

Karadeniz'de yaşayan Pisi Balığı'nın *Platichthys flesus luscus* (Pallas, 1814) (Pisces, Pleuronectiformes) ilk karyolojik tanımlaması

The first caryological description of European Flounder, *Platichthys flesus luscus* (Pallas, 1814) (Pisces, Pleuronectiformes) living in the Black Sea

Serkan Saygun^{1*} • Recep Bircan²

¹Ordu Üniversitesi, Fatsa Deniz Bilimleri Fakültesi, Balıkçılık Teknolojisi Mühendisliği Bölümü 52400 Fatsa Ordu

²Sinop Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Su Ürünleri Yetiştiriciliği Bölümü, 57000 Sinop

*Corresponding author: serkan_saygun@hotmail.com

How to cite this paper:

Saygun, S., Bircan, R., 2015. The first caryological description of European Flounder, *Platichthys flesus luscus* (Pallas, 1814) (Pisces, Pleuronectiformes) living in the Black Sea. *Ege J Fish Aqua Sci* 32(1): 9-14. doi: 10.12714/egejfas.2015.32.1.02

Abstract: In this study, the chromosome structures, numbers and other cytogenetic features of flounder, *Platichthys flesus luscus* (Pallas, 1814), which is one of the flatfish species in the Black Sea, were examined with using different banding methods. Fish samples were obtained from fishermen in 5 localities between Zonguldak and Ordu of the West and Middle Black Sea coasts. A total of 0.05 % of colchicine solution (25-50 µg / g body) weight was injected from intramuscular to dorsal and from intraperitoneal to ventral for big fish (body weight 250 to 1500 g). However, small fish (body weight 50 to 250 g) were maintained in 0.005 % of colchicine solution for 6 hours. Gill and fin epithelia tissues derived by dissecting were incubated in 0.4 % of KCl solution for 30 mins and treated with Carnoy's fixative. Dried slides were stained with giemsa (pH 6.8) solution for 15 mins.

It was determined that the chromosome number of *P. f. luscus* were $2n=48$ and all chromosomes were acrocentrics (number of fundamental was $NF=48$). In all examined species, there were no anomalies and evidences of sex chromosomes by G-banding.

Keywords: *Platichthys flesus luscus*, chromosome, karyotype, giemsa staining.

Özet: Bu çalışmada, Karadeniz'de yaşayan yassı balık türlerinden (Pleuronectiformes) birisi olan *Platichthys flesus luscus* (Pallas, 1814) (Pisi Balığı)'un kromozom yapıları, sayıları ve sitogenetik özellikleri çeşitli bantlama yöntemleri kullanılarak incelenmiştir. İncelenen balık örnekleri Batı ve Orta Karadeniz sahili boyunca (Zonguldak ve Ordu illeri arası) 5 bölgeden avcılıkla elde edilmiştir. Büyük balıklara (250-1500 g) % 0,05 kolşisin solüsyonu (25-50 µg/g vücut ağırlığı) dorsalden kas arasına, ventralden karın boşluğuna enjekte edilmiştir. Küçük balıklar (50-250 g) ise % 0,005 kolşisin solüsyonunda 6 saat süre ile canlı bekletilmişlerdir. Diseksiyonla çıkarılan solungaç ve yüzgeç epitel dokuları % 0,4 KCl solüsyonunda 30 dk. bekletilip, Carnoy fiksatif ile muamele edilmiştir. Kuruyan preparatlar en az 15 dakikalık süreyle giemsa (pH 6,8) solüsyonunda boyanmıştır.

Yapılan karyolojik incelemeler sonucunda *P. f. luscus* balığının kromozom sayısının $2n=48$ ve tüm kromozomlarının akrosentrik (kromozom kol sayısı, $NF=48$) olduğu tespit edilmiştir. İncelenen tüm türlerin kromozomlarında G-bantlama ile herhangi bir anomali ve cinsiyet kromozomu tespit edilememiştir.

Anahtar kelimeler: Pisi Balığı, *Platichthys flesus luscus*, kromozom, karyotip, giemsa boyama

GİRİŞ

Bugün dünyada, alt türler de dâhil, yaşayan balık türü sayısının 33.000 civarında olduğu tahmin edilmektedir (Froese ve Pauly, 2015). Her canlı grubu gibi balıklarında çeşitliliği ve farklılıkları nedeniyle bir düzenlemeye ihtiyaçları olmuştur. Bu düzenleme taksonomi kuralları çerçevesinde yapılmıştır.

Balıkların sınıflandırılmasında; morfometrik ölçümler ve oranlar, meristik sayımlar, anatomik karakteristikler, renk, PCR, üreme izolasyonu testleri, karyotipi, FISH boyamaları (mFISH, dFISH, ISH), mtDNA analizleri kullanılmaktadır. Geleneksel ve moleküler karyotip analizleri son zamanlarda ihtiyolojide kullanılmaya başlanan ve özellikle problem teşkil eden taksonların ayırımında başvurulan, diğerlerine göre,

kolay yollardan birisidir. Bir türün karyotipi, o türün genetik sisteminin fiziksel olarak gösterimidir. Değişebilen dış morfolojik karakterlere göre yapılan sistematik ve taksonomik çalışmalarda zaman zaman problemler ortaya çıkmaktadır. Kromozom sayısı ve morfolojisi, çevresel faktörlerin etkisiyle değişime uğrayan diğer karakterlere oranla daha iyi muhafaza edilir. Karyotip analizi, özellikle popülasyonların karakterize edilmelerinde önemlidir.

