

Karyosistematiğin C-bantlama (Konstitütif heterokromatin)'nin Önemi

Atilla ARSLAN¹, Emine ARSLAN

Selçuk Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü, Konya

Özet: Bu derlemede C-bantlamanın türler arasındaki filogenetik ilişkilerin belirlenmesinde önemli olduğu vurgulandı. C-bantlama metodu ve bu metodun kullanıldığı kayda değer örnekler sunuldu. Ayrıca Türkiye'deki karyosistematiğin çalışmalarında bu metodun kullanımının daha sık olması gerektiği tavsiye edildi.

Anahtar kelimeler: C-bantlama, konstitütif heterokromatin, karyosistematiğin

Importance of C-banding (Constitutive Heterochromatin) in Karyosystematic

Abstract: In this review, it was emphasized that C-banding on determination of filogenetics relations between species was important. The method of C-banding and remarkable samples in which this method was used, were presented. It was also recommended that using of this method should become frequent in karyosystematic studies in Turkey.

Key words: C-banding, constitutive heterochromatin, karyosystematic

Giriş

Türkiye'deki birçok araştırmacı gerek hayvanların gerekse bitkilerin sistematiğinde morfoloji ve morfometri ile birlikte karyolojiyi de kullanmışlardır [1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10]. Yakın türlerin ayrımında bunun önemi daha da artmaktadır. Morfolojik ve morfometrik olarak birbirine yakın türlerin veya bir türe ait farklı populasyonların (örneğin *Spermophilus xanthoprimum*, *Spermophilus citellus*, *Spalax leucodon* ve *Spalax ehrenbergi*) kromozom sayıları farklı olabilir [11, 12, 13, 14, 15, 16]. Hatta bazı türlerin (örneğin *Sciurus vulgaris*, *Sciurus anomalus*, *Erinaceus europaeus*, *Erinaceus concolor*) kromozom sayıları aynı olsa dahi kromozom morfolojileri farklı olabilir [17, 18, 19, 20]. Hem morfolojik, morfometrik hem de kromozom sayısı ve morfolojileri farklı olan yakın türlerin bu ayrımını daha iyi netleştirmek ve yukarıda sayılan bir veya birkaç özelliği aynı olan yakın türlerin ayrımını kesinleştirmek için çeşitli boyama teknikleri kullanılarak türlerin karyotipleri elde edilmektedir (örneğin G-, C-band, Ag-NORs ve FISH gibi). Bunlar içinde en çok kullanılan C-bantlama (Konstitütif heterokromatin) tekniğidir. Heterokromatini, ilk defa Heitz 1928 yılında keşfetmiş ve interfaz hücrelerinin nükleusunda görünen daha koyu bölgeler olarak tanımlamıştır.

