

ANKARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOKTORA TEZİ

TÜRKİYE *Apodemus flavicollis* (MELCHIOR, 1834) (MAMMALIA:
RODENTIA) POPULASYONLARINDA GENETİK VARYASYONLARIN
BELİRLENMESİ

Dilek BETEŞ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ANKARA
2016

Her hakkı saklıdır

ETİK

Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri 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.

15.06.2016

Dilek BETEŞ

ÖZET

Doktora Tezi

TÜRKİYE *Apodemus flavicollis* (MELCHIOR, 1834) (MAMMALIA: RODENTIA)
POPULASYONLARINDA GENETİK VARYASYONLARIN BELİRLENMESİ

Dilek BETEŞ

Ankara Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Reyhan ÇOLAK

Sarı yakalı orman faresi olarak bilinen *Apodemus flavicollis* Batı Palearktik'te yayılış gösteren bir kemirici türüdür. Bu tez çalışması kapsamında Anadolu ve Trakya'dan toplam 17 lokaliteden *A. flavicollis* populasyonlarında genetik varyasyon seviyesi mitokondriyal (sitokrom *b*) ve çekirdek DNA (mikrosatellit) belirteçleri kullanılarak belirlenmiştir. *A. flavicollis*'in gruplar (Trakya-Anadolu), populasyonlar ve bireyler arası genetik çeşitlilik ve farklılaşma seviyeleri ile filogenetik ilişkileri belirlenmiş, bu farklılaşmaya yol açan evrimsel süreçler değerlendirilmiştir. Her iki belirteç ile ayrı ayrı yapılan analiz sonuçlarına göre; genetik varyasyonun populasyon içinde ve populasyonlar arasında yüksek olduğu, *A. flavicollis* populasyonlarının Anadolu ve Trakya olarak iki gruba ayrıldığı, Anadolu populasyonlarına ait örneklerin ise karmaşık bir gruplanma sergilediği belirlenmiştir. Genetik varyasyonun yüksek bulunmasında Anadolu'nun Kuvaterner buzul dönemlerinde sığınak olarak görev yapması etkili olmuş olabilir. *A. flavicollis* populasyonlarının Trakya ve Anadolu şeklindeki yapılanması ise Kuvaterner buzul dönemleri süresince Trakya ve Anadolu *A. flavicollis* gruplarının biri Anadolu diğeri İtalya-Balkan olmak üzere iki farklı sığınakta hayatta kalmış olmasıyla açıklanabilir. Biyocoğrafik bariyer olarak Karadeniz ve Kafkas Dağları ile İstanbul ve Çanakkale Boğazları'nın, iki kıta arasında kolonizasyonu engellemesiyle populasyonlar arasındaki gen akışının kesilmesine bağlı olarak farklılaşma gerçekleşmiş olabilir. Türkiye'de daha önce morfolojik çalışmalar ışığında yapılan alttür tanımları yeniden değerlendirildiğinde, yapılan genetik analizlerin sonuçlarına dayanarak Trakya populasyonlarının *A. f. brauneri*, Anadolu populasyonlarının ise *A. f. saturatus* olarak değerlendirilebileceği sonucuna varılmıştır.

Haziran 2016, 151 sayfa

Anahtar Kelimeler: *Apodemus flavicollis*, genetik çeşitlilik, sitokrom *b*, mikrosatellitler, Türkiye

ABSTRACT

Ph.D. Thesis

DETERMINATION OF GENETIC VARIATIONS OF *Apodemus flavicollis* (MELCHIOR, 1834) (MAMMALIA: RODENTIA) POPULATIONS IN TURKEY

Dilek BETEŞ

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

Supervisor: Prof. Dr. Reyhan ÇOLAK

The yellow-necked fieldmouse, *Apodemus flavicollis* is a Rodent species distributed across the Western Palearctic region. In the present study, genetic variations of *A. flavicollis* populations from 17 locations in Anatolia and Thrace were determined using mitochondrial (cytochrome *b*) and nuclear DNA (microsatellites) markers. Within- and among-population and among-group (Thrace-Anatolia) genetic diversity and genetic differentiation levels and phylogenetic relationships of populations were evaluated to develop a better understanding of the evolutionary processes leading to the observed genetic differentiation. Results of the study pointed to a high genetic diversity within and among populations; indicating two distinct genetic groups in Thrace and Anatolia whose samples of *A. flavicollis* populations exhibited an admixture grouping. High genetic variation is thought to be attributable to the refuge position of Anatolia in Quaternary ice ages. Further, the Anatolian and Thracian grouping of *A. flavicollis* populations can be explained by isolation of two groups in two different refugia (one in Anatolia and the other one in Italo-Balkan region) during the Quaternary ice ages. Likewise, genetic differentiation may be due to the restricted gene flow resulting from hindering the colonization between two continents by the biogeographic barrier effect of the Black Sea, the Caucasus, the Bosphorus and Dardanelles. Also taking into consideration previously identified subspecies of *A. flavicollis* by morphological studies in Turkey, together with the genetic analysis results here, we conclude that Thrace populations can be described as *A. f. brauneri* and Anatolian populations as *A. f. saturatus*.

June 2016, 151 pages

Key Words: *Apodemus flavicollis*, genetic diversity, cytochrome *b*, microsatellites, Turkey

ÖNSÖZ ve TEŞEKKÜR

Tez çalışmam boyunca bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan, desteğiyle yanımda olan değerli danışmanım Prof. Dr. Reyhan ÇOLAK'a (Ankara Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalı) teşekkürlerimi sunarım. Çalışmamın başından sonuna kadar her aşamasında görüş ve deneyimleriyle yol gösteren değerli hocalarım Prof. Dr. İrfan KANDEMİR (Ankara Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalı) ve Prof. Dr. Selim Sualp ÇAĞLAR'a (Hacettepe Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalı), örneklerin temin edilmesini sağlayan hocalarım Prof. Dr. Ercüment ÇOLAK ve Prof. Dr. Nuri YİĞİT'e (Ankara Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalı), tez çalışmam boyunca her zaman yanımda olan, fikirleri ve bilgisiyle daima yönlendiren ve destek olan Yrd. Doç. Dr. Gül OLGUN KARACAN'a, konuyla ilgili tecrübesi ve manevi desteğiyle yanımda olan Yrd. Doç. Dr. Ayça ÖZKAN KOCA'ya ve Moleküler Sistemik Laboratuvarı'ndaki çalışma arkadaşlarıma en içten duygularıyla teşekkürlerimi sunarım.

Hayatımın her aşamasında olduğu gibi doktora eğitimim süresince de yanımda olan, üzerimde sonsuz emeğiyle başta sevgili dedem Dr. Ali Kemal BETEŞ olmak üzere annem Akgül BETEŞ, babam Yüksel BETEŞ, kardeşim Fulya BETEŞ ve amcam Bahadır Murat BETEŞ'e teşekkür ederim.

Bu tez çalışması Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Müdürlüğü tarafından 12B4240013 numaralı proje ile desteklenmiştir.

Dilek BETEŞ

Ankara, Haziran 2016

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAY SAYFASI

ETİK.....	i
ÖZET.....	ii
ABSTRACT.....	iii
ÖNSÖZ ve TEŞEKKÜR.....	iv
SİMGELER DİZİNİ.....	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xi
1. GİRİŞ.....	1
2. KURAMSAL TEMELLER.....	8
2.1 Ordo: Rodentia.....	8
2.2 Familya: Muridae.....	9
2.3 Genus: <i>Apodemus</i> Kaup, 1829.....	9
2.4 Species: <i>Apodemus flavicollis</i> (Melchior, 1834).....	10
2.5 Populasyon Genetiği.....	13
2.5.1 Bir populasyon içindeki varyasyon.....	13
2.5.2 Populasyonlar arasındaki varyasyon.....	14
2.5.3 Genetik varyasyonun kaynakları.....	15
2.6 Populasyon Genetiğinin Temel Prensipleri.....	20
2.6.1 Gen havuzları ve allel frekansları.....	20
2.6.2 Hardy-Weinberg kuralı.....	21
2.6.3 Doğal seçim.....	22
2.6.4 Mutasyon.....	22
2.6.5 Göç ve gen akışı.....	23
2.6.6 Genetik sürüklenme.....	23
2.6.7 Rastgele olmayan eşleşmeler.....	23
2.7 Genetik Varyasyonun Korunması.....	24
2.7.1 Diploitlik.....	24
2.7.2 Dengeleyici seçim.....	25
2.8 Mitokondriyal DNA.....	26
2.9 Polimeraz Zincir Reaksiyonu.....	30
2.9.1 PZR'ın basamakları.....	31
2.10 Moleküler Belirteçler.....	33

2.10.1 Dominant belirteçler	34
2.10.2 Ko-dominant belirteçler	35
2.11 Populasyon Genetiği Çalışmalarında Kullanılan İstatistikî Analizler	44
3. MATERYAL VE YÖNTEM	49
3.1 Materyal	49
3.2 DNA İzolasyonu	53
3.3 PZR Çalışmaları	56
3.3.1 Sitokrom <i>b</i> bölgesinin PZR ile çoğaltılması	56
3.3.2 Mikrosatellit lokuslarının PZR ile çoğaltılması	58
3.4 DNA Dizi Analizi	60
3.5 Fragment Analizi	60
3.6 Sitokrom <i>b</i> Bölgesine Ait Analizler	61
3.6.1 Sitokrom <i>b</i> bölgesine ait filogenetik analizler	61
3.6.2 Sitokrom <i>b</i> bölgesine ait genetik çeşitlilik analizleri	63
3.7 Mikrosatellit Analizleri	64
4. ARAŞTIRMA BULGULARI	68
4.1 Sitokrom <i>b</i> Bölgesine Ait Filogenetik Analiz Bulguları	68
4.2 Sitokrom <i>b</i> Bölgesine Ait Genetik Çeşitlilik Bulguları	80
4.3 Mikrosatellit Analizlerine Ait Bulgular	86
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	102
5.1 Mitokondri ve Çekirdek DNA Belirteçleriyle Yapılan Analizlerin Karşılaştırılması	102
5.2 Avrupa ile Asya Populasyonlarının Genetik Farklılaşması	105
5.3 <i>A. flavicollis</i> Türkiye Populasyonlarında Genetik Varyasyon	112
5.4 Anadolu Populasyonlarının Genetik ve Coğrafik Yapılanmaları	115
5.5 Sonuç	119
KAYNAKLAR	121
EKLER	135
EK 1 Sitokrom <i>b</i> Bölgesine Ait Haplotipler	136
EK 2 Pseudogen ve Sitokrom <i>b</i> Bölgesine Ait Dizilerin Karşılaştırılması	145
EK 3 Mikrosatellit Lokuslarına Ait Allel Büyüklükleri	148
ÖZGEÇMİŞ	150

SİMGELER DİZİNİ

%	Yüzde
+	Artı
π	Nükleotid çeşitliliği
°C	Santigrat derece
2n	Diploid Kromozom Sayısı
α	Transisyon
β	Transversiyon
β ME	β -Merkapto etanol
μ l	Mikrolitre
MgCl ₂	Magnezyum diklorür
ml	Mililitre
mM	Milimolar
NaCl	Sodyum klorür
nmol	Nano mol
OH	Hidroksit
Rpm	Revolutions per minute (Dakikadaki devir sayısı)

Kısaltmalar

A	Adenin
A	Lokus başına düşen ortalama allel sayısı
AIC	Akaike Information Criterion (Akaike Bilgi Kısıtası)
AFLP	Çoğaltılmış parça uzunluk polimorfizmi
AMOVA	Analysis of Molecular Variance (Moleküler Varyans Analizi)
ATP	Adenozin trifosfat
BAPS	Bayesian Analysis of Population Structure
bç	Baz çifti
BIC	Bayesian Information Criterion (Bayesian Bilgi Kısıtası)
C	Sitozin
C:IAA	Kloroform: izoamil alkol
CTAB	Setil trimetil amonyum bromür
CV	Populasyon büyümesiyle ilgili değişkenlik katsayı
Cyt- <i>b</i>	Sitokrom <i>b</i>
<i>D</i>	Genetik mesafe değeri
<i>D_A</i>	Nei vd. (1983) genetik mesafe değeri
DNA	Deoksiribo nükleik asit
dNTP	Deoksiribo nükleotid trifosfat
ddNTP	Dideoksiribo nükleotid trifosfat
EDTA	Etilendiamin tetraasetik asit
ESS	Efektif örneklem büyüklüğü
FCA	Faktöriyel Benzerlik Analizi
<i>F_{CT}</i>	Gruplar arası fiksasyon indeksi
<i>F_{SC}</i>	Grup için populasyonlar arası fiksasyon indeksi

F_{ST}	Gruplar arası populasyonlar arası fiksasyon indeksi
F_{IS}	Soy içi üreme miktarının ölçümü
F_{IT}	Toplam soy içi üreme katsayısı
F_{ST}	Fiksasyon indeksi
G	Guanin
GTR+G	Generalized time reversible+Gamma
GTR+G+I	Generalized time reversible+Gamma+Invariant sites
h	Haplotip çeşitliliği
H	Ortalama heterozigotluk
H_e	Beklenen heterozigotluk
H_o	Gözlenen heterozigotluk
K	STRUCTURE analizinde muhtemel populasyon sayısı
K2P	Kimura 2 parametresi
MCMC	Markov Chain Monte Carlo
MJ	Median-joining
ML	Maksimum Olasılık (Maximum Likelihood)
MP	Maksimum Tutumluluk (Maximum Parsimony)
mtDNA	Mitokondriyal DNA
Myö	Milyon yıl önce
NF	Temel kromozom sayısı
NFa	Otozomal kol sayısı
NJ	Neighbour Joining
N_m	Gen akışı
P	Polimorfik lokusların yüzdesi
pmol	Pikomol
PZR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
r	Raggedness istatistiği
R	Toplam transisyon/transversiyon oranı
RAPD	Rastgele çoğaltılmış polimorfik DNA
RFLP	Restriksiyon parça uzunluk polimorfizmi
RNA	Ribo nükleik asit
rRNA	Ribozomal RNA
SNP	Tek nükleotid polimorfizmi
SSR	Simple Sequence Repeats (Basit dizi tekrarları)
STR	Short Tandem Repeats (Kısa ard arda tekrarlar)
T	Timin
TAE	Tris Asetik asit EDTA
Tau	Mutasyon zamanına göre populasyon büyümesinin ölçütü
TBR	Tree-bisection-reconnection
TE	Tris EDTA
TEM	Geçirimli elektron mikroskobu
Tris-HCl	Tris Hidroklorik asit
tRNA	Taşıyıcı RNA
UV	Ultraviyole

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 <i>A. flavicollis</i> 'in Türkiye'deki yayılış alanı.....	11
Şekil 2.2 <i>A. flavicollis</i> 'in post karakteri	11
Şekil 2.3 <i>A. flavicollis</i> 'in habitatı.....	12
Şekil 2.4 <i>A. flavicollis</i> 'te erkek ve dişi örneğin karyotipi	13
Şekil 2.5 Mader Adası'ndaki izole fare populasyonlarındaki coğrafik varyasyon	15
Şekil 2.6 Transisyon ve transversiyon tip mutasyonlar	16
Şekil 2.7 Mayozda homolog kromozomların bağımsız ayrılması	18
Şekil 2.8 Mayozda gerçekleşen crossing over mekanizması	19
Şekil 2.9 Mitokondrinin bölümleri ve TEM görüntüsü	26
Şekil 2.10 Hayvan mitokondriyal DNA'sının organizasyonu	27
Şekil 2.11 PZR'ın genel basamakları.....	30
Şekil 2.12 Denatürasyon	32
Şekil 2.13 Bağlanma	32
Şekil 2.14 Uzama	33
Şekil 2.15 Polimorfik mikrosatellit lokusları	37
Şekil 2.16 Replikasyon kayması sonucu mikrosatellitlerde oluşan mutasyon.....	38
Şekil 2.17 Eşit olmayan crossing over	39
Şekil 2.18 Bir populasyondaki homozigot ve heterozigot bireylere ait elektroforez jel görüntüsü.....	40
Şekil 2.19 a. Homozigot ve b. heterozigot bireylere ait örnek fragment analiz dosyası görüntüleri	41
Şekil 2.20 Zincir sonlanma yöntemi kullanılarak yapılan DNA dizi analizi	43
Şekil 2.21 DNA dizi analizi sonucu elde edilen örnek kromatogram dosyası.....	43
Şekil 2.22 Moleküler filogeni çalışmalarında izlenen temel basamaklar	47
Şekil 2.23 Filogenetik analizlerde kullanılan modeller.....	48
Şekil 3.1 Çalışmada kullanılan <i>A. flavicollis</i> örneklerinin toplandığı lokaliteler	49
Şekil 3.2 Sitokrom <i>b</i> bölgesinin PZR ile çoğaltılması sonucu ortaya çıkan jel görüntüsü.....	57
Şekil 3.3 GTTF9A lokusunun PZR ile çoğaltılması sonucu ortaya çıkan jel görüntüsü.....	60
Şekil 3.4 GTTD9A lokusunun PZR ile çoğaltılması sonucu ortaya çıkan jel görüntüsü.....	60
Şekil 4.1 Sitokrom <i>b</i> Türkiye haplotipleri ile Kimura 2 (K2P) parametresi temel alınarak oluşturulan Neighbour Joining ağacı.....	71

Şekil 4.2 Sitokrom <i>b</i> Türkiye haplotipleri ile GTR+G nükleotid değişim modeli temel alınarak oluşturulan Maximum Likelihood ağacı	72
Şekil 4.3 Sitokrom <i>b</i> Türkiye haplotipleri için TBR (Tree bisection-reconnection) yoluyla oluşturulan Maximum Parsimony ağacı.....	73
Şekil 4.4 Sitokrom <i>b</i> Genbank+Türkiye haplotipleri ile Kimura 2 (K2P) parametresi temel alınarak oluşturulan Neighbour Joining ağacı.....	74
Şekil 4.5 Sitokrom <i>b</i> Genbank+Türkiye haplotipleri ile GTR+G+I nükleotid değişim modeli temel alınarak oluşturulan Maximum Likelihood ağacı.....	75
Şekil 4.6 Sitokrom <i>b</i> Genbank+Türkiye haplotipleri ile TBR (Tree bisection-reconnection) yoluyla oluşturulan Maximum Parsimony ağacı.....	76
Şekil 4.7 Sitokrom <i>b</i> Türkiye haplotipleri ile oluşturulan Median-Joining ağacı.....	77
Şekil 4.8 Sitokrom <i>b</i> Genbank+Türkiye haplotipleri ile oluşturulan Median-Joining ağacı.....	78
Şekil 4.9 Evrimsel ayrılma zamanlarını ve ardıl olasılık değerlerini gösteren sitokrom <i>b</i> Genbank+Türkiye haplotipleri ile oluşturulan Bayesian ağacı	79
Şekil 4.10 Evrimsel ayrılma zamanlarını ve ardıl olasılık değerlerini gösteren Türkiye sitokrom <i>b</i> haplotipleri ile oluşturulan Bayesian ağacı	80
Şekil 4.11 <i>A. flavicollis</i> gruplarının <i>cyt-b</i> bölgesi uyumsuzluk dağılımı grafikleri	84
Şekil 4.12 Her bir lokus için belirlenen toplam allel sayısı grafiği.....	88
Şekil 4.13 Genetik mesafe (D_A) değerleriyle oluşturulan mikrosatellit NJ ağacı.....	96
Şekil 4.14 <i>A. flavicollis</i> bireyleri arasındaki ilişkileri gösteren FCA grafiği	97
Şekil 4.15 <i>A. flavicollis</i> populasyonları arasındaki ilişkileri gösteren FCA grafiği.....	98
Şekil 4.16 Evanno'nun (2005) ΔK grafiği	99
Şekil 4.17 K değerleri için ortalama Ln olasılıkları grafiği	99
Şekil 4.18 K=2 değerine göre oluşturulan STRUCTURE grafiği	100
Şekil 4.19 K=2 değerine göre oluşturulan Distruct grafiği	100
Şekil 4.20 Her bir popülasyondaki bireyin genetik yapısını gösteren BAPS grafiği.....	101
Şekil 4.21 Popülasyonların genetik yapısını gösteren BAPS grafiği.....	101
Şekil 5.1 Sitokrom <i>b</i> (sol) ve mikrosatellit veri setiyle oluşturulan NJ ağaçları.....	104
Şekil 5.2 Michaux vd.'nin (2004) çalışmasında <i>A. flavicollis</i> sitokrom <i>b</i> haplotipleriyle oluşturulan NJ ağacı.....	107

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1 Çalışmada kullanılan <i>A. flavicollis</i> örneklerine ait lokaliteler ve müze numaraları.....	50
Çizelge 3.2 Sitokrom <i>b</i> bölgesi analizlerinde kullanılan <i>A. flavicollis</i> GenBank örnekleri	52
Çizelge 3.3 Dış grup olarak kullanılan örnekler	53
Çizelge 3.4 Çalışmada kullanılan örneklerin DNA miktar ve saflık analizleri.....	55
Çizelge 3.5 Sitokrom <i>b</i> bölgesine ait PZR protokolü	57
Çizelge 3.6 PZR çalışmasıyla çoğaltılan mikrosatellit lokusları ve primer dizileri.....	58
Çizelge 3.7 MS Af-8 ve MS Af-22 lokuslarının çoğaltılmasında kullanılan PZR protokolü	59
Çizelge 3.8 GTTD9A, GACAA12A, GATAE10A, GTTF9A, GTTD8S lokuslarının çoğaltılmasında kullanılan PZR protokolü.....	59
Çizelge 4.1 <i>A. flavicollis</i> ve dış grupların <i>cyt-b</i> bölgesine ait haplotipler ve ait oldukları populasyon içindeki görülme sıklıkları.....	68
Çizelge 4.2 Nükleotidler arasındaki değişim oranları.....	70
Çizelge 4.3 <i>A. flavicollis</i> gruplarının sitokrom <i>b</i> dizilerine ait genetik çeşitlilik değerleri.....	81
Çizelge 4.4 K2P parametresine göre hesaplanan <i>A. flavicollis</i> gruplarına ait genetik mesafe değerleri.....	81
Çizelge 4.5 <i>A. flavicollis</i> Avrupa ve Asya gruplarının sitokrom <i>b</i> bölgesine ait AMOVA analiz değerleri	82
Çizelge 4.6 <i>A. flavicollis</i> grupları arasındaki <i>cyt-b</i> bölgesine ait fiksasyon indeksi ve gen akışı değerleri.....	82
Çizelge 4.7 <i>A. flavicollis</i> Trakya ve Anadolu gruplarının sitokrom <i>b</i> bölgesine ait AMOVA analiz değerleri	83
Çizelge 4.8 <i>A. flavicollis</i> gruplarının <i>cyt-b</i> bölgesi uyumsuzluk dağılımı sonuçları	83
Çizelge 4.9 <i>A. flavicollis</i> gruplarının <i>cyt-b</i> bölgesine göre yapılan nötralite testleri	85
Çizelge 4.10 Pseudogen bölgesine ait nükleotidler arasındaki değişim oranları	86
Çizelge 4.11 Onyedili populasyon ve 7 lokus için belirlenen null allel frekansları.....	87
Çizelge 4.12 Her bir populasyon ve lokus için belirlenen allel sayısı	88
Çizelge 4.13 Her bir populasyon ve lokus için hesaplanan ortalama allelik zenginlik değerleri	89
Çizelge 4.14 Özgün allellerin dağılımları ve frekansları	90
Çizelge 4.15 Her bir populasyon için hesaplanan genetik varyasyon değerleri	91
Çizelge 4.16 <i>A. flavicollis</i> Trakya ve Anadolu gruplarının mikrosatellit lokuslarına ait AMOVA analiz değerleri.....	92
Çizelge 4.17 Her bir populasyon için hesaplanan F_{IS} değerleri.....	93

Çizelge 4.18 Tüm populasyonlar için hesaplanan ikili fiksasyon indeksi (F_{ST}) değerleri	94
Çizelge 4.19 Tüm populasyonlar için hesaplanan ikili genetik mesafe (D_A) değerleri	95
Çizelge 5.1 <i>A. flavicollis</i> Trakya-Anadolu grupları için sitokrom <i>b</i> ve mikrosatellit verileriyle yapılan analizlerin karşılaştırılması.....	103



1. GİRİŞ

Anadolu; topografyası ve iklimindeki çeşitlilik bakımından benzersiz bir kara parçası olmakla birlikte küçük bir kıta olarak ta tanımlanabilmektedir (Asia Minor- Küçük Asya). Sıradağların, volkanların, ovaların, karstik platoların, göllerin, denizlerin ve akarsuların birbirlerine olan yakınlıkları, farklı iklim tiplerinin aynı zaman dilimi içinde yan yana görülmesini mümkün kılmaktadır. İklimdeki çeşitlilik ve topografya Türkiye'deki biyoçeşitliliğe iki şekilde yansımaktadır. Bunlardan ilki; doğal yaşam ortamlarının yani ekosistemlerin çeşitliliği (fundalıklar, bozkırlar, ormanlar, tuzcul göller gibi) iken, diğeri; diğer alanlardan fiziksel ve iklimsel olarak kopmuş alanların (yüksek dağ zirveleri, kapalı havza göller, derin nehir vadileri gibi) çeşitliliğidir. Diğer alanlardan kopmuş bu tip alanlarda zaman içerisinde iklimsel olarak, jeomorfolojik olarak ve toprak yapısı bakımından değişiklikler oluşması ile fiziksel yalıtımın etkisi daha da artmaktadır. Tüm bu coğrafi koşullar zaman içerisinde endemizmin oluşumuna neden olarak biyoçeşitliliği arttırmaktadır.

Genetik varyasyon, biyoçeşitliliğin devamlılığı açısından oldukça önemlidir. Habitat parçalanması ya da tahribatıyla küçülen popülasyonlar genetik sürüklenme, soy içi üreme gibi etkenlerle genetik varyasyonlarını kaybetme tehlikesi altındadırlar. Düşük genetik varyasyon, popülasyonları oluşturan bireylerin uyum gücü, hastalık ya da parazitlere karşı direnci, çevresel değişikliklere cevap oluşturma kabiliyetini düşürür. Dolayısıyla popülasyon bazında uyum gücü, dirençlilik ve uzun süreli adaptasyonda azalmaya yol açar. Biyoçeşitlilik kaybı; ekosistem tahribatı, ekolojik komünitelerin tahribatı, türlerin yok olması, popülasyon çeşitliliğinin azalması, lokal popülasyonları oluşturan bireylerdeki genetik varyasyonun kaybedilmesi şeklinde değişik seviyelerde kendini gösterir. Biyoçeşitlilik kaybı farklı seviyelerde değerlendirilse de aslında hepsi birbiriyle ilişkilidir. Bu nedenle biyoçeşitliliğin sürdürülmesi için tüm seviyelerde devamlılık önemlidir (Lacy 1997).

Biyoçeşitliliğin devamlılığı, genetik ve ekolojik olarak farklılaşmış popülasyonların varlığıyla mümkündür. Popülasyon yapısı, hem günümüzde işleyen süreçlerin hem de geçmiş süreçlerin bir bütünü olarak oluşmaktadır (Hewitt ve Butlin 1997). Moleküler

belirteçler kullanılarak populasyon büyüklüğünün, gen akışının, eş seçiminin, üreme başarısının belirlenmesi ile sürüklenme, yayılım, çiftleşme ve seçim gibi günümüz evrimsel süreçlerinin tanımlanması mümkün olmuştur. Günümüz süreçleri kadar uzak geçmişte meydana gelmiş olayların türlerin ve populasyonların genomları üzerine etkilerinin belirlenmesi de önemlidir (Hewitt 1999).

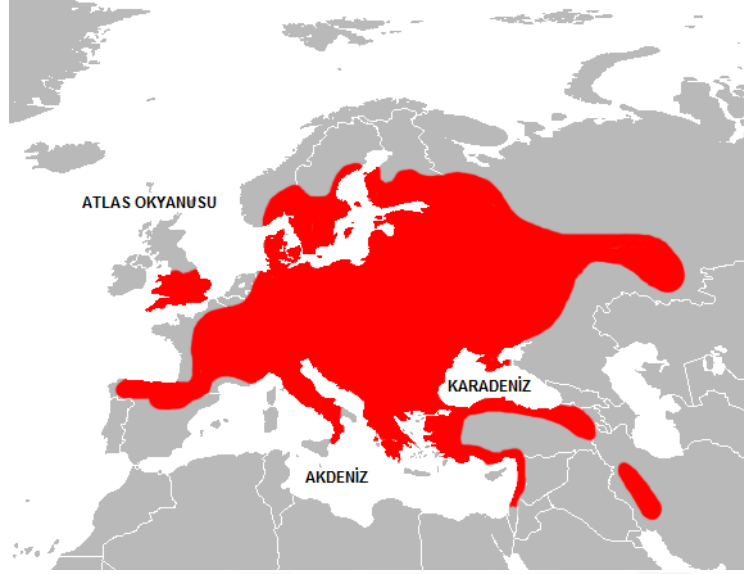
Türkiye, Palearktik Bölge (Orta ve Kuzey Asya+Avrupa+Kuzey Afrika) içerisinde yer aldığı için günümüz zoocoğrafik yapısı ve bileşimi Palearktik faunanın bir parçası olarak değerlendirilir. Paleontolojik veriler, Anadolu, Balkanlar, Ege Denizi ve Ortadoğu'yu kapsayan Doğu Akdeniz'in, Neojen/Tersiyer boyunca Asya, Avrupa ve Afrika arasında memeliler için bir değişim noktası ve önemli bir geçiş yolu olduğunu göstermektedir (Koufos vd. 2005). Bu bölge; özellikle Palearktik yüksek endemizme sahiptir (Krystufek vd. 2009). Doğu Akdeniz'in günümüz coğrafyası Orta Miyosen'den itibaren şekillenmeye başlamıştır ve bu bölgedeki birçok taksonun yayılımı Neojen'de gerçekleşen jeolojik olaylarla yakından ilişkilidir (Macey vd. 1998, Koufos vd. 2005).

Anadolu'nun esas şekillenmesi Akdeniz ve Ön Asya bölgesindeki plaka tektoniği sayesinde Geç Tersiyer'de (Miyosen+Pliyosen= Neojen) (22- 1.8 Myö) gerçekleşmiştir. Miyosen'de İran süturu boyunca gerçekleşen Arabistan-Avrasya Plaka'sının çarpışma sonucu birleşmesiyle Anadolu'nun topografik ve buna bağlı olarak biyolojik evrimleşmesi derinden etkilenmiştir. Doğu Anadolu bu çarpışmayla plato şeklinde yükselmiştir. Orta Miyosen'de su bağlantısı olmamakla birlikte Çanakkale ve İstanbul boğazı genel yapısını kazanmış, Ege Bölgesi yükselerek deniz geri çekilmiş, Geç Miyosen'de Anadolu bugünküne yakın bir şekil almıştır. Hatay'dan başlayan ve Binboğa, Munzur, Kargapazarı, Allahuekber Dağları ile devam eden Anadolu Diyagonalı, Miyosen sonunda ortaya çıkmıştır. Orta Pliyosen'de Çanakkale ve İstanbul Boğazları'nın bulunduğu yerlerdeki nehirler erozyonla derin vadiler açmış ve burada geçici su bağlantısının oluşmasını sağlamıştır. Neojen'de şekillenen Anadolu'nun günümüz tektoniği ise Kuvaterner'deki (Pleistosen+Holosen) (1.81 Myö-günümüz) sürecin devamıdır. Tersiyer'in erken dönemlerinden itibaren gerçekleşen topografik yapıdaki değişim ve buna bağlı olarak Kuzey ve Güney Anadolu sıradağlarının oluşumu, Anadolu diyagonalı ve devamı olarak Kafkas Dağları, batıda Anadolu'yu

enlemesine bölen Batı Anadolu Dağları ve özellikle Kuvaterner’de meydana gelen dört büyük buzul devri Türkiye flora ve faunasının oluşumuna zemin hazırlayan etkenlerdir (Demirsoy 2007).

Memeliler üzerinde yapılan çeşitli moleküler filogenetik çalışmalar, mevcut türlerin günümüzdeki yayılışlarının belirlenmesinde son 10-20 milyon yılın oldukça önemli olduğunu ortaya koymuştur (Serizawa vd. 2000, Michaux vd. 2002, 2003, 2004, Suzuki vd. 2003, 2004). Spesifik ekolojik habitat tercihi olan küçük memeliler üzerine yapılan moleküler çalışmalar, mevcut flora ve faunanın günümüze kadar nasıl geldiğinin anlaşılması bakımından önemli ipuçları verir. Bunun yanında, Tersiyer’in sonlarında ve Kuvaterner’de meydana gelen çevresel değişikliklerin hayvan soylarının farklı alanlar ve kıtalar arasındaki hareketleri üzerine etkilerinin anlaşılması için faydalıdır. Türleşme olayı üzerinde etkili olan faktörler mutlaka biyocoğrafik bir perspektif ile değerlendirilmelidir. Avrasya’daki en yaygın kemiricilerden biri olan *Apodemus* cinsi, pek çok farklı memeli grubu arasında biyocoğrafik çalışmalar için en uygun olanlardan biridir (Suzuki vd. 2008).

Apodemus cinsine ait türler Palearktik Bölge’nin ılıman zonunda bulunan en yaygın kemiricilerdir. Cinse ait yarısı Asya’da, diğer yarısı Avrupa’da yayılış gösteren 20’den fazla tür bulunmaktadır. Batı Palearktik’te yayılış gösteren sarı yakalı orman faresi olarak ta bilinen *Apodemus flavicollis* bu türlerden biridir. *A. flavicollis* batıda İngiltere’den doğuda Urallar’a ve Kafkaslar’a kadar geniş bir alanda yayılış gösterir (Şekil 1.1). Yaşam alanı olarak yağış alan ve yapraklarını döken ormanları ve çalılık alanları tercih eder (Krystufek ve Vohlarik 2009). Türkiye’de *A. flavicollis*’e ait 2 alttür; *A. f. saturatus* Neuhauser tarafından 1936’da Rize’de ve Doğramacı tarafından 1974’te Doğu Karadeniz’de (Artvin, Rize, Trabzon), *A. f. brauneri* ise Doğramacı tarafından 1974’te Trakya’da (Edirne, Kırklareli, Çanakkale) ve Anadolu’nun değişik bölgelerinde (Bolu, Akçakoca, Bursa, İstanbul, Trabzon, Zonguldak, Bartın) kaydedilmiştir.



Şekil 1.1 *A. flavicollis*'in Batı Palearktik'teki yayılış alanı (https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Mapa_Apodemus_flavicollis.png, 2015a)

A. flavicollis'in Batı Palearktik ve Yakın Doğu bölgelerini kapsayan geniş yayılış alanı ve kolay yakalanmasının yanında, *Apodemus* cinsine ait bol miktarda fosil verisi sayesinde türün evrimsel geçmişi de iyi bilinmektedir (Michaux ve Pasquier 1974, Serizawa vd. 2000, Suzuki vd. 2000, Michaux vd. 1997, 2002, 2004). Bu nedenle bu cins için moleküler saat kalibrasyonu yapmak mümkün olmuştur. *A. flavicollis*'in Batı Palearktik'te yaklaşık 3 milyon yıldır yayılış gösteren bir orman türü olması; türün ormanlık alanlar gibi, Kuvaterner buzul dönemleri boyunca yayılış alanında önemli dalgalanmalara maruz kalarak hayatta kalmış olması ihtimalini akla getirmektedir (Michaux vd. 2004).

A. flavicollis'e ait tür içi genetik farklılaşma ve filogenetik ilişkiler ile diğer *Apodemus* türleri ile *A. flavicollis* arasındaki genetik farklılaşma pek çok araştırmacı tarafından hem biyokimyasal hem de moleküler belirteçler kullanılarak belirlenmiştir (Makova vd. 2000, Macholan vd. 2001, Marsh vd. 2001, Filipucci vd. 2002, Juskaitis 2002, Michaux vd. 2001, 2002, 2004, 2005, Axtner ve Sommer 2009, Gornung vd. 2009, Kozakiewicz vd. 2009, Adnadevic vd. 2012, Bugarski-Stanojevic vd. 2011, 2013, Krystufek vd. 2012, Jojic vd. 2014, Gortat vd. 2010, 2015, Darvish vd. 2015).

Gortat vd. (2010) Polonya’da *A. flavicollis*’in genetik yapısı ve yayılışı üzerine yaptığı çalışmada, ekolojik bariyerlerin hayvan populasyonları üzerine etkilerini incelemiştir. Ekolojik bariyerler birbirinden izole olmuş habitat parçaları oluşumuna yol açar, hayvanların bu habitatlar arasındaki hareketini engelleyerek populasyonların alt populasyonlar şeklinde bölümlenerek genetik farklılaşmasına zemin yaratır. Yapılan çalışmalar otoyollar ve nehirler gibi habitat bariyerlerinin kemirici populasyonlarını farklı genetik gruplara ayırdığını göstermektedir (Aars vd. 1998, Gerlach ve Musolf 2000). Ancak habitat çeşitliliğinin tek başına, genetik çeşitliliğin ve lokal populasyonlardaki bireysel ekolojik tercihin oluşması ve sürdürülmesine yol açıp açmadığı bilinmemektedir. Lokal populasyonlar arasındaki gen akışının sınırlanması, populasyon içindeki genetik varyasyonun azalmasıyla sonuçlanmaktadır. Yüksek hareket kabiliyetine sahip bireylerden oluşan populasyonlar habitat bariyerlerini kolaylıkla geçebilirler ve parçalanmış habitatlarda yaşasalar dahi uzun vadede genetik varyasyonlarını koruyabilirler. Düşük hareket kabiliyetine sahip bireylerden oluşan populasyonlarsa habitat bariyerlerince daha fazla sınırlanmaya ve genetik sürüklenmeye uğramaya daha meyillidirler. Orta Avrupa’nın ormanlık kesimlerinde en yaygın kemirici türleri; düşük hareket kabiliyetine sahip *Myodes glareolus* ve daha aktif ve bariyerleri kolaylıkla geçebilmesiyle bilinen *A. flavicollis*’tir. Gortat vd. (2010) habitat parçalanmasına maruz kalan bölgelerden *A. flavicollis* örnekleriyle çalışmışlar ve 654 örneğin 7 mikrosatellit lokusunu incelemişlerdir. Çalışmada; populasyonların düşük genetik varyasyona sahip olduğu, su bariyerinin (göl) populasyonlar arası gen akışını engellediği belirlenmiştir. Buna göre, coğrafik mesafenin tek başına populasyonların genetik yapısını etkileyen bir faktör olmadığı, bariyerlerin ve parçalanmış habitatların bireylerin hareketini engelleyerek lokal populasyonlar arası gen akışını sınırlamasında daha önemli bir rol oynadığı sonucuna varılmıştır.

Avrupa’da yapılan çeşitli filocoğrafik çalışmalarda (Taberlet vd. 1998, Hewitt 1999, 2001, Michaux vd. 2003) memeli türlerinin büyük bölümünün Kuvaterner buzul dönemi boyunca İber Yarımadası, İtalya-Balkanlar gibi Akdeniz sığınaklarında hayatta kaldığı belirtilmektedir. Son buzul dönemi sona erince (yaklaşık 16 bin yıl önce) bu bölgelerden Kuzey Avrupa’ya yayılmışlardır (Hewitt 2001, Michaux vd. 2003).

Anadolu, Kafkaslar ve Ural Dağları'nın güney bölümünün ise doğu sığınakları olduğu belirtilmiştir (Hewitt 1999, Michaux vd. 2004, Dubey vd. 2006).

Michaux vd. (2004) tarafından yapılan kapsamlı filocoğrafya çalışmasında, buzul sığınaklarının lokasyonu ve Avrupa memelilerinin buzul sonrası dönemdeki yayılışlarının tam olarak belirlenemediği, bundan dolayı Türkiye'nin de içinde bulunduğu Batı Palearktik Bölge'de yapılacak çalışmalara ihtiyaç duyulduğu belirtilmektedir. Çalışmada; *A. flavicollis* populasyonlarının Kuvaterner buzul dönemi boyunca Akdeniz sığınakları, Kafkaslar ve Güney Urallar gibi doğu sığınakları veya Orta Avrupa sığınaklarından hangisini kullandığı ve Türkiye ve Yakın Doğu bölgesinin buzul dönemindeki rolünün ne olduğu gibi sorulara cevap aranmıştır. Buna göre, *A. flavicollis* buzul dönemi boyunca İtalya-Balkan ve Türkiye-Yakın Doğu olmak üzere iki bölgede hayatta kalmış, buzul döneminin sona ermesiyle İtalya-Balkan bölgesinden tüm Avrupa'ya yayılmıştır. Türkiye ve Yakın Doğu populasyonları ise Avrupa populasyonlarından ayrı kalmış ve Palearktik Bölge'ye yayılamamıştır. Bunun nedeni olarak; Karadeniz ve Kafkaslar'ın Türkiye ve Yakın Doğu populasyonlarının yayılışını engelleyen bir fiziksel bariyer görevi yapması ve sınırlı sayıda örnek bu bariyerleri aşma başarısı gösterse bile Balkanlar'da uzun süredir varlık gösteren *A. flavicollis* populasyonlarınca Avrupa'ya yayılışlarının engellendiği düşünülmektedir. Böylece Türkiye-Yakın Doğu populasyonları genetik olarak Avrupa populasyonlarından farklılaşmıştır hatta farklı alttürler olarak değerlendirilmeleri mümkündür. Bu sonuç Palearktik memelileri için sığınak görevi yapan Türkiye, Yakın ve Orta Doğu bölgelerinin önemini belirtmektedir.

Çolak vd. (2005), Trakya Bölgesi'nden *A. flavicollis*, *A. sylvaticus* ve *A. agrarius* örneklerinin morfometrik, karyotipik ve elektroforetik analizini yapmış, morfometrik analizle birbirlerinden ayıramayan *A. flavicollis* ve *A. sylvaticus* örnekleri elektroforetik analizle ayrılmıştır. Çolak vd. (2007) tarafından yapılan daha kapsamlı bir diğer çalışmada ise *Apodemus* cinsinin Türkiye genelindeki yayılışı, morfometrik ve biyokimyasal varyasyonları belirlenmiştir. Çalışma sonuçlarına göre Türkiye'de *Apodemus* cinsine ait; *A. mystacinus*, *A. sylvaticus*, *A. flavicollis*, *A. agrarius*, *A. uralensis* ve *A. witherbyi* olmak üzere 6 tür yayılış göstermektedir. Bu türlerden *A.*

sylvaticus ve *A. agrarius* sadece Trakya’da, *A. witherbyi* Güneydoğu Anadolu ve Trakya hariç tüm Türkiye’de, *A. flavicollis* tüm Türkiye’de (Orta ve Doğu Anadolu’da nadiren), *A. uralensis* Marmara ve Batı Karadeniz Bölgesi’nde ve *A. mystacinus* Anadolu’da yayılış göstermektedir. Çalışma sonuçlarına göre *A. flavicollis*, *A. uralensis* ve *A. witherbyi*’nin simpatrik yayılış gösterdiği, allozim analizlerine göre *A. flavicollis*’e genetik olarak en yakın türün *A. witherbyi*, en uzak olanınsa *A. mystacinus* olduğu belirlenmiştir. Helvacı vd. (2013) tarafından Doğu Karadeniz Bölgesi’nde yayılış gösteren *A. mystacinus*, *A. flavicollis*, *A. uralensis* ve *A. witherbyi* örnekleriyle yapılan morfometri çalışmasıyla Çolak vd.’nin (2007) allozim bulguları desteklenmiştir.

Literatürde Türkiye’den *A. flavicollis*’e ait çalışmalar bulunsa da mitokondriyal ve çekirdek DNA temelli belirteçlerin kullanıldığı çalışma eksikliği açıktır. Michaux vd. (2004) tarafından da özellikle belirtildiği gibi Batı Palearktik’te yapılacak çalışmalar Avrupa memeli faunasının yayılışının belirlenmesinde önem taşımaktadır. Özellikle Kuvaterner buzul dönemlerinde karasal türler için sığınak olarak (gen merkezi) görev yaptığı düşünülen Anadolu’dan *A. flavicollis* örnekleriyle yapılacak çalışmalar Avrupa memeli faunasına ait filocoğrafya çalışmaları için değerli bilgiler sunacaktır.

Bu tez çalışması kapsamında Anadolu ve Trakya’dan toplam 17 lokaliteden *A. flavicollis* populasyonlarında genetik varyasyon seviyesi mitokondriyal (sitokrom *b*) ve çekirdek DNA (mikrosatellitler) belirteçleri kullanılarak belirlenmiştir. Asya ve Avrupa kıtaları arasında karasal canlılar için önemli bir geçiş yolu olan Türkiye’de iki kıta arasında karasal bağlantıyı kesen ve biyocoğrafik bariyer olarak bilinen İstanbul ve Çanakkale Boğazları’nın Türkiye *A. flavicollis* populasyonlarının genetik yapısı üzerine etkileri değerlendirilmiştir (Kosswig 1955). *A. flavicollis*’in gruplar (Trakya-Anadolu), populasyonlar ve bireyler arası genetik çeşitlilik ve farklılaşma seviyeleri ile filogenetik ilişkileri belirlenmiş, bu farklılaşmaya yol açan evrimsel süreçler değerlendirilmiştir. Bunlara ek olarak, daha önce morfolojik analizler aracılığıyla belirlenmiş alttürlerin geçerliliği tartışılarak *A. flavicollis*’in Türkiye’deki taksonomik durumu değerlendirilmiştir.

2. KURAMSAL TEMELLER

Regnum : Animalia

Classis : Mammalia

Subclassis: Eutheria

2.1 Ordo: Rodentia

İki binden fazla türe sahip olan kemiriciler, memelilerin en geniş takımı olup, günümüz memelilerinin yarısı bu takıma aittir. Antarktika hariç tüm kıtalarda yayılış gösterirler. Yaşam alanı olarak karasal alanlar, toprak altı, ağaçlar, yarı sucul habitatlar gibi çok değişik alanları tercih edebildikleri gibi insanlarla ortak olarak ta yaşayabilirler (Wolff ve Sherman 2007).

En önemli özellikleri diş yapılarıdır. Her çene yarısında kemirmeye uyumlu tek bir köksüz kesici diş vardır. Sürekli büyüme yeteneğinde olan kesici dişler çıkarılırsa yerlerine yenisi çıkmaz veya tek biri çıkarılacak olursa karşısındaki sürekli büyüyerek hayvanın ölümüne neden olur. Köpek dişleri ve premolarları bulunmaması nedeniyle çenelerinde *diastema* olarak adlandırılan geniş boşluklar bulunur (Demirsoy 1996).

