

Pelophylax ridibundus*'un Karyotipik Özellikleri

Esra CANPOLAT¹, Turgay ŞİŞMAN¹, Yahya TEPE¹, Hasan TÜRKEZ²**

¹Atatürk Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Erzurum

²Erzurum Teknik Üniversitesi, Fen Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Erzurum

Geliş : 23.02.2018

Kabul : 27.04.2018

Araştırma Makalesi / Research Paper

**Sorumlu Yazar: tsisman@atauni.edu.tr

E.Dergi ISSN: 1308 -7517

Özet

Erzurum il sınırları içinde olan Karasu Havzası Fırat Nehri'nin kaynağını oluşturmaktadır. Amfibi türlerinden olan ova kurbağaları (*Pelophylax ridibundus*) Karasu Havzası'nda da yaşamaktadır. Bu çalışmada *P. ridibundus*'un karyotipik özellikleri kemik iliği ve barsaklarından elde edilen metafaz kromozomları incelenerek araştırılmıştır. Çalışmada kullanılan kurbağalar Karasu Havzası'nın 3 farklı noktasından yakalanmıştır. Kurbağaların barsak epitel ve kemik iliği ana hücreleri karyotip analizi için kullanılmıştır. Bu hücrelerden en iyi metafaz kromozom yayılımları 1 saat hipotonik (0,075 M KCl) uygulama, soğuk hazırlanmış karnoy ile fiksasyon ve %10'luk Giemsa ile 20 dakika boyama sonucu elde edilmiştir. Hazırlanan preparatlarda yapılan incelemeler sonucunda her iki hücre tipinde *P. ridibundus*'un 2n=26 kromozoma sahip olduğu anlaşılmıştır. Karyotip analizi sonucunda *P. ridibundus*'da 6 metasentrik, 6 submetasentrik ve 1 subtelosentrik kromozom çifti olduğu belirlenmiştir (12M+12SM+2ST). Temel kromozom kol sayısı (FN) 52 ve karyotip simetri/asimetri indeksi 1,61 olarak hesaplanmıştır.

Anahtar kelimeler: Ova kurbağası, Karasu Havzası, Kromozom, Karyogram, İdiyogram.

Karyotypic Characteristics of *Pelophylax ridibundus*

Abstract

Karasu Basin in Erzurum provincial boundary is the source of the Euphrates River. Marsh frog is one of the amphibian species that is inhabited in Karasu Basin. The karyotypic characteristics of *Pelophylax ridibundus* have been investigated by examining metaphase chromosome spreads obtained from bone marrow and intestine epithelium. The frogs used in the study were caught from three stations of the Karasu Basin. The cells from bone marrow and intestine of the frogs were used for karyotype analysis. The best treatment parameters for preparing good metaphase chromosome spreads from the cells were optimized as hypotonic 1 hour (0.075 M KCl) treatment and fixation with cold carnoy. The slides were stained 10% Giemsa for 20 minutes. It was determined that *P. ridibundus* had 2n=26 chromosomes by investigation of the chromosome spreads. The karyotype of *P. ridibundus* was determined as composed of 6 metacentric, 6 submetacentric and 1 subtelocentric chromosome pairs (12M+12SM+2ST). The fundamental arm number (FN) was 52 and index of karyotype symmetry/asymmetry was 1.61.

Keywords: Marsh frog, Karasu Basin, Chromosome, Karyogram, Ideogram.

***Bu çalışma Atatürk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından BAP 2016/171 nolu proje kapsamında desteklenmiştir.**

GİRİŞ

İki yaşamlılar-Amphibia alemi içinde bulunan *Pelophylax ridibundus* (Anura; Ranidae) Batı Paleartik su kurbağaları içinde en eski tanımlanmış türlerden biridir (Kuru, 2004). *P. ridibundus* son zamanlara kadar *Rana ridibunda* olarak bilinmekteydi. *Rana* cinsinin parafiletik durumundan dolayı bu isim *P. ridibundus* olarak değiştirilmiştir (Frost, 2013). Ancak her iki ismin farklı araştırmacılar tarafından hala kullanıldığı bilinmektedir.

Biyocoğrafik olarak *P. ridibundus* türleri en doğuda Kazakistan (Berezovikov vd., 2001), sınırlı bir oranda Çin (Fei vd., 1999) ve Sibiry (Kuzmin, 1999), Güneyde İran (Mohammadi vd., 2015), Suudi Arabistan (Schatti ve Gasperetti, 1994), Bahreyn ve Nil Nehri yakınları, Avrupa'da Fransa, İngiltere, İspanya, İsviçre ve Belçika, kuzeyde Litvanya ve Estonya'ya kadar geniş bir yayılış gösterir (Arnold, 2003; Kuzmin vd., 2009). Bu kurbağalar Türkiye'de ise oldukça geniş bir dağılım göstermektedir (Arıkan vd., 1998; Sinsch ve Schneider, 1999; Akın vd., 2010).

Diğer omurgalılarda olduğu gibi kurbağalarda da sitotaksonomik analizler hayvanların sistematigi ve yayılışları hakkında güvenilir bilgiler verme noktasında oldukça etkilidirler. Morfolojik ve biyometrik karakterlere ilaveten karyolojik bilgiler hayvanları tanımlama ve sınıflandırmada anahtar rol oynarlar (Fakharzadeh vd., 2009). Kromozomların sayısı, şekli ve büyüklüğünü içeren karyotip morfolojisi, genellikle genotipten bağımsız olan fenotipik özelliklerin bir sınıfını oluşturur (Green ve Sessions, 1991). Özellikle omurgalı hayvanlarda kromozomların sayısı ve yapısıyla ilgili değişiklikleri ortaya çıkaracak çeşitli karyotipik çalışmalar, büyük bir artışla devam etmektedir (Alpagut ve Falakalı, 1995; Ergene vd., 1999; Uğurtaş vd., 2001; Ergene ve Çavaş, 2002; Lymberakis vd., 2007; Mindrescu ve Ghiorghita, 2008; Martirosyan ve Stepanyan, 2009; Napoli vd., 2009; Arslan vd., 2010; Ergene vd., 2010; Kılıç ve Şişman, 2016, Şişman vd., 2016). Amfibilerin çoğunda çok sayıda kromozom yoktur. Ayrıca kromozomları nispeten büyüktür ve elde edilmesi kolaydır. Bu nedenle, amfibi kromozomlarını araştırmak nispeten daha kolaydır (Fakharzadeh vd., 2009).

