



T.C.
NİĞDE ÖMER HALİSDEMİR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

KÖRFARE (NANNOSPALAX) SİTOTİPLERİNİN BÜYÜME HORMON
RESEPTÖRÜ EXON 10 (GHR EXON 10) BAKIMINDAN GENETİK
VARYASYONLARININ ARAŞTIRILMASI

İLHAN TATYÜZ

Haziran 2019

T.C.
NİĞDE ÖMER HALİSDEMİR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

KÖRFARE (*NANNOSPALAX*) SİTOTİPLERİNİN BÜYÜME HORMON
RESEPTÖRÜ EXON 10 (GHR EXON 10) BAKIMINDAN GENETİK
VARYASYONLARININ ARAŞTIRILMASI

İLHAN TATYÜZ

Yüksek Lisans Tezi

Danışman

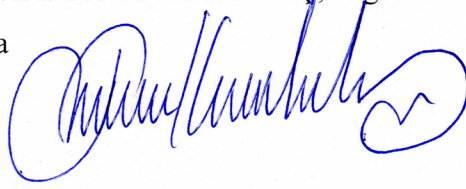
Doç. Dr. Teoman KANKILIÇ

Haziran 2019

İlhan TATYÜZ tarafından **Doç. Dr. Teoman KANKILIÇ** danışmanlığında hazırlanan “**KÖRFARE (NANNOSPALAX) SİTOTİPLERİNİN BÜYÜME HORMON RESEPTÖRÜ EXON 10 (GHR EXON 10) BAKIMINDAN GENETİK VARYASYONLARININ ARAŞTIRILMASI**” adlı bu çalışma jürimiz tarafından Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoteknoloji Anabilim Dalı’nda Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

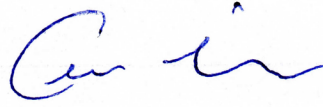
Başkan : Doç. Dr. Teoman KANKILIÇ, Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi

İmza



Üye : Doç. Dr. Cemil İŞLEK, Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi

İmza



Üye : Dr. Öğrt. Üyesi Perinçek Seçkinozan ŞEKER, Artvin Çoruh Üniversitesi

İmza



ONAY:

Bu tez, Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunca belirlenmiş olan yukarıdaki jüri üyeleri tarafından/....../20.... tarihinde uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu’nun/....../20.... tarih ve sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

...../...../20...

Doç. Dr. Murat BARUT
MÜDÜR

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin bilimsel ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.



İlhan TATYÜZ

ÖZET

KÖRFARE (*NANNOSPALAX*) SİTOTİPLERİNİN BÜYÜME HORMON RESEPTÖRÜ EXON 10 (GHR EXON 10) BAKIMINDAN GENETİK VARYASYONLARININ ARAŞTIRILMASI

TATYÜZ, İlhan

Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoteknoloji Anabilim Dalı

Danışman

: Doç. Dr. Teoman KANKILIÇ

Haziran 2019, 41 sayfa

Bu çalışmada *Nannospalax* cinsi körfarelerin moleküler filogenisi nükleer gen büyüme hormon reseptörü exon 10 (GHR exon 10) bölgesi kullanılarak çalışılmış ve iki alternatif hipotez test edilmiştir: (i) *Nannospalax xanthodon* türünün yayılış alanında belirlenen sitotipler ayrı türleri temsil edecek kadar genetik farklılığa sahiptir; alternatif olarak (ii) *N. xanthodon* kompleks bir tür değildir ve mevcut kromozomal farklılık coğrafik varyasyonlardan ibarettir. Çalışılan farklı sitotiplere sahip körfare örneklerinin sekans dizileri Maksimum likelihood, Neighbour joining ve Network filogenetik analizlerine tabi tutulmuştur. Analiz sonuçları Türkiye’de yayılış gösteren körfare popülasyonları içinde pek çok tür ve/veya alttür olduğunu desteklemiştir. Araştırma sonuçları, halen ayrı türler olarak temsil edilen Trakya ve Anadolu popülasyonları arasında gen akışının olmadığını ve her iki popülasyonun yüksek düzeyde farklılaştığını desteklemektedir. Literatür ve bu tez çalışmasından elde edilen sonuçlar birlikte değerlendirildiğinde Anadolu’da muhtemel yeni alttür ve/veya alttürlerin olabileceği düşünülmektedir.

Anahtar Sözcükler: *Nannospalax xanthodon*, Nükleer DNA, GHR exon 10, Filogeni

SUMMARY

INVESTIGATION OF GENETIC VARIATIONS IN CITOTYPES OF BLIND MOLE RATS (*NANNOSPALAX*) IN TERMS OF THE GROWTH HORMONE RECEPTOR EXON 10 (GHR EXON 10)

TATYÜZ, İlhan

Nigde Ömer Halisdemir University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Biotechnology

Supervisor : Assoc. Prof. Dr. Teoman KANKILIÇ

June 2019, 41 pages

In this study, the molecular phylogeny of *Nannospalax* spp. was studied using the nuclear gene growth hormone receptor exon 10 (GHR exon 10) region to examine two alternative hypotheses: (i) The cytotypes identified in the distribution area of the *Nannospalax xanthodon* species have genetic differences to represent separate species; alternatively, (ii) *N. xanthodon* is not a complex species, and the present chromosomal difference is only geographic variations. The sequence series of the blind mole rat samples with different cytotypes studied were subjected to Maximum likelihood, Neighbor joining and Network phylogenetic analysis. The analysis results supports that there are many species or subspecies in the blind mole rat populations in Turkey. The results of the research support that there is no gene flow between the Thrace and Anatolian populations, which are still represented as separate species, and that both populations are highly differentiated. When the literature and the results obtained from this thesis are evaluated together, it is thought that there may be new subspecies and / or subspecies in Anatolia.

Keywords: *Nannospalax xanthodon*, Nükleer DNA, GHR exon 10, Phylogeny

ÖN SÖZ

Bu tez çalışmasında, Türkiye *Nannospalax xanthodon* türüne ait farklı sitotiplerde nükleer gen GHR Exon 10 gen bölgesi çalışılarak türün alttürleşmesi ve filogenetik ilişkilerinde bulunan bilgi boşlukları doldurulmaya çalışılmıştır.

Tez çalışmamda yeterli analizleri yapabilmem için elinde bulunan örnekleri kullanmamı sağlayan, Yüksek lisans eğitimim boyunca, tez çalışmamın konusunun belirlenmesi ve tez çalışmasının yürütülmesi esnasında hiç bir zaman ilgisini, yardımını ve desteğini esirgemeyen Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoteknoloji Bölümü Öğretim Üyesi danışman hocam sayın Doç. Dr. Teoman KANKILIÇ’a;

Bu çalışma, 113Z378 numaralı “Türkiye *Nannospalax* Populasyonlarının Filogenisi ve Filocoğrafyası” isimli TÜBİTAK 3501 Kariyer projesinden üretilmiş olup, projeye destek sağlayan TÜBİTAK’a katkılarından dolayı teşekkür ederim.

Tez çalışmamda filogenetik analizlerin yapılması esnasında ve sonuçların değerlendirilmesi esnasında yardımlarını esirgemeyen Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoteknoloji Bölümü Öğretim Üyesi Dr. Öğr. Üyesi Özhan ŞENOL’a ve Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Bölümü Öğretim Üyesi Dr. Öğr. Üyesi Dilara Fatma BALI’ya;

Eğitim hayatım boyunca beni hiç yalnız bırakmayan, maddi ve manevi hep yanımda olan ve desteklerini hiçbir zaman benden esirgemeyen aileme;

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım...

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iv
SUMMARY	v
ÖN SÖZ	vi
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
BÖLÜM I GİRİŞ	1
1.1 Literatür Özeti.....	4
BÖLÜM II KURAMSAL TEMELLER.....	11
2.1 Kemiricilerin Genel Özellikleri	11
2.2 Familia: Spalacidae.....	12
2.3 Genus: <i>Spalax</i> Güldensteadt, 1770	13
BÖLÜM III MATERYAL VE METOT.....	14
3.1 Materyal	14
3.2 Örneklerin DNA İzolasyonu.....	17
3.3 CTAB İzolasyon Prosedürü	17
3.4 Nanodrop ile İzole Edilen DNA Miktarının Belirlenmesi.....	18
3.5 Genomik DNA ve Kullanılan Primerler	18
3.6 PCR Amplifikasyonu İşlemi.....	19
3.7 PCR Ürününün Agaroz Jel Elektroforezi	20
3.8 Sekans Sonuçlarının Değerlendirilmesi.....	20
3.8.1 Sekansların eldesi	20
3.8.2 Sekansların okunması, dizi analizi	20
3.9 İstatistik Analizler.....	21
BÖLÜM IV BULGULAR.....	22
4.1 GHR exon 10 Sonuçlarına Göre Belirlenen Haplotipler	23
4.1.1 Genetik çeşitlilik analiz sonuçları.....	23
4.1.2 Filogenetik analizlerde kullanılan model testin belirlenmesi	25
4.1.3 GHR exon 10 geni maksimum likelihood (ML) analizi sonuçları	27
4.1.4 GHR exon 10 geni için neighbour-joining (NJ) analiz sonuçları	28

4.1.5 GHR exon 10 geni için bayesian analiz sonuçları	28
4.1.6 GHR exon 10 gen bölgesi için network analizi sonuçları	29
4.1.7 GHR exon 10 Gen Bölgesi için Network Analizi Sonuçları	29
BÖLÜM V TARTIŞMA.....	31
KAYNAKLAR	35
ÖZ GEÇMİŞ	41



ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1. Türkiye körfare sitotipleri kullanılarak yapılan genetik çalışmalar.....	6
Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan <i>Nannospalax</i> cinsi körfare örneklerine ait bilgiler (ÖS: Örnek sayısı, HN: Harita Numarası, ÖN: Müze Numarası).....	15
Çizelge 3.2. Çalışılan gen bölgeleri primerlerin baz dizileri	19
Çizelge 3.3. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) karışımı	19
Çizelge 4.1. <i>Nannospalax</i> cinsine ait örnekler için nükleotidler içindeki transisyon - transversiyon oranları.....	22
Çizelge 4.2. Haplotipler arasında kimura 2- parametre değerleri.....	23
Çizelge 4.3. Çalışmada değerlendirilen <i>Nannospalax</i> türlerinde elde edilen özgün haplotip listesi	24
Çizelge 4.4. GHR exon 10 geni filogenetik analizlerinde kullanılan model test sonuçları	26

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Altında körfare galerilerinin olduğu toprak yumruları	2
Şekil 1.2. Niğde–Merkez’den <i>Nannospalax xanthodon</i>	3
Şekil 1.3. Türkiye körfare sitotipleri ve coğrafi dağılımları	8
Şekil 3.1. Çalışmada kullanılan <i>Nannospalax</i> cinsi körfare örneklerinin alındığı lokaliteler	17
Şekil 4.1. GHR exon 10 geni için oluşturulan Maksimum Likelihood (ML) filogenetik ağacı	27
Şekil 4.2. GHR exon 10 geni için çizilen Neighbour-Joining (NJ) filogenetik ağacı	28
Şekil 4.3. GHR exon 10 gen bölgesi için çizilen Bayesian filogenetik ağacı.....	29
Şekil 4.4. GHR exon 10 gen bölgesine ait Network analiz sonuçları.....	30
Şekil 5.1. Türkiye körfare türleri ve coğrafik dağılışları	34

BÖLÜM I

GİRİŞ

Körfareler (*Nannosapalax*) yaklaşık 40 milyon yıl önce Anadolu'dan köken alan, Spalacidae familyasına ait yabancı kemirgenlerdir (Nevo vd., 1994; Nevo vd., 1995). Bu canlılar hayatlarının neredeyse tamamını toprak altında dişleriyle kazdığı galerilerde geçirir ve bu galerileri açarken rastladıkları bitkilerin toprak altı organları ile beslenirler (Şekil 1.1). Körfareler yetersiz oksijen koşullarında, karanlık yeraltı ortamda hipoksik ve hiperkapnik strese maruz kalan ve özellikle yağmurlu sezonlarda yuvalarının sular altında kalmasıyla ani O₂ ve CO₂ seviyelerindeki dalgalanmalarda hipoksik/hiperkapnik stres altında hayatlarını devam ettirebilmek için ekstrem adaptasyonlar geliştirmiş canlılardır. Kurak mevsimlerde galerilerde ölçülen oksijen seviyesi normal değerlerde olmasında karşın, yağışlı kış mevsiminde O₂ seviyesi % 7' ye düşerken, CO₂ seviyesi ise % 6'ya yükselmektedir. Laboratuvar deneylerinde % 2 O₂ seviyesinde ve % 15 CO₂ seviyesinde körfarelerin yaşamlarını devam ettirebildikleri tespit edilmiştir (Nevo vd., 1994).

Toprak altı yaşamın neden olduğu çevresel stres faktörleri körfarelerin evriminde önemli bir rol oynamaktadır (Nevo vd., 1994; Nevo vd., 1995). Bu stres faktörleri içerisinde karanlık, enerji, düşük verimlilik, besin azlığı, toprak ve kayaç yapısı, hipoksi, hiperkapni ve yoğun patojeni sayılabilir. Bunlarla beraber özellikle yuva atmosferini etkileyen dış faktörler (toprak üstündeki yüksek sıcaklık ve düşük nispi nem) körfarelerin kromozom ve genomik olarak türleşmesini etkilemektedir (Nevo vd., 1995).

Körfarelerde toprak altında yaşama adaptasyonun bir sonucu olarak gözler deri altında fizyolojik olarak gerilemiş ve ışığı algılamaz (Şekil 1.2). Sonuç olarak, körfareler bu streslerle başa çıkabilmek için çoklu genetik adaptasyonlar geliştirmiştir. Bu adaptasyonların genomik temelini çözmek, biyomedikal uygulamalar için önemli olacaktır. Ayrıca bu canlılar kansere dayanıklılık ve uzun ömürlülüğe (maksimum belgelenmiş 21 yıl) karşı olağanüstü bir tolerans göstermektedir. Özellikle kansere karşı olağanüstü dirençleri nedeniyle körfareler değerli bir araştırma hedefi haline gelmiştir. Gorbnova vd. (2012) çalışmasında körfarelerin kansere dirençli canlılar oldukları ve 40 yıllık laboratuvar çalışmalarında körfarelerde kendiliğinden gelişen kanser vakalarına rastlanmadığı vurgulanmıştır.



Şekil 1.1. Altında körfare galerilerinin olduğu toprak yumruları (Foto Teoman KANKILIÇ)

Körfareler kendilerini kanserden korumak için birçok mekanizma geliştirmiştir. Bu mekanizmalar arasında hücre döngüsü kontrol noktaları, DNA onarımı, programlanmış hücre ölümü ve p53 ve Rb gibi bir tümör baskılayıcı gen ağı tarafından kontrol edilen replikatif yaşlanma mekanizmaları önerilmiştir (Gorbunova vd., 2012).



Şekil 1.2. Niğde–Merkez’den *Nannospalax xanthodon* (Foto: Teoman KANKILIÇ)

Diğer kemirgenler (*Mus*, *Rattus*, *Apodemus*, *Microtus* vb.), kanser araştırması için model olarak yaygın şekilde kullanılmıştır; fakat onlar kansere daha yatkındır ve muhtemelen daha az antikanser savunma sistemine sahiplerdir. Bu nedenle fareler gibi kemiriricilerde yeni antikanser yollarını keşfetme potansiyeli sınırlıdır. Bu durum kansere dirençli türlerde antikanser mekanizmalarının çalışılmasının büyük değerini ortaya koymaktadır. Bu nedenle yeraltı memelileri kanser çalışmaları için iyi adaylardır (Gorbunova vd., 2012).

Yayılış gösterdiği tüm alanlarda, körfare populasyonlarında gözlenen kromozomal ve genetik farklılıklar ve biyocoğrafik ilişkiler birçok çalışmada araştırılmıştır (Kryštufek vd., 2012; Nevo vd., 1994; Savic ve Nevo, 1990). Son 30 yıldır *Nannospalax* cinsi türleşme ve uyumsal açılım çalışmalarında da model organizma olarak kullanılmıştır (Nevo, 2013). Körfareler üzerine yapılan çalışmaların çoğu İsrail’de yaşayan 4 tür üzerinde yoğunlaşmıştır. Türkiye, körfarelerin yayılış alanında en fazla karyotipik çeşitlilik gösteren coğrafyadır ve bu canlılar için gen merkezi olmaya adaydır. Ülkemiz körfareleri üzerine yapılmış olan moleküler, sitogenetik, morfolojik ve fizyolojik çalışmalarda alttür, tür ve hatta tür üstü seviyelerde yüksek farklılıklar belirlenmiştir. Ancak körfare populasyonlarında gözlenen yüksek çeşitlilik, araştırmacılar tarafından körfare populasyonlarının taksonomik olarak sınıflandırılmasını zorlaştırmıştır. Ayrıca

körfare populasyonları üzerine moleküler belirteçler kullanılarak yapılan çalışmalar oldukça az olduğundan, morfolojik olarak sibling bireyleri içeren körfare populasyonların sınıflandırılması zordur. İsrail’de yayılış gösteren farklı kromozom sayısına sahip 4 form (sitotip) ayrı türler olarak bilim dünyasına tanıtılmışken, Türkiye’deki yaklaşık 20 farklı sitotipin nasıl sınıflandırılacağı halen kesinlik kazanmamıştır (Kryštufek vd., 2012). Bu belirsizlik, bu türün koruma durumunun belirlenmesi, endemik türlerin mevcudiyeti ve yayılış alanlarının çıkarılması, belirlenecek türler arasında biyokimyasal, genetik veya ekolojik adaptasyonlar açısından farklılıkların bulunup bulunmadığı ve kansere direnç mekanizmalarında türler arasında farklı adaptasyonların olup olmadığı gibi sorular halen cevapsız kalmıştır.

