

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

TÜRKİYE’DEKİ KIZIL TILKININ (*Vulpes vulpes* Linnaeus, 1758)
MOLEKÜLER FİLOGENİSİ VE DEMOGRAFİK TARİHİ

Yüksek Lisans Tezi

ALİ ADAN HASSAN

Danışman
Prof. Dr. İslam GÜNDÜZ

SAMSUN

2020

TEZ ONAYI

Ali Adan HASSAN tarafından hazırlanan “Türkiye’deki Kızıl Tilkinin (*Vulpes vulpes* Linnaeus, 1758) Moleküler Filogenisi ve Demografik Tarihi” adlı tez çalışması 14/07/2020 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Ondokuz Mayıs Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı’nda **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Danışman

Prof. Dr. İslam GÜNDÜZ
Ondokuz Mayıs Üniversitesi

Jüri Üyeleri

Başkan

Prof. Dr. İslam GÜNDÜZ
Ondokuz Mayıs Üniversitesi
Biyoloji Bölümü

Üye

Dr. Öğretim Üyesi Cem Tolga GÜRKANLI
Ordu Üniversitesi
Balıkçılık Teknolojileri Mühendisliği Bölümü

Üye

Dr. Öğretim Üyesi Oğuzhan YANAR
Ondokuz Mayıs Üniversitesi
Biyoloji Bölümü

Yukarıdaki sonucu onaylarım 12 / 08 / 2020

Prof. Dr. Ali BOLAT
Enstitü Müdürü

ETİK BEYAN

Ondokuz Mayıs Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez içindeki bütün bilgilerin doğru ve tam olduğunu, bilgilerin üretilmesi aşamasında bilimsel etiğe uygun davrandığımı, yararlandığım bütün kaynakları atıf yaparak belirttiğimi beyan ederim.

14/07/2020

.....

Ali Adan HASSAN

ÖZET

TÜRKİYE’DEKİ KIZIL TİLKİNİN (*Vulpes vulpes* LINNAEUS, 1758) MOLEKÜLER FİLOGENİSİ VE DEMOGRAFİK TARİHİ

Ali Adan HASSAN
Ondokuz Mayıs Üniversitesi
Lisansüstü Eğitim Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Prof. Dr. İslam GÜNDÜZ

Türkiye, Avrupa, Orta Doğu ve Asya’nın kavşak noktasında yer almaktadır ve farklı hayvan taksonlarının bir dizi türünün / soyunun kaynaklandığı bölgedir. Karmaşık topografyası, iklim koşulları ve tektonik tarihi nedeniyle, Batı Palaearktik’te çok çeşitli tarihsel biyocoğrafik desenler sergileyen önemli bir biyolojik çeşitlilik sıcak noktasıdır. *Vulpes*, Canidae’nin bir cinsidir ve Kuzey Yarımkürenin çoğunda, Kuzey Amerika, Avrupa ve Hindistan’dan Japonya’ya kadar bulunmaktadır. *Vulpes*, hepsi gerçek tilki olarak adlandırılan yaklaşık 12 tür içermektedir. Kızıl tilki (*Vulpes vulpes*) Kuzey Kutbu’ndan Kuzey Afrika, Kuzey Amerika ve Avrasya’ya kadar tüm Kuzey Yarımküre boyunca bulunan en büyük, en bol ve en yaygın *Vulpes* türüdür. Bu çalışmada, Türkiye genelinden örneklenen 60 ve Kuzey Kıbrıs’tan örneklenen 1 olmak üzere toplam 61 kızıl tilkide mitokondriyal genomun 1555 bç’lik bir bölgesinin dizi analizi yapılmıştır. Yapılan analizler ile dağılımları üst üste çakışan ancak bir dereceye kadar coğrafi bir yapılanma sergileyen dört mitokondriyal soy hattının var olduğu ortaya çıkarılmıştır. Yeterli sayıda örnek içeren bu soy hatlarının demografik geçmişleri de tahmin edilmiş ve karşılaştırılmıştır. Sonuçların ve filocoğrafik yorumlamaların karnivor memeli çalışan biyologların yanı sıra filocoğrafik örüntü ve iklim değişikliğinin türler üzerindeki etkileri üzerinde çalışanlar için de ilgi uyandıracağını ummaktayız.

Temmuz 2020, 95 sayfa

Anahtar Kelimeler: Kızıl Tilki, *Vulpes vulpes*, Filogeni, Filocoğrafya, mtDNA, Türkiye.

ABSTRACT

MOLECULAR PHYLOGENY AND DEMOGRAPHIC HISTORY OF RED FOX (*Vulpes vulpes* LINNAEUS, 1758) IN TURKEY

Ali Adan HASSAN
Ondokuz Mayıs University
Institute of Graduate Studies
Department of Biology
Master's Thesis

Supervisor: Prof. Dr. İslam GÜNDÜZ

Turkey is situated at the junction of Europe, the Middle East and Asia, and it is the region in which a number of species/lineages of different animal taxa originated. Due to its complex topography, climatic conditions, and tectonic history, it is an important biodiversity hotspot in the West Palaearctic, exhibiting a wide range of historical biogeographical patterns. *Vulpes* is a genus of the Canidae and is found throughout much of the northern hemisphere, from North America, Europe, and India to Japan. *Vulpes* comprises about 12 extant species, all referred to as the true foxes. The red fox (*Vulpes vulpes*) is the largest, the most abundant and the most widespread species of *Vulpes*, being present across the entire Northern Hemisphere from the Arctic Circle to North Africa, North America and Eurasia. Here, we sequenced a 1555-bp region of the mitochondrial genome from 60 red foxes sampled from across Turkey and 1 sample from Northern Cyprus. Four mitochondrial lineages were recovered, with overlapping distributions, but there was some geographical structure to some extent. The demographic histories of the lineages with sufficient number of samples were also estimated and compared. We hope that the results and phylogeographic interpretation will be of substantial interest to carnivore biologists as well as to those who are working on phylogeographic reconstructions and the effects of climate change on species.

July 2020, 95 pages

Keywords: Red Fox, *Vulpes vulpes*, Phylogeny, Phylogeography, mtDNA, Turkey.

ÖNSÖZ ve TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tez çalışmam boyunca, tez ile ilgili teorik ve laboratuvar çalışması aşamalarında yardım ve deneyimlerini esirgemeyen sayın danışman hocam Prof. Dr. İslam GÜNDÜZ'e teşekkürlerimi sunuyorum. Ayrıca laboratuvar çalışmaları ve tez yazım sürecinde yardımcı olan sayın Dr. Sadık DEMİRTAŞ'a içtenlikle teşekkür ederim. Bana her konuda yardımcı olmaya çalışan ve iyi bir çalışma ortamı sunan başta Biyoloji Bölüm Başkanlığı olmak üzere Biyoloji Bölümü'nün değerli hocalarına da teşekkür ederim.

Tez süresi boyunca gerek manevi gerekse bilimsel yardımlarını esirgemeyen değerli arkadaşlarım Dr. Salih SARICAOĞLU'ya, Sn Ahmet Rıdvan TOPKARA'ya ve Ali TOKATLI'ya teşekkür ediyorum.

Tez çalışmam için bana burs sağlayan Yurtdışı Türkler ve Akraba Topluluklar Başkanlığı'na (YTB) çok minnettarım.

Bana her zaman sonsuz manevi desteklerini sunan, sabırla bekleyen, sevgili **anneme, eşim, çocuklarıma** ve kardeşlerime sonsuz teşekkürler.

Ayrıca, bu tezin başarılı bir şekilde tamamlanması için PYO.FEN.1904.19.005 nolu proje kapsamında mali destek sunan Ondokuz Mayıs Üniversitesi BAP ofisine sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

Temmuz 2020, Samsun

Ali Adan HASSAN

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

ÖZET.....	i
ABSTRACT	ii
ÖNSÖZ ve TEŞEKKÜR.....	iii
SİMGELER ve KISALTMALAR	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ	x
1. GİRİŞ	1
1.1. Takım: Carnivora Bowdich, 1821 (Yırtıcı-Etçil Memeliler)	1
1.2. Familya: Canidae Fischer de Waldheim, 1817 (köpekgiller)	1
1.3. Genus: <i>Vulpes</i> Frisch, 1775 (Tilkiler).....	1
1.4. Kızıl Tilki'nin (<i>V. vulpes</i> Linnaeus, 1758) Genel Özellikleri.....	2
1.5. Habitat	3
1.6. Beslenme	3
1.7. Sosyal davranışı	4
1.8. Üreme ve Yavru Yetiştirme	5
1.9. Hastalıklar ve Parazitler	6
1.10. Tehditler	7
1.11. Koruma.....	7
2. LİTERATÜR ÖZETİ	8
2.1. Kızıl Tilki'nin Taksonomisi ve Yayılışı	8
2.2. Türkiye'deki Kızıl Tilki ile ilgili yapılan bilimsel çalışmalar	11
2.3. Kızıl tilki ve Türkiye filocoğrafyası.....	13
2.4. Tezin Önemi.....	15
2.5. Tezin Amacı	16
3. METARYAL VE YÖNTEM.....	18
3.1. Örneklerin Elde Edilmesi.....	18
3.2. Genomik DNA'nın Elde Edilmesi	23
3.2.1. Toplam DNA'nın Ölçülmesi.....	24
3.2.2. Genomik DNA'nın agaroz jel elektroforezi.....	28
3.3. Mitokondrial DNA'nın Hedef Bölgesinin PZR ile Çoğaltılması.....	29
3.3.1. PZR ürünlerinin saflaştırılması	32
3.3.2. DNA dizileme işlemi ve konsensus dizilerin elde edilmesi.....	33
3.4. Moleküler Analizler	34
3.4.1. Filogenetik ve populasyon genetiği analizler için DNA veri matrisi hazırlanması	34
3.4.2. DNA verisine en uygun baz değişikliği modelinin belirlenmesi	34
3.4.3. Filogenetik analizler.....	34
3.4.3.1. Uzaklık tabanlı analizi (Neighbour Joining-NJ)	35
3.4.3.2. Maksimum tutumluluk analizi (Maksimum Parsimoni-MP).....	36
3.4.3.3. Maksimum likelihood analizi (Maksimum olasılık analizi-ML).....	36
3.4.3.4. Bayesian Yaklaşım (BI)	36
3.4.4. Genetik çeşitlilik parametrelerinin hesaplanması	37
3.4.5. Türün demografik yönden analiz edilmesi.....	37
3.4.6. Türkiye kızıl tilki populasyonlarına ait bu çalışma verileri ile GenBankası verilerinin filogenetik yönden beraber değerlendirilmesi	39

3.4.6.1. mtDNA sitokrom-b verilerinin analizi	39
3.4.6.2. mtDNA D-loop bölgesi verilerinin analizi.....	40
4. BULGULAR ve TARTIŞMA.....	42
4.1. mtDNA Varyasyonları	42
4.2. Moleküler filogeni.....	52
4.2.1. mtDNA verisine en uygun baz değişikliği modeli.....	52
4.2.2. Uzaklık metodu (Neighbour Joining-NJ) analizi	52
4.2.3. Maksimum likelihood analizi sonuçları	54
4.2.4. Maksimum parsimony analizi	56
4.2.5. Bayesian analizi	56
4.2.6. Haplotip ağı (Network) analizi.....	60
4.2.7. TCS Haplotip ağı (Network) analizi	62
4.3. Türkiye <i>V. vulpes</i> türünde bazı genetik parametreler.....	64
4.4. Türkiye <i>V. vulpes</i> populasyonlarının demografik yapısı.....	66
4.5. Filogeni ve coğrafik örüntü.....	72
4.6. Gen Bankası'nda mevcut Türkiye kızıl tilki mtDNA verileri ile bu çalışma verilerinin beraberce değerlendirilmesi.....	74
4.6.1. Sitokrom-b geni verileri	74
4.6.2. D-loop bölgesi verileri	78
4.6.3. Bu çalışmanın Gen Bankası'nda mevcut Türkiye kızıl tilki mtDNA verilerine katkısı	83
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	84
KAYNAKLAR	86
ÖZGEÇMİŞ.....	96

SİMGELER ve KISALTMALAR

AIC	Akaike Bilgi Kriteri (Akaike information criterion)
Bç	Baz çift (Base Pair)
BI	Bayes Analizi (Bayes Analysis)
CI	Consistency indeks (Consistence index)
Cyt-b	Sitokrom-b (Cytochrome-b)
Da	Net nükleotit çeşitliliği (Net nucleotide diversity)
ddH ₂ O	Deiyonize Distile Su (Deionized Distilled Water)
DNA	Deoksiribonükleik Asit (Deoxyribonucleic Acid)
dNTP	Deoksiribonükleotid Trifosfat (Deoxyribonucleotide Triphosphate)
Dxy	Ham nükleotit çeşitliliği (Raw nucleotide diversity)
ESU	Evrimsel Önemli Birim (Evolutionary Significant Unit)
EDTA	Etilendiamintetraasetik asit (Ethylenediamine Tetraacetic Acid)
EtBr	Etidyum bromür (Ethidium Bromide)
GTR	Genelleştirilmiş zaman tersinir model (Generalised time-reversible model)
GPS	Küresel Konumlandırma Sistemi (Global Positioning System)
H	Haplotip sayısı (Number of haplotypes)
Hap	Haplotip (Haplotype)
H _d	Haplotip çeşitliliği (Haplotype Diversity)
HKY+G	Hasegawa-Kishino-Yano modeli (Hasegawa-Kishino-Yano model)
IUCN	International Union for Conservation of Nature
I	Değişmez site (invariable site)
k	Ortalama Nükleotid Farklılık Sayısı (Average Nucleotide Differences)
KM-2P	Kimura 2 parametre modeli
MCMC	Markov Chain Monte Carlo
ML	Maksimum Olasılık (Maximum Likelihood)
MP	Maksimum Parsimoni (Maximum Parsimony)
mtDNA	Mitokondriyal DNA (Mitochondrial DNA)
MYÖ	Milyon Yıl Önce (Milyon Years Ago)
NJ	Neighbour Joining
PZR	Polimeraz zincir reaksiyonu (Polymerase Chain Reaction)
RI	Retention Endeksleri (Retention Indices)
R2	Düşük pozitif değer (low positive value)
Rg	Düzensizlik endeksi (Raggedness index)

SE	Standart Hatası (Standard Error)
SSD	Kare Farkların Toplamı (Sum of squared differences)
Ss	Strobeck's S istatistiği (Strobeck's S statistics)
Sit-b	Sitokrom-b (Cytochrome-b)
t	Her Bir Nesilde Her Bir Nükleotid Başına Düşen Mutasyon Oranı (Mutation Rate Per Nucleotide In Each Generation)
TL	Ağaç uzunluğu (Tree Length)
π	Nükleotid Çeşitliliği (Nucleotide Diversity)
θ_0	Genişleme Öncesindeki Baz değişikliği Oranı (Base Rate of Change Before Expansion)
θ_1	Genişleme Sonrasındaki Baz değişikliği Oranı (Base Rate of Change After Expansion)

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Kızıl Tilki fotoğrafı. Foto Kaynağı (Castelló, 2018).....	3
Şekil 1.2. Bir kuş yiyen Kızıl Tilki. (Foto kaynağı: About Animals).....	4
Şekil 1.3. Kızıl tilkilerin çiftleşme prosedürü. Foto Kaynağı (Castelló, 2018).....	5
Şekil 1.4. Sarılık olmuş bir kızıl tilki. Foto Kaynağı (Couper ve Bexton, 2016).....	6
Şekil 1.5. Southampton’da bir yolun kenarında bir tilki bir araba tarafından öldürülmüş bir foto. (foto kaynağı: Wildlife Online).....	7
Şekil 2.1. <i>V. vulpes</i> (kızıl tilki)’nin Kuzey Yarımküre’deki dağılışı alanı (Hoffmann ve Sillero-Zubiri, 2016).....	9
Şekil 2.2. Kombine mtDNA’ya (sitokrom-b ve D-loop bölgesi, 698 bp) dayalı kızıl tilki filogenisi (Statham vd, 2014)’den aynen alınmıştır).....	10
Şekil 2.3. Kombine mtDNA’ya (sitokrom-b ve D-loop bölgesi, 698 bp) dayalı kızıl tilki filogenisinde tespit edilen ana soyhatlarının coğrafik dağılımı (Statham vd, 2014)’den aynen alınmıştır.....	10
Şekil 2.4: Türkiye’deki kızıl tilkinin dağılımı haritası. Foto Kaynağı (Ambarlı vd, 2016).....	11
Şekil 2.5. mtDNA (sitokrom-b, 250 bp) dayalı kızıl tilki filogenisinde tespit edilen ana soyhatları (İbiş vd, 2014)’den aynen alınmıştır.....	12
Şekil 3.1. Tez kapsamında kullanılan genomik DNA’ların eldesi için değişik dokuların alındığı ölü kızıl tilki örneklerinin toplandığı lokaliteler.....	18
Şekil 3.2. Yollarda arabalar tarafından kazara ezilmiş bir kızıl tilki (<i>V.vulpes</i>) örneği.....	19
Şekil 3.3. DNA konsantrasyonunu ölçmek için kullanılan Mikrovolumetre spektrometresi (Colibri).....	24
Şekil 3.4. DNA konsantrasyonunu ölçmek için kullanılan Mikrovolumetre spektrometresi (Colibri).....	25
Şekil 3.5. Bir kızıl tilki (945 nolu birey) için Mikrovolumetre spektrometresi (Colibri) kullanılarak elde edilen DNA’nın konsantrasyonunun görünümü.....	25
Şekil 3.6. Sekiz kızıl tilki örneği için genomik DNA elde edilmesi sonrası koşturulan agaroz jel görüntüsü. B: Belirteç.....	28
Şekil 3.7. İlgili mtDNA fragmanının PZR ile çoğaltılmasını ve ardından da dizilenmesini sağlamak için kullanılan stratejiler. Numaralandırma için <i>V. vulpes</i> ’e ait tüm mtDNA dizisi GenBank: GQ374180, (Zhong vd, 2010) referans alınmıştır.....	29
Şekil 3.8. 1601 bp’lik ilgili mtDNA bölgesinin (sitokrom b, tRNA-Thr, tRNA-Pro ve D-loop bölgesi’nin sol tarafı) L14727-E3-H16498_IGM primer çifti ile çoğaltılması sonrası 6 kızıl tilki örneği için çekilen PZR ürünü agaroz jel görüntüsü. K: Kontrol, B: Belirteç.....	29
Şekil 3.9. İlgili mtDNA fragmanının PZR ile çoğaltılmasını ve ardından da dizilenmesini sağlamak için kullanılan stratejiler. Numaralandırma için <i>V. vulpes</i> ’e ait tüm mtDNA dizisi GenBank: GQ374180, (Zhong vd, 2010) referans alınmıştır.....	30
Şekil 3.10. PZR reaksiyonu için kullanılan Thermal Cycler (BIO-RAD).....	30
Şekil 3.11. PZR reaksiyonu için kullanılan Thermal Cycler (BIO-RAD).....	31
Şekil 3.12. Bir kızıl tilki (579 nolu birey) için dört primer (L14727-E3, H16498_IGM, L15035_IG ve H15187_Vv) kullanılarak elde edilen DNA	

dizilerinin hizalanması ile edilen ve konsensus dizi elde etmek için kullanılan elektroferogramların kısmi görünümü.....	33
Şekil 4.1. <i>V. vulpes</i> haplotipleri arasındaki evrimsel ilişkiyi gösteren ve GTR+I+G baz değişikliği modeline göre oluşturulan NJ ağacı. Dallar üzerindeki rakamlar 10000 replikasyon ile bootstrap değerlerini göstermektedir. Sadece %70'nin üzerinde olan bootstrap değerleri gösterilmektedir.....	53
Şekil 4.2. <i>V. vulpes</i> haplotipleri arasındaki evrimsel ilişkiyi gösteren ve GTR+I+G baz değişikliği modeline göre oluşturulan Maksimum likelihood ağacı. Dallar üzerindeki rakamlar 1000 replikasyon sonucu elde edilen bootstrap değerlerini göstermektedir. Sadece %70'nin üzerinde olan bootstrap değerleri gösterilmektedir.....	55
Şekil 4.3. Parsimoni analizi sonucu oluşan uzunlukları 352 olan 7 eşit olasılıkta kısa ağacın topojilerini Strict konsensus ağacı. Dallar üzerindeki rakamlar 1000 replikasyon sonucu elde edilen bootstrap değerlerini göstermektedir. Sadece %70'nin üzerinde olan bootstrap değerleri gösterilmektedir.....	58
Şekil 4.4. GTR+I+G baz değişikliği modeli kullanılarak Bayesian analizi sonrası elde edilen ve <i>V. vulpes</i> haplotipleri arasındaki evrimsel ilişkiyi gösteren %50 Majority Rule konsensus ağacı. Ağaç üzerindeki rakamlar olasılık değerlerini gösterilmiştir. 0.70 ve üzeri olan olasılık değerleri gösterilmiştir.....	59
Şekil 4.5. Çalışma kapsamında bulunan <i>V. vulpes</i> 'e ait 38 mtDNA haplotipi arasındaki evrimsel ilişkiyi gösteren median-joining haplotip ağı. Dallar üzerinde bulunan kısa çizgiler haplotipler arası pozisyon farklılığı (mutasyonel adım) göstermektedir. Dairelerini büyüklüğü ile ilgili haplotip frekansı orantılı olarak çizilmiştir. İçi boş olan daireler hipotetik haplotipleri göstermektedir.....	61
Şekil 4.6. Çalışma kapsamında bulunan <i>V. vulpes</i> 'e ait 38 mtDNA haplotipi arasındaki evrimsel ilişkiyi gösteren TCS haplotip ağı. Dallar üzerinde bulunan rakamlar haplotipler arası pozisyon farklılığı (mutasyonel adım) göstermektedir. Oval dairelerin büyüklüğü ile ilgili haplotip frekansı orantılı olarak çizilmiştir. Sihah dolu daireler hipotetik haplotipleri göstermektedir.....	63
Şekil 4.7. Türkiye <i>V. vulpes</i> populasyonlarında tespit edilen ve ana soy hatları ve türün tamamı için mismatch dağılım grafikleri.....	71
Şekil 4.8. Türkiye kızıl tilki populasyonlarında belirlenen dört mtDNA soy hattının dağılışı: Kızıl nokta, Soy hattı 1; Turuncu nokta, Soy hattı 2; Mavi nokta, Soy hattı 3; Sarı nokta, Soy hattı 4.....	73
Şekil 4.9. Bu çalışma kapsamında tespit edilen haplotipleri ile Gen Bankasından elde edilen haplotiplerin hizalanıp kesilmesi sonucu Sitokrom <i>b</i> geninin 375 bç'lik kısmı için benzer hala gelen haplotipler kullanılarak oluşturulan Median-Joining haplotip ağı. Dallar üzerinde bulunan kısa çizgiler haplotipler arası pozisyon farklılığı (mutasyonel adım) göstermektedir. Dairelerin büyüklüğü ile ilgili haplotip frekansı orantılı olarak çizilmiştir. İçi boş olan daireler hipotetik haplotipleri göstermektedir (detay için bkz. Çizelge 4.3).....	77
Şekil 4.10. Bu çalışma kapsamında tespit edilen haplotipleri ile Gen Bankasından elde edilen haplotiplerin hizalanıp kesilmesi sonucu D-loop bölgesinin 375 bç'lik kısmı için benzer hala gelen haplotipler kullanılarak oluşturulan Median-Joining haplotip ağı. Dairelerin büyüklüğü ile ilgili haplotip frekansı orantılı olarak çizilmiştir. İçi boş olan daireler hipotetik haplotipleri göstermektedir (detay için bkz. Çizelge 4.8).....	82

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1. Çalışma kapsamında moleküler çalışmalarda kullanılmak üzere gerekli DNA'ların elde edilmesi için dokuların kullanıldığı ölü kızıl tilki örneklerinin elde edildiği lokaliteler.	19
Çizelge 3.1. (Devamı)	20
Çizelge 3.1. (Devamı)	21
Çizelge 3.1. (Devamı)	22
Çizelge 3.2: Mikrovolume spektrometre (Colibri) ile ölçülen genomik DNA miktarları.....	26
Çizelge 3.2. (Devamı)	27
Çizelge 3.3. Mitokondrial DNA'nın ilgili 1601 bç'lik bölgesinin PZR ile çoğaltılması reaksiyonu için kullanılan Master Karışım.	31
Çizelge 3.4. Mitokondrial DNA'nın ilgili 1601 bç'lik bölgesinin çoğaltılması için kullanılan PZR programı aşamaları.	32
Çizelge 4.1. Çalışma kapsamında kullanılan <i>V. vulpes</i> örneklerinin toplandığı lokaliteler ve koordinatları ile bulunan mtDNA haplotipleri.	44
Çizelge 4.1. (Devamı)	45
Çizelge 4.1. (Devamı)	46
Çizelge 4.1. (Devamı)	47
Çizelge 4.1. (Devamı)	48
Çizelge 4.2. Bulunan mtDNA haplotipleri arasında sitokrom <i>b</i> geni için her bir amino asit için olası sinonim kodonların kullanım frekansları. Nispi frekanslar hemen frekansların ardından parantez içinde verilmiştir. * Olası dur kodonunu işaret etmektedir.....	49
Çizelge 4.3. <i>V. vulpes</i> 'te bulunan mtDNA haplotipleri arasında haplotip çiftleri arası kaç baz farklı olduğunu (üsteki üçgen) ve bunlara karşılık gelen düzeltilmemiş uzaklık (% <i>P</i>) değerlerini (alttaki üçgen) gösteren matris.	50
Çizelge 4.3. (Devamı)	51
Çizelge 4.4. Türkiye kızıl tilki (<i>V. vulpes</i>) türünde genetik çeşitliliğin özeti.....	64
Çizelge 4.5. Türkiye kızıl tilki türünde tespit edilen mtDNA soy hatları için yapılan nötralite testlerin özeti.....	69
Çizelge 4.6. Türkiye kızıl tilki mtDNA verileri kullanılarak yapılan mismatch analiz sonuçları. T: Yıl olarak günümüz öncesi.	70
Çizelge 4.7. Bu çalışma kapsamında tespit edilen haplotipleri ile Gen Bankasından elde edilen haplotiplerin hizalanıp kesilmesi sonucu Sitokrom <i>b</i> geninin 375 bç'lik kısmı için benzer hala gelen haplotipler ve frekansları. İlgili haplotipin kaydedildiği lokaliteler köşeli parantez içinde verilmiştir.....	75
Çizelge 4.8. Bu çalışma kapsamında tespit edilen haplotipleri ile Gen Bankasından elde edilen haplotiplerin hizalanıp kesilmesi sonucu D-loop bölgesi ve bitişik tRNA (375 bç) bölgesi için benzer hala gelen haplotipler ve frekansları. İlgili haplotipin kaydedildiği lokaliteler köşeli parantez içinde verilmiştir.....	80
Çizelge 4.8. (Devamı)	81

1. GİRİŞ

1.1.Takım: Carnivora Bowdich, 1821 (Yırtıcı-Etçil Memeliler)

Carnivora sözcüğü Latince’de “*carō* (et) ve *vorāre* (yemek-yutmak)” sözcüklerinden türetilmiştir ve “et yiyen” anlamına gelmektedir. En büyük memeli takımlarından bir tanesi olan bu grup bir çift kanin dişe (köpek dişi) sahip olmasıyla karakterize edilir (Sillero-Zubiri vd, 2004). Günümüzde 279 tür ile temsil edilen Karnivorlar kedi benzeri (Feliformia) ve köpek benzeri (Caniformia) karnivorlar olarak iki altsınıfta incelenir. Feliformia Felidae, Viverridae, Eupleridae, Nandiniidae, Herpestidae ve Hyaenidae familyalarından meydana gelir. Caniformia ise Canidae, Ursidae, Otariidae, Odobenidae, Phocidae, Mustelidae, Mephitidae, Procyonidae ve Ailuridae familyalarını içerir (Wilson ve Reeder, 2005).

1.2. Familya: Canidae Fischer de Waldheim, 1817 (köpekgiller)

Canidae familyası köpek, çakal, kurt ve tilki gibi türleri ve orta büyüklükte memelileri içeren büyük bir taksonomik gruptur. Bu familya günümüzde 14 cins ve 36 türe sahiptir. Bu cinsler (*Vulpes*, *Alopex*, *Urocyon*, *Otocyon*, *Dusicyon*, *Pseudalopex*, *Atelocynus*, *Cerdocyon*, *Speothos*, *Chrysocyon*, *Nyctereutes*, *Cuon*, *Lycaon*, *Canis*) dir.

1.3. Genus: *Vulpes* Frisch, 1775 (Tilkiler)

Vulpes cinsi gerçek tilkiler olup 12 farklı tür içermektedir (Wilson ve Reeder, 2005). Bu türler:

- *V. bengalensis* (Shaw, 1800): Hint tilkisi olarak bilinir ve Himalaya sıradağlarının güneyinden Hindistan’ın en güney ucuna kadar, Hindistan, Bangladeş, Pakistan ve Nepal’da yaygındır.
- *V. cana* (Blanford, 1877): Afgan tilkisi olarak bilinir ve Orta Asya ve Arap Yarımadasında bulunur.
- *V. chama* (Smith, 1833): Güney Afrika tilkisi, Gümüş tilki ya da Kap tilkisi olarak bilinir ve Afrika’nın güneyinde yayılım gösterir.

- *V. corsac* (Linnaeus, 1758): Korsak tilkisi, Step tilkisi ya da Bozkır tilkisi olarak bilinir. Orta ve Doğu Asya'da, Volga Irmağı'nın güneyinden Mançurya, Tibet, Güney Rusya, Türkistan, Moğolistan, Transbaykalya, Kuzey Çin ve Kuzey Afganistan'a kadar uzanan bir coğrafyada yaygındır.
- *V. ferrilata* (Hodgson, 1842): Tibet tilkisi köpekgiller (Canidae) familyasının az tanılan tilkilerinden biridir ve Tibet, Nepal ve Çin'in sıra dağlarının düzlüklerini tercih eder.
- *V. lagopus* (Linnaeus, 1758): Kutup tilkisi olarak bilinir ve arktik bölgelere özgü küçük bir tilkidir.
- *V. macrotis* (Merriam, 1888): Cüce tilkisi ya da Kit tilkisi olarak bilinir ve Kuzey Amerika'da sık görülen bir tilki türüdür.
- *V. pallida* (Cretzschmar, 1827): Soluk tilki olarak bilinir ve Kuzey Afrika'nın güneyinde yayılım gösterir.
- *V. ruepellii* (Schinz, 1825): Kum tilkisi olarak bilinir ve Kuzey Afrika'nın ve orta doğu'nun kurak bölgelerinde bulunur.
- *V. velox* (Say, 1823): Ova tilkisi olarak bilinir ve Kuzey Amerika'nın ormanlarında bulunur.
- *V. zerda* (Zimmermann, 1780): Çöl tilkisi olarak bilinir ve Sahel çölünde, Sina Yarımadası'nda, Arap Yarımadası'nda ve Türkiye'nin güneyinde bulunur.
- *V. vulpes*: Kızıl tilki olarak bilinir ve Kuzey Kutup Bölgesi'nden Güney-Kuzey Amerika'ya, Avrupa, Kuzey Afrika, Asya, Hindistan ve Japonya'ya kadar yayılır (Hoffmann ve Sillero-Zubiri, 2016).

1.4. Kızıl Tilki'nin (*V. vulpes* Linnaeus, 1758) Genel Özellikleri

Kızıl tilki, uzun burunlu, büyük kulaklı, ince bacaklı ve büyük püsküllü bir kuyruğa sahip küçük bir karnivordur (Perrine vd, 2010). (Şekil-1.1). Erkek tilkiler dişilerden biraz daha büyüktür. Boyutları, coğrafi konuma da bağlı olarak farklılık gösterebilir (Center, 2001). Kızıl tilkilerde kızıl, gri ve kırçılı tonlar başta olmak üzere üç renk formu tanımlanmıştır (Larivière ve Pasitschniak-Arts, 1996).



Şekil 1.1. Kızıl Tilki fotoğrafı. Foto Kaynağı (Castelló, 2018)

1.5. Habitat

Kızıl tilki, uyum gücü yüksek bir türdür, bu nedenle yarı kurak çöller, alpin tundra, boreal ormanları, tarım arazileri ve kentsel alanlar dahil olmak üzere çeşitli iklimlerde ve yaşam ortamlarında hayatta kalabilir (Carter, 2010). Ayrıca dağlık alanlarda, deniz seviyesinden 4.500 m'ye kadar olan yüksekliklerde (alpin kuşak üstü), kum tepelerinde ve tarım arazileri gibi farklı habitat tiplerinde) yaşayabilirler (Hoffmann ve Sillero-Zubiri, 2016). Ayrıca yapılan çalışmalar yoğun bitki örtüsüne sahip alanlarda da yaşayabildiklerini göstermiştir (Meisner, 2008).

1.6. Beslenme

Kızıl tilkiler, etçil olarak omurgasız hayvanlar memeli türleri ve kuşlarla (Şekil-1.2), otçul olarak ise meyvelerle beslenebilen fırsatçı omnivorlardır (Sillero-Zubiri vd, 2004). Bu tür mevsimsel besin değişimine de son derece adaptasyon göstermektedirler (Perrine vd, 2010).



Şekil 1.2. Bir kuş yiyen Kızıl Tilki. (Foto kaynağı: About Animals)

1.7. Sosyal davranışı

Temel sosyal birim bir çifttir, ancak altı üyeye sahip gruplar halinde habitata bağlı olarak bir bölgeyi paylaşabilirler (Sillero-Zubiri vd, 2004). Kızıl tilkiler gececil türlerdir ancak gündüz ve alaca karanlıkta da aktiftirler (Wallen, 2006). Tilkiler iletişim kurarken, kabarma, havlama, uluma ve çığlık gibi çok çeşitli frekansta ses çıkarır. Bu seslerden bazıları, teritoryal bir alanı savunmak veya başka bir bireyi çağırmak için de kullanılır (Simmons vd, 2008).

1.8. Üreme ve Yavru Yetiştirme

Barınak olarak ve üreme için kullandığı yerdeki yuva, oyuk veya kütük gibi mekanları “in” olarak kullanabilirler (Carter vd, 2012). Tipik bir kızıl tilki ininin ana girişi genellikle yaklaşık 40 cm. yüksekliğindedir (Sheldon, 1950). Tek eşlidirler ve doğumların çoğu Mart-Nisan arasında gerçekleşir (Larivière ve Pasitschniak-Arts, 1996, Martorell ve Gortazar, 1993). Kızıl tilkinin gebelik süresi 51-53 gündür ve her doğumda 3-10 yavru verir (Castelló, 2018). Kızıl tilkilerin çiftleşme prosedürü için (bkz. Şekil 1.3).



Şekil 1.3. Kızıl tilkilerin çiftleşme prosedürü. Foto Kaynağı (Castelló, 2018)

1.9. Hastalıklar ve Parazitler

Kızıl tilkilerin, çeşitli bağırsak kurtları, parazitler, akciğer kurdu, kalp kurdu, kene, akar, pire, protozoan, virüs, bakteri ve mantarlar da dahil olmak üzere, bir dizi farklı iç ya da dış parazit barındırdığı bilinmektedir (Şekil 1.4). Türkiye’de kızıl tilki kuduzun bir vektörüdür (Ambarlı vd, 2016).



