

AKKARAMAN, ALMAN SİYAH BAŞ ve BUNLARIN F₁ MELEZLERİNİN AKTİF NOR TAŞIYAN KROMOZOMLARI ÜZERİNDE ÇALIŞMALAR¹

Kemal Kırıkçı²

Orhan Çetin²

The Studies On Active NOR (Nucleolar Organizer Region) Carriers Chromosomes of Akkaraman, German Black Mutton and F₁ Crossbreeds

Summary: This study has been done to investigate differences within breed and between breeds and to determine the average aktive NOR chromosom numbers of Akkaraman (AKK), German Black Mutton (GBM) and crossbreed (F₁). Ten individuals (5 male and 5 female) from each breed were used as material in the study. The chromosome preparations obtained from sheep were painted with NOR-banding method. Thirty metaphase spreads were examined in the chromosome preparation of each sheep and the average active NOR numbers were determined. The general average active NOR numbers of female and male AKK, GBM and F₁ cross were estimated 6.10, 6.33 and 6.03; and 6.03, 6.69 and 6.63 respectively. The variation between male and female of AKK, GBM and F₁ cross were found not significant. The general breed averages active NOR numbers of AKK, GBM and F₁ cross were calculated as 6.06, 6.51 and 6.33 respectively. There were not significant variation between GBM, AKK and F₁ cross. The study; there were a variation individuals of AKK and GBM and F₁ crossbreed connected with average active NOR numbers. It is concluded that more studies should be done to investigate the relationship between average active NOR chromosom numbers and yields for improvement of animal production in livestock.

Key words: Sheep, Chromosome, Active NOR's (nucleolar organizer region)

Özet: Bu araştırma; Akkaraman (AKK), Alman Siyah Baş (ASB) ırkları ve ASB x AKK (F₁) melezlerinin aktif NOR (nücleolar organizör region) taşıyan ortalama kromozom sayısını belirlemek ve bu karakter yönünden ırk içi ve ırklar arasındaki farklılıkları araştırmak için yapıldı. Araştırmada materyal olarak her bir ırktan 10 baş koyun (5 erkek ve 5 dişi) kullanıldı. Koyunlardan alınan kanlardan hazırlanan kromozom preparatları NOR bantlama ile boyandılar. Her bir koyunun toplam 30 adet metafaz sahası incelendi ve ortalama aktif NOR sayıları belirlendi. Dişi AKK, ASB ve F₁' lerin ortalama aktif NOR sayıları sırasıyla; 6.10, 6.33 6.03; erkeklerin ise aynı sırayla; 6.03, 6.69 ve 6.63 olarak hesaplandı. AKK, ASB ve F₁ melezlerinin dişi ve erkekleri arasında bir farklılık bulunamadı. AKK, ASB ve F₁' lerin genel ortalama aktif NOR sayıları sırasıyla; 6.06, 6.51 ve 6.33 olarak tespit edildi. ASB, AKK ve F₁ melezleri birbirleri ile benzer bulundular. Bu araştırmanın sonucunda; ele alınan karakter yönünden AKK, ASB ve F₁' lerin bireyleri arasında bir varyasyon bulunurken, ırklar arasındaki varyasyonun istatistiki olarak önemli olmadığı tespit edildi. Çiftlik hayvanlarında aktif NOR sayılarıyla ilgili daha fazla araştırmalar yapılmasının hayvan ıslahı için faydalı olabileceği kanaatine varıldı.

Anahtar Kelimeler: Koyun, Kromozom, Aktif NOR Sayısı.

Giriş

Protein sentezi hücre içinde ribozomlarda gerçekleşmektedir. Ribozomlar, çok hücrelilerde 60S ve 40S'lik ribozomal alt ünitelerin biraraya gelerek oluşturdukları sitoplazmik organellerdir (Schwar-

zacher ve Wachtler, 1993). Ribozomları meydana getirecek olan ribozomal RNA'lar (rRNA), rRNA genleri (rDNA) taşıyan kromozomlardan RNA Polimeraz I ve RNA Polimeraz III tarafından transkribe edilmekte ve hücrenin ribozom ihtiyacı karşılanmaktadır. RNA polimeraz I' in ise; ribozomal RNA genlerini transkribe ederken DNA to-

Geliş Tarihi : 03.10.1998

1. Bu araştırma Kemal Kırıkçı' nın aynı adlı Doktora tezinden özetlenmiştir. SÜAF tarafından desteklenmiştir (SABE 96/050).
2. Selçuk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi Zooteknik Anabilim Dalı, KONYA.

poizomeraz enzimi ile birlikte fonksiyon gördüğü ve bu enzim olmadan transkripsiyon işleminin gerçekleşmediği bildirilmiştir (Rose ve ark., 1988; Schwarzacher ve Wachtler, 1993).

Ribozomal RNA genleri belirli kromozomlarda ardarda sıralanmış gen toplulukları (insanlarda 300-400 kopya) halinde lokalize olmuşlardır (Goodpasture ve ark., 1976; Alberts ve ark., 1989; Reeder, 1990; Schwarzacher ve Wachtler, 1993). Bu genlerden hızlı bir şekilde RNA Polimeraz I tarafından transkribe edilen rRNA transkriptleri 45S rRNA olarak bilinirler. Üretilen 45S rRNA transkriptleri hemen snRNP (small nükleer ribonükleoproteinler) tarafından kuşatılmakta ve endonükleer nükleazların etkisinden korunmaktadır. RNA Polimeraz I tarafından transkribe edilen 45S rRNA'lar 13.000 nükleotid uzunluğundadır. Bu rRNA'lar üretildikten ve snRNP'lerle kuşatıldıktan hemen sonra sitoplazmaya geçmezler. 45S rRNA'lardan RNA processing işlemi neticesinde 5.8S (160 nükleotid), 18S (2000 nükleotid) ve 28S (5000 nükleotid) rRNA'lar oluşur (Alberts ve ark., 1989; Schwarzacher ve Wachtler, 1993). Geriye kalan 6000 nükleotitlik kısım nükleus içinde endonükleazlar tarafından parçalanır. 18S'lik rRNA'lar 40S'lik ribozomal alt üniteleri oluşturmak üzere hemen sitoplazmaya geçerler (Schwartz ve ark., 1989; Fischer ve ark., 1991).

