

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

**KURA-ARAS HAVZASINDAN *Orthrias tigris* (Heckel, 1843)'DE KROMOZOMAL
ÇALIŞMALAR**

Berna KILIÇ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

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

**2006
KARS**

Berna KILIÇ'ın Yüksek Lisans Tezi olarak hazırladığı “**Kura-Aras Havzasından *Orthrias tigris* (Heckel 1843) Kromozomal Çalışmalar**” adlı bu çalışma, yapılan tez savunması sınavı sonunda jüri tarafından Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği uyarınca değerlendirilerek oy.....ile kabul edilmiştir.

...../...../2006

	Adı Soyadı	İmza
Başkan
Üye
Üye
Üye
Üye

Bu tezin kabulü, Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunun/...../2006 tarih ve/..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Doç.Dr.Yunus GICIK
Enstitü Müdürü

İÇİNDEKİLER

Sayfa no

ÖZET	i
SUMMARY	ii
TEŞEKKÜR	iii
ŞEKİLLER LİSTESİ	iv
ÇİZELGELERİN LİSTESİ	v
RESİMLERİN LİSTESİ	vi
HARİTALARIN LİSTESİ	vii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	8
2.1. Kullanılan Balıklar Üzerine Genel Bilgiler	8
2.2. Araştırma Örneklerinin Alındığı Alanın Özellikleri ve Çevresinin Jeolojisi	11
2.3. Kromozomlar Üzerine Genel Bilgiler	16
2.4. Hücre Siklusu	18
2.5. Mitoz Bölünme	20
2.6. Kromozom Preparasyonunun Temel Prensipleri	26
2.7. Balıklarda Kromozom Kaynakları	29
2.8. Karyotip Çalışmaları Üzerine Genel Bilgiler	33
2.9. İdiogram	36
3. MATERYAL VE METOD	38
4. BULGULAR	40
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	47
6. KAYNAKLAR	53
7. ÖZGEÇMİŞ	58

ÖZET
YÜKSEK LİSANS TEZİ
KURA-ARAS HAVZASINDAN *Orthrias tigris* (Heckel, 1843)'DE
KROMOZOMAL ÇALIŞMALAR

Berna KILIÇ

Kafkas Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman

Yrd. Doç. Dr. Süleyman GÜL

Bu çalışmada Kura-Aras Havzasından *Orthrias tigris* (Heckel, 1843) (Fam : Balitoridae)'in kromozomlarının sayısı ve yapıları incelenerek, karyotip analizi yapılmıştır. Bu çalışmada kullanılan balıklar Kars ilindeki Kars Çayı'ndan serpmeye 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.tigris*'in $2n=50$ kromozoma sahip olduğu belirlenmiştir. Bunların karyotiplerinin 18 metasentrik, 18 submetasentrik ve 14 akrosentrik kromozom çiftinden (NF: 86) oluştuğu saptanmıştır. Bu türde cinsiyete bağlı herhangi bir kromozom tesbit edilememiştir.

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

SUMMARY

M. Sc

Karyotype analysis in *Orthrias tigris* (Heckel, 1843) from Kura-Aras river basin

Berna KILIÇ

Kafkas University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Biyology

Supervisor

Yrd. Doç. Dr. Süleyman GÜL

In this study, chromosome numbers and the standard karyotypic details for the Blackbrow bleak, *Orthrias tigris* (Heckel, 1843) (Fam: Balitoridae) from Kura-Aras river basin were ascertained. The fish used in this study were caught with fishing nets from the Kura-Aras river basin and taken to the laboratory. Fish 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 *Orthrias tigris* had $2n=50$ chromosomes by metaphase investigation. Their karyotypes were determined as being composed of 18 metacentric, 18 submetacentric and 14 acrocentric chromosome pairs with NF: 86 We were unable to identify any sex-related chromosomes in these species.

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

TEŞEKKÜR

Bu alıőmanın yüksek lisans tez konusu olarak seçiminde, yürütülmesinde ve sonuçlandırılmasında bana yol gösteren, bilgi ve yardımlarını esirgemeyen hocam, Sayın Yrd.Doç.Dr.Süleyman GL'e, çalıőmayı projelendirerek destekleyen TÜBİTAK (105T319)'a ve çalıőmalarım sırasında emeği geçen arkadaőlarıma teőekkürlerimi sunarım.

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 1. Hücre Siklusu	18
Şekil 2. Mitoz bölünmenin İnterfaz ve Profaz başlangıç evreleri	22
Şekil 3. Mitoz Bölünmenin Profaz ve Prometafaz evreleri	23
Şekil 4. Mitoz Bölünmenin Metafaz ve Anafaz evreleri	24
Şekil 5. Mitoz Bölünmenin Telofaz evresi	25
Şekil 6. $2n=48$ kromozomlu <i>Tinca tinca</i> 'nın haploid idiogramı	37

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

	<u>Sayfa no</u>
Çizelge 1. Sadece karyotipleri dikkate alınarak yapılmış Kuzey-Batı Amerika alabalıklarının (<i>Salmo</i>) soy ağacı	5
Çizelge 2. <i>Orthrias (Nemacheilus)</i> türlerinde diagnostik özelliklerin karşılaştırılması	9
Çizelge 3. Kars Çayı Su Kalite Değerleri (Aras ve Aras, 2001; DSİ, ÇED Raporu, 2003)	13
Çizelge 4. <i>Orthrias tigris</i> (Heckel, 1843)'nin Solungaç Epitelinden elde edilen Kromozomların Sayısal Dağılımı	41
Çizelge 5. Bazı balık türlerinin karyotip bilgileri	49
Çizelge 6. Bazı balık takımlarında yapılmış kromozom çalışmalarında çalışılan tür sayıları	50

RESİMLERİN LİSTESİ

	<u>Sayfa no</u>
Resim 1 . Mersin körfezinden yakalanan <i>Mugil cephalus</i> kan örneklerinde mikronükleus görünümü	4
Resim 2. Çöpçü balığı (<i>Orthrias tigris</i> , Heckel 1843)	10
Resim 3. Çıldır Gölü'nde kış aylarında sazan avı	15
Resim 4. $2n=50$ kromozomlu <i>Cyprinion macrostomus</i> 'un böbrek dokusundan elde edilmiş metafaz kromozomları	28
Resim 5. $2n=48$ kromozomlu <i>Tinca tinca</i> (L., 1758)'nin solungaç ve böbrek dokusunda çalışılarak elde edilmiş metafaz kromozomları	28
Resim 6. <i>Alburnus heckeli</i> 'nin solungaç epitelinden elde edilen metafaz evresindeki kromozomlar	31
Resim 7. $2n=61$ kromozomlu Gökkuşığı alabalığına ait metafaz yayılımı ve göz karyotipi	34
Resim 8. $2n=50$ kromozomlu <i>Orthrias angorae</i> 'nin foto-karyotipi	35
Resim 9 a,b,c,d,e,f,g,h. <i>Orthrias tigris</i> 'den elde edilen metafaz kromozomları	46
Resim 10. <i>Orthrias tigris</i> 'in metafaz yayılımlarından elde edilmiş karyotipi	46

HARİTALARIN LİSTESİ

	<u>Sayfa no</u>
Harita 1. Kars ayı Haritası	14
Harita 2. Çıldır Gölü Haritası	16

1. GİRİŞ

Çağdaş genetik (kalıtım) bilimi, Gregor Mendel'in kalıtsal özelliklerin soylar arasında belli kurallara göre ve önceden beklenen bir usulle taşınan birim elemanlarla saptandığını keşfetmesiyle ortaya çıktı (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.

1868'de İsviçreli genç biyokimyacı Friedrich Miescher proteinleri parçalamak için pepsin ile bir hücreyi muamele ettiğinde çekirdeğin küçüldüğünü; ama esas itibari ile bozulmadan kaldığını 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 kromozomlarda sınırlı olduğunu gördü. 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 hücrelerdekini sadece yarısı kadar DNA içerdiğini kesin olarak göstermişlerdir (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).

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 (4).

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

Alman balıkçılık biyologu B.Luis JACOBI'nin 1765 yılında ilk kez alabalıklarda yapay döllemeyi 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 Gökkuşaağı 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

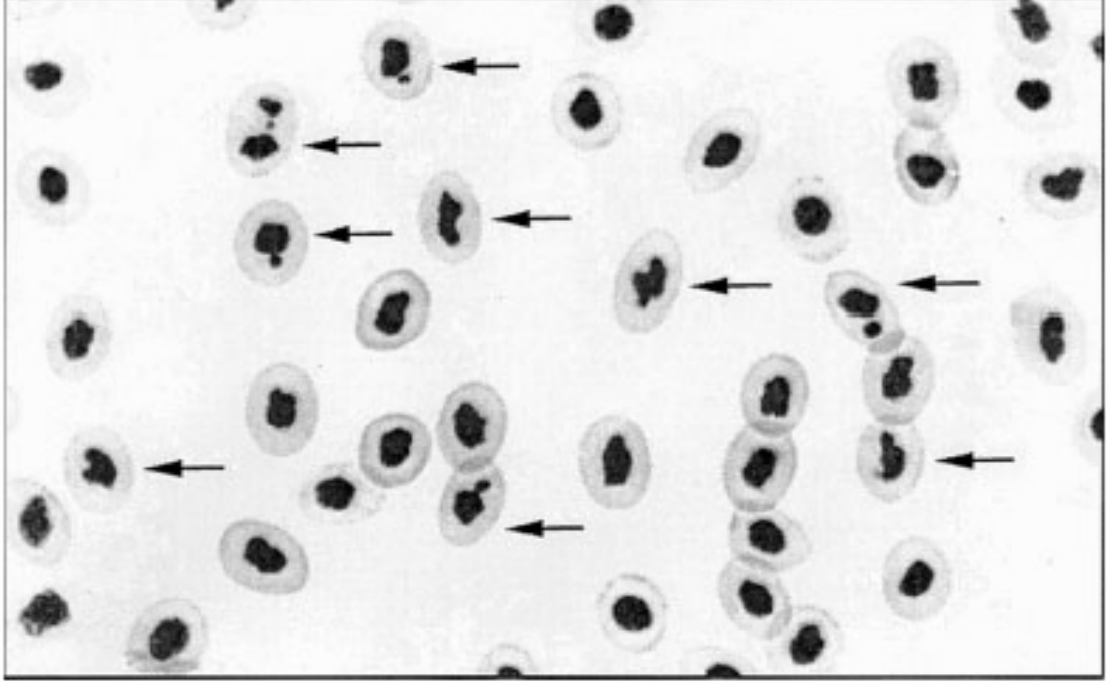
balıkların az da olsa nüfusa fazlasıyla yetmesi.

Balık Yetiştiriciliği gereksiniminin sonucu doğmuştur ve balıkların çoğaltılmaları ile daha fazla hayvansal protein kazanılmıştır (5).

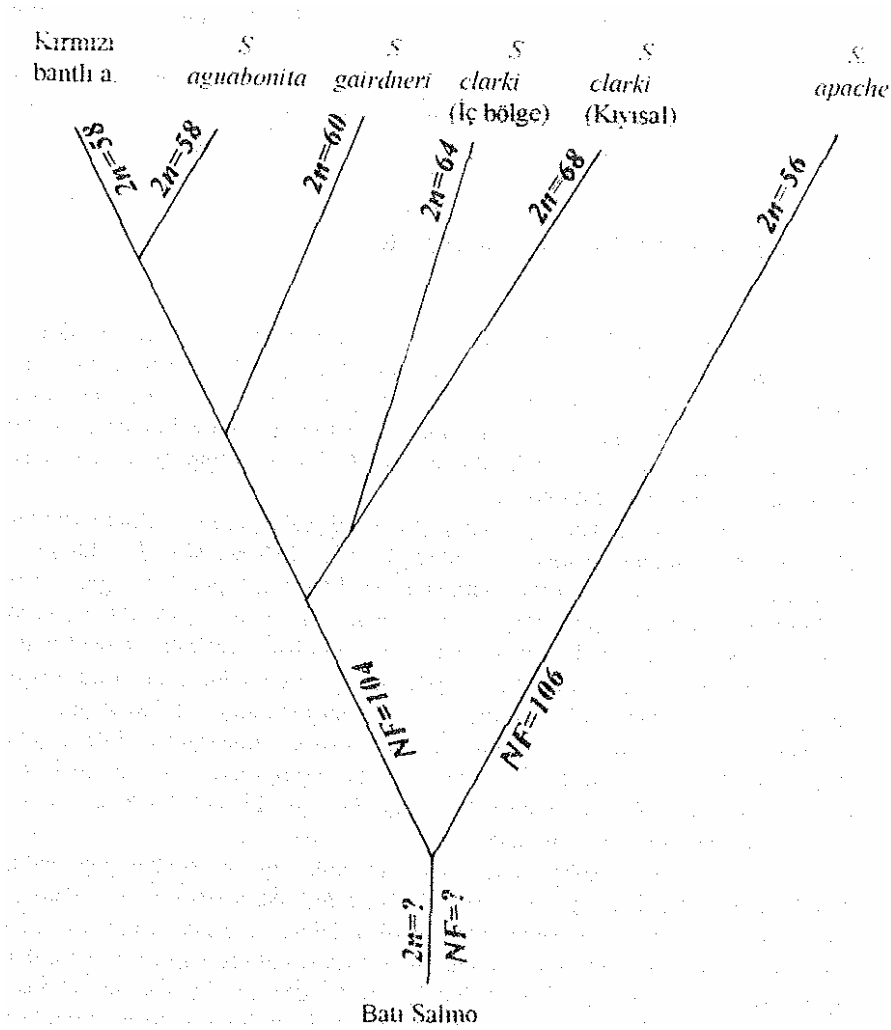
Kromozom analizleri yardımıyla balık populasyonlarının genetik yapılarının belirlenmesi, populasyonlar arası ve populasyon içi (hatta bireysel) kromozom polimorfizminin tespiti hususunda yurt dışında yapılmış çok sayıda çalışma mevcuttur. Ne var ki, ülkemizde bu konuda yapılmış çalışma yok denebilecek 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. Mersin Körfezinden yakalanan Mugil cephalus kan örneklerinde mikronükleus görünümü (6).



Çizelge 1. Sadece karyotipleri dikkate alınarak yapılmış Kuzey-Batı Amerika alabalıklarının (*Salmo*) soy ağacı (7).

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 (8).

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 iyi bir örneği oluşturmaktadır. Sanayisi çok gelişmiş olmasada, 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 (9, 10).

