

ANKARA ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BATI KARADENİZ VE TRAKYA’ DA YAYILIŞ  
GÖSTEREN *Mus* L., 1758 (Mammalia: Rodentia) CİNSİNİN  
ALLOZİM VARYASYONLARI

Ufuk GÜNDÜRÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ANKARA  
2008

Her Hakkı Saklıdır

## ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

### BATI KARADENİZ VE TRAKYA’ DA YAYILIŞ GÖSTEREN *Mus* L., 1758 (Mammalia: Rodentia) CİNSİNİN ALLOZİM VARYASYONLARI

Ufuk GÜNDÜRÜ

Ankara Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Reyhan ÇOLAK

Bu çalışmanın amacı, Trakya ve Batı Karadeniz’ de yayılış gösteren *Mus domesticus* ve *Mus macedonicus* türleri ve bu türlerin farklı populasyonları arasındaki genetik farklılaşmayı allozim analizi ile ortaya koymaktır. Türkiye’deki 7 lokaliteden toplam 35 birey çalışıldı. 14 enzim sisteminin nişasta jel ve native poliakrilanmid jel elektroforezi (N-PAGE) sonucu 23 lokus saptandı. *Idh-2* lokusu *M. macedonicus* ile *M. domesticus* türlerini ayırt edici lokustur. *Mus* cinsinde *Idh-2* lokusunda üç allel (A, B, C) tespit edildi. Çalışılan populasyonlar arasındaki genetik ilişkileri göstermek için Wright’ın genetik mesafe ve Nei’nin genetik benzerlik hesaplamaları kullanıldı. Hesaplamalar BIOSYS-1 bilgisayar programı ile yapıldı. Tüm lokuslara ait F-istatistik verilerine bakıldığında fiksasyon indeksinin ortalama değeri  $F_{ST} = 0.3693$  ile populasyonlar arası genetik farklılaşmayı ifade eden gen akışı değeri  $Nm = 0.426$  olarak bulundu. Nei (1978)’nin genetik benzerlik değerlerine dayanılarak oluşturulan UPGMA dendogramında biri *M. macedonicus* diğeri *M. domesticus* populasyonları olmak üzere iki ana küme oluştu. Her bir küme de iki alt kümeye ayrıldı. *M. macedonicus* populasyonlarından oluşan 1. kümedeki ilk grupta Bolu populasyonu tek başına yer alırken, ikinci grup Edirne, Tekirdağ, Kırklareli ve Düzce populasyonlarından oluştu. *M. domesticus* populasyonlarından oluşan 2. kümedeki ilk grupta yine Bolu populasyonu tek başına yer alırken ikinci grupta ise Tekirdağ, Zonguldak ve Bartın populasyonları yer aldı.

Aralık 2008, 59 Sayfa

**Anahtar Kelimeler:** *Mus domesticus*, *Mus macedonicus*, Allozim, Türkiy

## ABSTRACT

Master Thesis

### ALLOZYMIC VARIATIONS OF THE GENUS *Mus* L., 1758 (Mammalia: Rodentia) IN WESTERN BLACK SEA AND THRACE

Ufuk GUNDURU

Ankara University  
Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Department of Biology

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Reyhan COLAK

The aim of this study is to expose genetic differentiation between *Mus domesticus* and *Mus macedonicus* which are distributed in Western Black Sea and Thrace and the different populations of these species, using allozyme analysis. 35 specimens were studied from 7 localities in Turkey. 14 enzyme systems were analysed using starch gel electrophoresis and native-polyacrilamide gel electrophoresis (N-PAGE) and 23 loci were determined. Idh-2 locus was diagnostic for *M. macedonicus* and *M. domesticus*. In the genus *Mus*, three alleles (A,B,C) were determined at Idh-2 locus. In order to show genetic relations among populations studied, Wright's genetic distance and Nei's genetic identity were used. The allelic data of these populations were analysed using the program BIOSYS-1. According to F-statistic values mean value of  $F_{ST}$  ( $F_{ST}= 0.3693$ ), which is a measure of the genetic differentiation over subpopulations and gene flow value ( $Nm= 0.426$ ), that is show genetic differentiation among populations were found to be very high. On the basis of Nei's genetic identity values UPGMA dendrogram established has got two main clusters dividing into two subgroups in each cluster. The first cluster consists of *M. macedonicus* populations, including only Bolu population in first subgroup, and second one Edirne, Tekirdağ, Kırklareli and Düzce populations. The second cluster consists of *M. domesticus* populations, containing Bolu population in first subgroup, and second one Tekirdağ, Zonguldak and Bartın populations.

**October 2008, 59 pages**

**Key Words:** *Mus domesticus*, *Mus macedonicus*, Allozyme, Turkey

## TEŞEKKÜR

Bu çalışmada bana yardımcı olan, bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, değerli hocam, danışmanım Doç. Dr. Reyhan ÇOLAK'a (Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi), laboratuvarlarını kullandığım ve örneklerin temin edilmesini sağlayan değerli hocalarım Prof. Dr. Ercüment ÇOLAK'a (Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi) ve Prof. Dr. Nuri YİĞİT'e (Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi), istatistik analizlerde yardımcı olan ve bilgilerini paylaşan değerli hocam Doç. Dr. İrfan KANDEMİR'e (Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi), laboratuvar çalışmalarında yardımlarını gördüğüm Gül OLGUN, Dilek BETEŞ ve Senem Esin SELÇUK'a; manevi desteğini her zaman yanımda hissettiğim ve çalışmalarımda bilgi ve becerilerini paylaşan Sevilay ÜSTÜNBAŞ'a; beni hiçbir zaman yalnız bırakmayan, maddi ve manevi hiçbir fedakarlığı esirgemeyen annem Nevriye KÜŞÜM'e ve eşim Engin GÜNDÜRÜ'ye teşekkür ederim.

Bu çalışmada kullanılan örnekler ve kimyasal maddeler Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Müdürlüğü tarafından desteklenen 2005-07-05-104 nolu "Türkiye' deki *Mus* L., 1758 (Mammalia: Rodentia) Cinsinin Allozim Varyasyonları" konulu projeden sağlanmıştır.

Ufuk GÜNDÜRÜ

Ankara, Aralık 2008

## İÇİNDEKİLER

|                                                                   |      |
|-------------------------------------------------------------------|------|
| ÖZET.....                                                         | i    |
| ABSTRACT.....                                                     | ii   |
| TEŞEKKÜR.....                                                     | iii  |
| SİMGELER DİZİNİ .....                                             | vi   |
| ŞEKİLLER DİZİNİ .....                                             | viii |
| ÇİZELGELER DİZİNİ.....                                            | x    |
| 1. GİRİŞ.....                                                     | 1    |
| 2. KURAMSAL TEMELLER.....                                         | 5    |
| 2.1 Ordo: Rodentia.....                                           | 5    |
| 2.2 Familia: Muridae (Fareler ve Sıçanlar).....                   | 6    |
| 2.3 Genus: <i>Mus</i> Linnaeus,1758.....                          | 7    |
| 2.3.1 Species: <i>Mus macedonicus</i> Petrov & Ruzic, 1982.....   | 8    |
| 2.3.2 Species: <i>Mus domesticus</i> Schwarz & Schwarz, 1943..... | 9    |
| 2.3.3 Species: <i>Mus musculus</i> Linnaeus, 1758.....            | 10   |
| 2.3.4 Species: <i>Mus spretus</i> Lataste,1883.....               | 11   |
| 2.3.5 Species: <i>Mus spicilegus</i> Petényi, 1882.....           | 12   |
| 2.4 Elektroforez Çalışmaları.....                                 | 13   |
| 2.4.1 Agaroz jel elektroforezi.....                               | 15   |
| 2.4.2 Poliakrilamid jel elektroforezi.....                        | 17   |
| 2.4.3 Nişasta jel elektroforezi.....                              | 19   |
| 2.4.4 Selüloz asetat jel elektroforezi.....                       | 20   |
| 2.5 Allozim ve İzozim Çalışmaları.....                            | 21   |
| 3. MATERYAL VE METOD.....                                         | 23   |
| 3.1 Materyal.....                                                 | 23   |
| 3.2 Yöntem.....                                                   | 25   |
| 3.2.1. Nişasta jel elektroforez deneyinin yapılışı.....           | 26   |
| 3.2.2 Poliakrilamid jel elektroforez deneyinin yapılışı.....      | 30   |
| 3.3 İstatistiksel metotlar .....                                  | 31   |
| 4. ARAŞTIRMA BULGULARI.....                                       | 32   |
| 4.1 Enzim Özellikleri.....                                        | 32   |

|                                       |            |
|---------------------------------------|------------|
| <b>4.2 İstatistik Analizleri.....</b> | <b>.41</b> |
| <b>5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....</b>      | <b>.48</b> |
| <b>KAYNAKLAR.....</b>                 | <b>.53</b> |
| <b>ÖZGEÇMİŞ.....</b>                  | <b>.59</b> |

## SİMGELER DİZİNİ

|           |                                      |
|-----------|--------------------------------------|
| A         | Lokus başına ortalama allel sayısı   |
| Acon      | Akonitaz                             |
| Ada       | Adenozin deaminaz                    |
| AK        | Adenilat kinaz                       |
| Alfa-Gpdh | Gliseraldehit-3- fosfat dehidrojenaz |
| APS       | Amonyum per sülfat                   |
| CA        | Karbonik andidraz                    |
| D         | Genetik mesafe                       |
| D.F       | Serbestlik derecesi                  |
| Dk        | Dakika                               |
| DNA.      | Deoksiribonükleik asit               |
| D-Okt:    | D-Oktopin dehidrojenaz               |
| Est       | Esteraz                              |
| Fum       | Fumarat hidrataz                     |
| G6pdh     | Glikoz-6- fosfat dehidrojenaz        |
| G3pdh     | Gliserol-3- fosfat dehidrojenaz      |
| Got       | Glutamat oksaloasetat transaminaz    |
| Gpi       | Glikoz-6- fosfat izomeraz            |
| Gr        | Gram                                 |
| H+B/T     | Baş+Gövde/kuyruk indeksi             |
| He        | Beklenen heterozigotluk              |
| Hek       | Hekzokinaz                           |
| Ho        | Gözlenen heterozigotluk              |
| I         | Genetik benzerlik                    |
| Idh       | Izositrat dehidrojenaz               |
| Ldh       | Laktat dehidrojenaz                  |
| mA        | Mili amper                           |
| Mdh       | Malat dehidrojenaz                   |
| Me        | Malik enzim                          |
| Mpi       | Mannoz fosfat izomeraz               |

|             |                                        |
|-------------|----------------------------------------|
| N           | Birey sayısı                           |
| Native-PAGE | Native-Poliakrilamid jel elektroforezi |
| Nm          | Gen akışı değeri                       |
| NP          | Purin nukleozit fosforilaz             |
| P           | Polimorfik lokus yüzdesi               |
| Pgm         | Fosfoglukomutaz                        |
| Sod         | Süperoksit dismutaz                    |
| TEMED       | N,N,N',N'-tetrametil-etilendiamin      |
| Xdh         | Ksantin dehidrojenaz                   |
| V           | Volt                                   |
| ZI          | Zygomatic indeksi                      |



## ŞEKİLLER DİZİNİ

|                                                                                                                                                                                                                                                                         |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Şekil 2.1 <i>Mus macedonicus</i> .....                                                                                                                                                                                                                                  | 9  |
| Şekil 2.2 <i>Mus domesticus</i> .....                                                                                                                                                                                                                                   | 10 |
| Şekil 2.3 <i>Mus musculus</i> .....                                                                                                                                                                                                                                     | 11 |
| Şekil 2.4 <i>Mus spretus</i> .....                                                                                                                                                                                                                                      | 12 |
| Şekil 2.5 <i>Mus spicilegus</i> .....                                                                                                                                                                                                                                   | 13 |
| Şekil 2.6 Temel bir elektroforez seti.....                                                                                                                                                                                                                              | 15 |
| Şekil 2.7 Agaroz jel elektroforezi.....                                                                                                                                                                                                                                 | 16 |
| Şekil 2.8 Native-PAGE jel elektroforezi.....                                                                                                                                                                                                                            | 18 |
| Şekil 2.9 Nişasta jel elektroforezi.....                                                                                                                                                                                                                                | 20 |
| Şekil 2.10 Monomerik, dimerik ve tetramerik enzimlerin elektroforetik<br>Bant modelleri.....                                                                                                                                                                            | 22 |
| Şekil 3.1 <i>Mus macedonicus</i> : (Tekirdağ :7, Edirne :6, Kırklareli :5, Bolu :4<br>ve Düzce :3) ve <i>Mus domesticus</i> Tekirdağ :2, Bolu :2, Zonguldak :3<br>ve Bartın :3) örneklerinin toplandığı Trakya ve Batı Karadeniz<br>lokaliteleri ve örnek sayıları..... | 24 |
| Şekil 3.2 Elektroforez rapor kağıdı.....                                                                                                                                                                                                                                | 28 |
| Şekil 4.1 <i>Mus macedonicus</i> ve <i>Mus domesticus</i> örneklerinin nişasta jel ile<br>incelenmiş Malik enzim zimogramı. Anoda göç eden tek bir<br>monomorfik lokus.....                                                                                             | 33 |
| Şekil 4.2 <i>Mus macedonicus</i> ve <i>Mus domesticus</i> örneklerinin nişasta jel ile<br>incelenmiş Fosfoglukomutaz enzimi zimogramı. Anoda göç eden<br>tek bir polimorfik lokus ( <i>Pgm</i> ).....                                                                   | 33 |
| Şekil 4.3 <i>Mus macedonicus</i> ve <i>Mus domesticus</i> örneklerinin nişasta jel<br>ile incelenmiş Glukoz-6-fosfat dehidrojenaz enzim zimogramı. Anoda<br>göç eden tek bir monomorfik lokus( <i>G<sub>6</sub>pdh</i> ).....                                           | 34 |
| Şekil 4.4 <i>Mus macedonicus</i> ve <i>Mus domesticus</i> örneklerinin nişasta jel<br>ile incelenmiş İzositrat dehidrojenaz enzim zimogramı. Monomorfik<br><i>Idh-1</i> ve polimorfik <i>Idh-2</i> lokusları.....                                                       | 34 |

|                                                                                                                                                                                                                                                            |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Şekil 4.5 <i>Mus macedonicus</i> ve <i>Mus domesticus</i> örneklerinin nişasta jel ile incelenmiş Malat dehidrojenaz enzimi zimogramı. Anodal göç eden sitozolik <i>Mdh-1</i> , ve katodal göç eden mitokondriyal <i>Mdh-2</i> lokusları .....             | 35 |
| Şekil 4.6 <i>Mus macedonicus</i> ve <i>Mus domesticus</i> örneklerinin nişasta jel ile incelenmiş Fumarat hidrataz enzim zimogramı. Anoda göç eden tek bir monomorfik lokus( <i>Fum</i> ) .....                                                            | 35 |
| Şekil 4.7 <i>Mus macedonicus</i> ve <i>Mus domesticus</i> örneklerinin Nişasta jel ile incelenmiş Laktat dehidrojenaz enzimi zimogramı. <i>Ldh-1</i> , <i>Ldh-2</i> , <i>Ldh-3</i> , <i>Ldh-4</i> ve <i>Ldh-5</i> lokusları .....                          | 36 |
| Şekil 4.8 <i>Mus macedonicus</i> ve <i>Mus domesticus</i> örneklerinin Native PAGE ile incelenmiş Esteraz enzimi zimogramı ( <i>Est</i> ).....                                                                                                             | 37 |
| Şekil 4.9 <i>Mus macedonicus</i> ve <i>Mus domesticus</i> örneklerinin nişasta jel ile incelenmiş ksantin dehidrojenaz enzimi zimogramı( <i>Xdh</i> ).....                                                                                                 | 37 |
| Şekil 4.10 <i>Mus macedonicus</i> ve <i>Mus domesticus</i> örneklerinin nişasta jel ile incelenmiş Süperoksit dismutaz enziminin zimogramı. Anoda ve katoda göç eden monomorfik <i>Sod-1</i> ve <i>Sod-2</i> lokuslar .....                                | 38 |
| Şekil 4.11 <i>Mus macedonicus</i> ve <i>Mus domesticus</i> örneklerinin nişasta jel ile incelenmiş Glukoz-6-fosfat izomeraz enzim zimogramı. Katoda göç eden tek bir polimorfik lokus( <i>Gpi</i> ) .....                                                  | 38 |
| Şekil 4.12 <i>Mus macedonicus</i> ve <i>Mus domesticus</i> örneklerinin nişasta jel ile incelenmiş Adenilat kinaz enzim zimogramı. Anoda göç eden tek bir monomorfik lokus ( <i>Ak</i> ) .....                                                             | 39 |
| Şekil 4.13 <i>Mus macedonicus</i> ve <i>Mus domesticus</i> örneklerinin nişasta jel ile incelenmiş Glutamat oksalaasetat transaminaz enzim zimogramı. Anoda göç eden monomorfik <i>Got-1</i> lokusu ve katoda göç eden monomorfik <i>Got-2</i> lokusu..... | 40 |
| Şekil 4.14 <i>Mus macedonicus</i> ve <i>Mus domesticus</i> örneklerinin nişasta jel ile incelenmiş Karbonik anhidraz enzim zimogramı. Anoda göç eden polimorfik <i>CA-1</i> ve <i>CA-2</i> lokusu.....                                                     | 40 |
| Şekil 4.15 Nei (1978)'nin genetik benzerlik değerlerine dayanılarak oluşturulan UPGMA (unweighted pair group method) dendrogram .....                                                                                                                      | 47 |

## ÇİZELGELER DİZİNİ

|                                                                                                                                                                                          |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Çizelge 3.1 Bu çalışmada kullanılan Türkiye' nin çeşitli yerlerinden toplanan<br><i>Mus L.</i> örneklerinin laboratuvar kayıt numaraları<br>ve lokaliteleri.....                         | 24 |
| Çizelge 3.2 Nişasta ve poliakrilamid jel elektroforezi ile incelenen 22<br>enzim sistemi, uluslar arası kod numaraları<br>ve kısaltmaları .....                                          | 26 |
| Çizelge 3.3 Farklı enzim sistemlerinin elektroforez koşulları .....                                                                                                                      | 29 |
| Çizelge 3.4 Farklı enzimler için boyama sistemleri.....                                                                                                                                  | 30 |
| Çizelge 4.1 İncelenen tüm <i>Mus macedonicus</i> ve <i>Mus domesticus</i> populasyonlarında<br>Est Lokusunun allel frekansları.....                                                      | 41 |
| Çizelge 4.2 Tüm lokuslarda gen akışı ve F-istatistiklerinin özeti.....                                                                                                                   | 42 |
| Çizelge 4.3 <i>Mus</i> populasyonlarında polimorfik lokusların allel frekansları.<br>N: Birey Sayısı .....                                                                               | 42 |
| Çizelge 4.4 Tüm populasyonlarda gözlenen heterozigotluk, polimorfik<br>lokusların oranı ve lokus başına ortalama allel sayısı.....                                                       | 43 |
| Çizelge 4.5 Tüm populasyonlarda genetik varyasyon .....                                                                                                                                  | 43 |
| Çizelge 4.6 Nei (1978)' in tarafsız genetik benzerlik (alt diagonal) ve<br>Wright (1978)' in genetik mesafe (üst diagonal) değerleri.....                                                | 44 |
| Çizelge 4.7 Çalışılan iki <i>Mus</i> türünde polimorfik lokuslardaki genotiplerin<br>Hardy-Weinberg dengesinden sapmasının belirlenmesi için<br>Ki-kare testi.....                       | 45 |
| Çizelge 4.8 <i>Mus domesticus</i> ve <i>Mus macedonicus</i> populasyonlarında<br>saptanan polimorfik lokusların Khi kare testi ile karşılaştırılması<br>(D.F: serbestlik derecesi) ..... | 46 |

## 1.GİRİŞ

Günümüzde Avrupa’da yayılış gösteren *Mus* cinsine ait 5 ayrı tür (*M. spretus*, *M. spicilegus*, *M. macedonicus*, *M. musculus*, *M. domesticus*) kaydedilmiştir (Ellerman 1948; Thaler *et al.* 1980, 1981; Macholan and Zima 1994).

Schwarz and Schwarz (1943) ve Ellerman and Morrison-Scott (1951) *M. musculus* L., 1758 türünün Türkiye’de yayılış gösterdiğini kaydetmişlerdir ve bu türün dünyada 15 alttüre sahip olduğunu belirtmişlerdir. Araştırmacılara göre bu alttürlerden 6 tanesi; *Mus musculus musculus* L., 1758; *Mus musculus domesticus* Ratty, 1772; *Mus musculus praetextus* Brants, 1827; *Mus musculus brevirostris* Waterhouse, 1837; *Mus musculus wagneri* Eversmann, 1848; *Mus musculus spicilegus* Petenyi, 1882; Türkiye’ye komşu ülkelerde yaşamaktadır. 1837 yılında Waterhouse Trabzon’da *M. abbotti*’yi tanımlamıştır. Schwarz and Schwarz (1943) *M. abbotti*’yi sinonim yaparak bunun yerine *M. m. brevirostris* alttürünün geçerli olduğunu kaydetmiştir. Vinogradov and Argyropulo (1941) örnek kaydı vermeksizin *M. m. abbotti*’nin Türkiye’de yayılış gösterdiğini kaydetmişlerdir. Yugoslavya’da Petrov and Ruzic (1983) tarafından tanımlanan *M. macedonicus*’un *M. m. domesticus* ile aynı alanda yaşadığı belirlenmiştir. Boursot *et al.* (1993) Türkiye’de evlerde yaşayan *Mus* örneklerini *Mus domesticus*’a dahil etmişlerdir.

Hoogstraal (1959) Ankara örneklerinin *M. musculus*, Stainer and Vauk (1966) Konya örneklerinin *M. musculus* olduğunu, Ellerman (1948) *M. m. praetextus*’un Türkiye’de yayılış gösterdiğini kaydetmişlerdir. Krystufek and Macholan (1998) morfolojik özelliklere dayanarak *M. macedonicus*’un İç Anadolu Bölgesi’nde yayılış gösterdiğini kaydetmişlerdir. Çolak vd. (2006) morfolojik verilere dayanarak Türkiye’de *M. domesticus* ile *M. macedonicus*’un yayılış gösterdiğini ortaya koymuşlardır ve iki türü ayırt edici morfolojik özellikleri tanımlamışlardır. Araştırmacıların sonuçlarında; zygomatik indeksi (ZI) *M. domesticus*’da 0.32-0.47, *M. macedonicus*’ta ise 0.60-0.85 olarak belirlenmiştir. Baş+Gövde/kuyruk (H+B/T) indeksi *M. domesticus*’da 0.87-1.05 iken *M. macedonicus*’ta 1.08-1.78 arasında değiştiği saptanmıştır. Diğer bir ayırt edici özellik olarak; pareital kemiklerin ventral kenarlarının *M. domesticus*’da zikzak, *M.*

*macedonicus*'ta ise düz ya da öne doğru girinti yapmış biçimde olduğu tespit edilmiştir. Bakulum ve phallus özellikleri ise *M. domesticus*'u *M. macedonicus*'tan ayırmamıştır.

