

71879

AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

+

ANTALYA KÖRFEZİ'NDE YAŞAYAN *PATELLA* Linnaeus, 1758
(MOLLUSCA: GASTROPODA) TÜRLERİNİN HİSTOMORFOLOJİK VE
İZOENZİMİK ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ

Deniz AKŞİT

YÜKSEK LİSANS TEZİ

SU ÜRÜNLERİ MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
MERKEZ KÜTÜPHANESİ

2006

**ANTALYA KÖRFEZİ'NDE YAŞAYAN *PATELLA* Linnaeus, 1758
(MOLLUSCA: GASTROPODA) TÜRLERİNİN HİSTOMORFOLOJİK VE
İZOENZİMİK ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ**

Deniz AKŞİT

YÜKSEK LİSANS TEZİ

SU ÜRÜNLERİ MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

**Bu araştırma, Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma
Projeleri Yönetim Birimi'nce 2004.02.0121.029 no'lu Proje ile
Tübitak Hızlı Destek Programı (105 O 052) kapsamında
desteklenmiştir.**

T.C.

AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ANTALYA KÖRFEZİ'NDE YAŞAYAN *PATELLA* Linnaeus, 1758
(MOLLUSCA: GASTROPODA) TÜRLERİNİN HİSTOMORFOLOJİK VE
İZOENZİMİK ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ

Deniz AKŞİT

YÜKSEK LİSANS TEZİ

SU ÜRÜNLERİ MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

Bu tez 27/09/2006 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından (95) not takdir edilerek Oybirliği/Oyçokluğu ile kabul edilmiştir.

Prof Dr. Beria FALAKALI MUTAF (Danışman)

Prof.Dr. Ramazan İKİZ

Prof.Dr. Hüseyin ARIKAN

B. Falakali Mutaf
R. İkiz
H. Arıkan

ÖZET

ANTALYA KÖRFEZİ'NDE YAŞAYAN *PATELLA* Linnaeus, 1758 (MOLLUSCA: GASTROPODA) TÜRLERİNİN HISTOMORFOLOJİK VE İZOENZİMİK ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ

Deniz AKŞİT

Yüksek Lisans Tezi, Su Ürünleri Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Beria FALAKALI MUTAF

Eylül 2006, 95 Sayfa

Gastropoda sınıfının bir üyesi olan *Patella sp.* Linnaeus, 1758'nin Antalya Körfezi'nde yaşayan örneklerinde histomorfolojik özellikleri incelenmiş ve protein elektroforezi yöntemi ile izoenzimik özelliklerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu çalışmada solungaç, manto, ayak kası, gonadlar, sindirim bezi ve baş bölgelerinden doku örnekleri alınarak histolojik incelemeler yapılmıştır. Radula morfolojisi incelenmiştir. Ayak kası homojenatlarından Malat dehidrogenaz (MDH), Malik enzim (ME), Aspartat aminotransferaz (AAT) ve 6-fosfoglukonat dehidrogenaz (6-PGDH) enzimleri poliakrilamid jelde elektroforez yapılarak genetik varyasyonları incelenmiştir. Bulgular *P. caerulea* ve *P. rustica* türlerinde genetiksel bazı özelliklerde farklılığı açıklamaktadır. Morfolojik karakterler iki tür arasındaki önemli fenotipik farklılığı göstermektedir.

Patella türlerinin bulgularla açıklanan durumunun ileri bilimsel çalışmalara ön bilgi olması söz konusudur.

ANAHTAR KELİMELEER: *Patella*, Antalya Körfezi, histomorfoloji, izoenzim, protein elektroforezi.

JÜRİ: Prof.Dr. Beria FALAKALI MUTAF

Prof.Dr. Ramazan İKİZ

Prof.Dr. Hüseyin ARIKAN

ABSTRACT

HISTOMORPHOLOGIC AND ISOENZYMIC FEATURES OF PATELLA Linnaeus, 1758 (MOLLUSCA: GASTROPODA) LIVING IN ANTALYA BAY

Deniz AKŞİT

M. Sc. Thesis in Department of Aquatic Engineering

Adviser: Prof.Dr. Beria FALAKALI MUTAF

September 2006, 95 pages

A common species of Classis Gastropoda, *Patella sp.* Linnaeus, 1758, living in Antalya Bay was studied histomorphologically and some isoenzymic properties were detected by protein electrophoresis. The gills, mantle, foot muscle, gonads, digestive glands, head region were dissected and studied. Radula morphology was studied. Genetical variations on Malate dehydrogenase (MDH), Malic enzyme (ME), Aspartate aminotransferase (AAT) and 6-phosphogluconate dehydrogenase (6-PGDH) were analysed from foot muscle homogenates by PAGE electrophoresis. The findings revealed some differences for genetical traits of *P. carulea* and *P. rustica*. Morphological characters also suggest high phenotypic differentiation between the two species

The present results obtained about *Patella* species may provide a basic information for the further studies on the subject.

KEY WORDS: *Patella*, Antalya Bay, histomorphology, electrophoresis

COMMITTEE: Prof.Dr. Beria FALAKALI MUTAF

Prof.Dr. Ramazan İKİZ

Prof.Dr. Hüseyin ARIKAN

ÖNSÖZ

Yumuşakçalar dünyadaki denizel bentik makro faunanın % 15-25'ini oluşturmaktadır. Tek kabuklu bir salyangoz cinsi olan *Patella*'lar Mollusca şubesinin çok küçük bir grubunu oluşturmakta, fakat bu şubeyi her yönden temsil edebilmektedir. Buna rağmen bütün dünya denizlerinde farklı türleri yaygın olarak bulunmaktadır. Akdeniz'de iyi bilinen bu cinsin Türkiye denizlerinde de 3 türü bulunmaktadır. Biyolojik çalışmaların hiçbir zaman sona ermesi söz konusu olmadığı için *Patella* üzerindeki çalışmalar da sürdürülmektedir.

Bu çalışmada Antalya Körfez'inde yaşayan *Patella* türlerinin tespiti, anatomik ve histolojik bazı özelliklerinin belirlenmesi, izoenzim ve protein elektroforezi ile bazı genetiksel özelliklerinin ortaya konulması, varsa bulunan türler arası farklılıkların gösterilmesi amaçlanmıştır.

Konuyu öneren ve bu konudaki bilgi birikimleri ile beni yönlendiren danışman hocam sayın Prof. Dr. Beria FALAKALI MUTAF'a, özverili katkıları ile bilhassa protein elektroforezi uygulamaları sırasında yol gösterici yardımlarından ötürü Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Zooloji Anabilim Dalı Öğretim Elemanı Arş. Gör. Dr. Nurşen ALPAGUT KESKİN'e, çalışma olanaklarını sunan fakülte yönetimine, ayrıca çalışmalarım sırasında yardımlarını eksik etmeyen arkadaşlarım ve aileme teşekkürü bir borç bilirim.

Bu araştırma, Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi'nce **2004.02.0121.029** no'lu proje ve Tübitak Hızlı Destek Programı (**105 O 052**) kapsamında desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
ÖNSÖZ	iii
İÇİNDEKİLER.....	iv
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xii
1. GİRİŞ	1
2. KURAMSAL BİLGİLER ve KAYNAK TARAMA.....	3
2.1. <i>Patella</i> Cinsinin Sistemattikteki Yeri.....	3
2.2. Akdeniz'de Dağılım Gösteren <i>Patella</i> Türleri.....	3
2.3. Ülkemizde Dağılım Gösteren <i>Patella</i> Türleri.....	4
2.4. <i>Patella</i> Türlerinde Hareket ve Çevresel İstek.....	4
2.5. Ülkemizde Derinliğe Göre <i>Patella</i> Türlerinin Dağılımı.....	8
2.5.1. <i>Patella (Patella) caerulea</i> Linnaeus, 1758.....	9
2.5.2. <i>Patella (Patella) ulyssiponensis</i> Gmelin, 1791.....	9
2.5.3. <i>Patella (Patellastra) rustica</i> Linnaeus, 1758.....	9
2.6. <i>Patella</i> Türlerinde Beslenme.....	10
2.7. <i>Patella</i> Türlerinin Morfolojisi ve Anatomisi.....	11
2.7.1. <i>P. caerulea</i> , <i>P. ulyssiponensis</i> , <i>P. rustica</i> türlerinin tayin anahtarı.....	13
2.7.2. <i>Patella caerulea</i> Linnaeus 1758'nin morfolojik özellikleri.....	13
2.7.3. <i>P. ulyssiponensis</i> Gmelin, 1791'in morfolojik özellikleri.....	14
2.7.4. <i>P. rustica</i> Linnaeus, 1791'nin morfolojik özellikleri.....	15
2.8. <i>Patella</i> Türlerinin Solunum ve Boşaltım Sistemi.....	18
2.9. <i>Patella</i> Türlerinde Radula Özelliği.....	18
2.10. <i>Patella</i> Türlerinde Eşeyssel Gelişim ve Üreme Zamanı.....	20
2.11. Histolojik ve İzoenzim İncelemeleri.....	20
3. MATERYAL VE METOD.....	27

3.1. Morfolojik Ölçümler.....	27
3.2. Histolojik İncelemeler.....	28
3.3. İzoenzim İncelemeleri.....	29
3.3.1. Ekstraktların hazırlanması.....	29
3.3.2. Jelin hazırlanması.....	30
3.3.3. Elektroforez analizi.....	30
3.3.3.4. Jellerde boyama.....	30
3.3.3.4.1. Aspartat aminotransferaz (E.C. 2.6.1.1) boyama	31
3.3.3.4.2. Malat dehidrogenaz (E.C. 1.1.1.37) boyama.....	31
3.3.3.4.3. Malik enzim (E.C. 1.1.1.40) boyama.....	32
3.3.3.4.4. 6-Fosfoglukonat dehidrogenaz (6-PGDH) enziminin boyaması.....	33
3.4. Protein Elektroforezi.....	33
3.4.1. Trisin-sodyum-dodesil sülfat (TSDS) poliakrilamid jel elektroforezi (PAGE).....	34
4. BULGULAR.....	36
4.1. Morfolojik Ölçümler.....	36
4.2. Kabuk Morfolojisi.....	39
4.3. Radula yapısı.....	45
4.4. Sindirim Borusu.....	51
4.5. Sindirim Bezi (Hepatopankreas).....	53
4.6. Pallial Solungaç Yapısı.....	55
4.7. Manto Yapısı.....	59
4.8 Ayak Yapısı.....	63
4.9. Gonad Yapısı.....	65
4.9.1. Erkek gonad.....	67
4.9.2. Dişi gonad.....	68
4.10. İsoenzim Analizi.....	70
4.10.1. Aspartat aminotransferaz.....	70
4.10.2. Malat dehidrogenaz.....	71
4.10.3. Malik enzim.....	73

4.10.4. 6-Fosfoglukonat dehidrogenaz.....	74
4.11. Protein Elektroforezi.....	74
5. TARTIŞMA.....	78
6.SONUÇ.....	87
7. KAYNAKLAR.....	88
ÖZGEÇMİŞ	

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

cm	: santimetre
g	: gram
HCl	: Hidroklorik Asit
lt	: Litre
m	: Metre
mm	: Milimetre
AAT	:Aspartat aminotransferaz
MDH	: Malat dehidrogenaz
ME	: Malik enzim
6-PGDH	: 6- Fosfoglukonat dehidrogenaz
MTT	: Thiazolyl blue
kDa	: Kilodalton
PAGE	: Poliakrilamid jel elektroforezi
TEMED	: N,N,N',N'-tetrametilenetilendiamin

Kısaltmalar

B.S.	:Birey sayısı
BMP15	: Bone Morfogenetic Protein
E.C.	:Enzim Komisyonu
EDTA	:Ethylenediaminetetraasetic asid
Epd	:Efferent pallial damar
GDF9	:Growth Differentiation Factor 9
G3PDH	:Gliseraldehit-3-fosfat dehidrogenaz
GT	:Gomori Trikom boyası
H&E	: Hematoksilin-Eosin boyası
K.G.	: Kabuk genişliği
K.Y	: Kabuk yüksekliği
K.U.	: Kabuk uzunluğu

MAK.	: Maksimum
MİN.	: Minimum
NAD	: Nicotinamid adenine dinukleotid
NADP	: Nicotinamid adenin dinukleotid fosfat
NBT	: Nitrotetrazolium blue chloride
P.c	: <i>P. caerulea</i>
P.r	: <i>P. rustica</i>
P.u	: <i>P. ulyssiponensis</i>
pI	: İzoelektrik noktalarının
PMS	: Phenazine methosulfate
ORT.	: Ortalama
R.U.	: Radula uzunluğu
SDS	: Sodyum dodesil sulfat
TSDS	: Trisin-sodyum dodesil sülfat

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. <i>Patella</i> türlerinin dağılımında dikey zonasyon.....	8
Şekil 2.2 <i>Patella sp</i> 'nin iç organlarının üstten görünüşü.....	12
Şekil 2.3. <i>P. caerulea</i> 'nın ventralden görünüşü.....	14
Şekil 2.4. <i>P. ulyssiponensis</i> 'in ventralden görünüşü.....	15
Şekil 2.5. <i>P. rustica</i> 'nın ventralden görünüşü.....	16
Şekil 2.6. <i>Patella sp</i> 'nin ventralde su akışı.....	17
Şekil 2.7. <i>Patella caerulea</i> 'nın radula dişleri.....	18
Şekil 2.8. <i>Patella ulyssiponensis</i> 'in radula dişleri.....	19
Şekil 2.9. <i>Patella rustica</i> 'nın radula dişleri.....	19
Şekil 2.10. Dimerik yapıda olan enzimlerde jel üzerinde homozigot ve heterozigot bireylerin bant görünüşleri.....	22
Şekil 3.1. Antalya Körfezi'ndeki çalışma alanının haritası.....	28
Şekil 3.2. <i>Patella sp</i> 'de morfometrik ölçümler.....	28
Şekil 3.3. AAT için uygulanan boyama sistemi.....	31
Şekil 3.4. MDH için uygulanan boyama sistemi.....	32
Şekil 3.5. ME için uygulanan boyama sistemi.....	32
Şekil 3.6. 6-PGDH için uygulanan boyama sistemi.....	33
Şekil 3.7. Kullanılan standart proteindeki farklı moleküler ağırlık bantları.....	35
Şekil 4.1 <i>P. caerulea</i> 'nın kabuk uzunluğu-radula uzunluğunun serpilme diyagramı ve regresyon eğrisi.....	37
Şekil 4.2. <i>P. rustica</i> 'nın kabuk uzunluğu-radula uzunluğunun serpilme diyagramı ve regresyon eğrisi.....	38
Şekil 4.3. <i>P. caerulea</i> 'da oransal radula uzunluğu ve kabuk uzunluğunun serpilme diyagramı ve regresyon eğrisi.....	38
Şekil 4.4. <i>P. rustica</i> 'da oransal radula uzunluğu ve kabuk uzunluğunun serpilme diyagramı ve regresyon eğrisi.....	39
Şekil 4.5. <i>Patella</i> 'nın <i>Balanus</i> 'lar ile sınırlanmış yaşam alanı.....	41

Şekil 4.6. <i>Patella</i> ayağının yapışma durumu ve ayak tabanı renk farklılığı.....	41
Şekil 4.7. <i>P. caerulea</i> 'nın ventralden görünüşü, ayak taban rengi farklılığı.....	42
Şekil 4.8. <i>P. caerulea</i> kabuklarının dorsal görünüşü.....	42
Şekil 4.9. <i>P. rustica</i> 'nın konik kabuk ve uzatılmış ayak morfolojisi, Büyüme çizgileri belirgindir.....	43
Şekil 4.10. <i>P. rustica</i> kabuklarının ventralden görünüşü ve vücut izleri.....	43
Şekil 4. 11. <i>P. caerulea</i> 'nın manto kenar görüntüsü.....	44
Şekil 4.12. <i>P. caerulea</i> 'nın ventro-lateralden görüntüsü ayak, manto ve pallial boşluk açıklığı, baş bölgesi karakteristikleri.....	44
Şekil 4.13. İki loblu yapısı ile çıkartılmış radulanın genel görünümü.....	46
Şekil 4.14. <i>P. caerulea</i> 'nın radula dişlerinin görünümü.....	46
Şekil 4.15. <i>P. caerulea</i> 'nın radulasının SEM'deki görüntüsü.....	47
Şekil 4.16. <i>P. rustica</i> 'nın radulasının SEM'deki görüntüsü.....	47
Şekil 4.17. <i>P. caerulea</i> 'nın çıkıntılı dişi.....	48
Şekil 4.18. <i>P. rustica</i> 'nın çıkıntılı dişinin SEM'deki görüntüsü.....	48
Şekil 4.19. <i>Patella</i> visceral kesesi dikine kesiti.....	49
Şekil 4.20. Radulanın çıktığı iki loplu yapının enine kesiti.....	50
Şekil 4.21. Radular bölgeden transversal kesit.....	50
Şekil 4.22. Radular kesede yoğun salgı aktivitesi olan hücre grupları ve ekstrasellüler salgı granülleri.....	51
Şekil 4.23. Sindirim borusunda bulunan hücreler.....	52
Şekil4.24. Sindirim borusunun apikalden enine kesiti.....	52
Şekil 4.25. Orta bağırsakta villüs katlantıları.....	53
Şekil 4.26. Sindirim bezinin enine kesiti.....	54
Şekil 4.27. „Sindirim bezinde bulunan salgı hücreleri.....	55
Şekil. 4.28. <i>P. caerulea</i> 'nın solungaç yapısı.....	56

Şekil 4.29. <i>P. caerulea</i> 'nın solungacının enine kesiti.....	57
Şekil 4.30. <i>P. caerulea</i> 'nın solungaç affarent kanalları.....	57
Şekil. 4.31. Solungaç tübüllerinde hemosit ve nefrosit hücreleri.....	58
Şekil 4.32. Solungaç epitelini döşeyen basit kübik hücreler (*), arasında kümelenmiş silindirik hücreler.....	58
Şekil 4.33. Manto kenarı tentakülleri.....	59
Şekil 4.34. İkincil tentaküllerin manto kesitinde yerleşimleri.....	60
Şekil 4.35. İkincil dokunaçların manto kas dokusu ile bağlantısı.....	60
Şekil 4.36. Manto kenarında bulunan farklılaşmış hücreler ve salgı hücreleri.....	61
Şekil 4.37. Manto kenarında dışarıyla bağlantısı olan salgı hücreleri.....	61
Şekil 4.38. Manto kenarında bulunan salgı hücrelerinin görünümü.....	62
Şekil 4.39. Mantonun ayak kasıyla bağlantısı ve manto kenarı.....	62
Şekil 4.40. Ayakta düz kas demetlerinin birbirine 90°' lik açı ile ardışık yerleşimleri.....	64
Şekil 4.41. Ayak kas demetlerinin farklı açıda yerleşimi.....	64
Şekil 4.42. Ayak kasının ayrıntılı yapısı.....	65
Şekil 4.43. Gelişmiş testisin çok katlanmış tubüler yapısı.....	66
Şekil 4.44. Gelişmiş ovaryumda oositler.....	66
Şekil 4.45. Erkek gonadın enine kesiti.....	67
Şekil 4.46. Erkek gonadta spermatogonium, spermatozoid, spermatid, spermatozoa yapıları.....	68
Şekil 4.47. <i>P. rustica</i> 'da dişi gonad yapısı.....	69
Şekil 4.48. Ovaryumun ayrıntılı yapısı.....	69
Şekil 4.49. Olgun yumurta dağılımı.....	70
Şekil 4.50. <i>P. caerulea</i> ve <i>P. rustica</i> 'da AAT enziminde bant özellikleri.....	71
Şekil 4.51. <i>P. rustica</i> 'da MDH enziminde bant özellikleri.....	72
Şekil 4.52. <i>P. caerulea</i> 'da MDH enziminde bant özellikleri.....	72

Şekil 4.53. <i>P.rustica</i> 'da ME enziminde bant özellikleri.....	73
Şekil 4.54. <i>P.caerulea</i> 'da ME enziminde bant özellikleri.....	73
Şekil 4.55. <i>P.caerulea</i> 'da 6-PGDH enziminde bant özellikleri.....	75
Şekil 4.56. <i>P.rustica</i> 'da protein elektroforezinde bant özellikleri.....	76
Şekil 4.57. <i>P.caerulea</i> 'da protein elektroforezinde bant özellikleri.....	76
Şekil 4.58. <i>P.rustica</i> için uygulanan standart proteine göre hesaplanan Rf değerlerinin log ₁₀ Mr'ye karşı dağılımı.....	77
Şekil 4.59. <i>P.caerulea</i> için uygulanan standart proteine göre hesaplanan Rf değerlerinin log ₁₀ Mr'ye karşı dağılımı.....	77

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Ülkemiz denizlerinde <i>Patella</i> türlerinin dağılımı.....	4
Çizelge 4.1. Tespit edilen <i>Patella</i> türlerinin morfolojik ölçümleri.....	36
Çizelge 4.2. Tespit edilen <i>Patella</i> türlerinde kabuk ve radulanın biometrik özellikleri.....	37
Çizelge 4.3. Proteinlerin SDS-PAGE'deki bantlarına göre hesaplanan moleküler ağırlıkları.....	75
Çizelge 5.1. <i>Patella</i> türlerinde kabuk ve radulanın biometrik özelliklerinin mevcut bulgular ile Öztürk ve Ergen'in (1996) çalışmasında karşılaştırılması.....	79
Çizelge. 5.2. İncelenen <i>P. rustica</i> ve <i>P. caerulea</i> türlerinin protein elektroforezi ile belirlenen moleküler ağırlıklarına göre polipeptid çeşitliliği ve özellikleri.....	85

1. GİRİŞ

Mollusca (Yumuşakçalar) şubesi üyeleri geniş bir yelpazede tür çeşitliliği gösteren önemli hayvan gruplarından birisidir. Yaklaşık 30 binden fazlası denizlerde yaşayan 100 bin kadar tanımlanmış türe sahiptir (Abbott ve Morris 1995).

Classis **Gastropoda**, Phylum Mollusca'nın en geniş taksonunu oluşturmaktadır. 35 000'in üzerinde yaşayan tür tanımlanmış olup buna ilaveten 15 000'de fosil tür tanımlanmıştır (Barnes 1970).

Tek konik bir kabuk ile karakterize edilen bir gastropod türü olan **Patella** dalgaların kırıldığı kayalık bölgede en mükemmel şekilde yaşama adapte olmuştur. Geniş disk şeklindeki ayak hayvanın zemine kuvvetlice yapışarak tutunmasını sağlar.

Patella türü bir çok ülkede insan besini ve avcılıkta balık yemi olarak kullanılır. Vücut sıvısında bulunan hemosiyanin maddesinin; göğüs, pankreas, prostat kanseri hücrelerinin çoğalmasını azaltıcı bir etkisi olduğu ve kanser hücrelerinin çoğalmasını önleyici bir ilaç üretildiği bildirilmiştir. (McFadden vd 2003). Memelilerin ovaryum foliküllerinin gelişmesi için gerekli gelişim faktörü GDF9 (Growth Differentiation Factor 9) ve kemik gelişim proteini BMP15 (Bone Morphogenetic Protein 15) peptidlerini üretemeyen hayvanlarda bu proteinler KLH (**Keyhole Limpet Hemocyanin**: Bir *Patella* türü hemosiyanini) ile birlikte hayvanlara uygulandığında folikül gelişimlerinin olduğu belirlenmiştir (Juengel vd 2002). Bu biyolojik önemlerine karşın Türkiye sularında ve Antalya Körfezi'nde dağılım gösteren *Patella* türleri ile ilgili olarak az sayıda taksonomik çalışma olmasına (Ramelow 1985, Öztürk ve Ergen 1996, Küçük vd 1996)

karşın histolojik, elektroforetik özellikleri hakkında yeterli çalışma bulunmamaktadır.

Patella caerulea Akdeniz'de çok yaygın bir salyangoz türüdür ve kabuk içi sedef ile karakteristiktir. *P. rustica* Atlantikte yaygın bir türdür ve daha konik, daha büyük çaplı bir kabuk taşır.

Bu çalışmada Antalya Körfezi'nde yaşayan *Patella* türlerinin tespiti, anatomik ve histolojik bazı genel özelliklerinin belirlenmesi ve protein elektroforezi ile bazı genetiksel özelliklerin ortaya konulması ve bu konuda sağlanabilen kaynaklardan temel bilgilere ulaşılması amaçlanmıştır. Ayrıca bu bilgiler yardımı ile çalışma basamakları gerçekleştirilmiş ve bulgular değerlendirilmiştir.

2. KURAMSAL BİLGİLER ve KAYNAK TARAMALARI

2.1. *Patella* Cinsinin Sistematikteki Yeri

Patella türlerinin, sistematikteki yeri aşağıdaki gibidir.

- Phylum** : *Mollusca*
Classis : *Gastropoda*
Subclassis : *Prosobranchia*
Ordo : *Archaeogastropoda*
Subordo : *Patellina*
Fam : *Patellidae* Rafinesque, 1815
Genus : *Patella* Linnaeus, 1758

2.2. Akdeniz'de Dağılım Gösteren *Patella* Türleri

Akdeniz'de *Patella* genusunun; aşağıdaki ilk beş tür ile temsil edildiği bildirilmesine karşın, daha sonraki yıllarda bunlara *P. intermedia* türü de ilave edilmiştir (Öztürk ve Ergen 1996). *P. caerulea* endemik bir Akdeniz türüdür. *P. ulyssiponensis*, *P. rustica* hem Akdeniz hem de Atlantik kıyılarında bulunmaktadır (Mauro vd 2003). Akdeniz kıyılarında bulunan *Patella* türleri aşağıdaki gibidir.

- *P. caerulea* Linnaeus, 1758
- *P. rustica* Linnaeus, 1791
- *P. ulyssiponensis* Gmelin, 1791
- *P. ferruginea* Gmelin, 1791
- *P. safiana* Lamarck, 1819
- *P. intermedia* Murray, 1857

Avrupa denizlerinde yaygın olarak bulunan *P. vulgata* türü Akdeniz'de bulunmamaktadır.

2.3. Ülkemizde Dağılım Gösteren *Patella* Türleri

P. caerulea türü, ülkemizin tüm sahillerinde dağılım göstermektedir. *P. rustica* ve *P. ulyssiponensis* türleri Akdeniz ve Ege denizinde dağılım göstermesine karşın Marmara ve Karadeniz sahillerimizde ise *Patella* cinsi yalnızca *P. caerulea* türü ile temsil edilmektedir. *P. safiana* Lamarck, 1819 ve *P. intermedia* Murray, 1857 türlerine ait Türkiye denizlerinde bulunduğunu gösterir bir kayda rastlanılmamıştır (Öztürk ve Ergen, 1996). Ülkemiz denizlerimizdeki dağılımı Çizelge 3.1'de özetlenmiştir.

Çizelge 2.1. Ülkemiz denizlerinde *Patella* türlerinin dağılımı (Öztürk ve Ergen 1996).

Dağılım Gösteren Türler	Akdeniz	Ege	Marmara	Karadeniz
<i>P. caerulea</i> Linnaeus, 1758	+	+	+	+
<i>P. rustica</i> Linnaeus, 1758	+	+	-	-
<i>P. ulyssiponensis</i> Gmelin, 1791	+	+	-	-

2.4. *Patella* Türlerinde Hareket ve Çevresel İstek

Patella'lar, havanın nemli olduğu dönemlerde suların alçaldığı zamana kadar gün boyunca hareket edebilmektedir.

Beslenme zamanlarında yaklaşık 1.5 m²'lik alanda toplanırlar. Daha sonra, esas dinlenme yerlerine geri dönerler. Beslendikten sonra geri dönen orta ve büyük bireyler belirli konumda hareket etmeden

kayaların üzerinde kaldıkları için evlerine döndükleri kabul edilir. Küçük bireylerin evlerini, bazen kendilerinden daha büyük bireyler oluşturur. Eğer hareket ederlerse ve kısa aralıklarda yer değiştirirlerse kendileri geri dönebilirler. Hayvanın geniş yassı ayağı sabitleşir, evini oluşturan konik kabuğun, eliptik kenarlarından girintili kısmını kapatacak şekilde kaya üzerine tam olarak yerleşirler (Fretter ve Graham 1962). *Patella* türleri evlerini, yüzey elverdiğince kayaların üzerindeki sediment tabakasının birkaç ayak hareketiyle aşınmasıyla oluşturur ve kendi izlerini çıkarırlar. Böylece eve dönüş yolları ortadan kalkmamış olur. Kayaların üzerinde beslenme izleri açıkça bellidir. Bu izler bireylerin şekillerine uygun biçimde oluşturulur (Fretter ve Graham 1962).

Patella türlerinin eve dönme olgusu; hayvanların yolculukları sırasında, dışarıya yaydıkları mukuslu izlerin algılayıcılar ile izlenmesidir. Evlerinden uzaklaşan *Patella* türleri, ya dışarıya doğru izleri takip ederek ya da farklı bir yerden evlerine geri döner. Bazen de zigzaglı bir yol takip ederler. Her zaman aynı çevreye alışıp, oraya yerleşerek evlerine yapıştırırlar. Kabuklar güneşli günlerde deniz suyunun çekilmesine dayanıklılık gösterir. Mevsime özgü güneş ışığı açısının yoğunluğunun değişmesi durumlarında; ilkbahar ve yaz aylarında *Patella* türleri, aşağıya doğru göç ederler. Sonbahar ve kış aylarında yukarıya doğru geri dönerler. *Patella*'ların yukarı hareketleri, ilk buldukları yüksek düzeye gelir ancak hareketleri sınırlanmamıştır. Kabukların kenarlarında ve yumuşak dokularında sıcaklık artar, az buharlaşma çok az ya da hiç olmaz. Böyle koşullarda salyangoz hareketsiz kalır; başını kayanın üzerine yükseltir. Kendini nukal boşluğun içine kapatır ve tentakülleri serbest kalır. Ayağı substratuma yayılır. Sıkı tutunmamasına karşın güçlüdür (Fretter ve Graham 1962).

Patella üyeleri, pürüzlü yüzeylere göre nemli ve düz yüzeyli kayalarda genellikle daha sık hareket ederler. Pürüzlü yüzeylerde *Balanus*'ların yoğunluğu arttığı için *Patella* türlerinin yerleşim alanları sınırlanmaktadır. Bazen düz yüzeyli kayalarda, birkaç cm²'lik alanda herhangi bir özel bölgeyi seçerek dinlenmek için yerleşirler. Bu canlılar buldukları yerin yönüne ve etkisine bağlı olarak suyun sıçradığı, gölgeli durumlarda sahilin üst seviyelerine kadar uzanırlar (Fretter ve Graham 1962).

Hayvan su ile kaplandığında hareketsiz kalır ya da az hareket eder. Kabuğun köşelerinde hafifçe yükselme olur ve solungaçlarda akan suyun dolaşmasıyla solunum sağlanır.

Patella türleri özellikle sığ su birikintilerini ve ya hareketli suları tercih eder; yüzeyde dalga çarpmalarına maruz kalırlar. Suların alçaldığı zamana kadar bulunduğu yere, kabuk kenarında açıklık kalmayacak şekilde yapışırlar (Demirsoy 2001). Gel-gitte kısa bir süreliğine su ile tamamen örtülmelerine ve beslenme zamanının azalmasına rağmen yüksek seviyede yoğun canlılardır (Cabral ve Silva 2003). Bu türler gel-git alanının en düşük seviyesinde aşağıya inerler ve sublittoral zona kadar uzandıkları görülür. Sonuç olarak yüzey sularından derin sulara göç ettikleri düşünülmektedir. Littoral ve infralittoral zonun sığ kısımlarını tercih etmelerine rağmen infralittoral zonda 6 metre derinliğe kadar bulunabilmektedirler.

Hayvanlar cezir boyunca, su kaybını önlemek için güçlü ayaklarıyla kayaların yüzeylerini emerler. Larval ve yetişkin dönemlerinde tercih edilen ekolojik koşulları aynı olabileceği belirtilmiştir (Fretter ve Graham 1962).

Yakınlarında titreşim olduğunda veya dokunulduğunda kabuğun sıkı tutunmasında artma gösterir. Ayak kası kendini kasar ve hayvan kayaya sıkışır. Ayak kasının tamamen çekim kuvvetinin 3-5 kg/cm² olduğu tahmin edilmektedir. Bu çekim kuvveti konik kabuğun az bir karşı koyma kuvvetini de içermektedir. Hayvanın oluşturduğu bu kuvvet; dalga hareketlerine maruz kaldığı durumlara karşı oluşturduğu bir kuvvettir (Fretter ve Graham 1962).

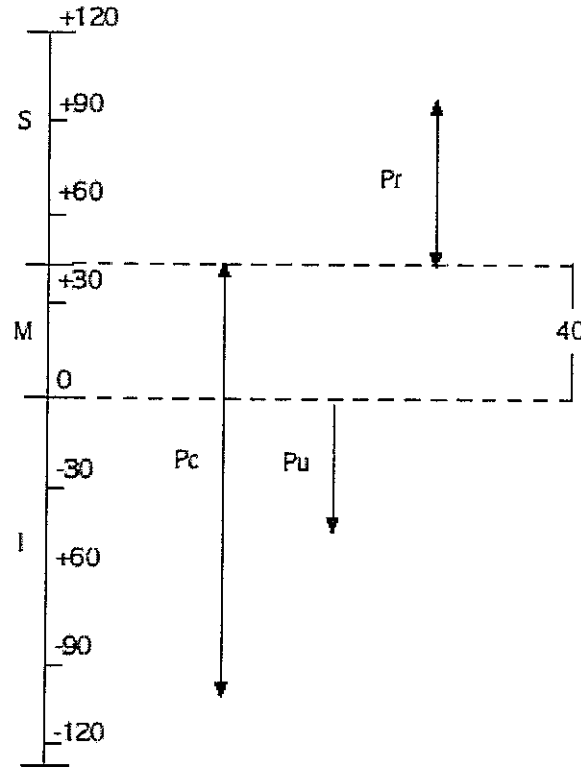
Patella popülasyonunun en yoğun olduğu bölgeler kayaların üzerinde yaşayan bir alg türü olan *Fucus*'ların bulunduğu alan ile *Balanus*'un bulunduğu çıplak bölge arasındadır. Dolayısıyla bu iki zon arasındaki bireylerin büyüklükleri daha çok orta boydadır. *Nucella* yatağının yakınında bulunan *Patella* türlerinde sayı arttığında *Fucus* miktarı azalmakta ve sadece fukoidli yerlerde daha büyük olabilmektedirler. Popülasyonda yoğunluk farklılıkları *Patella* boyutlarına etkilidir. Yoğunluk artışı boyutların küçülmesine, düşük yoğunluklar ise artmasına neden olur. Alan büyüklüğü arttıkça *Patella*'nın boyutu artacaktır. Bu da alan olarak tayin edici bir yöntemdir.

Alglerin gövde kalınlığı arttığında popülasyonun yoğunluğuna bağlı olarak bireylerin kritik büyüklüğe ulaşma durumu söz konusudur (Fretter ve Graham 1962). Çünkü özellikle otlanan prosobranşların ayak salgıları mikro ve makro alg artışına neden olmakta, bu da dolayısıyla bireylerin gelişimi için iyi beslenme olanağı sağlayabilmektedir (Holmes vd 2002).

Tuzluluğa, düşük gel-git seviyelerinden daha duyarlıdırlar. Kıyılardaki her bir bireyin saliniteye olan duyarlılık derecesi hayvanın konumunu etkiler. Kıyıda, üst seviyede yaşayanlar tuzluluk azalmasına daha dayanıklılık gösterirler. Yarı tuzlu olan sulara bile göç etme

davranışı gösterirler ama tuzluluk %0.8'e ulaştığında göç edemezler. Fakat kumsal gibi yerlerde yaşayan türler bu duruma uyum sağlamışlardır (Fretter ve Graham 1962).

2.5. Ülkemizde Derinliğe Göre *Patella* Türlerinin Dağılımı



Şekil 2.1. *Patella* türlerinin dağılımında dikey zonasyon (cm): S- Supralittoral zon, M- Mediolittoral zon, I-Infralittoral zon, P.c- *P. caerulea*, P.u- *P. ulyssiponensis*, P.r- *P. rustica* (Öztürk ve Ergen 1996).

