

T.C.  
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**VAN BALIĞINDA (*Alburnus tarichi* Güldenstädt, 1814) PİNEAL BEZİN  
ANATOMİK, HİSTOLOJİK VE İMMUNOHİSTOKİMYASAL OLARAK  
ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HAZIRLAYAN: Elif ÖRĞİ  
DANIŞMAN: Doç. Dr. Ahmet Regaib OĞUZ

VAN-2021



T.C.  
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**VAN BALIĞINDA (*Alburnus tarichi* Güldenstädt, 1814) PİNEAL BEZİN  
ANATOMİK, HİSTOLOJİK VE İMMUNOHİSTOKİMYASAL OLARAK  
ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HAZIRLAYAN: Elif ÖRĞİ

Bu çalışma Van YYÜ, Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından  
FYL-2020-8916 No'lu proje olarak desteklenmiştir.

VAN-2021

## KABUL VE ONAY SAYFASI

Biyoloji Anabilim Dalı'nda Doç. Dr. Ahmet Regaib OĞUZ danışmanlığında, Elif ÖRĞİ tarafından sunulan “**Van Balığında (*Alburnus tarichi* Gldenstdt, 1814) Pineal Bezin Anatomik, Histolojik ve İmmunohistokimyasal Olarak Araştırılması**” isimli bu çalışma Lisansüstü Eđitim ve Öğretim Yönetmeliđi'nin ilgili hükümleri gereğince 08/01/2021 tarihinde aşığıdaki jüri tarafından oy birliği / oy çokluğu ile başarılı bulunmuş ve yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan: Doç. Dr. Ahmet Regaib OĞUZ

İmza:

Üye: Dr. Öğr. Üyesi Necati ÖZOK

İmza:

Üye: Dr. Öğr. Üyesi Neşe ALTUNCU

İmza:

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun ....../...../..... tarih ve ..... sayılı kararı ile onaylanmıştır.

İmza

.....  
Enstitü Müdürü

## TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

Elif ÖRĞİ

## ABSTRACT

### ANATOMICAL, HISTOLOGICAL AND IMMUNOHISTOCHEMICAL INVESTIGATION OF PINEAL GLAND IN VAN FISH (*Alburnus tarichi* Gldenstdt, 1814)

Rİ, Elif

MSc. Thesis, Department of Biology

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Ahmet Regaib OUZ

January 2021, 40 pages

The pineal gland and the melatonin hormone secreted from it are functional on determination of the biological clock and adaptation to seasonal changes, glucose balance, nutrition and locomotor activities. Van fish *Alburnus tarichi* (Güldenstädt, 1814) is an endemic carp species living in Lake Van. During the fish breeding migration, they migrate collectively to fresh water to lay their eggs. In this study, the Van fish pineal gland was examined anatomically, histologically and immunohistochemically. During the breeding migration, the melatonin level secreted from the pineal gland was determined in the fish plasma sampled from both lakes and streams.

The pineal gland is located under the pineal window, which does not contain much pigment cells in the head of the fish, as in other teleost fish. The gland consists of pineal vesicles and pineal stalk parts on the dorsal sac in Van fish. Pineal gland is a gland with dense vascularization. The presence of pinealocytes and different types of cells in the pineal organ was determined by different histological and immunohistochemical markings. It was observed that pinealocyte cells were localized in the lumen part of the pineal vesicle. It was determined that plasma melatonin level increased in fish passing from lake to stream ( $P < 0.05$ ). As a result, with this study, the anatomical and histological structure of the Van fish pineal gland and the melatonin levels in the reproductive period were determined for the first time.

**Keywords:** Histology, Immunohistochemistry, Lake Van, Pineal gland, Van Fish.

## ÖZET

### **VAN BALIĞINDA (*Alburnus tarichi* Güldenstädt, 1814) PİNEAL BEZİN ANATOMİK, HİSTOLOJİK VE İMMUNOHİSTOKİMYASAL OLARAK ARAŞTIRILMASI**

ÖRĞİ, Elif

Yüksek Lisans Tezi, Biyoloji Anabilim Dalı  
Tez Danışmanı: Doç. Dr. Ahmet Regaib OĞUZ  
Ocak 2021, 40 sayfa

Pineal bez ve ondan salgılanan melatonin hormonu biyolojik saatin belirlenmesi ve mevsimsel değişikliklere adaptasyon, glikoz dengesi, beslenme ve lokomotor aktiviteleri üzerine fonksiyoneldir. Van balığı *Alburnus tarichi* (Güldenstädt, 1814) Van Gölünde yaşayan endemik bir sazan türüdür. Balık üreme göçü esnasında yumurtalarını bırakmak üzere tatlı suya toplu bir şekilde göç gerçekleştirmektedir. Bu çalışmada Van balığı pineal bezi anatomik, histolojik ve immunohistokimyasal olarak incelendi. Üreme göçü sırasında hem göl hem de akarsulardan örneklenen balık plazmalarında pineal bezden salgılanan melatonin seviyesi belirlendi.

Pineal bez diğer teleost balıklarda olduğu gibi balığın baş kısmında fazla pigment hücre içermeyen pineal pencere altında yer alır. Bez Van balığında dorsal kese üzerinde pineal vezikül ve pineal sap kısımlarından meydana gelir. Pineal bez iyi damarlanma gösteren bir bezdir. Pineal organ içerisinde pinealosit ve farklı tipte hücrelerin varlığı farklı histolojik ve immunohistokimyasal işaretlemeler ile belirlendi. Pinealosit hücrelerin pineal vezikülün lümen kısmında lokalize olduğu gözlemlendi. Plazma melatonin seviyesinin gölden akarsuya geçen balıklarda artış gösterdiği belirlendi ( $P<0.05$ ). Sonuç olarak bu çalışma ile ilk defa Van balığı pineal bezinin anatomik ve histolojik yapısı ve üreme döneminde melatonin seviyeleri belirlendi.

**Anahtar kelimeler:** Histoloji, İmmünohistokimya, Pineal bez, Van Balığı, Van Gölü

## ÖN SÖZ

Yüksek Lisans çalışmalarında her türlü ilgi ve yardımlarını esirgemeyen bilgisiyle beni her konuda aydınlatan danışmanım Sayın Doç. Dr. Ahmet Regaib OĞUZ'a çok teşekkür ederim. Balık temininde bana yardımcı olan Dr. Öğr. Ü. Erkan AZİZOĞLU'na, ayrıca çalışmanın her aşamasında ilgi ve desteğini gördüğüm Burcu ERGÖZ'e ve Fadime ÇELEBİ'ye teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca bugünlere gelmemi sağlayan, maddi manevi hiçbir desteğini esirgemeyen her daim yanımda olan kıymetli aileme başta babam İkrım KIZILTAŞ ve annem Nurgül KIZILTAŞ'a sonsuz teşekkürü bir borç bilirim. Bana yine her konuda yardımcı ve destek olan eşim Kadir ÖRĞİ, oğlum Talha Eymen'e ve Nuran ÖRĞİ'ye çok teşekkür ederim.

Bu çalışmayı tez projesi (FYL-2020-8916) olarak destekleyen Yüzüncü Yıl Üniversitesi Rektörlüğü Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü ve Fen Bilimleri Enstitüsü'nin tüm çalışanlarına teşekkürlerimi sunarım.

2021

Elif ÖRĞİ



## İÇİNDEKİLER

|                                                    | Sayfa |
|----------------------------------------------------|-------|
| ÖZET.....                                          | i     |
| ABSTRACT.....                                      | iii   |
| ÖNSÖZ.....                                         | v     |
| İÇİNDEKİLER.....                                   | vii   |
| ÇİZELGELER LİSTESİ.....                            | ix    |
| ŞEKİLLER LİSTESİ.....                              | xi    |
| SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....                | xiii  |
| 1. GİRİŞ.....                                      | 1     |
| 2. KAYNAK BİLDİRİŞLERİ.....                        | 3     |
| 3. MATERYAL VE YÖNTEM.....                         | 10    |
| 3.1. Materyal.....                                 | 10    |
| 3.1.1. Balık.....                                  | 10    |
| 3.1.2. Laboratuvarında kullanılan materyaller..... | 10    |
| 3.2. Yöntem.....                                   | 11    |
| 3.2.1. Histolojik çalışmalar ve boyamalar.....     | 11    |
| 3.2.1.1. Hematoksilen-Eozin boyama metodu.....     | 12    |
| 3.2.1.2. Toluidine blue boyama metodu.....         | 13    |
| 3.2.2. İmmünohistokimya.....                       | 14    |
| 3.2.3. İmmünofloresan işaretleme.....              | 14    |
| 3.2.4. MitoTracker boyama.....                     | 15    |
| 3.2.5. Melatonin seviyesinin belirlenmesi.....     | 15    |
| 3.2.6. İstatistiksel analiz.....                   | 15    |
| 4. BULGULAR.....                                   | 16    |
| 4.1. Balık.....                                    | 16    |
| 4.2. Pineal pencere .....                          | 16    |
| 4.3. Pineal bez morfolojisi .....                  | 18    |
| 4.4. Pineal bez histolojisi .....                  | 19    |
| 4.4.1 Pineal vezikül.....                          | 22    |
| 4.4.2. Pineal sap.....                             | 25    |
| 4.4.3. Dorsal kese.....                            | 25    |

|                                | <b>Sayfa</b> |
|--------------------------------|--------------|
| 4.5. Melatonin seviyeleri..... | 29           |
| 5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....      | 30           |
| KAYNAKLAR.....                 | 34           |
| ÖZ GEÇMİŞ.....                 | 40           |



## ÇİZELGELER LİSTESİ

| Çizelge                                           | Sayfa |
|---------------------------------------------------|-------|
| Çizelge 3.1. Parafine gömme basamakları.....      | 11    |
| Çizelge 3.2. Hematoksilen- Eozin basamakları..... | 12    |
| Çizelge 3.3. Toluidine Blue basamakları.....      | 13    |



## ŞEKİLLER LİSTESİ

| Şekil                                                                                                                                                                                                                                        | Sayfa |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| Şekil 1.1. Van Gölü haritası.....                                                                                                                                                                                                            | 2     |
| Şekil 2.1. Pineal organın balık beynindeki genel görünümü.....                                                                                                                                                                               | 4     |
| Şekil 2.2. Pineal bezin Histolojisi (1 koni tip fotoreseptör hücreleri, 1' modifiye fotoreseptör hücreleri, 3 sinir hücreleri, 4 makrofaj hücresi).....                                                                                      | 6     |
| Şekil 2.3. Pineal bezde triptofandan melatonin sentezi.....                                                                                                                                                                                  | 7     |
| Şekil 4.1. Van balığında pineal pencerenin lokalizasyonu (A) ve Pineal pencerede bulunan melenoför hücrelerinin yoğunluğu (B) (PP: Pineal Pencere).....                                                                                      | 17    |
| Şekil 4.2. Van balığının beyinin dorsal olarak görünümü ve pineal organın beyindeki yakından görünümü. (OB: Olfaktör Bulbus, TEL: Telensefalon, OL: Optik Lob, BE: Beyincik, MO: Medulla Oblangata, PV: Pineal Vezikül, PS: Pineal Sap)..... | 19    |
| Şekil 4.3. Van balığında pineal kompleksin genel histolojik görüntüsü.....                                                                                                                                                                   | 21    |
| Şekil 4.4. Pineal vezikülün Hematoksilen-Eozin Boyası ile boyanması (Uzun ok: Pinealosit hücreleri, Kısa ok: Glia hücreleri, Beyaz ok: Sinir hücreleri, L: Lümen, *: Kan damarları).....                                                     | 23    |
| Şekil 4.5. Pineal vezikülün Hematoksilen-Eozin Boyası ile boyanması. (L: Lümen, *: Kan damarları, DS: Dorsal sac(kese)).....                                                                                                                 | 24    |
| Şekil 4.6. Pineal bezin Toluidine Blue boyası ile boyanmış görüntüsü (PV: Pineal Vezikül, OL: Optik Lob ).....                                                                                                                               | 25    |
| Şekil 4.7. Pineal vezikül içerisinde farklı tipteki hücreler (Toluidine Blue) (Uzun ok: muhtemel pinealosit hücresi, Kısa ok: muhtemel glia hücreleri, Beyaz ok: sinir hücreleri *: Kan damarları, L: lümen).....                            | 25    |
| Şekil 4.8. Pineal bezin genel görünümü (A) ve bezin beyne bağlandığı Habenular komissure yapı (B). (Ha: Habenular Komissure, OL: Optik Lob, TEL: Telensefalon, PV: Pineal Vezikül).....                                                      | 27    |
| Şekil 4.9. Pineal sapın Hematoksilen-Eozin Boyası ile boyanması (Ha: habenular çekirdek PS:Pineal Sap, TEL: Telensefalon, Siyah ok: Pinealosit hücreleri, Beyaz ok: glia hücreleri L: Lümen * Dorsal kese ).....                             | 28    |

**Şekil****Sayfa**

|             |                                                                                                                                                                     |    |
|-------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Şekil 4.10  | Van balığında pineal vesikülde melatonin sentezleyen pineosit hücrelerinin immünofluoresan görüntüleri (L: lümen, Uzun ok; kan damarları, kısa ok: pinealosit)..... | 30 |
| Şekil 4.11. | Göl ve akarsudan yakalanan Van balığı plazma melatonin seviyeleri (pg/mL). * P<0.05.....                                                                            | 31 |



## SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılan bazı simgeler ve kısaltmalar açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

### Simgeler

### Açıklama

|                 |                  |
|-----------------|------------------|
| km <sup>2</sup> | Kilometrekare    |
| °C              | Santigrat derece |
| µl              | Mikrolitre       |
| µm              | Mikron           |
| L               | Litre            |
| gr              | Gram             |
| nm              | Nanometre        |
| ml              | Mililitre        |
| %               | Yüzde            |
| ‰               | Binde            |

### Kısaltmalar

### Açıklama

|       |                                   |
|-------|-----------------------------------|
| GTH   | Gonadotropik Hormon               |
| GnRH  | Gonadotropin Salgılatıcı Hormon   |
| MT    | Melatonin                         |
| L     | Işık                              |
| D     | Karanlık                          |
| AANAT | Arilalkilamin N-asetil Transferaz |
| HIOMT | Hidroksiindol o-Metiltransferaz   |
| PCR   | Polimeraz Zincir Reaksiyonu       |
| PBS   | Fosfat Tamponlu Tuz çözeltisi     |

## 1. GİRİŞ

Bir organizmanın gün boyunca yani 24 saatlık bir sürede ışığa maruz kaldığı süreye fotoperiyot denir. Günü kısıklığı ve uzunluğu ile ilgili olan fotoperiyot sayesinde organizmalar çeşitli yaşam döngülerini günlük ve yıllık değışimlere adapte ederler. Aydınlanma süresindeki meydana gelen değışiklikler biyolojik olayların başlama ve bitiş zamanında önemli rol oynar. Fotoperiyot bitkilerde büyüme, gelişme, çiçek açma, yaprak dökülmesi, durgunluk gibi süreçlerin başlaması gibi fizyolojik süreçlerde etkilidir. Hayvanlarda ise renk değışimi, üreme ve gelişme, metabolizma, hormon düzeylerini etkiler. Birçok canlıda olduğu gibi balıklarda gün ışığında meydana gelen değışimlerden etkilenirler. Tüm canlılar yaşamsal faaliyetlerini düzenleyen biyolojik iç saatlere sahiptirler. Yirmidört saatlik aydınlık karanlık döngüsü içerisinde uyku ve uyanıklık hali, metabolik olaylar, kan basıncı, hormonal düzenlemeler sirkadiyen ritmi oluşturur. Her canlının kendine ait sirkadiyen ritmi bulunmaktadır. Bu sirkadiyen ritim başta fotoperiyot olmak üzere çevresel faktörlerden etkilenmektedir. Ayrıca 2017 Nobel Fizyoloji veya Tıp Ödülü sirkadiyen saatin moleküler mekanizmaları üzerine yapılan çalışma olmuştur. Bu da biyolojik saatin canlı için ne kadar önemli olduğunu vurgulamaktadır.

Genel olarak pineal bez merkezi sinir sisteminin bir parçasıdır. Beyinde talamusun üzerinde yer alır. Balıklarda bulunan pineal bez fotoreseptör hücreler içeren ışığa hassas bir yapıdır. Bu yüzden fotoperiyottan etkilenen bir organ olan pineal bez canlılarda biyolojik saat olarak işlev görür ve vücudun bütün periyodik olaylarını düzenler. Pineal bezden salgılanan melatonin hormonunun gün uzunluğuna bağlı olarak salınımı artmakta veya tam tersi olarak azalmaktadır. Melatonin hormonu biyolojik saatin belirlenmesi, mevsimsel değışikliklere adaptasyon, üreme gibi süreçlere dahil olur.

Van Gölü yüz ölçümü 3.713 km<sup>2</sup> olan Türkiye'nin en büyük gölüdür (Şekil 1). Çok fazla koy bulunur. Gölün tatlı su ve deniz ekosistemlerinden farklı olarak suları tuzlu ve sodalıdır. Göl suyunun tuzluluk oranı % 19, pH'sı ise 9.8 dir. Bu ekstrem özelliğinden dolayı gölde bilinen az sayıda omurgasız ve tek bir omurgalı tür

yaşamaktadır. Bu omurgalı göl için endemik bir sazan türü olan Van balığı (*Alburnus tarichi*) (Güldenstädt, 1814) dır.