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 (11).

Kromozomların yapı ve tiplerinin belirlenmesinin yanı sıra restriksiyon enzimlerinin uygulanışı temel genetik bilgilere de katkıda bulunmaktadır (12). 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 (13, 14).

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 (13, 15).

Bu alışma ile Kura-Aras Havzasında olan *Orthrias tigris*'in kromozom sayı ve tiplerinin belirlenmesi ve adı geçen türün diğer akraba türlerle kromozomal açıdan karşılaştırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kullanılan Balıklar Üzerine Genel Bilgiler

Familya : 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 (16).

Cins : Orthrias (Heckel, 1843)

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 ışınlı 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 (16).

Çizelge 2. *Orthrias (Nemacheilus)* türlerinde diagnostik özelliklerin karşılaştırılması (17).

Türler	D	A	P	V
<i>O.angorae</i>	II-III 7-8	II 5	I 9-10	I 6-7
<i>O.tschaisyuensis</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 tigris* (Heckel, 1843)

Genellikle vücudun ön kısmı çıplak, orta ve arka bölgeleri ise küçük pullarla örtülüdür. L. lateral tam olup kuyruk yüzgecine kadar uzanır. Vücut uzunluğu, vücut yüksekliğinin 5,5-6,5 katı kadardır. Kuyruk sapı uzunluğu aşağı yukarı maksimal vücut yüksekliğine eşittir. Kuyruk sapının Dorsal tarafında ve özellikle sırt yüzgecinin hemen gerisinde yer alan fakat her zaman belirgin şekilde görülmeyen, dere kıvrıntısından oluşmuş zayıf bir krista bulunur. Kuyruk yüzgecinin serbest kenarı, yaşlı bireylere düz olmakla beraber, gençlerde hafifçe girintili olabilir. Uzunluğu en fazla 11cm. civarındadır.

Vücut genel rengi sarı veya gri - kahverengi olup, yan taraflarında sayıları 12-

15 arasında değişen ve transversal olarak uzanan siyah renkli iri benekler vardır. Dorsal ve Kaudal yüzgeçler üzerinde ise enine 2-3 sıra halinde seyreden koyu renkli koyu bantlar görülür.

Anadolu'nun özellikle Doğu ve Güneydoğu bölgelerine özgü olan bu tür, bilhassa Dicle, Fırat, Kura, Aras, Ceyhan ve Asi nehirlerinden bilinmektedir (18).

İlk bulunuş yeri : Halep

Yerel adı : Çöpçü balığı



Resim 2. Çöpçü balığı (*Orthrias tigris*, Heckel 1843) (16).

Tür : *Orthrias tigris* (Heckel, 1843)

Diagnostik Özellikleri :

D : II-III ; 7-8

A : II ; 5

P : I ; 10-11

V : I ; 7 (18).

Sistematikteki Yeri :

Alem :Animalia

Alt alem :Metazoa

Şube :Chordata

Alt şube :Gnathostomata

Üst sınıf :Pisces

Sınıf : Osteichthyes

Alt sınıf : Actinopterygii
Üst takım : Teleostei
Takım : Cypriniformes
Aile : Balitoridae
Cins : Orthrias(Jordan and Fowler,1903)
Tür : *Orthrias tigris* (Heckel, 1843) (19).

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 çarpışması sonucunda meydana gelen sıkışma ortamında çarpışma volkanitlerin oluştuğu belirtilmektedir (20).

Bölgedeki yükselmenin ve volkanizmanın etkisiyle Kalkankale formasyonunun çökeldiği göllerin devamlı olarak boyutları değişmiş, bir yerde söz konusu göllerin bir kısmı ve/veya tamamı kapanarak diğer tarafta yeni göl ve göller oluşarak çökme 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, tuf, 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 (20). Çalışma alanında yer alan çökel kayalardan Üst Miyosen yaşlı Horasan

formasyonuna ait birimler genelde yatay veya yataya yakın 5°-10° ile Güneydoğuya eğimli olup, orta-kalın tabakalanma sunar.

MTA tarafından yapılmış bölgesel çalışmada, bölgede sıkışma tektoniğinin etkisiyle, volkanizmanın yanında çok sayıda Kuzeydoğu-Güneybatı gidişli sağ yanal doğrultu atımlı fayların ve Kuzey-Güney yönlü açılma çatlaklarının oluşmasına neden olduğu, sağ ve sol yanal atımlı fayların birbirlerini dik kestiği belirtilmiştir (20).

O.tigris 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 Göluyağı, Karahan Çayı ve Tazekent Suyudur.

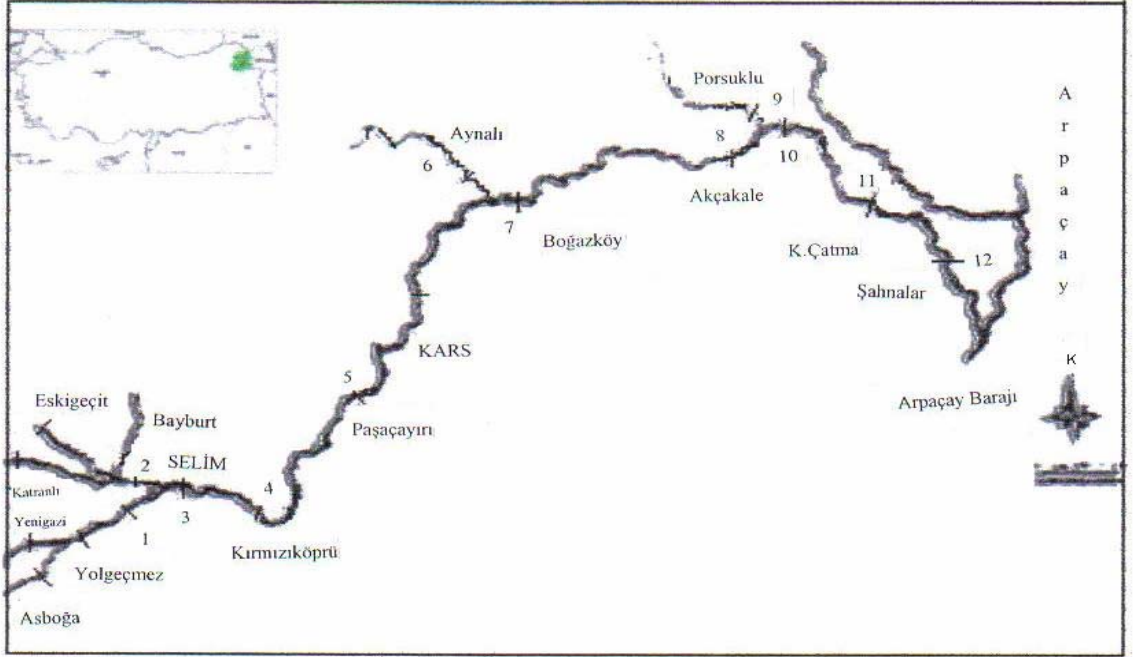
Uzunluğu 93 kilometre olan Kars Çayı'nın en uzun kolu Sarıkamış Çayı'dır. Soğanlı Dağlarının Aşıt Tepe (2350 m) eteklerinden doğan Sarıkamış Çayı, Sarıkamış ilçesini geçtikten sonra Kars Çayı adını alır. Kars Çayının su potansiyeli açısından en önemli kolu Kekeç Çayıdır. Katranlı Çayı ve Bayburt Suyu 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 (20, 21).

İnceleme materyalimiz olan *O.tigris* yukarıda da değindiğimiz gibi Kura-Aras Havzası'nda 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 arzeder. 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 Denizine 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 topraklarına

girer ve başlıca kolları Kura nehrine katılarak Hazar denizine 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 (22).

Çizelge 3. Kars Çayı Su Kalite Değerleri (20, 21).

Özellikleri	01.07.2000	03.10.1994	19.10.1994	19.08.1964
<i>Ph</i>	8.59	8.06	8.34	8.20
<i>ECxE° 25 °C</i>	431	420	387	388
<i>Toplam Katyon (me/lt)</i>	4.66	4.58	4.25	3.88
<i>Na+</i>	1.26	1.05	1.05	1.38
<i>K+</i>	0.11	0.13	0.10	0.00
<i>Ca+++ Mg++</i>	3.29	3.40	3.10	2.50
<i>Toplam Anyon (me/lt)</i>	4.66	4.58	4.25	3.88
<i>CO-23</i>	0.84	0.16	0.62	1.60
<i>HCO3⁻</i>	2.81	3.76	2.85	1.44
<i>Cl⁻</i>	0.62	0.42	0.42	0.48
<i>SO4-2</i>	0.39	0.24	0.36	0.36
<i>% Na</i>	27.04	22.92	24.70	36.00
<i>SAR</i>	0.98	0.80	0.84	0.52
<i>Sulama Suyu Sınıfı</i>	C2S1	C2S1	C2S1	C2S1



Harita 1. Kars Çayı haritası (16).

Ardahan ve Kars il sınırları içerisinde kalan Çıldır Gölü 123 km² 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 çıkışı 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 sızlıklar daralmaktadır. Bununla beraber birçok balığın yasaklara uymayarak kontrolsüz avlanmaları balık stoklarını olumsuz etkilemektedir.



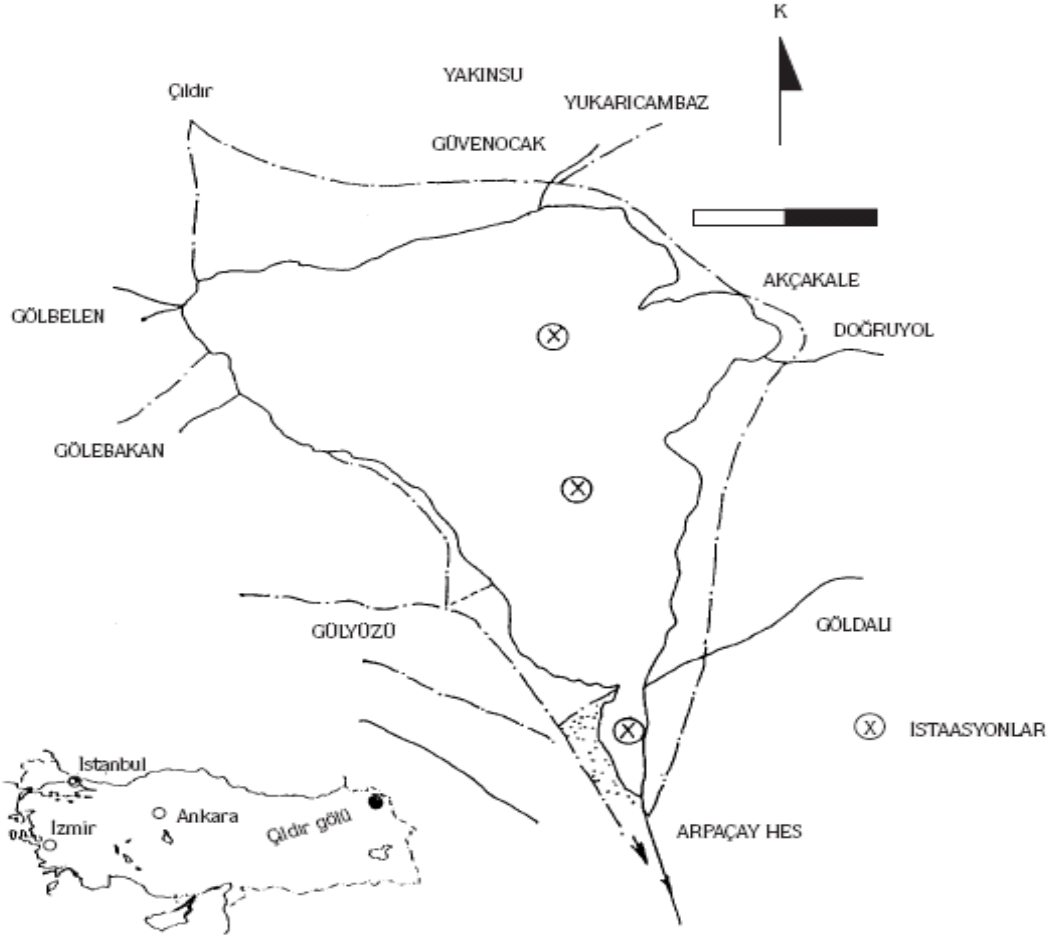
Resim 3. Çıldır Gölü'nde kış aylarında sazan avı.

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 çayırılığı olan Karaçay ovasının ot verimini ciddi boyutta etkilemesi söz konusudur.

Göl ve çevresindeki tarım alanlarında kullanılan tarımsal kimyasalların (özellikle de yüksek oranda azot içeren gübrenin) bilinçsizce ve yörenin ekolojik ve iklimsel koşulları göz ardı edilerek kullanılmasının göl üzerindeki kötü etkileri belirtilmektedir.

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

Gölde aşırı 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 inşa edilmeye başlanmıştır.



Harita 2. Çıldır Gölü haritası (23).

Göl Hakkında Diğer Bilgiler :

<i>Konum</i>	Ardahan ılı
<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

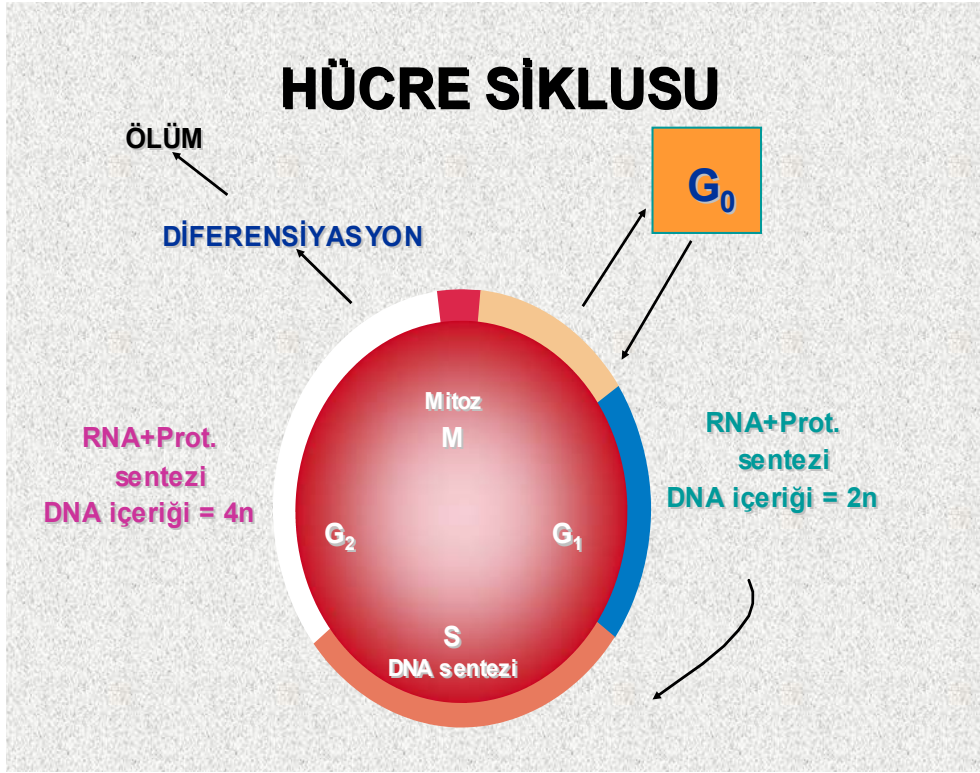
2.3. Kromozomlar Üzerine Genel Bilgiler

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 hücrelerdekisinin sadece yarısı kadar DNA içerdiğini kesin olarak göstermişlerdir (24).