Yukarıda özeti verilen çalışmalar morfolojik ve biyometrik metotlara dayanmaktadır. Bu çalışmaların yanında karyolojik çalışmalar yapılmış ve moleküler metotlar kullanılarak *Mus* cinsinin evrimi ve sistematigi üzerinde bir çok çalışma gerçekleştirilmiştir. Ivanitskaya *et al.* (1996) İsrail'de *M. macedonicus* ile kromozomal bir çalışma yapmışlardır. Araştırmacılar 2 tip X ve 2 tip Y kromozomu tespit etmişlerdir. 1. tip X kromozomunun ( parlak heterokromatin bloğuna sahip ve otozomal bloklar ile benzer boyutta olan) *M. m. domesticus*, *M. m. bactrianus*, *M. m. castaneus*, *M. caroli*, *M. spicilegus* ve *M. macedonicus* için karakteristik olduğu tespit edilmiştir. 2. tip X kromozomu ise ( küçük heterokromatin bloklara sahip ve daha koyu boyanmış ökromatik bölge) yaygın olarak *M. m. musculus*, *M. m. raddei* ve *M. m. sergii*'de bulunmuştur (Dev *et al.* 1975; Bulatova and Nadjafova 1991). Tanımlanan 2 tip Y kromozomu alt grup sınıflaması için kromozomal yapılar olarak hizmet eder. 1. tipin büyük Y kromozomu, 2. tipin ise küçük Y kromozomu olduğu saptanmıştır. Küçük Y kromozomlarına sahip grubun yabani türlerden oluştuğu ve *M. macedonicus*'un küçük Y kromozomuna sahip bir tür olduğu belirlenmiştir. Gündüz *et al.* (2000) İran ve Türkiye'deki *M. m. domesticus*, *M. m. castaneus* ve *M. macedonicus*'un D-loop sekansını karakterize etmişlerdir ve karyotipini tanımlamışlardır. Araştırmacılar *Mus musculus domesticus*, *Mus macedonicus* ve *Mus musculus castaneus* için standart karyotipi  $2n= 40$  olarak belirlemişlerdir. Sonuçlar *M. macedonicus* ve *M. m. castaneus*'un Türkiye ve İran' da  $2n= 40$  kromozom komplementine sahip olduğunu doğrulamıştır. *M. m. domesticus* için de yine yaygın olarak standart karyotip  $2n= 40$  bulunmuştur. Ancak bu sonuç araştırmacılara ilginç gelmiştir. Çünkü *M. m. domesticus* populasyonlarında Robertsonian füzyonu ile çok sayıda karyotipik ırklar karakterize edilmiştir ve azalan kromozom sayıları Batı Avrupa ve Kuzey Afrika'da tanımlanmıştır (Nachman and Searle 1995). D-loop haplotip çalışması sonucu *M. macedonicus*'un düşük nükleotid çeşitliliği olan monotipik bir tür olduğu saptanmıştır. Parsimoni filogenetik ağacında *M. macedonicus* haplotipleri *M. m. castaneus*'dan ayrı bir kladda toplanmıştır.

Gropp *et al.* (1969) tarafından Robertsonian (Rb) füzyonunun bulunuşu ile bu ırklar üzerinde allozim varyasyonu çalışılmaya başlanmıştır. Allozim analizi uygulaması, tür veya alttür seviyesinde Avrupa, Asya ve Kuzey Afrika'daki çeşitli *Mus* taksonlarının biyolojisinin açığa çıkarılmasına oldukça büyük katkıda bulunmaktadır. Allozim çalışmaları özellikle taksonomik statülerin ve filogenetik ilişkilerin tanımlanmasına ve ayırt edilmesine yardımcı olmaktadır ve bu taksonlar arasındaki hibrid zonları açığa çıkarmaktadır. Dahası kolonizasyon biçiminin anlaşılmasına ve oluşan popülasyon dinamiği, gen akışı ve *M. m. domesticus* Robertsonian ırkları arasındaki olası türleşme süreçlerinin anlaşılmasına katkıda bulunmaktadır (Tryfonopoulos *et al.* 2005). Tryfonopoulos *et al.* (2005) Yunanistan'da *M. domesticus*'un Rb ırklarında allozim polimorfizmlerini çalışmışlardır. Araştırmacılar 5 farklı karyotipe sahip bireyler rapor etmişlerdir:  $2n= 24, 29, 30, 31, 32$ . Yeni bir nadir allel olan "C" alleli Amilaz (amy-2) lokusunda tespit edilmiş ve yalnızca  $2n= 30$  karyotipli 2 bireyde ve  $2n= 24$  karyotipli bir bireyde bulunmuştur.

Moleküler düzeydeki allozim çalışmalarında; Bonhomme *et al.* (1983) Avrupa'daki *M. m. domesticus* için Karbonik anhidraz enziminin ayırt edici lokus olduğunu, Thaler *et al.* (1981) ve Mezhzerin *et al.* (1998) Avrupa'daki *M. domesticus* ve Kafkasya'da bulunan *M. musculus* için izositrat dehidrojenaz (*Idh-1*) lokusunun ayırt edici özelliğini saptamışlardır. Türkiye'de ise Gözcelioğlu (2002) Ankara-Bolu-Zonguldak hattında yayılış gösteren *M. domesticus* ve *M. macedonicus*'un *Idh-1* lokusuna göre ayrıldığını kaydetmiştir. Munclinger *et al.* (2002) Çek Cumhuriyeti ve Slovakya'da Esteraz enzimi, *Est-2* lokusunun *M. domesticus* için ayırt edici olduğunu, ayrıca Nükleozit fosforilaz enzim sisteminde *M. domesticus*'ta bir tane hızlı allelin (*Np100*) ve *M. musculus*'ta daha yavaş olan iki allelin (*Np70* ve *Np90*) olduğunu tespit etmişlerdir.

Mishra *et al.* (2002) daha ileri moleküler teknik olan RAPD (Randomly amplified polymorphic DNA) analizi tekniği ile yabani Hindistan fareleri *M. musculus* ve *M. domesticus*'un inbred örnekleri ile laboratuvar inbred örneklerinin filogenetik akrabalıklarını ve genetik polimorfizmlerini çalışmışlardır. Araştırmacılar laboratuvar ırklarıyla yabani türlerin farklılaşmış olduklarını tespit etmişlerdir.

Gündüz *et al.* (2005) *M. m. domesticus*'un kolonizasyon tarihi hakkında yeni bir bakış açısı sağlamak için Türkiye'de farklı bölgelerdeki *M. m. domesticus* D-loop haplotipleri arasındaki ilişkileri incelemişlerdir. Çalışma sonucunda Türkiye'de 51 tane *M. m. domesticus* haplotipi elde edilmiştir. Neighbour joining filogenetik ağacında çok sayıda Türk haplotiplerinin bulunduğu kladı "Main Turkish Clade- Ana Türk Kladı" olarak adlandırmışlardır. Araştırmacılar "Ana Türk Kladı"nın batı yönündeki kolonizasyonları için Türkiye'nin kaynak alan olduğu sonucuna varmışlardır.

Yapılan literatür araştırmaları Türkiye'de *Mus* cinsine ait *M. domesticus* ve *M. macedonicus* türlerinin yayılış gösterdiğini ortaya koymaktadır. Ancak bu cins üzerinde yapılan allozim çalışmaları yetersizdir. Bu çalışmanın amacı Trakya ve Batı Karadeniz'de yayılış gösteren *M. domesticus* ve *M. macedonicus* türleri ve bu türlerin farklı popülasyonları arasındaki genetik farklılaşmayı allozim analizi ile ortaya koymaktır.

## **2. KURAMSAL TEMELLER**

**Regnum:** Animalia

**Classis:** Mammalia

**Subclassis:** Eutheria

### **2.1 Ordo: Rodentia**

Rodentia ordosu 29 familya, 400'ü aşkın cins ve 2800'ün üzerinde türüyle memeli sınıfının en büyük takımıdır (Ognev 1947, Wilson and Reeder 1993). Antartika, Kutuplar, Yeni Zelanda ve birkaç okyanus takımadası dışında tüm karalara yayılmış olarak bulunurlar. Bu hayvanlar kara, ağaç, toprak altı ve yarı sucul olarak çok farklı habitatlarda yayılış gösterirler. Diğer takımlardan kolayca ayrılabilen kemiricilerin kendi içlerinde filogenetik durumları birçok yönden net değildir. Çiğneme kasları ve kafa yapıları kemiricileri sınıflandırmak için önemli kriterlerdir. Her bir grup kafatası yapısı ve çenenin kafatası ile yapmış olduğu bağlantıyla birbirinden ayrılır.

Çok iyi koşar, sıçrar, tırmanır ve yüzerler. Bir çoğunda üst dudağın yarık olması ağız tavanının gelişmesinin erken evrede durması sonucu ortaya çıkmış eksik bir yapıdır. Bu yapı kemirme olayında çok gerekli ve kullanışlıdır. Her çeşit koşulda yaşayan ve yeni koşullara en kısa sürede uyum sağlayan hayvanlardır ( Kuru 1999).

Rodentia takımını diğerlerinden ayıran en önemli diagnostik karakter köpek dişleri ve ön azı dişlerinin kaybolması ile oluşan diastema boşluğudur. Diastema boşluğu üst kesici dişlerle azı dişler arasında bulunur ve besinleri toplamak için kullanılır. Her iki çenenin önünde, tüm kemiricilerin ortak özelliği olan ikişer adet kesici diş bulunur. Bu dişler köksüzdür ve sürekli büyürler. Kesici dişlerin kırılması halinde yerlerine yenileri oluşmaz ve karşılarındakiler sürekli büyüyerek hayvanın ölümüne neden olur (Ognev 1947).



Bazı türlerde besinin toplanmasına yarayan yanak keseleri vardır. Mideleri basit, körbağırsakları uzundur. Kuyrukları çoğunlukla uzun, bazı türlerde pullarla örtülüdür. Toprak altında tüneller kazarak yaşayan türlerde tırnaklar iyi gelişmiştir. Gözler yaşam biçimine bağlı olarak farklı büyüklükte olabilir. Toprak altında yaşayanlarda gözler küçülmüş hatta bazı türlerde körelerek deri altında kalmıştır. Gececi olanlarda ise oldukça büyüktür. Gözler başın yan taraflarında yer aldıklarından hem önü hem de arkayı aynı anda görebilirler. Suda yaşayanlarda gözler başın üst kısmındadır. Kulaklar da yaşam biçimine göre değişik şekiller gösterir. Örneğin, toprak altında ve suda yaşayanlarda oldukça küçülmüştür. Kemiriciler genellikle herbivor ya da omnivordurlar. Üreme kapasiteleri çok yüksektir. Gebelik süreleri 16–170 gün arasında değişir. Çoğunlukla yılda birkaç defa doğururlar ve her doğumda 1-18 yavru yaparlar (Kuru 1999).

Kemiriciler insanların besinlerine, kağıttan, tahtadan, deriden veya kumaştan yapılmış malzemelere ve eşyalara keskin dişleriyle kemirerek zarar vermeleri ve bazı hastalıkları bulaştırmaları açısından çok önemlidirler (Buckie and Smith 1994, Nowak 1999).

## **2.2 Familya: Muridae (Fareler ve Sıçanlar)**

Muridae familyası günümüzde tanımlanan 301 cins ve 1336 türü ile memeliler ve dolayısıyla kemiriciler içindeki en geniş familyadır. Kutup bölgeleri, Batı Hindistan'ın bazı bölgeleri, Yeni Zelanda ve bazı Okyanus adaları dışında dünyanın tüm bölgelerinde çok geniş bir yayılışa sahiptirler. Familyanın orijinal olarak bulunmadığı birçok bölgede bile bu familyaya dahil türler insanlar aracılığıyla bu bölgelere ulaşarak buralarda da yaşamlarını sürdürebilmişlerdir.

Kılları kısa, yumuşak ya da kalın ve serttir. Kuyrukları genellikle vücuttan daha uzun, çıplak ve üzeri pullarla örtülüdür. Kulakları genellikle uzundur. En dar yerlerden geçerler. Muridler çok farklı habitatlarda yaşayabilirler. Toprak üzerinde, ağaçlarda ya da toprak altında yaşayan türleri vardır. Tünellerde ya da çatlaklarda, kütük ya da benzeri uygun nesnelerin altında, uygun ağaç gövdelerinde ya da kovuklarında ve

çalılarda, toprakta ya da ağaçlarda yaptıkları yuvalarda barınırlar. Muridler gündüz ya da gececil davranışlar gösterirler ve genellikle tüm yıl boyunca aktiftirler (Kuru 1999).

Muridae familyasının bazı üyeleri toplu halde yaşarlar ve yüksek derecede sosyalleşebilmişlerdir. Bunun yanında diğerleri yalnız ya da çiftler halinde yaşamaya eğilimlidirler. Yılın sıcak geçen dönemlerinde çiftleşirler. Dişiler bir yıl içinde genellikle çok sayıda yavrularlar. Diğer kemiricilerden farklı olarak kulak kepçeleri daha büyük, ağız-burun kısımları daha sivri ve gözleri daha büyüktür. Diş formülü  $1.0.0.2-3/1.0.0.2-3=12-16$ 'dır (Demirsoy 1998).

İnsanlar için tehlikeli birçok hastalık bu familyadaki kemiricilerden insanlara taşınabilir. Familyanın bazı türleri ekinlere, genç ağaçlara ve insanların depoladıkları besinlere zarar verirler (Buckie and Smith 1994, Nowak 1999).

### **2.3 Genus: *Mus* Linnaeus, 1758**

Bu küçük kemiricilerin baş-beden uzunlukları genellikle 100 mm'nin altındadır. Kürkleri yumuşak, sert veya yer yer dikenimsi yapıda olabilir. Kafatası narin ve oldukça düzdür. Rostrum genellikle kısadır. Timpanik bullalar genişlememiştir. Üst kesici dişlerde alt kesici dişlerin hareketinden kaynaklanan, posterior marjine doğru uzanan karakteristik bir subapikal çentik vardır. Diş formülü:  $i: 1/1 \text{ c: } 0/0 \text{ pm } 0/0 \text{ m } 3/3 =16$ 'dır (Harrison and Bates 1991).

Asıl vatanı oriental bölge olan *Mus* cinsi insanlar tarafından tüm dünyaya taşınmıştır. Günümüzde *Mus* cinsine ait türler 4 alt cins altında toplanmaktadır. *Coelomys* alt cinsi Sumatra, Sri Lanka, Güneydoğu Asya ve Jawa'da 5 tür, *Mus* alt cinsi Avrupa ve Asya'da 9 tür, *Nanomys* alt cinsi Afrika'da 19 tür ve *Pyromys* alt cinsi Güney ve Güneydoğu Asya'da 5 tür ile temsil edilir (Wilson and Reeder 1993).

Son zamanlara kadar Avrupa *Mus*'ları tek bir tür, *Mus musculus*'un alttürleri olarak kabul ediliyordu (Schwarz and Schwarz 1943). Bir çok araştırmacıya göre *Mus*, çeşitli

alışmalarla birbirinden ayrılmış ve aralarında üreme izolasyonu olan *M. spretus*, *M. macedonicus*, *M. spicilegus*, *M. musculus* ve *M. domesticus* türlerini kapsamaktadır. Biyokimyasal ve karyolojik alışmalar Akdeniz bölgesinde 3 farklı türün yayılış gösterdiğini ortaya koymuştur; *M. spretus*, *M. macedonicus* ve *M. spicilegus* ( Britton and Thaler 1978, Marshall 1981, 1986, Sage 1981, Orsini 1982, Bonhomme *et al.* 1983, Macholan and Zima 1994).

Hem morfometrik hem de biyokimyasal analizlerin sonuçları İsrail’de 2 *Mus* türünün varlığını ispat etmiştir; *M. m. domesticus*, kommensal olan türü ve *M. spretoides* yabani türüdür, Akdeniz iklimi zonunda yaşarlar (Aufray *et al.* 1990). İsim “spretoides” iken, Harrison ve Bates (1991) Kuzey İsrail *M. spretoides* formunu *M. macedonicus* olarak adlandırdılar. Bu tür kısa bir kuyruk ve geniş ön kısmımlı molar yapılara sahiptir.

Zararlı olarak kabul edilen *Mus* türü *Mus musculus*’tur ve 3 alt türe sahiptir; *M. m. domesticus*, *M. m. bactrianus* ve *M. m. castaneus* ( *domesticus* ve *castaneus* bazı yerlerde tür olarak da kabul edilmektedir) (Nowak 1999).

### **2.3.1 Species: *Mus macedonicus* Petrov & Ruzic, 1982**

Ev farelerinin yabani türüdür. Yunanistan, Bulgaristan, Trakya, Ege Adaları, Anadolu, İsrail, Suriye, Kuzeybatı İran, Hazar Denizi’nin güney kıyılarında dağılım gösterir (Özkan 1995).

*Mus macedonicus* ekilmiş ve çalılık alanların hududunda, caddelerin ve evlerin yakınlarında yaşar. Türkiye’de yayılış göstermektedir. olak vd. (2002) *Mus macedonicus* türlerini Türkiye’deki çeşitli lokalitelerde kaydetmiştir. Bu türün sırt renklenmesi koyu kahverengiden hafif sarımsı ile soluk parlak kahverengiye değışir, karında daha parlak olur. Kürk böğürlere doğru daha parlaklaşır. Böğürler arasındaki hudut çizgisi bellidir. Karın beyazımsı gri, lekesiz beyaz, sarımsı beyaz ve kırmızımsı beyaz olabilir. Kulaklar içten ve dıştan ufacık beyaz seyrek kıllarla kaplıdır. Kuyruğun dorsal yüzeyi koyu kahverengi iken ventral yüzeyi kısmen parlak renktedir. Pençeler

çıplaktır ve kahverengidir. Arka ve ön ayaklar dorsal olarak beyaz kıllarla kaplıdır (Yiğit vd. 2006) (Şekil 2.1).



Şekil 2.1 *Mus macedonicus*  
(Yiğit vd. 2006)

### 2.3.2 Species: *Mus domesticus* Schwarz & Schwarz, 1943

*Mus domesticus* türleri Akadeniz ve Orta Avrupa’da dağılım gösterir (Özkan 1995). Evlerde, bahçelerde, ekili ve çalılık alanlarda bulunurlar. Tüm Türkiye’de yayılış göstermektedirler. Batı faresi olarak da bilinen bu tür kommensal yaşar ve tüm yıl evlerde ve depolarda bulunur. Daha koyu gri renkli sırt kısımları biraz daha açık renkli karın kısımlarına tedrici bir şekilde geçiş gösterirler. Kuyrukları oldukça kalındır. En tipik özellikleri küf kokusuna sahip olmalarıdır ( Demirsoy 1998) (Şekil 2.2).

Böğürler boyunca olan hudut çizgisi belli belirsizdir. Karın siyahımsı gri, kırmızımsı, gri ve kırmızımsı gri renklerinde olabilir. Kulaklar içten ve dıştan ufacık koyu kahverengi seyrek kıllarla örtülüdür. Kuyruğun dorsal kısmı koyu renklidir ve ventral kısmı parlak renktedir. Pençeler çıplaktır ve koyu veya koyu kahverengi renktedir. Arka ve ön ayaklar dorsal olarak koyu renk kıllarla örtülmüştür (Yiğit vd. 2006).



Şekil 2.2 *Mus domesticus*  
<http://www.kixpestcontrol.co.uk/Mice%20p2.jpg>

### 2.3.3 Species: *Mus musculus* Linnaeus, 1758

*Mus domesticus* türüne göre daha kahverengi, bazen kum renginden kırmızımsı kahverengiye kadar değişir; karın kısmı daha açık renklidir. Yanlarındaki sırt-karın renk farkı belirgin olarak görülür. Kuyruk, baş+gövdeden daha kısadır. İnsanlarla birlikte dünyanın her yerine yayılmışlardır. Doğu faresi olarak da bilinen bu tür geçici kommensaldir; yazın doğada serbest yaşar, kışın binalara girer. Sıcak olan güney sahillerimizde tüm yıl doğada kalabilir (Demirsoy 1998) (Şekil 2.3).



Şekil 2.3 *Mus musculus*

<http://cms.jcu.edu.au/idc/groups/public/documents/presentation/jcudev008407~3.3.jpg>

Omnivor olarak beslenirler, tahılları çok sever. Çok iyi koşar, tırmanır, sıçrar ve yüzebilir. Koku alma ve işitme duyuları çok iyi gelişmiştir. İki-üç ayda hatta daha erken eşeyssel olgunluğa erişir. Gebelik süresi 20-21 gün olup 6-13 yavru doğurur. İnsanların besinlerine aşırı ölçüde zarar verirler ( Kuru 1999).

#### 2.3.4 Species: *Mus spretus* Lataste,1883

Cezayir faresi (Algerian Mouse) olarak da bilinmektedir. En iyi bilinen Batı Akdeniz kısa kuyruklu faresidir. Cezayir, Fransa, Libya, Portekiz, İspanya ve Tunus'ta bulunmaktadır. Doğal yaşam ortamları ılıman otlaklar, tarım alanları ve köy-çiftlik bahçeleridir ([http://en.wikipedia.org/wiki/Mus\\_spretus](http://en.wikipedia.org/wiki/Mus_spretus)).

İki renkli kuyruk kısa, sırt sarımsı kahverengi, karın kurşuni veya beyaz renkte, ayaklar beyaz ve ayakların üst tarafı sarımsı kahverengidir. Kommensal bir türdür (Özkan 1995) (Şekil 2.4).



Şekil 2.4 *Mus spretus*

(<http://www.iec.es/institucio/societats/icHistoriaNatural/Bages/planes/Imatges/20grans/ratoli.jpg>)

#### 2.3.5 Species: *Mus spicilegus* Petényi, 1882

Bozkır faresi (Mound-building Mouse veya Steppe Mouse) olarak da bilinir. Avusturya, Bosna, Hırvatistan, Bulgaristan, Çek Cumhuriyeti, Macaristan, Makedonya, Romanya, Slovakya ve Ukrayna’da bulunmaktadır ([http://en.wikipedia.org/wiki/Mus\\_spretus](http://en.wikipedia.org/wiki/Mus_spretus)).

İki renkli kuyruk kısa, sırt açık sarımsı, kahverengi, karın beyazımsı ve renk sınırı bellidir. Yabanidir. Tahıl depolar. Karadeniz’in kuzeyinde ve Kafkaslar’da dağılım göstermektedir (Özkan 1995) (Şekil 2.5).





Şekil 2.5 *Mus spicilegus*  
([http://www-leec.univ-paris13.fr/album/banque/Mus\\_spicilegus.gif](http://www-leec.univ-paris13.fr/album/banque/Mus_spicilegus.gif))

## 2.4 Elektroforez  alışmaları

Elektroforez temelde proteinlerin, amino asitlerin, nükleotid ve nükleik asitlerin elektrik akımı ve uygun pH'daki tampon solüsyonlarında net elektrik yüküne, molekül büyüklüklerine ve şekillerine göre ayrıştırılması işlemine denir (Shaw and Prasad 1970). Özetle elektroforez, molekülleri birbirinden ayırmada kullanılan bir tekniktir. Protein çalışmalarında kullanılan ilk elektroforez yöntemi Tiselius tarafından 1937'de tanımlanan serbest solüsyon elektroforezi, frontal elektroforez veya “moving boundary” elektroforezidir. Bu teknik hala elektroforetik mobilite ve protein-protein etkileşimi ile ilgili araştırmalarda kullanılmaktadır ([www.duzen.com.tr/workshop/2006/cagatay.pdf](http://www.duzen.com.tr/workshop/2006/cagatay.pdf)).

