştur. *P. ulyssiponensis* türüne ise daha az rastlanmıştır. Kaynaklarda da bu türün kısıtlı bir dağılım gösterdiği belirtilmektedir (Ayas vd 2008).

5.1. Eşeyssel Gelişim ve Üreme Biyolojisi

Mollusca üyelerinin çoğu gibi *Patella* türleri ayrı eşeyli canlılardır (Calow 1983). Döllenme olayının suda gerçekleşmesi ile diğer pekçok Gastropoda üyelerinden farklılık gösterirler. Bu bakımdan *Patella* cinsi bireylerde üreme biyolojisi uzun yıllardır birçok çalışmaya konu olmuştur (Branch 1974, Hodgson ve Bernard 1988, Hodgson 1995, Hodgson ve Eckelbarger 2000, Brazao vd 2003). Ülkemiz sularında bulunan *Patella* türlerinde bu konuda sadece populasyon bazında ele alınan birkaç yayın (Öztürk ve Ergen 1996, Akşit ve Falakalı Mutaf 2009b) dışında üreme biyolojileri, gonad gelişimleri ve gametik özellikleri açısından herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Halbuki gonad ve gametik gelişimlerin ele alınmasının taksonomik açıdan önemli katkıları olduğu öğrenilmiştir (Hodgson 1995, Ridgway vd 1998). Dünya denizlerinde diğer birçok canlı grubu gibi *Patella* türlerinin de kaybolma tehlikesi, üzerinde çok durulmuş bir konu olup, korunmaları ile ilgili birçok çalışma yürütülmektedir (Espinosa ve Ozawa 2006). Bu durum çok yakında ülkemiz denizlerinde de söz konusu olacaktır. Bu nedenle Türkiye denizlerinde ve bilhassa Antalya Körfezi'nde yaşayan *Patella* türlerinin gonad yapıları, gametlerin gelişim süreçleri olan spermatogenez ve oogeneze aşamaları, sperm ve ovumun ince yapılarının ele alınmasının önemli olacağı düşünülerek türler arası benzerlik veya farklılıkların belirlenmesi yönünde ışık ve elektron mikroskopik (TEM) incelemeleri yapılmıştır. Bu çalışma bulgularının, mevcut kaynaklar çerçevesinde değerlendirilmesi ile üreme biyolojilerine katkıda bulunup ileride yapılacak üretim denemeleri için kaynak bilgiler kazanılması amaçlanmıştır.

İncelediğimiz *P. caerulea*, *P. rustica* ve *P. ulyssiponensis* türlerinde diğer çoğu Patellidlerde olduğu gibi kesin ayrılan iki evre vardır. İlk dönem canlının büyümesine paralel olarak gonadların gelişimi, diğeri ise gametlerin suya verilme dönemidir ki su sıcaklığı, dalga ve besin bolluk dereceleri gibi çevresel faktörlerden etkilendiği birçok çalışmada vurgulanmıştır (Orton ve Southward 1961, Branch 1974, Dunmore ve Schiel 2000, Delaney vd 2002, McCarthy vd 2008). Gastropoda sınıfından yalnızca *Patella*

cinsinde yumurtalar döllenmeden suya bırakılır, yani döllenme su içerisinde gerçekleşir (Demirsoy 2001, Orton vd 1956).

İncelenen Patellid türlerinde gonad testis veya ovaryumdur. *Patella* cinsinin dahil olduğu Archaeogastropoda üyelerinde viseral kitle ve ayak arasında uzanan tek bir gonad bulunmaktadır (Morton 1967).

Makroskopik incelemelerde olabilecek hatalardan dolayı incelediğimiz her üç Patellid türünün gonadları değerlendirilirken diğer araştırmacıların da yaptığı gibi (Wright ve Lindberg 1979, 1982, Quesne ve Hawkins 2006) doğrudan mikroskopik inceleme yöntemi gerçekleştirilmiştir. Limpetlerin makroskopik özellikleri, üreme döngüleri ve gonadların gelişim süreçlerini belirlemek için diseksiyona dayalı makroskopik inceleme ile gonadların rengine göre bireylerin eşey ve gelişim durumlarını safhalara ayrılmıştır (Orton vd 1956, Guerra ve Gaudencio 1986, Rocha-Barreira 2002).

P. rustica, *P. caerulea* ve *P. ulyssiponensis*'te gonad gelişim süreçleri makroskopik olarak erkek ve dişi bireylerde benzer özellik göstermektedir. Gelişim safhalarına göre; gonad özellikleri;

- I : Gelişim başlamış, eşey belirlenebilir
- II : Gonad tam boyutunun 1/3-2/3 kadar.
- III : Tam olgun (Eşey durumu kesin)
- IV : Boşalma veya dinlenme (Eşey belirlenmesi zor) olarak safhalara ayrılmıştır.

Histolojik yöntemlerin geliştirilmesi ile Patellidlerin üreme döngülerinin ve gonad gelişim safhalarının belirlenmesi için yapılan çalışmalar doku kesitlerinin mikroskopik incelemesi ile daha doğru ve kesin değerlendirme olanağı ortaya konmuştur (Dunmore ve Schiel 2000, Delaney vd 2002, McCarthy vd 2008). İleri elektron mikroskopik incelemelerle de Patellid gonadlarındaki gametogenez süreçleri ve gametlerin ince yapı özellikleri öğrenilmeğe başlanmıştır (Hodgson 1995, Hodgson vd 1996, Hodgson ve Eckelbarger 2000). *P. rustica*, *P. caerulea* ve *P. ulyssiponensis* gonad ve gamet gelişim süreçleri incelenirken hem histolojik hem elektron mikroskopik olarak önceki çalışmalarla benzer yöntemler kullanılmıştır.

Mollusca'da üreme sikluslarını belirleyebilmek için histolojik yöntemler ilk sırada gelmektedir ve öncelikle bivalvlerde çalışılmıştır (Katkansy ve Sparks 1966, Rodriguez-Rua vd 2003, Juhel vd 2003). Bu çalışmada histolojik incelemeye alınan *P. rustica*, *P. caerulea* ve *P. ulyssiponensis*'in gonad gelişimi Avrupa limpeti olarak bilinen *P. vulgata*'nın üreme döngüsü incelenen kaynaklara göre benzerlik göstermektedir (Orton 1928, Orton vd 1956, Blackmore 1969, Baxter 1983, Le Quesne ve Hawkins 2006, Hodgson vd 2007, McCarthy vd 2008). Diğer limpetlerin üreme döngüsüne yönelik de pek çok çalışma bulunmaktadır ki; *Cellana radiata* (Balaparameswara Rao 1973), *C. tramoserica* (Fletcher, 1984) *Collisella heroldi* (Niu ve Fuji 1989), *Nacella concinna* (Brêthes vd 1994, Stanwell-Smith ve Clarke 1998), *Cellona ornata* (Dunmore ve Schiel 2000), *Helcion pruniosus* (Henninger ve Hodgson 2001), *Collisella subrugosa* (Rocha-Barreira 2002), *P. ferruginea*, (Brazão vd 2003a,

Epinosa vd 2009), *P. depressa* (Brazao vd 2003), *P. candei gomesii* (Curdia vd 2005), *Scutellastra flexuosa* (Lindberg 2007) üreme biyolojileri çalışılan limpet türleridir.

P. rustica, *P. caerulea* ve *P. ulyssiponensis*'in gonad yapısı histolojik açıdan incelendiğinde gonaddaki gelişim süreci, gonadın olgunluk ve yumurta dökme durumları dikkate alınarak gonad gelişim safhaları;

- I : kısmen olgun
- II : tamamen olgun
- III : kısmen boşalmış
- IV : boşalmış olarak safhalara ayrılmıştır.

İncelenen üç *Patella* türünün gonad gelişim safhaları diğer Patellidlerin gonad gelişim safhalarıyla benzer bulunmuştur. (Rocha-Barreira 2002, Pal ve Hodgson 2005, Chan ve Morton 2005). Patellid türlerinde gonad gelişim safhaları çeşitli araştırmacılara göre farklı safhalara ayrılmıştır.

- Çoğalma ve gelişim, gamet döküm öncesi, gamet dökümü, geri emilim (Kingston 1974, Morriconi 1999).
- İlksel gelişim, gelişim, olgun safha; asidofilik ve basofilik üreme hücresi, olgun safha; eosinofilik üreme hücresi, kısmen gamet dökümü ve geri dönüşüm, kısmen gamet dökümü ve geri dönüşümsüz, tamamen gamet dökümü, üreme hücrelerinin bozulması (Morriconi 1999).
- Dinlenme, erken aktif, geç aktif veya kısmen olgun, olgun, gamet dökme durumu, tamamen boşalmış gonad (Orton vd 1956, McCarthy vd 2008, Vasconcelos vd 2008).

İncelediğimiz Patellid türlerinin gonadının dinlenme periyodunu sıcaklığın etkilediği düşünülmektedir. Bu sebeple de sıcaklık farklılıklarından dolayı farklı istasyonlarda gonadların boşalma zamanlarını kesin olarak belirlemek çok zordur.

Gonadın boşalması ve dinlenme safhası, güneyde daha ılık durumlarda hızlı değişebildiği ve sıcaklık farklılıkları gonad gelişiminin başlamasını etkilediği ve kuzeye doğru düşük dereceli bölgelerde daha uzun periyotlarda sürdüğü gösterilmiştir (Orton vd 1956).

Pekçok Patellid ve Acmaeid limpetlerin gametlerini bırakma sezonları sınırlıdır. Genellikle yılda birkez boşalırlar. Uzun bir dinlenme süreçleri vardır (Branch 1981, Creese ve Ballantine 1983). Birkaç türün ise çoklu boşalma zamanları gamet bırakım süreçlerini uzatmış olup, dinlenme süreci iyice kısalmıştır veya yoktur (Branch 1981, Creese ve Ballantine 1983). *Cellona ornata*'nın yıllık üreme döngüsü tektir ve boşalma periyodu uzun bir dinlenme periyodunun devamında yılda birkez gerçekleştiği belirlenmiştir (Dunmore ve Schiell 2000). Gametler baharın sonunda ve yazın başında gelişir. Limpetler yazın sonundan sonbaharın başına kadar boşalırlar. Boşalma periyodundan sonra, gonadlar bahara kadar nötr durumuna geçerler. *Patella vulgata* türünün üreme periyodu incelendiğinde olgun limpetlerin yüzdesi Aralık ayında gözlenmiş olup, erkek bireylerin gonadlarını bırakım dönemi Eylül ve Aralık ayları

arasında belirlenmiştir (McCarthy vd 2008). Antalya Körfezi örneklerinde Aralık ayından sonra boşalmanın devamında erkek bireylerin sayısında azalma görülürken, Ocak ayında gonadın erken gelişim aşamaları gözlenmiştir. Haziran ayında nötr safhadaki limpetlerin sayısı neredeyse %100'e çıkmıştır. Mart ayında gelişimin geç safhaları gözlenmiş olup, Eylül ayına kadar hem olgun hem boşalmış erkek bireylere rastlanmaktadır. Bizim incelediğimiz üç türdeki bulgular İrlanda'nın güneybatı kıyılarında üreme döngüleri incelenen *Patella vulgata* ve *P. ulyssiponensis* türlerinin gametlerinin tüm gelişim safhaları benzer sonuçlar göstermiş olup gelişimlerin tüm safhaları incelenmiştir. McCarthy vd 2008 tarafından yapılan çalışmada *P. ulyssiponensis* türünün en olgun ve boşalma zamanı erkek bireylerde Kasım ve Aralık ayında gözlenmiş olmasına rağmen Antalya Körfezi'nde yürütülen çalışmada Mart ayında olgun gametlere rastlanmıştır.

P. rustica'da deniz suyu sıcaklığının artmaya başladığı Nisan, Mayıs aylarında dişi gonad nötr safhada (dinlenme) bulunmaktadır. Sıcaklığın en yüksek olduğu Ağustos ayında dişi gonadta geri dönüşüm başlamıştır. *P. caerulea* 'da ise Ocak ayında dişi gonadta rejeneratif bir yapı görülmektedir. Nisan ayında su sıcaklığının artmaya başlamasıyla olgunlaşan gonad yumurtalarını bırakmaktadır. Ağustos ayında gonad dejeneratif bir yapı gösterir ve geri dönüşüm olmaktadır. *P. rustica* ve *P. caerulea* türlerinde testis Ekim (erken)-Kasım aylarında gelişim gösterir, Aralık ayında her iki türde de eşeyssel olgunluğa erişir. *P. rustica*'da testis Ocak ayında tam olgunluğa erişip, Şubat-Mart aylarında tamamen boşalmıştır. Haziran-Temmuz aylarında gonad dinlenme safhasındadır. *P. caerulea*'da testis Ocak- Nisan ayları arasında tam olgun safhadadır ve geri dönüşüm başlamıştır. Mayıs ayında spermler yoğun olarak bırakılmıştır. *P. rustica* ve *P. caerulea* türü Eylül ayında tekrar ovaryum gelişimine başlamaktadır.

P. caerulea, *P. rustica* ve *P. ulyssiponensis*'te eşey dönüşümü birbirini takip eder bir şekilde gerçekleştiği için eşey dönüşümünün protandrik hermafroditlik şeklinde olduğu düşünülmektedir. Önceki kaynaklarda *Patella vulgata* ve *P. caerulea*'da protandrik hermafroditliğin olduğu vurgulanmıştır (Dodd 1956, Branch 1974, Quesne ve Hawkins 2006). İncelediğimiz türlerinin aksine *P. ferruginea* türünde eşey dönüşümünün çok az olsa da rastlanabildiği belirtilmiştir (Laborel-Deguen ve Laborel 1990, Espinosa vd 2009). *P. candei* türünde ise eş zamanlı fonksiyonel hermafroditlik belirlenmiş ancak bu durumun normalden bir sapma olduğu vurgulanmıştır (Cunha vd. 2007).

P. rustica, *P. caerulea* ve *P. ulyssiponensis* türlerinde yumurta ve spermlerin bırakılma zamanı *P. deaurata*, *P. longicosta*, *P. oculus*, *P. concinna* (Channel 1999, Bretheset vd 1994) türlerinde olduğu gibi deniz suyunun sıcaklığının yükselmesine bağlıdır ve doğrudan suya verilerek dış döllenme gerçekleşmektedir. Bu türlerinin üreme siklusları, kayalık bölgede yaşayan yuvarlak kabuklardan, *Gibbula lineatus* ve *G. umbilicalis* türlerine oldukça benzemelerine rağmen (Orton vd 1956), *Gibbula* türlerinin dinlenme safhaları bizim incelediğimiz türlere kıyasla daha kısadır. Bu periyodları su sıcaklığı etkilemektedir ve sıcaklığa bağlı olarak gonadlarda farklılaşmalar oluşmaktadır ve sıcaklığın dışında diğer çevresel etmenlere bağlı olarak da gelişim etkilenebilmektedir.

Limpetlerde gametlerin bırakılması, sıcaklık (Orton vd 1956, Ballantine 1961, Bowman ve Lewis 1977, Thompson 1980, Delaney vd 2002, Guerra ve Gaudencio 1986), fırtınalar, dalga hareketleri (Orton vd 1956, Orton ve Southward 1961, Grange 1976), besin kullanılabilirliği (Brêthes vd 1994) gibi birçok faktör tarafından uyarılmaktadır. *P. rustica*, *P. caerulea* ve *P. ulyssiponensis*'in gonadlarında salınımının fırtınalı havalarda, dalga hareketlerinin arttığı durumlarda olduğu gözlenmiştir. Gametlerin bırakılmasının klorofil artışıyla ilişkili olduğunu Himmelman (1981) ve Jørgensen (1981) ortaya atmışlardır. Gastropod türlerinin planktonik larvaları ile ilgili çalışmasında, Underwood (1974) planktonik yoğunluğun arttığı zamanlarda, gametlerin bırakılmasının gerçekleştiğini öne sürmüştür. Küçük yumurtalı türlerin tipik olarak planktonik larva şeklinde geliştiklerinden dolayı birkaç yazar yumurta büyüklüğünün, türün larval yaşam stilini tahmin etmede yararlı olduğunu iddia etmiştir (Havenhand 1995, Jaekle 1995, Bhaud ve Duchêne 1996). Pekçok *Patella* türü yüksek fekondite değerlerine ve oosit çapı 180µm geçmeyen planktonik larva üretimine sahiptir (Branch 1974). *Nacella concinna* küçük olgun oositlere sahiptir (yaklaşık 170µm) ve serbest larva üretir, muhtemelen bunlar planktoniktir (Picken 1980). Bu türlerde gamet salınımı planktonik patlamayla ilişkilidir (Picken 1980, Brêthes vd 1994).

P. rustica ve *P. caerulea* türlerinde eşey dağılımında her iki türde de aylara göre erkek bireylerin sayısı dişi bireylerin sayısına göre daha fazladır. *P. rustica* 'da 6 ay boyunca dişi bireylere rastlanırken, *P. caerulea* türünde 8 ay boyunca rastlanmıştır. Kabuk boyu daha kısa olan *Patella* 'larda her iki türde de erkek bireyler daha baskındır. *P. ulyssiponensis* az sayıda bulunabildiği için bu özelliklere bakılmamıştır. *P. rustica*, *P. caerulea* ve *P. ulyssiponensis* türleri diğer limpet türlerinden *Cellona heroldi* (Niu vd 1989), *Nacella deaurata* (Morriconi 1999) gonadlarının gelişimleri ile histolojik açıdan benzer bulunmuştur.

5.2. Testis ve Spermatogenez Süreci

Mollusca üyelerinin testis yapıları incelendiğinde Pelecypoda'nın testisi genellikle çifttir (Roosen-Runge 1977). Cephalopoda sınıfının testisleri basit kese yapısında iken (Maxwell 1983) gastropodlarda testis tektir. Prosobranş üyelerinde olduğu gibi *P. rustica*, *P. caerulea*, *P. ulyssiponensis* türlerinde de testis ayağın dorsalinde anteriora doğru uzanır. Testis duvarı ince katlantılı veya dallanmış yapıdadır. İnce bir kas ve bağ dokusu ile desteklenmiştir. Tübül içi germinal epitelyum ile örtülüdür. Gametogenez süreçleri tübüllerde gerçekleşir. Her üç türün testisi histolojik açıdan incelendiğinde spermatogonyumlar tübüllerin periferinde grup halinde bulunurken spermatozoid ve spermatidlerin tübülün içinde dağıldığı, spermatozoa'nın da tübülün merkezi konumunda öbekler halinde olduğu gözlenmiştir. Prosobranşların bazı türlerinde spermatozoa testiste demet oluştururken bazılarında demet gözlenmemiştir (Branch 1974).

P. rustica, *P. caerulea* ve *P. ulyssiponensis*'in testis yapısı incelendiğinde gonad gelişim safhaları; erken aktif (1), geç aktif veya kısmen olgun (2), tam olgun (3), tamamen boşalmış (4) safhalar olarak dört safhaya ayrılmıştır. Her üç türün testis gelişim safhaları benzer bulunmuştur. Rocha-Barreira (2002) erkek gonadların dıştan morfolojik olarak gelişim aşamaları incelemiş; ventral yüzeylerindeki tübüllerin yapısal durumları dikkate alınarak kısmen olgun, olgun, kısmen boşalmış veya tamamen

boşalmış olma durumlarına göre yapısal farklılıklar gözlenmiştir. İncelenen türler de testisin gelişim aşamaları sadece mikroskobik değerlendirilmeye göre yapılmıştır.

P. rustica, *P. caerulea* ve *P. ulyssiponensis*'in testislerinin yarı ince ve ince kesitleri incelenip, spermatogenez sürecindeki değişimler belirlenmiştir. Yarı ince kesitlerde spermatogonyumların tübüllerin en dış kısmında kübik-silindirik epitelyum tabakasına bağlı olarak bağ dokusu elemanları ile birlikte yer aldığı görüldü. Tübüller içinde spermatogenez safhaları epitelden merkeze doğru, spermatidlerin gelişimine kadar bölünme aşamalarındaki hücreler (spermatositler) ve daha küçük olan spermatidler ve ayrıca spermatozoa şekillenmesine kadar safhalar halinde ayırt edilebilmiştir. Spermatogenez safhalarının gonad içi yerleşim özellikleri ve süreçleri bakımından üç türün birbiriyle ve diğer limpetlerden *Patella* türleri ve diğer limpetlerden, *Helcion*, *Cellona* genusları Prosobranşlardan *Oxystele'nin* testisindeki safhaların gonad içi yerleşimi ve spermatogenez süreçleri benzerlik göstermektedir (Hodgson vd 1990).

P. rustica'da spermatogonyumlar basal laminaya yakın konumlanmışlardır. Spermatogonyumlar büyük küresel nükleusu ile dikkat çekmektedir. Limpetlerden *Celona capensis* küresel bir nükleus ve elektronca yoğun bir nükleolusa (1µm) sahip olup, spermatogonyumlar yaklaşık 3µm çapındadır (Hodgson ve Bernard 1988).

