



T. C.

ORDU ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BAZI DENİZ BALIĞI TÜRLERİNDE ÖLÜM SONRASI
(POSTMORTEM) DÖNEMDE *in vitro* SİTOTAKSONOMİK
İNCELEMELER**

MURAT GÜNDOĞAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**BALIKÇILIK TEKNOLOJİSİ MÜHENDİSLİĞİ
ANABİLİM DALI**

ORDU 2024

TEZ BİLDİRİMİ

Tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan ve kullanılan intihal tespit programının sonuçlarına göre; bu tezin yazılmasında bilimsel ahlak kurallarına uyulduğunu, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunulduğunu, tezin içerdiği yenilik ve sonuçların başka bir yerden alınmadığını, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, tezin herhangi bir kısmının bu üniversite veya başka bir üniversitedeki başka bir tez çalışması olarak sunulmadığını beyan ederim.

MURAT GÜNDOĞAN

Bu çalışma Ordu Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğünün AR-2304 ve TÜBİTAK 123Z621 numaralı projeler ile desteklenmiştir.

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

ÖZET

BAZI DENİZ BALIĞI TÜRLERİNDE ÖLÜM SONRASI (POSTMORTEM) DÖNEMDE *in vitro* SİTOTAKSONOMİK İNCELEMELER

MURAT GÜNDOĞAN

ORDU ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BALIKÇILIK TEKNOLOJİSİ MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ, 101 SAYFA

(TEZ DANIŞMANI: DR. ÖĞRETİM ÜYESİ SERKAN SAYGUN)

Bu çalışmada kromozom çalışmalarında deniz balıklarında kısa süreli kültür yöntemi (PB-MAX™ uygulaması) ile 20 Şubat – 15 Kasım 2023 tarihleri arasında Ordu ilinin Fatsa İlçesi kıyılarından Karadeniz’de yaşayan dört farklı familyadan dört farklı türün kromozom sayıları ve karyotipi başarılı bir şekilde belirlenmiştir.

Her tür için farklı bir süre kültür inkübasyon süresi olmakla birlikte balık numunelerinin böbrek dokuları PB-MAX™’te iki buçuk ile dört saat arasında muamele edildikten sonra, klasik olarak doksan dakika mitotik inhibitör, sonrasında toplamda üç buçuk saat hipotonik ve fiksasyon işlemleri arka arakaya uygulandı. Hücre süspansiyonunun buhara tabi tutulmuş temiz lamlara damlatılmasıyla yayma yapıldı ve sırasıyla preparatlara Giemsa boyama, C-bantlama ve Ag-NOR bantlama yapıldı.

Yapılan değerlendirmelere göre balık türlerine göre diploid kromozom sayıları, karyotipleri, kol sayıları (NF) sırasıyla; Barbun balığı, *Mullus barbatus*’un $2n=44$, 3 çift metasentrik, 7 çift submetasentrik, 7 çift subtelosentrik ve 5 çiftte akrosentrik kromozomdan oluştuğu (NF=64); Kaya balığı, *Neogobius melanostomus* $2n=46$, 23 çift akrosentrik kromozomdan oluştuğu (NF=46); İstavrit balığının, *Trachurus mediterraneus*, $2n=48$, 3 çift metasentrik, 8 çift submetasentrik, 9 çift subtelosentrik ve 4 çift adet akrosentrik kromozoma sahip oldukları (NF=70); İskorpit balığının, *Scorpaena porcus*, $2n=42$; 2 çift metasentrik, 2 çift submetasentrik, 5 çift subtelosentrik ve 12 çift akrosentrik (NF= 50) meydana geldiği tespit edilmiştir. Dört tür için konstitütif heterokromatin bantlama ve gümüş nitrat boyamalardan da C ve NOR pozitif sonuçlar elde edilmiştir. Araştırmanın ana hipotezi olan kısa süreli kültürün sitogenetik çalışmalar için uygulanabilirliğinin kanıtlanması ise bundan sonraki çalışmalara öncülük edecek ve ülkemiz denizlerinde bulunan balıklar üzerinde kromozom araştırmalarının daha kısa sürede ve daha pratik bir şekilde yapılabilmesinin önü açılmış olacaktır. C- ve NOR gibi en temel bantlamaların yanı sıra Türkiye’de henüz hayvan sitogenetiğinde yapılamayan/yapılmayan FISH (mFISH, dFISH), GISH vb. gibi moleküler sitogenetikte rutinleşen flüoresans boyama tekniklerin uygulanabileceği kaliteli metafazların da elde edilebileceği kanıtlanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Deniz balıkları, *Mullus barbatus*, *Neogobius melanostomus*, *Trachurus mediterraneus*, *Scorpaena porcus*, Kromozom, Sitogenetik, Karyotip, Kısa süreli kültür.

ABSTRACT

In vitro CYTOTAXONOMIC EXAMINATIONS IN THE POSTMORTEM PERIOD IN SOME MARINE FISH SPECIES

MURAT GÜNDOĞAN

ORDU UNIVERSITY INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

FISHERIES TECHNOLOGY ENGINEERING

MASTER THESIS, 101 PAGES

(SUPERVISOR: ASSIST. PROF. SERKAN SAYGUN)

In this study, chromosome numbers and karyotypes of four different species from four other families living in the Black Sea on the coast of Fatsa District of Ordu province were successfully determined with the short-term culture method (PB-MAX™ application) in marine fishes between 20 February and 15 November 2023.

Although the culture incubation period is different for each species, the kidney tissues of the fish samples were treated in PB-MAX™ between two and a half hours and four hours, then mitotic inhibitor was classically applied for ninety minutes. Afterward, hypotonic and fixation procedures were applied consecutively for three and a half hours in total. Spreading was done by dropping cell suspension onto clean slides which were steamed and Giemsa staining, C-banding, and Ag-NOR banding were applied to the preparations, respectively.

According to the evaluations, diploid chromosome numbers, karyotypes, and arm numbers according to fish species, respectively (NF); It has been determined that in Red Mullet, *Mullus barbatus*, consists of $2n = 44$, 3 pairs of metacentric, 7 pairs of submetacentric, 7 pairs of subtelocentric and 5 pairs of acrocentric chromosomes (NF = 64); Round Goby, *Neogobius melanostomus* $2n=46$, consisting of 46 pairs of acrocentric chromosomes (NF=46); Horse mackerel, *Trachurus mediterraneus*, $2n=48$, has 3 pairs of metacentric, 8 pairs of submetacentric, 9 pairs of subtelocentric and 4 pairs of acrocentric chromosomes (NF=70); Scorpionfish, *Scorpaena porcus*, $2n=42$; 2 pairs of metacentric chromosomes, 2 pairs of submetacentric chromosomes, 5 pairs of subtelocentric chromosomes and 12 pairs of acrocentric (NF = 50). C and NOR positive results were also obtained from constitutive heterochromatin banding and silver nitrate staining for four species. Proving the applicability of short-term culture for cytogenetic studies, which is the main hypothesis of the research, will lead to future studies and pave the way for chromosome research on fish in our country's seas to be carried out in a shorter time and more practical way. In addition to the most basic banding such as C- and NOR, FISH (mFISH, dFISH), GISH, etc., which cannot yet be performed in animal cytogenetics in Turkey. It has been proven that high-quality metaphases can be obtained by applying fluorescence staining techniques, which have become routine in molecular cytogenetics.

Key Words: Marine fishes, *Mullus barbatus*, *Neogobius melanostomus*, *Trachurus mediterraneus*, *Scorpaena porcus*, Chromosome, Cytogenetics, Karyotype, Short-term culture.

TEŐEKKÖR

Tez konunun belirlenmesi, çalıőmanın yűrűtűlmesi ve yazımı esnasında maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen danıőman hocam Sayın Dr. Őđretim Ŭyesi Serkan SAYGUN'a ve tezin arazi çalıőmaları esnasında balık űrneklemelerinde yardımcı olan Fatsalı balıkçılardan Sayın Yavuz TEPE'ye, Tefik ÇELEBİ'ye, Yusuf GŬVEN'e, Telat BABİLOđLU'na ve Eftal MUTLU'ya teőekkűr ederim.

Aynı zamanda, manevi desteklerini her an űzerimde hissettiđim babam ve anneme teőekkűrű bir borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
TEZ BİLDİRİMİ	I
ÖZET	II
ABSTRACT	III
TEŞEKKÜR	IV
İÇİNDEKİLER	V
ŞEKİL LİSTESİ	VII
ÇİZELGE LİSTESİ	XI
SİMGELER ve KISALTMALAR LİSTESİ	XII
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1 Kromozomların Keşfi ve Sitogenetiğin Gelişimi.....	3
2.2 Sitogenetiğin Konusu: Önemli Hücre Organelleri.....	10
2.2.1 Çekirdek – Nükleus.....	10
2.2.1.1 Çekirdek Zarı (Nuclear Envelop).....	13
2.2.1.2 Çekirdek Zarı Gözenek Kompleksi (Nuclear Pore Complex)	14
2.2.2 Kromatin	15
2.2.2.1 DNA ve Histonlar.....	15
2.2.2.2 Heterokromatin ve Ökromatin	17
2.2.2.3 Çekirdek Organizasyonu-Düzeni	19
2.2.3 Nükleolus – Çekirdekçik.....	22
2.2.3.1 Nükleolus Bölgeleri.....	23
2.2.3.2 Ribozomal RNA	25
2.2.3.3 Ribozomal Alt Birimlerin Birleştirilmesi.....	27
2.2.4 Kromozom	29
2.2.4.1 Nükleozomlar (10 nm)	30
2.2.4.2 Fibriller (30 nm)	31
2.2.4.3 Kromozomlar	32
2.2.4.4 Yoğunlaşan Kromozomlar (Kromatinin Paketlenmesi).....	36
2.3 Önceki Çalışmalar.....	38
3. MATERYAL ve YÖNTEM	45
3.1 Materyal	45
3.2 Yöntem.....	45
3.2.1 Kimyasalların Hazırlanması.....	46
3.2.2 Dokuların Çıkarılması ve Kısa Süreli Kültür.....	48
3.2.3 Lam Preparasyonu.....	49
3.2.4 Boyama ve Bantlamalar	52
3.2.4.1 C – bantlama.....	53
3.2.4.2 Gümüş Nitrat (AgNO ₃) Boyama (NOR Bantlama).....	53
3.2.5 Kromozom Tespiti, Sayımı ve Sınıflandırması.....	54
4. BULGULAR	56
4.1 Taksonomik Bulgular.....	56
4.2 Kısa Süreli Kültür Sonuçları	58
4.3 Türlere Göre Sitotaksonomik Bulgular	59
4.3.1 Barbun Balığı – <i>Mullus barbatus</i> (Syngnathiformes, Mullidae)	59

4.3.2 Kaya Balığı – <i>Neogobius melanostomus</i> (Gobiiformes, Gobiidae).....	63
4.3.3 İstavrit Balığı – <i>Trachurus mediterraneus</i> (Carangiformes, Carangidae)	67
4.3.4 İskorpit Balığı – <i>Scorpaena porcus</i> (Perciformes, Scorpaenidae).....	72
4.4 Boyama ve Bantlama Sonuçları	76
4.4.1 Barbun Balığı – <i>Mullus barbatus</i> (Syngnathiformes, Mullidae)	77
4.4.2 Kaya Balığı – <i>Neogobius melanostomus</i>	79
4.4.3 İstavrit Balığı - <i>Trachurus mediterraneus</i>	81
4.4.4 İskorpit balığı – <i>Scorpaena porcus</i>	83
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	85
5.1 <i>in vitro</i> Hücre Kültürü	85
5.2 Türlerin Sitotaksonomisi.....	85
5.2.1 <i>Mullus barbatus</i>	85
5.2.2 <i>Neogobius melanostomus</i>	87
5.2.3 <i>Trachurus mediterraneus</i>	90
5.2.4 <i>Scorpaena porcus</i>	92
6. KAYNAKLAR	94
ÖZGEÇMİŞ	103

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

- Şekil 2.1** Ökaryotik (hayvan ve bitki) ve prokaryotik (bakteri) hücrelerin yapıları (Anonim, 2024a) 3
- Şekil 2.2** Mitoz hücre bölünme safhaları (Anonim, 2024b) 4
- Şekil 2.3** Lamba fırçası kromozomu, Hertwig (1906)'dan (Anonim, 2022) 4
- Şekil 2.4** Bir sivrisineğe ait politen kromozomu; sağda Flemming, (1882)'den (Anonim, 2023a) 5
- Şekil 2.5** Mayoz bölünme safhaları (Anonim, 2024b)..... 6
- Şekil 2.6** Farklı çekirdek şekilleri. **A.** İnsan safra kesesinden alınan, yuvarlak ve uzun çekirdeklere sahip epitel hücreleri. **B.** Böbrek şeklinde çekirdeği gösteren kan preparatındaki monosit. **C.** Çok loblu çekirdek içeren kan preparatındaki nötrofiller. **D.** Hepsi çevreye doğru konumlanmış, çok sayıda çekirdeğe sahip bir iskelet kası lifinin uzunlamasına görünümü (oklar) (Megías ve ark., 2023a)..... 11
- Şekil 2.7** Bir bireyin neredeyse tüm çekirdekleri aynı miktarda DNA içermesine rağmen çekirdeğin boyutu ve şekli hücre tipine bağlıdır. Bu resimde nöronlar ve glial hücreler gösterilmektedir. Nöronların çekirdekleri daha gevşek düzenlenmiş kromatin içerirken, glia çekirdekleri yüksek oranda yoğunlaştırılmış kromatin içerir ve bu nedenle boyut çok daha küçüktür (Megías ve ark., 2023a)..... 12
- Şekil 2.8** Çekirdeğin yapısı (Megías ve ark., 2023a)..... 13
- Şekil 2.9** A) Çekirdek zarının B) Kompleks çekirdek gözeneklerinin elektron mikroskobu görüntüsü (Megías ve ark., 2023b; 2023c)..... 14
- Şekil 2.10** DNA'nın moleküler organizasyonu (Megías ve ark., 2023d)..... 16
- Şekil 2.11** Kromozom ve DNA anatomisi: Metafaz kromozomu, nükleozom ve kromatin (Anonim, 2024c)..... 17
- Şekil 2.12** Transmisyon elektron mikroskobu. Bir balık omuriliğinin ependimal hücrelerinin çekirdekleri (N). Siyah yıldız işaretleri, gevşek bir şekilde düzenlenmiş ve daha net olan ökromatini gösterir. Beyaz yıldız işaretleri, daha yoğun ve daha koyu olan heterokromatini gösterir (Megías ve ark., 2023d)..... 18
- Şekil 2.13** Hematoksilen ile boyanmış bir memeli bağırsağı hücrelerinin ışık mikroskobu görüntüsü. Çekirdekler yuvarlaktır ve yoğun ve zayıf lekeli alanlar gösterir. Yoğun alanlar, daha fazla boyanın bulunduğu heterokromatine karşılık gelirken, daha soluk alanlar, daha az boyanın gözlendiği ökromatine karşılık gelir (Megías ve ark., 2023d) 18
- Şekil 2.14** İnterfaz kromatinin çekirdek organizasyonu (Cavalli ve Misteli, 2013).. 20
- Şekil 2.15** Kromatinin bölmelere ve alanlara hiyerarşik 3 boyutlu katlanmasının şematik özeti. Modelleme ve görüntüleme çalışmaları ile ilgili uzunluk

- ölçeklerinin yanı sıra çekirdek kromatin mimarisini açıklamaya yönelik çeşitli anahtar kelimeler gösterilmektedir (Laghmach ve ark., 2022) 21
- Şekil 2.16** Bir dere dokuzgözlüsünün (*Lampetra* sp.) arkabeyin (rhombencephalon) motornöronları. Nükleolus, nükleoplazmada koyu bir nokta (oklar) olarak gözlenmektedir (Megías ve ark., 2023e) 23
- Şekil 2.17** Fibril merkezi, rRNA öncü-45S genlerin ifade edildiği yerdir. Yoğun fibriler bileşen, öncü rRNA 45S'nin bulunduğu ve işlendiği yerdir. Granüler bileşen, öncü-45S rRNA'nın işlenmesinden kaynaklanan ribozomal proteinlerin ve rRNA'ların, ribozomal alt birimler halinde birleştirildiği yerdir (Megías ve ark., 2023e) 24
- Şekil 2.18** Nükleolus bölgeleri. Üst kısımda 5 insan kromozomunun NOR bölgeleri gösterilmektedir. 28S, 18S ve 5.8S rRNA'lar, 45S rRNA işlenmesinden sonra ortaya çıkar. 5S rRNA çekirdeğin diğer bölgesinden gelir (Megías ve ark., 2023e) 25
- Şekil 2.19** Ökaryotik rDNA'ya (rDNA lokuslarının genomik organizasyonu) ilişkin kısa kılavuz. (a) 45S rDNA gen kümesinin (5'-3' ünitesi) (veya rRNA transkripsiyon ünitesinin) yapısal organizasyonu; tekrarlayan veya tek rDNA kümeleri genom boyunca dağılmış olarak bulunabilir; ribonükleazlar aralayıcıları çıkardığından ve nükleolusta (ribozom biyogenezinden polisom ribozom oluşumuna kadar olan bölge) ayrı rRNA moleküllerini serbest bıraktığından, öncü pre-rRNA'yı oluştururlar; (b) 5S rDNA ünitesinin yapısal organizasyonu (5S rDNA, birçok türün genomunda da dağılmış olabilir); (c) Ana hatlarıyla belirtilen rRNA'lara sahip büyük alt birim (LSU) ve küçük alt birimden (SSU) oluşan 80S ökaryotik ribozom. (Symonová, 2019) 26
- Şekil 2.20** Heterokromatin (beyaz yıldız işaretleri) ve ökromatin (kırmızı yıldız işaretleri) içeren çekirdekleri gösteren elektron mikroskobu görüntüsü (Megías ve ark., 2023f) 30
- Şekil 2.21** Nükleozomlardan kromozomlara kadar kromatinin organizasyon seviyeleri (Megías ve ark., 2023f) 31
- Şekil 2.22** Asya da yaşayan bir cyprinid türüne (*Mystacoleucus chlopterus*) ait metafaz kromozomları: A, mFISH boyalı metafaz plağı; B, Giemsa boyalı metafazdan elde edilen karyotip; C, Ag-NOR boyalı karyotip, oklar NOR bulunan kromozomları göstermektedir; D, mFISH boyalı karyotip yani homolog kromozomlar eşleştirilmiş ve p/q kol boyu oranlarına göre sıralanmış kromozom setini gösterir; kromozomlar üzerindeki kırmızı bölgeler 5S rDNA gen bölgelerini, yeşil boyalı olan bölgeler 18S rDNA bölgelerini göstermektedir (Khensuwan ve ark., 2023) 33
- Şekil 2.23** Işık mikroskobunda görüntülenebilen yapıları gösteren kromozom çizimi. Bir kromozom bu yapıların tamamını göstermeyebilir (Megías ve ark., 2023f) 34
- Şekil 2.24** Kromozomlar sentromer bölgelerine göre isimlendirilir (Megías ve ark., 2023f) 34
- Şekil 2.25** Soldaki görüntü, genellikle sentromerlere yakın konumlanan C bantlarına veya yapısal heterokromatin bölgelerine sahip insan kromozomlarını

göstermektedir. Sağdaki resimde, kinetokorlar sentromerlerin etrafında toplanır ve birçok mitotik iğ mikrotüpü gösterilen bu bölgelere bağlanır. (Megías ve ark., 2023f)	35
Şekil 2.26 Metafaz kromozomları: A) Giemsa ile boyanmış insan kromozomları. B) Bir floresan boya olan akridin turuncusu ile boyanmış insan kromozomları (Megías ve ark., 2023f)	36
Şekil 2.27 Kromozomlar anafaz sırasında yoğunlaşır ve kromatin çekirdekte düzenli bir şekilde dağıtılır çünkü her bir kromozom, kromatinini diğer kromozomların bölgeleriyle fazla örtüşmeyen belirli bir bölgeye yayar (Bolzer ve ark., 2005).....	37
Şekil 3.1 Balık numunelerinin tesadüfi olarak alındığı profesyonel balıkçıların avlandığı bölgeler	45
Şekil 3.2 Çalışmada deniz balıklarında ölüm sonrası (postmortem) <i>in vitro</i> koşullarda kromozom preparasyonu şematik özeti.....	46
Şekil 3.3 Dokuların PB-MAX™ kültür ortamına alınması işlemleri: A) Örneklerin laboratuvara getirilmesi, B – C) Doku numunelerinin çıkarılması, D – F) Dokuların PB-MAX™'li falkon tüplerine aktarılması ve +4°C'de inkübasyonu	49
Şekil 3.4 Laboratuvar çalışmaları: Doku preparasyonu (A, B, C), Kolçisin uygulaması (D, E, F)	50
Şekil 3.5 Hipotonizasyon (A, B, C) ve fiksasyon aşamaları (D, E, F)	51
Şekil 3.6 Doku süspansiyonunun lam üzerine yayma işlemi (A, B), Preparatların Giemsa ile boyaması havada kurutma işlemi (D, E), mikroskopik inceleme (F).....	52
Şekil 4.1 Araştırmada <i>M. barbatus</i> 'ta tespit edilen bazı sitotipler: A) 2n=40, B) 2n=41, C) 2n=42, D) 2n=43, E) 2n=44 (%66), F) 2n=17	60
Şekil 4.2 <i>M. barbatus</i> 'a ait metafaz (A), karyotip (B), bar 5µ'dur	61
Şekil 4.3 <i>M. barbatus</i> 'a ait idiogram	62
Şekil 4.4 <i>M. barbatus</i> 'ta tespit edilen sitotiplerin frekans dağılımları	62
Şekil 4.5 Araştırmada <i>N. melanostomus</i> 'ta tespit edilen bazı sitotipler: A) 2n=42, B) 2n=43, C) 2n=44, D) 2n=45, E) 2n=46 (%65), F) 2n=28.....	64
Şekil 4.6 <i>N. melanostomus</i> 'a ait metafaz (A) ve karyotip (B), bar 5µ'dur	65
Şekil 4.7 <i>N. melanostomus</i> 'a ait metafazdan idiogram.....	66
Şekil 4.8 <i>N. melanostomus</i> 'ta yapılan kromozom sayımlarında belirlenen sitotiplerin frekans dağılımları	66
Şekil 4.9 <i>T. mediterraneus</i> 'ta tespit edilen sitotiplerin frekans dağılımları.....	68
Şekil 4.10 Araştırmada <i>T. mediterraneus</i> 'ta tespit edilen bazı sitotipler: A) 2n=44, B) 2n=45, C) 2n=46, D) 2n=47, E) 2n=48 (%49), F) 2n=17 ait metafaz kromozom sitelerinden bazıları.....	68
Şekil 4.11 <i>T. mediterraneus</i> 'a ait metafaz (A), karyotip (B), bar 5µ'dur	69
Şekil 4.12 <i>T. mediterraneus</i> 'a ait karyotipe göre idiogram	70
Şekil 4.13 <i>S. porcus</i> 'ta tespit edilen sitotiplerin frekans dağılımları	72
Şekil 4.14 Araştırmada <i>S. porcus</i> 'ta tespit edilen sitotipler: A) 2n=31, B) 2n=37, C) 2n=38, D) 2n=40, E) 2n=41, F) 2n=42 (%59).....	73
Şekil 4.15 <i>S. porcus</i> 'a ait metafaz (A) ve karyotip (B), bar 5µ'dur.....	74
Şekil 4.16 <i>S. porcus</i> 'a ait karyotipe göre idiogram.....	75

- Şekil 4.17** *M. barbatus*'ta C+ batlı kromozom bölgeleri A) C-bantlı metafaz, B) C+ pozitif bölgeler (oklar), C) Giemsa boyalı metafaz 77
- Şekil 4.18** *M. barbatus*'ta Ag(NO)₃ boyalı kromozom bölgeleri A) NOR-bantlı metafaz, B) NOR+ pozitif bölgeler (oklar), C) Giemsa boyalı metafaz..... 78
- Şekil 4.19** *N.melanostomus*'ta konstitütif heterokromatin batlı kromozom bölgeleri A) C-bantlı metafaz, B) C+ pozitif bölgeler (oklar), C) Giemsa boyalı metafaz..... 79
- Şekil 4.20** *N. melanostomus*'ta Ag(NO)₃ boyalı kromozom bölgeleri A) NOR-bantlı metafaz, B) NOR+ pozitif bölgeler (oklar), C) Giemsa boyalı metafaz..... 80
- Şekil 4.21** *T. mediterraneus*'ta konstitütif heterokromatin batlı kromozom bölgeleri A) C-bantlı metafaz, B) C+ pozitif bölgeler (oklar), C) Giemsa boyalı metafaz..... 81
- Şekil 4.22** *T. mediterraneus*'ta Ag(NO)₃ boyalı kromozom bölgeleri A) NOR-bantlı metafaz, B) NOR+ pozitif bölgeler (oklar), C) Giemsa boyalı metafaz..... 82
- Şekil 4.23** *S. porcus*'ta konstitütif heterokromatin batlı kromozom bölgeleri A) C-bantlı metafaz, B) C+ pozitif bölgeler (oklar), C) Giemsa boyalı metafaz.. 83
- Şekil 4.24** *S. porcus*'ta Ag(NO)₃ boyalı kromozom bölgeleri A) NOR-bantlı metafaz, B) NOR+ pozitif bölgeler (oklar), C) Giemsa boyalı metafaz..... 84

ÇİZELGE LİSTESİ

Sayfa

Çizelge 3.1 Sentromerik pozisyon ve kol oranlarına göre belirlenen kromozom tipleri (Levan ve ark.,1964; Nirchio ve Oliveira, 2006)	55
Çizelge 3.2 Kromozom kol uzunlukları farkı (d) ve kol oranlarına (r) göre belirlenen kromozom tipleri (Levan ve ark., 1964).	55
Çizelge 4.1 Çalışmada örneklenen barbunya balığı taksonomisi, örneği ve örneklem sayıları (f)	56
Çizelge 4.2 Çalışmada örneklenen kaya balığı taksonomisi, örneği ve örneklem sayıları (f)	57
Çizelge 4.3 Çalışmada örneklenen istavrit balığı taksonomisi, örneği ve örneklem sayıları (f)	57
Çizelge 4.4 Çalışmada örneklenen iskorpit balığı taksonomisi, örneği ve örneklem sayıları (f)	58
Çizelge 4.5 <i>M. barbatus</i> 'a ait sentromerik indeks (i) ve kromozom kol boyu oranları ($r = p/q$), nisbi kromozom uzunlukları ($c = p + q$).....	63
Çizelge 4.6 <i>N. melanostomus</i> 'a ait sentromerik indeks (i) ve kromozom kol boyu oranları ($r = p/q$), nisbi kromozom uzunlukları ($c = p + q$).....	67
Çizelge 4.7 <i>T. mediterraneus</i> 'a ait sentromerik indeks (i) ve kromozom kol boyu oranları ($r = p/q$), nisbi kromozom uzunlukları ($c = p + q$).....	71
Çizelge 4.8 <i>S. porcus</i> 'a ait sentromerik indeks (i) ve kromozom kol boyu oranları ($r = p/q$), nisbi kromozom uzunlukları ($c = p + q$)	76
Çizelge 5.1 Mullidae familyası yapılmış olan sitotaksonomik çalışmaların sonuçları	86
Çizelge 5.2 <i>Neogobius</i> genusunda yapılmış olan sitotaksonomik çalışmaların sonuçları	88
Çizelge 5.3 <i>Trachurus</i> genusunda yapılmış olan sitotaksonomik çalışmaların sonuçları	90
Çizelge 5.4 <i>Scorpaena</i> genusunda yapılmış olan sitotaksonomik çalışmaların sonuçları	92

SİMGELER ve KISALTMALAR LİSTESİ

2×SSC	: 2× Tuzlu Sifat Solüsyonu (Saline-Sodium Citrate)
2n	: Diploid kromozom sayısı
a	: Akrosentrik
A	: Adenin
A	: Anafaz
AgNO₃	: Gümüş Nitrat
ATP	: Adenozin trifosfat
Ba(OH).8H₂O	: Baryum Hidroksit
C+	: C bantlı bölge
C	: Centromeric (Sentromerik boyama)
C	: Sitokinesis
C	: Sitozin
cAMP	: Siklik adenosin monofosfat
d	: Kromozom kol uzunluğu farkı
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
ETS	: Harici kopyalanmış ayırıcı
F	: Örneklem sayısı, frekans
FISH	: Flüoresan <i>in situ</i> hibridizasyon
g	: Gram
G	: Guanin
G1, G2	: Gap 1 ve 2 (İterfaz safhaları)
H	: Histon proteinleri (H1, H2A, H2B, H3, H4)
HCl	: Hidroklorik Asit
ICR	: İntergenik ayırıcı
ITS1 – ITS2	: Dahili kopyalanmış ayırıcı 1 – 2
i	: Sentromerik indeks
KCl	: Potasyum Klorür
KH₂PO₄	: Potasyum Hidroksi Fosfat
C₂₂H₂₅NO₆	: Kolçisin
LSU	: Büyük (ribozomal) alt birim
m	: Metasentrik kromozom
ml	: mililitre
m-sm	: Metasentrik- submetasentrik kromozom
M	: Metafaz
M	: Molar – Molarite
mRNA	: Haberci RNA
µm²	: Mikro metre kare – Mikron kare
n	: Haploid kromozom sayısı
nm	: Nanometre
NaCl	: Sodyum Klorür
Na₂HPO₄.12H₂O	: Sodyum Hidroksi Fosfat
Na₃C₆H₅O₇.2H₂O	: Sodyum Sifat
NF	: Kromozom Kol Sayısı (Number of Fundamental)
NOR	: Nuclear Organizer Regions (Çekirdekçiği Düzenleyen Bölgeler)

nt	: Nükleotit
P	: Profaz
p	: Kısa kromozom kolu
PB-MAX™	: Karyotipleme Hücre Kültürü Ortamı
pH	: Asidite – Alkalinite faktörü
PEV	: Position effect variegation (Konum etkisi varyasyonu)
PM	: Prometafaz
RNA	: Ribo Nükleik Asit
RNA Pol I ve III	: RNA polimeraz I ve III
q	: Uzun kromozom kolu
r	: Kromozom kol oranı
rpm	: Rotor Per Minute (Dakikadaki devir sayısı)
rRNA	: Ribozomal RNA
°C	: Santigrad Derece
S	: Svedberg sabiti – Sedimentasyon katsayısı, 18S, 28S, vb.
S	: Sentez safhası (Hücre bölünmesinde interfaz safhası)
Sm	: Submetasentrik kromozom
sm-st	: Submetasentrik-subtelosentrik kromozom
sp.	: Species
SSU	: Küçük alt birim
st	: Subtelosentrik kromozom
st-a	: Subtelosentrik-akrosentrik kromozom
st-t	: Subtelosentrik-telosentrik kromozom
T	: Telofaz
T	: Telosentrik kromozom
T	: Timin
TIS	: Transkripsiyon başlama bölgesi
tRNA	: Taşıyıcı RNA
TTTT	: Poli T transkripsiyon
UCE	: Yukarı akış bölgesi control elemanı
%	: Yüzde oranı
X	: Eşey kromozomu
Y	: Eşey kromozomu

1. GİRİŞ

Sitogenetik, kalıtsal değişimlerin sebeplerini kromozomları inceleyerek açıklayan genetiğin alt bilim dalıdır. Bu bilim dalı, sitoloji ve genetik biliminin ortaklaşa çalışmaları sonucu, yani kromozom inceleme metotlarının genetiğe uyarlanması sonucu ortaya çıkmıştır. Bundan dolayı bu bilim dalının gelişmesi kromozom boyama ve analiz metotlarının gelişmesiyle sıkı sıkıya ilişki göstermiştir (Topaktaş ve Rencüzoğulları, 2010). Öyle ki, birçok omurgalı grubunda, kromozom morfolojisi, sayısı ve yapısı ile genom büyüklüğünün incelenmesi, mitokondriyal ve çekirdek gen dizilerinin analizleriyle birlikte balık biyolojisi, sistematigi ve evriminin anlaşılmasındaki zorlukların çözümüne katkıda bulunmuştur. Bununla birlikte, tüm omurgalı gruplarının en çeşitlisi olan balıklar daha yüksek taksonlara göre geleneksel olarak büyük ölçüde morfoloji ve paleontolojiye göre çok daha az bir sitogenetik bilgi girişi ile sınıflandırılmıştır. Bunun nedeni kısmen, karyotiplerin yalnızca canlı örneklerden, dokulardan veya hücrelerden elde edilebilmesidir, bu da örneklerin canlı toplanması zor olan balıkların (örneğin derin deniz balıkları) karyotiplerini incelemeyi zorlaştırır. Günümüzde yaklaşık 37000 balık türü (36775 taksonomik olarak geçerli tür) (Fricke ve ark., 2024) içerisinde 4000'e yakın (Arai, 2011) balık türünün kromozom yapıları hakkında bilgi bilim insanları tarafından yayımlanmıştır. Ülkemiz kıyılarında yaşayan yaklaşık 512 deniz ve acısu balığı türü (Bilecenoglu ve ark., 2014) ile içsularında da yaklaşık 427 tatlısu balığı türü olduğu (Çiçek ve ark., 2023) bildirilmekle birlikte, Gül tarafından yapılan 1988 yılındaki akademik ilk çalışmadan günümüze kadar 103 tür balığın kromozomları incelenmiştir (Saygun, 2021). Balık sitogenetiği alanında çalışan bilim insanı sayısı giderek azalmasına rağmen her yıl onlarca balık türünde kromozom tanımlamaları yapılarak taksonomiye ışık tutulmaktadır.

DNA dizisi verileri, örneğin, cinslerden takımlara kadar çok sayıda yüksek taksonun sınıflandırılmasında önerilen zorluklara yol açarak, modern balık sistematiginde giderek daha güçlü bir etki göstermektedir. Bununla birlikte, en verimli yaklaşımın, bu veri kaynaklarından yalnızca bir veya birkaçına odaklanmak yerine, morfoloji, moleküler filogenetik, karşılaştırmalı karyoloji ve genom boyutunun sentetik analizlerini içeren yaklaşım olduğu kesindir. Örneğin, taksonlar arasında kromozomların Giemsa boyaması ve birkaç bantlama yöntemiyle (C, NOR

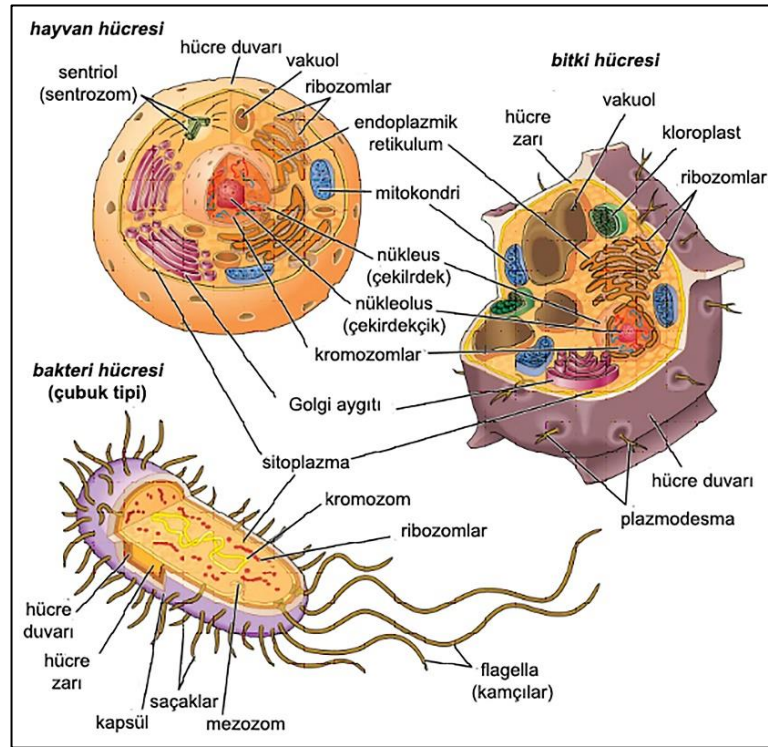
bantlama vd.) analiz edilen karyotiplerin homolojisini oluşturmak çok zor olsa da karyotip durumlarının polaritesi yine de DNA dizilerinin polaritesi net olmadığında bile, herhangi bir monofiletik taksonda görülen kromozom düzenlemeleri olan Robertson füzyon/fisyon, tandem füzyon, perisentrik inversiyon, parasentrik inversiyon, anöploidi veya poliploidi analizi ile çıkarılabilir. Bu bilgiler kromozom sayıları ve yapıları farklı olan balıklardaki türleşmede önemli rolü olup taksonomide tür içi ve türler arası farklılaşmaları tespit etmede önemli kanıtlar sunmaktadır. Günümüzde sitogenetik verilerin rolü daha da artmaktadır çünkü flüoresan *in situ* hibridizasyon (FISH) gibi güçlü yeni yöntemler model türlerin (örn. zebra balığı, medaka, dikenli balıklar ve kirpi balığı) ötesindeki birçok balık türlerinde uygulanmaktadır. Günümüzde gelişen bu teknolojik yöntemlerin balıklara da başarılı bir şekilde uyarlanması ile doğadaki tüm balıkların henüz kromozom yapıları hakkında bilgi olmadığından sadece yoğun olarak bazı balık gruplarındaki taksonomik ayrımlarına ve evrimlerine dair bilgiler elde edilmektedir.

Bu çalışma ile direkt yöntemlerle kromozomları tespit edilmesinde bazı teknik zorlukların olduğu ve henüz sitogenetik özelliklerinin tamamı belirlenmemiş bazı deniz balıklarında ölüm sonrasında *in vitro* olarak kısa süreli hücre kültürü tekniği uygulamasının ardından hazırlanan preparatlardan çeşitli boyama ve bantlamalarla kromozom yapıları ve sayıları tespit edilmesi amaçlanmıştır.

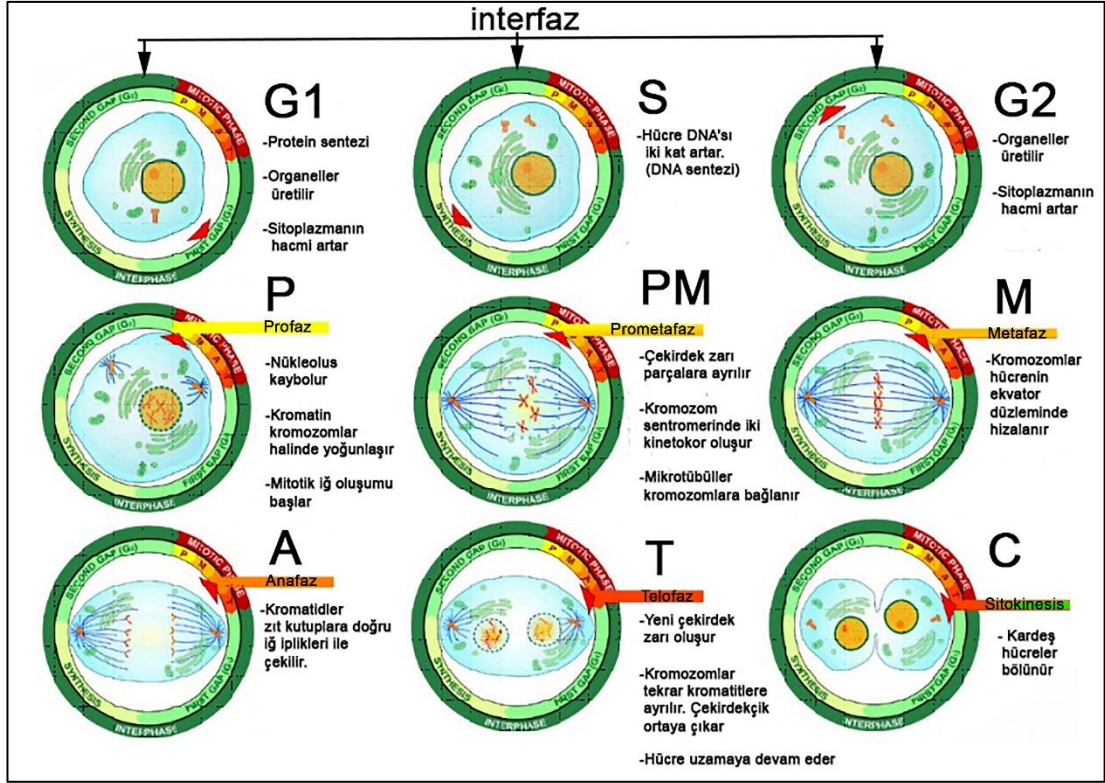
2. GENEL BİLGİLER

2.1 Kromozomların Keşfi ve Sitogenetiğin Gelişimi

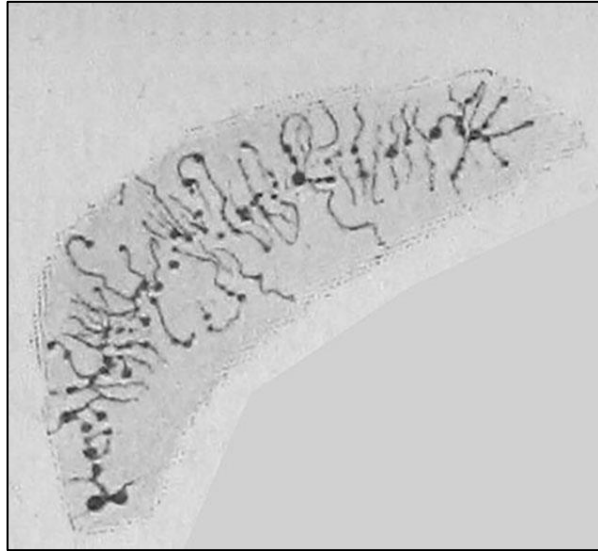
Kromozom fikri ancak 19. yüzyılın son çeyreğinde ortaya çıktı. Mitoz sürecini ve 'kromatik çekirdek figürünün' (yani kromozomların) katılımını açıkça tanımlayan ilk bilim adamı, 1873'te Alman zoolog Anton Schneider olduğu bilinmektedir. O zamandan önce, hücrelerin (Şekil 2.1) ve çekirdeklerin çoğalması için basitçe ikiye bölündüğü düşünülüyordu. Bitkilerde ve hayvanlarda mitotik kromozomların açık ve ayrıntılı açıklamaları sırasıyla 1875'te Strasburger ve 1879-1882'de Flemming tarafından yayımlandı. Çalışmaları, modern kromozom çalışmalarının temelini oluşturdu. Flemming'in mitoz adını verdiği bir süreçte meydana gelen sitolojik olaylar günümüze kadar hala araştırılan bir gerçekliktir (Şekil 2.2). Flemming ayrıca 1892'de Rückert tarafından adlandırılan lamba fırçası kromozomlarını keşfetti (Şekil 2.3) ve yine 1880'lerin başında Balbiani politen kromozomlarını keşfetti (Şekil 2.4). Ancak, kromozom terimi 1888'e kadar Alman anatomi profesörü Waldeyer tarafından kullanılmamıştır (Schulz-Schaeffer, 1976; Bostock ve Sumner, 1978).