Kemiriciler omnivor ya da herbivor beslenirler. Bazı türlerinde besinin toplanmasına yarayan yanak keseleri bulunur. Basit bir mideye ve uzun kör bağırsaklara sahiptirler. Kuyrukları uzundur, tırnaklar toprak altında tüneller kazarak yaşayanlar türlerde gelişmiştir. Gözlerin büyüklüğü yaşam biçimine bağlı olarak değişebilir. Örneğin, toprak altında yaşayanlar oldukça küçülmüş gözlere sahipken bazı türlerde deri altında kalarak körelmiştir. Gececi türler ise oldukça büyük gözlere sahiptir. Gözler başın yan taraflarında bulunduğu için hem önü hem de arkayı iyi bir şekilde görebilirler. Suda yaşayanlarda ise gözler başın üst kısmında yer alır. Kulaklar da gözler gibi yaşam biçimine bağlı olarak değişiklik gösterir. Toprak altında ve suda yaşayanlarda hayli küçülmüştür. Kemirici türlerinin bir bölümünde koku alma duyusu iyi gelişmişken, bir bölümünde ise baş, burun, ön üyeler ve göğüs üzerindeki dokunma kılları sayesinde, dokunma duyusu da oldukça iyi gelişmiştir. Beyinleri basit yapılı ve az girintilidir.

Gebelik süresi 14 ile 170 gün arasında değişir. Çoğunlukla yılda birden fazla doğum yapar, bir doğumda 1-18 yavru verirler. Küçük kemiricilerin ömrü iki yıldan azdır. Çok iyi sıçrar, koşar, tırmanır ve yüzerler. Çok çeşitli koşullarda yaşayabilir ve değişen koşullara çok kısa sürede uyum sağlayabilirler (Kuru 2009).

Kemiriciler insanların besinleri, tahta, kâğıt, deri, yer altı kabloları gibi yapılara kemirerek zarar vermeleri ve hastalık taşıyıcıları olmaları açısından da önemlidirler. Çok hızlı şekilde üremeleri ve genetik yapı bakımından insanlara çok benzemeleri nedeniyle deney hayvanı olarak laboratuvarlarda geniş bir kullanım alanları vardır. Pek çok karnivor türün besinini oluşturmak suretiyle doğal dengenin oluşması bakımından da önemlidirler (Kuru 2009).

2.2 Familya: Muridae

Yaklaşık 100 cins, 370 tür ve 1500 alttürle temsil edilen familyanın üyeleri dünyanın her tarafında yaşar. Derileri, yumuşak ya da kalın ve kısa sert kıllarla örtülüdür. Kuyrukları genelde vücuttan daha uzun, çıplak ve üzeri pullarla örtülü olduğu gibi seyrek kıllarla kaplı da olabilir. Kuyruk, tırmanma ve sucul türlerde dümen aracı olarak kullanılır. Her türlü bitkisel ve hayvansal besinle beslenirler. En dar yerden geçebilir, geçemedikleri yerleri kemirerek genişletirler. Üreme yetenekleri çok yüksek olup, her türlü çevre koşuluna en iyi uyum sağlayan memelilerdir (Kuru 2009).

2.3 Genus: *Apodemus* Kaup, 1829

Palearktik Bölge'de yayılış gösteren *Apodemus* cinsine ait türler küçük ve orta büyüklükteki farelerdir. Bunlar, dişteki enamel katlanma biçimi, tutunucu özellikte olmayan kuyruk ve normal bir kafatası ile karakterize edilirler. Büyük gözler ve kulaklara sahiptir. Kürk rengi genelde dorsalde belirgin sarıyla karışmış koyu kahverengi ve ventralde solgun gridir. Kürkleri genellikle yumuşaktır ve kuyrukları ince kıllarla kaplıdır. *Apodemus* türleri 16 adet dişe sahip olup diş formülleri $i \ 1/1 \ c \ 0/0 \ pm \ 3/3$ şeklindedir. Çok hareketli olup iyi tırmanır ve sıçrarlar. Genellikle gece aktiftirler.

Çoğalma hızları yüksektir. Tohum, böcek, salyangoz ve omurgalılarla beslenirler (Demirsoy 1996).

Apodemus cinsi Zimmerman (1962) tarafından; Orta Avrupa'dan Doğu Asya'ya kadar yayılış gösteren *Apodemus*, Batı Palearktik'te yayılış gösteren *Sylvaemus* ve Doğu Palearktik'te yayılış gösteren *Alsomys* olmak üzere toplam 3 altcins ayrılmıştır. Daha sonra Musser vd. (1996) *Apodemus-Sylvaemus* taksonomik problemlerini dikkate alarak cinsi ***Slyvaemus*** (*Apodemus sylvaticus*, *Apodemus flavicollis*, *Apodemus uralensis*, *Apodemus mystacinus*, *Apodemus fulvipectus*, *Apodemus witherbyi*, *Apodemus alpicola*, *Apodemus arianus*, *Apodemus hyrcanicus*, *Apodemus ponticus*, *Apodemus rusiges*, *Apodemus wardi*), ***Apodemus*** (*Apodemus agrarius*, *Apodemus chevrieri*, *Apodemus speciosus*, *Apodemus peninsulae*, *Apodemus latronum*, *Apodemus draco*, *Apodemus semotus*, *Apodemus gorkha*) ve ***Argenteus*** (*Apodemus argenteus*) olmak üzere 3 altcins ayırmıştır. Mitokondriyal DNA (sitokrom *b* bölgesi) ve nükleer DNA (IRBP geni) analizlerine dayanarak yapılan moleküler filogeni çalışmalarına göre; *Slyvaemus*, *Apodemus*, *Apodemus argenteus* ve *Apodemus gorkha* olmak üzere 4 farklı grup belirlenmiştir (Serizawa vd. 2000, Michaux vd. 2002, Suzuki vd. 2003). Bu gruplandırma her ne kadar Musser vd.'nin (1996) sınıflandırmasıyla karşılaştırılabilir olsa da *A. mystacinus*, zaman zaman *Karstomys* altcinsi altında diğer türlerden ayrı olarak sınıflandırılabilmektedir (Michaux vd. 2002, Suzuki vd. 2008).

Cinsin Türkiye'de yaşayan altı türü mevcuttur. Bunlar *A. mystacinus*, *A. sylvaticus*, *A. flavicollis*, *A. agrarius*, *A. uralensis* ve *A. witherbyi*'dir (Filipucci vd. 1996, Macholan vd. 2001, Çolak vd. 2007, Krystufek ve Vohlarik 2009).

2.4 Species: *Apodemus flavicollis* (Melchior, 1834)

Tip yeri Sielland, Danimarka olan *A. flavicollis* Güneydoğu Anadolu ve İç Anadolu hariç tüm Türkiye'de yayılış göstermektedir (Şekil 2.1). Batıda İngiltere'den doğuda Urallar'a ve Kafkaslar'a kadar yayılış gösterir. Sarı yakalı (boyunlu) orman faresi olarak ta bilinir. Boyları 9-12, kuyrukları 9.5-13.5 cm, ağırlıkları 20-50 gr kadardır. Morfolojik olarak diğer *Apodemus* türlerinden; kürk renginin vücudun alt kısmında daha açık renk

olması, sırt kısmının renk olarak karın kısmından daha belirgin şekilde farklı olması, kuyruğun baş ve gövdeden daha uzun olması ve arka ayak uzunluğunun 24 mm'den fazla olmaması ile ayrılırlar. Sarı göğüs beneği daha geniştir. Dorsal kürk rengi, açık kıızıdan, koyu griye kadar farklı renklerde olabilir. Yüz bölgesi dorsal kürkle aynı renktedir. Kuyruk iki renklidir, alt kısmı ventral, üst kısmı dorsal kürkle aynı renktedir, karın kürkü ise kirli beyaz renktedir. Göğüs beneği genelde belirgin olmakla beraber çok çeşitlilik göstermektedir; küçük benekli ya da beneksiz bireyler de mevcuttur. Ön ve arka ayakların üst kısmı kısa ve kirli beyaz kıllarla kaplıyken ayak tabanları çıplaktır (Demirsoy 1996, Demirsoy vd. 2006) (Şekil 2.2).



Şekil 2.1 *A. flavicollis*'in Türkiye'deki yayılış alanı (Krystufek ve Vohlarik 2009)



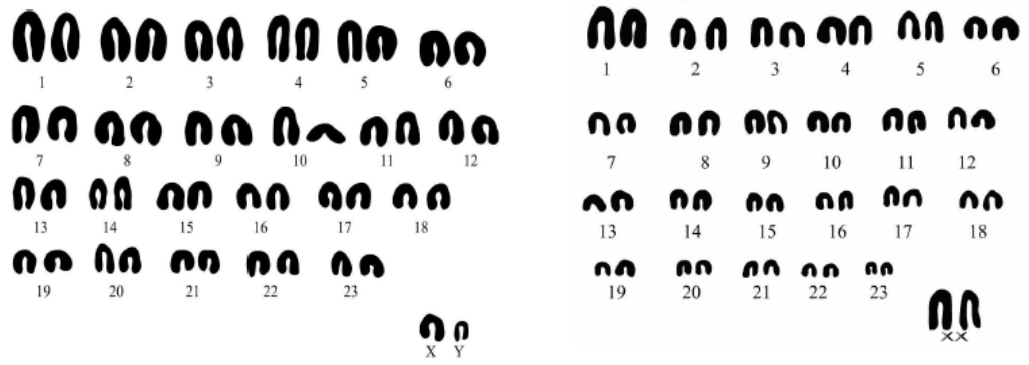
Şekil 2.2 *A. flavicollis*'in post karakteri (Foto: P. Paolucci)

Yaşam alanı olarak yağış alan ve yapraklarını döken ormanlar ile çalılık alanları tercih eder, nadiren kayalıklarda da bulunur (Şekil 2.3). Sıcağı çok sevmeyen *A. flavicollis*, yuvasını köklerin arasında gölge yerlerde yapan gececil bir türdür. Üreme ayları Mart-Eylül arasında olup bir doğumda ortalama dört yavru meydana getirir (Demirsoy 1996, Demirsoy vd. 2006).



Şekil 2.3 *A. flavicollis*'in habitatı (Rize)

A. flavicollis'in diploid kromozom sayısı $2n = 48$, otozomal kol sayısı $NFa = 46$ ve temel kromozom sayısı $NF = 48$ 'dir. Bütün otozomlar akrosentriktir, X kromozomu büyük akrosentrik, Y kromozomu ise küçük akrosentriktir (Şekil 2.4) (Demirsoy vd. 2006).



Şekil 2.4 *A. flavicollis*'te erkek ve dişi örneğin karyotipi

Türkiye'de *A. flavicollis*'e ait iki alttür kaydedilmiştir. *A. f. saturatus* Doğu Karadeniz'de, *A. f. brauneri* ise Trakya'da ve Anadolu'nun değişik bölgelerinde (Bolu, Akçakoca, Bursa, İstanbul, Trabzon, Zonguldak, Bartın) kaydedilmiştir (Neuhauser 1936, Doğramacı 1974).

2.5 Populasyon Genetiği

Populasyon, aynı coğrafik bölgede yaşayan ve aralarında çiftleşerek verimli döller oluşturabilen aynı türe ait bireylerden oluşan gruptur. Populasyon genetiği alanında, populasyon içindeki ve populasyonlar arasındaki genetik varyasyon ve bu varyasyonların zaman içinde nasıl değiştiği incelenir. Genetik varyasyon (çeşitlilik), genel anlamda, farklı bireylere ait DNA sekansları arasındaki farklılıklar olarak tanımlanır. Her birey kendine özgü genotipik ve fenotipik özellikler sergiler. Bireysel varyasyon tüm türlerde gözlenmektedir. Genetik yapıdaki değişikliklerin bir populasyonun evrimine temel oluşturması nedeniyle populasyon genetiği, evrimsel biyoloji açısından önemlidir (Klug vd. 2011, Reece vd. 2013).

2.5.1 Bir populasyon içindeki varyasyon

Bir populasyonda değişiklik gösteren karakterler ayırık ya da niceldir. Mendel'in bezelye bitkilerindeki mor ya da beyaz çiçek rengi gibi ayırık karakterler o ya da bu temelinde gruplandırılır yani her bitkideki çiçekler ya mor ya da beyazdır. Ayırık karakterlerin çoğu farklı fenotipleri meydana getiren farklı allelleri içeren tek bir gen

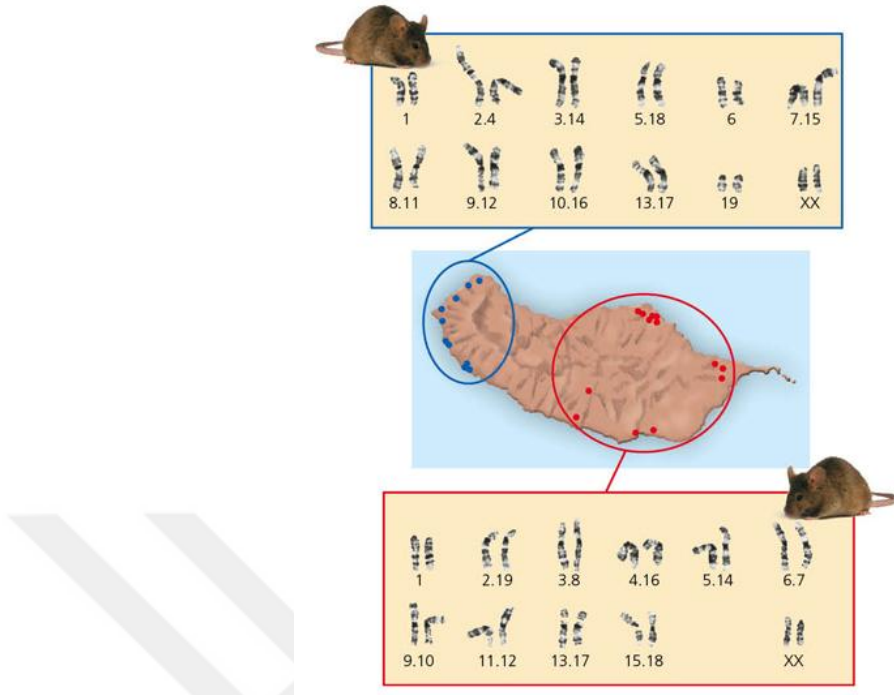
lokusu ile tanımlanır. Ancak pek çok kalıtsal varyasyon populasyon içinde nicel karakterlere sahiptir. Kalıtılabilen nicel varyasyon iki ya da daha fazla genin tek bir fenotipik karakteri belirlemesi durumunda ortaya çıkar.

Ayrık ve nicel karakterler için belirli bir populasyondaki genetik varyasyon miktarını belirlemek gerekmektedir. Genetik varyasyon; gen düzeyinde (gen çeşitliliği) ve DNA'nın moleküler düzeyinde (nükleotid çeşitliliği) ölçülebilir. Gen çeşitliliği, heterozigot lokusların ortalama oranı olan “ortalama heterozigotluk” olarak ta adlandırılabilir. Örneğin sirke sineği, *Drosophila melanogaster* ortalama olarak 13700 lokusun 1920'si bakımından heterozigottur. Buna göre bir sirke sineği populasyonundaki ortalama heterozigotluğun %14 olduğunu söylenebilir.

Nükleotid çeşitliliğini ölçmek için, bir populasyondaki iki farklı bireyin DNA sekansları karşılaştırılmakta, daha sonra tüm bireyler için bu işlem yapıp karşılaştırmaların ortalaması alınmaktadır. Genomu yaklaşık 180 milyon nükleotidden oluşan iki sirke sineğine ait DNA dizileri karşılaştırması sonucu ortalama 1.8 milyon nükleotidde değişiklik gözlenmiştir. Buna göre sirke sineği populasyonunda nükleotid değişkenliği %1'dir (Reece vd. 2013).

2.5.2 Populasyonlar arasındaki varyasyon

Türler, bir populasyon içinde gözlenen varyasyona sahip oldukları gibi, farklı populasyonları arasında da genetik yapı bakımından varyasyon –diğer bir deyişle coğrafik varyasyon- gösterebilirler. Örneğin Atlantik'in Mader Adası'ndaki dağlarla birbirinden ayrılan fındık faresi (*Mus musculus*) populasyonlarındaki coğrafik varyasyon buna güzel bir örnektir (Şekil 2.5). Onbeşinci yüzyılda Portekiz'den gemilerle yanlışlıkla adaya getirilen farelerden, çok sayıda fare populasyonu birbirinden izole şekilde evrimleşmiştir. Araştırmacılar birbirinden izole olmuş bu populasyonların karyotiplerinde (kromozom takımları) farklılıklar tespit etmişlerdir. Bazı populasyonlarda birtakım kromozomların kaynaşmış olduğu belirlenmiştir. Kromozom seviyesindeki bu değişiklikler genleri etkilemediğinden, farelerin fenotipinde değişikliğe sebep olmamıştır.



Şekil 2.5 Mader Adası’ndaki izole fare populasyonlarındaki coğrafik varyasyon (Reece vd. 2013)

Coğrafik varyasyonun bir diğer tipi, bir coğrafik eksen boyunca belirli bir karakterdeki kademeli değişim anlamına gelen “klin” şeklinde görülebilir. Bazı klinal varyasyonlar, örneğin sürü balığında (*Fundulus heteroclitus*) soğuğa dayanıklılık alleli frekansına sıcaklığın etkisi gibi bir çevresel değişkenin kademeli etkisiyle de ortaya çıkabilir (Reece vd. 2013).

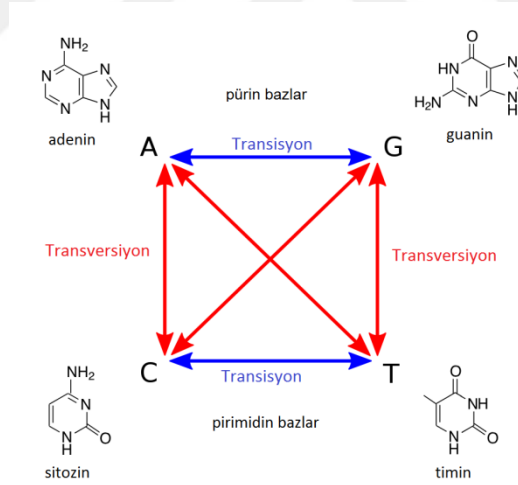
2.5.3 Genetik varyasyonun kaynakları

Genetik varyasyon; mutasyon ve rekombinasyon olmak üzere iki mekanizma tarafından oluşturulur.

Mutasyon: Mutasyon, DNA dizisindeki bir değişikliktir. Bir DNA molekülünün herhangi bir yerindeki bir baz çifti değişikliği mutasyon olarak değerlendirilebilir. Mutasyon, bir baz çifti değişimi, insersiyonu ya da delesyonu olabildiği gibi kromozomun yapısındaki önemli bir değişim de olabilir.

Bir DNA molekülünde bir nükleotid çiftinin diğer bir nükleotid çiftine dönüşümü *nokta mutasyonu* olarak adlandırılır. Eğer nükleotid değişmesi, bir genin protein kodlayan kısmındaki bir kodonda gerçekleşirse, farklı bir aminoasit oluşabilir. Bu durum *yanlış anlamlı mutasyon* olarak isimlendirilir. Diğer bir olasılık ise kodonun bir dur (stop) kodonuna dönüşmesi ve translasyonun zamanından önce sonlanmasına neden olacaktır. Sonuç olarak daha kısa bir polipeptid oluşur. Bu tip mutasyonlar *yanlış anlamlı mutasyon* olarak adlandırılır. Eğer nokta mutasyonu bir kodonu değiştirir ancak aminoasit değişikliğine neden olmazsa bu durum da *sessiz mutasyon* olarak adlandırılır (Klug vd. 2011).

Nükleotid yer değiştirmesi bir pürinin (adenin, guanin) diğer bir pürin baza ya da bir pirimidinin (sitozin, timin) diğer bir pirimidine dönüşmesi şeklindeyse *transisyon* (geçiş), eğer bir pürin baz bir pirimidine ya da bir pirimidin baz pürin baza dönüşür ise *transversiyon* (değişim) adını alır (Freeland 2005) (Şekil 2.6).



Şekil 2.6 Transisyon ve transversiyon tip mutasyonlar

Diğer bir değişiklik tipi, gen içinde bir noktaya bir ya da daha fazla nükleotidin girmesi (insersiyon) veya çıkmasıdır (delesyon). Tek bir nükleotidin kaybedilmesi ya da kazanılması, sonraki tüm kodon üçlülerindeki değişime, dolayısıyla translasyon sırasında üçlü okuma çerçevesinin değişimine neden olur ki bu da *çerçeve kayması mutasyonu* olarak adlandırılır. Üçün katları dışında herhangi bir sayıda baz eklenir ya da çıkarılırsa çerçeve kayması mutasyonları oluşur. Gen mutasyonlarından farklı olarak,

toplam kromozom sayısındaki değişimler, gen ya da kromozom parçalarında delesyonlar, duplikasyonlar ve aynı kromozom içinde ya da kromozomlar arasında genetik materyalin yeniden düzenlenmesi şeklinde görülen modifikasyonlar ise *kromozomal mutasyonlardır* (Klug vd. 2011).

Mutasyonların büyük bölümü replikasyon hatalarından ve baz modifikasyonlarından kaynaklanmaktadır. Replikasyon sırasında iki DNA zincirinin arasındaki hidrojen bağları kırılarak her biri yeni sentezlenen zincir için kalıp görevini görecektir iki bağımsız zincir oluşur. Replikasyonun sentez yönü 5'-3' şeklindedir. Yeni sentezlenen zincire kalıp zincirle komplementer oluşturacak şekilde nükleotidleri takan DNA polimeraz enziminin yaptığı hata sonucu yanlış nükleotid yerleştirilebilir. Eğer bu replikasyon hatası DNA tamir mekanizmalarınca tanınıp düzeltilmezse mutasyona yol açabilir. Bu tip replikasyon hataları çoğunlukla nokta mutasyonuna yol açar. Nokta mutasyonlarına ek olarak DNA replikasyonu insersiyon ya da delesyonlara da neden olabilir (Freeland 2005, Klug vd. 2011).

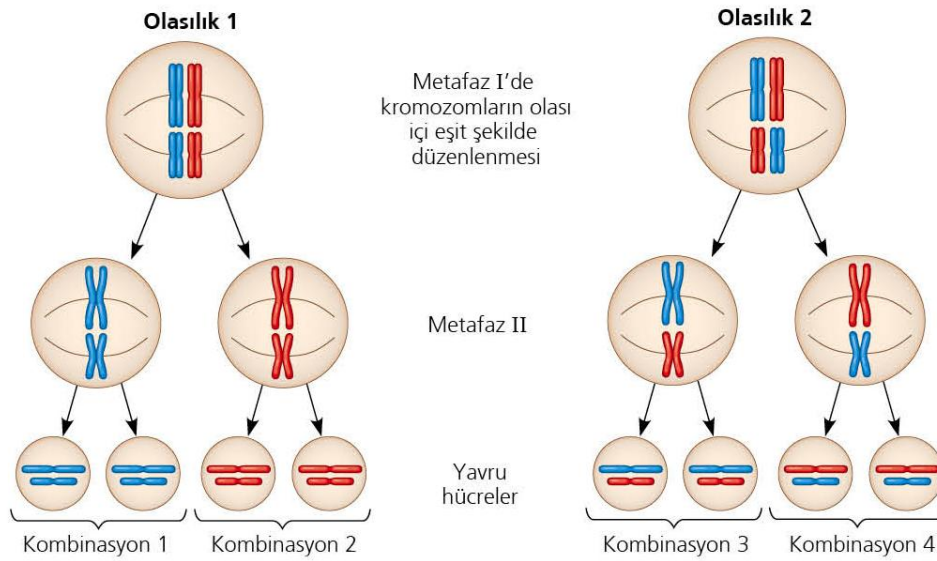
Mutasyonların diğer bir nedeni baz modifikasyonlarıdır. Depürinasyon, çift sarmal DNA molekülü içindeki azotlu bazlardan birinin kaybolmasını içerirken deaminasyon, adenin ve sitozindeki bir amino grubunun keto grubuna dönüşmesini içerir. Deaminasyon sonucu sitozin urasile, adenin ise hipoksantine dönüşür. Replikasyon ve baz hasarlarına ek olarak yer değiştirebilen genetik elemanlar olan *transpozonlar* da spontan mutasyon ajanlarıdır.

Mutasyonlar somatik hücrelerde ya da germ hücrelerinde olabilir. Somatik hücrelerde olanlar lokal hücre ölümlerine, hücre fonksiyon değişikliğine ya da tümör oluşumuna neden olurken, germ hücrelerinde olanlar ise kalıtılabilirler ve dolayısıyla genetik hastalıkların, genetik varyasyonun ve evrimin temelini oluştururlar (Klug vd. 2011).

Rekombinasyon: Genetik varyasyona neden olan bir diğer mekanizma rekombinasyondur. Mutasyonlar genlerin “allel” olarak adlandırılan farklı versiyonlarını oluşturur. Bu farklılıklar meydana geldiği zaman, eşeyli üreme sırasında allellerin yeniden karılması, populasyonun her bireyinin kendine özgü kombinasyonuna yani

varyasyona sahip olmasıyla sonuçlanır. Eşeyli üreyen türlerde kromozomların mayoz ve döllenme olaylarındaki davranışı, her bir kuşakta ortaya çıkan varyasyona neden olur. Eşeyli üremeyle ortaya çıkan kalıtsal varyasyonlara katkı sağlayan üç temel mekanizma; kromozomların bağımsız ayrılması, crossing over ve rastgele döllenmedir.

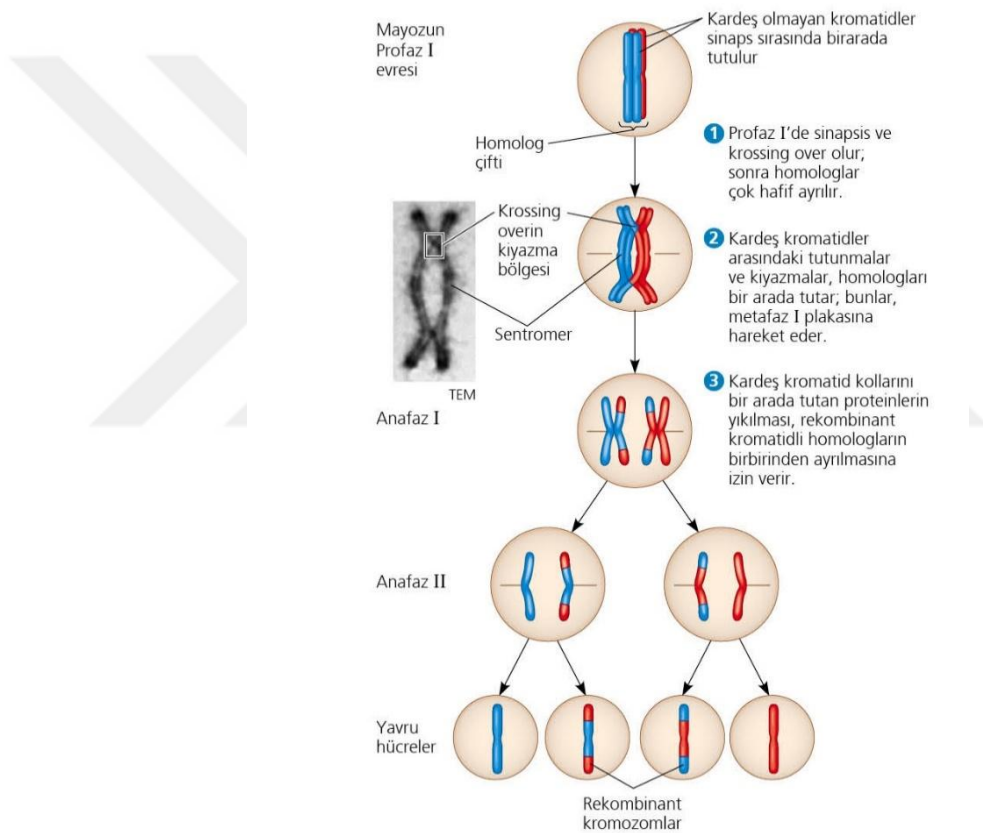
Eşeyli üremenin genetik varyasyon oluşturmalarının bir yolu, mayoz I'in metafaz evresinde homolog kromozom çiftlerinin rastgele yönelimidir. Metafaz I evresinde biri anadan biri babadan gelen kromozomun oluşturduğu homolog çiftler metafaz plağına yerleşirler. Her bir homolog çift metafaz plağında diğer çiftlerden bağımsız olarak yer alır. Homolog çiftlerin ayrılması ve bağımsız olarak kutuplara yönelimi rastgeledir. Buna kromozomların “bağımsız ayrılması” denir. Her bir yavru hücre, anadan ve babadan gelen kromozomların olası tüm kombinasyonlarından birini temsil etmektedir (Şekil 2.7) (Reece vd. 2013).



Şekil 2.7 Mayozda homolog kromozomların bağımsız ayrılması (Reece vd. 2013)

Kalıtsal varyasyonlara katkı sağlayan bir diğer mekanizma crossing over'dir. Crossing over, iki farklı ebeveynden gelen genleri taşıyan rekombinant kromozomları üreten bir mekanizmadır. Crossing over, profaz I evresinin erken döneminde homolog kromozomlar birbirlerine bağlanıp çift oluşturdıklarında başlar. Bu bağlanma sırasında bir homolog kromozom üzerindeki her bir gen diğer homolog üzerindeki karşılık gelen

genle aynı hizaya gelir. Kardeş olmayan iki kromatidin DNA'sı özel proteinlerce tam karşılıklı gelen noktalardan kesilir ve kesilen her bir parça diğer kromatidle birleştirilir. Böylece maternal ve paternal kromatidler arasında parça değişimi meydana gelmiş olur. Sonuç olarak crossing over ile anadan ve babadan gelen allellerin kombinasyonuna sahip rekombinant kromozomlar üretilmiş olur (Şekil 2.8). İnsandaki mayozda, kromozomun büyüklüğüne ve sentromerin konumuna bağlı olarak kromozom çifti başına ortalama bir ile üç arasında crossing over gerçekleşir (Reece vd. 2013).



Şekil 2.8 Mayozda gerçekleşen crossing over mekanizması (Reece vd. 2013)

Varyasyona neden olan son mekanizma rastgele döllenmedir. Rastgele döllenme mayozda oluşan varyasyona katkı sağlar. Örneğin insanda her erkek ve dişi gamet, kromozomların bağımsız ayrılmasına uygun olarak 2^{23} olası kromozom kombinasyonundan birini temsil eder. Döllenme sırasında erkek ve dişi gamet birleşmesi sonucu $2^{23} \times 2^{23}$ (yaklaşık 70 trilyon) diploid kombinasyonundan herhangi birine sahip bir zigot oluşacaktır (Reece vd. 2013).

2.6 Populasyon Genetiğinin Temel Prensipleri

Yirminci yüzyılın başlarında Yule, Castle, Hardy ve Weinberg gibi araştırmacılar populasyon genetiğinin temel prensiplerini formüle etmişler; Wright, Fisher gibi teorik genetikçiler de populasyonun genetik yapısını tanımlamak için matematiksel modeller geliştirmişlerdir. Son zamanlarda bu alanda çalışan araştırmacılar, varyasyonu doğrudan DNA ve protein seviyesinde ölçebilen biyokimyasal ve moleküler yöntemler kullanarak bu modelleri deneme imkânı bulmuşlardır. Bu deneylerde, allel frekansları ve bunlar üzerinde etkili olan mutasyon, seçilim, genetik sürüklenme ve göç gibi güçler incelenmiştir (Klug vd. 2011).

2.6.1 Gen havuzları ve allel frekansları

Bir populasyonun genetik yapısı, o populasyonu oluşturan bireyler tarafından ortak olarak paylaşılan allellerin tamamının oluşturduğu *gen havuzu* ile tanımlanabilir. Bir populasyonda belirli bir lokus için tek bir allel bulunuyorsa, tüm bireyler bu allel bakımından homozigot olarak tanımlanır. Eğer bir populasyonda belirli bir lokus için iki ya da daha fazla allel varsa, bireyler homozigot ya da heterozigot olabilirler. Her allelin populasyonda bir frekansı (sıklığı) bulunur (Reece vd. 2013).

Bir populasyondaki tek bir gen lokusunu incelediğimiz zaman, genellikle bu lokustaki allellerin dağılımının farklı genotipe sahip bireylerin ortaya çıkmasına neden olduğu görülmektedir. Gen havuzundaki allel frekanslarının hesaplanması, populasyondaki farklı genotiplerin frekansları ve bunların kuşaklar boyunca nasıl değiştiğinin belirlenmesi populasyon genetiğinin temelini oluşturmaktadır (Klug vd. 2011).

Populasyonlar dinamikdir; doğum-ölüm oranlarındaki değişimlerle, göçle veya diğer populasyonlarla karışarak genişleyebilir ya da daralabilir. Populasyon içindeki bazı bireylerin diğerlerinden daha fazla yavru vererek, gelecek döllere kendi allellerinden eşit olmayan oranda (daha fazla) katkıda bulunması sıklıkla gözlenen bir durumdur. Böylece populasyonların dinamik yapısı, populasyonun gen havuzunda zamanla değişikliklere neden olabilir (Klug vd. 2011).

2.6.2 Hardy-Weinberg kuralı

Belirli bir lokusta doğal seçilim ya da başka bir etkenin evrime neden olup olmadığını belirlemek için öncelikle bu lokusta evrim meydana gelmeseydi popülasyonun genetik yapısının nasıl olacağını belirlemek gerekir. Buradan yola çıkarak evrim geçirmeyen bir popülasyonun gen havuzu, 1908 yılında birbirinden bağımsız olarak aynı sonuca ulaşan İngiliz matematikçi Godfrey H. Hardy ve Alman hekim Wilhelm Weinberg tarafından geliştirilen matematiksel bir modelle tarif edilmiştir. Hardy-Weinberg kuralı olarak adlandırılan bu model; sınırsız büyüklükte, rastgele eşleşen ve mutasyon, göç ve seçilim gibi evrimsel güçlere maruz kalmayan hipotetik bir popülasyonda allel ve genotiplere ne olacağını tanımlar. Bu şartlar altında, Hardy-Weinberg modeli iki tahminde bulunur:

- 1) Gen havuzundaki allellerin sıklığı zaman içerisinde değişmez.
- 2) Eğer bir lokustaki A ve a gibi iki allel göz önüne alınırsa, bir kuşak rastgele döllenme sonucunda popülasyondaki $AA:Aa:aa$ genotiplerinin sıklığı: $p^2 + 2pq + 2q^2 = 1$ ($p = A$ allelinin sıklığı, $q = a$ allelinin sıklığı) şeklinde hesaplanır. Bu kriterleri sağlayan bir lokustaki iki allele ait p ve q sıklıkları, öngörülen genotipik sıklıklarla sonuçlanan bir popülasyon Hardy-Weinberg dengesindedir. Diğer bir deyişle, incelediğimiz lokus açısından bakıldığında popülasyon değişmez ve evrilmez.

Hardy-Weinberg modelinde tanımlanan hipotetik popülasyonda:

- Seçilim yoktur, yani tüm genotiplerin bireyleri eşit hayatta kalma oranlarına ve eşit üreme başarılarına sahiptir.
- Mutasyonla yeni alleller oluşturulmaz veya bir allel diğerine dönüştürülmez.
- Bireyler popülasyonun içine veya dışına göç etmez.
- Popülasyon sınırsız büyüklüktedir, örnekleme hataları ve rastgele etkiler ihmal edilebilir.
- Popülasyondaki bireyler rastgele çiftleşirler.

Bu koşullardan herhangi birinin ihlal edilmesi evrimin potansiyel nedenidir. Hardy-Weinberg kuralı, sağlandıklarında populasyonların evrimleşmeyeceği şartların listesini vererek, gerçek dünyada allel sıklığının değişmesine neden olan güçleri tanımlar. Hardy-Weinberg kuralını bir sıfır model (null model) haline getiren budur. Bu varsayımlar, Hardy-Weinberg kuralının populasyon genetiği çalışmalarında kullanımını faydalı kılmaktadır. Bu sayede doğada allel ve genotip frekanslarını hesaplanabilir ve Hardy-Weinberg sonuçlarının sağlanıp sağlanmadığı, yani populasyonun evrim geçirip geçirmediği belirlenebilir (Klug vd. 2011).

2.6.3 Doğal seçilim

Hardy-Weinberg kuralının ilk varsayımı, bütün genotiplere ait bireylerin eşit hayatta kalma ve üreme başarısına sahip olmasıdır. Eğer bu varsayım ihlal edilirse, allel sıklığı bir kuşaktan diğerine değişir. Bu değişime neden olan bireyler arasındaki hayatta kalma veya üreme oranı farklılığı, *doğal seçilim* olarak adlandırılır. Doğal seçilim, büyük populasyonlarda allel sıklıklarının değiştiren en önemli etkindir. Seçilim, belirli bir genotipe sahip bireylerin diğer genotipe sahip bireylere göre daha fazla hayatta kalma ve üreme avantajı elde ettiği zaman ortaya çıkar. Hayatta kalma ve üremedeki avantajlar bu genotiplerin gelecek kuşaklara daha yüksek oranda aktarılması ile sonuçlanır. Bir bireyin gelecek nesillere olan genetik katkısı *uyumluluk* (fitness) olarak tanımlanır. Buna göre, yüksek üreme başarısına sahip bireylerin yüksek uyumluluğa, düşük üreme başarısına sahip olanların ise düşük uyumluluğa sahip olduğu kabul edilir (Klug vd. 2011).

2.6.4 Mutasyon

Populasyon içindeki gen havuzu, her nesilde, yavrularda yeni genotipler oluşturmak üzere yeniden karıştırılır. Olası genetik kombinasyonların çok olması sebebiyle, populasyonun hayattaki üyeleri, herhangi bir zamanda, tüm olası genotiplerin sadece bir kısmını temsil eder. Gen havuzunda bulunan bu çeşitlilik, Mendel dağılımı ve rekombinasyonla devamlı olarak yeni genotipik kombinasyonların oluşmasını sağlar. Fakat dağılım ve rekombinasyon yeni alleller oluşturmaz, yeni allellerin oluşumu

sadece mutasyonla mümkündür. Mutasyon, organizmaya fayda ya da zarar verdiğine bakmaksızın rastgele ortaya çıkan bir olaydır (Klug vd. 2011).

2.6.5 Göç ve gen akışı

Bazen bir tür, coğrafi olarak ayrılmış populasyonlara bölünebilir. Seçilim gibi çeşitli evrimsel güçler, bu populasyonlarda farklı allel sıklıkları oluşturabilir. Göç, bireylerin populasyonlar arasında hareket etmeleriyle oluşur, diğer bir deyişle göç, gen akışını ifade eder. Göç, bir populasyondan diğerine allel aktarımını sağlayacak herhangi bir şey sonucu ortaya çıkabilir. Gen akışı mekanizmaları, genç hayvanların yaptığı uzun mesafeli göçlerden, polen, tohum ve sporların rüzgâr, su veya hayvanlar aracılığıyla taşınmasına kadar çok çeşitli şekillerde olabilir (Freeman ve Herron 2009, Klug vd. 2011).

2.6.6 Genetik sürüklenme

Genetik sürüklenme; populasyonda üreyen birey sayısı çok az olduğu zaman, gen havuzundaki allellerin tamamının mevcut olan frekansları ile gelecek nesillere aktarılması durumunda ortaya çıkar. Sürüklenme, rastgele gamet örnekleme sonucu allel frekansındaki değişiklik olarak tanımlanır. Doğada küçük populasyonlar, salgın hastalıklar gibi felaketler sonucunda ya da geniş bir populasyondan küçük bir grubun göç etmesi ve yeni bir çevreye kurucu olarak yerleşmesiyle ortaya çıkabilir. Nesli tükenme tehlikesi altında olan bitki ve hayvanlarda habitat kaybı, küçük izole populasyonlarda sürüklenme ile genetik çeşitliliğin kaybedilmesi de, türün uzun süreli hayatta kalma şansını azaltır (Klug vd. 2011).

2.6.7 Rastgele olmayan eşleşmeler

Hardy-Weinberg kuralının beşinci ve son varsayımı olan populasyon üyelerinin rastgele eşleşmesi, populasyondaki tüm bireylerin bir diğeriyle eşit eşleşme olasılığına sahip olmasıdır. Rastgele olmayan eşleşme populasyondaki allel frekansını değiştirebilir. Ardından, belirli bazı genotipler için ya da bunlara karşı yapılan seçilim, mevcut

allelere frekansını değiştirmede potansiyel etkiye sahiptir, fakat rastgele olmayan eşleşme tek başına doğrudan allel sıklığını değiştirmez (Klug vd. 2011).

Rastgele olmayan eşleşme bir kaç şekilde olabilir. Pozitif benzer (assortiv) eşleşme tipinde benzer genotipler, benzemeyen genotiplere göre, birbiriyle daha çok eşleşme olasılığına sahiptir. Bu duruma insanda sıklıkla rastlanır. Negatif benzer eşleşme tipinde ise, benzemeyen genotipler birbiriyle eşleşme eğilimindedir. Fakat populasyon genetiğinde genotip sıklığını etkileyen, rastgele olmayan eşleşmenin en yaygın tipi, soy içi eşleşmedir. Soy içi eşleşme (inbreeding), populyasyondan rastgele seçilen herhangi iki bireyden ziyade birbirine çok yakın akraba olan bireylerin eşleşmesi demektir, yani akraba evliliği olarak ta tanımlanabilir. Soy içi eşleşme, belirli bir allelin populyasyondaki homozigotluk oranını artırır, daha önce heterozigotlarda gizli kalan çekinik alleller için homozigot olan bireylerin ortaya çıkmasına neden olur. Birçok çekinik allel homozigot durumda zararlı olduğu için, soy içi eşleşmeler çekinik zararlı bir allel için homozigot olan bireylerin ortaya çıkma şansını arttırmaktadır. Sonuç olarak rastgele olmayan eşleşmeler, populyasyondaki genotip sıklığının Hardy-Weinberg kuralı ile beklenen değerden oldukça farklı olmasına neden olarak dolaylı yoldan evrimi etkilemektedir (Klug vd. 2011).

2.7 Genetik Varyasyonun Korunması

Populasyonlardaki genetik varyasyonun bir kısmı seçici bir avantaj ya da dezavantaj oluşturmeyen DNA dizisindeki farklılıklar olan *nötr varyasyonlar* biçiminde ortaya çıkar. Buna karşın varyasyon, seçilime maruz kalan lokuslarda da ortaya çıkabilir. Doğal seçim, dezavantaj oluşturan allelleri eleyerek genetik varyasyonu azaltma eğilimindedir. Ancak bu noktada, diploitlik ve dengeleyici seçim gibi varyasyonu koruyan mekanizmalarca engellenmektedir (Reece vd. 2013).

2.7.1 Diploitlik

Diploit ökaryotlarda, genetik varyasyonun önemli bir kısmı çekinik alleller biçiminde seçim baskısından korunur. Mevcut çevresel koşullarda zararlı dahi olabilen çekinik

alleller heterozigot bireylerde saklanarak korunabilirler. Bu gizli varyasyon, ancak her iki ebeveynde çekinik olarak bulunan allellerin zigotta bir araya gelmesiyle ifade edildiğinde seçilimden etkilenir. Heterozigotlarca korunan çekinik alleller, mevcut şartlarda desteklenmese bile gelecekte çevresel şartlar değiştiğinde avantaj sağlayabilecek büyük bir allel havuzunun oluşmasını sağlar (Reece vd. 2013).

2.7.2 Dengeleyici seçim

Bazı lokuslardaki varyasyon bizzat seçim tarafından da korunabilir. Doğal seçim bir popülasyonda iki ya da daha fazla form oluşturduğunda dengeleyici seçim ortaya çıkar. Dengeleyici seçim heterozigot avantajı ve frekansa bağlı seçim şeklinde kendini gösterir.

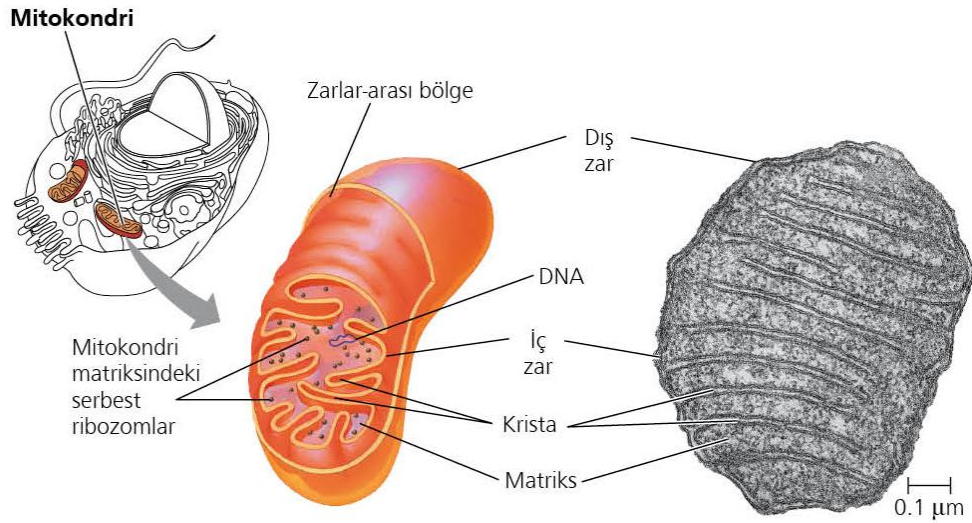
Heterozigot avantajı: Belirli bir lokus için heterozigot olan bireyler homozigot bireylere göre daha yüksek uyum gücüne sahipse bunlarda heterozigot avantajı vardır. Bu tip durumlarda seçim popülasyonun devamlılığı açısından bu lokustaki birden fazla alleli korur. Bu konuda oldukça bilindik bir örnek Afrika ve Akdeniz insan popülasyonlarında β -hemoglobin lokusunda görülen heterozigot avantajıdır. Bu popülasyonlarda bu lokusta normal hemoglobin alleli (A) ve orak hücre hemoglobin alleli (S) olmak üzere iki allel bulunmaktadır. SS bireyler orak hücre anemisi rahatsızlığından muzdaripken SA bireyler kansızlık çekmekle birlikte sağlıklı AA bireylere göre *Plasmodium faciparum* parazitinin neden olduğu sıtma hastalığına karşı daha dirençlidirler. Bundan dolayı sıtmanın yaygın görüldüğü bölgelerde heterozigot bireyler homozigotlara göre avantajlı durumdadırlar ve her iki allel de popülasyon içinde korunmaktadır (Freeland 2005).

Frekansa bağlı seçim: Diğer bir dengeleyici seçim tipi olan frekansa bağlı seçimde bir fenotipin uyumu onun popülasyonda ne kadar yaygın olduğuna bağlıdır. Tropikal bir kelebek türü olan *Heliconius erato* popülasyonlarının farklı renkli formları bulunmaktadır. Renklenme, potansiyel avcılara karşı lezzetsiz olduğuna dair bir uyarı görevi üstlenmektedir. Eğer bu popülasyondan bir birey farklı bir rengin baskın olduğu başka bir popülasyona karışırsa, lezzetsizliğine karşın avcı tarafından kolaylıkla fark

edilip avlanabilir. Bu örnekte görüleceği üzere bu popülasyonda en iyi uyum sağlayan genotip en yaygın olandır (Freeland 2005).

