

KASTAMONU BEYLER VE GERMEÇTEPE BARAJI'NDAKİ
Cyprinus carpio (L.,1758) POPULASYONLARININ
KARŞILAŞTIRMALI NOR FENOTİPİ

Sefa PEKOL

G.Ü. Kastamonu Eğitim Fakültesi, İlköğretim Bölümü, Kastamonu.

Özet

Beyler ve Germeçtepe Barajı'nda (Kastamonu) yaşayan Cyprinidae familyasından Cyprinus carpio (L.1758) populasyonlarının NOR fenotipi belirlenerek karşılaştırılmıştır. NOR' lar Beyler Barajı populasyonunda büyük bir çift homolog/homolog olmayan submetasentriğin kısa kolu boyunca veya metasentrik kromozomun kolları boyuncadır. Germeçtepe Barajı populasyonunda ise bir çift homolog/homolog olmayan akrosentrik veya submetasentrik kromozomun kısa kollarında terminal olarak yerleşmiştir. İki populasyonun NOR büyüklüğü bakımından heteromorfik farklılıklar gösterdiği belirlenmiştir, genom başına düşen NOR sayısı ikidir.

Böbrek dokusundan elde edilen kromozomlar pH = 6.8'lik fosfat tamponunda hazırlanmış giemsa ile boyanmıştır. "One-Step" metoduna göre NOR bölgeleri belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler : Cyprinus carpio, NOR Fenotipi, Heteromorfizim

THE COMPARATIVE NOR PHENOTYPES OF THE CARP
Cyprinus carpio (L.,1758) INHABITING BEYLER AND
GERMEÇTEPE LAKES (KASTAMONU-TURKEY)

Abstract

NOR phenotypes were determined and compared in the population of Carp Cyprinus carpio (L.1758) belonging to Cyprinidae family living in Beyler and Germeçtepe dam lakes (Kastamonu). NORs are located through the short arm of the large one none/homologue submetacentric or arms of the metacentric chromosome for Beyler population. NORs located on two none/homologue submetacentrik or acrocentric chromosomes, in terminal position on the short arm for Germeçtepe population. Heteromorphism for NOR size was observed in two populations, NOR number per genom was two.

Chromosomes were obtained from kidney tissue which was stained by giemsa prepared in phosphate buffer solution (pH = 6.8). The NOR positions were determined according to "One-Step" method.

Key Words : Cyprinus carpio, NOR Phenotype, Heteromorphizm

Giriş

Günümüzde genetiği değiştirilmiş organizmaların besleyici özellikleri tartışmaya açılmıştır. Bu tartışmalara konu edilen fenotipik özellikler de değerlendirilirken canlının sahip olduğu karyotip bir mihenk taşı teşkil edecektir.

Balıklar üzerinde 1960'lardan bu yana yapılan karyolojik çalışmalar genetik kontrol, hızlı üretim, taksonomi ve kirlilik indikatörleri gibi araştırmalara önemli katkılar sağlamıştır. Kromozom üzerindeki özel işaretleyici konumu nedeniyle genel olarak NOR bölgeleri işaretleyici olarak kullanılmıştır.

Klasik giemsa boyama ile karyotipleri birbirinden ayırt edebilmenin zor olduğu, buna karşın gümüş boyama ile karşılaştırma yapmayı mümkün kılan NOR'ların mükemmel birer sitolojik marker olduğu bildirilmiştir (1).

Galetti ve ark. (1) *Cypriniformes; Anostomidae* familyasına ait 8 türünün NOR dağılımlarını karşılaştırmalı olarak çalışmışlardır. Preparatlar havada kurutma tekniği ile böbrek hücrelerinin kullanılmasıyla hazırlanmış, NOR bantlama Goodpasture ve Bloom (2)'un gümüş boyama tekniği kullanılarak yapılmıştır. İncelenen bütün türlerin muhtemelen homolog olan bir çift kromozomlarında NOR varlığı tespit edilmiştir.