RNA Polimeraz III ise, 5S rRNA transkriptlerini üretir. Bu rRNA transkripti de snRNP'ler tarafından kuşatılır ve RNA Polimeraz I'in ürettiği 5.8S ve 28S rRNA'larla birleşerek sitoplazmaya geçerler ve 60S'lik büyük ribozomal alt ünitesini meydana getirirler (Alberts ve ark., 1989; Reeder, 1990; Fischer ve ark., 1991; Schwarzacher ve Wachtler, 1993).

rRNA genleri (rDNA) organizmalarda belirli kromozomlarda taşınmaktadır. Bu kromozomların rRNA genleri taşıyan kısımları, interfaz esnasında nükleus içinde belirli bir bölgede toplanarak ve interfazda koyu boyanan bir bölgeyi meydana getirirler ki, bu bölge nükleolus olarak isimlendirilmektedir (Goodpasture ve ark., 1976; Alberts ve ark., 1989; Fischer ve ark., 1991; Schwarzacher ve Wachtler, 1993). Dolayısıyla nükleolusu meydana getiren kromozomların rRNA genleri

(rDNA) taşıyan kısımları nükleolar organizmer region veya kısaca NOR olarak adlandırılmaktadır.

Nükleolus bol miktarda protein (snRNP) ve RNA içermektedir. Bu proteinlerin görevi, üretilen rRNA transkriptlerini hemen kaplayarak endonükleazların aktivitelerinden korumak ve parçalanmalarını önlemektir. Nükleolusun içerdiği proteinlerden olan ve bol miktarda bulunan nükleolin dikkate değer bir madde olup sadece rRNA transkriptlerini kaplar ve karakteristik olarak gümüşle boyanabilme özelliğine sahiptir (Alberts ve ark., 1989; Schwarzacher ve Wachtler, 1993).

Nükleolusun rRNA ve protein sentezi içindeki fonksiyonu ancak 1960'larda keşfedilmiştir. Nükleolus protein sentezinde önemli bir rol oynamaktadır. Nükleolusun büyüklüğü bulunduğu hücrenin protein sentezi aktivitesi hakkında önemli fikir vermektedir. Protein sentezi bakımından inaktif olan bazı bitki ve hayvan hücrelerinde çok küçük iken, büyük miktarda protein sentezleyen hücrelerde, bir hücrenin toplam nükleus hacminin % 25'ini meydana getirebilir (Alberts ve ark., 1989; Schwarzacher ve Wachtler, 1993).

Genomda taşınan rRNA genlerinin tamamı her hücrede aktif değildir. Yani rRNA genleri taşıyan bazı kromozomlar, rRNA genlerine sahip oldukları halde bu kromozomlardan rRNA'lar üretilmez. Dolayısıyla rDNA ihtiva eden ancak interfazda rRNA üretmeyen bu kromozomlar nükleolusun yapısına katılmazlar. Bu genlerin tamamı aktif olduğunda o hücrenin nükleolusu en büyük halini almaktadır. Wachtler ve ark., (1991)'nin in situ hibridizasyon tekniği kullanarak yapmış oldukları bir çalışmada, interfazda iken transkribe edilen veya transkribe edilmeyen insan rDNA bölgelerinin aynı dizilere sahip oldukları gösterilmiştir.

NOR-Bantlama

NOR'ların aktifliği veya inaktifliği kromozom bantlama metotlarıyla belirlenebilmektedir (Goodpasture ve ark., 1976; Pathak, 1979; Buys ve Osinga, 1980; Verma ve Babu, 1989). rRNA taşıyan kromozomların rRNA genlerini bulunduran kısımları N-bantlama metoduyla (Matsui ve Sasaki, 1973; Funaki ve ark., 1975; Verma ve Babu, 1989); fakat hücre interfazda iken rRNA üreten kısımları NOR-

bantlama adı verilen metotla belirlenebilmektedir (Goodpasture ve Bloom, 1975; Goodpasture ve ark., 1976; Hubbell ve Hsu, 1977; Miller ve ark., 1977; Henderson ve Bruere, 1980; Verma ve Babu, 1989).

NOR-bantlamanın mekanizmasının temeli; rDNA'lardan transkribe edilen rRNA'ları sararak nükleustaki nükleazların aktivitelerinden korumakla görevli olan nükleolin adlı proteinin gümüşü bünyesine bağlayabilme özelliğine dayanmaktadır (Buys ve Osinga, 1980; Verma ve Babu, 1989). NOR-bantlama; hücrelerde kaç adet kromozomun aktif NOR taşıdığını, dolayısıyla protein sentezindeki aktivitesini tespit etmeyi kolaylaştırmaktadır (Verma ve Babu, 1989).

NOR sayısı

Türler arasında kromozom sayısı açısından farklılıklar olduğu gibi NOR' ları taşıyan kromozom sayısı açısından da farklılıklar vardır. İnsanlar 13, 14, 15, 21 ve 22. çift kromozomlarda toplam 10 adet (Henderson ve ark., 1973; Goodpasture ve ark., 1976; Warburton ve ark., 1976; Pathak, 1979; Schwarzacher ve Wachtler, 1993); koyunlar 1, 2, 3, 4 ve 25. çift kromozomlarda toplam 10 adet (Hansen, 1973; Henderson ve Bruere, 1977; Henderson ve Bruere, 1980; Moreno-Millan ve Rodero-Franganilla, 1990); sığırlar Di Berardino ve ark., (1985)' na göre 2, 3, 6, 11 ve 27. çift kromozomlarda, Mayr ve ark., (1987)' na göre ise 2, 3, 4, 11 ve 28. çift kromozomlarda toplam 10 adet; atlar 1, 25 ve 30. çift (Kopp ve ark., 1981) veya 1, 26 ve 30. çift (Kopp ve ark., 1988) kromozomlarda toplam 6 adet; eşeklerde 22, 23, 24, 26, 27, 28, 29 ve 30. çift kromozomlarda toplam 16 adet (Kopp ve ark., 1988); domuzlar 8 ve 10. çift kromozomlarda toplam 4 adet (Arroyo-Nombela ve ark., 1990; Liu ve ark., 1995); tavşanlar 13, 16, 20 ve 21. çift kromozomlarda toplam 8 adet (Arruga, 1989); fareler ise 12, 15, 16, 18 ve 19. çift kromozomlarda toplam 10 adet (Kurihara ve ark., 1994) kromozomda NOR taşırlar.

