



**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**TÜRKİYE KIZIL TİLKİLERİNDE (*VULPES VULPES* (L., 1758))
(CARNIVORA: MAMMALIA) MİTOKONDRIYAL DNA (D-LOOP)
VARYASYONU**

**Hazırlayan
Murat TELCİOĞLU**

**Danışman
Prof. Dr. Coşkun TEZ**

Yüksek Lisans Tezi

**Ocak 2015
KAYSERİ**

**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**TÜRKİYE KIZIL TİLKİLERİNDE (*VULPES VULPES* (L., 1758))
(CARNIVORA: MAMMALIA) MİTOKONDRIYAL DNA (D-LOOP)
VARYASYONU
(Yüksek Lisans Tezi)**

**Hazırlayan
Murat TELCİOĞLU**

**Danışman
Prof. Dr. Coşkun TEZ**

**Bu çalışma; Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından FBY-12-4153
kodlu proje ile desteklenmiştir.**

**Ocak 2015
KAYSERİ**

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

Bu çalışmadaki tüm bilgilerin, akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda bu kural ve davranışların gerektirdiği gibi, bu çalışmanın özünde olmayan tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı ve referans gösterdiğimi belirtirim.

Murat TELCİOĞLU

İmza :

YÖNERGEYE UYGUNLUK

“Türkiye Kızıl Tilkilerinde (*Vulpes vulpes* (L., 1758)) (Carnivora: Mammalia) Mitokondriyal DNA (D-loop) Varyasyonu” adlı Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi’ne uygun olarak hazırlanmıştır.

Tezi Hazırlayan

Murat TELCİOĞLU

Danışman

Prof. Dr. Coşkun TEZ

Biyoloji A.B.D. Başkanı

Prof. Dr. Nusret AYYILDIZ

TEŞEKKÜR

Çalışmalarım boyunca bilgi ve tecrübeleriyle beni aydınlatan, insani ve ahlaki değerlerini de kendime örnek aldığım değerli hocam sayın Prof. Dr. Coşkun TEZ'e, bana karşı göstermiş olduğu sonsuz hoşgörü ve sabırdan dolayı teşekkürü bir borç bilirim.

Örneklerin toplanmasındaki yardım ve emeklerinden dolayı sayın Rahime TEZ hocama, laboratuvar tecrübelerini özenle aktaran sayın Doç. Dr. Servet ÖZCAN'a, deneysel çalışmalarım sırasında karşılaştığım zorlukları yardımlarıyla aştığım sayın Yrd. Doç. Dr. Osman İBİŞ'e, aynı laboratuvarı paylaştığımız çalışma arkadaşlarım Metin KILIÇ, Ömer Fikret GÜRKAN, Eren AKSÖYEK'e katkılarından dolayı teşekkür ederim.

Her konuda öneri ve eleştirileriyle yardımlarını gördüğüm hocalarıma ve arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Bu tez çalışmasına maddi destek veren Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne (Proje No: FBY-12-4153) teşekkür ederim.

Ayrıca; çalışmalarım süresince sabır göstererek beni daima destekleyen eşim Tuğba TELCİOĞLU, babam Mahmut TELCİOĞLU, annem Gülçin TELCİOĞLU ve ağabeyim M. Burak TELCİOĞLU'na en içten teşekkürlerimi sunarım.

Murat TELCİOĞLU

Kayseri, Ocak 2015

**TÜRKİYE KIZIL TİLKİLERİNDE (*VULPES VULPES* (L., 1758))
(CARNIVORA: MAMMALIA) MİTOKONDRIYAL DNA (D-LOOP)
VARYASYONU**

Murat TELCİOĞLU

Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü

Yüksek Lisans Tezi, Ocak 2015

Tez Danışman: Prof. Dr. Coşkun TEZ

ÖZET

Bu çalışmada, Türkiye kızıl tilkilerinin (*Vulpes vulpes*) türünün mitokondriyal DNA varyasyonunu tespit etmek amacıyla toplam 54 örnekten mitokondriyal DNA (tRNA^{Thr} +tRNA^{Pro}+D-loop) (416 bç.) dizileri elde edildi ve bu diziler, Bayesian, Neighbor-Joining, Maksimum Likelihood ve Network metotları ile analiz edildi. Türkiye kızıl tilkileri için 25 haplotip tespit edildi. Genetik uzaklık değerleri, 0.002 (% 0.2) ile 0.040 (% 4) arasında değişirken haplotip çeşitliliği 0,9378 ve nükleotid çeşitliliği 0,01675 olarak bulundu. Bayesian, Maksimum Likelihood ve Neighbor-Joining analizleri, mitokondriyal DNA (tRNA^{Thr} +tRNA^{Pro}+D-loop) (416 bç.) dizilerine dayanarak Türkiye kızıl tilkileri içerisinde dört haplogrup ortaya çıkarken, network analizi ile üç haplogrup ortaya çıkarttı. Bu çalışma Türkiye kızıl tilkilerinin yüksek genetik çeşitliliğe sahip olduğunu göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Mitokondriyal DNA, tRNA^{Thr} +tRNA^{Pro}+D-loop, *Vulpes vulpes*,

Türkiye

MITOCHONDRIAL DNA (D-LOOP) VARIATION (*VULPES VULPES* (L., 1758)) (CARNIVORA: MAMMALIA) OF TURKISH RED FOXES

Murat TELCİOĞLU

Erciyes University, Graduate School of Natural and Applied Science

M.Sc. Thesis, January 2015

Thesis Supervisor: Prof. Dr. Coşkun TEZ

ABSTRACT

In this study, to determine the mitochondrial DNA variation of the Turkish red foxes (*Vulpes vulpes*), a total of 54 samples were sequenced for the mitochondrial DNA (tRNA^{Thr} +tRNA^{Pro}+D-loop) (416 bç.) and analyzed by using the Bayesian Inference, Neighbor- Joining, Maximum Likelihood, and Network methods. The 25 Turkish red fox haplotypes were detected. Genetic distances were ranged from 0.002 (% 0.2) to 0.040 (% 4), and haplotype diversity and nucleotide diversity were found as 0,9378 and 0,01675, respectively. Based on the mitochondrial DNA (tRNA^{Thr} +tRNA^{Pro}+D-loop) (416 bp) sequences,while the analyses Bayesian Inference, Maksimum Likelihood and Neighbor- Joining yielded four haplogroups within Turkish red fox, network analysis revealed three haplogroups. This study indicates that the Turkish red foxes have a high genetic diversity.

Keywords: Mitochondrial DNA; tRNA^{Thr} +tRNA^{Pro}+D-loop; *Vulpes vulpes*; Turkey

İÇİNDEKİLER

TÜRKİYE KIZIL TİLKİLERİNDE (*VULPES VULPES* (L., 1758)) (CARNIVORA: MAMMALIA) MİTOKONDRIYAL DNA (D-LOOP) VARYASYONU

	<u>Sayfa</u>
BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK SAYFASI	i
YÖNERGEYE UYGUNLUK SAYFASI	ii
KABUL VE ONAY SAYFASI	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
ÖZET.....	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	vii
KISALTMALAR VE SİMGELER.....	x
TABLolar LİSTESİ.....	xi
ŞEKİLLER LİSTESİ	xii
 GİRİŞ	 1

1. BÖLÜM

GENEL BİLGİLER

1.1. Ordo: Carnivora	3
1.1.1. Carnivora Takımının Evrimsel Tarihi ve Sistematiği	4
1.1.2. Familya: Canidae	4
1.1.3. Genus: <i>Vulpes</i>	5
1.1.4. Kızıl Tilkilerin Habitat ve Ekolojisi	5
1.1.5. Kızıl Tilkiler İçin Tehditler	5
1.2. Moleküler Belirteç Olarak Mitokondriyal DNA (mtDNA).....	6

2. BÖLÜM

YÖNTEM VE MATERYAL

2.1. Örneklerin Toplanması ve Saklanması	8
2.2. Türkiye’den Kızıl Tilki Türüne Ait Örneklerin Dokularından Total DNA İzolasyonu	8
2.3. Total DNA’nın Agaroz Jelde Yürütülmesi ve Görüntülenmesi.....	15
2.4. Mitokondriyal D-loop bölgesinin PCR ile çoğaltılması	15
2.5. PCR Ürünlerinin Agaroz Jelde Yürütülmesi ve Görüntülenmesi.....	16
2.6. Kızıl Tilki Örneklerinin DNA Dizi Analizi	17
2.7. Türkiye’den Kızıl Tilki Örneklerinin Mitokondriyal DNA D-loop Bölgesine Ait Dizilerin Hizalanması ve Düzenlenmesi	17
2.8. Kızıl Tilki Örneklerinin Mitokondriyal DNA D-loop Bölgesine Ait Dizilerin Genetik Analizi.....	18
2.8.1. Türkiye’den Kızıl Tilki Örneklerinin Genetik Analizi.....	18
2.8.2. Gen Bankası’ndan Kızıl Tilki Türünün Mitokondriyal DNA D-loop Bölgesine Ait Dizilerin Elde Edilmesi	19
2.8.3. Türkiye’den ve Gen Bankası’ndan Elde Edilen Kızıl Tilki Türünün Mitokondriyal DNA D-loop Bölgesine Ait Dizilerin Birlikte Genetik Analizi	20

3. BÖLÜM

BULGULAR

3.1. Türkiye’de Yayılış Gösteren Kızıl Tilki (<i>Vulpes vulpes</i>) Türüne ait Örneklerin Mitokondriyal DNA Analizi.....	22
3.1.1. Total DNA Elde Edilmesi	22
3.1.2. Mitokondriyal DNA’nın Hedef Bölgesinin PCR ile Çoğaltılması.....	23
3.2. Kızıl Tilki (<i>Vulpes vulpes</i>) Türüne Ait Türkiye Örneklerinden Elde Edilen Mitokondriyal DNA Dizilerinin Genetik Analizi	24
3.3. Türkiye Kızıl Tilki (<i>Vulpes vulpes</i>) Türüne Ait Mitokondriyal DNA Dizilerinin Filogenetik Analizi	26

3.3.1. Filogenetik Analizlerde Kullanılan En Uygun Baz Değişim	
Modelinin Belirlenmesi	26
3.3.2. Mitokondriyal DNA Haplotipleri Arasındaki Genetik	
Uzaklığın Hesaplanması.....	28
3.3.3. Türkiye'de Yayılış Gösteren Kızıl Tilki (<i>Vulpes vulpes</i>) Türüne	
Ait Mitokondriyal DNA Haplotiplerinin Neighbor Joining Analizi.....	28
3.3.4. Türkiye'den Kızıl Tilki (<i>Vulpes vulpes</i>) Türüne Ait Mitokondriyal	
DNA Haplotiplerinin Maksimum Likelihood (Olasılık) Analizi.....	29
3.3.5. Türkiye'den Kızıl Tilki (<i>Vulpes vulpes</i>) Türüne Ait Mitokondriyal	
DNA Haplotiplerinin Bayesian Analizi.....	32
3.3.6. Türkiye'de Yayılış Gösteren <i>Vulpes vulpes</i> Türüne Ait Mitokondriyal	
DNA Haplotiplerin Network Analizi	33
3.4. Kızıl Tilki (<i>Vulpes vulpes</i>) Türüne Ait Bu Çalışmada Tespit	
Edilen Mitokondriyal DNA Haplotipleri İle Gen Bankası'ndan Elde	
Edilen Mitokondriyal DNA D-Loop Dizilerinin Birlikte Filogenetik ve	
Network Analizleri	35
3.4.1. Kızıl Tilki Türüne Ait Tüm Mitokondriyal D-loop Haplotiplerinin	
Bayesian Analizi.....	36
3.4.2. Kızıl Tilki Türüne Ait Tüm Mitokondriyal D-loop Haplotiplerinin	
Network (Ağ) Analizi.....	41

4. BÖLÜM

TARTIŞMA, SONUÇ ve ÖNERİLER

4.1. Tartışma	51
4.2 Sonuç ve Öneriler.....	60
KAYNAKLAR.....	62
ÖZGEÇMİŞ.....	68

KISALTMALAR VE SİMGELER

Sembol	Anlamı
A	Adenin
C	Sitozin
T	Timin
G	Guanin
bç	Baz çifti
EDTA	Etilen Diamin Tetra Asetik Asit
TAE	Tris Glasial Asetik Asit EDTA
dNTP	Di Nükleotid Tri-fosfat
D-loop	Kontrol bölgesi
DNA	Deoksiribo nükleik asit
mtDNA	mitokondriyal DNA
tRNA	Transfer Ribonükleik Asit
Thr	Tirozin
Pro	Prolin
NJ	Neighbor-Joining
K2P	Kimura 2 parametre baz değişim modeli
BIC	Bayesian Information Criterion
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
UV	Ultraviyole
°C	Santigrat Derece
dH ₂ O	Distile su

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 2.1. Bu çalışmada dokuları kullanılan Türkiye kızıl tilki örneklerinin listesi	9
Tablo 2.2. Bu çalışmada kullanılan kızıl tilki türüne ait Gen Bankası'nda tespit edilen mitokondriyal DNA bölgesi diziler	19
Tablo 3.1. Türkiye'den kızıl tilki (<i>Vulpes vulpes</i>) türüne ait örneklerden mitokondriyal DNA'nın (tRNA ^{Thr} +tRNA ^{Pro} +D-loop) dizi analizi sonucunda belirlenen haplotipler	25
Tablo 3.2. Türkiye kızıl tilkilerine ait 54 örnekte tespit edilen 25 mitokondriyal DNA haplotipinin baz içeriği	27
Tablo 3.3. Türkiye'den kızıl tilki (<i>Vulpes vulpes</i>) türüne ait mitokondriyal DNA haplotipleri arasındaki Kimura 2-Parametre baz değişim modeline göre hesaplanan genetik uzaklık değerleri.....	30
Tablo 3.4. Türkiye haplotipleri ve Gen Bankası dizilerinin birlikte kullanımı ile yapılan Bayesian analizinde kullanılan haplotipler	37
Tablo 3.5. Türkiye haplotipleri ve Gen Bankası dizilerinin birlikte kullanımı ile yapılan network analizinde kullanılan haplotipler.....	43

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1.1. Kızıl tilki türünün Dünya üzerindeki doğal yayılışı	7
Şekil 2.1. Bu çalışmada Türkiye’den kızıl tilki (<i>Vulpes vulpes</i>) örneklerinin elde edildiği yerleri gösteren harita.....	12
Şekil 3.1. Türkiye’den kızıl tilki (<i>Vulpes vulpes</i>) örneklerine ait değişik dokulardan elde edilen total DNA’ların % 1’lik agaroz jel görüntüsü.....	23
Şekil 3.2. Türkiye’den kızıl tilki (<i>Vulpes vulpes</i>) örneklerine ait mitokondriyal DNA’nın hedef bölgesinin Lf15926f ve HDlh primerleri ile çoğaltılması sonucunda elde edilen PCR ürünlerinin agaroz jel elektroforez görüntüsü ..	23
Şekil 3.3. Türkiye’den kızıl tilki (<i>Vulpes vulpes</i>) türüne ait mitokondriyal DNA (tRNA ^{Thr} +tRNA ^{Pro} +D-loop) haplotiplerinin 10000 tekrarlı (replikasyon) ve K2P baz değişim modeli kullanılarak oluşturulan NJ ağacı	31
Şekil 3.4. Türkiye’den kızıl tilki (<i>Vulpes vulpes</i>) türüne ait mitokondriyal DNA (tRNA ^{Thr} +tRNA ^{Pro} +D-loop) haplotiplerinin 10000 tekrarlı (replikasyon) ve HKY+G baz değişim modeli kullanılarak oluşturulan ML ağacı.....	32
Şekil 3.5. Türkiye’den kızıl tilki (<i>Vulpes vulpes</i>) türüne ait mitokondriyal DNA (tRNA ^{Thr} +tRNA ^{Pro} +D-loop) haplotiplerinin 300 bin yeni nesil (generation) ve HKY+G baz değişim modeli kullanılarak oluşturulan Bayesian ağacı ...	34
Şekil 3.6. Türkiye’den kızıl tilki (<i>Vulpes vulpes</i>) türüne ait mitokondriyal DNA (tRNA ^{Thr} +tRNA ^{Pro} +D-loop) haplotiplerinin Median-joining network’ü	35
Şekil 3.7. Kızıl tilki (<i>Vulpes vulpes</i>) türüne ait bu çalışmada ve Gen Bankası’nda tespit edilen mitokondriyal DNA D-loop haplotiplerinin 28 milyon nesilli (generation) GTR+G+I baz değişim modeline dayanarak oluşturulan Bayesian ağacı	47
Şekil 3.8. Kızıl tilki (<i>Vulpes vulpes</i>) türüne ait bu çalışmada ve Gen Bankası’nda tespit edilen mitokondriyal DNA D-loop haplotiplerinin Median-joining network’ü.....	50

GİRİŞ

Kızıl tilki, *Vulpes vulpes* (Linnaeus, 1758), Avrupa, Asya, Kuzey Amerika'nın çoğunu kapsayan ve Kuzey Afrika'ya kadar uzanan en geniş doğal yayılışa (Yaklaşık 64,7 milyon km²) sahip olup, insanlar tarafından bir popülasyonu Avustralya'ya götürülmüş karasal karnivor memeli türüdür [1-4]. Kızıl tilki (*V. vulpes*), ormanlar, otlaklar, çöller, tarım alanları ve insanın egemen olduğu çevreleri kapsayan çok çeşitli ekosistemleri işgal etmektedir [1, 2].

Kızıl tilki türü ile ilgili daha önce yapılan genetik çalışmalarda allozim veya izozim [5, 6], RAPD [7], mitokondriyal DNA sitokrom *b* [5, 8-20], mitokondriyal DNA kontrol bölgesi (control region/D-loop) [8, 11-18, 21- 23], mitokondriyal DNA, tRNA-threonine ve tRNA-proline bölgeleri [8], mikrosatellitler [12, 13, 16, 24-28] ve tek nükleotid polimorfizmi (SNP) [13] belirteçleri, bölgesel ve/veya kıtasal anlamda kızıl tilki popülasyonlarının genetik çeşitliliğinin ve filocoğrafik yapısının tespit edilmesinde kullanılmıştır.

Maternal (anaya ait) kökenli mitokondriyal DNA, filogenetik ilişkilerin ortaya konulması ya da filocoğrafik yapının belirlenmesi amacıyla yaygın olarak kullanılan standart bir genetik belirteçtir [29,30]. Mitokondriyal D-loop (control region=kontrol bölgesi) bölgesinin bir bölümüne ait diziler kullanılmak suretiyle kızıl tilkilerin genetik çeşitliliği ve filocoğrafyası daha önceden araştırıldı [8, 11-18, 21-23]. Bu çalışmaların

bir kısmı bölgesel [8, 14, 21, 23], bir kısmı ise kıtasal [11-13, 15-18, 22] örneklemeleri kapsamaktadır. Mitokondriyal D-loop (kontrol bölgesi) bölgesi dizilerini içeren en kapsamlı son çalışma, Statham ve ark. [16] tarafından yapıldı. Hem Statham ve ark. [16] hem de daha önce yayınlanmış mitokondriyal D-loop çalışmalarında kızıl tilkilerin iki büyük soy hattı (Holoarktik ve Nearktik) içerisinde yer aldıkları rapor edilmiştir [11, 12, 14-16, 22].

Türkiye'deki kızıl tilkileri kapsayan genetik çalışma sayısı ise yetersiz olup Türkiye'den kızıl tilki örneklerinin mitokondriyal DNA'nın sitokrom *b* ve D-loop bölgelerinin kullanıldığı iki çalışmaya rastlanılmıştır [16, 20]. İbiş ve ark. [20] tarafından yapılan genetik çalışmada mitokondriyal DNA sitokrom *b* gen bölgesine ait diziler kullanılarak Türkiye kızıl tilkilerinin kendi içerisinde genetik çeşitliliği ve türün diğer coğrafyalardaki temsilcileriyle olan filogenetik ilişkileri ortaya konulmaya çalışılmıştır. İbiş ve ark. [20]'nın çalışmasından kısa bir süre sonra yayınlanan diğer bir çalışmada ise Statham ve ark. [16], kızıl tilki türünün tüm yayılış alanından elde edilen örneklerin mitokondriyal DNA sitokrom *b* ve D-loop dizilerini dahil ederek geniş kapsamlı bir çalışma yapmışlar ve Türkiye'den dört örneği de bu çalışmada kullanmışlardır. Şimdiye kadar Türkiye'de yayılış gösteren kızıl tilkilere ait mitokondriyal D-loop (kontrol bölgesi) bölgesi dizilerinin kullanılarak filogenetik ilişkilerin veya genetik yapının araştırıldığı geniş kapsamlı bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Bu çalışmada maternal (anaya ait) kalıtım belirteci olan mitokondriyal DNA D-loop bölgesi dizilerini kullanarak hem bölgesel popülasyonun genetik varyasyonunu tespit etmek hem de türün yayılış alanı boyunca elde edilen örneklerin dizileriyle Türkiye örneklerinin dizilerini birleştirerek Türkiye kızıl tilkilerinin filogenetik ilişkilerini değerlendirmek amaçlanmıştır.

1. BÖLÜM

GENEL BİLGİLER

1.1. Ordo: Carnivora

Karnivor memeliler, avcı hayvanlar olup genel olarak iyi gelişmiş koku alma duyuları ve geniş bir kafatasına sahiptirler. Karnivorların alt ve üst çenelerinde genel olarak üç parçalı kesici dişler bulunur ve köpek dişleri tüm karnivor türlerinde çok iyi gelişme göstermiştir. Ayrıca, premolar ve molar dişler köpek dişlerine benzer şekilde farklılaşma göstermiştir [31].

Carnivora takımının, Feliformia alttakımı, Felidae, Viverridae, Eupleridae, Nandiniidae, Herpestidae ve Hyaenidae familyalarını içermektedir [3]. Türkiye’de bu familyalardan Felidae, Hyaenidae ve Herpestidae’ye ait türler yayılış göstermektedir [3, 32]. Caniformia alttakımı ise Canidae, Ursidae, Otariidae, Odobenidae, Phocidae, Mustelidae, Mephitidae, Procyonidae ve Ailuridae olmak üzere dokuz familyaya sahip olup [3] Türkiye’de Canidae, Ursidae, Phocidae ve Mustelidae familyalarına ait türler yayılış göstermektedir [3, 32].

Carnivora takımı üyeleri, kutuplar ve okyanuslar da dahil olmak üzere hemen hemen tüm habitatlarda varlık gösterirler ve beslenme biçimleri yalnızca et yemeye dayalı olmayıp ayı, çakal ve tilkilerde görüldüğü gibi bu takımın bazı üyelerinde omnivorluk da görülmektedir [3, 33].

1.1.1. Carnivora Takımının Evrimsel Tarihi ve Sistematığı

Carnivora takımı üyeleri ile ilgili fosil kayıtlarının yetersiz ve noksan olmasından dolayı evrimsel tarihi ve sistematığı hakkındaki bilgiler, hem yetersiz hem de şüpheli kabul edilmektedir. Miacid'ler denilen küçük vücutlu canlılar, Carnivora takımının ilk üyeleri olarak kabul edilirler ve günümüzdeki Carnivora takımı üyelerinin bu gruptan evrimleşmiş olabileceği ileri sürülmüştür [2, 33]. *Cimolestes*, Carnivora takımı üyelerinin evrimi için büyük öneme sahiptir. *Cimolestes*'in çene yapısı, besini kesmeye uygun bir biçimde yassılaştırmış ve zamanla köpek dişi şeklinde değişmiştir. Bu karakter, hem modern Carnivora takımı, hem de credont'lar olarak bilinen grupta kalıtılmıştır. Credont'lar ilk zamanlarda Dünya et yiyicilerinin dominant grubunu oluşturmuştur. 35-55 milyon yıl önceki fosil kayıtları arasında kılıç şeklinde dişe sahip olan kedi, köpek, ayı ve sırtlan benzeri hayvanlar bulunmuştur. Fakat bunların hiçbirisi gerçek Carnivora üyelerinden biri değildir. Bu zamandan sonraki fosil kayıtlarında ise daha çok Carnivora takım üyelerine ait fosillere rastlanılmıştır [33].