¹ E-mail: aarslan@selcuk.edu.tr

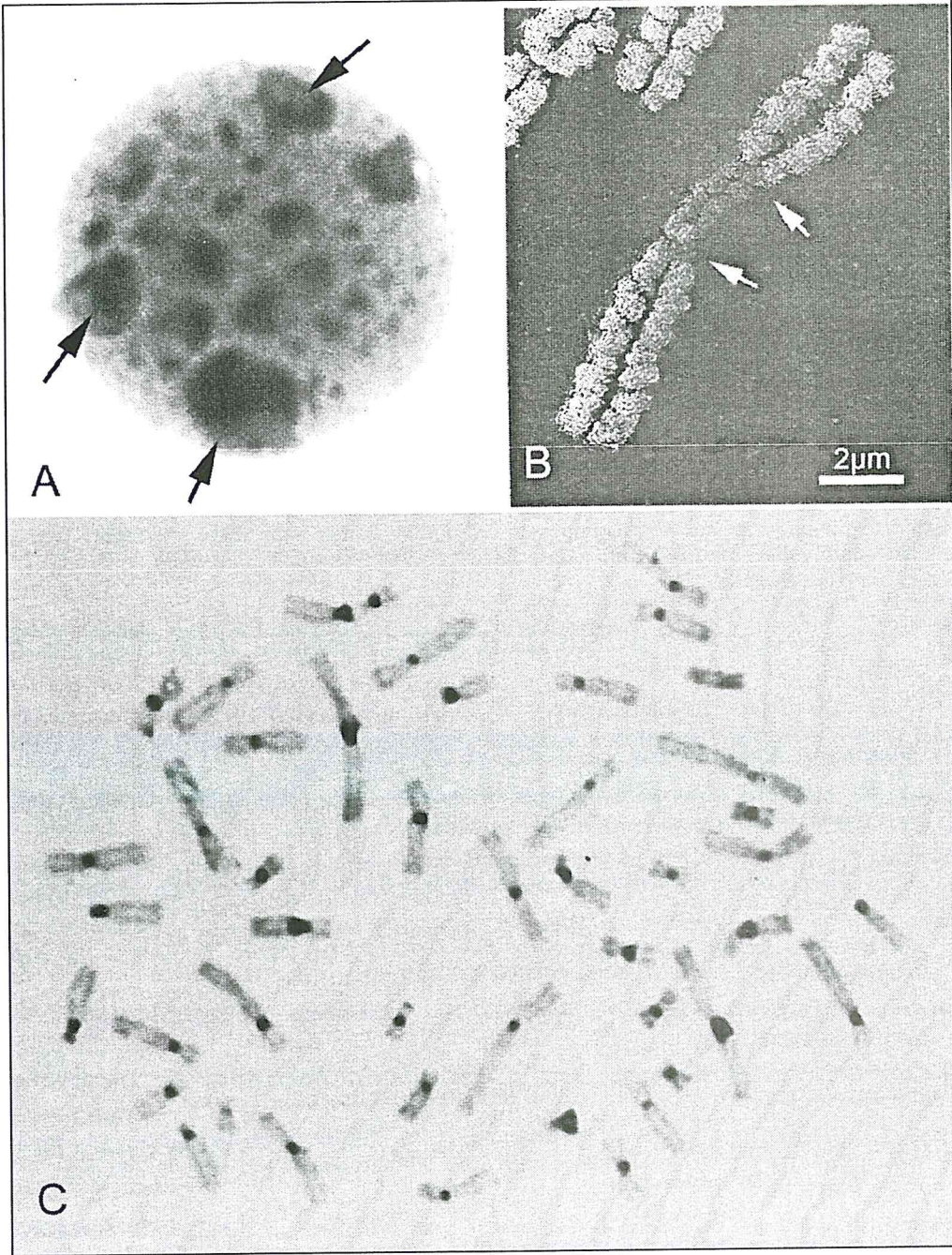
Günümüzde yurtdışında yapılan karyolojik çalışmaların çoğunda türlere özgü heterokromatin bölgeler (C-bantları) kromozomlar üzerinde tespit edilmekte ve sonuçlar türler arasında karşılaştırılmaktadır. Bu derlemede, bazı örnekler verilerek C-bantlarının hem büyüklüğünün hem de kromozom üzerinde lokalize olduğu bölgenin yakın veya uzak türler arasında değişebildiği ve bu farklılıkların filogenetik açıdan önemi vurgulanmaya çalışılacaktır.

C-bantlama Tekniği

Nükleus ve kromozomlardaki heterokromatin bölgeleri tespit etmek için gerek interfaz gerekse metafaz hücrelerinin lam üzerine alkol-asetik asit ile fikse edilmesi gerekir. Hazırlanmış preparatlar asit ile muamele edildikten sonra Baryum hidroksit ile hidroliz edilir. Bu şekilde hidroliz edilen kromozomal DNA yüksek sıcaklıktaki tuz çözeltisi içinde belirli süre tutularak inkübe edilir. Daha sonra Giemsa ile boyanan preparatlar mikroskop altında incelenir ve heterokromatin bölgeler (kromozomlar üzerinde bantlar şeklinde) daha koyu boyanmış olarak görülür [21].