Şekil 1.4. Sarılık olmuş bir kızıl tilki. Foto Kaynağı (Couper ve Bexton, 2016)

1.10. Tehditler

Kızıl tilki farklı tehdit çeşitlerine maruz kalmaktadır. Bunlar arasında habitat bozulması, habitat kaybı, habitat parçalanması veya avcılık vardır (Hoffmann ve Sillero-Zubiri, 2016). Kızıl tilki popülasyonunu azaltan diğer tehditler arasında, kuduz gibi bulaşıcı hastalıklar da yer almaktadır (Ambarlı vd, 2016). Kızıl tilkiler özellikle kürk ticareti için yakalanmakta veya avlanmaktadır (Sillero-Zubiri vd, 2004) (Şekil 1.6).



Şekil 1.5. Southampton’da bir yolun kenarında araba tarafından öldürülmüş bir Kızıl tilki foto. (foto kaynağı: Wildlife Online)

1.11. Koruma

Bu türün, tüm kuzey yarım küre boyunca Kuzey Kutbu Bölgesi’nden Güney Kuzey Amerika, Avrupa, Kuzey Afrika, Asya bozkırları, Hindistan ve Japonya’ya kadar uzanan (yaklaşık 70 milyon km²’yi kapsayan) büyük bir coğrafik dağılım alanı vardır (Hoffmann ve Sillero-Zubiri, 2016). Bu yüzden Uluslararası Doğa Koruma Birliği (IUCN) 2016 raporuna göre "least concern-durağan" statüsünde listelenirler (Hoffmann ve Sillero-Zubiri, 2016). Ancak türün Türkiye’deki popülasyonlarına ait ekolojik veri çok sınırlı olduğundan Türkiye’ye özgü popülasyon trendini net olarak tahmin etmek zordur.

2. LİTERATÜR ÖZETİ

2.1. Kızıl Tilki'nin Taksonomisi ve Yayılışı

Tez çalışmasının konusunu oluşturan kızıl tilkinin sistematik yeri (Hoffmann ve Sillero-Zubiri, 2016) aşağıda belirtilmiştir.

Kingdom: Animalia

Phylum: Chordata

Class: Mammalia

Order: Carnivora

Family: Canidae

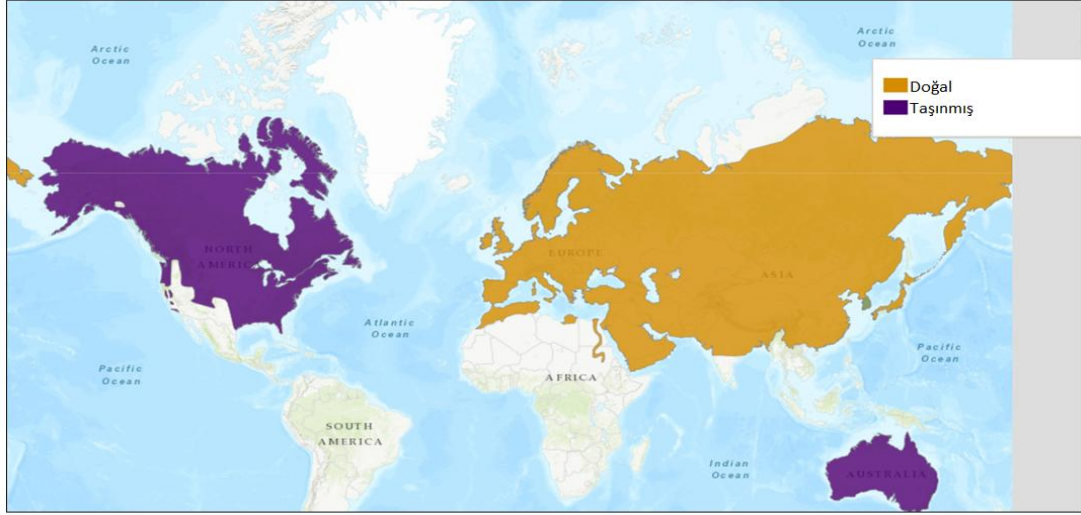
Genus: *Vulpes*

Species: *V. vulpes*

Kızıl tilki cinsin en büyük türüdür ve en yaygın dağılışa sahip etobur türlerinden biridir (Larivière ve Pasitschniak-Arts, 1996; Sillero-Zubiri vd, 2004). Bu tür bilinen/tartışmalı 45 alttür içerir ve son yıllarda yeni bir alt tür kabul edilen *V. vulpes patwin*'in de eklenmesiyle bu sayı 46 olarak kabul edilmektedir (Sacks vd, 2010; Wilson ve Reeder, 2005). Bugün bu tür Kuzey Yarımküre'nin tamamında çok soğuk bölgelerden sıcak bölgelere kadar çok geniş bir yayılışa sahip olup, bu geniş adaptasyona bağlı olarak tundra, çöl, ormanlar, tarım alanları ve şehir merkezleri de dahil olmak üzere çok çeşitli rakım ve enlemlerde farklı habitat tiplerinde yaşar (Harris, 1977; Hoffmann ve Sillero-Zubiri, 2016; Larivière ve Pasitschniak-Arts, 1996; Wilson ve Reeder, 2005) (Şekil 2.1).

Mitokondrial DNA (mtDNA)'nın özellikle sitokrom-b geni ve D-loop bölgesi (D- displacement loop, kontrol bölgesi) genetik belirteç olarak kullanılarak global ya da lokal olarak *V. vulpes* türünün filogenisi ve filocoğrafyası ile ilgili yapılmış olan birçok moleküler tabanlı çalışma vardır (Aubry vd, 2009; Edwards vd, 2012; Frati vd, 1998; Galov vd, 2014; Horecka vd, 2017; İbiş vd, 2014; Inoue vd, 2007; Kirschning vd, 2007; Kutschera vd, 2013; Langille vd, 2014; Leite vd, 2015; Perrine vd, 2007; Sacks vd, 2011; Sacks vd, 2010; Statham vd, 2014; Statham vd, 2012;

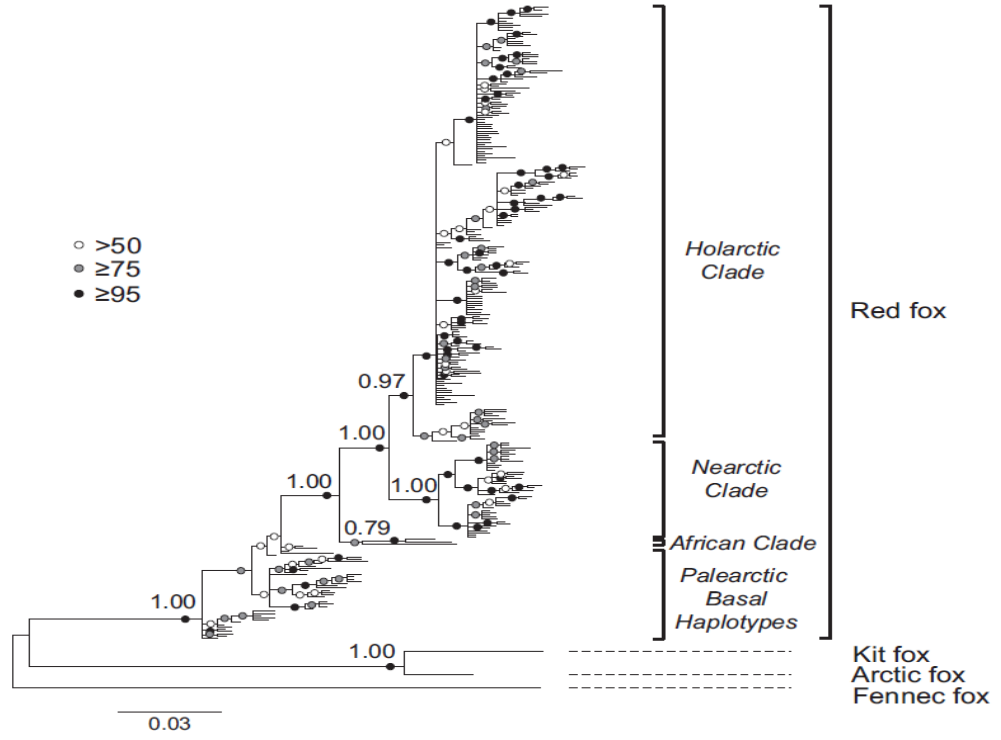
Statham vd, 2011; Teacher vd, 2011; Telcioğlu vd, 2019; Volkmann vd, 2015; Yu vd, 2012).



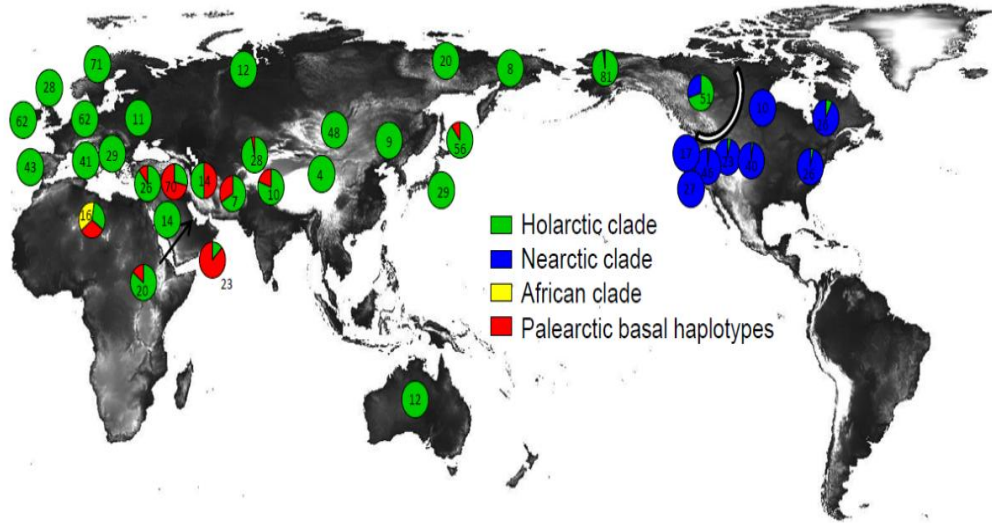
Şekil 2.1. *V. vulpes* (kızıl tilki)'nin Kuzey Yarımküre'deki dağılışı alanı (Hoffmann ve Sillero-Zubiri, 2016)

Bu çalışmaların çoğunda kızıl tilki populasyonları için iki büyük ana soyhattına ilaveten bir de üçüncü bir soy hattı tanımlamışlardır. Ana soyhathlarının ilki Holoarktik olup Avrasya, Alaska ve Batı Kanada haplotiplerini içermektedir. İkinci anasoyhattı ise Nearktik haplotiplerini içermekte olup kendi içinde Kuzey Amerika kökenli üç alt soyhattına (batı alt soy hattı, doğu alt soy hattı ve yaygın soyhattı) ayrılmaktadır. Üçüncü ve daha küçük anasoyhattı ise Hokkaido, Japon haplotiplerinden oluşmaktadır (Aubry vd, 2009; İbiş vd, 2014; Inoue vd, 2007; Kutschera vd, 2013; Yu vd, 2012). Tümen yayılış alanını büyük oranda temsil eden ancak Türkiye'den herhangi bir lokasyon ya da örneğin bulunmadığı bir mtDNA (sitokrom-b ve D-loop bölgesi) tabanlı filogenetik çalışmada (Statham vd, 2014), iki ana soyhattı (Nearktik ve Holoarktik)'na ilaveten üçüncü bir soy hattı (Palearktik+Afrika ve Ortadoğu) tanımlamışlar ve bu soyhattının ise yapılan filogenetik ağacın tabanında yer aldığını bulmuşlardır (Şekil 2.2 ve 2.3).

Bu çalışmaların bazıları daha sınırlı coğrafik bölgelerde (örneğin, Kuzey Amerika) yapılmış olup çok az sayıda Holoarktik bölgeden örnekleri de içerecek şekilde dizayn edilmiş çalışmalardır (İbiş vd, 2014; Statham vd, 2012).



Şekil 2.2. Kombine mtDNA'ya (sitokrom-b ve D-loop bölgesi, 698 bç) dayalı kırmızı tilki filogenisi (Statham vd, 2014)'den aynen alınmıştır



Şekil 2.3. Kombine mtDNA'ya (sitokrom-b ve D-loop bölgesi, 698 bç) dayalı kırmızı tilki filogenisinde tespit edilen ana soyhatlarının coğrafik dağılımı(Statham vd, 2014)'den aynen alınmıştır

2.2. Türkiye’deki Kızıl Tilki ile ilgili yapılan bilimsel çalışmalar

Vulpes vulpes Türkiye’de günümüzde bilinen yegane tilki türüdür. Türün Türkiye’deki ilk kayıtları Lehmann (1966), Satunin (1906) ve Thomas (1920)’ye dayanmaktadır. Bu araştırmacılar Satunin (1906) Trabzon, Thomas (1920) İzmir ve Lehmn (1966) Samsun’dan lokal olarak kızıl tilki kayıtları verirken, Kumerloeve (1967) ise kızıl tilkinin Anadolu’nun tamamında yayılış gösterdiğini belirtmiştir. Bu çalışmaların tamamı morfolojik verilere dayandırılmıştır. Özkurt vd (1998) Türkiye’de Denizli, Tokat ve Kırşehir örneklerini dış morfolojik karakterlere göre değerlendirerek bu örneklerin tamamının *V. v. anatolica* olduğunu ifade etmiştir . Daha sonra yapılan çalışmaların birçoğu yine morfolojiye dayalı olarak lokal alanlarda yapılmış olup, bu çalışmalarda Türkiye’nin farklı yerlerinden *V. vulpes* kayıtları verilmiştir (Hepcan, 2012; Soyumert ve Gürkan, 2013; Toyran vd; Yiğit vd, 2006). Sonuç olarak, kızıl tilki Türkiye’nin hemen hemen tüm bölgelerinde bulunur (Sillero-Zubiri vd, 2004) ve Türkiye’deki Canidae türleri içerisinde en yaygın dağılıma sahiptir (Ambarlı vd, 2016). (Şekil. 2.4).



Şekil 2.4. Türkiye’deki kızıl tilkinin dağılımı haritası. Foto Kaynağı (Ambarlı vd, 2016)

Yakın zamanda yapılan bir diğer bir çalışmada (Civelek, 2018) Kars (Sarıkamış) ilinden dört bireyde yapılan D-loop bölgesi (134 bp) çalışmasında iki D-loop haplotipi (H12 ve H14) tanımlanmış ve bu haplotiplerden H12'nin Amerika'da dahil global olarak bir çok yerde rapor edilen en yaygın haplotiplerden biri olduğu H14'in ise H12 ile yakın ilişkili ve Kars popülasyonuna özgün olduğu bulunmuştur.

Ayrıca, Telcioğlu (2019) Türkiye'deki farklı bölgelerden toplanan 54 bireyden verileri kullanarak mtDNA'nın "tRNA^{Thr}+tRNA^{Pro}+D-loop bölgesi" bölgelerinden toplam 416 baz çiftlik bir bölgeyi analiz etmişler ve çalışmada 25 haplotipin (H1-H25) varlığını göstermişlerdir. Bu haplotipler içerisinde H9 haplotipinin en yaygın haplotip olduğunu belirtmişlerdir. H9 haplotipi, Anadolu'nun farklı bölgelerinde yayılış gösteren 11 kızıl tilki örneğinde tespit edilmiştir. Ayrıca araştırmacılar 14 İran kızıl tilki örneğinden 10 haplotip (H1-H10) bulmuş ve GenBank veri tabanını da kullanarak bir network analizi yapmışlardır. D-loop bölgesi dizilerine dayanarak, kızıl tilkiler üç ana haplogrupa (Paleartik haplotipler–African soyhattı, Holartik soyhattı, Nearktik soyhattı) kümelenmiş, burada İran ve Türkiye kızıl tilkileri iki haplogrupa (Paleartik haplotipler–African soyhattı ve Holartik soyhattı) dahil olmuştur. Sonuç olarak İran ve Türkiye popülasyonlarında yüksek bir genetik varyasyon olduğunu ifade etmişlerdir.

Sonuç olarak yapılan bu moleküler çalışmalar Türkiye'de farklı genetik yapıya sahip soyhatlarının bulunduğunu ve Türkiye'deki kızıl tilkilerin genetik çeşitliliğinin de yüksek olduğunu ortaya koymuştur. Aynı zamanda bu veriler kızıl tilki evrimsel tarihinin anlaşılmasında Orta Doğu, özellikle de Türkiye'nin çalışılmasının önemli olduğunu vurgulamakta ve bu yönde bir eksikliği işaret etmektedir.

2.3. Kızıl tilki ve Türkiye filocoğrafyası

Yaygın dağılış gösteren taksonlar iklimsel dalgalanmalara karşı biyocoğrafik cevaplar bakımından farklı kıtaların karşılaştırılması için bir olanak sağlar (Statham vd, 2014). Kızıl tilki, dünyanın en yaygın dağılışına sahip vahşi karasal etoburu olup, bu anlamda araştırılması gerek taksonlardan biridir.

Anadolu ve bağlantılı kara parçalarının kompleks bir biyocoğrafik yapıya sahip olduğu eskiden beri bilinir ve değişik kaynaklarda vurgulanmıştır (Kosswig, 1955; Uvarov, 1921). Anadolu özellikle Akdeniz Havzasında yayılış gösteren birçok soy

hattının atasal stok yerlerinden biri olarak kabul edilir (Çiplak, 2004; Jong, 1998; Olivero vd, 2012; Oosterbroek ve Arntzen, 1992).

Anadolu ve komşu kara parçalarını biyocoğrafik/filocoğrafik olarak konu edinen çok sayıda çalışma vardır (Ashrafzadeh vd, 2018; Gündüz vd, 2007). Oldukça heterojen iklim yapısı, değişken topoğrafyası ve farklı yüksekliklere ve tarihe sahip dağ zincirlerine sahip Türkiye, özellikle de Anadolu biyocoğrafik olarak tek bir birim olarak ele alınamaz. Öyle ki kuzeydoğuda Kafkasya ile olan bağlantı ve soğuk seven formların Karadeniz Bölgesi hattındaki yayılışları kendine özgü durumlar arz eder (Kaya ve Ciplak, 2017; Tarkhnishvili vd, 2013).

Benzer şekilde kuzeybatı tarafında Trakya/Balkanlarla olan bağlantı farklı çeşitlenme olaylarına neden olmuş ve buraya özgü soy hatlarının çeşitlenme örüntüsü yine kendisine özgü örüntüler gösterir (Chobanov vd, 2017). Bu durumlar doğuda İran ve güneyde Arabistan yarımadası ile karasal bağlantının olduğu güney kısımları için de geçerlidir (Ahmadzadeh vd, 2013; Gvoždík vd, 2010; Heller ve Ciplak, 2005). Sıcak seven türlerin günümüz coğrafik dağılışlarının ve bunlara ait populasyonların genetik ilişkilerinin Geç Kuaterner dönemde meydana gelen tekrarlı iklimsel dalgalanmalardan etkilendikleri çok sayıda çalışmada vurgulanmıştır (Hewitt, 1999; Stamatis vd, 2009). Farklı türlere ait farklı soyhatları İber Yarımadası, Alpler, Balkan Yarımadası, Kafkaslar ve Anadolu gibi farklı buzul dönemi sığınak alanlarda tekrarlanan bir şekilde izole kalmış populasyonları temsil etmektedir (Hewitt, 2000; Hewitt, 1999; Taberlet vd, 1998).

Çalışmayı hedeflediğimiz *V. vulpes* türü Türkiye populasyonları bu türün en az çalışılmış parçasını oluşturmaktadır. Kızıl tilki üzerine yapılan moleküler çalışmalarda Ortadoğu haplotiplerinin filogenetik ağaçlarda ağaçların tabanında yer alması bu türün filocoğrafyasında Anadolu'nun önemli yer tutmuş olacağını önermektedir. Şöyle ki atasal populasyonların buzul dönemleri iklimsel çalkalanmaları Anadolu sığınaklarında geçirmiş, daha sonrada buzul dönemlerinin sonlanmasının ardından özellikle de Balkanlar ve Avrupa'ya kolonize olmuş olabilir. Dolayısı ile Türkiye populasyonları üzerinde yapılacak moleküler çalışmalar ile elde edilecek yeni verilerin dünyanın değişik bölgelerinden elde edilmiş veriler ile bir araya getirilmesi ile yapılacak detaylı analizler bu hipotezi test etmeye yardımcı olacak olup, bu tezin ana hedeflerinden bir de budur. Bu hipotezi test etmenin yanında, tez ile bu türün populasyon genetiği parametreleri hesaplanacak,

demografik analizleri yapılacak ve kızıl tilki filocoğrafyasında Anadolu'nun yeri ve önemi vurgulanacaktır.

2.4. Tezin Önemi

IUCN (The International Union for the Conservation of Nature) Canidae familyası üyesi türlerin yaklaşık %61'ni bölgesel risk ya da tamamen yok olacak şekilde nesli tehlike altında veya nesli tehdit altında olarak değerlendirir. Kızıl tilki (*V. vulpes*) ise LC (durağan) olarak değerlendirilir (Hoffmann ve Sillero-Zubiri, 2016).

Türkiye'nin belli başlı ekosistemlerinde yaşayan kızıl tilki birçok farklı tehdit faktörü ile yüz yüze olup, yoğun insan varlığının olduğu bölgelerde yaşama adaptasyonu nedeniyle insan-vahşi yaşam çatışmasının merkezinde yer almaktadır (Ambarlı vd, 2016). Habitat bozulması, parçalanması ve kaybı ile yasal avlanma gibi etkiler kızıl tilki popülasyonlarının karşı karşıya oldukları en önemli tehditleri oluşturur, yine de geniş adaptasyon yeteneği ve fırsatçı doğası nedeniyle dağılım alanı boyunca farklı habitatlarda yaşamını sürdürür (Macdonald ve Reynolds, 2008).

Gerek bu faktörler gerekse buzul dönemleri gibi tarihsel olayların kızıl tilki dahil organizmaların bugünkü dağılışlarına olan etkilerini araştırma ve yorumlama yaklaşımı 'filocoğrafya' adını almakta olup, coğrafik olaylar, tür veya türlerin dağılışı ve türleşmeye neden olan (örneğin, allopatri) faktörler ile ilgili öngörü veya hipotezleri test etmek için coğrafik olarak şekillenmiş genetik bilgilerin filogenetik analizini içerir (Baker vd, 2002; Hickerson vd, 2010).

Filocoğrafya, ekolojik ve evrimsel süreçlerde biyoçeşitliliğin kilit rollerini anlamaya yardımcı demografik geçmiş, göç oranları, primer ve sekonder karşılaşmaların ardından ortaya çıkan hibritleşmeler gibi süreçleri anlamaya yardımcı olup özellikle tür içi farklılaşmaların teori, istatistik ve genetik yönden çalışılmasını içerir (Hickerson vd, 2010). Aynı zamanda tür içi filocoğrafya çalışmaları koruma birimlerinin belirlenmesi ile sonuçlanan önemli koruma etkilerine de sahiptir. Örneğin, Evrimsel Öneme Sahip Birim (ESU), tür seviyesinin altında üreme yoluyla izole edilen ve belirli bir türün evrimsel kalıtımının önemli bir unsurunu temsil eden böyle bir koruma birimidir (Moritz, 1994).

Avrupa Ulusal Biyolojik Çeşitlilik Sözleşmesinde olduğu gibi, çeşitli ulusal koruma mevzuatlarında ESU'lerin tanımlanması, doğal ve esir popülasyonların

korunması için ana kriterlerden biri olmuştur. Doğal populasyonların evrimsel potansiyelini korumak için ESU'yu tanımlamak önemli (Moritz, 1995) olup, bunu başarmanın yolu da ilgili tür/türler üzerinde mümkün olan en fazla sayıda örnekleme ile filocoğrafik çalışmaları yapılmasıdır. Böylece koruma önceliği alanların ve populasyonların belirlenerek bunlara dönük daha etkin koruma ve takip stratejileri geliştirilebilir. Buradan yola çıkarak hazırlanan bu tez çalışması, üzerinde sınırlı sayıda moleküler çalışma (İbiş vd, 2014) bulunan Türkiye kızıl tilki populasyonları üzerinde detaylı filocoğrafik/filogenetik analizleri yapmayı amaçlamakta olup, atasal populasyonların Ana soy hatları) buzul dönemleri iklimsel çalkalanmaları Anadolu sığınaklarında geçirmiş, daha sonrada buzul dönemlerinin sonlanmasının ardından özellikle de Balkanlar ve Avrupa'ya kolonize olmuş olabilir hipotezini test etmeye yönelik olup, bu yönüyle özgündür.

2.5. Tezin Amacı

Kızıl tilki Türkiye populasyonları üzerinde yapılan yakın zamandaki moleküler çalışmada (Civelek, 2018; İbiş vd, 2014; Telcioğlu vd, 2019), mtDNA'nın çok kısıtlı bölgeleri (sit-b için 375 bç, 134 bç, D-loop bölgesi için 134 ve 416 bç) kullanılmış olduğundan, elde edilen filogeniler ve bu filogenilerde ana soyhatları ile Türkiye haplotiplerinin ilişkisinin tam çözüldüğünü söylemek zor gözükmektedir.

Bu saptmalardan yola çıkarak hazırlanan bu yüksek lisans tezinin amaçları ana hatlarıyla şu şekilde özetlenebilir:

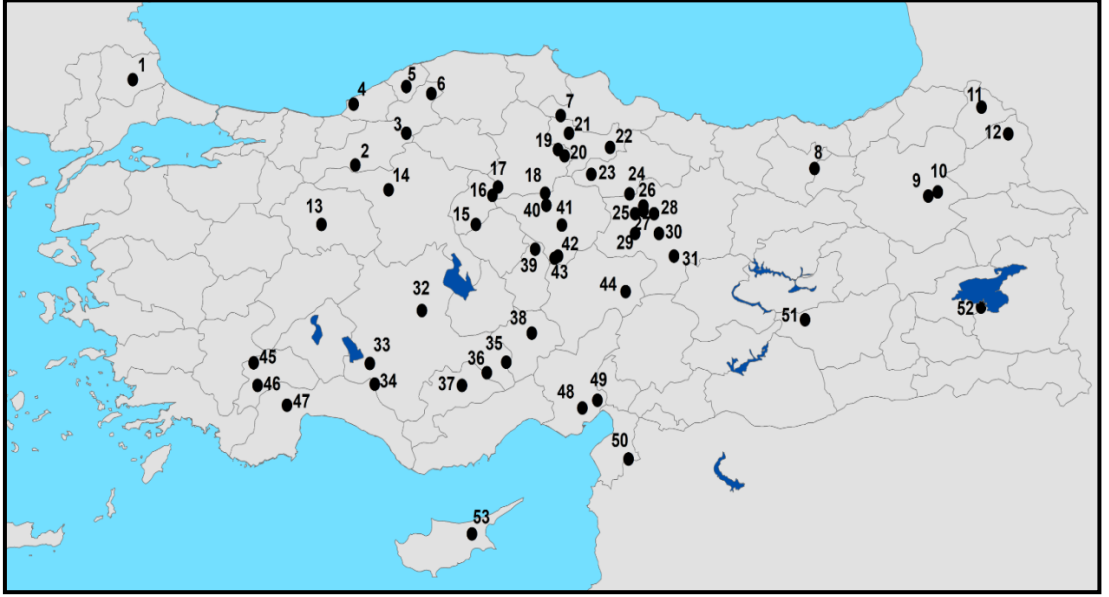
- mtDNA gen bölgeleri filogenetik ve populasyon genetiği çalışmalarında yaygın olarak kullanılmaktadır. mtDNA genlerindeki evrim hızı farklılık göstermektedir. Sitokrom-*b* geni evrim hızının yavaş olmasından dolayı taksonlar arası ve ana soyhatları arası filogenetik ilişkinin ortaya çıkarılmasında yaygın olarak kullanılmaktadır (Meyer vd, 1990). mtDNA'nın kodlama yapmayan ve bu nedenle de fazla mutasyon oranına sahip D-loop bölgesi ise daha çok tür içi varyasyonların ortaya çıkarılması ve dolayısı ile de derin olmayan filogenetik ilişkilerin ortaya çıkarılmasını sağlamak amacıyla kullanılmaktadır (Lockhart vd, 1995). Bu tez Türkiye kızıl tilkileri üzerinde hem sitokrom-*b* (1140 bç) hem de D-loop bölgesi (280 bç) verilerini rapor eden ilk çalışma olup, global anlamda daha geniş ve anlamlı filogenetik analizler için veri sunmayı amaçlamaktadır.

- Tez kapsamında iki genetik belirteç verilerinin sitokrom-b ve D-loop bölgesi yayınlanmış verilerle birlikte ayrı ayrı analiz edilerek, kızıl tilki popülasyonların kaynaklarının nereler olduğu ve ayrıca bu çalışma ile bu Türkiye kızıl tilki popülasyonlarının demografik geçmişine ışık tutulması da amaçlanmıştır.
- Bu tez ile kızıl tilkide Türkiye’den daha önceki çalışmalarda örneklenmemiş lokalitelerden bireylerde analiz edilerek popülasyonlar arası bir coğrafik yapılanmanın olup olmadığı, varsa bunun olası nedenleri (örneğin; Buzullar sonrası kolonize olma gibi) araştırılmıştır.
- Bu tez ile kızıl popülasyonları için genetik parametreler (haplotip çeşitliliği, nükleotid çeşitliliği, segregasyona uğrayan baz sayısı vb.) hesaplanarak yayınlanmış veriler ile karşılaştırılmıştır.
- Türkiye kızıl tilki popülasyonları için iki genetik belirteci için bulunan haplotiplerin yayınlanmış haplotipler ile bir araya getirilmesi ile oluşturulacak filogenetik ağaç ve networkların topolojileri incelenerek bulunan ana soy hatları ve alt soy hatlarının ayrılma zamanları hesaplanmış ve türün filocoğrafyasının anlaşılmasına önemli katkılar sağlanmıştır.
- İki genetik belirteç için bulunan Türkiye kızıl tilki haplotip DNA dizileri GenBankası’na aktarılacak bu alanda çalışan bilim insanlarının kullanımına sunulmak üzere hazırlanmıştır.
- Her şeyden önemlisi bu tez yollarda arabalar tarafından ezilerek öldürülen kızıl tilkilerden alınan doku örneklerinden elde edilen toplam DNA üzerinde yürütüldüğünden, bu yönüyle canlı örneğin hiçbir suretle kullanılmadığı (noninvasive genetic sampling), ama yine de yaban hayvanların genetik yapısı, coğrafik dağılımı, dağılım uzaklığı, popülasyon parçalanması ve popülasyon büyüklüğü gibi konularda önemli bilgiler sağlayan bir örnek çalışmayı ortaya koymak (Garshelis, 2006) amaçlanmıştır.

3. METARYAL VE YÖNTEM

3.1. Örneklerin Elde Edilmesi

Tez danışmanı tarafından geçen yıllar içerisinde Türkiye'nin 52 farklı lokalitesinden toplanan 60 örnek ile Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti'nden bir lokaliteden toplanan 1 kıvrıl tilki doku örneği proje kapsamında kullanılmıştır (Şekil 3.1, Çizelge 3.1).



Şekil 3.1. Tez kapsamında kullanılan genomik DNA'ların eldesi için değişik dokuların alındığı ölü kıvrıl tilki örneklerinin toplandığı lokaliteler

Bu doku örnekleri arabalar tarafından yollarda ezilmiş olan ölü bireylerden elde edilmiş ve %95'lik etil alkol içinde muhafaza edilen dokulardan oluşmaktadır (Şekil 3.2). Şekil 3.2'de görüldüğü gibi yollarda arabalar tarafından ezilerek ölmüş halde bulunan bireylerin değişik dokuları (kas, ayak tüberkülü parçası, kulak ucu, burun ucu ve deri parçası gibi) alınarak, içerisinde %99'luk etil alkol bulunan steril, vidalı kapaklı tüpler içerisine aktarılmıştır. Laboratuvara bu tüpler içerisinde getirilen dokular DNA izolasyonunu öncesi +4°C'de buzdolabında saklanmıştır. Örnek lokalitelerinin konumları Küresel Konumlama Sistemi (GPS: Global Positioning System) algılayıcısı (Magellan Triton 300) ile derece ve dakika cinsinden kaydedilmiştir (bkz. Çizelge 3.1).



