



EGE ÜNİVERSİTESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

***CEPHALOSTENUS ELEGANS* BRULLE, 1832
(COLEOPTERA:TENEBRIONIDAE:SCAURINI)
TÜRÜNDE KROMOZOM ÖZELLİKLERİNİN
BELİRLENMESİ**

Beril GÜNDOĞAN

Tez Danışmanı : Doç. Dr. Nurşen ALPAGUT KESKİN

Biyoloji Anabilim Dalı

Sunuş Tarihi : 18.09.2015

Bornova-İZMİR

2015

EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

***CEPHALOSTENUS ELEGANS* BRULLE, 1832
(COLEOPTERA:TENEBRIONIDAE:SCAURINI) TÜRÜNDE
KROMOZOM ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ**

Beril GÜNDOĞAN

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Nurşen ALPAGUT KESKİN

Biyoloji Anabilim Dalı

Sunuş Tarihi: 18.09.2015

Bornova-İZMİR

2015

Beril GÜNDOĞAN tarafından Yüksek Lisans tezi olarak sunulan “*Cephalostenus elegans* Brulle, 1832 (Coleoptera:Tenebrionidae:Scaurini) Türünde Kromozom Özelliklerinin Belirlenmesi” başlıklı bu çalışma E.Ü. Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği ile E.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Eğitim ve Öğretim Yönergesi'nin ilgili hükümleri uyarınca tarafımızdan değerlendirilerek savunmaya değer bulunmuş ve 18.09.2015 tarihinde yapılan tez savunma sınavında aday oybirliği/oyçokluğu ile başarılı bulunmuştur.

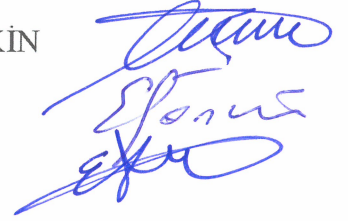
Jüri Üyeleri:

İmza

Jüri Başkanı : Doç. Dr. Nurşen ALPAGUT KESKİN

Raportör Üye : Doç. Dr. Ebru GÖNCÜ

Üye : Doç. Dr. Ersen Aydın YAĞMUR



EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI

E.Ü. Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin ilgili hükümleri uyarınca Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “*Cephalostenus elegans* Brulle, 1832 (Coleoptera:Tenebrionidae:Scaurini) Türünde Kromozom Özelliklerinin Belirlenmesi” başlıklı bu tezin kendi çalışmam olduğunu, sunduğum tüm sonuç, doküman, bilgi ve belgeleri bizzat ve bu tez çalışması kapsamında elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara atıf yaptığımı ve bunları kaynaklar listesinde usulüne uygun olarak verdiğimi, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını, bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya diğer bir üniversitede başka bir tez çalışması içinde sunmadığımı, bu tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda bilimsel etik kurallarına uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul edeceğimi beyan ederim.

18/09/2015



Beril GÜNDOĞAN

ÖZET***CEPHALOSTENUS ELEGANS* BRULLE, 1832
(COLEOPTERA:TENEBRIONIDAE:SCAURINI) TÜRÜNDE
KROMOZOM ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ**

GÜNDOĞAN, Beril

Yüksek Lisans Tezi, Biyoloji Anabilim Dalı
Tez Danışmanı: Doç. Dr. Nurşen ALPAGUT KESKİN
Eylül 2015, 45 sayfa

Bu tez çalışmasında Türkiye'nin iki farklı lokalitesinden toplanan *Cephalostenus elegans* türünün sitogenetik analizi gerçekleştirilmiştir. Mitotik ve mayotik kromozom preparasyonu dişi ve erkek gonadlardan elde edilmiş ve hazırlanan preparatlarda rutin Giemsa, C-bantlama ve AgNOR boyama yöntemleri uygulanmıştır. İncelenen 17 erkek ve 11 dişi bireyde kromozom sayı ve morfolojisinde farklılık olmadığı ortaya konmuştur. Bireylerin kromozom sayısının $2n=18$ olduğu ve Coleoptera-Adephaga için atasal olarak kabul edilen $2n=20$ kromozom sayısından farklı olduğu belirlenmiştir. İncelemeler sonucunda bireylerin Tenebrionidae ailesinde yaygın olarak görülen Xy_p siteminden farklı olarak Xy cinsiyet belirleme sistemine sahip olduğu gözlenmiştir. X kromozomunun karyotipin en büyük kromozomu olduğu ve y kromozomunun ise en küçük kromozom olduğu belirlenmiştir. AgNOR uygulamaları sonucunda olası bir NOR bölgesi tespit edilememiştir. CHIAS IV kullanılarak bireylerin karyotipi oluşturulmuş ve telomer bölgelerindeki heterokromatin dağılımları belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Sitogenetik, Tenebrionidae, Scaurini, *Cephalostenus*, *C. elegans*, Xy .

ABSTRACT**DETERMINATION OF CHROMOSOMAL FEATURES IN
CEPHALOSTENUS ELEGANS BRULLE, 1832
(COLEOPTERA:TENEBRIONIDAE:SCAURINI) SPECIES**

GUNDOGAN, Beril

MSc in Biology

Supervisor: Assoc. Doç. Dr. Nurşen ALPAGUT KESKİN

September 2015, 45 pages

In this study, cytogenetic analyses of *Cephalostenus elegans* species collected from two different locations in South Western Anatolia were performed. Mitotic and meiotic chromosome preparations were obtained from female and male gonads and they were analysed using Giemsa staining, C-banding and AgNOR staining. It was revealed that there was not any difference in chromosome number and morphology between the studied 17 males and 11 females. Chromosome number of these individuals was determined $2n=18$ which is different from the ancestral chromosome number $2n=20$ for Coleoptera-Adephaga. After investigations it was observed that these individuals have Xy sex determining system unlike the Xy_p sex determining system commonly observed in Tenebrionidae family. It was determined that the X is the largest chromosome and the y is the smallest chromosome of the karyotype. As a result of AgNOR applications no probable NOR regions were detected. Using CHIAS IV plugin karyotype of the individuals was created and heterochromatin distribution in telomere regions was determined.

Key Words: Cytogenetics, Tenebrionidae, Scaurini, *Cephalostenus*, *C. elegans*, Xy.

TEŞEKKÜR

Tez danışmanlığımı üstlenerek çalışma konumun belirlenmesinde bana yardımcı olan ve laboratuvar çalışmalarım boyunca desteğini esirgemeyen danışman hocam sayın Doç. Dr. Nurşen ALPAGUT KESKİN'E; çalışma materyalimin belirlenmesinde ve arazi çalışmaları boyunca yardımını esirgemeyen sayın Doç. Dr. Bekir KESKİN'e en içten teşekkürlerimi sunarım.

Laboratuvar çalışmalarım boyunca beni yalnız bırakmayan, her türlü kahrımı çeken ve beraber vakit geçirmekten son derece keyif aldığım arkadaşlarım Dirim ŞENDOĞAN ve Burak GÖKÇE'ye; yardıma ihtiyaç duyduğum her konuda yardımlarını esirgemeyen Dr. Ramazan URANLI ve Remzi KAYA'ya; arazi çalışması sırasında yardımını esirgemeyen ve çalışma materyalimin bulunmasında emeği olan Mehmet Anıl OĞUZ'a; çalışmalarım boyunca yanımda olamasa da aramızdaki mesafeye rağmen desteğini her an hissettiğim Evrim ERÇETİN'e; düşüncelerimi ve çalışmalarımı her zaman destekleyip yanımda olan, dostluğunu esirgemeyen Nur YORGANCI'ya; çalışmalarımın en yoğun ve stresli olduğu günlerde yardımlarının yanı sıra moral ve motivasyonu eksik etmeyen Mehmet KARAKUŞ'a; bu süreçte sürpriz bir şekilde hayatıma girip, geleceğe daha mutlu ve umutlu bakmamı sağlayan Cem YAĞBASAN'a teşekkür ederim.

Bu günlere gelmemde en fazla emeği olan, düşüncelerimi ve ideallerimi her zaman saygı duyup destekleyen, maddi ve manevi yardımlarını hiçbir zaman eksik etmeyen başta canım annem Sıdıka GÜNDOĞAN'a ve canım ağabeyim Berat GÜNDOĞAN'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET.....	vii
ABSTRACT.....	ix
TEŞEKKÜR.....	xi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xiii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xvii
1. GİRİŞ.....	1
2. MATERYAL-METOT.....	11
2.1 Kromozom Preparasyonu.....	12
2.1.1 Mikro Yayma Tekniği.....	12
2.1.2 Damlatma-Havada Kurutma Tekniği.....	13
2.2 Kromozom Boyama ve Bantlama.....	13
2.2.1 Rutin Giemsa.....	14
2.2.2 C-bantlama.....	14
2.2.3 AgNOR Boyama.....	14
2.2.4 Karyotip Analizi.....	15

İÇİNDEKİLER (devam)

	<u>Sayfa</u>
3. BULGULAR.....	16
3.1 Kromozom Sayısı ve Morfolojisi.....	17
3.2 Cinsiyet Kromozomları.....	27
4. TARTIŞMA-SONUÇ.....	29
KAYNAKLAR DİZİNİ.....	37
ÖZGEÇMİŞ.....	45

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
2.1 <i>Cephalostenus elegans</i> türlerinin toplandığı alanlar.....	11
3.1 <i>Cephalostenus elegans</i> Brulle, 1832.....	11
3.2 <i>Cephalostenus elegans</i> türünün (♂) spermatogonial yayma preparasyonlarında mitotik metafaz kromozomları.....	18
3.3 <i>Cephalostenus elegans</i> türünün (♂) spermatogonial damlatma preparasyonlarında metafaz-I, metafaz-II ve pakiten kromozomları.....	19
3.4 <i>Cephalostenus elegans</i> türünün (♂) spermatogonial damlatma preparasyonlarında metafaz-I ve metafaz-II kromozomları.....	20
3.5 <i>Cephalostenus elegans</i> türünün (♀) oogonial yayma preparasyonlarında metafaz-I kromozomları.....	21
3.6 <i>Cephalostenus elegans</i> türünün (♂) spermatogonial damlatma preparatlarında pakiten kromozomları.....	22
3.7 <i>Cephalostenus elegans</i> türünün (♂) spermatogonial damlatma preparasyonlarında pakiten kromozomları.....	24
3.8 <i>Cephalostenus elegans</i> türünün (♂) spermatogonial damlatma preparasyonlarında metafaz-I kromozomları	25
3.9 <i>Cephalostenus elegans</i> türünün (♂) karyotipi.....	26
3.10 <i>Cephalostenus elegans</i> türünün (♂) idiogramı.....	26

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

Şekil

Sayfa

3.11 *Cephalostenus elegans* türünün (♂) spermatogonial damlatma preparasyonlarında metafaz-I kromozomları..... 28

ÇİZELGELER DİZİNİÇizelgeSayfa

2.1 Arazi çalışmalarında toplanan <i>Cephalostenus elegans</i> türüne ait birey sayısı ve cinsiyet bilgileri.....	11
---	----

1. GİRİŞ

Sitoloji ve genetik bilim dallarındaki çalışmaların ilerlemesiyle birlikte, bu alanlar arasındaki ilişki keşfedilmiş ve böylece sitogenetik bilim dalı ortaya çıkmıştır (Elçi ve Sancak, 2013). Zaman içerisinde bu alanda önemli çalışmalar yapılmış ve günümüzde de bu çalışmalar halen devam etmektedir. Sitogenetik'in çalışma materyali kromozom'dur (Topaktaş ve Rencüzoğulları, 2010). Kromozomlar sahip oldukları dikkat çekici görünüm ve kalıtımın temelini oluşturmaları nedeniyle geçmişten günümüze kadar bilimsel çalışmalar arasında oldukça popüler bir yer edinmiştir.

Ökaryot kromozomları yaklaşık 100 yıl öncesine kadar tanımlanamamış olsa da, kromozomların farkına varılmasının temeli 300 yıldan uzun bir süre önce atılmıştır. Aradaki zamanda ışık mikroskobu geliştirilmiş ve hücresel seviyedeki biyoloji, canlı çalışmaları üzerinde önemli bir yer kaplamaya başlamıştır. Ökaryotik hücrenin anlaşılmasına başlanması, bu aracın (ışık mikroskobu) geliştirilmesi ve kromozomlarının tanımlanması ile geçtiğimiz yüzyıl içinde gerçekleşmiştir (Wagner, Maguire and Stallings, 1998).

Kromozom fikrinin ortaya çıkması yaklaşık olarak 19. yüzyılın son çeyreğine denk gelmektedir. İlk olarak 1873 yılında Alman zoolog Anton Schneider tarafından kromatin materyalinin kalıtımı (kromozom) ve mitoz süreci tanımlanmıştır. Ardından 1875 yılında Eduard Strasburger ve 1879-1882 yılları arasında Walther Flemming'in bitki ve hayvanların mitotik kromozomları ile ilgili yayımladıkları çalışmalar günümüz modern kromozom çalışmalarının temelini oluşturmaktadır (Sumner, 2003).

1953 yılında James Watson ve Francis Crick tarafından DNA ikili sarmal modelinin keşfedilmesi moleküler biyoloji ve

sitogenetik çalışmaları için önemli bir adım olmuştur. Ökaryot hücrelerin kromozomal genetik materyali, lineer DNA moleküllerini içermektedir. Organizmaların sahip olduğu bu DNA, birkaç milyon nükleotit barındırmakta ve tüm bu moleküllerin kombine sıralanışı organizmanın genetik bilgisini belirlemektedir. Hücre çekirdeğinde bulunan DNA, neredeyse DNA ile aynı miktarda bulunan küçük temel proteinler olan histonlar ve toplamın %10-30 kadarını oluşturan histon olmayan proteinlerle bağlantılı olmaktadır. Bu DNA-protein kompleksi kromatin olarak adlandırılmakta ve kromozom yapısını oluşturmaktadır (Popescu, Hayes and Dutrillaux, 2000). Organizmaların genetik bilgisini taşıyan DNA, kromozomlarda gen adı verilen birimler halinde organize olmaktadır. Genler, üzerinde buldukları kromozomlar sayesinde bir sonraki nesile aktarılmaktadır. Aynı zamanda kromozomların bu organizasyonu genlerin aktivitelerini de kontrol etmektedir. Bu organizasyonla kromozomların kalıtımla olan bağlantısı açıklanabilmektedir. Mitoz ve mayoz sürecindeki kromozomların davranışlarını incelemek kalıtımın temel mekanizmasını ortaya koymaktadır (Sumner, 2003).

