

Araştırma Makalesi

***Cortodera flavimana* (Waltl, 1838) ve *Chlorophorus varius* (Müller, 1766) (Coleoptera: Cerambycidae) Türlerinin İlk Kromozom Kayıtları**

Miyase ASLANTAŞ<sup>1</sup>, Atılay Yağmur OKUTANER<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Sosyoloji ABD, Sosyal Bilimler Enstitüsü, Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, BOLU/TÜRKİYE

<sup>2</sup>Antropoloji Bölümü, Fen Edebiyat Fakültesi, Ahi Evran Üniversitesi, KIRŞEHİR/TÜRKİYE

\*Sorumlu yazar: [atilay.okutaner@ahievran.edu.tr](mailto:atilay.okutaner@ahievran.edu.tr)

Geliş Tarihi: 14.02.2019

Düzeltilme Geliş Tarihi: 05.08.2019

Kabul Tarihi: 23.08.2019

**Özet**

Türlere ait kromozom verilerinin oluşturulması ile taksonomi ve evrim gibi bilimsel alanlara ciddi katkılar sunulmaktadır. Bu nedenle türlere ait sitogenetik kayıtların oluşturulması önemlidir. Böcekler üzerine yürütülen sitogenetik çalışmalar çok kısıtlıdır. Cerambycidae, Coleoptera'nın tür çeşitliliği bakımından önemli familyalarından biridir. Bu çalışma ile Cerambycidae familyasına ait *Cortodera flavimana* (Waltl, 1838) ve *Chlorophorus varius* (Müller, 1766) türleri çalışılmıştır. Analizler sonucunda *C. flavimana*'nın diploit kromozom sayısı  $2n=20$ , *C. varius*'un haploit kromozom sayısı  $n=9+X_p$  olarak gözlemlenmiştir.

**Anahtar kelimeler:** Coleoptera, Cerambycidae, kromozom, sitogenetik.

**The First Chromosome Records of Two Species: *Cortodera flavimana* (Waltl, 1838) ve *Chlorophorus varius* (Müller, 1766) (Cerambycidae: Coleoptera)**

**Abstract**

With the chromosomal data from species, serious contribution is presented to scientific fields such as taxonomy and evolution. Therefore, it is important to create cytogenetic records. Cytogenetic studies on insects are very limited. Cerambycidae is one of the important families of coleoptera in terms of biodiversity. In this study, *Cortodera flavimana* (Waltl, 1838) and *Chlorophorus varius* (Müller, 1766) belonging to the Cerambycidae were studied karyological data. As a result of the analyzes, they were observed that diploid chromosome number of *C. flavimana* is  $2n = 20$  and haploid chromosome number of *C. varius* is  $n = 9 + X_p$ .

**Key words:** Coleoptera, Cerambycidae, chromosome, cytogenetic.

**Giriş**

Türlere ait kromozom bilgileri tür veya daha üst taksonların evrimsel ilişkisini açığa çıkarmaya yardımcı olur ve sınıflandırmada da önemli rol oynar (Miao ve ark, 2017). Sitogenetik sonuçlar taksonomik çalışmalarda güvenilir veriler olarak görülmektedir. Çünkü karyotipik farklılıklar türe özgü olup ortam koşullarından kolay etkilenmezler (Elçi, 1994). Organizmaların kromozom sayıları ve yapıları, sitotaksonomik karakterler olarak yaygın bir şekilde kullanılır (Miao ve ark, 2017). Son yıllarda karyolojik çalışmalardan elde edilen veriler böceklerin genetik yapısı, yaşam döngüsü, ekolojik

özellikleri, evrimi, taksonomisi ve filogenisi ile ilgili önemli bulgular sunar (Gokhman ve Kuznetsova, 2006; Miao ve Hua, 2017).

Cerambycidae familyası, Coleoptera takımının tür sayısı bakımından neredeyse %10'unu oluşturan büyük familyalarından biridir. Cerambycidae familyası Türkiye'de teke böcekleri ya da uzun antenli böcekler olarak bilinir ve dünya genelinde 35.000'den fazla türü bulunmaktadır (Lodos, 1998; Özdikmen, 2006; Bouchard ve ark, 2011; Şabanoglu ve Şen, 2016).