Spermatogenez sürecinde spermatogonyumlar *P. rustica*'da sitoplazmik köprülerle sıkı bağlantılı yoğun gruplar halinde gözlemlendi. *P. rustica* ve *P. caerulea*'da seyrek bulunan A tipi ve B tipi spermatogonyumlar gözlenirken; *P. ulyssiponensis*'te gözlenmemiştir. Her iki türde de A tipi spermatogonyumun nükleusu heterokromatin özelliğindedir. Primer spermatositlerin her üç türün testisinde seminifer tübülündeki en büyük hücreler oldukları görülmekte olup ve elektronca yoğun nükleusları ile ayırt edilmektedir. *P. rustica* ve *P. caerulea* testisinde gözlenen sekonder spermatosit hücreleri kromatin materyalinde primer spermatosite göre yoğunluk artışı vardır ve spermatositler primer spermatosit hücrelerinin yaklaşık yarısı büyüklüğündedir, daha az sayıda bulunmaktadır. *P. rustica*'nın testisinde spermatitlerin de bazılarının hala birbirlerine sitoplazmik zarlarla bağlı olması sitokinezin oldukça geç tamamlanmış ve spermatitlerin oluşum aşamasında sitokinezin tamamlanmamış olduğunu göstermektedir. Lottidae ve Acmaeidae familyalarına ait incelen bazı türlerin spermatogenez süreçlerinde gelişen spermatidlerin sitoplazmik köprülerle birbirlerine bağlantılı olduğu belirtilmiştir (Hodgson ve Morton 1998).

P. rustica ve *P. caerulea*'nın testisinin yarı ince kesitlerinde primer ve sekonder spermatositler gözlenirken *P. ulyssiponensis*'te gözlenmemiştir. Her üç türde de olgun spermiler tübüller merkezinde demetler halinde bulunmaktadır. Bivavlerden *Cerastoderma glaucum*, *Spisula subtruncata* (Erkan ve Sousa 2001) ve gastropodlardan *Dendropoma petraeum* türünün testislerinde (D'Ancona Lunetta ve Damiani 2002). sekonder spermatidler belirlenmiştir.

Her üç türde spermin gelişim aşamasında spermatitlerin sitoplazma miktarları azalırken, nükleo-sitoplazma oranlarının arttığı ve hücrelerin dış hatlarının düzenli bir yapı gösterdiği ve nükleuslarının elektronca yoğun olduğu gözlenmiştir.

P. ulyssiponensis'te genç spermatidlerde diğ er türlerin spermatitlerine oranla bol sitoplazmik materyal ile ayırt edilirken aralarında bazı noktalarda sitoplazmik köprü halen vardır.

P. rustica, *P. caerulea* ve *P. ulyssiponensis* türlerinde spermatitlerin farklılaş ma süreçleri hücre ve nükleusta yapısal ve şekilsel değı şimler ile sitoplazma iç i yeni yapısal oluş umlar şeklinde göz lenmiştir. Genç spermatidlerin nükleusu küreseldir ve hücrenin merkezini kaplar. Nükleus heterojen yapıda kromatin maddesi içerir. Spermatitlerin ilerleyen geliş im safhalarında nükleus; uzun eksenile anterior ve posterior doğrultusunda konumlanarak oval hale gelmiştir. Kromatin yoğunlaş ması, küresel kromatin granüllerinin oluş ması ile belirgin olarak izlenmiştir. Yoğunlaş manın artmasıyla birlikte fibrillerin uzunluğ u da artarak nükleusun eksenini boyunca dağı lım göstermektedir. Hücreler olgun sperm özelliğ i kazanmaya baş larken her üç türde, nükleus daha uzamakta ve kromatin yoğunluğ u hafifçe değı şmektedir. Olgun spermde kromatin heterokromatin özelliğ inden, homojen elektron yoğunluğ una sahip bir yapıya dönüş müştür. Lottidae, Acmaidae (Hodgson ve Morton 1998) familyalarına ait çeş itli türlerinde benzer spermatogenez süreçleri göz lenmiştir.

Her üç türün erken spermatidleri daha küresel yapıda iken proakrosomal kesenin farklılaş ması ve bu kesenin hücre zarının iç tarafında elektronca yoğun materyal içeriğ i dikkati çekmektedir. Kesede ince bir zar sınırı oluşturulmuştur. Spermatidlerin erken geliş imlerinde proakrosomal kese hücrenin orta bölgesinde bulunurken daha sonradan belli bir yerleş im kazanan geliş en mitokondrilere yakın konumlu bulunmaktadır. İncelenen her üç türün spermatidinde bir tane proakrosomal keseye rastlanmıştır ki Lottidae, Acmaidae familyalarına ait türlerin spermatidlerinde iki tane proakrosomal kese bulunabildiğ i ve bu keselerin yakın konumları nedeniyle golgi cisimciğ inden meydana geldiğ i belirtilmiştir (Hodgson ve Morton 1998).

Spermatid olgunlaş ma sürecinde posteriyorde hücre zarına çok yakın konumda bulunan proakrosomal kesenin hücrenin anteriörüne yönlendiğ i belirlenmiştir. Nükleus uzamasına paralel olarak akrozomda bir uzamanın olduğ u ve konik bir şek il aldığ i göz lenmiştir. Bu arada nükleus anteriorü ile akrozom arasında subakrosomal bölge ayırt edilmeye başlamış , akrozom içeriğ inin amorf elektron yoğunluğ u bakımından farklı olabilmektedir. *P. rustica*'da homojen bir yoğunluk oluş urken *P. caerulea*'da ve *P. ulyssiponensis*'te periferde oldukça yoğun bir halkasal çerç eve göz lenmiştir. Ayrıca *P. ulyssiponensis*'te akrosomal çerç evenin nükleus kenarı boyunca uzadığ ı belirlendi.

Spermiyogenezde her üç türde akrosomal yapı farklılaş ması göz lendi. Spermatid olgunlaş tığ ında akrozomda uzama meydana gelmektedir. Bu arada subakrosomal bölgenin ayırt edildiğ i göz lenmiştir. Subakrosomal kese elektronca az yoğun amorf ve fibriller materyal içermektedir. Akrozom, koni şek linde bir yapı oluşturarak olgun sperm şek lini almasını sağ lamaktadır. Akrozomun içeriğ i elektronca yoğun homojen bir görünümdedir. Kesenin altındaki boş luk subakrosomal madde ile doludur.

Akrozomun çoğ u, elektron yoğunluğ una ve elektronca parlak bir bölgeye sahiptir. Akrozomda böyle farklılıklar bivalvler (Popham 1974b, Hylander ve Summers 1977, Bernard ve Hodgson 1985, Hodgson ve Bernard 1986a-b) ve archaeogastropodlardan *Haliothis rufescens* (Lewis vd 1980)'de rapor edilmiştir.

Elektron yoğunluğu farklılaşan bu bölgelerde dölleme süreci boyunca, akrozomun farklı fonksiyonlarını çoğunlukla yansıtabilmektedir. Hylander ve Summer (1977) bivalvlerden *Chama macerophylla* ve *Spisula solidissima* türlerinde akrozomun dıştaki elektron yoğunluğunun spermin, yumurta yüzeyindeki mikrovilluslara fibriler küme halinde bağlandıklarını göstermiştir. İncelenen üç Patellid türünün akrozomunun benzer fonksiyonlarda performans gösterdiği diğer çalışmalardaki (Hodgson ve Bernard 1988) gibi düşünülmektedir.

İncelediğimiz her üç türdeki spermlerinin akrozom uzunluklarındaki farklılık, farklı türlerdeki spermlerin temel olarak ayırt edilmesinde yol gösterici olmuştur. *P. rustica*'nın akrozomu diğer iki türe göre daha uzun olup, sonrasında *P. ulyssiponensis* ve *P. caerulea* türleri izlemekte olup akrozom genişliğinin de akrozom uzunluğuyla paralel olduğu gözlenmiştir.

Çalıştığımız üç türün sperminin belirgin bir akrozom yapısına sahip olmasına karşın bazı ilkel sperm yapısına sahip hayvan gruplarından haşlamlılar (*Hydra*, *Limnocoidea*, *Craspedacusta*), midyeler (*Anadonta*, *Unio*, *Sphaerium*, *Dreissensia*) ve kemikli balıkların (*Cyprinus* sp. vb.) bazılarında akrozom bulunmamaktadır (Afzelius 1972).

Farklı sınıflarda akrozomda çeşitli yapısal özellikler incelenmiştir. *C. capensis*'in akrozomunun enine şeritli oluşu dikkat çekici bir özelliktir. Benzer şeritli akrozomlar Sefahalopodlardan *Octopus vulgaris* (Galangau ve Tuzet 1968), *O. bimaculatus* (Longo ve Anderson 1970) ve poliketlerden *Phragmatopoma lapidosa* (Eckelbarger 1984) tanımlanmıştır, ancak böyle bir özellik Patellidlerde görülmemektedir. Akrozom sadece Patellidlerden *Cellona*'da aksiyal çubuğa sahiptir ve bu morfolojik farklılık, *Cellona*'nın akrozomal reaksiyonunun *Patella* sperm akrozomlarından farklı olduğu yönüyle ele alınmıştır (Hodgson ve Chia 1993).

İncelediğimiz *P. rustica*, *P. caerulea* ve *P. ulyssiponensis* türlerinin spermatozoasının 'ilkel form' (Frazen 1956) ya da aquasperm (Rouse ve Jamieson 1987) olarak adlandırılan sperm tipinde olduğu belirlenmiştir. Üç türde sperm yapısı, silindirik nükleus ve basit akrozom özelliğinden dolayı Hodgson vd (1996)'nin Patellid spermleri için belirlediği sperm tipine göre V. tip sperm yapısına sahiptirler (Bkz Şekil 2.10). İncelediğimiz üç türün sperm yapısıyla ilkel sperm yapısına sahip diğer Patellidler benzer morfolojik özellik göstermektedirler (Azevedo 1981, Smaldon ve Duffus 1985).

P. rustica, *P. caerulea* ve *P. ulyssiponensis* türlerinin sperm yapılarının arasında orta ve kuyruk bölgesinde çok az farklılık veya bazılarında hiçbir farklılık bulunmamaktadır. Fakat nükleus ve akrozom oldukça değişken büyüklük ve morfolojidedir. Böylece bu organeller sayesinde her bir türün ayırt edilmesi mümkün olmaktadır. Yakın türlerden mollusklardan bivalvler (Popham vd 1974, Hodgson ve Bernard 1986a-b, diğer gastropod taksonlarından (Thompson 1973, Heally 1983a-c, 1986c, Heally ve Willan 1984, Sumikawa ve Funakoshi 1984) karşılaştırmalı sperm yapısı çalışmalarında da benzer sonuçlar ortaya çıkmıştır. Her bir tür kendisine özgü sperm morfolojisine sahip olduğundan eşsizdir. Dolayısıyla sperm yapıstaksonomik bir karakter olarak yararlanılabilir.

P. rustica, *P. caerulea* ve *P. ulyssiponensis* türlerinin spermelerinin nükleus yapıları uzundur ve türler arasında nükleus en uzununu 3.1µm ile *P. caerulea*'dır. Üç türün spermının nükleusunun genişliği birbirlerine yakındır. Bazı omurgasızlarda, uzamış nükleusa sahip sperm üretiminin üremede gelişmiş modeli özelliğiyle alakalı olduğu düşünülmüştür (Franzén 1983). Bivalv ve poliket türlerinde sperm uzamış nükleusa sahip olduğunu ve ayrıca yumurtalarının ortalamadan daha büyük (>90µm çaplı) olduğunu tanımlanmıştır (Franzén 1983). Önceki çalışmalarda da böyle bir korelasyonun Patellid limpetlerde olmadığı gösterilmiştir (Hodgson ve Bernard 1988). Bununla birlikte uzamış nükleuslu sperme sahip limpetlerin evriminin üreme biyolojisindeki değişimi hala belirlenememiştir. Uzamış sperm sperm depolanması ve gametlerin suya bırakılması ile bağlantılı bir özellik olabileceği düşünülmüştür. (kaynak) Molluskların nükleuslarında kromatin yoğunlaşmasını granüler, fibrilli, lamelli olarak üçe ayırmıştır (Maxwell 1983). Granüllü nükleusa sahip olanların nükleusu kısadır, fibrilli olanlarda ise daha uzamış nükleusludur. Bu ilişki, limpetlerde de vardır ve olgun granüler nükleuslular ise daha kısadır. Nükleusun uzamasını meydana getiren mekanizma hala açık değildir. Bazı molluska spermelerinde mikrotübüler kılıf (manchette) olgun nükleusa şekil vermekte hizmet ettiği izlenimini vermektedir (Maxwell 1983). Bununla birlikte archaeogastropodlarda ve meso-neogastropodlarda mikrotübüler kılıf varlığı olmadan uzamış sperm nükleusu meydana gelmiştir (Hodgson ve Bernard 1988). *P. rustica*, *P. caerulea*, *P. ulyssiponensis* türlerinde de mikrotübüler kılıfla karşılaşılmasıdır.

Nükleus büyüklüğünün ve şeklinin değişimi, akrozomun büyüklüğü ve yapısında önemli çeşitliliklere sebep olur. Böyle morfolojik çeşitliliğin neden evrimleştiğinin sebebi hala anlaşılammıştır. Popham (1974a) yumurtayı dışsal döleyen teridinid bivalv türlerinde, içsel vücut içinde döllenme gerçekleşir. Bu türlerin sperm yapılarına göre daha büyük akrozomlu spermelere sahip olduklarını belirlemiştir. Bizim çalışmamızda incelediğimiz üç tür Patellid, gametlerini denize bırakırlar ve döllenmeleri suda gerçekleşir. Bu özelliklerinden dolayı akrozomal farklılıklarından çok yumurta jelatini kılıf yapısında farklılıklar bulunmaktadır.

İncelenen her üç türün spermelerinin morfolojik ölçümlerine bakıldığında; *P. rustica* spermisi baş bölgesinin uzunluğu, akrozom uzunluğu, genişliği ve nükleus genişliği ölçümlerinin ortalamaları *P. caerulea* ve *P. ulyssiponensis* türlerinden daha yüksektir. Nükleus uzunluğunun ortalaması *P. caerulea*'da en yüksektir. Sperm morfolojik ölçümlerine göre *P. ulyssiponensis* türünün spermının baş ve boyun bölgesinin uzunluğu diğer iki türe göre daha kısadır. İncelediğimiz üç türün spermının baş bölgesinin uzunluklarına bakıldığında en uzun *P. rustica* olup sonrasında *P. caerulea* ve *P. ulyssiponensis* türleri takip etmektedir. İncelediğimiz türlerin sperm baş bölgelerinin uzunluğu 5µm'den küçük olup, kısa başlı sperm tipi, ilkel sperm belirgin bir özelliğidir (Franzen 1955, 1970).

16 Patellid türün sperm morfolojileri incelendiğinde, oldukça çeşitli büyüklük ve morfolojiye sahip olan akrozom ve nükleusların tür ayrımında önemli taksonomik özellik olduğu vurgulanırken (Hodgson ve Bernard 1988) spermelerin orta ve son bölgelerinde birkaç değişiklik bulunmaktadır. İncelediğimiz Patellid türlerinde de de bu yapıların taksonomik açıdan önemli olduğu ve genelde benzer görülsede farklılıkları döllenme izolasyonunda etkin olacağı düşünülmektedir.

Çeşitli türlerin akrozom uzunluklarına bakıldığında bu çalışmada incelediğimiz *Patella* akrozom uzunlukları euspermatozoa tipinde olan gastropodlar ile arasında büyük farklılıklar bulunmamıştır (Çizelge 5.1 ve 5.2).

P. rustica, *P. caerulea* ve *P. ulyssiponensis* türlerinde kuyruk ve akrozom oluşumu spermatogenezin erken safhalarında oluşmaya başlar. Bazı böceklerin spermatositlerinde, akrozom hücrenin anteriöründen akroblastta doğru göç eder (Kaye 1962) ve Patellid limpetlerde de ve bizim incelediğimiz üç türde de bazı bivalvlerde ki gibi, akrozom golgi cisimciği olmaksızın göç etmektedir (Longo ve Dornfeld 1967).

P. rustica, *P. caerulea* ve *P. ulyssiponensis* türlerinde kuyruğun oluşumu erken spermatojenik hücrelerde açıkça meydana geldiği görülse de, her üç türde de kuyruğun mitoz ve mayoz bölünmeler boyunca olup olmadığı belirlenmemiştir.

İncelediğimiz Patellidlerin spermatozoası'nın olgunlaşması sürecinde meydana gelen yapısal değişiklikler, tanımlanan pek çok diğer omurgasızlardakine benzer değişiklikler göstermişlerdir ki bunlar spermatogenezdeki en büyük değişiklikleri meydana getirmektedirler (Adiyodi ve Adiyodi 1983, Hodgson 1986, Hodgson vd 1990b, Hodgson ve Morton 1998).

Çalıştığımız üç Patellid türünün spermalarının orta bölgeleri incelendiğinde *P. rustica* ve *P. ulyssiponensis* türlerinin mitokondrisi 0.6µm çapında iken *P. caerulea*'nın 0.5µm çapında bulunmuştur ki incelenen diğer Bivalvlerin spermalarının mitokondrilerine (1.0 µm) göre daha küçüktürler (Hodgson ve Morton 1998).

İncelenen türlerden sadece *P. rustica*'da spermın orta bölgesinden ortaya çıkan ve kuyruğun etrafını saran sitoplazmik yaka bulunmaktadır. Bu yaka yapısına *P. caerulea* ve *P. ulyssiponensis* türlerinde rastlanmamıştır. 19 Patellid türünün sperm yapılarının incelendiği çalışmada sperm tipleri 5 kategoriye ayrılmış olup her bir kategoride spermelerde sitoplazmik yaka olabileceği fakat bunun kesitin düzlemine göre görülüp görülmemesinin değişebileceği, özellikle orta bölgenin boylamsal kesitlerinde görülebildiği belirlenmiştir (Hodgson vd 1996).

Sperm yapısında metabolik gereksinimlerini karşılamak için depo maddesi olarak Caenogastropodlarda, Heterobranş ve bazı Sefalopodlarda peri-aksonomal bölgede yoğun glikojen deposu bulunmaktadır (Röpstorf vd 2001). *P. rustica*, *P. caerulea* ve *P. ulyssiponensis*'te böyle yapılara rastlanmamıştır. Opistobranş gastropodlardan Chromodorididae familyasının türleri (Wilson ve Healy 2002) ve Pulmonat gastropodların (Healy ve Jamieson 1989) spermının kuyruk kısmında aksonom bölgesinin sağ ve sol taraflarında büyük 3-4 adet glikojen parçalarıyla glikojen heliksi oluşturmasına rastlanmıştır. *P. rustica* türünde spermın kuyruk kısmında glikojen partiküllerine rastlanmış olmasına rağmen herhangi bir heliks yapısı gözlenmemiştir. Bu yapı incelenen diğer iki türde de gözlenmemiştir.

İncelenen *P. rustica*, *P. caerulea*, ve *P. ulyssiponensis* türlerinin sperm yapılarında kuyrukları Trochidlerde *Oxystele* cinsinde (Hodgson vd 1990) ve daha çalışılan diğer Patellid türlerinde (Hodgson ve Bernard 1988) olduğu gibi 9+2'lik

mikrotübüler düzenindedir. Bu türlere nazaran Pulmonat gastropodların, 9+1'lik mikrotübüler yapıda olduğu belirtilmiştir (Healy ve Jamieson 1989).

Uzamış spermin belirgin özelliklerinden biri olgun spermde organize olan artık sitoplazmik kümenin varlığıdır. Bu özellikde her üç sperm türünde de görülmektedir. Sitoplazmik artık, sınır zarı ve bir kaç küçük mitokondri içermesine rağmen, daha yüksek prosobranş gastropodların (Buckland-Nicks 1973, Buckland-Nicks ve Chia 1977, Healy 1986c) testislerindeki yardımcı hücreler kadar karmaşık yapıya sahip değildir.

Çalışılan patellid Limpetlerin spermelerinin morfolojik özellikleri incelendiğinde boyutlarda türlere göre farklılıklar oluşturduğu yapılan önceki çalışmalarda da belirlenmiştir (Hodgson ve Bernard 1988) (Çizelge 5.1 Çizelge5.2). Bu türlerden limpetlerde *Patella tabularis* ve bivalvlerden *Barbiata obliquata*, *B. foliata*, *Tivela polita* türlerinin baş, nükleus, akrozom uzunlukları ile *P. rustica*, *P. caerulea* ve *P. ulysiponensis* spermelerinin morfometrik özellikleri büyük benzerlikler göstermektedirler .

