

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

**KURA-ARAS HAVZASINDAN ÇÖPÇÜ BALIĞI (*Orthrias angorae*  
STEINDACHNER, 1897)' NDA KROMOZOMAL ÇALIŞMALAR**

**Taylan Özgür KAYA  
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Danışman  
Yrd. Doç. Dr. Süleyman GÜL**

**2007  
KARS**

T.C. Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans öğrencisi Taylan Özgür KAYA' nın yüksek lisans tezi olarak hazırladığı “**KURA-ARAS HAVZASINDAN ÇÖPÇÜ BALIĞI (*Orthrias angorae*, STEINDACHNER 1897)’NDA KROMOZOMAL ÇALIŞMALAR**” adlı bu çalışma, yapılan tez savunması sınavı sonunda jüri tarafından Lisansüstü Eğitim Yönetmeliği uyarınca değerlendirilerek oy.....ile kabul edilmiştir.

...../...../2007

	Adı Soyadı	İmza
Başkan	:Doç. Dr. Kadir ÖZCAN	.....
Üye	:Yrd. Doç. Dr. Hüseyin GEY	.....
Üye	:Yrd. Doç. Dr. Süleyman GÜL	.....

Bu tezin kabulü, Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunun ..../...../2007 tarih ve ...../..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Vahit ALIŞOĞLU  
Enstitü Müdür V. .

## 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, Biyoloji Bölümü laboratuvar olanaklarından yararlanmamı sağlayan, Fen-Edebiyat Fakültesi Dekanı ve Biyoloji Bölümü Başkanı sayın hocam, Prof. Dr. Arif BAYSAL'a, tezimin yazımında ve yorumlanmasında emeği geçen Arş. Gör. Gökhan NUR' a ve yardımlarından dolayı arkadaşım yüksek lisans öğrencisi Pınar AKSU' ya teşekkürlerimi bir borç bilirim.

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

## İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa no</u>
<b>ÖZET</b>	<b>ii</b>
<b>ABSTRACT</b>	<b>iii</b>
<b>SİMGELER VE KISALTMALAR</b>	<b>iv</b>
<b>ŞEKİLLER LİSTESİ</b>	<b>v</b>
<b>ÇİZELGELERİN LİSTESİ</b>	<b>vi</b>
<b>RESİMLERİN LİSTESİ</b>	<b>vii</b>
<b>HARİTALARIN LİSTESİ</b>	<b>viii</b>
<b>1. GİRİŞ</b>	<b>1</b>
<b>2. GENEL BİLGİLER</b>	<b>8</b>
2.1. Kullanılan Balıklar Üzerine Genel Bilgiler	8
2.2. Araştırma Örneklerinin Alındığı Alanın Özellikleri ve Çevresinin Jeolojisi	11
2.3. Kromozomlar Üzerine Genel Bilgi	17
2.4. Mitoz Bölünme	20
2.5. Balıklarda Kromozom Kaynakları	22
2.6. Karyotip Çalışmaları Üzerine Genel Bilgiler	29
2.7. İdiogram	36
<b>3. MATERYAL VE METOD</b>	<b>37</b>
<b>4. BULGULAR</b>	<b>39</b>
<b>5. SONUÇ VE ÖNERİLER</b>	<b>44</b>
<b>6. KAYNAKLAR</b>	<b>52</b>
<b>7. TEZDEN ÇIKAN YAYINLAR</b>	<b>58</b>
<b>8. ÖZGEÇMİŞ</b>	<b>59</b>

## ÖZET

Bu çalışmada Kura-Aras Havzasından *Orthrias angorae* (Steindachner, 1897) (Fam :Balitoridae)'nın kromozomlarının sayısı ve yapıları incelenerek, karyotip analizi yapılmıştır. Bu çalışmada kullanılan balıklar Kars ilindeki Kars Çayı'ndan serpmme ağlarla yakalanarak laboratuara getirilmiştir. Her bir gram vücut ağırlığı için 0,01 ml, %0,6'lık kolşisin solüsyonu balıkların karın boşluğuna enjekte edilmiş ve balık kesilmeden önce 190 dakika beklenilmiştir. Metafaz incelemeleri ile *O.angorae*'nin  $2n=50$  kromozoma sahip olduğu belirlenmiştir. Bunların karyotiplerinin 7 metasentrik, 7 submetasentrik ve 11 akrosentrik kromozom çiftinden (NF: 78) oluştuğu saptanmıştır. Bu türde cinsiyete bağlı herhangi bir kromozom tesbit edilememiştir.

**Anahtar kelimeler** : Kura-Aras Havzası, Kars Çayı, *Orthrias angorae*, Balitoridae, Karyotip

## ABSTRACT

In this study, chromosome numbers and the standard karyotypic details for the Angora loach, *Orthrias angorae* (Steindachner, 1897) (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.angorae* had  $2n=50$  chromosomes by metaphase investigation. Their karyotypes were determined as being composed of 7 metacentric, 7 submetacentric and 11 acrocentric chromosome pairs with NF: 78 We were unable to identify any sex-related chromosomes in these species.

**Key words :** Kura-Aras Basin, Kars Stream, *Orthrias angorae*, Balitoridae, Karyotype

## SİMGELER VE KISALTMALAR

### Kisaltmalar

KCl

Potasyum Klorür

NOR

Nükleolar organize edici bölge

## ŞEKİLLERİN LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 1. Hücre siklusu	18
Şekil 2. $2n=44$ kromozomlu Garra rufa'nın haploid idiogramı	36
Şekil 3. Kromozom analizleri yapılmış balıkların sayıları	46



## ÇİZELGELERİN LİSTESİ

	<u>Sayfa no</u>
<b>Çizelge 1.</b> Sadece karyotipleri dikkate alınarak yapılmış Kuzey-Batı Amerika alabalıklarının (Salmo) soy ağacı	5
<b>Çizelge 2.</b> Orthrias (Nemacheilus) türlerinde diagnostik özelliklerin karşılaştırılması	8
<b>Çizelge 3.</b> Kars çayı su kalite değerleri (Aras ve Aras, 2001; DSİ, ÇED Raporu, 2003)	13
<b>Çizelge 4.</b> Orthrias angorae (Steindachner, 1897)'nin solungaç epitelinden elde edilen kromozomların sayısal dağılımı	40
<b>Çizelge 5.</b> Bazı balık türlerinin karyotip bilgileri	48
<b>Çizelge 6.</b> Bazı balık takımlarında yapılmış kromozom çalışmalarında çalışılan tür sayıları	49

## RESİMLERİN LİSTESİ

	<b><u>Sayfa no</u></b>
<b>Resim 1 .</b> Lambda-cyhalothrin'e maruz bırakılan <i>Garra rufa</i> 'da mikronükleus oluşumu gözlenmiş eritrositler	4
<b>Resim 2.</b> Çöpçü balığı ( <i>Orthrias angorae</i> )	10
<b>Resim 3.</b> Çıldır Gölü'nde kış aylarında sazan avı	14
<b>Resim 4.</b> <i>Eigenmannia virescens</i> 'in yüzgeç epitelinden elde edilmiş metafaz yayılımı	24
<b>Resim 5.</b> <i>Alburnus heckeli</i> 'nin solungaç epitelinden elde edilen metafaz evresindeki kromozomlar	25
<b>Resim 6.</b> $2n=56$ kromozomlu <i>Clarias lazera</i> 'nın böbrek dokusundan elde edilen metafaz yayılımı	26
<b>Resim 7.</b> $2n=61$ kromozomlu gökkuşuğu alabalığına ait metafaz yayılımı ve göz karyotipi	31
<b>Resim 8.</b> $2n=50$ kromozomlu <i>Acanthalburnus microlepis</i> 'in foto-karyotipi	32
<b>Resim 9 a,b,c,d,,.</b> <i>Orthrias angorae</i> 'dan elde edilen metafaz kromozomları	43
<b>Resim 10.</b> <i>Orthrias angorae</i> 'nın metafaz yayılımlarından elde edilmiş karyotipi	43

## HARİTALARIN LİSTESİ

	<u>Sayfa no</u>
<b>Harita 1.</b> Kars ayı haritası	13
<b>Harita 2.</b> Çıldır Gölü haritası	16

## 1. GİRİŞ

Yeryüzünde yaşayan birçok canlı türü vardır. Bunlar kendi benzerlerini meydana getirir. Ortaya çıkan yeni döl bireysel ve atasal özelliklere sahiptir. Bu benzerliklerin aile içinde izlendiği ve eski çağlarda belli bir takım yorumlar yapıldığı bilinir. İşte bu benzerliklere konu olan ana baba özelliklerinin çocuklara aktarılması olgusuna "Kalıtım" denir. Skolastik çağda bile kalıtımla ilgili görüşlerin ileri sürüldüğünü biliyoruz. Eflatun daha o zamanlar seçilim yöntemi ile insanın neslinin nasıl düzeltilebileceğini ortaya koymuştur. Aristo ise kalıtımın taşıyıcısının spermeler olduğunu belirtmiştir. O spermanın vücudun her bölgesinde oluşabildiğini, damarlarla testislere taşındığına inanıyordu. Vücudun her bölümü bireyin oluşumu için kendine düşen görevi taşıdığı bilgi ile yerine getiriyordu. On dokuzuncu yy' da Embriyo plazması kuramının kurucusu olan August Weissmann'ın, farenin kuyruğunu kesip, onun birkaç dölünü izleyerek, her yeni bireyin tekrar kuyruklu doğduğunu görmüştür. Böylece kuyruk oluşumunun kuyruğa bağımsız olarak ortaya çıktığını belirtmiştir. Bunun eşey hücrelerinin oluştuğu, embriyo plazmasından meydana geldiğini ortaya koymuştur. İnsanın kalıtıma müdahalesi fikri oldukça eskilere gitmektedir. Kultivasyonlarla özelliklerin değiştirilebileceği fikri yaygınlaşınca evcil hayvanların üretilbildiği bilinmektedir [1].

Çocuklar, yani döl, bazı hususlar bakımından ana babalarına göre farklılıklara sahip olabilirler. Bunların incelenip irdelenmesi, Kalıtım Bilimi, ya da Genetik Bilimi" nin ana görev ve temelini oluşturur [1].

Daha on sekizinci ve on dokuzuncu yüzyıllarda yürütülen düzenli kalıtım ve ıslah deneyleri sayesinde, Biyoloji'ye kalıtımla ilgili birçok bilgi kazandırılmıştır. Mendel'in çağdaşları bazı kalıtım kuram ve prensipleri hakkında çalışmış ve araştırmalar yürütmüşlerdir. Kendisinden öncekilere göre, genetik biliminin temeli sayılan kuramları Gregor Mendel bulmuş ve yürüttüğü çaprazlama deneylerinde elde ettiği sayısal ilişkiler ona Kalıtım Yasaları'nı açıklama olanağı vermiştir. Mendel çalışma objesi olarak tohum şekli, rengi, sap uzunluğu gibi özelliklere sahip bezelyeleri seçmiştir, bu da kalıtım yasalarını keşfetmesinde en önemli etken olmuştur. Bir başka etken ise, onun incelediği özelliklerin farklı kromozomlar (bu günkü bilgilerimizden anlıyoruz ki) üzerinde lokalize olmasıdır [1].

Yaşamsal işlevler incelikli ve kesin bir şekilde işleyen bir seri bilgi aktarımları ile yürütülür. Bir organizmanın DNA'sının genleri o organizmayı oluşturmak için gerekli tüm bilgiyi içerir. Bu bilgi belirli bir görevi olmayan tek bir hücreden, işlevlerine göre farklılaşmış hücrelerin oluşturduğu karmaşık dokular ve organlar topluluğuna kadar gelişimi düzenler ve biyokimyasal olayları idare eder.

Bu genetik bilgi aktarımı iki şekilde olur;

1-DNA'daki bilgiler hücre yapımı ve doğrudan kimyasal olaylar için kullanılır.

2-Bilgiler grubu kopya edilir ve yeni yavru hücreye aktarılır.

Genetik çalışmalarının son kırk yılda nereye kadar geldiğini değerlendirmek oldukça zordur.

Genetiğin moleküler temelleri üzerindeki benzeri görülmemiş buluşlar ve ilerlemeler bu alanda bir devrim etkisi yaratmıştır. Bir organizmaya ait genler, hep birlikte genom denilen bir ya da daha fazla kromozom üzerinde doğrusal bir şekilde organize olmuş fiziksel birimlerden oluşmaktadır [2].

İnsan genetiğinin temel prensiplerini anlamak için hayat molekülü olan DNA(deoksiribonükleik asit)'yı incelemeye başlamamız zorunludur. DNA'nın kromozomların içinde ve kalıtsal özelliklerle ilgili olduğu bilgisi 1860'dan bu yana bilinmektedir. Kromozomlar DNA'nın aşırı kıvrımlarla bulunduğu paketçiklerdir. Kromozomlar hücrenin metafazından sonra bölünmenin durdurulması ile görünür hale getirilebilir [3].

Her Ökaryotik kromozom bir tane çok uzun ve doğrusal DNA molekülüne sahiptir. Bu DNA üzerinde yüzlerce ya da binlerce gen bulunur. Genler bir organizmanın kalıtımla kazandığı özellikleri belirleyen birimlerdir. DNA molekülü çeşitli proteinlerle bir arada bulunur. Bu proteinler, kromozom yapısının devamlılığının sağlanması ve gen aktivitesinin kontrolüne yardım ederler. Kromatin olarak adlandırılan bu DNA-Protein kompleksi, ince, uzun bir iplik halinde organize olmuştur. Bölünmeye hazırlanan bir hücre, DNA'sını eşlediğinde, kromatin yoğunlaşır; Katlanma ve kıvrılmalar sonucunda kromozomların boyları kısalır ve kalınlaşırlar. Böylece ışık mikroskopunda kromozomları gözlemleyebiliriz [4].

Genetik (kalıtım bilimi), canlılarda bir önceki bireyden bir sonraki bireye neyin nasıl geçtiğini araştıran bir bilim dalıdır. Sitogenetik ise, kromozomları, bunların ayrışım ilkelerini incelemenin yanında fenotiple olan ilişkilerini de araştıran genetik dalıdır. 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 [5].

Balık Yetiştiriciliği konusunda ilk uygulamalar 1960'lı yılların sonuna doğru başlamıştır.

Alman balıkçılık biyoloğu B.Luis JACOBI'nin 1765 yılında ilk kez alabalıklarda yapay döllenmeyi başarmış olması ve bu çalışmaların 1772 yılında Duhamel DUMONCBAU tarafından neşredilmesi, balık yetiştiriciliğinde adeta bir devrime neden olmuştur. Yaklaşık 80 yıl sonra Remy (1947) adlı bilgin Amerika'dan getirilen Gökkuşağı Alabalığını aynı yöntemle çoğaltıp, yaygın bir yetiştirme materyali olarak kullanılmalarını sağlamalarını, balık yetiştiriciliği konusunun yaygın ve bilinçli yayılmasına neden olmuştur.

Türkiye'nin balık yetiştiriciliği konusunda diğer çiftlik hayvanlarının yetiştiriciliği gibi geleneksel bir alışkanlığı olmamasının temel nedeni, Anadolu yarımadasını çevreleyen denizlerle, Anadolu'ya yayılmış bol akarsu ve çok sayıda gölde çok çeşitli balık türlerinin bulunuşu ilkel yöntemlerle de olsa buralarda tutulan balıkların nüfusa fazlasıyla yetmesi.

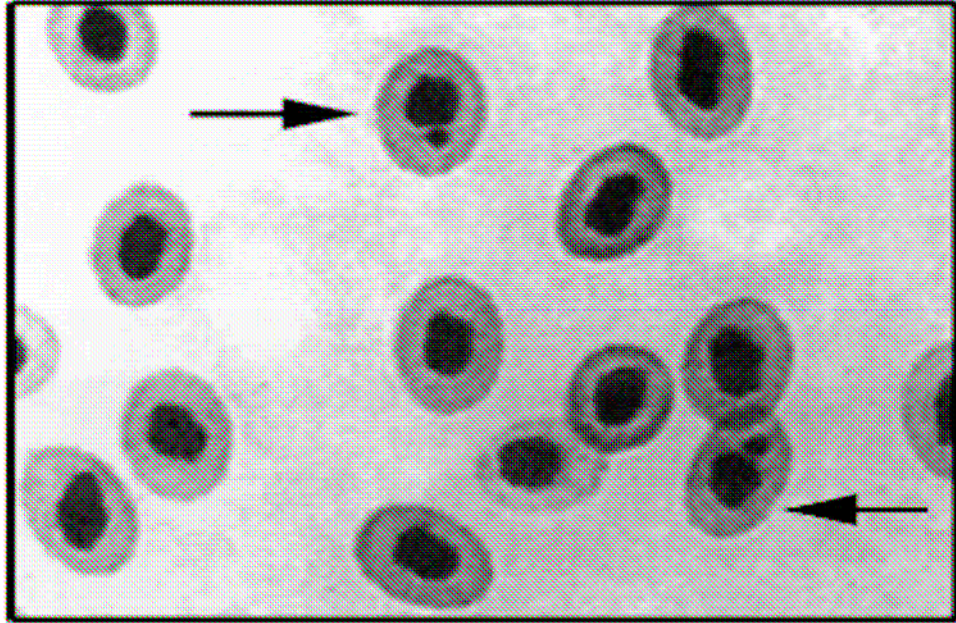
Balık Yetiştiriciliği gereksinimin sonucu doğmuştur ve balıkların çoğaltılmaları ile daha fazla hayvansal protein kazanılmıştır [6].

Kromozom analizleri yardımıyla balık populasyonlarının genetik yapılarının belirlenmesi, populasyonlar arası ve populasyon içi (hatta bireysel) kromozom polimorfizminin tespiti hususunda yurt dışında yapılmış çok sayıda çalışma

mevcuttur. Ne var ki, ülkemizde bu konuda yapılmış çalışma yok denebilecek kadar azdır. Oysa kromozom analizi;

**-Balıkçılık yönetimi ve yetiştiricilikte:** Kromozom manipulasyonu teknikleri, poliploidliği teşvik etmek suretiyle veya Ginogenezis yardımıyla-kısırlaştırma, yüksek populasyonu 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.

