



**ERZURUM KARASU NEHRİ BALIKLARINDAN**  
***Chalcalburnus mossulensis*'İN**  
**KARYOTİP ÖZELLİKLERİ**

**Fatma ŞANLI**

**Yüksek Lisans Tezi**  
**Biyoloji Anabilim Dalı**  
**Genel Biyoloji Bilim Dalı**  
**Doç. Dr. Turgay ŞİŞMAN**  
**2016**  
**Her hakkı saklıdır**

ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ERZURUM KARASU NEHRİ BALIKLARINDAN  
*Chalcalburnus mossulensis*'İN KARYOTİP ÖZELLİKLERİ

Fatma ŞANLI

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI  
Genel Biyoloji Bilim Dalı

ERZURUM  
2016

Her hakkı saklıdır



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



**TEZ ONAY FORMU**

**ERZURUM KARASU NEHRİ BALIKLARINDAN *Chalcalburnus mossulensis*'İN  
KARYOTİP ÖZELLİKLERİ**

Doç. Dr. Turgay ŞİŞMAN danışmanlığında, **Fatma ŞANLI** tarafından hazırlanan bu çalışma **05/01/2016** tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Biyoloji Anabilim Dalı – Genel Biyoloji Bilim Dalı'nda **Yüksek Lisans tezi** olarak **oybirliği** ile kabul edilmiştir.

Başkan : Prof. Dr. Ümit İNCEKARA

İmza

Üye : Doç. Dr. Turgay ŞİŞMAN

İmza

Üye : Doç. Dr. Hasan TÜRKEZ

İmza

Yukarıdaki sonuç;

Enstitü Yönetim Kurulu 07/01/2016 tarih ve 02/26 nolu kararı ile onaylanmıştır.

**Prof. Dr. Ertan YILDIRIM**  
Enstitü Müdürü

Bu çalışma BAP projeleri kapsamında desteklenmiştir.  
Proje No: 2012/477

**Not:** Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaklardan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak olarak kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

## ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

### ERZURUM KARASU NEHRİ BALIKLARINDAN *Chalcalburnus mossulensis*'İN KARYOTİP ÖZELLİKLERİ

Fatma ŞANLI

Atatürk Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Biyoloji Anabilim Dalı  
Genel Biyoloji Bilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Turgay ŞİŞMAN

Bu çalışmada *Chalcalburnus mossulensis*'in karyotipik özellikleri solungaç ve böbrek dokularından elde edilen metafaz kromozomları incelenerek araştırıldı. Çalışmada kullanılan balıklar Karasu Nehri'nin iki farklı noktasından serpmeye ağ kullanılarak yakalandı. Balıklar canlı olarak laboratuvara getirildi ve analizden önce havalandırılmış akvaryumlara yerleştirildi. Balığın vücut ağırlığının her gramı için 0.01 ml %6'lık kolşisin solüsyonu balıkların karın boşluğuna enjekte edildi. Balık işleme alınmadan önce 190 dakika beklendi. Balıkların solungaç ve böbrek epitel hücreleri karyotip analizi için kullanıldı. Bu hücrelerden en iyi metafaz kromozom yayılımları 50 dakika hipotonik (0.075 M KCl) uygulama, 3:1 oranında (metanol:glasial asetik asit) hazırlanmış Carnoy solüsyonu ile fiksasyon ve %5'lik Giemsa ile 35 dakika boyama sonucu elde edildi. Hazırlanan preparatlarda yapılan incelemeler sonucunda *Chalcalburnus mossulensis*'in  $2n=50$  kromozoma sahip olduğu anlaşıldı. Karyotip analizi sonucunda *Chalcalburnus mossulensis*'de 8 metasentrik, 10 submetasentrik, 3 subtelosentrik ve 4 telosentrik kromozom çifti olduğu belirlendi (16M+20SM+6ST+8T). Kol sayısı ise FN=92 olarak tespit edildi. Karyotipin balıkların solungaç ve böbrek hücrelerinde aynı olduğu görüldü. İncelenen türlerde sitolojik olarak cinsiyete bağlı herhangi bir kromozom tespit edilemedi.

2015, 58 sayfa

**Anahtar Kelimeler:** Karasu Nehri, *Chalcalburnus mossulensis*, kromozom, karyotip analizi.

## ABSTRACT

Master Thesis

### KARYOTYPE CHARACTERISTICS OF *Chalcalburnus mossulensis* FROM KARASU RIVER, ERZURUM

Fatma ŞANLI

Atatürk University  
Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Department of Biology  
General Biology Department

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Turgay ŞİŞMAN

The karyotypic characteristics of *Chalcalburnus mossulensis* have been investigated by examining metaphase chromosomes spreads obtained from gill and kidney tissues. The fish used in the study were caught with fishing nets from two main tributaries of the Karasu River. The live fish were transported to the laboratory, and kept in a well aerated aquaria before analysis. Fish were injected intraperitoneally with doses of 0.01 ml/g body weight of 6% solution of colchicine and left for 190 minutes before sacrifice. Kidney and gill epithelia of fish were used for karyotype analysis. The best treatment parameters for preparing good metaphase chromosome spreads from the cells were optimized as hypotonic 50 minutes (0.075 M KCl) treatment, fixation with carnoy solution at 3:1 ratio (methanol: acetic acid) and a concentration of 5% Giemsa for 35 minutes. It was determined that *Chalcalburnus mossulensis* had  $2n=50$  chromosomes by investigation of the chromosome spreads. *Chalcalburnus mossulensis* karyotypes were determined as being composed of 8 metacentric, 10 submetacentric, 3 subtelocentric and 4 telocentric chromosome pairs (16M+20SM+6ST+8T). The fundamental arm numbers of chromosomes were determined as FN=92. Karyotype of gill and kidney cells was the same. No sex chromosomes were cytologically detected in the investigated fish.

2015, 58 pages

**Keywords:** Karasu River, *Chalcalburnus mossulensis*, chromosome, karyotype analysis.

**TEŞEKKÜR**

Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum bu çalışma Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Hayvan Fizyolojisi ve Histolojisi Laboratuvarı'nda yapılmıştır ve

Atatürk Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından BAP 2012/447 nolu proje kapsamında desteklenmiştir.

Yüksek lisans çalışmam boyunca, araştırma konumun belirlenmesinde beni yönlendiren ve sonuçlanması için hiçbir zaman ilgi ve desteğini esirgemeyen, bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım çok değerli danışman hocam Sayın Doç. Dr. Turgay ŞİŞMAN'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Preparasyonda önemli yardımları olan Sayın Bilim Uzmanı Sayın Derya KILIÇ'a çok teşekkür ederim. Çalışmalarım sırasında yardımlarını esirgemeyen değerli arkadaşlarım, Ertuğrul ORHAN ve Zehra YAZICI'ya da teşekkür ederim.

Eğitim hayatım boyunca her türlü fedakarlığı yapan, maddi ve manevi desteklerini her zaman hissettiren babam Ramazan EREN, annem Gülden EREN, kardeşlerim Damla EREN ve Derya EREN'e; gönülden sevgi ve teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca tez çalışmam boyunca benden sevgi, sabır ve anlayışla maddi ve manevi desteğini esirgemeyen sevgili eşim Murat ŞANLI'ya ve en küçük destekçim olan canım kızım Zeynep Asya ŞANLI'ya en içten dileklerimle teşekkürlerimi sunarım.

**Fatma ŞANLI**

**Aralık, 2015**

## İÇİNDEKİLER

|                                                                     |           |
|---------------------------------------------------------------------|-----------|
| ÖZET.....                                                           | i         |
| ABSTRACT.....                                                       | ii        |
| TEŞEKKÜR.....                                                       | ii        |
| SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ .....                                | vi        |
| ŞEKİLLER DİZİNİ.....                                                | vii       |
| ÇİZELGELER DİZİNİ .....                                             | viii      |
| <b>1. GİRİŞ.....</b>                                                | <b>1</b>  |
| 1.1. Kromozom ve Karyotip.....                                      | 3         |
| 1.2. Balıklarda Kromozom Kaynakları .....                           | 5         |
| 1.2.1. Yüzgeç ve pul.....                                           | 6         |
| 1.2.2. Solungaç .....                                               | 7         |
| 1.2.3. Dalak, böbrek, karaciğer ve bağırsak .....                   | 8         |
| 1.2.4. Kornea .....                                                 | 8         |
| 1.2.5. Embriyo .....                                                | 8         |
| 1.3. Balık Karyotipleri.....                                        | 10        |
| 1.4. Balıklarda Kromozom Preparasyonlarının Temel Prensipleri ..... | 11        |
| 1.4.1. Mitotoik bir engelleyici ile ön muamele .....                | 11        |
| 1.4.2. Hipotonik Muamele.....                                       | 13        |
| 1.4.3. Fiksasyon.....                                               | 13        |
| 1.4.4. Havada kurutulmuş ve ateşte kurutulmuş preparasyonlar.....   | 14        |
| 1.4.5. Pul ve yüzgeç epitelinden preparasyon .....                  | 15        |
| 1.4.6. Solungaçlardan preparasyon.....                              | 16        |
| 1.4.7. Yumurta (Embriyo) ve larvalardan preparasyon.....            | 16        |
| 1.5. Çalışmada Kullanılan Balık Türüne Ait Bilgiler.....            | 17        |
| 1.5.1. <i>Cyprinidae</i> (Sazangiller) .....                        | 17        |
| 1.5.2. <i>Chalcalburnus</i> cinsi.....                              | 17        |
| 1.5.3. <i>Chalcalburnus mossulensis</i> (tatlısu gümüş balığı)..... | 18        |
| <b>2. KAYNAK ÖZETLERİ .....</b>                                     | <b>20</b> |
| <b>3. MATERYAL ve YÖNTEM.....</b>                                   | <b>27</b> |

|                                                                         |                                         |
|-------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------|
| 3.1. Çalışma Bölgesi.....                                               | 27                                      |
| 3.2. Su Örneklerinin Kimyasal Analizleri .....                          | 30                                      |
| 3.3. Karyotip Analizi Yapılan Balık Türü .....                          | 30                                      |
| 3.4. Çalışmada Kullanılan Kimyasallar ve Çözeltilerin Hazırlanması..... | 32                                      |
| 3.5. Kullanılan Aletler ve Cihazlar.....                                | 33                                      |
| 3.6. Karyotip Çalışması ve Analiz.....                                  | 34                                      |
| <b>4. ARAŞTIRMA BULGULARI .....</b>                                     | <b>40</b>                               |
| 4.1. Su Örneklerinin Kimyasal Analiz Sonuçları .....                    | 40                                      |
| 4.2. Chalcalburnus mossulensis'in Karyotip Analizi .....                | 41                                      |
| <b>5. TARTIŞMA ve SONUÇ.....</b>                                        | <b>46</b>                               |
| KAYNAKLAR .....                                                         | 51                                      |
| EKLER.....                                                              | <b>Hata! Yer işareti tanımlanmamış.</b> |
| EK 1.....                                                               | <b>Hata! Yer işareti tanımlanmamış.</b> |
| EK 2.....                                                               | <b>Hata! Yer işareti tanımlanmamış.</b> |
| EK 3.....                                                               | <b>Hata! Yer işareti tanımlanmamış.</b> |
| ÖZGEÇMİŞ .....                                                          | 56                                      |

## SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

### Simgeler

|      |                                                                 |
|------|-----------------------------------------------------------------|
| ♀    | Dişi                                                            |
| ♂    | Erkek                                                           |
| M    | Molar                                                           |
| mg   | Miligram                                                        |
| mg/L | Miligram/litre                                                  |
| ml   | Mililitre                                                       |
| pH   | Bir çözeltinin asitlik veya bazlık derecesini tarif eden ifade. |
| µg/L | Mikrogram/litre                                                 |
| µm   | Mikrometre                                                      |

### Kısaltmalar

|      |                                  |
|------|----------------------------------|
| A    | Akrosentrik                      |
| D    | Doğu                             |
| FN   | Kromozom Kolu                    |
| K    | Kuzey                            |
| M    | Metasentrik                      |
| SKKY | Su Kirliliği Kontrol Yönetmeliği |
| SM   | Submetasentrik                   |
| ST   | Subtelosentrik                   |
| T    | Telosentrik                      |

## ŞEKİLLER DİZİNİ

|                                                                                                                    |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Şekil 1.1. Kromozom tipleri.....                                                                                   | 4  |
| Şekil 1.2. Balıkta kromozom kaynakları .....                                                                       | 6  |
| Şekil 3.1. Karasu Nehri, örneklemelerin yapıldığı istasyonlar .....                                                | 28 |
| Şekil 3.2. Dumlu Deresi, örneklemenin yapıldığı alan.....                                                          | 29 |
| Şekil 3.3. Aşkale ilçesi çıkışı, Karasu Nehri’nde örneklemenin yapıldığı alan.....                                 | 29 |
| Şekil 3.4. <i>Chalcalburnus mossulensis</i> (Tatlısu Gümüş Balığı) .....                                           | 30 |
| Şekil 3.5. Laboratuvara canlı olarak getirilen balıkların bekletildiği<br>havalandırılmalı akvaryum .....          | 31 |
| Şekil 3.6. Balıklarda ağırlık ölçümü .....                                                                         | 32 |
| Şekil 3.7. Balığın canlı olarak ağırlık ölçümü .....                                                               | 34 |
| Şekil 3.8. Balığa intra peritoneal enjeksiyon işlemi .....                                                         | 35 |
| Şekil 3.9. Hipotonik solüsyona konan böbrek ve solungaçlar .....                                                   | 36 |
| Şekil 3.10. Giemsa boyanmış lamlar.....                                                                            | 37 |
| Şekil 3.11. Giemsa boyada boyanmış ve kurumaya bırakılan solungaç ve böbrek<br>hücrelerinin bulunduğu lamlar ..... | 37 |
| Şekil 3.12. Karyotip fotoğraflarının çekildiği mikroskop ünitesi. ....                                             | 38 |
| Şekil 4.1. <i>Chalcalburnus mossulensis</i> ’in giemsa ile boyanmış metafaz plağı .....                            | 43 |
| Şekil 4.2. <i>Chalcalburnus mossulensis</i> ’in ideogramı .....                                                    | 45 |

## ÇİZELGELER DİZİNİ

|                                                                                                                      |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Çizelge 1.1.</b> Karyotipi yapılmış balık türlerinin sayısı ve tarihsel gelişimi .....                            | 10 |
| <b>Çizelge 3.1.</b> Yakalanan balıkların ağırlıkları ve boy uzunlukları ( $Ort \pm S.H$ ).....                       | 32 |
| <b>Çizelge 3.2.</b> Araştırmalar esnasında kullanılan aletler ve cihazlar .....                                      | 33 |
| <b>Çizelge 4.1.</b> Aşkale ve Dumlu istasyonlarından Haziran 2013'te alınan su<br>örneklerinin analiz sonuçları..... | 40 |
| <b>Çizelge 4.2.</b> Aşkale ve Dumlu istasyonlarından Temmuz 2013'te alınan su<br>örneklerinin analiz sonuçları.....  | 41 |
| <b>Çizelge 4.3.</b> Chalcalburnus mossulensis'in böbrek dokusundaki kromozom<br>sayısının sıklık analizi.....        | 42 |
| <b>Çizelge 4.4.</b> Chalcalburnus mossulensis'in solungaç dokusundaki kromozom<br>sayısının sıklık analizi.....      | 42 |

## 1. GİRİŞ

İnsanoğlunun çevresine duyduğu ilginin bir sonucu olarak canlıları araştırma ve tasnif etme olgusu, çok eski zamanlara dayanmaktadır. Bu nedenle pek çok araştırmacı için en popüler alan Biyoloji olmuştur. Canlıların biyosferde yayılışının anlaşılması ve coğrafi dağılıma bağlı olarak yeni türlerin ortaya çıkışı ise biyolojinin bir alt dalı olan Taksonomi çalışmalarının temelini oluşturmaktadır. Yaklaşık 2 milyon canlı türünün olduğu Dünyamızda yapılan araştırmalar neticesinde her geçen gün yeni canlı türleri keşfedilmekte ve tür sayısı git gide artmaktadır.

Bugün yaşayan tüm organizmaların ataları yaşamın açığa çıktığı yaklaşık 3,8 milyar yıl öncesine dayanmaktadır. O günden bu yana popülasyonların bölünmesi ve yeni türler oluşturmak üzere farklılaşması şeklinde milyonlarca dallanma olayı meydana gelmiştir. Yeni canlı formların oluşması, türlerin ortaya çıkması, evrim teorisinin odak noktasıdır. Biyolojik çeşitliliğin ortaya çıkması da yeni türler sayesinde olur (Karahan 2007).

Türlerin sistematik yerinin tayin edilmesinde eskiden beri morfolojik ve anatomik karakterler kullanılmaktadır. Ancak son 50 yıldır gelişen araştırma ve görüntüleme teknikleriyle hücre çekirdeğinde bulunan kromozomların ince yapısı hakkında çok fazla çalışma yapılmıştır. Yapılan bu sitogenetik çalışmalar hayvan ve bitki taksonomisinin gelişimine önemli yararlar sağlamıştır. Sitogenetik araştırmalar, kromozomların sayısının, şeklinin ve yapısının her canlının kendine has bazı karakterler taşıdığını göstermiştir. Kromozomlar üzerindeki çalışmaların taksonomiye uygulanmasıyla ortaya yeni bir araştırma metodu olan Sitotaksonomi bilim dalı çıkmıştır. Sitotaksonomistler farklı türler ve yüksek taksonomik sınıflar arasındaki genetik ve sitolojik farklılıkları göz önüne alarak, morfolojik olarak ayrılmayan türlerin sınıflandırılmasında ve evrimsel yönden akrabalık ilişkilerinin belirlenmesinde sağlıklı tahminler oluşturabilmektedirler (Yılmaz 1997).

Taksonomik çalışmalarda sitolojik karakterler daha güvenilir kriterler olarak görülmektedir. Çünkü her canlının karyotipi farklıdır ve ortam koşullarından etkilenmemektedir. Taksonomide kullanılan sitolojik karakterler kromozomlarla ilgili karakterlerdir. Bunlar kromozom sayısı, morfolojisi ve kromozomların mayozdaki davranışlarıdır (Elçi 1994). Bir türün karyotipi denildiğinde ise, kromozom sayısı ve büyüklüğü, sentromerin pozisyonu, kromozom kollarının birbirine oranı, satellitin bulunup bulunmaması gibi özellikler akla gelmektedir (Stebbins 1971). Karyotipler hazırlanırken, kromozom çiftleri büyükten küçüğe doğru boy olarak sıralanarak karyogramlar oluşturulur. Ayrıca idiogram adı verilen kromozomların şematik diyagramları da hazırlanmaktadır. Bir taksonun idiogramı diğerlerinden çok az farklılık göstermektedir (Elçi 1994).