1.1.2. Familya: Canidae

Canidae temsilcileri orta büyüklükte karnivorlardan olup 13 cins ve 35 tür içeren bir familyadır. Kurtlar, çakallar, tilkiler ve köpekler bu familyanın üyelerindendir. Siyah, kahverengi veya kırmızı renkte veya tonlarında olabilen bir posta sahiptirler. Bacakları koşmaya uygun yapıda olup bu familya temsilcilerinin koparma, parçalamaya ve öğütmeye uygun dişleri bulunmaktadır [2, 3, 33]. Ön üyelerde tipik olarak beş, arka üyelerde dört parmak mevcut olup dördüncü parmak bacak üzerinde körelmiş bir şekilde olup yere teması yoktur. Bu yapı, Afrika vahşi köpeğinde ise tamamen kaybolmuştur [2, 33].

1.1.3. Cins: *Vulpes*

Tür: *Vulpes vulpes* (Linnaeus, 1758)

Canis vulpes Linnaeus, 1758. Syst. Nat., 10th ed.,1:40.

Tip yeri: İsveç (Uppsala) [3].

Kızıl tilki *Vulpes vulpes*, Carnivora takımının herhangi bir üyesi ile karşılaştırıldığında en geniş coğrafik yayılışlı en iyi bilinen türüdür. Kuzey kutup dairesinden Kuzey Afrika, Orta Amerika ve Asya steplerine tüm kuzey yarımküre boyunca yayılış göstermektedir (Şekil 1.1). Kızıl tilkiler uyum sağlayabilen ve fırsatçı omnivorlar olup kentsel alanları da başarıyla işgal yeteneğine sahiptirler. Kızıl tilkiler, birçok habitatta insanlarla yakın ilişki içerisinde olup hatta tarım alanlarının yoğun olduğu yerlerde yaygın olarak rastlanılmaktadır. Bu tür, şu anda genel olarak tehdit altında bulunmamaktadır [34].

1.1.4. Kızıl tilkilerin habitat ve ekolojisi

Kızıl tilkilere, tundra, çöl ve orman gibi çeşitli habitatların yanı sıra şehir merkezlerindeki habitatlarda da rastlanılmaktadır. Kızıl tilkilerin doğal habitatı, kuru, bol makilik kenarları ve ağaçlık alanlardan ibaret karışık alanlardır. Kızıl tilkilere bozkırlarda, kumul alanlarda, ekilebilir arazilerde, çöllerde, dağların yüksek kesimlerinde deniz seviyesinden 4500 metre yüksekliğe kadar olan alanlarda bol miktarda rastlanılmaktadır [34].

1.1.5. Kızıl tilkiler için tehditler

Kızıl tilkiler için en önemli tehditler, habitatın bozulması, kaybı, parçalanması ve insan kaynaklı aşırı kullanım, bireylere doğrudan veya dolaylı zarar verme şeklindedir. Kürk için yetiştirilen kızıl tilki sayısı, diğer bazı türlerinkinden fazladır [34].

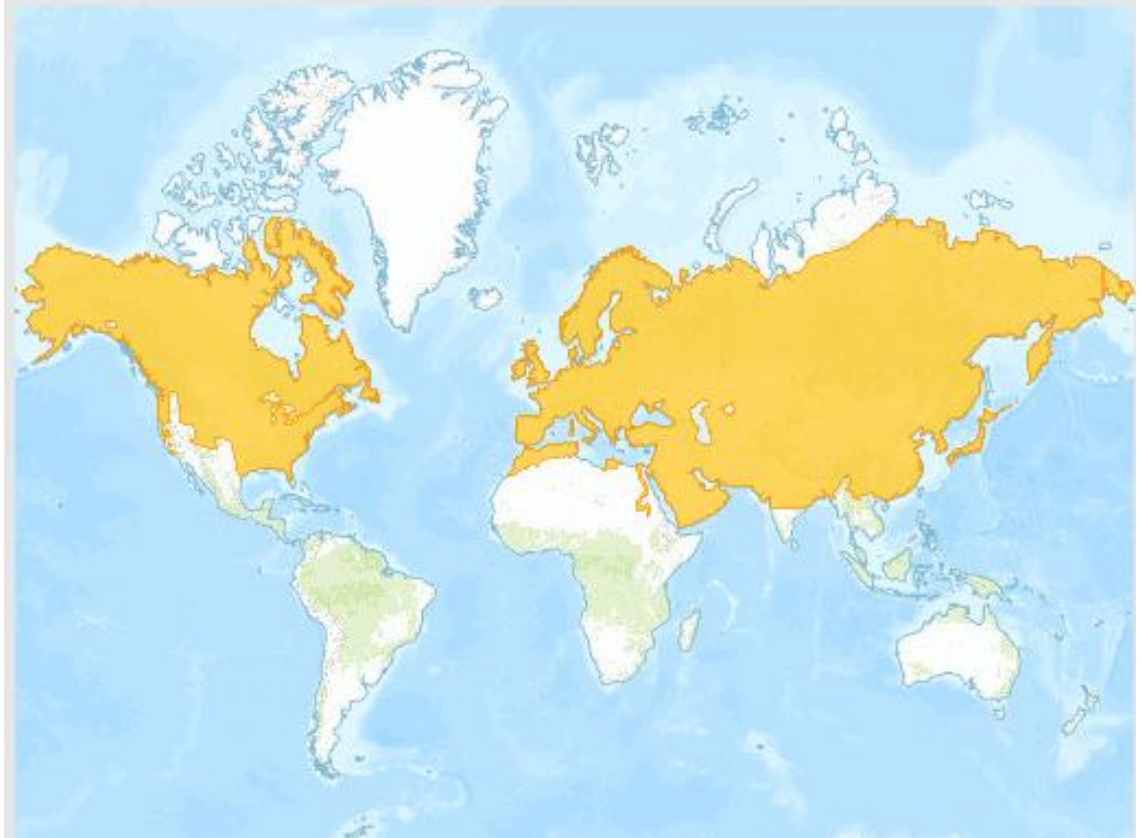
1.2. Moleküler belirteç olarak mitokondriyal DNA (mtDNA)

Memeli hayvanların mitokondriyal genomu tipik olarak 13 protein kodlayan gen, iki ribozom RNA geni (12 S rRNA ve 16 S rRNA) ve 22 transfer RNA genine sahiptir [35]. Mitokondriyal genomu oluşturan iki iplikçik, yaygın olarak ağır iplikçik (H-strand) ve hafif iplikçik (L-strand) şeklinde bilinirler. 13 protein kodlayan genden 12'si ağır iplikçik (H-strand) üzerinde yer alırken sadece ND6 geni hafif iplikçik (L-strand) üzerinde bulunmaktadır. Omurgalılar genellikle iki kodlama yapmayan bölge içerirler. Kodlama yapmayan iki bölgenin büyüğü olan kontrol bölgesi (CR-control region/D-loop) mitokondriyal replikasyon ve transkripsiyon düzenleyicileri içerir [35, 36]. Kodlama yapmayan iki bölgenin küçüğü, replikasyonda fonksiyonel bir rolü olduğu düşünülen hafif iplikçinin (L-strand) replikasyonunun başlangıç noktasıdır [37].

Kızıl tilki (*Vulpes vulpes*) türünün bütün olarak mitokondriyal genom dizisi 16 723 bç. [38] ve 16 633 bç. [39] uzunluğunda tespit edilmiştir. Birçok memeli türünün mitokondriyal genomunda olduğu gibi kızıl tilki mitokondriyal genomu, 13 protein kodlayan bölge, iki ribozomal RNA, geni 22 transfer RNA geni ve bir kontrol bölgesi (CR-control region/D-loop) içermektedir [38, 39]. Kodlama yapmayan bölge olan kızıl tilki mitokondriyal genomunun kontrol bölgesinin (control region/D-loop), tRNA^{Pro} ve tRNA^{Phe} genleri arasında yer aldığı ve 1263 bç. [38], 1173 bç. [39] ve 1263 bç. [40] uzunluğa sahip olduğu tespit edilmiştir. Tekrar birimlerini içeren bir tekrar dizisi üç kızıl tilki bireyi arasında D-loop (control region) bölgesinde dizi uzunluğu varyasyonuna neden olmaktadır [39].

Mitokondriyal belirteçler, populasyonların veya türlerin çeşitlenme örüntülerini ve tarihsel yerleşmeyi belirlemek için filocoğrafik çalışmalarda yaygın olarak kullanılmaktadır [30, 41]. Mitokondriyal belirteçler, filocoğrafik çalışmalar için özellikle onları ilginç hale getiren birçok özelliklere sahiptir. Mitokondriyal DNA'yı

çoğaltmak nispeten kolaydır ve duplike değildir (= haploid), tipik olarak kopyası olmayıp tür içinde ve türler arasında oldukça değişkendir [42, 43]. Bazı mitokondriyal belirteçlerin hızlı evrimsel oranı, daha yüksek taksonomik seviyelerde daha derin evrimsel tarihin sinyali belirsiz olabilen tek baz pozisyonlarında tekrarlayan baz değişimlerine (homoplasy or saturation) neden olur [44]. D-loop, mitokondriyal DNA'nın kodlama yapmayan yüksek derecede değişkenlik gösteren bölgesi olup oldukça yüksek baz değişim oranına sahiptir. Bu yüzden temel olarak tür içi seviyede evrimsel soruları ele almak için yaygın olarak kullanılmaktadır [45]. Mitokondriyal DNA D-loop bölgesi, diğer bir mitokondriyal belirteç olan sitokrom *b*'ye göre 10 kat daha yüksek evrim hızına sahiptir [41].



Şekil 1.1. Kızıl tilki türünün Dünya üzerindeki doğal yayılımı [34].

2. YÖNTEM VE MATERYAL

2.1. Örneklerin toplanması ve saklanması

Bu Tez çalışmasında mitokondriyal DNA D-loop (control region) bölgesinin kısmi dizi analizini yapmak için, herhangi bir canlı hayvanın yaşamı sonlandırılmadan tamamen kara yollarında motorlu taşıtlar tarafından çarpma sonucu kaza ile ölmüş kızıl tilki türüne ait 2002-2013 yılları arasında toplanmış 54 örnekten elde edilen dokular kullanıldı (Tablo 2.1, Şekil 2.1).

Kızıl tilki (*Vulpes vulpes*) türüne ait doku örnekleri, % 99'luk etil alkol ile dolu 2 ml'lik tüpler içerisinde -20 °C'de Erciyes Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü'nde muhafaza edilmektedir.

Bu çalışma, Erciyes Üniversitesi, Deney Hayvanları Yerel Etik Kurulu tarafından hayvan hakları ve hayvan deneyleri etiğine uygun bulunmuştur.

2.2. Türkiye'den Kızıl tilki türüne ait örneklerin dokularından total DNA izolasyonu

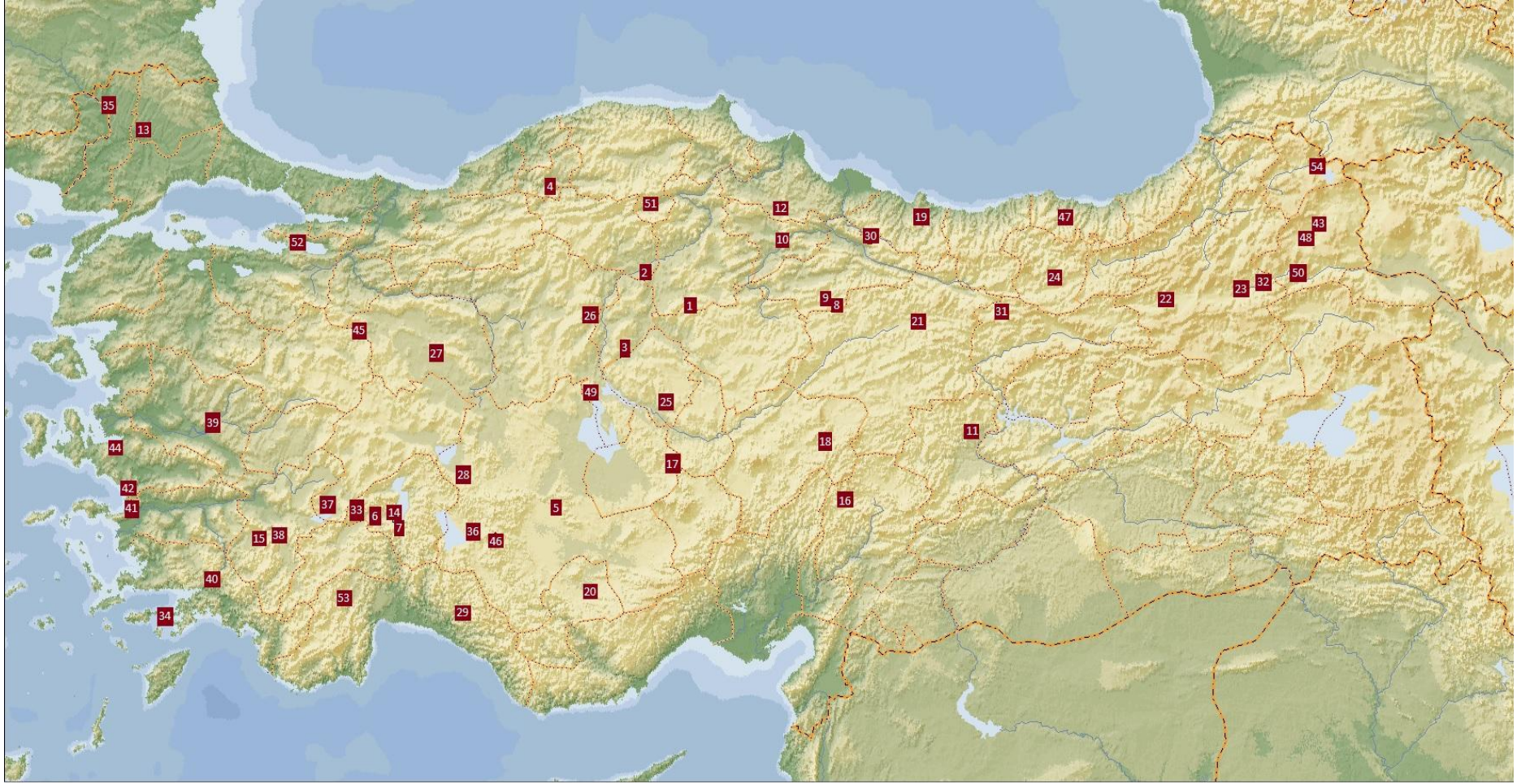
Total DNA, kızıl tilki türüne ait Türkiye'nin değişik lokalitelerinden (Şekil 2.1) 54 örnekten alınmış ve etil alkol içerisinde -20 °C'de saklanan değişik dokulardan elde edilmiştir. Total DNA izolasyonu için QIAGEN DNeasy® Blood & Tissue Kit kullanıldı ve total DNA izolasyonu sırasında kit ile birlikte gönderilen protokol takip edildi.

Tablo 2.1. Bu çalışmada dokuları kullanılan Türkiye kızıl tilki örneklerinin listesi

HARİTA KODU	MÜZE NO	LOKALİTE	KOORDİNATLAR	TARİH
1	538	Boğazkale/ÇORUM	39° 56'087" N 34° 42'963" E 1215m	23.07.2007
2	539	Kızılırmak/ÇANKIRI	40° 21'169" N 33° 58'767" E 555m	23.07.2007
3	589	Yeniyapan/Keskin/ KIRIKKALE	39° 35'319" N 33° 42'013" E 922m	31.07.2007
4	637	Eskipazar-Karabük yolu, Karabük girişi, KARABÜK	41° 09'810" N 32° 38'428" E 304m	23.08.2007
5	663	2 Km. doğu, Zincirli, KONYA	38° 01'340" N 32° 51'829" E 1001m	05.09.2007
6	706	Isparta'ya 13 km., Göltaş Çimento Fabrikası yakını, ISPARTA	37° 52'539" N 30° 30'730" E 935m	09.09.2007
7	707	Eğirdir/ ISPARTA	37° 50'753" N 30° 51'579" E 922m	09.09.2007
8	760	Karkın-Çamlıbel (Çiftlik), TOKAT	40° 03'833" N 36° 29'187" E 1143m	08.06.2008
9	763	Çamlıbel (Çiftlik)/ TOKAT	40° 04'261" N 36° 29'011" E 1132m	09.06.2008
10	777	Amasya-Samsun yolu, AMASYA	40° 41'779" N 35° 48'765" E 408m	11.06.2008
11	803	Arguvan/MALATY A	38 ° 46' N 38 ° 16' E	22.06.2008
12	821	Bekdiğin/Havza/ SAMSUN	40° 59'861" N 35° 46'125" E 725m	29.06.2008
13	923	Taşköprü/Babaeski /KIRKLARELİ	41 ° 27' N 27 ° 03' E	13.07.2002
14	924	Eğirdir/ISPARTA	37 ° 52' N 30 ° ,47' E	02.08.2002
15	925	Tavas/DENİZLİ	37 ° 35' N 29 ° 03' E	02.08.2002
16	927	Kanlıkavak/Göksun/ K.MARAŞ	38 ° 08' N 36 ° 36 ' E	11.08.2003
17	934	Alayhan/AKSARAY	38° 30'969" N 34° 21'098" E 1227m	08.07.2008
18	953	Pınarbaşı/KAYSERİ	38° 41'848" N 36° 21'790" E 1546m	11.07.2008
19	954	Karakoca/Ulubey/ ORDU	40 ° 50' N 37 ° 46' E	23.12.2007
20	1017	Kayaönü Mah./ KARAMAN	37° 14'318" N 33° 21'128" E 1039m	29.07.2008

Tablo 2.1.'in devamı				
21	1027	Tödürge Gölü, Zara/SİVAS	39° 51'772" N 37° 37'428" E 1340m	18.08.2008
22	1045	16 km. Ilıca/ERZURUM	39° 58'751" N 40° 56'382" E 1881m	20.08.2008
23	1046	Kırkdikme, Horasan/ERZURUM	40° 00'299" N 41° 57'455" E 1594m	21.08.2008
24	1070	Ünlüpınar, Kelkit/ GÜMÜŞHANE	40° 14'022" N 39° 27'077" E 1723m	29.08.2008
25	1096	İnaç Köyü/KIRŞEHİR	39° 05'094" N 34° 16'287" E 1200m	03.09.2008
26	1097	Elmadağ/ANKARA	39° 55'348" N 33° 15'923" E 1072m	05.09.2008
27	1100	ESKİŞEHİR	39° 30'058" N 31° 13'424" E 1028m	05.09.2008
28	1107	Argıthanı, Ilgın/KONYA	38° 18'062" N 31° 39'356" E 1080m	07.09.2008
29	1248	Geriş/Akseki/ ANTALYA	36° 58'049" N 31° 44'840" E 748m	17.7.2009
30	1254	Gökçebayır/Akkuş/ ORDU	40° 41'648" N 36° 59'460" E 1028m	28.07.2009
31	1269	Refahiye/ ERZİNCAN	39° 56'265" N 38° 44'499" E 1554m	09.08.2009
32	1270	Horasan/ERZURUM	40° 04'220" N 42° 14'473" E 1539m	29.08.2008
33	1323	Aydoğmuş/Keçiözü /ISPARTA	37° 58' 329" N 30° 12'560" E	21.06.2010
34	1332	Kurucabük/Datca/ MUĞLA	36° 45'598" N 27° 54'341" E 22m	12.07.2010
35	1361	Kumlucabağları/ EDİRNE	41° 40' N 26° 34' E	08.11.2010
36	1377	Sarıköy/Beyşehir/ KONYA	37° 47' N 31° 48' E	16.07.2011
37	1380	Bozan/Dazkırı/ AFYON	37° 58'228" N 29° 54'232" E	17.07.2011
38	1381	Serinhisar/DENİZLİ	37° 37'214" N 29° 15'493" E	17.02.2011
39	1389	Çakırlar Köyü/Köprübaşı MANİSA	38° 40'787" N 28° 20'282" E	20.07.2011
40	1404	Yaraş/MUĞLA	37° 09'536" N 28° 28'458" E 720m	04.08.2011

Tablo 2.1.'in devamı				
41	1406	Söke çıkışı Kuşadası/AYDIN	37° 45' 415" N 27° 21' 162" E 153m	09.08.2011
42	1408	Selçuk/İZMİR	37° 56' 575" N 27° 18' 096" E 21m	09.08.2011
43	1409	Kars-Erzurum çıkışı/KARS	40° 34' N 43° 02' E	08.08.2011
44	1410	Uzundere/Gaziemir/ İZMİR	38° 21' 197" N 27° 05' 545" E 170m	09.08.2011
45	1413	Kütahya-Eskişehir İl sınırı / ESKİŞEHİR	39° 41' 014" N 30° 09' 168" E	10.08.2011
46	1434	Seydişehir/KONYA	37° 45' 037" N 32° 05' 292" E 1573m	08.11.2011
47	1445	Maçka/TRABZON	40° 48' N 39° 37 E	14.12.2011
48	1470	Kağızman yol ayrımı/ KARS	-	30.06.2012
49	1496	Şereflikoçhisar/ ANKARA	39° 08' 980" N 33° 17' 645" E	12.08.2012
50	1522	Erzurum-Iğdır yolu/Kalebaşı/ KARS	40° 08' 2400" N 42° 42' 1449" E 1395m	02.06.2013
51	1530	10.km Tosya/ KASTAMONU	41° 01 N 34° 02 E	28.06.2013
52	1533	Gemiç/ Orhangazi/BURSA	40 ° 29 N 29 ° 18 E	22.06.2012
53	1536	Korkuteli/ ANTALYA	37 ° 04 N 30 ° 11 E	17.08.2013
54	1555	Kuzukaya/Çıldır/ ARDAHAN	41 ° 09 N 43 ° 06 E	30.06.2009



Şekil 2.1. Bu çalışmada Türkiye’den kızıl tilki (*Vulpes vulpes*) örneklerinin elde edildiği yerleri gösteren harita

- *Tüm santrifüj aşamaları oda sıcaklığında (15–25 °C) gerçekleştirildi
- *Vorteks işlemi, 5–10 saniye arasında yapıldı.
- *Gerekli olduğunda Buffer AL ve Buffer ATL +56 °C'ye ısıtılarak tekrar çözünmesi sağlandı.
- *Kitin ilk kullanımında Buffer AW1 ve AW2'ye % 99.9'luk Etanol eklenmiştir.
- *Total DNA izolasyonuna başlamadan önce thermal block 56 °C'ye ayarlandı.
- *Steril 1.5 ml'lik ependorf tüpleri etiketlenerek hazırlandı.
- *Kitle birlikte gelen DNeasy mini spin column ve koleksiyon tüpleri etiketlendi.
- *Etil alkolde saklanan dokulardan 25 mg'dan fazla olmayacak şekilde doku parçaları etiketlenmiş tüplere alındı.
- *Lizis aşamasının daha etkili olabilmesi için alınan doku parçaları daha küçük parçalara bölündü ve üzerine 180 µl ATL Buffer eklendi ve tüpler vortekslendi.
- *Tüplere 20 µl Proteinaz K eklendi ve vortekslendi.
- *Tüpler, daha önce +56 °C'ye ayarlanmış thermal block'a alındı.
- *Dokular tamamen lizis oluncaya kadar burada bekletildi (yaklaşık 3–4 saat) ve bu süre boyunca tüpler, düzenli aralıklarla (25 – 30 dk) vortekslendi.
- *Tamamen lizis olan örnekler, thermal block'dan alındı ve yaklaşık 15 saniye vortekslendi. Daha sonra üzerine 200 µl AL Buffer eklendi ve tekrar vortekslendi.
- *Tüplere 200 µl % 96–100'lük etanol eklendi ve vortekslendi.
- *Homojen bir solüsyon elde etmek için Buffer AL ve etanol mümkün olduğunca çabuk eklenmeli ve tüpler vortekslenmelidir.
- *Elde edilen karışım önceden hazırlanmış DNeasy mini spin column'a pipetlendi ve spin columnlar 2 ml'lik koleksiyon tüpleri içerisine yerleştirildi. DNeasy mini spin columnlar 6.000 rcf'de 1 dakika santrifüj edildi.
- *Altta biriken sıvı ve koleksiyon tüpü atıldı.