Şekil 1.1. Van Gölü Haritası.

Van balığı sadece Van Gölü havzasında bulunan bir tür olup yöre halkının beslenmesinde ve ekonomisinde büyük önem arz etmektedir. Balık yüksek pH'a sahip Van Gölü'nden, düşük pH'lı akarsuya üreme esnasında sürüler halinde geçiş yapmaktadır. Bu iki ortam arasında pH'ın yanı sıra sıcaklık farkı da bulunmaktadır. Bu esnada balık osmoregülasyonu sağlayarak hayatta kalmayı başarabilmektedir. Bu süreçte balığın bazı dokularında anatomik, histolojik ve hormonal değişiklikler meydana geldiği bilinmektedir. Pineal bezde salgıladığı melatonin hormonu ile hormonal düzeyde etkilenen bir organdır.

Yapılan literatür araştırmaları sonucunda Van balığında pineal bezin anatomisine ve histolojisine ait herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Bu çalışmada Van balığının pineal bezi anatomik ve histolojik olarak incelendi. Üreme göçü esnasında göl ve akarsu ortamlarından alınan balıklarda melatonin seviyesi belirlenmeye çalışıldı. Ayrıca immünohistokimyasal olarak melatonin sentezleyen fotoreseptör hücrelerin pineal organ içerisindeki lokalizasyonu, yoğunluğu ve hücre tiplerinin belirlenmesi gerçekleştirildi.



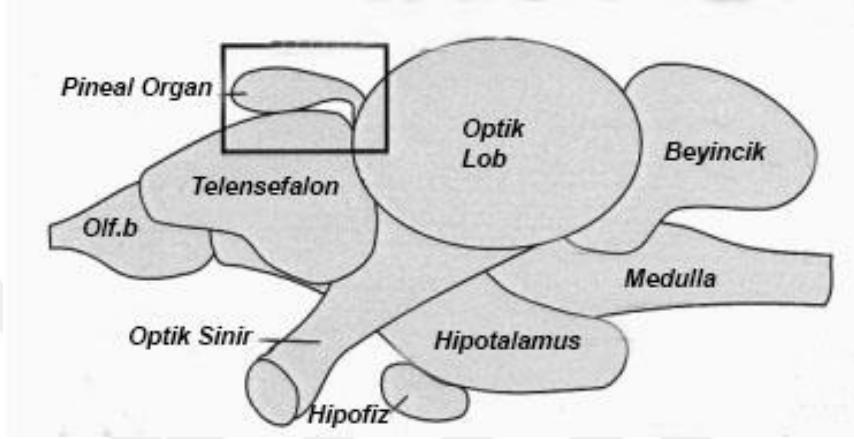
## 2. KAYNAK BİLDİRİŞLERİ

Van Gölü, dünyanın sayılı sodalı gölleri arasında olup, Türkiye'nin doğusunda yer alan en büyük gölüdür. Göl suyunun fizikokimyasal yapısı diğer göllere kıyasla farklılık gösterir. Göl ekstrem şartlara sahip olup pH'ı 9,8, tuzluluğu ‰ 19-22 ve alkalitesi ise 153 mEqxl<sup>-1</sup> dir. Gölün tuzlu-sodali içeriği biyolojik çeşitliliği sınırlamaktadır. Bu nedenle gölde az sayıda omurgasız ve tek bir omurgalı türü olan Van balığı (*Alburnus tarichi* Guldenstädt, 1814) yaşamaktadır (Danulat ve Selçuk, 1992; Çiftçi ve ark., 2008; Oğuz, 2015). Son yıllarda gölde yeni bir balık türü keşfedilmiş olsa da bu tür hakkında herhangi bir bilimsel bilgi mevcut değildir.

Van balığı Van Gölü'nde yaşayan endemik bir sazan türüdür. Balık bölge için ekolojik, yöre halkı için ise ekonomik öneme sahiptir. Van balığı anadrom bir tür olduğu için üreme esnasında yumurtalarını bırakmak üzere tatlı suya toplu bir göç gerçekleştirmektedir. Bu göç mevsim değişimlere bağlı olarak Mayıs ve Haziran aylarında gerçekleşir. Göç hareketi son yıllarda tüm ülke için turistik bir değer katmakta ve ekoturizme katkı sağlamaktadır. Balık kısa süre içerisinde yumurtalarını bırakarak üreme göçünü tamamlar ve ardından yılın bütün bir kısmını geçirdiği göl ortamına geri döner. Balık iki ortama da uyum sağlamak için adaptasyon geçirir. Balığın göç ve üreme esnasında beslenmesinde ve davranışlarında bazı farklılıklar görülmektedir. Balık sodalı sudan tatlı suya geçiş yaptığında balığın bazı dokularında histolojik ve moleküler yapıda bazı değişikliklerin meydana geldiği bilinmektedir (Şen ve ark., 2015; Oğuz, 2015). Ayrıca üreme göçü sırasında pek çok hormonal değişimler de gözlenmektedir (Ünal ve ark., 2007; Yeşilbaş, 2018).

Tüm canlılar biyolojik iç saate sahip olup, bu saat sayesinde günlük hayatlarını düzenleyip, yaşamlarına devam ederler. Canlıların biyolojik saatini gece gündüz döngüsüne göre ayarlamasına sirkadiyen saat denir. Bu tür zaman ölçümleri sistemine sahip organizmalar olayların doğru zamanda gerçekleşmesi için çevresel değişiklikleri tahmin etmektedirler. Bu zaman döngüsü boyunca canlıda birçok fizyolojik, biyokimyasal ve davranışsal değişiklikler olmaktadır. Canlıların çoğundan da özellikle de balıklarda pineal organ sirkadiyen ritmin bir parçasıdır (Ekström ve Meissl, 1997; Ligo ve ark., 1998). Pineal bez omurgalıların sirkadiyen saatlerinin, ritmik bilginin organizmaya ileten başlıca kısımlarından biridir (Falcon ve ark., 2010). Pineal bez ve

ondan salgılanan melatonin hormonu biyolojik saatin belirlenmesi ve mevsimsel değişikliklere adaptasyon, glikoz dengesi, beslenme ve lokomotor aktivitesine etkisi gibi birçok fizyolojik sürece dahil olur. Bunun yanı sıra pineal bezden sentezlenen melatonin hormonunun üreme üzerindeki etkisi de bilinmektedir (Randall ve ark., 1991; López-Olmeda ve ark., 2006; Khan Thomas, 1996; Vanecek, 1998.).



Şekil 2. 1. Pineal organın balık beyindeki genel görünümü (Ekström ve Meissl, 1997).

Çeşitli hayvan türlerinde ki pineal organın büyüklüğü ve bulunduğu bölge farklılık gösterebilir (Arendt, 1995). Hayvanlarda pineal kompleks pineal organ, parapineal organ ve dorsal keseden oluşmaktadır. Pineal organ soğukkanlı hayvanlarda kafatasının hemen altında olup ara beyinle bağlantılı iken, balık ve kurbağalarda bir kese ile bağlantılıdır. Bilinen en büyük kemikli balık grubu olan teleostlar da pineal organ kafatasının hemen altında yer alır. Ön beyine dorsal olup fotosensiyel bir organdır. Birçok balık ayrıca fotoreseptör hücre içeren ilkel bir parapineal organa sahiptir. Parapineal organ bazı balık türlerinde embriyonik gelişimin erken safalarında bulunurken ergin bireylerde gözlenmemektedir. Pineal organ küçük bir pineal vezikül ile dar ve kısa bir pineal saptan oluşarak bağ doku ile kafatasına bağlanmıştır (Herrera-Perez ve ark., 2011). Ayrıca pineal pencere bu yapıların hemen üzerinde kafatasında bulunan yarı saydam görünümlü bir bölgedir. Pineal pencere ışığın alınıp pineal organa aktarıldığı pigmentli bir yapıya sahiptir. Epifiz organı diensefalonun çatısına ince bir sap ile bağlanmıştır. Telensefalik yarımkürelerin optik tektum ile kesiştiği orta çizgide beyne teğetsel olarak konumlanmıştır (Şekil 2. 1.) (Omura ve ark., 1969). Senegalese sole (*Solea senegalensis*) balığında da pineal kompleks pineal, parapineal organlar ve

loblu dorsal bir keseden oluştuğu görülmüştür (Confente ve ark., 2008).

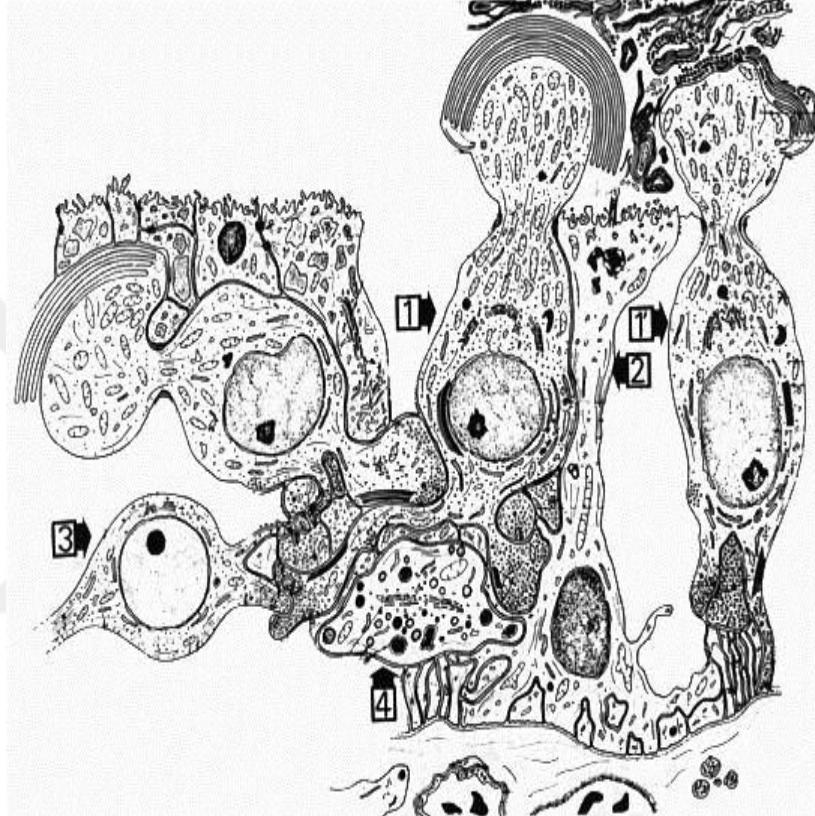
Pineal bezin parankimasında 3 farklı tip hücre bulunmaktadır. Hücrelerin çoğunluğunu fotoreseptör hücreler olarak da bilinen pinealosit hücreler oluşturmaktadır. Diğer kalan az kısmını ise destekleyici hücreler olarak bilinen glia hücreleri oluşturur. Pineal organda bulunan bağ dokusuna ait bağ doku hücresi olan makrofajlar da bazı teleost türlerde görülmüştür. Ayrıca pineal bez parankimasında sinir hücreleri de bulunmaktadır. (Şekil 2. 2).

Pineal bezin ana hücre tipi pineolositlerdir. Pineolositler (fotoreseptör hücreler) yoğun çekirdekli yapıya sahiptirler. Pinealositler ökromatik çekirdek yapısına sahiptir. Hücreler yuvarlak ve loblu belirgin çekirdekçiklere sahiptir (Ekström ve Meissl, 1997). Sekresyon fonksiyonuna sahip olan hücreler çok sayıda mitokondri ve iyi gelişmiş golgi kompleksine sahiptir (Calvo ve Boya, 1984; Tan ve ark., 2018). Işığa duyarlı fotopigment içeren membran lamelleri kubbe veya koni şeklinde yığınlar oluşturur. Fotosinyal iletiminde rol aldığı bilinen ve omurgalı retinasında yaygın olarak bulunan fotoreseptördeki birçok molekül, farklı balıklardaki pineal fotoreseptöründe de tespit edilmiştir. Pineal sap ve vezikül boyunca melatonin salgılayan hücreler lateral gözlerde bulunan çubuk ve koni opsin benzer fotoreseptif hücreler yapılan immünohistokimyasal çalışmalarla tespit edilmiştir (Mano ve ark., 1999; Philp ve ark., 2000; Rincón Camacho ve ark., 2016). Farklı çubuk ve koni opsine spesifik antiserumlar kullanılarak, melatonin salgılayan fotoreseptör hücreler belirlenmiştir. Farklı balık pineal organlarının pineal sap ve pineal vezikülleri boyunca koni opsin ve çubuk opsin hücrelerine benzer şekilde dağılım gösterdikleri belirlenmiştir (Vigh-Teichmann ve ark., 1983; Ekström ve ark., 1987; Garcı'a-Ferna'ndez ve ark., 1997; Vigh ve ark., 1998, 2002; Foster ve Hankins, 2002).

İnterstiyeel hücreler; pineal parankimasının geriye kalan kısmını oluşturur. Çekirdek yapısı ovaldir. Kromatin yoğunluğu fazla olmasından dolayı koyu renkte boyanır ve pinealosit hücrelerden kolay bir şekilde ayırt edilebilir. Glial hücreler olarak bilinen destek hücreleridir. Pineal sap ve vezikül boyunca bulunur (Herwig, 1976). Fotoreseptör hücreleri arasında bağlantı kurarak bariyer görevi gördüğü için destek hücreleri olarak da bilinir. Bol miktarda endoplazmik retikulum bulundurlar. Çok sayıda mikrofilyamentler içerirler. Bu uzantılar sayesinde sitoplazma bulunan fotoreseptör hücreler, sinir hücreleri arasında geçiş sağlayarak bağlantı kurarlar ve

mekanik destek sağlarlar (Schacher, 1984; Ekström ve Meissl, 1997).

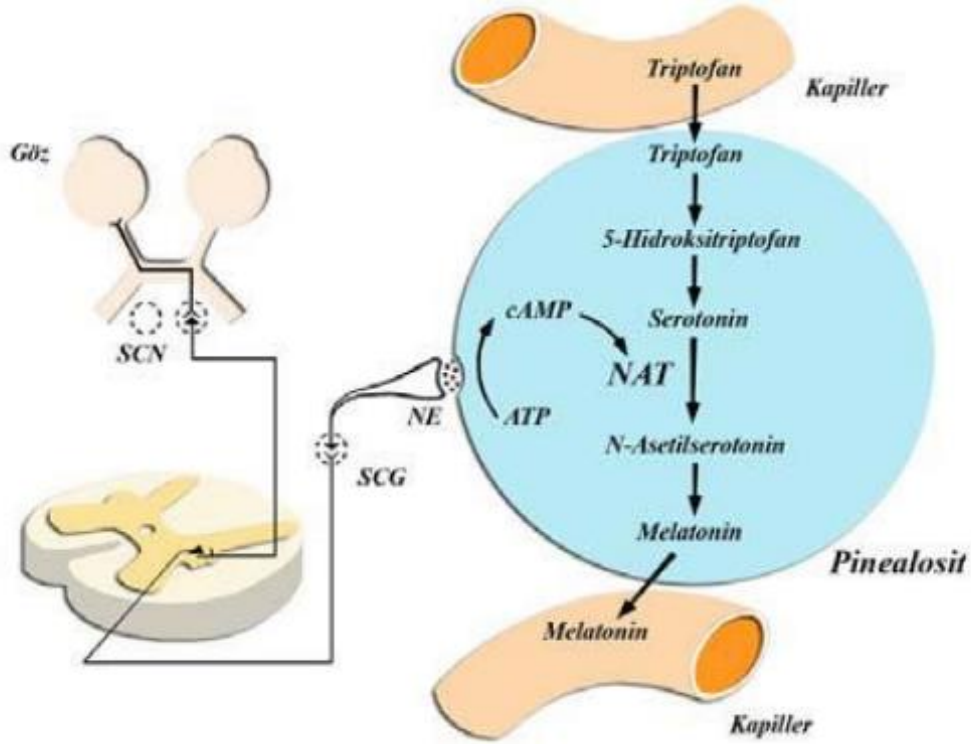
Fotoreseptör hücreleri, destek hücreleri, sinir hücrelerinin yanısıra belirgin koyu boyanmış çekirdeğinin varlığı ile bilinen fagositik hücre olan makrofajlarda vardır. Pineal bezin lümeninde bulunan makrofajlar bozulmuş olan fotoreseptörlerin parçalanmasında görev aldığı düşünülmektedir (Bergmann, 1971; Omura ve Ali, 1981).



Şekil 2.2. Pineal bezin Histolojisi (1 koni tip fotoreseptör hücreleri, 1' modifiye fotoreseptör hücreleri, 3 sinir hücreleri, 4 makrofaj hücresi) (Ekström ve Meissl, 1997).