Çizelge 5.1. Patellidae¹ familyasından (Hodgson ve Bernard 1988), Lottidae² Fissurellidae³ (Hodgson ve Chia 1993, Buckland-Nicks ve Howley 1997, Hodgson ve Morton 1998), Trochidae⁴ (Hodgson vd 1990), Acmaeidae⁵ (Hodgson ve Morton 1998) sperm baş bölgesinin (B.U), nükleusun (N.U.) ve akrozomun (A.U.) ortalama uzunlukları

Tür	B.U. (µm)	N.U. (µm)	A.U. (µm)	Tür	B.U. (µm)	N.U. (µm)	A.U. (µm)
<i>P.aphanes</i> ¹	3.9	2.4	0.5	<i>Lottia pelta</i> ²	5.5	2.2	3.3
<i>P. argenvillei</i> ¹	5.1	2.3	0.4	<i>L. digitalis</i> ²	6.1	2.5	3.5
<i>P. barbara</i> ¹	3.5	2.2	0.4	<i>L. strigatella</i> ²	5.8	2.7	3.1
<i>P.obtecta</i> ¹	3.8	2.1	0.5	<i>Tectura scutum</i> ²	8.7	3.0	5.8
<i>P. tabularis</i> ¹	3.1	2.0	0.3	<i>T. testudinalis</i> ²	5.7	2.6	2.6
<i>P.cochlear</i> ¹	6.2	4.8	1.1	<i>Nipponacmaea schrenkii</i> ²	3.2	2.0	1.1
<i>P.longicosta</i> ¹	7.9	5.6	1.0	<i>Diodora aspera</i> ³	5.0	3.8	1.3
<i>P.granularis</i> ¹	12.8	7.0	3.1	<i>Oxystele sinensis</i> ⁴	5.5	1.7	1.9
<i>P.compressa</i> ¹	3.6	1.6	1.2	<i>O. tigrina</i> ⁴	6.3	2.2	2.1
<i>P.conocolor</i> ¹	4.0	1.7	1.1	<i>O. tabularis</i> ⁴	4.0	1.8	0.7
<i>P.granatina</i> ¹	5.0	2.3	1.4	<i>O. variegata</i> ⁴	4.8	1.8	1.2
<i>P.miniata</i> ¹	4.4	1.9	1.3	<i>O. sp.</i> ⁴	5.2	2.3	1.1
<i>P.oculus</i> ¹	3.5	1.7	1.3	<i>Patelloida profunda albonotata</i> ⁵	6.0	4.5	1.4
<i>H. pruinus</i> ¹	8.7	3.0	3.9	<i>P. saccharina</i> ⁵	5.6	3.1	2.5
<i>H. pectunculus</i> ¹	7.2	3.7	1.5	<i>P. pygmaea</i> ⁵	3.5	2.2	1.3
<i>C. capensis</i> ¹	9.4	4.5	2.5				

Çizelge 5.2. Euspermatozoa yapısına sahip bazı gastropod türlerinin akrozom ve nükleus uzunlukları (Healy ve Jamieson 1989).

Türler	N.U. (µm)	A.U. (µm)
<i>Onchidium damellii</i>	4	0.9
<i>Siphonaria funiculata</i>	5	0.6
<i>Salinator spp</i>	9-10	1.0
<i>Ophicardelus spp.</i>	4.3	0.6
<i>Biompharia glabrata</i>	2.0	1.0
<i>Succinea putris</i>	4	0.6
<i>Lymnaea lessoni</i>	2	1.0

Sperm çeşitliliği döllenmenin ortamını ve taksonların filogenetik ilişkilerini göz önüne alarak sistematik durumlarını ortaya koyar (Healy 1996a).

Sitoforum sitoplazmasının olgunlaşan spermatidlerden kalan artıktan kaynaklı olduğu diğer çalışmalarda düşünülmüştür (Hodgson ve Bernard 1988).

5.3. Ovaryum ve Oogenez Süreci

Patellid limpetlerde ovaryum morfolojisi hakkında yapılan çalışmalar Hodgson'un çalışmaları (2000) dışında ışık mikroskopik seviyede gerçekleştirilmiş olup (Orton vd 1956, Bolognari 1960a-b, Branch 1974), ovaryumun ince yapıları ve hücrel farklılıklarıyla ilgili yeterli çalışma bulunmamaktadır. Sadece birkaç çalışma ovaryum ince yapıları hakkında bilgi vermektedir (Jong-Brink vd 1983). Bolognari (1960a,b) *P. caerulea*'da yumurta sarısı oluşumu ve oosit organelleri, Kessel (1982), *Lottia digitalis* türünde lipid, endoplazmik retikulum ve oositlerde halkalı lamellerin farklılığı, Buckland-Nicks and Howley (1997) *Tectura digitalis*'de döllenme, yumurta çeperinin yapısı, Hodgson and Eckelbarger (2000) Güney Afrika'da bulunan altı patellid limpet türünde ovaryum yapıları ve oogenez aşamaları incelenmiş olmasına rağmen ülkemizde Patellidlerin ovaryum ve oosit gelişimlerine yönelik bir çalışma bulunmamaktadır.

Prosobranşların üreme sistemleri ve ovaryum morfolojileri oldukça geniş çalışılmış olmasına karşın (Webber 1977, Fretter ve Graham 1994) ovaryum morfolojilerinin ince yapıları hakkında çalışma sayısı azdır (Jong-Brink vd 1983). Patellid limpetlerin ovaryum yapılarının karmaşık yapılı organlar olduğu belirtilmiştir. Prosobranş türlerinde de ovaryumlar türlere göre farklılıklar göstermektedir. Neritimorfların ve Caenogastropodların ovaryumlarında trabekulanın olması bir farklılık iken, aynı zamanda çoğu Vetigastropodların ovaryumları da morfolojik olarak da farklılık göstermektedir. Caenogastropodlardan *Colus stimpsoni* (West 1981, 1983), *Ilyanassa obsoleta* (Taylor ve Anderson 1969) ve *Viviparus contectus* (Bottke 1972) türlerinin ovaryumlarının birçok tübüller dal içerdiği tanımlanmıştır. Neritid gastropodlardan *Batyynerita naticoidea* ovaryumunda üzüm salkımlarına benzeyen asinus organ bulunmaktadır (Eckelbarger ve Young 1997). Limpet ovaryumunun morfolojik olarak en erken tanımlaması İngiliz sularından alınan *Patella vulgata* örnekleriyle yapılmıştır (Orton vd 1956). *P. aspera* ve *P. depressa*'nın ovaryumuna ve

oogenez süreçlerine yönelik çalışmalar ışık mikroskopik düzeydedir (Dodd 1956). Parafin doku bloklarından alınan histolojik kesitler ayrıntılı tanımlamalar için oldukça yüzeysel kalmaktadır. Oositlerin gelişimine bağlı olarak bağ doku trabekulası, gonad ve germinal epitelyumu destekleyen bir yapı olarak belirtilmiş olup ışık mikroskopik çalışmalarda görüntülenmesi oldukça zordur (Dodd 1956).

İncelenen *P. rustica*, *P. caerulea* ve *P. ulyssiponensis* türlerinin ovaryum yapısında gonad olgun hale geldiğinde renk değişimi olduğu yeşil-gri, kahverengi renklere döndüğü gözlenmiştir. *Cellona ornata* limpetinin ovaryum yapısı ve gonad gelişim süreci ile incelediğimiz üç *Patella* türü büyük benzerlik göstermektedir.

P. rustica, *P. caerulea* ve *P. ulyssiponensis* türlerinin ovaryumları histolojik açıdan incelendiğinde gonad gelişim safhaları **erken aktif (I)**, **geç aktif veya kısmen olgun (II)**, **olgun (III)**, **tamamen boşalmış veya dinlenme (IV)** safhalar olarak dört safhaya ayrılmıştır.

Gametogenez bitmiş ve gonadda germinal hücreler bazında bir dinlenme safhası başlamıştır. Rocha-Barreira (2002) *Acmeid* ve *Colisella* ovaryumunda gelişim aşamalarında ventral yüzeylerindeki morfolojik yapılarına göre kısmen olgun, olgun, kısmen boşalmış veya tamamen boşalmış olma durumlarına göre yapısal farklılıklar gözlemiş (Bknz Şekil 2.11, Çizelge 2.1) ve dolayısıyla incelediğimiz üç Patellid türünün ovaryumlarında benzer gelişim özellikleri gösterdiği belirlenmiştir.

Üç *Patella* türünün ovaryum yarı ince ve ince kesitlerinde oogenez, ışık ve elektron mikroskopunda incelenerek oogonyumdan başlayarak oosit gelişimi ve olgunlaşması takip edilmiştir. Bu süreçte **oogonyum**, **previtellojenik**, **vitellojenik** (erken ve geç vitellojenik), **postvitellojenik** (olgun) **oositler** ayırt edilmiştir.

Gastropodlardan *Haliotis varia* oogonyum, previtellojenik, erken vitellojenik, geç vitellojenik, olgun oosit (Najmudeen 2008), oogenez gelişim süreçleri incelediğimiz *P. rustica*, *P. caerulea* ve *P. ulyssiponensis* türlerinin oogenez süreçleriyle benzer olmasına rağmen, *H. rufescens* türünde ovaryumda germinal hücreler arasında oosit safhalarını ve gelişimlerini tanımlamış olduğu sınıflandırmaya göre, oositlerin olgunlaşma safhaları germinal, presentetik, sentetik, postsentetik olmak üzere dörde ayrılmıştır (Brickey 1979, Martin vd 1983). Güney Afrika Patellid türlerinin (Hodgson ve Eckelbarger 2000), *Bathynnerita naticoidea* (Eckelbarger ve Young 1997), *Melanooides tuberculata* ve *M. buccinoidea* (Hodgson vd 2002) *Siphonaria capensis* ve *S. serrate* oogenez gelişim süreçleri previtellojenik, vitellojenik oosit (Pal ve Hodgson 2002) olarak ayrılmıştır. Bivalvlerden *Pinna nobilis* (De Gaulejac vd 1995) ve *Chamelea gallina* (Erkan 2009) protogonyum, oogonyum, previtellojenik, vitellojenik, postvitellojenik *Crassostrea virginia*'da premayotik, previtellojenik, vitellojenik (Eckelbarger ve Davis 1996); *Amiantis umbonella* premayotik (protogonyum ve oogonyum safhaları); erken previtellojenik oosit ve vitellojenik, postvitellojenik (Al-Mohanna vd 2003); *Neotrigonia margaritacea* protogonyum, oogonyum, previtellojenik, vitellojenik, postvitellojenik (Glavinic vd 2011) olarak safhalara ayrılmıştır.

P. rustica'da oogonyumlar asinüs duvarında birbirine yakın yerleşimli bulunmaktadır. Oogonyumların nükleusları küreseldir ve sitoplazmaya göre daha büyük bir alana sahip olup, bir veya iki tane merkez dışı yerleşimli nükleolusları bulunmaktadır. *Haliotis varia*'nın oogonumu ortalama 10 µm olup (Najmudeen 2008) *P. rustica*'nın oogonyumuyla benzer özellik göstermektedir ve nükleusları da yakın çaplardadır. Bivalvlerden *Pinna nobilis*' in oogonyumu 3.5-7.5µm çapları arasında küresel veya uzamış olup büyük bir nükleus ve bir tane yüzük şeklinde nükleolus formuna sahiptir (De Gaulac vd 1995). Bivalvlerden *Neotrigonia margaritacea*'nın oogonyumu 6-10 µm çapında olup (Glavinic vd 2011), incelediğimiz üç türün oogonyum çapıyla yakındır.

İncelediğimiz *Patella* türlerinin ovaryumlarında kromatin materyali retikular dağılımlıdır. Oogonyumların nükleolusu fibrilli ve granüllü bir yapı özelliği göstermektedir. Oolemma düz olup, bu safhada zarla ilgili herhangi bir morfolojik özellik izlenmemiştir. *P. ulyssiponensis*'te oogonyumlar previtellojenik oositlere yakın konumlu bulunmakta Oogonyumların nükleusları kromatin materyal bakımından *P. rustica*'nın oogonyumuna göre daha azdır. *P. rustica* ve *P. ulyssiponensis*'in oogonyumlarının çevresinde folikül hücreleri sıralanmış olarak bulunmaktadır. *P. rustica* ve *P. ulyssiponensis*'in oogoniyal hücreleri pekçok diğer denizel mollusklardaki ile benzer özellik göstermektedir (Hodgson ve Eckelbarger 2000, Pal ve Hodgson 2002, Najmuden 2008).

P. rustica'da previtellojenik oositler küresele yakın olup, bir nükleus içinde bir nükleolus içermektedir. Nüklear hacimleri artmıştır. Sitoplazmaları elektronca yoğun olması nedeniyle koyu görünmekte olup, mitokondri ve yoğun salgı granülleri, ribozomlar göze çarpmaktadır. Previtellojenik oositlerin sitoplazmasında mitokondrilerin sayısı oogonyumdakilere kıyasla arttığı gözlenmiştir. Oositlerin çevresini folikül hücreler ve bunların ince, yalancı ayak benzeri uzantıları ile kuşatıldığı görülmüştür. *P. caerulea*'nın previtellojenik oositlerin sitoplazmasında golgi aygıtları yassı kesecikler vardır ve yassı keseciklerin uç bölgede şişkinleşmiş ve salgı içeren vakuollerini dikkati çekmektedir. *P. caerulea*'nın ovaryumunda previtellojenik oosit, geç vitellojenik oosite yakın konumlanmıştır. Çalıştığımız *P. rustica*, *P. caerulea*, *P. ulyssiponensis* türlerinde previtellojenik oosit büyük bir nükleusa ve elektronca daha yoğun görünen bir veya iki tane nükleolusu görünmektedir. Sitoplazmalarında az sayıda lipid granülü ve yumurta sarısı proteini ve mitokondriler bulunmaktadır. *Pinna nobilis*'in ovaryumunda previtellojenik oositler *P. rustica*'nın previtellojenik oositiyle yakın büyüklüklerde olup oogonyuma göre daha uzamış hücrelerdir (De Gaulejac vd 1995). *Neotrigonia margaritacea* ve *Pinna nobilis* türü oositlerine göre incelediğimiz üç Patellid türünün previtellojenik oositine göre daha büyüktür ve oositlerin nüklear zarları ile yakın konumlu sayısız mitokondri ve endoplazmik retikulum gözlenmiştir (Glavinic vd 2011). *N. margaritacea*'nın ovaryumunda previtellojenik oositler birbirine yakın konumlu olup aralarında herhangi bir desmozom yapısı bulunmamaktadır (Glavinic vd 2011). Çalıştığımız *P. rustica*, *P. caerulea*, *P. ulyssiponensis* ve diğer araştırmacıların incelediği Mollusca türlerinin previtellojenik oositlerinde mikrovillus ve jelatin örtü gözlenmemiştir. Bizim incelediğimiz türlerin aksine *N. margaritacea*'nın previtellojenik oositin sitoplazmasında çok sayıda kortikal granülü bulunmaktadır (Glavinic vd 2011).

P. rustica, *P. caerulea*, *P. ulyssiponensis* 'in erken vitellojenik oositleri, geniş ve yuvarlak nükleusa sahip olup, nükleoplazma içerisine heterokromatin madde saçılmıştır. Oositler büyümeye başladıkça, nükleus genişlemekte ve birden fazla nükleolus içermektedir. Bazı oositlerde iki büyük bir veya iki küçük nükleolus bulunduğu gözlenmiştir. *P. rustica* 'nın erken vitellojenik oositinin nükleolusunun yüzeyinde nükleolusa göre elektronca daha yoğun olan sarmal cisim özellikli yapılara rastlanmış olup bu iki yapı dğer iki türde gözlenmemiştir. Bazı küçük nükleoluslar da sarmal cisim benzeri yapılarla ilişkilidir. Nükleolusun granüler ve fibriler yapısı ortaya çıkmıştır. Erken vitellojenik oositlerin sitoplazmasında farklı büyüklükte mitokondriler, yumurta sarısı proteinleri ve lipid granülleri sayıca artmıştır. *P. rustica* 'nın erken vitellojenik oositinin nükleosu iki parçalı olup, içte fibrilli bir çekirdek varken dışta granüler kabuk bulunmaktadır. Fibrilli kısım, granüllü kısma göre elektronca daha az yoğun olduğu gözlenmiş olup bu özelliğe *P. caerulea* ve *P. ulyssiponensis* türünde rastlanmamıştır. Gastropodlardan *Bolinus brandaris* (Amor vd 2004), Bivalvlerden *Chamelea gallina* (Erkan 2009) ve Poliketlerden *Streblospio benedicti* türünde iki parçalı nükleus yapısı belirlenmiştir (Eckelbarger 1980). *Haliotis varia* 'nın erken vitellojenik oositleri 50µm (Najmuden 2008) *Pinna nobilis* 'te yaklaşık 9µm (De Gaulejac vd 1995), *Amiantis umbonella* 11-15µm uzunluğundadır (Al-Mohanna 2003).

İncelenen üç türde de geç vitellojenik oositin sitoplazmasındaki yumurta sarısı proteini ve lipid granülleri yoğunluğunun arttığı gözlenmiştir. Geç vitellojenik oositler oval bir nükleusa ve büyük bir nükleolusa sahiptir. *Haliotis varia* 'nın geç vitellojenik oositi 80-100µm çapına kadar gelişirken yumurta sarısı proteinleri ve lipid granüllerinin koyu renkte boyandıkları gözlenmiştir (Najmudeen 2008). *Pinna nobilis* türünde geç vitellojenik oositler yardımcı hücrelerle desmozomlar sayesinde birbirlerine bağlantılıdır (De Gaulejac vd 1995). Geç vitellojenik oositleri nükleoplazmaları kromatin materyali bakımından oldukça zengindir. Oositlerin gelişmesiyle birlikte sitoplazmalarında lipid granülleri ve yumurta sarısı proteininin sayıca arttığı ve jelatin kılıfında kalınlaşmaya başladığı gözlenmiştir.

Postvitellojenik oositlerin nükleusları bir veya iki tane nükleolus içerebilmektedir. Oosit nükleusunun büyüklüğü, konumu ve fonksiyonu oogeneze evresine bağlıdır. İncelediğimiz üç türün oogonyumları ve previtellojenik oositlerinin nükleusu diğer hücrelere kıyasla büyük olmasına rağmen olgun oositin nükleusundan daha küçüktür. Nükleusta bulunan nükleolusun büyüklüğü, sayısı ve organizasyonu oositlerde oldukça değişkendir (Wourms 1987). İncelediğimiz Patellidlerin oositinin nükleuslarında bir veya iki tane nükleolus gözlenmiştir. Oositlerin sitoplazmasında yumurta sarısı proteini ve lipid taneciklerinin bol miktarda dağılım gösterdiği her üç türün ovaryumunun yarı ince kesitlerinde görülmektedir. *Amiantis umbonella* 'nın postvitellojenik oositi incelediğimiz üç Patellid türünün postvitellojenik oositi gibi, büyük küresel bir nükleusa (20-35µm) ve bir nükleolusa (10µm) sahiptir (Al-Mohanna vd 2003). İncelediğimiz her üç türün postvitellojenik oositlerinde sayısız mikrovillus, vitellin örtüye gömülmüş bir şekilde konumlanmıştır. Mikrovillusların serbest uçları, vitellin örtüden dışarıya doğru çıkmaktadır ve ooplazmalarında tüm sitoplazmaya dağılmış, çok sayıda lipid granülü, yumurta sarısı proteini ve yumurta zarına yakın konumlu kortikal granüller yer almaktadır. *Haliotis varia* 'nın postvitellojenik oositinde kortikal granüller yaklaşık 0.2µm'dir (Najmudeen 2008). İncelediğimiz Patellid türlerine göre biraz daha küçük

olup, olgun oosit sitoplazma membranının altında konumlanırlar. Kortikal granül birçok omurgasız oositi için önemli bir özelliktir (Norrevang 1968, Wourms 1987). Caenogastropodlardan *Ilyanassa obsoleta*'da (Taylor ve Anderson 1969), *Melanopsis tuberculata* ve *M. buccinoidea* (Hodgson vd 2002), *Siphonaria capensis* ve *S. serrata* (Pal ve Hodgson 2002) türlerin de yumurtalarının kortikal bölgeleri incelendiğinde granüllerden yoksun oldukları ortaya çıkmıştır. Bu türlerin aksine incelediğimiz *P. rustica*, *P. caerulea*, *P. ulyssiponensis*'te olgun oositin mikrovillusların hemen altında oval şekilli kortikal granüller bulunmaktadır. *Mytilus edulis*, *Pinna nobilis*, *Haliotis varia*'nın oositinde kortikal granüller, oositin periferinde konumlanmışlardır (Pipe 1987, Gaulejac vd 1995). Jelatin örtü her üç Patellid türünün bütün postvitellojenik evredeki oositlerinde mevcut olup, irili ufaklı mitokondriler özellikle oositin perinükleer alanında bol miktarda bulunmaktadır. Postvitellojenik oositlerin nükleusları oldukça geniştir ve nükleolusa göre daha az elektron yoğunluğuna sahip olup, bazılarının nükleolusunda sarmal cisim benzeri yapı konumlanmıştır. Nükleolusun granüllü yapısı çok belirgindir. *P. caerulea* ve *P. ulyssiponensis* türlerinin postvitellojenik oositine nazaran *P. rustica* türünün oositinin sitoplazmasında *Haliotis varia* (Najmuden 2008), *Mytilus edulis* (Pipe 1987) türlerinin oositinde olduğu gibi vitellojenizde rol oynayan (Gomez-Robles vd 2005) ve pek çok molluskların oositinde **Balbani cisimciği** yer almaktadır. Balbani cisimciği hayvanlar aleminde türlerde oositlerin geniş bir yayılıma sahiptir (Guraya 1979). Postvitellojenik oositin sitoplazmasında bulunan lipid taneciklerinin etrafında elektronca yoğun yapılar bulunmaktadır. *P. caerulea*'nın ovaryumunda farklı gelişim aşamalarında bulunan previtellojenik, geç vitellojenik, postvitellojenik oositler birbirlerine yakın konumlu bulunmaktadır. *Haliotis varia*'nın postvitellojenik oositinde yumurta sarısı proteini yaklaşık 2.5µm, lipid granülü 2.3 µm çapındadır (Najmudeen 2008). İncelediğimiz her üç Patellid türünün ovaryumunda lipid granülleri daha açık renkte boyanma özelliği gösterirken yumurta sarısı proteinleri daha koyu renkte görünmekte olup yapılan diğer çalışmalarla paralellik göstermektedir (Hodgson vd 2000, Pal ve Hodgson 2002, Al-Mohanna 2003, Najmudeen 2008, Erkan 2009). *P. ulyssiponensis*'in postvitellojenik oositin sitoplazmasında özellikle yumurta sarısı proteinlerinin çevresinde farklı büyüklükte mitokondriler yoğun olarak bulunmaktadır. *Amiantis umbonella*'nın olgun oositinin sitoplazmasında da sayısız mitokondri belirlenmiştir (Al-Mohanna vd 2003). *P. ulyssiponensis*'in sitoplazmasında bulunan yağ damlacıklarının etrafında *P. caerulea* ve *P. ulyssiponensis* türlerinin lipid granüllerine kıyasla yoğun düzgün dağılımlı olmayan halkasal yapı bulunmaktadır ve bu yapılara benzer özellikte *Amiantis umbonella*'nın oositinin lipid granüllerinde de gözlenmiştir (Al-Mohanna vd 2003). Güney Afrika Patellidlerinin ovaryumlarında da oosit sitoplazmasında lipid granüllerinin etrafında benzer yapılar gözlenmemiştir (Hodgson vd 2000).