Şekil 1. Hücre Siklusu.

2.4.Hücre Siklusu

Genetik kontrolün önemli bir düzeyi, hücre siklusu sırasındaki iki evre arasındaki birleşme yerlerinin kontrol noktası hücredeki çeşitli durumları ikaz ederek bir monitör gibi görev yapabilir. Bu monitörler kontrol noktasını geçerek hücreyi zarara sokabilecek ve zamanından önce ortaya çıkartılan bir aktiviteyi anlayabilir (1).

Mitoz bölünmede amaç ana hücredeki kalıtım materyalinin eşit şekilde yavru hücrelere taksimidir. Bir hücrelerdeki amitoz bölünmede, hem iğ iplikleri işe karışmaz hem de kalıtım materyali büyük bir olasılıkla eşit olmayan şekillerde yavruya verilir. Dinlenme sırasında, kromozomlar boyanmaz, DNA miktarı $2n$ 'dir (G₁ evresi). Daha sonra DNA kendini eşler, DNA miktarı $4n$ 'dir. İnce kromatit iplikleri şeklinde boyanırlar (S evresi). Üçüncü evre koyu boyanan kromozomlara sahip, $4n$ 'li (G₂ evresi)'dir. Son evresi ise mitoz bölünmenin gerçekleştiği ve kromozom sayısının $2n$ 'e indiği (M evresi)'dir (26). Hücredeki tüm yapıların ikileşerek, daha sonra iki yavru hücreye verilmesini sağlayan bu döngüye "Hücre Siklusu" (=Hücre Döngüsü) denir. Bir hücre döngüsünde büyüme ve bölünme diye

birbirini izleyen iki evre vardır.

Bitki ve hayvanlarda hücre döngüsünün tamamlanması yaklaşık 20 saat kadar sürer. Bu sürenin yaklaşık bir saati mitoz bölünmeye ayrılmıştır. Geri kalan süre interfazdaki büyüme için kullanılır. En uygun beslenme ve sıcaklık koşullarında dahi, herhangi bir hücre çeşidinin bölünme süresi sabittir. Uygun olmayan koşullarda bu süre uzayabilir. Fakat hem hücrenin optimumundan daha hızlı büyümesini hem de optimumdan daha hızlı döngüsünü sağlamak olanaksızdır (25).

Hazırlık Evresi

Kromozomların, eşlerini interfazda meydana getirdiği 1950'li yıllarda gözlenmişti.

G₁ evresi: Tipik hücre döngüsünde bu evre yaklaşık 8 saat kadar sürer. Bununla beraber zaman olarak en değişken devre bu evredir. Özellikle hücre döngüsü uzun olan hücrelerde zamanın uzamasına bu evrenin uzun olması neden olur. Buna karşın yumurta hücresi gibi hücre döngüsü çok kısa olanlarda, ölçülebilir bir G₁, yani dinlenme evresi yoktur. Bu evrenin uzunluğu hücre çeşitlerine göre, birkaç dakika, birkaç saat, birkaç gün ya da birkaç hafta olabilir. G₁ evresi süresince meydana gelen bazı vazgeçilmez olaylar, hücrenin hazırlık evresi dediğimiz evreye ve daha sonra bölünmeye geçmesini sağlar. Ribozomlar ve diğer organeller çoğaltılır.

G₁ evresinin sonlarına doğru hücrelerin kenarları incelik, kırış kırış olur ve aktifleşir.

Bu evrede hücre bölünmesi için gerekli proteinler, diğer maddeler ve ATP sentezlenir. Çünkü hücre bölünmeye geçtikten sonra metabolik işlevlerinin çoğunu durdurur. Özellikle iğ iplikleri için gerekli proteinler bu evrede hazırlanmış olur.

S evresi: G₁ evresinin bitişini izler. Normal hücrelerde yaklaşık 6 saat kadar sürer. Memeli hücrelerinde bu süre 6-8 saat kadardır. Bu evrede çekirdekdeki DNA miktarı sadece iki katına çıkmaz, aynı zamanda her kromozomun eksiksiz bir eşinin yapılması sağlanır. G₁ evresinde başlayan yassılaşıma daha da ilerler. Hücre yüzeyi düzgünleşir.

Tüm kromozomların replikasyonu hemen hemen aynı zamanda sonlanır. Son segmentin sentezlenmesi tamamlandığı zaman DNA replikasyonu gelecek hücre

döngüsüne kadar durdurulur. S- evresi geçirmeyen hücre bölünmemez. S –evresi geçiren hücre eninde sonunda bölünür. İnsan kalp kası hücreleri G₂ evresinde kalmaktadır. S- evresi geçirilmesine karşın bölünmezler.

G₂ evresi : S evresini izler. Yaklaşık 4-4,5 saat kadar sürer. Memeli hücrelerinde bu süre 3-5 saat kadardır. S- evresindeki replikasyonlarla normal sayının iki katına çıkmış DNA iplikçikleri, mitozdaki taksimin doğru yürütülmesi için, türe özgü bir şekilde kısalarak, boyanabilir ve iyi görünür kromozomları yapar. Keza bu evrede hücre bölünmesine hazırlık olması için protein sentezi artar. Hücre yüzeyi G₁ evresindekinden daha seyrek olmak üzere yine kabarcıklar ve mikrovilluslarla donatılır; keza hücrede kalınlaşma ve bir araya toplanma başlar.

Özünde hücre döngüsünde iki önemli geçiş vardır. Bunlardan biri kromozomların sentezlenmeye başlandığı G₁ evresi ile S evresi arasında, ikincisi ise kromozomların yoğunlaştığı ve mitozla başladığı G₂ evresi ile M evresi arasındadır.

M evresi : Mitoz bölünmenin başlangıcını saptamak olanaksızdır. Fakat hücrede bazı değişiklikler olur; hücre içeriği jel haline geçer, metabolizma durur, çekirdeğin hacmi hızla büyür. Kromatit iplikleri belirginleşir ve boyanmaya başlar. G₂ evresinin tamamlanması, kromozomların türlere özgü şekil ve sayıyı kazanmasıyla mitoz bölünmeye geçilir. Işık mikroskopunda kromozomlar artık rahatlıkla görülebilir. Bu süre yaklaşık bir saat sürer. Bu evredeki hücreler küre şeklindedir ve etrafındaki cisimlere kuvvetlice bağlanmamıştır (25).

2.5. Mitoz Bölünme

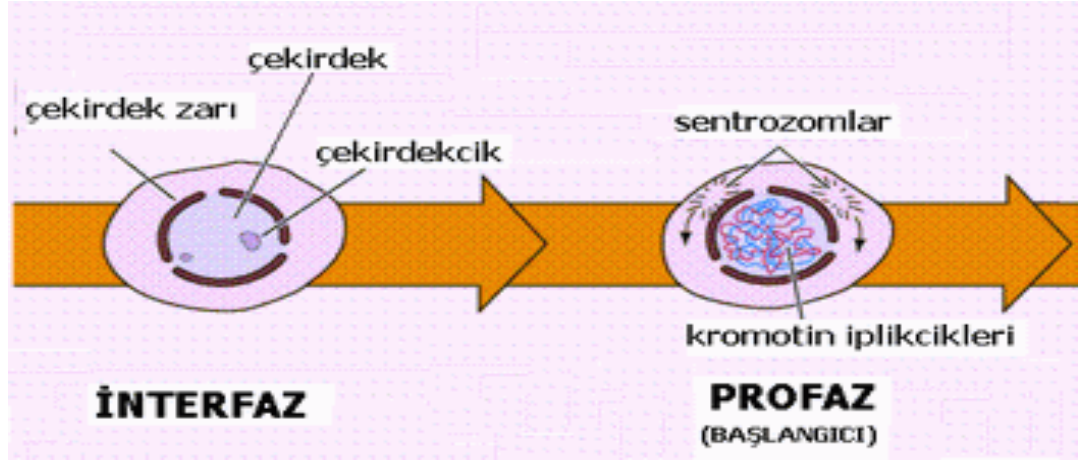
Hücre, büyüklük bakımından belirli bir limite ulaştığı zaman, kuramsal olarak ikiye bölünmesi gereklidir. Çünkü hücre genel olarak bir küre şeklinde düşünülürse, büyümede hacim/yüzey oranı r^3 / r^2 dir. Yani hacim yarıçapın küpüyle büyürken, yüzeydeki büyüme yarıçapın karesine bağımlı kalır ve bir zaman sonra hücrenin yüzeyi gerek besin alışverişini gerek artık maddelerin atılımını ve gerekse gaz alışverişini bütün hücreye sağlayamayacak duruma gelir ve hücre yüzeyini büyütebilmek amacıyla bölünmeye başlar. Ayrıca büyüyen hücrede sitoplazma çekirdek oranı büyüdüğünden ve çekirdek etki alanı sınırlı olduğundan bu durum ölüme sürükleyebilir, dolayısıyla hücreyi bölünmeye zorlar. Bu bölünme, büyümeyi, rejenerasyonu ve dokuların yenilenmesini sağlar. Hatta bölünecek

büyükölge ulaşan Amip'in protoplazmasından bir miktar kesersek bölünme durur ve hayvan tekrar büyümeye başlar. Bu çalışma sonsuz olarak devam ederse, hayvan bölünmeden hayatta kalabilir. Bir hücreli canlılarda mitoz aynı zamanda üremeyi sağlamaktadır. Canlıdan canlıya ve aynı bireyde dokular arasındaki hücrelerin mitozla bölünme hızı tamamen farklıdır. Örneğin bağırsak mukozası, epidermis, kan hücreleri sürekli değişmesine karşılık diğer dokular belirli zamanlarda, sinir ve retine hücreleri ise doğumdan sonra hiç bölünmez (26).

Ökaryot hücrelerde birbirinden oldukça farklı olan, sıkça birlikte meydana gelen, fakat her zaman olmayan, iki bölünme işlemi vardır: çekirdeğin bölünmesi ve sitoplazmanın bölünmesi. Her biri türediğı çekirdek ile aynı sayıda kromozom içeren iki yeni çekirdek, mitoz(Yunanca mitos ‘'iplik’’ten türetilmiştir) denen işlemle meydana getirilir. Sitoplazmanın bölünmesi sitokinez olarak adlandırılır (28).

Haploid ve diploid hücrelerde DNA ve kromozom duplikasyonundan sonra mitoz meydana gelir (1).

Mitoz bölünme tek hücrelilerde çoğalmayı çok hücreli canlılarda büyümeyi ve yıpranan kısımların onarılmasını sağlar. Zigottan embriyonun oluşması sırasında mitoz bölünmeler hızlıdır (29).



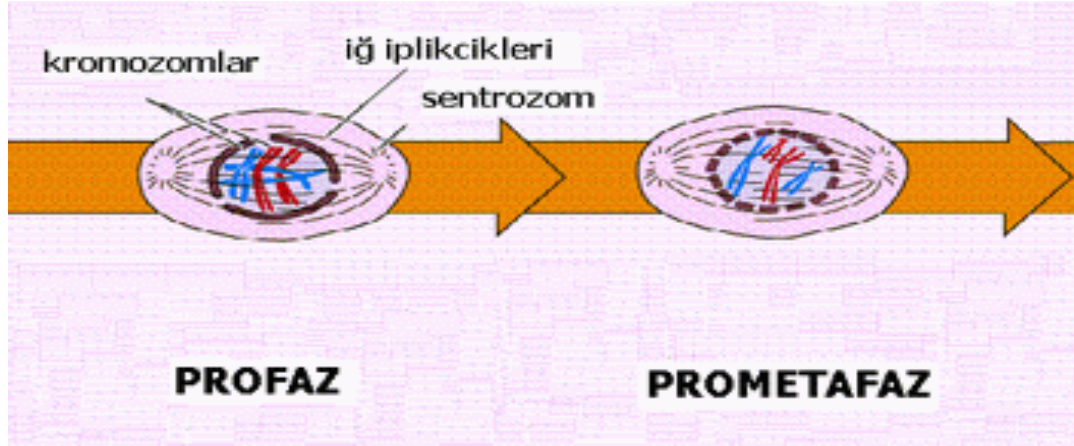
Şekil 2.Mitoz Bölünmenin İnterfaz ve Profaz başlangıç evreleri (27).

Profaz : Hücre, profaz sırasında , çekirdeğini, iki kromozom takımının kritik önemi olan iki kardeş hücreye ayrılması işi için hazırlar. Bir hayvan hücresindeki iki sentriyol, çekirdekten zıt yönlerde uzaklaştıkça, başlangıçta belirsiz olan kromozomlar görülebilen iplikçikler olarak yoğunlaşmaya başlarlar. Giderek kısalıp kalınlaşırlar ve daha kolay boyanırlar. Kromozomlar profaz başlarında, ilk defa gözüktüklerinde, uzun ve ince birbirlerine girmiş filamentler biçimindedir; fakat evre ilerledikçe iyice kısalmış çubuk benzeri yapılar olarak ayırt edilebilirler. Kromozomlar belirginleştikçe çekirdekcik belirsizleşir ve sıkça, profazın sona ermesiyle tamamen gözden kaybolur (28).