2.5.1. *Patella (Patella) caerulea* Linnaeus, 1758

Sin. *P. alba* Da Costa, 1771, *P. scutellaris* Blainville, 1825a, *P. fragilis* Philippi, 1836, *P. subplana* Potiez & Michaud, 1838

Mediolittoral zonda gerek taşların su seviyesi üzerinde kalan ve dalga hareketleriyle ıslanan kısımlarında, gerekse su seviyesi altında kalan kısımları üzerinde yaygın olarak tüm sahillerimizde bulunan bir türdür. Derine gidildikçe sayısal olarak azalmaktadır

2.5.2. *Patella (Patella) ulyssiponensis* Gmelin, 1791

Sin: *P. aspera* Lamarck, 1819; *P. depressa* Pennant, 1777; *P. athletica* Bean, 1844; *P. tarentina* von Silis, 1793

Bu türe ait bireyler taşların su seviyesi altında kalan kısımları üzerinde toplanmıştır. *P. ulyssiponensis*'in kabuğunun iç yüzeyi porselen görünümünde olup; beyaz olabilir iç kısmında turuncu veya açık sarı görünümünde başının izi bulunmaktadır. Kenar ışınları asla göze çarpmaz (Fretter ve Graham, 1962).

2.5.3. *Patella (Patellastra) rustica* Linnaeus, 1758

Sin: *P. lusitanica* Gmelin, 1791; *P. nigropunctata* Reeve, 1854

Sadece üst mediolittoral zondan başlayarak supralittoral zona doğru dağılım gösterdiği saptanmıştır. Bu tür, su seviyesinden 40-90 cm. yükseklikte olan, az çok dikey yüzeylerde toplanmaktadır.

2.6. *Patella* Türlerinde Beslenme

Patella türleri büyük bir beslenme çeşitliliği gösterirler. Rekabet olmadan otlatabilecekleri beslenme alanlarında ki gelişmelerinde, tercih edilen Fukoidlerin varlığı büyük ölçüde belirleyici bir faktördür. Bu alan, kalın fukoid zondaki alg kökenleriyle sınırlandırılmaktadır ve *Patella* türlerinin besinleri iyi bir şekilde kullanamadıkları gözlenmiştir. Kayalar *Balanuslar* ile kaplandığında türler arası rekabeti, sınırlanmaktadır. Bu da popülasyonun yoğunluğunu; kritik boyutlarda büyüme oranını etkilemeye başlamaktadır (Fretter ve Graham 1962).

Patella evinin çevresinde karşılaşacağı herhangi bir şeyi, besleneceği zamanlarda törpüler. Baş ve tentakülleri kabuğun kenarlarından dışarıya çıkar ve vücudun anterior kısmında sarkaç hareketiyle yan yana sallanır. Radula dişleri substratum karşısına yönelir. Ortamda algli yiyeceğin varlığı yüksek seviyede koloni oluşturmalarına öncülük eder (Fretter ve Graham 1962).

Kirlilik ve çökeltme beslenme için tercih edilir. Bu durum eşey gelişimini etkilemez. Fucoid tabaka, larvaların kayanın altına yerleşmesinde mekanik bir bariyer oluşturur (Fretter ve Graham 1962).

Patella türleri, sahip oldukları sindirim enzimleri sayesinde alglerden daha geniş olarak yararlanabilirler (Fretter ve Graham 1962).

2.7. *Patella* Türlerinin Morfolojisi ve Anatomisi

Çok iyi gelişmiş bir baş ve simetrik olmayan bir vücut yapısına sahiptir. Başın dorsal tarafında bir çift tentakül ile bir çift göz bulunur. Gözler tentaküllerin diplerindeki kabarıklıkların uçlarında yer alırlar.

Patella türleri sarmal yapı göstermeyen tas şeklinde, solunum suyu çıkış deliği, kabuk kapağı ve epipodiyumu bulunmayan tek kabuğa sahip salyangozlardır (Demirsoy 2001). Kabuk apeksten kenarlara doğru damarlanmış yapıda konik şeklindedir. Bu durum hayvanın vücudunun yumuşak dokularını saklayarak, kayalara yapışmasını sağlar (Fretter ve Graham 1962).

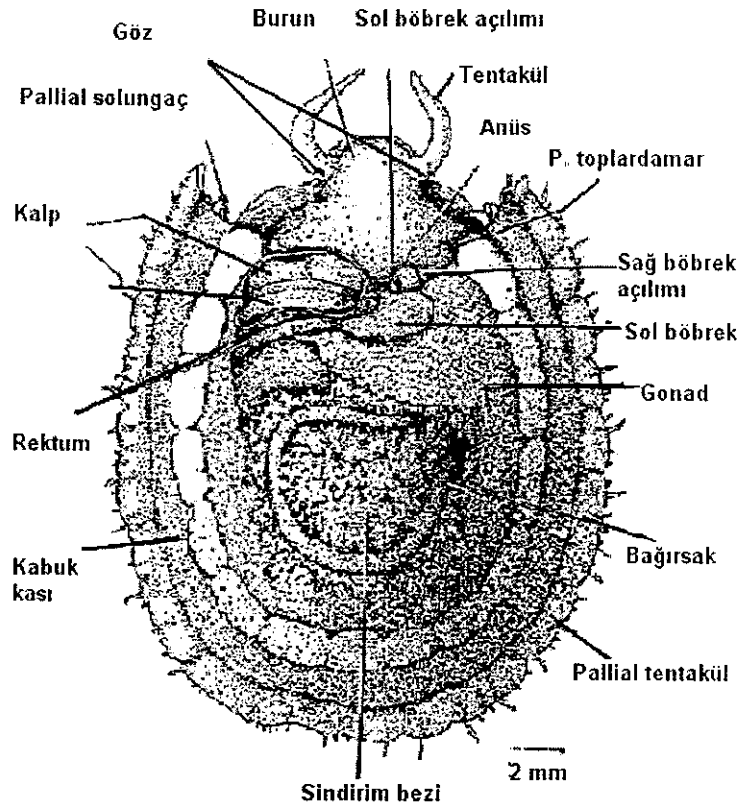
Patella'lar genç evrelerinde bilateral simetridir. Sonradan gelişimleri sırasında, vücudun her iki yanının eşit büyümemesinden dolayı bilateral simetri bozulur. Sol taraf daha fazla büyür. Diğer taraf ise ya hiç ya da çok az büyür. Bu nedenle torsiyon olayıyla; iç organlar 180° dönerek, arkada bulunması gereken manto boşluğu ve buradaki organlar öne toplanır. Torsiyondan sonra vücut asimetric bir yapı alır (Demirsoy 2001).

Anüs manto boşluğunun sağ tarafında yer alır. Manto, kabuğun gelişiminden sorumludur.

Patella türleri farklı ekolojik faktörlerden dolayı; kendilerine koruma durumları oluştururlar böylece şekil ve büyüklüklerinde oldukça çeşitlilik gösterirler. Kabuk morfolojisi çevresel koşullardan etkilenebilmektedir. Kuruluğa maruz kalma derecesi ve dalga şiddeti; kabuğun şeklini ve boyutunu belirleyen faktörlerdendir. Dalga stresine maruz kalan türlerde; bu duruma dayanabilmek için kabuklarında düzleşme meydana gelmektedir. Konik formlar, gel-git zonunun yüksek kısımlarında yaşayan türlerden, daha düz formlar ise düşük seviyedeki zonlarda yaşayan türlerden meydana gelir. Sonuç olarak azalan yükseklikte, apeks anteriör bölgesinin hemen yakınına yerleşir (Cabral ve Silva 2003).

Sublittoral zonda, düşük kıyı seviyesine ve sonrada yüksek seviyeye geçerken kabuğunda büyüme görülür (Cabral ve Silva 2003). *Patella* türleri gel-git zonunun yüksek kısımlarında, yüzeylerindeki gereksiz yere ortaya çıkan sıcaklık artışını azaltmak için yaşarlar. Bunun için kabuğun kenarlarında pek çok çıkıntılı yapı bulunur (Fretter ve Graham 1962).

Sürünmeye uyum sağlamış ayak yapısı; sürünme yüzeyi boyunca çok fazla sayıda pedal bez içerir. Bu bezlerin çıkardığı kaygan salgı; hareketin kolaylaştırılmasına ve yapışmaya yardımcı olur. Kayaların üzerine tutunarak, yaşayabilmeleri için ayakları vakum yapabilecek şekil kazanmıştır.



Şekil 2.2. *Patella sp*'nin iç organlarının üstten görünüşü (Fretter ve Graham 1962).

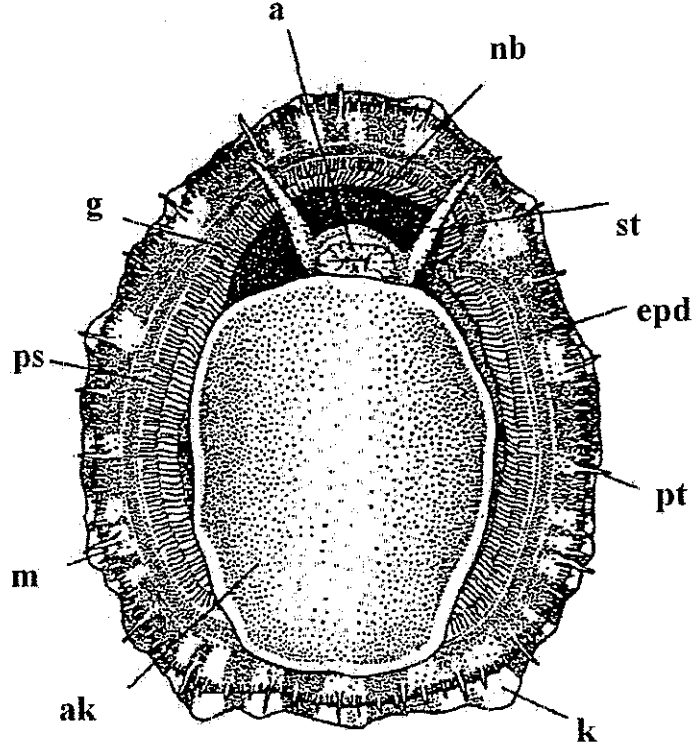
2.7.1. *P. caerulea*, *P. ulyssiponensis*, *P. rustica* Türlerinin Tayin Anahtarı

- 1a.** Hayvanın ayağı gri renkli ise **2**
- b.** Hayvanın ayağı krem, somon renklerindeyse; kabuk üzerinde düzensiz çıkıntılar varsa, kabuğun iç kısmı beyaz olup, portakal rengi iz bulunuyor ise ***P. ulyssiponensis***.
- 2a.** Kabuk yüzeyinde çıkıntılar ile genellikle siyah benekler varsa; kabuğun iç kısmında ışınsal kahverengi çizgiler bulunuyorsa ***P. rustica***.
- b.** Kabuk yüzeyinde pek çok düzensiz düz çıkıntı bulunuyor kabuğun iç yüzeyinde kahverengi ışınsal çizgiler yoksa, şekil ve kabuk içinin rengi bakımından çok çeşitlilik gösteren türlerdir..... ***P. caerulea***.
(Cachia vd 1991).

2.7.2. *Patella caerulea* Linnaeus, 1758'nin morfolojik özellikleri

Kabuğun dış kısmı oval, beşgen şeklinde kısmen düzleşmiş bir yüksekliği bulunan konik bir şekildedir. Kabuğun üzerindeki ışınsal çıkıntıları oyuktur. Değişken kalınlığa ve şekle sahiptir. Kabuğun dış kısmı beyazımsı gri ve kirli sarıdır. İç kısmı ise açık gri, mavi tonlarında parlaktır ve ortasında belirgin sarı portakal tonlarında oval iz bulunur. Hayvanın oval şekilli gri renkli olan ayağı krem rengindeki solungaçlar ve krem gri rengindeki kısa tentaküller tarafından çevrelenmiştir (Cachia vd 1991).

Pallial tentakülleri beyazdır ve üç farklı uzunluktaki diziler halinde yerleşmiştir. İki uzun pallial tentakülün arasında beşten sekize kadar olabilen kısa ve orta uzunlukta bulunan tentaküller yer almaktadır (Cretella vd 1994).



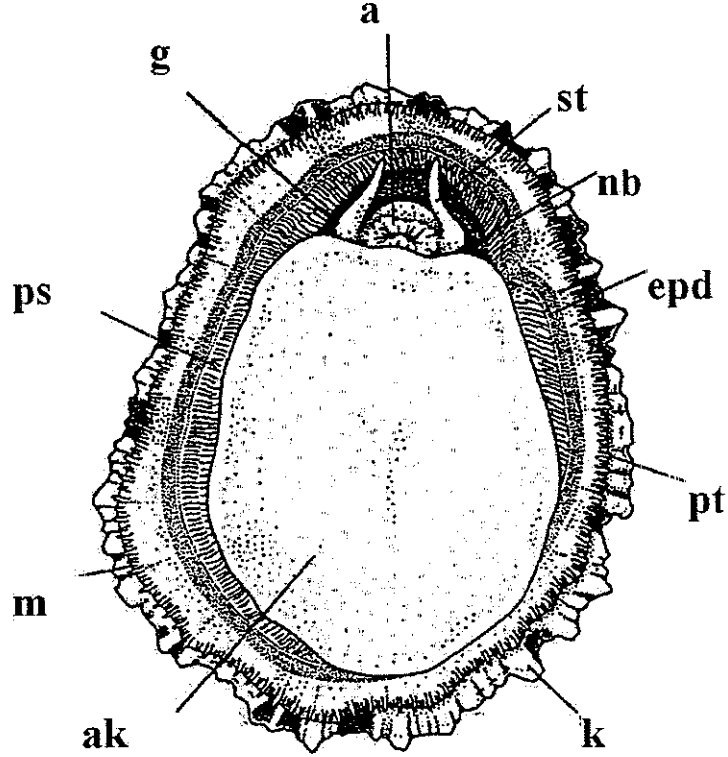
Şekil 2.3. *P. caerulea*'nın ventralden görünüşü: a: ağız, ak: ayak kası, epd: efferent pallial damar, g: göz, k: kabuk, m: manto, nb: nukal boşluk, ps: pallial solungaç, pt: pallial tentakül, st: sefalik tentakül (Cretella vd 1994).

2.7.3. *P. ulyssiponensis* Gmelin, 1791'nin morfolojik özellikleri

P. ulyssiponensis türleri; konik ve güçlü bir kabuğa sahiptir. Kabuğun üzerindeki ışınsal çıkıntılar düzensiz ve kaba bir görünümü vardır. Kabuğun dış kısmı kirli beyaz renge, iç kısmı ise grimsi beyaz ve açık sarımsı portakal renge görünmektedir. İç kısmında ayrıca zayıf ışınsal çizgiler bulunur. İç yapısı parlak değildir. Kabuğun şekli oval olup, apeks merkezde veya merkezin yakınında konumlanmıştır (Cachia vd 1991).

P. ulyssiponensis türleri oval veya piriform şeklinde bir ayağa sahiptir. Ayak tabanı somon veya krem renge olmakla birlikte ayak

tabanı üzerinde koyu alan yoktur. Pallial tentakülleri beyazdır ve iki farklı uzunluktaki diziler halinde yerleşmişlerdir (Cretella vd 1994).



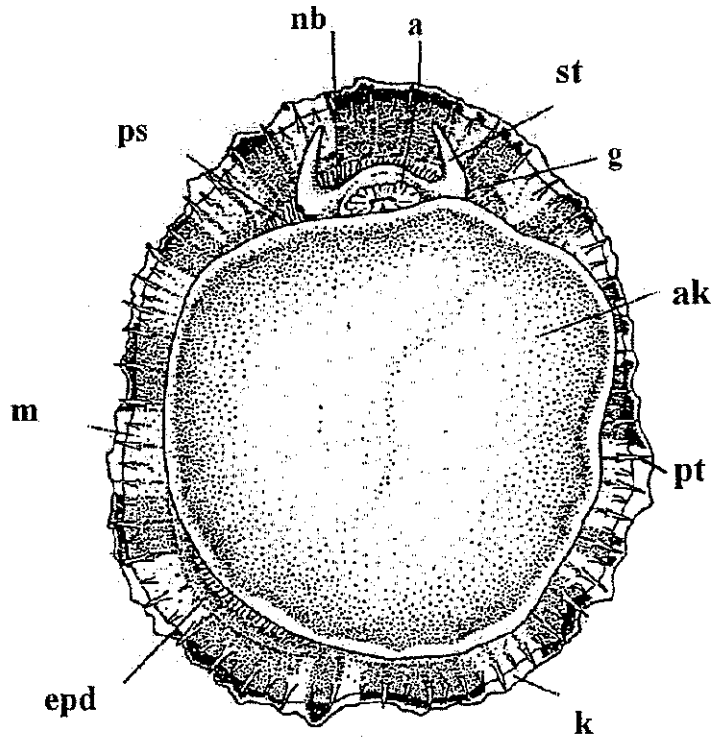
Şekil 2.4. *P. ulyssiponensis*'in ventralden görünüşü: a: ağız, ak: ayak kası, epd: efferent pallial damar, g: göz, k: kabuk, m: manto, nb: nukal boşluk, ps: pallial solungaç, pt: pallial tentakül, st: sefalik tentakül (Cretella vd 1994).

2.7.4. *P. rustica* Linnaeus, 1791'nin morfolojik özellikleri

P. rustica türlerinin kabuk şekli oval, kalın ve kısmen koniktir. Kabuğun dış kısmı, beyazımsı gri tonlarında olup eşit olmayan ışımsal çizgilere sahiptir. Kabuğun üzerinde siyah çizgiler veya benekler bulunabilir. Büyüme çizgileri belirgin olarak görülür. Kabuğun iç kısmında kahverengi ışımsal çizgiler ile ve kahverengi ve koyu gri

renginde görülen vücut izi bulunmaktadır. Apeks merkezi konumludur (Cachia vd 1991).

P. rustica türlerinin ayak yapısı yuvarlaktır ve *P. caerulea* türlerinin ayak yapısıyla aynı renktedir. Pallial tentakülleri yarı saydamdır ve iki farklı uzunluktaki diziler halinde yerleşmiş olup uzunlukları değişkendir. Buna ilaveten *P. rustica* türlerinin tentakülleri diğer iki *Patella* türüne göre daha uzundur ve daha aralıklıdır (Cretella vd 1994).

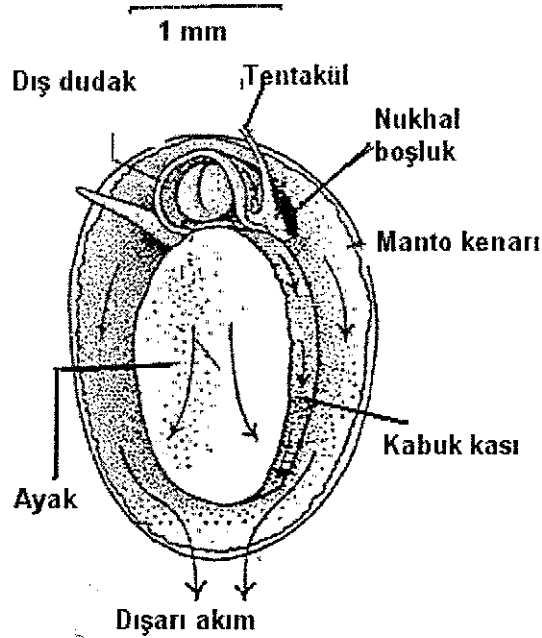


Şekil 2.5. *P. rustica*'nın ventralden görünüşü: a: ağız, ak: ayak kası, epd: efferent pallial damar, g: göz, k: kabuk, m: manto, nb: nukal boşluk, ps: pallial solungaç, pt: pallial tentakül, st: sefalik tentakül (Cretella vd 1994).

2.8. *Patella* Türlerinin Solunum ve Boşaltım Sistemi

Patella türleri, pallial kenarlarının dış köşelerine yerleşmiş, vücudun ön kısmında toplanmış pallial solungaçlara sahiptirler. Solungaçlar hayvanın baş ve ayaklarının etrafını çevreleyerek kabuktan aşağı sarkarlar (Cabral ve Silva 2003). Diğer Prosobranşlara göre *Patella* türlerinde birincil solungaçları oluşturan ktenidyumlar körelmiştir. Bunun yerini daha sonra ikincil solungaçlar oluşturmuştur; öyle ki *Patellidae* familyası üyelerinde manto kenarında çok sayıda ikincil solungaç bulunmaktadır (Demirsoy 2001).

Akan su nukal boşluğa girer; solungaçların sil hareketiyle suyun hareketi sağlanır. Su pallial girintinin duvarından posteriore yönelir ve vücudun posterior kısmından ayrılır. Pallial solungaçların sağladığı bir döngüyle manto boşluklarında akımı düzenler ve vücuttan atık maddelerin dışarı atılmasını sağlar (Fretter ve Graham 1962).



Şekil 2.6. *Patella* sp'nin ventralde su akışı (Fretter ve Graham 1962).

2.9. *Patella* Türlerinde Radula Özelliği

Patella türleri taşların üzerindeki organik maddeleri, çökeltileri ya da besin tabakalarını radulalarıyla kazıyan salyangozlardır. Kuvvetli olarak uzamış ve helezonik olarak kıvrılmış bir radula ve bunun üzerinde belli düzende yerleşmiş dişlere sahiptirler (Demirsoy 2001).

Patella sp'nin radulası hematit ve opak bir silika yapısından oluşmuş dişler bulundurur (Linddirad vd 2005).

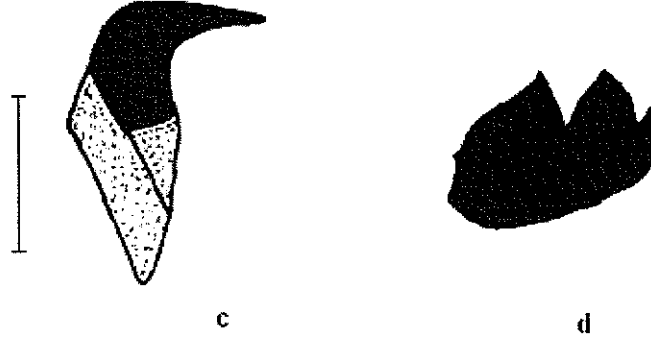
Patella türlerinde radula, kabuk yapılarına göre daha az çeşitlilik gösterir, bundan dolayı da karakteristiktir ve tür tayininde kullanılır.

Radula, heterojen çevrenin doğal populasyonlara etkisini araştırmak için uygun bir yapıdır. Çünkü yakın akraba türlerde beslenme substratumunda ve ilaveten çevre değişikliğine elverişlidir (Andrade ve Solferini 2005). Bu yapılardaki morfolojik değişiklikler seksüel dimorfizm (Fujioka 1985) ve geçici ve substarattaki kalıcı değişiklikler (Reid ve Mak 1999) bağlantılıdır.



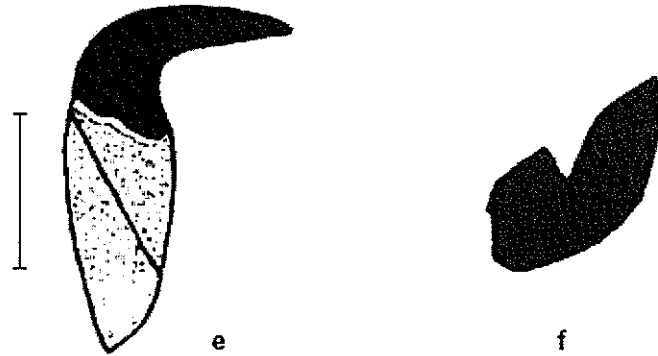
Şekil 2.7. *Patella caerulea*'nın radula dişleri: **a-** Radulanın 1. lateral dişi, **b-** Radulanın çıkıntılı dişi. a ve b için ölçek = 200 μ (Öztürk ve Ergen 1996).

P. caerulea'nın radulasının 1. lateral diş çengelinin taban kısmına bağlanan kaidesi dışbükey çizgi halindedir. Çıkıntılı diş ise 3 çıkıntılı olup, içteki diğerlerine göre daha küçüktür. Ayrıca marjinal dişler tarafındaki çıkıntı ortadaki çıkıntıya göre daha kısadır (Öztürk ve Ergen 1996).



Şekil 2.8. *Patella ulyssiponensis*'in radula dişleri: **c-** Radulanın 1. lateral dişi, **d-** Radulanın çıkıntılı dişi. c ve d için ölçek = 200 μ (Öztürk ve Ergen 1996).

Patella ulyssiponensis'in radulasının 1. lateral diş çengelinin taban kısmına bağlanan kaidesi yaklaşık 90°'lik bir açı oluşturmaktadır. Çıkıntılı diş *P. caerulea*'nın çıkıntılı dişine benzer olup, iki uzun çıkıntı aynı yüksekliktedir. Ayrıca marjinal dişler tarafından oluşturulan çıkıntı daha geniştir.



Şekil 2.9. *Patella rustica*'nın radula dişleri: **e-** Radulanın 1. lateral dişi, **f-** Radulanın çıkıntılı dişi. e ve f için ölçek = 200 μ (Öztürk ve Ergen 1996).

P. rustica'nın radulasının 1. lateral diş çengelinin taban kısmına bağlanan kaidesi eğik çizgi şeklindedir. Çıkıntılı diş iki çıkıntı içermekte olup bunlardan lateral dişler tarafındaki daha uzundur.

2.10. *Patella* Türlerinde Eşeyssel Gelişim ve Üreme Zamanı

Patella türleri ayrı eşeyli canlılardır. Ancak eşeyssel dimorfizm yoktur. *Patella* türlerinde gonadın özelliği dışında kabuğun dış morfolojisinden ve yumuşak vücut yapılarından cinsiyet farklılığı anlaşılmamaktadır. Gonad kanalı, anüsün sağında manto boşluğuna açılır. Erkeklerde sperm kanalının sonlandığı yerde, içerisi silli bir sperm oluğu başlar.

Patella türlerinin üremesi, yumurta ve spermelerin rüzgarlı ve fırtınalı havalarda doğrudan suya verilmesiyle gerçekleşir (Orton vd 1956). Gastropod'lardan yalnız *Patella* türlerinde yumurtalar döllenmemiş halde suya bırakılır. Diğer salyangozların aksine, bunlar sonradan su içinde döllenir (Demirsoy 2001).

Yumurtalar parşömen gibi kapsüllerin içinde bulunur. Her kapsül çok sayıda yumurtadan başka, gelişen embriyolara besin görevi yapan, albuminli sıvı içerir. Kapsül içindeki yumurtaların bir kısmı gelişir. Diğerleri gelişen embriyolar tarafından besin olarak kullanılır. Kapsüller grup halinde taşlara ve deniz yosunları üzerine tespit edilirler (Demirsoy 2001).

2.11. Histolojik ve İzoenzim İncelemeleri

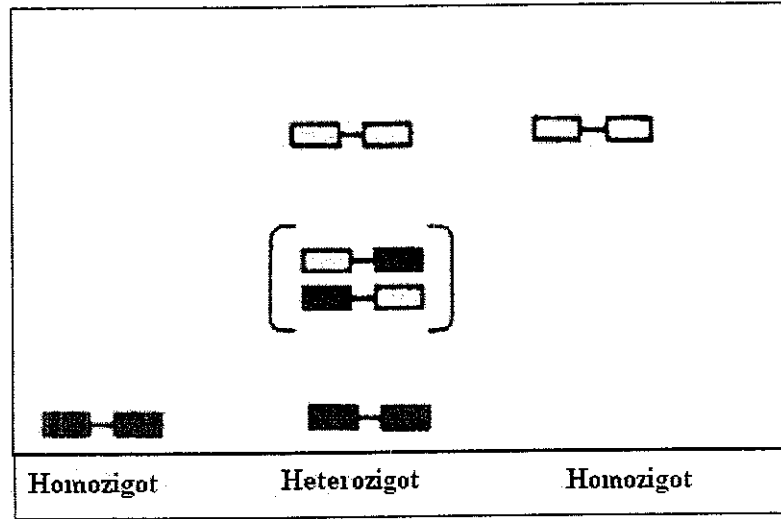
İzoenzim kavramı benzer enzim aktivitesi gösteren farklı proteinler olarak tanımlanmakta olup, izoenzim ayırımı için birçok yöntem kullanılmaktadır (Wilkinson 1975, Copeland 2000). Ancak en

yaygın kullanılan enzim elektroforezidir. DNA teknolojisinin ilerlemesiyle değişik gen ürünlerinin karakterize edilmesi ve tanımlanması için poliakrilamid jel elektroforezi kullanılmaktadır. Elektroforez yöntemi, protein çalışmaları için oldukça basit, hızlı ve yüksek hassasiyette bir işlem olarak bilinmektedir. Elektroforez ile protein ayırımı bir elektrik alan içerisinde yüklü moleküllerin bir matriks içerisinde göçü esasına dayanır (Hames 1998). Genellikle örnekler agaroz veya poliakrilamid jel gibi matriksler içerisinde yürütülmektedir. Agaroz nükleik asit gibi büyük makromoleküllerin ayırımında kullanılırken, poliakrilamid ise proteinler için tercih edilmektedir. Poliakrilamid jel elektroforezi polipeptit ve proteinlerin saflığı, boyutu, miktarı ve izoelektrik noktasının tespitinde kullanılır (Hames 1998).

Son yıllarda elektroforez yöntemindeki tekniklerin geliştirilmesiyle, türlerin genetik kompozisyonu ve populasyon farklılıkları ortaya konulabilmektedir. Elektroforez işlemi sonrasında jelin boyanması ile enzimlerin durumları bantlar halinde belirlemektedir. Eğer iki birey bir proteini şifreleyen lokusta farklı genotipe sahipse, o proteinin farklı moleküler formları oluşturulur ve bunlar bu teknikte ayrılarak tanımlanabilir. Elektroforez işlemi bittikten sonra yürütmenin yapıldığı jel çok sayıda enzim ve proteinleri içermektedir. Tek bir lokusun ürünü belirlemek için özgül bir enzim ya da protein boyası kullanılır. Bu da genellikle jeldeki bir enzimin spesifik bir biyokimyasal reaksiyonu yapması ile gerçekleşir. Özel reaksiyondaki substrat, reaksiyon olduğunda renk değiştirecek boya ile birlikte jele ilave edilir. Jelin üzerinde enzimin bulunduğu yerlerde renkli bantlar ortaya çıkar (Bozcuk 2000). Bu bantların konumlanmalarına göre genetiksel farklılıklar hem enzim hem de morfolojik fenotiplerin istatistiksel tekniklerle birlikte kullanılarak sistematik ve taksonomik çalışmalara yardımcı olmaktadır (Koehn 1991). Elektroforez çalışmaları ile tanımlanan heterozigot ve homozigot bireylerin gen frekansları

hesaplanarak, bu frekanslar populasyonların karşılaştırılmasında kullanılmaktadır (Thorpe ve Sole-Cava 1994).

Bazı enzimler monomerik yapıda yani tek bir polipeptit zincirinden ibaret iken bir kısmı multimerik olup, çoğunluğu da dimerik özelliktedir. Dimerik enzimlerde jel üzerinde heterozigot bireyler için 3 bant oluşur (Şekil 2.10). Bu durum elektroforetik analizlerde açıkça belirlenebilmektedir (McDonald 1985).



Şekil 2.10. Dimerik yapıda olan enzimlerde jel üzerinde homozigot ve heterozigot bireylerin bant görünüşleri (Buth 1990).

Allozim, bir lokusta yer alan bir genin farklı allelleri tarafından kodlanan proteinin değişik moleküler formlarıdır (Özcan 2003). Allozim elektroforezi kabukluların tür tayininde kullanılan oldukça etkin bir yöntemdir.

Güney Afrika'da Ridgway vd (2000) *Patella miniata* alt türlerinin (*P. miniata miniata*, *P. miniata sanguinans* ve *P. miniata compressa*) taksonomik durumunun belirlenmesi için morfolojik ve elektroforetik analizler yapmışlardır. Protein jel elektroforezi ile 16 enzim lokusu

tanımlamışlardır. *P. miniata miniata* ve *P. cf miniata* tüm popülasyonlarının yakın akraba olduğu ve *P. miniata compressa* popülasyonundan ayrı olduğu kanıtlanmıştır.

Chambers vd (1996), Poliakrilamid jel elektroforezi (PAGE) ile yedi güney Afrika *Patella* türlerinin popülasyondaki genetik çeşitliliğini ortaya koymaya çalışmışlardır.

Cretella vd (1991) *Patella caerulea*, *P. ulyssiponensis*, *P. rustica* türlerinde %10 horizontal nişasta jel elektroforez yöntemiyle Nadp-dehidrogenaz ve Mannoza fosfat izomeraz enzimlerinin özellikleri incelenerek, türlerin birbirlerinde ayırt edilmelerinde kullanılmıştır.

Corte-Real vd (1996), *Patella rustica* ve *P. piperata* türlerinin taksonomik durumunun belirlenmesi için morfolojik ve elektroforetik analizler yapmışlardır. AK (Adenilat kinaz), ALD (Aldolaz), G3PDH (Gliseraldehid-3-fosfat dehidrogenaz), IDH (Isositrat dehidrogenaz), LDH (Laktat dehidrogenaz), MDH (Malat dehidrogenaz), ME (Malik enzim), 6-PGDH (6-fosfat dehidrogenaz), PGM (Fosfoglukomutaz) enzimlerine ait lokuslar bu iki türün belirlenmesinde kullanılmıştır. Horizontal jel elektroforezi ile her iki türde aynı allelde altı tane monomerik enzim lokusu bulunmuştur. 2 lokus Pgm-1 ve Pgm-2 her iki türde de polimorfiktir. Pgm-1'e ait üç allelden bir tanesi (allel B), *P. rustica* ve *P. piperata* türlerinde aynı iken, Allel A, *P. piperata*'da; allel C, *P. rustica*'da bulunmaktadır. Yani Pgm-2 aynı allel de tüm popülasyonlarda kodlanmıştır. *P. piperata* (%27.3±0) *P. rustica* (%33.8 4.4) türüne göre daha az polimorfiktir. *P. piperata* (%10.63±1.99), *P. rustica* ise (%14.79 ±3.06) oranında heterozigot bulunmuştur.

Cretella vd 1994, *Patella ferruginea* türünün *P. caerulea*, *P. rustica*, *P. ulyssiponensis* türleri ile olan ilişkisini ortaya çıkarmak amacıyla morfolojik ve elektroforetik incelemelerde bulunmuştur.

Horizontal nişasta jel elektroforezinde AAT (Aspartat aminotrasferaz), ADK (Adenilat kinaz), CK (Kreatin kinaz), EST (Karboksilesteraz), GPI (Glukoz-6-fosfat isomeraz), IDH (Isositrat dehidrogenaz), LDH (L-Laktat dehidrogenaz), MDH, MNPI (Mannose-6-fosfat isomeraze), PEP (Peptidaz), PGM, SOD (Superoksid dismutaz) gibi 13 enzim sistemine bakılmış ve toplam 19 tane lokus bulunmuştur. Bu lokuslardan 5 tanesi (Est-2, Idh-1, Mdh-1, Pgm-2 ve Sod) monomeriktir. *P. ferruginea* türü *P. ulyssiponensis* türünden 12 lokus ile *P. caerulea* türünden 10 lokusta farklılık göstermektedir.

Ridgway vd (2000), Güney Afrika türü olan *Patella miniata* türünün diğer *Patella* türleriyle olan ilişkisini belirlemek amacıyla Protein jel elektroforezi uygulanmıştır. Protein jel elektroforezi belirsiz taksonların ortaya çıkmasını sağlamaktadır. 16 enzim lokusu standart nişasta jel elektroforezinde genetik varyasyonu incelenmiştir. *P. compressa* en fazla polimorfik takson, %40.6 lokusu polimorfik olup bu türü takiben sırasıyla *P. cf. miniata* (%37.5), *P. miniata miniata* (%36.5), *P. miniata sanguinans* (%31.3), *P. safiana* (%12.5) türleri ise en az polimorfik lokus bulundurmaktadır.