Her üç türün oositlerinin enine kesitlerinde mikrovilluslar ovalimsi ya da yuvarlak görünmektedir. Olgun oositte yumurta zarından jelatin kılıfa doğru salgı keseciği gözlenmiştir. Siphonariid limpetlerden *Siphonaria capensis* ve *S. serrata*'nın (Pal ve Hodgson 2002) yumurta sarısı granülü diğer bazı omurgasızlarda olduğu gibi iki parçalıdır (Norrevang 1968, Wournms 1987, Eckelbarger ve Blades- Eckelbarger 1989). Böyle yumurta sarısı granüllerinin merkezi karbonhidrat ile çevrelenmiştir (Gérin 1976a, Wournms 1987). Bizim incelediğimiz *P. rustica*, *P. caerulea*, ve *P. ulyssiponensis* türlerinin yumurta sarısı proteininde böyle iki parçalı bir yapı gözlenmemiştir.

P. caerulea 'nın bazı geç vitellojenik oositlerin arasında iyice uzamış nükleusu ve belirgin nükleolusu ile dikkat çeken yassı folikül hücreleri vardır. Geç vitellojenik oositin sitoplazmasında oolemmaya yakın konumlanmış çeşitli büyüklük ve şekillerde folikül hücreleri bulunmaktadır. Oositler iyice olgunlaşmaya başladıklarında jelatin örtü kalınlaşmaktadır. Farklı olgunluklardaki ve büyüklüklerdeki oositlerin jelatin kılıfları birbirleri ile yakın konumlu görünmektedirler. *P. rustica* 'nın ovaryumunda folikül hücreleri şekilleri ve büyüklükleri bakımından *P. caerulea* ve *P. ulyssiponensis* 'e göre farklı olmasına rağmen genellikle yassıdır ve geliştirmekte olan oositlere göre daha az elektron yoğunluğuna sahiptirler. Bu hücreler, previtellojenik ve erken vitellojenik oositleri kısmen kuşatmaktadır. Folikül hücrelerinin bazıları hücre zarıyla birbirlerine bağlanarak grup halinde kümelenmiştir. Hücre şekli gibi, nükleuslarının şekli de pleomorfiktir. Nükleuslarında kromatin saçılmış olup, heterokromatin azdır. Sitoplazmaları organel bakımından oldukça fakirdir. Benzer özellikler *Pinna nobilis* 'in ovaryumundaki folikül hücrelerinde de belirlenmiştir (De Gaulejac vd 1995). *P. rustica* 'da vitellogenez sırasında folikül hücrelerinde GER miktarında artış vardır. Folikül hücreleri erken vitellojenik oositleri sıkı bir şekilde kuşatmışken daha sonra jelatin örtünün gelişimine paralel olarak geç vitellojenik ve postvitellojenik oositlerde uzaklaşmış görülmüş *P. caerulea* 'da folikül hücreleri geç vitellojenik ve postvitellojenik oositlerin çevresinde bulunmaktadır. Folikül hücresinin çeşitli şekillerde nükleosu ve belirgin bir nükleolusu bulunmakta olup sitoplazmasında bol miktarda mitokondri yer almaktadır. Olgun oositlerin çevresinde bulunan folikül hücreleri, gruplar halinde ve birbirlerine desmozomlarla bağlantılıdır. *P. vulgata* 'da folikül hücrelerinin polifosfoinositid metabolizması ve proteinlerin fosforilasyonundaki etkileri ile oosit olgunlaşma sürecinde rol aldıkları vurgulanmıştır (Borg vd 1995). Ancak bu durumun kanıtı olarak çalışılan *Patella* türlerinde morfolojik olarak folikül hücreler ve erken/geç vitellojenik oositler arası zar etkileşim bölgeleri ayırt edilmemiştir. Aynı zamanda folikül hücrelerinde, bol proteosentetik organeller (golgi, granüllü endoplazmik retikulum) bulunduğu için folikül hücrelerinin omurgasız oositlerinin beslenmesinde rol oynadığı düşünülmektedir (Wourms 1987, Eckelbarger 1994a). Prosobranş gastropodlarda folikül ince yapıları türler arasında oldukça önemli farklılıklar bulmuşlardır (Eckelbarger ve Young 1997). Bottke (1972) folikül hücrelerinin proteosentetik organelleri zayıf olduğu için, folikül hücrelerinin *Viviparus connectus* 'ta oosorption ve/veya oositin büyümesinde kullanılan depo maddelerinde öncelikli rol aldığını söylemiştir. Bunun aksine *Ilyanassa obsoleta* (Taylor ve Anderson 1969), *Colus stimpsoni* (West 1981) ve *Batyanerita naticoidea* (Eckelbarger ve Young 1997) folikül hücrelerin oosit beslenmesinde önemli rol oynadığını ortaya atmışlardır. Griffond ve Gomot (1979)'ın *Viviparus viviparus* 'un folikül hücreleri üzerine yaptıkları çalışmada, bu hücrelerin fagositotik özellikte olduğu, depo ve oosit besinini içerdiği sonucuna varmışlardır.

Patella spp. ve *Helcion pectunculus* 'ta vitellogenez homosölde endositoz ara bulucu reseptörü aracılığı ile yumurta sarısı habercilerinin dahil olması ile heterosentetik süreç görülmektedir. Oosentetik yumurta sarısının üretiminin kuralını Hodgson ve Eckelbarger (2000)'ın çalıştığı 6 Patellid türü içinde söylenmemiş olup, *P. rustica*, *P. caerulea*, *P. ulyssiponensis* 'in ovaryumunda endoplazmik retikulumun ve golgi kompleksinin, yumurta sarısı sentezine katıldığını gösteren herhangi bir kanıt bulunamamıştır. Endositoz yoluyla harici yumurta sarısı öncülerinin ortaklığının kanıtı mollusk oositlerinde geniş çapta belgelendirilmemesine (Jong- Brink vd 1983,

Eckelbarger ve Blades- Eckelbarger 1989) rağmen bir tane Opistobranşta (Eckelbarger ve Blades- Eckelbarger 1989), bazı cephalopodlarda (Selman ve Wallace 1978), Pulmonatlarda (Hill and Bowen 1976, Bottke et al. 1982, Jong- Brink vd 1983), iki tane Caenogastropodta (Bottke 1973, West 1981) ve bir tane neritidde (Eckelbarger ve Young 1997) rapor edilmiştir ve birincil yumurta sarısı oluşum süreci Molluskalarda incelenmiştir (Jong- Brink vd 1983, Medina vd 1986). Limpetlerde vitellogeniz süreci boyunca hipertonic ovaryumun somatik hücreleri ve endositotik aktivitesi hızlı yumurta sarısı oluşumu ve yaygın yumurtalama olayları ile türün karakteristik yapısı da incelenmiştir (Eckelbarger 1994, Eckelbarger ve Watling 1995).

İncelediğimiz her üç türün olgun oositlerine proteinin bol miktarda bulunması embriyoların juvenil safhalarına hızla ulaşma gereksinimlerinden kaynaklanmış olabileceği düşünülmüştür. Benzer bir durum *Melanopsis buccinoidea* türünde de açıklanmıştır (Hodgson vd 2010). Serpulidlerden *Spirorbis borealis*'in oositleri kan damarlarına bağlanmaktadır ve Postwalt (1972) perivasal hücrelerin dolaşım sisteminde yumurta sarısı öncü sentezinde görev alabileceğini tahmin etmiştir. Eckelbarger (1980) Spinoidlerden, *Streblospio benedicti*'nin genital kan damarlarına bağlanan oositlerinin hipertonic folikül hücrelerinin biyosentetik aktiviteleri ile dolaşım sisteminden doğrudan yumurta sarısı öncüleri ile katıldıklarını öne sürmüştür. Benzer bir mekanizma poliketlerden *Phragmanitopoma lapidosa*'da tanımlanmıştır (Eckelbarger 1979).

Küçük oositli olan gastropodların ve bivalvlerin, birçok durumda granüllü endoplazmik retikulum ve golgi aygıtının işbirliğinden dolayı yumurta sentezlerini otosentez yoluyla yaptıkları farzedilmektedir (Ubbel 1968). *Alloteuthis*'in çok büyük olan folikül hücrelerine göre Cephalopodların otonom yumurta üretimi eğiliminde oldukları düşünülmemektedir. Heterosentetik vitellogeniz tipini kullanan türlerde ise yumurta üretimi hızlı iken otosentetikte yumurta üretimi oldukça yavaştır (Eckelbarger 1994a), bizim çalışmamızda *P. rustica*, *P. caerulea*, *P. ulyssiponensis* türlerinin hızlı veya yavaş yumurta yapıcı olup olmadıklarına bakılmamıştır.

Oogenezin ilerleyen safhalarında mitokondri sitoplazmada hala mevcuttur. Fakat erken safhalardaki kadar sayısız değildir. Mitokondriyal aktivite azalmıştır. Benzer durum bivalvlerden *Neotrigonia margaritacea*'da görülmüştür (Glavinic vd 2011). Geniş lipid granüller vitellojenik safhaların öncesinde gözlenmemiştir.

Döllenmeleri suda gerçekleşen türlerde oositler birden fazla spermin hedefi halindedir. Denizel omurgasızlardan serbest yumurtlayanlarda sıklıkla polispermi; bir yumurtanın birden fazla spermle döllenmesi söz konusu olabilir. Böyle durumlarda yumurtada anormaller çatlama ve ölmeler söz konusudur (Gould ve Stephano 2003). Oositin hücre dışı tabakasının en önemli mekanizması ilave spermi bağlamak ve nüfus etmesini sağlamakla görevlidir. Vitellin örtünün kalınlığı arttıkça fiziksel bir bariyer olarak çalışır ve bazı bivalv türlerinde, jel örtünün kortikal granüller tarafından salındığı düşünülmektedir (Gould ve Stephano 2003). Diğer suda dölenen türlerin yumurtalarında olduğu gibi *P. rustica*, *P. caerulea*, *P. ulyssiponensis* türlerinde de kortikal granüller sıklıkla gözlenmiş ve jelatin örtü olgun oositlerde iyice gelişmiştir. Oositlerde kalın jelatin örtü, gelişmenin en yüksek düzeyde olduğunu ve yumurtlama için hazır olduğunu göstermektedir (Hyung Kang vd 2009). Olgun bir sperm olgun bir oositin jel örtüsü ile ilk temas anında akrozomun vitellin tabaka ve plazma zarına

temasa geçmesi ve dölleme için gerekli akrozomal aktivitenin uyarılması söz konusudur (Buckland-Nicks ve Howley 1997). Bu nedenle spermlerdeki akrozomal yapı ve olgun oositin jelatin-vitellin örtüleri oldukça önemli yapılardır. Bu yapılarda belirlemiş olduğumuz farklılıklar *Patella* türlerinin üreme izolasyonlarının temel nedeni olarak düşünülebilir.

Ponder ve Lindberg (1996) filogenetik analizlerin yeni bilgilerle bütünleşmesi için gastropodların ayrıntılı anatomik çalışmalarına acil ihtiyaç olduğunu vurgulamışlardır. Gastropodların karakter analizleri birçok üreme karakterini içermesine rağmen ovaryum ince yapısını içermemektedir (Ponder ve Lindberg 1996). Bu da tahminen özelliklerin tanımlanmasındaki eksikliklerden kaynaklanmaktadır. Sperm ince yapıları Molluska'da filogenetik ilişkilerinin anlamları başarılı bir şekilde çözülmüşken (Heally 1988) dişi gametlerde ve ovaryum morfolojilerinde göz önüne alınmamıştır. Diğer metazoan gruplarında annelidlerde (Eckelbarger ve Grassle 1983) ve cnidarianlarda (Eckelbarger 1994b) ovaryum ve oosit ince yapıları filogenetik ilişkilerin anlaşılmasında çok yararlı olmuştur.

P. rustica, *P. caerulea*, *P. ulyssiponensis* ovaryum kesitlerine ve oogenez süreçlerine bakıldığında birbirlerine çok benzedikleri için, türe özgü çok belirgin bir farklılık ayırt edilmemiştir.

6. SONUÇLAR

Tez çalışmasında Türkiye denizleri Patellidleri olan *Patella rustica*, *P. caerulea*, *P. ulyssiponensis* türlerinin gamet gelişimleri ve özellikleri ile ilgili olan çıkarımlar şöyle sıralanabilir.

Eşeyssel ayırım dış morfolojiye göre gerçekleşmemektedir. Gonadlar makroskopik olarak eşeye göre ayırt edilebilmektedir. *P. caerulea* ve *P. rustica* türlerinde eşey dağılımında aylara göre erkek bireylerin sayısı dişi bireylerin sayısına göre daha fazladır. *P. rustica*'da 6 ay boyunca dişi bireylere rastlanırken, *P. caerulea* türünde 8 ay boyunca rastlanmıştır. Gonadlarda Mart ayında suların sıcaklığının artmasıyla gonadlarda gelişim başlamaktadır. Mayıstan Ağustos'a kadar deniz suyunun hızla ısınmasıyla, gonadlar aktif bir özellik gösterirler. Gonadların dinlenme safhaları, uzun sürmektedir. *P. rustica* ve *P. caerulea* türü Eylül ayında tekrar dişi gonad gelişimine başlamaktadır. Ağustos ayında gonadta yenilenme başlamıştır. Ergin erkek bireyin gonadı labirent gibi görünen, çok sayıda lobul içeren bir özelliktedir.

Testis yapısı incelendiğinde türler arası farklılık göstermeyen şekilde gonad gelişim safhaları; **erken aktif (I)**, **geç aktif veya kısmen olgun (II)**, **tam olgun (III)**, **tamamen boşalmış (IV)** safhalar olarak dört safhaya ayrılmıştır. Testiste gametogenezin farklı safhalarını takip eden tabakalar olduğu belirlendi. Tübüller içinde spermatogenez safhaları epitelden merkeze doğru, spermatidlerin gelişimine kadar bölünme aşamalarındaki hücreler (spermatisitler) ve daha küçük olan spermatidler ve ayrıca spermatozoa şekillenmesine kadar safhalar halinde ayırt edildi. Spermatogonyumlar sitoplazmik köprülerle sıkı bağlantılı yoğun gruplar halinde gözlemlendi.

Genç spermatidler bol sitoplazmik materyale sahip olduğu ve bazılarında sitoplazmik köprü varlığı gözlemlendi. Spermatidlerin olgunlaşmaya başlamasıyla hücre içi sitoplazmik materyalinde azalma belirlendi. *P. rustica* ve *P. caerulea*'da A tipi spermatogonyumlar gözlenmiş olup; heterokromatin özelliğinde olan nükleusa sahiptirler. Çok az sayıda gördüğümüz sekonder spermatisit spermatidlere yakın konumlanmış olarak bulunduğu belirlendi. Seyrek olarak sadece *P. caerulea* türünde B tipi spermatogonyumlar gözlemlendi.

İncelediğimiz üç türün testisinde de primer spermatisitler seminifer tübülündeki en büyük hücreler oldukları ve elektronca yoğun nükleuslara sahip oldukları belirlendi. Sekonder spermatisitler primer spermatisit hücrelerinin yaklaşık yarısı büyüklüğünde olduğu ve primer spermatisite göre daha az sayıda gözlenmiştir. Spermatidlerin sitoplazma miktarları azalırken, nükleus-sitoplazma oranları artmaktadır. Hücrelerin dış hatları düzenli bir yapı gösterdiği ve nükleuslarının elektronca yoğun olduğu gözlenmiştir.

Spermiyogenezde akrosomal yapı farklılaşması gözlemlendi. Spermatid olgunlaştığında akrosomal kese, hücrenin posteriöründen anterör kısmına doğru göç etmektedir. Akrozom anteriörden gelişmeye başlayarak olgun şeklini alırken, akrozomda uzama meydana gelmektedir. Bu arada subakrosomal bölgenin ayırt edildiği gözlenmiştir. Spermatidlerin erken gelişimlerinde proakrosomal kese hücrenin orta bölgesinde daha sonradan belli bir yerleşim özelliği kazanan gelişen mitokondrilere yakın konumlu yer almaktadır. Nükleus uzamasına paralel olarak akrozomda bir uzamanın olduğu ve konik bir şekil aldığı gözlemlendi. Nükleus anteriorü ile akrozom arasında subakrosomal bölge ayırt edildi. Spermatid olgunlaşma sürecinde proakrosomal kesenin hücrenin anteriörüne yönlendiği belirlenmiştir.

Akrozom koni şeklinde bir yapı oluşturarak olgun sperm şeklini almasını sağlamaktadır. Akrozom spermatozoa'da konik biçimdedir. Akrozom ve nükleusun çevresini plazma zarı çevrelemektedir. Akrozomunun en uç kısmında sitoplazmik zar farklı büyüklüklerde izlenen baloncuk benzeri bir yapı oluşturmuştur.

Olgun bir spermatozoonun, silindirik anteriöre doğru uzamış ve oldukça yoğun kromatin içerikli bir nükleusa sahip olduğu ve her türün sperminde nükleusu şekilsel benzerlik gösterdiği görüldü. Spermin orta bölgesinde dört tane iyi gelişmiş ve kristalleri tübüler yapıda tam küresel mitokondriye sahiptirler. Mitokondriyal yüzüğün merkezi proksimal sentriyoldür. Küçük bir nüklear çıkıntının posteriöründe ise distal sentriyol bulunmakta ve kuyruk kökü olarak görülmektedir. Spermlerinin orta bölgelerinin enine

kesitlerine bakıldığında 9+2 mikrotübüler düzeninde proksimal ve distal sentriyolleri görülmektedir. Sperm yapısı ilkel sperm yapısı özelliğine sahip olduğundan tek kuyrukları vardır. Mitokondriler, spermatogenezin gelişiminin erken safhalarında elipsoide yakın yuvarlak yapıda ve çok sayıda ve sitoplazma boyunca dağınık halde bulunmaktadır. Olgunlaşma başladığında, mitokondriler proksimal ve distal sentriyole yakın olarak bulunmaktadır.

Ovaryumları histolojik açıdan incelendiğinde türler arası farklılık gözlenmeksizin gonad gelişim süreci erken aktif (I), geç aktif veya kısmen olgun (II), olgun (III), tamamen boşalmış veya dinlenme (IV) safhalar olarak dört safhaya ayrılmıştır. Oogenez süreçleri incelendiğinde; **oogonyum, previtellojenik, vitellojenik, postvitellojenik** oositler ayırt edilmiştir.