Bu tez çalışmasında seçilen nükleer gen olan GHR (büyüme hormonu reseptörü) geni, büyüme hormonu için bir transmembran reseptörü olan Tip I sitokin reseptörü ailesinin bir üyesini kodlar. Büyüme hormonunun reseptöre bağlanması reseptör dimerizasyonuna ve büyümeye yol açan hücre içi ve hücreler arası sinyal iletim yolunun aktivasyonuna yol açar. Bu gendeki mutasyonlar, kısa boy ile karakterize bir hastalık olan büyüme hormonu duyarsızlığı sendromu (GHIS) olarak da bilinen Laron sendromuyla ilişkilendirilmiştir. Büyüme hormonu reseptörü (GHR), prolaktin reseptörü ve bir dizi sitokin reseptörü içeren transmembran proteinlerinin üst ailesine aittir. Büyüme hormonu reseptörü (GHR), büyümeyi düzenleyici olarak bilinmesine ek olarak, metabolizmanın düzenlenmesi ve hepatobiliyer, kardiyovasküler, böbrek, gastrointestinal ve üreme sistemleri ile ilgili fizyolojik işlemlerin kontrol edilmesi dahil olmak üzere birçok önemli biyolojik fonksiyona sahiptir. Ek olarak, büyüme hormonu sinyalleşmesi yaşlanmanın önemli bir düzenleyicisidir ve kanser gelişiminde önemli bir rol oynar. Büyüme hormonu, Janus kinazı (JAK) sinyalin transdüserini ve transkripsiyon (STAT) sinyal yolunun aktivatörünü aktive eder ve son zamanlarda yapılan çalışmalar, reseptörüne bağlanan büyüme hormonu ile JAK2 aktivasyon mekanizmasının yeni bir şekilde anlaşılmasını sağlamıştır (Dehkhoda vd., 2018).

1.1 Literatür Özeti

Biyolojik çeşitliliğin üç ana bileşeni genler, türler ve ekosistemlerdir. Tür, biyolojik organizasyonun temel kategorisi olup taksonomi, ekoloji, evrim ve biyocoğrafya gibi bir çok araştırma alanını doğrudan etkileyebilir. Bir türün tanımlanması tüm biyolojik

bilimlerde özellikle de biyoçeşitlilikte büyük bir öneme sahiptir (Agapow vd., 2004). Bununla birlikte, tür tanımı tartışmalı bir tarihe sahiptir ve çok sayıda alternatif tür kavramı ortaya atılmıştır. Tarihsel süreçte tür sınıflandırılması morfoloji ve üreme izolasyonu kalıplarına odaklanmıştır. Özellikle moleküler teknikler ile türler arasındaki genetik farklılıkları belirleyen yöntemlerin kullanımı ile yeni keşfedilen türlerin sayısı sürekli artmış, morfolojik olarak benzer fakat genetik olarak farklılaşan kriptik türleri açığa çıkarmıştır. Bugün kriptik türlerle ilgili çok sayıda bilimsel makale yapılmakta ve hayvan filumlarında yaygın olarak tanımlanmaktadır. Kriptik türlerin varlığı, çoğunlukla gözden kaçan küçük memeli türlerinde ve aynı zamanda zürafalar gibi büyük memeli türlerinde bile tespit edilmiştir. Kriptik türlerin DNA temelli tanımlanması için evrensel tek bir belirteç (örneğin DNA barcoding) dayalı yöntemler sayı olarak artmış ve yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu yöntem bir tür kavramı olmasa da, etkili bir hipotez oluşturucudur ve sayısız kriptik türün önerilmesine yol açmıştır. Ancak pek çok yazar filogenetik çıkarsamayı yanlış yönlendirebilen birkaç doğal süreçten dolayı (örneğin, gen ağaçları ile tür ağaçları arasındaki uyumsuzluk) tek bir lokusa dayalı sınırlandırmanın hatalı olabileceğini de vurgulamıştır. Yine de, tek lokus temelinde farklı tür sınırlama yaklaşımlarının kullanılması kriptik tür önerisine önemli ölçüde katkı sağlamaktadır.

Bu zamana kadar nükleer DNA içinde pekçok gen bölgesi, Türkiye körfare popülasyonları ve sitotiplerinin sınıflandırılması ve filogenisi ve genetik yapısının belirlenmesi amacıyla çalışılmıştır. Türkiye körfare popülasyonları üzerinde yapılan moleküler temelli çalışmalar kronolojik olarak Çizelge 1.1’de özetlenmiştir. Bu çalışmamızda Türkiye körfarelerinin sınıflandırılması ve filogenisi daha önce hiçbir çalışmada kullanılmayan nükleer gen olan GHR (büyüme hormonu reseptörü) geni ile araştırılmıştır.

Çizelge 1.1. Türkiye körfare sitotipleri kullanılarak yapılan genetik çalışmalar

Çalışılan türler	Çalışılan sitotipler	Çalışılan Gen Bölgesi	Yazar
<i>N. xanthodon</i>	2n = 40, 58, 60	Sitokrom b-382 bp	Arslan vd. 2010
<i>N. xanthodon</i>	2n = 38, 40, 50, 54, 58, 60	Sitokrom b-1140 bp	Kryštufek vd. 2012
<i>N. xanthodon</i>	2n = 36, 38, 40, 50, 56, 60	Sitokrom b-402 bp	Kandemir vd. 2012
<i>N. xanthodon</i>	2n = 38, 40, 50, 54, 58, 60, 62	12S rRNA-968 bp	Hadid vd. 2012
<i>N. xanthodon</i>	2n = 38, 40, 50, 54, 58, 60, 62	tRNA val-76 bp	Hadid vd. 2012
<i>N. xanthodon</i>	2n = 38, 40, 50, 54, 58, 60, 62	16S rRNA-1603 bp	Hadid vd. 2012
<i>N. xanthodon</i>	2n = 38, 40, 50, 54, 58, 60, 62	tRNA leu-75 bp	Hadid vd. 2012
<i>N. xanthodon</i>	2n = 38, 40, 50, 54, 58, 60, 62	NADH-I-946 bp	Hadid vd. 2012
<i>N. xanthodon</i>	2n = 38, 50, 52, 56, 60	Sitokrom b-1140 bp	Matur vd. 2019
<i>N. leucodon</i>	2n = 56	Sitokrom b-1140 bp	Matur vd. 2019
<i>N. ehrenbergi</i>	2n = 56	12S rRNA-968 bp	Hadid vd. 2012
<i>N. ehrenbergi</i>	2n = 56	tRNA val-76 bp	Hadid vd. 2012
<i>N. ehrenbergi</i>	2n = 56	16S rRNA-1603 bp	Hadid vd. 2012
<i>N. ehrenbergi</i>	2n = 56	tRNA leu-75 bp	Hadid vd. 2012
<i>N. ehrenbergi</i>	2n = 56	NADH-I-946 bp	Hadid vd. 2012
<i>N. ehrenbergi</i>	2n = 52	Sitokrom b-1140 bp	Kryštufek vd. 2012
<i>N. ehrenbergi</i>	2n = 52, 56	Sitokrom b-402 bp	Kandemir vd. 2012

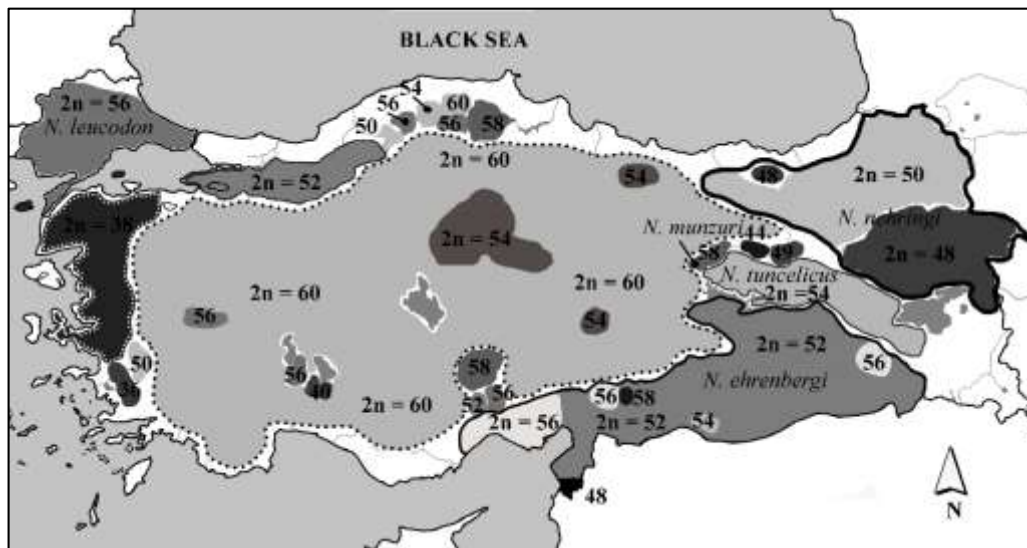
Avrasya toprak altı memelilerinden olan körfareler (the blind mole rat), yüksek seviyede korunan fenotipe karşın, olağanüstü karyotipik ve genetik çeşitliliğe sahiptirler. Bu nedenle, körfare türlerini objektif olarak tanımlamak ve sınırlamak zorlu bir görevdir. Körfarelerin taksonomisi bütün taksonomik seviyelerde karmaşık ve problemlidir. Cins seviyesinde iki farklı görüş vardır; monogenik tek bir cins *Spalax* (Kryštufek vd., 2009; Savic ve Nevo, 1990) ya da iki geniş cins *Spalax* ve *Nannospalax* (Savić ve Soldatović, 1979; Topachevskii, 1969). Son yıllarda yapılan moleküler temelli çalışmalarda iki geniş cins modeli çoğunlukla desteklenmektedir (Chişamera vd., 2014). Bu modelde *Spalax* cinsi temsilcileri Kafkasya, Transkafkasya, Ukrayna, Romanya’da yayılış gösterirken, *Nannospalax* cinsi temsilcileri Güneydoğu Avrupa, Türkiye, Ermenistan, Suriye, Filistin, Irak, İsrail, Ürdün ve Mısır’da yayılış göstermektedir (Wilson ve Reeder, 2005). *Spalax* cinsine ait 6 tür kabul edilmiştir. Bununla birlikte, son yıllarda yapılan moleküler çalışmalarla Romanya’dan 2 yeni tür (*S. antiquus* Méhely (1909) ve *S. isticus* Méhely (1909) tanımlanmıştır. *Nannospalax* cinsi *N. ehrenbergi* (Nehring, 1897), *N. leucodon* (Nordmann, 1840) ve *N. xanthodon* (Nordmann, 1840) olmak üzere üç tür barındırır (Kryštufek vd., 2009). Bu türlerin çoğunlukla kabul edilmesine karşın, çok sayıda tartışmalı ve kabul edilmeyen tür tanımı da bulunmaktadır (Arslan ve Zima, 2013).

Avrupa’lı bazı yazarlar sadece *N. leucodon* türünü kabul ederken (Kryštufek vd., 2009), diğerleri tür sayısının enaz 14 olması gerekliliğini savunmaktadır. *N. ehrenbergi* türünün İsrailde’ki farklı kromozom ırkları ($2n = 52, 54, 58$ ve 60) *S. golani*, *S. galili*, *S. carmeli* ve *S. judaei* olmak üzere 4 tür olarak önerilmiştir (Nevo vd., 1995). Benzer şekilde, *N. ehrenbergi* türünün Adana ve Mersin $2n= 56$ kromozoma sahip popülasyonu *N. ceyhanus* türü olarak tanımlanmıştır (Coskun vd., 2010). Ayrıca *N. xanthodon* türü için eski kayıtlarda sinonim olarak kabul edilen (örneğin synonym of *N. nehringi*) birçok tür önerisi bulunmaktadır (Kryštufek vd., 2009). Türkiye’de morfolojik olarak en kapsamlı revizyon çalışması Kıvanç (1988) tarafından yapılmıştır. Kıvanç (1988) bu çalışmada, Türkiye’de *S. leucodon* ve *S. ehrenbergi* türlerinin yayılış gösterdiğini belirtmiştir. Bu türlere ait *S. leucodon nehringi*, *S. l. armeniacus*, *S. l. cilicicus*, *S. l. anatolicus*, *S. l. turcicus* olmak üzere 5 alttür tanımlamış, *S. ehrenbergi intermedius* ve *S. e. kirgisorum* alttürlerini geçerli olduğunu belirtmiştir. Ancak sonraki çalışmalarda *N. leucodon* türünün sadece Trakya bölgesinde sınırlı kaldığı ve Anadolu’da *N. xanthodon* bulunduğu belirtilmiştir (Kryštufek vd., 2009). Son yıllarda Doğu Anadolu $2n=54$ sitotipi *N. tuncelicus*, Tunceli Ovacık’tan $2n=58$ sitotipi *N. munzuri* ve Gaziantep yakınlarındaki $2n=52$ sitotipi ise *S. nehringi nevoi* alt türü önerilmiştir (Coşkun, 2004).

Bazı araştırmacılar üç türü (*N. ehrenbergi*, *N. leucodon* ve *N. xanthodon*) “Superspecies” olarak kabul etmişler, ancak bu taksonomik bir kategori olarak kabul edilmemiştir (Coskun vd., 2010; Nevo vd., 1995; Savic ve Nevo, 1990). Diğer araştırmacılar *N. leucodon* ve *N. xanthodon* türlerini superspecies *N. leucodon* altında kullanmıştır (Harrison ve Bates, 1991; Kankılıç vd., 2007; Kıvanç, 1988; Nevo vd., 1995; Sozen vd., 2006; Sözen, 2004; Sözen vd., 1999; Sözen vd., 2000) ya da ayrı bir cins olarak *Mesospalax* altında toplamışlardır (Kryštufek vd., 2012). Sonuç olarak *Nannospalax* cinsi türlerinin taksonomisi üzerinde tartışmalar halen sürmektedir. Çözumsuzluk, yayılış alanı içerisinde en yüksek kromozom farklılığı ve genetik çeşitliliği gösteren Anadolu popülasyonlarında özellikle yoğunlaşmıştır.

Avrasya Körfarelerinde (Eurasian blind mole rats) biyolojik çeşitliliğin neredeyse % 60 kadarı Anadolu körfarelerinde gözlenmektedir (Kankılıç vd., 2014). Türkiye *Nannospalax* cinsinin hem tüm türlerini hem de kromozom çeşitliliğinin en yüksek olduğu popülasyonları içerir. *N. leucodon* türü, $2n= 46-58$ arasında değişen 7 farklı diploid kromozom sayısı ve kromozom kol sayı farklılıkları ile 25 sitotipe sahiptir (Arslan

vd., 2010). Türkiye sadece Trakya bölgesinde $2n=56$ karyotipli tek bir sitotipi içerir. *N. ehrenbergi* $2n= 48-62$ arasında değişen 7 farklı diploit kromozom sayısı ve kromozom kol sayı farklılıkları ile beraber 20 sitotip içerir (Arslan vd., 2010; Coşkun vd., 2006). Sadece Güneydoğu Anadolu bölgesi 11 farklı sitotip barındırır. Anadolu coğrafyasına neredeyse endemik olan *N. xanthodon* en fazla kromozom çeşitliliği gösteren türdür. Bu tür 13 farklı diploid kromozom sayısı ($2n = 36 - 62$) ve farklı kromozom kol sayılarıyla toplamda 32 farklı sitotip içerir (Coşkun vd., 2006; Kankılıç vd., 2009; Kankılıç vd., 2007; Kankılıç vd., 2010; Sözen, 2004; Sözen vd., 2013; Sözen vd., 2006) (Şekil 1.3). Körfarelerinde içinde bulunduğu yeraltı memelilerinde yüksek kromozomal polimorfizmin nedeni, bu canlılarda yaygın olarak gözlenen Robertsonian kromozom değişimleri ve perisentrik inversiyonlar gibi kromozomal yapısal değişimlerinden kaynaklanmaktadır (Ivanitskaya vd., 1997; Matur vd., 2013; Nevo vd., 1994; Nevo vd., 1995; Savic ve Nevo, 1990). Nevo vd. (1994) körfarelerdeki kromozom çeşitliliğinin ana mekanizmasının Robertsonian ayrılması ve perisentrik inversiyonlar ile gerçekleşen kromozom yeniden düzenlemeleri olduğunu ileri sürmüştür. Aynı zamanda atasal körfare kromozomun $2n=38$ olabileceğini belirtmiştir. Nevo'nun ayrılma hipotezine zıt olarak kromozom değişimlerinin diploit kromozom sayısı $2n= 60$ olan atasal bir kromozomdan Robertsonian birleşmesi (fussion) ile gerçekleştiği öne sürülmüştür (Savić ve Soldatović, 1979; Savic ve Nevo, 1990). Bu görüş ilk önce Balkan körfarelerinde tanımlanmış, sonrasında İsrail (Ivanitskaya vd., 1997) ve Türkiye populasyonlarında işaret edilmiştir (Ivanitskaya vd., 1997; Matur vd., 2013).