Cerambycidae familyasının atasal kromozom sayısı  $2n = 20$  olarak kabul edilir ve kromozom sayısı

bakımından familya üyeleri genel olarak muhafazakâr bir durumdadır. Çoğu karyotipten elde edilen bilgilerle, atasal kromozomların metasentrik veya submetasentrik olduğu söylenebilir (Smith ve Virkki, 1978, Giannoulis ve ark, 2014). Her ne kadar genel görünümü muhafazakâr da olsa familyanın diploit kromozom sayısı ( $2n = 10$ )'dan, ( $2n=36$ )'ya kadar çeşitlilik gösterir. Cerambycidae'nin eşey kromozom sistemi paraşüt tip Y kromozom varlığına dayalı, Xyp olarak kısaltılan eşey belirleme sistemidir (Smith ve Virkki, 1978).

Bu çalışma *Cortodera flavimana* (Waltl, 1838) ve *Chlorophorus varius* (Müller, 1766) türleri üzerine sitogenetik amaçlı yapılan ilk çalışma niteliğindedir.

### Materyal ve Yöntem

Çalışmada kullanılan preparasyon yöntemlerinde genel olarak Rozek (1994)'de belirtilen esaslar dikkate alındı.

Canlı bir şekilde laboratuvara getirilen örnekler etil asetatlı kavanozlarda bayıldıktan sonra abdomen içerikleri çıkarıldı. Çıkartma işlemi hipotonizasyonu sağlayabilmek amacı ile içinde distile su bulunan petrielerde yapıldı. Sonrasında çalışmada kullanılacak dokular diğer dokulardan ayrılarak 10-15 dk saf suda bekletildi. Dokular % 0.05'lik kolşisin çözeltisi bulunduran kryotüplerde yoğunluklarına bağlı olarak 45-60 dakika oda sıcaklığında bekletildi. Kolşisinde bekletilme işleminin hemen ardından doku örnekleri taze hazırlanmış olan 1/3 oranında Asetik Asit: Etanol fiksatifine alındı. Hemen çalışma yapılacaksa bu fiksatifte bir saatten az olmamak kaydıyla bekletildi. Eğer hemen çalışma yapılmayacak ise aynı fiksatif içinde derin dondurucuda muhafaza edildi. Plaklar hazırlanırken fiksatifte bekletilen dokular fiksatifinden mümkün olduğunca arıtılarak (kuru bir petri kabında çok kısa süreli bekletilebilir) alınıp temiz lam üzerine konuldu. Daha sonra bu doku parçasına saf su: asetik asit (1:1) çözeltisi damlatıldı. İnce uçlu pensler ve bisturi yardımı ile doku mümkün oldukça küçük parçalara ayrıldı. Bu ayırma işleminin ardından diğer bir temiz lam ile hazırlanan lamın üzeri kapatıldı ve ezme gerçekleştirildi. Ardından bu ikili bitişik lamlar sıvı azota daldırılarak donduruldu. Daha sonra lamlar bisturi yardımı ile birbirlerinden ayrıldı. Birbirlerinden ayrılan lamlar oda ısısında kurutuldu. Sonrasında % 4'lük giemsa (pH=6.8) ile yaklaşık 10 dakika boyandı. Giemsa ile boyama işlemi tamamlandıktan sonra preparatlar hafif akan musluk suyu altında yıkandı ve kurutuldu.

Hazır hale gelen preparatlar Olympus Marka (Model No: BX53F) kamera eklentili araştırma