Vitellojenik oositler gelişim durumlarına, nükleus materyallerinin ve sitoplazmalarının yoğunluklarına bağlı olarak erken ve geç vitellojenik olarak ayırt edilmişlerdir. Erken vitellojenik oositin sitoplazmasında farklı büyüklükte mitokondriler, yumurta sarısı proteinleri ve lipid granülleri sayıca artmıştır. *P. rustica*'nın erken vitellojenik oositinin nükleolusu iki parçalı olup, içte fibrilli bir çekirdek varken dışta granüler kabuk bulunmaktadır. Previtellojenik oositlerin sitoplazmasında golgi yapılarının yassı kesecikleri gözlenmiştir.

Postvitellojenik oositlerin nükleusları bir veya iki tane nükleolus (yaklaşık 8µm) içerebilmektedir. *P. rustica* ve *P. caerulea* türlerinin erken vitellojenik ve postvitellojenik oositlerinin nükleoluslarında sarmal cisim benzeri yapılar gözlenmiş olup *P. rustica*'nın erken vitellojenik oositinin nükleolusunda elektronca az yoğun bölge bulunmaktadır. Lipid granülleri daha açık renkte boyanma özelliği gösterirken yumurta sarısı proteinleri daha koyu renkte görünmektedir. Postvitellojenik oositlerde sayısız mikrovillus vitellin örtüye gömülmüş bir şekilde konumlanmıştır. Mikrovillusların serbest uçları, vitellin örtüden dışarıya doğru çıkmaktadır. Postvitellojenik oositlerin ooplazmasında, tüm sitoplazmaya dağılmış, çok sayıda lipid, yumurta sarısı proteini ve yumurta zarına yakın konumlu kortikal granüller yer almaktadır. Kortikal granüller, elektron yoğunluğu homojen bir içeriğe sahiptirler. Jelatin örtü bütün postvitellojenik evredeki oositlerde mevcuttur. *P. rustica*'nın postvitellojenik oositin sitoplazmasında Balbiani cisimciği gözlendi.

Ovaryumunda farklı gelişim aşamalarında bulunan previtellojenik, geç vitellojenik, postvitellojenik oositler birbirlerine yakın konumlu bulunmaktadırlar. Postvitellojenik oosit, olgun oositlere yakın konumlanmış olup jelatin kılıflarının geliştiği gözlenmiş ve olgun oositte de jelatin kılıf kalınlaşmıştır.

Ovaryumunda folikül hücrelerinin şekilleri ve büyüklükleri farklı olmasına rağmen genellikle yassıdır ve gelişmekte olan oositlere göre daha az elektron yoğunluğuna sahiptirler. Bu hücreler, previtellojenik ve erken vitellojenik oositleri kısmen kuşatmaktadır. Foliküllerin bazıları hücre zarıyla birbirlerine bağlanarak grup halinde kümelenmiştir. Vitellojeniz sırasında folikül hücrelerde GER, miktarında artış gözlenmiştir. Ayrıca folikül hücrelerin sitoplazmasında elektronca yoğun glikojen partikülleri varlığı belirlenmiştir.

Çalışmamızın sonuçlarına göre limpet ovaryumunun yapısı, diğer prosobranşların yapısından önemli ölçüde farklı olduğundan filogenetik analizler için morfolojik veri setlerini oluşturabileceği düşünülmektedir.

Son yıllarda pek çok çalışma iklimsel ısınmanın, yerel ve bölgesel ölçekte türler üzerindeki etkilerine yoğunlaşarak, küresel bir sorun olduğuna işaret etmektedir. Çoklu stres faktörlerinin (sıcaklık-okjisen yetersizliği, besin miktarları vb.) sinerjistik etkilerinin türlerin yaşam döngülerinin bir aşamasında, özellikle türlerin devamlılığı için önemli olan üreme basamağında, etkili olabileceği düşünülerek tek bir tür değil daha çok sayıda tür üzerinde yoğunlaşp, karşılaştırılmalı incelemeler yapılmalıdır.

Bu tez çalışmasının üç *Patella* türü arasında karşılaştırılmalı bulguları ışığında ilk aşamada sürdürülmesi gereken yeni basamaklar:

- a. Gametogenez ve gamet ince yapılarının incelenmesi ile aklımasyon (kendini uyarılama) veya adaptasyon (genetiksel uyum sağlama) olup olmadığının belirlenmesi,
- b. Moleküler incelemeler ve hibridizasyon denemeleri ile türler arası filogenetik bağlar ortaya konularak aklımasyon (kendini uyarılama) ve ya adaptasyona (genetiksel uyum sağlama) geçiş durumlarının belirlenmesi,

Patella türlerinin ülkemiz sularında ve dünya denizlerinde kaybolma tehlikesinde olduğu son yıllarda özellikle üzerinde durulan bir konu olup (Guerra-Garcia vd 2004, Lasiak 2006, Cabral 2007, Fauvelot vd 2009, Çulha ve Bat 2010, Lima vd 2006) korunması için çeşitli çalışmalar yürütülmektedir (Paracuellos vd 2003, Guerra-Garcia vd 2004, Espinosa 2009, Curdia vd 2005). Bu sebeple de bu tez çalışması ile ulaşılabilecek bilgilerin, Türkiye denizlerinde yaşayan *Patella* türlerinin üreme biyolojisi konularında katkıda bulunarak ileride yapılacak koruma süreçlerini hazırlama, çevresel faktör etkilerini belirleme ve üretme denemeleri için kaynak bilgiler sağlayacağına inanılmaktadır.

7. KAYNAKLAR

- ABBOTT, R.T. and MORRIS, P.A. 1995. Shells of the Atlantic and Gulf Coasts and the West Indies. Fourth Ed. Houghton Mifflin Company, Boston, USA.
- ADIYODI, K.G. and ADIYODI, R.G. 1983. Reproductive Biology of Invertebrates. Vol. II: Spermatogenesis and Sperm Function. John Wiley and Sons. Chichester, UK.
- AFZELIUS, B.A. 1972. Sperm morphology and fertilization biology. In: R.A. Beatty S. Gluecksohn-Waelsch. (Editors), Proceeding of the International Symposium on The genetics of Spermatozoon, pp. 131-142: UK.

- AKŞİT, D. ve FALAKALI MUTAF, B. 2009a. Antalya Körfezi Yat Limanında bulunan *Patella* (Gastropoda) Türlerinin Bazı Morfometrik Özellikleri. XV. *Ulusal Su Ürünleri Sempozyumu*, 1-4 Temmuz, Rize.
- AKŞİT, D. ve FALAKALI MUTAF, B. 2009b. Observations on the Morphology of the Pallial Tentacles of *Patella caerulea* (Mollusca: Gastropoda). *44th European Marine Biology Symposium*, 7-11 September, Liverpool, UK.
- AKŞİT, D. ve FALAKALI MUTAF, B. 2011. The External Morphology of the Gill of *Patella caerulea* L. (Mollusca:Gastropoda). *Turk. J. Zool.*, 35 (4): 603-606.
- AKŞİT D., FALAKALI MUTAF, B. ve TURGAY İZZETOĞLU, G. 2012. *Patella* Sp. AyakYapısında Salgı Aktivitesi. 21. *Ulusal Biyoloji Kongresi*, 3-7 Eylül, Ege Üniversitesi, İzmir.
- AL-MOHANNA, S.Y. AL- RUKHAIS L.B. and MEAKINS R.H. 2003. Oogenesis in *Amianthis umbonella* (Mollusca: Bivalvia) in Kuwait Bay, Kuwait. *J. Mar. Biol.* 83: 1065-1072.
- AMOR, M.J. and DURFORT, M. 1988. Morphological features in the *Murex brandaris* typical spermiogenesis. *Iberus*, 8(2): 129-140.
- AMOR, M.J. and DURFORT, M. 1990a. Atypical Spermatogenesis in *Murex brandaris*. *Mol. Reprod. Dev.*, 25: 357-363.
- AMOR, M.J. and DURFORT, M. 1990b. Changes in nuclear structure during eupyrene spermatogenesis in *Murex brandaris*. *Mol. Reprod. Dev.*, 25: 348-356.
- AMOR, M.J., RAMON M. MONTSERRAT, R. And DURFORT, M. 2004. Ultrastructural studies of oogenesis in *Bolinus brandaris* (Gastropoda: Muricidae). *Sci. Mar.*, 68 (3): 343- 353.
- AMOR, M.J., RICHTER A., MONTSERRAT, R. and DURFORT, M. 2007. Ultrastructural study of the spermatogenesis of a protandric neogastropod, *Coralliophila meyendorffii* (Muricidae, Coralliophilinae). *World Congress of Malacology*, Antwerp, Belgium.
- ANDERSON, E. 1974. Comparative aspects of ultrastructure of the female gamet. In: G.H. Bourne J.F. Danielli K.W Jean (Editors), *International review of Cytology*, Suppl. 4, Aspect of Nuclear Structure and Function Academic Press. New York, USA.
- ANDERSON, E. and HUEBNER, E.1968. Development of the oocyte and its accessory cells of the polychaete *Diopatra cuprea* (Bosc.). *J. Morphol.*, 126: 163-197.
- ANDERSON, W.A. and PERSONNE, P. 1970. The localization of glycogen in the spermatozoa of various invertebrate and vertebrate species. *J. Cell. Biol.*, 44: 30-51.

- ANDERSON, W.A. and PERSONNE, P. 1976. The Molluscan spermatozoon: Dynamic aspects of its structure and function. *Amer. Zool.* 16: 293-313.
- ANDREWS, S.C., HARRISON, P.M. and YEWDALL, S.J. and others. 1992. Structure, function and evolution of ferritins. *J. Inorg. Biochem.* 47: 161-174.
- ARUJO, R. and RAMOS, M. A. 1997. Evidence of intrafollicular fertilization in *Pisidium amnicum* (Müller, 1774) (Mollusca: Bivalvia). *Invertebr. Reprod. Dev.*, 32 (3), 267-272.
- ARNOLD, J.M. 1971. Cephalopods. In *Experimental Embryology of Marine and Freshwater Invertebrates*. Pub. North-Holland, pp. 265-311, Amsterdam
- AVERBUJ, A., BIGATTI, G., and PENCHASZADEH, P.E. 2010. Gametogenic cycle and size at first maturity of the edible snail *Buccinanops cochlidium* (Neogastropoda: Nassaridae) from Argentina, Sanjosa gulf in Patagonia. *Mar. Biol.*, 157: 2229-2240.
- AZEVEDO, C. 1981. The fine structure of the spermatozoon of *Patella lusitanica* (Gastropoda: Prosobranchia), with special reference to acrosome formation. *J. Submicrosc. Cytol.*, 13: 47-56.
- AZEVEDO, C., LOBO-DA-CUNHA, A. and OLIVEIRA, E. 1985. Ultrastructure of the spermatozoon in *Gibbula umbilicalis* (Gastropoda, Prosobranchia), with special reference to acrosomal formation. *J. submicrosc. Cytol.* 17: 609–614
- AYAS D., ALMIŞ M. and U. VE KAYA L. 2008. Mersin-Karaduvar Bölgesinde Bulunan *Patella* (Archaeogastropoda) Türlerinin Dağılımı Ve Morfometrik Özellikleri. *Journal of fisheries sciences.com.* 2(3): 570-575.
- BACCETTI, B. 1979. Ultrastructure of sperm and its bearing on arthropod phylogeny, In: A.P Gupta (Editor), *Arthropod Phylogeny*, Van Nostrand Reinhold, pp. 609-44, New York.
- BACCETTI, B. 1985. Evolution of the sperm cell, In: C.B. Metz A. Monroy (Editors), *Biology of Fertilization*. Academic Press, pp. 3-58, New York.
- BACCETTI B. and AFZELIUS, B.A. 1976. The biology of the sperm cell. *Monogr. Dev. Biol.*, 10: 1-254, Basel, Switzerland.
- BALAPARAMESWARA RAO, M. 1973. Sex phenomenon and reproductive cycle in the limpet *Cellana radiata* (Born) (Gastropoda: Prosobranchia). *J. Exp. Mar. Biol. Eco.*, 12 (3): 263-278.
- BALLANTINE, W.J. 1961. The Population Dynamics of *Patella vulgata*. Ph.D. thesis, Queen Mary College, London Univ. (Quoted by Fletcher, 1987).

- BANNISTER, J. V. 1975. Shell parameters in relation to zonation in mediterranean limpets, *Mar. Biol.*, 31(1): 63-67.
- BARRE, P, BRIDE, M., BELIARD, R. and PETRACCA, B. 1991. Localization of yolk proteins and their possible precursors using polyclonal and monoclonal antibodies in *Helix aspersa*. *Cell. Mol. Biol.* 37(6): 639-650.
- BAXTER, J.M. 1983. Annual variations in soft-body dry weight, reproductive cycle and sex ratios in populations of *Patella vulgata* at adjacent sites in the Orkney Islands. *Mar. Biol.* 76: 149-157.
- BEDFORD, L. 1966. The electron microscopy and cytochemistry of oogenesis and the cytochemistry of embryonic development of the prosobranch gastropod *Bembicium nanum*. *J. Emb. Exp. Morph.*, 15: 15-37.
- BEDFORT, J.M., COOPER, G.W. and CALVIN, H.I. 1972. Post-meiotic changes in the nucleus and membranes of mammalian spermatozoa; In: R.A. Beauty S. Gluecksohn-Waelsch (Editors), *The genetics of the spermatozoon*, pp. 68-69.
- BENINGER, P.G., LE PENNEC, G. and LE PENNEC, M. 2003. Demonstration of nutrient pathway from the digestive system to oocytes in the gonad intestinal loop of the scallop *Pecten maximus* L. *Biol. Bull.*, 205: 83-92.
- BERNARD, R.T.F., DAVIES, B.R. and HODGSON, A.N. 1998. Reproduction in a brackish-water mytilid: Gametogenesis and Embryonic Development. *The Veliger*, 30(3): 278-290.
- BHAUD, M. and DUCHÊNE, J.C. 1996. Change from planktonic to benthic development: is life cycle evolution an adaptive answer to the constraints of dispersal. *Oceanol. Acta*, 19: 335-346.
- BLACKMORE, D.T. 1969. Studies of *Patella vulgata* L. I. Growth, reproduction and zonal distribution. *J. Exp. Mar. Biol. Eco.*, 2(3): 200-213.
- BOER, H.H., GROOT, C., DE JONG-BRINK, M. and CORNELLISSE, C.J. 1977. Polyploidy in the freshwater snail *Lymnea stagnalis* (Gastropoda: Pulmonata). A cytophotometric analysis of the DNA in neuron and some other cell types. *Neth. J. Zool.*, 27(3): 245-252.
- BOLOGNARI A. 1960a. Yolk formation in oocytes of *Patella caerulea* L. and *Aplysia depilans* L. As observed in the electron microscope. *Nature Lond.*, 186: 490-491.
- BOLOGNARI A. 1960b. Golgi bodies and Golgi zone in molluscan oocytes. *Nature Lond.*, 186: 565-566.

- BORG, B., RENZIŠ, G.D. and CIAPA, B. 1995. Follicle cell regulation of amino acid uptake and polyphosphoinositide metabolism in oocytes of the limpet *Patella vulgata*. 1995. *Dev. Biol.* 171:159-168.
- BOTTKE, W. 1972. Zur morphologie des Ovars von *Viviparus contectus* (Millet 1813) (Gastropoda, Prosobranchia). I. Die Follikelzellen. *Z. Zellforsch.* 133: 103-118.
- BOTTKE, W. 1973. Zur Ultrastruktur des Ovars von *Viviparus contectus* (Millet 1813), (Gastropoda, Prosobranchia). *Z. Zellforsch.*, 138: 239-259.
- BOTTKE, W. 1974. The fine structure of the ovarian follicle of *Alloteuthis subulata* Lam.(Mollusca, Cephalopoda). *Cell Tissue Res.*, 150: 463-479.
- BOTTKE, W., BURSCHUCK, M., VOLMER, J. 1988. On the origin of the yolk protein ferritin in snails. *Roux's Arc. Dev. Biol.* 197: 377-388.
- BOTTKE, W. and TIEDTKE, A. 1988. An autoradiographic and cytophotometric study of oogenesis in a pulmonate snail, *Planorbarius corneus*. *Cell Tissue Res.*, 252: 67-71.
- BOWMAN, R.S. and LEWISH J.R. 1977. Geographical variation in the breeding cycles and recruitment of *Patella* spp. *Hydrobiol.*, 142: 41-56.
- BRAUN, R.E. 2001. Packaging paternal chromosomes with protamine. *Nature Genetics.* 28: 10-12.
- BRANCH G.M. 1974. The ecology of *Patella* Linneaus from the Cape, Peninsula, South Africa. 2. Reproductive cycles. *Trans. R. Soc. S. Afr.*, 41: 111-160.
- BRANCH, G.M. 1981. The biology of limpets: physical factors, energy flow, and ecological interactions. *Oceanogr. Mar. Biol. Ann. Rev.*, 19: 235-380.
- BRAUN, R.E. 2001. Packaging paternal chromosomes with protamine. *Nature Genetics.* 28: 10-12.
- BRAZAO, S., BOAVENTURA, D., MORAIS, S., NARCISO, L. and RÉ P. 2003a. Reproduction of *Patella depressa* Pennant, 1777 on the central Portuguese coast. *Bol. Inst. Esp. Oceanogr.*, 19 (1-4): 453-460.
- BRAZAO, S., MORAIS, S., BOAVENTURA, D., RÉ, P., NARCISO, L. and HAWKINS, S.J., 2003b. Spatial and temporal variation of the fatty acid composition of *Patella* spp. (Gastropoda: Prosobranchia) soft bodies and gonads. *Comp. Biochem. Physiol.*, Part B. 136: 425-441.
- BRETHES J.C., FERREYRA G. and DE LA VEGA S. 1994. Distribution, growth and reproduction of the limpet *Nacella (Patinigera) concinna* (Strebel 1908) in relation to potential food availability in Esperanza Bay (Antarctic Peninsula). *Polar Biol.*, 14: 161-170.

- BRETSCHNEIDER, L.H. and RAVEN, C.P. 1951. Structural and topochemical changes in the eggs of *Limnea stagnalis* L. During oogenesis. *Archs néerl. Zool.*, 10: 1-31.
- BRICKEY, B.E. 1979. The histological and cytological aspects of oogenesis in the California abalones. M.A. Thesis, California State University, Long Beach, California.
- BRIDE, M., PETRACCA, B. and FAIVRED. 1992. The synthesis of vitellogenesis by the digestive gland of *Helix aspersa*: Evidence from cell-free translation of mRNA. *Cell. Mol. Biol.* 38: 181-187.
- BUCKLAND-NICKS, J.A. 1973. The fine structure of the spermatozoon of *Littorina* with special reference to sperm motility. *Z. Zellforsch.*, 144: 11-29.
- BUCKLAND-NICKS, J.A. and CHIA, F.S. 1977. On the nurse cell and spermatozeugma in *Littorina sitkana*. *Cell Tissue Res.*, 179: 347-356.
- BUCKLAND-NICKS, J.A. and HODGSON, A.N. 2005. Paraspermatogenesis of Cerithioidean snails: retention of an acrosome and nuclear remnant. *J. Morphol.*, 264: 314-326.
- BUCKLAND-NICKS, J. and HOWLEY, B. 1997. Spermatogenesis and sperm structure in relation to early events of fertilization in the limpet *Tectura testudinalis* (Muller 1776). *Biol. Bull.*, 193: 306-319.
- BUCKLAND-NICKS, J. and SHELTEMA, A. 1995. Was internal fertilization an innovation of early Bilateria? Evidence from sperm structure of a mollusc. *Proc. Royal Soc. London B.*, 261: 11-18.
- BUCKLAND-NICKS, J., HEALY, J., JAMIESON, B.G. and LEARY, S. 2000. Paraspermatogenesis in *Littoraria* (Palustorina) *articulata*, with reference to other Littorinidae (Littorinidea, Caenogastropoda). *Inv. Biol.*, 119: 254-264.
- CABRAL J.P. 2007. Shape and growth in European Atlantic *Patella* limpets (Gastropoda, Mollusca). Ecological implications for survival. *Web Ecology*, 7: 11-21.
- CABRAL J.P. and SILVA 2003. Morphometric analysis of limpets from an iron-age shell midden found in northwest Portugal. *J. Archaeological Sci.*, 30: 817-829.
- CABRAL J.P. and JORGE R.M.N. 2007. Compressibility and shell failure in the European Atlantic *Patella* limpets *Mar. Biol.* 150: 585-597.
- CACHIA, C., MIFSUD, C. and SAMMUT, P.M. 1991. The marine shelled mollusca of the Maltase Islands (Part One: Archaeogastropoda), Grima Printing, p.112, Malta.