Şekil 3.2. Yollarda arabalar tarafından kazara ezilmiş bir kızıl tilki (*V.vulpes*) örneği

Çizelge 3.1. Çalışma kapsamında moleküler çalışmalarda kullanılmak üzere gerekli DNA'ların elde edilmesi için dokuların kullanıldığı ölü kızıl tilki örneklerinin elde edildiği lokaliteler

Lokaliteler	Harita no	Enlem/Boylam	Örnek no
KIRKLARELİ			
Poyralı, Pınarhisar, Kırklareli	1	41° 37' K 27° 33' D	020711-434
BOLU			
Seben, Bolu	2	40° 23' K 31° 33' D	260815-1086
Gerede, Bolu	3	40° 51' K 32° 29' D	030711-435
ZONGULDAK			
Delihakkı, Ereğli, Zonguldak	4	41° 16' K 31° 32' D	100816-1211
BARTIN			
Derecik, Ulus, Bartın	5	41° 31' D 32° 29' D'	250615-1021
KARABÜK			
Eflani, Karabük	6	41° 25' D 32° 56' D'	190415-969
SAMSUN			
Halilbaba, Vezirköprü, Samsun	7	41° 06' K 35° 16' D	090711-537
BAYBURT			
Kocayokuş, Bayburt	8	40° 21' K 39° 50' D	140611-272

Çizelge 3.1. (Devamı)

ERZURUM			
Köprüköy, Erzurum	9	39° 57' K 41° 52' D	230816-1237
Horasan, Erzurum	10	40° 01' K 42° 03' D	2308-12-592
Horasan, Erzurum		40° 01' K 42° 03' D	2308-12-593
ARDAHAN			
Hanak, Ardahan	11	41° 13' K 42° 50' D	260816-1239
KARS			
Arpaçay, Kars	12	40° 50' K 43° 19' D	010817-1303
ESKİŞEHİR			
Hamidiye, Eskişehir	13	39° 34' K 30° 57' D	130613-717
ANKARA			
Akkaya, Güdül, Ankara	14	40° 03' D 32° 10' D'	110714-898
KIRIKKALE			
Cebrailli, Keskin, Kırıkkale	15	39° 34' K 33° 43' D	170715-1027
Cebrailli, Keskin, Kırıkkale		39° 34' K 33° 43' D	170715-1028
Cebrailli, Keskin, Kırıkkale		39° 34' K 33° 43' D	170715-1029
Hacıobası, Delice, Kırıkkale	16	39° 34' K 33° 43' D	290915-1091
ÇORUM			
Bahşili, Sungurlu, Çorum	17	40° 05' K 34° 07' D	290915-1090
Fakılı, Alaca, Çorum	18	40° 00' K 34° 58' D	190719-1370
Konaklı, Çorum	19	40° 37' K 35° 12' D	030716-1197
Mecitözü, Çorum	20	40° 31' K 35° 19' D	171214-937
AMASYA			
Merzifon, Amasya	21	40° 51' K 35° 25' D	030711-436
Çengelkayı köyü, Amasya	22	40° 39' K 36° 09' D	090711-429
Çengelkayı köyü, Amasya		40° 39' K 36° 09' D	070811-467
TOKAT			
Zile, Tokat	23	40° 16' K 35° 48' D	160911-498
Çamlıbel, Tokat	24	39° 57' K 36° 30' D	110711-432
Çamlıbel, Tokat		39° 57' K 36° 30' D	091014-945
SİVAS			
Yıldizeli, Sivas	25	39° 45' K 36° 45' D	110712-431

Çizelge 3.1. (Devamı)

Bakırcıoğlu, Yıldızeli, Sivas	26	39° 49' K 36° 45' D	091014-943
Direkli, Yıldızeli, Sivas	27	39° 43' K 36° 36' D	120614-880
Direkli, Yıldızeli, Sivas		39° 42' K 36° 38' D	310712-579
Merkez,Sivas	28	39° 43' K 36° 57' D	110711-430
Merkez,Sivas	28	39° 43' K 36° 57' D	110711-430
Çekem, Şarkışla, Sivas	29	39° 26' K 36° 36' D	090916-1258
Ulaş, Sivas	30	39° 26' K 37° 02' D	110614-878
Ulaş, Sivas		39° 25' K 37° 04' D	110614-879
Ulaş, Sivas		39° 25' K 37° 04' D	091014-944
Kangal, Sivas	31	39° 06' K 37° 17' D	101014-949
KONYA			
Altinekin, Konya	32	38° 19' K 32° 46' D	040812-584
Yenice, Beyşehir, Konya	33	37° 35' K 31° 49' D	020716-1368
Seydişehir, Konya	34	37° 17' K 31° 55' D	180810-177
Ereğli, Konya	35	37° 37' K 34° 17' D	080811-470
Taşagül köyü, Ereğli, Konya	36	37° 28' K 33° 56' D	080811-471
KARAMAN			
Sudurağı, Karaman	37	37° 17' K 33° 29' D	080811-472
NİĞDE			
Aktaş, Niğde	38	38° 01' K 34° 44' D	150912-623
NEVŞEHİR			
Kozaklı, Nevşehir	39	39° 13' K 34° 48'	200916-1273
YOZGAT			
İnceçayır, Sorgun, Yozgat	40	39° 49' K 35° 00'	170316-1103
İnevi, Sarıkaya, Yozgat	41	39° 33' K 35° 17'	100916-1259
Boğazlıyan,Yozgat	42	39° 07' K 35° 12' D	070811-468
Özler, Boğazlıyan, Yozgat	43	39° 05' K 35° 09' D	070811-469
KAYSERİ			
Kaynarca, Kayseri	44	38° 36' K 36° 25' D	160816-1228

Çizelge 3.1. (Devamı)

BURDUR			
Aşağıyumlutaş,	45	37° 36' K 30° 44' D	170712-632
Ağlasun, Burdur			
Esentepe,	46	37° 17' K 29° 48' D	110812-635
Tefenni, Burdur			
ANTALYA			
Söğütçük,	47	37° 00' K 30° 20' D	040812-633
Korkuteli,			
Antalya			
ADANA			
Baklalı, Adana	48	36° 58' K 35° 39' D	0208-12-583
Günyazı köyü,	49	37° 04' K 35° 57' D	020812-582
Ceyhan, Adana			
HATAY			
Reyhanlı, Hatay	50	36° 14' K 36° 28' D	060916-1255
DİYARBAKIR			
Ergani,	51	38° 13' K 39° 40' D	050613-671
Diyarbakır			
VAN			
Timar, Van	52	39° 13' K 34° 48'	020817-1302
KUZEY			
KIBRIS			
Orta Mesarya,	53	35° 11' K 33° 40' D	201009-279
Toplam lokalite sayısı: 53			Toplam birey sayısı: 61

3.2. Genomik DNA'nin Elde Edilmesi

Örneklerden genomik DNA (total DNA) elde edilmesi işleminde “PureLink™ Genomic DNA Mini Kit” (Invitrogen) DNA izolasyon kiti kullanılmıştır. DNA izolasyonu üretici firmanın “Purification Procedure Using Spin Columns)” adlı protokolü uygulanarak yapılmıştır. Bunun için önce alkol içerisinde saklanan doku örneklerinden yaklaşık 25-30 mg alınarak, numaralandırılmış steril tartı kabı içerisine konulmuş ve etil alkolün uzaklaşması için üzerine 50 µl kadar steril distile su damlatılmış ve yaklaşık 10 dk daha bekletilmiştir, bu süre zarfından doku steril bir pipet ucu tarafından altüst edilerek iyice yıkanması sağlanmıştır. Daha sonra steril kurutma kağıdı ile su emilerek tamamen uzaklaştırılmış ve doku parçaları steril bisturi yardımıyla küçük parçalara bölünmüştür. Her bir örnek için elde edilen bu doku parçaları, numaralandırılmış ve içinde 180 µl PureLink® Genomic Digestion Buffer bulunan 1,5 ml'lik mikrosantrifüj tüplerine aktarılmış ve her birinin üzerine 20 µl Proteinaz K eklenerek karışım yaklaşık 10 saniye boyunca bir vorteks yardımıyla karıştırılmıştır. Tüp içerisindeki karışım, 55°C'ye ayarlanmış bir su banyosu içerisinde yaklaşık 3-4 saat bekletilerek, her saat başı vortekslenip parçalanma işlemi tamamlanmıştır.

Bu sürenin bitimini takiben, tüpler 10000×g'de 3 dakika santrifüj edilmiş ve tüplerin üzerinde bulunana süpernatant 1,5 ml'lik mikrosantrifüj tüplerine aktarılmıştır. Bu tüplerdeki çözeltiler üzerine 20 µl RNase eklenerek oda sıcaklığında 2 dakika kadar bekletilmiştir. Bu işlemin ardından tüplere 200 µl PureLink® Genomic Lysis/Binding Buffer eklenerek vortekste karıştırılıp üzerine %95'lik etil alkolden 200 µl eklenerek tekrar kısa süreliğine vorteks yardımıyla karıştırılmıştır. Karışımın yeterince homojen hale geldiğine emin olunduktan sonra, bu karışımdan yaklaşık 640 µl alınarak PureLink® Spin Column'a aktarılmış ve ardından bu kolumlar 10000×g'de 1 dakika süre ile santrifüj edilmiştir. Daha sonra kolumun alt kısmında bulunan toplama tüpü ve içerisinde biriken sıvı atılarak ve kolumlar steril yeni toplama tüpü içine yerleştirilmiştir. Her bir kolom içerisine 500 µl Wash Buffer 1 eklenerek, kolumlar oda sıcaklığında 10000×g'de 1 dakika süre ile santrifüj edilmiştir. Ardından toplama tüpleri ve içerisinde biriken sıvı atılarak, kolumlar tekrar steril yeni toplama tüpü içine yerleştirilmiş ve üzerlerine 500 µl Wash Buffer 2 eklenerek 13000×g'de 3 dakika santrifüj edilmiştir. Bunu takiben toplama tüpleri ve içerisinde biriken sıvı atılarak kolumlar steril 1,5 ml'lik mikrosantrifüj tüplerine

aktarılarak üzerlerine 200 µ PureLink® Genomic Elution Buffer eklenerek oda sıcaklığında 1 dakika bekletilmiş ve ardından 13000×g'de 1 dakika santrifüj edilmiştir. Her bir tüpteki kolumlar atılarak içerisinde DNA bulunan tüpler kısa süreli kullanım için +4°C 'de buzdolabında saklanmıştır.

3.2.1. Toplam DNA'nın Ölçülmesi

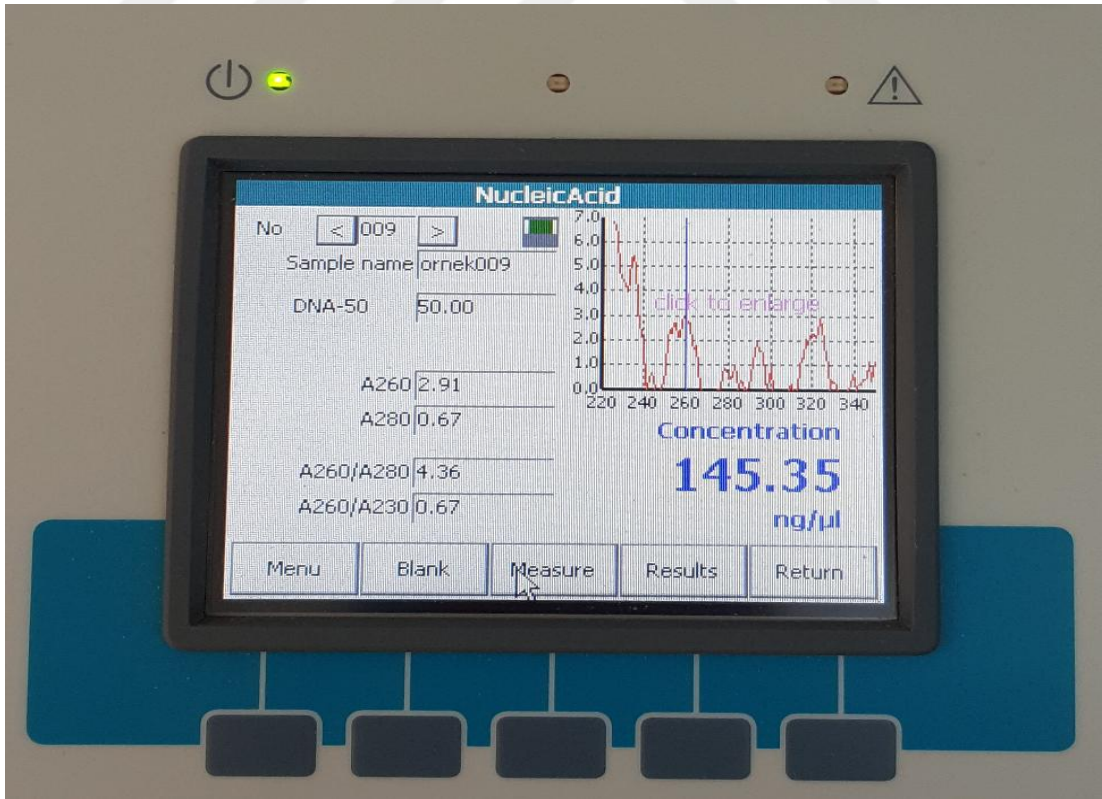
Elde edilen toplama DNA'nın konsantrasyonu ve niteliğini belirlemek amacıyla her bir bireye ait DNA örneğinden 1 µl alınarak ve PureLink® Genomic Elution Buffer kör olarak kullanılarak mikrovolumetre (Colibri) ile kontrol edilmiştir (Şekil 3.3, 3.4, 3.5 ve Çizelge 3.2). Kalitesi düşük örnekler (>30ng/µl) ayrıca %1,25'lük agaroz jel elektroforezi yöntemiyle de görüntülenerek DNA kalitesi kontrol edilmiştir.



Şekil 3.3. DNA konsantrasyonunu ölçmek için kullanılan Mikrovolumetre spektrometresi (Colibri)



Şekil 3.4. DNA konsantrasyonunu ölçmek için kullanılan Mikrovolum spektrometresi (Colibri)



Şekil 3.5. Bir kızıl tilki (945 nolu birey) için Mikrovolum spektrometresi (Colibri) kullanılarak elde edilen DNA'nın konsantrasyonunun görünümü

Çizelge 3.2. Mikrovolum spektrometre (Colibri) ile ölçülen genomik DNA miktarları

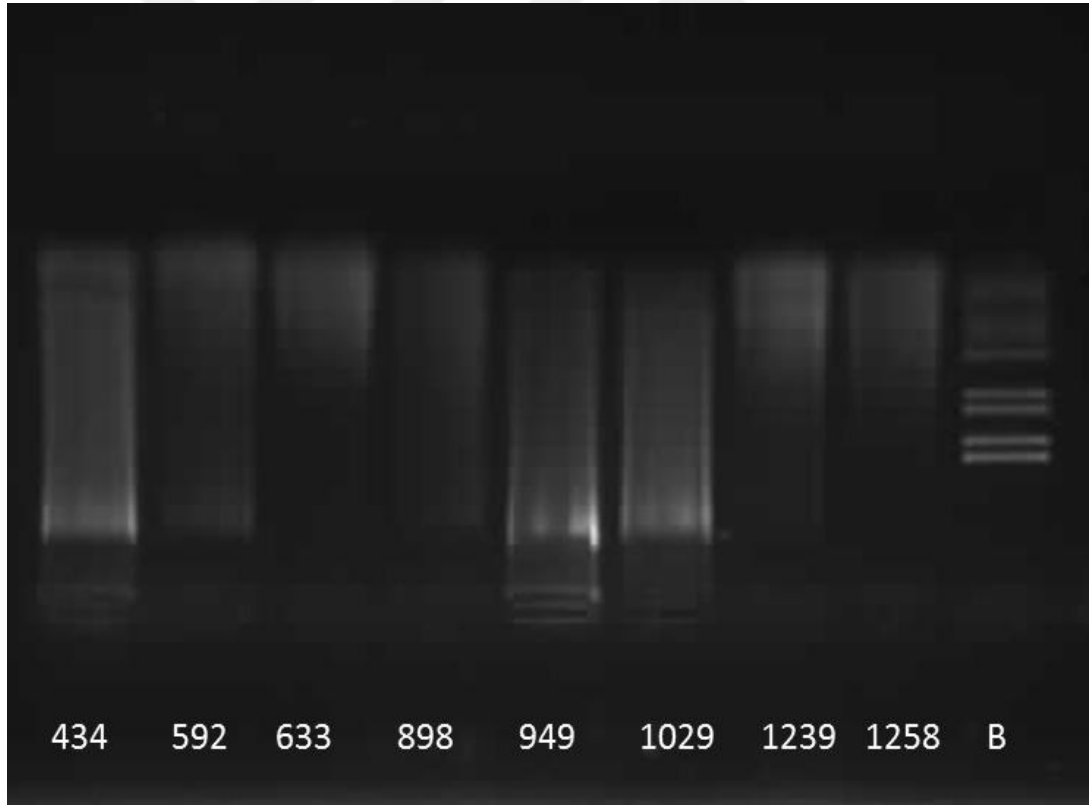
Birey no	Lokale	DNA (ng/µl)
180810-177	Seydişehir, Konya	57.45
140611-272	Kocayokuş, Bayburt	37.09
201009-279	Orta Mesarya, KKTC	85.71
090711-429	Çengelkayı köyü, Amasya	93.22
110711-430	Merkez,Sivas	50.64
110712-431	Yıldızeli, Sivas	29.73
110711-432	Çamlıbel, Tokat	107.62
020711-434	Poyralı, Pınarhisar, Kırklareli	10.43
030711-435	Gerede, Bolu	322.31
030711-436	Merzifon, Amasya	109.62
070811-467	Çengelkayı köyü, Amasya	32.15
070811-468	Boğazlıyan,Yozgat	114.46
070811-469	Özler, Boğazlıyan, Yozgat	239.29
080811-470	Ereğli, Konya	43.98
080811-471	Taşagıl köyü, Ereğli, Konya	47.02
080811-472	Sudurağı, Karaman	116.59
160911-498	Zile, Tokat	61.76
090711-537	Halilbaba, Vezirköprü, Samsun	47.73
310712-579	Direkli, Yıldızeli, Sivas	46.70
020812-582	Günyazı köyü,Ceyhan,Adana	15
0208-12-583	Baklalı, Adana	41.34
040812-584	Altinekin, Konya	34.07
2308-12-592	Horasan, Erzurum	15.72
2308-12-593	Horasan, Erzurum	96.32
150912-623	Aktaş, Niğde	114.34
170712-632	Aşağıyumlutaş, Ağlasun, Burdur	128.82
040812-633	Söğütçük, Korkuteli, Antalya	27.49
110812-635	Esentepe, Tefenni, Burdur	44.23
050613-671	Ergani, Diyarbakır	135.17
130613-717	Hamidiye, Eskişehir	168.88

Çizelge 3.2. (Devamı)

Birey no	Lokalite	DNA (ng/µl)
110614-878	Ulaş, Sivas	110.45
110614-879	Ulaş, Sivas	123.432
120614-880	Direkli, Yıldızeli, Sivas	145.51
110714-898	Akkaya, Gündül, Ankara	16.03
171214-937	Mecitözü, Çorum	170.36
091014-943	Bakırcıoğlu, Yıldızeli, Sivas	132.66
091014-944	Ulaş, Sivas	134.39
091014-945	Çamlıbel, Tokat	145.35
101014-949	Kangal, Sivas	25.69
190415-969	Eflani, Karabük	136.64
250615-1021	Derecik, Ulus, Bartın	37.03
170715-1027	Cebrailli, Keskin, Kırıkkale	67.16
170715-1028	Cebrailli, Keskin, Kırıkkale	57.22
170715-1029	Cebrailli, Keskin, Kırıkkale	10.54
260815-1086	Seben, Bolu	18.65
290915-1090	Bahşili, Sungurlu, Çorum	72.27
290915-1091	Hacıobası, Delice, Kırıkkale	80.91
170316-1103	İnceçayır, Sorgun, Yozgat	40.55
030716-1197	Konaklı, Çorum	89.41
100816-1211	Delihakki, Ereğli, Zonguldak	105.39
160816-1228	Kaynarca, Kayseri	90.94
230816-1237	Köprüköy, Erzurum	36.40
260816-1239	Hanak, Ardahan	20.51
060916-1255	Reyhanlı, Hatay	66.62
090916-1258	Çekem, Şarkışla, Sivas	27.21
100916-1259	İnevi, Sarıkaya, Yozgat	43.46
200916-1273	Kozaklı, Nevşehir	6.81
020817-1302	Timar, Van	37.46
010817-1303	Arpaçay, Kars	24.22
020716-1368	Yenice, Beyşehir, Konya	172.26
190719-1370	Fakılı, Alaca, Çorum	21.40

3.2.2. Genomik DNA'nin agaroz jel elektroforezi

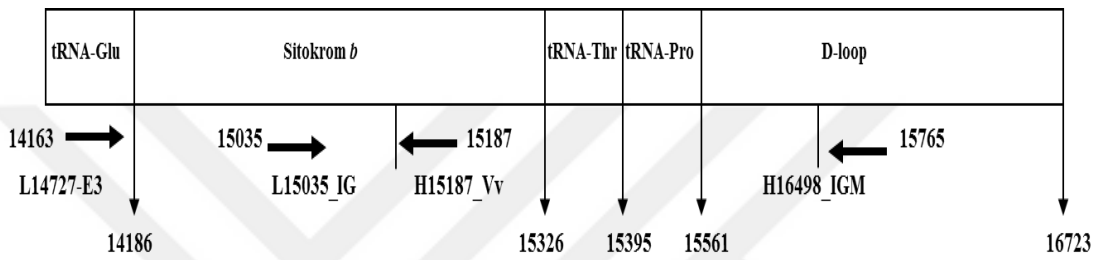
Agaroz jel elektroforezi için her bir bireye ait DNA örneğinden 5 µl alınarak 200 µl'lik ependorf içerisine konulmuş ve bunun üzerine 3 µl yükleme tamponu (6X DNA loading dye: Thermo Scientific) ilave edilerek tüpler 10000×g'de 20 saniye kadar santrifüj edilmiştir. Düz bir zemin üzerinde dökülmüş halde bulunan agaroz jel tank içerisine alınarak, tarak çıkarılmış ve elde edilen kuyucuklara her bir bireye ait 8 µl'lik karışım yan yana yüklenmiş, son kuyucuğa ise 100 bp'lik belirteç (PhiX174 DNA/Hae III, Promega) yüklenerek elektroforez çalıştırılmış ve yaklaşık 80 Volt ve 50 mA güç kullanılarak 45 dk elektroforez tankında koşturulmuştur. Yükleme işlemi sırasında her kuyuya uv. özellikli 1 µl Gel Red (Biotium) eklenerek boyama yapılmıştır. Ardından jel, içerisinde saf su bulunan diğer bir kaba aktarılarak burada 15 bekletilerek yıkanmış ve daha sonra uv özellikli görüntüleme sistemi (SyneGene, GeneGenius, Bio Imaging System) kullanılarak fotoğrafı çekilmiştir (Şekil 3.6).



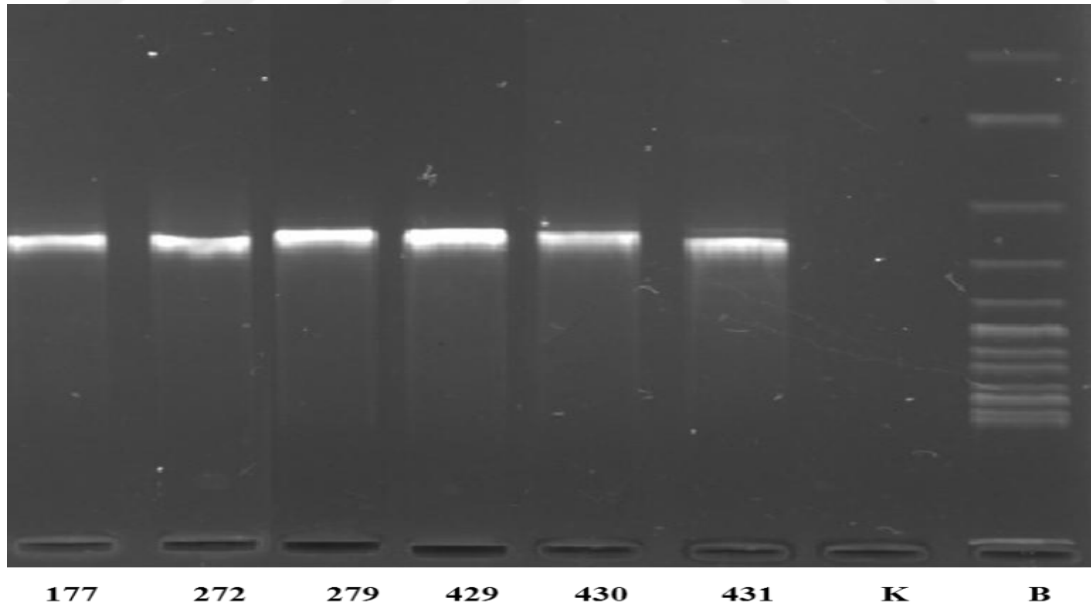
Şekil 3.6. Sekiz kızıl tilki örneği için genomik DNA elde edilmesi sonrası koşturulan agaroz jel görüntüsü. B: Belirteç

3.3. Mitokondrial DNA'nın Hedef Bölgesinin PZR ile Çoğaltılması

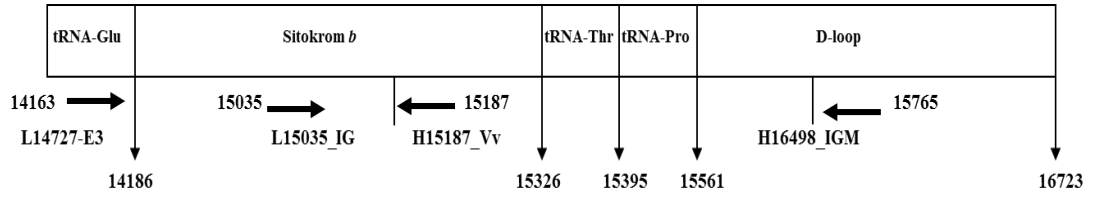
Yeterince kaliteli DNA izolasyonuna yapıldığı belirlenen örnekler için tek bir PZR'da tüm bireylerden 1601 bç'lik bir mtDNA bölümü [kısmi tRNA-Glu, 22 bç, tam sitokrom-b geni (1140 bç), bitişik tRNA'lar (tRNA-Thr, 70 bç; tRNA-Pro, 66 bç) ve D-loop bölgesinin sol tarafı (305 bç)] ileri L14727-E3 5'-GATATGAAAAATCACCGTTG-3' (Demirtaş, 2012)'den modifiye edilmiştir ve geri H16498_IGM 5'-CCTGAGGTAAGAACCAGATG-3' (Meyer vd, 1990)'dan motife edilmiştir) primerleri kullanılarak çoğaltılmıştır (Şekil: 3.7, 3.8 ve 3.9).



Şekil 3.7. İlgili mtDNA fragmanının PZR ile çoğaltılmasını ve ardından da dizilenmesini sağlamak için kullanılan stratejiler. Numaralandırma için *V. vulpes*'e ait tüm mtDNA dizisi GenBank: GQ374180, (Zhong vd, 2010) referans alınmıştır



Şekil 3.8. 1601 bç'lik ilgili mtDNA bölgesinin (sitokrom-b, tRNA-Thr, tRNA-Pro ve D-loop bölgesi'nin sol tarafı) L14727-E3-H16498_IGM primer çifti ile çoğaltılması sonrası 6 kıvıltı için çekilen PZR ürünü agaroz jel görüntüsü. K: Kontrol, B: Belirteç



Şekil 3.9. İlgili mtDNA fragmanının PZR ile çoğaltılmasını ve ardından da dizilenmesini sağlamak için kullanılan stratejiler. Numaralandırma için *V. vulpes*'e ait tüm mtDNA dizisi GenBank: GQ374180, (Zhong vd, 2010) referans alınmıştır

L14727-E3 ve H16498_IGM primerleri kullanılarak hazırlanan 50 µl'lik master karışım (master mix) (Çizelge 3.3) Thermal Cyclers'da (BIO-RAD) (Şekil 3.10 ve 3.11) PZR reaksiyonu için kullanılmıştır. İlgili DNA bölgesinin çoğaltılması işlemi için kullanılan PZR programı detayları Çizelge 3.4'te verilmektedir.



Şekil 3.10. PZR reaksiyonu için kullanılan PZR Cihazı (BIO-RAD)



Şekil 3.11. PZR reaksiyonu için kullanılan PZR Cihazı (BIO-RAD)

Çizelge 3.3. Mitokondrial DNA'nın ilgili 1601 bç'lik bölgesinin PZR ile çoğaltılması reaksiyonu için kullanılan master karışım

Bileşenler	50 µl'lik Reaksiyon için Eklenen Miktar	Son Konsantrasyon
10X PZR (rxn) tamponu (invitrogen)	5 µl	1X
L14727-E3	5 µl	10 pmol/ µl
H16498_IGM	5 µl	10 pmol/ µl
10 mM dNTP mix (invitrogen)	1 µl	0,2 mM
50 mM MgCl ₂ (invitrogen)	1,5 µl	1,5 mM
Taq DNA polimeraz (invitrogen)	0,3 µl	1,5 unit
Kalıp DNA	≥0,8 µl	20 ng
ddH ₂ O	50 µl'e kadar	Gerekli miktarda

Çizelge 3.4. Mitokondrial DNA'nın ilgili 1601 bç'lik bölgesinin çoğaltılması için kullanılan PZR programı aşamaları

Sıcaklık	Süre	Aşama
95°C	2 dk.	Denatürasyon (İkili DNA zincirinin ayrılması)
55°C	0.45 dk.	Annealing (Primerlerin kalıba bağlanması)
72°C	1,45 dk.	Extension (DNA zincirlerin uzaması)
94°C	0.40 dk.	Son Denatürasyon (İkili DNA zincirinin ayrılması)
55°C	0.45 dk.	Son Annealing (Primerlerin kalıba bağlanması)
72°C	5 dk.	Son Extension (DNA zincirinin uzaması)
+4°C	Süresiz	Soğukta tutama

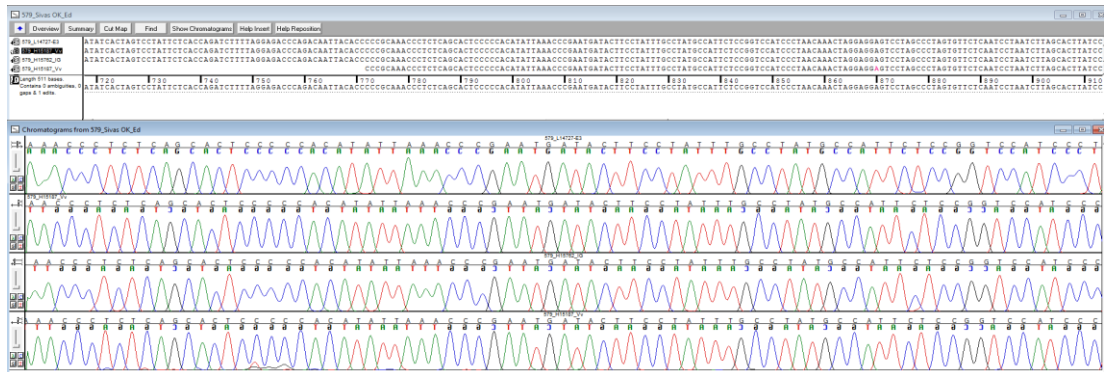
35
Döngü

3.3.1. PZR ürünlerinin saflaştırılması

PZR ile başarılı bir şekilde çoğaltılan ürünler QIAGENE firmasına ait QIAquick adlı kit ve yöntem kullanılarak saflaştırılmıştır. Buna göre önce 5:1 oranında PBI ve PZR ürünü 1500 µl'lik steril tüplerde karıştırılarak bu içerik daha sonra 2000 µl'lik tüplere yerleştirilmiş olan QIAquick spin kolomlarına pipet yardımıyla aktarılmıştır. Tüpler 8000 rpm'de 1 dakika süre ile santrifüj edilmiştir. Aynı kolomlar 2000 µl'lik yeni toplama tüplerine yerleştirilmiş ve kolomlara 0,75 ml PE tamponu eklenerek 8000 rpm'de 1 dakika santrifüj edilmiştir. Tüpler atılarak kolomlar yeni toplama tüplerine aktarılmış ve 12000 rpm'de 1 dakika süre ile yeniden santrifüj edilmiştir. Kolomlar yeni tüplere aktararak üzerine 50 µl EB tamponu ilave edilerek 8000 rpm'de 1 dakika santrifüj edilmiştir. Ardından kolomlar atılarak PZR ürünleri içeren tüpler kullanılabilecek kadar buz dolabında muhafaza edilmiştir. Saflaştırma sonrası bu PZR ürünlerinin konsantrasyonu ve niteliğini belirlemek amacıyla her bir bireye ait PZR ürününden 1 µl alınarak ve EB tamponu kör olarak kullanılarak mikrovolumetre ile kontrol edilmiştir. Kalitesi iyi (50-100ng/µl) olduğu PZR ürünleri DNA dizilemesinde kullanılmak üzere stok olarak -30°C'de saklanmıştır.

3.3.2. DNA dizileme işlemi ve konsensus dizilerin elde edilmesi

mtDNA'nın ilgili bölgesinin dizi analizi için PZR ürünleri hizmet alımı ile yaptırılmıştır. Bunun için PZR ürünleri, ilgili primerler ve 'BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems)' kullanılarak ilgili PZR programında çoğaltılmış ve ABI 3730XL kapillar otomatik dizileme ortamında okunmuştur. Firma tarafından elde edilen ham dizi verileri ve elektroferogramlar tarafımıza elektronik posta yolu ile gönderilmiştir. mtDNA'nın ilgili bölgesinin güvenli bir şekilde okunabilmesi için her bir birey için Şekil 3.7'de verilen PZR primerleri (dış primerler, L14727-E3 ve H16498_IGM) ve iç primerler (L15035_IG ve H15187_Vv) kullanılarak bir biri ile çakışan dört dizi elde edilmiştir. Her bir birey için elde edilen dört elektroferogram Sequencher® (Gene Codes, Ann Arbor, MI) programına aktararak hizalanmış, her bir baz tek tek gözden geçirilerek gerekli düzeltmeler yapılmış her bir bireye ait net okunabilir konsensüs dizi elde edilmiştir (Şekil 3.12). Düzeltmeler sonrası her bir birey için elde edilen dizi büyüklüğü 1555 bç olarak belirlenmiş olup, bu Gen Bankası'nda bulunan referans *V. vulpes* tüm mtDNA'daki GenBank: GQ374180, (Zhong vd, 2010) 14186 ile 15740 nolu pozisyonlar arasına denk gelmektedir. Bu DNA bölgesinin dağılımı ise şöyledir: sitokrom-b geninin tamamı (1140 bç), tRNA-Thr (70 bç), tRNA-Pro (66 bç) ve D-loop bölgesinin sol tarafı (280 bç). Her bir birey için elde edilmiş 1555 bç uzunluğundaki bu konsensüs diziler daha sonra yapılacak populasyon genetiği ve filogenetik analizlerinde kullanılmak üzere FASTA formatında ayrı bir dosyaya aktarılmıştır.



Şekil 3.12. Bir kızıl tilki (579 nolu birey) için dört primer (L14727-E3, H16498_IGM, L15035_IG ve H15187_Vv) kullanılarak elde edilen DNA dizilerinin hizalanması ile edilen ve konsensüs dizi elde etmek için kullanılan elektroferogramların kısmi görünümü

3.4. Moleküler Analizler

3.4.1. Filogenetik ve populasyon genetiği analizler için DNA veri matrisi hazırlanması

Türkiye'nin 52 farklı lokalitesinden toplanan 60 örnek ile Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti'nden bir lokaliteden toplanan 1 kızıl tilki doku örneği için elde edilen ve her biri 1555 bp uzunluğunda olan FASTA formatındaki mtDNA dizileri MacClade v. 4.08 (Maddison ve Maddison, 2000) adlı filogenetik analiz programına aktararak 61 dizilik bir veri matrisi oluşturulmuş ve aynı program kullanılarak 61 dizi arasında kaç haplotipin ve bunların frekanslarının ne olduğu belirlenmiştir. Her bir haplotipin frekansı kaydedildikten sonra FASTA formatında iki matris halinde DNA verileri kaydedilmiştir. Bunlardan ilki sadece haplotip dizilerinden oluşmakta olup filogenetik analizler için kullanılmış olup, ikincisi 61 diziden oluşan matris olup populasyon genetiği analizlerinden kullanılmıştır.

3.4.2. DNA verisine en uygun baz değişikliği modelinin belirlenmesi

Haplotiplerden oluşan DNA matrisi kullanılarak, eldeki verilere en uygun baz değişikliği modelini bulmak amacıyla ilgili dosya jModeltest 2 (Darriba vd, 2012) programına aktarılmış ve Akaike Information Criterion (AICc) (Akaike, 1973; Akaike, 1974) model seçim seçeneği kullanılarak en uygun baz değişikliği modeli belirlenmiştir. Belirlenen bu model türü sonraki aşamalarda yürütülen filogenetik analizlerde (NJ, ML ve BI) öngörülen baz değişikliği modeli olarak kullanılmıştır.

3.4.3. Filogenetik analizler

Haplotiplerden oluşan DNA matrisi kullanılarak, haplotipler arası evrimsel ilişkiyi görselleştirip yorumlamak için dört farklı evrimsel ağaç üretme yöntemi kullanılmıştır: Uzaklık metodu (Neighbour Joining-NJ), (Saitou ve Nei, 1987), Maksimum Likelihood metodu (ML), (Felsenstein, 1981), Maksimum Parsimoni metodu (MP), (Fitch, 1971) ve Bayesian Yaklaşım (BI), (Huelsenbeck ve Ronquist, 2001). Bu metodların her biri ile elde edilen ağaçların topolojiler incelenerek, değerlendirilip birbiri ile karşılaştırılmıştır. Üretilen ağaç ya da ağaçlardaki ana soy hattı veya ana kladların içerisine giren haplotiplerin ortak atasını işaret eden

düğümünün istatistiksel olarak ne derece desteklendiğini gösteren bootstrap analizi (NJ, ML ve MP) (Felsenstein, 1985) ve posterior olasılık analizi (BI) yapılmıştır.

Arktik tilkisine (*V. lagopus*) ve çöl tilkisine (*V. zerda*) ait GenBankasında elde edilen şu iki mtDNA dizisi filogenetik analizlerde elde edilen ağaçları köklendirmek için dış grup olarak kullanılmıştır: *V. lagopus*, KP342451 (Sun vd, 2016) ve *V. zerda*, KJ603240 (Yayınlanmadan GenBanka'sında doğrudan depolanmış).