Ridgway vd (1998), Güney Afrikada geniş yayılım gösteren *Patella granularis* türünün, bu kıtanın kıyılarının doğu ve batı kıyılarında yaşayan türlerin morfolojik ve isoenzimik karşılaştırmalarını yapmıştır. Elektroforetik çalışmalarda horizontal nişasta jel elektroforezi uygulanmıştır. Çalışmalar sırasında kabuk yapısındaki farklılıklara göre kuzey doğu, doğu, güney olmak üzere üç bölge tespit edilmiştir. Bu bölgelerde bulunan türlerin iç yapılarında ve radula morfolojilerinde herhangi bir fark bulunamamasına rağmen, 16 enzim lokusunda elektroforetik analizler sonucunda batı ve güney bölgeleri arasında farklılıklar belirlenmiştir.

Mauro vd (2003), Sicilya'da bulunan Akdeniz *Patella* genusunda morfolojik analizler, allozim ve mtDNA elektoroforezi analizlerini yapmıştır. Poliakrilamid jel elektoroforezi uygulanmış bu çalışmada. Jelin tamamında 21 enzimatik lokus elde edilmiş ve bunların sekiz tanesi polimorfik bulunmuştur. *Patella caerulea/P. aspera* 0.312, *P. aspera/P. rustica* 0.363, *P. caerulea/P. rustica* 0.321 hesaplanmıştır. Bu sonuçlarda göstermektedir ki *P. caerulea* türü *P. aspera* türüyle *P. rustica*'ya göre genetik uzaklık bakımından daha yakındır.

Özcan (2003), İzmir Körfezi ve Çanakkale Boğazı'nda yaşayan *Ostrea edulis*'in bu iki bölgedeki populasyonları arasında PGM, MDH ve EST (Esteraz) enzimleri bakımından genetik farklılıkları araştırmıştır. İncelenen 2 populasyonda da EST enzimi monomorfik, MDH, PGM1 ve PGM2 enzimleri ise polimorfik bulunmuştur. PGM enzim sistemi bakımından 2 lokus belirlenmiştir (Pgm1 ve Pgm2). Tüm istiridye populasyonuna ait heterozigotluk değerleri MDH lokusu için 0.2, Pgm1 enzim lokusu için 0.58 ve Pgm2 enzim lokusu için 0.33 olarak bulunmuştur. Bu sonuçlar ile her iki populasyon arasında incelenen 3 enzim sistemi bakımından genetik benzerliğin çok yüksek olduğunu bildirmiştir.

Batı Pasifik'te yedi istasyonda inci istiridyelerinden olan *Pinctada margaritifera* örneklerinde allozim analizi yapılmıştır. Bu araştırmada manto dokusunda on yedi polimorfik lokus incelenmiş ve genetik varyasyonları yüksek çıkmıştır. Her lokustaki allel ortalaması 6.8 ve heterozigotluk ortalaması 0.575 olarak tespit edilmiştir (Benzie ve Ballment 1994).

Pehlivan (2005), *Pinctata radiata* türünde sitogenetik ve elektorforetik yöntemlerle genetik özelliklerin belirlenmesi amacıyla

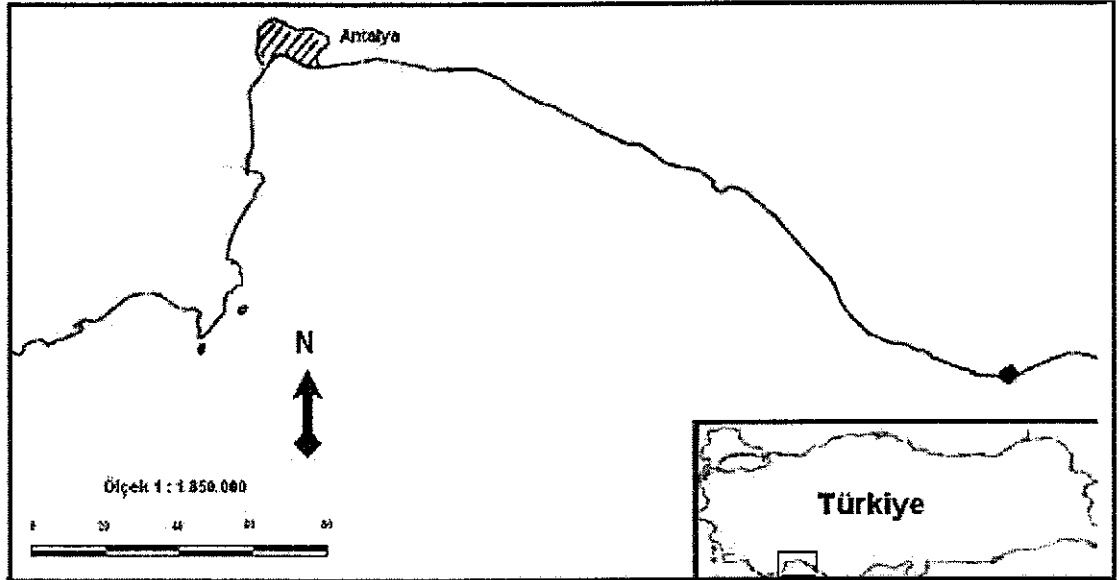
incelemeler yapmıştır. Elektroforetik analizle % 7'lik poliakrilamid jel elektroforezi kullanılarak yapılmış çalışmada MDH için allel frekansı ve heterozigotluk oranı sırasıyla 0.65 ± 0.81 ve 0.70 , AAT için 0.60 ± 0.75 ve 0.80 , ve 6-PGDH için ise 0.70 ± 0.16 ve 0.60 olarak bulunmuştur.

Rocha-Barreira (2002), Brezilya'nın kuzeydoğusunda yaşayan *Acmaeidae* familyasından *Collisella subrugosa* türünün üreme döngüsünü ve gonad özelliklerini incelemiş ve farklı büyüklüklerde toplam 100 tane bireyi aylık olarak bir yıl boyunca örnekleme yapmıştır. Viserai kitleyi Navashin solusyonunda 10 saat tespit işlemini takiben, dokuyu etanol serilerinden geçirip suyunu kaybetmesini sağladıktan sonra, ksilolle yıkayıp parafin bloklara gömmüş ve dokulardan 5-7 μm 'lik kesitler almıştır. Kesitleri Harris'in Hematoksileni ve bunu takiben % 1 lik sulu eosinle boyamıştır. *Collisella subrugosa* türünün gonad yapısında dört tane safha belirlenmiş olup, bu safhalar (1) kısmen olgun, (2) olgun, (3) kısmen yumurtlamış ve (4) yumurtlamış gonad özellikleri göstermektedir. Bu çalışma üreme döngüsünün devamlı olduğunu; olgunlaşma ve yumurtlamanın bu popülasyonda birbirine paralel olarak gerçekleştiğini ortaya çıkarmıştır.

Nisbet ve Plummer (1968), *Achatinidae* familyasının üyelerinin kalp kaslarını kendi aralarında karşılaştırmış, *Trochidae* ve *Pecten*'in adduktor kas yapılarını % 7'lik MgCl_2 'le gevşettikten sonra, %10'luk deniz suyunda hazırlanmış soğuk formaldehid içinde 2 saat tespit edip daha sonra veronal asetat tamponunda osmium tetraoksit (pH 7.8-8.0) ile tespit etmiştir. Bloklanan dokulardan ultramikrotomla kesit alarak, elektron mikroskopunda kas yapısını incelemeye almışlardır.

3. MATERYAL VE METOD

Çalışmanın materyalini Antalya Körfezi'nde Yat limanı, Konyaaltı plajları, Lara ve Phaselis bölgelerinden toplanmış *Patella* örnekleri oluşturmuştur. Örnekler supralittoral zondan itibaren yaklaşık 1 m. derinliğe kadar olan kıyı şeridinden elle toplanmış ve alınan bu *Patella* örnekleri çalışmada kullanılmıştır. Canlı olarak Akdeniz Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Araştırma laboratuvarına getirilen *Patella*'lar, akvaryumda deniz suyu içerisinde histomorfolojik ve elektroforetik çalışmalar için yaşatılmıştır.

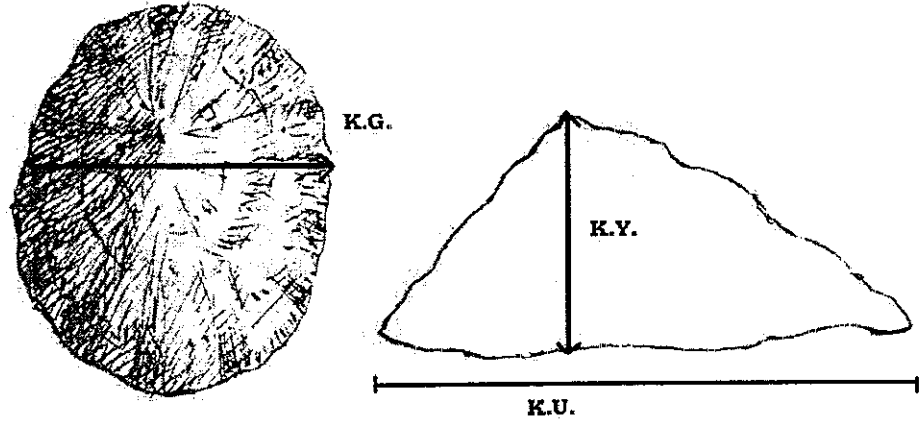


Şekil 3.1. Antalya Körfezi'ndeki çalışma alanının haritası

3.1. Morfolojik Ölçümler

Laboratuarda tüm hayvanlar disekte edilerek radulaları çıkartılmış ve uzunluk ölçümleri yapılmıştır. Radulalar %10'luk NaOH veya KOH'ta tutularak çevresindeki dokudan arındırılmaya çalışılmıştır.

Ayrıca radula ile kabuk boyutları arasında bir ilişki bulunup bulunmadığını, eğer varsa tür tayininde kullanılabilecek bir karakter olup olmadığını saptamak amacıyla kumpas ile kabukların ölçümleri alınmıştır. Her bir bireyde kabuk uzunluğu (K U), kabuk genişliği (K G), kabuk yüksekliği (K.Y), radula uzunluğu (R.U) ölçümleri yapılmış (Şekil 3.2), istatistiki değerlendirmeler Mintab ve Microsoft Exell programları ile gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3.2. *Patella* sp'de morfometrik ölçümler.

3.2. Histolojik İncelemeler

Dokularda histolojik uygulamalar Akdeniz Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Araştırma Laboratuvarı'nda yapılmıştır.

Örneklerden manto, ayak kası, solungaç, gonad, sindirim bezi ve baş yapıları disekte edilerek ayrı ayrı Bouin sıvısında tespit edilmiştir. Tespit edilen dokular ilk önce %30' luk alkolde iyice yıkanaraktan tespit sıvısından arındırılmış ve %50, 70, 90, 100 alkol serilerinde dehidre edilip, ksilolde şeffaflaştırmayı takiben parafine gömülmüştür. Bu parafin bloklarından Leica RM 2135 marka mikrotom ile 5µm-7µm'lik kesitler alınmıştır.

Bu kesitler ksilolde parafinden arındırılarak, alkol serilerinden geçirilip dehidratasyonu takiben Ehrlich'in Hematoksilen ve Eosin boya ları (H&E) ile boyanmış, dehidratasyon ve şeffaflaştırma sonrasında Kanada balsamı ile kapatılmıştır (Demir 2001). Bazı dokularda yapısal farklılaşmayı belirlemek amacıyla Gomori Trikrom boyası (GT) uygulanmış ve Hematoksilin boyasına ek olarak ikinci boya basamağında Eosin yerine Fast green- Kromotrop 2R- Fosfotungustik asit karışımı lı trikrom boyası kullanılmıştır (Drury ve Wallington 1973). Her bir doku Olympus CX31 ve Leica marka ışık mikroskoplarında farklı büyütmeli objektiflerle incelenerek, Olympus Camedia marka digital makine (3X dijital zoom) ile fotoğrafları çekilmiştir.

Çıkartılan radula örnekleri %10'luk KOH'te bir gün bekletilip zarsı yapısından arındırıldıktan sonra distile suyla yıkanıp %95'lik alkole alınıp, alkol serilerinden geçirildikten sonra Polavon marka SC7620 model Sputter coater ile altın-palladiyum kaplaması yapılarak, Zeiss marka Leo 1430 model taramalı (scanning) elektron mikroskop (SEM)'unda (Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi) incelenmiştir.

3.3. İzoenzim İncelemeleri

Dokuların homojenizasyonu ve elektroforez uygulamaları Akdeniz Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Araştırma Laboratuvarı'nda yapılmıştır.

3.3.1. Ekstraktların hazırlanması

Laboratuvara getirilen canlı *Patella* örneklerinin ayak kası kesilerek çıkartılmış 0.05 g kas dokusu %50'lik sükröz tampon çözeltisi ile cam tüpler içerisinde homojenize edilerek 1.5 ml'lik eppendorf tüplerine aktarılmıştır. Ardından 14.000 RPM'de (+4°C) 30 dakika

santrifüj edilmiş ve örneklerin supernatantları alınıp, numaralandırılarak elektroforez için kullanılmaya kadar -20 °C'de saklanmıştır.

3.3.2. Jelin hazırlanması

PAGE yöntemine göre kullanılan yürütme jeli % 7.5 Akrilamid içerir. Jel Tris-HCL, TEMED pH 8.9 tamponu ve polimerizasyon için % 0.2'lik Amonyum Persülfat ile hazırlanmıştır. Jel 18 x 20 x 0.15 cm boyutlarındaki cam plakalar arasına dökülmüş ve en az 1 saat kadar polimerize olması için karanlıkta +4 °C'de bekletilmiştir.

3.3.3. Elektroforez analizi

Çalışmamızda Hoefer SE 600 Ruby (Amersham Bioscience) marka vertikal elektroforez aleti kullanılmıştır. Ekstraktlar yüklenmeden önce 10 dakika +4 °C'de 25mA'de bir ön yürütme yapılmıştır. AAT ve MDH, ME, 6-PGDH enzim sistemlerinin elektroforetik yürütmeleri için pH:8.3'de Tris-glisin sürekli tampon sistemi kullanılmıştır. Enzimlerin yürütme işlemi +4 °C'de 50mA'de 5.5-6 saat sürmüştür. Enzimlerin jel tamponları ve yürütme tamponlarının hazırlanmasında May (2002-a)'den yararlanılmıştır.

3.3.3.4. Jellerde boyama

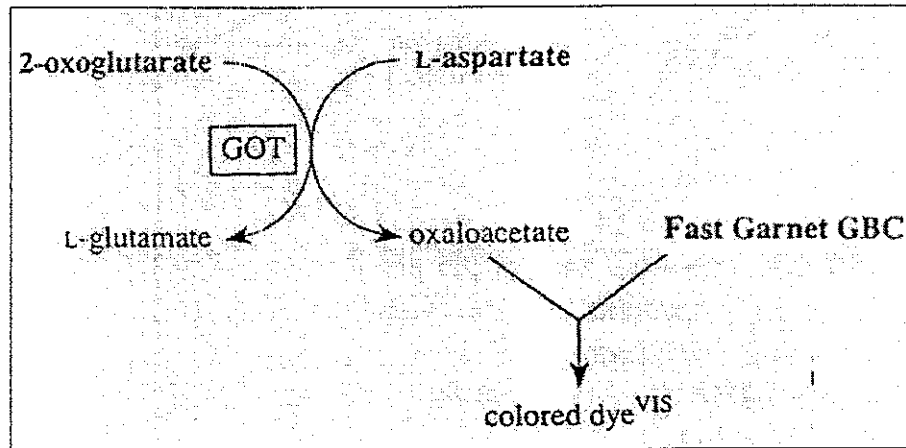
Elektroforez işleminin ardından, AAT, MDH, ME ve 6-PGDH enzimlerinin boyama işlemleri, bu enzimlerin biyolojik sistemlerde katıldıkları reaksiyonlardaki substrat-enzim ilişkileri ile en son elektron alıcı tuzlarla aktiviteleri dikkate alınarak yapılmıştır (Manchenko 1994).

3.3.3.4.1. Aspartat aminotransferaz (E.C. 2.6.1.1)'in boyaması

AAT için elektroforez sonrasında boyama işleminde pH 7.5 Tris-HCl tamponunda, 2-Oksaglutarik asid , L-aspartik asit, Fast Blue B tuzu (Fast Garnet GBC tuzu) ile boyama gerçekleştirilmiştir.

2-Oksaglutarik asid ile L-aspartik asit ile reaksiyona girerek L-glutamat ve okzaloasetat oluşmuştur. 2-Oksaglutarik asid, Fast garnet ile birleşerek reaksiyona girmektedir (Şekil 3.3). Jelin boyanması 37 °C'de karanlıkta 1-3 saat içerisinde gerçekleştirilmiştir.

Jel boyandıktan sonra distile su ile yıkanıp % 50 gliserol karışımı içinde tespit edilmiştir.



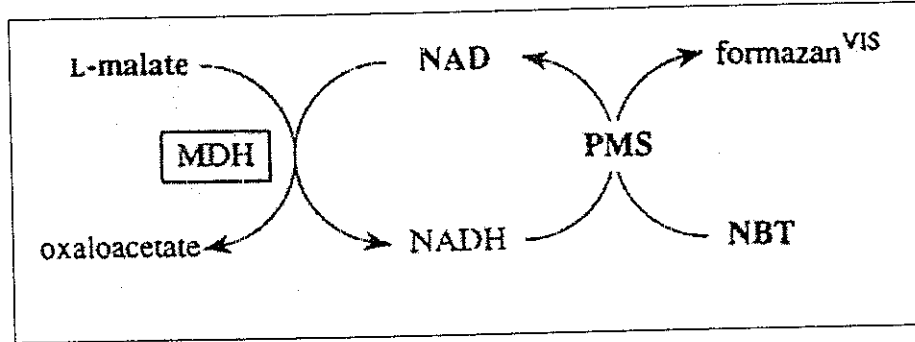
Şekil 3. 3. AAT için uygulanan boyama sistemi (Manchenko 1994)

3.3.3.4.2. Malat dehidrogenaz (E.C. 1.1.1.37)'in boyaması

pH 8.0 Tris-HCl tamponunda L-malik asit, NAD, MTT, PMS boya maddeleri ile boyama gerçekleştirildi.

MDH sitrik asit döngüsünün son reaksiyonunu katalizlediği ve L-Malat Okzaloasetatın oksitlenmesini sağlayarak boyama gerçekleştiği

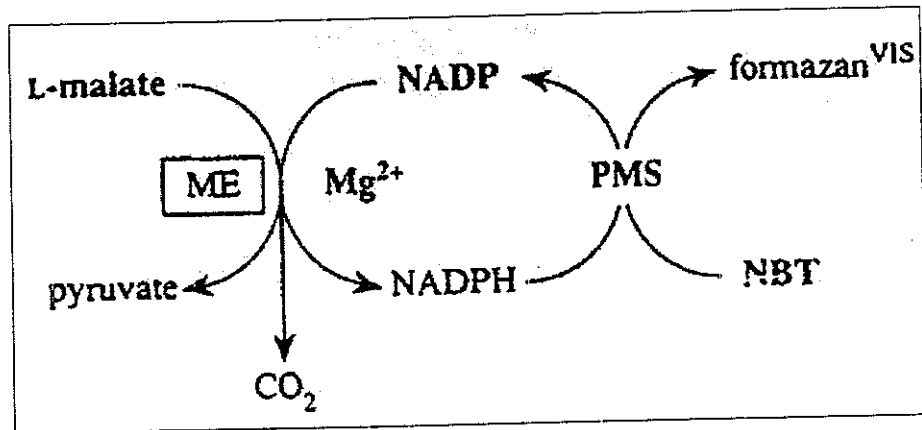
için jelin boyama işlemi Tris-HCL tamponunda, karanlıkta ve 37 °C'de uygulanmıştır (Şekil 3.4). Bantlar görülünce jel distile su ile yıkanıp 10-15 dakika %5'lik Glasial Asetik Asit içinde bekletilip % 50 gliserol içinde tespit edilmiştir.



Şekil 3.4. MDH için uygulanan boyama sistemi (Manchenko 1994)

3.3.3.4.3. Malik Enzim (E.C.1.1.1.40)'in boyaması

pH: 8.0 Tris-HCl tamponunda, L-malik asit, NADP, MTT, PMS, MgCl₂ boya maddeleri ile karanlıkta 37 °C'de 1 saat süreyle boyama gerçekleştirilmiştir. (Şekil 3.4). Mavi bantlar görülünce jel distile su ile yıkanıp %50 alkol içerisinde tespit edilmiştir.

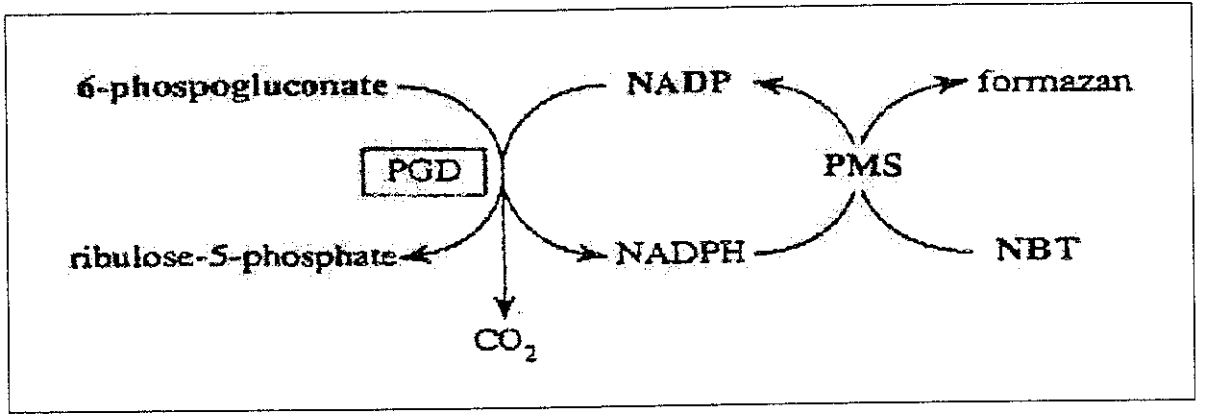


Şekil 3.5. ME için uygulanan boyama sistemi (Manchenko 1994)

3.3.3.4.4. 6-Fosfoglukonat dehidrogenaz (6-PGDH) enziminin boyaması

6- Fosfoglukonat enzimi NADP tamponunda, MTT/PMS boya maddeleri ile boyaması gerçekleştirilmiştir.

Şekil 3.6 da görüldüğü gibi 6-PGDH substratı olan 6-fosfoglukonat NADP koenzimi ile D-ribuloz-5- fosfat ve CO₂ oluşturur. Bu kimyasal döngünün gerçekleşmesi için boyama 37 °C'de karanlıkta yapılmıştır. Bantlar görülünce jel distile su ile yıkanıp, %50 etil alkol içinde tespit edilmiştir.



Şekil 3.6. 6-PGDH için uygulanan boyama sistemi (Manchenko 1994)

3.4. Protein Elektrofrez

Proteinler izoelektrik noktalarının (pI) üzerindeki pH değerlerinde (-) yüklüdürler ve elektriksel alanda anoda göç ederler; izoelektrik noktalarının altındaki pH değerlerinde ise (+) yüklüdürler ve katoda göç ederler. Bu özellikleri nedeniyle protein karışımlarının ayrılmasında elektrofrez yönteminden yararlanır. Elektrofrez proteinlerin molekül ağırlığının saptanmasındaki ve saflık dizisinin ortaya konulmasında kontrolünde kullanılmıştır.

Alınan *Patella* örneklerinin proteinlerinin ayırımında poliakrilamid jel elektroforezi (PAGE) tekniği kullanılmıştır. PAGE'de destek matrisi olan poliakrilamid, akrilamid monomerlerinin çapraz bağlayıcısı ("cross-linker) moleküller (N,N'-metilen-bis-akrilamid) yardımıyla kovalent olarak bağlanmasından oluşan bir polimerdir ve porlu bir yapı ortaya koyar. Polimerizasyon kimyasal yöntemle gerçekleştirilir. Polimerizasyonun başlatıcı olarak amonyum persülfat (APS) kullanılır. N,N,N',N'-tetrametilenetilendiamin (TEMED) katalizör işlevi görür. Protein elektroforezinde kesikli (discontinuos) tampon sistemi kullanılmıştır. Kesikli sistemde jel farklı tamponlarla hazırlanmış iki kısımdan oluşur. Ekstraktlarımızın yüklendiği büyük porlu yükleme (stacking) jeli; küçük porlu ayırma (separating) jelidir. Bu sistemde kullanılan tank tamponları da jel tamponlarından farklıdır. Bu farklılık jel boyunca bir pH ve voltaj gradientinin oluşumuna yol açar. Elektroforez işleminde kullanılan *Patella* ekstraktları ince büyük porlu yükleme jelinden geçer. Proteinler sodyum dodesil sülfat (SDS) içeren jelde molekül büyüklüğüne göre ayrılırlar (Temizkan vd 1999).

Protein elektroforezinde akım sabit tutulur. Bu durumda proteinlerin göç hızıda sabittir.

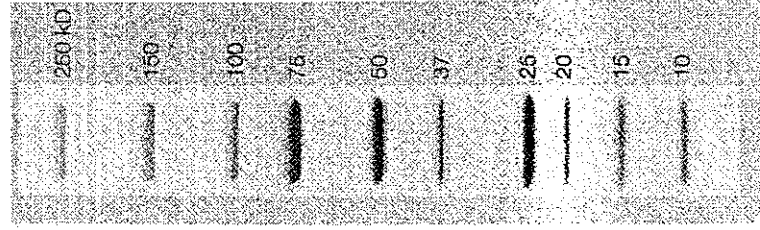
3.4.1. Trisin- sodyum- dodesil sülfat (TSDS) poliakrilamid jel elektroforezi (PAGE)

Trisin- Sodyum- Dodesil Sülfat (TSDS) poliakrilamid Jel elektroforezi (PAGE) Shagger ve Jagow (1987)'a göre gerçekleştirilmiştir. Bu yöntem 2 kDa'a kadar küçük protein bileşiklerinin ayrılmasını sağlayan hassas bir ayırma sistemidir (Shi ve Jackowski 1998).

Elektroforetik ayrımlar % 10'luk bir seperasyon jeli, %4 'lük yükleme jeli kullanılarak sürekli olmayan bir tampon sisteminde (katot tamponu: 0.1 M Tris, 0.1 M Trisin, %1 SDS pH 8.25 ve anot tamponu:

0.2 M Tris-HCL pH 8.9) gerçekleştirilmiştir. 5 µl venom ekstraktı eşit miktarda %100 gliserol, 2-merkaptoetanol, %20 SDS ve 1 M Tris, pH 6.8 içeren örnek tamponu içerisinde 5 dak. 95 °C'de denatüre edildikten sonra jellere yüklenmiştir. Protein elektroforezinde de ekstraktlar *Patella*'nın ayak kasından elde edilmiştir.

Elektroforez işlemi 25 mA sabit akım altında 14 saat sürdürülmüş, jeller % 0.1'lik Coomassie Blue R-250 (Sigma) ile 3 saat boyanmıştır. Proteinlerin moleküler kütlelerinin belirlenmesi için tüm jellerde geniş aralıklı (10-250 kDa) (Bioract) standart protein kullanılmıştır.



Şekil 3.7 Kullanılan standart proteindeki farklı moleküler ağırlık bantları

Elektroforez işlemi 18 x 16 x 0.15 cm boyutundaki jellerde yine Hoefer SE Ruby 600 (Amersham Bioscience) aleti kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Daha sonra jellerin fotoğrafı çekilmiş ve proteinlerin moleküler ağırlıkları (M) ve Rf (proteinlerin yürüme mesafesi/jelin yürüme mesafesi) değerleri Microsoft Excel programında hesaplanmıştır (Hames 1998).

4. BULGULAR

Geniş bir sahil şeridi olan Antalya Körfezi'nden toplanan *Patella* örneklerinde tür tayinleri, morfolojik ölçümler ile diğer çalışmalar gerçekleştirilerek, cins ve tür özellikleri belirlenmiştir.

4.1. Morfolojik Ölçümler

P. caerulea'da 98 örnekten alınan ölçümlerde kabuk uzunluğu 2.2 -3.4 cm arasında, kabuk genişliği 2.8-6 cm, kabuk yüksekliği 0.3-0.8 cm, radula boyu 2.0-4.8 cm arasında bulunmuş ve Çizelge 4.1'de özetlenmiştir. 45 adet *P. rustica* örneğinde ise kabuk uzunluğu 1.9-3.1 cm arasında, kabuk genişliği 1.4-2.6-cm, kabuk yüksekliği 0.3-1.0 cm, radula uzunluğu 2.4-6.5-cm arasında ölçülmüştür. Bu ölçümlerin ortalama ve standart sapma değerleri Çizelge 4.2'de verilmiştir.

Çizelge 4.1. *P. caerulea* ve *P. rustica* türlerinin morfolojik ölçümleri (cm), B.S: birey sayısı, K.U: kabuk uzunluğu, K.G: kabuk genişliği, K.Y: kabuk yüksekliği, R.U. radula uzunluğu (cm)

Tür Adı	B.S.	K.U		K.G.		K.Y.		R.U	
		Mak.	Min.	Mak.	Min.	Mak.	Min.	Mak.	Min.
<i>P.c.</i>	98	3.4	2.2	6.0	2.8	0.8	0.3	4.8	2.0
<i>P.r.</i>	45	3.1	1.9	2.6	1.4	1.0	0.3	6.5	2.4

P. caerulea türünün ortalama kabuk uzunluğu 2.8 ± 0.3 cm, ortalama kabuk genişliği 2.2 ± 0.2 cm, ortalama kabuk yüksekliği 0.5 ± 0.1 cm, ortalama radula uzunluğu 3.3 ± 0.5 cm olarak ölçülmüştür (Çizelge 4.2).

P. rustica türünün ortalama kabuk uzunluğu 2.4 ± 0.3 cm, ortalama kabuk genişliği 2.0 ± 0.2 cm, ortalama kabuk yüksekliği 0.7 ± 0.2

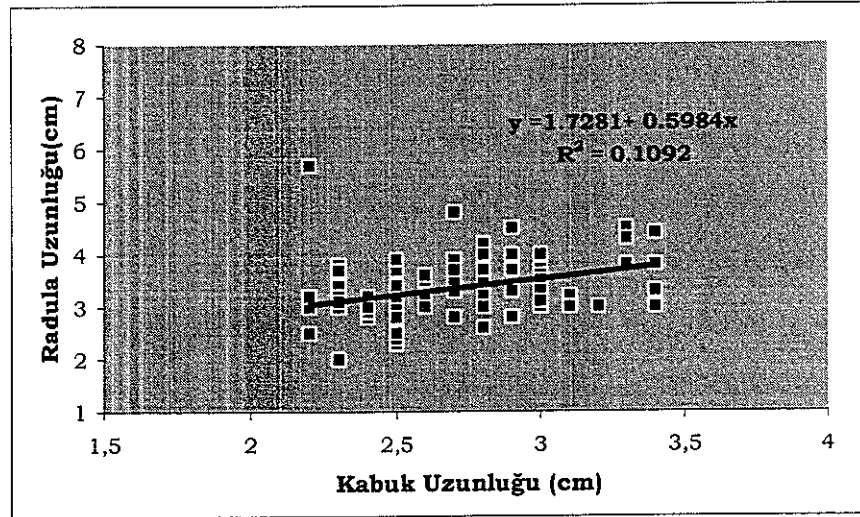
cm, ortalama radula uzunluğu 4.3±1.0 cm olarak bulunmuştur (Çizelge 4.2).

Çizelge 4.2. Tespit edilen *Patella* türlerinde kabuk ve radulanın biyometrik özellikleri (cm)

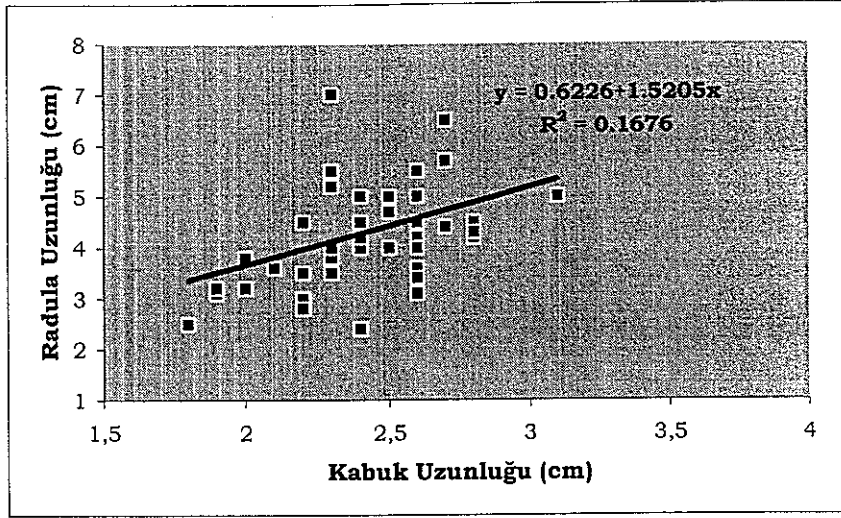
Tür Adı	B.S.	K.U±SD	K.G±SD	K.Y±SD	R.U±SD	RU:KU±SD
<i>P.c.</i>	98	2.8±0.3	2.2±0.2	0.5±0.1	3.3±0.5	1.255±0.219
<i>P.r.</i>	45	2.4±0.3	2.0±0.2	0.7±0.2	4.3±1.0	1.775±0.378

P. caerulea'nın ve *P. rustica* türlerinde kabuk ve radula uzunluklarına ayrı ayrı bakıldığında kabuk uzunluklarının (örneğin 2.5 cm örneklerde) aynı olmasına karşın radula uzunluklarında farklılık gözlenmiştir (Şekil 4.1 ve Şekil 4.2). Bu da, radula uzunluğunun kabuk uzunluğuna oranı olarak verilmiştir (Çizelge 4.2.).

P. caerulea ve *P. rustica* türlerinde radula uzunluğunun kabuk boyu uzunluğuna olan regresyon denkleminde bakıldığında aralarında çok düşük bir ilişki olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.1, Şekil 4.2).

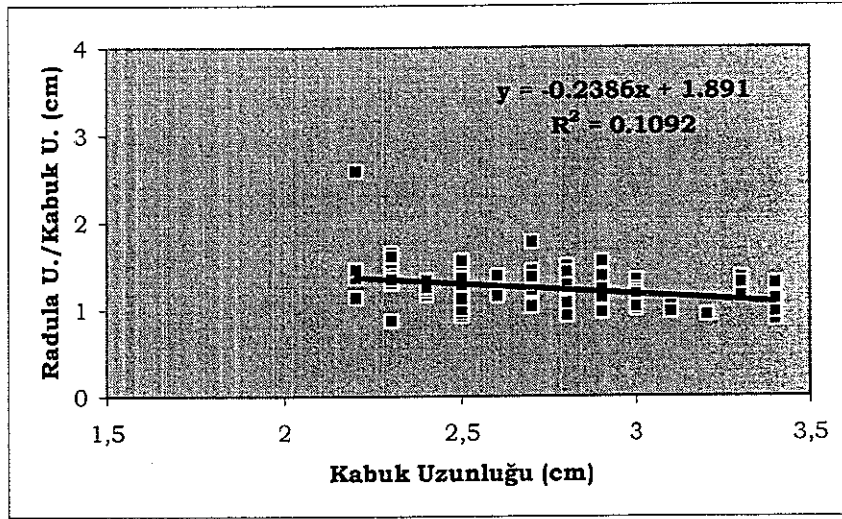


Şekil 4.1. *P. caerulea*'nın kabuk uzunluğu-radula uzunluğunun serpilme diyagramı ve regresyon eğrisi

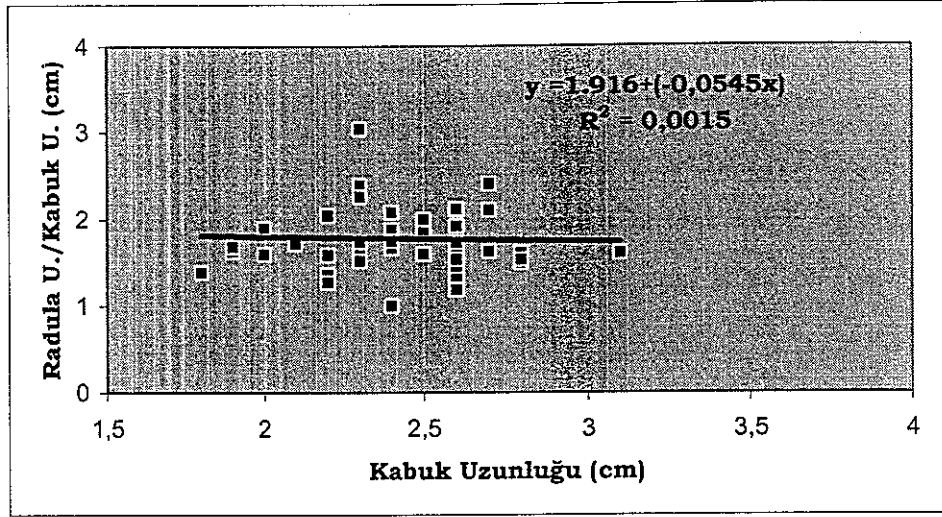


Şekil 4.2. *P. rustica*'nın kabuk uzunluğu-radula uzunluğunun serpilme diyagramı ve regresyon eğrisi

Çalışılan her iki *Patella* türü için oransal radula uzunluğunun kabuk boyu uzunluğuna olan regresyon denkleminde bakıldığında aralarında çok zayıf bir ilişki olduğu gözlemlenmiştir.



