

**KASTAMONU BEYLER VE GERMEÇTEPE BARAJLARINDAKİ *Cyprinus*
carpio (L., 1758) VE *Leuciscus cephalus* (L., 1758) POPULASYONLARININ
KARŞILAŞTIRMALI KARYOTİP ANALİZİ VE NOR FENOTİPLERİ**

Sefa PEKOL

**DOKTORA TEZİ
(BİYOLOJİ EĞİTİMİ)**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

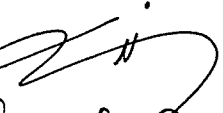
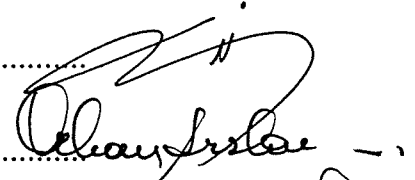
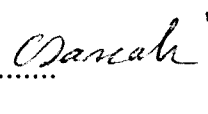
Temmuz 1999

ANKARA

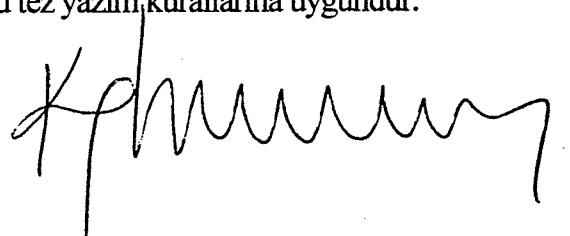
Sefa PEKOL tarafından hazırlanan KASTAMONU BEYLER VE GERMEÇTEPE BARAJLARINDAKİ *Cyprinus carpio* (L., 1758) VE *Leuciscus cephalus* (L., 1758) POPULASYONLARININ KARŞILAŞTIRMALI KARYOTİP ANALİZİ VE NOR FENOTİPLERİ adlı bu tezin Doktora Tezi olarak uygun olduğunu onaylarım.


Prof. Dr. Orhan ARSLAN
(Tez Yöneticisi)

Bu çalışma, jürimiz tarafından Biyoloji Eğitimi Anabilim Dalında doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan : Prof. Dr. Mustafa Kuvşun 
Üye : Prof. Dr. Celâl Er 
Üye : Prof. Dr. Orhan Arslan 
Üye : Yrd. Doç. Dr. Şenol Bal 
Üye : Yrd. Doç. Dr. Cengiz Sarıcah 

Bu tez Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına uygundur.



**KASTAMONU BEYLER VE GERMEÇTEPE BARAJLARINDAKİ
Cyprinus carpio (L., 1758) VE *Leuciscus cephalus* (L., 1758)
 POPULASYONLARININ KARŞILAŞTIRMALI KARYOTİP
 ANALİZİ VE NOR FENOTİPLERİ**

(Doktora Tezi)

Sefa PEKOL

GAZİ ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Temmuz- 1999

ÖZ

Bu çalışmada *Cyprinidae* familyasından *Cyprinus carpio* (L.1758) ve *Leuciscus cephalus* (L.1758)'un Beyler ve Germeçtepe Barajları'ndaki populasyonlarının kromozom yapı ve sayıları incelenerek karyotipi yapılmış, NOR fenotipleri belirlenerek her türün populasyonları kendi arasında karşılaştırılmıştır.

Balıklara % 0,1'lik kolkisin solüsyonu her 100 gr vücut ağırlığına 1 mL olacak şekilde intraperitoneal olarak enjekte edilmiş ve 3.5-4 saat sonra öldürülerek böbrek dokusu çıkarılmıştır. 0.075 M KCl'de hipotonize edilen böbrek doku, metanol-glasial asetik asitte (Carnoy) (3:1) fikse edilerek takip eden diğer aşamalardan sonra pH = 6.8'lik fosfat tamponunda hazırlanmış giemsa ile boyanmıştır

Beyler ve Germeçtepe Barajı *Cyprinus carpio* populasyonlarında kromozom sayısı $2n = 100$ 'dür. Beyler populasyonunda kromozom formülü $NF = 152, 22 m + 30 sm + 48 st-a$, Germeçtepe populasyonunda ise $NF = 150, 20 m + 30 sm + 50 st-a$ şeklinde bulunmuştur.

Leuciscus cephalus'un Beyler Barajı populasyonunda $NF = 80, 18 m + 12 sm + 20 st-a$, Germeçtepe populasyonunda $NF = 82, 20 m + 12 sm + 18 st-a$ kromozom formülü bulunmuştur. Her iki populasyonda kromozom sayısının $2n = 50$ olduğu tespit edilmiştir.

“One-Step” metoduna göre belirlenen NOR fenotipi, her iki balık türünün populasyonları arasında heteromorfik farklılıklar göstermiştir.

Bilim Kodu : 401.01.03

Anahtar Kelimeler : *Cyprinus carpio*, *Leuciscus cephalus*, Karyotip, NOR Fenotipi

Sayfa Adedi : IX + 69

Tez Yöneticisi : Prof. Dr. Orhan ARSLAN

**THE COMPARATIVE KARYOTYPE ANALYSES AND CHROMOSOMAL
NOR PHENOTYPES OF THE *Cyprinus carpio* (L., 1758) AND *Leuciscus cephalus*
(L., 1758) LIVE IN KASTAMONU BEYLER AND GERMEÇTEPE LAKES**

(Ph.D. Thesis)

Sefa PEKOL

GAZİ UNIVERSITY

INSTITUTE OF SCIENCE AND TECHNOLOGY

July- 1999

ABSTRACT

In this study, structure and number of chromosomes were investigated, and karyotypes were determined in *Cyprinus carpio* and *Leuciscus cephalus* of the *Cyprinidae* family that were obtained from the population in Beyler and Germeçtepe lakes of Kastamonu in Turkey. The NOR phenotypes of these species were determined, and the population of each species was compared.

A solution of 0.1% colchicine was injected into the abdominal cavity at a ratio of 1-mL per 100-g of body weight. 3.5-4 hours later, the fish were killed and kidneys removed. The hypotonization of the kidney tissue was performed with 0.075 M KCl, fixation was conducted in a mixture of methanol and glacial acetic acid in the ratio 3:1 (v/v). Finally, it was stained in giemsa, which was prepared in a phosphate buffer solution (pH = 6.8).

The *Cyprinus carpio* populations of Beyler and Germeçtepe lakes have a chromosome number $2n = 100$. The chromosome formula of the Beyler lake populations was found as $NF = 152, 22 m + 30 sm + 48 st-a$, in the Germeçtepe population it was $NF = 150, 20 m + 30 sm + 50 st-a$.

For *Leuciscus cephalus*; in the Beyler population; $NF = 80, 18 m + 12 sm + 20 st-a$, in the Germeçtepe population, $NF = 82, 20 m + 12 sm + 18 st-a$. The chromosome number for these two populations was determined as $2n = 50$.

According to the "One Step" method, heteromorphic differences are shown between the populations of these two fish species.

Science Code : 401.01.03

Key Words : *Cyprinus carpio*, *Leuciscus cephalus*, Karyotype, NOR Phenotype

Page Number : IX + 69

Adviser : Prof.Dr. Orhan ARSLAN

TEŞEKKÜR

Bu tezin bana verilmesini sağlayan, hocam ve danışmanım Sayın Prof. Dr. Orhan ARSLAN'a, her konuda yardım ve desteklerini gördüğüm Sayın Yrd.Doç.Dr. Şenol BAL'a ve Sayın Yrd.Doç.Dr. Ömer SAYLAR'a, Germeçtepe Barajı balıklarını temin etmemde yardımcı olan Sayın Öğr. Gör. İsmail ESKİ'ye, literatürlere ulaşmamdaki yardımlarından dolayı Sayın Fatma BAŞAR'a, Gazi Üniversitesi Araştırma Fon Saymanlığına ve bu tezin hazırlanmasındaki çeşitli katkılarından dolayı mesai arkadaşlarım Ünal İBRET, Zekeriya YERLİKAYA ve Erkan YANARATEŞ'e teşekkürlerimi sunarım.

Sefa PEKOL

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZ.....	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER.....	iv
ÇİZELGELERİN LİSTESİ	vi
ŞEKİLLERİN LİSTESİ.....	vii
 1. GİRİŞ.....	 1
 2. MATERYAL VE METOT.....	 22
2.2. Metot	24
2.2.1. Ön muamele	24
2.2.2. Hipotonik çözelti ile muamele	24
2.2.3. Dokuların fiksasyonu	25
2.2.4. Materyalin lam üzerine alınması	26
2.2.4.1. Lamaların preparasyona hazırlanması.....	26
2.2.5. Boyama.....	26
2.2.6. NOR (Nükleolus Organizer Region) boyama	27
2.2.7. Preparatların devamlı hale getirilmesi.....	28
2.2.8. Kromozom sayılarının ve morfolojilerinin belirlenmesi	28
2.2.9. Karyogramın hazırlanması	29

3.	BULGULAR	30
3.1.	<i>Cyprinus carpio</i> 'ya Ait Bulgular	30
3.1.1.	Beyler barajı populasyonu kromozom özellikleri	30
3.1.2.	Germeçtepe barajı populasyonu kromozom özellikleri	32
3.2.	<i>Leuciscus cephalus</i> 'a Ait Bulgular	34
3.2.1.	Beyler barajı populasyonu kromozom özellikleri	34
3.2.2.	Germeçtepe barajı populasyonu kromozom özellikleri	36
3.3.	<i>Cyprinus carpio</i> 'nun NOR Fenotipine Ait Bulgular	38
3.3.1.	Beyler barajı populasyonu NOR fenotipi	38
3.3.2.	Germeçtepe barajı populasyonu NOR fenotipi	42
3.4.	<i>Leuciscus cephalus</i> 'un NOR Fenotipine Ait Bulgular	45
3.4.1.	Beyler barajı populasyonu NOR fenotipi	45
3.4.2.	Germeçtepe barajı populasyonu NOR fenotipi	49
4.	TARTIŞMA VE SONUÇ	51
	KAYNAKLAR	59
	ÖZGEÇMİŞ	69

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge

Sayfa

- Çizelge 2.1. Çeşitli balık türlerinde C, D ve E metodları için mitotik inhibitör konsantrasyonu, enjeksiyonunun yapıldığı bölge, doz, bekleme süresi (Klinkhardt, 1991). 9
- Çizelge 2.2. Çeşitli araştırmacılara göre hipotonik çözelti türü, konsantrasyon, bekleme süresi, kullanılan doku ve organlar (Klinkhardt, 1991). ... 10
- Çizelge 2.3. Çeşitli araştırmacılara göre kullanılan boya çeşitleri, konsantrasyonu, pH ve boyama süresi (Klinkhardt, 1991). 11

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
Şekil 1.1.	Balık kromozomlarının tetkike hazırlanmasında kullanılan çeşitli yöntemler (Klinkhardt, 1991). 6
Şekil 1.2.	Geliştirilmiş kromozom hazırlama teknikleri (Klinkhardt, 1991)..... 7
Şekil 3.1.	Beyler Barajındaki <i>Cyprinus carpio</i> 'ya Ait Diploid Metafaz Kromozomları (× 2050) 30
Şekil 3.2.	Beyler Barajı <i>Cyprinus carpio</i> 'ya Ait Karyogram..... 31
Şekil 3.3.	Germeçtepe Barajı <i>Cyprinus carpio</i> 'ya Ait Diploid Metafaz Kromozomları (× 2050) 32
Şekil 3.4.	Germeçtepe Barajı <i>Cyprinus carpio</i> 'ya Ait Karyogram..... 33
Şekil 3.5.	Beyler Barajı <i>Leuciscus cephalus</i> 'a Ait Diploid Metafaz Kromozomları (× 2050) 34
Şekil 3.6.	Beyler Barajı <i>Leuciscus cephalus</i> 'a Ait Karyogram..... 35
Şekil 3.7.	Germeçtepe Barajı <i>Leuciscus cephalus</i> 'a Ait Diploid Metafaz Kromozomları (× 2050) 36
Şekil 3.8.	Germeçtepe Barajı <i>Leuciscus cephalus</i> 'a Ait Karyogram..... 37
Şekil 3.9.a.	Beyler Barajı <i>Cyprinus carpio</i> Populasyonunda “A” Tipi NOR Fenotipi (× 1860) 39
Şekil 3.9.b.	Beyler Barajı <i>Cyprinus carpio</i> Populasyonunda “A” Tipi NOR Fenotipi (× 2050) 39

Şekil 3.10.	Beyler Barajı <i>Cyprinus carpio</i> Populasyonunda “B” Tipi NOR Fenotipi (× 1860).....	40
Şekil 3.11.a.	Beyler Barajı <i>Cyprinus carpio</i> Populasyonunda “C” Tipi NOR Fenotipi (× 2050).....	40
Şekil 3.11.b.	Beyler Barajı <i>Cyprinus carpio</i> Populasyonunda “C” Tipi NOR Fenotipi (× 2050).....	41
Şekil 3.11.c.	Beyler Barajı <i>Cyprinus carpio</i> Populasyonunda “C” Tipi NOR Fenotipi (× 1860).....	41
Şekil 3.12.a.	Germeçtepe Barajı <i>Cyprinus carpio</i> Populasyonunda “A” Tipi NOR Fenotipi (× 2050).....	43
Şekil 3.12.b.	Germeçtepe Barajı <i>Cyprinus carpio</i> Populasyonunda “A” Tipi NOR Fenotipi (× 1860).....	43
Şekil 3.13.	Germeçtepe Barajı <i>Cyprinus carpio</i> Populasyonunda “B” Tipi NOR Fenotipi (× 1860).....	44
Şekil 3.14.	Germeçtepe Barajı <i>Cyprinus carpio</i> Populasyonunda “C” Tipi NOR Fenotipi (× 2050).....	44
Şekil 3.15.	Beyler Barajı <i>Leuciscus cephalus</i> Populasyonunda “A” Tipi NOR Fenotipi (× 2050).....	46
Şekil 3.16.a.	Beyler Barajı <i>Leuciscus cephalus</i> Populasyonunda “B” Tipi NOR Fenotipi (× 2050).....	46
Şekil 3.16.b.	Beyler Barajı <i>Leuciscus cephalus</i> Populasyonunda “B” Tipi NOR Fenotipi (× 2050).....	47
Şekil 3.17.a.	Beyler Barajı <i>Leuciscus cephalus</i> Populasyonunda “C” Tipi NOR Fenotipi (× 2050).....	47

Şekil 3.17.b. Beyler Barajı <i>Leuciscus cephalus</i> Populasyonunda “C” Tipi NOR Fenotipi (× 2050).....	48
Şekil 3.18. Germeçtepe Barajı <i>Leuciscus cephalus</i> Populasyonunda “A” Tipi NOR Fenotipi (× 2050).....	49
Şekil 3.19. Germeçtepe Barajı <i>Leuciscus cephalus</i> Populasyonunda “B” Tipi NOR Fenotipi (× 2050).....	50

1. GİRİŞ

Her geçen gün artan dünya nüfusu beraberinde yetersiz beslenme ve açlık sorununu getirmektedir. Bu problemin çözüm yollarından biri doğal kaynakların bilinçli bir şekilde değerlendirilmesidir. Türkiye, su kaynakları ve buna bağlı olarak su ürünleriyle önemli bir potansiyele sahiptir. Denizlerde yapılan aşırı avcılık ve kirlenme nedeniyle balık populasyonlarındaki azalma, tatlı su balıkları ve yetiştiriciliği konusundaki çalışmalar artmıştır. Sağlıklı, ekonomik bir alternatif olarak tatlı su balıkları hayvansal protein yönünden önemli bir besin kaynağıdır. Bu amaçla iç sularımızdaki balık türleri üzerinde coğrafik ve ekolojik şartlar altında büyüme oranları ve biyolojik özellikleri ile ilgili çok sayıda araştırmaya rastlanmaktadır.

Balıkların biyo-ekolojik şartlarındaki büyüme ve üreme gibi gelişme performansının belirlenmesi kadar, genetik yapısının da tespiti önemlidir. Çünkü türün sahip olduğu genetik yapı türe ait özellikleri ortaya koyacaktır. Türsel özelliklerin bilinmesi sadece temel bilim açısından değil, balık ıslahı ve işletmeciliğinin gerektirdiği bilgilere ışık tutması bakımından da önemlidir. Türkiye’de bu güne kadar yapılan çalışmalarda büyük bir genetik zenginliğin olduğu ortaya çıkmıştır. Bu genetik zenginliğin, insanların ihtiyaçları doğrultusunda kullanılması için net olarak ortaya konması gereklidir.

İç sularımızda doğal olarak 26 balık familyası ve bu familyalara ait 192 tür ve alt tür mevcuttur (Kuru, 1980).

Çok değişik coğrafi yapıların görüldüğü ülkemizde 149 değişik türde balığın 26 havzada dağılım gösterdiği belirtilmektedir (Demirsoy, 1996).

Cyprinidae familyası 29 cins, 62 tür ve 22 alt tür ile ülkemizde yaşayan kemikli balıkların büyük bir kısmını oluşturur (Geldiay ve Balık, 1988).

Cyprinidae familyasından *Cyprinus carpio* (pullu sazan) hastalıklara, kötü çevre şartlarına karşı doğal dirence sahip, dünyada çok değişik coğrafik bölgelere dağılmış en popüler balıkların birisi olup, büyük bir ekonomik öneme sahiptir (Al-Sabti, 1986b).

Ülkemiz sularında da çok yaygın olarak bulunan *C. carpio*'da vücut yanlardan yassılaşmış ve büyük pullarla kaplıdır. Yan çizgide 26-30 pul bulunur. İki çift bıyıkları vardır. Boyları 1 m., ağırlıkları 30 kg. kadar olabilen bu balıklar 3-4'üncü yaşlarında eşeyssel olgunluğa ulaşırlar. Nisandan hazirana kadar 1.000.000-1.600.000 arasında değişen yumurta, dişi balık tarafından bitkilerin bulunduğu sığ alanlara bırakılır. Erginleri omnivor bir beslenme özelliği gösterir. Su sıcaklığının 2-5°C olduğu kış aylarında beslenmezler ve su tabanındaki çamurlu alanlarda kış uykusuna yatarlar. Oksijen yokluğuna karşı dayanıklı olan bu balıklarda büyüme çok hızlıdır, yılda 5 kg. kadar ağırlık kazanabilirler. Özellikle 15. ve 16. yüzyıllardan sonra durgun ve sıcak sularda yapay olarak üretilmeye başlanmıştır. Denetim altına alınan çaprazlamalar sonucunda vücudun bazı bölgelerinde pul içeren aynalı sazanlar elde edilmiştir. Eğer çaprazlamalardaki denetim kaldırılırsa yeniden pullu bireyler şekline dönüşürler. *Cyprinidae*'nın en geniş coğrafik dağılışı gösteren türlerinden olup etleri lezzetlidir (Kuru, 1994).

Türkiye iç sularında ticari amaçla avcılığı yapılan ekonomik balık türlerimizden Sazan (*Cyprinus carpio*), Sudak (*Stizastion lucioperca*) ve Turna (*Esox lucius*)'nın 1980'lerden itibaren giderek azalmasına bağlı olarak *Leuciscus cephalus*'un ekonomik amaçlarla avcılığı da son yıllarda artış göstermiş ve önem kazanmıştır (Altındağ, 1995).

Tatlı su kefali esas olarak Avrupa'da akan sularda bulunmuştur. Yaşama ortamı, suyun kalitesi önemli değildir. Şehir atık sularının bulunduğu akarsularda bile yaşayabilmektedir (Al-Sabti, 1986b).

Leuciscus cephalus'da vücut kalın yapılı ve yanlardan çok hafif basıktır. Baş büyük, geniş ve üstten bakıldığında yuvarlağımsı görünüştedir. Ağız geniş ve hafif eğik yapıda olup, çeneler birbirine eşit uzunluktadır. Boyları en fazla 80 cm. ağırlığı ise 4 kg. kadar olabilir. Renk, vücudun sırt kısmında koyu olup, mavi-yeşil renkte metalik yansımalar gösterir. Bu koyu renk yan taraflara doğru gittikçe açılır ve karın kısmında sarı-beyaz bir görünüş kazanır. Bu tür genellikle suların yüzeyine yakın zonlarında büyük gruplar halinde yaşarlar. Omnivor karakterli olan bu balıklar genellikle her çeşit sucul böcekleri, kurtları, molluskları, balık yumurtalarını, çeşitli su bitkilerini ve tohumlarını yiyerek geçinirler. Cinsel olgunluğa 3-4 yaşında erişen her bir dişi balık 200.000 kadar yumurta verebilir. Eti lezzetli ancak kılçıklıdır. Bununla beraber kırsal kesimde yaşayan halk tarafından özellikle ilkbahar ve yaz mevsiminde küçük dere ve çaylardan bol miktarda avlanır ve besin olarak tüketilir. Bütün Avrupa ve Karadeniz, Hazar Denizi ve Azak Denizi Havzaları ile Kafkasya'da geniş bir yayılım gösteren bu tür, Anadolu'daki bütün iç sularda yayılmış durumdadır (Geldiay ve Balık, 1988).

Besin kaynağı olarak tatlı su balıklarından yararlanmak ve üretim verimliliğini arttırmaya yardımcı olmak amacıyla Kastamonu yöresi ve Türkiye genelinde *Cyprinus carpio*, *Leuciscus cephalus* ve diğer balık türlerinin biyolojik özellikleri üzerine bazı araştırmalar yapılmıştır (Saylar, 1995; Erdem, 1994; Yerli ve Zengin, 1998; Çetinkaya, 1992; Yılmaz, 1994; Gül, 1994; Karataş, 1995; Geldiay ve Balık, 1972).

Çevre kirlenmesi ve balıklar üzerine etkisi konularında da araştırmalara rastlanmıştır (Karahana, 1991; Canlı, 1996).

Biyo-ekolojik özelliklere ve çevre şartlarına bağlı olarak değişebilen dış morfolojik karakterlere göre yapılan sistematik ve taksonomik çalışmalarda zaman zaman problemler ortaya çıkmaktadır (Amemiya ve Gold, 1990a).

Kromozom sayısı ve morfolojisi, çevresel faktörlerin etkisiyle değişime uğrayan diğer karakterlere oranla sabittir. Kromozomlar kalıtım mekanizması ile gerçek bir bağlantı halindedir ve evrimsel değişimin temelini oluştururlar.

Günümüzde taksonomik problemlerin çözümünde, sitolojik karakterlerden büyük ölçüde yararlanılmaktadır. Farklı taksonlar arasında, tartışmalı taksonomik problemlerin çözümünde ve türlerin evrimsel yönden akrabalık ilişkilerinin belirlenmesinde sitotaksonomik çalışmalar önemli yer tutmaktadır. Bu açıdan bir türün kromozom sayısı ve morfolojisi önemli bir taksonomik özellik olarak kabul edilmektedir (Tokur, S. ve ark., 1988).