Daha önce yapılan simülasyon çalışmaları özellikle haplotipler arasında varyasyonun az ve buna bağlı olarakta filogenetik ağaçlarda haplotiplere karşılık gelen dal uzunluklarının kısa olduğu durumlarda ilişkiyi göstermek için haplotip ağ metotlarının faydalı olduğunu göstermiştir (Cassens vd, 2005; Crandall ve Templeton, 1993; Posada ve Crandall, 2001; Woolley vd, 2008). Bu nedenle belirtilen dört evrimsel ağaç üretme tekniğine ilaveten, haplotipler arası ilişki Network v. 4.6.1.2 (Bandelt vd, 1999); (<http://www.fluxus-engineering.com>) programında yer alan Median-Joining Yöntem (MJY) ve TCS v. 1.21 (Clement vd, 2000) programı ve %95 güven aralığında iki farklı metotla da çizilmiş ve değerlendirilmiştir.

3.4.3.1. Uzaklık tabanlı analizi (Neighbour Joining-NJ)

MacClade programı kullanılarak hazırlanan ve haplotipleri içeren DNA veri matrisi NEXUS formatında kaydedilerek PAUP v. 4.0 b10 (Swofford, 2002) filogenetik analiz programına aktarılmıştır. Bu program ilgili NEXUS dosyası açılarak parametreler arasından jModeltest tarafından önerilen en iyi baz değişikliği modeli seçilmiş, veri matrisinde hangi taksonların (haplotiplerin) dış grup olarak kullanılacağı belirtilmiştir. Adından program aktif hale getirilerek analiz başlatılmıştır. Analiz bitikten sonra üretilen ağaç dosyası NEXUS formatında kaydedilmiştir. Bu NEXUS dosyası TreeView v. 1.6.6 (Page, 1996) programına aktarılmış ve orada filograma dönüştürülerek görsel hale getirilmiştir. Ana soy hattı içerisine giren haplotiplerin ortak atasını işaret eden düğümlerin istatistiksel olarak ne derece desteklendiğini görmek amacıyla yine PAUP* program ve parametreler kullanılarak bootstrap analizi (10000 replikasyon) yapılmıştır. Analiz bitikten sonra yine üretilen konsensüs ağaç dosyası NEXUS formatında kaydedilmiştir. Bu NEXUS dosyası yine TreeView programına aktarılmış ve orada kladograma dönüştürülerek

görsel hale getirilmiştir. Bootstrap değerleri incelenerek kaybedilmiş ve %70 ve üzeri olan bootstrap değerleri bir önceki aşamada oluşturulan NJ ağaç üzerinde gösterilmiştir.

3.4.3.2. Maksimum tutumluluk analizi (Maksimum Parsimoni-MP)

MP analizi PAUP* programında Heuristic ağaç seçeneği ve 10 rastgele tekrar seçeneği kullanılarak yapılmıştır. Analiz edilen veri için birden fazla sayıda ve eşit olasılıkta en kısa ağaçlar bulunduğu durumda, bu ağaçların her biri için şu ağaç parametreleri hesaplanmıştır: *TL* = Ağaç uzunluğu; *CI* = Consistency İndeks ve *RI* = Retention İndeks. Eğer çok sayıda ve eşit olasılıkta en kısa ağaç üretilmiş ise, bu ağaçların her birinde beraber gruplanan ana ya da alt kladları göstermek için, ağaçları özetleyen Strict konsensüs ve %50 Majority Rule konsensus ağaçları üretilmiştir. Bu ana ya da alt kladlara köken oluşturan düğümlerin istatistiksel olarak ne derece desteklendiğini göstermek için yine Heuristic ağaç seçeneği ve 10 rastgele tekrar seçeneği kullanılarak bootstrap analizi (1000 replikasyonlu) yapılmış; elde edilen bootstrap değerlerinden $\geq 70\%$ olanlar ağaç üzerindeki ilgili düğüm için gösterilmiştir.

3.4.3.3. Maksimum likelihood analizi (Maksimum olasılık analizi-ML)

ML analizi veri seti için önerilen en uygun baz değişikliği modeli kullanılarak PhyML v. 3.0 (Guindon ve Gascuel, 2003) programında yapılmıştır. ML analizi için başlangıç ağacı olarak parsimoni yaklaşımı ile oluşturulan ağaç kullanılmıştır. Ana ya da alt soyhatlarına köken oluşturan düğümlerin istatistiksel olarak ne derece desteklendiğini göstermek için yine aynı en iyi uyum gösteren baz değişikliği ve aynı program kullanılarak bootstrap analizi (1000 replikasyonlu) yapılmış, elde edilen bootstrap değerlerinden $\geq 70\%$ olanlar ağaç üzerindeki ilgili düğüm için gösterilmiştir.

3.4.3.4. Bayesian Yaklaşım (BI)

BI analizi veri seti için önerilen en uygun baz değişikliği modeli kullanılarak MrBayes 3.2.7a (Ronquist vd, 2012) programında, 10 milyon jenerasyondan oluşan 4 Markov Chain Monte Carlo (MCMC) kullanılarak ve ağaçlar her bir 100 nesilde

örneklenecek yapılmıştır. Traker v. 1.7.1 (Rambaut vd, 2018) kullanılarak üretilen ağaçların log-likelihood değerleri jenerasyon zamanına karşılık gelecek şekilde grafik haline getirilerek ‘burn-in periyodu’ belirlenmiştir ve %25’lik burn-in değerine karşılık gelen ağaçlar veriden uzaklaştırılmıştır. FigTree v.1.4.4 (Rambaut, 2018) kullanılarak arta kalan ağaçlardan %50 Majority konsensüs ağacı oluşturulmuş ve bu ağaç üzerinde ana ya da alt soyhatlatına köken oluşturan düğümlerin istatistiksel olarak ne derece desteklendiğini göstermek için bunlara karşılık gelen posterior olasılık değerleri gösterilmiştir.

3.4.4. Genetik çeşitlilik parametrelerinin hesaplanması

Belirlenen haplotipler ve her bir haplotipe ait frekanslardan oluşan DNA matrisi kullanılarak filogenetik analizler sonucu belirlenen ana soy hatları/kladlar ve verinin tamamı için haplotip çeşitliliği (H_d) ve standart hatası (SE), nükleotid çeşitliliği (π) KM-2P (Kimura, 1980) baz değişikliği modeli altında ve 10000 tekrarlı replikasyon kullanılarak MEGA X (Kumar vd, 2018) programı ile hesaplanmıştır. Aynı DNA matrisi kullanılarak ayırım gösteren baz bölgesi sayısı (S) ve ortalama nükleotid farklılık sayısı (k) DnaSP v. 5 (Librado ve Rozas, 2009) programı kullanılarak hesaplanmıştır. Ana soy hatları/kladlar arasındaki ham nükleotid çeşitliliği D_{xy} ; (Nei, 1987) ve net nükleotid çeşitliliği D_a ; (Nei, 1987) ve bunlara ait standart hatalar 10000 tekrarlı replikasyon ve KM-2P modeli kullanılarak ile MEGA X programı kullanılarak hesaplanmıştır.

3.4.5. Türün demografik yönden analiz edilmesi

Belirlenen haplotipler ve her bir haplotipe ait frekanslardan oluşan DNA matrisi kullanılarak filogenetik analizler sonucu belirlenen ana soy hatları/kladlar ve türün tamamı için geçmişte ani bir popülasyon genişlemesi veya evrimsel darboğaz geçirilip geçirilmediğin demografik olarak analiz etmek için literatürde yaygın olarak kullanılan iki (2) metot kullanılmıştır:

- **Nötralite testleri:** Bunun için Arlequin suite ver 3.5 (Excoffier ve Lischer, 2010) adlı program kullanılarak Tajima’s D (Tajima, 1989), Fu & Li’s D^* (Fu ve Li, 1993) ve Fu’s FS (Fu, 1997) olmak üzere üç farklı test yapılmış olup elde edilen değerlerin istatistiksel olarak anlamlı olup olmadıkları

değerlendirilmiş ve populasyon demografileri yorumlanmıştır. Tajima's D testi, segregasyona uğrayan nükleotit pozisyonlarının alelik frekansının karşılaştırılmasına dayanır. Bu test sonucunun pozitif değer alması orta derecede sıklığa sahip alellerin varlığı yönünde bir eğilimi ve dolayısı ile dengeli seçim veya populasyon büyüklüğünde düşmeyi işaret ederken; negatif ve istatistiksel olarak anlamlı çıkması popülasyonda nadir alel sayısında bir fazlalığı ve dolayısıyla da arındırıcı bir seçilimi ve veya ilgili popülasyonun demografik geçmişinde bir ani popülasyon genişlemesi yaşandığını işaret eder. F_u 's F_s değeri alel ya da haplotip dağılımına dayanır ve değeri negatif ve istatistiksel olarak anlamlı çıkması halinde alel fazlalığını ve dolayısıyla da ya genetik olarak beraberinde sürüklenmeyi ya da ani popülasyon büyümesini işaret eder. Fu and Li's D^* istatistik değerinin negatif çıkması yine değerleri fazla sayıda nadir haplotip fazlalığını ve dolayısı ile ani popülasyon genişlemesini işaret eder. Popülasyon büyüklüğündeki değişim beraberinde haplotip frekanslarının dağılımında da bir değişime neden olabildiği için, DnaSP programı kullanılarak R_2 (Ramos-Onsins ve Rozas, 2002) ve Strobeck's S istatistiği (Strobeck, 1987) de hesaplanmıştır. Bunlardan Strobeck's S istatistiği çıkarsanan mutasyon oranından (θ) türetilen gen dağılım oranına dayalı olarak gözlenen oranla eşit ya da daha az sayıda haplotip oranı elde etme olasılığını hesaplarken, R_2 singleton mutasyon sayısı ile ortalama nükleotit farklılığı arasındaki farklılığa dayalı olarak hesaplanır. Bu analizler sonucu elde edilecek yüksek pozitif değer (Strobeck's S) ya da düşük pozitif değer (R_2) ani popülasyon büyüklüğünü işaret eder.

- **Mismatch dağılımı:** DnaSP programı kullanılarak bireyler arası ikili nükleotid farklılığı ve bunların frekansları grafiklenerek bu grafiğin dağılış şekli incelenmiştir. Bu dağılış şeklinin tekli (unimodal) olması bir popülasyon genişlemesini işaret ederken, çoklu (multimodal) olması stabil bir popülasyon demografisini işaret eder (Slatkin ve Hudson, 1991). Buna ilaveten, ani genişleme modeli varsayımında gözlenen ve beklenen verileri karşılaştırmak için Arlequin programında raggedness index rg , (Harpending, 1994) ve kare farkların toplamı SSD, (Schneider ve Excoffier, 1999) testleri ile 10000 parametrik bootstrap yapılarak ta incelenmiştir. Ani popülasyon

büyükluğu gözlenen ana soy hatları/kladlar için bu olayın ne zaman meydana gelmiş olabileceğini kabaca tarihlendirmek için $\tau = 2ut$ formüllü kullanılarak hesaplanmıştır. Formüldeki t , populasyon genişlemesi olduğundan beri geçen zamanı ve u ise incelenen DNA büyüklüğündeki mutasyon oranı olup, $u = 2\mu k$ 'dir ve μ her bir nesilde her bir nükleotid başına düşen mutasyon oranını, k ise incelen DNA dizisinin uzunluğunu işaret etmektedir. Nesil verme süresi ise yılda bir olarak kabul edilmiştir (Lloyd, 1980). Arlequin programı kullanılarak ve parametric bootstrap (10 000 tekrar) yaklaşımı ile θ_0 , genişlemesi öncesindeki baz değişikliği oranı (θ_0), genişlemesi sonrasındaki baz değişikliği oranı (θ_1) ve τ için güven aralıkları %95 seviyesinde hesaplanmıştır (Schneider ve Excoffier, 1999).

Mutasyon oranı olarak sitokrom-b ve D-loop bölgesi fragmentlerinin beraberce analiz edilmesi durumunda tanımlanan milyon yıl başına %9.36'lık oran kullanılmış olup, bu oran milyon yıl başına sitokrom-b için tanımlanan mutasyon oranı (%2.8) ile D-loop bölgesi için tanımlanan mutasyon oranı (%17.75) nın ağırlıklı mutasyon ortalamasını ifade etmektedir (Aubry vd, 2009; Edwards vd, 2012; Savolainen vd, 2002; Vilà vd, 1997; Wayne vd, 1997).

3.4.6. Türkiye kızıl tilki populasyonlarına ait bu çalışma verileri ile GenBankası verilerinin filogenetik yönden beraber değerlendirilmesi

3.4.6.1. mtDNA sitokrom-b verilerinin analizi

Türkiye kızıl tilki populasyonları üzerine sitokrom-b verileri kullanılarak yapılan tek çalışma (İbiş vd, 2014) olup, araştırmacılar bu çalışmada Türkiye'nin 51 farklı lokalitesinden 51 örnekte sitokrom-b geninin 375 bç'lik kısmını çalışmışlar ve toplamda 10 haplotip (TR1–10) bulmuşlardır. Türkiye bağlamında daha geniş bir yayılım çerçevesinde filogenetiğin nasıl şekillendiğini gözlemlemek amacıyla bu araştırmacılar tarafından belirlenen haplotipler ile bu çalışmada belirlenen haplotipler bir araya getirilerek BioEdit v. 7.0.9.0 (Hall, 1999) programında yer alan CLUSTAL W (Thompson vd, 1994) algoritması kullanılarak hizalanmıştır. Hizalama sonunda oluşturulan haplotipler DNA veri matrisi sadece 375 bç'lik kısmı içerecek şekilde kısaltılmıştır. Bu 375 bç'lik sitokrom-b dizisi GenBankası'nda bulunan GQ374180 kodlu *V. vulpes* tüm mtDNA verisi (Zhong vd, 2010)'nde 14 186 ile 14 560

pozisyonları arasına denk gelmektedir. Bu kısa DNA matrisi MacClade adlı programa aktarılarak veri matrisinde aynı olan kaç haplotipin olduğu belirlenmiş ve bunlar bir tablo halinde frekansları ile beraber listelenmiştir. Sadece farklı olan haplotiplerin yer aldığı diğer bir DNA matrisi hazırlanarak kaydedilmiş ve bu matris daha sonraki analizlerde kullanılmıştır. Yayınlanmış haplotipler ile bu çalışmada belirlenen haplotiplerin beraberce analiz edilebilmesi için 375 bç'lik kısmın kullanılmak zorunda kalınması veride büyük oranda pozisyon kaybına (ki bu pozisyonlardan parsimonik olarak bilgi içerenler bulunmaktaydı) neden olduğundan filogenetik yaklaşım olarak haplotipler arası ilişkiyi göstermek amacıyla Network programında yer alan MJY yöntemi kullanılarak haplotipler ağı çizilmiştir.

3.4.6.2. mtDNA D-loop bölgesi verilerinin analizi

Türkiye kızıl tilki populasyonları üzerine D-loop bölgesi verileri kullanılarak yapılan tek çalışma (Telcioğlu vd, 2019) olup, araştırmacılar bu çalışmada Türkiye'nin 55 farklı lokalitesinden 54 örnekte D-loop bölgesi'nin varyasyon gösteren sol tarafı (310 bç) ile bitişikteki tRNA-Thr (40 bç) ve tRNA-Pro (66 bç) bölgelerini içerecek şekilde toplam da 416 bç'lik bir bölgenin dizi analizini yapmışlar ve toplamda 25 haplotip (Tr.Vv.D.1–Tr.Vv.D.25) tanımlamışlardır.

Türkiye bağlamında daha geniş bir yayılış çerçevesinde filogenetiğin nasıl şekillendiğini gözlemlemek amacıyla bu araştırmacılar tarafından belirlenen haplotipler ile bu çalışmada belirlenen haplotipler bir araya getirilerek BioEdit programında yer alan CLUSTAL W (Thompson vd, 1994) algoritması kullanılarak hizalanmıştır. Hizalama sonunda oluşturulan haplotipler DNA veri matrisi iki çalışmada ortak olacak şekilde sadece 375 bç'lik kısmı (tRNA-Thr, 29 bç; tRNA-Pro, 66 bç ve D-loop bölgesi'nin sol tarafı, 280 bç) içerecek şekilde kısaltılmıştır. Bu 375 bç'lik sitokrom-b dizisi GenBankası'nda bulunan GQ374180 kodlu *V. vulpes* tüm mtDNA verisi (Zhong vd, 2010)'nde 15 366 ile 15 740 pozisyonları arasına denk gelmektedir. Bu kısa DNA matrisi MacClade adlı programa aktarılarak veri matrisinde aynı olan kaç haplotipin olduğu belirlenmiş ve bunlar bir tablo halinde frekansları ile beraber listelenmiştir. Sadece farklı olan haplotiplerin yer aldığı diğer bir DNA matrisi hazırlanarak kaydedilmiş ve bu matris daha sonraki analizlerde kullanılmıştır. Yayınlanmış haplotipler ile bu çalışmada belirlenen haplotiplerin beraberce analiz edilebilmesi için sadece 375 bç'lik kısmın kullanılması nedeniyle

filogenetik yaklaşım olarak sadece haplotipler arası ilişkiyi göstermek amacıyla Network programında yer alan MJY yöntem kullanılarak haplotipler ağı çizilmiştir.



4. BULGULAR ve TARTIŞMA

4.1. mtDNA Varyasyonları

Türkiye’den 52 lokalite 60 birey ve Kıbrıs’tan 1 lokalite 1 birey için toplam uzunluğu 1555 bç (sitokrom-b geninin tamamı, 1140 bç; tRNA-Thr, 70 bç; tRNA-Pro 66 bç ve D-loop bölgesinin sol tarafı, 280 bç) mtDNA kısmı tüm bireyler için başarılı bir şekilde iki yönlü olarak dizilenmiştir. Tüm bireylere ait dizilerin ikili karşılaştırılması sonucu toplamda 38 mtDNA haplotipi (Hap_1-38) tespit edilmiştir (Çizelge 4.1). Bu haplotiplerin lokalitelere göre dağılımı incelendiğinde, en yaygın haplotipin 7 lokaliteden 7 bireyden tespit edilen Hap_1 olduğu görülmektedir. Geri kalan haplotiplerden Hap_2 ve Hap_3’ün her ikisinde 4 lokaliteden 4 bireyde tespit edilmiştir. Diğer haplotiplerden Hap_4, 2 lokaliteden 3 bireyde ve Hap_5 ise 3 lokaliteden 3 bireyde tespit edilmiştir. Geri kalan haplotiplerin (Hap_6-38) ise frekansları daha düşük olup, bunların çoğu 1 lokaliteden 1 veya 2 bireyde tespit edilmiştir.

Bu haplotiplerden oluşan 1555 bç’lik hizalanmış veri incelendiğinde 80 pozisyonda (%5.14) baz değişikliğinin olduğu gözlenmiştir. Varyasyon gösteren 80 pozisyondan 50 tanesi (%3.21) sitokrom-b için kodlama yapan ilk 1140 bazlık kısım içerisinde, 3 tanesi (%0.13) tRNA-Thr için kodlama yapan 70 bç’lik kısım içerisinde, 3 tanesi (%0.13) tRNA-Pro için kodlama yapan kısım içerisinde ve son olarak 24 tanesi (%1.54) ise D-loop bölgesi’nin sol kısmına denk gelen 280 bç’lik kısım içerisinde yer almaktadır. Varyasyon gösteren 80 pozisyondan 46 tanesi (%57.5) parsimonik yönden sinapomorf olup bilgi içermektedir. D-loop bölgesi içerisinde sadece 1 pozisyonda ise tek bazlık bir delesyonun olduğu gözlenmiştir.

Sitokrom-b içinde varyasyon gösteren 50 pozisyon’dan 41 tanesi sinonim olan aminoasit ile sonuçlanırken 9 tanesi de sinonim olmayan aminoasit değişimi ile sonuçlanmıştır. Sinonim olmayan amino asit değişimiyle sonuçlanan 9 pozisyon değişiminin 5 tanesi ilgili kodonun 2. pozisyonuna, 4 tanesi ise 1. pozisyonuna denk gelmektedir. Sinonim kodonla sonuçlanan 41 pozisyon değişikliğinin 40 tanesi 3. pozisyon 1 tanesi ise 1. pozisyon şeklindeki değişimlerdir. Çizelge (4.2). 38 içinde hangilerinin ne oranda kullanıldığını özetlemektedir. Çizelge (4.3) incelendiğinde

haplotipler arası farklılığın 1 baz (%0,06) ile 29 baz (%1,87) arasında değiştiği görülmekte olup, haplotipler arası ortalama genetik ozaklık ise %0,83'tür.



Çizelge 4.1. Çalışma kapsamında kullanılan *V.vulpes* örneklerinin toplandığı lokaliteler ve koordinatları ile bulunan mtDNA haplotipleri.

Lokaliteler	Harita no	Enlem/Boylam	Örnek no	mtDNA Haplotip
KIRKLARELİ				
Poyralı, Pınarhisar, Kırklareli	1	41° 37' K 27° 33' D	020711-434	Hap_17
BOLU				
Seben, Bolu	2	40° 23' K 31° 33' D	260815-1086	Hap_11
Gerede, Bolu	3	40° 51' K 32° 29' D	030711-435	Hap_2
ZONGULDAK				
Delihakkı, Ereğli, Zonguldak	4	41° 16' K 31° 32' D	100816-1211	Hap_29
BARTIN				
Derecik, Ulus, Bartın	5	41° 31' D 32° 29' D'	250615-1021	Hap_10
KARABÜK				
Eflani, Karabük	6	41° 25' D 32° 56' D'	190415-969	Hap_10
SAMSUN				
Halilbaba, Vezirköprü, Samsun	7	41° 06' K 35° 16' D	090711-537	Hap_19
BAYBURT				
Kocayokuş, Bayburt	8	40° 21' K 39° 50' D	140611-272	Hap_14
ERZURUM				
Köprüköy, Erzurum	9	39° 57' K 41° 52' D	230816-1237	Hap_9
Horasan, Erzurum	10	40° 01' K 42° 03' D	2308-12-592	Hap_20
Horasan, Erzurum		40° 01' K 42° 03' D	2308-12-593	Hap_38

*OMÜ, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü'de Prof. Dr. İ.Gündüz'ün doku koleksiyonunda bulunan örnek numaraları. Harita için Şekil 4.1'e bkz

Çizelge 4.1. (Devamı)

Lokaliteler	Harita no	Enlem/ Boylam	Örnek no	mtDNA Haplotip
ARDAHAN				
Hanak, Ardahan	11	41° 13' K 42° 50' D	260816-1239	Hap_31
KARS				
Arpaçay, Kars	12	40° 50' K 43° 19' D	010817-1303	Hap_35
ESKİŞEHİR				
Hamidiye, Eskişehir	13	39° 34' K 30° 57' D	130613-717	Hap_1
ANKARA				
Akkaya, Güdül, Ankara	14	40° 03' D 32° 10' D'	110714-898	Hap_25
KIRIKKALE				
Cebrailli, Keskin, Kırıkkale	15	39° 34' K 33° 43' D	170715-1027	Hap_27
Cebrailli, Keskin, Kırıkkale		39° 34' K 33° 43' D	170715-1028	Hap_11
Cebrailli, Keskin, Kırıkkale		39° 34' K 33° 43' D	170715-1029	Hap_3
Hacıobası, Delice, Kırıkkale	16	39° 34' K 33° 43' D	290915-1091	Hap_28
ÇORUM				
Bahşili, Sungurlu, Çorum	17	40° 05' K 34° 07' D	290915-1090	Hap_3
Fakılı, Alaca, Çorum	18	40° 00' K 34° 58' D	190719-1370	Hap_37
Konaklı, Çorum	19	40° 37' K 35° 12' D	030716-1197	Hap_1
Mecitözü, Çorum	20	40° 31' K 35° 19' D	171214-937	Hap_6

Çizelge 4.1. (Devamı)

Lokaliteler	Harita no	Enlem/ Boylam	Örnek no	mtDNA Haplotip
AMASYA				
Merzifon, Amasya	21	40° 51' K 35° 25' D	030711-436	Hap_6
Çengelkayı köyü, Amasya	22	40° 39' K 36° 09' D	090711-429	Hap_4
Çengelkayı köyü, Amasya		40° 39' K 36° 09' D	070811-467	Hap_4
TOKAT				
Zile, Tokat	23	40° 16' K 35° 48' D	160911-498	Hap_5
Çamlıbel, Tokat	24	39° 57' K 36° 30' D	110711-432	Hap_16
Çamlıbel, Tokat		39° 57' K 36° 30' D	091014-945	Hap_1
SİVAS				
Yıldızeli, Sivas	25	39° 45' K 36° 45' D	110712-431	Hap_1
Bakırcıoğlu, Yıldızeli, Sivas	26	39° 49' K 36° 45' D	091014-943	Hap_1
Direkli, Yıldızeli, Sivas	27	39° 43' K 36° 36' D	120614-880	Hap_24
Direkli, Yıldızeli, Sivas		39° 42' K 36° 38' D	310712-579	Hap_2
Merkez,Sivas	28	39° 43' K 36° 57' D	110711-430	Hap_5
Çekem, Şarkışla, Sivas	29	39° 26' K 36° 36' D	090916-1258	Hap_12
Ulaş, Sivas	30	39° 26' K 37° 02' D	110614-878	Hap_2
Ulaş, Sivas		39° 25' K 37° 04' D	110614-879	Hap_5
Ulaş, Sivas		39° 25' K 37° 04' D	091014-944	Hap_26
Kangal, Sivas	31	39° 06' K 37° 17' D	101014-949	Hap_9

Çizelge 4.1. (Devamı)

Lokaliteler	Harita no	Enlem/ Boylam	Örnek no	mtDNA Haplotip
KONYA				
Altinekin, Konya	32	38° 19' K 32° 46' D	040812-584	Hap_2
Yenice, Beyşehir, Konya	33	37° 35' K 31° 49' D	020716-1368	Hap_36
Seydişehir, Konya	34	37° 17' K 31° 55' D	180810-177	Hap_13
Ereğli, Konya	35	37° 37' K 34° 17' D	080811-470	Hap_7
Taşagıl köyü, Ereğli, Konya	36	37° 28' K 33° 56' D	080811-471	Hap_18
KARAMAN				
Sudurağı, Karaman	37	37° 17' K 33° 29' D	080811-472	Hap_7
NİĞDE				
Aktaş, Niğde	38	38° 01' K 34° 44' D	150912-623	Hap_4
NEVŞEHİR				
Kozaklı, Nevşehir	39	39° 13' K 34° 48'	200916-1273	Hap_33
YOZGAT				
İnceçayır, Sorgun, Yozgat	40	39° 49' K 35° 00'	170316-1103	Hap_12
İnevi, Sarıkaya, Yozgat	41	39° 33' K 35° 17'	100916-1259	Hap_3
Boğazlıyan, Yozgat	42	39° 07' K 35° 12' D	070811-468	Hap_3
Özler, Boğazlıyan, Yozgat	43	39° 05' K 35° 09' D	070811-469	Hap_1
KAYSERİ				
Kaynarca, Kayseri	44	38° 36' K 36° 25' D	160816-1228	Hap_30

Çizelge 4.1. (Devamı)

Lokaliteler	Harita no	Enlem/ Boylam	Örnek no	mtDNA Haplotip
BURDUR				
Aşağıyumlutaş, Ağlasun, Burdur	45	37° 36' K 30° 44' D	170712-632	Hap_21
Esentepe, Tefenni, Burdur	46	37° 17' K 29° 48' D	110812-635	Hap_1
ANTALYA				
Söğütçük, Korkuteli, Antalya	47	37° 00' K 30° 20' D	040812-633	Hap_22
ADANA				
Baklalı, Adana	48	36° 58' K 35° 39' D	0208-12-583	Hap_8
Günyazı köyü, Ceyhan, Adana	49	37° 04' K 35° 57' D	020812-582	Hap_8
HATAY				
Reyhanlı, Hatay	50	36° 14' K 36° 28' D	060916-1255	Hap_32
DİYARBAKIR				
Ergani, Diyarbakır	51	38° 13' K 39° 40' D	050613-671	Hap_23
VAN				
Timar, Van	52	39° 13' K 34° 48'	020817-1302	Hap_34
KUZEY KIBRIS				
Orta Mesarya	53	35° 11' K 33° 40' D	201009-279	Hap_15

Çizelge 4.2. Bulunan mtDNA haplotipleri arasında sitokrom-b geni için her bir amino asit için olası sinonim kodonların kullanım frekansları. Nispi frekanslar hemen frekansların ardından parantez içinde verilmiştir. * Olası dur kodonunu işaret etmektedir

UUU(F)	11.2(0.83)	UCU(S)	5.8(1.34)	UAU(Y)	7.8(1.12)	UGU(C)	0.0(0.00)
UUC(F)	15.8(1.17)	UCC(S)	5.0(1.16)	UAC(Y)	6.2(0.88)	UGC(C)	4.0(2.00)
UUA(L)	11.1(1.21)	UCA(S)	12.1(2.81)	UAA(*)	0.0(0.00)	UGA(W)	11.0(1.83)
UUG(L)	2.0(0.22)	UCG(S)	0.0(0.00)	UAG(*)	0.0(0.00)	UGG(W)	1.0(0.17)
CUU(L)	9.9(1.08)	CCU(P)	3.0(0.55)	CAU(H)	3.0(0.46)	CGU(R)	1.0(0.50)
CUC(L)	9.1(0.99)	CCC(P)	9.0(1.64)	CAC(H)	10.0(1.54)	CGC(R)	1.0(0.50)
CUA(L)	21.0(2.29)	CCA(P)	7.9(1.44)	CAA(Q)	4.0(1.33)	CGA(R)	5.0(2.50)
CUG(L)	2.0(0.22)	CCG(P)	2.0(0.36)	CAG(Q)	2.0(0.67)	CGG(R)	1.0(0.50)
AUU(I)	18.2(0.89)	ACU(T)	4.6(0.73)	AAU(N)	5.4(0.73)	AGU(S)	1.0(0.23)
AUC(I)	22.8(1.11)	ACC(T)	10.5(1.67)	AAC(N)	9.6(1.27)	AGC(S)	2.0(0.46)
AUA(M)	8.0(1.14)	ACA(T)	10.0(1.59)	AAA(K)	7.8(1.74)	AGA(*)	1.0(4.00)
AUG(M)	6.0(0.86)	ACG(T)	0.1(0.01)	AAG(K)	1.2(0.26)	AGG(*)	0.0(0.00)
GUU(V)	4.9(1.17)	GCU(A)	5.1(0.76)	GAU(D)	2.0(0.31)	GGU(G)	2.0(0.32)
GUC(V)	3.2(0.76)	GCC(A)	6.9(1.02)	GAC(D)	11.0(1.69)	GGC(G)	5.0(0.80)
GUA(V)	7.4(1.75)	GCA(A)	13.9(2.06)	GAA(E)	6.0(2.00)	GGA(G)	13.0(2.08)
GUG(V)	1.4(0.32)	GCG(A)	1.1(0.16)	GAG(E)	0.0(0.00)	GGG(G)	5.0(0.80)

Çizelge 4.3. *V.vulpes*'te bulunan mtDNA haplotipleri arasında haplotip çiftleri arası kaç baz farklı olduğunu (üsteki üçgen) ve bunlara karşılık gelen düzeltilmemiş uzaklık (%P) değerlerini (alttaki üçgen) gösteren matris

	Hap_1	Hap_2	Hap_3	Hap_4	Hap_5	Hap_6	Hap_7	Hap_8	Hap_9	Hap_10	Hap_11	Hap_12	Hap_13	Hap_14	Hap_15	Hap_16	Hap_17	Hap_18
Hap_1	-	2	2	1	13	11	1	20	21	3	8	2	12	11	20	2	11	10
Hap_2	0,13	-	2	1	13	11	3	20	21	5	10	2	12	11	22	4	11	10
Hap_3	0,13	0,13	-	1	13	13	3	20	23	5	10	2	12	11	22	4	11	10
Hap_4	0,06	0,06	0,06	-	12	12	2	19	22	4	9	1	11	10	21	3	10	9
Hap_5	0,84	0,84	0,84	0,77	-	16	14	23	26	14	11	13	7	6	25	15	11	11
Hap_6	0,71	0,71	0,84	0,77	1,03	-	12	15	14	14	11	13	15	14	15	13	14	13
Hap_7	0,06	0,19	0,19	0,13	0,9	0,77	-	21	22	4	9	3	13	12	21	3	12	11
Hap_8	1,29	1,29	1,29	1,22	1,48	0,97	1,35	-	5	23	18	20	22	21	4	22	21	18
Hap_9	1,35	1,35	1,48	1,42	1,67	0,9	1,42	0,32	-	24	19	23	25	24	5	23	24	21
Hap_10	0,19	0,32	0,32	0,26	0,9	0,9	0,26	1,48	1,54	-	9	5	13	12	23	5	12	11
Hap_11	0,51	0,64	0,64	0,58	0,71	0,71	0,58	1,16	1,22	0,58	-	10	10	9	18	10	7	2
Hap_12	0,13	0,13	0,13	0,06	0,84	0,84	0,19	1,29	1,48	0,32	0,64	-	12	11	22	4	11	10
Hap_13	0,77	0,77	0,77	0,71	0,45	0,97	0,84	1,42	1,61	0,84	0,64	0,77	-	5	24	14	10	10
Hap_14	0,71	0,71	0,71	0,64	0,39	0,9	0,77	1,35	1,54	0,77	0,58	0,71	0,32	-	23	13	9	9
Hap_15	1,29	1,42	1,42	1,35	1,61	0,97	1,35	0,26	0,32	1,48	1,16	1,42	1,54	1,48	-	22	23	20
Hap_16	0,13	0,26	0,26	0,19	0,97	0,84	0,19	1,42	1,48	0,32	0,64	0,26	0,9	0,84	1,42	-	13	12
Hap_17	0,71	0,71	0,71	0,64	0,71	0,9	0,77	1,35	1,54	0,77	0,45	0,71	0,64	0,58	1,48	0,84	-	7
Hap_18	0,64	0,64	0,64	0,58	0,71	0,84	0,71	1,16	1,35	0,71	0,13	0,64	0,64	0,58	1,29	0,77	0,45	-
Hap_19	0,13	0,13	0,13	0,06	0,84	0,84	0,19	1,29	1,48	0,32	0,64	0,13	0,77	0,71	1,42	0,26	0,71	0,64
Hap_20	1,54	1,54	1,67	1,61	1,87	1,09	1,61	0,51	0,32	1,74	1,42	1,67	1,8	1,74	0,39	1,67	1,74	1,54
Hap_21	0,58	0,58	0,58	0,51	0,26	0,77	0,64	1,22	1,42	0,64	0,45	0,58	0,19	0,13	1,35	0,71	0,45	0,45
Hap_22	0,71	0,71	0,71	0,64	0,77	0,9	0,77	1,22	1,42	0,77	0,19	0,71	0,71	0,64	1,35	0,84	0,51	0,06
Hap_23	0,64	0,64	0,64	0,58	0,45	0,84	0,71	1,29	1,48	0,71	0,51	0,64	0,39	0,32	1,42	0,77	0,58	0,51
Hap_24	1,29	1,29	1,42	1,35	1,61	0,84	1,35	0,26	0,06	1,48	1,16	1,42	1,54	1,48	0,26	1,42	1,48	1,29
Hap_25	0,19	0,06	0,19	0,13	0,9	0,77	0,26	1,35	1,42	0,39	0,71	0,19	0,84	0,77	1,48	0,32	0,77	0,71
Hap_26	0,13	0,13	0,13	0,06	0,84	0,84	0,19	1,29	1,48	0,32	0,64	0,13	0,77	0,71	1,42	0,26	0,71	0,64
Hap_27	0,13	0,26	0,26	0,19	0,97	0,84	0,19	1,42	1,48	0,32	0,64	0,26	0,9	0,84	1,42	0,26	0,84	0,77
Hap_28	0,13	0,26	0,26	0,19	0,97	0,84	0,19	1,42	1,48	0,32	0,64	0,26	0,9	0,84	1,42	0,26	0,84	0,77
Hap_29	0,19	0,32	0,32	0,26	0,9	0,77	0,26	1,35	1,42	0,39	0,58	0,32	0,84	0,77	1,35	0,32	0,77	0,71
Hap_30	0,32	0,32	0,19	0,26	1,03	1,03	0,39	1,48	1,67	0,51	0,84	0,32	0,97	0,9	1,61	0,45	0,9	0,84
Hap_31	0,71	0,71	0,71	0,64	0,39	1,03	0,77	1,48	1,61	0,77	0,71	0,71	0,45	0,39	1,61	0,84	0,71	0,71
Hap_32	1,42	1,54	1,54	1,48	1,74	1,09	1,48	0,39	0,45	1,61	1,29	1,54	1,67	1,61	0,26	1,54	1,61	1,42
Hap_33	0,13	0,26	0,26	0,19	0,97	0,84	0,06	1,42	1,48	0,32	0,64	0,26	0,9	0,84	1,42	0,26	0,84	0,77
Hap_34	1,48	1,48	1,61	1,54	1,8	1,03	1,54	0,45	0,26	1,67	1,35	1,61	1,74	1,67	0,32	1,61	1,67	1,48
Hap_35	0,77	0,64	0,77	0,71	0,45	0,97	0,84	1,54	1,61	0,84	0,77	0,77	0,51	0,45	1,67	0,9	0,77	0,77
Hap_36	0,13	0,26	0,26	0,19	0,84	0,84	0,19	1,42	1,35	0,19	0,51	0,26	0,77	0,71	1,42	0,26	0,71	0,64
Hap_37	0,13	0,26	0,26	0,19	0,97	0,84	0,19	1,42	1,48	0,32	0,64	0,26	0,9	0,84	1,42	0,26	0,84	0,77
Hap_38	0,39	0,39	0,39	0,32	0,97	1,09	0,45	1,54	1,61	0,45	0,77	0,39	0,9	0,84	1,67	0,51	0,84	0,77