*DNeasy mini spin column yeni bir 2 ml'lik koleksiyon tüpü içerisine yerleştirildi ve üzerine 500 µl Buffer AW1 eklendi.

*DNeasy mini spin columnlar, 6.000 rcf'de 1 dakika santrifüj edildi ve altta biriken sıvı ve koleksiyon tüpü atıldı.

*DNeasy mini spin column, yeni bir 2ml'lik koleksiyon tüpü içerisine yerleştirildi ve üzerine 500 µl Buffer AW2 eklendi.

*DNeasy mini spin columnlar 20.000 rcf'de 3 dakika santrifüj edildi.

*Spin column dikkatli bir şekilde sıvıya değmeden alındı ve altta biriken sıvı ve koleksiyon tüpü atıldı.

*DNeasy mini spin column membranının kuru olması önemlidir. Buradan taşınacak olan etanol ileriki safhalar için olumsuz sonuç doğurabilir.

*Etanolün membran ile teması halinde DNeasy mini spin columnlar tekrar 6.000 rcf'de 1 dakika santrifüj edilir.

*DNeasy mini spin columnlar önceden etiketlenmiş 1,5 ml'lik ependorf tüpleri içerisine yerleştirildi.

*Doğrudan membran üzerlerine 200 µl Buffer AE eklendi. DNeasy mini spin columnlar oda sıcaklığında 1 dakika inkübasyona bırakıldı ve 6.000 rcf'de 1 dakika santrifüj edildi. İstenilmesi durumunda bu basamak tekrarlanabilir.

*DNeasy mini spin column atıldı ve tüpte biriken sıvı +4 °C'de saklandı. Uzun süreli saklamak için tüpler, -20 °C'ye alınır.

Yapılan işlemler sonucu total DNA'nın elde edilip edilmediğinin anlaşılması için agaroz jel elektroforezi işlemi yapıldı.

2.3. Total DNA'nın agaroz jelde yürütülmesi ve görüntülenmesi

Total DNA % 0.8'lik agaroz jelde yürütülmüştür. Bunun için bir erlen içerisine 1.2 gram agaroz konulur ve üzerine 150 ml 1X TAE (Trisma Base, Glacial Asetic Acid, EDTA) çözeltisi eklenerek karıştırılır. Elde edilen karışım mikrodalgada agaroz tamamen çözünene kadar ısıtılır. Agaroz tamamen çözündükten sonra üzerine 10 mg/ml'lik Ethidium Bromide çözeltisinden 9 µl eklenir.

Manyetik karıştırıcıda karışım 50 – 55 °C'ye gelinceye kadar karıştırılır. Elektroforez tepsisine taraklar yerleştirilir ve karışım yavaşça dökülür.

Agaroz jel tamamen donuncaya kadar beklenir ve donduktan sonra taraklar dikkatlice jelden alınır. Elektroforez tepsisi elektroforez tankına yerleştirilir ve üzerine jeli tamamen kaplayacak kadar 1X TAE çözeltisi eklenir. Elde edilen total DNA'dan 10 µl alınıp temiz bir PCR tüpüne konur ve üzerine 2 µl 6X Loading Dye (% 40'luk sükröz, xylene cyanol FF ve Bromophenol Blue) eklenir, pipetle karıştırılır. Karışım jelde açılan kuyucuklara pipetlenir.

Bir kuyucuğa 6 µl 100 bç. DNA Ladder konulur. Jele 80 volt doğrusal akım verilerek örneklerin jel üzerinde, elektriksel alanda 60 dakika yürümesi sağlanır. Süre sonunda jel elektroforez tankından çıkarılıp görüntüleme cihazına yerleştirilir ve UV altında görüntülenip fotoğrafı çekilir (KODAK Gel Logic 1500 jel görüntüleme sistemi).

2.4. Mitokondriyal D-loop bölgesinin PCR ile çoğaltılması

Her bir örnek için elde edilen total DNA'lar, mitokondriyal DNA'nın D-loop bölgesi için kaynak olarak kullanılmıştır. D-loop gen bölgesini çoğaltmak için Lf15926f (5'ATA TAA AAT ACT TTG GTC TTG TAA ACC-3') ve HD1h (5' CCT GAA GTA AGA ACC AGA TG-3') isimli spesifik primer çifti [21] kullanılmıştır.

PCR için kullanılan kimyasallar ve miktarları;

Steril Distile Su (dH₂O) 26.7 µl

10X Taq Buffer 5 µl 1X

10mM dNTP Mix 1 µl 0.2 mM

10µM Lf15926f Primer 5 µl 1 µM

10µM H Dlh Primer 5 µl 1 µM

Taq DNA Polimeraz (5 u/µl) 0.3 µl 2 u

25mM MgCl₂ 3 µl 2 mM

DNA 1 µl

BSA 3 µl (10 mg/ml)

Toplam: 50 µl

Elde edilen karışım istenilen gen bölgesinin çoğaltılması için Thermo-Cycler'ra alınır.

PCR döngü programı:

Basamak	Sıcaklık (°C)	Süre	Döngü Sayısı
Ön Denatürasyon	95 °C	5.00 dk	1
Denatürasyon	95 °C	40 sn	30
Bağlanma	54 °C	40 sn	30
Uzama	72 °C	40 sn	30
Sonlandırma	72 °C	7.00 dk	1

2.5. PCR ürünlerinin agaroz jelde yürütülmesi ve görüntülenmesi

PCR ürünü % 2'lik agaroz jelde yürütülmüştür. Bunun için bir erlen içerisine 3 gram agaroz konur ve üzerine 150 ml 1X TAE (Trisma Base, Glacial Asetic Asid, EDTA) çözeltisi eklenerek karıştırılır. Elde edilen karışım mikrodalgada agaroz tamamen çözünene kadar ısıtılır. Agaroz tamamen çözündükten sonra üzerine 10 mg/ml'lik

Ethidium Bromide çözeltisinden 8 µl eklenir. Manyetik karıştırıcıda karışım 50 – 55 °C'ye gelinceye kadar karıştırılır. Elektroforez tepsisine taraklar yerleştirilir ve karışım yavaşça dökülür.

Agaroz jel tamamen donuncaya kadar beklenir ve donduktan sonra taraklar dikkatlice jelden alınır. Elektroforez tepsi elektroforez tankına yerleştirilir ve üzerine jeli tamamen kaplayacak kadar 1X TAE çözeltisi eklenir. Elde edilen PCR ürününden 10 µl alınıp temiz bir PCR tüpüne konur ve üzerine 2 µl 6X Loading Dye eklenir, pipetle karıştırılır. Karışım jelde açılan kuyucuklara pipetlenir. Boş bir kuyucuğa 6 µl 100 bp. DNA Ladder konulur. Jele 80 volt doğrusal akım verilerek örneklerin jel üzerinde, elektriksel alanda 45-60 dakika yürümesi sağlanır. Süre sonunda jel elektroforez tankından çıkarılıp görüntüleme cihazına yerleştirilir ve UV altında görüntülenip fotoğrafı çekilir.

2.6. Kızıl tilki örneklerinin DNA dizi analizi

Türkiye'den kızıl tilki türüne ait 54 örnek için spesifik primer çifti kullanılmasıyla elde edilen mitokondriyal DNA D-loop bölgesine ait PCR ürünlerinin saflaştırılması ve DNA dizi analizi, PCR safhasındaki primer çifti kullanılarak hem ileri (forward) hem de geri (reverse) yönde hizmet alımı ile gerçekleştirildi. Ham mitokondriyal DNA D-loop dizileri, ABI 3100 Genetic Analyzer (Applied Biosystems) (RefGen, ODTÜ-Teknopark/Ankara) cihazı kullanılarak elde edildi.

2.7. Türkiye'den Kızıl tilki örneklerinin mitokondriyal DNA D-loop bölgesine ait dizilerin hizalanması ve düzenlenmesi

Türkiye'den kızıl tilki türüne ait tüm ham mitokondriyal DNA D-loop dizilerinin hizalanması ve düzenlenmesi işlemi, Geneious version (R6.1.6) [46] programı ile

gerçekleştirildi. Türkiye’den Kızıl tilki türüne ait ileri ve geri yöndeki mitokondriyal DNA D-loop dizileri, alt alta gelecek şekilde bir araya getirilerek birleştirildi. Daha sonra ileri ve geri yöndeki ham mitokondriyal DNA dizileri ile kromatogramları birlikte gözden geçirildi. Mitokondriyal DNA D-loop bölgesi için ortak dizi elde edildi. Mitokondriyal DNA D-loop bölgesi dizileri, aynı baz dizisi uzunluğuna getirilerek birleştirildiler. Tek dosya içerisinde birleştirilen tüm diziler, genetik analizlerde kullanılan programlara uygun olması için fasta (fas) ve nexus (nex) dosya formatında kaydedildiler.

2.8. Kızıl tilki örneklerinin mitokondriyal DNA D-loop bölgesine ait dizilerin genetik analizi

2.8.1. Türkiye’den Kızıl tilki örneklerinin genetik analizi

Türkiye’den Kızıl tilki türüne ait örneklerden elde edilen tüm mitokondriyal DNA dizileri, DnaSP v.5.00.04 [47] programı ile analiz edildi. Bu analiz işlemi ile haplotip sayısı, haplotip çeşitliliği (Hd) ve nükleotid çeşitliliği (Pi) tespit edildi. Tespit edilen mitokondriyal DNA haplotipleri arasındaki genetik uzaklık değerleri, MEGA6 [48] programında yer alan Kimura 2 Parametre (K2P) [49] baz değişim modeli kullanılarak hesaplandı.

Türkiye’den kızıl tilki türüne ait tespit edilen haplotiplerden oluşturulan veri seti, filogenetik ve network analizlerinde kullanıldı. Kızıl tilki türüne ait Türkiye örneklerinin mitokondriyal DNA (tRNA^{Thr}+tRNA^{Pro}+D-loop) dizilerinden oluşturulan veri seti için en uygun baz değişim modeli, dış gruplu olarak jModelTest [50, 51] programı ile hem BIC (Bayesian Information Criterion) hem de AIC (Akaike Information Criterion) model seçim taslağına göre HKY+G [52] seçildi. Neighbor Joining (Komşu Birleştirme) (NJ) [53] ve Maksimum Likelihood (Maksimum

Olasılık) (ML) [54] metotlarının kullanıldığı filogenetik analizler 10.000 tekrarlı (replikasyon) olarak MEGA6 programıyla [48], Bayesian Inference (BI) analizi [55] 300.000 nesil (generation) olarak MrBayes programıyla [56] yapıldı. Dış grup olarak *Vulpes zerda* türüne ait KF826488 (NC_023459) numaralı dizi [57] kullanıldı.

Türkiye’den tespit edilen mitokondriyal DNA D-loop haplotiplerini kullanarak tür içi genolojisini göstermek için Network versiyon 4.6.1.1 [58] ile Median-joining (MJ) metodu kullanarak haplotip ağı (network) oluşturuldu.

2.8.2. Gen Bankası’ndan Kızıl tilki türünün mitokondriyal DNA D-loop bölgesine ait dizilerin elde edilmesi

Kızıl tilki türüne ait şimdiye kadar tespit edilmiş ve Gen Bankası’nda (NCBI: National Center for Biotechnology Information) depolanmış olan farklı uzunluktaki mitokondriyal DNA D-loop dizileri, Türkiye kızıl tilkilerinin Dünya üzerindeki diğer kızıl tilki popülasyonlarıyla olan filogenetik ilişkilerini belirlemek için yapılan Bayesian ve network analizlerine dahil edilmiştir. Dış grup olarak *Alopex lagopus* türüne ait AY321127 [59], *Vulpes macrotis* türüne ait KJ846673 [16] ve *Vulpes zerda* türüne ait KF826488 (NC_023459) [57] numaralı DNA dizileri kullanıldı.

Bu çalışmadaki analizlere dahil edilen Gen Bankası’nda belirlenen farklı uzunluktaki mitokondriyal DNA D-loop bölgesi dizilerinin erişim numaraları ve yayınlandığı çalışmalar Tablo 2.2’de verilmiştir.

Tablo 2.2. Bu çalışmada kullanılan kızıl tilki türüne ait Gen Bankası'nda tespit edilen mitokondriyal DNA bölgesi dizileri

1-) AB292741-AB292765.....	[8]
2-) AF098155.....	[60]
3-)AF338789-AF338792, AF338794-AF338796, AF338798-AF338801, AF487737-AF487738, AF487740-AF487741, AF487746, AF487752-	

AF487753.....	[61]
4-) AJ585358.....	[62]
5-) AM181037.....	[40]
5-) D83639.....	[63]
6-) FJ830777-FJ830828.....	[11]
7-) GQ374180.....	[38]
8-) GQ911200-GQ911203, GU224186-GU224187.....	[12]
8-) HF677203-HF677254.....	[22]
9-) HF968440-HF968448.....	[21]
10-) HM461967-HM461968.....	[14]
11-) HM590004-HM590009.....	[15]
12-) JN711443.....	[39]
13-) JX868811-JX868837.....	[23]
14-) KF387633.....	[64]
15-) JN232481-JN232492, JN232495, JN232497-JN232515.....	[17]
16-) KJ846508-KJ846670.....	[16]

2.8.3. Türkiye’den ve Gen Bankası’ndan elde edilen kızıl tilki türünün mitokondriyal DNA D-loop bölgesine ait dizilerin birlikte genetik analizi

Türkiye’den tespit edilen 25 haplotip ile Gen Bankası’ndan elde edilen mitokondriyal DNA D-loop bölgesine ait 391 dizi Geneious version (R6.1.6) [46] programıyla bir araya getirilerek 270 bç. uzunluğunda bir veri seti oluşturuldu. Üç dış grup (*Alopex lagopus*, *Vulpes macrotis* ve *Vulpes zerda*) [16, 57, 59] kullanmak suretiyle jModeltest 0.1.1 [50, 51] programıyla bu veri setinin Bayesian analizleri için en uygun baz değişim modeli, GTR (The general time-reversible)+G+I [65] seçildi. Bayesian analizinde 28 milyon nesilden oluşmuş olan 4-MCMC (Markov Chain Monte Carlo) kullanılmış ve ağaçların örnekleme her 1.000 basamak için 100 nesile göre yapılmıştır. Ayrılma frekanslarının ortalama standart sapması, <0.01 olduğu zaman örneklerin ilk % 25’i burn-in olarak çıkarılmıştır. Burn-in ağaçlarının çıkarılması ve konvergens değerlendirmesinden sonra kalan örnekler, % 95 Bayesian güven aralıkları ve posterior olasılıkları hesaplanmak suretiyle konsensus ağaçları (50% majority rule)

retmek için tutulmuştur. Üretilen Bayesian aēacının çizimi ve düzenlenmesi için FigTree v1.3.1 [66] programı kullanılmıştır.

Kızıl tilki türünün Türkiye’de ve Gen Bankası’nda tespit edilen mitokondriyal D-loop bölgesi dizilerinin bir araya getirilmesiyle oluşturulan veri setinin network (aē) analizi, türün yayılış alanı boyunca tür içi genolojisini göstermek için Median-joining (MJ) metodu kullanılarak Network 4.6.1.1 [58] programıyla gerçekleştirildi.



3. BÖLÜM

BULGULAR

3.1. Türkiye'de yayılış gösteren Kızıl tilki (*Vulpes vulpes*) türüne ait örneklerin mitokondriyal DNA analizi

Bu çalışmada kızıl tilkiye (*Vulpes vulpes*) ait Türkiye örnekleri kullanıldı.

Vulpes vulpes (Linnaeus, 1758)

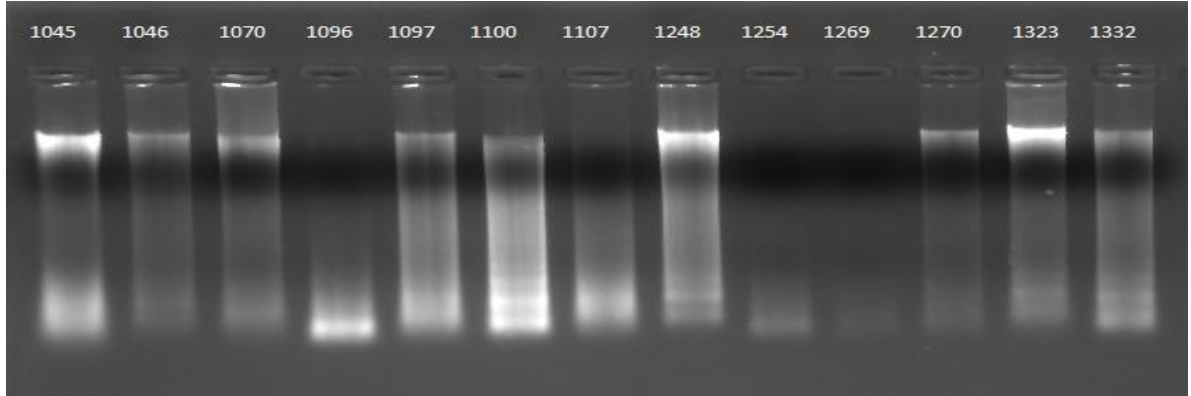
1758. *Canis vulpes* Linnaeus, Syst. Nat., 10th ed.,1:40.

Tip Yeri: Upsala, İsveç.

Kızıl tilki türüne ait örneklerin değişik dokularından total DNA elde edildi ve mitokondriyal DNA (tRNA-Thr+tRNA-Pro+D-loop), PCR ile çoğaltıldı.

3.1.1. Total DNA elde edilmesi

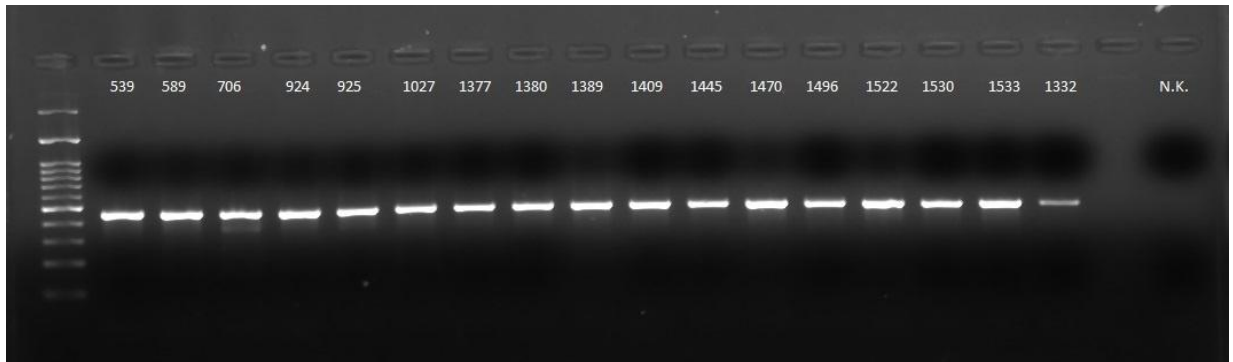
Kızıl tilki türünün Türkiye örneklerine ait daha önce toplanmış ve etil alkolde saklanan değişik dokulardan elde edilen total DNA'lar, % 1'lik agaroz jelde yürütüldü ve daha sonra UV altında görüntülendi (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. Türkiye'den kızıl tilki (*Vulpes vulpes*) örneklerine ait değişik dokulardan elde edilen total DNA'ların % 1'lik agaroz jel görüntüsü

3.1.2. Mitokondriyal DNA'nın hedef bölgesinin PCR ile çoğaltılması

Türkiye'nin 54 lokalitesinden elde edilen 54 kızıl tilki örneğinin total DNA'ları, Lf15926f ve HDlh spesifik primer çifti kullanarak mitokondriyal DNA'nın hedef bölgesinin PCR işlemi ile çoğaltılmasında kullanıldılar. PCR işlemi sonucunda mitokondriyal DNA'nın yaklaşık 400-450 bp.'lik kısmı çoğaltıldı ve PCR ürünleri kontrol amaçlı olarak % 2'lik agaroz jelde yürütölme işlemi yapılarak UV altında görüntölendi (Şekil 3.2).



Şekil 3.2. Türkiye'den kızıl tilki (*Vulpes vulpes*) örneklerine ait mitokondriyal DNA'nın hedef bölgesinin Lf15926f ve HDlh primerleri ile çoğaltılması sonucunda elde edilen PCR ürünlerinin agaroz jel elektroforez görüntüsü.

3.2. Kızıl tilki (*Vulpes vulpes*) türüne ait türkiye örneklerinden elde edilen mitokondriyal DNA dizilerinin genetik analizi

Kızıl tilki türüne Türkiye'den 54 örneğin DNA dizi analizi sonucunda elde edilen ham mitokondriyal DNA dizileri, Geneious programıyla [46] hizalanarak düzenlendi ve 416 bç. uzunluğundaki diziler elde edildi. Mitokondriyal DNA'ya ait 416 bç. uzunluğundaki dizilerin mitokondriyal tRNA^{Thr} (60 bç.) (son 40 bç.), tRNA^{Pro} (66 bç.) (tamamı) ve D-loop (310 bç.) bölgelerine ait olduğu belirlendi. Belirlenen 416 bç.'lik dizilerin (tRNA^{Thr}+tRNA^{Pro}+D-loop) Geneious programı [46] kullanılarak Gen Bankası veri tabanında BLAST analizi yapıldı. Bu analiz sonucunda 54 örneğin dizilerinin (416 bç.) kızıl tilki (*Vulpes vulpes*) türüne ait oldukları tespit edildi. 54 mitokondriyal DNA dizisi (416 bç.) için DnaSP v.5.00.04 programıyla [47] yapılan analizde 25 mitokondriyal tRNA^{Thr}+tRNA^{Pro}+D-loop haplotipi tespit edildi (Tablo 3.1). Kızıl tilki türünün Türkiye haplotipleri arasında en yaygın tespit edilen mitokondriyal DNA haplotipi, 11 örnekte gözlenen Tr9 (% 20,3) olup ikinci en yaygın haplotip ise 5 örnekte gözlenen Tr8 (% 9,2)'dir (Şekil 2.1, Tablo 2.1, Tablo 3.1).

Türkiye'den kızıl tilki türüne ait örnekler için bu çalışmada gözlenen haplotip çeşitliliği (Haplotype diversity, Hd) 0,9378, haplotip çeşitliliğinin varyansı (variance of haplotype diversity) 0,00038, haplotip çeşitliliğinin standart sapması (standard deviation of haplotype diversity) 0,020 ve nükleotid çeşitliliği (Nucleotide diversity, Pi) 0,01675 şeklinde bulunmuştur. 54 dizideki toplam mutasyon ve polimorfik yer sayısı 40, indel (insersiyon+delesyon) sayısı 2 olarak tespit edilmiştir. Türkiye kızıl tilkilerine ait 54 örnekte tespit edilen 25 mitokondriyal DNA haplotipinin baz içeriği, Tablo 3.2 de verilmiştir.