Genom ve kromozom yapısına ilave olarak, bu iki yapının birbirleriyle olan ilişkisinin daha iyi anlaşılabilmesi için yapılacak olan çalışmalarda temel sitogenetik ve moleküler yöntemlerin bir arada uygulanması oldukça önemli ve gereklidir. Hücre döngüsünün mitotik ve mayotik sürecinde kromozomların mikroskop aracılığı ile direkt olarak incelenmesi sitogenetik çalışmaya iyi bir örnektir. Aynı zamanda kromozomlarda uygulanan boyama yöntemleri ile belirlenebilen farklı bantlanma özellikleri tür içi/türler arası benzerlik ve farklılıkları ortaya koyabilmektedir. Bantlanma özellikleri her kromozom için karakteristiktir ve aynı zamanda kromozomların tanımlanmasının yanı sıra karyotip oluşturulmasını sağlamaktadır (Popescu, Hayes and Dutrillaux, 2000).

Çeşitli canlı gruplarının dahil olduğu sitogenetik çalışmaların temeline bakıldığında, türlerin yalnızca kromozom sayıları, morfolojileri ve cinsiyet belirleme mekanizmaları ortaya konmuştur. Fakat zaman içerisinde rutin sitogenetik uygulamalara farklı yaklaşım ve yöntemlerin de dahil edilmesiyle birlikte sitogenetik'in kapsamı oldukça genişletilmiştir. Bu sayede, sitogenetik çalışmalar genom organizasyonu ve farklı DNA segmentlerinin kromozom üzerindeki lokalizasyonları hakkında da bilgi vermektedir (Cabrol-de-Mello and Martins, 2010). Organizmaların genomik düzenlenme ve kromozomal farklılaşmalarda gösterdiği çeşitlilik, moleküler yöntemlerin de dahil edildiği sitogenetik çalışmalarla ortaya konabilmektedir. Bu çalışmalar, aynı grup içerisindeki farklı türlerin karşılaştırmalı karyotip analizlerinin yapılmasını ve aynı zamanda türlerin genom evriminin anlaşılmasına katkı sağlamaktadır.

Hayvan hücreleri ile yapılan sitogenetik çalışmalarda, çalışma materyali mitoz ve mayoz bölünme geçiren somatik hücreler ve eşey hücreleri'dir (testis ve ovaryum). Son yıllardaki çalışmalar, en iyi sonuçların erkek gonad hücrelerinden elde edildiğini göstermektedir. Bunun nedeni, erkek gonad hücrelerinin dişi gonad hücrelerine kıyasla daha kolay gözlenmesi ve testislerin sayıca daha fazla bölünen hücrelere sahip olmasıdır (Popescu, Hayes and Dutrillaux, 2000).

Sitogenetik analizlerde genel olarak kullanılan yöntemlerden biri olan $AgNO_3$ boyama, bitki ve hayvan hücrelerinin kromozomlarındaki nukleolus organize edici bölgelerin (NOR) belirlenmesinde yaygın olarak kullanılan tekniklerden birisidir (Vitturi, et al., 1999). Bu teknik, mitotik kromozomlarda nukleolus organize edici bölgelerin (NOR) yanı sıra, aynı zamanda mayoz sırasında transkripsiyonel olarak aktif olan ribozomal DNA bölgelerinin belirlenmesini sağlamaktadır (Goodpasture and Bloom, 1975). Bu nedenle, NOR bölgelerinin belirlenmesi evrim

ve sitotaksonomi çalışmaları açısından oldukça önemli olmaktadır (Galetti Jr., 1998). C-bantlama yöntemi ile kromozomların çeşitli bölgelerinde lokalize olmuş heterokromatin bölgeleri belirlenebilmektedir. Bu yöntemde çeşitli florokrom boyama yöntemleri de dahil edilerek, yakın türlerin kromozomlarındaki heterokromatin bölgelerinin dağılımı ve miktarı açısından farklılıklar ortaya konabilmektedir (Silva et al., 2015). Sitogenetik çalışmalarda uygulanan çeşitli bantlama teknikleri, farklı organizmaların sahip olduğu cinsiyet kromozomlarının orijini ve organizasyonu hakkında da bilgi sağlamaktadır (Mello, Moura and Souza, 2010). Bu çalışmalara ilave olarak, son yıllarda çeşitli canlı gruplarının dahil edildiği sitogenetik çalışmalarda sıklıkla *in situ* hibridizasyon (FISH) yöntemi uygulanmaktadır. Bu yöntem, farklı organizmaların kromozomları üzerindeki spesifik DNA dizilerinin konumunun belirlenmesi ve haritalanmasında kullanılan yöntemlerden birisidir (Moyzis et. al., 1988; Trask, 1991; Lin et. al., 1991; Hamilton et. al., 1992). Çalışılan türlerin kromozomları üzerindeki ribosomal DNA bölgelerinin belirlenmesi, türler arasında karşılaştırmalı analizler için kullanılmakta ve bu çalışmalar canlılarda kromozom evriminin anlaşılmasına katkı sağlamaktadır (Oliveira et al., 2010).

Coleoptera takımı tür zenginliği açısından değerlendirildiğinde, sahip olduğu 357.899 tür ve 25.368 cins ile en kalabalık takımlardan birisi olup (Lira-Neto et al., 2012), bu sayı neredeyse tüm böceklerin %40'ını oluşturmaktadır (Gullan and Cranston, 2012). Coleoptera, Yunanca koleos (kın, kılıf) ve ptera (kanat) kelimelerinde oluşmuş ve Türkçe'de kınkanatlılar veya sertkanatlılar olarak isimlendirilmektedir (Lodos, 1995). Takıma ait türlerin %98'i karasal ortamda yayılış gösterirken, 5.000 kadar türü de tatlı sular ve kıyı littoral zonda yayılış göstermektedir (Gillot, 1993). Coleoptera takımı 4 alttakıma ayrılmaktadır. Bu alttakımlardan Adephaga ve Polyphaga tüm böcek türlerinin %99'unu kapsamaması nedeniyle en bilindik alttakımlardır (Caterino,

Shull, Hammond and Vogler, 2002). Coleoptera takımına dahil olan türlerden yaklaşık 3.000 tür sitogenetik olarak çalışılmış (Petitpierre, 1996) ve bu türlerin büyük çoğunluğunun Adephaga ve Polyphaga alttakımlarına ait olduğu görülmektedir (Smith and Virkki, 1978).

Coleoptera takımı ile gerçekleştirilen sitogenetik çalışmalar incelendiğinde, türlerin sahip olduğu kromozomların genel olarak orta ya da küçük metasentrik olduğu ve spermatogonyum metafaz kromozomlarının boyutları 0,5 µm ile 6,5 µm arasında değiştiği gözlenmiştir (Petitpierre, 1996). Coleoptera takımına ait türlerin kromozom sayıları incelendiğinde, grup içerisinde en yaygın kromozom sayısı 20 olup (Agarwal, 1962), Coleoptera için primitif karyotip formülü $9+Xy_p$ olarak verilmektedir (Smith, 1950 and 1953). Çalışılan gruplar arasında Carabidae, Chrysomelidae ve Curculionidae aileleri oldukça heterojen aileler olup, Scarabaeidae, Elateridae, Coccinellidae, Cerambycidae ve Tenebrionidae ise kromozom sayısı ve organizasyonu açısından korunmuş aileler olarak ele alınmaktadır (Petitpierre, 1987). Coleoptera takımına ait türlerin kromozom sayısında görülen değişimlere ilave olarak türlerin cinsiyet kromozomunun yapısı, orjini ve davranışında da çeşitlilik görülmektedir (Mello, Moura and Souza, 2010). Coleoptera karyotiplerindeki çeşitlilik; otozom-otozom füzyonu, X-otozom füzyonu, perisentrik inversiyonlar, y kromozomunun kaybolması ve fizyonlar gibi yeniden düzenlenmelerin sonucu meydana gelebilmektedir (Cabral-de-Mello, Oliveira, Romos and Moura, 2008).

Smith (1953), Coleoptera'da cinsiyet kromozomlarını $X0$, Xy_p , Xy_r , Xy_c , NeoXY ve XY olmak üzere 6 grup içinde sınıflandırmıştır. Bu sistemler arasında, Coleoptera takımı içerisinde yaygın olarak görülen cinsiyet kromozom sistemi Xy_p sistemidir. Bu sistem, cinsiyet kromozomlarının bivalent formasyonunun metafaz-I sırasındaki paraşüt benzeri görünümüdür

ve 'p' harfi paraşütü temsil etmektedir (Almeida et al, 2000). Coleoptera'da görülen Xy_p , genellikle sentromerik bölgede ya da kromozom boyunca pozitif C-bantlanma gösteren metasentrik-submetasentrik X kromozomu ile, genellikle ökromatik bölgeden oluşan ya da az oranda heterokromatik bölge içeren noktasal y kromozomundan oluştuğu gözlenmiştir (Mello, Moura and Souza, 2010). Bu noktasal yapılı y kromozomu, Coleoptera'daki cinsiyet farklılaşmasında bir önem teşkil etmemektedir (Cabral, Mello et al., 2010). *Dermestes* türleriyle yapılan çalışmanın sonuçları, y kromozomunun genetik fonksiyonu olmadığını ortaya koymuştur (Shaw, 1968). Yine de y kromozomuna sahip türlerin hepsi için böyle bir genelleme yapmak doğru olmamaktadır (Petitpierre, 1983).

Cinsiyet kromozomları ile ilgili Mesa and Fontanetti'nin (1984) çalışmasında, *Itu zeus*'da (Suborder:Myxophaga) gözlenen Xy_p mekanizmasının iki şekilde kaynaklanıyor olabileceğinden bahsedilmektedir. Bu durumlar (1) benzer boyutlarda kromozomlardan oluşan atasal kiyazmatik XY cinsiyet sisteminden ya da (2) y kromozomuna ilave bir yapısal heterokromatinin eklenmesiyle meydana gelen Xy_p sisteminden oluşabileceği şeklinde açıklanmıştır. Coleoptera takımına ait Scarabaeidae ailesi ile yapılan bir çalışmada ise, yaygın olarak görülen cinsiyet sisteminin XY mekanizması olduğundan bahsedilmektedir. Bu mekanizmanın, X ve Y kromozomlarının mayoz sırasında farklı bir yapılanma göstermeksizin eşleşmesi ile karakterize olduğu ortaya konmuştur (Oliveira et al., 2010).

Kıncanatlıların dahil olduğu kromozom çalışmalarında uygulanan $AgNO_3$ boyama, takım içerisindeki türlerin kromozomları üzerindeki NOR bölgelerinin dağılımının belirlenmesini sağlamak ve türlerin karşılaştırmalı karyotip analizlerinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Coleoptera takımına ait çoğu türün dahil olduğu çalışmalar, NOR bölgelerinin otozom

çiftlerinde ve/veya cinsiyet kromozomlarında konumlanmış olduğunu gösterse de, birçok çalışma bu bölgelerin tek bir otozom çiftinde bulunduğunu göstermektedir (Holecová et al., 2013). Türlerin kromozomları üzerinde belirlenen NOR bölgeleri, genellikle hücre döngüsünün premayotik evresinde oldukça aktif ve görünür halde olurken, mayotik metafaz-I, metafaz-II ve mitotik metafaz'da görünmez hale geldiği gözlenmiştir (Lachowska et al., 2005). Bu evrelerde AgNO₃ ile boyanan NOR bölgelerinin bulunmayışı, kromatin ipliğinin yoğun hale geçmesi şeklinde açıklanabilmektedir (Maryanska-Nadachowska et al., 1992).

Coleoptera takımını kapsayan çalışmalarda NOR bölgelerinin belirlenmesinde AgNO₃ boyama sıklıkla kullanılsa da, FISH yönteminin aksine bu yöntem NOR bölgelerinin belirlenmesinde yeteri kadar etkili olamamakta ve genellikle C-bantlama yönteminde elde edilen özelliklerle benzerlik gösteren yapısal heterokromatin bölgelerinin boyandığı düşünülmektedir (Oliveira et al., 2010). Coleoptera kromozomlarından elde edilen C-bantlama verileri, otozomal yapısal heterokromatinin intersitital ve telomerik bölgede daha az gözlenip çoğunlukla sentromerik bölgede lokalize olduğunu ve aynı zamanda cinsiyet kromozomlarının da perisentromerik bölge veya kromozom boyunca farklı yapısal heterokromatin dağılımı gösterdiği ortaya konmuştur (Bione et al., 2005a; 2005b).

Coleoptera takımı içerisindeki Tenebrionidae ailesi, yaklaşık 25.000 türü ile (Dajoz, 1984; Crowson, 1981; Lawrence & Newton, 1995) takımın kalabalık ve oldukça çeşitlilik gösteren ailesi olarak ele alınmaktadır. Böcek faunası içerisinde baskın olarak Tenebrionidlerin bulunduğu kabul edilmektedir (Steiner, 2008). Tenebrionidae isminin kökü, Latince karanlığı seven *tenebrio* kelimesinden oluşmakta ve Türkçe'de un kurtları, esmer böcekler, kara böcekler anlamlarına da gelmektedir (Lodos, 1991). Tenebrionid türleri tüm dünyada yayılış göstermesine rağmen

grubun genellikle yarı kurak ve kurak ekosistemlerde daha fazla tür çeşitliliği sergilediği görülmekte (Palmer and Petitpierre et al., 1997) ve vertikal dağılışlarının deniz kıyısından yüksek dağlara kadar uzandığı bilinmektedir (Lillig, 1999).

Tenebrionidae ailesine dahil olan 25.000 türün içerisinde yalnızca 200 türün diploid kromozom numaraları, morfolojileri ve cinsiyet belirleme mekanizmaları tanımlanmıştır (Juan and Petitpierre, 1991; Holecova, 2008). Tenebrionidlerin genellikle metasentrik, küçük ya da orta boyutlu (1,5 - 5 μm) kromozomlara sahip olduğu gözlenmiştir (Juan and Petitpierre, 1990). İncelenen türlerin %60'ından fazlası Coleoptera-Adephaga için atasal olarak kabul edilen 9+Xyp karyotipik formülüne sahip olmaları nedeniyle sitogenetik açıdan oldukça korunmuş oldukları kabul edilmektedir (Smith and Virkki, 1978). Ancak Tenebrionidlerin kromozomal özellikleri ile ilgili verilere dayanarak türler arasında, özellikle kromozom sayısı ve kromozomal cinsiyet belirleme mekanizmalarında oldukça varyasyona sahip oldukları da söylenebilmektedir. Bu aile ile yapılan sitogenetik çalışmalar incelendiğinde, en düşük kromozom sayısı $2n=14$ ile *Diaperis boleti* ve *Scotobius miliaris* türlerinde ve en yüksek sayı $2n=38$ ile bazı *Blaps* türlerinde belirlenmiştir (Juan and Petitpierre, 1991).