Chen (1971), Uyeno ve Miller (1973), Thompson (1979), Cucchi ve Baruffaldi (1990), Legrande (1981), Uyeno ve arkadaşları (1983) gibi bazı araştırmacılar balıklara ait karyotip çalışma sonuçlarını sistematik ve taksonomik problemlerin çözülmesinde kullanmışlardır (Amemiya, 1990b).

Bir bireyin mitotik metafazda belirlenebilen kromozom takımının morfolojisi karyotipini oluşturur. Karyotip analizleri bir bireyin kendi genomu içindeki kromozomları birbirleriyle karşılaştırmada kullanılır. Bir bireyin diğer bireylerden kromozom yapıları bakımından farklarının belirlenmesinde bilgi verir. Ayrıca bireylerin kromozom özellikleri yönünde aralarındaki ilgiyi ortaya koymak bakımından da yarar sağlar. Karyotip analizinde kullanılan önemli kriterler; Kromozom sayısı, büyüklüğü, morfolojisi (sentromerin konumu, kromozom kollarının oransal ilişkisi, sekonder boğum yeri ve oluşturdukları satellitlerin varlığı) ve B kromozomlarının bulunuşudur (Yakar, 1987).

Teleost (kemikli) balıklar üzerinde 1960'lardan bu yana yapılan karyolojik çalışmalar genetik, taksonomi ve çevre kirlenmesi gibi araştırmalara önemli katkılar sağlanmıştır. Teleost balıklarda diğer omurgalılara nazaran

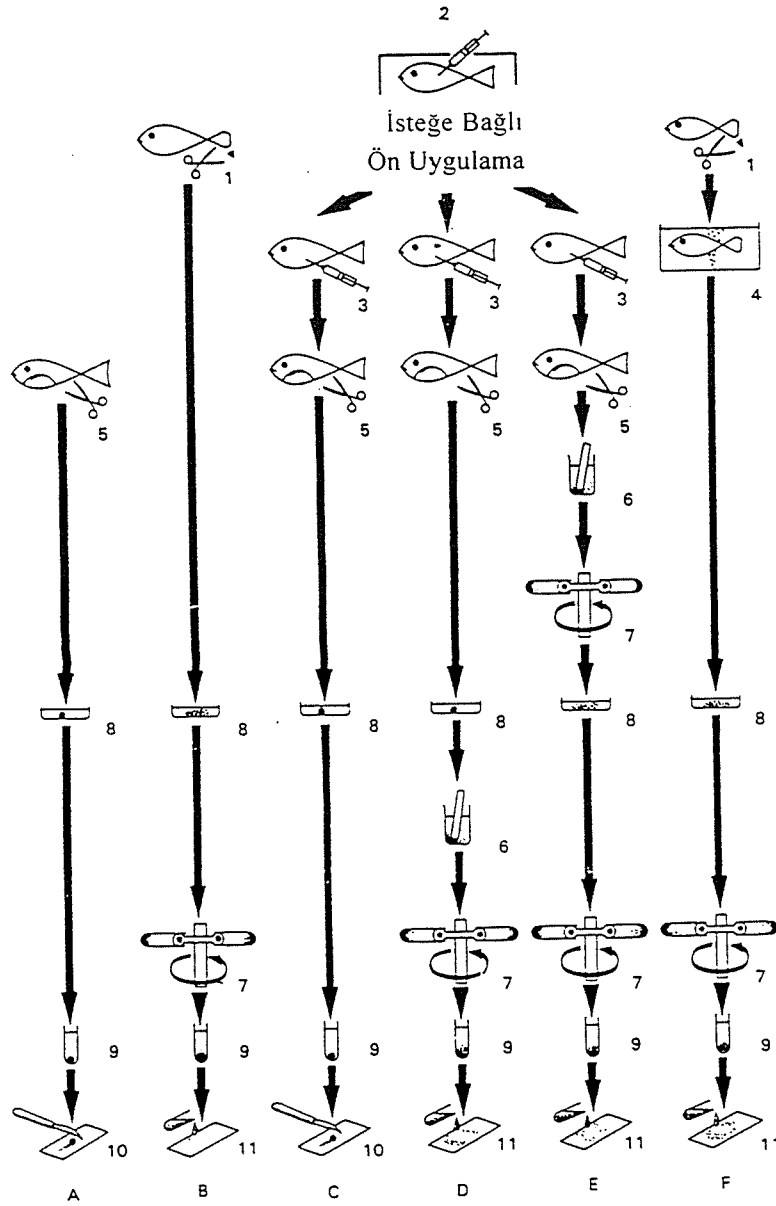
karyolojik çalışma daha az yapılmıştır. Çünkü teknik olarak uygulanması daha zordur. Özellikle bir çok balıkta kromozomların küçük ve çok sayıda oluşu karyotip yapımını güçleştirmektedir (Rivlin et al., 1985).

Yeryüzünde Agnatha (çenesiz balıklar), Chondrichthyes (kıkırdaklı balıklar) ve Osteichthyes (kemikli balıklar) üç ayrı sınıfı oluşturan 20 bin-23 bin arası olduğu tahmin edilen balık türünün ancak %10'unun karyotipinin yapılabildiği rapor edilmiştir (Legrande, 1990).

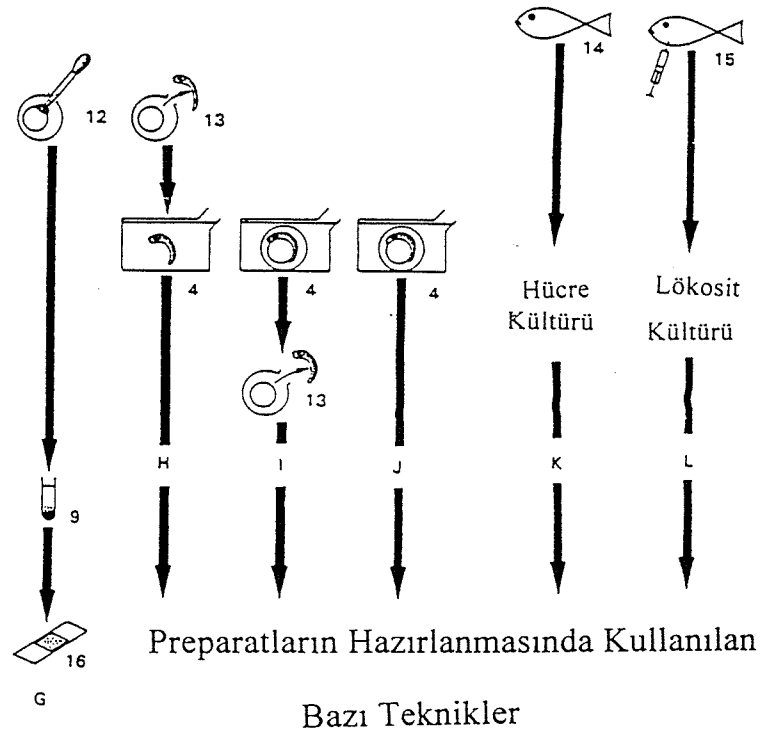
Karyolojik çalışmalarda temel olarak doğrudan (direkt) ve doğrudan olmayan (indirekt) şeklinde iki metod uygulanmaktadır.

Doğrudan tekniklerin kullanımıyla ışık mikroskopları için kromozom preparatları hazırlamak mümkündür. Nisbeten kolay olan doğrudan teknikler, ucuz kimyasal madde ve cihazların kullanıldığı sonuçların hızlı elde edildiği yöntemlerdir. Metotta kromozomlar böbrek, solungaç, karaciğer, yüzgeç gibi mitoz bölünmenin çok olduğu dokulardan kolkisinin (Colchicine) mitostatik etkisi kullanılarak elde edilir. Kolkisin enjeksiyonundan sonra balık öldürülür ve hücre örnekleri lam üzerine çeşitli şekillerde nakledilir. Direkt yöntem çeşitli araştırmacılar tarafından balıklar üzerinde kullanılmış ve geliştirilmiştir (Denton, 1973; Kligherman ve Bloom, 1977; Hartley ve Horne, 1983; Rivlin ve ark., 1985).

Klinkhardt (1991) çalışmasında balıklar üzerinde uygulanan kromozom hazırlama tekniklerini ve kullanan araştırmacıları detaylı olarak vermiştir (Şekil1.1).



Şekil 1.1. Balık kromozomlarının tetkike hazırlanmasında kullanılan çeşitli yöntemler. (1) Yenilenebilir doku elde etmek amacıyla yüzgeç kesimi, (2) Muhtemel bir ön uygulama olarak mitoz uyarıcılarının enjeksiyonu, (3) Mitostatik madde enjeksiyonu, (4) Mitostatik madde içeren ortamda inkübasyon, (5) Organ veya doku örneklerinin alınması, (6) Süspansiyon hazırlanışı, (7) Santrifüj, (8) Hipotonik uygulama, (9) Fiksasyon, (10) Yayarak lama alınışı, (11) Damlatarak lam üzerine süspansiyonun dağıtılması (Klinkhardt, 1991).



Şekil 1.2. Geliştirilmiş kromozom hazırlama teknikleri. H'den L'ye kadar olan aşamalar, kromozom hazırlanmasında örneklere yapılan ön uygulamayı doku örneklerinin kaynağını ve alınışını göstermektedir. Daha sonraki aşamalar C, D ve E'de gösterildiği gibidir. (12) Yumurtadan blastodisk'in vakumla alınışı, (13) Yumurtanın kesilerek embriyonun alınışı, (14) Doku kültürü için örneklerin alınışı, (15) Lökosit kültürü için kan örneklerinin alınışı, (16) Örneğin ezilerek dağıtılması (Klinkhardt, 1991).

Uygulanan yöntemler içerisinde balıkların kolkisin (Colchicine) ile ön muameleye tabi tutulması oldukça yaygın olarak görülmektedir.

Kolkisin iğ ipliklerinin oluşumunu engelleyerek mitoz bölünmenin çeşitli safhalarında olan kromozomların hareketini engeller. Anafazda kromozomların kutuplara hareketinin engellemesiyle bölünmenin metafaz aşamasında kalması sağlanır. Aynı zamanda kromozom boylarını kısaltıcı etkisi vardır (Elçi, 1982).

Kolkisin kullanımı ile ilgili olarak çeşitli araştırmacıların yapmış olduğu uygulamalar ve balık türleri şu şekildedir (Çizelge 2.1)

Çizelge 2.1. Çeşitli balık türlerinde C, D ve E metodları için mitotik inhibitör konsantrasyonu, enjeksiyonunun yapıldığı bölge, doz, bekleme süresi (Klinkhardt, 1991).

Araştırmacı	Kullanılan mitotik inhibitör konstr.	Enjeksiyonun yapıldığı bölge	Doz (*)	Bekleme süresi (saat)	Balık türü
Rab, 1981	Colcemid %0,1	Intraperitoneal	1 mL/50g	2	<i>Barbus bariloides</i>
Arai et al., 1982	Colchicine (**)	Intramuscular	5-15 g/g	8-15	<i>Haliotis discus</i> , <i>H. discushannai</i>
İda et al., 1982	Colchicine %0,3	-	0,06-0,3 mL (***)	12	<i>Sebastes</i> spp.
Arai, 1984	Colchicine %0,02	Intraperitoneal ve Intramuscular	1 µg/g	5-20	Hibrit solmonidler
Rivlin et al., 1985	Colchicine	Intraperitoneal	0,025-0,15 mg/g	2-6	<i>Apogon maculatus</i>
Ueno et al., 1985	Colcemid	Intraperitoneal	0,5 µg/g	3	<i>Cobitidae</i>
Reddy and John, 1986	Colchicine %0,01	Intramuscular	0,5-1,0ml/100g	3-4	<i>Cyprinidae</i>
Chourrout and Hoppe, 1986	Colchicine %0,5 (****)	Intramuscular	3 mL/1kg	4	<i>Salmo gairdneri</i>
Das and Das, 1988	Colchicine %0,08	-	0,5 mL/100g	2-3	<i>Cyprinidae</i>
Hartley, 1988	Colchicine	Intraperitoneal	25 µg/g	6	<i>Salmo solar</i>

(*) Doz vücut ağırlığına göre ayarlanmıştır.

(**) Kolkisin deniz suyu ile karışık (27g NaCl, 0,07g CaCl₂, 4,6g MgCl₂, ve 0,5g NaHCO₃) suda çözölmüş, 1000ml (distile su) olarak enjekte edilmiş.

(***) Doz 100 mm standart uzunluğa bağı

(****) Kolkisin %0,8 NaCl solösyonunda çözölmüştür.

Cyprinidae familyasına ait çeşitli balık türleri üzerinde yapılan çalışmalarda Reddy ve John (1986), kolkisin enjeksiyonunu intramuscular olarak enjekte etmiş Das ve Das (1988), her 100g ağırlık için 0,5ml enjekte ettikleri kolkisin için 2-3 saat bekletmişlerdir.

Çizelge 2.2. Çeşitli araştırmacılara göre hipotonik çözelti türü, konsantrasyon, bekleme süresi, kullanılan doku ve organlar (Klinkhardt, 1991).

Bekleme Hipotonik ortam	Araştırmacılar	Organ, doku	Konsantrasyon	Süre (dk)
Destile su	Dawley, 1987	Yüzgeç	-	60
Destile su	Baksi and Means, 1988	Yumurta	-	90
Destile su	Garcia Vazquez et al., 1988	Solungaç	-	45
KCl çözeltisi	Rab, 1981	Böbrek	0,075 M	15
KCl çözeltisi	Arai et al., 1982	Solungaç	0,075 M	50-60
KCl çözeltisi	İda et al., 1982	Solungaç	0,01 M	30-45
KCl çözeltisi	Arai, 1984	Embriyo	0,075 M	50-80
KCl çözeltisi	Ueno et al., 1985	Böbrek	0,045 M	30
KCl çözeltisi	Rivlin et al., 1985	Solungaç	0,075 M	20
KCl çözeltisi	Hartley, 1988	Böbrek	% 0,4	20-30
KCl çözeltisi	Philips and Hartley, 1988	Embriyo	0,075 M	60
KCl çözeltisi	Cattin and Ferreira, 1989	Yüzgeç	0,075 M	30-45
Sodyum sitrat çözeltisi	Reddy and John, 1986	Böbrek	% 0,8	20
Sodyum sitrat çözeltisi	Chourrout and Hoppe, 1986	Embriyo-Solungaç-Böbrek-Dalak	% 0,8	20-30
Sodyum sitrat çözeltisi	Das and Das, 1988	Böbrek	% 0,8	30

Doğrudan yöntemde Hartley (1988), Das ve Das (1988), Reddy ve John (1986) böbrek dokuyu kullanmışlardır.

Hipotonik çözeltinin etkisi doku parçası büyüdükçe uzun zaman gerektireceği, doku parçası küçüldükçe hipotonik etki süresi kısılacacağı bildirilmiştir (Klinkhardt, 1991).

Çizelge 2.3. Çeşitli araştırmacılara göre kullanılan boya çeşitleri, konsantrasyonu, pH ve boyama süresi (Klinkhardt, 1991).

Araştırmacılar	Boya	Konsantrasyon (%)	pH	Süre (dk)
Rab, 1981	Giemsa	10,0	6,8	-
Ratty et al., 1986	Giemsa	10,0	6,8	90
Arai, 1984	Giemsa	3,0	6,8	-
Reddy and John, 1986	Giemsa	-	6,8	-
Das and Das, 1988	Giemsa	10,0	7,0	90
Rivlin et al., 1985	Giemsa	4,0	6,8	3-4
Beck et al., 1984	Giemsa	10,0	-	30
Chourrout and Hoppe, 1986	Giemsa	4,0	-	30
Baksi and Means, 1988	Giemsa	10,0	-	20
Cattin and Ferreira, 1989	Giemsa	-	7,2	-
Garcia Vazquez et al., 1988	Giemsa	-	-	10
Gold et al., 1986	Giemsa	5,0	6,8-7,2	10-15
	Acridine orange	0,1	-	5
Pleyle et al., 1989	Atebrin solution	0,5	-	-
Dawley, 1987	Aceto-Orcein	-	-	-
Stene, 1987	Aceto-Orcein	2,0	-	-
Lieder, 1953	Carmin (Asetik asitte)	-	-	-

Araştırmacıların kromozom boyamada genel olarak giemsayı tercih ettikleri ve boyanın pH değeri 6.8 olan tampon çözelti ile hazırlandığı görülmektedir.

Doğrudan metodun özelliklerini şu şekilde belirtilmektedir;

- Metodun uygulanabilmesi için kullanılan alet ve kimyasal maddeler çok pahalı değildir.
- Kullanılan teknikler pratik ve hızlıdır.
- Kromozom ve bandlama çalışmaları için yeterince ve ihtiyaç duyulan kalitede metafaz elde edilebilmektedir (Rivlin ve ark., 1985).

Doğrudan olmayan metod çeşitli doku hücrelerinin özellikle kan doku kültürünün yapılması esasına dayanmaktadır. Ojima ve Hitotsumachi (1967), Hitoshi ve arkadaşları (1978), Ojima (1982), Blaxhall (1983), Wiberg (1984), Amemiya ve arkadaşları (1984) gibi araştırmacılar invitro yöntemi kullanmışlardır. Metod kolkisinin yanında phtohaemogglutin (pHA) gibi mitotik uyarıcıların kullanılmasına izin vermektedir (Cucchi ve Baruffaldi, 1990).

Hücre kültürü ile yapılan kromozom çalışmalarının sağladığı avantajlar şu şekilde sıralanmıştır;

- Çok sayıda metafaz dağılımı elde edilebilir,
- Küçük bir bireyden birkaç tane preparat hazırlanabilir.
- Akvaryumda uzun süre, muhafaza edilen örnek balıklar tekrar kullanılabilir.
- Amaca uygun kromozomların bulunduğu metafazlar elde edilebilir (Amemiya ve ark., 1984).

Standart karyotiplerin yapılabilmesi iyi yayılmış, amaca uygun kromozomların elde edilmesiyle mümkündür. Ancak çoğu balık türünde küçük ve çok sayıda kromozomların bulunuşu sağlıklı karyotip yapımını zorlaştırmaktadır (Gold ve ark., 1980).

Çeşitli canlı topluluklarının birbirine benzemeleri genetik yapılarıyla yakından ilgilidir. Populasyonların genetik yapıları hakkında bilgi sahibi olunması onları birbirinden daha doğru olarak ayırt edebilmeyi

sağlayacaktır. Bu amaçla kullanılan tekniklerden biri de kromozom üzerindeki bazı özelliklerden yararlanarak çeşitli işaretler elde etmektir. Sistematığın yapılmasında kromozoma ait temel referans elemanlarının kullanılmasına gerek vardır. Özel işlemlerle kromozom boyunca oluşturulabilen farklı boyanmış alanlar, kromozomlarda sabit bölgelerde ortaya çıkmaktadır. Bu işaretlerden faydalanılarak kromozomların ve genomların tanınması genomlarda meydana gelen değişikliklerin tespit edilebilmesi mümkün olabilecektir. Ayrıca gen haritalaması gibi kromozom üzerinde lokalizasyonun belirtilmesi gereken durumlar için de vazgeçilmez bir yöntemdir.

Pratikte klasik giemsa boyaması ile karyotipleri birbirinden ayırmak, tanımlamak mümkün olmayabilir, buna karşın NOR (çekirdekçik organizatörü) çalışması ile karyotipleri birbirinden ayırmak mümkündür. Balıklarda standart karyotiplerin yapılmasındaki zorluklar bandlama yöntemlerinin kullanılmasını gündeme getirmiştir. Ancak NOR yada C gibi bandlaması uygulanabilen metotlar balıklar için sınırlı sayıdadır (Hartley ve Horne, 1985).

NOR; kromozomun bolca rRNA genlerine sahip, çekirdekçik ile birleşen bölgesidir (Karol ve ark., 1998).

Kromozomlarda bulunan NOR bölgeleri gümüş nitrat ile yoğun olarak boyanmaktadır. Bu bölgeler akrosentrik kromozomların kısa kollarında ve satellitlerinde bulunmakta, koyu kahverengi veya siyah tonunda boyanmaktadır.

Kromozomlar üzerinde gümüşle boyanan NOR bölgelerinin 18s ve 28s ribozomal RNA genlerini gösterdiği düşünülmüştür. Tahmin edildiği üzere bir önceki interfazda kopyalanmıştır. Gümüş boyama; NOR ile ilgili

nonhiston proteinin seçici olarak iyonik gümüş ile bağlanarak gümüşün indirgenmesi ile meydana gelen bir reaksiyondur (Gold ve ark., 1990).

Kromozom üzerindeki özel işaretleyici konumu nedeniyle genel olarak NOR bölgeleri sistematik ve taksonomik işaretleyici olarak kullanılmıştır (Amemiya ve Gold, 1990a; Gold, 1984).

Balık kromozomlarında çekirdekçik organizatörü bölgelerinin ortaya çıkarılmasıyla ilgili metodlar çeşitli bilim adamları tarafından çalışılmıştır (Howell ve ark., 1975), Goodpasture ve Bloom (1975)'un gümüş boyama tekniği ile kromozomal NOR bölgeleri tanımlanmıştır. Balık türlerinde NOR fenotiplerinin belirlenmesinin yanı sıra özellikle tür içi ve türler arası NOR varyasyonlarının ortaya çıkarılması konusunda çalışmalar yoğunlaşmıştır (Galetti ve ark., 1984; Moreira ve ark., 1984; Amemiya ve Gold, 1986; Mayr ve ark., 1987; Thode ve ark., 1988).

Tür içi ve türler arasındaki heteromorfizmin dört kategoride değerlendirilebileceği belirtilmiştir. Bunlar;

- a) Genom başına mutlak NOR sayısı
- b) NOR'ların pozisyon veya kromozomal yerleşimi
- c) NOR'ların büyüklüğü
- d) Hücre başına aktif NOR'ların dağılımı

a ve b türler arası, c ve d tür içi heteromorfizmin belirlenmesinde kullanıldığı bildirilmiştir (Gold, 1984).

Tür içi NOR heteromorfizminin değerlendirildiği başka bir çalışmada; Tür içi NOR heteromorfizmi üç tipte tanımlanmıştır ki bunlar;

1. NOR büyüklüğü, NOR boyu heteromorfizmi: Bu tipte homolog kromozomlarının NOR bölgeleri farklı büyüklüktedir.

2. NOR silinmesi: İki homolog kromozomunun bir tanesinde NOR silinmiştir.

3. NOR aktivite heteromorfizmi

Üç tip heteromorfizmden gümüş boyama tekniği ile NOR büyüklüğü ve NOR silinmesi ile ilgili heteromorfik durumların belirleneceği rapor edilmiştir. NOR aktivite heteromorfizminin ise Chromomycin A₃ gibi özel boyalar ile belirlenebileceği belirtilmiştir (Amemiya ve Gold, 1986).