1970'lerin ilk yarısına kadar çok sayıda tür ve alttürün karyotipi belirlenmiş olup, bu sayı, günümüze kadar hızlı bir şekilde artarak devam etmiştir. 1973'de 481 tür/alttür'ün kromozomları belirlenirken; 1985'de 1.318 tür/alttür'ün

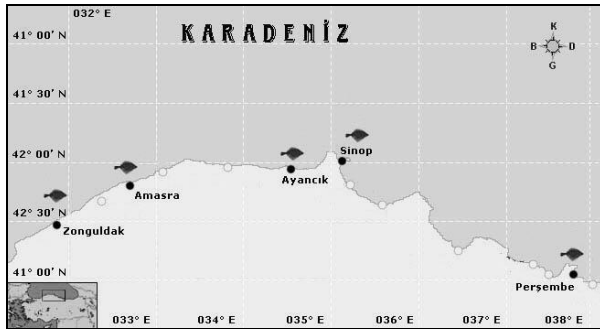
karyotipi çıkarılmıştır. Şu ana kadar da 3.425 tür/alttürün kromozom sayısı belirlenmiştir (Klinkhardt vd., 1995; Arai, 2011).

Dünyada yaşayan Pleuronectiformes takımına bağlı 14 familyada 122 cins (genus) ve 570 tür (species) bulunduğu bilinmektedir (Chapleau, 1993; Nelson, 2006). Balıklarla ilgili sitogenetik çalışmalarında, kısmen de olsa, yassı balıkların 14 familyasından yedisi üzerinde durulmuştur. Pleuronectidae familyası kapsamında yer alan 40 cins ve 103 türden, 13 cinsine ait 21 türün sitogenetiksel incelemesi yapılmıştır (Arai, 2011; Froese ve Pauly, 2015). Yapılan bu çalışmaların neticesinde Pisi Balıkları familyasının 2n kromozom sayısının 44 ile 48 arasında değiştiği bildirilmiştir.

Bu çalışmada, Karadeniz'de yaygın olarak bulunan, su ürünleri yetiştiriciliği ve avcılığı bakımından önemli türler arasında yer alan Pisi Balıklarının (Pleuronectidae) alttürü olan *Platichthys flesus luscus* (Pallas, 1814)'un karyotipinin tespit edilmesi ve kromozom yapılarındaki türlere özgü farklılıkların, çeşitli boyama ve bantlama yöntemleriyle ortaya çıkarılması amaçlanmıştır.

MATERYAL VE METOT

Araştırma, doğuda Ordu ili Çam Burnu mevkiinden (41°06'998N – 37°47'169E) batıda Zonguldak ili Ölüce Burnu'na (41°18'826N – 31°23'833E) kadar olan kıyı şeridinde yürütülmüştür (Şekil 1). Bu sahil şeridi boyunca, balık örnekleri, Zonguldak, Amasra, Ayancık, Sinop ve Perşembe'den çeşitli av araçlarıyla (dip trolü ve çeşitli tiplerde uzatma ağları) avcılık yapan balıkçılardan canlı olarak temin edilmiştir.



Şekil 1. Araştırmada pisi balıklarının örneklendiği istasyonlar.
Figure 1. Stations from where the flounders were sampled.

Çalışmada, çeşitli büyüklükte 15 pisi balığı kullanılmıştır. Bunlardan elde edilen doku preparatlarından kromozomlar analiz edilmiştir. Örneklenen balıklar, canlı kalacak şekilde bol havalandırma yapılan kaplarda, doku preparasyonu yapılabilecek uygun bir çalışma ortamına getirilmiştir.

Yapılan taksonomik ve morfolojik analizler sonucunda elde edilen pisi balıklarına (*P. f. luscus*) ait bir örnek Şekil 2'de

gösterilmiştir (Borsa ve Quignard, 2001; Froese ve Pauly, 2015).



Şekil 2. Araştırmada kullanılan bir pisi balığının genel görünümü
Figure 2. General view of a studied flounder

Çalışmada kullanılan kimyasal maddelerin ve solüsyonların hazırlanmasında Welcher (1966), Dutrillaux ve Coutourier (1981) ve Macgregor ve Varley (1983)'den yararlanılmıştır.

Araştırmada ön denemeler sonucunda değiştirilerek elde edilen Denton (1973)'ün belirttiği yöntem uygulanmıştır. Yukarıda belirtilen 5 bölgeden örneklenen balıkların Kligerman ve Bloom (1977)'ün yöntemine göre her birinden en az 10 adet preparat (Denton, 1973) hazırlanmıştır. %50 asetik asitte iyice ezilen küçük doku parçaları 40-50 °C'ye kadar ısıtılmış temiz mikroskop lamaları üzerine damlatılmıştır. Kuruyan preparatlar %6 Giemsa (pH 6.8 Sorenson fosfat tamponlu) solüsyonu bulunan dik şalelerde 15 dakika boyanmıştır. Araştırmada cinsiyet kromozomu ve kromozom anomalilerinin belirlenmesinde G-bantlama metodu, Seabright (1971), Franke ve Oliver (1978) ve Gold vd. (1990)'in belirttiği esaslara göre uygulanmıştır.