Oldukça yüksek büyültme ile bakıldığında, bir geç-profaz kromozomunun birbirinin aynı iki kromatitten oluştuğu açıkça görülebilir. İnterfaz sırasında gerçekleşen replikasyon sonucunda orijinal kromozomdaki DNA'dan birbirinin aynı iki kopya oluştuğu için, bir profaz kromozomunun kromatitleri genetik açıdan birbirinin aynısıdır.

Kromozomları hücre bölünmesi sırasında birbirinden ayıran başlıca yapı, mitoz işi ileri profazda görünür hale geçer. Bir hayvan hücresindeki sentriyoller, birbirinden, ayrılmaya başlarken, her sentriyol çifti yakınında bir mikrotübül sistemi ortaya çıkar ve tüm yönlere yayılır. Bu tür uçlu mikrotübül dizilerine aster denir. Bir sentriyol çifti bir kutuba yaklaşırken bazı mikrotübüller aksi yöndeki sentriyol çiftinden uzanan mikrotübüllere tutunur ve böylece, polar mikrotübüller oluşturulur;

asterler polar mikrotübüller ile birlikte sepet- benzeri iğler meydana getirirler. İleri profazda, çekirdek zarı giderek kaybolur ve bazı aster mikrotübülleri her kromatidin sentromeri üzerinde oluşan ve kinetokorlar denen protein plaklarına bağlanır. Böylece kinetokor mikrotübülleri sentromer ile kutuplar arasında bağlantı sağlar.

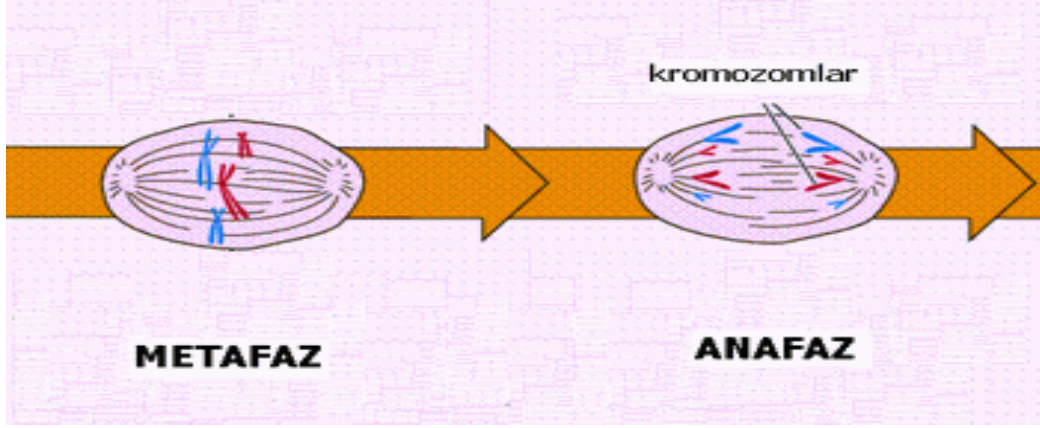


Şekil 3. Mitoz Bölünmenin Profaz ve Prometafaz evreleri (27).

Metafaz : Metafaz evresinden önce, prometafaz olarak bilinen kısa bir dönem vardır. Başlangıçta çekirdekte tamamen rastgele biçimde dağınık halde olan kromozomlar iğ ekvatoruna (ortasına) doğru hareket etmeye başlar. Bu hareket; tubulin alt birimlerinin birbirine eklenmesiyle kinetokor mikrotübüllerinin kendi aster kutuplarından itibaren büyüebilme ve tubulin alt birimlerinin sindirildiği kinetokor bağlantılarında büzüşebilmelerinden kaynaklanır.

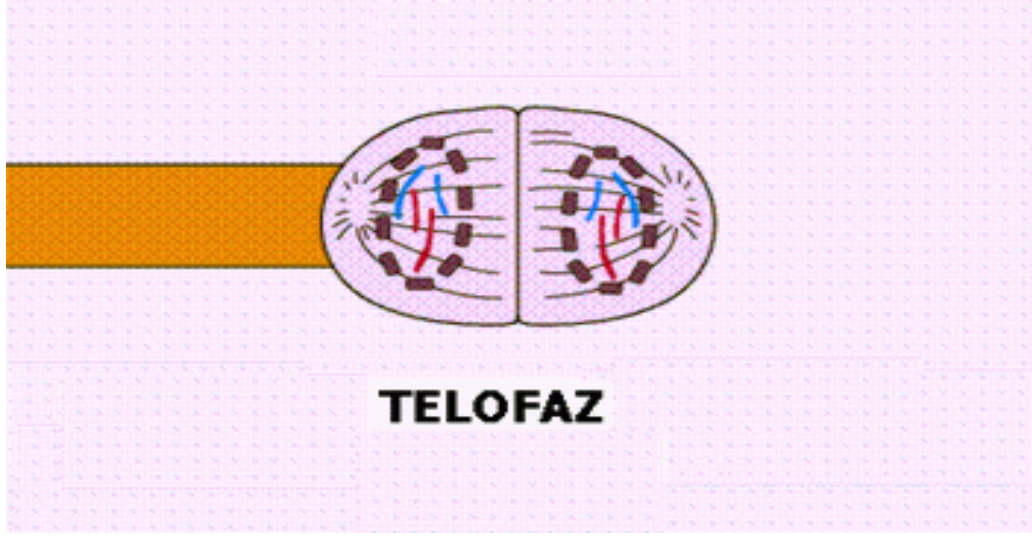
Prometafazın sonuna gelindiğinde, her kromozom eşit bir biçimde her kutup tarafından çekilmiş durumdadır ve böylece tam ortada konuşlanmışdır.

Kısa süren metafaz sırasında kromozomlar iğ ekvator düzleminde sıralanır ve yandan bakıldığında iğ ortası boyunca bir hat oluşturdukları görülür. Her ikiz kromatit çiftinin sentromerleri birbirinden ayrıldığı zaman metafaz sona erer. Artık kromatit kendi sentromerine sahip bağımsız bir kromozom haline gelmiştir. Metafaz sona erdiğinde çekirdekteki bağımsız kromozomların sayısı 2 katına çıktığı halde genetik maddenin toplam miktarı değişmeden kalır (28).



Şekil 4.Mitoz Bölünmenin Metafaz ve Anafaz evreleri (27).

Anafaz : Mitozun önceki aşamaları çekirdeği anafaz sırasında gerçekleşen önemli bir olaya hazırlar; iki tam kromozom setinin birbirinden ayrılması anafaz başladığında; bu ana kadar ikiz kromatitleri bir arada tutan sentromerler ayrılmıştır. Tek kromatit kromozomları içeren bu iki yeni set şimdi birbirinden ayrılmaya başlar ve setlerden biri böylece, iğ iplikçiklerinin bulunduğu bir kutuba giderken öteki set(28) tam zıt yöndeki kutuba gider. Zıt kutuplara doğru olan bu hareket iki biçimde gerçekleştirilir.Kromozomları sanki karşılıklı çekilen bir iple sıraya diziyormuş gibi yapan aynı işlem ile bu kez tutundukları kromozomla birlikte sentromerler kutuplara doğru çekilebilmektedir.Bu sırada , bölünmekte olan hücrenin zıt uçlarından itibaren uzanan polar mikrotubuller kendi aralarında çapraz köprüler meydana getirirler ve kutupları iterek birbirinden ayırırlar.Mikrotubuller bunu yaptıkları sırada boyları uzar.Anafazın sonlarında hücre birbirinden iyice uzaklaşmış iki kromozom grubu içerir ve bu iki grup kendi zıt kutuplarındaki iğ iplikçığı kümesine hemen hemen ulaşmış durumdadır.



Şekil 5. Mitoz Bölünmenin Telofaz evresi (27).

Telofaz : Telofaz tam olarak, profazın tersidir.Kutuplarına ulaşmış olan iki kromozom seti yeni çekirdek zarları ile çevrilir.İğ iplikçikleri kaybolurken kromozomlar çözülmeye başlar ve tekrar interfaz evresindeki biçimlerine dönerler.Çekirdekçikler giderek gözden yiterler.Sitokinez sıklıkla telofaz sırasında tamamlanır.Yeni çekirdeklerin tamamen interfaz haline geçmesiyle telofaz sona erer ve böylece mitoz bölünme tamamlanır.Profazda ikiz kromatit kromozomların tek bir setini içeren çekirdek artık iki çekirdek haline gelmiştir ve bunların her biri sadece bir tane tekli kromatit kromozomları içermektedir.

Sitokinez: Bazı alglerde ve mantarlarda mitoz geçirildikten sonra sitokinez olmaz ve sönositik bitki cisimcikleri oluştururlar. Tohumlu bitkilerde ve belirli bazı vasküler bitkilerde üremenin belirli dönemlerinde bu durum düzenli olarak ortaya çıkar. Sönositik cisimcik içeren birkaç aşağı omurgasız hayvanda da yaygındır. Böcek yumurtalarının gelişmelerinin başlarında, sitokinez olmadan gerçekleşen mitozla, sınırlı miktardaki sitoplazmada yüzlerce çekirdek meydana getirilir; daha sonra bu sitoplazmanın sitokinezi ile kısa sürede pek çok yeni hücre oluşturulur.

Hayvan Hücrelerindeki Sitokinez

Bir hayvan hücresinin bölünmesi normal olarak, hücreyi saran bir bölünme yarığı oluşumu ile başlar. Sitokinez mitoz sırasında meydana geldiğinde, yarığın pozisyonunu genellikle, ekvator bölgesinde yarığın olduğu iğ iplikçikleri belirler. Bu yarık hücreyi ve iğ iplikçliğini bir uçtan öbürüne tamamen bölene dek

derinleşmeye devam eder ve iki yeni hücre meydana getirir. Bölünme bölgesindeki aktin ve miyozin filamentleri kuşağının varlığı mikrofilament aktivitesini etkisizleştiren sitokalazin gibi ilaçların sitokinezi durdurması bulgusu bu görüşü desteklemektedir.

2.6. Kromozom Preparasyonunun Temel Prensipleri

Balık kromozomları mitoz bölünmenin fazla olduğu ve metafaz safhasında bir ışık mikroskobu yardımıyla çok kolay görülebilir ve çok iyi tanımlanabilir.

1-Mitotik Bir Engelleyici İle Ön Muamele: Kolşisin, bütün mitoz engelleyiciler arasında en çok kullanılanıdır. İlk defa 1883'de Colchicum autumnale bitkisinin köklerinden izole edilmiş. Bir hücredeki iğ oluşum mekanizmasını ortadan kaldırır ve kromozomları daha iyi inceleyebilme imkanı oluşur.

Diğer mitoz engelleyiciler, kolsemid ve velban'dır. Kolsemid , kolşisinden daha az toksik olup in vitro çalışmalarda kolşisinden daha fazla miktarlarda kullanılır. Velban ise diğer ikisinden daha güçlüdür. Aynı zaman periyodu için, kolsemid ve velban'ın her ikisi de kolşisinden biraz daha düşük konsantrasyonlarda tatbik edilirler.

Bu üç mitoz engelleyici, üç yolla balıklara tatbik edilebilir;

1-Büyük türler için, vücut ağırlığının her 10 gramında %0,01-0,1 'lik mitoz engelleyicinin 0,1 ml'si kas dokusuna yavaşça enjekte edilir.

2-Aynı konsantrasyon karın boşluğuna iç organlara zarar vermeyecek şekilde enjekte edilir.

3-Enjekte için çok küçük olan balıklar içinde mitotik engelleyici bulunan saf suda birkaç saat (3-8) saat yüzmeye bırakılırlar.

2-Hipotonik Muamele: Doku balıktan alındıktan sonra yapılan bu işlem; hücreleri şişirir ve kromozomları dağıtır. Muamele süresi 7 dakika - 1 saat arasındır. Bu süre sıcaklık ve kullanılan dokunun yoğunluğuna bağlı olarak değişir. Yüksek sıcaklıklarda işlemin hızı artar ve hipotonik muamele süresi azalır.

3-Fikzasyon (Tespit Etme):Fikzasyonun amacı; hücre içi unsurların tahrif edilmeden hücreyi öldürmektir. En çok kullanılanı 3 metanol :1 glasiyal asetik asit solüsyonudur. Kullanmadan önce taze hazırlanmalıdır.

4-Lam Üzerinde Kromozomların Yayılması:

-Havada kurutulmuş ve ateşte kurutulmuş preparasyonlar

Hava-kurutma fikzatif ile muamele edilmiş hücrelerin lam üzerine damlatılıp hava ile kurutularak kromozomların yayılmasıdır.

Thorgaard (1990)'da, sıcak bir lamba altında 90⁰ lik bir açıyla lam üzerine damlatmak suretiyle iyi sonuçlar elde etmiştir.

Hücreler lam üzerine damlatıldıktan hemen sonra lam üzerine üfleme suretiyle veya bir üfleme (kompresör)'den sıcak hava uygulamak suretiyle kolayca yayılabilir.

Süspansiyon lam üzerine damlatılır, bunsen alevinden geçirilerek kurutulur.

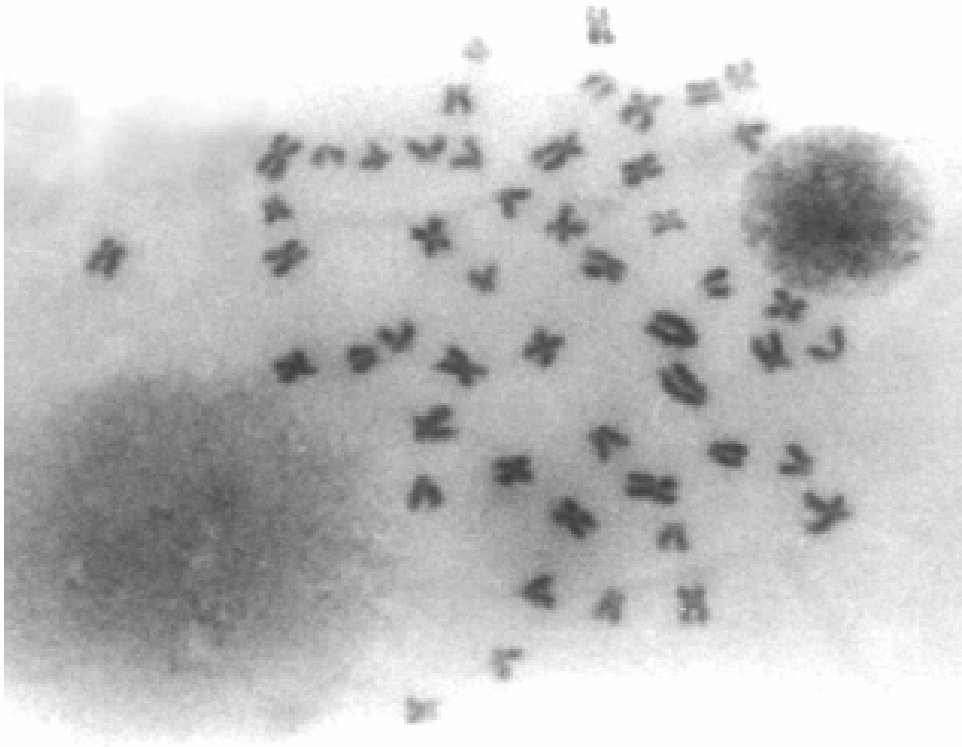
-Katı Doku Preparasyonları

5-Boyama :Aseto-orsein boyası, genellikle %45'lik asetik asit içinde %1 veya 2'lik bir solüsyondur. Bir lamel altında boyama süresi yaklaşık 10 dakika, bir boyama kabında 20 dakikadır. %4'lük bir Giemsa stok solüsyonu, pH'sı 6,4 olan fosfat tamponunda hazırlanır. Feulgen, DNA'ya özgüdür. Kromozomlar önce Schiff belirteci ile muamele edilir. Preparasyon asetik asit içine konulduktan sonra parlak koyu kırmızı renk gözlenir. Zaman harcar ve bileşik nükleik asitlerin tayin edilmesinde kullanılır.