Karanlığın etkisi ile fotoreseptör hücrelerden salgılanan norepinefrin melatonin öncü maddesi olan triptofanın dolaşımdan beze girişini sağlar. Dolaşımdaki triptofanın aktif taşıma ile pinealosit içine girmesi ile melatonin sentezi başlar. Sırasıyla pinealositlerde hidroksillenen ve dekarboksilatlanan triptofan ara metabolit olan ve kan-beyin bariyerini rahatça geçebilen 5-hidroksitriptofana dönüşür. Daha sonra dekarboksilaz enziminin aktivitesi ile karboksil grubunu kaybeder ve 5-hidroksitriptamine yani serotonine dönüşür. Serotonin daha sonra arilalkilamin N-asetil transferaz (AANAT) enzimi aracılığı ile asetillenir ve N-asetilserotonine dönüşür. N-

asetilserotonin ise Hidroksiindol o-Metiltransferaz (HIOMT) ile N-asetil 5-metoksi triptamine yani melatonine dönüşür (Yazıcı ve Köse, 2004; Klein, 2007; Atasoy ve Erbaş, 2017 ) (Şekil 2. 3.).



Şekil 2. 3. Pineal bezde triptofandan melatonin sentezi.

Yapılan araştırmalar sonucunda beyin dışında melatonin reseptörleri farklı bölgelerde de tespit edilmiştir. Vücutta başta beyin, retina ve hipofiz olmak üzere gastrointestinal doku, hardierian bezi, bağırsak, yumurtalık, periferel dokular ve kalp gibi dokularda melatonin reseptörleri bulunmaktadır (Pang ve ark., 1994b; Lee ve ark., 1995; Siu ve ark., 1998; Bubenik, 2002; Kulczykowska ve ark., 2006; Maitra ve ark., 2015). Yapılan çalışmalar ve analizler sonucunda balıkların beyinde melatonin bağlanma yerlerinin yoğun olduğu görülmüştür. Özellikle hipotalamusun anterior kısmında bulunan ısıya duyarlı olan preoptik alan ve orta beyinde yer alan balıklar için birincil görsel merkez olan optik tektum yüksek yoğunlukta olan yerlerdir (Ekström ve Meissl, 1997). Zebra balığı (*Danio rerio*) üzerinde yapılan PCR çalışmasında G-proteinine bağlı melatonin ailesine ait üç alt tipin varlığı kısmen görülmüştür (Reppert ve ark., 1995).

Birçok hayvan türünde olduğu gibi balıklarda da üremenin düzenlenmesinde çevre şartları önemli rol oynar (Chaudhuri, 1997). Pineal organ ve melatonin balıklarda gonadların mevsimsel olgunlaşmasında balık türüne göre değişiklik gösterdiği bildirilmiştir (Bromage ve ark., 2001; Bayarri ve ark., 2004). Melatonin, gonad olgunlaşmasını son aşamalarını uyararak ve oosit olgunluğunu yumurtlamanın zamanlaması ile senkronize ederek üreme mevsiminin kontrolü üzerine etkilidir. Ayrıca melatonin olgun sazan dişilerinde hipotalamik uyarıcı (GnRH) merkezi aracılığı ile Gonadotropik Hormon (GTH) salgılanmasını dolaylı olarak etkilediği bulunmuştur (Breton ve ark., 1993; Popek Çipura (*Sparus aurata*), nil (*Lates niloticus*), mezgit (*Merlangius euxmus*), kalkan (*Psetta maxima*) ile yapılan çalışmalarda gonadal büyümenin 24L:0D ye maruz kalan balıklarda diğerlerinden ve ark., 1994). önemli ölçüde düşüş olduğu belirtilmiştir (Rad ve ark., 2006). Fosil balık (*Heteropneustes fossilis*) ta yumurtalık büyümesi uzun fotoperiyotların etkisiyle uyarılırken kısa fotoperiyodik balıklarda gecikmiştir (Sundararaj, 1981). Üreme olaylarının çevre ile uyum içinde olması pineal organ, gözler ve hipotalamus gibi sirkadiyen osilatörler tarafından gerçekleştirilmektedir (Reiter ve ark., 2009). Çevresel bilginin yani sıcaklık ve fotoperiyod gibi özelliklerin pineal organ aracılığıyla alınıp işlenmesi hayvanlarda özellikle üreme üzerinde önemli etkisi olduğu bilinmektedir. Birçok balık bu bilgiler doğrultusunda mevsimsel üreme sergiler (Confente ve ark., 2008). Bu senkronizasyonda önemli rol oynayan pineal organ ışığa duyarlı bir yapıdadır ve melatonin hormonu sentezler. Memeli pineal organı, sempatik inervasyon yoluyla, fotik durumlar hakkında bilgi aktarır. Bununla birlikte, memeli olmayan omurgalılarda, pineal organın kendisi fotosensif yapıdadır (Ralph, 1983; Gern ve ark., 1987; Filadelfi ve ark., 1996 ).

Fotoperiyodik ve sıcaklık bilgisini beyne ve üreme ile ilgili yapılara sinirsel ve nörohormonal mesajlarla ulaştırır (Falcon ve ark., 1992; Amano ve ark., 2000; Confente ve ark., 2008). Melatonin birçok organizmada pineal bez dışında, özellikle retinada, bağırsakta ve omurgalılarda yumurtalıkta da tespit edilmiştir (Maitra ve ark., 2015; Bubenik, 2002; Kulczykowska ve ark., 2006). Ayrıca melatonin tüm omurgalıların gastrointestinal dokusunda da bulunmuştur (Bubenik, 2002). Fakat omurgalılarda, ana dolaşımdaki melatonin kaynağının pineal organ olduğu görülmüştür. Pineal melatonin, beyin omurilik sıvısı ve kanına ritmik olarak salınır ve melatonin reseptörleri yoluyla spesifik hedeflere etki eder (Reppert, 1997; Falco'n et al., 2010). Çipuralarla yapılan bir

çalışmada türün fotoreseptör hücrelere, biyolojik saate ve melatonin sentezinin gerçekleştiği bir yapıya sahip iken alabalıklar gibi bazı balıkların ise bu yapıya tam olarak sahip olmadığı bildirilmektedir (Ron ve Okimoto 1999). Pineal organdan salgılanan melatoninin sağladığı nörohormonal bilgi, günlük, aylık ve mevsimlik zaman bilgisi sağlar (Reiter, 1993; Falcon ve ark., 2010; Oliveira ve ark., 2010).

Fotoperiyot, mevsimsel fonksiyonların günün kısıklığı ve uzunluğu ile ilişkilendirilmesidir (Cassone, 1990). Fotoperiyot sayesinde organizmaların çoğu davranışlarını günlük ve yıllık değişimlere adapte eder. Balık pineal bezinden salgılanan melatoninin doğrudan fotoperiyotla ilgili olduğu yapılan in vivo çalışmalarla kanıtlanmıştır (Gem ve Greenhouse, 1988). Ölçülen melatonin seviyeleri gece boyunca yüksek, gündüz ise düşüktür. Işık ise melatonin salgısını baskılamaktadır (Keleştimur, 1996). Melatonin seviyeleri gün uzunluğuna bağlı olarak değişmekte, gecelerin uzun olduğu kısa günlerde yüksek seviyede salgılanırken, gecelerin kısa olduğu uzun günlerde ise düşük seviyelerde salgılanmaktadır. (Lindahl ve ark., 1986). Tilapialarla yapılan bir çalışma sonucunda karanlık periyotta plazma melatonin seviyelerinde artış görülmüştür. Yine aynı çalışmada melatoninin ışık periyotta düştüğü belirtilmiştir (Nikaido 2004). Turnalarla yapılan çalışmada ışık periyodunun en yüksek olduğu saatler olan 11:00-13:00 arasında melatonin salınımının arttığı görülmüştür (Falcon 1999).

Bunun yanı sıra fotoperiyodun dışında, melatonin seviyeleri ayrıca tuzluluk, besin varlığı, yağış, ortamın pH ve bulunduğu ortamın yoğunluğu da değiştirebilir (Falcon ve ark., 2010). Ayrıca sıcaklık da dahil olmak üzere diğer çevresel şartlardan etkilenebilir (Zachmann ve ark., 1992). Yapılan çalışmalarda sıcaklığın yüksek olmasının plazma melatonin seviyelerinde artışa neden olduğu görülmektedir (Firth ve Kennaway, 1987; Delgado ve Vivien-Roels, 1989). Işığın yanı sıra sıcaklığın, soğukkanlı hayvanlarda melatonin üretimini arttırdığı ve böylece organizmaya doğru mevsimsel bilgi sağlamaya yardımcı olur (Ligo ve Aida, 1995). Atlantik somon balığı (*Salmo salar*) ile yapılan çalışmada, dolaşımdaki melatonin seviyelerindeki artışın yaz aylarında daha yüksek olma eğiliminde olup, bu olayda sıcaklık önemli rol oynamaktadır. Ayrıca, su sıcaklığının çok düşük (0 °C) olduğu aralık ayında plazma melatonin seviyelerinin neredeyse olmadığı bulundu. Salmonitlerde yapılan çalışmada deniz suyuna giren balıklarda melatonin seviyesinin azaldığı böylelikle tuzluluğunda melatonin seviyesinde etkili olduğu belirtilmiştir (Gern ve ark., 1984).

### **3. MATERİYAL ve YÖNTEM**

#### **3.1. Materyal**

##### **3.1.1. Balık**

Göl ortamında bulunan balıklar Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi açıklarında uzatmalı fanyalı ağlar ile göle dökülen Karasu Çayından ise üreme göçü esnasında (nisan- temmuz) serpmeye ağlar ile yakalandı. Balıklar Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü Araştırma Laboratuvarına oksijen bağlı taşıma kapları ile getirildi. Balıklar fenoksi etanol (320µl/L) ile anestezi edildi. Yakalanan balıkların total ağırlık ve çatal boyları ölçüldükten sonra kanları kuruk kısımdan alındı ve beyin dokusu disekte edildi. Dokular, rutin histolojik çalışmalar için Bouin ve immunohistokimyasal çalışmalar için ise % 4'lük Paraformaldehit fiksatifleri içerisine alındı. Kan dokuları içerisinde heparin bulunan 5mL lik enjektörlere alındıktan sonra ependorf tüplerine alınarak 1000 g'de +4C'de santrifüj (Sigma, Almanya) edildi. Daha sonra alınan plazmalar melatonin seviyesi belirleninceye kadar -80 °C'de derin dondurucuda (88400V, Thermo, Amerika) bekletildi.

Çalışmada kullanılan balıklar için gerekli olan izinler Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı'ndan (26/02/2019 tarihli ve 3193 sayı) ve Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan (2020/12) alındı.

##### **3.1.2. Laboratuvarında kullanılan materyaller**

Çalışmada aşağıda belirtilen materyal ve cihazlar kullanılmıştır.

- Ependorf tüpü (InoLab, Almanya)
- Falkon tüpü
- Makas,bistüri, pens
- Mikropipet (Thermo, İtalya)
- Pipet ucu
- Santrifüj (Precise, Amerika)



- Mikroskop (DM 6000 Leica Microsystems, Wetzlar, Almanya)
- Spektrofotometre (Shimadzu, Japonya)
- Vorteks (SciLOGEX, Amerika)
- pH metre (InoLab, Almanya)
- Etüv (EN 032 Nüve, Türkiye)

### 3.2. Yöntem

#### 3.2.1. Histolojik çalışmalar ve Boyamalar

Van balıklarında pineal bezin histolojik yapısının belirlenmesi için balıkların kafa kısmı stereo mikroskop (EZ4, Leica, Almanya) altında ince uçlu pensler yardımıyla pineal pozisyon korunarak disekte edildi. Bouin fiksatifine bulunan dokular daha sonra parafine gömme işlemine kadar %70'lik alkol içinde +4 °C'de bekletildi. Parafine gömme işlemi ise aşağıdaki basamaklara göre gerçekleştirildi.

#### Çizelge 3.1. Parafine gömme basamakları

---

1. %70'lik alkol \* iki defa (toplam 1 saat)
  2. %80'lik alkol \* iki defa (toplam 1 saat)
  3. %90'lik alkol \*iki defa (toplam 1 saat)
  4. %100'lük alkol \* iki defa (toplam 1 saat)
  5. %100'lük alkol + ksilol (toplam 15 dakika)
  6. Ksilol-I (15 dakika)
  7. Ksilol-II (15dakika)
  8. Ksilol + parafin (etüv) (15 dakika)
  9. Parafin-I (etüv) (1 saat)
  10. Parafin-II (etüv) (1 saat)
  11. Parafin-III (etüv) (1 saat)
  12. Parafin-III (etüv) aşamasından sonra dokular parafin bloklara gömülür.
-

Parafin içerisindeki dokular tahta bloklara sabitlenerek mikrotom (HM 325, Micron, Walldorf, Almanya) ile 5 µm'lik kesitler alındı. Daha sonra genel histolojik yapının belirlenmesi için, Hematoksilen Eosin ve Toluidine Blue ile boyandı.

### 3.2.1.1 Hematoksilen-Eozin Boyama Metodu

Hematoksilen boyası (Hematoksilen Mayer, Türkiye) ve Eozin boyası (Eozin Y Boyası % 0,5) hazır olarak kullanıldı. Alınan seri kesitler Hematoksilen-Eozin (Çizelge 3.2) boyası ile boyandı.

Çizelge 3.2. Hematoksilen- Eozin basamakları

| Basamaklar         | Süre      |
|--------------------|-----------|
| 1. Ksilol-I        | 5 Dakika  |
| 2. Ksilol-II       | 5 Dakika  |
| 3. %100'lük alkol  | 3 Dakika  |
| 4. %80'lik alkol   | 3 Dakika  |
| 5. %70'lik alkol   | 3 Dakika  |
| 6. Distile su      | 5 Dakika  |
| 7. Hematoksilen    | 6 Dakika  |
| 8. Distile su      | 5 Dakika  |
| 9. Çeşme suyu      | 15 Dakika |
| 10. Eozin          | 3 Dakika  |
| 11. %70'lik alkol  | 3 Dakika  |
| 12. %80'lik alkol  | 3 Dakika  |
| 13. %100'lük alkol | 3 Dakika  |
| 14. Ksilol-I       | 5 Dakika  |
| 15. Ksilol-II      | 5 Dakika  |

Boyanan preparatlar entellan ile kapatılarak ışık mikroskobunda (Leica DMI 6000 B, Almanya) incelendi. Daha sonra görüntülen dokular fotoğraflandı.

### 3.2.1.2. Toluidine Blue Boyama Metodu

Toluidine Blue (Carlo Erba, Türkiye) boyasından 1 g alındı ve 100 ml distile suyun içerisinde çözülerek hazırlandı. Hazırlanan preperatlar Çizelge 3.3'deki basamaklarına göre boyandı.

Çizelge 3.3. Toluidine Blue basamakları

| Basamaklar          | Süre     |
|---------------------|----------|
| 1. Ksilol-I         | 5 Dakika |
| 2. Ksilol-II        | 5 Dakika |
| 3. %100'lük alkol   | 3 Dakika |
| 4. %80'lik alkol    | 3 Dakika |
| 5. %70'lik alkol    | 3 Dakika |
| 6. Distile su       | 5 Dakika |
| 7. Toluidine blue   | 5 Dakika |
| 8. Distile su       | 2 Dakika |
| 9. % 70.'lik alkol  | 3 Dakika |
| 10. %80'lik alkol   | 3 Dakika |
| 11. % 100'lük alkol | 3 Dakika |
| 12. Ksilol-I        | 5 Dakika |
| 13. Ksilol-II       | 5 Dakika |

Ksilolden çıkarılan preperatlar kurutma kağıdı ile kurutuldu. Entellan ile kapatılarak ışık mikroskobunda görüntüsü alındı.

### 3.2.2. İmmünohistokimya

Pineal bezde bulunan melatonin sentezleyen hücrelerin işaretlenmesi ve dağılımının belirlenmesi immunohistokimyasal çalışmalarla gerçekleştirildi. İmmün işaretleme için hazır kitler (Histostain®-Plus Bulk Kit, İnvitrogen, Amerika) kullanıldı. Pineal bez %4'lük paraformaldehit fiksatifine alınıp 24 saat +4 °C'de buzdolabında bekletildi. Fiksatiften alınan dokuya ait örnekler %70'lik etil alkol içerisinde alınıp daha sonra dokular parafin bloklar içerisinde gömüldükten sonra mikrotom yardımıyla 5 µm'lik kesitler alındı. Kesitler adeziv lamalar üzerine aktarıldı. İmmünohistokimyasal boyama başlangıcında kesitler, endojen peroksidaz blokaj solüsyonu (9 birim metanol 1 birim %30'luk hidrojen peroksit) içerisinde 10 dakika bekletildi. Daha sonra 2'şer dakika 3 kez PBS ile yıkandı. Serum blok solüsyonu (Ayrış A) dokunun üzerine kapatacak ya da 2 damla (100 µL) eklenerek 10 dakika bekletildi. Nemli ortamda primer antikor (5HT-H209, Thermo, seyreltme oranı 1:20) solüsyonu ile dokunun üzeri kapatılacak kadar eklendi ve 30-60 dakika oda sıcaklığında bekletildi. Kesitler PBS ile 2'şer dakika 3 kez yıkandı. Dokular biyotin ile işaretlenmiş sekonder antikor (Ayrış B) ile 2 damla (100µL) veya dokunun üzeri kapatılacak şekilde eklenerek 10 dakika bekletildi. PBS ile 3 kez 2'şer dakika yıkandı. Daha sonra kesitler üzerine taze hazırlanan kromojen eklendi. Dokular lamel ile kapatılarak, ışık mikroskobu (Leica DMI 6000B, Almanya) ile incelendi ve görüntüler alındı.