Şekil 1.3. Türkiye körfare sitotipleri ve coğrafi dağılımları (Kankılıç Tol ve Kankılıç T, 2017)

Çevresel faktörlerin oluşturduğu stresin toprak altı memeliler ve körfarelerin evriminde ana itici güç olduğu birçok kez vurgulanmıştır (Nevo, 2013; Nevo vd., 1994; Nevo vd., 1995). İsrail körfarelerinde ekolojik ve kromozomal türleşme eğiliminin Pleistosen'de son 2.00–2.35 milyon yıl içinde artan kurak çevrede meydana geldiği belirtilmiştir. Benzer şekilde Anadolu körfarelerinin kromozomal türleşmesi ve uyumsal açılımın kuraklık stresi ile pozitif ilişkili olduğu ileri sürülmüştür (Nevo, 2013). Ancak bazı yazarlar Nevo'nun kuraklık hipotezine zıt olarak atasal diploit kromozomunun $2n=60$ olduğunu vurgular ve kromozom değişimlerinin iklimden bağımsız olduğunu belirtirler (Matur vd., 2013). Kuraklık stresi hipotezi İsrail körfarelerinde birçok çalışmayla doğrulanmasına rağmen, Anadolu ve Güneydoğu Avrupa popülasyonlarında çalışmalar henüz yetersizdir ve karmaşık biyocoğrafik süreçleri bakımından daha detaylı irdelenmesi gereklidir. Son yıllarda mtDNA markırları kullanılarak yapılan bir çalışmada Jeolojik, tektonik ve iklim değişimi gibi çevresel faktörlerin etkili olduğu “Court Jester” modeli körfarelerin evrimi içinde önerilmiştir. Bu model *Nannospalax* ve *Spalax* cinslerinin ayrımını Tortoniyen döneminde Balkanlar ve Anadolu arasındaki deniz bariyerinin oluşumuyla açıklar. Akdeniz Tuz krizi sonrası Güney Doğu Anadolu’da tektonik hareketlerin etkisiyle en erken *N. ehrenbergi*, Toros dağlarının yükselmesinin etkisiyle daha az yağış almaya başlayan Orta Anadolu platosunda “vasvari” kladı ayrılmıştır. Balkanlar ile Anadolu arasındaki büyük nehirler, deniz seviyesindeki değişimler ile oluşan bariyerler ve iklimde gerçekleşen dalgalanmalar *N. leucodon* - *N. xanthodon* ayrımında etkili olmuştur. Sonuç olarak Anadolu körfarelerinin farklılaşmasında ve kromozomal evriminde önemli bir merkezdir (Kankılıç ve Gürpınar, 2014; Kryštufek vd., 2009; Nevo vd., 1994). Spalacidae fosillerine Türkiye ve Balkanlarda Neojen ve Kuvaterner faunasında sıkça rastlanması bunu doğrulamaktadır.

Nannospalax cinsinde tartışmalı konuların başında, her bir kromozom formun ayrı bir biyolojik tür olup olmadığı gelmektedir. Araştırmacılar tartışmalı taksonları sitotipler, kromozomal formlar / ırklar, kardeş türler, iyi biyolojik türler, şifreli türler veya evrimsel önemli birimler (ESU'lar; Moritz, 1994) olarak tanımlaya gelmiştir. Savic ve Nevo (1990) kromozom farklılıklarına göre Avrupa’da 14 tür tanımlamışlardır. Benzer şekilde Nevo vd. (1995), Anadolu körfarelerinin farklı sitotiplerinde yaptıkları allozim çalışmasıyla 14 ile 20 arasında biyolojik tür olması gerektiğini vurgulamışlardır. Ancak son yıllarda yapılan tüm moleküler çalışmalar tür sayısının bu kadar yüksek olamayacağına işaret etmektedir (Arslan vd., 2010; Kandemir vd., 2012; Kankılıç vd., 2014; Kryštufek vd.,

2012). Bununla birlikte bazı yazarlar sadece 3 morfospecies olduğunu moleküler olarak ayrılmadığını, buna zıt olarak bazıları ise kriptik türlerin var olduğunu belirtmiştir (Kankılıç vd., 2014).

Tür dağılımlarının ve bunların taksonomik durumlarının doğru bir şekilde değerlendirilmesi, herhangi bir coğrafik alandaki biyolojik çeşitliliğin ele alınmasında temel bir ihtiyaçtır. Bu durum biyoçeşitlilik yönetimi ve koruma planlaması çalışmalarına başlamada en temel gereksinimdir. Türkiye körfare türlerinin biyoçeşitliliğinin, yurdumuzda hangi türlerin bulunduğunun ve nerelerde yayılışa sahip olduklarının ve bu türlerin populasyon yoğunluklarının belirlenmesi, bu türler üzerine yapılacak koruma çalışmalarına ve kanser vb. çalışmalara başlamada büyük önem arz etmektedir. Bu tez çalışması ile nükleer gen olan GHR (büyüme hormonu reseptörü) geni bakımından Türkiye körfare sitotiplerinde genetik varyasyonlar araştırılmıştır.

BÖLÜM II

KURAMSAL TEMELLER

2.1 Kemiricilerin Genel Özellikleri

Mammalia sınıfı 26 takımdan oluşmaktadır. Bu takımlar içinde uyum gücü bakımından en başarılı olan kemiricilerdir. Kemiriciler yaklaşık olarak 55 milyon yıllık bir geçmişe sahiptir. Kemiriciler 2277 türü, 443 cins ve 29 familya'yı kapsayan büyük memeli ordosudur ve Dünyadaki memeli çeşitliliğinin % 42'sini içermektedir (Wilson ve Reeder, 2005). Kemiriciler Antartika, Yeni Zelanda gibi birkaç Okyanus takımadasında yayılış göstermez. Çok farklı habitatlarda (örneğin sulak, karasal vb.) yaşama başarısı gösteren uyumsal kabiliyeti yüksek canlılardır. Temsilcileri toprak altında, ağaçta, yarı- sucul yaşam alanlarında veya karada yaşayabilecek özelliklere sahip olabilirler. Kemiriciler diğer memeli takımlarından kolayca ayrılabilmesine rağmen, kendi içinde sınıflandırılması oldukça zordur. Kemiricilerin sınıflandırılmasında en önemli morfolojik kriterler çiğneme kasları vb. gibi kafatasının yapısal karakterleridir. Kemiriciler içinde her bir gruba ait kafatası yapısı, diş ve diş köklerinin yapıları, kafatasının çene ile yapmış olduğu yapıların farklılığı gibi pekçok karakter durumuna göre birbirinden ayrılır. Kemiriciler içinde gruplar, sadece çiğneme kaslarının konumuna ve yapısına göre ise 5 alttakıma ayrılmaktadırlar.

Rodentia takımında köpek dişler ve ön azı dişler kaybolmuş ve diastema boşluğunu oluşturmuştur. Bu boşluk kemiricilerde ayırteci bir özelliktir ve M¹ dişi ile üst kesiciler arasında bulunur. Diastema boşluğu besinleri toplamak için kullanılmaktadır. Kemiricilerde görülen diğer ayırıcı diş özelliği ise kesici dişlerdir. Bu dişler hem alt hemde üst çenede bulunan ve köksüz olan dişlerdir. Bu dişler yapısal olarak devamlı büyürler. Bu nedenle sürekli yontulup aşınmaları gereklidir. Aşınmadığı durumda sürekli büyüyerek çenenin kapanmamasına neden olur ve hayvanın ölümü gerçekleşebilir. Molar dişlerinin çiğneme yüzeylerinde mine katlanmaları ayırıcı özelliktir. Molar dişlerin yüzeylerindeki mine katlanmaları ve kök sayıları ve biçimleri sistematik açıdan önemlidir. Rodentlerin diş formülü 1/1 0/0 0/0 3/3 = 16'dır. Bazı kemiricilerde premolar dişler bulunabilir (Harrison ve Bates, 1991).

Kemirilerin vücut ağırlıkları genellikle 20-1000 g arasındadır. En iri kemirici türü Güney Amerika yaşayan *Hydrochoerus hydrochaeris* (Capibara) (50 kg civarı)'dır. Rodentia ordosu üyelerinin mideleri basit yapıdadır ve çekumları uzundur. Bazı türlerde kısa süreli besin toplamaya-depolamaya yarayan yanak keseleri bulunmaktadır. Kuyrukları bazı türlerde pullarla örtülü ve çoğu türde uzundur. Toprak altında yaşayanların tırnakları kazmak için adaptasyonu sonucunda gelişmiştir. Rodentlerin gözlerinin konumları ve büyüklükleri yaşam şekillerine göre farklılıklar gösterir. Toprak altında yaşayan türlerde gözler küçülmüş ve toprak altında yaşayan bazı türlerde (*N. xanthodon*) gözler tamamen körelmiş deri altına gerilemiş ve deri altında bulunur. Gece aktif olanlarda (nocturnal) olanlarda gözler oldukça büyüktür. Sulak alanlarda yaşayan türlerde gözler kafatasının üst tarafında konumlanmıştır. Kemiriciler genellikle omnivor veya herbivordurlar. Kemiricilerin üreme bakımından oldukça yüksek kapasiteye sahiptir. Dişi bireylerde uterus dublektir; erkeklerde ise fallusta baculum kemiği vardır. Türler arasında değişim gösterse de genellikle yılda birden fazla sayıda doğum yaparlar ve her bir batında 1-10 yavru olabilir. Gebelik süreleri 15 gün 6 ay arasında değişir.

2.2 Familia: Spalacidae

Spalacidae ailesi, Muridae ve Cricetidae dahil olmak üzere beş kemirgen ailesini içeren Muroidea'nın bir parçasıdır. Spalacidae temsilcileri ilkin Oligosen döneminde Asya'da ortaya çıkmıştır. Spalacidae familyası 36 tür içeren 3 alt aile ve 6 cins içerir. Alt aileler *Myospalax* ve *Eospalax* cinsini içeren *Myospalacinae*, *Cannomys* ve *Rhizomys* cinsini içeren *Rhizomyinae* ve *Spalax* cinsini içeren *Spalacinae* cinsleridir. Spalacidae familyasındaki türler, zokerler gibi hayvanları içerir. Spesifik olarak, spalacidler, Batı'dan Doğu Avrupa'ya, Doğu Afrika'ya, Orta Doğu'ya ve Çin'den Asya'daki Sumatra'ya kadar yayılım gösterir. Spalacidae üyeleri küçük ila orta büyüklükte kemirgenlerdir ve sağlam gövdelere, küçük gözlere ve uzuvlara ve genişletilmiş kesici dişlere sahiptir. Bazı türlerin çıplak olmasına rağmen, üyelerin çoğunda kürk bulunur. Büyük kesicilere ek olarak, spalacids de otçul bir diyetle işaret eden hypsodont dişlerine sahiptir. Cinsel dimorfizm çoğu türde görülmez. Büyük kesicilere ek olarak, bazı Spalacids'ler yeraltı yaşam tarzına başka uyarlamalar geliştirmiştir. *Spalax* cinsinin üyeleri, vücutta az oksijen alındığında ortaya çıkabilecek hücre ölümünü önleyen tümör baskılayıcılara sahiptir. Bu tümör bastırıcıların organizmalarda kanser gelişimini önlediği ve durdurduğu belirlenmiştir. Bu baskılayıcıların olası ilaç uygulamalarını bulmak için araştırmalar devam etmektedir.

2.3 Genus: *Spalax* Gldensteadt, 1770

Spalacidae familyası monogenerik olduğundan familya için verilen ayırıcı karakterler cins için de geçerlidir. Topachevskii (1969) *Spalax* cinsine ait en eski türün, Pliosen dönemine ait (5 milyon yıl önce) *S.odessanus* olduğunu ileri sürmüştür. Topachevskii (1969) körfareleri *Microsapalax* ve *Spalax* cinsi olmak üzere 8 yağayan ve 4 fosil tre bölmüştür. Corbet (1978) alığmasında Topachevskii (1969)'in sınıflandırmasında körfarelerin çok fazla tre bölündüğünü ileri sürmüştür ve *Spalax* cinsi altında  tür tanımlanmığtır. Fakat Corbet daha sonra körfareleri iki cins ve sekiz tre ayırarak sınıflandırmığtır (Corbet ve Hill, 1991).

Ognev (1947) ise Spalacidae familyasının tek bir cinse sahip olduğunu nermiėtir. Ellerman ve Morrison-Scott (1966) da Ognev gibi familyanın tek cinsi *Spalax* bulunduğunu ve altcinslerin ayırımında kafatasındaki supracondyloid foramenlerin bulunup bulunmayığının kullanılması gerektiğini ileri sürmüştür.

Spalax cinsinin son sınıflandırması řu şekildedir:

Familya: Muridae

Altfamilya: Spalacinae

Cins: *Spalax*

Tr: *S. arenarius*, *S. giganteus*, *S. graecus*, *S. microphthalmus*, *S. polonicus*

Cins: *Nannospalax* (*Spalax*, *Mesospalax*, *Microspalax*)

Tr: *N. ehrenbergi*, *N. leucodon*, *N. xanthodon*

BÖLÜM III

MATERYAL VE METOT

Laboratuvar çalışmaları Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoteknoloji Bölümü'ne ait olan Biyoteknoloji Laboratuvarında 2017-2019 yıllarında yapılmıştır. Bu tez çalışması, 113Z378 numaralı “Türkiye *Nannospalax* Populasyonlarının Filogenisi ve Filocoğrafyası” isimli TÜBİTAK 3501 Kariyer projesi tarafından desteklenmiştir. Bu tez çalışmasında, Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi, Bilimsel Araştırmalar Birimi tarafından desteklenen ve 14.12.2011 tarihinde başlayan 18.10.2012 tarihinde tamamlanan “*Nannospalax nehringi* ve *Nannospalax ehrenbergi* (Rodentia, Spalacidae) türlerinde PCR-RFLP ile mitokondriyal DNA D-loop ve Sitokrom b bölgelerinin haplotip çeşitliliği” başlıklı proje kapsamında ve TÜBİTAK tarafından desteklenen ve TÜBİTAK 112T660 kodlu “DNA’da SSR (Mikrosatellit) Analiz Yöntemiyle Körfare (*Nannospalax nehringi*) Populasyonlarının Genetik Yapısının Araştırılması” başlıklı Hızlı Destek Projesi kapsamında Teoman KANKILIÇ tarafından Türkiye genelinden arazi çalışması yapılarak toplanan Körfare örneklerine ait derin dondurucuda saklanmış dokular (Karaciğer, Kas, vb.) kullanılmıştır. Bu tez çalışmasında kullanılan doku örnekleri Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu tarafından B.30.2.NĞÜ.0.70.00.00/050-99/13 sayı ve 04.01.2012 tarihli etik kurul izni ve Orman ve Su İşleri Bakanlığı Doğa Koruma ve Milli Parklar Genel Müdürlüğü tarafından B.23.0.DMP.0.15.01.510.02-15758 sayı ve 14.10.2011 tarihli izni doğrultusunda kullanılmıştır.