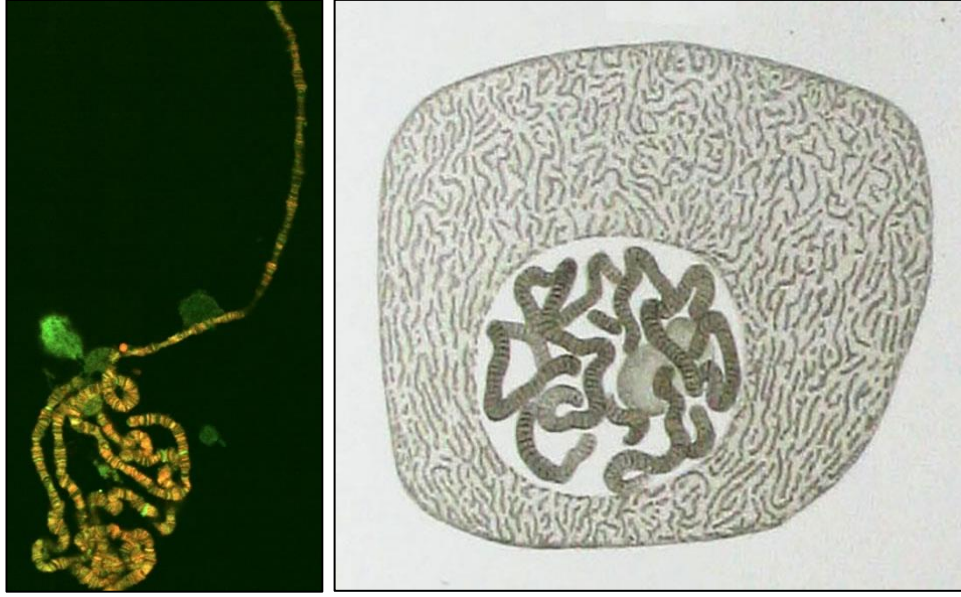
Şekil 2.1 Ökaryotik (hayvan ve bitki) ve prokaryotik (bakteri) hücrelerin yapıları (Anonim, 2024a)



Şekil 2.2 Mitoz hücre bölünme safhaları (Anonim, 2024b)



Şekil 2.3 Lamba fırçası kromozomu, Hertwig (1906)'dan (Anonim, 2022)

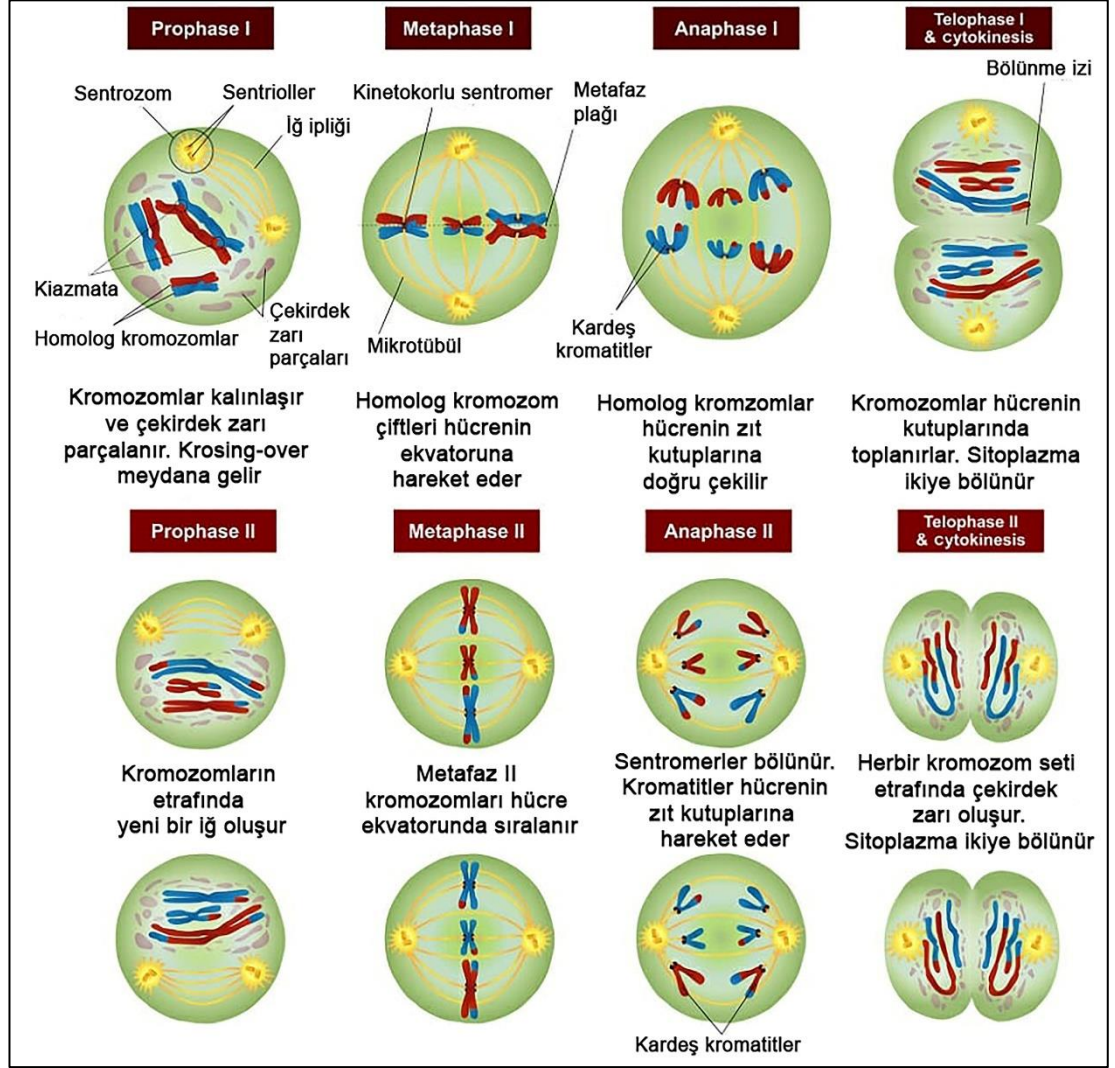


Şekil 2.4 Bir sivrisineğe ait politen kromozomu; sağda Flemming, (1882)'den (Anonim, 2023a)

İşlevleri ne olursa olsun, kromozomlar, önemli ölçüde estetik çekiciliğe sahip göze çarpan hücresel organeller oldukları için, kaçınılmaz olarak araştırma için popüler konular haline gelmiştir. Bununla birlikte, kromozomlarla ilgili en erken çalışmalardan itibaren, kromozomların kalıtımla ilgili olduğu açık hale gelmiştir, böylece 1887 gibi erken bir tarihte Weismann kromozom kalıtım teorisini ortaya koymuştur (Darlington, 1966; Bostock ve Sumner, 1978). Bu teori, aşağıdaki noktaları içeriyordu:

1. Çekirdek madde, her hücrenin biçimini ve işlevini kontrol eder ve mitoz bölünmede eşit ürünler vermek üzere bölünür.
2. Yumurtalar, döllenmeden önce kutup gövdesindeki çekirdek (nükleer) maddelerinin yarısını kaybetmeli ve bu, tam olarak spermin çekirdek maddesi ile değiştirilmelidir.
3. Eşeyli üreme, her nesilde yumurta ve sperm çekirdeklerinin bir araya gelmesine bağlı olduğundan hem erkek hem de dişi eşey hücrelerinde çekirdek maddesinin yarıya bölünmesi gerekir. (Bu önerme, mayoz bölünme süreci (Şekil 2.5) keşfedilmeden önce yapılmıştır)
4. Yumurta ve spermin çekirdek maddesi arasında esaslı bir fark yoktur.

5. Eşeyli üreme, doğal seçilimin üzerinde etkide bulunabileceği, bireyler arasında değişkenlik üretmenin bir aracıdır.



Şekil 2.5 Mayoz bölünme safhaları (Anonim, 2024b)

Weismann'ın tüm ilkeleriyle doğruluğu kanıtlanmış teorisi, elbette Mendel genetiğinden habersiz formüle edilmişti. Genetiğin ilkelerinin Gregor Mendel tarafından keşfedilmesi, 1866'da yayınlanması, yaklaşık 35 yıl sonra 1900'de yeniden keşfedilmelerinin öyküsü de iyi bilinmektedir. Bununla birlikte, Mendel'in yasalarını, söz konusu olabilecek fiziksel mekanizmalardan tamamen habersiz olarak geliştirdiği de bir gerçektir. Nitekim o ünlü eserini yaptığında henüz kromozomlar keşfedilmemişti. Bununla birlikte, Mendel Kanunları yeniden keşfedildikten sonra, kromozomların hücre bölünmesindeki davranışının, kalıtsal faktörlerin (genler) yavru hücrelere ve organizmalara dağılımını açıklamak için tam olarak gerekli olduğu çabucak anlaşılmıştı. Kromozomal kalıtım teorisi, Mendel'in çalışmasının

yeniden keşfinden sonraki birkaç yıl içinde keşfedilen kalıtımın diğer birçok özelliğini açıklamıştır. Bir asır önce bir organizmanın kaç gene sahip olabileceğine dair hiçbir fikir olmamasına rağmen, kromozom başına birden fazla gen olacağı açıktı, bu da genetik bağlantı fenomeni için fiziksel bir temel sağlamıştır. Bazı organizmalarda, doğası belirsiz olduğu için X olarak adlandırılan, karyotipte eşlenmemiş bir kromozomun keşfi, cinsiyet kromozomlarının tanınmasına ve bunların cinsiyet tayininde yer almasına neden olmuştur. Bu genetik bağlantının keşfedilmesinden ve aynı kromozom üzerinde birkaç genin varlığıyla ilişkilendirilmesinden yıllar sonra, bağlantının mutlaka tamamlanmış olmadığı bulunmuştur. Bunun açıklaması, daha önce gözlemlenen genetik bağlantıyı kırarak olan homolog kromozomların fiziksel geçişinin görülebildiği ayrıntılı mayoz incelemelerinde bulunmuştur. Genetik fenomenler ile kromozomların fiziksel davranışı arasındaki yakın ilişki, yirminci yüzyılın ilk yıllarında, hiç kimsenin bir genin doğası hakkında net bir fikri olmamasına rağmen, bu nedenle iyi kurgulanmıştır (Bostock ve Sumner, 1978; Sumner 2003).

1868'de Miescher, görünüşe göre saf olmayan bir DNA formu olan nüklein adını verdiği şeyi izole etmişti. Bu, nükleik asitlerin çalışmasının başlangıcı olmuştur. Yirminci yüzyılın ilk üç çeyreğinde nükleik asitler üzerine yapılan çalışmaların çoğu onların kimyasıyla ilgiliydi. Bununla birlikte, 1880'lerde Flemming, "çekirdeğin" (ve dolayısıyla kromozomların) renklendirilebilir maddesi olan "kromatinin", Miescher tarafından yakın zamanda izole edilen çekirdek ile aynı olabileceğini tahmin etmiştir. Feulgen, daha sonra çekirdeklerin ve kromozomların DNA içeriğini ölçmek için bir araç sağlayan DNA için histokimyasal yöntemini tanıttığında, kromozomlarda ve çekirdeklerde DNA'nın varlığı kesin olarak belirlenmiştir (Schulz-Schaeffer, 1976).

Miescher'in çekirdeklerin kimyasal bileşimi üzerindeki çalışmaları, çekirdek proteinlerin tek başına histonlardan daha çeşitli ve karmaşık olduğu açık hale gelmesine rağmen, histonları keşfeden Kossel de dahil olmak üzere birçok araştırmacı tarafından devam ettirilmiştir. Bununla birlikte, bu çalışmaların hiçbiri, genlerin hangi maddeden yapıldığına dair net bir gösterge vermemiştir. Aslında, uzun yıllar boyunca, proteinlerin DNA'dan çok daha karmaşık olduğu düşünüldüğünden, genlerin büyük olasılıkla proteinden oluştuğu kabul edilmiştir.

Bunun nedeni, dört bazın her birini içeren tetranükleotitlerden oluştuğu düşünülen DNA'nın bileşimi hakkında sınırlı bilgiydi. Böyle bir yapı, o zamana kadar (1940'lar) var olduğu bilinen birçok farklı gen için gerekli çeşitlilikten yoksundu (Adams ve ark., 1992).

Daha sonra, Chargaff'ın çalışması, dört nükleotidin eşmolar (eşit sayıda mol içeren) oranlarda bulunmadığını göstermiştir. Bu nedenle DNA dizileri, genler olarak bir fonksiyonla uyumlu olacak şekilde çok daha değişken olabilir. Belki daha da önemlisi, Avery ve arkadaşlarının bulgusuydu (1944), bakteriyel transformasyondan sorumlu maddenin aslında "DNA" olduğunu belirtmişlerdi. 1953'te Watson ve Crick tarafından önerilen ve tamamlayıcı bir çift sarmal olduğunu gösteren DNA modeli, genetik materyalin replikasyonu için mekanizmaların temelini oluşturmuştur. DNA'nın haberci RNA'ya (mRNA) transkripsiyonu ve proteinlere çevrilmesi mekanizmalarının daha sonra aydınlatılması, DNA'nın genlerin maddesi olarak konumunu doğrulamıştır (Bostock ve Sumner, 1978).

DNA'nın yapısı için Watson ve Crick modeli, moleküler biyoloji çağının başlangıcı olarak kabul edilebilir. 1970'lerde kromozomlar hakkında yapılan araştırmalarda "DNA'nın merkezi konumuna" atıf yapılması ve "diğer kromozomal bileşenlerin onun ihtiyaçlarına hizmet ettiği" önerilmiştir (Schulz-Schaeffer, 1976).

O zaman bile, belki de bu, pozisyonun abartılmasıydı. Kromozomlar, sadece genleri taşıdıkları için değil, davranışları kalıtım mekanizmasını belirlediği için önemini korumaktadır. Mitoz ve mayozda genlerin yavru hücrelere dağılımı, kromozom davranışının doğrudan bir sonucudur. Genetik bağlantı, aynı kromozomda bulunan çok sayıda genin doğrudan bir sonucudur. Mayotik fazda genlerin çaprazlanması ve yeniden sınıflandırılması aynı zamanda doğal seçilimin üzerinde çalışması için varyasyon sağlayarak evrimsel düzeyde sonuçları olan bir kromozomal fenomendir. Genetik çeşitlilik, her biri farklı bir bireyden türetilen iki kromozom seti içeren bir diploid zigot üretmek için döllenme sırasında yumurta ve sperm çekirdeklerinin füzyonuyla da sağlanır (Gall, 1996).

DNA ve genlerin davranışı, kromozomlara ve kromatine (aslında interfaz kromozomları olan) dahil olmaları gerçeğiyle büyük ölçüde kısıtlanır. DNA, bu süreçleri kontrol eden ve katalize eden proteinlerle ilişkili olduğu için yalnızca

replikasyon ve transkripsiyonda işlev görebilir. Gen ekspresyonu, histonlardaki modifikasyonlar ve kromatin yeniden modelleme kompleksleri ile kontrol edilir. Bir genin kromozom içindeki konumu kadar önemsiz görünen bir şey bile davranışını büyük ölçüde etkileyebilir. Heterokromatin mitozun sonunda yoğunlaşmayı başaramayan ve genetik olarak inaktif olan kromozomal segmentlerden oluşur (Blackburn ve Gait, 1996).

Bir genin heterokromatinin yanına yerleştirilmesi, geni etkisiz hale getirerek, konum etkisi varyasyonu (PEV) olarak bilinen etkiyi üretebilir, bu sayede belirli bir gen bazı hücrelerde devreye girebilir ve diğerlerinde kapatılabilir. Bu tür etkilerin şaşırtıcı derecede yaygın olduğu ortaya çıkmıştır (Sumner, 2003).

Heterokromatin genellikle proteinleri kodlayamayan yüksek oranda tekrarlanan kısa DNA dizilerinden oluşur. DNA dizilerinin analizi, gerçekten varsa, işlevlerine dair herhangi bir ipucu vermeyi başaramamıştır. Aynısı, genlerle ilişkili olmayan ve aslında bazı organizmalarda DNA'nın büyük bir bölümünü oluşturan diğer birçok DNA dizisi için de geçerlidir. Bu tür dizilerin çok sayıda olması ve farklı organizmalar arasındaki miktar farklılıkları, 'C-değeri paradoksuna' yol açan bir organizmanın diploid çekirdeğindeki DNA miktarı, mutlaka organizmanın karmaşıklığı ile ilgili değildir ve tüm genleri sağlamak için gereken miktardan büyük ölçüde fazladır. Bu tür dizilerin çok sayıda olması ve farklı organizmalar arasındaki miktar farklılıkları, bir organizmanın diploid çekirdeğindeki DNA miktarının mutlaka karmaşıklıkla ilgili olmadığı 'C-değeri paradoksuna' yol açmıştır. Organizmanın bir parçasıdır ve ihtiyaç duyulan tüm genleri sağlamak için gereken miktardan büyük ölçüde fazladır. Bazılarına göre ekstra DNA sadece 'çöp' iken, diğerleri ekstra DNA'nın yapısal işlevleri olabileceğini öne sürmüştür (Cavalier-Smith, 1978). Cevap ne olursa olsun, kromozomların sadece gen dizilerinden daha fazlası olduğu açıktır. Kromozom davranışındaki hatalar, sağlığın önemli bir nedenidir. İnsanlarda, fetal kayıp çok yüksek oranda meydana gelir ve bu kaybın önemli bir kısmı kromozom anormalliklerinden, özellikle trizomilerden ve diğer anöploidilerden kaynaklanır. Trizomi 21 (Down sendromu) ve cinsiyet kromozomu anöploidileri gibi bazıları, yetişkinliğe ulaşan bireylere yol açar, ancak yine de çeşitli anormallikler gösterir. Kromozomal anormalliklerin gelişimi kanserlerde olağandır ve spesifik bir kromozom anormalliği genellikle bir kanserin gelişimindeki ilk

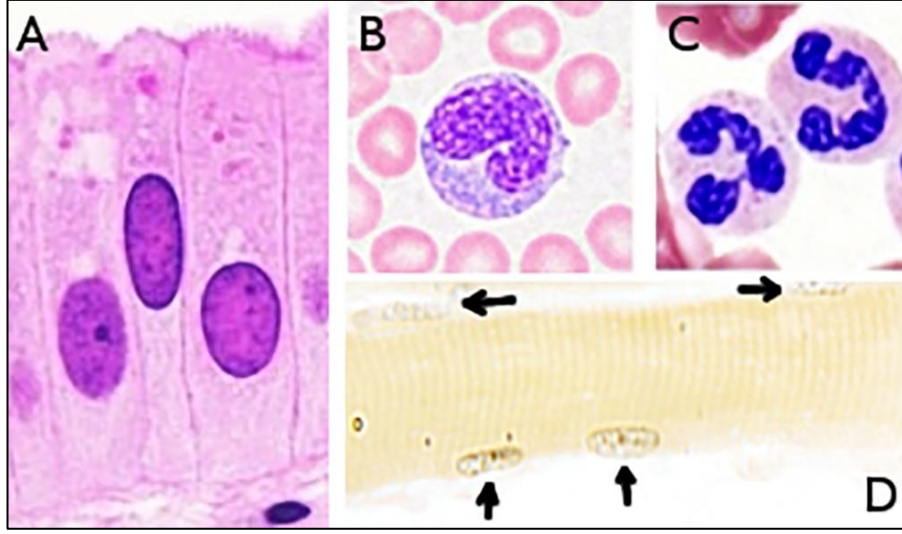
olaylardan biri olabilir. Öte yandan, yapay kromozomlar oluşturma ve bunları genetik hastalıkları tedavi etmek için kullanma olasılığı da mevcuttur (Adams ve ark., 1992; Sumner, 2003).

Bu gen tedavisi çalışmalarındaki başarı, yalnızca düzgün çalışabilmeleri için kromatine genleri yerleştirmeye değil, aynı zamanda çoğaltılabilmeleri ve yavru hücrelere düzgün bir şekilde dağıtabilmeleri için onları paketlemeye bağlı olacaktır. Bu nedenle kromozomları, yalnızca kendi başlarına ilginç ve estetik olarak hoş oldukları için değil, aynı zamanda döllenme ve hücre bölünmesi sırasındaki davranışları kalıtımın doğasını belirlediği ve organizasyonları genlerin etkinliğini kontrol ettiği için incelenmektedir. Genler, kromozomal bir ortamda olmadıkça, düzgün bir şekilde çalışmaz ve çalışamaz veya yavru hücrelere düzenli olarak dağıtılamaz. Bu nedenle kromozomlar, tüm canlı organizmaların organizasyonunun nihai belirleyicileridir (Capanna, 2000, Zacharias, 2001; Sumner 2003).

2.2 Sitogenetiğin Konusu: Önemli Hücre Organelleri

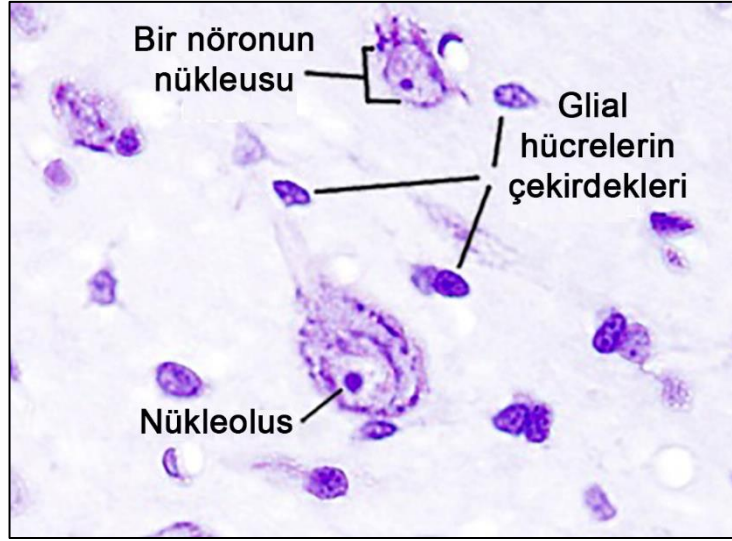
2.2.1 Çekirdek – Nükleus

Çekirdek, ökaryotik hücreleri tanımlayan yapıdır (*eu*: true ve *karyos*: çekirdek). Transkripsiyon olarak bilinen bir işlemle RNA üretmek için DNA'yı ve tüm moleküler mekanizmayı içerir. Tipik olarak hücreler yalnızca bir çekirdek içerir, ancak osteoklastlar (kemik hücreleri) gibi bazı hücreler birden fazla çekirdek içerir ve bazı hücreler, iskelet kası lifleri veya bazı omurgasızların epitel hücreleri gibi bunların çoğunu içerebilir. Çekirdeğin şekli değişkendir ve genellikle hücrenin morfolojisine uyarlanır (Şekil 2.6). Tipik olarak çekirdek yuvarlaktır, ancak nötrofillerde (beyaz kan hücreleri) olduğu gibi çok loblu çekirdek içeren başka formlar da bulunur. Çekirdeğin konumu genellikle hücrenin merkezinde olmakla birlikte, çevre bölgelerde de bulunabilir. Örneğin, salgı hücrelerinin çekirdekleri bazal kısımda bulunurken, iskelet kası hücrelerinin çekirdekleri hücre zarına yakındır. Hücre farklılaşması sırasında çekirdek sitoplazma boyunca hareket ettirilebilir. Örneğin, iki haploid pronükleus, döllenme sırasında birbiriyle kaynaşmak ve diploid bir çekirdek oluşturmak üzere zigotta hareket ettirilir. Çekirdek hem konumu hem de hareketi, hücre zarı tarafından yönlendirilir (Megías ve ark., 2023a).



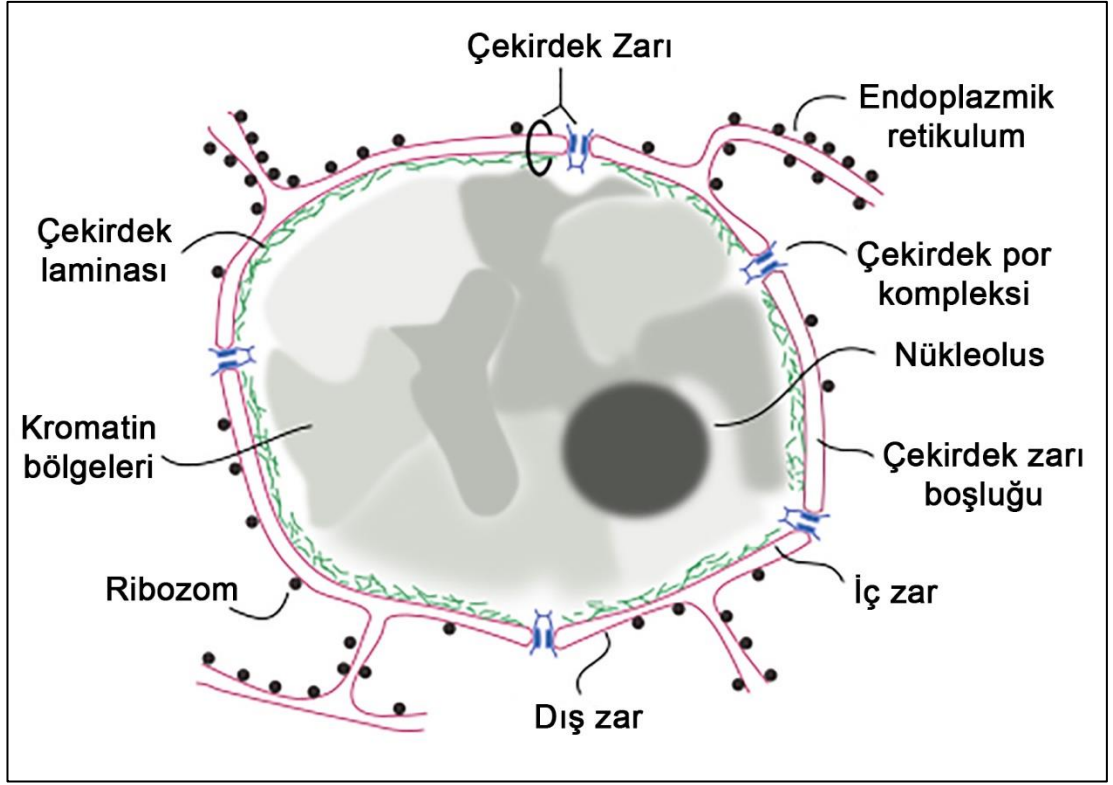
Şekil 2.6 Farklı çekirdek şekilleri. A. İnsan safra kesesinden alınan, yuvarlak ve uzun çekirdeklere sahip epitel hücreleri. B. Böbrek şeklinde çekirdeği gösteren kan preparatındaki monosit. C. Çok loblu çekirdek içeren kan preparatındaki nötrofiller. D. Hepsi çevreye doğru konumlanmış, çok sayıda çekirdeğe sahip bir iskelet kası lifinin uzunlamasına görünümü (oklar) (Megías ve ark., 2023a)

Bir organizmanın tüm hücre çekirdeklerinde DNA miktarı hemen hemen aynı olmasına rağmen, hücre tipine göre çekirdeğin boyutu değişiklik göstermektedir (Şekil 2.7). Ayrıca, farklı miktarda DNA'ya sahip türlerin hücreleri benzer çekirdek boyutu gösterebilir. Bu veriler, çekirdeğin boyutunun hücrenin boyutuna ve fizyolojisine göre uyarlandığını ancak yalnızca DNA miktarına bağlı olmadığını göstermektedir (Edens ve ark., 2013).



Şekil 2.7 Bir bireyin neredeyse tüm çekirdekleri aynı miktarda DNA içermesine rağmen çekirdeğin boyutu ve şekli hücre tipine bağlıdır. Bu resimde nöronlar ve glial hücreler gösterilmektedir. Nöronların çekirdekleri daha gevşek düzenlenmiş kromatin içerirken, glia çekirdekleri yüksek oranda yoğunlaştırılmış kromatin içerir ve bu nedenle boyut çok daha küçüktür (Megías ve ark., 2023a)

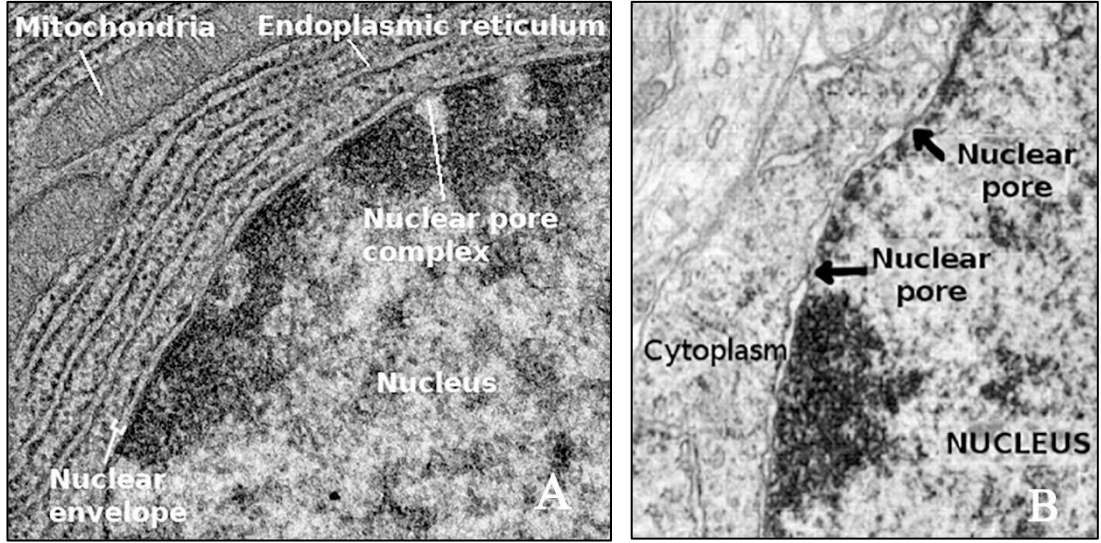
Burada iki çekirdek bölümü vardır: çekirdek zarı ve nükleoplazma (Şekil 2.8). Çekirdek zarı, çekirdeğin nükleoplazma olarak bilinen iç kısmını sitoplazmadan ayıran çekirdeğin çevresel kısmıdır ve bir dış zar, bir iç zar ve bir periçekirdek boşluktan (her iki zar arasında) oluşur. Nükleoplazma-sitoplazma iletişimi, çekirdek zarının içine yerleştirilmiş moleküler geçitler olan çekirdek gözenek kompleksleri tarafından düzenlenir. Çekirdek laminası, çekirdek zarının iç yüzeyini kaplayan ve çekirdeğe mekanik destek sağlayan bir protein tabakasıdır (Padilla ve ark. 2022).



Şekil 2.8 Çekirdeğin yapısı (Megías ve ark., 2023a)

2.2.1.1 Çekirdek Zarı (Nuclear Envelop)

XIX yüzyılın sonlarında çekirdeği sınırlayan bir bariyer olduğu ortaya atıldı ve daha sonra elektron mikroskobu ile doğrulandı (Şekil 2.9 A). Çekirdek zarı iki zardan oluşur ve bir dizi işlevi yerine getirir: a) nükleoplazmayı (kromatin ve çekirdeğin moleküler içeriğinin geri kalanı) sitoplazmadan ayıran fiziksel bir bariyerdir; b) nükleoplazma ve sitoplazma arasındaki iletişimi, yani moleküllerin her iki bölme arasındaki hareketini düzenler; c) çekirdek morfolojisinden ve çekirdeğin hücre içindeki konumundan sorumludur; d) Kromatinin bağlandığı bağlantı noktalarını sağlayarak çekirdeğin iç organizasyonuna katkıda bulunur (Guo ve Fang, 2014).



Şekil 2.9 A) Çekirdek zarının B) Kompleks çekirdek gözeneklerinin elektron mikroskobu görüntüsü (Megías ve ark., 2023b; 2023c)

2.2.1.2 Çekirdek Zarı Gözenek Kompleksi (Nuclear Pore Complex)

Çekirdek zarı, bir dış zar, bir iç zar, bunların arasındaki perçekirdek boşluk ve bir çekirdek laminasından oluşur. Bazı noktalarda iç ve dış zarlar, sitoplazma ile nükleoplazma arasında doğrudan iletişimi mümkün kılan açık geçişler oluşturacak şekilde süreklidir. Çekirdek gözenek kompleksleri, çekirdek zarının bu geçişlerinde yer alan makromoleküler yapılardır. Bunlar çok büyük protein agregatlarıdır, o kadar büyüktürler ki elektron mikroskobu ile gözlenebilmektedirler (Şekil 2.9 B). Bunlar, nükleoplazma ve sitoplazma arasındaki iletişim kapılarıdır, çünkü bu iki bölme arasındaki tüm moleküler trafik, çekirdek gözenek kompleksleri aracılığıyla gerçekleşir. Bu trafiğin kontrol edilmesi hücre için hayati önem taşımaktadır (Padilla ve ark., 2022).

Örneğin, dış uyaranlara hücre tepkisi sırasında ve hücre farklılaşması sırasında anahtar unsurlardır. Transkripsiyon faktörlerinin çekirdeğe girişi belirli genlerin ifadesini etkiler ve mRNA'nın çıkışı proteinlerin sentezini mümkün kılar (Megías ve ark., 2023a).

Çekirdek gözenek kompleksleri, farklılaşan hücrelerde olduğu gibi, nükleoplazma ve sitoplazma arasında yoğun bir alışveriş gösteren hücrelerde çok bol miktarda bulunur. Çekirdek zarının μm^2 'si başına yaklaşık 11 çekirdek gözenek kompleksi olduğu tahmin edilmektedir; bu, tek bir hücrede yaklaşık 3000 ila 4000 çekirdek gözenek anlamına gelir. Hücre döngüsü sırasında, yeni çekirdek gözenek

kompleksleri mitozdan önce interfazda sentezlenir ve birleştirilir. Ancak hücre bölünmesinden sonra da sentezlenirler. Çekirdek zarının düzensiz olduğu açık mitozda çekirdek gözenek kompleksleri de parçalanır ve proteinleri sitoplazmada serbest kalır. Mitozdan sonra bu çekirdek gözenek proteinleri yeni çekirdek gözenek komplekslerinde yeniden bir araya getirilirken aynı zamanda çekirdek zarı da düzenlenir (Megías ve ark., 2023a).

Nükleoplazmada, DNA ve ilgili proteinler, yüksek oranda yoğunlaşmışsa heterokromatin olarak veya gevşek bir şekilde paketlenmişse ökromatin olarak adlandırılan kromatini oluşturur. Mitozdan sonra kromozomların yoğunlaşması kromatin ile sonuçlanır ve her kromozom, nükleoplazmanın belirli bölgelerinde yoğunlaşır. Ayrı bir kromatin alanı olan nükleolus (çekirdekçik), kromatin ve diğer proteinlerden oluşan, çekirdeksel cisimler olarak bilinen diğer yoğun yapılarla birlikte nükleoplazmada da bulunur (Guo ve Fang, 2014).

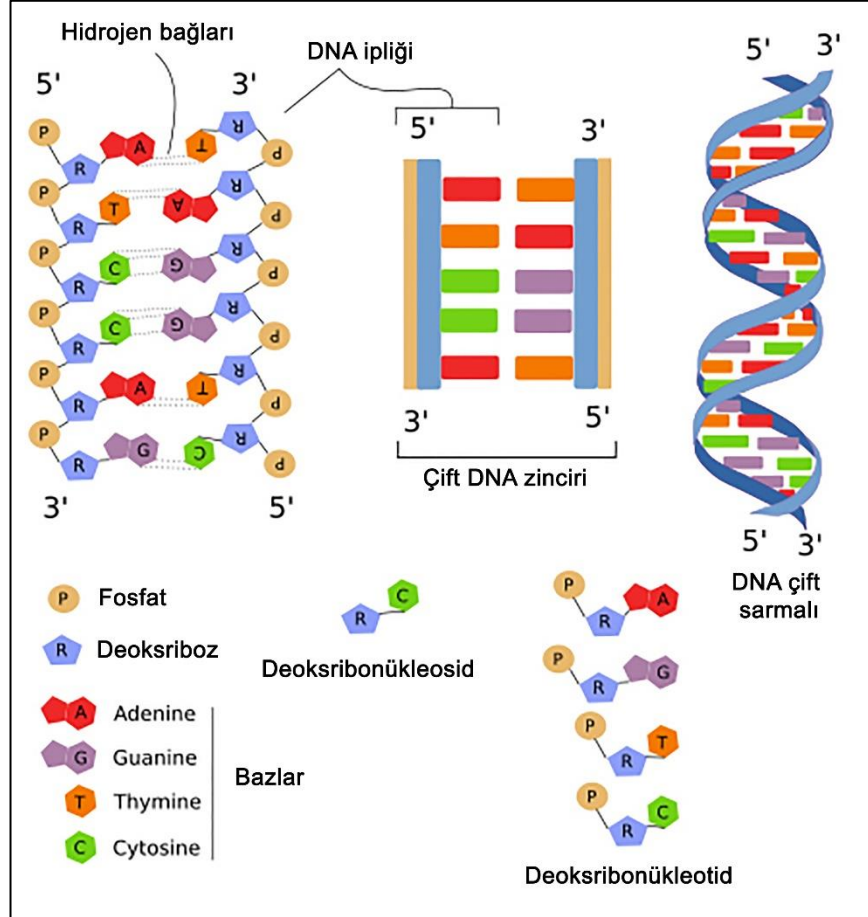
Mitoz sırasında çekirdek zarı düzensizleşir ve kromatin yoğunlaşarak kromozomları oluşturur. Telofaz sırasında kromozom ayrılmasından sonra, kromatini çevreleyen çekirdek zarı yeniden birleşir ve tipik yeni bir çekirdek oluşur (Megías ve ark., 2023a).

2.2.2 Kromatin

2.2.2.1 DNA ve Histonlar

Kromatin, çekirdek zarla çevrelenmiş nükleoplazmada bulunur. Kromatin, DNA'dır (deoksiribonükleik asit) ve öncelikle histonlarla temsil edilen, DNA organizasyonunda yer alan ilgili moleküllerdir. DNA 4 deoksiribonükleotidden (nükleotid olarak kısaltılır) oluşur. Her nükleotid bir azotlu baz, bir pentoz ve bir fosfat grubu içerir. Azotlu baz ya bir purin bazıdır: adenin (A) ve guanin (G) ya da bir pirimidin bazı: timin (T) ve sitozin (C) (Şekil 2.10). Pentoz bir deoksiribozdur. Her azotlu baz bir pentoza bağlanır ve sonuçta bir deoksiribonükleosid oluşur. Her deoksiribonükleosit, pentoz molekülü aracılığıyla bir fosfat grubuna bağlanır ve birlikte bir deoksiribonükleotit oluşturur. Bu şekilde DNA, fosfat gruplarıyla bağlanan bir nükleotid zinciri içerir. Bu tek bir zincirdir, ancak DNA, nükleotidlerin tamamlayıcılığı ile eşleştirilmiş iki iplikçikten oluşur. Farklı zincirlerdeki her bir çiftin her bir nükleotidi olan AT ve GC, iki DNA zincirini sıkı bir şekilde bir arada tutan hidrojen bağları kurar. Hidrojen köprülerinin travers olduğu ve demir rayların

fosfat-riboz şeritleri olduğu demiryolu raylarına benzer. Her iki zincirin antiparalel yani ray hattının ucuna birleştiği söyleniyor çünkü uçlarından biri bir zincirde 3', diğesinde 5', diğeri ise bir zincirde 5' ve diğesinde 3'. Her iki zincir de yaklaşık 2.5 nm genişliğinde çift sarmal şeklinde bükülür (Megías ve ark., 2023d).

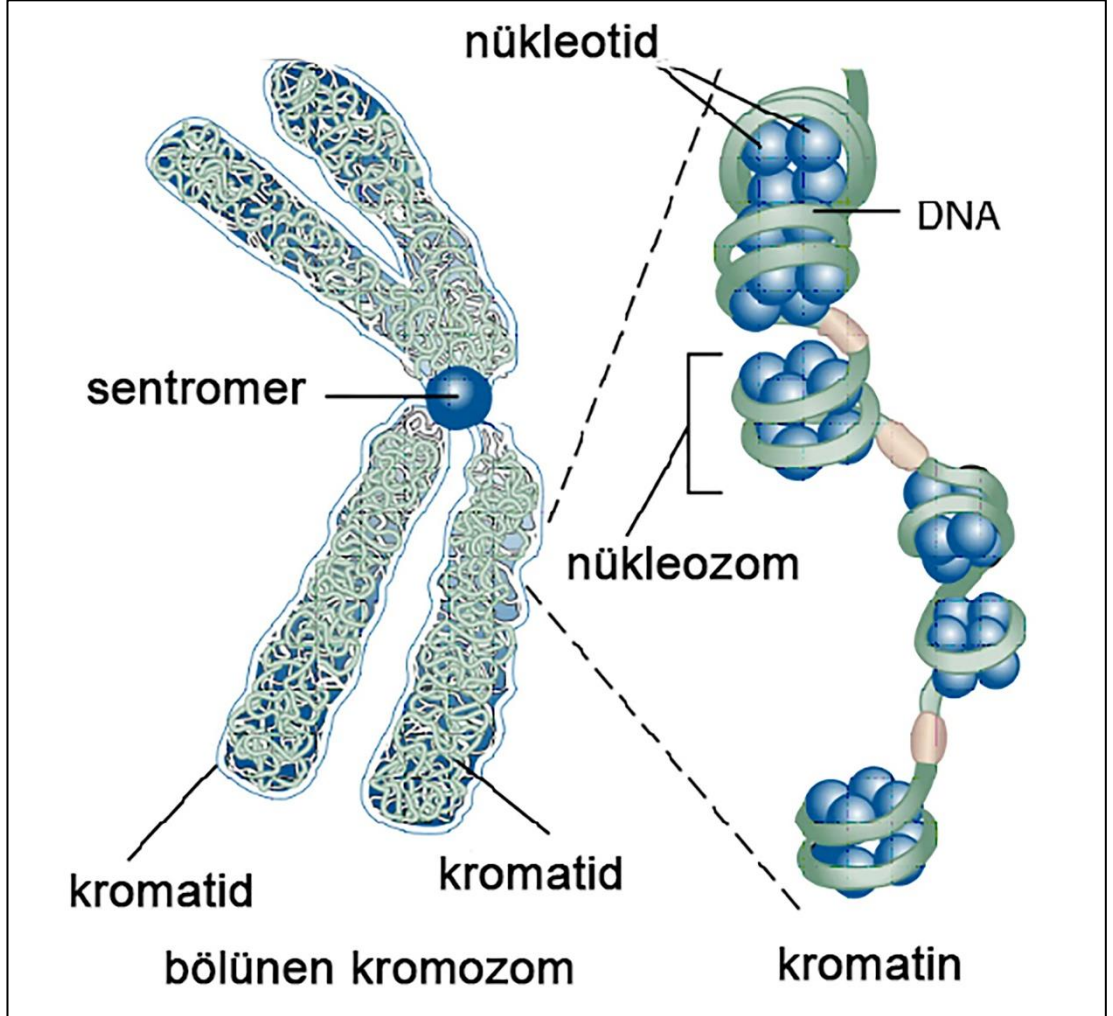


Şekil 2.10 DNA'nın moleküler organizasyonu (Megías ve ark., 2023d)

Nükleotidler yalnızca DNA'da bulunmaz. Ayrıca farklı işlevlere sahip başka moleküller de oluştururlar. Örneğin, ATP (adenozin trifosfat) enerji aktarımının ana molekülüdür ve cAMP (siklik adenosin monofosfat), hücredeki birçok moleküler sinyalleşme sürecinin ikinci habercisidir (Megías ve ark., 2023d).

DNA nükleoplazmada çıplak değildir ancak kromatini oluşturan proteinlerle ilişkilidir. Histonlar, büyük ölçüde kromatin organizasyonunda yer alan DNA ile ilişkili proteinlerdir. İki tür histon vardır: nükleozom histonları (H2A, H2B, H3 ve H4) ve H1 histonu. Dört nükleozom histonu, DNA ile birlikte nükleozomu oluşturur (Şekil 2.11). Nükleozom, kromatin organizasyonunun yapısal birimidir. DNA transkripsiyonunda (gen ekspresyonu), DNA sentezinde (replikasyon) veya kromatin

yoğunlaşmasında rol oynayanlar gibi diğer proteinler geçici olarak DNA ile ilişkilidir (Megías ve ark., 2023d).

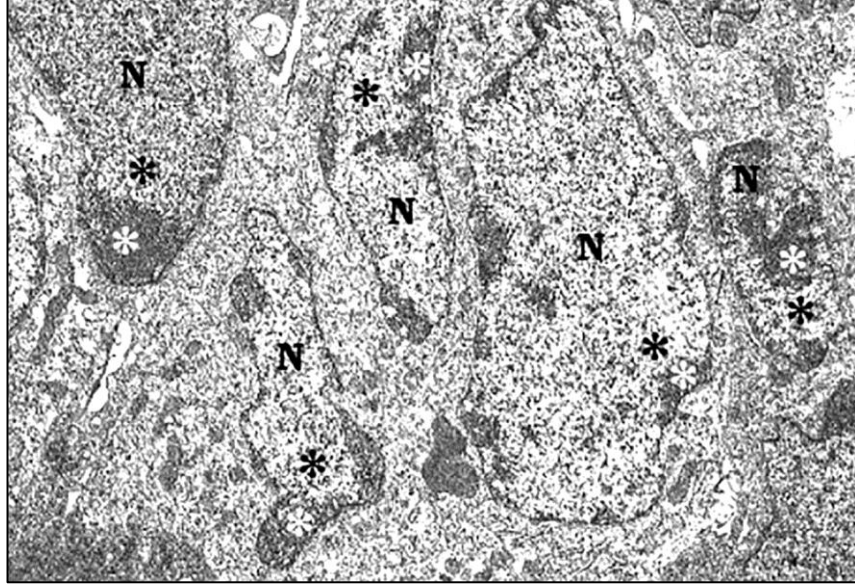


Şekil 2.11 Kromozom ve DNA anatomisi: Metafaz kromozomu, nükleozom ve kromatin (Anonim, 2024c)

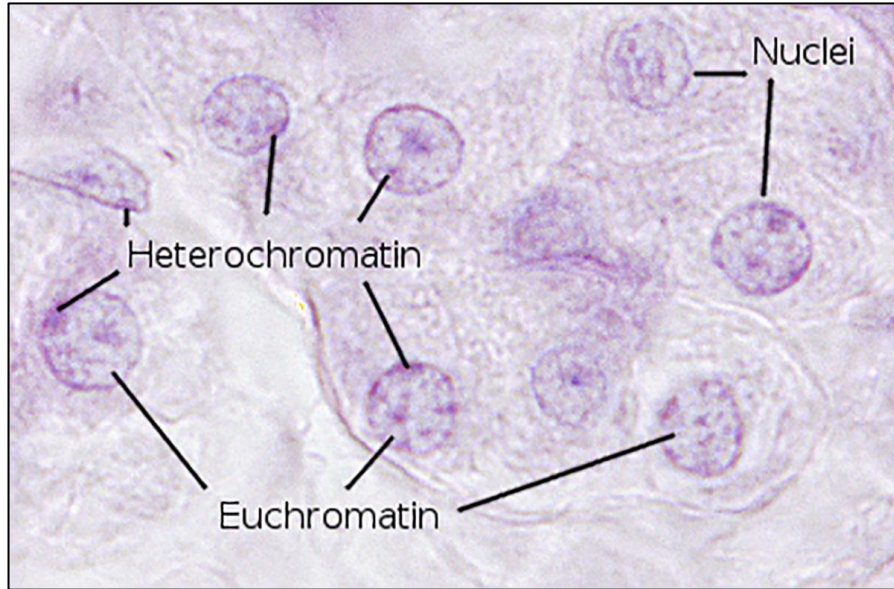
2.2.2.2 Heterokromatin ve Ökromatin

Transmisyon elektron mikroskopunda, nükleoplazma, interfaz (mitoz hücre bölünmesinin başlangıç safhası) sırasında gözlemlendiğinde açık ve koyu alanlar gösterir (Şekil 2.12). Koyu alanlar büyük ölçüde heterokromatin olarak adlandırılan sıkıştırılmış kromatine karşılık gelir. Bazen nükleoplazmada çok koyu ve yoğun yuvarlak bir alan gözlenir. Bu nükleolus (çekirdekçik) ribozomal RNA'nın transkripsiyonunda rol oynayan kromatinden ve ribozomal alt birimlerin bir araya gelmesinden oluşur. Heterokromatin genellikle çekirdek zarının yakınında ve nükleolus çevresinde bulunur. Açık alanlar, ökromatin olarak bilinen daha gevşek

düzenlenmiş kromatin içerir. Şekil 2.13'te belirtildiği gibi ışık mikroskopunda heterokromatin ve ökromatin de görülebilir (Yu ve Ren, 2017).