### 3.2.3. İmmünofloresan işaretleme

Balık beyinden alınan kesitler (5µm) alkol ve ksilol serilerinden geçirildikten sonra PBS içinde yıkandı ve % 1 sığır serum albümini ve % 0.1 jelatin içeren PBS solüsyonunda hazırlanmış bir blok solüsyonu ile 10 dakika inkübe edildi. Kesitler, Serotonin monoklonal antikor (5HT-H209, Thermo, seyreltme oranı 1:20) ile buzdolabında +4 °C'de bir gece boyunca inkübe edildi. Kesitler PBS ile yıkandı ve sonra sekonder antikor (1: 100) (Alexa Fluor 488; İnvitrogen, Amerika) ile 2 saat boyunca karanlık koşullar altında bir nemlendirilmiş ortamda inkübe edildi. Tüm slaytlar bir lamel ile kapatıldı ve flouresan ataçmanlı mikroskoba (Leica, Wetzlar, Almanya) bağlı bir dijital kamera ile görüntülendi.

### 3.2.4. MitoTracker boyama

Parafin kesitleri (4–6  $\mu\text{m}$ ) ksilen ve dereceli etanol serilerinden geçirilerek saf suya alındı. Mitokondri boyama için kesitler, oda sıcaklığında 250 nmol / l MitoTracker (Molecular Probes) ile 1 saat inkübe edildi. Preparatlar yıkandı ve lameller ile kapatılarak flouresan mikroskop ile gözlemlendi ve fotoğrafları çekildi.

### 3.2.5. Melatonin seviyesinin belirlenmesi

Göl ve akarsudan örneklenen balıkların kanlarındaki melatonin seviyeleri ticari ELISA kiti (E0003Fi, Bioassay Technology Laboratory, Çin) ile belirlendi. Plazma melatonin seviyesini belirlemek için reaktifler, standart solusyonlar ve örnekler oda sıcaklığında uygun şekilde hazırlandı. Daha sonra örnek ve standartlardan kuyucuklara 50 $\mu\text{l}$  bırakıldı. Kontrol kuyucuklar hariç numune kuyularının herbirine 50 $\mu\text{l}$  biyotinlenmiş antijen eklendi. Daha sonra ise iyice karıştırılarak plakların üzeri kapatıldı ve 37 °C'de 30 dakika inkübatörde (EN 032 Nüve, Türkiye) inkübe edildi. İnkübasyondan çıkarılan plaklar 5 kez yıkama tamponu ile yıkandı. Kuyucuklar her bir yıkama için 30 saniye ile 1 dakika arasında en az 300  $\mu\text{l}$  yıkama tamponu ile yıkandı. Tüm kuyucuklar aspire edildikten sonra 5 kez yıkama tamponu ile yıkandı. Kağıt havlu yardımı ile kurulandı. Daha sonra standart kuyular ve tüm numune kuyularına 50  $\mu\text{l}$  avidin-HRP eklendi ve 37 ° C'de 30 dakika inkübe edildi. Plaklar aspire edildi ve yine aynı şekilde yıkama tamponu ile 5 kez yıkandı. Her kuyucuğa 50  $\mu\text{l}$  substrat solüsyonu A eklendi. Hemen ardında 50  $\mu\text{l}$  substrat B solüsyonu eklendi. Plakanın üzeri kapatılarak 37 °C' de karanlıkta olacak şekilde 10 dakika inkübe edildi. Sonrasında her kuyuya 50 $\mu\text{l}$  durdurma solüsyonu eklenerek 450 nm'ye ayarlanmış bir mikropłaka okuyucu (DasItaly, İtalya) kullanarak her kuyucuğa ait absorbans değeri belirlendi. Melatonin seviyesinin belirlenmesi için, konsantrasyonları bilinen standartların yardımıyla, standart eğri hazırlandı ve bu standart eğri yardımıyla her bir örnekteki melatonin serum seviyeleri pg/mL olarak hesaplandı.

### 3.2.6. İstatistiksel Analiz

Göl ve akarsudan örneklenen balıkların plazma melatonin seviyeleri ortalama  $\pm$  ortalamanın standart hatası olarak verildi. Göl ve akarsu melatonin seviyeleri arasındaki istatistiksel fark t testine göre yapıldı (IBM SPSS Statistics 22). Gruplar arasındaki fark  $p<0.05$ 'e göre anlamlı kabul edildi.

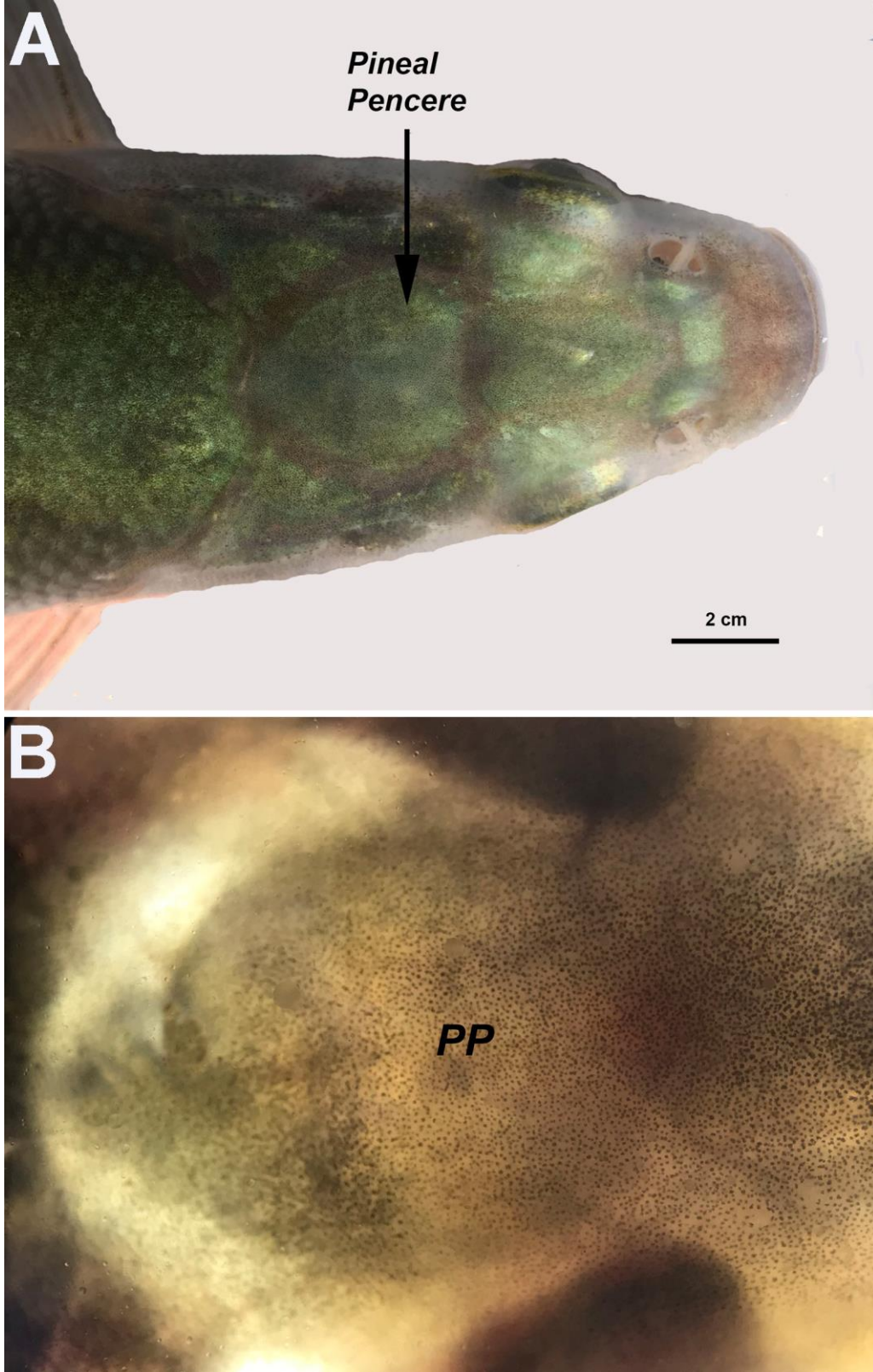
## **4.BULGULAR**

### **4.1. Balık**

Van Gölü Yüzüncü Yıl Üniversitesi açıklarından yakalanan balıklar Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Araştırma Laboratuvar ortamına getirildi. Göl ve akarsudan yakalanan balıklara ait çatal boy ve total ağırlık sırasıyla 19,0-23,9 cm ve 66-152 gr olarak ölçüldü. Örnekleme yapılan dişi ve erkek balıkların 3+ yaşa ve olgun gonadlara sahip olduğu belirlendi.

### **4.2. Pineal Pencere**

Balıklar disekte edilmeden önce pineal kompleksin üzerini örten kafatasının üst kısmında bulunan pineal pencerenin varlığı görüldü. Ayrıca Van balığında ışığın alınıp pineal organa aktarıldığı pineal pencerenin pigmentli ve yarı saydam bir yapıya sahip olduğu kafatasının bu bölgede diğer bölgelere göre daha ince olduğu gözlemlendi. Pineal pencerenin bulunduğu alandaki melanosit hücrelerinden kaynaklı pigmentasyonun derinin diğer bölgeleri ile karşılaştırıldığında daha seyrek olduğu belirlendi (Şekil 4.1.). Belirtilen bu özelliklerin dişi ve erkek balıklarda da değişmediği gözlemlendi.



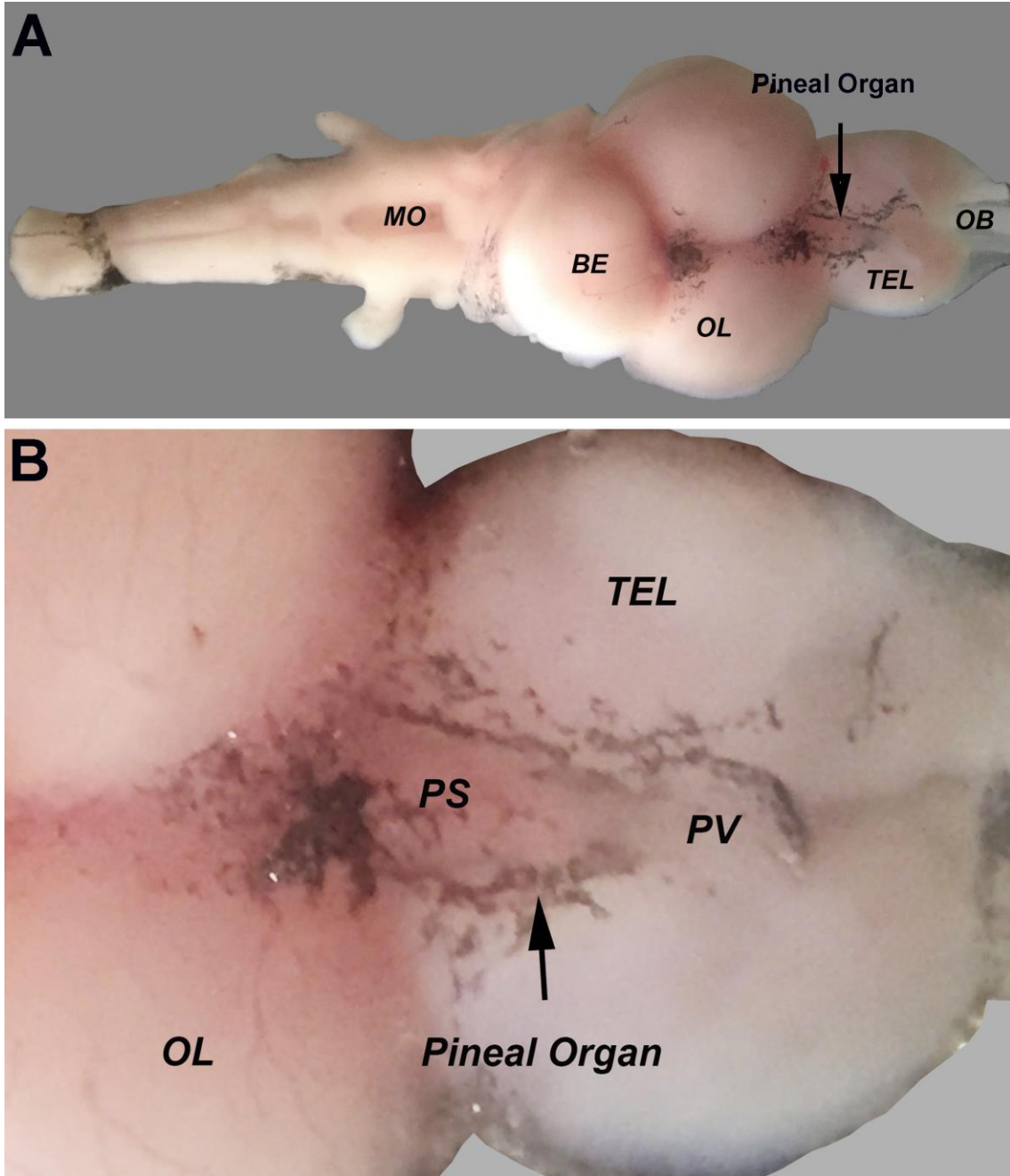
Şekil 4. 1. Van balığında pineal pencerenin lokalizasyonu (A) ve Pineal pencerede bulunan melenoför hücrelerinin yoğunluğu (B) (PP: Pineal Pencere).

### 4.3. Pineal Bez Morfolojisi

Van balıklarının kafa kısmı stereo mikroskop altında ince uçlu pensler yardımıyla pineal pozisyon korunarak beyin disekte edilerek çıkarıldı. Beynin dorsal olarak görüntüsü alındı ve kısımları Şekil 4.2.'de gösterildi. Van balığının pineal organı ön beyne dorsal olan telensefalik yarımkürelerin optik tektum ile kesiştiği orta çizgide beyne teğetsel olarak konumlandığı belirlendi. Pineal bez ön beyne rostral olarak konumlanmıştır ve kıkırdağımsı bir görünüm sergiler. Van balığında pineal kompleksin pineal vezikül, pineal sap ve dorsal keseden oluştuğu görüldü. Van balığında pineal organın beyinde ki genel görüntüsü ise Şekil 4.2'de gösterildi.







Şekil 4.2. Van balığının beyninin dorsal olarak görünümü ve pineal organın beyindeki yakından görünümü. (OB: Olfaktör Bulbus, TEL: Telensefelon, OL: Optik Lob, BE: Beyincik, MO: Medulla Oblangata, PV: Pineal Vezikül, PS: Pineal Sap)

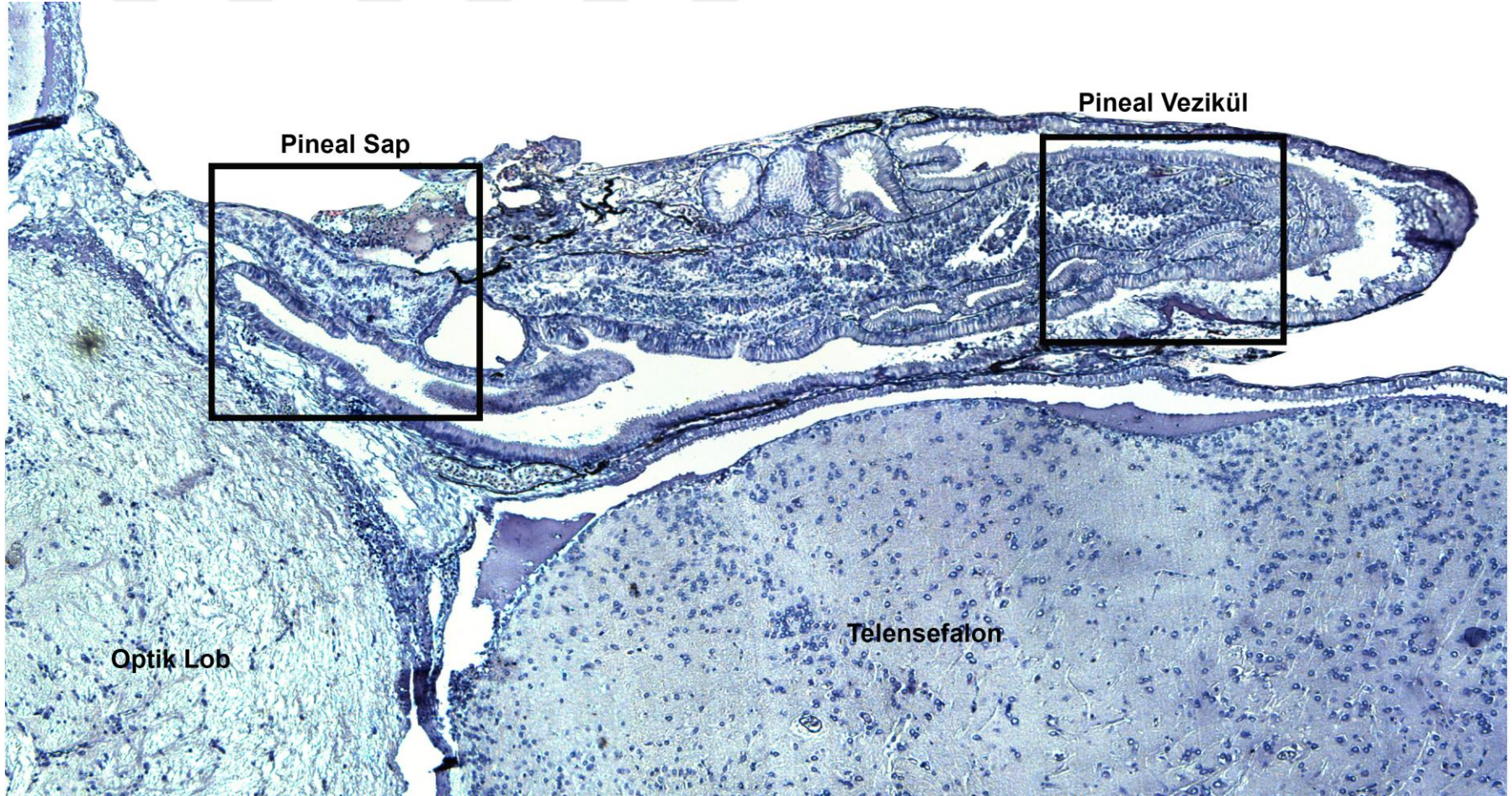
#### 4.4. Pineal Bez Histolojisi

Beyinden segital düzlemde alından kesitlerle pineal bezin histolojisi incelenmiştir. Pineal kompleks pineal organ ve dorsal keseden oluşmaktadır. Diğer

teleost balıklarında olduğu gibi Van balığının pineal organının genel histolojisine bakıldığında küçük bir pineal vezikül ve dar, kısa bir pineal saptan oluştuğu gözlemlenmiştir (Şekil 4.3.). Pineal organ beyine pineal sapın bitiminde habenular kommissurden bağlandığı görülmüştür (Şekil 4.8.).