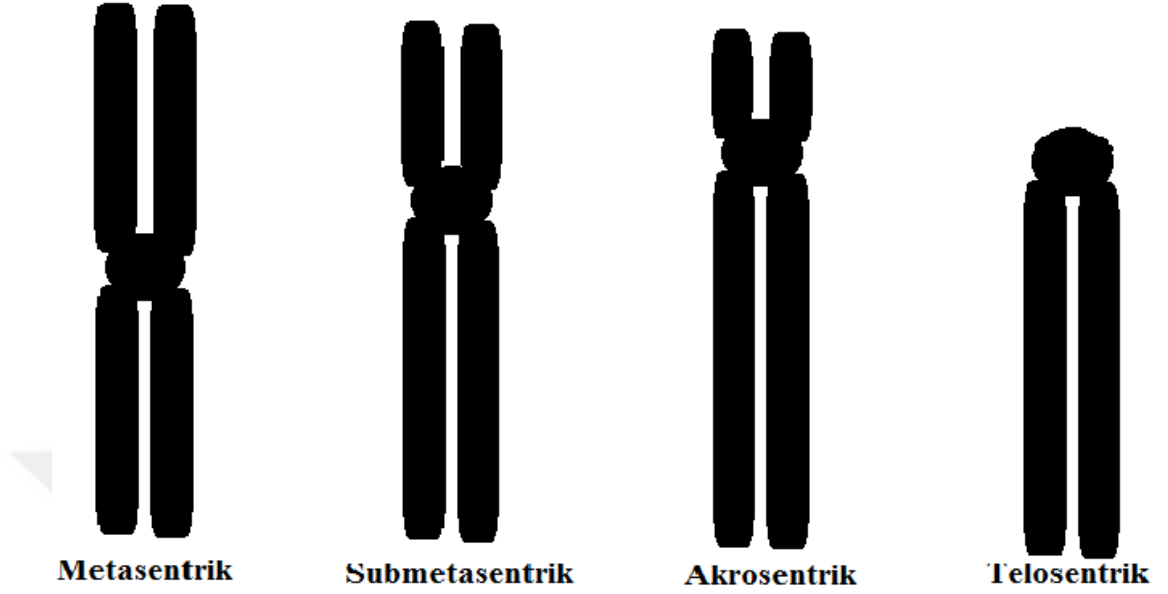
Kromozom çalışmaları sistematik çalışmalarına ilaveten mutagenез, filogenetik ilişki ve deneysel melezleme alanlarındaki çalışmalara da yardımcı olduğundan bu konudaki bilgilere ihtiyaç günden güne artış göstermektedir. Kromozom analizleri türlerin belirlenmesinde yararlı olabilir. Kromozom sayısı ve morfolojilerinin benzerlik derecesi türler arasındaki evrimsel akrabalığın hesaplanmasında kullanılabilir. Kromozom analizleri balıklarla ilgili yararlı veriler sunmaktadır. Kromozom analizleri yardımıyla balık popülasyonlarının genetik yapılarının belirlenmesi, popülasyonlar arası ve popülasyon içi kromozom polimorfizminin tespiti hususunda yapılmış çok sayıda çalışma mevcuttur. Balıklar üzerinde yapılan sitogenetik araştırmalar, çeşitli kimyasalların mutajenik etkilerinin ve biyolojik kirlilik düzeyinin test edilmesinde belirleyici olarak kullanılmaları açısından da önemli bir yere sahiptir. Küresel ısınma, yoğun pestisit kullanımı, aşırı av baskısı gibi nedenlerden dolayı biyolojik çeşitliliğin ciddi bir tehdit altında olduğu günümüzde var olan türlerin tanınması, tanıtılması ve korunması gerekmektedir. Balıklar su ile taşınan kirleticileri metabolize edebilen, toplayabilen ve depolayabilen organizmalar olduğundan, endüstriyel atıklar ve radyasyon balık kromozomlarında hatalara sebep olabilmektedir. Bu yüzden kromozom analizleri su kirliliği göstergesi olarak da kullanılabilir (Değer 2006).

### 1.1. Kromozom ve Karyotip

Her canlı, hücre veya hücrelerden meydana gelir. Hücre bitkisel ya da hayvansal her türlü yaşam biçiminin en küçük birimidir. Her hücre bir sitoplazma ve çekirdekten oluşur. Çekirdekteki genetik materyal olan kromozom, hem anne ve babaya ait kalıtsal karakterlerin bir sonraki nesle aktarılmasında görev alır, hem de karyotip analizlerinde kullanılmaktadır. Kromozomlar hücre bölünürken görünür olurlar. Onun dışında kromatin materyali denen halde bulunurlar. Kromozomlar hücre bölünmesinin metafaz ve anafaz safhalarında net olarak belirirler. Her türün kendine özgü sayı ve morfolojiye sahip karakteristik kromozom yapısına ise Karyotip denir.

Karyotipte kromozomlar; kol uzunluğu veya kısalığı, sentromerin bulunduğu yer gibi bazı özelliklerine göre tasnif edilirler. Buna kromozom morfolojisi de denir. Çoğunlukla kromozomlar bir tane sentromer içerirler ve monosentrikler. Bununla beraber iki (disentrik) veya daha fazla sayıda (polisentrik) sentromer içeren kromozomlar olduğu gibi sentromeri bütün kromozom boyunca yayılmış halde (diffuzholosentrik) olan kromozomlara da rastlanmaktadır. Sentromerin bulunduğu yere göre kromozomlar şöyle sıralanabilir (Şekil 1.1):

- a) Sentromeri ortada olan ve iki kolu birbirine eşit uzunlukta olan kromozomlara metasentrik kromozomlar denir.
- b) Sentromeri bir uca daha yakın olan ve bu nedenle iki kolunun uzunluğu birbirine eşit olmayan kromozomlara submetasentrik kromozomlar denir.
- c) Sentromeri bir uca çok yakın olan ve kollarından biri diğerinden çok küçük olan kromozomlara akrosentrik kromozomlar denir.
- d) Sentromerleri uçta bulunan ve çubuksu bir yapı gösteren kromozomlara telosentrik kromozomlar denir.
- e) Türe özgü sentromeri olmayan kromozomlara holosentrik kromozomlar denir (Yüce vd 2010).



**Şekil 1.1.** Kromozom tipleri

Bir türün karyotipi o türün genetik sisteminin fiziksel olarak gösterimidir. Morfolojik, anatomik ve biyokimyasal özelliklere göre yapılan çalışmaların taksonomik ve filogenetik açıdan yeterli olmadığı, aynı cinse ait tür ve alt türlerin ayırt edilmesinde ve aralarındaki akrabalıkların belirlenmesinde karyolojik çalışmaların ne kadar önemli olduğunu daha önce yapılan çalışmalar ortaya koymaktadır. Karyolojinin taksonomi ve sistematığe katkısı, her türde karyotipin kalıtsal bir karakter olmasına dayanır. Bu yüzden karyotip, türlerin taksonomik olarak ayırt edilmesine (sitotaksonomi) yardımcı olur (Amemiya 1987). Karşılaştırmalı sitoloji ve sitogenetiğin gelişmesi evrimin anlaşılmasına büyük katkı sağlamaktadır. Genel olarak familyalar, cinsler ve türler farklı genetik sistemlerle karakterize olurlar. Farklı türlerin karyotiplerinin incelenmesi canlılar arasındaki ilişkilerin ortaya çıkmasını sağlayabilir (Yüksel ve Gülkaç 1992).

Karyotipik tanımlamalar, taksonlar arasındaki filogenetik çalışmalarda da yararlıdır. Ancak, karyolojinin balık taksonomisi ve sistematığıne olan katkısı azdır. Dünyada ilk karyotip çalışmalarına 1970'li yıllarda başlanmıştır. Balıklarda kromozom çalışmaları, heteromorfik kromozomların karyotip tanımlanmalarına dayalı kalmıştır. Son 50 yılda balık kromozomları ile ilgili genetik çalışmalar hızlı bir gelişim göstermiştir. Kromozom

analizi çalışmaları ile, balıkların gelişim basamakları, türlerin filogenetik ve taksonomik durumları, popülasyon içi, popülasyonlar arası ve eşeyler arası varyasyonlar hakkında önemli bilgiler elde edilmiştir ve balık genetiğine ait pek çok soru bu bilgiler sayesinde aydınlatılmıştır.

## 1.2. Balıklarda Kromozom Kaynakları

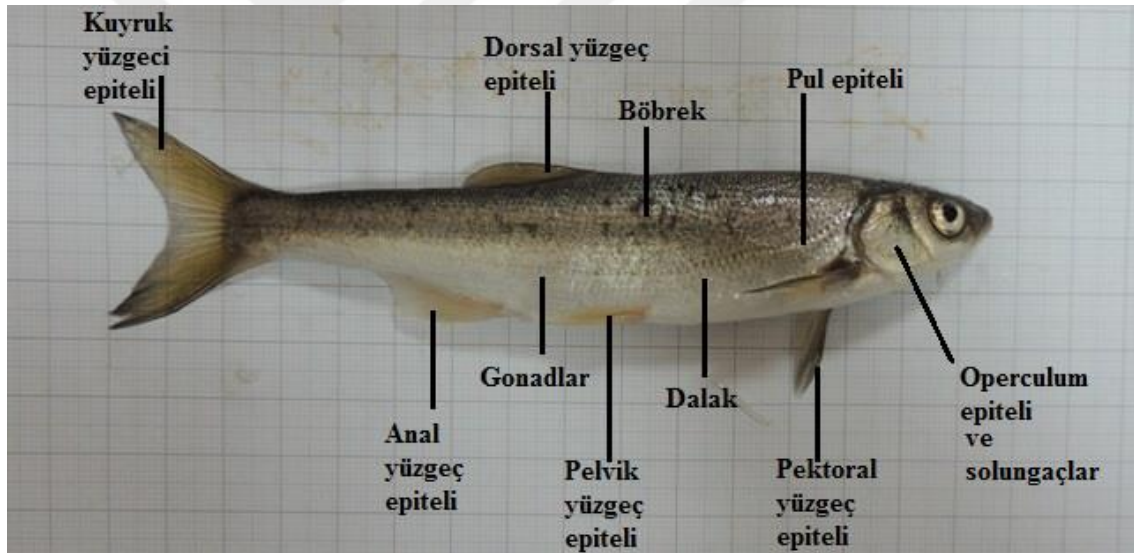
Kromozom preparasyonlarında, aktif olarak bölünen dokular kullanılır. Bu amaçla balıklarda genellikle embriyonik dokular, solungaçlar, ön böbrekler, bağırsaklar ve pul epiteli gibi dokular bölünen hücrelerin mükemmel kaynaklarıdır. Şekil 1.2’de kromozom çalışması için kullanılan bazı dokular gösterilmiştir.

Ergin balıklardan sağlanan hücre ve dokular, ergin memeli dokularına göre daha iyi kültüre edilebilirler. Çünkü, genellikle balıkların biyolojisi gereği, büyüme hayat boyu devam eder ve bazı yapıları kendini yenileme özelliğine sahiptir. Örneğin, yüzgeçleri kesildiğinde yeniden oluşabilir. Embriyonik doku, genellikle bakteriyolojik olarak steril olma, gizli virüse sahip olma riskinin çok düşük olması, hücre depo ürünlerinin nispeten daha az olması ve hücre unsurlarında çok küçük bir farklılaşma olması gibi avantajlara sahiptir. Dezavantajı ise, özellikle bazı balıkların çok küçük olmalarından dolayı embriyosunun da çok küçük olmasıdır. Ayrıca, embriyoların elde edilmesi özellikle pelajik yumurta bırakan türlerde çok zordur (Ulupınar ve Alaş 2002).

Kültürü daha kolay ve iyi olan ikinci doku tipi ise tercihen genç balıklardan alınan ve olgunlaşmamış olan gonadlardır. Çünkü, çok daha azdır ve çok daha yeni germinal (oluşum safhasındaki) dokuya sahiptir. Ovaryum, genellikle testisten daha fazla tercih edilir ve tam olgunluk anında kültürü yapılacak bolca hücre sağlar. Tam olgunlaşmış ovaryumdaki yumurta sarısı ve kabuk büyük bir kitleye sahiptir. Gonad dokusu kültürü, daha düşük omurgalılar arasında yaygın olarak uygulanan bir yöntemdir. Townsley *et al.* (1963), köpek balığı ve bir kemikli deniz balığında başarılı çalışmalar yapmışlardır.

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 tek tabakalı hücre kültürleri oluşturulabilir.

Frayer (1964), gökkuşağı alabalığı karaciğer dokusunda başarılı çalışmalar yapmış ve devamlı hücre hatları oluşturmuştur. Wolf and Quimby (1969), stannius cisimcikleri ile başarılı olamamalarına rağmen Lewis and MacNael (1935) hipofiz bezinden alınan hücreleri büyütebilmişlerdir. Bakteriyel kontaminasyon kontrol altına alınabildiği takdirde mide ve bağırsak dokuları tercih edilebilir (Wolf and Quimby 1969).



**Şekil 1.2.** Balıkta kromozom kaynakları (Kılıç 2013).

### 1.2.1. Yüzgeç ve pul

Kromozom çalışması için doku seçiminde, öncelikle organizmayı feda etmenin gerekli olup olmadığına karar verilmelidir. Çoğunlukla, son kararın verilmesinde balığın fiyatı ve az bulunan bir tür oluşu yardımcı olacaktır. Yüzgeç ve pul epiteli gibi dokular, hayvan feda edilmeksizin kromozom çalışması yapmak amacıyla oldukça uygundur. Bu işlem en aktif yüzgeçlerin bir kenarından bir parça kesmek (genellikle bu kuyruk veya karın

yüzgecidir) veya kuyruk sapı bölgesinden birkaç pul çekmek suretiyle kolaylıkla gerçekleştirilebilir (Denton and Howell 1969).

Bu dokulardan yapılacak preparasyonlar, genellikle mükemmel sayılabilecek metafaz yayımları sağlar. Bu dokuların seçilmesiyle, ayrıca kolşisin gibi iğ oluşumunu engelleyici ile ön muameleye tabi tutulmaksızın kromzom çalışması yapabilme avantajı da sağlamış olur. Kromozomların fazla kasılması veya kromatidlerin muhtemel kırılma tehlikesi yoktur. Yüzgeç ve pullarının kullanılmasının en önemli dezavantajı ise, bu dokulardaki bölünen hücrelerin genellikle az sayıda olmasıdır (Ulupınar ve Alaş 2002).

Rejenere yüzgeçten daha fazla metafaz şekilleri elde edilebilir. Bu amaçla, sırt yüzgeci veya çift yüzgeçlerin uçları kesilir ve 2-3 gün sonra rejenerasyon işaretleri gözlenilmeye başlanıldığında rejenere kısım işlem amacıyla alınabilir. Şayet organizmayı feda etmek bir problem oluşturmayacak ise, yüzgeç ve pullardan doku örneği almadan önce balık sulu bir ortamda kolşisin ile muamele edilebilir. Bu muamele mitotik indeksi önemli derecede arttıracaktır. Yüzgeç dokusunu rejenere etmekle birlikte kolşisin de kullanmak suretiyle daha da fazla metafaz şekli elde edilebilir. Ancak, rejenerasyon işaretlerinin görünmeye başlamasından sonra ve dokuya işlem uygulamadan yaklaşık 5-6 saat kadar önce kolşisin ilave edilmiş olmalıdır (Ulupınar ve Alaş 2002).

### **1.2.2. Solungaç**

Kromozom elde etmek amacıyla solungaç epitelinin kullanımı ilk olarak McPhail ve Jones (1966) tarafından gerçekleştirilmiştir. Bu dokudan, kolşisin ön muamelesi uygulanarak veya uygulanmaksızın da metafaz şekilleri elde edilebilir. Bununla birlikte, kolşisin muamelesi, çok sayıda metafaz yayımları sağlaması bakımından daha çok tercih edilir. Bu dokulardan elde edilen hücreler, farklı filamentler içinde aktif ve sabit bir bölünme oranına sahiptirler. Genellikle araştırmacılar, posterior solungaç yayının daha küçük filamentleri ile çalışmayı tercih ederler. Fakat deneyler, bu bölgenin her zaman en aktif bölünme mevkisi olmadığını da göstermektedir.

En iyi yayılımlar temiz sularda yaşayan genç balıklardan elde edilir. Şayet ırmaklar, kirli veya durgun 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. Bu amaçla, bir çok balıkta 4-7 çift olan solungaç flamenti, yeterli materyali sağlayacaktır (Ulupınar ve Alaş 2002).

### **1.2.3. 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 parankimal hücrelerin neslinden geldiğini göstermektedir. Dalak lenfoid hücrelerden, böbrekler ise miyeloid, hemopoietik unsurlardan türemişlerdir. Ancak, bağırsak dokusundan da iyi kromozom preparasyonlarının yapılabileceği kaydedilmiştir (Ulupınar ve Alaş 2002).

### **1.2.4. Kornea**

Bazı araştırmacılar tarafından kromozom çalışmalarında kornea ve konjunktival epitel doku kullanılmıştır. Bu dokular, genç balıklarda çok hızlı bölünürler ve bölünme oranı, gözü hasara uğratmak veya kolşisin ön muamelesiyle daha da arttırılabilir.

### **1.2.5. Embriyo**

Bazı durumlarda ise, kromozom preparasyonu amacıyla embriyolar kullanılır. 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 (1968), balık embriyoları ile çalışmadaki birkaç dezavantajı şu şekilde açıklamıştır. Öncelikle, embriyoları elde etmek ve tür-cinsiyet tayini yapmak zordur. Yapay dölleme bu zorluklara çare bulur, fakat olgun gametlerin elde edilmesi bir çok balıkta mümkün olamamaktadır. Diğer bir zorluk, embriyonun büyüklüğüdür. 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 şekillerinin sayısını arttıracaktır, fakat kromozomlar analiz için uygun olmayan piknotik yığınlar oluştururlar. Şayet araştırmacı rutin olarak dokuyu uzaklaştırmak ve işlemek becerisini geliştirmiş ise kornea dokuları ile yapılan çalışmalarda olduğu gibi, balık embriyoları da kromozom çalışmalarında memnuniyet verici sonuçlar ortaya koyabilir (Ulupınar ve Alaş 2002).

#### 1.2.6. Gonadlar

Mitoz ve mayoz bölünmeye ait şekillerin her ikisi de testis materyallerinden elde edilebilir. Testislerden yapılan preparasyon kromozom sayılarını belirlemede ayrı bir avantaj sağlar. Çünkü 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 (ör; *Mollinesia sphenops*) metafaz şekilleri yıl boyunca elde edilebilir. Yukarıda belirtildiği gibi, kolşisin enjeksiyonu, şekil sayısını büyük oranda artırır. Bununla beraber, poliploidi hücreler oluşturma ihtimaline karşı muamele süresi kısaltılmalıdır (Ulupınar ve Alaş 2002).

Balıkların hemapoiyetik organı olan böbrek direkt yöntemlerde en çok tercih edilen organdır. Böbrek aktif bölünmeyle bol miktarda kan hücresi üretir. Fakat balığın yaşı ve çevresel faktörler bu aktiviteyi değiştirebilmektedir. Bu durum genellikle çok sayıda kromozoma sahip olan balıklarda sitogenetik analizler için dezavantajdır (Karasu 2009).

### 1.3. Balık Karyotipleri

Kıkırdaklı balıklar, çenesiz balıklar, ıyın yüzgeçli ve lop yüzgeçli balıkların da olduğu 3.425 tür/alttür balığın karyotipi tanımlanmıştır (Çizelge 1.1). Bu rakam 62 takım, 515 familya ve 27.977 tür olan balık üst sınıfının sadece %12.2'sine karşılık gelmektedir. Tanımlanan karyotip balık grupları arasında eşit oranda da değildir. Bu sayı Cypriniformes'te 747 (%21.8), Characiformes'de 341 (%10.0), Siluriformes'de 362 (%10.6), Cyprinodontiformes'de 345 (%10.1) ve Cichlidae'de 130 (%3.8) tür şeklindedir. Diğer taraftan kıkırdaklı balıklardan 30 familya ve 4 takım (Orectolobiformes, Echinorhiniformes, Pristiophoriformes, Pristiiformes), ıyın yüzgeçli balıklardan (Actinopterygii) 5 takıma (Albuliformes, Saccopharyngiformes, Ateleopodiformes, Lampriformes, Polymixiiformes) ait herhangi bir karyotip analizi henüz yapılmış değildir (Arai 2011).