2.8 Mitokondriyal DNA

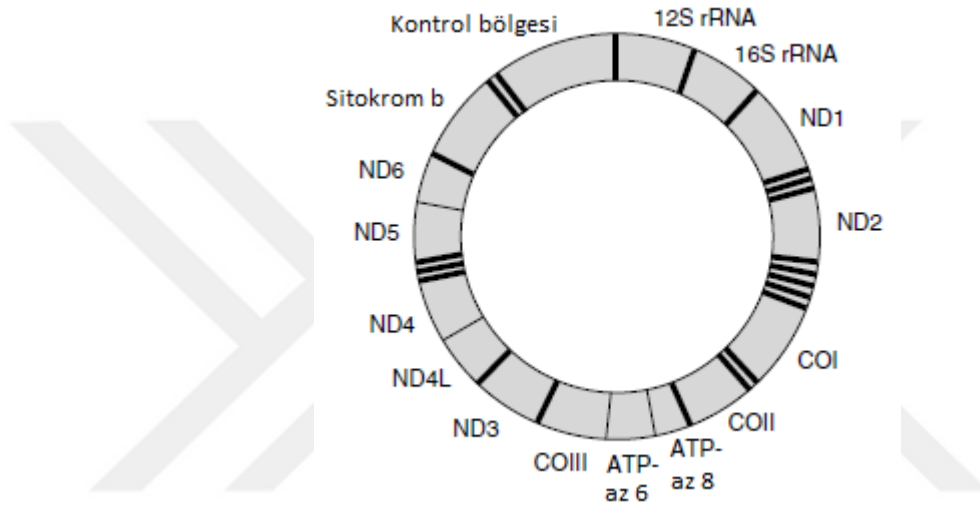
Genetik varyasyon çalışmalarında sıklıkla kullanılan materyalin başında mitokondriyal DNA gelmektedir. Mitokondri, ökaryotik hücrelerde bulunan ve hücrede oksidatif fosforilasyonla enerji (ATP) yapımında görev alan organeldir. Mitokondriler hücrelerin “kimyasal fabrikaları” olarak ta düşünülebilir çünkü hücresel aerobik solunumun gerçekleştiği yerlerdir. Hücre ihtiyacına ve fonksiyonuna göre tipik bir hayvan hücresinde 750-2000 arası mitokondri bulunur. Mitokondrilerin, kendinden daha büyük hücreler içerisinde canlılıklarını koruyarak (endosimbiyozis) simbiyotik bir ilişki geliştiren bakterilerden evrimleştikleri düşünülmektedir (Cooper ve Hausman 2006) (Şekil 2.9).



Şekil 2.9 Mitokondrinin bölümleri ve TEM görüntüsü (Reece vd. 2013)

Mitokondriler hücre genomundan ayrı olarak, kendilerine ait genetik materyal içerirler. Mitokondrilerin genomları, bakterilerde olduğu gibi, genellikle halkasal DNA molekülleridir ve organel içinde çok sayıda kopyaları bulunur. Mitokondriyal DNA (mtDNA) büyüklüğü, organizasyonu ve kodladığı proteinler türler arasında farklılık gösterir. Örneğin insanda mtDNA 37 protein kodlayan gen içerir ve 16500 bp

uzunluğundadır. Yüksek bitkilerde mtDNA daha büyük ve kompleks yapıdadır. Hayvan mtDNA'sı 13 protein kodlayan gen, 22 tRNA ve iki rRNA geni içermektedir (Şekil 2.10). Bunlara ek olarak replikasyon ve transkripsiyon başlangıcı olarak görev yapan bir kontrol bölgesi de içermektedir. Mitokondriyal genlerin düzeni hayvan türleri arasında küçük farklılıklar içermekle birlikte bütün olarak mtDNA genel yapı, büyüklük ve düzenlenme bakımından oldukça korunmuştur (Cooper ve Hausman 2006, Lodish vd. 2011).



Şekil 2.10 Hayvan mitokondriyal DNA'sının organizasyonu (Freeland 2005)

Mayalar ve diğer tek hücreli organizmalarda yapılan çalışmalar, mitokondrilerin sitoplazmik (maternal) kalıtım gösterdiğini göstermiştir. Memeliler ve diğer çok hücreli organizmalarda sperm zigota hemen hemen hiç sitoplazma vermez ve bu nedenle embriyodaki mitokondrilerin tamamına yakını sperm değil yumurtadan gelir. Fareler üzerinde yapılan çalışmalar mtDNA'nın %99.99'unun maternal kalıtıldığını ortaya koymuştur (Lodish vd. 2011).

Mitokondriyal DNA'nın populasyon genetiği çalışmalarında tercih edilmesinin pek çok sebebi vardır. Mitokondriyal DNA, küçük yapısı ve gen düzeninin korunması ile çalışılması oldukça kolaydır. Mitokondriyal DNA'nın gen düzeninin korunması; PCR çalışması için evrensel primer sentezlenmesini kolaylaştırır ve çalışılacak türün DNA dizisiyle ilgili herhangi bir ön bilgiye sahip olunmasını gerektirmez. Ancak, gen düzeni

korunmasına rağmen mutasyon oranı oldukça yüksektir. Mitokondriyal DNA, nükleer DNA'ya göre 10 kat fazla mutasyon oranına sahiptir. Bu yüksek mutasyon oranı; DNA polimerazın hataya meyilli oluşu, yeterli DNA tamir mekanizmasına sahip olmaması, oksijen radikalleri gibi mutajenlere maruz kalma ile açıklanmaktadır. Memeli mitokondriyal DNA'sında sinonim mutasyon oranının yılda 5.7×10^{-8} baz değişimi kadar olduğu tahmin edilmektedir (Freeland 2005).

Mitokondriyal DNA temelli belirteçlerin kullanımı populasyon genetiği çalışmalarında yaygın olsa da pseudogenlerin varlığı sıkıntı yaratmaktadır. Mitokondriyal pseudogenler; nükleer genomda bulunan işlevsiz mitokondriyal DNA sekanslarıdır ve mitokondriyal DNA'dan bağımsız olarak evrimleşmektedirler. PZR sırasında, primer bağlanma bölgesi pseudogende korunuyorsa, çoğaltmayı hedeflediğimiz mitokondriyal DNA bölgesine ek olarak pseudogenler de çoğalacaktır (Freeland 2005). Pseudogenler 80 kadar ökaryotik türde tanımlanmıştır (Bensasson vd. 2001).

Pseudogenlerin ve mitokondriyal genlerin DNA amplifikasyonu sırasında karışması; istatistik analizlerde kullanılacak verinin hatalı olmasına ve dolayısıyla türlerin yanlış tanımlanmasına ve hatalı filogenetik analizlere yol açabilir. Pseudogenlere ait diziler; stop kodonu ve çerçeve kayması mutasyonları, yanlış anlamlı mutasyon birikimi, pseudogen ve mitokondriyal genin birlikte çoğaltılması sonucu oluşan kimerik sekansların varlığıyla mitokondriyal genlerden ayırt edilebilirler (Dubey vd. 2009).

Sitokrom b: Bu tez çalışmasında mitokondriyal DNA'nın sitokrom *b* bölgesi incelenmiştir. Filogenetik çalışmalarda sıklıkla kullanılan sitokrom *b*, protein ürününün yapısı ve fonksiyonu bakımından en iyi bilinen mitokondriyal genlerden biridir. Ökaryot mitokondrisinde bulunan sitokrom *b* gen ürünü, elektron transfer zincirinde yer alan bir transmembran proteindir ve mitokondri solunum zincirinde görevli sitokrom *c* redüktaz enziminin (bc_1 kompleksi) merkezi katalitik alt birimidir. Mitokondriyal sitokrom *b* ile ilgili mevcut bilgi, DNA dizi analizi yardımıyla hızlı bir şekilde büyümektedir. Genetik olarak uzak türler arasında yapılan sitokrom *b* dizi karşılaştırmaları, aminoasit kompozisyonunun farklı türlerde yüksek oranda korunmuş olduğunu göstermiştir. Bu durum, proteinin yapısal ve fonksiyonel olarak görevini

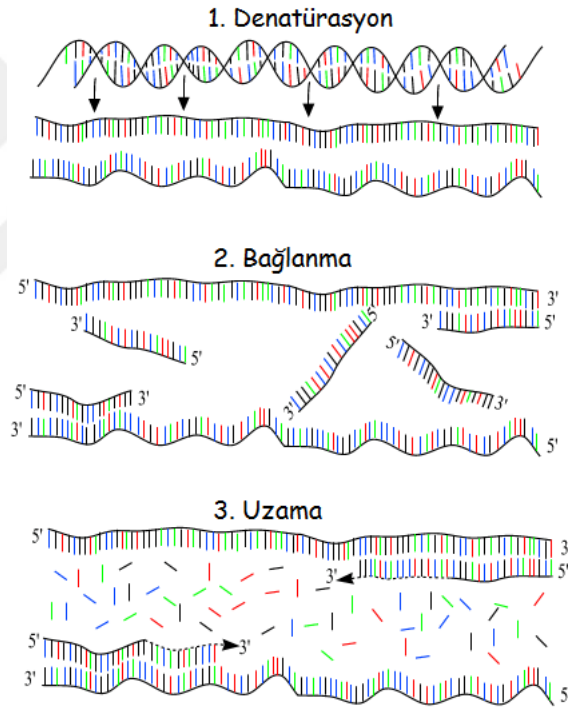
yapabilmesi için spesifik bir aminoasit dizilimine sahip olması gerekliliğinden kaynaklanmaktadır (Esposti vd. 1993). Az sayıdaki aminoasit değişimleri ise genellikle sitokrom *b* proteininin transmembran segmentlerinde ya da amino ve karboksil uçlarında olmaktadır. Proteinin membran dışında kalan kısmı (dış) transmembran kısma (iç) göre daha yavaş evrimleşmektedir. Transmembran kısmındaki aminoasit kompozisyonundaki değişimler büyük oranda hidrofobik aminoasitler (lösin, izolösin, valin) arasında gerçekleşmektedir. Proteinin fonksiyonel bir önemi olmayan amino ve karboksil uçlarının çoğu iç kısımda bulunur. Dış kısımda ise evrimsel olarak hayli korunmuş olan ve redoks merkezleri olarak görev yapan Q_o ve Q_i bölgeleri bulunur. Bu bölgeler membran dışında kalan kısmın evrimsel hızını düşürmektedir (Irwin vd. 1991).

Aminoasit kompozisyonu korunmasına rağmen, sitokrom *b* geni farklı evrimleşme oranlarına sahip olan kodon pozisyonlarına ve korunma ve değişkenlik bakımından farklı bölgelere sahiptir (Farias vd. 2001). Memelilerde sitokrom *b* geninde birinci ve ikinci kodon pozisyonunda baz değişim oranı milyon yılda 0.4 olarak hesaplanmıştır. Varyasyon seviyesi en yüksek olan, nükleotid değişimlerinin çoğunlukla sessiz mutasyona yol açtığı üçüncü pozisyonudur. Aminoasit değişimine neden olan baz değişimi ise büyük oranda birinci kodon pozisyonunda (ikinci pozisyonun yaklaşık dört katı fazla varyasyona sahiptir) gerçekleşmektedir (Irwin vd. 1991).

Sitokrom *b*'nin yavaş ve hızlı evrimleşen kodon pozisyonlarına ve evrimsel korunma düzeylerinde farklılık gösteren domainlere sahip olması, bu geni derin filogenetik ilişkilerin açığa çıkarılmasından yakın zamanda farklılaşmış takson ve populasyon seviyesinde ayrımların ortaya konmasına kadar pek çok çalışmada kullanışlı hale getirmektedir. Ancak üçüncü kodon pozisyonundaki varyasyon miktarı fazlayken birinci ve ikinci kodon pozisyonlarındaki varyasyonun sınırlı olması ve soylar arasındaki evrimleşme oranı farklılıkları sitokrom *b*'yi derin evrimsel soruların cevaplanmasında yetersiz kılmaktadır (Farias vd. 2001).

2.9 Polimeraz Zincir Reaksiyonu

Günümüzde genom hakkında elde edilen geniş bilginin kaynağı, PZR tekniğinin keşfidir. Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR), dizisi bilinen bir DNA bölgesinin enzimatik olarak çoğaltılmasını sağlayan ve kısa zamanda DNA bölgesinin milyonlarca kopyasını oluşturmaya olanak sağlayan in vitro bir tekniktir. PZR tekniğini geliştiren araştırmacı Dr. Karry Mullis bu keşfi ile 1993 yılında Nobel Kimya Ödülü'nü kazanmıştır. PZR işleminin prensibi; çoğaltılacak DNA'nın yüksek sıcaklıkta denatürasyonu, primerin hedef DNA'ya bağlanması ve primerin uzaması olmak üzere tekrarlanan 3 basamağa dayanır (Birben 2006) (Şekil 2.11).



Şekil 2.11 PZR'ın genel basamakları (<http://users.ugent.be/~avierstr/>, 2012)

PZR'ın en önemli avantajı, özel bir DNA bölgesinin seçilip çoğaltılarak istenmeyen bölgelerin çoğaltılmasını önlemesidir. Bu özellik sadece bölgeye ait dizinin tanınmasını kolaylaştırmakla kalmaz, DNA'nın analiz edilmesini de sağlar. Fakat burada önemli nokta, çalışılacak olan DNA parçasının her iki ucunun nükleotid diziliminin bilinmesinin gerekliliğidir. Bu bilgi ilgilenilen DNA parçasının her iki ucu için primer

geliştirilmesini zorunlu kılar. Primerler 20-30 nükleotidden oluşan sekanslar olup sentez için basamak oluşturan başlatıcı yardımcı oligonükleotidlerdir. Tipik primerler % 50-60 G+C bileşimine sahiptir ve 18-28 baz uzunluğundadır. Primerler çoğaltılacak DNA bölgesine özgül olarak tasarlanırlar (Türkyılmaz ve Esendal 2000).

Amplifikasyonda kullanılan DNA polimeraz enzimi, *Thermus aquaticus* adlı sıcak kaynak sularında yaşayan bir bakteriden elde edilmektedir. *Taq* polimeraz enzimi termostabil özelliğinden dolayı ısıya dayanıklıdır ve yüksek ısıda kararlılığını korur. PZR işleminde kullanılan diğer bileşenler; dNTP karışımı, Mg^{+2} ve PZR tamponudur.

Deoksiribonükleozid Trifosfat molekülleri (dATP, dTTP, dCTP, dGTP) polimerizasyon basamağında görev alırlar. Sentezlenecek olan hedef DNA'nın uzunluğu, sayısı, döngünün kaç kez tekrarlanacağı reaksiyondaki dNTP karışımı miktarı ile yakından ilgili olup; bunlar reaksiyondaki fosfat grubunun da esas kaynağını oluşturmaktadırlar (Türkyılmaz ve Esendal 2000).

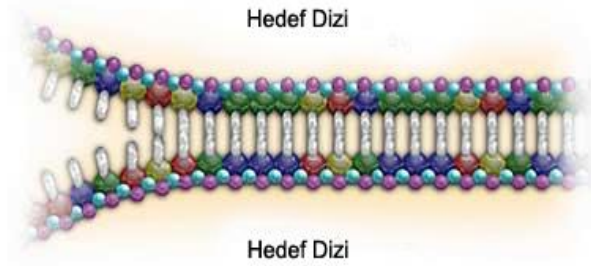
Mg^{+2} iyonları, dNTP'ler ile çözünebilir kompleksler oluştururlar, polimeraz aktivitesini uyarırlar ve primer-kalıp DNA hibridizasyonunu sağlarlar. Bu nedenle $MgCl_2$ 'ün PZR özgülüğü ve ürün verimi üzerinde çok önemli etkisi vardır. Düşük Mg^{+2} konsantrasyonu, ürün oluşumunda azalmaya, yüksek Mg^{+2} konsantrasyonu ise spesifik olmayan ürün oluşumuna yol açar (Devrim ve Kaya 2004).

PZR tamponu ise DNA polimeraz aktivitesi için gerekli olan kimyasal ortamı (uygun pH) sağlar. PZR için birkaç çeşit tampon kullanılmaktadır. *Taq* DNA polimeraz ile en yaygın olarak kullanılan tampon Tris-HCl (pH= 8,3-8,6) tamponudur (Devrim ve Kaya 2004).

2.9.1 PZR'ın basamakları

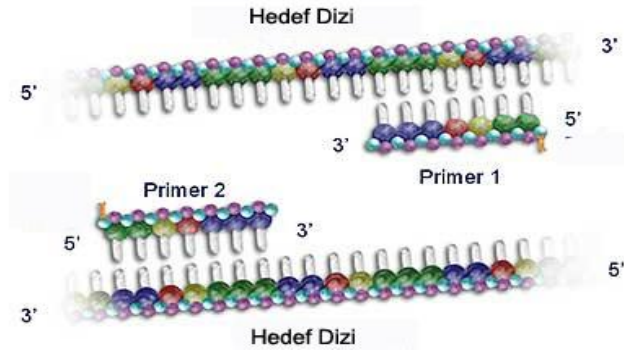
1. Denatürasyon: İlk adımda çoğaltılacak DNA denatüre edilerek tek zincirli hale getirilir. Bunun için çift zincirli DNA, hedef DNA zincirlerini bir arada tutan

hidrojen bağları kırılıp, DNA tek zincirli hale getirilene kadar ısıtılır (90–95 °C’de yaklaşık 5 dk) (Şekil 2.12).



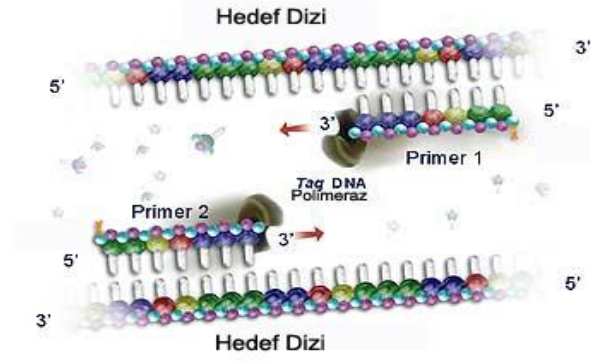
Şekil 2.12 Denatürasyon (<http://www.pharmaceutical-technology.com/projects/roche/images/roche6.jpg>, 2009a)

2. Bağlanma (Annealing): Bu aşamada, çoğaltılmak istenen DNA bölgesine özgül iki primer, sıcaklığın 60-70°C’ye düşürülmesiyle, ilk basamakta ayrılmış olan kalıp DNA’nın özgül oldukları bölgelerine bağlanır (Şekil 2.13).



Şekil 2.13 Bağlanma (Annealing) (<http://www.pharmaceutical-technology.com/projects/roche/images/roche7.jpg>, 2009b)

3. Uzama (Extension): Bu aşama *Taq* DNA polimeraz enziminin en yüksek aktivite gösterdiği sıcaklık olan 70-75°C arasında DNA sentezi gerçekleşir. Polimeraz enzimi, nükleotidleri 5'-3' yönünde ekleyerek primerin uzamasını sağlar ve hedef DNA’nın iki zincirli kopyasını oluşturur (Şekil 2.14).



Şekil 2.14 Uzama (Extension) (<http://www.pharmaceutical-technology.com/projects/roche/images/roche8.jpg>, 2009c)

Bu üç basamak bir döngüyü oluşturur ve her tekrarlanışında iki primer arasında kalan özgül DNA parçası çoğaltılarak iki katına çıkar. Eski zincirlerle beraber yeni zincirler de bir sonraki döngüde kalıp olarak kullanılırlar. Yaklaşık 5 dk süren bir döngü birçok kez tekrar edilir ve 3 saatten daha az bir zamanda 25-30 döngü sonunda DNA miktarı milyon kattan daha fazla artar (Birben 2006).

PZR tekniği; DNA'nın dizi analizi ve DNA haritalamasında, insan genom projesindeki araştırmalarda, genetik hastalıkların teşhisinde, DNA parmak izi analizinde, adli tıp örneklerinin genetik tiplendirilmesinde, doku transplantasyonu için doku tipinin belirlenmesinde, tarımda (tohum saflığının belirlenmesi), sistematik ve evrim çalışmalarında (doğadaki çeşitli canlı türlerinin tanısı, türler arasındaki polimorfizmin belirlenmesinde), klonlama deneylerinde, mutagenез çalışmalarında, fosil DNA çalışmalarında ve gen ifadelerinin karşılaştırılmasında kullanılmaktadır (Birben 2006).

2.10 Moleküler Belirteçler

Moleküler belirteçler (markörler) genel olarak; genomun özgün bir bölgesini tanımlamak amacıyla kullanılmaktadırlar. Genom analiz çalışmalarında belirteç seçerken dikkat edilmesi gereken bir takım hususlar vardır. Öncelikle çalışma sonunda gözlenmesi beklenen varyasyon miktarı önemlidir. Genomdaki bazı bölgelerin mutasyon oranı diğerlerine göre daha yüksektir, bir başka deyişle evrimleşme hızları daha fazladır. Genel anlamda, yakın ilişkili organizmaların çalışılmasında daha fazla

varyasyon gösteren belirteçler tercih edilirken daha uzak taksonlar arasındaki genetik ilişkilerin belirlenmesinde daha az varyasyon gösteren belirteçlerin kullanımı uygundur. Moleküler belirteçler; ko-dominant ve dominant belirteçler olmak üzere ikiye ayrılır (Freeland 2005).

2.10.1 Dominant belirteçler

Dominant belirteçler, aynı anda birden fazla lokusun çoğaltılmasına imkân sağlayan çoklu-lokus belirteçleridir. Genomdaki rastgele bölgeler çoğaltıldığı için çalışma öncesinde sekansla ilgili ön bilgi gerektirmez. Birden fazla lokusla çalışıldığından yüksek polimorfizm elde edilmesini sağlar. Genetik olarak yakın organizmalar arasındaki varyasyonu belirlemede başarılı olsalar da, daha derin evrimsel ilişkileri açığa çıkarmada yeterli değildirler. Dominant markörlerle çalışma konusundaki en büyük sıkıntı, çalışılan her lokustan sadece bir allel belirlenebilmesi nedeniyle homozigotlarla heterozigotların ayrımının yapılamamasıdır. Bu nedenle allel frekansının hesaplanması zordur. Populasyon genetiği çalışmalarında en yaygın kullanılan dominant belirteçler RAPD ve AFLP'dir (Freeland 2005).

RAPD: Kısa oligonükleotid primerlerin hedef DNA dizisinde birden fazla bölgeye bağlanarak rastgele çoğaltma yapması prensibine dayanan RAPD (Rastgele çoğaltılmış polimorfik DNA) tekniği, yüksek oranda polimorfik bant verimi ve düşük maliyetiyle populasyon genetiği çalışmalarında kullanılmaktadır. Amplifikasyon işleminden sonra elde edilen PZR ürünü agaroz jel elektroforezinde yürütülür ve bantlar halinde gözlemlenerek incelenir. Bantların varlığı veya yokluğuyla sonuçlar değerlendirilmektedir. RAPD yönteminin avantajları çalışılacak DNA dizisine ait ön bilgiye ihtiyaç olmaması, diğer belirteçlere göre ucuz ve kısa sürede sonuç alınabilmesidir ancak tekrar edilebilir olmaması güvenilirliğini azaltmaktadır (Aydın 2004).

AFLP: Çoğaltılmış parça uzunluk polimorfizmi (AFLP), restriksiyon enzimleri ile kesilmiş DNA parçalarının seçici PZR ile çoğaltılmasına dayanır. Bu teknik, DNA'nın enzimlerle kesilmesi ve kesilen yapışkan uçlara oligonükleotid adaptörlerin bağlanması,

kesilen bölgenin seçici PZR ile çoğaltılması ve çoğalan bölgenin poliakrilamid jelde görüntülenmesi olmak üzere 3 temel basamaktan oluşmaktadır. AFLP belirteci DNA parmak izi analizinde sıklıkla kullanılmakla birlikte RFLP belirtecine benzer özelliklere sahiptir, RFLP'ye göre analizi daha kolaydır ve daha az miktarda DNA'ya gereksinim duyar (Özşensoy ve Kurar 2012).

2.10.2 Ko-dominant belirteçler

Eşbaskın belirteçler olarak ta bilinen ko-dominant belirteçlerin en önemli özelliği bir lokusta bulunan tüm allelleri belirleyebilme imkânı vermesidir. Diploid türlerde, bir ko-dominant belirteç, homozigot bireyde 1, heterozigot bireyde ise 2 allel belirleyecektir. Böylece homozigotlar ile heterozigotların ayrımı sağlanarak allel frekansının hesaplanması mümkün olacaktır. Bu özelliğinden dolayı ko-dominant belirteçler dominant belirteçlere göre kesinlik açısından tercih edilmektedir. Populasyon genetiği çalışmalarında sıklıkla kullanılan ko-dominant belirteçler; allozimler, RFLP, SNPLer, mikrosatellitler ve dizi analizi yapılan DNA sekanslarıdır (Freeland 2005).

Allozimler: Allozimler, populasyon genetiği çalışmalarında kullanılan ilk moleküler belirteçtir. Allozimler, bir enzimin aynı lokustaki alleller tarafından kodlanan farklı versiyonlarıdır. Proteinlerin moleküler büyüklük ve aminoasit bileşiminde gösterdiği farklılıklar jel elektroforez yöntemi kullanılarak ortaya çıkarılabilir. Genetik çalışmalarda kan ve doku proteinleri belirteç olarak yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Fakat polimorfizm değerlerinin nispeten düşük olması, özgün olarak kan örneklerine ya da taze dokuya gereksinim duyulması, iş yükünün ağır olması ve analizlerin uzun zaman alması nedeniyle son yıllarda yerini DNA temelli belirteçlere bırakmıştır (Özşensoy ve Kurar 2012).

RFLP: İnsan genomu boyunca (özellikle kodlayıcı olmayan bölgelerde) her 200 nükleotidde 1 dizi farklılığı görülür. Bu nükleotid değişiklikleri özgül bölgelerde oluşur ve tek bir nükleotid çiftinde değişiklik veya bir ya da birden fazla nükleotid çiftinin delesyonu veya insersiyonu şeklinde görülür. Bu değişiklikler bazen bir restriksiyon enziminin kesim noktasını yok edebilir ya da yeni bir kesim noktası yaratabilir. Bu

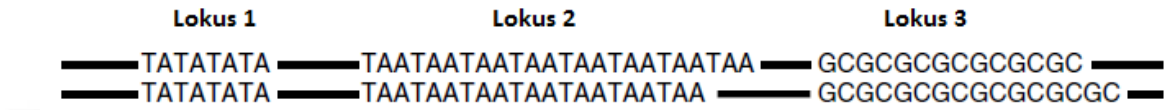
şekilde yaratılan bir restriksiyon bölgesi, bir kromozomda bulunur fakat homolog kromozomda bulunmazsa, bu iki kromozom, restriksiyon parçalarının membrana aktarılan ya da jel elektroforezine tabi tutulan profillerinin analizi ile birbirinden ayırt edilebilir. DNA dizilim farklılıklarına göre genom bölgesinde farklı restriksiyon enzim alanları ve dolayısıyla bireyler arasında farklı DNA parça profilleri oluşacaktır. Restriksiyon kesim enzimleriyle oluşturulan bu parça uzunluklarındaki farklılıklar, *restriksiyon parça uzunluk polimorfizmi* (RFLP) olarak adlandırılır. RFLPler oldukça yaygındır; insan genomunda binlercesi tanımlanmıştır. RFLP teknolojisi ile DNA dizisindeki farklılıklar kolayca tespit edilebilmektedir. RFLP belirtecinin en önemli avantajı özgün dizi bilgisine ihtiyaç duyulmamasıdır. RFLP yöntemi türler, cinsler ve populasyonların analizinde kullanılmaktadır. Polimorfizm oranı çok yüksek olmasından dolayı aile ağacı ve haritalama analizlerinde tercih edilmektedir (Klug vd. 2011).

SNPler: SNPler (Tek nükleotid polimorfizmi) iki birey arasında genomun belli bir bölgesindeki tek nükleotid farklılıklarıdır. Genomda oldukça yaygın bulunan SNPlere, intron ve ekzon bölgelerinde, 500-1000 bç sıklıkla rastlanabilir. SNPlerin oluşmasında insersiyon ya da delesyon tip mutasyonlar temel etkindir. Genellikle 2 allele sahip SNP belirtecinin polimorfizm oranı düşük olsa da, genetik çeşitlilik, populasyon yapısı, genetik haritalama ve ıslah çalışmalarında yaygın olarak kullanılmaktadır (Freeland 2005, Özşensoy ve Kurar 2012).

Mikrosatellitler (SSR): Bu tez çalışmasında kullanılan diğer bir belirteç olan mikrosatellit DNA lokusları 1-6 nükleotid uzunluğunda kısa, tekrarlanan DNA dizilerini ifade etmektedir. Keşifleri 1980’li yıllara uzanan mikrosatellitler; basit dizi tekrarları (Simple Sequence Repeats-SSR) ya da kısa ard arda tekrarlar (Short Tandem Repeats-STR) olarak ta adlandırılırlar. Mikrosatellitler çekirdek ve kloroplast genomuna ek olarak bazı türlerde mitokondriyal genomda da bulunabilmektedirler (Freeland 2005). Tekrarlayan diziler genellikle kodlanmayan bölgelerde bulunurlar ve kromozomal sentromeri çevreledikleri için satellit-uydu adını alırlar.

Mikrosatellitlerin genomda polimorfik oldukları ortaya konmuştur. Bu dizilerin tekrarlanma sayıları ve sıklıkları yüksek oranda polimorfizm gösterir ve bu diziler

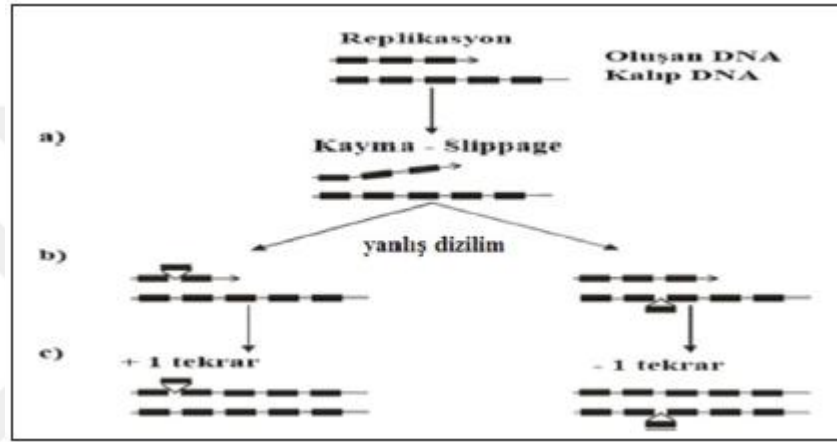
genom boyunca rastgele dağılmışlardır. Bir lokusta tekrar sayısı 5-100 arasında değişmektedir (Korkmaz-Ağaoğlu ve Ertuğrul 2010) (Şekil 2.15). Genomda bulunma sıklıkları ve yüksek polimorfizm göstermeleri mikrosatellitleri popüler bir genetik belirteç yapmaktadır (Kelkar vd. 2010). Populasyon içinde benzer özellikler göstermelerine rağmen bireyden bireye farklılık gösterirler (Hearne vd. 1992). Bu polimorfizm tarzı mikrosatellitlerin populasyon genetiği çalışmalarında kullanımını uygun hale getirmektedir.



Şekil 2.15 Polimorfik mikrosatellit lokusları (Freeland 2005)

Bu yüksek polimorfizm; yüksek mutasyon oranından kaynaklanmaktadır. Mikrosatellitlerin mutasyon oranı genomdaki diğer bölgelere göre oldukça yüksektir. Her bir replikasyon ve lokus başına mutasyon oranının, kendi genomları içindeki diğer bölgelere göre, mayalarda 10^{-4} - 10^{-5} kat, farelerde ise 10^{-3} - 10^{-4} kat fazla olduğu tahmin edilmektedir (Dallas 1992, Strand vd. 1993). Yüksek mutasyon oranı ile mikrosatellitler her bir lokusta birden fazla allel bulundurma şansına sahiptirler ve bu yüksek mutasyon oranı ile nispeten daha yakın geçmişte gerçekleşen populasyonlar arası genetik ilişkilerin açığa çıkarılmasında uygun belirteçlerdir. Doğu Afrika'da çiklet balığıyla yapılan bir çalışma mikrosatellit belirtecinin bu anlamda başarısını göstermektedir (Kornfield ve Smith 2000). Malawi ve Victoria gölleri son 700.000 yıl içinde (hatta bazı türler için son 200 yılda) evrimleşen yüzlerce türe ev sahipliği yapmaktadır. Bu türlerin evrimsel süreçlerinin aydınlatılmasında mtDNA ve allozim verilerinden sınırlı bilgi elde edilmiştir. Polimorfik bölgeler tanımlansa dahi, türleşme olayının çok yakın bir geçmişte olması pek çok allelin farklı taksonlar arasında halen paylaşılmakta olduğu anlamına gelmektedir, çünkü türe özgü allellerin evrimleşebilmesi için gereken zaman henüz geçmemiştir. 1990'larda diğer belirteçlere göre çiklet balığı grupları içinde ve gruplar arasında daha fazla varyasyon içeren mikrosatellit lokusları tanımlanmasıyla türe ait evrimsel süreç aydınlatılabilmektedir.

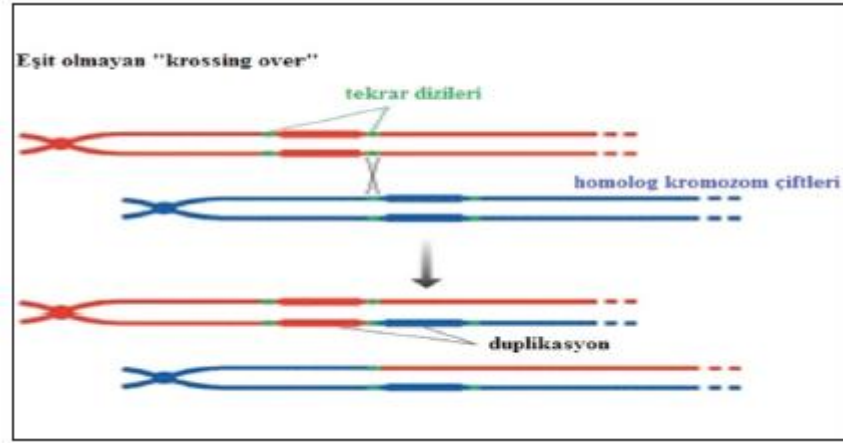
Mikrosatellit lokuslarında mutasyona neden olan ilk mekanizmanın; DNA replikasyonu sırasında oluşan bir hata olan kayma (slippage) olduğu ortaya konmuştur (Kelkar vd. 2010). Replikasyon kayması olarak bilinen bu durum tekrar bölgesinin replikasyonu sırasında oluşur. DNA polimeraz enziminin kayması sonucu, replikasyon sırasında oluşan yeni DNA zinciri, kalıp DNA'ya göre daha kısa ya da uzun olur. Bu olay, mikrosatellitlerin birkaç tekrar kazanması ya da kaybetmesiyle sonuçlanır (Korkmaz-Ağaoğlu ve Ertuğrul 2010) (Şekil 2.16).



Şekil 2.16 Replikasyon kayması sonucu mikrosatellitlerde oluşan mutasyon (Korkmaz-Ağaoğlu ve Ertuğrul 2010)

a. Replikasyon sırasında polimerazda oluşan kayma b. Kalıp ya da yeni sentezlenen DNA'da oluşan yanlış dizilim c. Replikasyonun devam etmesi ve eksik ya da fazla tekrar oluşması

Mutasyona neden olan bir diğer mekanizma; homolog kromozomlardaki mikrosatellit tekrarlarında krossing-over sırasında eşleşmenin tam olmamasıdır. Homolog kromozom çiftleri arasında iyi olmayan bu eşleşmelerin; tekrar sayılarının artışından kaynaklandığı düşünülmektedir (Şekil 2.17).



Şekil 2.17 Eşit olmayan krossing over (Korkmaz-Ağaoğlu ve Ertuğrul 2010)

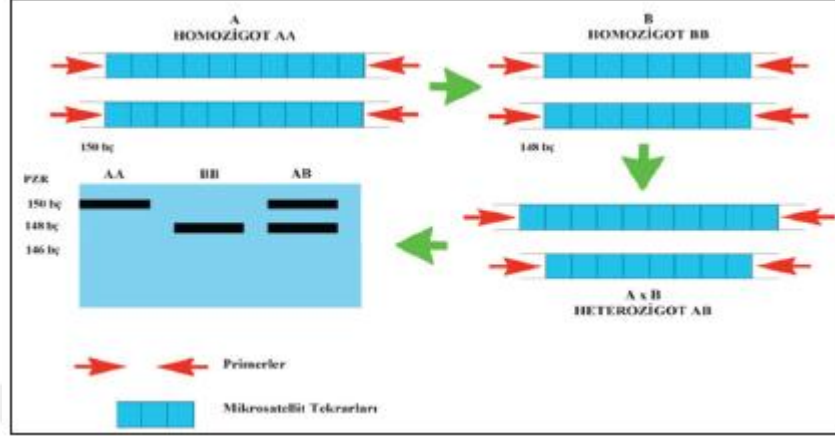
Mikrosatellitler aracılığıyla genotiplerin belirlenmesi dört aşamadan oluşmaktadır:

- 1) DNA izolasyonu
- 2) PZR
- 3) Elektroforez
- 4) Fragment analizi ile verilerin elde edilmesi ve değerlendirilmesi

Mikrosatellit lokuslarının amplifikasyonunda kullanılan primerler tekrar bölgesinin iki yanında bulunan flanking (komşu) bölgelere göre tasarlanırlar. Flanking bölgeler yakın akraba türler arasında korunduğu için primerler birden fazla tür için kullanılabilir (Freeland 2005). Mikrosatellit primerleri floresans boyayla işaretlenerek kullanılmaktadır; tercihe göre 5 farklı floresan boya (FAM, HEX, ROX, TET, LIZ) ile işaretlenebilir.

Bir populasyonda; genomdaki mikrosatellit lokuslarının PZR ile çoğaltılması ve jel elektroforezi ile yürütülmesi sonucunda, heterozigot ve homozigot bireylere ait bantlar jel üzerinde görüntülenebilmektedir (Şekil 2.18). Bir canlı; biri anneden diğeri babadan gelen kromozomların her ikisinde de aynı uzunlukta mikrosatellit tekrarına sahip ise bu lokuslar bakımından homozigottur ve PZR sonucu çoğalan bu mikrosatellit lokusu jel üzerinde tek bir kalın bant olarak görülür (Şekil 2.18, AA ve BB'nin görüntüsü). Eğer birey, anne ve babadan gelen kromozomlarda farklı uzunlukta mikrosatellit tekrarları

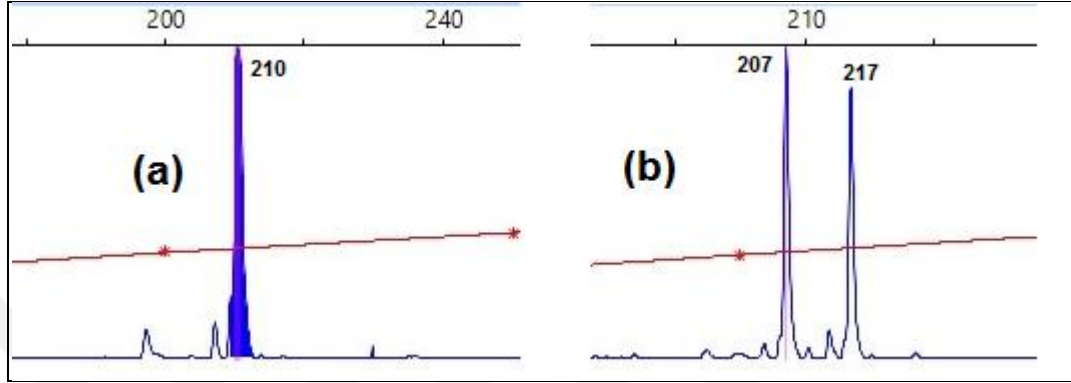
içeriyorsa heterozigottur ve elektroforez sonucunda jel üzerinde farklı uzunlukta iki bant gözlenir (Şekil 2.18, AB'nin görüntüsü).



Şekil 2.18 Bir populasyondaki homozigot ve heterozigot bireylere ait elektroforez jel görüntüsü (Korkmaz-Ağaoğlu ve Ertuğrul 2010)

Mikrosatellitler jel elektroforezi ile görüntülenebildikleri gibi otomatik dizi analiz cihazlarında **fragment analizi** de yapılabilmektedir. Floresan işaretli primerler vasıtasıyla PZR işlemiyle çoğaltılan mikrosatellit lokuslarının allel büyüklükleri fragment analizi yöntemiyle belirlenmektedir. Fragment analizi, kapiller elektroforez vasıtasıyla moleküllerin büyüklük, elektriksel alandaki hareket kabiliyeti, faz ayrımı gibi özelliklere dayanarak ayrılması prensibine dayanır. Kapiller elektroforez sisteminde silikayla kaplı dar bir kapiller boru, kapillere polimer dolduran bir şırınga, her iki kutupta geçirgenliği sağlayan tampon hazneleri ve yüksek voltajlı bir güç kaynağı bulunmaktadır. Bunlara ek olarak bir floresan dedektör, lazer, tarayıcı ve bilgisayar da kullanılır. Kapiller elektroforezde moleküllerin ayrımı yüksek voltaj altında gerçekleşir. Negatif yüklü DNA molekülleri polimer içerisinde sabit voltaj ve sıcaklık altında anoda doğru hareket eder. Moleküllerin hareket hızı büyüklüklerine, elektriksel kuvvete ve polimer yapısına bağlıdır. Moleküller kapillerin silikayla kaplı olmayan bölgesinden geçerken burada lazer ışınına göre PZR işleminde kullanılan primerin rengine göre değişik dalga boyunda ışımaya yaparlar. Yayılan bu ışın özel bir kamera tarafından algılanır. Bu veriler bilgisayar ortamına aktarılır ve burada uygun bir yazılım vasıtasıyla değerlendirilerek ekranda büyüklük ve yoğunluğu ifade eden pikler şeklinde görülür. Fragment uzunluğu bilinen floresan işaretli bir standart örnek yardımıyla piklerin analizi

yapılabilmektedir (Aşıcıoğlu vd. 2002). Bu tez çalışmasında elde edilen örnek bir mikrosatellit lokusuna ait fragment analizi sonucuna göre, mavi renkte görülen piklerin her biri farklı bir alleli ifade etmektedir (Şekil 2.19). Mikrosatellit lokusları bakımından homozigot ve heterozigot olan bireyler sırasıyla tek ve çift pik şeklinde görülmektedir.



Şekil 2.19 a. Homozigot ve b. heterozigot bireylere ait örnek fragment analiz dosyası görüntüleri

Mikrosatellitler; ko-dominant ve biparental kalıtım özelliği göstermeleri, lokusa özgü olmaları, genom içinde geniş dağılım göstermeleri ve yüksek polimorfizm oranı ile filocoğrafya ve populasyon genetiği çalışmaları için idealdir (Zhang ve Hewitt 2003). Ancak, geçmiş çok eski tarihlere dayanan evrimsel ilişkilerin belirlenmesinde kullanışlı değildirler. Hızlı mutasyon oranı ve allel büyüklüğündeki artış ya da azalış eğilimi, sıklıkla karşılaşılan büyüklük homoplazisine (size homoplasy) neden olmaktadır. Örneğin aynı lokusta bulunan iki atasal allelden biri 16 diğeryse 20 nükleotidli iki tekrardan oluşmaktadır. Eğer büyük allel mutasyonla bir tekrar kaybeder ve küçük allel de bir tekrar kazanırsa bu durumda her iki allel de 18 tekrara sahip olacaktır. Bu durumda gerçekte evrimsel hikâyeleri farklı olan bu alleller aynı atasal sekansın iki kopyası gibi düşünülecektir. Büyüklük homoplazisi, mikrosatellit verisi kullanılarak atasal ilişkilerin çözülmesini zorlaştırmaktadır (Freeland 2005).

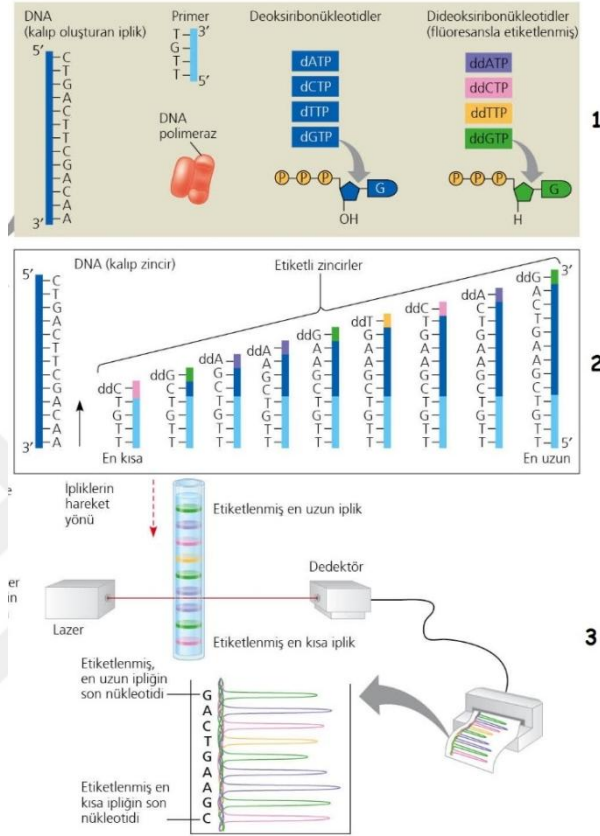
Mikrosatellitlerin diğer kullanım alanları, ebeveyn tayini ve bağlantı analizleri, genetik haritalama çalışmaları ve gen kaynaklarının korunmasıyla ilgili çalışmalardır (Korkmaz-Ağaoğlu ve Ertuğrul 2010). Mikrosatellitler ayrıca FBI gibi kurumlar tarafından, suçluların DNA tiplendirilmesinde ve mahkûm edilen suçluların DNA profillerini içeren

veri tabanı oluşturulmasında da kullanılmaktadır. Veritabanı büyüdükçe suç dosyalarının çözülmesinde önemli adımlar atılmaktadır. Olay yerinde elde edilen DNA'nın mikrosatellit analizi aracılığıyla elde edilen DNA profili ile veritabanındaki DNA profilleri karşılaştırılması sonucu ABD'de 3 yılda yaklaşık 1700 vaka çözülmüştür. Mikrosatellit lokusları genom boyunca dağılmaları ve oldukça küçük diziler olmaları dolayısıyla adli vakalarda tercih edilmektedir. Çünkü olay yerinde bulunan DNA örneği yüksek oranda parçalanmaya maruz kalmış dahi olsa mikrosatellit dizisinin sağlam kalma şansı oldukça yüksektir. Mikrosatellitler bu özelliğiyle adli vakalarda en çok kullanılan belirteçtir (Klug vd. 2011).

