

T.C.
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

KURA-ARAS HAVZASI'NDA BULUNAN ÇÖPÇÜ BALIĞI'NDA
(*Orthrias panthera*, Heckel 1843) KARYOTİP ANALİZİ

Duygu TANRIKULU
YÜKSEK LİSANS TEZİ

Danışman
Yrd. Doç. Dr. Muhittin YILMAZ

EYLÜL-2008
KARS

Bu tez çalışması 105T319 numaralı proje ile TÜBİTAK tarafından desteklenmiştir.

T.C.
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

KURA-ARAS HAVZASI'NDA BULUNAN ÇÖPÇÜ BALIĞI'NDA
(*Orthrias panthera*, Heckel 1843) KARYOTİP ANALİZİ

Duygu TANRIKULU
YÜKSEK LİSANS TEZİ

Danışman
Yrd. Doç. Dr. Muhittin YILMAZ

EYLÜL-2008
KARS

T.C. Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans öğrencisi Duygu TANRIKULU'nun Yrd. Doç. Dr. Muhittin YILMAZ'ın danışmanlığında yüksek lisans tezi olarak hazırladığı “Kura-Aras Havzası'nda Bulunan Çöpçü Balığı'nda (*Orthrias Panthera*, Heckel 1843) Karyotip Analizi” adlı bu çalışma, yapılan tez savunması sınavı sonunda jüri tarafından Lisansüstü Eğitim Yönetmeliği uyarınca değerlendirilerek oy ile kabul edilmiştir.

.... / /200.

Adı ve Soyadı	İmza
Başkan : Yrd. Doç. Dr. Muhittin YILMAZ
Üye : Yrd. Doç. Dr. Süleyman GÜL
Üye : Yrd. Doç. Dr. Hasan ORAL

Bu tezin kabulü, Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunun / / 200. gün ve / sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Vahit ALİŞOĞLU
Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

Bu çalışma Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim dalında yüksek lisans tezi olarak hazırlanmıştır.

Bu çalışmanın tez konusu olarak seçiminde, projelendirilmesinde ve yürütülmesinde, bana gerekli laboratuvar ve burs olanakları sunan, yol gösteren, bilgi ve yardımlarını esirgemeyen sayın hocam, Yrd. Doç. Dr. Süleyman GÜL'e, danışmanım olan sayın hocam Yrd. Doç. Dr. Muhittin YILMAZ'a, Biyoloji Bölümü laboratuvar olanaklarından yararlanmamı sağlayan, Fen-Edebiyat Fakültesi Dekanı ve Biyoloji Bölümü Başkanı sayın hocam, Prof. Dr. Arif BAYSAL'a, tezimin laboratuvar aşamasında emeği geçen arkadaşım Arş. Gör. Gökhan NUR' a teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Ayrıca çalışmamı maddi yönden destekleyen TÜBİTAK (105T319 no'lu proje)'a teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	ii
SUMMARY	iii
ŞEKİLLER DİZİNİ	iv
RESİMLER DİZİNİ	v
ÇİZELGELER DİZİNİ	vi
HARİTALAR DİZİNİ	vii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	6
2.1 Kullanılan Balık Üzerine Genel Bilgiler	6
2.2 Araştırma Örneklerinin Alındığı Alanın Özellikleri Ve Çevrenin Jeolojisi	10
2.3 Kromozomlar hakkında Genel Bilgiler	12
2.4 Kromozom Morfolojisi	14
2.5 Mitoz Bölünme	18
2.6 Mitoz Önleyici Maddeler	21
2.7 Balıklarda Kromozom Kaynakları	22
3. MATERYAL ve METOT	31
3.1 Örneklerin Toplanması Ve Değerlendirilmesi	31
3.2 Kullanılan Kimyasal Madde Ve Çözeltilerin Hazırlanması	31
3.3 Havada Kurutma Tekniği ile Karyotip Hazırlanması	32
4. BULGULAR	33
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	39
6. KAYNAKLAR	49
7. ÖZGEÇMİŞ	58

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 2.3.1 DNA'nın bazik histon proteinleri ile kendi üzerine katlanarak metafaz safhasındaki kromozomlara dönüşmesi	13
Şekil 2.4.1 Kromozomların yapısı, a) Dıştan görünüşü, b) İçten görünüşü	15
Şekil 2.4.2 Sentromerin yerine göre kromozom tipleri; A) Metasentrik, B) Submetasentrik, C) Akrosentrik, D) Telosentrik	16
Şekil 2.4.3 DNA'nın metafaz kromozomu oluşuncaya kadar geçirdiği organizasyon aşamaları	18

RESİMLER DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Resim 2.1.1 <i>Orthrias panthera</i> .	8
Resim 2.7.1 <i>Eigenmannia virescens</i> ' in yüzgeç epitelinden elde edilmiş metafaz yayılımı	25
Resim 2.7.2 <i>Orthrias angorae</i> ' nin solungaçlarından elde edilen metafaz kromozomları	26
Resim 2.7.3 <i>Chalcalburnus mossulensis</i> 'ten elde edilen metafaz plağı	27
Resim 4.1 <i>Orthrias panthera</i> 'nın solungaç epitelinden elde edilen metafaz kromozomları (a, b)	35
Resim 4.1 (c, d)	36
Resim 4.1 (e, f)	37
Şekil 4.2 <i>Orthrias panthera</i> 'nın karyotipi	38

ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa No
Çizelge 2.1.1 <i>Orthrias (Nemacheilus)</i> türlerinde diagnostik özelliklerin karşılaştırılması	7
Çizelge 2.6.1 Mitoz önleyici maddeler ve işlevleri	21
Çizelge 5.1 Bazı balık türlerinin karyotip bilgileri	44

HARİTALAR DİZİNİ

Sayfa No

Harita 2.2.1 Araştırma örneklerinin alındığı istasyonları gösteren harita **12**

ÖZET

Bu çalışmada *Orthrias panthera* (Heckel, 1843) (Fam: *Balitoridae*)'nin kromozomlarının sayı ve yapıları incelenerek, karyotip analizi yapıldı. Çalışmada kullanılan balıklar Kura-Aras havzasından elektro şokerle yakalanarak laboratuara getirildi. Her bir gram vücut ağırlığı için 0.01 ml, % 0,6'lık kolsişin solüsyonu balıkların karın boşluğuna enjekte edildi ve balık işleme alınmadan önce 190 dakika beklenildi. Metafaz incelemeleri sonucunda *O. panthera*'nın $2n=50$ kromozoma sahip olduğu saptandı. Karyotip analizi sonucunda, bu balıkta 7 metasentrik, 9 submetasentrik ve 9 akrosentrik kromozom çiftinin (NF=82) olduğu belirlendi. Bu türde cinsiyete bağlı herhangi bir kromozom tespit edilemedi.

Anahtar sözcükler: *Kura-Aras Havzası, Orthrias panthera, Balitoridae, Karyotip*

SUMMARY

In this study, chromosome numbers and the standard karyotypic details for the Angora loach, *Orthrias panthera* (Heckel, 1843) (Fam: Balitoridae) from Kura-Aras river basin were ascertained. The fishes used in this study were caught with fishing nets from the Kura-Aras river basin and taken to the laboratory. Fishes were injected intraperitoneally (i.p.) with doses of 0.01 ml/g body weight of 0,6 % solution of colchicine and left for 190 minutes before sacrifice. It was determined that *O.panthera* had $2n=50$ chromosomes by metaphase investigation. Their karyotypes were determined as being composed of 7 metacentric, 9 submetacentric and 9 acrocentric chromosome pairs with NF: 82. We were unable to identify any sex-related chromosomes in these species.

Key words: Kura-Aras Basin, *Orthrias panthera*, Balitoridae, Karyotype

1. GİRİŞ

Birbirine yakın ve morfolojik olarak ayırt edilemeyen tür, alttür ve izole olmuş grupların sınıflandırılması için yapılan sistematik çalışmalarda metrik ve meristik karakterler bazen yetersiz kalmaktadır. Günümüzde bu yetersizliklerin giderilebilmesi için sitogenetik, moleküler ve biyokimyasal alanlarda çalışmalar yapılmaktadır. Memeliler üzerinde uygulanan karyotip ve kromozom bantlama teknikleri balıklar üzerinde de uygulanarak kaliteli metafaz kromozomları elde edilebilmektedir. Bu durum, karyolojik analizlerin, klasik yöntemlere dayanan sistematik çalışmalarını tamamlayıcı nitelikte olduğunu göstermektedir [1].

Karyotip çalışmaları, tür seçiminde, verimli tür üretiminin yönlendirilmesinde ve sitotoksik kimyasalların izlenebilmesinde son derece önemli katkılar sağlamaktadır[2]. Çeşitli çevre kirleticilerinin kromozomlar üzerindeki etkileri saptanarak besin zincirinde önemli bir yer tutan balık türlerinin kromozomlarındaki değişimler de ortaya çıkarılabilmektedir.

Ülkemizde günümüze kadar balıklar üzerinde yapılan araştırmaların başında sistematik, morfoloji, anatomi, balık hastalıkları, beslenme ve yetiştiricilik çalışmaları gelmektedir.

Yapılan çalışmalar daha çok sistematik [3–5] ağırlıklı olmakla beraber büyüme performansları ve yumurta verimliliği [6] üzerinde de yoğunlaşmıştır. Sitogenetik [7–15], biyokimyasal [16–21], toksikolojik [22] ve histolojik [23] alanlardaki çalışmalar ise daha az sayıdadır.

Son 50 yılda balık kromozomları ile ilgili genetik çalışmalar hızlı bir gelişim göstermiştir [24]. Kromozom analizi çalışmaları ile, balıkların gelişim basamakları, türlerin filogenetik ve taksonomik durumları, popülasyon içi, popülasyonlar arası ve eşeyler arası varyasyonlar hakkında önemli bilgiler elde edilmiştir ve balık genetiğine ait pek çok soru bu bilgiler sayesinde aydınlatılmıştır. Ayrıca bu bilgiler özellikle balık sistematiği ve yetiştiriciliği alanında önemli gelişmelere imkân sağlamıştır [14, 25, 26].

Kromozomların morfolojik görünüşleri ve sayıları, varsa türler arasındaki evrimsel farklılıkları makro düzeyde görmemizi sağlamaktadır. Bir türe ait kromozomların sayısal ve morfolojik olarak tespit edilmesi, çeşitli ekolojik farklılıklar sonucu ortaya

ıkan varyasyonların neden olduğu tür ve alttürler arasındaki farklılıkları da gösterir. Mitoz metafazındaki hücrelerle yapılan analizler ve özel çalışmalar ile metafaz plağındaki kromozom şeklinde kalıtım materyalini incelememiz mümkündür [24].

Bir canlının genetik yapısının bilinmesi; o canlının ıslahı, kültürü ve melezlenmesinde çeşitli kolaylıklar sağlamaktadır. Su rnlerinde balık yetiştiriciliği büyük öneme sahiptir. Yetiştiricilikte hızlı büyüme yeteneğine sahip, hastalıklara karşı dayanıklı ve ortam şartlarına iyi uyum sağlayabilen balıklar tercih edilmektedir. Bu amaçla balık üretiminde artış sağlamak için balıkların genetik yapısının bilinmesi ve uygun ıslah yöntemlerinin uygulanması gerekmektedir [27,28].

Ülkemiz, hem kıyı şeritleri hem de i suları açısından oldukça zengin bir konuma sahiptir. Ancak su ürünleri içerisinde besin değerı yüksek, sağlıklı, ucuz ve ekonomik değerı oldukça fazla olan balık endüstrisi ve balıkçılık ülkemizde istenilen düzeyde gelişmemiştir. Bazı ülkelerin sadece kültür balıkılığından elde etmiş oldukları üretim, ülkemizin yıllık balık üretiminden kat kat fazladır [27].

Dünyada ise bu amaçla yapılan ıslah çalışmaları hızla devam etmekte ve önemli gelişmeler kaydedilmektedir. Avrupa ve bilimsel açıdan ileri düzeyde olan diğer ülkelerde uygulanan st düzey genetik çalışmalara (rneğin; kromozom seti manipülasyonu ve gen transferi gibi) nazaran, ülkemizde kamu sektörü bu konuya teknik eleman ve maddi yetersizliklerden dolayı yeterince eğilememiş, özel sektör ise bu konuda eğitilememiştir. Özellikle balıkçılık alanında çiftlik stoklarının bilinmeyen genetik yapıları, çiftlikler arası nakiller yoluyla içinden çıkılmaz bir hal almıştır. Bunun nedeni, herhangi bir çiftliğin diğer bir çiftlikten genetik özellikleri bilinmeyen yumurta, yavru ya da damızlık balık alması ve daha sonra bunları kendi iftliğindekiler ile bilinçsizce çiftleştirerek gerçekleştirdiği bu işlemleri kaydetmemesidir [28].

Hlbuki doğadaki ve çiftlik stoklarındaki genetik yapının bilinmesi; stok yönetimi çalışmalarında yeni stratejilerin geliştirilmesinde (gelecekte daha iyi stoklar elde edilebilmesi ve mevcut genetik kaynakların korunması) son derece önemlidir [28].

Balık kromozomlarıyla ilgili çalışmalar uzun zamandan beri birçok bilim adamının dikkatini çekmiştir. Bu alana olan ilgi sadece taksonomist ve balık bilimciler tarafından

değil, çevremizde mevcut genotoksik amillerin tespiti ve bunların etkileriyle ilgilenen toksikologlarca da giderek artmaktadır. Bu çalışmalar, çevresel kirlenmenin insan sağlığı üzerine etkilerinin ortaya çıkarılması bakımından bir tür erken uyarı sistemi niteliği taşımaktadır [28].

Tarımda kullanılan gübre ve mücadele ilaçları (pestisitler), hayvansal atık madde üreten çiftlikler, konutlar, sanayi kuruluşları ve enerji santrallerinden, içinde sağlığa zararlı maddeler bulunan ve atık su olarak adlandırılan kirli sular çevreye verilmektedir. Bunlar; yüzey sularını ve yer altı sularını kirletmektedir. Üç yanı denizlerle çevrili olan ve birçok akarsuya sahip olan ülkemizde sanayi kuruluşlarının çoğu deniz ve akarsu kıyılarında bulunmaktadır.

Endüstriyel faaliyetler sonucu ortaya çıkan atık sular çoğunlukla herhangi bir arıtma işlemine tabi tutulmaksızın bu su ortamlarına bırakılmaktadır. Yine evsel atıklar aynı şekilde bu sulara karışmaktadır. Bunun yanı sıra gazlar, ağır metaller ve radyoaktif maddeler de bitki ve hayvanlarda birikerek besin zinciri yoluyla insanlara geçmektedir [29].

Kirletici parametrelerin verdiği zararları ortaya çıkarmak amacıyla canlılar üzerinde birçok araştırma yapılmıştır. Bu etkiler, mikronükleus yöntemi ile klastojenik (kromozom kırılması, asentrik fragmentlerin ya da multisentrik kromozomların oluşumu) ve anöjenik (kromozomların anafazda kutuplara gidememesi ve iç iplikleri üzerine etkiler) olarak ortaya çıkarılmaktadır [30]. Klastojenik ve anöjenik ajanların yol açtığı etkiler telofazdan sonra, yavru hücrelerin esas çekirdeklerinden daha küçük olan bir ya da daha fazla mikronükleus oluşumuna yol açmaktadır.

Dünyada balık kromozom çalışmaları çok eski yıllara dayanmasına karşın balık sitogenetiğinde henüz istenilen başarı elde edilememiş ve Tıbbi Genetiğin oldukça gerisinde kalmıştır. İnsanlarda kromozomal hastalıkların teşhisi yapılabilirken, balıklarda hastalık konusunda kayda değer bir sonuç şimdiye kadar sağlanamamıştır. Ancak balık kromozomlarının boyca küçük, sayıca fazla olmaları ve her balığa uygulanabilecek standart bir metodun olmaması bu başarıyı önemli ölçüde etkilemektedir. Ülkemizde ise son birkaç yıldır ilgi duyulmaya başlanmış ancak bu konudaki çalışmalar yetersiz kalmıştır [28].

Bugün için, kromozomlar doğru olarak numaralandırılıp (karyotiplenip, yapısal ve sayısal değişiklikleri kolaylıkla saptanabilmektedir. Kromozom elde etme ve kromozomları birbirinden ayırma tekniklerinin gelişmesi, özellikle bantlama tekniklerinin ortaya çıkışı sitogenetikte büyük atılımlara neden olmuştur. Sitogenetiğe olan ilginin artmasının bir başka nedeni ise, bilhassa insanlarda kongenital (nedeni çevresel ya da kalıtsal da olsa doğuştan var olan) hastalıkların doğumdan önce tanınmasıdır. Yine sonraki kuşakta daha az zarar vermesini sağlamak bakımından yapılan çalışmalar, yani "genetik danışmanlık" artık ayrı bir ilgi ve uygulama alanı olmuştur.

Özetlemek gerekirse kromozom analizi;

- Balıkçılık yönetimi ve yetiştiricilikte (kromozom manipulasyonu teknikleri, poliploidliği teşvik etmek suretiyle veya Ginogenezis yardımıyla-kısırlaştırma, yüksek popülasyonu önleme ve cinsi olgunluk yaşından sonra balıklarda büyüme ve hayatta kalma süresini artırmada),
- Su kirliliği göstergesi olarak (balıklar su yoluyla taşınan kirleticileri metabolize edebilen, toplayabilen ve depolayabilen organizmalar olması nedeniyle ve endüstriyel atıklar(kanserojen ve mutajen kimyasallar) ve radyasyonun balık kromozomlarında hatalara sebep olmasından dolayı su kirliliğinin tespiti için balık analizleri kullanılabilir),
- Kromozomal hastalıkların tesbitinde (örneğin insanlarda; Mongolizm (Down sendromu, Trizomi D13 sendromu, G21 trizomi sendromu), 13q eksiklik sendromu, Turner sendromu, Klinefelter veya XXY sendromlarının belirlenebilmesinden),
- Filogenetik ilişkinin belirlenmesinde (evrimsel ilişkileri ortaya koyabilmesinden dolayı) kullanılabilir.