Koyunlardaki NOR'ların; 1. çift kromozomun p kolunun, 2. ve 3. çift kromozomun q kolunun telomerik bölgesinde, 4. ve 25. çift kromozomların da telomerik bölgelerinde buldukları bildirilmiştir

(Hansen, 1973; Henderson ve Bruere, 1977; Henderson ve Bruere, 1980; Moreno-Millan ve Rodero-Franganilla, 1990).

NOR varyasyonu

Aynı veya farklı organizmaların hücreleri arasında, genomda bulunan NOR'ların aktif olanlarının sayısı hücrenin protein sentez ihtiyacı ve çevre şartlarına göre varyasyon gösterdiğine dair ortak bir görüş bulunmaktadır (Goodpasture ve ark., 1976; Mikelsaar ve ark., 1977a; Alberts ve ark., 1989).

Bir organizmanın hücreleri arasındaki NOR sayısı açısından var olan varyasyona, bireyler arasında da rastlanmıştır. Goodpasture ve ark. (1976)'nın yapmış oldukları bir çalışmada; 2 erkekten hazırlanan kromozom preparatında NOR'ların 9.2-9.3'ünün aktif olduğu, buna karşılık 2 kadının 7.3-6.5'inin aktif olduğu belirlenmiştir. Mikelsaar ve ark. (1977a)'nın yapmış olduğu aynı tip bir çalışmada da 51 bireyin (31 erkek ve 20 kadın) lenfositlerindeki aktif NOR'ların sayıları belirlenmiş ve NOR sayısı açısından kadınlarla erkekler arasında istatistiki olarak önemli bir fark görülmemiştir ($P>0.05$).

İnsanlarda NOR sayısının belirlenmesi üzerine yapılan araştırmaların büyük çoğunluğu kanserler üzerinedir. Bu araştırmaların bazılarında kanserli ve kanserli olmayan hücrelerin taşıdıkları aktif NOR ortalaması yönünden farklılık bulunamazken (Hubbell ve Hsu, 1977; Derenzini ve ark., 1989; Bülbül ve ark., 1993) bazılarında farklılıklar tespit edilmiştir (Arden ve ark., 1989; Suarez ve ark., 1989) ($P<0.05$). Crocker ve ark. (1989)' da kanserli dokulardaki aktif NOR sayısının prognozda kullanılabilir bir kriter olabileceğini ileri sürmüşlerdir.

İnsanlarda NOR' lar hastalıklarla ilişkilerinin belirlenebilmesi amacıyla incelenirlerken, çiftlik hayvanlarında yapılan araştırmalar genelde aktif NOR ortalamalarının belirlenebilmesi amacıyla düzenlenmişlerdir. Örneğin, Moreno-Millan ve Rodero-Franganillo (1990), İspanyol Merinoslarının aktif NOR ortalamasını 6.31 olarak bildirmişlerdir. Henderson ve Bruere (1977) ise, Yeni Zelanda koyunlarının aktif NOR taşıyan kromozom ortalamasını 7.71 olarak hesaplamışlardır. Bu araştırmacılar, aktif NOR sayısı açısından üzerinde çalıştıkları ırktaki ko-

yunlar arasında farklılık belirlemişlerdir ($P < 0.01$).

Henderson ve Brüere (1977), Yeni Zelanda koyunlarındaki aktif NOR'ları metasentrik kromozomların (1, 2 ve 3. çift), akrosentrik olan 4 ve 25. çift kromozomlardan daha fazla bir sıklıkla taşıdıklarını ifade etmişler, koyunların metasentrik kromozomları arasında küçük bir varyasyon olduğunu bildirirlerken, 4 ve 25. çift kromozomlarda bu varyasyona rastlayamamışlardır.

Vico ve ark., (1992), anabolik verilmiş, verilmemiş ve anabolik yönünden şüpheli olan sığırlarda, aktif NOR ortalamasını anabolik verilenlerde 4.03 ve verilmeyenlerde 2.37 ve şüpheli olan sığırlarda 5'inin 3.19-4.26, diğer 6'sının da 2.07-2.54 arasında değiştiğini bildirmişlerdir.

Mayr ve ark., (1987) Avusturya' da suni tohumlama boğası olarak kullanılan farklı ırktan boğaların aktif NOR yönünden bir varyasyon gösterdiklerini belirleyerek, genel ortalamayı 6.06 olarak tespit etmişlerdir. Bu araştırmacılar, aktif NOR sayısı dağılımının her bir boğa için karakteristik olduğunu belirterek gelecekte yapılacak olan pedigranalizlerinde aktif NOR ortalamasına bakılmasını da tavsiye etmişlerdir.

Kopp ve ark., (1988) at ve eşeklerin aktif NOR yönünden varyasyon gösterdiklerini belirlemişlerdir.