Elektroforez tekniğinin kullanım alanları; saflaştırma, saflık kontrolü, molekül ağırlığı saptama, kalıtsal veya kalıtsal olmayan hastalık saptama, enzim izozimlerinin saptanması (tanısal amaçlı, populasyon çalışması için, adli tıpta), immünolojik ve moleküler biyolojidir. Özellikle, jel elektroforezi populasyonlardaki genetik varyasyon miktarını hesaplamak için yaygın olarak kullanılmaktadır. Elektroforez ile canlılarda bireysel veya populasyon düzeyinde  esitli enzimler ve proteinler  alışlabilmektedir. Bu çalışmalarda, enzimlerin kaç değişik lokustan oluştuğu, bu lokuslarda olan alel



sayıları ve en önemlisi populasyon düzeyinde alel frekansları ve genetik heterozigotluk ve bireysel olarak enzim fenotipleri de ortaya çıkarılmaktadır (Özkan 2005).

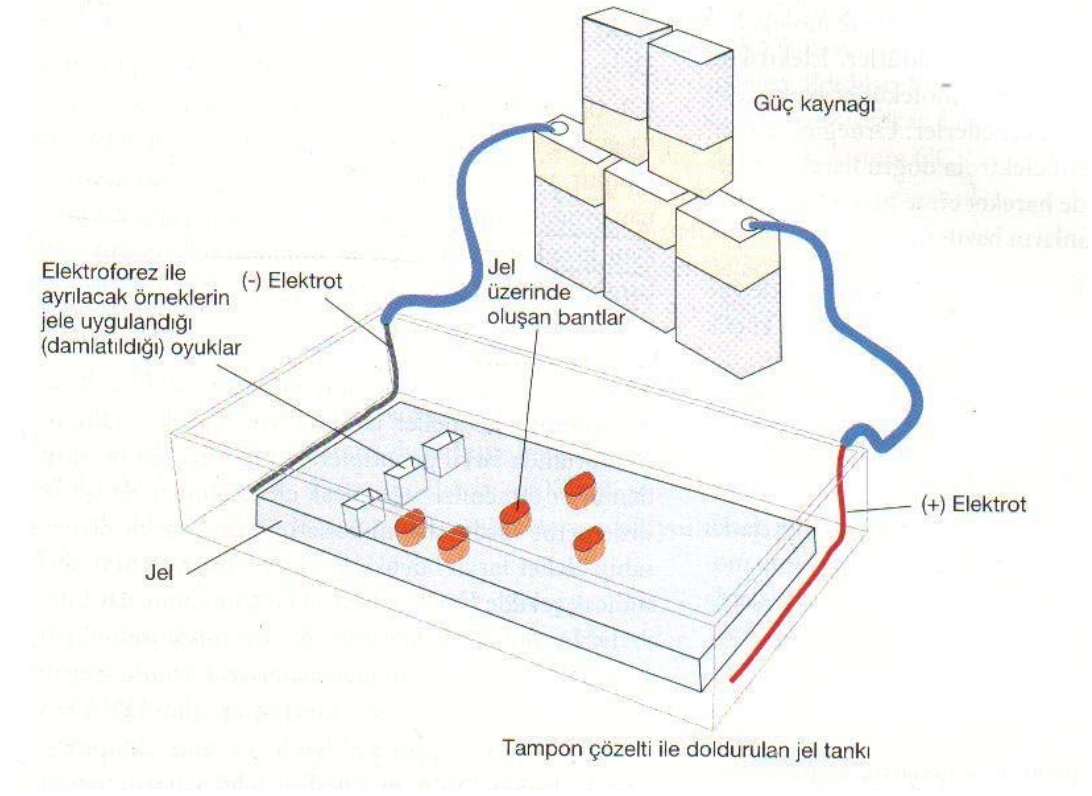
Elektroforez tekniği 5 basamak içermektedir (Pasteur *et al.* 1988);

- a) Protein ekstraktlarının hazırlanması
- b) Jellerin hazırlanması
- c) Ekstraktların jele yüklenmesi ve güç kaynağına bağlanması
- d) Çalışılan proteinlerin boyanması
- e) Jellerin yorumlanması ve içerdikleri verilerin depolanması.

Temel bir elektroforez seti Şekil 2.6'da görüldüğü gibidir. Jelin kendisi nişasta, agar veya poliakrilamid gibi bileşenlerin birinden yapılmış olan jelatin benzeri gözenekli bir levhadır. Ayrıştırılacak molekülü jele yükledikten sonra ıslak kalmasını ve elektrik akımını iletmesini sağlamak için, jel bir tampon çözelti içerisine yerleştirilir. Elektrotlara bağlanmış olan bir güç kaynağı jel ortamında bir elektriksel alanın oluşmasını sağlar. Proteinler ve DNA dahil, çoğu biyolojik moleküller çözeltilerde elektriksel olarak yüklüdürler. Bir molükülün jelde hareket etme hızı bir takım etkenlerle belirlenir;

- a) Molekülün elektrik yükünün, molekülün kütlesine olan oranı. Elektriksel yükü yüksek, kütlesi küçük olan moleküller daha hızlı hareket ederler.
- b) Molekülün fiziksel büyüklüğü. Küçük moleküller jeldeki gözeneklerden daha kolaylıkla geçerler ve dolayısıyla daha hızlı hareket ederler (Freeman and Herron 2001).

Çok çeşitli elektroforez türü olmasına karşın amaç hepsinde aynıdır. Bunlardan bir kaçısı agaroz jel, poliakrilamid jel, nişasta jel ve selüloz asetat jel elektroforezidir.



Şekil 2.6 Temel bir elektroforez seti  
(Freeman and Herron 2001)

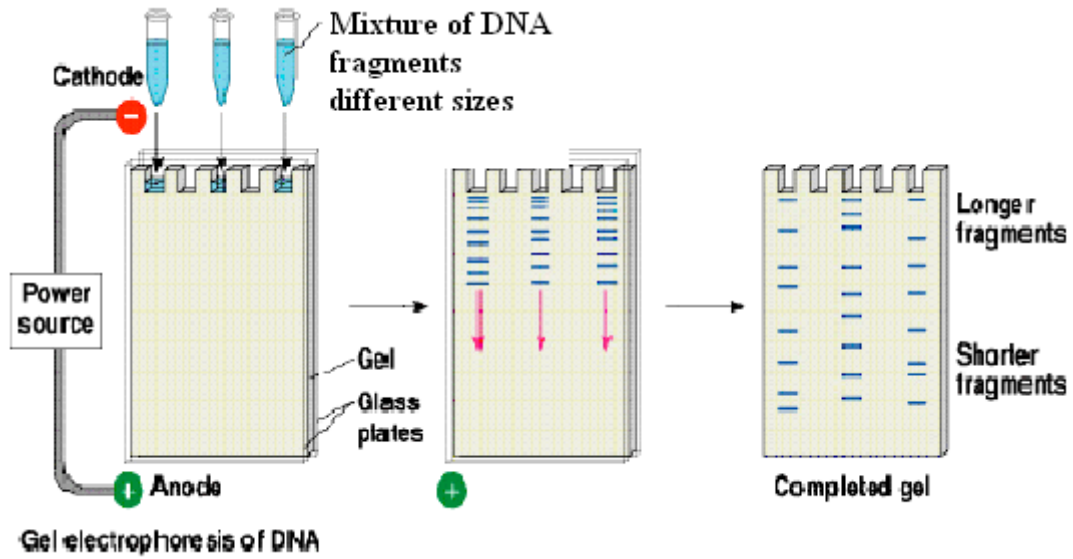
#### 2.4.1 Agaroj jel elektroforezi

Agaroz deniz yosunlarından elde edilen, bir şeker molekölü zinciridir. Üreticiler bilimsel araştırmalar için özel formlar yaparlar ve oldukça pahalıdır. Poliakrilamid jeldeki küçük por boyutları büyük DNA molekölü parçalarının ayrımı için uygun değildir. Bu yüzden, 200-50.000 baz çifti boyutları arasındaki DNA ve RNA moleküllerini tanımlamakta kullanılan standart yöntem destek ortam olarak agarozun kullanıldığı elektroforezdir (<http://w3.balikesir.edu.tr/~ozkan/kolloid/kolloid08.pps>).

Çeşitli amaçlar için izole edilen DNA ve RNA'ların tanımlanabilmesi, temizliğin kontrolü, hangi formda olduğunun belirlenebilmesi, büyüklüğünün saptanabilmesi ve özellikle genetik mühendisliği teknikleri ile DNA yapısında oluşturulan değişikliklerden sonra elde edilen yeni formların incelenmesi yönünden, agaroz jel elektroforez tekniği,

moleküler genetik alanında önemli bir deneysel sistem oluşturmaktadır. (<http://yunus.hacettepe.edu.tr/~roner/denbi.htm>).

Agaroz jeldeki örnekler genellikle yatay pozisyonda, sabit güç ve yöndeki elektriksel alanda yürütülmektedir. Örnekler, jel içinde oluşturulan kuyucuklar içerisine uygulanır. Jel daha sonra içine elektrodlar yerleştirilmiş ayırıcı tampon tankına daldırılır. Elektrotlar arasında akım oluşturan bir voltaj uygulanır (Şekil 2.7) ([www.duzen.com.tr/workshop/2006/cagatay.pdf](http://www.duzen.com.tr/workshop/2006/cagatay.pdf)).



Şekil 2.7 Agaroz jel elektroforezi

<http://tip.cumhuriyet.edu.tr/cutf/Donem1/DonemI20052006/2006III/OzturkOzdemir/PCR.ppt#38>

Agaroz jelde DNA'nın hareket hızını etkileyen bir takım etmenler vardır;

DNA'nın molekül büyüklüğü, molekülün jeldeki hızını etkiler. Çift zincirli doğrusal DNA moleküllerinin jeldeki hızı, baz çifti sayısının logaritması ile ters orantılıdır. Büyük moleküller sürtünmenin fazla olması ve jeldeki porlar arasında daha zor yol bularak ilerlemelerinden ötürü, daha yavaş hareket ederler. Agaroz konsantrasyonu bir diğer etmendir. Belirli büyüklükteki doğrusal bir DNA molekülü, farklı agaroz konsantrasyonlarındaki jellerde farklı hızla ilerler. DNA'nın konformasyonu jeldeki

ilerleme hızını etkiler. Aynı molekül ağırlığında süper kıvrımlı çembersel, tek zincir kırığı içeren çembersel ve doğrusal DNA molekülleri, agaroz jellerde farklı hızlarda ilerler. Uygulanan voltaj düşük olduğunda doğrusal DNA parçalarının hareket hızları, uygulanan voltajla doğru orantılıdır. Voltajın artmasıyla agaroz jeldeki etkili ayırım aralığı azalır. Elektroforez tamponunun bileşimi ve iyonik gücü DNA molekülünün jeldeki hareketi üzerinde oldukça etkilidir. İyonların yokluğunda elektriksel iletkenlik minimum düzeydedir ve DNA'nın hareketi çok yavaştır. Çok yüksek güçteki tamponun kullanılması halinde ise, elektriksel iletim çok fazladır ve çok fazla ısı açığa çıkar. Bu durum jelin erimesine ve DNA'nın denatüre olmasına neden olur (<http://yunus.hacettepe.edu.tr/~roner/denbi.htm>).

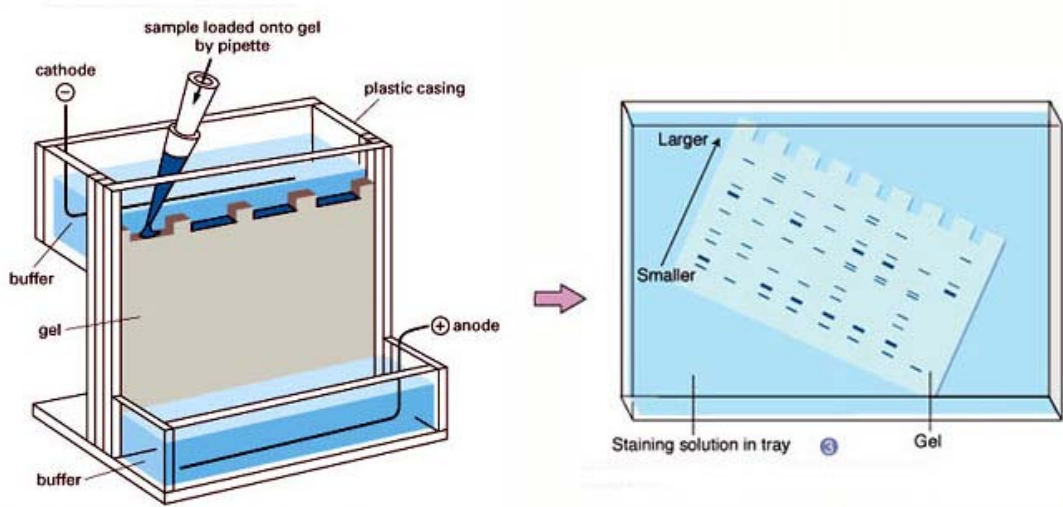
#### **2.4.2 Poliakrilamid jel elektroforezi (PAGE)**

En yaygın kullanılan elektroforez tipidir. Poliakrilamid jeller akrilamid ve çapraz bağlayıcı N-N'-metilen bisakrilamidin serbest radikal polimerizasyonu ile hazırlanır. Polimerleşme reaksiyonunda akrilamid molekülleri yan yana bağlanarak düz zincirler oluştururlar. Bisakrilamid molekülleri ise iki akrilamid zinciri arasında çapraz bağlanmalar oluştururlar. Böylece ağımsı bir yapı meydana gelir. Kimyasal polimerizasyon oluşumuna sebep olan amonyum per sülfat (APS) ve N,N,N',N'-tetrametil-etilendiamin (TEMED)'dir. APS reaksiyon başlatıcı, TEMED ise katalizör olarak rol oynar (<http://w3.balikesir.edu.tr/~ozkan/kolloid/kolloid08.pps>).

Poliakrilamid jel en yaygın olarak iki cam tabakası (slab) arasında hazırlanır. Slab jel az madde harcanması, pratik oluşu ve örneklerin yan yana karşılaştırılması açısından ince uzun tüplerden daha avantajlıdır. Cam tabakaların iki yanına ve alt kısmına istenilen jel kalınlığına göre birer “spacer” yerleştirilir ve kısaç yardımıyla sıkıştırılır. “Spacer” ve cam tabakalar arasındaki jelin sızıntı yapmaması için boşluklar agaroz çözeltisi ile izole edilir. Kuruduktan sonra, herhangi bir sızıntının olup olmadığı su ile kontrol edilir. Ardından jel karışım hazırlanarak cam pipet veya enjektör yardımıyla hava kabarcığı oluşturmadan camlar arasına dökülür. Örneklerin yükleneceği kuyucukların oluşması için jelin tepesine plastik tarak konulur. Oda koşullarında jelin katılaşması beklenir (30-40 dk). Ardından tarak çıkartılır ve jelin üstü elektrot tamponu ile yıkanarak temizlenir.

Örnekler izleme boyası ile birlikte kuyucuklara yüklenir. Sistem hazırlanırken pH ve miktarı farklı olan iki adet jel hazırlanır. Bunlardan biri Stacking jel (yığılma jeli) diğeri ise Resolving jel (ayırıcı jel)' dir. Stacking jel, büyük porlu üstteki poliakrilamid jeldir. Örnekler bu jele uygulanır. Resolving jel ise örneklerin yürütüldüğü daha küçük porlu poliakrilamid jeldir. Stacking jelin altında bulunur.

PAGE, serum proteinlerinin, proteinlerin genetik varyasyonlarının ve izozimlerin analizinde en iyi sonuç veren elektroforez ortamıdır (Şekil 2.8). En önemli avantajı jel konsantrasyonunun kesin olarak belirlenip değiştirilebilmesi ve böylece gözenek büyüklüğünün istenen şekilde saptanmasına olanak vermesidir. Jel konsantrasyonu artırıldığında gözenek çapları küçülür ve jel moleküler elek görevi yaparak ayrıştırmayı sağlar. Bu avantajının yanında yöntemin bir dezavantajı vardır. Kullanılan akrilamid molekülü kanser oluşturma tehlikesi olan bir maddedir; bu nedenle çok dikkatli ve eldivenle çalışılmalıdır ([www.duzen.com.tr/workshop/2006/cagatay.pdf](http://www.duzen.com.tr/workshop/2006/cagatay.pdf)).



Şekil 2.8 Native-PAGE jel elektroforezi  
(<http://porpax.bio.miami.edu/~cmallery/255/255tech/ecb.gels.jpg>)

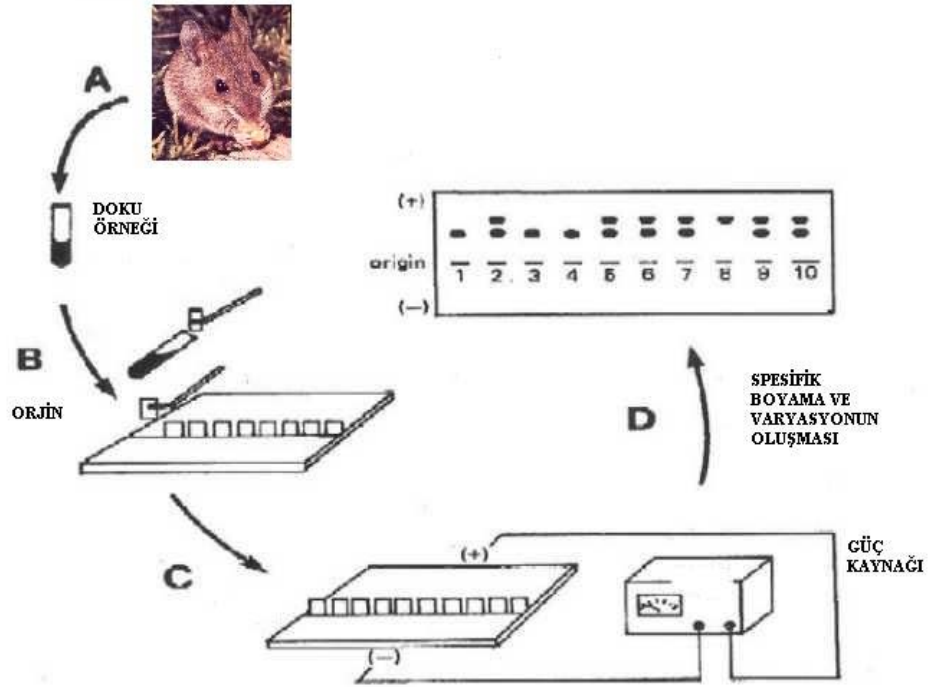
Poliakrilamid jel bileşimine göre Native (doğal) jel elektroforezi ve SDS (sodyum dodesil sülfat) jel elektroforezi olmak üzere ikiye ayrılır. Native-PAGE proteinlerin doğal yapılarını bozucu ajanlar kullanılmadan yapılan yöntemdir. Safılık derecesinin

tayini için kullanılır. SDS-PAGE ise protein moleküllerinin alt birimlerini birbirinden ayıran yani proteinlerin doğal yapısını bozan anyonik deterjan sodyum dodesil sülfat (SDS) içerir. SDS (-) yük taşıdığından peptidlere de yüksek oranda negatif yük kazandırır. Böylece karışımdaki tüm proteinler elektrik yükü açısından eşit durumda olurlar. Bu yöntem proteinlerin saflığının kontrolü, molekül ağırlıklarının saptanması ve konsantrasyon çeşitliliğinin belirlenmesi amacıyla kullanılmaktadır (<http://yunus.hacettepe.edu.tr/~roner/denbi.htm>).

### **2.4.3 Nişasta jel elektroforezi**

Nişasta jel elektroforezi hem yüzey yükü hem de molekül büyüklüğüne bağlı olarak ayrılan makromoleküler iyonların özelliklerinin anlaşılmasına izin verir. Doğal nişasta jelleşmediğinden kısmen hidrolize nişasta kullanılır. Agaroz jelde olduğu gibi nişasta jelde de elektroforez horizontal (yatay) olarak yapılır ([www.duzen.com.tr/workshop/2006/cagatay.pdf](http://www.duzen.com.tr/workshop/2006/cagatay.pdf)).

Jel uygun jel tamponu ile hazırlandıktan sonra havası alınır, 30-40 dk soğuması beklenir. Örnekler jelde yarıklar oluşturularak bir kağıda emdirilerek uygulanır. Allozim varyasyonu çalışmalarında yaygın olarak kullanılan bir metottur (Şekil 2.9).



Şekil 2.9 Nişasta jel elektroforez tekniği  
([http://www.meco.unifi.it/fig\\_n.jpg](http://www.meco.unifi.it/fig_n.jpg))

Tercih edilmesinde bir takım avantajları rol oynamaktadır. Nişasta jel kullanımı oldukça kolaydır. Her bir jel birkaç dilime bölünebilir ve farklı enzim sistemleri çalışılabilir. Böylece zaman ve enerji tasarrufu sağlanır. Yöntemin kullanımı kompleks hiçbir aparat içermez. Gerekli tüm malzemeler laboratuarda bulunabilir. Diğer bir önemli avantajı poliakrilamid jel kadar iyi sonuç vermesi ve non-toksik olmasıdır (Pasteur *et al.* 1988).

#### 2.4.4 Selüloz asetat jel elektroforezi

Selülozdaki hidroksil grupları asetik anhidritle etkileştiğinde selüloz, selüloz asetat membranlarının hammaddesine dönüşmek üzere asetillenir. Selüloz asetat fiberler halinde ağsı bir yapı oluşturur. Gözenek büyüklüğü selülozun asetilasyon miktarıyla belirlenir. Serum örnekleri önceden tamponla ısıtılmış selüloz asetat plaklarına bir aplikatörle uygulanır. Selüloz asetat plaklarının avantajı aktivite boyaması için uygun olması, ucuz olması ve hazır bulunabilmesidir. Ancak standardizasyonunun iyi

olmaması dezavantajdır. Aynı firma tarafından üretilen aynı parti içinde bile farklılıklar görülebilir ([www.duzen.com.tr/workshop/2006/cagatay.pdf](http://www.duzen.com.tr/workshop/2006/cagatay.pdf)).

## 2.5 Allozim ve İzozim Çalışmaları

İzozim bir enzimin farklı genetik lokuslarca ifade edilen farklı fenotipik formlarını ifade eder. Allozim ise izozimlerin aynı lokustaki farklı alleller tarafından ifade edilenlerine verilen isimdir; yani aynı lokustaki alleller tarafından kodlanan bir enzimin farklı versiyonlarıdır. Elektroforez tekniğinin ortaya çıkarılması ile proteinlerin elektroforetik ayrımı sonucu, protein ürünlerinin histokimyasal olarak tespiti sağlanmıştır. Son yıllarda farklı moleküler markerların kullanımı ile DNA düzeyinde çalışmalar ön plana çıksa da genetik alanındaki popülasyon çalışmalarında allozimler sıklıkla kullanılmaktadır. Allozim lokuslarında düşük sayıda allel olması ve allozim çalışmalarında taze veya donmuş örneğe ihtiyaç duyulması allozimlerin kullanılmasında dezavantaj gibi görünse de özellikle popülasyonlardaki genetik varyasyon araştırmalarında allozimler son derece önemlidir.