DNA dizi analizi: Bir DNA molekülü, ancak nükleotid dizisi bilinirse tam olarak karakterize edilebilir. DNA dizisinin belirlenmesi; genlerin yapısı, fonksiyonu, regülasyonu ve genom organizasyonu ile ilgili mekanizmaların anlaşılmasına büyük katkı sağlamıştır.

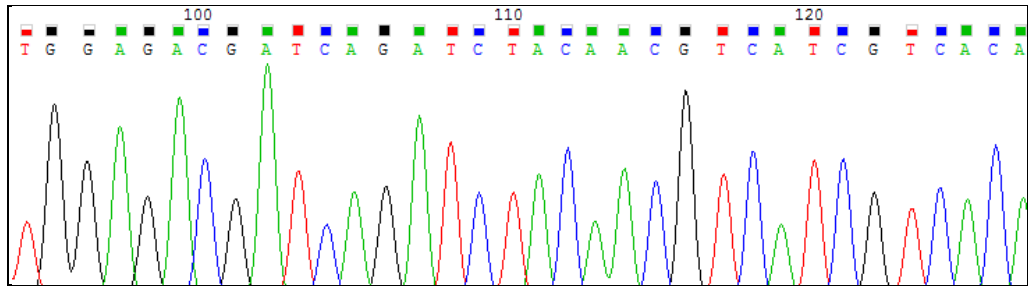
Günümüzde en çok kullanılan DNA dizi analizi yöntemi James Sanger ve arkadaşları tarafından geliştirilen “zincir sonlanma” yöntemidir. Bu yöntemde öncelikle, dizisi belirlenecek DNA molekülü denatüre edilerek tek zincirli hale dönüştürülür. Tek zincirlerden her biri farklı nükleotidlerle gelişigüzel sonlanmıştır. Daha sonra PZR işlemi için 4 farklı tüpte reaksiyon karışımı hazırlanır. Klasik PZR işleminden farklı olarak dNTP karışımına ek olarak her bir tüpe dideoksinükleotid (ddATP, ddGTP, ddCTP, ddTTP) adı verilen yapısı değiştirilmiş deoksiribonükleotidlerden bir tanesi ilave edilir. Dideoksiribonükleotidler 3'-OH grubunda oksijen içermez. Primer ya da ddNTP'lerden biri dizi analizinin gerçekleşmesi için floresan ile işaretlenir. PZR işleminde primer uzaması basamağı sırasında polimerazın dideoksinükleotidlerden birini zincire takmasıyla zincir o noktada sonlanır. Çünkü ddNTP bir sonraki nükleotidin bağlanması için gereken 3'-OH grubunu içermez. Sonuçta çeşitli uzunluklarda bir grup işaretlenmiş iplik oluşur. İşaretli iplikler, dizideki son nükleotidi temsil eden işaretin rengindedir. Oluşan PZR ürünleri poliakrilamid jelde elektroforez işlemine tabi tutulurlar. Sekanslama işlemi için jel, kılcal bir tüpte oluşturulur. Elde edilen jel görüntüsünde birbirinden ayrılan DNA parçaları, dizisinin belirlenmesi için incelenir. Kullanılan bir floresan dedektör yardımıyla her bir DNA parçasına ait işaret

rengi algılanarak bazlar tek tek okunur (Şekil 2.20) (Klug vd. 2011, Reece vd. 2013). Okunan bazlar, kromatogram dosyası şeklinde pikler halinde bilgisayar ekranında görüntülenir (Şekil 2.21).



Şekil 2.20 Zincir sonlanma yöntemi kullanılarak yapılan DNA dizi analizi (Reece vd. 2013)

(1) Sekanslanacak DNA'nın denatürasyonla tek iplikçiğe ayrılması ve PZR işlemi için kullanılacak reaksiyon bileşenleri. (2) PZR işlemi sonucu oluşan farklı uzunlukta DNA fragmanları. (3) Jel elektroforezi ile fragmanların ayrıştırılması ve DNA dizisinin dedektörce belirlenmesi



Şekil 2.21 DNA dizi analizi sonucu elde edilen örnek kromatogram dosyası

2.11 Populasyon Genetiği Çalışmalarında Kullanılan İstatistikî Analizler

Genetik çeşitlilik, bir populasyona ait en önemli özelliklerin başında gelir. Çevresel şartların sürekli değişmesi ile beraber populasyonun mevcut şartlara adaptasyonu ve evrimleşmeye devam etmesi noktasında genetik varyasyonun belirlenmesi gereklidir. Genetik varyasyonun düşük olması, yüksek seviyede soy içi üreme (inbreeding) göstergesidir ve populasyon ya da birey seviyesinde uyum gücünü azaltabilir. Bu nedenle, genetik çeşitliliğin belirlenmesi populasyon genetiğinin temelini oluşturmaktadır ve koruma biyolojisi çalışmalarında önemli bir uygulama olarak karşımıza çıkmaktadır (Freeland 2005).

Bir türe ait ya da türler arası genetik çeşitliliğin belirlenmesinde en önemli nokta populasyon seviyesinde ve genomik seviyede işleyen evrimsel süreçleri anlamaktır. PZR'ın keşfiyle hızla büyüyen genetik bilgi birikimi beraberinde bu bilgiyi uygun şekilde analiz edecek programların oluşturulmasını getirmiştir. Günümüzde populasyon genetiği çalışmaları için çeşitli istatistik programları geliştirilmiş, gün geçtikçe daha sofistike programların yazılımı artmaktadır (Excoffier ve Heckel 2006).

Genetik varyasyonun ölçülmesi kapsamında yapılacak istatistikî analizler, tek bir populasyon içindeki varyasyonun belirlenmesi ve populasyonlar arasındaki varyasyonun belirlenmesi şeklinde yapılır.

Tek bir populasyona ait analizlerde, allel ve genotip frekanslarının (sıklıkları) belirlenmesi gereklidir. Bu kapsamda yapılan allelik çeşitlilik (A) ölçümü; lokus başına düşen ortalama allel sayısının belirlenmesidir. Örneğin bir populasyondaki bir lokusta dört allel ve diğer lokusta altı allel olduğunu varsayarsak, $A = (4+6)/2 = 5$ şeklinde bulunur. Diğer bir genetik çeşitlilik ölçüğü, polimorfik lokusların yüzdesidir (P). Eğer bir populasyonda on lokus incelenir ve bunların altısı değişken çıkarsa, $P = 6/10 = 0.60$ olarak bulunur. Üçüncü varyasyon ölçüm şekli olan gözlenen heterozigotluk (H_o); belirli bir lokusta gözlenen heterozigot birey sayısının çalışılan tüm örnek sayısına bölümüyle hesaplanır. Örneğin 1612 bireyden oluşan bir populasyonda 138 heterozigot birey varsa bu durumda $H_o = 138/1612 = 0.085$ olarak bulunur. Beklenen heterozigotluk

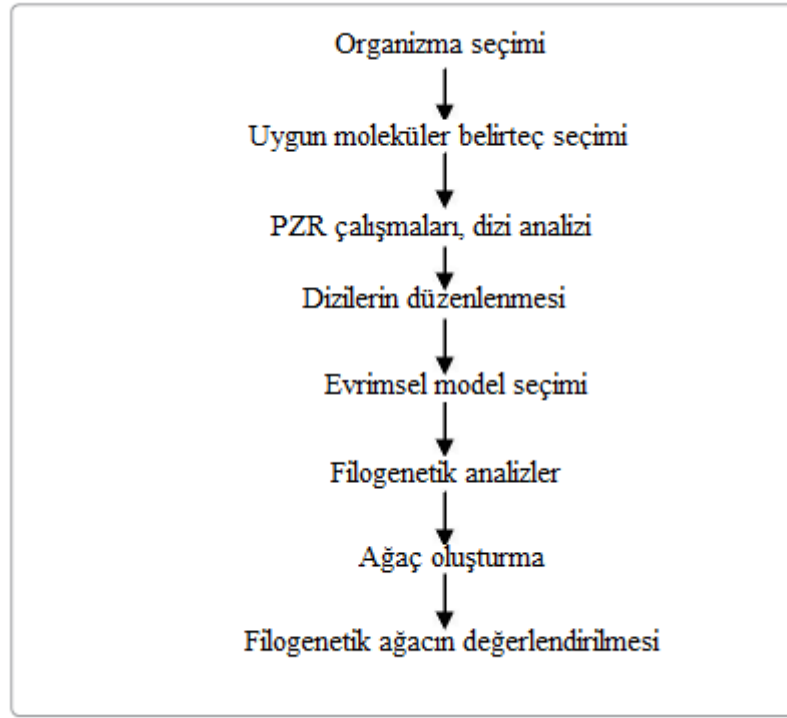
ise (H_e), Hardy-Weinberg eşitliğinde olan bir populasyonda beklenen heterozigotların sıklığıdır. Bir diğer varyasyon ölçeği olan gen çeşitliliği (h) haploid veri için de hesaplanır. Mitokondriyal veri için; h genellikle haplotip çeşitliliğinin ölçümüdür. Buna göre h , farklı mitokondriyal haplotiplerin sayı ve sıklıklarını tanımlar. Ancak mitokondriyal DNA gibi hızlı evrimleşen genomlar için, bireylerin büyük çoğunluğu farklı bir haplotipe sahip olacağından, haplotip çeşitliliği yaklaşık 1 olarak çıkacaktır. Bu noktada daha bilgi verici olması açısından, nükleotid çeşitliliği (π) yani, iki DNA dizisi arasındaki nükleotid farklılıkları dikkate alınır (Freeland 2005).

Genetik varyasyon çalışmalarında birden fazla populasyonla çalışılması durumunda tek bir populasyondaki varyasyonun belirlenmesi kadar, populasyonlar arasındaki varyasyonun belirlenmesi de önemlidir. Çünkü populasyon genetiği, hem populasyon içi hem de populasyonlar arası süreçlerden etkilenir. Bu nedenle gen akışının (genlerin bir populasyondan diğerine aktarılması) populasyonların ve türlerin evrimini nasıl etkilediğinin belirlenmesi gerekir. İki populasyon arasındaki genetik benzerliği ölçmenin ilk yolu aralarındaki genetik mesafeyi (D) ölçmektir. Genetik mesafenin hesaplanmasında pek çok metot vardır ancak en yaygın kullanılanı Nei'nin (1972) standart genetik mesafe değeridir. Benzer allel sıklığına sahip populasyonlarda D değeri yaklaşık 0 olarak çıkacak, ortak allel sayısı azaldıkça bu değer de artacaktır (Freeland 2005).

Populasyonlar arasındaki genetik varyasyonun hesaplanmasında en sık kullanılan yöntem F -istatistikleridir. Wright (1951) tarafından bulunan ve Nei (1977) tarafından geliştirilen F -istatistikleri, genetik varyasyonun populasyon içinde ya da populasyonlar arasında paylaştırılmasında soy içi üreme (inbreeding) katsayılarını kullanır ve üç şekilde hesaplanır. F_{IS} bireyler arasındaki soy içi üreme miktarının ölçümüdür. Fiksasyon indeksi olarak ta bilinen F_{ST} ise, altpopulasyonlar arasındaki farklılaşma değerini ifade eder. Populasyonun geri kalanı ile kıyaslayarak, bir altpopulasyon içindeki soy içi üremenin ölçümüdür. Üçüncü F -istatistiği F_{IT} 'dir. F_{IT} toplam soy içi üreme katsayısıdır. Bir bireye ait heterozigotluğun, tüm populasyon ile kıyaslanması ile hesaplanır. Bu üç F -istatistiği arasında en sık kullanılanı, fiksasyon indeksidir. Eğer iki populasyon aynı allel sıklığına sahipse F_{ST} değeri 0 olarak çıkacaktır. Eğer iki

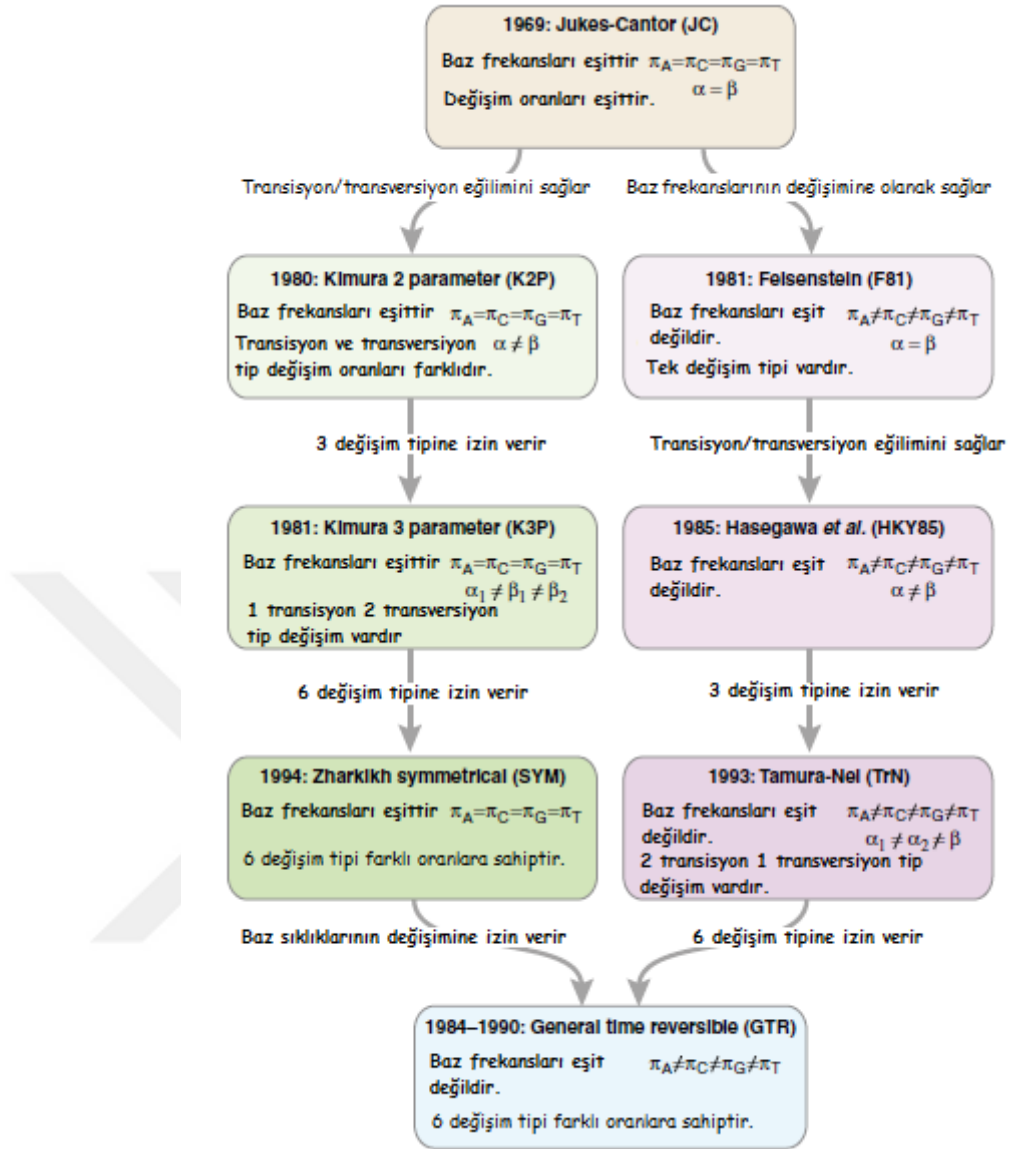
populasyon farklı alleller için fikse olmuşsa F_{ST} değeri 1 olur. Buna göre F_{ST} değerinin 0- 0,05 aralığında çıkması düşük genetik farklılaşma olarak, 0,05- 0,25 aralığı ortalama genetik farklılaşma olarak, 0,25'ten büyük çıkması durumunda ise yüksek genetik farklılaşma olduğu yönünde değerlendirilir. Yalnızca çok istisnai durumlarda düşük fiksasyon indeksi değeri yüksek genetik farklılaşmayı ifade eder. Fiksasyon indeksi ayrıca gen akışının (N_m) hesaplanmasına olanak vermesi açısından da önemlidir. Gen akışı, $0,25 (1-F_{ST})/F_{ST}$ formülüyle hesaplanır (Freeland 2005).

Genetik çeşitliliğin belirlenmesi yanında taksonların filogenisinin yani türler veya bireyler arasındaki evrimsel akrabalığın belirlenmesinde de istatistikî analiz programlarının kullanımı önemlidir (Simon vd. 2006). Filogeniler, bir viral enfeksiyonun orijininin ve yayılışının belirlenmesi, türlere ait nüfus değişimi ve göç şekilleri gibi konuların açığa çıkarılmasında ya da türler ve genler arasındaki ilişkilerin belirlenmesi gibi temel biyolojik soruların yanıtlarına ışık tutmaktadır. DNA dizi analizi teknolojisiyle birlikte filogeni yaklaşımı “moleküler filogeni” adı altında moleküler temelli filogenetik yaklaşımın gelişmesine neden olmuştur (Yang ve Rannala 2012). Moleküler filogeni çalışmalarında uygulanan genel basamaklar şekil 2.22’de görülmektedir.



Şekil 2.22 Moleküler filogeni çalışmalarında izlenen temel basamaklar (Patwardhan vd. 2014)

Günümüzde kullanıcı dostu filogenetik ağaç oluşturma yöntemlerinin geliştirilmesi, pek çok sistematikçinin filogenetik metotları kullanımının önünü açmıştır. DNA sekanslarının evrim mekanizması öğrenildikçe, Maximum likelihood (ML) gibi model bazlı programların kullanımı yaygınlaşmıştır. 1980’li ve 90’lı yıllarda maximum likelihood model bazlı yaklaşımlar filogenetik ağaç oluşturma programlarında kullanılmaya başlanmıştır (Felsenstein 1981, Swofford vd. 1996). 2001 yılında MrBayes programının ilk versiyonu kullanıma sokulmuştur. Bayesian analizi, olasılık modellerini kullanarak filogenetik ilişkileri açığa çıkarmaktadır (Huelsenbeck ve Ronquist 2001). Bu tip programlar, evrimsel modelleme temeline dayanması, gerçeğe yakın modellerin oluşturulması ve bunları arasından en uygun olanının seçilmesine olanak sağlayarak sistematik çalışmalarda kendine yer edinmiştir (Posada ve Buckley 2004, Sullivan ve Joyce 2005). Modeltest gibi kullanıcı dostu programlar model seçimini kolaylaştırmıştır (Posada ve Crandall 1998) (Şekil 2.23).



Şekil 2.23 Filogenetik analizlerde kullanılan modeller (π = Her bir nükleotide ait frekans, α = Transisyon oranı, β = Transversiyon oranı) (Simon vd. 2006)

3. MATERİYAL VE YÖNTEM

3.1 Materyal

Bu çalışma Ankara Üniversitesi Biyoloji Bölümü Moleküler Sistemik Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiştir. Çalışmada, Türkiye'deki 17 lokaliteden (Şekil 3.1) toplam 63 *Apodemus flavicollis* örneği kullanılmıştır (Çizelge 3.1). Çalışmada sitokrom *b* bölgesi için DNA dizi analizi ve mikrosatellit lokusları için fragment analizi olmak üzere iki farklı metot uygulanmıştır.



Şekil 3.1 Çalışmada kullanılan *A. flavicollis* örneklerinin toplandığı lokaliteler

Çizelge 3.1 Çalışmada kullanılan *A. flavicollis* örneklerine ait lokaliteler ve müze numaraları

	Müze no	Tür	Lokalise
1	2129	<i>A.flavicollis</i>	Abant-BOLU
2	2178	<i>A.flavicollis</i>	KİLİS
3	2885	<i>A.flavicollis</i>	KİLİS
4	2384	<i>A.flavicollis</i>	Demirköy-KIRKLARELİ
5	2385	<i>A.flavicollis</i>	Demirköy-KIRKLARELİ
6	2386	<i>A.flavicollis</i>	Demirköy-KIRKLARELİ
7	2387	<i>A.flavicollis</i>	Demirköy-KIRKLARELİ
8	2389	<i>A.flavicollis</i>	Demirköy-KIRKLARELİ
9	6752	<i>A.flavicollis</i>	Kırıkköy- KIRKLARELİ
10	2582	<i>A.flavicollis</i>	Beyşehir-KONYA
11	2583	<i>A.flavicollis</i>	Beyşehir-KONYA
12	2584	<i>A.flavicollis</i>	Beyşehir-KONYA
13	2585	<i>A.flavicollis</i>	Beyşehir-KONYA
14	2586	<i>A.flavicollis</i>	Beyşehir-KONYA
15	2603	<i>A.flavicollis</i>	BURDUR
16	2851	<i>A.flavicollis</i>	Kurupelit-SAMSUN
17	2852	<i>A.flavicollis</i>	Kurupelit-SAMSUN
18	3379	<i>A.flavicollis</i>	Hopa-ARTVİN
19	3400	<i>A.flavicollis</i>	Ardanuç-ARTVİN
20	3447	<i>A.flavicollis</i>	Ardanuç-ARTVİN
21	3448	<i>A.flavicollis</i>	Ardanuç-ARTVİN
22	3790	<i>A.flavicollis</i>	Borçka-ARTVİN
23	5657	<i>A.flavicollis</i>	Karanlıkmeşe-ARTVİN
24	5702	<i>A.flavicollis</i>	Karanlıkmeşe-ARTVİN
25	3452	<i>A.flavicollis</i>	ÇORUM
26	3453	<i>A.flavicollis</i>	ÇORUM
27	3454	<i>A.flavicollis</i>	ÇORUM
28	3455	<i>A.flavicollis</i>	ÇORUM
29	2839	<i>A.flavicollis</i>	Akkuş-ORDU
30	3428	<i>A.flavicollis</i>	Efrili-ORDU
31	3471	<i>A.flavicollis</i>	Efrili-ORDU
32	3472	<i>A.flavicollis</i>	Efrili-ORDU
33	3473	<i>A.flavicollis</i>	Efrili-ORDU
34	3670	<i>A.flavicollis</i>	Uludağ-BURSA
35	3677	<i>A.flavicollis</i>	Uludağ-BURSA
36	3685	<i>A.flavicollis</i>	Uludağ-BURSA
37	3695	<i>A.flavicollis</i>	Uludağ-BURSA
38	3696	<i>A.flavicollis</i>	Uludağ-BURSA

Çizelge 3.1 Çalışmada kullanılan *A. flavicollis* örneklerine ait lokaliteler ve müze numaraları (devam)

	Müze no	Tür	Lokalise
39	3671	<i>A.flavicollis</i>	Çaycuma-ZONGULDAK
40	3709	<i>A.flavicollis</i>	Çaycuma-ZONGULDAK
41	3710	<i>A.flavicollis</i>	Çaycuma-ZONGULDAK
42	3734	<i>A.flavicollis</i>	Çaycuma-ZONGULDAK
43	3748	<i>A.flavicollis</i>	Çaycuma-ZONGULDAK
44	3909	<i>A.flavicollis</i>	Yomra-TRABZON
45	3911	<i>A.flavicollis</i>	Kesap-GİRESUN
46	5271	<i>A.flavicollis</i>	Kemaliye-ERZİNCAN
47	5272	<i>A.flavicollis</i>	Kemaliye-ERZİNCAN
48	5273	<i>A.flavicollis</i>	Kemaliye-ERZİNCAN
49	5274	<i>A.flavicollis</i>	Kemaliye-ERZİNCAN
50	5275	<i>A.flavicollis</i>	Kemaliye-ERZİNCAN
51	5283	<i>A.flavicollis</i>	Kemaliye-ERZİNCAN
52	4003	<i>A.flavicollis</i>	Beykoz-İSTANBUL
53	4004	<i>A.flavicollis</i>	Beykoz-İSTANBUL
54	4005	<i>A.flavicollis</i>	Beykoz-İSTANBUL
55	4008	<i>A.flavicollis</i>	Beykoz-İSTANBUL
56	5295	<i>A.flavicollis</i>	Çayeli-RİZE
57	5297	<i>A.flavicollis</i>	Çayeli-RİZE
58	5347	<i>A.flavicollis</i>	Çayeli-RİZE
59	5298	<i>A.flavicollis</i>	Çataldere-RİZE
60	7212	<i>A.flavicollis</i>	Çan-ÇANAKKALE
61	7213	<i>A.flavicollis</i>	Çan-ÇANAKKALE
62	7241	<i>A.flavicollis</i>	Çan-ÇANAKKALE
63	7248	<i>A.flavicollis</i>	Çan-ÇANAKKALE

Sitokrom *b* bölgesi ile yapılan analizlerde Genbank'tan alınan *A. flavicollis* örnekleri de kullanılmış (Çizelge 3.2) ve dış grup olarak *Apodemus mystacinus*, *Apodemus sylvaticus*, *Mus domesticus*, *Mus macedonicus* ve *Rattus norvegicus* örnekleri kullanılmıştır. Dış grup olarak kullanılan örnekler gerek halihazırda müzede bulunanlardan gerekse GenBank'tan (Çizelge 3.3) temin edilmiştir.

Çizelge 3.2 Sitokrom *b* bölgesi analizlerinde kullanılan *A. flavicollis* GenBank örnekleri

	Accession number	Tür	Lokale
1	AJ605667	<i>A.flavicollis</i>	Muğla
2	AJ605668	<i>A.flavicollis</i>	Muğla
3	AJ605676	<i>A.flavicollis</i>	Muğla
4	AJ605667	<i>A.flavicollis</i>	Muğla
5	AJ605669	<i>A.flavicollis</i>	Isparta
6	AJ605670	<i>A.flavicollis</i>	Isparta
7	AJ605687	<i>A.flavicollis</i>	İran
8	AJ605688	<i>A.flavicollis</i>	İran
9	AJ605690	<i>A.flavicollis</i>	İsrail
10	JF819962	<i>A.flavicollis</i>	Makedonya
11	JF819963	<i>A.flavicollis</i>	Makedonya
12	JF819964	<i>A.flavicollis</i>	Makedonya
13	AJ605642	<i>A.flavicollis</i>	Makedonya
14	JF819968	<i>A.flavicollis</i>	Bosna-Hersek
15	JF819969	<i>A.flavicollis</i>	Bosna-Hersek
16	JF819970	<i>A.flavicollis</i>	Bosna-Hersek
17	AJ605646	<i>A.flavicollis</i>	Romanya
18	AJ605647	<i>A.flavicollis</i>	Romanya
19	AJ605648	<i>A.flavicollis</i>	Romanya
20	AJ605691	<i>A.flavicollis</i>	Yugoslavya
21	AJ605692	<i>A.flavicollis</i>	Yugoslavya
22	AJ605672	<i>A.flavicollis</i>	Trakya
23	AJ605673	<i>A.flavicollis</i>	Trakya
24	AJ605618	<i>A.flavicollis</i>	Yunanistan
25	AJ605619	<i>A.flavicollis</i>	Yunanistan
26	AJ605620	<i>A.flavicollis</i>	Yunanistan
27	AJ605622	<i>A.flavicollis</i>	Yunanistan
28	AJ605624	<i>A.flavicollis</i>	Yunanistan
29	AJ605634	<i>A.flavicollis</i>	Yunanistan
30	AJ605656	<i>A.flavicollis</i>	Slovenya
31	AJ605657	<i>A.flavicollis</i>	Slovenya
32	AJ311150	<i>A.flavicollis</i>	İtalya
33	AJ298604	<i>A.flavicollis</i>	İtalya
34	AJ605635	<i>A.flavicollis</i>	İtalya
35	AJ605637	<i>A.flavicollis</i>	İtalya
36	AJ605640	<i>A.flavicollis</i>	İtalya
37	AJ311151	<i>A.flavicollis</i>	Fransa
38	AJ298602	<i>A.flavicollis</i>	Fransa
39	AJ605660	<i>A.flavicollis</i>	İspanya

Çizelge 3.2 Sitokrom *b* bölgesi analizlerinde kullanılan *A. flavicollis* GenBank örnekleri (devam)

	Accession number	Tür	Lokale
40	AJ605661	<i>A.flavicollis</i>	İspanya
41	AJ605663	<i>A.flavicollis</i>	İsveç
42	AJ605664	<i>A.flavicollis</i>	İsveç
43	AJ605616	<i>A.flavicollis</i>	Almanya
44	AJ298603	<i>A.flavicollis</i>	Almanya
45	AJ605600	<i>A.flavicollis</i>	Avusturya
46	AJ298601	<i>A.flavicollis</i>	Belçika
47	AJ605604	<i>A.flavicollis</i>	Belçika
48	AJ605610	<i>A.flavicollis</i>	Estonya
49	AJ605611	<i>A.flavicollis</i>	Estonya
50	AJ605608	<i>A.flavicollis</i>	Çek Cumhuriyeti
51	AJ605609	<i>A.flavicollis</i>	Çek Cumhuriyeti
52	AJ605641	<i>A.flavicollis</i>	Litvanya
53	AJ605601	<i>A.flavicollis</i>	Belarus
54	AJ605603	<i>A.flavicollis</i>	Belarus
55	AJ605652	<i>A.flavicollis</i>	Rusya
56	AJ605653	<i>A.flavicollis</i>	Rusya

Çizelge 3.3 Dış grup olarak kullanılan örnekler

	Müze no	Tür	Lokale
1	2188	<i>A.mystacinus</i>	Mersin
2	2189	<i>A.mystacinus</i>	Mersin
3	AJ298600	<i>A. sylvaticus</i>	İtalya
4	AJ511907	<i>A. sylvaticus</i>	Çek Cumhuriyeti
5	AB746363	<i>R. norvegicus</i>	Vietnam
6	AB746365	<i>R. norvegicus</i>	Vietnam
7	5884	<i>M. macedonicus</i>	İzmit
8	4091	<i>M. domesticus</i>	Bartın

3.2 DNA İzolasyonu

Çalışmada kullanılan örneklerin kas dokularından DNA izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Doyle ve Doyle'un (1991) CTAB (Setil trimetil amonyum bromür) DNA izolasyonu uyarlanarak oluşturulan izolasyon prosedürü aşağıda verilmiştir:

- Küçük parçalara ayrılan doku örnekleri ependorf tüpüne konulduktan sonra üzerine 300 µl CTAB (CTAB, Tris-HCl, EDTA, NaCl) tamponu eklenip mümkün olduğu kadar homojen bir sıvı elde edinceye kadar tek kullanımlık havaneli ile ezilmiştir.
- Homojenata sırasıyla 300 µl CTAB ve 50 µl βME (β-Merkapto etanol) eklenip ependorf tüp hafifçe karıştırılmıştır. Karışım 65°C'lik su banyosunda 1 saat inkübe edilmiştir.
- 500 µl C: IAA (Kloroform: izoamil alkol) (24:1) ilave edilip karışım süte benzer bir kıvama gelinceye kadar hafifçe karıştırılmıştır. 13.000 rpm'de +4°C'de 15 dakika santrifüj edilmiştir.
- Santrifüj edilen dokuların içinde olduğu ependorf tüpleri, aynı eğik açıda olacak şekilde buza yerleştirilmiştir. DNA üstteki sıvı tabakada olacağından üst faz pipetle çekilip ayrı bir ependorf tüpüne konulmuştur.
- 500 µl -20°C'de soğutulmuş izopropanol tüplere eklenmiş ve tüpler yavaşça karıştırılmıştır. -80°C'de 30 dk bekletilmiştir.
- Daha sonra 13.000 rpm'de +4°C'de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Süpernatant dökülmüş ve pellet 2 kere %70, 1 kere de %100'lük etil alkol ile yıkanmıştır.
- Ependorf tüpündeki pelletler laminar flow kabinde en az 1 saat kurumaya bırakılmıştır.
- Kuruyan DNA'nın üzerine 100 µl TE (Tris-EDTA) tamponu ilave edilerek DNA'nın çözünmesi sağlanmıştır. Elde edilen DNA örnekleri çalışma boyunca -20°C'de muhafaza edilmiştir.

İzole edilen DNA örneklerinin spektrofotometre (Agilent 2100 Bioanalyser NanoDrop ND-1000 Spectrophotometer) ile miktar ve saflık derecesi ölçümleri yapılmıştır. Ölçülen DNA miktarları 64,1ng/µl ile 3472,2 ng/µl arasında, saflıkları ise 1,95 ile 2,16 arasındadır (Çizelge 3.4).

Çizelge 3.4 Çalışmada kullanılan örneklerin DNA miktar ve saflık analizleri

#	Müze no	Lokalite	Nükleik asit miktarı	Ünite	260/280	260/230	Örnek tipi
1	2129	Bolu	834,3	ng/µl	2	2,23	DNA
2	2178	Kilis	460,3	ng/µl	2,09	1,3	DNA
3	2885	Kilis	1103	ng/µl	2,05	2,27	DNA
4	2384	Kırklareli	504,5	ng/µl	1,99	2,21	DNA
5	2385	Kırklareli	814,6	ng/µl	2,03	2,28	DNA
6	2386	Kırklareli	931,6	ng/µl	2,02	2,26	DNA
7	2387	Kırklareli	1828,7	ng/µl	2,04	2,28	DNA
8	2389	Kırklareli	1644,6	ng/µl	2,06	2,1	DNA
9	6752	Kırklareli	195,5	ng/µl	2,08	1,37	DNA
10	2582	Konya	212,1	ng/µl	1,96	2,08	DNA
11	2583	Konya	755	ng/µl	2,03	2,26	DNA
12	2584	Konya	657,1	ng/µl	2	2,21	DNA
13	2585	Konya	677,8	ng/µl	1,98	2,19	DNA
14	2586	Konya	219,7	ng/µl	2,01	2,24	DNA
15	2603	Burdur	1126,1	ng/µl	2,04	2,28	DNA
16	2851	Samsun	1513,2	ng/µl	2,04	2,28	DNA
17	2852	Samsun	1417,1	ng/µl	2,04	2,32	DNA
18	3379	Artvin	255,2	ng/µl	1,95	2,17	DNA
19	3400	Artvin	2266,3	ng/µl	2,05	2,25	DNA
20	3447	Artvin	2611,3	ng/µl	2,03	2,24	DNA
21	3448	Artvin	823,8	ng/µl	2,02	2,21	DNA
22	3790	Artvin	1890,2	ng/µl	2,05	2,27	DNA
23	5657	Artvin	1007,9	ng/µl	2,06	2,17	DNA
24	5702	Artvin	721,6	ng/µl	2,01	2,21	DNA
25	3452	Çorum	886,9	ng/µl	2,07	2,37	DNA
26	3453	Çorum	971	ng/µl	2,03	2,26	DNA
27	3454	Çorum	1103,3	ng/µl	2,04	2,25	DNA
28	3455	Çorum	867,8	ng/µl	2,02	2,28	DNA
29	2839	Ordu	1513,2	ng/µl	2,04	2,28	DNA
30	3428	Ordu	270,6	ng/µl	1,98	2,26	DNA
31	3471	Ordu	1680,4	ng/µl	2,05	2,21	DNA
32	3472	Ordu	2003,4	ng/µl	2,06	2,25	DNA
33	3473	Ordu	932,8	ng/µl	2,01	2,27	DNA
34	3670	Bursa	1980,6	ng/µl	2,06	2,29	DNA
35	3677	Bursa	304,8	ng/µl	2	2,26	DNA
36	3685	Bursa	296,6	ng/µl	2	2,22	DNA
37	3695	Bursa	1775	ng/µl	2,05	2,29	DNA
38	3696	Bursa	2631,5	ng/µl	2	2,26	DNA
39	3671	Zonguldak	987,5	ng/µl	2,01	2,29	DNA
40	3709	Zonguldak	682,4	ng/µl	1,99	2,15	DNA

Çizelge 3.4 Çalışmada kullanılan örneklerin DNA miktar ve saflık analizleri (devam)

#	Müze no	Lokalite	Nükleik asit miktarı	Ünite	260/280	260/230	Örnek tipi
41	3710	Zonguldak	181,3	ng/μl	2,01	2,01	DNA
42	3734	Zonguldak	278	ng/μl	2,01	2,2	DNA
43	3748	Zonguldak	1077,8	ng/μl	2,03	2,28	DNA
44	3909	Trabzon	1265	ng/μl	2,04	2,27	DNA
45	3911	Giresun	720,3	ng/μl	1,99	2,23	DNA
46	5271	Erzincan	1297,2	ng/μl	2,04	2,27	DNA
47	5272	Erzincan	636,6	ng/μl	2,02	2,17	DNA
48	5273	Erzincan	923,8	ng/μl	2,02	2,23	DNA
49	5274	Erzincan	247,3	ng/μl	1,99	2,14	DNA
50	5275	Erzincan	1851,8	ng/μl	2,05	2,28	DNA
51	5283	Erzincan	1148,7	ng/μl	2,06	2,24	DNA
52	4003	İstanbul	3472,2	ng/μl	2,03	2,2	DNA
53	4004	İstanbul	913,8	ng/μl	2,06	2,23	DNA
54	4005	İstanbul	1961,9	ng/μl	2,06	2,22	DNA
55	4008	İstanbul	742	ng/μl	2,05	2	DNA
56	5295	Rize	944,8	ng/μl	2,03	2,2	DNA
57	5297	Rize	941,7	ng/μl	2,07	2,26	DNA
58	5347	Rize	816,5	ng/μl	2	2,24	DNA
59	5298	Rize	64,1	ng/μl	2,16	1,24	DNA
60	7212	Çanakkale	725,1	ng/μl	2,03	2,28	DNA
61	7213	Çanakkale	812,3	ng/μl	2,04	2,27	DNA
62	7241	Çanakkale	1750,6	ng/μl	1,99	2,23	DNA
63	7248	Çanakkale	929,3	ng/μl	2,07	2,26	DNA

3.3 PZR Çalışmaları

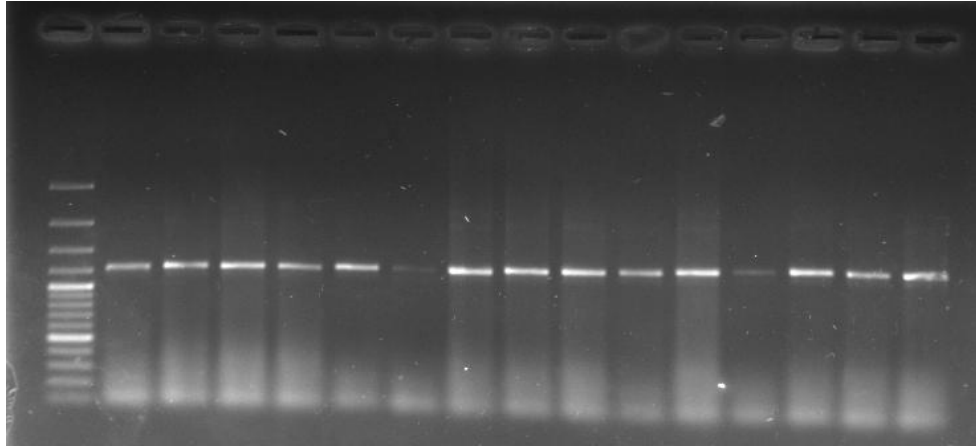
3.3.1 Sitokrom *b* bölgesinin PZR ile çoğaltılması

Tez çalışmasında mitokondriyal DNA'nın sitokrom *b* bölgesi PZR ile çoğaltılmıştır. PZR çalışması için çizelge 3.2'de verilen örnekler sitokrom *b* bölgesinin çoğaltılması için kullanılmıştır. Polimeraz zincir reaksiyonunu gerçekleştirebilmek için 25 μl reaksiyon karışımı, DNA (200 ng/μl) örneklerinden 1 μl, 2,5 μl tampon (750 mM Tris-HCl pH: 8,8, 200 mM (NH₄)₂ SO₄; Fermentas), 0,5 μl Taq DNA polimeraz (100 ünite, Fermentas), her molekülden 200 μM içeren dNTP karışımından 4 μl, 2 mM MgCl₂'den 1,5 μl ve 1 μl primer (10pmol/μl, Thermo Electron) eklenerek hazırlanmıştır. Sitokrom

b bölgesini çoğaltabilmek için L14724a (5' CGAAGCTTGATATGAAAAACCATCGTTG-3') ve H15915r (5'-GGAATTCATCTCTCCGGTTTACAAGAC-3') primer çifti kullanılmış ve bu bölgenin tamamı (yaklaşık 1100 bp) çoğaltılmıştır (Irwin vd. 1991). Bu bölgenin çoğaltılması için uygulanan PZR protokolü çizelge 3.5'te gösterilmektedir. PZR işleminden sonra elde edilen PZR ürünleri %1'lik agaroz jel üzerinde 1X TAE tamponunda 100 volt ile yürütülmüştür. Elektroforez işleminden sonra jel etidyum bromür ile boyanarak UV ışığı altında görüntülenmiştir. Bu işlem sonucu çoğaltılan sitokrom *b* bölgesinin örneklerin bir bölümüne ait jel görüntüsü şekil 3.2'de gösterildiği gibidir.

Çizelge 3.5 Sitokrom *b* bölgesine ait PZR protokolü

Ön Denatürasyon	94°C	5 dakika
35 döngü	93°C	1 dakika
	46°C	1 dakika
	65°C	1 dakika 30 saniye
Son uzama	65°C	10 dakika



Şekil 3.2 Sitokrom *b* bölgesinin PZR ile çoğaltılması sonucu ortaya çıkan jel görüntüsü

Çoğaltılan sitokrom *b* bölgesinin pseudogen (nükleer kontaminant) olup olmadığının kontrolü için çeşitli lokalitelerden seçilen 12 örneğe (2885, 2384, 2582, 2603, 3400, 3428, 3685, 3748, 3909, 3911, 5271, 4003) ait sitokrom *b* pseudogen bölgesi PZR ile

çoğaltılmıştır. PZR işleminde Lpseudo (5'-TTTGGTTCTCTACTAGGAATT-3') ve H15915r primer çifti kullanılmış ve yaklaşık 850 bç'lik pseudogen bölgesi çoğaltılmıştır (Dubey vd. 2009).

3.3.2 Mikrosatellit lokuslarının PZR ile çoğaltılması

Tez çalışmasında PZR çalışmasının ikinci basamağı mikrosatellit lokuslarının çoğaltılmasıdır. Çizelge 3.2'de verilen örnekler mikrosatellit lokuslarının çoğaltılması için kullanılmıştır. Polimeraz zincir reaksiyonunu gerçekleştirebilmek için 25 µl reaksiyon karışımı, DNA (200 ng/µl) örneklerinden 1 µl, 2,5 µl tampon (750 mM Tris-HCl pH: 8.8, 200 mM (NH₄)₂ SO₄; Fermentas), 0.5 µl Taq DNA polimeraz (100 ünite, Fermentas), her molekülden 200 µM içeren dNTP karışımından 4 µl, 2 mM MgCl₂'den 2 µl ve 1 µl primer (10pmol/µl, Thermo Electron) eklenerek hazırlanmıştır. PZR çalışmasında toplam 7 lokus çoğaltılmıştır. Kapiller elektroforez ve fragment analizinde kullanılması amacıyla her bir lokusun forward primerinin 5' ucu FAM (mavi) veya HEX (yeşil) floresans boya ile işaretlenmiştir (Çizelge 3.6).

Çizelge 3.6 PZR çalışmasıyla çoğaltılan mikrosatellit lokusları ve primer dizileri

Lokus	Allel uzunluğu (bç)	Primer dizisi	Boya	Bağlanma sıcaklığı (°C)
MSAf-8	114-180	F: CTCCTACGTGTTGCTCCATTC R: AGAAACAAAAACCCAAAGTTA	HEX	51
MSAf-22	116-166	F: CAAGCCTGGGATACATAAGAC R: GGCAGAAGCAGTAGCAAATGA	FAM	55
GTTD9A	202-216	F: CCCAAAATTGCCTTCCTGTCAC R: GGTCAGGATAGGCTGCATAGAAAG	FAM	60
GACAA12A	252-268	F: GTACTGCTGCGAAGAGACACCAT R: TGTTAGGGGAAGTATGTCAGTAGGAGT	FAM	55
GATAE10A	212-242	F: GCAGGAGTTCAGCAGTCTGAGG R: GATGCGGAATGACAGGATTTGA	FAM	60
GTTF9A	95-120	F: GGGTCCCAAGGGTAGTTTCAAAT R: CCCACCACAGCGTGTCTATAGG	HEX	55
GTTD8S	101-110	F: TCTGAACAGTGGTAGATAATTAGAGCTTA R: GAAACCGTTTGGTAAGATACTACAAAA	HEX	55

Mikrosatellit lokuslarının çoğaltılması için yapılan PZR çalışmalarında lokuslara göre değişen farklı protokoller kullanılmıştır (Gockel vd. 1997, Makova vd. 1998) (Çizelge 3.7-3.8).

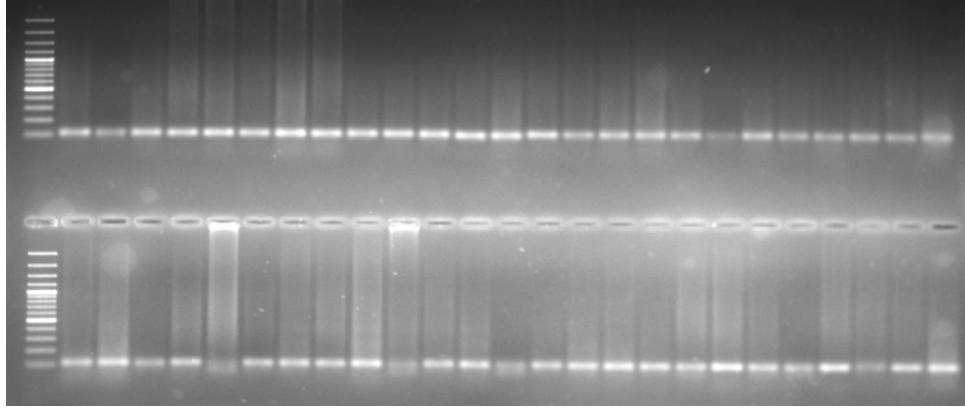
Çizelge 3.7 MSAf-8 ve MSAf-22 lokuslarının çoğaltılmasında kullanılan PZR protokolü

30 döngü	94°C	30 saniye
	51-55°C	30 saniye
	72°C	1 dakika
Son uzama	72°C	10 dakika

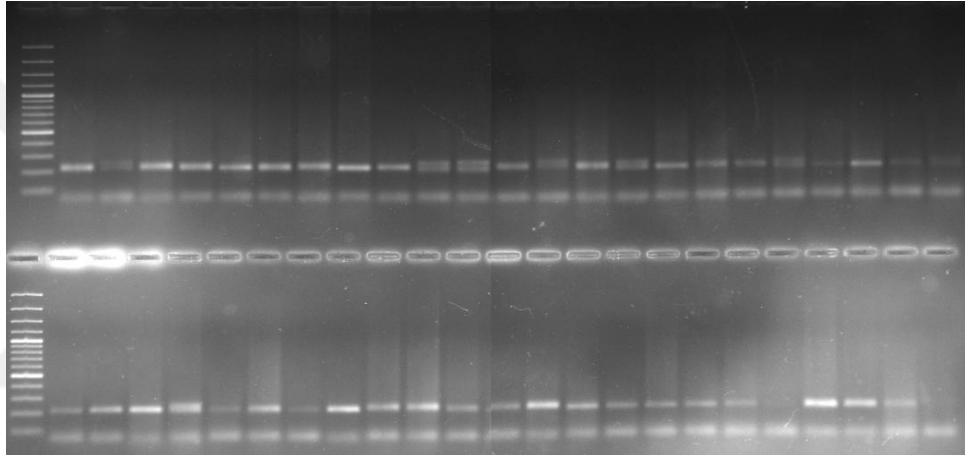
Çizelge 3.8 GTTD9A, GACAA12A, GATAE10A, GTTF9A, GTTD8S lokuslarının çoğaltılmasında kullanılan PZR protokolü

Ön Denatürasyon	94°C	3 dakika
35 döngü	94°C	1 dakika
	55-60°C	30-45 saniye
	72°C	30 saniye-1 dakika
Son uzama	72°C	3 dakika

Mikrosatellit PZR aşamasından sonra elde edilen PZR ürünleri %2'lik agaroz jelde 120 voltta yürütülmüş ve sonrasında etidyum bromür ile boyanarak UV ışığı altında görüntülenmiştir. Bu işlem sonucu çoğaltılan lokusların bir bölümüne ait jel görüntüleri şekil 3.3-3.4'te verilmiştir.