Sola ve ark. (3) tetraploid orjinli *Cyprinus carpio*'nun kromozomal NOR bölgelerini araştırmışlardır. Kromozom preparatları standart kan doku kültürü yöntemiyle hazırlanmış, NOR bölgeleri Howell ve Black (4)'in gümüş boyama tekniği ile tanımlanmıştır. İncelenen metafaz plaklarının büyük çoğunluğunda bir çift kromozomun aktif NOR taşıdığını gözlemişlerdir. Bir çift kromozomun aktif NOR taşıdığını 125 plak içinde genelde büyük submetasentrik çiftinin her iki homologunun kısa kolları boyunca aktif olduğunu bildirmişlerdir.

Rab ve ark. (5) Amur nehrinden elde ettikleri *C. carpio haematopterus*'un karyotipini çalışmışlardır. Bu çalışmada olgun dişi ve erkek bireyler ile olgunlaşmamış balıklar kullanılmışlardır. Kromozom hazırlanışı böbrek hücrelerini kullanmak suretiyle; havayla kurutulmuş lamalar %5'lik giemsa ile boyanmış. Howel ve Black (4)'in gümüş boyama tekniği kullanılarak NOR bantlaması yapmışlardır. Araştırmacılar orta büyüklükteki bir çift submetasentrik kromozom üzerinde eşey farkı olmaksızın NOR yapının yer aldığını ve tür içinde heteromorfizmin bulunmadığını tespit etmişlerdir.

Amemiya ve ark. (6), Kuzey Amerika *Cyprinid* türlerinin karyotiplerini çalışmışlardır. Araştırmada, genel olarak birbirine benzeyen *Cyprinid* kromozom karyotiplerinin sistematik ve taksonomik problemlerin çözümü için yeterli olmadığı belirtilmiştir. Araştırmacılar *Cyprinid* türleri üzerindeki sitogenetik çalışmalarda tür içi ve türler arası karyotiplerin karşılaştırılmasında kromozomal NOR farklılıklarını esas almışlardır. Araştırmada ele alınan bütün türlerin NOR fenotipleri belirlenmiş, tür içi ve türler arası önemli NOR varyasyonların olduğu ortaya çıkarılmıştır.

Flajshans ve ark. (3) triploid balıkların nüklei ve kromozomlara ait aktif NOR sayılarının frekans analizini yapmışlardır. Suni olarak elde edilen poliploid balıklarda ploid seviyelerinin tespitinin yapılabilmesini amaçlayan çalışmada *C. carpio*'nun bir yıllık yavrularından kan dokusu kültürü ile preparatlar hazırlanmış, gümüş boyama

Howell ve Black, (4)'in yöntemi esas alınarak yapılmıştır. Sonuçta bir çift kromozom üzerinde lokalize olmuş NOR bölgeleri görülmüş ve diploid kromozom takımı başına bir çift NOR varlığı saptanmıştır. Aynı durumun Zan ve ark. (7), Mayr ve ark. (8), Sola ve ark., (3) gibi çeşitli araştırmacılar tarafından da tespit edildiği belirtilerek araştırma sonuçları desteklenmiştir.

Crossman, ve Ráb (9) sitotaksonomik bir çalışmada gümüş boyamanın dışında C-Bandlama, CMA₃ gibi kromozom işaretleme yöntemleri kullanılmış, *Novumbra hubbsi* ve diğer türlerin karyolojik ayrımı yapılmıştır.

Born ve Bertollo (10) yaptıkları çalışmada bir balık türündeki eşey kromozomları üzerindeki NOR büyüklüğü ile populasyondaki yeni sitotipi ortaya çıkarmışlardır.

Fabio ve arkadaşları (11) doğal ve kültür alabalıklarında, NOR dağılımını inceleyerek elde ettikleri farklı fenotipleri tartışmışlardır.

Balık türlerinde NOR fenotiplerinin belirlenmesinin yanı sıra özellikle tür içi ve türler arası NOR varyasyonlarının ortaya çıkarılması konusunda çalışmalar yoğunlaşmıştır (12,13,14,).

Daha önce yapılan bir çalışmada pullu sazan (*Cyprinus carpio* L.,1758) nın Beyler Barajı populasyonuna ait NOR fenotipi belirlenmiştir (15).

Bu çalışmada; Ülkemizdeki kemikli balıkların büyük bir kısmını oluşturan *Cyprinidae* familyasından en karakteristik örnek olarak bilinen pullu sazan (*Cyprinus carpio* L.,1758) nın Germeçtepe Barajı populasyonunda NOR fenotipinin belirlenerek Beyler Barajı populasyonu ile karşılaştırılması amaçlanmıştır.