Şimdiye kadar yayımlanmış bilgiler balıklardaki kromozomal NOR verilerinin, tür içi ve türler arası farklılıkların diğer düşük seviyeli omurgalılar olan sürüngen, kurbağa gibi canlıların NOR verilerine uygulanabilirliği ve neticeleri bakımından benzerlik gösterdiği yönünde olmuştur (Schmid, 1982; Bickham ve Rogers, 1985).

İnterfaz çekirdeğindeki NOR sayısı ile yapay olarak üretilen poliploid balıkların ploid seviyesinin belirlenebilmesinin mümkün olabileceği de ileri sürülmüştür (Phillips ve ark., 1986).

NOR boyama tıp alanında da kullanılmaktadır. Kromozomal NOR sayısı hücresel aktivite durumunu veya bu hücrelerin habis potansiyelini yansıttığı bildirilmiştir (Platon ve ark., 1986).

Bu araştırmaya konu teşkil eden *C. carpio* (L.,1758) ve *L. cephalus* (L.,1758) ve *Cyprinidae* familyasının diğer türleri ile ilgili yapılan sitogenetik çalışmalara ait tespit edilebilen literatür özetleri kronolojik sıraya göre aşağıda verilmiştir.

C. carpio'nun karyolojisi birçok araştırmacı tarafından çalışılmış ve kromozom sayısı $2n = 98-104$ arasında bulunmuştur (Makino, 1939; Ohno ve ark., 1967; Ojima ve arkadaşları, 1972; Kirpichnikov, 1973; Marian ve Karsznai, 1978; Berberovic, 1980).

L. cephalus'un kromozom sayısı Berberovic ve Sofradzija (1972) ve Hafez ve ark. (1978) tarafından $2n = 50$ olarak bulunmuştur (Al-Sabti, 1986b).

Denton (1973), *C. carpio* (L.,1758) ve diğer bazı balık türlerine ait kromozom sayıları ile ilgili vermiş olduğu listesinde, pullu sazanın kromozom sayısını $2n = 100-104$ olarak göstermiştir.

Galetti ve arkadaşları (1984) Cypriniformes; Anostomidae familyasına ait 8 türünün NOR dağılımlarını karşılaştırmalı olarak çalışmışlardır. Preparatlar havada kurutma tekniği ile böbrek hücrelerinin kullanılmasıyla hazırlanmış, NOR bantlama Goodpasture ve Bloom (1975)'un gümüş boyama tekniği kullanılarak yapılmıştır. İncelenen bütün türlerin muhtemelen homolog olan bir çift kromozomlarında NOR varlığı tespit edilmiştir.

Rivlin ve arkadaşları (1985) kromozomları doğrudan elde ettikleri çalışmalarında, havayla kurutulmuş, giemsa ve gümüş boyama ile yapılan metodun detaylarını *Apogon maculatus* üzerinde açıklamışlardır. Kromozomları solungaç epitelinden elde ettikleri yöntemde, karyotip ve bantlama çalışmaları için yeterli metafaz miktarının bulunabildiğini bildirmişlerdir Fisher ve Rachlin (1972), Arcement ve Rachlin (1976) ve Rahlin ve ark. (1978) gibi araştırmacıların kendi yöntemleriyle küçük farklar dışında aynı olduğu ve genel olarak çoğu laboratuvar da kolayca uygulanabildiğini göstermişlerdir. Ayrıca kolkisin süresinin tespitinde balık 20 cm. den büyükse en az 6 saat bekletilmesi gerektiğini bildirmişlerdir.

Yöntemde balığın her 1 gramı için %0,1'lik 0,025-0,15 mg kolkisin enjekte edilmiştir. 2-4 saat boyunca iyi havalandırılan akvaryumda bekletildikten sonra numuneler başları kesilerek, boynu vurularak ya da %0,1'lik triasin metanosulfat içinde operkül hareketi sona erinceye kadar bekletmek suretiyle öldürülmüştür. Solungaçlar çıkarılarak 0,075 M KCI içinde 20 dakika süreyle hipotonik muamele edilmiştir. Süre sonunda 0-4 Co de metanol glasial asetik

asit (3:1) karışımıyla fikse edilmiştir. Fiksatif her 10 dakikada bir olmak üzere üç defa değiştirilmiş (Denton, 1973)'e göre 30 dk sonunda solungaçlardan ezme yöntemiyle lam üzerine hücreler alınmış ve havada kurutularak boyanmıştır. Araştırmada NOR boyama Dev ve Tantravahi (1982)'nin yöntemiyle yapıldığı bildirilmiştir. Yöntemde %50'lik gümüş nitrat (5g AgNO₃, 10 mL distile su) ve jelatin (2 g jelatin, 1ml farmik asit, 99 m. distile su) lam üstüne damlatılmış. 56°C de 3 dk süreyle bekletilerek gümüş boyama yapıldığı rapor edilmiştir.

Sola ve arkadaşları (1986) tetraploid orjinli *Cyprinus carpio*'nun kromozomal NOR bölgelerini araştırmışlardır. Kromozom preparatları standart kan doku kültürü yöntemiyle hazırlanmış, NOR bölgeleri Howell ve Black (1980)'in gümüş boyama tekniği ile tanımlanmıştır. İncelenen metafaz plaklarının tümünün diploid ($2n = 100-104$) olduğu ve büyük çoğunluğunda bir çift kromozomun aktif NOR taşıdığını gözlemişlerdir. Bir çift kromozomun aktif NOR taşıdığını 125 plak içinde genelde büyük submetasentrik çiftinin her iki homologunun kısa kolları boyunca aktif olduğunu bildirmişlerdir.

Al-Sabti (1986a) ve (1990), *Cyprinus carpio*'nun doğal populasyonlarında kromozom sayısının $2n = 100$ olduğunu bildirmiştir.

Al-Sabti (1986b) yaptığı başka bir araştırmada ise *Cyprinus carpio* ve *Leuciscus cephalus*'un karyolojik yapılarını tanımlamıştır. Bu çalışmada *Cyprinus carpio*'nun kromozomları lökosit kültürü yöntemiyle elde edilmiştir. Kültür ortamına 0,2 mL balık kanı ekilmiş, 6 gün sonunda 0,3 mL kolkisin ortama ilave edildikten 3 saat sonra, 0,075 M KCI ile hipotonik işlem yapılmış, 3:1 oranında metanol-glasial asetik asit kullanılmak suretiyle fikse edilmiştir. İşlem sonunda preparatlar %20'lik giemsa ile boyanmıştır. Sonuçta incelenen metafazlardan 218'inde $2n = 98$ olarak bulunmuştur. Karyotipi 50 meta-submetasentrik, 48 subtelo-telosentrik kromozomların oluşturduğu ve NF = 148 temel kromozom sayısı olarak tespit edildiği bildirilmiştir.

L. cephalus'un karyotipi için böbrek hücreleri kullanılmıştır. Balıklara %0,6'lık kolkisin solüsyonu enjekte edilerek 5 saat sonunda böbrekler alınmış, 0,005N KCI çözeltisinde hipotonize edilmiştir. Fiksasyon için 3:1 oranında metanol-glasial asetik asit karışımı kullanılmış ve %20'lik Giemsa ile boyanmıştır. Sonuçta $2n = 50$ kromozomlu metafazların 34 tanesi meta-submetasentrik, 16 tanesi subtelo-telosentrik, $NF = 84$ olarak bulunduğu rapor edilmiştir.

Rab ve arkadaşları (1989) Amur nehrinden elde ettikleri *C. carpio haematopterus*'un karyotipini çalışmışlardır. Bu çalışmada olgun dişi ve erkek bireyler ile olgunlaşmamış balıklar kullanmışlardır. Kromozom hazırlanışı böbrek hücrelerini kullanmak suretiyle; Her 100 g. balık ağırlığı için 1ml %0,1'lik kolkisin enjekte edilmiş, 0,075 M KCI hipotonik çözelti içinde 20 dakika bekletmiş ve 3:1 metanol-glasial asetik asit ile fikse etmişlerdir. Havayla kurutulmuş lamalar %5'lik giemsa ile boyanmış. Howel ve Black (1980)'in gümüş boyama tekniği kullanılarak NOR bantlaması yapmışlardır. Kromozomların morfolojisine göre 8 gruba ayrılarak karyogram hazırlanmış sonuçta diploid kromozom sayısı $2n = 100$, $NF = 166$ olarak bulmuşlardır. Araştırmacılar orta büyüklükteki bir çift submetasentrik kromozom üzerinde eşey farkı olmaksızın NOR yapının yer aldığını ve tür içinde heteromorfizmin bulunmadığını tespit etmişlerdir.

Cucchi ve Baruffaldi (1990) İnvitro hücre kültürlerinin hazırlanmasının zor, pahalı ve zaman aldığını ayrıca bakteriyel enfeksiyon riski bulunduğunu bildirmişlerdir. Araştırmacılar invitro yönteminde mitotik aktiviteyi artırıcı olarak kullanılan fenil hidrozini invivo olarak kullanmışlardır. Ancak bu yöntemde özellikle küçük örneklerde fenilhidrazin dozunun öldürücü olabileceği belirtilerek bu etkinin ($CoCl_2$) kobalt(II) klorür ile ortadan kaldırılabilirdiğini araştırmalarında göstermişlerdir.

Gold ve arkadaşları (1990) uzunlukları 50 mm olan *Cyprinid* türleri için önerdikleri çalışmalarında, aktif bölünme aşamasında olan çok sayıda kan hücresinin elde edildiği böbrek ve solungaç dokularından direkt yöntemle kromozom elde etmişlerdir. Araştırmada balıklara mitotik bölünmeyi uyarıcı phtohaemogglutin (PHA) enjekte edilmiş 18-24 saat sonra balıklar kesilerek böbrekleri çıkarılmış ve özel bir ortamda ünkübe etmişlerdir.

Amemiya ve arkadaşları (1990b), genel olarak birbirine benzeyen *Cyprinid* kromozomlarının sistematik ve taksonomik problemlerini çözmek için yeterli olmadığını belirterek Kuzey Amerika *Cyprinid*'lerini NOR fenotiplerini kullanarak sınıflandırmıştır. Yapmış oldukları çeşitli araştırmalarda Kuzey Amerika *Cyprinid* türlerinin karyotiplerini çalışmışlardır. Araştırmalarda analizleri yapılarak incelenen 90'dan fazla tür karyotiplerinin büyük bir çoğunluğunda diploid kromozom sayısı $2n = 50$ (47-52) ve kromozom kol sayılarının 92 ve 100 (80-100) olduğu tespit edilmiştir. Tipik Kuzey Amerikan *Cyprinid* karyotiplerinin genel görünüşleri itibariyle submetasentrik ve akrosentrik kromozomların oluşturduğu bunların uzunluklarının 1,5-5,5 μm arasında değiştiği tespit edilmiştir. Çalışmada, genel olarak birbirine benzeyen *Cyprinid* kromozom karyotiplerinin sistematik ve taksonomik problemlerin çözümü için yeterli olmadığı belirtilmiştir. Araştırmacılar *Cyprinid* türleri üzerindeki sitogenetik çalışmalarda tür içi ve türler arası karyotiplerin karşılaştırılmasında kromozomal NOR farklılıklarını esas almışlardır. (Gold 1984; Gold ve Amemiya 1986; Amemiya ve Gold 1988; 1990b; Gold ve ark., 1988). Araştırmada ele alınan bütün türlerin NOR fenotipleri belirlenmiş, tür içi ve türler arası önemli NOR varyasyonların olduğu ortaya çıkarılmıştır.

Flajshans ve arkadaşları (1992) triploid balıkların nüklei ve kromozomlara ait aktif NOR sayılarının frekans analizini yapmışlardır. Suni olarak elde edilen poliploid balıklarda ploid seviyelerinin tespitinin yapılabilmesini

amaçlayan çalışmada *Cyprinus carpio*, *Oncorhynchus mykiss* ve *Tinca tinca* olmak üzere üç balık türü kullanılmıştır. *C. carpio*'nun bir yıllık yavrularından kan dokusu kültürü ile preparatlar hazırlanmış, gümüş boyama Howell ve Black, (1980)'in yöntemi esas alınarak yapılmıştır. Sonuçta normal diploid $2n = 100$ durumdaki *C. carpio*'da bir çift kromozom üzerinde lokalize olmuş NOR bölgeleri görülmüş ve diploid kromozom takımı başına bir çift NOR varlığı saptanmıştır. Aynı durumun Zan ve arkadaşları (1986), Mayr ve arkadaşları (1986), Sola ve arkadaşları, (1986) gibi çeşitli araştırmacılar tarafından da tespit edildiği belirtilerek araştırma sonuçları desteklenmiştir.

Anjum ve Jankun (1994), balık üretme çiftliği popülasyonunda kendiliğinden oluşan triploid sazanlar üzerine yaptıkları çalışmada *C. carpio*'nun diploid kromozom sayısını $2n = 100$ olarak bildirmişlerdir.

Crooijmans ve arkadaşları (1997) *C. carpio*'da mikrosatellit işaretleyicilerini çalışmışlardır. DNA üzerindeki polimorfik bölgelerinin belirlenmesinde kullanılan yöntemin esası; ökaryot çekirdek genomları boyunca dağılmış tekrarlanan nükleotit dizilerinin haritalarının çıkarılmasıdır. Araştırmada mikrosatellit işaretleyicilerinin sazanın gen haritasının yapılmasında, benzerlik kontrolü, popülasyon genetiği ve nicel karakterleri oluşturan genlerin ortaya çıkarılmasında kullanılabileceği ileri sürülmüştür.

Yapılan literatür çalışmalarında *L. cephalus*'un üzerinde kromozomal araştırmaların özellikle son zamanlarda gen aktivitesinin çeşitli yöntemlerle dolaylı olarak çalışıldığı yönündedir.

Guinand ve arkadaşları (1996) elektroforez yöntemi ile *L. cephalus*'ta genetik farklılaşmayı çalışmışlardır.

Biyokimyasal genetik analiz yöntemi ile Manaresi ve ark. (1997) üç kefal türünü karşılaştırmışlardır.

Manaresi ve Mantovani (1997) *L. cephalus*'un 19 enzim sistemini çalıştıran genler üzerinde biyokimyasal genetik analiz yapmışlardır.

Bu çalışmada; ülkemizdeki kemikli balıkların büyük bir kısmını oluştıran *Cyprinidae* familyasından en karakteristik örnek olarak bilinen pullu sazan (*Cyprinus carpio* L.,1758) ile i sularımızın hemen hemen hepsinde yaşayabilen tatlı su kefali (*Leuciscus cephalus* L.,1758)'nin iki farklı coğrafik alandaki (Germeçtepe ve Beyler Barajı) populasyonlarının NOR fenotiplerinin de belirlenerek karşılaştırmalı karyotiplerinin tesbit edilmesi amaçlanmıştır.

2. MATERYAL VE METOT

2.1. Materyal

Kastamonu, Batı Karadeniz Bölgesinde İsfendiyar Dağları ile bu dağlara paralel bir şekilde uzanan doğu-batı doğrultulu Ilgaz Dağlarının bulunduğu Gökırmak Havzası'nda yer alır. Bu coğrafi konum itibarıyla birbirinden izole olmuş su kaynakları açısından zengin bir bölgedir.

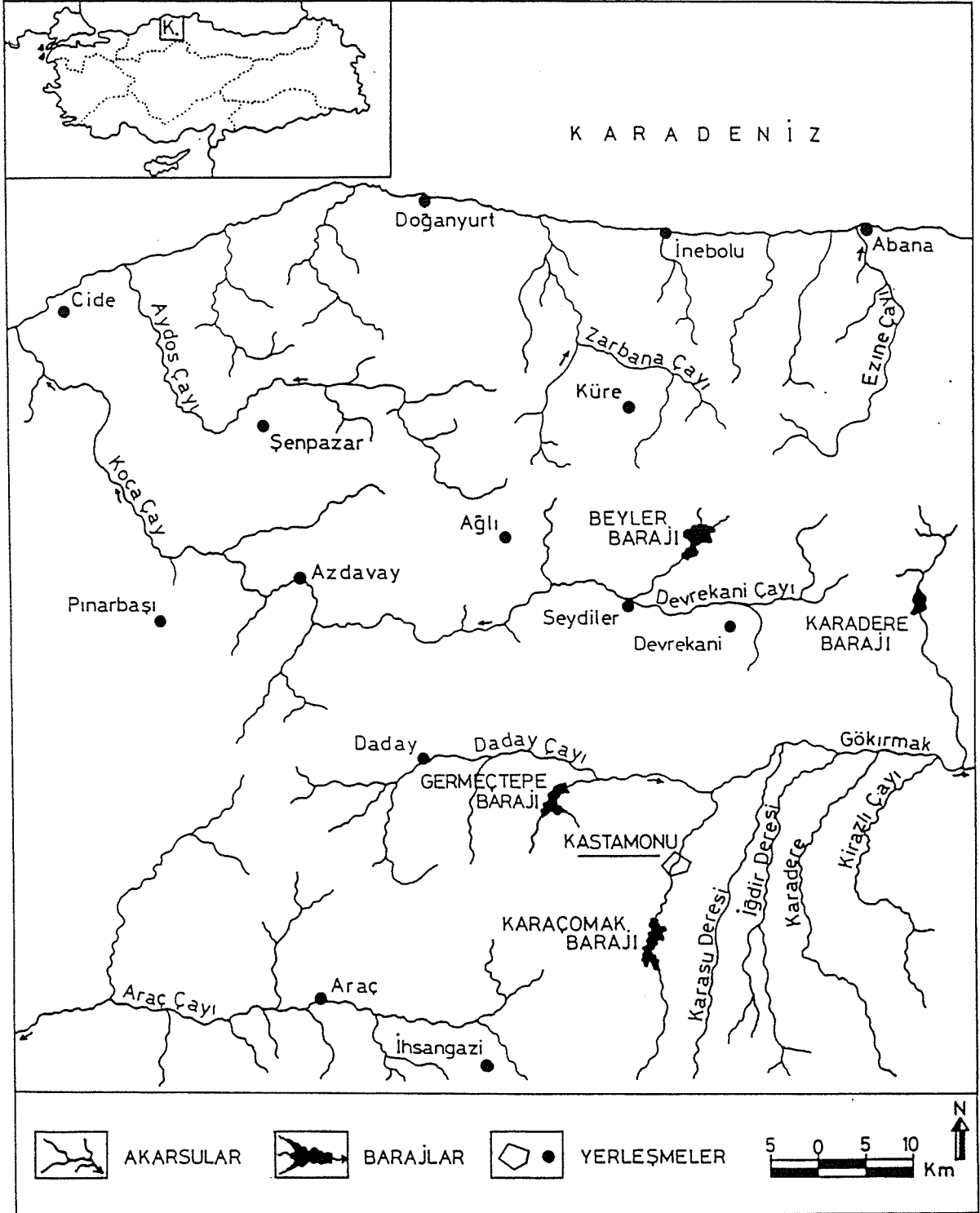
Bu araştırmada kullanılan *C. carpio* (L.,1758) ve *L. cephalus* (L.,1758)'a ait populasyon örnekleri Kastamonu il sınırları içinde iki ayrı akarsu sisteminden temin edilmiştir. Bunlardan birincisi Devrekani ilçesine ait Beyler Barajı, ikincisi Daday ilçesi yakınlarındaki Germeçtepe Barajı'dır (Şekil 2.1).

Beyler ve Germeçtepe Barajı'larında yapılan araştıramalarda *Cyprinus carpio*, *Leuciscus cephalus*, *Capoeota sp*, *Alburnus sp*'nin yaşadığı belirtilmektedir. Germeçtepe Barajı'nın biyolojik verim durumunun orta verimli, balık yoğunluğu bakımından 15 kg. (kg./100m. Ağ/1 gün) olduğu, Beyler Barajı'nın ise verimli ve 30 kg. balık yoğunluğuna sahip olduğu rapor edilmiştir (Karabatak, 1995).

Balık numuneleri serpmeye, germe, dip oltası ile yakalanarak portatif hava pompaları ile havalandırılan bidonlar içerisinde laboratuvara getirilmiştir.

Balıkların teşhisi, Türkiye Tatlı Su Balıkları Katoloğu (Kuru, 1980) ile Geldiay ve Balık (1988)'in Türkiye Tatlı Su Balıkları kaynaklarındaki tayin anahtarı ile yapılmıştır.

Laboratuvarda optimum şartların sağlandığı 100 × 50 × 50 cm. ebatlarında iki akvaryum kullanılarak balıkların canlılıkları devam ettirilmiştir.



Şekil 2.1. Çalışma alanı olarak belirlenen Devrekani Çayı üzerinde yer alan Beyler ve Daday Çayı üzerinde bulunan Germeçtepe Barajları'nı gösteren harita.

2.2. Metot

2.2.1. Ön muamele

Somatik kromozomların sayımı, büyüklüklerinin ve morfolojilerinin karşılaştırılmasında kolkisinin sudaki çözeltileri ilk işlemde kullanılmıştır.

Bu sebeple balıklar kesilmeden 3-4 saat önce eşey farkı gözetmeden balığın intraperitoneal ve intramuscular bölgesinden her 100 g. vücut ağırlığı için 1 mL olacak şekilde % 0,1'lik kolkisin solüsyonu enjekte edilmiştir. Enjeksiyon yapılırken hava kesesi veya bağırsakların delinmemesine dikkat edilmiştir. İntramuscular enjeksiyon özellikle tatlısu kefalleri için öldürücü olmuş, bu yüzden her iki türe de intramuscular enjeksiyon yapılmamıştır. Enjeksiyon sonrası iyi havalandırılan akvaryumda 3-4 saat süreyle balıklar yaşatılmıştır.

Aşırı uygulanmış (fazla dozaj-fazla süre) mitostatik ve hipotonik muamele kromozomların konrakte olmasına sebep olacağından çeşitli süreler ön muamele için denenmiştir.

2.2.2. Hipotonik çözelti ile muamele

Balıklar, kolkisin enjeksiyonunu müteakip 3, 4 ve 5 saat inkübasyon süresi sonunda kesilmek suretiyle öldürülmüştür. Böbrek, solungaç iplikleri ve karaciğerleri çıkartılmıştır. Çıkarılan dokular ayrı ayrı olmak üzere bir cam üzerine alınmış bistüri ve jilet ile iri parça kalmayıncaya kadar kesilerek homojenize edilmiş ve tüplere alınmıştır.