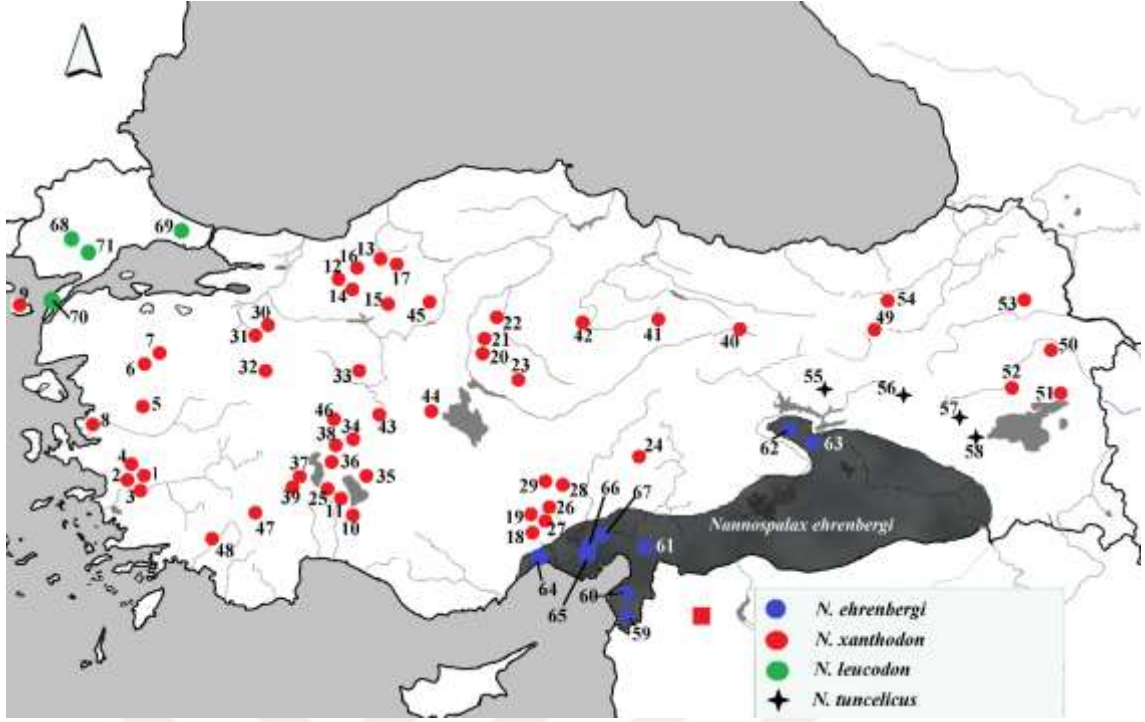
3.1 Materyal

Tez çalışmasında Türkiye geneli 71 farklı lokaliteden toplanmış dört türe ait 16 kromozomal form içeren 106 körfare doku örneği kullanılmıştır. Tez çalışmasında *N. xanthodon* türüne ait 78 örnek birey, 11 sitotip (2n=36, 38, 40, 44, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60); *N. tuncelicius* türüne ait 6 birey, 1 (2n=54) sitorip; *N. leucodon* türüne ait 6 birey, 1 sitotip (2n=56) ve *N. ehrenbergi* türüne ait 16 birey, 3 sitotip (2n=48, 52, 56) çalışılmıştır. Çalışılan örneklerle ait bilgiler Çizelge 3’de ve coğrafik yayılışları Şekil 4’de sunulmuştur. Dış grup olarak kullanılması için *Nannospalax* ile aynı familyaya dahil olan *Mus* ve *Rattus* cinslerine ait 2 örnek filogenetik analizlerde kullanılmıştır.

Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan *Nannospalax* cinsi körfare örneklerine ait bilgiler
(ÖS: Örnek sayısı, HN: Harita Numarası, ÖN: Müze Numarası)

ÖS	HN	ÖN	Tür	Lokalite	Sitotip
<i>N. xanthodon</i>					
1	1	6209	<i>N. xanthodon</i>	Aydın- Koçarlı- Haydarlı Köyü	2n=36 NF=68
2	1	6207	<i>N. xanthodon</i>	Aydın- Koçarlı- Haydarlı Köyü	2n=36 NF=68
3	1	6251	<i>N. xanthodon</i>	Aydın- Koçarlı- Haydarlı Köyü	2n=36 NF=68
4	2	6222	<i>N. xanthodon</i>	Aydın-Koçarlı-Yağhanlı Köyü	2n=36 NF=68
5	2	6250	<i>N. xanthodon</i>	Aydın-Koçarlı-Yağhanlı Köyü	2n=36 NF=68
6	2	6256	<i>N. xanthodon</i>	Aydın-Koçarlı-Yağhanlı Köyü	2n=36 NF=68
7	3	6197	<i>N. xanthodon</i>	Aydın- Koçarlı- Bıyıklı Köyü	2n=36 NF=68
8	4	6232	<i>N. xanthodon</i>	Aydın-Ortaklar-Magnesia	2n=36 NF=68
9	5	6131	<i>N. xanthodon</i>	Akhisar-Manisa	2n=38 NF=74
10	5	6153	<i>N. xanthodon</i>	Akhisar-Manisa	2n=38 NF=74
11	6	6161	<i>N. xanthodon</i>	Balıkesir-Çömlekçi Köyü Bigadiç'e 15 km Batı	2n=38 NF=74
12	6	6134	<i>N. xanthodon</i>	Balıkesir-Çömlekçi Köyü Bigadiç'e 15 km Batı	2n=38 NF=74
13	7	6160	<i>N. xanthodon</i>	Balıkesir- Kepsut	2n=38 NF=74
14	7	6162	<i>N. xanthodon</i>	Balıkesir- Kepsut	2n=38 NF=74
15	8	6132	<i>N. xanthodon</i>	Foça-Bağarası Köyü- İzmir	2n=38 NF=74
16	9	231	<i>N. xanthodon</i>	Gökçeada-Çanakkale	2n=38 NF=74
17	9	236	<i>N. xanthodon</i>	Gökçeada-Çanakkale	2n=38 NF=74
18	9	241	<i>N. xanthodon</i>	Gökçeada-Çanakkale	2n=38 NF=74
19	9	243	<i>N. xanthodon</i>	Gökçeada-Çanakkale	2n=38 NF=74
20	10	6263	<i>N. xanthodon</i>	Yeşildağ-Konya	2n=40 NF=72
21	10	6267	<i>N. xanthodon</i>	Yeşildağ-Konya	2n=40 NF=72
22	10	6268	<i>N. xanthodon</i>	Yeşildağ-Konya	2n=40 NF=72
23	10	6255	<i>N. xanthodon</i>	Yeşildağ-Konya	2n=40 NF=72
24	11	6204	<i>N. xanthodon</i>	Yenişarbademli-Isparta	2n=40 NF=72
25	11	6202	<i>N. xanthodon</i>	Yenişarbademli-Isparta	2n=40 NF=72
26	11	6206	<i>N. xanthodon</i>	Yenişarbademli-Isparta	2n=40 NF=72
27	11	6254	<i>N. xanthodon</i>	Yenişarbademli-Isparta	2n=40 NF=72
28	12	4929	<i>N. xanthodon</i>	Abant-Bolu	2n=52 NF=70 K
29	13	4830	<i>N. xanthodon</i>	Gerede-Bolu	2n=52 NF=70 K
30	14	4203	<i>N. xanthodon</i>	Mudurnu-Bolu	2n=52 NF=70 K
31	15	4828	<i>N. xanthodon</i>	Ankara-Çeltikli	2n=52 NF=70 K
32	16	4936	<i>N. xanthodon</i>	Merkez-Bolu	2n=52 NF=70 K
33	17	4009	<i>N. xanthodon</i>	Yeniçağ 1 km Doğu-Bolu	2n=52 NF=70 K
34	17	4011	<i>N. xanthodon</i>	Yeniçağ 1 km Doğu-Bolu	2n=52 NF=70 K
35	17	4016	<i>N. xanthodon</i>	Yeniçağ 1 km Doğu-Bolu	2n=52 NF=70 K
36	18	120	<i>N. xanthodon</i>	Mersin-Sebil Yaylası	2n=52 NF=72 G
37	18	121	<i>N. xanthodon</i>	Mersin-Sebil Yaylası	2n=52 NF=72 G
38	19	122	<i>N. xanthodon</i>	Mersin-Çamlıyayla	2n=52 NF=72 G
39	19	124	<i>N. xanthodon</i>	Mersin-Çamlıyayla	2n=52 NF=72 G
40	20	4913	<i>N. xanthodon</i>	Keskin-Kırıkkale	2n=54 NF=74
41	21	4912	<i>N. xanthodon</i>	Kırıkkale-Merkez	2n=54 NF=74
42	22	244	<i>N. xanthodon</i>	Kırıkkale-Sulakyurt	2n=54 NF=74
43	23	4572	<i>N. xanthodon</i>	Seyfe Gölü-Kırşehir	2n=54 NF=74
44	24	237	<i>N. xanthodon</i>	Adana-Tufanbeyli-Gezbeli Geçidi	2n=54 NF=74
45	24	239	<i>N. xanthodon</i>	Adana-Tufanbeyli-Gezbeli Geçidi	2n=54 NF=74
46	25	4795	<i>N. xanthodon</i>	Yılanlı Köyü-Aksu-Isparta	2n=56 NF=72
47	26	134	<i>N. xanthodon</i>	Adana-Pozantı-Akçatekir Yaylası	2n=56 NF=72
48	27	150	<i>N. xanthodon</i>	Mersin-Gülek	2n=56 NF=72
49	28	36	<i>N. xanthodon</i>	Niğde-Çamardı	2n=58 NF=72
50	29	38	<i>N. xanthodon</i>	Niğde-Niğde Üniversitesi Kampüs	2n=58 NF=72
51	30	6149	<i>N. xanthodon</i>	Bilecik-Söğüt	2n=60 NF=76
52	31	6159	<i>N. xanthodon</i>	Bilecik-Bozüyük	2n=60 NF=76
53	32	3683	<i>N. xanthodon</i>	Kütahya-Merkez	2n=60 NF=76
54	32	3684	<i>N. xanthodon</i>	Kütahya-Merkez	2n=60 NF=76
55	33	5939	<i>N. xanthodon</i>	Eskişehir-Sivrihisar-Günyüzü	2n=60 NF=76
56	34	4786	<i>N. xanthodon</i>	Akşehir-Konya	2n=60 NF=76
57	35	4294	<i>N. xanthodon</i>	Konya-Beyşehir-Kireli	2n=60 NF=76
58	36	4788	<i>N. xanthodon</i>	Madenli-Gelendost-Isparta	2n=60 NF=78
59	37	6201	<i>N. xanthodon</i>	Isparta-Gönen	2n=60 NF=78
60	38	6208	<i>N. xanthodon</i>	Isparta-Yalvaç	2n=60 NF=78

61	39	6231	<i>N. xanthodon</i>	Isparta-Atabey	2n=60 NF=78
62	40	4657	<i>N. xanthodon</i>	Sivas-İmranlı	2n=60 NF=80
63	41	4644	<i>N. xanthodon</i>	Sivas-Yıldızeli	2n=60 NF=80
64	42	5304	<i>N. xanthodon</i>	Yozgat-Saraykent	2n=60 NF=80
65	43	4302	<i>N. xanthodon</i>	Konya-Yunak	2n=60 NF=80
66	44	4537	<i>N. xanthodon</i>	Konya-Cihanbeyli	2n=60 NF=80
67	45	4915	<i>N. xanthodon</i>	Kızılcahamam-Soğuksu-Ankara	2n=60 NF=80
68	46	2504	<i>N. xanthodon</i>	Afyon 10km Güneybatı	2n=60 NF=82
69	47	6253	<i>N. xanthodon</i>	Harmanlı Köyü-Yeşilova-Burdur	2n=60 NF=84
70	48	6234	<i>N. xanthodon</i>	Denizli-Çameli-Bıçaklı Köyü	2n=60 NF=84
71	49	73	<i>N. xanthodon</i>	Tunceli-Kırmızı Köprü	2n=44 NF=74
72	50	6363	<i>N. xanthodon</i>	Ağrı-Taşlıçay	2n=48 NF=68
73	50	70	<i>N. xanthodon</i>	Ağrı-Taşlıçay	2n=48 NF=68
74	51	75	<i>N. xanthodon</i>	Van-Gönderme-Çaldıran	2n=48 NF=68
75	52	79	<i>N. xanthodon</i>	Van-Kocapınar	2n=48 NF=68
76	52	80	<i>N. xanthodon</i>	Van-Kocapınar	2n=48 NF=68
77	53	4880	<i>N. xanthodon</i>	Kars-Selim	2n=50 NF=70
78	54	4661	<i>N. xanthodon</i>	Demirözü-Bayburt	2n=50 NF=72
<i>N. tuncelicus</i>					
79	55	59	<i>N. tuncelicus</i>	Tunceli-Pertek Yolu-Elmakaşı	2n=54 NF=74
80	56	76	<i>N. tuncelicus</i>	Bingöl-Yolçatı	2n=54 NF=74
81	56	68	<i>N. tuncelicus</i>	Bingöl-Yolçatı	2n=54 NF=74
82	57	82	<i>N. tuncelicus</i>	Muş-Bozbulut Köyü	2n=54 NF=74
83	57	83	<i>N. tuncelicus</i>	Muş-Bozbulut Köyü	2n=54 NF=74
84	58	77	<i>N. tuncelicus</i>	Bitlis-Rahva	2n=54 NF=74
<i>N. ehrenbergi</i>					
85	59	39	<i>N. ehrenbergi</i>	Hatay Şenköy Yoncaköy'e 3 km kala Çatbaşı mevki	2n=48 NF=74
86	59	45	<i>N. ehrenbergi</i>	Hatay Şenköy Yoncaköy'e 3 km kala Çatbaşı mevki	2n=48 NF=74
87	59	46	<i>N. ehrenbergi</i>	Hatay Şenköy Yoncaköy'e 3 km kala Çatbaşı mevki	2n=48 NF=74
88	59	50	<i>N. ehrenbergi</i>	Hatay Şenköy Yoncaköy'e 3 km kala Çatbaşı mevki	2n=48 NF=74
89	59	51	<i>N. ehrenbergi</i>	Hatay Şenköy Yoncaköy'e 3 km kala Çatbaşı mevki	2n=48 NF=74
90	60	47	<i>N. ehrenbergi</i>	İskenderun Arsuz yolu Karahüseyinli	2n=52 NF=74
91	60	48	<i>N. ehrenbergi</i>	İskenderun Arsuz yolu Karahüseyinli	2n=52 NF=74
92	61	53	<i>N. ehrenbergi</i>	Osmaniye Bahçe Budacık Köyü	2n=52 NF=74
93	62	84	<i>N. ehrenbergi</i>	Elazığ-Bağdere	2n=52 NF=76
94	62	88	<i>N. ehrenbergi</i>	Elazığ-Bağdere	2n=52 NF=76
95	63	85	<i>N. ehrenbergi</i>	Elazığ-Sivrice-Kavak	2n=52 NF=76
96	64	221	<i>N. ehrenbergi</i>	Mersin-Tarsus	2n=56 NF=72
97	65	229	<i>N. ehrenbergi</i>	Adana-Şeyhmurat	2n=56 NF=72
98	66	55	<i>N. ehrenbergi</i>	Adana-Yüreğir	2n=56 NF=72
99	66	54	<i>N. ehrenbergi</i>	Adana-Yüreğir	2n=56 NF=72
100	67	52	<i>N. ehrenbergi</i>	Adana-Çukurova Üniversitesi Kampüs	2n=56 NF=72
<i>N. leucodon</i>					
101	68	209	<i>N. leucodon</i>	Kırklareli-Hayrabolu	2n=56 NF=78
102	69	16	<i>N. leucodon</i>	İstanbul-Çatalca-İncegiz	2n=56 NF=78
103	70	19	<i>N. leucodon</i>	Çanakkale-Eceabat-Seddülbahir	2n=56 NF=78
104	71	232	<i>N. leucodon</i>	Tekirdağ-Malkara-Erenler Köyü	2n=56 NF=78
105	71	233	<i>N. leucodon</i>	Tekirdağ-Malkara-Erenler Köyü	2n=56 NF=78
106	71	240	<i>N. leucodon</i>	Tekirdağ-Malkara-Erenler Köyü	2n=56 NF=78



Şekil 3.1. Çalışmada kullanılan *Nannospalax* cinsi körfare örneklerinin alındığı lokaliteler

3.2 Örneklerin DNA İzolasyonu

Çalışılan körfare örneklerinin karaciğer dokularından DNA izole edilmiştir. Ekstraksiyon işlemi yapılincaya kadar dokular derin dondurucu içerisinde muhafaza edilmiştir. Ekstraksiyon işleminde Doyle (1991) metodunun modifiye edilmesiyle oluşturulan aşağıda sunulan “CTAB DNA İzolasyon” metodu uygulanmıştır.