Sitogenetik çalışma yapılırken öncelikli olarak amaç, türe ait diploid kromozom sayısını belirlemek, kromozomları sentromer konumuna göre gruplandırmak ve karyotip analizini yapmaktır. Ardından, kromozomal bantlama teknikleri ile tür içi ve türler arasındaki ilişki belirlenebilmektedir. (Dobingy vd., 2004). Kurbağalarda yapılan karyotip analizlerinde özellikle *Rana* cinsinde kromozom sayısının popülasyonlar arası farklılıklara rağmen $2n=26$ olduğunu göstermiştir (Kuramoto, 1990).

Ülkemizde *P. ridibundus* türüne ait ilk karyotip Alpagut ve Falakalı (1995) tarafından yapılmıştır. Ancak bu türün *P. pediagae* olduğu sonradan anlaşılmıştır (Sinsch vd., 2002). Sonrasında ise Orta Anadolu'da yayılış gösteren *P. ridibundus*'un karyotipi Arslan vd. (2010) tarafından oluşturulmuştur. Çeşitli araştırmacılar tarafından daha önce Güneybatı Anadolu popülasyonları (İzmir, Manisa, Aydın, Denizli, Burdur, Isparta ve Konya illerindeki 10 farklı lokaliteden toplanan popülasyonlar) ve Doğu Akdeniz'i temsil edebilecek Mersin popülasyonunun karyolojik özellikleri çalışılmıştır. Ancak son yıllarda *P. ridibundus* türüne ait bu anlamda herhangi bir araştırma yapılmamıştır. Bu çalışmada Erzurum il sınırları içinde kalan 3 farklı bölgeden toplanan *P. ridibundus* türünün karyotip analizi yapılarak buradaki popülasyon hakkında bilgi verilmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL ve YÖNTEM

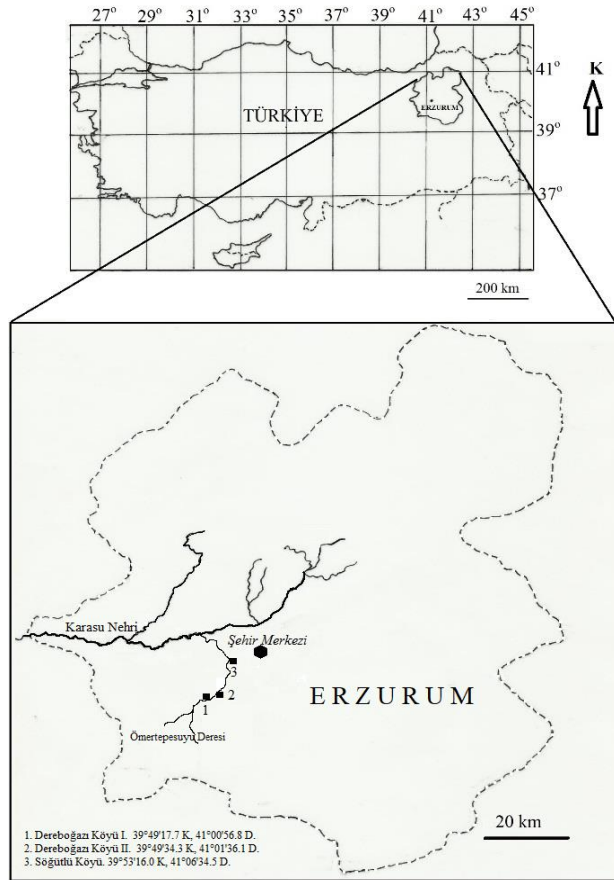
Çalışma Bölgesi

Karasu Havzası ismini içinden geçen Karasu Nehri'nden almaktadır. Nehir 1890 m rakımlı Erzurum Ovası'nın tek akarsuyudur. Fırat Nehri'nin önemli iki kolundan biri olan Karasu Nehri, Erzurum sınırları içinde Dumlu Dağı'nın eteklerinden doğar ve Erzurum Ovası'nı doğu-batı yönünde geçerek ovanın kuzeydoğusundaki 3000-3500 m yükseklikteki Karacağız, Güvercin ve Kandil Dağları'ndan gelen Köşk, Karagöbek ve Dumlu Derelerinin birleşmesinden sonra Karasu adını alır. Nehre Ömertepesuyu Deresi

Ilıca mevkiinden karışır. Karasu Nehri'nin Erzurum ili içindeki drenaj alanı 1642 km² ve ortalama akımı 4,304 m³/sn dir (Sönmez, 2011).

Araştırmada Karasu Nehri'ni besleyen güney kollarından biri olan Ömertepesuyu Deresi'nden 3 istasyon seçilmiştir (Şekil 1). Bunlar Erzurum'un merkez köylerinden olan Dereboğazı Köyü'nde derenin köye giriş noktası (1. İstasyon), derenin köy çıkışı (2. İstasyon) ve aynı dereeden tarımsal sulamanın yapıldığı Söğütlü Köyü (3. İstasyon) olmuştur. İstasyonlar sırayla şöyledir:

1. İstasyon: Dereboğazı Köyü I. Erzurum- Dereboğazı Köyü 28,6 km.
2. İstasyon: Dereboğazı Köyü II. Erzurum- Dereboğazı Köyü 27 km.
3. İstasyon: Söğütlü Köyü. Erzurum- Söğütlü Köyü 17,7 km.



Şekil 1. İstasyonların genel konumları.

Çalışmada seçilen istasyonların doğal faunasında bulunan *P. ridibundus* türü kurbağalar tercih edilmiştir. Haziran 2016'da yakalanan kurbağaların (15♀, 17♂) ortalama ağırlıkları 74,16 g ve burun ucundan kloak kenarı arası ortalama uzunlukları (SVL) 10,4 cm olarak tespit edilmiştir. Kurbağaların deneyde kullanılabilmesi için gerekli izinler olan Atatürk Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan Etik Kurulu İzni (26.09.2013/132), Orman ve Su İşleri Bakanlığı'ndan Araştırma İzni (03.04.2013/63471), Gıda tarım ve Hayvancılık Bakanlığı'ndan Araştırma İzni

(03.04.2013/863) çalışma başlamadan önce ilgili makamlara müracaat edilerek alınmıştır.