Materyal ve Metod

Cyprinidae familyası 29 cins, 62 tür ve 22 alt tür ile ülkemizde yaşayan kemikli balıkların büyük bir kısmını oluşturur (16). Çok değişik coğrafi yapıların görüldüğü ülkemizde 149 değişik türde balığın 26 havzada dağılım gösterdiği belirtilmektedir (17). *Cyprinidae* familyasının en çok bilinen türlerinden biri olan sazan (*Cyprinus carpio* L.,1758), iç sularımızın hemen tamamında yaşayabilen, suni göletlerde üretilebilen ve halkımız tarafından bol miktarda tüketilen, ekonomik öneme sahip bir balık türüdür.

Bu araştırmada kullanılan *C. carpio* (L.,1758) türüne ait populasyon örnekleri, iki farklı akarsu sistemi özelliğindeki Kastamonu Devrekani Çayı'nın kollarından birisi üzerinde bulunan Beyler Barajı'ndan ve Daday ilçesi yakınlarındaki Germeçtepe Barajı'ndan temin edilmiştir.

Kromozomlar doğrudan yöntemle böbrek doku kullanılarak elde edilmiştir. Ön muamele için balıklar kesilmeden 3-4 saat önce eşey farkı gözetmeden her 100 g. vücut ağırlığı için 1 ml olacak şekilde % 0,1'lik kolşisin solüsyonu intraperitoneal olarak enjekte edilmiştir. Balığın çıkarılan böbrek dokusu homojenize edilerek hipotonik çözelti ile muamelesi sonunda 2000 devir/dakikada 10 dk santrifüj edilmiştir. 3:1 oranındaki metanol-glasial asetik asit karışımı tüpün üzerine ilave edilerek fikse edilmiştir.

Materyal lam üzerine alındıktan sonra bir gün süreyle havada kurutulmaya bırakılmıştır. Preparatlar pH'ı 6,8 olan fosfat tampon çözeltisiyle hazırlanmış %10'luk giemsa ile boyanmıştır.

Gümüş boyanmış NOR'lar Howell ve Black (4)'in "One-Step" metoduna göre yapılmıştır. Balıklarda çok yaygın olarak kullanılan bu metot daha kısa, pratik ve çok sayıda boyama yapmaya imkân vermiştir.

Kromozomların ayırımı Levan ve ark. (18)'na göre yapılmıştır.

Bulgular

C. carpio'nun Beyler Barajı'na ait popülasyonunda toplam 20 balık üzerinde gümüş boyanmış, 170 metafaz değerlendirilmiştir. Bu değerlendirme sonucunda incelenen metafazların tamamına yakınında bir çift kromozomun NOR taşıdığı gözlenmiştir. Genom başına düşen mutlak NOR sayısı 2 dir. NOR bölgelerinin kromozom üzerindeki yerleşimi şu şekildedir;

A) Büyük bir çift, homolog ya da homolog olmayan submetasentriğin kısa kolu boyunca ya da metasentrik kromozomun kolları boyunca görülen NOR bölgeleri (Şekil 1.a-b).

B) Bir çift büyük submetasentrik kromozom üzerindeki farklı büyüklükteki NOR bölgeleri (Şekil 2.a-b).

İncelenen metafazların büyük bir çoğunluğunda "A" tipi NOR şekli görülmüştür. Farklı büyüklükte NOR bölgelerinin bulunduğu "B" tipi NOR daha az görülmüş olup heteromorfik özelliğidir ve iki değişik heteromorfik yapının varlığı tespit edilmiştir (15).