**Çizelge 1.1.** Karyotipi yapılmış balık türlerinin sayısı ve tarihsel gelişimi (Arai 2011).

| Yazar(lar)     | Denton<br>1973 | Park<br>1974 | Ojima<br><i>et al.</i><br>1976 | Sola<br><i>et al.</i><br>1981 | Ojima<br><i>et al.</i><br>1983 | Vasiliev<br>1985 | Klinkhardt<br><i>et al.</i> 1994 | Arai<br>2011 |
|----------------|----------------|--------------|--------------------------------|-------------------------------|--------------------------------|------------------|----------------------------------|--------------|
| Myxini         | 4              | 2            | 3                              | 0                             | 3                              | 5                | 0                                | 8            |
| Petromyzontida | 7              | 6            | 8                              | 0                             | 7                              | 13               | 14                               | 14           |
| Chondrichthyes |                |              |                                |                               |                                |                  |                                  |              |
| Holocephali    | 1              | 2            | 0                              | 0                             | 2                              | 2                | 2                                | 2            |
| Elasmobranchii | 15             | 8            | 4                              | 0                             | 13                             | 17               | 52                               | 68           |
| Actinopterygii |                |              |                                |                               |                                |                  |                                  |              |
| Cladistia      | 2              | 2            | 2                              | 4                             | 7                              | 6                | 7                                | 7            |
| Chondrostei    | 1              | 4            | 0                              | 5                             | 7                              | 12               | 12                               | 21           |
| Neopterygii    |                |              |                                |                               |                                |                  |                                  |              |
| Holostei       | 2              | 2            | 2                              | 2                             | 3                              | 1                | 3                                | 3            |
| Teleostei      | 446            | 505          | 417                            | 798                           | 1035                           | 1258             | 2182                             | 3296         |
| Sarcopterygii  | 3              | 1            | 0                              | 1                             | 2                              | 5                | 5                                | 6            |
| Total          | 481            | 532          | 436                            | 810                           | 1079                           | 1318             | 2277                             | 3425         |

Balık karyotip çalışmaları 1970'lerden sonra hızlı bir artış göstermektedir. Örneğin 1973'te 481 türün karyotipi biliniyorken 1981'de bu sayı 1318'e kadar çıkmıştır (Çizelge 1.1). Günümüzde ise bu rakam 3425 tür olarak kayıtlarda yer almıştır (Arai 2011).

#### **1.4. Balıklarda Kromozom Preparasyonlarının Temel Prensipleri**

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, bölünen hücreleri artırmak ve daha sonra gözlemek için bir mikroskop lamı üzerinde metafaz hücrelerinden kromozomları yaymaktır. Aynı prensipler insanlar dahil (Yunis 1974; Priest 1977) diğer memelilerle çalışmalarda da geçerlidir (Macgregor and Varley 1983).

Bölünen hücreleri metafazda durdurmak için kimyasal maddeler kullanılır. Kolşisin, Kolsemid ve Vinblastin Sülfat'ın hepsi iğ ipliği oluşumunu önlemek için kullanılabilir. Ancak, uzun süre maruz bırakıldığında, kromozomların çok yüksek derecede yoğunlaşmasına sebep olabilir. Daha sonra, metafaz kromozomlarını birbirinden ayırmak için hipotonik bir muamele uygulanır. Bu muamele, hücrenin kendi içindeki ozmotik basınçtan daha düşük basınçlı bir solüsyon (ör; %1 sodyum sitrat veya %0.56 KCl) ile hücreleri açığa çıkarmayı sağlar. Bu işlemde, hücreye su girer ve hücre şişer. Böylece kromozomlar birbirinden ayrılır. Bu işlemlerden sonra, hücre içeriğinin korunması amacıyla hücreler fiks edilir. Fiksasyon için, genellikle 3 kısım metanol ve 1 kısım galsiyal asetik asit (Carnoy fiksatif) kullanılır. Fiks edilmiş hücreler bir mikroskop lamı üzerinde yayılır ve boyanır, daha sonra bu hücrelerin metafaz kromozomları mikroskop ile incelenir (Ulupınar ve Alaş 2002).

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

##### **1.4.1. Mitotik bir engelleyici ile ön muamele**

Metafaz şekillerinin kolşisin muamelesi ile daha çok elde edilebildiği devamlı vurgulanmaktadır. Bu alkaloid madde, bütün mitoz engelleyiciler arasında en çok kullanılanıdır. İlk defa 1883’de *Colchicum autumnale* bitkisinin köklerinden elde edilmiş ve yaygın olarak bitki çalışmalarında kullanılmıştır. Esas olarak, bu kimyasal madde, bir hücredeki iğ ipliği oluşum mekanizmasını ortadan kaldırır. Kromozomlar anafazdaki kutuplarına doğru normal olarak çekilme yerine metafazda durdurulur. Böylece, kromozomları daha iyi inceleyebilme imkanı doğar. Ancak daha önce de belirtildiği gibi, yüksek konsantrasyonlarda kolşisinin kromozom üzerindeki etkileri zararlı olabilir. Bu engelleyici, kromozomların morfolojisini bozarak büzülmelerine ve kümelenmelerine sebep olabilir. Hatta, bireysel kromozomlar ayırt edilemez bir hal alırlar. Şayet uzun süre maruz bırakılırlarsa, özellikle hücre çoğalmasının meydana geldiği dokuda poliploidliğe sebep olabilir. Balık dokuları için normal olarak kullanılan konsantrasyonlar 1-6 saat süreyle %0.01-0.1’dir. Kolşisinin 12-14 saat sonra etkisini kaybettiği düşünülür. Zira, hücreler tarafından kolayca metabolize edilir. Bununla beraber, organizma genellikle bu meydana gelmeden önce ölür.

Diğer mitoz engelleyiciler, kolsemid (Deactylmethyolchicine, demecolcine) ve velban (Vinblastine sulfate)’dir. Kolsemid, kolşisinden daha az toksik olup *in vitro* çalışmalarda kolşisinden daha fazla miktarda kullanılır. Velban ise diğer ikisinden daha güçlüdür. Aynı zaman periyodu için, Kolsemid ve Velban’ın her ikisi de kolşisinden biraz daha düşük konsantrasyonlarda kullanılırlar.

Bu üç mitoz engelleyici, üç yolla balıklara uygulanırlar. Büyük türler için, vücut ağırlığının her 10 gramında %0.01-0.1’lik mitoz engelleyicinin 0.1 ml’si kas dokusuna (intramuscular. İ.m. olarak) yavaşça enjekte edilir. Aynı konsantrasyon karın boşluğuna (intraperitoneal, i.p. olarak) enjekte edilebilir. Ancak, iğnenin iç organlara zarar vermemesi gerekmektedir. Balığa enjekte edileceği durumlarda, mitoz engelleyici konsantrasyonları distile su yerine steril-izotonik tuz ile hazırlanır. Üçüncü yol ise, enjekte için çok küçük olan balıklar içinde mitotik engelleyici bulunan saf suda birkaç saat yüzmeye bırakılırlar. Genellikle bu ortam, 3-8 saat için %0.001-0.10’luk bir solüsyondur. Kimyasalın pahalı olmasından dolayı, taşıyıcı (ör. akvaryum) zaruri olarak

küçük tutulur. Bu metot balıkların dış dokuları için kullanışlıdır, fakat iç organlarda etkisi azdır (Ulupınar ve Alaş 2002).

#### **1.4.2. Hipotonik Muamele**

Balık dokusunun hipotonik muamelesi, hücreleri şişiren ve kromozomları dağıtan bir prosedürdür. Bu işlem, doku balıktan alındıktan sonra yapılır. Hipotonik ortam, hücrenin içindekinden daha az çözünmüş materyal içeren bir dış ortamdır. Hipotonik solüsyon; distile su, sodyum sitrat, KCl ve sulandırılmış izotonik tuz solüsyonundan herhangi biri olabilir. Muamele süreleri normal olarak 7 dk.-1 saat olarak ayarlanabilir. Bu süre, sıcaklık ve kullanılan dokunun yoğunluğuna bağlı olarak değişir. Daha yüksek sıcaklıklarda işlemin hızı artar ve hipotonik muamele süresi azalır. Ayrıca bazı dokular, diğerlerinden daha çok hassastırlar. Örneğin, testis materyali kuyruk yüzgecinden alınan dokudan daha az şişme gösterecektir. Hipotonik muamele için uygun sürenin belirlenmesi amacıyla deneme yanılma tek makul yoldur (Ulupınar ve Alaş 2002).

#### **1.4.3. Fiksasyon**

Hücrelerin hipotonik ile şişirilmesi kromozomların yayılmasından sonra ve boyama işleminden önce kimyasal olarak fiksasyon işlemi gerçekleştirilir. Fiksasyonun amacı, hücre içi unsurların tahrip edilmeden hücreyi öldürmektir. Bütün fiksatifler içerisinde, 3:1 metanol:glasiyal asetik asit solüsyonu sitologlar tarafından en çok kullanılanıdır. Bu fiksatif, kullanmadan hemen önce taze olarak hazırlanmalıdır. Şişirilmiş hücreleri fiksatif ile muamele etmeden önce çok dikkatli olunmalıdır. Çünkü bu hücreler, kolaylıkla patlayacaklar ve kromozomlar kaybolacaklardır. Hatta, dokular fikse edildikten sonra bile, şayet rahatsız edilmişlerse hücrelerini kaybettirecektir. Yaklaşık 30 dk. sonra metanol ve glasiyal asetik asit solüsyonu zayıf bir fiksatif olan ve kromozom berraklığını etkilemesi bakımından istenilmeyen metil asetat oluşturmaya başlayacaktır.

Genellikle, fiksasyondan hemen sonra hücreleri işleme tabi tutmak mümkün değildir. Böyle durumlarda, fikse edilmiş hücreler, soğutucuya konulmalıdır. Bu şartlar altında,

hücreler 24 saat'e kadar taze fiksatifte değiştirilebilirler. Bu zaman uzatılabilir, fakat zayıf fiksasyon riski daha büyük olur.

#### **1.4.4. Havada kurutulmuş ve ateşte kurutulmuş preparasyonlar**

Havada kurutma prosedürü, fiksatif ile muamele edilmiş hücrelerin lam üzerine damlatılıp hava ile kurutularak kromozomların yayılmasını ifade eder ve hayvan kromozomlarını yayma metotlarının en iyilerinden birisidir.

Havayla kurutma işleminden önce, 1 günden daha uzun bir süre dondurucuda bekletilmiş hücre süspansiyonları santrifüj edilmeli ve 3:1 metanol asetik asit fikzatifinde yeniden süspanse edilmelidir. Alkol fikzatifini yeni hazırlanmış olmalıdır. Bu durum, hücreleri lama daha sıkı bir şekilde yapıştırır, fakat kromozomların boyama yoğunluğunu azaltır. Bundan dolayı, şayet kromozomlar aydınlık saha gözlenecek ise tavsiye edilmez. Daha sonra hücre süspansiyonunun bir damlası yaklaşık olarak 25 cm'lik bir yükseklikten temiz bir lam üzerine bir pipet yardımıyla damlatılır. Bir çok araştırmacı, kromozomların yayılmasını düzeltmek için soğuk suya daldırılmış lamlar kullanırlar. Thorgaard (1990) ise, sıcak bir lamba altında 90°'lik bir açıyla lam üzerine damlatmak suretiyle iyi sonuçlar elde etmiştir.

Hücreler lam üzerine damlatıldıktan hemen sonra lam üzerine üfleme suretiyle veya bir üfleyciden sıcak hava uygulamak suretiyle kolayca yayılabilir. Boyama ve sayma işlemlerinde engel olmaması için doku kümeleri pens yardımıyla hızla uzaklaştırılır. Hava-kurutma preparasyonları, boyamadan önce birkaç hafta süreyle kapalı bir taşıyıcı içinde soğutucuda depolanabilir.

Lamlar üzerindeki kromozom yayımı faz-kontrast mikroskobu yardımıyla görüntülenebilir. Bir çok sebebe bağlı olarak, tek bir hücreye ait kromozomlar lam üzerinde az veya çok fazla yayılmış olabilir. Bu olumsuzluklar hücre süspansiyonunun damlatılma yüksekliğini değiştirerek giderilebilir; kromozom yayımını artırmak için daha yüksekte damlatılır, azaltmak için daha az mesafeden damlatılır (Ulupınar ve Alaş

2002).

Şayet hava-kurutma metoduyla başarılı olunamıyorsa, o takdirde ateşte kurutma metodu kullanılabilir. Bu amaçla, hücre süspansiyonu hava-kurutma metodunda olduğu gibi, bir lam üstüne damlatılır, fakat lam sıcak bir lamba üzerine veya Bunsen alevinden geçirilerek kurutulur. Boyama, hava-kurutma metodu uygulanmış hücrelerin üzerine bir damla boya koymak ve bir lamel ile kapatmak suretiyle yapılır. Preparasyon daha sonra filtre kağıdı arasında kurutulur ve kronig çimentosu ile daire içine alınır (Fisher Scientific). Kuruma birkaç hafta devam edecektir.

Şayet preparatlar daimi olacaklarsa, hava-kurutma işleminden sonra hücreler bir şale içinde uygun biçimde boyanırlar. Aceto-orcein için bu süre 15-20 dk.'dır. Preparasyon saf alkol, saf alkol-ksilen (1:1) daha sonra ksilen de yaklaşık 5'er dk. ara verilmeksizin muamele edilmek suretiyle temizlenir. Kurumadan sonra, lam üzerine bir damla destek ortamı (mounting medium) damlatılır ve üzeri bir lamel ile kapatılır (Ulupınar ve Alaş 2002).

#### **1.4.5. Pul ve yüzgeç epitelinin preparasyonu**

Balıkların öldürülmediği ve Denton and Howell (1969) tarafından önerilen pul ve yüzgeç epitelinin kromozom preparasyonu metodunda; balık 4-5 saat %0.01'lik kolşisin solüsyonuna bırakılır, kuyruk sapı bölgesinden bir miktar pul alınır ve distile su içeren bir saat camı kabına yerleştirilir, sırt, kuyruk ve çift yüzgeçlerin kenarları makasla kesilir ve pullardan ayrı olarak distile su içerisine yerleştirilir ve yaklaşık 1 saat kadar şişmeye terk edilirler, soğuk ve taze Carnoy yavaşça ilave edilir, fikzatif-su karışımı emilir ve 5-10 dk. taze fiksatif ilave edilir, pens yardımıyla doku uzaklaştırılır ve temiz bir lam üzerine hafifçe sürülür. Büyük doku kümeleri uzaklaştırılırlar ve hava kurutmaya bırakılırlar. 10 dak. %2'lik aceto-orcein ile bir lamel altında boyanırlar. Filtre kağıdı arasında kurutulur ve Kronig çimentosu ile daire içine alınır.

Pul ve yüzgeç epiteli işleme tabi tutulmadan 2-3 gün önce, rejenerasyon meydana gelmesi

amacıyla bütün yüzgeçlerin kenarları kesilir. Yeni büyüme renk olarak daha açıktır ve çıplak göz ile kolaylıkla fark edilebilirler. Ezme tekniği kullanılarak hücre kırılmasının sebebi, hipotonik solüsyondaki veya çok kuvvetli fiksatifle hücrelerin süspaniyonundan dolayı yada çok sert ezmeden dolayı olabilir.

#### **1.4.6. Solungaçlardan preparasyon**

McPhail and Jones (1966) tarafından, kemikli balıkların solungaçlarından kromozom elde etme tekniği şöyledir: Anterior dorsal kas içerisine %0.01-0.05'lik (balık büyüklüğüne bağlı olarak) 0.1 ml kolşisin (veya 0.1 ml Velban) i.m. veya i.p. olarak enjekte edilir. Enjekte edilmiş örnekler iyi havalandırılmış bir kaptan 1-3 saat bırakılırlar. Balık öldürülür ve posterior solungaç yayı alınır. Solungaç yayı distile suda 30 dk. diyalize edilir (ayrılır). Filtre edilmiş aceto-orcein ile 15 dk. boyanır. Hücrelerin parlak sulu çimentosu temiz bir lam üzerine çöktürülene kadar, boyanmış solungaç yayı temiz bir lam üzerine çalkalanır. Bir lamel ile hemen kapatılır ve ezilir. Lanolin-paraffin karışımı ile atrafı çevrilir.

#### **1.4.7. Yumurta (Embriyo) ve larvalardan preparasyon**

Simon (1963, 1964) tarafından şöyle önerilmiştir; 48 saat, 50 °F'de inkübe edilen döllenmiş yumurtalar seçilir. Glasiyal asetik asit ve izopropil alkol (1:99) içinde fikse edilir. Koryon tabakası soyulup çıkarılarak eğri pensler yardımıyla yumurta sarısı yüzeyinden hücrelerin açığa çıkan diskini toplamak suretiye yumurta sarısından germinal hücreler (blastodisk) ayrılır. % 2 aseto-orcein propionik asit (19:1)'in yaklaşık 1 ml'sinde blastodiskler boyanır. Temiz bir lama boyanmış materyal transfer edilir, boya damlası ile kaplanır, ezilir ve lamel daire içine alınır. 50 °F' de 48 saat inkübe edilmiş döllenmiş yumurtalar, metafazda %15-50 hücre içerir. Bu zamanın dışında, kromozom boyutu, gastrulasyona erişen yumurtada olduğu gibi azalır. Fiksasyon ve yağ ekstraksiyonu; boyama ve ezme işlemlerinden önce blastodiskleri 5 dk. asetonda muamele etmek ve iki kez asetik asit-alkol solüsyonunda kısa süre durulamak suretiyle işlemi daha da kolaylaştırılabilir.

### 1.5. Çalışmada Kullanılan Balık Türüne Ait Bilgiler

Çalışmada Karasu Nehri'nin doğal faunasını oluşturan balıklardan *Chalcalburnus mossulensis* (Tatlısu Gümüş Balığı) türü seçilmiştir. Bu tür Cyprinidae familyasına aittir.

#### 1.5.1. Cyprinidae (Sazangiller)

Cyprinidae Avrasya'nın ılıman tatlı su balık faunaları içindeki en önemli gruptur. Bu yüzden bu familyanın tatlı su ekosistemindeki rolü oldukça önemlidir. Farklı habitatlara yerleşmelerinden kaynaklanan çok çeşitli morfolojilere sahip olduklarından, grubun filogenisi, uyumsal açılımı, evrimsel oranları ile ilgili birçok soru bulunmaktadır (Briolay *et al.* 1998).