Şekil 2.12 Transmisyon elektron mikroskobu. Bir balık omuriliğinin ependimal hücrelerinin çekirdekleri (N). Siyah yıldız işaretleri, gevşek bir şekilde düzenlenmiş ve daha net olan ökromatini gösterir. Beyaz yıldız işaretleri, daha yoğun ve daha koyu olan heterokromatini gösterir (Megías ve ark., 2023d)



Şekil 2.13 Hematoksilen ile boyanmış bir memeli bağırsağı hücrelerinin ışık mikroskobu görüntüsü. Çekirdekler yuvarlaktır ve yoğun ve zayıf lekeli alanlar gösterir. Yoğun alanlar, daha fazla boyanın bulunduğu heterokromatine karşılık gelirken, daha soluk alanlar, daha az boyanın gözlendiği ökromatine karşılık gelir (Megías ve ark., 2023d)

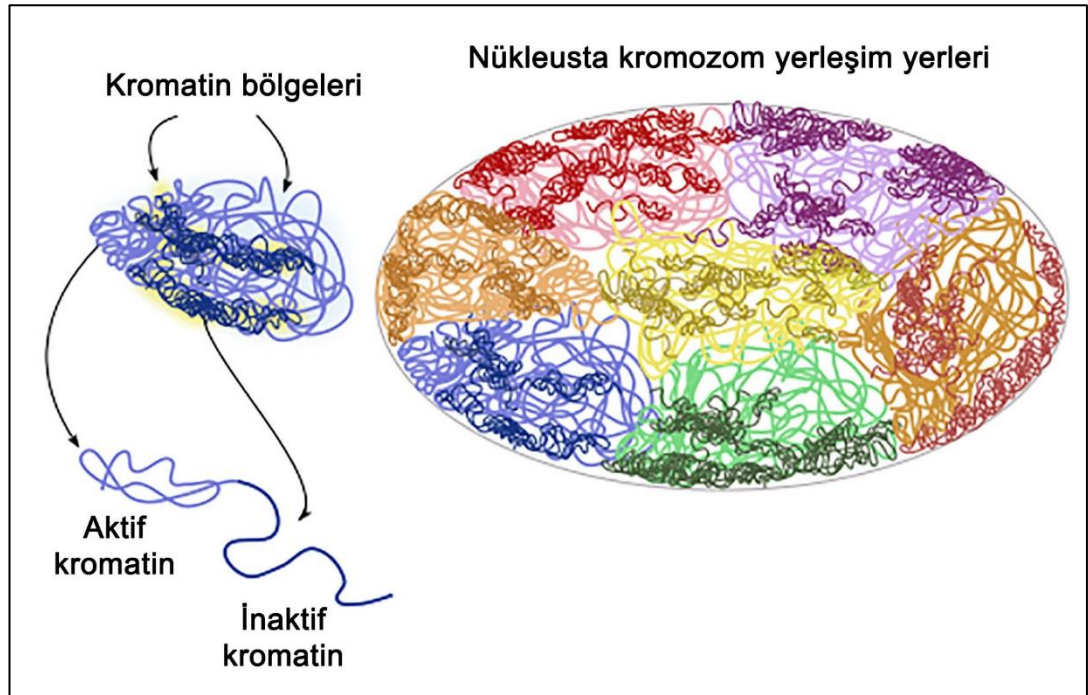
Ökromatin genellikle aktif olarak kopyalanan DNA bölgelerini içerirken, heterokromatin büyük ölçüde kopyalanmayan veya düşük transkripsiyon hızı gösteren DNA bölgelerinden oluşur. Heterokromatin, ökromatin ve heterokromatin arasında geçiş yapabiliyorsa fakültatif heterokromatin ve her zaman yoğunlaşmış olan yapısal heterokromatin olarak sınıflandırılır. Fakültatif heterokromatin, toplam heterokromatinin %10-20'sine kadardır. Her ne kadar bazı genlerin heterokromatinde ifade edildiği bulunmuş olsa da çoğu böyle değildir. Mitoz veya mayoz bölünmede kromozomlar oluştuğunda daha yüksek düzeyde kromatin sıkışması vardır. Bu işlem sırasında hem ökromatin hem de heterokromatin kromozomlarda paketlenir (Megías ve ark., 2023d).

2.2.2.3 Çekidek Organizasyonu-Düzeni

Eğer interfazdaki çekirdeğin, kromozom yoğunlaşmasından sonra bir kromatin yığını olduğunu düşünürsek, hücrenin, birbirine dolaştırmaksızın, kromatini yoğunlaştırıp, yoğunlaştırmamasını veya çözdürülmesini ve belirli bir gen dizisini düzenleyip ifade etmesini nasıl yönetebileceğini hayal etmek zordur. Bir düğüm veya dolaşma olmaktan çok uzak olarak, kromatinin çekirdek içinde rastgele dağılmadığı ve yoğunlaşmış ve yoğunlaşmamış bölgelerin kromatinin spesifik kısımları olduğu günümüzde bilinmektedir. 1980 yılında, belirli bir kromozomdan gelen kromatinin nükleoplazmada iyi tanımlanmış bir bölgeyi işgal ettiği gözlenmiştir. Bu bölgelere kromozomal bölgeler denir. Her kromozom kendi bölgesini kaplar ve her bölge sırayla birçok küçük bölgeden ve binlerce nükleotidden oluşan A ve B bölmelerine bölünür. Daha düşük bir ölçekte, topolojik olarak ilişkili alanlar ve son olarak yaklaşık yüzlerce nükleotidden oluşan kromatin döngüleri vardır. Bu organizasyon memeli hücrelerinde korunur. Kromatinin çekirdek zarının çekirdek laminasıyla etkileşimleri, kromatinin bölgelere ve diğer daha küçük boyutlu bölmelere ayrılmasına yardımcı olur (Cavalli ve Mistelli, 2013).

Kromozom bölgeleri: İnterfazda her kromozom, çekirdek içindeki sınırlı bir alanda, yani kromozom bölgesinde bulunur (Şekil 2.14). Bu bölgeler oldukça küreseldir, çapları 2 ila 4 µm arasındadır ve komşu bölgeler yalnızca sınırlarda örtüşür (ancak mayada bölgeler o kadar iyi sınırlandırılmamıştır). Birçok kanıt, bu bölgelerin nükleoplazmadaki dağılımının rastgele olmadığını desteklemektedir. Dağıtım modeli hücre tipleri, farklılaşma aşamaları ve hücre döngüsü boyunca

farklılık gösterse de aynı hücre tipinde kromatin bölgeleri arasındaki uzaysal ilişkinin oldukça stabil olduğu görülmektedir. Daha aktif, yani daha yoğun gen ifadesine sahip bölgeler çekirdeğin merkezine doğru yerleşirken, daha az aktif bölgeler çekirdek zarına daha yakındır. Genel olarak, çok sayıda gene sahip olan daha küçük kromozomlar çekirdeğin iç kısmında yer alma eğilimindeyken, çok fazla gen taşımayan büyük kromozomlar periferde bulunur. Aynı bölgede, S fazının ilk bölümünde çoğaltılan bölgeler (erken replikasyon bölgeleri), S fazında daha sonra çoğaltılanlardan (geç replikasyon bölgeleri) daha derindir. Dahası, bastırılmış genlerin periferik pozisyonları tercih etme özelliği vardır. Homolog kromozomların çekirdek içinde ayrı bölgeleri işgal etmesi dikkat çekicidir (Cavalli ve Mistelli, 2013).

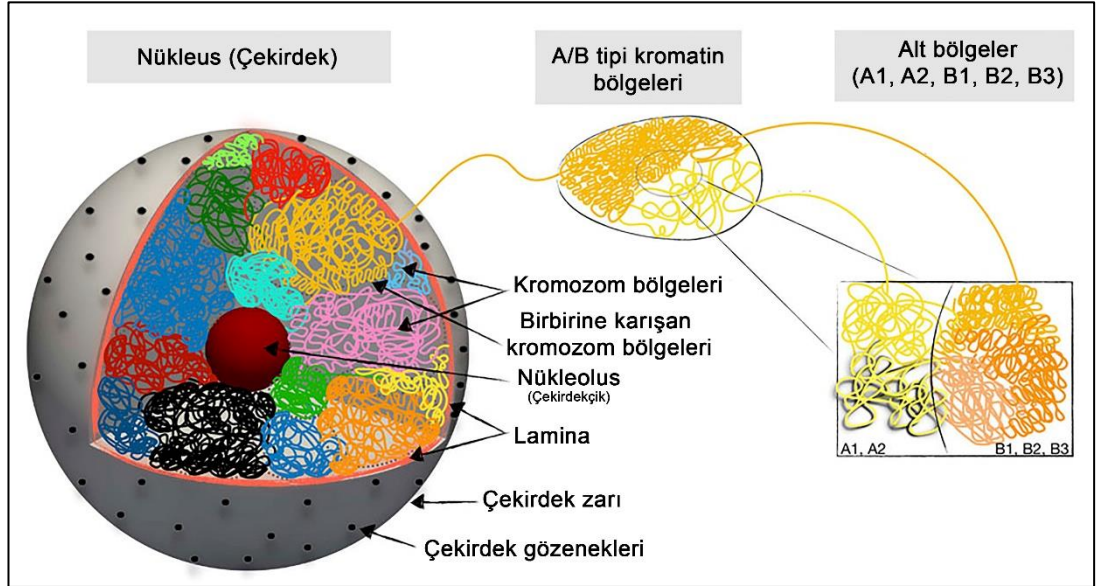


Şekil 2.14 İnterfaz kromatinin çekirdek organizasyonu (Cavalli ve Mistelli, 2013).

A ve B bölmeleri: Kromozom bölgeleri A ve B bölmelerine ayrılır. A bölgesi, hücre döngüsünün S fazında erken kopyalanan genleri ve sıklıkla eksprese edilen yüksek yoğunluklu genleri içerir. B bölgesi, S fazında geç replike olan ve nadiren ifade edilen ve çekirdek zarının yakınında bulunan genleri içerir. Bazı kromatin bölgeleri iki bölme arasında geçiş yapabilir. Geliştirilmiş çözünürlük teknikleri ve histonların özel modifikasyonları ile A bölgesi 2 ek bölgeye ve B

bölmesi 3 bölgeye ayrılmıştır (Şekil 2.15) (Cavalli ve Mistelli, 2013; Yu ve Ren, 2017).

Kromozom alanları: Bunlar genellikle birbirleriyle etkileşime giren küçük kromatin bölgeleridir. Örneğin fare kök hücrelerinde 2200'den fazla kromozom bölgesi bulunmuştur. İlginçtir ki bu bölgeler bitki hücrelerinde bulunmamaktadır. Bu alanlar hücre tiplerinde, hücre farklılaşması sırasında ve hatta farklı türler arasında nispeten stabildir. Bu nedenle kromozom alanlarının genom ve kromatinin temel birimleri olduğu iddia edilmektedir. Bastırılmış kromozom alanları vardır: polietilen kromatin, heterokromatin ve daha az karakterize edilen diğer tipler. Açık kromozom alanları veya açık kromatin, aktif olarak ifade edilen kromatinden oluşur ve düzenleyici dizileri, destekleyicileri (promoterler), ifade edilen genleri ve yalıtıcı kromatin proteinlerine bağlı bölgeleri içerebilirler. Buna rağmen kromozom alanının türü bir genin davranışını tam olarak belirlemez. Bastırılmış kromatin genellikle diğer kromatin alanlarıyla etkileşime girmez, ancak açık kromatin bunu diğer kromozom bölgelerinin alanlarıyla bile yapabilir. Kromozom alanları, kromatin ilmekleri/halkaları arasındaki yerel etkileşimlerin sonucudur (Yu ve Ren, 2017).



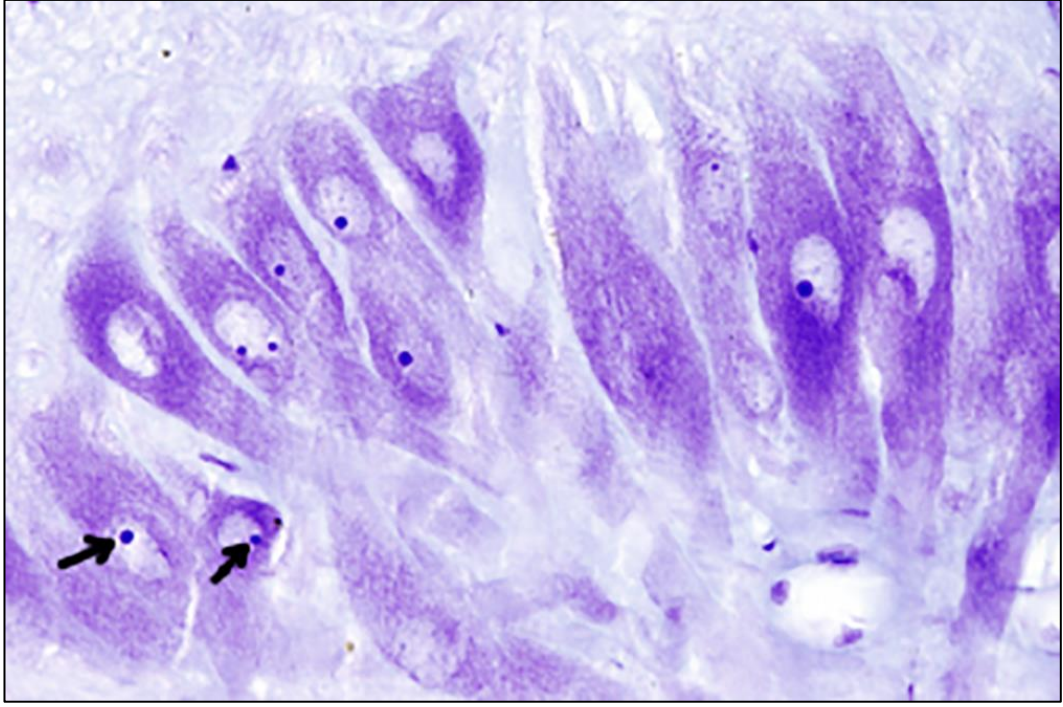
Şekil 2.15 Kromatinin bölmelere ve alanlara hiyerarşik 3 boyutlu katlanmasının şematik özeti. Modelleme ve görüntüleme çalışmaları ile ilgili uzunluk ölçeklerinin yanı sıra çekirdek kromatin mimarisini açıklamaya yönelik çeşitli anahtar kelimeler gösterilmektedir (Laghmach ve ark., 2022)

Kromozom alanları daha da alt bölümlere ayrılabilir. Bununla birlikte, bazılarının diğerlerinden daha sık etkileşime girmesi nedeniyle kromatin ilmekleri

arasında farklılıklar vardır. Bu, aralarındaki kısa mesafeyi koruyan kromatin halka gruplarının olduğu anlamına gelir. Tüm bu kromatin bölmeleri, kromatin kromozomlara sıkıştırıldığında, hücre döngüsünün M fazı sırasında kaybolur. Mitozun geç evrelerinde kromozom yoğunlaşması sırasında kromatin bölmelerinin yeniden nasıl oluştuğu bilinmemektedir. Ek olarak, hücre farklılaşması sırasında belirli bir hücre tipinin olağan bölümlerini tanımlamak mümkündür. Ancak bölmeler arasındaki etkileşimler değişir (Cavalli ve Mistelli, 2013).

2.2.3 Nükleolus – Çekirdekçik

Nükleolus, standart histolojik boyamadan sonra ışık mikroskopunda gözlenebilen farklı bir yapıdır (Şekil 2.16). Yoğun kromatin ve bir dizi ilişkili protein içeren çekirdeksel bir bölmedir. Nükleolusta ribozomal RNA (rRNA) sentezlenir ve ribozomal alt birimler birleştirilir. 1781 yılında Fontana tarafından tanımlanmış ve 19. yüzyılın sonuna gelindiğinde nükleolus ile ilgili 300'den fazla referans mevcuttu. Hücreler genellikle birden fazla nükleolusa sahiptir ve toplam sayısı, hücre tipine, farklılaşma durumuna ve hücrenin fizyolojisine bağlıdır. Memeli hücreleri 1 ila 5 nükleol içerebilir. Nükleolusun boyutu hücre aktivitesiyle birlikte değişebilir, bazen çapı 1 µm'den büyük olabilir. İnterfaz sırasında (mitoz başlangıcı veya dinlenme fazı), birkaç nükleol bir araya gelerek daha büyük bir tane oluşturabilir. Genel olarak yoğun protein sentezine sahip hücrelerin nükleolleri daha büyük olur. Ayrıca büyük hücrelerde ve büyüyen hücrelerde daha büyüktür. Ancak sperm gibi bazı hücrelerde nükleolus görülmez. Mitoz sırasında nükleolus kaybolur ve kromatinin kromozomlar halinde paketlenmesine izin verilir. Nükleolus her zaman görünür olmamasına ve bazı hücre döngüsü aşamalarında kaybolmasına rağmen, nükleolussuz bir hücre ölü veya ölmekte olan bir hücre olarak kabul edilir (Megías ve ark., 2023e).



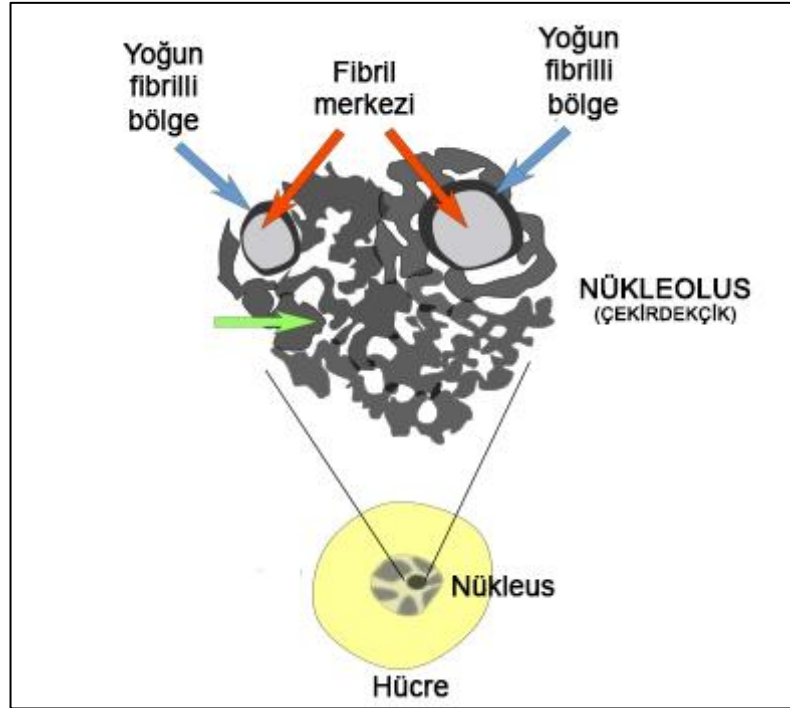
Şekil 2.16 Bir dere dokuzgözlüsünün (*Lampetra* sp.) arkabeyin (rhombencephalon) motornöronları. Nükleolus, nükleoplazmada koyu bir nokta (oklar) olarak gözlenmektedir (Megías ve ark., 2023e)

Mitotik profaz sırasında nükleolus kaybolur ve kromatinin kromozomları oluşturacak şekilde yeniden düzenlenmesine olanak sağlanır. Hem nükleolar kromatin hem de proteinler farklı kromozomlarda dağıtılır ve paketlenir. Telofaz sırasında, nükleolar kromatin yoğunlaşır ve yeni nükleoller oluşturmak için nükleolar proteinleri toplar. Bir nükleolusun oluşması için, kromatin ve proteinlerin toplanmasının yanı sıra nükleolar aktivitenin de başlatılması gerekir: öncü-45S (pre-45S) ribozomal RNA'nın transkripsiyonu ve eklenmesi ve ribozomal alt birimlerin birleşmesi. Nükleolus bir zarla sınırlı olmamasına rağmen, onu nükleoplazmanın geri kalanından ayırt etmeyi mümkün kılan yapısal bir kimliğe sahiptir. Nükleolar bileşenler kısıtlı bir bölgede nasıl toplanır? Sıvı-sıvı faz ayrımını oluşturan fizikokimyasal mekanizmaların olduğu, böylece belirli molekül gruplarının birbiriyle ilişkili olduğu ve sıvı çözeltinin sınırlı bölgelerine ayrıldığı düşünülmektedir. Nükleolusu oluşturan kümelere yoğunlaşma adı verilir ve RNA ve proteinlerden oluşur (Tsekrekou ve ark., 2017).

2.2.3.1 Nükleolus Bölgeleri

Elektron mikroskopunda nükleolusta morfolojik olarak üç bölge ayırt edilebilir: fibriller merkezi, fibriller merkezini çevreleyen yoğun fibriller bileşeni ve

granüler bileşen (Şekil 2.17). Fibril merkezi tüm ökaryotlarda mevcut değildir ve işlevi tam olarak anlaşılamamıştır. Ribozomal alt birimleri oluşturmak için 4 rRNA'dan 3'ünü veren birincil rRNA transkripti olan öncü-45S rRNA'ya ait genin birçok kopyasını içeren DNA segmentleri içerir. Fibriller merkez aynı zamanda birçok ilişkili proteini de içerir. Transkripsiyon işleminin fibril merkezi ile yoğun fibril bileşen alanı arasındaki geçişte meydana geldiği öne sürülmüştür. Fibriller bileşen alanında, öncü-45S rRNA küçük parçalara bölünür. Granüler merkezde, ortaya çıkan rRNA segmentleri daha fazla işlenir ve ribozomal alt birimler halinde birleştirilir (Mangan ve ark., 2017).

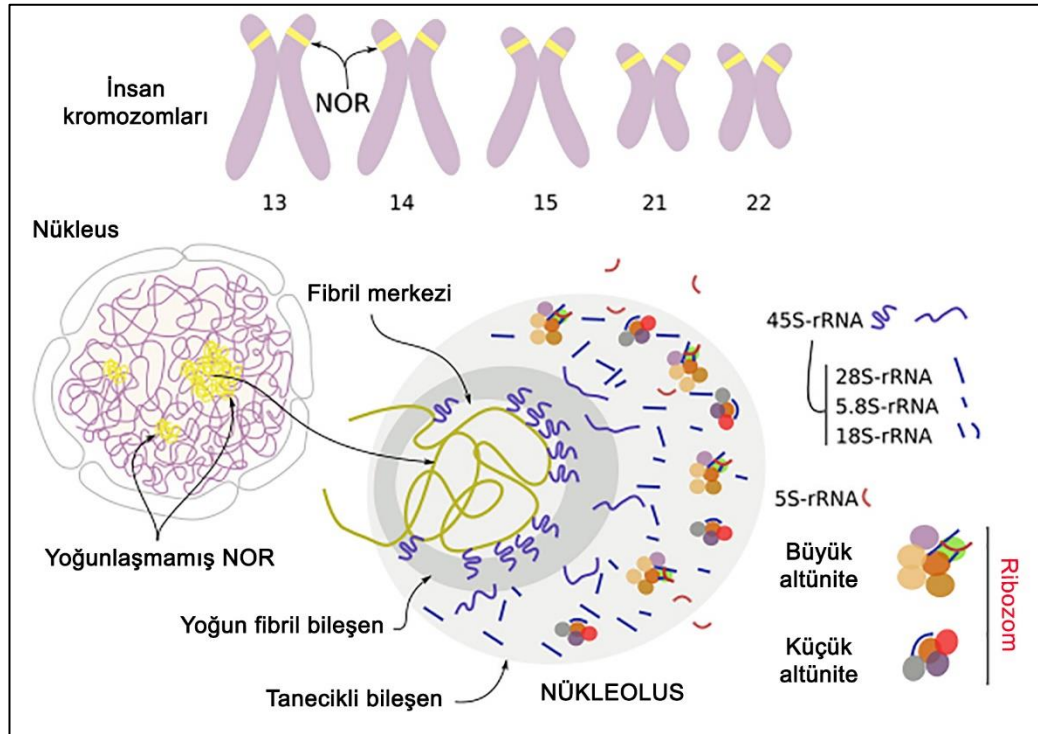


Şekil 2.17 Fibril merkezi, rRNA öncü-45S genlerin ifade edildiği yerdir. Yoğun fibriller bileşen, öncü rRNA 45S'nin bulunduğu ve işlendiği yerdir. Granüler bileşen, öncü-45S rRNA'nın işlenmesinden kaynaklanan ribozomal proteinlerin ve rRNA'ların, ribozomal alt birimler halinde birleştirildiği yerdir (Megías ve ark., 2023e)

Mniyotlar (memeliler, sürüngenler ve kuşlar) yukarıda açıklanan nükleolar bölgeleri gösterir, ancak anamniyotlar (balık, amfibiler ve omurgasızlar) farklı nükleolar organizasyonlar gösterir. Örneğin amfibiler, her yoğun fibriller bileşen içinde çok sayıda fibriller merkeze sahiptir. Memelilerde tekrarlanan yapı, fibriller merkez/yoğun fibriller bileşendir (Kressler ve ark., 2017).

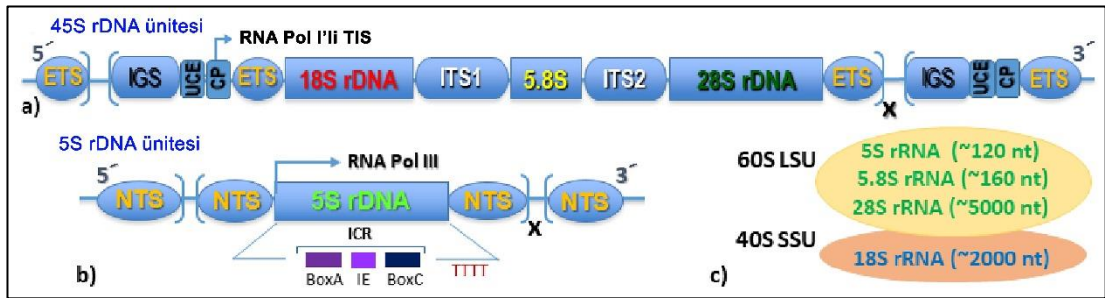
2.2.3.2 Ribozomal RNA

1934 yılında nükleolusun kromozomdaki bir bölgeyle ilişkili olduğu bulundu. İlk olarak mısırdaki keşfedilmiş ve bölgeye "nükleolar düzenleyici bölge" (NOR) adı verilmiştir. *Drosophila* ve *Xenopus* gibi birçok türün yanı sıra mısırdaki da bir kromozomda yalnızca bir bölge bulunur. İnsanlarda bu kromozomların kısa kollarında 5'ten fazla NOR bulunur. Heterokromatik bölgeler (yoğunlaştırılmış kromatin) olan bu bölgelerde, öncü-45S rRNA'yı kodlayan genler tekrarlanır (Şekil 2.18). Nükleolus bu bölgelerin aktivitesiyle oluşur. Öncü-45S rRNA için genin kopya sayısı değişir. Mayalarda 100 ila 300 tekrarlanan dizi bulunurken, amfibiler ve bitkilerde binlerce kopya bulunabilir. İnsanlarda ve farelerde 200 kopya bulunur. Bununla birlikte, bu genlerin yalnızca bir kısmı genellikle aynı anda öncü-45S rRNA'ya (insanlarda yaklaşık %50'si) kopyalanır. Hücreler büyük miktarda proteine ihtiyaç duyduğunda, eş zamanlı olarak kopyalanan öncü-45S rRNA geninin kopyalarının oranı daha yüksektir (Mangan ve ark., 2017).



Şekil 2.18 Nükleolus bölgeleri. Üst kısımda 5 insan kromozomunun NOR bölgeleri gösterilmektedir. 28S, 18S ve 5.8S rRNA'lar, 45S rRNA işlenmesinden sonra ortaya çıkar. 5S rRNA çekirdeğin diğer bölgesinden gelir (Megias ve ark., 2023e)

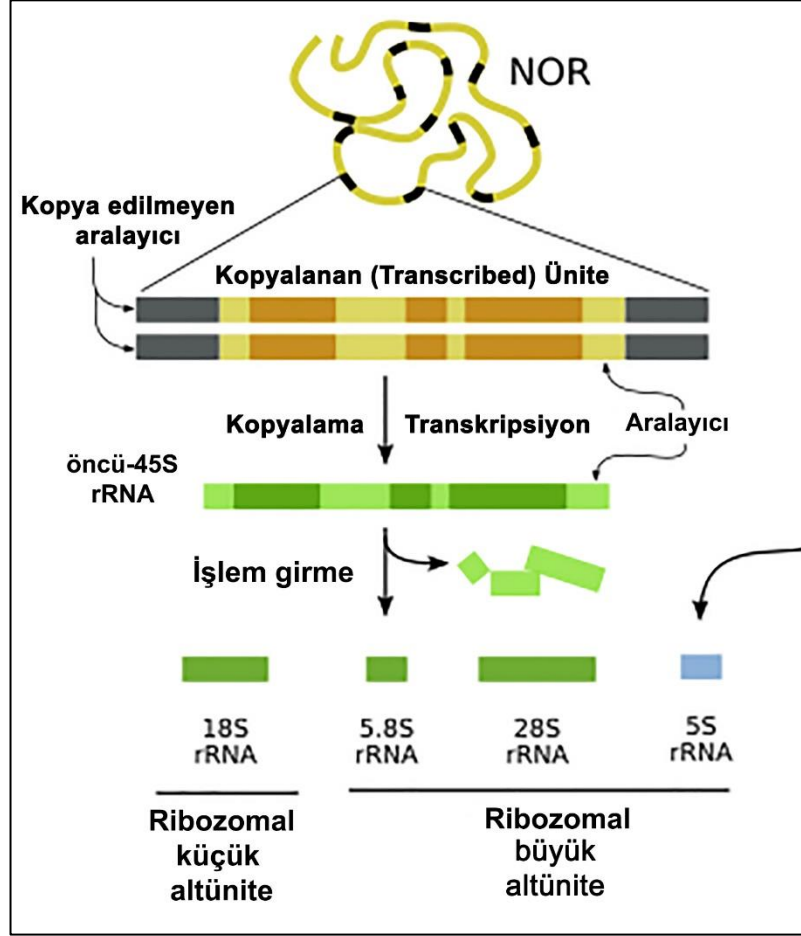
Neden öncü-45S rRNA'nın bu kadar çok kopyasına ihtiyaç var? Çoğu protein yalnızca tek bir genden sentezlenir. Bu durum eritrosit hemoglobini ve kaslardaki miyogloblin için de geçerlidir. Bu proteinler bol miktarda bulunur çünkü birçok mRNA aynı genden kopyalanır ve her mRNA birçok kez proteinlere çevrilir. Tek bir mRNA molekülünün translasyonundan 1000'den fazla protein sentezlenebilir. Yani iki amplifikasyon adımımız var: transkripsiyon (bir genden birçok mRNA kopyası) ve translasyon (bir mRNA molekülünden birçok protein). Bir genin ifadesinin son ürünü bir protein değil de bir RNA molekülü olduğunda ikinci amplifikasyon adımı eksik olur. Tek bir ökaryot hücresi büyük miktarda ribozom içerebilir ve bunların hepsi rRNA'lardan oluşur ve bu nedenle çok sayıda rRNA zincirine ihtiyaç duyar. Tüm rRNA'lar için bir genin bir kopyası yeterli olmayabilir. Hücreler bu sorunu aynı genin birçok kopyasına sahip olarak çözerler (Kressler ve ark., 2017).



Şekil 2.19 Ökaryotik rDNA'ya (rDNA lokuslarının genomik organizasyonu) ilişkin kısa kılavuz. (a) 45S rDNA gen kümesinin (5'-3' ünitesi) (veya rRNA transkripsiyon ünitesinin) yapısal organizasyonu; tekrarlayan veya tek rDNA kümeleri genom boyunca dağılmış olarak bulunabilir; ribonükleazlar aralayıcıları çıkardığından ve nükleolusta (ribozom biyogenezinden polisom ribozom oluşumuna kadar olan bölge) ayrı rRNA moleküllerini serbest bıraktığından, öncü pre-rRNA'yı oluştururlar; (b) 5S rDNA ünitesinin yapısal organizasyonu (5S rDNA, birçok türün genomunda da dağılmış olabilir); (c) Ana hatlarıyla belirtilen rRNA'lara sahip büyük alt birim (LSU) ve küçük alt birimden (SSU) oluşan 80S ökaryotik ribozom. (Symonová, 2019)

DNA'da rRNA'ları kodlayan iki tür gen vardır: biri daha fazla işlenmesi gereken öncü-45S rRNA için (Şekil 19-20) ve diğeri 5S rRNA için. İnsanlarda 5 kromozoma dağılmış öncü-45S rRNA geninin 200 kopyası vardır. RNA polimeraz I bu kopyaları kopyalar. Promotörlere yüksek benzerliği vardır ve bu da öncü-45S rRNA'ların sayısını artırmaya yardımcı olur. Öncü-45S rRNA geninin kopyaları, nükleolusun fibriller merkezini oluşturmak üzere toplanır. 5S rRNA, ribozomun büyük alt biriminin bir parçasıdır. Tip III RNA polimeraz tarafından kopyalanan 5S

rRNA geninin yaklaşık 2000 kopyası vardır. Ancak 5S rRNA'nın gen kopyaları nükleolusun bir parçası değildir (Mangan ve ark., 2017).



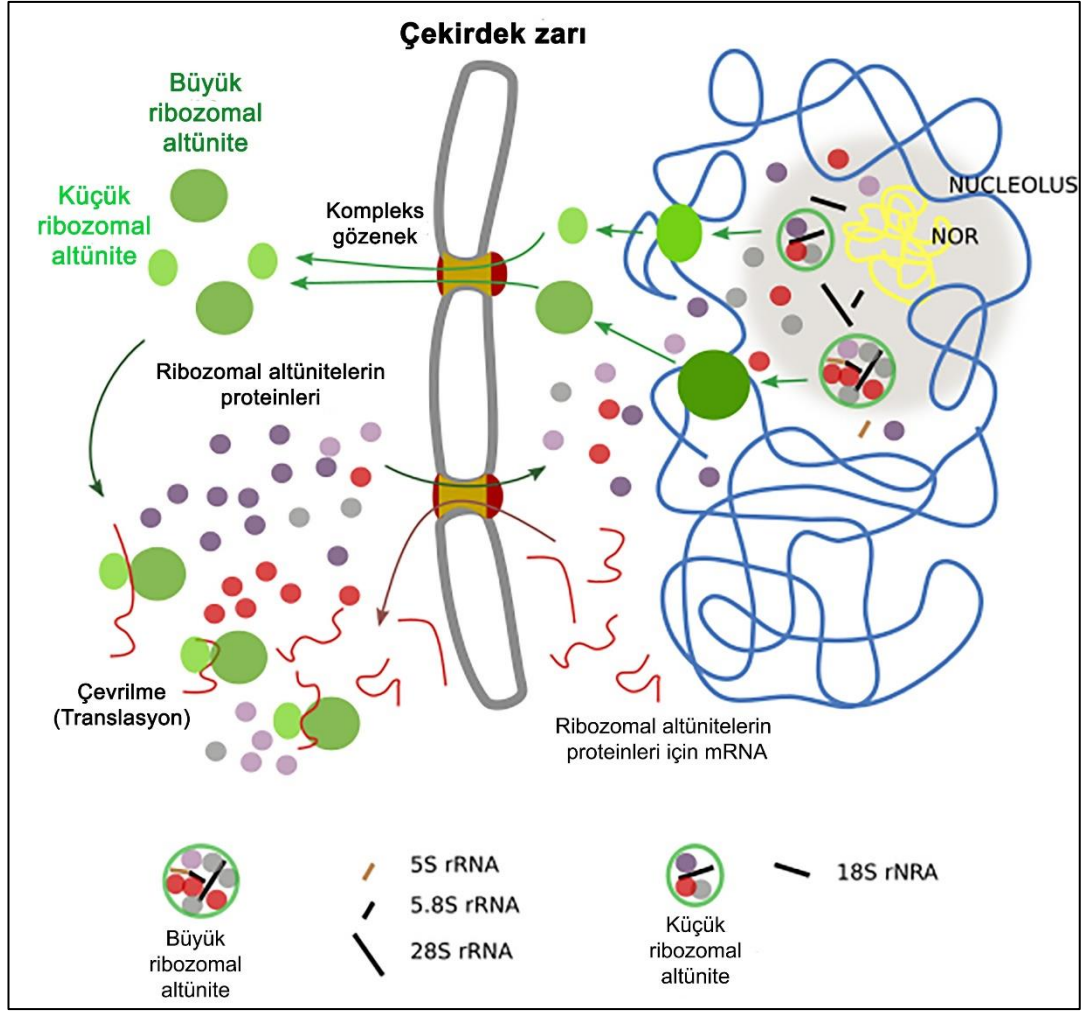
Şekil 2.20 NOR bölgelerinden kopyalanan öncü-45S rRNA'nın nükleolusta işlenmesi (Megías ve ark., 2023e)

Öncü-45S rRNA'ların kesilmesi ve ribozomal alt birimlerin bileşenleri olacak diğer daha küçük rRNA'lara dönüştürülmesi gerekir (Şekil 2.17). Bu işlem üç yeni rRNA ile sonuçlanır: 18S rRNA, 28S rRNA ve 5.8S rRNA. Daha önce de belirtildiği gibi 5S rRNA, nükleoplazmanın diğer bölgesinde sentezlenir. Uzun öncü-45S rRNA molekülleri nükleolusta sürekli olarak üretilir ve işlenir. Büyük ribozomal alt birim 5.8S, 28S ve 5S rRNA'ları içerir ve küçük ribozomal alt birim yalnızca 18S rRNA'yı içerir (Mangan ve ark., 2017).

2.2.3.3 Ribozomal Alt Birimlerin Birleştirilmesi

Mayalarda her dakika 2000'den fazla ribozom bir araya gelir. Dolayısıyla nükleolus çok yoğun bir yapıdır. Ribozomal alt birimlerin bir araya getirilmesi, moleküllerin çıkıp çekirdeğe girdiği karmaşık bir süreçtir (Şekil 2.21). Ökaryotik

ribozomlar yaklaşık 80 protein içerir. İlk olarak, ribozomal proteinlere ait genlerin transkripsiyonu nükleolar bölgenin dışında meydana gelir. Daha sonra bu mRNA'lar çekirdeksel gözenek kompleksleri (nuclear pore complex) boyunca çekirdek zarını geçer ve sitoplazmadaki serbest ribozomlar tarafından çevrilir. Sentezlenen bu yeni ribozomal proteinler çekirdeğe girer ve nükleolusa ulaşır; burada rRNA'larla birleşerek tam bir ribozomal alt birim (küçük veya büyük alt birim) oluştururlar. Ribozomal alt birimler bir araya toplandıktan sonra çekirdek zarını geçerek sitoplazmaya doğru ilerler ve burada çeviri yapmaya başlarlar. Bu şekilde, nükleolus, birçok molekülün ve aynı yerde ve aynı anda devam eden süreçlerin varlığının bir sonucudur: Öncü-45S rRNA'yı üretmek için kopyalanan ribozomal genler, bu transkriptlerin işlenmesinde rol oynayan proteinler, ribozomal alt birimleri oluşturacak ribozomal proteinler ve ayrıca ribozomal alt birimlerin birleştirilmesinde rol oynayan proteinler. Toplamda yaklaşık 690 farklı proteinin az çok kalıcı olarak nükleolusla ilişkili olduğu tahmin edilmektedir (Kressler ve ark., 2017; Mangan ve ark., 2017).



Şekil 2.21 Sitoplazma ve nükleoplazma arasında ribozomal moleküler bileşenlerin alış verışı (Megías ve ark., 2023e)

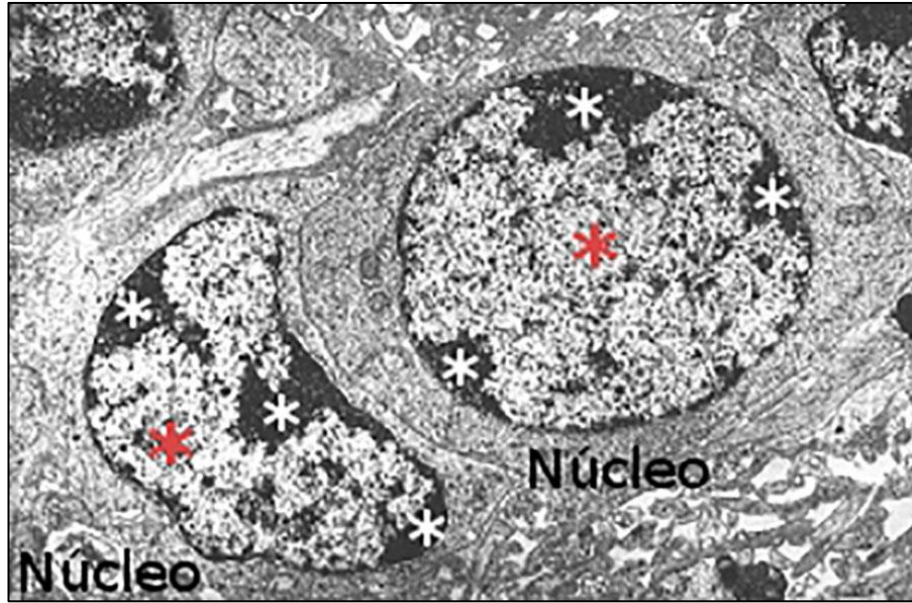
Ayrıca nükleolusta kalıcı olmayan proteinler de vardır. Birçok protein kısa süreliğine nükleolusta kalır ve daha sonra nükleoplazmanın geri kalan kısmına doğru ilerleyebilir. Ancak nükleolusta daha uzun süre kalırlar. Bu proteinlerin tümü ribozomların senteziyle ilişkili olmadığından nükleolusun ek işlevler geliştirdiği düşünülmektedir. Örneğin, nükleolusta, tRNA işleminin çeşitli aşamalarında yer alan kinazlar, küçük çekirdeksel RNA'lar gibi diğer ribozomal olmayan RNA'ların işlenmesinde rol oynayan proteinler vardır ve ayrıca DNA'yı onarmak için proteinler de vardır (Mangan ve ark., 2017).

2.2.4 Kromozom

Hücrelerin genetik bilgisi çok büyük DNA şeritlerinde depolanır ve kodlanır (çok daha kısa olan mitokondriyal ve plastid DNA hariç). DNA, ifade edilmek, bu ifadeyi düzenlemek, kopyalanmak ve nükleoplazmada uygun bir organizasyon için

diğer moleküllerin, çoğunlukla da proteinlerin büyük yardımına ihtiyaç duyan nispeten hareketsiz durağan bir moleküldür. Proteinler ayrıca, kopyalanan DNA'nın eşit olarak iki yavru hücreye bölündüğü mitoz sırasında da rol oynar. Dolayısıyla DNA her zaman proteinlerle ve diğer moleküllerle ilişkilidir. DNA artı ilişkili moleküller kromatin olarak bilinir (Belmond, 2002).

İnterfazdaki hücreler (hücre döngüsünün G1, S ve G2 fazları) ve bölünmeyen hücreler, heterokromatinli veya yoğunlaştırılmış kromatinli çekirdekler ve ökromatinli veya gevşek yoğunlaştırılmış kromatinli bölgeler gösterir (Şekil 2.22). M fazında tüm kromatin kromozomlarda oldukça sıkıştırılmıştır. M fazından sonra kromozomlar yeniden hem ökromatin hem de heterokromatin haline gelir. Böylece hücre bölünmesi, yoğunlaşma ve çözünme döngüsüne yol açar. İnterfaz (arafaz) sırasında ökromatinin bazı bölgeleri heterokromatin olarak yoğunlaşabilir ve bunun tersi de olur. Heterokromatin ve ökromatin arasında değişen bu bölgeler, fakültatif heterokromatin olarak bilinir (Bolzer ve ark., 2005).

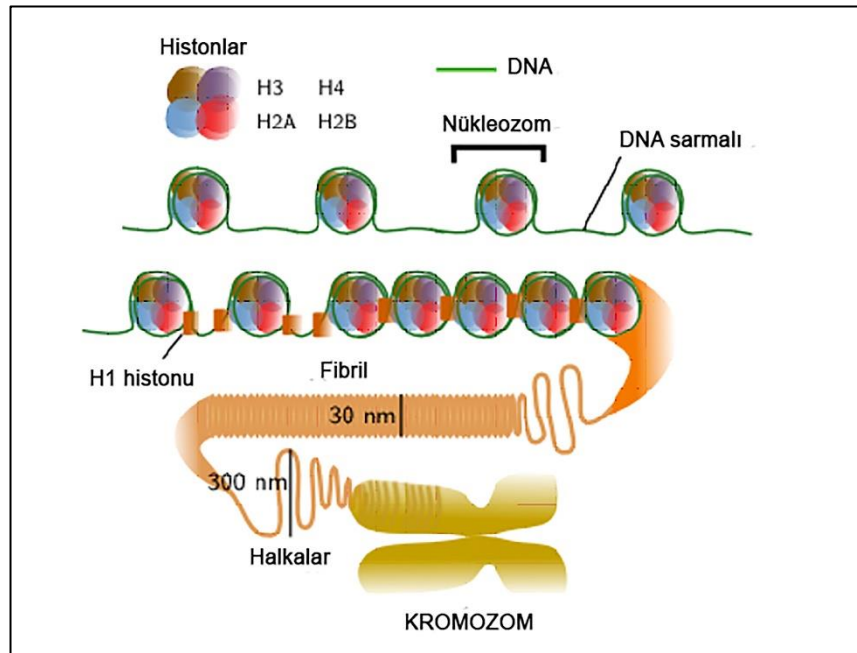


Şekil 2.22 Heterokromatin (beyaz yıldız işaretleri) ve ökromatin (kırmızı yıldız işaretleri) içeren çekirdekleri gösteren elektron mikroskobu görüntüsü (Megías ve ark., 2023f)

2.2.4.1 Nükleozomlar (10 nm)

DNA her zaman histonlarla ilişkilidir. Histonlar ve DNA, kromatin organizasyonunun temel birimi olan nükleozomları oluşturur (Şekil 2.23). Nükleozomların DNA paketlemenin daha temel seviyesi olduğu söylenebilir. İnsan hücrelerinde 3.3×10^7 civarında nükleozom olduğu tahmin edilmektedir. Bir

nükleozom, etrafına DNA'nın 1.65 kez sarıldığı histonlardan oluşan bir çekirdekten oluşur. Her bir nükleozomda yaklaşık 166 baz çifti (DNA çift sarmalıdır) bulunur. Ardışık iki nükleozom çekirdeği, yaklaşık 34 baz çiftinden oluşan bağlayıcı DNA ile bağlanır. Böylece DNA zinciri boyunca tekrarlanan yaklaşık 200 baz çiftinden oluşan birimler vardır. Bununla birlikte bağlayıcı DNA'nın uzunluğu, türlere veya dokulara bağlı olarak, hatta aynı hücre çekirdeğinin farklı bölgeleri arasında bile farklılık gösterebilir. Nükleozom çekirdeği H3, H4, H2A ve H2B histon çiftlerinden, yani 8 histondan oluşur. Bu histonların her biri, N terminalinde proteinden çıkıntı yapan 30 amino asit dizisine sahiptir. Bu dizi evrim sırasında oldukça korunur. İki ana işlevi olan bir kuyruğa benzer: diğer proteinlerin transkripsiyon veya onarım için DNA'ya erişimini düzenler ve ayrıca komşu nükleozomlarla etkileşime girerek daha yüksek düzeyde kromatin yoğunlaşmasına izin verir (Wanner ve Formanek, 2000).