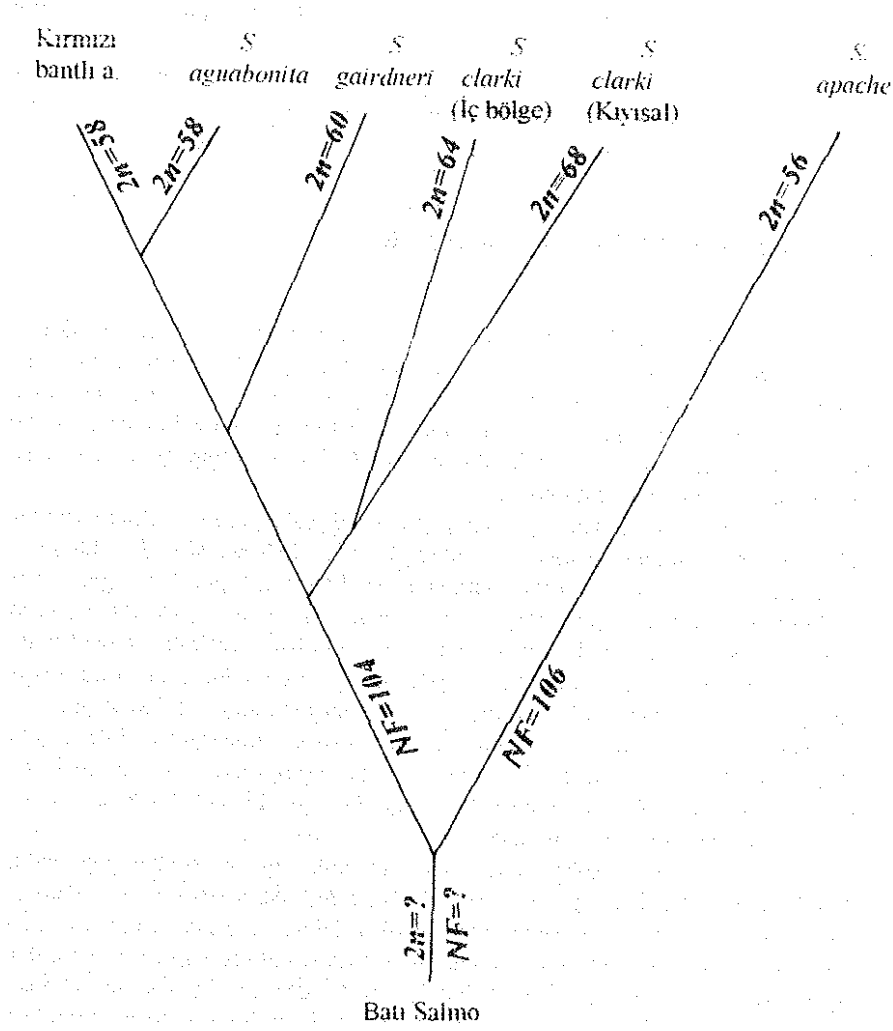


**Resim 1.** Lambda-cyhalothrin'e maruz bırakılan *Garra rufa*'da mikronükleus oluşumu gözlenmiş eritrositler (ok ile gösterilen) [7].

**-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 ilişki:** Evrimsel ilişkileri ortaya koyabilmesinden dolayı kullanılabilir. Ancak balıklarda kromozomal incelemeler (özellikle

kromozom bantlama çalışmaları) insanlardaki kadar ileri düzeye ulaşmadığından evrim konusundaki bilgiler tartışmalıdır.



**Çizelge 1.** Sadece karyotipleri dikkate alınarak yapılmış Kuzey-Batı Amerika alabalıklarının (*Salmo*) soy ağacı [8].

Bugün dünyada yaklaşık 20.000 balık türü yaşamaktadır. Bunlardan yaklaşık 3000 tanesinin kromozom sayısı belirlenmiş ve karyotipleri yapılmıştır. Sitogenetik incelemelerin balıklarda da sistematik araştırmalara büyük katkılar sağlayacağına inanılmaktadır. Karyotip çalışmaları tür seçiminde, verimli tür üretiminin yönlendirilmesinde ve sitotoksik kimyasalların izlenebilmesinde önemli katkılar sağlayacaktır [9].



Balıkların normal karyotiplerinin bilinmesi, çeşitli çevre kirleticilerinin besin zincirinde önemli bir yer tutan balıkların kromozomlarındaki değişimleri de saptamamıza olanak verecektir.

İkinci dünya savaşından sonra endüstriyel kimyasalların kullanımı artmıştır. Çevresel kirlenme direkt ya da indirekt olarak insanlığı tehdit etmektedir. Endüstriyel gelişimin bir sonucu olarak son yirmi yıl içerisinde 50.000 kimyasal madde üretilmiştir. Bu maddeler ekosistemi sedimentlere yığılarak ya da üst besin zincirini etkileyerek bozmaktadırlar.

Sanayi ve evsel atıklar arıtma tesislerinin yeterli miktarda olmadığı ülkemizde direkt olarak nehirlere ya da denizlere katılmaktadır. Kars ili bu konuda iyi bir örnek oluşturmaktadır. Sanayisi çok gelişmiş olmasa da, sanayi ve evsel atıklar kanalizasyonla Kars nehrine atılmaktadır.

Balık kromozomları üzerine yapılan ve yapılacak çalışmalar çevresel kirlenmenin insan sağlığı üzerine etkileri bakımından bir tür “erken uyarı sistemi” olabilecektir.

Balık kromozomlarının sayı ve morfolojileri üzerine yapılan çalışmaların hibritleme (melez) sınıflandırma ve evrim araştırmalarına yararlı olduğu belirlenmiştir [10-15].

Balık kromozomları ile ilgili genetik çalışmalar özellikle son elli yılda hızla gelişmiştir. Kromozom analizleri çalışmaları balıkların gelişim basamaklarını belirlemede, varyasyonların tespitinde ve genel olarak balık genetiğine ait pek çok soruyu aydınlatmada bize yardımcı olur. Kromozomların morfolojik görünümleri ve sayıları varsa türler arasındaki evrimsel farklılıkları makro düzeyde görmemizi sağlar.

Bir türe ait kromozomların sayısal ve morfolojik tespit edilmesi türün alt türlerinden ve çeşitli ekolojik farklılıkların yarattığı varyasyonlarından farkını gösterir. Mitoz metafazındaki hücrelerle yapılan analizler, özel çalışmalar ile metafaz plağındaki kromozom şeklinde kalıtım materyalini incelememiz mümkündür [16].

Bugüne kadar yaklaşık 1300 tatlısu ve deniz balığının karyotipleri ayrıntılı olarak çalışılmıştır. Bu tip çalışmalar ülkemiz için henüz yeni olup bu konuda yeterli çalışma bulunmamaktadır [17].

Kromozomların yapı ve tiplerinin belirlenmesinin yanı sıra restriksiyon enzimlerinin uygulanışı temel genetik bilgilere de katkıda bulunmaktadır [18].Hücre bölünmesinin detaylarının anlaşılmasında kromozomların heterokromatin ve ökromatin içeriğinin

belirlenmesi önemli bir süreçtir. Bilindiği gibi hücre bölünmesinde herhangi bir bozukluk kansere giden bir oluşumu başlatabilmektedir. Kromozomlar mitoz ve mayoz bölünmelerin anafaz safhasında kutuplara çekilmektedir. Bu çekilme işlevi iğ ipliklerinin kromozomların sentromer bölgelerine tutunması olayı ile gerçekleşmektedir. Fare ve insan hücreleri üzerine bu konuda pek çok çalışma bulunmaktadır. Balıklarda ve diğer canlılarda ise fazla çalışma yoktur. Restriksiyon enzimleri belirli DNA dizilerini keserek kromozomlarda bant oluşturabilmektedir. Örneğin Alu I enzimi *Anthrobacter luteus* adlı bakteriden elde edilmektedir ve bakteri bu enzimi virüslere özellikle bakteriofajlara karşı bir savunma mekanizması olarak kullanmaktadır. Alu I enzimi kromozomlarda satellit DNA bölgelerinin belirlenmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Satellit DNA sentromerlerde ve heterokromatinin yapısında bulunmaktadır [19, 20]. Balıklarda da gerçekten hücre bölünmesi benzer bir süreç mi izlemektedir? Şu ana kadar yapılan çalışmalar bitkilerde ve hayvanlarda hücre bölünmesinin kabaca benzer aşamalar içerdiğini göstermiştir [19, 21].

Bu çalışma ile Kura-Aras Havzasında yaygın olan *Orthrias angorae*'nin kromozom sayısı ve tiplerinin belirlenmesi ve adı geçen türün diğer akraba türlerle kromozomal açıdan karşılaştırılması amaçlanmıştır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Kullanılan Balıklar 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 [22].

#### Cins : Orthrias (HASSELT, 1823)

Vücut iğ şeklinde, rengi koyu kahverengi veya kahverengi-sarı üzerinde benekler bulunur. Ağız kenarlarında bir çift, üst dudakta ise iki çift olmak üzere bıyıkları mevcuttur. Gözlerin alt tarafında diken bulunmaz. Dorsal yüzgeçleri 6-18 dallanmış ışın ihtiva etmektedir. Kaudal yüzgeç dış bükey, düz ve derin çatallı olabilmektedir. Bazen sırtta dorsal yüzgecin gerisinde bir karina bulunur. Yüzme keseleri kemik bir kapsülle tamamen örtülüdür [22].

**Çizelge 2.** *Orthrias (Nemacheilus)* türlerinde diagnostik özelliklerin karşılaştırılması [23].

Türler	D	A	P	V
<i>O.angorae</i>	II-III 7-8	II 5	I 9-10	I 6-7
<i>O.tschaiyssuensis</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 angorae* (Steindachner, 1897)**

Vücut silindirik şekilli olup, çok küçük pullarla örtülmüştür. Kuyuksuz vücut boyu vücut yüksekliğinin 5-6 katı, baş boyunun ise 4-4,5 katıdır. Gözler küçük ve başın üst tarafına doğru yerleşmiştir. Göz çapı burun uzunluğunun 1,5-1,8 katıdır ve aşağı yukarı gözler arası mesafeye eşittir. Pektoral yüzgeçler çok uzundur ve Ventral' lerin iyice yakınına kadar uzanabilir. Burun üzerinden çıkan bıyıkların boyları aşağı yukarı birbirlerine eşittir ve göz çapından 1-1,5 misli daha uzundur. Dorsal yüzgeç, burun ucuna ve kuyruk yüzgeci başlangıcına eşit mesafe bulunur. Kuyruk yüzgecinin serbest kenarı büyük bir varyasyon göstermekte olup, bazı bireylerde düz, bazılarında ise derinliği az çok değişen bir girinti meydana getirir.

Renk çok değişken olmakla beraber, genellikle gri-sarı görünüştedir. Vücudun sırt bölgesinde ve yan taraflarında, çeşitli büyüklükte ve gelişigüzel dağılmış olan kahverengi-esmer benekler bulunur. Dorsal ve kaudal yüzgeçler, çoğu kez düzenli seriler halinde yerleşmiş ve küçük kahverengi noktalardan meydana gelmiş enine bantlarla süslenmiştir. Diğer yüzgeçler ise, genellikle renksizdir. Maksimal vücut uzunluğu 8-9 cm. kadardır.

Bu tür, genellikle temiz ve serin olan nehir ve çayların bilhassa yavaş akan çakıllı-kumlu zeminlerinde yaşarsa da, bazen göllerin fazla derin olmayan kıyı zonlarında da bulunur. Gececi özellikte olup gündüzleri daima taşlar altında gizlenen ve sedenter olarak yaşayan bir zemin balığıdır. Temiz suları tercih etmekle beraber, pollusyona karşı da çok dayanıklı olduğundan, oksijenin eser halde bulunduğu ortamlarda bile uzun süre yaşayabilir. Yumurtlama periyodu Mayıs-Temmuz ayları arasına rastlar. Genellikle 5 cm. boyda iken cinsel olgunluğa erişirler. Yumurtalar çakıllar, taşlar ve bitki gövdeleri üzerine yapıştırılır. Başlıca gıdasını bentik omurgasızlardan kurtlar ve böcek larvaları oluşturur [23].

**İlk bulunuş yeri** : Ankara civarı

**Yerel adı** : Çöpçü balığı



**Resim 2.** Çöpçü balığı (*Orthrias angorae*, Steindachner, 1897) [22].

**Tür** : *Orthrias angorae* (Steindachner, 1897)

**Diagnostik Özellikleri** :

D : II-III ; 7-8

A : II ; 5

P : I ; 9-10

V : I ; 6-7.

**Sistematikteki Yeri** :

Regnum (Alem) : Animalia

Subregnum (Alt alem) : Metazoa

Phylum (Şube) : Chordata

Subphylum (Alt şube) : Gnathostomata

Superclass (Üst sınıf) : Pisces

Class (Sınıf) : Osteichthyes

Subclass (Alt sınıf) : Actinopterygii

Superordo (Üst takım) : Teleostei

Order (Takım) : Cypriniformes

Family (Aile) : Balitoridae

Genus (Cins) : Orthrias

Species (Tür) : *Orthrias angorae* (Steindachner, 1897) [24].

## 2.2. Araştırma Örneklerinin Alındığı Alanın Özellikleri Ve Çevresinin 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 [25].

Bölgedeki yükselmenin ve volkanizmanın etkisiyle Kalkankale formasyonunun çökeldiği göllerin devamlı olarak boyutları değişmiş, bu bölgedeki 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 Yolboyu formasyonunu meydana getirmişlerdir.

Çalışma alanının topoğrafyası aşınma ile günümüz topoğrafyasına ulaşmış olup, bu arada faaliyetteki akarsular vadi tabanında alüvyonları biriktirmiş ve yamaçlarda erozyon sonucu yamaç molozu birikintileri oluşmuştur [25]. Çalışma alanında yer alan çökel kayaçlardan Üst Miyosen yaşlı Horasan formasyonuna ait birimler genelde yatay veya yataya yakın  $5^{\circ}$ - $10^{\circ}$  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 [25].

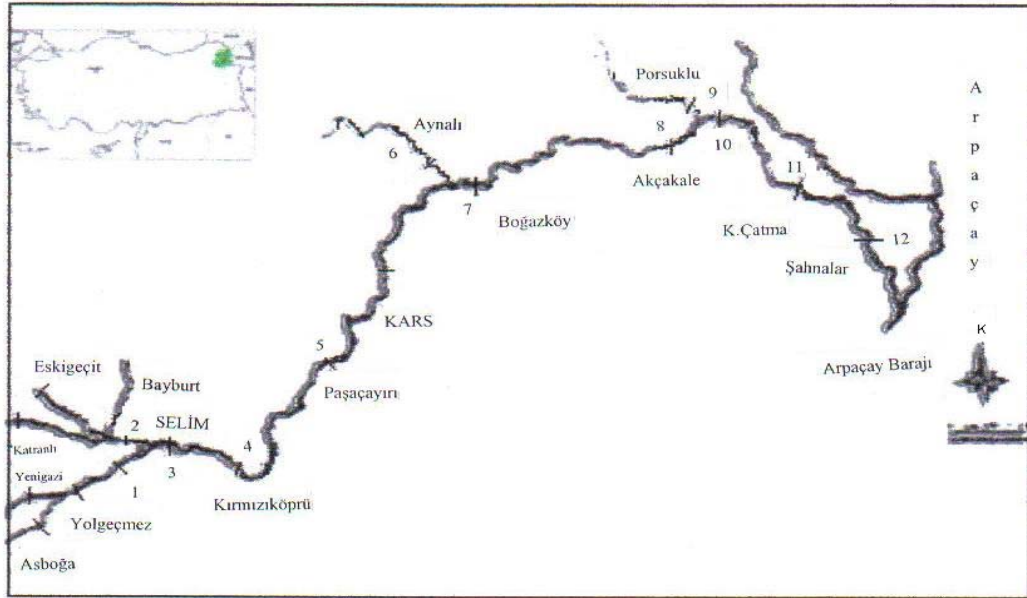
*O.angorae* örnekleri Kars Çayı (Kars)'ndan avlanmıştır. Kars Çayı farklı isimlerle anılan yan kolların birleşmesinden oluşur. Bunlar Sarıkamış Çayı, Kekeç Çayı,

Katranlı Çayı, Bayburt Suyu, Susuz Çayı, Çıldır Gölayağı, Karahan Çayı ve Tazekent Suyudur.

Uzunluğu 93 kilometre olan Kars Çayı'nın en uzun kolu Sarıkamış Çayı'dır. Soğanlı Dağlarının Aşıt Tepe (2350 m) eteklerinden doğan Sarıkamış Çayı, Sarıkamış ilçesini geçtikten sonra Kars Çayı adını alır. Kars Çayının su potansiyeli açısından en önemli kolu Kekeç Çayıdır. Katranlı Çayı ve Bayburt Suyu ile birleştikten sonra Selim İlçesi Killik düzü mevkiinde Kars çayı'na karışır. Bu noktadan itibaren doğu yönünde akışını sürdüren Kars çayı Kars ilinin içinden geçerek kuzeyden gelen Susuz Çayı ve Çıldır Gölü ayağını da alarak Arpaçay Barajı Gölüne dökülür [25, 26]. İnceleme materyalimiz olan *O.angorae* yukarıda da değindiğimiz gibi 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 denizine dökülmeden önceki 480 km uzunluğundaki kısmı deniz taşıtlarının seyri için uygun bir özellik arz eder. Nehrin kaynağı, Türkiye'nin kuzeydoğusundaki bir dağdan kaynaklanan Kuru Çayı'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 Denzine dökülür. Aras veya diğer bir deyişle Araks nehri, Asya'nın güneybatısında Erzurum şehri sınırları içerisinde kaynaklanır. Türkiye'den kaynaklanan nehir genelde doğu yönünde akarak Ermenistan, daha sonra da Azerbaycan toprakların girer ve başlıca kolları Kura nehrine katılarak Hazar denzine dökülür. 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 [27].

**Çizelge 3.** Kars Çayı Su Kalite Değerleri [25, 26].

Özellikleri	01.07.2000	03.10.1994	19.10.1994	19.08.1964
Ph	8.59	8.06	8.34	8.20
ECxE <sup>o</sup> 25 °C	431	420	387	388
Toplam Katyon (me/lt)	4.66	4.58	4.25	3.88
Na <sup>+</sup>	1.26	1.05	1.05	1.38
K <sup>+</sup>	0.11	0.13	0.10	0.00
Ca <sup>++</sup> Mg <sup>++</sup>	3.29	3.40	3.10	2.50
Toplam Anyon (me/lt)	4.66	4.58	4.25	3.88
CO <sup>-2</sup> <sub>3</sub>	0.84	0.16	0.62	1.60
HCO <sub>3</sub>	2.81	3.76	2.85	1.44
Cl	0.62	0.42	0.42	0.48
SO <sup>-2</sup> <sub>4</sub>	0.39	0.24	0.36	0.36
% Na	27.04	22.92	24.70	36.00
SAR	0.98	0.80	0.84	0.52
Sulama Suyu Sınıfı	C <sub>2</sub> S <sub>1</sub>	C <sub>2</sub> S <sub>1</sub>	C <sub>2</sub> S <sub>1</sub>	C <sub>2</sub> S <sub>1</sub>



**Harita 1.** Kars Çayı haritası [22].



Ardahan ve Kars il sınırları içerisinde kalan ıldır Gölü 123 km<sup>2</sup> alanı ile Doğu Anadolu Bölgesi'nin en büyük tatlı su ve en büyük ikinci göldür. Deniz seviyesinden 1965 m yüksekte bulunan gölün en derin noktası 22 metre ve tektonik oluşumlu bir göldür. Birçok dere ve pınarlarla beslenmekte olan gölün tek çıktısı kuzey batısında yer alan Ermenistan sınırında bulunan Arpaçay'ın kolu olan Telek Çayı'dır. En büyük olanı Akçakale harabelerinin yanında yer alan adadır. Göl etrafında çok az bitki örtüsü gelişmiştir ancak gölü çevreleyen otlaklarda yoğun hayvancılık yapılmaktadır.