Ancak, balıklarda kromozomal incelemeler (özellikle kromozom bantlama çalışmaları) insanlardaki kadar ileri düzeye ulaşmadığından evrim konusundaki bilgiler tartışmalıdır [28].

Bugün dünyada yaklaşık 20.000–23.000 civarında balık türünün bulunduğu tahmin edilmektedir. Bunlardan yaklaşık 3000 kadarının kromozom sayıları belirlenmiş ve karyotip analizleri yapılmıştır [31]. Sitogenetik incelemelerin balıklarda da sistematik araştırmalara büyük katkılar sağlayacağına inanılmaktadır.

Tatlısu balıkları içerisinde en büyük familya Cyprinidae familyası olup, bu familya dünya üzerinde oldukça geniş bir dağılım göstermektedir. Ülkemizde de tatlı su balıklarının büyük bir kısmı bu familyaya dahil olup yurdumuz iç sularında söz konusu familyaya ait 108 tür bulunmaktadır [27].

Bu çalışma ile Kura-Aras Havzası'nda yaygın olarak bulunan *Orthrias panthera*'nın kromozom sayı ve tiplerini belirlenmesi ve adı geçen türün diğer akraba türlerle kromozomal açıdan karşılaştırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Kullanılan Balık Üzerine Genel Bilgiler

Familiya: Balitoridae

Genellikle hızlı akan sularda yaşayan küçük vücutlu balıklardır. Kayalara tutunmak için ventral yüzgeçleri modifiye olmuştur. Büyük emici ağızlara sahiptirler. Ağızlarının etrafında en az 3 çift bıyık bulunur ve özelliği ile Cobitidae familyasına benzerler. Bu familyanın 52 genusu ve 500'den fazla türü vardır [32].

Cins: *Orthrias (Nemacheilus)* (Jordan and Fowler, 1903)

Vücut ince uzun yapılı ve silindirik şekilli olup, genellikle küçük pullarla örtülü ise de, bazen tamamı veya belirli bölgeleri çıplak olabilir. Vücudun enine kesidi daima yuvarlak veya çok az oval olabilir. Ağız küçük, ventral konumlu ve etrafı nispeten iyi gelişmiş dudaklarla çevrilidir. Üç çift kısa bıyık taşımakta olup, bunlardan iki çifti burun üzerinden, bir çifti de ağız köşelerinden çıkmaktadır. Ligne lateral tam, yarım veya tamamen belirsiz olabilir. Gözlerin altında suborbiter dikenler bulunmaz. Hava keseleri tamamen kemik bir kapsülle çevrelenmiştir. Farinks dişleri küçük, sivri ve uçları hafifçe kıvrıktır. Dorsal yüzgeçleri 6-18 dallanmış ışın ihtiva etmektedir. Bazen sırtta dorsal yüzgecin gerisinde bir karina bulunur. Kuyruk yüzgecinin serbest kenarı düz, yuvarlak ya da hafif girintili olabilir. Vücut rengi ve deseni yönünden çok büyük varyasyonlar gösterir. Genellikle koyu kahverengi veya kahverengi-sarı üzerine benekler bulunur.

Asıl yayılış alanı Asya, Avrupa ve Habeşistan olan bu cinsin Anadolu'da 8 türü yaşamaktadır. İnsan gıdası yönünden memleketimiz için herhangi bir ekonomik önemi yoktur [32,33].

Çizelge 2.1.1 *Orthrias (Nemacheilus)* türlerinde diagnostik özelliklerin karşılaştırılması [34].

Türler	D	A	P	V
<i>O. angorae</i>	II-III 7-8	II 5	I 9-10	I 6-7
<i>O. tschayssuensis</i>	III 9	II 5	I 9-11	II 6-7
<i>O. tigris</i>	II-III 7-8	II 5	I 10-11	I 7
<i>O. panthera</i>	II-III 7-8	II 5	I 10-11	I 6
<i>O. lendli</i>	II 7-8	III 5	I 9-10	I 5-6
<i>O. insignis</i>	III 8-9	II 5	I 9-10	II 6-7
<i>O. malapterurus</i>	III 7	II 5	I 10	I 7
<i>O. argyrogramma</i>	III 8-9	II 5	I 9-10	I 5-7

Tür: *Orthrias (Nemacheilus) panthera* (Heckel, 1843)

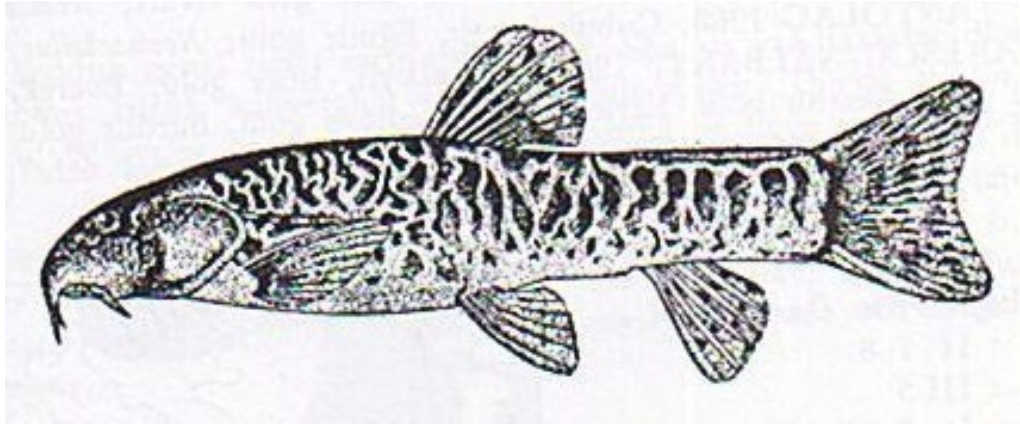
Vücut yanlardan basılmış ve yüksek yapılı olup, uzunluğu maksimal yüksekliğinin 4,5–5,8 katı kadardır. Vücudun ön kısmı çıplak, arka kısmı ise, çok küçük pullarla örtülüdür. Ligne lateral tam olmayıp ancak dorsal yüzgeç kaidesinin ortasına kadar uzanabilir. Kuyruk sapının alt ve üst taraflarında fazla gelişmemiş birer karina bulunur, dorsalin serbest kenarı düzdür ve aşağı yukarı ventrallerle aynı hizadan başlar. Kuyruk yüzgeci genç ve yaşlılarda farklı görünüşte olup, gençlerde daima içeriye doğru hafif girintili olduğu halde, yaşlı bireylerde bazen düz bazen da hafif yuvarlak olabilir. Total vücut boyu 6 cm kadardır [33].

Vücutun genel rengi sarımtırak beyaz olup, baş bölgesi ile yan tarafları ve sırt kısmı düzensiz şekilli ve adeta panter derisini andıran kahverengi beneklerle süslenmiştir. Karın tarafta ise bu benekler iyice azalır ve renk kirli-beyaz bir görünüş kazanır.

Aslında Mezopotamya orijinli olan bu tür, Suriye, Ürdün, Lübnan ve Anadolu' da yayılış gösterir. Memleketimizde bugüne kadar Gölbaşı (Malatya), Ceyhan nehri, Fırat nehri, Çoruh nehri, Araş nehri, Asi nehri, Kars çayı, Patnos çayı, Tortum suyu, Pamuk çayı, Çaltı suyu gibi Doğu ve Güneydoğu Anadolu bölgelerinin akarsularından rapor edilmişlerdir [33].

İlk Bulunış Yeri: Şam (Suriye)

Yerel Adı: Çöpçü Balığı



Resim 2.1.1 *Orthrias panthera* [33].

Diagnostik Özellikleri:

D: II-III; 7-8

A: II; 5

P: I; 10-11

V:I; 6

Sistematikteki Yeri [35]

- Kingdom:** Animalia
- Phylum:** Chordata
- Sub Phylum:** Vertebrata
- Infra Phylum:** Gnathostomata
- Super Class:** Osteichthyes
- Class:** Actinopterygii
- Sub Class:** Neopterygii
- Infra Class:** Teleostei
- Super Order:** Ostariophysii
- Order:** Cypriniformes
- Super Family:** Cobitoidea
- Family:** Balitoridae
- Sub Family:** Nemacheilinae
- Genus:** *Orthrias*
- Species:** *Orthrias panthera* (Heckel, 1843) [36].

2.2 Araştırma Örneklerinin Alındığı Alanın Özellikleri Ve Çevrenin Jeolojisi

Genellikle Orta Miyosen'de Arabistan plakaları ile Avrasya plakasının çarpışması, Türkiye neotektoniğinin başlangıcı olarak kabul edilmektedir. Kıtaların çarpışması ile Anadolu'nun özellikle Doğu Anadolu'nun sıkışmanın etkisinde kaldığı ve bunun sonucu olarak Kuzey Anadolu ve Doğu Anadolu dönüşüm faylarının oluştuğu bununla birlikte Anadolu plakasının batıya doğru hareket ettiği, kıtaların çarpması sonucunda meydana gelen sıkışma ortamında çarpışma volkanitlerin oluştuğu belirtilmektedir [37].

Bölgedeki yükselmenin ve volkanizmanın etkisiyle Kalkankale formasyonunun çökeldiği göllerin devamlı olarak boyutları değişmiş, bir yerde söz konusu göllerin bir kısmı ve/veya tamamı kapanarak diğer tarafta yeni göl ve göller oluşarak çökeltme Alt Kuaterner'e kadar devam etmiştir. Bu arada Dumanlıdağ Piroklastikleri, Taşköprü andezit, dasit riyolitleri ile Melikler bazaltını oluşturan faaliyetler de gerçekleşmiştir. Bu faaliyetlerin ürünü olan lav, tüf, aglomeralar bölgeye yayılmış ve kısmen söz konusu göller de yayılarak Kalkankale formasyonu ile iç içe girik bir durum almışlardır.

Pleistosen' de bölgenin yükselmesi sonucu Kalkankale formasyonu su yüzeyine çıkmış, bu esnada gelişen akarsuların çökelleri yol boyu formasyonunu meydana getirmişlerdir. Çalışma alanının topografyası aşınma ile günümüz topografyasına ulaşmış olup, bu arada faaliyetteki akarsular vadi tabanında alüvyonları biriktirmiş ve yamaçlarda erozyon sonucu yamaç molozu birikintileri oluşmuştur.

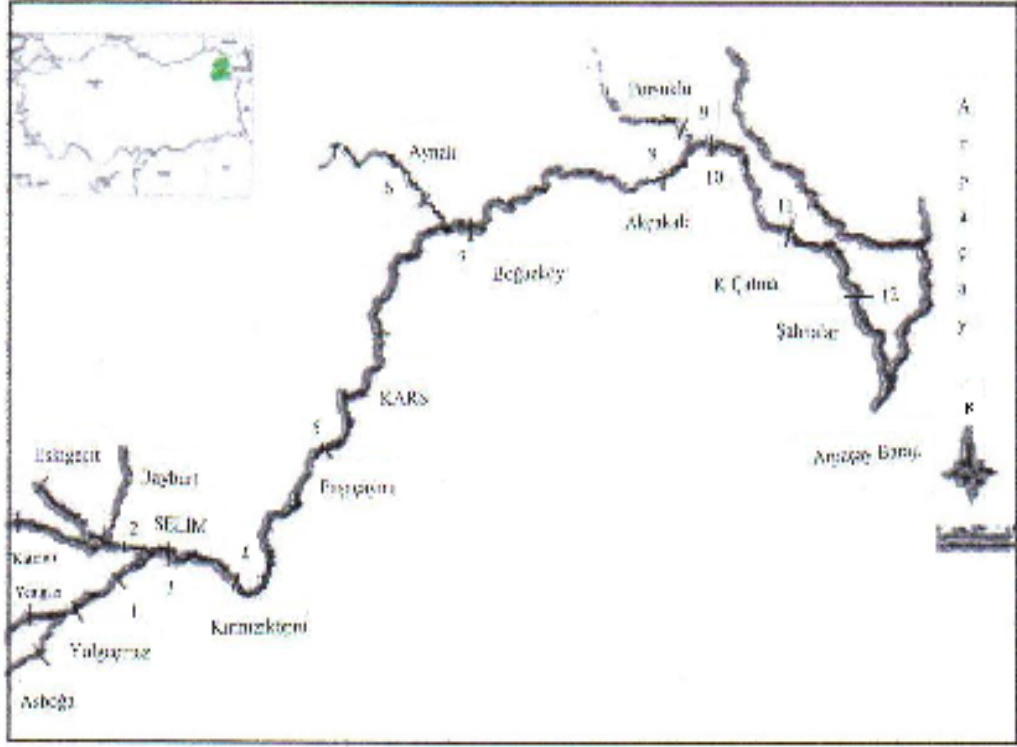
Çalışma alanında yer alan çökel kayalardan Üst Miyosen yaşlı Horasan formasyonuna ait birimler genelde yatay veya yataya yakın 5° - 10° ile Güneydoğuya eğimli olup, orta-kalın tabakalanma sunar.

MTA tarafından yapılmış bölgesel çalışmada, bölgede sıkışma tektoniğinin etkisiyle, volkanizmanın yanında çok sayıda Kuzeydoğu-Güneybatı gidişli sağ yanal doğrultu atımlı fayların ve Kuzey-Güney yönlü açılma çatlaklarının oluşmasına neden olduğu, sağ ve sol yanal atımlı fayların birbirlerini dik kestiği belirtilmiştir [37].

Orthrias panthera örnekleri Kars Çayı'ndan avlanmıştır. Kars Çayı farklı isimlerle anılan yan kolların birleşmesinden oluşur. Bunlar Sarıkamış Çayı, Kekeç Çayı, Katranlı Çayı, Bayburt Suyu, Susuz Çayı, Çıldır Göluyağı, Karahan Çayı ve Tazekent Suyu'dur.

Uzunluğu 93 kilometre olan Kars ayı'nın en uzun kolu Sarıkamış ayı'dır. Soğanlı Dağlarının Aşıt Tepe (2350 m) eteklerinden doğan Sarıkamış ayı, Sarıkamış ilçesini geçtikten sonra Kars ayı adını alır. Kars ayının su potansiyeli açısından en önemli kolu Kekeç ayıdır. Katranlı ayı ve Bayburt Suyu ile birleştikten sonra Selim ilçesi Killik düzü mevkiinde Kars ayı'na karışır. Bu noktadan itibaren doğu yönünde akışını sürdüren Kars ayı Kars ilinin içinden geçerek kuzeyden gelen Susuz ayı ve ıldır Gölü ayağını da alarak Arpaçay Barajı Gölü'ne dökölür [37,38].

İnceleme materyalimiz olan *Orthrias panthera* Kura-Aras Havzası'nda yaygın bir türdür. Kura nehri Türkiye'den kaynaklanarak, Transkafkasya olarak adlandırılan Gürcistan ve Azerbaycan içinden geçen, yaklaşık 1500 km uzunluğunda bir nehirdir. Hazar Denizi'ne dökölmeden önceki 480 km uzunluğundaki kısmı deniz taşıtlarının seyri için uygun bir özellik arz eder. Nehrin kaynağı, Türkiye'nin kuzeydoğusundaki bir dağdan kaynaklanan Kuru ayı'dır. Kuzeydoğu yönünde akıp Gürcistan topraklarına girer ve Gori şehrinin yakınından geçtikten sonra güneydoğu yönünde akmaya devam eder. Sabirabat'ta, Aras'ın başlıca kolları Kura nehrine katılır. Kura nehri, Bakü şehrinin güneyinde Hazar Denizi'ne dökölür. Aras veya diğer bir deyişle Araks nehri, Asya'nın güneybatısında Erzurum şehri sınırları içerisinden kaynaklanır. Türkiye'den kaynaklanan nehir genelde doğu yönünde akarak Ermenistan, daha sonra da Azerbaycan topraklarına girer ve başlıca kolları Kura nehrine katılarak Hazar denizine dökölür. Aras nehri; Ermenistan-Türkiye, Ermenistan-İran ve Azerbaycan-İran arasındaki sınırın şekillenmesinde önemli rol oynar. Aras nehrine katılan en önemli kollar 914 km uzunluğundaki Hrazdan ve Qareh nehirleridir [39].