Şekil 2.23 Nükleozomlardan kromozomlara kadar kromatinin organizasyon seviyeleri (Megías ve ark., 2023f)

2.2.4.2 Fibriller (30 nm)

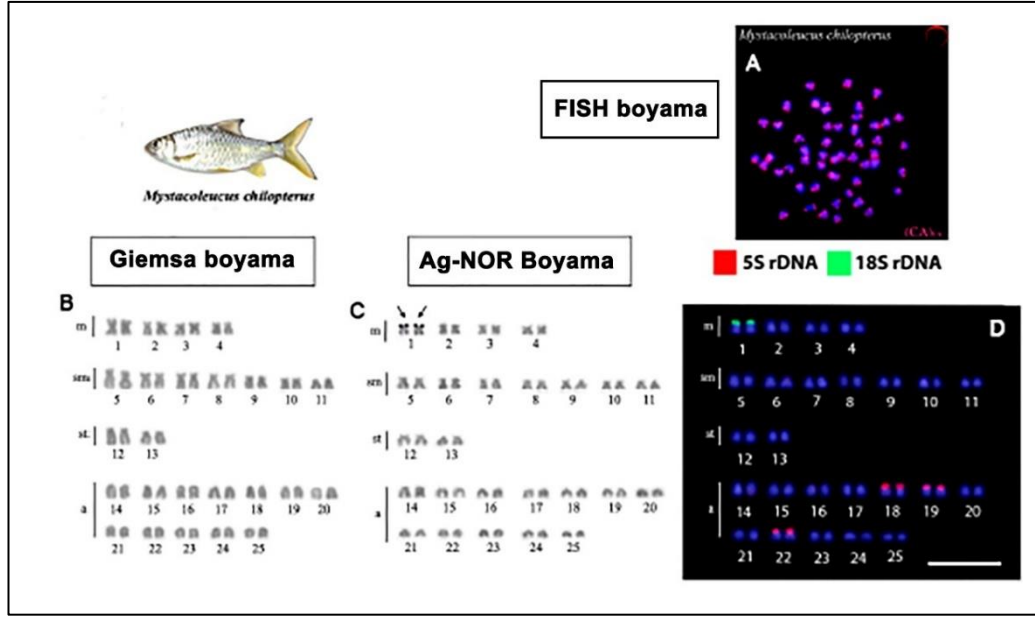
H1 histonu veya bağlantı histonu, bir nükleozomdan çıkışına veya diğer nükleozom girişinde DNA'ya yakın bir yerde bağlayıcıyla ilişkilidir. Memelilerde H1'in en az 8 çeşidi vardır. H1'in rollerinden biri, nükleozom histonlarıyla birlikte, 30 nm kalınlığındaki liflerde kromatinin yoğunlaşmasına yardımcı olmaktır. Liflerin nasıl yoğunlaşarak kromatinin en yüksek sıkıştırma düzeyi olan kromozomlara

dönüştüğünü açıklamaya çalışan birkaç model vardır. Helis, zikzak ve çapraz bağlantılı organizasyon ortaya atılmıştır. Çoğu yazar, fibrillerin yaklaşık 300 nm'lik halkalar halinde düzenlendiğini öne sürmektedir. Bu halkalar, kromomerler (300-700 nm) adı verilen daha yüksek dereceli yapılar halinde paketlenir. Kromomerler, interfaz çekirdeğinin heterokromatininde koyu renkli kümeler halinde mevcut olabilir. Bununla birlikte birçok yazar, halkalatın aracı organizasyonlar olmadan doğrudan kromozomlara paketlenebileceği öne sürülmektedir. Heterokromatin, 30 nm fibrillerden farklı paketlenme seviyelerinde de olabilir (Wanner ve Formanek, 2000).

2.2.4.3 Kromozomlar

M fazının başlangıcı hem ökromatinin hem de heterokromatinin kromozom haline geldiği anlamına gelir. Bu yoğunlaşma, kohezinerler, kondensinerler ve topoisomeraazlar dahil olmak üzere birçok protein tarafından düzenlenir. Her metafaz kromozomu, S fazı sırasında sentezlenen iki kardeş kromatitten oluşur. Başlangıçta, kondensinerler kardeş kromatidlere tüm kromatid uzantısı boyunca bağlı kalırlar, ancak M fazının sonraki aşamalarında yalnızca sentromerik bölgesinde yer alırlar (Belmond, 2002).

Pek çok hayvan türü diploittir, yani hücrelerinde her kromozomun iki kopyası vardır (her çift, biri anneden, diğeri babadan gelen iki homolog kromozomdan oluşur) ve bu nedenle her genin alel adı verilen iki kopyası vardır. Bir karyotip, bir türün metafazda olduğu gibi tam kromozom setini gösterir (Şekil 2.24). Bazı istisnalar olmasına rağmen kromozomların sayısı, boyutu ve şekli her türün karakteristiğidir. Karyotiplerin iki ana kromozom türü vardır: otozomlar ve cinsiyet kromozomları (gonozomlar). Otozomlar erkeklerde ve kadınlarda benzerdir ancak eşey kromozomları farklı olabilir. Örneğin memeli dişilerde iki X kromozomu bulunurken erkeklerde bir X ve bir Y cinsiyet kromozomu bulunur. Kromozom sayısı da türe göre değişiklik gösterir; bazı karınca türlerinde 1 veya 2 iken, bazı eğrelti otlarında 700'ün üzerine çıkar (Bolzer ve ark., 2005).

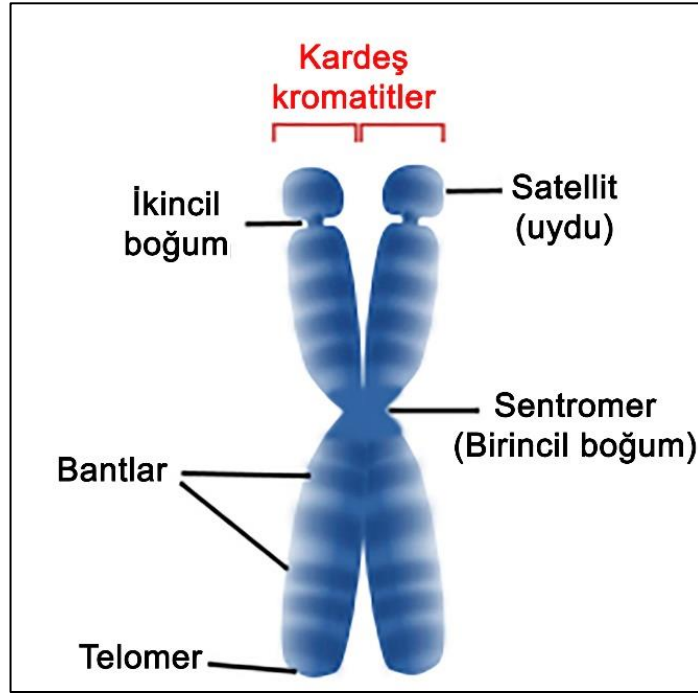


Şekil 2.24 Asya da yaşayan bir cyprinid türüne (*Mystacoleucus chlopterus*) ait metafaz kromozomları: A, mFISH boyalı metafaz plağı; B, Giemsa boyalı metafazdan elde edilen karyotip; C, Ag-NOR boyalı karyotip, oklar NOR bulunan kromozomları göstermektedir; D, mFISH boyalı karyotip yani homolog kromozomlar eşleştirilmiş ve p/q kol boyu oranlarına göre sıralanmış kromozom setini gösterir; kromozomlar üzerindeki kırmızı bölgeler 5S rDNA gen bölgelerini, yeşil boyalı olan bölgeler 18S rDNA bölgelerini göstermektedir (Khensuwan ve ark., 2023)

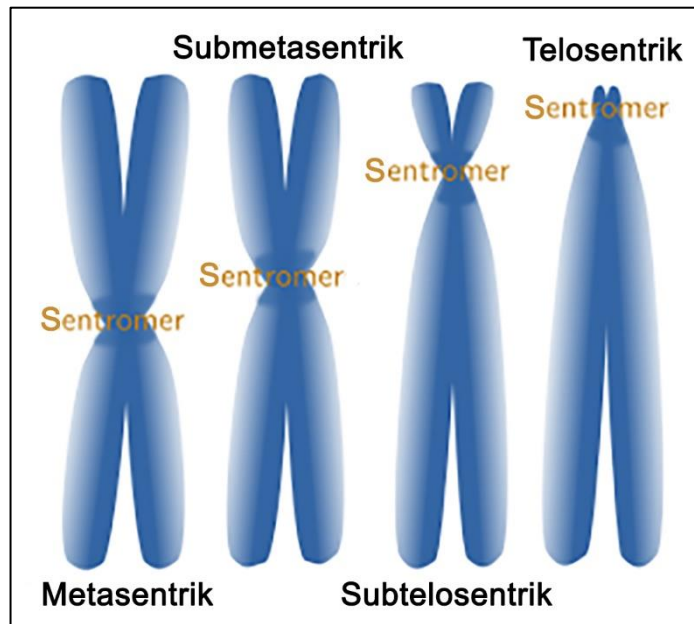
Işık mikroskopunda birkaç kromozom yapısı gözlemlenebilir (Şekil 2.25): sentromer veya birincil daralma, ikincil daralma, uydular, telomerler ve bantlar. Kardeş kromatitlerin uçlarına telomer adı verilir ve her iki kromatidin birbirine bağlandığı bölgeye sentromer veya birincil daralma denir (Megías ve ark., 2023f).

Kromozom morfolojisi, karyotipleri oluştururken önemli bir özelliktir çünkü kromozomlar karşılaştırılıp sınıflandırılabilir (Şekil 2.24 ve Şekil 2.26). Şekil büyük ölçüde sentromerin konumu tarafından belirlenir, çünkü genellikle eşit olmayan kromozom kollarının uzunluğunu etkiler. Metasentrik kromozomlar benzer uzunlukta kollar gösterir (örneğin Şekil 2.24'teki B- ve C- 1 – 4 nolu çiftleri). Submetasentrik kromozomların diğerinden açıkça daha büyük bir kolu vardır (örneğin, Şekil 2.24'teki B- ve C- 5 – 11 nolu çiftler). Subtelosentrik veya akrosentrik kromozomların farklı uzunluklarda kolları vardır ve bu fark metasentrik kromozomlardan daha yüksektir (bkz. Şekil 2.24'te B- ve C- 12 – 13 nolu çiftler). Telosentrik kromozomlar tek bir kol göstermez, bu da kromatitlerin birbirlerine

uçları aracılığıyla bağlandığı anlamına gelir (bkz. Şekil 2.24'te B-, C- ve D- 14 ile 25 nolu çiftler) (Megías ve ark., 2023f).

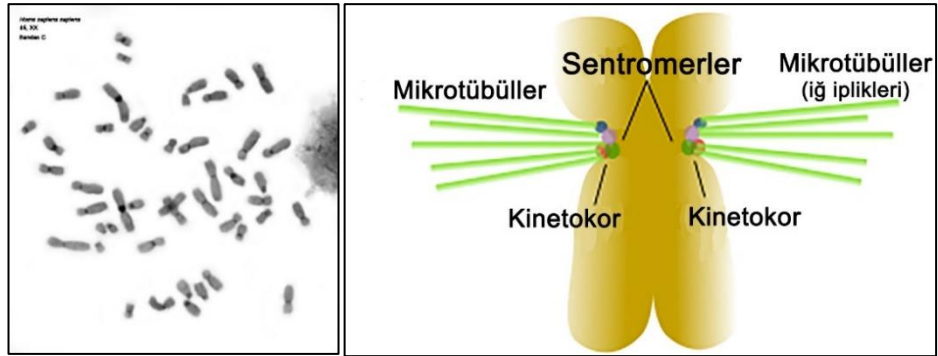


Şekil 2.25 Işık mikroskopunda görüntülenebilen yapıları gösteren kromozom çizimi. Bir kromozom bu yapıların tamamını göstermeyebilir (Megías ve ark., 2023f)



Şekil 2.26 Kromozomlar sentromer bölgelerine göre isimlendirilir (Megías ve ark., 2023f)

Tipik bir sentromer, yüksek ökaryotların metafaz kromozomlarında ışık mikroskopunda görülebilen, birincil daralma olarak bilinen bir daralma olarak görünür (Şekil 2.27). Birincil daralma, her iki kromatidin de kromozomun diğer bölgelerine göre daha ince olması nedeniyle, kardeş kromatitlerin birbirlerinden ayırt edilemediği kromozom bölgesi olarak tanımlanabilir. Sentromerler, daha az yoğunlaşmış kromatinden oluşan özel bir bölgedir ve anafaz sırasında kromozomların doğru şekilde ayrılmasında rol oynar (Şekil 2.27-A). Kinetokor, mitotik iç mikrotübüllerini toplayan, metafaz sırasında kromozomların uygun bir şekilde dizilmesine ve anafaz sırasında ayrılmasına yol açan, sentromerde toplanan bir protein kompleksidir. Dağınık-diffüze ve lokalize kinetokorlar vardır. En sık görülen lokalize kinetokorlar sentromerlerde bulunur ve mitotik mikrotübüllere bağlanır. Bazen kinetokor proteinleri o kadar konsantre olur ki, bazı maya türlerinde olduğu gibi, yalnızca bir mikrotübülü bağlarlar (Şekil 2.27-B). Diffüze kinetokorlar, daha az sıklıkta, kromozomun bütünü üzerine dağılmış proteinlere sahiptir, bu nedenle mikrotübüller tüm kromozom boyunca bağlanır (Vagnarelli ve ark., 2008).

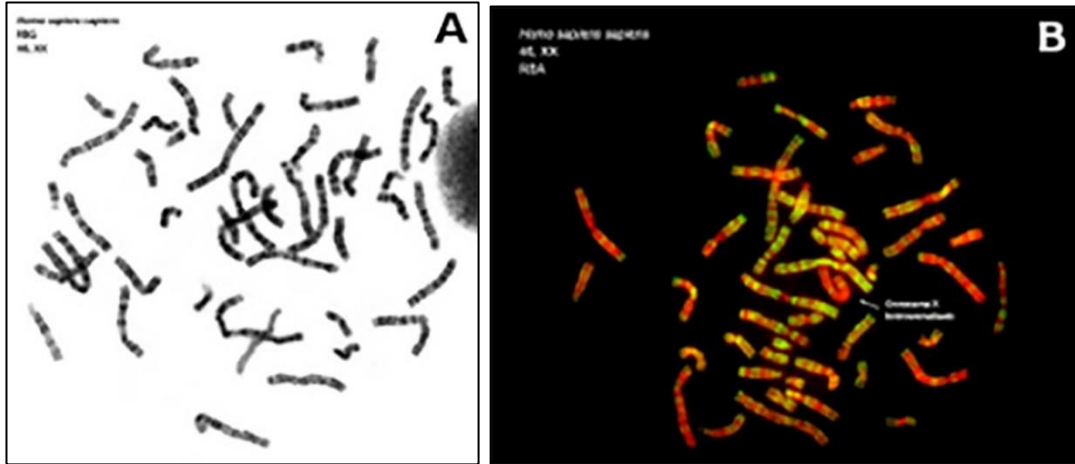


Şekil 2.27 Soldaki görüntü, genellikle sentromerlere yakın konumlanan C bantlarına veya yapısal heterokromatin bölgelerine sahip insan kromozomlarını göstermektedir. Sağdaki resimde, kinetokorlar sentromerlerin etrafında toplanır ve birçok mitotik iç mikrotübüle gösterilen bu bölgelere bağlanır. (Megías ve ark., 2023f)

Bazı kromozomların kollarında ikincil daralmalar bulunur. Bunlar daha gevşek kromatin içeren ancak sentromer içermeyen bölgelerdir. En iyi bilinen ikincil daralma, nükleolar düzenleme bölgeleri (NOR) olarak bilinen, nükleolusu oluşturan kromatin bölgeleri tarafından üretilir. Türe bağlı olarak, karyotipin yalnızca bir veya birkaç kromozomu, kromozom kollarının ara bölgesinde (terminalde değil) bulunan bu ikincil daralmayı gösterir. İkincil daralma telomer yakınında yer aldığı telomer ile ikincil daralma arasındaki kromozom segmenti uydu olarak bilinir (Şekil 2.25).

İnsanlarda 13, 14, 15, 21 ve 22 numaralı insan kromozomlarının kısa kolları uyduları gösterir (Megías ve ark., 2023f).

Işık mikroskopunda bazı özel boyama protokolleri ve boyalar bantları çeşitli yoğunluklarda veya farklı renklerde etiketleyebilir, bunlardan bazıları floresan boyalardır (Şekil 2.24 A ve Şekil 2.28 B). Bant deseni, kromozom ön işleminden ve kullanılan boyama protokolünden etkilenir. Bu bantları oluşturan DNA'nın yapısal (sitozin ve guanin oranları, kromatin sıkışması) ve fonksiyonel (replikasyon süresi) özellikleri de bantların görüntülenmesini etkiler. Bant deseni her kromozoma özel olduğundan, benzer boyut ve morfolojiye sahip kromozomları ayırt etmek için kullanılır. Bant desenleri ayrıca kromozom değişikliklerini tespit etmek veya kromozomdaki belirli genlerin fiziksel konumunu doğru bir şekilde tespit etmek için de çok faydalıdır (Bolzer ve ark., 2005).

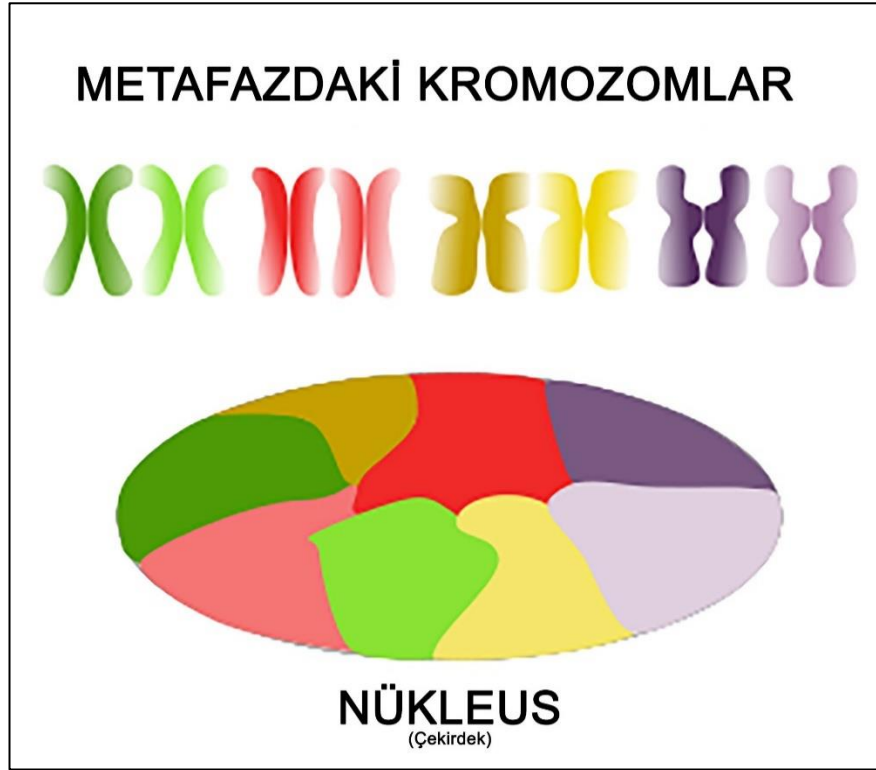


Şekil 2.28 Metafaz kromozomları: A) Giemsa ile boyanmış insan kromozomları. B) Bir floresan boya olan akridin turuncusu ile boyanmış insan kromozomları (Megías ve ark., 2023f)

2.2.4.4 Yoğunlaşan Kromozomlar (Kromatinin Paketlenmesi)

Çekirdeğin, kromozom yoğunlaşmasının ardından çok sayıda kromatin ile interfazda olduğunu düşündüğümüzde, hücrelerin devasa bir karmaşaya düşmeden DNA'yı nasıl yoğunlaştırabildiğini, çözebildiğini, düzenleyebildiğini ve ifade edebildiğini hayal etmek zordur. Aslında, bir karışıklık olmak şöyle dursun, 1980'de memelilerde her kromozomun kromatininin belirli bir uzaysal bölgeyi işgal ettiği gözlemlendi (Şekil 2.29). Bu bölgeler neredeyse küreseldir, çapı 2 ila 4 μm 'dir ve komşu bölgelerin sınırlarında çok az örtüşme vardır (ancak mayalarda bu bölgelerin sınırları o kadar iyi tanımlanmamıştır). Pek çok kanıt, çekirdekteki kromozom

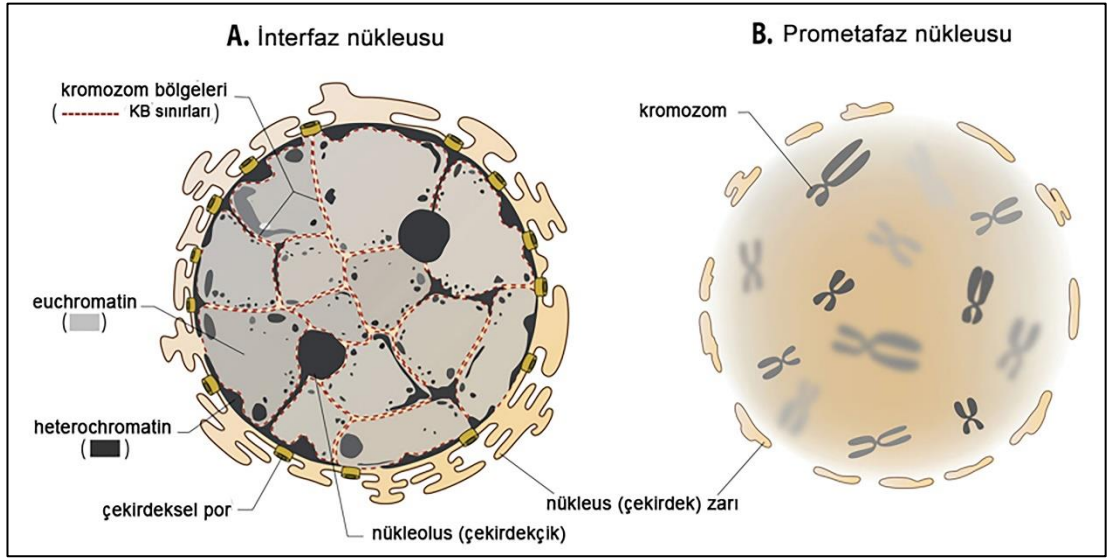
bölgelerinin rastgele olmayan bir dağılımını desteklemektedir. Örneğin, bölgelerin düzeni hücreden hücreye, farklılaşma dönemlerinde ve hücre döngüsü boyunca değişebilirken, genel modelin uzun zaman dilimleri boyunca bir hücrede oldukça stabil olduğu görülmektedir. Daha aktif bölgeler genellikle çekirdeğin merkezinde bulunurken, daha az aktif bölgeler çekirdek zarının yakınında lokalize olur. Bir bölgede, S aşaması sırasında erken çoğaltılan bölgeler (erken çoğaltma bölgeleri), S aşamasının ikinci kısmı sırasında çoğaltılan bölgelerden (geç çoğaltma bölgeleri) ayrılır. Kromatinin çekirdek laminasının ve çekirdek zarının iç zarı ile fiziksel etkileşimleri, kromozom bölgelerinin ayrılmasına yardımcı olur. Homolog kromozomun çekirdekte farklı bölgeleri de işgal ettiği dikkat çekicidir (Wanner ve Formanek, 2000).



Şekil 2.29 Kromozomlar anafaz sırasında yoğunlaşır ve kromatin çekirdekte düzenli bir şekilde dağıtılır çünkü her bir kromozom, kromatinini diğer kromozomların bölgeleriyle fazla örtüşmeyen belirli bir bölgeye yayar (Bolzer ve ark., 2005)

Her bölgenin içinde alt bölgeler veya alanlar vardır (Şekil 2.14 – 2.15). Örneğin, bastırılmış kromatin alanları vardır: polikombik, heterokromatin ve diğer daha az karakterize edilmiş heterokromatin organizasyonları. Ayrıca düzenleyici diziler, promotörler, kopyalanmış diziler ve yalıtıcı proteinlere bağlı bölgeler

içerebilen aktif veya açık kromatin de mevcuttur (Bolzer ve ark, 2005). Bir bölgenin bastırılmış kromatini diğer alanlarla etkileşime girmezken, açık kromatin bunu diğer kromozom bölgelerinin alanlarıyla bile yapabilir. Kromatin halkaları arasındaki yerel etkileşimler bölge alanlarının varlığını açıklayabilir. Örneğin, aktif kromatin, bastırılmış kromatin yerine aktif kromatin içeren yakındaki diğer alanlarla etkileşime girmeye eğilimlidir (Megías ve ark., 2023f). Kromozomların ayırt edilemediği kromatin halindeki durumu interfazdaki kromozomal bölgeler ile görünür duruma geldiği metafaz nükleusundaki durumu Şekil 2.30'da daha iyi anlaşılmaktadır.



Şekil 2.30 İnterfazda çekirdekte kromozomların birbirinden ayırt edilmesi zordur. Bununla birlikte, çekirdeğin içinde kromozom bölgesi olarak adlandırılan ayrı bir alanı işgal ederler (A'da kromozom bölgelerinin sınırları kırmızı noktalı çizgilerle gösterilmiştir). Öte yandan, daha açık renkli ökromatin (transkripsiyonel olarak aktif) ve daha koyu renkli heterokromatin yamalarının (transkripsiyonel olarak sessiz) görselleştirilmesi kolaydır. Hücre bölünmesi sırasında kromozom bölgeleri oldukça yoğunlaştırılmış kromozomlara dönüşür ve bunlar daha sonra birbirlerinden açıkça ayırt edilebilir (Anonim, 2023b)

2.3 Önceki Çalışmalar

Deniz balıklarında, özellikle pelajik ve bentik olarak yaşayanları dahil olmak üzere sitogenetik çalışmalar azdır ve türlerin sadece $\approx 2\%$ 'sinin karyotipi bilinmektedir. Bu temel biyolojik bilgi eksikliği, evrim, koruma ve doğal kaynak yönetimi gibi alanlarda bilimsel ilerlemeyi engelleyen büyük bilgi boşluklarına yol açar. Bununla birlikte, sitogenetik bilgi eksikliğinin DNA dizileme projelerinin ilerlemesini geciktirebileceğini çünkü bu bilgi boşluklarının genomları birleştirmeyi ve analiz etmeyi zorlaştırdığı iddia edilmektedir (Araya-Jaime ve ark., 2021). Deniz

balıklarında özellikle göçmen ve büyük türlerin laboratuvara getirilmesi ve laboratuvar koşullarında canlı tutulması zor olmaktadır (Ida ve ark., 1978). Bu nedenle kromozom çalışmalarında kesin sonuç alabilmek için birçok araştırmacı uzun yıllardır hücre ve doku kültürü yöntemleri geliştirmeye çalışmaktadır. Bu yöntemlerin uzun zaman almasının yanı sıra kültür tekniklerinin uygulamasında tecrübe, altyapı ve ekonomik olmaması kültür yöntemlerinin tercih edilmesini ve yaygınlaşmasını engellemektedir. Ayrıca balıklarda sitogenetik amaçlarla geliştirilen kültür yöntemlerinin uzun dönem olanları 3-5 hafta sürerken, kısa süreli olanları ise 3 ile 7 gün arasında değiştiği de bildirilmektedir (Gold ve ark. 1990; Thorgaard ve Disney, 1990).

Hücre biyolojisinin çeşitli alanlarındaki çalışmalar için önemli materyaller sağlayan balıkların hücre kültürleri, başlangıcı olan Wolf ve ark. (1960) tarafından yapılan ilk çalışma ile Clem ve ark. (1961) tarafından *in vitro* hücre hattı oluşturulana kadar memeli teknikleri etkisi altında geliştirilerek başarılı olmuştur. Balık kromozomları için sitogenetik tekniklerin geliştirilmesi, 1961'den bu yana doku kültürü yöntemlerinin bu alana girmesiyle birkaç yıl içinde yapılmaya başlanmıştır. Hücre kültürü teknikleri, kan, yüzgeç, pul, yumurtalık, böbrek ve gözlü embriyolar gibi çeşitli kaynaklardan elde edilen lökositlerin ve hücrelerin kullanımıyla kullanılabilir hale geldi ve balıkların sitogenetik araştırmalarına uygulanmak üzere avantajlı bir şekilde yapıldı (Ojima, 1978).

Bu amaçla çeşitli dokulardan ve organlardan uzun ve kısa süreli *in vitro* kültür metotları balıklarda başarılı olmuştur (Thorgaard ve Disney, 1990; Fenocchio ve ark. 1991; Brum ve ark., 1992; Ozouf-Costaz ve ark., 2015). Kısa süreli de yapılabilsen her zaman ve her laboratuvarında balıkları öldürmeden kromozom tetkiklerinin sadece kan ve doku kültürü ile yapılamayacağı ortak kanısında olan sitogenetikçiler hem direkt hem de numuneye en az hasar (minimal invazif) verecek teknikler geliştirmeye çalışmışlardır (Denton ve Howell, 1969; Ida ve ark., 1978; Catlin ve Ferreria, 1989; Araya-Jaime ve ark., 2021). Bu çalışmada en son Araya-Jaime ve ark. (2021)'in belirlemiş olduğu ölü balık numunelerinden kromozom elde etme yöntemi uygulanmıştır.

Türkiye’de araştırmaya konu olan deniz balıklarında yapılmış çalışma sayısı çok sınırlıdır. Bu nedenle çalışmada elde edilen türlerin bulunduğu balık gruplarında yapılmış literatüre yer verilmiştir.

Genus: *Mullus* vb. türler

Arai ve Koike (1979), Japonya’nın Chiba eyaletinin kıyılarından elde ettikleri 2 örnekten hazırladıkları preparatlara yaptıkları Giemsa boyama neticesinde *Parupeneus spilurus* (Mullidae)’un kromozom sayısını 44 ve karyotipinin de 4 çift metasentrik, 4 çift submetasentrik, 2 çift büyük metasentrik ve 12 çift daha küçük subtelosentrik – akrosentrik kromozomdan oluştuğunu tespit etmişlerdir. Kromozom kol sayısı NF’nin 60 olduğu belirtilmiştir.

Laliberte ve ark., (1979) Monako’nun Ligurya Denizi’nde Cenova Körfezi’nden elde ettiği *M. barbatus* türünde homolog kromozom sayısı $2n=44$ olan iki farklı sitotip olduğunu tespit etmiştir. Bildirdiklerine göre barbun balığının $4m/sm+40a$ (NF=50) ve $6m/sm+38a$ (NF=48) şeklindeki karyotiplere sahip olduğunu bildirmişlerdir.

Cano ve ark., (1982) İspanya’nın Malaga sahillerinden örnekledikleri 29 türden birisi olan tekir balığı, *Mullus surmuletus*’un $2n$ kromozom sayısının 48 olduğunu ve NF değerinin 50 olduğunu bildirmiştir.

Vitturi ve ark., (1992) Akdeniz’de İtalya’nın Palermo kıyılarından örnekledikleri 12 *Mullus surmuletus* ve 10 *M. barbatus*’tan elde ettikleri sitotaksonomik sonuçlara göre her iki türün de kromozom sayısının 44 olduğu, *M. surmuletus*’un 22 çift homolog kromozomdan meydana gelen karyotipinin de 1 çift metasentrik, 3 çift submetasentrik, 8 çift subtelosentrik ve 10 çift akrosentrik kromozomdan (NF=52) oluştuğunu bildirmiştir. *M. barbatus*’ta ise 3 metasentrik, 8 subtelosentrik ve 11 akrosentrik kromozom çiftinden (NF=50) oluştuğu belirtilmiştir.

Karahan (2016). Akdeniz’de Mersin körfezinden örneklediği paşa barbunu, *Upeneus mossulensis*’te diploid kromozom sayısının 44 ve $2m+2st+40a$ kromozomdan oluşan bir karyotipi (NF=46) olduğunu bildirmiştir.

Prazdnikov (2016), Karadeniz’den Azak Denizi’ne geçişte Kerç boğazında yer alan Taman Körfezi’nden aldığı barbun balığı, *M. barbatus* numunelerinin 4

metasentrik ve ikisi büyük 18 subtelo-akrosentrik kromozomlu ($2n=44$, $NF=52$) olduğunu tespit etmiştir.

Genus: *Neogobius* vb. türler

Ene (2003), kayabalığı, *Neogobius gorlab* örneklerini Romanya'nın Tuna Deltasında yer alan Razelm Gölü'nden aldıktan sonra hazırladığı lam preparatlarına uyguladığı bir dizi boyamalar (Giemsa, C-, AgNOR- ve CMA3 boyama) neticesinde bu türe ait diploid sayının ($2n$) 30 ile 32 arasında değiştiğini bildirmiştir. Bu duruna Robertson varyasyonunun etkidiğini belirttiği karyotipin ise 5 çift metasentrik, 1 çift submetasentrik ve 9 çift telosentrik ($2n=32$) kromozomdan oluştuğu bildirilmiştir.

Esmaily ve Kalbassi (2008), yaptıkları çalışmada kocabaş kayabalığı veya Hazar kayabalığı olarak bilinen *Neogobius kessleri*'nin kromozom sayısı $2n=46$ olduğu ve tamamının akrosentrik kromozomdan oluştuğunu tespit etmişlerdir.

Ocalewicz ve Sapota (2011), Polonya'nın Baltık Denizi Gdansk Körfezi'nden elde ettikleri 9 adet *Neogobius melanostomus* numunesinden hazırladıkları preparatlardan aldıkları sitotaksonomik sonuçlara göre 46 subtelo-akrosentrik kromozoma sahip olduğunu tespit etmişlerdir. Bu çalışmada yapılan boyamalarda DAPI, CMA3, AgNO₃ ve FISH pozitif bölgelerin olduğu belirlenmiştir.

Vasil'eva ve ark., (2011) Karadeniz'in kıyısında bulunan Sayık Lagün Gölü'nden örnekledikleri Sirman (*Neogobius syrman*) ve Zencefil (*N. eurycephalus odessicus*) kaya balıklarının sitogenetik yapısını belirlemişlerdir. Yaptıkları Giemsa boyamalar sonucunda *N. syrman* için 5 çift metasentrik, 2 çift submetasentrik ve 9 çift akrosentrik kromozomdan ($2n=32$, $NF=46$) oluşan karyotipi olduğu, *N. eurycephalus odessicus*'ta 46 akrosentrik ($NF=46$) kromozoma sahip olduğu bildirilmiştir.

Prazdnikov ve ark., (2013) Hazar Kocabaş kayabalığı olarak da bilinen *Neogobius gorlab*'ın 86 örneğinde sitogenetik inceleme yapmışlardır. Rusya'nın dört farklı bölgesinden (Cheboksary Gölü, Don Nehri, Bolşoy Uzen nehri ve Maly Uzen nehri) örneklerde $2n=43$ ile 46 kromozom sayısı arasında değişen 11 farklı sitotrip olduğunu bildirmişlerdir. Tüm sitotiplerde kromozom kol sayısının (NF) 46 olduğu da belirtilmiştir.

Bigaliev ve ark., (2014) Hazar kocabaş kayabalığı, *Neogobius gorlab*, kromozomları üzerine yaptıkları çalışmada (Hazar Denizi, Aktay Şehri yakınlarındaki) 12 farklı sitotip tespit etmişlerdir. Kromozom sayısının da 38 ile 40 arasında olduğunu ve buna bağlı olarak da NF değerinin de 42 ile 48 arasında değiştiği bildirilmiştir.

Prazdnikov ve ark., (2023) Hazar Denizi kıyılarından örneklediği dört kayabalığı türünün (*Neogobius fluviatilis*, *N. gorlab*, *N. platyrostris* ve *Proterorhinus marmoratus*) karyotipik evrimi üzerine inceleme yapmıştır. Yapılan çalışmada *N. fluviatilis* ve *P. marmoratus*'un 46 akrosentrik kromozomu olduğu belirtilirken *N. platyrostris*'te 1 çift subtelosentrik, 2 homolog olmayan akrosentrik kromozom ve 21 çift akrosentrik kromozomu tespit edildiği bildirilmiştir. Araştırmacılar *N. gorlab*'ta ise 8 farklı sitotipte 2n sayısının 43 ile 46 kromozom arasında değiştiğini kaydetmiştir.

Ünal Karakuş ve ark. (2023) Bilecik ili Tozma Köyü Mevkiinde Sakarya Deresinden örnekledikleri 4 *Neogobius fluviatilis*'ten elde ettikleri sitotaksonomik sonuçlara göre 46 akrosentrik kromozoma sahip olduğunu belirlenmiştir.

Genus: *Scorpaena*

Cataudella ve ark., (1973) çalışmalarında inceledikleri 11 türden birisi olan *Scorpaena porcus*'un kromozom sayısının $2n=42$ ve karyotipinin de 3 çift metasentrik, 5 çift subtelosentrik ve 13 çift akrosentrik kromozomdan meydana geldiğini tespit etmişlerdir.

Thode ve ark., (1985) İspanya'nın Malaga kıyılarından elde edilen *Scorpaena notata* ve *S. porcus*'ta yapılan sitogenetik incelemelerde sırasıyla kromozom sayısı $2n=34$ ve $2n=42$ olduğu, karyotipleri ise yine sırasıyla 24 subtelosentrik ile 10 akrosentrik ve 6 metasentrik, 10 subtelosentrik ve 26 akrosentrik kromozomdan oluştuğu bildirilmiştir.

Giles ve ark., (1988) *Scorpaena porcus* ve *S. notata*'da çeşitli boyamalar (BrdU-FPG ve RE bantlama) sonucunda sırasıyla 42 ve 24 kromozoma sahip oldukları tespit edilmiştir.

Yokoyama ve ark., (1992) 8 Scorpaeniform tür üzerine yaptıkları sitotaksonomik çalışmada tüm türlerin 48 kromozoma sahip olduğu *Scorpaena* genusundan türlerin sırasıyla karyotip formülleri *S. neglecta miostoma*'da $8m+16sm+36st$, *S. n. neglecta*'da $6m+2sm+30st+10a$ ve *S. izensis*'te $8m+24st+16a$ olarak belirtmişlerdir.

Corrêa ve Galetti (1997), Brezilya'nın Rio de Janeiro eyaleti kıyılarında Guarabara körfezinden topladıkları 2 *Scorpaena brasiliensis* ve 21 *S. istmensis* örneğinde yaptıkları sitogenetik incelemeler sonucunda *S. brasiliensis*'in $2n=46$ (14 metasentrik-submetasentrik ve 32 subtelosentrik-akrosentrik, NF=60) ve *S. istmensis*'in de $2n=40$ (14m-sm+26st-a, NF=54) kromozoma sahip olduklarını bulmuşlardır.

Caputo ve ark. (1998) sitogenetik olarak inceledikleri 4 Scorpaeniform türden ikisi *Scorpaena* genusundan *S. porcus*'un $2n=42$ (Karyotip formülü $4m+2sm+10st+26a$, NF=48) ve *S. notata*'nın $2n=34$ (Karyotipi $26st+8a$, NF=36) kromozomu olduğu bildirilmiştir.

Genus: *Trachurus*

Murofushi ve Yoshida (1979), Japonya'nın İzu Yarımadası kıyılarından örnekledikleri 4 Carangid türü içinde yer alan *Trachurus japonicus*'un kromozom sayısını $2n=48$ ve karyotipini de 2 çift metasentrik, 7 çift submetasentrik, 6 çift subtelosentrik ve 9 çift akrosentrik kromozom (NF=78) olarak tespit etmişlerdir.

Caputo ve ark., (1996) Ancona'nın (İtalya) Adriyatik Denizi kıyılarından 6 adet *Trachurus trachurus* ve *T. mediterraneus* örneğinin sitogenetik analizi sonucunda her iki türün de 48 kromozoma sahip olduğunu ve karyotiplerini de sırasıyla $2m+46a$ (NF=50) ve $4m+4sm+14st+26a$ (NF=70) olarak farklılaştığını belirlemişlerdir.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

Araştırmada deniz balıklarında sitogenetik açıdan başarılı olan Araya-Jaime ve ark., (2021)'nin bildirdiği postmortem dönemde *in vitro* yöntem temel alınarak balıklardan elde edilen böbrek dokusu kültür ortamında (PB-MAX™) hücre bölünmesi neticesinde kromozom elde etme yöntemi izlenmiştir. Çalışma metodolojik olarak aşamalarına göre literatürde belirtilen yöntemlere bağlı kalınarak aşağıdaki gibi gerçekleştirilmiştir.

3.1 Materyal

Çalışmada balık numuneleri Ordu İli Fatsa ilçesinde (Şekil 3.1) ve yakın çevresinde profesyonel ve/veya amatör olarak çalışan balıkçılardan temin edilmiştir. Bu amaçla Şubat – Kasım 2023 tarihleri arasında tesadüfi olarak örnekleme yapılmış olup elde edilen her biri farklı dört familyaya ait 4 türden en az bir örnek alınarak kromozom yapıları tespit edilmiştir. Araştırmada tür tayininde Akşıray (1987), Bat ve ark., (2008), Bilecenoglu ve ark., (2011) ve Nelson ve ark., (2016) kaynaklardan yararlanılmıştır.

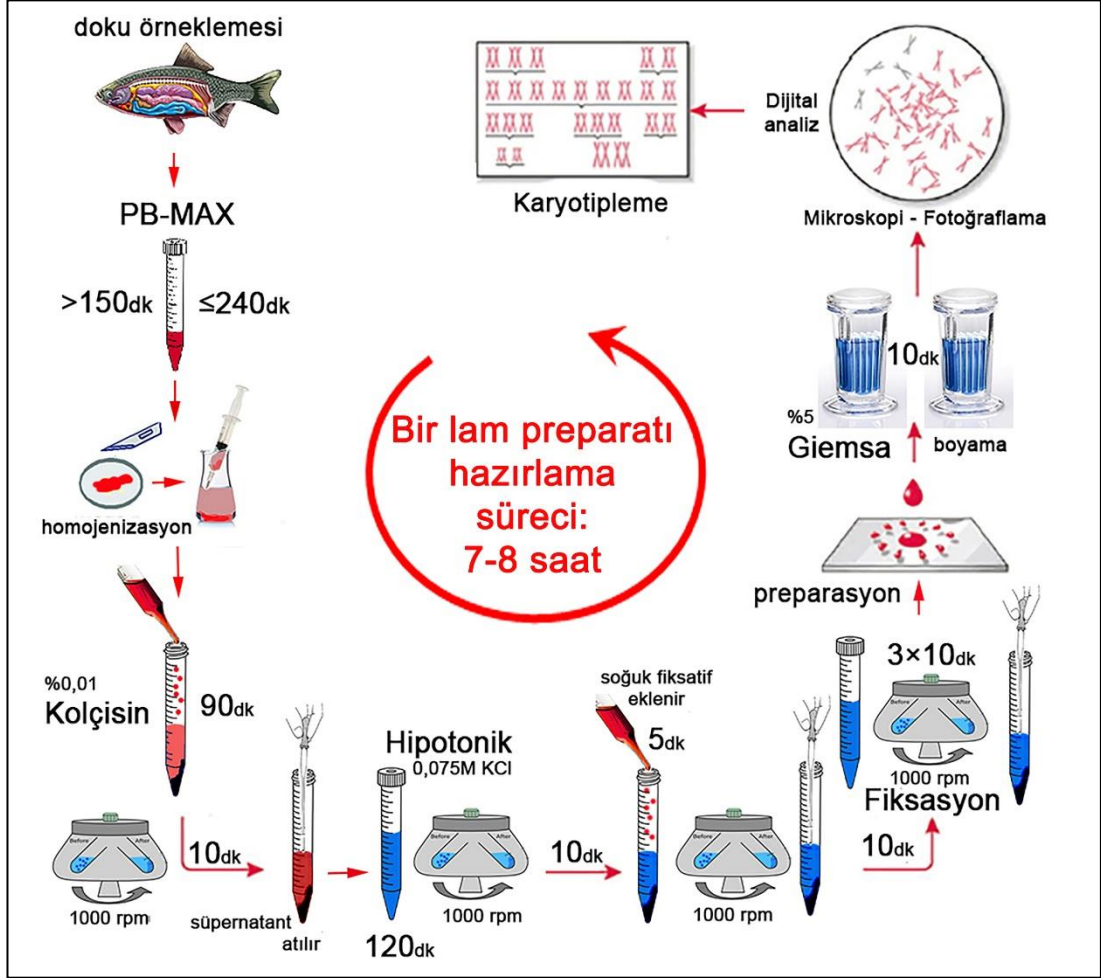


Şekil 3.1 Balık numunelerinin tesadüfi olarak alındığı profesyonel balıkçıların avlandığı bölgeler

Balık numuneleri ölüm sonrası (postmortem) dönemde en fazla dört saatlik tazelikteyken elde edilen dokular vakit kaybedilmeden Fatsa Deniz Bilimleri Fakültesi Biyokimya laboratuvarına getirilmiş ve kültür ortamına alınmıştır.

3.2 Yöntem

Bu çalışmada deniz balıklarında ölüm sonrası (postmortem) *in vitro* koşullarda kromozom preparasyonu (Araya-Jaime ve ark., 2021) aşağıda gibi diyagramatik olarak özetlenmiştir.



Şekil 3.2 Çalışmada deniz balıklarında ölüm sonrası (postmortem) *in vitro* koşullarda kromozom preparasyonu şematik özeti

3.2.1 Kimyasalların Hazırlanması

i. PB-MAX™ kültür ortamı

–18°C’de muhafaza edilen 100ml PB-MAX™ stok solüsyonu çözdürüldükten sonra en az 5ml olacak şekilde 15ml’lik Falcon tüplerin dağıtılmış ve tekrar derin dondurucuya yerleştirilmiştir. Her bir örnek için (yaklaşık 1gr doku örneği için) bir tüp kullanılmıştır (Araya-Jaime ve ark., 2021).