Yılın dört mevsiminde yapılabilen balıkçılık yöre halkı için önemli bir ekonomik gelir kaynağı teşkil etmektedir. Gölde balıkçılık önemli bir insan aktivitesi olup, kışın buz tutan gölde kalın buz tabakası kırılarak balık avlanmaktadır. Gölde yakalanan en önemli balık türü Sazan'dır (*Cyprinus carpio*). Ancak kurak geçen mevsimlerde, göl seviyesi hızla çekilmekte ve bu nedenle sazan gibi türlerin üremesi için gerekli sazlıklar daralmaktadır. Bununla beraber birçok balıkçının yasaklara uymayarak kontrolsüz avlanmaları balık stoklarını olumsuz etkilemektedir.



**Resim 3.** Çıldır Gölü'nde kış aylarında sazan avı.

Gölün sadece kuzey batısında seddeyle ayrılmış bataklık ve sulak çayırlar bulunur. Genelde göl çevresi mera vasıflı olup, sert bölge iklimi tarıma olanak vermez. DSI tarafından gölü beslemek amacı ile yapılan derivasyon tünellerinin hem diğer havzalardaki kirlilik yükünü göle taşıması, hem de hayvancılık açısından çok önemli çayırların kurumasına neden olması mümkündür. Ayrıca inşaatı henüz

tamamlanmamış olan Kuzey derivasyonunun ıldır'ın çok önemli ayırılığı olan Karaçay ovasının ot verimini ciddi boyutta etkilemesi söz konusudur.

Gl ve çevresindeki tarım alanlarında kullanılan tarımsal kimyasalların (zellikle de yüksek oranda azot içeren gübrenin) bilinçsizce ve yörenin ekolojik ve iklimsel koşulları göz ardı edilerek kullanılmasının gl üzerindeki kötü etkileri belirtilmektedir.

- Kontrolsüz ve aşıırı avlanma
- Erozyon
- Yüksek besin girdisi ıldır Gölü için tehdit oluşturmaktadır.

Gölde aşıırı bir kirlilik gözlenmemesine rağmen yine de artan bir evsel kirlilik göze çarpmaktadır. Adalardaki insan baskısının artması bu alanları kuluçka için kullanan türleri olumsuz etkilemektedir. Yapımı planlanan otel ise yeniden gözden geçirilmelidir. Son yıllarda artan turizmle birlikte insan baskısı artmış ve turistik tesisler inša edilmeye başlanmıştır [28].



**Harita 2.** Çıldır Gölü haritası [29].

Göl Hakkında Diğer Bilgiler :

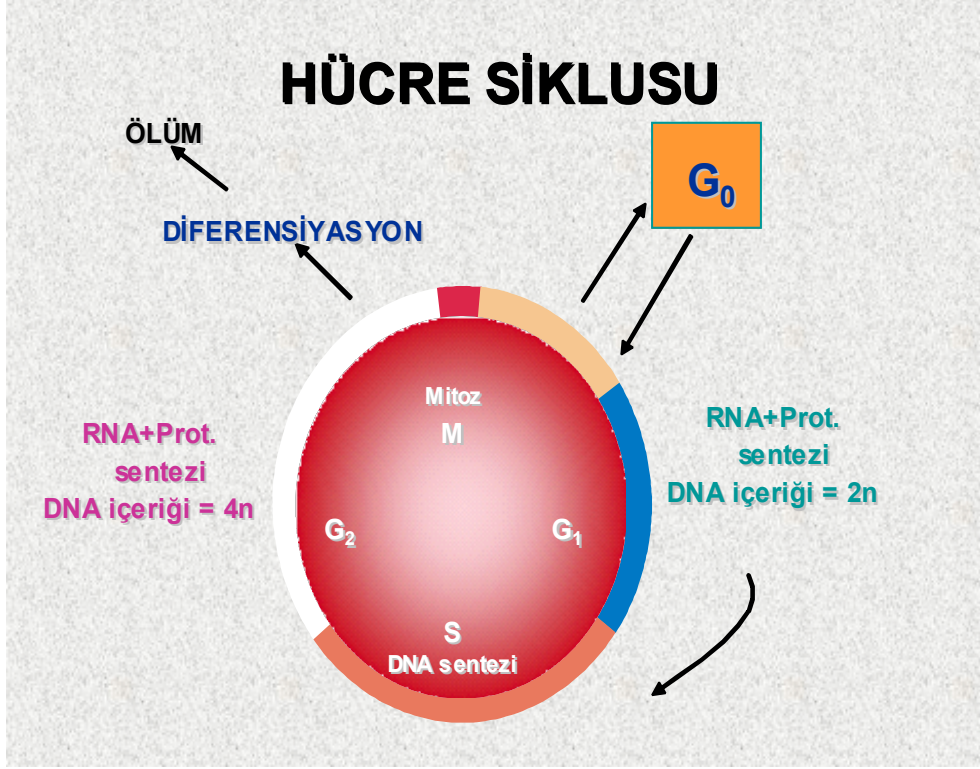
<i>Konum</i>	Ardahan ili
<i>Alan (ha)</i>	12.350
<i>Koordinatlar</i>	410 03' N ve 430 15' E
<i>Rakım (m)</i>	1962
<i>Maksimum derinlik (m)</i>	22

### 2.3. Kromozomlar Üzerine Genel Bilgiler

Genetik bilimi 1860'larda Gregor Mendel'in kendi yetiştirdiği bezelyeler üzerinde çalışmalar ile başladı. Watson ve Crick isimli iki araştırmacının Deoksiribonükleik asidin yapısını keşfetmesi insan genom projesinin geçtiğimiz günlerde popüler hale gelmesinden sadece yarım yüzyıl önce gerçekleşti. 1970'lerde DNA üzerindeki belirli genlerin izole edilebildiği bu genlerin kesilip biçilebildiği ve yeniden yapılandırıldığı genetik mühendisliği uygulamaları başladı. 1980'lere gelindiğinde gen tedavisi gündeme geldi ve günümüzün genom araştırmaları için daha ileri bir motivasyon oluşturdu.

Hücre çekirdeğinde bulunan bileşenlerin tiplerini açığa çıkarmak için yapılan ilk girişimler moleküler biyolojide devrim yaratmıştır. 1868'de İsviçreli genç biyokimyacı Friedrich Miescher proteinleri parçalamak için pepsin ile bir hücreyi muamele ettiğinde çekirdeğin küçüldüğünü (büzüldüğünü); ama esas itibari ile bozulmadan kaldığını gösterdi. Miescher peptit parçalanmaya karşı koyabilen bu çekirdek materyalin başka pek çok ajanlarla muamele edildiğinde proteinden tamamen farklı davrandığını ve bir proteinde bulunması beklenen karbon, oksijen, hidrojen ve azotun yanı sıra fosfor elementini de içerdiğini gösterdi. Bütün bunlar çekirdeğin çok fazla miktarda protein ve tanımlanamayan proteinden farklı bileşikler içerdiği sonucunu verdi. Miescher'in nüklein diye adlandırdığı proteinden farklı yapılar o zamandan beri nükleik asitler olarak adlandırılmaktadır. Daha ileri araştırmalar hücrelerin çeşitli tipte nükleik asitler içerdiğini ve hatta bazılarının sadece çekirdekte sınırlı olmadığını gösterdi. Miescher'in çalıştığı nükleik asit tipi DNA (deoksiribonükleik asit) idi. 1914'te Alman kimyacı Robert Feulgen nükleini parlak kırmızıya boyayan bir yöntem geliştirdi.

On yıl sonra Feulgen kendi tekniğini tüm hücreye uyguladığında çekirdek DNA'sının kromozomlarla sınırlı olduğunu gördü. Feulgen'in yöntemi hala uygulanmakta ve çeşitli tipteki hücrelerin çekirdeklerindeki DNA miktarını ölçmek için kullanılmaktadır. Araştırmacılar belirli bir organizmanın bütün somatik hücrelerinin (gamet oluşturan germ hücrelerinin dışındaki hücreler) -hatta diğer bileşenlerinin miktarının oldukça farklı olduğu karaciğer, böbrek, sinir ve kas gibi farklı dokulara ait hücrelerin somatik hücrelerdekinin sadece yarısı kadar DNA içerdiğini kesin olarak göstermişlerdir [30].



**Şekil 1.** Hücre Siklusu.

Genellikle her hücrenin yaşam süresinde bölünme olmayan uzun bir interfaz evresi ile bir vardır. Buna hücre siklusu, hücre çevrimi, hücre periyodu gibi isimler verilir. Hücre siklusu her hücre soyunda tekrarlanır ve süresi çeşitli hücre tiplerinde farklıdır. Bazı hücrelerin hayat süresi kısadır ve bölünme sık sık tekrarlanır. Bazı hücrelerde interfaz çok uzun sürer ve bu hücreler organizmanın yaşamı süresince bir daha bölünmezler (sinir hücrelerinde olduğu gibi).

Bitki ve hayvanlarda hücre bölünmesi ergin evreye kadar devam eder. Bundan sonra bölünme çok kısıtlı olarak hayvanlarda gametlerin oluşumu sırasında gonadlarda, kan yapıcı dokuların hücrelerinde, bitkilerde ve kök meristem hücrelerinde, ayrıca bitki ve hayvan hücrelerinde yaraların kapanması sırasında yapılan hücre bölünmeleri biçiminde sürer.

Hücre siklusu kural dışı olarak zigotun ilk bölünmelerinde çok kısadır, blastomerler hiçbir büyüme evresi geçirmeksizin yeniden bölünürler.

**G1 Periyodu** : DNA sentezi için gerekli malzemenin biriktirildiği evredir. Süresi çok değişkendir.

Hücre siklusunun G1 fazının belli bir noktasında bazı hücreler devamlı olarak, bazı hücrelerde geçici olarak durdurulabilirler. Bu durdurulan hücrelerin G0 periyodunda oldukları kabul edilir. G0'dan tekrar G1 fazına giren hücreler bundan sonra normal hücre siklusunu izlerler.

Hücre siklusunda G1 fazının olmaması o kadar önemli olmayabilir. Oysa S fazı ve M (mitoz) fazı olmadan devam eden bir hücre siklusu düşünülemez.

**S Periyodu** : Hücre S fazına girdiyse bir daha durdurulamaz ve olay mitoz bölünmeye kadar devam eder. DNA'nın iki katına çıktığı evredir. DNA sentezi S fazının başlangıcında durdurulursa hücre mitozla geçemez.

**G2 Periyodu** : Mitoz bölünme başlayana kadar devam eder.

Biyokimyasal değişiklikler, mitoz bölünme sırasında gelişecek olaylar için (nükleus zarının parçalanması, kromatinin yoğunlaşması ve bireysel kromozomlara değişimi, nükleolusun kaybolması, hücre yüzü elemanlarının ve hücre iskeletinin yeniden oluşturulması) hazırlık safhasıdır. Bu nedenlerle G2 fazı önemli proteinlerin yoğun bir biçimde sentezlenme fazıdır. Eğer hücre G2 fazında iken protein sentezi durdurulursa hücre bölünmez.

Replikasyon nedeniyle her kromozom iki DNA çift sarmalı içerir. Bunların her biri bir kromatidi veya kardeş kromozomu oluşturur.

Mitoz bölünmenin tamamlanması için gerekli zaman organizmaya, dokuya, dış ve iç koşullara bağlı olarak değişmekle birlikte genellikle mitoz bölünme 1 saat kadar sürmektedir.

Doku kültürlerinde 37 °C'da pek çok hayvan hücresi bölünmelerini 30-60 dakikada tamamlar. Yüksek bitkiler genellikle düşük ısıda bölündükleri halde bölünme periyodunun süresi memeli hücrelerinde olduğu kadardır. Yüksek ısı mitozu hızlandırır. Örneğin bitki hücrelerinde hücre bölünmesi 10°C'de 153 dakikada, buna karşın 45°C'de 30 dakikada tamamlanır.

RNA sentezi, mitoz fazı dışındaki hücre çevrimi süresince devamlıdır. RNA sentezinin mitoz sırasında durdurulması büyük olasılıkla kromozomların

yoğunlaşması sonucu DNA'nın transkripsiyon yapamamasındandır. Buna karşın prokaryotik hücrelerde RNA sentezi mitoz bölünme ile birlikte bütün hücre siklusunda sürekli olarak yapılır.

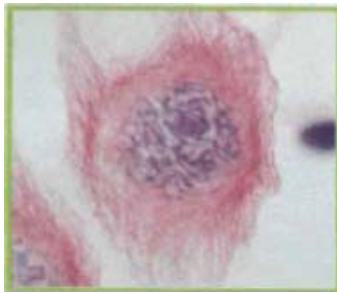
Protein sentezi ise bütün interfaz süresince devamlıdır, ancak mitozun metafazında durdurulur [31].

#### 2.4. Mitoz Bölünme

Bölünen hücreden birbirinin aynısı olan iki yavru hücre oluşur ve bölünen hücreye ait hücresel materyal eşit olarak iki yavru hücreye dağıtılır. Mitoz bölünme tek hücrelilerde çoğalmayı çok hücreli canlılarda büyümeyi ve yıpranan kısımların onarılmasını sağlar. Bu nedenle mitoz bölünmeye somatik hücre bölünmesi de denir. Zigottan embriyonun oluşması sırasında mitoz bölünmeler hızlıdır.

Mitoz bölünme bütün ökaryot organizmalarda birbirine benzer biçimde gelişirse de farklı organizmalarda bazı ayrıcalıklar bulunabilir. Bitki hücrelerinde mitoz bölünmede kutuplarda sentriyol ve asterler bulunmaz, ayrıca mitoz bölünme sonunda oluşan yavru hücrelerin ayrılması hayvan hücrelerindekiinden daha karışıktır.

Mitoz bölünme interfazın sona ermesi ile başlar ve yeni bir interfazın başlaması ile son bulur. Mitoz bölünmede birbirini izleyen evreler profaz, metafaz, anafaz, telofazdır. Bu evreler aslında sürekli, biri diğerine karışır, aralarında kesin duraklamalar yoktur.



Hücre bölünmesinde çekirdek bölünmesine karyokinez, sitoplazma bölünmesine sitokinez denir [31].

**PROFAZ :** Hücre küresel bir hal alır, hacmi, ışığı kırma özelliği, yüzey gerilimi ve akışmazlığı artar. Nükleus içinde profaz kromozomları ince uzun iplikler halinde belirmeye başlar. Kromozomal iplikler nükleus içinde gelişi güzel dağılırlar. Mitoz kromozomların yoğunlaşmaya başlaması ile belirginleşir. Yoğunlaşma kromatin materyalinin sıkı sarmal yapması ve katlanması biçiminde ilerler. Her profaz kromozomu uzunluğu boyunca yan yana duran iki kromatidten oluşur. Profaz evresi ilerlerken kromatidler kısalıp kalınlaşır, sentromerler göze çarpar. Erken profazda kromozomlar bütün nükleus içine dağılır, profaz ilerledikçe nükleusun kenarlarına doğru çekilirler ve nükleusun ortası boş kalır, nükleus zarı parçalanmaya başlar. Kromozomların kısalması maksimuma erişir,

her kromozomun iki kromatidden oluştuğu görülür. Nükleus dışında da iğ iplikleri ve asterler oluşmaya başlar. Nükleusa yakın sitoplazma bölgesinde iki çift sentriyol bulunur. Sentriyol çiftlerinin çevresinde çok sayıda kısa mikotübüllerden oluşan her yöne ışınsal uzanan ortak yapı aster vardır. Birbirlerinden ayrılan sentriyol çiftlerinin arasında iğ iplikleri oluşumu başlar.



**METAFAZ** : Nükleus zarının parçalanmaya başlayıp kaybolması ile nükleus materyali sitoplazmaya karışır ve metafaz başlar. Nükleus zarının kaybolmadığı mitoz bölünmeye protozoada rastlanır. Bu durumda mitoz bölünmenin bütün evreleri nükleus zarı kaybolmaksızın devam eder ve sona erer. Bu tür mitoz bölünmeye endomitoz denir. Artan

kromozomlar nedeniyle endoploid nükleuslar oluşur. Nükleus zarının erimesi ile hücrenin merkezinde daha akışkan bir bölge görülür ve kromozomlar ekvator düzlemine doğru bağımsızca hareket ederler. Ekvatorial sıralanma mekanizmasına metakinez denir.

Kromozomlar ekvatorial düzleme ışınsal sıralanır. Ekvator düzlemi sitoloji çalışmaları için çok önemlidir, çünkü kromozomlar en kolay şekilde burada olduklarında sayılabilmektedir ve bu nedenle kolşisin gibi mitozu metafazda durduran ajanlar kullanılmaktadır. Ekvator düzleminde küçük kromozomlar içe doğru, büyük kromozomlar dışa doğru dizilir. Kromozomların kinetokorundan kutuplara uzanan iğ ipliklerine kromozomal iğ iplikleri denir.



**ANAFAZ** : Kromatidleri bir arada tutan sentromerlerin bütün kromozomlarda aynı anda birbirlerinden ayrılmaları ile kromozomları ekvator düzleminde tutan kuvvetler arasındaki denge bozulur ve serbest kalan kromatidler kinetokor bölgesinden başlayarak birbirlerinden ayrılıp karşı kutuplara doğru çekilmeye başlarlar. Kromozomların kutuplarda kümeleşmeleri ile

telo faz başlar.





**TELOFAZ** : Kromozomların kutuplara göçünün sona ermesi ile telofaz başlar, nükleus yeniden oluşur. Kromozomlar yavaş yavaş yoğun görünüşlerini kaybederler ve sarmal yapıları açılırken kromatin kitlesini oluştururlar. Yeni oluşan yavru nükleusların sitoplazmaya bakan yüzleri yüzleri üzerinde yer yer nükleus zarı oluşumu başlar, nükleolus oluşur. Asterler azalmaya başlar, telofaz sonunda tamamen kaybolur.