Yapılan ön denemeler neticesinde, uygun inkübasyon süresinin dört saat olduğu ve kullanılan dokular içerisinde, böbrek dokunun yeterli sayıda ve istenilen özelliklerdeki metafaz safhalarının elde edilmesinde daha elverişli olduğu gözlenmiştir.

Hipotonik çözelti olarak 0,075 M potasyum klorür (KCl) çözeltisi kullanılmıştır.

Hipotonik çözeltinin dokulara göre de etkisi değişeceğinden dokular çözelti içinde 20–50 dakika arasındaki süreler içinde oda sıcaklığında bekletilmiştir. Çözelti içine konan dokular periyodik olarak hafifçe çalkalanarak hipotoniğin dokuların tüm yüzeyine nüfuzu sağlanmıştır.

Hipotonik muamele *C. carpio* için 25 dk. *L. cephalus* için 35 dk. olarak belirlenmiştir.

2.2.3. Dokuların fiksasyonu

Dokuların hipotonik çözelti içinde bulunduğu tüpler 20-40 dakika arasındaki deneme sürelerinin sonunda 2000 rpm’de 10 dk santrifüj edilmiştir. Kullanılan santrifüj “Nüve NF 815 Yatay Açılır Döner Başlık Tip” özelliktedir. Santrifüj işlemi sonunda tüplerin üst kısmındaki sıvı (süpernatant) atılmış ve taze olarak hazırlanmış, soğuk (0-4°C) 3:1 oranındaki metanol-glasial asetik asit karışımı (Carnoy karışımı) her tüpün üzerine yaklaşık 7 mL olacak şekilde ilave edilmiş ve tüpler kısa bir süre çalkalanarak karıştırılmıştır.

10 dakika sonunda santrifüjden çıkarılan tüpler içindeki sıvı kısım dökülerek yeniden fiksatif eklenmiş ve tekrar santrifüj edilmiştir.

Sonuçta 10’ar dakika santrifüj işleminden sonra toplam 3 kez fiksatif değiştirilmiş (Rivlin ve ark., 1985) ve bu şekilde fiksasyon tamamlanmıştır. Ancak 20 ve 40 dakikalık fiksasyon süreleri de denenmiştir.

Taze olarak hazırlanmış Carnoy karışımının ağzı kapalı tutulmuştur.

2.2.4. Materyalin lam üzerine alınması

Fiksasyon işlemi sonunda santrifüjden çıkarılan tüplerin üst kısmındaki çözelti dökülmüş, tüpün taban kısmında kalan çöktürülmüş hücreler üstüne 3 mL fiksatif ilave edilerek karıştırılmıştır.

Karışım postör pipeti ile yaklaşık 25-30 cm. yükseklikten damlatılmış, böylece kromozomların dağılımı sağlanmıştır. Materyal lam üzerine alındıktan sonra bir gün süreyle havada kurutulmaya bırakılmıştır.

2.2.4.1. Lamaların preparasyona hazırlanması

İyi bir yayma elde edilebilmesi için kullanılan lamaların son derece temiz olması gerekir (Rivlin ve ark., 1985). Bunun için lamalar Lüleci (1994)'ye göre bir seri işleminden geçirilmiştir.

Kutudan çıkarılan lamalar sabunlu bezle silindikten sonra musluk suyundan geçirilerek distile su içinde 10 dk. bekletilmiş, süre sonunda içinde metanol bulunan beher içine birer birer dizilmiştir. Metanolde 30 dk. bekletildikten sonra tekrar saf suya alınarak buzdolabında muhafaza edilmiştir.

2.2.5. Boyama

Çeşitli boya ve tekniklerin kullanılabildiği bu tip çalışmalarda giemsa boya en çok tercih edilendir. Boyanın konsantrasyonu ve süresi boyanacak numuneye göre değişiklik gösterdiğinden belirli bir standardı yakalamak güçtür (Klinkhardt, 1991).

Bu yüzden hazırlanan preparatlar 3-20 dakikalık süreler içinde pH'ı 6,8 olan PBS (phosphate buffered saline solution) ile hazırlanmış %5-%25'lik giemsa konsantrasyonları ile denenmiştir. Boyama sonunda preparatlar distile suda çalkalanarak havada kurutulmuştur.

L. cephalus için %20'lik giemsa ile 5 dk., *C. carpio* için %10'luk giemsa ile 6 dk. süre ile boyama yapılmıştır.

Preparat boyadan çıkarılmadan boyanın üst kısmındaki parlak tabaka adi kurutma kağıdı ile temizlenerek preparatlarda boya kalıntısının kalması önlenmiştir.

2.2.6. NOR (Nükleolus Organizer Region) boyama

NOR boyamanın yapılmasında iki metod denenmiştir.

a) Howell ve Black (1980)'in "One-Step" metodundan faydalanılmıştır.

Bu metoda göre:

Materyalin lam üstüne alınarak kurutulmasından sonra preparatın yayma olmayan bir köşesine 4 damla %50'lik gümüş nitrat solüsyonu, diğer köşesine 2 damla jelatin çözeltisi pipetle damlatılarak iki sıvı karıştırılmıştır. Yaymanın olduğu kısım üzerine olacak şekilde solüsyonun üzerine lamel kapatılmıştır. Isıtıcıda 70°C de 30 saniye bekletilip 30 saniye içinde sarıya, 2 dakika sonra da altın-kahverengiye dönüştüğü gözlenmiştir. Lamel saf su akıtılarak alınmış, lam yıkanarak kurutma kağıdı ile kurulanmıştır.

b) Lüleci (1994)'nin vermiş olduğu metodun uygulanışı şu şekildedir:

Plastik petri kabının alt kısmına tüm tabanı kaplayacak şekilde adi kurutma kağıdı yerleştirilerek saf su ile nemlendirilmiştir. Preparat üzerine %50'lik gümüş nitrat solüsyonundan damlatılarak lamel kapatılmıştır. Preparat petri kutusuna konarak kapak kapatılmıştır. Nemini kaybetmemesi ve içine su girmemesi için etrafı parafilm ve alüminyum folye ile sarılmıştır. Küçük bir naylon torbaya konan petri kutusu 60°C su banyosunda 3 saat bekletildikten sonra preparat 45°'lik eğimle tutularak saf su ile lamel uzaklaştırılmıştır. Sallanarak havada kurutulan preparatın yayma olmayan ucuna ayrı ayrı

amonyak-gümüş nitrat ve %35'lik formaldehit solüsyonlarından birer damla damlatılmıştır. Pastör Pipeti ile karıştırılıp lamel ile üzeri kapatılan preparat Mikroskop altında 10x objektifle hücrelerin ve metafazların sarıdan açık kahverengiye dönüştüğü gözlenerek preparat distile su ile yıkanarak lamel uzaklaştırılmıştır. Lam havada kurutulduktan sonra %2'lik giemsa ile 10 sn. boyanmış ve yıkandıktan sonra kurutma kağıdı ile kurulanmıştır.

Gümüş boyama yöntemi ile belirlenen NOR bölgeleri her iki metodun denenmesi neticesinde Howel ve Black (1980)'in "One-step" metodu ile yapılması uygun bulunmuştur. Balıklarda çok yaygın olarak kullanılan bu metot daha kısa, pratik ve çok sayıda boyama yapmaya imkân vermiştir.

2.2.7. Preparatların devamlı hale getirilmesi

İncelenen preparatların karyotip analizi yapmaya uygun olanları ve NOR boyaması yapılanlar devamlı hale getirilmek üzere önce ksilende yıkanmış ve daha sonra Kanada Balzamu kullanılarak lamel yapıştırılmıştır.

2.2.8. Kromozom sayılarının ve morfolojilerinin belirlenmesi

Giemsa ve NOR boyama yapılarak devamlı hale getirilen preparatlar kromozom morfolojisi ve NOR fenotipinin belirlenmesi için incelenmiş, amaca uygun yaymalardaki metafazlar "Olympus BHS" mikroskopta 50 ASA'lık 24 × 36 mm. siyah beyaz filmle çekilmiştir.

Diploid kromozom sayısı (2n), temel kromozomların sayısı (NF), metasentrik (m), submetasentrik (sm), subtelosentrik (st) ve telo-akrosentrik (a) kromozomların ayırımı Levan ve arkadaşları (1964)'na göre yapılmıştır.

2.2.9. Karyogramın hazırlanması

Karyogram kromozom morfolojileri çok iyi görülebilen, tam metafaz safhasında bulunan hücrenin fotoğrafından yapılmıştır. Homolog olan kromozomlar belirlenerek kesilip çıkarılmıştır. En uzun olandan başlayarak homolog kromozomlar eşler halinde yan yana getirilerek bir eksen üzerine sentromerlerine göre yapıştırılmıştır. Her birinde en uzun kromozoma sahip olan iki homolog kromozoma 1 numaralı kromozom adı verilmiştir. Sırası ile diğerleri de numaralandırılmıştır.

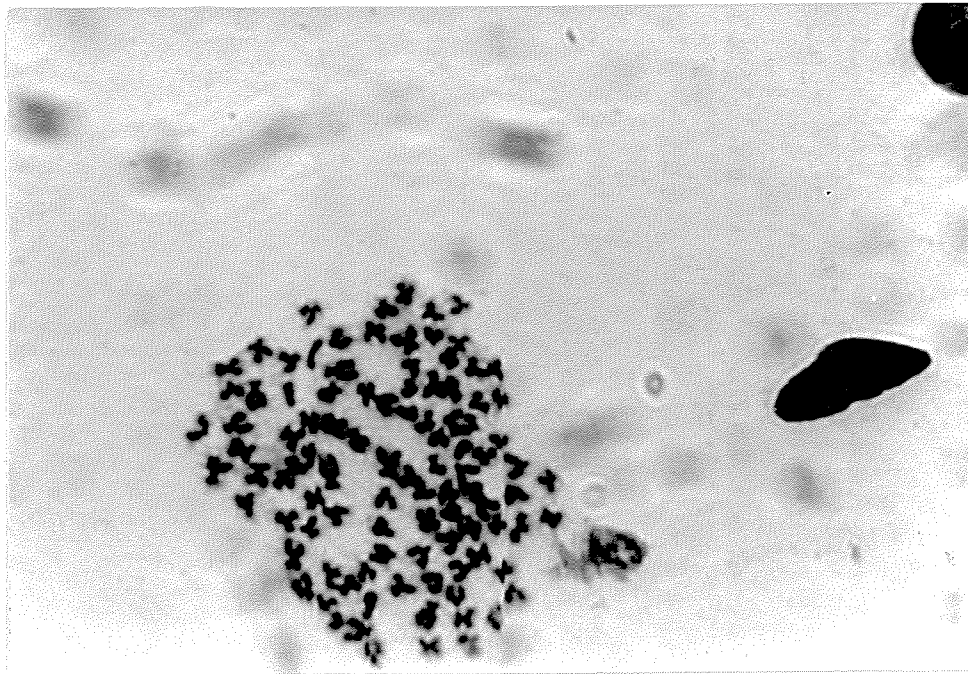
3. BULGULAR

3.1. *Cyprinus carpio*'ya Ait Bulgular

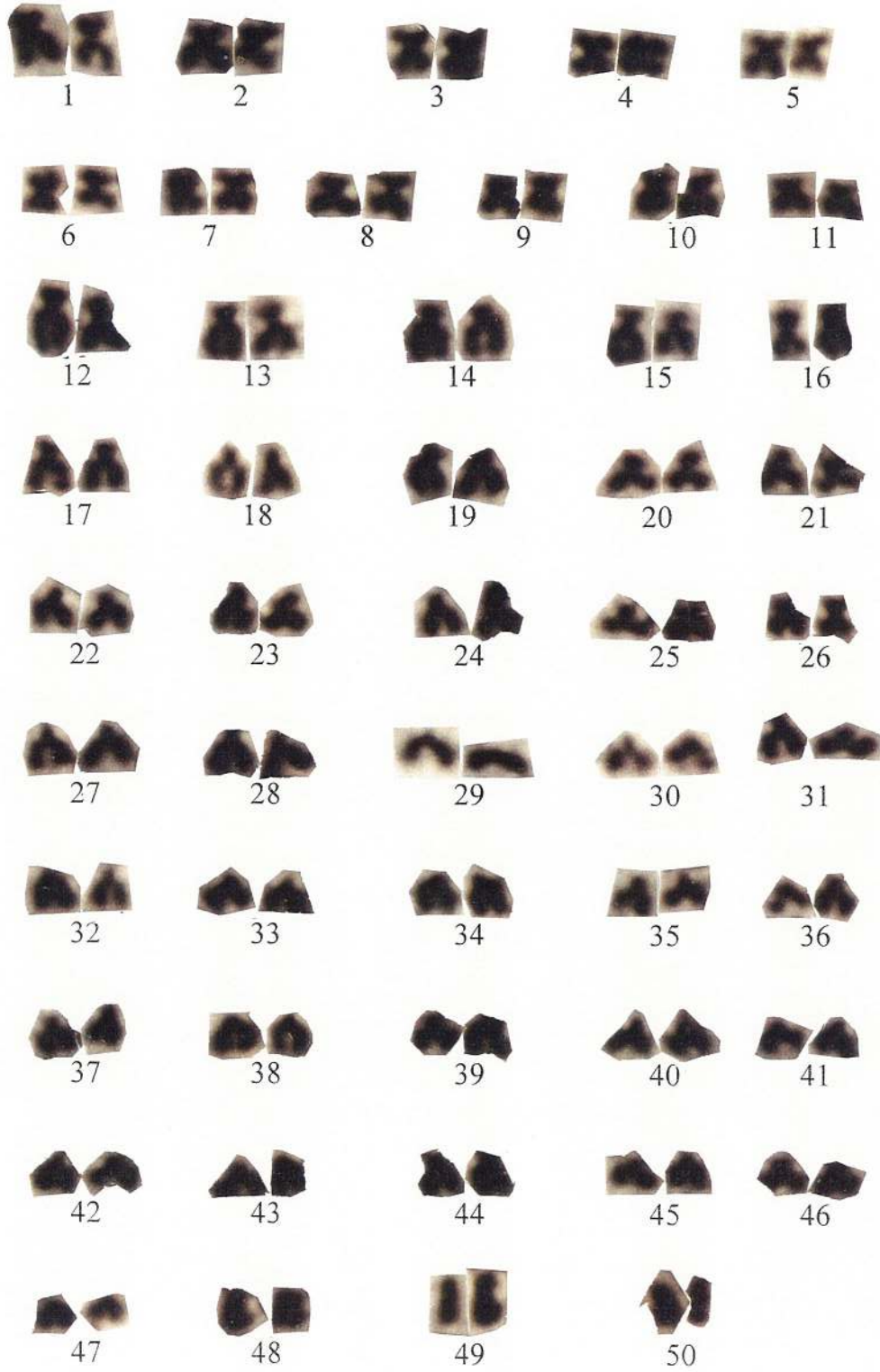
3.1.1. Beyler barajı populasyonu kromozom özellikleri

C. carpio'nun Beyler Barajı'na ait populasyonunda kromozom sayısı; $2n = 100$ olarak bulunmuştur. Karyotip özellikleri bakımından temel kromozom sayısı; $NF = 152$, 22 metasentrik, 30 submetasentrik, 48 subtelo-akrosentrik yapıdadır. Genel görünüş itibarıyla subtelo ve akrosentrik kromozomların çoğunluğu oluşturduğu karyotipte kromozomların büyüklüğü $1,5 \mu m - 3,5 \mu m$ arasındadır (Şekil 3.1-3.2).

$$(NF = 152, 22 m + 30 sm + 48 st-a)$$



Şekil 3.1. Beyler Barajındaki *Cyprinus carpio* 'ya Ait Diploid Metafaz Kromozomları ($\times 2050$)

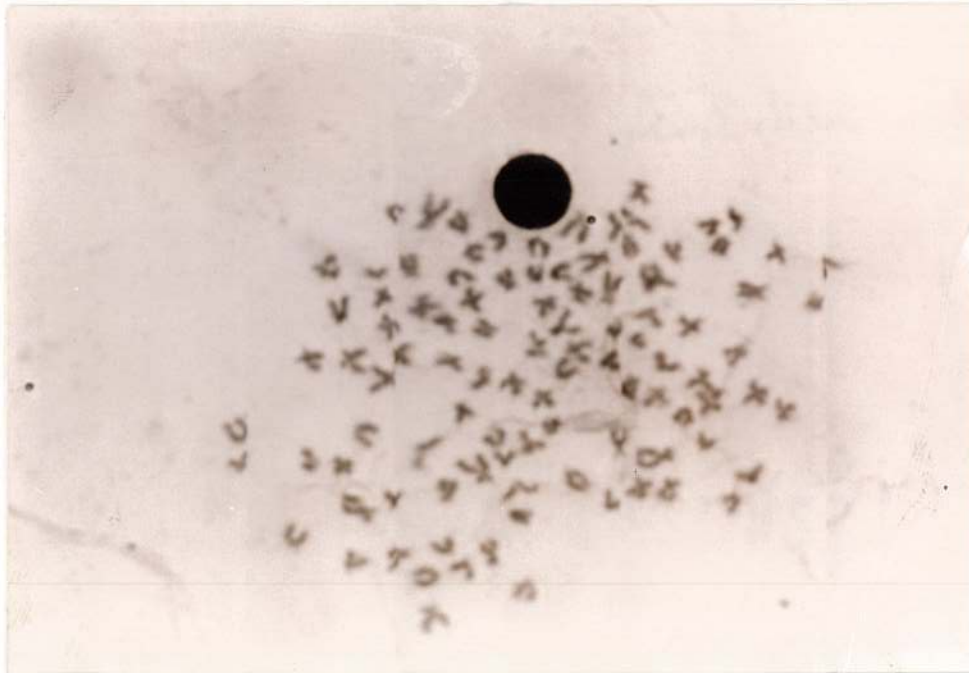


Şekil 3.2. Beyler Barajı *Cyprinus carpio* 'ya Ait Karyogram

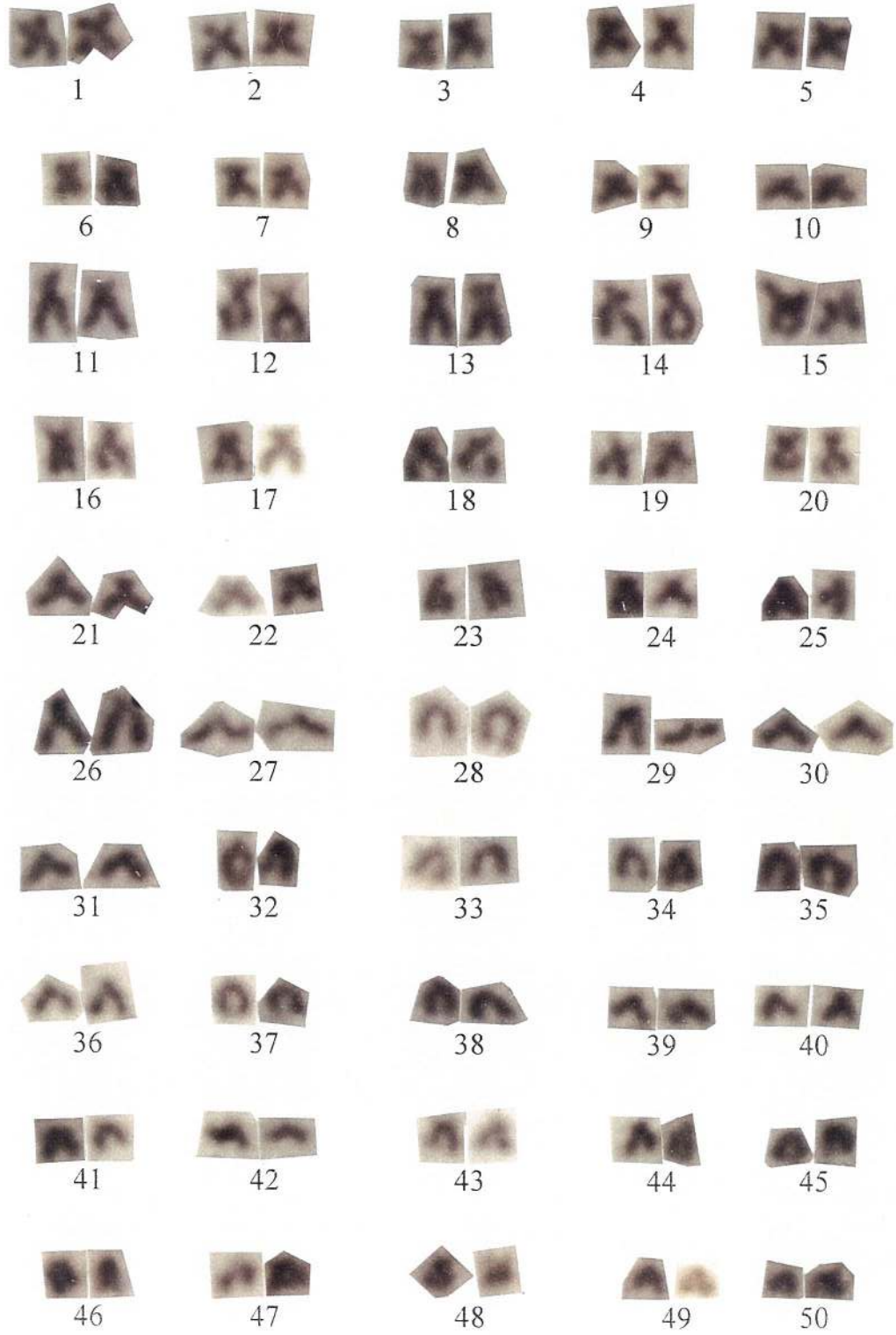
3.1.2. Germeçtepe barajı popülasyonu kromozom özellikleri

Kromozom sayısı $2n = 100$ 'dür; 20 metasentrik, 30 submetasentrik, 50 subtelo-akrosentrik özellikteki karyotipte temel kromozom sayısı $NF = 150$ 'dir. Kromozom büyüklüğünün $1,5 \mu m - 3,5 \mu m$ arasında değiştiği belirlenen karyotipin, genel görünüş itibarıyla subtelo-akrosentrik kromozomlardan oluştuğu gözlenmiştir (Şekil 3.3-3.4).

$$(NF = 150, 20 m + 30 sm + 50 st-a)$$



Şekil 3.3. Germeçtepe Barajı *Cyprinus carpio* 'ya Ait Diploid Metafaz Kromozomları ($\times 2050$)