Temel olarak insan besini, daha sonra akvaryum balıkçılığı ve biyolojik araştırmalar açısından dünyanın en önemli tatlı su balık türlerini içeren Cyprinidae tür ve alt tür çeşitliliği açısından en zengin omurgalı familyasıdır. Familyada değişik yapılı ve birbirlerinden çok farklı türler bulunmaktadır. Bu familyanın üyeleri kısmen yavaş akan ya da durgun suları tercih ederler. Besinlerini alg, büyük su bitkileri, plankton, çamur içindeki organik maddeler ve küçük hayvanlar oluşturur (Atalay 2005). Familya birçok kaynaktan 10 alt familyaya ayrılmaktadır. Ancak, alt familyaların sınırları hala tam olarak belirlenememiştir. Bu ayrımındaki genel taksonomik ölçütler dudakların şekli, bıyıklarının dizilimi ve sayısı, farinks kemikleri, farinks dişlerinin yapısı ve dizilimi, birinci solungaç yayındaki solungaç dikeninin sayısı ve yapısı, hava kesesi, pullar, yüzgeçlerin konumu ve omur yapıları gibi özelliklerdir (Demirsoy 1993). Cyprinidae bireyleri çoğunlukla sürüler halinde yaşarlar. Üreme zamanı ilkbahar ve yaz aylarıdır. Bu zamanda bilhassa erkeklerinin daha parlak ve süslü bir görünüm kazandığı, özellikle baş ve vücutları üzerinde beyaz renkli küçük üreme tüberküllerinin (siğil) meydana geldiği dikkat çekmektedir (Geldiay ve Balık 2009).

#### 1.5.2. *Chalcalburnus* cinsi

Vücut ince uzun yapılı ve yanlardan hafifçe basıktır. Pullar daha küçük ve sık dizilişte olup, *Alburnus* cinsine nazaran vücuda daha sağlam olarak tutunmuşlardır. Alt çene hafif ileriye doğru çıkık, ağız ise genellikle yukarıya yöneliktir. Farinks dişleri 2 sıralı ve kenarları hafif çentiklidir. Diziliş tarzları genellikle 2.5-5.2 şeklinde ise de, nadiren 2.5-4.2 veya 2.5-5.1 şeklinde de olabilir. Sadece anal yüzgecin önünde pullarla örtülü olmayan çıplak bir karina bulunur. Bazen bu karina ventral ve anal yüzgeçler arasındaki alanı tamamen kaplayabilir. Yanal çizgi üzerinde 57-82 adet pul vardır. Solungaç dikenleri uzun ve sayıları 19-25 arasındadır. Anal yüzgecin önünde pulsuz bir karinanın bulunuşu ile *Alburnus* cinsinden ayrılrsa da, çoğu kez, bu iki cins birbirleriyle karıştırılmaktadır. Bu yüzden de isimlendirmede araştırmacılar arasında büyük anlaşmazlıklar görülür. Örneğin, bazı araştırmacılar *Alburnus* ve *Chalcalburnus* ayırımında vücut yüksekliğinin vücut boyuna oranını ve yanal çizgideki pul sayısını esas almışlar, buna göre yanal çizgideki pul sayısı 55'ten az olanları *Alburnus*; fazla olanları da *Chalcalburnus* cinsine dahil etmişlerdir. Fakat bu kuralı dikkate almayan araştırmacılar da vardır. Örneğin, yanal çizgide 80 pul taşıyan formlar *Chalcalburnus* olması gerekirken, bazen bunların da *Alburnus* cinsine dahil edildiği görülmüştür. *Chalcalburnus* cinsinin coğrafik dağılım alanı Dicle ve Fırat Nehir sistemleri, Güney İran, Van ve Aral gölleri ile Karadeniz ve Hazar Denizi havzalarını içermektedir. Sözü edilen yayılış alanlarında birçok tür ve alttür bulunmakla beraber Ülkemizin içsularında ancak 4 türle temsil edilmektedir. Bütün türlerin ekolojik ve biyolojik özellikleri *Alburnus* cinsinden pek farklı değildir (Geldiay ve Balık 2009).

### 1.5.3. *Chalcalburnus mossulensis* (tatlısu gümüş balığı)

Vücut ince uzun yapılı ve yanlardan hafifçe basıktır. Maksimal vücut yüksekliği, standart boyda 4,6-5,9 defa bulunur. Baş boyu hemen hemen vücut yüksekliğine eşittir. Gözler gayet iri olup çapları baş boyunda 2-2,5 defa vardır. Anal yüzgeç dorsal yüzgecin tamamen gerisinden başlar. Ventral yüzgeçlerle anal yüzgeç arasında hafif bir karina görülür. Dorsal ve anal yüzgeçlerin serbest kenarları düzdür. Ağız yukarıya doğru yönelmiştir. Boyu 10-12 cm civarındadır. Renk genel olarak gri-beyaz olup, yanal çizginin üst bölgesinde baştan kuyruğa kadar uzanan siyah renkli kalınca birer bant vardır.

Bu özelliği ile Anadolu'daki diğer *Chalcalburnus* türlerinden kolayca ayrılır. Biyo-ekolojik özellikleri hakkında yeterli bilgi yoktur. Ancak bu türün de diğerlerinde olduğu gibi temiz ve parlak yüzeyli akarsuların yavaş akan orta kısımlarını tercih ettiği bilinir. Yayılış sahası Doğu ve Güneydoğu Anadolu bölgeleri olup, özellikle Dicle ve Fırat Nehirleridir. Küçük boylu ve fazla kılçıklı balıklar oldukları için insan gıdası olarak fazla önem taşımazlar (Geldiay ve Balık 2009).

Karyotip çalışmaları tür seçiminde, verimli tür üretiminin yönlendirilmesinde ve sitotoksik kimyasalların izlenebilmesinde önemli katkılar sağlamaktadır (Al-Sabti 1991). Balık kromozomlarının sayı ve morfolojileri üzerine yapılan çalışmaların hibritleme, sınıflandırma ve evrim araştırmalarına yararlı olduğu bilinmektedir (Nishikawa 1971; Çolak 1985). Balıklarda genetik yapının bilinmesi, ıslah çalışmaları yanında, sistematik kategorilerin belirlenmesi ve canlının çevresel etkilerden özellikle de kirleticilerden ne ölçüde etkilendiğinin ortaya çıkarılmasını sağlaması bakımından da önemlidir. Ayrıca balıklarda sitogenetik çalışmalar su kirliliğinin indikatörü olarak mutasyonlar ve mutajenlerin belirlenmesinde ve bunların yanında evrimsel anlamda filogenetik ilişkilerin ortaya çıkarılmasında kullanılmaktadır. Bunlara ek olarak balıkların karyolojik karakterlerinin ortaya konulması daha verimli bireylerin üretilmesine de olanak sağlayabilmektedir (Karahana 2007). Bu çalışma ile Fırat Nehir sistemine bağlı olan Karasu Nehri'nde yaşayan *Chalcalburnus mossulensis*'in kromozom sayı ve tiplerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

## 2. KAYNAK ÖZETLERİ

Ergene vd (1998a), Erzurum'un çeşitli lokalitelerinden yakalanan *Barbus plebejus lacerta* örnekleri üzerinde karyolojik inceleme yapmışlardır. Yapılan kromozom analizleri sonucunda, *B. plebejus lacerta*'nın  $2n=48$  kromozom sayısına ve 32 metasentrik ve 16 akrosentrik kromozom morfolojisine sahip olduğunu ifade etmişlerdir. Bu çalışma ile *Barbus plebejus lacerta*'nın karyotipinin ilk kez belirlendiği de vurgulanmıştır.

Ergene vd (1998b), Türkiye'de kültür balıkçılığı yapılan, *Oreochromis niloticus*'un karyolojik analizini yapmışlardır. Bu çalışmada kromozom analizi için, modifiye edilmiş havada kurutma tekniğinin kullanıldığı belirtilmiştir. Çalışma sonucunda *O. niloticus*'un diploit kromozom sayısının  $2n=46$  olarak bulunduğu ifade edilmiştir.

Woznicki et al. (1998), *Salmo trutta morpha lacustris*'in karyotip özelliklerini belirledikleri çalışmalarında bu türün kromozom sayısının  $2n=80$ , kromozom kol sayısının FN=100-102 arasında olduğunu ve karyotipinin 20M-SM+2SM+58ST-A şeklinde olduğunu tespit etmişlerdir.

Ergene vd (1999), Göksu Deltasında bulunan kedibalığı *Clarias lazera*'nın karyolojik analizini ve vücut oranlarını incelemişlerdir. Havada kurutma tekniği modifiye edilerek yapılan bu çalışma sonucunda, *C. lazera*'nın 18 metasentrik, 26 submetasentrik ve 12 akrosentrik kromozoma sahip olduğu belirtilmiştir.

Ergene ve Çavaş (1999), Cichlidae familyasından *Tilapia zilli*'nin karyolojik analizini yapmışlardır. Çalışmanın sonucunda, *T. zilli*'nin 4'ü metasentrik, 8'i submetasentrik, 8'i subtelosentrik ve 24'ü akrosentrik olmak üzere  $2n=44$  kromozoma sahip olduğu belirtilmiştir.

Ergene ve Portakal (1999), *Oreochromis aureus*'un karyolojik analizini yaptıkları çalışma sonucunda, *O. aureus*'un 6 submetasentrik, 10 subtelosentrik, 28 akrosentrik  $2n=44$  diploit sayıda kromozoma sahip olduğunu belirtmişlerdir.

Kılıç-Demirok (2000), Dicle Nehri'nde yaşayan 8 Cyprinid türü üzerinde yaptığı karyolojik çalışmalarda *Alburnoides bipunctatus*'ta kromozom sayısını  $2n=50$ ; 16 metasentrik, 22 submetasentrik, 12 subtelosentrik ve FN=88, *Barbus rajanorum mystaceus*'da  $2n=100$ ; 22 metasentrik, 30 submetasentrik, 48 subtelosentrik ve FN=152, *Capoeta trutta*'da  $2n=150$ ; 20 metasentrik, 54 submetasentrik, 76 subtelosentrik ve FN=224, *C. capoeta umbla*'da  $2n=150$  ve 26 metasentrik, 58 submetasentrik, 66 subtelosentrik ve FN=234, *Cyprinion macrostomus*'ta  $2n=50$ ; 6 metasentrik, 26 submetasentrik, 18 subtelosentrik ve FN=82, *Garra rufa obtusa*'da  $2n=44$ ; 16 metasentrik, 26 submetasentrik, 1 subtelosentrik, 1 akrosentrik ve FN=87 ve *Leuciscus cephalus orientalis*'te  $2n=50$ ; 14 M, 20 SM, 16 ST-A ve kol sayısının 84 olduğunu bildirmiştir.

Gül vd (2000), Kızılırmak'tan yakalanan *Chalcalburnus mossulensis* (Gümüş Balığı)'nın karyotip analizini yapmışlardır. Araştırma sonrasında kromozom sayılarının  $2n=48$  olduğu belirlemişlerdir. Bu balığın karyotipini ise 12M+20SM+16A olarak tespit etmişlerdir.

Kılıç-Demirok ve Ünlü (2001), Dicle Nehri'ndeki *Capoeta trutta* ve *Capoeta capoeta umbla*'nın karyotip incelemesini yapmışlardır. Sonuçta *Capoeta trutta*'nın  $2n=150$  kromozom ve kol sayılarının FN=220 olduğunu gözlemlemişlerdir. Karyotipinin 70M-SM+80ST-A olduğunu tespit etmişlerdir. *Capoeta capoeta umbla*'nın sonucunda  $2n=150$  kromozom olduğunu ve kol sayısının FN=236 olduğunu belirlemişlerdir. Karyotipi ise 86M-SM+64ST-A şeklinde olduğunu gözlemlemişlerdir.

Borin et al. (2002), 50 adet erkek bireyin incelenmesi sonucunda *Trichomycterus davisi*'nin 60M+18SM+3ST olan 81 kromozomunun olduğunu belirtmişlerdir.

Ergene vd (2002), Berdan Çayı ve Berdan Barajından yakalanan 12 *Rutilus tricolor* örneğinde karyolojik analiz sonucunda, *R. tricolor*'un  $2n=50$  kromozom sayısına ve 14 Metasentrik, 8 Submetasentrik, 28 Akrosentrik kromozom yapısına sahip olduğu belirtilmiştir. Bu çalışma ile *Rutilus tricolor*'un karyotipinin ilk kez tanımlandığı belirtilmiştir.

Hamalosmanoğlu ve Kuru (2003), Mogan Gölü'nden toplanan *Cyprinus carpio*'nun kromozom sayısını araştırmışlar ve sonuçta bu balığın  $2n=100$  kromozoma sahip olduğunu tespit etmişlerdir.

Örs (2003), *Oncorhynchus mykiss* (Gökkuşluğu Alabalığı)'ın böbrek dokusunda karyotip çalışması yapmış ve sonuçta  $2n=58$  kromozoma sahip olduğunu tespit etmiştir.

Masagca (2003), Filipinler'de bulunan Luzon adasındaki bazı nehirlerden ve Taal Gölü'nden elde edilen *Glossogobius giuris* (Gobiidae)'un karyomorfolojisi tanımlamıştır. Anteriör böbreklerdeki hematopoetik hücrelerin metafaz kromozom analizleri, diploid kromozom sayısının  $2n=46$  olduğunu ortaya çıkarmıştır.

Bianco vd (2004), İtalya ve Balkan adasında endemik olan *Rutilus* ve *Scardinius*'un kromozom sayılarını ve kromozom yapılarını incelemiş ve karyotip analizini yapmışlardır. *Alburnus albidus* ve *Leuciscus cephalus* üzerinde yürütülen analizler sonucunda iki türünde  $2n=50$  kromozoma ve  $8M+13SM+4ST$  karyotipe sahip olduklarını tespit etmişlerdir.

Gül vd (2004), Hazar Gölü'nden ağlarla yakalanan İnci Balığı (*Alburnus heckeli*)'nin kromozom sayılarını ve kromozom yapılarını incelemiş ve karyotip analizini yapmışlardır. Metafaz incelemeleri sonucunda bu balığın  $2n=50$  kromozoma sahip olduğunu belirlemişlerdir. Karyotipinin  $14M+18SM+18A$  şeklinde, kol sayısının  $FN=82$  olduğunu tespit etmişlerdir.

Gaffaroğlu ve Yüksel (2004), Karakaya Baraj Gölü'nden yakalanan *Cyprinion*

*macrastomus*'un karyotipini incelemişlerdir. Araştırmaları sonucunda  $2n=50$  kromozoma, kol sayısının ise  $FN=92$  olduğunu gözlemlemişlerdir. Karyotipi ise  $6M+24SM+12ST+8A$  olarak tespit etmişlerdir.

Naran *et al.* (2005), *Pseudobarbus* cinsinin *P. afer*, *P. asper*, *P. burchelli*, *P. burgi*, *P. phlegethon* ve *P. tenuis* türlerinin kromozom ve karyotip analizini yapmıştır. Sonuçta bu türlerin  $2n=100$  kromozoma sahip oldukları ve karyotipinin  $10M+76SM-ST+14A$  şeklinde olduğunu tespit etmişlerdir.

Gaffaroğlu ve Yüksel (2005), Karakaya Baraj Gölü'nden toplanan *Chalcalburnus mossulensis*'in karyolojik incelemisini yapmışlardır. 3 ayrı bölgeden toplanan bu balıkların kromozom sayısını  $2n=50$  olarak tespit etmişlerdir. Karyotipini ise  $12M+16SM+10ST+12A$  olarak gözlemlemişlerdir.

Merlo *et al.* (2007), *Halobatrachus didactylus*'un kromozomal haritalamasını yapmışlardır. Sonuçta bu türün  $2n=46$  kromozoma sahip olduğunu belirlemişlerdir. Karyotipinin de  $8M+18SM+4ST+16A$  şeklinde olduğunu tespit etmişlerdir.

Karahan (2007), yaptığı çalışmasında *Garra rufa* ve *Garra variabilis*'in kromozom sayılarını ve karyotip analizini araştırmıştır. Yapılan çalışmalar sonucunda Mersin ili *G. rufa* örneklerinin kromozom sayısının  $2n=50$  ( $FN=86$ ), kromozom dağılımının  $26M+10SM+8ST+6A$ ; Hatay ili *G. rufa* örneklerinin kromozom sayısı  $2n=46$  ( $FN=80$ ), kromozom dağılımı  $22M+12SM+8ST+4A$  (dişi),  $22M+12SM+7ST+5A$  (erkek); Kahramanmaraş ili *G. rufa* örneklerinin kromozom sayısı  $2n=46$  ( $FN=84$ , dişi) ( $FN=82$ , erkek), kromozom dağılımı  $32M+6SM+6ST+2A$  (dişi),  $31M+6SM+6ST+3A$  (erkek); Sivas ili *G. rufa* örneklerinin kromozom sayısı  $2n=50$  ( $FN=92$  dişi), kromozom dağılımı  $28M+14SM+4ST+4A$  (dişi); Mardin *G. variabilis* örneklerinin kromozom sayısı  $2n=102$  ( $FN=162$  dişi,  $FN=160$  erkek), kromozom dağılımını  $42M+18SM+24ST+18A$  (dişi),  $41M+18SM+24ST+19A$  (erkek) olarak belirlemiştir.

Tanrikulu (2008), Kars Kura-Aras Havzası'nda yakalanan Çöpçü Balığı (*Orthios*

*panthera*)'nın karyotip analizini yapmış, sonuçta bu balığın  $2n=50$  kromozoma sahip olduğunu tespit etmiştir. Balığın karyotipini  $14M+18A+18SM$  şeklinde ve kol sayısını (FN=82) olarak rapor etmiştir.

Karasu (2009), yaptığı çalışmada Fırat Nehri'ndeki *Pseudophoxinos firati*'nin karyotipini incelemişlerdir. Kromozom sayısı  $2n=50$  kol sayısını ise FN=88 olduğunu tespit etmişlerdir. Karyotipinin ise  $38M-SM+12ST$  şeklinde olduğunu belirlemişlerdir.

Esmaili *et al.* (2009), İran'da *Garra persica*'nin karyotip analizini yapmışlardır. Sonuçta kromozom sayısı  $2n=48$ , kol sayısı FN=94 ve karyotipi de  $30M+16SM+2ST$  olarak tespit etmişlerdir.

Boron *et al.* (2009), yaptıkları çalışmada *Leuciscus* türlerinin karyotip analizlerine yer vermişlerdir. Sonuçta *Leuciscus idus*'un karyotip sayısı  $2n=50$ , kromozom kol sayısı FN=86, karyotipi  $10M+26SM+6S+8A$ ; *L. cephalus*'un kromozom sayısı  $2n=50$ , kol sayısı FN=82, karyotipi  $10M+22SM+10ST+8A$ ; *L. leuciscus*'un kromozom sayısı  $2n=50$ , kol sayısı FN=86, karyotip  $12M+24SM+8ST+6A$  olduğunu tespit etmişlerdir.

Mani *et al.* (2009), Mahseer türleri için kromozom ve karyotip analizi yapmışlardır. Bu türler için kromozom sayısını  $2n=100$  olarak gözlemlemişlerdir. Sonuçta *Tor khudree*'nin karyotipini  $20M+14SM+22ST+44T$  şeklinde, kol sayısını FN=134 ; *Tor mussullah*'nin karyotipini  $22M+24SM+24S+30T$  şeklinde, kol sayısını FN=144; *Tor putitora*'nin karyotipini  $12M+22SM+14ST+52T$  şeklinde, kol sayısını FN=134 ; *Tor tor*'nin karyotipini  $20M+24SM+24ST+32T$  şeklinde, kol sayısını FN=144; *Tor chelynooides*'in karyotipini  $20M+30SM+24ST+26T$  şeklinde, kol sayısını FN=150; *Tor progeneius*'in karyotipini  $20M+20SM+20ST+40T$  şeklinde, kol sayısını FN=140; *Neolissochilus hexagonolepis*'in karyotipini  $20M+18SM+14ST+48T$  şeklinde, kol sayısını FN=138 olarak tespit etmişlerdir.