Şekil 4.3. *P. caerulea*'da oransal radula uzunluğu ve kabuk uzunluğunun serpilme diyagramı ve regresyon eğrisi



Şekil 4.4. *P. rustica*'da oransal radula uzunluğu ve kabuk uzunluğunun serpilme diyagramı ve regresyon eğrisi

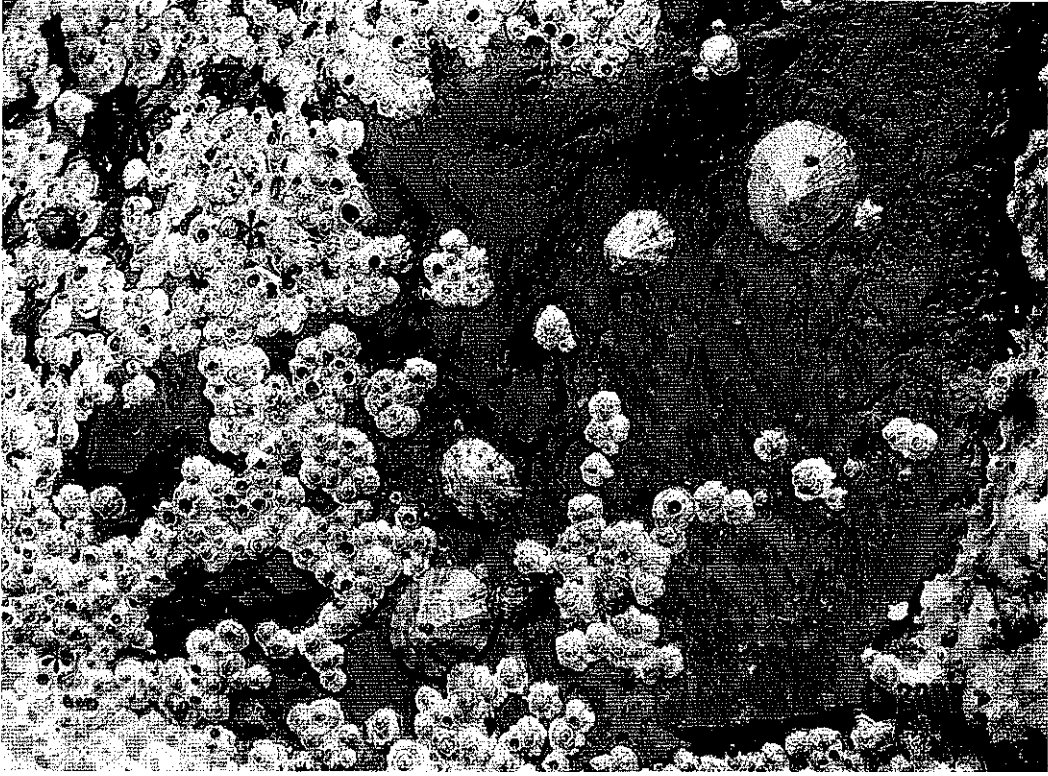
4.2. Kabuk Morfolojisi

Patella'ların yaşam alanı, *Balanus*'ların alanı ile komşu zonlardan oluşmaktadır (Şekil 4.5). *P. rustica* gel-git zonunun üst seviyelerini, *P. caerulea* ise, su içini tercih etmektedir. Bu nedenle, *P. rustica* türünün laboratuvar koşullarında daha rahat yaşamını sürdürdüğü gözlenmiştir.

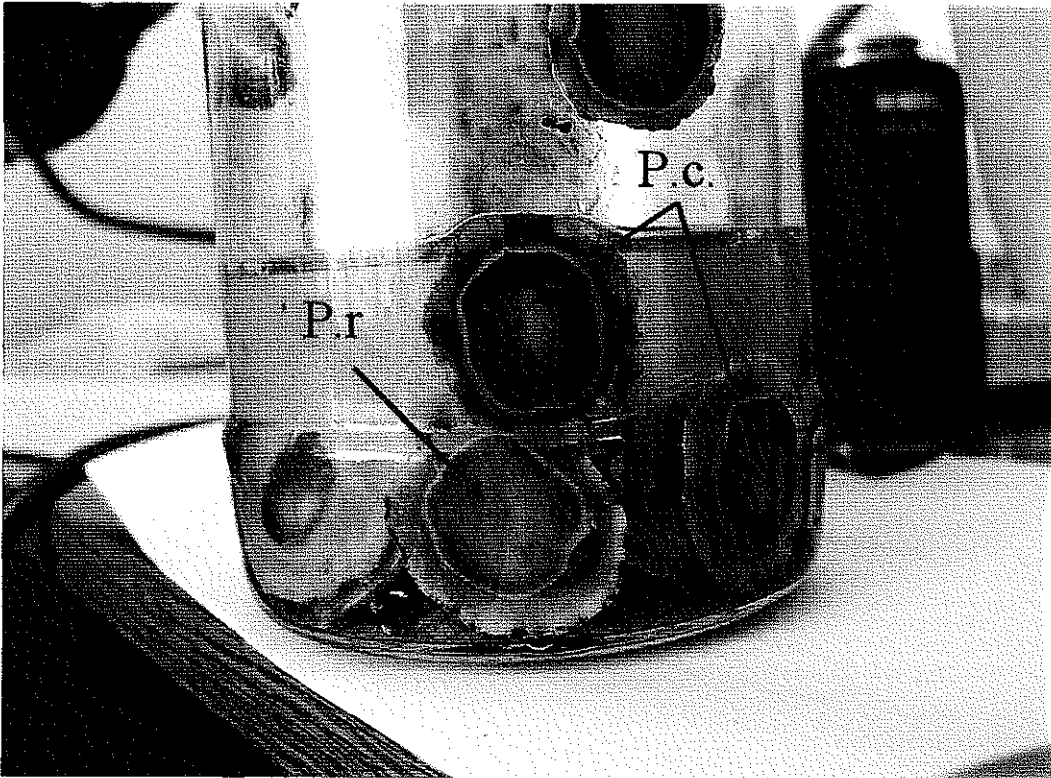
Türler arasında ve hatta tür içinde ayak tabanının rengi açısından farklar görülmektedir. Örneğin Şekil 4.6'de *P. caerulea*'nın ayak taban rengi siyaha yakın gri renkte olmasına karşın *P. rustica*'nın ayak tabanı ise, somon rengindedir. *P. caerulea*'nın kendi içindeki örneklerde, ayak taban rengi farklılaşması görülmüştür. Bu türün kabuğunun içinde mavi-gri renkte sedef yapısı genelde karakteristik bir özellik olarak ayırt edilmektedir (Şekil 4.7). Bu türe ait örnekler dorsalden bakıldığında, kabuk desenleri de çeşitlilik yansıtmaktadır (Şekil 4.8).

P. rustica'nın kabuğunun konik yapısı dikkate alındığında, bu özelliğe bağlı görünen bir şekilde, ayak kasını daha çok uzattığı belirlenmiş ve organizmanın büyümesini yansıtan kabuk üzerindeki enine çizgilerde gözlenmiştir (Şekil 4.9). Diğer kabuk özelliği, hayvanın

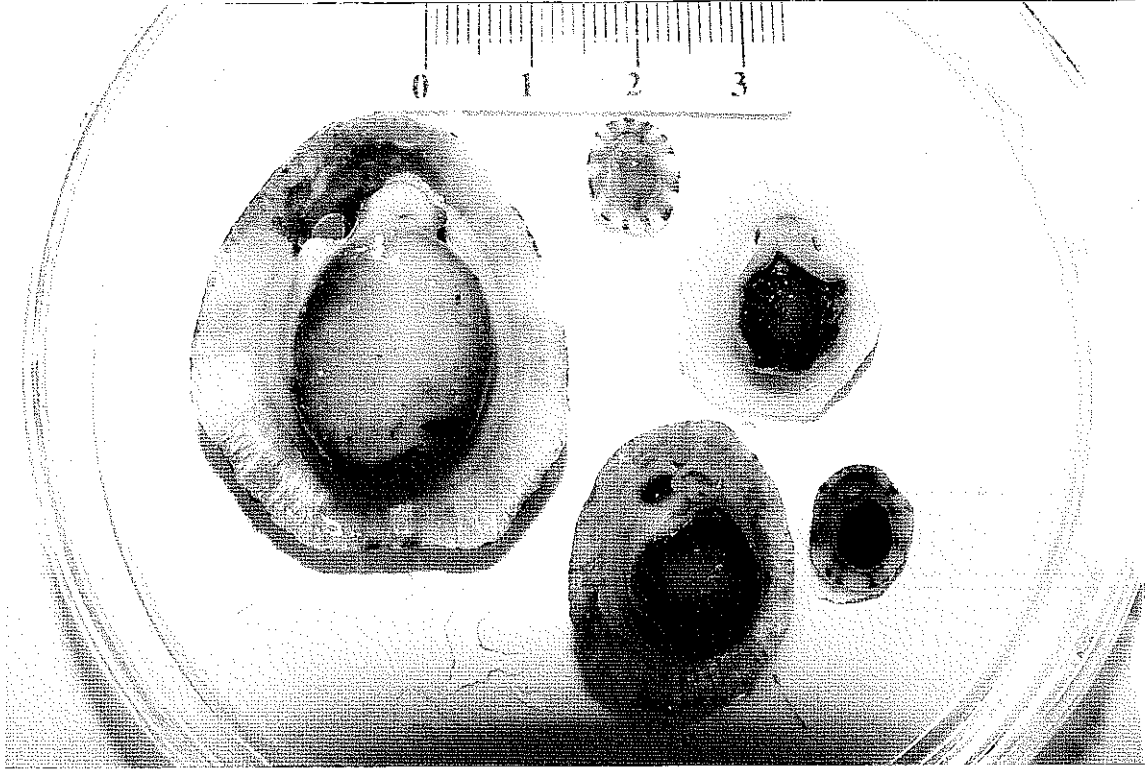
vücut şeklinin kabuk içinde sarı-kahverenkli bir iz oluşturmasıdır. Bu örneklerde olduğu gibi, ventralden kahverenkli marjinal ışımsal çizgiler bu türün ayrılmasında kullandığımız bir diğer kabuk özelliğidir (Şekil 4.10). *P. caerulea*'nın manto eteğindeki girinti *P. rustica*'dan ayırt edilmesinde bir belirteç olarak kullanılmıştır (Şekil 4.11). *Patella*'da başın üzerinde yer alan manto boşluğunun açıklığı *P. caerulea*'da daha belirgin, *P. rustica*'da ise, küçük bir açıklık halindedir (Şekil 4.12). Şekil 4.1 ve 4.12'de ventralden *Patella*'nın baş (ağız ve tentaküller), ayak ve lateral tentakülleri açıkça görülmektedir.



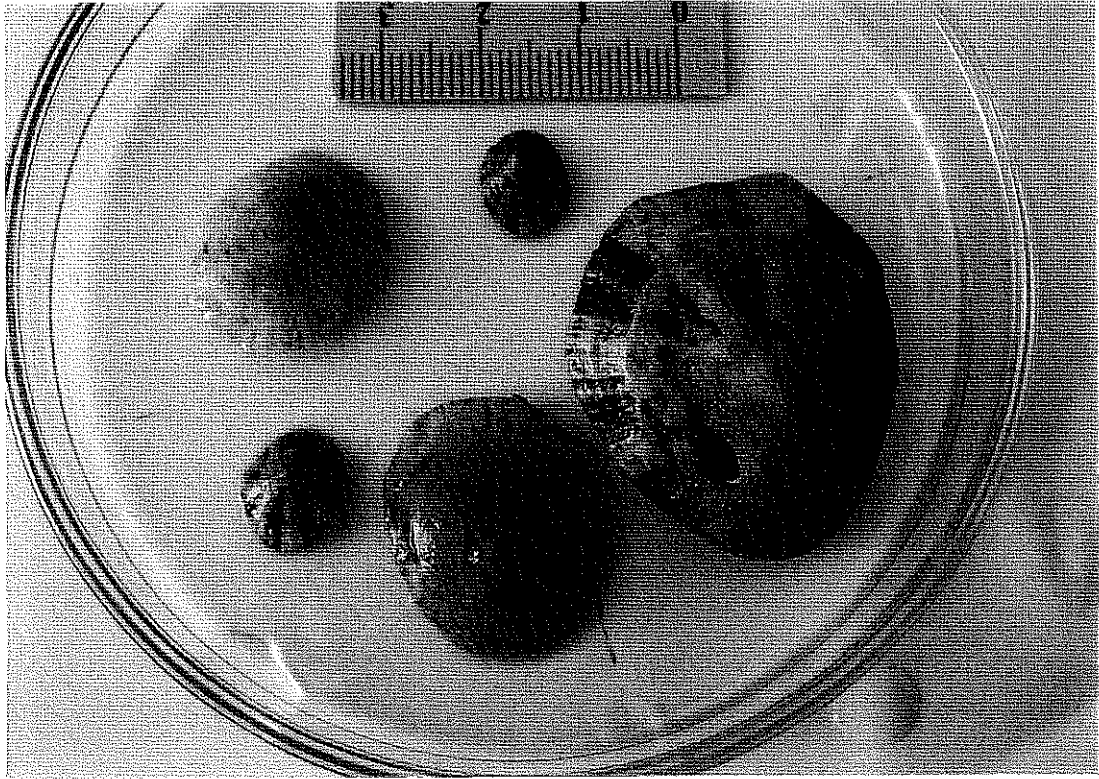
Şekil. 4.5. *Patella*'nın *Balanus*'lar ile sınırlanmış yaşam alanı, (→ :*P. caerulea*,
* : *Balanus* sp.)



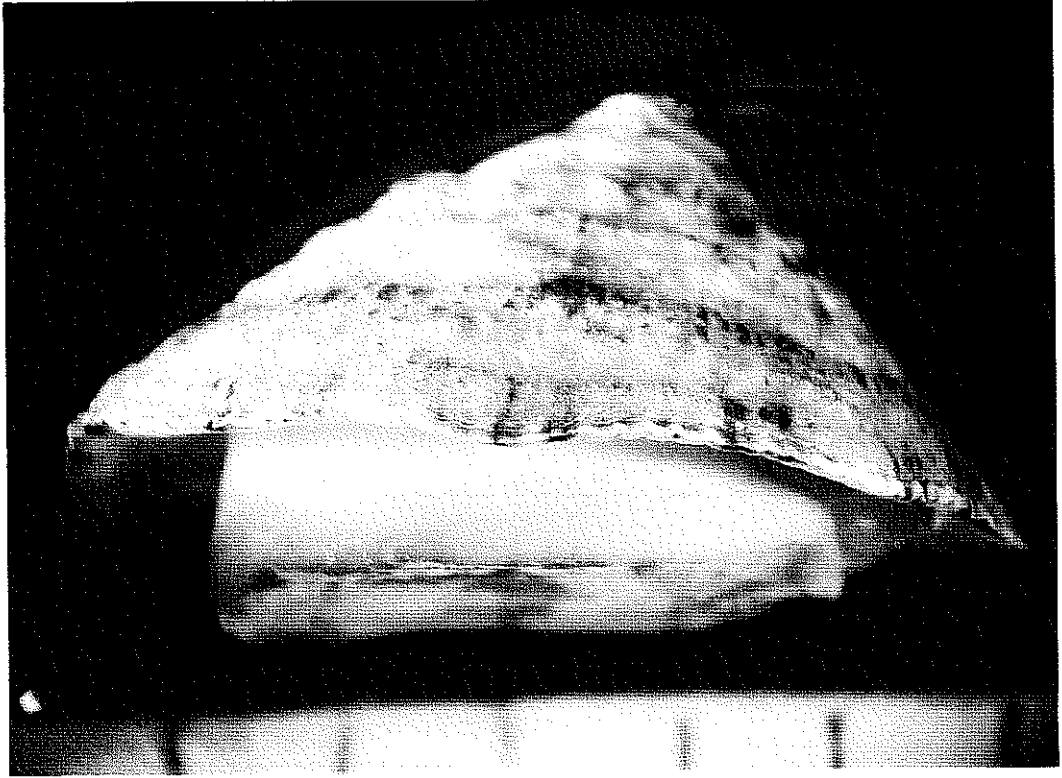
Şekil. 4.6. *Patella* ayağının yapışma durumu ve ayak tabanı renk farklılığı



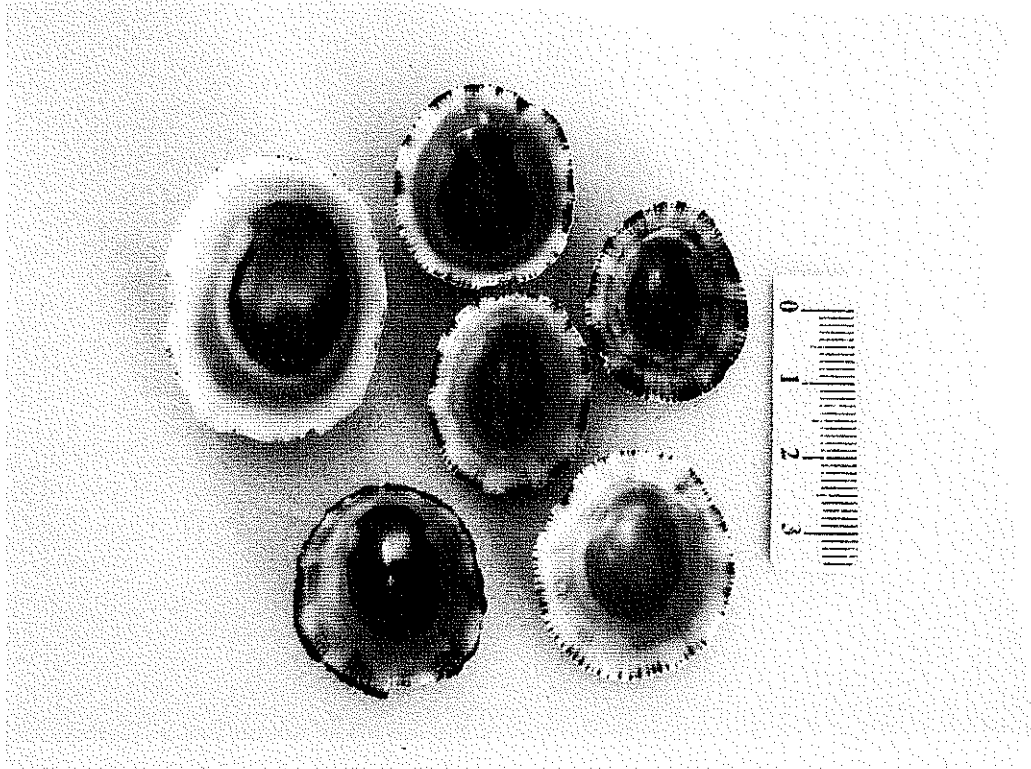
Şekil 4.7. *P. caerulea*'nın ventralden görünüşü, ayak taban rengi farklılığı



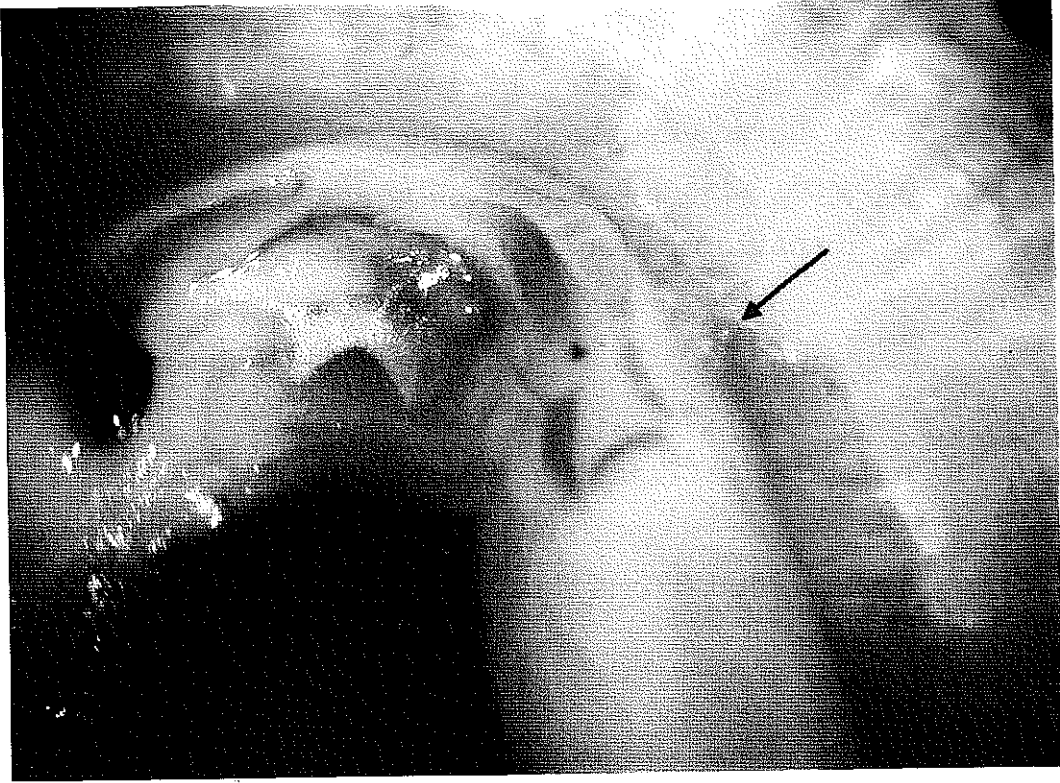
Şekil 4.8. *P. caerulea* kabuklarının dorsal görünüşü



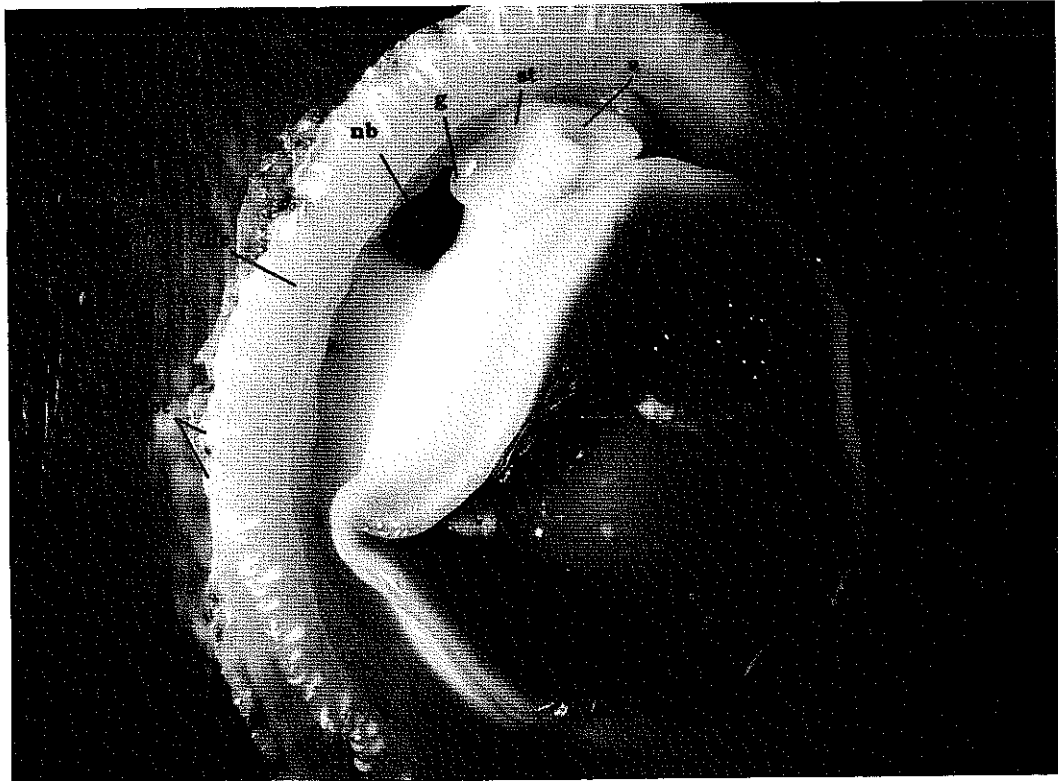
Şekil 4.9. *P. rustica*'nın konik kabuk ve uzatılmış ayak morfolojisi. Büyüme çizgileri belirgindir.



Şekil 4.10. *P. rustica* kabuklarının ventralden görünüşü ve vücut izleri



Şekil 4.11. *P. caerulea*'nın manto kenar görüntüsü, (→ : Pallial girinti)



Şekil 4.12. *P. caerulea*'nın ventro-lateralden görüntüsü ayak, manto ve pallial boşluk açıklığı, baş bölgesi karakteristikleri, (a: ağız, g: göz, me: manto kenarı, nb, nukal boşluk, pt:pallial tentakül, st: sefalik tentakül)

4.3. Radula yapısı

Radula, yoğun kas dokusu ile sarılmış bir çift kıkırdak iki loplu bir odontofor yapısının ortasından uzanmakta olup, uç kısmındaki dişler döküldüğü için daha şeffaf ve ince görünümündedir (Şekil 4.13). *P. caerulea* radulası dişlerinin sıralanışının stereo mikroskopundaki görüntüsü Şekil 4.14'te verilmiştir.

Her iki türde radulanın dişlerinin yapısı taramalı elektron mikroskopunda daha ayrıntılı olarak incelenmiş ve dişlerin formülü Corte-Real vd (1996)'e göre $3+1+(2+1+2)+1+3$ bulunmuştur. Ancak bazı morfolojik farklılıklar gözlenmiştir.

P. caerulea'nın radulasındaki dişlerin en ortasında küçülmüş ince bir yapı olarak merkezi diş (raşidian) görülmüş olup, bunun iki yanında ikişerden dört tane açık yelpaze şeklinde lateral diş yer almaktadır. Lateral dişlerin her iki yanında birer tane çatallı diş bulunmakta olup, bu dişler üç çıkıntılıdır (Şekil 4.15). Bu dişteki ilk iki çıkıntı bir çocuk eldiveni görünümü vermekte, dıştaki çıkıntısı ise bağlantı bölgesinde tekrar bir köşe oluşturmaktadır (Şekil 4.17). Marjinal dişler üçer tanedir ve her bir parçanın uç yapısı kıvrımlı görünümündedir.

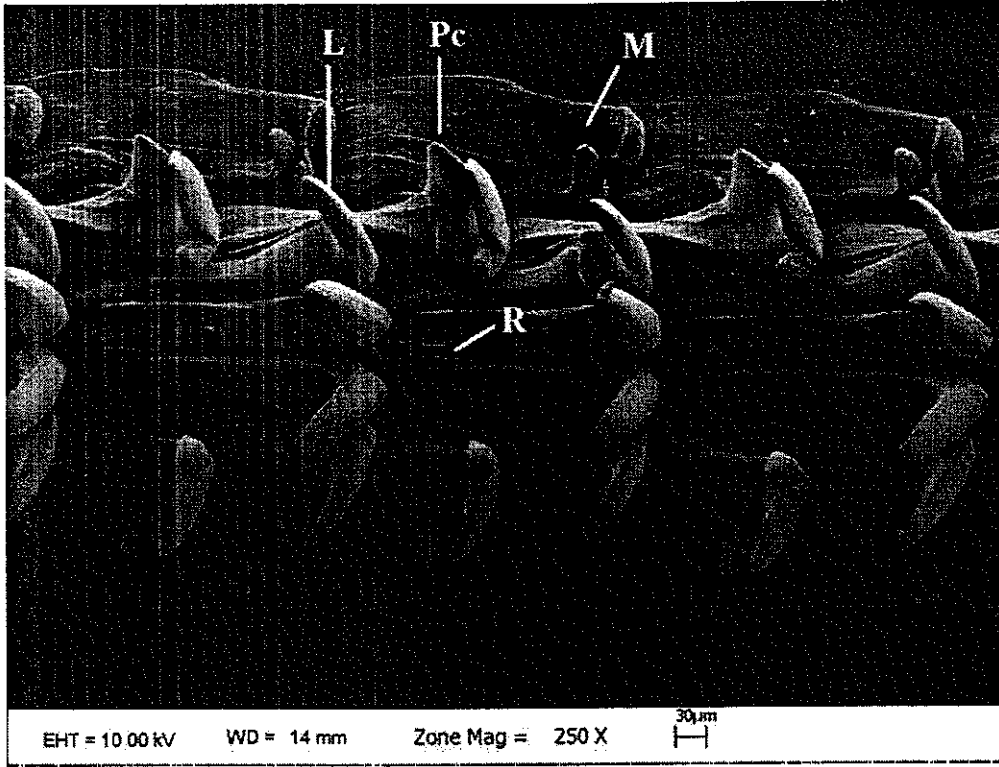
P. rustica'nın radulasındaki merkezi diş (raşidan) ancak iz halinde görülebilmektedir. Lateral diş sayısı dört adet ve diğer türe göre dişlerin uçlarının birbirine yakınlığı daha fazla olup kapalı bir yelpaze şeklindedir (Şekil 4.16). Bunların iki yanında yer alan çatallı dişler iki çıkıntılı, büyük çıkıntının median yüzünde bir küçük çıkıntı daha yer almaktadır (Şekil 4.18). Marjinal dişler üçer adet olup her biri düz uçludur.



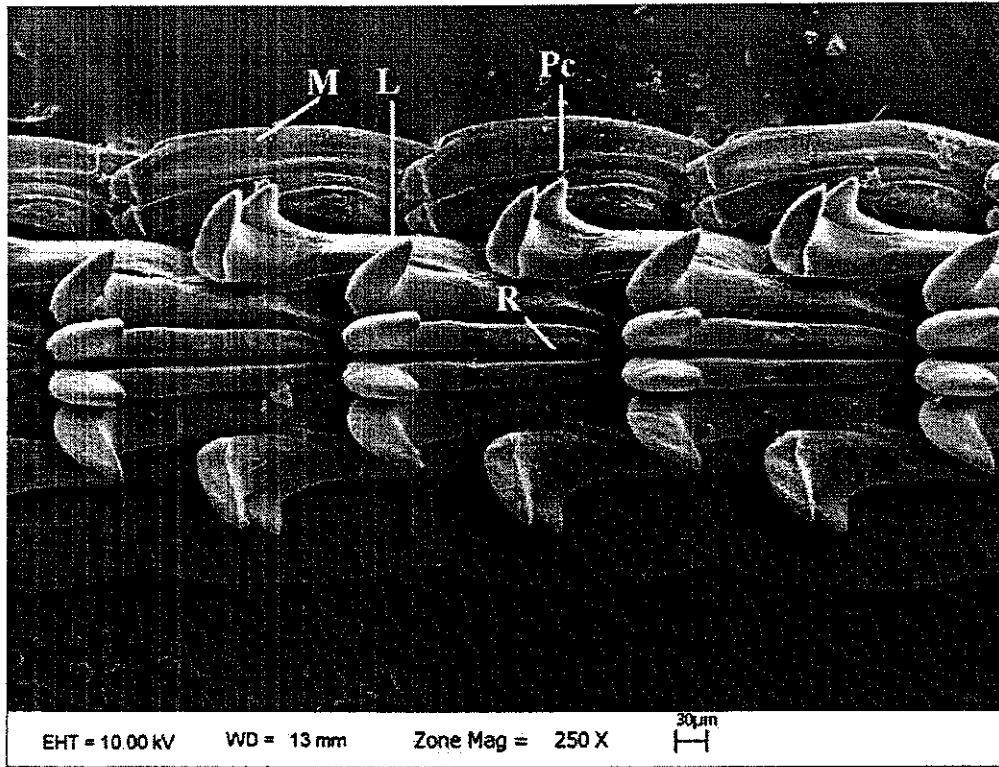
Şekil 4.13. İki loblu yapısı ile çıkartılmış radulanın genel görünümü, (l:lop, r: radula)



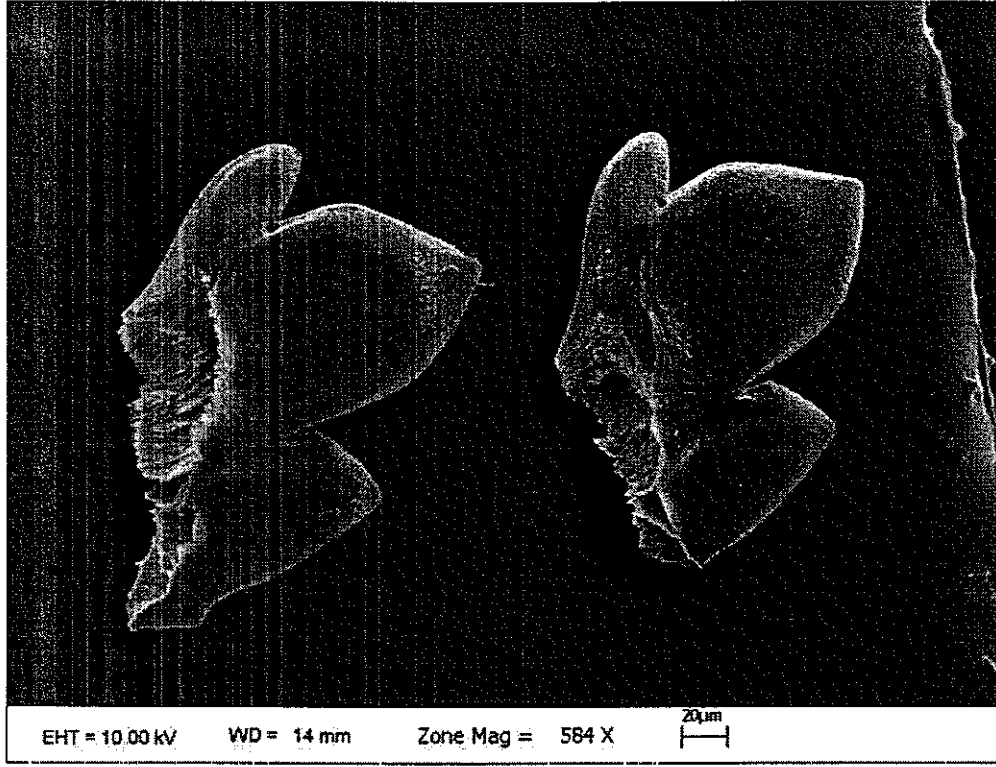
Şekil 4. 14. *P. caerulea*'nın radula lateral dişlerinin ve tabanın görünümü



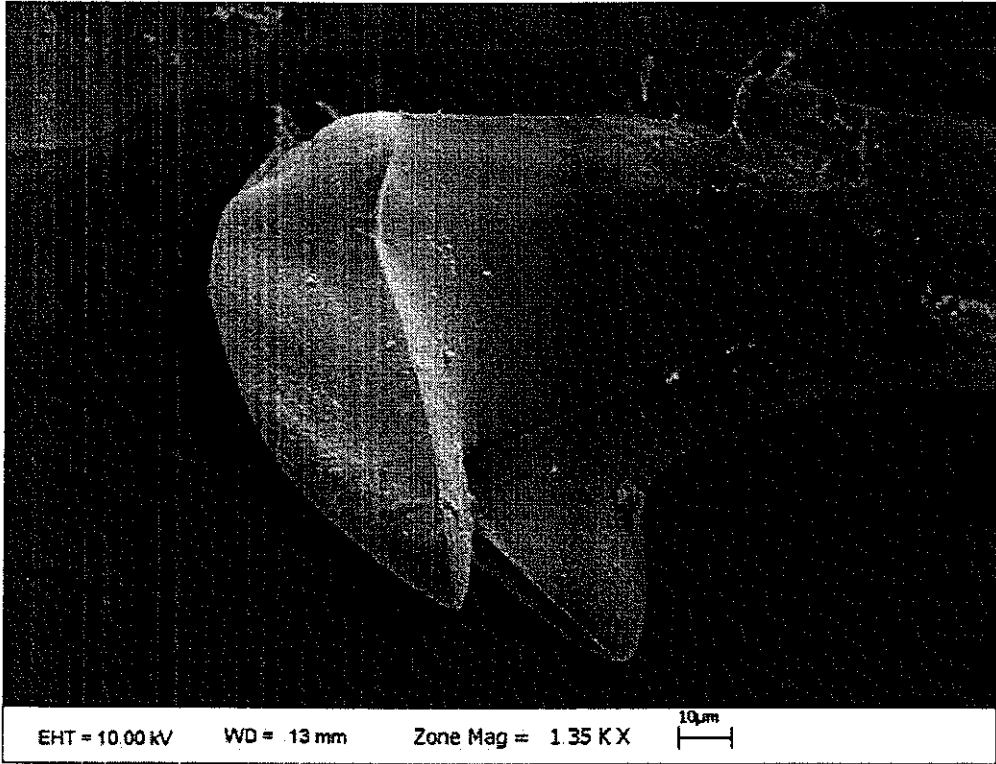
Şekil 4.15. *P. caerulea*'nın radulasının SEM'deki görüntüsü (L: lateral diş, M: marjinal diş, Pc: çıkıntılı diş, R: merkezi eksen dişi).