Kromozomların tespit edilmesinde trinoküler faz kontrast mikroskobu kullanılmıştır. İncelemeler esnasında her bir örnek için belirlenen en az 100 metafaz, (Thorgaard ve Disney, 1990; Rossi vd., 1996), mikroskoba bağlı CCD bir kamera aracılığı ile fotoğrafı çekilerek bilgisayar ortamına aktarılmıştır. Metafaz görüntülerinden kromozomlar sayılmış ve bu veriler grafiksel ifadelerle dönüştürülerek, her örnekleme noktasından elde edilmiş olan yassı balık türlerine ait diploit kromozom sayıları belirlenmiştir (Denton, 1973; Thorgaard ve Disney, 1990).

Mikroskopta çekilen fotoğraflardan, en uygun metafaz kromozomlarının nispi boyları (μ) ve kol uzunlukları (μ) MicroMeasure® (Version 3.3 PC Software) programı ile ölçülmüştür (Reeves, 2001; Jankun vd., 2003). Bununla beraber, Levan vd. (1964)'nin belirttiği esaslara uygun olarak ölçülmüş olan homolog kromozomlar sentromerik düzlemde sıralanarak karyotipleri çıkartılmıştır. Karyogramların hazırlanmasında Adobe Photoshop® programı

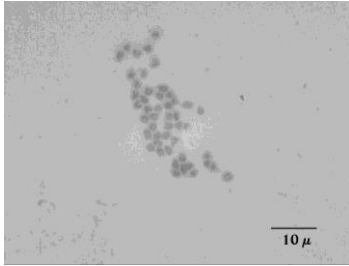
kullanılmıştır. Sınıflandırılan kromozomların kol oranları (q/p) uzun kolun (q) kısa kol (p) uzunluğuna bölünmesiyle elde edilmiştir (Levan vd., 1964; Duran-Gonzalez vd., 1990). Kromozomların kol sayısı (NF= Number of Fundamental) çift kollu (p ve q kolu olan metasentrik ve submetasentrik) ve akrosentrik kromozomların kollarının tamamının sayılması ile belirlenmiştir (Levan vd., 1964; Denton, 1973; Thorgaard ve Disney, 1990).

Haploit sayıdaki kromozomların sınıflarına (metasentrik, submetasentrik, subtelosentrik ve akrosentrik) göre sentromerik eksen üzerinde (p ve q kolu uzunluklarına göre) büyükten küçüğe doğru sıralanarak idiyogramlar çizilmiştir (Denton, 1973; Duran-Gonzalez vd., 1990). İdiyogramların hazırlanmasında Adobe Photoshop® kullanılmıştır.

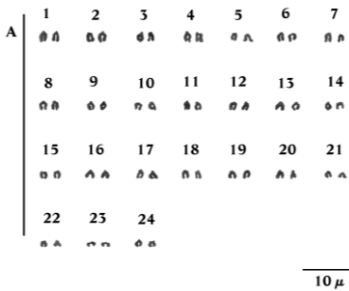
BULGULAR

Çalışmada Zonguldak ($\Sigma n=136$, n-metafaz sayısı), Amasra ($\Sigma n=94$), Ayancık ($\Sigma n=128$), Sinop ($\Sigma n=84$) ve Perşembe'den ($\Sigma n=85$) elde edilen 15 pisi balığı (*P. f. luscus*) örneğinden hazırlanan preparatlardan iyi kalitede olan toplam 527 (ΣN) metafaz incelenmiştir. İncelenen metafazlardan bu türe ait kromozom sayısının 29 ile 48 arasında değiştiği belirlenmiştir. Kromozom sayımları neticesinde 156 metafazda diploit kromozom sayısı 48 olup toplam metafaz sayısının %30'unu oluşturduğu tespit edilmiştir.

Araştırmada yapılan incelemeler sonucunda *P. f. luscus* balığının kromozomlarının tamamının akrosentrik (karyotip, K=48a) ve kol sayısının da 48 (NF) olup $2n=48$ diploit kromozom sayısına sahip olduğu belirlenmiştir. Şekil 3 ve 4'de metafaz ve buna bağlı karyogramı gösterilmiştir.



Şekil 3. *P. f. luscus*'a ait metafaz, Bar-10 μ
Figure 3. Metaphase plate in *P. f. luscus*, Bar-10 μ



Şekil 4. *P. f. luscus*'un karyotipi, Bar-10 μ
Figure 4. The karyotype of *P. f. luscus*, Bar-10 μ

Tablo 1'de, Micromeasure programı ile yapılan mikrometrik ölçümler sonucunda *P. f. luscus* balığına ait kromozom çiftlerinin nispi kol uzunlukları, kol oranları ve tipleri verilmiştir. Tabloda pisi balığının homolog kromozomların kol uzunlukları büyükten küçüğe doğru sıralanmıştır. Tablodaki veriler Şekil 4'te gösterilen karyogramın hazırlanmasında kullanılmıştır.