Şekil 3.3 GTTF9A lokusunun PZR ile çoğaltılması sonucu ortaya çıkan jel görüntüsü



Şekil 3.4 GTTD9A lokusunun PZR ile çoğaltılması sonucu ortaya çıkan jel görüntüsü

3.4 DNA Dizi Analizi

Tez çalışmasında sitokrom *b* bölgesi başarılı bir şekilde çoğaltılan 63 *A. flavicollis* örneğinin çift yönlü (ileri ve geri okuma) DNA dizi analizi Elips (Ankara) firması tarafından yapılmıştır.

3.5 Fragment Analizi

Tez çalışmasında mikrosatellit lokusları başarılı bir şekilde çoğaltılan 63 *A. flavicollis* örneğinin fragment analizi Refgen (Ankara) firması tarafından ABI 310 DNA dizi analiz cihazında kapiller elektroforez ile yapılmıştır. MSAf-8, MSAf-22, GTTD9A,

GACAA12A, GATAE10A, GTTF9A ve GTTD8S olmak üzere toplam 7 lokusun fragment analizi gerçekleştirilmiştir.

3.6 Sitokrom *b* Bölgesine Ait Analizler

DNA dizi analizi sonucu elde edilen kromatogram dosyaları Chromas Lite 2.1.1 programıyla görüntülenmiş ve fasta formatına çevrilmiştir. (<http://technelysium.com.au/>, 2016). Bioedit 7.2.5 ile dizilerin hizalama ve budama işlemi yapılmıştır (Hall 1999). Diziler arasındaki nükleotid farklılıkları temel alınarak, DnaSP 5.10 programıyla haplotipler belirlenmiştir (Liprado ve Rozas 2009). Sitokrom *b* dizi verileri kullanılarak, populasyonlar arasındaki evrimsel ilişkileri ortaya koyan filogenetik analizler ve populasyonlardaki genetik varyasyonun (çeşitliliğin) belirlenmesi için yapılan analizler olmak üzere iki tip analiz gerçekleştirilmiştir.

3.6.1 Sitokrom *b* bölgesine ait filogenetik analizler

Sitokrom *b* bölgesine ait filogenetik ağaçlar DnaSP 5.10 programıyla elde edilen haplotip verileriyle Türkiye ve Genbank+Türkiye haplotipleri olmak üzere iki farklı veri setiyle oluşturulmuştur. Populasyonlar arasındaki evrimsel ilişkileri görsel olarak ortaya koyan filogenetik ağaçlar (dendrogram) MEGA 6.06 programıyla; Neighbour Joining (NJ), Maximum Likelihood (ML) ve Maximum Parsimony (MP) olmak üzere üç metot kullanılarak oluşturulmuştur (Tamura vd. 2013). NJ ağacı; farklı transisyon/tranversiyon oranlarına sahip olan 2 nükleotid değişim tipine izin veren Kimura 2 parametresi (K2P) temel alınarak oluşturulmuştur (Kimura 1980). MP ağacı, heuristic search algoritması ile ağacı ikiye bölüp yeniden bağlama (TBR -tree bisection-reconnection) yoluyla oluşturulmuştur. ML analizleri için en uygun mutasyon modeli Mega 6.06 programı ile Türkiye ve Genbank+Türkiye haplotip veri setleri için ayrı ayrı belirlenmiştir. AIC (Akaike Information Criterion) ve BIC (Bayesian Information Criterion) kriterleri değerlendirilerek; Türkiye haplotip veri seti için en uygun model GTR+G (Generalized time reversible+Gamma), Genbank+Türkiye haplotip veri seti için ise GTR+G+I (Generalized time reversible+Gamma+Invariant sites) olarak

seçilmiştir. Ağaçların güvenilirliğini ortaya koymak için 1000 tekrarlı bootstrap analizi uygulanmıştır (Felsenstein 1985).

Populasyonlar arasındaki genetik çeşitlenme ve farklılaşma zamanlarını ortaya koymak için Bayesian yaklaşımlı ve Markov Chain Monte Carlo (MCMC) temelli BEAST 1.8.2 programı kullanılmıştır (Drummond vd. 2015). Analiz aşamasında Genbank+Türkiye haplotip veri seti için GTR+G+I mutasyon modeli ve sıkı saat (strict clock) yaklaşımı kullanılmıştır. Başlangıç ağacı olarak, soy hattı başına sabit türleşme oranını varsayan “Yule process” ve kalibrasyon noktası olarak *A. flavicollis*/*A. sylvaticus* ayrımı (4 Myö) ile *A. flavicollis*/*A. mystacinus* ayrımı (7 Myö) seçilmiştir (Michaux vd. 2004). Analizler 19x10 milyon tekrarlı gerçekleştirilmiş olup, 1000 zincirde bir örneklem elde edilerek toplam 190.000 ağaç oluşturulmuştur. Oluşan ağaçların likelihood değerlerinin sabitlenip sabitlenmediği ve uygun ardıl olasılık dağılımının oluşup oluşmadığının kontrolü için 19 ayrı log dosyası birleştirilerek ESS (Etketif örneklem büyüklüğü) değerleri Tracer v1.6’da değerlendirilmiştir (Rambaut vd. 2014). ESS değerleri 200’ü geçtiği teyit edildikten sonra 19 log dosyası LogCombiner 1.8.2 ile birleştirilmiş ve daha sonra oluşturulan 190.000 ağaçtan hata olasılığı fazla olan %10’u (19.000) Tree Annotator programı ile yakılmıştır. Son olarak, evrimsel ayrılma zamanlarını ortaya koyan ağaç FigTree 1.4.2 programıyla görüntülenmiştir (Rambaut 2014).

Türkiye haplotip veri seti ile yapılan BEAST analizinde ise GTR+G mutasyon modeli ve sıkı saat (strict clock) yaklaşımı kullanılmıştır. Başlangıç ağacı olarak, soy hattı başına sabit türleşme oranını varsayan “Yule process” ve kalibrasyon noktası olarak *A. flavicollis*/*A. sylvaticus* ayrımı (4 Myö) ile *A. flavicollis*/*A. mystacinus* ayrımı (7 Myö) seçilmiştir (Michaux vd. 2004). Analizler 37x10 milyon tekrarlı gerçekleştirilmiş olup, 1000 zincirde bir örneklem elde edilerek toplam 370.000 ağaç oluşturulmuştur. Oluşturulan 37 ayrı log dosyası birleştirilerek ESS değerleri Tracer v1.6’da değerlendirilmiştir. ESS değerleri 200’ü geçtiği teyit edildikten sonra 37 log dosyası LogCombiner v1.8.2 ile birleştirilmiş ve daha sonra oluşturulan 370.000 ağaçtan hata olasılığı fazla olan %10’u (37.000) Tree Annotator programı ile yakılmıştır. Evrimsel ayrılma zamanlarını ortaya koyan ağaç FigTree 1.4.2 programıyla görüntülenmiştir.

Haplotipler arasındaki ilişkiler Median-Joining (MJ) şebeke yaklaşımı kullanılarak Network 5.0.0.0 programı ile de ayrıca belirlenmiştir (Bandelt vd. 1999).

3.6.2 Sitokrom *b* bölgesine ait genetik çeşitlilik analizleri

DnaSP 5.10 programı kullanılarak haplotip (h) ve nükleotid (π) çeşitliliği ile dizilerdeki ayırıcı bölgeler ortaya konmuştur (Nei 1987, Liprado ve Rozas 2009). Bu analizler filogenetik analizler sonucu ortaya konan gruplar için ayrı ayrı yapılmıştır.

Moleküler varyans analizlerinin (AMOVA) ortaya koyduğu toplam genetik varyasyon; gruplar arası (F_{CT}), grup içindeki populasyonlar arası (F_{SC}) ve populasyon içi (F_{ST}) olmak üzere üç seviyede hesaplanmıştır. Bu parametrelerin anlamlılık düzeyleri 1000 permütasyonlu mesafe matriksiyle ortaya konmuştur. AMOVA ve nötralite analizleri Arlequin 3.5.2.1 programı ile yapılmıştır (Excoffier ve Lischer 2010). Ayrıca DnaSP 5.10 programı kullanılarak gruplar arası gen akışı (N_m) ve fiksasyon indeksi (F_{ST}) değerleri belirlenmiştir (Hudson vd. 1992).

Bireyler arasındaki ikili uyumsuzluk dağılımı (mismatch distribution) analizleri ile incelenen populasyonlardaki farklı filogenetik gruplar arasındaki tarihsel demografi ortaya konmuştur (Harpending 1994). Bu analizde çan eğrisine sahip düzgün dağılımlar hızlı populasyon büyümesi olarak değerlendirilirken, çok modellenli dağılımlar sabit populasyon büyüklüğü ile ilişkilendirilir. Uyumsuzluk dağılımı analizi, populasyon büyümesi-düşüşü modeline göre (growth-decline model) DnaSP 5.10 programıyla gerçekleştirilmiştir (Rogers ve Harpending 1992).

Populasyonların geçmişte seçilime uğrayıp uğramadığını belirlemek için DnaSP 5.10 ile nötralite testleri yapılmıştır. Bunun için Tajima'nın D ve Fu'nun F_s istatistiği kullanılmıştır (Tajima 1989, Fu 1997). Bu istatistikî veriler aynı zamanda populasyon büyümesi ve darboğazı ile ilgili de bilgi vermektedir. Populasyon büyümesiyle ilgili değişkenlik katsayısı (CV) ve Raggedness (r) istatistiği de hesaplanmıştır (Harpending 1994).

PZR çalışmaları kapsamında çoğaltılan sitokrom *b* bölgesinin pseudogen (nükleer kontaminant) olup olmadığının ortaya konması amacıyla nükleotid kompozisyonları ve nükleotid değişim tipleri sırasıyla Bioedit 7.2.5 ve MEGA 6.06 programlarıyla belirlenmiştir.

3.7 Mikrosatellit Analizleri

Yedi mikrosatellit lokusundan elde edilen 17 *A. flavicollis* popülasyonuna ait (N= 63) fragment analiz sonuçları istatistik analizlerinde değerlendirilmiştir. Her bir örneğe ait fragment analiz dosyası Peak Scanner 1.0 programıyla analiz edilmiş ve pikler şeklinde görselleştirilen allellerin büyüklükleri belirlenerek veri dosyası hazırlanmıştır (<http://www.appliedbiosystems.com>, 2015b).

İstatistikî analizlere başlamadan önce mikrosatellit veri setinin güvenilirliğini belirlemek amacıyla null allel testi yapılmıştır. Null alleller, PZR yoluyla çoğaltılamayan allellerdir. Null alleller, çoğaltılacak olan DNA'nın hasara uğraması sonucu ya da hedef DNA'nın primer bağlanma bölgesinde oluşan mutasyonlardan kaynaklanır. Null allellerin belirlenmemesi, popülasyon içi genetik varyasyonun, fiksasyon indeksinin (F_{ST}) ve popülasyonlar arası genetik mesafe değerlerinin yanlış hesaplanmasına yol açabilir (Paetkau ve Strobeck 1995, Paetkau vd. 1997). Bu nedenle mikrosatellit çalışmalarında null allel testinin yapılması gerekir. Null allellerin sıklıkları, tüm örnekler ve çoğaltılan tüm mikrosatellit lokusları için FreeNA programı kullanılarak hesaplanmıştır (Chapuis ve Estoup 2007).

İstatistikî analizlerde çeşitli seviyelerde (popülasyon içi, popülasyonlar arası, gruplar arası) genetik varyasyon miktarı ölçülmüştür. Genetik varyasyonun ölçülmesinde kullanılan en yaygın yöntem, allellerin toplam sayısının belirlenmesidir. Allel sayısının belirlenmesi, popülasyonun uzun vadeli evrimsel potansiyelinin anlaşılması açısından önemlidir. Ancak incelenen popülasyonlar arasında örnek sayısı bakımından farklılık olduğu zaman, allel sayısının değerlendirmelerinde problem oluşabilmektedir. Örneğin, örnek sayısı az olan popülasyonlarda genetik varyasyonun düşük olduğu yönünde yorum yapılabilir. Bu problemin üstesinden gelmek amacıyla, allelik zenginlik

(richness) kullanılmaktadır. Allelik zenginlik, allelik çeşitliliğin örnek sayıları dikkate alınarak ölçülmesidir. Genetik varyasyon analizlerinde; allelik varyasyon ve allelik zenginlik (richness) belirlenmiştir. Allelik varyasyon hesaplamaları Genetix ile (Belkhir vd. 2004), allelik zenginlik hesaplamaları ise Fstat 2.9.3 ile yapılmıştır (Goudet 2002).

Gözlenen allellerin sıklıkları belirlenirken, bazı allellerin populasyonlara özgü olduğu görülür. Özgün (private) allel olarak adlandırılan bu alleller, sadece tek bir populasyonda bulunan allellerdir. Özgün allellerin bulunup bulunmayışı, populasyonlar arasındaki gen akışına dair fikir verir. Gen akışı (N_m) ile private allellerin ortalama sıklığı arasında ters orantı vardır (Stalkin 1985). Populasyonlarda yüksek sıklıkta özgün allel bulunması, populasyonlar arasında gen akışının düşük olduğunun göstergesidir. Özgün alleller ve frekansları GenAlex 6.5 ile hesaplanmıştır (Peakal ve Smouse 2012).

Her bir populasyonda tüm lokuslar için gözlenen heterozigotluk (H_o), beklenen heterozigotluk (H_e) ve ortalama heterozigotluk (H) değerleri, polimorfik lokusların yüzdesi (P) ve lokus başına düşen ortalama allel sayısı (A) Genetix programı ile hesaplanmıştır (Belkhir vd. 2004).

Moleküler varyans analizi (AMOVA) ile toplam genetik varyasyon; gruplar arası (F_{CT}), grup içindeki populasyonlar arası (F_{SC}) ve populasyon içi (F_{ST}) olmak üzere üç seviyede hesaplanmıştır. Bu parametrelerin anlamlılık düzeyleri 1000 permütasyonlu mesafe matrisiyle ortaya konmuştur. AMOVA ve nötralite analizleri Arlequin 3.5.2.1 programı ile yapılmıştır (Excoffier ve Lischer 2010).

Genetik farklılaşma hesaplamalarında Wright'ın (1965) F istatistikleri kullanılmıştır. Fiksasyon indeksi olarak bilinen F_{ST} ve bireyler arasındaki soy içi üreme miktarının ölçümü olan F_{IS} ve gen akışı (N_m) değerleri hesaplanmıştır. F_{IS} değerleri Fstat 2.3.9 ile, ikili F_{ST} değerleri ve N_m ise GenAlex 6.5 ile hesaplanmıştır. Genetik farklılaşma hesaplamalarına ek olarak populasyonlar, gruplar ve bireyler arasındaki genetik mesafe (D_A) (Nei vd. 1983) ve 1000 tekrarlı bootstrap analizi Populations 1.2.32 programı ile belirlenmiş ve tüm örnekler ile Neighbour-Joining (NJ) ağacı oluşturulmuştur (Langella 1999).

Populasyonlar ve bireyler arasındaki ilişkilerin üç boyutlu görselleştirilmesi amacıyla Faktöriyel Benzerlik Analizi (FCA- Factorial Correspondence Analysis) Genetix programıyla yapılmıştır (Lebart vd. 1984). FCA analizinde diploid bir organizma her bir allel için 0, 1 veya 2 değerlerinden birini alır. Bu değerler sahip oldukları allellere göre bireyleri temsil eder. Program, allellerin lineer kombinasyonlarını içeren bağımsız eksenleri belirler. Bağımsız eksenlerin görüntülenmesi ile, bireylerin birbirleriyle ilişkileri belirlenmiş olur.

Populasyonların genetik yapısının ortaya konması ve muhtemel populasyon sayısının belirlenmesi için Bayesian yaklaşımlı kümeleme analizi, STRUCTURE 2.3.4 ile gerçekleştirilmiştir (Pritchard vd. 2000). STRUCTURE analizinde temel yaklaşım, lokus başına allel sıklığı kullanılarak, populasyon sayısının= K (K değeri bilinmiyor olabilir) belirlenmesidir. Eğer bireylerin genotipleri karışım (admixture) sergiliyorsa, iki ya da daha fazla populasyon ortaya çıkacaktır. STRUCTURE analizinde en önemli nokta, yakma (burn-in) periyodunun uzunluğu, model seçimi ve uygun K değerinin seçilmesidir. Bu çalışmada, yakma periyodu, başlangıç konfigürasyonunun etkisini minimum seviyeye indirmek için 100.000/1.000.000 olacak şekilde belirlenmiştir. Model seçiminde ise mevcut 4 model içinden, bireylerin karışık soya sahip olduğu varsayılan "Admixture model" seçilmiştir. STRUCTURE'dan elde edilen 17 farklı K değeri sonuçları Structure Harvester programıyla analiz edilmiştir (Earl ve vonHoldt 2012).

Doğru K değerinin tahmininde çeşitli yöntemler kullanılır. İlki, Evanno vd. (2005) tarafından geliştirilen ΔK metodudur. Bu metotta, her bir K değeri için o değere ait ardıl olasılık değerinin tahmini olan bir $\ln P(D)$ ($L(K)$ olarak da bilinir) değeri vardır. $\ln P(D)$ 'nin dağılımı net bir K değeri vermez ancak likelihood fonksiyonunun ($\Delta K = m | L(K) | / S[L(K)]$) ikincil değişim oranı pik halinde net bir K değeri verir. K değerinin tahmin edilmesinde kullanılan diğer yöntemde ise her bir K değeri döngüsünden elde edilen sonuçlar arasındaki benzerlik test edilir ve maksimum benzerlikte doğru K değeri tahmin edilir (Tapio vd. 2010). Bu çalışmada K'nın belirlenmesinde her iki yöntem de kullanılmıştır. K değeri belirlendikten sonra bir optimizasyon programı olan Clumpp 1.1.2 ile kümeleme analizindeki döngüler arasında

oluşabilecek farklılıklar ortadan kaldırılır (Jakobsson ve Rosenberg 2007). Clumpp'tan alınan sonuçlar Distruct ile görselleştirilir (Rosenberg 2004).

Yine Bayesian temelli bir populasyon genetik yapısı analizi programı olan BAPS 6 (Bayesian Analysis of Population Structure) ile populasyon ve populasyonu oluşturan bireyler arasındaki genetik farklılaşma görsel olarak ortaya konmuştur (Corander vd. 2012). BAPS programı, allel frekanslarını ve populasyon içindeki genetik olarak ayrılmış grupları rastgele değişken olarak kabul eder. Ancak analizler ve model karşılaştırmaları, genetik olarak ayrılmış sabit sayıda gruba ya da önceden belirlenmiş populasyon yapısına göre de yapılabilir.



4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1 Sitokrom *b* Bölgesine Ait Filogenetik Analiz Bulguları

Filogenetik analizlerde 61 tez örneği (Çizelge 3.1) ve 56 Genbank örneği (Çizelge 3.2) olmak üzere toplam 117 *A. flavicollis* örneği kullanılmıştır. DNA dizi analizi sonuçlarına göre iyi okunmayan 3677 (Bursa) ve 5298 numaralı (Rize) örnekler sitokrom *b* bölgesine ait tüm analizlerden çıkarılmıştır (Bu iki örnek için PZR ve DNA dizi analizi tekrar çalışmaları yapılmış ancak başarılı sonuç alınamamıştır). Dış grup olarak *A. mystacinus*, *A. sylvaticus*, *M. domesticus*, *M. macedonicus* ve *R. norvegicus* örnekleri kullanılmıştır (Çizelge 3.3). Tüm örneklerin sitokrom *b* bölgesine ait dizilerin hizalama ve budama işlemleri sonucu 868 bp uzunluğunda bir bölge analizlerde kullanılmıştır. Dış gruplarla birlikte analiz edilen toplam 125 örneğe ait 102 haplotip belirlenmiştir (Çizelge 4.1) (EK 1).

Çizelge 4.1 *A. flavicollis* ve dış grupların *cyt-b* bölgesine ait haplotipler ve ait oldukları popülasyon içindeki görülme sıklıkları

Popülasyon	Örnek sayısı	Haplotipler ve görülme sıklıkları*
Bolu	1	Hap 1
Kilis	2	Hap 2, Hap 3
Kırklareli	6	Hap 4, Hap 5, Hap 6, Hap 7, Hap 8, Hap 9
Konya	5	Hap 10, Hap 11 (2), Hap 12, Hap 13
Burdur	1	Hap 14
Samsun	2	Hap 11, Hap 15
Artvin	7	Hap 16 (2), Hap 17 (2), Hap 18 (2), Hap 19
Çorum	4	Hap 20, Hap 21 (2), Hap 22
Ordu	5	Hap 3 (2), Hap 23, Hap 24 (2)
Bursa	4	Hap 25, Hap 26, Hap 27, Hap 28
Zonguldak	5	Hap 29 (2), Hap 30, Hap 31, Hap 32
Trabzon	1	Hap 33
Giresun	1	Hap 34
Erzincan	6	Hap 35 (5), Hap 36
İstanbul	4	Hap 37 (2), Hap 38, Hap 39
Rize	4	Hap 3, Hap 40, Hap 41
Çanakkale	4	Hap 42, Hap 43, Hap 44, Hap 45
Muğla	4	Hap 46, Hap 47, Hap 48, Hap 49
Isparta	2	Hap 47, Hap 50

Çizelge 4.1 *A. flavicollis* ve dış grupların *cyt-b* bölgesine ait haplotipler ve ait oldukları popülasyon içindeki görülme sıklıkları (devam)

Popülasyon	Örnek sayısı	Haplotipler ve görülme sıklıkları*
İran	2	Hap 51 (2)
İsrail	1	Hap 52
Makedonya	4	Hap 53, Hap 54, Hap 55, Hap 56
Bosna-Hersek	3	Hap 4, Hap 57, Hap 58
Romanya	3	Hap 59, Hap 60, Hap 61
Yugoslavya	2	Hap 62, Hap 63
Trakya	2	Hap 64, Hap 65
Yunanistan	5	Hap 66, Hap 67, Hap 68, Hap 69, Hap 70
Macaristan	1	Hap 71
Slovenya	2	Hap 72, Hap 73
İtalya	5	Hap 74 (3), Hap 75, Hap 76
Fransa	2	Hap 77, Hap 78
İspanya	2	Hap 79, Hap 80
İsveç	2	Hap 81, Hap 82
Almanya	2	Hap 83, Hap 84
Avusturya	1	Hap 85
Belçika	2	Hap 77 (2)
Estonya	2	Hap 86, Hap 87
Çek Cumhuriyeti	2	Hap 88, Hap 89
Litvanya	1	Hap 90
Belarus	2	Hap 91, Hap 92
Rusya	2	Hap 93, Hap 94
<i>A. mystacinus</i>	2	Hap 95, Hap 96
<i>A. sylvaticus</i>	2	Hap 97, Hap 98
<i>R. norvegicus</i>	2	Hap 99, Hap 100
<i>M. macedonicus</i>	1	Hap 101
<i>M. domesticus</i>	1	Hap 102

* Birden fazla görülme sıklığına sahip haplotipler parantez içinde gösterilmiştir

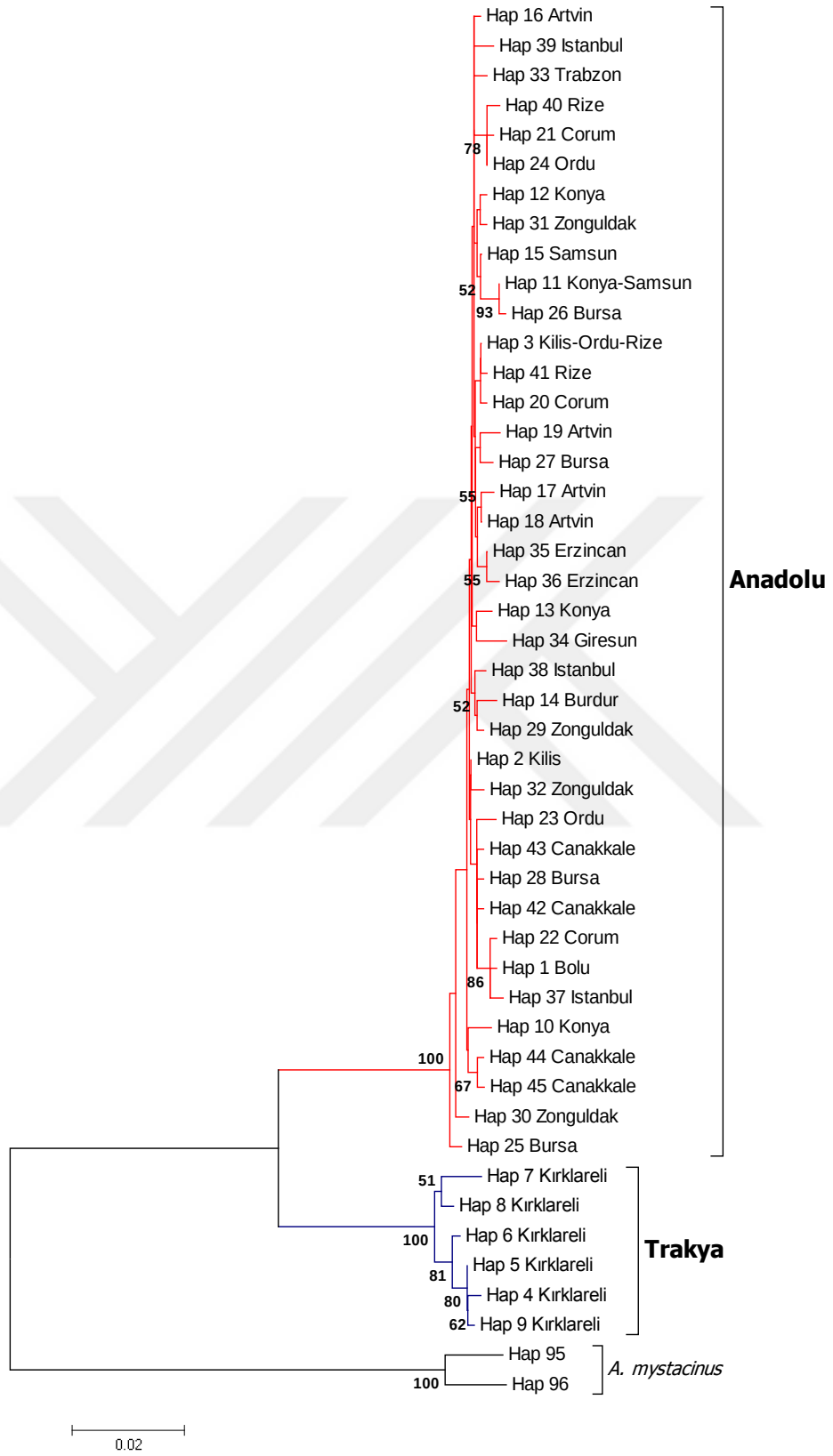
A. flavicollis'e ait diziler A-T bakımından zengin olup % 30.97 adenin ve % 29.40 timin içermektedir. Guanin ve sitozin oranlarıysa sırasıyla % 12.88 ve %26.75'tir. Toplam transisyon/transversiyon oranı (R) 5.472 olup tüm nükleotidlere ait değişim oranları çizelge 4.2'de verilmiştir. Buna göre *A. flavicollis* popülasyonlarındaki genetik farklılaşmanın yüksek oranda transisyonlardan kaynaklandığı anlaşılmaktadır.

Çizelge 4.2 Nükleotidler arasındaki değişim oranları

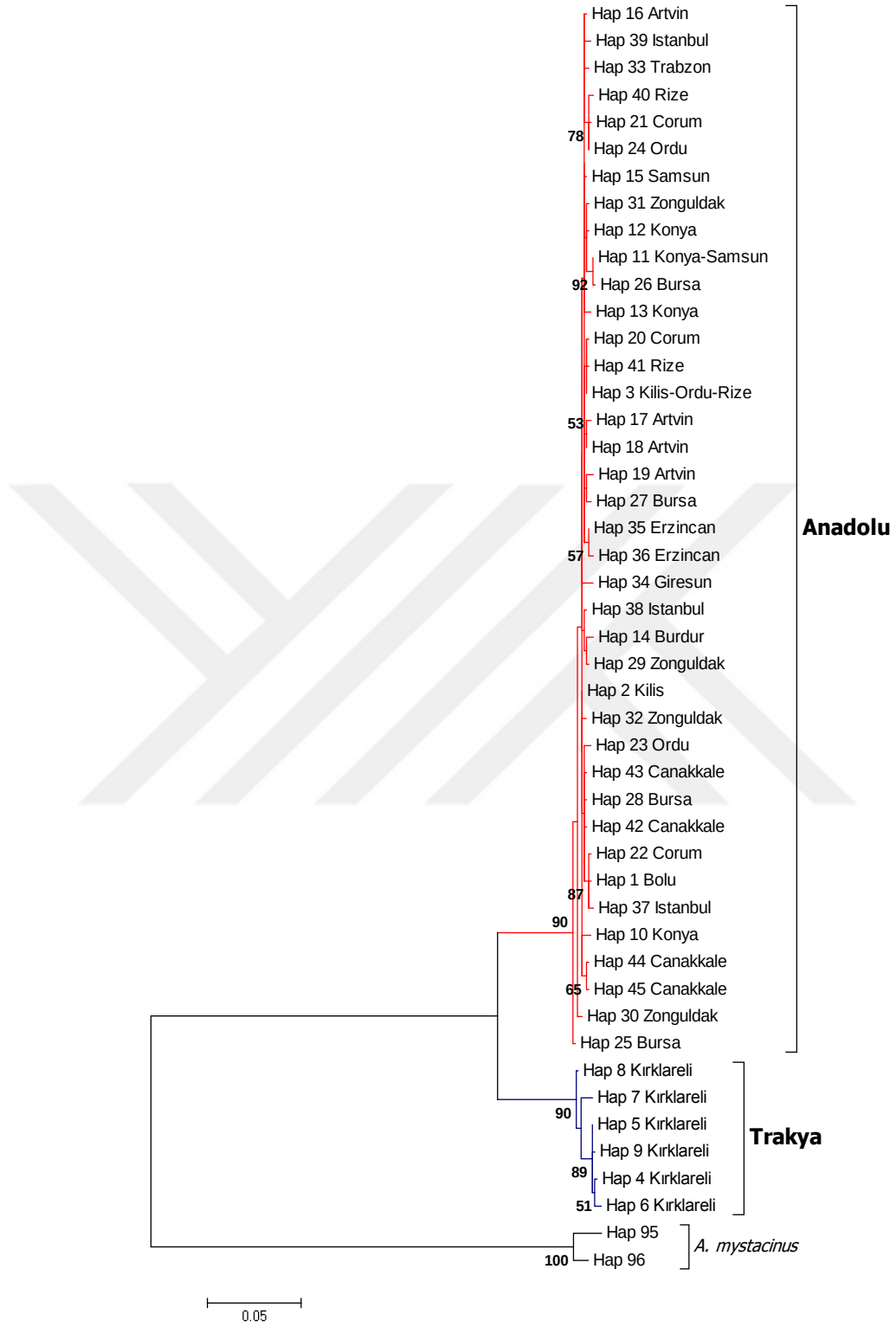
Nükleotid	A	T	C	G
A	-	2.29	2.08	8.01
T	2.41	-	27.24	1
C	2.41	29.93	-	1
G	19.25	2.29	2.08	-

Sitokrom *b* bölgesi verilerinden elde edilen haplotipler arasındaki filogenetik ilişkilerin belirlenmesi için Neighbour-Joining (NJ), Maximum Likelihood (ML), Maximum Parsimony (MP) analizleri ve 1000 tekrarlı bootstrap analizleri yapılmıştır. Bayesian temelli analiz ile soy hatlarının ayrılma zamanları hesaplanmıştır. Genbank+Türkiye haplotipleri ile yapılan filogenetik analizlere göre *A. flavicollis* populasyonlarının Asya ve Avrupa olarak, sadece Türkiye haplotipleri değerlendirildiğinde ise Anadolu ve Trakya olarak iki gruba ayrıldığı belirlenmiştir. Türkiye haplotipleri için oluşturulan NJ, ML ve MP ağaçlarında Anadolu populasyonlarında karışık gruplanmalar gözlenmektedir (Şekil 4.1-4.3).

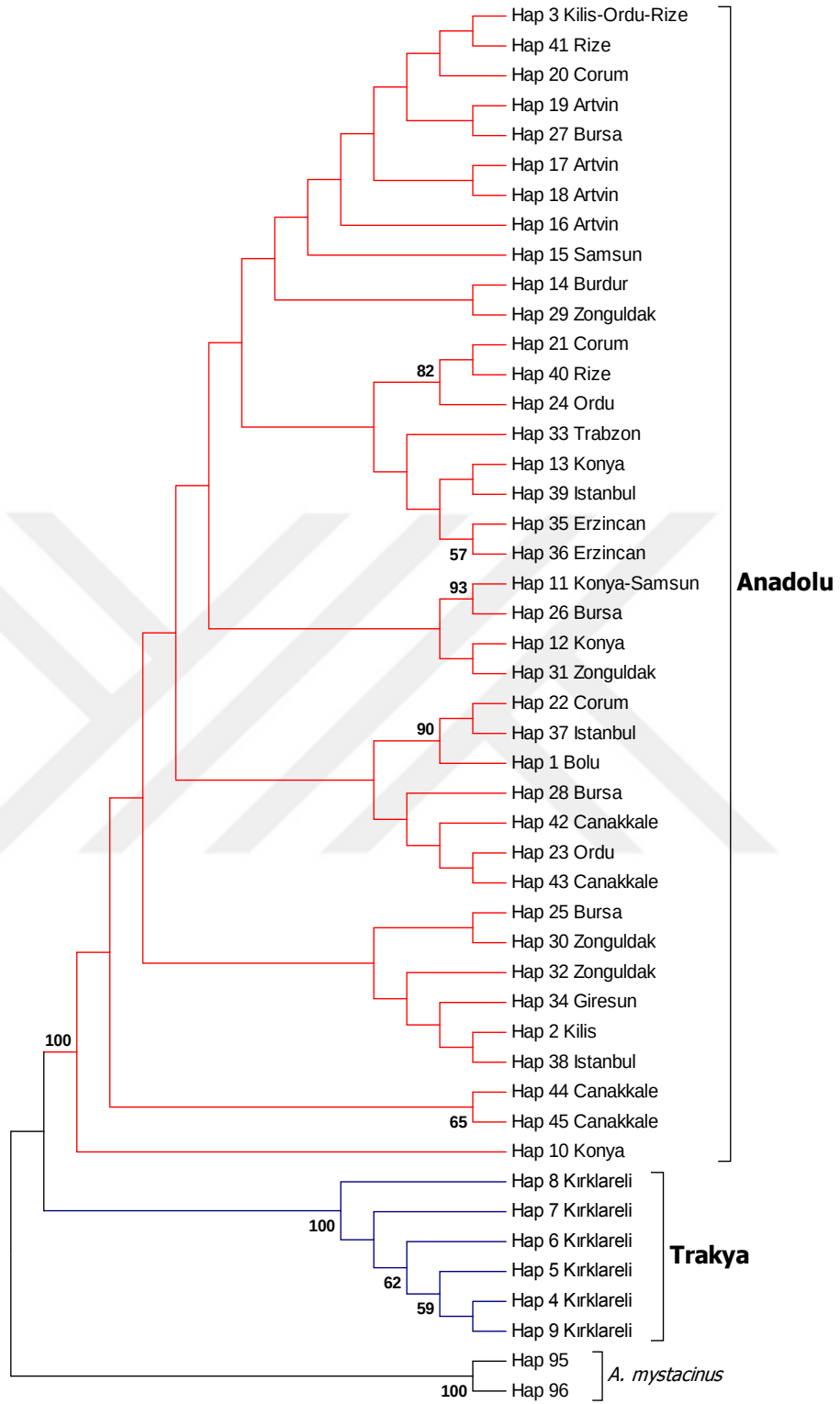
Genbank+Türkiye haplotipleri ile yapılan filogenetik analizlere göre her üç ağaçta da (NJ, ML ve MP) Avrupa ve Asya gruplarının ayrımı %99 bootstrap değeriyle desteklenmiştir. Avrupa ve Asya gruplarının kendi içindeki haplotip dağılımı incelendiğinde, Türkiye ve Genbank haplotiplerinin farklı şekillerde bir araya geldiği karışık gruplanmalar dikkat çekmektedir (Şekil 4.4-4.6). Oluşturulan tüm filogenetik ağaçlar için %50'nin altındaki bootstrap değerleri çöktürülmüştür.



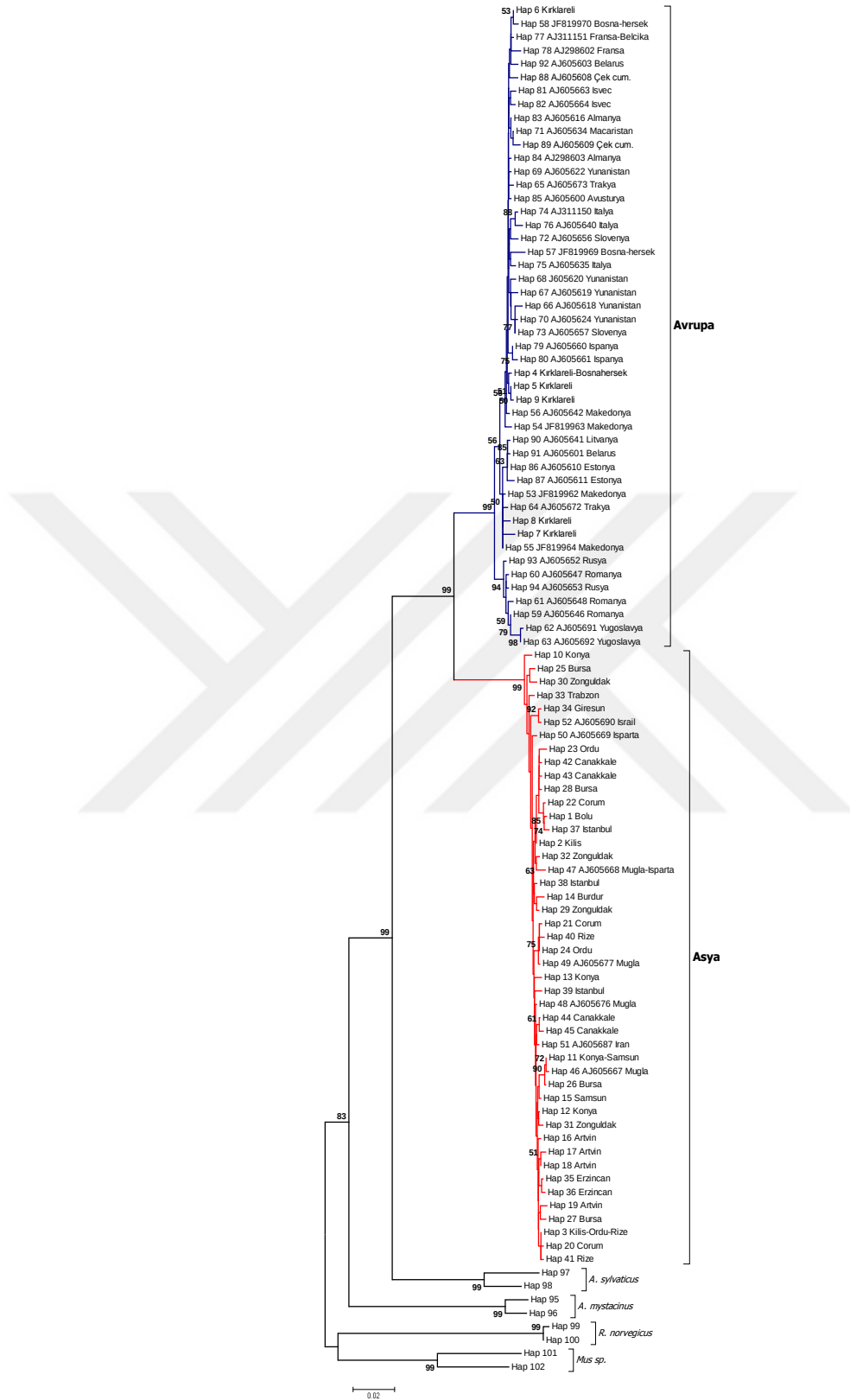
Şekil 4.1 Sitokrom *b* Türkiye haplotipleri ile Kimura 2 (K2P) parametresi temel alınarak oluşturulan Neighbour Joining ağacı



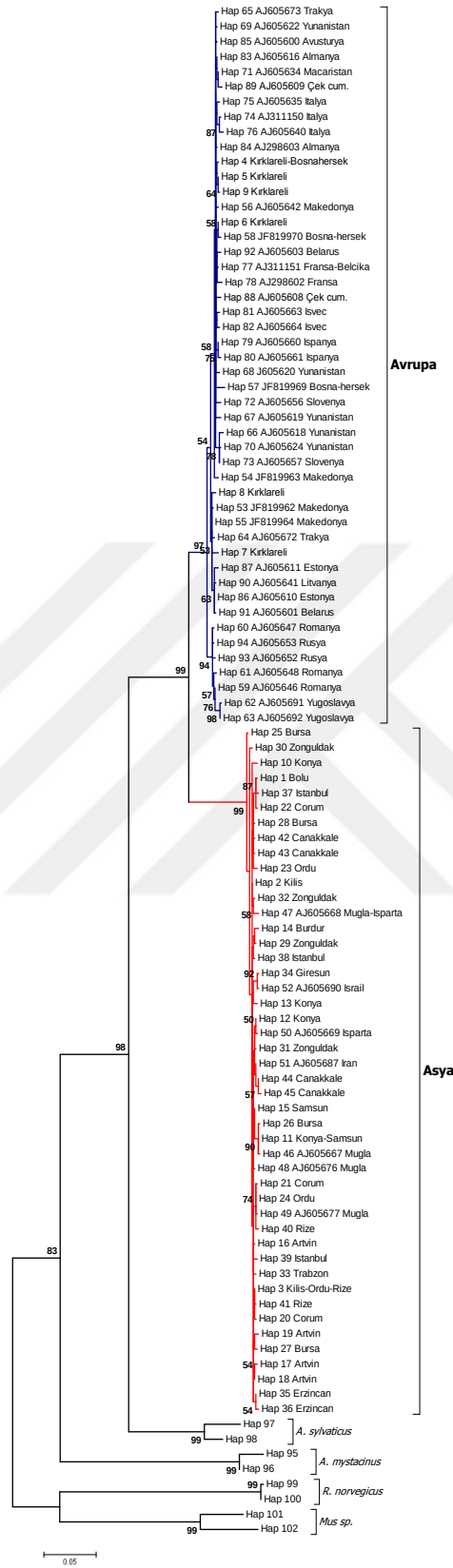
Şekil 4.2 Sitokrom *b* Türkiye haplotipleri ile GTR+G nükleotid değişim modeli temel alınarak oluşturulan Maximum Likelihood ağacı



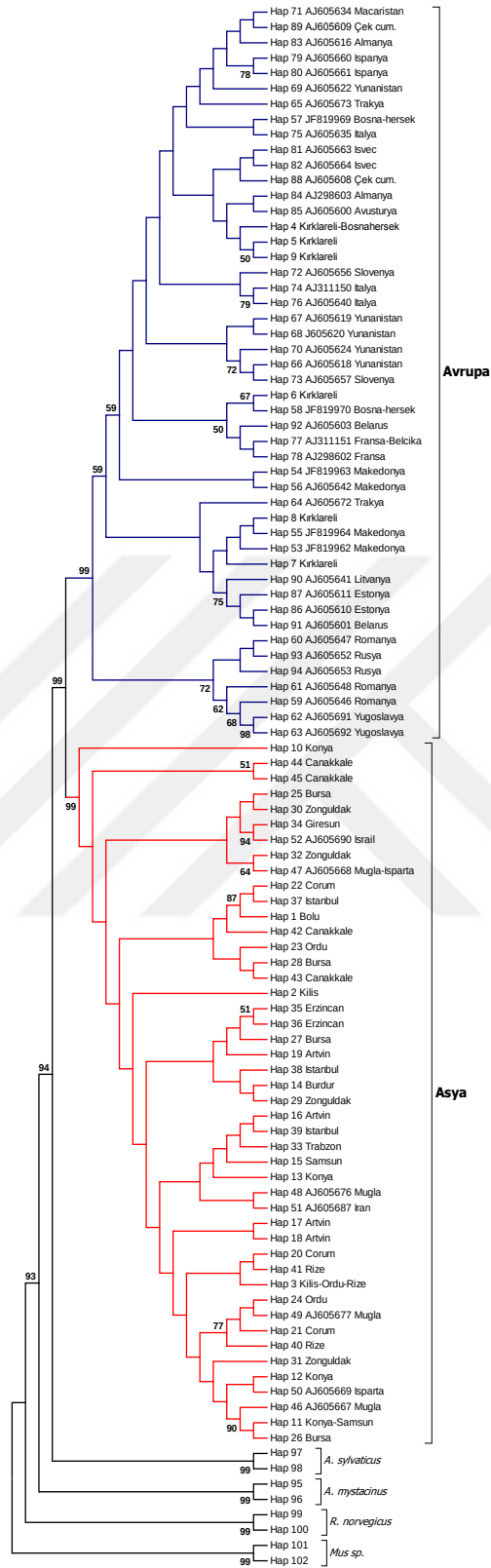
Şekil 4.3 Sitokrom *b* Türkiye haplotipleri için TBR (Tree bisection-reconnection) yoluyla oluşturulan Maximum Parsimony ağacı



Şekil 4.4 Sitokrom *b* Genbank+Türkiye haplotipleri ile Kimura 2 (K2P) parametresi temel alınarak oluşturulan Neighbour Joining ağacı

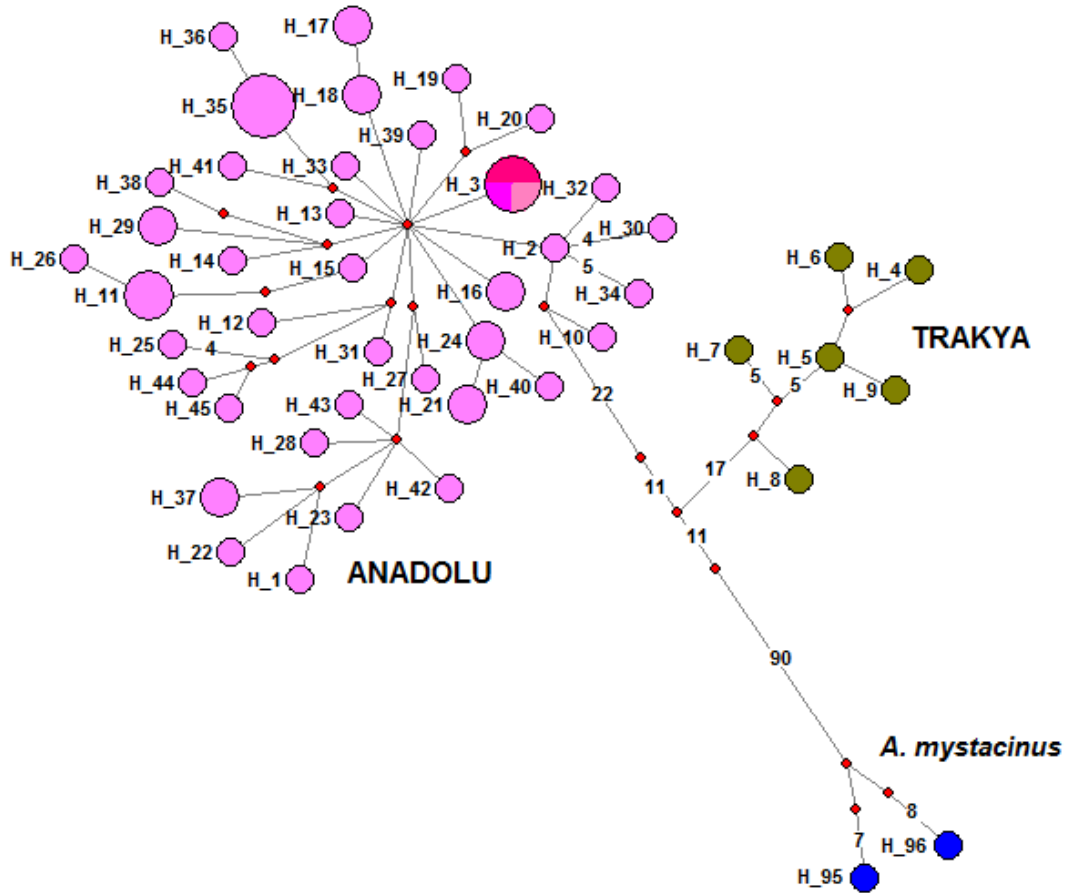


Şekil 4.5 Sitokrom *b* Genbank+Türkiye haplotipleri ile GTR+G+I nükleotid değişim modeli temel alınarak oluşturulan Maximum Likelihood ağacı



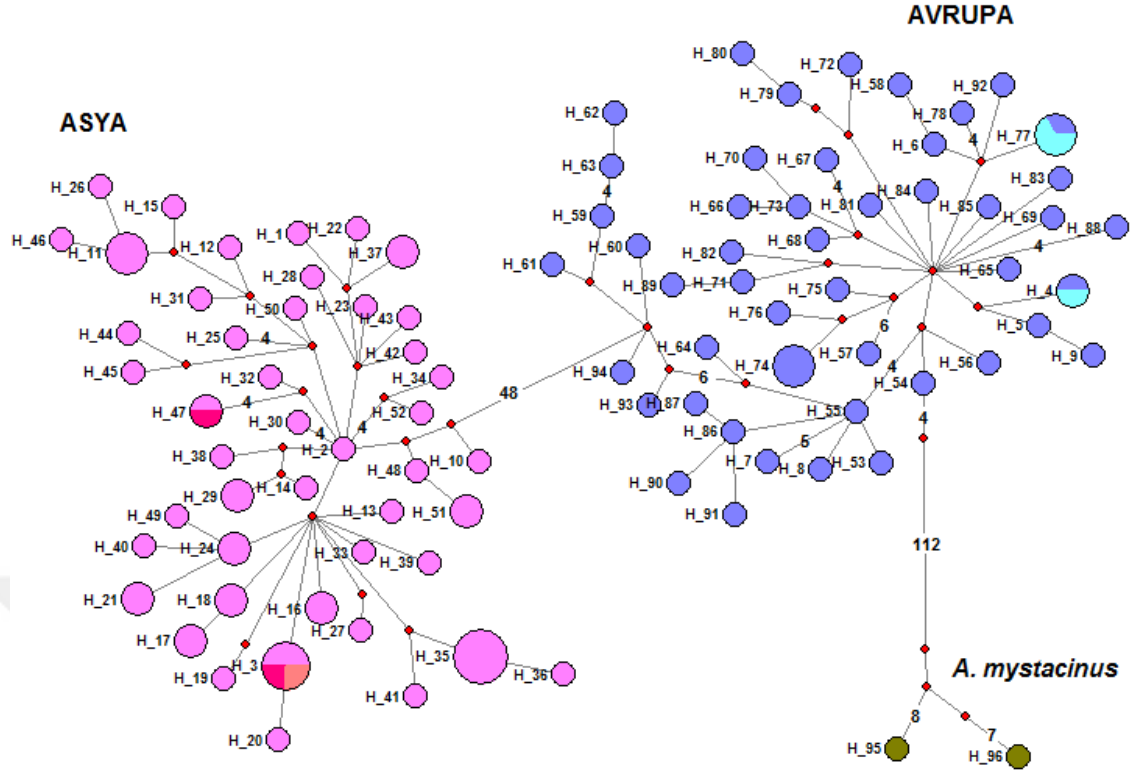
Şekil 4.6 Sitokrom *b* Genbank+Türkiye haplotipleri ile TBR (Tree bisection-reconnection) yoluyla oluşturulan Maximum Parsimony ağacı

Haplotip verilerine göre oluşturulan Median-Joining (MJ) ağacı hem Türkiye örnekleri için hem de Genbank örnekleri ve Türkiye örnekleri bir arada olacak şekilde ayrı ayrı oluşturulmuştur (Şekil 4.7-4.8). Her iki MJ ağacında da filogenetik analizlerle uyumlu olarak benzer gruplanmalar oluşmuştur. Türkiye örnekleri için Anadolu ve Trakya haplotiplerinin ayrı ayrı kümelendiği belirlenmiştir (Şekil 4.7), Genbank örnekleri katılarak oluşturulan ağaçta ise Asya ve Avrupa haplotiplerinin iki grup oluşturacak şekilde ayrıldığı belirlenmiştir (Şekil 4.8).