3.3 CTAB İzolasyon Prosedürü

- Örnekler ait dokular küçük parçalara ayrılır ve 200 µl CTAB tamponu (NaCl, Tris-HCl EDTA, Kloroform) üzerine eklenerek doku tamamen homojen hale gelinceye kadar homojenize çubuklar ile ependorf tüp içerisinde ezilir.
- 400 µl CTAB ve 50 µl BEM (BC-Merkaptoetanol) bu homojenizat üzerine ilave edilir ve 10 sn. vortekslenir.
- Ependorf tüpler 65°C’ye ayarlanmış su banyosunda 60 dk inkübasyona tabi tutulur.
- 500 µl C:IAA (24:1) eklenerek karışımın süte benzer bir hal alması için yavaşça karıştırılır.

- +4°C’de, 13000 rpm’de 15 dk. santrifüj yapılır.
- Santrifüj işleminin ardından alınan tüplerin üst fazında DNA bulunmaktadır. Dikkatli bir şekilde alınan tüpler soğuk buz üzerine konur. Ardından üst faz pipet yardımı ile alınarak yeni ependorf tüplere aktarılır.
- Tüp içerisinde bulunan DNA karışımı üzerine buzdolabında 20°C’de bekletilen İzopropanol’dan 500 µl eklenir ve karışması sağlanır.
- -20°C’de bir gece bekletilen tüpler ertesi gün alınarak 13000 rpm’de 10 dk santrifüj edilir.
- Santrifüj işlemi sonrasında süpernatant kısım atılır ve tüp içinde bulunan pellet %70’lik ve %100’lük etanol ile 2-3 kez yıkanarak laminar flow kabin içerisinde bir gece kurumaya bırakılır.
- Elde edilen ve kuruyan DNA 100 µl TE (Tris-EDTA) tampon eklenmek suretiyle çözülür, +4°C’de bir gece bekletilir.

Çözünen DNA’ya 2 µl Ribonükleaz (RNase) eklenir ve sonra -20°C’ye alınır.

3.4 Nanodrop ile İzole Edilen DNA Miktarının Belirlenmesi

DNA izolasyonu sonrasında, izolatların konsantrasyon ve saflıklarını ölçmek için spektrofotometre kullanılmıştır. Biospec-nano Spektrofotometre cihazı ile, izolasyon sonrası elde edilen DNA’nın miktar ve saflıklarını ifade eden değerler hesaplanmıştır. Örneklerin konsantrasyonlarına ek olarak, izolatların A260/280 parametreleride hesaplanmıştır. Ölçümleri gerçekleştirilerek belirlenen DNA’lar, her tüpte DNA miktarları 50ng/5µl olacak şekilde seyreltilmiştir.

3.5 Genomik DNA ve Kullanılan Primerler

Bu tez çalışmasında, nükleer gen büyüme hormon reseptörü exon 10 (GHR exon 10) bölgesi çalışılmıştır. Bu bölgenin PCR ile çoğaltılabilmesi için, Adkins vd. (2001) tarafından yapılan çalışmalarda kullanılan primer çiftleri kullanılmış ve yaklaşık 819 bp uzunluğunda bir bölge çoğaltılmıştır (Çizelge 3.2).

Çizelge 3.2. Çalışılan gen bölgeleri primerlerin baz dizileri

Primer adı	Baz uzunluğu (5'-3')	Referans
Forward Primerler		
GHREXON10	5'-GGRAARTTRGAGGAGGTGAACACMATCTT-3'	Adkins vd. 2001
GHR50F	5'- TTCTAYARYGATGACTCYTGGGT-3'	Adkins vd. 2001
Reverse Primerler		
GHR750R	5'-GTAAGGCTTTCTGTGGTGATRTAA-3'	Adkins vd. 2001
GHR930R	5'-RTAGCCACANGANGAGAGRAA-3'	Adkins vd. 2001
GHREND	5'-CTACTGCATGATTTTGTTCAGTTGGTCTGTGCTCAC-3'	Adkins vd. 2001

3.6 PCR Amplifikasyonu İşlemi

Polimeraz Zincir Metodu (PCR) ile çalışılan örneklerin büyüme hormon reseptörü exon 10 (GHR exon 10) bölgesi amplifiye edilmesi amaçlanmıştır. PCR amplifikasyonu için Adkins vd. (2001) makalelerinde kullanılan PCR döngü programları ile kullanılan ürün miktarları incelenmiştir. Sonuç olarak modifiye edilerek kullanılabilir en iyi program ve PCR karışımı hazırlanmıştır (Çizelge 3.3).

Amplifikasyon için Applied Biosystems gradient cihazları kullanılmıştır. GHR exon 10 amplifikasyonu için; 94⁰C'de 5 dakika ön denaturasyon, 94⁰C'de 45 saniye denaturasyon işlemi yapılmıştır. 1.30 dakika 50⁰C'de bağlanmayı 1.40 dakika 72⁰C'de uzama işlemi izlemiştir. 72⁰C'deki 10 dakikalık sondaki uzama aşaması ile tamamlanan program toplamda 35 tekrardan oluşur.

Çizelge 3.3. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) karışımı

Kimyasallar	Kullanılan miktarlar	Stok
Primer 1 (Forward)	12,5 µl	2mM
Primer 1 (Reverse)	12,5 µl	2 mM
dNTP	1 µl	10 mM
Buffer Tampon	10 µl	5x reaksiyon buffer
H ₂ O	9 µl	-
Taq polimeraz	0,2 µl	5 u/ µl
Toplam	50 µl	

3.7 PCR Ürününün Agaroz Jel Elektroforezi

PCR amplifikasyon ürünleri %1,5'luk agaroz jelde koşturulmuştur. Erlende 100 ml 1xTAE tamponuna 1,5 gr. agaroz ilave edilmiştir. Agaroz ve tampon çözelti Mikrodalga içerisinde hafifçe karıştırarak köpürüp saydamlaşmaya kadar tutulmuştur ve ardından 3 µl midori green eklenmiştir. Agaroz ve tampon karışımı Elektroferez küvetine dökülmeden önce kuyucuk oluşturmak için taraklar konulmuştur. Jelin donmasıyla birlikte, taraklar çıkartılmıştır. Seyreltilmiş jelde 1xTAE Buffer konulmuş olan bulunan elektroferez tank sistemine yerleştirilmiştir. İlk kuyucuğa 5 µl 100 bp DNA Ladder konmuştur. Örnekler ise 3'er µl alınmış ve 3 µl 5x Green Reaction Buffer (yükleme çözeltisi) ile karıştırılarak diğer kuyucuklara yüklenmiştir. En son kuyucuğa örnek eklenmeksizin yalnızca PCR karışımı konarak bant varlığı olup olmadığı kontrol edilmek istenmiştir.

3.8 Sekans Sonuçlarının Değerlendirilmesi

3.8.1 Sekansların eldesi

Elde edilen PCR ürünleri Medsantek ve MacroGen Firması'na (Hollanda)'ya gönderilmiş, burada BigDye Terminator Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems) otomatik sekans aleti kullanılarak, zincir durdurma metodu olarak da bilinen Sanger Yöntemi ile DNA dizileri belirlenmiştir. Bu metoda göre, her bir DNA nükleotidi farklı floresan boya (Big Dye Mix) ile boyanarak, DNA parçaları kolondan geçtikten sonra lazer ışığı yardımıyla DNA bazlarının dizisinin tespiti yapılmıştır. Dizi sonucu elde edilen ham sekans verileri (kromatogramlar) tarafımıza e-mail yoluyla gönderilmiştir.

3.8.2 Sekansların okunması, dizi analizi

Her bir birey için elde edilen sekans sonuçları BioEdit (ver. 7.0.9) programı ile dizilim düzenlenmiştir. Hizalanmaları tamamlanan her bir örnek için ileri primer ve geri primerler için elimizde olan sekanslar yine aynı program ile align edilip birleştirilmiştir. Sahip olunan tüm örneklerde bu işlemin yapılmasının ardından bütün örnekler alt alta dizilerek analize hazır hale getirilmiştir.

3.9 İstatistik Analizler

Populasyonlar arasındaki farklılık ve değişimleri hesaplamak için aşağıdaki istatistik analizler yapılmıştır.

- **Nükleotid Çeşitliliği (π) ve Haplotip çeşitliliği (h) Hesaplama**

Haplotipleri belirlemek için ARLEQUIN (ver. 3.5; Holsinger, 2010) adlı populasyon genetiği çalışmalarında yaygın olarak kullanılmakta olan analiz programı kullanılmıştır. Ayrıca dnaSP5 (ver: 5) programı ile haplotipler gerek tek tek gerek popülasyon, türve sitotip temelinde hesaplanmıştır, sonuçlara ARLEQUIN programı ile de ulaşılarak programların doğrulukları teyit edilmiştir.

- **Network Analizi**

Network analizi, bu çalışmada örnekler arasında nasıl bir bağlantı olduğunu ve aynı haplotipte gruplanan körfare bireylerini daha iyi incelemek için kullanılmıştır.

- **mtDNA Haplotiplerinin Filogenetik Analizleri**

Aynı haplotipe sahip bireyler ve dış grupların eklenmesiyle birlikte MEGA (ver. 5.2) programları ile ve online hizmet veren phyML montpeiller (ver. 3) ile çeşitli filogenetik ağaçlar hazırlanmıştır. Bu filogenetik ağaçlar çizilmeden önce MEGA (ver. 5.2) programı ile model test yapılmıştır. Model teste sokulan bir data sonucu analizde kullanılacak en uygun filogenetik ağacın oluşturulacağı modeli belirleyerek bootstrap değerlerinin daha güvenilir çıkmasına ve evrimsel soy hatların araştırılan sitotiplerde daha iyi sonuçlar sağlamaktadır.

BÖLÜM IV

BULGULAR

Tez çalışmasında analiz edilen 106 körfare (*Nannospalax*) örneğinin büyüme hormon reseptörü exon 10 (GHR exon 10) gen bölgesi için 819 bp uzunluğundaki DNA dizisinin nükleotid içeriği Adenin ve Sitozin bazları açısından zengin bulunmuştur (%29,30 A, % 22,48 T, % 26,35 C, % 21,87 G).

Nokta mutasyonları DNA’da transversiyon ve transisyon olarak adlandırılan iki şekilde meydana gelmektedir. Pürinlerin pürinlere değişimleri (yani Adenin ve Guanin bazları arasındaki değişimi) ve pirimidinlerin pirimidinlere (Timinin ve Sitozin bazları arasındaki değişimi) değişimi Transisyon nükleotid değişimi olarak bilinmektedir. Pürinlerin pirimidinlere ve pirimidinlerin pürinlere değişimi (Adenin ve Guanin bazları ile Timin ve Sitozin bazları arasında değişimler) transversiyon olarak bilinmektedir. DNA sekans dizisinde nükleotidlerdeki değişimin anlaşılmasında transisyon ve transversiyon oranının önemli büyüktür. Tez çalışmasında kullanılan körfare örneklerinden elde edilen DNA dizisinin nükleotit kompozisyonunun transisyon - transversiyon oranı pürinlerde (A ve G) $k_1 = 8,611$, pirimidinlerde (T, C) ise $k_2 = 6,400$ olarak bulunmuştur. R değeri (toplamda transisyon - transversiyon oranı) “ $R = [A * G * k_1 + T * C * k_2] / [(A + G) * (T + C)]$ ” formülüyle hesaplanarak 1,23 bulunmuştur. Nükleotidlerin yer değişimi Çizelge 4.1’de ayrıntılı olarak verilmiştir.

Çizelge 4.1. *Nannospalax* cinsine ait örnekler için nükleotidler içindeki transisyon - transversiyon oranları (transisyon koyu olarak; transversiyon italik olarak verilmiştir)

	A	T	C	G
A	-	5,5952	5,5952	13,8096
T	5,5952	-	13,8096	5,5952
C	5,5952	13,8096	-	5,5952
G	13,8096	5,5952	5,5952	-

4.1 GHR exon 10 Sonuçlarına Göre Belirlenen Haplotipler

Büyüme hormon reseptörü exon 10 (GHR exon 10) gen bölgesinin çalışılmasıyla elde edilen sekans verilerinin dnaSP version 5.10.01 programı ile analizi sonucunda özgün haplotipler belirlenmiştir. Tez çalışmasında değerlendirilen 106 *Nannospalax* cinsi körfarelere örneği için 15 özgün haplotip belirlenmiştir (Çizelge 4.3).

4.1.1 Genetik çeşitlilik analiz sonuçları

Tez çalışmasında değerlendirilen 106 körfare örneğinin analizi sonucu 15 özgün haplotip tespit edilmiş ve tüm verilerden elde edilen haplotip çeşitliliği $h=1,000$ olarak belirlenmiştir. Bununla beraber örneklerin nükleotid değişimi $\pi=0,0078$ olarak bulunmuştur. Kimura-2 parametresine göre (Kimura, 1980) haplotipler arasında hesaplanan mesafe (distance) değerleri Çizelge 4.2’de ayrıntılı bir şekilde sunulmuştur. Haplotipler arasında belirlenen kimura -2 genetik mesafe değerleri incelendiğinde Hap 2 ($2n=56$ Trakya *N. leucodon*) ve Hap 4 ($2n=56$ *N. ehrenbergi*) ve Hap 11 ($2n=56$ *N. ehrenbergi*) arasında en yüksek değerler göstermiştir. Diğer taraftan Hap 2 ($2n=56$ Trakya *N. leucodon*) ile Hap 8 ($2n=54$ *N. tuncelicus*) arasında da oldukça yüksek belirlenmiştir. Türler arasında karşılaştırma yapıldığında *N. ehrenbergi* ile *N. leucodon* arasında 0,021, *N. leucodon* ile *N. tuncelicus* arasında 0,016, *N. ehrenbergi* ile *N. leucodon* arasında 0,015, *N. ehrenbergi* ile *N. xanthodon* arasında 0,010 olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.2).

Çizelge 4.2. Haplotipler arasında kimura 2- parametre değerleri

	Hap1	Hap2	Hap3	Hap4	Hap5	Hap6	Hap7	Hap8	Hap9	Hap10	Hap11	Hap12	Hap13	Hap14	Hap15
Hap1															
Hap2	0,019														
Hap3	0,011	0,015													
Hap4	0,001	0,020	0,012												
Hap5	0,011	0,015	0,005	0,012											
Hap6	0,011	0,015	0,005	0,012	0,005										
Hap7	0,010	0,014	0,004	0,011	0,004	0,001									
Hap8	0,012	0,016	0,006	0,014	0,001	0,004	0,005								
Hap9	0,009	0,012	0,002	0,010	0,002	0,002	0,001	0,004							
Hap10	0,010	0,014	0,004	0,011	0,001	0,004	0,002	0,002	0,001						
Hap11	0,002	0,021	0,014	0,001	0,014	0,014	0,012	0,015	0,011	0,012					
Hap12	0,012	0,016	0,004	0,014	0,006	0,006	0,005	0,007	0,004	0,005	0,015				
Hap13	0,011	0,015	0,005	0,012	0,002	0,005	0,004	0,004	0,002	0,001	0,014	0,006			
Hap14	0,011	0,015	0,002	0,012	0,005	0,005	0,004	0,006	0,002	0,004	0,014	0,001	0,005		
Hap15	0,011	0,015	0,005	0,012	0,002	0,005	0,004	0,004	0,002	0,001	0,014	0,006	0,002	0,005	
Hap16	0,010	0,014	0,001	0,011	0,004	0,004	0,002	0,005	0,001	0,002	0,012	0,002	0,004	0,001	0,004

Çizelge 4.3. Çalışmada değerlendirilen *Nannospalax* türlerinde elde edilen özgün haplotip listesi

Haplotip Numarası	Örnek Sayısı	Örnek Numarası
H1	11	39 (Hatay), 45 (Hatay), 46 (Hatay), 47 (İskenderun), 48 (İskenderun), 50 (Hatay), 51 (Hatay), 53 (Osmaniye), 84 (Elazığ), 85(Elazığ), 88 (Elazığ)
H2	6	16 (İstanbul), 19 (Çanakkale), 209 (Kırklareli), 232 (Tekirdağ), 233 (Tekirdağ), 240 (Tekirdağ)
H3	14	38 (Niğde), 120 (Mersin), 121 (Mersin), 3683 (Ankara), 4537 (Konya), 4915 (Ankara), 3684 (Kütahya), 4644 (Sivas), 4657 (Sivas), 4786 (Konya), 4788 (Isparta), 5304 (Yozgat), 5939 (Eskişehir), Bilecik (6149)
H4	4	52 (Adana), 54 (Adana), 55 (Adana), 221(Kahramanmaraş)
H5	4	59 (Tunceli), 68 (Bingöl), 82 (Muş), 83 (Muş)
H6	2	70 (Ağrı), 75 (Van)
H7	6	73 (Tunceli), 79 (Tunceli), 80 (Van), 4661 (Bayburt), 4880 (Bayburt), 6363 (Ağrı)
H8	2	76 (Bitlis), 77(Bitlis)
H9	9	134 (Adana), 150 (Kahramanmaraş), 237 (Adana), 239 (Adana), 244 (Kırıkkale), 4572 (Kırşehir), 4795 (Isparta), 4912 (Kırıkkale), 4913 (Kırıkkale)
H10	26	231 (Çanakkale), 236 (Çanakkale), 241 (Çanakkale), 243 (Çanakkale), 6131 (Manisa), 6162 (Balıkesir), 6132 (İzmir), 6134 (Balıkesir), (Manisa), 6160 (Balıkesir), 6161 (Balıkesir), 6202 (Isparta), 6206 (Isparta), 6207 (Aydın), 6209 (Aydın), 6222 (Aydın), 6232 (İzmir), 6250 (Aydın), 6251 (Aydın), 6254 (Isparta), 6255 (Konya), 6256 (Aydın), 6263 (Konya), 6267 (Konya), 6268 (Konya)
H11	1	229 (Adana)
H12	3	2504 (Afyonkarahisar), 6231 (Isparta), 6253 (Burdur)
H13	8	4009 (Bolu), 4011 (Bolu), 4016 (Bolu), 4203 (Bolu), 4828 (Ankara), 4830 (Bolu), 4929 (Bolu), 4936 (Bolu)
H14	8	122 (Mersin), 124 (Mersin), 4294 (Konya), 4302 (Konya), 6159 (Bilecik), 6201 (Isparta), 6208 (Isparta), 6234 (Denizli)
H15	1	6197 (Aydın)

4.1.2 Filogenetik analizlerde kullanılan model testin belirlenmesi

Tez çalışmasında GHR exon 10 gen bölgesi için filogenetik analizler belirlenen 15 haplotip üzerinden yapılmıştır. Belirlenen haplotiplerin filogenetik ağaçlarının oluşturulmasında kullanılacak modeli belirlemek için MEGA version 7.0.7 programı kullanılmıştır. Bu program ile haplotiplerin sekansları analiz edilmiş ve en uygun model K2 olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.4).