Giemsa boyama (G bantlama)

Giemsa boyama tekniği Schmid (1978)'den değiştirilerek uygulanmıştır. Kurbağalara ilk işlem olarak mitoz bölünmeyi teşvik etmesi amacıyla karın bölgelerinden %1'lik fitohemaglutinin verilmiş ve kurbağalar 30 saat akvaryumlarda bekletilmiştir. Süre sonunda aynı kurbağalara mitozdaki hücreleri metafaz aşamasında durdurmak için %1'lik kolşisin solüsyonundan aynı bölgeye enjekte edilmiş ve 18 saat beklenmiştir. Enjeksiyon miktarları 10 g vücut ağırlığı için 1 ml olacak şekilde hazırlanmıştır. Daha sonra bireyler benzocain ile bayıltılıp disekte edilerek önce barsak çıkarılmış, hipotonik sıvı içinde (0,075 M KCl) boydan boya kesilmiş ve oda sıcaklığında yaklaşık 60 dakika bekletilmiştir. Hücre süspansiyonunu içeren tüpler 2000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek 3:1 oranında hazırlanmış karnoy içinde fiske edilmiş ve bu işlem 2 kez tekrarlanmıştır. Son santrifüjlemeden sonra süpernatant atılarak tüpte kalan 0,5 ml'lik hücre süspansiyonu önceden soğutulmuş temiz lamlar üzerine damlatılmış ve kurumaya bırakılmıştır. Havada kurutulan lamlar fosfat tamponunda hazırlanmış %10'luk Giemsa boyasıyla 20 dakika boyanmış, saf sudan geçirilmiş ve kurutularak incelenmiştir. Kemik iliğinden kromozom elde edilmesinde de aynı işlem basamakları izlenmiştir. Kurbağalar disekte edildikten sonra hayvanın uzun kemikleri olan tibia ve femur, kas ve bağ dokudan iyice temizlenmiş ve kemiklerin epifizleri her iki taraftan düzgünce kesilmiştir. Kemik iliği 0,075 M KCl içeren bir insülin enjektörü yardımıyla itmek suretiyle bir saat camı içerisine alınmış ve doku küçük parçalara ayrılarak 60 dakika 0,075 M KCl içinde bekletilmiştir. Tespit ve boyama işlemleri yukarıdaki gibi tekrarlanmıştır.

Karyotip analizi

Karyotipler kromozomların boylarına ve sentromerlerin konumuna göre sınıflandırılarak hazırlanmıştır. Kromozom formülünü belirlemek için kromozomlardaki her kol ölçülmüştür. Kol ölçümleri Leica LAS EZ 3.0 görüntü analiz etme bilgisayar programıyla yapılmıştır. Her kromozomun kol oranı (KO), sentrometik indeksi (SI) ve nisbi kol uzunluğu (NKU) hesaplanmıştır. Bunun için şu formüller kullanılmıştır: $KO = \text{Uzun Kol} / \text{Kısa Kol uzunluğu}$ (μm olarak), $SI = 100 \times \text{Kısa Kol uzunluğu} / \text{Toplam kromozom uzunluğu}$, $NKU = 100 \times \text{Kromozomun Toplam Boyu} / \text{Kromozomların Boyları toplamı}$.

Homolog kromozom çiftlerini ve karyotip formülünü belirlemek için kromozomlar SI değerlerine göre sıralanmıştır. Bu işlem Levan vd. (1964)'ün metoduna göre yapılmıştır. Buna göre SI değeri 50,00-37,51 olan kromozom çiftleri metasentrik (M), 37,50-25,01 olanlar submetasentrik (SM), 25,00-12,51 olanlar subtelosentrik (ST) ve 12,50-0,00 olanlar telosentrik (T) olarak sınıflandırılmıştır. Ayrıca Microsoft Office Excel programı kullanılarak karyotipin idiyogramı da çıkarılmıştır.

Karyotip simetri ve asimetrisi ise Eroğlu (2015)'na göre aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır.

$$S/A_I = (1 \times M) + (2 \times SM) + (3 \times ST) + (4 \times T) / 2n$$

S/A_I = simetri asimetri indeksini; M = metasentrik kromozom sayısını; SM = submetasentrik kromozom sayısını; ST = subtelosentrik kromozom sayısını; T = telosentrik metasentrik kromozom sayısını ve $2n$ = diploid kromozom sayısını göstermektedir. Buna göre S/A_I değeri 1,0-2,0 arasında olan için karyotipi simetrik, 2,1-

3,0 olan simetrik-asimetrik arasında ve 3,1-4,0 olan karyotip de asimetrik olarak sınıflandırılmaktadır.

BULGULAR

P. ridibundus'un Karyotip Özellikleri

Üç farklı istasyondan alınan *P. ridibundus*'un dişi ve erkek bireylerinin barsak ve kemik iliği hücrelerinden hazırlanan preparatlarda barsakta toplam 248 ve kemik iliğinde toplam 525 adet metafaz plağı sayılmıştır. Metafaz sıklığının kemik iliğinde daha fazla olduğu bulunmuştur. Metafaz plaklarında sayılan kromozom sayısı barsakta %4,8 oranında 2n=22, %19,0 oranında 2n=24, %72 oranında 2n=26 ve %4,2 oranında 2n=28 (Tablo 1), kemik iliğinde ise %1,5 oranında 2n=22, %9,3 oranında 2n=24, %87,4 oranında 2n=26 ve %1,8 oranında 2n=28 (Tablo 2) olarak tespit edilmiştir. En çok tekrar eden değer hem barsakta hem de kemik iliğinde 2n=26 olduğu anlaşılmıştır.