Pineal vezikül lümeni etrafında daha yoğun hücreler belirlendi. Pineal sap kısmında ise daha seyrek ve lümen etrafında iki sıra halinde hücreler tespit edildi. Beynin dorsal kısmına denk gelen histolojik incelemizde pineal sapın sağ habenular komissür ile bağlatılı olduğu gözlemlendi. Tek katlı epitel dokudan oluşan içi boş kıvrımlı yapı olarak beliren dorsal kese pineal sapın hemen bitiminde onu çevreler şekilde incelenmiştir.



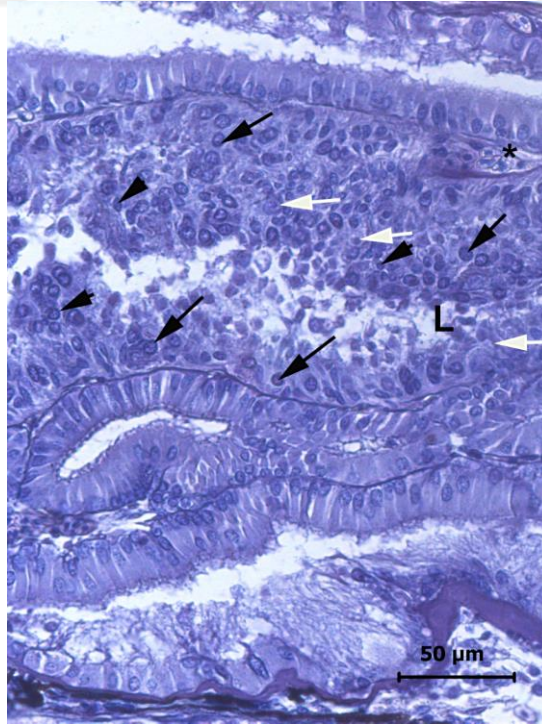


Şekil 4.3. Van balığında pineal kompleksin genel histolojik görüntüsü.

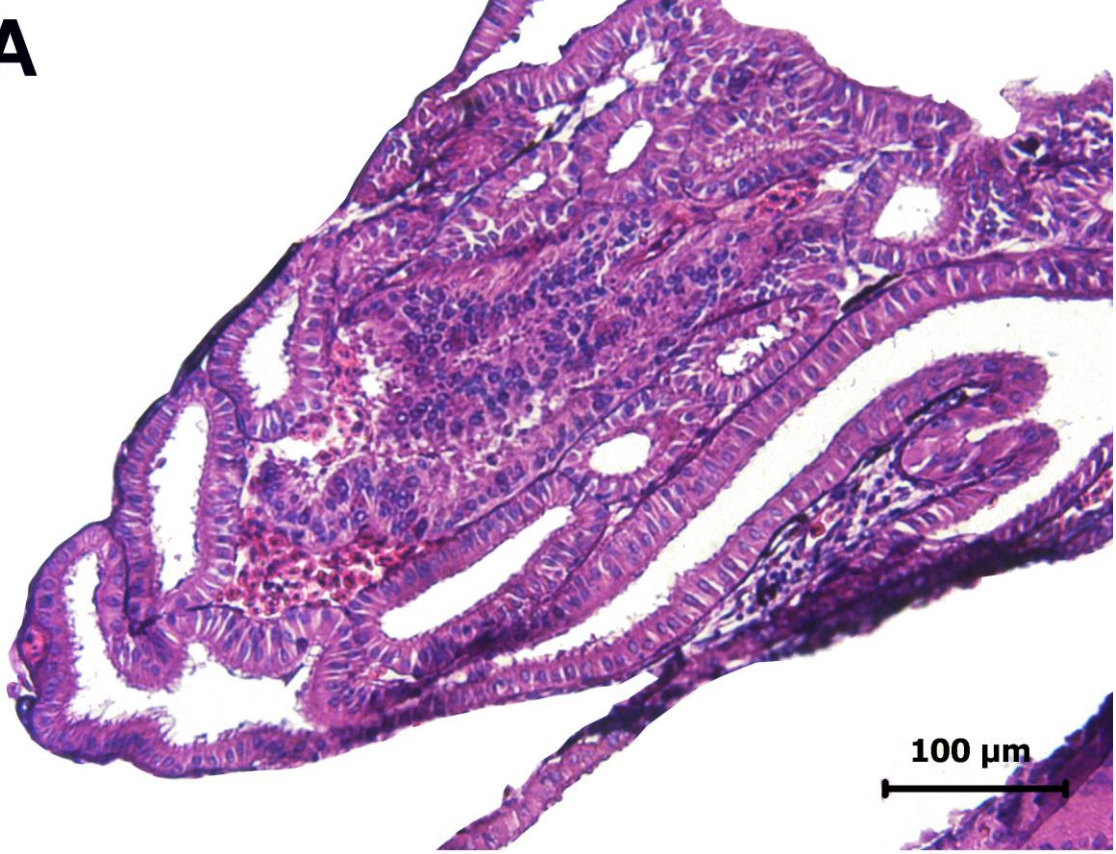
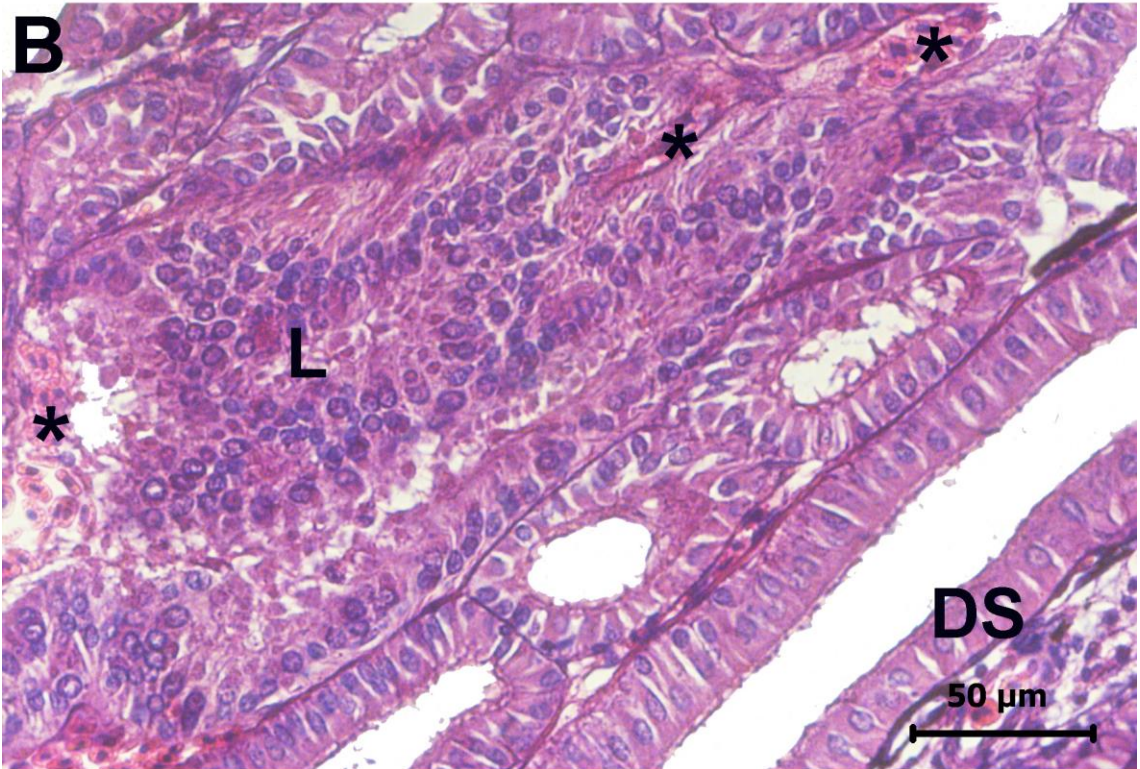


#### 4.4.1 Pineal Vezikül

Pineal bezin uç vezikül kısmı ön beyne doğru uzanmış bağ doku ile kafatasına tutturulmuş gibi görünür. Pineal pencerenin hemen altındadır. Çok küçük ebata sahiptir. Pineal vezikülün anterior- posterior uzunluğu yaklaşık 841  $\mu\text{m}$ , dorsal-ventral genişliği ise yaklaşık 238  $\mu\text{m}$  olarak ölçülmüştür. Pineal vezikül içinde geniş lümen bulunur. Lümen lateral, anterior ve posterior uçlara doğru daralır, vezikülün orta kısmında daha geniş bir yer kaplamaktadır (Şekil 4.6.). Pineal vezikül çok katlı kıvrımlı epitele sahiptir ve çok sayıda pinealosit hücresi içerir. Vezikülde büyük kan damarları bulunmaktadır. Pineal bezin parankimasında 3 farklı hücre tipi görülmüştür. Birinci hücre tipi mor-pembe çekirdekli yuvarlak büyük hücreler olan fotoreseptör hücreleri yani pinealositlerdir. Epifizin lümeninin çevresinde yoğun olarak gözlenmiştir. İkinci hücre tipi daha küçük, koyu mor çekirdekli oval hücreler olan muhtemelen glial hücreleri yani destek hücreleri olarak gözlenmiştir. Üçüncü hücre ise sinir hücreleridir. Hücrelerin mikroskopik görüntüsü Şekil 4.4, Şekil 4.5. ve Şekil 4.7.'de detaylı olarak gösterilmiştir.

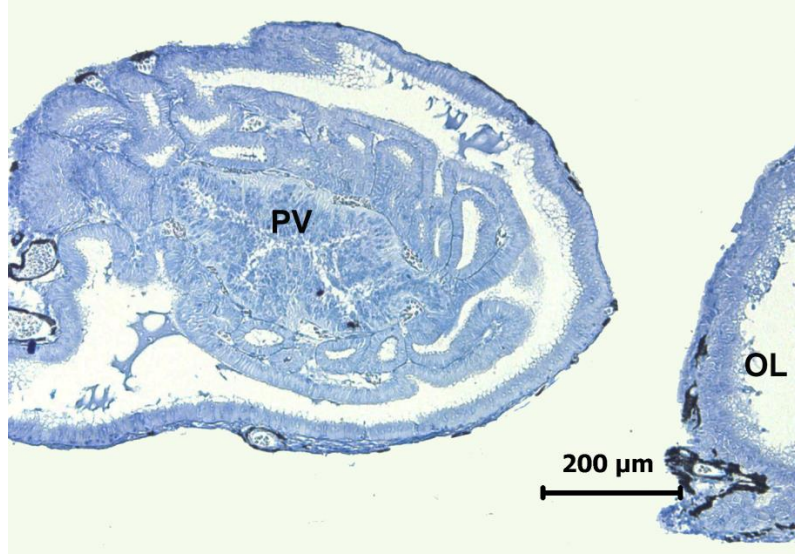


Şekil 4.4. Pineal vezikülün Hematoksilen-Eozin Boyası ile boyanması (Uzun ok: Pinealosit hücreleri, Kısa ok: Glia hücreleri, Beyaz ok: Sinir hücreleri, L: Lümen, \*: Kan damarları).

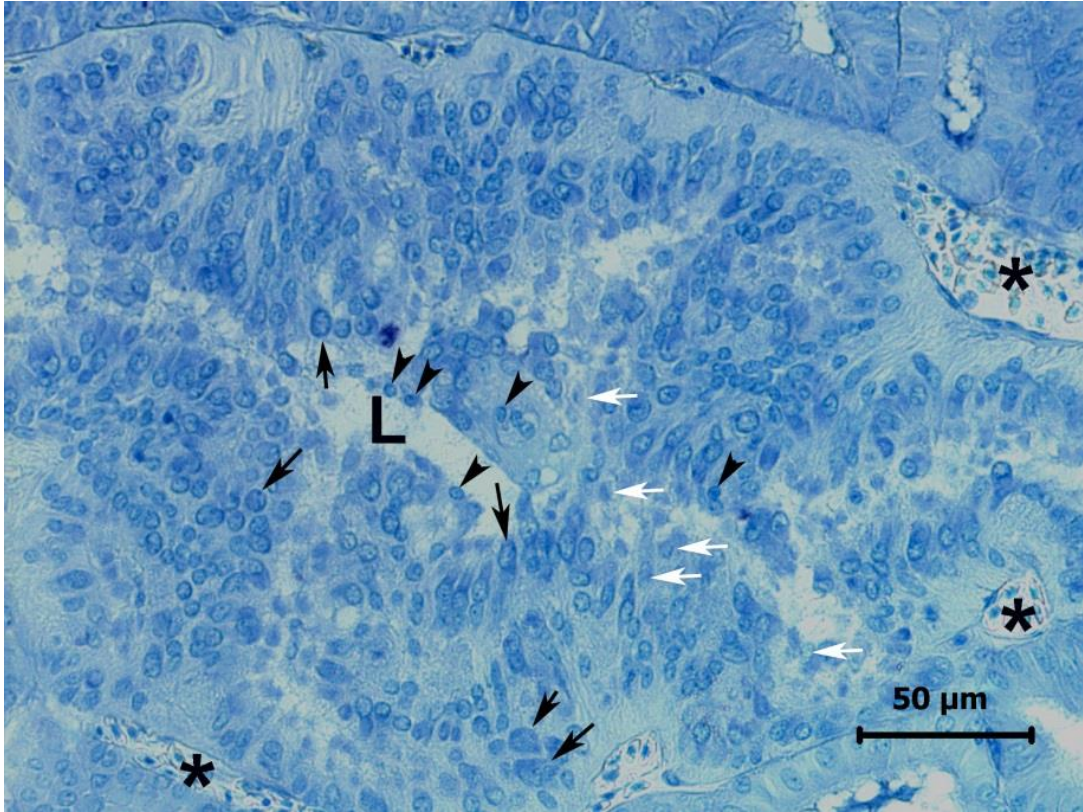
**A****B**

Şekil 4.5. Pineal vezikülün Hematoksilen-Eozin Boyası ile boyanması. (L: Lümen, \*: Kan damarları, DS: Dorsal sac(kese)).





Şekil 4.6. Pineal bezin Toluidine Blue boyası ile boyanmış görüntüsü (PV: Pineal Vezikül, OL: Optik Lob ).



Şekil 4.7. Pineal vezikül içerisinde farklı tipteki hücreler (Toluidine Blue) (Uzun ok: muhtemel pinealosit hücresi, Kısa ok: muhtemel glia hücreleri, Beyaz ok: sinir hücreleri \*: Kan damarları, L: lümen).