Tenebrionidlerin sahip olduğu cinsiyet kromozomları içerisinde yaygın olarak görülen cinsiyet kromozomu 'Xyp' sistemidir. Bu Xyp sistemi bugüne kadar çalışılmış olan türlerin yaklaşık olarak %67'sinde gözlenirken, geriye kalan türlerde neoXY, Xyr gibi kiyazmatik sistemler ya da nadiren XO sistemi tanımlanmıştır (Smith and Virkki, 1978; Juan and Petitpierre, 1991). Tenebrionidlerde X kromozomunun akrosentrik ile metasentrik arasında değişkenlik gösterdiği, y kromozomunun genellikle küçük ve nokta şekilli olduğu ortaya konmuştur (Yadav and Pillai, 1974a,b,1976; Holecova, Rozek and Lachowska, 2008). Tenebrionid karyotiplerinde gözlenen çeşitlilik; sentrik füzyon ve

fizyonlar, X kromozomunun boyutundaki artış ya da azalış, y kromozomunun boyutundaki azalış, y kromozomunun eliminasyonu ya da kayboluşu ve poliploidi'den kaynaklanabileceği düşünülmektedir (Smith, 1952; Yadav and Pillai, 1976; Smith and Virkki, 1978; Juan and Petitpierre, 1990; Palmer and Petitpierre, 1997).

Tenebrionidae ailesine dahil türlerin kromozomlarındaki yapısal heterokromatinin perisentromerik bölgede bulunduğu gösterilmiştir. *Palembus dermestoides* ve *Misolampus goudoti* türlerinin kromozomlarında interstiyal veya telomerik bölgede ek heterokromatik bölgelerin (ek C bantlar) varlığı ortaya konmuştur (Almeida et al., 2000). Tenebrionidler ile yapılan NOR çalışmalarının hala oldukça az olduğu görülmektedir (Juan et al., 1993; Vitturi et al., 1996). *Tenebrio molitor* türünde gerçekleştirilen çalışmalarda, X ve Y kromozomları arasında NOR bölgesi tespit edilmiş ve bu bölgenin kromozomların ayrılması sırasında X kromozomu ile birlikte hareket ettiği gözlenmiştir (Wolf, 1997).

Tez çalışma materyali olan *Cephalostenus* cinsi sistematik olarak incelendiğinde, Tenebrionidae ailesinin Scaurini tribine dahil olduğu görülmektedir. Scaurini tribi, eski ve yeni dünyada yaşayan türlerin büyük çoğunluğunu kapsadığı düşünülmektedir (Frank and Blaisdell, 2015). *Cephalostenus* cinsi genellikle Akdeniz ve Ege bölgesi olmak üzere Türkiye'nin farklı bölgelerinde dağılışı göstermekte ve 4 tür ile temsil edilmektedir. Bu türler, *Cephalostenus alziari* Grimm, 1991, *Cephalostenus elegans* Brulle, 1832, *Cephalostenus demaisoni* Reitter, 1903c ve *Cephalostenus orbicollis* Menetries, 1836a olarak verilmiştir (Löbl and Smetana, 2008). Bu türlerden yalnızca *Cephalostenus elegans* ve *Cephalostenus orbicollis* (Tezcan, Karasavuran and Pehlivan 2004) türleri Türkiye'den bildirilen türlerdir. Literatüre bakıldığında, *Cephalostenus* cinsine ait türler hakkında sınırlı

sayıda bilgi bulunurken, bu cinse ait herhangi bir sitogenetik çalışma bulunmamaktadır. Scaurini tribine ait çalışmalar incelendiğinde ise, bu tribin bir başka üyesi olan *Scaurus* cinsinin sitogenetik olarak çalışılmış olduğu görülmektedir. Bu cinse ait türler, *Scaurus punctatus*, *Scaurus striatus* ve *Scaurus vicinus* olup karyotip ve diploid kromozom sayıları sırasıyla $2n=20M 9+NeoXY$, $2n=24M 11+NeoXY$ ve $2n=24M 11+NeoXY$ olarak verilmiştir (Juan and Petitpierre, 1991).

Bu tez çalışmasında, *Cephalostens elegans* türünün mitotik ve mayotik kromozomlarının ışık mikroskobu ile detaylı olarak incelenmesi, kromozom morfolojisi ve sayısının belirlenerek karyotip analizinin yapılması ve erkek/dişi bireylerde cinsiyet kromozomlarının varlığı ya da yokluğunun gösterilmesi ve aynı zamanda elde edilen sonuçlarla Tenebrionid kromozomları ile ilgili literatürde var olan verilere katkı sağlanması amaçlanmıştır.

2. MATERYAL VE METOT

Tez çalışması kapsamında gerçekleştirilen sitogenetik çalışmalar için *Cephalostenus elegans* türüne ait örnekler 2014-2015 yılları arasında Çalış Plajı (Fethiye) ve Aspat (Bodrum)'ta toplanmış ve laboratuvara canlı olarak getirilmiştir. Toplanan örneklerin lokaliteleri Şekil 1'de, birey sayısı ve cinsiyet bilgileri Çizelge 1'de görülmektedir.



Şekil 2.1 : *Cephalostenus elegans* örneklerinin toplandığı alanlar

Çizelge 2.1 Arazi çalışmalarında toplanan *Cephalostenus elegans* cinsine ait birey sayısı ve cinsiyet bilgileri

Çalışma Yapılan Yerler	
Aspat/Bodrum 2015	ÇalışPlajı/Fethiye 2014-2015
11 ♂	6 ♂
6 ♀	5 ♀

Arazi çalışmaları sırasında örnekler taş altlarından toplanmış ve kapakların hava alacak şekilde delinmiş kaplara alınmıştır. Laboratuvara canlı olarak getirilen bireyler, tür teşhisleri yapıldıktan sonra toplandıkları yer ve tarihlere göre etiketlenmiştir. Çalışmada kullanılan bireyler diseksiyon işlemleri gerçekleştirilene kadar laboratuvar ortamında beslenmiş ve canlı kalmaları sağlanmıştır.

Diseksiyon işlemleri Olympus model stereo mikroskop altında bireylerin testis ve ovaryumları çıkartılarak gerçekleştirilmiştir. Gonadlar bölünmekte olan çok sayıda hücre içerdiğinden sitogenetik çalışmalarda kullanılmaktadır. Bireylerden elde edilen gonadlar hem mitoz hem de mayoz bölünmenin farklı safhalarındaki kromozom özelliklerini ve davranışlarını detaylı olarak inceleyebilmek için sitogenetik preparat hazırlanmasında kullanılmıştır.

2.1. Kromozom Preparasyonu

Bireyler stereo mikroskop altında PBS (Phosphate Buffered Saline, Oxoid) kullanılarak disekte edilmiştir. Elde edilen gonadlar 0,065 g KCl ve %0,01 kolçisin (Sigma) içeren hipotonik solüsyon içerisinde 5-7 dakika muamele edilmiştir. Ardından taze olarak hazırlanmış 3:1 etanol:asetik asit fiksatifisi içerisinde en az 30 dakika fikse edilmiştir.

Hazırlanan preparatlarda mikroyayma (Chandley et al., 1994), damlatma ve havada kurutma (Murakami and Imai, 1974) yöntemleri uygulanmıştır.

2.1.1 Mikro-yayma Tekniği

Mikro yayma tekniğinde, gonadlar temiz bir lam üzerine alınmış ve üzerlerine % 60 asetik asit eklenerek iğne yardımıyla küçük parçalara ayrılmıştır. 45°C'lik ısıtma tablası üzerinde birkaç saniye bekledikten sonra hücre süspansiyonu lam üzerine 1 mm kadar yayılmış ve birkaç saniye beklenmiştir. Bu işlem lam üzerindeki

hücre süspansiyonu kuruyana kadar tekrarlanmıştır (Traut, 1976). Boyama işlemi gerçekleştirilmeden önce preparatlar % 70 - % 80 - % 96 - % 100 alkol serilerinden geçirilmiş ve toz almayacak şekilde birkaç gün kurumaya bırakılmıştır.

2.1.2 Damlatma ve Havada Kurutma Tekniği

Damlatma ve havada kurutma tekniğinde, gonadlar 3:1 etanol:asetik asit fiksatifinin içerisinde 5 dakikayı geçmeyecek şekilde küçük parçalara ayrılmıştır. Ardından ince bir şırınga yardımıyla hücre süspansiyonu çekilerek lamların üzerine 8-10 cm uzaklık olacak şekilde damlatma yapılmıştır. Üzerlerine damlatma yapılan lamlar, öncelikle 1:2:3 etanol:asetik asit:su içeren nem odasında 2-3 saat, ardından glacial etanol içeren nem odasında 20 dakika bekletilmiştir. Nem odacığında çıkarılan lamlar 45°'lik açıyla duracak şekilde üzerlerine 1:2 etanol:asetik asit solüsyonu damlatılarak yıkanmış ve ardından kurumaya bırakılmıştır (Macgregor, H. & Varley.J. 1988).

Bir sonraki preparasyonda kullanılacak olan gonadlar 3:1 etanol:asetik asit fiksatifi bulunan küçük tüpler içerisinde -4°C'de saklanmıştır.

2.2. Kromozom Boyama ve Bantlama

Rutin kromozom özelliklerini belirleyebilmek için %4 Giemsa (Karyomax) boyama, sentromerik bölgeleri belirleyebilmek amacıyla %5 baryum hidroksit uygulamasının ardından C-bantlama (Sumner 1972; Chandley et al. 1994) ve NOR bölgelerinin belirlenebilmesi için AgNOR boyama (Patkin and Sorokin, 198; Howell and Black, 1980) yöntemleri uygulanmıştır.

2.2.1. Rutin Giemsa (MacGregor and Varley, 1986)

Preparasyonun ardından 2-3 gün kurumaya bırakılan preparatlar %4'lük Giemsa ile 20 dakika boyanmıştır. Boyanan preparatlar şale içerisinde saf su ile birkaç defa çalkalanarak kurumaya bırakılmıştır. Boyama sırasında oluşan metalik tabakanın preparatların yüzeyine bulaşmamasına dikkat edilmiştir. Bu işlemin ardından preparatlar xylene içerisinde 1 dakika bekletildikten sonra DPX (EMS) ile kapatılmıştır.

2.2.2. C-bantlama (Sumner 1972; Chandley 1994)

C-bantlama prosedüründe aşağıda verilen basamaklar sırasıyla uygulanmıştır.

1. 0.2 N HCl içerisinde oda sıcaklığında 1 saat inkübasyon ve ardından saf su ile yıkama.
2. Önceden 50°C'ye ısıtılmış baryum hidroksit solüsyonu içerisinde 6-8 dakika inkübasyon ve ardından saf su ile yıkama. Bu basamakta baryum karbonat kalıntılarının kalmamasına özellikle dikkat edilmiştir.
3. 2XSSC (0,3M NaCl+0,03M Na₃citrateX2H₂O) içerisinde 1 saat inkübasyon.
4. %2 Giemsa ile 90 dakika boyama.
5. Xylene'de 1 dakika bekletmenin ardından DPX (EMS) ile kapatma.

2.2.3. AgNOR Boyama (Patkin and Sorokin, 1983; Howell and Black, 1980)

NOR bölgelerinin belirlenebilmesi amacıyla preparatlarda gümüş boyama uygulanmıştır. AgNOR boyama öncesinde preparatlar birkaç gün kurumaya bırakılmıştır. Daha sonra preparatlara taze olarak hazırlanıp süzme işleminden geçirilen

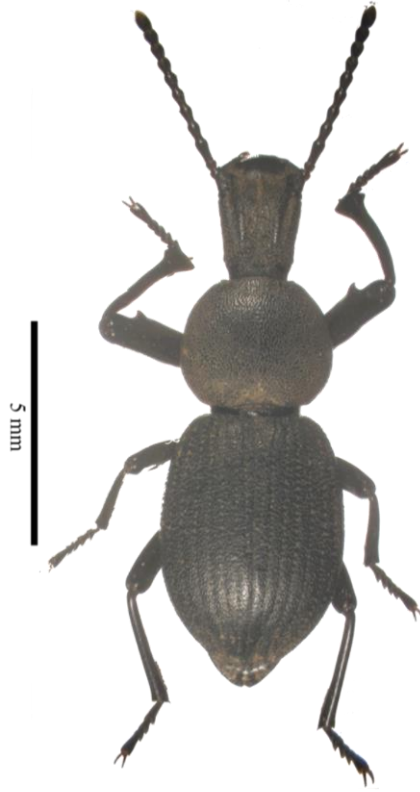
%50'lik gümüş nitrat ve %2'lik jelatin-formik asit karışımı damlatılmıştır. Ardından preparatlar 60°C inkübatör içerisindeki nem odasında renkleri sarıdan kahverengiye geçişi dikkate alınarak 5-7 dakika inkübe edilmiştir.

2.2.4. Karyotip Analizi

Zeis Axioscope mikroskop ile 100X büyütmede mitotik ve mayotik safhalardaki kromozomların fotoğraf çekimleri gerçekleştirilmiştir. Elde edilen fotoğraflar ile kromozomlar bilgisayar ortamında ImageJ (Rasband, 1997-2014) görüntü analiz programıyla tek tek işaretlenip sayılmıştır. İncelenen örneklerin kromozom morfolojileri Levan'a (1964) göre belirlenmiş, idiogram ImageJ programında CHIAS IV (Chromosome Image Analyses System) ile oluşturulmuştur. Karyotip Levan ve CHIAS IV'ten elde edilen veriler kullanılarak elde edilmiştir.