Tablo 1. *P. ridibundus*'un barsak dokusundaki kromozom sayısının sıklık analizi

Preparat No	Cinsiyet	Metafaz sayısı	2n=22	2n=24	2n=26	2n=28
RB1	♀	12	1	3	8	1
		13	-	1	10	1
RB2	♀	16	-	4	13	2
		20	2	5	9	1
RB3	♀	20	-	5	17	2
		18	1	3	20	-
RB4	♀	46	2	8	35	1
		49	3	7	37	2
RB5	♀	25	2	5	19	-
		29	1	6	21	-
Toplam		248	12	47	179	10
%			4,8	19,0	72,0	4,2

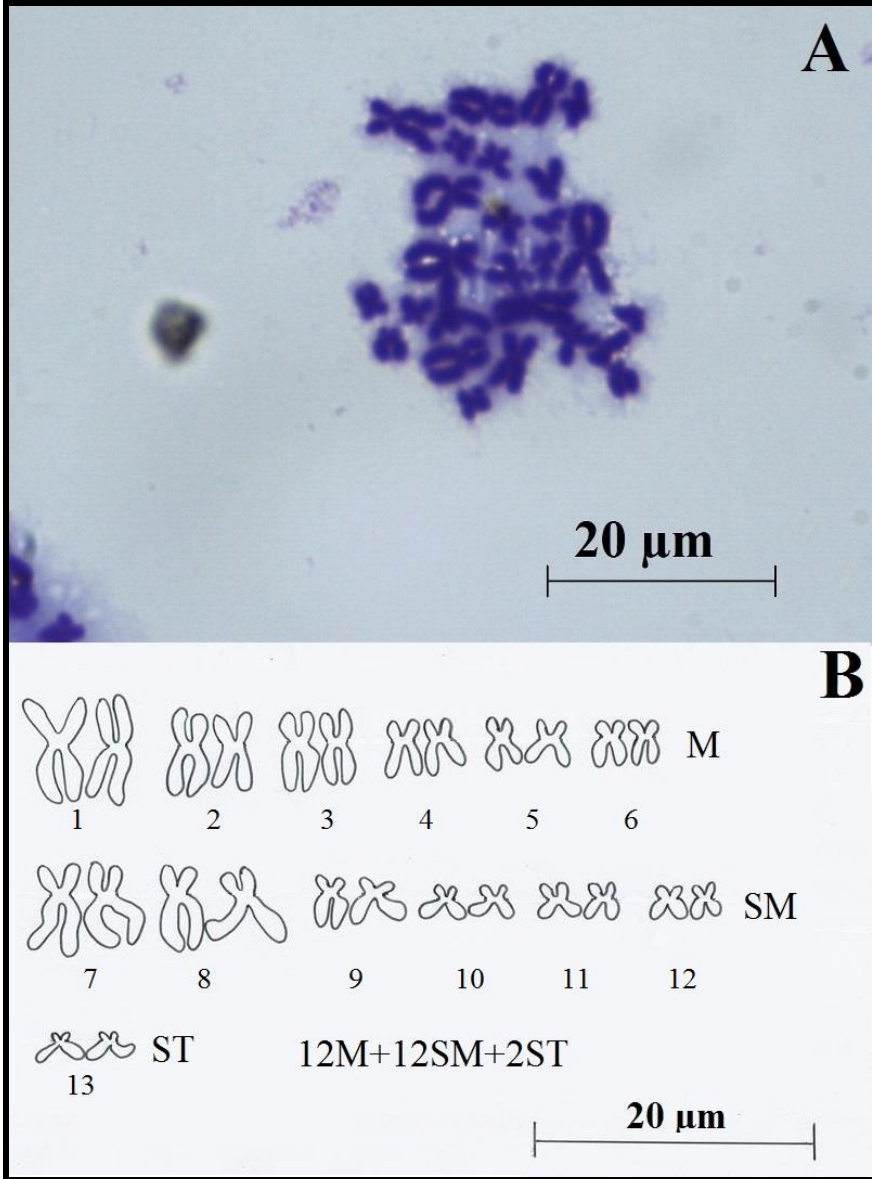
RB: "ridibunda barsak" kelimelerinin baş harfleridir. RB1 1. İstasyon, RB2 ve RB3 2. İstasyon, RB4 ve RB5 3. İstasyondan yakalanan kurbağalardan hazırlanmıştır.

Tablo 2. *P. ridibundus*'un kemik iliği dokusundaki kromozom sayısının sıklık analizi.

Preparat No	Cinsiyet	Metafaz sayısı	2n=22	2n=24	2n=26	2n=28
RK1	♀	85	1	5	30	-
			-	3	44	2
RK2	♀	100	1	7	50	1
			1	5	35	-
RK3	♀	65	-	1	28	-
			1	3	32	-
RK4	♀	95	1	5	42	1
			-	6	40	-
RK5	♀	180	1	7	76	3
			2	7	82	2
Toplam		525	8	49	459	9
%			1,5	9,3	87,4	1,8

RK: "ridibunda kemik iliği" kelimelerinin baş harfleridir. RK1 1. İstasyon, RK2 ve RK3 2. İstasyon, RK4 ve RK5 de 3. İstasyondan yakalanan kurbağalardan hazırlanmıştır.

3 istasyondan alınan dişi ve erkek kurbağaların metafaz plaklarından en iyi görünen ve en iyi dağılım gösterenlerden hazırlanan karyogramlarda kromozomlardan 6 çiftinin metasentrik, 6 çiftinin submetasentrik ve 1 çiftinin de subtelosentrik olduğu belirlenmiş ve karyotip $12M+12SM+2ST$ olarak düzenlenmiştir (Şekil 2). Karyotipin istasyonlar ve cinsiyetler arasında farklılık göstermediği tespit edilmiştir.



Şekil 2. *P. ridibundus*'un giemsa ile boyanmış (G bantlama) metafaz plağı (A) ve karyotipi (B). 1-6 Metasentrik (M), 7-12 submetasentrik (SM) ve 13 subtelosentrik (ST) kromozomlar olarak gruplandırılmıştır ($12M+12SM+2ST$).

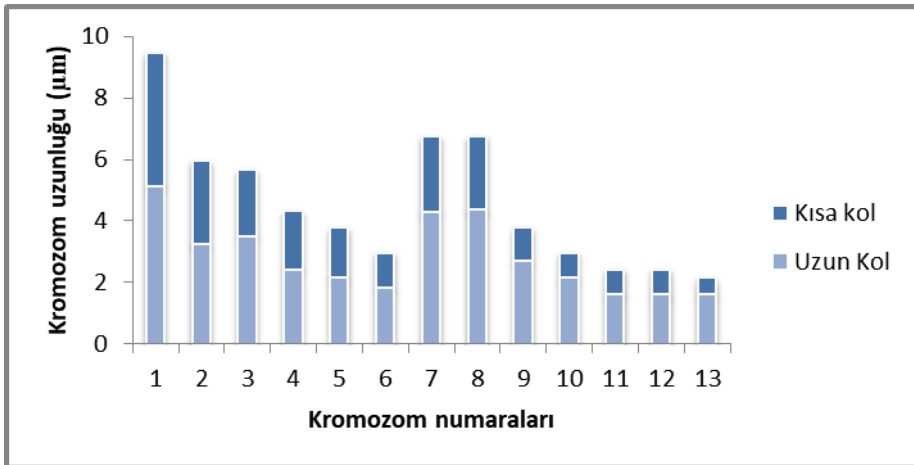
Toplam kromozom kol uzunluklarının 2,16 ile 9,45 µm arasında değiştiği, en uzun kromozomun metasentrik, en kısanın da subtelosentrik olduğu, temel kromozom kol sayısının (Fundamental Arm Number:FN) ise 52 olduğu bulunmuştur (Tablo 3).