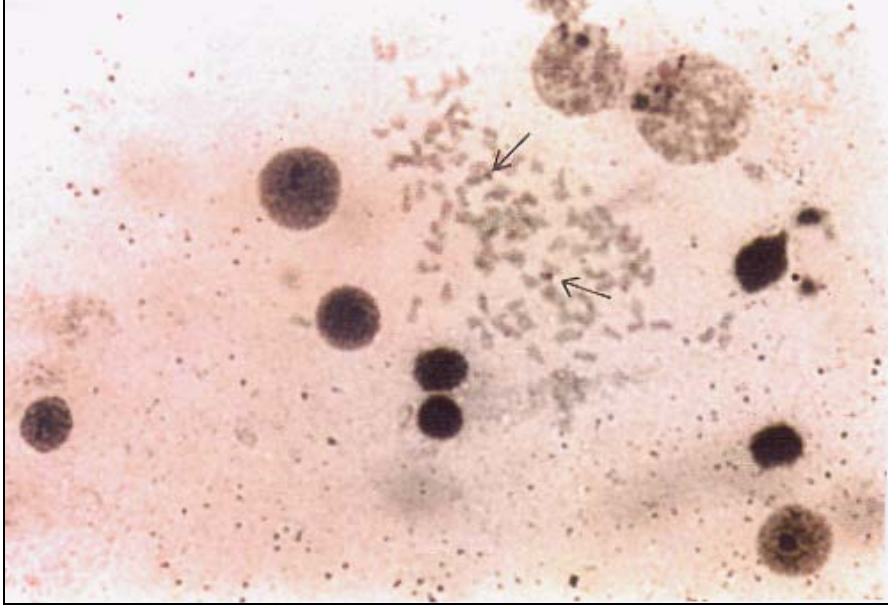
Germeçtepe barajı popülasyonunda ise 15 balık üzerinde gümüş boyanmış, toplam 130 metafaz incelenmiştir. İncelenen metafazların genelinde bir çift homolog ya da homolog olmayan kromozomda NOR bölgesi tanımlanmıştır. NOR'ların bulunduğu kromozom pozisyonları görülme oranına göre üç tipte sıralanmıştır.

A) Genellikle bir çift akrosentrik veya submetasentrik kromozomun kısa kollarında terminal olarak bulunan nokta şeklindeki NOR bölgeleri (Şekil 3.a-b).

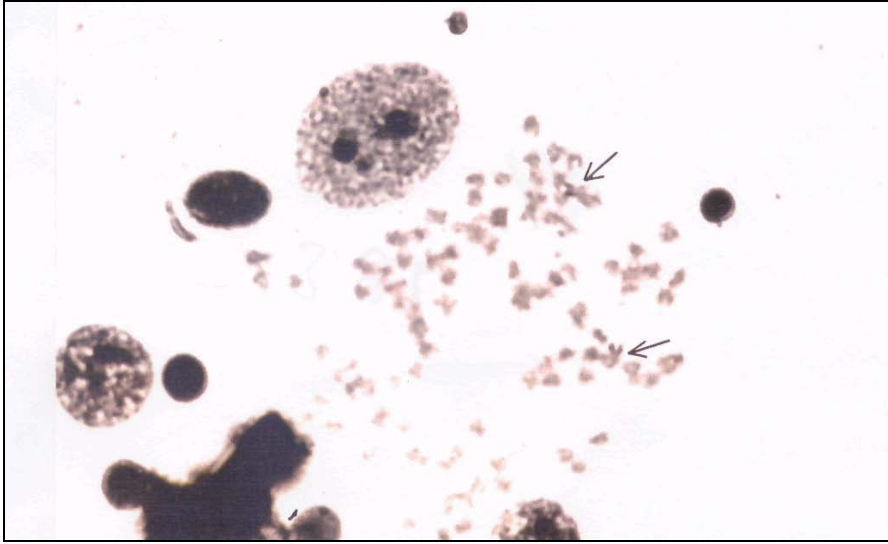
B) Bir akrosentrik ve bir submetasentriğin aktif olduğu metafazlar, daha az sıklıkta görülmüştür (Şekil 3).

C) Bir metasentrik kromozomun farklı büyüklükte boyanmış NOR bölgeleri heteromorfiktir (Şekil 4).