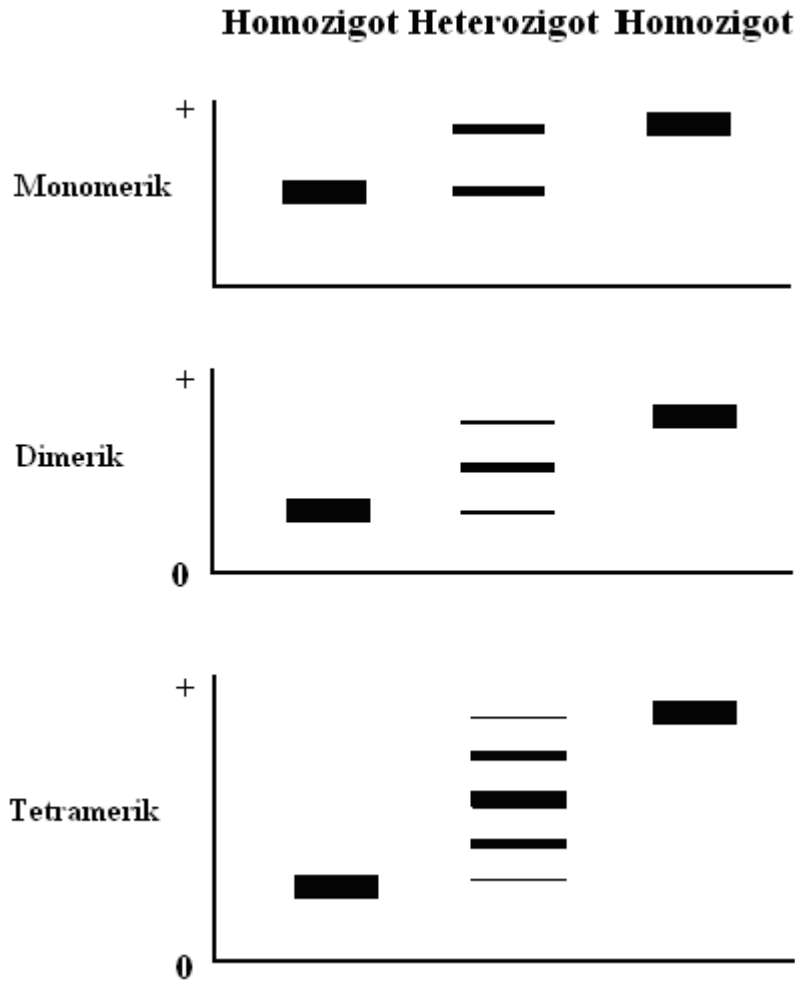
Allozimlerin kolay, güvenilir bir biçimde ve ucuz olarak ortaya çıkarılmasının yanında bu markerı önemli kılan diğer neden, çok fazla organizmada allozim verilerinin bulunmasıdır. Çoğu hayvanlar olmak üzere yaklaşık 100 kadar enzim sistemi geliştirilmiştir (Lowe *et al.* 2004). Ayrıca elde edilen verilerin kodominant olarak ifade olması; böylece her iki allel heterozigot organizmada ifade edilebilir. Bu olgu belirli bir genotip ile gözlenen fenotip ilişkisini kurmamıza izin verir (Pasteur *et al.* 1988).

Çalışılan enzim lokusu için bireyin genotipini saptamak amacıyla, bireyin söz konusu proteinleri elde edilebilir ve bu proteinler elektroforez jeli üzerinde ayırma işlemine tabi tutulabilir. Sonra jel içerisinde enzim tarafından katalizlenen substrat ve oluşacak kimyasal reaksiyon ürününe bağlanacak bir boyanın bulunduğu küvete yerleştirilir. Jel sadece çalışılan enzimin substratla reaksiyona girdiği noktalarda boyanacaktır. Eğer jel tek bir boyama noktasına (bant) sahipse, çalışılan birey bu enzimin bir versiyonuna sahiptir yani birey homozigottur. Eğer jel üzerinde iki boyanmış nokta (bant) meydana



gelmişse, birey enzimin iki versiyonuna sahiptir, yani birey heterozigottur (Freeman and Herron 2001).

Monomerik, dimerik ve tetramerik olarak adlandırılan enzim yapıları, enzim yapısında bulunan alt ünite sayısına göre isimlendirilir. Monomerik yapıdaki enzimde tek bir polipeptit vardır. Dimerik enzimin yapısında ise iki alt ünite ve tetramerik yapıda ise dört alt ünite bulunmaktadır. Monomerik enzimlerde homozigot bireyler tek bant sahiptir, heterozigot bireyler ise iki banttan oluşur. Monomerik enzimlerde olduğu gibi dimerik enzimlerde homozigot bireyler tek banttan oluşurken heterozigot bireyler üç bant şeklinde belirir. Tetramerik enzimlerde de homozigot bireyler tek banttan oluşurken heterozigot bireyler beş banttan oluşur (Şekil 2.10).



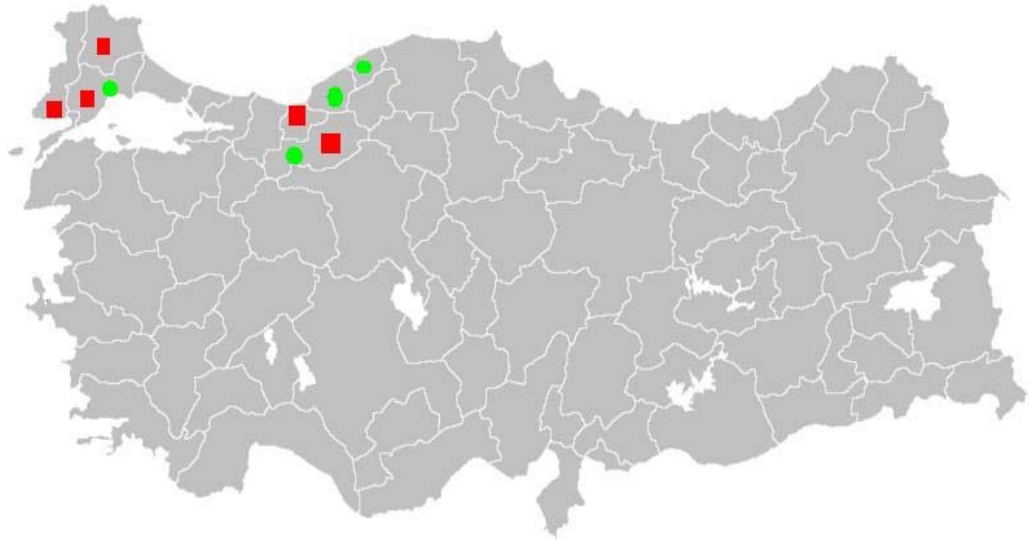
Şekil 2.10 Monomerik, Dimerik ve Tetramerik enzimlerin elektroforetik bant modelleri

### 3. MATERİYAL VE METOD

#### 3.1 Materyal

Bu çalışma Ankara Üniversitesi Biyoloji Bölümü Omurgalı Hayvan Sistematigi laboratuvarında yürütülmüştür. Çalışmada kullanılan örnekler Türkiye'nin Batı Karadeniz bölümü ve Trakya bölgesinden toplanılan ve teşhisleri yapılan *Mus macedonicus* ve *Mus domesticus* örneklerinden oluşmaktadır (Şekil 3.1). Trakya bölgesinde Kırklareli'nden (Pınarhisar) 5, Tekirdağ'dan (Büyükkarıştıran, Yuvalı-Saray) 9 ve Edirne'den (Değirmenyeni köyü) 6; Batı Karadeniz Bölgesinde; Zonguldak'tan (Karaelmas Üniversitesi) 3, Bartın'dan (Çerdek köyü- Ulus) 3, Düzce'den (Köprübaşı) 3 ve Bolu'dan (Karataş-Mudurnu ve Gerece) 6 olmak üzere toplam 35 örnek arazi çalışmaları sonucu canlı olarak laboratuara getirilmiştir. Örneklerin türleri, numaraları ve lokaliteleri Çizelge 3.1'de listelenmiştir.

Yakalanan organizmaları uzun süre canlı tutmak neredeyse imkansızdır; içerdikleri proteinlerin denatüre olmaması için onları dondurmak gereklidir. Tüm organizmalar ölümden hemen sonra dondurulabilir veya araştırma konusu özel organlar ve dokular ayrı ayrı alınarak dondurulabilir. Canlı örneklerden elektroforetik çalışmalarda kullanılmak üzere kas, karaciğer, böbrek doku örnekleri alınmıştır. Alınan dokular -80°C'deki derin dondurucuda elektroforez işlemi yapılınca kadar saklanmıştır. Elektroforez işleminde kas doku örnekleri kullanılmıştır. Kas dokuları, buz içine yerleştirilmiş ependorf tüpte distile su içinde cam çubuk yardımıyla homojenize edilmiştir. Homojenatlar hücresel kalıntıları uzaklaştırmak için soğutmalı mikrosantrifüjde +4°C'de 12.000 rpm'de 3 dakika santrifüjlenmiştir.



Şekil 3.1 *Mus macedonicus*:■ (Tekirdağ :7, Edirne :6, Kırklareli :5, Bolu :4 ve Düzce :3) ve *Mus domesticus*:● (Tekirdağ :2, Bolu :2, Zonguldak :3 ve Bartın :3) örneklerinin toplandığı Trakya ve Batı Karadeniz lokaliteleri ve örnek sayıları

Çizelge 3.1 Bu çalışmada Türkiye'nin çeşitli yerlerinden toplanan *Mus* L. örneklerinin laboratuvar kayıt numaraları ve lokaliteleri

| SIRA | NO   | TÜR                    | LOKALİTE                 |
|------|------|------------------------|--------------------------|
| 1.   | 5460 | <i>Mus macedonicus</i> | EDİRNE                   |
| 2.   | 5461 | <i>Mus macedonicus</i> | EDİRNE                   |
| 3.   | 5462 | <i>Mus macedonicus</i> | EDİRNE                   |
| 4.   | 5464 | <i>Mus macedonicus</i> | Değirmenyeni köyü-EDİRNE |
| 5.   | 5465 | <i>Mus macedonicus</i> | Değirmenyeni köyü-EDİRNE |
| 6.   | 5466 | <i>Mus macedonicus</i> | Değirmenyeni köyü-EDİRNE |
| 7.   | 2457 | <i>Mus macedonicus</i> | Pınarhisar-KIRKLARELİ    |
| 8.   | 2458 | <i>Mus macedonicus</i> | Pınarhisar-KIRKLARELİ    |
| 9.   | 2461 | <i>Mus macedonicus</i> | Pınarhisar-KIRKLARELİ    |
| 10.  | 2462 | <i>Mus macedonicus</i> | Pınarhisar-KIRKLARELİ    |
| 11.  | 2463 | <i>Mus macedonicus</i> | Pınarhisar-KIRKLARELİ    |
| 12.  | 2398 | <i>Mus macedonicus</i> | Pınarhisar-TEKİRDAĞ      |
| 13.  | 2399 | <i>Mus macedonicus</i> | Pınarhisar-TEKİRDAĞ      |
| 14.  | 2400 | <i>Mus macedonicus</i> | Pınarhisar-TEKİRDAĞ      |
| 15.  | 2401 | <i>Mus macedonicus</i> | Pınarhisar-TEKİRDAĞ      |
| 16.  | 2402 | <i>Mus macedonicus</i> | Pınarhisar-TEKİRDAĞ      |
| 17.  | 5457 | <i>Mus macedonicus</i> | Büyükkarıştıran-TEKİRDAĞ |
| 18.  | 5458 | <i>Mus macedonicus</i> | Büyükkarıştıran-TEKİRDAĞ |
| 19.  | 4362 | <i>Mus domesticus</i>  | Yuvalı-Saray-TEKİRDAĞ    |
| 20.  | 4363 | <i>Mus domesticus</i>  | Yuvalı-Saray-TEKİRDAĞ    |
| 21.  | 3894 | <i>Mus domesticus</i>  | Karaelmas Ünv-ZONGULDAK  |

Çizelge 3.1 Bu çalışmada Türkiye'nin çeşitli yerlerinden toplanan *Mus L.* örneklerinin laboratuvar kayıt numaraları ve lokaliteleri (devam)

|     |      |                        |                         |
|-----|------|------------------------|-------------------------|
| 22. | 3896 | <i>Mus domesticus</i>  | Karaelmas Ünv-ZONGULDAK |
| 23. | 3952 | <i>Mus domesticus</i>  | Karaelmas Ünv-ZONGULDAK |
| 24. | 4089 | <i>Mus domesticus</i>  | Çerdekköyü-Ulus-BARTIN  |
| 25. | 4090 | <i>Mus domesticus</i>  | Çerdekköyü-Ulus-BARTIN  |
| 26. | 4091 | <i>Mus domesticus</i>  | Çerdekköyü-Ulus-BARTIN  |
| 27. | 3947 | <i>Mus macedonicus</i> | Köprübaşı-DÜZCE         |
| 28. | 3948 | <i>Mus macedonicus</i> | Köprübaşı-DÜZCE         |
| 29. | 3949 | <i>Mus macedonicus</i> | Köprübaşı-DÜZCE         |
| 30. | 4220 | <i>Mus domesticus</i>  | Karataş-Mudurnu-BOLU    |
| 31. | 4221 | <i>Mus domesticus</i>  | Karataş-Mudurnu-BOLU    |
| 32. | 4222 | <i>Mus macedonicus</i> | Karataş-Mudurnu-BOLU    |
| 33. | 4859 | <i>Mus macedonicus</i> | Gerede-BOLU             |
| 34. | 4860 | <i>Mus macedonicus</i> | Gerede-BOLU             |
| 35. | 4861 | <i>Mus macedonicus</i> | Gerede-BOLU             |

### 3.2 Yöntem

Bu çalışmada Nişasta ve Poliakrilamid jel elektroforezi ile incelenen 22 enzim sisteminin uluslar arası kod numaraları ve kısaltmaları Çizelge 3.2'de verilmiştir.

Nişasta jel elektroforezi yöntemi kullanılarak aşağıdaki enzim sistemlerinin analizleri yapılmıştır (Hillis and Moritz 1990, Harris and Hopkinson 1976, Ayala *et al.* 1972): Glukoz-6-fosfat dehidrojenaz, Glukoz-6-fosfat izomeraz, İzositrat dehidrojenaz, Malat dehidrojenaz, Malik enzim, Fosfoglukomutaz, Süper oksit dismutaz, Fumarat hidrataz, Laktat dehidrojenaz, Ksantin dehidrojenaz, Adenilat kinaz, Glutamat oksaloasetat transaminaz, Karbonik anhidraz, Gliseraldehit-3-fosfat dehidrojenaz, Gliserol-3-fosfat dehidrojenaz, Hekzokinaz, Mannoz fosfat izomeraz, Akonitaz, Adenozin deaminaz, Purin nükleozit fosforilaz ve D-Oktopin dehidrojenaz. Esteraz enzim sistemi ise poliakrilamid jel elektroforezi yöntemi ile analiz edilmiştir.

Çizelge 3.2 Nişasta ve Poliakrilamid jel elektroforezi ile incelenen 22 enzim sistemi, uluslararası kod numaraları ve kısaltmaları

|     |                                           |           |                |
|-----|-------------------------------------------|-----------|----------------|
| 1.  | Glucose-6- phosphate dehydrogenase        | G6pdh     | E.C. 1.1.1.49  |
| 2.  | Glucose-6- phosphate isomerase            | Gpi       | E.C. 5.3.1.9   |
| 3.  | Isocitrate dehydrogenase                  | Idh       | E.C. 1.1.1.42  |
| 4.  | Malate dehydrogenase                      | Mdh       | E.C. 1.1.1.37  |
| 5.  | Malic enzyme                              | Me        | E.C. 1.1.1.40  |
| 6.  | Phosphoglucomutase                        | Pgm       | E.C. 5.4.2.2   |
| 7.  | Superoxide dismutase                      | Sod       | E.C. 1.15.1.1  |
| 8.  | Fumarate hydratase                        | Fum       | E.C. 4.2.1.2   |
| 9.  | Lactate dehydrogenase                     | Ldh       | E.C. 1.1.1.27  |
| 10. | Esterase                                  | Est       | E.C. 3.1.1.1   |
| 11. | Xanthine dehydrogenase                    | Xdh       | E.C. 1.1.1.204 |
| 12. | Adenylate kinase                          | AK        | E.C. 2.7.4.3   |
| 13. | Glutamate oksaloasetate transaminase      | Got       | E.C. 2.6.2.1   |
| 14. | Glyceraldehyde-3- phosphate dehydrogenase | Alfa-Gpdh | E.C. 1.2.1.12  |
| 15. | Glycerol-3- phosphate dehydrogenase       | G3pdh     | E.C. 1.1.1.8   |
| 16. | Hexokinase                                | Hek       | E.C. 2.7.1.1   |
| 17. | Mannose phosphate isomerase               | Mpi       | E.C. 5.3.1.8   |
| 18. | Aconitase                                 | Acon      | E.C. 4.2.1.3   |
| 19. | Adenosine deaminase                       | Ada       | E.C. 3.5.4.4   |
| 20. | Purine nucleoside phosphorylase           | NP        | E.C. 2.4.2.1   |
| 21. | D-Oktopine dehydrogenase                  | D-Okt     | E.C. 1.5.1.11  |
| 22. | Carbonic anhydrase                        | CA        | E.C. 4.2.1.1   |

### 3.2.1 Nişasta jel elektroforez deneyinin yapılışı

1. Doku Homojenizasyonu: Canlı örneklerden alınan ve -80°C muhafaza edilen kas dokuları küçük parçalara bölündü. Her bir parça kendinin 3 - 5 katı kadar buzda soğutulmuş distile su içine alındı ve ependorf tüpü içinde mekanik olarak homojenize edildi. Homojenat derin dondurucuya alındı ve kullanmadan hemen önce hücresel kalıntılardan proteinleri ayırmak için santrifüj edildi (12 000 rpm'de 3-5 dak).

2. Jelin hazırlanması: %11 oranında nişasta Çizelge 3.3'te verilen jel tamponları içinde kaynatılarak hazırlandı. Su trompu ile vakum uygulanarak jel karışımının havası alındı. Jel kalınlığı 0.3 cm olacak şekilde jel kabına döküldü. Katılaşması için 45-60 dakika bekletildi.

3. Örnek yüklenmesi (Gel loading): Homojenat 0.3 x 0,4 cm filtre kağıdı (Whatmann No 3) parçasına ince uçlu pens ile absorbe edildi. Örnek içeren kağıt parçaları jele yerleştirildi. Kalıbın dibine her bir kağıdın sonunun temas etmesi sağlandı. Yükleme yapılırken jel cetveli görevi görecek asetat kağıtlar kullanıldı ve her bir deney elektroforez kağıtlarına rapor edildi. Şekil 3.2’de bir rapor kağıdı örneği görülmektedir.

4. Elektroforez: Jel horizontal olarak elektroforez tankına yerleştirildi. Elektroforez tankının bölmelerine elektrot tamponu dolduruldu. Tanktaki elektrot tamponu ve jel arasında teması sağlamak için sünger fitiller kullanıldı. Enzimler için kullanılan elektrot tamponları Çizelge 3.3’te verildi. Bu düzenek + 4°C’de buzdolabına yerleştirildi ve güç kaynağına bağlandı.

5. Histokimyasal boyama: Elektroforezden sonra her bir enzim için Çizelge 3.4’te gösterilen farklı reaksiyon karışımları hazırlanarak boyama yapıldı. Boyama 37°C’de karanlıkta veya oda sıcaklığında 1-1,5 saat veya bir gece inkübe edilerek yapıldı. Agarlı boyama ve direkt boyama metodları uygulandı. Agarlı boyama (agar overlay) metodunda, Çizelge 3.4’e göre hazırlanan kimyasal maddeler ışık görmeyecek şekilde boyama tamponu ile karıştırıldı. Diğer yandan agar, boyama tamponu içinde kaynatılıp eritilerek yaklaşık 50°C’ye kadar soğumaya bırakıldı. Soğuyan agara diğer kimyasallar ilave edilip, karıştırılarak jel üzerine döküldü. Agar PMS ve MTT içerdiği için 15–20 dakika sonra renk değişimi oldu ve mavi-siyah renk gözlemlendi. Agar donduktan sonra jel 37°C’de inkübe edildi. Direkt boyama metodu CA, GOT ve EST enzim sistemleri için kullanıldı. Jel 37°C’de 2-3 saat veya bantlar görülünceye kadar inkübe edildi.

6. Jel fiksasyonu: Enzim bantları görüldükten sonra jel fiksasyon solusyonu (45 kısım metanol, 55 kısım asetik asit solusyonu (1 asetik asit 5 H<sub>2</sub>O’lu)) ile yıkanarak reaksiyon durduruldu.