Tablo 3. *P. ridibundus*'un kromozomlarının ölçümleri (µm) ve sentromerik endeksleri

Kromozom numarası	Kısa kol	Uzun kol	Toplam uzunluk	Kol oranı	Sentromerik indeks	Nisbi kol uzunl. (%)	Kromozom formu	Kol sayısı (FN)
1	4,32	5,13	9,45	1,19	45,7	15,9	M	4
2	2,70	3,24	5,94	1,20	45,5	20,2	M	4
3	2,16	3,51	5,67	1,60	38,1	9,5	M	4
4	1,89	2,43	4,32	1,30	43,7	7,3	M	4
5	1,62	2,16	3,78	1,30	42,9	6,4	M	4
6	1,15	1,82	2,97	1,58	38,7	5,0	M	4
7	2,45	4,30	6,75	1,75	36,3	11,3	SM	4
8	2,40	4,35	6,75	1,81	35,5	11,4	SM	4
9	1,08	2,70	3,78	2,50	28,6	6,4	SM	4
10	0,81	2,16	2,97	2,70	27,2	5,0	SM	4
11	0,81	1,62	2,43	2,00	33,3	4,1	SM	4
12	0,81	1,62	2,43	2,00	33,3	4,1	SM	4
13	0,54	1,62	2,16	3,00	25,0	3,6	ST	4
Toplam			59,4				13	52

*M: metasentrik, SM: submetasentrik, ST: subtelosentrik

Bu ölçümlere göre hazırlanan idiyogram ise Şekil 3'de gösterilmiştir. 1. 2. 3. 4. 5. ve 6. kromozom çiftleri metasentrik (12M), 7. 8. 9. 10. 11. ve 12. kromozom çiftleri submetasentrik (12SM), 13. kromozom çifti de subtelosentrik (2ST) olarak sırayla gruplandırılmıştır. Bu türde cinsiyete bağlı herhangi bir kromozom tespit edilememiştir. Simetri/asimetri indeksi ise $S/A_T = (1 \times 12) + (2 \times 12) + (3 \times 2) / 26 = 1,61$ olarak tespit edilmiş olup *P. ridibundus*'un karyotipinin "simetrik" olduğu anlaşılmıştır.



Şekil 3. *Pelophylax ridibundus*'un idiyogramı

TARTIŞMA ve SONUÇ

Yapılan karyolojik analiz neticesinde Karasu Havzası'nın en yaygın amfibi türü olan *P. ridibundus*'un yakın akraba popülasyonlardan temelde aynı olmasına rağmen bazı farklılıklara sahip olduğu tespit edilmiştir. Şimdiye kadar *Rana* cinslerinin yaklaşık 300 türünden daha fazlası için karyotip çalışmaları yapılmıştır. Bu türler için kromozom sayısının $2n=26$ olup (bazılarında 22 veya 24) kromozom tipleri metasentrik, submetasentrik ve subtelosentrik olarak rapor edilmiştir (Martirosyan ve Stepanyan, 2009). Bu türlerde telosentrik kromozoma rastlanılmamıştır.

Çalışma kapsamında Erzurum il sınırları içinde yakalanan *P. ridibundus* türü kurbağalarda yapılan karyotip analizi bu bölge için ilk olma özelliğindedir. Bu bağlamda ilgili türün kromozom sayısının $2n=26$ olduğu ve kromozom tiplerinin de metasentrik, submetasentrik ve subtelosentrik morfolojisinde olduğu bulunmuştur. Çalışılan türün dişi ve erkek bireylerinde ise herhangi bir eşey kromozomuna rastlanmamıştır. Araştırmamız neticesinde *P. ridibundus*'da 6 metasentrik, 6 submetasentrik ve 1 subtelosentrik kromozom çifti olduğu belirlenmiştir (12M+12SM+2ST). FN 52 olarak tespit edilmiştir. Karyotip simetri/asimetri indeksi 1.61 olarak hesaplanmıştır. Yapılan diğer çalışmalarda benzer sonuçlar elde edilmiştir. Karşılaştırmanın daha kolay yapılabilmesi için aşağıdaki tablo oluşturulmuştur (Tablo 4).

Tablo 4. *P. ridibundus*'un evrensel karyotipik özellikleri

Popülasyon yeri	2n	Eşey kromozomu	Karyotip formülü	Simetri/asimetri indeksi*	Kaynak
Gürcistan	26	-	10M+16SM	1,61- simetrik	Ivanov ve Madjanov, 1973
Orta Avrupa	26	-	10M+16SM	1,61- simetrik	Schmid,1978
Çin	26	-	14M+12SM	1,46- simetrik	Gang vd., 1992
İran (Mashhad)	26	-	10M+14SM+2ST	1,69 simetrik	Nemati, 1998
Makedonya	26	XX, XY	8M+14SM+4ST	1,84- simetrik	Spasic-Boskovic vd., 1999
İran (Gorgan)	26	-	14M+10SM+2ST	1.53	Molavi, 2000
Ukrayna	-	-	8M+14SM+4ST	1,84- simetrik	Suryadnaya, 2003
Rusya	26	-	10M+12SM +4ST	1,76- simetrik	Kaybeleva vd., 2004
Suudi Arabistan	26	XX, XY	14M+12SM	1,46- simetrik	Al-Shehri ve Al-Saleh, 2005
Ermenistan	26	-	10M+12SM+4ST	1,76-simetrik	Martirosyan ve Stepanyan, 2009
Mersin Göksu	26	-	14M+10SM+2ST	1,53-simetrik	Ergene vd., 2010
İran (Ahvaz)	-	-	14M+12SM	1,46-simetrik	Jazayeri vd., 2012
İran (Zabol)	26	-	2M+12SM+12ST	2,38 – simetrik/asimetrik	Mohammadi vd., 2015
İran (Guilan)	26	-	2M+24SM	1,92-simetrik	Bashirichelkasari and Kami, 2017
Erzurum	26	-	12M+12SM +2ST	1,61-simetrik	Mevcut çalışma

* Simetri/asimetri indeksi Eroğlu (2015)'na göre hesaplanmış ve tabloya ilave edilmiştir.