.Çizelge 4.3. (Devamı)

	Hap_19	Hap_20	Hap_21	Hap_22	Hap_23	Hap_24	Hap_25	Hap_26	Hap_27	Hap_28	Hap_29	Hap_30	Hap_31	Hap_32	Hap_33	Hap_34	Hap_35	Hap_36	Hap_37	Hap_38
Hap_1	2	24	9	11	10	20	3	2	2	2	3	5	11	22	2	23	12	2	2	6
Hap_2	2	24	9	11	10	20	1	2	4	4	5	5	11	24	4	23	10	4	4	6
Hap_3	2	26	9	11	10	22	3	2	4	4	5	3	11	24	4	25	12	4	4	6
Hap_4	1	25	8	10	9	21	2	1	3	3	4	4	10	23	3	24	11	3	3	5
Hap_5	13	29	4	12	7	25	14	13	15	15	14	16	6	27	15	28	7	13	15	15
Hap_6	13	17	12	14	13	13	12	13	13	13	12	16	16	17	13	16	15	13	13	17
Hap_7	3	25	10	12	11	21	4	3	3	3	4	6	12	23	1	24	13	3	3	7
Hap_8	20	8	19	19	20	4	21	20	22	22	21	23	23	6	22	7	24	22	22	24
Hap_9	23	5	22	22	23	1	22	23	23	23	22	26	25	7	23	4	25	21	23	25
Hap_10	5	27	10	12	11	23	6	5	5	5	6	8	12	25	5	26	13	3	5	7
Hap_11	10	22	7	3	8	18	11	10	10	10	9	13	11	20	10	21	12	8	10	12
Hap_12	2	26	9	11	10	22	3	2	4	4	5	5	11	24	4	25	12	4	4	6
Hap_13	12	28	3	11	6	24	13	12	14	14	13	15	7	26	14	27	8	12	14	14
Hap_14	11	27	2	10	5	23	12	11	13	13	12	14	6	25	13	26	7	11	13	13
Hap_15	22	6	21	221	22	4	23	22	22	22	21	25	25	4	44	5	26	22	22	26
Hap_16	4	26	11	13	12	22	5	4	4	4	5	7	13	24	4	25	14	4	4	8
Hap_17	11	27	7	8	9	23	12	11	13	13	12	14	11	25	13	26	12	11	13	13
Hap_18	10	24	7	1	8	20	11	10	12	12	11	13	11	22	12	23	12	10	12	12
Hap_19	-	26	9	11	10	22	3	2	4	4	5	5	11	24	4	25	12	4	4	6
Hap_20	1,67	-	25	25	26	4	25	26	26	26	25	29	28	8	26	3	28	24	26	28
Hap_21	0,58	1,61	-	8	3	21	10	9	11	11	10	12	4	23	11	24	5	9	11	11
Hap_22	0,71	1,61	0,51	-	9	21	12	11	13	13	12	14	12	21	11	24	13	11	13	13
Hap_23	0,64	1,67	0,19	0,58	-	22	11	10	12	12	11	13	7	24	12	25	8	10	12	12
Hap_24	1,42	0,26	1,35	1,35	1,42	-	21	22	22	22	21	25	24	6	22	3	24	20	22	24
Hap_25	0,19	1,61	0,64	0,77	0,71	1,35	-	3	5	5	6	6	12	25	5	24	11	5	5	7
Hap_26	0,13	1,67	0,58	0,71	0,64	1,42	0,19	-	4	4	5	5	11	24	4	25	12	4	4	6
Hap_27	0,26	1,67	0,71	0,84	0,77	1,42	0,32	0,26	-	4	5	7	13	24	4	25	14	4	4	8
Hap_28	0,26	1,67	0,71	0,84	0,77	1,42	0,32	0,26	0,26	-	5	7	13	24	4	25	14	4	4	8
Hap_29	0,32	1,61	0,64	0,77	0,71	1,35	0,39	0,32	0,32	0,32	-	8	12	23	5	24	13	5	3	9
Hap_30	0,32	1,87	0,77	0,9	0,84	1,61	0,39	0,32	0,45	0,45	0,51	-	14	27	7	28	15	7	7	9
Hap_31	0,71	1,8	0,26	0,77	0,45	1,54	0,77	0,71	0,84	0,84	0,77	0,9	-	27	13	27	3	10	13	12
Hap_32	1,54	0,51	1,48	1,35	1,54	0,39	1,61	1,54	1,54	1,54	1,48	1,74	1,74	-	22	7	28	24	24	28
Hap_33	0,26	1,67	0,71	0,71	0,77	1,42	0,32	0,26	0,26	0,26	0,32	0,45	0,84	1,42	-	25	14	4	4	8
Hap_34	1,61	0,19	1,54	1,54	1,61	0,19	1,54	1,61	1,61	1,61	1,54	1,8	1,74	0,45	1,61	-	27	23	25	27
Hap_35	0,77	1,8	0,32	0,84	0,51	1,54	0,71	0,77	0,9	0,9	0,84	0,97	0,19	1,8	0,9	1,74	-	12	14	14
Hap_36	0,26	1,54	0,58	0,71	0,64	1,29	0,32	0,26	0,26	0,26	0,32	0,45	0,64	1,54	0,26	1,48	0,77	-	4	4
Hap_37	0,26	1,67	0,71	0,84	0,77	1,42	0,32	0,26	0,26	0,26	0,19	0,45	0,84	1,54	0,26	1,61	0,9	0,26	-	8
Hap_38	0,39	1,8	0,71	0,84	0,77	1,54	0,45	0,39	0,51	0,51	0,58	0,58	0,77	1,8	0,51	1,74	0,9	0,26	0,51	-

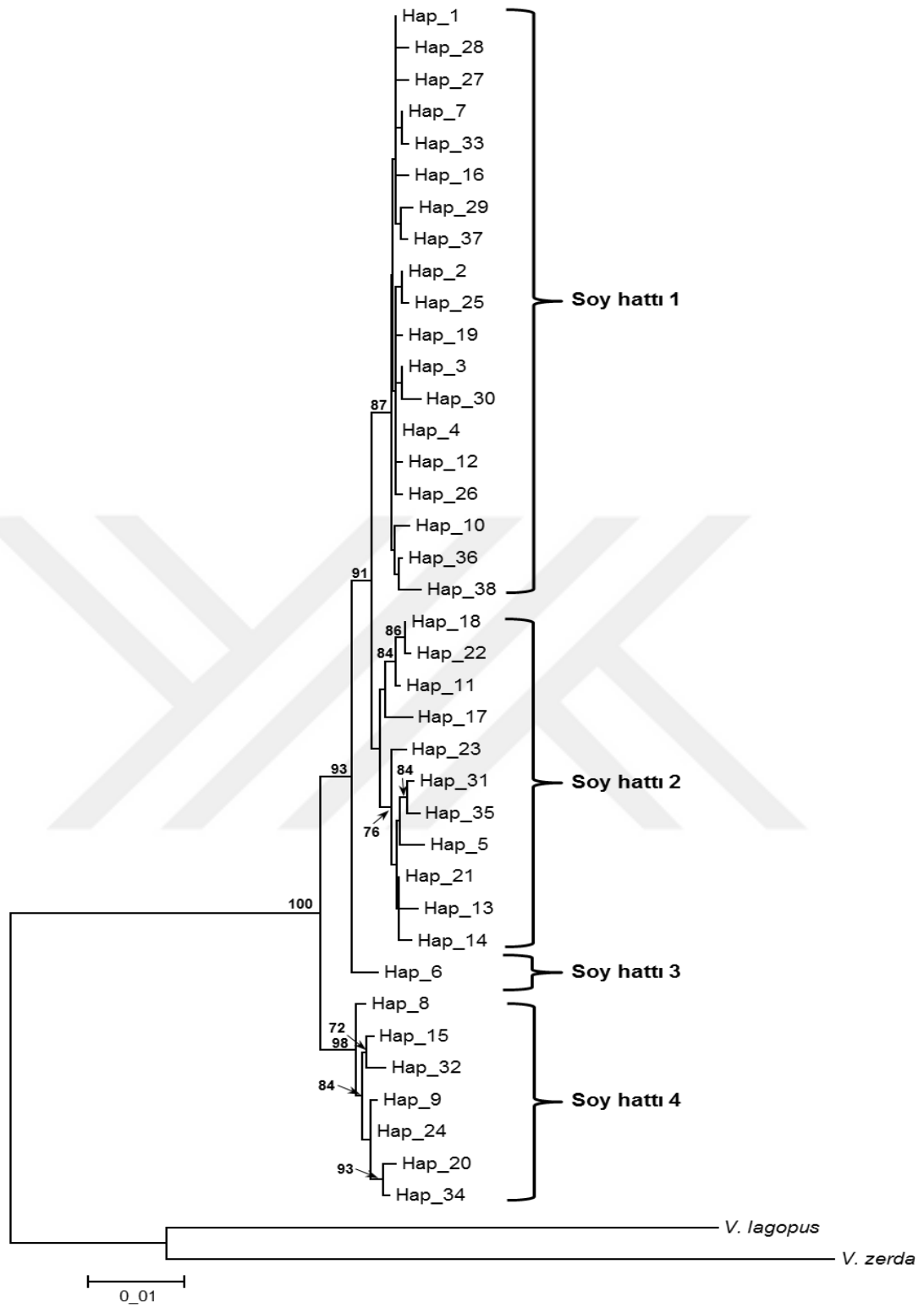
4.2. Moleküler filogeni

4.2.1. mtDNA verisine en uygun baz değişikliği modeli

AICc seçeneği, gamma dağılım değeri (gamma distribution=G) 0,1170 ve değişim göstermeyen pozisyon frekans değeri (invariable site=I) 0,3230 olan GTR (Generalised time-reversible model), (Tavaré, 1986) modelini veriye uyan en uygun baz değişikliği modeli olarak önerdi. Haplotip veri matrisi içinde 4 bazın frekansları ise şu şekilde bulundu: Veri matrisi içerisinde bazların frekansı ise A= 0,2895, C= 0,2726, G= 0,1495 ve T= 0,2884 olarak bulunmuştur. Önerilen modele göre hesaplanan baz değişikliği oranları ise şu şekilde hesaplanmıştır: AC=46111,8784, AG= 264017,6754, AT=9299,5114, CG= 45085,7326, CT=261738,1362 ve GT=1,0000.

4.2.2. Uzaklık metodu (Neighbour Joining-NJ) analizi

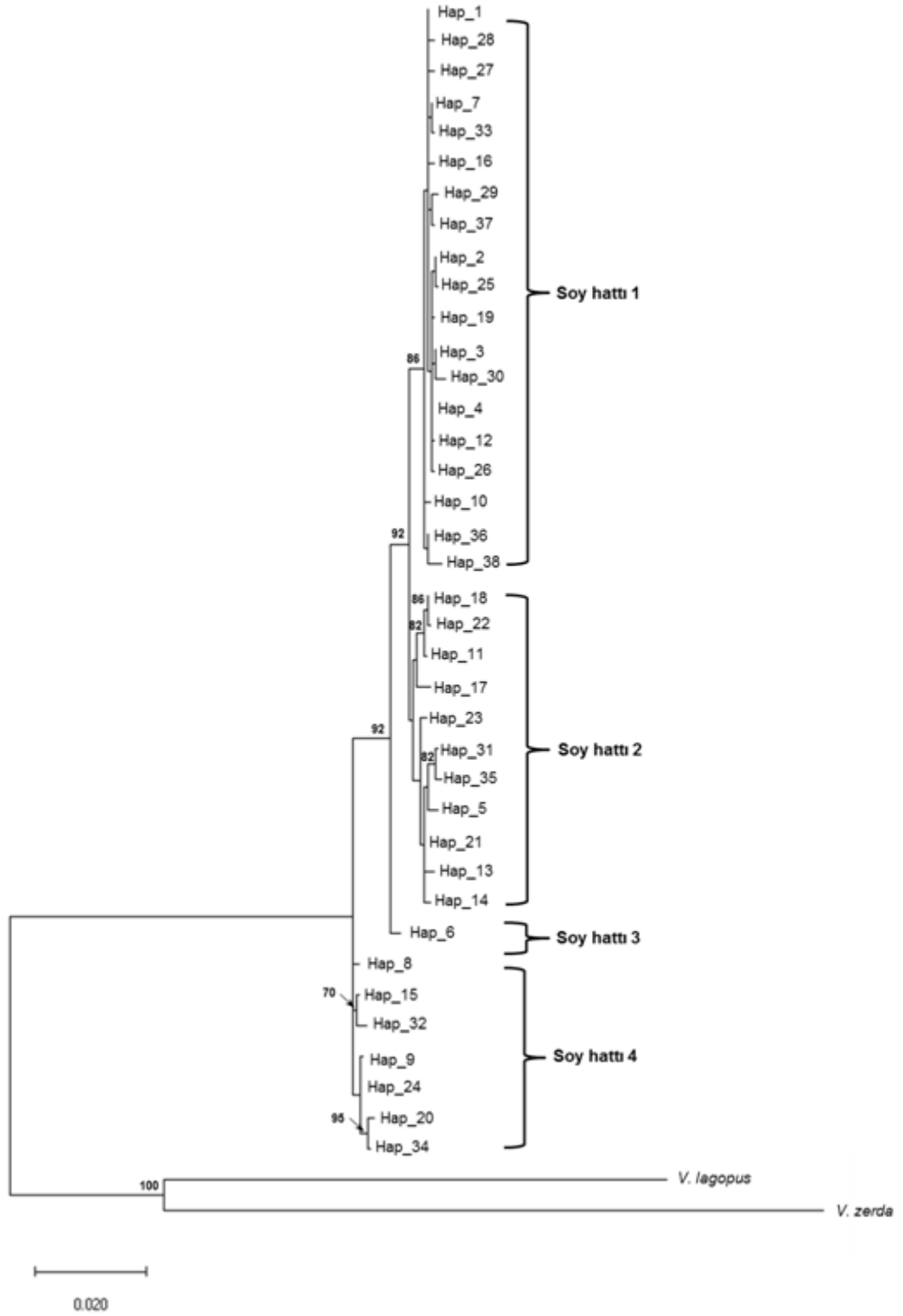
GTR+I+G baz değişikliği modeli kullanılarak oluşturulan NJ ağacı şekil 4.1’de verilmektedir. Ağaç incelendiğinden 38 *V. ulpes* haplotipinin 4 ana soy hattı içerisinde gruplandığı görölmektedir. Soy hattı 1 en geniş soy hattı olan bu soy hattı içerisinde toplam 19 haplotip (Hap_1-4, Hap_7, Hap_10, Hap_12, Hap_16, Hap_19, Hap_25, Hap_27-29, Hap_30, Hap_33, Hap_36-38) gruplanmakta olup, bu haplotipleri bağlayan düğüm %87’lik bir bootstrap değeri ile desteklenmektedir. Soy hattı 2 ikinci en geniş soy hattı olup, bu grup içinde 11 haplotip (Hap_5, Hap_11, Hap_13-14, Hap_17-18, Hap_21-23, Hap_31, Hap_35) yer almakta olup, bu haplotipleri bağlayan düğüm zayıf bootstrap değeri ile desteklenmektedir. En küçük soy hattı olan Soy hattı 3 sadece tek bir haplotip (Hap_6) oluşmakta olup, bu soy hattı Soy hattı 1 ve Soy hattı 2’den oluşan gruba kardeş grup olarak ağaçta pozisyon almaktadır. Bu 3 soy hattı beraberce %93’lik bootstrap değeri ile bir monofiletik grup oluşurmaktadır. Ağacın tabanında ise Soy hattı 4 yer almakta olup bu soy hattı ayrı ayrı küçük gruplar halinde pozisyon alan 7 haplotipten (Hap_8-9, Hap_15, Hap_20, Hap_24, Hap_32, Hap_34) oluşmaktadır.



Şekil 4.1. *V. vulpes* haplotipleri arasındaki evrimsel ilişkiyi gösteren ve GTR+I+G baz değişikliği modeline göre oluşturulan NJ ağacı. Dallar üzerindeki rakamlar 10000 replikasyon ile bootstrap değerlerini göstermektedir. Sadece %70'nin üzerinde olan bootstrap değerleri gösterilmektedir

4.2.3. Maksimum likelihood analizi sonuçları

Çalışma kapsamında tespit edilen 38 *V. vulpes* mtDNA haplotipi, tıpkı NJ analiz sonucunda olduğu gibi ML analiz sonucunda da 4 ana soy hattı içerisinde gruplanmıştır. Soy hattı 1 en geniş soy hattını oluşturmakta olup bu soy hattı içerisinde toplam 19 haplotip (Hap_1-4, Hap_7, Hap_10, Hap_12, Hap_16, Hap_19, Hap_25, Hap_27-29, Hap_30, Hap_33, Hap_36-38) gruplanmakta ve bu haplotipleri bağlayan düğüm %81'lik bir bootstrap değeri ile desteklenmektedir. Bu ana soy hattı içinde yeterince sinapomorf karakterle beraberce gruplanan üç alt soy hattı (Hap_7-Hap_33, %84'lük bootstrap değeri ile, Hap_2-Hap_25, %77'lik bootstrap değeri ile ve Hap_3-Hap_10, %77'lik bootstrap değeri ile) yer almaktadır. Soy hattı 2 yine ikinci en geniş soy hattı olup, bu grup içinde 11 haplotip (Hap_5, Hap_11, Hap_13-14, Hap_17-18, Hap_21-23, Hap_31, Hap_35) yer almakta olup, bu haplotipleri bağlayan düğüm orta derecede (%70) bootstrap değeri ile desteklenmektedir. Bu ana soy hattı içinde biri 4 haplotip (Hap_11, Hap_17-18, Hap_22) içeren ve %80'lik bootstrap değeri ile beraberce gruplanan, diğeri ise altı haplotip (Hap_5, Hap_13-14, Hap_21, Hap_31, Hap_35) içeren ve %92'lik bootstrap değeri ile beraberce gruplanan iki alt soy hattı yer almaktadır. En küçük soy hattı olan Soy hattı 3 sadece tek bir haplotip (Hap_6) oluşmakta olup, bu soy hattı Soy hattı 1 ve Soy hattı 2'den oluşan gruba kardeş grup olarak ağaçta pozisyon almaktadır. Bu 3 soy hattı beraberce %94'lük yüksek bootstrap değeri ile bir monofiletik grup oluşturmaktadır. Ağacın tabanında ise Soy hattı 4 yer almakta olup bu soy hattı yine ayrı ayrı küçük gruplar halinde pozisyon alan 7 haplotipten (Hap_8-9, Hap_15, Hap_20, Hap_24, Hap_32, Hap_34) oluşmaktadır. (Bakınız Sekil 4.2).



Şekil 4.2. *V. vulpes* haplotipleri arasındaki evrimsel ilişkiyi gösteren ve GTR+I+G baz değişikliği modeline göre oluşturulan Maksimum likelihood ağacı. Dallar üzerindeki rakamlar 1000 replikasyon sonucu elde edilen bootstrap değerlerini göstermektedir. Sadece %70'nin üzerinde olan bootstrap değerleri gösterilmektedir

4.2.4. Maksimum parsimony analizi

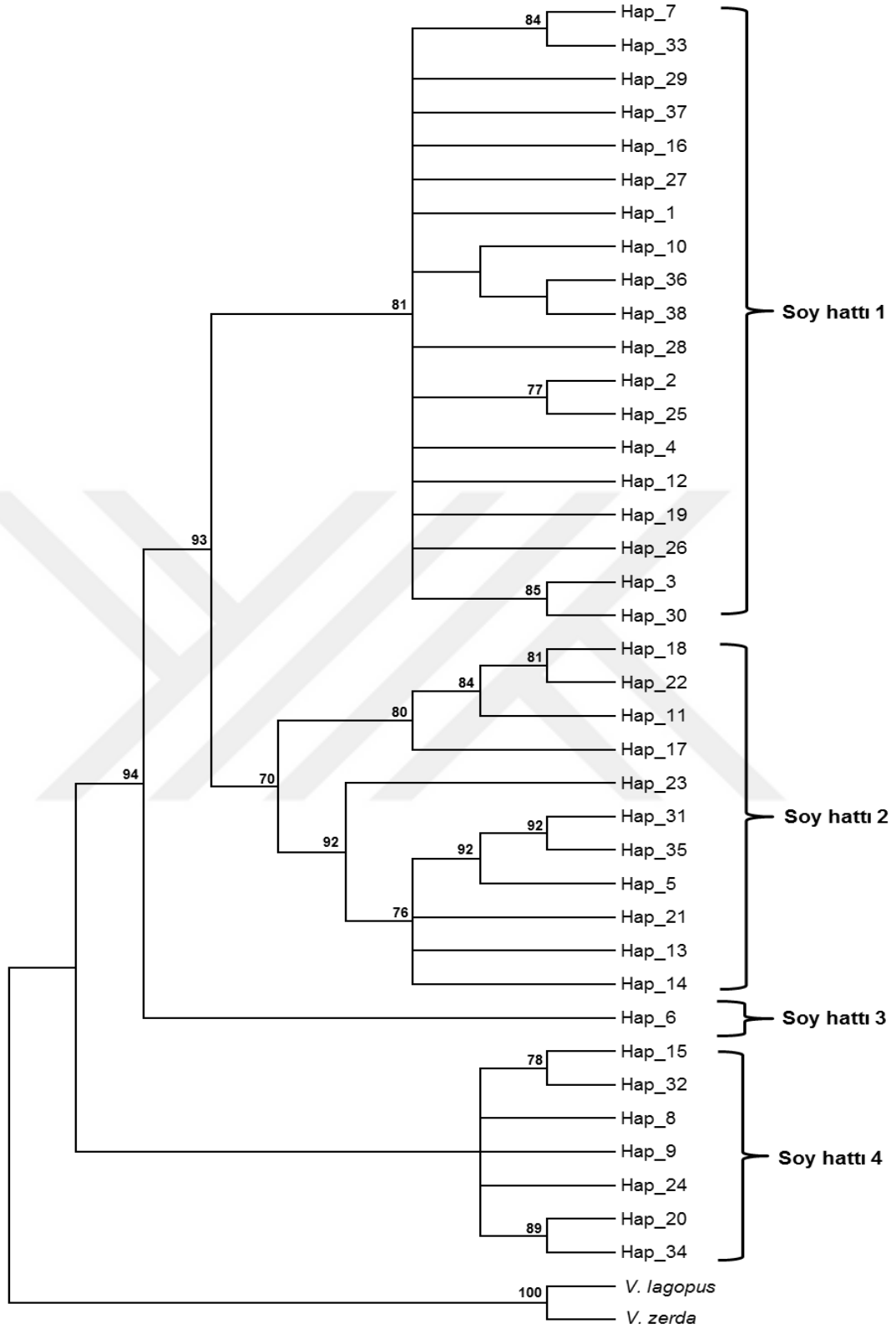
Maksimum parsimony analizi sonucunda uzunlukları 352 olan eşit olasılıkta 7 ağaç elde edildi. Bu ağaçların *CI* değeri 0.725, *RI* ise 0.867 olarak tespit edildi. Eşit olasılıktaki 7 ağacın topolojilerini özetleme için oluşturulan Strict konsensus ağacı Şekil 4.3'te gösterilmektedir. Ağaç incelendiğinde, haplotiplerin tıpkı NJ ve ML ağaçlarında olduğu gibi 4 ana soy hattı (klad) içerisinde gruplandığı görülmektedir. Soy hattı 1 en geniş soy hattını oluşturmakta olup bu soy hattı içerisinde toplam 19 haplotip (Hap_1-4, Hap_7, Hap_10, Hap_12, Hap_16, Hap_19, Hap_25, Hap_27-29, Hap_30, Hap_33, Hap_36-38) gruplanmakta ve bu haplotipleri bağlayan düğüm %86'lık bir bootstrap değeri ile desteklenmektedir. Soy hattı 2 ikinci en geniş soy hattı olup, bu grup içinde 11 haplotip (Hap_5, Hap_11, Hap_13-14, Hap_17-18, Hap_21-23, Hap_31, Hap_35) yer almakta olup, bu haplotipleri bağlayan düğüm zayıf bootstrap değeri ile desteklenmektedir. En küçük soy hattı olan Soy hattı 3 sadece tek bir haplotip (Hap_6) oluşmakta olup, bu soy hattı Soy hattı 1 ve Soy hattı 2'den oluşan gruba kardeş grup olarak ağaçta pozisyon almaktadır. Bu 3 soy hattı beraberce %92'lik bootstrap değeri ile bir monofiletik grup oluşturmaktadır. Ağacın tabanında ise Soy hattı 4 yer almakta olup bu soy hattı ayrı ayrı küçük gruplar halinde pozisyon alan 7 haplotipten (Hap_8-9, Hap_15, Hap_20, Hap_24, Hap_32, Hap_34) oluşmaktadır.

4.2.5. Bayesian analizi

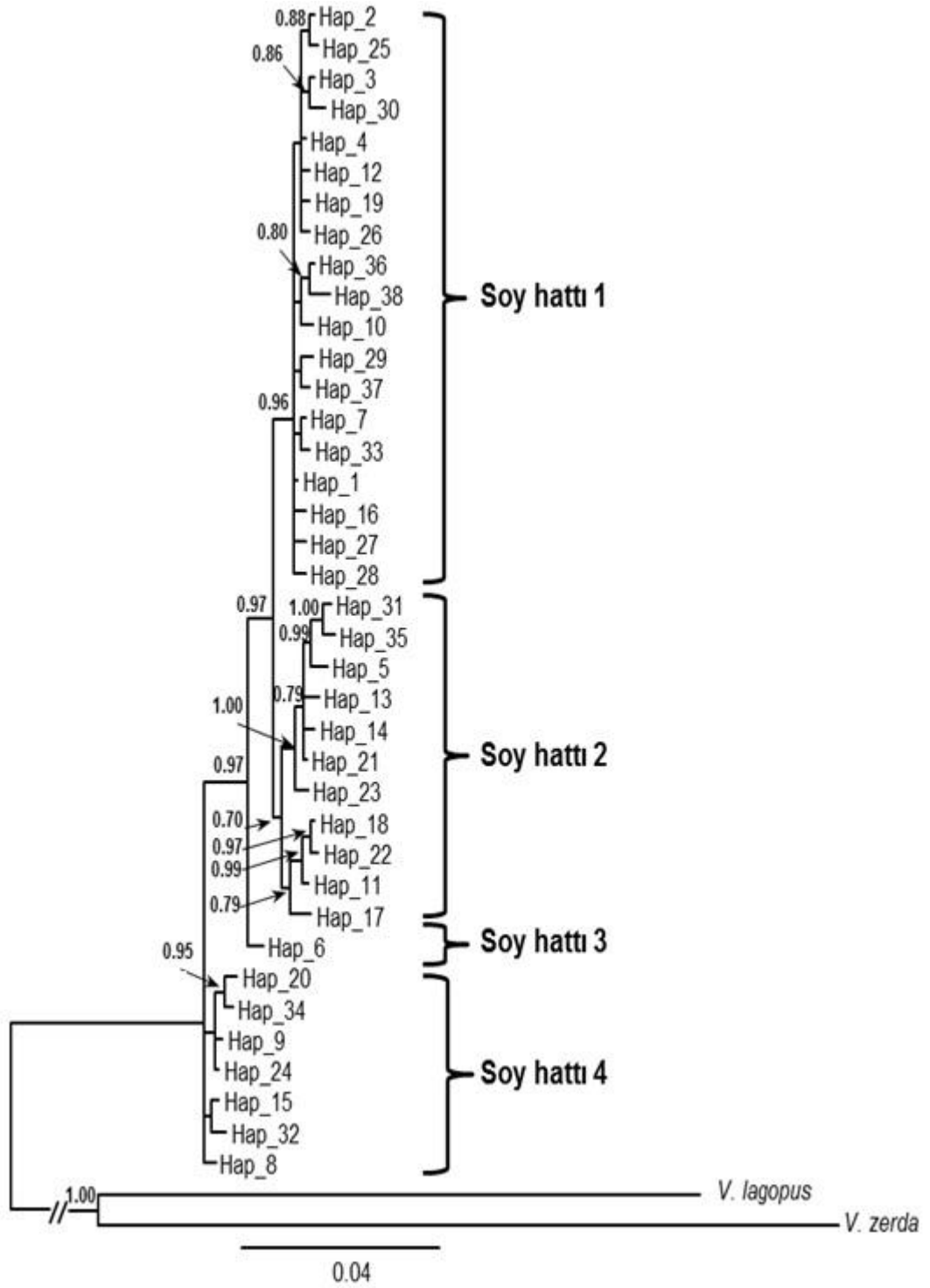
GTR+I+G baz değişikliği modeli kullanılarak oluşturulan BI ağacı Şekil 4.4'te görülmektedir. Yukarıda detayları verilen diğer ağaç oluşturma yöntemleri (NJ, ML ve MP) olduğu gibi BI analizi ile oluşturulan ağaçta da dört soy hattının varlığı görüldü. Soy hattı 1 yine en geniş soy hattını oluşturmakta olup bu soy hattı içerisinde toplam 19 haplotip (Hap_1-4, Hap_7, Hap_10, Hap_12, Hap_16, Hap_19, Hap_25, Hap_27-29, Hap_30, Hap_33, Hap_36-38) gruplanmakta ve bu haplotipleri bağlayan düğüm 0.96'lık bir olasılık değeri ile desteklenmektedir. Soy hattı 2 ikinci en geniş soy hattı olup, bu grup içinde 11 haplotip (Hap_5, Hap_11, Hap_13-14, Hap_17-18, Hap_21-23, Hap_31, Hap_35) yer almakta olup, bu haplotipleri bağlayan düğüm 0.70'lik orta derecede bir olasılık değeri ile desteklenmektedir. En küçük soy hattı olan Soy hattı 3 sadece tek bir haplotip (Hap_6) oluşmakta olup, bu

soy hattı Soy hattı 1 ve Soy hattı 2'den oluşan gruba kardeş grup olarak ağaçta pozisyon almaktadır. Bu 3 soy hattı beraberce 0.97'lik bir olasılık değeri ile bir monofiletik grup oluşturmaktadır. Ağacın tabanında ise yine Soy hattı 4 yer almakta olup bu soy hattı ayrı ayrı küçük gruplar halinde pozisyon alan 7 haplotipten (Hap_8-9, Hap_15, Hap_20, Hap_24, Hap_32, Hap_34) oluşmakta olup, bunlardan Hap_20 ve Hap_34 0.95'lik bir olasılık değeri ile beraberce gruplanmaktadır.