Harita 2.2.1 Araştırma örneklerinin alındığı istasyonları gösteren harita [32]

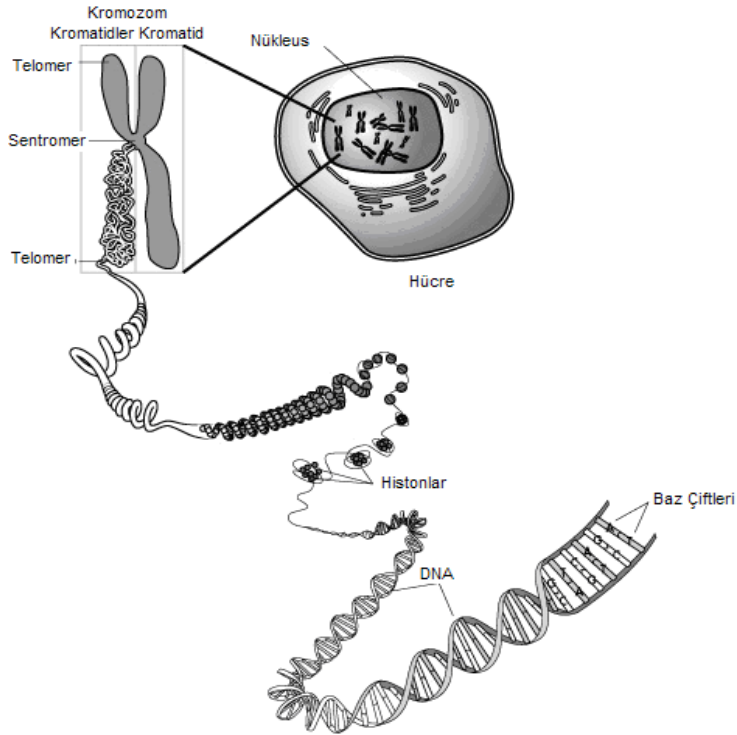
2.3 Kromozomlar hakkında Genel Bilgiler

Kalıtımın temel kanunları ilk kez 1865'te Gregor Mendel tarafından atılmış ve o tarihlerde bilim adamları tarafından yeterince destek bulamamıştır. 19. yüzyılın ortalarında hücre bölünmesinin organizmaların çoğalmasında temel bir olay olduğu kabul edildikten sonra hücre, kalıtım ve evölüsyon kavramları birbirleriyle ilişkilendirilmiştir. Amerikalı sitolog W.A. Cannon ve E.B. Wilson 1902–1903 arasında genlerin ve kromozomların davranışları arasındaki ilişkiyi açıklamaya çalışmışlardır [40, 41].

Genetik materyal denildiğinde ilk olarak kromozom terimi akla gelmektedir. Anne ve babaya ait kalıtsal karakterlerin açıklanmasında veya bir sonraki döle aktarılmasında kromozomlar görev almaktadır. Kromozomlar ilk kez hücre bölünmesi araştırmaları sırasında 1880'li yıllarda keşfedilmiştir. W. Waldeyer 1888 yılında bazik boyalarla çok

fazla boyanma kabiliyetinde olan bu iplikçiklere renkli cisim anlamına gelen kromozom adını vermiştir [42,43].

Bölünme halinde olmayan hücrelerde, genetik materyal kromatin olarak adlandırılan şekilsiz ve granüler bir yapı halindedir. Kromatinde bulunan proteinlerin bazıları yapısal rol oynarken diğer bir kısmı gen ekspresyonunu düzenler. Kromatinin boncuk dizisini andıran yoğun spiral yaptığı bölgeler kromomer olarak adlandırılır. Hücre bölünmesi sırasında hariç, kromatin hücre çekirdeği içinde dağılmış vaziyettedir ve mikroskop altında oldukça homojen bir görünüme sahiptir. Bununla birlikte, hücre bölünürken çekirdek materyali yoğunlaşır mikroskopik olarak görülen kromozomlar belirir. Kromozomlar en iyi hücre bölünmesinin metafaz ve anafaz safhalarında görülürler [42, 44, 45].



Şekil 2.3.1 DNA'nın bazik histon proteinleri ile kendi üzerine katlanarak metafaz safhasındaki kromozomlara dönüşmesi [46].

Her tür kendine özgü sayı ve morfolojiye sahip karakteristik kromozom yapısına (karyotip) sahiptir.

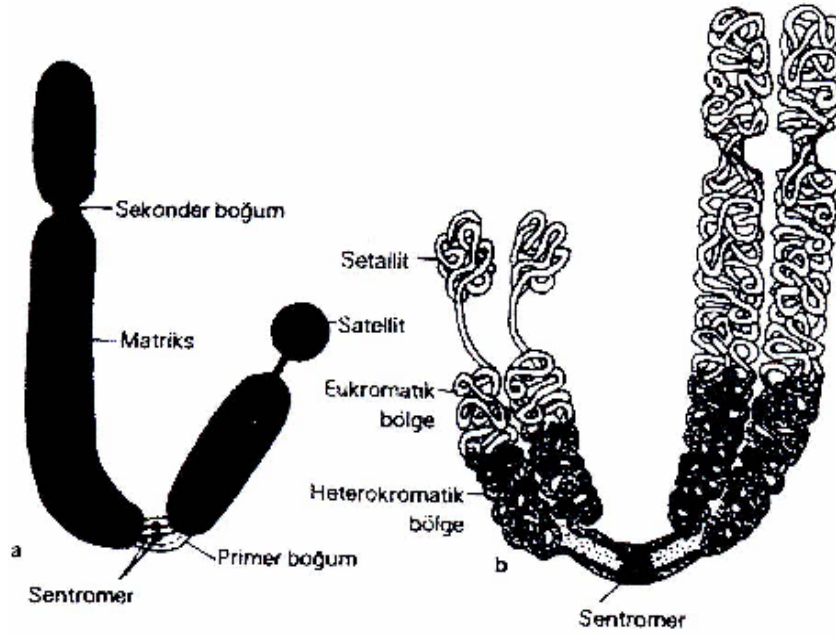
Balık kromozomları ile ilgili çalışmalar son yıllarda pek çok araştırmacı tarafından yapılmıştır. Gold ve diğerleri [47], (1980); Vasil'yev [48], (1980); Sola ve diğerleri [49], (1981) ile Yu ve diğerleri [50], (1984) pek çok tür için kromozom büyüklüklerini ve sayılarını açıkça ifade etmişlerdir.

Blaxhall [51], (1975); Denton [52], (1973) ve Ojima [53], (1982) ise kromozom preparasyonu hazırlama yöntemleri ile ilgili çalışmalarıyla önemli gelişmeleri bilim dünyasına sunmuşlardır. Ohno [54], (1974) ve Gold [55], (1979) balık kromozomları ile yaptıkları çalışmaların sonucunda evrim ve genetik bağlantısını açıkça göstermişlerdir.

2.4 Kromozom Morfolojisi

Kromozomlar üzerinde birbirinden farklı boyanma özelliğine sahip iki ayrı kısım vardır. Bunlardan koyu boyanan bölgeler **heterokromatin**, açık boyanan bölgeler **ökromatin** olarak adlandırılır. Genetik olarak inaktif olan heterokromatin bölgeler sıkıca katlanmış kromozom ipliklerinden oluşmaktadır [44, 57].

Hücre bölünmesinin metafaz evresi kromozomların en iyi gözlemlendiği ve incelendiği evredir. Metafaz evresinde silindirik şekilde görülen kromozomlar en kısa ve en kalın hallerinde olurlar ve tipik şekillerini gösterirler. Bu safhadaki bir kromozomda genel olarak sentromer, primer boğum, sekonder boğum, telomer ve satellit kısımları ayırt edilebilir [56, 58].



Şekil 2.4.1 Kromozomların yapısı, a) Dıştan görünüşü, b) İçten görünüşü [56].

Sentromer: Primer boğumda yer alan ve kinetokor denilen küçük bir granül içeren parlak açık bölgeye **sentromer** denir. Sentromer kromozomların iğ ipliklerine bağlanmasında ve kutuplara çekilmesinde görev alır. Sentromeri bulunmayan kromozomlar hücre bölünmesine katılamazlar ve yok olurlar [59].

Çoğunlukla kromozomlar bir tane sentromer içerirler ve monosentriktirler. Bununla beraber iki (disentrik) veya daha fazla sayıda (polisentrik) sentromer içeren kromozomlar olduğu gibi sentromeri bütün kromozom boyunca yayılmış halde (diffüz-holosentrik) olan kromozomlara da rastlanmaktadır. Bu tip kromozomlar sopa şeklinde olurlar ve kromozomun uzun eksenine iğ ipliğinin uzun eksenine dik olarak, kromozomlar ise birbirine paralel olarak düzenlenirler ve kutuplara bu şekilde çekilirler. Bazı böceklerde (Hemiptera) ve Luzula adı verilen bir bitkide sentromeri bu tipte olan kromozomlara rastlamak mümkündür [41,56].

Kromozomlar sentromerlerinin bulunduğu yere göre 4 farklı şekilde görünürler:

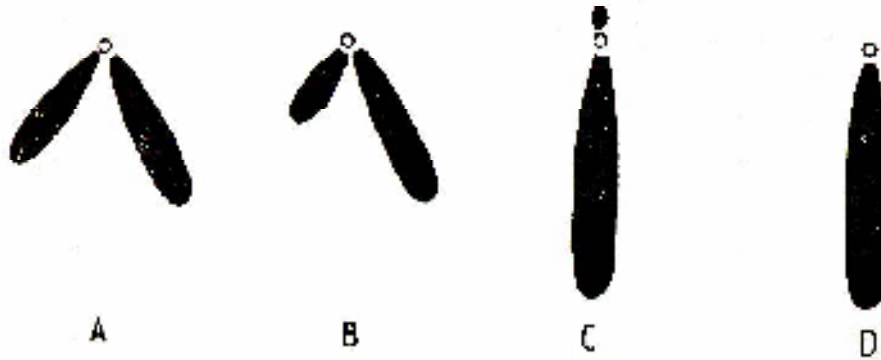
a) Sentromeri ortada olan ve iki kolu birbirine eşit uzunlukta olan kromozomlara **metasentrik kromozomlar** denir. Hücre bölünmesinin metafaz safhasında V harfi şeklinde görünürler.

b) Sentromeri bir uca daha yakın olan ve bu nedenle iki kolunun uzunluğu birbirine eşit olmayan kromozomlara **submetasentrik kromozomlar** denir. Hücre bölünmesinin metafaz safhasında L harfi şeklinde görünürler.

c) Sentromeri bir uca çok yakın olan ve kollarından biri diğerinden çok küçük olan kromozomlara **akrosentrik kromozomlar** denir.

d) Sentromerleri uçta bulunan ve çubuksu bir yapı gösteren kromozomlara **telosentrik kromozomlar** denir [44,58].

Aşağıda konuyla ilgili şekil yer almaktadır:



Şekil 2.4.2 Sentromerin yerine göre kromozom tipleri, A) Metasentrik, B) Submetasentrik, C) Akrosentrik, D) Telosentrik [44].

Primer Boğum: Kromozomlarda sentromerin bulunduğu daralma bölgesine **primer boğum (birincil boğum)** denir. Primer boğum; kromozom kollarının açılması ile sekonder boğumlardan ayrılır [43, 56].

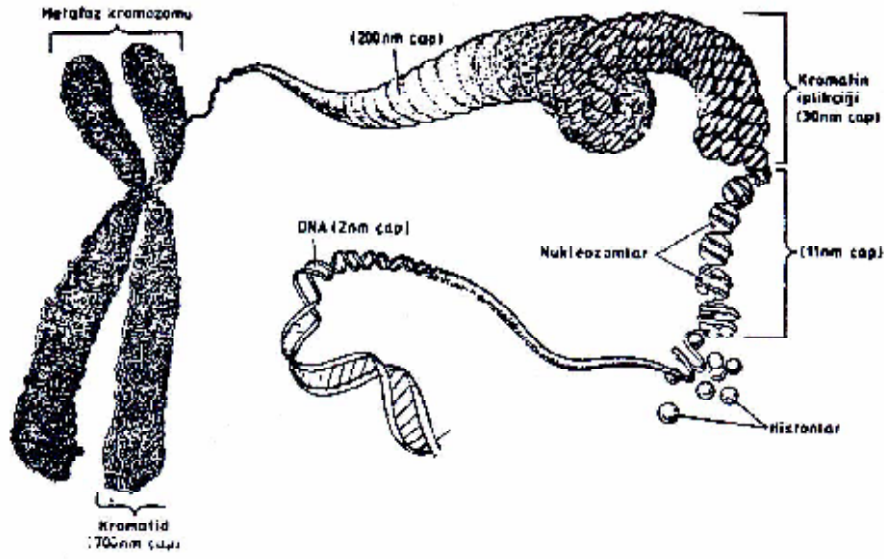
Sekonder Boğum: Bazı kromozomlarda primer boğum dışında ikinci bir boğum daha bulunmaktadır. Bu bölgeye **sekonder boğum** denir. Sekonder boğumlar, r-RNA'ların ve çekirdekçiklerin oluşumu ile ilgilidir. Bu nedenle sekonder boğumlara nukleolar

bölge de denilmektedir. Genellikle her hücrede sekonder boğum taşıyan en fazla iki kromozom bulunur. Bu kromozomlara **nukleolar kromozomlar** denir [41].

Telomer: Kromozom kollarının uç kısmına **telomer** adı verilir. Telomerlerin en önemli işlevi; diğer kromozomlar ile etkileştiğinde kromozom uçlarının bozulmadan kalmasını sağlayarak kromozoma kararlılık vermektir. Çeşitli kimyasal maddeler, X-ışınları veya ultraviyole ışınlarının etkisiyle kromozomlarda kopmalar meydana gelir. Bu kopan parçalar koptukları yere veya başka bir kromozomun kopmuş kısmına yapışabilmelerine rağmen, kesinlikle bir kromozomun telomer kısmına yapışamazlar. Bu durum telomerlerin bir polariteye (kutuplaşma) sahip olmalarından ve bu nedenle kopan parçaların kendisine yapışmasını önlemesinden kaynaklanmaktadır [43, 58].

Satellit: Bazı kromozomlarda, bir uçta yer alan ince bir filament ile kromozoma bağlanmış yuvarlak veya silindirik biçiminde bir yapı bulunmaktadır. Bu yapıya satellit denir. Satellitin çapı kromozomun çapına eşittir. Satellit bulunduran kromozomlara **SAT-kromozom** adı verilmektedir. Satellitin görevi bilinmemekle birlikte DNA'dan yapılmış olduğu ve 10 kadar baz çifti taşıdığı anlaşılmıştır [43, 58].

Ökaryotik hücrelerde kromatin materyali DNA ve proteinlerden oluşmuş kompleks bir yapı halinde nükleusa ait özelleşmiş bölgelerde yerleşmiş olarak bulunurlar. Kromatinin temel yapısal birimlerine nükleozom adı verilir. Bu yapı DNA ve histon proteinlerinin birleşmesi ile meydana gelir [60].



Şekil 2.4.3 DNA'nın metafaz kromozomu oluşuncaya kadar geçirdiği organizasyon aşamaları [60].

2.5 Mitoz Bölünme

Hücreler belli bir büyüklüğe ulaştıktan sonra, hücre yüzeyi, hücrenin besin alınımı, artık maddelerin atımı ve gaz alış verişi gibi ihtiyaçlarını karşılayamaz duruma gelir. Çünkü hücre bir küre olarak düşünülürse, hacim yarıçapın küpüyle, yüzey ise karesiyle doğru orantılı olarak büyür.

Ayrıca hücre büyüdükçe sitoplazma / çekirdek oranı büyüyeceğinden, çekirdeğin etki alanı küçülecektir. Bu durum hücre için tehlikelidir. Bu nedenlerden dolayı hücre, yüzeyini artırmak ve sitoplazma / çekirdek oranını küçültmek için bölünmeye başlar. Hücrenin hücrenel, materyalini eşit olarak yavru hücrelere aktardığı bölünme tipine **mitoz bölünme** denir [61].

Mitoz bölünme; bir hücreli canlılarda üremeyi sağlarken, çok hücrelilerde zigottan itibaren büyümeyi ve gelişmeyi sağlar. Mitoz bölünme farklı hücrelerde farklı sıklıkta meydana gelmekle birlikte kas ve sinir hücrelerinde görülmez.

Bir hücrenin hayatı interfaz evresi ve bölünme evresi olarak ikiye ayrılır ve buna **Hücre Siklusu (Hücre döngüsü)** adı verilir. İnterfaz evresinde hücre, DNA replikasyonu için hazırlık yapar (G1 fazı), DNA'sını replike eder (S fazı) ve bölünme sırasında metabolizma durduğu için ATP depolayarak bölünmeye hazırlık yapar (G2 fazı).

Hücre hazırlık evresi olan interfazdan çıkıp, mitoz bölünmeye başladığında ışığı kırma gücü artar ve akışkanlığını büyük ölçüde kaybeder. Sitoplazma jelleşir. Çekirdek içinde kromozomal proteinlerle birleşmiş olan DNA, kromatin ipliği şeklinde görülmeye başlar. Buna **kromonema** denir. Bölünme ilerledikçe kromatin iplikleri kendi üzerine kıvrılarak kısalıp kalınlaşmaya devam eder. İnce uzun yapılı iken nukleus içine gelişi güzel dağılan kromozomal iplikler, kısalıp kalınlaştıkça nukleusun çevresine doğru çekilirler ve nukleus zarı parçalanır. Bu evrede kromozomların(kısalıp kalınlaşan kromonemaya artık kromozom diyebiliriz) birbirine eşit iki kromatidten oluştuğunu ve bir sentromerle bir arada tutulduğunu görmek mümkündür (Bu kromatidler, DNA'nın replikasyonundan sonra oluşmuşlardır.) [61].

Nukleus zarının parçalanmasıyla hücrenin merkezi daha akışkan bir hâl alır ve kromozomlar merkeze doğru hareket ederek merkezde bir dizi oluştururlar. Ekvatorial tablada dizilen kromozomlar sentromerlerinde ki kinetokorları ile iğ ipliklerine bağlanırlar.

Daha sonra bütün kromozomların kardeş kromatidleri aynı anda birbirlerinden ayrılarak karşı kutuplara çekilmeye başlarlar. Bu devreye kadar kısalıp kalınlaşmaya devam eden kromozomlar; sentromerleri önde, kolları arkada olacak şekilde kutuplara çekilirler. Kutuplara erişen kromozomlar spirallerini (katlanmalarını) çözerek kromonema iplikleri haline gelirler. Daha sonra bunların etrafında nukleus zarı şekillenmeye başlar. Bu arada sitoplazma da ikiye bölünmeye başlamıştır. Sitoplazmanın da bölünmesinin tamamlanmasıyla yavru hücreler oluşur. Bu yavru hücreler birbirinin ve kendisini oluşturan anaç hücrelerin birer kopyasıdır. Yeni oluşan bu hücreler artık birer yeni anaç hücrelerdir ve bölünme gerçekleştirebilmek için interfaz evresindedirler [61].