Şekil 4.7 Sitokrom *b* Türkiye haplotipleri ile oluşturulan Median-Joining ağacı

Haplotipler arasındaki mutasyon sayıları (3'ten fazla olanlar) dalların üzerinde gösterilmiştir

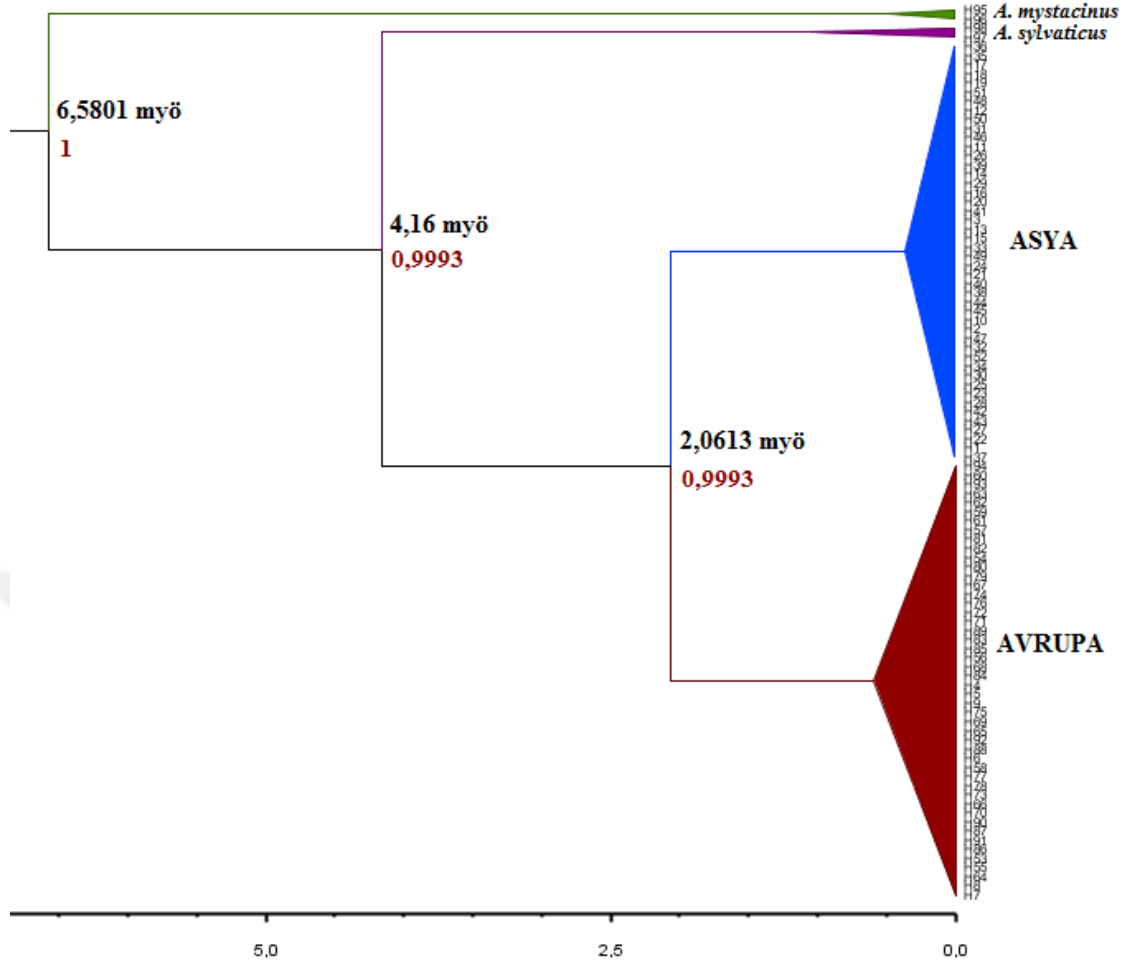


Şekil 4.8 Sitokrom *b* Genbank+Türkiye haplotipleri ile oluşturulan Median-Joining ağacı

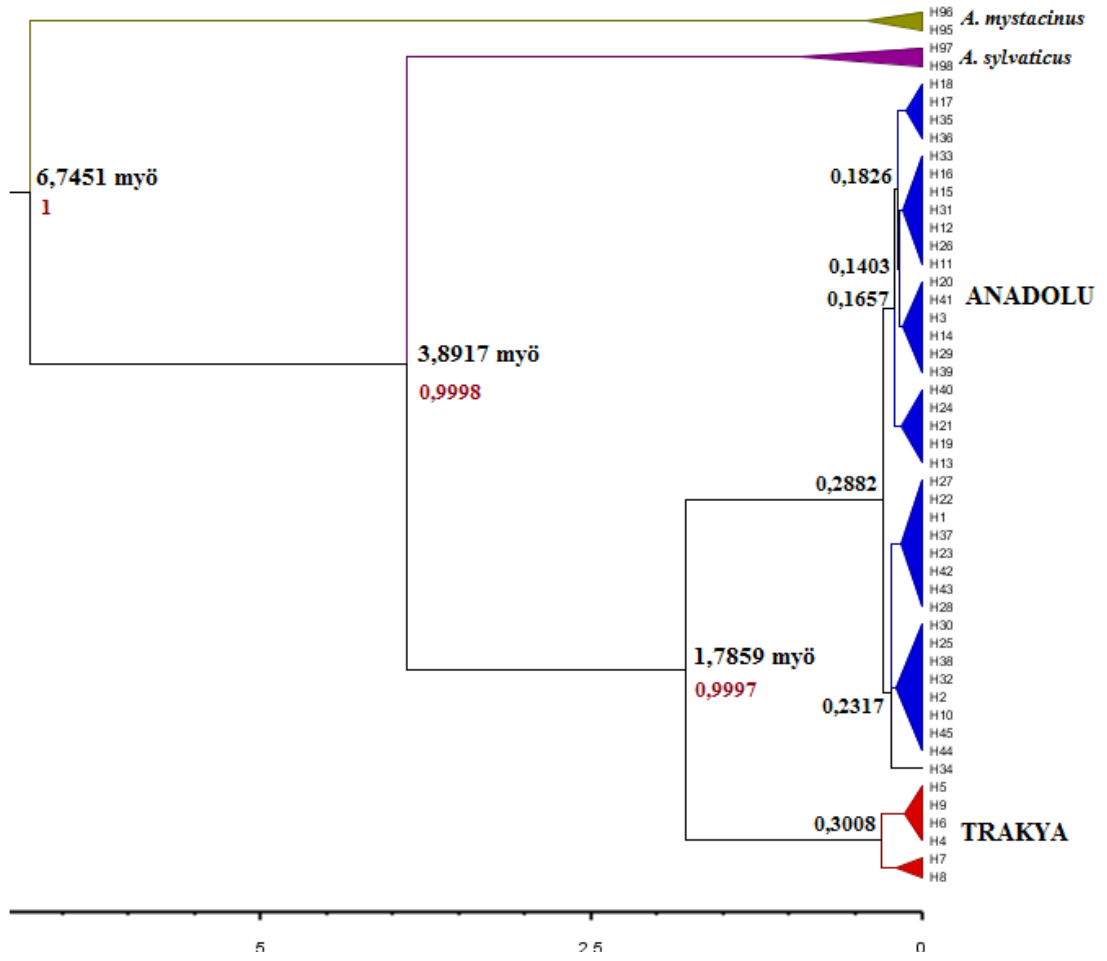
Haplotipler arasındaki mutasyon sayıları (3'ten fazla olanlar) dalların üzerinde gösterilmiştir

Bayesian temelli analizde, soy hatlarının ayrılma zamanlarını hesaplamak için Markov Chain Monte Carlo (MCMC) algoritmasına göre GTR+G+I ve GTR+G nükleotid değişim modelleri kullanılmıştır. Genbank+Türkiye haplotipleriyle oluşturulan Bayesian ağacına göre, *A. flavicollis* ve *A. mystacinus* 6,5801 Myö (Üst Miyosen), *A. flavicollis* ve *A. sylvaticus* 4,16 Myö (Alt Pliyosen), *A. flavicollis*'in Avrupa ve Asya grupları ise 2,0613 Myö (Üst Pliyosen) birbirinden ayrılmıştır. Soy hatlarına ait tüm ayrılma zamanları yüksek ardıl olasılık değerleriyle desteklenmiştir (%99-100) (Şekil 4.9).

Türkiye haplotipleriyle oluşturulan Bayesian ağacına göre *A. flavicollis*'in Trakya ve Anadolu grupları 1,7859 Myö (Pleistosen) birbirinden ayrılmıştır. Soy hatlarına ait ayrılma zamanları yine yüksek ardıl olasılık değerleriyle desteklenmiştir (%99-100) (Şekil 4.10).



Şekil 4.9 Evrimsel ayrılma zamanlarını ve ardıl olasılık değerlerini gösteren sitokrom *b* Genbank+Türkiye haplotipleri ile oluşturulan Bayesian ağacı



Şekil 4.10 Evrimsel ayrılma zamanlarını ve ardıl olasılık değerlerini gösteren Türkiye sitokrom *b* haplotipleri ile oluşturulan Bayesian ağacı

4.2 Sitokrom *b* Bölgesine Ait Genetik Çeşitlilik Bulguları

Genetik çeşitlilik ve populasyonların genetik yapısına ait analizlerde örnekler Trakya, Anadolu, Asya ve Avrupa şeklinde dört gruba ayrılmıştır. Buna göre en yüksek haplotip sayısı (Hs) 48 haplotip ile Avrupa grubunda belirlenmiştir. Nükleotid çeşitliliği (π) en yüksek olan grup 0.01055 ile yine Avrupa grubudur. Haplotip çeşitliliği (*h*) bakımından en yüksek olan grup ise %100 farklılıkla yine Trakya grubudur. Diziler arası ayırt edici bölge sayısı 52 nükleotid değişimiyle Avrupa grubundadır (Çizelge 4.3).

Çizelge 4.3 *A. flavicollis* gruplarının sitokrom *b* dizilerine ait genetik çeşitlilik değerleri

Gruplar	Örnek sayısı	Haplotip sayısı (Hs)	Ayrılcı bölge	Parsimony informative	Nükleotid çeşitliliği (π)	Haplotip çeşitliliği (h)
Anadolu	55	39	38	29	0.00632	0.98249
Trakya	6	6	11	6	0.00822	1.00000
Asya	64	46	34	39	0.00653	0.98611
Avrupa	53	48	52	38	0.01055	0.99492

Gruplar arasındaki mesafe değerleri Kimura 2 parametresine (K2P) göre, sitokrom *b* dizilerine ait nükleotid farklılıklarına göre hesaplanmıştır (Kimura 1980) (Çizelge 4.4).

Çizelge 4.4 K2P parametresine göre hesaplanan *A. flavicollis* gruplarına ait genetik mesafe değerleri

Gruplar	Mesafe (%K2P)
Anadolu-Trakya	0.072
Asya-Avrupa	0.071

Sitokrom *b* bölgesinde belirlenen varyasyonun kaynağını ortaya koyabilmek için *A. flavicollis* grupları arasında Moleküler varyans analizi (AMOVA) yapılmıştır. Moleküler varyans analizinde, filogenetik analizlerde ortaya çıkan Asya ve Avrupa grupları ve bu grupları oluşturan populasyonlar değerlendirilmiştir (Çizelge 4.5). AMOVA analizine göre *A. flavicollis*'te genetik varyasyonun gruplar arasında paylaşımı oldukça yüksek bulunurken (%87.35), grupları oluşturan populasyonlar içinde (%8.09) ve populasyonlar arasında (%4.55) ise düşük bulunmuştur. AMOVA analizine göre elde edilen fiksasyon indeksi değerleri (F_{SC} , F_{ST} ve F_{CT}) istatistikî olarak anlamlı bulunmuştur.

Çizelge 4.5 *A. flavicollis* Avrupa ve Asya gruplarının sitokrom *b* bölgesine ait AMOVA analiz değerleri

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Varyans bileşenleri	% Varyasyon
Gruplar arası	1	1484.053	25.46977 Va	87.35
Gruplar içindeki				
populasyonlar arası	39	237.516	1.32803 Vb	4.55
Populasyon içi	76	179.329	2.35959 Vc	8.09
Toplam	116	1900.897	29.15739	
Fiksasyon indeksleri				
F_{ST}	0.91907	$V_c (P = 0.00000+-0.00000)$		
F_{SC}	0.36013	$V_b (P = 0.00000+-0.00000)$		
F_{CT}	0.87353	$V_a (P = 0.00000+-0.00000)$		

Gruplar arası genetik farklılaşma derecesi ve gen akışı miktarı, Trakya-Anadolu ve Avrupa-Asya grupları için ayrı ayrı belirlenmiştir (Çizelge 4.6). Trakya-Anadolu grupları arasında genetik farklılaşmanın miktarını ifade eden fiksasyon indeksi yüksek bulunurken ($F_{ST}= 0.79367$), gen akışı değeriye düşük bulunmuştur ($N_m= 0.13$). Avrupa-Asya grupları arasında ise genetik farklılaşma benzer şekilde yüksek bulunurken ($F_{ST}= 0.82941$), gen akışı düşük bulunmuştur ($N_m= 0.10$).

Çizelge 4.6 *A. flavicollis* grupları arasındaki *cyt-b* bölgesine ait fiksasyon indeksi ve gen akışı değerleri

Gruplar	F_{ST}	N_m
Trakya-Anadolu	0.79367	0.13
Asya-Avrupa	0.82941	0.10

AMOVA analizi sadece Türkiye örnekleri ile de ayrıca yapılmıştır (Çizelge 4.7). AMOVA analizine göre *A. flavicollis* Türkiye örneklerinde genetik varyasyonun gruplar arasında paylaşımı oldukça yüksek bulunurken (%90.07), grupları oluşturan

populasyonlar içinde (%7.63) ve populasyonlar arasında (%2.30) ise düşük bulunmuştur. Fiksasyon indeksi değerleri (F_{SC} , F_{ST} ve F_{CT}) anlamlı bulunmuştur.

Çizelge 4.7 *A. flavicollis* Trakya ve Anadolu gruplarının sitokrom *b* bölgesine ait AMOVA analiz değerleri

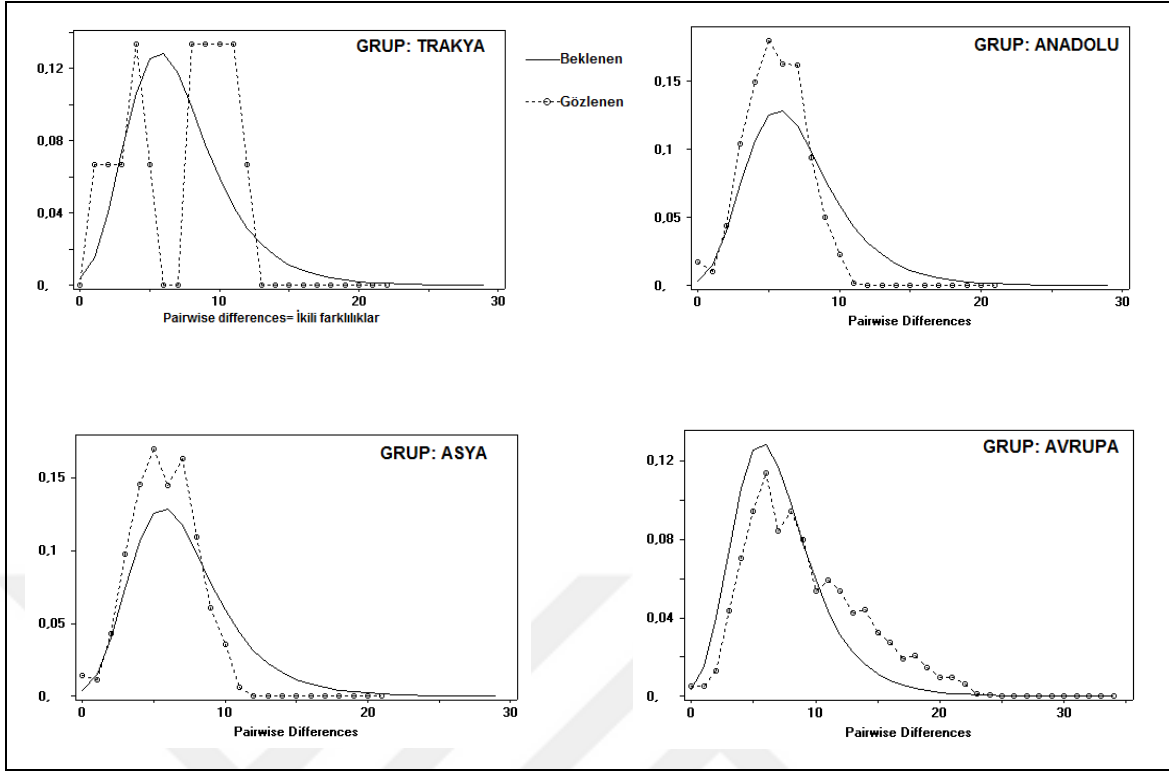
Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Varyans bileşenleri	% Varyasyon
Gruplar arası	1	286.216	26.05585 Va	90.07
Gruplar içindeki populasyonlar arası	16	70.971	0.66624 Vb	2.30
Populasyon içi	43	94.862	2.20609 Vc	7.63
Toplam	60	452.049	28.92818	
Fiksasyon indeksleri				
F_{ST} 0.92374 Vc (P = 0.00000+-0.00000)				
F_{SC} 0.23195 Vb (P = 0.00000+-0.00000)				
F_{CT} 0.90071 Va (P = 0.00587+-0.00219)				

A. flavicollis gruplarının geçmişteki populasyon büyüklükleri hakkında bilgi sahibi olmak, darboğaz geçirip geçirmediğinin anlaşılması için uyumsuzluk dağılımı (mismatch distribution) analizleri yapılmıştır (Çizelge 4.8). Populasyon genişlemesi-azalması modeli altında uyumsuzluk dağılımı grafikleri oluşturulmuştur (Şekil 4.11).

Çizelge 4.8 *A. flavicollis* gruplarının *cyt-b* bölgesi uyumsuzluk dağılımı sonuçları

Gruplar	Tau (τ)	CV	r
Trakya	4.686	0.5290	0.0444
Anadolu	5.481	0.3864	0.0158
Asya	5.672	0.3900	0.0147
Avrupa	5.696	0.5046	0.0051

τ : Mutasyon zamanına göre populasyon büyümesinin ölçütü, CV: değişkenlik katsayısı, r: Raggedness istatistiği



Şekil 4.11 *A. flavicollis* gruplarının *cyt-b* bölgesi uyumsuzluk dağılımı grafikleri

Uyumsuzluk dağılımı grafiklerine göre, düzgün, çan eğrisi şeklindeki uyumsuzluk dağılımları hızlı popülasyon büyümesini işaret ederken (düşük Raggedness istatistiğine $r < 0,03$ sahiptir), çoklu biçimli (multimodal) dağılımlar sabit popülasyon büyüklüğüyle karakterizedir (daha yüksek Raggedness istatistiği). *A. flavicollis* gruplarına ait uyumsuzluk dağılımı grafikleri incelendiğinde, Trakya grubunda multimodal dağılım gözlenirken, diğer gruplarda çan eğrisi tipi dağılım gözlenmektedir. Buna göre Trakya grubu sabit popülasyon büyüklüğü gösterirken, bu sonuç yüksek Raggedness istatistiği ($r=0,0444$) ve değişkenlik katsayısı ($CV=0,5290$) ile de desteklenmektedir. Anadolu, Avrupa ve Asya grupları ise hızlı popülasyon büyümesi göstermektedir ve buna uygun olarak düşük Raggedness istatistiği ($r < 0,03$) ve değişkenlik katsayısı değerleri belirlenmiştir.

Popülasyon geçmişinin ortaya çıkarılmasında, uyumsuzluk dağılımlarının yanında popülasyonların geçmişte seçilime uğrayıp uğramadığı da nötralite testleri ile belirlenmiştir (Çizelge 4.9). Tajima'nın D ve Fu'nun Fs testleri Anadolu, Asya ve Avrupa grupları için anlamlı bulunmuştur ($P < 0,05$). Tajima'nın D ve Fu'nun Fs

testlerinde negatif değerler çıkması populasyon genişlemesi ve yeni mutasyonların yüksek oranda görülmesini ifade eder. Pozitif değerler ise populasyon azalmasını gösterir. Buna göre Anadolu, Asya ve Avrupa grupları için elde edilen negatif değerler bu grupları oluşturan populasyonların genişlediği ve darboğazda olmadığı anlamına gelmektedir. Trakya grubu için benzer şekilde negatif değerler elde edilse de sonuçlar istatistikî olarak anlamlı bulunmamıştır ($P>0.05$).

Çizelge 4.9 *A. flavicollis* gruplarının cyt-*b* bölgesine göre yapılan nötralite testleri

		Trakya	Anadolu	Asya	Avrupa
Tajima'nın D testi	D	-0.25987	-2.16504	-2.15738	-1.89241
	P	0.43500	0.00200	0.00300	0.00700
Fu'nun Fs testi	Fs	-1.50529	-25.41020	-25.34092	-24.71884
	P	0.10000	0.00000	0.00000	0.00000

Filogenetik analizlere ve genetik çeşitlilik analizlerine ek olarak sitokrom *b* bölgesinin pseudogen olup olmadığının ortaya konması amacıyla pseudogen dizilerinin nükleotid kompozisyonları ve nükleotid değişim tipleri belirlenmiştir. Bunun için PZR ile pseudogen bölgesi çoğaltılan 12 örneğe ait diziler ile aynı örneklere ait cyt-*b* dizilerinin nükleotid kompozisyonları karşılaştırılmıştır (EK 2). Pseudogen bölgesine ait diziler A-T bakımından zengin olup %29.32 adenin ve % 29.04 timin içermektedir. Guanin ve sitozin oranlarıysa sırasıyla %12.88 ve %28.77'dir. Toplam transisyon/transversiyon oranı (R) 0.755 olup dizilere ait nükleotid değişim oranları çizelge 4.10'da görülmektedir. Yapılan karşılaştırmalarda belirlenen farklılıklara dayanarak PZR çalışmasıyla çoğaltılan mitokondriyal sitokrom *b* bölgesinin nükleer pseudogen olmadığı sonucuna varılmıştır.

Çizelge 4.10 Pseudogen bölgesine ait nükleotidler arasındaki değişim oranları

Nükleotid	A	T	C	G
A	-	8.23	8.16	5.73
T	8.31	-	12.21	3.65
C	8.31	12.32	-	3.65
G	13.03	8.23	8.16	-

4.3 Mikrosatellit Analizlerine Ait Bulgular

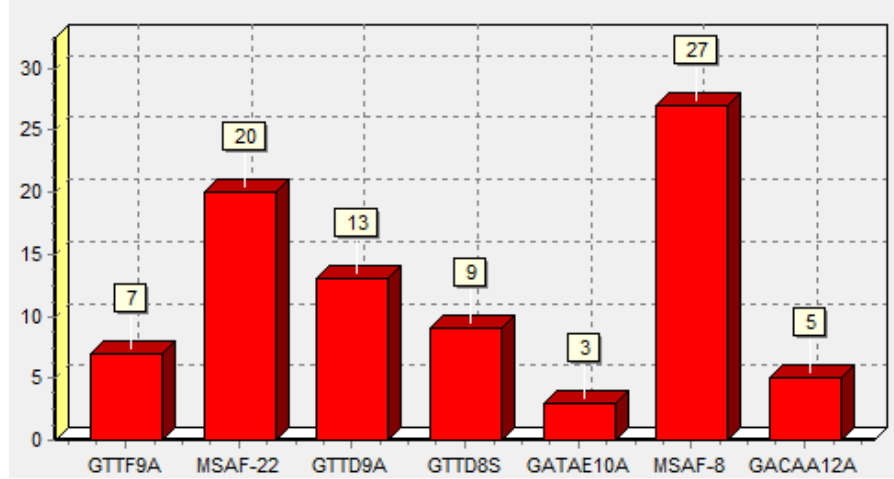
A. flavicollis'e ait 7 mikrosatellit lokusundan elde edilen 63 örneğe ait fragment analiz dosyalarıyla veri seti hazırlanmıştır. Her bir örnek ve lokus için hazırlanan allel büyüklüğü veri dosyası EK 3'te verilmiştir.

Mikrosatellit veri setinin güvenilirliğini belirlemek amacıyla her bir populasyon ve lokus için null allel frekansları belirlenmiştir (Çizelge 4.11). 0.2 ve üzeri frekans değerleri (r) istatistikî analizler için problem yaratacağından geçersiz kabul edilir (Dakin ve Avise 2004). Çizelge 4.11'de görüleceği üzere bu çalışmada belirlenen null allel frekansları 0.2'den küçüktür (maksimum 0.16667).

Çizelge 4.11 Onyeddi populasyon ve 7 lokus için belirlenen null allel frekansları

Pop/Lokus	GTTF9A	MSAf-22	GTDD9A	GTDD8S	GATAE10A	MSAf-8	GACAA12A
Bolu	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00100	0.00000	0.00000
Kilis	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00100	0.00000	0.00100
Kırklareli	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00001	0.05993	0.00000
Konya	0.00000	0.00045	0.00000	0.00045	0.00000	0.00000	0.00000
Burdur	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000
Samsun	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00100	0.00000	0.00000
Artvin	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.06133	0.00000
Çorum	0.00000	0.00000	0.04731	0.00000	0.00100	0.13173	0.00000
Ordu	0.00000	0.13333	0.00000	0.00000	0.00100	0.00000	0.00000
Bursa	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00001	0.00000	0.00000
Zonguldak	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00100	0.00050	0.00000
Trabzon	0.00000	0.00100	0.00100	0.00000	0.00100	0.00000	0.00000
Giresun	0.00000	0.00100	0.00100	0.00100	0.00100	0.00000	0.00000
Erzincan	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00041	0.00000
İstanbul	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00100	0.16667	0.00000
Rize	0.00000	0.13173	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000
Çanakkale	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00001	0.00001	0.00000

Genetik varyasyonun ölçülmesi için, öncelikle allel sayısı belirlenmiştir. Her bir lokus için toplam allel sayısı (Şekil 4.12) ve her bir populasyon ve lokus için hesaplanan allel sayıları (Çizelge 4.12) belirlenmiştir. Hesaplamalara göre en yüksek toplam allel sayısı MSAf-8 lokusunda (27 allel) belirlenirken en düşük toplam allel sayısı ise GATAE10A lokusunda (3 allel) belirlenmiştir. Populasyon bazında değerlendirilirse, en yüksek allel sayısı Artvin populasyonunda (MSAf-22 lokusunda 10 allel), en düşüğe Bolu, Kilis, Samsun, Çorum, Ordu, Zonguldak, Trabzon, Giresun ve İstanbul populasyonlarında (çeşitli lokuslarda 1 allel) belirlenmiştir.



Şekil 4.12 Her bir lokus için belirlenen toplam allel sayısı grafiği

Çizelge 4.12 Her bir populasyon ve lokus için belirlenen allel sayısı

Pop/Lokus	GTTF9A	MSAf-22	GTTD9A	GTTD8S	GATAE10A	MSAf-8	GACAA12A
Bolu	2	2	2	2	1	2	2
Kilis	4	4	4	2	1	2	1
Kırklareli	3	8	6	6	2	5	3
Konya	2	8	5	5	2	8	2
Burdur	2	2	2	2	2	2	2
Samsun	2	4	4	3	1	3	2
Artvin	6	10	5	5	2	7	2
Çorum	3	5	3	2	1	5	2
Ordu	3	5	4	4	1	8	2
Bursa	4	6	6	2	2	9	2
Zonguldak	3	4	5	2	1	6	2
Trabzon	2	1	1	2	1	2	2
Giresun	2	1	1	1	1	2	2
Erzincan	5	4	2	4	2	5	2
İstanbul	2	4	4	2	1	5	2
Rize	2	5	4	4	2	5	2
Çanakkale	2	3	5	4	2	2	2

Allelik çeşitliliğin örnek sayıları dikkate alınarak ölçülmesi olan allelik zenginlik, her bir populasyon ve lokus için populasyon başına düşen minimum örnek sayısı (1) temel alınarak hesaplanmıştır (Çizelge 4.13). Hesaplamalara göre, allelik zenginlik değerleri 1.000 ile 2.000 arasında değişmektedir.

Çizelge 4.13 Her bir populasyon ve lokus için hesaplanan ortalama allelik zenginlik değerleri

Pop/Lokus	GTTF9A	MSAf-22	GTTD9A	GTTD8S	GATAE10A	MSAf-8	GACAA12A
Bolu	2.000	2.000	2.000	2.000	1.000	2.000	2.000
Kilis	2.000	2.000	2.000	1.667	1.000	2.000	1.000
Kırklareli	1.621	1.956	1.818	1.848	1.167	1.788	1.712
Konya	1.556	1.956	1.844	1.844	1.356	1.956	1.467
Burdur	2.000	2.000	2.000	2.000	2.000	2.000	2.000
Samsun	1.667	2.000	2.000	1.833	1.000	1.833	1.500
Artvin	1.813	1.923	1.824	1.670	1.264	1.879	1.538
Çorum	1.607	1.893	1.679	1.536	1.000	1.857	1.429
Ordu	1.689	1.867	1.533	1.644	1.000	1.956	1.533
Bursa	1.733	1.889	1.889	1.556	1.200	1.978	1.533
Zonguldak	1.600	1.644	1.756	1.533	1.000	1.929	1.356
Trabzon	2.000	1.000	1.000	2.000	1.000	2.000	2.000
Giresun	2.000	1.000	1.000	1.000	1.000	2.000	2.000
Erzincan	1.848	1.636	1.485	1.682	1.303	1.788	1.530
İstanbul	1.571	1.750	1.643	1.571	1.000	1.893	1.536
Rize	1.571	1.857	1.643	1.786	1.429	1.933	1.536
Çanakkale	1.536	1.679	1.933	1.643	1.250	2.000	1.250
ORT	1.698	1.924	1.745	1.746	1.175	1.958	1.551

Sadece tek bir populasyonda bulunan allel olan özgün (private) alleller belirlenmiştir. Çizelge 4.14'te özgün allel içeren populasyonlar, lokuslar, allel adları ve bu allellere ait frekanslar görülmektedir. Buna göre, özgün allel frekanslarının oldukça yüksek olduğu (>%5) görülmektedir.

Çizelge 4.14 Özgün allellerin dağılımları ve frekansları

Populasyon	Lokus	Allel adı	Frekans
Bolu	MSAf-22	145	0.500
Kilis	GTTF9A	90	0.250
Kırklareli	GTDD9A	195	0.083
	GTDD9A	198	0.083
	GTDD8S	101	0.333
	GTDD8S	113	0.167
	GATAE10A	202	0.083
	MSAf-8	107	0.250
	GACAA12A	245	0.250
	GACAA12A	246	0.333
	GACAA12A	255	0.417
Konya	GTDD9A	219	0.100
	MSAf-8	124	0.100
	MSAf-8	159	0.200
Artvin	MSAf-22	143	0.071
	MSAf-8	131	0.214
Ordu	GTDD9A	224	0.100
Bursa	MSAf-8	126	0.100
	MSAf-8	163	0.100
	MSAf-8	166	0.100
İstanbul	MSAf-8	169	0.250
Rize	MSAf-8	144	0.167
Çanakkale	GTDD9A	221	0.167

Her bir populasyon için genetik varyasyon miktarı belirlenmiştir. Bunun için; tüm lokuslar için gözlenen heterozigotluk (H_o), beklenen heterozigotluk (H_e) ve ortalama heterozigotluk (H) değerleri, polimorfik lokusların yüzdesi (P) ve lokus başına düşen ortalama allel sayısı (A) hesaplanmıştır (Çizelge 4.15). Hesaplamalara göre en yüksek gözlenen heterozigotluk değeri (H_o) Burdur populasyonunda (1.000), en düşükse Giresun populasyonunda belirlenmiştir (0.4286). Polimorfik lokusların yüzdesi (P) en yüksek Kırklareli, Konya, Burdur, Artvin, Bursa, Erzincan, Rize ve Çanakkale populasyonlarında (%100) belirlenirken, en düşükse Giresun populasyonunda (%42.86) belirlenmiştir.

Çizelge 4.15 Her bir populasyon için hesaplanan genetik varyasyon değerleri

Populasyon	H_e	H	H_o	P	A
Bolu	0.4286	0.8571	0.8571	0.8571	1.8571
Kilis	0.4643	0.6667	0.7143	0.7143	2.5714
Kırklareli	0.6407	0.7014	0.8095	1.0000	4.7143
Konya	0.6400	0.7111	0.7714	1.0000	4.5714
Burdur	0.5000	1.0000	1.0000	1.0000	2.0000
Samsun	0.5179	0.6905	0.7857	0.8571	2.7143
Artvin	0.6516	0.7017	0.7347	1.0000	5.2857
Çorum	0.5000	0.5714	0.5714	0.8571	3.0000
Ordu	0.5429	0.6032	0.6571	0.8571	3.8571
Bursa	0.6143	0.6825	0.8286	1.0000	4.4286
Zonguldak	0.4875	0.5454	0.5643	0.8571	3.2857
Trabzon	0.2857	0.5714	0.5714	0.5714	1.5714
Giresun	0.2143	0.4286	0.4286	0.4286	1.4286
Erzincan	0.5595	0.6104	0.7619	1.0000	3.4286
İstanbul	0.4955	0.5663	0.6786	0.8571	2.8571
Rize	0.5888	0.6793	0.7500	1.0000	3.4286
Çanakkale	0.4772	0.6129	0.6786	1.0000	2.8571
Anadolu ort	0.6525	0.6584	0.7062	1.0000	10.7143

Moleküler varyans analizi (AMOVA) ile toplam genetik varyasyon Trakya ve Anadolu grupları için; gruplar arası (F_{CT}), grup içindeki populasyonlar arası (F_{SC}) ve populasyon içi (F_{ST}) olmak üzere üç seviyede hesaplanmıştır (Çizelge 4.16). AMOVA analizine göre *A. flavicollis*'te genetik varyasyonun populasyon içinde paylaşımı oldukça yüksek bulunurken (%80.44), grupları oluşturan populasyonlar arasında (%2.33) ve gruplar arasında (%17.23) ise düşük bulunmuştur. AMOVA analizine göre elde edilen fiksasyon indeksi değerleri (F_{SC} , F_{ST} ve F_{CT}) anlamlı bulunmuştur.

Çizelge 4.16 *A. flavicollis* Trakya ve Anadolu gruplarının mikrosatellit lokuslarına ait AMOVA analiz değerleri

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Varyans bileşenleri	% Varyasyon
Gruplar arası	1	10.660	0.38115 Va	17.23
Gruplar içindeki popülasyonlar arası	15	32.085	0.05152 Vb	2.33
Popülasyon içi	109	193.906	1.77895 Vc	80.44
Toplam	125	236.651	221.162	
Fiksasyon indeksleri				
F_{ST}	0.19563	$Vc (P = 0.00000+-0.00000)$		
F_{SC}	0.02814	$Vb (P = 0.00000+-0.00000)$		
F_{CT}	0.17234	$Va (P = 0.06256+-0.00658)$		

Genetik farklılaşma hesaplamalarında Wright'ın F istatistikleri kullanılmıştır. Soy içi üreme miktarının ölçümü olan F_{IS} değerleri (Çizelge 4.17) ve ikili fiksasyon indeksi (F_{ST}) değerleri (Çizelge 4.18) hesaplanmıştır. Popülasyonlara ait F_{IS} değerleri incelendiğinde, değerlerin 0 ile negatif değerler arasında olduğu görülmektedir. İstatistiki anlamda; negatif F_{IS} değerleri heterozigot fazlalığını işaret ederken, pozitif değerler ise heterozigot eksikliğini ifade eder. Buna göre; çalışmada heterozigot fazlalığı belirlenmiştir. Birey sayısı yetersiz olan ($N=1$) popülasyonlar için hesaplama yapılamamıştır.

İkili fiksasyon indeksi değerlerine göre en yüksek genetik farklılaşma Giresun ve Kilis popülasyonları arasında ($F_{ST}= 0.378$), en düşük genetik farklılaşma ise Konya ve Bursa popülasyonları arasında ($F_{ST}= 0.047$) bulunmuştur. Trakya-Anadolu grupları arasındaki farklılaşma miktarı 0.106 olarak, gen akışı (N_m) ise 2.109 olarak bulunmuştur.

Genetik farklılaşma hesaplamalarına ek olarak bireyler, popülasyonlar ve gruplar arasındaki genetik mesafe (D_A) değerleri hesaplanmıştır (Nei vd. 1983). Buna göre Trakya-Anadolu grupları arasındaki genetik mesafe 0.505804 olarak bulunmuştur.

Populasyonlar arası genetik mesafe değerlerine göre, birbirine en yakın populasyonlar Bursa ve Zonguldak iken (0.1940), en uzak olanlarsa Rize ve Kırklareli (0.7393) populasyonlarıdır (Çizelge 4.19).

Genetik mesafe değerleri kullanılarak tüm bireyler için Neighbour-Joining (NJ) ağacı oluşturulmuş ve 1000 tekrarlı bootstrap analizi yapılmıştır (Şekil 4.13). NJ ağacına ait tüm dallanma noktaları %100 bootstrap değeriyle desteklenmiştir. NJ ağacında Türkiye örneklerinin Trakya ve Anadolu şeklinde iki gruba ayrıldığı belirlenmiştir.