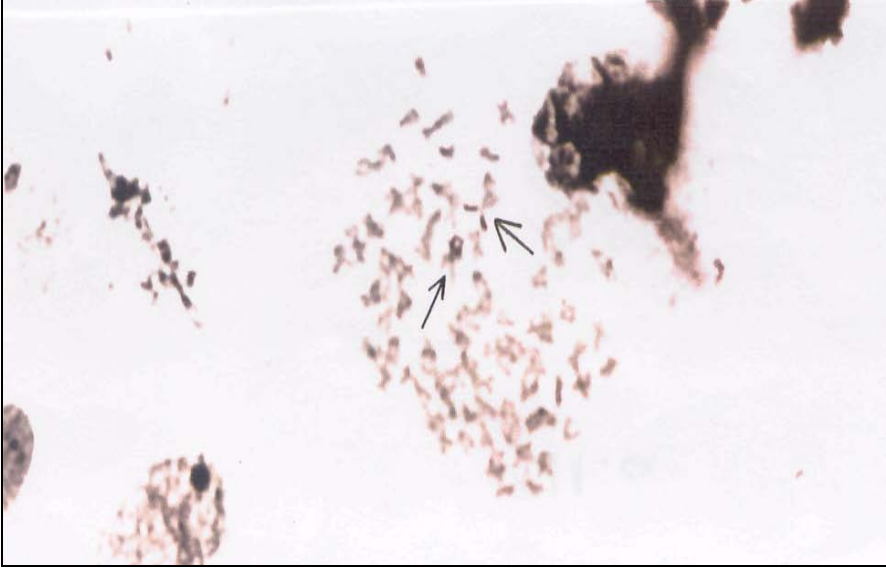
Nadir olarak da sadece bir akrosentrik kromozomun aktif olduğu metafazlar gözlenmiştir. *C. carpio* Germeçtepe popülasyonunda görülen hakim NOR fenotip "A" tipi olarak gözlenmiştir.



Şekil 1.a. Beyler Barajı *Cyprinus carpio* Populasyonunda "A" Tip NOR Fenotipi
(× 1860)



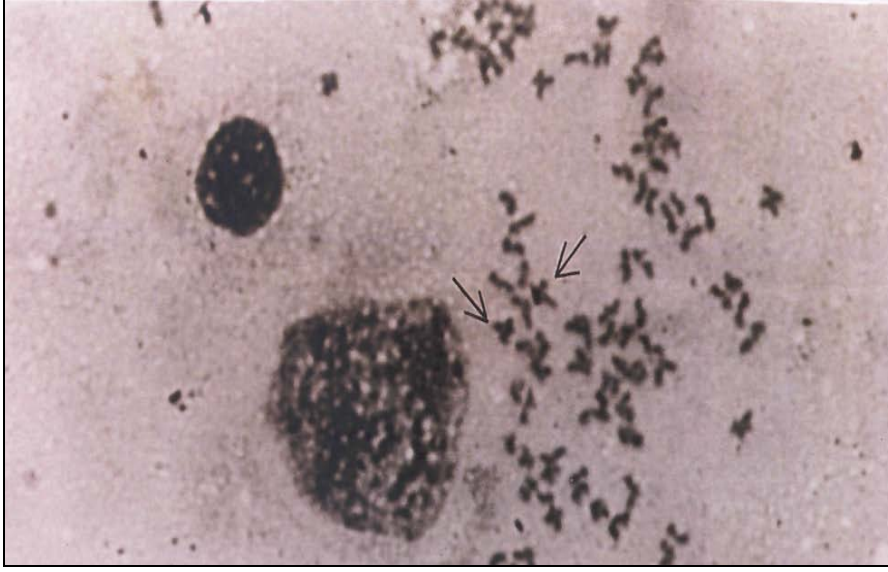
Şekil 1.b. Beyler Barajı *Cyprinus carpio* Populasyonunda "A" Tipi NOR Fenotipi
(× 2050)



Şekil 2.a. Beyler Barajı *Cyprinus carpio* Populasyonunda "B" Tipi NOR Fenotipi ($\times 2050$)