Mitoz bölünmenin başlangıcını saptamak olanaksızdır. Fakat hücrede bazı değişiklikler olur; hücre içeriği jel haline geçer, metabolizma durur, çekirdeğin hacmi hızla büyür. Kromatid iplikleri belirginleşir ve boyanmaya başlar. G2 evresinin tamamlanması,

kromozomların türlere özgü şekil ve sayıyı kazanmasıyla mitoz bölünmeye geçilir. Işık mikroskopunda kromozomlar artık rahatlıkla görülebilir. Bu süre yaklaşık bir saat sürer. Bu evredeki hücreler küre şeklindedir ve etrafındaki cisimlere kuvvetle bağlanmamıştır. Mitoz bölünme; profaz, metafaz, anafaz ve telofaz diye dört evreye ayrılır [62]

Profaz: Başlangıcında çekirdek içinde ince uzun kromatid iplikleri halinde görünen kromozomlar, yavaş yavaş helozon şeklinde kıvrılarak kalınlaşmaya başlar ve görülebilir duruma geçer. Kalınlaşma ve kısalma anafaza kadar devam edebilir. Bu arada eş kromozomlar birbirlerinden fark edilemeyecek kadar sıkıca bağlıdır. Bu evrede birbirine sentromerlerle bağlanmış olarak duran kromozomların her birine kromatid denir. Sentrozomlar ayrılarak her biri bir kutba gitmeye başlar ve aralarında iğ iplikleri oluşur. Profazın sonuna doğru iğ iplikleri ile kromozomlar arasında bağlantı kurulurken, sentrozomlardan hücre zarına uzanan iğ iplikleri de oluşur ve çekirdek zarı eriyerek kaybolur, kromozomlar sitoplazma içerisine dağılır.

Metafaz: Kromozomlar çok kere bir çember gibi, bazen de karışık olarak ekvatorial düzlem üzerinde dizilirler. Genellikle küçük kromozomlar merkezde, büyükler çevrededir. Diziliş türlere özgü bir özellik gösterir. Kromozomlar eşit olarak kutuplara çekileceğinden, ortada belirli bir denge kurulana kadar beklenilir [62].

Profaz: 30-60 dakika sürmesine karşılık, metafaz ancak 2-6 dakika sürer. Her bir kromozomun sentromeri belirgin olarak ikiye bölünür ve kromatidler tam olarak birbirinden ayrılır.

Anafaz: Ekvatorial düzlemdeki kardeş kromozomlar kutuplara bu evrede taşınırlar. Kasılma özelliği olan sentrozomların iğ iplikleri sayesinde kromozomların yarısı bir kutba, diğer yarısı öbür kutba gider. Kromozomların kutuplara ulaşmasıyla bu evre sona erer. Bitki hücrelerinde sentrozom bulunmadığı için kromozomların taşınması sitoplazma hareketleriyle ve sitoplazma kökenli iğ ipliklerinin yardımıyla olur. Bu evre de yaklaşık olarak 3–15 dakika sürer [62].

Telofaz: Kromozomlar daha az boyanmaya başlar. Çekirdek zarı yavaş yavaş oluşur. Kromozomlar uzayıp incelmeye başlar. Bölünme açısından çekirdek dinlenmeye geçerken, hücre metabolizması aktif hale geçer.

Bu evrenin oluşumu sürerken bir yandan da sitoplazma boğum yapmaya başlar. İğ ipliklerine dik olarak boğumlanan sitoplazmanın o bölgede jel hale geçerek iki oğul hücrenin Sitoplazmasını ayırdığını ileri süren görüşlerde vardır. Sitoplazmanın boğumlanarak ayrılması sürecine **sitokinez** denir. Telofazın başlangıcından iki yeni hücrenin oluştuğu ana kadar geçen süre 30–60 dakikadır [62].

2.6 Mitoz Önleyici Maddeler

Aşağıdaki çizelgede çeşitli mitoz önleyici maddeler ve bunların işlevleri gösterilmektedir.

Çizelge 2.6.1 Mitoz önleyici maddeler ve işlevleri (62).

KOLŞİSİN	Hücredeki iğ oluşum mekanizmasını ortadan kaldırarak anafazda kutuplarına doğru çekilen kromozomları metafaz safhasında durdurur.
KOLSEMİD	İğ oluşum mekanizmasını durdurur.
ETOPOZİD/TENİPOZİD	DNA Topoizomeraz II enzimini inhibe eder. Akciğer kanserinde kullanılır ve kardiyotoksiktir.
VİNBLASTİN	Hodgkin tedavisinde kullanılır. Meme, baş-boyun kanseri, koryokarsinoma, nöroblastomada da kullanılır.
VİNKRİSTİN(ONCOVİN)	Solid tümörlerin tedavisinde kullanılır.
SİSPLATİN	Hücre bölünmesini engelleyen ajanlara benzer biyokimyasal özelliklere sahiptir. Non-spesifik olarak hücre siklusunu etkileyerek DNA'da çapraz bağlar oluşturur.
TAXOL/PAKLİTAKSEL/DOSETAKSEL	Mikrotübül sentezini, tübülün polimerizasyonunu arttırarak stimüle eder.
EPİPODOFİLOTOKSİNLER(PODOFİLOTOKSİN ETOPOZİD/TENİPOZİD)	Podofilotoksin hariç mitoz zehiridir. Bu ilaçlar, G2 dönemine özgüdürler.

2.7 Balıklarda Kromozom Kaynakları

Balıklarda sitogenetik yöntemlerin geliştirilmesiyle yüzgeç, pul ve solungaç epiteli, bağırsak epiteli, kan, fibroblast, embriyo, böbrek, dalak, gonadlar, kornea, beyin, hava kesesi, karaciğer, kas gibi bütün doku ve organlardan kromozom elde edilebilmektedir. Fakat bunun için daha çok hemapoietik organlar kullanılmaktadır [27].

Reddy [64], balık kromozomu preparasyonunu ve mitotik metafaz dağılımını büyük ölçüde arttıran bir yöntem geliştirmiştir. Bu yöntemle göre, her bir 100 g vücut ağırlığı için 0,5 ml % 0,01'lik kolşisin balıklara enjekte edilmiş ve 3–4 saat beklenildikten sonra kromozom preparatları hazırlanmıştır. Bu yöntem ile bol miktarda metafaz plakları elde edilmiştir.

Canlıların erken hayat evrelerinde kromozom preparasyonu elde etmek için embriyolardan yararlanılabilmektedir. Bu evrede bütün dokularda bölünme çok hızlı bir şekilde gerçekleşir. Bu nedenle mitoz uyarıcılara gereksinim duyulmaz. Canlıların ploidi düzeyleri ve çevresel kirleticilerin genotoksik etkileri de bu yöntemle araştırılabilir [27].

Fenocchio ve arkadaşları [65], büyük balık örneklerinden aldıkları doku örneklerini, *in vitro* kısa süreli kolşisin uygulamasına tabi tutup, havada kurutma tekniğini uygulayarak çok sayıda ve kaliteli metafaz plakları elde etmişlerdir.

Hücre kültürü yöntemi balıklarda uygulanan diğer bir yöntemdir. Bu yöntem ile kültürü yapılan lenfositlerden çok kaliteli ve bol miktarda metafaz elde edilebilmektedir. Ayrıca yüzgeç fibroblast kültürü yöntemiyle de iyi sonuçlar elde edilebilmektedir [66, 67].

G-bantlama ve C-bantlama teknikleri ile flöresan boyama ve flöresan hibridizasyon teknikleri akraba ve yakın akraba, tür ve alttürler arasındaki kromozomal farklılıkların belirlenmesinde kullanılmaktadır. G-bantlama, kromozomlar üzerindeki farklılaşmaları ortaya çıkarmak için kullanılan bir tekniktir. Omurgalılarda oldukça verimli bir teknik olmasına rağmen bazı istisnalar dışında balıklarda iyi sonuç vermemektedir. Bu, balık kromozomlarının çok daha küçük olmasından ileri gelmektedir [68].

C-bantlama tekniği ise, kromozomlardaki konstitütif heterokromatin bölgelerin tespit edilmesinde kullanılan bir tekniktir [66].

Flöresan boyama tekniği, kromozomlardaki A-T'ce zengin bölgelerin tespiti esasına dayanır. Özellikle filogenetik çalışmalarda yararlanılan bir tekniktir [69].

Flöresan in situ hibridizasyon (FISH) tekniği, genellikle küçük kromozomların hibridizasyonunda kullanılmaktadır. Böylece balıklar arasındaki akrabalık ilişkileri ortaya çıkarılabilmektedir [69].

Restriksiyon endonukleaz bantlama tekniğinde DNA'lar özgül restriksiyon endonukleazlarla belli bölgelerden kesilerek (NOB, C- ya da G-bandı bölgeleri gibi) karşılaştırmalı olarak incelenmekte ve farklılıklar ortaya konulabilmektedir [65, 67].

Castro ve arkadaşları [70], balıklar ve amfibilerde aktivasyon durumuna bakmaksızın NOB' ları tespit etmek amacıyla kromomiyosin A3 / distamisin A (CMA3) boyama yöntemini geliştirmişlerdir.

Diğer taraftan Rab ve arkadaşları [71], balık kromozomlarını ısı ile denatüre edip, propidium iodid ile boyadıklarında, kromozomlar üzerindeki aktif NOB'ları belirleyen bir yöntem geliştirmişlerdir.

Balıklarda, eritrosit hacimlerinin ve çekirdekdeki nükleolus sayılarının karşılaştırması ile de ploidi seviyeleri tespit edilebilmektedir [27].

Tüm bu yöntemler salt sonuçlar vermemekle birlikte bazı hatalar ortaya çıkabilmektedir. Kromozom analizlerinde karşılaşılan en büyük sorun basit yöntemlerin uygulanması sırasında karşılaşılan teknik zorluklardır. Preparasyon sonucunda elde edilen kromozomları fotoğraflamak ve karyotiplerini oluşturma aşamasında da bazen teknik sıkıntılar yaşanabilir[24].

Balık kromozomları mitoz metafaz plağında ışık mikroskobu ile net olarak incelenebilir. Bazı araştırmacılar basit yöntemler kullanarak balıklar üzerinde çalışmışlardır. Balık dışında diğer hayvanlarla Macgregor ve Varley [72] ve insanlarla da Yunis [73], Priest [74]'in çalışmış olması öteki çalışmalara örnek oluşturmuştur.

Kromozom preparasyonunda iyi bir sonuç almak için metafaz hücreleri kullanılır. Embriyonik dokular, solungaçlar, böbrekler, bağırsak ve pul epiteli sıkça kullanılan ve iyi sonuç alınan balık hücre örnekleridir [24].

Balık kromozomları, üzerine ayrıntılı çalışmaların yapıldığı insan ve fare kromozomlarıyla karşılaştırıldığında daha küçüktür ve elde edilmeleri daha güçtür.

Aşağıda balıklardan kromozom elde etmek için kullanılan çeşitli yöntemlerden söz edilmektedir:

1-Yüzgeç ve Pul: Yüzgeç ve pul epiteli gibi dokular, kullanılacak balık örneğini feda etmeden kromozom çalışması yapmak amacıyla oldukça uygundur. Bu işlem en aktif olan yüzgeçlerin bir kenarından bir parça kesmek (genellikle bir kuyruk veya karın yüzgeçleridir) veya kuyruk sapı bölgesinden birkaç pul çekmek suretiyle kolaylıkla gerçekleştirilebilir [75].

Bu dokulardan yapılacak preparasyonlar, genelde mükemmel sayılabilecek metafaz yayılımları sağlar. Ayrıca kolşisin ile muameleye gerek kalmadan kromozom çalışması yapabilme avantajı da sağlanmış olur. Kromozomların fazla kasılması veya kromatidlerin muhtemel kırılma tehlikesi yoktur. Yüzgeç ve pulların kullanılmasının dezavantajı ise, bu dokularda bölünen hücrelerin genellikle az sayıda olmasıdır. Ancak, rejenerere (yeniden oluşturulmuş) bir yüzgeçten daha fazla metafaz şekilleri elde etmek mümkündür. Bunun için, sırt yüzgeci (dorsal yüzgeç) veya çift yüzgeçlerin (pektoral ve ventral yüzgeçler) uçları kesilir ve birkaç gün sonra rejenerasyon işaretleri gözlenmeye başlandığında bu kısımlar işlem amacıyla kullanılabilir. Şayet organizmayı öldürmek bir problem oluşturmayacak ise, yüzgeç ve pullardan doku örneği almadan önce balık, birkaç saat balık su ortamında kolşisin ile muamele edilebilir.

Bu muamele, mitotik indeksi önemli derecede arttıracak gibi yüzgeç dokusu rejenerere olmuş bir balığa kolşisinle muamele etmek de çok daha fazla metafaz plağı elde edilmesine imkân sağlar. Ancak, kolşisin rejenerasyon işaretlerinin görünmeye başlamasından sonra yaklaşık 5–6 saat süreyle uygulanmalıdır.



Resim 2.7.1 *Eigenmannia virescens*'in yüzgeç epitelinden elde edilmiş metafaz yayılımı [76].

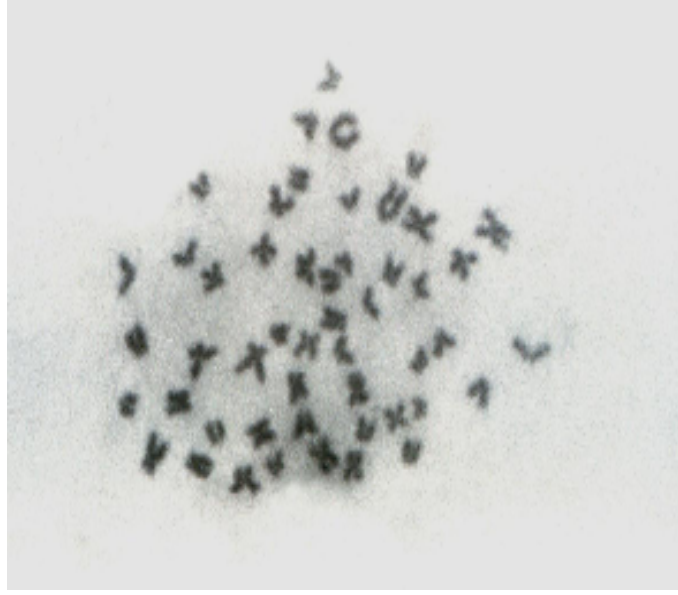
2-Solungaç: Kromozom elde etmek amacıyla solungaç epitelinin kullanımı ilk olarak McPhail ve Jones adlı araştırmacılar tarafından gerçekleştirilmiştir. Bu dokudan, kolşisin ön muamelesi uygulanarak veya uygulanmaksızın metafaz şekilleri elde edilebilir. Bununla birlikte, kolşisin muamelesi, çok sayıda metafaz yayılımı sağlaması bakımından daha çok tercih edilir. Bu dokulardan elde edilen hücreler, farklı filamentler içinde aktif ve sabit bölünme oranına sahiptirler. Genellikle araştırmacılar, posterior solungaç yayının daha düşük filamentleri ile çalışmayı tercih ederler. Fakat deneyler, bu bölgenin her zaman en aktif bölünme mevkisi olmadığını da göstermektedir.

En iyi yayılımlar temiz sularda yaşayan genç balıklardan elde edilir. Şayet ırmaklar, kirli veya durgun ise, deri ve solungaçlar mukus veya yıkıntılar ile kaplanmış olur. Preparatlar hazırlanırken, hücrelerin zarar görmemesi amacıyla, solungaçların temizlenmesi gerekir. Ayrıca solungaçlar, kromozom çalışmaları için bolca doku örneği alınabilen organlardır. Bu amaçla birçok balıkta 4–7 çift olan solungaç flamenti yeterli materyali sağlamaktadır.



Resim 2.7.2 *Orthrias angorae*'nin solungaçlarından elde edilen metafaz kromozomları [77].

3-Dalak, Böbrek, Karaciğer ve Bağırsak: Dalak, böbrek ve karaciğer de kromozom elde etmek için uygun dokulardır. Bunlar genellikle kan hücrelerinin oluşturulduğu veya ortadan kaldırıldığı merkezler ile bağlantılıdır. Bu dokuların kullanımında kolşisin muamelesi zorunludur. Bu muamele, genellikle dokular işlem görmeden birkaç saat önce sırt kası veya vücut boşluğuna az bir miktar kolşisin enjekte etmek suretiyle uygulanır. Histolojik incelemeler, karaciğerde bulunan mitoz şekillerinin parenşimal hücrelerin neslinden geldiğini göstermektedir. Dalak limfoid hücrelerden, böbrekler ise miyeloid hemopoietik unsurlardan türetilmişlerdir. Ancak, bağırsak dokusundan da iyi kromozom preparasyonlarının yapılabileceği kaydedilmiştir.



Resim 2.7.3 *Chalcalburnus mossulensis*'ten elde edilen metafaz plağı [27]

4-Kornea: Bazı araştırmacılar tarafından kromozom çalışmalarında kornea ve conjunctial epitelyum doku kullanılmıştır. Bu dokular, genç balıklarda çok hızlı bölünürler ve bölünme oranı, gözü hasara uğratmak veya kolęisin n muamelesi suretiyle daha da arttırılabilir.

5-Embriyo: Kromozom preparasyonu için kullanılan diğer bir yapı ise embriyolardır. Embriyo hücrelerinde metafaz şekillerinin bol olarak bulunması, bu hücrelerin aktif olarak bölündüğünü göstermektedir. Fakat bu hücrelerden elde edilen kromozomların karyotipinin yapılması önemli bir meseledir.