- CALOW, P. 1983. Life-cycle patterns and evolution. In: W.D. Russel-Hunter (Editors), The Mollusca, Vol.6, Ecology, Academic Press, pp. 649-678, New York:
- CATALAN, A.B. and M. YAMAMOTO. 1993. Annual reproductive cycle of the prosobranch limpet, *Cellana nigrolineata* (Reeves). *Inverteb. Reprod. Dev.*, 24 (2): 127-136.
- CARPUCINO, M., PROFILI, G., KATHIRITHAMBY, J. and MAZZINI, M. 1995. Sperm ultrastructure of *Xenos vesparum* (Rossi) and its significance in the taxonomy and phylogeny of Strepsiptera (Insecta). In: B.G.M. Jameson J. Ausio J.L. Justine (Editors), Advances in Spermatozoal Phylogeny and Taxonomy, Mémoires du Muséum National d'Histoire Naturelle, 166: 291–296, Paris
- CHAN, K. and MORTON, B. 2005. The reproductive cycle of *Nassarius festivus* (Powys, 1835) (Gastropoda: Nassariidae) in relation to seasonal changes in temperature and salinity in subtropical Hong Kong. *Aquatic Ecology*. 39: 213-228.
- COGGESHALL, R.E. 1970. A cytologic analysis of the bag cell control of egg laying in *Aplysia*, *J. Morphol.*, 132: 461-486.
- COWDEN, R.R. 1969. Cytological and cytochemical studies of oocyte development and development of follicular epithelium in the squid, *Loligo brevis*. *Acta Embryol. Morph. Exp.*, 10: 160-173.
- COWDEN, R.R., 1976. Cytochemistry of oogenesis and early embryonic development. *Amer. Zool.*, 16: 363-374.
- COUTTEAU, P., CASTELL, J.D., ACKMAN, R.G. and SORGELOOS, P. 1996. The use of lipids emulsions as carriers for essential fatty acids in bivalves: a test case with juvenile *Placopecten magellanicus*. *J. Shellfish Res.* 15 (2): 259- 264.
- CREESE, R.G. and BALLANTINE, W.J. 1983. An assessment of breeding in the intertidal limpet, *Cellona radians* (Gmelin). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 67: 43-59.
- CRETELLA, M., SCILLITANI, G., TOSCANO, F., TURELLA, P., PICARIELLO O., and CATAUDO, A. 1994. Relationships between *Patella ferruginea* Gmelin, 1791 and the other Tyrrhenian species of *Patella* (Gastropoda: Patellidae). *J. Mollus. Stud.*, 60: 9-17.
- CREESE R. G., SEHIEL D. R. and KINGSFORD. M. J. 1990. Sex change in a giant endemic limpet, *Patella kermadecensis*, from the Kermadec Islands. *Mar. Biol.*, 104: 419-426.
- CUNHA L., MARTINS, G.M., AMORAL, A. and RODRIGUES A. 2007. A case of simultaneous hermaphroditism in the Azoreaon endemic limpet *Patella candei*

- gomesii* (Mollusca: Patellagastropoda), a gonochoristic species. *Inverteb. Reprod. Dev.* , 50(4): 203-205.
- CURDIA, J., RODRIGUES, A.S., MARTINS, A.M.F. and COSTA, M.J. 2005. The reproductive cycle of *Patella candei gomesii* Drouet, 1858 (Mollusca: Patellogastropoda), an Azorean endemic subspecies. *Inverteb. Reprod. Dev.* 48 (1/3): 137-146.
- ÇULHA, M. and BAT, L. 2010. The Visible Decline of Limpet, *Patella caerulea* Linnaeus, 1758, A Biomonitor Species, at The Sinop Peninsula and Vicinity (The Southern Black Sea, Turkey). *JEPE.*, 11(4): 1024-1030.
- DALLAI, R. 1979. An overview of atypical spermatozoa in insects, In: D.W. Fawcett J.M. Bedford (Editors), *The Spermatozoon*. Urban & Schwarzenberg, pp. 253-65, Baltimore.
- DALLAI, R. and AFZELIUS, B.A. 1990. Microtubular diversity in insect spermatozoa: Results obtained with a new fixative. *J. Struc. Biol.*, 103: 164–179.
- DALLAI, R. and AFZELIUS, B.A. 1995. Sperm structure in Trichoptera. II. The aflagellated spermatozoa of *Hydroptila*, *Orthotrichia* and *Stactobia* (Hydroptilidae). *Int. J. Insect Morphol. Embryol.* 24: 161–170.
- DALLAI, R., FRATI, F., NARDI, F. and AFZELIUS, B.A. 2001. Binucleate and biflagellate spermatozoa in *Tricholepidion gertschii* (Insecta: Zygentoma). *Tissue and Cell*, 33: 606–613.
- DE GAULAJAC, B., HENRY, M. and VICENTE, N. 1995. An ultrastructural study of gametogenesis of the marine bivalve *Pinna nobilis* (Linnaeus 1758) I. Oogenesis. *J. Moll. Stud.*, 61: 375- 392.
- DELANY, J., MYERS, A. A. and MCGRATH, D. 2002. A comparison of the interactions of the limpets *Patella vulgata* and *Patella ulyssiponensis* with crustose coralline algae. New survey of Clare Island: *Marine Intertidal Ecology*. 3: 79–90.
- DEMİR, R. 2001. *Histolojik Boyama Teknikleri*, Palme yayıncılık, pp: 320.
- DEMİRSOY, A. 2001. *Yaşamın Temel Kuralları Omurgasızlar Invertebrata (Böcekler Dışında)*, METEKSAN Yayınları, Meteksan Basımevi, pp: 1210, Ankara,
- DODD, J. M. 1956. Studies on the biology of limpets. III. Hermaphroditism in the three British species of *Patella*. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.*, 35: 327- 340.
- DOHMEN, M.R. 1983. Gametogenesis. In: N.H. Verdonk, J.A.M. van den Biggelaar, A.S. Tompa (Editors), *The Mollusca, Vol. 3. Development.*: Academic Press, pp.1-48, New York.

- DORANGE, G. and Le PENNEC, M. 1989. Ultrastructural study of oogenesis and oocytic degeneration in *Pecten maximus* from the Bay of St. Brieuc. *Mar Biol.*, 103: 339–348.
- DRURY, R.A. 1973. Wallington, E.A. Carleton's Histological Tecnique, Fourth Edition. Oxford University Press London, pp: 432.
- DUNMORE, R. A. and SCHIEL, D. R. 2000. Reproduction in the intertidal limpet *Cellana ornata* in southern New Zealand. *New Zeal. J. Mar. Fresh.*, 34: 653-660.
- ECKELBARGER, K.J. 1975. A light and electron microscope investigation of gametogenesis in *Nicolea zostericola* (Polychaeta: Terebellidae). *Mar. Biol.*, 30: 353- 370.
- ECKELBARGER, K.J. 1979. Ultrastructural evidence for both autotrophic and heterotrophic yolk formation in the oocytes of an annelid (*Phragmatopoma lapidosa*: Polychaeta). *Tissue Cell.*, 11: 425-443.
- ECKELBARGER, K.J. 1980. An ultrastructural study of oogenesis in *Streblospio benedicti* (Spionidae), with remarks on diversity of vitellogenic mechanisms in Polychaeta. *Zoomorphology*, 94: 241-263.
- ECKELBARGER, K.J. 1984. Ultrastructure of spermatogenesis in the reef-building Polychaete *Phragmatopoma lapidosa* (Sabellariidae) with special reference to acrosome morphogenesis. *J. Ultrastruct. Res.*, 89: 146-164.
- ECKELBARGER, K.J. 1994a. Diversity of metazoan ovaries and vitellogenetic mechanisms: implications for life history theory. *Proc. Biol. Soc. Wash.*, 107: 193-218.
- ECKELBARGER, K.J. 1994b. Oocytic nutrition in the lower metazoa. The Scyphozoa. In: W.H. Wilson S.A. Stricker G.L. Shinn (Editors), *Reproduction and Development of Marine Invertebrates*. The Johns Hopkins University Press, pp. 15-28, Baltimore.
- ECKELBARGER, K.J. 2005. Oogenesis and Oocytes. *Hydrobiologia*. 535-536:179-198.
- ECKELBARGER, K.J. and BLADES-ECKELBARGER, P.I. 1989. Structure of the ovotestis and evidence for heterotrophic incorporation of yolk precursors in the oocytes of the nudibranch mollusc *Spurilla neapolitana*. *J. Morph.*, 201: 105-118.
- ECKELBARGER, K.J. and DAVIS, C.V. 1996. Ultrastructure of the gonad and gametogenesis in the eastern oyster, *Crassostrea virginica*. I. Ovary and oogenesis. *Mar. Biol.*, 127: 79-87.

- ECKELBARGER, K.J. and GRASSLE, J.P. 1983. Ultrastructural differences in the eggs and ovarian follicle cells of *Capitella* (Polychaeta) sibling species. *Biol. Bull.*, 165: 379-393.
- ECKELBARGER, K.J. and LARSON R. 1992. Ultrastructure of the ovary and oogenesis in the jellyfish *Linuche unguiculata* and *Stomolophus meleagris* with a review of ovarian structure in the Scyphozoa. *Mar. Biol.*, 114: 633-643.
- ECKELBARGER, K.J. and WATLING, L. 1995. Role of phylogenetic constrains in determining reproductive patterns in deep sea invertebrates. *Invertebr. Biol.*, 116: 299-312.
- ECKELBARGER, K.J. and YOUNG, C.M. 1997. Ultrastructure of the ovary and oogenesis in the methane-seep Mollusc *Bathynnerita naticoidea* (Gastropoda: Neritidae) from the Louisiana. *Invertebr. Biol.*, 116(4): 299-312.
- ECKELBARGER, K.J. and YOUNG, C.M. 1999. Ultrastructure of gametogenesis in a chemosynthetic mytilid bivalve (*Bathymodiolus childressi*) from a bathyal, methane seep environment (nortern Gulf of Mexico). *Mar. Biol.*, 135: 635-646.
- EIRIN-LOPEZ, J.M. and AUSIO, J. 2009. Origin and evolution of chromosomal sperm proteins. *BioEssays*, 31: 1062-1070.
- ERKAN, M. 2009. Ultrastructure of ovary and oogenesis in *Chamelea gallina* (Linne, 1758) (Bivalvia: Veneridae). *Invertebr. Reprod. Dev.* 53(4): 201-209.
- ERKAN, M. and SOUSA, M. 2001. Ultrastructure of spermatogenesis in *Cerastoderma glaucum* (Cardiacea) abd *Spisula subtruncata* (Mactracea). *Invertebr. Reprod. Dev.*, 40:2-3.
- ESPINOSA, F. and and OZAWA, T. 2006. Population genetics of endangered limpet *Patella ferruginea* (Gastropoda: Patellidae): taxonomic, conservation and evolutionary considerations. *J. Zool. Syst. Evol. Res.*, 44(1): 8-16.
- ESPINOSA, F., 2009. Populational status of the endangered mollusc *Patella ferruginea* Gmelin, 1791 (Gastropoda, Patellidae) on Algerian islands (SW Mediterranean). *Animal Biodiversity and Conservation*, 32 (1): 19–28.
- ESPINOSA, F., RIVERA-INGRAHAM G. and GARCIA-GOMEZ J. 2009. Gonochorism or protandrous hermaphroditism? Evidence of sex change in the endangered limpet *Patella ferruginea*. *Marine Biodiversity Records*, 2: 1-3.
- EXTAVOUR, C.G. and AKAM, M. 2003. Mechanism of germ cell speciation across the metazoans: epigenesis and preformation. *Devel.*, 130: 5869- 5884.
- FALAKALI MUTAF, B. and AKŞİT, D. 2009. Further SEM assessment of radular characters of the the limpets, *Patella caerulea* Linneaus 1758 and *P. rustica*

- Linneaus 1758 (Mollusca: Gastropoda) from Antalya Bay. *Turk. J. Zool.*, 33: 359-365.
- FALAKALI MUTAF B., AKŞİT D. and KORUN, J. 2009. *Patella* sp. (Gastropoda: Mollusca) mucus salgısına denizel bakterilerin yerleşimi. *E.Ü. Su Ürünleri Der.* 26: 111-114.
- FAUVELOT, C., BERTOZZI, F., COSTANTINI, F., AIROLDI, L. and ABBIATI, M. 2009. Lower genetic diversity in the limpet *Patella caerulea* on urban coastal structure compared to natural rocky habitats. *Mar. Biol.*, 156: 2313-2323.
- FAWCETT, D.W. 1970. A comparative view of sperm ultrastructure. *Biol. Rep. Suppl.* 2: 90-127.
- FAWCETT, D.W., ANDERSON, W.A. and PHILIPS, D.M. 1971. Morphogenetic factors influencing the shape of the sperm head. *Dev. Biol.*, 26: 220-251.
- FISCHER, A. ve DHAINAUT, A., 1985, The origin of yolk in the oocytes of *Nereis virens* (Annelida, Polychaeta), *Cell Tissue Res.*, 240: 67-76.
- FLETCHER, W.J. 1984. Intraspecific variation in the population dynamics and growth of the limpet, *Cellana tramoserica*. *Oecologia*, 63(1): 110-121
- FRANZEN, A. 1955. Comparative morphological investigation into the spermatogenesis among Mollusca. *Zool., Bidrag. Uppsala*, 30: 399-456.
- FRANZEN, A. 1956. On serratogenesis, morphology of the spermatozoon and biology of fertilization among invertebrates. *Zool. Bidrag. Uppsala*, 3: 355-382.
- FRANZEN, A. 1970. Phylogenetic aspects of the morphology of spermatozoa and spermiogenesis. In: B. Baccetti (Editor), *Comparative Spermatology*, Academic Press, pp. 29-46, New York.
- FRETTER, V. and GRAHAM, A. 1994. *British Prosobranch Molluscs*. The Ray Society, pp: 820, London.
- FRETTER, V. 1984. Prosobranchs. In: A.S. Tompa N.H. Verdonk J.A.M. Van Den Biggelaar (Editors), *The Mollusca 7, Reproduction*. Academic Press, pp: 1-45, New York.
- GALL, J.G. 1961. A Study of spermatogenesis in the snail *Viviparus*. *JBC Home*, 10 (2): 163-193.
- GALTSOFF, P.S. and PHILPOTT, D.E. 1960. Ultrastructure of the spermatozoon of the oyster *Crassostrea virginica*. *J. Ultrastr. Res.*, 3: 241-253.

- GÉRIN, Y. 1976a. Origin and evolution of some organelles during oogenesis in the mud snail *Ilyanassa obsoleta*. I. The yolk platelets. *Acta Embryol. Exp.*, 1: 15-26.
- GÉRIN, Y. 1976b. Origin and evolution of some organelles during oogenesis in the mud snail *Ilyanassa obsoleta*. II. The yolk nucleus and the lipochondria. *Acta Embryol. Exp.*, 1: 27-35.
- GLAVINIC, A., BENKENDORFF K. and ROUSE, W. 2011. Oogenesis and ultrastructure of the ovary in *Neotrigonia margaritacea* (Lamarck 1804) (Bivalvia, Mollusca). *Invertebr. Reprod. Dev.*, 1-13.
- GOLDSTEIN, S.F., GEMMEL, N.J. and SHIEL, D.R. 2006. Molecular phylogenetics and biogeography of the nacellid limpets of New Zealand (Mollusca: Patellagastropoda). *Mol. Phylogen. Evol.* 38: 261-265.
- GOMEZ-ROBLES, E., RODRIGUEZ-JARAMILLO, C. and SAUCEDO, P. 2005. Digital image analysis of lipid and protein histochemical markers for measuring oocyte development and quality in pearl oyster *Pictada mazatlanica* (Hanley 1856). *J. Shellfish Res.* 24: 1197-1202.
- GONAR, J. 1972. Gonad growth in the sea urchin, *Strongylocentrotus purpuratus* (Stimpson) (Echinodermata: Echinoidea) and the assumptions of gonad index methods. *Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 10: 89-103.
- GOU, G. and ZHENG, G. 2004. Hypothesis for the functions of intercellular bridges in male germ cell development and its cellular development. *J. Theor. Biol.* 229: 139-146.
- GOULD, M. C. and STEPHANO, J.L. 2003. Polyspermy prevention in marine invertebrates. *Micros. Res. Techniq.*, 61: 379-388.
- GRANGE, K.R. 1976. Rough water as a spawning stimulus in some trochid and turbinid gastropods. *New Zeal. J. Mar. Fresh.*, 10: 203-16.
- GRAY, D.R. 1996. Studies of the biology and ecology of the high shore South African limpet, *Helcion pectunculus*, (Mollusca: Patellagastropoda). PhD thesis, Rhodes University.
- GRIFFOND, B. 1977. Individualisation et organogenèse de la gonade embryonnaire de *Viviparus viviparus* L. (Mollusque gastéropode prosobranché à sexes séparés), *Wilhelm Roux's Archives*.183: 131- 147.
- GRIFFOND, B. 1980. Etude ultrastructurale de la spermatogenèse typique de *Viviparus viviparus* L., Mollusque Gastéropode. *Arch. Biol.*, 91: 445-462.
- GRIFFOND, B. and GOMOT, L. 1979. Ultrastructural study of the follicle cells in the freshwater gastropods *Viviparus viviparus* L. *Cell Tiss. Res.*, 202: 25-32.

- GUALLART, J., CALVO, M., ACEVEDO, I. and TEMPLADO, J. 2013. Two-way sex change in the endangered limpet *Patella ferruginea* (Mollusca: Gastropoda). *Invertebr. Reprod. Dev.*, 57(3): 247-523.
- GUERRA, M.T and GAUDENCIO M.J. 1986. Aspects of the ecology of *Patella* spp. on the Portuguese coast. *Hydrobiol.*, 142: 57-69.
- GUERRA-GARCIA, J.M., CORZO, J., ESPINOSA, F. and GARCIA-GOMEZ, J.C., 2004. Assessing habitat use of the endangered marine mollusc *Patella ferruginea* (Gastropoda, Patellidae) in northern Africa: preliminary results and implications for conservation. *Biol. Conserv.*, 116 (3): 319-326.
- GURAYA, S.S. 1979. Recent advances in the morphology, cytochemistry and function of Balbiani's vitellin body in animal oocytes. *Inv. Rev. Cytol.*, 59: 249-321.
- HAGGERTY, T.M., GARNER, J.T. and ROGERS R. L. 2005. Reproductive cycle phenology *Megaloniais nervosa* (Bivalvia: Unionidae) in Wheeler Reservoir, Tennessee River, Alabama, USA. *Hydrobiologia*. 539: 131-136.
- HAVENHAND, J.N. 1995. Evolutionary ecology of larval types. In: L. McEdward (Editor), *Ecology of Marine Invertebrate Larvae*, CRC Press, pp. 78-122, Boca Raton.
- HAYAKAWA, Y. 2007. Parasperm: Morphological and functional studies on nonfertile sperm. *Ichthyol Res.*, 54: 111-130.
- HEALY, J.M., 1982. An ultrastructural examination of developing and mature euspermatozoa in *Pyrazus ebeninus* (Mollusca, Gastropoda, Potamididae), *Zoomorphology*, 100: 157-175.
- HEALY, J.M. 1983a. Ultrastructure of euspermatozoa of cerithiacean gastropods (Prosobranchia: Mesogastropoda). *J. Morphol.*, 57-75.
- HEALY, J.M. 1983b. An ultrastructural study of basommatophoran spermatozoa (Mollusca, Gastropoda). *Zool. Scr.*, 12: 57-66.
- HEALY, J.M. 1986a. Ultrastructure of paraspermatozoa of cerithiacean gastropods (Prosobranchia: Mesogastropoda). *Helgoland Mar. Res.*, 40: 177-199.
- HEALY, J.M. 1986b. Euspermatozoa and paraspermatozoa of the relict cerithiacean gastropod, *Campanile symbolicum* (Prosobranchia, Mesogastropoda). *Helgoland Mar. Res.*, 40: 201-218.
- HEALY, J.M. 1986c. An ultrastructural study of euspermatozoa, paraspermatozoa and nurse cells of the cowrie *Cypraea errones* (Gastropoda: Prosobranchia, Cypraea). *J. Moll. Stud.*, 52: 125- 137.