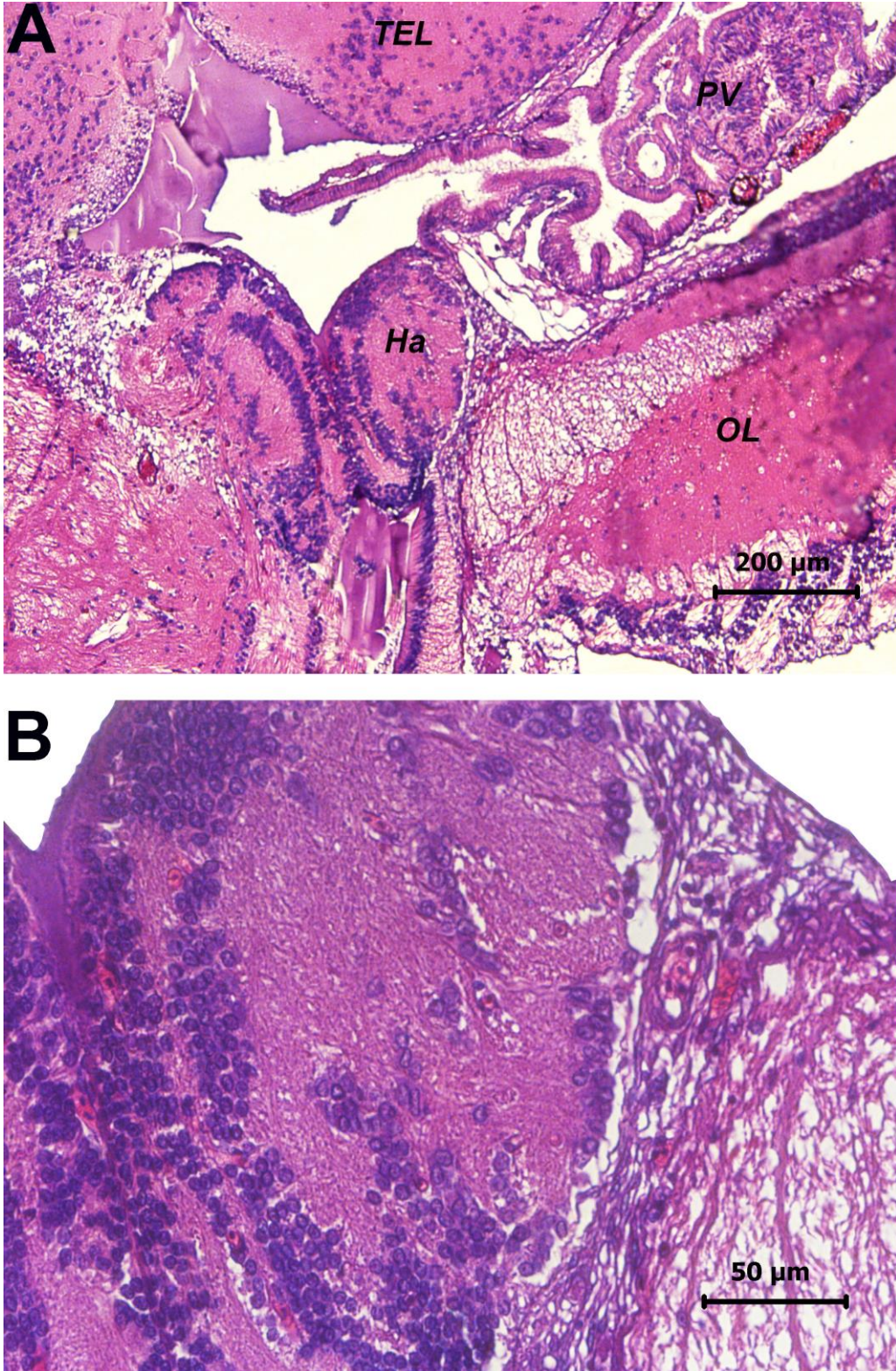
#### 4.4.2. Pineal Sap

Pineal sap pineal vezikülden aşağı doğru uzanır ve serebral hemisferlere yakınlığı görülmüştür. Telensefelon yarımkürelerin optik lob ile keştiği yerde konumlanır. Habanular komissur seviyesinde beyne bağlanır (Şekil 4.4.). Pineal sap pineal vezikülün yakınında ince yapılıdır, dar ve uzun lümene sahiptir. Pineal sap anterior-posterior uzunluğu yaklaşık 275 µm ve dorsal- ventral genişliği ise 108 µm olarak ölçülmüştür. Pineal hücreler iki sıra halinde sıralanmıştır. Pineal sapın parankiması vezikülün yapısına benzer bir yapı sergiler. Katlanmış epitele sahiptir. Pineal vezikülde bulunan hücreler burada da bulunmaktadır. Daha seyrek hücre sergilemektedir (Şekil 4.9.).

#### 4.4.3. Dorsal Kese

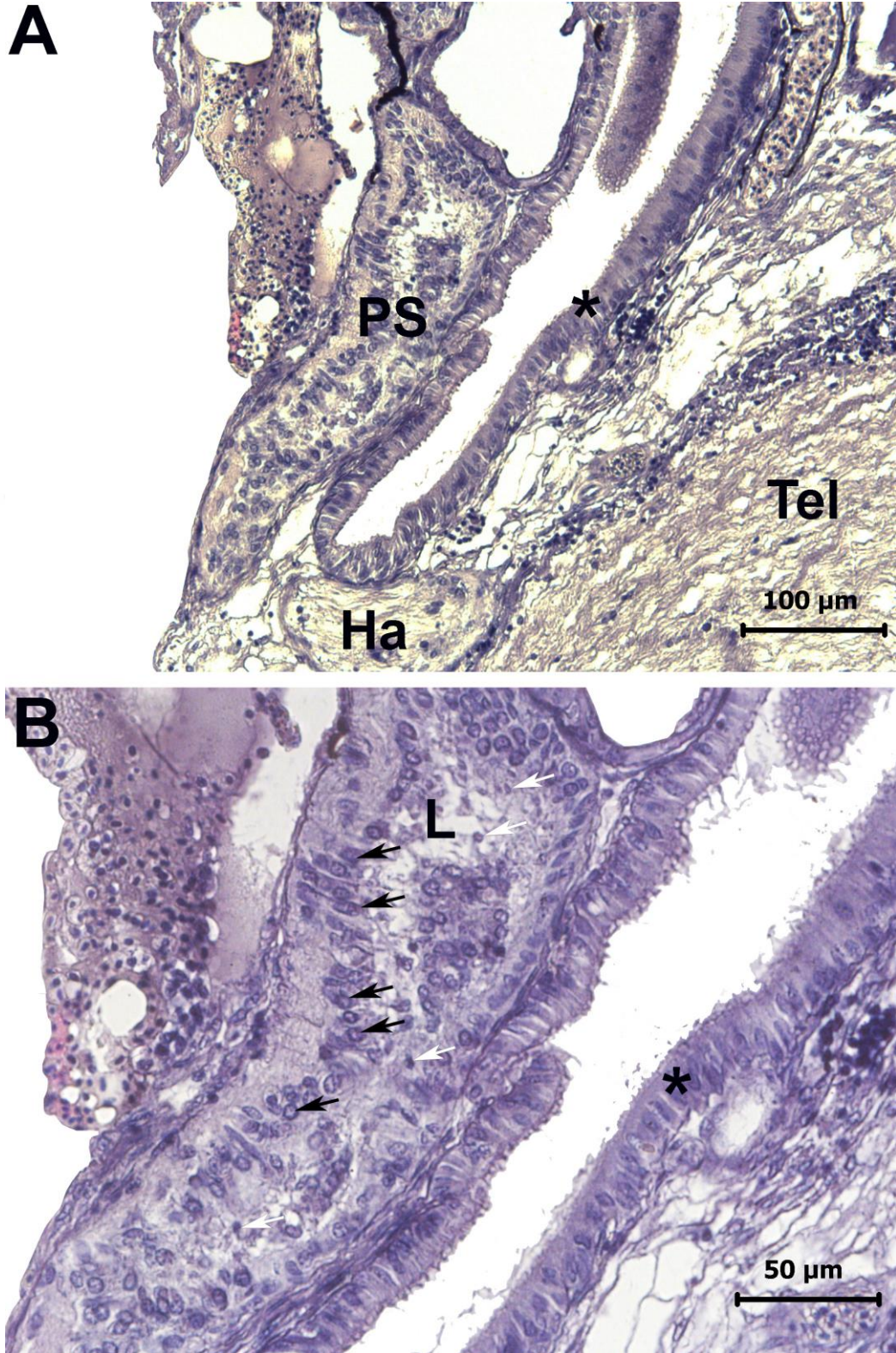
Dorsal kese pineal sapın tabanında bulunan ve onu çevreleyen bir yapı olarak gözlemlendi. İçi boş ve kıvrımlı yapıya sahip olduğu belirlendi. Dorsal kese koyu mor çekirdekli gri lekeli stoplazması bulunur. Birbirine yakın sıkı paketlenmiş sütunler halinde hücreler sergiyelen tek katlı epitelden oluştuğu gözlemlenmiştir. Dorsal kesenin epitel duvarlarında iyi gelişmiş damar sistemi görülmüştür (Şekil 4.9 ve Şekil 4.5.).





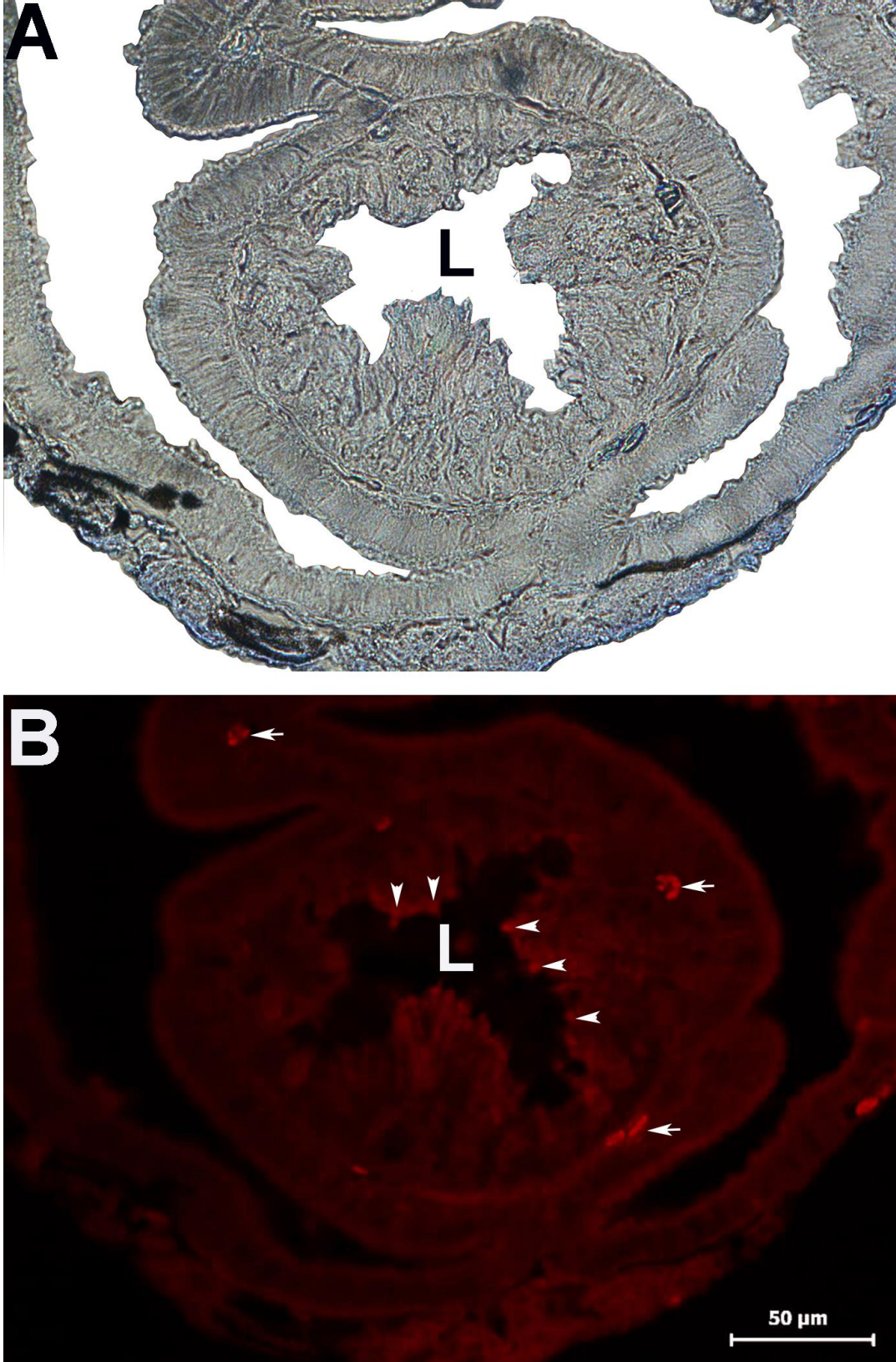
Şekil 4.8. Pineal bezin genel görünümü (A) ve bezin beyne bağlandığı Habenular komissure yapı (B). (Ha: Habenular Komissure, OL: Optik Lop, TEL: Telensefalon, PV: Pineal Vezikül).





Şekil 4.9. Pineal sapın Hematoksilen-Eozin Boyası ile boyanması (Ha: habenular çekirdek PS: Pineal Sap, TEL: Telensefalon, Siyah ok: Pinealosit hücreler, Beyaz ok: glia hücreleri L: Lümen \* Dorsal kese ).

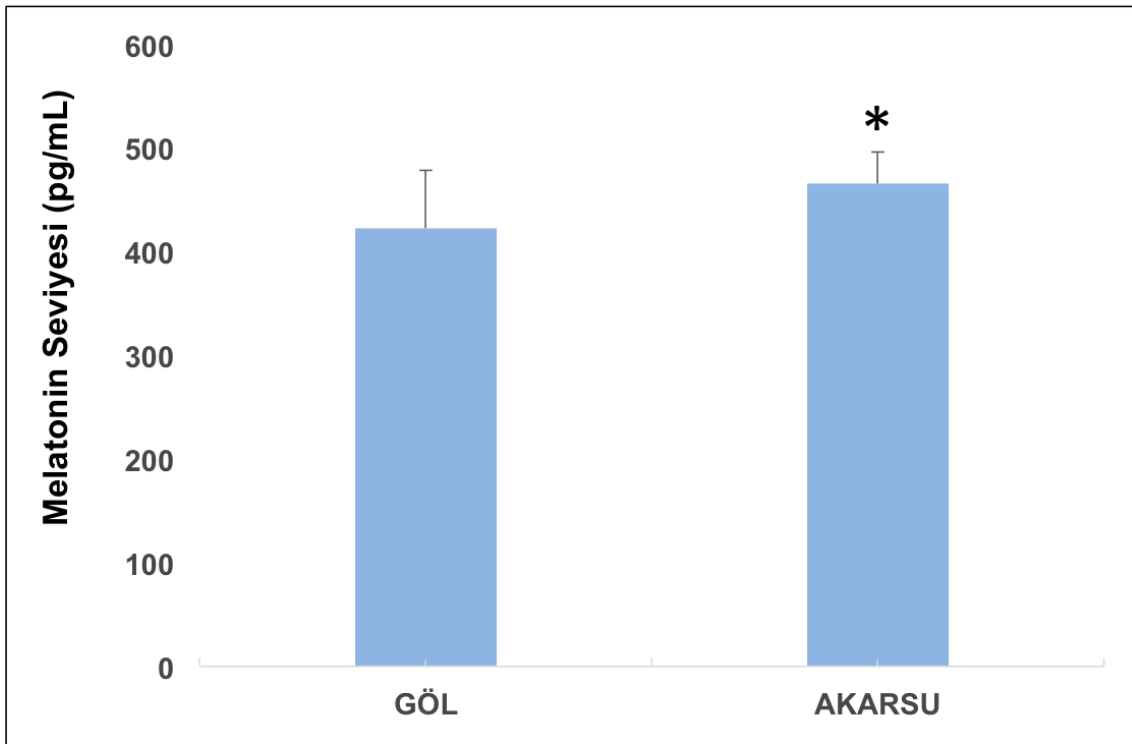




Şekil 4.10. Van balığında pineal vesikülde melatonin sentezleyen pineosit hücrelerinin immünofluoresan görüntüleri (L: lümen, Uzun ok; kan damarları, kısa ok: pinealosit).

#### 4.5. Melatonin Seviyeleri

Van balığı plazma melatonin seviyesi gölden örneklenen balıklarda  $422.50 \pm 55.44$ , akarsudan örneklenen balıklarda ise  $465.50 \pm 30.12$  olarak ölçülmüştür. Akarsudan örneklenen Van balıklarındaki melatonin seviyelerinde artış gözlenmiştir (Şekil 4.11.). Bu artış istatistik olarak önemlidir ( $P < 0.05$ ).



Şekil 4.11. Göl ve akarsudan yakalanan Van balığı plazma melatonin seviyeleri (pg/mL). \*:  $P < 0.05$ .

## 5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Bu çalışma ile ilk defa Van balığı pineal bezinin anatomik, histolojik ve immunohistokimyasal yapısı belirlendi. Bez en büyük balık grubu olarak bilinen teleostlarda kafatası kemiğinde pineal pencere adı verilen bir bölgenin hemen altında yer alır. Bu kısımda bulunan melenoför içeriği kafatasının diğer kısımlarına göre azdır. Işığın alınıp pineal organa aktarıldığı önemli bir yapıdır. *Solea senegalensis* (Confente ve ark., 2008) ve *Dicentrarchus labrax* (Herrera- Perez ve ark., 2011) da belirtildiği gibi Van balığında da pineal pencere diğer teleostlarda olduğu kadar belirgin bir yapıda olmasa da bölgenin kırkırdığı bu seviyede incelik ve yarı saydamlaşır. Van balığında da pineal bez hem sekretuar hem de fotosensör özelliktedir. Bu nedenle pineal pencere üzerinde bulunan melenoförlerin hem az yoğun hem de pineal bez üzerinde bulunan kafatasının ince olması ışığın beze iletilmesinde kolaylık sağlar (Confente ve ark., 2008; Rincón Camacho ve ark., 2016). Bu şekilde ışığın beze kolay iletilmesi fotoperiyot değişikliklerinin algılanmasına yardımcı olur.