7. Sonuçların belgelenmesi: Boyama tamamlandığında jel ışık kutusu üzerine yerleştirilerek fotoğrafı çekildi ve gözlenen bant kalıpları çizildi. Enzim sistemlerinin genetik kontrolü ve alt ünite yapısını belirleyen bu zimogramlardan değerlendirme yapıldı. İzoenzimler orijine yani katoda en yakından başlanılarak numaralandırıldı. Alloenzimler ise en hızlı hareket

edenler A, yavaş hareket edenler azalan mobililitelerine göre sırasıyla B ve C olmak üzere adlandırıldı.

|            |
|------------|
| <b>SGE</b> |
|------------|

|                      |                      |
|----------------------|----------------------|
| <b>JEL NO:</b>       | <b>TARİH:</b>        |
| <b>ÖRNEK:</b>        | <b>ENZİM:</b>        |
| <b>DOKU:</b>         |                      |
| <b>JEL % :</b>       |                      |
| <b>JEL TAMPONU:</b>  | <b>Ph:</b>           |
| <b>ELKT. TAMP :</b>  | <b>Ph:</b>           |
| <b>VOLT:</b>         | <b>mA:</b>           |
| <b>ENZİM BOYASI:</b> | <b>ÇALIŞAN KİŞİ:</b> |

**BAŞLAMA:**

**BİTİŞ:**

**SÜRE:**

|     | <b><u>ÖRNEK<br/>NO</u></b> | <b><u>LOKALİTE</u></b> | <b><u>ÖRNEK<br/>NO</u></b> | <b><u>LOKALİTE</u></b> | <b><u>ÖRNEK<br/>NO</u></b> | <b><u>LOKALİTE</u></b> |
|-----|----------------------------|------------------------|----------------------------|------------------------|----------------------------|------------------------|
| 1.  |                            |                        |                            |                        |                            |                        |
| 2.  |                            |                        |                            |                        |                            |                        |
| 3.  |                            |                        |                            |                        |                            |                        |
| 4.  |                            |                        |                            |                        |                            |                        |
| 5.  |                            |                        |                            |                        |                            |                        |
| 6.  |                            |                        |                            |                        |                            |                        |
| 7.  |                            |                        |                            |                        |                            |                        |
| 8.  |                            |                        |                            |                        |                            |                        |
| 9.  |                            |                        |                            |                        |                            |                        |
| 10. |                            |                        |                            |                        |                            |                        |
| 11. |                            |                        |                            |                        |                            |                        |
| 12. |                            |                        |                            |                        |                            |                        |
| 13. |                            |                        |                            |                        |                            |                        |
| 14. |                            |                        |                            |                        |                            |                        |
| 15. |                            |                        |                            |                        |                            |                        |
| 16. |                            |                        |                            |                        |                            |                        |
| 17. |                            |                        |                            |                        |                            |                        |
| 18. |                            |                        |                            |                        |                            |                        |
| 19. |                            |                        |                            |                        |                            |                        |
| 20. |                            |                        |                            |                        |                            |                        |

Şekil 3.2 Elektroforez rapor kağıdı

Çizelge 3.3 Farklı enzim sistemlerinin elektroforez koşulları

| Enzimler | Elektrot tamponu                                                                                        | Jel tamponu                                 | Referans                    | Elektroforez şartları       |
|----------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| G6pdh    | Tris 30.3 gr, Boric acid 20 gr, EDTA 3 gr. pH: 8.0                                                      | 1/40 oranında elektrot tamponu sulandırıldı | Shaw and Prasad 1970        | 112 V, 150 dk               |
| Gpi      | 9.39 gr Potassium phosphate, 1.24gr Sodium hidrokside. pH:6.7                                           | 1/29 oranında elektrot tamponu sulandırıldı | Pasteur <i>et al.</i> 1988  | 112 V, 150 dk               |
| Idh      | 83.19 gr Tris, 30.1 gr. Citric acid. pH: 8.0                                                            | 1/29 oranında elektrot tamponu sulandırıldı | Selander <i>et al.</i> 1971 | 115 V, 150 dk               |
| Mdh      | 19.11 gr NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> , 14.40 gr Citric acid. pH: 5.9                               | 1/40 oranında elektrot tamponu sulandırıldı | Harris and Hopkinson 1976   | 90 V, 180 dk                |
| Me       | 83.19 gr Tris, 30.1 gr Citric acid. pH: 8.0                                                             | 1/29 oranında elektrot tamponu sulandırıldı | Selander <i>et al.</i> 1971 | 115 V, 150 dk               |
| Pgm      | 9.39 gr Potassium phosphate, 1.24 gr Sodium hidrokside. pH:6.7                                          | 1/19 elektrot tamponu sulandırıldı          | Pasteur <i>et al.</i> 1988  | 120 V, 150 dk               |
| Sod      | 6.05 gr Tris, 1 gr EDTA, 24 gr Boric acid, pH: 8.0                                                      | 1/19 oranında elektrot tamponu sulandırıldı | Selander <i>et al.</i> 1971 | 120 V, 240 dk               |
| Fum      | 21.8 gr Tris, 6.18 gr Boric acid, 1.17 gr EDTA. pH: 8.7                                                 | 1/3 oranında elektrot tamponu sulandırıldı  | Shaw and Prasad 1970        | 120 V, 150 dk               |
| Ldh      | 027 gr Tris, 18.1 gr Citric acid, pH: 7.0                                                               | 1/40 oranında elektrot tamponu sulandırıldı | Shaw and Prasad 1970        | 120 V, 150 dk               |
| Est      | 1.51 gr Tris, 7.20 gr Glisin pH:8.3                                                                     | Sambrook <i>et al.</i> 1989                 | Laemmli 1970                | 80 V, 60 dk ve 150 V 150 dk |
| Xdh      | 6.05 gr Tris 1 gr EDTA, 24 gr Boric acid, pH: 8.0                                                       | 1/19 oranında elektrot tamponu sulandırıldı | Selander <i>et al.</i> 1971 | 120 V, 240 dk               |
| AK       | 2.66 gr Tris, 1.54 gr Citric acid, pH: 6.3                                                              | 1/9 elektrot tamponu sulandırıldı           | Pasteur <i>et al.</i> 1988  | 130 V, 200 dk               |
| Got      | 7.5 gr Tris, 1.2 gr Maleic anhydride, 1.2 gr EDTA, 1.5 gr MgCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O, pH: 6.9 | 1/9 elektrot tamponu sulandırıldı           | Pasteur <i>et al.</i> 1988  | 120V, 240 dk                |
| CA       | 3.9 gr Tris, 1.1 gr Boric acid, 0.26 gr disodiumEDTA pH:8.6                                             | %40 elektrot tamponu sulandırıldı           | Brewer and Sing 1970        | 105 V, 150 dk               |



### 3.2.2 Poliakrilamid jel elektroforez deneyinin yapılışı

Poliakrilamid jel elektroforezi (NATIVE-PAGE) yöntemi (Sambrook *et al.* 1989) kullanılarak ise Esterase (Est, E.C. 3.1.1.1) enzim sistemi incelenmiştir. Poliakrilamid jeller; sıkıştırma jeli %4, ayırma jeli %7.5 oranında olmak üzere Sambrook *et al.* (1989)'ın yöntemine göre hazırlanmıştır. Elektrot tamponu olarak Laemmli (1970)'nin tamponu kullanılmıştır. Homojenatlar poliakrilamid jellere yüklenmeden önce 1:1 oranında %10'luk sükröz+brom fenol mavisi ile karıştırılmış ve bu karışımdan 20-30 µl yüklenmiştir. Sıkıştırma jeline 80 V, ayırma jeline ise 150 V akım uygulanmış, izleme boyası jelin bitimine 0.5 cm kalınca elektroforez durdurulmuştur. Elektroforezden sonra jeller enzim için uygun tampon, boya, substrat ve kofaktörleri içeren karışımlarda 37°C'deki etüvde karanlık koşullarda bantlar belirinceye kadar inkübe edilmiştir. Boyamadan sonra reaksiyonu durdurmak için jeller metanol-su-asetik asit (45:45:10) karışımında fiks edilmiştir. Işıklı kutu üzerine yerleştirilen jellerin üzerine konulan asetat kağıtları ile çizimleri ve değerlendirmeleri yapılarak dijital fotoğraf makinesi ile fotoğrafları çekilmiştir.

Çizelge 3.4 Farklı enzimler için boyama sistemleri

| No  | Enzim adı | Boyama metodu | Referans                    |
|-----|-----------|---------------|-----------------------------|
| 1.  | G6pdh     | Agar overlay  | Shaw and Prasad 1970        |
| 2.  | Gpi       | Agar overlay  | Ayala <i>et al.</i> 1972    |
| 3.  | Idh       | Agar overlay  | Ayala <i>et al.</i> 1972    |
| 4.  | Mdh       | Agar overlay  | Ayala <i>et al.</i> 1972    |
| 5.  | Me        | Agar overlay  | Ayala <i>et al.</i> 1972    |
| 6.  | Pgm       | Agar overlay  | Ayala <i>et al.</i> 1972    |
| 7.  | Sod       | Agar overlay  | Ayala <i>et al.</i> 1972    |
| 8.  | Fum       | Agar overlay  | Ayala <i>et al.</i> 1972    |
| 9.  | Ldh       | Agar overlay  | Ayala <i>et al.</i> 1972    |
| 10. | Est       | Direkt boyama | Hillis and Moritz 1990      |
| 11. | Xdh       | Agar overlay  | Selander <i>et al.</i> 1971 |
| 12. | AK        | Agar overlay  | Pasteur <i>et al.</i> 1988  |
| 13. | Got       | Direkt boyama | Pasteur <i>et al.</i> 1988  |
| 14. | CA        | Direkt boyama | Haris and Hopkinson 1976    |

### 3.3 İstatistiksel metotlar

Elektroforetik çalışmaların sonuçlarının değerlendirilmesinde Biosys-1 (Swofford and Selander 1981) bilgisayar programı kullanıldı. Burada populasyonlar arası genetik uzaklık (D) ve genetik benzerlik (I), polimorfik lokusların oranı (P), lokus başına ortalama allel sayısı (A), gözlenen heterozigotluk ( $H_o$ ), Hardy-Weinberg eşitliği altında beklenen heterozigotluk ( $H_e$ ) ve populasyonlar arası farklılaşma miktarı ( $F_{st}$ ) analiz edildi. Türler arasındaki genetik akrabalıklar dendrogramı ise UPGMA (Unweighted Pair Group Cluster Analysis) yöntemine göre yapıldı (Sokal and Sneath 1963).

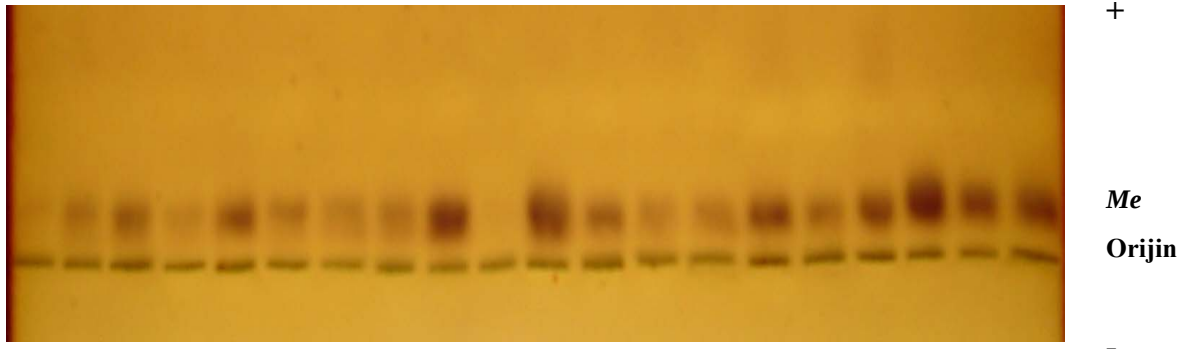
#### 4. ARAŞTIRMA BULGULARI

Batı Karadeniz ve Trakya'daki 7 farklı lokaliteden toplanan *Mus macedonicus* ve *Mus domesticus* örneklerinin kas dokuları ile allozim analizinde 22 enzim sistemi incelenmiştir. Bu enzim sistemlerinden 8'i (Gliseraldehit-3-fosfat dehidrojenaz, Gliserol-3-fosfat dehidrojenaz, Hekzokinaz, Mannoza fosfat izomeraz, Akonitaz, Adenozin deaminaz, Pürin nükleozit fosforilaz ve D-oktopin dehidrojenaz) çeşitli elektroforetik metotlar (farklı tampon sistemleri-farklı enzim boyamaları-farklı elektroforez koşulları) ile araştırılmış ancak sonuç alınamamıştır. Kalan 14 enzim sisteminden İzositrat dehidrojenaz, Malat dehidrojenaz, Malik enzim, Fosfoglukomutaz, Süperoksit dismutaz, Fumarat hidrataz, Laktat dehidrojenaz, Ksantin dehidrojenaz, Glikoz-6-fosfat dehidrojenaz, Glikoz-6-fosfat izomeraz, Glutamat oksaloasetat transaminaz, Adenilat kinaz ve Karbonik anhidraz nişasta jel elektroforezi ile incelenmiştir. Nişasta jel elektroforezi ile değerlendirilebilecek düzeyde aktivite bantları sergilememiş olan Esteraz enzimi daha kesin çözüm sağlayan poliakrilamid jel elektroforezi (Native-PAGE) yöntemiyle araştırılmıştır. İncelenen 14 enzim sistemi toplam 23 lokus sergilemiştir. Analiz edilen 23 lokus içinde polimorfik olan *Pgm*, *Idh-2*, *Gpi-1*, *Est*, *CA-1* ve *CA-2* lokusları dışındakiler monomorfiktir ve aynı allel için fikse olmuştur. Polimorfik lokuslardan *Pgm*'de 2 allel (A, B), *Idh-2*'de 3 allel (A,B,C), *Gpi-1*'de 2 allel (A, B), *CA-1*' de 3 allel (A, B, C), *CA-2*' de 2 allel (A, B) ve *Est*'de 5 allel (A, B, C, D, E) saptanmıştır.

##### 4.1 Enzim Özellikleri

###### 1. Malik enzim (Me, E.C. 1.1.1.40)

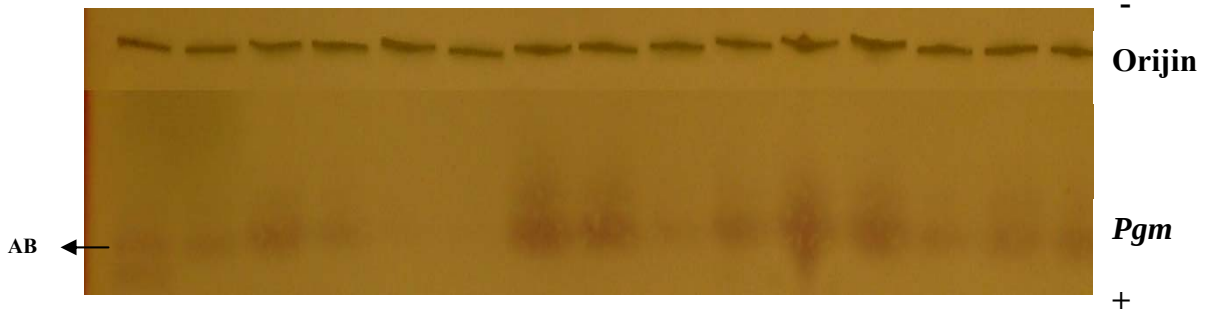
Nişasta jel elektroforezi ile incelenmiştir. Anoda göç eden tek bir monomorfik lokus belirlenmiştir. Bu lokusta incelenen tüm *Mus macedonicus* ve *Mus domesticus* bireyleri aynı allel için homozigottur. Heterozigot bireye rastlanmadığı için enzimin altünite yapısı belirlenmemiştir (Şekil 4.1 ).



Şekil 4.1 *Mus macedonicus* ve *Mus domesticus* örneklerinin nişasta jel ile incelenmiş Malik enzim zimogramı. Anoda göç eden tek bir monomorfik lokus (Me)

## 2. Fosfoglukomutaz (Pgm, E.C. 5.4.2.2)

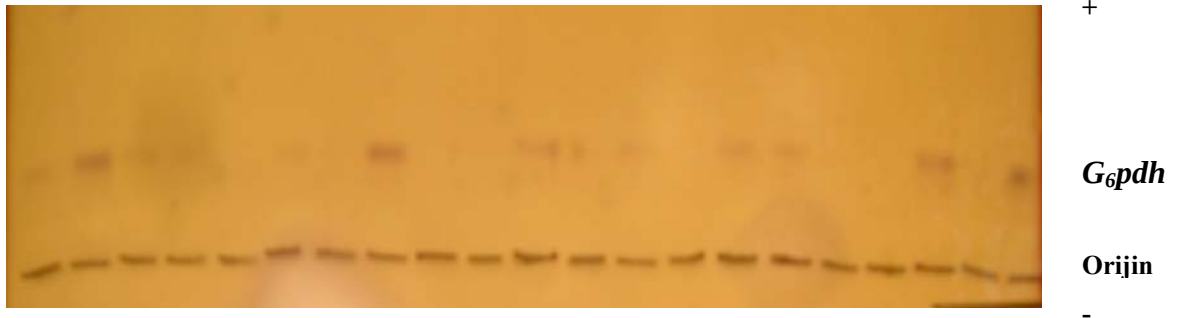
Nişasta jel ile incelenmiş ve Fosfoglukomutaz enzimi anoda göç eden tek bir polimorfik lokus sergilemiştir. Tekirdağ'dan alınan 4362 numaralı *Mus domesticus* örneği AB genotipine sahipken diğer tüm örnekler B alleleline fikse olmuşlardır (Şekil 4.2).



Şekil 4.2 *Mus macedonicus* ve *Mus domesticus* örneklerinin nişasta jel ile incelenmiş Fosfoglukomutaz enzimi zimogramı. Anoda göç eden tek bir polimorfik lokus (Pgm)

## 3. Glukoz-6- fosfat dehidrojenaz ( $G_6pdh$ , E.C. 1.1.1.49)

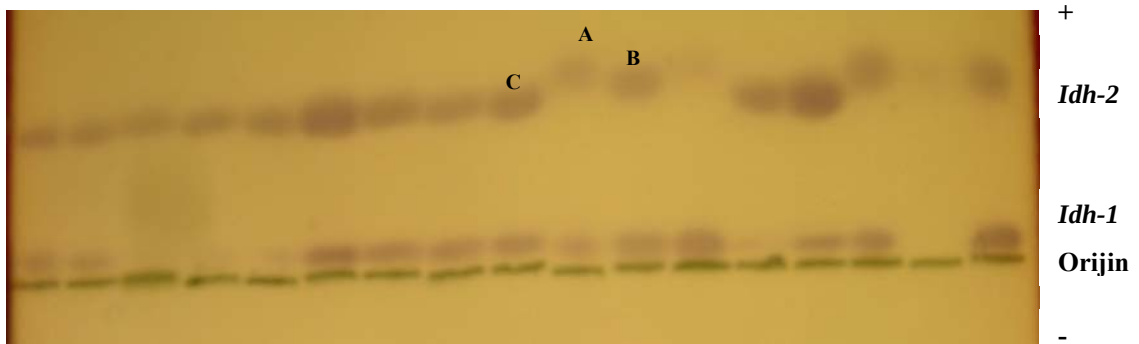
Nişasta jel ile incelenmiş ve Glukoz-6-fosfat dehidrojenaz enzimi anoda göç eden tek bir monomorfik lokus sergilemiştir. İncelenen tüm bireyler  $G_6pdh$  lokusunda aynı allel için fikse olmuştur (Şekil 4.3).



Şekil 4.3 *Mus macedonicus* ve *Mus domesticus* örneklerinin nişasta jel ile incelenmiş Glukoz-6-fosfat dehidrojenaz enzim zimogramı. Anoda göç eden tek bir monomorfik lokus (*G6pdh*)

#### 4. İzositrat dehidrojenaz (*Idh*, E.C. 1.1.1.42)

Nişasta jel ile incelenmiş ve İzositrat dehidrojenaz enziminin anoda göç eden iki izozimi (*Idh-1* ve *Idh-2*) tespit edilmiştir. İncelenen tüm bireyler *Idh-1* lokusunda monomorfiktir yani aynı allel için fikse olmuştur. *Idh-2* lokusu ise polimorfiktir. Bu lokustaki “C” alleli *Mus macedonicus* örneklerinde yaygın olan alleldir ve *Idh-2* lokusu iki türü ayırt edici özelliكتedir (Şekil 4.4).

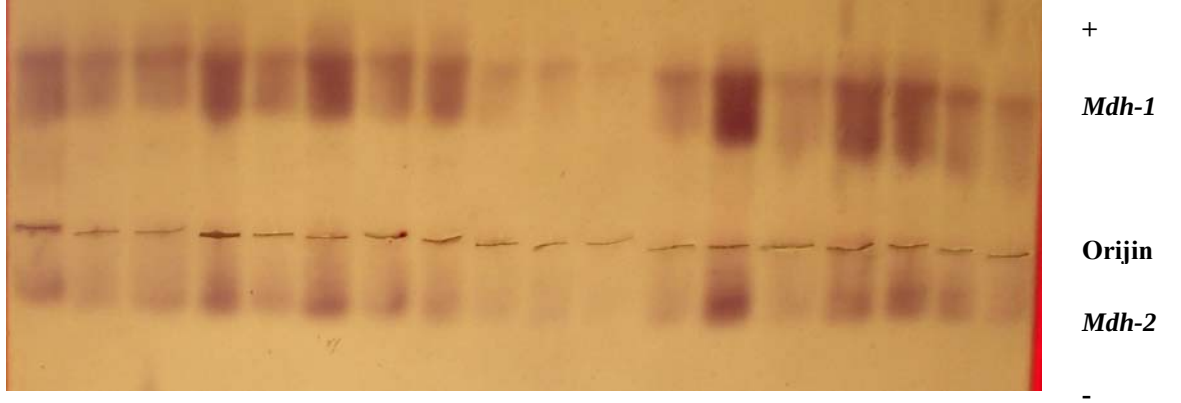


Şekil 4.4 *Mus macedonicus* ve *Mus domesticus* örneklerinin nişasta jel ile incelenmiş İzositrat dehidrojenaz enzim zimogramı. Monomorfik *Idh-1* ve polimorfik *Idh-2* lokusları

#### 5. Malat dehidrojenaz (*Mdh*, E.C. 1.1.1.37)

Nişasta jel ile incelenmiş ve malat dehidrojenaz enzimi bir anoda göç eden (*Mdh-1*=*Mdh-s*) bir de katoda göç eden (*Mdh-2*=*Mdh-m*) iki izozim sergilemiştir. Anodal formu

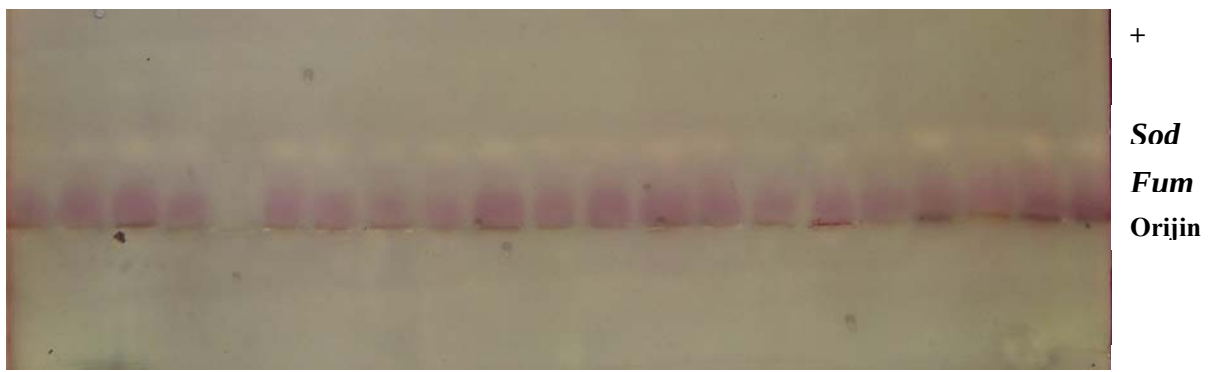
sitozolik-malat dehidrojenaz (*Mdh-s*) ve katodal formu ise mitokondriyal-malat dehidrojenaz (*Mdh-m*) olarak da bilinir. Her iki lokusta da allelik bantların anodal yönünde daha az yoğunluklu subbantlar belirlenmiştir. İncelenen tüm bireyler her iki lokusta da monomorfiktir yani aynı allel için fikse olmuştur (Şekil 4.5).



Şekil 4.5 *Mus macedonicus* ve *Mus domesticus* örneklerinin nişasta jel ile incelenmiş Malat dehidrojenaz enzimi zimogramı. Anodal göç eden sitozolik *Mdh-1*, ve katodal göç eden mitokondriyal *Mdh-2* lokusları

#### 6. Fumarat hidrataz (Fum, E.C. 4.2.1.2)

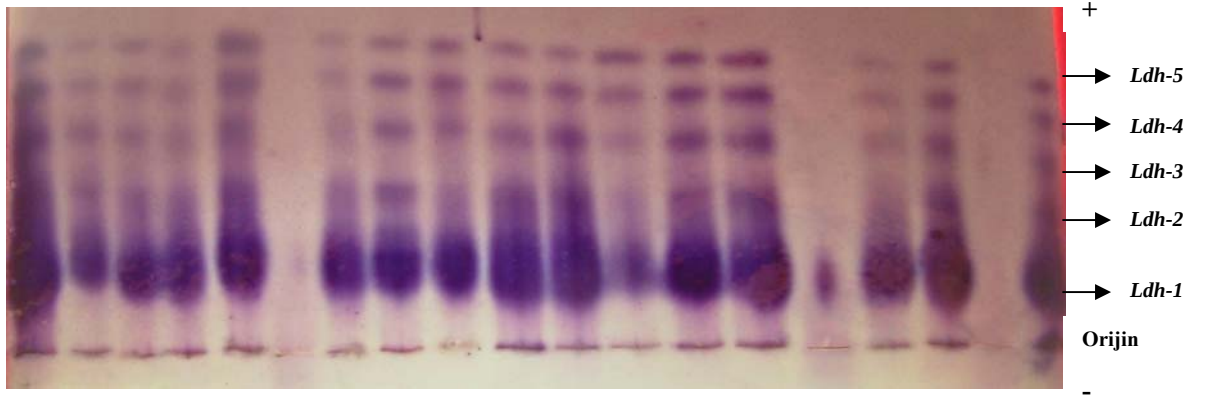
Nişasta jel ile incelenmiş ve Fumarat hidrataz (Fumaraz) enzimi anoda göç eden tek bir monomorfik lokus sergilemiştir. İncelenen tüm bireyler *Fum* lokusunda aynı allel için fikse olmuştur (Şekil 4.6).