Çizelge 4.17 Her bir populasyon için hesaplanan F_{IS} değerleri

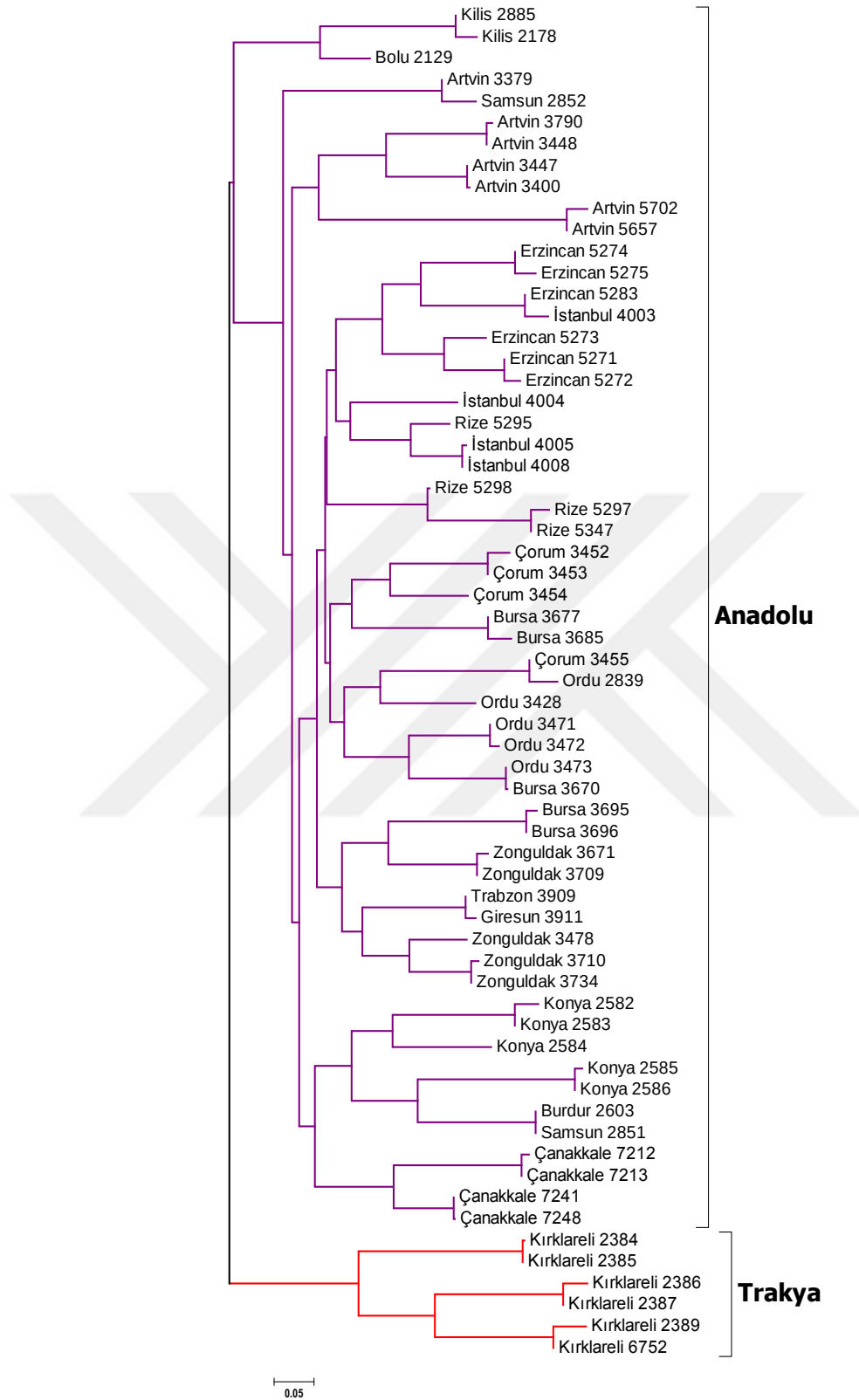
Populasyon	Birey sayısı	F_{IS}
Bolu	1	0.000
Kilis	2	-0.143
Kırklareli	6	-0.172
Konya	5	-0.096
Burdur	1	0.000
Samsun	2	-0.222
Artvin	7	-0.051
Çorum	4	0.000
Ordu	5	-0.102
Bursa	4	-0.247
Zonguldak	5	-0.037
Trabzon	1	0.000
Giresun	1	0.000
Erzincan	6	-0.280
İstanbul	4	-0.239
Rize	4	-0.125
Çanakkale	4	-0.169

Çizelge 4.18 Tüm populasyonlar için hesaplanan ikili fiksasyon indeksi (F_{ST}) değerleri

	Bolu	Kilis	Kırklareli	Konya	Burdur	Samsun	Artvin	Çorum	Ordu	Bursa	Zonguldak	Trabzon	Giresun	Erzincan	İstanbul	Rize	Canakkale
Bolu	0,000																
Kilis	0,170	0,000															
Kırklareli	0,164	0,188	0,000														
Konya	0,126	0,138	0,122	0,000													
Burdur	0,200	0,251	0,188	0,091	0,000												
Samsun	0,112	0,115	0,148	0,073	0,165	0,000											
Artvin	0,116	0,147	0,114	0,054	0,127	0,092	0,000										
Çorum	0,143	0,178	0,153	0,082	0,186	0,114	0,060	0,000									
Ordu	0,152	0,177	0,140	0,075	0,170	0,110	0,052	0,057	0,000								
Bursa	0,123	0,149	0,121	0,047	0,145	0,085	0,033	0,051	0,057	0,000							
Zonguldak	0,177	0,163	0,159	0,075	0,194	0,099	0,074	0,043	0,049	0,045	0,000						
Trabzon	0,267	0,333	0,212	0,160	0,276	0,236	0,139	0,170	0,126	0,134	0,164	0,000					
Giresun	0,311	0,378	0,267	0,196	0,314	0,254	0,155	0,194	0,153	0,182	0,210	0,333	0,000				
Erzincan	0,120	0,189	0,128	0,083	0,143	0,127	0,055	0,064	0,067	0,065	0,091	0,151	0,200	0,000			
İstanbul	0,137	0,207	0,145	0,071	0,167	0,112	0,069	0,054	0,061	0,048	0,061	0,134	0,184	0,073	0,000		
Rize	0,161	0,175	0,161	0,077	0,153	0,126	0,059	0,084	0,065	0,063	0,087	0,164	0,197	0,070	0,085	0,000	
Canakkale	0,190	0,155	0,181	0,072	0,189	0,123	0,082	0,102	0,084	0,085	0,093	0,183	0,233	0,114	0,112	0,119	0,000

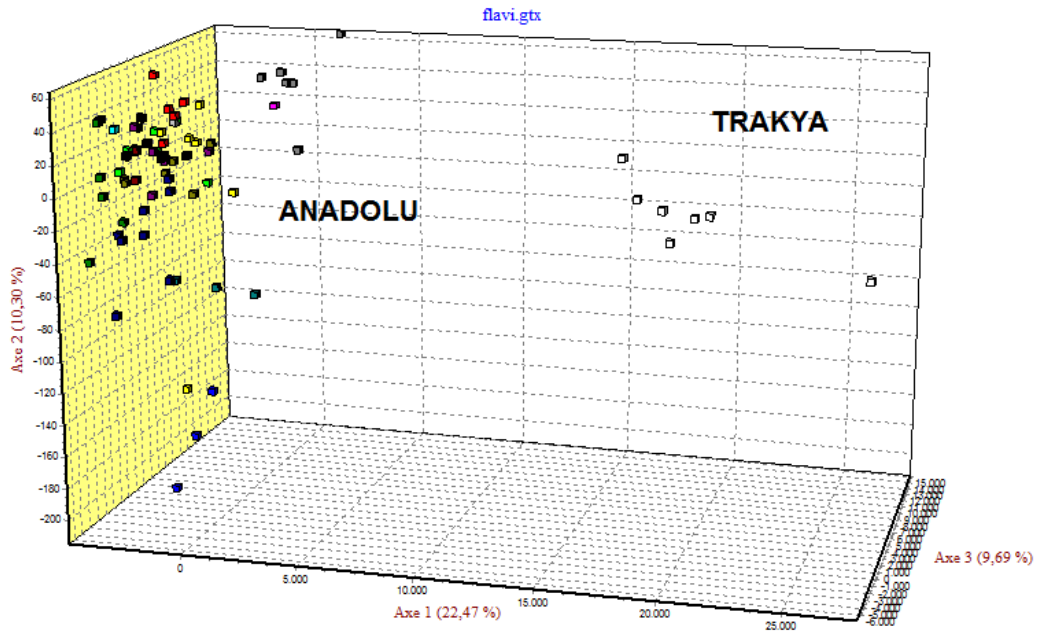
Çizelge 4.19 Tüm populasyonlar için hesaplanan ikili genetik mesafe (D_A) değerleri (Nei vd. 1983)

	Bolu	Kilis	Kırklareli	Konya	Burdur	Samsun	Artvin	Çorum	Ordu	Bursa	Zonguldak	Trabzon	Giresun	Erzincan	İstanbul	Rize	Çan.
Bolu	0																
Kilis	0.390319	0															
Kırklareli	0.620273	0.694154	0														
Konya	0.502252	0.542624	0.563487	0													
Burdur	0.470413	0.595939	0.593811	0.338669	0												
Samsun	0.302837	0.352823	0.605491	0.367482	0.416108	0											
Artvin	0.419796	0.449353	0.570919	0.365361	0.449954	0.390190	0										
Çorum	0.404991	0.561786	0.629895	0.372633	0.472978	0.411475	0.266377	0									
Ordu	0.481946	0.515849	0.612770	0.320902	0.459900	0.391584	0.302285	0.294481	0								
Bursa	0.462117	0.545047	0.602307	0.297187	0.501812	0.399026	0.243426	0.261397	0.322015	0							
Zonguldak	0.484670	0.479881	0.622026	0.294111	0.513280	0.370093	0.322058	0.224933	0.227185	0.194058	0						
Trabzon	0.470413	0.655112	0.581253	0.357039	0.512255	0.504868	0.334245	0.310338	0.259629	0.341518	0.258671	0					
Giresun	0.470413	0.655112	0.715541	0.415446	0.512255	0.433439	0.351979	0.312974	0.291106	0.383360	0.325863	0.327556	0				
Erzincan	0.380561	0.599061	0.541677	0.406439	0.406678	0.466775	0.273850	0.241684	0.300536	0.369348	0.330333	0.280691	0.410015	0			
İstanbul	0.370771	0.617935	0.588079	0.304640	0.433534	0.430046	0.343040	0.246498	0.264137	0.264137	0.239321	0.230550	0.257598	0.296369	0		
Rize	0.511847	0.547159	0.739342	0.398308	0.533290	0.450214	0.311980	0.345140	0.332364	0.316921	0.307367	0.375971	0.380236	0.331364	0.333610	0	
Çanakkale	0.517492	0.511834	0.642546	0.283484	0.462596	0.452302	0.314088	0.430907	0.241264	0.360255	0.355597	0.319535	0.423186	0.344262	0.349443	0.393037	0

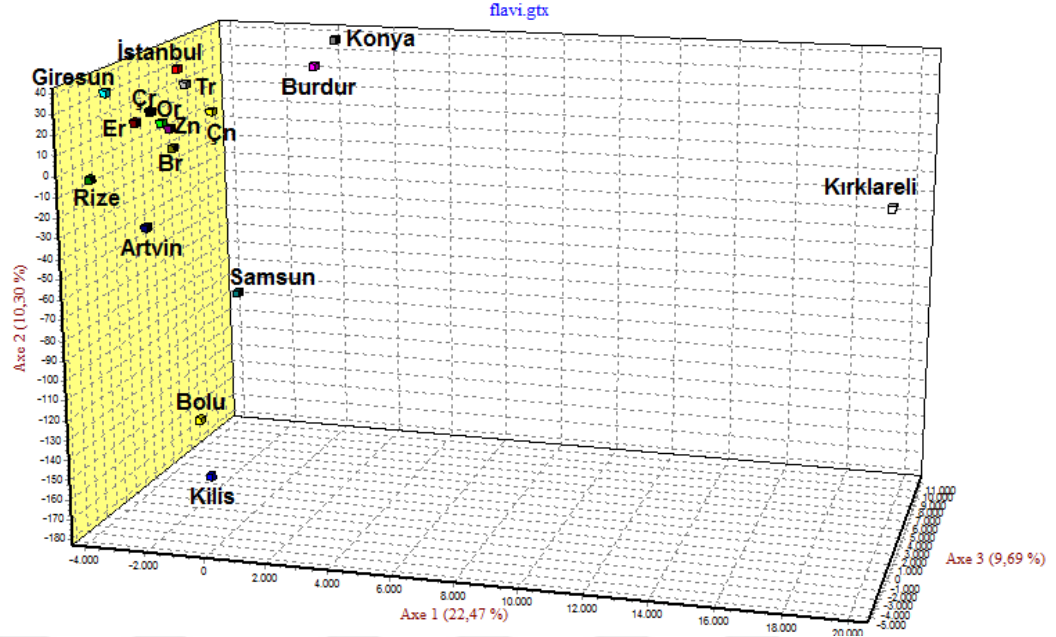


Şekil 4.13 Genetik mesafe (D_A) değerleriyle oluşturulan mikrosatellit NJ ağacı (Tüm dallanma noktaları %100 bootstrap değeriyle desteklenmiştir)

Faktöriyel Benzerlik Analizi (FCA-Factorial Correspondence Analysis) ile bireyler ve populasyonlar arasındaki ilişkilerin üç boyutlu görselleştirilmesi yapılmıştır (Şekil 4.14-4.15). Her iki FCA grafiğinde de Trakya ve Anadolu populasyonlarını oluşturan bireylerin ve populasyonların ayrımı net bir şekilde görülmektedir. Anadolu populasyonlarını oluşturan bireyler grafikte karışık bir gruplanma sergilemiştir (Şekil 4.14).



Şekil 4.14 A. *flavicollis* bireyleri arasındaki ilişkileri gösteren FCA grafiği

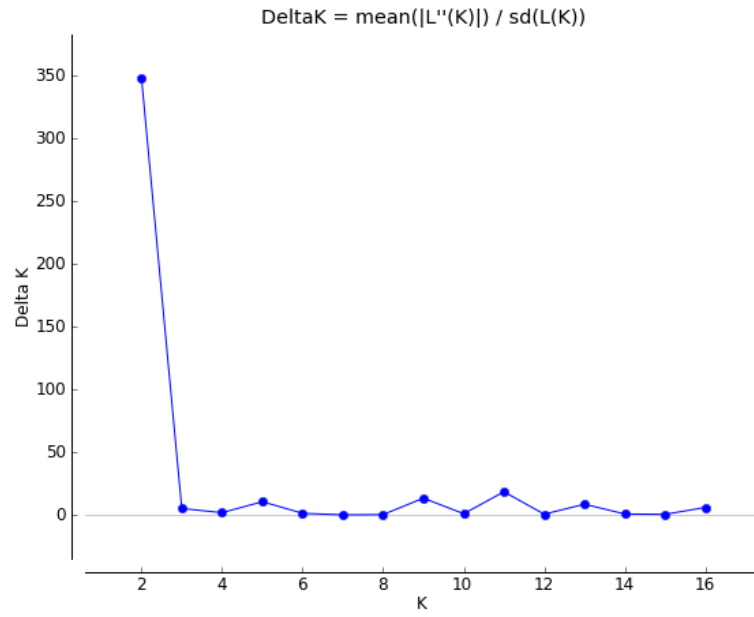


Şekil 4.15 A. *flavicollis* populasyonları arasındaki ilişkileri gösteren FCA grafiği

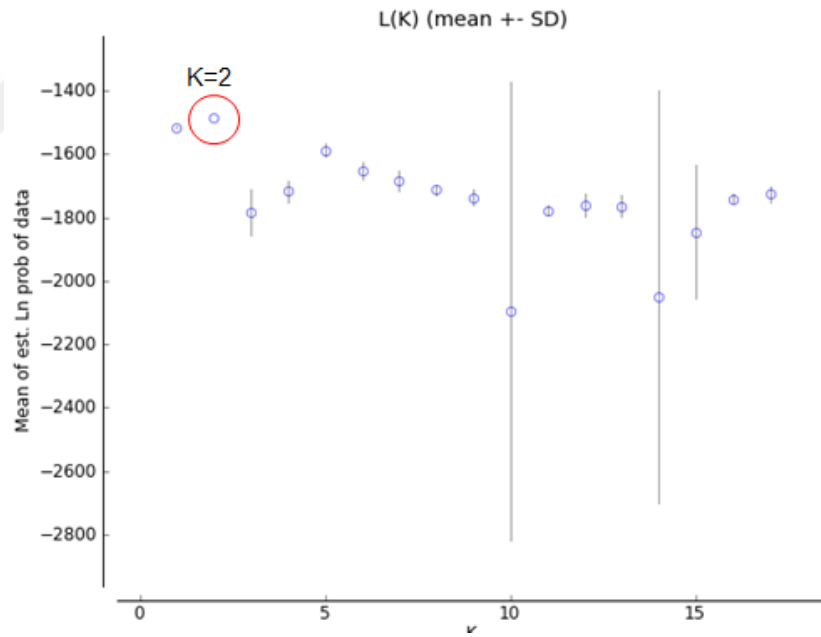
Tr- Trabzon, Çn- Çanakkale, Zn- Zonguldak, Or- Ordu, Çr- Çorum, Er- Erzincan, Br- Bursa

Bayesian yaklaşımlı STRUCTURE analizi ile populasyonların genetik yapısı ortaya konmuş ve olası populasyon sayısı (K) belirlenmiştir. K değerinin belirlenmesinde kullanılan ilk yöntem olan Evanno vd.'nin (2005) ΔK metoduna göre elde edilen grafik şekil 4.16'da görülmektedir ve likelihood fonksiyonunun ($\Delta K = m \left| L''(K) \right| / S[L(K)]$) ikincil değişim oranı pik halinde net bir K değeri (K=2) vermiştir.

ΔK metodunun yanısıra her bir K değeri ve döngü için elde edilen K benzerliği (likeness) $[Ln P(D)]$ değerleri incelenmiştir. Şekil 4.17'de ortalama $Ln P(D)$ değerleri ve standart sapmaları görülmektedir. 1-17 arası K değerleri için gerçekleştirilen bağımsız döngülerden elde edilen sonuçlar K=2 değeri için maksimum benzerlik sergilemektedir.

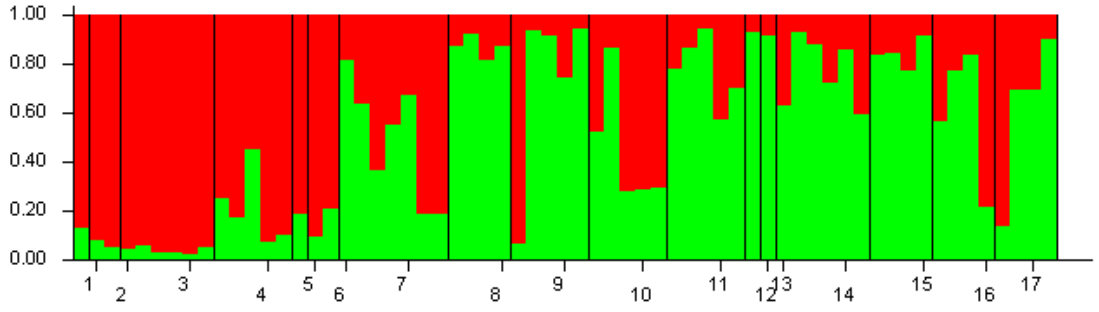


Şekil 4.16 Evanno'nun (2005) ΔK grafiği



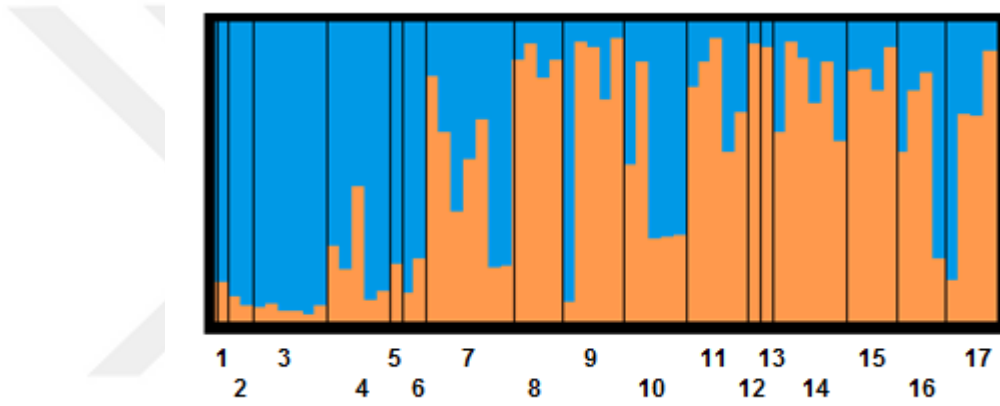
Şekil 4.17 K değerleri için ortalama Ln olasılıkları grafiği

K=2 değerine göre oluşturulan STRUCTURE grafiği şekil 4.18'de ve Distruct programıyla oluşturulan grafik şekil 4.19'da görülmektedir.



Şekil 4.18 K=2 değerine göre oluşturulan STRUCTURE grafiği

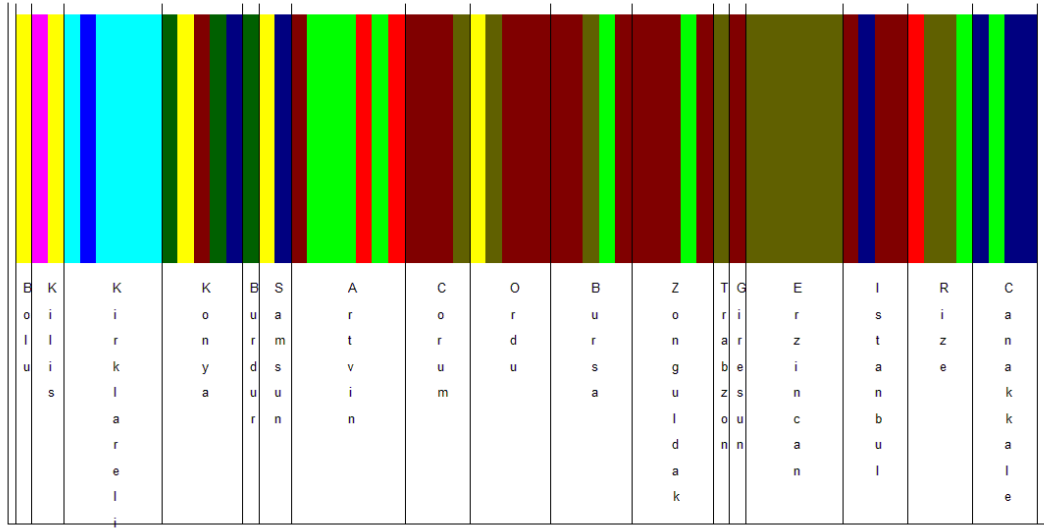
1- Bolu, 2-Kilis, 3-Kırklareli, 4- Konya, 5- Burdur, 6- Samsun, 7- Artvin, 8- Çorum, 9- Ordu, 10- Bursa, 11- Zonguldak, 12-Trabzon, 13- Giresun, 14- Erzincan, 15- İstanbul, 16- Rize, 17- Çanakkale



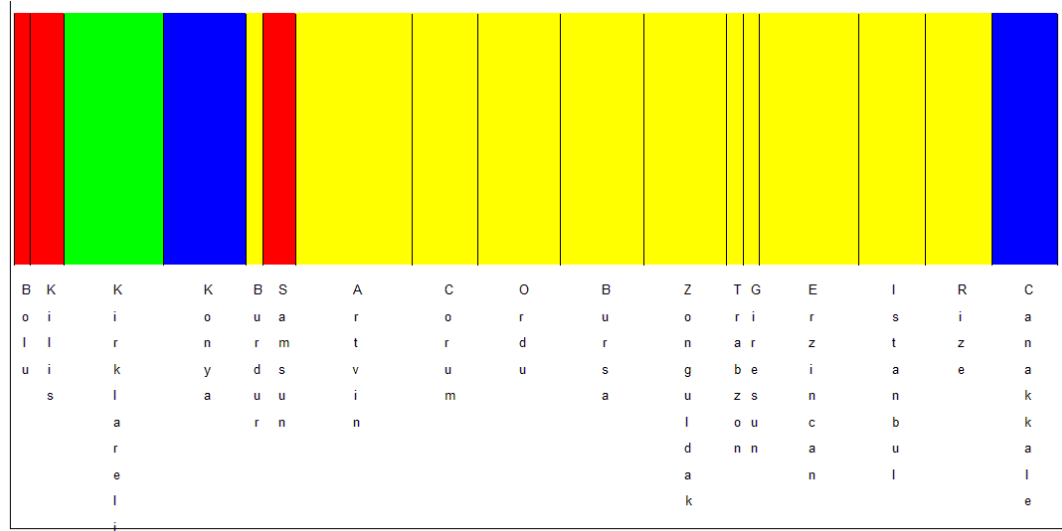
Şekil 4.19 K=2 değerine göre oluşturulan Distruct grafiği

1- Bolu, 2-Kilis, 3-Kırklareli, 4- Konya, 5- Burdur, 6- Samsun, 7- Artvin, 8- Çorum, 9- Ordu, 10- Bursa, 11- Zonguldak, 12-Trabzon, 13- Giresun, 14- Erzincan, 15- İstanbul, 16- Rize, 17- Çanakkale

Bayesian temelli BAPS programı ile popülasyonu oluşturan bireylere ait genetik yapılanma görsel olarak ortaya konmuştur (Şekil 4.20). Grafiğe göre, Kırklareli örnekleri ve Kilis lokalitesinden 2178 numaralı örnek diğer *A. flavicollis* örneklerine göre genetik yapı bakımından farklılık göstermektedir. Genetik farklılaşmanın, popülasyon bazında değerlendirildiği BAPS grafiğine göre ise (Şekil 4.21), Konya-Çanakkale popülasyonları ve Bolu-Kilis-Samsun popülasyonları kendi aralarında benzerlik göstermektedir. Kırklareli popülasyonu yine benzersiz bir genetik yapı sergilerken, sarı renkle temsil edilen diğer 11 *A. flavicollis* popülasyonu benzerlik sergilemektedir.



Şekil 4.20 Her bir popülasyondaki bireyin genetik yapısını gösteren BAPS grafiği



Şekil 4.21 Popülasyonların genetik yapısını gösteren BAPS grafiği

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

5.1 Mitokondri ve Çekirdek DNA Belirteçleriyle Yapılan Analizlerin Karşılaştırılması

Bu tez çalışmasında Türkiye *A. flavicollis* populasyonlarındaki genetik varyasyon, mitokondriyal DNA (sitokrom *b*) ve çekirdek DNA (mikrosatellitler) belirteçleri kullanılarak belirlenmiştir. *A. flavicollis*'e ait populasyon genetiği ve filogeni çalışmalarında sitokrom *b* (Michaux vd. 2001, 2002, 2004, 2005, Krystufek vd. 2012, Bugarski-Stanojevic vd. 2013, Darvish vd. 2015) ve mikrosatellitler (Gockel vd. 1997, Makova vd. 1998, 2000, Gryczynska-Siemiatkowska vd. 2008, Kozakiewicz vd. 2009, Gortat vd. 2010, 2015) sıklıkla kullanılmaktadır.

Analizler, sitokrom *b* ve mikrosatellit lokusları için ayrı veri setleri hazırlanarak gerçekleştirilmiştir. Veri setleri, sitokrom *b* için DNA dizileri ve mikrosatellitler için allel büyüklükleri temel alınarak hazırlanmıştır. Sitokrom *b* veri seti ile yapılan analizlerde Türkiye örneklerine ait dizilere ek olarak Genbank'tan alınan sitokrom *b* dizileri de kullanılmıştır. Sitokrom *b* analizleri Türkiye ve Türkiye+Genbank şeklinde iki ayrı veri setiyle gerçekleştirilmiştir.

Moleküler varyans analizi (AMOVA) sitokrom *b* ve mikrosatellit veri seti için ayrı ayrı yapılmıştır. Sitokrom *b* AMOVA analizine göre *A. flavicollis* Türkiye örneklerinde genetik varyasyonun Trakya ve Anadolu grupları arasında paylaşımı oldukça yüksek bulunurken (%90.07), grupları oluşturan populasyonlar içinde (%7.63) ve populasyonlar arasında (%2.30) ise düşük bulunmuştur. Mikrosatellit AMOVA analizinde ise genetik varyasyonun populasyon içinde paylaşımı oldukça yüksek bulunurken (%80.44), grupları oluşturan populasyonlar arasında (%2.33) ve gruplar arasında (%17.23) ise düşük bulunmuştur (Çizelge 5.1). Mikrosatellit AMOVA analizinde populasyon içi varyasyonun yüksek olması, mikrosatellit belirtecinin bireyden bireye değişebilen allel farklılıklarıyla yüksek varyasyon oranına sahip olmasından kaynaklanmaktadır.

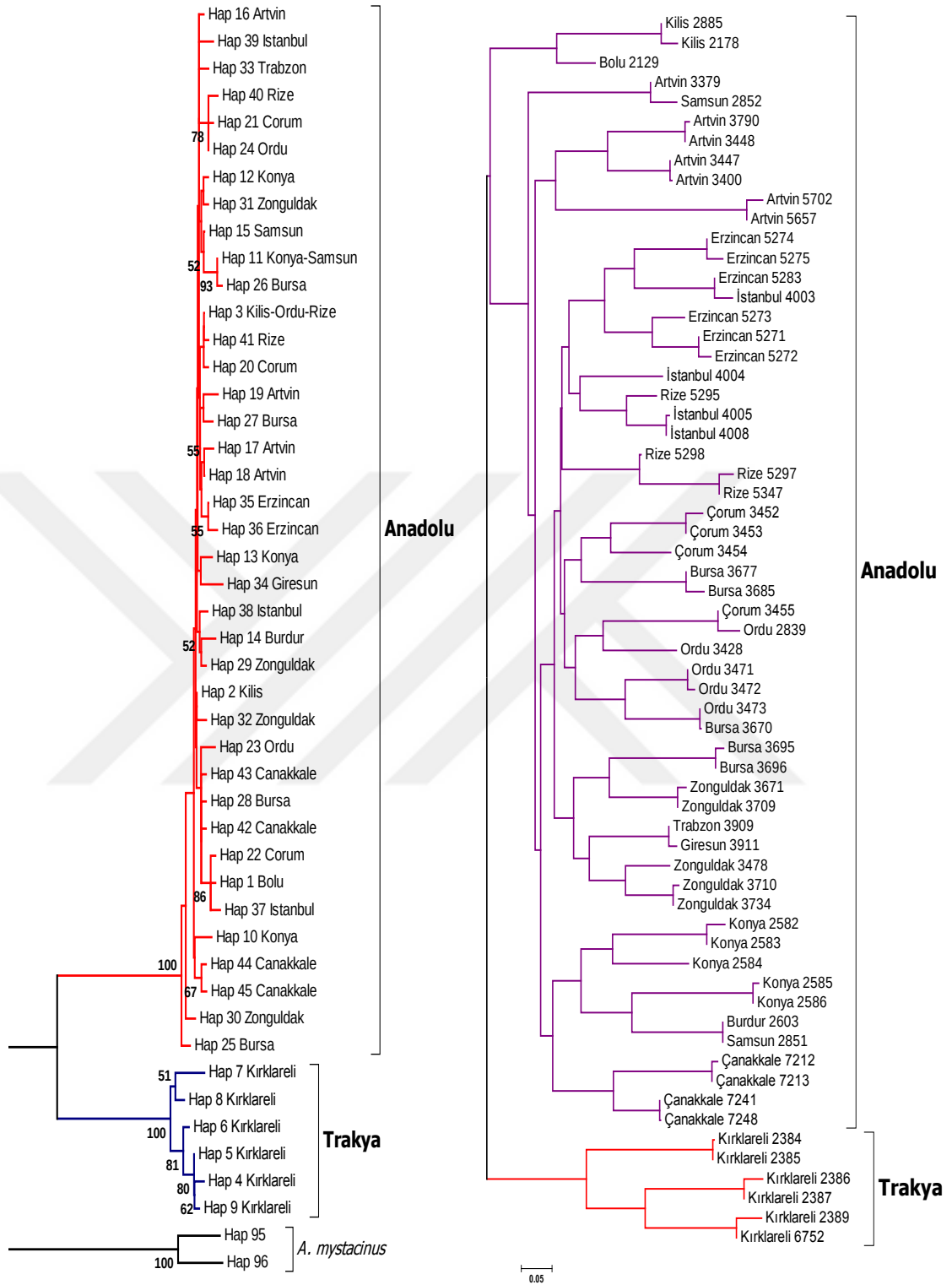
Çizelge 5.1 *A. flavicollis* Trakya-Anadolu grupları için sitokrom *b* ve mikrosatellit verileriyle yapılan analizlerin karşılaştırılması (Va: Gruplar arası varyasyon, Vb: Populasyonlar arası varyasyon, Vc: Populasyon içi varyasyon)

	AMOVA					
	Va	Vb	Vc	<i>D</i>	F_{ST}	N_m
Sitokrom <i>b</i>	90.07	2.30	7.63	0.072	0.79367	0.13
Mikrosatellit	17.23	2.33	80.44	0.505804	0.106	2.109

Sitokrom *b* analizlerinde Trakya-Anadolu grupları arasında genetik farklılaşma derecesi yüksek bulunurken ($F_{ST}= 0.79367$), gen akışı değeriye düşük bulunmuştur ($N_m= 0.13$). Mikrosatellit analizlerinde de Trakya-Anadolu grupları arasındaki genetik farklılaşma benzer şekilde yüksek ($F_{ST}= 0.106$), gen akışı ise düşüktür ($N_m= 2.109$) (Çizelge 5.1). Kullanılan belirteçler ve veri setleri farklı olduğu için genetik çeşitlilik ve farklılaşma analizlerinde kullanılan istatistikî yöntemler ve parametreler farklıdır, iki belirtece ait değerlerde görülen farklılık bundan kaynaklanmaktadır.

Genetik mesafe değerleri sitokrom *b* veri seti için Kimura 2 parametresiyle hesaplanmıştır ve Trakya ve Anadolu grupları arasında yüksek (0.072) bulunmuştur. Mikrosatellit veri seti içinse Nei vd. (1983) tarafından Cavalli-Sforza mesafe değerinin modifiye edilmesiyle geliştirilen genetik mesafe değeri (D_A) kullanılmış ve yine yüksek (0.505804) bulunmuştur (Cavalli-Sforza ve Edwards 1967).

Sitokrom *b* ve mikrosatellit analizlerine göre *A. flavicollis* populasyonlarının Trakya ve Anadolu şeklinde gruplandığı belirlenmiştir. Sitokrom *b* ve mikrosatellit veri setleriyle oluşturulan NJ ağaçlarının karşılaştırması şekil 5.1’de gösterilmiştir.



Şekil 5.1 Sitokrom *b* (sol) ve mikrosatellit veri setiyle oluşturulan NJ ağaçları

Sitokrom *b* NJ ağacında, Anadolu haplotipleri kendi içinde karmaşık gruplanmalar sergilemekle birlikte Konya-Samsun (Hap11) ve Kilis-Ordu-Rize (Hap3) ortak haplotipleri belirlenmiştir. Mikrosatellit NJ ağacındaki gruplanmalar yine karışık olmakla birlikte, aynı popülasyona ait bireylerin kümelenmesi, sitokrom *b* ağacına göre nispeten daha anlamlı olmuştur. Trakya-Anadolu gruplarının ayrımı ise her iki NJ ağacında da net bir şekilde gözlenmiştir. Her iki ağaç için de 1000 tekrarlı bootstrap analizi gerçekleştirilmiştir. Sitokrom *b* NJ ağacında Trakya-Anadolu ayrımı %100 bootstrap değeriyle desteklenirken ağacın farklı dallarındaki ayrım seviyeleri yine yüksek olmakla birlikte değişkenlik göstermektedir. Mikrosatellit NJ ağacındaki tüm dallanma noktaları %100 bootstrap değeriyle desteklenmiştir.

5.2 Avrupa ile Asya Popülasyonlarının Genetik Farklılaşması

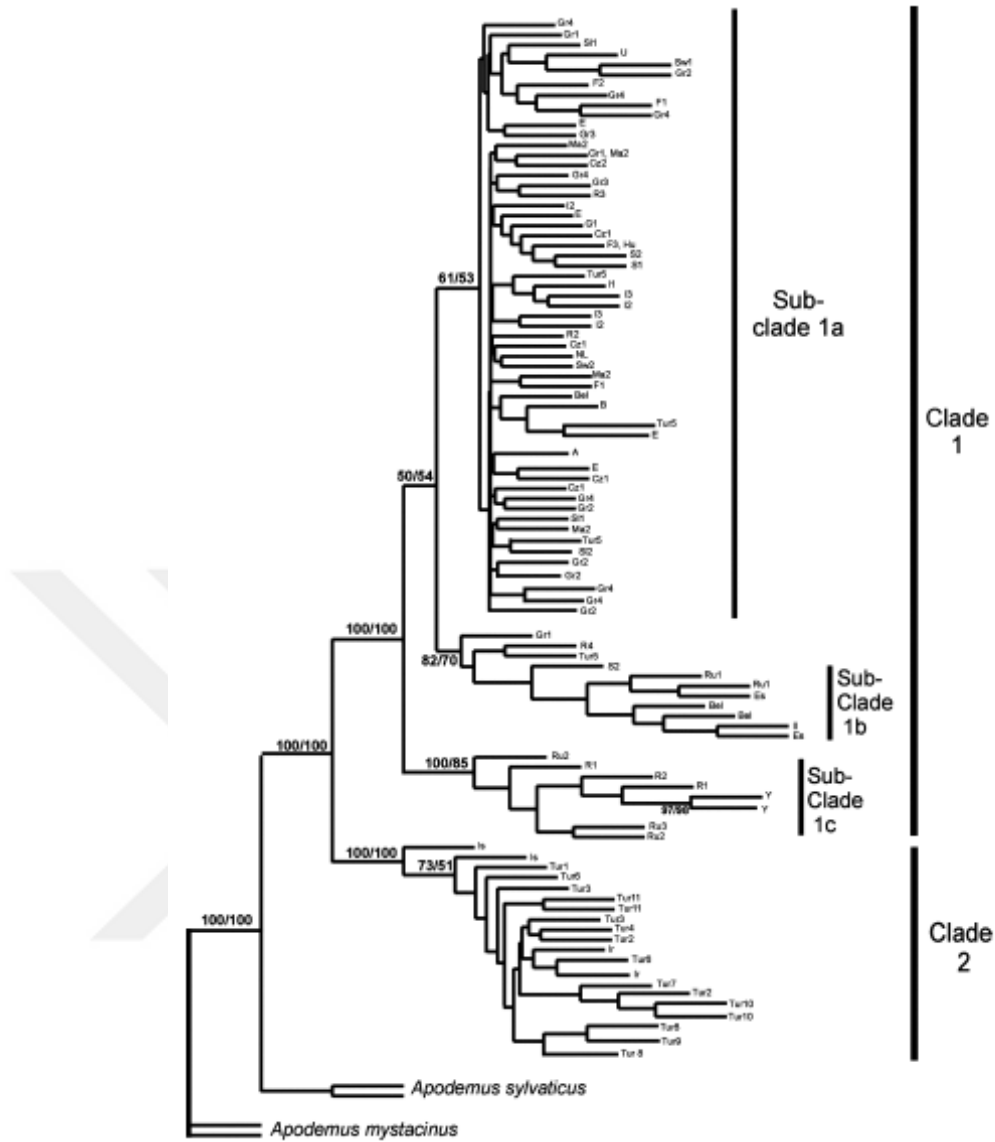
Günümüzde *A. flavicollis* Batı Palearktik Bölge’de, batıda İngiltere’den doğuda Kafkaslar’a kadar geniş bir bölgede yayılış gösterir. Bu tez çalışmasında sitokrom *b* veri setiyle yapılan NJ, ML, MP, Network ve Beast analizleri *A. flavicollis* popülasyonlarının Avrupa ve Asya şeklinde iki ana genetik gruba ayrıldığını ortaya koymuştur. İki grup %7.2’lik (K2P) yüksek genetik mesafe değeriyle ayrılmıştır. Bu coğrafik yapılanma AMOVA analiziyle iki grup arasında %90.07 mitokondriyal DNA varyasyonu ile desteklenmiştir.

Mikrosatellit veri setiyle yapılan NJ, FCA, Bayesian temelli STRUCTURE ve BAPS analizleri de Trakya-Anadolu gruplanmasını desteklemiştir. Özgün (private) allel hesaplamalarına göre Kırklareli popülasyonu 9 özgün allel ile Anadolu popülasyonlarından ayrılmıştır. Genetik mesafe değeri (Nei vd. 1983) Trakya-Anadolu grubu arasında yüksek (%50.58) bulunmuştur. Trakya-Anadolu coğrafik yapılanması AMOVA analizinde düşük varyasyon oranına (%17.23) sahip olmakla birlikte varyasyonun büyük oranda popülasyon içi varyasyondan kaynaklandığı belirlenmiştir (%80.44).

Krystufek ve Vohlarik (2009) *A. flavicollis*’in Trakya ve Anadolu örneklerinin morfolojik farklılıklar sergilediğini belirtmişlerdir. Buna göre, Trakya örnekleri

Anadolu örneklerine göre daha büyük ve ağır olma eğilimindedir, Trakya ve Gökçeada örneklerinde boğaz yakası bulunurken Anadolu örneklerinde nadiren bulunur. Anadolu populasyonları arasında vücut büyüklüğü açısından varyasyon gözlenmemiştir. Gökçeada örnekleri Anadolu örneklerine göre daha kısa palatinuma ve daha uzun kesici dişlere sahiptir (Özkan ve Krystufek 1999).

Michaux vd. (2004) tarafından yapılan kapsamlı filocoğrafya çalışmasında Kuvaterner buzul döneminin *A. flavicollis*'in genetik yapısı üzerine etkileri belirlenmiştir. Çalışmada Avrupa ve Asya'dan 53 farklı lokaliteden 124 *A. flavicollis* örneğine ait sitokrom *b* bölgesiyle analizler gerçekleştirilmiştir. 124 örnekten toplam 95 haplotip elde edilmiştir. Oluşturulan NJ ağacında *A. flavicollis* haplotiplerinin Avrupa-Rusya (Klad 1) ve Türkiye-Yakın Doğu-Orta Doğu (Klad 2) şeklinde iki büyük klada ayrıldığı belirlenmiştir (Şekil 5.2). Bu ayrım, tez çalışmasında elde edilen değerlere benzer şekilde %100 bootstrap değeri ve %7.2 K2P genetik mesafe değeriyle desteklemiştir. Avrupa ve Asya kladının ayrılma zamanının ise 2.2-2.4 Myö olduğu belirlenmiştir.



Şekil 5.2 Michaux vd.'nin (2004) çalışmasında *A. flavicollis* sitokrom *b* haplotipleriyle oluşturulan NJ ağacı (Clade 1- Avrupa, Clade 2 Asya haplotiplerinden oluşmaktadır)

Michaux vd. (2004) tarafından yapılan çalışmada ve bu tez çalışmasında belirlenen Avrupa-Asya coğrafik yapılanması Avise'nin (2000) tanımladığı filoğrafik modelle uyushmaktadır. Daha önce *Apodemus sylvaticus* için önerildiği gibi (Michaux vd. 2003), *A. flavicollis* popülasyonlarının bu yapılanması Kuvaterner buzul dönemi süresince Asya ve Avrupa *A. flavicollis* gruplarının biri Anadolu diğeri İtalya-Balkan olmak üzere iki farklı sığınakta hayatta kalmış olmasıyla açıklanabilir. Moleküler saat analizleri bu iki grubun ayrımının 2,0613 Myö (Üst Pliyosen), yani Tersiyer-Kuvaterner geçiş

döneminde gerçekleştiğini ortaya koymuştur. Pliyosen dönemi Doğu ve Batı Avrupa iklim ve vejetasyon yapısı, polen verisinden elde edilen bilgilerle iyi bir şekilde aydınlatılmıştır. Döneme ait Akdeniz Bölgesi polen kayıtları farklı bölgeler arasında yoğun bir varyasyon sergilemektedir. Pliyosen sonunda (2.8 -1.8 Myö arası dönemde) görülen buzul ve buzul arası dönemlere bağlı olarak Avrupa boyunca iklimde ani değişiklikler ortaya çıkmıştır (Fauquette vd. 1998). İklimsel değişikliklere bağlı olarak vejetasyon da step ve orman şeklinde değişim göstermiştir. Ormanlık habitatlarda yaşayan *A. flavicollis*'in buzul dönemleri boyunca Akdeniz Bölgesi'nin güneyinde ve Yakın Doğu'daki ormanlık bölgelerde hayatta kalmış olması muhtemeldir. Aynı dönemde benzer şekilde bir kirpi türü olan *Erinacues concolor*'un Balkan ve Türkiye soylarının da genetik olarak ayrıldığı belirlenmiştir (Hewitt 1999).

Kuvaterner buzul döneminde *A. sylvaticus* için sığınak görevi yapmış olan İber yarımadası, Michaux vd. (2005) tarafından *A. flavicollis* sığınak bölgesi olarak göz ardı edilmiş olmasına rağmen Flojgaard vd. (2009) fosil kayıtlarına dayanarak İber Yarımadası'nın *A. flavicollis* tarafından da sığınak olarak kullanıldığını belirtmiştir. İspanya'nın güneyinde bulunan 25.000 yıl öncesine ait fosil kayıtları bölgede buzul döneminde hayatta kalmış bir *A. flavicollis* popülasyonunun varlığını ortaya koymaktadır.

Asya popülasyonlarının Avrupa popülasyonlarından genetik olarak ayrılmış olması iki bölge arası kolonizasyonun engellenmesinden kaynaklanmaktadır. Gruplara ait uyumsuzluk dağılımı grafikleri incelendiğinde Asya ve Avrupa gruplarının hızlı popülasyon büyümesini işaret eden çan eğrisi biçiminde olduğu görülmektedir. Hızlı popülasyon büyümesi, popülasyonun genetik bir darboğaz geçirip tekrar genişlemeye başladığı şeklinde yorumlanabilir. Ancak Asya ve Avrupa gruplarına ait haplotip (h) ve nükleotid çeşitliliği (π) değerlerinin yüksek çıkmış olması (Çizelge 4.3) bu darboğazın düşük şiddette olduğunu göstermektedir. Asya (Anadolu-Yakın Doğu) grubunda belirlenen popülasyon büyümesi bölgede özellikle son 20.000 yılda gerçekleşen önemli bitki örtüsü değişikliğinden kaynaklanıyor olabilir. Son Pleistosen buzul döneminde (Würm) Anadolu çoğunlukla steple örtülüyken son 10.000 yılda bitki örtüsü iğne yapraklı ormanlar ve ağaçlı steplerle yer değiştirmiştir (Brown ve Gibson 1983).

Böylece *A. flavicollis* gibi orman türleri Anadolu sığınağından çıkarak doğu yönünde yayılış göstermiş olabilirler.

Bu tez çalışması sonuçları Michaux vd. (2004) tarafından yapılan çalışma sonuçlarıyla uyumlu olarak Asya *A. flavicollis* populasyonlarının Avrupa ve Rusya'ya kolonize olamadığını desteklemektedir. Bu durum, Karadeniz ve Kafkas Dağları'nın biyocoğrafik bariyer görevi görerek Yakın Doğu-Rusya arası bağlantıyı kesmesinden kaynaklanıyor olabilir. Bu bariyer etkisi *A. flavicollis* gibi adi kızılgağaç (*Alnus glutinosa*), kirpi (*E. concolor*), bahçe sivrifaresi (*Crocidura suaveolens*), kayalık faresi (*A. mystacinus*) türleri üzerinde de etkili olmuştur (Taberlet vd. 1998, Hewitt 1999). Kızılca kurbağa (*Bombina bombina*), çayır çekirgesi (*Chorthippus parallelus*) ve *A. sylvaticus* gibi türlerde ise bu etki gözlenmemiştir. *A. flavicollis*'in Asya populasyonlarının Balkan bölgesine kolonize olmasının biyocoğrafik bariyerler dışında Balkanlar'da uzun süredir varlık gösteren *A. flavicollis* populasyonlarınca engellendiği de düşünülebilir. Bir lokalitede bulunan kemiricilerin o lokaliteye yeni gelen soydaşlarına karşı sıklıkla saldırgan davrandıkları belirlenmiştir (Granjon ve Cheylan 1989).

Asya ve Avrupa *A. flavicollis* populasyonları arasında gen akışının kesilmesinde Karadeniz ve Kafkas Dağları kadar İstanbul ve Çanakkale Boğazları'nın oluşumunu da dikkate almak gerekir. Asya ve Avrupa kıtaları arasında memeliler için önemli bir geçiş yolu olan Türkiye'de Marmara Denizi üzerinde bulunan ve iki kıta arasında karasal bağlantıyı kesen İstanbul ve Çanakkale Boğazları bu geçiş yolu üzerinde karasal canlılar için bir biyocoğrafik bariyer oluşturmaktadır (Kosswig 1955). Nehir, deniz, göl, dağ gibi doğal yapılar hayvanların hareket alanını kısıtlar ve buna bağlı olarak gen akışını kesen doğal bir coğrafik bariyer görevi görürler. Bariyer etkisiyle populasyonlar, alt populasyonlar şeklinde bölümlenir ve aralarında gen akışının kesilmesine bağlı olarak zaman içerisinde genetik olarak farklılaşırlar. 300 m ile 1 km arasında genişliğe sahip bir su bariyeri, bariyerin iki yakasında yaşayan *A. flavicollis*'lerin genetik olarak farklılaşması için yeterli olmaktadır (Gortat vd. 2010). Aars vd. (1998) yaptıkları mitokondriyal DNA çalışmasında 100 m genişliğindeki bir su bariyerinin *M. glareolus* populasyonları arasında kısa süreli olarak gen akışını kestiğini belirtmişlerdir.