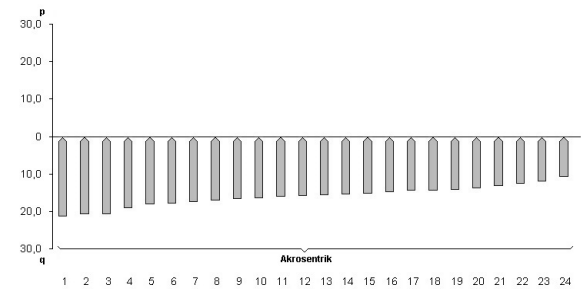
Tablo1. *P. f. luscus*'un kromozomlarının nispi kol uzunlukları (μ), toplam kol uzunlukları (μ), kol oranları (q/p) ve sınıflandırılması

Table 1. The relative arm lengths(μ), total arm lengths (μ), the arm ratios (q/p) and classification of the chromosomes of *P. f. luscus*

Kromozom Çifti	Nispi Uzunluk		Toplam Uzunluk p+q	Kol Oranı q/p	Kromozom Tipi
	Kısa Kol p	Uzun Kol q			
1	0	21.3	21.3	∞	a
2	0	20.7	20.7	∞	a
3	0	20.6	20.6	∞	a
4	0	19.1	19.1	∞	a
5	0	18.0	18.0	∞	a
6	0	17.8	17.8	∞	a
7	0	17.4	17.4	∞	a
8	0	16.9	16.9	∞	a
9	0	16.5	16.5	∞	a
10	0	16.3	16.3	∞	a
11	0	15.9	15.9	∞	a
12	0	15.8	15.8	∞	a
13	0	15.6	15.6	∞	a
14	0	15.4	15.4	∞	a
15	0	15.2	15.2	∞	a
16	0	14.7	14.7	∞	a
17	0	14.4	14.4	∞	a
18	0	14.3	14.3	∞	a
19	0	14.1	14.1	∞	a
20	0	13.8	13.8	∞	a
21	0	13.1	13.1	∞	a
22	0	12.6	12.6	∞	a
23	0	11.8	11.8	∞	a
24	0	10.7	10.7	∞	a

Bir karyotipteki homolog (haploit sayıda) kromozomların boyları, uzun ve kısa kolların birbirine oranı sentromerin yeri göz önüne alınarak farklı karyotiplerin karşılaştırılmasında kolaylık sağlaması amacıyla şematik olarak gösterilmesi, kromozom çalışmalarında göz önüne alınan bir gösterim şeklidir. Şekil 5'te de Tablo1'de belirlenen kromozomların nispi kısa kol (p) ve uzun kol (q) uzunluklarına göre hazırlanan idiyogram verilmiştir. İdiyogramda akrosentrik kromozomların sentromerlerinden hizalanarak kol boylarına göre küçükten büyüğe doğru sıralanmıştır.

İncelenen tüm türlerin kromozomlarında G-bantlama ile herhangi bir anomali ve cinsiyet kromozomu tespit edilememiştir.



Şekil 5. *P. f. luscus*'a ait idiyogram
Figure 5. The ideogram of *P. f. luscus*

TARTIŞMA VE SONUÇ

Geleneksel olarak yassı balıklar, sağ ve sol gözlü pisi ve dil balıkları olarak sınıflandırılırlar. Pisi ve dil balıklarının psettolara benzer atalardan ortaya çıktığı, sağ ve sol gözlü formun her bir grubu kendi içinde ilkel bir atadan doğduğu hipotezi öne sürülmektedir (Berendzen ve Dimmick, 2002). Konu hakkında daha fazla bilgi sahibi olundukça yassı balıklar arasındaki ilişkiyi anlamak daha da karmaşık hale gelmektedir. Bununla birlikte, gözün bulunduğu taraf sınıflandırmada önemli bir özelliktir. Chappleau (1993), buna alternatif olarak, gözün bulunduğu tarafın yassı balıklar için çoğu kez belirleyici olduğunu, fakat göz durumunun grup içindeki ilişkilerin tam bir belirleyicisi olmadığı hipotezini ileri süren ilk bilim adamıdır. Berendzen ve Dimmick (2002), yaptıkları moleküler çalışmada, filogenetik bilgi için gözün bulunduğu tarafı bilmenin veya belirlemenin yeterli olmadığını sonucuna varmışlardır. Pleuronectiformes takımının

akrabalıklarını çözmede ve akrabalarını yansıtan sınıflandırma yapmada bazı problemlerin olduğu bilinmektedir. Yassı balıklar morfolojik olarak çalışmayı zorlaştıran bir yapıya sahiptirler (Berendzen ve Dimmick, 2002). Bununla birlikte, Pleuronectidae ailesinin bu genetik bilgileri yanında, sitotaksonomik bilgilerin de belirlenmesini sağlayan çalışmalarla taksonomiye önemli katkı sağlanacağı anlaşılmıştır.

Tablo 2'de gösterildiği gibi Pleuronectidae familyasından 21 türün kromozom sayıları ve karyotipleri ortaya çıkarılmıştır. Yapılan bu çalışmada da Karadeniz'de yaşayan Pleuronectidae (Pisi Balıkları) familyası üyesi *P. f. Luscu* salt türünün kromozomları tespit edilmiştir. Tablo 2'de görülen sitogenetik araştırmaların sonuçlarına göre bu familya üyeleri arasında çok önemli olmayan farklılıklar olduğu söylenebilir.