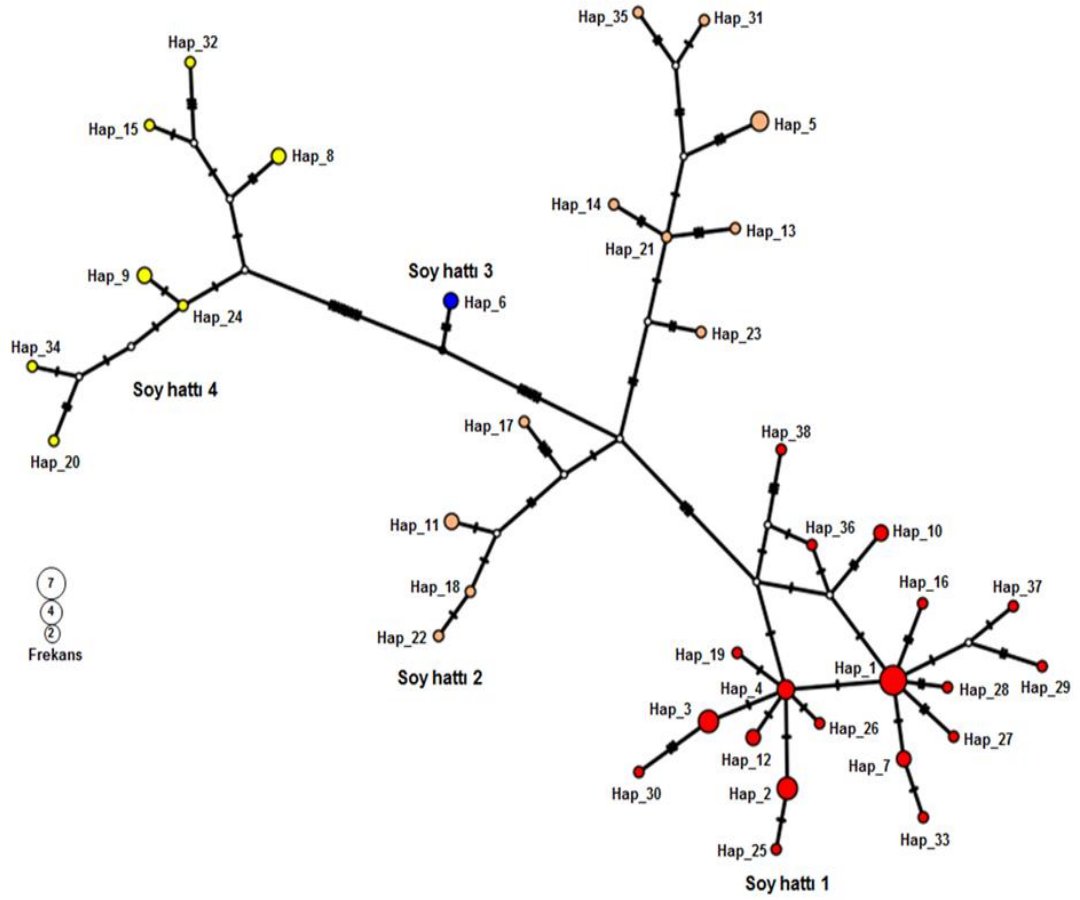
Şekil 4.3. Parsimoni analizi sonucu oluşan uzunlukları 352 olan 7 eşit olasılıkta kısa ağacın toplojilerini Strict konsensus ağacı. Dallar üzerindeki rakamlar 1000 replikasyon sonucu elde edilen bootstrap değerlerini göstermektedir. Sadece %70'nin üzerinde olan bootstrap değerleri gösterilmektedir



Şekil 4.4. GTR+I+G baz değişikliği modeli kullanılarak Bayesian analizi sonrası elde edilen ve *V.vulpes* haplotipleri arasındaki evrimsel ilişkiyi gösteren %50 Majority Rule konsensus ağacı. Ağaç üzerindeki rakamlar olasılık değerlerini gösterilmiştir. 0.70 ve üzeri olan olasılık değerleri gösterilmiştir

4.2.6. Haplotip ağı (Network) analizi

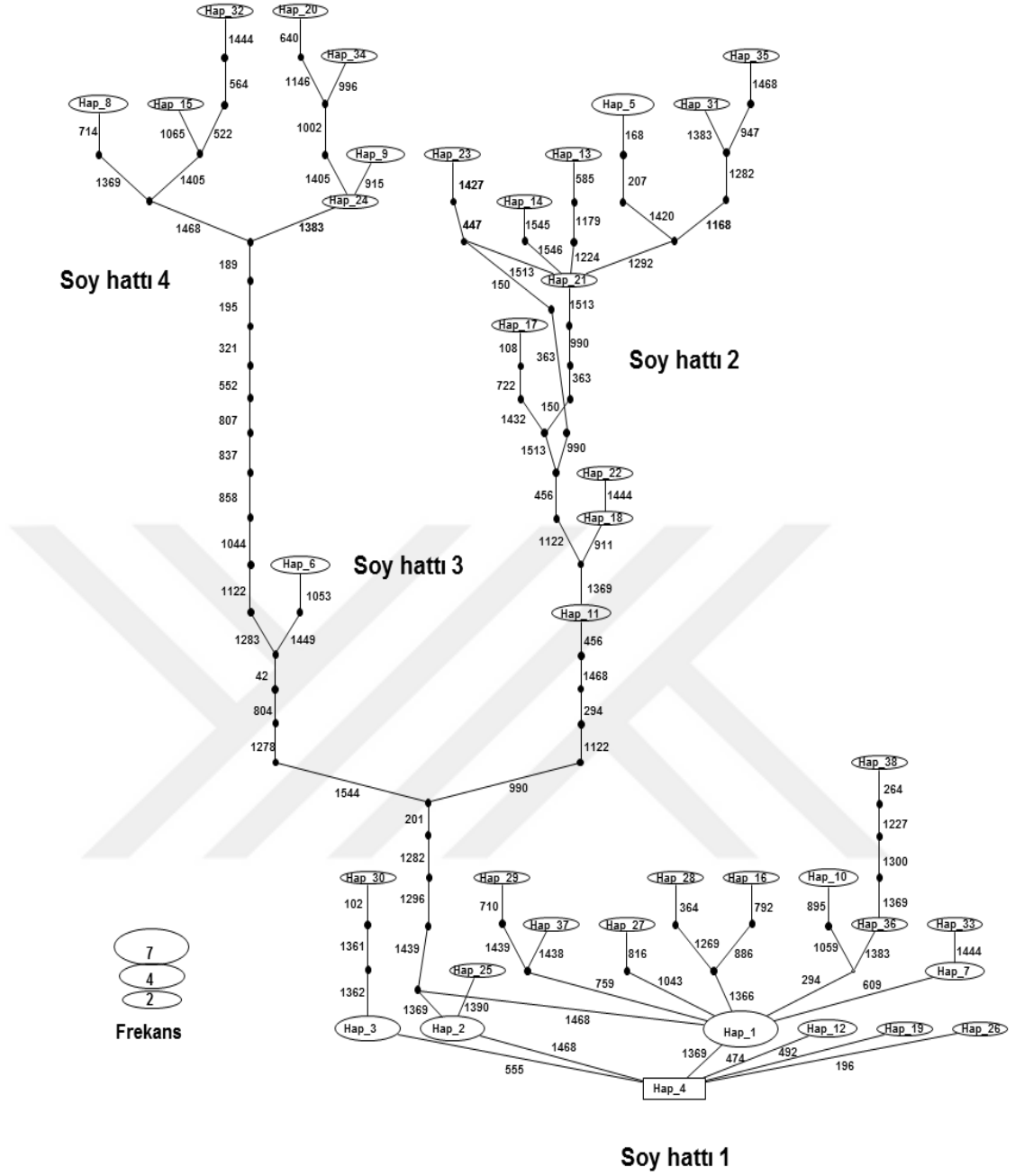
Çalışma kapsamında tespit edilen *V.vulpes*'e ait 38 mtDNA haplotipi arasındaki evrimsel ilişkiyi gösteren median-joining haplotip ağı Şekil 4.5'te gösterilmektedir. Tıpkı filogenetik analizler gibi MJ haplotip ağı analizinde de dört ana Soy hattı tespit edilmiş olup, bunlar çoğunlukla hipotetik haplotipler ile bir birine bağlanmaktadır. Soy hattı 1 yine en geniş soy hattını oluşturmakta olup bu soy hattı içerisinde en yaygın frekansa sahip olan Hap_1 grubun adeta ortasında yer almakta ve diğer haplotipler (Hap_1, Hap_4; Hap_27-29, Hap_33, Hap_37) bu haplotipten yıldız benzeri filogeni tarzında 1-2 mutasyonel adımla alt bir grup oluşturmaktadır. Hap_1'e 1 mutasyonel adımla bağlanan Hap_4 diğer bir frekansı yüksek haplotipi oluşturmakta olup bu haplotipe doğrudan veya dolaylı olarak 1-3 mutasyonel adımla bağlanan haplotipler (Hap_2-3, Hap_12, Hap_19, Hap_25-26, Hap_30) diğer bir alt grubu oluşturmaktadır. Bu ana soy hattı içinde yer alan diğer 3 haplotip (Hap_10, Hap_36 ve Hap_38) bir taraftan Hap_1'e diğer taraftan da Soy hattı 2'ye hipotetik haplotipler aracılığı ile bağlanmaktadır. Soy hattı 1' bir hipotetik haplotiple bağlanan ve 4 mutasyonel adım uzaklık sergileyen Soy hattı 2 aslında biri birlerine bir hipotetik haplotiple bağlı iki alt grup oluşturmaktadır. Alt grupların ilki çoğu birbirine hipotetik haplotiplerle bağlı 4 haplotip (Hap_11, Hap_17-18, Hap_22) içerirken ikincisi yine birbirlerine hipotetik haplotiplerle bağlı 7 haplotip (Hap_5, Hap_13-14, Hap_21, Hap_23, Hap_31, Hap_35) içermektedir. Soy hattı 2 içindeki iki alt grubu birbirine bağlayan hipotetik haplotipten 7 mutasyonel adım uzaklıkta ise tek bir haplotipten (Hap_6) oluşan Soy hattı 3 konumlanmakta ve bu soy hattı 10 mutasyonel adım uzaklıktaki bir hipotetik haplotip aracılığı ile Soy hattı 4' bağlanmaktadır. Soy hattı 4' biri birlerine bir hipotetik haplotiple bağlı iki alt grup oluşturmaktadır. Alt grupların ilki çoğu birbirine hipotetik haplotiplerle bağlı 4 haplotip (Hap_9, Hap_20, Hap_24, Hap_34) içerirken ikincisi yine birbirlerine hipotetik haplotiplerle bağlı 3 haplotip (Hap_8, Hap_15, Hap_32) içermektedir.



Şekil 4.5. Çalışma kapsamında bulunan *V.vulpes*'e ait 38 mtDNA haplotipi arasındaki evrimsel ilişkiyi gösteren median-joining haplotip ağı. Dallar üzerinde bulunan kısa çizgiler haplotipler arası pozisyon farklılığı (mutasyonel adım) göstermektedir. Dairelerini büyüklüğü ile ilgili haplotip frekansı orantılı olarak çizilmiştir. İçi boş olan daireler hipotetik haplotipleri göstermektedir

4.2.7. TCS Haplotip ağı (Network) analizi

Çalışma kapsamında bulunan *V.vulpes*'e ait 38 mtDNA haplotipi arasındaki evrimsel ilişkiyi gösteren TCS haplotip ağı Şekil 4.6'de görülmektedir. Haplotip ağı incelendiğinde filogenetik ve median-joining analizlerde olduğu gibi dört ana soy hattının varlığı açıktır. Soy hattı 1 yine en geniş soy hattını oluşturmakta olup bu soy hattı içerisinde en yaygın frekansa sahip olan haplotiplerden Hap_4 hem bu soy hattının hem de tüm haplotip ağının tabanında yer almakta ve adeta atasal bir haplotip olarak konumlanmaktadır. Bu soy hattı içinde yer alan diğer haplotipler grubun adeta ortasında yer almakta ve diğer haplotiplerden biri ve en yaygın olan Hap_1, Hap_4 haplotipine 1 adım uzaklıkta bağlanmakta, soy hattı içinde yer alan diğer haplotipler (Hap_2-3, Hap_7, Hap_10, Hap_12, Hap_16, Hap_19, Hap_25, Hap_27-29, Hap_30, Hap_33, Hap_36-38) ya doğrudan ya da Hap_1 haplotip ve hipotetik haplotipler aracılığı ile Hap_4'e bağlanmaktadır. Soy hattı 2 olup, içinde yine 11 haplotip (Hap_5, Hap_11, Hap_13-14, Hap_17-18, Hap_21-23, Hap_31, Hap_35) barındırmakta olup, bu haplotipler bir birinden aşamalı bir biçimde farklılaşan ve birbirlerine çok sayıda hipotetik haplotiple bağlı bir grup oluşturmakta ve yine bu grup hipotetik haplotipler ve 10 mutasyonel adım aracılığı ile Soy hattı 1 içinde yer alan Hap_2'ye bağlanmaktadır. Tek bir haplotipten (Hap_6) oluşan Soy hattı 3 çok sayıda hipotetik haplotip ve mutasyonel adım aracılığı ile bir taraftan Soy hattı 1 içinde ki Hap_2'ye diğer taraftan Soy hattı 4'de bağlanacak şekilde konumlanmaktadır. Son olarak, 20 mutasyonel adım ve çok sayıda hipotetik haplotip ile Soy hattı 1 içinde yer alan Hap_2'ye bağlanan Soy hattı 4, haplotip ağın en ucunda konumlanmakta ve bir birlerine hipotetik haplotiple bağlanan iki alt grup (birinci grup Hap_9, Hap_20, Hap_24, Hap_34'ü içerirken ikinci grup Hap_8, Hap_15, Hap_32'yi içermektedir) halinde gruplanmaktadır.



Şekil 4.6. Çalışma kapsamında bulunan *V.vulpes*'e ait 38 mtDNA haplotipi arasındaki evrimsel ilişkiyi gösteren TCS haplotip ağı. Dallar üzerinde bulunan rakamlar haplotipler arası pozisyon farklılığı (mutasyonel adım) göstermektedir. Oval dairelerin büyüklüğü ile ilgili haplotip frekansı orantılı olarak çizilmiştir. Sihah dolu daireler hipotetik haplotipleri göstermektedir

4.3. Türkiye *V. vulpes* türünde bazı genetik parametreler

Yapılan tüm filogenetik ve haplotip ağı analizleri analizler Türkiye *V. vulpes* popülasyonlarının dört ana soy hattı oluşturacak şekilde bir örüntü sergilediğini göstermektedir. Örnek sayısı yeterli olan 3 soy hattı ve türün tamamı için hesaplanan bazı popülasyon genetiği parametreleri Çizelge 4.4'te verilmektedir. Çizelge incelendiğinde Türkiye *V. vulpes* popülasyonlarının tamamı için elde edilen 0.975'lik haplotip çeşitliliğinin oldukça yüksek olduğu görülmektedir. Haplotip çeşitliliği (H_d) Soy hattı 1 için 0.938, Soy hattı 2 için 0.956 ve Soy hattı 4 için 0.944 olarak hesaplanmış olup, neredeyse 1' yakın olan bu değerler oldukça yüksek genetik çeşitliliği göstermektedir. Buna karşın hesaplanan nükleotid çeşitliliği (π) değerlerinin gerek türün tamamı (0.714) gerekse 3 Soy hattı (Soy hattı 1 için 0.1991, Soy hattı 2 için 0.488 ve Soy hattı 4 için 0.307) için düşük olduğu görülmekte olup, bu durum yüksek haplotip çeşitliliğine rağmen 38 haplotip arasında ki pozisyon farklılık sayısının çok fazla olmadığını göstermektedir.

Çizelge 4.4. Türkiye kızıl tilki (*V.vulpes*) türünde genetik çeşitliliğin özeti

Soy hattı	<i>N</i>	<i>H</i>	H_d (SH)	π , % (SH)	<i>S</i>	<i>k</i>
Soy hattı 1	36	19	0.938 (0.023)	0.1991(0.023)	29	2.962
Soy hattı 2	14	11	0.956 (0.045)	0.488 (0.107)	28	7.582
Soy hattı 3	2	1	-	-	-	-
Soy hattı 4	9	7	0.944 (0.070)	0.307 (0.041)	14	4.778

* *N*, birey sayısı; *H*, haplotip sayısı; H_d , haplotip çeşitliliği; π , nükleotid çeşitliliği; *S*, segregasyon gösteren pozisyon sayısı; *k*, ortalama nükleotid farklılığı sayısı.

Bu çalışma kapsamında bulunan soy hatlarından yeterli örnek büyüklüğüne sahip üç soy hattı (Soy hattı 1, 2 ve 4) ve Türkiye *V. vulpes* populasyonlarının tamamı için hesaplanan genetik parametreler (Çizelge 4.4) yayınlanmış benzer çalışmalardaki bulgularla karşılaştırıldığında Türkiye kızıl tilki türünün oldukça fazla genetik çeşitlilik gösterdiğini söylemek mümkündür. Bu çalışma kapsamında gerek Türkiye *V. vulpes* populasyonlarının tamamı gerekse üç soy hattı için elde edilen haplotip çeşitliliği oldukça yüksek (türün tamamı: 0.975, Soy hattı 1: 0.938, Soy hattı 2 : 0.956 ve Soy hattı: 0.944), nükleotid çeşitliliği ise düşük (türün tamamı: 0.714; Soy hattı 1: 0.1991, Soy hattı: 0.488 ve Soy hattı 4: 0.307) olup, bu bulgular İbiş vd (2014) ve Telcioğlu vd (2019)'in bulguları ile paralellik göstermekte ve yüksek haplotip çeşitliliğine rağmen üç çalışmada da belirlenen haplotip arasında ki pozisyon farklılık sayısının çok fazla olmadığını göstermektedir. Şöyleki, sitokrom-b geni (375 bç) kullanarak yaptıkları çalışmada 51 bireyde 10 haplotip (H1-10) tanımlayan İbiş vd (2014) Türkiye kızıl tilki populasyonları için 0.7380'lik haplotip çeşitliliği ve 0.01029'luk nükleotid çeşitliliği tanımlamışlardır. Yine, Telcioğlu vd (2019) tarafından 54 örnek üzerinde yapılan ve kısmi D-loop bölgesi (416 bç) çalışmasında 25 haplotip (Tr.Vv.D1-Tr.Vv.D25) tanımlanmış ve Türkiye kızıl tilki populasyonları için 0.9378'lik haplotip çeşitlilik ve 0.01675'lik nükleotid çeşitlilik vermişlerdir. Türkiye *V. vulpes* populasyonlarının genetik olarak fazla çeşitlilik gösterdiğini öneren bulgular kızıl tilki üzerinde dünyanın farklı yerlerinde yapılan diğer çalışmalardaki verilerle karşılaştırıldığında da doğrulanmaktadır. Frati vd (1998) oldukça geniş bir coğrafik alan boyunca Akdeniz havzasından toplanmış 42 kızıl tilki üzerinde yaptıkları sitokrom-b (375 bç) çalışmasında 18 haplotip tanımlamış ve 10 farklı alt populasyon için 0.000-1.000 arasında değişen ama çoğunluğu 0.700'nin altında olan haplotip çeşitlilik değeri vermişlerdir. Bu araştırmacılar tarafından 10 alt populasyon için verilen nükleotid çeşitlilik değerleri ise 0.000- 1.427 arası ve çoğunluğu için de 0.500 civarında verilmişlerdir. Perrine vd (2007) Kaliforniya'dan topladıkları 73 kızıl tilki üzerinde yaptıkları sitokrom-b (354 bç) çalışmasında 14 haplotip tespit etmişler ve tanımladıkları yedi alt populasyon için haplotip çeşitlilik değerini 0.000-0.780 fakat çoğunlukla 0.500 civarında, nükleotid çeşitlilik değerini ise 0.000-0.010 arasında fakat çoğunlukla 0.020 civarında vermişlerdir. Yine, Aubry vd (2009) Avrupa'dan Kanada'ya kadar geniş bir alan boyunca örnekledikleri 220 kızıl tilki üzerinde yaptıkları sitokrom-b (354 bç)

çalışmasında 29 haplotip belirlemişler ve türün tamamı için haplotip çeşitliliğini 0.86 (± 0.01) ve nükleotid çeşitliliğini 0.0094 (± 0.0054) vermişlerdir. Dolayısı ile bu çalışma, İbiş vd (2014) ve Telcioğlu vd (2019) tarafından Türkiye kızıl tilki populasyonlarının tamamı ve hatta alt soy hatları için verilen genetik parametreler (haplotip ve nükleotid çeşitliliği) diğer araştırmacılar tarafından çoğu durumda daha geniş bir coğrafik alandan ve bazen de çok daha fazla örneklem ile elde edilen benzer genetik parametrelerden daha yüksek olup, bu durum kızıl tilki türünün genetik çeşitliliğinin günümüze kadar gelmesi, sürdürülmesi ve korunmasında Türkiye'nin önemli bir dağılış alanı kısmı olduğunu önermektedir.

4.4. Türkiye *V. vulpes* populasyonlarının demografik yapısı

Filogenetik ve haplotip ağı analizleri ile belirlenen Türkiye *V. vulpes* populasyonlarının örnek sayısı yeterli olan 3 Soy hattı (Soy hattı 1, 2, ve 4) ile türün tamamı için yapılan demografik analiz sonuçları Çizelge 4.5'te özetlenmektedir. Çizelge incelendiğinde Tajima's *D* istatistik sonuçlarının tüm soy hattı ve türün tamamı için negatif değer aldığı ancak bunlardan sadece Soy hattı 1 için hem negatif hem de istatistiksel olarak anlamlı -2.01279 ($P = 0.00770$) olduğu görülmektedir. Tajima's *D* değerlerinin negatif olması genellikle genetik olarak beraberinde sürüklenme gibi bir pozitif temizleyici seçilimi ya da populasyon büyüklüğünde ani artışı veya arka plan bir seçilimi işaret eder. Dolayısı bu değerler Soy hattı 1 için bir ani populasyon büyüklüğünü işaret ederken, diğer soy hatları ve türün tamamı için nötraliteden bir sapmanın olmadığını stabil bir populasyon yapısını işaret etmektedir. Ani populasyon büyümesinin belirlenmesinde Tajima's *D* istatistik testine göre daha hassas ve güçlü olan Fu's *F_s* nötralite test değerleri incelendiğinde, bu değerinde yine tüm soy hattı ve türün tamamı için negatif değer aldığı ancak bunlardan sadece Soy hattı 1 için hem negatif hem de istatistiksel olarak anlamlı -11.07020 ($P = 0.00000$) olduğu görülmektedir. Fu's *F_s* değerlerinin negatif olması genellikle genetik olarak beraberinde sürüklenme gibi bir pozitif temizleyici seçilimi ya da populasyon büyüklüğünde ani artış veya arka plan bir seçilimi işaret ettiğinden, bu istatistik Soy hattı 1 için ani bir populasyonu gösterirken, diğer soy hatları ve türün tamamı için nötraliteden bir sapmanın olmadığını stabil bir populasyon yapısını işaret etmektedir.

Strobeck's S istatistiği (S_s) incelendiğinde üç soy hattı ve türün tamamı için 1'e yakın olduğu (Soy hattı 1 için $S_s = 1$, Soy hattı 2 için $S_s = 0.975$, Soy hattı 4 için $S_s = 0.945$ ve türün tamamı için $S_s = 1$) görülmektedir. Dolayısı ile 1'e yakın değerler 3 soy hattı ve türün tamamında gen frekansına ve mutasyon oranına bağlı olarak eşit veya daha az haplotip bulma olasılığının çok yüksek olduğunu göstermekte olup, genel anlamıyla seçilim ya da populasyon genişlemesi nedeniyle nötraliteden bir sapmanın olduğunu işaret etmektedir (Strobeck, 1987). Yine, R_2 istatistiği sonuçları incelendiğinde değerlerin üç soy hattı ve türün tamamı için küçük ve pozitif değerler (Soy hattı 1 için $R_2 = 0.0451$, Soy hattı 2 için $R_2 = 0.1074$, Soy hattı 4 için $R_2 = 0.1366$ ve türün tamamı için $R_2 = 0.0631$) görülmektedir. R_2 değerlerinin düşük pozitif değere olması 3 soy hattı ve türün tamamı için geçmişte ani bir populasyon büyümesinin varlığını işaret eder niteliktedir (Ramos-Onsins ve Rozas, 2002).

Geçmişte ani bir populasyon büyümesi yaşanıp yaşanmadığını test etmek için yapılan mismatch analizi sonuçları Çizelge 4.6'de verilmektedir. Çizelge incelendiğinde Sum of squared differences (SSD) istatistiği sonuçları incelendiğinde bu analizin hem üç soy hattı hem de türün tamamı için istatistiksel olarak önemli olmayan ($P > 0.05$) değerler aldığı bunda ani bir populasyon genişlemesini işaret ettiği görülmektedir. Aynı şekilde Raggedness index (rg) değerlerine bakıldığında bu istatistik sonuçlarının da hem üç soy hattı hem de türün tamamı için düşük değerler aldığı istatistiksel önem değerlerinin ise $P > 0.05$ olduğu görülmektedir. Ancak rg değerlerinin sadece Soy hattı 1 ve tüm veri için 0,05'ten daha küçük olduğu Soy hattı 2 ve Soy hattı 4 için ise 0,05'ten büyük olduğu görülmektedir. Bu durum Soy hattı 1 ve tüm veri için geçmişte meydana gelen ani bir populasyon büyümesini işaret ederken Soy hattı 2 ve Soy hattı 4 için nispeten stabil bir populasyon yapısını önermektedir. Filogeni ile belirlenen ve örnek sayısının yeterli olduğu 3 Soy hattı ve türün tamamı için oluşturulan mismatch dağılım grafikleri Şekil 4.7'de verilmektedir. Şekil incelendiğinde sadece Soy hattı 1 ve Soy hattı 4 için çan eğrisi şeklinde (unimodal) bir dağılımın elde edildiği, diğer bir ifade ile gözlenen dağılım ile geçmişteki ani bir populasyon genişlemesinin yaşandığını önerir şekildeki neredeyse beklenen dağılım ile büyük oranda örtüştüğü görülmektedir. Diğer taraftan Soy hattı 2 ve türün tamamı için elde edilen grafikler incelendiğinde bunların birden fazla kümelenme (multimodal) şeklinde bir dağılım gösterdikleri, bu durumun geçmişte ani bir populasyon genişlemesi yaşandığı var sayımı ile uyuşmadığı görülmektedir.

Ancak, genetik altyapı ve mutasyon hızı heterojenliğinin demografik olarak stabil popülasyonlarda bile multimodal bir dağılıma neden olabileceğini vurgulamak gerekir (Aris-Brosou ve Excoffier, 1996; Marjoram ve Donnelly, 1994). Soy hattı 2 ve türün tamamı için elde edilen multimodal dağılımlar demografik olarak stabil popülasyon büyüklüğü yerine daha çok farklı haplogrupların varlığından kaynaklanıyor görülmektedir. Bu durum özellikle haplotip ağaları incelendiğinde daha da net olarak gözükmemektedir (Şekil 4.5 ve 4.6). Şöyle ki, tüm veri incelendiğinde farklı evrimsel yörünge izlemiş olan 4 Soy hattının (Soy hattı 1-4), Soy hattı 4 incelendiğinde ise aslında bu ana soy hattı içinde iki alt soy hattının (ilki çoğu birbirine hipotetik haplotiplerle bağlı 4 haplotip (Hap_9, Hap_20, Hap_24, Hap_34) içerirken ikincisi yine birbirlerine hipotetik haplotiplerle bağlı 3 haplotip (Hap_8, Hap_15, Hap_32) içermektedir. Eğer nötralite testlerinin bazılarının (Fu's *F_s*), diğer istatistik testlerin (*S_s*, *R₂*, *SSD*, *rg*) ve mismatch dağılımların az da olsa geçmişteki ani popülasyon büyümesi önerdiğini kabulden yola çıkarak, 3 soy hattı ve türün tamamı için bu popülasyon genişlemesinin ne zaman meydana geldiği ile ilgili hesaplama sonuçları Çizelge 4.6'de verilmektedir. Buna göre yaklaşık olarak Soy hattı 1 için 7.574,82 ($\pm 4.349,08-17.901,31$) yıl önce, Soy hattı 2 için 29.749,63 ($\pm 15.403,85-43.751,88$) yıl önce, Soy hattı 4 için 18.674,25 ($\pm 9.340,56-26.671,61$) yıl önce ve türün tamamı için 3.246,35 ($\pm 0.000-48.736,49$) yıl önce popülasyon büyüklüğünde bir genişleme olmuş olma olasılığı görülmektedir. Hesaplanan bu değerler Türkiye kırmızı tilki popülasyonlarının genetik yapısı ve dağılımlarının günümüzden yaklaşık 21.000 yıl önce başlatıp 10.000 yıl önce sona eren Weichselian buzullaşmanın Son Buzul Dönemi (Mix vd, 2001) ya da Genç Dryas olarak adlandırılan ve günümüzden yaklaşık bunu takip eden daha sonraki olayları ile 11.600-12.900 yıl öncesini ifade eden ve Kuzey Yarımküre'deki birçok bölgeyi tekrar soğuk buz devri koşullarına geri döndüren (Steffensen vd, 2008) dönemlerle etkilenmiş/şekillenmiş olabileceğini önermektedir.

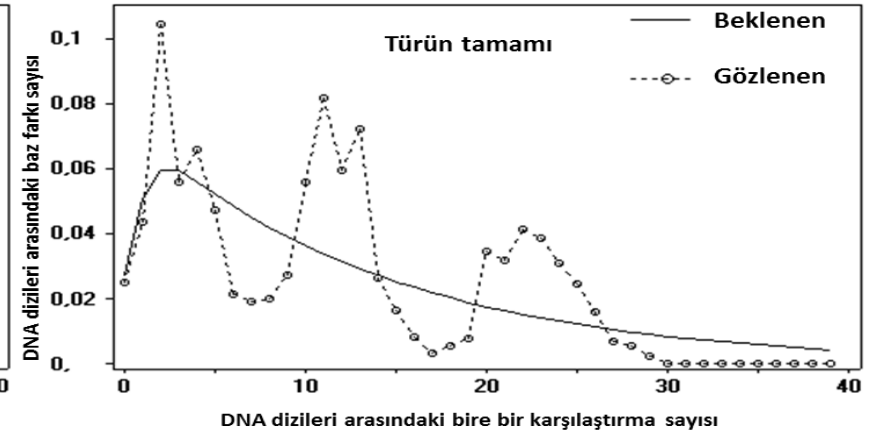
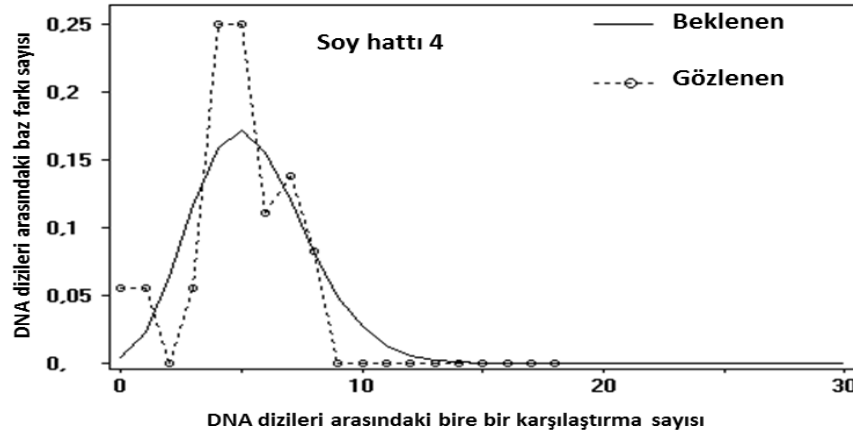
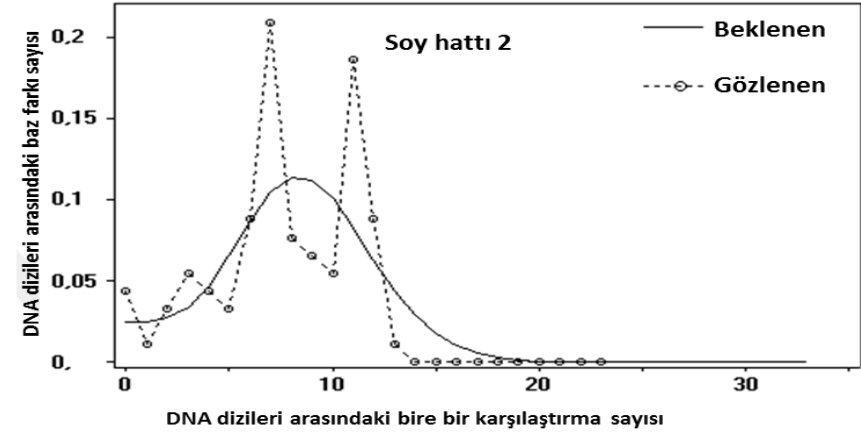
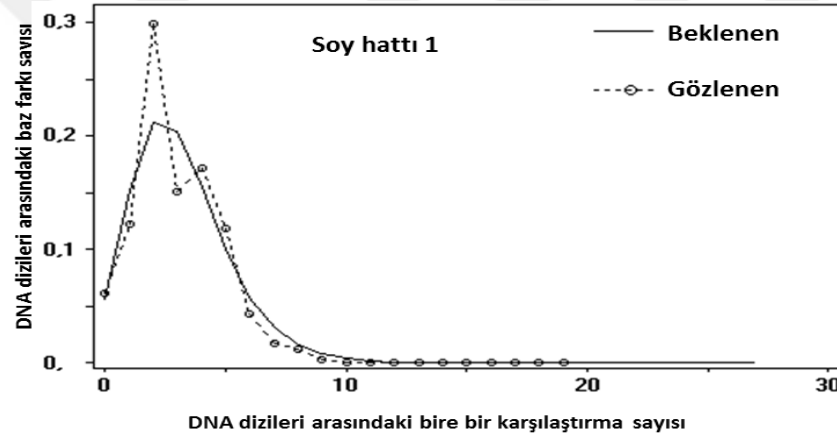
Çizelge 4.5. Türkiye kızıl tilki türünde tespit edilen mtDNA soy hatları için yapılan nötralite testlerin özeti.

Soy hattı	Tajima's D	Fu's F_s	S_s	R_2
Soy hattı 1	-2.01279 (* $P = 0.00770$)	-11.07020 (* $P = 0.00000$)	1.0	0.0451
Soy hattı 2	-0.59336 ($P = 0.30150$)	-2.29072 ($P = 0.12030$)	0.975	0.1074
Soy hattı 3	-	-	-	-
Soy hattı 4	-0.34788 ($P = 0.38610$)	-1.33809 ($P = 0.18590$)	0.945	0.1366
Toplam	-1.20941 ($P = 0.09450$)	-13.23500 ($P = 0.00250$)	1.0	0.0631

*İstatistiksel önem derecesi 0.05'e göredir

Çizelge 4.6. Türkiye kızıl tilki mtDNA verileri kullanılarak yapılan mismatch analiz sonuçları. *T*: Yıl olarak günümüz öncesi

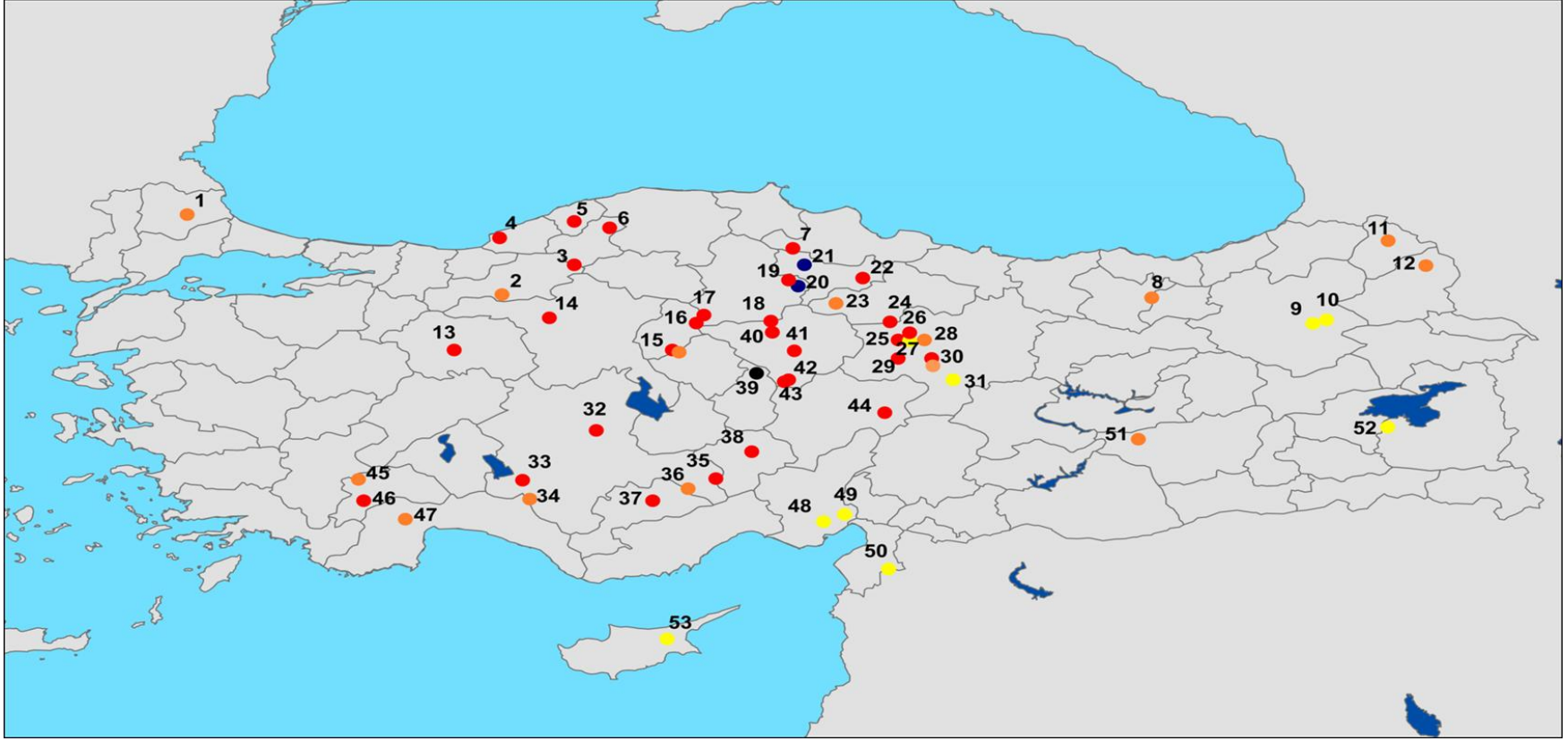
Soy hattı	θ_0	θ_1	τ (%95 GA)	SSD	Rg	T (%95 GA)
Soy hattı 1	0,949	99999,000	2,205 (1,266-5,211)	0.01120 (<i>P</i> = 0,13220)	0,0544 (<i>P</i> = 0,12930)	7.574,82 (4.349,08-17.901,31)
Soy hattı 2	0,487	39,097	8,660 (4,484-12,736)	0,03113 (<i>P</i> = 0,11670)	0,07076 (<i>P</i> = 0,12750)	29.749,63 (15.403,85-43.751,88)
Soy hattı 4	0,000	99999,000	5,436 (2,719-7,764)	0,02825 (<i>P</i> = 0,29280)	0,07407 (<i>P</i> = 0,37540)	18.674,25 (9.340,56-26.671,61)
Toplam	13,249	99999,000	0,945 (0,00-14,187)	0,01157 (<i>P</i> = 0,58190)	0,01103 (<i>P</i> = 0,39500)	3.246,35 (0.000-48.736,49)



Şekil 4.7. Türkiye *V. vulpes* populasyonlarında tespit edilen ve ana soy hatları ve türün tamamı için mismatch dağılım grafikleri

4.5. Filogeni ve coğrafik örüntü

Filogenetik ve network analizleri bir biri ile çakışan ancak yine de bir dereceye kadar coğrafik bir yapılanma ya da örüntü sergilemiştir (Şekil 4.8). Bu soy hatlarından Soy hattı 1 Anadolu Yarım Adası'na özgü olup daha çok Anadolu Diyagonali'nin batısında dağılışı göstermektedir. Soy hattı 2 hem Anadolu'da hem de Trakya Bölgesinde yayılımı göstermektedir. Soy hattı 3 özgün bir grup olup sadece Amasya ve Çorum illerinden tespit edilen tek haplotipi (Hap_6) içermekte olup Anadolu Diyagonali'nin batısında bir yayılımı sergilemektedir. Soy hattı 4 ise Anadolu'da Anadolu Diyagonali'nin doğusunda bir yayılımı sergilerken bu grup aynı zamanda Kıbrıs'tan belirlenen haplotipi de içermektedir. Anadolu Diyagonali'nin en azından 3 soy hatının (Soy hattı 1, 3 ve 4) dağılımında belirleyici bir faktör gibi görünmektedir. Davis (1971) tarafından ilk defa ortaya atılan ve İç ve Doğu Anadolu arasında coğrafik bir ayrılma hattı oluşturan Anadolu Diyagonali bir coğrafik ve genetik kırılma noktası olarak çok farklı organizmalar için gösterilmiştir (Arslan vd, 2020; Çiplak, 2003; Gündüz vd, 2007; Kaplı vd, 2013; Mutun, 2010; Stümpel vd, 2016; Van Riemsdijk vd, 2017). Gür (2016) tarafından tartışıldığı gibi, bu coğrafik kırılma durumu büyük ölçüde Son Buzul Maksimum sırasında ve muhtemelen daha önce de var olan sıcaklık mevsimsellik farklılıklarından kaynaklanıyor gibi görünmektedir.