Roberts [78], balık embriyoları ile çalışmadaki birkaç dezavantajı řu şekilde açıklamıştır;

Öncelikle, embriyoları elde etmek, tür ve cinsiyet tayini yapmak zordur. Yapay döllenme bu zorluklara are bulmakla birlikte olgun gametlerin elde edilmesi birçok balıkta mümkün olmayabilmektedir (böylece embriyoları elde etme ihtimali elimine edilmektedir). Diğer bir zorluk, embriyonun büyüklüğüdür. Gerçi, salmonların döllenmiş yumurtaları yeterince büyüktür ve blastomerler işlemden önce yumurtadan kolaylıkla ayrılabilir. Ancak, küçük yumurtalı balıklarda blastomerlerin yumurta sarısından uzaklaştırılmaları oldukça zordur ve bu durum iyi bir boyama işlemine de

engel olmaktadır. Genç embriyolar çok kolay ayrılabilirler, fakat bölünen hücrelerin sayısı oldukça azdır.

Kolşisin, metafaz görülme oranını arttıracaktır, fakat kromozomlar analiz için uygun olmayan piknotik yığınlar oluştururlar. Bu yüzden, balık embriyolarındaki kromozom çalışmalarında işlemlerin kusursuzca ve bu işi iyi yapabilen kişiler tarafından yapılması gerekmektedir.

6-Gonad (Ovaryum ve Testis): Mitoz ve mayoz bölünmeye ait şekillerin her ikisi de testis materyallerinden elde edilebilir. Testislerden yapılan preparasyonlar kromozom sayılarını belirlemede ayrı bir avantaj sağlar. Hem diploid hem de haploid sayılı kromozomlar elde edilebilir. Mayoz aktivitesi, yumurtlama sezonundan kısa bir süre önce erkekte en yüksektir ve testis sperm ile dolu iken azalmaya başlar. Bazı tropik balıklarda (Örneğin; *Mollinesia sphenops*) metafaz şekilleri yıl boyunca elde edilebilir. Yukarıda belirtildiği gibi, kolşisin enjeksiyonu metafaz görülme oranını büyük oranda arttırmaktadır, ancak bu işlem poliploid hücrelerin oluşma ihtimali göz önünde bulundurularak kısa tutulmalıdır.

7-Doku Kültürü: Kromozom çalışmalarında yeterli sabır, zaman ve yeterli maddi imkânlar sağlanmışsa, kromozom elde etmek için doku kültürü metodu da uygulanabilir. Balıklarda doku kültürü yöntemi kısa bir geçmişe sahip olmasına rağmen, oldukça kaliteli metafaz şekilleri aktif olarak bölünen fibroblastlardan *in vitro* muamele yoluyla elde edilebilmektedir. Doku kültürü için genellikle embriyo, yüzgeç, testis, ovaryum, böbrek, dalak, karaciğer ve yüzme keselerinden elde edilen dokular kullanılabilir. Doku kültüründe gerekli olan "sindirim" ve santrifüj işlemlerinden sonra ekim için yeterli sayıda hücre elde etmek için oldukça fazla miktarda dokuya ihtiyaç duyulur. Kültür sonuçları alınana kadar geçen süre, kullanılan dokunun tipi yanında organizmanın büyüklüğüne ve yaşına da bağlıdır. Bu süre 6 gün ile 2 ay arasında değişebilir. Kültür hücrelerinden elde edilen kromozomlar en iyi kalitededirler. Ayrıca yayılımlar bir hayli fazladır.

Roberts [79], tarafından gerçekleştirilen bu yöntemde *Salmo salar*'ın ovaryum dokusundan kültür hazırlanmıştır. Bu yöntemde dalak, kalp ve testis dokusu da kullanılabilir.

Bu amaca en uygun besi ortamı Eagle MEM (minimum essential medium)'dir. Bu besiyerine glutamin, fetal dana serumu ve penisilin-streptomisin eklenir. Besiyeri 19 °C' de inkübe edilir. 1,5 ml. Kolsişin (10 µg/ml) kültür ortamına eklenir. 10 dakika % 0,9'luk sodyum sitrat ile hipotonik uygulaması yapılır. Hipotonik santrifüjle alınır ve % 1'lik asetoorseinle boyama yapılır. Daha sonra uygun metafaz yayılımlarının fotoğrafları çekilir.

9) Lökosit Kültürü: Lökosit kültür yöntemi, kromozom elde etme yöntemleri arasında en mükemmeli olarak gösterilebilir. Bu teknik ilk kez 1960'ta insan kanını kültür etmek için kullanılmıştır. Daha sonra kuşlar, sürüngenler ve kurbağalar gibi diğer organizmalardan elde edilen kanlar da başarılı bir şekilde kültür edilmiştir.

Lökositler, normal olarak hemopoyetik dokuda üretilirler ve kan vücutta dolaşırken değişime uğramazlar. Mitojen olarak adlandırılan bazı kimyasalların bulunduğu durumlarda, kırmızı kan hücreleri aglutinasyona uğrarken, lökositler tek bir bölünme geçirmeye teşvik edilirler. Bu işlemler rutin olarak *in vitro* olarak gerçekleştirilebilirler. Mitojenler iki tiptirler. Bunlardan en yaygın kullanılanlardan birisi PHA (phytohemagglutinin)'dir.

PHA, fasülye (*Phaseolus vulgaris*)'den elde edilen bir ekstrattır. PHA, iki şekilde elde edilebilir. PHA (M), oldukça saf olarak ekstrakte edilmiş olup en yaygın kullanılanıdır. Normal olarak, bu mitojenin yaklaşık 0,1 ml'si 5 ml kanda kullanılır. Bununla beraber, balıklar için bu miktarın artırılmasına ihtiyaç duyulabilir. PHA (P) ise, PHA (M)'den daha çok saflaştırılmış olup PHA (P)'nin hemagglutinasyon işlemi ve mitoz uyarma kapasitesi bakımından yaklaşık 5 kat daha tesirlidir.

En yeni mitojen, Pokeweed Mitojeni (PWM)'dir. PWM, Şekerci Boyası (*Phytolacca americana*)'nden elde edilen bir ekstrattır. Bu mitojen, blastojenik ve mitojeniklik açısından memeli lökosit sistemindeki PHA' dan daha uygundur. Leuk-aglutinasyon bakımından ise, PHA'dan daha azdır. PWM'nin balık kan kültürü ile ilişkisi kaydedilmemiştir. Her iki bitkiden elde edilen ekstrakt, doğada mukoprotein olarak bulunurlar. Hücredeki faaliyet tarzları da henüz bilinmemektedir. Birçok araştırmacı, muhtemelen monositlerin ve lenfositlerin yüzeyleriyle her hangi bir şekilde bir antijen-anti body tarzında tepki gösterdiği fikrine sahiptir.

Yine birçok araştırmacı, balık kan kültüründe başarılı olmuştur. Labat ve arkadaşları [80], ilk olarak Doğa sazanından (*Cyprinus carpio*) alınarak kültür edilmiş lökositlerden kromozom elde etmişlerdir. Heckman ve Brubaker [81], *Carassius auratus*'un lökositlerinden kromozom preparasyonları yapmışlardır. Daha sonra, Heckman ve arkadaşları [81], bu tekniğin kullanımında tür seçiminin başarılı yapılması gerektiğini belirtmişlerdir. Çünkü Heckman ve Brubaker [81], tarafından daha önce önerilen tekniği kullanarak, Gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) ile başarılı olamamışlar, daha sonra oksijen tansiyonunu arttırmak suretiyle uygun sayıda yayılımlar elde edebilmişlerdir. Bütün bu üç durumda da ortak olan, PHA (M)'nin tetraploid bir organizma ile kullanılmasıdır.

Baker [82], bir deniz balığı olan *Pleuronectes platessa*'nın kan dolaşımındaki olgunlaşmamış lökositlerinden kromozomlar elde etmek için yeni bir metot geliştirerek, bu tekniğin diğer deniz formlarıyla da başarıyla kullanılabileceğini belirtmiştir. Bu metotta mitojen kullanılmamış ve kromozomlar üç saat içinde hasat edilmişlerdir.

3. MATERYAL ve METOT

3.1 Örneklerin Toplanması Ve Değerlendirilmesi

İlkbahar aylarında, Kura-Aras Havzası'nda bulunan Kars Çayı'na yapılan arazi çalışmalarında, araştırma bölgesinde bulunan, Balitoridae familyasına ait, *Orthrias panthera* örnekleri toplandı. Balık örneklerinin toplanmasında düşük voltajlı şoker ve çevirme ağlar kullanıldı. Ağdan çıkarılan balıklar içerisinde alındığı yere ait suyun bulunduğu bidonlara kondu ve laboratuvar ortamına getirildi. Burada balıklar havalandırılmalı ve sıcaklığı ayarlanmış akvaryumlara yerleştirildi. Laboratuvar ortamına uyum sağlayabilmeleri için balıklar bir hafta akvaryumda bekletildi.

3.2 Kullanılan Kimyasal Madde Ve Çözeltilerin Hazırlanması

Kolşisin çözeltisi: 0,6 g Kolşisin, 100 ml bidistile suda çözülerek hazırlandı.

Hipotonik (KCl çözeltisi): 0.075–0.046 M KCl 100 ml distile suya tamamlanarak hazırlandı.

Fiksasyon çözeltisi (Carnoy fiksatif): 3 kısım metanol, 1 kısım asetik asit ile karıştırılarak hazırlandı.

Sorenson fosfat tamponu: Boyama işlemi için genellikle Giemsa ile birlikte kullanılan tampondur. İki farklı çözeltinin değişik miktarlarda karıştırılmasıyla istenilen pH değerinde elde edilebilir.

Çözelti 1: Na_2HPO_4 (Disodyum hidrojen fosfat)'ten 11,9 g tartılarak, distile suda çözülerek son hacmi 1000 ml'ye tamamlandı.

Çözelti 2: KH_2PO_4 (Potasyum dihidrojen fosfat)'ten 9,1 g tartılarak son hacmi distile su ile 1000 ml'ye tamamlandı.

Giemsa boya çözeltisi: Çözelti 1'den 1 kısım, çözelti 2'den 2 kısım alınarak hazırlanan tampon çözeltisi ile Giemsa karıştırılarak % 4-6'lık boya hazırlandı.

3.3 Havada Kurutma Tekniği ile Karyotip Hazırlanması

Balıkların karyolojik analizlerinin yapılabilmesi için aşağıdaki işlem basamakları uygulandı:

— Ortalama ağırlıkları 5–10 g olan balıklara eşey farkı gözetmeksizin her 1 g vücut ağırlığı için 0,0006 g Kolşisin, abdominal boşluktan enjekte edildi. Balıklar havalandırılmış bir akvaryuma alındı ve 3,5–4 saat beklendi

— Balıkların kafalarına vurularak şoka girmeleri sağlandı ve solungaç epitel dokuları çıkarılarak bir miktar 0,046 M KCl konulmuş saat camı içerisinde bistüri yardımıyla ufak parçalara ayrılarak homojenize edildi.

— Daha sonra homojenizat tüplere alınarak üzerine yine 0,046 M KCl eklenerek vortekste karıştırıldı ve 37 °C’ de 30 dk beklendi.

— Daha sonra tüpler 2000 rpm’de 10 dk santrifüj edildi. Tüpün dibinde toplanan hücre yığınının dağılmamasına dikkat edilerek süpernatant kısım pipetle atıldı.

— Tüplere taze olarak hazırlanmış ve +4 °C’ de soğutulmuş Carnoy fiksativi, yaklaşık 7 cc oranında karıştırıcı yardımıyla eklenerek aynı devir ve sürede yeniden santrifüj edildi. Bu işlem iki kez daha yinelendi

— Son santrifüj işleminden sonra süpernatant tabanda 2-3 cc’lik hücre süspansiyonu kalacak şekilde atıldı.

— Süspansiyon iyice karıştırılarak bir pipet yardımıyla temizlenmiş lamalar üzerine damlatıldı.

— Preparatlar havada kurutulularak % 6’lık Giemsa çözeltisinde 20–30 dk boyandı.

— Karyotip için havada kurutma yöntemine göre hazırlanmış preparatlar, mikroskopta incelenerek fotoğrafları çekildi.

4. BULGULAR

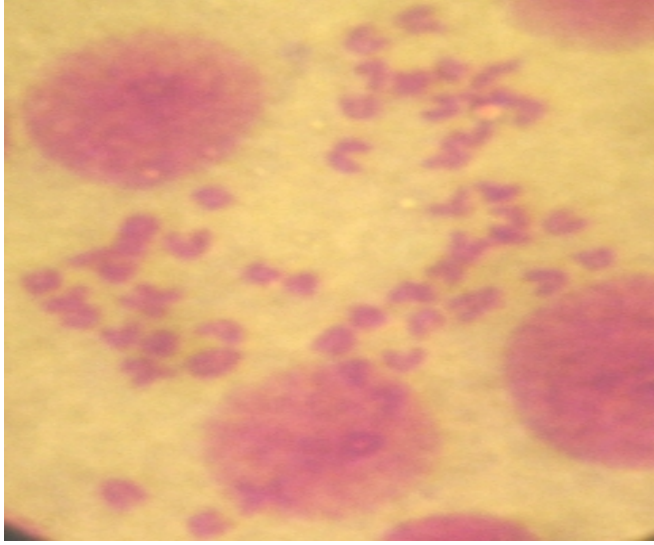
Bir karyotipi tanımlayabilmek için kromozomları ayrı ayrı görmek ve göstermek gerekir. Karyotipte, kromozomlar sentromer lokalizasyonuna göre ve büyükten küçüğe doğru sıralanarak gösterilir. Kromozomların ayrı ayrı en iyi görüldüğü preparatlardan ışık mikroskopunda büyük büyütmelelerde fotoğrafları çekilir. Fotoğraf üzerinden her bir kromozom tek tek ayrılır. Kesilen parçalar büyükten küçüğe doğru dizilir. Ardından büyüklükleri ve sentromer konumları dikkate alınarak homolog kromozom çiftleri karyotip olarak hazırlanır.

Balıkların aktivitelerinin beslenmeyle ve su sıcaklığının yükseltilmesiyle arttığı, dolayısıyla da mitotik aktivitenin de arttığı gözlenmiştir. Kromozom analizinin bir aşaması olan kolşisinle muamele süresinin 3,5-4 saat olarak belirlenmesi çok daha iyi sonuçlar elde edilmesine sağlamıştır. Bu sürenin az olması halinde metafaz alanlarının azaldığı, uzadığında ise metafaz alanlarının arttığı buna karşın kromozom kollarının kontrakte olduğu ve analizlerin zorlaştığı gözlenmiştir. Kromozom analizi için kullanılan solungaç epitel hücrelerinden yapılan preparatlarda yüksek oranda mitoz bölünme tespit edilmiştir. Hipotonikle muamele süresi 40-45 dakika olarak tespit edilip, bu sürenin altında yapılan işlemlerde hücrelerin yeterince şişmediği, sürenin daha uzun tutulması halinde ise hücrelerin patlayarak kromozomların dağıldığı gözlemlenmiştir. Preparatların hazırlanması esnasında hücre solüsyonunun lam üzerine damlatma mesafesinin kromozomların dağılımında önemli bir etken olduğu gözlenmiş, iyi olarak kabul edebileceğimiz mesafenin ortalama 10–15 cm civarında olduğu belirlenmiştir. Yapılan preparatlardaki inceleme sonucunda, *Orthrias panthera*'dan elde edilen metafaz dağılımlarından uygun olanların fotoğrafı çekilerek gerekli değerlendirmeler yapılmıştır.

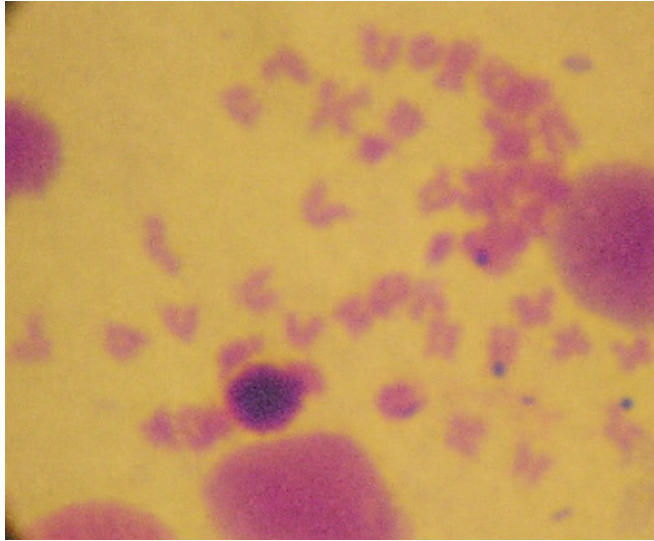
Orthrias panthera (Heckel, 1843)'nın solungaç epitelinden elde edilen kromozomların sentromer durumları göz önüne alındığında 7 metasentrik, 9 submetasentrik ve 9 akrosentrik kromozom çiftinin olduğu gözlenmiş ve kromozom kolları sayısı (NF=82) olarak saptanmıştır.