**SİTOKİNEZ** : Nükleus bölünmesini izler , ondan tamamen bağımsızdır.

**Hayvan Hücrelerinde Sitokinez** : Telofazda iğ iplikleri mikrotübülleri bozulup kaybolmaya başlarken ekvator düzleminde interzonal mikrotübüllerin sıklaştıkları ve çevrelerinin veziküllerle sarıldığı görülür. Bu oluşan yapıya orta cisim denir. Aynı anda hücre yüzünün ekvator düzleminde içeri doğru sanki bir iplikle boğuluyormuş gibi çökmeye başladığı görülür. Bu sıkılma gittikçe ilerler ve orta cisim varana kadar devam eder. Boğumlanmanın tamamlanması ile yavru hücrelerin birbirlerinden ayrılması sağlanır.

Ayrıca bölünen hücrenin tam boğulma bölgesindeki plazma zarının hemen altında çok ince mikrofilamentlerden oluşan bir sistem bulunmuştur. Bu mikrofilamentlerin aktine benzer bir proteinden yapıldığı gösterilmiştir. Ayrıca aktin ve miyozin antikorları kullanılarak da hayvan hücrelerinde sitokinezde oluşan kasılma halkada bu iki kasılma proteininin bulunduğu gösterilmiştir [3].

## 2.5. Balıklarda Kromozom Kaynakları

Kromozom preparasyonlarında aktif olarak bölünen dokular kullanılır. Bu amaçla balıklarda genellikle embriyonik dokular, solungaçlar, ön böbrekler, bağırsaklar ve pul epiteli gibi dokular bölünen hücrelerin mükemmel kaynaklarıdır. Ayrıca, lenfosit ve fibroblastların kültürleri de bölünen hücreler için iyi bir kaynaktır.

Ergin balıklardan sağlanan hücre ve dokular, ergin memelilerininkine göre daha iyi kültür edilebilir. Çünkü, genellikle balıkların biyolojisi gereği, büyüme hayat boyu devam eder ve kendini yenileme özelliğine sahiptir. Örneğin, yüzgeçleri kesildiğinde yeniden oluşabilir. Bununla beraber, embriyonik balık hücreleri çok daha iyi kültür edilebilirler.

Embriyonik doku, genellikle bakteriyolojik olarak steril olma, gizli virüse sahip olma riskinin çok düşük olması, hücre depo ürünlerinin nispeten az olması ve hücre unsurlarında çok küçük bir farklılaşma olması gibi avantajlara sahiptir. Dezavantajı ise, özellikle bazı balıkların çok küçük olmasından dolayı doku elde edilecek kasların çok küçük olmasıdır. Ayrıca, embriyoların elde edilmesi, özellikle pelajik yumurta bırakan türlerde çok zordur (örneğin, birçok balık embriyosu yılın sadece belli bir döneminde bulunabilir).

Kültürü daha kolay ve iyi olan ikinci doku tipi ise tercihen genç balıklardan alınan ve olgunlaşmamış gonadlardır. Çünkü, doku farklılığı çok daha azdır ve çok daha iyi jerminal (oluşum safhasındaki) dokuya sahiptir. Ovaryum, genellikle testisten daha fazla tercih edilir ve tam olgunluk anında kültürü yapılabilecek bolca hücre sağlar. Tam olgunlaşmamış ovaryumdaki yumurta sarısı ve kabuk en büyük kitleye sahiptir. Gonad dokusu kültürü, daha düşük seviyeli omurgalılar arasında yaygın olarak uygulanan bir yöntemdir.

Kültürü yapılabilecek diğer dokular ise; yüzme kesesi, yüzgeç, bağırsak, kornea, solungaç ve deridir. Dalak ve böbrek gibi hematopoietik dokular da kültür için uygundur. Kemikli balıkların dolaşım sistemlerindeki lökositlerden kültür kabı yüzeylerine yapıştırılarak çok iyi monolayer hücre kültürleri oluşturulabilir.

Wolf ve Quimby, stannius cisimcikleri ile başarılı olamamalarına rağmen Lewis ve MacNeal, hipofiz bezinden, McLimans pankreas dokularından alınan hücreleri büyütebilmişlerdir. Bakteriyel kontaminasyon kontrol altına alınabildiği takdirde mide bağırsak dokuları da tercih edilebilir [5, 32].

**1) Yüzgeç ve Pul :** Kromozom çalışması için doku seçiminde, öncelikle organizmayı öldürmenin gerekli olup olmadığına karar verilmelidir. Çoğunlukla, son kararın verilmesinde balığın fiyatı ve kolayca bulunup bulunmamasına göre karar verilir. Yüzgeç ve pul epiteli gibi dokular, hayvan öldürülmeden 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. [33]. Bu dokulardan yapılacak preparasyonlar, genellikle mükemmel sayılabilecek metafaz yayımları sağlar.



**Resim 4.** *Eigenmannia virescens*' in yüzgeç epitelinden elde edilmiş metafaz yayılımı [34].

Bu dokuların seçilmesiyle, ayrıca kolşisin gibi iğ ket vurucusu (iğ oluşumunu engelleyici) ile ön muameleye tabi tutulmaksızın kromozom çalışması yapabilmek avantajı sağlanmış olur. Kromozomların fazla kasılması (büzülmesi) veya kromatidlerin muhtemel kırılma tehlikesi yoktur. Yüzgeç ve pulların kullanılmasının en önemli dezavantajı ise, bu dokulardaki bölünen hücrelerin genellikle az sayıda olmasıdır.

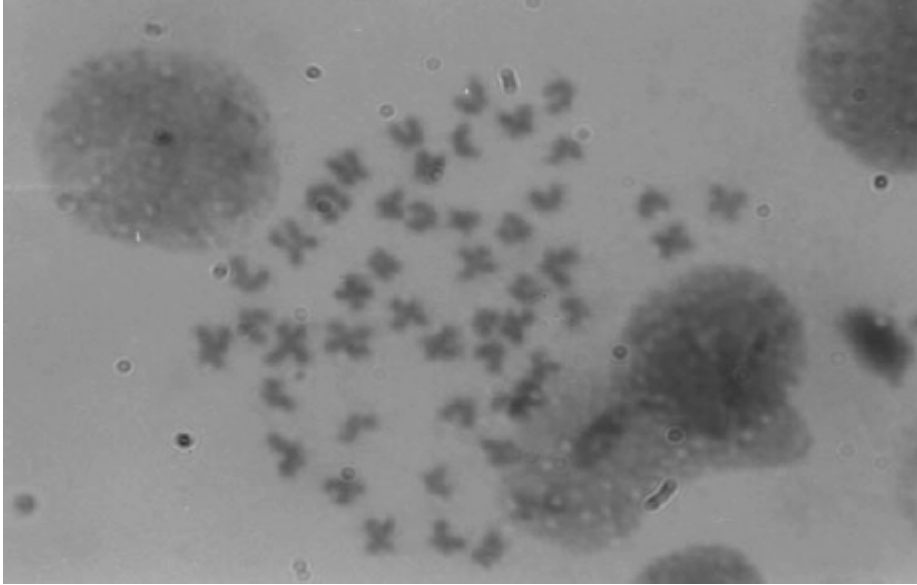
Rejenere (yeniden oluşturulmuş) yüzgeçten daha fazla metafaz şekilleri elde edilebilir. Bu amaçla, sırt yüzgeci (dorsal yüzgeç) veya çift yüzgeçlerin (pektoral ve ventral yüzgeçler) uçları kesilir ve iki üç gün sonra rejenerasyon işaretleri gözlenilmeye başlanıldığında rejenerasyon işlemi amacıyla alınabilir. Şayet organizmayı öldürmek bir problem oluşturmayacak ise, yüzgeç ve pullardan doku örneği almadan önce birkaç saat balık sulu bir ortamda kolşisin ile muamele edilebilir.

Bu muamele mitotik indeksi önemli derecede arttıracaktır. Yüzgeç dokusunu rejenerasyon etmek ile birlikte kolşisin kullanmak suretiyle daha da fazla metafaz şekli

elde edilebilir. Ancak, rejenerasyon işaretlerinin görünmeye başlamasından sonra ve bu dokuya işlem uygulamadan yaklaşık 5-6 saat kadar önce kolşisin ilave edilmiş olmalıdır.

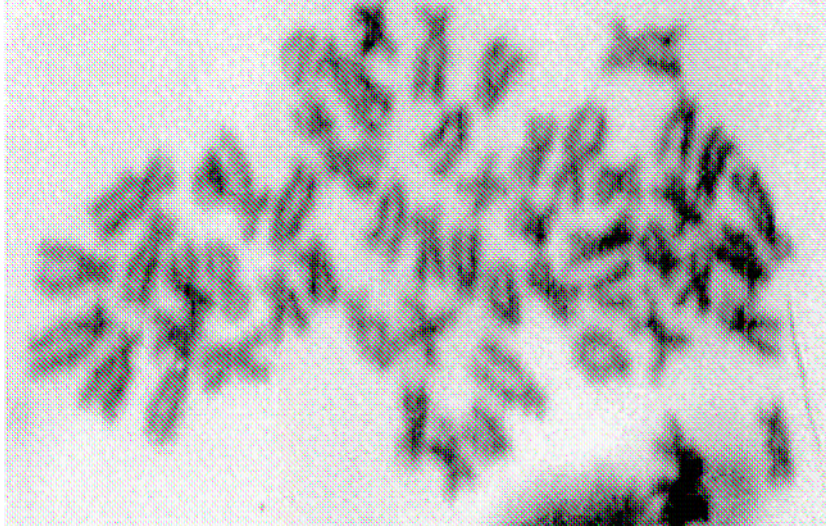
**2) Solungaç :** Kromozom elde etmek amacıyla solungaç epitelinin kullanımı ilk olarak McPhail ve Jones adlı araştırmacılar tarafından gerçekleştirilmiştir. Bu dokudan, kolşisin ön muamelesi uygulanarak veya uygulanmaksızın da metafaz şekilleri elde edilebilir. Bununla birlikte, kolşisin muamelesi, çok sayıda metafaz yayılımları sağlaması bakımından daha çok tercih edilir. Bu dokulardan elde edilen hücreler, farklı flamentler içinde aktif ve sabit bölünme oranına sahiptirler. Genellikle araştırmacılar, posterior solungaç yayının daha düşük flamentleri 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 iseler, deri ve solungaçlar mukus veya yıkıntılar ile kaplanmış olur. Lamların hazırlanmasında, hücrelerin zarar görmemesi amacıyla, bu durum fazladan bir işlem olarak solungaçların temizlenmesi gerekir. Ayrıca solungaçlar, kromozom çalışmaları için bolca doku örneği alınabilen organlardır. Bu amaçla bir çok balıkta 4-7 çift olan solungaç flamenti, yeterli materyali sağlamaktadır.



**Resim 5.** *Alburnus heckeli*'nin solungaç epitelinden elde edilen metafaz evresindeki kromozomlar [35].

**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 6.**  $2n=56$  kromozomlu *Clarias lazera*'nın böbrek dokusundan elde edilen metafaz yayılımı [36].

**4) Kornea :** Bazı araştırmacılar tarafından kromozom çalışmalarında kornea ve conjunctial epitel doku kullanılmıştır. Bu dokular, genç balıklarda çok hızlı bölünürler ve bölünme oranı, gözü hasara uğratmak veya kolşisin ön 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 [37], balık embriyoları ile çalışmadaki birkaç dezavantajı şu şekilde açıklamıştır; Öncelikle, embriyoları elde etmek, tür ve cinsiyet tayini yapmak zordur.

Yapay dölleme bu zorluklara çare bulmakla birlikte olgun gametlerin elde edilmesi bir çok balıkta mümkün olmayabilmektedir (böylece embriyoları elde etme ihtimali elimine edilmektedir). Diğer bir zorluk, embriyonun büyüklüğüdür. Gerçi, salmonların döllenen yumurtaları yeterince büyüktür ve blastomerler işlemden önce yumurtadan kolaylıkla ayrılabilir. Bununla beraber, küçük yumurtalı balıklarda blastomerlerin yumurta sarısından uzaklaştırılmaları oldukça zordur ve bu durum iyi bir boyama işlemine de engel olmaktadır. Geç 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 işlem mahareti kazanmış 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. Zira diploid ve haploid sayıların her ikisi de elde edilebilmektedir. 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 arttırır. Bununla beraber, bu işlem poliploid hücreler oluşma ihtimali göz önünde tutularak kısa tutulmalıdır.

**7) Doku Kültürü :** Kromozom çalışmalarında yeterli sabır, zaman ve parasal açıdan yeterli kaynaklara sahip olunmuşsa, kromozom elde etmek için doku kültürü metodu da uygulanabilir. Balıklarda doku kültürü kısa bir geçmişe sahip olmasına rağmen bir hayli iyi kalitede metafaz şekilleri aktif olarak bölünen fibroblastlardan *in vitro* muamele yoluyla gerçekleştirilmektedir. 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 yayımlar bir hayli fazladır. Eski teknikler hemen hemen standartlaştırılmıştır.

Roberts [38], tarafından gerçekleştirilen bu yöntemde *Salmo salar*'ın ovaryum dokusundan kültür hazırlanmıştır. Bu yöntemde dalak, kalp ve testis dokusu 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 santigrat derece 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 asetoorsenle boyama yapılır. Daha sonra uygun metafaz yayılımlarının fotoğrafları çekilir.

**8) Lökosit Kültürü :** Kromozom elde etmek için en mükemmel teknik olarak, kan lökositlerinin kültür edilmesi gösterilebilir. Bu teknik ilk kez 1960'da insan kanını kültür etmek için kullanılmıştır. Daha sonra kuşlar, sürüngenler ve kurbağagiller gibi diğer organizmalardan elde edilen kanlar da başarılı bir şekilde kültür edilmiştir.

Lökositler, normal olarak hemopoietik dokuda üretilirler ve kanın vücutta dolaşımı içinde değişime uğramazlar. Mitojen olarak adlandırılan bazı kimyasalların bulunduğu durumlarda kırmızı kan hücreleri aglutine olabilirlerken (yapışabilirken), lökositler tek bir bölünme geçirmeye teşvik edilirler. Bu işlemler rutin olarak *in vitro* olarak gerçekleştirilebilirler. Mitojenler iki tiptirler. Bunlardan en yaygın kullanılanlardan birisi PHA (phytohemaglutinin)'dir.

PHA, fasulye (*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 arttırılmasına ihtiyaç duyulabilir. PHA (P) ise, PHA (M)'den daha çok saflaştırılmış olup PHA (P)'nin hemaglutine işlemi ve mitoz uyarma kapasitesi bakımından yaklaşık 5 kat daha tesirlidir.

En yeni mitojen, Pokeweed Mitojeni (PWM)'dir. PWM, şekerci boyası (*Phytolacca americana*)'dan 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 yüzeyleleriyle her hangi bir şekilde bir antijen-anti body tarzında tepki gösterdiği fikrine sahiptir

Yine birçok araştırmacı, balık kan kültüründe başarılı olmuştur. Labat ve ark. [39], ilk olarak Doğa sazanından (*Cyprinus carpio*) alınarak kültür edilmiş lökositlerden kromozom elde etmişlerdir. Heckman ve Brubaker [40], *Carassius auratus*'un lökositlerinden kromozom preparasyonları yapmışlardır. Daha sonra, Heckman ve ark. [41], bu tekniğin kullanımında tür seçiminin başarılı yapılması gerektiğini belirtmişlerdir. Çünkü, Heckman ve Brubaker [40], 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 payda, PHA (M)'nin tetraploid bir organizma ile kullanılmasıdır.

Baker [42], deniz balığı olan *Pleuronectes platessa*'nın kan dolaşımındaki olgunlaşmamış lökositlerinden kromozomlar elde etmek için yeni bir metod geliştirerek, bu tekniğin diğer deniz formlarıyla da başarıyla kullanılabileceğini belirtmiştir. Bu metotta mitojen kullanılmamış ve kromozomlar üç saat içinde hasat edilmişlerdir.

Lökosit kültürü yardımıyla rutin olarak yüksek kalitede ve çok sayıda metafaz şekilleri elde edilebilmesinden dolayı, balıkların somatik hücrelerinden kromozom çalışmaları yapmak amacıyla diğerlerinde daha uygun sayılabilir.

## **2.6. Karyotip Çalışmaları Üzerine Genel Bilgiler**

Denton [34], optimum berraklık (netlik) elde etmek için bir prosedür önermiştir. Bu prosedür, başlangıçta zaman kaybettirecektir, fakat birkaç deneme sonunda daha çabuk yapılabilecektir. Bu prosedür özellikle resim çekilmeden önce uygulanmalıdır. Söz konusu prosedür, immersiyon yağı objektifi kullanılarak aydınlatma (Koehler aydınlatma) sistemine sahip bir araştırma mikroskobu için geçerlidir.

1. Kondansatör diyaframını kapatılır ve saha (ışık kaynağı) diyaframı açılır. Kondansatör diyaframının kapalı lifleri üzerindeki ışık filamentinin görüntüsü odaklanır.
2. Mikroskop tablası üzerine boyanmış kromozomları içeren bir lam konulur ve immersiyon yağı ile bir görüntü elde edilir.



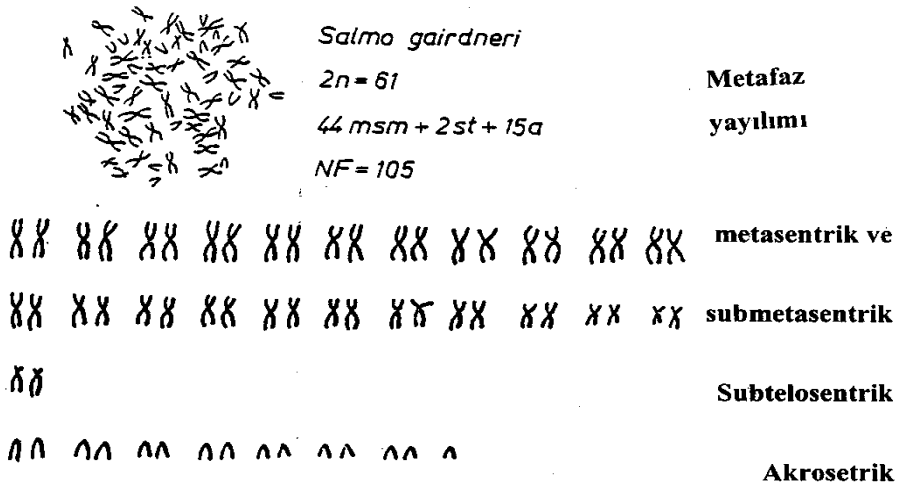
3. Kondansatör diyaframı açılır ve küçük bir ışık halkası oluşturacak şekilde saha diyaframı kapatılır.
4. Kenarlar, keskin odakta olana kadar kondansatör ayarlanır, daha sonra kenarlar sahadan tam kayboluncaya kadar saha diyaframı açılır.
5. Oküler uzaklaştırılır ve sahanın yaklaşık  $\frac{3}{4}$ 'ü görünecek kadar tabla altı kondansatörü kapatılır. Şayet kondansatör merkezden uzak ise, kondansatör onun kenarları üzerinde yerleşmiş merkezleme vidaları yardımıyla ayarlanabilir.
6. Oküleri tekrar yerine konular ve ışık sahasının yoğunluğu değiştirilir. Kondansatör ve ışık kaynağı arasına konulan yeşil bir filtre, görünebilirliği berraklığı düzeltecek ve iyi bir fotoğraf çekimi sağlayacaktır. Şayet ışık çok parlak ise, nötral yoğunluk filtreleri kullanılmalıdır.