Arroyo-Nombela ve ark., (1990) vahşi domuzlar üzerinde yapmış oldukları bir çalışmada toplam % 84'lük aktif NOR'lardan yalnızca % 1.15'inin tüm NOR'larının aktif olduğu gözlenmiştir. Bu çalışmada, incelenen metafazların % 72'sinde 10. çift kromozomların her ikisinin de aktif oldukları (+/+) tespit edilmiştir. Benzer sonuçlar Mellink ve ark., (1994)'nin yine domuzlar üzerinde yaptıkları bir çalışma sonucunda, 10. çift kromozomların 8. çift kromozomlardan daha aktif oldukları belirlenerek de alınmıştır. Arroyo-Nombela ve ark., (1990), domuzlarda rRNA'ların esas üretimini yapan kromozomların 10. çift kromozomlar olduğunu ifade etmişlerdir.

Bu araştırma; Akkaraman (AKK), Alman Siyah Baş (ASB) ve ASB x AKK (F_1) koyun genotiplerinin lenfositlerindeki ribozomal RNA genlerini aktif olarak taşıyan (aktif NOR) ortalama kro-

mozom sayısını belirlemek ve genotipler arasındaki farklılıkları ortaya koymak amacıyla yapıldı. Doğayısıyla bu karakter yönünden materyal genotipler ve genotipler içindeki koyunlardaki varyasyon araştırıldı.

Materyal ve Metot

Araştırmanın materyalini; Konya Hayvancılık Merkez Araştırma Enstitüsünde yetiştirilmekte olan AKK, ASB ve bunların F_1 melezli koyunlar ile Bandırma Merinos Araştırma Enstitüsünde yetiştirilen Alman Siyah Baş koyunlar oluşturdu. Araştırmada her bir genotipten 10 baş (5 erkek ve 5 dişi) olmak üzere toplam 30 baş koyun kullanıldı.

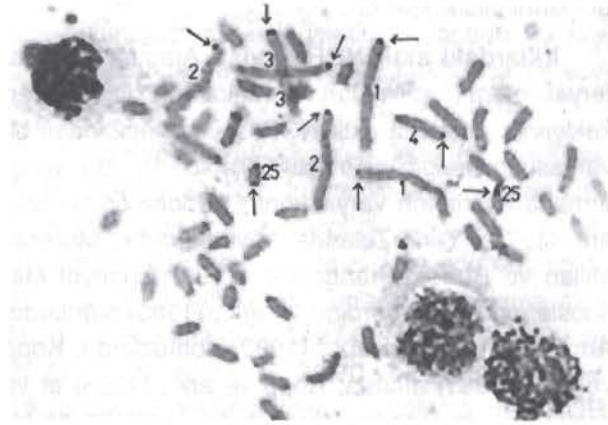
Araştırma materyalini oluşturan genotiplerden rastgele seçilen 5 koyun ve 5 koçtan Moorhead ve ark., (1960)'nın bildirdiği metoda göre kromozom preparatları hazırlandı. Hazırlanan preparatlar boyama işleminden önce 15 gün süreyle oda ısısında bekletilerek eskitildi ve daha sonra NOR-bantlama ile boyandılar. (Howell ve Black, 1978a). Boyanan preparatlar mikroskopta (Leitz) incelendi ve araştırmanın materyalini oluşturan her 3 genotipteki bireylerden hazırlanan preparatlardaki uygun olan 30 adet metafaz sahasındaki aktif NOR taşıyan kromozomlar sayıldı ve koyunların ortalama aktif NOR sayıları belirlendi.

Genotipler arasındaki ortalama aktif NOR sayısı arasındaki farklılıklar, varyans analizi ile; erkek ve dişiler arasındaki farklılıklar ise t testi ile incelendi (Düzgüneş ve ark., 1991). İstatistiki analizler için SPSS-6.0 bilgisayar programından yararlanıldı.

Bulgular

Bu çalışmada materyal olarak kullanılan koyun ırklarının ve melezlerinin, hazırlanan ve NOR-bantlama ile boyanan kromozom preparatlarında 54 adet koyun kromozomundan toplam 10 adetinin ribozomal RNA genlerini veya NOR'ları taşıdığı tespit edilmiştir. NOR taşıyan kromozomların 1, 2, 3, 4 ve 25. çift kromozomlar olduğu ve NOR'ların; 1. çift kromozomun p kolunun, 2. ve 3. çift kromozomun

ise q kolunun telomerik bölgelerinde, 4. ve 25. çift telosentrik kromozomların ise telomerik bölgelerinde yerleştiği belirlenmiştir (Şekil 1).



Şekil 1. Koyun Türünde NOR Taşıyan Kromozomlar.

Genotiplerdeki aktif NOR sayısı

Araştırmada kullanılan AKK, ASB ve F₁ melezlerinin aktif NOR taşıyan kromozomlarının oranları ve ortalama aktif NOR sayıları Tablo 1' de gösterilmektedir.

Tablo 1. Genotiplerdeki Dişi ve Erkek Bireylerin Ortalama Aktif NOR Sayıları

		AKK	ASB	F ₁
Hayvan No	Ortalama Aktif NOR Sayısı (x±Sx)	Ortalama Aktif NOR Sayısı (x±Sx)	Ortalama Aktif NOR Sayısı (x±Sx)	Ortalama Aktif NOR Sayısı (x±Sx)
D	1	7.10±1.79	5.23±1.43	6.20±1.71
İ	2	5.13±2.06	6.90±1.79	6.37±2.28
Ş	3	6.63±1.59	6.23±1.96	5.27±2.16
İ	4	6.00±1.72	7.33±1.86	6.20±2.09
	5	5.63±1.77	5.97±2.40	6.10±1.77
E	1	5.77±2.30	6.47±1.72	7.43±1.65
R	2	6.43±1.96	7.13±1.81	5.83±2.42
K	3	6.30±2.18	6.80±1.88	7.00±1.66
E	4	5.83±1.76	6.53±1.83	5.87±2.21
K	5	5.80±2.20	6.53±2.29	7.03±1.65

AKK, ASB ve F₁' lerin tüm dişi ve erkeklerinin aktif NOR taşıyan kromozomlarının oranları ve ortalama aktif NOR sayıları Tablo 2' de gösterilmektedir.