3. BULGULAR

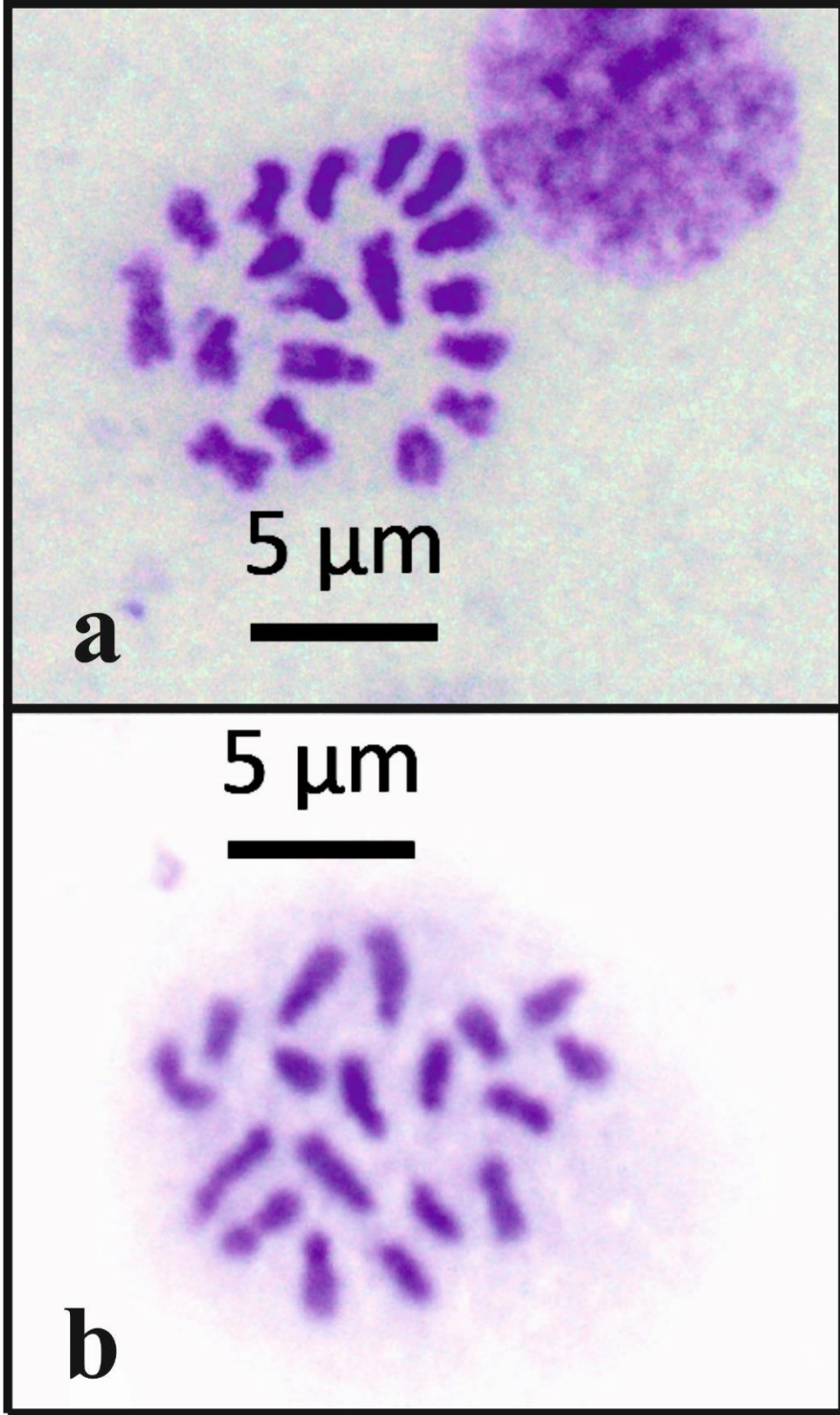
Bu tez çalışmasında Türkiye'nin farklı bölgelerinde dağılışı gösteren *Cephalostenus elegans* türünün kromozom özellikleri ilk kez araştırılmıştır. Türün kromozom sayısı ve morfolojisi belirlenip karyotipi hazırlanmış, cinsiyet belirleme sistemi ortaya konmuştur. Örneklerin diseksiyonu sonrasında elde edilen gonadlardan kromozom preparatları hazırlanmış ve bu preparatlarda rutin Giemsa boyaması uygulanmıştır. C-bantlama Sumner (1972) ve Chandley (1994)'den modifiye edilmiş ve NOR bölgelerini belirlemek amacıyla $AgNO_3$ boyama Patkin and Sorokin (1983) ve Howell and Black (1980) yöntemlerine göre uygulanmıştır.



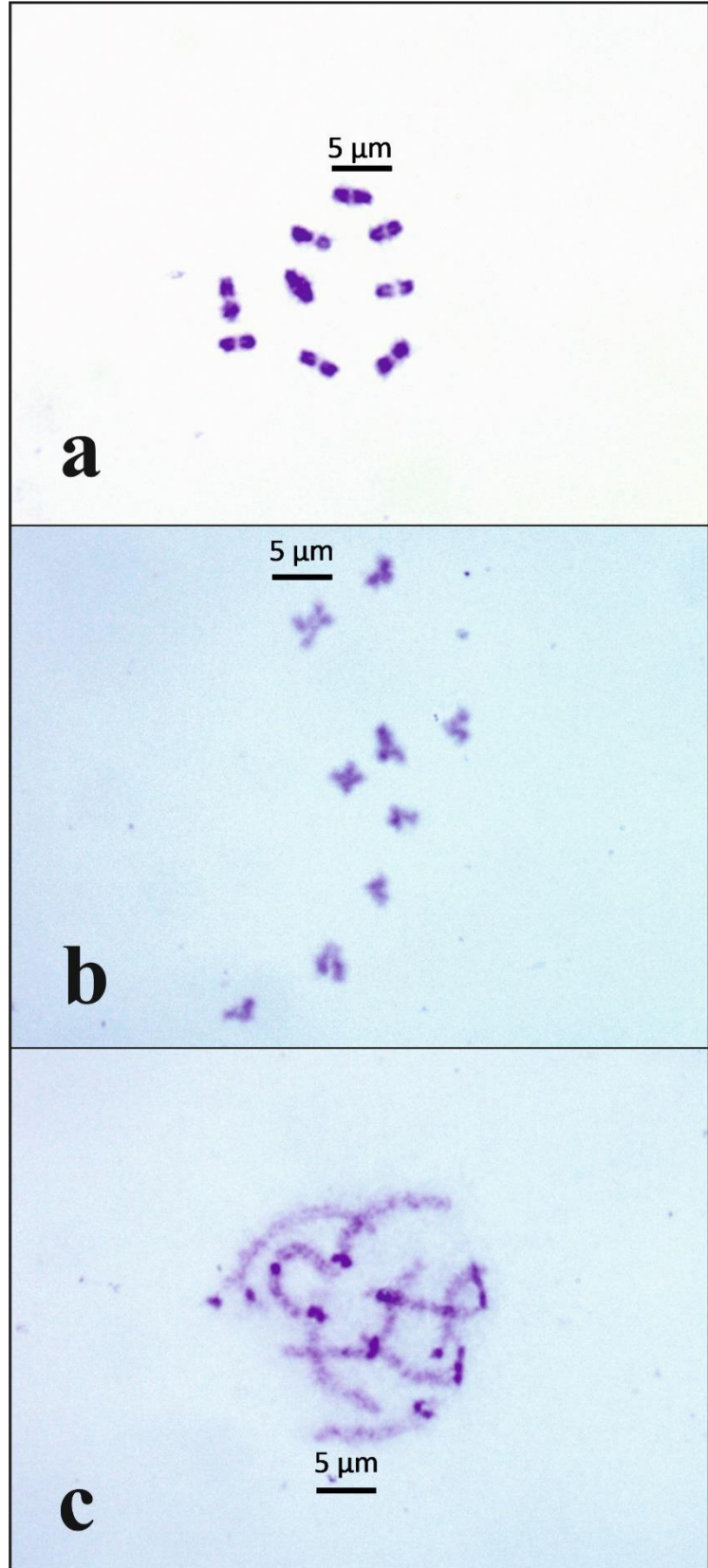
Şekil 3.1 *Cephalostenus elegans* Brulle, 1832

3.1 Kromozom Sayısı ve Morfolojisi

Cephalostenus elegans türüne ait Aspat (Bodrum) ve Çalış Plajı (Fethiye) olmak üzere iki farklı lokaliteden toplanan 17 erkek ve 11 dişi bireyle gerçekleştirilen çalışmalar sonucunda, kromozom sayısının belirlenmesi amacıyla mitotik metafaz kromozomları ile ergin bireylerin gonadlarından mayotik profaz-I'de pakiten bivalentleri, metafaz-I ve metafaz-II setleri incelenmiş ve türün kromozom sayısı $2n=18$ olarak belirlenmiştir. İki farklı lokaliteden çalışılan bireylerin kromozom sayı ve morfolojilerinde bir farklılık bulunmadığı için veriler birleştirilerek sunulmaktadır. İncelenen örneklerin mitotik metafaz ve mayoz evresinin farklı safhalarına ait bulgular Şekil 3.2 ve 3.3'de verilmiştir.

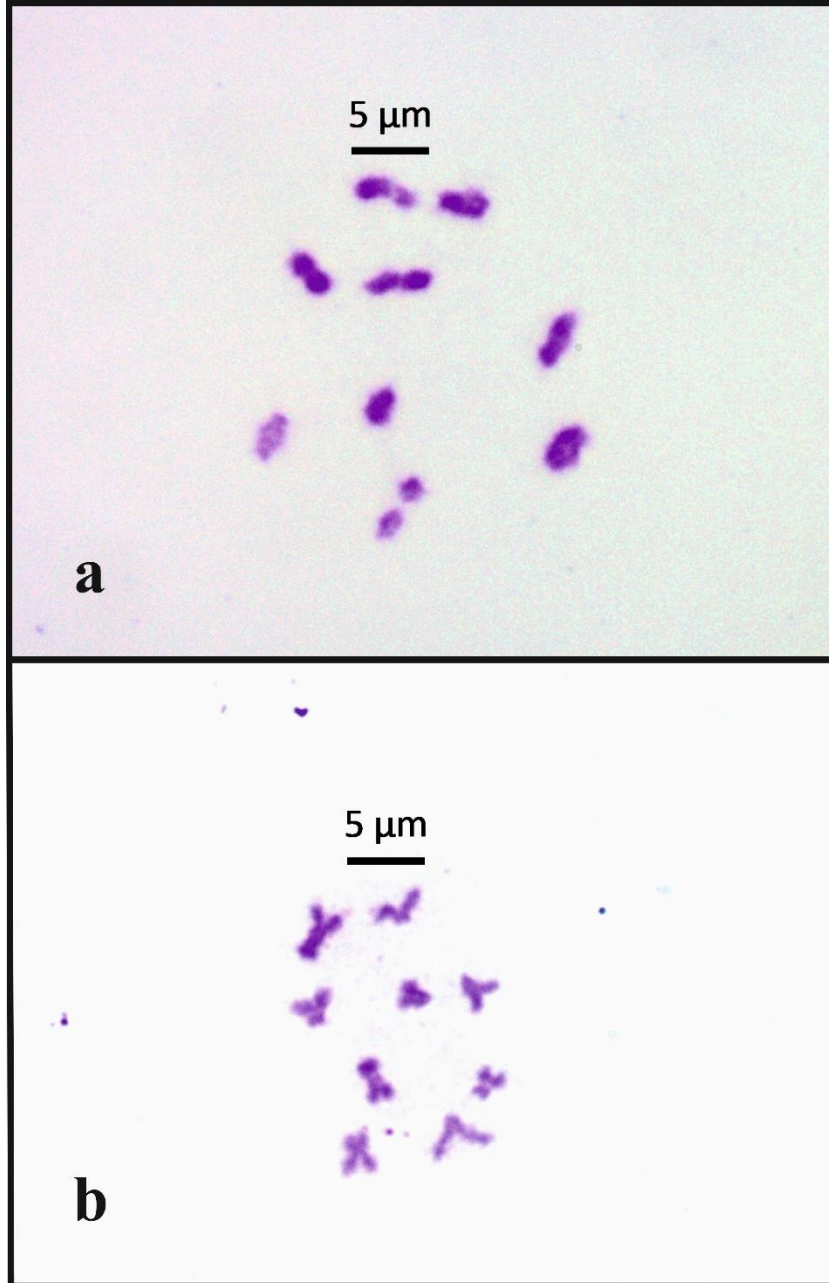


Şekil 3.2 *Cephalostenus elegans* türünün (♂) spermatogonial yayma preparasyonlarında mitotik metafaz kromozomları (a,b)



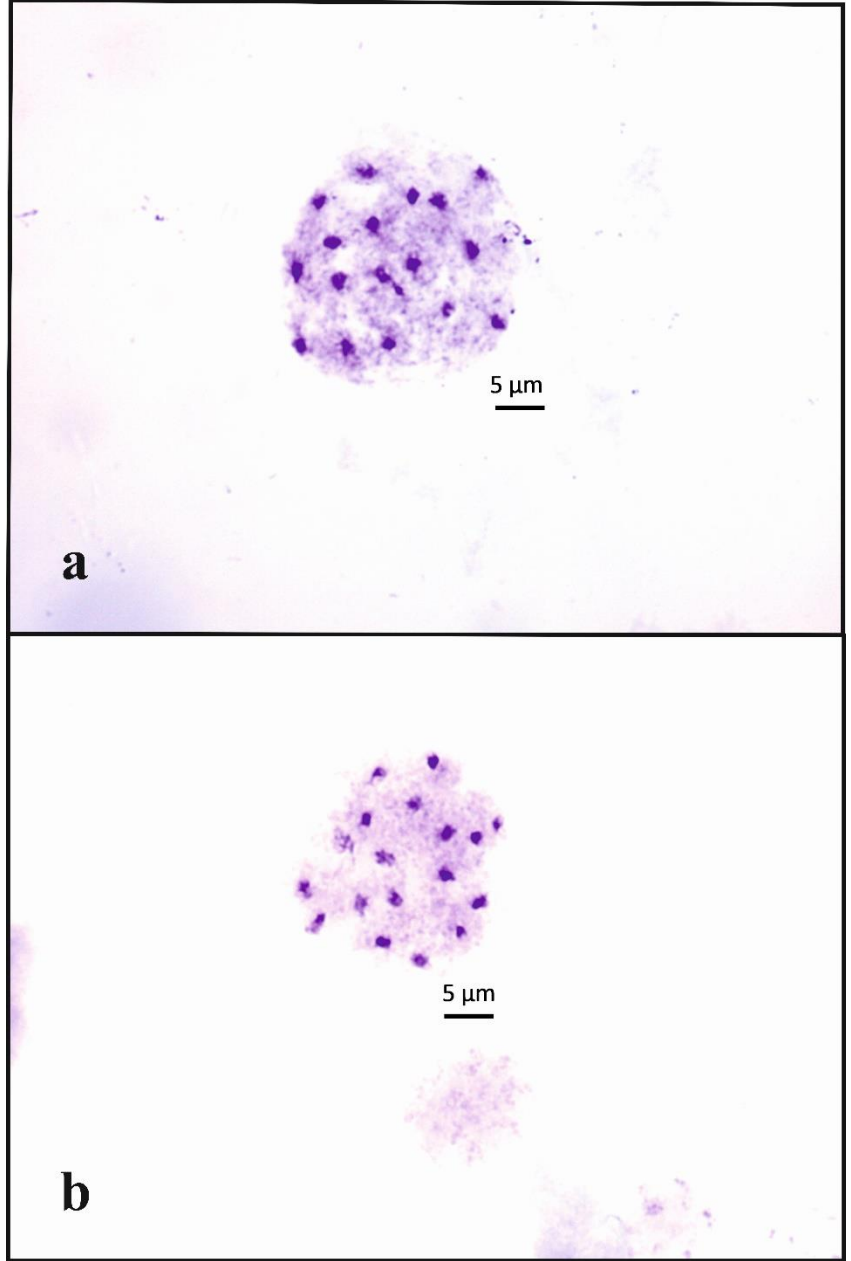
Şekil 3.3 *Cephalostenus elegans* türünün (♂) spermatogonial damlatma preparasyonlarında a)metafaz-I b)metafaz-II c) pakiten kromozomları

Cephalostenus elegans türünün erkek bireylerinden elde edilen preparatlarda metafaz-I ve metafaz-II safhaları incelenmiş ve kromozomların ortalama 3-4 μm boyutunda olduğu tespit edilmiştir. Türün mayotik kromozomlarında haploid sayı $n=9$ olarak belirlenmiştir.