Kriyojenik çalışmalar için önerilen prosedür ise şöyledir:

1. İnceleme esnasında memnuniyet verici kromozom yayımları ile karşılaşıldığında, hücrelerin koordinatları ilave açıklamalar ile birlikte kaydedilir.
2. Doğru bir sayım yapılabilmesi için iyi kromozom yayımlarının fotoğrafları çekilir veya elle çizilir. Bir video monitöründe de sayımlar yapılabilir. Ayrıca, monitör üzerine bir asetat kalemi konularak, mürekkebi su ile silinebilir bir kalem ile kromozomlar kopya edildikten sonra bu kopya üzerinde de sayımlar gerçekleştirilebilir.
3. İmmersiyon yağı ile incelemenden sonra, lam üzerindeki yağın giderilmesi amacıyla kurutma kağıdı ile lam kurutulur.

Karyotipler, iyi yayılma gösteren metafaz kromozomlarından hazırlanır. Ancak, aynı çekirdekteki benzer kromozomlar arasında boyca eşitlik varsa, bu takdirde zorlukla karşılaşılar. Bazen, bazı kromozomlar diğerlerinden daha çok kısalmış olabilir. Böylece özellikle insan ve diğer memelilerin kromozomlarıyla karşılaştırıldığında zaten çok küçük olan balık kromozom ölçümleri daha da zorlaşır. Diğer bir problem, balık karyotiplerinin insanda veya diğer hayvan türlerindeki gibi özdeş olmamalarıdır. Bu nedenle, balıklardaki farklılıklar (polimorfizm) sadece türler arasında değil, bir balık türü için de gözlemlenir. Dolayısıyla standart bir karyotipe sahip değillerdir. Fakat, genel olarak karyotip prosedürü 2 yolla olur.

**1. Göz Karyotipi (Serbest el Çizimi):** Göz karyotipi genellikle önemsenmez ve nadiren kullanılır. Bu yöntem, kromozomların direkt olarak görünüşlerinin serbest el ile çizimidir. Çizimi takiben çeşitli kromozom tipleri kağıt üzerine çentik işareti konularak hesaplanır ve gruplandırılır (Resim 7). Böylece araştırmacı iyi yayılmayan kromozomları daha iyi teşhis etme imkânına sahip olur. Göz karyotipleri, foto karyotip ile bağlantılı kullanıldığı zaman daha iyi neticeler elde edilebilir. Göz karyotipi ayrıca, her metafaz yayımını sık sık fotoğraflamaya gitmeksizin kromozom sayımlarının yapılmasını sağlar.



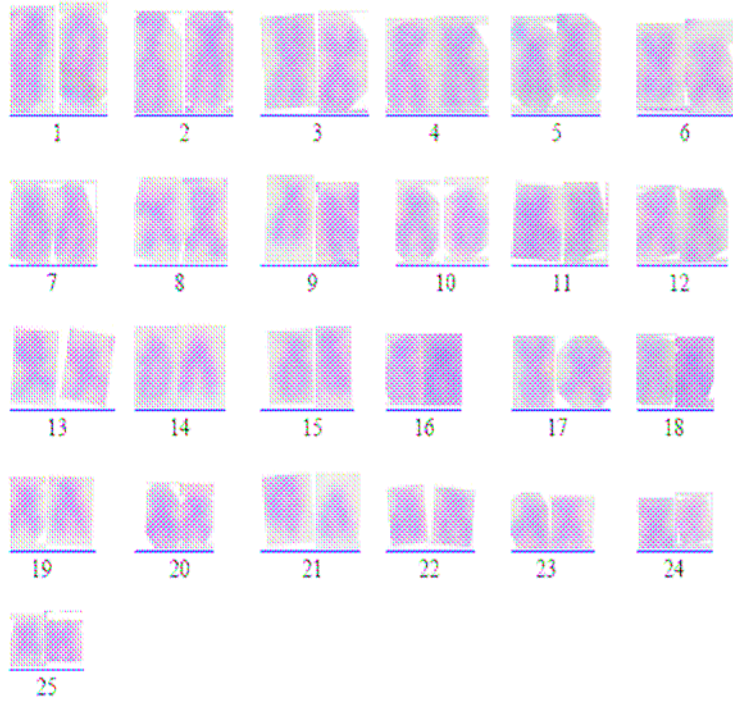
**Resim 7.**  $2n=61$  kromozomlu gökkuşağı alabalığına ait metafaz yayılımı ve göz karyotipi [43].

**2. Foto-Karyotip:** Fotokaryotip, bir hücreden elde edilen metafaz yayımlarının çekilmiş olan fotoğraflarından kromozomların teker teker kesilerek belli bir kurala göre düzenlenmesidir.

İncelenen olgularda sayısal ya da yapısal anomaliler tespit edildikten sonra fotoğraf çekimi yapılır. Karyotip analizlerini ve kromozom ölçümlerini yapmak için devamlı veya yeni yapılmış devamlı olmayan preparatlardan faydalanılabilir. Bu amaçla, iyi yayılma gösteren, fazla büzülmemiş, kromozom morfolojileri iyi görülebilen, kromozomları bir düzlem üzerinde bulunan en iyi somatik hücreler seçilir.

Daha önce belirtildiği gibi, seçilen hücrelerin  $\times 1000$  veya  $\times 1600$  büyütme, fotoğraf makinesi ile teçhiz edilmiş bir mikroskoptan (ör. 35 mm'lik otomatik fotoğraf makinesi donatılmış Zeiss mikroskop yardımıyla)  $24 \times 36$  mm filmler üzerine

fotoğrafları çekilir. Kromozomlar “Distar 200 slide viewer (lam görüntüleyici)” kullanılarak sayılır. Kromozomların negatif filmleri, mikrofilme alınan yazıları okumada kullanılan alete veya fotoğraf agridizörüne konulur. Bu aletlerden masa üzerindeki kağıda yansıyan kromozomların görüntülerince uçlu bir kalem ile çizilir. Kağıt üzerinde onların kısa ve uzun kollarının boyları mm olarak ölçülür. Kromozomların mikroskopta fotoğrafları çekilirken hakiki büyütmenin ne kadar olduğunu belirlemek için bir objektif mikrometrenin de fotoğrafları çekilir. Mikrometrenin negatif filmi aynı alete konularak 1  $\mu$ 'nin filmde ne kadar büyütüldüğü bulunur. Böylece, kromozomların boyları  $\mu$ m olarak verilir.



**Resim 8.**  $2n=50$  kromozumlu *Acanthalburnus microlepis*'in foto-karyotipi [44].

Burada dikkat edilmesi gereken nokta, kromozomların boyları ölçülürken, ikincil yapılar, sentromerler gibi boyanmayan ve uzaklıkları değişiklik gösteren kısımlar ölçünün dışında tutulur.

Aynı hücre içinde bulunan kromozom boylarını birbirleri veya anaçları ilerideki döllerini ile karşılaştırmak için kromozomların oransal boyları kullanılır. Çünkü, ölçülen her hücrede kromozomlar diğer hücrenin kromozomlarından az çok farklı bir

şekilde büzülmüş olabilir. Halbuki, bir hücrenin kromozomları hemen hemen aynı derecede büzülmüş bulunabilir. Her ne kadar, örnekler alınırken, preparatlar yapılırken ve diğer bütün işlemlerde her preparata mümkün olduğu oranda aynı yöntemler uygulanırsa da kromozom ölçülerinde deneylerin hatalarını tamamen ortadan kaldırmak mümkün değildir. Bu bakımdan, kromozomların boyu, hücre içindeki diğer kromozomların toplam boylarına oranlanırsa, elde edilen oran hücreden hücreye az bir değişim gösterir. Böylece bir hücrenin kromozomları diğer bir hücre ile daha güvenli bir şekilde karşılaştırılır. Oransal kromozom boyları çok sayıda kromozomu olan hücreler için bir katsayı ile çarpılabilir. Böylece, çeşitli sayıda kromozomları bulunan hücreleri doğrudan doğruya karşılaştırmak olanağı bulunabilir.

$$OB = (KB/TB) \times 50$$

Burada; OB: Bir kromozomun oransal boyu,

KB: Kromozomun boyu (c)

TB: Hücredeki bütün kromozomların toplam boyudur ( $T_c$ ).

Kromozom kolu indeksi; uzun kol boyunun kısa kol boyuna bölünmesi ve kısa kol boyunun uzun kol boyuna bölünmesiyle elde edilebilir. Bu suretle, kromozomların tanımında hangi kolun daha uzun olduğu ve sentromerlerinin yeri belirlenir.

Kromozomların oransal boyu ve kol indeksleri bir karyotipteki homolog kromozomların belirlenmesinde kullanılabilir. Özellikle, çok sayıda kromozomu bulunan ve morfolojileri birbirine benzeyen kromozomlara sahip olan karyotiplerde homolog kromozomların belirlenmesinde bu iki ölçünün kullanılması kolaylık sağlar. Karyotip çalışmalarında örneğin, bir tür içinde ve anaçlar ile ilerideki döller arasında yapılan karşılaştırmalarda kromozomlar oransal boy sınıflarına göre gruplandırılabilir. Anaçların her birinde beş somatik hücrede kromozom ölçüleri yapılır. Böylece,  $2n$  kromozom yani bir kromozom ve bir de onun homoloğu olan, aynı değerdeki iki kromozom ölçülmüş olur. Beş hücrede bir kromozom beş defa ölçülür., beş defa da bu kromozomun homoloğu olan kromozom ölçüldüğüne göre 10 kromozom ölçüsü elde edilmiş olur. Hesaplar bu 10 kromozomun ölçüleri üzerinden yapılabilir. Yalnız, bir melezlemede  $F_1$ 'de kromozomların homoloğu bulunmadığı zaman 10 ayrı hücrede kromozomlar ölçülerek burada da 10 kromozom ölçüsü

üzerinden hesaplar yapılır. Amfidiploid de homolog kromozomlar tespit edilebilir. Böylece 10 homolog kromozomun ölçüsü esas alınarak istenilen değer bulunur.

Her kromozomun boyu, kısa kol ve uzun kol boyları daha evvel anlatılan yöntem ile kromozom şekillerinin çizildiği kağıtlar üzerinde verniyerli kumpas veya bir cetvel ile mm olarak mm'nin 0.1'ine kadar ölçülür. Bir kromozomun iki kol boyu toplamı, kromozomun boyunu verir. Her kromozomun ayrı ayrı oransal boyu ve kol indeksleri hesaplanır. Kol indeksleri ve oransal boyları birbirine yakın olanlar homolog kromozomlar olarak belirlenir. Ayrı bir cetvel hazırlanarak homolog kromozomlar cetvelde birbirinin yanına getirilir. Şimdi, 5 hücrenin her birinde örneğin, en uzun olan ikişer kromozoma (homolog kromozomlara) bir numara verilir. Sıra ile diğer homolog kromozomlar da numaralandırılır. Sonra, aynı numarayı (örneğin 1 no) alan 5 ayrı hücredeki 10 homolog kromozomun kısa kollarının boyları toplanıp ortalaması alınarak 1 numaralı kromozomun kısa kol boyu bulunur. Aynı yoldan gidilerek kromozomun uzun kol boyu hesaplanır. Ortalama kısa ve uzun kol boylarının toplamı bu kromozomun ortalama boyu olarak kabul edilir. Gerçek kromozom boyları bu rakamların  $10 \times 100 \times 3 = 3000$ 'e (şayet oküler  $10\times$ , objektif  $100\times$  ve agridizör  $3\times$  büyütme ise) bölünmesi ile  $\mu\text{m}$  olarak bulunur. 1 numaralı 10 homolog kromozomun oransal boyları toplanıp ortalaması alınarak kol indeksleri bulunur.

Eğer bir melezleme yapılmış ise, o zaman anaçların ve melezin ( $F_1$ ) kromozom boyları, kromozomların oransal boyları ve kol indekslerine ait çizelgeler de aynı şekilde hazırlanır. Karyogram yapmak için homolog kromozomların fotoğrafları eşler halinde yan yana getirilmelidir. Bunun için her hücrenin çok iyi çekilmiş fotoğrafı seçilmelidir. Hücrede bütün kromozomlar kendi morfolojik özelliklerini göstermelidir. Satellit, sentromerin yeri ve diğer yapılar açık bir şekilde görülmelidir. Metafaz devresinde kromozomlar büzülmüş olmamalıdır. Aynı zamanda, henüz tam metafaz devresine erişmemiş uzun ince yapılı kromozomları olan hücreler de bu amaçla kullanılamazlar. Bu seçilen fotoğrafta homolog kromozomlar bulunup üzerlerine aynı numaralar yazılmalıdır. 1 numaralı en büyük iki homolog kromozomun fotoğrafı kesilir, bir eksen çizilir. Kromozomların sentromerleri bu eksen üzerine gelecek şekilde kağıda yapıştırılır. 2 numaralı bir çift homolog kromozomun fotoğrafları da yan yana yapıştırılarak ve bu işlemlerin diğer numara

verilmiş homolog kromozomlara uygulanması sureti ile bir bireye ait karyogram hazırlanmış olur.

Bir balık karyotipi hazırlamak amacıyla Denton şu metodu tavsiye etmektedir [34].

**1.** İyi seçilebilirlikli (kontrastlı) bir fotoğraf kağıdından kromozomlar tek tek kesilir. Resim, mümkün olduğu kadar netlik kaybı olmaksızın büyük olmalıdır. Ayrıca, kol ölçümlerini belirlemek için, karyotip yapmak amacıyla kromozom kesimi ve kontrol için üçer adet resim bastırılmalıdır. Makas kullanılmasıyla birlikte sert bir karton parçaya resmi sabitleştirmek ve keskin bir sivri bistüri ile kromozomları kesmek daha hızlı ve kolaydır.

**2.** Kromozom kesimleri yapılır yapılmaz kayıplarını önlemek için bir taşıyıcıya (örneğin; petri kutusu) konulur.

**3.** Uygun büyüklükte beyaz poster levha parçası üzerine kromozomlar homolog çiftler halinde düzenlenir. Kromozomlar, boy sırasına ve birbirine benzerliklerine (homolog olma durumlarına) göre gruplandırılırlar (örneğin; metasentriklerin hepsi eşlendirilir ve en büyükten en küçüğe doğru birlikte gruplandırılır). En sonda cinsiyet kromozomları veya tek kalan kromozomlar uygun olarak gruplandırılır.

**4.** Çok daha doğru düzenlemeler için, her bir kromozom kumpas veya benzer bir alet ile ölçülmeli ve değerler her bir kesimin arkasında kaydedilir. Ölçümler; tam uzunluk, her bir kolun uzunluğu ve uzun kolun kısa kola bölünmesiyle elde edilen kol oranını (L/S) içerir. Akrosentrik kromozomlar için bu son değer sonsuz olarak değerlendirilecektir. Kromozomların eşleştirilme işlemi çıplak gözle yapıldığı esnada ölçümlerde yapılmalı ve tarafsız davranılmalıdır.

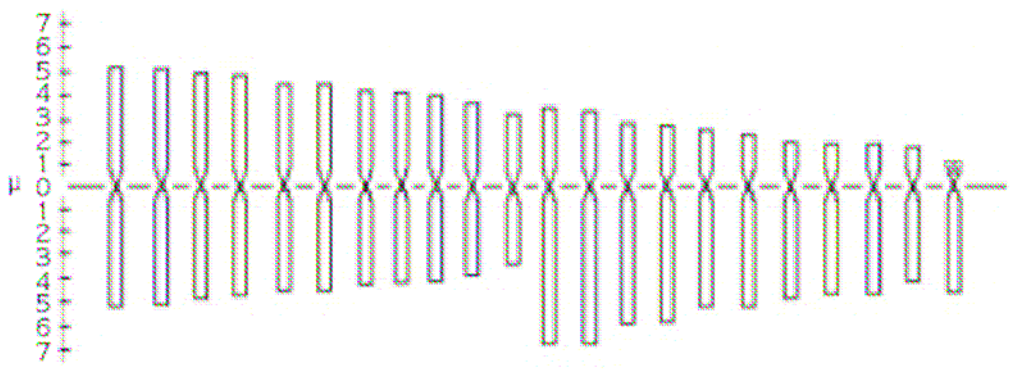
**5.** Daha önce son şekli verilerek gruplandırılmış kromozomlar, İskoçya işareti gibi daha iyi düzenlenmiş sıralar haline getirilir. Kromozomların yerlerinin değişmemesi için şerit su ile hafifçe ıslatılır. Bütün kenarlar kapanır ve baş parmak ile bastırılarak hava kabarcıkları giderilir.

**6.** Her bir kromozomun göreceli uzunluklarını  $\mu$  olarak gösterecek şekilde kromozomların oluşturduğu şeritlere paralel olarak bir skala yerleştirilir. Bu skala, mikroskoptaki en uzun kromozom ölçüldükten sonra fotoğraftaki aynı kromozom ölçülüp iki ölçümü ayarlayan kromozomlar arasında bir hat yerleştirilerek yapılır.

7. Son karyotipin fotoğrafı çekilebilir ve arzulanan herhangi bir büyüklüğe basılabilir. Bu son fotoğrafın büyütmesi, kromozomun gerçek uzunluğu ile mikron olarak en uzun basılmış kromozomun uzunluğuna bölmek suretiyle belirlenir.

### 2.7. İdiogram

İdiogram, sentromer pozisyonu ve uzunluk (boy) azalış sırasına göre kromozomların haploid bir unsurunun şema halinde (düz hatlar şeklinde) düzenlenmesidir. İdiogram, iki veya daha çok organizma türünün özelliklerini karşılaştırmada kullanışlıdır. İdiogram hazırlamak için, bir bireyin kromozomlarının büyükten başlayarak kısa ve uzun kol boylarının ortalama değerleri bulunur. Kağıda çizilen yatay eksen üzerine belli bir oranda kromozomların ortalama kol boylarını belirleyen 3-4 mm'lik kalın dik çizgiler halinde kromozomların önce uzun kolu çizilir. Sonra, 1 mm kadar sentromerin yerini belirleyen bir aralık bırakılır. Aynı kalınlıktaki çizgi ile devam edilerek kromozomun kısa kolu belirtilir. 5 mm aralık bırakılarak ikinci kromozomun aynı kalınlıktaki bir çizgi ile önce uzun kolu çizilir. Sonra 1 mm sentromer yeri olarak boş bırakılır. Aynı kalınlıkta kısa kol belirlenir. Böylece, çizgi ile bireyin bütün kromozomları çizilerek idiogram hazırlanır



Şekil 2.  $2n=44$  kromozumlu *Garra rufa*'nın haploid idiogramı [45].