Tablo 2. Genotip ve Cinsiyetlerin NOR Taşıyan Kromozomlarının Ortalama Aktif NOR Oranları (%) ve Ortalama Aktif NOR Sayıları (n=5)

	AKK		ASB		F ₁	
	Dişi (x±Sx)	Erkek (x±Sx)	Dişi (x±Sx)	Erkek (x±Sx)	Dişi (x±Sx)	Erkek (x±Sx)
Kromozom 1 (%)	25.90±0.66	27.42±1.75	26.78±0.75	25.73±0.78	27.94±1.48	27.85±1.57
Kromozom 2 (%)	17.73±1.90	19.83±1.70	19.58±1.09	21.02±1.08	20.87±1.30	20.22±1.24
Kromozom 3 (%)	11.18±1.49	12.51±1.22	11.97±1.65	12.61±0.70	12.92±0.72	12.43±1.02
Kromozom 4 (%)	27.52±2.34	21.24±1.85	23.23±1.38	23.45±0.73	20.13±1.44	23.20±0.88
Kromozom 25 (%)	17.58±1.24	19.00±1.34	18.44±2.09	17.19±0.88	18.15±0.75	16.44±1.16
Ortalama Aktif NOR Sayısı	6.10±1.90	6.03±2.08	6.33±1.79	6.69±1.91	6.03±2.03	6.63±2.03

Tablo 2' den de görüleceği üzere AKK, ASB ve F₁' lerin erkek ve dişilerinin NOR taşıyan kromozomları arasında ve genel ortalama istatistiki olarak herhangi bir farklılık belirlenmemiştir. Ortalama aktif NOR sayısı AKK dişilerinde erkeklere nazaran, ASB ve F₁ erkeklerinde ise dişilere na-

zaran biraz yüksek olduğu görülmektedir, ancak farklılıklar istatistiki olarak önemli bulunmamıştır.

Araştırmanın materyalini oluşturan genotiplerin NOR taşıyan kromozomlarının oranları ve ortalama aktif NOR sayıları Tablo 3' te gösterilmektedir.

Tablo 3. Farklı Genotiplerin NOR Taşıyan Kromozomlarının Ortalama Aktif NOR Oranları (%) ve Ortalama Aktif NOR Sayıları (n=10)

	AKK ($\bar{x}\pm S_x$)	ASB ($\bar{x}\pm S_x$)	F ₁ ($\bar{x}\pm S_x$)
Kromozom 1 (%)	26.66±0.92	26.26±0.54	27.89±1.02
Kromozom 2 (%)	18.78±1.25	20.30±0.76	20.55±0.85
Kromozom 3 (%)	11.84±0.93	12.29±0.88	12.67±0.59
Kromozom 4 (%)	24.38±1.75	23.34±0.74	21.66±0.94
Kromozom 25(%)	18.29±0.89	17.82±1.09	17.29±0.71
Ortalama Aktif NOR Sayısı	6.06±1.99	6.51±1.97	6.33±2.05

Tablo 3 incelendiğinde AKK, ASB ve F₁' lerin NOR taşıyan kromozomların taşıdıkları aktif NOR oranları ve ortalama aktif NOR sayısı bakımından 1, 2, 3, 4 ve 25. çift kromozomlar arasında önemli bir varyasyonun olmadığı anlaşılmaktadır. Başka bir ifadeyle bu karakter bakımından araştırmada kullanılan genotipler birbirleriyle benzer bulunmuşlardır.

Tartışma ve Sonuç

NOR taşıyan kromozomlar : Araştırmada materyal olarak kullanılan AKK, ASB ırkları ve F₁ melezlerinin kromozom sayısı 54 olarak bulunmuştur. Bulunan kromozom sayısı, Hansen (1973) ve Poyraz ve ark., (1995)' nin koyun türünün kromozom sayısı olarak bildirdikleri değerle uyumludur. Araştırma materyali olarak kullanılan bireylerde, bu kromozom sayısından sayısal olarak sapma gösterene rastlanmamıştır.

Henderson ve Bruere (1977) ve Moreno-Millan ve Rodero-Franganilla (1990), koyun kromozomlarından 10 adetinin NOR taşıdıklarını bildirmişlerdir. Bu araştırmada da koyun türünün NOR' ları 1, 2, 3, 4 ve 25. çiftler olmak üzere toplam 10 adet kromozomda taşıdıkları belirlenmiş ve bu bulgu literatür bildirişleri ile uyum halindedir. NOR' ların; 1. çift submetasentrik kromozomun p kolunda 2. ve 3. çift submetasentrik kromozomların q kolunun telomerik bölgelerinde, 4. ve 25. çift telosentrik kromozomların ise telomerik bölgelerinde yerleştikleri belirlenmiştir. Henderson

ve Bruere (1977) ve Moreno-Millan ve Rodero-Franganilla (1990)' da koyunlarda NOR' ların bu araştırmada belirlenen bölgelerde lokalize olduklarını bildirmişlerdir.

İrklardaki aktif NOR sayısı: Araştırmada materyal olarak kullanılan genotiplerin dişi ve erkeklerinin ortalama aktif NOR sayıları açısından bir varyasyon tespit edilmiştir (Tablo 1). Bu araştırmada belirlenen varyasyona; Henderson ve Bruere (1977) Yeni Zelanda koyunlarında, Moreno-Millan ve Rodero-Franganillo (1990) İspanyol Merinoslarında, Di Bernardino ve ark., (1985) sığırlarda, Arroyo-Nombela ve ark., (1990) domuzlarda, Kopp ve ark., (1981) atlarda, Kopp ve ark., (1988) at ve eşeklerde, ve Goodpasture ve ark., (1976)' da insanlarda rastlamışlardır. Dolayısıyla ortalama aktif NOR sayısının bireysel bir özellik olduğu bu araştırmanın materyalini oluşturan genotiplerin bireylerinde de tespit edilmiştir.