Şekil 4.16. *P. rustica*'nın radulasının SEM'deki görüntüsü (L: lateral diş, M: marjinal diş, Pc: çıkıntılı diş, R: merkezi eksen dişi).



Şekil 4.17. *P. caerulea*'nın çıkıntılı dişi

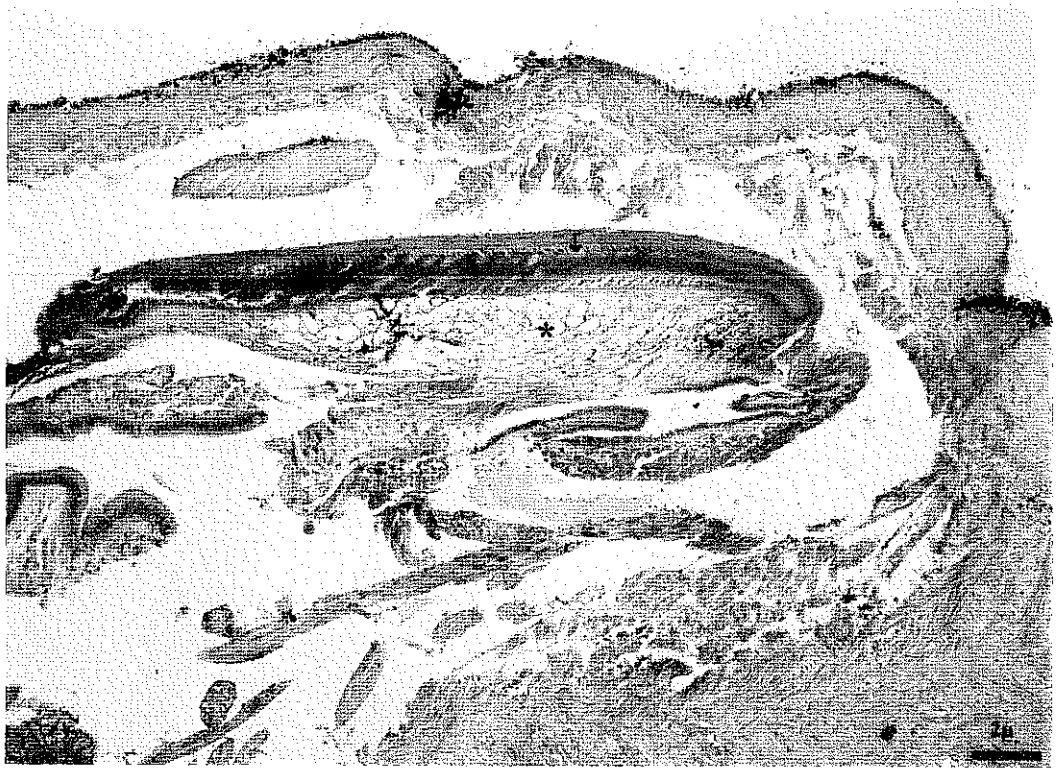


Şekil 4.18. *P. rustica*'nın çıkıntılı dişinin SEM'deki görüntüsü

Odontofor/Radula ve ilgili yapılar, viseral keseye açılan ağız boşluğu yer almaktadır (Şekil 4.19).

Şekil 4.20'de odontoforal radulanın çıktığı iki loplu yapının enine kesiti görünmektedir.

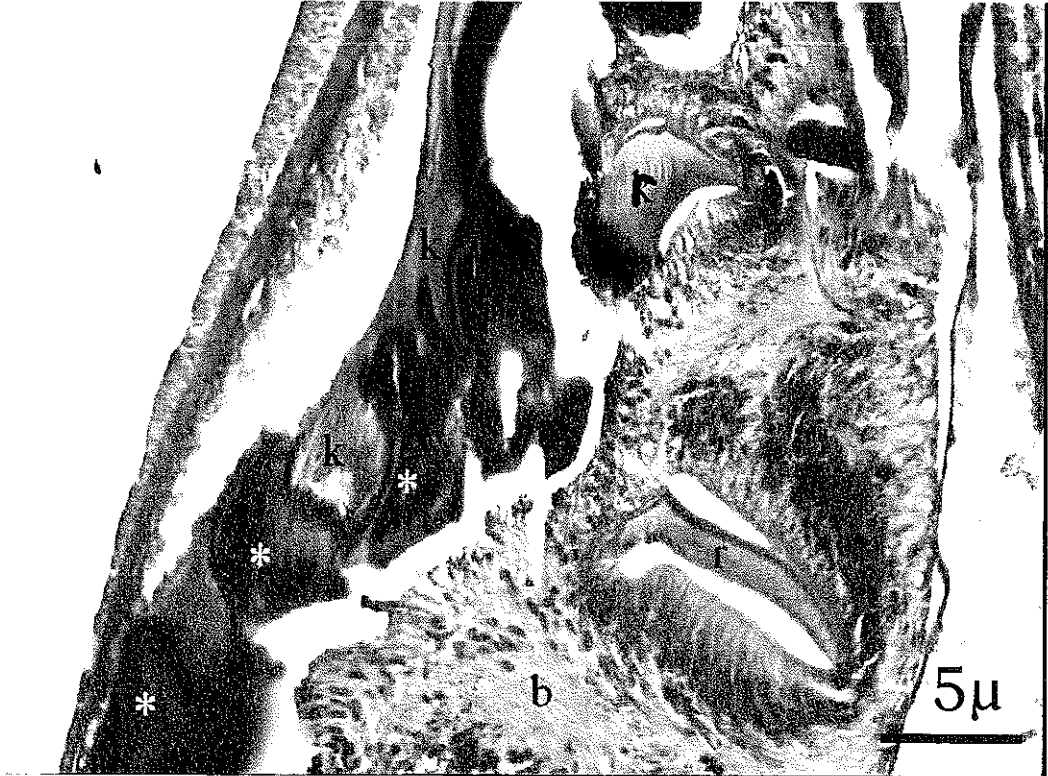
Radula, kıkırdak ve kemikleşmiş yapılar ile desteklenmekte olup. Radulada bol miktarda salgı hücreleri ve dışarıya verilmiş salgı içeriği vardır (Şekil 4.21). Tükürük bezi fonksiyonu olduğu görülmektedir (Şekil 4.22).



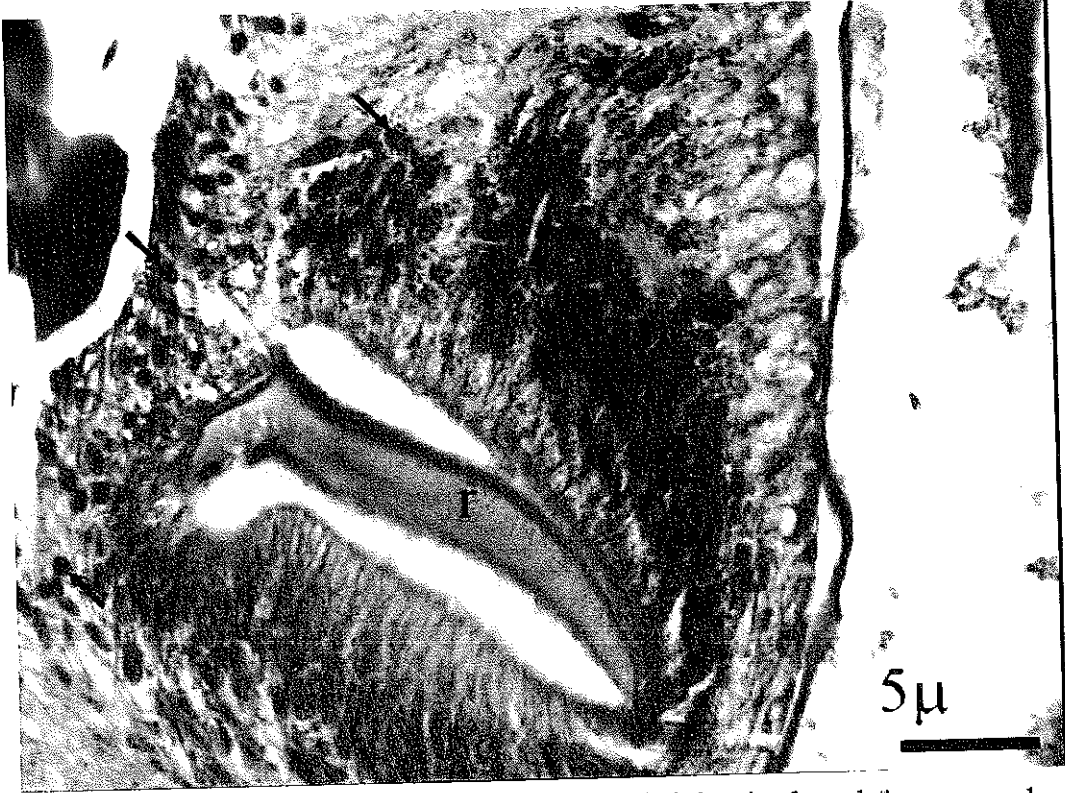
Şekil 4.19. *Patella* viseral kesesi dikine kesiti, (Odontoforun destek özellikli kıkırdak ve kas yapıları, * : kıkırdak, → :uzatma ve çekme kasları), GT



Şekil 4.20. Radulanın çıktığı iki loplü yapının enine kesiti, H&E



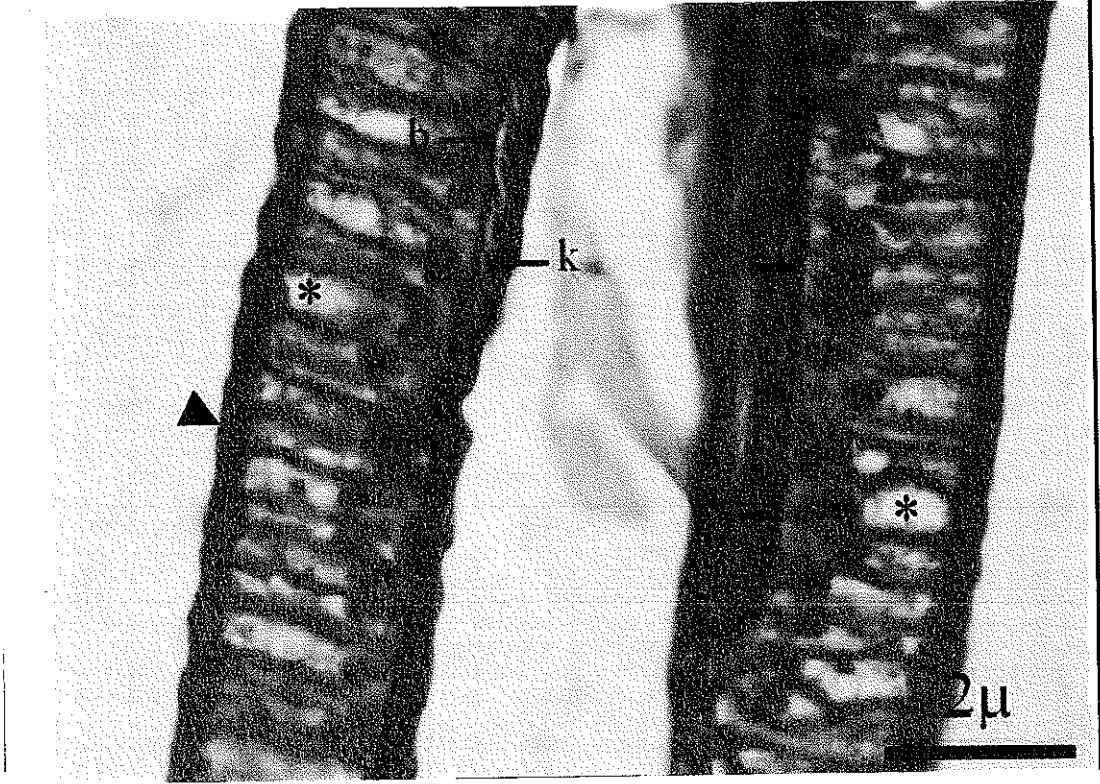
Şekil 4.21. Radular bölgeden transversal kesit (r: radula dişi, k: kıkırdak destek, * : kemikleşmiş destek yapılar, b: bağ dokusu), H&E



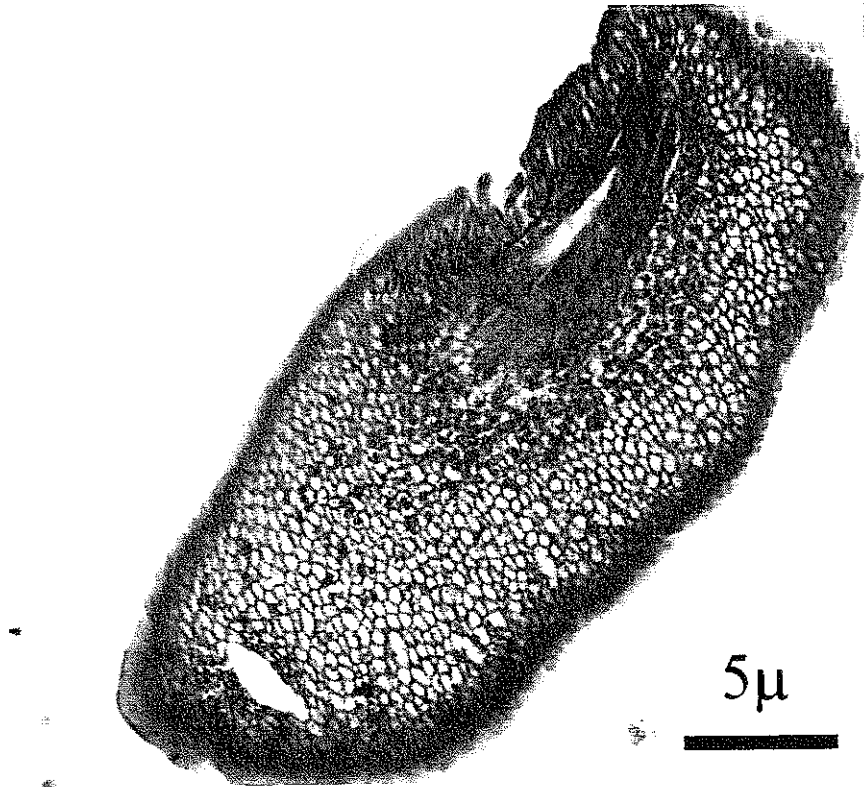
Şekil 4.22. Radular kesede yoğun salgı aktivitesi olan hücre grupları ve ekstrasellüler salgı granülleri (r: radula, *:hücre grubu, → : salgı hücresi) H&E

4.4. Sindirim Borusu

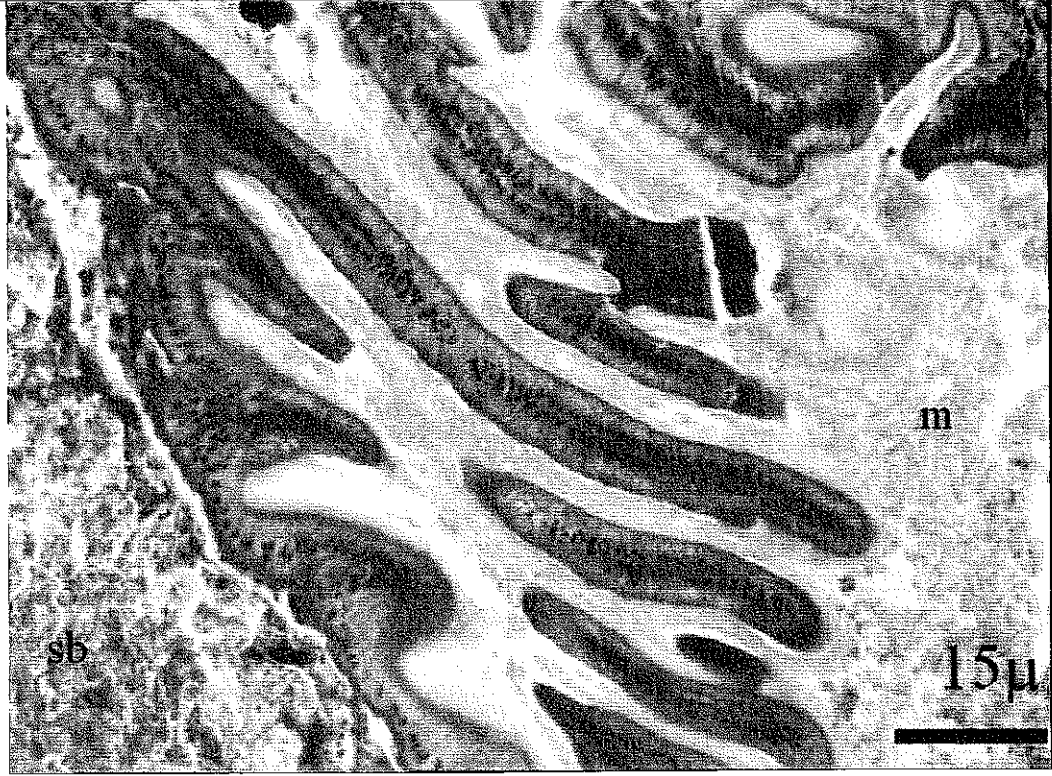
Patella'da sindirim borusu oldukça uzundur anterior yerleşimli barsak içini döşeyen epitel uzun silindirik hücreler içerir ve bu hücrelerin genellikle belirgin bir mikrovillus sınırı gözlenmiştir. Bu hücrelerin yerleştiği bazal membran altında ince bir bağ dokusu ve ince bir kas tabakası görülmektedir. Bu hücrelerin nükleusları bazal yerleşimli ve apikal bölgeleri ya asinar salgı ile dolu ya da salgısını boşaltmış olduğu için ve apikalden enine kesitte petek görünümü vermektedir (Şekil 4.23, 4.24). Özellikle anterior yerleşimli orta bağırsakta ise, villüs katlantıları görülmektedir (Şekil 4.25).



Şekil 4.23. Sindirim borusunda bulunan hücreler, (b:bağ dokusu, k: kas tabakası, →: bazal lamina, *: asinar salgı) H&E.



Şekil 4. 24. Sindirim borusunun apikalden enine kesiti, H&E

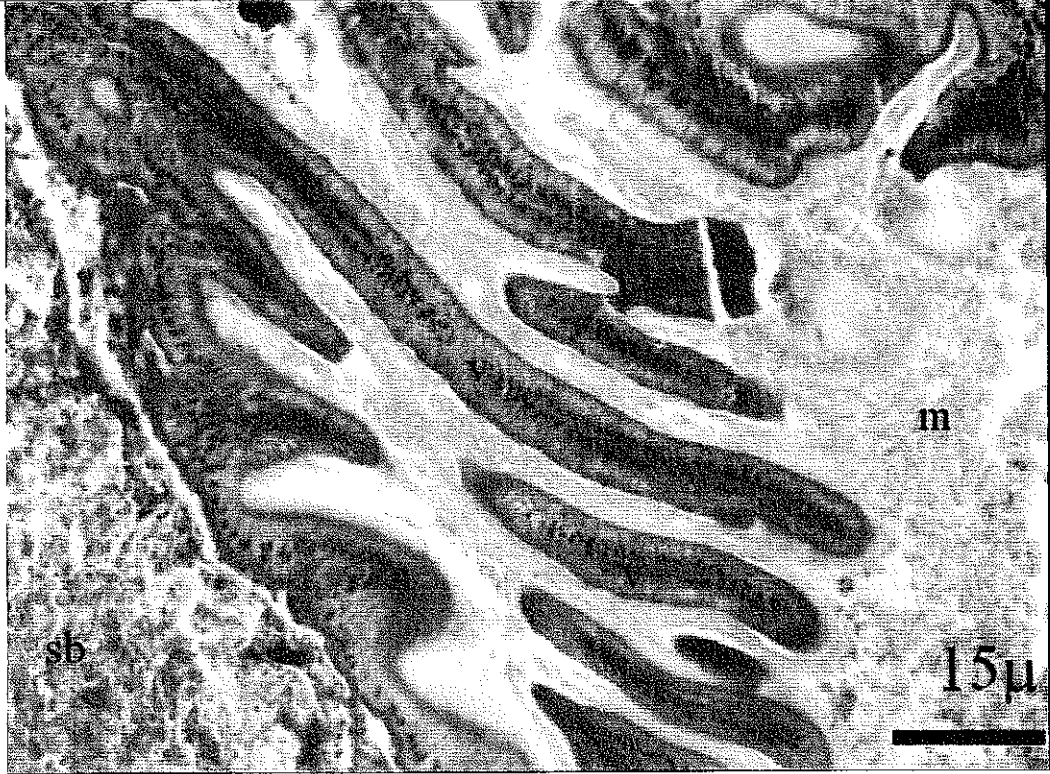


Şekil 4.25. Orta bağırsakta villüs katlantıları, (m: mide, v: villüs, sb: sindirim bezi) H&E.

4.5. Sindirim Bezi (Hepatopankreas)

Büyük ve loblu bir sindirim bezi (hepatopankreas) orta bağırsak bölgesinde bağlanmıştır. Bu bez dallanmış ve son uçları kapalı tubüler yapıda olup, enine kesitte foliküller halinde ayırt edilmektedir. Bu bezin bazı bireylerde viseral alanda vücutta geniş bir bölgeyi kaplamakta olduğu açıkça görülmüştür. Bağ ve kas dokusu uzantısı ile mideye bağlanır (Şekil 4.26). Bezi saran kapsül ince olup, kollajen lifler ve az miktarda kas lifleri içerir. Bezin içine uzanan bölmeler ise, daha fazla kas lifleri içermektedir.

Tubulleri saran epitelyumda iki hücre tipi belirgin olarak ayırt edilebilmektedir. Temel salgı hücreleri **a tipi** olup, çok büyük salgı veziküllerinin varlığı bu hücrelerin hepatopankreasta esas sindirim enzimlerini oluşturduğunu göstermektedir (Şekil 4.27).

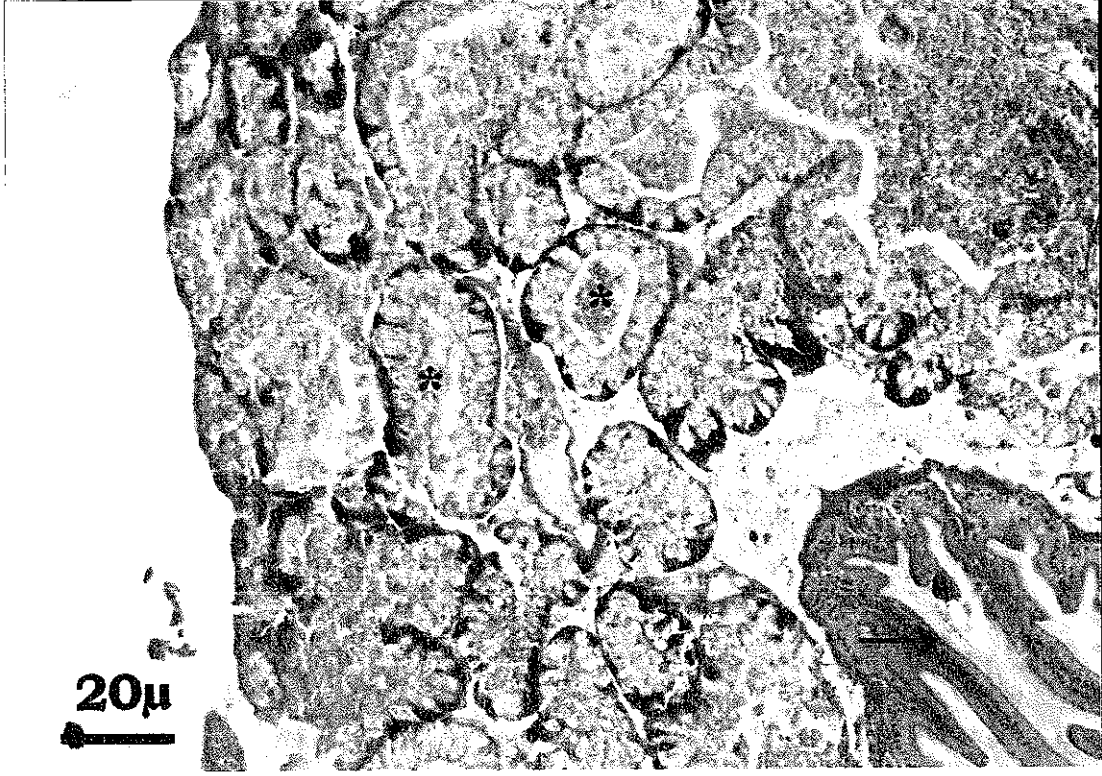


Şekil 4.25. Orta bağırsakta villüs katlantıları, (m: mide, v: villüs, sb: sindirim bezi) H&E.

4.5. Sindirim Bezi (Hepatopankreas)

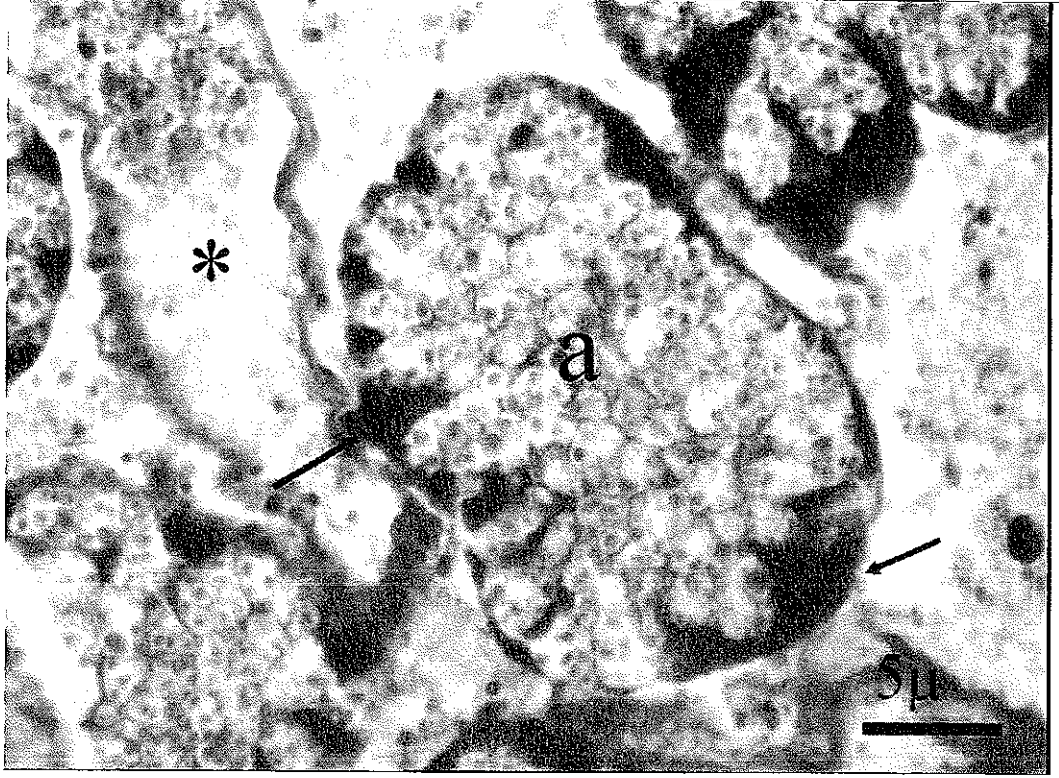
Büyük ve loblu bir sindirim bezi (hepatopankreas) orta bağırsak bölgesinde bağlanmıştır. Bu bez dallanmış ve son uçları kapalı tubüler yapıda olup, enine kesitte foliküller halinde ayırt edilmektedir. Bu bezin bazı bireylerde viseral alanda vücutta geniş bir bölgeyi kaplamakta olduğu açıkça görülmüştür. Bağ ve kas dokusu uzantısı ile mideye bağlanır (Şekil 4.26). Bezi saran kapsül ince olup, kollajen lifler ve az miktarda kas lifleri içerir. Bezin içine uzanan bölmeler ise, daha fazla kas lifleri içermektedir.

Tubulleri saran epitelyumda iki hücre tipi belirgin olarak ayırt edilebilmektedir. Temel salgı hücreleri **a tipi** olup, çok büyük salgı veziküllerinin varlığı bu hücrelerin hepatopankreasta esas sindirim enzimlerini oluşturduğunu göstermektedir (Şekil 4.27).



Şekil 4.26. Sindirim bezinin enine kesiti, H&E.

Dipte bulunan **b tipi** hücreleri ise bazal lamina ile geniş temasta ve daha ziyade depo hücreleri özelliğini yansıtmaktadır (Şekil 4.27).



Şekil 4.27. Sindirim bezinde bulunan salgı hücreleri, (a: a tipi hücre, → : b tipi hücre, * :salgı boşaltım kanalı) H&E.

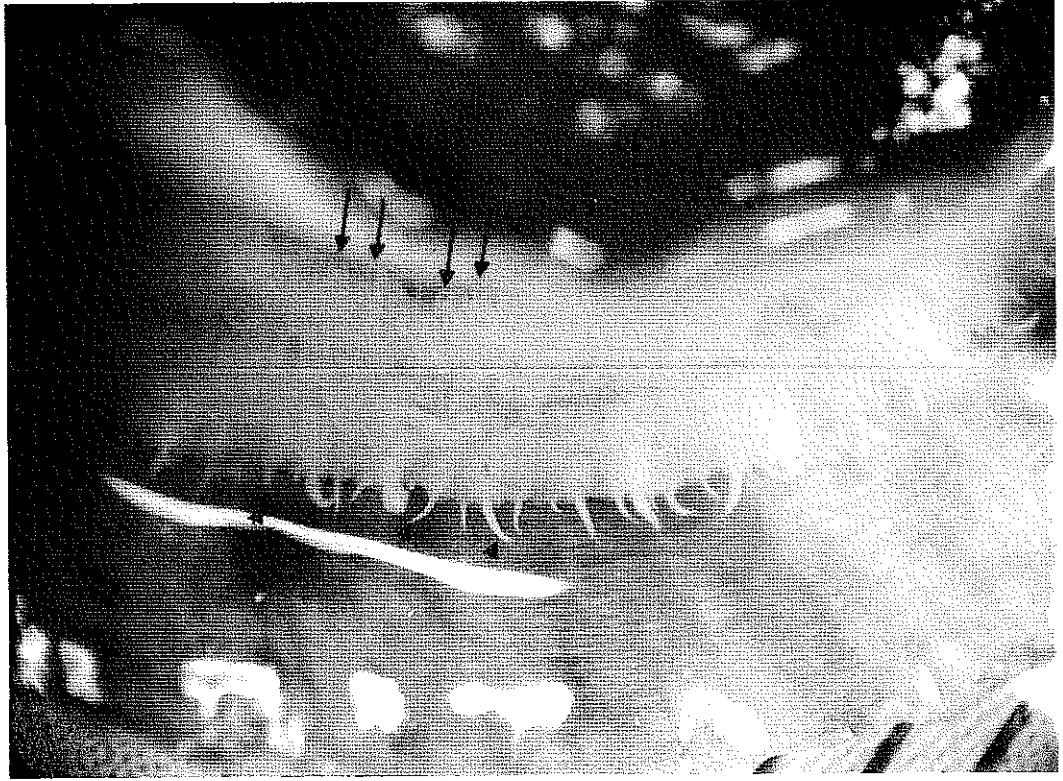
4.6. Pallial Solungaç Yapısı

Pallial solungaç yapıları vücut çevresini saran pallial kanalın iç yüzeyinden manto kenarının dışa doğru uzaması sonucu meydana gelen ve bilhassa anteriör bölgede yanyana uzanan tüpsü yapılar halinde görülmüştür. Solungaçlar ktenidyum lamelleri şeklinde olmayıp tubular şeklinde bulunmaktadır. (Şekil 4.28).

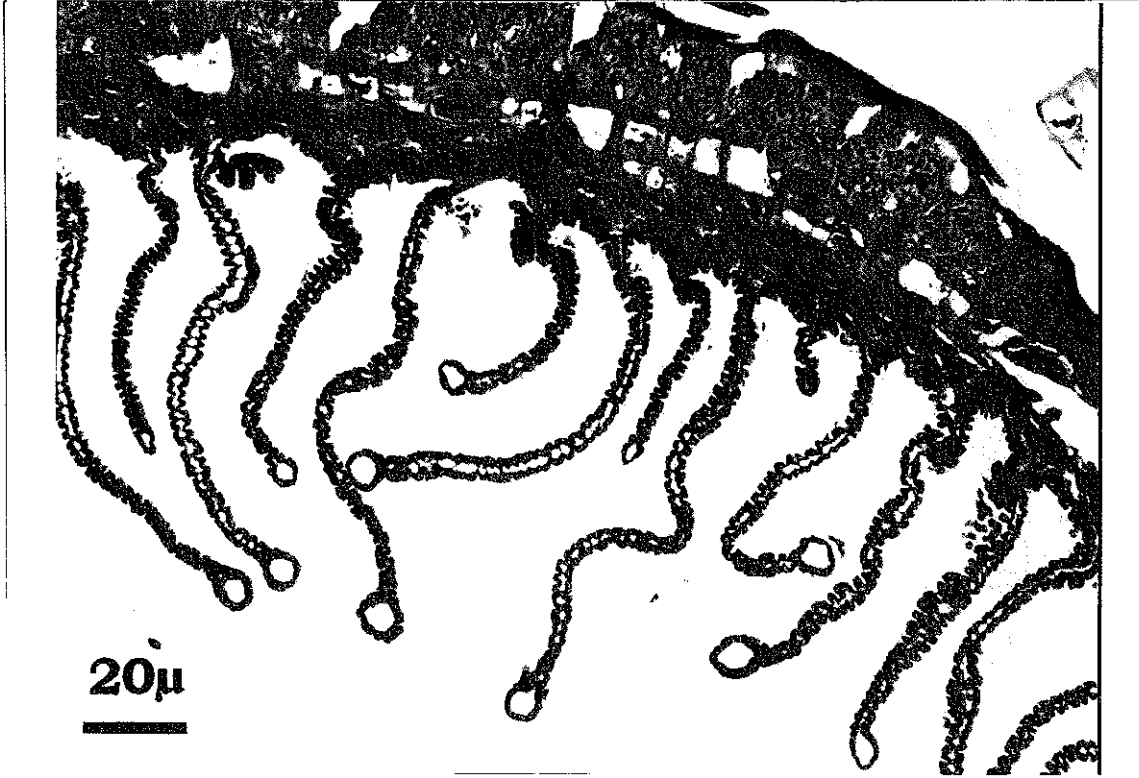
Manto boşluğunda yer alan solungaçların düzenlenişleri karakteristik bir özellik göstermekte ve belli sayıda olduğu tahmin edilmektedir (Şekil 4.29). Herhangi bir dallanma yoktur. Solungaç kanallarının afferent kısımları oblik kesitte ayırt edilebilmektedir (Şekil 4.30).