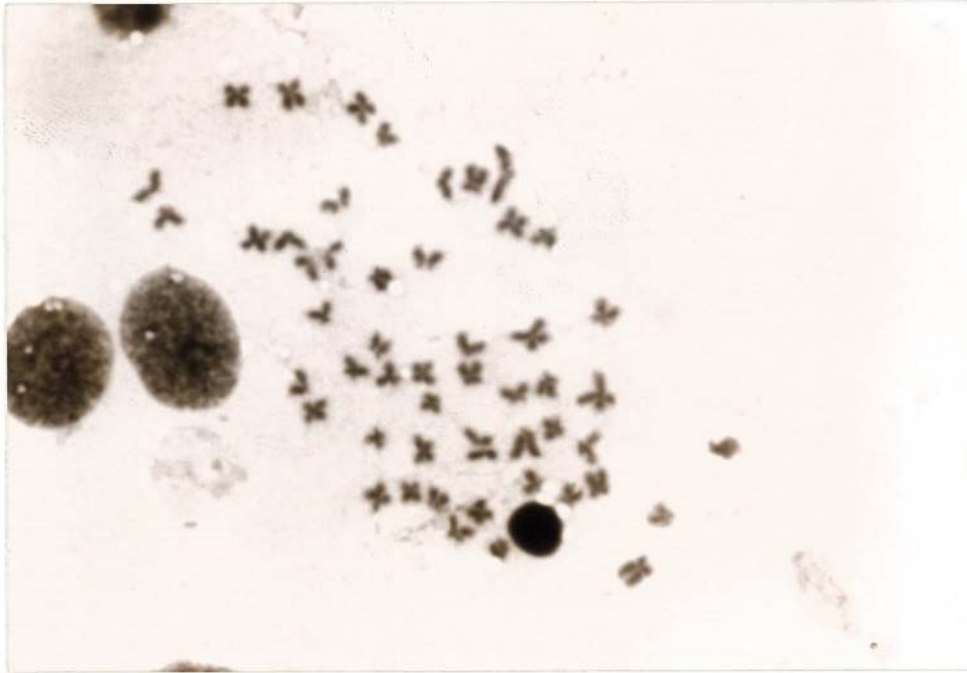
Şekil 3.4. Germeçtepe Barajı *Cyprinus carpio* 'ya Ait Karyogram

3.2. *Leuciscus cephalus*'a Ait Bulgular

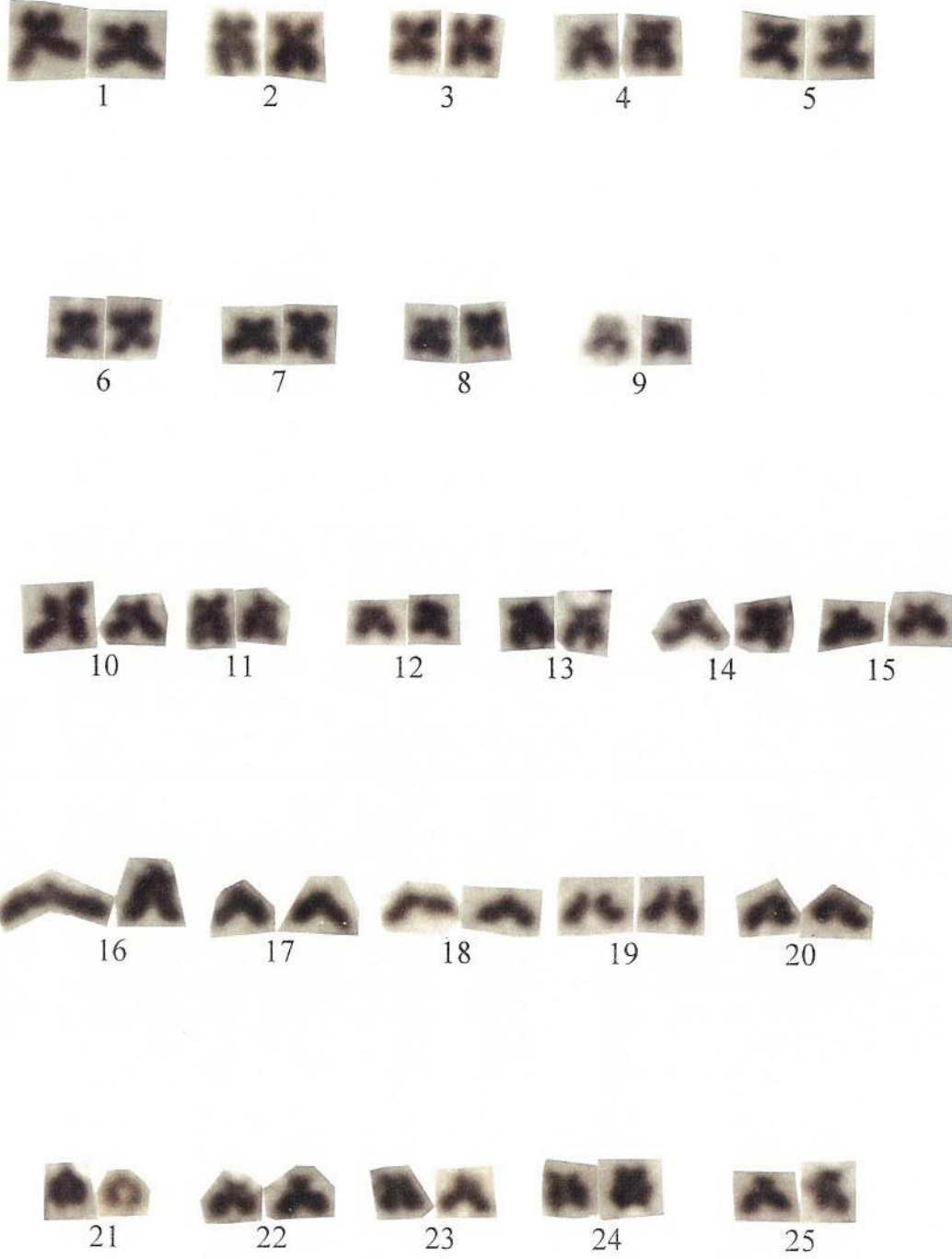
3.2.1. Beyler barajı popülasyonu kromozom özellikleri

Beyler Barajı'na ait tatlı su kefalinin kromozom sayısı $2n = 50$ olarak tespit edilmiştir. Kromozom kol sayısı $NF = 80$ 'dir. Kromozom takımını 18 metasentrik, 12 submetasentrik, 20 subtelo-akrosentrik kromozomlar oluşturmaktadır. Kromozom büyüklükleri ise $1,5 \mu m - 3,5 \mu m$ arasındadır. Karyotipi oluşturan kromozomların genel görünüşü subtelo-akrosentrik yapılı kromozomlardan oluştuğu gözlenmiştir (Şekil 3.5-3.6).

$$(NF = 80, 18 m + 12 sm + 20 st-a)$$



Şekil 3.5. Beyler Barajı *Leuciscus cephalus*'a Ait Diploid Metafaz Kromozomları ($\times 2050$)

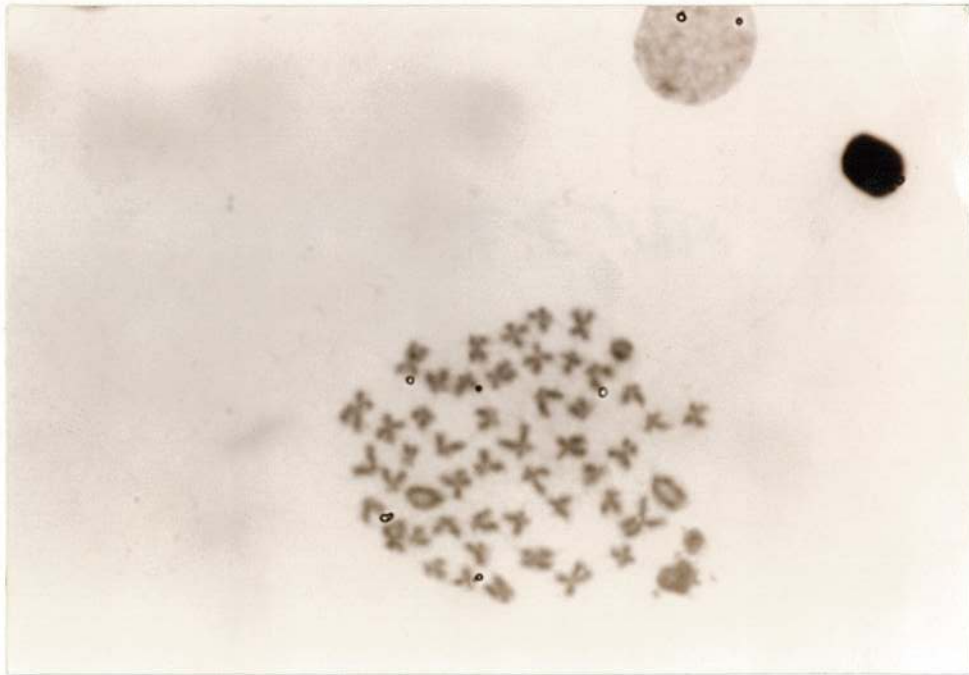


Şekil 3.6. Beyler Barajı *Leuciscus cephalus* 'a Ait Karyogram

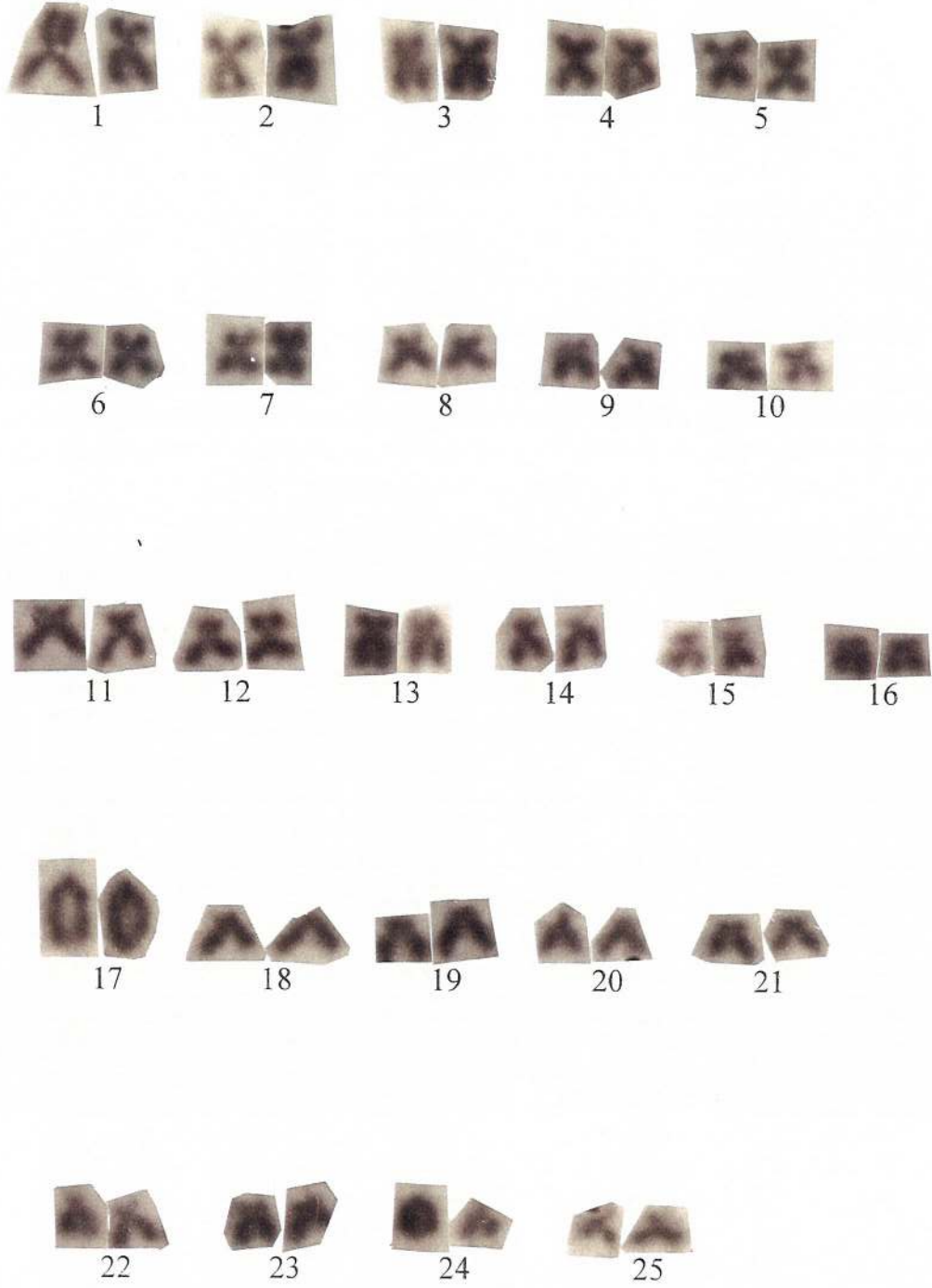
3.2.2. Germeçtepe barajı populasyonu kromozom özellikleri

Germeçtepe Barajı'na ait *L. cephalus* populasyonunda kromozom sayısı $2n = 50$ olarak bulunmuştur. Kromozom kol sayısının $NF = 82$ olduğu ve 20 metasentrik, 12 submetasentrik, 18 subtelo-akrosentrik kromozomlardan oluşmuştur. Kromozom büyüklüklerinin $1,4 \mu m - 3,4 \mu m$ arasında olduğu gözlenen yapıda genel olarak metasentrik kromozomların hakim olduğu görülmüştür (Şekil 3.7-3.8).

$$(NF = 82, 20 m + 12 sm + 18 st-a)$$



Şekil 3.7. Germeçtepe Barajı *Leuciscus cephalus*'a Ait Diploid Metafaz Kromozomları ($\times 2050$)



Şekil 3.8. Germeçtepe Barajı *Leuciscus cephalus* 'a Ait Karyogram

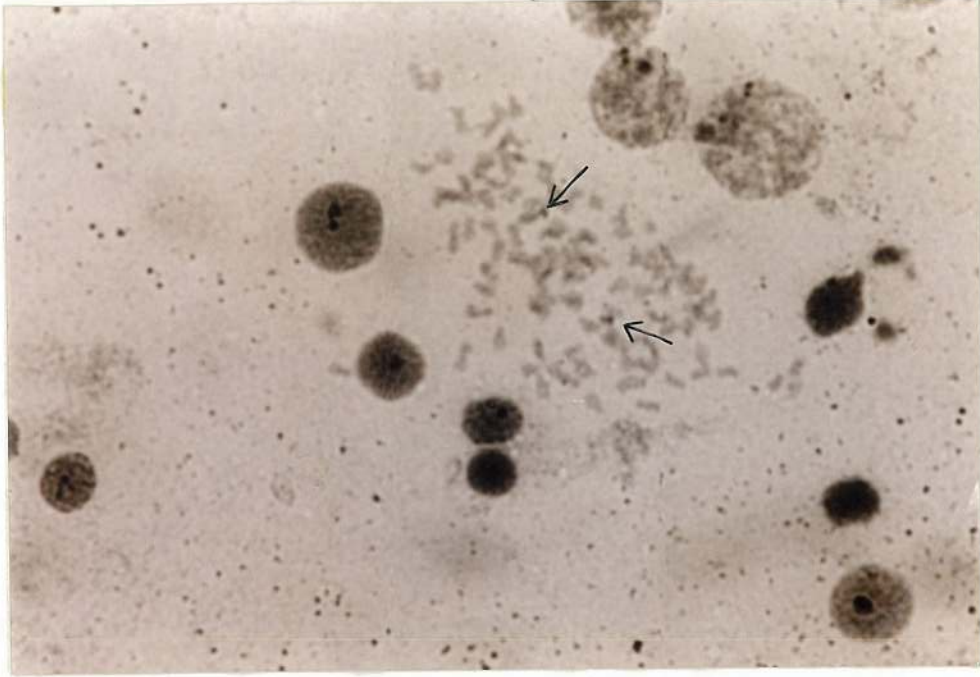
3.3. *Cyprinus carpio*'nun NOR Fenotipine Ait Bulgular

3.3.1. Beyler barajı popülasyonu NOR fenotipi

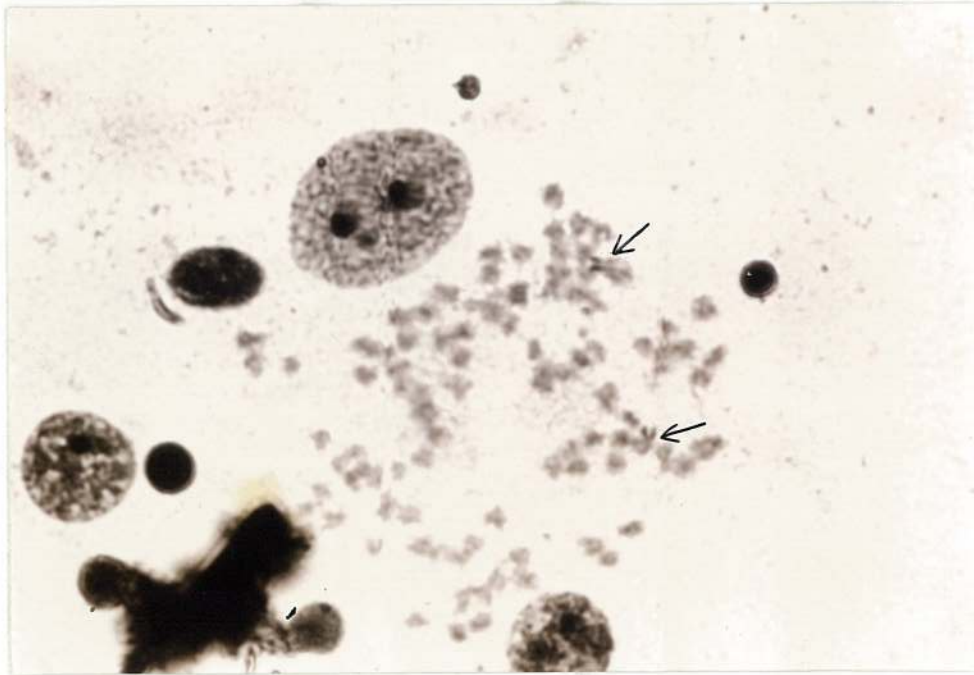
Toplam 20 balık üzerinde gümüş boyanmış, 170 metafaz değerlendirilmiştir. Bu değerlendirme sonucunda incelenen metafazların tamamına yakınında bir çift kromozomun NOR taşıdığı gözlenmiştir. NOR bölgelerinin farklılık gösterdiği bulgulara 3 değişik NOR tipi varlığı belirlenmiştir.

- A) Büyük bir çift, homolog ya da homolog olmayan submetasentriğin kısa kolu boyunca ya da metasentrik kromozomun kolları boyunca görülen NOR bölgeleri (Şekil 3.9.a-b).
- B) Bir çift akrosentrik kromozomun kısa kollarında nokta şeklindeki NOR'lar (Şekil 3.10).
- C) Bir çift büyük submetasentrik kromozom üzerindeki farklı büyüklükteki NOR bölgeleri (Şekil 3.11.a-b-c).

İncelenen metafazların büyük bir çoğunluğunda "A" tipi NOR şekli görülmüştür. "B" tipi NOR fenotipi da az sıklıkta görülmüştür. Farklı büyüklükte NOR bölgelerinin bulunduğu "C" tipi NOR daha az görülmüş olup heteromorfik özelliştir ve iki değişik heteromorfik yapının varlığı tespit edilmiştir.



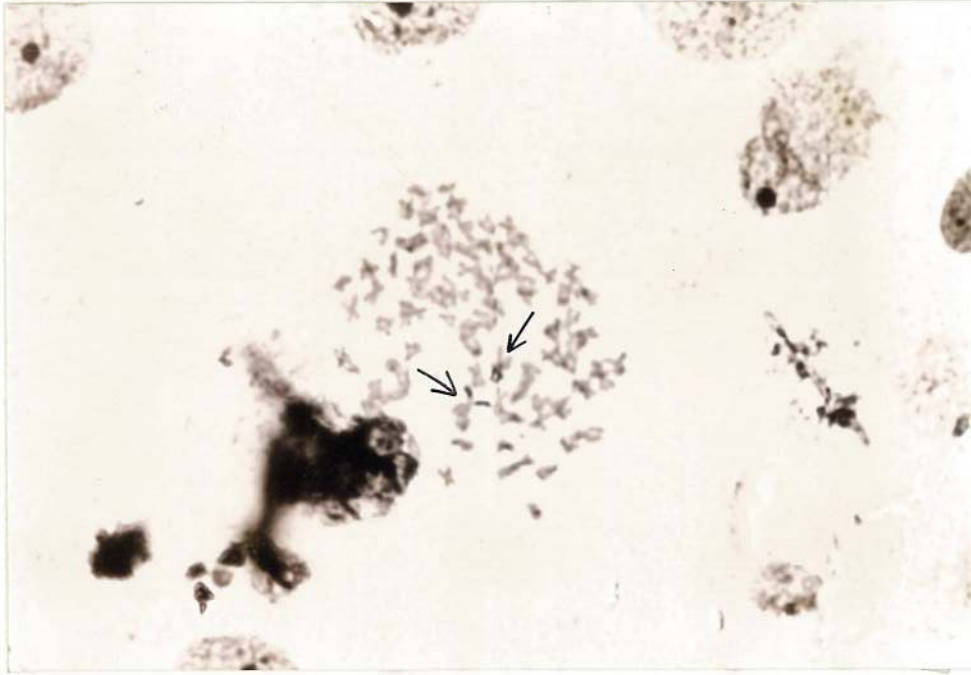
Şekil 3.9.a. Beyler Barajı *Cyprinus carpio* Populasyonunda “A” Tipi NOR Fenotipi ($\times 1860$)



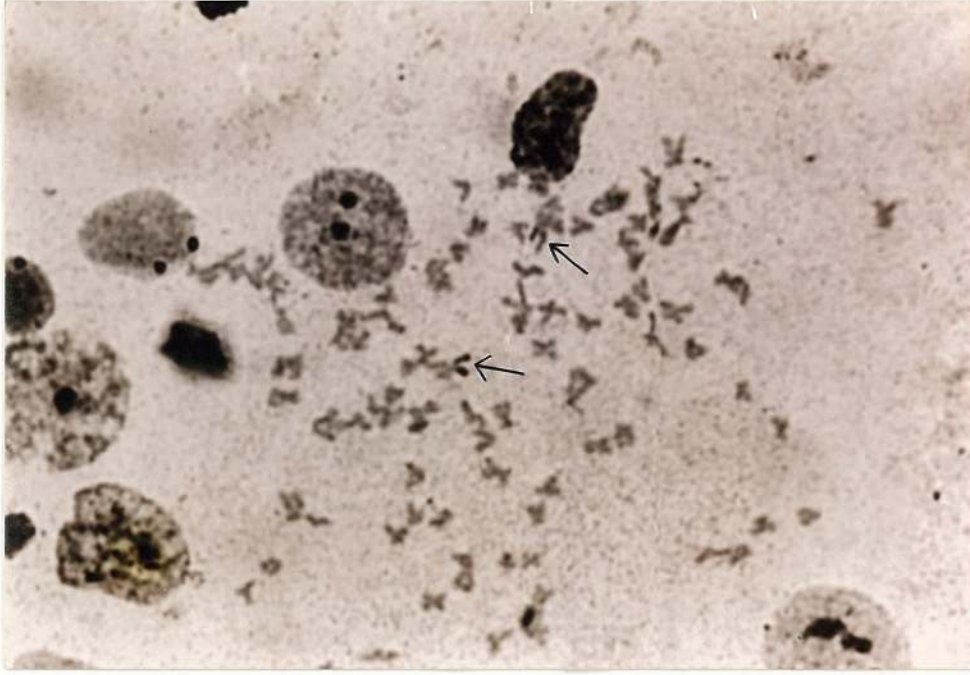
Şekil 3.9.b. Beyler Barajı *Cyprinus carpio* Populasyonunda “A” Tipi NOR Fenotipi ($\times 2050$)