Tablo 3.1. Türkiye'den kızıl tilki (*Vulpes vulpes*) türüne ait örneklerden mitokondriyal DNA'nın (tRNA^{Thr}+tRNA^{Pro}+D-loop) dizi analizi sonucunda belirlenen haplotipler

Harita numarası	Haplotip numarası	Örnek numarası	Lokalite
35	Tr1	1361	Kumlucabağları/EDİRNE
6	Tr2	706	ISPARTA
7	Tr2	707	Eğirdir/ ISPARTA
33	Tr2	1323	Aydoğmuş/Keçiborlu/ISPARTA
39	Tr2	1389	Çakırlar Köyü/KöprübaşıMANİSA
40	Tr3	1404	Yaraş/MUĞLA
46	Tr3	1434	Seydişehir/KONYA
53	Tr3	1536	Korkuteli/ANTALYA
13	Tr4	923	Taşköprü/Babaeski/KIRKLARELİ
16	Tr5	927	Kanlıkavak/Göksun/K.MARAŞ
47	Tr6	1445	Maçka/TRABZON
11	Tr7	803	Arguvan/MALATYA
1	Tr8	538	Boğazkale/ÇORUM
20	Tr8	1017	Kayaönü Mah./KARAMAN
27	Tr8	1100	ESKİŞEHİR
45	Tr8	1413	Kütahya-Eskişehir İl sınırı/ESKİŞEHİR
51	Tr8	1530	10.km Tosya/KASTAMONU
10	Tr9	777	AMASYA
12	Tr9	821	Bekdiğin/Havza/SAMSUN
14	Tr9	924	Eğirdir/ISPARTA
17	Tr9	934	AKSARAY
18	Tr9	953	Pınarbaşı/KAYSERİ
25	Tr9	1096	KIRŞEHİR
28	Tr9	1107	İlgın/KONYA
29	Tr9	1248	Geriş/Akseki/ANTALYA
37	Tr9	1380	Bozan/Dazkırı/AFYON
44	Tr9	1410	Uzundere/Gaziemir/İZMİR
52	Tr9	1533	Gemiç/ Orhangazi/BURSA
2	Tr10	539	Kızılırmak/ÇANKIRI
4	Tr11	637	KARABÜK
5	Tr11	663	KONYA
8	Tr11	760	TOKAT
49	Tr12	1496	Şereflikoçhisar/ANKARA
26	Tr13	1097	Elmadağ/ANKARA
31	Tr14	1269	Refahiye/ERZİNCAN
43	Tr15	1409	Kars-Erzurum çıkışı/KARS

Tablo 3.1'in devamı			
54	Tr15	1555	Kuzukaya/Çıldır/ARDAHAN
19	Tr16	954	Karakoca/Ulubey/ORDU
21	Tr16	1027	Zara/SİVAS
22	Tr16	1045	Ilıca/ERZURUM
30	Tr16	1254	Gökçebayır/Akkuş/ORDU
32	Tr17	1270	Horasan/ERZURUM
48	Tr17	1470	Kağızman yol ayrımı/KARS
50	Tr17	1522	Erzurum-Iğdır yolu/Kalebaşı/ KARS
23	Tr18	1046	Horasan/ERZURUM
24	Tr19	1070	Kelkit/GÜMÜŞHANE
3	Tr20	589	Yeniyapan/Keskin/ KIRIKKALE
9	Tr21	763	Çamlıbel/ TOKAT
36	Tr22	1377	Sarıköy/Beyşehir/KONYA
42	Tr22	1408	Selçuk/İZMİR
41	Tr23	1406	Söke çıkışı/Kuşadası/AYDIN
15	Tr24	925	Tavas/DENİZLİ
38	Tr24	1381	Serinhisar/DENİZLİ
34	Tr25	1332	Kurucabük/Datça/MUĞLA

3.3. Türkiye Kızıl tilki (*Vulpes vulpes*) türüne ait mitokondriyal DNA dizilerinin filogenetik analizi

3.3.1. Filogenetik analizlerde kullanılan en uygun baz değişim modelinin belirlenmesi

Kızıl tilki türünün Türkiye örneklerine ait mitokondriyal DNA (tRNA^{Thr}+tRNA^{Pro}+D-loop) dizilerinden oluşturulan veri setinin filogenetik analizinde kullanılacak en uygun baz değişim modeli, jModelTest [50, 51] programı ile seçildi. Kızıl tilki türüne ait Türkiye örneklerinin mitokondriyal DNA (tRNA^{Thr}+tRNA^{Pro}+D-loop) dizilerinden oluşturulan veri seti için en uygun baz değişim modeli, dış gruplu olarak jModelTest [50, 51] programı ile hem BIC (Bayesian Information Criterion) hem de AIC (Akaike Information Criterion) model seçim taslağına göre HKY+G [52] seçildi. HKY+G modeli ile elde edildiğinden kızıl tilkiye ait Türkiye mitokondriyal DNA haplotiplerinin Maksimum Likelihood (ML) [54] ve Bayesian (BI) analizleri, HKY+G [52] baz değişim modeli kullanılarak yapıldı.

Tablo 3.2. Türkiye kıvıltıltilkilerine ait 54 örnekte tespit edilen 25 mitokondriyal DNA haplotipinin baz içeriği.

	T(U)	C	A	G	Total	T-1	C-1	A-1	G-1	Pos #1	T-2	C-2	A-2	G-2	Pos #2	T-3	C-3	A-3	G-3	Pos #3
Tr1	27,6	27,2	28,6	16,6	416,0	29	28,1	28,1	15,1	139,0	26	27,3	31,7	15,1	139,0	28	26,1	26,1	19,6	138,0
Tr2	27,9	26,9	29,1	16,1	416,0	29	28,1	28,1	15,1	139,0	27	26,6	33,1	13,7	139,0	28	26,1	26,1	19,6	138,0
Tr3	28,1	26,7	28,8	16,3	416,0	29	27,3	27,3	15,8	139,0	27	26,6	33,1	13,7	139,0	28	26,1	26,1	19,6	138,0
Tr4	27,9	27,2	29,1	15,9	416,0	29	28,1	28,1	15,1	139,0	27	26,6	33,1	13,7	139,0	28	26,8	26,1	18,8	138,0
Tr5	27,9	27,2	28,8	16,1	416,0	29	28,1	28,1	15,1	139,0	27	26,6	32,4	14,4	139,0	28	26,8	26,1	18,8	138,0
Tr6	27,6	27,4	29,1	15,9	416,0	28	28,8	28,1	15,1	139,0	27	26,6	33,1	13,7	139,0	28	26,8	26,1	18,8	138,0
Tr7	27,6	27,2	29,1	16,1	416,0	28	28,8	28,1	15,1	139,0	27	26,6	33,1	13,7	139,0	28	26,1	26,1	19,6	138,0
Tr8	27,6	27,4	29,3	15,6	416,0	29	28,8	28,1	14,4	139,0	26	27,3	33,1	13,7	139,0	28	26,1	26,8	18,8	138,0
Tr9	27,6	27,4	29,6	15,4	416,0	29	28,8	28,1	14,4	139,0	26	27,3	33,8	12,9	139,0	28	26,1	26,8	18,8	138,0
Tr10	27,6	27,4	29,3	15,6	416,0	29	28,8	28,1	14,4	139,0	26	27,3	33,1	13,7	139,0	28	26,1	26,8	18,8	138,0
Tr11	27,6	27,4	29,8	15,1	416,0	29	28,8	28,1	14,4	139,0	26	27,3	34,5	12,2	139,0	28	26,1	26,8	18,8	138,0
Tr12	27,9	27,2	29,3	15,6	416,0	29	28,1	28,1	14,4	139,0	26	27,3	33,1	13,7	139,0	28	26,1	26,8	18,8	138,0
Tr13	28,1	26,9	29,6	15,4	416,0	29	28,1	28,1	14,4	139,0	26	27,3	33,8	12,9	139,0	29	25,4	26,8	18,8	138,0
Tr14	27,9	26,9	29,8	15,4	416,0	29	28,1	28,1	14,4	139,0	26	26,6	34,5	12,9	139,0	28	26,1	26,8	18,8	138,0
Tr15	27,6	27,2	29,8	15,4	416,0	29	28,1	28,1	14,4	139,0	25	27,3	34,5	12,9	139,0	28	26,1	26,8	18,8	138,0
Tr16	28,1	26,7	29,1	16,1	416,0	29	27,3	27,3	15,8	139,0	26	27,3	33,1	13,7	139,0	29	25,4	26,8	18,8	138,0
Tr17	28,1	26,7	28,8	16,3	416,0	29	27,3	27,3	15,8	139,0	26	27,3	32,4	14,4	139,0	29	25,4	26,8	18,8	138,0
Tr18	28,1	26,7	28,4	16,8	416,0	29	27,3	27,3	15,8	139,0	26	27,3	31,7	15,1	139,0	29	25,4	26,1	19,6	138,0
Tr19	28,1	26,7	28,6	16,6	416,0	29	27,3	27,3	15,8	139,0	26	27,3	32,4	14,4	139,0	29	25,4	26,1	19,6	138,0
Tr20	27,2	27,7	29,4	15,7	415,0	28	29,5	28,1	14,4	139,0	25	27,5	33,3	13,8	138,0	28	26,1	26,8	18,8	138,0
Tr21	27,5	27,5	29,4	15,7	415,0	29	28,8	28,1	14,4	139,0	25	27,5	33,3	13,8	138,0	28	26,1	26,8	18,8	138,0
Tr22	27,2	27,7	29,6	15,4	415,0	29	28,1	27,3	15,8	139,0	25	28,3	34,8	11,6	138,0	28	26,8	26,8	18,8	138,0
Tr23	27,5	27,5	29,4	15,7	415,0	29	28,1	27,3	15,8	139,0	26	27,5	34,1	12,3	138,0	28	26,8	26,8	18,8	138,0
Tr24	27,2	27,7	29,6	15,4	415,0	28	28,8	27,3	15,8	139,0	26	27,5	34,1	12,3	138,0	28	26,8	27,5	18,1	138,0
Tr25	27,0	27,7	29,6	15,7	415,0	29	28,1	27,3	15,8	139,0	25	28,3	34,1	13,0	138,0	28	26,8	27,5	18,1	138,0
Ort.	27,7	27,2	29,2	15,8	415,8	29	28,2	27,8	15,1	139,0	26	27,2	33,3	13,5	138,8	28	26,1	26,6	19,0	138,0

Ayrıca, Kimura-2-Parametre (K2P) [49] baz değişim modeli kullanılarak Neighbor Joining (NJ) [53] analizinde kullanıldı.

3.3.2. Mitokondriyal DNA haplotipleri arasındaki genetik uzaklığın hesaplanması

Türkiye’de yayılış gösteren kızıl tilki türüne ait 416 bç. uzunluğundaki mitokondriyal DNA haplotipleri arasındaki genetik uzaklık değerleri, MEGA6 programı [48] ve K2P baz değişim modeli [49] kullanılarak elde edildi (Tablo 3.3). K2P baz değişim modeline [49] göre hesaplanan genetik uzaklık değerleri içerisinde en küçük genetik uzaklık değeri, 0.002 (% 0.2) iken en büyük genetik uzaklık değeri ise 0.040 (% 4) olarak tespit edildi. 25 haplotip için ortalama genetik uzaklık değeri, 0.022 (% 2,2) olarak hesaplandı. Hesaplanan genetik uzaklık değerleri, kızıl tilki türünün Türkiye mitokondriyal DNA haplotipleri içerisinde önemli derecede farklılıklar olmadığını göstermektedir (Tablo 3.3)

3.3.3. Türkiye’de yayılış gösteren kızıl tilki (*Vulpes vulpes*) türüne ait mitokondriyal DNA haplotiplerinin Neighbor Joining analizi

Bu çalışmada Türkiye’den kızıl tilki türüne ait 54 örnekten dizi analizi sonucunda elde edilen 25 mitokondriyal DNA (tRNA^{Thr}+tRNA^{Pro}+D-loop) haplotipi (416 bç.) arasındaki filogenetik ilişkiler, MEGA6 programında [48] dış grup *Vulpes zerda* türü, K2P baz değişim modeli [49] ve 10000 tekrarlı (replikasyon) olarak bootstrap değerlemesiyle Neighbor Joining (NJ) algoritması [53] kullanılarak oluşturulan NJ ağacında ortaya çıkarıldı (Şekil 3.3). NJ ağacına göre kızıl tilki türüne ait Türkiye haplotipleri, % 46-91 arasında değişen bootstrap değerleriyle desteklenmiş dört haplogrupa (Haplogrup 1-4)

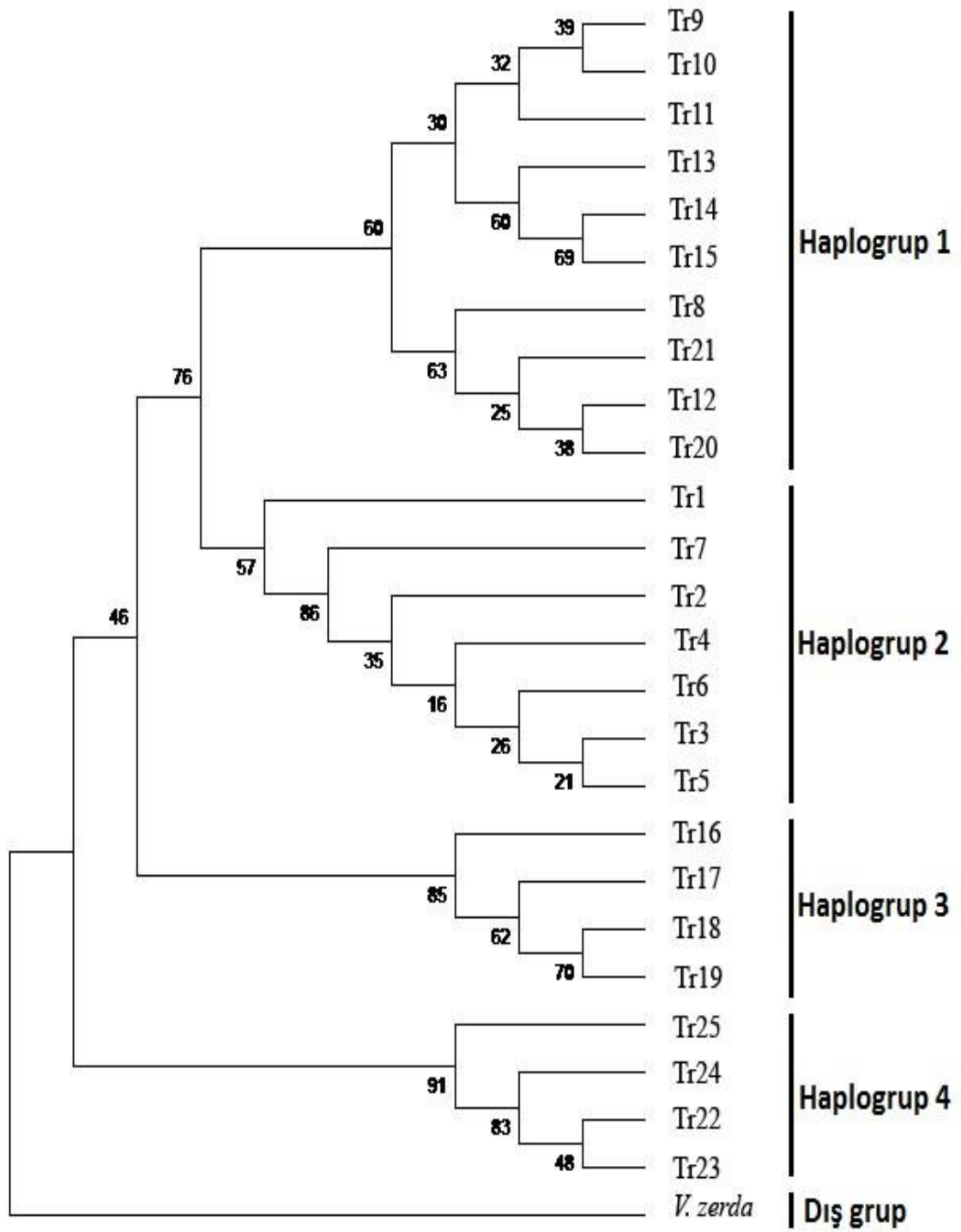
dağılmıştır (Şekil 3.3). Dört haplogruptan Haplogrup 1'deki haplotipler (Tr8, Tr9, Tr10, Tr11; Tr12, Tr13, Tr14, Tr15, Tr20, Tr21) % 60 bootstrap değeri, Haplogrup 2'deki haplotipler (Tr1, Tr2, Tr3, Tr4, Tr5, Tr6, Tr7) % 57 bootstrap değeri, Haplogrup 3'teki haplotipler (Tr16, Tr17, Tr18, Tr19) % 85 bootstrap değeri ve Haplogrup 4'teki haplotipler (Tr22, Tr23, Tr24, Tr25) ise % 91 bootstrap değeri ile desteklendiği gözlenmiştir (Şekil 3.3, Tablo 3.1).

3.3.4. Türkiye'den kızıl tilki (*Vulpes vulpes*) türüne ait mitokondriyal DNA haplotiplerinin Maksimum Likelihood (olasılık) analizi

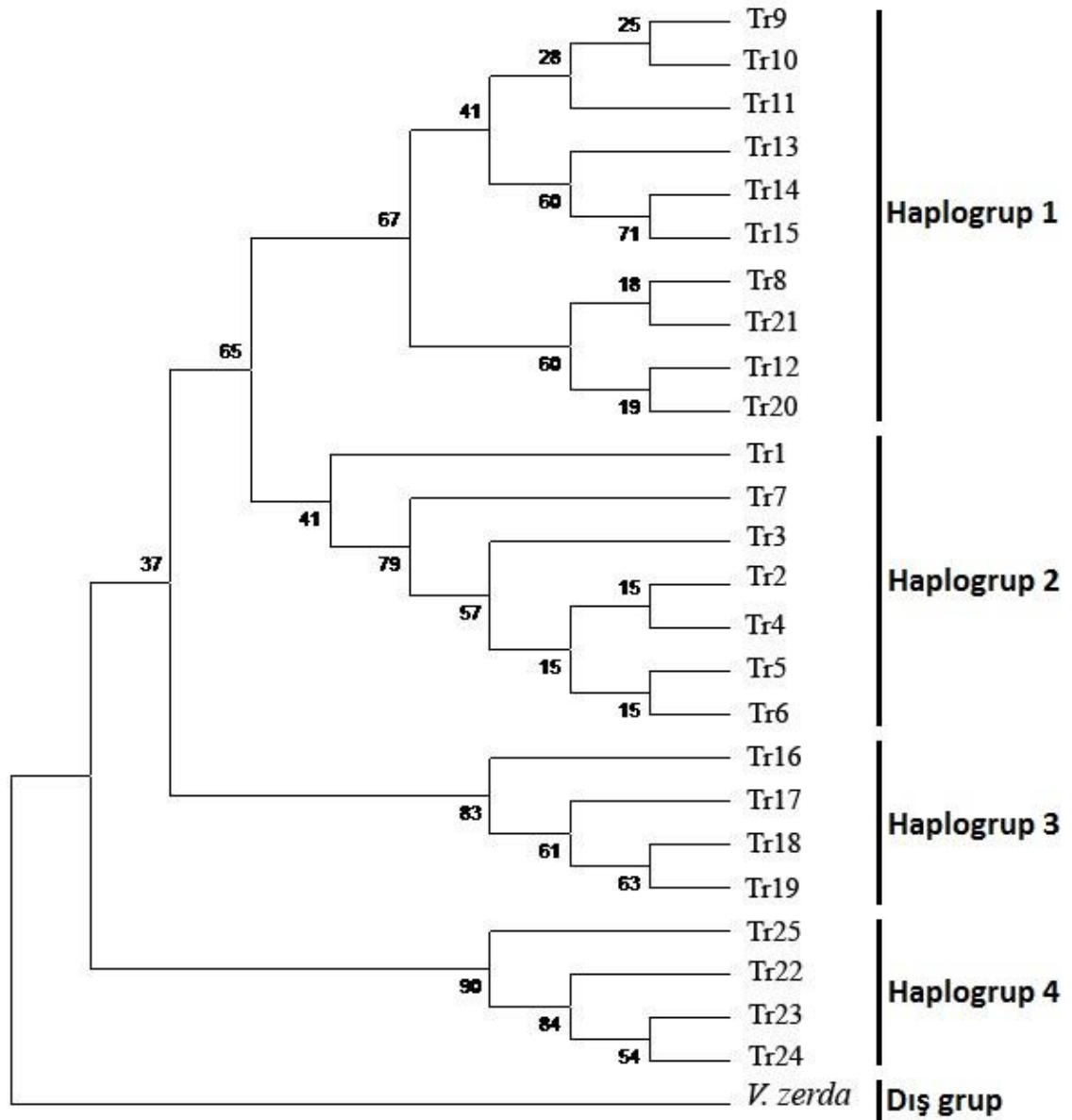
Türkiye'de yayılış gösteren kızıl tilki türüne ait mitokondriyal DNA (tRNA^{Thr}+tRNA^{Pro}+D-loop) haplotiplerinin Maksimum Likelihood (ML) (olasılık) [54] analizi, dış grup *Vulpes zerda* türü kullanılarak MEGA6 programında [48] HKY+G baz değişim modeli [52] ve 10.000 tekrarlı (replikasyon) olarak yapıldı. Oluşturulan ML ağacının (Şekil 3.4) topolojisi ile *V. vulpes* türünün Türkiye haplotiplerinden üretilen NJ ağacının (Şekil 3.3) topolojisinin hemen hemen aynı olduğu gözlenmiştir. Kızıl tilki türüne ait Türkiye mitokondriyal DNA (tRNA^{Thr}+tRNA^{Pro}+D-loop) haplotipleri, ML ağacında % 37-90 arasında değişen bootstrap değerleriyle desteklenmiş dört haplogrup (Haplogrup 1-4) içerisinde yer aldılar (Şekil 3.4, Tablo 3.1).

Tablo 3.3. Türkiye’den kızıl tilki (*Vulpes vulpes*) türüne ait mitokondriyal DNA haplotipleri arasındaki Kimura 2-Parametre baz değişim modeline [49] göre hesaplanan genetik uzaklık değerleri

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25
[Tr1]	****																								
[Tr2]	0.007	****																							
[Tr3]	0.012	0.005	****																						
[Tr4]	0.010	0.002	0.007	****																					
[Tr5]	0.012	0.005	0.010	0.002	****																				
[Tr6]	0.012	0.005	0.010	0.002	0.005	****																			
[Tr7]	0.015	0.007	0.012	0.010	0.012	0.012	****																		
[Tr8]	0.010	0.012	0.017	0.015	0.017	0.017	0.020	****																	
[Tr9]	0.012	0.010	0.015	0.012	0.015	0.015	0.017	0.002	****																
[Tr10]	0.015	0.012	0.017	0.015	0.017	0.017	0.020	0.005	0.002	****															
[Tr11]	0.015	0.012	0.017	0.015	0.017	0.017	0.020	0.005	0.002	0.005	****														
[Tr12]	0.012	0.015	0.020	0.017	0.020	0.020	0.022	0.002	0.005	0.007	0.007	****													
[Tr13]	0.017	0.015	0.020	0.017	0.020	0.020	0.022	0.007	0.005	0.007	0.007	0.010	****												
[Tr14]	0.017	0.015	0.020	0.017	0.020	0.020	0.022	0.007	0.005	0.007	0.007	0.010	0.005	****											
[Tr15]	0.020	0.017	0.022	0.020	0.022	0.022	0.025	0.010	0.007	0.010	0.010	0.012	0.007	0.002	****										
[Tr16]	0.015	0.017	0.022	0.020	0.022	0.022	0.025	0.020	0.022	0.025	0.020	0.022	0.022	0.022	0.025	****									
[Tr17]	0.017	0.020	0.025	0.022	0.025	0.025	0.027	0.022	0.025	0.027	0.022	0.025	0.025	0.025	0.027	0.002	****								
[Tr18]	0.022	0.025	0.030	0.027	0.030	0.030	0.032	0.027	0.030	0.032	0.027	0.030	0.030	0.030	0.032	0.007	0.005	****							
[Tr19]	0.020	0.022	0.027	0.025	0.027	0.027	0.030	0.025	0.027	0.030	0.025	0.027	0.027	0.027	0.030	0.005	0.002	0.002	****						
[Tr20]	0.012	0.015	0.020	0.017	0.020	0.020	0.022	0.002	0.005	0.007	0.007	0.005	0.010	0.010	0.012	0.022	0.025	0.030	0.027	****					
[Tr21]	0.010	0.012	0.017	0.015	0.017	0.017	0.020	0.000	0.002	0.005	0.005	0.002	0.007	0.007	0.010	0.020	0.022	0.027	0.025	0.002	****				
[Tr22]	0.035	0.032	0.037	0.035	0.037	0.037	0.040	0.035	0.032	0.035	0.030	0.037	0.032	0.032	0.035	0.025	0.027	0.032	0.030	0.037	0.035	****			
[Tr23]	0.035	0.027	0.032	0.030	0.032	0.032	0.035	0.035	0.032	0.035	0.035	0.037	0.032	0.032	0.035	0.030	0.032	0.037	0.035	0.037	0.035	0.005	****		
[Tr24]	0.035	0.027	0.032	0.030	0.032	0.032	0.035	0.035	0.032	0.035	0.035	0.037	0.032	0.032	0.035	0.030	0.032	0.037	0.035	0.037	0.035	0.010	0.005	****	
[Tr25]	0.035	0.032	0.038	0.035	0.037	0.037	0.040	0.035	0.032	0.035	0.035	0.037	0.032	0.032	0.035	0.030	0.032	0.038	0.035	0.038	0.035	0.020	0.020	0.025	****



Şekil 3.3. Türkiye'den kızıl tilki (*Vulpes vulpes*) türüne ait mitokondriyal DNA (tRNA^{Thr}+tRNA^{Pro}+D-loop) haplotiplerinin 10000 tekrarlı (replikasyon) ve K2P baz değişim modeli [49] kullanılarak oluşturulan NJ ağacı.