Şekil 4.6 *Mus macedonicus* ve *Mus domesticus* örneklerinin nişasta jel ile incelenmiş Fumarat hidrataz enzim zimogramı. Anoda göç eden tek bir monomorfik lokus (*Fum*)

## 7. Laktat dehidrojenaz (Ldh, E.C. 1.1.1.27)

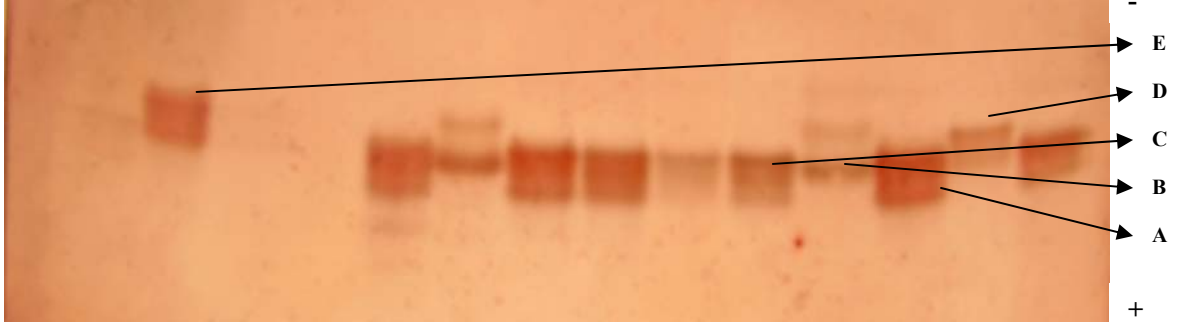
Nişasta jel elektroforezi ile anoda göç eden 5 lokus belirlenmiştir ( *Ldh-1*, *Ldh-2*, *Ldh-3*, *Ldh-4* ve *Ldh-5*). Lokuslar orijinden başlanarak mobilitelerine göre adlandırılmıştır. Orijine en yakın olan *Ldh-1* lokusu yoğun boyanmadan dolayı zorlukla izlenirken diğer dört lokus oldukça net izlenebilmiştir. Tüm lokuslar monomorfik olup incelenen tüm bireylerde aynı allel için fikse olmuştur (şekil 4.7).



şekil 4.7 *Mus macedonicus* ve *Mus domesticus* rneklerinin Nişasta jel ile incelenmiş Laktat dehidrojenaz enzimi zimogramı. *Ldh-1*, *Ldh-2*, *Ldh-3*, *Ldh-4* ve *Ldh-5* lokusları

## 8. Esteraz (Est, E.C. 3.1.1.1)

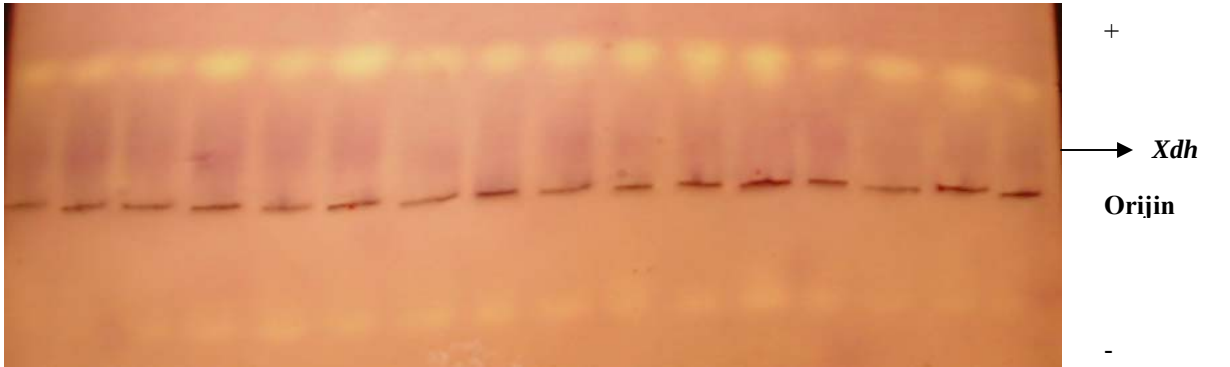
Poliakrilamid jel elektroforezi ile anoda göç eden bir lokus belirlenmiştir. *Est* lokusunda 5 allel belirlenmiştir. Bunlardan en hızlı göç eden allel A olarak, diğerleri ise azalan mobilitelerine göre alfabetik olarak (B, C, D ve E) adlandırılmıştır. Bu lokusta heterozigot bireylerde gözlenen 2 bantlı fenotip nedeniyle enzimin alt ünite yapısının monomerik olduğunu söyleyebiliriz (şekil 4.8).



Şekil 4.8 *Mus macedonicus* ve *Mus domesticus* örneklerinin Native PAGE ile incelenmiş Esteraz enzimi zimogramı (Est)

### 9. Ksantin dehidrojenaz (Xdh, E.C 1.1.1.204)

Nişasta jel ile incelenmiş ve Ksantin dehidrojenaz enzimi anoda göç eden tek bir monomorfik lokus sergilemiştir. İncelenen tüm bireyler *Xdh* lokusunda aynı allel için fikse olmuştur (Şekil 4.9).



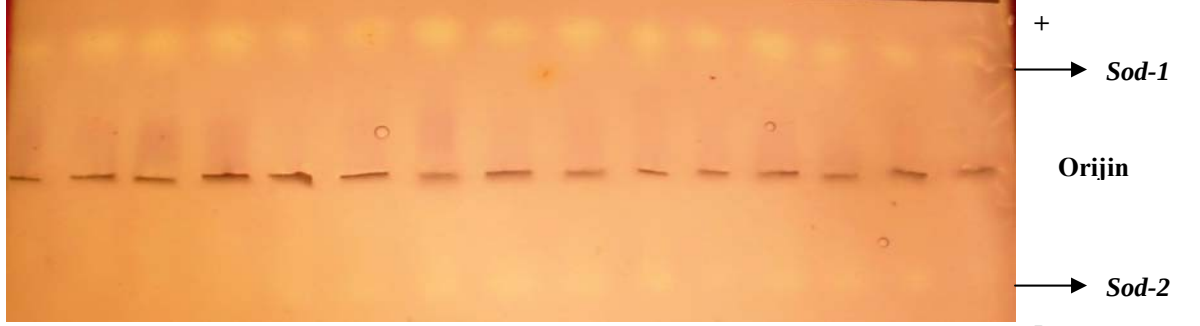
Şekil 4.9 *Mus macedonicus* ve *Mus domesticus* örneklerinin nişasta jel ile incelenmiş ksantin dehidrojenaz enzimi zimogramı (*Xdh*)

### 10. Süperoksit dismutaz (Sod, E.C. 1.15.1.1)

Nişasta jel elektroforezi ile incelenmiştir; anoda (*Sod-1*) ve katoda (*Sod-2*) göç eden 2 lokus belirlenmiştir. Süperoksit dismutaz enzimini incelemek için, Ksantin dehidrojenaz enzimi jelleri değerlendirildikten sonra ışığa maruz bırakılmış ve koyulaşan zemin üzerinde akromatik zonlar (beyaz bantlar) halinde beliren Sod bantları değerlendirilmiştir. Monomorfik *Sod-1* lokusu ayrıca Fumaraz enzim sisteminde de



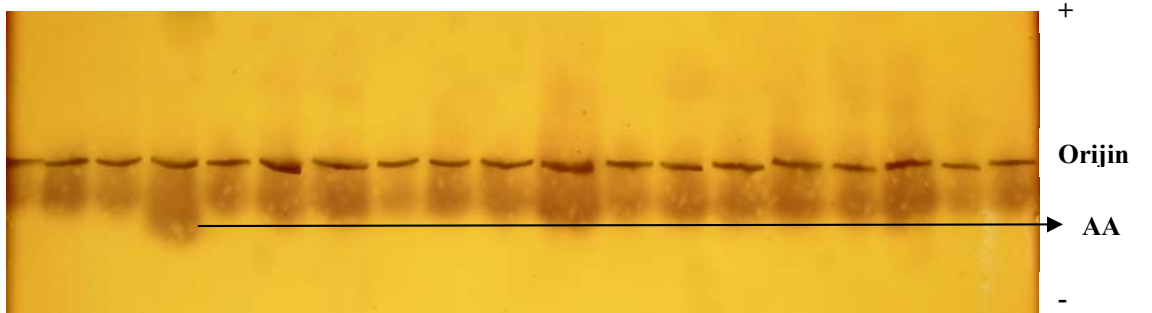
gözlenmiştir. İncelenen tüm bireyler *Sod-1* ve *Sod-2* lokusunda aynı allel için fiks olmuştur (Şekil 4.10).



Şekil 4.10 *Mus macedonicus* ve *Mus domesticus* örneklerinin nişasta jel ile incelenmiş Süperoksit dismutaz enziminin zimogramı. Anoda ve katoda göç eden monomorfik *Sod-1* ve *Sod-2* lokusları

#### 11. Glukoz-6- fosfat izomeraz (Gpi, E.C. 5.3.1.9)

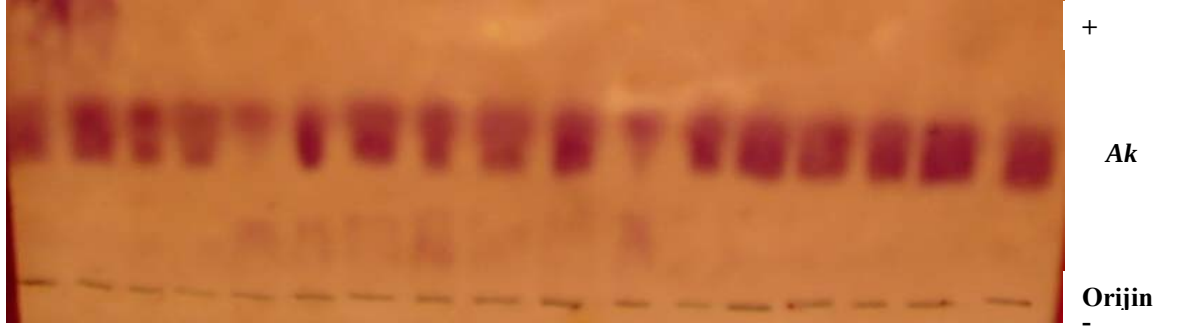
Nişasta jel ile incelenmiş ve Glukoz fosfat izomeraz enzimi katoda göç eden tek bir polimorfik lokus sergilemiştir. Kırklareli lokalitesinden alınan 2463 numaralı *Mus macedonicus* örneği AA genotipine sahip iken, diğer tüm örnekler B alleleline fiks olmuşlardır (Şekil 4.11).



Şekil 4.11 *Mus macedonicus* ve *Mus domesticus* örneklerinin nişasta jel ile incelenmiş Glukoz-6-fosfat izomeraz enzim zimogramı. Katoda göç eden tek bir polimorfik lokus (*Gpi*)

### 12. Adenilat kinaz (Ak, E.C. 2.7.4.3)

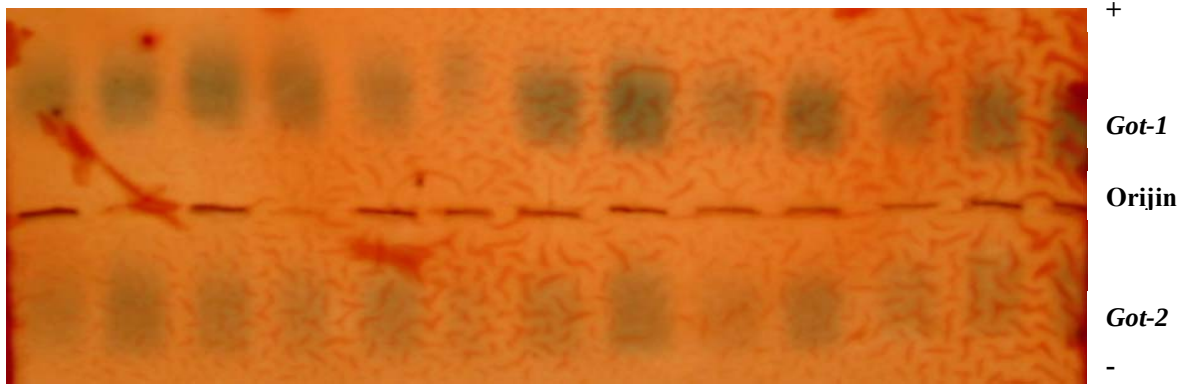
Nişasta jel ile incelenmiş ve Adenilat kinaz enzimi anoda göç eden tek bir monomorfik lokus sergilemiştir. İncelenen tüm bireyler *Ak* lokusunda aynı allel için fikse olmuştur (şekil 4.12).



şekil 4.12 *Mus macedonicus* ve *Mus domesticus* rneklerinin nişasta jel ile incelenmiş Adenilat kinaz enzim zimogramı. Anoda göç eden tek bir monomorfik lokus (*Ak*)

### 13. Glutamat oksaloasetat transaminaz (Got, E.C. 2.6.2.1)

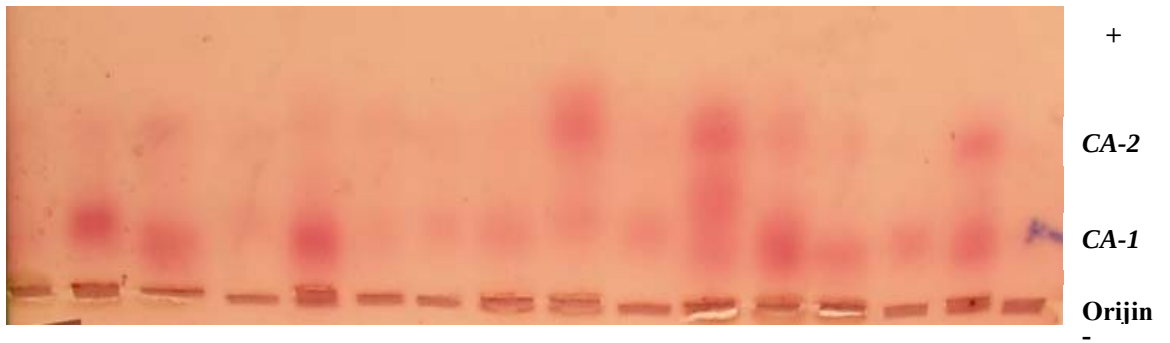
Nişasta jel ile incelenmiş ve Glutamat oksaloasetat transaminaz enzimi anoda göç eden *Got-1* ve katoda göç eden *Got-2* monomorfik lokuslarını sergilemiştir. İncelenen tüm bireyler Got enzim sisteminin her iki lokusunda aynı allel için fikse olmuşlardır (şekil 4.13).



Şekil 4.13 *Mus macedonicus* ve *Mus domesticus* örneklerinin nişasta jel ile incelenmiş Glutamat oksaloasetat transaminaz enzim zimogramı. Anoda göç eden monomorfik *Got-1* lokusu ve katoda göç eden monomorfik *Got-2* lokusu

#### 14. Karbonik anhidraz (CA, E.C. 4.2.1.1)

Nişasta jel ile incelenmiş ve Karbonik anhidraz enzimi anoda göç eden iki polimorfik lokus sergilemiştir. Orijine yakın olan *CA-1* lokusunda 3 allel (A, B ve C) var iken, *CA-2* lokusunda 2 allel (A ve B) bulunmaktadır. *CA-1* lokusundaki “C” alleli seyrek görülen bir alleldir. *CA-2* lokusunda ise “B” alleli oldukça yaygındır ve çok sayıdaki örnek B alleleline fikse olmuştur (Şekil 4.14 )



Şekil 4.14 *Mus macedonicus* ve *Mus domesticus* örneklerinin nişasta jel ile incelenmiş Karbonik anhidraz enzim zimogramı. Anoda göç eden polimorfik *CA-1* ve *CA-2* lokusu

## 4.2 İstatistik Analizleri

Analiz edilen 23 lokus içinde en fazla allel sayısı (5) Esteraz enziminde gözlemlendi. Allellik bantların jel üzerindeki göç mesafeleri birbirine yakın ve bazı örneklerde sonuç alınamadığı için yapılan istatistiksel analizlerde esteraz enzim lokusu hariç tutulmuş ve diğer 22 lokus BIOSYS-1 ile analiz edilmiştir. Esteraz enzim sisteminin yalnızca allel frekansları hesaplanmıştır (Çizelge 4.1).

Çizelge 4.1 İncelenen tüm *Mus macedonicus* ve *Mus domesticus* populasyonlarında *Est* lokusunun allel frekansları

| Alleller | <i>M. macedonicus</i> (N= 23) | <i>M. domesticus</i> (N= 10 ) |
|----------|-------------------------------|-------------------------------|
| A        | 0.065                         | 0.000                         |
| B        | 0.13                          | 0.4                           |
| C        | 0.608                         | 0.1                           |
| D        | 0.152                         | 0.4                           |
| E        | 0.045                         | 0.1                           |

Wright (1978)'in F değeri türler arasındaki genetik farklılığın miktarını tahmin etmek için kullanılmıştır. Toplam 5 polimorfik lokus için F değerlerinin tahminleri Çizelge 4.2'de verilmiştir. Tüm lokuslara ait F-istatistik verilerine bakıldığında populasyon içi genetik farklılaşmayı gösteren fiksasyon indeksinin ortalama değeri ( $F_{ST} = 0.3693$ ) ile populasyonlar arası genetik farklılaşmayı ifade eden gen akışı değeri ( $N_m = 0.426$ ) önemli derecede yüksek bulunmuştur.  $F_{ST}$  değerleri dikkate alındığında çalışılan enzim sistemlerinden polimorfik enzimlerde en yüksek genetik farklılaşma Idh-2'de, en düşük genetik farklılaşma ise CA-1'de saptandı.

$F_{IS}$  örnekler arasındaki heterozigotluğun Hardy-Weinberg dengesinden sapmasını ifade eder, negatif değerler heterozigotluğun çok olduğunu, pozitif değerler ise heterozigotluk miktarının az olduğunu gösterir. Bu çalışmada *Mus* populasyonları arasındaki ortalama  $F_{IS}$  değeri 0.8181 dir.  $F_{IS}$  değeri polimorfik olan lokuslardan sadece PGM'de negatif değerdedir (-0.3333); diğer polimorfik lokuslarda pozitif değerdedir. Tüm populasyondaki heterozigotluğun Hardy-Weinberg dengesinden sapma miktarını

gösteren  $F_{IT}$  ortalama değeri 0.8853'tür. Bu değer populasyon içi üreme etkisini gösterir.  $F_{IT}$  değeri pozitifdir.

Çizelge 4.2 Tüm lokuslarda gen akışı ve F-istatistiklerinin özeti (Nei 1978)

| Lokus    | F(IS)  | F(ST) | F(IT)  | Nm*  |
|----------|--------|-------|--------|------|
| PGM      | -.3333 | .2373 | -.0170 | .803 |
| IDH-2    | 1.0000 | .6012 | 1.0000 | .165 |
| GPI-1    | 1.0000 | .3111 | 1.0000 | .553 |
| CA-1     | .9213  | .1715 | .9348  | .207 |
| CA-2     | .0000  | .4615 | .4615  | .291 |
| Ortalama | .8181  | .3693 | .8853  | .426 |

\*Nm = Fst' den hesaplanan gen akışı =  $0.25(1 - F_{st})/F_{st}$ .

Allozim çalışmaları sonucu 5 lokus polimorfik bulunmuştur. Bulunan polimorfik lokusların allel frekansları Çizelge 4.3' te verilmiştir.

Çizelge 4.3 *Mus* populasyonlarında polimorfik lokusların allel frekansları. N: Birey sayısı

| Lokus               | Mace-Edirne | Mace-Kırklareli | Mace-Tekirdağ | Mace-Bolu | Mace-Düzce | Dome-Tekirdağ | Dome-Zonguldak | Dome-Bartın | Dome-Bolu |
|---------------------|-------------|-----------------|---------------|-----------|------------|---------------|----------------|-------------|-----------|
| <i>PGM</i><br>(N)   | 6           | 3               | 4             | 4         | 3          | 2             | 3              | 3           | 2         |
| A                   | .000        | .000            | .000          | .000      | .000       | .250          | .000           | .000        | .000      |
| B                   | 1.000       | 1.000           | 1.000         | 1.000     | 1.000      | .750          | 1.000          | 1.000       | 1.000     |
| <i>IDH-2</i><br>(N) | 6           | 5               | 7             | 4         | 3          | 2             | 3              | 3           | 2         |
| A                   | .000        | .000            | .000          | .000      | .000       | .500          | .667           | .667        | .000      |
| B                   | .000        | .200            | .000          | .000      | .000       | .500          | .333           | .333        | .500      |
| C                   | 1.000       | .800            | 1.000         | 1.000     | 1.000      | .000          | .000           | .000        | .500      |
| <i>GPI-1</i><br>(N) | 6           | 3               | 5             | 4         | 3          | 2             | 3              | 3           | 2         |
| A                   | .000        | .333            | .000          | .000      | .000       | .000          | .000           | .000        | .000      |
| B                   | 1.000       | .667            | 1.000         | 1.000     | 1.000      | 1.000         | 1.000          | 1.000       | 1.000     |
| <i>CA-1</i><br>(N)  | 6           | 4               | 4             | 4         | 2          | 2             | 3              | 2           | 1         |
| A                   | .500        | .375            | .500          | .500      | .000       | .000          | .333           | .500        | .000      |
| B                   | .500        | .625            | .500          | .250      | .500       | 1.000         | .667           | .500        | 1.000     |
| C                   | .000        | .000            | .000          | .250      | .500       | .000          | .000           | .000        | .000      |
| <i>CA-2</i><br>(N)  | 5           | 4               | 4             | 4         | 2          | 2             | 3              | 2           | 2         |
| A                   | .000        | .000            | .000          | .500      | .000       | .000          | .000           | .000        | .000      |
| B                   | 1.000       | 1.000           | 1.000         | .500      | 1.000      | 1.000         | 1.000          | 1.000       | 1.000     |

Tüm populasyonlarda gözlenen heterozigotluk (Ho), beklenen heterozigotluk (He), polimorfik lokus yüzdeleri (P) ve lokus başına ortalama allel sayısı (A) Çizelge 4.4'te gösterilmiştir.

Çizelge 4.4 Tüm *Mus* populasyonlarında gözlenen heterozigotluk, polimorfik lokusların oranı ve lokus başına ortalama allel sayısı

| Populasyon        | He*  | He** | Ho   | A    | P %95 | P %99 | P     |
|-------------------|------|------|------|------|-------|-------|-------|
| 1 Mace-Edirne     | .023 | .023 | .000 | 1.05 | 4.55  | 4.55  | 4.55  |
| 2 Mace-Kırklareli | .056 | .065 | .011 | .07  | 13.64 | 13.64 | 13.64 |
| 3 Mace-Tekirdağ   | .023 | .026 | .000 | 1.05 | 4.55  | 4.55  | 4.55  |
| 4 Mace-Bolu       | .051 | .058 | .023 | 1.14 | 9.09  | 9.09  | 9.09  |
| 5 Mace-Düzce      | .023 | .030 | .000 | 1.05 | 4.55  | 4.55  | 4.55  |
| 6 Dome-Tekirdağ   | .040 | .053 | .023 | 1.09 | 9.09  | 9.09  | 9.09  |
| 7 Dome-Zonguldak  | .040 | .048 | .000 | 1.09 | 9.09  | 9.09  | 9.09  |
| 8 Dome-Bartın     | .043 | .055 | .000 | 1.09 | 9.09  | 9.09  | 9.09  |
| 9 Dome-Bolu       | .023 | .030 | .000 | 1.05 | 4.55  | 4.55  | 4.55  |

\* : Lokus başına ortalama heterozigotluk (tarafli hesaplama),

\*\* : Lokus başına ortalama heterozigotluk (tarafsiz hesaplama),

Ho: Lokus başına ortalama heterozigotluk (direk sayilan hesaplama), A: Lokus başına ortalama allel sayısı, P %95: Polimorfik lokusların yüzdesi (0.95 kriteri), P %99: Polimorfik lokusların yüzdesi (0.99 kriteri), P: Polimorfik lokusların yüzdesi (kriterisiz)

İncelenen populasyonlardaki genetik çeşitlilik değerleri Çizelge 4.5' te verilmiştir. Buradan görüldüğü gibi lokus başına ortalama allel sayısı ve polimorfik lokus yüzdesi en fazla *Mus macedonicus*' un Kırklareli populasyonunda 1.1 (P: %13.6) dir. Yine çizelgede de görülebileceği gibi, gözlenen heterozigotluk değerleri beklenen değerlerden oldukça düşüktür.