C-bantlamanın Önemi

Gerek nükleus gerekse kromozom üzerindeki heterokromatin bölgelerin DNA'sı daha sıkı bir şekilde paketlenmiştir. Nükleus üzerindeki heterokromatin bölgeler daha koyu ve açık olan diğer bölgelere ökromatin adı verilir [22, 23] (Şekil 1a). Bu bölgeler oldukça sıkı olmakla birlikte metafazdaki kadar sıkı değildir. Nükleus periferindeki yaklaşık 30 nm'lik paketlenmiş heterokromatin bölgeler o türün kromozomlarının ya tamamında yada belli sayısı üzerinde çeşitli yerlere dağılmıştır (Şekil 1b, 1c). Heterokromatin bloklar (C-bantlar) tekrar eden DNA bölgelerini içerir ve bu bölgeler aktif değildir. Bundan dolayı türe özgü olan bu bloklar aktif olmaması nedeni ile bozulma olasılığı düşüktür. Yani nesiller boyu yapısı korunabilmektedir [24, 25]. DNA'nın bu özelliğinden dolayı heterokromatin bölgeler kromozom üzerinde tespit edilerek tür ayırımında kullanılmaktadır. Tekrar eden bu DNA bölgeleri A+T ve buna bağlı olarak G+C bazlarından oluşmaktadır. Bu bazların uzunluğu 2 baz çiftinden (bc) 1000 baz çiftine kadar değişmektedir [26, 27]. C-bantları kromozom üzerinde herhangi bir yerde bulunabilir. Genelde bu bantlar kromozomun sentromer bölgesinde bulunup, büyüklüğü türden türe değişmektedir. Örneğin Felidae (Kedigiller) familyasında C-bantları oldukça küçüktür [28]. *S. citellus* ve *S. xanthoprimum* (Mammalia:Rodentia)'da bantlar kromozomların perisentromerik bölgesinde bulunmaktadır ve bantın ortalama büyüklüğü *S. citellus*'un Bulgaristan populasyonu için % 16 iken *S. xanthoprimum*'un Orta Anadolu populasyonu için % 29'dur [11, 29]. Bu iki tür farklı kromozom sayısına sahiptir (*S. citellus* 2n=40, *S. xanthoprimum* 2n=42) [30, 31]. Daha sonra yapılan bir çalışmada *S. xanthoprimum*'un Anadolu'daki bazı populasyonların kromozom sayısı 40 olarak bulunmuştur [32]. Zima [29], *S. citellus*'un otozomal ve eşey kromozomları tamamında perisentromerik C-bantları tespit etmiştir. Fakat, Arslan [11] ise 2n=40 kromozomlu *S. xanthoprimum* populasyonlarının otozomal kromozomların tamamında ve sadece X kromozomunda perisentromerik C-bantları tespit etmiş ve bu türün Y kromozomunda bant olmamasını ise iki tür arasındaki kromozomal bir fark olarak belirtmiştir. Avrupa'da yapılan bir çalışmada hem *E. europaeus* hem de *E. concolor* (Mammalia:Insectivora)'da bütün C-bantlar kromozomların uzun kolunun terminal bölgesinde lokalize olduğu ve *E. europaeus* ile *E. concolor*'a ait farklı bölgelerde yayılış gösteren populasyonlarda, kromozomlar üzerindeki C-bantların oldukça varyasyon gösterdiği belirtilmiştir. *E. europaeus*'un Avrupa'da yayılış gösteren üç farklı populasyonda C-bantlarının hem sayısı hem de lokalize olduğu kromozomlarında farklı olduğunu belirlenmiştir. Aynı şekilde *E. concolor*'un da bu bölgede bantları sayısı ve yerleşmesi bakımından iki farklı populasyonu tespit edilmiştir [33].



Şekil 1. A: *Erinaceus concolor*'a ait interfaz nükleusu (oklar, koyu olarak boyanmış heterokromatin bölgeleri göstermektedir, Fotoğraf A. ARSLAN tarafından çekilmiştir), B: İnsan kromozomunun elektron mikroskopundaki görüntüsü (oklar, perisentromerik bölgesindeki C-bandı göstermektedir) (Sumner [23]), C: İnsana ait metafaz plağındaki kromozomlar üzerindeki C-bantlar (Benn ve Tantravahi [46]).