Şekil 3.4. Türkiye'den kızıl tilki (*Vulpes vulpes*) türüne ait mitokondriyal DNA (tRNA^{Thr}+tRNA^{Pro}+D-loop) haplotiplerinin 10000 tekrarlı (replikasyon) ve HKY+G baz değişim modeli kullanılarak oluşturulan ML ağacı.

3.3.5. Türkiye'den kızıl tilki (*Vulpes vulpes*) türüne ait mitokondriyal DNA haplotiplerinin Bayesian analizi

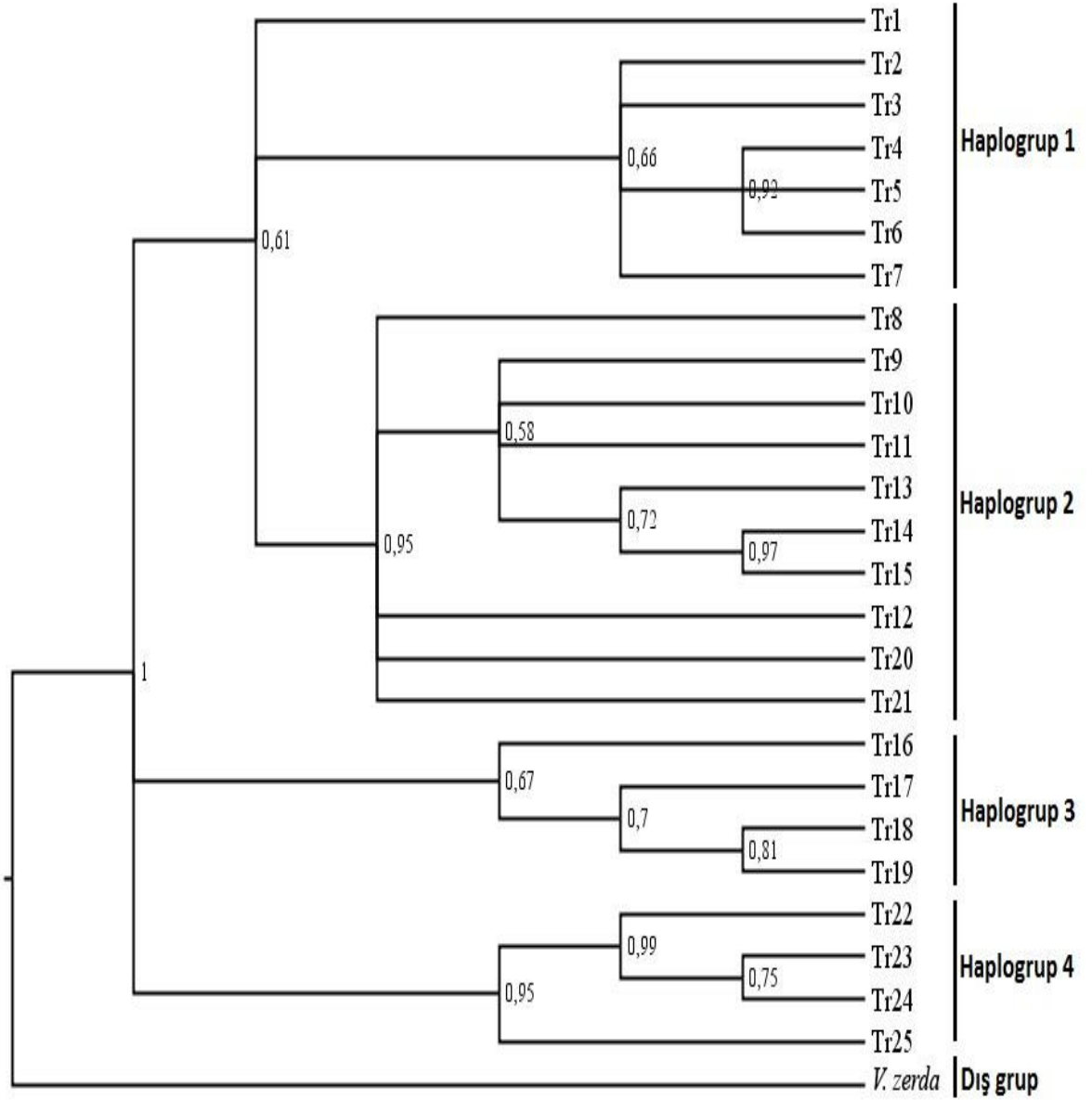
MrBayes 3.1 [56] programıyla dış grup olarak *Vulpes zerda* ve HKY+G baz değişim modeli kullanılarak 300.000 jenerasyonlu yapılan Bayesian analizi [55] sonucunda BI (Bayesian Inference) ağacı ve olasılık değerleri (Şekil 3.5) incelendiğinde kızıl tilki

türüne ait Türkiye mitokondriyal DNA (tRNA^{Thr}+tRNA^{Pro}+D-loop) haplotiplerinin % 58-100 arasında değişen olasılık değeriyle desteklenmiş dört haplogrup (Haplogrup 1-4) içerisinde toplandıkları gözlenmiştir. Bayesian ağacının (Şekil 3.5) topolojisi ile mitokondriyal DNA (tRNA^{Thr}+tRNA^{Pro}+D-loop) haplotiplerinden elde edilen NJ (Şekil 3.3) ve ML (Şekil 3.4) ağaçlarının topolojileri, kısmen benzerlik göstermiştir.

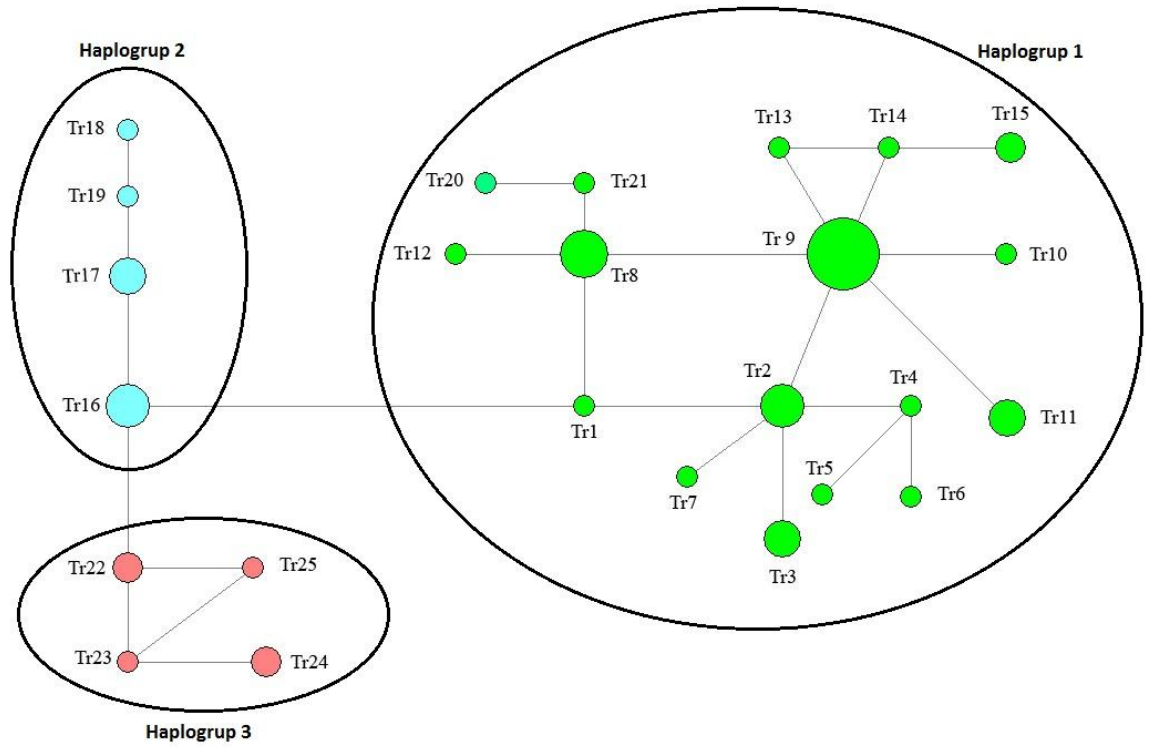
Tr1 haplotipinin Bayesian ağacındaki kümelenmesi, NJ (Şekil 3.3) ve ML (Şekil 3.4) ağaçlarından farklılık göstermektedir. Bayesian ağacında (Şekil 3.5) Haplogrup 2 ve Haplogrup 3 içerisinde politomi gözlenmiştir. Gözlenen politomi durumu, ortak ata ilişkisini belirleyen temel karakterlerin (sinapomorfi) az olmasından, populasyon içi ya da populasyonlar arasında analiz edilen örnek azlığından kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir.

3.3.6. Türkiye'de yayılış gösteren *Vulpes vulpes* türüne ait mitokondriyal DNA haplotiplerin Network analizi

Türkiye'den kızıl tilki türüne ait mitokondriyal DNA (tRNA^{Thr}+tRNA^{Pro}+D-loop) haplotiplerinin network analizi, Median-Joining metodu kullanılarak yapıldı. Oluşturulan Median-Joining haplotip network'ünde (Şekil 3.6) kızıl tilki Türkiye mitokondriyal DNA haplotiplerinin üç haplogrup içerisinde yer aldığı görülmüştür. Bu kümelenme kısmen Bayesian, NJ, MP ve ML ağaçlarına benzerlik göstermektedir. Türkiye'den kızıl tilki türüne ait haplotiplerden Tr9 en bol bulunan haplotip olup, bu haplotip muhtemelen Türkiye'den kızıl tilkilerinin en eski haplotipidir.



Şekil 3.5. Türkiye'den kızıl tilki (*Vulpes vulpes*) türüne ait mitokondriyal DNA (tRNA^{Thr}+tRNA^{Pro}+D-loop) haplotiplerinin 300 bin yeni nesil (generation) ve HKY+G baz değişim modeli kullanılarak oluşturulan Bayesian ağacı.



Şekil 3.6. Türkiye'den kıvrıl tilki (*Vulpes vulpes*) türüne ait mitokondriyal DNA (tRNA^{Thr}+tRNA^{Pro}+D-loop) haplotiplerinin Median-Joining networkü

3.4. Kıvrıl tilki (*Vulpes vulpes*) türüne ait bu çalışmada tespit edilen mitokondriyal DNA haplotipleri ile Gen Bankası'ndan elde edilen mitokondriyal DNA D-Loop dizilerinin birlikte filogenetik ve Network analizleri

Bu çalışmada Türkiye'de yayılış gösteren kıvrıl tilki (*Vulpes vulpes*) türüne ait tespit edilen 25 mitokondriyal DNA haplotipi ile Gen Bankası'ndan belirlenen 391 adet mitokondriyal DNA D-loop bölgesi dizisinin (Tablo 3.4) birlikte değerlendirilmesi sonucunda 270 bç. uzunluğunda 275 adet mitokondriyal DNA D-loop haplotipi tespit edildi.

Mitokondriyal DNA'nın 270 bç. uzunluğundaki D-loop dizileri karşılaştırıldığında Türkiye'den belirlenen haplotiplerden Tr9 ile Gen Bankası'ndan AF487746, AF338790,

AF338801, HF677217, KJ846606, KJ846527 ve JX868837; Tr10 ile Gen Bankası'ndan FJ830810; Tr14 ile Gen Bankası'ndan KJ846530 ve KJ846531; Tr8 ile Gen Bankası'ndan KJ846529; Tr17 ile Gen Bankası'ndan AB292748, KJ846649 ve KJ846655; Tr1 ile Gen Bankası'ndan JX868860 ve JN232514; Tr2, Tr3, ve Tr4 ile Gen Bankası'ndan KJ846536 ve KJ846550 dizisinin (Tablo 3.4) aynı olduğu gözlemlendi.

Kızıl tilki türüne ait Türkiye ve Gen Bankası dizilerinden oluşturulan 270 bç. uzunluğundaki 275 haplotiplik veri seti için sadece Bayesian ve network analizleri yapıldı.

3.4.1. Kızıl tilki türüne ait tüm mitokondriyal D-loop haplotiplerinin Bayesian analizi

Kızıl tilki türüne ait Türkiye ve Gen Bankası dizilerinden oluşturulan 270 bç. uzunluğundaki 275 haplotiplik veri seti için üç dış gruplu olarak en uygun baz değişim modeli, jModeltest [50, 51] programıyla AICc ve BIC model seçim taslaklarına göre GTR+G+I tespit edildi. GTR+G+I baz değişim modeli ve 28 milyon yeni nesilli Bayesian ağacı oluşturuldu ve bu ağaçta posterior olasılık (probability) değerleri, 0,5 ile 1 arasında değişmektedir. Bayesian analizi ile tüm kızıl tilki mitokondriyal D-loop haplotiplerinden elde edilen ağaç incelendiğinde haplotipler arasında derin bir ayrılma görülmemekle birlikte yoğun bir politomi vardır. Bu ağaçtaki politominin kullanılan dizi uzunluğundan kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca Türkiye'den tespit edilen mitokondriyal DNA haplotipleri de Bayesian ağacında dağınık bir şekilde yer almıştır (Şekil 3.7). Bu çalışmada elde edilen Bayesian ağacındaki en derin ayrılma, Kuzey Amerika'daki Neartik soy hattı (kladı) olarak bilinen haplotip kümesinde görülmektedir. Bu bağlamda daha önce tanımlanmış olan Neartik soy hattının (klad) varlığı bu çalışmada da teyit edilmiştir. Ancak kullanılan dizilerin uzunluk

farklılığından dolayı bu çalışmadaki Bayesian ağacının topolojisi, en son Statham ve ark. [16] tarafından verilen ağacın topolojisinden farklılık göstermektedir.

Tablo 3.4. Türkiye haplotipleri ve Gen Bankası dizilerinin birlikte kullanımı ile yapılan Bayesian analizindeki haplotipler

<u>Vv1:</u> AB292741, AB292743, AB292744, AB292746, KJ846518	<u>Vv28:</u> JX868827
<u>Vv2:</u> AB292742, KJ846524	<u>Vv29:</u> HF677218, HF677225, HF677226, HF677227, HF677228, HF677229, HF677231, HF677234, HF677235, JX868821
<u>Vv3:</u> AB292747, KJ846520	<u>Vv30:</u> JX868835
<u>Vv4:</u> AB292745, KJ846522	<u>Vv31:</u> HF677224, HF677230, HF677233, HF677245, HF677243, KJ846557, JX868816
<u>Vv5:</u> AF487741, AF487737	<u>Vv32:</u> KJ846627
<u>Vv6:</u> AF487746, HF677217, KJ846606, AF338790, AF338801, KJ846527, JX868837, Tr9	<u>Vv33:</u> Tr16
<u>Vv7:</u> KJ846607	<u>Vv34:</u> AB292748, KJ846649, KJ846655, Tr17
<u>Vv8:</u> FJ830810, Tr10	<u>Vv35:</u> KJ846654
<u>Vv9:</u> JX868820	<u>Vv36:</u> KJ846509
<u>Vv10:</u> KJ846530, KJ846531, Tr14	<u>Vv37:</u> KJ846510
<u>Vv11:</u> Tr13	<u>Vv38:</u> JN711443
<u>Vv12:</u> Tr15	<u>Vv39:</u> KJ846579, KJ846669
<u>Vv13:</u> Tr11	<u>Vv40:</u> FJ830779
<u>Vv14:</u> FJ830811	<u>Vv41:</u> KJ846580
<u>Vv15:</u> HF677206, KJ846667	<u>Vv42:</u> JN232484
<u>Vv16:</u> HF677220, HF677222, KJ846566	<u>Vv43:</u> JN232500
<u>Vv17:</u> JX868829	<u>Vv44:</u> KJ846564, AF338789, AF338791, JN232487, JN232510
<u>Vv18:</u> KJ846567, JX868834, HF677249, JN232513	<u>Vv45:</u> JX868830, JN232514, Tr1
<u>Vv19:</u> JN232503	<u>Vv46:</u> KJ846588, AJ585358
<u>Vv20:</u> HF677248, KJ846562, KJ846600, JX868811	<u>Vv47:</u> JN232504
<u>Vv21:</u> AF487753	<u>Vv48:</u> JN232506
<u>Vv22:</u> JN232512	<u>Vv49:</u> KJ846534
<u>Vv23:</u> KJ846529, Tr8	<u>Vv50:</u> KJ846535
<u>Vv24:</u> Tr12	<u>Vv51:</u> JX868814
<u>Vv25:</u> JN232505	<u>Vv52:</u> JN232495
<u>Vv26:</u> HF677203, HF677204, HF677207, HF677205, JX868826, KJ846668, KJ846602	<u>Vv53:</u> KJ846536, KJ846550, Tr2, Tr3, Tr4
<u>Vv27:</u> KJ846603	<u>Vv54:</u> KJ846565

Tablo 3.4'ün devamıVv55: JX868836Vv56: KJ846549Vv57: KJ846547Vv58: **Tr5**Vv59: **Tr6**Vv60: KJ846563Vv61: AM181037-NC_008434,
HF677232, FJ830778, FJ840491,
AF338799, KJ846554, KJ846556,
JX868828, JX868817, JX868823,Vv62: AF098155, FJ830795,
FJ830824, FJ830799Vv63: HF677241, HF677244,
HF677251, KJ846625Vv64: FJ830804Vv65: FJ830801Vv66: FJ830808Vv67: FJ830794Vv68: FJ830812Vv69: FJ830777Vv70: FJ830815Vv71: FJ830816Vv72: KJ846670Vv73: HF677208, KJ846508,
KJ846596, KJ846599,
KJ846543, AB292751, FJ830822Vv74: AB292753, KJ846645Vv75: JX868831Vv76: AB292752, KJ846629Vv77: HF677247, KJ846644,
FJ830803Vv78: KJ846553Vv79: KJ846646, KJ846630Vv80: HF677252, HF677254,
KJ846597, JX868822Vv81: JX868824Vv82: FJ830821Vv83: KJ846665, KJ846666,
JN232489Vv84: KJ846657Vv85: HF677239, KJ846585,
KJ846598Vv86: KJ846584Vv87: JN232508Vv88: HF677216, HF677242,
KJ846526, AF338800Vv89: HF677219, KJ846540Vv90: HF677236, HF677237,
HF677238Vv91: AF338796Vv92: AB292754, KJ846648Vv93: KJ846511, KJ846626Vv94: FJ830823, FJ830825Vv95: FJ830780Vv96: FJ830826Vv97: FJ830827Vv98: FJ830828Vv99: KJ846647Vv100: KJ846568Vv101: KJ846514Vv102: KJ846582Vv103: HF677221, HF677223,
KJ846538, KJ846515, JN232491Vv104: KJ846512Vv105: KJ846634Vv106: AF487738Vv107: KJ846604Vv108: KJ846605Vv109: KJ846641Vv110: KJ846575Vv111: KJ846539Vv112: KJ846581Vv113: KJ846643Vv114: KJ846608Vv115: AB292755, KJ846592Vv116: AB292757, KJ846594Vv117: AB292760, KJ846595, D83639Vv118: AB292759, KJ846591Vv119: AB292758, KJ846590Vv120: **Tr18**Vv121: **Tr19**Vv122: JX868832Vv123: KJ846572Vv124: KJ846620Vv125: KJ846621

Tablo 3.4'ün devamı

<u>Vv126:</u> Tr25	HF677213, HF677215, HF677214, KJ846559
<u>Vv127:</u> KJ846544	<u>Vv167:</u> HF677246
<u>Vv128:</u> KJ846545	<u>Vv168:</u> KJ846628
<u>Vv129:</u> KJ846570	<u>Vv169:</u> FJ830805
<u>Vv130:</u> KJ846573	<u>Vv170:</u> KJ846576
<u>Vv131:</u> KJ846586	<u>Vv171:</u> KJ846632
<u>Vv132:</u> Tr22	<u>Vv172:</u> KJ846541
<u>Vv133:</u> Tr23	<u>Vv173:</u> KF387633
<u>Vv134:</u> Tr24	<u>Vv174:</u> KJ846633
<u>Vv135:</u> JN232497	<u>Vv175:</u> KJ846622
<u>Vv136:</u> KJ846561	<u>Vv176:</u> AF338794
<u>Vv137:</u> AF338792	<u>Vv177:</u> HF677250, KJ846558, JX868812, JX868818
<u>Vv138:</u> JN232507	<u>Vv178:</u> JX868815
<u>Vv139:</u> FJ830802	<u>Vv179:</u> JX868819
<u>Vv140:</u> KJ846624	<u>Vv180:</u> KJ846623
<u>Vv141:</u> JN232485	<u>Vv181:</u> HF677253
<u>Vv142:</u> JN232486, JN232511	<u>Vv182:</u> AF487752
<u>Vv143:</u> JN232509	<u>Vv183:</u> FJ830784, FJ830788, FJ830798
<u>Vv144:</u> JN232501	<u>Vv184:</u> FJ830785, FJ830787, FJ830786
<u>Vv145:</u> JN232499	<u>Vv185:</u> HM590004
<u>Vv146:</u> JN232483	<u>Vv186:</u> FJ830797
<u>Vv147:</u> JN232492	<u>Vv187:</u> FJ830813
<u>Vv148:</u> JN232490	<u>Vv188:</u> HM590008
<u>Vv149:</u> KJ846642	<u>Vv189:</u> FJ830790
<u>Vv150:</u> KJ846650	<u>Vv190:</u> FJ830789
<u>Vv151:</u> KJ846532	<u>Vv191:</u> GQ911200
<u>Vv152:</u> KJ846533	<u>Vv192:</u> GQ911201, GQ911203
<u>Vv153:</u> FJ830806	<u>Vv193:</u> GU224187
<u>Vv154:</u> KJ846635, JN232481	<u>Vv194:</u> GU224186
<u>Vv155:</u> JX868825	<u>Vv195:</u> FJ830807
<u>Vv156:</u> FJ830818	<u>Vv196:</u> HM590005
<u>Vv157:</u> KJ846656	<u>Vv197:</u> FJ830781, HM461967, HM590009
<u>Vv158:</u> JN232515	<u>Vv198:</u> FJ830782
<u>Vv159:</u> KJ846601	<u>Vv199:</u> FJ830783
<u>Vv160:</u> KJ846551	<u>Vv200:</u> FJ830814
<u>Vv161:</u> KJ846587	<u>Vv201:</u> HM461968
<u>Vv162:</u> KJ846552	<u>Vv202:</u> HM590006
<u>Vv163:</u> Tr7	<u>Vv203:</u> FJ830800
<u>Vv164:</u> AF338798	
<u>Vv165:</u> AF338795	
<u>Vv166:</u> HF677209, HF677210, HF677211, HF677212,	

<u>Vv204:</u> FJ830793	<u>Vv240:</u> KJ846537
<u>Vv205:</u> FJ830819	<u>Vv241:</u> KJ846662
<u>Vv206:</u> FJ830796	<u>Vv242:</u> KJ846664
<u>Vv207:</u> FJ830817	<u>Vv243:</u> JN232488
<u>Vv208:</u> FJ830820	<u>Vv244:</u> JN232498
<u>Vv209:</u> GQ911202	<u>Vv245:</u> KJ846555
<u>Vv210:</u> FJ830791	<u>Vv246:</u> JN232502
<u>Vv211:</u> HM590007	<u>Vv247:</u> HF968440
<u>Vv212:</u> FJ830792	<u>Vv248:</u> HF968441
<u>Vv213:</u> KJ846660	<u>Vv249:</u> HF968442
<u>Vv214:</u> AF487740	<u>Vv250:</u> HF968446
<u>Vv215:</u> JN232482	<u>Vv251:</u> HF968447
<u>Vv216:</u> KJ846516	<u>Vv252:</u> HF968443
<u>Vv217:</u> KJ846658	<u>Vv253:</u> HF968444
<u>Vv218:</u> KJ846517	<u>Vv254:</u> HF968445
<u>Vv219:</u> KJ846610	<u>Vv255:</u> AB292749, KJ846640
<u>Vv220:</u> KJ846611	<u>Vv256:</u> AB292750, KJ846638
<u>Vv221:</u> KJ846609	<u>Vv257:</u> KJ846542, KJ846577
<u>Vv222:</u> KJ846519	<u>Vv258:</u> KJ846636
<u>Vv223:</u> KJ846521	<u>Vv259:</u> KJ846637
<u>Vv224:</u> KJ846523	<u>Vv260:</u> KJ846574, KJ846578
<u>Vv225:</u> KJ846525	<u>Vv261:</u> KJ846631, KJ846661, GQ374180
<u>Vv226:</u> KJ846528	<u>Vv262:</u> KJ846639
<u>Vv227:</u> AB292761, AB292762, AB292765, KJ846583	<u>Vv263:</u> KJ846513
<u>Vv228:</u> AB292764, KJ846652	<u>Vv264:</u> FJ830809
<u>Vv229:</u> KJ846614	<u>Vv265:</u> Tr20, Tr21
<u>Vv230:</u> KJ846618	<u>Vv266:</u> KJ846560
<u>Vv231:</u> KJ846571	<u>Vv267:</u> KJ846589
<u>Vv232:</u> KJ846616	<u>Vv268:</u> AB292756, KJ846593
<u>Vv233:</u> KJ846615	<u>Vv269:</u> KJ846548
<u>Vv234:</u> KJ846617	<u>Vv270:</u> KJ846653
<u>Vv235:</u> AB292763, KJ846651	<u>Vv271:</u> HF677240
<u>Vv236:</u> KJ846612, KJ846663, KJ846619	<u>Vv272:</u> JX868813
<u>Vv237:</u> KJ846546	<u>Vv273:</u> JX868833
<u>Vv238:</u> KJ846569	<u>Vv274:</u> HF968448
<u>Vv239:</u> KJ846613	<u>Vv275:</u> KJ846659

3.4.2. Kızıl tilki türüne ait tüm mitokondriyal D-loop haplotiplerinin Network (ağ) analizi

Kızıl tilki türüne ait Türkiye ve Gen Bankası dizilerinden oluşturulan veri seti kullanılarak Median-Joining metodu ile 270 bç. uzunluğundaki 273 haplotiplik veri seti (Tablo 3.5) için haplotip networkü oluşturuldu (Şekil 3.8).