Genotiplerin dişi ve erkeklerinin ortalama aktif NOR oranları ve sayıları Tablo 2' de verilmiştir. Tablodan da görüleceği üzere Erkek ve dişi AKK' ların NOR taşıyan kromozomları arasında ve genel ortalama istatistiki olarak herhangi bir farklılık belirlenmemiştir. Erkek ve dişi AKK' ların 1, 2, 3, 4 ve 25. çift kromozomlarının ortalama aktif NOR oranları sırasıyla; % 27.42 ve 25.90, 19.83 ve 17.73, 12.51 ve 11.18, 21.24 ve 27.52, 19.00 ve 17.58 olarak hesaplanmıştır. Erkeklerde en fazla aktif NOR taşıyan kromozomlar 1. çift kromozomlar iken; dişilerde 4. çift kromozomların daha fazla aktif NOR taşıdıkları göze çarpmaktadır. AKK erkek ve dişilerinin ortalama aktif NOR sayıları ise 6.03 ve 6.10 olarak belirlenmiştir. AKK dişilerinde ortalama NOR sayısı erkeklere nazaran biraz yüksek olduğu görülmektedir, ancak bu farklılık istatistiki olarak önemli bulunmamıştır.

ASB ırkının erkek ve dişileri arasında da aktif NOR taşıyan kromozomların oranı bakımından herhangi bir farklılık belirlenmemiştir. ASB erkek ve dişilerinin 1, 2, 3, 4 ve 25. çift kromozomlarının ortalama aktif NOR oranları sırasıyla; % 25.73 ve 26.78, 21.02 ve 19.58, 12.61 ve 11.97, 23.45 ve 23.23, 17.19 ve 18.44 olarak hesaplanmıştır. ASB' lerin hem erkekleri ve hem de dişilerinin en fazla aktif NOR taşıyan kromozomlarının, 1. çift kro-

mozomları olduğu görülmektedir. Ortalama aktif NOR sayıları ise erkek ve dişilerde 6.69 ve 6.33 olarak belirlenmiştir. ASB erkeklerinin aktif NOR ortalaması, AKK' ların tersine dişilerden daha yüksek bulunmuştur, fakat istatistiki yönden bu değerler arasında da herhangi bir farklılık tespit edilememiştir.

F₁ melezi erkek ve dişilerinde de, AKK ve ASB' lerde olduğu gibi tüm aktif NOR taşıyan kromozomlar arasında herhangi bir farklılık tespit edilememiştir. F₁ melezlerinin dişi ve erkeklerinin 1, 2, 3, 4 ve 25. çift kromozomlarının ortalama aktif NOR oranları sırasıyla; % 27.85 ve 27.94, 20.22 ve 20.87, 12.43 ve 12.92, 23.20 ve 20.13, 16.44 ve 18.15 olarak hesaplanmıştır. Ortalama aktif NOR sayıları ise dişi ve erkeklerde 6.03 ve 6.63 olarak belirlenmiştir. Erkeklerin ortalaması dişilerden yüksek bulunmuş, ancak fark istatistiki olarak önemsizdir.

Bu araştırmada her 3 genotipin dişi ve erkeklerinin aktif NOR taşıyan kromozomların oranları ve ortalama aktif NOR sayıları yönünden bir farklılık bulunmadığı görülmektedir. Mikelsaar ve ark., (1977a)' da kadın ve erkeklerin aktif NOR ortalamaları üzerinde yaptıkları bir araştırmada aynı sonuca varmışlardır.

Bu araştırmanın materyalini oluşturan genotiplerin ortalama aktif NOR sayıları Tablo 3' te verilmiştir. Tablodan da görüleceği üzere genotiplerde 1. çift kromozomların aktif olma oranı % 27; 2. çift kromozomların % 20; 3. çift kromozomların % 12; 4. çift kromozomların % 23 ve 25. çift kromozomların aktif olma oranı ise % 18 seviyesindedir. Bu bulgudan yola çıkılarak koyun türünde submetasentrik kromozomların taşıdıkları NOR' ların telosentrik kromozomlara göre daha aktif oldukları söylenilebilir. Henderson ve Bruere (1977)' de yapmış oldukları çalışmada, aynı sonuca varmışlardır. Ancak aktif NOR taşıyan kromozomların aktif olma oranlarının niçin farklı değerlerde olduğu konusunda herhangi bir görüş ortaya konamamıştır.

AKK, ASB ve F₁ melezlerinin ortalama aktif NOR sayıları sırasıyla; 6.06, 6.51 ve 6.33 olarak belirlenmiştir. Değerler arasında sayısal olarak bir farklılığın bulunmasına rağmen, istatistiki olarak

önemsizdir. Dolayısıyla araştırmada materyal olarak kullanılan genotipler, ele alınan karakter bakımından birbirleriyle benzerlik göstermişlerdir.

Bu araştırmada materyal olarak kullanılan genotiplerde tespit edilen ortalama aktif NOR sayılarına bakıldığında, Henderson ve Bruere (1977)' nin Yeni Zelanda koyunlarında tespit ettikleri ortalama 7.71'lik değerden düşük oldukları görülmektedir. Ancak bu araştırmada elde edilen ortalama değerlerden olan F₁' lerin ortalama aktif NOR sayısı Moreno-Millan ve Rodero-Franganilla (1990)' nin İspanyol merinosları için tespit ettikleri değer olan 6.31 ile benzer; buna karşılık ASB ırkının ortalama aktif NOR sayısı bu değerden yüksek ve AKK ırkının ortalama aktif NOR sayısı ise bu değerden düşük bulunmuştur. Bu durum, ırk farklılığına bağlanabilir.