İn vivo Yöntemler

1-Pul ve Yüzgeç Epiteli : Denton ve Howell(1969) tarafından önerilen bu yöntemde balık öldürülmez.2-3gün önce, rejenerasyon meydana gelmesi amacıyla bütün yüzgeçlerin kenarları kesilir. Yeni büyüme renk olarak daha açıktır ve çıplak gözle kolaylıkla fark edilirler (4).

2-Böbrek, Dalak, Solungaç Epiteli, Gonad (Ovaryum veya Testis), Karaciğer vd. : McPhail ve Jones (1966) tarafından kemikli balıkların solungaçlarından kromozom elde etme tekniğinde; balık öldürülür.



Resim 4. $2n=50$ kromozomlu *Cyprinion macrostomus*'un böbrek dokusundan elde edilmiş metafaz kromozomları (30).



Resim 5. $2n=48$ kromozomlu *Tinca tinca* (L., 1758)'nin solungaç ve böbrek dokusunda çalışılarak elde edilmiş metafaz kromozomları (31).

3-Yumurta (Embriyo) ve Larva : Roes (1967) ve Simon (1963 ve 1964)'de

farklı şekillerde kromozom gözlemlenmişlerdir.

İn vitro Yöntemler

1-Besiyeri (Kültür Ortamı)

- Besinsel Faktörler
- Serum İlaveleri
- Antibiyotikler
- Diğer İlaveler
- pH

2-Stoklama ve Muhafaza

- Dondurma
- Düşük sıcaklıkta inkübasyon

3-Doku elde etmek amacıyla balıkların hazırlanması

- Dış Dokular
- Embriyolar
- İç Dokular

4-Primer veya Taze Monolayer Hücre Kültürlerinin Hazırlanması

- Kemikli Tatlı-su Balıkları
- Kemikli Deniz Balıkları
- Keski Solungaçlı Deniz Balıkları
- Cyclostomata

5-Primer Monolayer Kültürle İçin Tohum Yoğunluğu

6-Monolayer Hücre Kültürlerinin Yayılması

- Mekanik Yayma
- Kimyasal Yayma

2.7. 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.

Ergin balıklardan sağlanan hücre ve dokular, ergin memelilerinkine göre daha iyi kültür edilebilir. Çünkü, genellikle balıkların biyolojisi gereği, büyüme hayat

boyu devam eder ve kendini yenileme özelliğine sahiptir.

Kültürü daha kolay ve iyi olan ikinci doku tipi ise tercihen genç balıklardan alınan ve olgunlaşmamış gonadlardır.

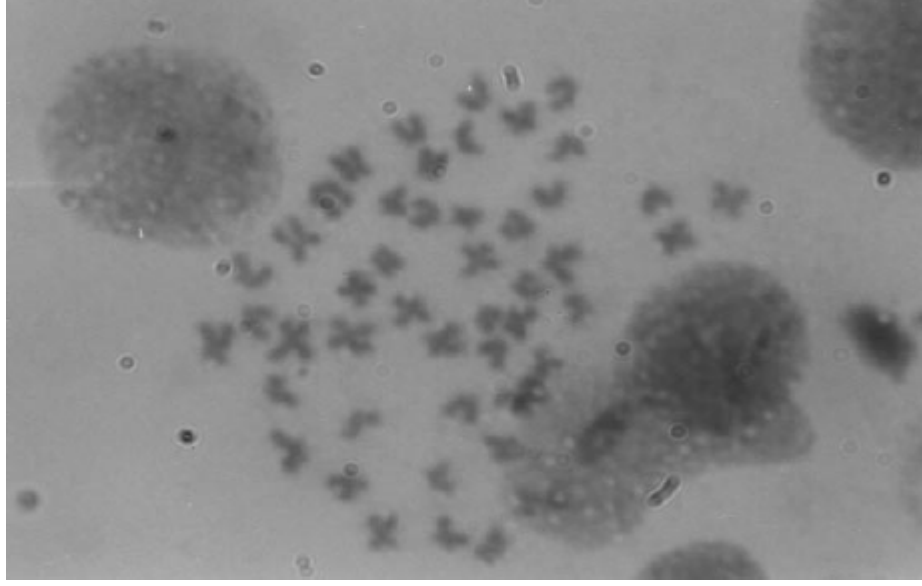
Kültürü yapılabilecek diğer dokular ise; yüzme kesesi, yüzgeç, bağırsak, kornea, solungaç ve deridir.

1-Yüzgeç ve Pul :Yüzgeç ve pul epiteli gibi dokular, hayvan feda edilmeksizin kromozom çalışması yapmak amacıyla oldukça uygundur.

Bu dokulardan yapılacak preparasyonlar, genellikle mükemmel sayılabilecek metafaz yayımları sağlar. Bu dokuların seçilmesiyle, ayrıca kolşisin gibi iğ ket vurucusu ile muameleye tabi tutulmaksızın kromozom çalışması yapabilme avantajı da sağlanmış olur. Kromozomların fazla kasılması veya kromatitlerin muhtemel kırılma tehlikesi yoktur. Yüzgeç ve pulların kullanılmasının dezavantajı ise, bu dokulardaki bölünen hücrelerin genellikle az sayıda olması (4).

2-Solungaç : Bu dokudan, kolşisin ön muamelesi uygulanarak veya uygulanmaksızın da metafaz şekilleri elde edilebilir.

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 temizlenmesini gerektirir. Ayrıca solungaçlar, kromozom çalışmaları için bolca doku örneği alınabilen organlardır.



Resim 6. *Alburnus heckeli*'nin solungaç epitelinden elde edilen metafaz evresindeki kromozomlar (32).

3-Dalak, Böbrek, Karaciğer ve Bağırsak: 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.

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

5-Embriyo : Bu hücrelerden elde edilen kromozomların karyotipinin yapılması önemli bir meseledir.

Roberts (1968) birkaç dezavantajı şu şekilde açıklamıştır;

1-Embriyoları elde etmek ve tür ve cinsiyet tayini yapmak zordur.

2-Embriyonun büyüklüğüdür.

Kolşisin, metafaz şekillerinin sayısını 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-Balıkçılık (Fry) : Kligerman ve Bloom (1976) ve Gold (1974), frylerden iyi kromozom preparasyonları yapılabildiğini kaydetmişler ve çeşitli preparasyon metotları tavsiye etmişlerdir.

7-Gonad (Ovaryum ve testis) : 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.

8-Doku Kültürü : Doku kültürü için genellikle embriyo, yüzgeç, testis, ovaryum, böbrek, dalak, karaciğer ve yüzme keselerinden elde edilen dokular kullanılır. Doku kültüründe gerekli olan ‘‘digestion’’ ve santrifüj işlemlerinden sonra ekim için yeterli sayıda hücre elde etmek için fazla miktarda dokuya ihtiyaç duyulur. Kültür sonuçları organizmanın büyüklüğüne ve yaşına bağlıdır. Kültür hücrelerindeki kromozomlar en iyi kalitede ve fazladır. Balık hücre ve dokularından en iyi kültür yöntemlerinden biri Wolf ve Quimby (1969) tarafından sunulmuştur (4).

9) 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 (phytohemagglutinin)’dir.

PHA, fasülye (*Phaseolus vulgaris*)’den elde edilen bir ekstrattır. PHA, iki şekilde elde edilebilir. PHA (M), oldukça saf olarak ekstrakte edilmiş olup en yaygın kullanılanıdır. Normal olarak, bu mitojenin yaklaşık 0.1 ml’si 5 ml kanda kullanılır.

Bununla beraber, balıklar için bu miktarın 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, şekerçi boyası (*Phytolacca americana*)'dan elde edilen bir ekstraktır. Bu mitojen, blastojenik ve mitojeniklik açıdan memeli lökosit sistemindeki PHA'dan daha uygundur. Leuk-aglutinasyon bakımından ise, PHA'dan daha azdır. PWM'nin balık kan kültürü ile ilişkisi kaydedilmemiştir. Her iki bitkiden elde edilen ekstrakt, doğada mukoprotein olarak bulunurlar. Hücredeki faaliyet tarzları da henüz bilinmemektedir. Birçok araştırmacı, muhtemelen monositlerin ve lenfositlerin yüzeyleriyle her hangi bir şekilde bir antijen-anti body tarzında tepki gösterdiği fikrine sahiptir.

Yine birçok araştırmacı, balık kan kültüründe başarılı olmuştur. Labat vd (1967) (33) ilk olarak Doğa sazanından (*Cyprinus carpio*) alınarak kültür edilmiş lökositlerden kromozom elde etmişlerdir. Heckman ve Brubaker (1970) (34), *Carassius auratus*'un lökositlerinden kromozom preparasyonları yapmışlardır. Daha sonra, Heckman vd. (1971) (35), bu tekniğin kullanımında tür seçiminin başarılı yapılması gerektiğini belirtmişlerdir. Çünkü, Heckman ve Brubaker (1970) (34), 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 (1972) (36), 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 kullanılabilceğini belirtmiştir. Bu metotta mitojen kullanılmamış ve kromozomlar üç saat içinde hasat edilmişlerdir.

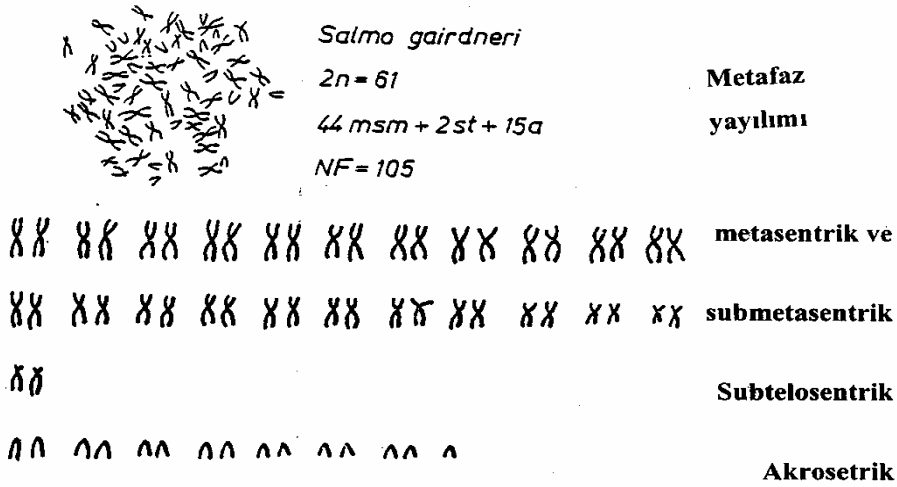
Lökosit kültürü yardımıyla rutin olarak yüksek kalitede ve çok sayıda metafaz şekilleri elde edilebilmesinden dolayı, balıkların somatik hücrelerinden kromozom çalışmaları yapmak amacıyla diğerlerinde daha uygun sayılabilir.

2.8. Karyotip Çalışmaları Üzerine Genel Bilgiler

Karyotipler, iyi yayılma gösteren metafaz kromozomlarından hazırlanır. Ancak, aynı çekirdekteki benzer kromozomlar arasında boyca eşitlik varsa, bu takdirde zorlukla karşılaşırlar. 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 değildirler. 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. 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.

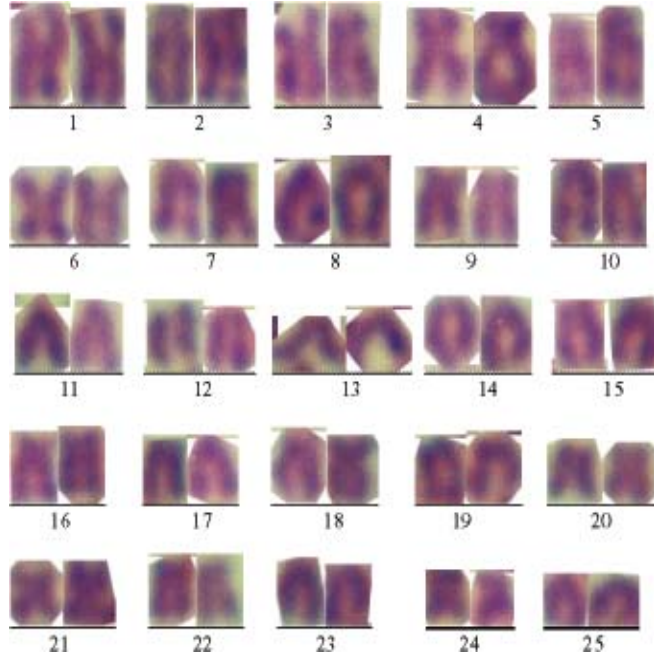


Resim 7. $2n=61$ kromozomlu gökkuşağı alabalığına ait metafaz yayılımı ve göz karyotipi (37).

- 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) 24×36 mm filmler üzerine fotoğrafları çekilir.



Resim 8. $2n=50$ kromozomlu *O.angorae*'nin foto-karyotipi (38).

Bir balık karyotipi hazırlamak amacıyla Denton (1973) şu metodu tavsiye etmektedir (39).