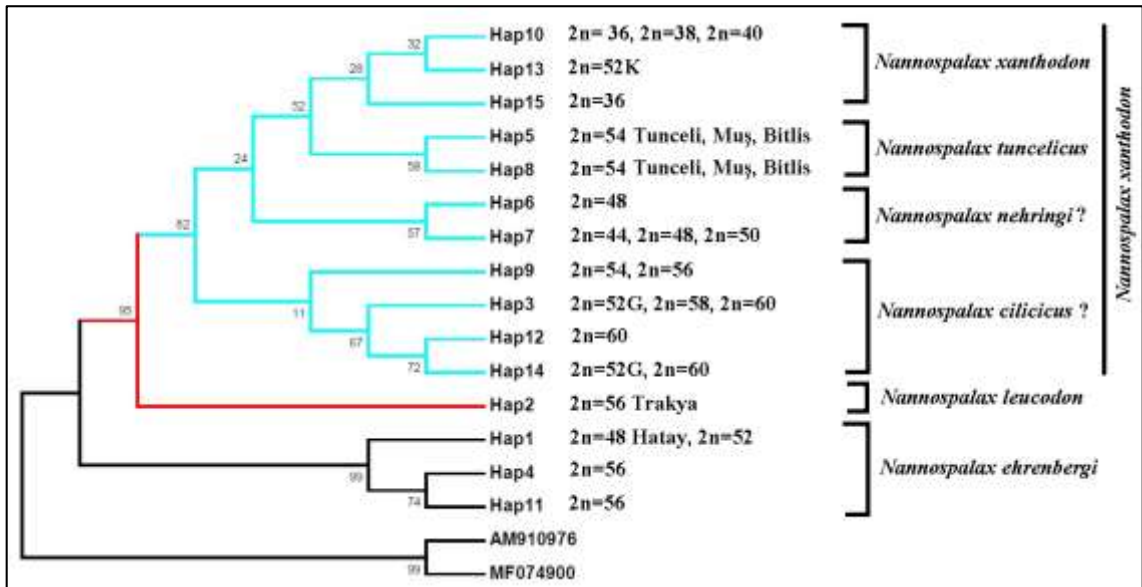


Çizelge 4.4. GHR exon 10 geni filogenetik analizlerinde kullanılan model test sonuçları

$\kappa(GC)$	$\kappa(GT)$	$\kappa(GA)$	$\kappa(CG)$	$\kappa(CT)$	$\kappa(CA)$	$\kappa(TG)$	$\kappa(TC)$	$\kappa(TA)$	$\kappa(AG)$	$\kappa(AC)$	$\kappa(AT)$	$f(G)$	$f(C)$	$f(T)$	$f(A)$	R	$(+G)$	$(+I)$	lnL	$AICc$	BIC	Parameter	Model
0.037	0.037	0.175	0.037	0.175	0.037	0.175	0.037	0.175	0.037	0.175	0.037	0.250	0.250	0.250	0.250	0.250	Şub.34	n/a	-2.052.322	4.168.799	4.409.414	32	K2
0.036	0.036	0.178	0.036	0.178	0.036	0.178	0.036	0.178	0.036	0.178	0.036	0.250	0.250	0.250	0.250	0.250	Şub.46	Oca.8	-2.051.352	4.168.869	4.416.998	33	K2+G
0.036	0.036	0.178	0.036	0.178	0.036	0.178	0.036	0.178	0.036	0.178	0.036	0.250	0.250	0.250	0.250	0.250	Şub.46	n/a	-2.051.459	4.169.082	4.417.212	33	K2+I
0.036	0.039	0.181	0.036	0.181	0.039	0.036	0.169	0.039	0.169	0.036	0.039	0.241	0.241	0.259	0.259	Şub.34	n/a	n/a	-2.051.832	4.169.828	4.417.958	33	T92
0.039	0.033	0.207	0.032	0.157	0.044	0.032	0.186	0.044	0.153	0.039	0.033	0.217	0.265	0.224	0.294	Şub.34	n/a	n/a	-2.044.466	4.159.117	4.422.274	35	HKY
0.035	0.037	0.184	0.035	0.184	0.037	0.035	0.171	0.037	0.171	0.035	0.037	0.241	0.241	0.259	0.259	Şub.46	Oca.7	n/a	-2.050.849	4.169.873	4.425.517	34	T92+G
0.036	0.036	0.178	0.036	0.178	0.036	0.178	0.036	0.178	0.036	0.178	0.036	0.250	0.250	0.250	0.250	Şub.46	Oca.8	0.00	-2.051.352	4.170.879	4.426.522	34	K2+G+I
0.036	0.039	0.182	0.036	0.182	0.039	0.036	0.169	0.039	0.169	0.036	0.039	0.241	0.241	0.259	0.259	Şub.34	n/a	0.02	-2.051.724	4.171.622	4.427.265	34	T92+I
0.038	0.032	0.210	0.031	0.160	0.042	0.031	0.189	0.042	0.155	0.038	0.032	0.217	0.265	0.224	0.294	Şub.45	Oca.9	n/a	-2.043.574	4.159.343	4.430.014	36	HKY+G
0.038	0.032	0.210	0.031	0.159	0.042	0.031	0.189	0.042	0.155	0.038	0.032	0.217	0.265	0.224	0.294	Şub.45	n/a	0.26	-2.043.711	4.159.618	4.430.289	36	HKY+I
0.039	0.033	0.202	0.032	0.161	0.044	0.032	0.191	0.044	0.149	0.039	0.033	0.217	0.265	0.224	0.294	Şub.34	n/a	n/a	-2.044.433	4.161.060	4.431.731	36	TN93
0.035	0.037	0.184	0.035	0.184	0.037	0.035	0.171	0.037	0.171	0.035	0.037	0.241	0.241	0.259	0.259	Şub.46	Oca.7	0.00	-2.050.849	4.171.883	4.435.041	35	T92+G+I
0.038	0.032	0.206	0.031	0.163	0.042	0.031	0.193	0.042	0.152	0.038	0.032	0.217	0.265	0.224	0.294	Şub.45	Oca.9	n/a	-2.043.551	4.161.308	4.439.492	37	TN93+G
0.038	0.032	0.210	0.031	0.160	0.042	0.031	0.189	0.042	0.155	0.038	0.032	0.217	0.265	0.224	0.294	Şub.45	Oca.9	0.00	-2.043.574	4.161.354	4.439.538	37	HKY+G+I
0.038	0.032	0.206	0.031	0.162	0.042	0.031	0.192	0.042	0.152	0.038	0.032	0.217	0.265	0.224	0.294	Şub.45	n/a	0.26	-2.043.693	4.161.591	4.439.775	37	TN93+I
0.038	0.032	0.206	0.031	0.163	0.042	0.031	0.193	0.042	0.152	0.038	0.032	0.217	0.265	0.224	0.294	Şub.45	Oca.9	0.00	-2.043.551	4.163.319	4.449.016	38	TN93+G+I
0.039	0.024	0.203	0.032	0.161	0.038	0.024	0.191	0.060	0.149	0.034	0.046	0.217	0.265	0.224	0.294	Şub.33	n/a	n/a	-2.043.215	4.164.658	4.457.867	39	GTR
0.038	0.023	0.206	0.031	0.163	0.037	0.022	0.193	0.058	0.152	0.033	0.044	0.217	0.265	0.224	0.294	Şub.44	2.00	n/a	-2.042.379	4.164.998	4.465.720	40	GTR+G
0.038	0.023	0.206	0.031	0.162	0.037	0.022	0.192	0.059	0.152	0.033	0.044	0.217	0.265	0.224	0.294	Şub.43	n/a	0.25	-2.042.524	4.165.288	4.466.009	40	GTR+I
0.038	0.023	0.206	0.031	0.163	0.037	0.022	0.193	0.058	0.152	0.033	0.044	0.217	0.265	0.224	0.294	Şub.44	2.00	0.00	-2.042.379	4.167.010	4.475.244	41	GTR+G+I
0.083	0.083	0.083	0.083	0.083	0.083	0.083	0.083	0.083	0.083	0.083	0.083	0.250	0.250	0.250	0.250	0.50	n/a	n/a	-2.104.016	4.270.177	4.503.277	31	JC
0.083	0.083	0.083	0.083	0.083	0.083	0.083	0.083	0.083	0.083	0.083	0.083	0.250	0.250	0.250	0.250	0.50	5.Tem	n/a	-2.103.836	4.271.826	4.512.441	32	JC+G
0.083	0.083	0.083	0.083	0.083	0.083	0.083	0.083	0.083	0.083	0.083	0.083	0.250	0.250	0.250	0.250	0.50	n/a	0.10	-2.103.916	4.271.987	4.512.602	32	JC+I
0.083	0.083	0.083	0.083	0.083	0.083	0.083	0.083	0.083	0.083	0.083	0.083	0.250	0.250	0.250	0.250	0.50	5.Tem	0.00	-2.103.836	4.273.836	4.521.965	33	JC+G+I

4.1.3 GHR exon 10 geni maksimum likelihood (ML) analizi sonuçları

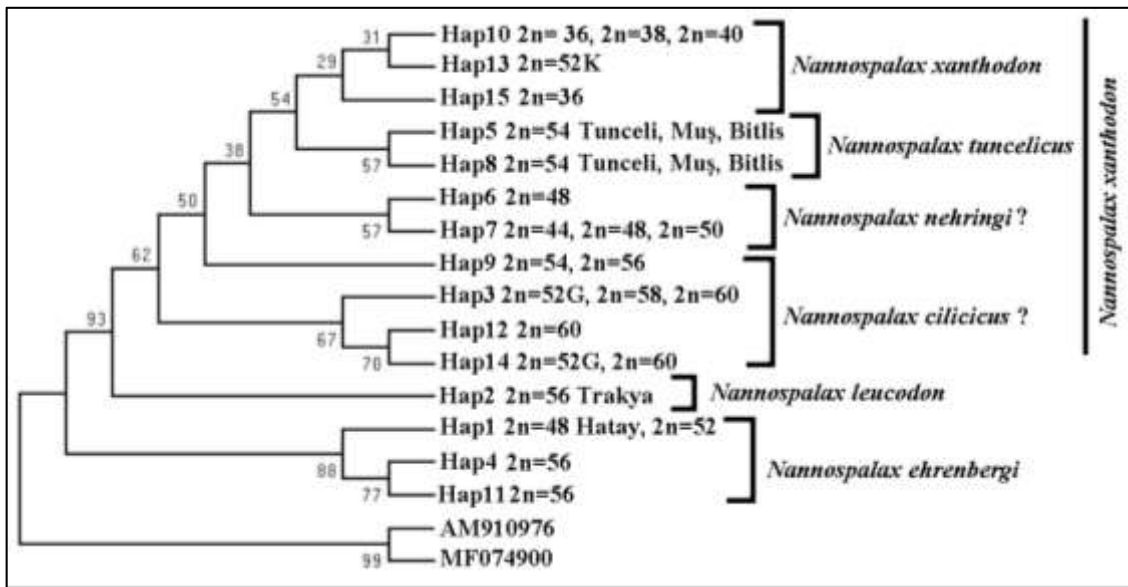
Tez çalışmasında GHR exon 10 gen bölgesinin filogenetik analizi sonucunda ML ağacı, körfareler için Türkiye’de tanımlanan dört türü *N. xanthodon*, *N. ehrenbergi*, *N. tuncelicus* ve *N. leucodon* türleri net biçimde ayrılmış, ayrı birer monofiletik soy (lineage) oluşturmuştur. Bu türler arasında ilk büyük kopma Trakya’da yayılış gösteren *N. leucodon* ve Anadolu’da yayılış gösteren diğer üç tür (*N. xanthodon*, *N. ehrenbergi* ve *N. tuncelicus*) arasında meydana gelmiştir. Anadolu türleri arasında ise ikinci büyük fark *N. tuncelicus* ve *N. xanthodon* türleri ile *N. ehrenbergi* türü arasında bulunmuştur. Türler ve haplotipler arasında hesaplanan genetik mesafe analizleri, türler arasındaki ilk izolasyonun Trakya formları ve Anadolu formları arasında olduğunu desteklemektedir. Tez çalışmamızda Trakya’dan ve Anadolu’dan elde edilen körfare popülasyonuna ait örnekler % 95 oranında yüksek bir bootstrap değeri ile birbirinden ayrılmıştır. ML analizinde *N. xanthodon*, *N. tuncelicus* ve *N. nehringi* türlerini yakın kümelemiştir. Fakat oluşan bu parafiletik grup bile kendi içinde % 50’nin üzerinde bootstrap değeri ile ayrılmıştır. Bilinen türlerin aksine (*N. xanthodon*, *N. ehrenbergi* ve *N. leucodon*) özellikle İç Anadolu’da yayılış gösteren körfare popülasyonları bu üç türle aynı seviyede genetik farklılığa sahip olduğu belirlenmiştir Bu durum *N. ehrenbergi* türü içinde gruplanan 2n=56 ve 2n=48, 52 sitotipleri arasında da %99 gibi yüksek değerle belirlenmiştir (Şekil 4.1).