Patella'daki pallial solungaç katlantılarını döşeyen tek katmanlıkübik epitel dokusunun, bazal tabakası ve ince bir bağ dokusunun sardığı hemal boşluklarında çok sayıda hemosit ve nefrosit (podosit) hücreler yer almaktadır (Şekil 4.31).

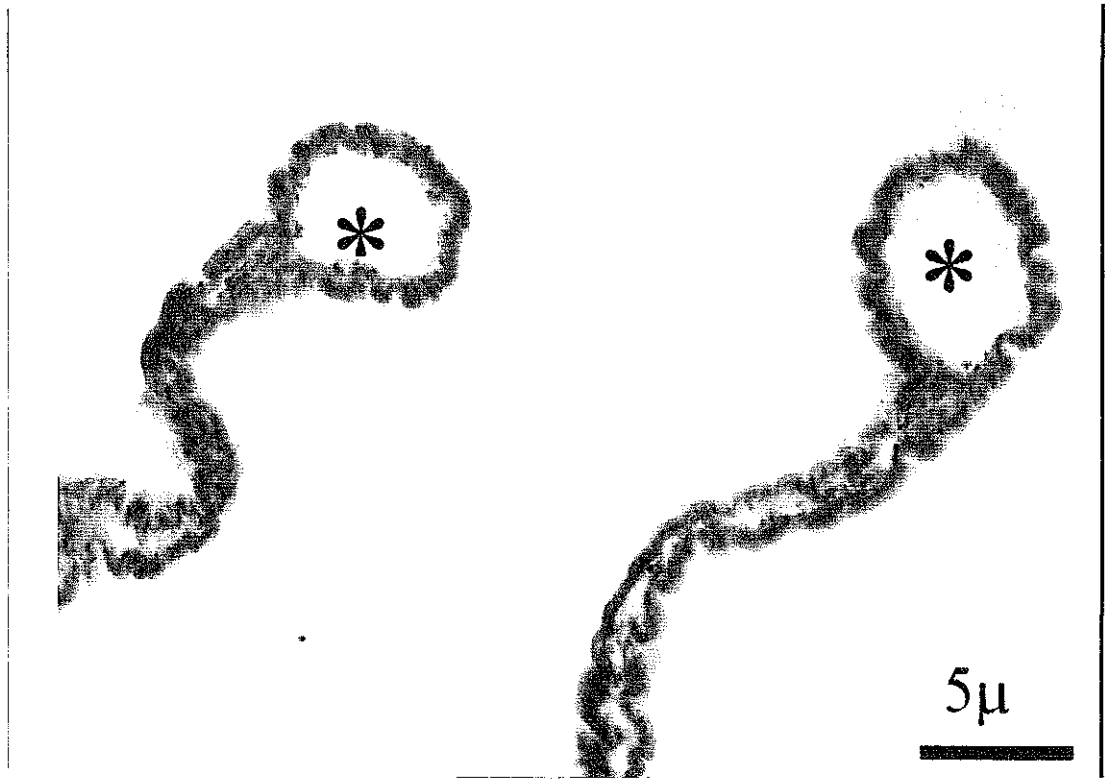
Solungaç epitelindeki basit kübik hücreler arasında kümelenmiş silindirik hücreler de bulunmaktadır. Bu hücreler ince bir sil sırası taşımaktadır (Şekil 4.32).



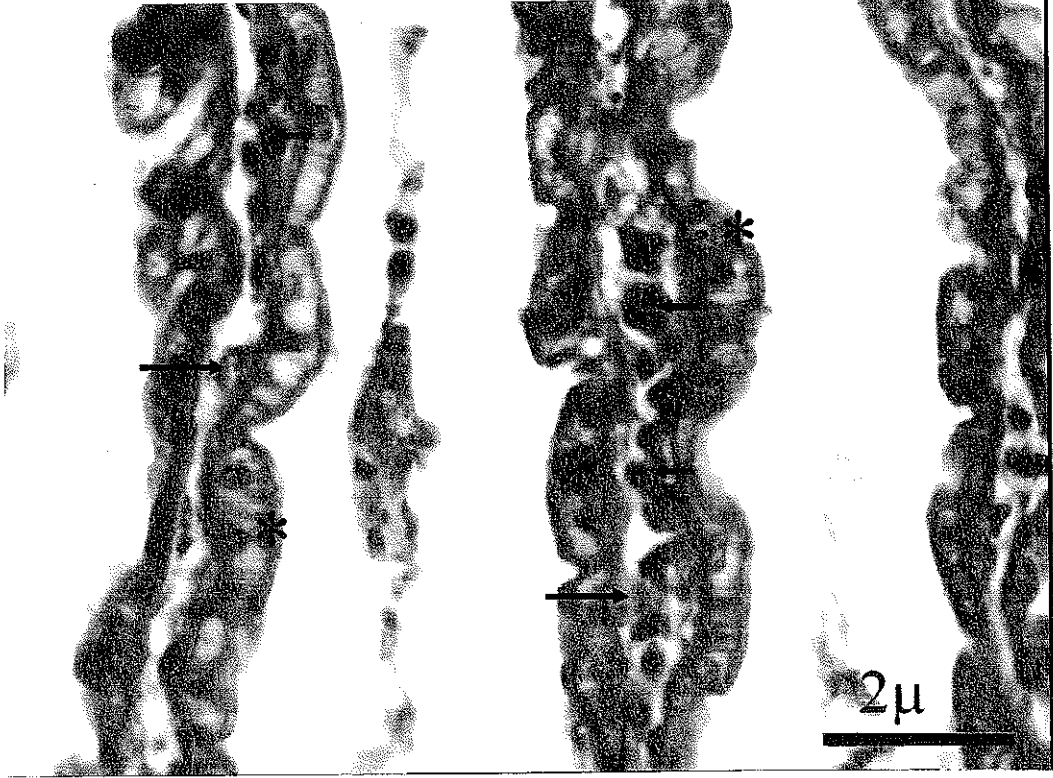
Şekil 4.28. *P. caerulea*'nın solungaç yapısı (→ : pallial solungaç tüpleri ve ► : pallial tentakül)



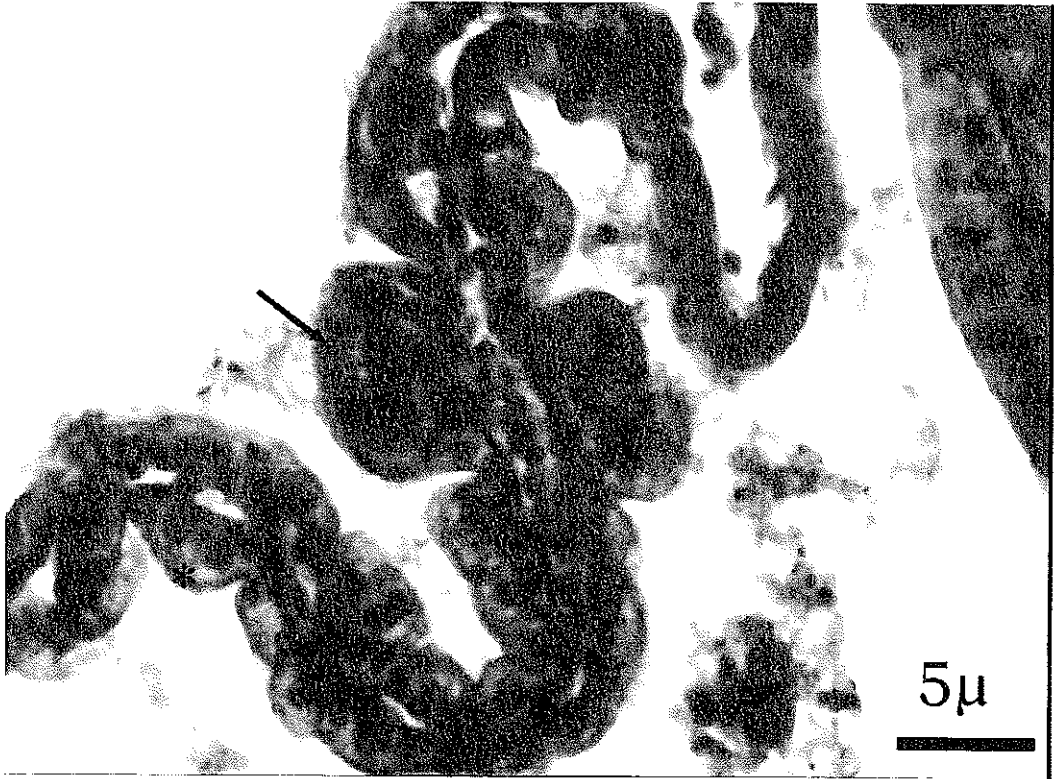
Şekil 4.29. *P. caerulea*'nın solungacının enine kesiti, H&E



Şekil 4.30. *P. caerulea*'nın solungaç afferent kanalları, (*:afferent tüpleri) H&E



Şekil 4.31. Solungaç tübüllerinde hemosit ve nefrosit hücreleri, (kırmızı ok: hemosit, siyah ok: podosit, *: kübik epitel) H&E

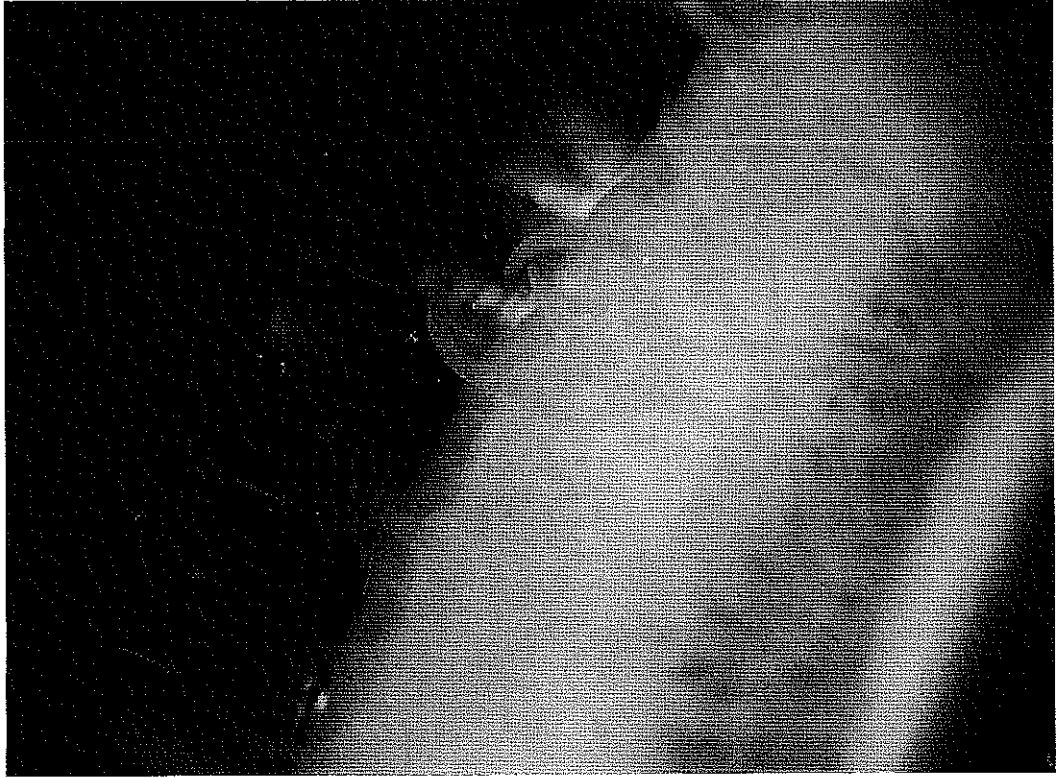


Şekil 4.32. Solungaç epitelini döşeyen basit kübik hücreler (*), arasında kümelenmiş silindirik hücreler (→), H&E.

4.7. Manto Yapısı

Manto yapısı vücut ve kabuk kenarından uzanmaktadır. Kabuğun dorsalinden bakıldığında uzanmış kenar tentakülleri görünmektedir. Bu tentaküllerin *P. rustica* türlerinde *P. caerulea*'ya göre, daha uzun olduğu gözlenmiştir. Mantonun periferal bölgesi vücut kitlesine bağlı olmayıp, serbest uzanmakta ve tentaküller yer almaktadır. (Şekil 4.33).

Pallial tentaküllerin kök yapıları ve çıkış noktalarının uzantıları Şekil 4.34'de ve ikincil dokunaçların manto kas dokusu ile bağlantısı Şekil 4.35'de görülmektedir.



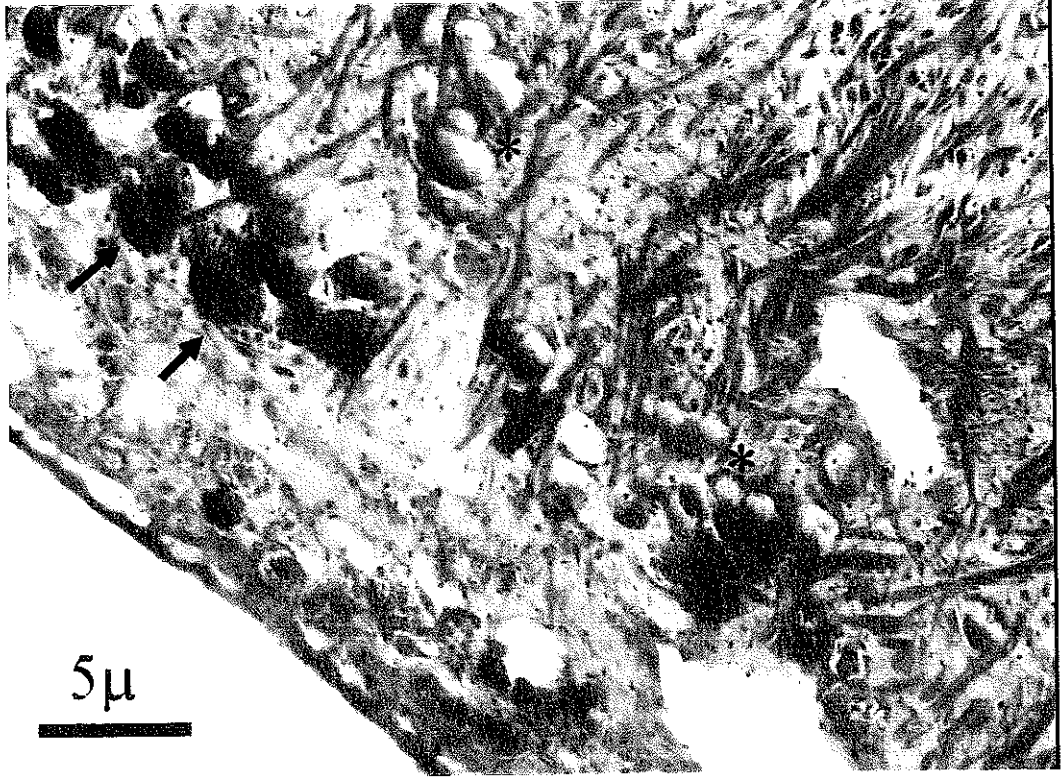
Şekil. 4.33. Manto kenarı tentakülleri



Şekil 4.34. İkincil tentaküllerin manto kesitinde yerleşimleri, (1,2,3: pallial tentaküllerin kökleri, →:pallial tentaküllerin uzantı yerleri), H&E.



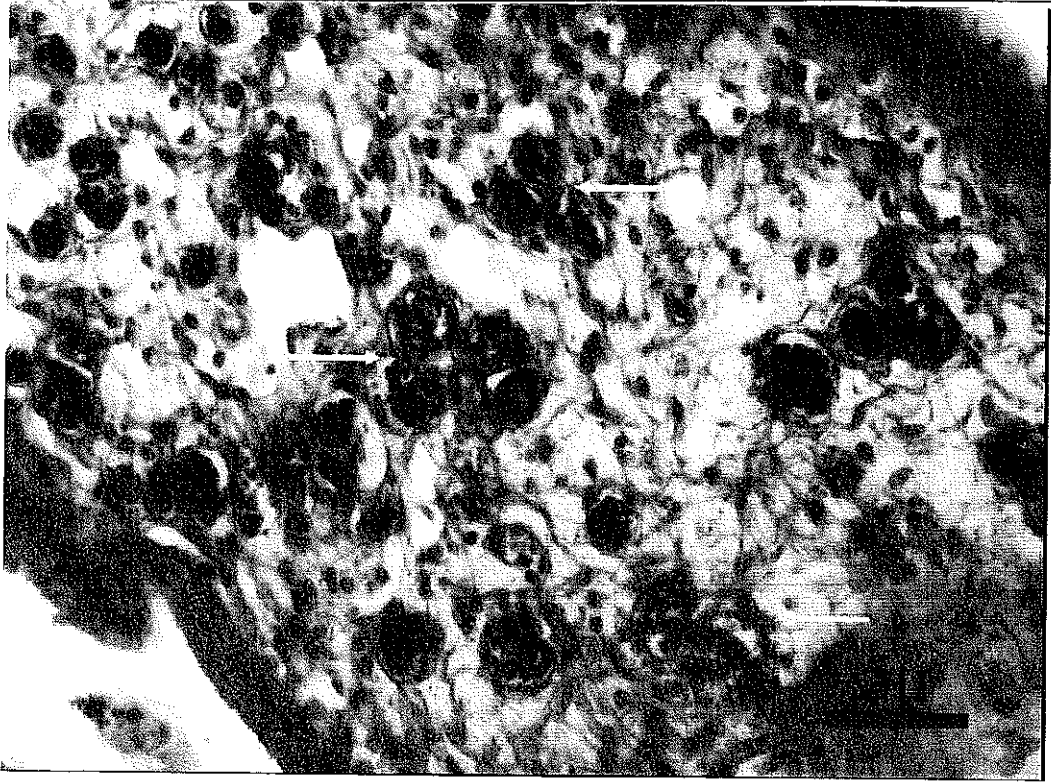
Şekil 4.35. İkincil dokunaçların manto kas dokusu ile bağlantısı, GT.



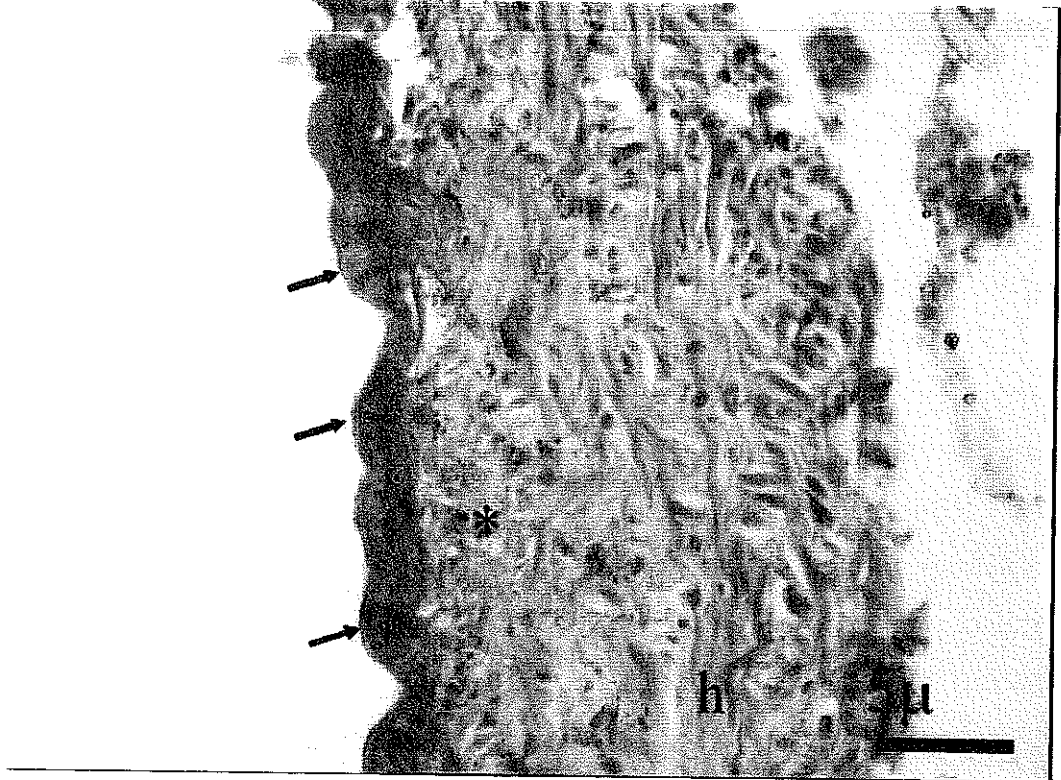
Şekil 4.36. Manto kenarında bulunan farklılaşmış hücreler (→) ve hücre dışı salgı damlaları (*), GT.



Şekil 4.37. Manto kenarında dışarıyla bağlantısı olan salgı hücreleri, (← : salgı hücresi) GT.



Şekil 4.38. Manto kenarında bulunan salgı hücrelerinin görünümü, GT.



Şekil 4.39. Mantonun ayak kasıyla bağlantısı ve manto kenarı, (h: halkasal kas, *: boyuna kas, → : manto epiteli) , GT.

Manto kenarında, farklılaşmış salgı hücrelerinin ve hücre dışı salgı maddelerinin varlığı (Şekil 4.36) ve mantoda yer alan bu hücrelerin, örtü tabakasını oluşturan epitel hücreleri arasından salgıları dışarıya verilmesi Şekil 4.37 gösterilmiştir.

Manto kenarında yoğun salgı aktivitesi gösteren hücre grupları yer almaktadır (Şekil 4.38).

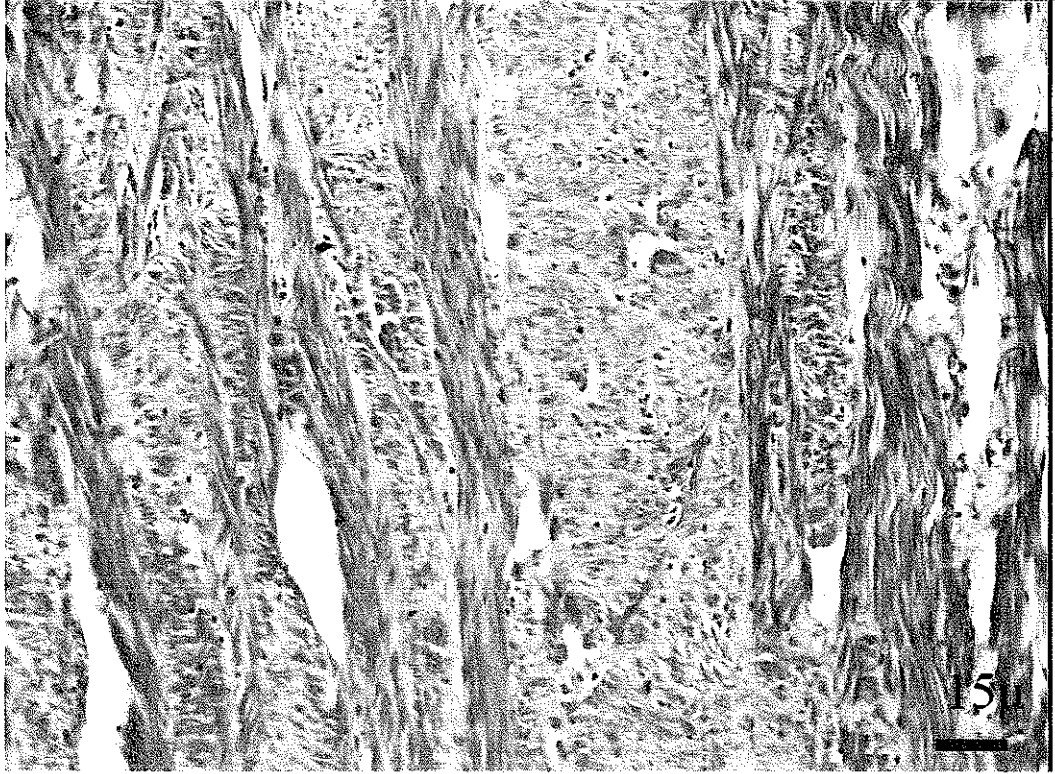
Mantonun dış kenar kübik epitel hücre sırasından oluşmakta ve az bir bağ dokusundan sonra farklı düzende kas demetleri içermektedir. (Şekil 4.39).

4.8. Ayak Yapısı

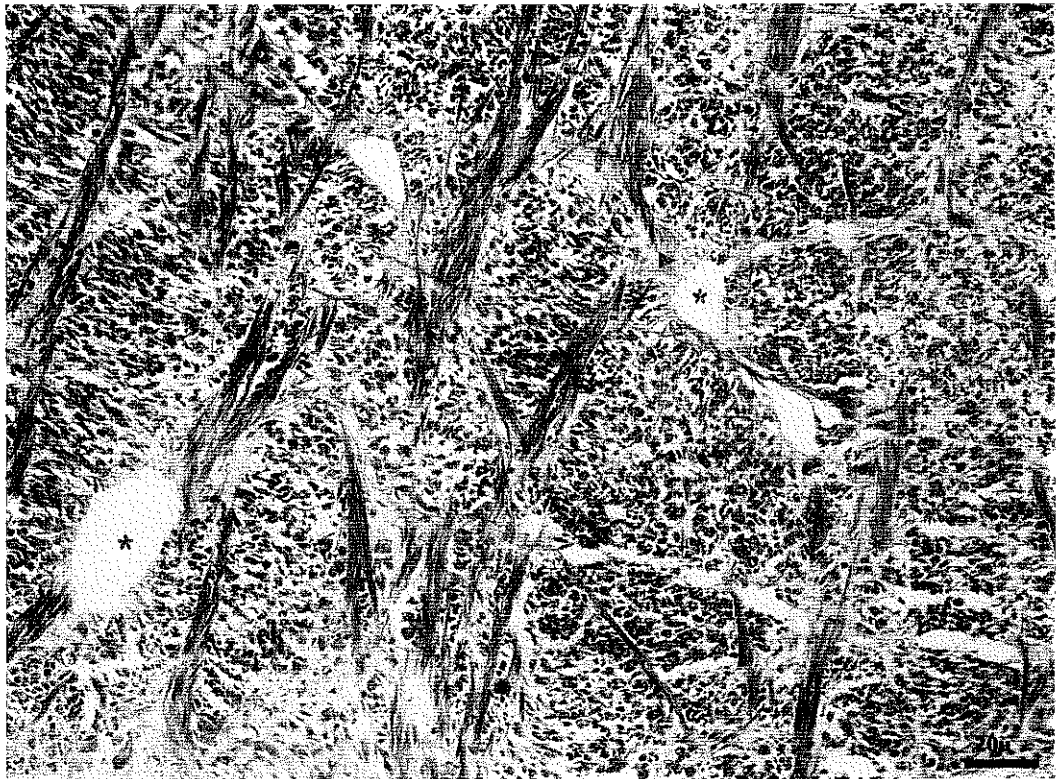
Şekil 4.40'de görüldüğü gibi, ayak kasının ayrıntılı yapısında kas demetleri ve gevşek öz bağ dokusunun lifleri arasındaki retikulo-endotelial sistemin hücreleri ayırt edilmektedir. Kas demetlerinin yerleşimi alternatifli olarak boyuna ve enine düzendedir.

Hayvanın hareketine bağlı olarak daha düzensiz kas yapısı görülebilmektedir. Bağ dokusu trabekulalar uzamakta ve sinuslerin çevresini sarmaktadır (Şekil 4.41).

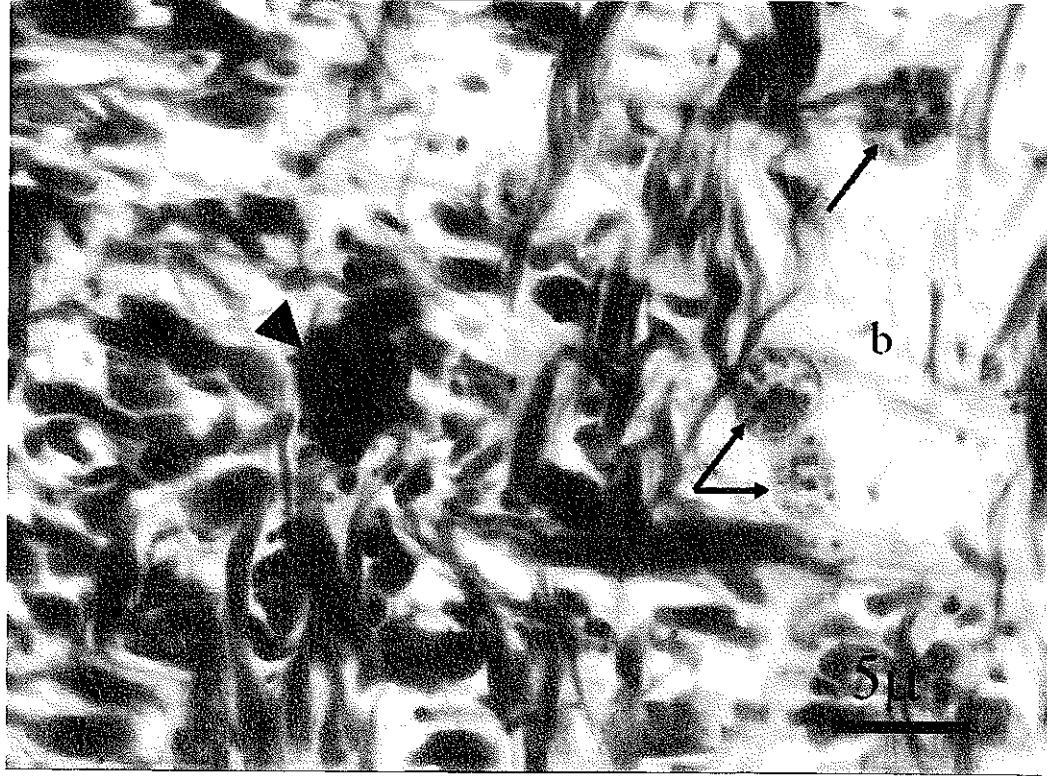
Ayak kasının ayrıntılı yapısına bakıldığında kas demetleri ve elastik lifler arasında bazofilik hücreler, metakromatik boyanan hücreler görülmektedir (Şekil 4.42). Bazofilik hücreler histiyositlere, metakromatik olarak boyanan hücreler ise mast hücrelerine benzemektedir. Sitoplazma içeriği mukopolisakkarit salgı olduğu için şeklindeki boyanma özelliği göstermektedir.



Şekil 4.40. Ayakta düz kas demetlerinin birbirine 90°' lik açı ile ardışık yerleşimleri, H&E



Şekil 4.41. Ayak kas demetlerinin farklı açıda yerleşimi (ek: enine kas, → : boyuna kas demetleri; ► : bağ dokusu, *:sinüs), GT.



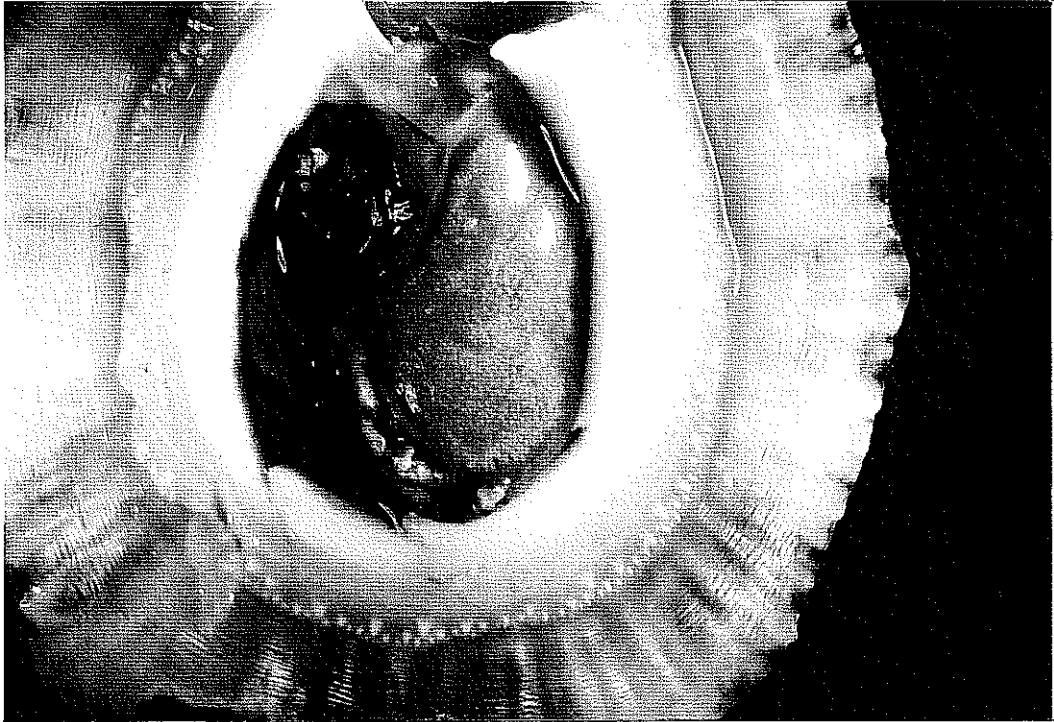
Şekil 4.42. Ayak kasının ayrıntılı yapısı. Kas demetleri ve elastik lifler arasında belirlenen farklı hücre tipleri, b:,bağ dokusu, → :metakromatik boyanan hücreler, ▶ : bazofilik hücreler yer almaktadır. GT.

4.9. Gonad Yapısı

Patella'da morfolojik olarak eşeyin ayırt edilmesine imkan sağlayacak yapısal bir özellik yoktur. Sadece hayvanlar disekte edilerek gonadları ile eşeyssel olarak ayırt edilmeye çalışılmıştır. Bu da ancak gonad gelişimini tamamladıktan sonra renk farklılığı şeklinde belirlenmiştir. Testis koyu sarı renkte görülürken (Şekil 4.43), ovaryum yeşil kahverenkte gözlenmiştir (Şekil 4.44). Bu canlılarda tipik olarak gonadlar bir tanedir. Testis ve ovaryum hayvanın vücudunun sol tarafında ve dorsal yerleşimli ve viseral alanın geniş bir bölgesini kaplamaktadır. Gonadlar *Patella*'nın dış morfolojileri ve büyüklüğüne, hayvanın yaş ve üreme dönemine bağlı olarak farklı büyüklüklerde olabilmektedir.



Şekil 4.43. *P. caerulea* gelişmiş testisin çok katlanmış tubüler yapısı çıplak gözle görülebilmektedir.