Bu teknik, bitkilerde de çoğu türlerin kromozomal olarak teşhisinde ve türler arasındaki genomik akrabalıkların belirlenmesinde başarılı bir şekilde kullanılmıştır [34, 35, 36, 37, 38, 39]. C-bantlama tekniğini diploid *Bromus raparius* ile tetraploid ve oktaploid olan *B. inermis* bitkilerinin kromozomal teşhislerinde başarılı bir şekilde kullanılarak *Bromus* cinsine ait türler

arasındaki akrabalık derecelerini belirlenmişlerdir [40, 41]. Türkiye'de yayılış gösteren *Lathyrus* cinsine ait üç türün C-bantlamalı karyotip çalışmasında iki türde telomerik, diğer tür de ise sentromerik bantlar tespit edilmiştir. Bundan başka yapılan bitkilerin karyosistematik çalışmalarda bu teknik kullanılarak türler arasındaki filogenetik ilişki belirlenmeye çalışılmıştır [42, 43, 44, 45].

Sonuç olarak, C-bantlama tekniğinden faydalanılarak gerek hayvan gerekse bitki türlerinin kromozomları ayrı ayrı tanımlanması ve elde edilen sonuçların kromozomal tür teşhisinde kullanılmasının daha etkili olacağını, ayrıca özellikle Türkiye'de bu tekniğin hayvanların karyosistematiğinde daha çok kullanılmasının gerektiğini düşünmekteyiz.

Kaynaklar

1. Çolak, E., Yiğit, N., Sözen, M., Özkurt, S., **Distribution and Taxonomic Status of the Genus *Microtus* (Mammalia: Rodentia) in Southeastern Turkey.** Israel J. Zool., 43:391-396 (1997).
2. Yiğit, N., Çolak, E., Kıvanç, E., Sözen, M., **Gerbil Record from Turkey: *Gerbillus (Hendecapleura) dasyurus* (Wagner, 1842) (Rodentia: Gerbillinae).** Israel J. Zool., 43:13-18 (1997).
3. Çolak, E., Yiğit, N., Sözen, M., Özkurt, S., **A Study on Taxonomic Status of *Microtus subterraneus* (de Selys Longchamps, 1836) and *Microtus majori* Thomas, 1906 (Mammalia: Rodentia) in Turkey.** Tr. J. of Zool., 22:119-129 (1998).
4. Kefelioğlu, H., Krystufek, B., **The taxonomy of *Microtus socialis* group (Rodentia: Microtinae) in Turkey, with the description of a new species.** J. Nat. Hist., 33:289-303, (1999).
5. Yiğit, N., Çolak, E., **On the distribution and taxonomic status of *Microtus guentheri* (Danford and Alston, 1880) and *Microtus lydius* Blackler, 1916 (Mammalia: Rodentia) in Turkey.** Turk J. Zool., 26:197-204 (2002).
6. Çolak, R., Çolak, E., Yiğit, N., **Morphometric, Karyotypic and Electrophoretic Analysis of the Genus *Apodemus* Kaup, 1826 (Mammalia: Rodentia) in Thrace.** Turk J. Zool., 29:147-153 (2005).