Nazari *et al.* (2009), *Alburnus* türleri için kromozom ve karyotip analizleri yapmışlardır. Bu türler için kromozom sayısını  $2n=50$  olarak gözlemlemişlerdir. Bunun sonucunda

*Alburnus bipunctatus*'un karyotipini 7M+10SM+8ST şeklinde; *Alburnus filippii*'nin de 6M+9SM+4ST+6A karyotipe sahip olduğunu belirlemişlerdir.

Nasri *et al.* (2010), çalışmalarında *Cyprinion kais*'in karyotip incelemesini yapmışlardır. Sonuçta kromozom sayısını  $2n=50$ , kol sayısını FN=86, karyotipini de 16M+14SM+6ST+14T olarak tespit etmişlerdir.

Esmaili *et al.* (2010), *Chondrostoma regium*'un karyotip analizini yapmışlardır. Bu türün diploid kromozom sayısı  $2n=52$  ve kromozom kol sayısını FN=58 olarak tespit etmişlerdir. Karyotipinin 42SM+10ST şeklinde olduğunu tespit etmişlerdir.

Uysal (2011), Büyük Menderes Nehri'nde yayılış gösteren *Chondrostoma meandrense* ve *Acanthobrama mirabilis*'in karyotiplerini belirlediği çalışmasında *Chondrostoma meandrense*'nin  $2n=52$  diploid kromozom sayısına sahip olduğu ve karyotipinin 18M+6SM+6ST+ 22A kromozomdan oluştuğu ve kol sayısının FN=82, *Acanthobrama mirabilis*'in ise  $2n=50$  diploid kromozom sayısına ve karyotipinin 10M+6SM+10ST+24A kromozomdan oluştuğu ve kol sayısının FN=76 olduğunu belirlemiştir. Örnekler üzerinde yapılan karyotipik incelemelerde, kromozom takımında eşey kromozomu farklılaşması olmadığı da tespit edilmiştir.

Kılıç vd (2011), Kura- Aras Havzası'nda yaşayan *Orthrias tigris*'de kromozomal çalışmalar yapmışlardır. Metafaz incelemeleri sonucunda bu türde  $2n=50$  kromozomun, FN=86 kol sayısının olduğunu gözlemlemişlerdir. Karyotiplerinin de 18M+18SM+14A şeklinde olduğunu tespit etmişlerdir.

Khosravanizadeh *et al.* (2011), yaptıkları çalışmada Anzali gölcüğünden *Alburnus alburnus*'un karyotipini incelemişlerdir. Neticede bu balıkta  $2n=50$  kromozom olduğu, 90 tane kromozom kolunun bulunduğu ve karyotipinin de 7M+13SM+5A şeklinde olduğu belirlenmiştir.

Pereira *et al.* (2012), yaptıkları çalışmalarında *Pseudochondrostoma willkommii*'nin kromozom sayısını incelemişlerdir. Sonuç olarak, kromozom sayısını  $2n=50$ , kromozom kol sayısını 94 ve karyotipini de  $14M+30SM+6T-A$  olarak tespit etmişlerdir.

Kılıç (2013), Erzurum Karasu Nehri'nde yaşayan *Squalius cephalus*'un karyotip analizini yapmış ve adı geçen balığın kromozom sayısını  $2n=50$ , kromozom kol sayısını 82 ve karyotipini de  $10M+22SM+10ST+8A$  olarak rapor etmiştir.



### 3. MATERYAL ve YÖNTEM

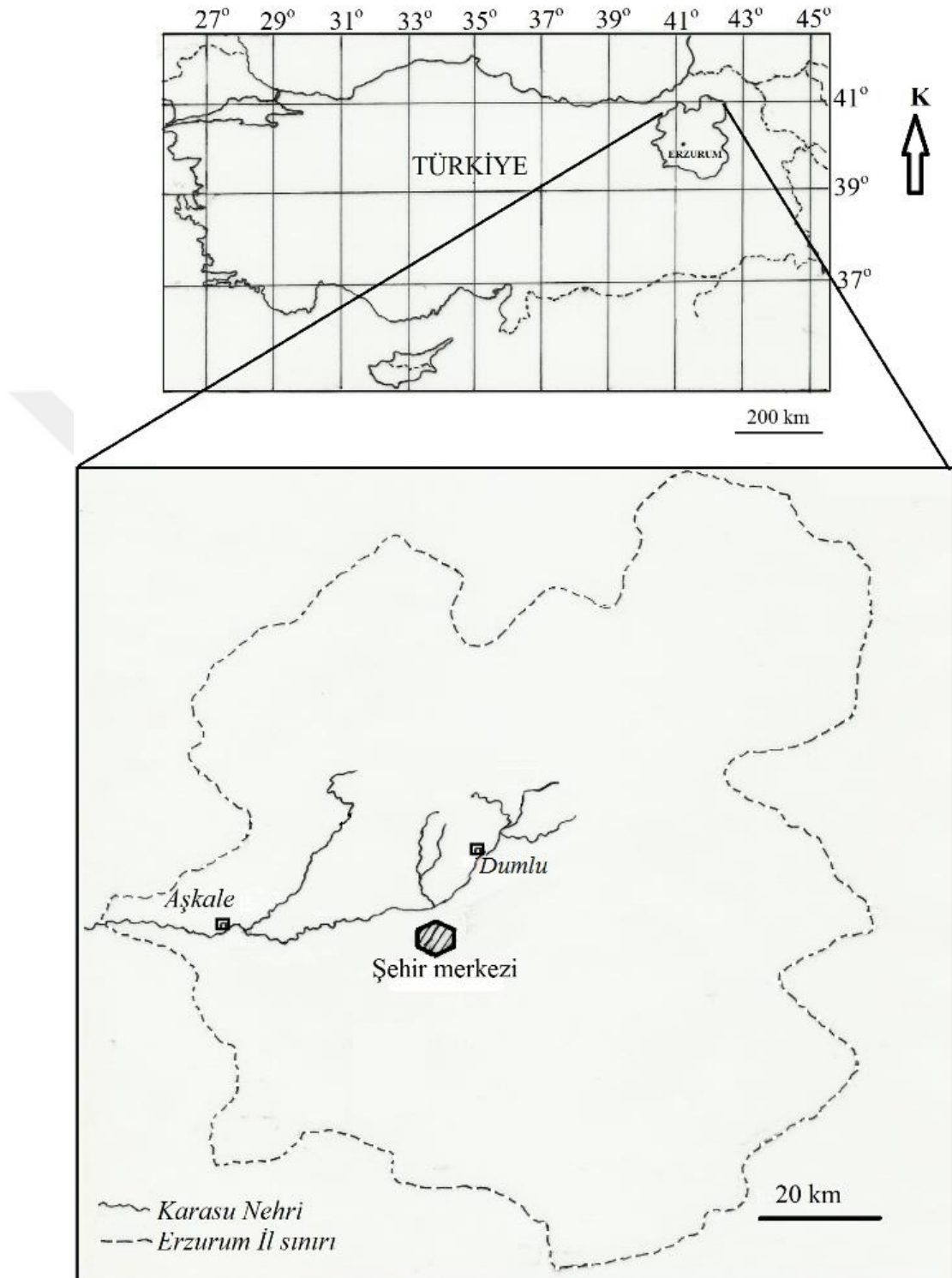
#### 3.1. Çalışma Bölgesi

Fırat Nehri'nin önemli iki kolundan biri olan Karasu Nehri, Erzurum sınırları içinde Dumlu Dağı'nın eteklerinden doğar ve Erzurum Ovası'nı doğu-batı yönünde geçerek ovanın kuzeydoğusundaki 3000-3500 m yükseklikteki Karacağız, Güvercin ve Kandil Dağları'ndan gelen Köşk, Karagöbek ve Dumlu Derelerinin birleşmesinden sonra Karasu adını alır. Önce güneybatıya doğru akar, sonra batıya yönelir. Ilıca ilçesinden Pulur Çayı'nı alır ve İspir yolu üzerinde bulunan Serçeme Deresi'yle de birleşerek ovayı terk eder. Suyunu Fırat Nehri üzerine kurulmuş Elazığ'da bulunan Keban Baraj Gölü'ne ulaştırmaktadır. Karasu Nehri'nin Erzurum ili içindeki drenaj alanı 1642 km<sup>2</sup> ve ortalama akımı 4,304 m<sup>3</sup>/sn dir (Sönmez 2011).

Araştırmamızla ilgili balık örneğinin bulunma ihtimali göz önüne alınarak 2 istasyon seçilmiştir. Bunlardan ilki nehrin Karasu Havzası'nı terk etmeye başladığı yer olan Aşkale ilçesi çıkışı olmuştur. Diğeri gerisinde çok az yerleşim yeri olan ve nehri besleyen ana kollardan biri olan Dumlu Deresi olup Dumlu Beldesi'nin giriş bölümü örnekleme yeri olarak seçilmiştir. Her istasyondan aynı ay içerisinde balık örneği ve su numuneleri alınmıştır. Örneklemelerin yapıldığı istasyonlar (Şekil 3.1):

**Dumlu Deresi:** Erzurum-Artvin Karayolu 21. km (Şekil 3.2)

**Aşkale (Karasu Nehri):** Aşkale ilçesi çıkışı. Erzurum- Bayburt Karayolu 65. km (Şekil 3.3).



**Şekil 3.1.** Karasu Nehri, örneklemelerin yapıldığı istasyonlar

\*Aşkale: Ezurum-Bayburt Karayolu 65. km, 38° 22' 33K, 036° 58' 26D. Rakım:1763m. Dumlu: Erzurum-Artvin karayolu 21.km, 40° 01'52K, 41° 18' 49D. Rakım:1763m



**Şekil 3.2.** Dumlu Deresi, örneklemenin yapıldığı alan



**Şekil 3.3.** Aşkale ilçesi çıkışı, Karasu Nehri'nde örneklemenin yapıldığı alan

### 3.2. Su Örneklerinin Kimyasal Analizleri

2013 yılının Mayıs ve Ekim aylarında belirtilen istasyonlardan alınan su örnekleri yüzeyden 0,5 m derinlikten alınmıştır. Örnekler kimyasal değerlerin ölçümü için Erzurum Halk Sağlığı Müdürlüğü'ne gönderilmiştir. Bu kimyasal değerlendirmede inorganik kirlilik parametreleri (14 çeşit metal) üzerinden ölçümler alınarak sulama suyu bakımından Su Kirliliği Kontrolü Yönetmeliği'ne göre sınıflandırması yapılmıştır (Resmi Gazete 2004).

### 3.3. Karyotip Analizi Yapılan Balık Türü

Çalışmada seçilen merkezlerin doğal faunasını oluşturan balıklardan *Chalcalburnus mossulensis* türü kullanılmıştır. Örnekler 2013 yılı Haziran ve Temmuz ayları içinde alınmıştır. Bunun için gerekli izinler olan Atatürk Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan Etik Kurulu İzni (**EK 1**), Tarım ve Köyüşleri Bakanlığı'ndan Araştırma İzni (**EK 2**), Çevre ve Orman Bakanlığı'ndan Araştırma İzni (**EK 3**) çalışma başlamadan önce ilgili yerlere müracaat edilerek alınmıştır. Dumlu istasyonundan *Chalcalburnus mossulensis* (Şekil 3.4) türü serpmme ağla yakalanmıştır. Dumlu Deresi'nden toplamda 22 adet balık (12♀, 10♂) yakalanmış ve araştırmada kullanılmıştır.



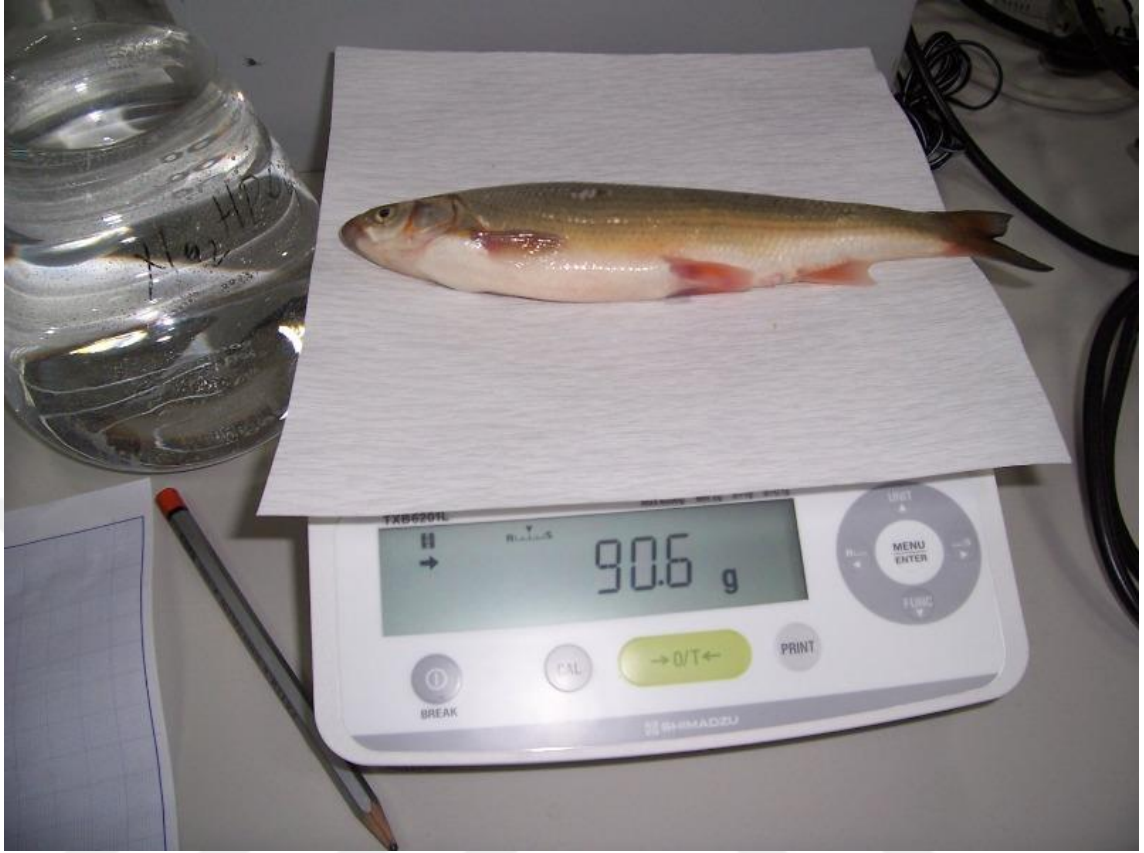
**Şekil 3.4.** *Chalcalburnus mossulensis* (Tatlısu Gümüş Balığı)

Yakalanan balıkların laboratuvara canlı ulaştırılması için 25 litrelik plastik bidonlar kullanılmıştır. Laboratuvara canlı olarak getirilen balıklar vakit kaybetmeden 50x70x80 cm ebatlarındaki havalandırmalı akvaryumlara alınmıştır (Şekil 3.5).



**Şekil 3.5.** Laboratuvara canlı olarak getirilen balıkların bekletildiği havalandırmalı akvaryum

Balıkların tür teşhisi Dr. Yahya TEPE tarafından yapılmıştır. Balıkların boyları metrik kağıt yardımıyla, ağırlıkları ise 6200 g kapasiteli hassas terazi (Şekil 3.6) ile ölçülmüştür. Yakalanan 22 adet balığın ortalama ağırlıkları, çatal ve total boyları belirlenmiştir (Çizelge 3.1).



**Şekil 3.6.** Balıklarda ağırlık ölçümü

**Çizelge 3.1.** Yakalanan balıkların ağırlıkları ve boy uzunlukları (Ort±S.H)

|                                  | Yaş Ağırlık<br>(gr) | Çatal<br>Boy(cm) | Total Boy(cm) |
|----------------------------------|---------------------|------------------|---------------|
| <i>Chalcalburnus mossulensis</i> | 25,1 ± 3,6          | 13,8 ± 0,6       | 15,0 ± 1,5    |

### 3.4. Çalışmada Kullanılan Kimyasallar ve Çözeltilerin Hazırlanması

Balıklarla yapılan işlemlerde kullanılan Fitohemaglutinin (Lot#013M4030V), Kolşisin (Lot#091M1528V), Asetik asit (Lot#SZBA0190) ve Metanol (Lot#SZBC040SV) Sigma®, KCl (Lot 21010) ve Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (Lot 22130) Riedel-deHaen®, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (Lot 418986) Fluka® ve Giemsa boyası (1.09204.0500) Merck® firmalarından temin edilmiştir.

Çalışmada kullanılan çözeltiler şöyle hazırlanmıştır:

**%1'lik Fitohemaglutinin:** 0.1 g fitohemaglutinin 100 ml saf suda çözünerek hazırlanır.

**%6'lık Kolşisin:** 0.6 g kolşisin 100 ml saf suda çözünerek hazırlanır.

**0.075 M KCl:** 0.5592 g KCl 100 ml saf suda çözünerek hazırlanır.

**Carnoy fiksatif:** 150 ml metanol 50 ml asetik asitle (veya 3:1 oranında) karıştırılarak elde edilir.

**Fosfat tamponu:** İki farklı çözeltinin değişik miktarlarda karıştırılması ile elde edilen tampondur. Karyotip analizlerinde Giemsa boyası pH 6.8 olarak hazırlanan tampon içinde hazırlanmalıdır. Tampon için 2 farklı çözelti hazırlanır.

Çözelti A:  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  (Disodyum hidrojen fosfat)'ten 11.9 g alınır ve 1000 ml su içinde çözünür.

Çözelti B:  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (Potasyum dihidrojen fosfat)'ten 9.1 g alınır ve 1000 ml su içinde çözünür.

**%5'lik Giemsa:** Çözelti A'dan 50 ml, Çözelti B'den 100 ml alınır. pH'sı 6.8 olan bu karışımdan 95 ml alınır ve üzerine 5 ml giemsa boyası eklenir.

### 3.5. Kullanılan Aletler ve Cihazlar

Araştırmalar esnasında kullanılan aletler ve cihazlarla ilgili bilgiler Çizelge 3.2'de gösterilmiştir.

**Çizelge 3.2.** Araştırmalar esnasında kullanılan aletler ve cihazlar

| Aletler ve Cihazlar                  | Temin Edildikleri Firmalar       |
|--------------------------------------|----------------------------------|
| Saf su cihazı                        | Easypure RF compact ultarpure ws |
| Hassas terazi                        | Shimadzu TXB6201L                |
| Mikroskop                            | Prior T-100 Ma                   |
| Otomatik pipet                       | Finpipette Labsystems            |
| Ultra santrifüj                      | Nüve NF 200                      |
| Dijital kamera destekli mikroskop    | Leica DM750                      |
| Makroçekim dijital fotoğraf makinesi | Nikon coolpix P510               |

### 3.6. Karyotip Çalışması ve Analiz

Laboratuvara canlı olarak getirilen balıklar derhal havalandırmalı akvaryumlara alınmıştır. Karyotipik analiz için kullanılan Collares-Pereira'nın (1992) havada kurutma tekniği modifiye edilerek uygulanmıştır. Canlı olarak ağırlıkları ölçülen balıklara (Şekil 3.7) önce fitohemaglutinin uygulaması yapılmıştır. Bunun için balığın vücut ağırlığının her bir gramı için 0.01 ml %1'lik fitohemaglutinin insülin iğnesi ile karın içine (intra peritoneal) enjekte edilmiştir (Şekil 3.8). Tekrar akvaryuma alınan balıklar yaklaşık olarak 44-48 saat yemlemeden bekletilmiştir. Kırksekizinci saatin sonunda %6'lık kolşisin her bir gram vücut ağırlığı için 0.01 ml olacak şekilde karın içine enjekte edilmiş ve akvaryuma alınan balıklar 190 dakika bekletilmiştir. Süre sonunda balıklar eterle muamele edilerek dekapite edilmiş, solungaç ve böbrekleri çıkarılmıştır.