Median-Joining network'üne (Şekil 3.8) göre, Türkiye'den tespit edilen haplotipler beş kümede yer aldı. Türkiye'den tespit edilen Tr2, Tr3 ve Tr4 haplotipleri, Gen Bankası'ndan elde edilen KJ846536 (Birleşik Arap Emirlikleri-Abu Dabi, İsrail, Filistin, Suudi Arabistan) ve KJ846550 (Elazığ yakınları-Türkiye) numaralı dizilerle aynı haplotipi (Vv52) paylaşmıştır. Tr2, Tr3 ve Tr4 (Vv52), Tr5 (Vv57), Tr6 (Vv58) ve Tr7 (Vv161) haplotiplerinin 1. kümedeki Vv53, Vv56, Vv158, Vv159 ve Vv160 kodlu haplotiplerle yakın ilişki gösterdikleri gözlenmiştir.

Türkiye'den tespit edilen Tr22 (Vv130), Tr23 (131), Tr24 (Vv132) ve Tr25 (Vv125) haplotipleri, networkteki (Şekil 3.8) 2. kümedeki Vv124, Vv126, Vv127, Vv128, Vv129, Vv234, Vv235, Vv236, Vv237 ve Vv238 kodlu haplotiplerle birlikte kümelenmiştir.

Türkiye'den tespit edilen Tr9 haplotipi, Gen Bankası'ndan elde edilen AF487746 (Fransa), AF338790 (Fransa/İsviçre), AF338801 (Fransa), HF677217 (Almanya), JX868837 (Hırvatistan), KJ846527 (Yozgat-Türkiye) ve KJ846606 (Afganistan, Almanya, Fransa) numaralı dizilerle aynı haplotipi (Vv6), Tr10 haplotipi FJ830810 numaralı dizi ile aynı haplotipi (Vv8), Tr14 haplotipi KJ846530 (Gölbaşı, Ankara-Türkiye) ve KJ846531 (İran) numaralı dizilerle aynı haplotipi (Vv10), Tr8 haplotipi KJ846529 (Kuzey Irak-Irak) numaralı dizi ile aynı haplotipi (Vv22), Tr20 ile Tr21 haplotipleri aynı haplotipi (Vv263) paylaşmışlar ve Tr11 (Vv13), Tr12 (Vv23), Tr13 (Vv11) ve Tr15 (Vv12) haplotipleriyle birlikte Median-joining network'ündeki (Şekil

3.8) 3. kümede Vv1, Vv2, Vv3, Vv4, Vv5, Vv7, Vv9, Vv14, Vv24, Vv25, Vv26, Vv27, Vv135, Vv162, Vv179, Vv180, Vv244 ve Vv262 kodlu haplotiplerle birlikte kümelenmişlerdir.

Türkiye'den tespit edilen Tr1 haplotipi, JN232514 ve JX868830 dizileriyle aynı haplotipi (Vv44) paylaşmış ve Median-joining network'üne (Şekil 3.8) göre 4. kümede yer alan Vv18, Vv43, Vv45, Vv46 ve Vv243 kodlu haplotiplerle yakın ilişki göstermektedir.

Türkiye'den tespit edilen Tr17 haplotipi AB292748 (Hokkaido-Japan), KJ846649 (Hokkaido-Japan) ve KJ846655 (Kazvin-İran) dizileriyle aynı haplotipi (Vv33) paylaşırken Tr16 (Vv32) Tr18 (Vv119) ve Tr19 (Vv120) haplotipleriyle birlikte Median-joining network'üne (Şekil 3.8) göre 5. kümede yer alan Vv31, Vv34, Vv35, Vv38, Vv42, Vv72 ve Vv253 kodlu haplotiplerle yakın ilişki göstererek kümelenmiştir. Statham ve ark. [16] tarafından Türkiye'den verilen ve Gen Bankası'nda bulunan dört diziden KJ846550 (Elazığ örneği) numaralı dizi Tr2, Tr3 ve Tr4 haplotipleriyle Vv52 kodlu haplotipi, KJ846527 (Yozgat örneği) numaralı dizi Tr9 haplotipiyle Vv6 kodlu haplotipi ve KJ846530 (Ankara, Gölbaşı örneği) numaralı dizi ise Tr14 haplotipiyle Vv10 kodlu haplotipi paylaşırken KJ846547 (Yozgat örneği) numaralı dizi Vv56 kodlu haplotip olup Median-Joining network'üne (Şekil 3.8) göre 1. kümede yer almış ve Tr2, Tr3 ve Tr4 (Vv52), Tr5 (Vv57), Tr6 (Vv58) ve Tr7 (Vv161) haplotipleriyle yakın ilişki göstermektedir.

Tablo 3.5. Türkiye haplotipleri ve Gen Bankası dizilerinin birlikte kullanımı ile yapılan network analizindeki haplotipler

<u>Vv1:</u> AB292741, AB292743, AB292744, AB292746, KJ846518	<u>Vv30:</u> HF677224, HF677230, HF677233, HF677245, HF677243, KJ846557, JX868816
<u>Vv2:</u> AB292742, KJ846524	<u>Vv31:</u> KJ846627
<u>Vv3:</u> AB292747, KJ846520	<u>Vv32:</u> Tr16
<u>Vv4:</u> AB292745, KJ846522	<u>Vv33:</u> AB292748, KJ846649, KJ846655, Tr17
<u>Vv5:</u> AF487741, AF487737	<u>Vv34:</u> KJ846654
<u>Vv6:</u> AF487746, HF677217, KJ846606, AF338790, AF338801, KJ846527, JX868837, Tr9	<u>Vv35:</u> KJ846509
<u>Vv7:</u> KJ846607	<u>Vv36:</u> KJ846510
<u>Vv8:</u> FJ830810, Tr10	<u>Vv37:</u> JN711443
<u>Vv9:</u> JX868820	<u>Vv38:</u> KJ846579, KJ846669
<u>Vv10:</u> KJ846530, KJ846531, Tr14	<u>Vv39:</u> FJ830779
<u>Vv11:</u> Tr13	<u>Vv40:</u> KJ846580
<u>Vv12:</u> Tr15	<u>Vv41:</u> JN232484
<u>Vv13:</u> Tr11	<u>Vv42:</u> JN232500
<u>Vv14:</u> FJ830811	<u>Vv43:</u> KJ846564, AF338789, AF338791, JN232487, JN232510
<u>Vv15:</u> HF677206, KJ846667	<u>Vv44:</u> JX868830, JN232514, Tr1
<u>Vv16:</u> HF677220, HF677222, KJ846566	<u>Vv45:</u> KJ846588, AJ585358
<u>Vv17:</u> JX868829	<u>Vv46:</u> JN232504
<u>Vv18:</u> KJ846567, JX868834, HF677249, JN232513	<u>Vv47:</u> JN232506
<u>Vv19:</u> HF677248, KJ846562, KJ846600, JX868811	<u>Vv48:</u> KJ846534
<u>Vv20:</u> AF487753	<u>Vv49:</u> KJ846535
<u>Vv21:</u> JN232512	<u>Vv50:</u> JX868814
<u>Vv22:</u> KJ846529, Tr8	<u>Vv51:</u> JN232495
<u>Vv23:</u> Tr12	<u>Vv52:</u> KJ846536, KJ846550, Tr2, Tr3, Tr4
<u>Vv24:</u> JN232505	<u>Vv53:</u> KJ846565
<u>Vv25:</u> HF677203, HF677204, HF677207, HF677205, JX868826, KJ846668, KJ846602	<u>Vv54:</u> JX868836
<u>Vv26:</u> KJ846603	<u>Vv55:</u> KJ846549
<u>Vv27:</u> JX868827	<u>Vv56:</u> KJ846547
<u>Vv28:</u> HF677218, HF677225, HF677226, HF677227, HF677228, HF677229, HF677231, HF677234, HF677235, JX868821	<u>Vv57:</u> Tr5
<u>Vv29:</u> JX868835	<u>Vv58:</u> Tr6
	<u>Vv59:</u> KJ846563
	<u>Vv60:</u> AM181037-NC_008434, HF677232, FJ830778, FJ840491, AF338799, KJ846554, KJ846556, JX868828, JX868817, JX868823,

Tablo 3.5'in devamı

Vv61: AF098155, FJ830795,
 FJ830824, FJ830799
Vv62: HF677241, HF677244,
 HF677251, KJ846625
Vv63: FJ830804
Vv64: FJ830801
Vv65: FJ830808
Vv66: FJ830794
Vv67: FJ830812
Vv68: FJ830777
Vv69: FJ830815
Vv70: FJ830816
Vv71: KJ846670
Vv72: HF677208, KJ846508,
 KJ846596, KJ846599,
 KJ846543, AB292751, FJ830822
Vv73: AB292753, KJ846645
Vv74: JX868831
Vv75: AB292752, KJ846629
Vv76: HF677247, KJ846644,
 FJ830803
Vv77: KJ846553
Vv78: KJ846646, KJ846630
Vv79: HF677252, HF677254,
 KJ846597, JX868822
Vv80: JX868824
Vv81: FJ830821
Vv82: KJ846665, KJ846666,
 JN232489
Vv83: KJ846657
Vv84: HF677239, KJ846585,
 KJ846598
Vv85: KJ846584
Vv86: JN232508
Vv87: HF677216, HF677242,
 KJ846526, AF338800
Vv88: HF677219, KJ846540
Vv89: HF677236, HF677237,
 HF677238
Vv90: AF338796
Vv91: AB292754, KJ846648
Vv92: KJ846511, KJ846626

Vv93: FJ830823, FJ830825
Vv94: FJ830780
Vv95: FJ830826
Vv96: FJ830827
Vv97: FJ830828
Vv98: KJ846647
Vv99: KJ846568
Vv100: KJ846514
Vv101: KJ846582
Vv102: HF677221, HF677223,
 KJ846538, KJ846515, JN232491
Vv103: KJ846512
Vv104: KJ846634
Vv105: AF487738
Vv106: KJ846604
Vv107: KJ846605
Vv108: KJ846641
Vv109: KJ846575
Vv110: KJ846539
Vv111: KJ846581
Vv112: KJ846643
Vv113: KJ846608
Vv114: AB292755, KJ846592
Vv115: AB292757, KJ846594
Vv116: AB292760, KJ846595, D83639
Vv117: AB292759, KJ846591
Vv118: AB292758, KJ846590
Vv119: **Tr18**
Vv120: **Tr19**
Vv121: JX868832
Vv122: KJ846572
Vv123: KJ846620
Vv124: KJ846621
Vv125: **Tr25**
Vv126: KJ846544
Vv127: KJ846570
Vv128: KJ846573
Vv129: KJ846586
Vv130: **Tr22**
Vv131: **Tr23**
Vv132: **Tr24**
Vv133: JN232497
Vv134: KJ846561

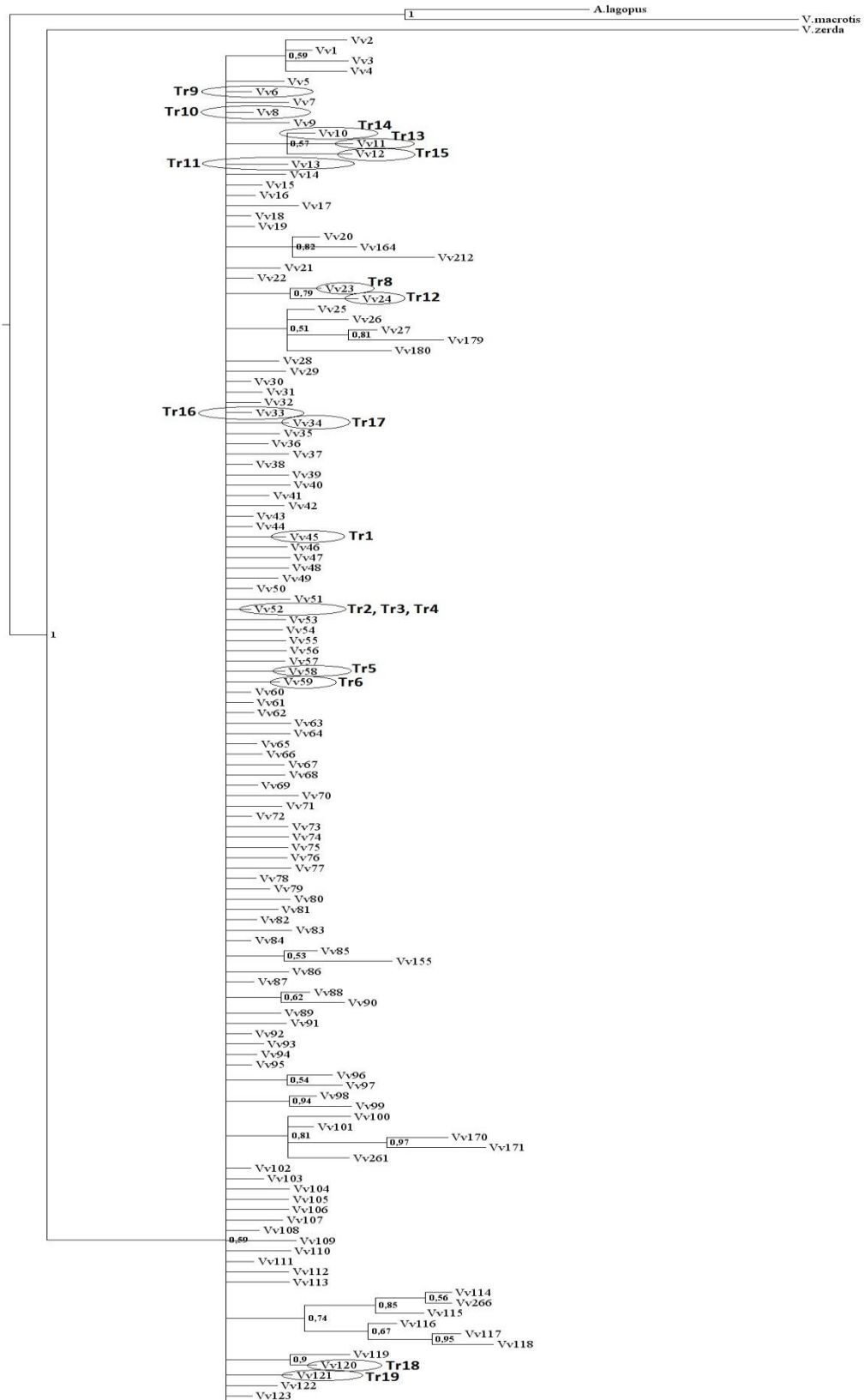
Tablo 3.5'in devamı

Vv135: AF338792
Vv136: JN232507
Vv137: FJ830802
Vv138: KJ846624
Vv139: JN232485
Vv140: JN232486, JN232511
Vv141: JN232509
Vv142: JN232501
Vv143: JN232499
Vv144: JN232483
Vv145: JN232492
Vv146: JN232490
Vv147: KJ846642
Vv148: KJ846650
Vv149: KJ846532
Vv150: KJ846533
Vv151: FJ830806
Vv152: KJ846635, JN232481
Vv153: JX868825
Vv154: FJ830818
Vv155: KJ846656
Vv156: JN232515
Vv157: KJ846601
Vv158: KJ846551
Vv159: KJ846587
Vv160: KJ846552
Vv161: **Tr7**
Vv162: AF338798
Vv163: AF338795
Vv164: HF677209,
 HF677210, HF677211, HF677212,
 HF677213, HF677215, HF677214,
 KJ846559
Vv165: HF677246
Vv166: KJ846628
Vv167: FJ830805
Vv168: KJ846576
Vv169: KJ846632
Vv170: KJ846541
Vv171: KF387633
Vv172: KJ846633
Vv173: KJ846622

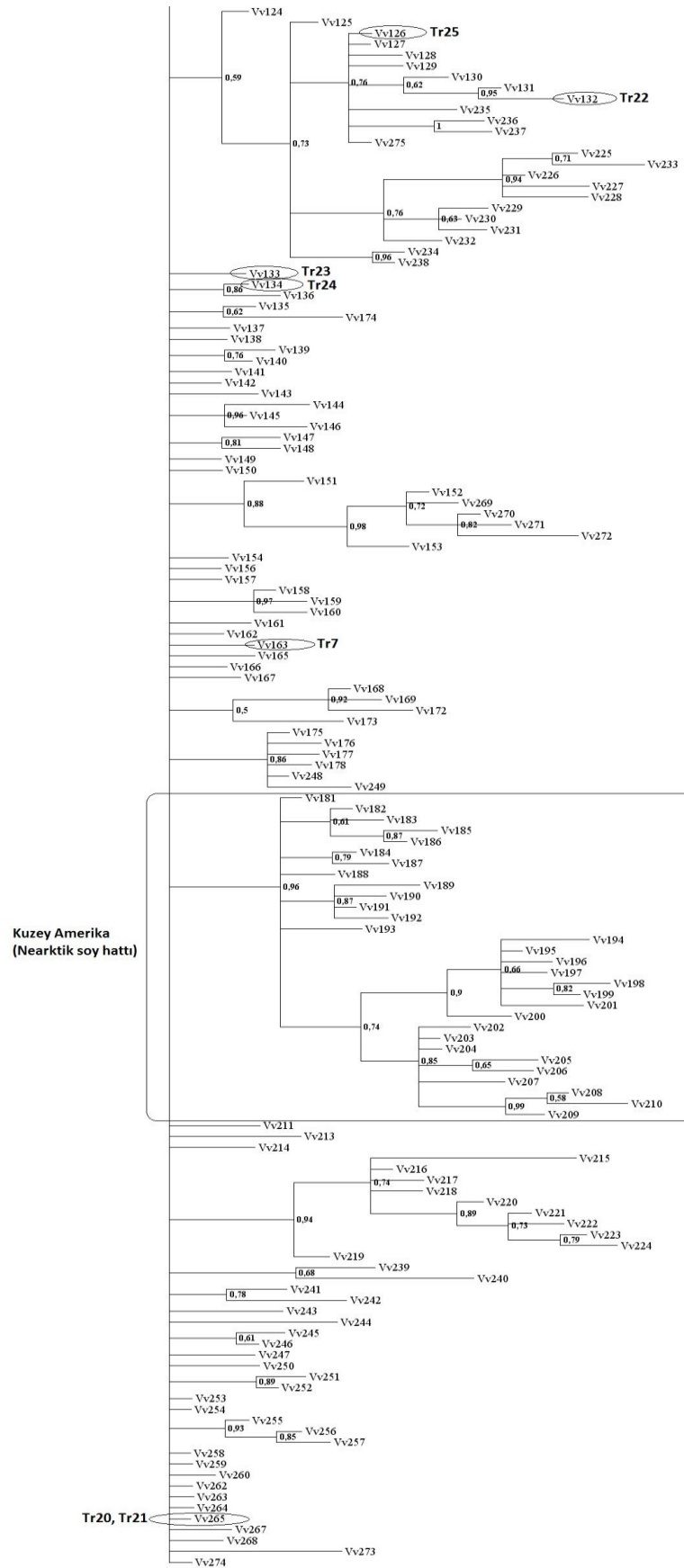
Vv174: AF338794
Vv175: HF677250, KJ846558,
 JX868812, JX868818
Vv176: JX868815
Vv177: JX868819
Vv178: KJ846623
Vv179: HF677253
Vv180: AF487752
Vv181: FJ830784, FJ830788,
 FJ830798
Vv182: FJ830785, FJ830787,
 FJ830786
Vv183: HM590004
Vv184: FJ830797
Vv185: FJ830813
Vv186: HM590008
Vv187: FJ830790
Vv188: FJ830789
Vv189: GQ911200
Vv190: GQ911201, GQ911203
Vv191: GU224187
Vv192: GU224186
Vv193: FJ830807
Vv194: HM590005
Vv195: FJ830781,
 HM461967, HM590009
Vv196: FJ830782
Vv197: FJ830783
Vv198: FJ830814
Vv199: HM461968
Vv200: HM590006
Vv201: FJ830800
Vv202: FJ830793
Vv203: FJ830819
Vv204: FJ830796
Vv205: FJ830817
Vv206: FJ830820
Vv207: GQ911202
Vv208: FJ830791
Vv209: HM590007
Vv210: FJ830792
Vv211: KJ846660
Vv212: AF487740

Tablo 3.5'in devamıVv213: JN232482Vv214: KJ846516Vv215: KJ846658Vv216: KJ846517Vv217: KJ846610Vv218: KJ846611Vv219: KJ846609Vv220: KJ846519Vv221: KJ846521Vv222: KJ846523Vv223: KJ846525Vv224: KJ846528Vv225: AB292761, AB292762,
AB292765, KJ846583Vv226: AB292764, KJ846652Vv227: KJ846614Vv228: KJ846618Vv229: KJ846571Vv230: KJ846616Vv231: KJ846615Vv232: KJ846617Vv233: AB292763, KJ846651Vv234: KJ846612, KJ846663,
KJ846619Vv235: KJ846546Vv236: KJ846569Vv237: KJ846613Vv238: KJ846537Vv239: KJ846662Vv240: KJ846664Vv241: JN232488Vv242: JN232498Vv243: KJ846555Vv244: JN232502Vv245: HF968440Vv246: HF968441Vv247: HF968442Vv248: HF968446Vv249: HF968447Vv250: HF968443Vv251: HF968444Vv252: HF968445Vv253: AB292749, KJ846640Vv254: AB292750, KJ846638Vv255: KJ846542, KJ846577Vv256: KJ846636Vv257: KJ846637Vv258: KJ846574, KJ846578Vv259: KJ846631, KJ846661,
GQ374180Vv260: KJ846639Vv261: KJ846513Vv262: FJ830809Vv263: **Tr20, Tr21**Vv264: KJ846560Vv265: KJ846589Vv266: AB292756, KJ846593Vv267: KJ846548Vv268: KJ846653Vv269: HF677240Vv270: JX868813Vv271: JX868833Vv272: HF968448Vv273: KJ846659

(Bayesian ağacının daha iyi görülebilmesi için Şekil 3.7.A ve Şekil 3.7.B olarak ikiye bölündü).