Yapılan çalışmalarda pineal bezin şeklinin, boyutunun ve görünümünün farklı balık grupları arasında değişiklik gösterdiği belirtilmiştir. Fakat pineal bez tüm balık gruplarında bulunur ve beynin dorsal kısmında yer alır (Arendt, 1995; Papoutsoglou, 2012). Van balığında pineal bez morfolojik olarak incelendiğinde diğer balıklarda olduğu gibi telensefalik yarım kürelerin optik tektum ile birleştiği yerde ön beyne dorsal olduğu belirlendi.

Pek çok balık türünde pineal bezin histolojik, immunohistokimyasal ve elektron mikroskopik yapısı çalışılmıştır (*Solea senegalensis*, Confente ve ark., 2008; *Salvelinus alpinus* L, Musæus, 2009; *Dicentrarchus labrax*, Herrera- Perez ve ark., 2011; *Cichlasoma dimerus*, Birba ve ark., 2014; *Paracheirodon axelrodi* ve *Aphyocharax anisitsi*, Rincón Camacho ve ark., 2016). Bunun sonucunda pineal bezin parapineal organ ve pineal organdan meydana geldiği belirtilmiştir. Parapineal organ pineal bezin altında pineal sapın bitiminde habenular komissür üzerinde yer aldığı bildirilmiştir (Ekström ve Meissl, 1997; Confente ve ark., 2008; Papoutsoglou, 2012). Van balığında pineal bezin histolojisinin diğer balık türlerinde olduğu gibi kompleks bir yapıdan oluştuğu gözlemlendi (Confente ve ark., 2008; Herrera-Pérez ve ark., 2011). Buna göre

bezin pineal vezikül, bezi beyne bağlayan bir sap ve dorsal kese kısımlarından oluştuğu gözlemlendi. Pineal sapın etrafını çevreleyen dorsal kese kıvrımlı tek katlı epitelten oluşmaktadır. Van balığında parapineal organ histolojik incelemeler sonucunda net olarak gözlenmedi. Musæus, (2009) Salvelinus alpinus'da parapineal organın bulunmadığını belirtmiştir. Ayrıca pek çok canlının lavral formunda bulunan parapineal organın erişkin balıklarda gözlenmediği bildirilmiştir (Concha ve Wilson, 2001; Ishikawa ve ark., 2015). Van balığında parapineal organın erişkinlerde görülmemesi balığın gelişim dönemiyle ilişkili olabilir. Bunun net olarak ortaya konulması için pineal bezin embriyonik gelişiminin çalışılması gerekmektedir.

Pineal bez içerisinde farklı tipte hücre grupları histolojik ve immünohistokimyasal işaretlemeler ile belirlendi. Pinealositler, glial hücreler ve sinir hücreleri pineal vezikül ve sap kısmında gözlemlendi. Mor-pembe çekirdekli yuvarlak büyük hücreler fotoreseptör hücreleri pinealositler olarak tanımlandı. Bezdeki diğer bir hücre olan muhtemelen glial hücreler olan destek hücreleri daha küçük, koyu mor çekirdekli oval hücreler olarak gözlenmiştir. Pinealositler immünohistokimyasal olarak kullanılan serotonin antikoru ile çapraz reaksiyon oluşturmadı. Bu nedenle ilgili insan serotonin monoklonal antikoru ile işaretleme yapılamadı. Bunun nedeni antikorun türe spesifik olmasından kaynaklanmış olabilir. Tan ve ark (2018), pinealositlerin diğer hücrelere göre daha yoğun mitokondriye sahip olduklarını ve melatonin sentezinin gerçekleştiği kısmın mitokondriler olduğu bildirmişlerdir. Bu nedenle yapılan bu çalışmada mitokondri işaretleyen flouresan bir boyama yapılarak pinealositler yoğun mitokondri içeriği sayesinde bulundukları vezikül lümen çevresinde görüntülenmiştir (Ekström ve Meissl, 1997; Herrera-Pérez ve ark., 2011; Holmgren, 2011).

Canlılarda pineal bezden salgılanan melatonin seviyeleri gün içerisinde değişiklik gösterir. Van Gölü ve akarsu balık örneklemeleri aynı saat aralıklarında gerçekleştirildi. Son zamanlarda yapılan bir çalışmada mevsimsel değişimlerin yıllık ve günlük melatoninin seviyelerini etkilediği gösterilmiştir (Vera ve ark., 2007). Ayrıca uzun süreli ışık ve sabit sıcaklık altında melatonin seviyelerinin değiştiği gonadal gelişimin ve yumurtlamanın bozulduğu belirtilmiştir (García-López ve ark., 2006). Bu faktörlerin haricinde hormon seviyesinin balık yoğunluğuna, su sıcaklığına ve fotoperiyoda bağlı olarak da değişim gösterdiği bildirilmiştir (Guellard ve ark., 2019). Van balığı plazma melatonin seviyesi balığın Van Gölünden tatlısuya girdiği dönemde

artış gösterdiği belirlendi. Van balığında melatonin seviyesindeki artışın sebebi üreme döneminde balıkların yoğun sürüler oluşturması ve su sıcaklığının artmasına bağlı olabilir. Ayrıca melatoninin balıklarda dolaylı olarak gonad gelişmesine etkisinin olduğu da unutulmamalıdır (Maitra ve ark., 2013). Van balıklarında üremeden hemen önce gonadosomatik indeks değerinin en yüksek seviyede olduğu (Oğuz ve Ünal, 2012; Oğuz ve ark., 2015) göz önüne alındığında melatoninin yumurta gelişimi üzerinde de etkisi olabileceği düşünülmektedir. Son yıllarda melatonin hormonun antioksidan enzimlerine benzer etkilere sahip olduğuna dair bazı çalışmalar da bulunmaktadır (Reiter, 1996; Reiter ve ark., 2003; Gülçin ve ark., 2009; Maitra ve Hasan, 2016). Van balığının üreme dönemi süresince çevrede yoğun tarımsal ve hayvancılık faaliyetleri gerçekleştirilmektedir. Bu faaliyetler sonucunda pek çok kimyasalın kullanıldığı ve bu kimyasalların suya karıştığı bilinmektedir (Aksoy ve ark., 2011). Melatonin seviyesindeki artışın bir diğer nedeni de balıkların tatlı suda maruz kaldığı bu kimyasallar olabilir.

Ortamin pH ve tuzluluk gibi faktörler balık fizyolojisi üzerinde önemli etkisi olan iki dış etkindir (Boeuf ve Payan, 2001). Salmonitler üzerine yapılan bir çalışmada deniz suyuna giren balıklarda melatonin seviyesinin azaldığı böylece tuzluluk oranının fazla olması da melatonin seviyesini etkilediği belirtilmiştir (Gern ve ark., 1984). Van Gölü deniz suyu kadar tuzlu olmasa da %22'lik tuz oranına sahip olup akarsudan daha tuzludur. Bu bilgiler doğrultusunda göl suyunda ki tuzluluk oranının fazla olması melatonin seviyelerinin azalmasına neden olmuş olabilir. Ayrıca balıklar tatlı suya girdiklerinde pek çok stres faktörü ile karşı karşıyadır. Bunlar bakteri ve parazitik enfeksiyonları, avcı baskısı (su yılanı, martı ve insanlar gibi) ve balık yoğunluğu gibi faktörlerdir. Bu süreçte dokularda oluşacak oksidatif stres Van balıklarında pineal bezden salgılanan melatonin seviyesini de artırmış olabilir.

Sonuç olarak Van balığının pineal bezinde yapılan anatomik ve histolojik çalışmalar diğer teleost balıklarıyla karşılaştırıldığında önemli bir fark bulunmamıştır. *Astyanax mexicanus* (Herwig, 1976), *Oryzias latipes* (Takahashi ve Kasuga, 1971), *Solea senegalensis* (Confente ve ark., 2008), *Dicentrarchus labrax* (Herrera-Perez ve ark., 2011) ve *Cichlasoma dimerus* (Birba ve ark., 2014) gibi bazı teleost balıklarınkine benzer özelliklere sahip olduğu belirlenmiştir. Melatonin seviyelerinin tatlı suda artış göstermesi pek çok nedene bağlı olabilir. Bu nedenle melatonin seviyelerindeki

değişimlerin detaylı olarak araştırılması gerekmektedir. Yaptığımız bu çalışma sonucunda elde edilen bulgular balığın biyolojisine katkı sağlamaktadır.





## KAYNAKLAR

- Aksoy, A., Das, Y. K., Yavuz, O., Guvenc, D., Atmaca, E., Agaoglu, S., 2011. Organochlorine pesticide and polychlorinated biphenyls levels in fish and mussel in Van region, Turkey. **Bulletin Of Environmental Contamination and Toxicology**, **87**(1): 65-69.
- Amano, M., Iigo, M., Ikuta, K., Kitamura, S., Yamada, H., Yamamori, K., 2000. Roles of melatonin in gonadal maturation of underyearling precocious male masu salmon. **General and Comparative Endocrinology**, **120**(2): 190-197.
- Arendt, J., 1995. The pineal gland: basic physiology and clinical implications. **Endocrinology**, **1**: 432-44.
- Atasoy, Ö. B., Erbaş, O., 2017. Melatonin hormonunun fizyolojik etkileri. **FNG & Bilim Tip Dergisi**, **3**(1):52-62
- Bayarri, M. J., Rodriguez, L., Zanuy, S., Madrid, J. A., Sanchez-Vazquez, F. J., Kagawa, H., Carrillo, M., 2004. Effect of photoperiod manipulation on the daily rhythms of melatonin and reproductive hormones in caged European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). **General and Comparative Endocrinology**, **136**(1): 72-81.
- Bergmann, G., 1971. Elektronenmikroskopische Untersuchungen am Pinealorgan von *Pterophyllum scalare* Cuv. et Val.(Cichlidae, Teleostei). **Zeitschrift für Zellforschung and Mikroskopische Anatomie**, **119**(2): 257-288.
- Boeuf, G., Payan, P., 2001. How should salinity influence fish growth?. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology**, **130**(4): 411-423.
- Breton, B., Mikolajczyk, T., Popek, W., 1993. The neuroendocrine control of the gonadotropin (GtH2) secretion in teleost fish. **Aquaculture: Fundamental and Applied Research**, 199-215
- Bromage, N., 2001. The environmental regulation of maturation in farmed finfish with special reference to the role of photoperiod and melatonin. **Aquaculture**, **197**: 63-98.
- Bubenik, G. A., 2002. Gastrointestinal melatonin: localization, function, and clinical relevance. **Digestive Diseases and Sciences**, **47**(10): 2336-2348.
- Cassone, V. M., 1990. Effects of melatonin on vertebrate circadian systems. **Trends in Neurosciences**, **13**(11): 457-464.
- Chaudhuri, H., 1997. Environmental regulation of gonadal maturation and spawning in fishes. **Frontiers In Environmental and Metabolic Endocrinology**, 91-100.
- Concha, M. L., Wilson, S. W., 2001. Asymmetry in the epithalamus of vertebrates. **The Journal of Anatomy**, **199**(1-2): 63-84.
- Confente, F., El M'Rabet, A., Ouarour, A., Voisin, P., De Grip, W. J., Rendón, M. C., Muñoz-Cueto, J. A., 2008. The pineal complex of Senegalese sole (*Solea senegalensis*): Anatomical, histological and immunohistochemical study. **Aquaculture**, **285**(1-4): 207-215.
- Danulat, E., Selçuk, B., 1992. Life history and environmental conditions of the anadromous *Chalcalburnus tarichi* (Cyprinidae) in the highly alkaline **Lake Van, eastern Anatolia, Turkey**. **Archiv für Hydrobiologie** **126**(1): 105-125.
- Delgado, M. J., Vivien-Roels, B., 1989. Effect of environmental temperature and photoperiod on the melatonin levels in the pineal, lateral eye, and plasma of the

- frog, *Rana perezi*: importance of ocular melatonin. ***General and Comparative Endocrinology***, **75**(1): 46-53
- Ekström, P., Foster, R. G., Korf, H. W., Schalken, J. J., 1987. Antibodies against retinal photoreceptor-specific proteins reveal axonal projections from the photosensory pineal organ in teleosts. ***Journal of Comparative Neurology***, **265**(1): 25-33.
- Ekström, P., Meissl, H., 1997. The pineal organ of teleost fishes. ***Reviews in Fish Biology and Fisheries***, **7**(2): 199-284.
- Falcon, J., Bégay, V., Besse, C., Ravault, J. P., Collin, J. P., 1992. Pineal photoreceptor cells in culture: fine structure, and light/dark control of cyclic nucleotide levels and melatonin secretion. ***Journal of Neuroendocrinology***, **4**(5): 641-651.
- Falcon, J., Migaud, H., Munoz-Cueto, J. A., Carrillo, M., 2010. Current knowledge on the melatonin system in teleost fish. ***General and Comparative Endocrinology***, **165**(3): 469-482.
- Filadelfi, A. M. C., Castrucci, A. M. D. L., 1996. Comparative aspects of the pineal/melatonin system of poikilothermic vertebrates. ***Journal of Pineal Research***, **20**(4): 175-186.
- Firth, B. T., Kennaway, D. J., 1987. Melatonin content of the pineal, parietal eye and blood plasma of the lizard, *Trachydosaurus rugosus*: effect of constant and fluctuating temperature. ***Brain Research***, **404**(1-2): 313-318.
- Foster, R. G., Hankins, M. W., 2002. Non-rod, non-cone photoreception in the vertebrates. ***Progress in Retinal and Eye Research***, **21**(6): 507-527.
- García-Fernandez, J. M., Jimenez, A. J., Gonzalez, B., Pombal, M. A., Foster, R. G., 1997. An immunocytochemical study of encephalic photoreceptors in three species of lamprey. ***Cell and Tissue Research***, **288**(2): 267-278.
- García-López, Á., Pascual, E., Sarasquete, C., Martínez-Rodríguez, G., 2006. Disruption of gonadal maturation in cultured Senegalese sole *Solea senegalensis* Kaup by continuous light and/or constant temperature regimes. ***Aquaculture***, **261**(2): 789-798.
- Gern, W. A., Greenhouse, S. S., 1988. Examination of in vitro melatonin secretion from superfused trout (*Salmo gairdneri*) pineal organs maintained under diel illumination or continuous darkness. ***General and Comparative Endocrinology***, **71**(1): 163-174.
- Gern, W., Dickhoff, W. W., Folmar, L. C., 1984. Increases in plasma melatonin titers accompanying seawater adaptation of coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). ***General and Comparative Endocrinology***, **55**(3): 458-462.
- Herrera-Pérez, P., Servili, A., Rendón, M. C., Sanchez-Vazquez, F. J., Falcon, J., Munoz-Cueto, J. A., 2011. The pineal complex of the European sea bass (*Dicentrarchus labrax*): I. Histological, immunohistochemical and qPCR study. ***Journal of Chemical Neuroanatomy***, **41**(3): 170-180.
- Herwig, H. J., 1976. Comparative ultrastructural investigations of the pineal organ of the blind cave fish, *Anoptichthys jordani*, and its ancestor, the eyed river fish, *Astyanax mexicanus*. ***Cell and Tissue Research***, **167**(3): 297-324.
- Ishikawa, Y., Inohaya, K., Yamamoto, N., Maruyama, K., Yoshimoto, M., Iigo, M., Ito, H., 2015. The parapineal is incorporated into the habenula during ontogenesis in the medaka fish. ***Brain, Behavior and Evolution***, **85**(4): 257-270.
- Keleştimur, H., 1996. İnsanda pineal bezin fonksiyonları. ***Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi***, **10**: 141-147.