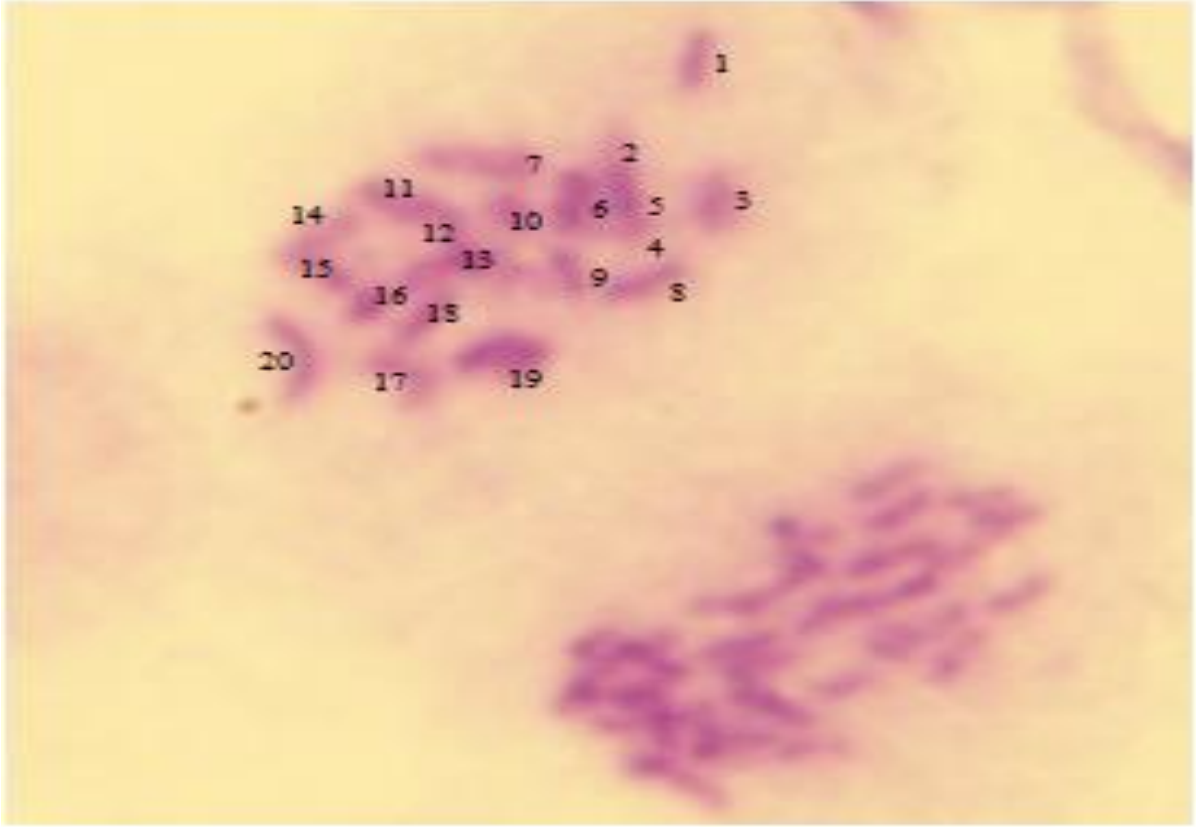
mikroskobu ile incelenip kromozomları (100X) büyütmede fotoğraflandı.

Kromozomlara ulaşmak hücre bölünmesinin yoğun olduğu bilinen dokularda diğerlerine göre daha kolaydır. Böceklerin orta bağırsak ve testis dokuları sitogenetik çalışmalar açısından yoğun hedef hücreler içerir (Koçak ve Okutaner, 2018). Çalışmada kullanılacak olan bu dokular abdomendeki diğer doku parçalarından ve sıvılarından özenle ayıklanmalıdır. Bu adım Ezme yöntemi ile hazırlanan preparatlar için son derece önemlidir. Kaliteli gözlem için örneğim testis preparatları sadece testis hücrelerinden, bağırsak preparatları sadece bağırsak hücrelerinden oluşmalıdır. Çünkü yoğun ve karışık doku parçaları ile hazırlanan preparatlarda hücrelerin üst üste binmesi, gözlem sırasında olası bölünme evresi görüntüsünü maskeler ve istenmeyen bir durum oluşturur. Diğer yandan abdomen içeriklerinde bulunan trake kanalları, ince bağırsak parçaları, sperm kanalları gibi dokular nispeten daha sağlam doku örnekleri, hem hücre bölünmesine pek rastlanılmayan yapılarıdır hem de ezme sırasında dağılmayıp bütün bir halde kalır ve görüntüde zorluklar yaşanmasına sebep olur. Benzer sorun oluşturan bir diğer unsur orta bağırsak içerisinde bulunan besin maddeleridir. Daha temiz görüntüler elde etmek için bu maddelerin incelenen dokudan uzaklaştırılması gerekmektedir. Orta bağırsak dış yüzeyinde çok miktarda hedef hücre bulunur. Bunlar, özellikle mitoz kromozom plaklarının görülmesi açısından en önemli hedef hücrelerdir. Bu hücrelerin besin atıklarından temizlenme aşamasında olabildiğince doku üzerinde kalması sağlanmalıdır. Eğer uzun süre fiksatifte muhafaza edilecekse ilk esnada bağırsak içeriğini temizlemeden olduğu gibi fiksatifte bekletmek göreceli olarak daha faydalıdır. Çünkü besin atıkları bu bekleme esnasında muhtemel alkolün etkisiyle sıkışarak bir bütün haline gelir ve pens kullanılarak yapılacak küçük itekleme dokunuşları ile bağırsaklardan kolay bir şekilde uzaklaştırılabilir.