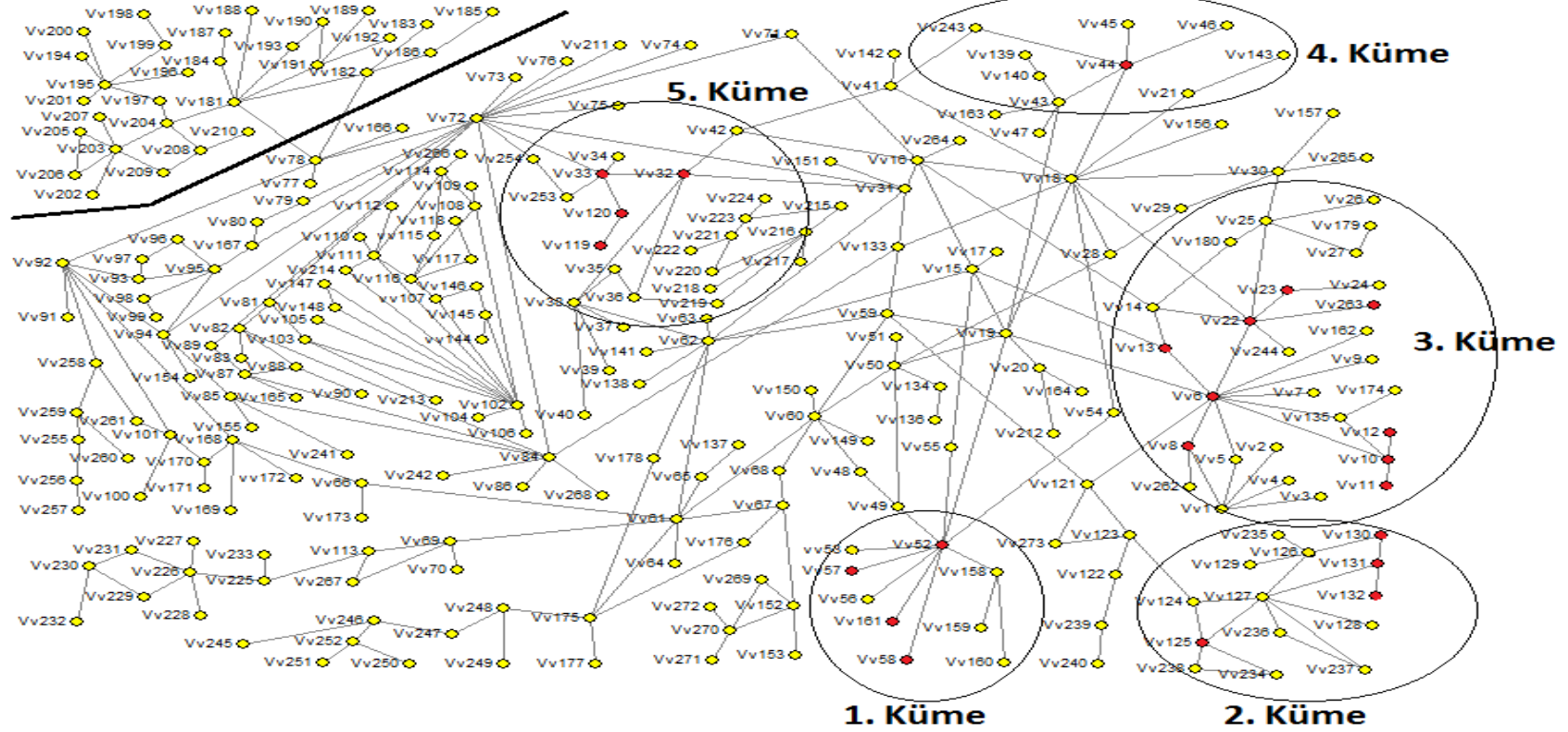
Şekil 3.7.A



Şekil 3.7.B

Kuzey Amerika (Nearktik soy hattı)

Avrasya, Kuzey Amerika, Kuzey Afrika



Şekil 3.8. Kızıl tilki (*Vulpes vulpes*) türüne ait bu çalışmada ve Gen Bankası'nda tespit edilen mitokondriyal DNA D-loop haplotiplerinin Median-Joining network' .

4. BÖLÜM

TARTIŞMA, SONUÇ ve ÖNERİLER

4.1. Tartışma

Bu çalışma, kızıl tilki (*Vulpes vulpes*) türüne ait mitokondriyal DNA dizilerinin iki aşamalı olarak analizini içermektedir. Birinci aşama, kızıl tilki türünün Türkiye’de geniş bir örnekleme (Tablo 2.1) ve elde edilen 54 yeni mitokondriyal DNA dizisinin genetik analizidir. İkinci aşama ise daha önce yayınlanmış mitokondriyal DNA D-loop dizileri [8, 11, 12, 14-17, 21-23, 38-40, 60-64] ile bu çalışmada tespit edilen 25 haplotipin filogenetik analizinin yapılması ve değerlendirilmesidir. Tüm dizilerin birlikte değerlendirme sonucunda kızıl tilkiler için daha önce tanımlanmış ve teyit edilmiş soy hatları (Nearktik ve Holoarktik) [11, 12, 14-16, 19, 20, 22] bu çalışmada da teyit edilmiştir.

Kızıl tilki türünün filocoğrafik örüntüsünü veya bu türün populasyonları arasındaki filogenetik ilişkileri incelemek için öncelikle mitokondriyal DNA (sitokrom *b* ve D-loop) dizileri kullanıldı [5, 8-23]. Nüklear DNA dizilerinin kullanıldığı çalışmalar nispeten az sayıdadır [12, 13, 16, 24-28]. Kızıl tilki türü ile ilgili yapılan genetik çalışmalar, büyük oranda türün yayılış alanını eksiksiz kapsayacak özellikte olmayıp Avrupa’yı, Avrasya’yı Kuzey Amerika’yı veya bir ülkeyi kapsayan bölgesel çalışmalar mahiyetindedir [5, 8-10, 12-15, 17-21, 23]. Bununla beraber Avrasya ve Kuzey Amerika birlikte iki kıtayı hatta Afrika ile birlikte üç kıtayı kapsayan büyük ölçekli örnekleme dayanan filogenetik çalışmalar az sayıdadır [11, 16, 22].

Kızıl tilki türüne ait mitokondriyal DNA (sitokrom *b*) dizileri, bazı Güney Avrupa ve İsrail popülasyonlarındaki genetik çeşitliliği karşılaştırmak için ilk kez Frati ve ark. [5] tarafından allozim verileri ile birlikte kullanıldı. Frati ve ark. [5] tarafından yapılan çalışmada Güney Avrupa ve İsrail'deki 10 lokaliteden elde edilen modern kızıl tilki örneklerine ait allozim ve mitokondriyal sitokrom *b* verilerinin analizi yapıldı ve Akdeniz Havzası'ndan elde edilen 41 kızıl tilki örneğinden 18 mitokondriyal DNA sitokrom *b* haplotipi (41/18 = 2.277 birey) tespit edildi. Frati ve ark. [5]'nin çalışması örnekleminin yapıldığı Akdeniz Havzası'nda kızıl tilkiler için küçük coğrafi genetik yapı ortaya çıkarmıştır.

Kuzey Japonya'da yayılış gösteren kızıl tilkilerin mitokondriyal DNA filocoğrafyasını araştıran Inoue ve ark. [8], mitokondriyal sitokrom *b*, tRNA-threonine ve tRNA-proline genleriyle kontrol bölgesi (control region/D-loop) haplotiplerinin NJ ve network analizine göre iki ayrı grup tespit ettiler ve bu haplotip gruplarından birindeki haplotiplerin sadece Hokkaido (Japonya), diğer gruptakilerin ise Japonya, Rusya ve Avrupa haplotiplerinden oluştuğunu gözlemlediler.

Bölgesel çalışmalardan biri Kirschning ve ark. [21] tarafından mitokondriyal DNA kontrol bölgesi dizileri kullanılarak yapılan Sırbistan kızıl tilkilerinin popülasyon genetiği analizidir. Bu çalışmada üretilen haplotip network'ünde herhangi bir coğrafik örüntü ortaya çıkmamıştır. Ayrıca Kirschning ve ark. [21]'nin sonuçlarına göre Sırbistan kızıl tilkilerinin mitokondriyal DNA kontrol bölgesi dizileri, çalışma alanının fiziksel coğrafyasına dayanan popülasyon farklılaşmasının olası beklentilerini yansıtmamıştır.

Perrine ve ark. [9] tarafından yapılan çalışmada, Kaliforniya'daki dağ ve ova kızıl tilki popülasyonları arasındaki genetik yapı, mitokondriyal DNA sitokrom *b* dizileri kullanılarak araştırılmış olup modern ve eski dönem yüksek yerlerde bulunan

populasyonlar arasında anlamlı farklılaşma bulunmazken yüksek yerlerde bulunan populasyonların tüm modern ve eski dönem ova populasyonlarından büyük ölçüde farklı oldukları gözlenmiştir. Ayrıca bu araştırmacılar, ova populasyonları arasında yer alan eski dönem ve modern Sacramento Vadisi populasyonlarının birbirlerinden anlamlı bir şekilde farklılaşmadıklarını fakat Güney Kaliforniya ve San Fransisko Körfez bölgesindeki yakın zamanda bulunmuş olan populasyonlardan anlamlı olarak farklı olduğunu belirtmişlerdir.

Kuzey Amerika kırmızı tilkilerini kapsayan çalışmada Aubry ve ark. [11], 321 örneğin 220'sinden 354 bç. uzunluğunda (29 haplotip) ve 40 örnekten 221 veya 145 bç. uzunluğunda mitokondriyal sitokrom *b* dizileri ile 174 örnekten 342 bç. uzunluğunda (54 haplotip) mitokondriyal D-loop dizileri elde etmişlerdir. Hem sitokrom *b* (354 bç.) hem de D-loop (342 bç.) dizilerine dayanarak yapılan filogenetik analizler, günümüzden 400 bin yıl önce ayrılan iki ana klad (Holoarktik ve Nearktik) ortaya çıkardı. Ayrıca D-loop dizileri kullanılarak yapılan ML ve Median-Joining network analizleri, Nearktik klad içerisinde üç alt kladın varlığını ortaya çıkarmıştır [11]. Bunlara ilave olarak Aubry ve ark. [11], Nearktik kladı kırmızı tilkilerinin Holoarktik kladına ait kırmızı tilkilerden filogenetik olarak farklı olduğunu, Nearktik kladının Pleistosen süresince iki ayrı orman sığınağındaki uzun süren izolasyonu yansıttığını ve nesli tehlikede olan populasyonları kapsayan Nearktik kladının bir dağ soy hattının ekolojik ve evrimsel olarak farklı olabileceğini belirttiler.

Kuzey Amerika'daki Kaliforniya'nın Sacramento Vadisi kırmızı tilki populasyonunun kökeni Sacks ve ark. [12] tarafından araştırıldı. Bu çalışmada Sacks ve ark. [12], Sacramento Vadisi'ni de içeren Kuzey Amerika dağ kırmızı tilkilerinin koruma statüleri, taksonomisi, populasyon genetik yapısı ile ilgili yeni anlayışlar geliştirdiler. Sacks ve ark. [12], eski ve yeni örneklerden mitokondriyal DNA (sitokrom *b* ve D-loop) ve

mikrosatellit belirteçlerini kullandılar ve en yakın dağ popülasyonu Sacramento Vadisi popülasyonunun mikrosatellit kümelenmesi ve dominant endemik mitokondriyal DNA kladının filogenetik konumlanmasını içeren Sacramento Vadisi popülasyonunun o yöreye özgü kökenini destekleyen belirgin ve uygun kanıt buldular. Ayrıca bu araştırmacılar, Aubry ve ark. [11] tarafından tespit edilmiş Holoarktik ve Nearktik kladlarını tanımladılar ve sitokrom *b* ve D-loop haplotiplerinden elde edilen Median-Joining network'üne göre Kuzey Amerika içindeki Nearktik kladının dağ alt kladı, doğu alt kladı ve geniş yayılışlı alt klad olmak üzere üç alt klad'tan Holoarktik kladının içerisinde Alaska ve Batı Kanada'yı kapsayan Kuzey Amerika alt klad'ından oluştuğunu tespit ettiler.

Kaliforniya'daki yerli ve yerli olmayan kırmızı tilki popülasyonları arasındaki mekansal aşma ve melezleşme hakkındaki hipotezleri test etmek için Sacks ve ark. [13], mitokondriyal DNA (sitokrom *b*) dizileri ve nükleer genotiplerini (mikrosatellitler ve SNP) kullandılar. Bu araştırmacıların mitokondriyal ve nükleer DNA belirteçlerine dayanan sonuçlarına göre, parapatric yerli ve yerli olmayan popülasyonlar arasında melezleşme dar bir bölge ile sınırlı olup 40 yıldan fazla, nispeten değişmeden kalmış ve yerli olmayan kırmızı tilkilerin yerli olanların yayılış sınırları içerisinde yerleşmedikleri gözlenmiştir. Ayrıca Sacks ve ark. [13]'na göre üreme, rekabetler ile ilgili ve dağılım bariyerleri olan ilk göstergeler, şimdiye kadar yerli olanlar ile yerli olmayan kırmızı tilkilerin hızlı yer değiştirmesini engellemiştir.

Fraaije ve ark. [5]'nin çalışmasına kıyasla Avrupa'da coğrafik olarak daha geniş örnekleme yapan ve yaklaşık olarak 40 bin yıl öncesine ait eski DNA örneklerini de kullanan Teacher ve ark. [17], Kuzey Yarımküre boyunca geniş bir yayılışa sahip bir tür olan kırmızı tilkinin Avrupa içindeki hem tarihsel hem de bugünkü filocoğrafik yapısını ortaya çıkarmaya çalıştılar. Teacher ve ark. [17], kırmızı tilki türünün Avrupa içindeki

hem tarihsel hem de bugünkü filocoğrafik örüntüsünü açığa kavuşturmak için belirteç olarak mitokondriyal sitokrom *b* (250 bç.) ve kontrol bölgesi (268 bç) dizilerini kullandılar. Bayesian analizi sonucu üretilen Bayesian ağacında posterior olasılığın yüksek destek göstermediği ve uygun dizi çeşitliliğine rağmen Bayesian ağacı belirgin coğrafik ya da zamansal tabanlı kladlar göstermemiştir [17]. Teacher ve ark. [17]'nin çalışmasında ML ağaçlarının Bayesian ağacından daha az bilgi verici ve düşük bootstrap değerleri ile desteklendiği ve hem sitokrom *b* hem de kontrol bölgesi için üretilen haplotip network'lerinin de haplotip kümelenmesi için hiçbir belirti göstermediği belirtilmiştir.

Dünya'daki tek evcil kızıl tilki popülasyonu Rusya'nın Novosibirsk bölgesinde bulunmakla birlikte bu evcil tilkilerin genetik kaynağı bilinmemektedir. Statham ve ark. [14], kızıl tilkilerin evcil ırkının ve Novosibirsk'de sürekliliği sağlanmış olan diğer iki çiftlikte yetiştirilen kızıl tilki popülasyonlarının kökenini araştırdılar. Bu araştırmacılar bu popülasyonların filogenetik orjinini belirlemek için Novosibirsk'deki her popülasyondan elde ettikleri kızıl tilkilere ait mitokondriyal DNA sitokrom *b* ve D-loop bölgelerinin dizilerini kullandılar ve Novosibirsk evcil tilkilerinin dizileriyle Avrasya ve Kuzey Amerika kızıl tilkilerinin dizileriyle karşılaştırdılar. Statham ve ark. [14] tarafından yapılan analizler, Doğu Kanada bölümü hariç geri kalan diğer coğrafik bölgelerden kızıl tilki popülasyonları ile Novosibirsk popülasyonları arasında anlamlı farklılaşma olduğunu ve Avrasya kökenli haplotiplerin Novosibirsk popülasyonlarında bulunmadığını göstermiştir. Ayrıca bu araştırmacıların sonuçlarının çiftlikte yetiştirilen kızıl tilkilerin orijinal stoğunun Prince Edward Adası'ndan köken aldığını gösteren tarihsel kayıtlarla tutarlı olduğu gözlenmiştir.

Amerika Birleşik Devletleri'nde yakın geçmişte yerleşmiş kızıl tilkilerin kökenini araştırmak için Statham ve ark. [15], mitokondriyal DNA'nın sitokrom *b* ve D-loop

bölgelerine ait dizileri kullandılar. Bu araştırmacılar, Amerika Birleşik Devletleri'ndeki yakın geçmişte yerleşmiş populasyonlardan elde edilen bireylerle Avrasya, Alaska, Kanada, Kuzeydoğu Amerika Birleşik Devletleri ve komşu batı Amerika Birleşik Devletleri'ndeki dağlık alanlardan ve kürk çiftliklerinden bireyleri karşılaştırdılar. Statham ve ark. [15], Kuzey Amerika'da Avrasya haplotipleri bulamadıklarını fakat Güneydoğu Amerika Birleşik Devletleri ve Amerika Birleşik Devletleri'nin batı kısımlarında yakın geçmişte yerleşmiş populasyonlarda yerel haplotipler bulduklarını belirtmişlerdir. Ayrıca Statham ve ark. [15], yeni tespit ettikleri sitokrom *b* ve D-loop haplotiplerin ilgili haplotip network'ündeki konumuna dayanarak daha önce Aubry ve ark. [11] ile Sacks ve ark. [12] tarafından tanımlanmış kladlar içerisine yerleştiklerini saptadılar ve onların çalışmasındaki veya daha önce belirtilen çalışmalardaki [9, 11, 12] Kuzey Amerika kırmızı tilkileri arasında her hangi bir Avrupa haplotipinin kümelenmediğini gözlemlediler. Ayrıca Güneydoğu Amerika Birleşik Devletleri'nden kırmızı tilkilerin Doğu Kanada ve Kuzeydoğu Amerika Birleşik Devletleri'ndeki doğal populasyonlarla yakın akraba olduğu ve onların Avrupa soy hatlarının yer değiştirmesinden değil doğal sınır genişlemelerinden köken aldıkları önerildi. Benzer şekilde Büyük Havza ve Batı Oregon'daki yakın geçmişte yerleşmiş populasyonların aslında batı dağ bölgelerindeki yerel populasyonlardan köken aldıkları fakat bunun yanında birkaç yerel olmayan Kuzey Amerika haplotipleri içerdikleri belirtilmiştir [15]. Edwards ve ark. [18], batı Palaearktik Bölge boyunca yüksek ekolojik uyumluluk gösteren kırmızı tilki türünün filocoğrafik yapısını Avrupa boyunca elde edilmiş eski dönem ve günümüz tilkilerinin mitokondriyal sitokrom *b* ve kontrol bölgesi dizilerini kullanarak araştırdılar. Bu araştırmacıların çalışmalarındaki temel amaçlarından biri, kırmızı tilkilerin geç Pleistosen'de İngiliz Adaları'na kıta Avrupa'sından yerleşip yerleşmediğini test etmektir. Edwards ve ark. [18], paleontolojik ve eski DNA kanıtıyla

tutarlı Avrupa boyunca filocoğrafik yapının yüksek bir derecesini gösteren kızıl tilkiler bulduklarını, İngiliz Adaları'na ait tilkilerin Orta Avrupa popülasyonlarından köken aldıklarını ve Avrupa ile İngiliz Adaları arasındaki kara köprüsünün kapanmasından sonra izole oldukları sonucuna vardıklarını belirtmişlerdir.

Güney Kore'ye özgü kızıl tilkilerin genetik statüsü ile ilgili olarak Yu ve ark. [19], mitokondriyal DNA sitokrom *b* dizilerini kullandılar ve Gen Bankası'ndan elde ettikleri dizilerle birlikte yaptıkları NJ ve network analizleri sonucunda üç klad tespit ettiler. Bu araştırmacılar, Güney Kore kızıl tilki örneklerinin bir kladın iki soy hattında yer aldığını ve bu yüzden Güney Kore kızıl tilki popülasyonlarının iki farklı genetik soy hattından oluştuğunu belirttiler.

Kutschera ve ark. [22], kızıl tilkilerin daha önce örnekleme yapılmamış orta Asya popülasyonundan da örnekleri dahil ederek Kuzey Afrika ve Güneybatı Asya hariç Holoarktik Bölge boyunca yayılış gösteren kızıl tilkilerin mitokondriyal kontrol bölgesi dizilerini kullanarak bir filocoğrafik çalışma yaptılar ve yapılan analizlerle daha önce tanımlanmış iki ana soy hattını (Holoarktik ve Nearktik) teyit ettiler. Bu araştırmacıların analizlerine göre, tüm Avrupa haplotipleri Holoarktik soy hattında yer alırken Kuzey Amerika haplotiplerinin bir kısmı daha önce tanımlanan Nearktik soy hattında [11, 12, 14-16, 19, 20, 22] bir kısmı ise bir Holoarktik soy hattında yer almıştır. Ayrıca Kutschera ve ark. [22], Holoarktik soy hattının Avrupa coğrafyasını ilgilendiren bölümünde zayıf bir filocoğrafik yapı olduğu ve bunun daha önceki bulgularla [17, 18] uyumlu olduğunu belirtmişlerdir.

Hırvatistan'daki kızıl tilkiler hakkında az bilgi bulunduğunu belirten Galov ve ark. [23], Hırvatistan popülasyonunun genetik yapısını ve mitokondriyal DNA kontrol bölgesi (control region/D-loop) çeşitliliğini araştırmışlar ve Hırvatistan'daki dört bölgeden elde edilen kızıl tilkilerin haplotip çeşitliliğinin şimdiye kadar çalışılan tüm Avrupa

populasyonları arasında en yükseği olduğunu belirtmişlerdir. Bu araştırmacıların sonuçlarına göre bölgeler arasındaki farklılaşma oldukça düşük gözlenmiştir.

Türkiye kızıl tilkilerini kapsayan detaylı genetik çalışma İbiş ve ark. [20] tarafından yapıldı. Bu araştırmacılar mitokondriyal DNA sitokrom *b* dizilerini kullanarak Türkiye kızıl tilkilerinin filogenetik durumunu belirlemeye çalıştılar ve Türkiye kızıl tilkilerinden tespit edilen mitokondriyal DNA sitokrom *b* haplotiplerinin iki soy hattına dağıldığını tespit ettiler. İbiş ve ark. [20] tarafından yapılan çalışmada bulunan en ilginç sonuçlardan biri Güneybatı Anadolu'dan iki haplotipin daha önce tanımlanmış Hokkaido (Japonya) soy hattı içerisinde yer almasıdır. İbiş ve ark. [20]'nın çalışmasından kısa bir süre sonra yayınlanmış diğer bir çalışmada [16] sadece dört Türkiye kızıl tilki örneği kullanılmıştır.

Avrasya, Kuzey Amerika ve Afrika ile birlikte üç kıtayı kapsayan büyük ölçekli örnekleme ve genetik analizlere dayanan şimdilik tek çalışma Statham ve ark. [16] tarafından yapıldı. Statham ve ark. [16], diğer araştırmacılarınkinden farklı olarak genetik analizlere Avrasya ve Kuzey Amerika'nın yanı sıra Kuzey Afrika ve Asya'nın güney bölümlerini de dahil ederek kızıl tilki ile ilgili şimdiye kadar coğrafik ve genomik olarak en kapsamlı çalışmayı gerçekleştirdiler. Bu araştırmacılar, birden çok lokus (mitokondriyal sitokrom *b* ve D-loop, nükleer Y kromozomu ve otozomal lokuslar) kullanarak kızıl tilkinin filocoğrafyasıyla eski kıtasal ayrılmayı, asgari genomik değiş tokuşu ve farklı demografik tarihleri ortaya çıkarmaya çalıştılar. Statham ve ark. [16]'nın çalışmasının diğer bir özelliği analizlere aynı yıl içerisinde ve yakın zamanda yayınlanmış İbiş ve ark. [20]'nın çalışması gibi Türkiye'den örneklerin de dahil edilmesidir.