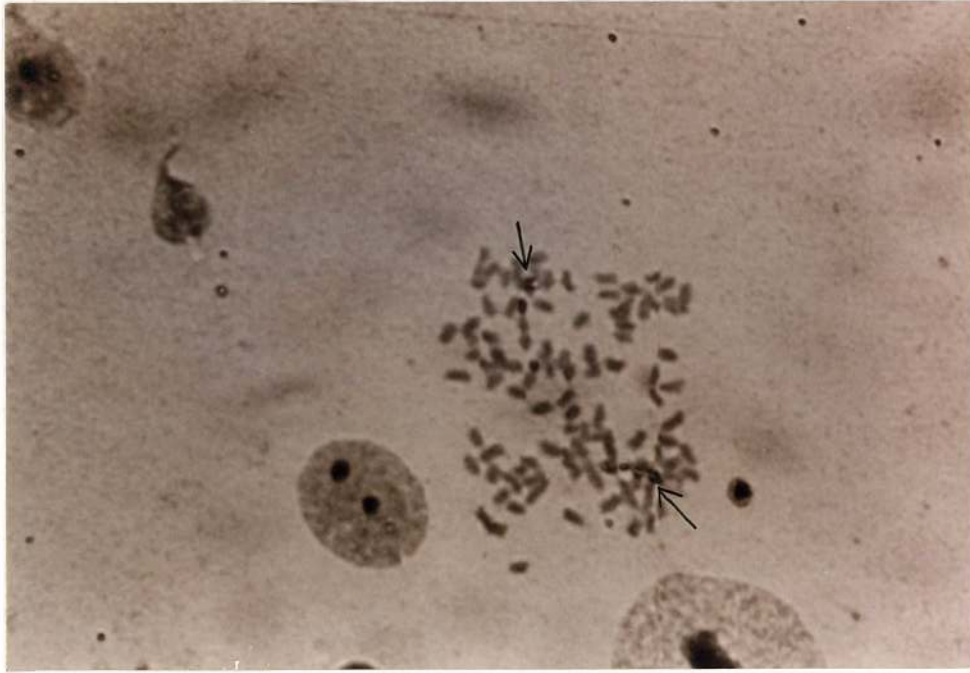
Şekil 3.10. Beyler Barajı *Cyprinus carpio* Populasyonunda “B” Tipi NOR Fenotipi ($\times 1860$)



Şekil 3.11.a. Beyler Barajı *Cyprinus carpio* Populasyonunda “C” Tipi NOR Fenotipi ($\times 2050$)



Şekil 3.11.b. Beyler Barajı *Cyprinus carpio* Populasyonunda “C” Tipi NOR Fenotipi ($\times 2050$)



Şekil 3.11.c. Beyler Barajı *Cyprinus carpio* Populasyonunda “C” Tipi NOR Fenotipi ($\times 1860$)

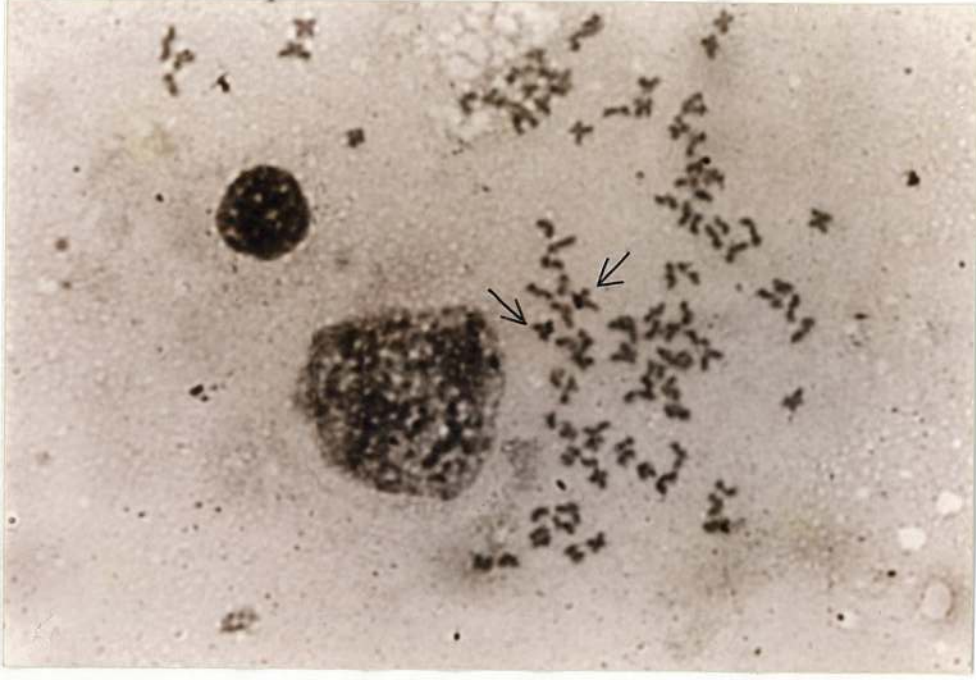
3.3.2. Germeetepe barajı populasyonu NOR fenotipi

15 balık üzerinde gümüş boyanmış, toplam 130 metafaz incelenmiştir. İncelenen metafazların genelinde bir çift homolog ya da homolog olmayan kromozomda NOR bölgesi tanımlanmıştır. NOR'ların bulunduğu kromozom pozisyonları görülme oranına göre üç tipte sıralanmıştır.

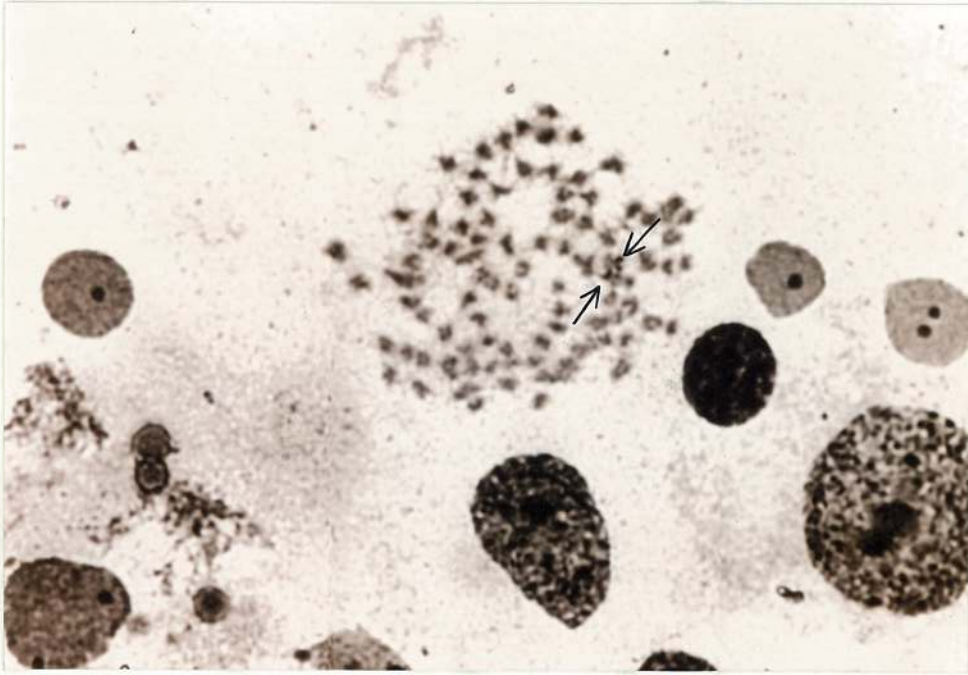
- A) Genellikle bir çift akrosentrik veya submetasentrik kromozomun kısa kollarında terminal olarak bulunan nokta şeklindeki NOR bölgeleri (Şekil 3.12.a-b).
- B) Bir akrosentrik ve bir submetasentriğin aktif olduğu metafazlar, daha az sıklıkta görülmüştür (Şekil 3.13).
- C) Bir metasentrik kromozomun farklı büyüklükte boyanmış NOR bölgeleri heteromorfiktir (Şekil 3.14).

Nadir olarak da sadece bir akrosentrik kromozomun aktif olduğu metafazlar gözlenmiştir.

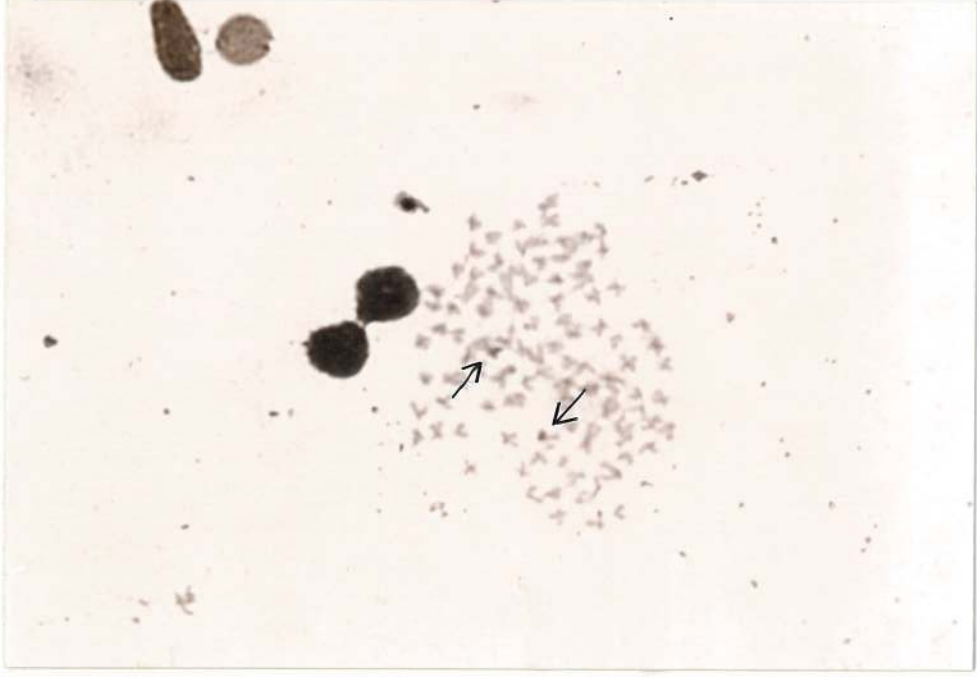
C. carpio Germeetepe populasyonunda görülen hakim NOR fenotip “A” tipi olarak belirtilen şekilde gözlenmiştir.



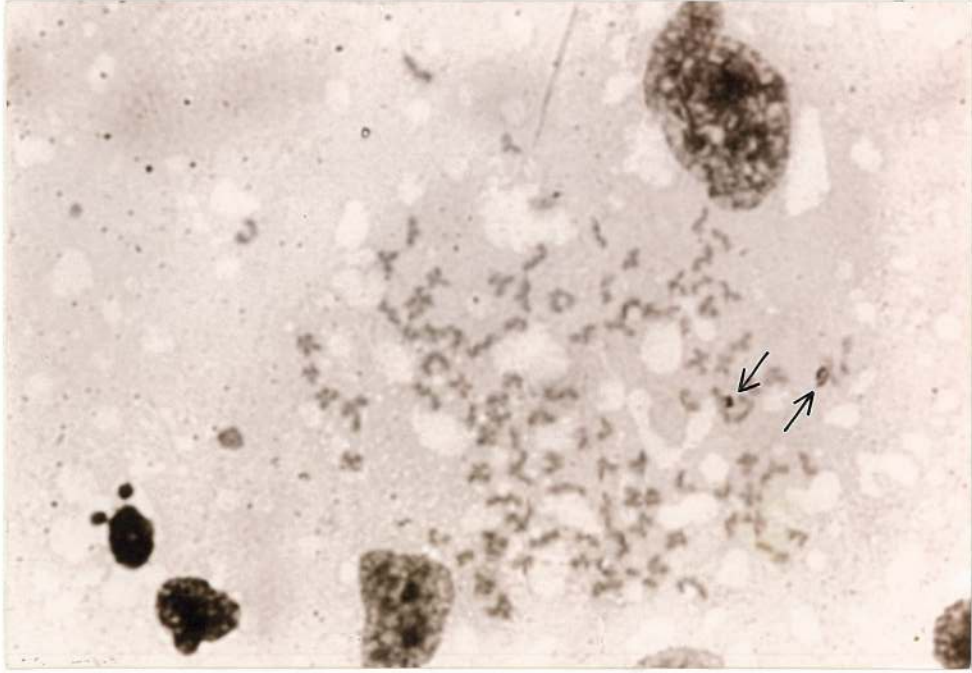
Şekil 3.12.a. Germeçtepe Barajı *Cyprinus carpio* Populasyonunda
“A” Tipi NOR Fenotipi ($\times 2050$)



Şekil 3.12.b. Germeçtepe Barajı *Cyprinus carpio* Populasyonunda
“A” Tipi NOR Fenotipi ($\times 1860$)



Şekil 3.13. Germeçtepe Barajı *Cyprinus carpio* Populasyonunda “B” Tipi NOR Fenotipi ($\times 1860$)



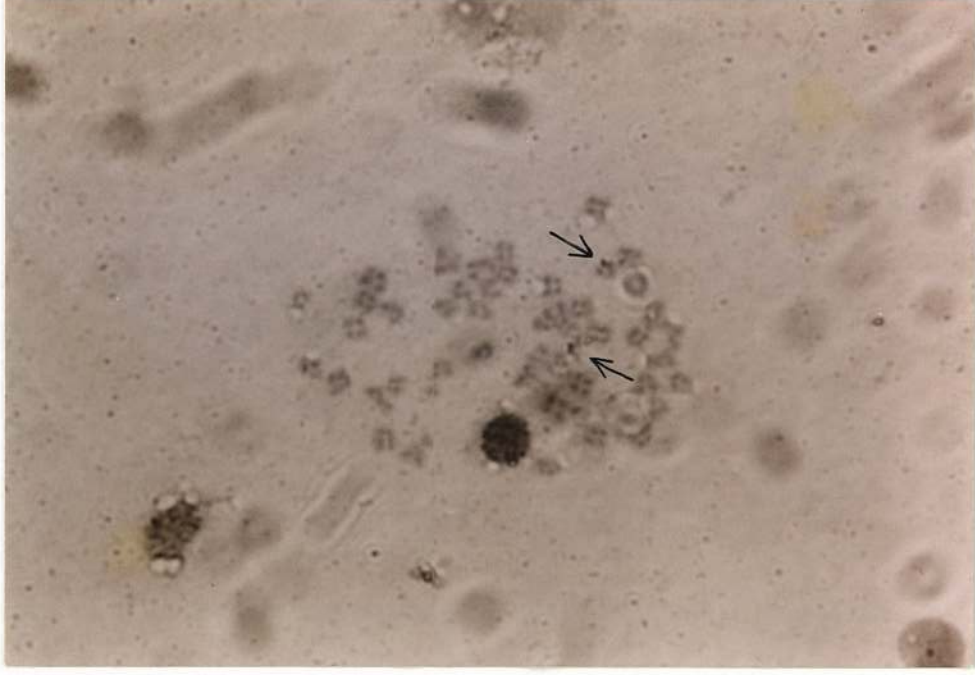
Şekil 3.14. Germeçtepe Barajı *Cyprinus carpio* Populasyonunda “C” Tipi NOR Fenotipi ($\times 2050$)

3.4. *Leuciscus cephalus*'un NOR Fenotipine Ait Bulgular

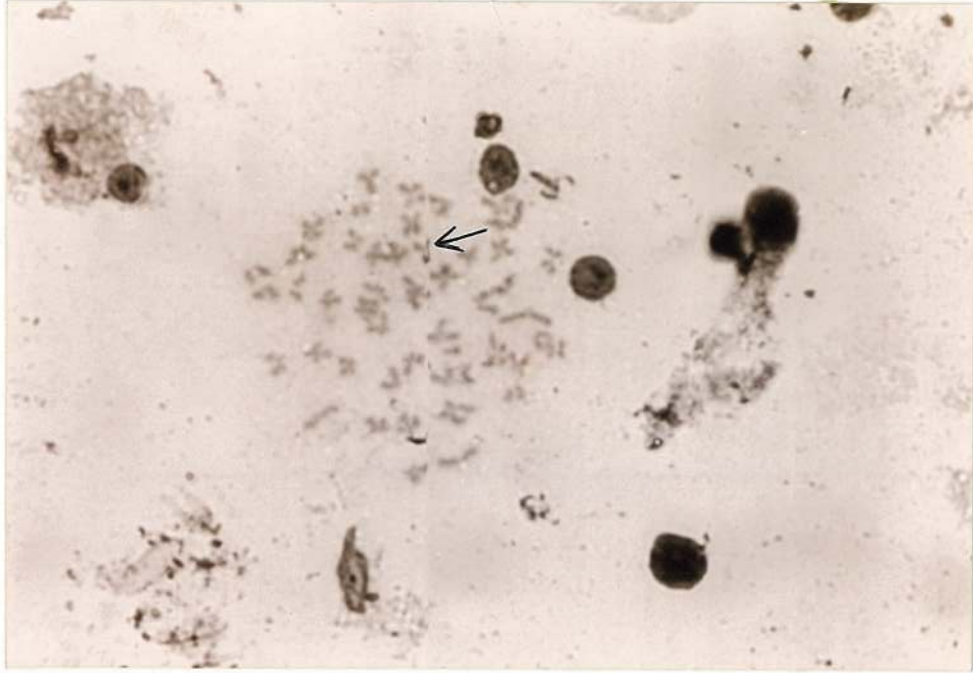
3.4.1. Beyler barajı popülasyonu NOR fenotipi

Gümüş boyanmış 220 metafaz 34 balıktan elde edilmiştir. Kromozomal NOR'ların fenotipleri, Beyler Barajı tatlı su kefallerinde subtelo ya da akrosentrik kromozom üzerinde gözlenmiştir. Başlıca üç tipte fenotipik ayırım yapılabilmektedir.

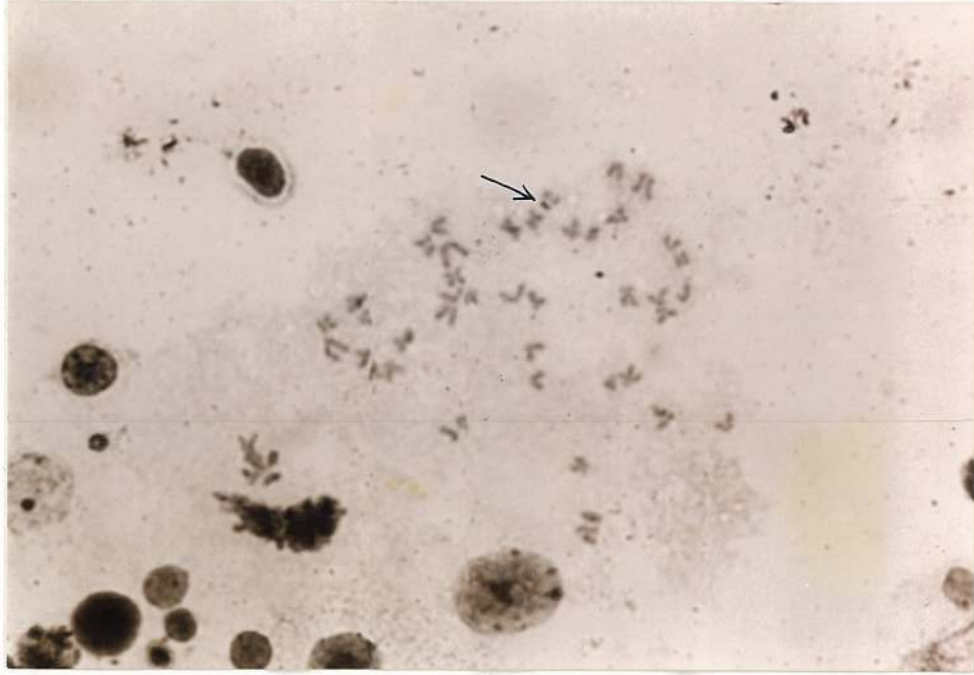
- A) Bir çift homolog akrosentrik kromozomun kısa kollarında nokta şeklindeki NOR'lar büyük bir çoğunlukta tespit edilmiştir (Şekil 3.15).
- B) İncelenen metafazlarda sıklıkla rastlanılan diğer bir durum da akrosentrik kromozomların bir tanesinin kısa kolunda nokta biçiminde görülen NOR'lardır. Akrosentrik kromozomların bazı safhalarda büyük olanı, bazılarında da küçük alanı aktif olarak görülmüştür (Şekil 3.16.a-b).
- C) Diğer NOR fenotiplerinden farklı olarak, daha az oranda akrosentrik kromozomun uzun kolları boyunca ve metasentrik kromozomun kolları boyunca gümüş boyanmış NOR'lar tespit edilmiştir (Şekil 3.17.a-b).