Çizelge 4.5 Tüm populasyonlarda genetik varyasyon (standart hata parantez içindedir)

| Populasyon      | Örnek sayısı | Lokus başına ortalama allel sayısı | Polimorfik lokusların yüzdesi* | Doğrudan sayılan ortalama heterozigotluk | HrdWbg'ye göre beklenen ortalama heterozigotluk ** |
|-----------------|--------------|------------------------------------|--------------------------------|------------------------------------------|----------------------------------------------------|
| Mace-Edirne     | 6.0<br>(.0)  | 1.0<br>(.0)                        | 4.5                            | .000<br>(.000)                           | .025<br>(.025)                                     |
| Mace-Kırklareli | 4.4<br>(.2)  | <b>1.1</b><br><b>(.1)</b>          | <b>13.6</b>                    | .011<br>(.011)                           | .065<br>(.036)                                     |

Çizelge 4.5 Tüm populasyonlarda genetik varyasyon (standart hata parantez içindedir)  
(devam)

|                    |             |             |     |                |                |
|--------------------|-------------|-------------|-----|----------------|----------------|
| Mace-Tekirdağ      | 6.5<br>(.2) | 1.0<br>(.0) | 4.5 | .000<br>(.000) | .026<br>(.026) |
| Mace-Bolu          | 4.0<br>(.0) | 1.1<br>(.1) | 9.1 | .023<br>(.023) | .058<br>(.041) |
| Mace-Düzce         | 2.9<br>(.1) | 1.0<br>(.0) | 4.5 | .000<br>(.000) | .030<br>(.030) |
| Dome-<br>Tekirdağ  | 2.0<br>(.0) | 1.1<br>(.1) | 9.1 | .023<br>(.023) | .053<br>(.037) |
| Dome-<br>Zonguldak | 3.0<br>(.0) | 1.1<br>(.1) | 9.1 | .000<br>(.000) | .048<br>(.033) |
| Dome-Bartın        | 2.9<br>(.1) | 1.1<br>(.1) | 9.1 | .000<br>(.000) | .055<br>(.038) |
| Dome-Bolu          | 2.0<br>(.0) | 1.0<br>(.0) | 4.5 | .000<br>(.000) | .030<br>(.030) |

\*Eğer en yaygın allelin frekansı 0.095'i geçmemişse, bir lokus polimorfik olarak dikkate alınır

\*\* Tarafsız (unbiased) hesaplama (Nei 1978)

Nei (1978)'in genetik benzerlik ve Wright (1978)' in genetik mesafe değerleri Çizelge 4.6'da gösterilmiştir. Bu tabloya göre Mace-Tekirdağ populasyonu ile Mace-Edirne populasyonu, Dome-Zonguldak ile Dome-Tekirdağ ve Dome-Bartın ile Dome-Zonguldak populasyonları arasındaki benzerlik değeri en yüksek (1.000), Dome-Tekirdağ ve Mace-Bolu populasyonları arasında ise en düşüktür (0.939). Genetik mesafe değeri Mace-Bolu populasyonu ile Dome-Tekirdağ ( 0.114) arasında en yüksek iken Dome-Zonguldak ile Dome-Bartın (0.008) populasyonları arasında en düşük değere sahiptir.

Çizelge 4.6 Nei (1978)'in tarafsız genetik benzerlik (alt diagonal) ve Wright (1978)' in genetik mesafe (üst diagonal) değerleri (1-5: Macedonicus, 6-9: Domesticus)

| Populasyon   | 1            | 2    | 3    | 4           | 5    | 6            | 7            | 8           | 9    |
|--------------|--------------|------|------|-------------|------|--------------|--------------|-------------|------|
| 1 Edirne     | ****         | .030 | .000 | .034        | .034 | .023         | .080         | .045        | .045 |
| 2 Kırklareli | .998         | **** | .030 | .064        | .047 | .080         | .053         | .057        | .046 |
| 3 Tekirdağ   | <b>1.000</b> | .999 | **** | .034        | .023 | .080         | .053         | .045        | .045 |
| 4 Bolu       | .990         | .984 | .991 | ****        | .045 | <b>.114</b>  | .087         | .080        | .080 |
| 5 Düzce      | .993         | .992 | .994 | .987        | **** | .080         | .068         | .068        | .045 |
| 6 Tekirdağ   | .958         | .973 | .958 | <b>.939</b> | .961 | ****         | .034         | .042        | .034 |
| 7 Zonguldak  | .967         | .977 | .968 | .952        | .962 | <b>1.000</b> | ****         | <b>.008</b> | .045 |
| 8 Bartın     | .970         | .978 | .971 | .958        | .961 | .997         | <b>1.000</b> | ****        | .053 |
| 9 Bolu       | .982         | .992 | .982 | .963        | .984 | .996         | .986         | .981        | **** |

Çalışılan iki *Mus* türünde polimorfik lokuslardaki genotiplerin Hardy-Weinberg dengesinden sapmasını belirlemek için Khi-kare testi yapılmıştır (Çizelge 4.7). Tüm populasyonlarda polimorfik enzimler içinde *CA-1*, *IDH-2*, *GPI-1* lokuslarının Hardy-Weinberg eşitliğinden saptığı belirlendi ( $P < 0.05$ ). Mace-Bolu populasyonundaki *CA-2* lokusu ( $P = 0.773$ ) ve Dome-Tekirdağ populasyonundaki *PGM* ( $P = 1.000$ ) Hardy-Weinberg dengesindedir ( $P > 0.05$ ) ve bu populasyonlarda gözlenen ve beklenen frekanslar birbirlerine uyum göstermiştir.

Çizelge 4.7 Çalışılan iki *Mus* türünde polimorfik lokuslardaki genotiplerin Hardy-Weinberg dengesinden sapmasının belirlenmesi için Ki-kare testi

| Populasyon        | Lokus | Sınıf                                  | Gözlenen Frekans           | Beklenen Frekans                               | Khi-kare | Df* | P    |
|-------------------|-------|----------------------------------------|----------------------------|------------------------------------------------|----------|-----|------|
| 1-Mace-Edirne     | CA-1  | A-A<br>A-B<br>B-B                      | 3<br>0<br>3                | 1.364<br>3.273<br>1.364                        | 7.200    | 1   | .007 |
| 2-Mace-Kırklareli | IDH-2 | B-B<br>B-C<br>C-C                      | 1<br>0<br>4                | .111<br>1.778<br>3.111                         | 9.143    | 1   | .002 |
|                   | GPI-1 | A-A<br>A-B<br>B-B                      | 1<br>0<br>2                | .200<br>1.600<br>1.200                         | 5.333    | 1   | .021 |
|                   | CA-1  | A-A<br>A-B<br>B-B                      | 1<br>1<br>2                | .429<br>2.143<br>1.429                         | 1.600    | 1   | .206 |
| 3-Mace-Tekirdağ   | CA-1  | A-A<br>A-B<br>B-B                      | 2<br>0<br>2                | .857<br>2.286<br>.857                          | 5.333    | 1   | .021 |
| 4-Mace-Bolu       | CA-1  | A-A<br>A-B<br>A-C<br>B-B<br>B-C<br>C-C | 2<br>0<br>0<br>1<br>0<br>1 | .857<br>1.143<br>1.143<br>.143<br>.571<br>.143 | 14.667   | 3   | .002 |
|                   | CA-2  | A-A<br>A-B<br>B-B                      | 1<br>2<br>1                | .857<br>2.286<br>.857                          | .083     | 1   | .773 |
| 5-Mace-Düzce      | CA-1  | B-B<br>B-C<br>C-C                      | 1<br>0<br>1                | .333<br>1.333<br>.333                          | 4.000    | 1   | .046 |



Çizelge 4.7 Çalışılan iki *Mus* türünde polimorfik lokuslardaki genotiplerin Hardy-Weinberg dengesinden sapmasının belirlenmesi için Ki-kare testi (devam)

|                  |       |     |   |       |       |   |       |
|------------------|-------|-----|---|-------|-------|---|-------|
| 6-Dome-Tekirdağ  | PGM   | A-A | 0 | .000  | .000  | 1 | 1.000 |
|                  |       | A-B | 1 | 1.000 |       |   |       |
|                  |       | B-B | 1 | 1.000 |       |   |       |
|                  | IDH-2 | A-A | 1 | .333  |       |   |       |
|                  |       | A-B | 0 | 1.333 |       |   |       |
|                  |       | B-B | 1 | .333  |       |   |       |
| 7-Dome-Zonguldak | IDH-2 | A-A | 2 | 1.200 | 5.333 | 1 | .021  |
|                  |       | A-B | 0 | 1.600 |       |   |       |
|                  |       | B-B | 1 | .200  |       |   |       |
|                  | CA-1  | A-A | 1 | .200  |       |   |       |
|                  |       | A-B | 0 | 1.600 |       |   |       |
|                  |       | B-B | 2 | 1.200 |       |   |       |
| 8-Dome-Bartın    | IDH-2 | A-A | 2 | 1.200 | 5.333 | 1 | .021  |
|                  |       | A-B | 0 | 1.600 |       |   |       |
|                  |       | B-B | 1 | .200  |       |   |       |
|                  | CA-1  | A-A | 1 | .333  |       |   |       |
|                  |       | A-B | 0 | 1.333 |       |   |       |
|                  |       | B-B | 1 | .333  |       |   |       |
| 9-Dome-Bolu      | IDH-2 | B-B | 1 | .333  | 4.000 | 1 | .046  |
|                  |       | B-C | 0 | 1.333 |       |   |       |
|                  |       | C-C | 1 | .333  |       |   |       |
|                  | IDH-2 | B-B | 1 | .333  |       |   |       |
|                  |       | B-C | 0 | 1.333 |       |   |       |
|                  |       | C-C | 1 | .333  |       |   |       |

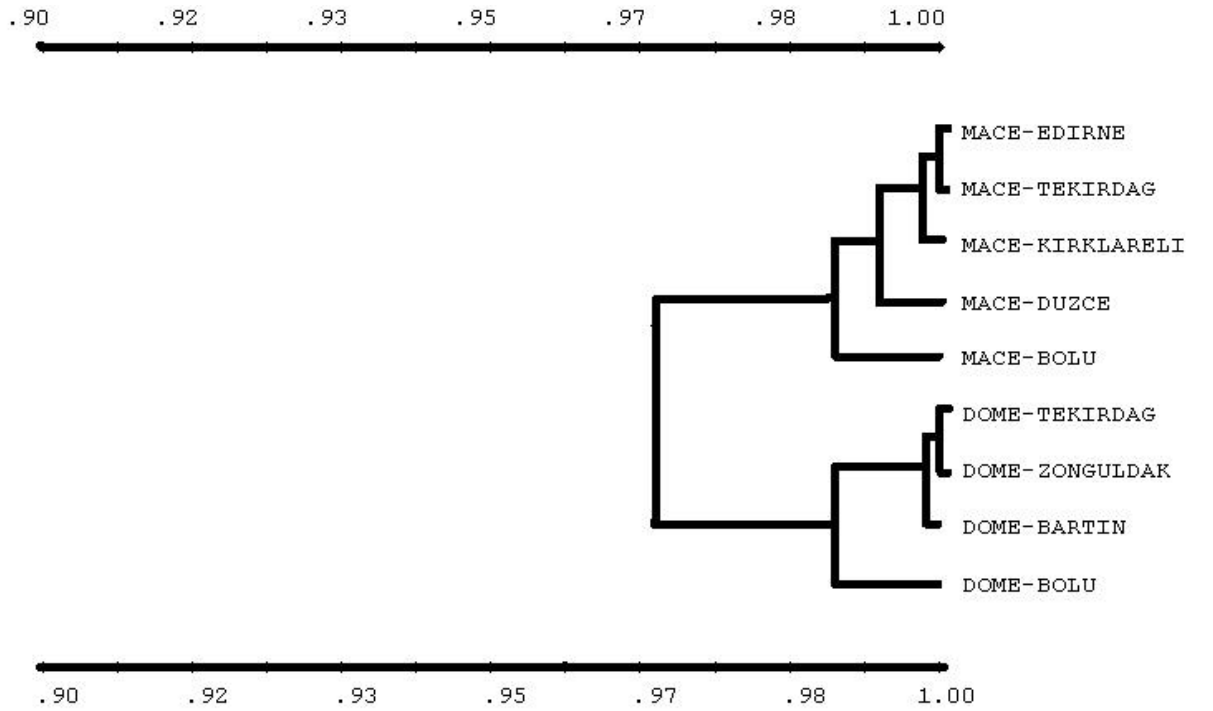
\* Serbestlik derecesi

Tüm populasyonlarda polimorfik olduğu tespit edilen lokusların Hardy-Weinberg eşitliğinden sapmaları Khi-kare testi ile incelendi (Çizelge 4.8).

Çizelge 4.8 *Mus domesticus* ve *Mus macedonicus* populasyonlarında saptanan polimorfik lokusların Khi kare testi ile karşılaştırılması (D.F: serbestlik derecesi)

| Lokus  | Allel sayısı | Khi-kare | D.F | P       |
|--------|--------------|----------|-----|---------|
| PGM    | 2            | 14.237   | 8   | 0.07579 |
| IDH-2  | 3            | 66.827   | 16  | 0.00000 |
| GPI-1  | 2            | 19.289   | 8   | 0.01339 |
| CA-1   | 3            | 25.961   | 16  | 0.05459 |
| CA-2   | 2            | 25.846   | 8   | 0.00112 |
| Toplam |              | 152.160  | 56  | 0.00000 |

Nei (1978)'nin genetik benzerlik değerlerine dayanılarak çalışılan populasyonlar arasındaki fenetik ilişkilerden elde edilen UPGMA kümelenme analizi Şekil 4.15'te verilmiştir. Dendogramda biri *M. macedonicus* diğeri *M. domesticus* populasyonları olmak üzere iki majör küme oluşmuştur. Her bir küme de iki alt kümeye ayrılmıştır. *M. macedonicus* populasyonlarından oluşan 1. kümedeki ilk grupta Bolu populasyonu tek başına yer alırken, ikinci grupta Edirne, Tekirdağ, Kırklareli ve Düzce populasyonları bulunmaktadır. *M. domesticus* populasyonlarından oluşan 2. kümedeki ilk grupta yine Bolu populasyonu tek başına yer almış ve ikinci grupta Tekirdağ, Zonguldak ve Bartın populasyonları yer almaktadır.



Şekil 4. 15 Nei (1978)'nin genetik benzerlik değerlerine dayanılarak oluşturulan UPGMA (unweighted pair group method) dendrogramı

## 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bugüne kadar bir çok morfolojik, ekolojik, karyolojik ve moleküler genetik çalışmalar *Mus* cinsinin sistematüğini, yayılışını ve filogenetik ilişkilerini anlamak için yapılmıştır (Spiridonova *et al.* 2008). Karyoloji, allozim analizleri ve mitokondriyal DNA kontrol bölge dizileri çeşitli bölgelerdeki *Mus* cinsine ait türlerin teşhislerinde kullanılmıştır. Ancak bu cinsin çok farklı coğrafik alanlarda yaşaması ve farklı genetik analiz metotlarının kullanımı yüzünden cinsle ilgili bir çok taksonomik problemler çözülmeden kalmıştır. Bugün bile bazı araştırmacılar *Mus musculus* s. Str'ın 3 ya da 4 alttür (*musculus*, *domesticus*, *castaneus* ve *bactrianus*) grubu içerdiğine inanırken, diğer bir grup araştırmacı bunları tür olarak kabul etmektedir (Spiridonova *et al.* 2008).

Çolak vd. (2006) morfolojik verilere dayanarak Türkiye'de *M. domesticus* ile *M. macedonicus*'un yayılış gösterdiğini ortaya koymuşlardır ve iki türü ayırt edici morfolojik özellikleri tanımlamışlardır. Araştırmacıların sonuçlarında; zygomatik indeksi (ZI) *M. domesticus*'da 0.32-0.47, *M. macedonicus*'ta ise 0.60-0.85 olarak belirlenmiştir. Baş+Gövde/kuyruk (H+B/T) indeksi *M. domesticus*'da 0.87-1.05 iken *M. macedonicus*'ta 1.08-1.78 arasında değiştiğı saptanmıştır. Diğer bir ayırt edici özellik olarak; parietal kemiklerin ventral kenarlarının *M. domesticus*'da zikzak, *M. macedonicus*' ta ise düz ya da öne doğru girinti yapmış biçimde olduğu tespit edilmiştir. Bakulum ve phallus özellikleri ise *M. domesticus*'u *M. macedonicus*' tan ayırmamıştır. Ancak morfolojik özelliklere göre ayırmanın yeterli olmadığı durumlarda moleküler belirteçlerin kullanılması taksonların ayırımında fayda sağlamaktadır. Moleküler belirteç kullanılarak gerek Türkiye'de gerekse yabancı ülkelerde yapılmış çok sayıda çalışma vardır.

Awasthi *et al.* (1998) Hindistan *Mus musculus* ve *Mus platyhris* populasyonları arası ve populasyonlar içi varyasyon seviyelerini ortaya koymak için 24 biyokimyasal genetik belirteci selüloz asetat elektroforezi yöntemi ile analiz etmişlerdir. 24 lokusun 15 tanesini polimorfik bulmuşlardır. Araştırmacılar 18 yeni allel tespit etmiş ve bu allellere göre *M. musculus*'ta polimorfizmin yüksek olduğunu kaydetmişlerdir. Awasthi *et al.* (1998) her biri 5 alele sahip olan *Idh-1*, *Np-1* ve *Pgm-1*'i iki tür arasında en değişken

lokuslar olarak belirtmişlerdir. Buna bağlı olarak *M. musculus* türünde heterozigot oranının yüksek olduğunu vurgulamışlardır. Araştırmacılara göre Hindistan popülasyonlarında lokus başına ortalama allel sayısı (A) 1.42'dir. Bu sonuçlar bu çalışmada elde edilenlerden farklıdır. Bu çalışmada Türkiye'de *Idh-1* *M. domesticus* ve *M. macedonicus*'ta, *Pgm* ise yalnız *M. domesticus*'ta polimorfik bulunmuştur. Fakat *Idh-2* lokusunda 3 allel, *Pgm* lokusunda ise 2 allel tespit edilmiştir. Çalışmadaki Türk popülasyonlarında A= 1.1 bulunmuştur. Bu sonuçlar arasındaki farklılıklara göre çalışma alanında *M. musculus*'un yaşamadığı söylenilebilir. Hindistan *Mus* cinsi türleri arasında Nei'nin genetik mesafe değeri 0.0255-0.1996, Türkiye'de ise iki tür arasında Wright'ın genetik mesafe değeri 0.008-0.114 olarak bulunmuştur. Bu farklılık karşılaştırılan türler arasındaki farklılıklardan kaynaklanmış olabilir.

Carter *et al.* (1999) evrimsel çalışmalarda kullanılan *M. domesticus*'un laboratuvar ırkında (Hsd:ICR) genetik varyasyonu hesaplamak için allozimleri çalışmışlardır. Çalışmada 325 farenin 7 enzim sistemi çalışılmış ve 10 allozim lokusu analiz edilmiştir. *Ldh*, *Pgm* ve *Me* enzim sisteminde 2 lokus tespit edilmiştir. Diğer enzim sistemleri *Gpi*, *Mdh*, 6-*Pgd* ve *Got*'ta tek bir lokus saptanmıştır. Lokusların %40'ı polimorfiktir. Çeşitliliğin az olması beklenen laboratuvar ırklarında, polimorfizmin yüksek olması ilginçtir. Selander and Yang (1970) tarafından Kuzey Amerika ve Danimarka *M. domesticus* popülasyonları için lokusların %41'i polimorfik; ortalama heterozigotluk % 8.5 olarak rapor edilmiştir. Bizim çalışmamızda *Mus*'un doğal popülasyonlarında ise daha fazla lokus incelenmesine rağmen lokusların %26.08'i polimorfiktir. Bu çalışmadaki polimorfik lokus oranı hem laboratuvar ırkları hem de Kuzey Amerika ve Danimarka doğal popülasyonlarından daha düşüktür.

Türkiye'de ilk allozim çalışması Gözcelioğlu (2002) tarafından Ankara-Bolu-Zonguldak hattında yayılış gösteren *M. domesticus* ve *M. macedonicus*'un üzerinde yapılmış ve iki türün *Idh-1* lokusuna göre ayrılabilceğini kaydedilmiştir. Araştırmacı hızlı allel *Idh-1*<sup>105</sup>'i *M. domesticus* türünde, yavaş allel olan *Idh-1*<sup>100</sup> ü ise *M. macedonicus*'ta yaygın allel olarak gözlemlemiştir. Gözcelioğlu (2002) tek bir *Idh* lokusu rapor ederken, bu tez çalışmasında 2 lokus tespit edilmiştir ve polimorfik olan *Idh-2* lokusunda 3 allel saptanmıştır; *Idh-2* lokusu Gözcelioğlu (2002)'nin

çalışmasındaki *Idh-1* lokusuna karşılık gelmektedir. Diğer çalışmalarla bu çalışma arasındaki farklılık lokusların numaralanmasında kullanılan farklı yöntemlerden kaynaklanmaktadır. Bu çalışmada orijinde kalan lokus *Idh-1*'dir ve monomorfiktir. *Idh-2* lokusunda *Mus macedonicus*'ta ilk kez üçüncü bir C aleli tespit edilmiştir.

Munclinger *et al.* (2002) Slovakya ve Çek Cumhuriyeti'nde ve Almanya'ya çok yakın alanda *Mus* cinsinin genetik varyasyonunu çalıştılar. 49 lokaliteden alınan 544 örnek üzerinde 6 ayırıcı allozim lokusu (*Es-2*, *Gpd-1*, *Idh-1*, *Mpi*, *Np* ve *Sod-1*) analiz etmişlerdir. *Np* enzim sisteminde *M. domesticus*'ta bir tane hızlı allel ( $Np^{100}$ ) ve *M. musculus*'ta orta hızlı olan ( $Np^{90}$ ) ve çok yavaş olan ( $Np^{70}$ ) allelleri saptanmıştır. Araştırmacılar ayrıca *Es-2* lokusunda *M. domesticus*'a özgü allel belirlemişlerdir. Araştırmacılar bu verilere dayanarak Çek Cumhuriyeti ve Slovakya'nın neredeyse tamamında *M. musculus* bulunduğunu, *M. domesticus*'un ise yalnızca Almanya'da ve Çek Cumhuriyeti'nin en batı bölümlerinde tespit edildiğini belirtmişlerdir. Bu tez çalışmasında da *Idh-2* lokusu iki *Mus* türünü ayırıcı lokus olarak tespit edilmiştir. Ancak Çek Cumhuriyeti ve Slovakya'daki populasyonların aksine *Sod*, *Mpi*, *Gpd* lokuslarında varyasyon tespit edilmemiştir. *Np* enziminde ise sonuç alınamamıştır. Yukarıda belirtilen lokuslarda varyasyon bulunmaması bu çalışmada az sayıda örneğin (n= 35) analiz edilmesine bağlanabilir.