Şekil 4.8. Türkiye kırmızı tilki popülasyonlarında belirlenen dört mtDNA soy hattının dağılışı: Kırmızı nokta, Soy hattı 1; Turuncu nokta, Soy hattı 2; Mavi nokta, Soy hattı 3; Sarı nokta, Soy hattı 4

4.6. Gen Bankası'nda mevcut Türkiye kızıl tilki mtDNA verileri ile bu çalışma verilerinin beraberce değerlendirilmesi

Bu yaygın karnivor tür üzerinde global veya lokal ölçekte yapılmış birçok mtDNA'ya dayalı filogenetik veya filocoğrafik çalışma yapılmış olsa da, Türkiye kızıl tilki populasyonları üzerine yapılmış sadece iki mtDNA çalışması bulunmaktadır. Bunlardan ilki İbiş vd (2014) tarafından Türkiye'nin 51 farklı lokalitesinden toplanan 51 örnek üzerinde yapılan ve kısmi sitokrom-b geni (375 bç) çalışmasıdır. İkincisi ise Telcioğlu vd (2019) tarafından yapılan ve aynı araştırmacı grubunu içermekte olup, Türkiye'nin 54 farklı lokalitesinden toplanan 54 örnek üzerinde yapılan ve kısmi D-loop bölgesi (416 bç) çalışmasıdır. Bu tez kapsamında bulunan mtDNA haplotiplerinin yayınlanmış haplotipler ile bir arada analiz edip yorumlamak için bu çalışma kapsamındaki haplotipler bir sitokrom-b diğeri ise D-loop bölgesi verilerini içerecek şekilde kısaltılarak iki veri matrisi oluşturulmuştur. Yayınlanmış verilerin kısmi olması nedeniyle bu kısaltma işlemleri önemli derecede bilgi içeren pozisyon kaybına neden olduğu için sadece Median-Joining yöntemi kullanılarak haplotip ağları oluşturulup, bunların topolojileri incelenerek yorumlanmıştır.

4.6.1. Sitokrom-b geni verileri

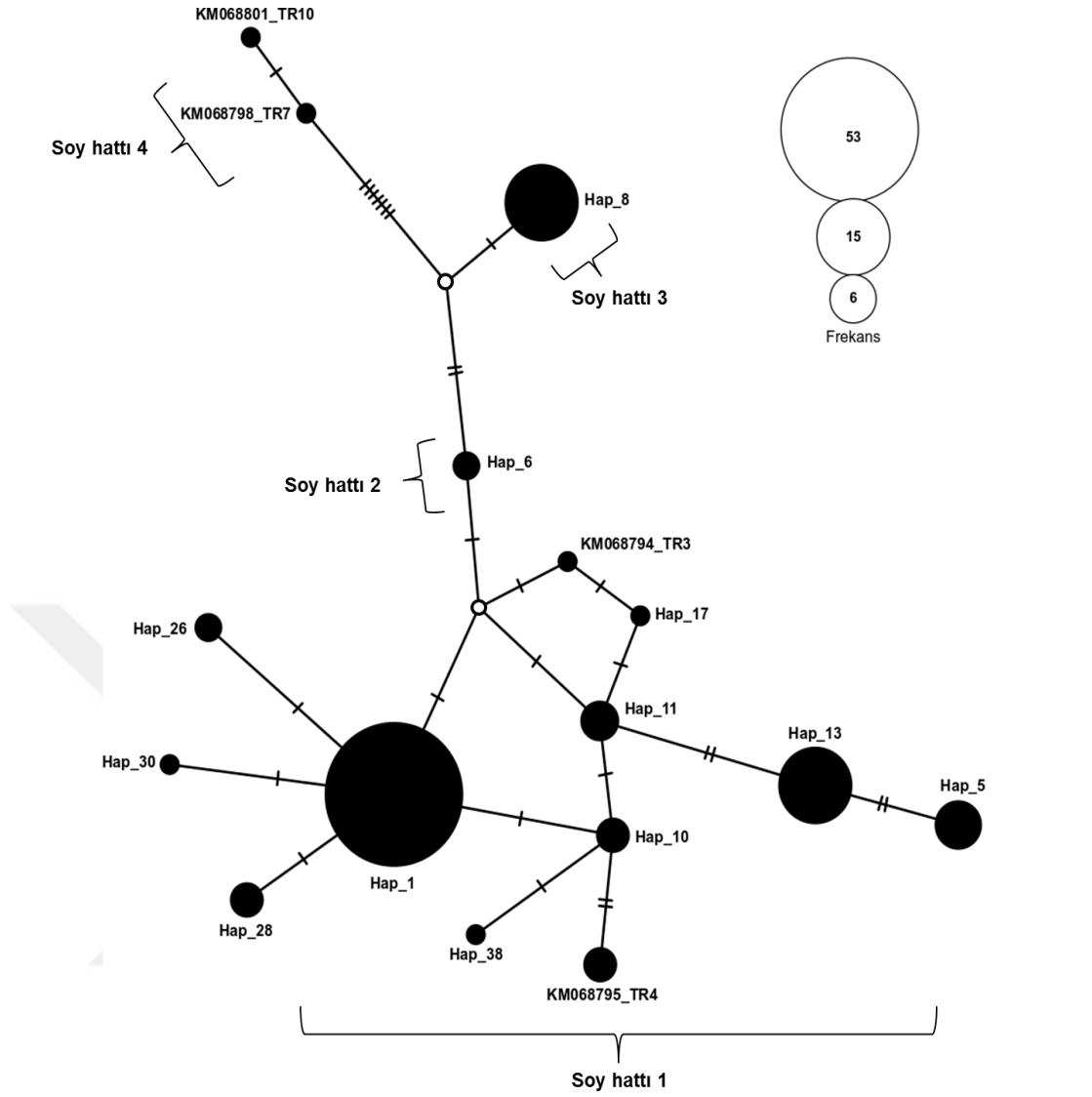
Bu kapsamda İbiş vd (2014) tarafından Türkiye'nin 51 farklı lokalitesinden toplanan 51 örnek üzerinde yapılan ve kısmi sitokrom-b geni (375 bç) kullanılarak belirlenen 10 haplotip (TR1-10; GenBank KM068792 – KM068801) bu çalışma kapsamında belirlenen 38 mtDNA haplotipi (1555 bç) ile bir araya getirilerek elde edilen haplotip matrisi sitokrom-b geninin 5''dan 375 bç'lik kısmı içerecek şekilde kesilerek kısa ikinci bir matris elde edilmiştir. Elde edilen bu kısa matris Gen Bankası'nda bulunan referans *V. vulpes* tüm mtDNA'ndaki GenBank: GQ374180, (Zhong vd, 2010) 14186 ile 14560 nolu pozisyonlar arasına denk gelmektedir. Hazırlanan bu matriste benzer olan haplotiplerin ne olduğu belirlendikten sonra, benzer haplotiplerden sadece bir tanesinin tutulup diğerlerinin uzaklaştırılması ile üçüncü bir veri matrisi hazırlanmıştır. Bu yeni veri matris incelendiğinde matriste 16 kısmi sitokrom-b haplotipinin kaldığı görülmüştür (Çizelge 4.7).

Çizelge 4.7. Bu çalışma kapsamında tespit edilen haplotipleri ile Gen Bankasından elde edilen haplotiplerin hizalanıp kesilmesi sonucu Sitokrom-b geninin 375 bç'lik kısmı için benzer hala gelen haplotipler ve frekansları. İlgili haplotipin kaydedildiği lokaliteler köşeli parantez içinde verilmiştir

Haplotip ID	Sitokrom-b geninin 375 bç'lik kısmı için benzer hala gelen haplotipler
Hap_1 (frek.= 53)	Bu çalışma: Hap_2; Hap_3; Hap_4; Hap_12; Hap_16; Hap_19; Hap_25; Hap_27; Hap_29; Hap_33; Hap_37 [Sivas, Yozgat, Burdur, Eskişehir, Tokat, Çorum, Bolu, Konya, Kırıkkale, Amasya, Niğde, Karaman, Samsun, Ankara, Zonguldak, Nevşehir] İbiş vd (2014): KM68792_TR1 [Yozgat, Çorum, Niğde, Karabük, Nevşehir, Konya, Tokat, Amasya, Samsun, Isparta, Aksaray, Karaman, Kırşehir, Ankara, Eskişehir, Kayseri]
Hap_5 (frek.= 6)	Bu çalışma [Sivas, Tokat] İbiş vd (2014): KM068797_TR6 [Niğde, Kahramanmaraş, Kayseri]
Hap_6 (frek.=2)	Bu çalışma [Amasya, Çorum]
Hap_8 (frek.=15)	Bu çalışma: Hap_9; Hap_15; Hap_20; Hap_24; Hap_32; Hap_34 [Adana, Sivas, Erzurum, Hatay, Van, Kıbrıs] İbiş vd (2014): KM068800_TR9 [Ordu, Sivas, Erzurum, Gümüşhane]
Hap_10 (frek.= 3)	Bu çalışma: Hap_36 [Karman, Bartın, Konya]
Hap_11 (frek.= 4)	Bu çalışma: Hap_18; Hap_22 [Kırıkkale, Bolu, Konya, Antalya]
Hap_13 (frek.=15)	Bu çalışma: Hap_14; Hap_21; Hap_23; Hap_31; Hap_35 [Konya, Bayburt, Burdur, Diyarbakır, Ardahan, Kars] İbiş vd (2014): KM068796_TR5 [Yozgat, Isparta, Malatya, Kırklareli, Diyarbakır]
Hap_17 (frek.=1)	Bu çalışma [Kırklareli]
Hap_26 (frek.= 2)	Bu çalışma [Sivas] İbiş vd (2014): KM068799_TR8 [Kayseri]
Hap_28 (frek.= 3)	Bu çalışma [Kırıkkale] İbiş vd (2014): KM068793_TR2 [Çankırı, Kırıkkale]
Hap_30 (frek.= 1)	Bu çalışma [Kayseri]
Hap_38 (frek.= 1)	Bu çalışma [Erzurum]
KM068798_TR7 (frek.=1)	İbiş vd (2014) [Denizli]
KM068801_TR10 (frek.=1)	İbiş vd (2014) [Muğla]
KM068794_TR3 (frek.=1)	İbiş vd (2014) [Kocaeli]
KM068795_TR4 (frek.=3)	İbiş vd (2014) [Isparta, Afyon, Konya]

***Toplam haplotip: 16 ve toplam birey: 112**

Bu 375 bç'lik 16 kısmı sitokrom-b geni haplotip matrisi toplamada 25 (%6.66) pozisyonda varyasyon göstermekte olup, bu varyasyon gösteren 25 pozisyondan 15 tanesi (%60) ise parsimonik olarak bilgi içermektedir. Bu 16 haplotip ve bunların frekansları kullanılarak oluşturulan Median-Joining haplotip ağı Şekil 4.9'te gösterilmektedir. Bu haplotip ağı incelendiğinde 4 ana soy hattının varlığı göze çarpmaktadır. Bunlardan Soy hattı 1 en yaygın dağılışı gösteren soy hattı olup, bu soy hattı hem çalışma kapsamında (Hap_1) hem de İbiş vd (2014) tarafından (TR1) bulunan frekans bakımından en yüksek haplotipi içermektedir. Bu soy hattı Tarakya Bölgesi dahil hemen hemen Türkiye'nin tamamında yayılışı göstermektedir. Soy hattı 2 ise sadece Amasya ve Çorum illerinden birer bireyde bulunan tek bir haplotipten (Hap_6) oluşmaktadır. Tek bir haplotip (Hap_8) oluşan Soy hattı 3 yine geniş bir yayılışı sahip olup, bu çalışma kapsamında Adana, Sivas, Erzurum, Hatay, Van ve Kıbrıs'tan; İbiş vd (2014) tarafından ise Erzurum, Gümüşhane, Ordu ve Sivas illerinden çalışılan bireylerde tespit edilmiştir. Oldukça farklı bir gruplanma gösteren ve bir hipotetik haplotip ve 7 mutasyonel adım ile Soy hattı 2 ve Soy hattı 3'e bağlanan Soy hattı 4 sadece İbiş vd (2014) tarafından Denizli'den tek bir bireyde tespit edilen TR7 ve yine Muğla'dan yine tek bir bireyde tespit edilen TR10 haplotipini içermekte olup, Ege Bölgesi'ile sınırlı bir soy hattı gibi görülmektedir, ancak bu durum daha fazla örnek çalışılarak doğrulanmalıdır.



Şekil 4.9. Bu çalışma kapsamında tespit edilen haplotipleri ile Gen Bankasından elde edilen haplotiplerin hizalanıp kesilmesi sonucu Sitokrom-b geninin 375 bç'lik kısmı için benzer hale gelen haplotipler kullanılarak oluşturulan Median-Joining haplotip ağı. Dallar üzerinde bulunan kısa çizgiler haplotipler arası pozisyon farklılığı (mutasyonel adım) göstermektedir. Dairelerin büyüklüğü ile ilgili haplotip frekansı orantılı olarak çizilmiştir. İçi boş olan daireler hipotetik haplotipleri göstermektedir (detay için bkz. Çizelge 4.3)

4.6.2. D-loop bölgesi verileri

D-loop bölgesi veri analizi için (Telcioğlu vd, 2019) tarafından Türkiye'nin 54 farklı lokalitesinden toplanan 54 örnek üzerinde yapılan ve D-loop bölgesinin yüksek varyasyon gösteren sol tarafı (416 bç) için tanımlanan 25 haplotip (Tr.Vv.D1-Tr.Vv.D25, GenBank MK728736- MK728760) bu çalışma kapsamında belirlenen 38 mtDNA haplotipi (1555 bç) ile bir araya getirilerek elde edilen haplotip matrisi iki veri arasında konsensüs sağlamak için çakışan bölgeyi içerecek şekilde kesildi. Sonuçta elde edilen ve Median-Joining haplotip ağı oluşturmak için kullanılan kısa matris 375 bç uzunluğundadır. Bu fragment Gen Bankası'nda bulunan referans *V. vulpes* tüm mtDNA'ındaki GenBank: GQ374180, (Zhong vd, 2010) 15366 ile 15740 nolu pozisyonlar arasına denk gelmekte olup, tRNA-Thr (29 bç); tRNA-Pro (66 bç) ve D-loop bölgesi'nin sol tarafı (280 bç) içermektedir. Hazırlanan bu matriste benzer olan haplotiplerin ne olduğu belirlendikten sonra, benzer haplotiplerden sadece bir tanesinin tutulup diğerlerinin uzaklaştırılması ile son bir veri matrisi hazırlanmıştır. Bu yeni veri matris incelendiğinde matriste 43 kismi D-loop bölgesi haplotipinin kaldığı görülmüştür (Çizelge 4.8).

Bu 43 haplotipten oluşan ve 375 bç'lik tRNAs + D-loop bölgesi veri matrisi toplamada 41 (%10.9) pozisyonda varyasyon göstermekte olup, bu varyasyon gösteren 41 pozisyondan 26 tanesi (%63.41) ise parsimonik olarak bilgi içermektedir. Bu 43 haplotip ve bunların frekanasları kullanılarak oluşturulan Median-Joining haplotip ağı Şekil 4.10'de gösterilmektedir.

Bu haplotip ağı incelendiğinde 5 ana soy hattının varlığı göze görülmektedir. Bunlardan Soy hattı 1 en yaygın dağılışı gösteren soy hattı olup, bu soy hattı toplamda 17 haplotip içermekte olup, bu grup içinde hem bu çalışma kapsamında (Hap_1 ve 3) hem de (Telcioğlu vd, 2019) tarafından (MK728743_Tr.Vv.D.8 ve MK728744_Tr.Vv.D.9) belirlenen nispeten yaygın haplotipler de yer almaktadır.

Bu soy hattı İç Anadolu ağırlıklı olmak üzere Kuzey'de Kars'tan Bursa'ya kadar Anadolu'da geniş bir yayılışı göstermektedir. Soy hattı 2 ise 13 haplotipten oluşmakta olup, Anadolu boyunca Kars'tan Trakya'da Edirne ve Kırklareli'de geniş bir yayılışı göstermektedir. İki haplotipten (Hap_22-23) oluşan Soy hattı 3 ise sadece Antalya ve Diyarbakır'dan kaybedilmiştir. Soy hattı 4, 7 haplotipten oluşan bir grup olup, Kuzey Kıbrıs Cumhuriyeti'den belirlenen tek haplotip (Hap_15) dahil olmak

üzere kısmen Karadeniz sahil boyunca olmak üzere daha çok Doğu ve Güney Doğu haplotiplerini içermektedir. Tıpkı sitokrom-b tabanlı haplotip ağında olduğu gibi yine, oldukça farklı bir gruplanma gösteren ve bir hipotetik haplotip ve 6 mutasyonel adım ile Soy hattı 3'e bağlanan Soy hattı 5 sadece (Telcioğlu vd, 2019) tarafından Denizli, İzmir, Konya ve Muğla illerinden toplanan 5 bireyde tespit edilen 4 haplotip (MK728757_Tr.Vv.D.22, MK728758_Tr.Vv.D.23, MK728759_Tr.Vv.D.24 ve MK728760_Tr.Vv.D.25) içermekte olup, Kısmen İç Anadolu olmak üzere daha çok Ege Bölgesi'ile sınırlı bir soy hattı gibi görülmektedir.



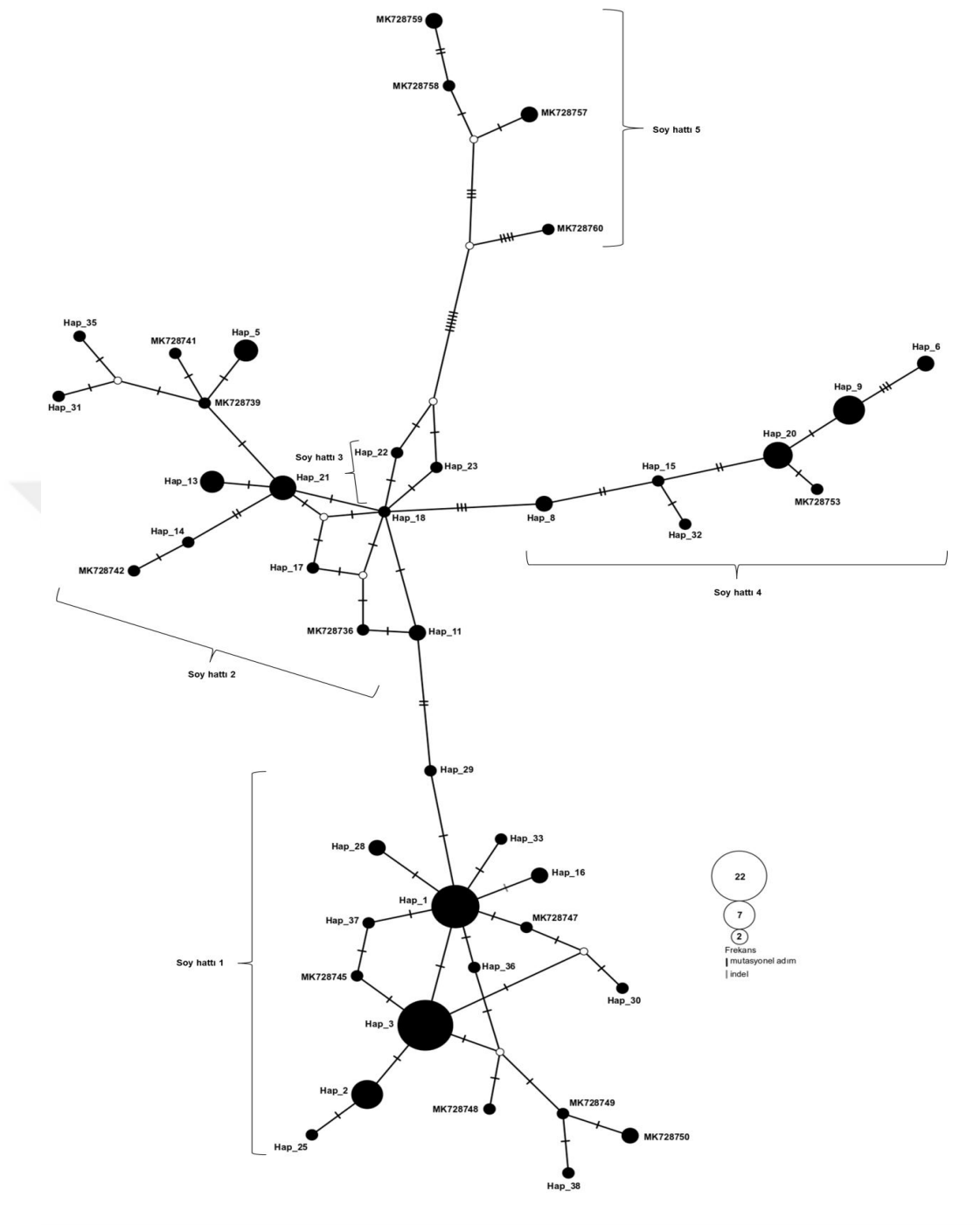
Çizelge 4.8. Bu çalışma kapsamında tespit edilen haplotipleri ile Gen Bankasından elde edilen haplotiplerin hizalanıp kesilmesi sonucu D-loop bölgesi ve bitişik tRNA (375 bç) bölgesi için benzer hala gelen haplotipler ve frekansları. İlgili haplotipin kaydedildiği lokaliteler köşeli parantez içinde verilmiştir

Haplotip ID	D-loop bölgesinin 375 bç'lik kısmı için benzer hala gelen haplotipler
Hap_1 (frek.= 17)	Bu çalışma: Hap_7; Hap_10; Hap_27 [Sivas, Yozgat, Burdur, Eskişehir, Tokat, Çorum, Karaman, Bartın, Kırıkkale] Telcioğlu vd (2019): MK728743_Tr.Vv.D.8 [Yozgat, Karaman, Eskişehir, Tokat]
Hap_2 (frek.= 7)	Bu çalışma [Bolu, Sivas, Konya] Telcioğlu vd (2019): MK728746_Tr.Vv.D.11 [Karabük, Konya, Tokat]
Hap_3 (frek.=22)	Bu çalışma: Hap_4; Hap_12; Hap_19; Hap_26 [Yozgat, Kırıkkale, Çorum, Amasya, Niğde, Sivas, Samsun, Telcioğlu vd (2019): MK728744_Tr.Vv.D.9 [Amasya, Samsun, Isparta, Aksaray, Kayseri, Kırşehir, Konya, Antalya, İzmir, Bursa]
Hap_5 (frek.=4)	Bu çalışma: [Sivas, Tokat] Telcioğlu vd (2019): MK728740_Tr.Vv.D.5 [Kahramanmaraş]
Hap_6 (frek.= 2)	Bu çalışma: [Amasya, Çorum]
Hap_8 (frek.= 2)	Bu çalışma: [Adana]
Hap_9 (frek.=7)	Bu çalışma: Hap_24 [Erzurum, Sivas,] Telcioğlu vd (2019): MK728751_Tr.Vv.D.16 [Erzurum, Ordu, Sivas]
Hap_16 (frek.= 2)	Bu çalışma [Tokat] Telcioğlu vd (2019): MK728756_Tr.Vv.D.21 [Tokat]
Hap_11 (frek.=2)	Bu çalışma [Bolu, Kırıkkaleli]
Hap_13 (frek.= 4)	Bu çalışma [Konya] Telcioğlu vd (2019): MK728738_Tr.Vv.D.3 [Antalya, Muğla, Konya]
Hap_14 (frek.= 1)	Bu çalışma [Bayburt]
Hap_15 (frek.= 1)	Bu çalışma [Kuzey Kıbrıs Cumhuriyeti]
Hap_17 (frek.= 1)	Bu çalışma [Kırıkkaleli]
Hap_18 (frek.= 1)	Bu çalışma [Konya]
Hap_20 (frek.= 6)	Bu çalışma: Hap_34 [Erzurum, Van] Telcioğlu vd (2019): MK728752_Tr.Vv.D.17; MK728754_Tr.Vv.D.19 [Erzurum, Kars, Gümüşhane]
Hap_21 (frek.= 5)	Bu çalışma: [Burdur] Telcioğlu vd (2019): MK728737_Tr.Vv.D.2 [Isparta, Manisa]
Hap_22 (frek.= 1)	Bu çalışma: [Antalya]
Hap_23 (frek.= 1)	Bu çalışma: [Diyarbakar]
Hap_25 (frek.= 1)	Bu çalışma: [Ankara]

Çizelge 4.8. (Devamı)

Hap_28 (frek.= 2)	Bu çalışma: [Kırıkkale] Telcioğlu vd (2019): MK728755_Tr.Vv.D.20 [Kırıkkale]
Hap_29 (frek.= 1)	Bu çalışma: [Zonguldak]
Hap_30 (frek.= 1)	Bu çalışma: [Kayseri]
Hap_31 (frek.= 1)	Bu çalışma: [Ardahan]
Hap_32 (frek.= 1)	Bu çalışma: [Hatay]
Hap_33 (frek.= 1)	Bu çalışma: [Nevşehir]
Hap_35 (frek.= 1)	Bu çalışma: [Kars]
Hap_36 (frek.= 1)	Bu çalışma: [Konya]
Hap_37 (frek.= 1)	Bu çalışma: [Çorum]
Hap_38 (frek.= 1)	Bu çalışma: [Erzurum]
MK728736_Tr.Vv.D.1 (frek.= 1)	Telcioğlu vd (2019): [Edirne]
MK728739_Tr.Vv.D.4 (frek.= 1)	Telcioğlu vd (2019): [Kırklareli]
MK728741_Tr.Vv.D.6 (frek.= 1)	Telcioğlu vd (2019): [Trabzon]
MK728742_Tr.Vv.D.7 (frek.= 1)	Telcioğlu vd (2019): [Malatya]
MK728745_Tr.Vv.D.10 (frek.= 1)	Telcioğlu vd (2019): [Çankırı]
MK728747_Tr.Vv.D.12 (frek.= 1)	Telcioğlu vd (2019): [Ankara]
MK728748_Tr.Vv.D.13 (frek.= 1)	Telcioğlu vd (2019): [Ankara]
MK728749_Tr.Vv.D.14 (frek.= 1)	Telcioğlu vd (2019): [Erzincan]
MK728750_Tr.Vv.D.15 (frek.= 1)	Telcioğlu vd (2019): [Ardahan, Kars]
MK728753_Tr.Vv.D.18 (frek.= 1)	Telcioğlu vd (2019): [Erzurum]
MK728757_Tr.Vv.D.22 (frek.= 2)	Telcioğlu vd (2019): [İzmir, Konya]
MK728758_Tr.Vv.D.23 (frek.= 1)	Telcioğlu vd (2019): [İzmir, Aydın]
MK728759_Tr.Vv.D.24 (frek.= 1)	Telcioğlu vd (2019): [Denizli]
MK728760_Tr.Vv.D.25 (frek.= 1)	Telcioğlu vd (2019): [Muğla]

***Toplam haplotip: 43 ve toplam birey: 115**



Şekil 4.10. Bu çalışma kapsamında tespit edilen haplotipleri ile Gen Bankasından elde edilen Haplotiplerin hizalanıp kesilmesi sonucu D-loop bölgesinin 375 bç'lik kısmı için benzer hala gelen haplotipler kullanılarak oluşturulan Median-Joining haplotip ağı. Dairelerin büyüklüğü ile ilgili haplotip frekansı orantılı olarak çizilmiştir. İçi boş olan daireler hipotetik haplotipleri göstermektedir (detay için bkz. Çizelge 4.8)

4.6.3. Bu çalışmanın Gen Bankası'nda mevcut Türkiye kızıl tilki mtDNA verilerine katkısı

Daha uzun mtDNA ve daha fazla örnek üzerinde yapılan bu çalışma ile daha önce mtDNA'nın kısa bölgeleri ve daha az sayıda örnek kullanılarak Türkiye kızıl tilkileri üzerinde yapılan çalışmalara göre haplotipler arası evrimsel ilişkide çok daha iyi bir çözünürlük sağlanmıştır. Şöyleki, İbiş vd (2014) yaptıkları çalışmada kısmi sitokrom-b geni (375 bç) kullanarak yaptıkları çalışmada 51 bireyde sadece 10 haplotip (H1-10) bulmuşlar ve bu haplotipler ile GenBankası'ndan elde ettikleri haplotiplerin beraberce filogenetik ve network analizlerinde dört ana grup tanımlamışlardır: Grup 1 (Güney Batı Anadolu'dan TR7 ve TR10 haplotipleri+Japonya'nın Hokkaido adası), Grup 2 (Türkiyenin hemen hemen her bölgesinden TR1-6, TR8-9 haplotiplerini de içeren Avrasya ve Kuzey Amerika) Grup 3 (sadece Kuzey Amerika) ve Grup 4 (Vietnam). Görüldüğü gibi İbiş vd (2014) tarafından bulunan 10 haplotip iki grup (Grup 1 ve 2) içinde konumlanmışken bu çalışmada tespit edilen 38 haplotip bile kendi içinde en az dört soy hattı içinde konumlanmış olup, bu durum daha uzun DNA segmenti kullanılarak yapılan filogenetik analizlerde haplotipler arası ilişkinin daha iyi çözümlendiğini göstermektedir. Benzer şekilde, Telcioğlu vd (2019) tarafından Türkiye'nin 54 farklı lokalitesinden toplanan 54 örnek üzerinde yapılan ve kısmi D-loop bölgesi'nin (416 bç) kullanıldığı diğer yakın zamandaki çalışmada toplamda 25 haplotip (Tr.Vv.D1-Tr.Vv.D25) tespit edilmiş ve bu haplotipler ile GenBankası'nda bulunan D-loop bölgesi haplotiplerinin (238 bç) beraberce kullanılması ile oluşturulan haplotip ağında üç ana klad ayırt edilmiştir: 1.Paleartik+Afrika, 2. Holoartik ve 3. Nearktik. Türkiye haplotiplerinin ise Paleartik+Afria ve Holoartik kladlar içinde gruplandığı bulunmuştur. Yine bu çalışmada daha uzun DNA segmentini içerecek şekilde sitokrom-b+D-loop bölgesi kullanımı bu ikinci çalışmaya görede daha fazla çözünürlük sağlamış ve en az dört ana soy hattının varlığını önermiştir. Bu durum ister tür içi isterse daha yüksek hiyerarşili çalışmalarda daha uzun DNA segmentine dayalı filogenetik/genetik analizlerin daha bilgi içerebileceğini göstermektedir. Bunun içindir ki özellikle son yıllarda moleküler tekniklerdeki gelişmelere paralel olarak daha fazla çözünürlük sağlamak için mtDNA'nın tamamını içerecek veri setleri kullanılmaya başlanmıştır (Barbosa vd, 2018; Botero-Castro vd, 2013; Yu vd, 2011).