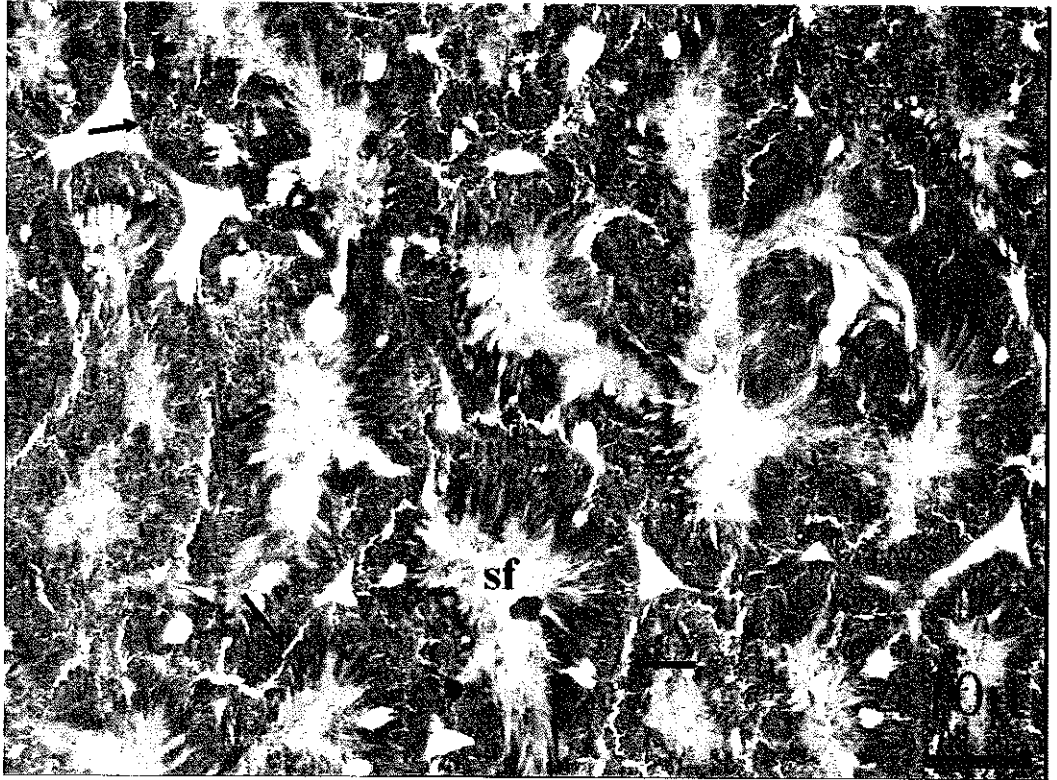


Şekil 4.44. *P. caerulea* gelişmiş ovaryumda oositler tek tek seçilebilmektedir.

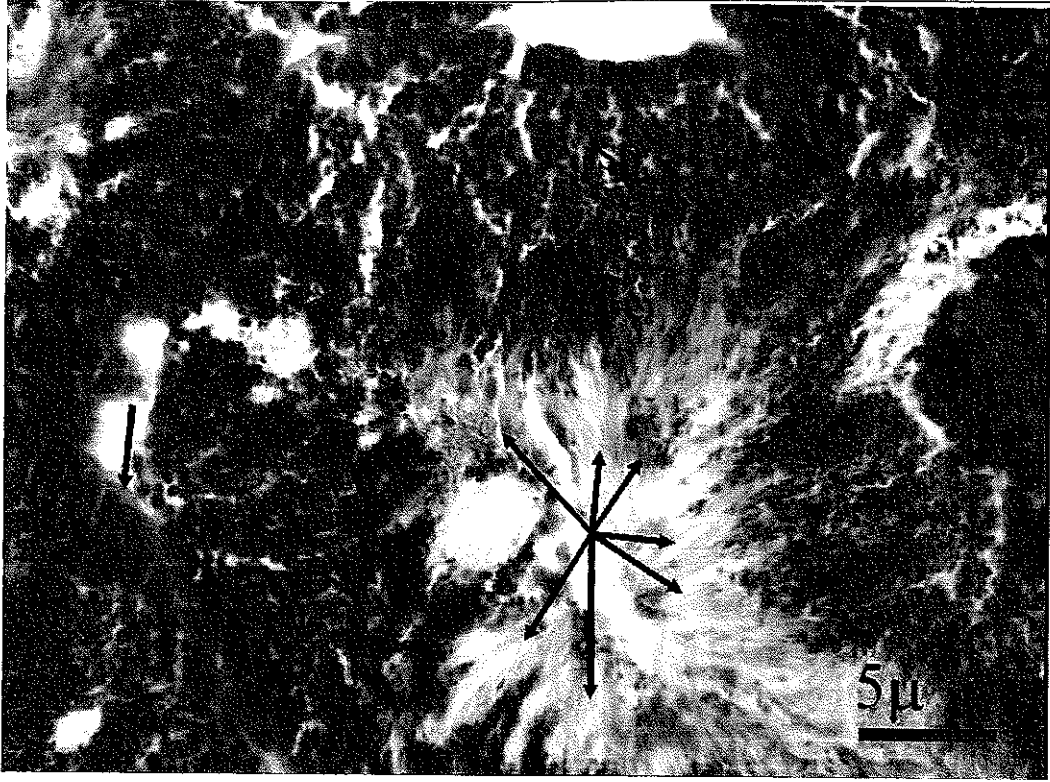
4.9.1. Erkek gonad

Ergin erkek bireyin gonadı labirent gibi görünen ve çok sayıda folikül şeklinde lobul içeren bir özelliktedir. Çünkü bunlar uzun tüpsü lobullar halinde olup, birbirleri ile ve vas deferens ile bağlantılıdır. Bunları ince bir bağ dokusundan oluşmuş katman tarafından kuşatılmaktadır (Şekil 4.45).

Spermatogoniumlar tubullerin en dış kısmında bağ dokusu elemanları ile birlikte yer almakta ve sonra gametogenezin farklı safhaları açıkça görülmektedir. Spermatidlerin gelişimine kadar bölünme aşamalarındaki hücreler (spermatositler) ve daha küçük olan spermatidler ayrı tabakalar oluşturmaktadır. Çok sayıda olan spermatozoa tipik flagellat yapısı ile ayırt edilmekte ve oval baş bölgesinden çok uzun bir kuyruk taşımaktadır. Kaççı yapıları folikül merkezine doğru uzamış şekilde yerleşmişlerdir (Şekil 4.46).



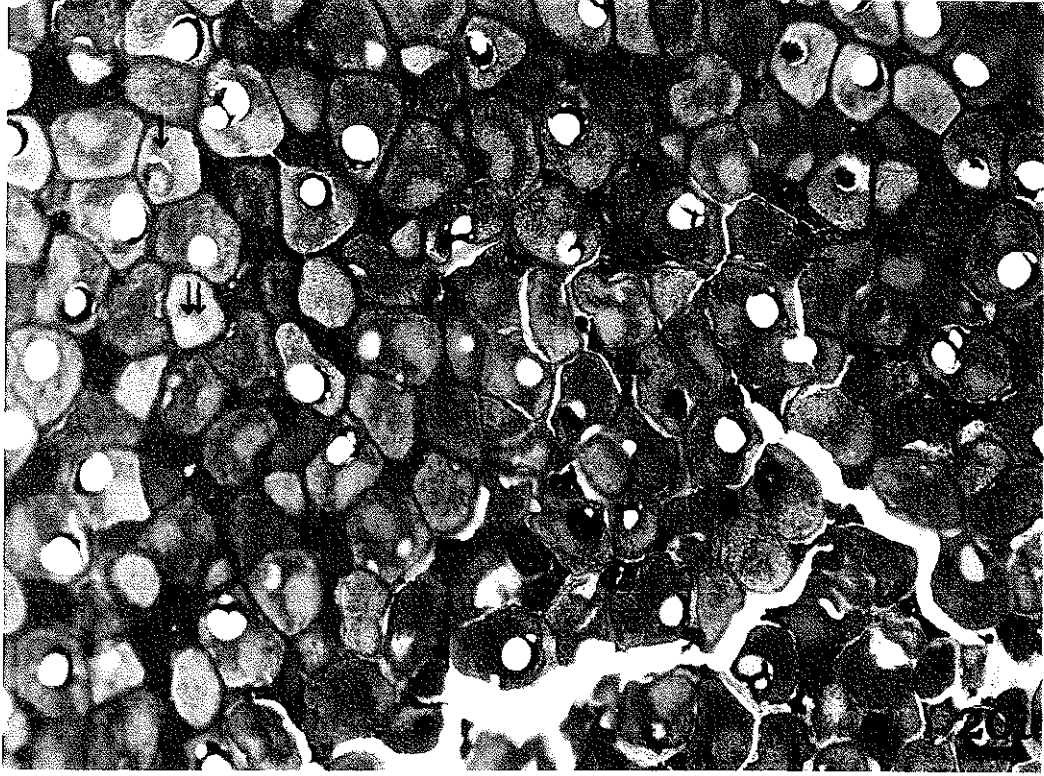
Şekil 4.45. Erkek gonadın enine kesiti (Korteks tabakası), (sf: sperm folikülü, → : sperm kanalları) H&E.



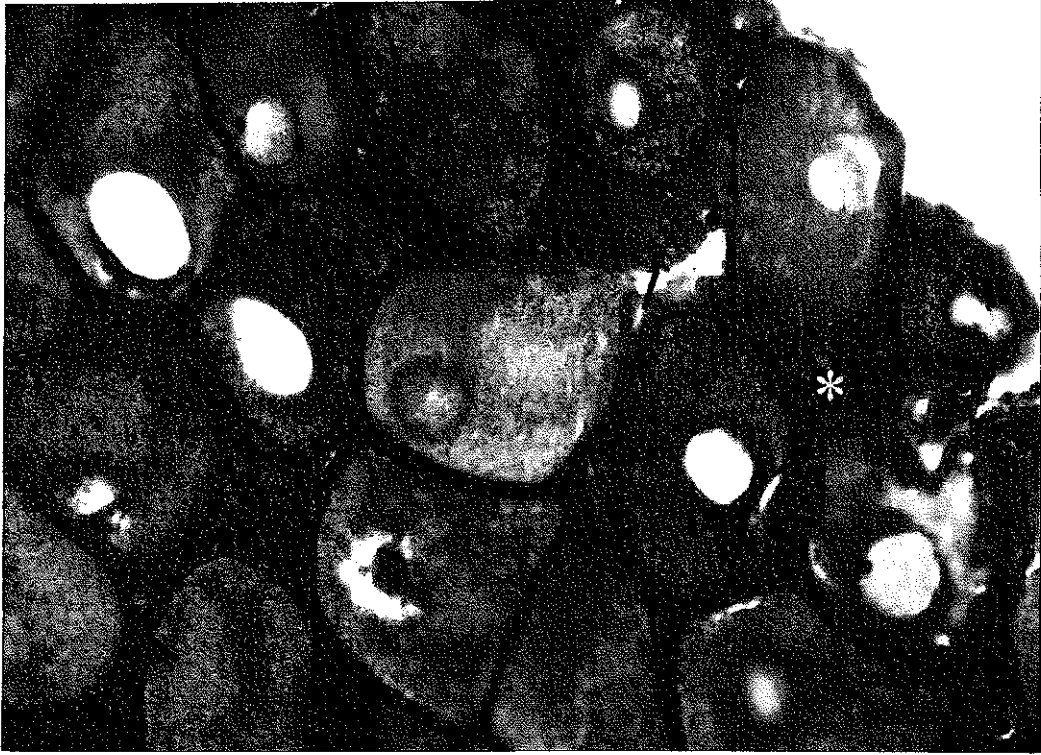
Şekil 4.46. Erkek gonadda spermatogonium, spermatosit spermatid, spermatozoa yapıları, (çoklu ok: sperm folikülü, →:bağ dokusu, sg; spermatogonium , sp:spermatid, st; spermatositler) H&E

4.9.2. Dişi gonad

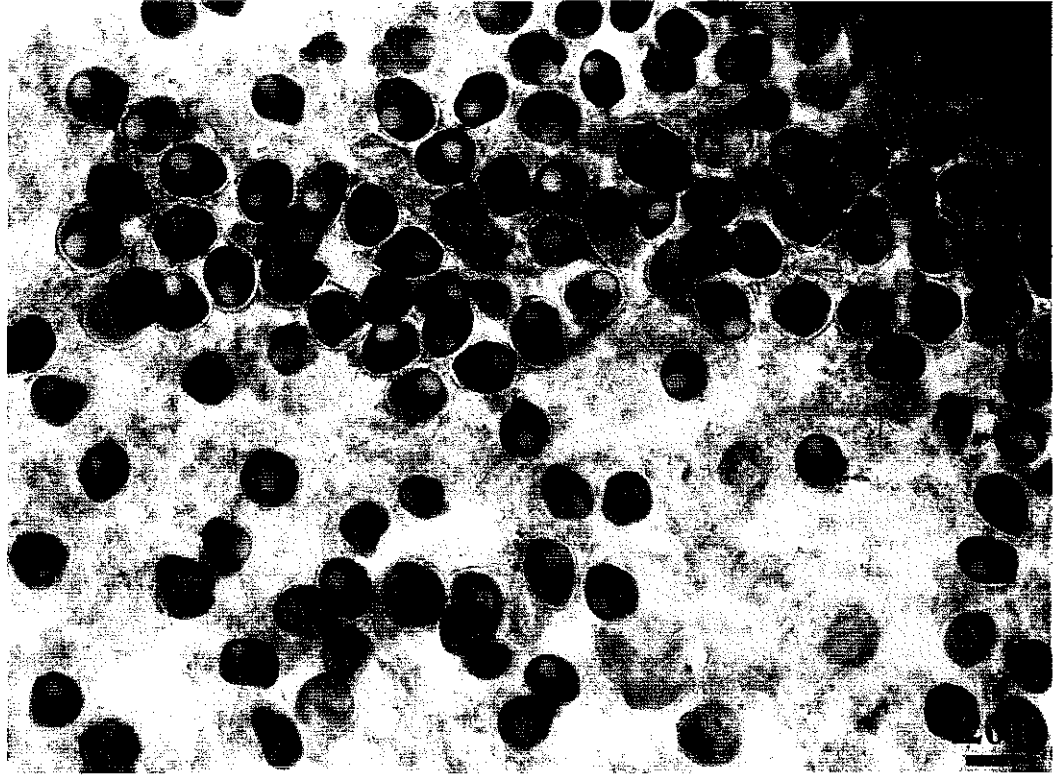
Ovaryum erkek gonadı ile aynı konumda yer alır, bilhassa hepatopankreasın dorsalinde bulunmaktadır. İnce bir kapsülle sarılı ovaryum içinde gelişim aşamasına göre oositler farklı boyutta foliküller oluşturmuş ve bağ dokusu elemanları foliküller arasına uzanmıştır. Tam gelişmiş dişi gonad previtellogenik oosit, amorf bazofilik sitoplazma, vitellogenik oosit, vakuolar eosinofilik sitoplazma içermektedir (Şekil 4.47). Kesitte oositler düzgün yuvarlak yapılarını kaybetmiş görünmekte ve yardımcı hücreler bağ dokusu retikulumu içinde yer almaktadır (Şekil 4.48). Şekil 4.49'da görüldüğü gibi, farklı olgunluklardaki yumurta grupları aynı grupta yer almaktadır.



Şekil 4.47. *P. rustica*'da dişi gonad yapısı (↓:previtellogenik oosit, *: amorf bazofilik sitoplazma, →: vitellogenik oosit, ⇓:vakuolar eosinofilik sitoplazma) GT.



Şekil 4.48. Ovaryumun ayrıntılı yapısı (* :yardımcı hücreler, b: bağ dokusu retikulumu, ►: vitellogenik oosit, →: previtellogenik oosit) GT.



Şekil 4.49. Olgun yumurta dağılımı (Boyanmamış).

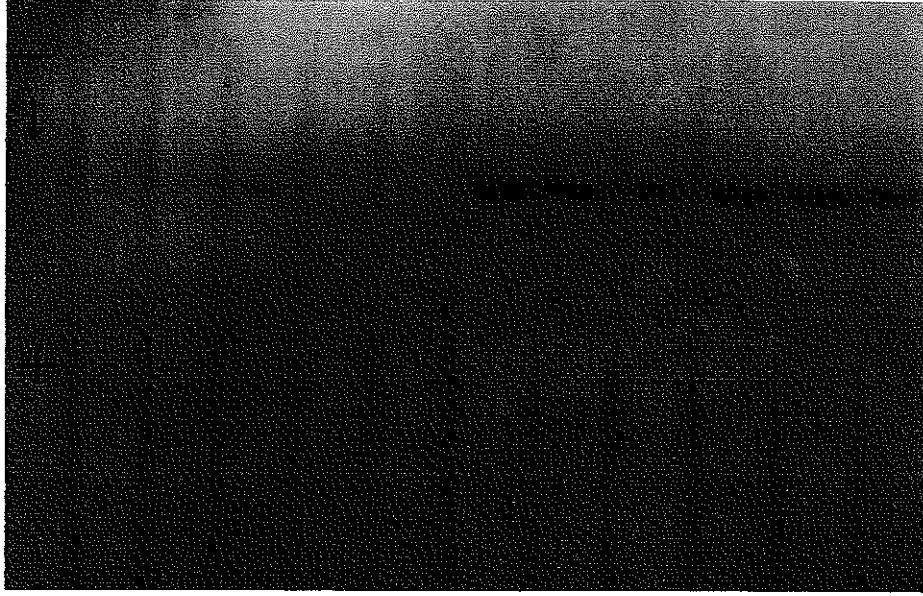
4.10. İzoenzim Analizleri

İncelenen *Patella* türlerine ait ayak kas dokusundan hazırlanan homojenatlar ile gerçekleştirilen elektroforez işlemleri sonucunda elde edilen zimogramlar incelendi. AAT, MDH, ME, 6-PGDH enzimlerinin yürüme hızlarının farklı olduğu gözlemlendi. *P. caerulea* ve *P. rustica* türleri için yapılan MDH, ME zimogramları incelendiğinde aynı enzimlerde yürüme mesafelerinin farklı olduğu belirlendi.

4.10.1. Aspartat aminotransferaz

Aspartat aminotransferaz enzimi iki alt üniteye sahip, dimerik enzim yapısında olduğu için *P. rustica* türünde homozigot bireylerde tek bantlı, monomorfik özellik gösterdiği belirlenmiş, Buna karşın, *P.*

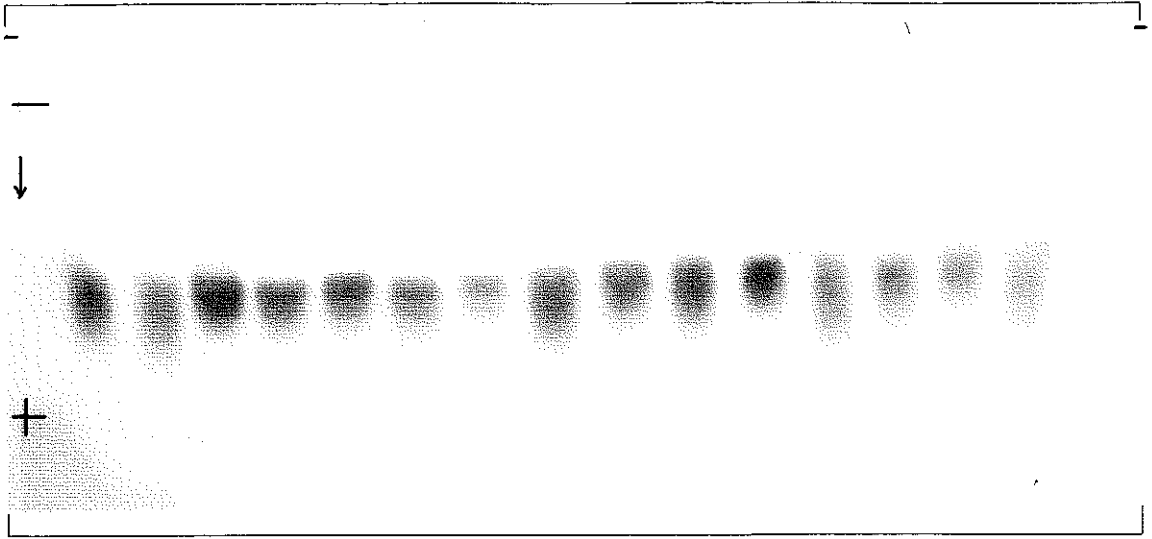
caerulea türüne ait zimogram bantları silik olarak görüntülenmiştir (Şekil 4.50).



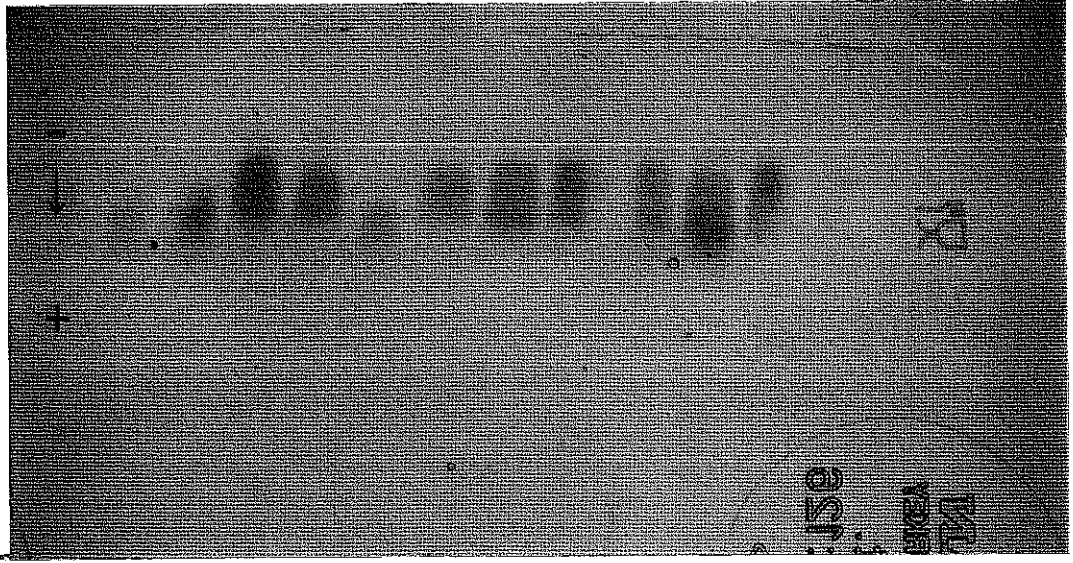
Şekil 4.50. *P. caerulea* (soldan altı örnek) ve *P. rustica*'da (sağdan altı örnek) AAT enziminde bant özellikleri

4.10.2. Malat dehidrogenaz

Malat dehidrogenaz enzimi iki alt birime sahip yani dimerik yapıda bir enzim özelliği göstermektedir. *P. caerulea* ve *P. rustica* türlerinde çoğunlukla üç bantlı yapı gözleendiği için, örneklerin çoğunun heterozigot bireyler oldukları belirlenmiştir. Her iki tür içinde elektroforez sonucuna bakıldığında *P. caerulea* türünde I. ve II. bantın yürüme mesafeleri *P. rustica*'nın yürüme mesafesinden daha kısa bulunmuştur (Şekil 4.51, 4.52). Zimogramda bantlar sürüntülü olduğu için üç bantın net ayırımı güçleşmektedir.



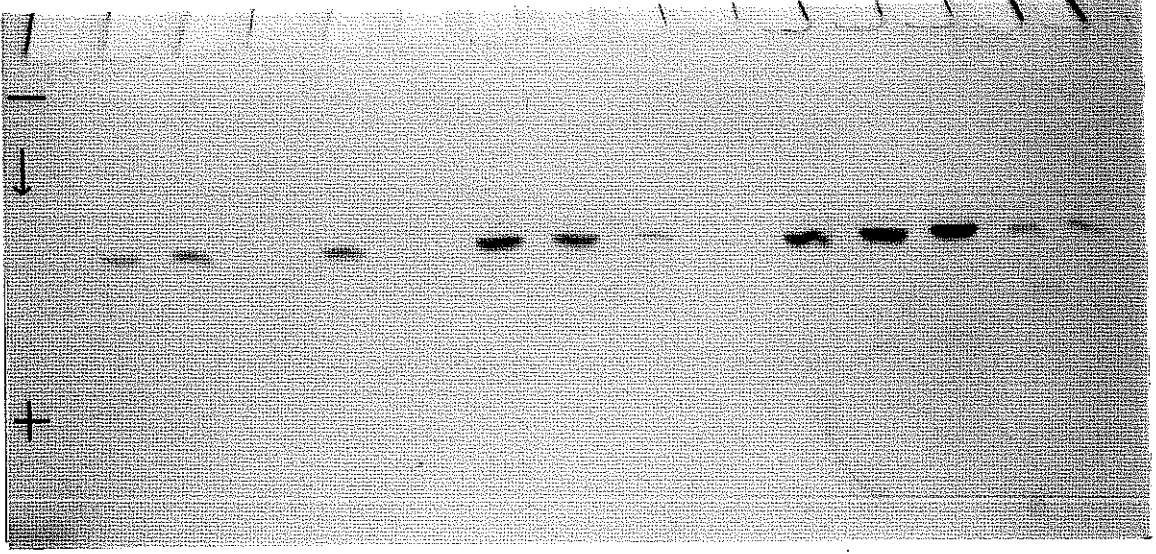
Şekil 4.51. *P. rustica*'da MDH enziminde bant özellikleri



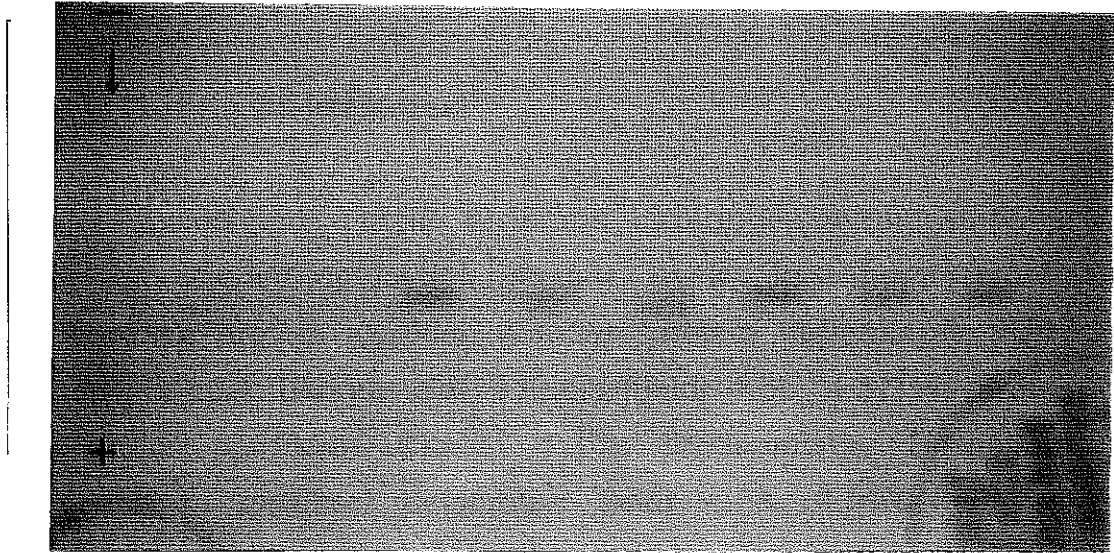
Şekil 4.52. *P. caerulea*'da MDH enziminde bant özellikleri

4.10.3. Malik Enzim

Malik enzim dört alt ünitesi olan tetramerik yapıda bir enzimdir. *P. rustica* ve *P. caerulea* türlerinde incelenen bireylerde bu enzimin tek bantlı, monomorfik özellikte olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.53, Şekil 4.54).



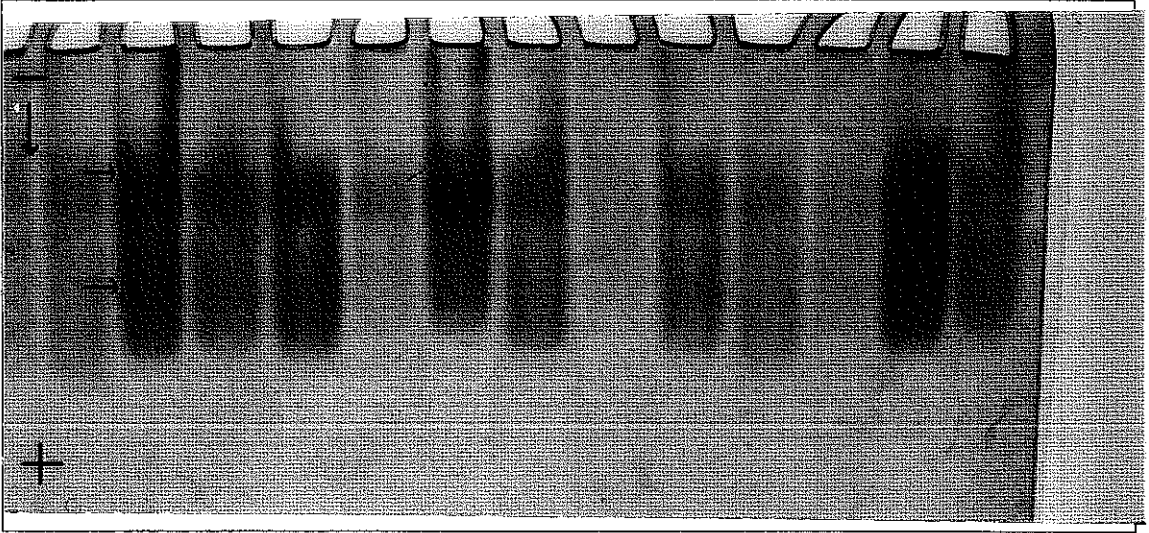
Şekil 4.53. *P. rustica*'da ME enziminde bant özellikleri



Şekil 4.54. *P. caerulea*'da ME enziminde bant özellikleri

4.10.4. 6-Fosfoglukonat dehidrogenaz

6-Fosfoglukonat dehidrogenaz enzimi için yapılan elektroforez işleminde *P. caerulea*'da homozigot bireyler için iki bant özelliği gözlenmiştir (Şekil 4.55). *P. rustica* türüne ait zimogram elde edilememiştir.



Şekil 4.55. *P.caerulea*'da 6-PGDH enziminde bant özellikleri

4.11. Protein Elektroforezi

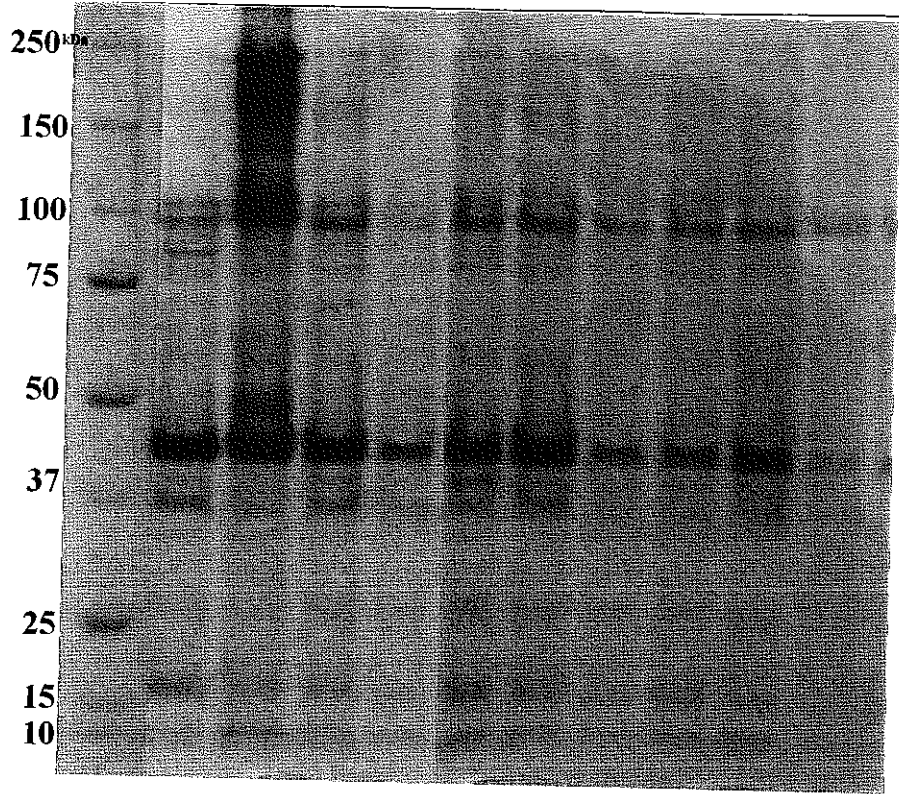
İncelediğimiz *Patella* türlerinin birbirinden ayrılmasında protein elektroforezinden de faydalanılmıştır. Ayak kası homojenatlarından elde edilen protein içerikleri standart protein kullanılarak SDS-PAGE jelinde bantlar halinde elde edilmiş (Şekil 4.56, 4.57) ve proteinlerin moleküler ağırlıkları Çizelge 4.3'de özetlenmiştir. Hesaplanan Rf değerlerinin grafiksel dağılımları Şekil 4.58, 4.59'ta gösterilmiştir. Kullanılan 10-250kDa aralığında olan standart proteinde 25, 50, 75 kDa'lar daki bantlar daha baskın olarak görünmektedir.

Protein bantları *P. rustica* türünde 12-268 kDa moleküler ağırlık aralıklarında, *P. caerulea*'da ise 11-267 kDa aralıklarında belirlenmiştir.

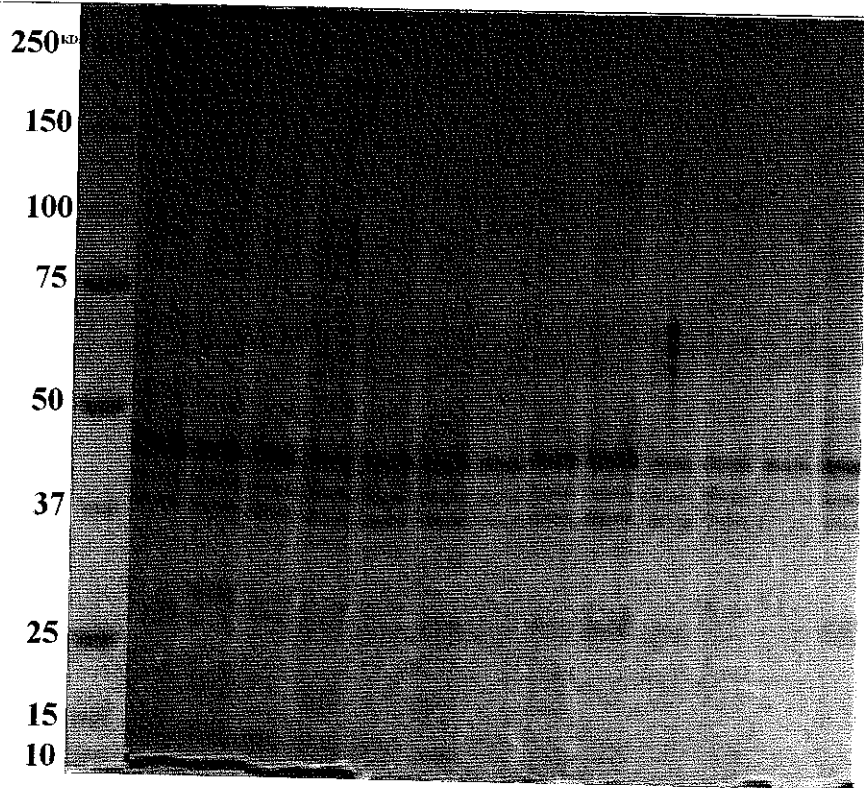
Protein bant özelliklerine bakıldığında *P. rustica* türünde 33, 42, 108kDa, *P. caerulea* türünde ise 35, 39, 44kDa molekül ağırlıklarında baskın bant özelliği gözlenmiştir. Rf değerlerinin log₁₀Mr'ye karşı dağılımları bu iki türde birbirlerine yakın özellikte bulunmuştur (Şekil 4.58, 4.59).