Bu araştırmanın materyalini oluşturan koyun türünün ortalama aktif NOR sayıları, Goodpasture ve ark., (1976)' nin insanlarda erkek ve kadınlar için tespit ettikleri değerden düşük, Vico ve ark., (1992)' nin sığırlar için tespit ettikleri değerlerden yüksek ve Mayr ve ark., (1987)' nin sığırlar için tespit ettikleri değerle benzer bulunmuştur. Bu karakter yönünden adı geçen türler arasında bir değerlendirmenin yapılması güç olsa bile, NOR taşıyan kromozomların her üç türde de aynı sayıda, yani 10 adet olması bu değerlendirmenin yapılmasına imkan vermektedir. Dolayısıyla değerler arasındaki farkın tür farklılığından ileri geldiği anlaşılmaktadır. Ancak adı geçen her 3 türde de NOR taşıyan kromozom sayısı eşit olduğu halde, ortalama sayıların niçin bu kadar farklı olduğuna dair bir düşünce ortaya konamamaktadır. Bu konuda yeni araştırmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Bu araştırmanın sonuçları aşağıdaki şekilde sıralanabilir;

1. Koyun türü 54 adet kromozomdan 10 tanesinde NOR taşımaktadırlar ve bu kromozomlar; 1, 2, 3, 4 ve 25. çift kromozomlardır.

2. NOR taşıyan kromozomlar arasında, aktif olma oranı açısından AKK, ASB ile F₁' lerin erkek ve dişileri arasında bir varyasyon bulunmuştur. Ancak genotiplerin dişi ve erkekleri ile ırklar arasında bu karakter yönünden tespit edilen varyasyon istatistiki olarak önemsizdir.

3. Araştırmanın materyalini oluşturan ırklar arasında bir farklılığın olmadığı görülse de, ırklar içindeki dişi ve erkekler arasında sayısal farklılıkların olduğu görülmektedir. Dolayısıyla hayvan ıslahında bu varyasyondan yararlanmak için; daha fazla sayıda materyalin kullanıldığı araştırmaların yapılması gerekmektedir. Ayrıca meme, kas ve yapağı hücreleri gibi direk verimlere etki eden hücrelerin ortalama aktif NOR sayısı ile verimler arasında da korelasyon aramaya yönelik araştırmaların yapılması, hayvan ıslahı için daha pratik ve zaman kazandırıcı bilgiler sağlayabilir.

Kaynaklar

- Alberts B, Bray D, Lewis J, Raff M, Roberts K and Watson JD (1989) *Molecular Biology of the Cell*. Garland Publishing. Newyork. London.
- Arden KC, Johnston DA, Cork A and Pathak S (1989) Differential Nucleolus Organizer Activity in Normal and Leukemic Bone Marrow. *Am. J. of Hematology* 30, 164-173.
- Arroyo-Nombela JJ, Rodriguez Murcia C, Abaigar T and Vericad JR (1990) Cytogenetic Analysis (GTG, CBG, and NOR bands) of a wild Boar Population (*Sus scrofa scrofa*) with Chromosomal Polymorphism in the South-east of Spain. *Genet. Sel. Evol.* 12, 1-9.
- Arruga MV (1989) Differences in NOR Activity Levels of the Chromosome Pairs in Spanish Common Rabbit. Edited by; Halnan, 297-300. C.R.E. Wallingford, UK.
- Boon ME, Schleicher A, Wijsman-Grootendorst A, Lyon H and Kok LP (1988) Staining of the Nucleolus with Protein and RNA Stains for Automatic Measurement of Nucleolar Size in Paraffin Sections. *Stain Tech.* 63, 5, 289-297.
- Buyts CHCM and Osinga J (1980) Abundance of Protein-bound Sulfhydryl and Disulfide Groups at Chromosomal Nucleolus Organizing Regions. *Chromosoma (Berl.)* 77, 1-11.
- Bülbül Dilek, Bakır G, Çamlıbel S (1993) Preoperatif Kemoterapi Uygulanan Meme Karsinomlu Hastaların Biyopsi ve Mastektomi Materyallerindeki AgNOR Sayılarının Karşılaştırılması. *Ankara Patoloji Bülteni* 10,1, 55-57.
- Crocker J, Boldy DAR and Egan MJ (1989) How Should We Count AgNORS? Proposals for a Standardized Approach. *J. of Pathology* 158, 185-188.
- Derenzini M, Pession A, Farabegoli F, Trere D, Badiali M and Dehan P (1989) Relationship Between Interphasic Nucleolar Organizer Regions and Growth Rate in Two Neuroblastoma Cell Lines. *Am. J. Path.* 134, 4, 925-932.
- Di Berardino D, Lioi MB and Iannuzzi L (1985) Identification of Nucleolus Organizer Chromosomes in Cattle (*Bos Taurus L.*) by Sequential Silver Staining + RBA Banding. *Caryologia* 38, 95-102.
- Düzgüneş O, Kesici T ve Gürbüz F (1983) İstatistik Metotları. -1- A.Ü. Zir. Fak. Yayınları, Ankara.
- Fischer D, Weisenberger D and Scheer U (1991) Review: Assigning Functions to Nucleolar Structures. *Chromosoma* 101, 133-140.
- Funaki F, Matsui SG and Sasaki M (1975) Location of Nucleolar Organizers in Animal and Plant Chromosomes by Means of an Improved N-banding Technique. *Chromosoma (Berl.)* 49, 357-370.
- Goodpasture C and Bloom SE (1975) Visualization of Nucleolar Organizer Regions in Mammalian Chromosomes Using Silver Staining. *Chromosoma (Berl.)* 53, 37-50.
- Goodpasture C, Bloom SE, Hsu TC and Arrighi FE (1976) Human Nucleolus Organizers: The Satellites or the Stalks? *Am. J. Hum. Genet.* 28, 559-566.
- Hansen KM (1973) The Karyotype of the Domestic sheep (*Ovis aries*) Identified by Quinacrine Mustard Staining and Fluorescence Microscopy. *Hereditas* 75, 233-240.
- Henderson LM and Bruere AN (1977) Association of Nucleolus Organizer Chromosomes in Domestic Sheep (*Ovis aries*) Shown by Silver Staining. *Cytogenet. Cell Genet.* 19, 326-334.
- Henderson LM and Bruere AN (1980) Nucleolus Organizer Region Location and 'ring' Chromosomes in the Bharal. *Experientia* 36, 176-178.
- Henderson AS, Warburton D and Atwood KC (1973) Ribosomal DNA Connectives between Human Acrocentric Chromosomes. *Nature* 245, 14, 95-97.
- Howell WM and Black DA (1978a) A Rapid Technique for Producing Silver-Stained Nucleolus Organizer Regions and Trypsin-Giemsa Bands on Human Chromosomes. *Hum. Genet.* 43, 53-56.
- Howell WM and Black DA (1978b) Controlled Silver-