7. Gözcüoğlu, B., Çolak, R., Çolak, E., Yiğit, N., **A Study on *Mus domesticus* Ratty, 1772 and *Mus macedonicus* Petrov and Ruzic, 1983 (Mammalia: Rodentia) Distributed along the Line of Ankara, Bolu and Zonguldak.** Turk J. Zool., 29:133-140 (2005).
8. Özkurt, Ş., Yiğit, N. & Çolak, E., **Karyotype variation in Turkey populations of *Spermophilus* (Mammalia: Rodentia).** Mamm. Biol., 67:117-119 (2002).
9. Albayrak, İ., Arslan, A., **Contribution to the Taxonomical and Biological Characteristics of *Sciurus anomalus* in Turkey (Mammalia: Rodentia).** Turk J. Zool., 30:111-116 (2006).
10. Romaschenko, K., Ertugrul, K., Susanna, A., Garcia-Jacas, N., Uysal, T., Arslan, E., **New chromosome counts in the *Centaurea Jacea* group (Asteraceae, Cardueae) and some related taxa.** Bot. J. Lin. Soc. 145(3):345-352 (2004).
11. Arslan, A., **Cytogenetic studies on *Spermophilus xanthopymnus* (Rodentia: Sciuridae) in Central Anatolia.** Folia Zool., 54(3):278-284 (2005).
12. Giagia, E., Savic, I., Soldatovic, B., **Chromosomal forms of the mole rat *Micro spalax* from Greece and Turkey.** Sond. Z. Säugetierkunde, 47: 231-236 (1982).
13. Nevo, E., Filippucci, M. G., Redi, C., Korol, A., Beiles, A., **Chromosomal speciation and adaptive radiation of mole rats in Asia Minor correlated with increased ecological stress.** Proc. Natl. Acad. Sci., 91: 8160-8164 (1994).
14. Nevo, E., Filippucci, M. G., Redi, C., Simson, S., Heth, G., Beiles, A., **Karyotype and genetic evolution in speciation of subterranean mole rats of the genus *Spalax* in Turkey.** Biol. J. Lin. Soc. 54: 203-229 (1995).
15. Coşkun, Y., **A study on the morphology and karyology of *Nannospalax nehringi* (Satunin, 1898) (Rodentia: Spalacidae) from Northeast Anatolia, Turkey.** Turk. J. Zool. 27: 171-176 (2003).
16. Sözen, M., Sevindik, M., Matur, F., **Karyological and Some Morphological Characteristics of *Spalax leucodon* Nordmann, 1840 (Mammalia: Rodentia) Superspecies around Kastamonu Province, Turkey.** Turk J. Zool., 30: 205-219 (2006).
17. Renzoni, A., **Chromosome studies in two species of rodents, *Hystrix cristata* and *Sciurus vulgaris*.** Mammals Chromosome Newsletter, 8:11-12 (1967).