### 3. MATERYAL VE METOD

Araştırmada kullanılacak *Orthrias angorae*'nın temini için Kura-Aras Havzasının sınırları içerisinde bulunan Kars Çayı'na ve Çıldır Gölü'ne ilkbahar aylarından itibaren yaklaşık 10 kez gidildi. Balıklar tutulurken zedelenmelerini önlemek için düşük voltajlı şoker ve çevirme ağ kullanıldı. Balıkların cinsiyet ayırımı gonad analizi ile yapıldı. Balıklar tutuldukları ortamdaki sudan alınır alınmaz, içinde bu ortamdaki sudan bulunan bidonlara konarak, bidonlara oksijen bağlandı. Ortalama ağırlıkları 5-10 gram, uzunlukları 10 cm olan balıklara eşey farkı gözetmeden, vücut ağırlığının her 1 gr için 0.0006 gr Kolşisin (Colchicine) solüsyon halinde hazırlanarak abdominal boşluktan enjekte edilmiştir. Enjeksiyondan sonra balıklar havalandırılmış akvaryuma alınmıştır. Kolşisin verildikten yaklaşık 3.5-4 saat sonra rejenerasyonun yoğun olduğu bölgelerden biri olan solungaç epitel dokusu alınarak bistüri yardımıyla ufak parçalara ayrılmış ve deney tüplerine konularak üzerlerine KCI (0.046) solüsyonu eklenerek, oda ısısında 30-40 dakika tutulduktan sonra 2000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilmiş ve süpernatant atılarak hipotonik hücrelerden ayrılmıştır. Fiksasyonu sağlamak için, 3:1 metanol:asetik asit karışımından hücreler üzerine yaklaşık 7 cc karıştırıcı yardımıyla eklenerek aynı devir ve süreyle santrifüj edilerek süpernatant atılmış, bu işlem iki defa tekrarlanmıştır. Son santrifüj işleminden sonra süpernatant'ın büyük bir kısmı atılıp tüpün taban kısmında kalan 2-3 cc'lik hücre süspansiyonu iyice karıştırılmıştır. Hücre süspansiyonunun, lamalar üzerine yüksekte 1-2 damla damlatılmak suretiyle yayılması sağlanmıştır. Preparatlar havada kurutularak %5'i Giemsa boyası olan Sorenson tamponu içerisinde 20-30 dakika boyanmıştır [5, 9]. Preparatlar mikroskopta incelenmiş ve uygun metafaz dağılımlarının fotoğrafları çekilmiştir.



Kullandığımız çözeltiler ve boya:

Kolşisin : % 6'lık (Serva C22H25NO6)

Fiksatif : Üç kısım Metanol (Merck), bir kısım glasiyal asedik asit (Carlo Erba)

Hipotonik : 0.075-0.046 Molar KCl

Boya : pH: 6.8 Giemsa, yüzde 4-6 arası.

Boyanma işleminde kullanılan tampon önemlidir, genelde Giemsa ile birlikte Sorenson ismi verilen bir tampon kullanılmaktadır.

Sorenson fosfat tampon çözeltisi:

Bu çözelti çeşitli pH değerlerine ayarlanabilir bu işlem için her iki çözeltinin değişik miktarları kullanılarak pH istenilen değere ayarlanır.

Çözelti 1:

$\text{KH}_2\text{PO}_4$ ..... 9.1 gr.

Bidistile su..... 1000 ml.

Çözelti 2:

$\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ..... 11.9 gr.

Bidistile su..... 1000 ml.

pH 5.6 için: Çözelti 1'den 100 ml, Çözelti 2 den 5 ml.

pH 6.0 için: Çözelti 1'den 100 ml, Çözelti 2 den 12.3 ml.

pH 6.5 için: Çözelti 1'den 100 ml, Çözelti 2 den 30 ml.

pH 6.8 için: Çözelti 1'den 100 ml, Çözelti 2 den 50 ml.

pH 7.2 için: Çözelti 1'den 100 ml, Çözelti 2 den 70 ml. [9].

#### 4. BULGULAR

Balıkların beslenmesinin ve su sıcaklığının artırılmasıyla balıkların aktivitelerinin ve dolayısıyla da mitoz bölünmelerin arttığı gözlenmiştir. Kromozom analizini kolaylaştırmak için verilen kolşisinin (colchicine) enjeksiyonundan sonra, yaklaşık 3,5-4 saat bekleme süresinin en iyi sonuçlar verdiği tespit edilmiştir. Bu sürenin az olması halinde metafaz alanlarının azaldığı, uzadığında ise metafaz alanlarının artmasına rağmen kromozom kollarının kontrakte olduğu ve bunun sonucunda analizlerin zorlaştığı gözlenmiştir. Kromozom analizleri yapmak için kullanılan solungaç epitel hücrelerinden yapılan preparatlarda yüksek oranda mitoz bölünme elde edilmiştir. Hipotonikle muameledeki süre 40-45 dakika olarak tespit edilip, bu sürenin altında yapılan işlemlerde hücrelerin yeterince şişmediği, sürenin üstünde yapılan denemelerde ise hücrelerin patlayarak kromozomların dağıldığı gözlemlenmiştir. Preparatların hazırlanması esnasında hücre solüsyonunun lam üzerine damlatma mesafesinin kromozomların dağılımında önemli bir etken olduğu gözlenmiş, ortalama iyi olarak kabul edebileceğimiz mesafenin 10-15 cm civarında olduğu tespit edilmiştir. Yapılan preparatlardaki inceleme sonucunda, *Orthrias angorae*'dan elde edilen 78 adet metafaz dağılımından uygun olanların fotoğrafı çekilerek gerekli değerlendirmeler yapılmıştır. Çizelge 4'de görüldüğü gibi *Orthrias angorae*'nin en yaygın karyotipi  $2n=50$  olarak % 91 oranında bulunmuştur.

*Orthrias angorae* (Steindachner, 1897)'nin solungaç epitelinden elde edilen kromozomların sayısal dağılımı incelendiğinde 48 kromozomlu 2, 49 kromozomlu 2, 50 kromozomlu 71, 52 kromozomlu 3 adet olmak üzere toplam 78 adet metafaz sayılmıştır. Sonuçta en yaygın karyotip  $2n=50$  olarak saptanmıştır. Kromozomların sentromer durumları göz önüne alındığında 7 adet metasentrik, 7 adet submetasentrik, 11 adet akrosentrik kromozom çiftinden oluştuğu gözlemlenmiş ve kromozom kolları sayısı (NF) :78 olarak saptanmıştır.

İnceleme materyali olarak kullandığımız balıktan elde edilen metafazlar yukarıda da değinildiği gibi farklı kromozom sayılarına sahiptir. Burada çeşitli faktörler bu sonucun elde edilmesinde etkili olabilmektedir. Çalışma esnasında işlemlerin yapılması esnasında meydana gelen hatalar, bir metafazdan diğerine kromozom katılımı sonucu bazı metafaz dağılımlarının sahip olduğu kromozom sayısında artış

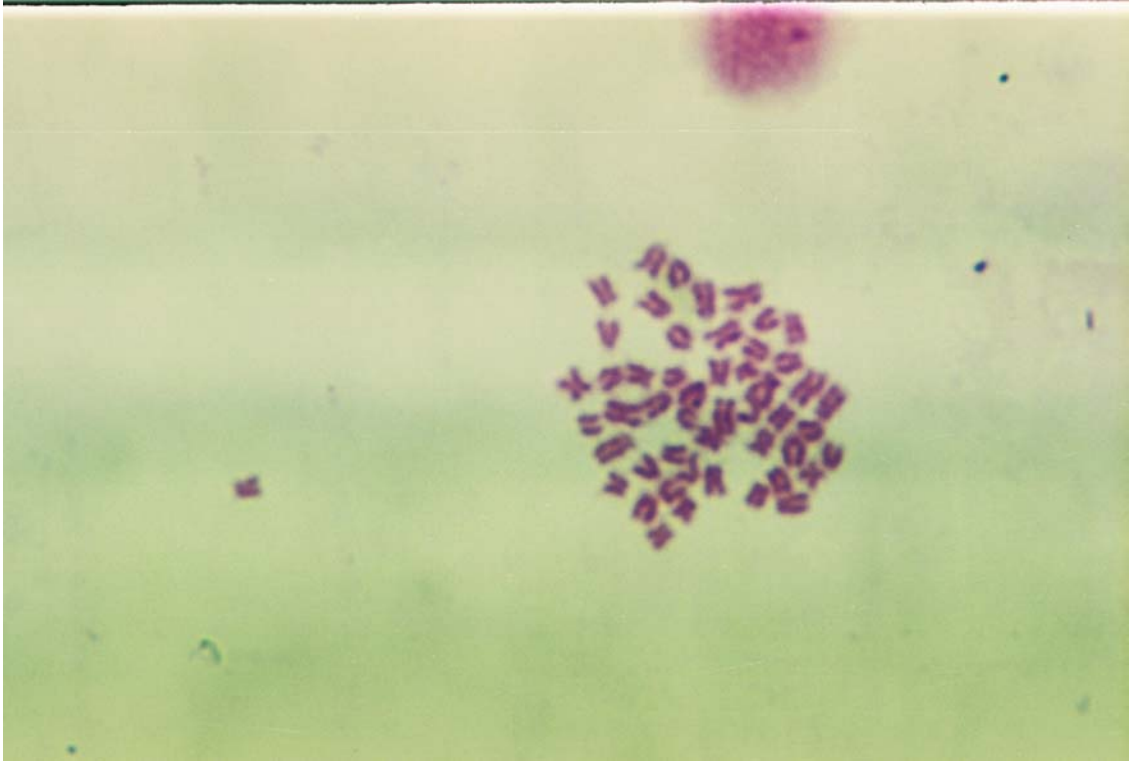
gözlenirken, buna bağlı olarak diğerinde azalma olmaktadır. Bu nedenle bu tür hassas ve sonuçların literatür açısından önemli olan çalışmalarda metafaz dağılımları mümkün olduğunca yeterli miktarda sayılarak sonuçların sağlıklı bir biçimde alınması sağlanmıştır.

**Çizelge 4.** *Orthrias angorae* (Steindachner, 1897)'nin Solungaç Epitelinden elde edilen Kromozomların Sayısal Dağılımı.

Number of fish	Chromosome number				total metaphases	karyotype (2n=50)			
	48	49	50	52		m	sm	a	NF
1	1		5		6	14	14	22	78
2			6	2	8				
3		1	7		8				
4			3		3				
5			7		7				
6		1	5		6				
7			6		6				
8			4		4				
9			4		4				
10	1		3		4				
11			5	1	6				
12			3		3				
13			5		5				
14			3		3				
15			5		5				
Totals	2	2	71	3	78				

m: Metasentrik sm: Submetasentrik a: Akrosentrik NF: Kromozom kolları sayısı

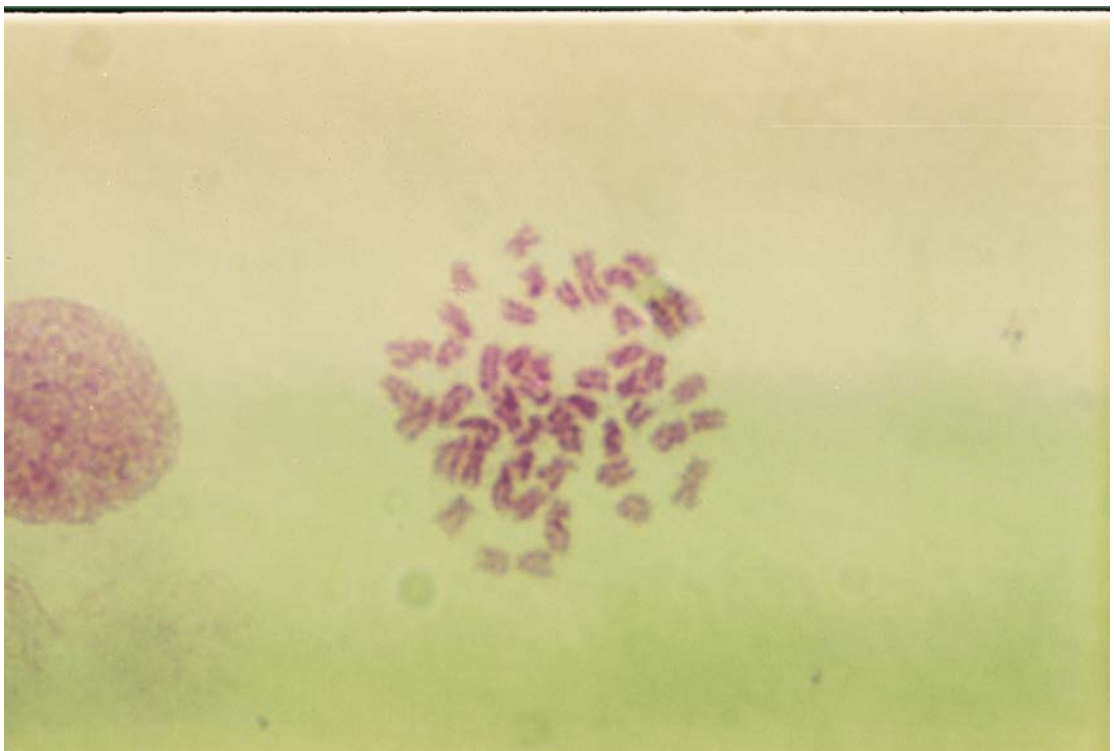
Yapılan preparatlardaki inceleme sonucunda, *Orthrias angorae*'dan elde edilen 78 adet metafaz dağılımından uygun olanların fotoğrafı çekilerek gerekli değerlendirmeler yapılmıştır. Çizelge 4'de görüldüğü gibi en yaygın karyotip  $2n=50$  olarak % 91 oranında bulunmuştur.



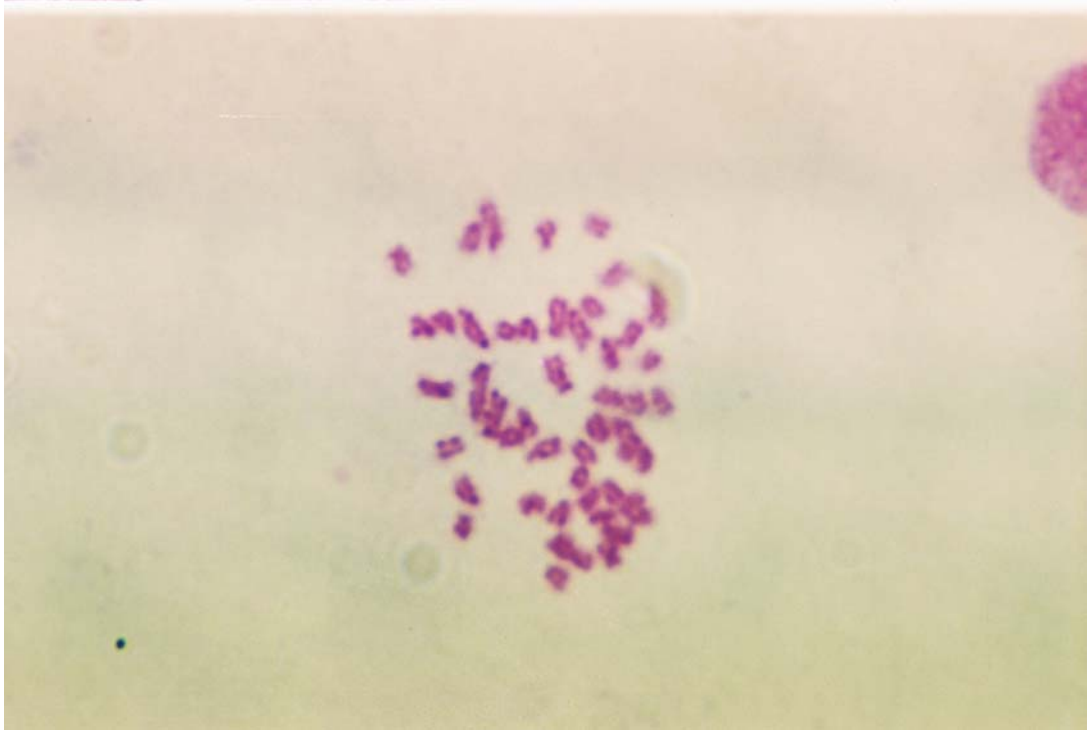
a



b

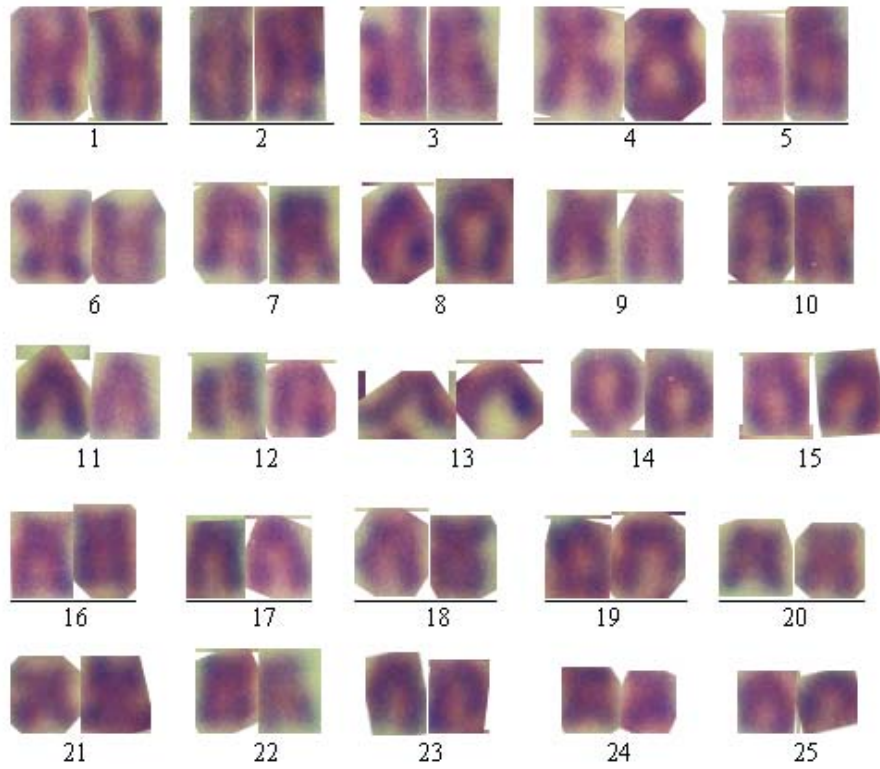


c



d

**Resim 9 a,b,c,d.** *Orthrias angorae*'dan elde edilen metafaz kromozomları.



**Resim 10.** *Orthrias angorae*'nin metafaz yayılımlarından elde edilmiş karyotipi.

## 5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Canlılarda sitogenetik incelemelerle kromozomların elde edilme yöntemleri oldukça fazladır. Balıklarda insanlardaki gibi lenfosit kültürü yoluyla ve kan hücrelerinin üretim yeri olan böbreklerin incelenmesi yöntemiyle kromozom elde edilebilmektedir [9]. Önemli olan bölünmekte olan hücreleri metafaz evresinde yakalamaktır. Kromozomların net bir biçimde görülebilmesi için en pratik, en ucuz ve en çabuk olan yöntemin uygulanması gerekir.