- staining of Nucleolus Organizer Regions with a Protective Colloidal Developer: a step method. *Experientia* 36, 1014-1015.
- Hubbell HR and Hsu TC (1977) Identification of Nucleolus Organizer Regions (NORs) in Normal and Neoplastic Human Cells by the Silver-Staining Technique. *Cytogenet. Cell. Genet.* 19,185- 196.
- Kopp E, Mayr B, Czaker R and Schieger W (1981) Nucleolus Organizer Regions in the Chromosomes of the Domestic Horse. *J. of Heredity* 72, 357-358.
- Kopp E, Mayr B, Kalat M and Schleger W (1988) Polymorphisms of NORs and Heterochromatin in the Horse and Donkey. *J. of Heredity* 79, 332-337.
- Kurihara Y, Suh DS, Suzuki H and Moriwaki K (1994) Chromosomal Locations of Ag-NORs and clusters of Ribosomal DNA in Laboratory Strains of Mice. *Mammalian-Genome* 5, 4, 225-228.
- Liu WS, Lu XZ, Qiu H (1995) Number and Distribution of Silver-Stained Nucleolar Organizer Regions and Evolutionary Relationships in Domestic Pig. *Anim. Genet.* 26, 5, 293-298.
- Matsui SI and Sasaki M (1973) Differential Staining of Nucleolus Organizers in Mammalian Chromosomes. *Nature* 246, 148-150.
- Mayr B, Schleger W and Auer H (1987) Frequency of Ag-Stained Nucleolus Organizer Regions in the Chromosomes of Cattle. *The J. of Heredity* 78, 206-207.
- Mellink CHM, Bosma AA and de Haan NA (1994) Variation in Size of Ag-NORs and Fluorescent rDNA in situ Hybridization Signals in Six Breeds of Domestic Pig. *Hereditas-Landskrona* 120, 2, 141-149.
- Mikelsaar AV, Schmid M, Krone W, Schwarzacher HG and Schnedl W (1977a) Frequency of Ag-Stained Nucleolus Organizer Regions in the Acrocentric Chromosomes of Man. *Hum. Genet.*, 37, 73-77.
- Mikelsaar AV, Schwarzacher HG, Schnedl W and Wagenbichler P (1977b) Inheritance of Ag-Stainability of Nucleolus Organizer Regions. *Hum. Genet.*, 38,183-188.
- Miller DA, Tantravahi R, Dev VG and Miller OJ (1977) Frequency of Satellite Association of Human Chromosomes 15 Correlated with Amount of Ag-Staining of the Nucleolus Organizer Region. *Am. J. Hum. Genet.*, 29, 490-502.
- Moorhead PS, Noveli PC, Mellman WJ, Batipps DM and Hungerford DA (1960) Chromosome Preparations of Leucocytes Cultured from Human Peripheral Blood. *Experimental Cell Research*, 20, 613-616.
- Moreno-Millan M and Rodero-Franganilla A (1990) Nucleolus Organizer Regions, Types of Association and Identification of Carrier Chromosomes in Domestic Sheep. *Genet. Cell. Evol.*, 22, 273- 277.
- Pathak S (1979) Cytogenetic Research Techniques in Humans and Laboratory Animals that can be Applied most Profitably to Livestock. *J. Dairy Sci*, 62, 836-843.
- Poyraz Ö, Akcan A, Ertuğrul O, Akıncı Z ve Orman M (1995) Türkiye'de Yetiştirilen Ruminant Türlerine Ait Bazı Yerli Irkların Karyotipik Özellikleri. *Tr. J of Veterinary and Anim. J. Sci.* 19, 265-274.
- Reeder RH (1990) rRNA Synthesis in the Nucleolus. *TIG.* 6, 390-395.
- Rose KM, Szopa J, Han F, Cheng Y, Richter A and Scherer U (1988) Association of DNA Topoisomerase I and RNA Polymerase I: A Possible Role for Topoisomerase I in Ribosomal Gene Transcription. *Chromosoma*, 96, 411-416.
- Schwartz S, Roulston D and Cohen MM (1989) Invited Editorial: dNORs and Meiotic Nondisjunction. *Am. J. Hum. Genet.* 44, 627-630.
- Schwarzacher HG and Wachtler F (1993) The Nucleolus. *Anat. Embryol.* 188, 515-536.
- Suarez V, Newman J, Hiley C, Crocker J and Collins M (1989) The Value of NOR Numbers in Neoplastic and Non-neoplastic Epithelium of the Stomach. *Histopathology* 14:61-66.
- Verma RS and Babu A (1989) Human Chromosomes. Manual of Basic Techniques. Pergamon Press. Newyork. Oxford. Beijing. Frankfurt. Sao Paulo. Sidney. Tokyo. Toronto.
- Vico G, Papparella S, Maiolino P, Restucci B, Fontanelli G, Condoleo R and De Vico G (1992) Studies on Silver-Stained Nucleolar Organizer Regions (Ag-NORs) in Cattle Treated with Anabolics. Ag-NORs in the Prostrate of Cattle Treated or not Treated with Hormonally Active Substances. *Anim. Toxicology (Abstr)*.
- Wachtler F, Schöfer C, Schedle A, Schwarzacher HG, Hartung M, Stahl A, Gonzales I and Sylvester J (1991) Transcribed and Nontranscribed Parts of the Human Ribosomal Gene Repeat Show a Similar Pattern of Distribution in Nucleoli. *Cytogenet. Cell. Genet.* 57:175-178.