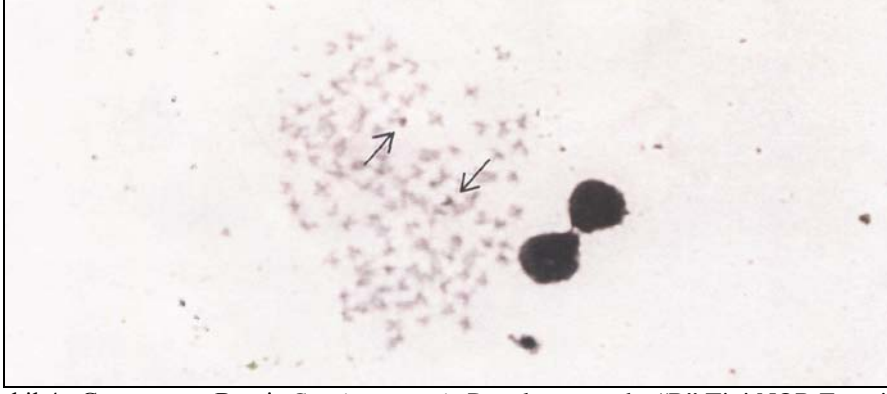
Şekil 2.b. Beyler Barajı *Cyprinus carpio* Populasyonunda "B" Tipi NOR Fenotipi ($\times 2050$)



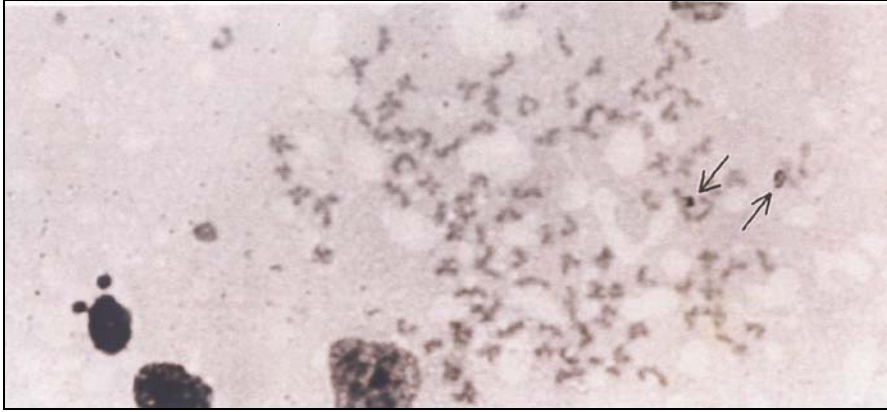
Şekil 3.a. Germeçtepe Barajı *Cyprinus carpio* Populasyonunda
“A” Tipi NOR Fenotipi (× 2050)



Şekil 3.b. Germeçtepe Barajı *Cyprinus carpio* Populasyonunda
“A” Tipi NOR Fenotipi (× 1860)



Şekil 4. Germeçtepe Barajı *Cyprinus carpio* Populasyonunda "B" Tipi NOR Fenotipi
(× 1860)



Şekil 5. Germeçtepe Barajı *Cyprinus carpio* Populasyonunda "C" Tipi NOR Fenotipi
(× 2050)

Tartışma ve Sonuç

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

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

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

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

Pullu sazan türlerinde NOR ile ilgili yapılan çeşitli çalışmalarda; Sola ve ark. (3)'ün tetraploid orijinli *C. carpio*'nun biri büyük diğeri küçük submetasentrik kromozomu üzerinde varlığı bildirilen NOR fenotipi Germeçtepe Barajı sazanlarının NOR fenotipine benzerlik göstermektedir. Ayrıca her iki submetasentriğin homolog olduğu durumda da Beyler Barajı *C. carpio* popülasyonunun fenotipine uyum sağlamaktadır.

Bu çalışmada elde edilen *C. carpio*'da diploid kromozom takımı başına genel olarak bir çift NOR bölgesinin bulunduğunu gösteren sonuçlar bakımından Zan ve ark. (7), Mayr ve ark. (8), Sola ve ark. (3) tarafından bulunan sonuçlara uygunluk gösterdiği anlaşılmıştır.

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

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

Rab ve ark. (5)'nin *C. carpio*'nun alt türlerinden *C. carpio heamatopterus* üzerinde yapmış olduğu kromozom çalışmasında orta büyüklükte bir çift submetasentrik kromozomun kısa kollarında NOR taşıdığını bildirmiştir. Çalışmamız bu sonuç ile paralellik göstermektedir.

Bu çalışma Türkiye *Cyprinid*'leri ve diğer balık familyalarında sitogenetik metotlarla yapılacak tür içi ve türler arası karşılaştırmalar için bir temel oluşturabilir. Karşılaştırmalar karyotipik özelliklerin yanı sıra diğer kromozom işaretleme yöntemleri ile de desteklenmelidir.