Şekil 4.1. GHR exon 10 geni için oluşturulan Maksimum Likelihood (ML) filogenetik ağacı

4.1.4 GHR exon 10 geni için neighbour-joining (NJ) analiz sonuçları

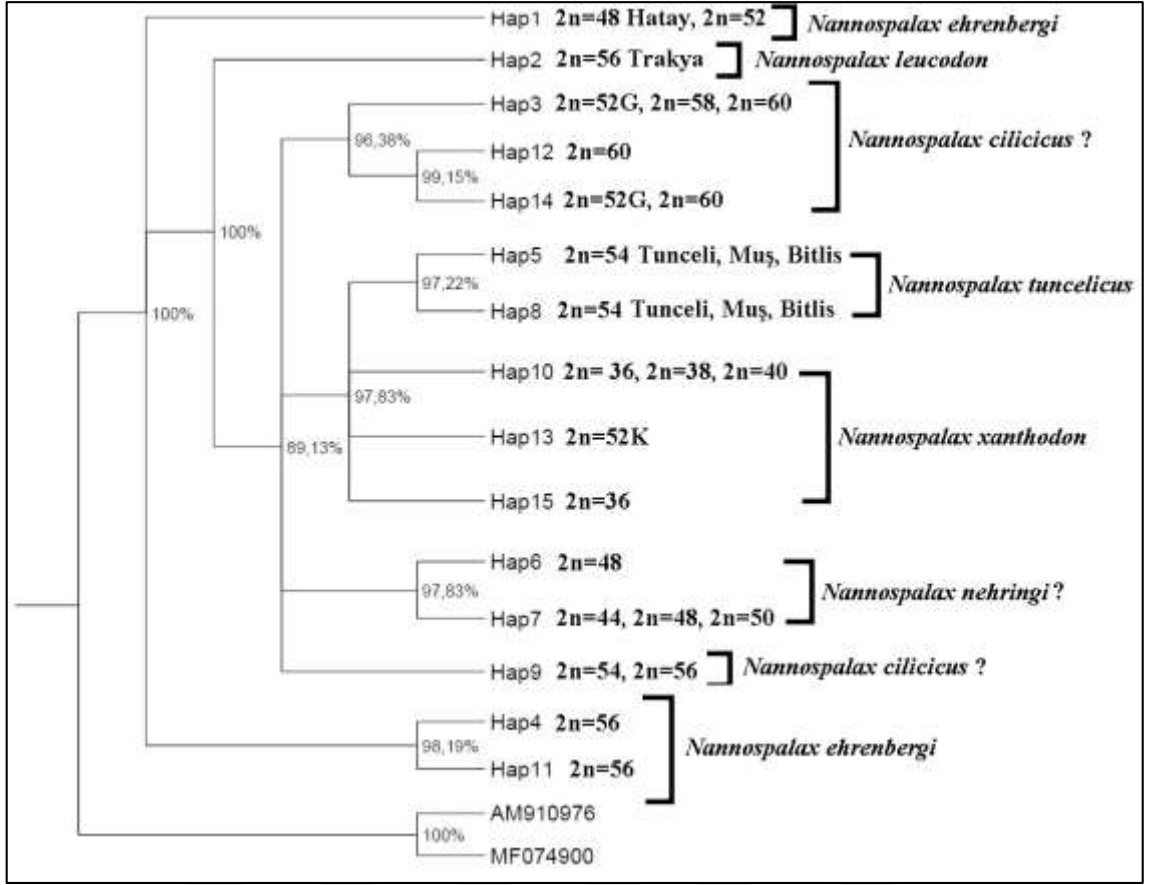
Yapılan analiz sonucu *N. leucodon*, *N. ehrenbergi* ve *N. xanthodon* türleri ML analizinde olduğu gibi net bir şekilde birbirinde ayrılmıştır. Aynı şekilde *N. cilicicus* örneklerinin İç Anadolu popülasyonunun ayrımını ML analizinde olduğu gibi net bir şekilde NJ analizinde de ortaya koymuştur. *N. tuncelicus* türüne ait haplotipler *N. xanthodon* kladına yakın kümelenirse de % 50'nin üzerinde bootstrap değeriyle farklı bulunmuştur. *N. ehrenbergi* kladı içerisinde yer alan haplotipler ve sitotipler mevcut üç tür arasında gözlenen farklılık derecesinde ayrı monofiletik gruplar oluşturmuştur (Şekil 4.2.).



Şekil 4.2. GHR exon 10 geni için çizilen Neighbour-Joining (NJ) filogenetik ağacı

4.1.5 GHR exon 10 geni için bayesian analiz sonuçları

Bayes filogenetik analizi Maksimum likelihood algoritması ile analiz edilen 10000 tekrarlı seç-bağla (bootstrap) ağacına oldukça benzer ağaç topolojisini göstermiştir. Bu analizde de günümüzde geçerli olan üç tür (*N. ehrenbergi*, *N. leucodon*, *N. xanthodon*) bu analizde de belirgin bir şekilde üç ayrı kladlar oluşturmuştur. Bu üç türün haricinde *N. cilicicus* ve *N. tuncelicus* ayrı monofiletik gruplar oluşturmuştur (Şekil 4.3).

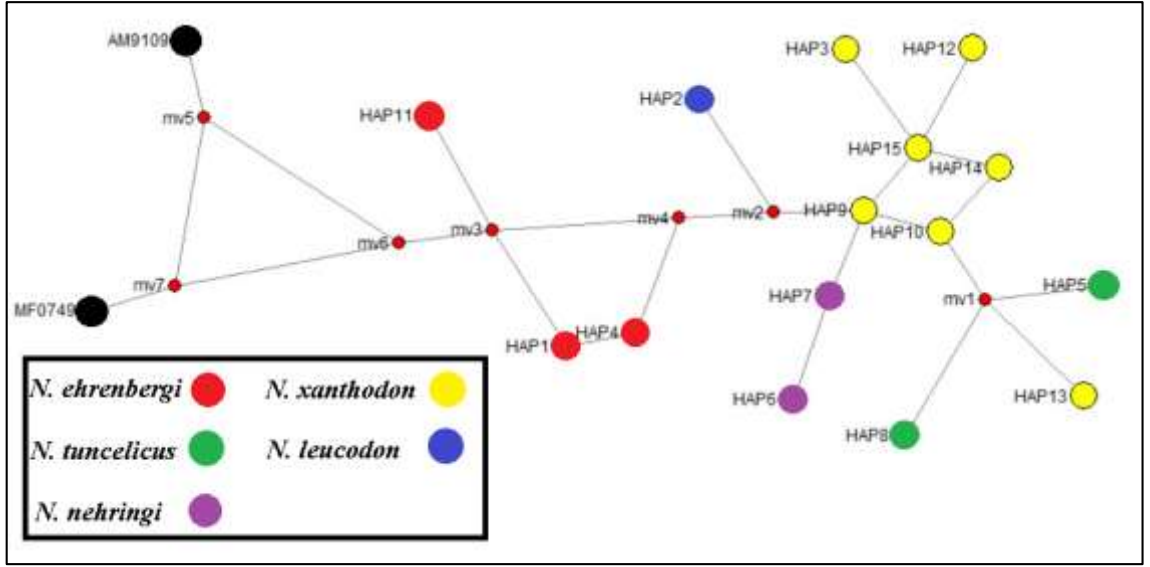


Şekil 4.3. GHR exon 10 gen bölgesi için çizilen Bayesian filogenetik ağacı

4.1.6 GHR exon 10 gen bölgesi için network analizi sonuçları

4.1.7 GHR exon 10 Gen Bölgesi için Network Analizi Sonuçları

GHR Exon geni için sekans analizi sonuçları Network 5.0 programı ile analiz edilmiştir. Network analiz sonuçları tüm filogenetik ağaçların sonuçları ile benzerlik göstermiştir. Network analizi sonucu *N. tuncelicus* ile *N. xanthodon* türü arasındaki bağlantının Hap13 (2n=52K) kuzeydeki sitotip aracılığı ile olduğunu göstermiştir. *N. nehringi* türünün ise yine *N. xanthodon* farklı zamanda ayrıştığını göstermektedir. *N. nehringi* türünün *N. xanthodon* türü haplotipleri arasındaki bağlantıyı ise Hap 9 (2n=54) İç Anadolu'da bulunan sitotip ile sağladığı belirlenmiştir. Network analizi sonuçları da diğer filogenetik analizler gibi *N. tuncelicus*, *N. nehringi*, *N. cilicicus* ve *N. ehrenbergi* içindeki farklı sitotiplerin ayrı tür seviyesinde farklılıklara sahip olduğunu göstermektedir.



Şekil 4.4. GHR exon 10 gen bölgesine ait Network analiz sonuçları

BÖLÜM V

TARTIŞMA

Biyçeşitlilik yönetimi ve koruma çalışmalarının planlanabilmesi için türlerin dağılımlarının ve taksonomik durumlarının bilinmesi elzemdir. Türkiye körfare populasyonları ve sitotiplerinin taksonomik durumları belirsizliğini korumaktadır. Muhtemelen endemik statüde değerlendirilecek yeni türler barındıran Türkiye körfare populasyonları üzerine yapılacak her türlü çalışma türün korunması için önem arz etmektedir. Ayrıca Türkiye’de taksonomik olarak belirsiz olan sitotip ve populasyonların taksonomik durumlarının belirlenmesi özellikle kanser çalışmalarında model organizma olarak kullanılan körfareler üzerine ileride yapılacak çalışmalara temel oluşturacaktır.

Türkiye körfareleri için bu zamana kadar çok sayıda tür ve alttür tanımı yapılmıştır. Bunlardan ilki Nordmann (1840) tarafından İzmir’den *S. typhlus xanthodon* adıyla verilmiştir. Ardından Méhely (1909) *S. monticola anaticus* adıyla Bornova’dan bir alttür tanımlamıştır. Bu iki alttürün yayılış gösterdiği alanlardan (Balıkesir, Manisa, Çanakkale, Bursa, Gökçeada, Bozcaada’dan) daha sonra yapılan karyolojik çalışmalar sonucunda bu türlerin karyotipinin $2n = 38$ NF = 74 olduğu belirlenmiştir (Arslan ve Zima, 2013; Kankılıç vd., 2009; Kankılıç vd., 2010; Nevo vd., 1995; Savić ve Soldatović, 1979; Sözen, 2004; Sözen vd., 2013; Tez vd., 2002). Bu karyotipin günümüzde yayılış gösterdiği lokaliteler incelendiğinde öncelik kuralı nedeniyle kabul edilen *N. xanthodon*’un populasyonlarının İzmir’den başlayarak Bursa’nın batısına kadar ve Gökçeada ve Bozcaada’da deniz etkisindeki bölgelerde yayılış gösterdiği söylenebilir (Şekil 5.1).

Tunceli ili Yukarı Fırat havzasında kalan ve topraklarının %70’i geçit vermeyen dağlardan oluşan bir bölgedir. Bu dağlar aşılması güç sınırlar oluşturduğu için Tunceli körfareleri, doğusundaki Iğdır ovasından başlayan ve Erzincan Ovasına kadar uzanan verimli çöküntü alanlarında yayılış gösteren *N. nehringi* türüne ait körfareler ($2n = 48$, 50) ile bütünleşmemiştir. Doğu Toros dağlarının uzantıları Doğu-Batı yönünde uzanarak ilin kuzeyini güneyinden ayırır. Mercan dağları ilin kuzey batısı ve güneyi arasında bir set oluşturarak kuzeyde *N. munzuri* Coşkun (2004) ($2n = 58$), güneyde ise *N. tuncelicus* Coşkun (2004) ($2n = 54$) türlerinin oluşmasına neden olmuştur. Karagöl dağları ise İlin

Kuzey Doğusunu diğer bölgelerden ayıran bir etkiye sahiptir ve bu bölge farklı bir sitotipe $2n = 44 \text{ NF} = 72$ ev sahipliği yapmaktadır.

Anadolu'dan ayrıca Satunin (1898) tarafından *N. nehringi* türü Kaskoparan'dan tanımlanmıştır. Daha sonra Topachevskii (1969), *N. nehringi* türünün Kafkaslar ve Türkiye'nin doğusunda yayılış gösterdiğini teyit etmiştir. Bu tür yakın zamanda Kryštufek vd. (2009) tarafından *N. xanthodon* türünün sinonimi olarak kabul etmiş olsa da, hem coğrafik olarak farklı konumlanması hemde morfolojik açıdan bu türün tüm örneklerinin palatin kemiğinin arkasında diken şeklinde bir çıkıntı içermesi, üst molarların 3 köklü olması, özgün bakulum yapısı ve karyolojik açıdan farklı sayı ve morfolojideki otozomal kromozomlara sahip olmasından dolayı (Coşkun, 2003; Kankılıç vd., 2007; Kankılıç ve Gürpınar, 2014; Kıvanç, 1988), bu taksonu ayrı bir tür olarak değerlendirilmiştir. Bu tür coğrafik olarak "Anadolu Diyagonali" olarak bilinen, Anadolu'yu kuzeyden güneye ayıran topografik oluşumların etkisiyle İç Anadolu körfare populasyonlarından ve güneydeki Güney Doğu Toros Dağları ile *N. ehrenbergi* türünden coğrafik olarak izole allopatrik türdür. Bu nedenle bu tür Kafkas coğrafik bölgesi ile Anadolu'nun en yüksek yaylalarını içeren Doğu Anadolu Bölgesinde ve Doğu Karadeniz Dağlarının yüksek güney yamaçlarında yayılış gösterdiği kabul edilmiştir. Bu türün yayılış alanlardaki populasyonlar (Kars, Ardahan, Erzurum, Iğdır, Ağrı, Muş and Van) için yapılan karyolojik çalışmalar incelendiğinde bu alanda iki farklı sitotipin $2n = 48$ ve 50 yayılış gösterdiği belirlenmiştir (Coşkun ve Kaya, 2013; Coşkun vd., 2012; Coşkun vd., 2009; Kankılıç vd., 2007).

N. ehrenbergi Nehring (1897) tarafından Yafa-İsrail'den verilmiştir. Daha sonra Türkiye'den İskenderun-Arsuz-Çengelköy Nehring (1897) *N. intermedius* türü tanımlanmıştır. Nehring (1897) *N. kirgisorum*'u başka bir tür olarak Batı Kırgızistanın Ryn Peski steplerinden tanımlamıştır (şimdiki batı Kazakistan; Topachevskii (1969), daha sonra tanımlanan bu holotipin tip lokalitesinin yanlış olduğu belirtilerek ve holotipin Kırgız steplerinin aksine Suriye'den alınmış olabileceği önerilmiştir (Ellerman ve Morrison-Scott, 1966; Harrison ve Bates, 1991; Méhely, 1913). Kıvanç (1988) Türkiye *N. ehrenbergi* populasyonları *N. e. intermedius* ve *N. e. kirgisorum* olmak üzere iki alttüre ayırmıştır (*N. e. intermedius* ve *N. e. kirgisorum*). Kıvanç (1988)'a göre *N. e. kirgisorum* Urfa'da bulunmakta, *N. e. intermedius* ise Güney Doğu Anadolu'da Urfa hariç diğer bölgelerde bulunmaktadır. *N. kirgisorum* türü tip lokalitesindeki belirsizliğinden dolayı

geçerli bir tür veya alttür değildir. Bu nedenle *N. ehrenbergi* türüne ait populasyonların ve sitoriplerin taksonomileri yeniden değerlendirilmelidir. Karyolojik çalışmalar sonucunda *N. ehrenbergi* türünde 5 farklı sitotip ($2n = 48, 52, 54, 56$ ve 58) belirlenmiştir (Coşkun vd., 2006; Ivanitskaya vd., 1997; Sözen vd., 2006). Bu sitotiplerin yayılışları Coşkun vd. (2006) ayrıntılı bir şekilde sunulmuştur.

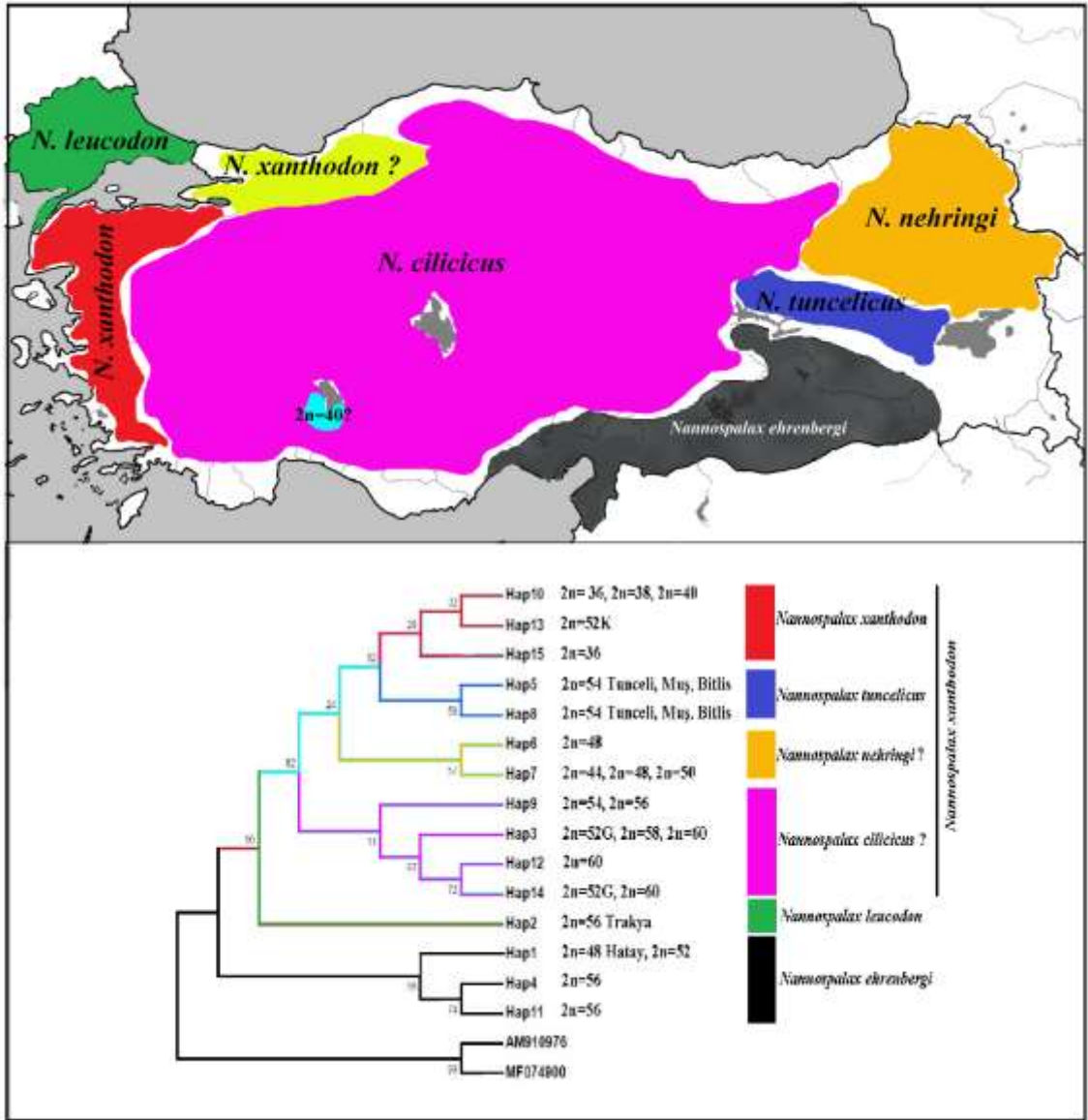
N. ehrenbergi türünün $2n = 56$ NF = 72 sitotipi Adana ve Tarsus'tan tanımlanmıştır (Coşkun vd., 2006; Ivanitskaya vd., 1997; Sözen vd., 2006). Farklı olarak aynı sitotip Szunyoghy (1941) tarafından Adana'dan *N. ehrenbergi* var. *ceyhanus* olarak tanımlanmıştır. Fakat bu tanımlanan türün geçerliliği halen tartışmalıdır.