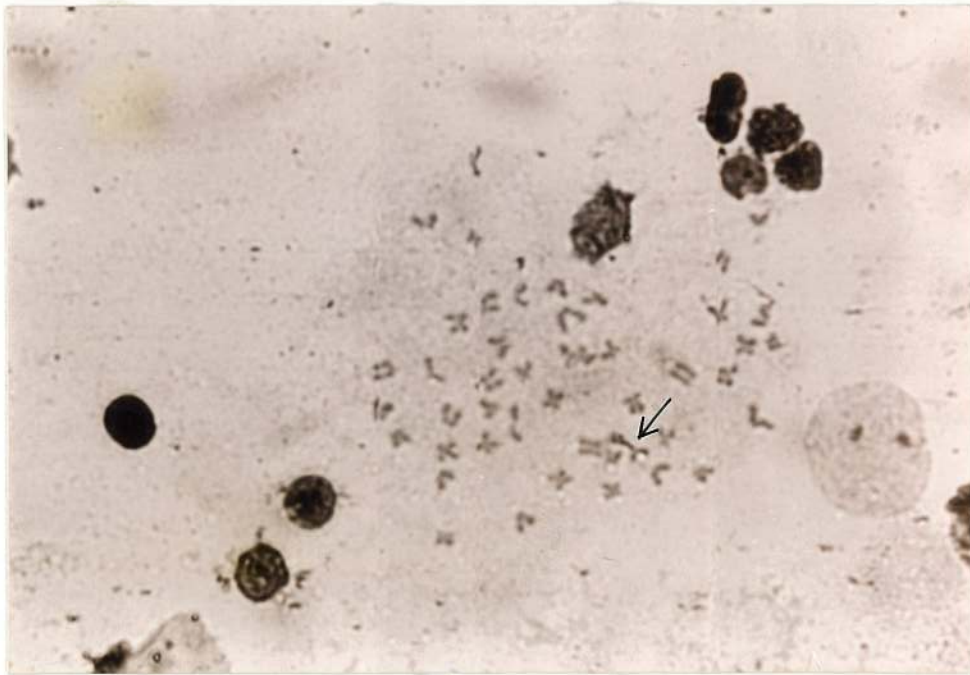
Şekil 3.15. Beyler Barajı *Leuciscus cephalus* Populasyonunda “A” Tipi NOR Fenotipi ($\times 2050$)



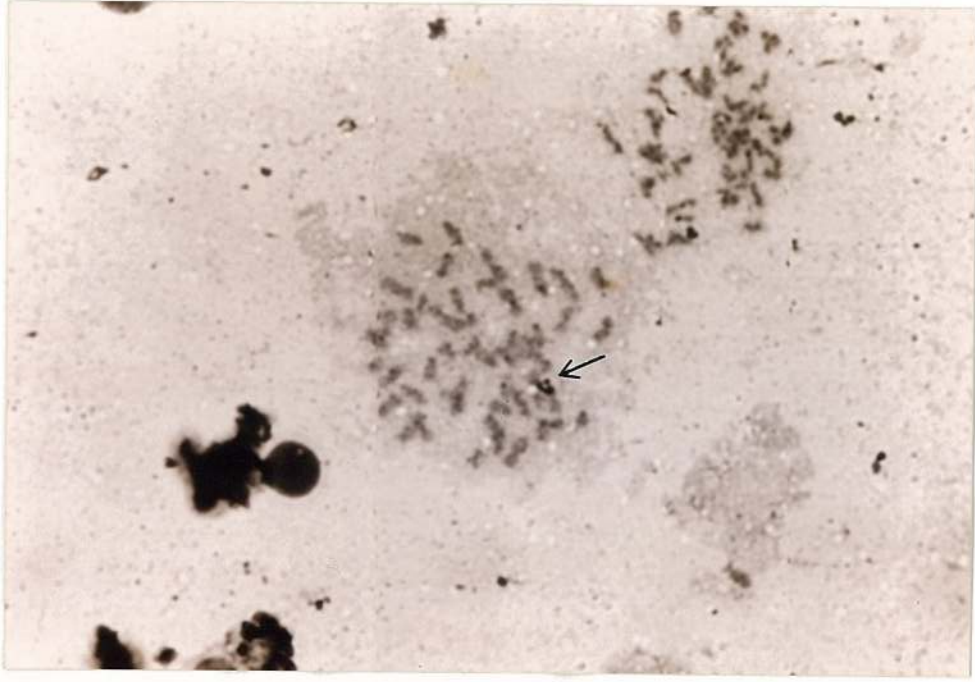
Şekil 3.16.a. Beyler Barajı *Leuciscus cephalus* Populasyonunda “B” Tipi NOR Fenotipi ($\times 2050$)



Şekil 3.16.b. Beyler Barajı *Leuciscus cephalus* Populasyonunda “B” Tipi NOR Fenotipi ($\times 2050$)



Şekil 3.17.a. Beyler Barajı *Leuciscus cephalus* Populasyonunda “C” Tipi NOR Fenotipi ($\times 2050$)



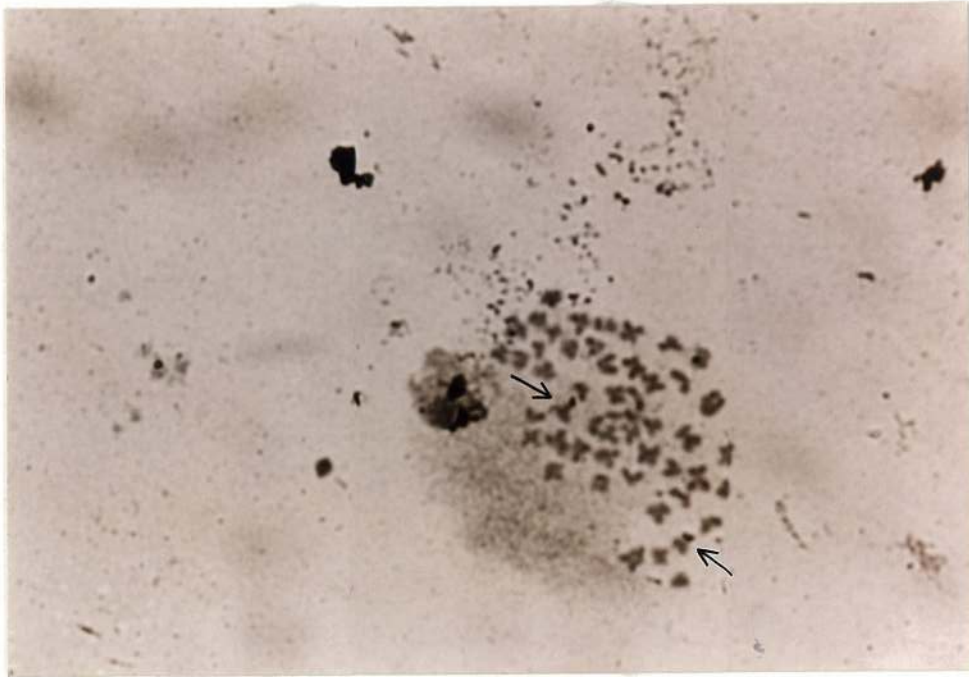
Şekil 3.17.b. Beyler Barajı *Leuciscus cephalus* Populasyonunda “C” Tipi NOR Fenotipi ($\times 2050$)

3.4.2. Germeçtepe barajı populasyonu NOR fenotipi

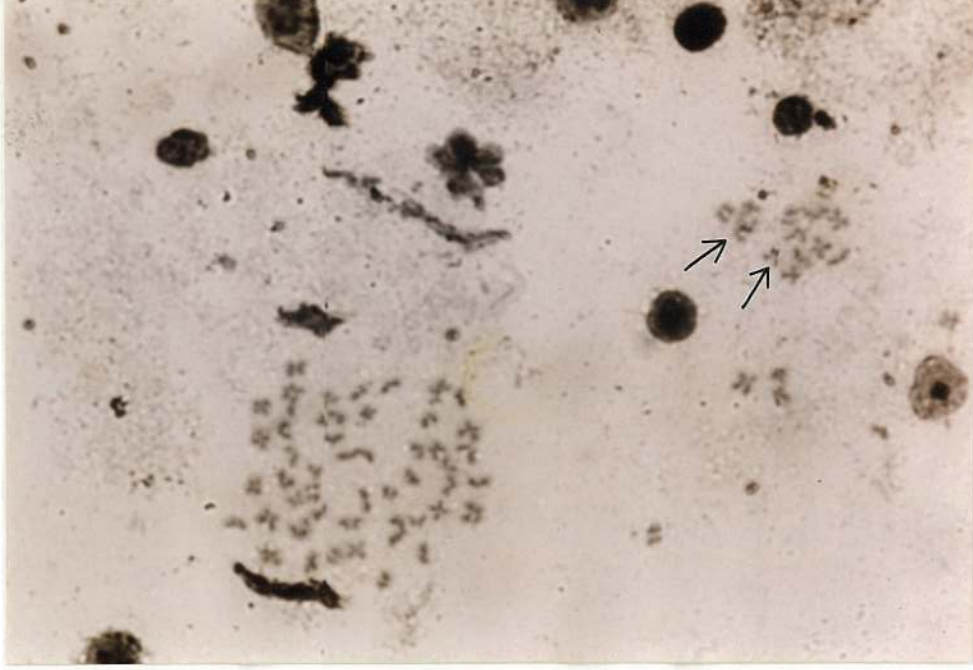
Toplam 17 balıktan gümüş boyanmış 100 metafaz incelenmiştir. Genel olarak bir çift kromozom üzerinde NOR bölgeleri tanımlanmıştır.

- A) Homolog olmayan bir çift submetasentrik kromozomun kısa kol, uç kısmındaki nokta şeklindeki NOR yapılar büyük bir çoğunlukta gözlenmiştir (Şekil 3.18).
- B) Daha az oranda görülen bazı metafazlarda ise muhtemelen homolog olan küçük bir çift akrosentrik kromozomun kısa kolunda bulunan NOR'lar tespit edilmiştir (Şekil.3.19)

L. cephalus Germeçtepe populasyonunda genel olarak "A" tipi NOR fenotipinin yaygın olduğu görülmüştür.



Şekil 3.18. Germeçtepe Barajı *Leuciscus cephalus* Populasyonunda "A" Tipi NOR Fenotipi ($\times 2050$)



Şekil 3.19. Germeçtepe Barajı *Leuciscus cephalus* Populasyonunda “B” Tipi NOR Fenotipi ($\times 2050$)

4. TARTIŞMA VE SONUÇ

Doğrudan ve doğrudan olmayan yöntemlerle birçok şekilde incelenebilen balık kromozomları bu çalışmada doğrudan yöntemle incelemeye hazırlanmıştır. Bu yöntemle az sayıda, yeterli kalitede metafaz dağılımı elde edilmesinin yanında; zaman, emek, uygulama kolaylığı ve özellikle nispeten ucuz malzemenin kullanılması olumlu yönler olarak görülmektedir. İnceleme konusu olan her iki balık türünde böbrek dokunun solungaç epiteli ve diğer dokulara göre çok daha iyi sonuç vermesi Hartley (1988), Reddy ve John (1986), Das ve Das (1986)'ın çalışmalarının sonuçlarını doğrulamaktadır.

Germeçtepe ve Beyler Barajı'ndan elde edilen *C. carpio*'nun kromozom sayısı $2n = 100$ olarak tespit edilmiştir.

C. carpio'nun Beyler Barajı'na ait populasyonunda karyotip özellikleri bakımından kromozom kol sayısı; $NF = 152$, 22 metasentrik, 30 submetasentrik, 48 subtelo-akrosentrik kromozomlardan oluşmuş bir yapıdadır ($NF = 152$, 22 m + 30 sm + 48 st-a).

Germeçtepe Barajı populasyonunda ise; 20 metasentrik, 30 submetasentrik, 50 subtelo-akrosentrik özellikteki karyotipte temel kromozom sayısı $NF = 150$ 'dir ($NF = 150$, 20 m + 30 sm + 50 st-a).

C. carpio'nun üzerinde yapılan bazı araştırmalarda kromozom sayısının $2n = 100-104$ arasında değiştiği rapor edilmiştir (Makino 1939; Ohno ve ark. 1967; Ojima ve Hitotsumachi 1967; Ojima ve ark. 1972; Kirpichnikov 1973; Marian ve Krasznai 1978; Berberovic 1980)

Denton (1973)'un bildirdiğine göre Ojima ve Hitotsumachi (1967) isimli araştırmacılar *C. carpio*'nun kromozom sayısı için $2n = 100$ ve karyotip özellikleri olarak ta, $NF = 148$, 12 m + 36 sm + 52 a formülünü rapor etmişlerdir.

Al-Sabti (1986b) *C. carpio*'nun kromozom sayısını $2n = 98$ temel kromozom sayısını ise $NF = 148$, 50 meta-submetasentrik, 48 subtelosentrik olarak bulmuştur.

Rab ve ark. (1989) *C. carpio haematopterus*'ta kromozom sayısını; $2n = 100$ kromozom formülünü ise $NF = 166$, $28 m + 38 sm + 22 st + 12 a$ olarak bildirmişlerdir.

Raciu ve ark. (1972) *C. carpio carpio*'nun kromozom sayısını $2n = 100$ kromozom formülünü ise $NF = 148$, $24 m + 24 sm, st + 52 a$ olarak bildirmişlerdir.

Zan ve ark. (1986) *C. carpio chilia*'da kromozom sayısını $2n = 100$, $NF = 152$ karyotip özelliklerini ise $22 m + 30 sm + 48 st-a$ olarak bulmuşlardır.

Zan ve ark. (1986) *C. carpio rubrofusus*'ta kromozom ve kol sayısını $2n = 100$, $NF = 152$ karyotip özelliklerini ise $22 m + 30 sm + 48 st-a$ olarak elde etmişlerdir.

Zan ve ark. (1986) *C. carpio heamatopterus*'ta kromozom sayısını; $2n = 100$, kromozom formülünü ise $NF = 150$, $20 m + 30 sm + 50 st-a$ olarak vermişlerdir.

Literatür taramalarından görüldüğü üzere şimdiye kadar incelenen tüm doğal *C. carpio* tür ve alt türlerinde bazı istisnaların dışında kromozom sayısı $2n = 100$ 'dür.

Al-Sabti (1986b) $2n = 98$ bulmuştur. Kromozom sayısındaki farklılığın, farklı akarsu sistemlerindeki populasyonlarda çalışılmasından kaynaklandığını bildirmektedir. Kromozom sayısında elde edilen $2n = 100$ 'den az sayıda kromozomlar aneuploidi ya da preparasyon esnasında meydana gelen kayıplardan olabilmektedir.

Kromozom sayısı bakımından bildirilen sonuçlar genellikle aynı olmakla birlikte karyotipik özellikler bakımından bu çalışma ve diğer araştırmalardaki elde edilen sonuçlar farklılık arz etmektedir.

Bu araştırmada Germeçtepe ve Beyler Barajı'ndan elde edilen *L. cephalus*'un kromozom sayısı $2n = 50$ olarak tespit edilmiştir.

Beyler Barajı'na ait tatlı su kefalinin kromozom kol sayısı $NF = 80$ 'dir. Kromozom takımını ise 18 metasentrik, 12 submetasentrik, 20 subtelo-akrosentrik kromozomlar oluşturmaktadır ($NF = 80, 18 m + 12 sm + 20 st-a$).

Germeçtepe Barajı'na ait *L. cephalus* popülasyonunda ise kromozom formülü bakımından; Kromozom kol sayısının $NF = 82$ ve 20 metasentrik, 12 submetasentrik, 18 subtelo-akrosentrik kromozomlardan oluşmuştur ($NF = 82, 20 m + 12 sm + 18 st-a$).

L. cephalus'un karyotip yapısı ile ilgili araştırmalar fazla olmamakla birlikte bazı çalışmalara rastlanmıştır.

Berberovic ve Sofradzija (1972), Hafez ve arkadaşları (1978) *L. cephalus*'un kromozom sayısını $2n = 50$ olarak bildirmişlerdir.

Al-Sabti (1986b) tatlı su kefalinin karyotipini çalışmıştır. Araştırmada kromozom sayısı $2n = 50$ olarak bulunmuştur, kromozom formülü ise $NF = 84$, 34 meta-submetasentrik ve 16 subtelo-telosentrik olarak rapor edilmiştir.

Kromozom sayısı elde edilen sonuçlarla aynı olmasına rağmen morfolojilerinde bazı farklılıklar gözlenmiştir.

Balıklarda karyolojik çalışmalarının teknik olarak uygulanması, diğer omurgalılara nazaran daha zordur. Özellikle bir çok balıkta kromozomların küçük ve çok sayıda oluşu karyotip yapımını güçleştirmektedir. Bu güçlüklerle ilgili olarak bir çok araştırmacı kromozom formülünü verirken

kesin bir morfolojik ayırım yapmamışlardır. Örneğin metasentrik ve submetasentrik kromozomlar çoğu kez aynı grup içinde toplanarak değerlendirilmiştir.

Karyotip morfolojilerinin farklı olması, genel olarak kromozom hazırlama yöntemlerine ve elde edilen kromozomların yapısına bağlıdır. Özellikle preparasyon esnasında meydana gelen kromozom spiralizasyon (kısalmaya kalınlaşma) dereceleri farklı sonuçların alınmasına sebep olur. Oldukça kontraste olmuş kromozomların kullanılarak yapıldığı karyotiplerde özellikle daha küçük olan submetasentrik ve subtelosentrik kromozomların ayırımını güçleştirmektedir. Tersine, erken bir metafazda elde edilen kromozom sonuçları farklılık arzeder (Rab ve ark., 1989).

Klinkhardt (1991) özellikle aşırı dozda ve aşırı sürede olan mitotik inhibitörlerin kromozomlarda spiralizasyonu arttırdığını bildirmiştir.

C. carpio'nun alt türleri üzerinde yapılan bir araştırmada; Raciú et al. (1972) fazla spiralize olmuş kromozomlar üzerinde, Zan ve Song (1980) erken metafazdan elde ettikleri kromozomlar ile karyotip yapmışlardır. Dolayısıyla kromozom sayısındaki uygunluk, kromozom morfolojisinde görülmemiştir.

Tüm bunların ışığı altında *C. carpio*'nun Germeçtepe ve Beyler Barajı popülasyonları arasındaki kromozom formüllerindeki farklılık, kromozom mutasyonlarına atfedileceği gibi literatürlerde de belirtildiği şekliyle, preparasyon teknikleri ve spiralizasyondan (kullanılan kimyasallar ve uygulama süreleri) da meydana gelebilir.

Klasik giemsa boyama ile karyotipleri birbirinden ayırt edebilmenin zor olduğu, buna karşın gümüş boyama ile karşılaştırma yapmayı mümkün kılan NOR'ların mükemmel birer sitolojik marker olduğu bildirilmiştir (Galetti ve ark., 1984).

Bu araştırmada Beyler Barajı *C. carpio* populasyonunda genel olarak bir çift homolog ya da homolog olmayan meta-submetasentrik kromozomun kısa kollarında görülen NOR'lar genel fenotipi oluşturmuştur. Bunun yanında akrosentrik kromozomların kısa kollarındaki nokta şeklindeki NOR yapılarına da rastlanmıştır. Daha az tespit edilen büyük submetasentrik, metasentrik kromozomların kolları boyunca farklı büyüklükteki NOR bölgeleri heteromorfik özelliktedir.

Germeçtepe Barajı sazan populasyonunda genel olarak homolog ya da homolog olmayan bir çift submetasentrik kromozomun kısa kollarında bulunan NOR fenotipi hakim özelliktedir. Akrosentrik kromozomun kısa kollarında bulunan ve genellikle bir çift olan NOR'lara da rastlanmıştır. Daha az oranda rastlanan ve bir çift metasentrik kromozomun homologlarının kolları boyunca görülen farklı büyüklükteki NOR bölgeleri de heteromorfiktir.

Metafaz başına iki NOR'un sabit varlığının analiz edilen tüm türlerde gözlenmesine rağmen NOR boyutlarında bazı farklılıklar gözlenmiştir.

Her iki populasyonda görülen büyüklük bakımından heteromorfik NOR bölgeleri, her iki populasyon içinde heteromorfizmin bulunduğu yönündedir. Ayrıca Beyler Barajı'ndaki *C. carpio* populasyonunda tür içi NOR heteromorfizmini oluşturan NOR yapı ve sayılarının Germeçtepe Barajı populasyonuna benzemediği görülmüştür. Dolayısıyla iki populasyon arasında da heteromorfizm mevcuttur.

Pullu sazan türlerinde NOR ile ilgili yapılan çalışmalar incelendiğinde; Sola ve ark. (1986)'nın tetraploid orijinli *C. carpio*'nun biri büyük diğeri küçük submetasentrik kromozomu üzerinde varlığı bildirilen NOR fenotipi Germeçtepe Barajı sazanlarının NOR fenotipine benzerlik göstermektedir. Ayrıca her iki submetasentriğin homolog olduğu durumda da Beyler Barajı *C. carpio* populasyonunun fenotipine uyum sağlamaktadır.

Bu çalışmada elde edilen *C. carpio*'da diploid kromozom takımı başına genel olarak bir çift NOR bölgesinin bulunduğunu gösteren sonuçlar bakımından Zan ve ark. (1986), Mayr ve ark. (1986), Sola ve ark. (1986) tarafından bulunan sonuçlara uygunluk gösterdiği anlaşılmıştır.

Araştırmacıların tespit ettikleri NOR büyüklüğü bakımından, heteromorfik NOR'lara submetasentrik kromozomlar üzerinde rastlanmış olması çalışmamız ile araştırmalar arasında bir paralellik arz etmektedir. Buna göre büyük submetasentrik kromozomun kısa kollarında heteromorfik NOR'lar mevcuttur.

Ancak Beyler Barajı populasyonunda görülen bazı heteromorfik yapılar ve Germeçtepe Barajı populasyonunda görülen metasentrik kromozom üzerindeki heteromorfik bölge iki populasyon ve diğer araştırmalardan büyüklük ve şekil bakımından farklılık göstermiştir.

Rab ve ark. (1989)'un *C. carpio*'nun alt türlerinden *C. carpio heamatopterus* üzerinde yapmış olduğu kromozom çalışmasında orta büyüklükte bir çift submetasentrik kromozomun kısa kollarında NOR taşıdığını bildirmiştir. Çalışmamız bu sonuç ile paralellik göstermektedir.

Rab ve ark. (1989) dişi, erkek ve olgunlaşmamış üç grup üzerinde NOR fenotipleri üzerinde çalışmışlardır. NOR taşıyan kromozom çiftlerini eşeyi belli olmayan grupta tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Populasyonlar arasında kromozom morfolojisindeki farklılıkları önemsiz bulmuşlardır.

Bu araştırmada *L. cephalus*'un Beyler Baraj Gölündeki populasyonunda NOR fenotipi bakımından genel olarak bir çift akrosentrik kromozomun kısa kol uç kısmındaki nokta şeklindeki NOR pozisyonunun yaygın fenotipi oluşturduğu anlaşılmıştır. Bunun yanısıra büyük ya da küçük akrosentrik kromozomlardan sadece bir tanesinin aktif olarak görüldüğü metafaz safhaları da mevcuttur. Daha az rastlanan akrosentrik kromozomun kolları boyunca ve metasentrik kromozomun kollarında görülen NOR fenotipi büyüklük ve pozisyon olarak genel görünüşten farklılık göstermiştir (Şekil 3.17.a, Şekil 3.17.b).

Germeçtepe Barajı *L. cephalus*'un gümüş boyanmış hücreleri genel olarak homolog olmayan bir çift submetasentrik ya da akrosentrik kromozomun kısa kolunda bulunan NOR fenotipini oluşturmuştur. Daha az sıklıkta görülen NOR fenotipi muhtemelen homolog olan bir çift akrosentrik kromozomun kısa kollarında bulunan bölgelerdir.