İnceleme materyali olarak kullandığımız balıktan elde edilen metafazlar farklı kromozom sayılarına sahiptir. Burada çeşitli faktörler bu sonucun elde edilmesinde

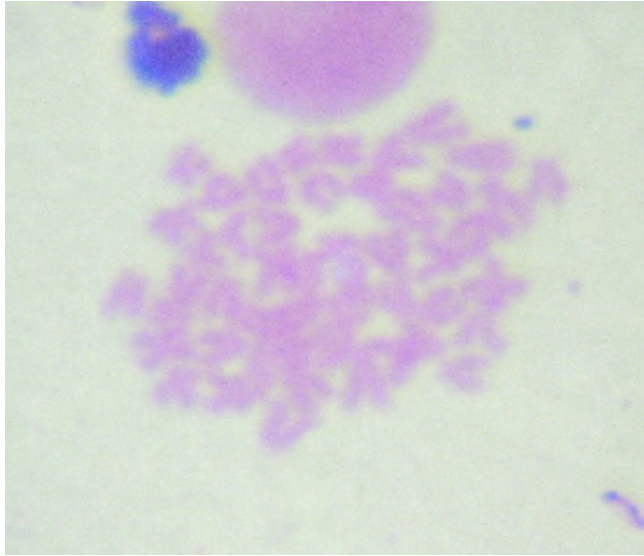
etkili olabilmektedir. İşlem basamaklarında meydana gelen hatalar yüzünden, bir metafazdan diğerine kromozom katılımı, bunun sonucunda da bazı metafaz dağılımlarının kromozom sayısında artış, diğerinde ise azalma meydana geldiği gözlenmiştir. Bu nedenle bu tür hassas ve sonuçları literatür açısından önemli olan çalışmalarda metafaz dağılımları mümkün olduğunca yeterli miktarda sayılarak sonuçların sağlıklı bir biçimde alınması gerekmektedir.



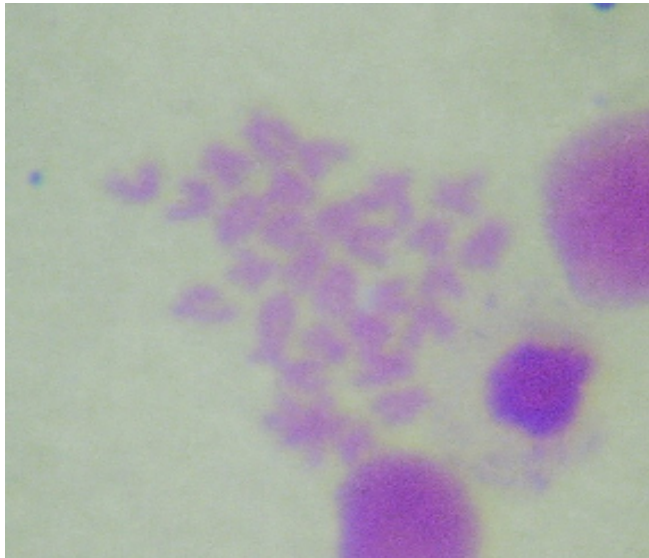
Resim 4.1 *Orthrias panthera*'nın solungaç epitelinden elde edilen metafaz kromozomları (a).



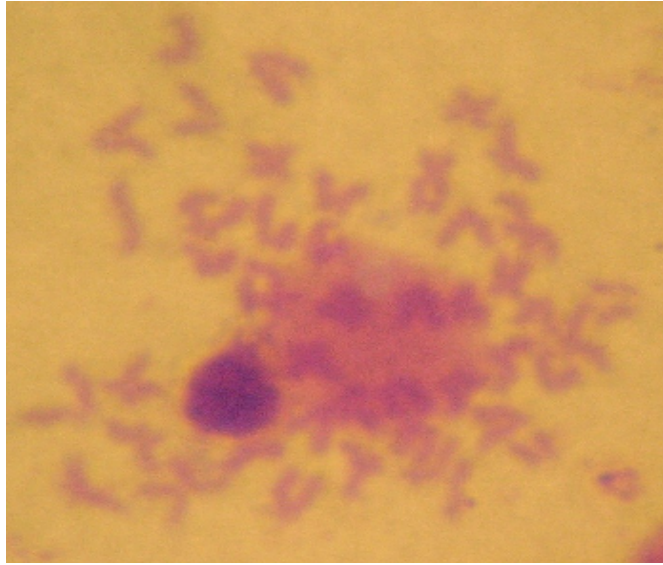
(b)



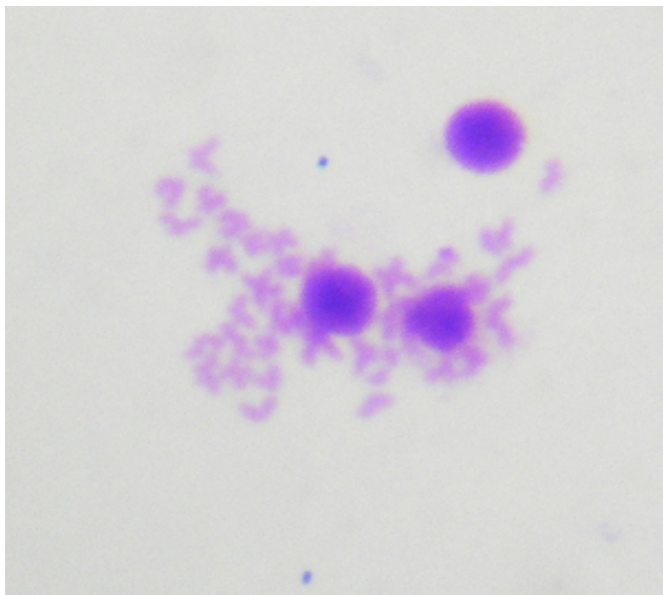
(c)



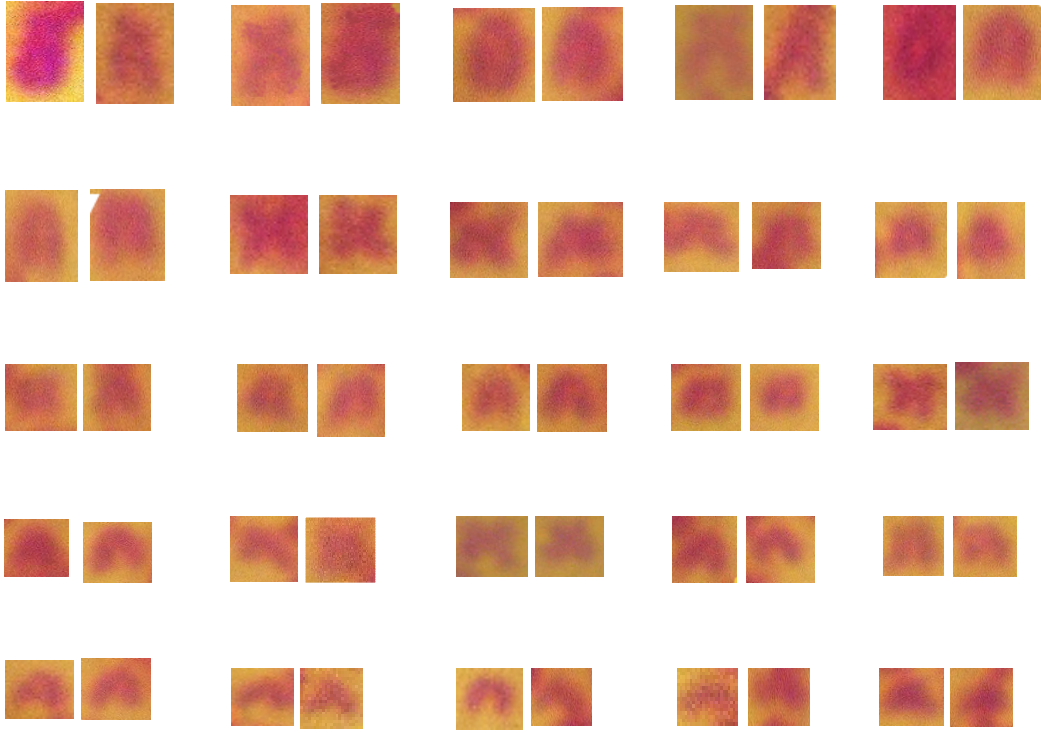
(d)



(e)



(f)



Şekil 4.2 *Orthrias panthera* 'nın karyotipi

TARTIŞMA ve SONUÇ

Biyolojinin en önemli dallarından biri olan sistematik, bir yandan dünyadaki biyolojik çeşitliliği açıklamaya çalışırken bir yandan da biyolojinin diğer dallarıyla bağlantı kurulmasını sağlamaktadır. Balıklar üzerine yapılan sistematik çalışmalar, balıkların birinci dereceden morfometrik özelliklerine göre yapılmaktadır. Ancak, morfometrik özelliklerin yeterli olmadığı durumlarda, sistematik çalışmalara yardımcı olması amacıyla kromozom bantlama, sitometri, elektroforez gibi yeni metotların kullanılması sistematığın hızla gelişmesini sağlamaktadır. DNA ile ilgili RFLP, sekans analizi, PCR gibi yeni tekniklerin bulunmasıyla da moleküler sistematik bugünkü durumuna kadar gelmiştir.

Kromozomal ve moleküler yöntemler, morfolojik özellikleri ile ayırt edilemeyen tartışmalı gruplar arasındaki ilişkinin ortaya çıkarılmasında belirleyici rol oynamaktadır. Bu yöntemler sayesinde morfolojik analizlerin yanıtlayamadığı çok sayıda sorunun yanıtı bulunabilmiştir. Ayrıca kromozom sayı ve morfolojileri, metrik ve meristik özellikler, paleantoloji, davranış modelleri ve ekoloji çalışmalarıyla birlikte kullanılabilir [27].

Sistematik ve taksonomide kullanılan karyotip uygulamalarının amacı, her türün kromozom özelliklerini ortaya koyabilmektir. Bu nedenle türler arasındaki taksonomik farklılıklar karyotip çalışmaları ile açıklanmaya çalışılmaktadır. Kromozomal filogeni çalışmaları yüksek omurgalı gruplarında, özellikle de memeliler üzerinde uygulanmıştır. Balıklarda ise karyolojinin taksonomi ve sistematığe olan katkısı daha düşük bir düzeyde kalmıştır. Bunun nedenleri arasında balık kromozomlarının sayıca fazla ve çok küçük olması, memelilerde uygulanan preparat hazırlama yöntemlerinin balıklarda uygulanamaması ya da uygulama esnasında birtakım güçlüklerin ortaya çıkması sayılabilir. Bununla birlikte balık kromozomları ile ilgili yapılan araştırmalar son yıllarda aktif bir alan oluşturmuştur. Kromozom analizi ile balıklar hakkında evrimsel ve genetik bilgilere ulaşılabilmektedir. Elde edilen kromozomların sayısı ve morfolojisi, türlerin kolay bir şekilde tanımlanmasında, popülasyon içi ve popülasyonlar arasındaki yakın ilişki ve farklılıkların ortaya konmasında kullanılmaktadır [66].

Karşılaştırmalı sitoloji ve sitogenetiğin gelişmesi evrimin anlaşılmasına büyük ölçüde yarar sağlamaktadır. Özellikle memelilerde, karyotip evolüsyonunun diploid kromozom sayısında azalma yönünde olduğuna inanılmaktadır. Canlılardaki farklı karyotiplerin araştırılmasıyla türler, cinsler ve başlıca sistematik grupların evolüsyonunda kromozom mekanizmasının rol oynadığı görülmektedir [83].

Sitogenetik analizlerle canlılardan kromozom elde etme yöntemleri oldukça fazladır. Balıklarda insanlardaki gibi lenfosit kültürü yoluyla ve kan hücrelerinin üretim yeri olan böbreklerin incelenmesi yöntemiyle kromozom elde edilebilmektedir [2]. Önemli olan bölünmekte olan hücreleri metafaz evresinde yakalayabilmek bunun için pratik, çabuk ve ucuz bir yöntem uygulayabilmektir.

Fakat, balığın yaşı ve çevresel faktörler mitotik aktivitenin değişmesine yol açabilmektedir. Bu durum genellikle çok sayıda kromozoma sahip olan balıklarda sitogenetik analizler için bir dezavantajdır. Her tekniğin her balık türü için uygulanabileceğini söylemek doğru olmaz. Çünkü balığın türü, büyüklüğü, morfolojisi, fizyolojisi, yaşı, kullanılan doku gibi etkenler hangi yöntemin izleneceğini, kullanılacak çözeltilerin doz ve sürelerinin nasıl belirleneceğini bulmada oldukça önemlidir [27].

Direkt ve kültür yöntemleri, balık kromozomlarının incelenmesine olanak veren yöntemlerdir. Direkt yöntemlerde preparasyon oldukça kolaydır, fazla zaman almaz ve ucuzdur; ancak, bu yöntemlerle elde edilen metafazlar az ve kalitesiz olabilmektedir. *İn vitro* yöntemler sayesinde ise çok fazla sayıda metafaz elde edilebilir, kromozom morfolojileri daha kalitelidir, canlının öldürülmesine gerek yoktur ve aynı örnek defalarca kullanılabilir. Fakat *in vitro* yöntemler zordur, çok pahalıdır, fazla zaman alır ve kontaminasyon riski yüksektir [84].

Kromozom analizi için bazı araştırmacılar balıkların böbrek dokularını kullanırken [7, 87] bazıları da solungaç epitel hücrelerinden yararlanmışlardır [85, 86].

Schreck ve Moyle'e göre [88], kromozom preparatları hazırlamak için metafaz hücrelerinin iyi bir kaynağı olan bölünen dokular (embriyonik dokular, solungaçlar, böbrekler, bağırsaklar, pul epitelleri ve fibroblastlar) tercih edilmelidir.

Mevcut çalışmada da, uygulanabilirliği daha kolay ve ucuz olduğundan solungaç epitelinden yararlanıldı. Hipotonikle muamele süresini 30 dk olarak belirlendi ve bu süreç içerisinde kaliteli metafaz plakları elde edildi.

Yamazaki, böbrek dokusundan kromozom elde etmek için bu süreyi 40 dakika olarak belirlemiştir [87]. Bu durum, aynı canlının farklı dokularında hipotonikte bekletme süresinin farklı olabileceğini göstermektedir.

Kromozom preparasyonunda, mitoz bölünmenin fazla olduğu metafaz safhasında bölünen hücre sayısı artırılır ve mikroskop lamı üzerine metafaz hücre kromozomları yayılır. Böylece ışık mikroskobu kullanılarak kromozomlar kolayca gözlemlenebilir.

Kromozomların metafaz safhasında tutulması için canlıya kolşisin, demekolsin, kolsemid, vinblastin gibi kimyasal maddeler verilmektedir. Bu maddeler, hücre bölünmesinin metafaz evresinde iş iplikçiklerinin yapıtaşı olan mikrotübüllerin oluşumunu engeller. Kromozomlar kutuplara çekilemez ve bir arada bulunurlar. Bu maddelerin aşırı dozda kullanılması kromozomlara zarar verebilir. Kromozomların çok fazla kasılmasına ve kümeleşmesine neden olabilir.

Cyprinus carpio'da yüksek doz kolşisin uygulamalarında mikronükleus frekansının arttığı gözlenmiştir. Daha yüksek dozları ise letaldir. Bu maddeler kromozom kayıplarına veya kromozom artışına neden olabilmektedir. Bu yüzden kolşisin dozunun ve süresine dikkat etmek ve hatta türe göre ayarlamak gereklidir. Uzun süre kolşisin uygulaması poliploidiye sebep olur. Ayrıca kromozom büyüklükleri de bu maddelerin dozu ve süresi ile değişebilir [27].

Kimyasal maddeye maruz bırakma süresi 20 dakikadan 6-8 saate kadar uzatılabilir. Kısa süreli muamelede metafaz sayısı az olmakta, uzun süreli muamelede ise kromozomların aşırı yoğunlaşmasından kaynaklanan büzölmeler meydana gelebilmektedir. Nanda ve arkadaşları [89], kullandıkları yöntemde balıkları % 0.03'lük kolşisin içeren suda 6-8 saat bekletmişlerdir.

Bu çalışmada, mitotik inhibitör olan kolşisin, Rukhsana ve Malgorzata [90], Padilla ve arkadaşları [91], Gül ve arkadaşları [13]'nın çalışmaları ile uyum göstermektedir. Çalışma sırasında Kolşisin, intraperitoneal yoldan enjekte edilmektedir. Bu yöntem

bazen zor uygulanabilmekte; yeterli dozun balığa verilememesinden dolayı da olumlu sonuç alınamamaktadır.

Balığa kolşisin uygulanmasından sonraki aşama, metafaz kromozomlarını birbirinden ayırmayı sağlayan hipotonik solüsyon ile işleme tabi tutmaktır. Bu solüsyonun özelliği, hücrenin sahip olduğu osmotik basınçtan daha düşük bir basınca sahip olması ve bu sayede hücreleri açığa çıkarabilmesidir. %1'lik sodyum sitrat ya da %0.35–0.56'lık KCl bu işlem için uygun solüsyonlardır. Hipotonikle muamele edilen bir hücreye su girer ve hücre şişer. Böylece kromozomlar birbirinden ayrılır.

Bu işlemlerden sonra ise hücreler fiksasyona tabi tutulur. Bunun için, genellikle 3 kısım etanol veya metanol ve 1 kısım glasiyel asetik asit (Carnoy fiksatif) kullanılır. Fikse edilen hücreler bir mikroskop lamı üzerinde yayılır ve boyanır, daha sonra bu hücrelerin metafaz kromozomları ışık mikroskobu ile incelenir.

Türkiye'deki ilk balık karyotip analizi Çolak [7] tarafından yapılmıştır. Bu çalışmada, Sivas'ın Kangal ilçesinde bulunan Topardıç suyundan yakalanan *Cyprinion macrostomum*'a ait 4 metasentrik, 26 submetasentrik ve 18 akrosentrik olmak üzere toplam $2n=48$ kromozom saptanmıştır.

Nishikawa ve arkadaşları [85], Avrupa, Amerika ve Japon yılan balıklarında kromozom sayısının $2n=38$ olduğunu, karyotiplerinin ise 20 metasentrik-submetasentrik ve 18 akrosentrik kromozom olduğunu belirlemişlerdir. Aynı araştırmacılar *Cichlidae* familyasından bir tatlı su balığı olan *Cichlasoma citrinella*'da kromozom sayısını $2n=48$ ve karyotipini 36 submetasentrik ve 12 akrosentrik kromozom yapısında olduğunu bildirmişlerdir [86].