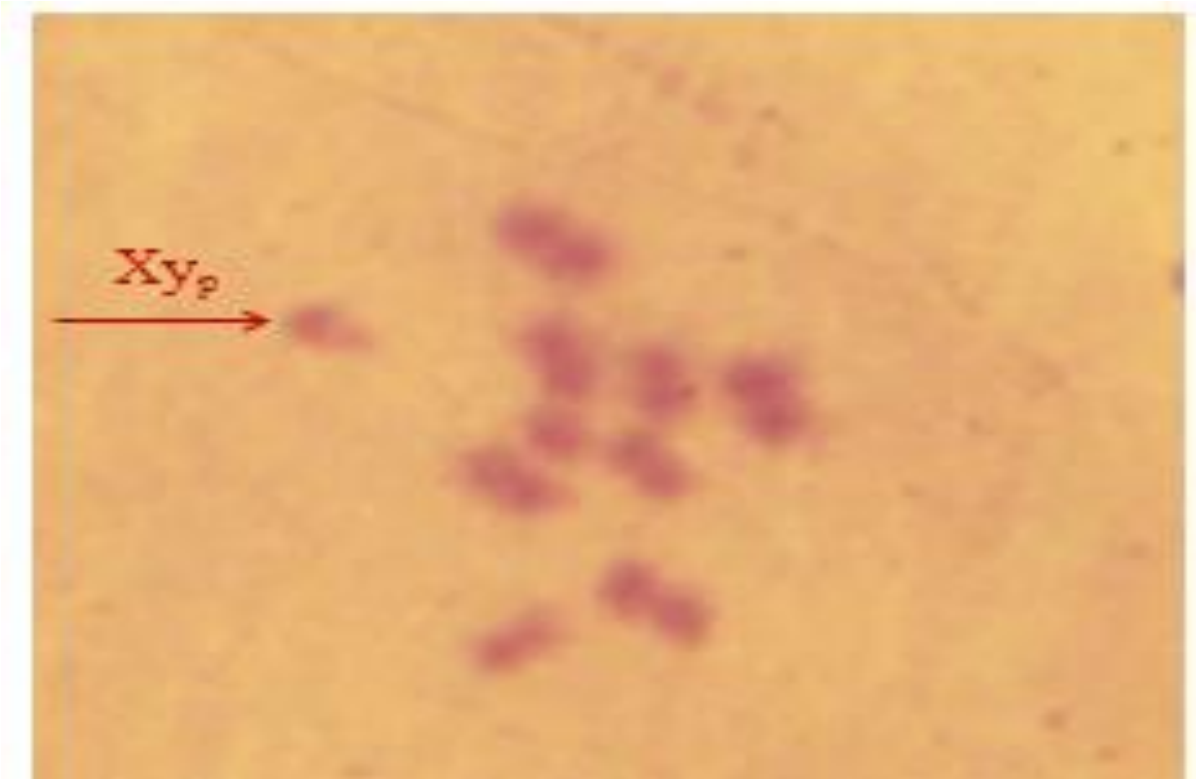
### Bulgular ve Tartışma

Çalışmada kullanılan *Cortodera flavimana* (Waltl, 1838) örnekleri Sivas İli, Gemerek İlçesi, Sızır Kasabası, Satalağan Obası mevkiinden, *Chlorophorus varius* (Müller, 1766) örnekleri Sakarya İli, Akyazı İlçesi merkezinden toplanmıştır.

*Cortodera flavimana*'nın erkek birey bağırsağından elde edilen metafaz plağında türün diploit kromozom sayısı ( $2n=20$ ) olarak tespit edilmiştir (Şekil 1).



Şekil 1. Cortodera flavimana'nın erkek birey bağırsağından elde edilen metafaz plağı ( $2n=20$ ).



Şekil 2. Chlorophorus varius'un erkek birey testisinden elde edilen metafaz plağı ( $n = 9+Xy_p$ ).

*Chlorophorus varius*'un erkek birey testis dokularından elde edilen metafaz plağında türün haploit kromozom sayısı ( $n = 9+Xy_p$ ), olarak

belirlenmiştir. Eşey kromozomu ok ile gösterilmiştir (Şekil 2).