Tryfonopoulos *et al.* (2005) ev faresi *M. m. domesticus*'un 239 bireyinde 19 lokusu selüloz asetat elektroforezi yöntemi ile analiz etmişlerdir. İncelenen 19 lokusun 11 tanesi polimorfik iken 8 tanesi monomorfiktir. 14 populasyonun polimorfik lokus yüzdelikleri 0.99 kriteri temel alındığında %10.53-42.11 arasında değişmektedir. Bu çalışmada ise polimorfik lokus yüzdeleri %4.55-9.09 olarak bulunmuştur. Daha düşük seviyelerde olmasının nedeni örnek sayısının az olması ve lokalitelerin daha yakın olmasından kaynaklanabilir. Araştırmacılar *M. m. domesticus*'un Yunanistan populasyonlarında *Got-2* lokusunu iki allele sahip polimorfik lokus olarak tespit etmişlerdir. Bunun aksine Trakya ve Batı Karadeniz populasyonlarında bu lokus monomorfik bulunmuştur. Trakya ve Batı Karadeniz örneklerinin kas dokularında *Ldh* enzim sisteminde monomorfik özellikte 5 lokus saptanmıştır. Bunun aksine Yunanistan populasyonlarının kalp, karaciğer, dalak ve böbrek dokularında bu enzim için 2 lokus

belirlenmiştir ve *Ldh-1* lokusunda polimorfizm gözlenmiştir. Idh enzim sistemi ile ilgili sonuçlar bu çalışmadaki sonuçlarla uyum içindedir. Bu çalışmada Idh enzim sisteminde biri monomorfik, diğeri polimorfik 2 lokus saptanmıştır. Me sistemi tek bir polimorfik lokusa sahipken Trakya ve Batı Karadeniz populasyonlarında aynı allele fikse olmuştur. *Mdh* enzim sistemi bu çalışmada olduğu gibi 2 lokus sergilemiştir. Ancak Yunanistan populasyonlarında *Mdh-1* lokusunda polimorfizm gözlenmiştir. Bu çalışmadaki verilerle tutarlı olan diğeri bir enzim sistemi ise 2 allele sahip Pgm'dir. F istatistik analiz değerlerine bakıldığında; Yunanistan populasyonlarında *Fst* değeri ortalama 0.1000, bireysel lokuslarda -0.022'den 0.147'ye değişim gösterir. Türkiye'deki populasyonlarda ise *Fst* değeri ortalama 0.3693 iken bireysel lokuslardaki *Fst* değeri ise 0.1715-0.6012 arasında değişir. Bu çalışmada *Mus domesticus* populasyonları arasındaki genetik mesafe  $D= 0.008-0.053$  ve genetik benzerlik  $I= 0.981-1.000$  iken, *Mus macedonicus* populasyonlarında  $D= 0-0.064$  ve  $I= 0.984-1.000$  arasında değiştiği bulunmuştur. Yunanistan'daki *M. m. domesticus* populasyonları arasındaki genetik mesafe ve benzerlik değerleri ise  $D= 0-0.048$  ve  $I= 0.935-1.000$  arasındadır. Hem Türkiye hem de Yunanistan'daki populasyonlarda genetik benzerlik oldukça yüksek bulunmuştur.

Spiridonova *et al.* (2004) Eski Sovyet Birliği'nin merkezinden ve doğu bölümlerinden *M. musculus*' un 12 yerel populasyonunda genetik farklılaşmayı RAPD-PCR tekniği ile analiz etmişlerdir. İncelenen 65 örnekteki polimorfizm  $P= \%95.6$ ,  $P-95$  kriterine göre  $P= \%24.2$  ve  $P-99$  kriterine göre  $P= \%60.7$  olarak saptanmıştır. Heterozigotluk 0.089, allellerin gözlenen ortalama sayısı  $n(a)= 1.97$ ; etkili allel sayısı  $n(e)= 1.13$  tür. Bu tez çalışmasındaki polimorfik lokus yüzdeleri ise  $\%4.55- \%13.64$  tür. Gözlenen heterozigotluk değeri  $H_o= 0-0.023$  arasındadır. Bu değerlerin RAPD analizi ile incelenen Rusya populasyonlarından daha düşük seviyelerde olmasının nedeni tekniğin farklı olmasından kaynaklanmaktadır. Çünkü RAPD analizi genom boyunca dağılmış çok sayıdaki lokusu taramaya imkan verir.

Bu çalışmada Batı Karadeniz ve Trakya'da yayılış gösteren *Mus* cinsine ait iki tür allozim bakımından analiz edilmiştir. Yayılış alanı dikkate alındığında Trakya ile Anadolu arasında boğazlar *Mus* cinsi bireyleri için önemli bir bariyer görüntüsü vermektedir. Ancak yapılan bu çalışmada insanlarla bir arada yaşayan ve taşınabilir

özellikte olan *M. domesticus*'un Trakya ve Anadolu populasyonları arasında önemli bir fark gözükmemektedir. Şekil 4.15'de de görüldüğü gibi Trakya *M. domesticus* örnekleri Batı Karadeniz bölgesinde yer alan Zonguldak populasyonu ile aynı kümede yer almıştır. Trakya ve Batı Karadeniz populasyonları arasında böyle bir benzerliğin olması, *Mus* örneklerinin insanlar tarafından taşınabilirliği nedeniyle (Gündüz *et al.* 2005) boğazların bu türde gen akışını kesmede etkili olmadığını ortaya koymaktadır. Ancak Trakya'dan az sayıda örneğin incelenmiş olması ve kullanılan teknik nedeniyle bu benzerlik ortaya çıkmış olabilir. Boğazların bu türün Trakya ve Anadolu populasyonları arasındaki gen akışı üzerindeki etkisinin daha açık bir şekilde ortaya konabilmesi için örnek sayısının artırılması ve DNA analizlerinin kullanılması önem arz etmektedir.

İnsanların yaşadığı alanların dışında arazide yaşayan *M. macedonicus*'un Trakya ve Batı Anadolu populasyonları belirgin bir şekilde ayrılmış (Şekil 4.15) ve iki farklı küme oluşmuştur. Trakya ve Batı Karadeniz populasyonları arasındaki bu farklılık, insanlar tarafından taşınma olasılığı düşük olan *M. macedonicus*'un Trakya ve Batı Karadeniz populasyonları arasında boğazların gen akışını kesen bir mekanizma olarak fonksiyon yaptığını ortaya koymaktadır. Ancak boğazların etkisinin daha iyi araştırılabilmesi için tür içi varyasyonları ortaya koymada hassasiyeti az olan allozim analizleri yerine daha etkili olan DNA analizlerinin kullanılması daha uygun gözükmektedir.

Sonuç olarak bu çalışmada Trakya ve Batı Karadeniz bölgesinde *Mus* cinsine ait *M. domesticus* ve *M. macedonicus*'un yayılış gösterdiği ortaya konmuştur. Kullanılan allozim tekniği *M. domesticus* ile *M. macedonicus*'u birbirlerinden ayırmıştır. Allozim tekniği *M. domesticus*'ta tür içi varyasyonları ortaya koymada az etkili olurken *M. macedonicus*'ta ise daha etkili olmuştur. Bu çalışma ile *Idh-2* lokusu iki türü birbirinden ayırmada ayırıcı karakter olarak ortaya çıkmıştır. Trakya ve Anadolu populasyonlarının taksonomik statülerinin belirlenmesi ve boğazların etkisinin daha iyi anlaşılabilmesi için çok sayıda örneğin incelenmesi ve başka moleküler belirteçlerin kullanılması uygun olacaktır.

## KAYNAKLAR

- Anonim. 2008. <http://w3.balikesir.edu.tr/~ozkan/kolloid/kolloid08.pps>. Erişim Tarihi: 20.08.2008.
- Anonim. 2008. <http://tip.cumhuriyet.edu.tr/cutf/Donem1/DonemI20052006/2006III/OzturkOzdemir/PCR.ppt#38>. Erişim Tarihi: 08.11.2008.
- Anonim. 2008. <http://yunus.hacettepe.edu.tr/~roner/denbi.htm> Erişim Tarihi: 20.08.2008.
- Anonim. 2008. [www.duzen.com.tr/workshop/2006/cagatay.pdf](http://www.duzen.com.tr/workshop/2006/cagatay.pdf) Erişim Tarihi: 20.08.2008.
- Anonymous. 2008. <http://porpax.bio.miami.edu/~cmallery/255/255tech/ecb.gels.jpg>. Erişim Tarihi: 15.11.2008.
- Anonymous. 2008. [http://en.wikipedia.org/wiki/Mus\\_spretus](http://en.wikipedia.org/wiki/Mus_spretus) Erişim Tarihi: 24.08.2008.
- Anonymous. 2008. [http://www.meco.unifi.it/fig\\_n.jpg](http://www.meco.unifi.it/fig_n.jpg). Erişim Tarihi: 27.10.2008.
- Anonymous. 2008. <http://www.kixpestcontrol.co.uk/Mice%20p2.jpg>. Erişim Tarihi: 17.10.2008.
- Anonymous. 2008. [http://cms.jcu.edu.au/idc/groups/public/documents/presentation/jcudev\\_008407~3.3.jpg](http://cms.jcu.edu.au/idc/groups/public/documents/presentation/jcudev_008407~3.3.jpg). Erişim Tarihi: 30.09.2008.
- Anonymous. 2008. <http://www.iec.es/institucio/societats/icHistoriaNatural/Bages/planes/Imatges%20grans/ratoli.jpg>. Erişim Tarihi: 19.08.2008.
- Anonymous. 2008. [http://www-leec.univ-paris13.fr/album/banque/Mus\\_spicilegus.gif](http://www-leec.univ-paris13.fr/album/banque/Mus_spicilegus.gif). Erişim Tarihi: 17.07.2008.
- Auffray, J. C., Tchernov, E., Bonhomme, F., Giora Heth, Simson, S. and Nevo, E. 1990. Presence and ecological distribution of *Mus "spretoides"* and *Mus musculus domesticus* in Israel Circum-Mediterranean vicariance in the genus *Mus*. Z. Säugetierkunde 55; 1-10.
- Ayala, F. J., Powell, J. R., Tracey, M. L., Maurano, C. A. and Perez-Salas, S. 1972. Enzyme variability in the *Drosophila willistoni* Group. IV. Genic variation in natural populations of *Drosophila willistoni*. Genetics 70; 113-139.
- Awasthi, M., Bhat, K. V. and Anand, R. K. 1998. Genetic heterogeneity in the Indian *Mus musculus*. Biochemical Genetics, Vol.36, Nos. 7/8.



- Bonhomme, F., Catalan, J., Gerasimov, S., Orsini, P. and Thaler, L. 1983. Le complexe d'espèces du genre *Mus* en Europe centrale et orientale. I-Génétique. Z. Säugetierkunde 48; 78-85.
- Boursot, P. Auffray, J. C., Britton-Davidian, J. and Bonhomme, F. 1993. The evolution of house mouse. Annu. Rev. Ecol. Syst. 24; 119-152.
- Brewer, G. J. and Sing, C. F. 1970. An introduction to isozyme techniques. Academic Press, New York.
- Britton-Davidian, J. B., Catalan, J. and Belkhir, K. 2002. Chromosomal and allozyme analysis of a hybrid zone between parapatric Robersonian races of the house mouse: a case of monobranched homology. Cytogenet Genome Res 96; 75-84.
- Buckie, A. P., Smith, R.H. 1994. Rodents pests and their control, CAB int. Pres 405 pages, London.
- Bulatova, N. S. H., Nadjafova, R. S. and Kozlovsky, A. I. 1991. Cytotaxonomic analysis of species of the genera *Mus*, *Apodemus* and *Rattus* in Azerbaijan. Z.zool.Syst. Evolut.-forsch. 29; 139-153
- Carter, P. A., Garland, T., Dohm, M. R. and Hayes, J. P. 1999. Genetic variation and correlations between genotype and locomotor physiology in outbred laboratory house mice (*Mus domesticus*). Comparative Biochemistry and Physiology Part A 123; 155-162.
- Çolak, E., Yiğit, N. and Sözen, M. 2002. Türkiye'deki *Mus* L., 1758 (Mammalia: Rodentia) Cinsinin Taksonomik Durumu ve Karyolojik Özellikleri. Ankara Üniversitesi Araştırma Fonu Projesi (BAP-96050306), Ankara, s. 59.
- Çolak, E., Yiğit, N., Sözen, M., Çolak, R., Özkurt, Ş., Kankılıç, T., Kankılıç, T. 2006. The morphological analysis of *Mus domesticus* and *Mus macedonicus* (Mammalia: Rodentia) in Turkey. *Turkish. J. of Zoology*, 30; 309-317.
- Demirsoy, A. 1998. Yaşamın Temel Kuralları. Omurgalılar/Amniyota (Sürüngenler, Kuşlar ve Memeliler). Meteksan, Ankara. ISBN: 975-7746-02-9.
- Dev, V. G., Miller, D. A., Tantravahi, R., Schreck, R. R., Roderick, T. H., Erlanger, B. F. and Miller, O. J. 1975. Chromosome markers in *Mus musculus*: Differences in C-banding between the subspecies *M. m. musculus* and *M. m. molossinus*. Chromosoma 53; 335-344.
- Ellerman, J. R. 1948. Key to the rodents of South-West Asia in the British Museum Collection. Proc. Zool. London. 118; 765- 816.
- Ellerman, J. R., and Morrison- Scott, T. C. S. 1951. Checklist of the Palaearctic and Indian mammals 1758. Trustees of the British Museum (Natural History), London, 810 pp.

- Freeman, S. and Herron, J. C. 2001. Evolutionary Analysis. Prentice-Hall. Inc. ISBN: 0-13-017291-X
- Gropp, A., Tettenborn, U., and Lehmann, E. 1969. Chromosomenuntersuchungen bieder Tabakmaus (*M. poschiavinus*) und bei Tabakmaus-Hybriden. *Experientia* 25; 875.
- Gözcüoğlu, B. 2002. Ankara, Bolu ve Zonguldak hattındaki *Mus* L., 1758 (Mammalia:Rodentia) cinsinin morfolojik, karyolojik ve izositrat dehidrogenaz (IDH-1) enzim analizi. Yüksek lisans tezi. Ankara Üniversitesi 62-70.
- Gündüz, İ., Tez, C., Malikov, V., Vazırı, A., Polyakov, A. and Searle, J. B. 2000. Mitochondrial DNA and chromosomal studies of wild mice (*Mus*) from Turkey and Iran. *The Genetical Society of Great Britain*. 84, 458-467.
- Gündüz, İ., Rambau, R. V., Tez, C. and Searle, B. J. 2005. Mitochondrial DNA variation in the western house mouse (*Mus musculus domesticus*) close to its site of origin: studies in Turkey. *Biological Journal of the Linnean Society*, 84; 473-485.
- Harris, H. and Hopkinson, D. A. 1976. *Handbook of enzyme electrophoresis in human genetics*. North-Holland Publishing Company, Amsterdam; Oxford American Elsevier Publishing Company, Inc., New York.
- Harrison, D. L. and Bates, P. J. J. 1991. *The Mammals of Arabia*. Second Edition. Harr. Zool. Museum Pub. Kent. England. 353 pp.
- Hillis, D. M. and Moritz, C. 1990. *Molecular Systematics*. p. 45-127. Sinauer Associated Inc. USA.
- Hoogstraal, H. 1959. Biological observations on certain Turkish, *Haemaphysalis ticks* (Ixodidae, Ixodidae). *J. Prasi*, 45; 227-232.
- Ivanitskaya, E., Gorlov, I., Gorlov, O. and Nevo, E. 1996. Chromosome markers for *Mus macedonicus* (Rodentia, Muridae) from Israel. *Hereditas*, 124; 145-150.
- Kryštufek, B. and Macholán M. 1998. Morphological differentiation in *Mus spicilegus* and the taxonomic status of mound-building mice from the Adriatic coast of Yugoslavia. *J. Zool., Lond.* 245; 185-196.
- Kuru, M. 1999. Omurgalı Hayvanlar. Palme Yayıncılık, Ankara. ISBN: 975-7477-52-4.
- Laemmli, U. K. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of Bacteriophage T4. *Nature*, 227; 680-685.

- Lowe, A., Harris, S., Ashton, P. 2004. *Ecological Genetics: Design, Analysis, and Application*, Blackwell Publishing Company, MA, USA.
- Macholán, M. and Zima, J. 1994. *Mus domesticus* in western Bohemia: a new mammal for the Czech Republic. *Folia Zool.* 43; 39-41.
- Marshall, J. T. and Sage, R. D. 1981. Taxonomy of the house mouse. *Symp. Zool. Soc., London* 47; 15-25.
- Marshall, J. T. 1986. Systematics of the genus *Mus*. *Curr. top. in Microbiol. Immunol.* 127; 12-18.
- Mezhzherin, S. V., Kotenkova, Elena V. and Mikhailenko, A. G. 1998. The house mice, *Mus musculus* s. l., hybrid zone of Transcaucasus. *Z. Säugetierkunde* 63; 154-168.
- Mishra, M., Dubey, N., Totey, S. M., Bhat, K. V., Babu, M., Awasthi-Kalia, M. and Anand, R. K. 2002. Phylogenetic relationships and genetic polymorphisms in wild Indian mice. *Biomolecular Engineering.* 18; 281-288.
- Munclinger, P., Bozikova, E., Sugerikova, M., Pialek, J. and Macholan, M. 2002. Genetic variation in house mice (*Mus*, Muridae, Rodentia) from the Czech and Slovak Republics. *Folia Zool.* 51; 81-92.
- Nachman, M. W. and Searle, J. B. 1995. Why is the house mouse karyotype so variable? *Trends in ecology and evolution.* 10; 347-402.
- Nei, M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics*, 89 ; 583-590.
- Nowak, R. 1999. *Walker's Mammals of the World, vol. 2.* Baltimore and London: The Johns Hopkins University Press.
- Ognev, S. I. 1947. Mammals of the U.S.S.R. and adjacent countries. Vol. V. Rodents. Moscova, 1-662.
- Orsini, P. 1982. Facteurs régissant la répartition des souris en Europe: Intérêt du modèle souris pour une approche des processus évolutifs. Thèse 3ème Cycle, Université Montpellier II.
- Özkan, B. 1995. Gökçeada ve Bozcaada Adalarının Kemiricileri. Doktora tezi. Trakya Üniversitesi 96-108.
- Özkan, A. 2005. Kuzeydoğu Kıbrıs'taki *Apis mellifera cypria* (Pollman 1879) Populasyonlarının Morfometrik ve Elektroforetik Karakterizasyonu. Yüksek lisans tezi. Zonguldak Karaelmas Üniversitesi. 89 pages.

- Pasteur, N., Pasteur, G., Bonhomme, F., Catalan, J. and Britton-Davidian, J. 1988. Practical Isozyme Genetics. Ellis horwood limited. ISBN: 0-7458-0501-9.
- Petrov, B. and Ruzic, A. 1983. Proc. Fauna SR Serbia, Serbian Acad. Sci. and Arts, Belgrade, 2; 177.
- Sage, R. D. 1981. Wild mice. Pp. 39-90 in the mouse in medical research, Vol. I, Academic Press, New York.
- Sambrook, J., Fritsch, E. F. and Maniatis, T. 1989. *Molecular cloning, a laboratory manual*. Second edition. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York.
- Schwarz, E. and Schwarz, H. K. 1943. The wild and commensal stocks of the house mouse, *Mus musculus*. J. Mammal. 24; 59-72.
- Selander, R. K. and Yang, S. Y. 1970. Biochemical genetics and behavior in wild house mouse populations. In: Lindzey, G., Thiessen D. D. Jr., editors. Contributions to Behavior-Genetic analyses-The mouse as a prototype. New York: Appleton-Century-Crofts, 293-334.
- Shaw, R. C. and Prasad, R. 1970. Starch Gel Electrophoresis of Enzymes- A Compilation of Recipes. Biochemical Genetics. 4; 297-320.
- Sokal, R. R. and Sneath, P. H. A. 1963. Principles of numerical taxonomy. San Fransisco.
- Spiridonova, L. N., Chelomina, G. N., Moriwaki, K., Yonekawa, H., Bogdnov, A. S. 2004. Genetic and taxonomic diversity of the house mouse *Mus musculus* from the Asian part of the former Soviet Union. Russian Journal of Genetics, 40 (10); 1134-1143.
- Spiridonova, L. N., Korobitsyna, L. V., Yakimenko and Bogdanov, A. S. 2008. Genetic Differentiation of Subspecies of the House Mouse *Mus musculus* and Their Taxonomic Relationships Inferred from RAPD-PCR Data. Russian Journal of Genetics, Vol. 44, No. 6. pp. 732-739.
- Stainer, H. M. and Vauk, G. 1966. Saugetiere aus dem dem Beyşehir-Gebiet (Vil. Konya-Kleinasien). Zool. Anz. 176 (2); 98-102.
- Swofford, D. and Selander, R. K. 1981. BIOSYS-1: a FORTRAN program for the comprehensive analysis of electrophoretic data in population genetics and systematics. *Journal of Heredity*, 72; 281-283.
- Thaler, L., Bonhomme, F. and Britton-Davidian, J. 1980. Molecular population genetics of mice. Significance of the Mediterranean Basin. *Hereditas* 89; 149.
- Thaler, L., Bonhomme, F. and Britton-Davidian, J. 1981. Processes of speciation and semi-speciation in the house mouse. *Symp. zool. Soc. Lond.* 47; 27-41.

- Tryfonopoulos, G., Chondropoulos, B. and Fraguedakis-Tsolis, S. 2005. Allozyme polymorphism among 14 populations of the house Mouse, *Mus musculus domesticus*, from Greece. Biochemical genetics, Vol. 43, Nos. ½
- Vinogradov, B. S. and Argyropulo, A. I. 1941. Fauna of the U.S.S.R. Mammals Translated from Russian, Moscow, Leningrad. 1-230.
- Wilson, D. E. and Reeder, D. M., 1993. Mammal species of the world. Smithsonian Institution Press. Washington. USA.
- Wright, S. 1978. Evolution and genetics of populations, Vols, 1-4. Chicago: univ. Chicago pres.
- Yiğit, N., Çolak, E., Sözen, M. and Karataş. A. 2006. Rodents of Türkiye, “Türkiye Kemiricileri”. Editör: Ali Demirsoy. Meteksan Co. Ankara Türkiye.

## ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Ufuk GÜNDÜRÜ

Doğum yeri : Ankara

Doğum Tarihi: 28.03.1983

Medeni Hali : Evli

Yabancı Dili : İngilizce

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)

Haziran 2001)

Lisans : Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü (Eylül 2001–  
Haziran 2005)

Yüksek Lisans : Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı  
(Şubat 2006-Aralık 2008)

Kongre : Gündürü, U., Çolak, R., Olgun, G., Çolak, E. 2008. “Batı Karadeniz  
ve Trakya’da Yayılış Gösteren *Mus* L., 1758 (Mammalia: Rodentia)  
Cinsinin Allozim Varyasyonları”. VIII. Ulusal Ekoloji ve Çevre  
Kongresi Özet kitabı (P:19) s.123. Girne/KKTC.