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 (petri kutusu gibi) 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 μ 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 arzulan her hangi bir büyüklüğe basılabilir. Bu son fotoğrafın büyütmesi, kromozomun gerçek uzunluğu ile mikron olarak en uzun basılmış kromozomun uzunluğuna bölmek suretiyle belirlenir.

2.9. İdiogram

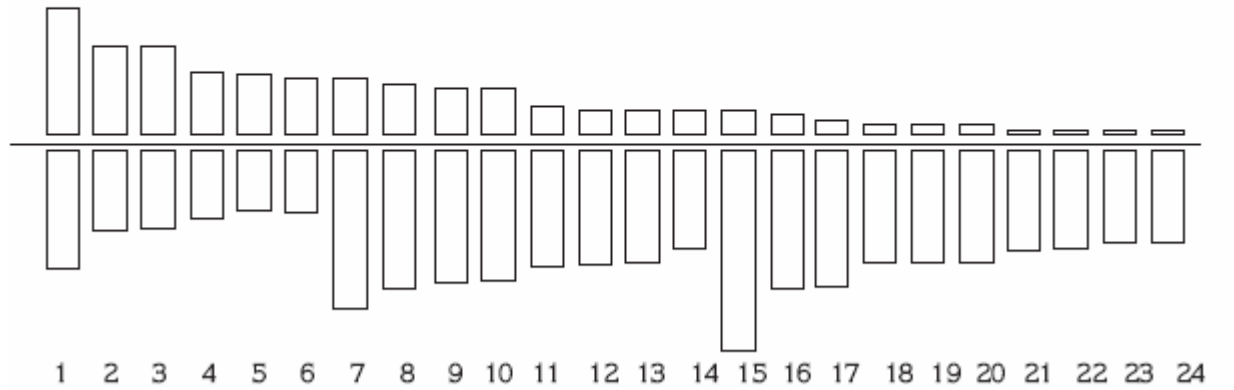
T.H.Morgan ve öğrencilerinin erken dönemdeki araştırmalarından, genetik alanındaki genetik harita gibi en önemli kavramlar ortaya çıkmıştır. Genetik harita, kromozomlardaki genler arasında bulunan yerel ilişkileri tanımlar.

Genetik haritalama genetik analiz için birçok bakımdan yararlı olan bilgileri sağlar. Haritalama ile, bir fenotipi oluşturmak için birlikte işleyen genlerin aynı kromozomda bulunup bulunmadığı söylenebilir (1).

Kromozomların benzer olanları kesilip eşleştirilip, çiftler halinde yeniden

düzenlenirse elde edilen şekile karyotip yada "idiogram" denir (40).

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 6. $2n=48$ kromozumlu *Tinca tinca*'nın haploid idiogramı (31).

3. MATERYAL VE METOD

Araştırmada kullanılacak *Orthias tigris*'in 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 ortamdan 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 KCl (0.046) solüsyonu eklenerek, oda ısısında 30-40 dakika tutulduktan sonra 2000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilmiş ve süpernatant olarak 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, lamlar üzerine yüksekten 1-2 damla damlatılmak suretiyle yayılması sağlanmıştır. Preparatlar havada kurutulularak %5'i Giemsa boyası olan Sorenson tamponu içerisinde 20-30 dakika boyanmıştır. 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 glacial asetik 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:

KH_2PO_4 9.1 gr.

Bidistile su.....1000 ml.

Çözelti 2:

Na_2HPO_411.9 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. (8).

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 sıkıca paketlenmesi 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 tigris*'den elde edilen 73 adet metafaz dağılımından uygun olanların fotoğrafı çekilerek gerekli değerlendirmeler yapılmıştır. Tablo 5'de görüldüğü gibi *Orthrias tigris*'nin en yaygın karyotipi $2n=50$ olarak % 88 oranında bulunmuştur.

Orthrias tigris (Heckel, 1843)'nin solungaç epitelinden elde edilen kromozomların sayısal dağılımı incelendiğinde 48 kromozomlu 3, 49 kromozomlu 3, 50 kromozomlu 64, 51 kromozomlu 1 ve 52 kromozomlu 2 adet olmak üzere toplam 73 adet metafaz sayılmıştır. Sonuçta en yaygın karyotip $2n=50$ olarak saptanmıştır. Kromozomların sentromer durumları göz önüne alındığında 18 adet metasentrik, 18 adet submetasentrik, 14 adet akrosentrik kromozom olduğu gözlemlenmiş ve kromozom kolları sayısı (NF) 86 olarak saptanmıştır.

İnceleme materyali olarak kullandığımız balıktan elde edilen metafazlar yukarıda da değinildiği gibi farklı kromozom sayılarına sahiptir. Burada çeşitli

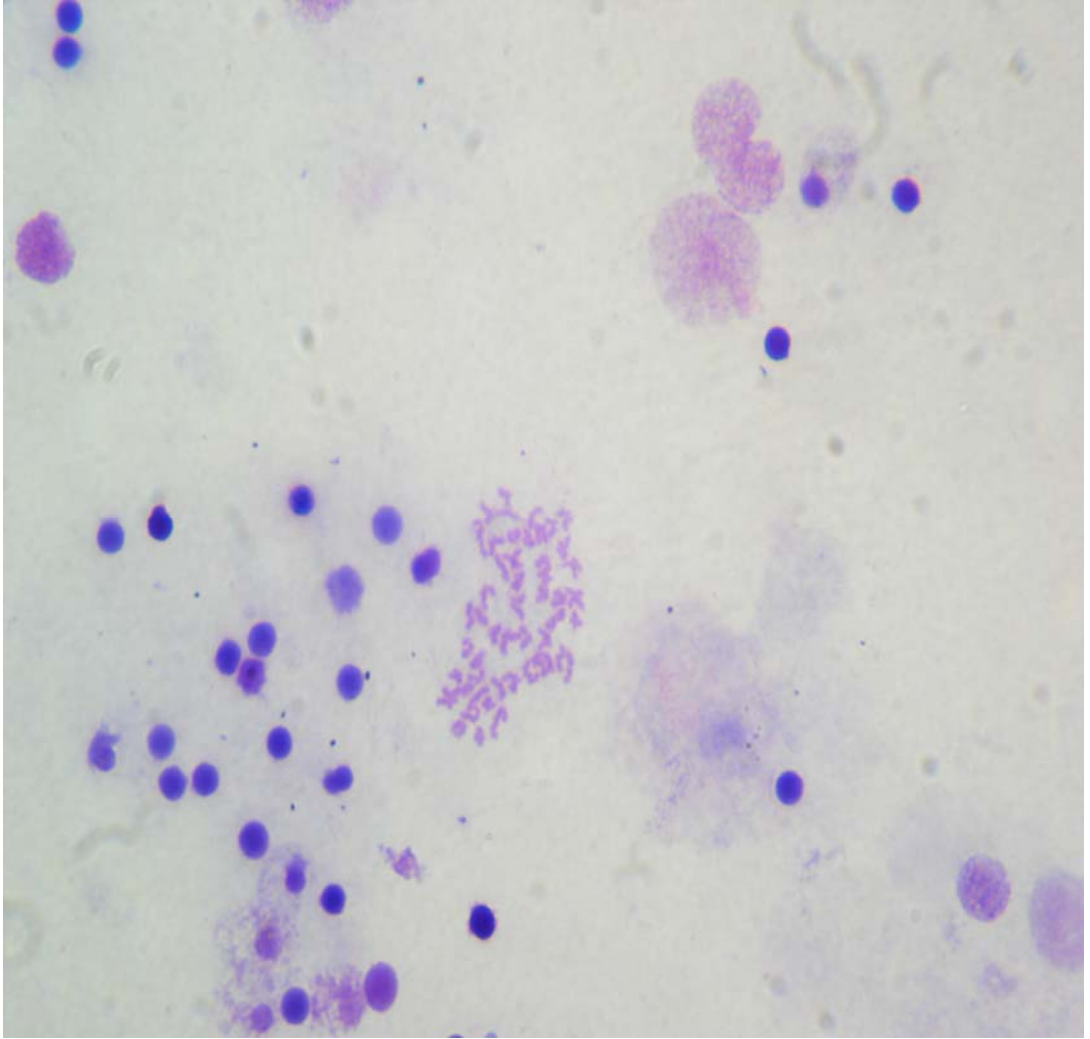
faktörler bu sonucun elde edilmesinde etkili olabilmektedir. Çalışma esnasında işlemlerin yapılması esnasında meydana gelen hatalar, bir metafazdan diğerine kromozom katılımı sonucu bazı metafaz dağılımlarının sahip olduğu kromozom sayısında artış gözlenirken, buna bağlı olarak diğerinde azalma olmaktadır. 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 tigris* (Heckel, 1843)'nin Solungaç Epitelinden elde edilen Kromozomların Sayısal Dağılımı.

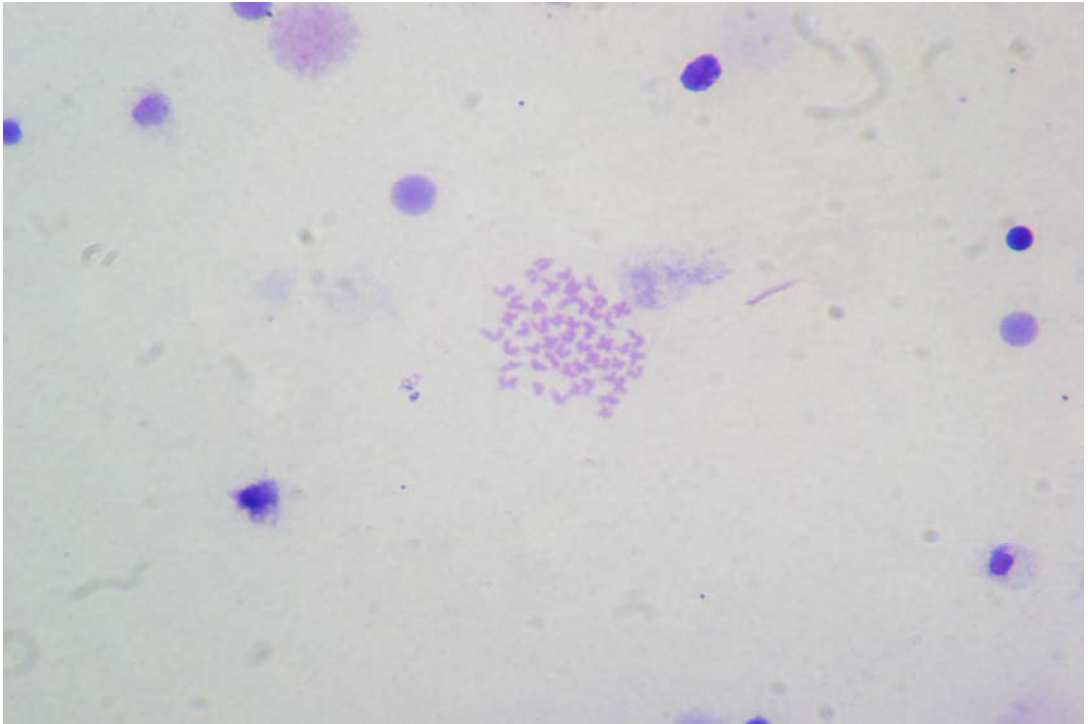
İncelenen Örnekler	Kromozom sayısı					Karyotip (2n=50)				
	48	49	50	51	52	Metafaz sayısı	m	sm	a	NF
1	1		4			5	16	14	20	80
2			5		1	6				
3			6			6				
4		2	5			7				
5	1		6			7				
6			5			5				
7			3		1	4				
8		1	5			6				
9			5			5				
10			2		1	3				
11			2			2				
12			4			4				
13			3			3				
14	1		5			6				
15			4			4				
Toplam	3	3	64	1	2	73				

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

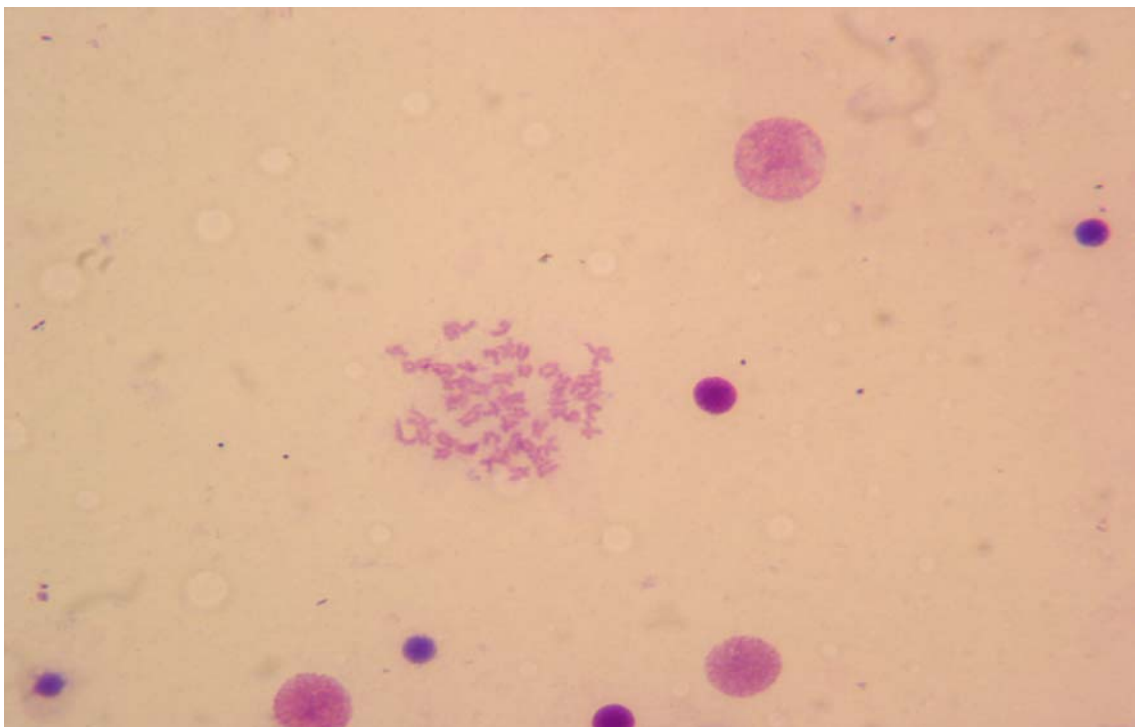
Yapılan preparatlardaki inceleme sonucunda, *Orthrias tigris*'den elde edilen 73 adet metafaz dağılımından uygun olanların fotoğrafı çekilerek gerekli değerlendirmeler yapılmıştır. Çizelge 5'de görüldüğü gibi en yaygın karyotip $2n=50$ olarak % 88 oranında bulunmuştur.