Yukarıdaki tablo incelendiğinde *P. ridibundus*'un Çin'den Orta Avrupa'ya kadar en önemli ortak noktası kromozom sayısının $2n=26$ olması ve İran'ın Zabol populasyonu hariç diğer bölgelerde kromozom simetri/asimetri değerinin 1,46-1,92 arasında "simetrik" kromozom yapısına sahip oluşudur. Ancak kromozom yapısında bir takım farklılıklar bulunmaktadır. Bu farklılıklar da genellikle metasentrik ve submetasentrik kromozomlardan kaynaklanmaktadır. Erzurum, İzmir, Ermenistan, Suudi Arabistan, Ukrayna, Rusya, Avrupa, Çin ve İran'ın Ahvaz, Mashhad ve Gorgan populasyonlarının kromozom sayılarının aynı olduğu ve hepsinde ilk 5 çift kromozomun metasentrik, ikinci 5 çiftin submetasentrik ve sonuncu çiftin de subtelosentrik olduğu görülmüştür (Tablo 4). Sentromerik indeks bakımından Erzurum kurbağalarındaki subtelosentrik kromozom değeri 25,0 iken Ermenistan populasyonunda 25,0, Suudi Arabistan ve Avrupa kurbağalarında 21,9-24,7 arasında değişmektedir (Martirosyan ve Stepanyan, 2009). Bu benzerlik Ermenistan populasyonu ile Erzurum populasyonlarının birbirine daha yakın oldukları kanaatini uyandırmaktadır. Ancak özellikle İran'ın Zabol ve Guilan bölgesi kurbağalarında diğer bölge kurbağalarına göre oldukça önemli farklılıklar bulunmaktadır. Yadollahvand vd. (2013)'ne ölçüm ve tekniklerdeki farklılıklar kromozom kol ve hatta kromozom sayısının bile değişmesine yol açabilir. Ayrıca yüksek kolşisin uygulaması ve uygulama zamanının uzaması kromozomlarda kısalmalara sebep olabilir ve bu da kromozom kol ölçümlerine yansiyabilir. Karyotipteki nisbi farklılıklar da bu şekilde açıklanabilir.

P. ridibundus'un Türkiye'de yaşayan populasyonları ile ilgili literatürde 4 önemli çalışma mevcuttur. Alpagut ve Falakalı (1995) yapmış oldukları karyotip çalışmasında İzmir ve Beyşehir kurbağalarını karşılaştırdıklarında kromozom sayısının aynı olduğunu ancak karyotipin farklı olduğunu bulmuşlardır. *Pelophylax bedriagae* olduğu anlaşılan (Sinsch vd., 2002) İzmir popülasyonunun karyotipi $16M+4SM+6ST$ olup eşeyler arasında bir farklılık yokken Beyşehir populasyonunda dişiler $15M+5SM+6ST$, erkekler $14M+8SM+4ST$ karyotipli olarak tespit edilmiştir. Diğer çalışmada ise güney batı Anadolu'da yayılış gösteren 91 adet kurbağada mitotik ve mayotik kromozom analizi yapılmıştır. Yapılan değerlendirme sonucunda İzmir, Buca, Pazarağaç bölgesinden yakalanan kurbağaların kuzey bölgedeki *P. ridibundus* türü kurbağalarla aynı olduğu, ancak Göller Bölgesi'nden yakalanan kurbağaların Balkan türleri olan *Rana epeirotica* ve *Rana shqipericica*'ya karyolojik olarak daha çok benzediği sonucuna varılmıştır (Alpagut ve Falakalı, 2006). Bu iki çalışma gösteriyor ki aynı coğrafyada yaşayan kurbağalarda bile türleşme noktasında farklılıklar olabilir ve bu farklılıklar karyolojik olarak da ortaya konulabilir.

P. ridibundus'un karyotipi ile ilgili ülkemizde yapılan diğer çalışmalarda, Ergene vd. (2010) Mersin bölgesinde yakalanan kurbağa örneklerinde kromozom sayısının $2n=26$ olduğunu, kromozomlarının 14 metasentrik, 10 submetasentrik, 2 akrosentrik olduğunu belirlemişlerdir. Arslan vd. (2010) ise Konya ili Meram, Beyşehir ve Hadim lokalitelerinden toplanan 9 adet *P. ridibundus* örneğinde karyotipin 14 metasentrik ve 12 submetasentrik ($14M+12SM$) kromozomdan oluştuğunu, diploid kromozom sayısının da $2n=26$ ve kol sayısının $FN=52$ olduğunu belirtmişlerdir. Erzurum kurbağalarının karyotipinin İzmir ve Konya populasyonlarından ziyade Mersin populasyonlarına daha çok benzediği anlaşılmaktadır.

P. ridibundus'un karyotipi ile ilgili ülkemiz dışında yapılan çalışmalarda da benzer bulgular elde edilmiştir. *Rana* cinsinin çeşitli tür ve alttürlerine ait farklı populasyonlarda karyotipik farklılıkların olduğu daha önce yapılan çalışmalarla rapor edilmiştir (Birstein,

1984; Green, 1985; Napoli vd., 2009). *Rana ridibunda* (sinonim: *Pelophylax ridibundus*) ve *Rana esculenta* türlerinin sitogenetik olarak incelendiği bir çalışmada Moldovya'nın kuzeyinden toplanan bu iki türün de $2n=26$ kromozoma sahip olduğu belirtilmiştir. Her iki türün kromozomlarının boyutlarına göre yapılan iki gruplu değerlendirmede ise ilk grubun 1-5 numaralı büyük kromozom çiftinden, ikinci grubun ise 6-13 numaralı küçük kromozom çiftlerinden oluştuğu rapor edilmiştir (Mindrescu ve Ghiorghita, 2008). Palearktık zoocoğrafik bölge sınırlarında kalan Ermenistan'ın 9 farklı lokalitesinden toplanan *Pelophylax ridibundus* örnekleri üzerinde yapılan karyolojik inceleme sonucunda bu türün diploid kromozom sayısının $2n=26$ olduğu tespit edilmiştir. Bu türde karyotipin 10 metasentrik, 12 submetasentrik ve 4 subtelosentrik kromozomdan oluştuğu belirtilmiştir (Martirosyan ve Stepanyan, 2009). Erzurum kurbağalarının karyotipi Ermenistan popülasyonuna da benzerlik göstermektedir. Bu benzerlik İran popülasyonu için de söylenebilir. İran'ın Guilan ve Zabol bölgeleri hariç (Bashirichelkasari and Kami, 2017; Mohammadi vd., 2015) Ahvaz (14M+12SM), Gordan (14M+12SM+2ST) ve Mashhad (10M+14SM+2ST) bölge popülasyonlarının (Nemati, 1998; Molavi, 2000; Jazayeri vd., 2012) karyotipi ile Erzurum kurbağalarının karyotipi birbirine oldukça benzemektedir.