Tablo2. Bu çalışmada *P. f. luscus*'tan elde edilen veriler ile Pisi balıkları (Pleuronectidae) familyasından türler üzerine bugüne kadar yapılmış sitogenetik çalışmalardan elde edilen sonuçlar

Table 2. The data obtained from *P. f. luscus* in this study and the results obtained from cytogenetic studies conducted on species of flounder family (Pleuronectidae) so far

Tür	2n	NF	Karyotip	Yer	Kaynak
<i>Cleisthenes pinetorum</i>	44	48	4m+40a		Fukuoka ve Niiyama, 1970
<i>Glyptocephalus stelleri</i>	46	46	46a		Yabu ve Ishii, 1980
<i>Hippoglossus hippoglossus</i>	48		48st-a	İskoçya	Brown vd., 1997
<i>Kareius bicoloratus</i>	48	48	48a		Fukuoka ve Niiyama, 1970
<i>Kareius bicoloratus</i>	48	48	48a	Japonya	Nogusa, 1960
<i>Limanda herzensteini</i>	48	48	48a		Fukuoka ve Niiyama, 1970
<i>Limanda limanda</i>	46	46	46st-a	İrlanda Denizi, İngiltere	Di ve Knowles, 1994
<i>Limanda limanda</i>	46	54	4m+4sm+8st+30a	Beyaz Deniz, Rusya	Klinkhardt, 1993
<i>Limanda punctatissima</i>	48	48	48a		Fukuoka ve Niiyama, 1970
<i>Limanda schrenki</i>	48	48	48a		Fukuoka ve Niiyama, 1970
<i>Limanda yokohamae</i>	48	48	48a		Fukuoka ve Niiyama, 1970
<i>Limanda yokohamae</i>	48	48	48a		Nogusa, 1960
<i>Liopsetta glacialis</i>	48	48	48a	Beyaz Deniz, Rusya	Klinkhardt vd., 1995
<i>Liopsetta putnami</i>	48				Klinkhardt vd., 1995
<i>Microstomus achne</i>	48	48	48a		Fukuoka ve Niiyama, 1970
<i>Paralichthys olivaceus</i>	48	48	48a	Japonya ve Kore	Sakamoto ve Nishikawa, 1980
<i>Paralichthys olivaceus</i>	46	46	46a	Yamaguchi Pref.	Fujiwara vd., 2001
<i>Platichthys flesus</i>	48	48	48a	Batlık Denizi, Almanya	Fujiwara vd., 2007
<i>Platichthys flesus</i>	48	48	48a	İspanya	Kikuno vd., 1986
<i>Platichthys flesus luscus</i>	48	48	48a	Karadeniz	Kim vd., 1988
<i>Platichthys stellatus</i>	48	48	48a		Pardo vd., 2001
<i>Pleuronectes flesus</i>	48	48	48a	Rusya (Beyaz Deniz)	Klinkhardt, 1993
<i>Pleuronectes platessa</i>	48	48	48a	İngiltere	Fukuoka ve Niiyama, 1970
<i>Pleuronectes platessa</i>	47-48	48	1m+46a	Aberdeen, İskoçya	Barker, 1972
<i>Pleuronectes platessa</i>	48	48	48a	Aberdeen, İskoçya	Fan ve Fox, 1990
<i>Pleuronectes ferrugineus</i>	48	48	48a	Kanada	Fan ve Fox, 1991
<i>Pleuronectes americanus</i>	48	50	2st-46a	Kanada	Park vd., 2003
<i>Pleuronichthys verticalis</i>	48	48	48a	Duarte, Porto Riko	Park vd., 2003
<i>Pseudopleuronectes americanus</i>	48				Ohno ve Atkin, 1966
<i>Verasper moseri</i>	46	48	2m+44a		Klinkhardt vd., 1995
					Fukuoka ve Niiyama, 1970

Bu çalışmada, Karadeniz'de yaşayan pisi balığının kromozom sayısı $2n=48$, karyotipi 48 akrosentrik kromozom ve kol sayısı $NF=48$ olarak tespit edilmiştir. Pleuronectidae ailesinden *Platichthys flesus* (Klinkhardt, 1993; Pardo vd., 2001), *P. stellatus* (Fukuoka ve Niiyama, 1970) ve *Pleuronectes flesus* türünün (Klinkhardt vd., 1995) diploid kromozom sayısının 48 ve karyotipinin 48 akrosentrik kromozoma ($NF=48$) sahip olduğu bildirilmiştir. Çalışma sonucunda türün kromozom sayısı, morfolojisi ve kol sayısına ait elde ettiğimiz bulgular diğer çalışmalara ait bulgularla benzerlik göstermiştir.

Çalışmamızda karyolojik incelemesi yapılan pisi balığına yakın akraba olan diğer pleuronectidlerden Avrupa deniz pisi olarak adlandırılan *Pleuronectes platessa* balığında $2n=48$ kromozom ve tamamı akrosentrik kromozomu olduğu (Barker, 1972; Fan ve Fox, 1991) bulunurken diğer bir çalışmada $2n=46$ ve karyotipi 1 metasentrik ve 46 akrosentrik kromozoma sahip olduğu bildirilmiştir (Fan ve Fox, 1990). *P. ferrugineus* ve *P. americanus* balığının kromozom sayıları eşit iken ($2n=48$) karyotipleri sırasıyla 48a ($NF=48$) ve 2st+46a ($NF=50$) olduğu ve dolayısıyla kromozom tipleri açısından farklılık gözlenmiştir (Park vd., 2003). Bu sonuçlara göre araştırmamızda alınan sonuçlar kromozom sayısı, karyotip ve NF bakımından *P. platessa* ve *P. ferrugineus* balığı ile aynı iken, *P. americanus* ile karyotip ve NF bakımından farklılık olduğunu göstermektedir. Bununla birlikte, *Platichthys* ve *Pleuronectes* genuslarının taksonomik bakımından da benzerlik gösterdikleri bu çalışmalarla da doğrulanmaktadır.