Kromozom analizi için organizmanın farklı dokuları kullanılabilir. Nitekim bazı araştırmacılar bunun için balıkların böbreğini kullanmalarına karşın [12, 15] bazıları da solungaç epitel hücrelerini aynı amaçla kullanmışlardır [10, 11]. Bizde bu amaçla daha pratik ve ucuz olması bakımından solungaç epitelinden yararlandık. Balık solungaç epitel hücrelerinde ideal kromozom eldesi için hipotonikte bekleme süresini 30 dakika olarak belirledik. Halbuki Yamazaki bu süreyi böbrek dokusu için 40 dakika olarak kullanmıştır [12].

Nishikawa ve arkadaşları Avrupa, Amerika ve Japon yılan balıklarının 3 türünde de kromozom sayısının  $2n=38$  olduğunu, karyotiplerinin ise 20 metasentrik-submetasentrik ve 18 akrosentrik kromozom yapısında olduğunu bildirmektedirler [10]. Aynı araştırmacılar *Cichlidae* familyasından bir tatlı su balığı olan *Cichlasoma citrinella*'da ise kromozom sayısını  $2n=48$ , karyotipinin 36 submetasentrik ve 12 akrosentrik kromozom yapısında olduğunu bildirmişlerdir [11]. Demirok ve Ünlü [17], *Capoeta trutta* ve *Capoeta capoeta umbla* türlerinin böbreklerinden elde ettikleri preparatları incelemeleri sonucunda *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. Hamalosmanoğlu ve Kuru, Kadife Balığı (*Tinca tinca*)'nın kromozom sayısını  $2n=48$  ve ortalama kromozom uzunluğunu  $2.191 \mu$  olarak saptamışlardır [46]. Pandey ve Lakra [47], *Clarias batrachus*'un kromozom sayısını  $2n=50$ , karyotipinin ise 8 metasentrik, 5 submetasentrik, 2 subtelosentrik ve 10 akrosentrik kromozomdan oluştuğunu belirlemişlerdir

Balık kromozomları mitoz bölünmenin fazla olduğu ve metafaz safhasında bir ışık mikroskobu yardımıyla çok kolay görülebilir ve çok iyi tanımlanabilirler. Kromozom preparasyonlarının yapımında temel yaklaşım, metafazda bölünen hücreleri arttırmak

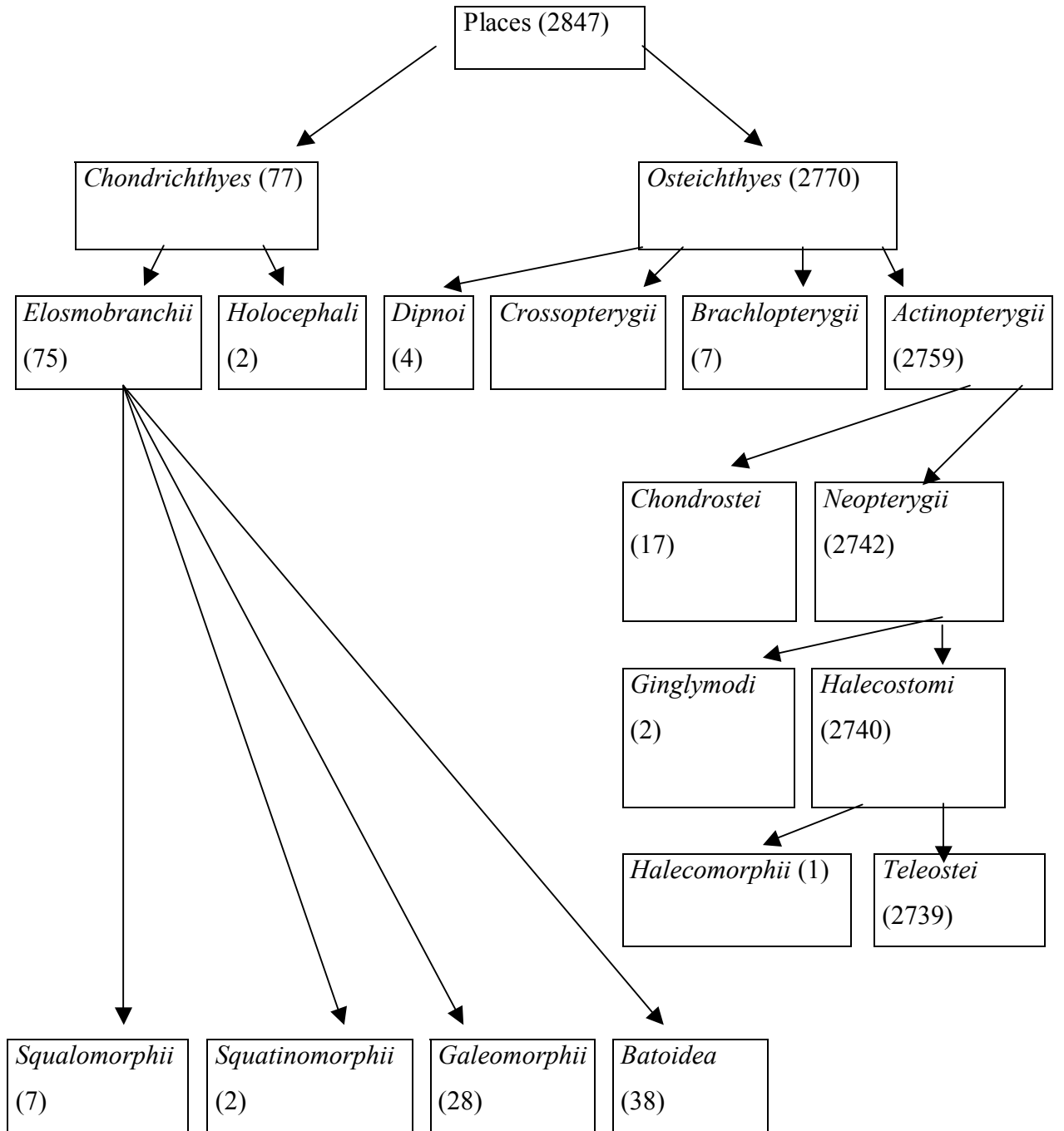
ve daha sonra gözlemek için bir mikroskop lamı üzerinde metafaz hücrelerinden kromozomları yaymaktır. Aynı prensipler insanlar dahil, diğer memelilerle çalışmalarda da geçerlidir [48, 49].

Bölünen hücreleri metafazda durdurmak için çeşitli kimyasal maddeler kullanılır. Kolşisin, kolsemid ve vinblastin sülfat'ın hepsi iğ ipliği oluşumunu önlemek için kullanılabilir. Kullanılan kolşisin miktarı diğer canlılarda kullanılanlara oranla biraz yüksektir. Örneğin farelere [21], intraperitoneal olarak 4 mg/kg kolşisin verilmesine karşın, balıklarda 150 mg/kg'a kadar yüksek dozlar kullanılmıştır [11]. Kimyasal maddeye maruz bırakma süresi 20 dakikadan 6-8 saate kadar uzatılabilir. Kısa süreli muamelede metafaz sayısı az iken uzun süreli muamelede ise kromozomların aşırı yoğunlaşmasından kaynaklanan büzülmeler meydana gelebilmektedir. Nanda ve ark. [50], yönteminde ise balık % 0.03'lük kolşisin içeren suda 6-8 saat bekletilmiştir. Daha sonra, metafaz kromozomlarını birbirinden ayırmak için hipotonikle muameleye tabi tutulur. Bu muamele, hücrenin kendi içindeki osmotik basınçtan daha düşük basınçlı bir solüsyon (örneğin; %1'lik sodyum sitrat veya %0.35-0.56'lık KCl) ile hücreleri açığa çıkarmayı ihtiva eder. Bu işlemde, hücreye su girer ve hücre şişer. Böylece kromozomlar birbirinden ayrılır. Bu işlemlerden sonra, hücre içi unsurların korunması amacıyla hücreler fikse edilir. Fiksasyon için, genellikle 3 kısım etanol veya metanol ve 1 kısım glasiyel asedik asit (Carnoy fiksatif) kullanılır. Fikse edilmiş hücreler bir mikroskop lamı üzerinde yayılır ve boyanır, daha sonra bu hücrelerin metafaz kromozomları ışık mikroskobu ile incelenir.

Balık kromozomlarının boyca küçük ve sayıca fazla olması ve balık kromozomu preparasyonları için standart bir tekniğin olmaması, sitogenetik, genotoksik çalışmalarda ve diğer amaçlar için balık kromozomlarının kullanılmasını zorlaştırmaktadır.

Günümüzde Agnatha (çenesiz balıklar), Chondrichthyes (kıkırdaklı balıklar) ve Osteichthyes (kemikli balıklar) sınıflarına dahil 20000-23000 civarında balık türü mevcuttur. Ancak, bunlardan yaklaşık 3000 kadarının kromozom sayıları bilinmektedir. Salmoniformes takımına dahil balıklardan 299 tanesinin kromozom sayısı, bunlardan 203 tanesinin de karyotipi tespit edilmiştir.





**Şekil 3.** Kromozom analizleri yapılmış balıkların sayıları [5].

Bununla beraber, memeli sitogenetiğindeki ve özellikle insanlar üzerindeki sitogenetik çalışmalarındaki ilerlemeler, benzer çalışmaların balıklarda da yapılmasına yol açmış, balık kromozomu çalışmalarında gözle görülür bir artış sağlanmıştır [9, 52].

Mezgit, sazan, yılan balığı, kaya balığı, kefal vb. gibi farklı balıklarda yapılan çok sayıda kromozom çalışması olmakla beraber üzerinde en çok çalışılmış balık türü gökkuşuğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*)'dir [53-59]. Buna rağmen, bu türün kromozom yapıları henüz tam olarak anlaşılammıştır. Birçok husus, ancak daha ileri sitogenetik yöntemler ve kromozom bantlama çalışmalarıyla açıklığa kavuşacaktır.

Denton ve Gold balıklarda kromozom preparasyonu amacıyla, böbrek ve dalak gibi yumuşak organlar ile solungaç, yüzgeç, pul ve korneadan alınan epitel hücrelerinin kromozom çalışmaları için uygun olduğunu, testislerin de mayoz kromozomlarını elde etmede uygun olmakla beraber, sadece aktif spermagonial çoğalma döneminde kullandıklarını bildirmişlerdir [34, 60]. Balıklarda kromozom preparasyonlarının hazırlanmasında kullanılan doku ve organların alınma yöntemleri, fiksasyonu, mikroskop altında incelenmesi, fotoğraflarının çekilmesi gibi konularda ayrıntılı bilgiler vermiştir. Blaxhall, balık dokularından kromozom preparasyonları amacıyla bir metot geliştirmiştir [61]. McGurk ve Rivlin'de [62], kromozom ölçümü ve karyotip preparasyonunda kullanılabilir BASIC bilgisayar programı hazırlamıştır.

**Çizelge 5.** Bazı balık türlerinin karyotip bilgileri [63].

<b>Tür</b>	<b>Kromozom sayısı</b>	<b>Karyotip</b>	<b>Kaynak</b>
<i>Alburnus alburnus</i>	50	16m+6sm+10st	9
<i>Chalcalburnus mossulensis</i>	48	6m+10sm+8a	64
<i>Capoeta capoeta umbla</i>	144	42m+72sm+30t	67
<i>Cyprinion macrostomum</i>	48		15
<i>Salmo gairdneri</i>	60		18
<i>Aphanius cypris</i>	48		9
<i>Bothus podas</i>	38	12m+16sm+10st	65
<i>Poecilia formosa</i>	46		50
<i>Coregonus albula</i>	80		9
<i>Cichlasoma citrinella</i>	48	36sm+12a	11
<i>Acheilognathus tonkinensis</i>	44	14m+14sm+8st+8a	9
<i>Chalcalburnus tarichi</i>	50		63
<i>Leuciscus cephalus</i>	50	43m+16st,t	9
<i>Cyprinus carpio</i>	98	50m+48t	9
<i>Salmo trutta</i>	80	20m+60t	9
<i>Salvelinus fontinalis</i>	84		66
<i>Salvelinus alpinus</i>	78		66

Balıklarda genel ve farklı balıklar için geliştirilenlere ilave olarak, özellikle gökkuşuğu alabalığında kromozom preparasyonu amacıyla Al-Sabti, Chourrout ve Happe ve Lozano ve ark. [68-70], tarafından direkt kromozom preparasyonu metotları geliştirilmiş, ülkemizde ise bu konuda çalışan çok az sayıda araştırmacı olup, Ulupınar ve Okumuş [71], gökkuşuğu alabalığı için mevcut direkt kromozom preparasyonu metotlarını modifiye etmişlerdir.

**Çizelge 6.** Bazı balık takımlarında yapılmış kromozom çalışmalarında çalışılan tür sayıları [72].

<b>Takım</b>	<b>Çalışılan tür sayısı</b>	<b>Takım</b>	<b>Çalışılan tür sayısı</b>
<i>Petromyzontiiformes</i>	14	<i>Gonorhynchiformes</i>	1
<i>Hexanchiformes</i>	4	<i>Cypriniformes</i>	590
<i>Squaliformes</i>	3	<i>Characiformes</i>	356
<i>Rajiformes</i>	14	<i>Siluriformes</i>	329
<i>Pristiiformes</i>	1	<i>Salmoniformes</i>	203
<i>Torpenidiiformes</i>	6	<i>Stomiatiiformes</i>	21
<i>Myliobatiformes</i>	17	<i>Aulopiiformes</i>	3
<i>Squatiniiformes</i>	2	<i>Myctophiiformes</i>	8
<i>Heterodontiiformes</i>	2	<i>Amblyopsiiformes</i>	1
<i>Orectolobiiformes</i>	1	<i>Gobiesociiformes</i>	1
<i>Lamniiformes</i>	1	<i>Lophiiformes</i>	1
<i>Carcharhiniiformes</i>	24	<i>Gadiformes</i>	14
<i>Chimaeriformes</i>	2	<i>Atheriniiformes</i>	58
<i>Ceratodontiiformes</i>	1	<i>Cyprinodontiiformes</i>	254
<i>Lepidosireniformes</i>	3	<i>Beryciiformes</i>	8
<i>Acipenceriiformes</i>	17	<i>Zeiformes</i>	1
<i>Polypteriiformes</i>	7	<i>Gasterosteiformes</i>	11
<i>Lepisosteiformes</i>	2	<i>Synbranchiiformes</i>	4
<i>Amiiformes</i>	1	<i>Channiiformes</i>	7
<i>Osteoglossiiformes</i>	11	<i>Scorpaeniiformes</i>	83
<i>Elopiiformes</i>	3	<i>Perciformes</i>	747
<i>Anguilliiformes</i>	20	<i>Pleuronectiiformes</i>	34
<i>Clupeiformes</i>	24	<i>Tetraodontiiformes</i>	32

Schreck ve Moyle (1990)'e göre [73], kromozom preparatları hazırlamak için metafaz hücrelerinin iyi bir kaynağı olan bölünen dokular (embriyonik dokular, solungaçlar, böbrekler, bağırsaklar, pul epitelleri ve fibroblastlar) tercih edilmelidir.

Yamazaki bir alabalık türü olan *Plecoqlossus altivelis*'te kromozom sayısını  $2n=56$  olarak saptamıştır [12]. Kromozom tiplerini 44 akrosentrik, 12 submetasentrik olarak vermiştir. Çolak ve ark. Beni Balığı (*Cyprinion macrostomum*, Heckel 1843)'nın kromozom sayısını  $2n=48$  olarak saptamıştır [15]. Ergene ve ark. *Clarias lazera*'nın 18 metasentrik, 26 submetasentrik ve 12 akrosentrik kromozom olmak üzere  $2n=56$  kromozoma sahip olduğunu tespit etmişlerdir [36].

İleri canlıların poliploidi olayına tolerans göstermemelerine karşın balıklarda doğal poliploidiye rastlamak olasıdır [74]. Nanda ve arkadaşları [50] laboratuvarında poliploid tür oluşturarak diploid türden farklı fenotipik olarak ne gibi sapmalar gösterdiğini incelemişler ve belirgin bir fark olmadığını belirlemişlerdir. Cyprinidae familyasının incelenen çoğu türünde kromozom sayısı çoğunlukla  $2n=50$ 'dir. Ancak *Barbus ssp*'de  $2n=150$  kromozom saptayan araştırmacılar bu balığın heksaploid olduğunu belirtmişlerdir [75].

Bu çalışmada, mitotik inhibitör olan kolşisin, Rukhsana ve Malgorzata [76], Padilla ve ark. [77], Gül ve ark. [64]'nin çalışmaları ile uyum göstermektedir. Çalışma sırasında intraperitoneal enjeksiyonun, yeterli dozun balığa enjekte edilememesinden dolayı oldukça zor yapılabilmekte ve olumlu sonuç alınmamaktadır.

Evrimsel olarak ileri canlılarda kromozom morfolojisine dayalı heterogametik eşey belirlenmesi yapılabilmesine karşın, balıklarda bazı istisnalar dışında eşey kromozomlarının farklılıkları ayırt edilememektedir [65]. Üstelik balıklarda sıcaklık etkeni kullanılarak eşey değişiklikleri yapay yolla gerçekleştirilebilmektedir [78]. Oysa evrimsel olarak ileri canlılarda böyle bir örneğe rastlamak olası değildir. Çalışmamızda bu türde cinsiyete bağlı herhangi bir kromozom tespit edilememiştir. Bu tür sonuçlar balık kromozomları üzerindeki pek çok çalışmada da aynı olmaktadır [9, 13, 17, 64, 65, 66, 79].

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, NOR 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 cinse ait tür ve alttürlerin ayırt edilmesinde ve aralarındaki akrabalıkların belirlenmesinde karyolojik çalışmaların ne kadar önemli olduğu, bu çalışma ile bir kez daha ortaya konmuştur. Bu alanlara yeni boyut getiren karyoloji ile bu sıkıntıların biraz da olsa aşılacağı beklenmektedir [80].