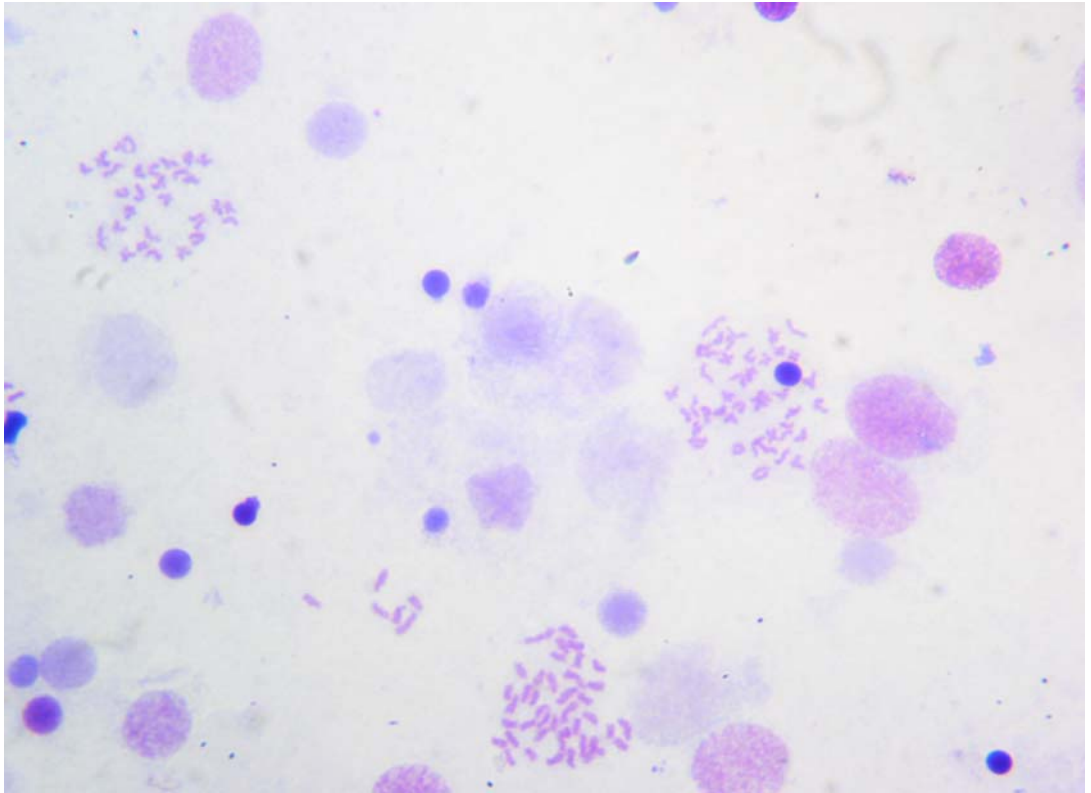
a



b



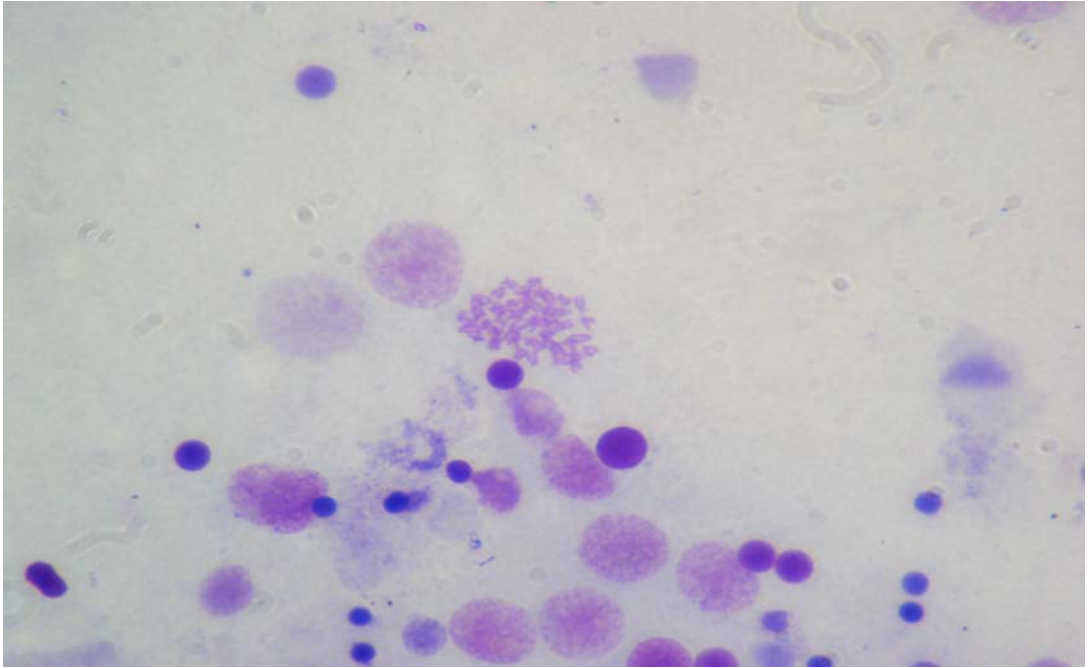
c



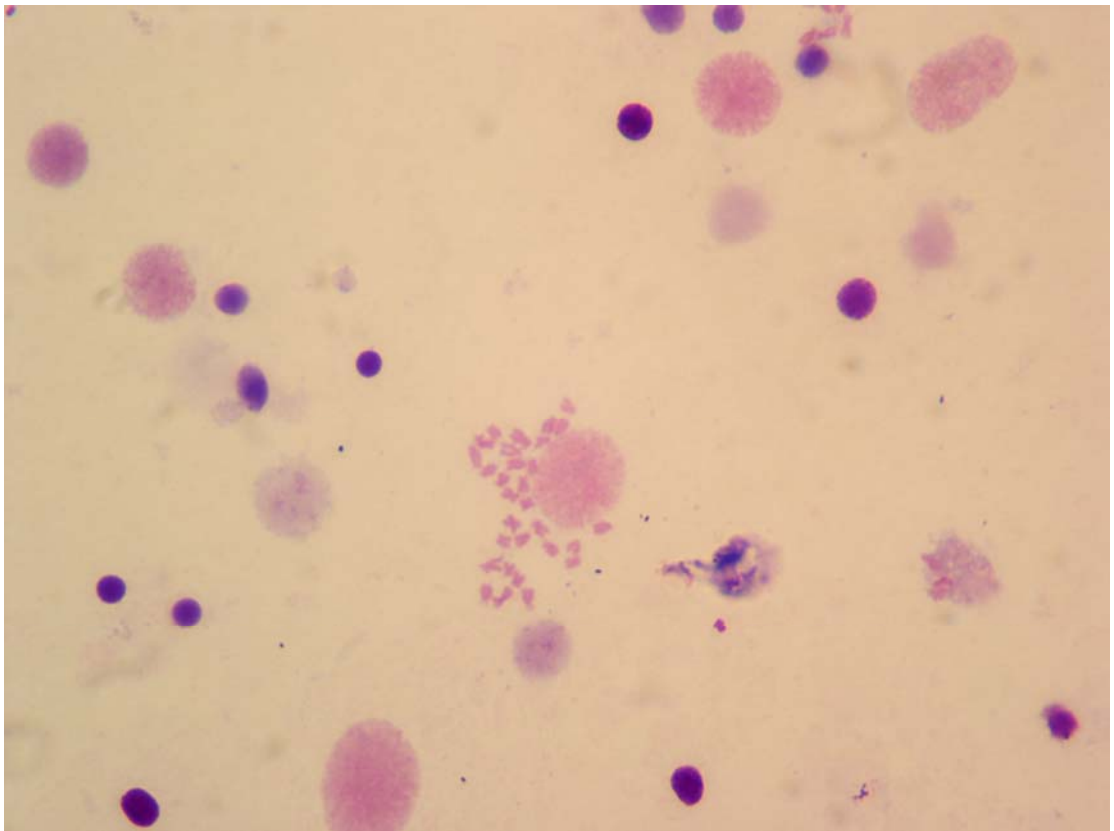
d



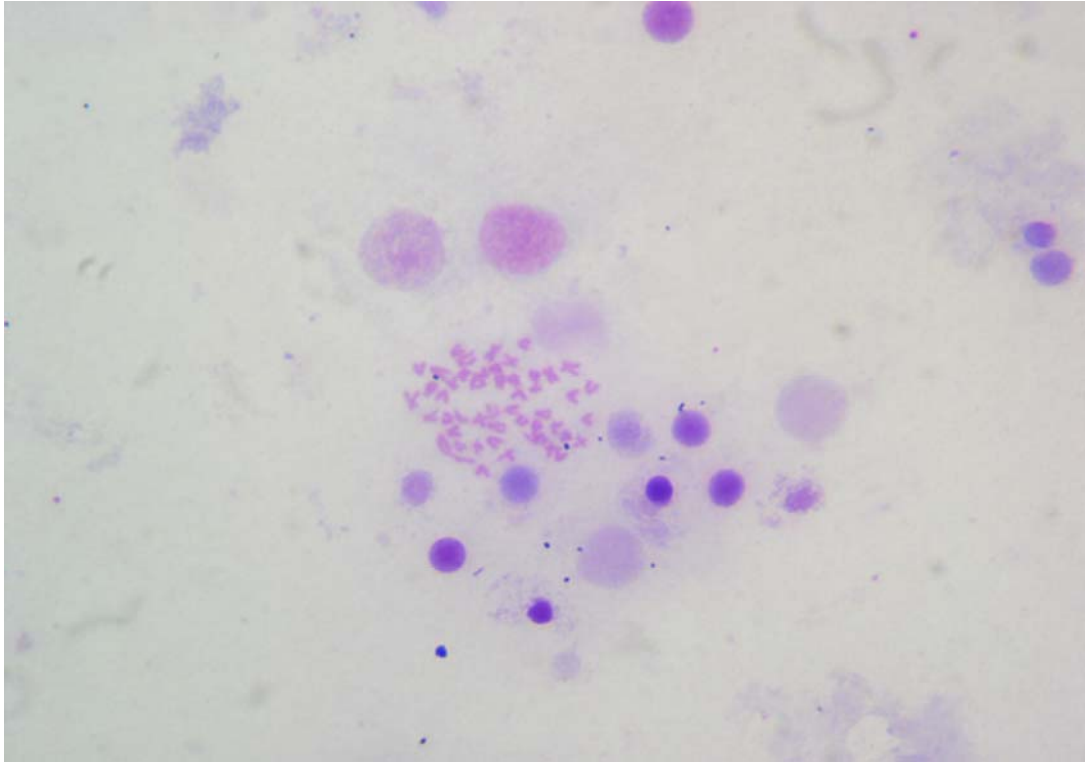
e



f

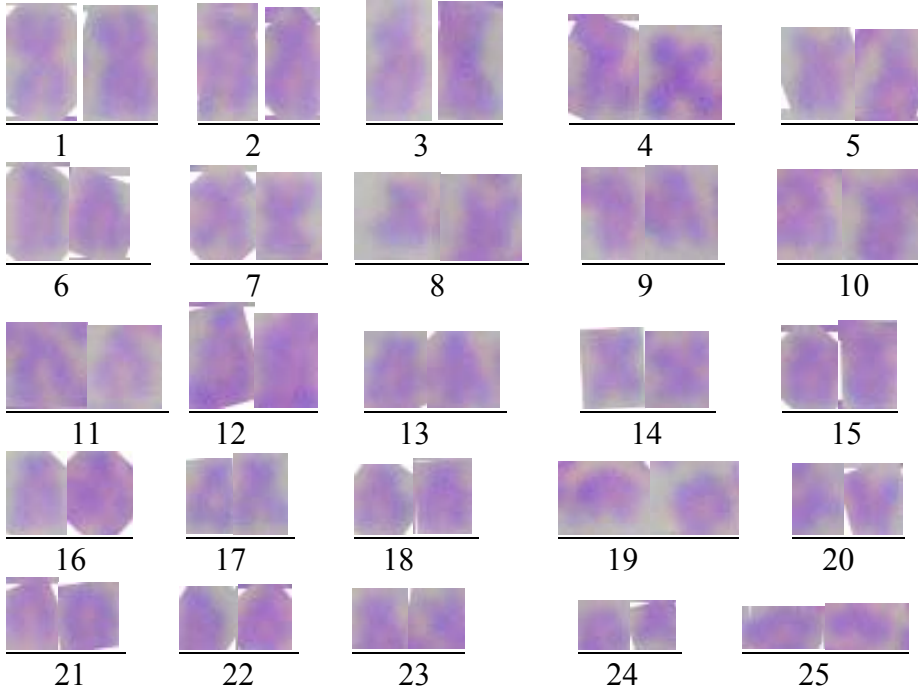


g



h

Resim 9 a,b,c,d,e,f,g,h. *Orthrias tigris*'den elde edilen metafaz kromozomları.



Resim 10. *Orthrias tigris*'in metafaz yayılımlarından elde edilmiş karyotipi.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Canlılarda sitogenetik incelemelerle kromozomların elde edilme yöntemleri oldukça fazladır. Balıklarda kan hücrelerinin üretim yeri olan böbreklerin incelenmesi yöntemiyle kromozom elde edilebilmektedir (8). 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 (41, 10) bazıları da solungaç epitel hücrelerini aynı amaçla kullanmışlardır (9, 42). 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 (1971) bu süreyi böbrek dokusu için 40 dakika olarak kullanmıştır (41).

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 (43, 44).

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. 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 arkadaşlarının (45) 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'lük KCI) 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 fiske edilir. Fiksasyon için, genellikle 3 kısım etanol veya metanol ve 1 kısım glasiyel asedik asit (Carnoy fiksatif) kullanılır. Fiske 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.

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 (46, 8).

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

Çizelge 5. Bazı balık türlerinin karyotip bilgileri (47).

Çizelge 6. Bazı balık takımlarında yapılmış kromozom çalışmalarında çalışılan tür sayıları (48).