Şekil 3.7. Balığın canlı olarak ağırlık ölçümü



**Şekil 3.8.** Balığa intra peritoneal enjeksiyon işlemi

Çıkarılan solungaç ve böbrekler hemen 0.075 M KCl solüsyonuna alınmış ve hipotonize edilmeleri için oda sıcaklığında 60 dakika bekletilmiştir (Şekil 3.9). Solungaçlar hipotonik solüsyon içinde sıyrılarak, böbrekler ise bistüri ile parçalanarak bekletilmişlerdir.



**Şekil 3.9.** Hipotonik solüsyona konan böbrek ve solungaçlar

Süre sonunda santrifüj tüplerine alınan hipotonik solüsyonlu dokular 10 dakika 2000 rpm’de santrifüj edilmiştir. Süpernatant atılarak tüp altında yaklaşık 2 ml solüsyon bırakılmış ve üzerine 7 ml soğuk carnoy fiksativi ilave edilmiştir. 10 dakika 2000 rpm’de santrifüj edildikten sonra süpernatant atılmış ve tekrar soğuk carnoy ilave edilmiştir. Bu işlem 2 kez tekrarlanmış (toplamda 3) ve son santrifüjden sonra tüp dibinde 1.5-2 ml solüsyon bırakılmıştır. Fiksatif ve doku karışımından oluşan bu solüsyona pipetaj yapılarak soğuk lamalar üzerine 40-50 cm yukarıdan damlatılarak içeriğin yayılması sağlanmıştır. Lamlar kurutulduktan sonra %5’lik Giemsa boyası içinde 35 dakika boyanması için beklenmiştir (Şekil 3.10). Boyama işleminin sonunda lamlar saf suda yıkanarak tekrar kurumaya bırakılmıştır (Şekil 3.11).

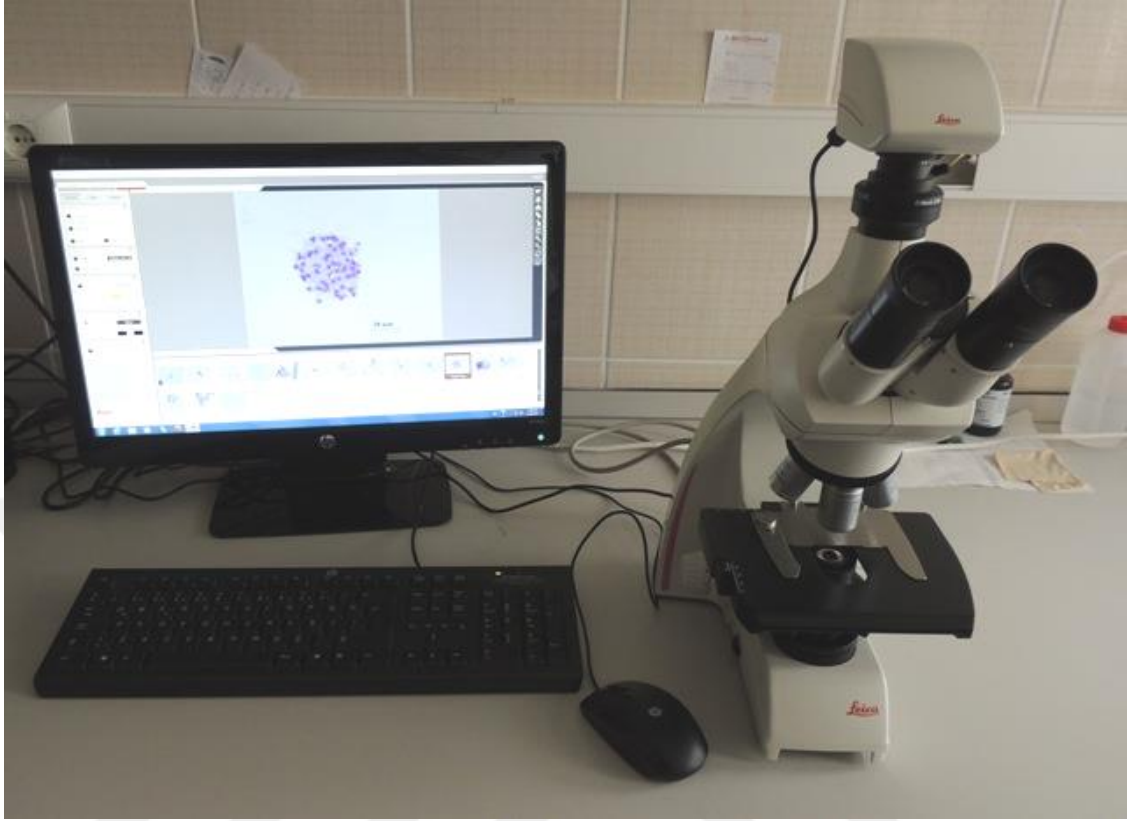


**Şekil 3.10.** Giemsa boyanan lamalar



**Şekil 3.11.** Giemsa boyada boyanmış ve kurumaya bırakılan solungaç ve böbrek hücrelerinin bulunduğu lamalar

Bu şekilde hazırlanan preparatlar Leica DM750 marka mikroskop ve Leica ICC50 HD kameralı 100 büyütme mikroskop ünitesinde incelenmiş ve en iyi metafaz plağı yayılımlarının fotoğrafları çekilmiştir (Şekil 3.12).



**Şekil 3.12.** Karyotip fotoğraflarının çekildiği mikroskop ünitesi.

Karyotipler ise kromozomların boylarına göre sınıflandırılarak hazırlanmıştır. Kromozom formülünü belirlemek için kromozomlardaki her kol ölçülmüştür. Kol ölçümleri Leica LAS EZ 3.0 görüntü analiz etme bilgisayar programı kullanılarak yapılmıştır. Her kromozomun kol oranı (KO), sentrometik endeksi (SE) ve nisbi kol uzunluğu (NKU) hesaplanmıştır. Bunun için aşağıdaki formüllerden yararlanılmıştır.

$KO = \text{Uzun Kol} / \text{Kısa Kol uzunluğu} (\mu\text{m olarak})$

$SE = 100 \times \text{Kısa Kol uzunluğu} / \text{Toplam kromozom uzunluğu}$

$NKU = 100 \times \text{Kromozom Toplam Boyu} / \text{Kromozom Boyları toplamı}$

Homolog kromozom çiftlerini ve karyotip formülünü belirlemek için kromozomlar SE değerlerine göre sıralanmıştır. Bu işlem Levan *et al.* (1964)'ün metoduna göre yapılmıştır. Buna göre SE değeri 50.00-37.51 olan kromozom çiftleri Metasentrik (M), 37.50-25.01 olanlar Submetasentrik (SM), 25.00-12.51 olanlar Subtelosentrik (ST) ve

12.50-0.00 olanlar da Telosentrik (T) olarak sınıflandırılmıştır. Ayrıca Microsoft Office Excel program kullanılarak karyotipin ideogramı çıkarılmıştır.



#### 4. ARAŞTIRMA BULGULARI

##### 4.1. Su Örneklerinin Kimyasal Analiz Sonuçları

Aşkale ve Dumlu istasyonlarından alınan su örneklerinde toplam 14 tane metalin (Hg, Cd, Pb, As, Cu, Cr, Ni, Zn, Fe, Mn, B, Se, Ba, Al) seviyesi konsantrasyon cinsinden ölçülmüştür. 2 farklı ayda alınan örneklerden elde edilen değerlerin ortalaması alınmıştır. Bu metallerden alüminyum (84.723 µg/L) ve demirin (80.141 µg/L) diğerlerine göre oldukça fazla olduğu bulunmuştur. Ancak hiçbir metal seviyesinin Haziran 2013'te belirtilen standardı aşmadığı hatta standardın yarısından daha az olduğu tespit edilmiştir. Yapılan analiz sonuçlarına göre inorganik kirleticiler yönünden Dumlu Deresi suyunun I. Sınıf Sulama Suyu kapsamında olduğu anlaşılmıştır (Çizelge 4.1).

**Çizelge 4.1.** Aşkale ve Dumlu istasyonlarından Haziran 2013'te alınan su örneklerinin analiz sonuçları

| <b>İnorganik Kirlenme Parametreleri</b> | <b>TS 266</b> | <b>SKKY I</b> | <b>SKKYII</b> | <b>Dumlu</b> | <b>Aşkale</b> |
|-----------------------------------------|---------------|---------------|---------------|--------------|---------------|
| Civa (µg Hg/L)                          | 1             | 0.1           | 0.5           | 0.006        | 0.014         |
| Kadmiyum (µg Cd/L)                      | 5             | 2             | 5             | 0.010        | 0.009         |
| Kurşun (µg Pb/L)                        | 10            | 10            | 20            | 0.127        | 0.031         |
| Arsenik (µg As/L)                       | 10            | 20            | 50            | 3.302        | 5.538         |
| Bakır (µg Cu/L)                         | 2000          | 20            | 50            | 1.0          | 1.0           |
| Krom (µg Cr/L)                          | 50            | 20            | 50            | 0.597        | 1.259         |
| Nikel (µg Ni/L)                         | 20            | 20            | 50            | 3.164        | 7.269         |
| Çinko (µg Zn/L)                         | 5000          | 200           | 500           | 0.272        | 0.181         |
| Demir (µg Fe/L)                         | 200           | 300           | 1000          | 80.141       | 26.880        |
| Mangan (µg Mn/L)                        | 50            | 100           | 500           | 18.905       | 24.427        |
| Bor (µg B/L)                            | 1             | 300           | 300           | 99.0         | <b>342.0</b>  |
| Selenyum (µg Se/L)                      | 10            | 10            | 10            | 0.597        | 1.034         |
| Baryum (µg Ba/L)                        | -             | 1000          | 2000          | 8.170        | 26.641        |
| Alüminyum (µg Al/L)                     | 200           | 300           | 300           | 84.723       | 20.810        |
| Antimon (Sb)                            | 5             | -             | -             | -            | -             |

TS 266: TSE Standartları, Yönetmelik Kapsamında İncelenen Göstergeler ve Sınır Değerleri, (17 Şubat 2005 tarih ve 25730 sayılı Resmi Gazete'de yayımlanan yönetmeliğe göre).

SKKY: Su Kirliliği Kontrolü Yönetmeliği. Değerler aynı yönetmeliğin "Kıta içi su kaynaklarının sınıflarına göre kalite kriterleri" başlıklı tablodan alınmıştır (Resmi Gazete 2004).

Ancak Temmuz 2013 analizlerinde Aşkale bölgesi yüzey suyunun nikel ve bor yönünden III., Dumlu Deresi yüzey suyunun da nikel yönünden II. Sınıf Sulama Suyu kapsamında olduğu anlaşılmıştır (Çizelge 4.2).

**Çizelge 4.2.** Aşkale ve Dumlu istasyonlarından Temmuz 2013'te alınan su örneklerinin analiz sonuçları

| <b>İnorganik Kirlenme Parametreleri</b> | <b>TS 266</b> | <b>SKKY I</b> | <b>SKKY II</b> | <b>Dumlu</b>  | <b>Aşkale</b> |
|-----------------------------------------|---------------|---------------|----------------|---------------|---------------|
| Civa ( $\mu\text{g Hg/L}$ )             | 1             | 0.1           | 0.5            | 0.021         | 0.040         |
| Kadmiyum ( $\mu\text{g Cd/L}$ )         | 5             | 2             | 5              | 0.031         | 0.047         |
| Kurşun ( $\mu\text{g Pb/L}$ )           | 10            | 10            | 20             | 0.036         | 0.013         |
| Arsenik ( $\mu\text{g As/L}$ )          | 10            | 20            | 50             | 4.668         | 7.630         |
| Bakır ( $\mu\text{g Cu/L}$ )            | 2000          | 20            | 50             | 2.0           | 3.0           |
| Krom ( $\mu\text{g Cr/L}$ )             | 50            | 20            | 50             | 0.840         | 0.856         |
| Nikel ( $\mu\text{g Ni/L}$ )            | 20            | 20            | 50             | <b>37.336</b> | <b>88.781</b> |
| Çinko ( $\mu\text{g Zn/L}$ )            | 5000          | 200           | 500            | 12.445        | 17.066        |
| Demir ( $\mu\text{g Fe/L}$ )            | 200           | 300           | 1000           | 3.089         | 8.060         |
| Mangan ( $\mu\text{g Mn/L}$ )           | 50            | 100           | 500            | -             | -             |
| Bor ( $\mu\text{g B/L}$ )               | 1             | 300           | 300            | 74.0          | <b>516.0</b>  |
| Selenyum ( $\mu\text{g Se/L}$ )         | 10            | 10            | 10             | 0.712         | 1.394         |
| Baryum ( $\mu\text{g Ba/L}$ )           | -             | 1000          | 2000           | -             | -             |
| Alüminyum ( $\mu\text{g Al/L}$ )        | 200           | 300           | 300            | 14.348        | 4.951         |
| Antimon (Sb)                            | 5             | -             | -              | 0.004         | 0.012         |

TS 266: TSE Standartları, Yönetmelik Kapsamında İncelenen Göstergeler ve Sınır Değerleri, (17 Şubat 2005 tarih ve 25730 sayılı Resmi Gazete'de yayımlanan yönetmeliğe göre).

SKKY: Su Kirliliği Kontrolü Yönetmeliği. Değerler aynı yönetmeliğin "Kıta içi su kaynaklarının sınıflarına göre kalite kriterleri" başlıklı tablodan alınmıştır (Resmi Gazete 2004).

#### 4.2. Chalcalburnus mossulensis'in Karyotip Analizi

Tatlısu gümüş balığının dişi ve erkek bireylerinin solungaç ve böbreklerinden hazırlanan preparatlarda solungaçta 352 ve böbrekte 419 adet metafaz plağı sayılmıştır. Metafaz sıklığının böbrek dokusunda solungaçta daha fazla olduğu bulunmuştur. Metafaz plaklarında sayılan kromozom sayısı böbrekte %0.7 oranında  $2n=46$ , %7.9 oranında

2n=48, %90 oranında 2n=50 ve % 1.4 oranında 2n=52 (Çizelge 4.3), solungaçta ise % 1.4 oranında 2n=46, % 9 oranında 2n=48, % 88.6 oranında 2n=50 ve % 1.1 oranında 2n=52 (Çizelge 4.4) olarak tespit edilmiştir. En çok tekrar eden değerin hem solungaçta hem de böbrekte 2n=50 olduğu anlaşılmıştır.

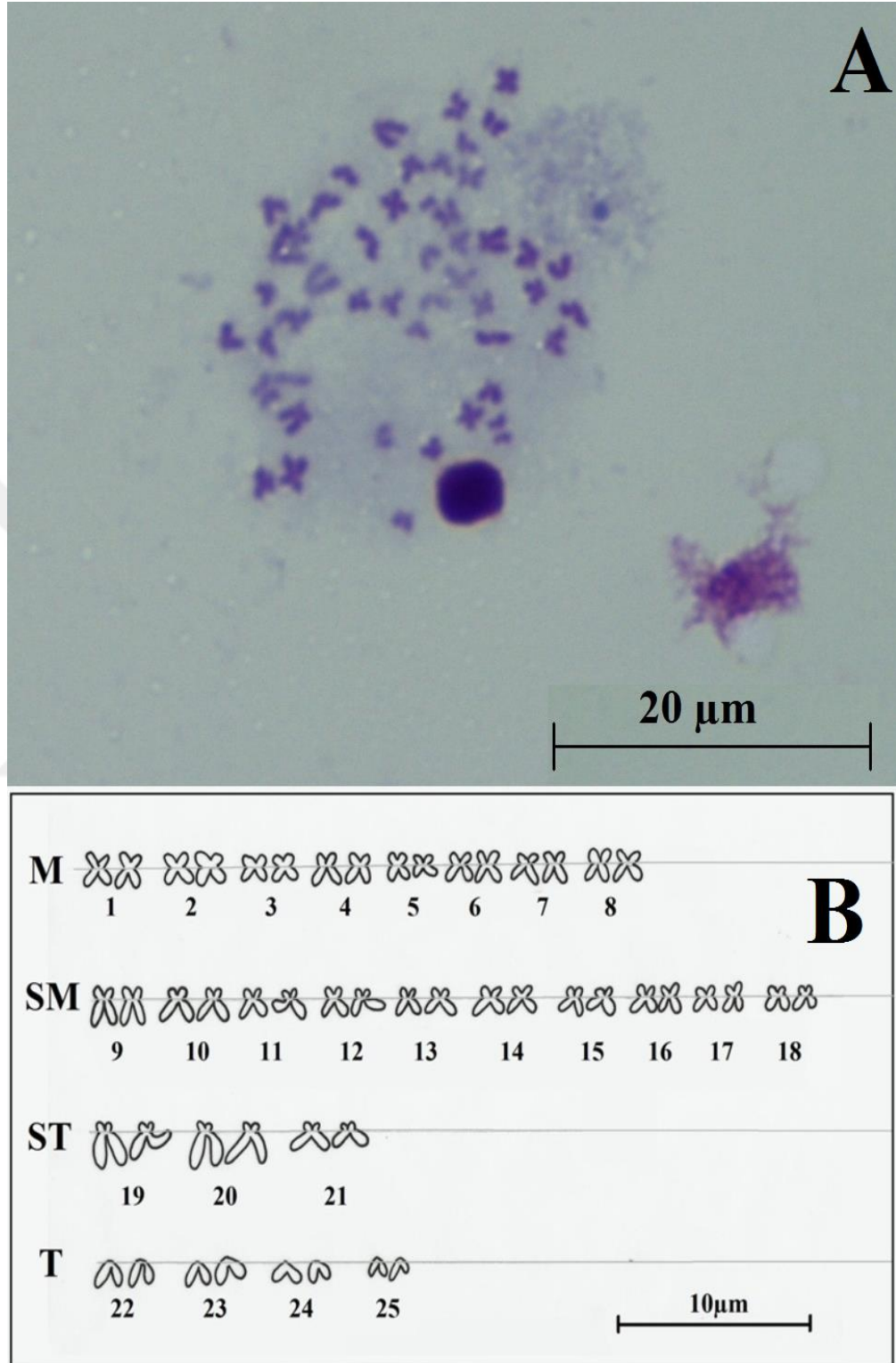
**Çizelge 4.3.** Chalcalburnus mossulensis'in böbrek dokusundaki kromozom sayısının sıklık analizi

| Örnek sayısı  | Metafaz sayısı | 2n=46 | 2n=48 | 2n=50 | 2n=52 |
|---------------|----------------|-------|-------|-------|-------|
| 1. örnek      | 85             | 1     | 9     | 73    | 2     |
| 2. örnek      | 94             | 5     | 8     | 80    | 1     |
| 3. örnek      | 94             | 1     | 5     | 86    | 2     |
| 4. örnek      | 85             | 3     | 5     | 77    | -     |
| 5. örnek      | 61             | 1     | 6     | 54    | -     |
| <b>Toplam</b> | 419            | 11    | 33    | 370   | 5     |
| <b>%</b>      |                | 0.7   | 7.9   | 90    | 1.4   |

**Çizelge 4.4.** Chalcalburnus mossulensis'in solungaç dokusundaki kromozom sayısının sıklık analizi.

| Örnek sayısı  | Metafaz sayısı | 2n=46 | 2n=48 | 2n=50 | 2n=52 |
|---------------|----------------|-------|-------|-------|-------|
| 1. örnek      | 65             | 2     | 5     | 57    | 1     |
| 2. örnek      | 81             | 1     | 8     | 72    | -     |
| 3. örnek      | 52             | 1     | 5     | 45    | 1     |
| 4. örnek      | 78             | 1     | 10    | 66    | 1     |
| 5. örnek      | 76             | -     | 3     | 72    | 1     |
| <b>Toplam</b> | 352            | 5     | 31    | 312   | 4     |
| <b>%</b>      |                | 1.4   | 9     | 88.6  | 1.1   |

İncelenen 771 metafaz plağından en iyi görünen ve en iyi dağılım gösterenlerden hazırlanan karyogramda kromozomlardan 8 çiftinin metasentrik (M), 10 çiftinin submetasentrik (SM), 3 çiftinin subtelosentrik (ST) ve 4 çiftinin de telosentrik (T) olduğu belirlenmiştir (16M+20SM+6ST+8T) (Şekil 4.1). Kromozom kol uzunluklarının 0.56 ile 2.08 µm arasında değiştiği, en uzun kromozomun subtelosentrik, en kısanın da telosentrik olduğu, kromozom kol sayısının (Fundamental Arm Number:FN) ise FN=92 olduğu bulunmuştur (Çizelge 4.5). Bu ölçümlere göre hazırlanan ideogram Şekil 4.2'de gösterilmiştir. Bu türde cinsiyete bağlı herhangi bir kromozom tespit edilememiştir.