Sonuç olarak; karyotip çalışmalarında kaliteli metafazların elde edilebilmesi için uygulanan her aşamanın kusursuzca yapılması gerekmektedir. Çalışmanın herhangi bir aşamasında dozun veya uygulama süresinin yetersiz veya fazla olması sonuçların istenilen şekilde alınmasını zorlaştırmaktadır. Bu tür çalışmaların birçok araştırıcı tarafından yapılması ile karşılaştırma ve çalışma yöntemlerinin gelişimi sağlanarak en iyi sonuca ulaşılması mümkün olacaktır.

Kura-Aras Havzasında yaygın bir balık olan *Orthrias angorae* üzerine kromozomal bazda literatür bilgileri yoktur. Bu çalışma ile üzerinde araştırma yapılan *Orthrias angorae*'nin kromozom sayısı ve yapısı belirlenerek karyotipi yapılmış böylece ülke ve dünya biliminin gelişmesine katkıda bulunarak diğer çalışmalara veri ve temel oluşturacağı inancındayım.

## 6. KAYNAKLAR

1. Kızıroğlu, İ., "Genetik" Genel Biyoloji Canlılar Bilimi, 5. baskı, **Birlik Matbaacılık-Yayıncılık**, Ankara, s; 209-210 (2004).
2. Keeton, T.W., Gould, L.J., "DNA'nın Yapısı ve Kendini eşlemesi", Genel Biyoloji 1, 2.baskı, **Palme Yayıncılık**, Ankara, s.213,214,215 (2003).
3. Sezgin, İ., "Klinik Genetik", **Cumhuriyet üniversitesi yayınları**, s. 26,40 (1998).
4. Campbell, A.N., Reece, B.J., "Hücre Döngüsü", Biyoloji, 6.baskı, **Palme Yayıncılık**, s; 216 (2006).
5. Ulupınar, M., Alaş, A., "Balık Sitogenetiği ve Laboratuar Teknikleri Kitabı I. Baskı", s.10 (2002).
6. Balık, S., Ustaoglu, R., "Türkiye Tatlısu Balıklarının Tanımlama Esasları" **Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Kitaplar Serisi** No:97, s.1,3,4,5 (1992).
7. Çavas, T., Ergene-Gozukara, S., "Evaluation of genotoxic potential of lambda-cyhalothrin using nuclear and nucleolar biomarkers on fish cells", **Mutat. Res.**, 534 (1-2): 93-99 (2003).
8. Gold, J.R., "Systematics of Western North American Trout (Salmo), with Notes on the Redband trout of Sheephaeven Creek", **Can. J. Zool.**, California, 55, 11, 1858-1873 (1977).
9. Al-Sabti, K., "Handbook of Genotoxic effects and fish chromosomes", **J. Stefan Institute**, Ljubljana, Yugoslavia, 221pp (1991).
10. Nishikawa, S., Amaoka, K., Karasawa, T., "On the Chromosomes of two species of eels (*Anguilla*)", **Chromosome Information Service** No:12, Shiminoseki University of Fisheries, Shiminoseki, 27-28 (1971).
11. Nishikawa, S., Amaoka, K., Karasawa, T., "A Preliminary study on the chromosomes of *Cichlasoma citrinella* (Cichlidae; Pisces)", **Chromosome Information Service** No:14 Shiminoseki Universty of Fisheries Shiminoseki, 32-33 (1973).
12. Yamazaki, F.A., "Chromosome study of Ayu, Salmonoid Fish", **Bulletin of Japanese Society of Scientific Fisheries.**, Vol: 37, No: 8, 707-710 (1971).
13. Jankun, M., Rab, P., Vuorinen, J., "A karyotype study of vendace, *Coregonus albuta* (Pisces, Coregoninae)", **Hereditas.**, 115: 291-294 (1991).
14. Baker, C.J., "A method for display of chromosomes of plaice *Pleuronectes platessa* and other marinefishes", **Copeia.**, 2: 365-368 (1972).
15. Çolak, A., Sezgin, Ü., Süngü, S., "Sazangiller (Cyprinidae ) familyasına ait Beni Balığında *Cyprinion macrostomum* (Heckel, 1843) Kromozomal araştırmalar", **Doğa Bilim Dergisi.**, Seri A<sub>2</sub>, Cilt 19, Sayı 2, 193-195 (1985).

16. Örs, T., Gökkuşığı Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum 1792) Böbrek Doku Örnekleri ile Karyotip Oluşturulması. *E.Ü Su Ürünleri Dergisi* 2003, Cilt 20, Sayı (3-4): 497-501,(2003).
17. Kılıç Demirok, N., Ünlü, E., “Karyotypes of Cyprinid fish *Capoeta trutta* and *Capoeta capoeta umbla* (Cyprididae) from the Tigris river”, *Turk J Zool.*, 25, 389-393 (2001).
18. Lloyd, M.A., Thorgaard, G.H., “Restriction endonuclease banding of rainbow trout chromosomes”, *Chromosoma.*, 96: 171-177 (1988).
19. Wong, A.K.C., Rattner, J.B., “Sequence organisation and cytological localisation of the minor satellite of mouse”, *Nucleic Acids Res.*, 16:11645-661 (1988).
20. Cooper, D.N., “Eukaryotic DNA methylation”, *Hum. Genet.*, 64: 315-333 (1983).
21. Ekmekçi, A., Menevşe, S., Menevşe, A., “Fare kemik iliği hücrelerinde difenil hidantoin’in indüklediği sayısal ve yapısal kromozom anomalileri ve bunlar üzerine eksojen prostaglandin E<sub>1</sub>’in azaltıcı etkisi”, *Doğa Bilim Dergisi (Medical Sciences)*, 14: 177-184 (1990).
22. Ayaz, M., “Kars Çayı Balıklarının Taksonomik Yönden Araştırılması”, Yüksek Lisans Tezi, *Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü* Biyoloji Anabilim Dalı, Kars, (2004).
23. Geldiay, R., Balık, S., “Türkiye Tatlısu Balıkları” *Ege Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Yayınları* No:46 Ders Kitabı Dizini:16.
24. Kuru, M., “Omurgalı Hayvanlar”, *Atatürk Üniversitesi Yayınları*, Erzurum, No: 646, s. 735 (1987).
25. DSİ., Kars Barajı ve Sulaması Projesi ÇED Raporu (2003).
26. Aras, B. ve Aras, İ., “Kars çayı İhtiyofaunası”, Lisans Tezi, *Kafkas Ün. Fen-Ed. Fak Biyoloji Bölümü*, Kars (2001).
27. *Microsoft Encarta Encyclopedia*, 2004.
28. [www.ardahanemniyet.gov.tr/ilimiz/cildir.asp](http://www.ardahanemniyet.gov.tr/ilimiz/cildir.asp) (2006).
29. Yerli, S., Zengin, M., “Çıldır Gölü (Ardahan, Kars)’ndeki *Cyprinus carpio* (Linnaeus, 1758)’nun Üremesi Üzerine Bir Araştırma”, *Tr. J. Of Veterinary and Animal Sciences.*, 22, 309-313 (1998).
30. Keeton, W.T., Gould, J.L., Gould, C.G., “Kromozomların Bileşimi”, Biological science 5<sup>nd</sup> ed., W. W. Norton Company, New York, London, *Palme Yayıncılık*, Ankara, (2003).
31. Özban, N., “Hücre Kitabı”, *İstanbul Üniversitesi Yayınları*, 236:262 (1988).
32. Wolf, K., Quimby, M.C., “Fish Cell and Tissue Culture”, *Fish Physiology.*, Vol. 3, N.Y, Academic Press (1969).



33. Denton, T.E., Howell, W.M., “A technique for Obtaining Chromosomes from the Scale Epithelium of Teleost Fishes”, *Copeia.*, 392-393 (1969).
34. Denton, T.E., “Fish Chromosome Methodology”, Charles C. Thomas Publisher, *Springfield*, Illinois, 169pp (1973).
35. Gül, S., Çolak, A., Sezgin, İ., Kaloğlu, B., “Karyotype Analysis in *Alburnus heckeli* (Battalgil, 1943) from Lake Hazer”, *Turk J Vet Anim Sci.*, 28, 309-314 (2004).
36. Ergene, S., Portakal, E., Karahan, A., “Karyological Analysis and Body Proportion of Catfish (*Clariidae*, *Clarias lazera*, Valenciennes, 1840) in the Göksu Delta, Turkey”, *Tr. J. of Zoology*, 23, 423-426 (1999).
37. Roberts, F.L., “Chromosomal Polymorphism in North American Landlocked *Salmo salar*”, *Can. J. Genet Cytol.*, 10, 865 (1968).
38. Roberts, R.J., “A specific endonuclease from *Anthrobacter luteus*”, *J. Mol. Biol.*, 102, 157 (1976).
39. Labat, R., Larrouy, G., Malaspina, L., “Technique de Culture des Leucocytes de *Cyprinus carpio*”, *G.R. Acad. Sc. Paris*, 264: 2473 (1967).
40. Heckman, J.R., Brubaker, P.E., “Chromosome Preparation from Fish Blood Leucocytes”, *Prog. Fish Cult*, 32, 206-208 (1970).
41. Heckman, J.R., Allendorf, F.W., Wright, J.E., “Trout Leucocytes :Growth in Oxygenated Cultures”, *Science.*, 173, 246-247 (1971).
42. Baker, C.J., “A Method for the Display of chromosomes of Plaice, *Pleuronectes platessa* and other Marine Species”, *Copeia.*, 2:365 (1972)
43. Klinkhardt, M.B., Buuk, B., “Die Chromosomen der Regenbogenforelle (*Salmo gairdneri*)”, *Z. Binnenfisch.*, 37, 7, 226-228 (1990).
44. Nur, G., “Kura-Aras Havzasına Endemik *Acanthalburnus microlepis* (De Filippi, 1863) ve *Alburnus filippii* (Kessler, 1877) ’de kromozomal çalışmalar”, Yüksek Lisans Tezi, *Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Kars, s; 53 (2006)
45. Ergene, S., Çavaş, T., “A Karyological Analysis of *Garra rufa* (Heckel, 1843) (Pisces, Cyprinidae) from the Eastern Mediterranean River Basin in Turkey”, *Turk J Vet Anim Sci.*, 28, 497-500 (2004).
46. Hamalosmanoğlu, M., Kuru, M., “Mogan Gölü’nde (Ankara) Yaşayan Kadife Balığı’nın (*Tinca tinca*, L 1758) Karyotip Analizi ve İdiogramı, *Turk J Vet Anim Sci*, 28, 143-147 (2004).
47. Pandey, N., Lakra, W.S., “Evidence of female heterogamety, B-chromosome and natural tetraploidy in the Asian catfish, *Clarias batrachus*, used in aquaculture”, *Aquaculture.*, 149, 31-37 (1997).
48. . MacGregor, J.T., Heddle, J.A., Hite, M., Margolin, B.H., Ramel, C., Salamone, M.F., Tice, R.R., Wild, D., “Guidlines for the conduct of micronucleus assays in mammalian bone marrow erythrocytes”, *Mutat. Res.*, 189, 103-112 (1987).

49. Yunis, J.Y., "Human chromosome methodology", *Academic Press*, New York, (1974).
50. Nanda, I., Schartl, M.N., "Feichtinger, W., Schlupp, I., Parzefall, J., Schmid, M., "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).
51. Kapuscinski, A.R., Hallerman, E.M., "Transgenic fish and public policy: Anticipating Environmental Impacts of Transgenic Fish", *Fisheries.*, 15, 1, 2-11 (1990).
52. Gold, J.R., L, Y.C., Shipley, N.S., Powers, P.K., "Improved methods for working with fish chromosomes with a review of metaphase chromosome banding", *J. Fish Biol.*, 37, 563-575 (1990).
53. Nygren, A., Nilsson, B., Jahnke, M., "Cytological studies in *Salmo trutta* and *Salmo alpinus*", *Hereditas.*, 67: 259-268 (1971).
54. Nygren, A., Nilsson, B., Jahnke, M., "Cytological studies in *Thymallus thymallus* and *Coregonus albula*", *Hereditas*, 67: 269-274 (1971).
55. Nygren, A., Nilsson, B., Jahnke, M., "Cytological studies in the Smelt, *Osmerus eperlanus L*", *Hereditas.*, 67: 283-284 (1971).
56. Ojima, Y., Hitotsumachi, S., "Cytogenetic studies in lower vertebrates IV: A note on the chromosomes of the carp (*Cyprinus carpio*) in comparison with those of the funa and gold fish (*Carassius carassius*)", *Japan. J. Genetics.*, 42 (3): 163-167 (1967).
57. Medrano, L., Bernardi, G., Couturier, J., Durillaux, B., "Chromosome banding and genome compartmentalization in fishes", *Chromosoma (Berl.)*, 96, 178-183 (1988).
58. Cataudella, S., Civitelli, M.V., Capanna, E., "Chromosome complements of the mediterranean mullets (*Pisces, Perciformes*)", *Caryologia.*, 27, 93-105 (1974).
59. Sofradzija, A., "Cytogenetic characteristics of the Adriatic fish species *Mullus surmuletus*, *Chromis chromis* and *Gaidropsarus mediterraneus*". *Ichthyologia.*, 19 (1): 45-51 (1986).
60. Gold, J.R., "A fast and easy method for chromosome karyotyping in adults teleosts", *Prog Fish Cult*, 36, 169-171 (1974).
61. Blaxhall, P.C., "Fish chromosome techniques- a review of selected literature", *J. Fish Biol.*, 7, 315-320 (1975).
62. McGurk, J., Rivlin, K., "A Basic Computer Program for Chromosome Measurement and Analysis", *J. Heredity.*, 74, 304-305 (1983).
63. Gül, S., Akyol, F., Sezgin, İ., İnci kefalı (*Chalcalburnus tarichi*, Pallas 1811)'nin Karyotip Analizi, *XV. Ulusal Biyoloji Kongresi*, 5-9 Eylül 2000, Ankara Üniversitesi, Ankara.

64. Gül, S., Çolak, A., Sezgin, İ., “Gümüş Balığı’nda (*Chalcalburnus mossulensis*, Heckel 1843) Karyotip Analizi”, *Turk J Biol.*, 24: 657-662 (2000).
65. Vitturi, R., Catalano, E., Colombera, D., “Chromosome analysis of *Bothus podas* (Pisces, Pleuronectiformes) from the Mediterranean Sea”, *J Fish Biol.*, 43: 221-227 (1993).
66. Hartley, S.E., “C, Q and restriction enzyme banding of the chromosomes in brook trout (*Salvelinus fontinalis*) and Arctic charr (*Salvelinus alpinus*)”, *Hereditas.*, 114: 253-261 (1991).
67. Gül, S., Çolak, A., Sezgin, İ., “Siraz Balığı *Capoeta capoeta umbla* (Güldenstadt, 1773)’da sitogenetik incelemeler”, *C.Ü. Fen Bilimleri Dergisi*, 20: 19-25 (1998).
68. Al-Sabti., “Karyotypical studies on three salmonids in Slovenia using leucocyte culture technique”, *Ichthyologia.*, 15, 41-46 (1983).
69. Chourrout, D., Happe, A., “Improved methods of direct chromosome preparation in rainbow trout (*Salmo gairdneri*)”, *Aquaculture.*, 52, 255-261 (1986).
70. Lozano, R., Rejon, C.R., Rejon, M.R., “A method for increasing the number of mitosis available for cytogenetic analysis in rainbow trout”, *Stain. Ttech.*, 63, 335-338 (1988).
71. Ulupınar, M., Okumuş, İ., “Gökkuşuğu alabalığında (*Oncorhynchus mykiss*) Kromozom Analizi İçin Islah Edilmiş Bir Metod”, *IX. Ulusal Su Ürünleri Sempozyumu*, Isparta, 17-19 Eylül 1997, Süleyman Demirel Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Eğirdir, (1997).
72. Klinkhardt, M.B., “Karyological Studies in Several Species of Freshwater Fishes from Bracish Coastal Waters of Southwestern Baltic : I. The Ruffe (*Gymnocephalus cernua*, L 1758)”, *Zool. Anz.*, 224 (3/4): 156-164 (1990).
73. Schreck, C.B., “Moyle, P.B., Methods for Fish Biology American Fisheries Society”, Maryland, USA, (1990).
74. Menzel, B.W., Darnell, R.M., “Morphology of naturally occurring triploid fish related to *Poecilia formosa*”, *Copeia.*, 350-352 (1973).
75. Oellermann, L.K., Skelton, P.H., “Hexaploidy in yellow fish species (*Barbus*, Pisces, *Cyprinidae*) from southern Africa”, *J Fish Biol.*, 37, 105-115 (1990).
76. Rukhsana, A., Malgorzata, J., “Spontaneous Triploid common carp (*Cyprinus carpio* L.) in a Farm Population”, *Cytobios.*, 78: 153-190 (1994).
77. Padilla, J.A., Fernandez-Garcia, J.L., Rabasco, A., Martinez Trancon, M., Rodriguez de Ledesma, I., Perez-Regadera, J.J., “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).
78. James J., Bull, “Evolution of sex determining mechanism”, California, *The Benjamin/Cuming Publishing Company*, Inc, 123 (1983).

79. Elo, K., Vuorinen, J.A., Niemela, E., “Genetic resources of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) in Teno and Naatamö Rivers, northernmost Europe”, *Hereditas.*, 120, 19-28 (1994).

80. Gaffaroğlu, M., Yüksel, E. ”Cyprinion *Macrostomus* Heckel, 1843 (Pisces: Cyprinidae)’un Karyotip Analizi”, *Gazi Üniversitesi Kırşehir Eğitim Fakültesi*, Cilt 5, Sayı 2, (2004), 235-239.

## 7. TEZDEN ÇIKAN YAYINLAR

1. **Kaya, Ö.T.**, Gül, S., Nur, G., “Karyotype Analysis of *Orthrias angorae* (Steindachner, 1897) ”, *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi.*, 11 (2):147-140 (2006).
2. Gül, S., **Kaya, Ö.T.**, Nur, G., Aksu, P: “Karyotype Analysis in *Orthrias angorae* (Steindachner, 1897).” 1 st European Congress of Conservation Biology “Diversity for Europe”. Book of Abstracts p 478, Hungary, 22-26 August, (2006).
3. Gül, S., **Kaya, Ö.T.**, Nur, G., Özkan, O., Aksu, P., “C, G and endonuclease banding of the chromosomes in *Orthrias angorae*”, EMBO Conference on Chromatin and Epigenetics. Book of Abstracts p 114, EMBL Heidelberg, Germany 3 – 6 May, (2007).

## **8. ÖZGEÇMİŞ**

1980 yılında Kars ilinde doğdu. İlköğretim ve Lise öğrenimini Kars'da tamamladı. 1999 yılında okumaya hak kazandığı Ankara Üniversitesi Fen Fakültesinden 2004 yılında Biyolog olarak mezun oldu. 2004 yılında Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Bölümü Zooloji Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans öğrenimine başladı.