Kaynaklar

1. Galetti, P.M. Foresti, F., Bertollo, L.A.C. and Moreira, F.O., 1984, Characterization of eight species of *Anostomidae* (*Cypriniformes*) fish on the basis of the nucleolar organizer region, *Caryologia*, 37, 401-406.
2. Goodpasture, C., and Bloom, S.E., 1975, Visualization of nucleolar organizer regions in mammalian, chromosomes using silver staining, *Chromosoma*, 53, 37-50.
3. Sola L., Arcangeli R., Cataudella S., 1986, Nucleolus organizer chromosomes in a teleostean species of tetraploid origin, *Cyprinus carpio*, *Cytogenet. Cell Genet.*, 42, 183-86.

4. Howel W., M. and Black D., A., 1980, Controlled silver-staining of nucleolus organizer regions with a protective colloidal developer: a-1-step method. *Experientia*, 36:1014-1015.
5. Rab, P., Pokorny J. and Roth. P., 1989, Chromosome studies of Common Carp, *Cyprinus carpio*, I. karyotype of Amurain carp, *C. carpio haematopterus*, *Caryologia*, Vol. 42, n:1, 27-36.
6. Amemiya, C.T. and Gold, J.R., 1990b, Chromosomal NOR phenotypes of seven species of North American *Cyprinidae*, with comments on cytosystematic relationships of the genus *Pteronotropis*, *Copeia*, 1990, 68-78.
7. Zan R., Song Z. and Liu W. 1986, Studies on karyotypes and nuclear DNA contents of some *Cyprinid* fishes, with notes on fish pyploids in China, Proc Znd int. Conf. Indo-Pacific Fisher, Tokyo, Ichthyol. Soc., 877-885.
8. Mayr B., Rab P., Kalat M., 1986, NORs and counterstain-en-hanced fluorescence studies in *Cyprinidae* of different ploid level, *Genetica*, 69, 111-118.
9. Crossman, E. J. and Ráb, P. 2001, Chromosomal NOR Phenotype and C-Banded Karyotype of Olympic Mudminnow, *Novumbra hubbsi* (Euteleostei: Umbridae), *Copeia*, 3, 860-865.
10. Born GG and Bertollo LA., 2000, An XX/XY sex chromosome system in a fish species, *Hoplias malabaricus*, with a polymorphic NOR-bearing X chromosome, *Chromosome Res.*, 8 (2), 11-8.
11. Fabio P Foresti at all., 2002, Analysis of NOR distribution in cultivated and naturalized stocks of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), *Genetics and Moleculer Biology*, 25, 4, 409-412).
12. Amemiya, C.T. and Gold, J.R., 1986, Chromomycin A₃ stains nucleolus organizer regions of fish chromosomes, *Cpoeia*, 226-231.
13. Mayr, B., Kalat, M., Rab. P. and Lambrou, M., 1987, Band karyotypes and sepicific types of heterochromatin in several species of European percid fishes (*Percidae, Pisces*), *Genetica*, 75, 199-205.
14. Thode, G., Martinez, G., Ruiz, J.L, and lopez, J.R., 1988, A complex chromosomal polymorphism in *Gabius fallax* (*Gabiidae, Perciformes*), *Genetica*, 76, 65-71.
15. Pekol, S., 2003, Kastamonu Beyler Barajı' ndaki *Cyprinus carpio* (L.,1758) Populasonunun NOR Fenotipi, G.Ü. Kastamonu Eğitim Dergisi, 11 (1), 183-192.
16. Geldiay, R. ve Balık, S., 1988, Türkiye Tatlısu Balıkları, Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Kitapları Serisi, No: 97, E.Ü. Basımevi, 180s, Bornova-İzmir.
17. Flajshans M., Rab P. and Dobosz S., 1992, Frequency anayses of active NORs in nuclei of artificially induced triploid fishes, *Theor. Appl. Genet.*, 85, 68-72.
18. Levan, A., Fredgy, K., Sandberg, A., 1964, Nomenclatüre for cenromeric position on chromosomes, *Hereditas*, 52, 201.