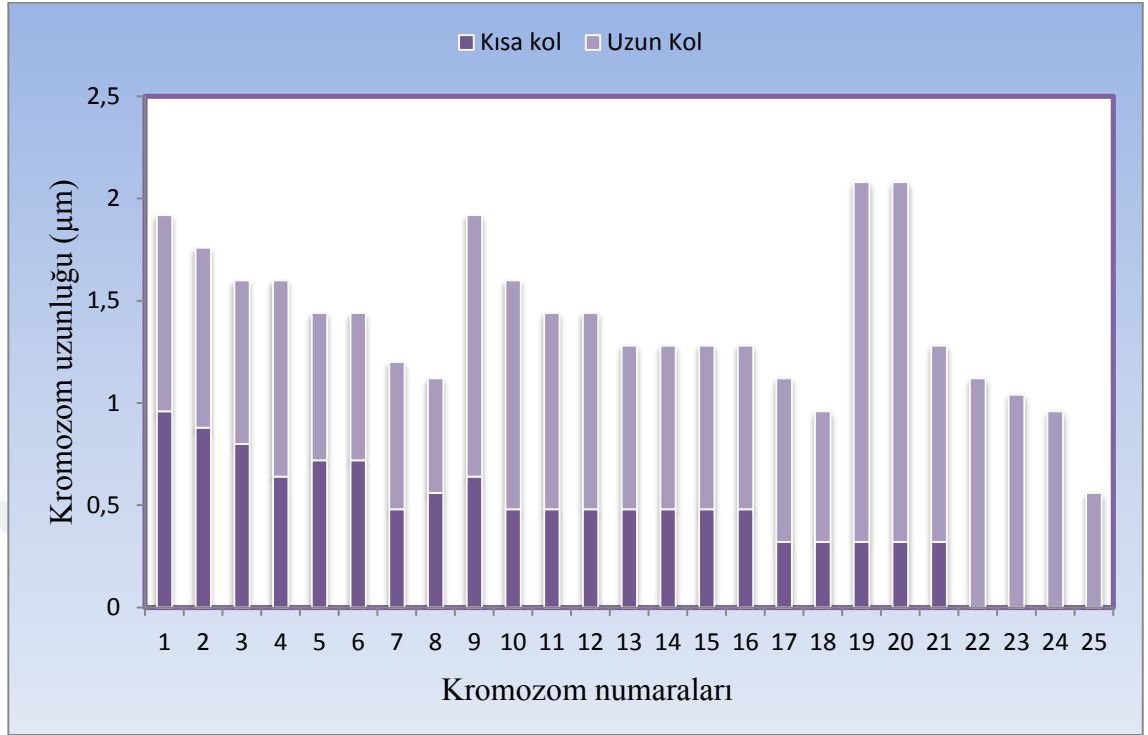


**Şekil 4.1.** *Chalcalburnus mossulensis*'in giemsa ile boyanmış metafaz plağı  
 \*(A) ve karyotipi (B). Metasentrik (M), submetasentrik (SM), subtelosentrik (ST) ve telosentrik (T)  
 kromozomlar gruplandırılmıştır (16M+20SM+6ST+8T)

**Çizelge 4.5.** *Chalcalburnus mossulensis*'in kromozomlarının ölçümleri (µm olarak) ve sentromerik endeksleri

| Kromozom numarası | Kısa kol | Uzun kol | Toplam uzunluk | Kol oranı | Sentromerik endeks | Nisbi kol uzunluğu (%) | Kromozom formu | Kol sayısı |
|-------------------|----------|----------|----------------|-----------|--------------------|------------------------|----------------|------------|
| 1                 | 0,96     | 0,96     | 1,92           | 1         | 50                 | 5,51                   | M              | 4          |
| 2                 | 0,88     | 0,88     | 1,76           | 1         | 50                 | 5,05                   | M              | 4          |
| 3                 | 0,8      | 0,8      | 1,6            | 1         | 50                 | 4,6                    | M              | 4          |
| 4                 | 0,64     | 0,96     | 1,6            | 1,5       | 40                 | 4,6                    | M              | 4          |
| 5                 | 0,72     | 0,72     | 1,44           | 1         | 50                 | 4,13                   | M              | 4          |
| 6                 | 0,72     | 0,72     | 1,44           | 1         | 50                 | 4,13                   | M              | 4          |
| 7                 | 0,48     | 0,72     | 1,2            | 1,5       | 40                 | 3,44                   | M              | 4          |
| 8                 | 0,56     | 0,56     | 1,12           | 1         | 50                 | 3,21                   | M              | 4          |
| 9                 | 0,64     | 1,28     | 1,92           | 2         | 33,33              | 5,51                   | SM             | 4          |
| 10                | 0,48     | 1,12     | 1,6            | 2,3       | 30                 | 4,6                    | SM             | 4          |
| 11                | 0,48     | 0,96     | 1,44           | 2         | 33,33              | 4,13                   | SM             | 4          |
| 12                | 0,48     | 0,96     | 1,44           | 2         | 33,33              | 4,13                   | SM             | 4          |
| 13                | 0,48     | 0,8      | 1,28           | 1,6       | 37,5               | 3,67                   | SM             | 4          |
| 14                | 0,48     | 0,8      | 1,28           | 1,6       | 37,5               | 3,67                   | SM             | 4          |
| 15                | 0,48     | 0,8      | 1,28           | 1,6       | 37,5               | 3,67                   | SM             | 4          |
| 16                | 0,48     | 0,8      | 1,28           | 1,6       | 37,5               | 3,67                   | SM             | 4          |
| 17                | 0,32     | 0,8      | 1,12           | 2,5       | 28,57              | 3,21                   | SM             | 4          |
| 18                | 0,32     | 0,64     | 0,96           | 2         | 33,33              | 2,75                   | SM             | 4          |
| 19                | 0,32     | 1,76     | 2,08           | 5,5       | 15,38              | 5,97                   | ST             | 4          |
| 20                | 0,32     | 1,76     | 2,08           | 5,5       | 15,38              | 5,97                   | ST             | 4          |
| 21                | 0,32     | 0,96     | 1,28           | 3         | 25                 | 3,67                   | ST             | 4          |
| 22                | 0        | 1,12     | 1,12           | ∞         | 0                  | 3,21                   | T              | 2          |
| 23                | 0        | 1,04     | 1,04           | ∞         | 0                  | 2,98                   | T              | 2          |
| 24                | 0        | 0,96     | 0,96           | ∞         | 0                  | 2,75                   | T              | 2          |
| 25                | 0        | 0,56     | 0,56           | ∞         | 0                  | 1,6                    | T              | 2          |
| Total             | 11,36    | 23,44    | 34,8           |           |                    |                        |                | 92         |

\*M: metasentrik, SM: submetasentrik, ST: subtelosentrik, T: telosentrik



**Şekil 4.2.** Chalcalburnus mossulensis'in ideogramı

Kromozomlar metasentrik (1-8), submetasentrik (9-18), subtelosentrik (19-21) ve telosentrik (22-25) olarak sırayla gruplandırılmıştır.

## 5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Birçok omurgalı grubunun biyolojik sistematikteki yeri ve evrimsel analizleri için karyotip ve genom büyüklükleri mitokondri ve çekirdeklerindeki gen dizilerinin çıkarılmasıyla belirlenirken, oldukça geniş bir grup olan balıkların (yaklaşık 22 bin tür) sistematğinde çoğunlukla morfoloji ve paleontolojiden yararlanılmaktadır. Sitogenetik yöntemler bu amaç için çok kullanılmamış olmasına rağmen son yıllarda balıklara uygulanan sitogenetik çalışmalarda sayıca bir artış gözlenmektedir. 2011 verilerine göre balıkların 3.425 tür veya alt türünün karyotipi artık bilinmektedir (Arai 2011). Bu tip çalışmalar ülkemizde yaklaşık 20 yıldan beri yapılıyor olmasına rağmen henüz istenilen seviyeye ulaşmamıştır (Gaffaroğlu ve Yüksel 2005). Bu amaçlar doğrultusunda yapılan araştırmada Cyprinidae (Sazangiller) familyasına ait Erzurum Karasu Nehri'nde yaşayan *Chalcalburnus mossulensis*'in karyotip analizi yapılmıştır. Bilindiği gibi Türkiye içsularında 27 famiyaya ait 236 balık türü ve alt türü bulunmaktadır. Tatlı sularımızda yaşayan 116 balık türü ise Cyprinidae familyasına aittir (Kuru 2004). Çalışma kapsamında karyotipi çıkarılan *Chalcalburnus mossulensis* de bu familyaya aittir ve oldukça geniş bir yayılışa sahiptir. Öyle ki yurdumuzdaki hemen hemen tüm akarsu ve göl sistemlerinde bu balığa rastlamak mümkündür (Geldiay ve Balık 2009).

Sitogenetik çalışmalar temelde iki şekilde yapılmaktadır: Doğrudan ve doku kültürü yöntemi. Karyotip çalışmalarında da bu iki yöntem kullanılmaktadır. Hangi yöntem olursa olsun metafaz dağılımının iyi yapılması karyotip analizi için temel unsurdur. Bu nedenle doku kültürü yöntemleri çok iyi sonuçlar vermektedir. Ancak pahalı olması ve zaman alması gibi dezavantajları vardır. Doğrudan incelemede ise metafaz frekansı düşmekte, ancak ucuz olması ve kısa zamanda sonuç alınması bakımından tercih edilmektedir. Yapılan çalışmada doğrudan inceleme yöntemi bu nedenle tercih edilmiştir. Doku olarak solungaç ve böbrekler seçilmiştir. Bu iki dokuda mitoz bölünme hızı oldukça yüksek olup kromozom elde edilmesi için oldukça uygundur (Thorgad and Disney 1990; Al-Sabti 1991).

Çalışmamızda karyotip preparasyonu için sırasıyla fitohemaglutinin ve kolşisin enjeksiyonu, dekapitasyon, KCl ile hipotenizasyon, Carnoy ile fiksasyon ve Giemsa ile boyama standart prosedürü uygulanmıştır. Önce mitozu teşvik etmek amacıyla %1'lik fitohemaglutinin balığın karın boşluğuna enjekte edilmiştir. Diğer araştırmacıların da uyguladığı fitohemaglutinin aynı oranda olup çok iyi sonuçlar vermiştir (Thorgad and Disney, 1990; Collares-Pereira, 1992). İğ ipliği oluşumunu engellemek için kullanılan kolşisin miktarı ise araştırmamızda %6 olarak uygulanmış ve sonuç alınmıştır. Kolşisin miktarı (%0.01, %0.06, %0.1, %0.5, %1, %6) ve uygulama süresi (2, 3, 4, 5 saat) ise oldukça fazla değişkenlik göstermekte olup araştırmacılar en uygun miktarı deneyerek bulmuşlardır (Khosravanizadeh *et al.* 2011). Daha sonra metafaz kromozomlarını birbirinden ayırmak için dokular 0.075 M KCl ile muamele edilmiştir. KCl yerine %0.4'lük NaCl (Foresti *et al.* 1992) veya saf su tercih eden araştırmacılar da vardır. Fiksasyon için 3 kısım metanol ve 1 kısım glasiyal asetik asitten oluşan Carnoy fiksatif kullanılmıştır. Fikse olan hücrelerin incelenmesi ise %5'lik Giemsa'da (Collares-Pereira *et al.* 1998) boyanarak yapılmıştır. Uygulanan bu prosedür sonucu balıkların solungaç ve böbreklerinden elde edilen metafaz plaklarında kromozomlar sayılmış, sentromerlerine göre sınıflandırılmış ve karyotipler çıkarılmıştır.

Karyotipte ise metasentrik, submetasentrik, subtelosentrik ve akrosentrik kromozom çiftleri oldukça fazla farklılık arz etmektedir. Balık kromozomlarının çok küçük ve sayılarının fazla olmaları, coğrafik farklılıklar, kromozom boyama yöntemleri, ölçümden doğan farklılıklar gibi etkenlerden dolayı balık kromozomları üzerinde yapılan karyotip ve diğer çalışmalarında bazı araştırmacılar farklı sonuçlar bulabilmekte ve hatta bazen istenilen netice elde edilememektedir (Gaffaroğlu ve Yüksel 2004). Karyotipteki farklılığın muhtemel sebebi olarak bu durum gösterilebilir.

Türkiye'deki ilk balık karyotip analizi Çolak (1985) tarafından yapılmıştır. Bu çalışmada, Sivas'ın Kangal ilçesinde bulunan Topardıç suyundan yakalanan *Cyprinion macrostomum*'a ait 4 metasentrik, 26 submetasentrik ve 18 akrosentrik olmak üzere toplam  $2n=48$  kromozom saptanmıştır. Bununla birlikte *Barbus plejebus lacerta* (Ergene vd 1998), *Cyprinus carpio* (Pekol 1999), *Alburnoides bipunctatus*, *Barbus rajanorum*

*mystaceus*, *Capoeta trutta*, *C. capoeta umbla*, (Kılıç ve Demirok 2000), *Carassius auratus* (Aydın 2001), *Cyprinion macrostomus* (Gaffaroğlu ve Yüksel 2004), *Alburnus heckeli* (Gül et al. 2004), *Chalcalburnus mossulensis* (Gül et al. 2000; Gaffaroğlu ve Yüksel 2005) gibi sazangillere ait balıkların karyotipi belirlenmiştir.

Çalışmamızda *Chalcalburnus mossulensis*'in  $2n=50$  kromozoma sahip olduğu anlaşıldı. Karyotip analizi sonucunda *Chalcalburnus mossulensis*'de 6 metasentrik, 8 submetasentrik, 7 subtelosentrik, 4 akrosentrik kromozom çifti (12M+16SM+14ST+8A) olduğu belirlendi. Kol sayısı ise FN=78 olarak tespit edildi. Yurdumuzda yapılan diğer çalışmalarda benzer sonuçların elde edilmiş olması türümüzün doğrulanması açısından oldukça önemli olarak değerlendirilmiştir. Nitekim Gaffaroğlu ve Yüksel (2005) Karakaya Baraj Gölü'nde yaşayan *Chalcalburnus mossulensis*'in kromozom sayısını  $2n=50$ : 6 çift metasentrik, 8 çift submetasentrik, 5 çift subtelosentrik, 6 çift akrosentrik (12M+16SM+10ST+12A) ve FN=88 olarak tespit etmişlerdir. Karakaya Baraj Gölü'ne yakın bir yöreden yapılan başka bir çalışmada ise Gül ve diğ. (2000), *C. mossulensis*'in diploid kromozom sayısını  $2n=48$ : 6 çift metasentrik, 10 çift submetasentrik ve 8 çift akrosentrik kromozom bulduklarını bildirmişlerdir. Özellikle ilk araştırma sonuçları bizim sonuçlarımızla benzerlik göstermektedir.

Türkiye'deki Cyprinidler üzerinde yapılan bazı çalışmalarda, Kılıç-Demirok (2000), Dicle Nehri'nde yaşayan *Alburnoides bipunctatus*'un kromozom sayısını  $2n=50$ : 16 metasentrik, 22 submetasentrik, 12 subtelo-akrosentrik ve FN=88, *Barbus rajanorum mystaceus*'un  $2n=100$ : 22 metasentrik, 30 submetasentrik, 48 subtelo-akrosentrik ve FN=152, *Capoeta trutta*'nın  $2n=150$ : 20 metasentrik, 54 submetasentrik, 76 subtelo-akrosentrik ve FN=224, *C. capoeta umbla*'un  $2n=150$  ve 26 metasentrik, 58 submetasentrik, 66 subtelo-akrosentrik ve FN=234, *Cyprinion macrostomus*'un  $2n=50$ : 6 metasentrik, 26 submetasentrik, 18 subtelo-akrosentrik ve FN=82, *Garra rufa obtusa*'nın  $2n=44$ : 16 metasentrik, 26 submetasentrik, 1 subtelosentrik, 1 akrosentrik ve FN=87 ve *Leuciscus cephalus orientalis*'in  $2n=50$ : 14 metasentrik, 20 submetasentrik, 16 subtelo-akrosentrik ve FN=84 olarak bulunduğunu kaydetmiştir. Kılıç-Demirok ve Ünlü (2001) Dicle Nehri'nde yaşayan *Capoeta trutta*'nın diploid kromozom sayısını  $2n=150$ , kromozom morfolojisini 35 çift meta-submetasentrik, 40 çift subtelo-akrosentrik ve kol

sayısını 220 olarak bulmuşlardır. *C. c. umbla*'nın ise  $2n=150$ , 43 çift meta-submetasentrik, 32 çift subteloakrosentrik,  $FN=236$  olarak bulduklarını bildirmişlerdir. *C. macrostomus* üzerinde yapılan karyotipik çalışmalarda Çolak vd. (1985) diploid kromozom sayısını 2 çift metasentrik, 13 çift submetasentrik ve 9 çift akrosentrik olmak üzere  $2n=48$  olarak saptadıklarını bildirirken, Kılıç-Demirok (2000) kromozom sayısını  $2n=50$ , karyotipi 6 metasentrik, 26 submetasentrik, 18 subtelo-akrosentrik kromozom, bulduklarını bildirmişlerdir. Son olarak Erzurum Karasu Nehri balıklarından *Spualius cephalus* türünün karyotipinin belirlendiği başka bir çalışmada Kılıç (2013); yapmış olduğu incelemeler sonucunda balığın  $2n=50$  kromozoma sahip olduğunu, karyotipinin 5 metasentrik, 11 submetasentrik, 5 subtelosentrik ve 4 akrosentrik ( $10M+22SM+10ST+8A$ ) kromozomdan oluştuğunu ve kol sayısını da  $FN=82$  olarak tespit ettiğini rapor etmiştir.