- Khan, I. A., Thomas, P., 1996. Melatonin influences gonadotropin II secretion in the Atlantic croaker (*Micropogonias undulatus*). ***General and Comparative Endocrinology***, **104**(2): 231-242.
- Klein, D. C., 2007. Arylalkylamine N-acetyltransferase: "the Timezyme". ***Journal of Biological Chemistry***, **282**(7): 4233-4237.
- Kulczykowska, E., Kalamarz, H., Warne, J. M., Balment, R. J., 2006. Day-night specific binding of 2-[125 I] Iodomelatonin and melatonin content in gill, small intestine and kidney of three fish species. ***Journal of Comparative Physiology B***, **176**(4): 277.
- Lee, P. P. N., Shiu, S. Y. W., Chow, P. H., Pang, S. F., 1995. Regional and Diurnal Studies of Melatonin and Melatonin Binding Sites in the Duck Gastro-Intestinal Tract. ***Neurosignals***, **4**(4): 212-224.
- Lee, P. P. N., Shiu, S. Y. W., Chow, P. H., Pang, S. F., 1995. Regional and Diurnal Studies of Melatonin and Melatonin Binding Sites in the Duck Gastro-Intestinal Tract. ***Neurosignals***, **4**(4): 212-224.
- Ligo, M. M., Kitamura, S. S., Ikuta, K. K., Sánchez-Vázquez, F. J. F., Ohtani-Kaneko, R. R., Hara, M. M., Aida, K. K., 1998. Regulation by light and darkness of melatonin secretion from the superfused masu salmon (*Oncorhynchus masou*) pineal organ. ***Biological Rhythm Research***, **29**(1): 86-97.
- Ligo, M., Aida, K., 1995. Effects of season, temperature, and photoperiod on plasma melatonin rhythms in the goldfish, *Carassius auratus*. ***Journal of Pineal Research***, **18**(2): 62-68.
- López-Olmeda, J. F., Madrid, J. A., Sánchez-Vázquez, F. J., 2006. Melatonin effects on food intake and activity rhythms in two fish species with different activity patterns: Diurnal (goldfish) and nocturnal (tench). ***Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology***, **144**(2): 180-187.
- Maitra, S. K., Mukherjee, S., Hasan, K. N., 2015. Melatonin: endogenous sources and role in the regulation of fish reproduction. ***Indoleamines: sources, role in biological processes and health effects***. Nova Science Publishers Inc, New York (NY): 43-77.
- Maitra, S. K., Seth, M., Chatteraj, A., 2006. Photoperiod, pineal photoreceptors and melatonin as the signal of photoperiod in the regulation of reproduction in fish. ***J. Endocrinol. Reprod***, **10**(2): 73-87.
- Mano, H., Kojima, D., Fukada, Y., 1999. Exo-rhodopsin: a novel rhodopsin expressed in the zebrafish pineal gland. ***Molecular Brain Research***, **73**(1-2): 110-118.
- Max, M., Menaker, M., 1992. Regulation of melatonin production by light, darkness, and temperature in the trout pineal. ***Journal of Comparative Physiology A***, **170**(4): 479-489.
- Musæus, F. J., 2009. The pineal gland of Arctic charr (*Salvelinus alpinus* L.): a survey of seasonal melatonin production and gland ultrastructure (Master's thesis, Universitetet i Tromsø).
- Oğuz, A. R., 2015. A histological study of the kidney structure of Van fish (*Alburnus tarichi*) acclimated to highly alkaline water and freshwater. ***Marine and Freshwater Behaviour and Physiology***, **48**(2): 135-144.
- Oğuz, A. R., Ünal, G. 2012. The Effects of 17 $\beta$ -Estradiol on Vitellogenin, Total Protein, Histochemical, and Some Morphological Indices on *Chalcalburnus tarichi*. ***Journal of the Institute of Natural & Applied Science***, **17**: 84-94.
- Oğuz, A. R., Ünal, G., Kaptaner, B., 2015. Determination of plasma vitellogenin levels and localization of vitellogenin in liver of Lake Van pearl mullet (*Chalcalburnus tarichi* Pallas, 1811). ***Iranian Journal of Fisheries Sciences***, **14**(3): 546-554.

- Oliveira, C., Duncan, N. J., Pousão-Ferreira, P., Mañanós, E., Sánchez-Vázquez, F. J., 2010. Influence of the lunar cycle on plasma melatonin, vitellogenin and sex steroids rhythms in Senegal sole, *Solea senegalensis*. ***Aquaculture***, **306**(1-4): 343-347.
- Omura, Y., Ali, M. A., 1981. Ultrastructure of the pineal organ of the killifish, *Fundulus heteroclitus*, with special reference to the secretory function. ***Cell and tissue research***, **219**(2): 355-369.
- Omura, Y., Kitoh, J., Oguri, M., 1969. The photoreceptor cell of the pineal organ of ayu, *Plecoglossus altivelis*. ***Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.***, **35**: 1067-1071.
- Pang, C. S., Ali, M. A., Reddy, P. K., Leatherland, J. F., Brown, G. M., Pang, S. F., 1994. A comparative study of picomolar affinity 2-[125 I] iodomelatonin binding sites in the hearts of three salmonid species. ***Fish Physiology and Biochemistry***, **13**(5): 371-378.
- Papoutsoglou, S. E., 2012. Textbook of Fish Endocrinology. Nova Science Publishers, Inc.
- Philp, A. R., Bellingham, J., Garcia-Fernandez, J. M., Foster, R. G., 2000. A novel rod-like opsin isolated from the extra-retinal photoreceptors of teleost fish. ***FEBS letters***, **468**(2-3): 181-188.
- Popek, W., Breton, B., Sokolowska-Mikolajczyk, M., Epler, P., 1994. The effects of bicuculline (a GABAA receptor antagonist) on LHRH-A and pimoide stimulated gonadotropin (GtH2) release in female carp (*Cyprinus carpio* L.). ***Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Pharmacology, Toxicology and Endocrinology***, **108**(1): 129-135.
- Rad, F., Bozaoğlu, S., Gözükar, S. E., Karahan, A., Kurt, G., 2006. Effects of different long-day photoperiods on somatic growth and gonadal development in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.). ***Aquaculture***, **255**(1-4): 292-300.
- Ralph, C. L., 1983. Evolution of pineal control of endocrine function in lower vertebrates. ***American Zoologist***, **23**(3): 597-605.
- Randall, C. F., 1991. Absence of an endogenous component regulating melatonin secretion in the rainbow trout. ***Adv Pineal Res***, **5**: 279-281.
- Reiter, R. J., 1993. The melatonin rhythm: both a clock and a calendar. ***Experientia***, **49**(8): 654-664.
- Reiter, R. J., 1996. Antioxidant actions of melatonin. ***Advances in pharmacology***, **38**: 103-117.
- Reiter, R. J., Tan, D. X., Mayo, J. C., Sainz, R. M., Leon, J., Czarnocki, Z., 2003. Melatonin as an antioxidant: biochemical mechanisms and pathophysiological implications in humans. ***Acta Biochimica Polonica***, **50**(4): 1129-1146.
- Reiter, R. J., Tan, D. X., Manchester, L. C., Paredes, S. D., Mayo, J. C., Sainz, R. M., 2009. Melatonin and reproduction revisited. ***Biology of reproduction***, **81**(3): 445-456.
- Reppert, S. M., 1997. Melatonin receptors: molecular biology of a new family of G protein-coupled receptors. ***Journal of Biological Rhythms***, **12**(6): 528-531.
- Reppert, S. M., Weaver, D. R., Cassone, V. M., Godson, C., Kolakowski Jr, L. F., 1995. Melatonin receptors are for the birds: molecular analysis of two receptor subtypes differentially expressed in chick brain. ***Neuron***, **15**(5): 1003-1015.
- Reppert, S. M., Weaver, D. R., Cassone, V. M., Godson, C., Kolakowski Jr, L. F., 1995. Melatonin receptors are for the birds: molecular analysis of two receptor subtypes differentially expressed in chick brain. ***Neuron***, **15**(5): 1003-1015.
- Rincón Camacho, L., Morandini, L., Birba, A., Cavallino, L., Alonso, F., LoNostro, F. L., Pandolfi, M., 2016. The pineal complex: a morphological and immunohistochemical

- comparison between a tropical (*Paracheirodon axelrodi*) and a subtropical (*Aphyocharax anisitsi*) characid species. *Journal of Morphology*, **277**(10): 1355-1367.
- Ron, B., Okimoto, D. K., 2002. Melatonin Release From The Pineals of Two Sparids. In *Melatonin After Four Decades* (pp. 73-77). Springer, Boston, MA.
- Schachner, M., Huang, S. K., Ziegelmeüller, P., Bizzini, B., Taugner, R., 1984. Glial cells in the pineal gland of mice and rats. *Cell and Tissue Research*, **237**(2): 245-252.
- Siu, A. W., Reiter, R. J., To, C. H., 1998. The efficacy of vitamin E and melatonin as antioxidants against lipid peroxidation in rat retinal homogenates. *Journal of Pineal research*, **24**(4): 239-244.
- Siu, A. W., Reiter, R. J., To, C. H., 1998. The efficacy of vitamin E and melatonin as antioxidants against lipid peroxidation in rat retinal homogenates. *Journal of Pineal Research*, **24**(4): 239-244.
- Sundararaj, B. I., 1981. Reproductive physiology of teleost fishes: a review of present knowledge and needs for future research. United Nations Development Programme, Rome, Project report-ADCP. *Project report-ADCP/REP/81*, **16**: 88-103.
- Şen, F., Paruğ, Ş. Ş., Elp, M., 2015. İnci Kefali'nin (*Alburnus tarichi*, Gledenstädt, 1814) Dünü, Bugünü ve Geleceği Üzerine Projeksiyonlar. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, **25**(3): 347-356.
- Takahashi, H., Kasuga, S., 1971. Fine structure of the pineal organ of the medaka, *Oryzias latipes*. *Hokkaido University Faculty of Fisheries research report* **22**(1): 1-9.
- Tan, D. X., Xu, B., Zhou, X., Reiter, R. J., 2018. Pineal calcification, melatonin production, aging, associated health consequences and rejuvenation of the pineal gland. *Molecules*, **23**(2): 301.
- Ünal, G., Karakişi, H., Elp, M., 2007. Levels of Some Ovarian Hormones in the Pre-and Post Spawning Periods of *Chalcalburnus tarichi* Pallas, 1811, and the Postovulatory Structure of Follicles. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, **30**(5): 427-434.
- Vanecek, J., 1998. Cellular mechanisms of melatonin action. *Physiological Reviews*, **78**(3): 687-721.
- Vera, L. M., De Oliveira, C., López-Olmeda, J. F., Ramos, J., Mananos, E., Madrid, J. A., Sánchez-Vázquez, F. J., 2007. Seasonal and daily plasma melatonin rhythms and reproduction in Senegal sole kept under natural photoperiod and natural or controlled water temperature. *Journal of Pineal Research*, **43**(1): 50-55.
- Vígh, B., Röhlich, P., Görcs, T., Silva, M. J. M. E., Szél, Á., Fejér, Z., Vígh-Teichmann, I., 1998. The pineal organ as a folded retina: immunocytochemical localization of opsins. *Biology of The Cell*, **90**(9): 653-659.
- Vígh-Teichmann, I., Korf, H. W., Nürnberger, F., Oksche, A., Vígh, B., Olsson, R., 1983. Opsin-immunoreactive outer segments in the pineal and parapineal organs of the lamprey (*Lampetra fluviatilis*), the eel (*Anguilla anguilla*), and the rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Cell and Tissue Research*, **230**(2): 289-307.
- Yazıcı, C., Köse, K., 2004. Melatonin: Karanlığın antioksidan gücü. *Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, **13**(2): 56-65.
- Yeşilbaş, A., 2019. *Van Balığında Üreme Göçü Strasında Osmoregülasyonda Etkili Bazı Hormonların İncelenmesi*. Yüksek lisans tezi. Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü,
- Zachmann, A., Ali, M. A., Falcón, J., 1992. Melatonin and its effects in fishes: an overview. In *Rhythms in Fishes* (pp. 149-165). Springer, Boston, MA.

Zachmann, A., Falcon, J., Knijff, S. C. M., Bolliet, V., Ali, M. A., 1992. Effects of photoperiod and temperature on rhythmic melatonin secretion from the pineal organ of the white sucker (*Catostomus commersoni*) in vitro. ***General and Comparative Endocrinology***, **86**(1): 26-33.





## ÖZ GEÇMİŞ

Elif ÖRĞİ, 1991 yılında Van'da doğdu. İlköğretim ve ortaöğretimi İkinisan İlköğretim Okulu'nda tamamladı. Lise öğretimini ise Van Atatürk Anadolu Lisesi'nde tamamladı. 2009 yılında Pamukkale Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü'ne başladı. 1 yıl İngilizce hazırlık eğitimi aldıktan ve birinci sınıfı bitirdikten sonra Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü'ne yatay geçiş yaparak geri kalan eğitimine burada devam etti ve 2014 yılında mezun oldu. Aynı yıl içerisinde özel bir hastanede 2 yıl biyolog olarak çalıştı. 2018 yılının ekim ayında Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim dalında Yüksek lisansa başladı.





**VAN YÜHADYEK**  
**VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ**  
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu

**ARAŞTIRMA KESİN SONUÇ ONAY BELGESİ**

**VAN YUZUNCU YIL UNIVERSITY (TURKEY)**  
**ANIMAL RESEARCHES LOCAL ETHIC COMMITTEE**  
**RESEARCH FINAL REPORT APPROVAL CERTIFICATE**

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |                                                                                                                                          |                                                        |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------|
| <b>Araştırmannın Adı</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | Van Balığında ( <i>Alburnus tarichi</i> , Göldestadt 1814) Pineal Bezin Anatomik, Histolojik ve İmmünohistokimyasal Olarak Araştırılması |                                                        |
| <b>Research Title</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | Anatomical, Histological and Immunohistochemical Investigation of Pineal Gland in Van Fish ( <i>Alburnus tarichi</i> , Göldestadt 1814)  |                                                        |
| <b>Araştırmacı(lar)</b><br><b>Investigator(s)</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | <b>Yürütücü / Chief investigator :</b> Doç.Dr. Ahmet Regaib OĞUZ                                                                         |                                                        |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | <b>Yardımcı Araştırmacı(lar) / Co-investigator(s):</b> Elif ÖRĞİ                                                                         |                                                        |
| <b>Araştırmannın Başlama Tarihi / Research Starting Date:</b> 01/03/2020                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                          |                                                        |
| <b>Araştırmannın Bitiş Tarihi / Research Completion Date:</b> 01/11/2020                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                          |                                                        |
| <b>Proje Süresi / Total Time of Project:</b> 10 ay/ 10 month                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |                                                                                                                                          |                                                        |
| <b>Proje No / Project Number:</b> FYL-2020-8916                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |                                                                                                                                          |                                                        |
| <b>Araştırmayı Destekleyen Kuruluş (varsa) / Funding institution(s) (if available):</b> Van Yüzüncü Yıl University                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |                                                                                                                                          |                                                        |
| <b>Destek Şekli ve Miktarı / Type and amount of funding:</b> Master thesis project 13.787TL                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |                                                                                                                                          |                                                        |
| <b>Karar:</b><br>Yukarıda bilgileri verilen araştırma projesinin kesin sonuç raporu Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 31/12/2020 tarih ve 2020/12-20 sayılı kararı ile kabul edilmiştir.<br><b>Decision:</b><br>Final report of the research project detailed above was approved by Van Yuzuncu Yil University Animal Researches Local Ethic Committee in the session held on 31/12/2020. (decision number 2020/12-20). |                                                                                                                                          |                                                        |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | <b>BAŞKAN/CHAIR</b><br><br>Prof. Dr. Semiha DEDE                                                                                         |                                                        |
| <b>ÜYE/Member</b><br><br>Prof. Dr. N. Tuğba BİNGÖL                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | <b>ÜYE/Member</b><br><br>Prof. Dr. Sıddık KESKİN                                                                                         | <b>ÜYE/Member</b><br>Prof. Dr. Nalan ÖZDAL             |
| <b>ÜYE</b><br>Prof. Dr. Atilla DURMUŞ                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | <b>ÜYE/Member</b><br><br>Doç. Dr. Ferda KARAKUŞ                                                                                          | <b>ÜYE/Member</b><br><br>Doç. Dr. Yıldray BAŞBUĞAN     |
| <b>ÜYE/Member</b><br><br>Doç. Dr. Canşer Yılmaz DEMİR                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | <b>ÜYE/Member</b><br>Doç. Dr. Hacer ŞAHİN<br>AYDINYURT                                                                                   | <b>ÜYE/Member</b><br><br>Dr. Öğr. Üyesi Oruç YUNUSOĞLU |
| <b>ÜYE/Member</b><br><br>Dr. Öğr. Üyesi Şükrü ÖNALAN                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | <b>ÜYE/Member</b><br>Vet. Hek. İsmail Hakkı BEHÇET                                                                                       | <b>ÜYE/Member</b><br>Zir. Müh. Kenan YILDIRIMOĞLU      |

T.C  
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
LİSANSÜSTÜ TEZ ORJİNALLİK RAPORU

Tarih: 13/01/2021

Tez Başlığı / Konusu: ‘ Van Balığında (*Alburnustarichi* Güldenstädt, 1814) Pineal Bezin Anatomik, Histolojik ve İmmünohistokimyasal Olarak Araştırılması’

Yukarıda başlığı/konusu belirlenen tez çalışmamın Kapak sayfası, Giriş, Ana bölümler ve Sonuç bölümlerinden oluşan toplam 40 sayfalık kısmına ilişkin, 13/01/2021 tarihinde şahsım/tez danışmanım tarafından Turnitin intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtreleme uygulanarak alınmış olan orijinallik raporuna göre, tezimin benzerlik oranı % 1 (Bir) dir.

Uygulanan filtreler aşağıda verilmiştir:

- Kabul ve onay sayfası hariç,
- Teşekkür hariç,
- İçindekiler hariç,
- Simge ve kısaltmalar hariç,
- Gereç ve yöntemler hariç,
- Kaynakça hariç,
- Alıntılar hariç,
- Tezden çıkan yayınlar hariç,
- 7 kelimeden daha az örtüşme içeren metin kısımları hariç (Limit inatch size to 7 words)

Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Lisansüstü Tez Orijinallik Raporu Alınması ve Kullanılmasına İlişkin Yönergeyi inceledim ve bu yönergede belirtilen azami benzerlik oranlarına göre tez çalışmamın herhangi bir intihal içermediğini; aksinin tespit edileceği muhtemel durumda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve yukarıda vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim.

Gereğini bilgilerinize arz ederim.

13.01.2021  
Tarih ve İmza

Adı Soyadı: Elif ÖRĞİ

Öğrenci No:18910001343

Anabilim Dalı: Biyoloji Anabilim Dalı

Programı:

Statüsü: Y. Lisans ☒

Doktora ☐

**DANIŞMAN ONAYI**  
UYGUNDUR

**ENSTİTÜ ONAYI**  
UYGUNDUR

Doç. Dr. Ahmet Regaib OĞUZ  
(Unvan, Ad Soyad, İmza)

(Unvan, Ad Soyad, İmza)