- HEALY, J.M. 1987. Spermatozoan ultrastructure and its bearing on gastropod classification and evolution. *Australian Zoologist*, 24 (2): 108-113.
- HEALY, J.M. 1988a. Sperm morphology and its systematic importance in the Gastropoda. *Malacol. Rev. (Suppl.)*, 4: 251-266.
- HEALY, J.M. 1988b. Ultrastructural observations on the spermatozoa of *Pleurotomaria africana* Tomlin (Gastropoda). *J. Moll. Stud.*, 54 (3): 309-316.
- HEALY, J.M. 1993. Transfer of the gastropod family Plesiotrochidae to the Campaniloidea based on sperm ultrastructural evidence. *J. Moll. Stud.*, 59(2): 135-146.
- HEALY, J.M. 1995. Sperm and spermiogenic ultrastructure in the Mathildidae with a review of sperm morphology and its systematic importance in the Architectonicoidea (Gastropoda). *J. Moll. Stud.*, 61 (3): 361-373.
- HEALY, J.M. and JAMIESON, B.G.M. 1981 An ultrastructural examination of developing and mature paraspermatozoa in *Pyrazus ebeninus* (Mollusca, Gastropoda, Potamididae). *Zoomorphology*, 98: 101-119.
- HEALY, J.M. and JAMIESON, B.G.M. 1989. An ultrastructure study of spermatozoa of *Helix aspersa* and *Helix pomatia* (Gastropoda: Pulmonata). *J. Moll. Stud.*, 55: 389-404.
- HEALY, J.M. and WILLAN, R.C. 1984. Ultrastructure and phylogenic significance of notaspidean spermatozoa (Mollusca, Gastropoda, Opisthobranchia). *Zool. Scr.*, 13: 107-120.
- HENNINGER, T.O. 1998. Aspects of the ecology and reproductive biology of the limpet, *Helcion pruinosus* (Gastropoda: Prosobranchia). Ms. Thesis. Rhodes University.
- HENNINGER, T.O. and HODGSON, A.N. 2001. The reproductive cycle of *Helcion pruinosus* (Patellagastropoda) on two South African Boulder Shores. *J. Moll. Stud.*, 67: 385-394.
- HESS, R.A. and DE FRANCA, L.R. 2008. Spermatogenesis and cycle of the seminiferous epithelium. In: C.Y. Cheng (Editor). *Molecular mechanism of spermatogenesis*. Landes Biosciences and Springer, Austin, USA.
- HICKMAN, C. P., ROBERTS, L.S. and LARSON, A. 2001. *Integrated Principles of Zoology*, McGraw-Hill, pp. 899, New York.
- HILL, R.S. 1977. Studies on the ovotestis in the slug *Agriolimax reticulatus* (Müller). 2. The epithelia, *Cell Tissue Res.*, 183: 131-141.

- HILL, R.S. and BOWEN J.P. 1976. Studies on the ovotestis in the slug *Agriolimax reticulatus* (Müller). 1. The oocyte. *Cell Tissue Res.*, 173: 465-482.
- HIMMELMAN, J.H. 1981. Synchronization of spawning in marine invertebrates by phytoplankton. In: W.H. Clark T.S. Adams (Editors), *Advances in Invertebrate Reproduction*, Elsevier, pp.3-19, North- Holland.
- HODGSON, A.N. 1986. Invertebrate spermatozoa: Structure and spermatogenesis. *Arch. Androl.*, 17:105-114.
- HODGSON, A.N. 1995. Spermatozoal morphology of patellogastropoda and Vetigastropoda (Mollusca: Prosobranchia). In: B.G.M. Jameison J. Ausio J.L. Justine (Editors), *Advances in Spermatozoal Phlogeny and Taxonomy. Mém. Mus. Natn. Hist. Nat.*, 166: 167-177.
- HODGSON, A.N., BEN-AMI, F. and HELLER J. 2002. Ultrastructure of oogenesis in an ovoviviparous and an oviparous freshwater snail (Caenogastropoda). *Invertebr. Reprod. Dev.*, 41: 1-3.
- HODGSON, A.N. and BERNARD, R.T.F. 1986a. Observations on the ultrastructure of the spermatozoon of the two Mytilids from The South-West Coast of England. *J. Mar. Ass. U.K.*, 66: 385-390.
- HODGSON, A.N. and BERNARD, R.T.F. 1986b. Ultrastructure of the sperm and spermatogenesis of three species of Mytilidae (Mollusca, Bivalvia). *Gamete Res.*, 15:123-135.
- HODGSON, A.N. and BERNARD, R.T.F. 1988. A comparison of the structure of the spermatozoa and spermatogenesis of 16 species of *Patellid* limpet (Mollusca). *J. Morph.*, 195: 205–223.
- HODGSON, A.N. and BERNARD, R.T.F. 1989. Spermatozoon structure and the taxonomic affinity of *Nacella delesserti* (Gastropoda: Patellidae). *J. Moll. Stud.*, 55: 145-147.
- HODGSON, A.N., BERNARD, R.T.F. and VAN DER HORST, G. 1990a. Comparative spermatology of three species of *Donax* (Bivalvia) from South Africa. *J. Moll. Stud.*, 56(2): 257-265.
- HODGSON, A.N. and BUCKLAND-NICKS J. 2005. Paraspermatogenesis of Cerithioidean snails: Retention of an acrosome and nuclear remnant. *J. Morphol.*, 264: 314-326.
- HODGSON, A.N. and CHIA, F.S. 1993. Spermatozoon structure of some North American prosobranchs from the families Lottidae (Patellogastropoda) and Fissurellidae (Archaeogastropoda). *Mar. Biol.*, 116: 97-101.

- HODGSON, A.N. and ECKELBARGER, K.J. 2000. Ultrastructure of the ovary and oogenesis in six species of patellid limpets (Gastropoda: Patellogastropoda) from South Africa. *Inv. Biol.*, 119(3): 265-277.
- HODGSON, A.N., ECKELBARGER, K.J. and YOUNG, C.M. 1998. Sperm morphology and spermatogenesis in the methane-seep mollusc *Bathynnerita naticoidea* (Gastropoda: Nertacea) from the Louisiana slope. *Invertebr. Biol.*, 117 (3): 199- 207.
- HODGSON, A.N., ECKELBARGER, K.J. and YOUNG, C.M. 2009. Sperm ultrastructure and spermatogenesis in the hydrothermal vent gastropod *Rhynchopelta concentrica* (Peltospiridae). *J. Moll. Stud.*, 75: 159-165.
- HODGSON, A.N. and FOSTER, G.G. 1992. Structure of the sperm of some South African archaeogastropods (Mollusca) from the superfamilies Haliotoidea, Fissurelloidea and Trochoidea. *Mar. Biol.*, 113: 89-97.
- HODGSON, A.N., HEALY, J.M. and TUNNICLIFFE, V. 1997. Spermatogenesis and sperm structure of the hydrothermal vent prosobranch *Lepetodrilus fucensis* (Lepetodrilidae, Mollusca). *Invertebr. Reprod. Dev.*, 31: 87-97.
- HODGSON, A.N. and HELLER, J. 1990. Spermatogenesis and sperm structure of the normally parthenogenetic freshwater snail *Melanoides tuberculata*. *Israel J. Zool.*, 37: 31-50.
- HODGSON, A.N. and HELLER, J. 2000. Spermatozoon structure and spermatogenesis in four species of *Melanopsis* (Gastropoda, Prosobranchia, Cerithioidea) from Israel. *Invertebr. Reprod. Dev.*, 37(3): 185-200.
- HODGSON, A.N., HELLER, J. and BERNARD, R.T.F. 1990. Ultrastructure of the sperm and spermatogenesis in five South African species of the Trochid Genus *Oxysteles* (Mollusca, Prosobranchia). *Mol. Reprod. Dev.*, 25: 263-271.
- HODGSON, A.N. and MORTON. 1998. Spermogenesis and sperm structure in three species of Patelloida and one species of Nippoacmaea (Patellogastropoda: Acmaidea). *J. Moll. Stud.*, 64: 11-19.
- HODGSON, A.N., RIDGWAY, S., BRANCH, G.M. and HAWKINS, S.J. 1996. Spermatozoon morphology of 19 species of prosobranch limpets (Patellogastropoda) with a discussion of Patellid relationship. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B.*, 351: 339-347.
- HOGG, N.A.S. and WIJDENES J. 1979. A study of gonadal organogenesis, and the factors influencing regeneration following surgical castration in *Deroceras reticulatum* (Pulmonata: Limacidae). *Cell Tiss. Res.*, 198: 295-307.
- HOLLAND, DL. 1978. Lipid reserves and energy metabolism in the larvae of benthic marine invertebrates. In: D.C. Sargent J.R.

- Malins. Biochemical Biophysical Perspectives in Marine Biology, Academic Press, pp. 85-123, London.
- HUEBNER, E. and ANDERSON, E. 1976. Comparative spiralian oogenesis-structural aspects: an overview. *American Zoologist*, 16: 315-343.
- HUMPHREYS, W.J. 1962. Electron microscope studies on eggs of *Mytilus edulis*. *J. Ultrastr. Res.*, 7: 467-487.
- HYLANDER, B.L. and SUMMERS, R.G. 1977. An ultrastructural analysis of the gametes and early fertilization in two bivalves molluscs, *Chana macerophylla* and *Spisula solidissima* with special reference to gamete binding. *Cell Tissue Res.* 182: 469-489.
- HYMAN 1967. The Invertebrates. Volume VI. Mollusca I. McGraw-Hill. pp. 1-792, New York.
- ISHIKAWA, M., VERMA, G.P., KATO, K.H. and IRIE, M. 1986. Centriolar behavior and flagellum formation during spermatogenesis in the sea urchin *in vivo* and *in vitro*. In: M. Porchet, J.C. Andries A. Dhainaut (Editors), Advances in Invertebrate Reproduction. Elsevier, pp. 552, Amsterdam.
- JAECKLE, W.B. 1995. Variation in the size, energy content and biochemical composition of invertebrate eggs: correlates to the mode of larval development. In: L. Mc Edward (Editor): *Eco. Mar. Inv. Larvae*, pp. 50-76. CRC. Press, Boca Raton.
- JAMES, M.A., ANSEL, A.D. and CURRY, G.B. 1991. Functional morphology of the gonads of the articulate brachiopod *Terebratulina retusa*. *Mar. Biol.* 111: 401-410.
- JAMIESON, B.G.M. 1987. A biological classification of sperm types, with special reference to annelids and molluscs, and an example of spermiocladistics. In : H. Mohri (Editor), New Horizons in Sperm Cell Research. Japan Scientific Societies Press. Gordon and Breach Science Publishers, pp : 311-332, New York.
- JAMIESON, B.G.M., HODGSON A.N. and BERNARD. R.T.F. 1991. Phylogenetic trends and variation in the ultrastructure of spermatozoa of sympatme species of South African patellid limpets (Arhaeogastropoda, Mollusca). *Invertebr. Reprod. Dev.* 20:137-146.
- JAMIESON, B.G.M., AUSIO, J. and JUSTINE, J.L. 1995. Advances in spermatozoal Phylogeny and Taxonomy. *Mémoires du Muséum National D'Histoire Naturelle*, 166, 251-263.
- JAMIESON, B.G.M., DALLAI, R. and AFZELIUS, B.A. 1999. Insects: Their Spermatozoa and Phylogeny. Science Publishers, New Hampshire.

- JOHNSON, G.D., LALANCETTE, C., LINNEMANN, A.K., LEDUC, F., BOISSONNEAULT, G. and KRAWETE, S.A. 2011. The sperm nucleus: chromatin, RNA and the nuclear matrix. *Reproduction*. 141: 21-36.
- JONG-BRINK, M. de, WIT, A., KRAAL, G. and BOER, H. H. 1976. A light and electron microscope study on oogenesis in the freshwater pulmonate snail *Biomphalaria glabrata*. *Cell Tissue Res.*, 171: 195-219.
- JONG-BRINK, M de, BOER, H.H. and JOSSE, J. 1983. Mollusca. In: K.G. Adiyodi R.G. Adiyodi (Editors), *Reproductive Biology of Invertebrates*, Vol. I. Oogenesis, Oviposition, and Oosorption, John Wiley & Sons, pp. 297-355, New York.
- JOOSSE, J. 1975. Structural and endocrinological aspects of hermaphroditism in pulmonata snails, with particular reference to *Lymnea stagnalis* (L.), In: R. Reinboth, (Editor). *Intersexuality in the Animal Kingdom*, Springer-Verlag, pp. 158- 169, Berlin.
- JOOSSE, J. and REITZ, D. 1969. Functional anatomical aspects of the ovotestis of *Lymnea stagnalis*. *Malacologia*, 9: 101-109.
- JORGENSEN, C.B. 1981. Mortality, growth and grazing impact of a cohort of bivalve larvae *Mytilus edulis* L. *Ophelia*, 20: 185-192.
- JUHEL, G., CULLOTY, S.C., O'RIORDAN, R.M., O'CONNOR, J., DE FAOITE, L. and McNAMARA, R., 2003, A histological study of the gametogenic cycle of the freshwater mussel *Dreissena polymorpha* (Pallas, 1771) in Lough Derg, Ireland, *J. Moll. Stud.*, 69: 365-373.
- JUNGUEIRA, L.C. and CARNEIRO, J. 2006. Temel Histoloji. Nobel Tıp Kitapevleri, 512.
- KAMP, G., BUSSELMAN, G. and LAUTERWEIN J. 1996. Spermatozoa: models for studying regulatory aspects of energy metabolism. *Experientia*. 52: 487-494.
- KANG, D.H.K., AHN., I.Y. and CHOI, K.S. 2009. The annual reproductive pattern of the Antarctic clam, *Laternula elliptica* from Marian Cove, King George Island. *Polar Biol.*, 32: 517-528.
- KANG, H.W., CHOI, K.H., JUN, J.C., LEE, K.Y. and PARK, K.H. 2010. Ultrastructural vitellogenesis in oocyte and follicle cells during oogenesis in female *Protothaca* (Notochione) *jedoensis* (Bivalvia: Veneridae). *Animal Cells and Systems*. 4(4): 343-349.
- KATO, K.H. and ISHIKAWA, M. 1982. Flagellum formation and centriolar behavior during spermatogenesis of the sea urchin, *Hemicentrotus pulcherrimus*. *Acta Embryol. Morphol. Exp.*, 3: 49-66.

- KATKANSKY, S.C. and SPARKS, A.K. 1966. Seasonal sexual pattern in the Pacific oyster *Crassostrea gigas* in Washington State. Wash Dept Fish, *Fish Res. Pap.*, 2: 80-89.
- KESSEL, R.G. 1982. Differentiation of *Acmae digitalis* oocytes with special reference to lipid-endoplasmic reticulum-annulate lamellae- polyribosome relationships. *J. Morph.*, 171: 225-243.
- KINGSTON, P.F. 1974. Studies on the reproductive cycles of *Cardium edule* ve *C. glaucum*. *Mar. Biol.*, 28: 317-323.
- KOCH, R.A. and LAMBERT, C.C. 1990. Ultrastructure of sperm, spermiogenesis, and sperm-egg interactions in selected invertebrates and lower vertebrates which use external fertilization. *J. Electron Microsc. Tech.*, 16(2): 115-54
- KOHNERT, R. and STORCH, V. 1983. Ultrastrukturelle untersuchungen zur morphologie und genese der spermien von Archaeogastropoda. *Helgoländer Meeresunters.* 36: 77-84.
- KOIKE, K. 1985. Comparative ultrastructural studies on the spermatozoa of the Prosobranchia (Mollusca: Gastropoda). *Sci. Rep. Fac. Educ., Gunma Univ.* 34: 33-153.
- LABOREL-DEGUEN, F. and LABOREL, J. 1990. Nouvelles donnés sur la patella géante *Patella ferruginea* Gmelin en Méditerranée. I. statut In: C.F. Boudouresque, M. Avon V. Gravez (Editors). Les Espèces marines à protéger en Méditerranée, GIS Posidonie Publishers, pp: 91-103, Marseille.
- LAPTIKHOVSKY, V.V. and ARKHIPKIN, A.I. 2001. Oogenesis and gonad development in the cold water loliginid squid *Loligo gahi* (Cephalopoda: Myopsida) on the Falkland Shelf. *J. Moll. Stud.*, 67: 475-482.
- LASIAK, T. 1987. Observation on the reproductive cycles of *Cellona capensis* (Gmelin, 1791) and *Patella concolor* Krauss, 1848 (Gastropoda: Prosobranchia: Patellidae). *S. Afr. J. Zool.*, 22: 195-199.
- LASIAK, T. 1990. Asynchronous reproductive activity in the broadcast spawner *Cellana capensis* (Gmelin, 1791) (Gastropoda: Patellidae). *J. Moll. Stud.*, 56: 68-81.
- LASIAK, T. 2006. Spatial variations in density and biomass of Patellid limpets inside and outside a marine protected area. *J. Moll. Stud.* 72: 137-142.
- LEMICHE, H. and WINGSTRAND, K.G. 1959. The anatomy of *Neopilina galathea* Lemche, *Galathea Rep.*, 3: 9-72.

- LE PENNEC, M., BENINGER, P.G., DORANGE, G. and PAULET, Y.M., 1991, Trophic sources and pathways to the developing gametes of *Pecten maximus* (Bivalvia: Pectinidae). *J. Mar. Biol. Ass. U.K.*, 71: 451-463.
- LE QUESNE, W.J.F. and HAWKINS, S.J. 2006. Direct observations of protandrous sex change in the patellid limpet *Patella vulgata*. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.* 86 (1): 161-162.
- LEWIS, C.A., LEIGHTON, D.L. and VACQUIER, V.D. 1980. Morphology of abalone spermatozoa before and after the acrosome reaction. *J. Ultrastruct. Res.*, 72: 39-46.
- LI, Q., OSADA, M., SUZUKI, T., SATO, M. and MORI, K. 1998. Degradation of vitellin during embryonic and larval development in the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. *Invertebr. Reprod. Dev.*, 33: 1-9.
- LIMA, F.P., QUEIROZ, N., RIBEIRO, P.A., HAWKINS, S.J. and SANTOS, A.M. 2006. Geographic expansion of a marine gastropod, *Patella rustica* Linnaeus 1758 and their relation with unusual climatic events. *J. Biogeogr.*, 33: 812-822.
- LINDBERG, D.R. 2007. Reproduction, ecology and evolution of the Indo-Pacific limpet *Scutellastra flexuosa*. *Bulletin of Marine Science.*, 81(2): 219-234.
- LINO-NETO and DOLDER 2001. Ultrastructural characteristics of the spermatozoa of Scelionidae (Hymenoptera, Platygastroidea) with phylogenetic considerations. *Zool. Scr.*, 30 (2): 89-96.
- LONGO, F.J. and ANDERSON E. 1970. Structural and cytochemical features of the sperm of the cephalopod *Octopus bimaculatus*. *J. Ultrastruct. Res.*, 32: 94-106.
- LONGO, F.J. and DORNFELD, E.J. 1967. The fine structure of spermatid differentiation in the mussel, *Mytilus edulis*. *J. Ultrastruct. Res.*, 20: 462-480.
- LUCHEL D. 1972a. Gonadal development and sex determination in pulmonate molluscs.2. *Arion ater rufus* and *Deroceras reticulatum*. *Z. Zellforsch.*, 130: 302-311.
- LUCHEL D. 1972b. Gonadal development and sex determination in pulmonate molluscs.1. *Arion circumscriptus*. *Z. Zellforsch.*, 130: 279 -301.
- MARIA-JOSE, A., RAMON, M., DUFFORT, M. 2004. Ultrastructural studies of oogenesis in *Bolinus brandaris* (Gastropoda: Muricidae). *Sci. Mar.* 68(3): 343-353.
- MARTEL, A., LARRIVÉE D.H., KLEIN, K.R. and HIMMELMAN, J.H. 1986. Reproductive cycle and seasonal feeding activity of the neogastropod *Buccinum undatum*. *Mar. Biol.*, 92: 211 -221.

- MARTIN, G.G., ROMERO, K. and MILLER-WALKER, C. 1983. Fine structure of the ovary in the red abalone *Haliotis rufescens* (Mollusca: Gastropoda). *Zoomorphology*. 103: 89 -102.
- MARTY, Y., DELAUNAY, F. and SAMAIN, J.F. Changes in the fatty acid composition of *Pecten maximus* (L) during larval development. *J. Exp. Biol. Ecol.*, 163: 221-234.
- MATSUMOTO, T., NAKAMURA, A.M., MORI, K., KAYANO, T. 2003. Molecular characterization of a cDNA encoding putative vitellogenin from the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. *Zool. Sci.* 20: 37-42.
- MAURO, A., ARCULEO, M. and PARRINELLO, N. 2003. Morphological and molecular tools in identifying the Mediterranean limpets *Patella caerulea*, *Patella aspera* and *Patella rustica*. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 295: 131-143.
- MAXWELL, W.L. 1983. Mollusca. In: K.G. Adiyodi R.G. Adiyodi (Editors), Reproductive biology of invertebrates Vol (II): Spermatogenesis and sperm function. John Wiley and Sons, pp: 275-319, Chichester.
- McALISTER, J.S. and MORAN, A.L. 2012. Relationships among egg size, composition and energy: A comparatively study of germinate sea urchins. *Plos one*, 7(7): e41599, 1-9.
- McCARTHY, M., WOOSNAM, P. and CULLOTY, S. C. 2008. Histological investigation of the reproductive cycles of the limpets *Patella vulgata* and *Patella ulyssiponensis*. *Mar Biol.*, 153: 871 -877.
- MEDINA, A., GARCIA, J.C., MORENO, F.J., and LOPEZ-CAMPOS, J.L. 1986. Comparative studies on the histology of the ovotestis in *Hypselodoris tricolor* and *Godiva banyulensis* (Gastropoda, Opisthobranchia) with special reference to yolk formation. *J. Morph.*, 188: 105-118.
- MORRICONI, E. 1999. Reproductive biology of the limpet *Nacella (P.) deaurata* (Gmelin, 1791) in Bahía Lapataia (Beagle Channel). *Sci. Mar.*, 63(1): 417-426.
- MORTON, J.E. 1979. Molluscs. Hutchinson, pp: 264, London.
- NAJMUDEEN, T.M. 2008. Ultrastructural studies of oogenesis in the variable abalone *Haliotis varia* (Vetigastropoda: Haliotidae). *Aquatic Biology*. 2: 143-151.
- NIJIMA, L. and DANJ. 1965. The acrosome reaction in *Mytilus edulis*. *J. Cell Biol.*, 25(2): 249-259.
- NIU, C. and FUJI. A. 1989. Gametogenesis and reproductive cycle of the limpet *Collisella heroldi* (Dunker, 1861). *Bull. Fac. Fish. Hokkaido Univ.*, 40 (4): 214-227.