Körfareler üzerine son yapılan revizyon çalışmasında (Kryštufek vd., 2009) tarafından Türkiye'de 3 körfare türünün bulunduğu, sitotiplerin ayrı türler olarak değerlendirilmesi durumunda yaklaşık 20 ilave tür tanımına ihtiyaç olduğunu ve bu durumun körfare taksonomisini daha karmaşık bir hale sokacağını belirtmektedir.

Bu tez çalışmasında yapılan filogenetik analizler Türkiye'de sadece 3 türün olduğu (*N. xanthodon*, *N. ehrenbergi* ve *N. leucodon*) görüşünü desteklememektedir. Bu tez ayrıca *N. xanthodon* türünün tüm Anadolu'yu temsil edebilecek kadar homojen olmadığı, özellikle doğudan tanımlanan *N. tuncelicus* ve *N. nehringi* türlerinin ve İç Anadolu'da $2n=54, 56, 58, 60$ sitotiplerini barındıran populasyonların ayrı türler olarak sınıflandırılmasını önermektedir. İç Anadolu populasyonlarını tanımlama aşamasında, bu bölgeden daha önce tanımlanan en eski tür tanımının *N. cilicicus* ismiyle tanımlanması nedeniyle (*N. leucodon cilicicus* Mehely, 1909, Niğde- Madenköy), İç Anadolu populasyonları için *N. cilicicus* tür ismi kullanılmıştır. *N. xanthodon* türünün ise ilk tanımlandığı izmir ($2n=38$) ve dolaylarında aynı kromozomal forma sahip populasyonlar ve bu populasyondan evrildiği düşünülen $2n=36$ ve $2n=40$ sitotiplerini temsil eden populasyonlar için kullanılması gerekliliği önerilmiştir. Bu türlerin haricinde özellikle Bolu ili ve çevresinde geniş bir yayılışa sahip olan $2n=52K$ sitotipinin ilave yeni tür olduğu kabul edilmiştir.

Türkiye körfarelerinin son taksonomik durumları Şekil 5.1'de özetlenmiştir. Türkiye için mevcudiyeti kabul yeni kabul edilen bu türler (*N. nehringi*, *N. tuncelicus*, *N. cilicicus*) arasında hesaplanan kimura-2 mesafe değerleri bu durumu desteklemektedir. Özellikle

yapılan filogenetik ağaçlarda bu türlerin göstermiş olduğu topolojiler ve oluşan yeni kladlar bu görüşü desteklemiştir.



Şekil 5.1. Türkiye körfare türleri ve coğrafik dağılışları

KAYNAKLAR

Adkins, R. M., Gelke, E. L., Rowe, D. and Honeycutt, R. L., "Molecular phylogeny and divergence time estimates for major rodent groups: evidence from multiple genes", *Molecular Biology and Evolution* 18(5), 777-791, 2001.

Arslan, A. and Zima, J., "The banded karyotype of the 2n= 58 chromosomal race of mole rats from Erzincan, Turkey", *Folia Zoologica* 62(1), 19-24, 2013.

Arslan, E., Gülbahçe, E., Arıkoğlu, H., Arslan, A., Bužan, E. V. and Kryštufek, B., "Mitochondrial divergence between three cytotypes of the Anatolian Mole Rat, *Nannospalax xanthodon* (Nordmann, 1840) (Mammalia: Rodentia)", *Zoology in the Middle East* 50(1), 27-34, 2010.

Chişamera, G., Bužan, E. V., Sahlean, T., Murariu, D., Zupan, S. and Kryštufek, B., "Bukovina blind mole rat *Spalax graecus* revisited: phylogenetics, morphology, taxonomy, habitat associations and conservation", *Mammal Review* 44(1), 19-29, 2014.

Corbet, G. B., The Mammals of The Palaearctic Region: A Taxonomic Review, *British Museum (Natural History)*, United Kingdom, 1978.

Corbet, G. B. and Hill, J. E., A World List of Mammalian Species, *Natural History Museum Publications*, United Kingdom, 1991.

Coskun, Y., Ulutürk, S. and Kaya, A., "Karyotypes of *Nannospalax* (Palmer 1903) populations (Rodentia: Spalacidae) from centraleastern Anatolia, Turkey", *Hystrix-the Italian Journal of Mammalogy* 21(1), 89-96, 2010.

Coşkun, Y., "A study on the morphology and karyology of *Nannospalax nehringi* (Satunin, 1898)(Rodentia: Spalacidae) from Northeast Anatolia, Turkey", *Turkish Journal of Zoology* 27(3), 171-176, 2003.

Coşkun, Y., "A new species of mole rat, *Nannospalax munzuri* sp. n., and the karyotype of *Nannospalax tuncelicus* (Coşkun, 1996) (Rodentia: Spalacidae) in eastern Anatolia", ***Zoology in the Middle East*** 33(1), 153-162, 2004.

Coşkun, Y. and Kaya, A., "Karyological peculiarities of mole rats (*Nannospalax*)(Rodentia: Spalacidae) from Iğdır province", ***Iğdır University Journal of the Institute of Science and Technology*** 3, 119-124, 2013.

Coşkun, Y., Kaya, A., Ulutürk, S., Yürümez, G. and Moradi, M., "Karyotypes of the mole rats, genus *Nannospalax* (Palmer, 1903)(Spalacidae: Rodentia) populations in eastern Anatolia, Turkey", ***Iranian Journal of Animal Biosystematics*** 8(2), 195-202, 2012.

Coşkun, Y., Kaya, A. and Yürümez, G., "Chromosomal forms of the Mole Rat, *Nannospalax nehringi* (Satunin, 1898), from the Van Lake Basin in Eastern Turkey: (Mammalia: Rodentia)", ***Zoology in the Middle East*** 48(1), 17-24, 2009.

Coşkun, Y., Ulutürk, S. and Yürümez, G., "Chromosomal diversity in mole-rats of the species *Nannospalax ehrenbergi* (Rodentia: Spalacidae) from South Anatolia, Turkey", ***Mammalian Biology*** 4(71), 244-250, 2006.

Dehkhoda, F., Lee, C. M. M., Medina, J. and Brooks, A. J., "The growth hormone receptor: mechanism of receptor activation, cell signaling, and physiological aspects", ***Frontiers in Endocrinology*** 9, 35-45, 2018.

Doyle, J., "DNA protocols for plants", ***Journal*** 283-293, 1991.

Ellerman, J. R. and Morrison-Scott, T. C. S., Check-list of Palaearctic and Indian Mammals: 1758 to 1946, ***Trustees of British Museum (Natural History)***, United Kingdom, 1966.

Gorbunova, V., Hine, C., Tian, X., Ablaeva, J., Gudkov, A. V., Nevo, E. and Seluanov, A., "Cancer resistance in the blind mole rat is mediated by concerted necrotic cell death mechanism", ***Proceedings of the National Academy of Sciences*** 109(47), 19392-19396, 2012.

Harrison, D. L. and Bates, P. J. J., Mammals of Arabia, **Harrison Zoology Museum Publication**, United Kingdom, 1991.

Ivanitskaya, E., Coskun, Y. and Nevo, E., "Banded karyotypes of mole rats (Spalax, Spalacidae, Rodentia) from Turkey: a comparative analysis", **Journal of Zoological Systematics Evolutionary Research** 35(4), 171-177, 1997.

Kandemir, İ., Sözen, M., Matur, F., Kankılıç, T., Martínková, N., Çolak, F., Özkurt, S. Ö. and Çolak, E., "Phylogeny of species and cytotypes of mole rats (Spalacidae) in Turkey inferred from mitochondrial cytochrome b gene sequences", **Folia Zoologica** 61(1), 25-34, 2012.

Kankılıç, T., Çolak, E. and Kankılıç, T., "Macro-anatomical and karyological features of two blind mole rat subspecies (Rodentia: Spalacidae) from Turkey", **Anatomia, Histologia, Embryologia** 38(2), 145-153, 2009.

Kankılıç, T., Çolak, R., Kankılıç, T. and Çolak, E., "On the morphology and karyology of *Spalax leucodon armeniacus* Mehely, 1909, and *Spalax leucodon cilicicus* Mehely, 1909 (Mammalia: Rodentia) in Turkey", **Acta Zoologica Bulgarica** 59, 41-46, 2007.

Kankılıç, T. and Gürpınar, C., "Revised classification design of the Anatolian species of *Nannospalax* (Rodentia: Spalacidae) using RFLP analysis", **Turkish Journal of Zoology** 38(1), 67-78, 2014.

Kankılıç, T., Kankılıç, T., Seker, P. S., Çolak, R., Selvi, E. and Çolak, E., "Contributions to the karyology and distribution areas of cytotypes of *Nannospalax leucodon* (Rodentia: Spalacidae) in Western Anatolia", **Acta Zoologica Bulgarica** 62(2), 161-167, 2010.

Kankılıç, T., Kankılıç, T., Seker, P. S. and Kıvanc, E., "Morphological and biometrical comparisons of the baculum in the genus *Nannospalax* Palmer, 1903 (Rodentia: Spalacidae) from Turkey with consideration of its taxonomic importance", **Turkish Journal of Zoology** 38(2), 144-157, 2014.

Kıvanç, E., Geographic variations of Turkish *Spalax* (Mammalia: Rodentia), **Fen Bilimleri Enstitüsü**, Ankara, s. 1988.

Kryštufek, B., Ivanitskaya, E., Arslan, A., Arslan, E. and Bužan, E. V., "Evolutionary history of mole rats (genus *Nannospalax*) inferred from mitochondrial cytochrome b sequence", *Biological Journal of the Linnean Society* 105(2), 446-455, 2012.

Kryštufek, B., Vohralík, V. and Janžekovič, F., Mammals of Turkey and Cyprus: Rodentia II: Cricetinae, Muridae, Spalacidae, Calomyscidae, Capromyidae, Hystricidae, Castoridae, *Univerza na Primorskem, Znanstveno-raziskovalno središče, Založba Annales*, Slovenia, 2009.

Matur, F., Colak, F., Ceylan, T., Sevindik, M. and Sözen, M., "Chromosomal evolution of the genus *Nannospalax* (Palmer 1903) (Rodentia, Muridae) from western Turkey", *Turkish Journal of Zoology* 37, 470-487, 2013.

Méhely, L., Species generis *Spalax*: A földi kutyák fajai származás-és rendszertani tekintetben, *A Magyar Tudományos Akadémia Kiadása*, Budapest, Hungary, 1909.

Méhely, L., "Birch mice of Hungary", *Mathematikai és Természettudományi Közlemények* 32(1), 1-45, 1913.

Nehring, A., "Über mehrere neue *Spalax* Arten", *Sitzungsberichte der Berlinischen Gesellschaft Naturforschender Freunde* 10, 163-183, 1897.

Nevo, E., "Stress, adaptation, and speciation in the evolution of the blind mole rat, *Spalax*, in Israel", *Molecular Phylogenetics and Evolution* 66(2), 515-525, 2013.

Nevo, E., Filippucci, M. G., Redi, C., Korol, A. and Beiles, A., "Chromosomal speciation and adaptive radiation of mole rats in Asia Minor correlated with increased ecological stress", *Proceedings of the National Academy of Sciences* 91(17), 8160-8164, 1994.

Nevo, E., Filippucci, M. G., Redi, C., Simson, S., Heth, G. and Beiles, A., "Karyotype and genetic evolution in speciation of subterranean mole rats of the genus *Spalax* in Turkey", *Biological Journal of the Linnean Society* 54(3), 203-229, 1995.

Nordmann, A., "Observations sur la Faune Pontique, A. Demidoff Voyage dans la", *Russie Meridion* 3(35), 10-41, 1840.

Ognev, S. I., Mammals of The USSR and Adjacent Countries, *Izdatel'stvo Akademii nauk SSSR*, Leningrad, Moskova, Rusya, 1947.

Satunin, K. A., "*Spalax nehringi* nov. ap", *Zoologischer Anzeiger* 21, 1898.

Savić, I. and Soldatović, B., "Contribution to the knowledge of the genus *Spalax* (*Microspalax*) karyotype from Asia Minor", *Arhiv Bioloskih Nauka, Beograd* 31, 1-2, 1979.

Savic, I. R. and Nevo, E., "The Spalacidae: evolutionary history, speciation and population biology", *Progress in Clinical Biological Research* 335, 129-153, 1990.

Sozen, M., Matur, F., Çolak, E., Ozkurt, S. and Karatas, A., "Some karyological records and a new chromosomal form for *Spalax* (Mammalia: Rodentia) in Turkey", *Folia Zoologica* 55(3), 247-256, 2006.

Sözen, M., "A karyological study on subterranean mole rats of the *Spalax leucodon* Nordmann, 1840 superspecies in Turkey", *Mammalian Biology* 69(6), 420-429, 2004.

Sözen, M., Çolak, E., Yiğit, N., Özkurt, Ş. and R, V., "Contributions to karyology and taxonomy of the genus *Spalax* *Güldenstaedt, 1770* (Mammalia; Rodentia) in Turkey", *Zeitschrift für Säugetierkunde* 64, 210-219, 1999.

Sözen, M., Çolak, F., Sevindik, M. and Matur, F., "Cytotypes of *Nannospalax xanthodon* (Satunin, 1898) (Rodentia: Spalacidae) from western Anatolia", *Turkish Journal of Zoology* 37(4), 462-469, 2013.

Sözen, M., Sevindik, M. and Matur, F., "Karyological and some morphological characteristics of *Spalax leucodon* Nordmann, 1840 (Mammalia: Rodentia) superspecies around Kastamonu province, Turkey", *Turkish Journal of Zoology* 30(2), 205-219, 2006.

Sözen, M., Yiğit, N. and Çolak, E., "A study on karyotypic evolution of the genus *Spalax* *güldenstaedt, 1770* (Mammalia: Rodentia) in Turkey", *Israel Journal of Zoology* 46(3), 239-242, 2000.

Szunyoghy, J., "Two new species of mole rats from Asia Minor", *Allattani Kozlemenyek* 38, 78-86, 1941.

Tez, C., Gündüz, I. and Kefelioglu, H., "Note: New data on the distribution of 2N= 38 *Spalax leucodon* (Nordmann, 1840) cytotype in Turkey", *Israel Journal of Zoology* 48(2), 155-159, 2002.

Topachevskii, W. A., Fauna USSR Spalacidae, *Springfield*, Virginia, USA, 1969.

Wilson, D. E. and Reeder, D. A. M., Mammal Species of The World: A Taxonomic and Geographic Reference, *The John Hopkins University Press*, United Kingdom, 2005.



ÖZ GEÇMİŞ

İlhan TATYÜZ 1972 yılında Niğde’de dünyaya geldi. İlk, orta ve lise öğrenimini Niğde’de tamamlarken üniversite öğrenimini 1991’de girdiği İstanbul Üniversitesi, Veterinerlik Fakültesi’nden 1997 yılında mezun oldu. 1998 Yılında Niğde Üniversitesi’nde Çamardı Meslek Yüksekokulu’nda Öğretim Görevlisi olarak göreve başladı. Şu an Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi, Deney Hayvanları Araştırma Laboratuvarında Sorumlu Veteriner Hekim olarak görev yapmaktadır. 2017 Yılında Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesinde, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoteknoloji Anabilim Dalı’nda yüksek lisans eğitimine başlamıştır. Evli ve 2 çocuk sahibidir.