Kromozom sayısı bakımından bizim çalışmamızla paralel olan karşılaştırmalı karyotipte kromozom kol sayıları bakımından çok az bir farklılık vardır. Karyotipteki farklılığın nedeni ise yukarıda belirtilen sebepler dışında popülasyonla ilgili durumlar da olabilmektedir. İnterspesifik polimorfizm veya örnekleme yerindeki alttürler ve hatta popülasyonlar arası farklılıklar bile bu duruma yol açabilir. Ayrıca preparasyon esnasındaki kromozom kayıpları, fikse olmuş hücrelerin anormal pozisyonları, yakın hücrelerden gelen kromozomlar, kromozomlarda tanımlanamayan mikro kollar, yetersiz örnek sayısı, kromozom kol ölçümündeki hatalar ve kromozom tipinin yanlış belirlenmesi gibi diğer faktörler de çalışmalar arasındaki farklılıklara neden olabilir (Arai 2011; Khosravanizadeh *et al.* 2011). Bu nedenle giemsa boyamalı karyotip çalışmalarının FISH (Fluorescence In Situ Hybridization) gibi diğer sitogenetik tekniklerle desteklenmesi gerekmektedir.

Fırat Nehri ile bunu besleyen kollarda yaşayan *Chalcalburnus mossulensis*'le ilgili karyotip çalışmaları mevcut değildir. Bu itibarla çalışmamız Fırat ve Karasu Nehri için bir ilk olma özelliği taşımaktadır. Yapılan bu ve daha sonra yapılacak araştırmalardan elde edilen sonuçların ekonomik değeri olan balıklarda ıslah, melezleme, mutajenite araştırmalarına ve ekolojik çalışmalara katkılar sağlayabileceği kanaatindeyiz.



## KAYNAKLAR

- Al-Sabti, K., 1991. Handbook of genotoxic effects and fish chromosomes. J. Stefan Institute, Ljubljana, Yugoslavia, 221pp.
- Amemiya, C.T., 1987. Cytogenetic and cytosystematic studies on the nucleolus organizer regions of North American cyprinid fishes. Graduate College of Texas A. and M. University, Texas, 5-120.
- Arai, R., 2011. Fish Karyotypes: A check list. Springer e-book. Tokyo Berlin Heidelberg New York, 340 pages.
- Atalay, M.A., 2005. *Pseudophoxinus* (Pisces, Cyprinidae) genusunun Anadolu'da yayılışı ve taksonomik özelliklerinin belirlenmesi. Doktora Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Isparta, 136s.
- Aydın, D.Ö., 2001. Kızılırmak (Kayseri-Türkiye)'ta Yaşayan *Carassius auratus* (L., 1758)'un Karyotipi. Gazi Üniversitesi Gazi Eğitim Fakültesi Dergisi, 3: 33-37.
- Bianco, P., Aprea, G., Balletto, B., Capriglione, E., Fulgione, T., Odierna, D.G., 2004. The karyology of the cyprinid genera *Scardinius* and *Rutilus*'in southern Europe. Ichthyological Research, 51:274-278.
- Borin, L.A., Martins-Santos, I.S., Oliveira, C., 2002. A Natural triploid in *Trichomycterus davisii* (Siluriformes, Trichomycteridae): Mitotic and Meiotic Characterization by Chromosome Banding and Synaptonemal Complex Analyses. Genetica, 115: 253-258.
- Boron, A., Porycka, K., Ito, D., Abe, S., Kirtiklis, L., 2009. Comparative molecular cytogenetic analysis of three *Leuciscus* species (Pisces, Cyprinidae) using chromosome banding and FISH with rDNA. Genetica, 135: 199-207.
- Briolay, J., Galtier, N., Brito, R.M., Bouvets, Y., 1998. Molecular Phylogenetics and Evolution, 9: 100-108.
- Collares-Pereira, M.J., 1992. First International Workshop on Fish Cytogenetic Techniques, Concarneau, France, 14-24 September.
- Collares-Pereira, M.J., Prospero, M.I., Bileu, M.I., Rodrigues, E.M., 1998. *Leuciscus* (Pisces, Cyprinidae) karyotypes: transect of Portuguese populations. Genetic and Molecular Biology, 21: 63-69.
- Çolak, A., Sezgin, D., Sürgü, Y.S., 1985. Sazangiller Familyasına (Cyprinidae) Ait Beni Balığı (*Cyprinion macrostomum* Heckel, 1843)'nda Kromozomal Araştırmalar. Doğa Türk Biyoloji Dergisi, 9: 193-195.
- Değer, D., 2006. Dicle Nehri'nde yaşayan Cyprinidae familyası dışındaki bazı balık türlerinin karyolojik özellikleri. Yüksek Lisans Tezi, Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Diyarbakır, 52s.
- Demirsoy, A., 1993. Yaşamın Temel Kuralları, Omurgalılar / Anamniyota. Cilt-III/Kısım-I, Düzeltilmiş II. Baskı, Meteksan Matbaacılık, Ankara, 370-372.
- Denton, T.E. and Howell, W.M., 1969. A Technique for Obtaining Chromosomes from the Scale Epithelium of Teleost Fishes, Copeia, 392-393.
- Elçi, Ş., 1994. Sitogenetikte Araştırma Yöntemleri ve Gözlemler. 100. Yıl Üniversitesi Yayınları, Van, 238s.
- Ergene, S. ve Çavaş, T., 1999. *Tilapia zillii* (Gervais, 1848)'nin (Pisces: Cichlidae) Karyolojik Analizi. Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 12: 829-

835.

- Ergene, S. ve Portakal, E., 1999. *Oreochromis aureus* (Steindachner, 1864)'un karyolojik analizi. X . Ulusal Su Ürünleri Sempozyumu, 758–765.
- Ergene, S., Karahan, A., Kuru, M., 2002. Güney Akdeniz Tatlı Sularında Bulunan *Rutilus tricolor* Lortet, 1883 (Pisces: Cyprinidae)'ın Karyolojik Analizi İçin Bir Yöntem. XVI. Ulusal Biyoloji Kongresi, 88s.
- Ergene, S., Kaya, F., Pekcan, I. ve Oral, A., 1998b. Karyological Analysis of *Oreochromis niloticus* (L., 1758) (Pisces, Cichlidae) Used in Aquaculture. First International Symposium on Fisheries and Ecology, Trabzon, Turkey, 191-195.
- Ergene, S., Kuru, M., Çavaş, T., 1998a. *Barbus plebejus lacerta* (Heckel, 1843)'nın karyolojik analizi. II. Uluslararası Kızılırmak Fen Bilimleri Kongresi. 20-22 Mayıs, 426-433.
- Ergene, S., Portakal, E., Karahan, A., 1999. Karyological Analysis and Body Proportion of Catfish (Clariidae, *Clarias Lazera*, Valenciennes. 1840) in Göksu Delta, Turkey. Turkish Journal of Zoology, 23: 423-426.
- Esmaili, H.R., Ebrahimi, M., Ansari, T.H., Teimory, A., Gholamhosseini, G., 2009. First karyotype analysis of Persian stone lapper, *Garra persica* Berg, 1913 (Actinopterygii: Cyprinidae) from Iran. Current Science, 96: 959-962.
- Esmaili, H.R., Zareian H., Gholamhosseini A., Ebrahimi, M., Gholami, Z., Teimori, A., Ansari T. H., 2010. Karyotype Analysis of the King Nase Fish, *Chondrostoma regium* (Heckel, 1843) (Actinopterygii: Cyprinidae) from Iran. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 10: 477-481.
- Forresti, F., Almedo Toledo, L.F., Ozoufcostaz, C., 1992. First International Workshop on Fish Cytogenetic Techniques, Draft Report and Contributions. Concarneau, France.
- Fraye, J.L., 1964. Methods for the in vitro cultivation of cells from the tissues of salmonid fishes. Doctoral dissertation, Oregon State University.
- Gaffaroğlu, M. ve Yüksel E., 2004. *Cyprinion macrostomus* Heckel, 1843 (Pisces: Cyprinidae)'un karyotip analizi. Gazi Üniversitesi Kırşehir Eğitim Fakültesi Dergisi, 5: 235-239.
- Gaffaroğlu, M. ve Yüksel E., 2005. *Chalcalburnus mossulensis* Heckel, 1843 (Pisces: Cyprinidae)'ın karyotipi. Fırat Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi, 17:114-12.
- Geldiay, R. ve Balık, S., 2009. Türkiye Tatlısu Balıkları. Ege Üniversitesi Basımevi, VI. Baskı, İzmir.
- Gül, S., Çolak, A., Sezgin, İ., 2000. Gümüş Balığı'nda (*Chalcalburnus mossulensis* Heckel, 1843) Karyotip Analizi. Doğa Türk Biyoloji Dergisi, 24:657-662,
- Gül, S., Çolak, A., Sezgin, İ., Kaloğlu B., 2004. Karyotype analysis in *Alburnus heckeli* (Battalgil, 1943) from Lake Hazer. Turkish Journal of Veterinary and Animal Science, 28: 309-314.
- Hamalosmanoglu, M. ve Kuru, M., 2003. Karyotype analyses of the *Cyprinus carpio* (L., 1758) (carp) live in Mogan Lake (Ankara). Gazi Üniversitesi Gazi Eğitim Fakültesi Dergisi, 23: 1-10.
- Karahan, A., 2007. *Garra rufa* ve *Garra variabilis*'in morfometrik ve sitogenetik yönden karşılaştırmalı olarak incelenmesi. Doktora Tezi, Mersin Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Mersin, 123s.
- Karasu, M., 2009. *Pseudophoxinus firati* (Pisces: Cyprinidae)'nin karyotip özellikleri.

- Yüksek Lisans Tezi. Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 57s.
- Khosravanizadeh, A., Pourkazemi, M., Nowruz Fashkhami, M.R., 2011. Karyology study on Bleak (*Alburnus alburnus*) from the South Caspian Sea region. *Caspian Journal of Environmental Sciences*, 9: 27-36.
- Kılıç, B., Gül, S., Özkan, O., Kaya, T.Ö., Nur, G., Aksu, P., 2011. Kura-Aras Havzası'nda Yaşayan *Orthrias tigris* (Heckel, 1843)'de Kromozomal Çalışmalar. *Afyon Kocatepe Üniveritesi, Fen Bilimleri Dergisi*, 11:43-49.
- Kılıç, D., 2013. Erzurum Karasu Nehri'nde yaşayan *Leuciscus cephalus*'un (Tatlısu Kefali) Karyotip Analizi. *Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Erzurum*, 49 sayfa.
- Kılıç-Demirok, N. and Ünlü, E., 2001. Karyotypes of cyprinid fish *Capoeta trutta* and *Capoeta capoeta umbla* (Cyprinidae) from the Tigris River. *Turkish Journal Zoology*, 25: 389–393.
- Kılıç-Demirok, N., 2000. Dicle Su Sisteminde Yaşayan Bazı Cyprinid Tür ve Alt türlerinin Kromozomları Üzerine Çalışmalar. *Doktora Tezi, Dicle Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Diyarbakır*, 71s.
- Kuru, M., 2004. Türkiye içsu balıklarının son sistematik durumu. *Gazi Üniversitesi, Gazi Eğitim Fakültesi Dergisi*, 24: 1-21.
- Levan, A., Fredga, K., Sandberg, A.A., 1964. Nomenclature for Centromeric Position on Chromosomes. *Hereditas*, 52: 201-220.
- Lewis, M.R. and MacNeal, P.S., 1935. A Study of the pituitary gland of certain fishes by means of tissue culture. *Bull. Mt. Desert Isl. Biol. Lab*, 37, 14-16.
- Macgregor, H.C. and Varley, J.M., 1983. Working with animal chromosomes: Chapter 4. Chromosome banding. *John Wiley&Sons, Chichester, New York, Brisbane, Toronto, Singapore*, 74-96.
- Mani, I., Kumar, R., Singh, M., Kushwaha, B., Nagpure, N. S., Srivastava, P. K., Murmu, K., Rao, D.S.K., Lakra, W.S., 2009. Karyotypic diversity and evolution of seven mahseer species (Cyprinidae) from India. *Journal of Fish Biology*, 75: 1079–1091.
- Masagca, J.T. and Ordonez, J.A., 2003. Karyomorphology of the Philippine Rock Goby, *Glossogobius giuris* (Gobiidae) from Lake Taal and some Rivers of Cavite, Luzon Island. *Center for Multidisciplinary Research and Linkages, Graduate School of Education, Arts and Sciences*, 21:11-18.
- McPhail, J.D. and Jones, R.L., 1966. A Simple Tecnique for Obtaining Chromosomes from Teleost Fishes, *J. Fish. Res. Bd. Canada.*, 23: 767-769.
- Merlo, A., Cross, I., Palazo, J.L., Sarasquete, C., Rebordinos, L., 2007. Chromosomal mapping of the major and minor ribosomal genes, (GATA)<sub>n</sub> and (TTAGGG)<sub>n</sub> by one-color and double-color FISH in the toadfish *Halobatrachus didactylus* (Teleostei:Batrachoididae). *Genetica*, 131:195–200.
- Naran, D., Skelton, P.H., Hayashi, M., 2005. Karyology of the redfin minnows, genus *Pseudobarbus* Smith, 1841 (Teleostei: Cyprinidae): one of the evolutionarily tetraploid lineages of South African barbines. *African Zoology*, 41: 178–182.
- Nasri, M., Keivany, Y., Dorafshan, S., 2010. First karyological analysis of smallmouth lotak, *Cyprinion kais* Heckel, 1843, an endemic Cyprinid fish from the Tigris–Euphrates Basin. *Italian Journal of Zoology*, 77: 272–276.
- Nazari, S., Pourkazemi, M. and Rebelo Porto, J.I., 2009. Comparative karyotype analysis of two Iranian cyprinids, *Alburnus bipunctatus* and *Alburnus filippii* (Cypriniformes, Cyprinidae). *Department of fisheries, Faculty of Naturel*

- Resources, University of Guilan, P. O. Box 1144, Iran.
- Nishikawa, S., Amaoka, K., Karasawa, T., 1971. On the Chromosomes of two species of eels (*Anguilla*). Chromosome Information Service No:12, Shimonoseki University of Fisheries, Shimonoseki, 27-28.
- Örs, T., 2003. Gökkuşluğu Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) Böbrek Doku Örnekleri ile Karyotip Oluşturulması. Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi, 20: 497-501.
- Pekol, S., 1999. Kastamonu Beyler ve Germeçtepe Barajlarındaki *Cyprinus carpio* (L., 1758) ve *Leuciscus cephalus* (L., 1758) populasyonlarının karşılaştırmalı karyotip analizi ve nor fenotipleri. Doktora Tezi, Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 69s.
- Pereira, C.S.A., Ra'b, P., Collares-Pereira, M.J., 2012. Chromosomes of European cyprinid fishes: comparative cytogenetics and chromosomal characteristics of ribosomal DNAs in nine Iberian chondrostomine species (Leuciscinae). Genetica, 140: 485–495.
- Priest, J.H., 1977. Medical cytogenetics and cell culture. Second edition. Lea and Febiger, Philadelphia, pp 217-219.
- Resmi Gazete, 2004. Su Kirliliği Kontrolü Yönetmeliği. Resmi Gazete 31.12.2004, No:25687.
- Roberts, F.L., 1968. Chromosomal Polymorphism in North American Landlocked *Salmo salar*, Can. J. Genet. Cytol., 10:865.
- Simon, R.C., 1963. Chromosome Morphology and Species evolution in the Five North American species of Pacific Salmon (*Oncorhynchus*), J.Morphol., 112(1):77.
- Simon, R.C., 1964. Fixation and Fat Extraction Before Staining and Squashing for Chromosomes of Fish Embryos, Stain. Tech., 39:45.
- Sönmez, A.Y., 2011. Karasu Irmağında Ağır Metal Kirliliğinin Belirlenmesi ve Bulanık Mantıkla Değerlendirilmesi. Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum, 86s.
- Stebbins, G.L., 1971. Chromosomal Evolution in Higher Plants. Edward Arnold Ltd., London, pp 216.
- Tanrikulu, D., 2008. Kura-Aras Havzası'nda bulunan Çöpçü Balığı'nda (*Orthrias panthera*, Heckel 1843) karyotip analizi. Yüksek Lisans Tezi, Kafkas Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kars, 70s.
- Thorgard, G.H. and Disney, J. E., 1990. Chromosome Preparation and Analysis. Methods for Fish Biology. American Fisheries Society, Bethesda, Maryland, USA, 171-187.
- Townsley, P.M., et al. "The *in vitro* maturation of the parasitic nematode, *Terranova decipiens*, from cod muscle." Journal of the Fisheries Board of Canada 20.3 (1963): 743-747.
- Ulupınar, M. Ve Alaş, A., 2002. Balık Sitogenetiği ve Laboratuvar Teknikleri Ders kitabı. 1. Baskı, 371s.
- Uysal, U.E., 2011. Büyük Menderes Nehri'nden yakalanan *Chondrostoma meandrense* (Elvira, 1987) ve *Acanthobrama mirabilis* (Ladiges, 1960) (Cyprinidae)'in karyotip analizi. Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Aydın, 65s.
- Wolf, K. and Quimby, M.C., 1969. Fish Cell and Tissue Culture, In: Hoar, W.S. and Randall, D.J. (Ed.): Fish Physiology, Vol. 3, N.Y., Academic Press.

- Woznicki, P., Jankun, M., Luczynski, M., 1998. Chromosome polymorphism in *Salmo trutta morpha lacustris* from Poland, Wdzydze Lake population: Variation in the short arm length of chromosome eleven. *Aquatic Sciences*, 60: 367–375.
- Yılmaz, İ., 1997. Sitolojik ve Karyolojik Özellikler. Taksonomik Zoolojinin Prensipleri ve Metodları (Hayvan Taksonomi Dersleri), Oran Yayıncılık, İzmir, 59-126.
- Yunis, J.J., 1974. Structure and Molecular Organization of Chromosomes. In *Human chromosome methodology* (ed. J. J. Yunis), 2nd ed., Pp. 1-16 New York Academic Press.
- Yüce, S., Bilgen, G., Demir, İ., 2010. Genetik. Nobel Yayın Dağıtım, Ankara, 326 s.
- Yüksel, E. ve Gülkaç, M. D., 1992. On the karyotypes in some populations of the subterranean mole rats in the lower Euphrates Basin. Turkey, *Caryologia*, 45: 175-190.



## ÖZGEÇMİŞ

1989 yılında İzmir'in Aliğa ilçesinde doğdu. İlk öğrenimini Aksaray Taşpınar'da, orta ve lise öğrenimini Antalya Alanya'da tamamladı. 2007 yılında girdiği Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü'nden 2011 yılında mezun oldu. 2011'de Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Ana Bilim Dalı Genel Biyoloji alanında yüksek lisans programına başlayıp, eğitimini 2015'de tamamladı.