Bu çalışmada elde edilen sonuçlar Tablo2'de de belirtilen diğer Pleuronectidae familyası üyelerinden *Kareius bicoloratus* (Nogusa, 1960; Fukuoka ve Niiyama, 1970); *Limanda herzensteini*; *L. punctatissima*, *L. schrenki* (Fukuoka ve Niiyama, 1970); *L. yokohamae* (Nogusa, 1960; Fukuoka ve Niiyama, 1970); *Liopsetta glacialis* (Klinkhardt vd., 1995); *Microstomus achne* (Fukuoka ve Niiyama, 1970); *Pleuronichthys verticalis* (Ohno ve Atkin, 1966); *Liopsetta putnami*, *Pseudopleuronectes americanus* (Klinkhardt vd., 1995) ve *Hippoglossus hippoglossus* (Brown vd., 1997) üzerinde yapılan karyolojik çalışmalarda bildirilen sonuçlar ile kromozom sayısı, şekli ve kol sayısı bakımından aynı çıkarken, *Verasper moseri* ($2n=46$, $K=2m+44a$ ve $NF=48$) ile *Cleisthenes pinetorum* balığında ($2n=44$, $K=4m+40a$ ve $NF=48$) (Fukuoka ve Niiyama, 1970) kromozom kol sayısı hariç diğer özellikler bakımından farklılık bulunmuştur. Bununla birlikte, *Glyptocephalus stelleri* ($2n=46$, $K=46a$ ve $NF=46a$) (Yabu ve Ishii, 1980) ve *Limanda limanda* balığında alınan 2 farklı çalışmanın sonucuyla da [$2n=46$, $K=46st-a$ ve

$NF=46$ (Di ve Knowles, 1994) ve $K=4m+4sm+8st+30a$ ve $NF=50$ (Klinkhardt, 1993)] hiçbir benzerlik gözlenmemiştir.

Bu çalışmada elde edilen verilerle, Fujiwara vd. (2007)'nin bildirdiği gibi Japonya'da (Yamaguchi Pref.) Japon pisi balığında (*Paralichthys olivaceus*) Kikuno vd. (1986) ve Kim vd. (1988)'nin bulunduğu $2n=46$ sonucundan farklı olmasına rağmen, Sakamoto ve Nishikawa (1980) ve Fujiwara vd. (2001) Japonya ve Kore menşei örneklerden elde ettikleri kromozom sayısı ($2n=48$) ile benzerlik göstermiştir. Ülkemiz denizlerinde yaygın olarak bulunan pisi balıklarıyla (*P.f. luscus*) Japon pisi balıkları da Pleuronectiformes takımında yer almaktadır. Sonuçların bu kadar benzer olması akraba türler olmasından kaynaklanabilir.

Karadeniz, Akdeniz ve buna bağlı denizlerde yaşayan *Platichthys* genusunun tür ve alttürleri ile ilgili sitogenetik çalışmalara ilave olarak yassı balıklar (Pleuronectiformes) üzerine yapılmış olan bazı filogenetik ve genetik araştırmalar da vardır.

Galleguillos ve Ward (1982) ile Berrebi vd.(1983), yaptıkları elektroforetik çalışmalarla özellikle deniz ve dere pisi gibi pleuronectidlerin çözülmez bir esrar perdesi olan alt tür karmaşasını aydınlatmaya çalışmışlardır. Araştırmacılara göre Adriatik'te *Pleuronectes (Platichthys) flesus italicus* ile Ege ve Karadeniz'de bulunan *P. f. luscus* balığının birbirinden ayrı iki alt tür olduğunu bildirmişlerdir. Exadactylos ve Thorpe (2001), yaptıkları çalışmada da *P. flesus luscus* balığının *P. flesus* balığının alt türü olduğunu ve bu iki tür arasındaki genetik farklılığın diğer alt tür *P. f. italicus* balığına oranla daha düşük olduğunu ifade etmişlerdir.

Sonuç olarak, yukarıda bildirilen çalışmalardan da anlaşılacağı üzere Karadeniz'de bulunan *P.f. luscus* Kuzey Atlantik ve Akdeniz'de yaygın olarak bulunan *P. flesus* balığının alt türüdür. Türkiye'nin Karadeniz kıyılarında ve Karadeniz'e dökülen iç sularında yaygın olarak görülmekte olan bu türün, ilk defa bu çalışmayla diploid kromozom sayısının $2n=48$ ve karyotipinin de akrosentrik kromozomlardan ($NF=48$) oluştuğu tespit edilmiştir. Bununla birlikte, bu tür üzerine daha ayrıntılı olarak moleküler sitogenetik açıdan incelemelerin (FISH, mFISH, ISH, DAPI vd.) yapılması ve kromozom yapılarının ortaya çıkarılması yararlı olacaktır.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri birimi tarafından desteklenmiştir (Proje No: S068).

KAYNAKLAR

- Arai, R., 2011. *Fish Karyotypes A Check List*. Springer Publication, Japan, 347p.
- Barker, C.J., 1972. A method for the display of chromosomes of plaice, *Pleuronectes platessa*, and other marine fishes. *Copeia*, 2: 365-368.

doi: 10.2307/1442503

- Berendzen, P.B., Dimmick, W.W., 2002. Phylogenetic relationships of Pleuronectiformes based on molecular evidence. *Copeia*, 3: 642-652. Stable URL: [http://www.jstor.org/stable/1448146\(10.02.2005\)](http://www.jstor.org/stable/1448146(10.02.2005)).