Buraya kadar verilen bilgiler ışığında bu çalışma, Türkiye kızıl tilki örneklerinin mitokondriyal DNA analizinin yapıldığı üçüncü çalışma olup kullanılan örnek sayısının

büyükluğu itibariyle ikinci çalışmadır. İbiş ve ark. [20]'nın çalışmasında Türkiye'den kızıl tilki türüne ait 51 örneğin mitokondriyal DNA'nın sitokrom *b* gen bölgesinin 375 bç. uzunluğundaki diziler kullanılırken Statham ve ark. [16] ise sadece Türkiye'den dört örneğin hem sitokrom *b* hem de D-loop dizilerini analizlerde kullanmışlardır.

Türkiye kızıl tilkileri ile ilgili yakın zamanda yayınlanmış iki moleküler temelli çalışma [16, 20] kızıl tilki türünün genetik çeşitliliğini ve filogenetik ilişkilerinin tam olarak açıklanması için yeterli olmaması bu çalışmanın önemini arttırmaktadır.

Bu çalışmada Türkiye kızıl tilkilerine ait 54 lokaliteden elde edilen 54 örneğin dokularından mitokondriyal DNA'ya ait 416 bç. uzunluğundaki dizilerin mitokondriyal tRNA^{Thr} (60 bç.) (son 40 bç.), tRNA^{Pro} (66 bç.) (tamamı) ve D-loop (1354 bç.) (310 bç.) bölgeleri analiz edildi ve 25 haplotip belirlendi (Tablo 3.1). Buna göre $54/25 = 2.16$ şeklinde elde edilen ortalama değer, 2.16 örnekten biri farklı bir haplotip taşıdığı anlamına gelmektedir. Daha önce yapılan ve mitokondriyal DNA D-loop bölgesini kapsayan çalışmalarda ise Inoue ve ark. [8] tarafından Japonya'da yayılış gösteren kızıl tilkilerden 88 örneğin mitokondriyal DNA D-loop bölgesine ait 20 haplotip ($88/20=4.4$ birey) tespit edilirken Krischning ve ark. [21] tarafından Kuzey Sırbistan'da beş lokaliteden elde edilen 110 kızıl tilki örneğinden dokuz mitokondriyal DNA D-loop haplotipi ($110/9=12.222$ birey) bulunmuştur. Valiere ve ark. [61] ise Pyrenees, Güneybatı Fransa ve İsviçre'den elde ettikleri 74 kızıl tilki örneğinden 27 mitokondriyal D-loop haplotipi ($74/27 = 2.740$ birey), Aubry ve ark. [11] Kuzey Amerika kızıl tilkilerinin 174 örneğinde 54 haplotip ($174/54=3.22$ birey), Statham ve ark. [15] Amerika Birleşik Devletleri'nden 136 kızıl tilki örneğinden 23 haplotip ($136/23=5.91$ birey), Kutschera ve ark. [22] Avrasya ve Kuzey Amerika boyunca geniş bir örnekleme alanından 729 kızıl tilki örneğinden 175 haplotip ($729/175=4.19$ birey), Galov ve ark. [23] ise Hırvatistan'dan elde ettikleri 229 kızıl tilki örneğinden 27 mitokondriyal D-

loop haplotipi ($229/27=8.48$ birey), ve en son olarak Statham ve ark. [16], kızıl tilkilerin yayılış alanını kapsayan çalışmada 959 örnekten 232 mitokondriyal D-loop haplotipi ($959/232 = 4.13$ birey) bulmuşlardır. Bu çalışmadaki Türkiye kızıl tilkileri için haplotip başına düşen birey sayısının az olması, örnek sayısının farklı olmasının yanı sıra Türkiye örneklerinin toplandığı lokaliteler arası uzaklık ve topografik yapıdaki farklılıktan kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir.

Yakın coğrafyadan yapılan ve mitokondriyal DNA D-loop bölgesinin analiz edildiği iki çalışmadan biri olan Krischning ve ark. [21]'nin çalışmasında haplotip çeşitliliği 0.728, nükleotit çeşitliliği ise 0.01508 verilirken haplotipler arasındaki genetik uzaklık değerleri 0.0030 (% 0.30) ile 0.0388 (%3.88) arasında değiştiği gözlenmiştir. Diğer bir çalışma olan Galov ve ark. [23]'nin çalışmasında ise haplotip çeşitliliği 0.901, nükleotit çeşitliliği ise 0.018 ve haplotipler arasındaki genetik uzaklık ise 0.0027 (% 0.27) ile 0.0412 (% 4.12) arasında değiştiği gözlenmiştir. Bu çalışmadaki Türkiye kızıl tilkileri için haplotip çeşitliliği 0,9378, nükleotit çeşitliliği 0,01675 ve haplotipler arasındaki genetik uzaklık ise 0.002 (% 0.2) iken en büyük genetik uzaklık değeri ise 0.040 (% 4) olarak tespit edilmiştir.

4.2. Sonuç ve Öneriler

Bu çalışmada kızıl tilki (*Vulpes vulpes*) türüne ait Türkiye'den 54 örneğin mitokondriyal DNA tRNA^{Thr}+tRNA^{Pro}+D-loop bölgesinin 416 bç.'lik kısmının genetik analizi yapıldı. Genetik analizler sonucu belirlenen Türkiye kızıl tilki türüne ait tRNA^{Thr}+tRNA^{Pro}+D-loop haplotipleri, hem kendi içerisinde hem de diğer araştırmacıların sonuçlarıyla birlikte analiz edildiler. K2P baz değişim modeline göre Türkiye kızıl tilki türüne ait 25 mitokondriyal D-loop haplotipi arasındaki genetik uzaklık değerleri 0.002 (% 0.2) ile 0.040 (% 4) arasında değiştiği gözlenmiştir. 25 haplotip için ortalama

genetik uzaklık değeri, 0.022 (% 2,2) olarak hesaplanırken Türkiye örnekleri için haplotip çeşitliliği 0,9378 olarak tespit edildi ve bu değerler Sırbistan ve Hırvatistan'dan verilen değerlerle karşılaştırıldığında nispeten büyük değerler olup örneklerin coğrafik dağılımından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Sonuç olarak Türkiye'nin örnek temin edilmeyen yerlerinden örnek temin edilmesi ve maternal olarak kalıtılan mitokondriyal DNA'nın yanı sıra nüklear DNA'nın da analizlere dahil edilmesi ile elde edilecek verilerin birlikte değerlendirilmesi, Türkiye kızıl tilkilerinin genetik çeşitliliğinin ve evrimsel ilişkilerinin kapsamlı bir şekilde ortaya çıkarılması için önemli katkı sağlayacaktır.

KAYNAKLAR

1. Larivière, S., Pasitschniak, M.A., 1996. *Vulpes vulpes*. **Mammalian Species**, **537**: 1-11.
2. Sillero-Zubiri, C., Hoffmann, M., Macdonald, D.W., 2004. Canids: Foxes, wolves, jackals and dogs. Status Survey and Conservation Action Plan. IUCN/SSC Canid Specialist Group. Gland, Switzerland and Cambridge, UK. x + 430 pp.
3. Wilson, D.E., Reeder, D.M., 2005. Mammal species of the World. A taxonomic and geographic reference (3rd ed), Johns Hopkins University Press, 2,142 pp.
4. Schipper, J., ve ark., 2008. The status of the world's land and marine mammals: diversity, threat, and knowledge. **Science**, **322** (5899): 225-230.
5. Frati, F., Harti, G.B., Lovari, S., Delibes, M., Markov, G., 1998. Quaternary radiation and genetic structure of the red fox *Vulpes vulpes* in the Mediterranean Basin, as revealed by allozymes and mitochondrial DNA. **Journal of Zoology**, **245**: 43-51.
6. Simonsen, V., Pertoldi, C., Madsen, A.B., Loeschcke, V., 2003. Genetic differentiation of foxes (*Vulpes vulpes*) analysed by means of craniometry and isozymes. **Journal for Nature Conservation**, **11** (2): 109–116.
7. Gachot-Neveu, H., Lefevre, P., Roeder, J.J., Henry, C., Poulle, M.L., 2009. Genetic detection of sex-biased and age-biased dispersal in a population of wild carnivore, the red fox, *Vulpes vulpes*. **Zoological Science**, **26** (2): 145–152.
8. Inoue, T., Nonaka, N., Mizuno, A., Morishima, Y., Sato, H., Katakura, K., Oku, Y., 2007. Mitochondrial DNA phylogeography of the red fox (*Vulpes vulpes*) in Northern Japan, **Zoological Science**, **24** (12) : 1178–1186.
9. Perrine, J.D., Pollinger, J.P., Sacks, B.N., Barrett, R.H., Wayne, R.K., 2007. Genetic evidence for the persistence of the critically endangered sierra nevada red fox in California. **Conservation Genetics**, **8** (5): 1083–1095.
10. Fernandes, C.A., Ginja, C., Pereira, I., Tenreiro, R., Bruford, M.W., Santos Reis, M., 2008. Species-specific mitochondrial DNA markers for identification of non-invasive samples from sympatric carnivores in the Iberian Peninsula. **Conservation Genetics**, **9** (3): 681- 690.
11. Aubry, K.B., Statham, M.J., Sacks, B.N., Perrine, J.D., Wisely, A.M., 2009. Phylogeography of the North American red fox: vicariance in pleistocene forest refugia. **Molecular Ecology**, **18** (12): 2668–2686.

12. Sacks, B.N., Statham, M.J., Perrine, J.D., Wisely, S.M., Aubry, K.B., 2010. North American Montane red foxes: expansion, fragmentation, and the origin of the Sacramento Valley red fox. **Conservation Genetics**, **11** (4): 1523 – 1539.
13. Sacks, B.N., Moore, M., Statham, M.J., Wittmer, H.K., 2011. A restricted hybrid zone between native and introduced red fox (*Vulpes vulpes*) populations suggests reproductive barriers and competitive exclusion. **Molecular Ecology**, **20** (2): 326 – 341.
14. Statham, M.J., Trut, L.N., Sacks, B.N., Kharlamova, A.V., Oskina, I.N., Gulevich, R.G., Johnson, J.L., Temnykh, S.V., Acland, G.M., Kukekova, A.V., 2011. On the origin of a domesticated species: identifying the parent population of Russian silver foxes (*Vulpes vulpes*). **Biological Journal of the Linnean Society**, **103** (1): 168 – 175.
15. Statham, M.J., Sacks, B.N., Aubry, K.B., Perrine, J.D., Wisely, S.M., 2012. The origin of recently established red fox populations in the United States: translocations or natural range expansions **Journal of Mammalogy**, **93**(1): 52 – 65.
16. Statham, M.J., Murdoch, J., Janecka, J., Aubry, K.B., Edwards, C.J., Soulsbury, C.D., Berry, O., Wang, Z., Harrison, D., Peach, M., Tomsett, L., Chupasko, J., Sacks, B.N., 2014. Range-wide multilocus phylogeography of the red fox reveals ancient continental divergence, minimal genomic exchange and distinct demographic histories. **Molecular Ecology**, **23** (19): 4813–4830.
17. Teacher, A.G.F., Thomas, J.A., Barnes, I., 2011. Modern and ancient red fox (*Vulpes vulpes*) in Europe show an unusual lack of geographical and temporal structuring, and differing responses within the carnivores to historical climatic change. **BMC Evolutionary Biology**, **11**: 214 – 222.
18. Edwards, C.J., Soulsbury, C.D., Statham, M.J., Ho, S.Y.W., Wall, D., Dolf, G., Iossa, G., Baker, P.J., Harris, S., Sacks, B.N., Bradley, D.G., 2012. Temporal genetic variation of the red fox, *Vulpes vulpes*, across Western Europe and The British Isles. **Quaternary Science Reviews**, **57**: 95 – 104.
19. Yu, J.N., Kim, S., Han, S.H., Kim, B.H., Kryukov, A.P., Kim, S., Lee, B.Y., Kwak, M., 2012. Insights into Korean red fox (*Vulpes vulpes*) based on mitochondrial cytochrome *b* sequence variation in East Asia. **Zoological Science**, **29** (11): 753 – 760.

20. İbiş, O., Tez, C., Özcan, S., 2014. Phylogenetic status of the Turkish red fox (*Vulpes vulpes*), based on partial sequences of the mitochondrial cytochrome *b* gene. **Vertebrate Zoology**, **64** (2): 273 – 284.
21. Kirschning, J., Zachos, F.E., Cirovic, D., Radovic, I.T., Hmve, S.S., Hartl, G.B., 2007. Population genetic analysis of Serbian red foxes (*Vulpes vulpes*) by means of mitochondrial control region sequences. **Biochemical Genetics**, **45** (5/6), 409-420.
22. Kutschera, V.E., Lecomte, N., Janke, A., Selva, N., Sokolov, A.A., Haun, T., Steyer, K., Nowak, C., Hailer, F., 2013. A rangewide synthesis and timeline for phylogeographic events in the red fox (*Vulpes vulpes*). **BMC Evolutionary Biology**, **13** (1): 114.
23. Galov, A., Sindičić, M., Andreanszky, T., Čurković, S., Deždek, D., Slavica, A., Hartl, G.B., Krueger, B., 2014. High genetic diversity and low population structure in red foxes (*Vulpes vulpes*) from Croatia. **Mammalian Biology**, **79** (1): 77 – 80.
24. Lade, J.A., Murray, N.D., Marks, C.A., Robinson, N.A., 1996. Microsatellite differentiation between Phillip Island and mainland Australian populations of the red fox *Vulpes vulpes*. **Molecular Ecology**, **5** (1): 81 – 87.
25. Wandeler, P., Funk, S.M., Largiader, C.R., Gloor, S., Breiten-Moser, U., 2003. The city-fox phenomenon: genetic consequences of a recent colonization of urban habitat. **Molecular Ecology**, **12** (3): 647 – 656.
26. Kukekova, A.V., Trut, L.N., Oskina, I.N., Kharlamova, A.V., Shikhevich, S.G., Kirkness, E.F., Aguirre, G.D., Acland, G.M., 2004. A marker set for construction of a genetic map of the silver fox (*Vulpes vulpes*). **Journal of Heredity**, **95** (3): 185–194.
27. Wandeler, P., Funk, S., M., 2006. Short microsatellite DNA markers for the red fox (*Vulpes vulpes*). **Molecular Ecology Notes**, **6** (1): 98-100.
28. Oishi, T., Uraguchi, K., Takahashi, K., Masuda, R., 2011. Population structures of the red fox (*Vulpes vulpes*) on the Hokkaido Island, Japan, revealed by microsatellite analysis. **Journal of Heredity**, **102** (1): 38 – 46.
29. Wilson, A.C., Cann, R.L., Carr, S.M., George, M., Gyllensten, U.B., Helm-Bychowski, K.M., Higuchi, R.G., Palumbi, S.R., Prager, E.M., Sage, R.D., Stoneking, M., 1985. Mitochondrial DNA and two perspectives on evolutionary genetics. **Biological Journal of the Linnean Society**, **26** (4): 375–400.

30. Avise, J.C., 2000. Phylogeography: The history and formation of species. Harvard University Press, Cambridge, MA. vii + 453pp.
31. Miller, S.A., Harley, J.P., 2001. Zoology, Fifth edition, The McGraw-Hill Companies, Boston. 540 pp.
32. Kryštufek, B., Vohralík, V., 2009. Mammals of Turkey and Cyprus. Rodentia II: Cricetinae, Muridae, Spalacidae, Calomyscidae, Capromyidae, Hystricidae, Castoridae. First edition 41 Knjiznica Annales Majora Koper, 372 pp.
33. Kleiman, D. G., Geist, V., McDade, M. C., 2003. Grzimek's Animal Life Encyclopedia, Second Edition, V.14, Mammals III, Gale Group, 608 pp.
34. Macdonald, D.W. & Reynolds, J.C. 2008. *Vulpes vulpes*. The IUCN red list of threatened species. version 2014.3. (Web: <http://www.iucnredlist.org> Downloaded on 02 January 2015).
35. Boore, J.L., 1999. Animal mitochondrial genomes. **Nucleic Acids Research**, **8** (27): 1767-1780.
36. Wolstenholme, D.R., 1992. Animal mitochondrial DNA: Structure and evolution. **International Review of Cytology**, **141**: 173-216.
37. Shadel, G.S., Clayton, D.A., 1997. Mitochondrial DNA maintenance in vertebrates. **Annual Review of Biochemistry**, **66** (1): 409-435.
38. Zhong, H-M., Zhang, H.H., Sha, W.L., Zhang, C.D., Chen, Y.C., 2010. Complete mitochondrial genome of the red fox (*Vulpes vulpes*) and phylogenetic analysis with other canid species. **Zoological Research**, **31**(2): 122-130.
39. Yu, J.N., Kim, S., Oh, K., Kwak, M., 2012b. Complete mitochondrial genome of the Korean red fox *Vulpes vulpes* (Carnivora, Canidae). **Mitochondrial DNA**, **23**(2): 118-119.
40. Arnason, U., Gullberg, A., Janke, A., Kullberg, M., Lehman, N., Petrov, E.A., Vainola, R., 2006. Pinniped phylogeny and a new hypothesis for their origin and dispersal. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, **41**(2): 345 – 354.
41. Zhang, D.X., Hewitt, G.M., 2003. Nuclear DNA analyses in genetic studies of populations: practice, problems and prospects. **Molecular Ecology**, **12** (3): 563-584.
42. Ballard, J.W.O., Whitlock, M.C., 2004. The incomplete natural history of mitochondria. **Molecular Ecology**, **13** (4): 729-744.

43. Nabholz, B., Glémin, S., Galtier, N., 2008. Strong variations of mitochondrial mutatuion rate across mammals-the longevity hypothesis. **Molecular Biology & Evolution**, **25** (1): 120-130.
44. Zink, R.M., Barrowclough, G.F., 2008. Mitochondrial DNA under siege in avian phylogeography. **Molecular Ecology**, **17** (9): 2107-2121.
45. Endicott, P., Ho, S.Y.W., Metspalu, M., Stringer, C., 2009. Evaluating the mitochondrial timescale of human evolution. **Trends in Ecology and Evolution**, **24** (9): 515-521.
46. Geneious version (R6.1.6) created by Biomatters.
(Web page: <http://www.geneious.com/>)
47. Rozas, J., Librado, P., 2009. DnaSP v5, A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. **Bioinformatics**, **25** (11): 1451-1452.
48. Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipski, A., Kumar, S., 2013. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 6.0. **Molecular Biology and Evolution**, **30** (12): 2725-2729.
49. Kimura, M., 1980. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide substitutions. **Journal of Molecular Evolution**, **16** (2): 111–120.
50. Guindon, S., Gascuel, O., 2003. A simple, fast and accurate method to estimate large phylogenies by maximum-likelihood. **Systematic Biology**, **52** (5): 696-704.
51. Posada, D., 2008. jModelTest: Phylogenetic model averaging. **Molecular Biology and Evolution**, **25** (7): 1253 – 1256.
52. Hasegawa, M., Kishino, H., Yano, T., 1985. Dating the human-ape split by a molecular clock of mitochondrial DNA. **Journal of Molecular Evolution**, **22** (2):160-174.
53. Saitou, N., Nei, M., 1987. The Neighbor-Joining method: a new method forreconstructing phylogenetic trees. **Molecular Biology and Evolution**, **4** (4): 406 - 425.
54. Felsenstein, J., 1981. Evolutionary trees from DNA sequences: A Maximum Likelihood approach. **Journal of Molecular Evolution**, **17** (6): 368-376.
55. Huelsenbeck, J.P., Ronquist, F., 2001. MrBayes: Bayesian inference of phylogeny. **Bioinformatics**, **17** (8): 754-755.

56. Ronquist, F., Huelsenbeck, J.P., 2003. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. **Bioinformatics**, **19** (12): 1572 – 1574. (Web page: <http://mrbayes.sourceforge.net/>)
57. Zeyland, J., Musierowicz, K., Jedroszkowiak, A., Boksa, M., Slomski, R., Smielowski, J., Lipinski, D., 2013. GenBank: KF826488, Direct Submission.
58. Bandelt, H-J., Forster, P., Röhl, A., 1999. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. **Molecular Biology and Evolution**, **16** (1): 37-48.
59. Dalen, L., Fuglei, E., Hersteinsson, P., Kapel, C.M.O., Rothe, J.D., Samelius, G., Tannerfeldt, M., Angerbjorn, A., 2005. Population history and genetic structure of a circumpolar species: the arctic fox. **Biological Journal of the Linnean Society**, **84**(1): 79-89.
60. Koop, B.F., Crockford, S., Burbidge, M., Byun, A., Rink, U., 1998. Polyphyletic origin of dogs. **Unpublished**.
61. Valiere, N., Fumagalli, L., Gielly, L., Miquel, C., Lequette, B., Poulle, M.-L., Weber, J.-M., Arlettaz, R., Taberlet, P., 2003. Long-distance wolf recolonization of France and Switzerland inferred from non-invasive genetic sampling over a period of 10 years. **Animal Conservation**, **6** (1): 83-92.
62. Statham, M., Turner, P.D., O'Reilly, C., 2003. Use of mitochondrial d-loop amplification and restriction analysis for identification of mustelids in Ireland. **Unpublished**.
63. Okumura, N., Ishiguro, N., Nakano, M., Matsui, A., Sahara, M., 1996. Intra- and interbreed genetic variations of mitochondrial DNA major non-coding regions in japanese native dog breeds (*Canis familiaris*). **Animal Genetics**, **27** (6): 397-405.
64. Zhang, H.H., Zhang, J., Zhao, C., Chen, L., Sha, W.L., Liu, G.S., 2013. *Vulpes vulpes montana* mitochondrion, complete genome. **Unpublished**.
65. Tavar e, S., 1986. Some probabilistic and statistical problems in the analysis of dna sequences. **Lectures on Mathematics in the Life Sciences (American Mathematical Society)**, **17**: 57-68.
66. Rambaut, A., 2009. FigTree: Tree figure drawing tool, version 1.3.1. Accessed on October 12, 2011. (Available with the program package at web page: <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree>).

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı, Soyadı: Murat TELCİOĞLU
Uyruğu: Türkiye (TC)

EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet Tarihi
Lisans	EÜ Fen Fakültesi Biyoloji	2010
Lise	Sema Yazar Anadolu Lisesi (İngilizce) Kayseri	2004

İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	Kurum	Görev
2012- Halen	KASKİ	Biyolog

YABANCI DİL

İngilizce

YAYINLAR

- İbiş, O., Tez, C., Özcan, S., Kılıç, M., Telcioğlu, M. (2011). A preliminary study of the allozyme variation in the grey hamster, *Cricetulus migratorius* (Mammalia: Rodentia), from the Asian part of Turkey. Archives of Biological Sciences, Belgrade, 63 (2): 381-391.
- Tez, C., İbiş, O., Tez, R., Kılıç, M., Telcioğlu, M. (2011). Distributional, morphological and karyotypic contributions for the Eurasian water vole, *Arvicola amphibius* (Linnaeus, 1758) (Rodentia: Mammalia), from Turkey. Archives of Biological Sciences, Belgrade, 63 (2): 407-412.
- Tez, C., İbiş, O., Özcan, S., Gündüz, İ., Kılıç, M. ve Telcioğlu, M. (2010). *Neomys*

Kaup, 1829 ve *Sorex* Linnaeus, 1758 (Soricidae: Soricomorpha: Mammalia)'ın allozim varyasyonları ve yeni yayılış yerleri. XX. Ulusal Biyoloji Kongresi, 21-25 Haziran-2010, Pamukkale Üniversitesi, Denizli. **(Poster)**.

3. Kılıç, M., İbiş, O., Tez, C., Özcan, S. ve Telcioğlu, M. (2010). *Martes foina* (Erxleben, 1777) ve *Vormela peregusna* (Güldenstaedt, 1770) (Mustelidae: Carnivora: Mammalia)'nın allozim varyasyonları. XX. Ulusal Biyoloji Kongresi, 21-25 Haziran-2010, Pamukkale Üniversitesi, Denizli **(Poster)**.