Gül ve arkadaşları [13], Kızılırmak'ta yaşayan *Chalcalburnus mossulensis*'de kromozom sayısını $2n=48$, kromozom morfolojisini 12 metasentrik, 20 submetasentrik ve 16 akrosentrik kromozom olarak saptamışlardır.

Tüfek [92], Gökkuşığı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*)'nin kromozom sayı ve morfolojilerini incelemiş ve 4 farklı karyotip ($2n=58, 60, 61, 62$) elde etmiştir. $2n=60$ karyotipi (22 çift metasentrik-submetasentrik, 1 çift subtelosentrik ve 7 çift akrosentrik) % 63-64 oranı ile en yaygın karyotip olarak belirlenmiştir. Ayrıca tür içi Robertsonian

polimorfizm saptanmıştır ve gökkuşuğu alabalığında XX/XY eşey sistemi gözlemlendiği bildirilmiştir.

Sola ve arkadaşları [93], *Dicentrarchus labrax* ve *D. punctatus*'un kromozom sayılarını $2n=48$ ve karyotiplerini 48 subtelosentrik-akrosentrik olarak bulmuşlardır.

Sola ve arkadaşları [94], başka bir çalışmalarında Sicilya'dan topladıkları *Seriola dumerili*'nin 2 submetasentrik, 46 subtelosentrik-akrosentrik olmak üzere kromozom sayısını $2n=48$ bulmuşlardır.

Demirok ve Ünlü [95], *Capoeta trutta* ve *Capoeta capoeta umbla* türlerinin böbreklerinden elde ettikleri preparatlarda *C. trutta*'nın diploid kromozom sayısını $2n=150$ ve kromozom kolları sayısını $NF=220$ olarak, *C. capoeta umbla*'nın kromozom sayısını $2n=150$ ve $NF=236$ olarak bulmuşlardır.

Ergene ve arkadaşları [10] tarafından Erzurum'un çeşitli bölgelerinden yakalanan *Barbus plejebus lacerta*'nin kromozom sayısı $2n=48$, kromozom morfolojisi 32 metasentrik, 16 akrosentrik olarak bulunmuştur.

Ergene ve Karahan [11], Çukurova Üniversitesi balık yetiştirme istasyonuna ait *Tilapia rendalli*'de kromozom sayısının $2n=44$, karyotipinin ise 2 metasentrik, 4 submetasentrik ve 38 akrosentrik kromozom yapısında olduğunu belirlemişlerdir. *T. zilli* türünde ise, kromozom sayısını $2n=44$, kromozom morfolojisini de 4 metasentrik, 8 submetasentrik, 8 subtelosentrik ve 24 akrosentrik olarak tespit etmişlerdir [12].

Hamalosmanoğlu ve Kuru [96], Kadife Balığı (*Tinca tinca*)'nin kromozom sayısını $2n=48$ ve ortalama kromozom uzunluğunu 2.191μ olarak saptamışlardır

Padilla ve arkadaşları [91], *Tinca tinca* üzerinde yaptıkları çalışmada 16 metasentrik, 26 subtelosentrik ve 6 akrosentrik olmak üzere $2n=48$ kromozom belirlemişlerdir

Pandey ve Lakra [97], *Clarias batrachus*'un kromozom sayısını $2n=50$, karyotipinin ise 8 metasentrik, 5 submetasentrik, 2 subtelosentrik ve 10 akrosentrik kromozomdan oluştuğunu belirlemişlerdir.

Sabti [98] yaptığı bir çalışmada, *L. cephalus*'un kromozom sayısını $2n=50$; 34 metasentrik-submetasentrik, 16 subtelosentrik-telosentrik NF:84, *Siluris glanis*'in kromozom sayısını $2n=48$; 30 metasentrik-submetasentrik, 18 subtelosentrik-akrosentrik ve NF:78 *Tinca tinca*'nın kromozom sayısını $2n=48$; 30 metasentrik-submetasentrik, 18 subtelosentrik-telosentrik ve NF:78, *Cyprinus idella*'nın ise $2n=48$; 32 metasentrik-submetasentrik, 16 subtelosentrik-telosentrik ve NF 80, bulmuştur.

Sabti [99], başka bir çalışmasında da, *Leuciscus cephalus*'un kromozom sayısını $2n=50$, kromozom morfolojisini 34 metasentrik-submetasentrik, 16 subtelosentrik-telosentrik ve NF:84 olarak bulmuştur.

Çizelge 5.1 Bazı balık türlerinin karyotip bilgileri [100]

Tür	Kromozom sayısı	Karyotip	Kaynak
<i>Alburnus alburnus</i>	50	16m+6sm+10st	8
<i>Chalcalburnus mossulensis</i>	48	6m+10sm+8a	52
<i>Capoeta capoeta umbla</i>	144	42m+72sm+30t	56
<i>Cyprinion macrostomum</i>	48		10
<i>Salmo gairdneri</i>	60		12
<i>Aphanius cypris</i>	48		8
<i>Bothus podas</i>	38	12m+16sm+10st	53
<i>Poecilia formosa</i>	46		45
<i>Coregonus albula</i>	80		8
<i>Cichlasoma citrinella</i>	48	36sm+12a	42
<i>Acheilognathus tonkinensis</i>	44	14m+14sm+8st+8a	8
<i>Chalcalburnus tarichi</i>	50		47
<i>Leuciscus cephalus</i>	50	43m+16st,t	8
<i>Cyprinus carpio</i>	98	50m+48t	8
<i>Salmo trutta</i>	80	20m+60t	8
<i>Salvelinus fontinalis</i>	84		57
<i>Salvelinus alpinus</i>	78		57

Balık kromozomlarıyla yapılan taksonomik ve filogenetik çalışmalarla, populasyon içi ve populasyonlar arası varyasyonların açıklanmasında, genetik kontrolde, balık yetiştiriciliği ve genotoksikolojide birçok gelişme sağlanmıştır. Kromozom analizleri; türler, alttürler, populasyonlar içi ve arası, eşeyler ve hatta bireyler arası polimorfizmin tespitinde, balık yetiştiriciliğinde, ploidi çalışmalarında, kalıtsal hastalıkların tespitinde ve akrabalık ilişkilerinin belirlenmesinde kullanılmaktadır.

Sitogenetik çalışmalarda, bantlama teknikleri de kullanıldığında kromozomların yapıları daha iyi belirlenebilir. Bantlama teknikleri, kromozom sayısı veya kol sayısı aynı olan türler arasında, ya da birbirine yakın olan özellikle tartışmalı türler arasında kromozomal benzerlikler ve farklılıkların ortaya konmasında belirleyici rol oynamaktadır. Kromozomları tanımayı amaçlayan yeni boyama yöntemleri geliştirilmiştir. Yine de, kromozom sayısının yüksek, kromozomların çok küçük olması, B kromozomlarının ve mikrokromozomların bulunabilmesi ve bilinmeyen nedenlerle özellikle G- ve R-bantlamada olumsuzluklar gözlenmektedir [27].

Çevrenin zararlı etkilerinin ortaya çıkarılmasında karyotip ve bantlama teknikleri bir indikatör gibi kullanılmaktadır. Yani çevresel kirleticilerin canlılar üzerindeki etkilerinin araştırılmasında kromozomlar biyobelirteçler olarak kullanılabilir. Kanalizasyon atıkları, endüstriyel atıklar, tarım ilaçları ve ağır metaller gibi çevresel kirleticiler; kromozom kayıplarına, kromozom kırılmalarına, kromozomlarda kol kayıplarına, kollarda açıklıklara (gap), kardeş kromatid değişmelerine (SCE), inversiyonlara, sentrik ve asentrik füzyonlara ve anafazda ayrılmama gibi kromozomal bozukluklara neden olabilmektedir [27].

Canlının evrimi ve tür oluşumu hakkında kesin bir bilgiye sahip olmanın yolu canlıya ait genomun belirlenmesiyle mümkündür. Genetik bilgiye ulaşmanın ilk adımı canlıya ait kromozom sayısını ve morfolojik özelliklerini gösteren bir karyotip oluşturmaktır. Türe ait kromozomların morfolojik özellikleri karyotipte açıkça görülebilmektedir. İkinci aşama bantlama çalışması ve idiogram çizimleri olarak belirlenebilir. Özellikle idiogram çizimleri karyotipe bütünüyle hakim olmamız açısından oldukça önemlidir [24].

Kol sayısı birbirine yakın olan popülasyonlar arasında çok yakın filogenetik ilişki vardır. Canlılardaki farklı karyotiplerin araştırılmasıyla türler, cinsler ve başlıca sistematik grupların evolüsyonunda kromozom mekanizmasının rol oynadığı görülmektedir [101].

Evrimsel olarak ileri canlılarda kromozom morfolojisine dayalı heterogametik eşey tespiti yapılabilmektedir. Ancak balıklarda bazı istisnalar dışında eşey kromozomu farklılıkları ayırt edilememektedir [102]. Üstelik balıklarda eşey değişiklikleri sıcaklık etkeni kullanılarak yapay yolla gerçekleştirilmektedir [103].

Balıkçılık çalışmalarının ekonomik açıdan verimli olması, bu çalışmaların bilimsel olarak planlanmasına ve yönlendirilmesine bağlıdır. Balıkçılık biyolojisi çalışmalarında temel amaç, hem popülasyonun sürekliliğini, hem de yüksek av verimliliğini sağlayacak şekilde avlanmanın düzenlenmesidir. Bunun için, öncelikle balığın bulunduğu ortamda büyüme özelliklerinin iyi bir şekilde değerlendirilmesi gereklidir [104].

Örnekler üzerinde yapılan karyolojik analizler sonucu eşey kromozomu tespit edilememiştir. Türkiye'deki diğer araştırmacılar [7, 15] tarafından gerçekleştirilen çalışmalarda da eşey kromozomlarına rastlanmamıştır. Ayrıca B kromozomları ve mikrozom gibi yapılar da görülmemiştir. En büyük kromozom ile en küçük kromozom arasındaki büyüklük farkı diğer canlı gruplarına nazaran çok azdır.

Balık kromozomlarının çok küçük ve sayılarının fazla olmaları, coğrafik farklılıklar, kromozom boyama ve bantlama yöntemleri, ölçümden doğan farklılıklar gibi etkenlerden dolayı balık kromozomları üzerinde yapılan karyotip, NOB ve diğer bantlama çalışmalarında bazı araştırmacılar farklı sonuçlar bulabilmekte ve hatta bazen istenilen netice elde edilememektedir.

Sadece morfolojik, anatomik ve biyokimyasal özelliklere göre yapılan çalışmaların taksonomik ve filogenetik açıdan yeterli olmadığı, aynı cinsle ait tür ve alttürlerin ayırt edilmesinde ve aralarındaki akrabalıkların belirlenmesinde karyolojik çalışmaların ne kadar önemli olduğu, bir kez daha ortaya konmuştur [1].

Sonuç olarak; balıklar üzerinde yapılan karyolojik çalışmalarda çok dikkatli olunmalı ve her işlem basamağı eksiksiz olarak gerçekleştirilmelidir. Kullanılan doz ve sürenin az ya

da çok olması istenilen sonuçları elde etmeyi zorlaştırmaktadır. En iyi sonuca ulaşmak birçok araştırmacının değişik yöntemleri uygulaması ve geliştirmesiyle mümkündür.

Kura-Aras Havzası'nda yaygın olarak bulunan *Orthrias panthera* hakkında kromozomal bazda literatür bilgisi yoktur. Bu çalışma ile üzerinde araştırma yapılan *Orthrias panthera*'nın kromozom sayısı ve yapısı belirlenerek, karyotipi yapılmıştır. Çalışmada yeni bir kromozom elde yöntemi bulunmamıştır. *Orthrias panthera*'nın karyotipi, aynı cinse ait, iki farklı türle karşılaştırıldığında (*Orthrias tigris* ve *Orthrias panthera*), her üç türün de kromozom sayısı $2n=50$ olarak belirlenmiş olup, *Orthrias tigris*'in kromozom morfolojisi; 7 metasentrik, 7 submetasentrik, 11 akrosentrik kromozom ve kromozom kol sayısı (NF) :78, *Orthrias tigris*'in kromozom morfolojisi; 9 metasentrik, 9 submetasentrik ve 7 akrosentrik kromozom ve kromozom kol sayısı (NF: 86) olarak saptanmıştır [77, 105].

6. KAYNAKLAR

- [1] Gaffaroğlu, M., Yüksel, E., 2004. “*Cyprinion macrostomus* Heckel, 1843 (Pisces: Cyprinidae)’un Karyotip Analizi, Gazi Üniversitesi Kırşehir Eğitim Fakültesi, Cilt 5, Sayı 2, 235-239,.
- [2] K. Al-Sabti, “Handbook of Genotoxic Effects and Fish Chromosomes”, J. Stefan Institute, Ljubljana, Yugoslavia, 221pp (1991).
- [3] Çolak, A., 1981. “Keban Baraj Gölü’nde Bulunan Balık Türleri”, A. Ü. Vet. Fak. Derg., 28: 1-4 167-181.
- [4] Kalkan, H. ve Erdemli, Ü. A., “Sultansuyu Çayı Balıkları Üzerinde Taksonomik Bir Araştırma”, XII. Ulusal Biyoloji Kongresi, 6-8 Temmuz 1994.
- [5] Kuru, M., 1975. “Doğu Anadolu Bölgesinin Balık Faunası”, Atatürk Üniv. Yay., 348.
- [6] Kalkan, E., “Karakaya Baraj Gölü (Malatya)’nde Yaşayan Ekonomik Öneme Sahip Dört Cyprinid (*Acanthobrama marmid*, Heckel, 1843, *Capoeta trutta* (Heckel, 1843), *Leuciscus cephalus*, Linnaeus, 1758 ve *Chondrostoma regium*, Heckel, 1843 Populasyonunun Bazı Büyüme ve Üreme Özellikleri”, Doktora Tezi, İnönü Üniversitesi, Türkiye, 1998.
- [7] Çolak, A., Sezgin İ. ve Süngü, Y. S., 1985. “Sazangiller Familyasına (Cyprinidae) Ait Beni Balığı(*Cyprinion macrostomum* Heckel, 1843)’nda Kromozomal Araştırmalar”, Doğa Türk, Biol., Derg., 9: 2 193-195.
- [8] Ergene, S., Portakal, E. ve Karahan, A., 1998. “Caryological Analysis and Body Proportion of Catfish (Clariidae, *Claris lazera*, Valenciennes, 1840) in the Göksu Delta, Turkey”, Tr. J. of Zoology, 21: 1-4,
- [9] Ergene S., Kaya, F., Pekcan İ. ve Oral A., “A Caryological Analysis of *Oreochromis niloticus* L., 1758 (Pisces, Cichlidae) Used in Aquaculture”, FISHECO’98 The Proceedings of the First International Symposium on Fisheries and Ecology, Trabzon/ Turkey, 2-4 Sep. 1998.

- [10] Ergene, S., Kuru, M. ve Çavaş, T., “*Barbus plejebus lacerta* (Heckel, 1843)’nın Karyolojik Analizi”, II. Uluslararası Kızıllırmak Fen Bilimleri Kongresi, Kırıkkale, 20-22 Mayıs, 1998.
- [11] Ergene, S. ve Karahan, A., 28 Mayıs 1999. “*Tilapia rendalli* (Boulenger, 1897) (*Cichlidae, Pisces*)’nin Karyolojik Analizi”, Gazi Üniv. Fen Bilimleri Dergisi.
- [12] Ergene, S. ve Çavaş, T., 27 Mayıs 1999. “*Tilapia zilli* (Gervais, 1848)’in (*Pisces: Cichlidae*) Karyolojik Analizi”, Gazi Üniv. Fen Bilimleri Dergisi.
- [13] Gül, S., Çolak, A., Sezgin, İ., 2000. “Gümüş Balığı’nda (*Chalcalburnus mossulensis*, Heckel 1843) Karyotip Analizi”, Turk J Biol., 24: 657-662.
- [14] Demirok Kılıç, N., “Dicle Su Sisteminde Yaşayan Bazı Cyprinid Tür ve Alttürlerinin Kromozomları Üzerine Çalışmalar”, Doktora Tezi, Dicle Üniversitesi, Türkiye, 2000.
- [15] Demirok Kılıç, N. and Ünlü, E., 2001. “Karyotypes of Cyprinid Fish *Capoeta trutta* and *Capoeta capoeta umbla* (Cyprinidae) from the Tigris River”, Tr. J. of Zool., 25: 389-395.
- [16] Ünlü, E. and Gümgüm, B., 1993. “B. Concentrations of Copper and Zinc in Fish and Sediments from the Tigris River in Turkey”, Chemosphere, 26: 11, 2055-2061.
- [17] Gümgüm, B., Ünlü, E. and Gülsün, 1994. “Z. Heavy Metal Pollution in Water, Sediment and Fish from the Tigris River in Turkey”, Chemosphere, 29: 1, 111-116.
- [18] Kalay, M., Ay, Ö. and Canlı, M., 1999. “Heavy Metal Concentrations in Fish Tissues from the Northeast Mediterranean Sea”, Bull. Environ. Contam. Toxicol., 6: 673-681.
- [19] Karadede, H. and Ünlü, E., 2000. “Concentrations of Some Heavy Metals in Water, Sediment and Fish Species from The Atatürk Dam Lake (Euphrates), Turkey”, Chemosphere, 41: 1371-1376.