- Berrebi, P., Agnese, J.F., Vianet, R., 1983. Esterases of flounder (*Platichthys flesus*, Pleuronectidae, Teleostei): Development of an identification protocol using starch gel electrophoresis and characterization of loci. *Experientia*, 46: 863-867. doi: [10.1007/BF01935540](https://doi.org/10.1007/BF01935540)
- Borsa, P., Quignard, J.-P., 2001. Systematics of the Atlantic-Mediterranean soles *Pegusa impar*, *P. lascaris*, *Solea aegyptiaca*, *S. senegalensis*, and *S. solea* (Pleuronectiformes: Soleidae). *Canadian Journal of Zoology*, 79: 2297-2302. doi: [10.1139/z01-176](https://doi.org/10.1139/z01-176)
- Brown, N.P., Bromage, N.R., Penman, D.J., Shields, R.J., 1997. The karyotype of the Atlantic halibut, *Hippoglossus hippoglossus* (Linnaeus). *Aquaculture Research*, 28: 489-491. doi: [10.1046/j.1365-2109.1997.00871.x](https://doi.org/10.1046/j.1365-2109.1997.00871.x)
- Chapleau, F., 1993. Pleuronectiform relationships: a cladistic reassessment. *Bulletin of Marine Science* 52, 516-540. <http://www.ingentaconnect.com/content/umrsmas/bullmar/1993/00000052/00000001/art00019#expand/collapse> (24.04.2014)
- Denton, T.E., 1973. *Fish Chromosome Methodology*, Charles C. Thomas Publisher, New York, 166 p.
- Di, S., Knowles, J.F., 1994. The karyotype of the dab (*Limanda limanda* L.). *Journal of Fish Biology*, 44(2): 354-356. doi: [10.1111/j.1095-8649.1994.tb01213.x](https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.1994.tb01213.x)
- Duran-Gonzalez, A., Garcia-Rucias, C.E., Laguarda-Figueras, A., 1990. The karyotype and G-bands of *Haemulon aurolineatum* Cuvier 1829 (Pisces: Haemulidae). *Anales Del Instituto de Ciencias Del Mary Limnologia*, 1-10. <http://www.biblioweb.tic.unam.mx/cienciasdelmar/instituto/1990-2/articulo373.html> (06.08.2004)
- Dutrillaux, B., Coutourier, J., 1981. *La pratique de l'analyse chromosomique techniques de laboratoire*. No 12, Masson, Paris, 86 p.
- Exadactylos, A., Thorpe, J.P., 2001. Allozyme variation and genetic interrelationships between seven flatfish species (Pleuronectiformes). *Zoological Journal of the Linnean Society*, 132: 487-499. doi: [10.1111/j.1096-3642.2001.tb02472.x](https://doi.org/10.1111/j.1096-3642.2001.tb02472.x)
- Fan, Z., Fox, D.P., 1990. A new method for fish chromosome preparation. *Journal of Fish Biology*, 37: 553-561. doi: [10.1111/j.1095-8649.1990.tb05888.x](https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.1990.tb05888.x)
- Fan, Z., Fox, D.P., 1991. Robertsonian polymorphism in plaice, *Pleuronectes platessa* L. and cod, *Gadus morhua* L. (Pisces, Pleuronectiformes and Gadiformes). *Journal of Fish Biology*, 38: 635-640. doi: [10.1111/j.1095-8649.1991.tb03152.x](https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.1991.tb03152.x)
- Franke, U., Oliver, N., 1978. Quantitative analysis of high-resolution trypsin-Giemsa bands on human prometaphase chromosomes. *Human Genetics*, 45: 137-165. doi: [10.1007/BF00286957](https://doi.org/10.1007/BF00286957)
- Froese, R., Pauly, D., 2015. Fishbase World Wide Web Electronic Publication, <http://www.fishbase.org>, version (01.03.2015)
- Fukuoka, H., Niiyama, H., 1970. Notes on the somatic chromosomes of the species of pleuronectid fishes. *Chromosome Information Service*, 11: 18-19.
- Fujiwara, A., Fujiwara, M., Nishida-Umehara, C., Abe, S., Masaoka, T., 2007. Characterization of Japanese flounder karyotype by chromosome bandings and fluorescence *in situ* hybridization with DNAMarkers. *Genetica*, 131: 267-274. doi: [10.1007/s10709-006-9136-z](https://doi.org/10.1007/s10709-006-9136-z)
- Fujiwara, A., Nishida-Umehara, C., Sakamoto, T., Okamoto, N., Nakayama, I., Abe, S., 2001. Improved fish lymphocyte culture for chromosome preparation. *Genetica*, 111: 77-89. doi: [10.1023/A:1013788626712](https://doi.org/10.1023/A:1013788626712)
- Galleguillos, R.A., Ward, R.D., 1982. Genetic and morphological divergence between populations of the flatfish *Platichthys flesus* (L.) (Pleuronectidae). *Biological Journal of the Linnean Society*, 17: 395-408. doi: [10.1111/j.1095-8312.1982.tb02029.x](https://doi.org/10.1111/j.1095-8312.1982.tb02029.x)
- Gold, J.R., Li, Y.C., Shipley, N.S., Powers, P.K., 1990. Improved methods for working with fish chromosomes with a review of metaphase chromosome banding. *Journal of Fish Biology*, 37: 563-575. doi: [10.1111/j.1095-8649.1990.tb05889.x](https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.1990.tb05889.x)