- NORREVANG, A. 1968. Electron microscopic morphology of oogenesis, *Int. Rev. Cytol.*, 23: 113-186.
- O'DOR, R.K. and WELLS, M.J. 1973. Yolk protein synthesis in the ovary of *Octopus vulgaris* and its control by the optic gland gonadotropin. *J. Exp. Biol.*, 59: 665-674.
- O'DOR, R.K. and WELLS, M.J. 1975. Control of yolk protein synthesis by *Octopus* gonadotropin *in vivo* and *in vitro* (effects of gonadotropin) *Gen. Comp. Endocr.*, 27: 129-153.
- OLABARRIA, C. and RAMIREZ- LLODRA, E. 2004. Reproductive strategies of two deep-sea gastropod species from Porcupine Seabight (Northeast Atlantic). *Mar. Biol.*, 145: 541-549.
- OLIVE, P. J. W. 1971. Ovary structure and oogenesis in *Cirratulus cirratus* (Polychaeta: Cirratulidae). *Mar. Biol.*, 8: 243-259.
- ORTON, J.H. 1928. Observations on *Patella vulgata*. Part I. Sex phenomena, breeding and shell growth. *J. Mar. Biol. Ass. UK.*, 15: 851-862.
- ORTON, J.H. 1929. Observations on *Patella vulgata* III. Habitat and habits, *J. Mar. Bio. Ass. U.K.*, 16: 227-288.
- ORTON, J.H., SOUTHWARD A.J. and DODD, J.M. 1956. On the biology of limpets II. The breeding biology of *Patella vulgata*. L. in Britain. *J. Mar. Bio. Ass. U.K.*, 35: 149-176.
- ORTON, J.H. and SOUTHWARD, A.J. 1961. IV. The breeding of *Patella depressa* Pennant on the North Cornish Coast. *J. Mar. Bio. Ass. U.K.*, 41: 653-662.
- OSADA, M., TAKAMURA, T., SATO, H. and MORI, K. 2003. Vitellogenin synthesis in the ovary of scallop, *Patiopecten yessoensis*: control of estradiol-17 and the central nervous system. *J. Exp. Zool.* 299A: 172-179.
- ÖZTÜRK, B. ve ERGEN, Z. 1996. Saros Körfezi'nde (Kuzey Ege Denizi) dağılım gösteren *Patella (Archaeogastropoda)* türleri. *Turk. J. Zool.* 2: 513-519.
- PAL, P. and HODGSON A.N. 2002. An ultrastructural study of oogenesis planktonic and a direct-developing species of *Siphonaria* (Gastropoda: Pulmonata). *J. Moll. Stud.*, 68: 337- 344.
- PAL, P. and HODGSON A.N. 2002. Reproductive seasonality and simultaneous hermaphroditism in two species of *Siphonaria* (Gastropoda: Pulmonata) from the southeast coast of South Africa. *J. Moll. Stud.*, 71: 33-40.

- PARACUELLOS, M., NEVADO, J.C., MORENO, D., GIMÉNEZ, A. and ALESINA, J.J., 2003. Conservational status and demographic characteristics of *Patella ferruginea* Gmelin, 1791 (Mollusca, Gastropoda) on the Alboran Island (Western Mediterranean). *Anim. Biodivers. Conserv.*, 24(2): 29-37.
- PAULUS, W. 1989. Ultrastructural investigation of spermatogenesis in *Spongilla lacustris* and *Ephydatia fluviatilis* (Porifera, Spongillidae). *Zoomorphology*, 109: 123-130.
- PICKEN, G.B. 1980. The distribution, growth and reproduction of the Antarctic limpet *Nacella (Patinigera) concinna* (Strebel, 1908). *J. Exp.Mar. Biol. Ecol.*, 42: 71-85.
- PIPE, R.K., 1987. Oogenesis in the marine mussel *Mytilus edulis*: an ultrastructural study. *Mar. Biol.*, 95: 405-417.
- PODOLSKY 2001. Egg size and fertilization success: an analysis of selection on correlated characters. *Evolution*, 55: 2470-2478.
- PODOLSKY 2002. Fertilization ecology of egg coats: physical versus chemical contributions to fertilization success of free-spawned eggs. *J. Exp. Biol.* 205: 1657-1668.
- PONDER, W.F. and LINDBERG, D.R. 1997. Towards a phylogeny of gastropod molluscs: an analysis using morphological characters. *Zool. J. Linn. Soc.* 119: 83-265.
- POPHAM, J.D. 1974a. Comparative morphometrics of the acrosomes of the sperm of “externally” and “internally” fertilizing sperms of the shipworms (Teredinidae, Bivalvia, Mollusca). *Cell Tissue Res.*, 150: 291-297.
- POPHAM, J.D. 1974b. The acrosome reaction in the sperm of the shipworms *Bankia australis* Calman (Bivalvia, Mollusca). *Cell Tissue Res.*, 151: 93-101.
- POPHAM, J.D. 1975. The fine structure of the oocyte of *Bankia australis* (Teredinidae, Bivalvia) before and after fertilization. *Cell Tissue Res.*, 157: 521-534.
- POTSWALD, H.E. 1972. The relationships of early oocytes to putative neoblasts in the serpulid *Spirorbis borealis*. *J.Morph.*, 137: 215-228.
- PURCHON, R. 1977. The biology of the mollusca. 2nd ed. Pergamon Press. 560 pp, New York.
- RAVEN, C.P.1961. Oogenesis: The Storage of Developmental Information, Pergamon Press, Oxford.
- RAVEN, C.P. 1966. Morphogenesis: The analysis of molluscan development, Pergamon Press, Oxford.

- RAVEN, C.P. 1970. The cortical and subcortical cytoplasm of the *Lymnaea* egg. *Int. Rev. Cytol.*, 28: 1-44.
- RAVEN, C.P. 1972. 'Chemical embryology of Mollusca', in *Chemical Zoology*, Vol. VII, Mollusca. Editors: M. Florkinand B.T. Scheer), Academic Press, New York, London, pp.367-400.
- RAVEN, C.P. 1975. V. Fretter J. Peake. (Editors), Academic Press, pp. 367-400, London, New York, San Francisco.
- REUNOV, A.A. and HODGSON, A.N. (1994). Ultrastructure of the spermatozoa of five species of South African Bivalves (Mollusca), and an examination of early spermatogenesis. *J. Morphol.*, 219: 275-283.
- RIBEIRO P. A, XAVIER R., SANTOS, A. M and HAWKINS S. J. 2009. Reproductive cycles of four species of *Patella* (Mollusca: Gastropoda) on the northern and central Portuguese coast. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.* 89(6): 1215–1221.
- RICHTER, H.P. 1976. Feinstrukturella Untersuchungen zur Oogenese der Kaferschnecke *Lepidochitona cinereus* (Mollusca: Polyplacophora). *Helgol. Wiss. Meeres.*, 28: 250-303.
- RIDGWAY, S., REID D., TAYLOR J., BRANCH G. and HODGSON. A. 1998. A cladistic phylogeny of the family Patellidae (Mollusca: Gastropoda). *Phils. Trans. R. Soc. Lond. B.*, 353: 1645-1671.
- RIFFELL, J.A and ZIMMER, R.K. 2007. Sex and flow: the consequences of fluid shear for sperm egg interactions. *J. Exp. Biol.* 210: 207-224.
- RIFFELL, J.A and ZIMMER, R.K. 2011. Sperm chemotaxis, fluid sheer and the evolution of sexual reproduction. PNAS early Edition. www.pnas.org
- RIGBY, J. E. 1979. The fine structure of the oocyte and the follicle cells of *Lymnaea stagnalis*, with special reference to the nutrition of the oocyte. *Malacologia*, 18: 377-380.
- RILEY, R., BENNETT, M.D. and FLAWELL, R.B., 1977. A discussion of the meiotic process. *Phil. Trans. Royal Soc. Lond.*, B. 277: 183-376.
- RIVEST, B.R., 1983. Development and the influence of nurse cell allotment on hatching size in *Searlesia dira* (Reeve, 1846) (Prosobranchia: Buccinidae). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 69: 217-242.
- ROBSON, G. 1986. Aspects of the biology of a new species of South African *Patella*. (Mollusca: Gastropoda: Patellidae). M.Sc thesis. University of Natal.

- ROCHA-BARREIRA, C.A. 2002. Gonad characterisation and reproductive cycle of *Collisella subrugosa* (Orbigny, 1846) (Gastropoda: Acmaeidae) in the northeastern Brazil. *Braz. J. Biol.*, 64: 885–895.
- RODRIGUEZ-RUA, A. PRADO, M.A. ROMERO, Z. and BRUZON, M. 2003. The gametogenic cycle of *Scrobicularia plana* (da Costa 1778) (Mollusca: Bivalvia) in Guadalquivir estuary (Cadiz, SW Spain). *Aquaculture*. 217: 157-166.
- ROOSEN-RUNGE, E.C. 1977. The Process of Spermatogenesis in Animals, Cambridge University Press, pp: 37-50.
- RÖPSTORF, P., HEALY, J.M., RIEDEL, F. and SITNIKOVA, T.Y. 2001. Comparative sperm ultrastructure of Baikalian endemic prosobranch gastropods. *J. Moll. Stud.* 68: 111-126.
- RUNHAM, N.W. 1978. Reproduction and its control in *Deroceras reticulatum*. *Malacologia*, 17: 341-350.
- RUPERT, E.E. and BARNES, R.D. 1994. Phylum Sipuncula. In: R.D. Rupert R.D. Barnes (Editors), *Invertebrate Zoology*, Saunders College Publishers, pp: 343–349.
- SACHS, M.J. 1971. A cytological analysis of artificial parthenogenesis in the sur clam *Spisula solidissima*. *J. Ultrastr. Res.*, 36: 806-823.
- SCANABISSI, F.S. and TRENTINI M. 1979. Ultrastructural observations on the oogenesis of *Triops cancriformis* (Crustacea, Notostraca) II. Early developmental stages of the oocyte. *Cell Tissue Res.*, 201: 361-368.
- SCHUETZ, A.W. and SAMSON, D. 1979. Nuclear requirement for post-maturational cortical differentiation in amphibian oocytes: effects of cycloheximide. *J. Exp. Zool.*, 210: 307-320.
- SELMAN, K. and WALLACE, R.A. 1972. A role for the follicle cells during oogenesis vitellogenesis in the squid *Loligo pealei*. *Biol. Bull.*, 143-147.
- SELMAN, K. and WALLACE, R.A. 1978. An autoradiographic study of vitellogenesis in the squid *Loligo pealei*, *Tissue Cell.*, 10: 599-608.
- SELMI, M.G. and GIUSTI, F. 1980. Structure and function in typical and atypical spermatozoa of Prosobranchia (Mollusca), I *Coehlostoma montanum* (Issel) (Mesogastropoda). *Atti della Accademia dei Fisiocritici Siena, IV. Congresso (Societa Malacologia Italiana, Siena, 1978)*, pp: 115-167.
- SELWOOD, L. 1968. Interrelationships between developing oocytes and ovarian tissues in the chiton *Sypharochiton septentriones* (Ashby) (Mollusca, Polyplacophora). *J. Morphol.*, 125 (1): 71-104. doi: 10.1002/jmor.1051250105

- SELWOOD, L. 1970. The role of the follicle cells during oogenesis in the chiton *Sypharochiton septentriones* (Ashby) (Polyplacophora, Mollusca), *Zellforsch.*, 104: 178-192.
- SERRAO E.A. and HAVENHAND J. 2009. Fertilization strategies. In: M.Wahl (Editor). *Marine Hard Bottom Communities*. Springer-Verlag. Pp. 149-164, Berlin.
- SOUDANT, P., MOAL, J., MARTY, Y. and SAMAIN, J.F. 1996. Impact of the quality of dietary fatty acids on metabolism and the composition of polar lipids classes in female gonad of *Pecten maximus* (L.). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 205 (1-2): 149-163.
- SMALDON, P.R. and DUFFUS, J.H. 1985. An ultrastructural study of gametes and fertilization in *Patella vulgata* L. *J. Moll. Stud.*, 51: 116-132.
- STANWELL-SMITH, D and CLARKE, A. 1998. The timing of reproduction in the Antarctic limpet *Nacella concinna* (Strebel, 1908) (Patellidae) at Signy Island, in relation to environmental variables. *J. Moll. Stud.*, 64:123–127.
- STICKER, S.A., WELFORD, A.M. and MORRIS, C.A. 1992. Somatic cell-oocyte interactions during oogenesis in the acoe flatworm *Childa groenlandica*. *Invertebr. Reprod. Dev.*, 21(1): 57-77.
- SUMIKAWA, S. and FUNAKOSHI, C.1984. The fine structure of mature spermatozoa in two species of the Siphonaridae (Pulmonata: Basammatophora). *Venus*. 42, 143-155.
- SUWANJARAT, J. and SUWALUK, S. 2003. Euspermatozoon structure and euspermatogenesis in *Cerithidea cingulata* (Gmelin, 1791) (Caenogastropoda: Potamidae). *Songlanakarin J. Sci. Technol.*, 24, 4.
- SUZUKI, T., HARA, A., YAMAGUCHI, K. and MORI, K. 1992. Purification and immunolocalization of a vitellin-like protein from the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. *Mar Biol.*, 113: 239–245.
- TAYLOR, G.T. and ANDERSON, E. 1969. Cytochemical and fine structural analysis of oogenesis in the gastropod *Ilyanassa obsoleta*. *J. Morph.*, 129: 211-248.
- THOMPSON, T.E. 1973. Euthyneuran and other molluscan spermatozoa. *Malacologia*, 14: 167-206.
- THOMPSON, G.B., 1980. Distribution and population dynamics of the limpet *Patella vulgata* in Bantry Bay. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 45: 173– 217.
- THINOT-QUIEUREUX. 2003. Advances in chromosomal studies of gastropod molluscs. *J. Moll. Stud.* 69: 187-201.

- UBBELS, G.A. 1968. A cytochemical study of oogenesis in the pond snail *Lymnea stagnalis*. PhD Thesis. Rotterdam.
- UNDERWOOD, A.J. 1974. The reproductive cycles and distribution of some common eastern Australian prosobranchs (Mollusca: Gastropoda). *Austr. J. Mar. Freshwat. Res.*, 5: 63-88.
- VASCONCELOS, P., LOPES, B., CASTRO, M. and GASPAR, M.B. 2008. Gametogenic cycle of *Hexaplex (Trunculariopsis) trunculus* (Gastropoda: Muricidae) in the Ria Formosa lagoon (Algarve coast, southern Portugal), *J. Mar. Biol. Asso. UK*. 88(2): 321-329.
- VAT, L.S. 2000. The growth and reproduction of *Patella granularis* (Mollusca: Patellogastropoda) on the southeast coast of South Africa. PhD Thesis. Rhodes University.
- VOLTZOW, J. 1994. Microscopic Anatomy of Invertebrates. In: F. Harrison A. Kohn (Editors), Vol. 5. Mollusca I. Wiley Liss, pp. 111-252.
- WALKER, M.H. and MACGREGOR, H.C. 1968. Spermatogenesis and the structure of the mature sperm in *Nucella lapillus*, *J. Cell Sci.*, 3: 95-104.
- WEBBER, H.H. 1977. Gastropods: Prosobranchia. In: A.C. Giese J.S. Pearse (Editors), Reproduction and Cephalopods. Academic Press, pp:1-77, New York.
- WEST, D.L. 1978. Reproductive biology of *Colus stimpsoni* (Prosobranchia: Buccinidae). I. Male genital system. *Veliger*, 20: 266-273.
- WEST, D.L. 1981. Reproductive biology of *Colus stimpsoni* (Prosobranchia: Buccinidae). IV. Oogenesis. *Veliger*. 24: 28-38.
- WEST, D.L. 1983. Reproductive biology of *Colus stimpsoni* (Prosobranchia: Buccinidae). V. Nutritive egg formation. *Veliger*. 25: 299-306.
- WHITE-COPPER, H. and BAUSEK, N. 2010. Evolution and spermatogenesis. *Phil. Trans. R. Soc. Biol. Sci.* 365: 1465-1480.
- WILSON, N.G. and HEALY, J. M. 2002. Comparative sperm ultrastructure in five genera of the nudibranch family Chromodorididae (Gastropoda: Opisthobranchia). *J. Moll. Stud.*, 68: 133-145.
- WOODS, F. H. 1931. History of the germ cells in *Sphaerium striatum* (Lam.). *J. Morphol.*, 51: 545-591.
- WORMS. 2012. <http://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=138312>
- WOURMS, J.P., 1987. Oogenesis. Reproduction of marine invertebrates. Vol. IX. *General aspects: seeking unity in diversity*. A. C. Giese, J. S. Pearse and V.

- B.Pearse (Editors), Blackwell Scientific Publications ve the Boxwood Press, 50-157.
- WRIGHT, W.G. and LINDBERG, D.R. 1979. A non-fatal method of sex determination for patellacean gastropods. *J. Mar. Biol. Ass. UK.*, 59: 803.
- WRIGHT, W.G. and LINDBERG, D.R. 1982. Direct observation of sex change in the patellacean limpet *Lottia gigantea*. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.*, 62: 737–738
- YAN, Y., CHAN, B.K.K. and WILLAMS, G.A. 2006. Reproductive development of the barnacle *Chthamalus malayensis* in Hong Kong: implications for the life-history patterns of barnacles of seasonal, tropical shores. *J. Mar. Biol.* 148: 875-887.
- YILMAZER, N. 2005. *Donax turunculus* (Bivalvia: Donacidae) Ovaryunun Morfolojisi ve Oogenezinin İnce Yapısı. İstanbul Üniv. Fen Bil. Ens. Doktora Tezi.
- YING, X., YANG, W. JIANG, N. And ZHANG, Y. 2004. Ultrastructure of spermatozoa of *Bullacta exarata* (philippi) and its significance on reproductive evolution and physio-ecological adaption. *J. Zhejiang Univ. Sci.* 5: 1211-1217.
- ZABALA, S., HERMIDA, G. N. and GIMÉNEZ, J. 2009. Ultrastructure of euspermatozoa and paraspermatozoa in the volutid snail *Adelomelon ancilla* (Mollusca: Caenogastropoda). *Helgol. Mar. Res.*, 63: 181-188.
- ZABALA, S., HERMIDA, G. N. and GIMÉNEZ, J. 2012. Spermatogenesis in the marine snail *Adelomelon ancilla* (Volutidae) from Patagonia. *J. Moll. Stud.* 78, 52-65.
- ZIMMER R.K. and RIFFELL J. A. 2007. Sex and flow: the consequences of fluid shear for spongin egg interactions. *J. Exp. Biol.* 210: 207-224.
- ZIMMER, R.K. and RIFFELL, J. A. 2011. Sperm chemotaxis, fluid shear and the evolution of sexual reproduction. www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.1018666108

ÖZGEÇMİŞ

Deniz AKŞİT, 1980 yılında İzmir’de doğdu. İlk, orta, lise öğrenimini İzmir’de tamamladı. 1998 yılında girdiği Ege Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Deniz bilimleri ve iç sular teknolojisi bölümü’nden 2003 yılında Su Ürünleri Mühendisi olarak mezun oldu. 2003-2004 güz yarısında Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Su Ürünleri Mühendisliği Anabilim Dalında Yüksek Lisans öğrenimine ve 2005 güz yarısında Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü’nde Araştırma Görevlisi olarak göreve başladı. 2006 yılında ‘Antalya Körfez’inde Yaşayan *Patella* Linnaeus, 1758 (Mollusca: Gastropoda) Türlerinin Histomorfolojik ve İzoenzimik Özelliklerinin İncelenmesi’ başlıklı yüksek lisans tezininden mezun olarak doktora eğitimine başladı ve halen aynı anabilim dalında Araştırma Görevlisi olarak görev yapmaktadır.