Erzurum il sınırları içindeki kurbağalarla ilgili karyotip analizi için daha önceden yapılmış bir araştırma bulunmamaktadır. Tarım yapılan bölgelerden yapılan örneklemeler neticesinde 3 istasyondan yakalanan *P. ridibundus*'un karyotipinin $2n=26$, 12M+12SM+2ST, FN=52 olduğu ve kurbağaların karyolojisinin dokular, eşeyler ve istasyonlar arası değişiklik göstermediği tespit edilmiştir. Bu çalışma Erzurum için ilk olup ilgili kurbağanın karyotipini temel kromozom sayısı ve morfolojisi bakımından ele almıştır. İlave sitogenetik analizler ve morfometrik çalışmalarla Erzurum kurbağalarının taksonomik ve karyolojik durumları tam olarak belirlenebilir.

KAYNAKLAR

- Akin, C., Bilgin, M. & Bilgin, C.C. (2010). Discordance between ventral color and mtDNA haplotype in the water frog *Rana (ridibunda) caralitanav* Arikan, 1988. *Amphibia-Reptilia*, 31, 9-20.
- Alpagut, N. & Falakalı, B. (1995). Karyotype analysis of two *Rana ridibunda* (Ranidae; Anura) populations in Turkey. *Israel Journal of Zoology*, 41 (4), 523-531.
- Alpagut Keskin, N. & Falakalı Mutaf, B. (2006). Rod-Shaped bivalents indicate new assemblage among anatolian water frog populations. *Amphibia-Reptilia*, 27 (1), 47-53.
- Al-Sherhi A.H. & Al-Salech A.A. (2005). Karyotype of amphibians in Saudia Arabia 1: The karyotype of *Rana ridibunda*. *Journal of Biological Sciences*, 5(3), 335-338.
- Arikan, H., Olgun, K.I., Çevik, E.C. & Tok, V. (1998). A taxonomical study on the *Rana ridibunda* Pallas, 1771 (Anura: Ranidae) population from Ivriz-Eregli (Konya). *Turkish Journal of Zoology*, 22, 181-184.
- Arnold, E.N. (2003). Reptiles and amphibians of Europe. Princeton, New Jersey: Princeton University Press, USA.
- Arslan, E., Arslan A. & Gülbahçe, E. (2010). C-Banded karyotype and nucleolar organizer regions (NORs) of marsh frog, *Rana ridibunda* (Ranidae: Anura) in Central Anatolia. *Kafkas Üniversitesi Vetetinerlik Fakültesi Dergisi*, 16 (Suppl-B), 369-371.
- Bashirichelkasari, N. & Kami, H.G. (2017). Karyological study of the Marsh frog (*Pelophylax* sp.) in Guilan province, Iran (Anura: Ranidae). *Herpetology Notes*, 10, 677-680.

- Berezovikov, N.N., Duisebayeva, T.N., Khromov, V.A. & Starikov, S.V. (2001). New data on the distribution of *Rana ridibunda* at the southeastern and east of Kazakhstan. *Problems of Herpetology, Pushchino*, 2001, 26-28.
- Birstein, V.J. (1984). Localization of NORs in Karyotype of four *Rana* species. *Genetica*, (64), 149-154.
- Dobingy, G., Ducros, J. F., Robinson, T. J. & Volobouev, V. (2004). Cytogenetics and cladistics. *Systematic. Biology*, 53 (3), 470-484.
- Ergene, S., Portakal, E. & Karahan, A. (1999). Karyological analysis and body proportion of Catfish (Clariidae, *Clarias lazera*, Valenciennes. 1840) in Göksu Delta, Turkey. *Turkish Journal of Zoology*, 23, 423-426.
- Ergene, S., Uçar, A.H., Kaya, F., Aymak, C. & Kaçar, Y. (2010). Mersin Bölgesi'nde bulunan *Rana ridibunda* üzerine sitogenetik bir inceleme. *Anadolu Doğa Bilimleri Dergisi*, 1(1), 32-38.
- Ergene, Gözükar, S. & Çavaş, T. (2002). Karyological Analysis of *Gobius pagenellus* L., 1758 (Pisces:Gobiidae) in Mersin, Turkey. *Folia Biologica*, 50 (1-2), 5-7.
- Eroğlu, H.E. (2015). Which chromosomes are subtelocentric or acrocentric? A new karyotype symmetry/asymmetry index. *Caryologia*, 68, 239-245.
- Fakharzadeh, F., Darvish, J., Gassezadeh, F. & Kami, H.G. (2009): Anuran karyological study of Khorasan province. *Asian Journal of Biological Sciences*, 3, 66-73.
- Fei, L., Ye, C.Y., Huang, Y.A. & Liu, M.Y. (1999). Atlas of Amphibians of China. Zhengzhou: Henan Science and Technical Press.
- Frost, D.R. (2018). Amphibian Species of the World: an Online Reference. Version 6.0 (Date of access). Electronic Database accessible at <http://research.amnh.org/herpetology/amphibia/index.html>. American Museum of Natural History, New York, USA.
- Gang, W, Ning, X., Dejun L. & Min W. (1992). Karyotypes of two *Rana* from Xinjiang, China. *Asiatic Herpetological Research*, 4, 141-145.
- Green, D.M. (1985). Differentiation in amount of centromeric heterochromatin between subspecies of red legged frog, *Rana aorora*. *Copeia*, 4, 1071-1074.
- Green, D. & Sessions, S. (1991): Amphibian cytogenetics and evolution. 2nd edition, Academic Press. New York, pp 456.
- Ivanov V.G. & Madyanov N.N. (1973). The comparative karyology of frogs of the genus *Rana*. *Tsitologia*. 16, 920-927 (In Russian).
- Jazayeri, A., Papan, F. & Ismaili, A. (2012). Karyological study of Marsh frogs (*Rana ridibunda*). *Life Science Journal*, 9, 864-866.
- Kaybeleva, E.I., Zavyalov, E.V. & Tabachaishin, V.G. (2004). Ecologo-caryological peculiarities of the marsh frogs on the north of the Lower Volga region. *Povolzskiy Journal of Ecoogy*, 3, 318-319. (In Russian).
- Kılıç, D. & Şişman, T. (2016). Karyotype analysis the European chub, *Squalius cephalus* (Linnaeus, 1758) from Karasu River-Erzurum, Turkey (Teleostei: Cyprinidae). *Caspian Journal of Environmental Sciences*, 14 (2), 95-103.
- Kuru, M. (2004). Omurgalı Hayvanlar. Palme Yayıncılık, Ankara, 841 s.
- Kuramoto M. (1990). A list of chromosome numbers of Anuran amphibians. *Bulletin of Fukuoka Univ of Education*, 39, 83-127.
- Kuzmin, S.L. (1999). The Amphibians of the Former Soviet Union. Sofia-Moscow: Pensoft.
- Kuzmin, S., Tarkhishvili, D., Ishchenko, V., Dujsebayaeva, T., Tuniyev, B., Papenfuss, T., Beebee, T., Ugurtas, I.H., Sparreboom, M., Rastegar-Pouyani, N., MousaDisi, A.M., Anderson, S., Denoël, M. & Andreone, F. (2009). *Pelophylax ridibundus*. IUCN 2012. *IUCN Red List of Threatened Species*. Version 3.1. <http://www.iucnredlist.org/details/58705/0>.
- Levan, A., Fredga, K. & Sandberg, A.A. (1964). Nomenclature for Centromeric Position on Chromosomes. *Hereditas*, 52, 201-220.