- [20] Erkmen, B. and Kolankaya, D., 2000. "Effects of Water Quality on Epithelial Morphology in the Gill of *Capoeta tinca* Living in two Tributaries of Kizilirmak River, Turkey", Bull. Environ. Contam. Toxicol., 64: 418-425.
- [21] Çiğremiş, Y., Gaffaroğlu, M., Erdoğan, K., Türköz, T., Yüksel, E., Yılmaz, M ve Yılmaz, R., "Arıtılmamış Tekstil Fabrikası Atığının, Beni Balığı (*Cyprinion macrostomus*) Karaciğerinde Biyokimyasal Ve Histolojik Etkileri İle Kan Dokusunda Genotoksik Etkinin Araştırılması", XVI. Ulusal Biyoloji Kongresi, 4-7 Eylül, Malatya, 2002.
- [22] Yılmaz, H. R., Yılmaz M., Türköz Y., Erdemli A. Ü., Gaffaroğlu M., Erdoğan K, Çiğremiş Y., "Cyprinidae Familyasına ait *Leuciscus cephalus*, *Acanthobrama marmid*, ve *Chondrostoma regium*'un Serum Proteinlerinin Elektroforetik ve Taksonomik Olarak İncelenmesi", XVII. Ulusal Biyoloji Kongresi, Malatya, 4-7 Eylül 2002.
- [23] Gaffaroğlu, M., Çiğremiş, Y., Erdoğan, K., Türköz, Y., Yüksel, E., Yılmaz, M. ve Yılmaz R. H., "*Cyprinion macrostomus* Böbrek ve Beyin Dokusuna Tekstil Fabrikası Atığının Biyokimyasal ve Sitogenetik Etkileri", XVI. Ulusal Biyoloji Kongresi, Malatya, 4-7 Eylül 2002.
- [24] Örs, T., 2003. "Gökkuşluğu Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum 1792) Böbrek Doku Örnekleri ile Karyotip Oluşturulması". E.Ü Su Ürünleri Dergisi, Cilt 20, Sayı 3-4: 497-501.
- [25] K. Al-Sabti, "Karyotypes of *Cyprinus Carpio* and *Leuciscus cephalus*", Cytobios, 47: 19-25, 1986.
- [26] C.T. Amemiya and J.R. Gold, "Cytogenetic studies in the North American minnows (Cyprinidae)", Hereditas, 112:231-247, 1990.
- [27] Gaffaroğlu, M., "Karakaya Baraj Gölü'nde Yaşayan Cyprinidae Familyasına Ait Bazı Türlerin Karyolojik Analizleri", Doktora Tezi, İnönü Üniversitesi, Türkiye, 2003.

- [28] Ulupınar, M., Alaş, A., “Balık Sitogenetiği ve Laboratuar Teknikleri Kitabı I. Baskı”, s.10, 2002.
- [29] Şişli, M. N., “Ekoloji”, Hacettepe Yayınları, Ankara,1980.
- [30] WU., Müller, C., “Streffer Micronucleus Assays Mutation Res.”, 5, 1-13, 1994.
- [31] C.T., Amemiya and J.R., Gold, “Cytogenetic Studies in the NorthAmerican Minnows (Cyprinidae)”, Hereditas, 112: 231-247, 1990.
- [32] Ayaz, M., “Kars Çayı Balıklarının Taksonomik Yönden Araştırılması”, Yüksek Lisans Tezi, Kafkas Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Kars, 2004.
- [33] Geldiay, R., Balık, S., “Türkiye Tatlısu Balıkları” Ege Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Yayınları, ” No:46, Ders Kitabı Dizini:16, 2002.
- [34] T.E., Denton, W.M., Howell, “A Technique for Obtaining Chromosomes from the Scale Epithelium of Teleost Fishes”, *Copeia.*, 392-393, 1969.
- [35] www.british-towns.net
- [36] Kuru, M., “Omurgalı Hayvanlar”, Atatürk Üniversitesi Yayınları, No: 646, s. 735 Erzurum, 1987.
- [37] DSİ., “Kars Barajı ve Sulaması Projesi”, ÇED Raporu, 2003.
- [38] Aras, B. ve Aras, İ., “Kars Çayı İhtiyofaunası”, Lisans Tezi, Kafkas Ün. Fen-Ed. Fak, Biyoloji Bölümü, Kars, 2001.
- [39] Microsoft Encarta Encyclopedia, 2004.
- [40] Özban, N., “Hücre Sitolojisi”, İ.Ü. Fen Fakültesi Basımevi, 250 s., İstanbul,1994.
- [41] Karol, S., “Hücre Biyolojisi”, A.Ü. Fen Fakültesi Basımevi, 451 s.,Ankara, 1998.
- [42] Yakar, N., “Sitoloji”, İ.Ü. Fen Fakültesi Basımevi, 246 s, İstanbul, 1987.

- [43] Akman, Y., “Bitki Biyolojisine Giriş”, Botanik. Palme Yayıncılık, 220 s, Ankara,. 1998.
- [44] Temizkan, G., “Genetik (Temel Genetik)”, İ.Ü. Fen Fakültesi Basımevi, 276 s., İstanbul, 1994.
- [45] Kuru, M., Gözükar, S.E., “Genetik”, Palme Yayıncılık, 360 s, Ankara, 2001.
- [46] M. J., Connor, A. M. Ferguson-Smith,. “Essential Medical Genetics”, Blackwell Scientific Publication, London, 1993.
- [47] R. J., Gold, W.J., Karel&M.R, “Strand. Chromosome Formulae of North American Fishes”, Progressive Fish-Culturist, 42: 10-23., 1980.
- [48] P. V.,Vasil'yev, “Chromosome Numbers in Fish-Like Vertebrates and Fish. Journal of Ichthyology”, 20(3):1-38, 1980.
- [49] L. Sola, S. Cataudella&E. Capanna, “New Developments in Vertebrate Cytotaxonomy. III. Karyology of Bony Fishes: a Revview”, Genetica, 54:285-328, 1981.
- [50] X. Yu, X., T. Zhou, K. Li&M. Zhou, “On the Karyosystematics of Cyprinid Fishes and a Summary of Fish Chromosome Studies in China”, Genetica, 72:225-236, 1987.
- [51] P., C. Blaxhall, “Fish Chromosome Techniques-a Review of Selected Literature. Journal of Fish Biology”, 7: 315-320, 1975.
- [52] E., T. Denton, “Fish Chromosome Methodology”, Thomas, Springfield, Illinois. 1973.
- [53] Y. Ojima, Y, “Methods in Fish Cytogenetics. Nucleus (Calcutta)” 25:1-7, 1982.
- [54] S. Ohno, “Animal Cytogenetics”, volume 4: Chordata 1. Protochordata, Cyclostomata and Pisces, Gebrüder-Borntraeger, Berlin, 1974.

- [55] R., J. Gold, "Cytogenetics. Pages" 353-405, İn W.S. Hoar, D.J. Randall, J., R. Brett, Editors. "Fish Physiology", Volume 8. Academic Press, New York, 1979.
- [56] Demirsoy, A., "Yaşamın Temel Kuralları". Meteksan Matbaacılık ve Teknik Sanayi Tic. Ltd. Şti., 560 s, Ankara, 1991.
- [57] Bozcuk, A. N., "Genetik". Palme Yayıncılık, 320 s., Ankara, 2000.
- [58] Topaktaş, M., Rencüzoğulları, E., "Sitogenetik", Ç.Ü. Fen Fakültesi, Adana, 182 s., Adana, 1995.
- [59] Suludere, Z., "Hücre Biyolojisi", A.Ü. Fen Fakültesi Basımevi, 458 s., Ankara, 1995.
- [60] Temizkan, "Genetik (Moleküler Genetik)", İ.Ü Fen Fakültesi Basımevi, 399 s., İstanbul, 1999.
- [61] www.genbilim.com
- [62] www.buzlu.org
- [63] Nur, G., "Kura-Aras Havzası'na Endemik *Acanthalburnus microlepis*(De Filippi,1863) Ve *Alburnus filippi*(Kesler,1877)'de Kromozomal Çalışmalar", Yüksek Lisans Tezi, Kafkas Üniversitesi, 2006.
- [64] P. Reddy and G. John, "A Method to Increase Mitotic Metaphase Spreads and Permanent Chromosome Preparation for Karyotype Studies in Fishes", *Aquaculture*, 5: 31-36, 1986.
- [65] A., S. Fenocchio, "Short Term Culture from Solid Tissue of Fishes", *Caryologia*, 44: 2 161-166, 1991.
- [66] G., H. Thorgaard and J., E. Disney, "Chromosome Preparation and Analysis. Methods for Fish Biology", *Mogler American Fisheries Society*, Bathesda, Maryland, USA, 171-187, 1990.

- [67] V. Stingo, L. Rocco, G. Odierna and M. Bellitti, "NOR and Heterochromatin Analysis in 2 Cartilaginous Fishes by C-Banding, Ag-Banding and RE-Banding (Restriction Endonuclease)-Banding", *Cytogenetics and Cell Genetics*, 71: 3, 228-234, 1995.
- [68] S., E. Hartley and M., T. Horne, "Cytogenetic Techniques in Fish Genetics", *Journal of Fish Biology*, 26:575-582, 1985.
- [69] Sanchez and P. Martinez, "Characterization of an Atypical NOR Site Polymorphism in Brown Trout (*Salmo trutta*) with Ag- and CMA3-Staining, and Fluorescent in Situ Hybridization" M. J. Collares-Pereira, "First International Workshop on Fish Cytogenetic Techniques, Concarneau", France, 14-24 September 1992.
- [70] J. Castro, A., L. Vinas, "Cytogenetics and Cell Genetics", 75: 234-239, 1996
- [71] P. Rab, K., M. Reed, F., A. Ponce De Leon and R., B. Philips, "A New Method for Detecting Nucleolus Organizer Regions in Fish Chromosome Denaturation and Propidium Iodide Staining", *Biotech. Histochem.*, 71: 3, 157-162, 1996.
- [72] H. Macgregor and J. Varley, "Working with Animal Chromosomes". Wiley, New York, 1983.
- [73] Y., J. Yunis, "Human Chromosome Methodology", Academic Press, New York, 1974.
- [74] J., H. Priest, "Medical Cytogenetics and Cell Culture, 2nd Edition", Lea and Febiger, Philadelphia, 1977.
- [75] E., T. Denton, M., W. Howell, "A Technique for Obtaining Chromosomes from the Scale Epithelium of Teleost Fishes", *Copeia*, 392-393, 1969.
- [76] E., T. Denton, "Fish Chromosome Methodology", Charles C. Thomas Publisher, Springfield, Illinois, 169 pp, 1973.

- [77] Kaya, Ö. T., “Kura-Aras Havzası’ndan *Orthrias angorae* (Steindachner,1897)’de Kromozomal Çalışmalar”, Yüksek Lisans Tezi, Kafkas Üniversitesi, 2007.
- [78] L., F. Roberts, “Chromosomal Polymorphism in North American Landlocked *Salmo salar*”, Can. J. Genet Cytol., 10, 865, (1968).
- [79] J., R. Roberts, “A Specific Endonuclease from *Anthrobacter luteus*”, J. Mol. Biol., 102, 157, 1976.
- [80] R. Labat, G. Larrouy, L. Malaspina, “Technique de Culture des Leucocytes de *Cyprinus carpio*”, G.R. Acad. Sc., Paris, 264:2473, 1967.
- [81] R., J. Heckman, E. P. Brubaker, “Chromosome Preparation from Fish Blood Leucocytes”, Prog. Fish Cult, 32, 206-208, 1970.
- [82] J., C. Baker, “A Method for the Display of Chromosomes of Plaice, *Pleuronectes platessa* and other Marine Species”, Copeia., 2:365, 1972.
- [83] Gülkaç D. M. ve Yüksel E., 1989. “Malatya Yöresi Kör Fareleri (Rodentia: Spalacidae) üzerine sitogenetik bir inceleme”, Doğa Türk, Biol., Derg., 13: 63-71.
- [84] Gaffaroğlu, M., “Malatya Yöresi *Spermophilus* (Mammalia:Rodentia) Cinsi Üzerinde Sitogenetik Bir İnceleme”, Yüksek Lisans Tezi, İnönü Üniversitesi, Türkiye, 1998.
- [85] S. Nishikawa, K. Amaoka, , T. Karasawa, “On the Chromosomes of Two Species of Eels (*Anguilla*)”, Chromosome Information, Service, No:12, Shimonoseki University of Fisheries, Shimonoseki, 27-28, 1971.
- [86] S. Nishikawa,K. Amaoka, T. Karasawa, “A Preliminary Study on the Chromosomes of *Cichlasoma citrinella* (Cichlidae; Pisces)”, Chromosome Information Service No:14 Shimonoseki Universty of Fisheries Shimonoseki, 32-33, 1973.
- [87] A., F. Yamazaki, “Chromosome study of Ayu, Salmonoid Fish”, Bulletin of Japanese Society of Scientific Fisheries., Vol: 37, No: 8, 707-710, (1971).

- [88] B., C. Schreck, P., B. Moyle, “Methods for Fish Biology American Fisheries Society”, Maryland, USA, 1990.
- [89] I. Nanda, N., M. Scharl, W. Feichtinger, I. Schlupp, J. Parzefall, M. Schmid, “Chromosomal Evidence for Laboratory Synthesis of a Triploid Hybrid Between the Gynogenetic teleost *Poecilia formosa* and its Host Species”, J.Fish.Biol., 47: 619-623, 1995.
- [90] A. Rukhsana, J. Malgorzata, “Spontaneous Triploid Common Carp (*Cyprinus carpio* L.) in a Farm Population”, Cytobios., 78: 153-190, 1994.
- [91] A., J. Padilla, J., L. Fernandez-Garcia, A. Rabasco, Martinez Trancon, M., Rodriguez de Ledesma, I., J. J.Perez-Regadera, “Characterization of the Karyotype of the Tench (*Tinca tinca* L.) and Analysis of it’s Chromosomal Heterochromatic Regions by C-banding, Ag-staining and Restriction Endonuclease Banding”, Cytogenet. Cell Genet., 62, 220-223, 1993.
- [92] Tüfek, M. Ö. “Gökkuşığı Alabalığında (*Oncorhynchus mykiss*) kromozomların incelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Fırat Üniversitesi, Türkiye, 1993.
- [93] L. Sola, S. Bressanello, A. R. Rossi, V. Iaselli, D. Crosetti and S. Cataudella, “A Karyotype Analysis of the Genus *Dicentrarchus* By Different Staining Techniques”, Journal of Fish Biology, 43: 329-337, 1993).
- [94] L. Sola, O. Cipelli, E. Gornung, A. R. Rossi, F. Andaloro and D. Crosetti, “Cytogenetic Characterization of The Greater Amberjack, *Seriola dumerili* (Pisces: Carangidae), By Different Staining Techniques and Flourescence in Situ Hybridization”, Marine Biology, 128: 573-575, 1997.
- [95] Kılıç Demirok, N., Ünlü, E., 2001. “Karyotypes of Cyprinid Fish *Capoeta trutta* and *Capoeta capoeta umbla* (Cyprididae) from the Tigris Tiver”, Turk J Zool., 25, 389-393.
- [96] Hamalosmanoğlu, M., Kuru, M., 2004. “Mogan Gölü’nde (Ankara) Yaşayan Kadife Balığı’nın (*Tinca tinca*, L 1758) Karyotip Analizi ve İdiogramı”, Turk J Vet Anim Sci, 28, 143-147.

- [97] N. Pandey, S. W. Lakra, “Evidence of Female Heterogamety, B-Chromosome and Natural Tetraploidy in the Asian Catfish, *Clarias Batrachus*, Used in Aquaculture”, *Aquaculture.*, 149, 31-37, 1997.
- [98] K. Al-Sabti, “Cytogenetic Studies on Five Species of Pisces from Yugoslavia”, *Cytobios*, 49: 175-188, 1987.
- [99] K. Al-Sabti, “Clastogenic Effects of Five Carcinogenec-Mutagenic Chemicals on the Cells of the Common Carp, *Cyprinus Carpio L*”, *Comparative Biochemistry and Physiology Comparative Pharmacology and Toxicology*, 85: 1 5-9, 1986.
- [100] Gül, S., Akyol, F., Sezgin, İ., “İnci kefali (*Chalcalburnus tarichi*, Pallas 1811)’nin Karyotip Analizi”, XV. Ulusal Biyoloji Kongresi, , Ankara Üniversitesi, Ankara, 5-9 Eylül 2000.
- [101] Gaffaroğlu, M., Yüksel, E., 2005. “*Chalcalburnus mossulensis* Heckel 1843 (Pisces: Cyprinidae)’in Karyotipi”, *F.Ü. Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 17(1), 114-120.
- [102] R. Vitturi, E. Catalano, D. Colombera, “Chromosome Analysis of *Bothus podas* (Pisces, Pleuronectiformes) from the Mediterranean Sea”, *J Fish Biol.*, 43: 221-227, 1993.
- [103] James J., Bull, “Evolution of Sex Determining Mechanism”, California, The Benjamin/Cuming Publishing Company, Inc, 123 1983.
- [104] Kırankaya, Ş. G., Ekmekçi, F.G., 2004. “Gelingüllü Baraj Gölü’nde Yaşayan Aynalı Sazan (*Cyprinus carpio L.*,1758)’in Büyüme Özellikleri,” *Turk J Vet Anim Sci* 28, 1057-1064..
- [105] Kılıç, B., “Kura-Aras Havzası’ndan *Orthrias Tigris* (Heckel, 1843)’te Kromozomal Çalışmalar”, Yüksek Lisans Tezi, Kafkas Üniversitesi, 2006.

7. ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : DUYGU TANRIKULU

Dogum Yeri : SELİM

Dogum Tarihi : 26.04.1982

Medeni Hali : BEKAR

Yabancı Dili : İNGİLİZCE

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)

Lise : SELİM LİSESİ-1999

Lisans : ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ-2004

Yüksek Lisans: KAFKAS ÜNİVERSİTESİ-2008

Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl: Vekil öğretmenlik/2004-2006