Diğer kimyasal ve solüsyonların hazırlanmasında Nirchio ve Oliveira (2006), ile Ozouf-Costaz ve ark., (2015) belirttiği şekilde aşağıdaki gibi hazırlanmıştır.

ii. Kolçisin solüsyonu (%0.01)

Çalışma solüsyonu 0.001g kolçisin ($C_{22}H_{25}NO_6$) 100ml distile suda çözdürülecek şekilde hazırlanmıştır. Bununla birlikte, kısa süreli kullanım amacıyla koyu renkli şişede (amber bottle) +4°C'de buzdolabında muhafaza edilen ve her örneklemede örnek sayısına göre taze olarak 5 ve 10 ml olacak şekilde çalışma solüsyonları hazırlanmıştır.

iii. Hipotonik solüsyonu (0.075M KCl)

Her örnekleme taze olacak şekilde çoğunlukla da PB-MAX™ kültür ortamında inkübasyon esnasında son hacim 100ml olacak şekilde 0.563g KCl distile suda çözdürülerek hazırlanmıştır. Parafilmle ağzı kapalı olacak şekilde erlenmayerde hipotonik işlemine kadar oda sıcaklığında muhafaza edilmiştir.

iv. Fiksatif solüsyonu (Carnoy)

Metanol..... 3 kısım

Glacial Asetik Asit..... 1 kısım

Olacak şekilde çalışma solüsyonu, her örnekleme çalışmasında dokuların PB-MAX™ kültür ortamında inkübasyonu esnasında, hazırlandı ve fiksasyon işlemine kadar buzdolabında muhafaza edilmiştir.

v. Fosfat Tamponu ve %5 Giemsa solüsyonu

Fosfat tamponu (1)

Solüsyon A: 10.7442g $Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$ 500 ml distile suda çözüldü.

Solüsyon B: 4.0827g KH_2PO_4 500 ml distile suda çözüldü.

Ve iki solüsyon karıştırıldı (pH 6.8), ardından buzdolabında saklandı.

Fosfat tamponu (2)

Bir adet phydrion tableti (6.8 pH) 1 litre suda çözdürüldü.

Her 100ml boya solüsyonu için Giemsa (Azur-eosin-methylene blue) solüsyonundan 5ml üzerine 95 ml fosfat tamponu ilave edildi taze olarak hazırlandı.

vi. 2×SSC solüsyonu

Sodyum klorid (NaCl)..... 17.53g

Sodyum Sitrat ($Na_3C_6H_5O_7 \cdot 2H_2O$)..... 8.82g

800 ml distile suda çözülür pH7.0'ye ayarlanır. PH üzerinde (bazik) çıktığı için 1 N HCl ile ayarlandı ve solüsyon 1000 ml'ye distile su ile tamamlandı.

vii. HCl (1N, 0.1N ve 0.2N) solüsyonları

1N HCl: 50 ml distile su üzerine yavaş bir şekilde 7.96ml HCl ilave edildi ve 100ml'ye distile su ile tamamlandı.

0.1N HCl: 50ml distile su üzerine yavaşça 0.79ml HCl ilave edildi ve 100 ml'ye distile su ile tamamlandı.

0.2N HCl: Erlenmayerdeki 900ml distile su üzerine yavaş yavaş 16.6 ml HCl (hidroklorik asit) ilave edildi ve ardından 1000 ml'ye distile su ile tamamlandı.

viii. Baryum hidroksit solüsyonu (%2.5 ve %5)

2.65 g (%2.5) ve 5.3g (%5) Baryum hidroksit ($Ba(OH)_2 \cdot 8H_2O$) 100ml distile suda çözüldü, çözelti HCl muamelesi esnasında 42°C'de ısıtılarak hazırlandı ve filtre edildi.

ix. Jelatin (%1 ve %2)

%2 solüsyon için 1g (%1'lik için 0.5g) toz jelatin kaynayan az bir miktar distile suda çözülür ve distile su ilavesi ile 50 ml'ye tamamlanarak soğutuldu ve üzerine 0.5ml (%1'lik için 0.25ml) formik asit ilave edilirken karıştırıldı. (Kullanmadan önce hazırlandı ve oda sıcaklığında koyu renkli damlalıklı şişede bekletildi).

x. Gümüş Nitrat Solüsyonu (%25 – 50)

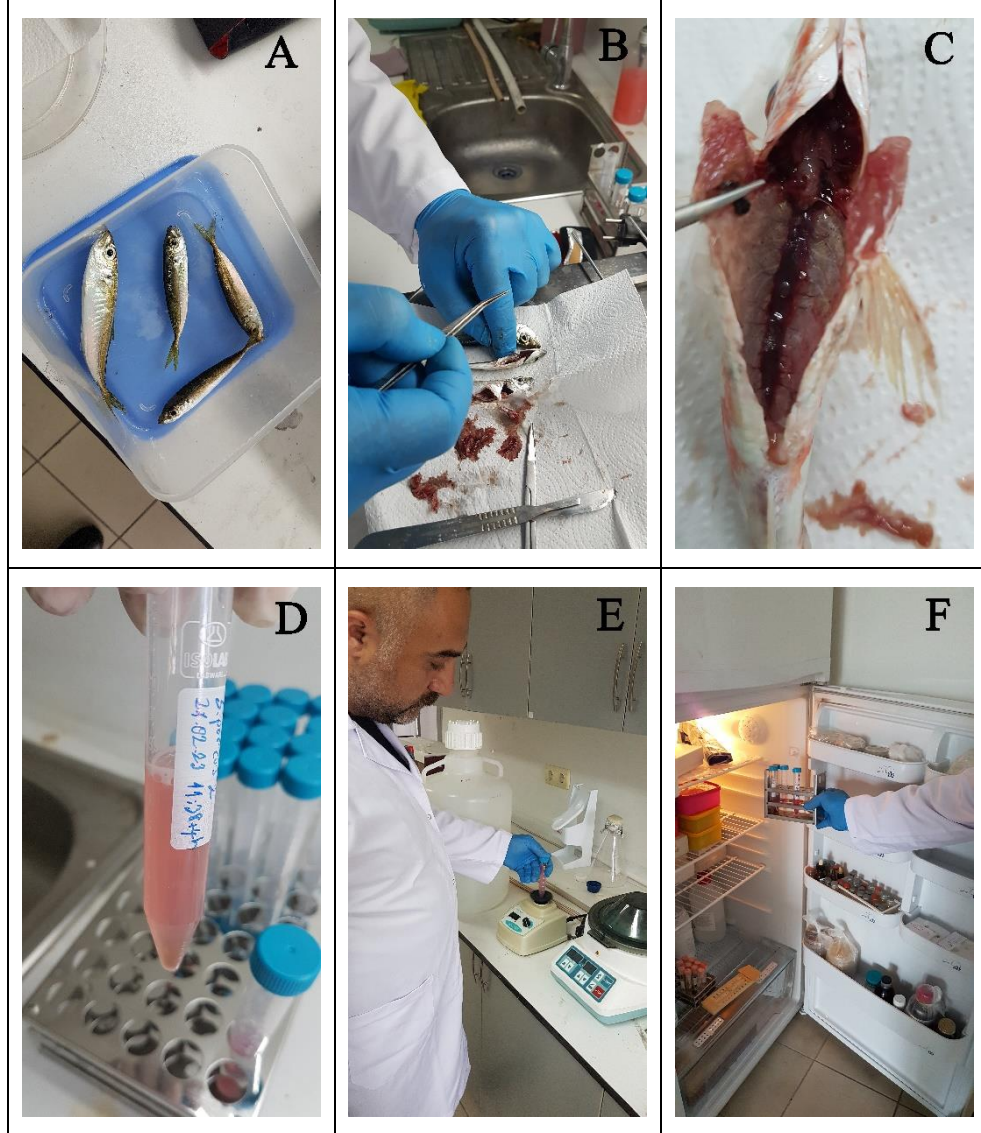
%25 solüsyon: Her 0.25g Gümüş Nitrat ($AgNO_3$) 1ml distile suda çözüldü.

%50 solüsyon: Her 0.5g $AgNO_3$ 1ml distile suda çözüldü.

3.2.2 Dokuların Çıkarılması ve Kısa Süreli Kültür

Çalışmada doku olarak alınan böbrek, dalak ve solungaçlardan literatürde (Araya-Jaime ve ark., 2021) belirtildiği gibi başlangıçta birkaç örnekte yapılan ilk denemede böbrekten hazırlanan preparatlardan daha iyi sonuçlar alınmış ve diğer tüm örnekler için de bu yol izlenmiştir. Balık numunelerinin sterilitesi kaybedilmeden özellikle alkol ile dış yüzeyleri silinerek böbrek dokuları çıkarılmıştır (Şekil 3.3 B, C). Şekilde gösterildiği gibi birgün öncesinde veya çalışma öncesinde dondurucudan çıkarılıp çözdürülen ve en az 5ml kültür solüsyonu bulunan Falcon

tüplerine yaklaşık 1g böbrek doku örneği ilave edilmiştir (Şekil 3.3 D, E) ve +4°C'deki buzdolabında en az 2.5 saat – en fazla 15 saat inkübasyona bırakılmıştır (Şekil 3.3 F).

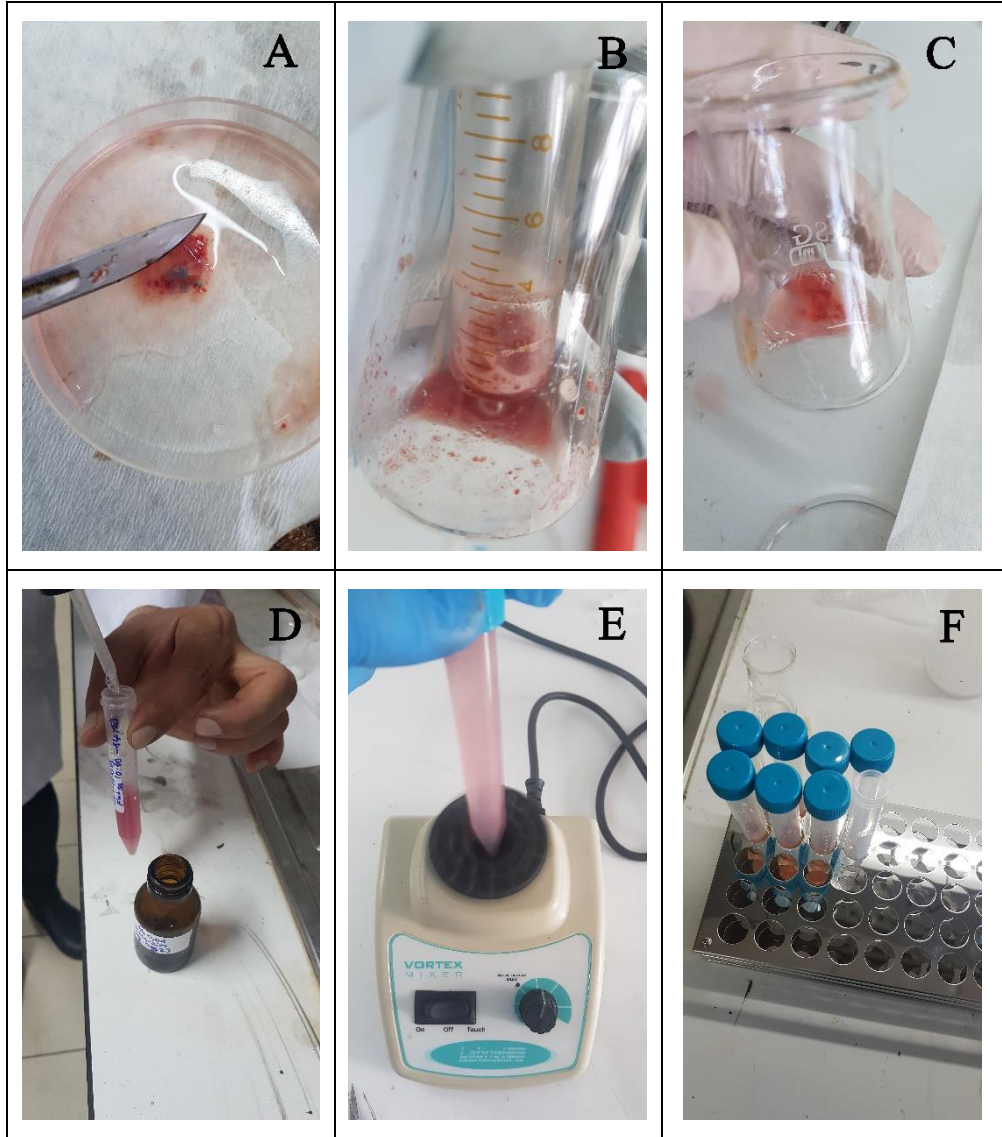


Şekil 3.3 Dokuların PB-MAX™ kültür ortamına alınması işlemleri: A) Örneklerin laboratuvara getirilmesi, B – C) Doku numunelerinin çıkarılması, D – F) Dokuların PB-MAX™'li falkon tüplerine aktarılması ve +4°C'de inkübasyonu

3.2.3 Lam Preparasyonu

Lam preparasyonunda preparatlar Kligerman ve Bloom (1977), ve Blanco ve ark., (2012)'nin belirttiği havada kurutma tekniklerine göre (Şekil 3.4, 3.5 ve 3.6) aşağıdaki sıralamaya göre yapılmıştır.

- i. Falcon türlerindeki dokular petri kaplarına alınarak bistüri, penset ve makas yardımıyla iyice ezilip parçalandıktan sonra dokular tekrar Falcon tüplerine pastör pipetiyle aktarıldı (Şekil 3.4 A-C).ve üzerine %0.01 kolçisin solüsyonu ilave edildikten sonra vorteks mikserde homojenize (Şekil 3.4 D-F) edilerek inkübasyona bırakıldı.



Şekil 3.4 Laboratuvar çalışmaları: Doku preparasyonu (A, B, C), Kolçisin uygulaması (D, E, F)

- ii. İnkübasyon sonunda 1000 rpm’de santrifüj yapıp süpernatant atıldı (Şekil 3.5 A, B).
- iii. Hücre peleti üzerine 0.075M KCl’den hazırlanan hipotonik solüsyonu ilave edildi (Şekil 3.5 C) ve en az iki saat inkübe edildi.

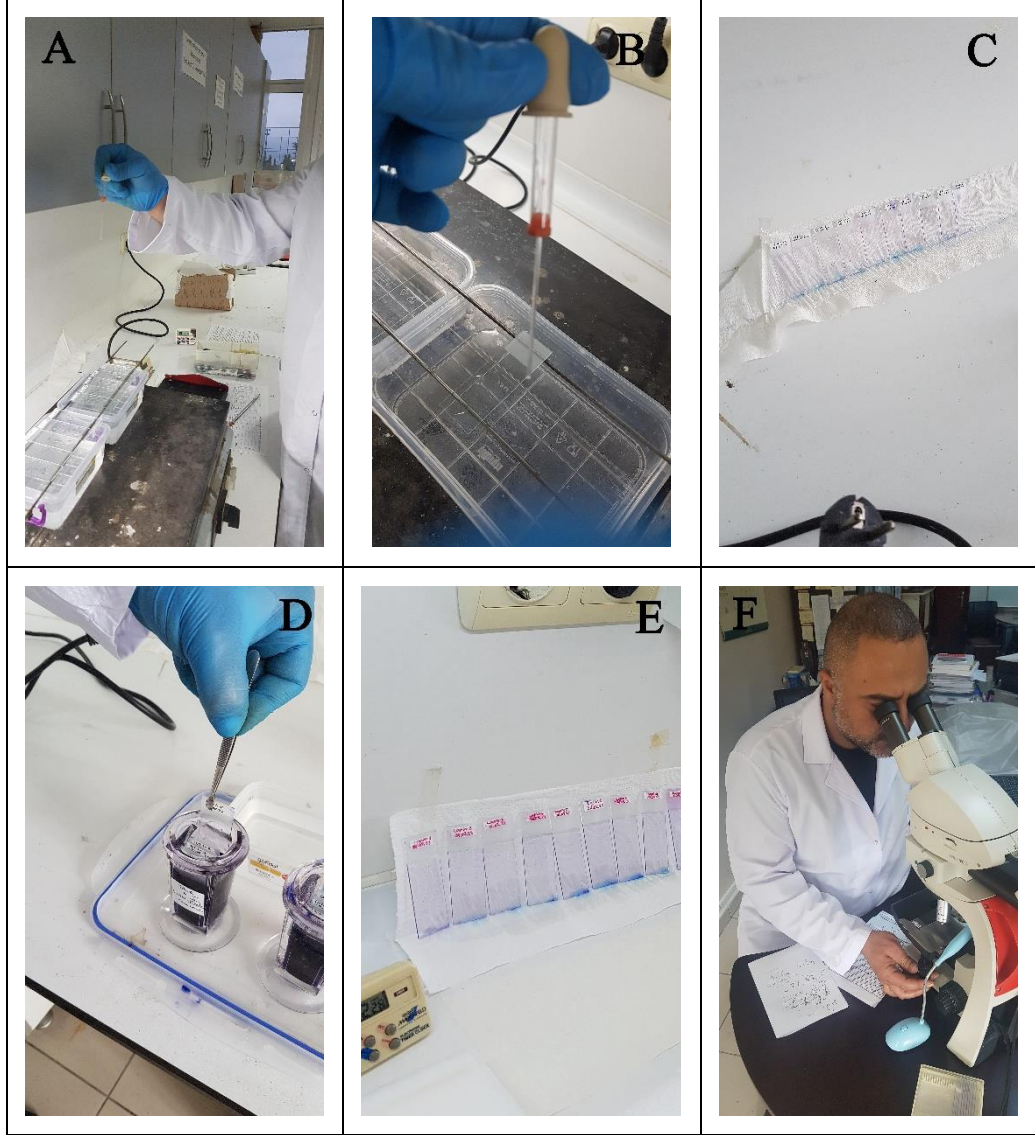
- iv. Hipotonik solüsyonlu hücrelerin üzerine soğuk Carnoy fiksatifinden damlatılarak (Şekil 3.5 D, E) beş dakika bekletildikten sonra üzerine tüpteki solüsyon 12-13ml'ye gelene kadar fiksatif ilave edildi. 1000 rpm'de santrifüj edildikten (Şekil 3.5 F) sonra pastör pipetiyle dikkatli bir şekilde süpernatant atıldı.



Şekil 3.5 Hipotonizasyon (A, B, C) ve fiksasyon aşamaları (D, E, F)

- v. Hücre peleti üzerine fiksatif ilave edildi 1000 rpm'de santrifüj yapıldı ve süpernatant atıldı (Şekil 3.5 D-F). Bu işlem birkaç kez tekrarlandı. En son hücrelerin üzerine birkaç ml fiksatif ilave edilerek homojenizasyon yapıldıktan sonra benmari şeklinde buhara maruz bırakılan temiz lamlara

damlatma yoluyla yayma yapıldı (Şekil 3.6 A, B) ve havada kurumaya bırakıldı (Şekil 3.6 C).



Şekil 3.6 Doku süspansiyonunun lam üzerine yayma işlemi (A, B), Preparatların Giemsa ile boyaması havada kurutma işlemi (D, E), mikroskopik inceleme (F)

3.2.4 Boyama ve Bantlamalar

Hazırlanan preparatlar ilk olarak %5'lik Giemsa (pH 6.8-7.1) solüsyonunda en az 10-15 dk boyandı, distile su ile durulanarak havada kurumaya bırakıldı (Şekil 3.6 D, E). Boyalı preparatların kurummasının ardından hazırlanan lam preparatları mikroskopta (Leica DM500 ve trinoküler Nikon Eclipse™ faz kontrast mikroskobu) taraması yapıldı ve kromozom siteleri tespit edildi (Şekil 3.6 F). Dijital olarak fotoğrafları çekilen kromozom sitelerinin resimleri elektronik ortam muhafaza edildi.

Kaliteli kromozom siteleri bulunan preparatlar aşağıda belirtilen yöntemlere göre bir dizi rutin boyamalara tabi tutuldu.

3.2.4.1 C – bantlama

Preparatlar Sumner (1972)'ye göre uyarlamalar yapan Artoni ve ark., (1999; 2001) belirttiği yöntemler üzerinden minör değişikliklerle uygulanmıştır. Sırasıyla bantlama yöntemleri řu şekilde gerçekleştirilmiştir:

- i.* Giemsa boyalı preparatların immersiyon yağı taze etanol ile lam en az iki kez yıkandı. Ardından Carnoy fiksatifinde (3:1 metanol: asetik asit) en az 15 dakika bekletilerek lamların boyası çıkarıldı ve distile su ile durulandı. Lam preparatları kurumaya bırakıldı.
- ii.* Preparatlar 0.2N HCl solüsyonunda 10-15 dakika oda sıcaklığında bekletildi. Bu sırada 2×SSC solüsyonu hazırlandı 60°C'ye ayarlanan benmariye koplın şaleleri yerleştirildi. Aynı zamanda %5 Ba(OH)₂ çözeltisi de hazırlandı #1 Watman filtre kâğıdıyla Ba(OH)₂ filtre edildi.
- iii.* HCl'deki preparatlar daha sonra distile suyla yıkandı. Yıkanmış preparatlar taze olarak filtre edilmiş Ba(OH)₂ çözeltisinde 15-20 saniye bekletildi. 0.2N HCl'e birkaç saniyeliğine daldırıldı, hemen ardından distile suyla yıkandı ve kurumaya bırakıldı.
- iv.* Kurutulmuş lamlar 2×SSC ile dolu koplın şalesinde 60°C'de bir saat bekletildi. Lamlar distile suyla hafifçe yıkandı ve havada kurumaya bırakıldı.
- v.* Kuruduktan sonra preparatlar, fosfat tamponuyla (pH 6.8-7.1) hazırlanmış %5'lik Giemsa ile 10-15 dakika boyandı. Yine fazla boya solüsyonunu çıkarmak için distile su ile yıkandı ve kurumaya bırakıldı.

3.2.4.2 Gümüş Nitrat (AgNO₃) Boyama (NOR Bantlama)

Balık kromozomlarıyla başarılı olarak uygulanmış olan diğer bir bantlama yöntemi de gümüş nitrat boyamadır. Araştırmada, balıklarda başarılı olarak uygulanan Howell ve Black (1980)'in yöntemi Kavalco ve Pazza (2004) tarafından yapılan çeşitli uyarlamaları aşağıdaki gibi gerçekleştirildi:

- i.* C-bantlı veya bantlanmış lam preparatları öncelikle Giemsa boyası etanol ve fiksatif uygulaması ile çıkarıldı.

- ii. Her bir lam üzerine, iki damla %1'lik jelatin (1g Jelatin ve 0.25ml formik asit) ve dört damla %25 Gümüş Nitrat (0.25g / 1ml) damlatıldı.
- iii. Lam üzerine 40×22mm lamel kapatıldı ve preparat mikrodalga fırına yerleştirildi. 5 saniye beklendi ve ardından fırından çıkarılarak, fazla boyadan arındırmak ve lamelin de çıkarılması için çeşme suyunda yıkandı.
- iv. Son olarak lam preparatlarına Giemsa solüsyonuyla (%5, 6.8-7.1 pH) 10 ile 30 saniye arasında boyama yapıldı. Preparatlar distile su ile durulandıktan sonra kurumaya bırakıldı.

3.2.5 Kromozom Tespiti, Sayımı ve Sınıflandırması

Mikroskopta çekilen fotoğraflardan her örnek için en uygun olanlarından en az 25-30 (Maneechot ve ark., 2015) metafaz sitesindeki kromozomların nispi boyları (μ) ve kol uzunlukları (μ) AKAS Multispecies© (v.3.5.1.0; Argenit Akıllı Bilgi. Tek. Ltd. Şti., İstanbul) (Karasu Ayata ve ark., 2016) ve/veya mikroskopa özgü görüntü analiz programları (LAS EZ© 3.4.0) ile ölçüldü ve diploid (2n) kromozom sayıları belirlendi. Bununla birlikte, Levan ve ark. (1964)'nin belirttiği esaslara uygun olarak ölçülmüş (Çizelge 3.1) olan homolog kromozomlar sentromerik düzlemde sıralanarak karyotipleri çıkartılmasında ve karyogramları hazırlanmasında AKAS Multispecies© (Ünal ve ark., 2014; Karasu Ayata ve ark., 2016; 2018 ve 2021; Gaffaroğlu ve ark., 2022) ve Adobe-Photoshop programı kullanıldı. Sınıflandırılan kromozomların kol oranları ($r = q/p$) uzun kolun (q) kısa kol (p) uzunluğuna bölünmesiyle elde edilmiştir.

Kromozomların kol sayısı ($NF=$ Number of Fundamental) (3.1) çift kollu kromozomların (p ve q kolu olan metasentrik ve submetasentrik) her biri iki ve q kolu olan tek kollu kromozomlar (subtelosentrik, telosentrik/akrosentrik) bir olarak sayılması ile belirlenmiştir (Denton, 1973; Thorgaard ve Disney, 1990).

$$NF= (m \text{ ve } sm \text{ kromozom sayısı} \times 2) + (st, t \text{ ve } a \text{ kromozomların sayısı} \times 1) \quad (3.1)$$

Sentromerik indeks (i) (3.2), kromozom kol uzunluğu farkı (d) (3.3) değerleri de kromozomların sınıflandırılmasında kullanılmıştır. Kromozom kol uzunluğu d ile kromozom kol oranı (r) arasında (3.4) ve (3.5) bağıntıları vardır.






$$\%i = \frac{p}{p+q} \times 100 \quad (3.2)$$

$$d = q - p \quad (3.3)$$

$$d = \frac{10(r-1)}{r+1} \quad (3.4)$$

$$r = \frac{10+d}{10-d} \quad (3.5)$$

Çizelge 3.1 Sentromerik pozisyon ve kol oranlarına göre belirlenen kromozom tipleri (Levan ve ark.,1964; Nirchio ve Oliveira, 2006)

Sentromerik Pozisyon	r	Kromozom tipi	Kısaltma	
Median <i>sensu stricto</i>	1.00	Metasentrik	M	
Median bölge	1.00: 1.70	Metasentrik	m	
Submedian bölge	1.71: 3.00	Submetasentrik	sm	
Subterminal bölge	3.00: 7.00	Subtelosentrik	st	
Terminal bölge	7.01: ∞	Akrosentrik	a	
Terminal <i>sensu stricto</i>	∞	Telosentrik	T	

Haploit (n) sayıdaki kromozomların sınıflarına (metasentrik, submetasentrik, subtelosentrik ve akrosentrik) göre sentromerik eksen üzerinde (p ve q kolu uzunluklarına göre) büyükten küçüğe doğru sıralanarak kromozomların şematik olarak görülmesini sağlayan idiogramlar AKAS Multispecies© yazılımı ile otomatik olarak hazırlandı. İdeogramların düzenlenmesinde Adobe Photoshop® kullanılmıştır.

Kimi yazarlara göre bu örneğin balık, sıçan vb. bazı omurgalılarda bu nomenklatüre bağlı kalarak Çizelge 3.2.'de belirtildiği gibi kromozomlar sentromer durumunda göre geniş aralıklı olarak iki sınıflandırma da yapılabilmektedir (Levan ve ark., 1964; Ojima ve ark., 1966; Sofradžija ve ark., 1978; Kobayashi, 1982).

Çizelge 3.2 Kromozom kol uzunlukları farkı (d) ve kol oranlarına (r) göre belirlenen kromozom tipleri (Levan ve ark., 1964).

Kromozom tipi	d	r	Kromozom Tipi	d	r
M	0	1	m	0.0 – 2.5	1.0 – 1.7
m-sm	0 – 5	1 – 3	sm-st	2.5 – 7.5	1.7 – 7.0
st-a (st-t)	5 – 10	3 – ∞	t	7.5 – 10.0	7.00 – ∞
T	10	∞			

4. BULGULAR

4.1. Taksonomik Bulgular

Araştırmada Ordu İli Fatsa İlçesi ve çevresinde (Şekil 3.1) profesyonel olarak avcılık yapan balıkçılardan tesadüfi olarak alınan dört türden (Çizelge 4.1. – 4.4) postmortem dönemdeki 16 balık numunesinden elde edilen böbrek dokusu örneklerinden kromozom preparatları hazırlanmıştır.

Çizelge 4.1 Çalışmada örneklenen barbunya balığı taksonomisi, örneği ve örneklem sayıları (*f*)

Tür (Species)	<i>f</i>
Ordo Sygnathiformes	
Familia: Mullidae	
Genus: <i>Mullus</i> Linneaus 1758	2
Species: <i>Mullus barbatus</i> Linnaeus, 1758	
Ing: Red mullet, Goat fish	
Tr.: Barbunya, Barbun balığı	



Çizelge 4.2 Çalışmada örneklenen kaya balığı taksonomisi, örneği ve örneklem sayıları (*f*)

Tür (Species)	<i>f</i>
Ordo: Gobiiformes Familia: Gobiidae Genus: <i>Neogobius</i> Iljin 1927 Species <i>Neogobius melanostomus</i> (Pallas, 1814) Ing.: Round goby Tr.: Kaya balığı	3



Çizelge 4.3 Çalışmada örneklenen istavrit balığı taksonomisi, örneği ve örneklem sayıları (*f*)

Tür (Species)	<i>f</i>
Ordo: Carangiformes Familia: Carangidae Genus: <i>Trachurus</i> Rafinesque 1810 Species: <i>Trachurus mediterraneus</i> (Steindachner, 1868) Ing.: Mediterranean horse mackerel, scad Tr.: Sarıkuyruk İstavrit balığı, traça	7



Çizelge 4.4 Çalışmada örneklenen iskorpit balığı taksonomisi, örneği ve örneklem sayıları (*f*)

Tür (Species)	<i>f</i>
Ordo: Perciformes	
Familia: Scorpaenidae	
Genus: <i>Scorpaena</i>	
Species: <i>Scorpaena porcus</i> Linnaeus, 1758	4
İng.: Black scorpionfish	
Tr.: İskorpit balığı, Çarpan	



4.2. Kısa Süreli Kültür Sonuçları

Araştırmada örnek alınan dört takıma ait 4 farklı familyadan dört türde (Çizelge 4.1 – 4.4) başarılı kromozom sonuçları alınırken PB-MAX™ uygulaması ile kromozom elde edilemeyen türler de olmuştur. Bunlar: *Platichthys flesus*, *Pegusa lascaris* (Peluronectiformes), *Hippochampus hippocampus*, *Syngnathus acus* (Gasterosteiformes), *Diplodus annularis* (Acanthuriformes) türlerinde 3-15 saat sürelerde uygulanan PB-MAX™ kültür ortamı ile sonuç alınamamıştır. Sitogenetik amaçlı olarak incelemede kullanılan PB-MAX™ kültür ortamı ile kısa süreli kültür süresince hücre büyümesi Araya-Jaime ve ark. (2021)'in belirttiği gibi türlere göre optimizasyon yapılması gerektiği anlaşılmıştır. Çalışmada genel olarak postmortem içerisinde ölüm sonrası en az 3-4 saatlik tazelikte olan/olduğu bilinen sınırlı sayıda örnek incelenebilmiştir. Elde edilen örneklere 2.5 saatten -15 saate kadar kültür uygulaması yapılmış 2.5 ile 4 saatlik uygulamaların yapıldığı türlerin bazılarında

kromozom elde edilebilmiştir. Türlerden alınan her örnekten en az birinde başarılı sonuçlar elde edilmiştir.

Bu duruma neden olan en temel neden türler arasında veya içinde, mevsimsel (yaz, kış, üreme dönemi) ve hatta ekolojik nişteki yaşam şeklinden (pelajik, bentik, göçmen vb.) bile türlerin hücre bölünmesindeki sürelerde farklılaşmalara neden olabileceği sonucuna varılmıştır. Bu yöntemde örneklerin tazelik durumunun önceden bilinmesi zorluğu nedeniyle direkt yeni tutulan balık numunelerinin olması gerektiği için örneklemede bir handikap olarak ortaya çıktığı öngörülmüştür.

Uzun süreli kullanılmayacaksa 100ml plastik şişelerdeki PB-MAX™ derin dondurucuda –18 ile –20°C’lerde muhafaza edilmesi gerekmektedir. Bu nedenle örnekleme çalışmalarından önce kullanımlar için çözdürülen PB-MAX™ kültür ortamı Falkon tüplerine en az 5ml olacak şekilde dağıtılmış ve tekrar dondurulmuştur. Planlı olduğunda örneklemeden bir gün önce çözdürülerek +4°C’de muhafaza edilebilmiştir veya anlık olarak örneğin bulunması halinde hızlı çözdürme işleminden sonra balık dokuları kültür ortamına alınmıştır. Kullanılacak kültür ortamı bir seferde çözdürüldükten sonra maksimum üç gün kullanılabileceğinden bu yol izlenmiştir.

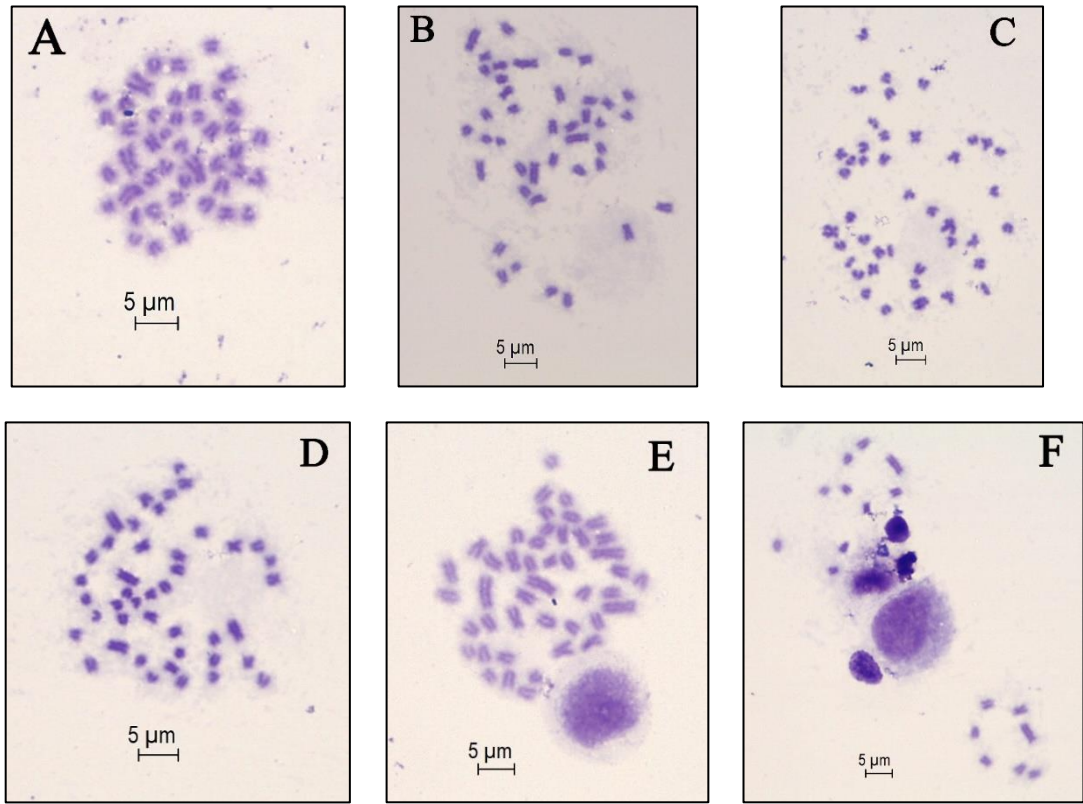
Çalışmadaki işlem süresi örneğin alındığı saatten başlayarak yaklaşık 9-10 saate kadar preparasyonun tamamlandığı düşünüldüğünde, verimli olarak yöntemin tam uygulanabilmesi için en fazla 2 veya 4 örnek ile sabah erken saatlerde numune alınarak işe başlanmasında fayda olacağı kanısına varılmıştır.

4.3. Türlerle Göre Sitotaksonomik Bulgular

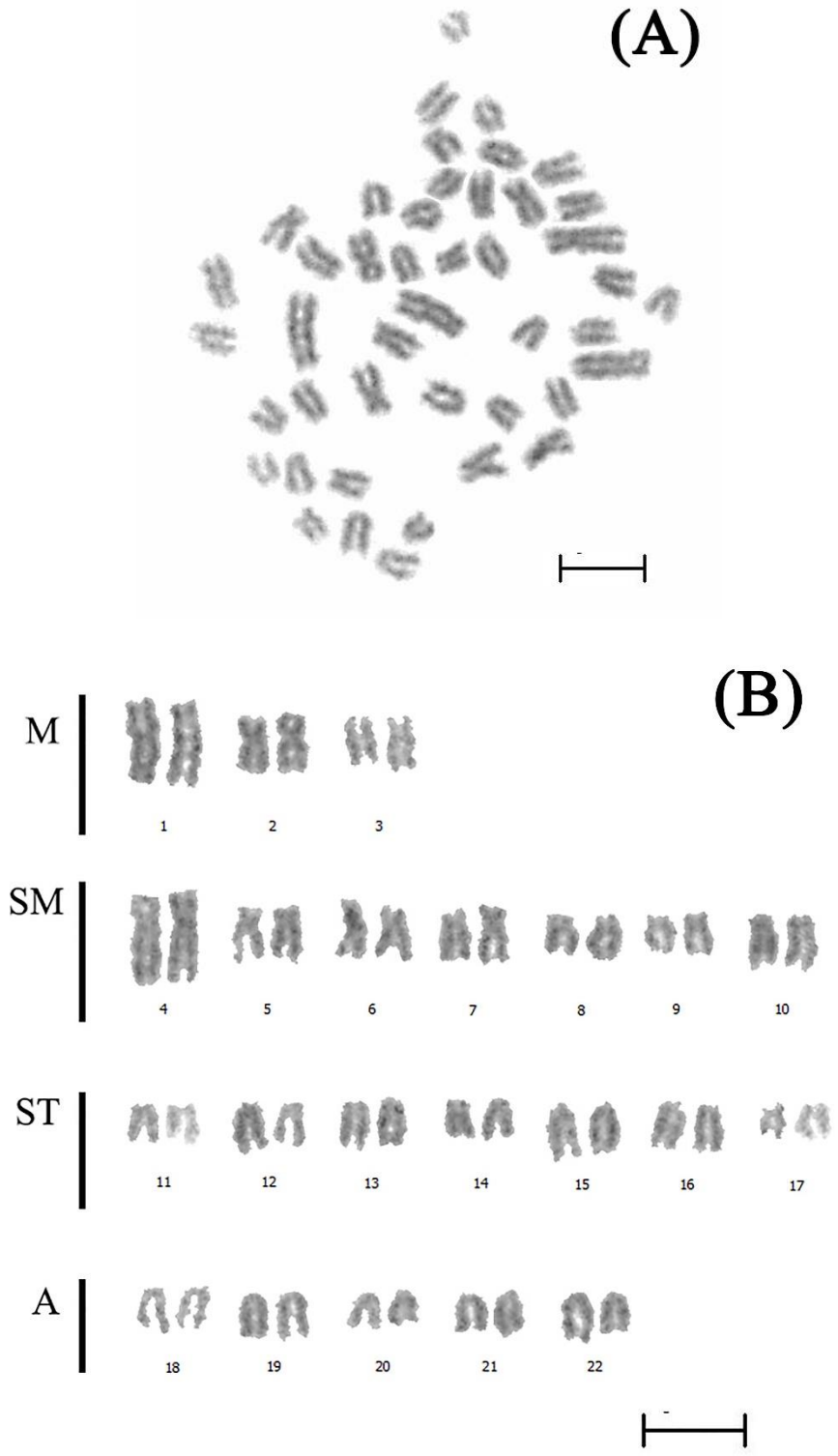
4.3.1. Barbun Balığı – *Mullus barbatus* (Syngnathiformes, Mullidae)

Çalışmada iki Barbun balığı örneğinden alınan böbrek dokuları üç saatlik bir PB-MAX™ uygulaması ile yapılan preparasyon sonucunda bir örnekten çok sayıda kromozom sitesi tespit edilmiş ve Giemsa boyalı bu plakların dijital fotoğraflarından diploid sayımları yapılmıştır. Belirlenen 14 farklı sistotipten en fazla sayıda (%65) çıkan $2n=44$ sitotipi *M. barbatus* için diploid kromozom sayısı olarak belirlemiştir (Şekil 4.4). Şekil 4.1’de sitotiplerden bazıları gösterilmiştir. En az sayıda kromozom sayısı olarak Şekil 4.1 F’de gösterildiği gibi $2n=17$ olduğu tespit edilmiştir.

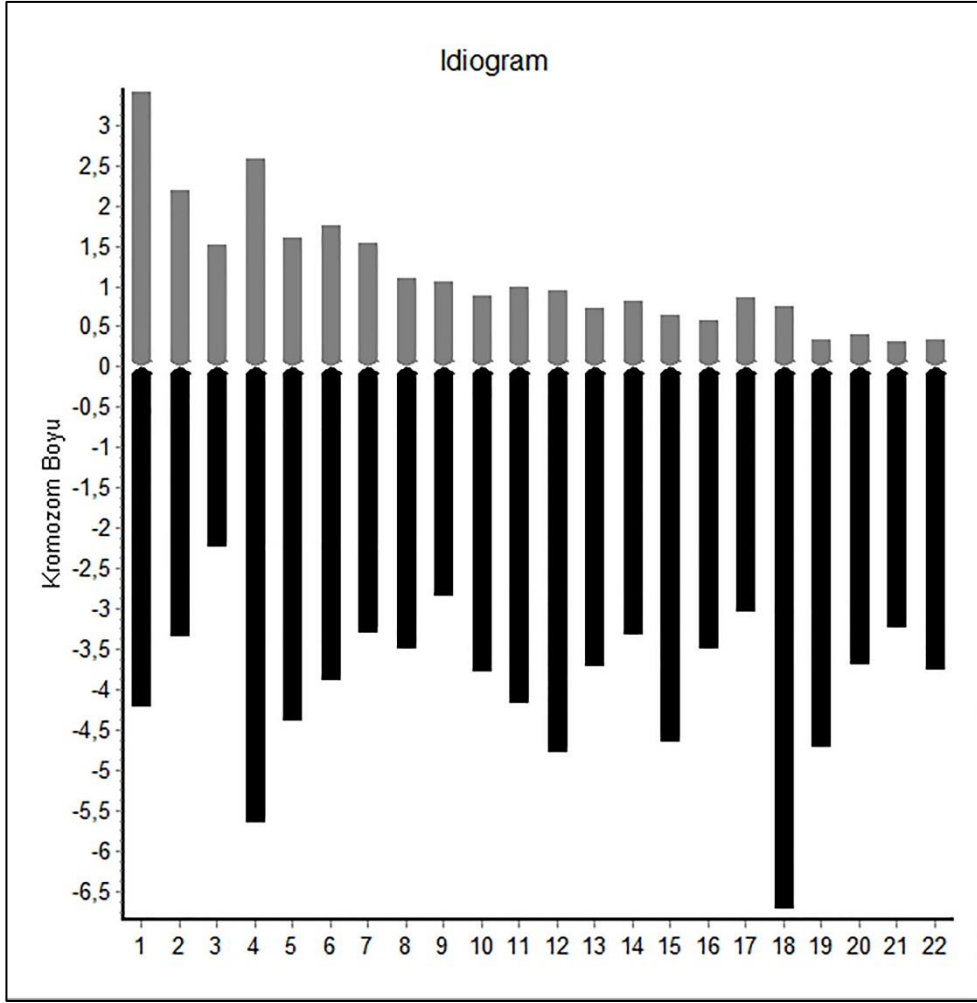
Araştırmada Barbun balığı, *Mullus barbatus*'un karyotipi ve idiogramı Şekil 4.2'de gösterildiği gibi tespit edilmiştir. *M. barbatus*'ta $2n= 44$ diploid sayıda kromozomun 3 çift metasentrik, 7 çift submetasentrik, 7 çift subtelosentrik ve 5 çiftte akrosentrik kromozomdan oluştuğu ve NF kromozom kol sayısı da formülize edildiğinde $\{20(M+SM) \times 2+ 24(ST+A) \times 1\}$ 64 olarak bulunmuştur. Şekil 4.3'te n sayıdaki homolog kromozomların diyagramatik sınıflandırması idiogramda ve izelge 4.5'te de nisbi kromozom kol uzunlukları, kol oranları sentromerik indeks sonuçları belirtilmiştir.