Takım sayısı	Çalışılan tür sayısı	Takım	Çalışılan tür
<i>Petromyzontiformes</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>Pristiformes</i>	1	<i>Salmoniformes</i>	203
<i>Torpenidiformes</i>	6	<i>Stomiatiformes</i>	21
<i>Myliobatiformes</i>	17	<i>Aulopiformes</i>	3
<i>Squatiniiformes</i>	2	<i>Myctophiformes</i>	8
<i>Heterodontiformes</i>	2	<i>Amblyopsiformes</i>	1
<i>Orectolobiformes</i>	1	<i>Gobiesociformes</i>	1
<i>Lamniformes</i>	1	<i>Lophiiformes</i>	1
<i>Carcharhiniformes</i>	24	<i>Gadiformes</i>	14
<i>Chimaeriformes</i>	2	<i>Atheriniformes</i>	58
<i>Ceratodontiformes</i>	1	<i>Cyprinodontiformes</i>	254
<i>Lepidosireniformes</i>	3	<i>Beryciformes</i>	8
<i>Acipenceriformes</i>	17	<i>Zeiformes</i>	1
<i>Polypteriformes</i>	7	<i>Gasterosteiformes</i>	11
<i>Lepisosteiformes</i>	2	<i>Synbranchiformes</i>	4
<i>Amiiformes</i>	1	<i>Channiformes</i>	7
<i>Osteoglossiformes</i>	11	<i>Scorpaeniformes</i>	83
<i>Elopiformes</i>	3	<i>Perciformes</i>	747
<i>Anguilliformes</i>	20	<i>Pleuronectiformes</i>	34
<i>Clupeiformes</i>	24	<i>Tetraodontiformes</i>	32

Schreck ve Moyle (1990)'e göre (49), kromozom preparatları hazırlamak için metafaz hücrelerinin iyi bir kaynağı olan bölünen dokular (embriyonik dokular,

solungaçlar, böbrekler, bağırsaklar, pul epitelleri ve fibroblastlar) tercih edilmelidir.

Bu çalışmada, mitotik inhibitör olan kolşisin, Rukhsana ve Malgorzata (50), Padilla ve ark. (51), Gül ve ark. (52)'nin çalışmaları ile uyum göstermektedir. Çalışma sırasında intraperitoneal enjeksiyonun, yeterli dozun balığa enjekte edilememesinden dolayı oldukça zor yapılabilmekte ve olumlu sonuç alınamamaktadır.

Evrimsel olarak ileri canlılarda kromozom morfolojisine dayalı heterogametik eşey belirlenmesi yapılabilmesine karşın, balıklarda bazı istisnalar dışında eşey kromozomlarının farklılıkları ayırt edilememektedir (53). Üstelik balıklarda sıcaklık etkeni kullanılarak eşey değişiklikleri yapay yolla gerçekleştirilebilmektedir (54).

Balıkçılık çalışmalarının ekonomik açıdan verimli olması, bu çalışmaların bilimsel olarak planlanmasına ve yönlendirilmesine bağlıdır. Balıkçılık biyolojisi çalışmalarında temel amaç, hem popülasyonun sürekliliğini, hem de yüksek av verimliliğini sağlayacak şekilde avlanmanın düzenlenmesidir. Bunun için, öncelikle balığın bulunduğu ortamda büyüme özelliklerinin iyi bir şekilde değerlendirilmesi gereklidir (55).

Örnekler üzerinde yapılan karyotipik incelemelerde, kromozom takımında eşey kromozomu farklılaşması olmadığı için tespit edilememiştir. Türkiye'deki diğer araştırmacılar (10, 11) tarafından da eşey kromozomları belirlenememiştir. Ayrıca B kromozomları ya da mikrozoma rastlanmamıştır. En büyük kromozom ile en küçük kromozom arasındaki büyüklük farkı diğer canlı gruplarına nazaran çok azdır.

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

Sadece morfolojik, anatomik ve biyokimyasal özelliklere göre yapılan çalışmaların taksonomik ve filogenetik açıdan yeterli olmadığı, aynı 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 (30).

Sonuç olarak; balıklar üzerinde yapılan çalışmalar da çok dikkatli olunmalı. Her aşamada kullanılan doz ve sürenin az ya da çok olması istenilen sonuçları almayı zorlaştırmaktadır. En iyi sonuca ulaşmak bir çok araştırmacının değişik yöntemleri uygulaması ve geliştirmesiyle mümkündür.

Kura-Aras Havzasında olan balık *Orthrias tigris* üzerine kromozomal bazda literatür bilgileri yoktur. Bu çalışma ile üzerinde araştırma yapılan *Orthrias tigris* kromozom sayısı ve yapısı belirlenerek karyotipi yapılmış böylece ülke ve dünya biliminin gelişmesine katkı da bulunarak diğer çalışmalara temel oluşturacağı inancındayım.

6. KAYNAKLAR

1. Bozcuk, N.A., "Genetik", s. 1,20,21,163 (2000).
2. Demirsoy, A., Türkan, İ., Gündüz, E., "Genel Biyoloji 1", s.213,214,215 (2003).
3. Sezgin, İ., "Klinik Genetik", s. 26,40 (1998).
4. Ulupınar, M., Alaş, A., "Balık Sitogenetiği ve Laboratuar Teknikleri Kitabı I Baskı", s.10,11,12,13,14,79,82,83,84,86,87,103 (2002).
5. Balık, S., Ustaoglu, R., "Türkiye Tatlısu Balıklarının Tanımlama Esasları" Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Kitaplar Serisi No:97, s.1,3,4,5 (1992).
6. Cavaş, T., Ergene, G.S., "Micronucleus Test in Fish Cells: A Bioassay for in Situ Monitoring of Genotoxic Pollution in the Marine Environment", *Environmental and Molecular Mutagenesis* 46:64-70 (2005).
7. 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).
8. Al-Sabti, K., "Handbook of Genotoxic effects and fish chromosomes", J. Stefan Institute, Ljubljana, Yugoslavia, 221pp (1991).
9. 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).
10. Çolak, A., Sezgin, Ü., Süngü, S., "Sazangiller (Cyprinidae) familyasına ait Beni Balığında *Cyprinion macrostomum* (Heckel, 1843) Kromozomal araştırmalar", *Doğa Bilim Dergisi.*, Seri A₂, Cilt 19, Sayı 2, 193-195 (1985).
11. 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).
12. Lloyd, M.A., Thorgaard, G.H., "Restriction endonuclease banding of rainbow trout chromosomes", *Chromosoma.*, 96: 171-177 (1988).
13. Wong, A.K.C., Rattner, J.B., "Sequence organisation and cytological localisation of the minor satellite of mouse", *Nucleic Acids Res.*, 16:1645-661 (1988).
14. Cooper, D.N., "Eukaryotic DNA methylation", *Hum. Genet.*, 64: 315-333 (1983).

15. Ekmekçi, A., Menevşe, S., Menevşe, A., “Fare kemik iliği hücrelerinde difenil hidantoin’in indüklediği sayısal ve yapısal kromozom anomalileri ve bunlar üzerine eksojen prostaglandin E₁’in azaltıcı etkisi”, *Doğa Bilim Dergisi (Medical Sciences)*, 14: 177-184 (1990).
16. Ayaz, M., “Kars Çayı Balıklarının Taksonomik Yönden Araştırılması”, Yüksek Lisans Tezi, Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı, Kars, (2004).
17. Denton, T.E., Howell, W.M., “A technique for Obtaining Chromosomes from the Scale Epithelium of Teleost Fishes”, *Copeia*, 392-393 (1969).
18. Geldiay, R., Balık, S., “Türkiye Tatlısu Balıkları” Ege Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Yayınları No:46 Ders Kitabı Dizini:16.
19. Kuru, M., “Omurgalı Hayvanlar”, *Atatürk Üniversitesi Yayınları*, Erzurum, No: 646, s. 735 (1987).
20. DSİ., Kars Barajı ve Sulaması Projesi ÇED Raporu (2003).
21. Aras, B. ve Aras, İ., “Kars çayı İhtiyofaunası”, Lisans Tezi, Kafkas Ün. Fen-Ed. Fak Biyoloji Bölümü, Kars (2001).
22. Microsoft Encarta Encyclopedia, 2004.
23. Yerli, S., Zengin, M., “Çıldır Gölü (Ardahan, Kars)’ndeki *Cyprinus carpio* (Linnaeus, 1758)’nin Üremesi Üzerine Bir Araştırma”, *Tr. J. Of Veterinary and Animal Sciences*, 22, 309-313 (1998).
24. Keeton, W.T., Gould, J.L., Gould, C.G., “Kromozomların Bileşimi”, Biological science 5nd ed., W. W. Norton Company, New York, London, *Palme Yayıncılık*, Ankara, (2003).
25. Demirsoy, A., “Yaşamın Temel Kuralları Genel Biyoloji / Genel Zooloji Cilt I / Kısım I”, s.146,147,148,152 (2004).
26. Demirsoy, A., “Kalıtım ve Evrim”, s.212,213 (1991).
27. <http://biology.sebat.edu.kg> (2006)
28. Keeton, W.T., Gould, J.L., Gould, C.G., “Kromozomların Bileşimi”, Biological science 5nd ed., W. W. Norton Company, New York, London, *Palme Yayıncılık*, Ankara, s.312,317,318,319,320,321,322 (2004).
29. Özban, N., “Hücre”, *İstanbul Üniversitesi Yayınları*, 236:262 (1988).

30. 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.
31. Hamalosmanoğlu, M., Kuru, M. ”Mogan Gölü’nde (Ankara) Yaşayan Kadife Balığının (Tinca tinca L.,1758) Karyotip Anaizi ve İdiogramı” Tübitak Turk J Vet Anim Sci 28 (2004) 143-147.
32. 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).
33. Labat, R., Larrouy, G., Malaspina, L., “Technique de Culture des Leucocytes de *Cyprinus carpio*”, G.R. Acad. Sc. Paris, 264: 2473 (1967).
34. Heckman, J.R., Brubaker, P.E., “Chromosome Preparation from Fish Blood Leucocytes”, *Prog. Fish Cult*, 32, 206-208 (1970).
35. Heckman, J.R., Allendorf, F.W., Wright, J.E., “Trout Leucocytes :Growth in Oxygenated Cultures”, *Science.*, 173, 246-247 (1971).
36. Baker, C.J., “A Method for the Dispay of chromosomes of Plaice, *Pleuronectes platessa* and other Marine Species”, *Copeia.*, 2:365 (1972).
37. Klinkhardt, M.B., Buuk, B., “Die Chromosomen der Regenbogenforelle (*Salmo gairdneri*)”, *Z. Binnenfisch.*, 37, 7, 226-228 (1990).
38. Kaya, Ö.T., Gül, S., Nur, G., “Karyotype Analysis In *Orthrias angorae* (Steindachner, 1897)”, “Karyotype Analysis of *Orthrias angorae* (Steindachner, 1897)”, *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakütesi Dergisi.*, 11 (2):147-140 (2006).
39. Denton, T.E., 1973, Fish Chromosome Methodology, Charles C. Thomas Publisher, Springfield, Illinois, 169pp.
40. http://www.geocities.com/ziraatci_sitesi/genetik2.htm(2006).
41. Yamazaki, F.A., “Chromosome study of Ayu, Salmonoid Fish”, *Bulletin of Japanese Society of Scientific Fisheries.*, Vol: 37, No: 8, 707-710 (1971).
42. 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).

43. 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).
44. Yunis, J.Y., “Human chromosome methodology”, *Academic Press*, New York, (1974).
45. Nanda, I., Scharl, 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).
46. 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).
47. Gül, S., Akyol, F., Sezgin, İ., İnci kefali (*Chalcalburnus tarichi*, Pallas 1811)’nin Karyotip Analizi, *XV. Ulusal Biyoloji Kongresi*, 5-9 Eylül 2000, Ankara Üniversitesi, Ankara.
48. 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).
49. Schreck, C.B., “Moyle, P.B., Methods for Fish Biology American Fisheries Society”, Maryland, USA, (1990).
50. Rukhsana, A., Malgorzata, J., “Spontaneous Triploid common carp (*Cyprinus carpio* L.) in a Farm Population”, *Cytobios.*, 78: 153-190 (1994).
51. 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).
52. Gül, S., Çolak, A., Sezgin, İ., “Gümüş Balığı’nda (*Chalcalburnus mossulensis*, Heckel 1843) Karyotip Analizi”, *Turk J Biol.*, 24: 657-662 (2000).
53. Vitturi, R., Catalano, E., Colombera, D., “Chromosome analysis of *Bothus podas*

(Pisces, Pleuronectiformes) from the Mediterranean Sea’’, *J Fish Biol.*, 43: 221-227 (1993).

54. James J., Bull, “Evolution of sex determining mechanism’’, California, The Benjamin/Cuming Publishing Company, Inc, 123 (1983).

55. Kırankaya, Ş.G.,Ekmekçi,F.G.,”Gelingüllü Baraj Gölü’nde Yaşayan Aynalı Sazan (*Cyprinus carpio* L.,1758)’ın Büyüme Özellikleri,”*Turk J Vet Anim Sci* 28 (2004) 1057-1064 Tübitak.

56. 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).

57. Kaelbling, M., Miller, A.D., Miller, J.O., “Restriction enzyme banding of mouse metaphase chromosomes’’, *Chromosoma.*, 9: 128-132 (1984).

7. ÖZGEÇMİŞ

1977 yılında Bursa ili İnegöl ilçesinde doğdu. İlköğretim ve Lise öğrenimini İnegöl'de tamamladı. 1995 yılında okumaya hak kazandığı Balıkesir Üniversitesi Necatibey Eğitim Fakültesinden 1999 yılında Biyoloji Öğretmeni olarak mezun oldu. 1999 - 2000 Eğitim Öğretim yılında Sınıf Öğretmeni olarak atandı. 2000 - 2001 Eğitim Öğretim yılında Biyoloji Öğretmeni olarak Ardahan İmam Hatip Lisesi ve Anadolu İmam Hatip Lisesine atandı ve 1 yıl süreyle Ardahan İmam Hatip Lisesi ve Anadolu İmam Hatip Lisesinde Müdür Yardımcılığı görevinde bulundu. 2004 - 2005 Eğitim Öğretim yılında Tekel 75.Yıl Pansiyonlu İlköğretim Okulunda Fen Bilgisi Öğretmeni olarak göreve başladı. 2004 yılında Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Bölümü Zooloji Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans öğrenimine başladı. Halen Tekel 75.Yıl Pansiyonlu İlköğretim Okulunda Fen Bilgisi Öğretmenliği görevime devam etmektedir.