*Chlorophorus annularis* (Fabricius, 1787) ve *Chlorophorus figuratus* (Scopoli, 1763) türleri ile birlikte *Chlorophorus varius* (Müller, 1766) türü karyolojik anlamda değerlendirilen *Chlorophorus* Chevrolat, 1863, cinsine ait üçüncü türdür. *Chlorophorus* cinsi Cerambycinae alt familyasına ait Clytini Mulsant, 1839 tribusunda yer alır. Tribusa ait şimdiye kadar toplam 11 türün kromozom verisi

sunulmuştur (Çizelge 1). Tüm bu türlerin kromozom sayıları ya diploit  $2n = 20$  ya da haploit  $n = 9+Xy_p$  olarak tespit edilmiştir. Bu haliyle kromozom sayısı bakımından tribus oldukça korunaklı bir durumdadır. Bu durum Clytini tribusunun taksomomik pozisyonunu güçlendirici bir durum olarak değerlendirilebilir.

**Çizelge 1.** Clytiini Mulsant, (1839) tribusunda yapılmış sitogenetik çalışmalardan elde edilen kromozom bilgileri

Clytiini Mulsant, (1839) Tribusu türleri	Haploit formülü ve eşey kromozom	Diploit sayı	Kaynak
<i>Chlorophorus annularis</i> (Fabricius, 1787)	$9+Xy_p$	20	S. Smith ve Virkki (1978)
<i>Chlorophorus figuratus</i> (Scopoli, 1763)	$9+Xy_p$	?	S. Smith ve Virkki (1978)
<i>Chlorophorus varius</i> (Müller, 1766)	$9+Xy_p$	?	Bu Çalışma
<i>Clytus arietis</i> (Linné, 1758)	$9+Xy_p$	?	S. Smith ve Virkki (1978)
<i>Clytus lama</i> Mulsant, 1850	$9+Xy_p$	?	S. Smith ve Virkki (1978)
<i>Clytus melaenus</i> Bates, 1884	$9+XY$	20	S. Smith ve Virkki (1978)
<i>Plagionotus pulcher</i> (Blessig, 1872)		20	S. Smith ve Virkki (1978)
<i>Plagionotus arcuatus</i> (Linné, 1758)	$9+Xy_p$	?	S. Smith ve Virkki (1978)
<i>Xylotrechus smei</i> (Castelnau & Gory, 1841)	$9+Xy_p$	20	S. Smith ve Virkki (1978)
<i>Cyrtoclytus caproides</i> (Bates, 1873)	$9+XY$	20	S. Smith ve Virkki (1978)
<i>Xylotrechus smei</i> (Castelnau & Gory, 1841)	$9+Xy_p$	20	S. Smith ve Virkki (1978)

Bu çalışma ile sunulan *Cortodera flavimana* (Waltl, 1838) türüne ait kromozom verisi sadece tür değil aynı zamanda cins düzeyinde de ilk kayıt niteliğindedir. *Cortodera* cinsi Lepturinae alt familyasına ait Rhagiini Kirby, 1837 tribusunda yer alır. Tribusa ait şimdiye kadar toplam 13 türün kromozom verisi Dutrillaux, ve Dutrillaux, (2018)'de sunulmuştur. Bizim çalışmamızla bu tribusta kromozom sayısı bilinen tür sayısı 14 olmuştur (Çizelge 2). Tüm bu türlerin diploit kromozom

sayıları 20 ve 22 arasında değişmektedir. Eşey belirleme sistemi ya XY ya da  $Xy_p$  olarak tespit edilmiştir. Dutrillaux, ve Dutrillaux, 2018'de Rhagiini tribusu türlerinin kromozom setlerinde görülen bu kısıtlı sayısal varyasyonu açıklarken atasal form olarak kabul edilen  $2n=20$  kromozomun özellikle en uzun olan 1. Kromozomda meydana gelen fizyon (kırılma) sonucunda 22 kromozomlu bireylerin meydana gelmiş olabileceğini ifade etmektedir (Dutrillaux ve Dutrillaux, 2018).