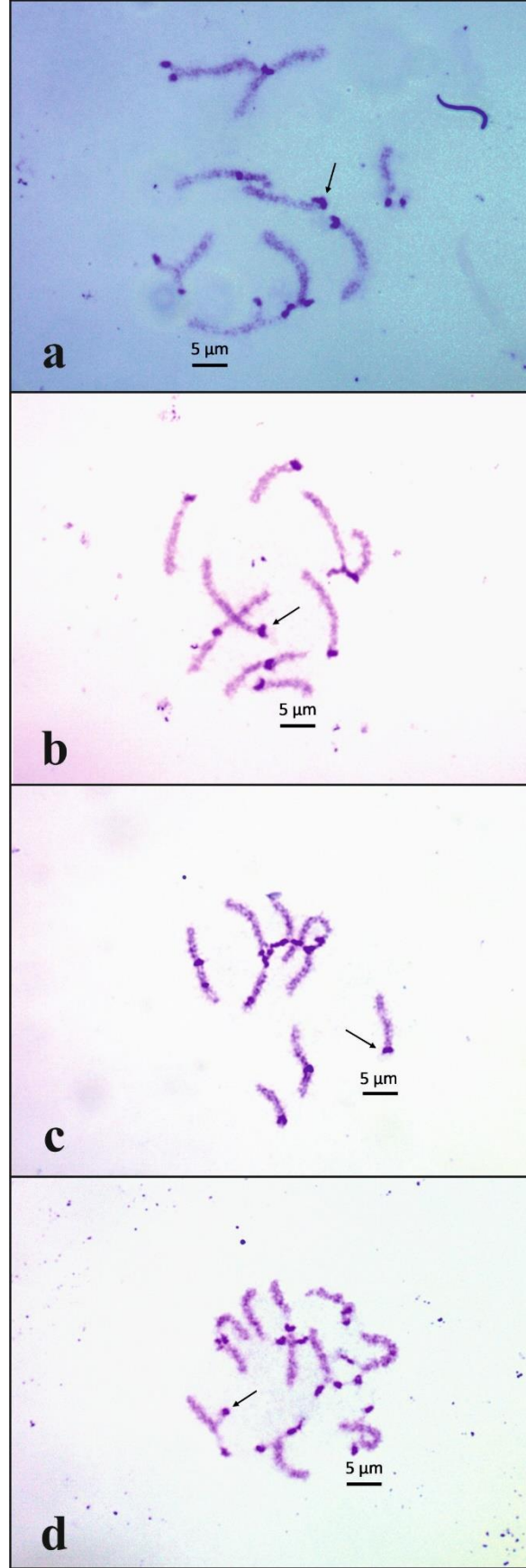
Şekil 3.4 *Cephalostenus elegans* türünün (σ) spermatogonial damlatma preparasyonlarında a) metafaz-I ve b) metafaz-II kromozomları

Cephalostenus elegans türünün dişi bireylerinde oogenez metafaz-I safhaları incelenmiş ve kromozom sayısı $2n=18$ olarak belirlenmiştir.



Şekil 3.5 *Cephalostenus elegans* türünün (♀) oogonial yayma preparasyonlarında metafaz-I kromozomları (a,b)

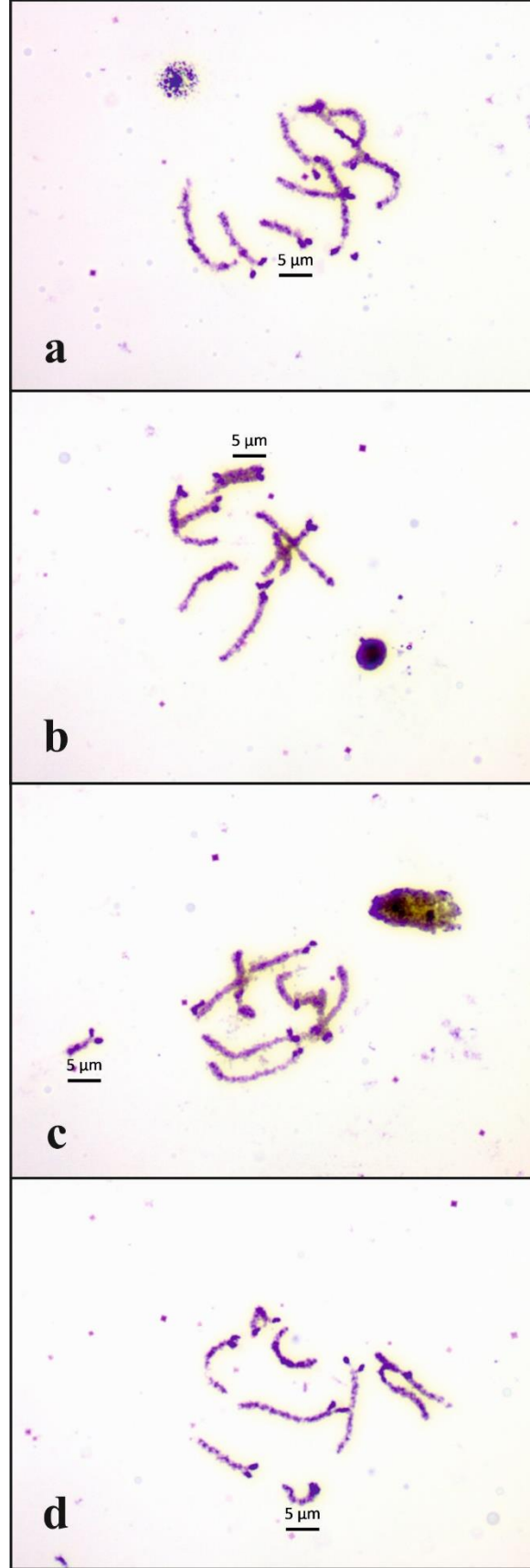
Rutin Giemsa boyaması uygulanan kromozomların özellikle telomer bölgelerinde heterokromatin yoğunlaşmaları gözlenmiştir.



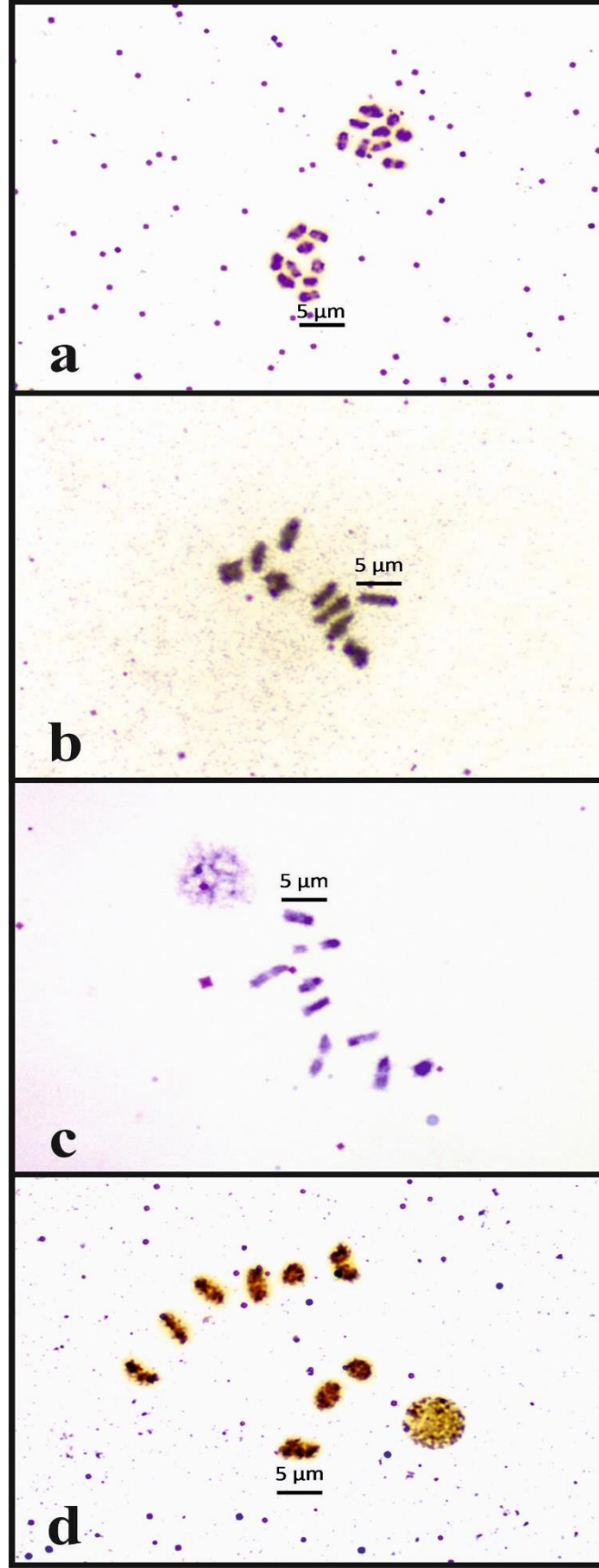
Şekil 3.6 *Cephalostenus elegans* türünün (♂) spermatogonial damlatma preparatlarında pakiten kromozomları (a,b,c,d) ok: heterokromatik bölgeler

$Ba(OH)_2$ uygulamasının ardından C-bantlama yapılan preparatlarda homojen bir boyanma gerçekleşmiştir. C-bantlama yönteminde preparatların $Ba(OH)_2$ ile olan muamele süresi ve konsantrasyonu, uygulamanın verimliliği açısından oldukça önem taşımaktadır. Yöntemin uygulandığı preparatların her birinde $Ba(OH)_2$ konsantrasyonu ve muamele süreleri değiştirilmiştir. Gerçekleştirilen denemeler sonucunda kromozomlarda belirgin bir C-bantlama deseni elde edilememiştir.

$AgNO_3$ boyama uygulaması yapılan her bir preparatın gümüş nitrattla olan muamele süreleri değiştirilmiş ve preparatların sarıdan kahverengiye geçişi dikkate alınarak en uygun sürenin 3-4 dakika olduğu saptanmıştır. Uygulama sırasında preparatların yüzeyinde jelatin kalıntısı kalmamasına özen gösterilmiştir. Preparatlarda mayoz safhasının pakiten ve metafaz-I evreleri incelenmiştir. Gerçekleştirilen incelemeler sonucunda olası bir NOR bölgesine rastlanmamıştır.

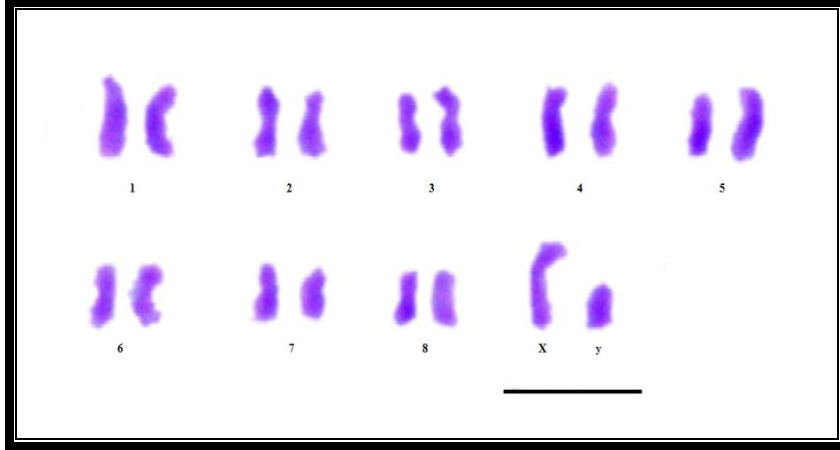


Şekil 3.7 *Cephalostenus elegans* türünün (♂) spermatogonial damlatma preparasyonlarında pakiten kromozomları (a,b,c,d)

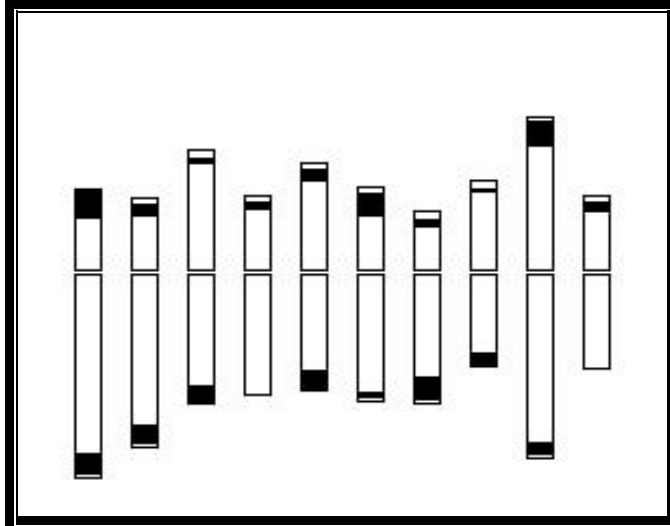


Şekil 3.8 *Cephalostenus elegans* türünün (♂) spermatogonial damlatma preparasyonlarında metafaz-I kromozomları (a,b,c,d)

Türün karyotipi Şekil 3.6'da idiogramı da Şekil 3.7'de gösterilmiştir. Otozomal kromozomların 4 çifti (3.-5.-6.-8.) metasentrik, 4 çifti submetasentrik (1.-2.-4.-7.) kromozom morfolojisine sahiptir. X ve y kromozomlarının metasentrik yapıya sahip olduğu görülmüştür.