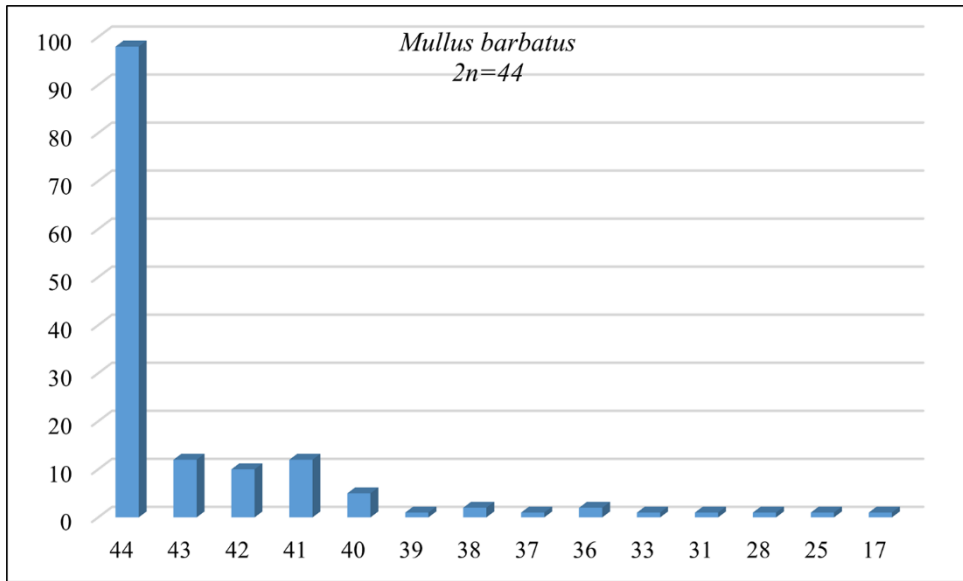
Şekil 4.1 Araştırmada *M. barbatus*'ta tespit edilen bazı sitotipler: A) $2n=40$, B) $2n=41$, C) $2n=42$, D) $2n=43$, E) $2n=44$ (%66), F) $2n=17$



Şekil 4.2 *M. barbatus*'a ait metafaz (A), karyotip (B), bar 5µ'dur



Şekil 4.3 *M. barbatus*'a ait idiogram



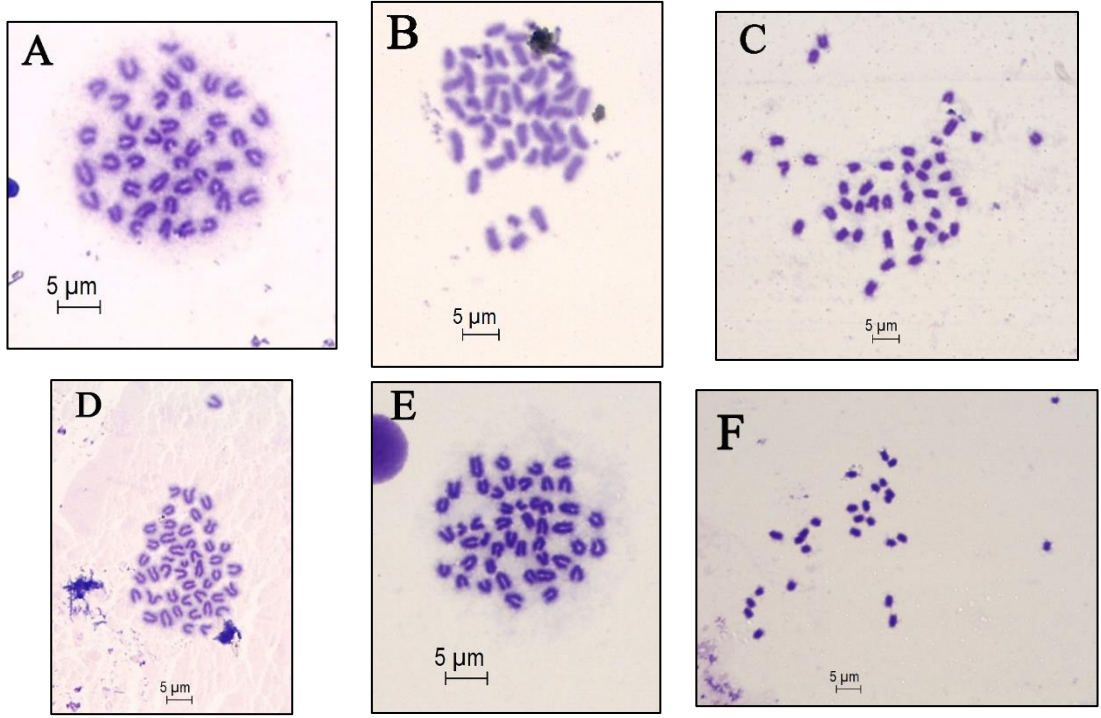
Şekil 4.4 *M. barbatus*'ta tespit edilen sitotiplerin frekans dağılımları

Çizelge 4.5 *M. barbatus*'a ait sentromerik indeks (*i*) ve kromozom kol boyu oranları ($r = p/q$), nisbi kromozom uzunlukları ($c = p + q$)

Kromozom Çifti	Kısa kol	Uzun kol	<i>c</i>	<i>r</i>	<i>i</i>	Kromozom Tipi
n	(<i>p</i>)	(<i>q</i>)	(<i>p+q</i>)	(<i>q/p</i>)	[100×(<i>p/p+q</i>)]	
1	3.41	4.22	7.62	1.24	0.45	m
2	2.19	3.34	5.52	1.53	0.40	m
3	1.52	2.22	3.75	1.46	0.41	m
4	2.58	5.66	8.24	2.20	0.32	sm
5	1.59	4.39	5.98	2.76	0.27	sm
6	1.74	3.88	5.63	2.23	0.31	sm
7	1.54	3.30	4.84	2.14	0.32	sm
8	1.10	3.49	4.59	3.17	0.24	sm
9	1.06	2.84	3.90	2.68	0.27	sm
10	0.87	3.77	4.65	4.32	0.19	sm
11	0.99	4.17	5.16	4.22	0.19	st
12	0.96	4.78	5.74	5.00	0.17	st
13	0.72	3.73	4.45	5.17	0.16	st
14	0.82	3.33	4.15	4.06	0.20	st
15	0.65	4.65	5.30	7.16	0.13	st
16	0.58	3.50	4.08	6.07	0.14	st
17	0.85	3.04	3.89	3.58	0.22	st
18	0.75	6.73	7.47	9.03	0.10	a
19	0.33	4.71	5.04	14.23	0.07	a
20	0.40	3.69	4.09	9.29	0.10	a
21	0.31	3.25	3.56	10.44	0.08	a
22	0.33	3.76	4.09	11.49	0.08	a

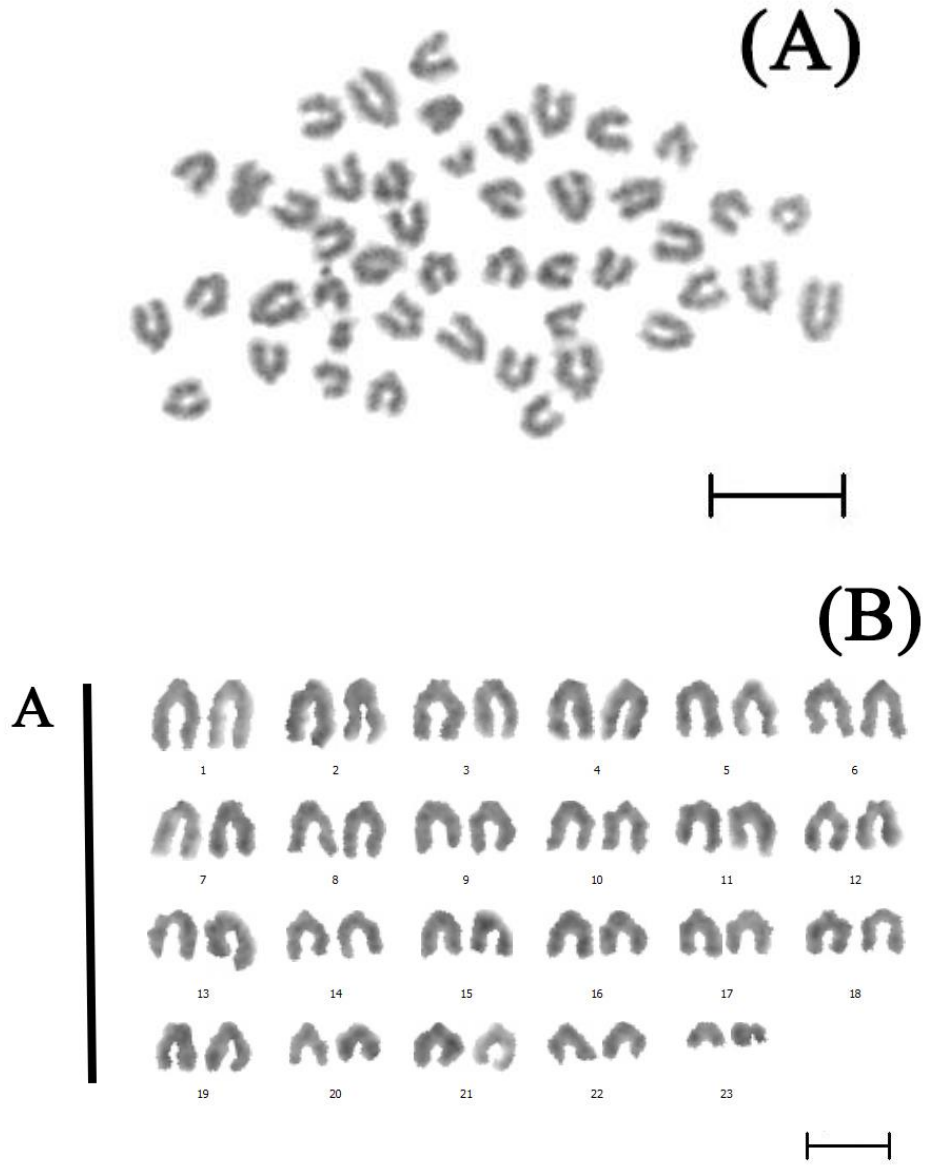
4.3.2. Kaya Balığı – *Neogobius melanostomus* (Gobiiformes, Gobiidae)

Kaya balığı numunelerinden ikisine farklı bir kültür inkübasyon süresi olarak 12 ile 14 saatlik periyotlarda PB-MAX™ uygulanmış olup olumlu sonuç alınamamış ve yapılan preparatlarda kromozom tespit edilememiştir. Bunun yanı sıra başka bir numunenin doku örneklerinden üç saatlik kısa süreli kültür sonrasında hazırlanan preparatlarda uygun kromozom siteleri tespit edilmiştir. Bu kromozom plaklarının yapılan sayımlarında görülen yaklaşık 123 metafaz plağından on beş farklı sitotip garfikselsel olarak Şekil 4.8'de belirtilmiştir. Bunlar içerisinde en yüksek oranda beş sitotipte örnekler Şekil 4.5'te gösterilmiştir. *Neogobius melanostomus* için en yüksek oranda (%65) 2n diploid sayınının 46 kromozomdan (Şekil 4.5 E) oluştuğu, en düşük kromozom sayısının da 2n=28 (Şekil 4.5 F) olduğu belirlenmiştir.

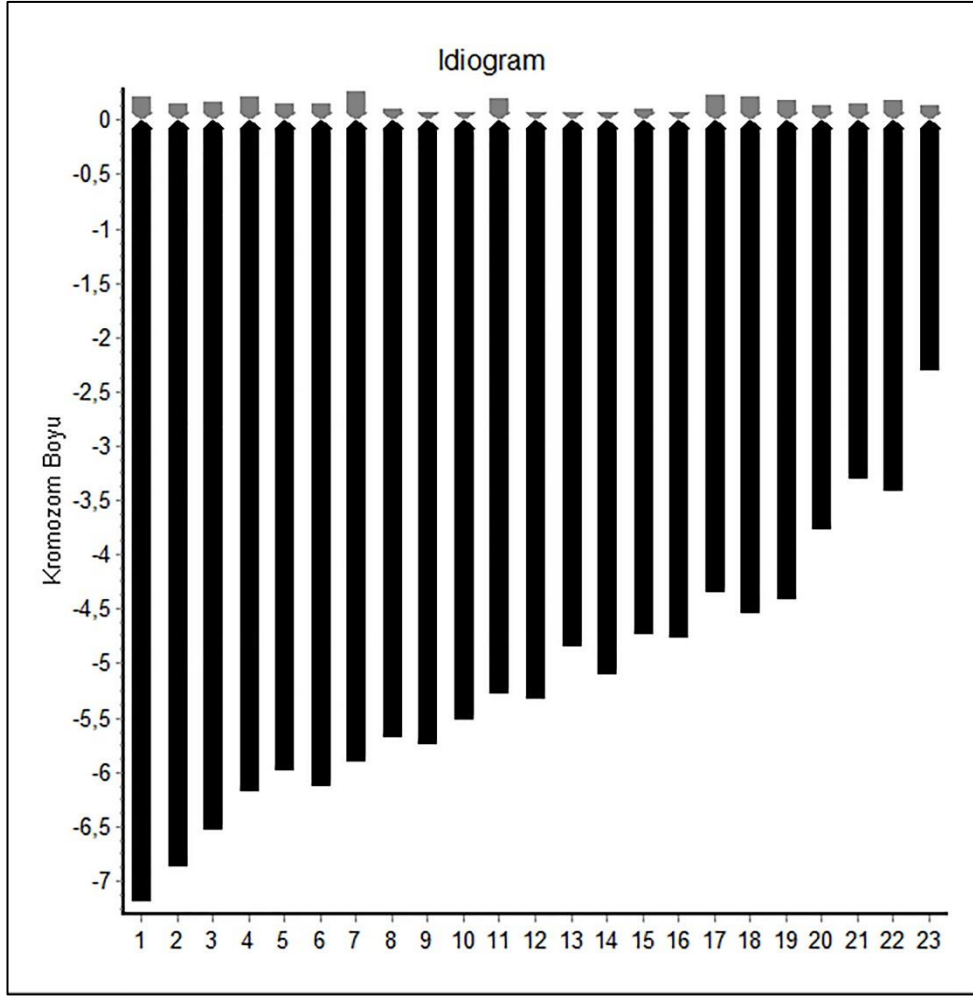


Şekil 4.5 Araştırmada *N. melanostomus*'ta tespit edilen bazı sitotipler: A) $2n=42$, B) $2n=43$, C) $2n=44$, D) $2n=45$, E) $2n=46$ (%65), F) $2n=28$

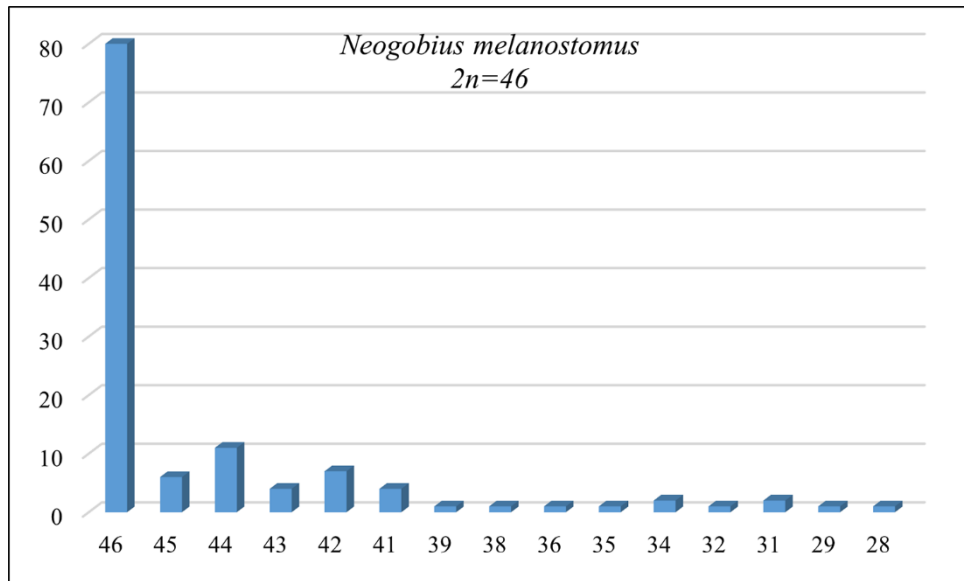
Çalışmada sitogenetik olarak incelenen kaya balığı türü *Neogobius melanostomus*'ta karyotip 46 akrosentrik kromozomdan oluştuğu ve kromozom kol sayının da $\{0 (M+SM) \times 2 + 46(A) \times 1\}$ $NF=46$ olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.6). Şekil 4.7'de n sayıdaki homolog kromozomların diyagramatik sınıflandırması idiogramda ve Çizelge 4.6'da da nisbi kromozom kol uzunlukları, kol oranları sentromerik indeks sonuçları belirtilmiştir.



Şekil 4.6 *N. melanostomus*'a ait metafaz (A) ve karyotip (B), bar 5 μ 'dur



Şekil 4.7 *N. melanostomus*'a ait metafazdan idiogram



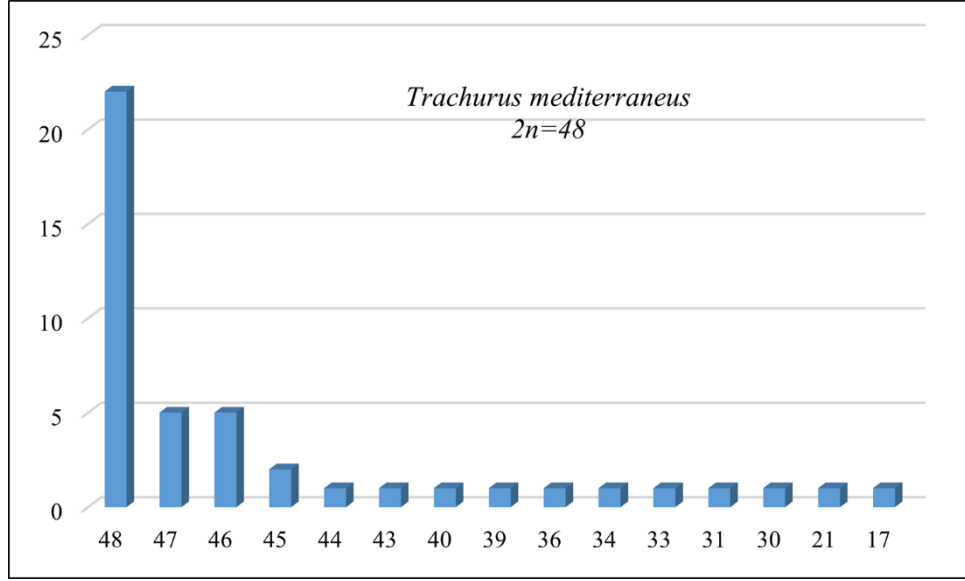
Şekil 4.8 *N. melanostomus*'ta yapılan kromozom sayımlarında belirlenen sitiotiplerin frekans dağılımları

Çizelge 4.6 *N. melanostomus*'a ait sentromerik indeks (*i*) ve kromozom kol boyu oranları ($r = p/q$), nisbi kromozom uzunlukları ($c = p + q$)

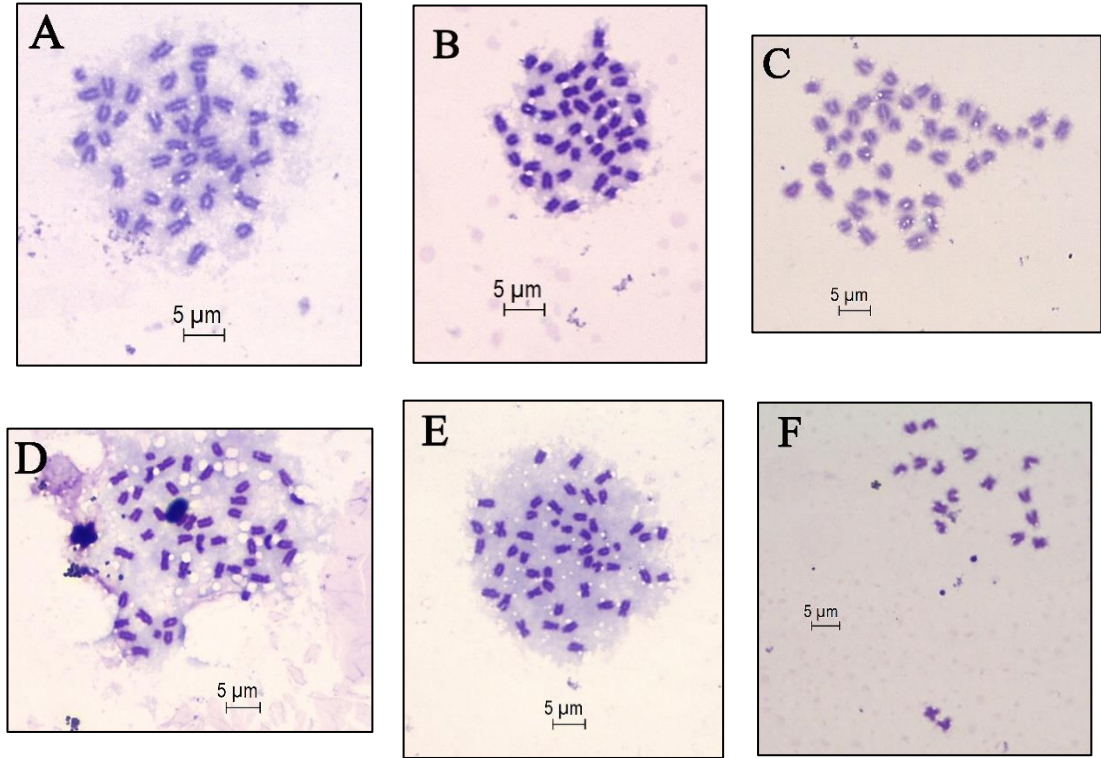
Kromozom Çifti	Kısa kol	Uzun kol	<i>c</i>	<i>r</i>	<i>i</i>	Kromozom tipi
n	(<i>p</i>)	(<i>q</i>)	(<i>p+q</i>)	(<i>q/p</i>)	[100×(<i>p/p+q</i>)]	
1	0.21	7.20	7.41	34.95	2.78	a
2	0.15	6.87	7.02	45.47	2.15	a
3	0.16	6.54	6.70	40.10	2.43	a
4	0.21	6.19	6.40	30.04	3.22	a
5	0.15	5.99	6.14	38.90	2.51	a
6	0.15	6.14	6.29	39.84	2.45	a
7	0.26	5.91	6.17	22.63	4.23	a
8	0.10	5.69	5.79	55.74	1.76	a
9	0.05	5.75	5.81	108.55	0.91	a
10	0.05	5.53	5.58	106.35	0.93	a
11	0.20	5.28	5.48	26.93	3.58	a
12	0.06	5.32	5.38	96.76	1.02	a
13	0.06	4.84	4.90	84.93	1.16	a
14	0.05	5.11	5.15	104.18	0.95	a
15	0.10	4.73	4.83	46.81	2.09	a
16	0.05	4.77	4.82	97.27	1.02	a
17	0.24	4.35	4.59	18.53	5.12	a
18	0.21	4.54	4.75	22.03	4.34	a
19	0.18	4.41	4.58	25.04	3.84	a
20	0.14	3.77	3.91	27.93	3.46	a
21	0.14	3.31	3.45	23.27	4.12	a
22	0.18	3.41	3.59	18.97	5.01	a
23	0.14	2.30	2.44	17.06	5.54	a

4.3.3. İstavrit Balığı – *Trachurus mediterraneus* (Carangiformes, Carangidae)

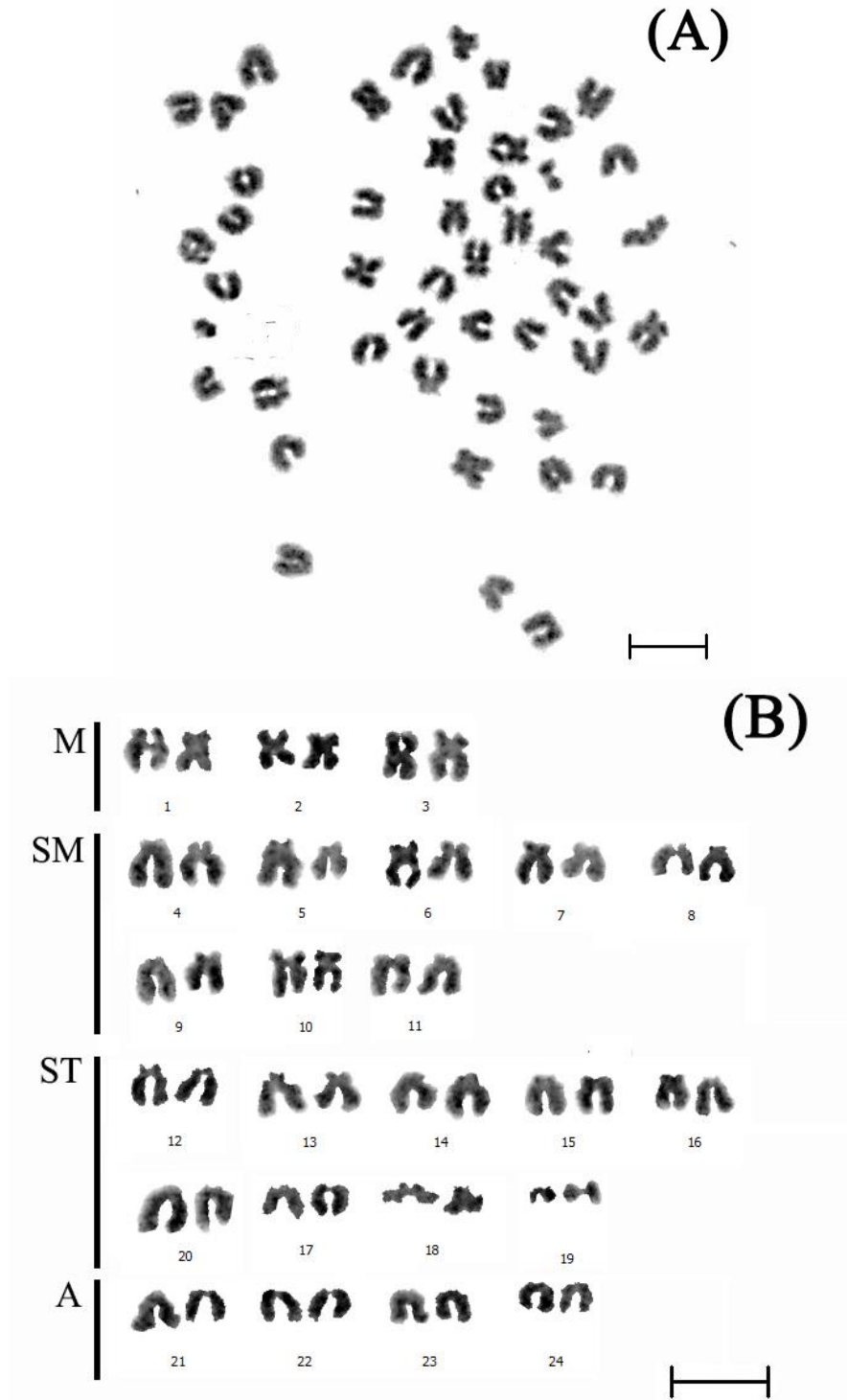
Çalışmada en çok sayıda numunenin incelendiği tür olan *Trachurus mediterraneus* (Sarı kuyruk istavrit veya Akdeniz istavriti)'te yedi örnekten dördünde 4 saatlik PB-MAX™ inkübasyonu sonucunda kromozom plaklarına rastlanılmamışken 3 saat yapılan uygulama sonucunda mükemmel metafazlara rastlanmıştır. Yapılan sayımlar neticesinde Şekil 4.9'da gösterildiği gibi tespit edilen 14 sitotip içerisinde 2n=48 sitotipinin %49 oranında açık ara ile en yüksek olması bu tür için diploid sayıyı belirlemiştir. Şekil 4.10 A, B, C, D ve E'de sayımlara göre ilk beş sitotip örneği verilmiştir. En düşük diploid sayı olarak iki kromozom plağında gözlenen sitotipte 2n=17 (Şekil 4.10 F) kromozoma rastlanmıştır.



Şekil 4.9 *T. mediterraneus*'ta tespit edilen sitotiplerin frekans dağılımları

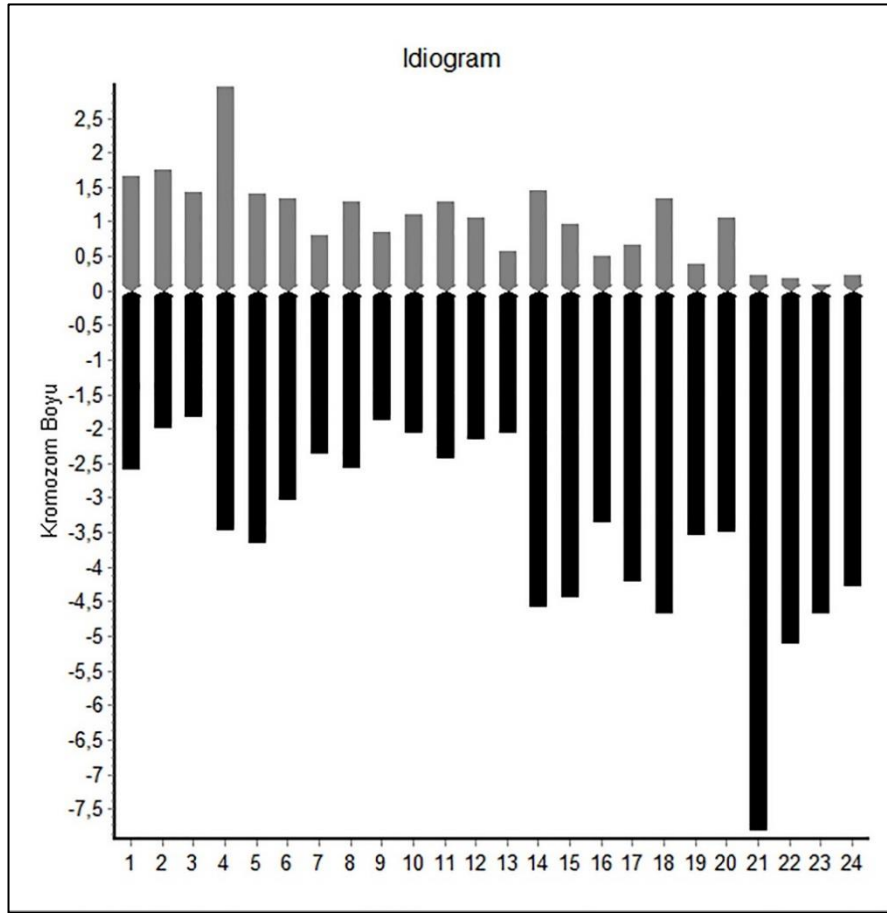


Şekil 4.10 Araştırmada *T. mediterraneus*'ta tespit edilen bazı sitotipler: A) 2n=44, B) 2n=45, C) 2n=46, D) 2n=47, E) 2n=48 (%49), F) 2n=17 ait metafaz kromozom sitelerinden bazıları



Şekil 4.11 *T. mediterraneus*'a ait metafaz (A), karyotip (B), bar 5 μ 'dur

Çalışmada istavrit balığından elde edilen preparatlardan *Trachurus mediterraneus*'a ait 2n diploid sayının 48 olduğu ve karyotipte ise 6 metasentrik, 16 submetasentrik, 18 subtelosentrik ve 8 akrosentrik kromozoma (Şekil 4.11) sahip oldukları belirlenmiştir. Bu karyotipe göre NF kol sayısı $\{22(M+SM) \times 2 + 26(ST+A) \times 1\}$ 70 olduğu bulunmuştur. Şekil 4.12'de n sayıdaki homolog kromozomların diyagramatik sınıflandırması idiogramda ve Çizelge 4.7'de de nisbi kromozom kol uzunlukları, kol oranları sentromerik indeks sonuçları belirtilmiştir.



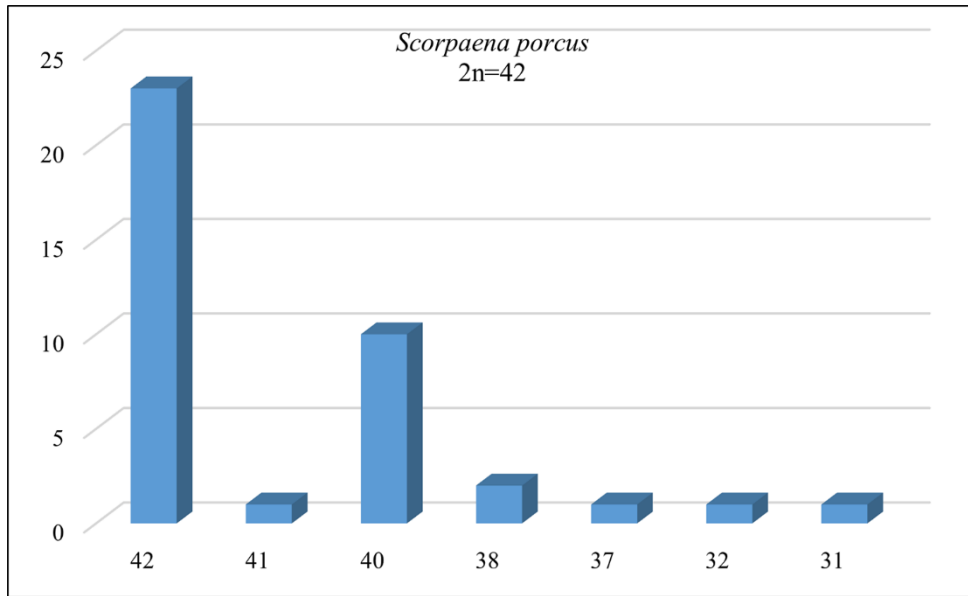
Şekil 4.12 *T. mediterraneus*'a ait karyotipe göre idiogram

Çizelge 4.7 *T. mediterraneus*'a ait sentromerik indeks (*i*) ve kromozom kol boyu oranları ($r = p/q$), nisbi kromozom uzunlukları ($c = p + q$)

Kromozom Çifti	Kısa kol	Uzun kol	<i>c</i>	<i>r</i>	<i>i</i>	Kromozom Tipi
n	(<i>p</i>)	(<i>q</i>)	(<i>p+q</i>)	(<i>q/p</i>)	[100×(<i>p/p+q</i>)]	
1	1.659	2.596	4.255	1.56	38.99	m
2	1.757	1.987	3.744	1.13	46.93	m
3	1.429	1.841	3.27	1.29	43.70	m
4	2.951	3.484	6.435	1.18	45.86	m
5	1.398	3.669	5.067	2.62	27.59	sm
6	1.325	3.025	4.35	2.28	30.46	sm
7	0.804	2.371	3.175	2.95	25.32	sm
8	1.29	2.577	3.867	2.00	33.36	sm
9	0.838	1.871	2.709	2.23	30.93	sm
10	1.094	2.06	3.154	1.88	34.69	sm
11	1.293	2.428	3.721	1.88	34.75	sm
12	1.047	2.158	3.205	2.06	32.67	st
13	0.573	2.075	2.648	3.62	21.64	st
14	1.452	4.58	6.032	3.15	24.07	st
15	0.969	4.455	5.424	4.60	17.87	st
16	0.511	3.365	3.876	6.59	13.18	st
17	0.659	4.206	4.865	6.38	13.55	st
18	1.324	4.678	6.002	3.53	22.06	st
19	0.397	3.54	3.937	8.92	10.08	st
20	1.064	3.486	4.55	3.28	23.38	st
21	0.217	7.808	8.025	35.98	2.70	a
22	0.188	5.122	5.31	27.24	3.54	a
23	0.052	4.685	4.737	90.10	1.10	a
24	0.214	4.273	4.487	19.97	4.77	a

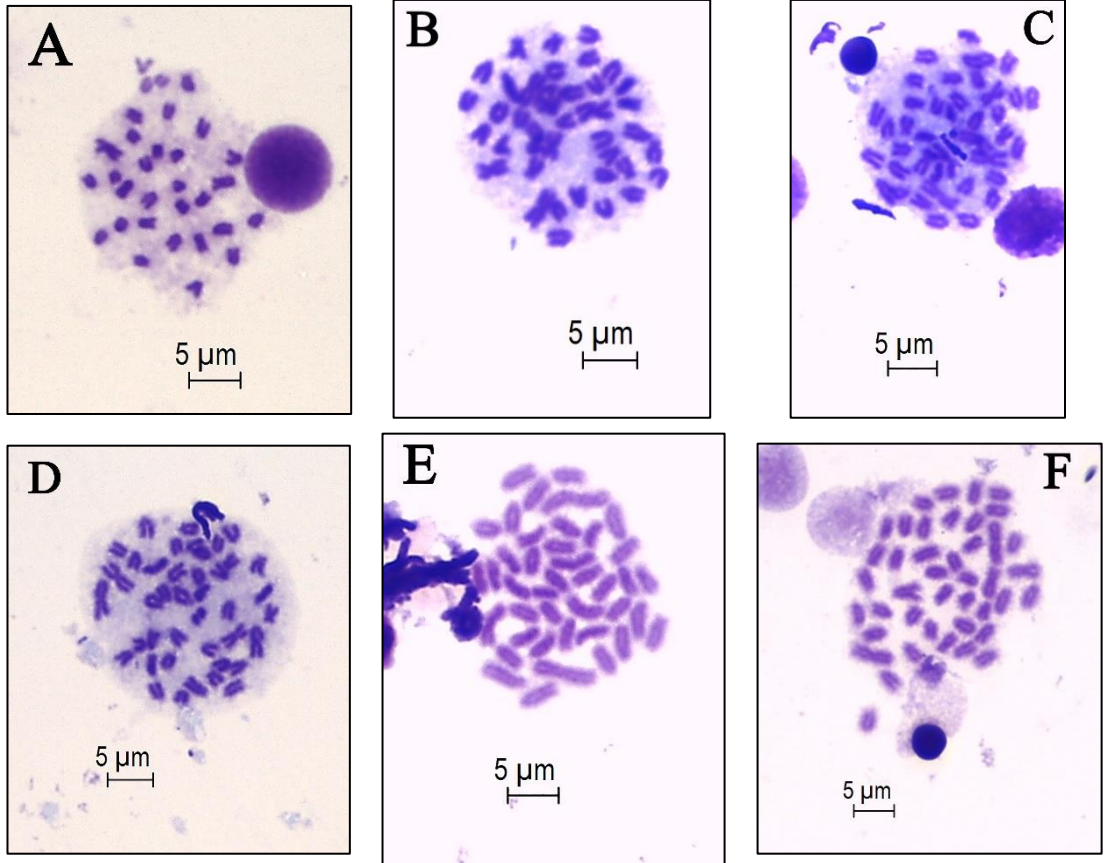
4.3.4. İskorpit Balığı – *Scorpaena porcus* (Perciformes, Scorpaenidae)

Ülkemiz denizlerinde bol miktarda bulunan çalışmada istenilen kritere göre balıkçılardan alınan dört örneğin PB-MAX™ ile yapılan böbrek dokusundan 4 saatlik kısa süreli kültür uygulaması sonucunda örnek sayısına göre en yüksek oranda (4 örnekten üçünde) başarılı olduğu görülmüştür. Mikroskop incelemelerinde on preparattan %63 oranında iyi kromozom sitesi elde edilmiş ve yapılan sayımlara göre oluşturulan Şekil 4.13'ten anlaşılacağı gibi yedi sitotipten (Şekil 4.14 A-F) en yüksek frekansta olan $2n=42$ (Şekil 4.14 F) diploid sayıda kromozoma sahip olduğu belirlenmiştir. En düşük sayıda kromozom 31 olarak belirlenmiş üç metafaz plağından bir örneği Şekil 4.14 A'da gösterilmiştir.

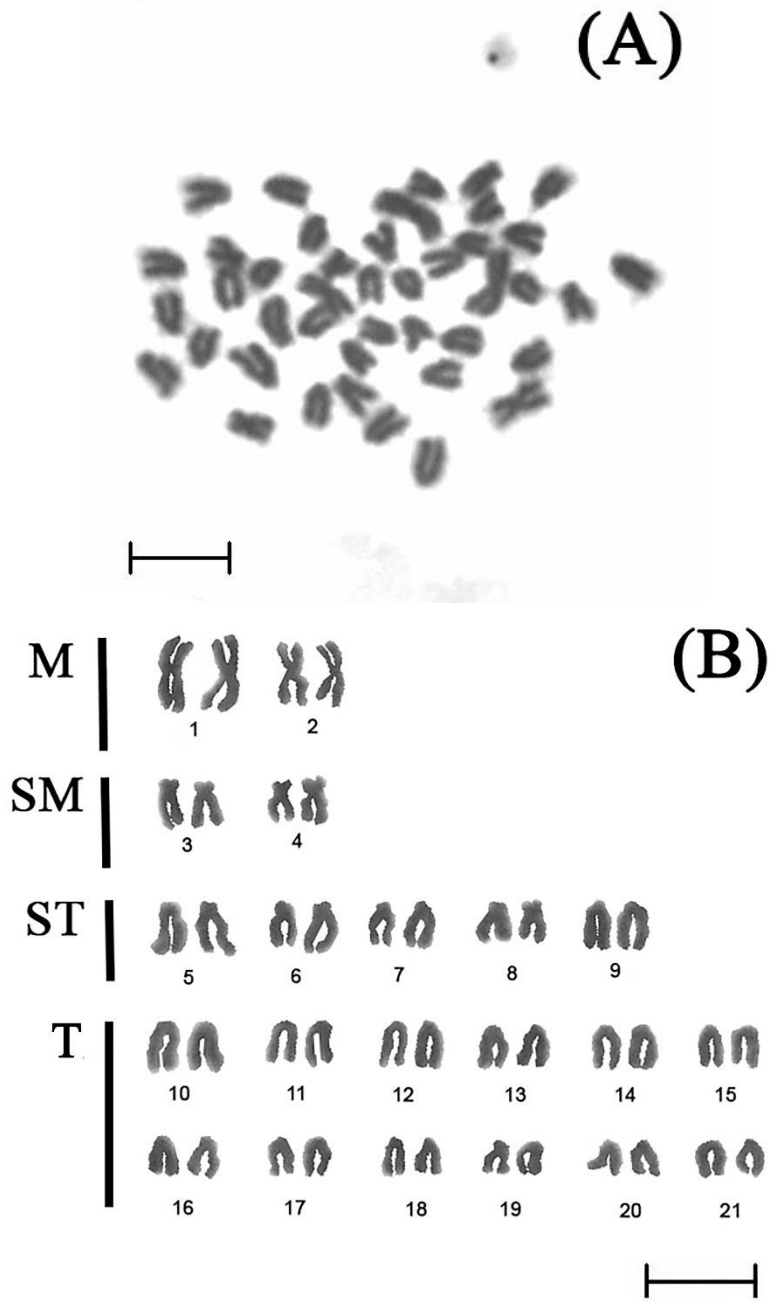


Şekil 4.13 *S. porcus*'ta tespit edilen sitotiplerin frekans dağılımları

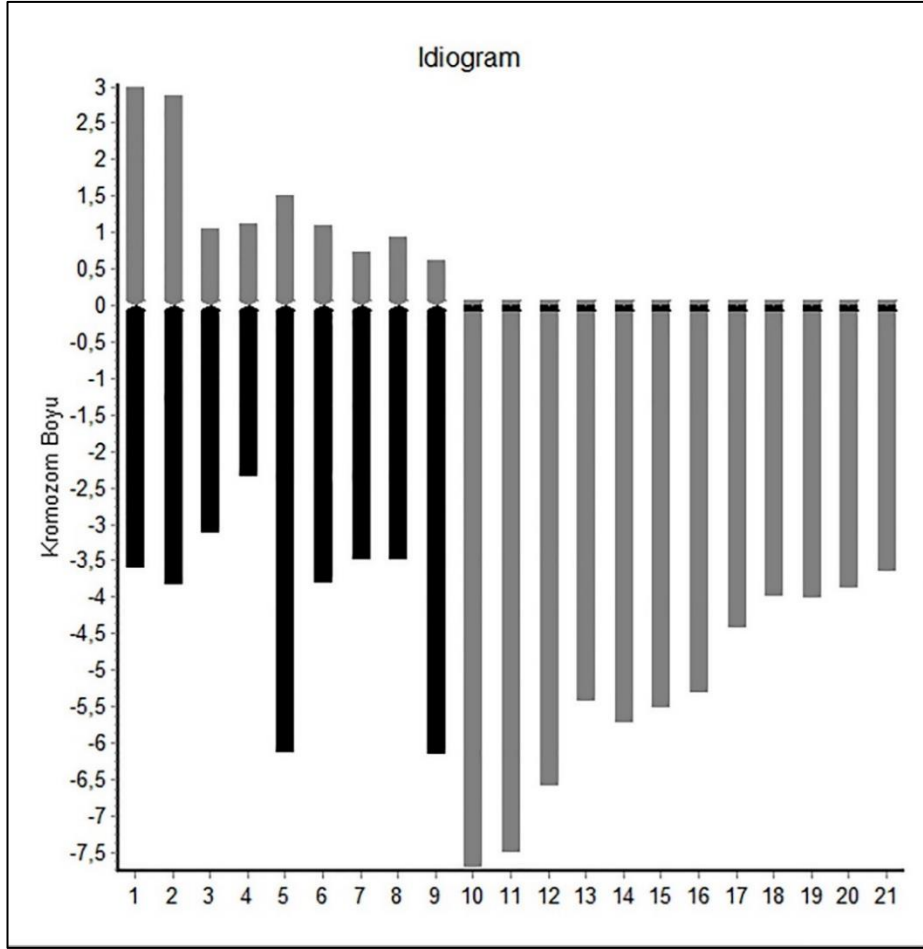
Çalışmada *Scorpaena porcus* örneklerinden elde edilen preparatların mikroskopik incelemesi sonucunda bulunan metafazlardan diploid sayının $2n=42$ olduğu ve karyotipinin de 4 metasentrik, 4 submetasentrik, 10 subtelosentrik ve 24 telosentrik kromozomdan oluştuğu belirlenmiştir. Şekil 4.15'te gösterildiği gibi tespit edilen karyotipten NF kromozom kol sayısı $\{8(M+SM) \times 2 + 34(ST+T) \times 1\}$ 50 olarak bulunmuştur. Şekil 4.16'da n sayıdaki homolog kromozomların diyagramatik sınıflandırması idiogramda ve Çizelge 4.8'de de nisbi kromozom kol uzunlukları, kol oranları sentromerik indeks sonuçları belirtilmiştir.