Genel olarak çok rastlanan NOR fenotipi bakımından Beyler Barajı'na ait kefallerin bir çift akrosentrik kromozomunun kısa kolunda bulunan NOR pozisyonu ile Germeçtepe Barajı'na ait homolog olmayan bir çift submetasentrik ya da akrosentrik kromozomun kısa kolunda bulunan NOR bölgeleri her iki türün genel fenotipini oluşturmasına rağmen farklı kromozomlar üzerinde oluşu her iki populasyonun bir çift NOR bölgesini farklı kromozomlar üstünde göstermesi bakımından farklıdır. Bu yüzden iki tür, NOR silinmesi bakımından, heteromorfik NOR fenotipine sahip olabilir. Ayrıca Beyler Barajı kefal populasyonunda ikinci sıklıkta görülen sadece bir kromozomun aktif olarak görülmesi bunu desteklemektedir.

Beyler Barajı populasyonunda görülen metasentrik kromozom kollarındaki (Şekil 3.17.b) NOR fenotipi Germeçtepe Barajı tatlısu kefallerinde hiç görülmediğinden belirgin bir farkı oluşturmuştur.

Yabancı ve yerli literatürde taramalarında *L. cephalus*'un NOR fenotipi ile ilgili yapılan bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Amemiya ve Gold (1990b)'un Kuzey Amerika *Cyprinid* türleri ($2n = 50$) üzerinde yapmış olduğu çalışmalar göz önüne alındığında; *Leuciscus cephalus* Beyler Barajı populasyonundaki genel NOR fenotipi Kuzey Amerika *Cyprinid*'lerinden *Nacomis asper*, *Nacomis leptocephalus* türlerine akrosentrik bir çift homolog üzerinde NOR taşıması bakımından *Dionda espiscopa*, *Ericymba buccata*, *Hemitremia flammea*, *Hybognathus placitus* türlerine tek akrosentrik kromozom üzerinde NOR taşıması bakımından

benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir. Beyler Barajı kefal türünde rastlanan akrosentrik ve metasentrik kromozomların kol boyunca görülen NOR'lar Amerikan *Cyprinid*'lerinde tanımlanmamıştır.

Araştırma konusu olan Germeçtepe ve Beyler Barajları populasyonlarının göstermiş olduğu NOR fenotipi kendi aralarında ve aynı zamanda *Cyprinidae* familyasıyla heteromorfik farklılıklar göstermiştir. Türkiye ve dünyada geniş bir dağılım gösteren, pek çok türe sahip *Cyprinid* gibi, büyük bir familyada farklılıkların görülmesi doğaldır. Bu farklılıkların ortaya çıkarılması NOR boyama çalışması ile mümkün olabilmektedir.

Modern ıslah çalışmalarında, yetiştirilen hayvanların orijin kontrollerinde ve populasyon genetiği çalışmalarında, popülasyonda daha sağlıklı ve belirgin ayrımın ortaya çıkmasında kromozomal yapının bilinmesi önemlidir. Ayrıca balık kromozomlarının incelenmesi ile genetik, sitotaksonomi ve çevre kirlenmesi gibi pek çok alanda birçok meseleye ışık tutacak bilgiler elde edilecektir.

Bu türlerin genetik potansiyelleri ve sistematik durumlarının belirlenmesi ülkemizde ve yörede ileride yapılacak melezleme ve ekonomik balık üretimi çalışmalarında kullanılabilecek alt yapının oluşturulmasına imkan sağlayacaktır.

Bu çalışma sonuçları ülkemizde henüz yapılmamış olan Türkiye *Cyprinid*'lerinin ve diğer balık familyalarının NOR fenotipine göre sistematik, taksonomik ve akrabalık ilişkilerinin belirlenmesi için yapılacak çalışmalara ışık tutacaktır.

KAYNAKLAR

- Al-Sabti, K. 1986a, Chromosomal Studies of *Cyprinid* Fishes, **Cytobios**, 47, 19-25.
- Al-Sabti, K., 1986b, Karyotypes of *Cyprinus carpio* and *Leuciscus cephalus*, **Cytobios**, 47, 19-25.
- Al-Sabti, K., 1990, Spontaneous Triploidy and Tetraploidy in the Common Carp (*Cyprinus carpio* L.) **Vet. Arch.**, 53, 217-223.
- Altındağ, A., 1995, Akşehir (Konya) Gölündeki Tatlısu Kefali (*Leuciscus cephalus* L.1758)'nin Biyolojisi, A.Ü. Fen. Bil. Enst. (Yayımlanmamış Doktora Tezi), Ankara.
- Amemiya, C.T. and Gold, J.R., 1986, Chromomycin A₃ stains nucleolus organizer regions of fish chromosomes, **Copeia**, 226-231.
- Amemiya, C.T. and Gold, J.R., 1988, Chromosomal NOR s. As taxonomic and systematic characters in North American *Cyprinid* fishes, **Genetica**, 76, 81-90.
- Amemiya, C.T. and Gold, J.R., 1990a, Cytogenetic studies in North American minnows (*Cyprinidae*), **Hereditas**, 112, 231-247.
- Amemiya, C.T. and Gold, J.R., 1990b, Chromosomal NOR phenotypes of seven species of North American *Cyprinidae*, with comments on cytosystematic relationships of the genus *Pteronotropsis*, **Copeia**, 1990, 68-78.
- Amemiya, C.T., Bickham, J.W. and Gold, J.R., 1984, A cell culture procedure for chromosome preparation in *Cyprinid* fishes, **Copeia**, 232-235.

- Anjum, R. and Jankun, M., 1994, Spontaneous triploid common carp *Cyprinus carpio* (L. 1758) in a farm population, **Cytobios**, 78, 314, 153-157.
- Arcement, R.J., and Rachlin, J.W., 1976, A study of the karyotype of a population of banded killifish (*Fundulus diaphanus*) from the Hudson River, **J. Fish., Biol.**, 8, 119-125.
- Berberovic, Lj., 1980, Karyologic properties and natural hybridization of *Cyprinid* fishes, **Ichthyologia**, 12, 1-8.
- Berberovic, Lj. and Sofradzija, A., 1972, Pregled podataka chromosomkim garniturama slatkovonih riba, Jugoslavie, **Ichthyologia**, 4, 1-21.
- Bickham, J.W. and Rogers, D.S., 1985, Structure and variation of the nucleolus organizer regions in turtles, **Genetica**, 67, 171-184.
- Blaxhall, P.C., 1983, Lymphocyte culture for chromosome preparation. **Journal of Fish Biology**, 22, 279-282.
- Canlı, M., 1996, *Cyprinus carpio*'nun dokularında civa, krom ve nikel'in glikojen stokları ve protein düzeyleri üzerine etkileri, **Tr. J. of Zoology**, 20, 161-168.
- Chen, T.R., 1971, A comparative study of twenty killifish species of the genus *Fundulus* (Teleostei: *Cyprinodontidae*), **Chromosoma**, 32, 436-453.
- Crooijmans, R.P.M.A., 1997, Microsatellite markers in common carp (*Cyprinus carpio* L.), **Animal Genetics**, 28, 129-134.
- Cucchi, C., and Baruffaldi, A., 1990, A New Method for Karyological Studies in Teleost Fishes, **Journal of Fish Biology**, 37, 71-75.

- Çetinkaya, O., 1992, Akşehir Gölü Sazan Populasyonu *Cyprinus carpio* (L. 1758) Üzerine Araştırmalar. I. Büyüme, Boy-Ağırlık İlişkisi ve Kondisyon, **Doğa Türk Zooloji Dergisi**, 16, 1, 30-42
- Das, N. and Das, R.C., 1988, An improved method for obtaining well spread mitotic metaphase chromosomes in the karyotype studies of fishes, **Veterinarski Arhiv**, 58, 175-179.
- Demirsoy, A. 1996, Genel ve Türkiye Zoocoğrafyası (Hayvan Coğrafyası), Meteksan A.Ş., 630 s., Ankara.
- Denton, T.E., 1973, Fish chromosome methodology, springfield Illinois, Charle C., Thomas Publ.
- Dev, V.G. and Tantaravahi, R., 1982, Tecniques for chromosome analysis. In Tecniques in Somatic Cell Genetics, 493-511.
- Elçi, S., 1982, Stiogenetikte Gözlemler, Fırat Üniv. Fen-Ed. Fak. Yayınları, Biyoloji:3, Malatya.
- Erdem, Ü., 1994, Beyşehir Gölündeki Sazan *Cyprinus carpio* (L. 1758)'ın Büyüme Oranları, Boy-Ağırlık İlişkisi, Kondüsyon Katsayısı ve Üreme Yaşı Üzerine Araştırmalar, **Doğa**, 8, 1, 1994.
- Fisher, P. and Rachlin, J.W., 1972, Karyotypic analiysis of 2 sympatric species of fishes, *Fundulus heteroclitus* L. and *F. majalis*, **J. Fish Biol.**, 4, 67-71.
- Flajshans M., Rab P. and Dobosz S., 1992, Frequency anayses of active NORs in nuclei of artificially induced triploid fishes, **Theor. Appl. Genet.**, 85, 68-72.
- Galetti, P.M. Foresti, F., Bertollo, L.A.C. and Moreira, F.O., 1984, Characterization of eight species of Anostomidae

(Cypriniformes) fish on the basis of the nucleolar organizer region, **Caryologia**, 37, 401-406.

Geliday, R. ve Balık, S., 1972, Pınarbaşı Kaynak Sularında Yaşayan Tatlısu Kefalinin *Leuciscus cephalus* (L. 1758) Biyolojisi Üzerine Araştırmalar, E.Ü. Fen Fak. İlmi Raporlar serisi, Rapor No: 139.

Geldiay, R. ve Balık, S., 1988, Türkiye Tatlısu Balıkları, Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Kitapları Serisi, No: 97, E.Ü. Basımevi, 180s, Bornova-İzmir.

Gold J.R., Shipley, N.S. and Powers, P.K., 1990, Improved methods for working with fish chromosomes with a review of metaphase chromosome banding, **Journal of Fish Biology**, 37, 563-75.

Gold, J.R., Karel, W.J. and Strand, M.R., 1980, Chromosomal formula of North American Fishes, Prog. **Fish-Cult.**, 42, 10-23.

Gold, J.R., 1984, Silver-staining and heteromorphism of chromosomal nucleolus organizer regions in North American *Cyprinid* fishes, **Copeia**, 1, 133-139.

Gold, J.R. and Amemiya, C.T., 1986, Cytogenetic studies in North American minnows (*Cyprinidae*). XII. Patterns of chromosomal NOR variation among fourteen species, **Can. J. Zool.**, 64, 1869-1877.

Gold, J.R., Zoch, P.K. and Amemiya, C.T., 1988, Cytogenetic studies in North American Minnows (*Cyprinidae*), XIV Chromosomal NOR phenotypes of eight species from the genus *Notropis*, **Cytobios**, 54, 137-147.

- Goodpasture, C., and Bloom, S.E., 1975, Visualization of nucleolar organizer regions in mammalian chromosomes using silver staining, **Chromosoma**, 53, 37-50.
- Guinand, S., Bouvet. Y. and Brohon, B., 1996, Spatial aspects of genetic differentiation of the European chub in the Rhone River Basin, **J. Fish Biol.**, 49, no.4, 714-726.
- Gül, A., 1994, Kapulukaya Baraj Gölü'nde Yaşayan *Stizastedion lucioperca* L. 1758 ve *Leuciscus cephalus* L. 1758'un Biyo-Ekolojileri Üzerine Bir Araştırma (Yayımlanmamış Doktora Tezi), Gazi Üniv. Fen Bil. Enst. 219 s., Ankara.
- Hafez R., Labat R. and Quillier R., 1978, Etude cytogenetique chez quelques especes de cyprinides de la Region Midi-Pyrenees, **Bull. Soc. Hist. Nat., Toulouse**, 114, 85-92.
- Hartley, S.E., 1988, Cytogenetic techniques in fish genetics, **J. Fish Biol**, 26, 575-582.
- Hartley, S.E. and Horne, M.T., 1983, A method for obtaining mitotic figures from blood leucocyte cultures of rainbow trout, *Salmo gairdneri*, **Journal of Fish Biology** 22, 77-82.
- Hartley, S.E. and Horne, M.T., 1985, Cytogenetic techniques in fish genetics, **J. Fish Biol.**, 26, 575-582.
- Hitoshi, I., Makoto, M., Shin-ichi F. and Kazuo, F., 1978, Preparation of fish chromosomes by invitro colchicine treatment. **Japanese Journal et Ichthyology**, 24 (4), 281-284.
- Howell W., M. and Black D., A., 1980, Controlled silver-staining of nucleolus organizer regions with a protective colloidal developer: a-1-step method. **Experientia**, 36:1014-1015.

- Howell, W.M., Denton, T.E. and Diamond J.R., 1975, Differential staining of the satellite regions of human acrocentric chromosomes, **Experientia**, 31, 260-262.
- Karabatak, M., 1995, Kastamonu Bölgesinin Balıkçılık Fizibilite Etüd Raporu, Kastamonu.
- Karahan, B., 1991, Radyasyonla Alınan Bakır'ın (Cu) Sazanların *Cyprinus carpio* (L. 1758) Dokularında Birikimi, Büyüme ve Üreme Özelliklerine Etkisi Üzerine Bir Araştırma (Yayımlanmamış Doktora Tezi,), **Ankara Üniv. Fen Bil. Enst.**, Ankara.
- Karataş, M., 1995, Almus Baraj Gölü'nde yaşayan tatlı su Kefali *Leuciscus cephalus* (L. 1758) ve bıyıklı balığın (*Barbus plebejus* (Banaparte, 1832)) üreme özellikleri ile et verimlerinin araştırılması (Yayımlanmamış Doktora Tezi), **Atatürk Üniv. Fen Bil. Enst.** Zootečni ABD, s.127, Erzurum.
- Karol, S., Suludere, Z. ve Ayvalı, C., 1998, Biyoloji Terimleri Sözlüğü, Atatürk Kültür, Dil ve Tarih Yüksek Kurumu, **Türk Dil Kurumu Yayınları**, s.699, 1067, Ankara.
- Kligerman, A.D. and Bloom, S.E., 1977, Rapid chromosome preparation from solid tissues of fishes, **Journal of the Fisheries Research Board of Canada**, 34, 266-269.
- Klinkhardt, M.B., 1991, A brief comparison of methods for preparing fish chromosomes an overview, **Cytobios**, 67, 193-208.
- Kirpichnikov, V.S., 1973, On karyotype evolution in *Cyclostomata* and *Pisces*, **Ichthyologia**, 5, 55-77.
- Kuru, M., 1980, Türkiye Tatlısu Balıkları Kataloğu, Büro Zelal Matbaası, 73s., Ankara.

- Kuru, M., 1994, Omurgalı hayvanlar, Gazi Üniversitesi Yayın No:1865, Gazi Eğitim Fakültesi Yayın No:22, **Gazi Üniversitesi İletişim Matbaası**, s.841, Ankara.
- Legrande, W.H., 1990, bibliography and checklist of karyotypic studies on fishes, Computerized fish chromosome database.
- Legrande, W.H., 1981, Chromosomal evolution in North American catfishes (*Siluriformes:Ictaluridae*) with particular emphasis on the madtoms, *Noturus*, **Copeia**, 33-52.
- Levan, A., Fredgy, K., Sandberg, A., 1964, Nomenclature for centromeric position on chromosomes, **Hereditas**, 52, 201.
- Lüleci, G., 1994, Sitogenetikte uygulama yöntemleri, Meteksen A.Ş. s.53, Ankara.
- Makino, S., 1939, The chromosomes of carp, *Cyprinus carpio*, including these of some related species of *Cyprinidae* for comparison, **Cytologia**, 9, 430-40.
- Manaresi, S., Mantovoni, B. and Zaccanti, F., 1997, Comparison of isozymic and muscle protein in three taxa of *Leuciscus* from Northern Italy, **Ital. J. Zool.** 64, no.3, 215-220.
- Maneresi, S. and Mantovoni, B., 1997 Fish description of tuso genetic loci in *Leuciscus cephalus* (*Cyprinidae*) from Italy, **Zool. Sci.**, 14, no.3, 415-418.
- Marian, T. and Krasznai, Z., 1978, Zytologische untersuchung beider familie *Cyprinidae*, **Biol. Z.**, 97, 205-14.
- Mayr B., Rab P., Kalat M., 1986, NORs and counterstain-enhanced fluorescence studies in *Cyprinidae* of different ploid level, **Genetica**, 69, 111-118.

- Mayr, B., Kalat, M., Rab. P. and Lambrou, M., 1987, Band karyotypes and sepicific types of heterochromatin in several species of European percid fishes (*Percidae, Pisces*), **Genetica**, 75, 199-205.
- Moreira-Filho, O., Bertello, L.A.C. and Galetti, P.M. 1984, Structure and variability of nucleolar organizer regiens in *Paradontidae* fish, **Can. J. Genet. Cytol.**, 26, 564-568.
- Ohno, S., Muramoto J., Christian L. and Akin, N., 1967, Diploid-tetraploid relationship among old world members of the fish family *Cyprinidae*, **Chromosoma**, 23, 1-9.
- Ojima, Y., 1982, Methods in fish cytogenetics, **The Nucleus**, 25, 1-7.
- Ojima, Y., Hayashi, M. and Ueno K., 1972, Cytogenetic studies in lower vertebrates, X. karyotype and DNA studies in 15 species of Japanese *Cyprinidae*, **Jap. J. Genet.**, 47, 431-40.
- Phillips, R.B., Zajicek, K.D., Ihssen, P.E., Johson, O., 1986, Application of silver staining to the iden tification of triploid fish cells, **Aquaculture**, 54, 313-319.
- Platon, D., Menager, M., Jeannesson, P. et al., 1986, Improvement in the staining and in the visualization of the argrophilic proteins of the nucleolar organizer region at the optical level, **Histochem. J.**, 18, 5-14.
- Rab, P., Pokorny J. and Roth. P., 1989, Chromosome studies of Common Carp, *Cyprinus carpio*, I. karyotype of Amurain carp, *C. carpio haematopterus*, **Caryologia**, Vol. 42, n:1, 27-36.
- Rachlin, J.W., Beck, A. and O'conner, J.M., 1978, Karyotypic analysis of the Hudson River Striped bass. *Morone saxatilis*, **Copeia**, 343-345.

- Raicu P., Taisescu E. and Cristion A., 1972, Diploid chromosome complement of the carp. **Cytologia**, 37, 355-358.
- Reddy, P.V.G.K. and John, G., 1986, A method to increase mitotic metaphase spreads and permanent chromosome preparation for karyotype studies in fishes, **Aquacul. Hung.**, 5, 31-36.
- Rivlin, K., Rachlin, J.W. and Dale, G., 1985, A simple method for the preparation of fish chromosomes applicable to field work, teaching and banding, **Journal of Fish Biology**, 26, 267-272.
- Saylar, Ö., 1995, Kastamonu Karaçomak Baraj Gölü'ndeki *Cyprinus carpio* (Linnaeus, 1758)'da Çeşitli metodlarla yaş tayini, **Kastamonu Eğitim Dergisi**, 2, 57-66.
- Schmid, M., 1982, Chromosome banding in Amphibia. II. constitutive heterochromatin and nucleolus organizer regions in *Ranidae*, *Microhylidae* and *Rhacophoridae*, **Chromosoma**, 68, 131-148.
- Sola L., Arcangeli R., Cataudella S., 1986, Nucleolus organizer chromosomes in a teleostean species of tetraploid origin, *Cyprinus carpio*, **Cytogenet. Cell Genet.**, 42, 183-86.
- Thode, G., Martinez, G., Ruiz, J.L, and lopez, J.R., 1988, A complex chromosomal polymorphism in *Gabius fallax* (*Gabiidae*, *Perciformes*), **Genetica**, 76, 65-71.
- Tokur, S., Zeybek, N. ve Kesercioğlu, T., 1988, Bitki tayininde sitotaksonominin önemi, **Anadolu Üniv., Fen-Edebiyat Fakültesi**, Cilt: 1, Sayı: 1, 17-23.
- Thompson, K.W., 1979, Cytotaxonomy of 41 species of neotropical *Cichlidae*, **Copeia**, 679-691.

- Uyeno, T. and Miller, R.R., 1973, Chromosomes and the evaluation of the plagiopeterin fishes (*Cyprinidae*) of the Colorado River system, **Copeia**, 776-782.
- Uyeno, T., Miller, R.R. and Fitzsimmons, J.M. 1983, Karyology of the *Cyprinodontoid* fishes of the Mexican family *Goodeidae*, **Copeia**, 497-510.
- Wiberg, U.H., 1984, Sex determination in the European eel *Anguilla anguilla* (L. 1758): a hypothesis based on cytogenetic results, correlated with findings of skewed sex ratios in cell culture ponds, **Cytogenet. Cell Genet.**, 36, 589-598.
- Yakar, N., 1987, Sitoloji, **İstanbul Üniv. Fen Fakültesi Yayınları**, İstanbul.
- Yerli S. ve Zengin M., 1998, Çıldır Gölü (Ardahan Kars)'ndeki *Cyprinus carpio* (Linnaeus, 1758)'nın üremesi üzerine bir araştırma, **Tr. J. of Veterinary and Animal Sciences**. 22, 309-313.
- Yılmaz, M., 1994, Kapulukaya Baraj Gölü'nde yaşayan sazan *Cyprinus carpio* (L. 1758) ve İnci Balığı (*Capoeta tinca* (Heckel, 1843))'nın biyo-ekolojik özellikleri, (Yayımlanmamış Doktora Tezi), **Gazi Üniv. Fen Bil. Enst.** s.290, Ankara.
- Zan R., Song Z. and Liu W. 1986, Studies on karyotypes and nuclear DNA contents of some *Cyprinid* fishes, with notes on fish polyploids in China, Proc 2nd int. Conf. Indo-Pacific Fishes, Tokyo, **Ichthyol. Soc.**, 877-885.

ÖZGEÇMİŞ

1968 yılında Ankara ili Ayaş ilçesinde doğdu. İlk, orta ve liseyi burada tamamladı. Ankara Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümünden 1989 yılında mezun oldu. 1993 yılında Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsünde yüksek lisansını tamamladı. Aynı yıl Gazi Üniversitesi, Kastamonu Eğitim Fakültesi, Fen Bilimleri Eğitimi Bölümüne araştırma görevlisi olarak atandı. Halen Gazi Üniversitesi, Kastamonu Eğitim Fakültesi, İlköğretim Bölümü, Fen Bilgisi Öğretmenliği Programında araştırma görevlisi olarak görev yapmaktadır. Evlidir.