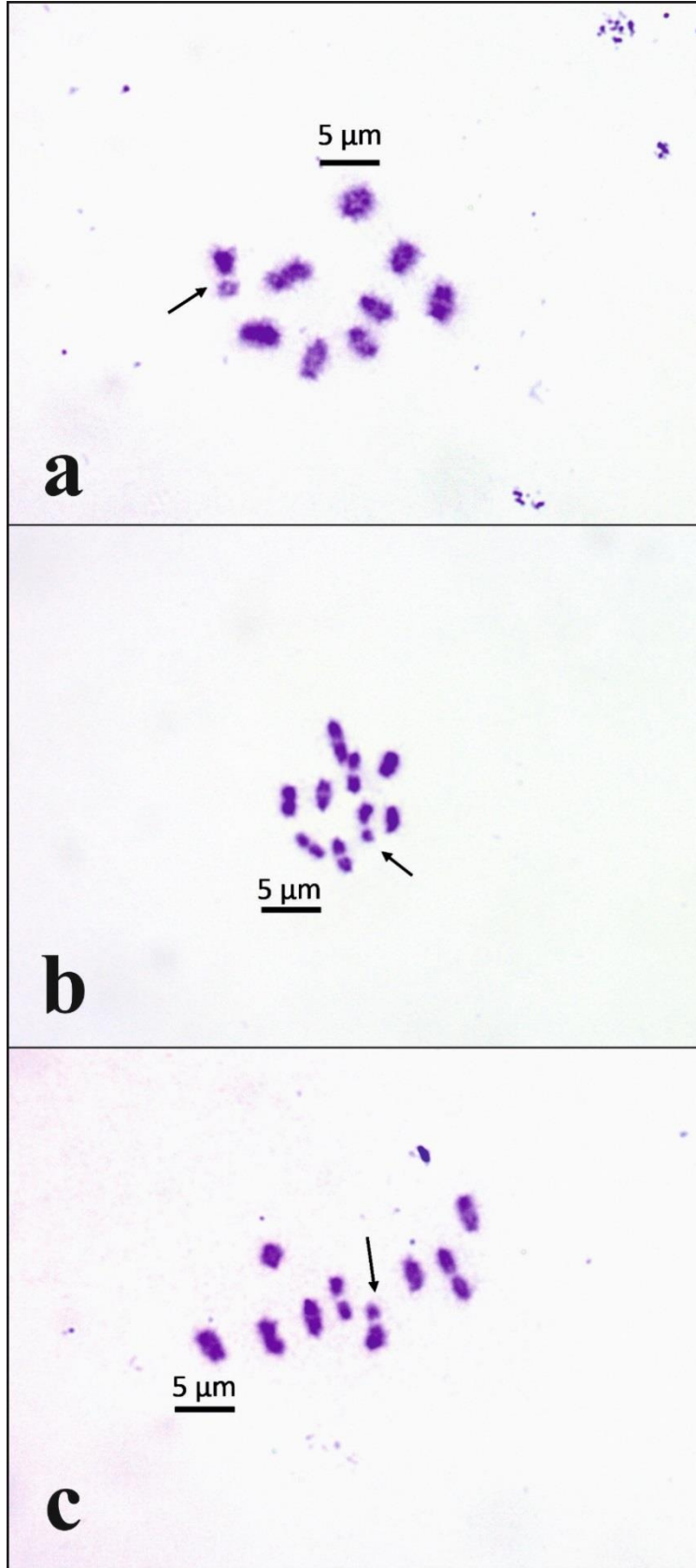
Şekil 3.9 *Cephalostenus elegans* türünün (♂) karyotipi. Bar: 5 µm



Şekil 3.10 *Cephalostenus elegans* türünün (♂) idiogramı

3.2 Cinsiyet Kromozomları

Cephalostenus elegans türünün mayoz evresindeki metafaz-I kromozomları incelenmiştir. Gerçekleştirilen incelemeler sonucunda, türün Xy cinsiyet belirleme sistemine sahip olduğu belirlenmiştir. Yapılan ölçümlerle, X kromozomunun karyotipteki en büyük kromozom olduğu, y kromozomunun ise X kromozomuna ve diğer otozomlara kıyasla biraz daha küçük olduğu tespit edilmiştir.



Şekil 3.11 *Cephalostenus elegans* türünün (♂) spermatogonial damlatma preparasyonlarında metafaz-I kromozomları (a,b,c) ok:X ve y kromozomları

4. TARTIŞMA ve SONUÇ

Günümüzdeki sitogenetik çalışmaların büyük bir kısmını sahip oldukları tür sayısı ve gösterdikleri morfolojik çeşitlilik nedeniyle böcek grupları oluşturmaktadır (Holecova et al. 2008, Juan and Petitpierre, 1991; <http://www.genomesize.com>; <http://www.uta.edu/karyodb/>). Aynı zamanda böcek gruplarıyla yapılan sistematik çalışmaların yanında moleküler yöntemlerin de dahil olduğu birçok çalışma yapılmaktadır. Morfometrik ve moleküler sistematik çalışmalara ilave olarak, son yıllarda böcek grupları ile yapılan sitogenetik çalışmalar türler arasındaki kromozomal farklılaşmaları ortaya koymuştur. *Laena reitteri* (Holecova et al., 2008), *Lagria villosa* (Goll et al., 2012), *Zophobas aff. Confusus* ve *Nyctobates gigas* (Souza et al., 2012) türleri ile yapılan çalışmalarda, türlerin kromozom sayı ve morfolojileri belirlenmiş, cinsiyet belirleme sistemindeki farklılaşmalar ortaya konmuştur.

Tenebrionidae türleri ile gerçekleştirilen sitogenetik çalışmalar grubun tür sayısına oranla oldukça sınırlıdır. Yaklaşık 25.000 tür ile temsil edilen Tenebrionidae familyasının içerisinde yalnızca 250 türün diploid kromozom sayıları, morfolojileri ve kromozomal cinsiyet belirleme mekanizmaları tanımlanmıştır (Gokhman and Kuznetsova, 2006). Bu durum aynı şekilde Tenebrionidae ailesinin dahil olduğu Coleoptera takımı içinde geçerlidir. Yaklaşık tür sayısı 357.899 olan Kınkanatlılar içerisinde sadece 3.000 tür ile sitogenetik olarak çalışılmıştır (Petitpierre, 1996).

Tenebrionidlerin sitogenetik çalışmalar için model organizma olmalarının nedeni, tüm dünyada yayılış göstermesi ve taksonomik olarak tanımlanmış tür sayısının da oldukça fazla olmasıdır. Bu durum göz önüne alındığında, daha fazla sayıda Tenebrionid türünün sitogenetik olarak çalışılması literatüre önemli derecede katkı sağlarken aynı zamanda bu çalışmalardan elde edilecek olan

kromozomal özellikler ile ilgili veriler grubun genom evriminin anlaşılmasına da ışık tutacaktır.

Böcek gruplarında gerçekleştirilen kromozom analizleri, gonadlar, embriyonik hücreler, tükürük bezleri, serebral ganglionlar ve bağırsak epiteli gibi çeşitli dokulardan elde edilen preparatlar ile gerçekleştirilmektedir (Smith and Virkki, 1978). Bu canlılarda somatik hücrelerden ideal kromozom görüntüleri elde etmek dev kromozomların gözleendiği Diptera ve Collembola takımları haricinde kolay olmamaktadır (Koçak, 2011). Gonadlar çok fazla sayıda bölünen hücreye sahip olması nedeniyle mitoz ve mayoz kromozomlarının farklı safhalarının incelenmesine olanak sağlamakta ve bu avantajından ötürü böcek grupları ile gerçekleştirilen sitogenetik çalışmalarda çalışma materyali olarak gonadlar kullanılmaktadır (Juan and Petitpierre, 1990; Wolf et al., 1996; Palmer and Petitpierre, 1997). Gonad hücreleri ile gerçekleştirilen çalışmalar incelendiğinde, en iyi sonuçların erkek gonad hücrelerinden elde edildiği görülmektedir. Farklı organizmaların dokularında morfolojik ve yaşam döngülerindeki farklılıklar nedeniyle sitogenetik çalışmalar sırasında preparasyon ve boyama aşamalarında farklılıklar görülebilmektedir.

Tür sayısı ve morfolojik çeşitliliğe oranla böcek grupları ile yapılan sitogenetik çalışmaların az olması, örnekleme ve preparasyon aşamasında karşılaşılan güçlükler ile açıklanabilmektedir. Bununla birlikte türlerin sahip olduğu kromozomların küçük boyutta olmaları da sitogenetik çalışmalar açısından engel teşkil etmektedir. Böcek gruplarının sahip olduğu kromozomlar küçük ya da orta metasentrik olup boyutları 1,5 µm ile 5 µm arasında değişkenlik göstermektedir (Juan and Petitpierre, 1990; Petitpierre, 1996). Bu nedenle böcek grupları ile gerçekleştirilen çalışmalarda çeşitli preparasyon teknikleri geliştirilmiştir. Geliştirilen teknikler sayesinde, çalışılan türlerin mitotik ve mayotik kromozomları elde edilebilmektedir. Preparasyon aşamasından sonra kromozomların daha belirgin hale getirilmesi, karyotip analizlerinin yapılabilmesi açısından oldukça önemlidir. Bu

aşamada çeşitli boyama ve bantlama teknikleri geliştirilmiştir. Bu tekniklerin temeli, DNA segmentlerinin farklı boyanma özelliği göstermelerine dayanmaktadır. Özellikle küçük boyutlu kromozomlar üzerinde uygulanan bantlama tekniklerinde bir takım zorluklarla karşılaşmaktadır. Ancak son zamanlarda geliştirilen çeşitli işaretleme ve bantlama teknikleri ile bu zorluklar kısmen ortadan kaldırılmıştır. Floresan *in situ* hibridizasyon (FISH) yöntemi özellikle ribozomal DNA dizilerinin fiziksel haritalanması çalışmalarında ön plana çıkmaktadır (Vitturi et al., 1999; Colomba et al., 2000a; 2000b; Moura, 2002). 18SrDNA, Coleopter genomu içerisinde türe özgü olarak X kromozomu üzerinde yer almakta ve gümüş boyama ile koyu boyanan NOR (Nükleolar düzenleyici bölgeler) bölgeleri olarak ayırt edilmektedir (Virkki, 1983; Virkki et al., 1984). Bu konuda *Isocoprins inhiata* ve *Diabroctis mimas* türlerine ilave olarak *Geniates borelli*, *Macraspis festiva*, *Pelidnota pallidipennis*, *Lygirus ebenus* ve *Strategus surinamensis hirtus* olmak üzere Scarabaeidae ailesine dahil farklı türlerde moleküler belirteçler kullanılarak sitogenetik çalışmalar gerçekleştirilmiştir (Bione et al., 2005a; 2005b). Buna rağmen moleküler belirteç ve bantlama tekniklerinin kullanıldığı çalışmalar Coleoptera takımı içerisindeki Tenebrionidae ailesine dahil olan model organizmalar ile sınırlı kalmıştır (Goodman et al., 2012). Geliştirilen teknikler ve sitogenetik çalışmalara moleküler yöntemlerin de dahil edilmesi ile birlikte türler arasındaki kromozomal farklılıklar ortaya konabilmektedir.

Bu tez çalışmasında uygulanan yöntemler arasında mikro-yayma ve damlatma-havada kurutma yöntemleri yer almaktadır. Erkek bireylerde damlatma ve havada kurutma yöntemi tercih edilirken, dişi bireylerde mikro-yayma yöntemi uygulanmıştır. Dişi bireylerin gonad hücreleri erkek gonad hücrelerine oranla daha az sayıda hücre içerdiğinden dişi bireylerle yapılan preparasyonlarda iyi bir sonuç elde etmek kolay olmamaktadır. Bu nedenle mikro-yayma yönteminde çok sayıda hücrenin patlayıp kromozomların daha iyi yayılmasından dolayı dişi bireylerde mikro-yayma yöntemi tercih edilmiştir. Mikro-

yayma yöntemi mitotik metafaz kromozomlarını elde etmek açısından daha iyi sonuç vermektedir. Mikro-yayma yönteminin damlatma ve havada kurutma yöntemine göre bir dezavantajı bulunmaktadır. Bu dezavantaj, mikro-yayma yönteminde daha fazla hücrenin patlaması ve doku parçalarının yeterince ayrıştırılmaması nedeniyle artefaktların oluşabilmesidir. *Pimelia* türleriyle yapılan sitogenetik çalışmada, erkek bireylerin gonadlarından elde edilen preparatlarda mikro-yayma yöntemi uygulanmıştır. Preparatlarda mayoz evresinin farklı safhaları görüntülenerek metafaz-I evresindeki kromozomlarda C-bantlama yöntemi uygulanmıştır. Uygulamanın ardından kromozomlardaki heterokromatik bölgelerin dağılımı belirlenmiş ve cinsiyet belirleme sistemindeki kromozomal farklılaşmalar ortaya konmuştur (Pons et al., 2004). Scarabaeidae ailesine dahil olan *Pentodon bidens punctatum* türüyle yapılan sitogenetik çalışmalarda, erkek bireylerin gonad hücreleri ve dişi bireylerin barsak epitel hücreleri kullanılarak damlatma-havada kurutma yönteminin uygulandığı sitogenetik preparatlar hazırlanmıştır. Kromozomların metafaz-I ve metafaz-II safhalarının incelendiği preparatlarda CMA₃ ve DAPI boyama ile FISH yöntemi uygulanmıştır. Gerçekleştirilen uygulamaların ardından kromozomlar üzerindeki 18s rDNA bölgeleri, otozom ve cinsiyet kromozomlarındaki farklılaşmalar tespit edilmiştir (Vitturi et al., 2003). Farklı türlerle gerçekleştirilen çalışmalarda uygulanan mikro-yayma ve damlatma-havada kurutma yöntemlerinden elde edilen sonuçlar, bu iki yöntemin sitogenetik çalışmalardaki önemini ortaya koymuştur. Elde edilen veriler, türlerin arasındaki kromozomal farklılaşmaların ve kromozom evrimin anlaşılmasında oldukça önem taşımaktadır.