- Lymberakis, P., Poulakakis, N., Manthou, G., Tsigenopoulos, C.S., Magoulas, A. & Mylonas, M. (2007). Mitochondrial phylogeography of *Rana (Pelophylax)* populations in the Eastern Mediterranean region, *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 44, 115-125.
- Martirosyan, A. & Stepanyan, I. (2009). Features of the karyotypes of *Pelophylax ridibundus* Pallas, 1771 and *Rana macrocnemis* Boulengeri 1885 (Amphibia: Ranidae) from Armenia. *Comparative Cytogenetics*, 3(1), 11-24.
- Mindrescu, G. & Gheorghita, G. (2008). The preliminary cytogenetic investigations in *R. ridibunda* Pall. and *R. esculenta* L. from the north of Moldavia. *Analele Științifice ale Universității "Alexandru Ioan Cuza", Secțiunea Genetică și Biologie Moleculară*, 9, 65-69.
- Mohammadi, Z., Khajeh, A., Ghorbani, F. & Kami, H. G. (2015). A biosystematic study of new records of the marsh frog *Pelophylax ridibundus* (Pallas, 1771) (Amphibia: Ranidae) from the southeast of Iran. *Journal of Asia-Pacific Biodiversity*, 8(2), 178-182.
- Molavi, F. (2000). Biosystematic study of the genus *Rana* in Iran. M.Sc. dissertation. Tehran: Shahid Beheshti University, Iran [in Persian].
- Napoli, M.F., Ananias, F., Fonseca, P.M. & Silva, A.P.Z. (2009). Morphological and karyotypic contributions for a better taxonomic definition of the frog *Ischnocnema ramagii* (Boulenger, 1888) (Anura, Brachycephalidae). *South American Journal of Herpetology*, 4(2), 164-172.
- Nemati, A. (1998). Identification of Anuran from north Khorasan based on morphologic, Karyologic and biometric characters. M.Sc. dissertation. Mashhad: Ferdowsi University of Mashhad, Iran [in Persian].
- Schätti, B. & Gasperetti, J. (1994). A contribution to the herpetofauna of Southwest Arabia. *Fauna of Saudi Arabia*, 14, 348-423.
- Schmid, M. (1978). Chromosome banding in Amphibia. I. Constitutive heterochromatin and nucleolus organizer regions in *Bufo* and *Hyla*. *Chromosoma*, 66, 361-388.
- Sinsch, U. & Schneider, H. (1999). Taxonomic reassessment of Middle Eastern water frogs: Morphological variation among populations considered as *Rana ridibunda*, *R. bedriagae* or *R. levantina*. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*, 37, 67-74.
- Sinsch, U., Schneider, H., Kaya, U. & Arıkan, H. (2002). The water frogs (Anura: Ranidae) of Turkey: a morphometric view on systematics. *Herpetological journal*, 12(4), 141-153.
- Sönmez, A.Y. (2011). Karasu Irmağında ağır metal kirliliğinin belirlenmesi ve bulanık mantıkla değerlendirilmesi. Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Spasic-Boskovic, O., Krizmanic, I. & Vujosevic, M. (1999). Population composition and genetic variation of water frogs (Anura: Ranidae) from Yugoslavia. *Caryologia*, 52:1-2, 9-20.
- Suryadnaya, N.N. (2003). The data on caryology of green frogs (*Rana ridibunda*, *R. lessonae*, *R. esculenta*) from Ukraine. *Vestnik Zoologii*. 37(1), 33-40. (In Russian).
- Şişman, T., Şanlı, F., Tepe, Y. & Kılıç, D. (2016). Erzurum Karasu Nehri balıklarından *Chalcalburnus mossulensis*'in (Heckel, 1843) karyotip özellikleri. *Yunus Araştırma Bülteni*. 16 (4), 281-291.
- Uğurtaş, İ., Tunca, B., Aydemir, N. & Bilaloğlu, R. (2001). A cytogenetic study of *Pelobates syriacus* (Amphibia, Anura) in Bursa-Turkey. *Turkish Journal of Zoology*, 25,159-161.
- Yadollahvand, R., Kami, H.G. & Kalbassi, M.R. (2013): Cytogenetic characterisation of the Caspian Pond Turtle, *Mauremys caspica* in Golestan and Mazandaran provinces, Iran (Reptilia: Testudines). *Zoology in the Middle East*, 59, 214-219.