**Çizelge 2.** Rhagiini Kirby, 1837 tribusunda yapılmış sitogenetik çalışmalardan elde edilen kromozom bilgileri

Rhagiini Kirby, 1837 Tribusu türleri	Eşey kromozom durumu	Diploit sayı	Kaynak
<i>Acmaeops pratensis</i> Knowlton & Wood, 1950	XY/XX	22	Dutrillaux ve Dutrillaux (2018)
<i>Acmaeops proteus</i> (Kirby, 1837)	$Xy_p$	22	Smith, 1953
<i>Brachyta interrogationis</i> (Linné, 1758)	XY	20	Dutrillaux ve Dutrillaux (2018)
<i>Dinoptera collaris</i> (Linné, 1758)	XY	22	Dutrillaux ve Dutrillaux (2018)
<i>Gaurotes virginea</i> (Linné, 1758)	XY, $Xy_p$	22	Dutrillaux ve Dutrillaux (2018)
<i>Gaurotes doris</i> Bates, 1884	?	22	(Ehara, 1956)
<i>Gaurotes suvorovi</i> Semenov, 1914	XY	22	(Ehara, 1956)
<i>Pachyta quadrimaculata</i> (Linné, 1758)	XY/XX	20	Dutrillaux ve Dutrillaux (2018)
<i>Pidonia lurida</i> (Fabricius, 1793)	XY/XX	20	Dutrillaux ve Dutrillaux (2018)
<i>Rhagium bifasciatum</i> Fabricius, 1775	$Xy_p$ , XY	20	(Teppner, 1968), Dutrillaux ve Dutrillaux (2018)
<i>Rhagium inquisitor</i> (Linné, 1758)	$Xy_p$ , XY	20	(Teppner, 1968), Dutrillaux ve Dutrillaux (2018)
<i>Rhagium mordax</i> (Degeer, 1775)	? XY	20	(Teppner, 1968), Dutrillaux ve Dutrillaux (2018)
<i>Rhagium sycophanta</i> (Schrank, 1781)	XY	20	Dutrillaux ve Dutrillaux (2018)
<i>Cortodera flavimana</i> (Waltl, 1838)	XY	20	Bu çalışma

**Kaynaklar**

- Bouchard, P., Bousquet, Y. Davis, A.E., Alonso-Zarazaga, A.M., Lawrance, F.J., Lyal, C.H.C., Newton, A.F., Reid, C.A.M., Schmitt, M., Ślipiński, A., Smith, A.B.T. 2011. Family-Group Names in Coleoptera (Insecta). *Zookeys*, (88): 972s. (DOI: 10.3897/zookeys.88.807).
- Dutrillaux A.M., Dutrillaux, B. 2018. Loss of Y chromosome may be a synapomorphy of the tribe Lepturini (Coleoptera: Cerambycidae: Lepturinae). *European Journal of Entomology*, 115: 45-52. (DOI: 10.14411/eje.2018.006).
- Elçi, Ş. 1994. Sitogenetikte Araştırma Yöntemleri ve Gözlemler. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Yayınları, Van, 227 s.
- Giannoulis, T. Dutrillaux, A.M. Touroult, J. Sarri, C. and Mamuris, Z. 2014. Chromosomal and Genetic Characterization of Four Caribbean Prioninae (Coleoptera: Cerambycidae) Species with Notes on Biogeography. *Insecta Mundi*,; 0335: 1-10.
- Gokhman, V.E., Kuznetsova, V.G. 2006. Comparative insect karyology: Current state and applications. *Entomological Review*, 86(3): 352-368.
- Koçak, Y., Okutaner, A.Y. 2018. Some cytogenetic methods for the investigation of insect chromosomes and their implications for research in systematic entomology. *Life: The Excitement of Biology*, 5(3): 117-128. (DOI: 10.9784/LEB5(3)Kocak.01).
- Lodos, N. 1998. *Entomology of Turkey VI (General, Applied and Faunistic)*. Ege Ü. Ziraat Fak. Yayınları, İzmir, 300 s.
- Miao, Y., Hua, B.Z. 2017. Cytogenetic comparison between *Terrobittacus implicatus* and *Bittacus planus* (Mecoptera: Bittacidae) with some phylogenetic implications. *Senckenberg Gesellschaft für Naturforschung*, 75(2): 175-183.
- Özdikmen, H. 2006. Contribution to the knowledge of Turkish longicorn beetles fauna (Coleoptera: Cerambycidae). *Munis Entomology & Zoology*, 1(1): 71-90.
- Rozek, M. 1994. A New chromosome preparation technique for Coleoptera (Insecta). *Chromosome Research*, 2: 76-78.
- Smith, S.G., Virkki, N. 1978. *Animal Cytogenetics. Vol.3: Insecta, Part 5: Coleoptera*, Berlin–Stuttgart, GERMANY: Gebruder Borntraeger, 373 s.
- Şabanoglu, B., Şen, İ. 2016. A study on determination of Cerembycidae (Coleoptera) fauna of Isparta province (Turkey). *Türk Entomol. Derg.*, 40(3): 315-329. (DOI: 10.16970/ted.43317).