18. Lapunova, Je. A., Zolnerovskaja Je. I., **Chromosomnyje nabory nekotorych belicich (Sciuridae) [The chromosome complements of some species Sciuridae]**. Mat. II Vsesoj. sov. po mlekoopit., (N. N. Voroncov ed.): 57–59 (in Russian) (1969).
19. Geisler, M., Gropp, A., **Chromosome Polymorphism in the European Hedgehog *Erinaceus europaeus* (Insectivora)**. Nature, 214:300-300 (1967).
20. Kral, B., **Karyological Analysis of Two European Species of the Genus *Erinaceus***. Zool. Usty., 16. 239-252 (1967).
21. Sumner, A. T., **A simple technique for demonstrating centromeric heterochromatin**. Expl. Cell Res., 75:304–306 (1972).
22. Balicek, A. J., Zizka, J., Skalska, H., **Length of human constitutive heterochromatin in relation to chromosomal contraction**. Human Genetics, 38:189-193 (1977).
23. Sumner, A. T., **Chromosomes: Organization and Function**. Blackwell Publishing, UK. (2003).
24. Varley, J.M., Macgregor, H.C., Nardi, I., Adreus, C., Erba, H.P., **Cytological evidence of transcription of highly repeated DNA sequences during the lampbrush stage in *Triturus cristatus carnifex***. Chromosoma, 80: 289-307 (1980).
25. Sperling, K., Kalscheuer, V., Neitzel, H., **Transcriptional activity of constitutive heterochromatin in the mammal *Microtus agrestis* (Rodentia, Cricetidae)**. Experimental Cell Res., 173:463-472 (1987).
26. Beridze, T., **Satellite DNA**. Springer-Verlag, Berlin (1986).
27. Sumner, A. T., **Chromosome Banding**. Unwin Hyman, London (1990).
28. Pathak, S., Wurster-Hill, D.H., **Distribution of constitutive heterochromatin in carnivores**. Cytogenetics Cell Genet., 18: 245-254 (1977).
29. Zima, J., **Karyotypes of certain rodents from Chzechoslovakia (Sciuridae, Gliridae, Cricetidae)**. Folia Zool., 36:337-34 (1987).
30. Voroncov, N.N., L'apunova, E.A., **The chromosomes of Palearctic ground squirrels (*Citellus*, *Marmotinae*, *Sciuridae*, *Rodentia*)**. Mat. II. vsesoj. sov. po mlekoopit. 41-47 (in Russian) (1969).
31. Doğramacı, S., Kefelioğlu, H., Gündüz, İ., **Karyological analysis of the genus, *Spermophilus* (Mammalia: Rodentia) in Turkey**. Tr. J. Zoology, 18(3): 167-170 (1994).
32. Özkurt, Ş., Yiğit, N., Çolak, E., **Karyotype variation in Turkey populations of *Spermophilus* (Mammalia: Rodentia)**. Mamm. Biol. 67:117-119 (2002).
33. Mandahl, N., **Variation in C-stained chromosome regions in European hedgehogs (Insectivora, Mammalia)**. Hereditas, 89:107-128 (1978).
34. Vosa, C.G. **The use of Giemsa and other staining techniques in karyotype analysis**. Curr Adv Plant Sci. 14:495–510 (1975).
35. Cai, Q., Chinnappa, C.C., **Giemsa C-banded karyotypes of seven North American species of *Allium***. Am. J. Bot. 74:1087–1092 (1987).
36. Fominaya, A., Vega, C., Ferrer, E., **Giemsa C-banded karyotypes of *Avena* species**. Genome 30:627–632 (1988).
37. Gill, B.S., Sears, R.G., **The current status of chromosome analysis in wheat**. p. 299–321. In J.P. Gustafson and R. Appels (ed.) **Chromosome structure and function**. Plenum, New York (1988).
38. Tayyar, R.I., Lukaszewski, A.J., Waines, J.G., **Chromosome banding patterns in the annual species of *Cicer***. Genome 37:656–663 (1994).
39. Falistocco, E., Falcinelli, M., Veronesi, F., **Karyotype and C-banding pattern of mitotic chromosomes in alfalfa, *Medicago sativa* L.** Plant Breed. 114:451–453 (1995).
40. Tuna, M., Gill, K.S., Vogel, K.P., **Karyotype and C-Banding Patterns of Mitotic Chromosomes in Diploid Bromegrass (*Bromus riparus* Rehm)**. Crop Sci. 41:831-834 (2001).
41. Tuna, M., Vogel, K.P., Gill, K.S., Arumuganathan, K., **C-Banding Analyses of *Bromus inermis* Genomes**. Crop Sci. 44:31-37 (2004).

42. Ünal, F., Karyotyping and Lokalization of Giemsa C-banding in *Sternbergia fischriana* (Herbert) Rupr. And *S. candida* Mathew and T. Baytop from Turkey. *Cytologia*, 62: 357-360 (1997).
43. Yüzbaşıoğlu, D., Ünal, F., Duman, H., Giemsa C-banding analysis of *Sternbergia lutea* (L.) Ker-Gawl. ex Sprengel and *S. sicula* Tinco ex Gussfrom Turkey. *Cytologia*, 62: 1-6 (1997).
44. Ünal, F., Giemsa C-banding distribution in three species of Lathyrus: *L. amphicarpos* L. *L. articulatus* L. and *L. nissolia* L.. Gazi Ün. Fen Bil. Derg., 12: 325-334 (1999).
45. Yüzbaşıoğlu, D., Ünal, F., Karyotyping, C- and NOR banding of *Allium sativum* L. (Liliaceae) cultivated in Turkey. *Pak. J. Bot.*, 36: 343-349 (2004).
46. Benn, P.A., Tantravahi, U., **Chromosome staining and Banding Techniques.** In, **Human Cytogenetics: a practical approach.** Ed. Rooney DE. Oxford University Press, Third Edition,,p 99-128 (2001).