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu tez Türkiye’de kızıl tilki populasyonları için sitokrom-b+D-loop bölgesi mitokondriyal DNA verilerini beraberce elde eden ve değerlendiren ilk çalışma olup, daha uzun diziler ve ilave örnekler kullanılarak bu türün genetik yapısının daha iyi anlaşılması mümkün olmuştur. Türkiye’den 52 lokalite 60 birey ve Kıbrıs’tan 1 lokalite 1 birey için toplam uzunluğu 1555 bp (sitokrom-b geninin tamamı, 1140 bp; tRNA-Thr, 70 bp; tRNA-Pro 66 bp ve D-loop bölgesinin sol tarafı, 280 bp) mtDNA kısmı tüm bireyler dizilenmiştir. Toplamda 38 (Hap_1-38) mtDNA (sitokrom-b+D-loop bölgesi) haplotipi tespit edilmiştir. Bu haplotiplerin coğrafik dağılımları ve frekansları incelendiğinde, en yaygın haplotipin 7 lokaliteden 7 bireyden tespit edilen Hap_1 olduğu belirlenmiştir. Diğer haplotiplerden Hap_2 ve Hap_3’ün her ikisinde 4 lokaliteden 4 bireyde; Hap_4, 2 lokaliteden 3 bireyde ve Hap_5 ise 3 lokaliteden 3 bireyde tespit edilmiştir. Geri kalan haplotiplerin (Hap_6-38) ise frekansları daha düşük olup, bunların çoğu 1 lokaliteden 1 veya 2 bireyde tespit bulunmuştur. Yapılan birebir haplotip karşılaştırması haplotipler arası farklılığın 1 baz (%0,06) ile 29 baz (%1,87) arasında değiştiğini, haplotipler arası ortalama genetik uzaklığın ise %0,83 olduğunu göstermiştir. Bu haplotipler kullanılarak yapılan filogenetik ve haplotip ağı analizleri Türkiye’de yayılım alanları bir dereceye kadar çakışan 4 Soy hattının olduğunu göstermiştir. Soy hattı 1 Anadolu Yarım Adası’na özgü olup daha çok Anadolu Diyagonali’nin batısında dağılım gösterirken, Soy hattı 2 hem Anadolu’da hem de Trakya Bölgesinde yayılım göstermektedir. Soy hattı 3 özgün bir grup olup sadece Amasya ve Çorum illerinden tespit edilen tek haplotipi içermekte olup Anadolu Diyagonali’nin batısında bir yayılım sergilemektedir. Soy hattı 4 ise Anadolu’da Anadolu Diyagonali’nin doğusunda bir yayılım sergilerken bu grup aynı zamanda Kıbrıs’tan belirlenen haplotipi de içermektedir. Soy hatlarının bu dağılım örüntüsü bir çok organizma grubu için rapor edilen Anadolu Diyagonali’nin bir dereceye kadar Türkiye kızıl tilki populasyonlarının filocoğrafik yapılanmasında da etkin olmuş olabileceğini önermektedir. Belirlenen haplotipler ve bunların frekansları kullanılarak yapılan demografik analizler özellikle Soy hattı 1 ve Soy hattı 4 için geçmişte meydana gelmiş bir ana populasyon büyümesi varlığını önermektedir. Daha önce yapılan benzer

alışmalar ile karşılaştırıldığında özellikle haplotip eşitliğı olmak üzere genetik parametrelerin Türkiye kızıl tilki türü için oldukça yüksek olduğu görölmüş olup, bu durum kızıl tilki türünün genetik çeşitliliğinin günümüze kadar gelmesi, sürdürölmesi ve korunmasında Türkiye'nin önemli bir dağılış alanı kısmı olduğunu önermektedir. Bu bulgular kapsamında Türkiye kızıl tilki türünün evrimsel genetiğı ve filocoğrafyasını daha iyi anlama ve yorumlamak için ileride yapılacak çalışmalar için şunları önermek mümkün gözökmektedir:

- Benzer moleküler belirteçler kullanılarak daha fazla lokaliteden daha fazla örneğın çalışılması gerekir. Böylece bu çalışma kapaslında belirlenen bazı soy hatlarının (örneğin Soy hattı 3) tam dağılış alanları belirlenerek, bu soy hatları için örnek sayısında azlık nedeniyle yapılamayan populasyon genetiğı analizlerini yapmak mümkün olabilir.
- Benzer moleküler belirteçler kullanılarak daha fazla lokaliteden daha fazla örneğın çalışılması gerekir. Böylece bu çalışma kapaslında belirlenen bazı soy hatlarının evrimsel süreçte şekillenmesini sağlayan olası sığınak alanları (Balkanlar, Akdeniz Bölgesi ve Kafkaslar gibi) tanımlamak mümkün olabilir.
- Bu alışma kapsamında kullanılan örnekler ve yeni toplanacak örnekler üzerinde farklı kalıtım şekli ve populasyon büyüklüğüne sahip (örneğin nükleer) belirteçler kullanılır, bu çalışmada belirlenen ana soy hatlarının ne derece genetik yapılanma gösterdiği test edilebilir.
- Morfolojik özelliklere dayanarak, Türkiye kızıl tilkileri V.v. *anatolica* Thomas, 1920 ve Kıbrıs kızıl tilkileri ise V.v. *anatolica* Thomas, 1920 ve V.v. *indutus* Miller, 1907 olarak verilmektedir (Wilson ve Reeder, 2005). Ancak bu tez kapsamında çalışılan Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti'nden bir 1 kızıl tilkide tespit edilen Hap_15 haplotipi her ne kadar sadece Kıbrıs örneğine özgün olarak bulunmuşsa da bu haplotip filogenetik ve haplotip ağı analizlerinde Anadoluda oldukça geniş dağılış alanına sahip Soy hattı 4 içinde konumlanmıştır. Dolayısı ile Anadolu ve Kıbrıs kızıl tilki populasyonlarının farklı alttürler olarak verilmesi durumunun geçerliliğinin teyid edilmesi için özellikle Kıbrıs'tan çok daha fazla örneğın çalışılması gerektiğini gösteren bir bulgu olarak gözökmektedir.

KAYNAKLAR

- Ahmadzadeh, F., Flecks, M., Carretero, M. A., Böhme, W., Ilgaz, C., Engler, J. O., James Harris, D., Üzümlü, N. and Rödder, D. 2013. Rapid lizard radiation lacking niche conservatism: ecological diversification within a complex landscape. *Journal of Biogeography*, 40:9, 1807-1818.
- Akaike, H. (1973). Information theory as an extension of the maximum likelihood principle. In: Petrov, BN and Csaki, F. Second International Symposium on Information Theory. Akademiai Kiado, Budapest, pp. 276-281.
- Akaike, H. 1974. *Selected Papers of Hirotugu Akaike*. Springer, 215-222.
- Ambarlı, H., Ertürk, A. and Soyumert, A. 2016. Current status, distribution, and conservation of brown bear (Ursidae) and wild canids (gray wolf, golden jackal, and red fox; Canidae) in Turkey. *Turkish Journal of Zoology*, 40:6, 944-956.
- Aris-Brosou, S. and Excoffier, L. 1996. The impact of population expansion and mutation rate heterogeneity on DNA sequence polymorphism. *Molecular biology and evolution*, 13:3, 494-504.
- Arslan, Y., Demirtaş, S., Herman, J. S., Pustilnik, J. D., Searle, J. B. and Gündüz, İ. 2020. The Anatolian glacial refugium and human-mediated colonization: a phylogeographical study of the stone marten (*Martes foina*) in Turkey. *Biological Journal of the Linnean Society*, 129:2, 470-491.
- Ashrafzadeh, M. R., Djan, M., Szendrei, L., Paulauskas, A., Scandura, M., Bagi, Z., Ilie, D. E., Kerdikoshvili, N., Marek, P. and Soós, N. 2018. Large-scale mitochondrial DNA analysis reveals new light on the phylogeography of Central and Eastern-European Brown hare (*Lepus europaeus* Pallas, 1778). *PloS one*, 13:10, e0204653.
- Aubry, K. B., Statham, M. J., Sacks, B. N., Perrine, J. D. and Wisely, S. M. 2009. Phylogeography of the North American red fox: vicariance in Pleistocene forest refugia. *Molecular ecology*, 18:12, 2668-2686.
- Baker, R., Porter, C., Patton, J., Van Den Bussche, R., Ballard, J., Chemoff, B. and James, A. 2002. *Avise JC (2000) Phylogeography: the history and duration of species*. Harvard University Press, Cambridge, MA. Avise J. C, Arnold J., Ball RM, Bermingham E., Lamb T., Neigel JE, Reeb CA, Saunders NC (1987) Intraspecific phylogeography: the mitochondrial DNA bridge between population genetics and systematics. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 18:1, 1-24. *I would like to acknowledge my committee members: Robert D. Bradley, Carleton J. Phillips, and David J. Schmidly. I was privileged to have my work assessed by them, my points of view questioned, and my research approaches critically evaluated, providing ample time for exchanges of ideas. Time and interest were always there to,* 56, 7.
- Bandelt, H.-J., Forster, P. and Röhl, A. 1999. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Molecular biology and evolution*, 16:1, 37-48.

- Barbosa, S., Paupério, J., Pavlova, S. V., Alves, P. C. and Searle, J. B. 2018. The *Microtus* voles: resolving the phylogeny of one of the most speciose mammalian genera using genomics. *Molecular phylogenetics and evolution*, 125, 85-92.
- Botero-Castro, F., Tilak, M.-k., Justy, F., Catzeflis, F., Delsuc, F. and Douzery, E. J. 2013. Next-generation sequencing and phylogenetic signal of complete mitochondrial genomes for resolving the evolutionary history of leaf-nosed bats (Phyllostomidae). *Molecular phylogenetics and evolution*, 69:3, 728-739.
- Carter, A. 2010. Improving red fox (*Vulpes vulpes*) management for bush stone-curlew (*Burhinus grallarius*) conservation in south-eastern Australia.
- Carter, A., Luck, G. W. and Wilson, B. P. 2012. Ecology of the red fox (*Vulpes vulpes*) in an agricultural landscape. 1. Den-site selection. *Australian mammalogy*, 34:2, 145-154.
- Cassens, I., Mardulyn, P. and Milinkovitch, M. C. 2005. Evaluating intraspecific “network” construction methods using simulated sequence data: do existing algorithms outperform the global maximum parsimony approach? *Systematic Biology*, 54:3, 363-372.
- Castelló, J. R. 2018. *Canids of the World: Wolves, Wild Dogs, Foxes, Jackals, Coyotes, and Their Relatives*. Princeton University Press,
- Center, U. o. R. C. P. R. 2001. *Selected Mammals of Saskatchewan*. University of Regina Press,
- Chobanov, D. P., Kaya, S., Grzywacz, B., Warchałowska-Śliwa, E. and Çıplak, B. 2017. The Anatolio-Balkan phylogeographic fault: a snapshot from the genus *Isophya* (Orthoptera, Tettigoniidae). *Zoologica Scripta*, 46:2, 165-179.
- Çıplak, B. 2003. Distribution of Tettigoniinae (Orthoptera, Tettigoniidae) bush-crickets in Turkey: the importance of the Anatolian Taurus Mountains in biodiversity and implications for conservation. *Biodiversity & Conservation*, 12:1, 47-64.
- Çıplak, B. 2004. Biogeography of Anatolia: the marker group Orthoptera. *Mem. Soc. Entomol. Ital*, 82:2003, 357-372.
- Civelek, İ. 2018. “Global phylogeographic comparisons and dietary analyses of gray wolf and red fox from Sarıkamış and Yenice in Turkey using genetics and genomics approaches”. . Y. Lisans Tezi, Boğaziçi University. Institute of Environmental Sciences
- Clement, M., Posada, D. and Crandall, K. A. 2000. TCS: a computer program to estimate gene genealogies. *Molecular ecology*, 9:10, 1657-1659.
- Couper, D. and Bexton, S. 2016. Veterinary treatment of fox casualties. *In Practice*, 38:3, 130-138.
- Crandall, K. A. and Templeton, A. R. 1993. Empirical tests of some predictions from coalescent theory with applications to intraspecific phylogeny reconstruction. *Genetics*, 134:3, 959-969.
- Darriba, D., Taboada, G. L., Doallo, R. and Posada, D. 2012. jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nature methods*, 9:8, 772.

- Davis, P. 1971. Distribution patterns in Anatolia with particular reference to endemism. *Plant life of south west Asia*.
- Demirtaş, S. 2012. “Türkiye Erineceus (Erinaceomorpha: Mammalia) cinsinin moleküler filoğrafyası” Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi. Samsun.
- Edwards, C. J., Soulsbury, C. D., Statham, M. J., Ho, S. Y., Wall, D., Dolf, G., Iossa, G., Baker, P. J., Harris, S. and Sacks, B. N. 2012. Temporal genetic variation of the red fox, *Vulpes vulpes*, across western Europe and the British Isles. *Quaternary Science Reviews*, 57, 95-104.
- Excoffier, L. and Lischer, H. E. 2010. Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular ecology resources*, 10:3, 564-567.
- Felsenstein, J. 1981. Evolutionary trees from DNA sequences: a maximum likelihood approach. *Journal of Molecular Evolution*, 17:6, 368-376.
- Felsenstein, J. 1985. Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution*, 39:4, 783-791.
- Fitch, W. M. 1971. Toward defining the course of evolution: minimum change for a specific tree topology. *Systematic Biology*, 20:4, 406-416.
- Frati, F., Hartl, G., Lovari, S., Delibes, M. and Markov, G. 1998. Quaternary radiation and genetic structure of the red fox *Vulpes vulpes* in the Mediterranean Basin, as revealed by allozymes and mitochondrial DNA. *Journal of Zoology*, 245:1, 43-51.
- Fu, Y.-X. 1997. Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking and background selection. *Genetics*, 147:2, 915-925.
- Fu, Y.-X. and Li, W.-H. 1993. Statistical tests of neutrality of mutations. *Genetics*, 133:3, 693-709.
- Galov, A., Sindičić, M., Andreanszky, T., Čurković, S., Deždek, D., Slavica, A., Hartl, G. B. and Krueger, B. 2014. High genetic diversity and low population structure in red foxes (*Vulpes vulpes*) from Croatia. *Mammalian Biology-Zeitschrift für Säugetierkunde*, 79:1, 77-80.
- Garshelis, D. L. 2006. On the allure of noninvasive genetic sampling—putting a face to the name. *Ursus*, 17:2, 109-124.
- Guindon, S. and Gascuel, O. 2003. A simple, fast, and accurate algorithm to estimate large phylogenies by maximum likelihood. *Systematic Biology*, 52:5, 696-704.
- Gündüz, İ., Jaarola, M., Tez, C., Yeniyurt, C., Polly, P. D. and Searle, J. B. 2007. Multigenic and morphometric differentiation of ground squirrels (*Spermophilus*, Scuridae, Rodentia) in Turkey, with a description of a new species. *Molecular phylogenetics and evolution*, 43:3, 916-935.
- Gür, H. 2016. The Anatolian diagonal revisited: Testing the ecological basis of a biogeographic boundary. *Zoology in the Middle East*, 62:3, 189-199.
- Gvoždík, V., Moravec, J., Klütsch, C. and Kotlík, P. 2010. Phylogeography of the Middle Eastern tree frogs (*Hyla*, Hylidae, Amphibia) as inferred from nuclear

- and mitochondrial DNA variation, with a description of a new species. *Molecular phylogenetics and evolution*, 55:3, 1146-1166.
- Hall, T. A. (1999). BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. Nucleic acids symposium series, [London]: Information Retrieval Ltd., c1979-c2000., 95-98.
- Harpending, H. 1994. Signature of ancient population growth in a low-resolution mitochondrial DNA mismatch distribution. *Human biology*, 591-600.
- Harris, S. 1977. Distribution, habitat utilization and age structure of a suburban fox (*Vulpes vulpes*) population. *Mammal Review*, 7:1, 25-38.
- Heller, K. G. and Ciplak, B. 2005. Review of the south-west Asian genus *Scotodrymadusa* (Orthoptera, Tettigoniidae): systematics, phylogeny and biogeography of an eremial lineage. *Insect Systematics & Evolution*, 36:3, 317-342.
- Hepcan, Ç. C. 2012. Identifying and assessing of the red fox (*Vulpes vulpes*) habitats in Çeşme-Urla Peninsula. *Journal of Food, Agriculture & Environment*, 10:1 part 2, 726-731.
- Hewitt, G. 2000. The genetic legacy of the Quaternary ice ages. *Nature*, 405:6789, 907.
- Hewitt, G. M. 1999. Post-glacial re-colonization of European biota. *Biological Journal of the Linnean Society*, 68:1-2, 87-112.
- Hickerson, M., Carstens, B., Cavender-Bares, J., Crandall, K., Graham, C., Johnson, J., Rissler, L., Victoriano, P. and Yoder, A. 2010. Phylogeography's past, present, and future: 10 years after. *Molecular phylogenetics and evolution*, 54:1, 291-301.
- Hoffmann, M. and Sillero-Zubiri, C. 2016. *Vulpes vulpes*. The IUCN Red List of Threatened Species. 2016: e. T23062A46190249.
- Horecka, B., Kasperek, K., Jezewska-Witkowska, G., Slaska, B., Rozempolska-Rucinska, I., Gryzinska, M. and Jakubczak, A. 2017. High genetic distinctiveness of wild and farm fox (*Vulpes vulpes* L.) populations in Poland: evidence from mitochondrial DNA analysis. *Turkish Journal of Zoology*, 41:5, 783-790.
- Huelsenbeck, J. P. and Ronquist, F. 2001. MRBAYES: Bayesian inference of phylogenetic trees. *Bioinformatics*, 17:8, 754-755.
- İbiş, O., Tez, C. and Özcan, S. 2014. Phylogenetic status of the Turkish red fox (*Vulpes vulpes*), based on partial sequences of the mitochondrial cytochrome b gene. *Vertebrate zoology*, 64:2, 273-284.
- Inoue, T., Nonaka, N., Mizuno, A., Morishima, Y., Sato, H., Katakura, K. and Oku, Y. 2007. Mitochondrial DNA phylogeography of the red fox (*Vulpes vulpes*) in northern Japan. *Zoological Science*, 24:12, 1178-1187.
- Jong, H. D. 1998. In search of historical biogeographic patterns in the western Mediterranean terrestrial fauna. *Biological Journal of the Linnean Society*, 65:2, 99-164.

- Kapli, P., Botoni, D., Ilgaz, Ç., Kumlutaş, Y., Avcı, A., Rastegar-Pouyani, N., Fathinia, B., Lymberakis, P., Ahmadzadeh, F. and Poulakakis, N. 2013. Molecular phylogeny and historical biogeography of the Anatolian lizard *Apathya* (Squamata, Lacertidae). *Molecular phylogenetics and evolution*, 66:3, 992-1001.
- Kaya, S. and Ciplak, B. 2017. Phylogeography and taxonomy of the *P. sorodonotus caucasicus* (Orthoptera, Tettigoniidae) group: independent double invasion of the Balkans from the Caucasus. *Systematic entomology*, 42:1, 118-133.
- Kimura, M. 1980. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *Journal of Molecular Evolution*, 16:2, 111-120.
- Kirschning, J., Zachos, F. E., Cirovic, D., Radovic, I. T. and Hartl, G. B. 2007. Population genetic analysis of Serbian red foxes (*Vulpes vulpes*) by means of mitochondrial control region sequences. *Biochemical genetics*, 45:5-6, 409-420.
- Kosswig, C. 1955. Zoogeography of the near East. *Systematic Zoology*, 4:2, 49-73.
- Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C. and Tamura, K. 2018. MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Molecular biology and evolution*, 35:6, 1547-1549.
- Kumerloewe, H. 1967. Zur verbreitung Kleinasiatischer raub-und huftiere sowie einiger großnager. *Säugetierkundliche Mitteilungen*, 15, 337-409.
- Kutschera, V. E., Lecomte, N., Janke, A., Selva, N., Sokolov, A. A., Haun, T., Steyer, K., Nowak, C. and Hailer, F. 2013. A range-wide synthesis and timeline for phylogeographic events in the red fox (*Vulpes vulpes*). *BMC evolutionary biology*, 13:1, 114.
- Langille, B. L., O'Leary, K. E., Whitney, H. G. and Marshall, H. D. 2014. Mitochondrial DNA diversity and phylogeography of insular Newfoundland red foxes (*Vulpes vulpes* *deletrix*). *Journal of Mammalogy*, 95:4, 772-780.
- Larivière, S. and Pasitschniak-Arts, M. 1996. *Vulpes vulpes*. *Mammalian species*:537, 1-11.
- Lehmann, E. v. 1966. Taxonomische bemerkungen zur säugerausbeute der Kumerloeweschen Orientreisen 1953-1965. *Zoologische Beiträge [Neu Folge]*, 12:2, 251-317.
- Leite, J. V., Álvares, F., Velo-Antón, G., Brito, J. C. and Godinho, R. 2015. Differentiation of North African foxes and population genetic dynamics in the desert—insights into the evolutionary history of two sister taxa, *Vulpes rueppellii* and *Vulpes vulpes*. *Organisms Diversity & Evolution*, 15:4, 731-745.
- Librado, P. and Rozas, J. 2009. DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics*, 25:11, 1451-1452.
- Lloyd, H. 1980. The Red Fox., (BT Batsford Ltd: London.).
- Lockhart, P. J., Penny, D. and Meyer, A. 1995. Testing the phylogeny of swordtail fishes using split decomposition and spectral analysis. *Journal of Molecular Evolution*, 41:5, 666-674.

- Macdonald, D. and Reynolds, J. 2008. *Vulpes vulpes*. *IUCN Red List of Threatened Species*.
- Maddison, D. R. and Maddison, W. P. 2000. MacClade 4. *Sinauer, Sunderland, MA*.
- Marjoram, P. and Donnelly, P. 1994. Pairwise comparisons of mitochondrial DNA sequences in subdivided populations and implications for early human evolution. *Genetics*, 136:2, 673-683.
- Martorell, I. J. and Gortazar, C. S. 1993. Reproduction of red foxes (*Vulpes vulpes* Linnaeus, 1758) in north-eastern Spain: a preliminary report. *Revue scientifique et technique (International Office of Epizootics)*, 12:1, 19-22.
- Meisner 2008. Habitat selection of red foxes (*Vulpes vulpes*) in a Danish polder ecosystem, based on radio telemetry and spotlight surveys. Master of Science in Biology,, Aarhus University Department of Wildlife Biology and Biodiversity, Retrieved from <http://dce.au.dk/fileadmin/Attachments/SpecialeKatrineMeisner.pdf>
- Meyer, A., Kocher, T. D., Basasibwaki, P. and Wilson, A. C. 1990. Monophyletic origin of Lake Victoria cichlid fishes suggested by mitochondrial DNA sequences. *Nature*, 347:6293, 550.
- Mix, A. C., Bard, E. and Schneider, R. 2001. Environmental processes of the ice age: land, oceans, glaciers (EPILOG). *Quaternary Science Reviews*, 20:4, 627-657.
- Moritz, C. 1994. Defining 'evolutionarily significant units' for conservation. *Trends in ecology & evolution*, 9:10, 373-375.
- Moritz, C. 1995. Uses of molecular phylogenies for conservation. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 349:1327, 113-118.
- Mutun, S. 2010. Intraspecific genetic variation and phylogeography of the oak gallwasp *Andricus caputmedusae*(Hymenoptera: Cynipidae): effects of the Anatolian Diagonal. *Acta Zoologica Academiae Scientiarum Hungaricae*, 56:2, 153-172.
- Nei, M. 1987. *Molecular evolutionary genetics*. Columbia university press,
- Olivero, J., Márquez, A. L. and Real, R. 2012. Integrating fuzzy logic and statistics to improve the reliable delimitation of biogeographic regions and transition zones. *Systematic Biology*, 62:1, 1-21.
- Oosterbroek, P. and Arntzen, J. 1992. Area-cladograms of Circum-Mediterranean taxa in relation to Mediterranean palaeogeography. *Journal of Biogeography*, 3-20.
- Özkurt, Ş., SÖZEN, M., YİĞİT, N. and ÇOLAK, E. 1998. Notes on distributional records and some characteristics of five carnivore species (Mammalia: Carnivora) in Turkey. *Turkish Journal of Zoology*, 22:4, 285-288.
- Page, R. D. 1996. Tree View: An application to display phylogenetic trees on personal computers. *Bioinformatics*, 12:4, 357-358.
- Perrine, J. D., Campbell, L. A. and Green, G. A. 2010. Sierra Nevada red fox (*Vulpes vulpes necator*): a conservation assessment.

- Perrine, J. D., Pollinger, J. P., Sacks, B. N., Barrett, R. H. and Wayne, R. K. 2007. Genetic evidence for the persistence of the critically endangered Sierra Nevada red fox in California. *Conservation Genetics*, 8:5, 1083-1095.
- Posada, D. and Crandall, K. A. 2001. Intraspecific gene genealogies: trees grafting into networks. *Trends in ecology & evolution*, 16:1, 37-45.
- Rambaut, A. 2018. FigTree V1.4.4: Tree Figure Drawing Tool [software]. Available online from: <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree>.
- Rambaut, A., Drummond, A. J., Xie, D., Baele, G. and Suchard, M. A. 2018. Posterior summarization in Bayesian phylogenetics using Tracer 1.7. *Systematic Biology*, 67:5, 901-904.
- Ramos-Onsins, S. E. and Rozas, J. 2002. Statistical properties of new neutrality tests against population growth. *Molecular biology and evolution*, 19:12, 2092-2100.
- Ronquist, F., Teslenko, M., Van Der Mark, P., Ayres, D. L., Darling, A., Höhna, S., Larget, B., Liu, L., Suchard, M. A. and Huelsenbeck, J. P. 2012. MrBayes 3.2: efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. *Systematic Biology*, 61:3, 539-542.
- Sacks, B. N., Moore, M., Statham, M. J. and Wittmer, H. U. 2011. A restricted hybrid zone between native and introduced red fox (*Vulpes vulpes*) populations suggests reproductive barriers and competitive exclusion. *Molecular ecology*, 20:2, 326-341.
- Sacks, B. N., Statham, M. J., Perrine, J. D., Wisely, S. M. and Aubry, K. B. 2010. North American montane red foxes: expansion, fragmentation, and the origin of the Sacramento Valley red fox. *Conservation Genetics*, 11:4, 1523-1539.
- Saitou, N. and Nei, M. 1987. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular biology and evolution*, 4:4, 406-425.
- Satunin, K. 1906. Neue und wenigbekannte Säugetiere aus dem Kaukasus und aus Transkaspien. *Mitt Kauk Mus*, 2, 70.
- Savolainen, P., Zhang, Y.-p., Luo, J., Lundeberg, J. and Leitner, T. 2002. Genetic evidence for an East Asian origin of domestic dogs. *Science*, 298:5598, 1610-1613.
- Schneider, S. and Excoffier, L. 1999. Estimation of past demographic parameters from the distribution of pairwise differences when the mutation rates vary among sites: application to human mitochondrial DNA. *Genetics*, 152:3, 1079-1089.
- Sheldon, W. G. 1950. Denning habits and home range of red foxes in New York State. *The Journal of Wildlife Management*, 14:1, 33-42.
- Sillero-Zubiri, C., Hoffmann, M. and Macdonald, D. W. 2004. *Canids: foxes, wolves, jackals, and dogs: status survey and conservation action plan*. IUCN Gland, Switzerland,
- Simmons, N., Beatty, R. and Beer, A.-J. 2008. *Exploring the world of mammals*. Chelsea House Publishing,

- Slatkin, M. and Hudson, R. R. 1991. Pairwise comparisons of mitochondrial DNA sequences in stable and exponentially growing populations. *Genetics*, 129:2, 555-562.
- Soyumert, A. and Gürkan, B. 2013. Relative habitat use by the red fox (*Vulpes vulpes*) in Köprülü Canyon National Park, Southern Anatolia. *Hystrix, the Italian Journal of Mammalogy*, 24:2, 166-168.
- Stamatis, C., Suchentrunk, F., Moutou, K. A., Giacometti, M., Haerer, G., Djan, M., Vapa, L., Vukovic, M., Tvrtković, N. and Sert, H. 2009. Phylogeography of the brown hare (*Lepus europaeus*) in Europe: a legacy of south-eastern Mediterranean refugia? *Journal of Biogeography*, 36:3, 515-528.
- Statham, M. J., Murdoch, J., Janecka, J., Aubry, K. B., Edwards, C. J., Soulsbury, C. D., Berry, O., Wang, Z., Harrison, D. and Pearch, M. 2014. Range-wide multilocus phylogeography of the red fox reveals ancient continental divergence, minimal genomic exchange and distinct demographic histories. *Molecular ecology*, 23:19, 4813-4830.
- Statham, M. J., Sacks, B. N., Aubry, K. B., Perrine, J. D. and Wisely, S. M. 2012. The origin of recently established red fox populations in the United States: translocations or natural range expansions? *Journal of Mammalogy*, 93:1, 52-65.
- Statham, M. J., Trut, L. N., Sacks, B. N., Kharlamova, A. V., Oskina, I. N., Gulevich, R. G., Johnson, J. L., Temnykh, S. V., Acland, G. M. and Kukekova, A. V. 2011. On the origin of a domesticated species: identifying the parent population of Russian silver foxes (*Vulpes vulpes*). *Biological Journal of the Linnean Society*, 103:1, 168-175.
- Steffensen, J. P., Andersen, K. K., Bigler, M., Clausen, H. B., Dahl-Jensen, D., Fischer, H., Goto-Azuma, K., Hansson, M., Johnsen, S. J. and Jouzel, J. 2008. High-resolution Greenland ice core data show abrupt climate change happens in few years. *Science*, 321:5889, 680-684.
- Strobeck, C. 1987. Average number of nucleotide differences in a sample from a single subpopulation: a test for population subdivision. *Genetics*, 117:1, 149-153.
- Stümpel, N., Rajabizadeh, M., Avcı, A., Wüster, W. and Joger, U. 2016. Phylogeny and diversification of mountain vipers (Montivipera, Nilson et al., 2001) triggered by multiple Plio–Pleistocene refugia and high-mountain topography in the Near and Middle East. *Molecular phylogenetics and evolution*, 101, 336-351.
- Sun, W.-L., Liu, H.-L., Zhong, W., Wang, Z. and Li, G.-Y. 2016. The complete mitochondrial genome sequence of *Alopex lagopus* (Caniformia: Canidae). *Mitochondrial DNA Part A*, 27:5, 3238-3239.
- Swofford, D. L. 2002. Paup*: Phylogenetic analysis using parsimony (and other methods) 4.0. b10 137 Sunderland: Sinauer Associates.
- Taberlet, P., Fumagalli, L., WUST-SAUCY, A. G. and COSSON, J. F. 1998. Comparative phylogeography and postglacial colonization routes in Europe. *Molecular ecology*, 7:4, 453-464.

- Tajima, F. 1989. Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. *Genetics*, 123:3, 585-595.
- Tarkhnishvili, D., Murtskhvaladze, M. and Gavashelishvili, A. 2013. Speciation in Caucasian lizards: climatic dissimilarity of the habitats is more important than isolation time. *Biological Journal of the Linnean Society*, 109:4, 876-892.
- Tavaré, S. 1986. Some probabilistic and statistical problems in the analysis of DNA sequences. *Lectures on mathematics in the life sciences*, 17:2, 57-86.
- Teacher, A. G., Thomas, J. A. and Barnes, I. 2011. Modern and ancient red fox (*Vulpes vulpes*) in Europe show an unusual lack of geographical and temporal structuring, and differing responses within the carnivores to historical climatic change. *BMC evolutionary biology*, 11:1, 214.
- Telcioğlu, M., İbîş, O., Aksöyek, E., Özcan, S., Moradî, M., Gürkan, Ö. F. and Tez, C. 2019. Genetic analysis of Iranian and Turkish red foxes (*Vulpes vulpes*) based on mitochondrial DNA (D-loop) sequences. *Ethology Ecology & Evolution*, 31:6, 568-582.
- Thomas, O. 1920. X.—A new shrew and two new foxes from Asia Minor and Palestine. *Annals and Magazine of Natural History*, 5:25, 119-122.
- Thompson, J. D., Higgins, D. G. and Gibson, T. J. 1994. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic acids research*, 22:22, 4673-4680.
- Toyran, K., Nursel, A. and PAMUKOĞLU, N. A Brief Study on Diet Components of Red Fox (*Vulpes vulpes* Linnaeus, 1758) From Central Anatolia (Mammalia: Carnivora). *Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 2:1, 37-40.
- Uvarov, B. (1921). The geographical distribution of orthopterous insects in the Caucasus and in Western Asia. *Proceedings of the Zoological Society of London*, Wiley Online Library, 447-472.
- Van Riemsdijk, I., Arntzen, J. W., Bogaerts, S., Franzen, M., Litvinchuk, S. N., Olgun, K. and Wielstra, B. 2017. The Near East as a cradle of biodiversity: a phylogeography of banded newts (genus *Ommatotriton*) reveals extensive inter- and intraspecific genetic differentiation. *Molecular phylogenetics and evolution*, 114, 73-81.
- Vilà, C., Savolainen, P., Maldonado, J. E., Amorim, I. R., Rice, J. E., Honeycutt, R. L., Crandall, K. A., Lundeberg, J. and Wayne, R. K. 1997. Multiple and ancient origins of the domestic dog. *Science*, 276:5319, 1687-1689.
- Volkman, L. A., Statham, M. J., Mooers, A. Ø. and Sacks, B. N. 2015. Genetic distinctiveness of red foxes in the Intermountain West as revealed through expanded mitochondrial sequencing. *Journal of Mammalogy*, 96:2, 297-307.
- Wallen, M. 2006. Fox (Reaktion Books-Animal).
- Wayne, R. K., Geffen, E., Girman, D. J., Koepfli, K. P., Lau, L. M. and Marshall, C. R. 1997. Molecular systematics of the Canidae. *Systematic Biology*, 46:4, 622-653.

- Wilson, D. E. and Reeder, D. M. 2005. *Mammal species of the world: a taxonomic and geographic reference*. JHU Press,
- Woolley, S. M., Posada, D. and Crandall, K. A. 2008. A comparison of phylogenetic network methods using computer simulation. *PloS one*, 3:4, e1913.
- Yiğit, N., Demirsoy, A., Karataş, A., Özkurt, Ş. and Çolak, E. 2006. Notes on the mammals found in Kazdağı National Park and its environs. *Turkish Journal of Zoology*, 30:1, 73-82.
- Yu, J.-N., Han, S.-H., Kim, B.-H., Kryukov, A. P., Kim, S., Lee, B.-Y. and Kwak, M. 2012. Insights into Korean Red Fox (*Vulpes vulpes*) based on mitochondrial cytochrome b sequence variation in East Asia. *Zoological Science*, 29:11, 753-760.
- Yu, L., Peng, D., Liu, J., Luan, P., Liang, L., Lee, H., Lee, M., Ryder, O. A. and Zhang, Y. 2011. On the phylogeny of Mustelidae subfamilies: analysis of seventeen nuclear non-coding loci and mitochondrial complete genomes. *BMC evolutionary biology*, 11:1, 92.
- Zhong, H.-M., Zhang, H.-H., Sha, W.-L., Zhang, C.-D. and Chen, Y.-C. 2010. Complete mitochondrial genome of the red fox (*Vulpes vulpes*) and phylogenetic analysis with other canid species. *Dongwuxue Yanjiu*, 31:2, 122-130.

ÖZGEÇMİŞ

Adı ve Soyadı : Ali Adan HASSAN
Doğum Yeri : Koryoley, Somali
Doğum Tarihi : 01.12.1988
Yabancı Diller : Türkçe, İngilizce ve Arapça

Eğitim Durumu

Lise : Shabelle Lisesi
Lisans : Benadir Üniversitesi, Eğitim Fakültesi, Biyoloji ve Kimya
Bölümü (2014)

Çalıştığı Kurum

Benadir Üniversitesi (2015-)

Yayınlar

1. Hassan, A. A, Demirtaş, S., Gündüz, İ. 2019. A Phylogeographic Study of the Red Fox (*Vulpes vulpes*) in Turkey, Based On Mitochondrial DNA Analysis. Uluslararası Bilimsel Araştırmalar Kongresi, (UBAK), 1 - 3 Kasım 2019, p.25, Şanlıurfa, Turkey.

[http://www.ubaksymposium.org/Upload/editor/files/ubak%20fen%20\(1\)%20%C3%B6zet%20kitap\(1\).pdf](http://www.ubaksymposium.org/Upload/editor/files/ubak%20fen%20(1)%20%C3%B6zet%20kitap(1).pdf)