Şekil 4.14 Araştırmada *S. porcus*'ta tespit edilen sitotipler: A) $2n=31$, B) $2n=37$, C) $2n=38$, D) $2n=40$, E) $2n=41$, F) $2n=42$ (%59)



Şekil 4.15 *S. porcus*'a ait metafaz (A) ve karyotip (B), bar 5µ'dur



Şekil 4.16 *S. porcus*'a ait karyotipe göre idiogram

Çizelge 4.8 *S. porcus*'a ait sentromerik indeks (*i*) ve kromozom kol boyu oranları ($r = p/q$), nisbi kromozom uzunlukları ($c = p + q$)

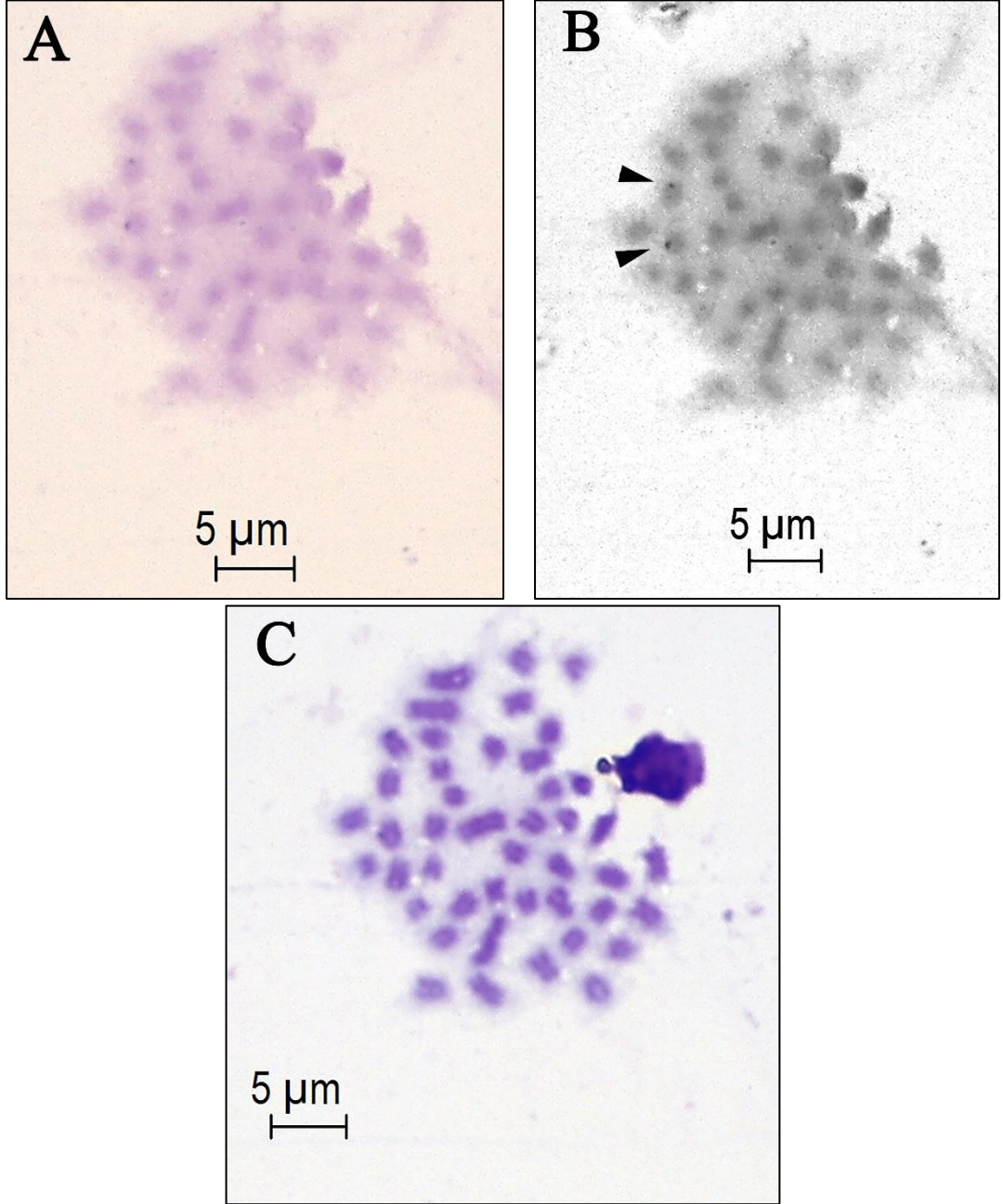
Kromozom Çifti	Kısa kol	Uzun kol	<i>c</i>	<i>r</i>	<i>i</i>	Kromozom tipi
n	(<i>p</i>)	(<i>q</i>)	(<i>p+q</i>)	(<i>q/p</i>)	[100*(<i>p/p+q</i>)]	
1	2.99	3.611	6.6	1.21	45.30	m
2	2.875	3.824	6.698	1.33	42.92	m
3	1.058	3.121	4.18	2.95	25.31	sm
4	1.124	2.345	3.469	2.09	32.40	sm
5	1.515	6.139	7.654	4.05	19.79	st
6	1.106	3.804	4.91	3.44	22.53	st
7	0.72	3.481	4.201	4.83	17.14	st
8	0.941	3.496	4.437	3.72	21.21	st
9	0.614	6.159	6.773	10.03	9.07	st
10	0	7.709	7.709	∞	0.00	t
11	0	7.514	7.514	∞	0.00	t
12	0	6.586	6.586	∞	0.00	t
13	0	5.417	5.417	∞	0.00	t
14	0	5.733	5.733	∞	0.00	t
15	0	5.524	5.524	∞	0.00	t
16	0	5.313	5.313	∞	0.00	t
17	0	4.416	4.416	∞	0.00	t
18	0	3.992	3.992	∞	0.00	t
19	0	4.009	4.009	∞	0.00	t
20	0	3.883	3.883	∞	0.00	t
21	0	3.651	3.651	∞	0.00	t

4.4. Boyama ve Bantlama Sonuçları

Çalışmada Giemsa boyalı preparatlarda metafazların koordinatları belirlenmiş ve dijital fotoğrafları çekilmiş ardından yapılacak ardışık bantlamalara geçilmiştir. En iyi metafazların belirlendiği preparatların etanol ile immersiyondan arındırılmış ve fiksatif ile de kalan Giemsa boyalarını çıkarmak için uygulanmıştır. Türlerine göre yapılan C- bantlama ve Gümüş Nitrat boyama sonuçları Şekil 4.17 – Şekil 4.24'de sırasıyla verilmiştir.

4.4.1. Barbun Balığı – *Mullus barbatus* (Syngnathiformes, Mullidae)

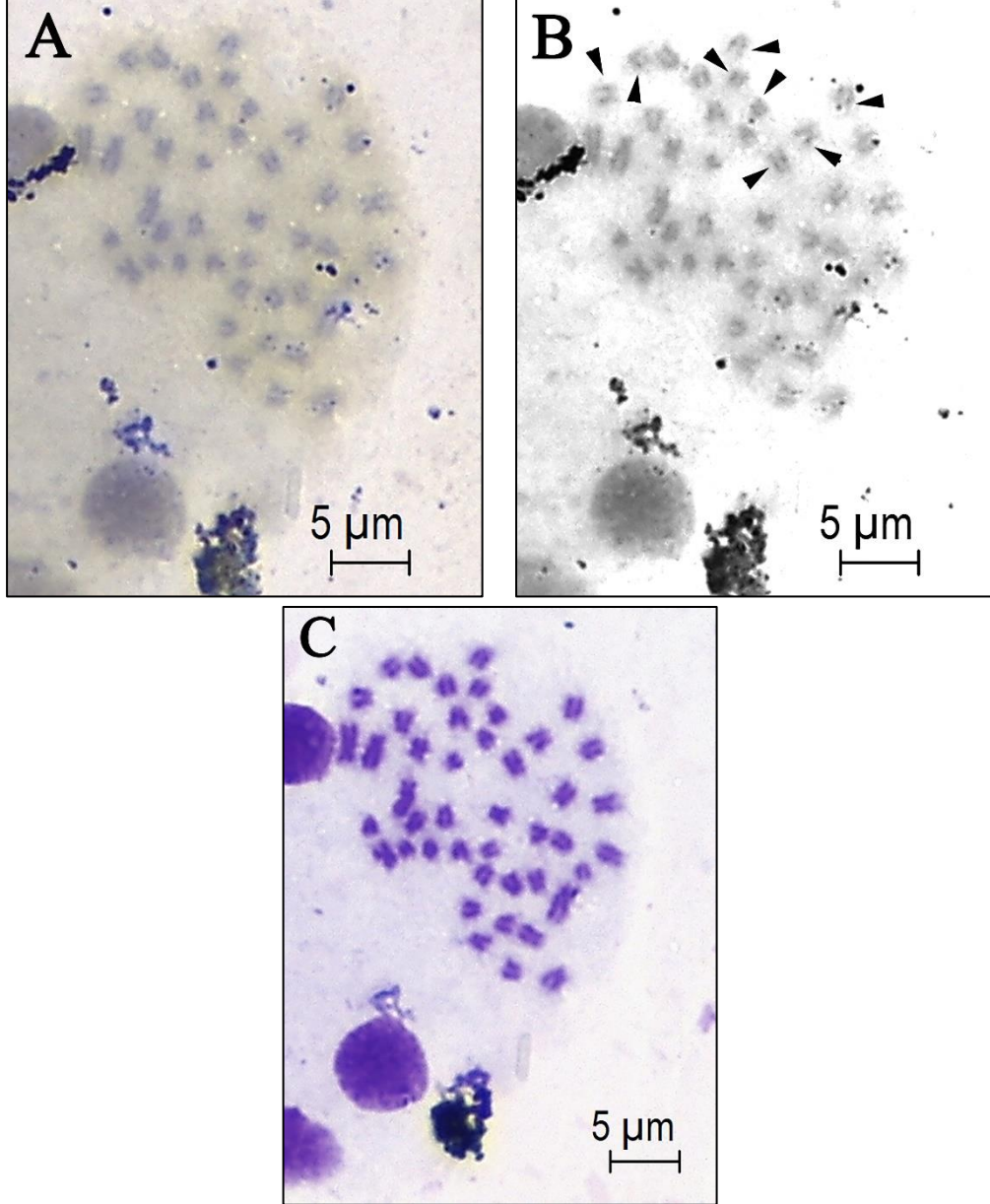
Şekil 4.17’de gösterildiği gibi *M. barbatus*’un kromozomlarında iki akrosentrik kromozomda konstitütif (asıl) heterokromatin – C+ bölge sentromerinde yer aldığı görülmüştür.



Şekil 4.17 *M. barbatus*’ta C+ batlı kromozom bölgeleri A) C-bantlı metafaz, B) C+ pozitif bölgeler (oklar), C) Giemsa boyalı metafaz

Mullus barbatus’un yapılan $Ag(NO)_3$ boymama bulguları Şekil 4.18’de verilmiştir. Yapılan incelemeler sonucunda *M. barbatus*’un 8 kromozomda NOR+ bölgelere rastlanmış olup, bir çift submetasentrik kromozomun telomerinde, diğer 2

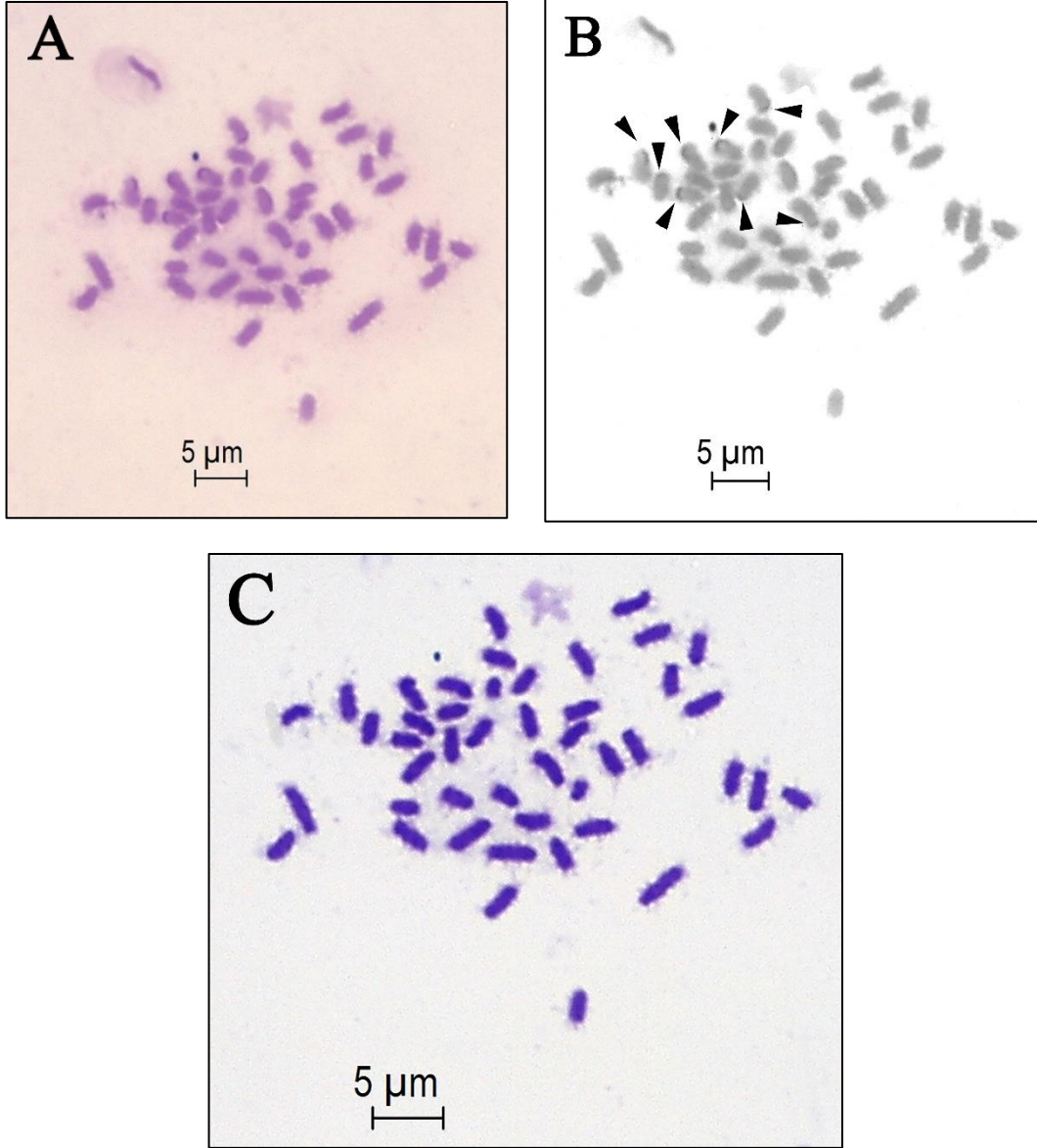
çift akrosentrik kromozomun her iki kolunda interstitial (uzun veya kısa kolun ortası) bölgesinde, 1 çift kromozomda ise sağ kolun telomerine yakın bir bölgede olduğu belirlenmiştir.



Şekil 4.18 *M. barbatus*'ta $Ag(NO)_3$ boyalı kromozom bölgeleri A) NOR-bantlı metafaz, B) NOR+ pozitif bölgeler (oklar), C) Giemsa boyalı metafaz

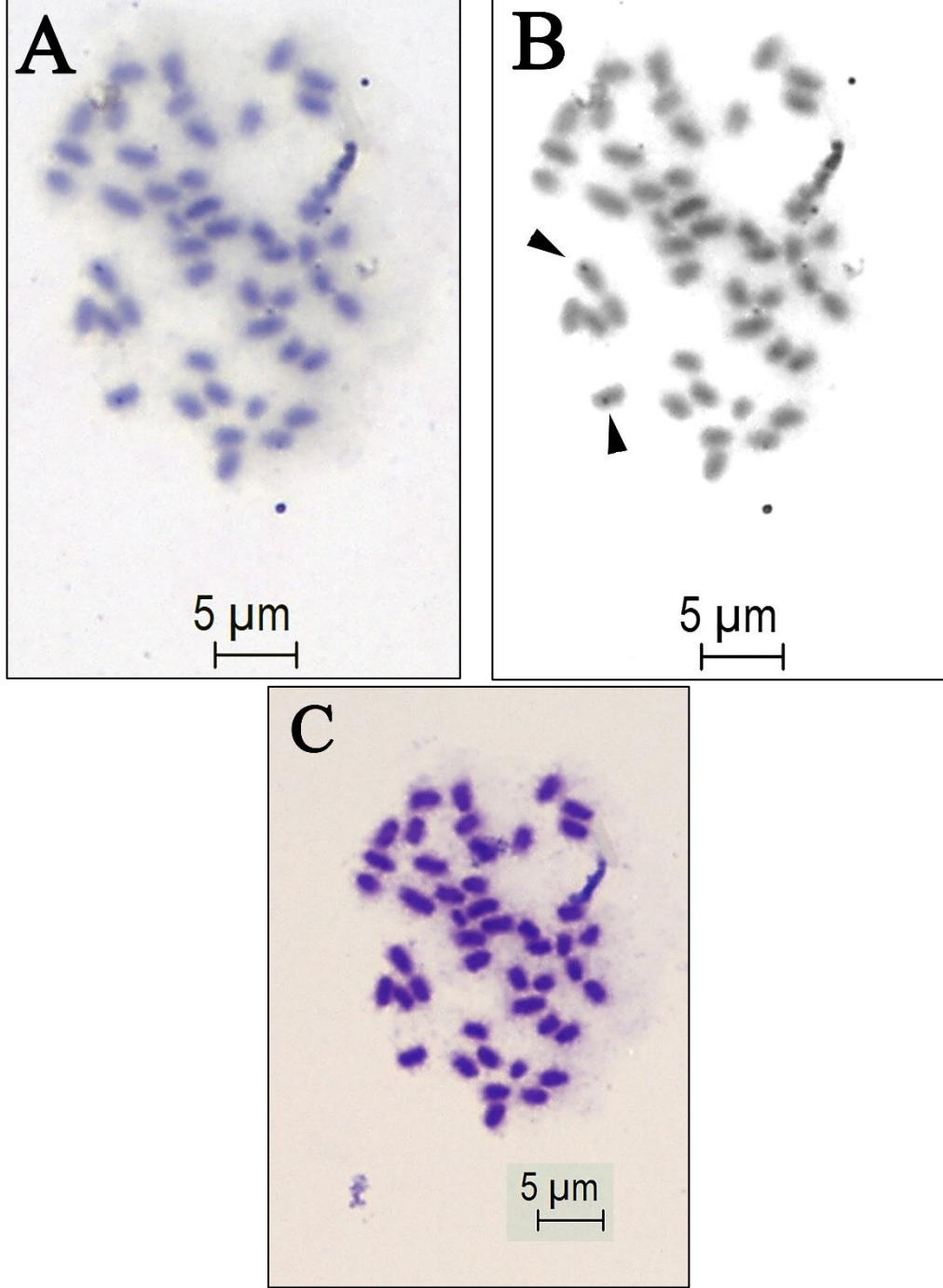
4.4.2. Kaya Balığı – *Neogobius melanostomus*

Çalışmada *Neogobius melanostomus*'un elde edilen preparatların C-bantlama yapılması sonucunda 4 çift kromozomda telomerik ve sentromerik pozisyonda konstitütif heterokromatin bölge saptanmıştır (Şekil 4.19).



Şekil 4.19 *N. melanostomus*'ta konstitütif heterokromatin batlı kromozom bölgeleri
A) C-bantlı metafaz, B) C+ pozitif bölgeler (oklar), C) Giemsa boyalı metafaz

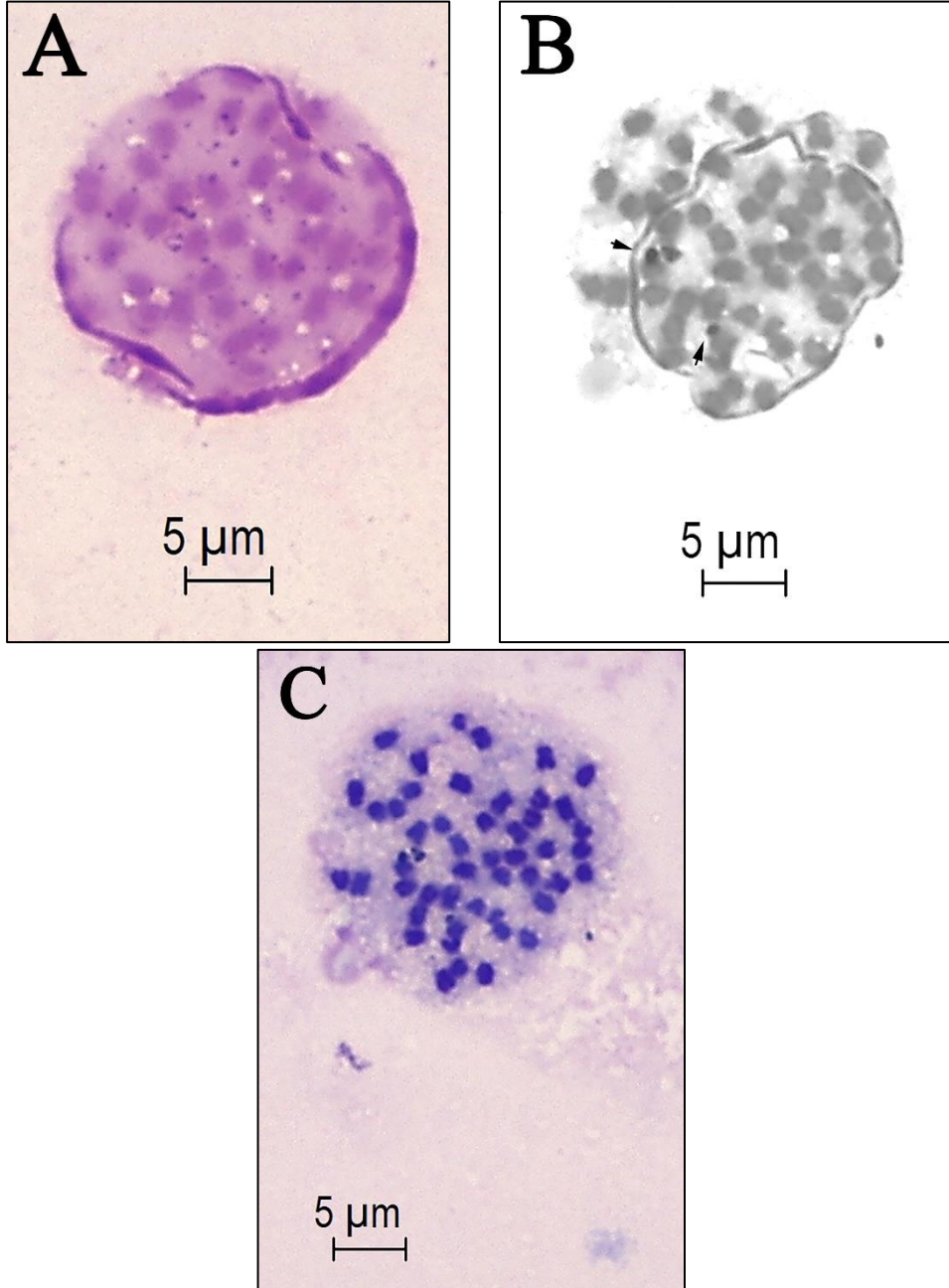
Ag(NO)₃ boyama sonuçları yapılan mikroskopik ve dijital resimleme çalışmalarında *N. melanostomus*'un iki kromozomunda sentromerik ve perisentromerik durumlarda 2 NOR+ bölge tespit edilmiştir (Şekil 4.20).



Şekil 4.20 *N. melanostomus*'ta Ag(NO)₃ boyalı kromozom bölgeleri A) NOR-bantlı metafaz, B) NOR+ pozitif bölgeler (oklar), C) Giemsa boyalı metafaz

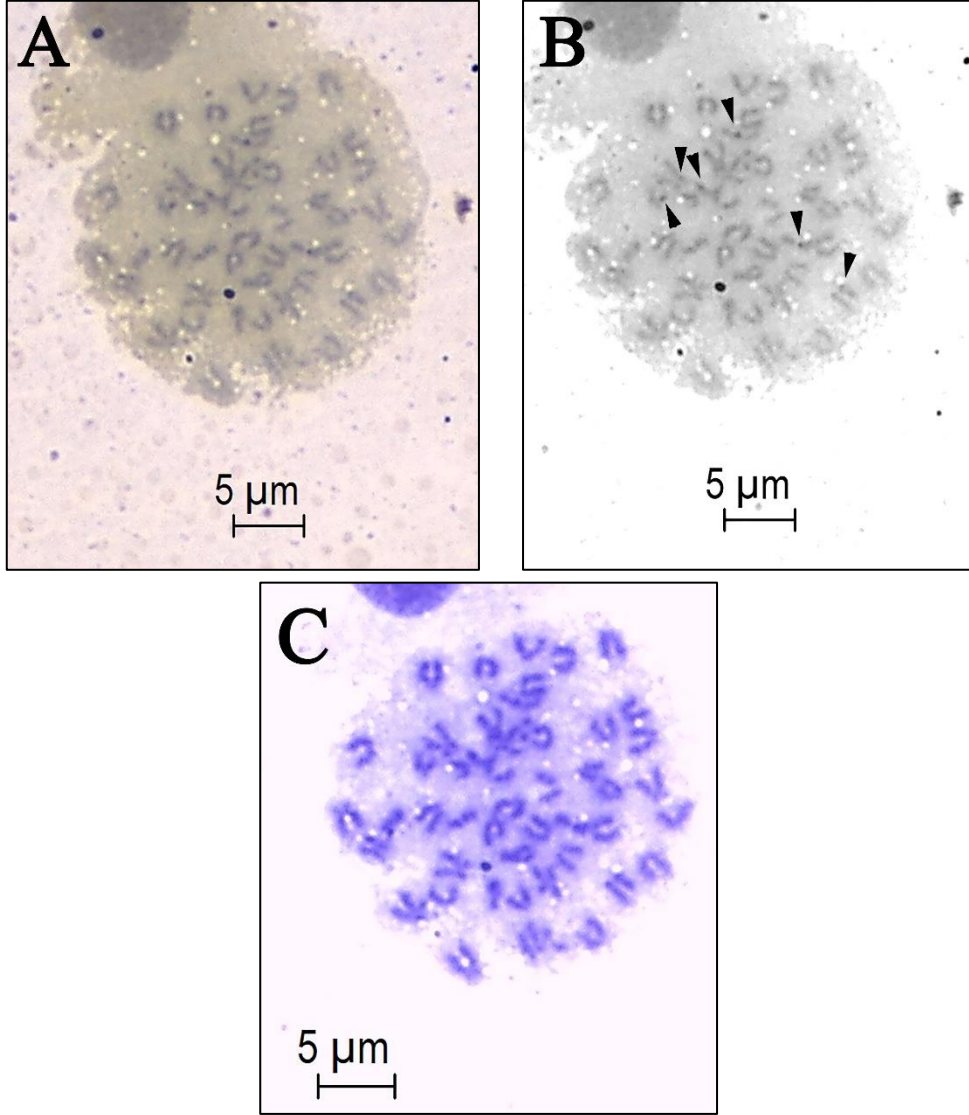
4.4.3. İstavrit Balığı - *Trachurus mediterraneus*

Araştırmada elde edilen *Trachurus mediterraneus* örneklerinden hazırlanan preparatların konstitütif heterokromatin bantlamaları Şekil 4.21’de gösterilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre *T. mediterraneus*’un iki subtelosentrik kromozomunda sentromerik durumda C+ bölge belirlenmiştir.



Şekil 4.21 *T. mediterraneus*'ta konstitütif heterokromatin bantlı kromozom bölgeleri A) C-bantlı metafaz, B) C+ pozitif bölgeler (oklar), C) Giemsa boyalı metafaz

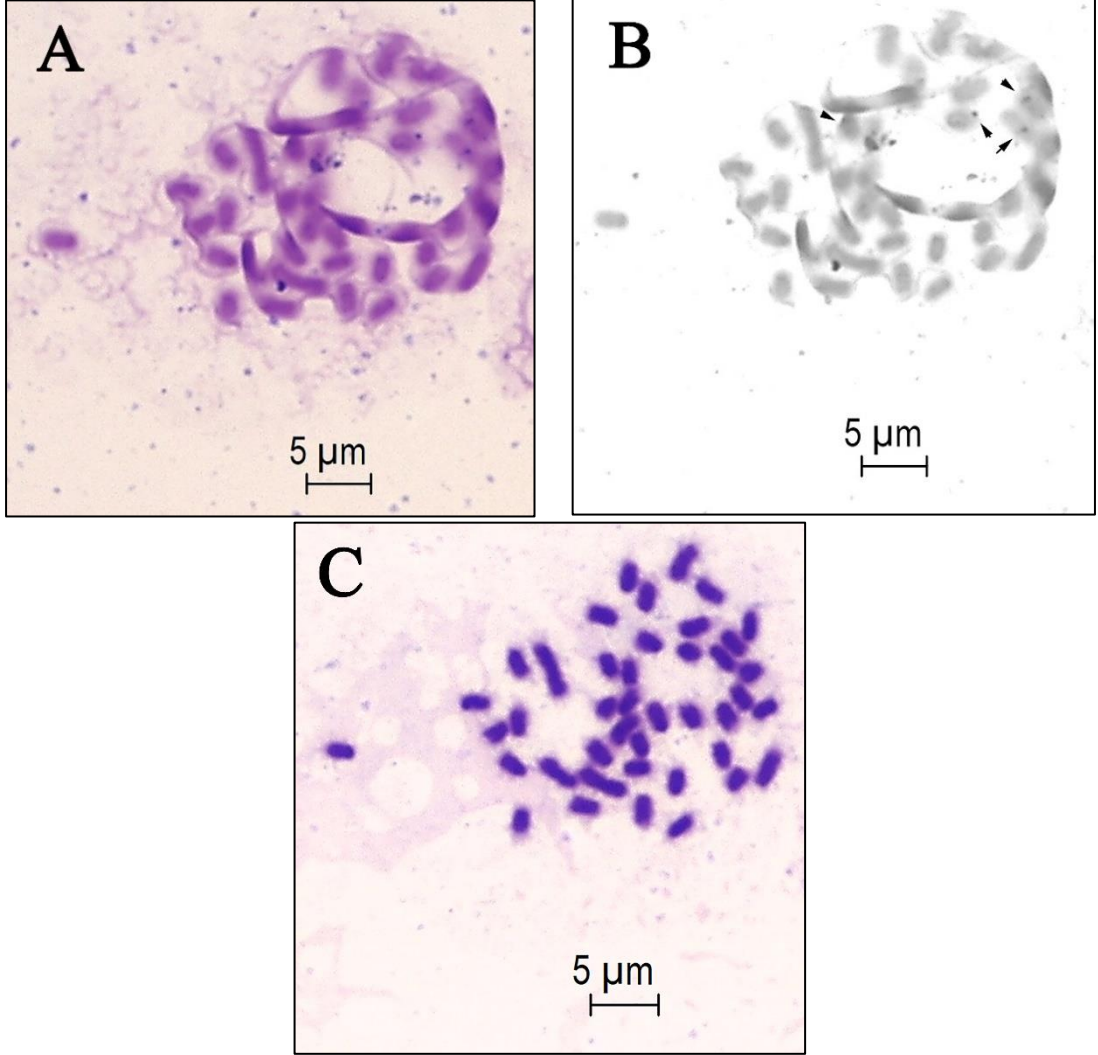
Araştırmada *Trachurus mediterraneus*'a ait gümüş nitrat boyalı preparatlarında yapılan incelemelerde 3 çift kromozomda NOR+ bölgelerine rastlanmıştır. Bunların, 2 çift küçük akrosentrik kromozomun sol kolunda perisentromerik pozisyonda bir çift subtelosentrik kromozomun sentromerinde yeraldığı belirlenmiştir (Şekil 4.22).



Şekil 4.22 *T. mediterraneus*'ta $Ag(NO)_3$ boyalı kromozom bölgeleri A) NOR-bantlı metafaz, B) NOR+ pozitif bölgeler (oklar), C) Giemsa boyalı metafaz

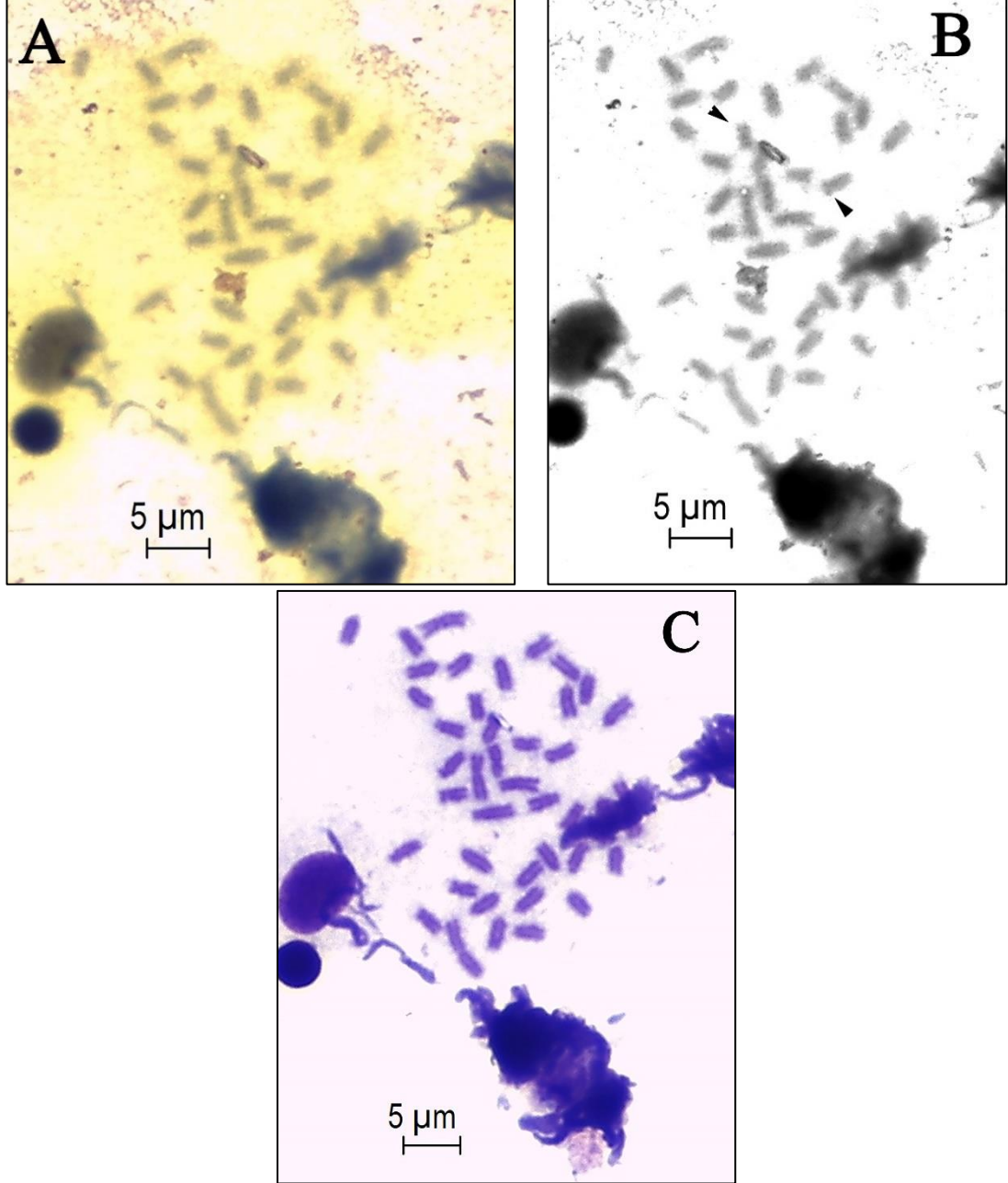
4.4.4. İskorpit balığı – *Scorpaena porcus*

Çalışmada konstitutif heterokromatin bölgelerin bantlanması sonucunda *Scorpaena porcus*'ta 1 akrosentrik ve 1 subtelosentrik kromozom çiftinde 4 sentromerik durumda C+ bölge belirlenmiştir (Şekil 4.23).



Şekil 4.23 *S. porcus*'ta konstitutif heterokromatin batlı kromozom bölgeleri A) C-bantlı metafaz, B) C+ pozitif bölgeler (oklar), C) Giemsa boyalı metafaz

Çalışmada $\text{Ag}(\text{NO}_3)_3$ boyama sonuçları değerlendirildiğinde *Scorpaena porcus*'ta bir çift submetasentrik kromozomun her iki kolunda telomerik durumda NOR+ bölgesi tespit edilmiştir (Şekil 4.24).



Şekil 4.24 *S. porcus*'ta $\text{Ag}(\text{NO}_3)_3$ boyalı kromozom bölgeleri A) NOR-bantlı metafaz, B) NOR+ pozitif bölgeler (oklar), C) Giemsa boyalı metafaz

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

5.1 *in vitro* Hücre Kültürü

Kısa süreli kültür PB-MAX™ hücre kültür ortamını kullanan ve metodu ortaya atan Araya-Jaime ve ark. (2021)'nin yaptığı çalışmaya göre her bir preparatı 15µL (0,015ml) yaklaşık bir damladaki hücre süspansiyonundan el ettiği kaliteli metafaz sayısı türden tür değişmekle birlikte 8 ile 15 adet metafaz olduğu bildirilmiştir. Aynı şekilde her bir örnekten 10 preparat hazırlanan bu çalışmada kaliteli metafaz sayısı türden türe değişmekle birlikte bir preparatta yaklaşık en az 0.15 ml (150µL) hücre süspansiyonu kullanıldığında en az 1 en çok 30 metafaz elde edilmiştir. Netto ve ark. (2007) postmortem dönemde en az 20dk, en fazla iki buçuk saatlik postmortem dönemde olduğu bilinen balık numunelerini RPMI 1640 kültür ortamında (PB-MAX™ bu ortamdan geliştirilmiştir) en fazla 12 saate kadar inkübasyon sitogenetik açıdan iyi performans vereceğini bildirmiştir. Yapılan çalışmalarla bu çalışma arasında metafaz sayısında fark olmakla birlikte karyotip için yeterli miktarda (en az 10) kaliteli metafaz elde edilemeyen tür yoktur. Bu sonuç da araştırmanın esas amacı ve hipotezi olan deniz balıklarında kromozom elde etmenin her seferinde mümkün olmadığı çok sayıda örnekte ve defalarca denemeler yapılarak çok az başarı elde edilen geleneksel *in vivo* metotlara göre daha avantajlı olduğu kanıtlanmıştır. Bu metodun dezavantajı olan balık örneğinin tazeliği, ölüm sonrası geçen sürenin tam olarak (en fazla 4 saat) bilinmesi gerektiğidir.

Çalışma süresi bakımından PB-MAX™ için en az 2.5 saat en fazla 4 saatin uygun olacağı bu çalışmada uygulanan 9 türden 4'ünde olumlu sonuçların olduğu görülmüştür. Araya-Jaime ve ark. (2021) 15 saate kadar kültürde inkübasyon süresinde uygun metafazların elde edilebildiği bildirilmişken, yapılan bu çalışmada 10, 12 ve 14 saatler arasında PB-MAX™ denenmiş fakat başarılı sonuçlar elde edilememiştir. Bu çalışmada kısa süreli ve uzun süreli doku kültürleri arasında kıyaslama denemesi yapılmamıştır.

5.2 Türlerin Sitotaksonomisi

5.2.1 *Mullus barbatus*

Mullus barbatus (Barbunya veya Barbun balığı), Akdeniz'de Kanarya ve Azor Adaları dahil, Marmara Denizi'nde, Karadeniz'de ve Kuzey Atlantik Okyanusu'nun doğusunda Norveç'ten, Britanya adalarına kadar bulunan ve yaşam

alanı İskandinavya'dan Dakar'a, Senegal'e kadar uzanan bir Signathiform türüdür (Froese ve Pauly, 2024). Çizelge 5.1'de görüldüğü gibi 212 türün (Fricke ve ark., 2024) yer aldığı Mullidae familyasında toplamda 12 çalışmada sadece sekiz türün sitogenetik olarak araştırılmış olduğu halde beş tür ile en az sayıda türün (Froese ve Pauly, 2024) yer aldığı Genus olan *Mullus*'lardan *M. barbatus*, *M. surmuletus* ve *M. argentinae* üzerine yapılmış kromozom çalışması sayısı (5 adet) en fazladır. Sitogenetik olarak geleneksel bantlama ve boyamalar bakımından C+ ve NOR bölgelerinin yapılan bu çalışma ile de ilk olarak tespit edilmiştir. Kromozom sayısı bakımından 44 diploid sayının belirlendiği (Çizelge 5.1) bu tür için diğer çalışmalarla (Laliberte ve ark., 1979; Vitturi ve ark., 1992; Saygun ve ark., 2006; Prazdnikov, 2016) uyumludur.

Çizelge 5.1 Mullidae familyası yapılmış olan sitotaksonomik çalışmaların sonuçları

Species	2n	Karyotip	NF	Yer	Referans
<i>Mulloidichthys flavolineatus</i>	48	48a	48	Japonya	Ojima ve Yamamoto (1990)
<i>Mullus argentinae</i>	44	2sm+42a	46	Brezilya	Brum (1996)
<i>M. barbatus</i>	44	4m/sm+40a	48	Monako	Laliberte ve ark. (1979)
<i>M. barbatus</i>	44	6m/sm+38a	50	Monako	Laliberte ve ark. (1979)
<i>M. barbatus</i>	44	6m/sm+16st+22a	50	İtalya (Palermo)	Vitturi ve ark. (1992)
<i>M. barbatus</i>	44	6m/sm+16st+11a	44	Türkiye (Karadeniz-Sinop)	Saygun ve ark. (2006)
<i>M. barbatus</i>	44	8sm+36st/a	52	Rusya (Karadeniz-Taman Yarımadası)	Prazdnikov (2016)
<i>M. barbatus</i>	44	6m+14sm+14st+10a	64	Türkiye (Karadeniz-Ordu)	Bu çalışmada
<i>M. surmuletus</i>	48	-	50	İspanya (Malaga)	Cano ve ark. (1982)
<i>M. surmuletus</i>	44	8m/sm+16st+20a	52	İtalya (Palermo)	Vitturi ve ark. (1992)
<i>Paraupeneus spilurus</i>	44	8m+8sm+28st/a	60	Japonya (Chiba)	Arai ve Koike (1979)
<i>Upeneus parvus</i>	44	8m/sm+38st/a	52	Brezilya (Rio De Janerio)	Pauls ve ark. (1996)
<i>U. tragula</i>	50	50st/a	50	Hindistan (Andaman Adası)	Rishi (1973)
<i>U. mossulensis</i>	44	2m+2st+40a	46	Türkiye (Akdeniz-Mersin Körfezi)	Karahan (2016)

Önceki çalışmalarda (Çizelge 5.1) bildirilen *Mullus barbatus*'un karyotipleri arasında farklılıklar olduğu gibi bu çalışmada belirlenen karyotip ile de farklılık bulunmaktadır. Çift kollu kromozomlar sayıları 4 ile 8 arasında değiştiği bu çalışmada ise 20 (M+SM) olduğu belirlenmiştir. *M. barbatus* için diğer çalışmalarda

manuel olarak yapılan karyotiplemeye göre dijital fotoğraflardan otomatik olarak ölçüm ve sıralama işlemi yapılabilen resim analiz programı olarak AKAS kullanıldığı için bu çalışmada daha farklı sonuçlar alındığı söylenebilir. Çizelge 5.1'e bakıldığında diğer Mullid türlerine göre de karyotiplerde farklılıklar görülmektedir. NF'deki farklılıkların değişik tip ve sayıda kromozom düzenlemelerinin (anormallikleri) etkili olduğu belirtilmektedir (Prazdnikov, 2016; Karahan, 2016).

Vitturi ve ark. (1992) *Mullus barbatus* ve *M. surmuletus*'un subtelosentrik kromozomlarında tespit ettikleri C+ bölgelerin yanısıra iki çift kromozomda farklı büyüklüklerde NOR+ bölgelerinin olduğunu belirtmiştir. Bu çalışmada bir çift ST/A kromozomun sentromerinde konstitütif heterokromatin bölgesi tespit edilmiştir. NOR bölgeleri ise iki farklı kromozomda olduğu görülmüştür. Bununla birlikte, *M. surmuletus* ve *M. barbatus* birbirine çok benzer iki farklı tür olması nedeniyle yapılan sitogenetik çalışmada benzer kromozomlarda ve sayıda NOR taşıyor olması, türleri ayırt etmede NOR polimorfiziminin taksonomik bir karakter olarak kullanılması hipotezini çürüttüğü sonucuna varılmıştır (Vitturi ve ark., 1992). Bu çalışmada ise iki akrosentrik kromozomda konstitütif (asıl) heterokromatin - C+ bölge sentromerinde ve 8 kromozomda NOR+ bölgelere rastlanmıştır: bunlar sırasıyla bir çift submetasentrik kromozomun telomerinde, diğer 2 çift akrosentrik kromozomun her iki kolunda interstitial (uzun veya kısa kolun ortası) bölgesinde, 1 çift kromozomda ise sağ kolun telomerine yakın bir bölgede olduğu kaydedilmiştir.

5.2.2 *Neogobius melanostomus*

Gobiiformes takımında 4656 tür bulunmakla birlikte en çok tür barındıran (1988 sp.) Gobiidae familyasının en çok türe sahip (1283 sp.) Gobiinae altfamilyasında (Fricke ve ark., 2024) yer alan namı diğer Kaya balığı türlerinden *Neogobius melanostomus* Avrupa ve Asya: Azak Denizi, Karadeniz ve Hazar havzalarında dağılım gösteren ekonomik olmayan bir türdür. Birkaç ülke denizine girdikten sonra olumsuz ekolojik etkiler yarattığına dair bildirimler olduğu 2004 yılında kazara gemilerdeki balast suyuyla Kuzey Amerika'ya kadar yayılmıştır (Froese ve Pauly, 2024). Sığ, acı suları tercih eder ancak tatlı sularda da bulunur; lagünlerde ve göllerde, büyük nehirlerde, limanlarda, kum veya kaya diplerinde; çoğunlukla yoğun bitki örtüsü veya kaya diplerinde yaşarlar (Fricke ve ark., 2024). Çizelge 5.2'de belirtildiği gibi *Neogobius* genusunda 11 türde sitotaksonomik

çalışma yapılmış olup *N. melanostomus*'un kromozom morfolojisi üzerine yapılan çalışmalarda (Ivanov, 1975; Vasil'ev, 1985; Vasil'ev ve Grigoryan, 1994) 46 akrosentrik kromozoma sahip olduğu bu çalışmada da tespit edilmiştir.