Bu çalışmada *Cephalostenus elegans* türünün karyotipi belirlenmiş ve kromozom sayısı $2n=18$ (8 + Xy) olarak tespit edilmiştir. Türün sahip olduğu kromozom sayısı Coleoptera takımı içerisinde atasal olarak kabul edilen $2n=20$ kromozom sayısından (Agarwal, 1962) farklı olduğu görülmektedir. Metafaz plaklarında gerçekleştirilen incelemelerle türün dahil olduğu grupta yaygın olarak

görülen Xy_p sisteminden (Almeida et al, 2000) farklı olarak Xy cinsiyet belirleme sistemine sahip olduğu ortaya konmuştur. Karyotip analizi sonucunda, X kromozomunun karyotipin en büyük kromozomu ve y kromozomunun en küçük kromozom olduğu tespit edilmiştir (Bkz. Şekil 3.9). *Cephalostenus elegans* ile aynı tribe dahil olan *Scaurus* cinsine ait *Scaurus punctatus*, *Scaurus striatus* ve *Scaurus vicinus* türlerinde karyotip ve diploid kromozom sayıları sırasıyla $2n=20M\ 9+NeoXY$, $2n=24M\ 11+NeoXY$ ve $2n=24M\ 11+NeoXY$ olarak verilmiştir (Juan and Petitpierre, 1991). *Cephalostenus elegans* türü ve *Scaurus* cinsine ait türlerin kromozom sayısı ve cinsiyet belirleme sistemi karşılaştırıldığında birbirinden farklı olduğu görülmektedir. Veriler *Cephalostenus elegans* türünün kromozom evriminde ve cinsiyet belirleme sisteminde çeşitli mekanizmaların etkili olduğunu düşündürmektedir. Bu mekanizmalar kromozomal ya da yapısal yeniden düzenlenmeler sonucu meydana gelebilmektedir. Bu nedenle, *Cephalostenus elegans* kromozomlarının detaylı olarak incelenmesi türün kromozom evrimine önemli derecede katkı sağlarken aynı zamanda türün sahip olduğu cinsiyet belirleme sisteminin anlaşılmasına da ışık tutacaktır.

Cephalostenus elegans cinsinin kromozomlarında sentromerik ve yapısal heterokromatin dağılımını belirlemek amacıyla $Ba(OH)_2$ uygulamasının ardından C-bantlama yöntemi gerçekleştirilmiştir. Rutin Giemsa boyama ile türün kromozomlarında özellikle telomer bölgeleri olmak üzere heterokromatin bölgeleri gözlenmişse de $Ba(OH)_2$ uygulamasının ardından gerçekleştirilen C-bantlamada homojen bir boyanma gerçekleşmiştir. C-bantlama yönteminde preparatların $Ba(OH)_2$ ile muamele süresi oldukça önem taşımaktadır. Gerçekleştirilen çalışmalarda farklı $Ba(OH)_2$ konsantrasyonları ve muamele süreleri uygulanmış ve belirgin bir C-bantlama deseni elde edilememiştir. Belirgin bir C-bantlama deseninin elde edilemesi, türün küçük boyutta kromozomlara sahip olmasıyla bağlantılı olabildiği gibi sitogenetik çalışmalarda uygulanan yöntemlerle de bağlantılı olabilmektedir. Aynı zamanda $Ba(OH)_2$ uygulaması sonrasında

özellikle mikro-yayma yöntemi ile elde edilen preparatların yüzeyi $Ba(OH)_2$ kalıntıları tutabilmekte ve bu durum kromozomların görüntülenmesini güçleştirmektedir. Türün kromozomlarında $Ba(OH)_2$ uygulamasının ardından gerçekleştirilecek C-bantlama yönteminde konsantrasyon ve uygulama sürelerinin türe göre yeniden optimize edilmesi, türün kromozomlarındaki heterokromatin miktarının belirlenmesini ve daha detaylı karyotip analizlerinin yapılmasını sağlayacaktır. Tenebrionid türleri ile yapılan sitogenetik çalışmalarda y kromozomu hariç diğer tüm kromozomlarda büyük, belirgin heterokromatik bölgeler bulunmaktadır (Petitpierre, et al., 1995; Pons, 2004). Bireysel kromozomlarda heterokromatin miktarı %20 ile %50 arasında değişebilmektedir (Petitpierre, et al., 1995; Pons, 2004; Goll, 2013). *Cephalostenus elegans* türünün kromozomlarındaki heterokromatik bölgeler göz önüne alındığında (Bkz. Şekil 3.10) kromozom boyutlarının heterokromatik bölgelerin gözlenmesine engel olduğu söylenebilir. Bu nedenle, *Cephalostenus elegans* türünde heterokromatik bölgelerin dağılımının belirlenmesi için sitogenetik çalışmalarda yüksek çözünürlük sağlayan moleküler sitogenetik yöntemlerin uygulanması önem teşkil etmektedir.

Cephalostenus elegans türünün dahil olduğu Tenebrionidae ailesi ile yapılan sitogenetik çalışmalarda AgNOR boyama uygulamalarının oldukça az olduğu görülmektedir (Juan et al., 1993; Vitturi et al., 1996). Tenebrionid türleri ile gerçekleştirilen sitogenetik çalışmalar cinsiyet kromozomlarının NOR bölgeleri ile ilişkili olduğunu göstermiş ve bu bölgenin kromozomların ayrılması sırasında X kromozomu ile birlikte hareket ettiği gözlenmiştir (Wolf, 1997). *Tentyria* türlerinde yapılan sitogenetik çalışmada cinsiyet kromozomlarının NOR bölgeleri ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (Kaya, 2015). *Cephalostenus elegans* türünün cinsiyet kromozomları incelenmiş (Bkz. Şekil 3.11) ve mayoz evresinin farklı safhalarında uygulanan AgNOR boyama yöntemi sonucunda olası bir NOR bölgesine rastlanmamıştır (Bkz. Şekil 3.7-3.8).

CHIAS IV (Kato et al., 1994) analizleri sonucunda, aynı kromozomun buldukları safhaya bağılı olarak kromozom kol indekslerinde bazı farklılıklar gözlenmiştir. Bu nedenle çalışma kapsamında *Cephalostenus elegans* türünün karyotipini belirlemek amacıyla, gerçekleştirilen tüm ölçümlerde kromozom yoğunlaşmasının maksimum seviyede olduğu orta metafaz safhasındaki kromozom setleri kullanılmıştır (Bkz. Şekil 3.8). *Cephalostenus elegans* türünün kromozomları morfolojik olarak incelendiğinde, otozomların metasentrik ve submetasentrik arasında değişkenlik gösterdiği, X ve y kromozomlarının metasentrik yapıya sahip olduğu görülmektedir (Bkz. Şekil 3.9). Türün metafaz-I ve metafaz-II evrelerindeki kromozomların boyutunun yaklaşık 3-4 µm olduğu gözlenmiştir (Bkz. Şekil 3.4).

Cephalostenus elegans türü ile gerçekleştirilen sitogenetik analizler, telomer bölgelerindeki heterokromatin yoğunlaşmasını ortaya koymuştur (Bkz. Şekil 3.6-3.10). Telomer bölgelerinde gözlenen heterokromatinin varlığı, türün kromozomlarında yeniden düzenlenmelerin meydana gelmiş olabileceğini düşündürmektedir. *Cephalostenus elegans* türü ile gerçekleştirilen sitogenetik çalışmalarda, moleküler belirteç ve bantlama tekniklerinin uygulanması türün kromozomlarında gözlenen yeniden düzenlemelerin belirlenebilmesine önemli derecede katkı sağlayacaktır. Türün dahil olduğu Tenebrionidae ailesine ait bireylerin kromozomları arasındaki kromozomal varyasyonlar evrimsel açıdan tartışılmaktadır (Juan and Petitpierre, 1991). Kromozomlarda meydana gelen kromozomal ve yapısal yeniden düzenlenmeler, karyotip çeşitliliğinde ve tür içi/türler arası kromozom evriminin araştırılmasında oldukça önem teşkil etmektedir. Bu nedenle, Tenebrionid türleri gerçekleştirilecek kromozom evrimi çalışmaları açısından model organizmalar olmaktadır.

Bu çalışmada Türkiye'nin iki farklı lokalitesinde dağılışı gösteren *Cephalostenus elegans* türünün kromozom morfolojisi, sayısı