Çizelge 4.3. Proteinlerin SDS-PAGE'deki bantlarına göre hesaplanan moleküler ağırlıkları (kDa)

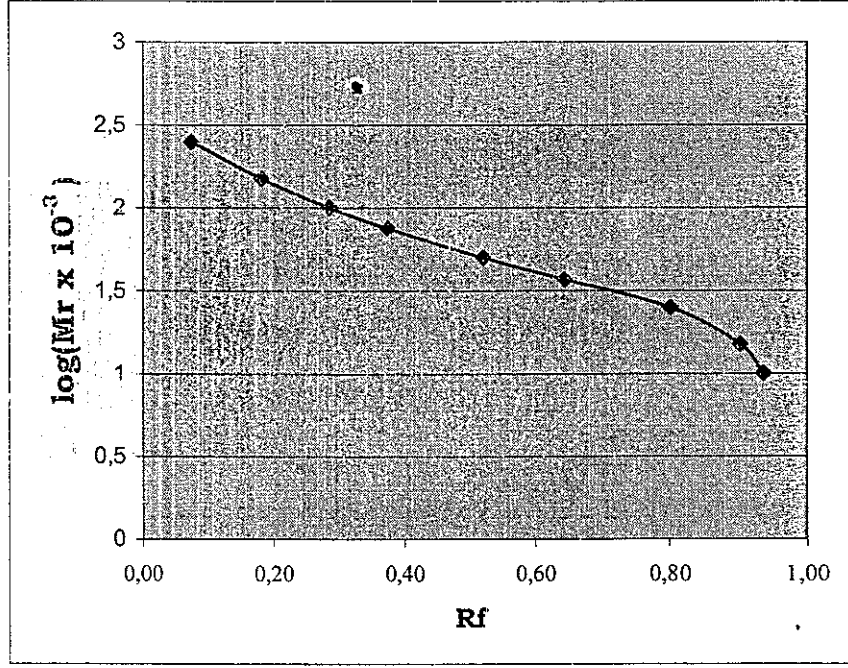
<i>P. caerulea</i>	<i>P. rustica</i>	<i>P. caerulea</i>	<i>P. rustica</i>
267,0563	278,2211	52,77417	53,6283
---	213,2518	44,4778	42,39878
177,1454	173,6218	39,32442	38,53872
156,619	---	35,00648	33,27523
---	149,9091	30,11517	---
127,558	---	25,38064	---
117,5052	116,7909	22,28692	---
106,0441	107,7287	19,3043	---
95,04926	93,01545	14,28641	15,39202
72,29364	77,41671	12,71772	12,90519
60,51259	67,33607	11,3214	12,07996



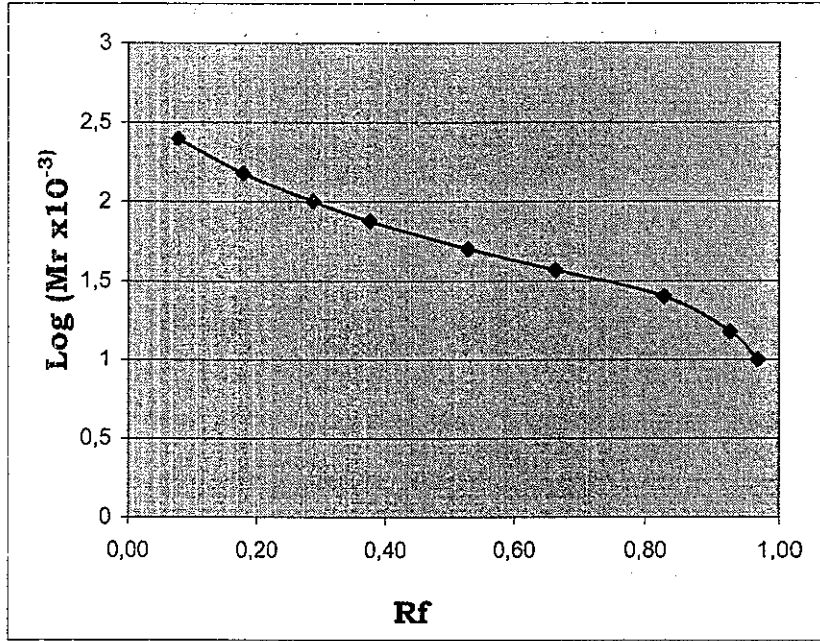
Şekil 4.56. *P. rustica*'da protein elektroforezinde bant özellikleri



Şekil 4.57. *P. caerulea*'da protein elektroforezinde bant özellikleri



Şekil 4.58. *P. rustica* için uygulanan standart proteine göre hesaplanan Rf değerlerinin log10Mr'ye karşı dağılımı ($y=-1,4449x+2,4569$)



Şekil 4.59. *P. caerulea* için uygulanan standart proteine göre hesaplanan Rf değerlerinin log10Mr'ye karşı dağılımı ($y=-1,3935x+2,4474$)

5. TARTIŞMA

Bir çok ülkede insan besini ve balık yemi olarak kullanılan *Patella* türlerinin, kıyılarımızda geniş bir dağılımı olmasına karşılık histomorfolojik ve isoenzimik özelliklerini kapsayan herhangi bir çalışma bulunmamaktadır.

Patella'lar Mollusca şubesinde Monoplachophora sınıfı üyelerinden daha ilkel bir fosil canlı olan *Damilina* cinsinden türevlendiği söylene de kabuğunun kalkan şeklinde olması, bu canlıların resif habitatlarda evrimsel adaptasyonu sonucudur (Purchon 1962). Böylece dalgaların etkisine maksimum dayanıklılık sağlanır. Sakin zonlarda kabuk ince ve düzgün oval şekilli olurken dalgalı bölgelerde kabuk sertleşir ve ışınsal çıkıntılar azalır ve yumuşar.

Antalya Körfezi'nden toplanan *Patella* örneklerinden en çok *P. caerulea* türüne rastlanmış, bu türden sonra da ikinci baskın tür olarak *P. rustica* türü bulunmuştur. *P. ulyssipoenensis* türü ise birkaç örnekte belirlendiği için morfometrik ölçümleri değerlendirilmeğe alınmamıştır.

İncelenen *P. caerulea* ve *P. rustica* türlerinin kabuk ve radulalarının biometrik özellikleri karşılaştırıldığında kabuk uzunluğunun ve genişliğinin *P. caerulea* türünde, kabuk yüksekliği ve radula uzunluğunun ise *P. rustica*'da daha yüksek değerlerde olduğu bulunmuştur. Bu ölçümler Öztürk ve Ergen'in (1996), bulgularıyla benzerlik göstermekte ancak daha küçük değerler vermektedir (Çizelge 5.1). Bu farklılığın örnekleme sayısından kaynaklandığı düşünülmektedir. Çalışılan *Patella* türlerinde radulanın, kabuk boyutları ile zayıf bir istatistiksel ilişkisinin olduğu bulunmuştur (Fretter ve Graham 1962, Davies vd 2005).

Çizelge 5.1. *Patella* türlerinde kabuk ve radulanın biyometrik özelliklerinin mevcut bulgular ile Öztürk ve Ergen'in (1996) çalışmasında karşılaştırılması: B.S: birey sayısı, KU.O: kabuk uzunluğu ortalaması, KG.O: Kabuk genişliği ortalaması, KY.O: kabuk yüksekliği ortalaması, RU.O: radula uzunluğu ortalaması.

Mevcut Çalışma						
Tür Adı	B.S	KU.O	KG.O	KY.O	RU.O	RU/KU ORT.
<i>P. c.</i>	98	2.8	2,2	0.5	3.3	1.26
<i>P. r</i>	45	2.4	2	0.7	4.3	1.78
Öztürk ve Ergen, 1996						
<i>P. c.</i>	270	3.1	2.6	0.8	3.9	1.29
<i>P. r</i>	37	2.7	2.2	1	9.1	2.28

Radula özellikleri bakımından dokoglosat (steroglosat) tip radula yapısı belirlenmiştir. Cortez-Real vd (1996) ile Öztürk ve Ergen (1996)'de tanımlanan duruma benzer olup ayrıntılı SEM incelemesinde ilave yapısal farklılıklar ortaya konulmuştur. *P. caerulea* ve *P. rustica* türlerinin radulalarındaki marjinal ve lateral dişlerinde gözlenen farklılıklarla tür tayininde radula yapısının önemli bir ayıraç olduğu belirlenmiştir. Öztürk ve Ergen (1996)'ın ışık mikroskobu ile gözlemlerine dayanan açıklamalarına ek olarak marjinal dişler yönüyle *P. caerulea*'nın kaşık gibi kıvrımlı uçlara sahip , *P. rustica*'nın ise düz uçlu olduğu belirlenmiştir. Daha önce *Patella* türlerinde gösterilen raşidian dişlerin (Cortez-Real vd 1996) her iki türdede en ortada, ancak farklı derecede körelmiş olarak bulunduğu gözlemlenmiştir. *P. caerulea*'da çatallı diş 3 çıkıntılı iken, *P. rustica*'da iki çıkıntılıdır. Ayrıca ışık mikroskopunda görülmeyen *P. caerulea* üçüncü çıkıntı daha büyük olup yan çıkıntısı bulunmaktadır, ve *P. rustica*'da da iki çıkıntılı olan çatal dişinin içe bakan tarafında küçük bir çıkıntı yapısı görülmektedir.

P. caerulea'da marjinal dişlerin kıvrık uclu olması ve üç çıkıntılı çatal dişi bulundurmasından dolayı, bu özellikler radulanın kazıma etkinliğini arttırdığını düşündürmektedir ve populasyon baskınlığını da açıklayan özellik olarak alınabilirler.

Çalışmamızda ayrıca radulanın kendi başına etkin bir organ olmayıp destek yapılar ile kullanılmakta olduğu ve salgı aktivitesi ile beslenmeğe katkıda bulunduğu kesitlerde gözlenen yapısal özelliklere göre belirlenmiştir.

P. caerulea'nın manto eteğinde bulunan girinti *P. rustica*'da bulunmamaktadır (Cretella vd 1991).

Omurgalı ve omurgasızlarda karakteristik olarak görülen sindirim borusunun silindirik epitel dokusu *Patella*'da da aynen gözlenmiştir. Bu hücrelerin yoğun salgı aktivitesinde olduğu ve salgıların özellikle apikal bölgede yoğunlaştığı kesitlerde incelenmiştir. Ancak bu hücrelerin salgısını ilaveten büyük bir sindirim bezinin salgı katkısı da bulunmaktadır. Bütün prosobranşlarda en önemli ortak özellik özafagusun lateralinde yer alan sindirim bezinin (hepatopankreasın) varlığıdır. Hepatopankreas; besin absorpsiyonu, sindirim enzimleri salgılanmasını sağlar ve ayrıca lipid, glikojen ve bazı minerallerin depolanmasında rol oynar (Demirsoy 2001). Kesitlerde gözlenen iki farklı tipteki hücrelerden birisi protein katabolizmasını sağlarken diğeri lipid ve karbonhidrat metabolizması ile ilgilidir. Daima bazal tabaka ile doğrudan temas halinde olan **b tipi** hücreler daha ziyade depo hücreleri özelliği göstermektedir. Bu hücreler ayrıca Ca, Mg, S ve P gibi mineralleri depo edebilir ki hayvanın mineral gereksinimini karşılayabilir.

Pallial solungaçlardaki silindirik hücrelerin, etkin hemolenf dolaşımı için desteklik sağladıkları düşünülmekte veya solunumda farklı iyon regulasyonunda etkili olabilmektedirler (Van der Knapp vd 1995). Solungaç boşluklarında çok sayıda gördüğümüz hemositler dolaşımdaki en iyi ayırt edilebilen hücrelerdir. Bu hücrelerin sadece O₂ alınımında değil aynı zamanda canlının vücut bağışıklık sisteminde de önemli rol oynadığı belirlenmiştir (Brachere vd 1995).

Pallial boşluktan su girişi sağlanmakta ve ağızları açık affarent kanallardan solungaca giren su manto boşluğunda ön nukal açıklıktan dışarıya verilmektedir (Cretella vd 1991).

Manto kenarında gözlenen tentaküller önemli duyu organlarıdır (Demirsoy 2001). Bu yapıların kas dokuları ile hareket ettirildiği gözlenmiştir. Ayrıntılı incelemelerle türler arası tentakül yerleşim sıraları histolojik olarak belirlenebilir. Zira bu özellik tür tayininde kullanılmaktadır (Cretella vd 1991). Ayrıca anteriör manto bölgesinde gözlenen salgı aktivitesinin hayvanın yaşam aktivitesi ile yakın ilişkisi olduğu düşünülmektedir.

Ayak tabanı renk farklılığının türlerin ayırıcı özelliği olabileceği belirtilmesine rağmen (Cretella vd 1991) çalışılan örneklerde tür içi ve türler arasında renk benzerlikleri olduğu belirlenmiş ve tür ayırımında tam doğru sonuçlar vermediği gözlenmiştir.

Kas gelişimi yumuşakçalarda çok önemlidir. Özellikle gastropodlarda pedal kası hareket, yapışma, avı yakalama ve hatta yumurta kapsüllerinin şekillendirme gibi işlevleri olan bir organdır (Voltzow 1990). Omurgalılar dahil birçok hayvanla karşılaştırıldığında yumuşakçalardaki kaslar çok uzun süreli gerilmiş olarak tutunabilmektedir. Bu özelliğin de düz kasların yumuşakça vücudunda yaygın olması ile sağlandığı bildirilmiştir (Hoyle 1964). Nitekim *Patella*

kayalara kendini yapıştırdığı zaman ortam koşullarına bağlı olarak uzamış sürelerde aynı konumda durabilmekte ve hayvanın bulunduğu yerden alabilmek için 3-5 kg kuvvet uygulamak gerektiği belirlenmiştir (Fretter ve Graham 1962). Yapışmada basınç sağlayan yapının da paramiyosin molekülü olduğu vurgulanmıştır (Watabe vd 1990).

Mollusca üyelerinde düz kas organizasyonunun ve fibril tüplerinin çeşitli olduğu belirtilmiş ve kesitlerde boyuna, enine ve oblik demetlerinin üç boyutta bir ağ oluşturduğu gözlenmiştir (Faccioni-Heuser vd 1999). İki boyutta yerleşim hakimiyeti olmasına rağmen oblik yerleşimli kas demetleri de kesitlerimizde gözlenmiştir.

Ayak dokusundan salgılanan mukusun farklı etkisi olabilir. Bunlar iz bırakma ve yapışma salgıları olarak farklıdır (Smith ve Morin 2002). Gerek ayak gerekse manto kenarlarında gözlediğimiz hücre içi salgı oluşumu ile yağ damlası benzeri hücre dışı salgıların varlığı bu farklılığı yansıtmaktadır.

Patella türleri ayrı eşeyli canlılar olup, eşeyssel dimorfizm görülmediği için *Patella* türlerinde kabuğun dış morfolojisinden ve yumuşak vücut yapılarından, gonadın yapısı dışında cinsiyet farklılığı anlaşılmamaktadır.

İncelediğimiz örneklerde *Patella*'nın gelişmiş testis yapısı koyu sarı renge gözlenmesine rağmen Orton vd (1956)'un çalışmasında *P. vulgata*'nın testis yapısını krem renge olduğu belirtilmiştir.

İncelediğimiz *Patella* örneklerinde gelişmiş ovaryum renginin yeşil kahverenkli olduğu gözlemlenmesine rağmen diğer çalışmalarda koyu yeşil, koyu kahverenkli ve kırmızı renkte gonadlar belirtilmiş olup bu renk farklılığının canlının beslendiği flora ile ilgili olduğu düşünülmüştür (Orton vd 1956).

Ovaryum yapısı bir bütünlük göstermekte ve *Pinctada* cinsi gibi diğer bazı omurgasızlarda açıklanan (Pehlivan ve Falakalı Mutaf 2004) şekilde olmayıp belli sayıda oosit folikülünü içeren loblar halinde görülmemektedir. Oosit sitoplazmasında vezikül oluşumları vitellogenesisin başladığına işaret etmektedir. Vitellogenesis yumurta sarısının organik ve inorganik içeriğini bir araya getirmektedir (Rocha-Barreira 2002).

Bütün yıl boyu yapılacak örneklemelerle gonad gelişimlerinin anatomik ve histolojik olarak takip edilmesi bu canlıların üreme biyolojileri ve bu özellik açısından tür farkı gösterip göstermedikleri belirlenebilir.

İzoenzim analizleri incelendiğinde *P. caerulea* ve *P. rustica* türlerinin MDH ve ME enzimleri her iki tür için karşılaştırıldığında yürüme hızlarının farklı olduğu görülmüştür. Bu özelliklerinden dolayı *P. caerulea* ve *P. rustica* türleri sadece morfolojik olarak değil aynı zamanda enzim özellikleri yönüyle de birbirlerinden tür seviyesinde farklı oldukları kısmen desteklenmektedir. Ancak diğer iki enzime ait (AAT, 6-PGDH) zimogramlarda gözlenen genetik homojenite monomorfik lokus kullanımından kaynaklanmış görünmektedir. Bu nedenle iki türe ait popülasyonlardaki allel sıklığı farklılığı ele alınmamıştır.

P. caerulea ve *P. rustica* türlerinin kabuk morfolojisi ve radula anatomisi yönüyle gözlenen farklılıkları kaynaklarla uyum içerisindedir. MDH ve ME enzimleri bakımından bu fenotipik farklılık desteklenmiş diğer iki enzime ait genetiksel veriler bu farklılığa paralellik göstermemiştir. Fenotipik plastisite ile bu türler, fizyolojik ve davranımsal farklılık göstererek değişik zonlarda yaşama adapte olmuşlardır. Genetik belirteçler olarak uygulanan enzim analizleri iki tür arası genetiksel farklılıkları belirlemeye tam yeterli olmamıştır. Bu

nedenle DNA analizi gibi daha güçlü genetiksel yöntemlerin uygulanması türlerin ayrımı için daha pratik bir çözüm olabilir. Ayrıca daha çok sayıda polimorfik lokusların seçilmesi ve örnek sayılarının artırılması türler arası belirlenmiş fenotipik farklılıkları desteklemekte daha etkili olacaktır. Corte-Real vd (1996) polimorfik lokuslarına bakarak *P. rustica* ve *P. piperata* türleri arasındaki farklılığı belirlemişlerdir.

Protein elektroforezi her iki tür içinde incelendiğinde baskın olarak bulunan protein bantlarında farklılıklar belirlenmiştir. Türler için proteinlerin moleküler ağırlıklarının dağılımı *P. caerulea*'da 11-267kDa, *P. rustica*'da 12-268kDa aralıklarında yakın değerler olarak hesaplanmıştır. Ancak Comassie Blue boyaması yapılarak standart proteinlerin derecelenmiş bantlarında bilinen ve kaynaklardan elde edilen konsantrasyonlarla ilişkilendirilerek protein çeşitliliği ortaya konmaya çalışılmıştır. Çizelge 4.3. geliştirilerek bulguların kaynaklarla güçlendirilmesi Çizelge 5.2.'te gerçekleştirilmiştir. Her iki tür içinde homojenatlar ayak kas dokusundan hazırlandığı için protein elektroforezi incelendiğinde bantlar kas dokusu proteinleri şeklinde değerlendirilmiştir.

Yapılan protein elektroforezi sonuçlarına bakıldığında bazı bantların, sürüntülü veya silik çıktığı görünmektedir. Ayrıca 67 kDa'daki bantın mevcut kaynaklara göre hata bandı olduğu düşünülmektedir (Anonim 2. 2006). Bu durumun değişik sebepleri olabilmesine karşın, dokuların homojenizasyonlarının yeterli olmaması veya yürüme solusyonuna yanlışlıkla SDS karışmasında bu sonuçları meydana getirebilmektedir (Hames 1998). Bazı bantlarla ilgili protein cinsi belirlenememiştir.

Çizelge 5.2. İncelenen *P. rustica* ve *P. caerulea* türlerinin protein elektroforezi ile belirlenen moleküler ağırlıklarına göre polipeptid çeşitliliği ve özellikleri

Protein Mol. Ağır.(kDa)	İncelenen Patella türü	Polipeptid çeşidi ve özelliği	Yararlanılan Kaynak
200-205	<i>P. rustica</i>	Miyosin HC (ağır birim)	Sellers ve Goodson 1995
117-116	<i>P. rustica</i> <i>P. caerulea</i>	β -Galaktosidaz, Catchin	Unstained protein markers (BenchMark), Yamada vd 1999
100-105	<i>P. rustica</i> <i>P. caerulea</i>	---	---
93-95	<i>P. rustica</i> <i>P. caerulea</i>	---	---
65-67	<i>P. rustica</i>	Hata bandı	Anonim 1. 2006. University of Phoenix
52-55	<i>P. rustica</i> <i>P. caerulea</i>	Glutamik dehidrogenaz	Anonim 2. 2006. Unstained protein markers (BenchMark)
40-45	<i>P. rustica</i> <i>P. caerulea</i>	Actin	Kikumoto vd 2003
37	<i>P. rustica</i> <i>P. caerulea</i>	Troponin TnT	Greaser ve Gergely 1973
33-35	<i>P. rustica</i> <i>P. caerulea</i>	Tropomiyosin (α , β birimleri)	Smilie 1996
22-25	<i>P. caerulea</i>	Troponin TnI	Greaser ve Gergely 1973
20	<i>P. caerulea</i>	Miyosin LC (Hafif birim), Troponin TnC	Sellers ve Goodson 1995, Greaser ve Gergely 1973
15	<i>P. rustica</i>	Miyosin HC (Ağır birim, bir alt birim)	Sellers ve Goodson 1995
12 >	<i>P. caerulea</i>	Zar poteinleri	Kalies ve Hartman 1996

Protein elektroforezi ile baskın olarak ortaya çıkan farklı protein bantları sayesinde tür ve popülasyonlarda genetiksel farklılığın ortaya konulabileceği gösterilmiştir Chambers vd (1996).

Daha çok sayıda enzim çalışılarak ve özel analiz programları uygulanarak iki türe ait bölgesel popülasyonların genetik ve fenotipik durumları açıklanabilir. Çalışmanın daha uzun süreli yapılması ve histolojik çalışmaların biyokimyasal analizler ile desteklenmesi durumunda tür ayrımları için doğal süreçler ve insan etkisinin olup olmadığı açıklanabilecektir.

6. SONUÇ

Çalışmamızda elde edilen veriler ile Antalya Körfezi'nde yaşayan *Patella* türlerinin anatomik, histolojik özellikleri, allozim ve protein elektroforezi ile bazı genetiksel özelliklerine temel oluşturacak yeni bilgilere ulaşılmıştır. Ayrıca daha sonra yapılacak olan ileri düzeydeki çalışmalar için kaynak olarak bu bilgilerden yararlanılması olanaklı olabilecektir.

7. KAYNAKLAR

- ANONİM1. 2006. Protein Gel Electrophoresis Tips and Troubleshooting Guide. *University of Phoenix*
<http://members.tripod.com~Aldrin/index-3.html>
- ANONİM 2. 2006. Unstained Protein Markers.
<http://www.invitrogen.com>
- ABBOTT R.T. and Morris P.A. 1995 . Shells of the Atlantic and Gulf Coasts and the West Indies. Fourth Ed. Houghton Mifflin Company, Boston.
- ANDRADE, S.C.S. and SOLFERINI, V. N. 2005. Transfer experiment suggests environmental effects on the radula of *Littoraria flava* (Gastropoda: Littorinidae). *J. Molluscan Stud.* Vo:72, Number.1:111-116
- BARNES, R.D. Invertebrate Zoology. 1970. W. B. Saunders Company
- BENZIE, J.A.H. and BALLMENT, E. 1994. Genetic differences among black-lipped pearl oyster (*Pinctada margaritifera*) populations in the western Pacific. *Aquaculture*, 127: 145-156.
- BRACHERE E., MIALHE E., NOEL D., BOULO V., MORVAN A. AND RODRIGUEZ I. 1995. Knowledge and research aspects in marine mollusc and crustacean immunology. *Aquaculture*. 137:17-32
- BOZCUK, A.N. 2000. Genetik, Palme Yayıncılık, Ankara, s 320.
- BUTH, D.G. 1990. Genetic Principles and the interpretation of electrophoretic data. In Whitmore D.H. (Ed) Electroforetic and Isoelectric Focusing Techniques in Fisheries Management, CRC Press, Inc., Vol:1, pp 1-21.
- CABRAL, J.P. and SILVA, A.C.F. 2003. Morphometric analysis of Limpets from an Iron-Age Shell Miden Found in Northwest Portugal. *J. Archaeological Sci.*, 30: 817-829.
- CACHIA, C., MIFSUD, C. and SAMMUT, P. M. 1991. The Marine Shelled Mollusca of The Maltese Islands (Part One: Archaeogastropoda), Grima Printing, Malta, 112 p.

- CHAMBERS, R.J., MCQUAID C.D. and KIRBY R. 1996. Determination of genetic diversity of South African intertidal limpets (Gastropoda: Siphonoria) with different reproductive modes using polyacrylamide gel electrophoresis of total cellular proteins. *J. Exp. Mar. Biol. Eco.*
- CRETELLA, M., SCILLITANI G., TOSCANO, F., TURELLA, P. and PICARIELLO and PICARIELLO., O. 1991. Comparative Morphology of soft parts of *Patella L.*, 1758 from the bay of Naples (Gastropoda: Patellidae). *Boll. Malac.* 26:205-210.
- CRETELLA, M., SCILLITANI G., TOSCANO, F., TURELLA, P. and PICARIELLO O. and CATAUDO, A. 1994. Relationships Between *Patella ferruginea* Gmelin, 1791 and the other Tyrrhenian species of *Patella* (Gastropoda: Patellidae) *The Malac. Soc. Lond.* 60: 9-17.
- COPELAND, R.A. 2000. Enzymes, A Practical introduction to structure, mechanism, and data analysis, A John Wiley & Sons, Inc., Publication, New York, 397 pp.
- CORTE-REAL, H.B.S.M., HAWKINS., S.J and THORPE J.P. 1996. An interpretation of the taxonomic relationship between the limpets *Patella rustica* and *P. piperata*. *J. Mar. Biol. Ass. U. K.* 76:717-732.
- DAVIES M. S., PROUDLOCK D. J. and MISTRY A. 2005. Metal Concentrations in the radula of common limpet, *Patella vulgata L.*, from 10 sites in the UK. *Ecotoxicology*,14:465-475.
- DEMİR, R. 2001. Histolojik Boyama Teknikleri. Palme yayıncılık. 320s.
- DEMİRSOY, A. 2001 Yaşamın Temel Kuralları Omurgasızlar İnvertebrata (Böcekler Dışında), METEKSAN Yayınları, Meteksan Basımevi, Ankara, s 1210.
- DRURY, R.A. and WALLINGTON, E.A. 1973. Carleton's Histological Tecnique, Fourth Edition. Oxford University Press London. London. 432p.
- FACCIONI-HEUSER M.C., ZANCAN D.M., LOPES. C. and ACHAVAL M. 1999. The pedal muscle of the land snail *Megalobulimus oblongus* (Gastropoda, Pulmonata): an ultrastructural approach. *Acta Zoologica.* 80: 325-337.
- FRETTER, V. and GRAHAM A. 1962. British Prosobranch Molluscs. Scientific Medical and Tecnical Publications Press. 900p.

- FUJIOKA, Y. 1985. Systematic evaluation of radular characters in Thaidinae (Gastropoda: Muricidae). *J. Sci. Hiroshima Univ.*, Series B, Division 1 (Zoology), 31: 235-287
- GREASER M.L., GERGELY J. 1973. Purification and properties of the components from troponin. *J. Biol. Chem.* 248: 2125-2133.
- HAMES, B.D. 1998. Gel Electrophoresis of Proteins. Oxford University Press. Third Edition. 343 p.
- HOLMES, S. P., CHERRILL, A. and DAVIES, M.S. 2002. The surface characteristic of pedal mucus: a potential aid to the settlement of marine organisms? *J. Mar. Biol. Assoc. U.K.* 82: 131-139.
- HOYLE, G. 1964. Muscle and Neuromuscular Physiology. Physiology of Mollusca. Academic Press. New York. 313-351.
- JUENGL, J.L., HUDSON, N.L., HEALTH, D.A., SIMITH, P., READER, K.L., LAWRENCE, S.B., OCONNEL, A.R., LAITINEN, M.P., CRANFIELD, M., GROOME, N.P., RITVOS, O. and MCNATTY, K.P. 2002. Growth differentiation factor 9 and bone morphogenetic protein 15 are essential for ovulation follicular development in sheep, *Biol. Reprod.* 67: 1777-1789.
- KIKUMOTO M., TAMURA Y., OOI A., MIHASHI K. 2003. Partial Specific Volume and Adiabatic Compressibility of G-Actin Depend on the Bound Nucleotide. *J. Biochem.* 133, 687-691.
- KÜÇÜK, F., YILDIRIM, M.Z. ve GÜLYAVUZ, H., ÜNLÜSAYIN, M. 1996. Deniz Salyangozlarından *Patella caerulea* L., 1758 ve *Monodonta atriculata* (Lamarck, 182) (Prosobranchia: Gastropoda)'nın Antalya Körfezi'nde yayılışları, et verimi ve etlerin kimyasal yapısı üzerine bir araştırma. II.Uluslararası Su Ürünleri Sempozyumu. 21- 23 Eylül. İstanbul.
- KOEHN, R. K. 1991. The Genetics and taxonomy of species in the genus *Mytilus*. *Aquaculture*, 94:125-145.
- LINDDIRAD, K. J. , HOCKRIDGE, J. G., MAECEY, D. J., WEBB, J. and BRONSWIJK, W. 2005. Mineralisation in the teeth of the limpets *Patelloida alticostata* and *Scutellastra laticostata* (Mollusca: Patellogastropoda). *Molluscan Res.* 24 (1): 21-31.
- MANCHENKO, G.P. 1994. Handbook of Detection of Enzymes on Electrophoretic Gels. CRC Press. New York 341p.

- MAURO, A., ARCULEO, M. and PARRINELLO, N. 2003. Morphological and molecular tools in identifying the Mediterranean limpets *Patella caerulea*, *Patella aspera* and *Patella rustica*. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 295: 131-143.
- MAY, B. 2002-a. Stain Recipes for Specific Enzymes. *Molecular Genetic Analysis of Populations*. Oxford University Press. Oxford. 444: 371-378.
- MAY, B. 2002-b. Starch Gel Electrophoresis of Allozymes. *Molecular Genetic Analysis of Populations*. Oxford University Press. Oxford. 444: 1-28.
- MCDONALD, J. H. 1985. No Bad Gels: starch gel electrophoresis for the masses. Department of Ecology and Evolution State University of New York at Stony Brook, Stony Brook, New York.
- MCFADDEN, D.W., RIGGS, D.R., JACSON, B.J. and VONA-DAVIS, L. 2003. Keyhole Limpet Hemocyanin, A novel immune stimulant with promising anticancer activity in barrett's esophageal adenocarcinoma. *Am J. Surgeon*. 186 (5):552.
- NISBET, R.H. and PLUMMER, J.M. 1968. The Fine Structure of Cardiac and Other Molluscan Muscle. *Symp. Zool. Soc. Lond. and The Malacological Soc. of Lond.* 22:193-211.
- ORTON, J. H., SOUTHWARD, A. J. and DODD, J. M. 1956. Studies on The Biology of Limpets. IV. The breeding of *Patella vulgata* L. In Britain, *J. The Mar. Biol. Assoc. UK* 35., 149-176.
- ÖZCAN, E. 2003. Türkiye' de farklı bölgelerde yetişen istiridyelerde (*Ostrea edulis*) elektroforetik yöntemle genetik farklılıkların araştırılması. Ege Üniversitesi Su Ürünleri Yetiştiriliciliği Ana Bilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi.
- ÖZTÜRK, B. ve ERGEN Z. 1996. Saros Körfezi'nde (Kuzey Ege Denizi) dağılım gösteren *Patella (Archaeogastropoda)* türleri. *Tr. J. of Zoology*. 2: 513-519.
- PEHLİVAN, M. ve FALAKALI MUTAF, B. 2004. *Pinctata radiata* Leach, 1814 (Bivalvia: Mollusca)'nın Bazı Histo-Anatomik Özellikleri. I. Ulusal Malakoloji Kongresi. İzmir.

- PEHLİVAN, M. 2005. Antalya Körfezi'nde Yaşayan *Pinctata radiata* Leach, 1814 (Mollusca: Bivalvia)'nın sitogenetik ve izoenzimik özelliklerinin incelenmesi. Su Ürünleri Mühendisliği Anabilim Dalı. Yüksek Lisans Tezi.
- PURCHON, R.D., 1977. The Biology of The Mollusca, Pergamon Press, Oxford.
- RAMELOW, G. J. 1985. A study of Heavy Metals in Limpets (*Patella sp.*) collected along a section of the southeastern Turkish Mediterranean coast. *Mar. Env. Res.* 16:243-253.
- REID, D. G. and MAK, Y. M. 1999. Indirect evidence for ecophenotypic plasticity in radular dentition of Littoria Species (*Gastropoda: Littorinidae*). *J. Molluscan Stud.*, 65: 355-370.
- RIDGWAY, T.M. and STEWART, B.A., BRANCH, G.M. and HODGSON A.N. 1998. Morphological and genetic differentiation of *Patella granularis* (*Gastropoda: Patellidae*): recognition of two sibling species along the coast of Southern Africa. *J. Zool. London*, 245:317-333.
- RIDGWAY, T.M., BRANCH, G.M., STEWART B.A. and HODGSON., A. N. 2000. Taxonomic status of the '*Patella miniata*' SPECIES COMPLEX (Mollusca: Gastropoda) in southern Africa. *Hydrobiologia*, 420: 103-118.
- ROCHA-BARREIRA, C.A. 2002. Gonad Characterization and Reproductive Cycle of *Collisella subrugosa* (Orbigny, 1846) (*Gastropoda: Acmaeidae*) in the Northeastern Brazil. *Brazilian J. Biol.* Vol:62 :120-130.
- SCHAGGER, H., VON JAGOW, G. 1987. Tricine-sodium dodecyl sulphate polyacrylamide gel electrophoresis for separation of proteins in the range from 1 kDa to 100 kDa. *Anal Biochem.* 166: 368-79.
- SELLERS J.R., GOODSON H.V. 1995. Motor proteins 2: Myosin. *Protein Profile 2*: 1323-1423.
- SHI, Q. and JACKOWSKI, G. 1998. One Dimensional Polyacrylamide Gel Electrophoresis. Oxford University Press. Oxford.

- SMILE L.B. 1996. Tropomyosin in Biochemistry of Smooth muscle Contraction M Barancy, Ed., Academic Pres. 63-90pp.
- SMITH, A. M. and MORIN, M. C. 2002. Biochemical differences between trail mucus and adhesive mucus from marsh penvinkle snails. *Biol. Bull.* 203:338-346.
- TEMİZKAN, G., YILMAZER, S., ÖZTÜRK, M., ARI, Ş., ERTAN, H., OLGUN, A, SARIKAYA, A.T ve ARDA, N. 1999. Moleküler Biyolojide Kullanılan Yöntemler. İstanbul Üniv. Biyoteknoloji ve Genetik Mühendisliği Araştırma ve Uygulama Merkezi. Yayın no: 1. Nobel Tıp Kitabevi.
- THORPE, J. P. and SOLE-CAVA, A. M. 1994. The use of allozyme electrophoresis in invertebrate systematics. *Zool. Scr.*, 23(1):3-18.
- VAN DER KNAPP; W. P. W., ADEMA, C.M. AND SMINIA, T. 1993. Invertebrate blood cells: morphological and functional aspects of the hemocytes in the pond snail *Lymnea stagnalis*. *Comp. Haematal. Int.* 3:20-26.
- VOLTZOW, J. 1990. The functional morphology of pedal muscuature of the marine gastropodas *Busycon contratium* and *Haliotis kamtchatkana*. *Veliger.* 33:1-19.
- WALKER, J. Protein Techniques and Proteomics. Lecture. 2004. Ebiltem- İzmir. 91p.
- WATABE, S., SRI KANTHA, K. and KAGAWA, H. 1990. Phosphorylation and immunological cross-reactivity of paramyosin. *Com. Biochem. Physiol.* 94B:81-88.
- WILKINSON, J. H. 1975. Isoenzymes. Chapman and Hall, London, 368 pp.
- YAMADA A., YOSHIO M., OIWA K. and NYITRAY L. 2000. Catchin, a Novel Protein in Molluscan catch muscles, is produced by alternative splcing from the myosin heavy chain gene. *J. Mol. Biol.* 295:169-178.

ÖZGEÇMİŞ

Deniz AKŞİT, 1980 yılında İzmir'de doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini İzmir'de tamamladı. 1998 yılında girdiği Ege Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Deniz Bilimleri ve İçsular Teknolojisi Bölümü'nden 2003 yılında Su Ürünleri Mühendisi olarak mezun oldu. 2003-2004 güz yarıyılında Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Su Ürünleri Mühendisliği Anabilim Dalında Yüksek Lisans öğrenimine ve 2005 güz yarıyılında Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'nde Araştırma Görevlisi olarak göreve başladı ve halen aynı anabilim dalında Araştırma Görevlisi olarak görev yapmaktadır.