Çizelge 5.2 *Neogobius* genusunda yapılmış olan sitotaksonomik çalışmaların sonuçları

Species	2n	Karyotip	NF	Yer	Referans
<i>Neogobius cephalargoides</i>	46	46a	46	Karadeniz	Vasil'ev ve Grigoryan (1990)
<i>N. constructor</i>	42	4m/sm+38a	46	Gürcistan (Tiflis Rezervuarı)	Vasil'ev ve Grigoryan (1993)
<i>N. constructor</i>	44	2m+42a	48	Karadeniz Havzası	Vasil'eva ve Vasil'ev (1995)
<i>N. constructor</i>	44	2m+2sm+40a	48	Karadeniz Havzası	Vasil'ev ve Grigoryan (1990)
<i>N. cyrius</i>	37	9m/sm+2st+26a	46	Gürcistan (Kura N.)	Vasil'ev ve Grigoryan (1993)
<i>N. cyrius</i>	38	8m/sm+30a	46	Gürcistan (Tiflis Rezervuarı)	Vasil'eva ve Vasil'ev (1995)
<i>N. cyrius</i>	40	6m/sm+34a	46	Gürcistan (Kura N.)	Vasil'ev ve Grigoryan (1993)
<i>N. cyrius</i>	41	5m/sm+1st+35a	46	Gürcistan (Kura N.)	Vasil'ev ve Grigoryan (1993)
<i>N. eurycephalus</i>	32	12m+2sm+18a	46	Tuna Delta Sistemi	Ene (2003)
<i>N. eurycephalus</i>	31	13m+2sm+16a	46	Tuna Delta Sistemi	Ene (2003)
<i>N. eurycephalus</i>	30	14m+2sm+14a	46	Tuna Delta Sistemi	Ene (2003)
<i>N. e. odessicus</i>	46	46a	46	Sasyk Lagün Gölü (Karadeniz)	Vasil'eva ve ark. (2011)
<i>N. fluviatilis fluviatilis</i>	46	46a	46	Rusya (Don N.)	Grigoryan ve Vasil'ev (1993a)
<i>N. fluviatilis</i>	46	46a	46	Türkiye (Bilecik)	Ünal Karakuş ve ark. (2023)
<i>N. fluviatilis pallasi</i>	46	46a	46	Rusya (Don N.)	Grigoryan ve Vasil'ev (1993a)
<i>N. gorlab</i>	46	46st/a	46	Hazar Denizi Havzası	Vasil'ev ve Vasil'eva (1992)
<i>N. gymnotracheilus</i>	46	46a	46	Karadeniz Havzası	Grigoryan ve Vasil'ev (1993b)
<i>N. gymnotracheilus</i>	46	2sm/st+44a	-	Karadeniz Havzası	Grigoryan ve Vasil'ev (1993b)
<i>N. gymnotracheilus</i>	46	1m+1sm+44a	48	Karadeniz Havzası	Grigoryan ve Vasil'ev (1993b)
<i>N. kessleri</i> ♀	30	14m+2sm+14at/a	46	Karadeniz Havzası	Vasil'ev ve Vasil'eva (1992)
<i>N. kessleri</i> ♂	29	15m+2sm+12st/a	46	Karadeniz Havzası	Vasil'ev ve Vasil'eva (1992)
<i>N. kessleri</i>	46	46t/a	46	Hazar Denizi	Esmaily ve Kalbassi (2008)
<i>N. kessleri kessleri</i>	30	14m+2sm+14a	46	Karadeniz Havzası	Grigoryan ve Vasil'ev (1993b)
<i>N. kessleri kessleri</i>	29	17m/sm+12a	46	Karadeniz Havzası	Grigoryan ve Vasil'ev (1993b)

Çizelge 5.2 *Neogobius* genusunda yapılmış olan sitotaksonomik çalışmaların sonuçları (Devamı)

Species	2n	Karyotip	NF	Yer	Referans
<i>N. melanostomus</i>	46	46a	46	Karadeniz	Ivanov (1975)
<i>N. melanostomus</i>	46	46a	46	Azak Denizi	Vasil'ev ve Grigoryan (1994)
<i>N. melanostomus affinis</i>	46	46a	46	Karadeniz Havzası	Vasil'ev (1985)
<i>N. melanostomus</i>	46	46a	46	Türkiye (Karadeniz- Ordu)	Bu çalışmada
<i>N. rhodioni</i>	46	46a	46	Karadeniz Havzası	Vasil'ev ve Grigoryan (1994) Vasil'eva ve Vasil'ev (1995)
<i>N. syrman</i>	32	10m+4sm+18a	46	Sasyk Lagün Gölü (Karadeniz)	Vasil'eva ve ark. (2011)

Neogobiid türlerinin ortak model kromozom tipin 46 akrosentrik (tek kollu) olmasının yanısıra *Neogobius constructor* 42 ile 44 kromozom sayısına ve 2 ile 4 M-SM kromozomunun olduğu bildirilmiştir (Vasil'ev ve Grigoryan, 1990; 1993; Vasil'eva ve Vasil'ev, 1995). Çok sayıda meta ve submetasentrik (çift kollu) kromozoma (13-14 M+SM) sahip *N. eurycephalus*'un 2n=30, 31 ve 32 kromozom gibi örnekleme bölgelerine göre değiştiği görülen 3 farklı sitotip olduğu kaydedilirken *N. kessleri*'de de toplamda 16-17 M-SM olduğu (Vasil'ev ve Vasil'eva, 1992) Çizelge 5.2'de görülmektedir.

Neogobius melanostomus'un sitogenetik özelliklerini inceleyen Ocalewicz ve Sapota (2011), tarafından yapılan dizi boyamalarda iki kromozomunda NOR bulunan subtelo-akrosentrik kromozomlu karyotipi olduğu işaret edilmektedir. Restriksiyon enzim boyama, RE bantlama, DAPI, CMA3 ve FISH gibi floresans boyamalarla da bu NORların durumlarını teyit edilmiştir. Yapılan bu çalışmada da boyama sonuçları yapılan mikroskopik ve dijital resimleme çalışmalarında *N. melanostomus*'un iki kromozomunda sentromerik ve perisentromerik durumlarda 2 NOR+ bölge tespit edilmiştir. Bu çalışmada olduğu gibi Karadeniz havzasında yaşayan *N. melanostomus* ile yapılan diğer çalışmalarla kromozom sayısal ve morfolojik bakımından yakinen benzerlik olduğu görülmektedir (Ivanov, 1975; Vasil'ev, 1985; Vasil'ev ve Grigoryan, 1994).

Neogobiidlerde görülen tür içi kromozom farklılığının bariz olarak ortaya çıkarıldığı çalışmalara göre; Hazar Deniz'inin endemik türü olan *N. gorlab*'ta bu

denizi besleyen tatlı su kaynaklarından örnekledikleri bireylerde 43 ile 46 arasında kromozom sayısı ve morfolojisi bakımından varyasyonların olduğu 11 farklı sitotip tespit etmişlerdir. Bu farklı populasyonlardaki kromozomal değişikliklerin Robertson tipi translokasyonlardan kaynakladığını ileri sürmüşlerdir (Prazdnikov ve ark., 2013; Bigaliev ve ark., 2014).

5.2.3 *Trachurus mediterraneus*

Trachurus mediterraneus Akdeniz istavriti, aynı zamanda Karadeniz istavriti olarak da bilinir, Moritanya, Akdeniz dahil Biscay Körfezi'nden doğu Atlantik'te bulunan Carangidae familyasında bulunan 153 türden birisidir (Fricke ve ark., 2024; Froese ve Pauly, 2024). Carangiformes takımında yer alan türlerden 26'sında karyolojik çalışma yapılmış olup bunların içerisinde *Trachurus* genusunda dünyada 14 tür olup (Froese ve Pauly, 2024) üç veya dört tür üzerinde kromozom morfolojisi hakkında bilgi vardır. Yapılan çalışmalarda bu genus üyelerinde $2n=48$ kromozoma sahip olduğu Çizelge 5.3'ten de görülmektedir. Bu çalışma da kromozom sayısı bakımından bu tür üzerine Vasil'ev (1978) ve Caputo ve ark. (1996)'nın bildirdiği sitotaksonomik sonuçları ile de uyum göstermektedir.

Çizelge 5.3 *Trachurus* genusunda yapılmış olan sitotaksonomik çalışmaların sonuçları

Species	2n	Karyotip	NF	Yer	Referans
<i>Trachurus japonicus</i>	48	4m+14sm+12st+18a	66	Japonya (Izu Körfezi)	Murofushi ve Yosida (1979)
<i>T. mediterraneus</i>	48	4m+4sm+14st+18a	56	İtalya (Ankona)	Caputo ve ark. (1996)
<i>T. mediterraneus</i>	48	6m+16sm+18st+8a	70	Türkiye (Karadeniz-Ordu)	Bu çalışma
<i>T. m. ponticus</i>	48	4m+6sm+38st/a	58	Karadeniz	Vasil'ev (1978)
<i>T. trachurus</i>	48	2sm+46a	50	İtalya (Ankona)	Caputo ve ark. (1996)

Trachurus mediterraneus ve *T. trachurus*'ta yapılan sitogenetik incelemelerde birinci çift kromozomun uzun kolunda intertisyel bölgede (interstitial - *p* veya *q* kolunun tam orta noktası) NOR'ların yerleşmiş olduğu görülürken, konstitutif (asıl) heterokromatin bölgelerinin (C+ bölgeler) yedi kromozom çiftinde sentromerik ve telomerik pozisyonlarda olduğu bildirilmiştir (Caputo ve ark., 1996). Bu çalışmada ise C+ bölgeler iki subtelosentrik kromozomda sentromerik durumda ve NOR+ bölgeleri 2 çift küçük akrosentrik kromozomun sol kolunda

perisentromerik pozisyonda ve bir çift subtelosentrik kromozomun sentromerinde yer aldığı tespit edilmiştir.

Ohno (1974) tarafından ortaya çıkarılan ve günümüzde sitogenetikçilerin çoğunluğu tarafından kabul gören Teleostların ortak karyolojik özelliklerinden olan (plesimorfik karakter) $2n=48$ akrosentrik (tek kollu) kromozoma sahip olduğu hipotezi Carangidae ailesindeki türlerde de görülmektedir. *Trachurus* genusu üyelerinden *T. trachurus* ve *T. mediterraneus*'un 48 kromozoma sahip olması şartını sağlarken az sayıda da olsa meta ve submetasentrik kromozomların varlığı bu hipotezden sapmalara neden olsa da kaideyi bozmadığı görüşü yaygındır. Bu çalışmada da tespit edildiği gibi 48 kromozomlu *T. mediterraneus*'un nomenklatürel olarak Caputo ve ark. (1996)'un bildirdiği gibi 32 tek kollu (ST+A) kromozoma sahip olması ve bu çalışmada da belirlendiği gibi bu sayının 26 ST+A olması ile *T. japonicus* ve *T. trachurus*'a göre filogenetik dallanmada karyolojik olarak ayırt edici (apomorfik) özelliğe sahip olan türdür. Bununla beraber, bu tez çalışmasında çift kollu kromozomların sayısının 11 çift M+SM bulunması, Vasili'ev (1978)'in 5 çift ve Caputo ve ark. (1996)'nın 8 çift kromozom olduğunu bildirmeleri nedeniyle farklılıklar olduğu görülmektedir.

Bu araştırmada incelenen *Trachurus mediterraneus*'un (NF=70) yer aldığı Carangidae familyasına ait diğer türlerde elde edilen 48 NF değerlerinden farklılaştıran çift kollu kromozom sayıları olması bu tür için genel ifadeyle kemikli balıkların plesimorfik karakterli olma hipotezinden uzaklaştığı görülmektedir. Şöyle ki, Murofushi ve Yoshida (1979), tarafından Japonya'nın Güney doğu sahillerinde çalıştıkları *Caranx equila* ve *C. sexfasciatus*'ta 2ST+46A (NF=48), ile *Alectis ciliatis*'te 48A kromozom bulunduğu, Rodrigues ve ark., (2007) Brezilya'nın Güney kıyılarındaki *Selene vomer*'de 2ST+46A (NF=48) kromozom olduğu bildirilmiştir. Chai ve ark., (2009) Güney Avustralya kıyılarındaki çiftliklerden *Seriola lalandi lalandi* örneklerinin karyotipinin 4M+6ST+38A (NF=52) kromozomlu olduğu, Jacobina ve ark., (2013; 2014) tarafından yapılan iki çalışmada Atlantik Okyanusunun Brezilya kıyılarında yaşayan Carangidlerden *Selene* genusu üyelerinden *S. browni*'de 48A (NF=48), *S. setopinnis*'de 2M+46A (NF=50) ve *S. vomer*'de 2ST+46A (NF=48) bulunmuştur. Atlantik okyanusunun ortasındaki Faroe adası civarından *Caranx lugubris*'te 6SM+42A (NF=48) kromozom olduğu, en son

olarak da Soares ve ark. (2021) tarafından Batı Atlantik Carangidlerinde yapılan çalışmada da *Elagatis bipinnulata* 2ST+46A (NF=48) ve *Gnathanodon speciosus* 2ST+46A (NF=48) kromozom tespit edilmiştir.

5.2.4 *Scorpaena porcus*

Perciformes takımında yer alan Scorpaenidae familyasından dünyada 382 tür olduğu bilinmektedir (Fricke ve ark., 2024). *Scorpaena* genusundan 64 türün (Froese ve Pauly 2024) içerisinde sitogenetik amaçlı çalışmalarda bu familyanın 36 türünde kromozom bilgilerine rastlanmaktadır (Arai, 2011). Çizelge 5.4’de görüldüğü gibi bu genusa ait 8 türün kromozom sayıları ve karyolojik verileri bildirilmiştir. Bu genusun incelenen üyelerinin kromozomlarının 34 ile 48 arasında değiştiği belirtilmiştir. Bu çalışmada olduğu gibi *S. porcus*’ta yapılan beş çalışmada 2n sayısının 42 olduğu belirtilmekteyken diğer araştırma sonuçlarındaki karyotipler arasında da farklılıklar görülmektedir (Çizelge 5.4).

Çizelge 5.4 *Scorpaena* genusunda yapılmış olan sitotaksonomik çalışmaların sonuçları

Species	2n	Karyotip	NF	Yer	Referans
<i>Scorparena brasiliensis</i>	46	2m+12sm+32st/a	60	Brezilya (R.J.)	Corrêa ve Galetti (1997)
<i>S. isthmensis</i>	40	6m+8sm+26st/a	60	Brezilya (R.J.)	Corrêa ve Galetti (1997)
<i>S. izensis</i>	48	-	-	Japonya	Yokoyama ve ark. (1992)
<i>S. miostoma</i>	48	-	-	Japonya	Yokoyama ve ark. (1992)
<i>S. miostoma</i>	48	6m+22st+20a	54	Japonya (Suruga Körfezi)	Murofushi ve ark. (1987)
<i>S. notata</i>	34	26st+8a	34	İtalya (Senigallia)	Caputo ve ark. (1998)
<i>S. notata</i>	34	24st+10a	34	İspanya (Malaga)	Thode ve ark. (1985)
<i>S. notata</i>	34	10m/sm+24st/a	44	Hırvatistan	Sofradžija (1984)
<i>S. onaria</i>	48	6sm+32st+10a	54	Japonya (Suruga Körfezi)	Murofushi ve ark. (1987)
<i>S. onaria</i>	47	7sm+32st+8a	54	Japonya (Suruga Körfezi)	Murofushi ve ark. (1987)
<i>S. onaria</i>	48	6m+14sm+18st+10a	68	Japonya	Nishikawa ve ark. (1977)
<i>S. onaria</i>	47	7m+14sm+18st+8a	68	Japonya	Nishikawa ve ark. (1977)
<i>S. onaria</i>	48	-	-	Japonya	Yokoyama ve ark. (1992)
<i>S. porcus</i>	42	8m+2sm+10st+26a	48	İtalya (Senigallia)	Caputo ve ark. (1998)
<i>S. porcus</i>	42	6m+10st+26a	48	İspanya (Malaga)	Thode ve ark. (1985) Cano ve ark. (1982)
<i>S. porcus</i>	42	6m+10st+26a	48	İtalya (Roma)	Cataudella ve ark. (1973)
<i>S. porcus</i>	42	16ms/m+26a	58	Hırvatistan	Sofradžija (1984)
<i>S. porcus</i>	42	4m+4sm+10st+24t	50	Türkiye (Karadeniz-Ordu)	Bu çalışmada
<i>S. scrofa</i>	46	20st+26a	46	İtalya	Thode ve ark. (1985)

Scorpaeniform türler üzerinde Caputo ve ark., (1998)'nin yaptıkları çalışmada *S. porcus*'ta neredeyse tüm kromozomların sentromer bölgesinde C+ bölgelerin olduğunu ve bir çift kromozomda ise NOR+ bölgelere rast geldiğini açıklamışlardır. Model diploid kromozom sayının scorpaeniformlar için tam olarak belirlenmemesine rağmen diğer scorpaenidlere göre *S. porcus*'ta $2n=48$ 'den 42'ye düşmesinin nedenini Thode ve ark. (1985) bu türün çift kollu kromozomlarında (M+SM) meydana gelen üç sentrik füzyonla oluştuğu görüşünü Caputo ve ark., (1998) tarafından belirlenen *S. notata*'da $2n=34$ 'e kadar inmesiyle kanıtlandığı belirtilmiştir. Çizelge 5.42'te görüldüğü gibi *S. porcus*'ta çift kollu kromozomlarda görülen bu redüksiyon 5(M), 8 (M+SM) ve 10(M+SM) olmasına karşın Sofradžija (1984),'ün incelediği Adriyatik *S. porcus* popülasyonlarında 16M/SM olduğu saptanmıştır. Bu çalışmada incelenen *S. porcus*'taki karyolojik durumu açıklığa kavuşturan hipotez ise İndopasifik Uzakdoğu bölgesindeki scorpaenidlerde görülen kromozom sayılarının 48 olup NF'lerdeki varyasyona, yani çift kollu kromozomların 6 ile 8 arasında olmasına Robertson füzyonlarının sebep olduğu bildirilmiştir (Nishikawa ve ark., 1977; Murofushi ve ark., 1987; Yokoyama ve ark., 1992).

İndopasifik *Scorpaena* genusundan türlerde *S. izensis*, *S. neglecta neglecta* ve *S. n. miostoma*'nın bir çift kromozomunda C+ bölgelere ve bir çift metasentrik kromozomun kısa kolunda NOR bölgesine rastlandığı bildirilmiştir (Yokoyama ve ark., 1992). Akdeniz'in Málaga kıyılarında örneklenen *S. porcus*'un tüm kromozomlarının parasentromerik bölgelerinde C+ pozitif bölgelere rastlarken 2. çift kromozomun sentromerinin her iki tarafında da olduğu ve NOR taşıyan bir çift kromozoma sahip olduğu kaydedilmiştir (Thode ve ark., 1985). Bu çalışmada ise literatüre benzer olarak 1 akrosentrik ve 1 subtelosentrik kromozom çiftinde 4 sentromerik durumda C+ bölge ve bir çift submetasentrik kromozomun her iki kolunda telomerik durumda NOR+ bölgesi belirlenmiştir.

6. KAYNAKLAR

- Adams, RLP., Knowler, JT. & Leader, DP. (1992). The biochemistry of the nucleic acids. Chapman & Hall, 11th ed., London, UK, 689 pp.
- Akşıray, F. (1987). Türkiye deniz balıkları ve tayin anahtarı. İstanbul Üniversitesi Rektörlüğü Yayınları, İstanbul, Türkiye.
- Anonim, (2022). Chromatic fiber that resembles a bottle brush (In today's terminology a Lampbrush chromosome) from the cell nucleus of an ovarial egg from Triton", a Salamander species. Hertwig, O., 1906. <https://commons.wikimedia.org/wiki/File:O.Hertwig1906Fig5.jpg>-(Erişim tarihi: 31.01.2024).
- Anonim, (2023a). Polytene chromosomes in a *Chironomus* salivary gland cell. (2023, October 31). In Wikipedia. https://en.wikipedia.org/w/index.php?title=Polytene_chromosome&oldid=1182721552-(Erişim tarihi: 01.02.2024).
- Anonim, (2023b). What is chromatin, heterochromatin and euchromatin? <https://www.mbi.nus.edu.sg/mbinfo/what-are-chromatin-heterochromatin-and-euchromatin/>-(Erişim tarihi: 01.02.2024).
- Anonim, (2024a). Bacterial, animal, and plant cells compared. Encyclopædia Britannica. <https://www.britannica.com/science/chromosome#/media/1/116055/102103>-(Erişim tarihi: 25.01.2024).
- Anonim, (2024b). Introduction: The cell cycle and mitosis. [https://bio.libretexts.org/Bookshelves/Biotechnology/Bio-OER_\(CUNY\)/07%3A_Cell_Division/7.01%3A_Introduction](https://bio.libretexts.org/Bookshelves/Biotechnology/Bio-OER_(CUNY)/07%3A_Cell_Division/7.01%3A_Introduction)-(Erişim tarihi: 31.01.24)
- Anonim, (2024c). Centromere and chromatids in cell division. Encyclopædia Britannica. <https://www.britannica.com/science/mitosis#/media/1/386154/66026>-(Erişim tarihi: 25.01.2024).
- Arai, R. & Koike, A. (1979). Chromosomes of a sweeper and a goatfish (Teleostei, Percoidei) from Japan. *Bulletin of the National Science Museum, Tokyo. Series A (Zoology)*, 5, 219–223.
- Arai, R. (2011). Fish Karyotypes: A Check List. Springer, Japan. 340 pp.
- Araya-Jaime, C., Palma-Rojas, C., Lam, N. & Von Brand, E. (2021). Cytogenetics from the Dock: A new postmortem protocol makes it possible to obtain cytogenetic preparations from marine fish. *Zebrafish*, 18(5), 326-329.
- Artoni, RF., Molina, WF., Bertollo, LAC. & Galetti Jr.PM. (1999), Heterochromatin analysis in the fish species *Liposarcus anisitsi* (Siluriformes) and *Leporinus elongatus* (Characiformes). *Genetics and Molecular Biology*, 22, 39-44.
- Artoni, RF., Falcão, JN., Moreira-Filho, O. & Bertollo, LAC. (2001). An uncommon condition for a sex chromosome system in Characidae fish. Distribution and differentiation of the zz/zw system in *Triporthus*. *Chromosome Research*, 9,449-456.
- Bat, L., Erdem, Y., Ustaoglu Türk, S. & Yardım, Ö. (2008). Balık Sistematigi. Nobel Yayın Dağıtım. Ankara Türkiye, 270s.

- Belmond, AS. (2002). Mitotic chromosome scaffold structure: New approaches to an old controversy. *PNAS*, 99(25), 15855–15857.
- Bigaliev, A., Kobegenova, S., Vasil'ev, V., Vasil'eva, E., Imentai, A. & Shametov, A. (2014). Study of Caspian Goby *Neogobius* sp. Karyotype Flexibility from Several Biotops. *Journal of Life Sciences*, 8(5), 442-446.
- Bilecenoğlu, M., Kaya, M. & Mater, S. (2011). Türkiye Deniz Balıkları Atlası, Ege Üniversitesi Yayınları, İzmir, 169s.
- Bilecenoğlu, M., Kaya, M, Cihangir, B. & Çiçek, E. (2014). An updated checklist of the marine fishes of Turkey, *Turkish Journal of Zoology*, 38(6), 901-929.
- Blackburn, G.M. & Gait, MJ. (1996). Nucleic acids in chemistry and biology. 2nd ed. Oxford University Press, Oxford, UK, 528 pp.
- Blanco, DR., Bertollo, LAC., Lui, RL., Vicari, MR., Margarido, VP., Artoni, RF. & Moreira-Filho, O. (2012). A new technique for obtaining mitotic chromosome spreads from fishes in the field. *Journal of Fish Biology*, 81, 351–357.
- Bolzer, A., Kreth, G., Solovei, I., Koehler, D., Saracoğlu, K., Fauth, C., Müller, S., Eils, R., Cremer, C., Speicher, MR. & Cremer, T. (2005). Three-dimensional maps of all chromosomes in human male fibroblast nuclei and prometaphase rosettes. *PLoS Biology*, 3(5), e157, 826-857.
- Bostock, CJ. & Sumner, AT. (1978). The eukaryotic chromosome. North-Holland, Amsterdam, Holland, 553 pp.
- Brum, MJI. (1996). Cytogenetic studies of Brazilian marine fish. *Brazilian Journal of Genetics*, 19, 421–427.
- Brum, MJI., Aguilar, CT., Corrêa, MMO. & Galetti Jr., PM. (1992). Multiple sex chromosomes in South Atlantic Clupeidae fish *Brevoortia aurea*. *Brazilian Journal of Genetics*, 15, 547-553.
- Cano, J., Thode, G. & Alvarez, MC. (1982). Karyoevolutive considerations in 29 Mediterranean teleost fishes. *Vie et Milieu/Life & Environment*, 32, 21-24.
- Capanna, E. (2000). Chromosomes yesterday: a century of chromosome studies. In: Chromosomes Today, Vol. 13. Eds.: Olmo, E. & Redi, C.A, Birkhäuser, Basel, 3–22.
- Caputo, V., Marchegiani, F. & Olmo, E. (1996). Karyotype differentiation between two species of carangid fishes, genus *Trachurus* (Perciformes: Carangidae). *Marine Biology*, 127, 193–199.
- Caputo, V., Sorice, M., Vitturi, R., Magistrelli, R. & Olmo, E. (1998). Cytogenetic studies in some species of Scorpaeniformes (Teleostei: Percomorpha). *Chromosome Research*, 6, 255-262.
- Cataudella, S., Civitelli, MV. & Capanna E. (1973). The Chromosomes of Some Mediterranean Teleosts: Scorpaenidae, Serranidae, Labridae, Blenniidae,

- Gobiidae (Pisces — Scorpaeniformes, Perciformes). *Italian Journal of Zoology*, 40(3-4), 385-389.
- Catlin, PM. & Ferreira, JT. (1989). A rapid, non-sacrificial chromosome preparation technique for freshwater teleosts. *South African Journal of Zoology*, 24(1), 76-78.
- Cavalier-Smith, T. (1978). Nuclear volume control by nucleoskeletal DNA, selection for cell volume and cell growth rate, and the solution of the DNA C-value paradox. *Journal of Cell Science*, 34, 247–278.
- Cavalli, G. & Misteli, T. (2013). Functional implications of genome topology. *Nature Structural & Molecular Biology*, 20, 290–299.
- Chai, X., Li, X., Lu, R. & Clarke, S. (2009). Karyotype analysis of the yellowtail kingfish *Seriola lalandi lalandi* (Perciformes: Carangidae) from South Australia. *Aquaculture Research*, 40, 1735-1741.
- Clem, WL., Noewus, L. & Sigel, MM. (1961). Studies with cells from marine fish in tissue culture. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 108, 762.
- Corrêa, MMO. & Galetti, PM. (1997). Chromosomal diversity in Scorpaenidae (Teleostei, Scorpaeniformes): cytogenetic studies in *Scorpaena brasiliensis* and *Scorpaena isthmensis* from the coast of Rio de Janeiro, Brazil. *Cytologia*, 62, 397-404.
- Çiçek, E., Sungur, S., Fricke, R. & Seçer, B. (2023). Freshwater lampreys and fishes of Türkiye; an annotated checklist, 2023. *Turkish Journal of Zoology*, 47(6), 324-468.
- Darlington, CD. (1966). The chromosomes as we see them: Chromosomes today, Vol. 1, Eds.: Darlington, CD., Lewis, KR. Oliver & Boyd, Edinburgh, 1–6.
- Denton, TE. (1973). Fish chromosome methodology. Thomas, Springfield, Illinois, 157pp.
- Denton, TE. & Howell, WM. (1969). A technique for obtaining chromosomes from the scale. epithelium of teleost fishes. *Copeia*, 1969(2), 392- 393.
- Edens, LJ., White, KH., Jevtic, K., Li, X. & Levy, DL. (2013). Nuclear size regulation: from single cells to development and disease. *Trends in Cell Biology*, 23(4), 150-159.
- Ene, AC. (2003). Chromosomal polymorphism in the goby *Neogobius eurycephalus* (Perciformes: Gobiidae). *Marine Biology*, 142, 583–588.
- Esmaily, AH. & Kalbassi, MR. (2008). Karyological study on bighead goby (*Neogobius kessleri*) from southern part of the Caspian Sea. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 7(2), 15-26.
- Fenocchio, AS., Venere, PC., Cesar, ACG., Dias, AL. & Bertollo, LAC. (1991). Short term culture from solid tissues of fishes. *Caryologia*, 44, 161-166.
- Fricke, R., Eschmeyer, WN. & Van der Laan, R. (2024). Eschmeyer's Catalog of Fishes: Genera, Species, References. <http://researcharchive.calacademy.org/>

- research/ichthyology/catalog/ fishcatmain.asp. Electronic version accessed 06.02.2024. (Erişim Tarihi 01.03.2024).
- Froese, R. & Pauly, D. (2024). FishBase.World Wide Web electronic publication. www.fishbase.org, version (02/2024) (Erişim Tarihi 07.06.2024).
- Gaffaroğlu, M., Karasu Ayata, M. & Ünal Karakuş, S. (2022). Karyomorphology of two cyprinid barbels (Teleostei: Cyprinidae) from Gediz River, Turkey. *Cytology and Genetics*, 56(6), 541–547.
- Gall, JG. (1996). Views of the cell: A pictorial history. American Society for Cell Biology, Bethesda, MD, USA, 128pp.
- Giles, V., Thode, G. & Alvarez, MC. (1988). Early replication bands in two scorpion fishes, *Scorpaena porcus* and *S. notata* (order Scorpaneiformes). *Cytogenetics and Cell Genetics*, 47, 80-83.
- Gold, JR., Li, YC., Shipley, NS. & Powers, PK. (1990). Improved methods for working with fish chromosomes with a review of metaphase chromosome banding. *Journal of Fish Biology*, 37, 563~575.
- Grigoryan, KA. & Vasil'ev, VP. (1993a). Karyotypes of five species of goby (Gobiidae) from the basins of the Black and Caspian seas. *Journal of Ichthyology*, 33(1), 137–143.
- Grigoryan, KA. & Vasil'ev, VP. (1993b). Comparative analysis of karyotypes of three species of gobies (Gobiidae) from the Black Sea Basin in the connection with their taxonomic relationships. *Voprosy Ikhtiologii*, 33(3), 449–452. (In Russian)
- Guo, T. & Fang, Y. (2014). Functional organization and dynamics of the cell nucleus. *Frontiers in Plant Science*, 5, 378.
- Gül, S. (1988). 2,4-D Ester'in siraz balıklarında (*Capoeta capoeta umbla*, Heckel, 1843) kromozom yapıları üzerine etkilerinin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Cumhuriyet Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyoloji, Sivas.
- Howell, WM. & Black, A. (1980). Controlled silver-staining of nucleolus organizer regions with a protective colloidal developer: A 1-step method. *Experientia*, 36, 1014-1015.
- Ida, H., Murofushi, M., Fujiwara, S. & Fujino, K. (1978). Preparation of fish chromosomes by in vitro colchicine treatment. *Japanese Journal of Ichthyology*, 24(4), 281-284.
- Ivanov, VN. (1975). Chromosomes of the Black Sea Gobiidae—*Gobius melanostomus* (Pallas) and *Gobius batrachocephalus* (Pallas). *Tsitologiya i Genetika*, 9, 551–552. (In Russian with English summary)
- Jacobina, UP., Vicari, MR., Martinez, PA., Cioffi; MB., Bertollo, LAC. & Molina, WF. (2013). Atlantic moonfishes: independent pathways of karyotypic and morphological differentiation. *Helgoland Marine Research*, 67, 499–506.
- Jacobina, UP., Martinez, PA., Cioffi; MB., Garcia JrJ., Bertollo, LAC. & Molina, WF. (2014). Morphological and karyotypic differentiation in *Caranx lugubris* (Perciformes: Carangidae) in the St. Peter and St. Paul Archipelago, mid-Atlantic Ridge. *Helgoland Marine Research*, 68, 17-25.

- Karahan, A. (2016). Karyotype analysis and chromosome banding of *Upeneus moluccensis* (Bleeker, 1855) from the north-eastern Mediterranean. *Caryologia*, 69(2), 141–146.
- Karasu Ayata, M., Ünal, S. & Gaffaroğlu, M. (2018). Chromosomal analysis of *Oxynoemacheilus atili* Erk'akan, 2012 (Teleostei, Nemacheilidae). *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 18, 991-994.
- Karasu Ayata, M., Ünal Karakuş, S. & Gaffaroğlu, M. (2021). Karyology of *Rhodeus amarus* (Block, 1782) (Teleostei, Acheilognathidae) from Turkey. *Genetics of Aquatic Organisms*, 5(1), 41-44.
- Karasu Ayata, M., Yüksel, E. & Gaffaroğlu, M. (2016). Cytogenetic studies on six species of the leuciscine genus *Pseudophoxinus* Bleeker, 1860 (Teleostei, Cyprinidae). *Caryologia*, 69(3), 215-222.
- Kavalco, KF. & Pazza, R. (2004). A rapid alternative technique for obtaining silver-positive patterns in chromosomes. *Genetics and Molecular Biology*, 27(2), 196-198.
- Khensuwan, S., Sassi, FDMC., Moraes, RLR., Jantarat, S., Seetapan, K., Phintong, K., Thongnetr, W., Kaewsri, S., Jumrusthanasan, S. & Supiwong, W., et al. (2023). Chromosomes of Asian cyprinid fishes: genomic differences in conserved karyotypes of 'Poropuntiinae' (Teleostei, Cyprinidae). *Animals*, 13, 1415.
- Kligerman, AD. & Bloom, SE. (1977). Rapid chromosome preparations from solid tissues of fishes. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*, 34, 266-269.
- Kobayashi, H. (1982). The distribution of polyploid funa (*Carassius auratus*) in and around Japan. *Japan Womens University Journal*, 29, 145–161.
- Kressler, D., Hurt, E. & Baßler, J. (2017). A puzzle of life: Crafting ribosomal subunits. *Trends in Biochemical Sciences*, 42(8), 640-654.
- Laghmach, R., Di Pierro, M. & Potoyan, D. (2022). A liquid state perspective on dynamics of chromatin compartments. *Frontiers in Molecular Biosciences*, 8, 781981.
- Laliberte, MF., Lafaurie, M., Lambert, JC. & Ayraud, N. (1979). Etude preliminaire du caryotype de *Mullus barbatus* Linne. *Rapport du Commission International de la Mer Méditerranee*, 25/26, 125-130.
- Levan, A., Fredga, K. & Sandberg, AA. (1964). Nomenclature for centromeric position on chromosomes. *Hereditas*, 52, 201-220.
- Maneechot, N., Supiwong, W., Jumrusthanasan, S., Siripiyasing, P., Pinthong, K. & Tanomtong, A. (2015). Chromosomal Characteristics of the Royal Knifefish, *Chitala blanci* (Osteoglossiformes, Notopteridae) by Conventional and Ag-NOR Staining Techniques. *Cytologia*, 80(2), 159–166.
- Mangan, H., Gailín, MÓ. & McStay, B. (2017). Integrating the genomic architecture of human nucleolar organizer regions with the biophysical properties of

- nucleoli. *The Federation of European Biochemical Societies Journal*, 284, 3977–3985.
- Megías, M., Molist, P., & Pombal, MA. (2023a). Atlas of Plant and Animal Histology: The Cell, 4. The Nucleus. <https://mmegias.webs.uvigo.es/02-english/5-celulas/4-nucleo.php>-(Erişim tarihi: 13.02.2024).
- Megías, M., Molist, P., & Pombal, MA. (2023b). Atlas of Plant and Animal Histology: The Cell, The Nucleus: Nuclear Envelop. <https://mmegias.webs.uvigo.es/02-english/5-celulas/4-envuelta.php>-(Erişim tarihi: 13.02.2024).
- Megías, M., Molist, P., & Pombal, MA. (2023c). Atlas of Plant and Animal Histology: The Cell, The Nucleus: Nuclear Pore Complex. <https://mmegias.webs.uvigo.es/02-english/5-celulas/4-poros.php>-(Erişim tarihi: 13.02.2024).
- Megías, M., Molist, P., & Pombal, MA. (2023d). Atlas of Plant and Animal Histology: The Cell, The Nucleus: Chromatin. <https://mmegias.webs.uvigo.es/02-english/5-celulas/4-cromatina.php> (Erişim tarihi: 13.02.2024).
- Megías, M., Molist, P., & Pombal, MA. (2023e). Atlas of Plant and Animal Histology: The Cell, The Nucleus: Nucleolus. <https://mmegias.webs.uvigo.es/02-english/5-celulas/4-nucleolo.php>-(Erişim tarihi: 13.02.2024).
- Megías, M., Molist, P., & Pombal, MA. (2023f). Atlas of Plant and Animal Histology: The Cell, More information: Chromosomes. <https://mmegias.webs.uvigo.es/02-english/5-celulas/ampliaciones/8-cromosomas.php>-(Erişim tarihi: 13.02.2024).
- Murofushi, M. & Yosida, TH. (1979). Cytogenetical studies on fishes, II. Karyotypes of four carangid fishes. *Japanese Journal of Genetics*, 54, 367–370.
- Murofushi, M., Yoda, K. & Deguchi, Y. (1987). Karyological study of four species in scorpionfishes. *Report of the Mishima Research Institute of Sciences for Living, Nihon University (Japan)*, 10, 37–42. (In Japanese with English abstract)
- Nelson, JS., Grande, TC. & Wilson, MVH. (2016). *Fishes of the World*. Fifth Edition. John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey, USA, 707pp.
- Netto, MRCB., Pauls, E. & Mello Affonso, PBA. (2007). A standard protocol for obtaining fish chromosomes under post-mortem conditions. *Micron*, 38, 214–217.
- Nirchio, M. & Oliveira, C. (2006). *Citogenética de Peces*. Editor: Coordinación de Publicaciones del Rectorado de la Universidad de Oriente, Universidad de Oriente Pbl., Venezuela, 120pp.
- Nishikawa, S., Honda, M. & Wakatsuki, A. (1977). Comparative studies on the chromosomes in Japanese fishes–II. Chromosomes of eight species in

- scorpionfishes. *Journal of Shimonoseki University of Fisheries*, 25, 187–191. (In Japanese with English abstract)
- Ocalewicz, K. & Sapota, M. (2011). Cytogenetic characteristics of the round goby *Neogobius melanostomus* (Pallas, 1814) (Teleostei: Gobiidae: Benthophilinae), *Marine Biology Research*, 7(2), 195-201.
- Ohno, S. (1974). Protochordata, Cyclostomata and Pisces: Animal cytogenetics. Bk. 4, Chordata 1. Ed. John, B. Borntraeger, Berlin, 38-46.
- Ojima, Y. (1978). Preparation of cell cultures for chromosome studies of fishes. *Proceedings of the Japan Academy*, 54, 116-120.
- Ojima, Y., Hitotsumachi, S. & Makino, S. (1966). Cytogenetic studies in lower vertebrates. I. A preliminary report on the chromosomes of the funa (*Carassius auratus*) and gold-fish (a revised study). *Proceedings of the Japan Academy*, 42, 62–66.
- Ojima, Y. & Yamamoto, K. (1990). Cellular DNA contents of fishes determined by flow cytometry. *La Kromosomo II*, 57, 1871–1888.
- Ozouf-Costaz, C., Pisano, E., Foresti, F. & de Almeida Toledo LF. (2015). Fish cytogenetic techniques: Ray-Fin fishes and chondrichthyans. Enfield: CRC Press, Inc.; USA, 206 pp.
- Padilla, JR., Ferreira, LM. & Folker, ES. (2022). Nuclear movement in multinucleated cells. *Development*, 149, dev200749. doi:10.1242/dev.200749.
- Pauls, E., Affonso, PRAM., Netto, MRCB. & Pacheco, ML. (1996). Supernumerary chromosomes on marine fish *Upeneus parvus* (Poey 1853, Mullidae) from Atlantic Ocean. *Archivos de Zootecnia*, 45, 295–299.
- Prazdnikov, DV. (2016). Karyology of *Mullus barbatus* (Pisces, Perciformes) from the Mediterranean basin. *Turkish Journal of Zoology*, 40, 279-281.
- Prazdnikov, DV. (2023). Chromosome complement of *Pomatoschistus marmoratus* and Karyotype evolution in sand gobies (Gobiidae: Gobionellinae). *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 23(7), TRJFAS20729, doi: 10.4194/TRJFAS20729
- Prazdnikov, DV., Vasil'ev, VP. & Vasil'eva, ED. (2013). Polymorphism and interpopulation variability of the karyotype in the Caspian bighead goby *Neogobius gorlap* (Gobiidae, Perciformes). *Journal of Ichthyology*, 53(6), 425–430.
- Rishi, KK. (1973). A preliminary report on the karyotypes of eighteen marine fishes. *Research Bulletin of Panjab University, (N.S.)*, 24(3/4), 161–162.
- Rodrigues, MM., Baroni, S. & Almeida-Toledo, LF. (2007). Karyological characterization of four marine fish species, Genera *Trachinotus* and *Selene* (Perciformes: Carangidae), from the Southeast Brazilian Coast. *Cytologia*, 72(1), 95–99.
- Saygun, S. (2021). Cytogenetic Studies in Turkey: Fishes (Vertebrata, Pisces). *Turkish Journal of Bioscience and Collections*, 5(1), 83-107.

- Saygun, S., Karayücel, İ. & Bircan, R. (2006). Karyological Observation of Red Mullet (*Mullus barbatus* Linnaeus, 1758). *Turkish Journal of Biology*, 30, 235–238.
- Schulz-Schaeffer, J. (1976). A short history of cytogenetics. *Biologische Zentralblatt* 95, 193–221.
- Soares, RX., da Motta-Neto, CC., da Costa, GWWF., Cioffi, MB., Bertollo, LAC., Borges, AT. & Molina, WF. (2021). Comparative cytogenetic patterns in Carangidae fishes in association with their distribution range. *Comparative cytogenetics*, 15(4), 429–445.
- Sofradžija, A. (1984). First data on the chromosomes of the three Adriatic fish species (*Scorpaena porcus*, *S. ustulata* and *Corvina nigra*). *Ichthyologia*, 16, 57–61. (In Serbo-Croatian with English summary)
- Sofradžija, A., Berberović, Lj. & Hadžiselimović, R. (1978). Chromosome sets of *Carassius carassius* and *Carassius auratus gibelio*. *Ichthyologia*, 10, 135–142.
- Sumner, AT. (1972). A simple method for demonstrating centromeric heterochromatin. *Experimental Cell Research*, 75, 304-306.
- Sumner, AT. (2003). Chromosomes: Organization and Function. Blackwell Publishing company, Oxford, UK, 294 pp.
- Symonová, R. (2019). Integrative rDNAomics – Importance of the oldest repetitive fraction of the eukaryote genome. *Genes*, 10(5), 345, 1-15.
- Thode, G., Alvarez, MC., Garcia, E. & Giles, V. (1985). Variations in C-banding patterns and DNA values in two scorpionfishes (*Scorpaena porcus* and *S. notata*, Teleostei). *Genetica*, 68, 69–74.
- Thorgaard, GH. & Disney, JE. (1990). Chromosome Preparation and Analysis: Methods for Fish Biology. Editors: Schreck CB., Moyle, PB., American Fisheries Society, Maryland, USA, 171-190.
- Topaktaş, M. & Rencüzoğulları, E. (2010). Sitogenetik. Nobel Yayın Dağıtım Tic. Ltd. Şti., Ankara, 176 s.
- Tsekrekou, M., Stratigi, K. & Chatzinikolaou, G. (2017). The nucleolus: In genome maintenance and repair. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(7), 1411.
- Ünal Karakuş, S., Karasu Ayata, M. & Gaffaroğlu, M. (2023). Chromosome Banding Properties of *Neogobius fluviatilis* (Pallas, 1814) (Perciformes, Gobiidae). *Black Sea Journal of Engineering and Science*, 6(4), 600-603.
- Ünal, S., Gaffaroğlu, M., Karasu Ayata, M. & Yuksel E. (2014). Karyotype, C-banding and AgNORs of two endemic leuciscine fish, *Pseudophoxinus crassus* (Ladiges, 1960) and *P. hittitorum* Freyhof & Özulug, 2010 (Teleostei, Cyprinidae). *Comparative Cytogenetics*, 8(4), 249–257.

- Vagnarelli, P., Ribeiro, SA. & Earnshaw WC. (2008). Centromeres: Old tales and new tools. *Federation of European Biochemical Societies Letters*, 582, 1950–1959.
- Vasil'ev, VP. (1978). Karyotypes of 5 species of fishes (Pisces) from the Black Sea. *Tsitologiya*, 20, 1092–1094. (In Russian with English summary)
- Vasil'ev, VP. (1985). Evolutionary Karyology of Fishes, Nauka, Moscow.
- Vasil'ev, VP. & Grigoryan, KA. (1990). Broad chromosome polymorphism in the Caucasus River goby. *Doklady Akademii Nauk SSSR*, 311, 1509–1511. (In Russian with English summary)
- Vasil'ev, VP. & Grigoryan, KA. (1993). Karyology of the Gobiidae. *Journal of Ichthyology*, 33(2), 1–16.
- Vasil'ev, VP. & Grigoryan, KA. (1994). Chromosome polymorphism and karyological relations of gobies of the group *Neogobius cephalarges* Pallas – *Neogobius platyrostris* Pallas (Gobiidae). *Russian Journal of Genetics*, 30, 1087–1094.
- Vasil'ev, VP. & Vasil'eva, YD. (1992). Karyological evidence of the separate species status of *Neogobius kessleri* (Gunther) and *Neogobius gorlap* Iljin (Pisces, Gobiidae). *Doklady Akademii Nauk SSSR*, 324, 898–900. (In Russian)
- Vasil'eva, ED., Prazdnikov, DV. & Vasil'ev, VP. (2011). First confirmed occurrence of Syrman goby *Neogobius syrman* (Gobiidae, Perciformes) in Sasyk Lake of the Black Sea Basin and karyological characteristic of Syrman Goby and Ginger Goby *N. eurycephalus*. *Journal of Ichthyology*, 51(7), 513–520.
- Vasil'eva, YD. & Vasil'ev, VP. (1995) Systematics of Caucasian freshwater gobies (Gobiidae) in the light of contemporary data, with a description of a new species, *Neogobius rhodioni*, sp. nov. *Journal of Ichthyology*, 35(2), 139–157.
- Vitturi, R., Catalano, E. & Barbieri, R. (1992). Karyological and molecular characterization of *Mullus surmuletus* and *Mullus barbafus* (Pisces, Mullidae). *Cytologia*, 57, 65-74.
- Wanner, G. & Formanek, H. (2000). A new chromosome model. *Journal of Structural Biology*, 132, 147–161.
- Wolf, K., Quimby, MC., Pyle, EA. & Dexter, RP. (1960). Preparation of monolayer cell cultures from tissues of some lower vertebrates. *Science*, 132, 1890-1891.
- Yokoyama, T., Ebitani, N. & Kubo, T. (1992). Karyotypes and banding patterns in eight species of the scorpionfish (Scorpaenidae). *Zoological Science*, 9, 1210.
- Yu, M. & Ren, B. (2017). The three-dimensional organization of mammalian genomes. *The Annual Review of Cell and Developmental Biology*, 33, 265–89.
- Zacharias, H. (2001). Keyword: chromosome. *Chromosome Research*, 9(3), 345-355.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı	Murat GÜNDOĞAN
Doğum Yeri	
Doğum Tarihi	
Uyruğu	T.C.
Telefon	
E-Posta Adresi	
Eğitim Bilgileri	
Lisans	
Üniversite	Ordu Üniversitesi
Fakülte	Deniz Bilimleri Fakültesi
Bölümü	Balıkçılık Teknolojisi Mühendisliği
Mezuniyet Yılı	17.07.2013
Yüksek Lisans	
Üniversite	Ordu Üniversitesi
Enstitü Adı	Fen Bilimleri Enstitüsü
Anabilim Dalı	Balıkçılık Teknolojisi Mühendisliği Anabilim Dalı
Programı	
Mezuniyet Tarihi	
Yayınlar	