- Jankun, M., Ocalewicz, K., Pardo, B.G., Martinez, P., Woznicki, P., Sanchez, L., 2003. Chromosomal characteristics of rDNA in European grayling *Thymallus thymallus* (Salmonidae). *Genetica*, 119: 219-224. doi: [10.1023/A:1026022415908](https://doi.org/10.1023/A:1026022415908)
- Kikuno, T., Ojima, Y., Yamashita, N., 1986. Chromosomes of flounder, *Paralichthys olivaceus*. *Proceedings of the Japan Academy*, 62: 194-196. doi: [10.2183/pjab.62.194](https://doi.org/10.2183/pjab.62.194)
- Kim, D.S., Cheong, S.C., Park, S.R., Lee, J.K., 1988. Cytogenetic and biochemical studies on the flatfish, *Paralichthys olivaceus*. *Bulletin of National Fisheries Research and Development Agency*, 42:135-142.
- Kligerman, A.D., Bloom, S.E., 1977. Rapid chromosome preparations from solid tissues of fishes. *Journal of Fisheries Research Board of Canada*, 34: 266-269. doi: [10.1139/f77-039](https://doi.org/10.1139/f77-039)
- Klinkhardt, M.B., 1993. Zur zytogenetik von *Platichthys flesus* und *Limanda limanda* (Pleuronectidae, Teleostei) und karyoevolution der Pleuronectiformes. *Zeitschrift für Fischkunde*, 2: 65-75.
- Klinkhardt, M.B., Tesche, M., Greven, H., 1995. *Database of Fish Chromosomes*, Westarp Wissenschaften Verlag Wolf Graf von Westarp, Uhlischstraße 6, 39108 Magdeburg, Germany, 237 p.
- Levan, A., Fredga, K., Sandberg, A.A., 1964. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. *Hereditas*, 52: 201-220. doi: [10.1111/j.1601-5223.1964.tb01953.x](https://doi.org/10.1111/j.1601-5223.1964.tb01953.x)
- Macgregor, H.C., Varley, J.M., 1983. Chapter 4. Chromosome banding. In: *Working with animal chromosomes*. John Wiley and Son Ltd., Chichester, New York, Brisbane, Toronto, Singapore. p 70-96.
- Nelson, J.S., 2006. *Fishes of the World*, IV. Edition. John Wiley and Sons Inc., New York, USA, 622 p.
- Nogusa, S., 1960. A comparative study of the chromosomes in fishes with particular considerations on taxonomy and evolution. *Memoirs of the Hyogo University of Agriculture*, 3: 1-62.
- Ohno, S., Atkin, N.B., 1966. Comparative DNA values and chromosome complements of eight species of fishes. *Chromosoma*, 18: 455-466. doi: [10.1007/BF00332549](https://doi.org/10.1007/BF00332549)
- Pardo, B.G., Bouza, C., Castro, J., Martinez, P., Sanchez, L., 2001. Localization of ribosomal genes in Pleuronectiformes using Ag-, CMA₃-banding and *in situ* hybridization. *Heredity* 86, 531-536. doi: [10.1046/j.1365-2540.2001.00802.x](https://doi.org/10.1046/j.1365-2540.2001.00802.x)
- Park, I.S., Nam, Y.K., Douglas, S.E., Johnson, S.C., Kim, D.S., 2003. Genetic characterization, morphometric and gonad development of induced interspecific hybrids between yellowtail flounder, *Pleuronectes ferrugineus* (Storer) and winter flounder, *Pleuronectes americanus* (Walbaum). *Aquaculture Research*, 34: 389-396. doi: [10.1046/j.1365-2109.2003.00816.x](https://doi.org/10.1046/j.1365-2109.2003.00816.x)
- Reeves, A., 2001. MicroMeasure: A new computer program for the collection and analysis of cytogenetic data. *Genome*, 44: 439-443. doi: [10.1139/g01-037](https://doi.org/10.1139/g01-037)
- Rossi, A.R., Crosetti, D., Gornung, E., Sola, L., 1996. Cytogenetic analysis of global populations of *Mugil cephalus* (Striped mullet) by different staining techniques and fluorescent *in situ* hybridization. *Heredity*, 76: 77-82. doi: [10.1038/hdy.1996.10](https://doi.org/10.1038/hdy.1996.10)
- Sakamoto, K., Nishikawa, S., 1980. Chromosomes of three flatfishes (Pleuronectiformes). *Japanese Journal of Ichthyology*, 27:268-272. doi: [10.11369/jji1950.27.268](https://doi.org/10.11369/jji1950.27.268)
- Seabright, M., 1971. Rapid banding techniques for human chromosomes. *The Lancet*, 2: 971-972. doi: [10.1016/S0140-6736\(71\)90287-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(71)90287-X)
- Thorgaard, G.H., Disney, J.E., 1990. Chapter 6. Chromosome Preparation and Analysis. In: *Methods for Fish Biology*, Edit. by Schreck, C. B. Moyle, P. B. American Fisheries Society, Bethesda, Maryland, USA, pp. 171-190.
- Welcher, F., 1966. *Chemical solutions*. D.Van Nostrand Company Ltd., Canada, 404 p.
- Yabu, H., Ishii, K., 1980. Chromosomes of flatfish *Glyptocephalus stelleri* (Schmidt). *Chromosome Information Service*, 29:16.