ve cinsiyet belirleme mekanizması ilk defa belirlenmiştir. *Cephalostenus* cinsine ait *Cephalostenus alziari* Grimm, 1991, *Cephalostenus elegans* Brulle, 1832, *Cephalostenus demaisoni* Reitter, 1903c ve *Cephalostenus orbicollis* Menetries, 1836a olmak üzere 4 farklı tür bulunmasına rağmen (Löbl and Smetana, 2008), bu türler ile ilgili herhangi bir sitogenetik çalışma bulunmamaktadır. *Cephalostenus* cinsine ait türlerin kromozomal özellikleri ile ilgili verilerin yokluğu grubun genom evriminde etkili olabilecek mekanizmaların değerlendirilmesini zorlaştırmaktadır. Bu çalışma Türkiye *Cephalostenus* türlerinin kromozom özellikleri, genom ve cinsiyet evriminin belirlenmesine yönelik öncül bir çalışma olacaktır.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Almeida, M. C., Zacaro, A. A. and Cella D. M.,** 2000, Cytogenetic analysis of *Epicauta atomaria* (Meloidae) and *Palembus dermestoides* (Tenebrionidae) with Xy sex determination system using standard staining, C-bands, NOR and synaptonemal complex microspreading techniques, *Hereditas*, 133:147-157pp.
- Béthoux, O.,** 2009, The Earliest Beetle Identified, *Journal of Paleontology*, 83(6),931–937pp.
- Bione, E., Camparoto, M. L. and Simões, Z. L. P.,** 2005a, A study of the constitutive heterochromatin and nucleolus organizer regions of *Isocoprinihiata* and *Diabroctis mimas* (Coleoptera: Scarabaeidae, Scarabaeinae) using C-banding, AgNO₃ staining and FISH techniques, *Genetics and Molecular Biology*, 28, 1, 111-116pp.
- Bione, E., Moura, R. C., Carvalho, R. and Souza, M. J.,** 2005b, Karyotype, C- and fluorescence banding pattern, NOR location and FISH study of five Scarabaeidae (Coleoptera) species, *Gen. Mol. Biol*, 26:376-381pp.
- Blaisdell, F. E. Sr.,** 2015, Studies in the Tenebrionid Tribe Scaurini: A Monographic Revision of the Eulabes (Coleoptera) Transactions of the American Entomological Society (1890), Vol. 58, No. 1 (Mar., 1932), pp. 35-101pp.
- Cabral-de-Mello, D. C., Oliveira, S. G., Ramos, I. C. and Moura, R. C.,** 2008, Karyotype differentiation patterns in species of the subfamily Scarabaeinae (Scarabaeidae, Coleoptera), *Micron*, 39:1243–1250pp.
- Cabral-de-Mello D. C., and Martins C.,** 2010, Breaking down the genome organization and karyotype differentiation through the epifluorescence microscope lens: insects and fish as models, *Microscopy: Science, Technology, Applications and Education*, A. Méndez-Vilas and J. Díaz (Eds.), 658-669pp.
- Cabral-de-Mello, D. C., Moura R. C. and Souza M. J.,** 2010, Amplification of repetitive DNA and origin of a rare chromosomal sex bivalent in *Deltochilum* (*Calhyboma*) *verruciferum* (Coleoptera, Scarabaeidae), *Genetica*, 138:191–195pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Cabral-de-Mello D. C., Moura, R.C., Carvalho, R. And Souza, M. J.,** 2010, Cytogenetic analysis of two related *Deltochilum* (Coleoptera, Scarabaeidae) species: Diploid number reduction, extensive heterochromatin addition and differentiation, *Micron*, 41:112–117pp.
- Caterino, M. S., Shull, V. L., Hammond, P. M. and Vogler, A. P.,** 2002, Basal relationship of Coleoptera inferred from 18S rDNA sequences, *Zoologica Scripta*, 31:41-49pp.
- Chandley, A. C., Speed, R. M. and Ma, K.,** 1994, Meiotic Chromosome Preparation. Chromosome Analysis Protocols. Ed: J. R. Gosden, Methods in Molecular Biology, Vol 29:27-40pp.
- Colomba, M. S., Vitturi, R. and Zunino, M.,** 2000a, Karyotype analysis, banding, and fluorescent *in situ* hybridization in the scarab beetle *Gymnopleurus sturmi* McLeay (Coleoptera: Scarabaeoidea: Scarabaeidae). *J Hered* 91:260-264.
- Colomba, M. S., Vitturi, R. and Zunino, M.** 2000b, Chromosome analysis and rDNA FISH in the stag beetle *Dorcus parallelipedus* L. (Coleoptera: Scarabaeoidea: Lucanidae). *Hereditas* 133:249-253.
- Crowson, R. A.,** 1981 *The Biology of the Coleoptera*, Academic Press, London, 802.
- Dajoz, R.,** 1984, Les Coléoptères Ténébrionides des deserts, Cahiers des Naturalistes Bull., 40, 25-67pp.
- Elçi, Ş. ve Sancak, C.,** 2013, Sitogenetikte Araştırma Yöntemleri ve Gözlemler, Ankara Üniversitesi Yayınları, 386, Ankara, 227s.
- Galetti Jr. P. M.,** 1998, Chromosome diversity in Neotropical fishes: NOR studies. *Ital J Zool* 65:53-56pp.
- Gillot, C.,** 1993, Entomology Tenebrionidae I-IV in Junk, *Coleopterorum Catalogus*, S. Schenkling, 15, Berlin, Pp:166.
- Goodman, C. L., Stanley, D., Ringbauer Jr. J. A., Beeman, R. W., Silver, K. and Park, Y.,** 2012, A cell line derived from the red flour beetle *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae), *In Vitro Cell. Dev. Biol.*, 8:426-433pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Goll, L. G., Artoni, R. F., Vicari, M. R., Nogaroto, V., Petitpierre, E. and Almeida, M. C.,** 2013, Cytogenetic Analysis of *Lagrio Villosa* (Coleoptera, Tenebrionidae): Emphasis on the Mechanism of Association of the X_y Sex Chromosomes, *Cytogenet Genome Res*, 139:29-35pp.
- Goodpasture, C. and Bloom, S. E.,**1975, Visualization of nucleolar organizer regions in mammalian chromosomes using silver staining,*Chromosoma*,53: 37-50pp.
- Gokhman, V. E. and Kuznetsova, V. G.,**2006, Comparative insect karyology, Current state and applications, *Entomological Review*, 86(3):352-368pp.
- Gullan, P., J. and Cranston, P., S.,** 2012, Böcekler: Entomolojinin Ana Hatları, (Çev. E. A. Gök), Nobel Yayıncılık Eğitim ve Danışmanlık Tic. Ltd. Şti., 422, Ankara, 564s.
- Hamilton, M. J., Hong, G. and Wichman, H. A.,** 1992, Intragenomic Movement and Concerted Evolution of satellite DNA in *Peromyscus*: Evidence from *in situ* Hybridization, *Cytogenet. Cell Genet.*, 60:40pp.
- Holevoca, M., Rozek, M. and Lachowska, D.,** 2008, The First Cytogenetic Report on *Laena reitteri* Weise, 1877 (Coleoptera, Tenebrionidae, Lagriinae) with Notes on Karyotypes of Darkling Beetles, *Folia Biologica*, 56(3-4), 213-217pp.
- Holecová, M., Maryńska-Nadachowska, A. and Rozek, M.,** 2013, Cytogenetic Analysis of *Otiorhynchus bisulcatus* (Fabricius,1781) and *O.(Zadrehus) atroapterus* (De Geer, 1775) (Coleoptera, Curculionidae, Entiminae) Using C Bands, NORs, and DAPI/CMA3 Staining. *Folia biologica (Krakow)*, 61,177–183pp.
- Howell, W. M. and Black, D. A.,** 1980, Controlled silver staining of nucleolus organizer regions with a protective colloidal developer: a 1-step method *Experientia*, 36:1014-1015pp.
- Juan, C. and Petitpierre, E.,** 1990, Karyological differences among Tenebrionidae (Coleoptera). *Genetica*, 80: 101-108pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Juan, C. and Petitpierre, E.,** 1991, Chromosome numbers and sex-determining systems in Tenebrionidae (Coleoptera), M. Zunino, X. Bellés, M. Blas, Eds., *Advances in Coleopterology*, 167-176pp.
- Juan, C. and Petitpierre, E.,** 1991, Evolution of genome size in darkling beetles, *Genome*, 34, 169-173pp.
- Juan, C., Pons, J. and Petitpierre, E.,** 1993, Localization of tandemly repeated DNA sequences in beetle chromosomes by fluorescent *in situ* hybridization. *Chromosome Res.* 1: 167-174pp.
- Kato, S., Ohmido, N., Hara, M., Kataoka, R. and Fukui, K.,** 2009, Image analysis of small plant chromosomes by using an improved system, CHIAS IV, *Chromosome Science*, 12:43-50pp.
- Kaya, R.,** 2015, Bazı *Tentyria* Latreille, 1802 (Coleoptera:Tenebrionidae) Türlerinin Kromozom Sayılarının Belirlenmesi ve Karyotip Analizi, Ege Üniversitesi, İZMİR, 37s.
- Koçak, Y.,**2011, İç Anadolu Bölgesi'nde yayılış gösteren bazı Cicindelidae (Coleoptera) türleri üzerinde taksonomik ve sitogenetik çalışma, Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 114s.
- Lachowska, D., Rozek, M. and Holecova, M.,**2005, C-banding karyotype and NORs analyse in eight species of Barypeithes Duval from Central Europe (Coleoptera, Curculionidae, Entiminae), *Caryologia*, Vol. 58, no. 3: 274-280pp.
- Lawrence, J. F. and Newton, A. F.,** 1995, Families and Subfamilies of Coleoptera (with Selected Genera, Notes, References and Data on Family-Group Names), Biology, Phylogeny, and Classification of Coleoptera, ed: J. Pakaluk, S.A. Oelipiński, eds., Muzeum & Instytut Zoologii, PAN, Warszawa, 559-1092pp.
- Lillig, M.,**1999, Die Schwarzkäfer Teil I: Die Unterfamilien Pimeliinae, Tenebrioninae und Diaperinae (Coleoptera: Tenebrionidae), *Abhandlungen der Delattinia*, 25:33-56pp.
- Lin, C. C., Sasi, R., Fan, Y. S. and Chen, Z. Q.,** 1991, New Evidence for Tandem Chromosomes Fusions in the Karyotypic Evolution of Asian Muntjacs, *Chromosoma*, 101:19-24pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Lira-Neto, A. C., Silva, G. M., Moura, R.C. and Souza M.J.,** 2012, Cytogenetics of the darkling beetles *Zophobas aff. confusus* and *Nyctobates gigas* (Coleoptera, Tenebrionidae), *Genet. Mol. Res.* 11(3):2432-2440.
- Lodos, N.,**1991, Türkiye Entomolojisi I, Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ofset Basımevi, Bornova-İzmir, 130-142s.
- Lodos, N.,**1995, Türkiye Entomolojisi IV, Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, 250s.
- Löbl, I. and Smetana, A.,** 2008, Catalogue of Palaearctic Coleoptera, Vol 5 Tenebrionoidea, Apollo Books, 297p.
- Macgregor, H. and Varley, J.,**1988, Working with Animal Chromosomes, Second Edition, A Wiley-Interscience Publication.
- Maryanska-Nadachowska A., Warachalowska-Sliwa E. and Kuznetsova, V.G.,** 1992, *The NOR and nucleolus in the spermatogenesis of Psyllalni (L.) (Homoptera) analysed by silver staining. Foliabiol.* (Krako' w), 40: 41-45pp.
- Mesa, A. and Fontanetti, C.,**1985, The chromosomes of a primitive species of beetle: *Ytuzeus* (Coleoptera, Myxophaga, Torridincolidae), *Acad. Nat. Phil.* 137:102–105pp.
- Moura, R. C.,** 2002, Análise citogenética comparativa em coleópteros da família Scarabaeidae e caracterização de polimorfismo autossômico em *Euchroma gigantea* – Buprestidae (Polyphaga). Doctor's Thesis, UFPE, Brazil, 124 pp.
- Moyzis, R. K., Buckingham, J. M. and Cram, L. S.,** 1988, A Highly Conserved Repetitive DNA Sequence (TTAGG)_n Present at Telomeres of Human Chromosomes, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 85:6622-6626pp.
- Murakami, A. and Imai, H.,**1974, Cytological evidence for horocentric chromosomes of the silkworms, *Bombyx mori* and *B. mandarina*, (*Bombycidae, Lepidoptera*), *Chromosoma*, 47:167-178pp.
- Oliveira, S. G., Moura, R. C., Silva, A. E. B. and Souza, M. J.,**2010, Cytogenetic analysis of two *Coprophanæus* species (Scarabaeidae) revealing wide constitutive heterochromatin variability and the largest number of 45S rDNA sites among Coleoptera, *Micron*, 41:960–965pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Palmer, M. and Petitpierre, E.,**1997, New chromosomal findings in Tenebrionidae from the Western Mediterranean, *Caryologia*, 50(2), 117-123.
- Patkin, E. L. and Sorokin, A. V.,**1984, Nucleolus-Organizing Regions Chromosomes in Early Embryogenesis of Laboratory Mice, Plenum Publishing Corporation, 1142.
- Petitpierre, E.,**1983,Karyometric differences among nine species of the genus *Chrysolina* Mots. (Coleoptera, Chrysomelidae), *Can. J. Genet. Cytol.* 25:33-39pp.
- Petitpierre, E.,**1987, Why Beetles Have Strikingly Different Rates of Chromosomal Evolution?, *Elytron*, 1:25-32pp.
- Petitpierre, E., Juan, C., Pons, J., Plohl, M. and Ugarkovic, D.,** 1995, Satellite DNA and constitutive heterochromatin in tenebrionid beetles. In: Brandham, Kew Chromosomo Conference IV, London: Kew, 351-362pp.
- Petitpierre, E.,**1996, Molecular Cytogenetics and Taxonomy of Insects, with Particular Reference to the Coleoptera. *International Journal of Insect Morphology and Embryology*, 25:115–133pp.
- Pons, J.,** 2004, Evolution of diploid chromosome number, sex-determining systems, and heterochromatin in Western Mediterranean and Canarian species of the genus *Pimelia* (Coleoptera: Tenebrionidae), *J Zool Syst Evol Res* 42:81-85 pp.
- Popescu, P., Hayes, H. and Dutrillaux, B.,** 2000, Techniques in Animal Cytogenetics, INRA, Paris, 229p.
- Rasband, W. S.,**1997-2014, ImageJ, U. S. National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA, <http://imagej.nih.gov/ij>.
- Shaw, D. D.,**1968, Selection for supernumary y-chromosomes in *Dermestes maculatus* (Coleoptera:Dermestidae), *Can. J. Genet. Cytol.* 10:54-62pp.
- Silva, A. A., Braga, L. S., Guedes, R. N. C. and Tavares, M. G.,** 2015,Cytogenetic analyses using C-banding and DAPI/CMA3 staining of four populations of the maize weevil *Sitophilus zeamais* Motschulsky, 1855 (Coleoptera, Curculionidae),*Comp, Cytogen.* 9(1):89–102pp.
- Smith, S. G.,**1950, The Cyto-taxonomy of Coleoptera, *Can. Entom.*, 82:58-68pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Smith, S. G.**, 1952, The cytology of Some Tenebrionid Beetles (Coleoptera). *J. Morph.* 91: 325-364pp.
- Smith, S. G.**, 1953, Chromosome Numbers of Coleoptera, *Heredity*, 7:31-48pp.
- Smith, S. G. and Virkki, N.**, 1978, Coleoptera, Animal Cytogenetics 3; Insecta 5., ed: B. John, Borntraeger, Berlin, Pp: 336.
- Steiner, W. E.**, 2008, A Checklist of the Darkling Beetles (Insecta: Coleoptera: Tenebrionidae) of Maryland, with Notes on the Species Recorded from Plummers Island Through the 20th Century, Bulletin of the Biological Society of Washington, 15:133-140pp.
- Sumner, A. T.**, 2003, Chromosomes: organization and function, Blackwell Publishing, North Berwick, United Kingdom, 287p.
- Sumner, A. T.**, 1972, A simple technique for demonstrating centromeric heterochromatin. *Exp. Cell Res* 75:304-306pp.
- Tezcan, S., Karasavuran, Y., Pehlivan, E., Keskin, B. and Ferrer, J.**, 2004, Contributions to the Knowledge of the Tenebrionidae (Coleoptera) from Turkey Part II. Opatrinae, Tenebrioninae, Adeliinae, *Türk. Entomol.Derg.*, 28:163-180pp.
- Topaktaş, M. ve Rencüzoğulları, E.**, 2010, Sitogenetik, Nobel Yayınları, 99, Ankara, 176s.
- Trask, B.J.**, 1991, Fluorescent *in situ* Hybridization: Applications in Cytogenetics and Gene Mapping, *Trends Genet.*, 7:149-154pp.
- Traut, W.**, 1976, Pachytene mapping in the female silkworm, *Bombyx mori* L., *Chromosoma* 58:275-284pp.
- Wagner, R., P., Maguire, M., P. and Stallings, R., L.**, 1993, Chromosomes, a Synthesis, Wiley-Liss, 1993, New York, 523p.
- Wolf, K. W.**, 1997, The structure of the X_y sex chromosome complex in male meiosis of two beetles: *Tenebrio molitor* (Tenebrionidae) and *Chrysolina graminis* (Chrysomelidae), *Cell Mol. Life Sci.* 53:162-167pp.
- Virkki, N.**, 1983, Banding of *Oedionychna* (Coleoptera, Alticinae) chromosomes: C- and Ag-bands. *J. Agric. Univ. Puerto Rico* 67:221-225.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Virkki, N., Flores, M. and Escudero, J.,** 1984, Structure, orientation and segregation of the sex trivalent in *Pyrophorus luminosus* (Coleoptera, Elateridae). *Can J Genet Cytol* 26:326-330.
- Vitturi, R., Catalano, E., Sparacio, I. and Colomba, M. S., et al.,** 1996, Multiple-chromosome sex systems in the darkling beetles *Blaps gigas* and *Blaps gibba* (Coleoptera, Tenebrionidae), *Genetica* 97: 225-233pp.
- Vitturi, R., Colomba, M. S., Barbieri, R. and Zunino, M.,** 1999, Ribosomal DNA location in the scarab beetle *Thorectes intermedius* (Costa) (Coleoptera: Geotrupidae) using banding and fluorescent in-situ hybridization, *Chromosome Research*, 7:255-260pp.
- Vitturi, R., Colomba, M., Volpe, N., Lannino, A. and Zunino M.,** 2003, Evidence for male XO sex-chromosome system in *Pentodon bidens punctatum* (Coleoptera: Scarabaeoidea: Scarabaeidae) with X-linked 18s-28S rDNA clusters, *Genes Genet. Syst.*, 78:427-432pp.
- Yadav, J. S., and Pillai, R. K.,** 1974a, Chromosome number and sex determining mechanism in twenty eight species of Coleoptera, *C.I.S.* 16: 20-22pp.
- Yadav, J. S., and Pillai, R. K.,** 1974b, Karyological studies on Tenebrionidae (Coleoptera), *Zool. Anz., Jena*, 193: 323-331pp.
- Yadav, J. S. and Pillai, R. K.,** 1976, Evolution of Karyotype in Tenebrionidae (Coleoptera: Insecta), *Proc. Dobzh. Symp. Genet.* Pp. 280-290pp.

ÖZGEÇMİŞ

1989 yılında Bandırma'da doğan Beril GÜNDOĞAN; ilk öğrenimine Vecihi Bey İlköğretim okulunda başladı. Orta öğrenimini Bandırma Ortaokulu'nda, lise öğrenimini de Şehit Mehmet Gönenç Lisesi'nde tamamladıktan sonra, 2008 yılında kaydıldığı Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Zooloji Anabilim Dalı'ndan 2012 yılında mezun oldu. 2013 yılında Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı, Zooloji Bilim Dalı'ndabaşlamış olduğu Yüksek Lisans programı süresince; danışman hocaları ve çalışma arkadaşları ile birlikte çeşitli arazi çalışmalarına katılmış ve birlikte laboratuvar çalışmaları gerçekleştirmiştir. Bu dönemde bir süre öğretmenlik yapan Gündoğan, hayatındaki en büyük ideali olan akademisyenlik için çalışmalarına devam etmektedir.

Katıldığı Sempozyum ve Eğitimler

1. EBİLTET Yapay Doku ve Organ Sempozyumu: Artan Organ İhtiyacına Güncel Yaklaşımlar, Ege Üniversitesi, 27 Ekim 2009, İzmir.
2. Deney Hayvanı Kullanım Kursu, Ege Üniversitesi, 14-25 Mart 2011, İzmir.
3. II.Taksonomi Yaz Okulu: Güncel Yaklaşımlar ve Yöntemler, Ege Üniversitesi, 01-06 Temmuz 2013, İzmir.
4. III. Bölgesel Toksikoloji Sempozyumu: Toksikolojide Güncel Konular, Ege Üniversitesi, 12 Haziran 2014, İzmir.
5. III. Bölgesel Toksikoloji Sempozyumu: Kimyasalların Neden Olduğu Hastalıkların Gelişimi ve Tedavisinde Genetik Farklılıkların Önemi ve Analizi Kursu, Ege Üniversitesi, 12 Haziran 2014, İzmir.
6. 22. Ulusal Biyoloji Kongresi, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, 23-27 Haziran 2014, Eskişehir.
7. E-BİLTEM TÜBİTAK 2219 Doktora Sonrası Yurt Dışı Araştırma Bursu Bilgilendirmesi ve Proje Yazım Atölyesi, Ege Üniversitesi, Şubat 2015, İzmir.
8. E-BİLTEM TÜBİTAK-ARDEB Projelerinde Özgün Değer ve Yaygın Etki Hazırlama Atölyesi, Ege Üniversitesi, Şubat 2015, İzmir.