İstanbul ve Çanakkale Boğazları'nın konumu ve kendine has morfolojisi incelendiğinde boğazlardan su akışı gerçekleşmesinde Kuvaterner'de meydana gelen deniz seviyesindeki dalgalanmalar ile Akdeniz ve Karadeniz arasında gerçekleşen su değişiminin etkili olduğu anlaşılmaktadır (Gökaşan vd. 2010). Çanakkale Boğazı'nın evrimi ve vadi benzeri morfolojisinin oluşumunda bölgesel tektonik hareketler ile küresel deniz seviyesi değişikliği etkili olmuştur. Su akışı ise Pliyosen döneminde Gelibolu ve Biga yarımadalarının yükselmesi sonucu boğazın bulunduğu bölgenin vadi şeklindeki yapısının bir nehir tarafından yarılmasıyla gerçekleşmiştir (Gökaşan vd. 2008). Tektonik hareketlere ilaveten Kuvaterner boyunca deniz seviyesinin yükselmesi ve düşmesi boğazdaki sedimentlerin erozyon, çöküntü ve taşınma biçimlerini etkileyerek Çanakkale Boğazı'nın şekillenmesinde önemli rol oynamıştır.

İstanbul Boğazı'nın oluşumu Pliyosen döneminde tektonik hareketlere bağlı olarak boğazın şimdiki yerinde bulunan ve biri Marmara'ya diğeri Karadeniz'e dökülen iki farklı nehrin birleşmesiyle başlamıştır. Paleontolojik ve sedimantolojik kayıtlara göre İstanbul Boğazı'nın biçimlenmesi Kuvaterner'de gerçekleşmiş, Karadeniz ve Marmara denizi arasında vadi biçiminde nehir yatağının şekillenmesi bu dönemde olmuştur. Geç Pleistosen ve Holosen'in erken dönemlerinde boğazın orta-güney kısmında bir topografik bariyer oluşmuş ancak 7000-5300 yıl önce deniz seviyesinin yükselmesiyle bu bariyer etkisini kaybetmiş ve su akışı günümüzdeki durumuna gelmiştir (Kerey vd. 2004). Buna göre İstanbul Boğazı'nın günümüzdeki biçimini alması Holosen'de gerçekleşmiştir (Gökaşan vd. 1997).

Sonuç olarak İstanbul ve Çanakkale Boğazları'ndan su akışının gerçekleşmesi Pliyosen (5.32-1.81 Myö) döneminde, biçimlenmesi ise Kuvaterner'de (1.81 Myö- günümüz) gerçekleşmiştir. Moleküler saat analizleri, *A. flavicollis* Avrupa ve Asya popülasyonlarının genetik farklılaşmasının 2,0613 Myö (Üst Pliyosen), yani Pliyosen-Pleistosen geçiş döneminde gerçekleştiğini ortaya koymuştur. Buna göre boğazlarda su akışının başlamasını takiben Avrupa ve Asya popülasyonları, aralarında gen akışının önemli ölçüde kesilmesine bağlı olarak etkin bir şekilde allopatrik farklılaşmaya maruz kalmışlardır.

A. flavicollis için İstanbul ve Çanakkale Boğazları bariyer etkisi göstererek iki kıtaya ait populasyonlar için genetik farklılaşmaya sebep olsa da literatürde bu konularda yapılan araştırmalar incelendiğinde farklı türler için elde edilen sonuçların farklı olduğu anlaşılmaktadır. *M. macedonicus*, *G. glis* ve *Crocidura leucodon*'un Trakya ve Anadolu populasyonları arasında belirgin bir genetik farklılaşma belirlenmemiştir (Dubey vd. 2007, Helvacı vd. 2012, Çolak vd. 2016). Bunun nedeni olarak; boğazların sığ su seviyesine bağlı olarak buzul dönemlerinin çoğunda kurumması ve bu nedenle sürekli bir bariyer oluşturmaması, iyi yüzme kabiliyetine sahip türler (*G. glis*) tarafından geçilebilmesi ya da kommensal yaşayan türlerin insan kaynaklı taşınması (*M. domesticus*) gösterilmektedir (Pocock vd. 2005, Dubey vd. 2007, Krystufek 2010).

Otoyollar, demiryolları gibi insan kaynaklı bariyerlerin *A. flavicollis* populasyonları arası gen akışını kesmede yeterli olmadığı belirlenmiştir (Bakowski ve Kozakiewicz 1988, Rico vd 2007). *A. flavicollis* oldukça hareketli bir tür olmakla birlikte 1 km genişliğe kadar olan açık alanları kolayca geçebilme kabiliyetine sahiptir (Bondrup-Nielsen ve Karlsson 1985, Szacki 1999). *A. flavicollis* bu özelliğiyle otoyol, demiryolu, donmuş nehir gibi açık alanları geçerek bariyerlerce bölünen habitatlar arasında gen akışını devam ettirebilir.

Michaux vd. (2004) tarafından yapılan çalışmada Türkiye-Yakın Doğu populasyonlarının genetik olarak Avrupa populasyonlarından farklılaşması nedeniyle farklı alttürler olarak değerlendirilebilecekleri belirtilmiştir. Türkiye'de daha önce morfolojik çalışmalara dayanarak kaydı verilen iki alttür; *A. f. saturatus* ve *A. f. brauneri*'dir. *A. f. saturatus* Doğu Karadeniz'de, *A. f. brauneri* ise Trakya'da ve Anadolu'nun değişik bölgelerinde (Bolu, Akçakoca, Bursa, İstanbul, Trabzon, Zonguldak, Bartın) kaydedilmiştir (Neuhauser 1936, Doğramacı 1974). Bu tez çalışmasında gerçekleştirilen genetik analiz sonuçları, Michaux vd. (2004)'nin bulgularını desteklemiştir. Buna göre, *A. flavicollis*'in Trakya populasyonları *A. f. brauneri*, Anadolu populasyonları ise *A. f. saturatus* olarak değerlendirilebilir.

5.3 A. *flavicollis* Türkiye Populasyonlarında Genetik Varyasyon

Genetik varyasyon, kullanılan belirtecin özelliğine bağlı olarak nükleotid çeşitliliği, haplotip çeşitliliği, allelik zenginlik gibi farklı parametrelerle ölçülmektedir. Çalışma kapsamında sitokrom *b* bölgesi ile yapılan analiz sonuçlarına göre toplam 61 A. *flavicollis* örneği için 45 haplotip belirlenmiştir. Kırklareli lokalitesinden 6 örneğin her biri bir özgün haplotip, Anadolu'nun 16 farklı lokalitesinden 55 örnek içinse 39 haplotip (30'u özgün haplotip) belirlenmiştir. Bu bulgular, Anadolu ve Trakya populasyonlarının yüksek genetik varyasyona sahip olduğuna işaret etmektedir. Bu bulgu, yüksek haplotip çeşitliliği (h: Anadolu grubu için %98, Trakya grubu için %100) değerleriyle de desteklenmiştir.

Mikrosatellit genetik varyasyon analizleri populasyon bazında gerçekleştirilmiştir. 63 A. *flavicollis* örneği için toplam 84 allel belirlenmiştir. Özgün allel sayısı hesaplamalarına göre, Anadolu'dan 9 populasyonda 14 özgün allel ve Kırklareli populasyonunda 9 özgün allel belirlenmiştir. Allelik zenginlik değerleri her bir populasyon için ağırlıklı olarak 2'ye yakın olmak üzere 1 ile 2 arasında çıkmıştır. Anadolu populasyonları için ortalama heterozigotluk (*H*) değeri 0,6584, Trakya populasyonu içinse 0,7014 olarak yüksek bulunmuştur. Polimorfik lokusların yüzdesi (*P*) ise Anadolu ve Trakya populasyonları için %100 olarak bulunmuştur. Bu sonuçlar ışığında Anadolu ve Trakya populasyonlarının yüksek genetik varyasyona sahip olduğu söylenebilir.

Sitokrom *b* AMOVA analizine göre genetik varyasyon Trakya ve Anadolu grupları arasında paylaşımı yüksek (%90.07), mikrosatellit AMOVA analizine göre populasyon içi paylaşımı yüksek (%80.44) bulunmuştur.

Moleküler saat analizi, Anadolu haplotiplerinin özellikle Pleistosen sonunda (288.000-140.000 yıl önce) Mindel ve Riss buzul dönemleri sonrası 2. ve 3. buzul arası devirlerde çeşitlendiğini ortaya koymaktadır. Kuvaterner buzul döneminde iklimde gerçekleşen değişikliklerin Avrupa ve Asya türlerinin tür içi genetik çeşitliliği üzerine etkileri incelendiğinde, son 2.4 milyon yılın ılıman iklim seven türler için yaşam alanında daralma ve genişleme şeklinde etkileri olduğu belirlenmiştir (Michaux vd. 2003).

Pleistosen’de Türkiye ikliminde buzul dönemlerine bağılı olarak dalgalanmalar görülmüştür. Pleistosen’deki 4 büyük buzul dönemi (Günz, Mindel, Riss ve Würm) boyunca Akdeniz bölgesinde kuru-soğuk iklim hakim olmuştur. Mindel- Riss buzularası dönemde iklim nemli-sıcak, bitki örtüsü kolşik karakterli iken, Riss-Würm buzularası dönemde birden fazla iklim tipi görülmüştür. Bu dönemde genelde iğne yapraklı ormanlar ve sıcak iklim hüküm sürmüş, dönem sonunda subtropik yüksek basınç kuşağı zayıflayarak sıcaklık düşmüş ve Würm ortaya çıkmıştır (Demirsoy 2007). Bu şekilde birbirini izleyen yaklaşık 60 bin yıllık buzul ve buzul arası periyotlar boyunca canlı türlerinin yayılış alanı buzul dönemlerinde sığınak bölgeleriyle sınırlanmış, buzul dönemleri sonrası iklimde ve bitki örtüsünde meydana gelen iyileşmeyle sığınaklardan çıkarak yayılma imkânı bulmuşlardır. Buzul dönemlerinde Avrupa’nın güneyindeki ve Anadolu’daki sığınaklarda yaşamını sürdüren türler buzul arası dönemlerde kuzeye doğru yayılma eğilimindedirler (Taberlet vd. 1998). Avise (1994) ve Hewitt (1996) sığınak popülasyonlarının hızlı yayılışının allelik zenginliğin kaybedilmesine neden olan ciddi genetik darboğazlar getireceğini öne sürmüşlerdir. Genetik darboğaz daha yakın geçmişte kolonize olmuş popülasyonlar arasında genetik varyasyonun azalmasıyla sonuçlanmaktadır. Akdeniz sığınak bölgeleri popülasyonları ise iklimsel değişikliklerden daha az etkilenirler ve bu popülasyonlara ait genetik çeşitliliğin daha yüksek olması beklenir (Michaux vd. 2003). Bu tez çalışması kapsamında yapılan genetik varyasyon analizlerine göre Anadolu popülasyonlarında yüksek seviyede genetik varyasyon belirlenmiştir.

A. flavicollis’in Anadolu ve Trakya gruplarının uyumsuzluk dağılımı grafikleri incelendiğinde Anadolu grubu için çan eğrisi şeklinde grafik, Trakya grubu içinse çoklu biçimli (multimodal) dağılım belirlenmiştir. Buna göre; Anadolu grubu hızlı popülasyon büyümesi gösterirken, Trakya grubu ise sabit popülasyon büyüklüğü göstermektedir. Tajima’nın D ve Fu’nun F_s testlerinde elde edilen negatif değerler de bu grupları oluşturan popülasyonların genişlediği ve genetik darboğazda olmadığı anlamına gelmektedir ancak Trakya grubu için elde edilen sonuçlar istatistikî olarak anlamlı bulunmadığı için ($P>0.05$) bu anlamda değerlendirilememiştir.

Moleküler saat analizine göre Trakya haplotiplerinin çeşitlenmesi Pleistosen sonunda (300.000 yıl önce) Mindel buzul döneminin ardından gerçekleşmiştir. Trakya popülasyonu Pleistosen buzul dönemlerini İtalya-Balkan sığınak bölgesinde geçirmiş ve buzul arası dönemlerde sığınak bölgesinden çıkarak kuzey ve doğu yönünde yayılış göstermiştir. Anadolu'ya yayılışları ise daha önce belirtildiği gibi İstanbul ve Çanakkale Boğazları'nca büyük ölçüde engellenmiştir. Bu sonuç, filogenetik ağaçlarda gözlenen Avrupa haplotipleri ile Trakya haplotiplerinin karışık gruplanmasıyla desteklenmektedir.

A. flavicollis popülasyonlarında belirlenen yüksek genetik varyasyon seviyesinin oluşmasında Anadolu'nun sığınak pozisyonu kadar yüksek habitat heterojenitesi ve iklimsel varyasyonların etkilerini dikkate almak gerekir. Genetik varyasyonun sürdürülmesinde biyotop çeşitliliğinin önemi daha önce pek çok araştırmacı tarafından belirtilmiştir (Vignieri 2005, Ratkiewicz ve Borkowska 2006, Redeker vd. 2006, Wang vd. 2008). Türkiye bu anlamda oldukça şanslı bir ülkedir. *A. flavicollis* popülasyonlarının yaşam alanı olan ormanlar bakımından da çeşitliliğe sahiptir. Anadolu'daki mikroklimatik zenginliği en iyi şekilde yansıtan ve reliktlı topluluklar oluşturan doğal yaşam alanları ormanlardır. Neredeyse her bir ormanlık alan kendine has canlı kompozisyonuna sahiptir. Bunun nedeni Türkiye'nin farklı bitki coğrafyalarının etkisinde olması ve tarih boyunca bitki coğrafyaları arasında yaşanmış olan göçlerdir. Türkiye ormanları üç ana bitki biyocoğrafyası sınırları dikkate alınarak sınıflandırıldığında, Karadeniz Bölgesi ve Trakya'nın Karadeniz'e bakan kısımlarında Avrupa-Sibirya bölgesinde görülen yaprak döken ağaçların ağırlıkta olduğu nemli orman tipi görülmektedir. Doğu ve İç Anadolu'da ise çoğunlukla meşenin baskın olduğu İran-Turan bitki coğrafyası kökenli kuru orman tipi bulunmaktadır. Akdeniz ve Ege Bölgesi ile Marmara ve Trakya'nın batı kesimlerinde ise Akdeniz bitki coğrafyası görülmektedir. Buralarda ağırlıklı olarak iğne yapraklı türler görülmektedir. *A. flavicollis*'in Türkiye'deki yayılış alanı dikkate alındığında Avrupa-Sibirya ve Akdeniz bitki coğrafyası sınırları dâhilinde ormanlık alanlarda yaşadığı sonucuna varılmaktadır. *A. flavicollis* popülasyonlarında görülen yüksek genetik varyasyonun oluşmasında *A. flavicollis*'in farklı ormanlık alanların değişen çevresel şartlarına uyum sağlaması da etkili olmuş olabilir.

5.4 Anadolu Populasyonlarının Genetik ve Coğrafik Yapılanmaları

Hem çekirdek hem de mitokondriyal belirteçlerle yapılan analizler Anadolu populasyonlarını oluşturan bireyler için karmaşık bir coğrafik yapılanmanın var olduğunu göstermektedir (Şekil 5.1). Sitokrom *b* bölgesi ile yapılan analiz sonuçlarına göre 55 *A. flavicollis* Anadolu örneği için toplam 39 haplotip (30'u özgün haplotip) belirlenmiştir. Haplotip profili genel olarak lokaliteye özgü olmakla birlikte Konya-Samsun (Hap11) ve Kilis-Ordu-Rize ortak haplotipleri (Hap3) belirlenmiştir. Özgün allel hesaplamalarına göre Bolu, Kilis, Konya, Artvin, Ordu, Bursa, İstanbul, Rize ve Çanakkale populasyonlarında özgün alleller belirlenmiştir. Anadolu populasyonları arasında ikili fiksasyon indeksi (F_{ST}) hesaplamalarına göre genetik farklılaşma (0.047 - 0.378) ve genetik mesafe (D_A) (0.1940 - 0.6179) yüksek bulunmuştur.

Birçok canlı grubunun evrimsel olarak farklılaşması bariyerlerin etkisi ile gerçekleşmektedir. Özellikle buzul dönemlerinde ve buzul arası dönemlerde bu bariyerler geçişleri büyük ölçüde engellediği için populasyonların birbirinden ayrı kalarak genetik olarak farklılaşmasına veya yayılışlarının sınırlandırılmasına neden olmuştur. Anadolu'da bariyer görevi gören önemli sıradağlar; Toros Dağları'yla başlayarak Binboğa, Munzurlar, Palandöken ve Kargapazarı Dağları'yla devam ederek Anadolu'yu kuzey-güney ekseninde ikiye bölen Anadolu Diyagonali, Karadeniz Sıradağları ve Batı Anadolu Dağları'dır. Özellikle Anadolu Diyagonali buzul çağlarında Anadolu'ya Kafkaslar ve Trakya üzerinden giriş yapan hareket yeteneği sınırlı hayvan ve bitki türlerinin birbirleri ile Anadolu'da yeniden buluşmalarına engel olarak farklılaşmalarına neden olmuş ve bu şekilde Anadolu'daki biyolojik çeşitliliği daha da arttırmıştır. Bunun yanı sıra, sığınak görevi yapan ve buzul dönemlerinde çeşitli hayvan gruplarına ev sahipliği yapan noktalar ise batıdan doğuya doğru; Uludağ, Kaz Dağları, Baba Dağı, Sultan Dağı, Akdağ, Erciyes, Ilgaz, Cilo, Süphan, Nemrut ve Ağrı Dağları'dır (Demirsoy vd. 2007). Yapılan analizlere göre (NJ, MP, ML, Network, Beast, FCA, BAPS) *A. flavicollis* Anadolu populasyonlarını oluşturan örneklerin karmaşık bir coğrafik yapılanma sergilemesi ve Konya-Samsun ve Kilis-Ordu-Rize ortak haplotiplerinin belirlenmiş olması, *A. flavicollis* gibi yüksek hareket kabiliyetine

sahip bir tür için Anadolu'da yer alan sıradağların gen akışını kesmede yetersiz olduğunu ortaya koymaktadır.

Kemiriciler üzerine yapılan populasyon genetiği çalışmalarında genetik farklılaşma türün yayılış aralığı boyunca coğrafik uzaklığın artmasıyla birlikte artış sergileme eğilimindedir (Patton ve Smith 1990). Gen akışının aralarında kısa mesafeler bulunan populasyonları genetik olarak homojenize etmede etkili olduğu varsayılır. Gen akışı oranı türün göç yeteneği ile doğru orantılıdır (Gebczynski vd. 1993). Bu tez çalışmasında oluşturulan ağaçlarda Rize ve İstanbul örneklerinin bir arada kümelenmesi, Kilis ve Rize lokalitelerinden örneklerin ortak haplotipe sahip olması gösteriyor ki coğrafik mesafe, *A. flavicollis* populasyonlarının genetik farklılaşması üzerinde sınırlı etkiye sahiptir.

Anadolu haplotipleri büyük ölçüde Pleistosen sonunda (288.000- 140.000 yıl önce aralığında) Mindel ve Riss buzul dönemleri sonrası 2. ve 3. buzul arası devirlerde çeşitlenmiştir. Bu sonuç Avise (2000), Hewitt (2001) ve Seddon vd. (2001) tarafından öne sürülen omurgalıların tür içi farklılaşmasının büyük bölümünün Kuvaterner'de gerçekleştiği hipoteziyle uyumludur. Buzul dönemlerini Anadolu sığınaklarında geçiren *A. flavicollis* populasyonları, buzul döneminin sona ermesiyle sığınaklardan çıkarak kuzey ve doğu yönünde yayılış göstermiştir. Kafkaslar ve Karadeniz tarafından Rusya'ya yayılışı, İstanbul ve Çanakkale Boğazları'nca Avrupa'ya yayılışı engellenmiş, sadece doğu yönünde yayılışını gerçekleştirmiştir. Sitokrom *b* Genbank+Türkiye haplotipleriyle oluşturulan filogenetik ağaçlarda Anadolu haplotipleriyle İran ve İsrail haplotiplerinin birlikte kümelenerek Asya grubunu oluşturması bu görüşü desteklemektedir. Genbank+Türkiye haplotipleriyle oluşturulan filogenetik ağaçlarda ve Network analizinde, sadece Türkiye haplotipleriyle yapılan filogenetik analizlerde elde edilen sonuçlara benzer şekilde karışık bir gruplanma gözlenmiştir. Buna göre İran haplotipi Çanakkale veya Muğla haplotipleriyle, İsrail haplotipi ise Giresun haplotipiyle birlikte kümelenmiştir.

Anadolu populasyonları kendi içinde değerlendirildiğinde populasyon içi genetik varyasyon ve populasyonlar arası genetik farklılaşma miktarı yüksek bulunmakla

birlikte son bir anı yayılış modeli ile birlikte karmaşık bir coğrafik yapılanma sergilemelerini tek bir evrimsel modelle açıklamak mümkün değildir. Türlerin yayılış alanı boyunca lokal popülasyonların davranış biçimlerinin karşılaştırılması popülasyon genetiği çalışmalarının geleneksel konusudur (Brown vd. 1996). Bu anlamda geliştirilen evrimsel modellerden birisi olan *merkez-çevre modeline* (centre-periphery model) göre bir türün yayılış alanı içerisinde periferde yer alan popülasyonların genetik çeşitliliği merkezde yer alan popülasyonlara göre daha azdır. Bunun nedeni periferdeki popülasyonların daha az tercih edilen habitatlarda bulunma eğilimleri ve sınırlı popülasyon büyüklüklerindeki dalgalanmalardır, bu nedenle periferdeki popülasyonlar yok olma tehlikesiyle karşı karşıyadırlar (Lawton 1993, Vucetich ve Waite 2003). Merkez-çevre modeli lokal popülasyonların genetik çeşitliliğini açıklama konusunda faydalı olsa da genetik çeşitliliği geçmiş iklimsel-topografik olaylarla şekillenmiş, geniş alanlarda yayılış gösteren popülasyonlar için yetersiz kalmaktadır (Sagarin ve Gaines 2002, Vucetich ve Waite 2003).

Popülasyonların geniş bir alanda uzun süredir yayılış gösterdiği, heterojen bir topografyaya sahip olan Anadolu gibi güney sığınaklarındaki popülasyonların genetik çeşitliliğinin açıklanması için geliştirilen *ardıl kenar popülasyon modeli* (the rear edge model) Anadolu popülasyonlarındaki varyasyonların açıklanması için daha uygundur. Ardıl kenar kavramı, türlerin yayılış alanının güney uçlarını ya da sınırlarını işgal eden popülasyonlar için kullanılır. Sığınak bölgelerinde uzun süredir varlık gösteren popülasyonlar; Kuvaterner iklimsel dalgalanmalarından etkilenmiş, pek çok bireyi farklı alanlara göç etmiş olan kararlı relik popülasyonlar olarak değerlendirilirler. Bu tip popülasyonlar hem sıcak hem de soğuk dönemlerde türün devamlılığı için uygun koşullar sağlayan bölgelerde oluşurlar (Tzedakis vd. 2002). Bu bölgeler genellikle yükseklik farkına dayalı kaymalarla popülasyonların uygun iklimsel şartlarla eşleşebildiği heterojen bir topolojiye sahiptir. Ardıl kenar popülasyonları yayılışları boyunca, yaşamları için elverişsiz şartlar taşıyan alanlar arasında habitat adacıkları şeklinde izole alanlarda yaşarlar. Küçük ve izole popülasyonlar şeklinde yaşamaları popülasyon içi genetik çeşitliliği azaltırken, popülasyonlar arası çeşitliliğin artmasıyla sonuçlanır (Petit vd. 2003, Martin ve McKay 2004). Ancak ardıl kenar popülasyonlara ait genetik çeşitlilik sadece popülasyonun yayılış alanına bağlı değildir, aynı zamanda

tarihsel süreçlerden kaynaklanan olgular da genetik yapıyı etkilemektedir (Schmitt ve Hewitt 2004).

Biyoçeşitliliğin günümüz coğrafik yapılanması Kuvaterner boyunca etkili olan; genetik farklılaşma, yok olma ve göç olmak üzere üç populasyon dinamiğinin etkisiyle şekillenmiştir. Uzun ömürlü taksonlarda, aşamalı olarak gerçekleşen türleşme olayı yavaş işleyen bir süreç olsa da, yalnızca Kuvaterner sıcak ve soğuk dönemlerinde uzun süre dayanıklılık göstermiş olan populasyonların yaşadığı bölgelerde yeni türler oluşum imkânı bulmuştur (Jansson ve Dynesius 2002). Güney sığınaklarındaki populasyonlar buzul dönemlerinde yayılışlarını dağ eteklerinin alt kısmına yönlendirirken, buzul döneminin sona ermesiyle yeniden dağ eteklerinin üst kısımlarına yönelirler. Tekrarlanan buzul-buzul arası döngüler boyunca populasyonlar dağların farklı yükseltileri yönünde hareket eder, bu şekilde gen havuzları karışma imkânı bularak bir genetik darboğaz riskinden büyük ölçüde korunmuş olurlar, ancak gen havuzlarının karışması lokal genetik varyasyonun azalmasıyla sonuçlanır. Farklı dağ sığınaklarında buzul dönemlerini geçiren populasyonlar hareket alanlarının sınırlandırılmasıyla ayrı kalarak allopatrik farklılaşmaya maruz kalırlar (Hewitt 1996). Filocoğrafik çalışmalara göre, bir türü oluşturan soylardan daha yeni olanlar yüksek enlemlerdeki bölgelerde bulunurken, evrimsel olarak daha eski soylar ise buzul dönemini geçirebilecekleri daha güneydeki bölgelerde varlıklarını sürdürürler (Hewitt 2004). Bu bakımdan türlerin ardıl kenar populasyonları Kuvaterner boyunca biyoçeşitliliğin sürdürülmesinde anahtar rol oynamışlardır. Sonuç olarak bu populasyonlar genetik çeşitliliğin uzun dönemde korunması ve türlerin evrimsel potansiyellerinin devamlılığı açısından önemlidirler (Hampe ve Petit 2005).

Tez çalışması kapsamında elde edilen sonuçlara göre Anadolu *A. flavicollis* populasyonlarında populasyon içi ve populasyonlar arası genetik çeşitliliğin yüksek bulunması, özgün haplotip ve allel sayılarının fazla olması, komşu populasyonlarda dahi genetik farklılaşmanın yüksek bulunması ardıl kenar populasyon modelini desteklemektedir. Karmaşık genetik yapılanmalar ise, *A. flavicollis*'in göç yeteneğine bağlı olarak Anadolu'daki karasal habitat bariyerlerini geçebilmesiyle farklı lokalitelerden örneklerin genetik hibridizasyonu ile açıklanabilir.

5.5 Sonuç

Bu tez çalışması kapsamında mitokondriyal sitokrom *b* bölgesi ve nükleer mikrosatellit lokusları analiz edilmiştir. Her iki belirteç kullanılarak yapılan analizler Türkiye *A. flavicollis* populasyonlarının Trakya ve Anadolu şeklinde iki gruba ayrıldığını ortaya koymuştur. Bu yapılanma, *A. flavicollis* populasyonlarının Kuvaterner buzul dönemlerinde Anadolu ve İtalya-Balkan olmak üzere iki farklı sığınakta hayatta kalmış olmasıyla açıklanabilir. *A. flavicollis* Asya populasyonlarının Avrupa populasyonlarından genetik olarak farklılaşmış olması iki bölge arasında kolonizasyonun engellenmesinden kaynaklanmaktadır. Bu durum, Karadeniz, Kafkas Dağları ile İstanbul ve Çanakkale Boğazları'nın biyocoğrafik bariyer olarak Asya-Avrupa populasyonları arasında gen akışını kesmesinden kaynaklanıyor olabilir. İstanbul ve Çanakkale Boğazları'ndan su akışının gerçekleşmesi Pliyosen (5.32-1.81 Myö) döneminde gerçekleşmiştir. Moleküler saat analizi *A. flavicollis* Avrupa ve Asya populasyonlarının genetik farklılaşmasının 2,0613 Myö (Üst Pliyosen), yani Pliyosen-Pleistosen geçiş döneminde gerçekleştiğini ortaya koymuştur. Buna göre boğazlarda su akışının başlamasını takiben Avrupa ve Asya populasyonları arasında gen akışı önemli ölçüde kesilerek genetik farklılaşma gerçekleşmiştir.

Michaux vd. (2004) *A. flavicollis* Türkiye-Yakın Doğu ile Avrupa populasyonları arasında belirlenen yüksek genetik farklılaşmaya dayanarak bu populasyonların farklı alttürler olabileceklerini belirtmiştir. Türkiye'de daha önce morfolojik çalışmalar ışığında belirlenen alttür tanımları, elde edilen genetik analiz sonuçlarına dayanarak tekrar değerlendirildiğinde Trakya populasyonlarının *A. f. brauneri*, Anadolu populasyonlarının ise *A. f. saturatus* olarak değerlendirilebileceği sonucuna varılmıştır.

A. flavicollis populasyonlarında genetik varyasyon, her iki belirteç kullanılarak yapılan analizlerde de populasyon içi ve populasyonlar arasında yüksek bulunmuştur. Varyasyonun yüksek bulunmasında Anadolu'nun Kuvaterner buzul dönemlerinde gen merkezi olarak görev yapması etkili olmuştur. Anadolu populasyonları kendi içinde değerlendirildiğinde populasyon içi ve populasyonlar arası genetik çeşitliliğin yüksek bulunması, özgün haplotip ve allel sayılarının fazla olması, komşu populasyonlarda dahi

genetik farklılaşmanın yüksek bulunması bu çeşitliliği açıklamada *ardıl kenar populasyon modelini* desteklemektedir.

Hem çekirdek hem de mitokondriyal belirteçlerle yapılan analizler Anadolu populasyonlarını oluşturan bireyler için karmaşık bir coğrafik yapılanmanın var olduğunu göstermektedir. Bu durum *A. flavicollis*'in gelişmiş göç yeteneğine bağlı olarak Anadolu'daki karasal habitat bariyerlerini geçebilmesiyle açıklanabilir.

Türkiye *A. flavicollis* populasyonlarında belirlenen yüksek varyasyon seviyesi türün devamlılığı açısından önemlidir. Tez çalışmasında kullanılan yüksek polimorfizme sahip sitokrom *b* ve mikrosatellit belirteçleri populasyon genetiği çalışmalarında sıklıkla kullanılsa da derin evrimsel ilişkilerin açığa çıkarılmasında yetersiz kalmaktadır. Nükleer genler gibi daha yüksek seviyede korunmuş genlerin çalışılması derin evrimsel yorumların yapılması açısından faydalı olacaktır. Bundan sonra yapılacak çalışmalarda Asya ve Avrupa *A. flavicollis* populasyonlarının genetik olarak farklılaşmasında bariyer görevi gören Karadeniz ve Kafkas Dağları çevresindeki lokalitelerden *A. flavicollis* örnekleriyle yapılacak çalışmalar bölgede Palearktik-Oryantal genetik soylarının olası bir temas bölgesinin belirlenmesi açısından faydalı olabilir.

KAYNAKLAR

- Aars, J., Ims, R.A., Liu, H.P., Mulvey, M. and Smith M.H. 1998. Bank voles in linear habitats show restricted gene flow as revealed by mitochondrial DNA (mtDNA). *Molecular Ecology*, 7, 1383-1389.
- Adnadevic, T., Bugarski-Stanojevic, V., Blagojevic, C., Stamenkovic, G. and Vujošević, M. 2012. Genetic differentiation in populations of the yellow-necked mouse, *Apodemus flavicollis*, harbouring B chromosomes in different frequencies. *Population Ecology*, 54, 537-548.
- Anonymous. 2009a. Web sitesi: <http://www.pharmaceutical-technology.com/projects/roche/images/roche6.jpg>, Erişim tarihi: 11.12.2009.
- Anonymous. 2009b. Web sitesi: <http://www.pharmaceutical-technology.com/projects/roche/images/roche7.jpg>, Erişim tarihi: 11.12.2009.
- Anonymous. 2009c. Web sitesi: <http://www.pharmaceutical-technology.com/projects/roche/images/roche8.jpg>, Erişim tarihi: 11.12.2009.
- Anonymous. 2012. Web sitesi: <http://users.ugent.be/~avierstr/>, Erişim tarihi: 03.01.2016.
- Anonymous. 2015a. Web sitesi: https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Mapa_Apodemus_flavicollis.png, Erişim tarihi: 07.05.2016.
- Anonymous. 2015b. Web sitesi: <http://www.appliedbiosystems.com>, Erişim tarihi: 09.05.2016.
- Anonymous. 2016. Web sitesi: <http://technelysium.com.au/>, Erişim tarihi: 09.05.2016.
- Aşıcioğlu, F., Tarak Koluçık, S., Çetinkaya, Ü. ve Akyüz, F. 2002. Kapiller elektroforez teknolojisinin klinik ve adli amaçlı DNA analizlerinde kullanımı: Geleneksel jel elektroforez yöntemi ile karşılaştırma. *Adli Tıp Dergisi*, 16(2-4), 88-93.
- Axtner, J. and Sommer, S. 2009. Validation of internal reference genes for quantitative real-time PCR in a non-model organism: the yellow-necked mouse, *Apodemus flavicollis*. *BMC Research Notes*, 2, 264-270.
- Avice, J.C. 1994. *Molecular markers, natural history and evolution*. Chapman & Hall, 511 p., New York.
- Avice, J.C. 2000. *Phylogeography. The History and Formation of Species*. Harvard University Press, 464 p., Cambridge.

- Aydın, Ö. 2004. RAPD (Rastgele Arttırılmış Polimorfik DNA) Belirleyicileri ve Bitki Sistematığı. Dumlupınar Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 6, 113-130.
- Bakowski, C. and Kozakiewicz, M. 1988. Effect of forest road on bank vole and yellow-necked mouse populations. Acta Theriologica, 33, 345-353.
- Bandelt, H., Forster, P. and Röhl, A. 1999. Median joining network for inferring intraspecific phylogenies. Molecular Biology and Evolution, 16, 37-48.
- Belkhir, K., Borsa, P., Chikhi L., Raufaste, N., et Bonhomme, F. 2004. GENETIX 4.05, logiciel sous Windows pour la genetique des populations. Universite de Montpellier II, Montpellier, France.
- Bensasson, D., Zhang, D.X., Hartl, D.L. and Hewitt, G.M. 2001. Mitochondrial pseudogenes: evolution's misplaced witnesses. Trends in Ecology and Evolution, 16, 314-321.
- Birben, E. 2006. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Polimeraz chain reaction). Astım Allerji İmmünoloji, 4(2), 92-94.
- Bondrup-Nilsen, S. and Karlsson, F. 1985. Movements and spatial patterns in populations of *Myodes* species. A review. Annales Zoologici Fennici, 22, 385-392.
- Brown, J.H. and Gibson, A.C. 1983. Biogeography. Mosby Company, 643 p., St. Louis, USA.
- Brown, J.H., Stevens, G.C. and Kaufman, D.M. 1996. The geographic range: size, shape, boundaries, and internal structure. The Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics, 27, 597-623.
- Bugarski-Stanojevic, V., Blagojevic, J., Stamenkovic, G., Adnadevic, T., Giagia-Athanasopoulou, E.B. and Vujosevic, M. 2011. Comparative study of the phylogenetic structure in six *Apodemus* species (Mammalia, Rodentia) inferred from ISSR-PCR data. Systematics and Biodiversity, 9(1), 95-10.
- Bugarski-Stanojevic, V., Blagojevic, J., Adnadevic, T., Jovanovic, V. and Vujosevic, M. 2013. Identification of the sibling species *Apodemus sylvaticus* and *Apodemus flavicollis* (Rodentia, Muridae)- Comparison of molecular methods. Zoologischer Anzeiger, 252, 579-587.
- Cavalli-Sforza L.L and Edwards, A.W.F. 1967. Phylogenetic analysis: models and estimation procedures. Evolution, 21, 550-570.
- Chapuis, M.P. and Estoup, A. 2007. Microsatellite Null Alleles and Estimation of Population Differentiation. Molecular Biology and Evolution, 24(3), 621-631.

- Cooper, G.M. ve Hausman, R.E. 2006. Hücre Moleküler Yaklaşım (Sakızlı, M. ve Atabey, N., Çev.) İzmir Tıp Kitabevi, 714 s., İzmir.
- Corander, J., Cheng, L., Marttinen, P., Siren, J. and Tang, J. 2012. BAPS: Bayesian Analysis of Population Structure v. 6.0. Department of Mathematics and Statistics, University of Helsinki. (<http://www.helsinki.fi/bsg/software/BAPS/>).
- Çolak, R., Çolak, E. and Yiğit, N. 2005. Morphometric, karyotypic and electrophoretic analysis of the genus *Apodemus* Kaup, 1826 (Mammalia: Rodentia) in Thrace. Turkish Journal of Zoology, 29, 147-153.
- Çolak, R., Çolak, E., Yiğit, N., Kandemir, İ. and Sözen, M. 2007. Morphometric and biochemical variation and the distribution of the genus *Apodemus* (Mammalia: Rodentia) in Turkey. Acta Zoologica Academiae Scientiarum Hungaricae, 53(3), 239-256.
- Çolak, E., Beteş, D., Yiğit, N., Çolak, R., Özkurt, Ş.Ö., Kankılıç, T. and Kankılıç, T. 2016. Allozyme variability of the Genus *Mus* L., 1758 (Mammalia: Rodentia) in Turkey. Turkish Journal of Zoology, 39 (Basım aşamasında).
- Dakin E.E. and Avise J.C. 2004. Microsatellite null alleles in parentage analysis. Heredity, 93, 504-509.
- Dallas, J.F. 1992. Estimation of microsatellite mutation rates in recombinant inbred strains of mouse. Mammalian Genome, 3, 452-456.
- Darvish, J., Mohammadi, Z., Ghorbani, F., Mahmoudi A. and Dubey, S. 2015. Phylogenetic relationships of *Apodemus* Kaup, 1829 (Rodentia: Muridae) species in the Eastern Mediterranean inferred from mitochondrial DNA, with emphasis on Iranian species. The Journal of Mammalian Evolution, 22, 583-595.
- Demirsoy, A. 1996. Türkiye Omurgalıları, Memeliler. Meteksan, 308 s., Ankara.
- Demirsoy, A., Yiğit, N., Çolak, E., Sözen, M. and Karataş, A. 2006. Rodents of Türkiye. Meteksan, 153 s., Ankara.
- Demirsoy, A. 2007. Genel zoocoğrafya ve Türkiye zoocoğrafyası "Hayvan coğrafyası". Meteksan, 1007 s., Ankara.
- Devrim, A.K. ve Kaya, N. 2004. Polimeraz Zincir Reaksiyonu. Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 10(2), 209-214.
- Doğramacı, S. 1974. Türkiye *Apodemus* (Mammalia: Rodentia)'larının Taksonomik Durumları. Doktora tezi. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, 56 s., Ankara.

- Doyle, J.J. and Doyle, J.L. 1991. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus*, 12 (1), 13-15.
- Drummond, A.J., Rambaut, A. and Suchard, M. 2015. Department of Computer Science, University of Auckland, New Zealand. (<http://beast.bio.ed.ac.uk>).
- Dubey, S., Zaitsev, M., Cosson, J.F., Abdoukader, A. and Vogel, P. 2006. Pliocene and Pleistocene diversification and multiple refugia in a Eurasian shrew (*Crocidura suaveolens* group). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 38, 635-647.
- Dubey, S., Cosson, J. F., Vohlarik, V., Krystufek, B., Diker, E. and Vogel, P. 2007. Molecular evidence of Pleistocene bidirectional faunal exchange between Europe and the Near East: the case of the bicoloured shrew (*Crocidura leucodon*, Soricidae). *Journal of Evolutionary Biology*, 20, 1799-1808.
- Dubey, S., Michaux, J., Br  nner, H., Hutterer, R. and Vogel, P. 2009. False phylogenies on wood mice due to cryptic cytochrome-*b* pseudogene. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 50(3), 633-641.
- Earl, D.A. and vonHoldt, B.M. 2012. Structure Harvester: a website and program for visualizing Structure output and implementing the Evanno method. *Conservation Genetics*, 4, 359-361.
- Esposti, M.D., Vries, S.D., Crimi, M., Ghelli, A., Patarnello, T. and Meyer, A. 1993. Mitochondrial cytochrome *b*: evolution and structure of the protein. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1143, 243-271.
- Excoffier, L. and Heckel, G. 2006. Computer programs for population genetics data analysis: a survival guide. *Nature Reviews Genetics*, 7(10), 745-58.
- Excoffier, L. and Lischer, H.E.L. 2010. Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources*, 10, 564-567.
- Evanno, G., Regnaut, S. and Goudet, J. 2005. Detecting the number of clusters of individuals using the software structure: a simulation study. *Molecular Ecology*, 14, 2611-2620.
- Farias, I.P., Orti, G., Sampaio, I., Schneider, H. and Meyer, A. 2001. The cytochrome *b* gene as a phylogenetic marker: The limits of resolution for analyzing relationships among cichlid fishes. *Journal Molecular Evolution*, 53, 89-103.
- Fauquette, S., Guiot, J. and Suc, J.P. 1998. A method for climatic reconstruction of the Mediterranean Pliocene using pollen data. *Palaeogeography Palaeoclimatology Palaeoecology*, 144, 183-201.
- Felsenstein J. 1981. Evolutionary trees from DNA sequences: a maximum likelihood approach. *Journal Molecular Evolution*, 17, 368-376.

- Felsenstein, J. 1985. Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap. *Evolution*, 39, 783-791.
- Filippucci, M.G., Macholan, M. and Storch, G. 1996. Taxonomy of the genus *Sylvaemus* in western Anatolia-Morphological and electrophoretic evidence (Mammalia: Rodentia: Muridae). *Senckenbergiana biologica*, 75, 1-14.
- Filippucci, M.G., Macholan, M. and Michaux, J.R. 2002. Genetic variation and evolution in the genus *Apodemus* (Muridae, Rodentia). *Biological Journal of the Linnean Society*, 75, 395-419.
- Flojgaard, C., Normand, S., Skov, F. and Svenning, J.C. 2009. Ice age distributions of European small mammals: insights from species distribution modelling. *Journal of Biogeography*, 36, 1152-1163.
- Freeland, J.R. 2005. *Molecular Ecology*. John Wiley & Sons Ltd, 402 p., Chichester.
- Freeman C. ve Herron J.C. 2009. *Evrimsel Analiz* (Çıplak, B., Başbüyük, H.H., Karaytuğ, S. ve Gündüz, İ., Çev.) Palme Yayınları, 800 s., Ankara.
- Fu, Y.X. 1997. Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking and background selection. *Genetics*, 147, 915-25.
- Gebczynski, M., Ratkiewicz, M. and Dryden, G.L. 1993. Electrophoretic Variation Among the Five Polish Populations of the Bank Vole. *Biochemical Systematics and Ecology*, 21(8), 825-831.
- Gerlach, G. and Musolf, K. 2000. Fragmentation of landscape as a cause for genetic subdivision in bank voles. *Conservation Biology*, 14, 1066-1074.
- Gockel, J., Harr, B., Schlötterer, C., Arnold, W., Gerlach, G. and Tautz, D. 1997. Isolation and characterization of microsatellite loci from *Apodemus flavicollis* (rodentia, muridae) and *Clethrionomys glareolus* (Rodentia, Cricetidae). *Molecular Ecology*, 6, 597-599.
- Gornung, E., Cristaldi, M. and Castiglia, R. 2009. Comparative cytogenetic analysis of the “*Sylvaemus*” group of *Apodemus* (Rodentia, Muridae): *A. sylvaticus* from Sicily and *A. flavicollis* from the central Apennines. *Acta Theriologica*, 54(3), 267-275.
- Gortat T., Gryczynska-Siemiątkowska, A., Rutkowski, R., Kozakiewicz, A., Mikoszewski, A. and Kozakiewicz, M. 2010. Landscape pattern and genetic structure of a yellow-necked mouse *Apodemus flavicollis* population in north-eastern Poland. *Acta Theriologica*, 55(2), 109-121.
- Gortat T., Rutkowski, R., Gryczyńska, A., Kozakiewicz, A. and Kozakiewicz, M. 2015. Genetic variability in island populations of two rodent species: bank vole

- (*Myodes glareolus*) and yellow-necked mouse (*Apodemus flavicollis*). *Annales Zoologici Fennici*, 52, 145-159.
- Goudet, J. 2002. FSTAT, a program to estimate and test gene diversities and fixation indices (version 2.9.3.2). Institut of Ecology, Department of Biology, University of Lausanne, Switzerland. (<http://www2.unil.ch/popgen/softwares/fstat.htm>).
- Gökaşan, E., Demirbağ, E., Oktay, F.Y., Ecevitoglu, B., Şimşek, M. and Yüce, H. 1997. On the origin of the Bosphorus. *Marine Geology*, 140, 183-199.
- Gökaşan, E., Ergin, M., Özyalvaç, M., Sur, H.I., Tur, H., Görüm, T., Ustaömer, T., Batuk, F.G., Alp, H., Birkan, H., Türker, A., Gezin, E. and Özturan, M. 2008. Factors controlling the morphological evolution of the Çanakkale Strait (Dardanelles, Turkey). *Geo-Marine Letters*, 28, 107-129.
- Gökaşan, E., Tur, E., Ergin, M., Görüm, T., Batuk, F.G., Sağcı, N., Ustaömer, T., Emem, O. and Alp, H. 2010. Late Quaternary evolution of the Çanakkale Strait region (Dardanelles, NW Turkey): implications of a major erosional event for the postglacial Mediterranean-Marmara Sea connection. *Geo-Marine Letters*, 30, 113-131.
- Granjon, L. and Cheylan, G. 1989. Le sort de rats noirs (*Rattus rattus*) introduits sur une île, revele par radiotracking. *CRAS Paris*, 309, 571-575.
- Gryczynska-Siemiatkowska, A., Gortat, T., Kozakiewicz, A., Rutowski, R., Poporski, J. and Kozakiewicz, M. 2008. Multiple paternity in a wild population of the yellow-necked mouse *Apodemus flavicollis*. *Acta Theriologica*, 53(3), 251-258.
- Hall, T.A. 1999. BioEdit: A user-friendly biological sequence alignment, editor and analysis program for Windows 95/98/ NT. *Nucleic Acids Symposium Series*, 41, 95-98.
- Hampe, A. and Petit, R.J. 2005. Conserving biodiversity under climate change: the rear edge matters. *Ecology Letters*, 8, 461-467.
- Harpending, H.C. 1994. Signature of ancient population growth in a low-resolution mitochondrial DNA mismatch distribution. *Human Biology*, 66, 591-600.
- Hearne, C.M., Ghosh, S. and Todd, J.A. 1992. Microsatellites for Linkage Analysis of Genetic Traits. *Trends in Genetics*, 8(8), 288-294.
- Helvacı, Z., Renaud, S., Ledevin, R., Adriaens, D., Michaux, J., Çolak, R., Kankılıç, T., Kandemir, İ., Yiğit, N. and Çolak, E. 2012. Morphometric and genetic structure of edible dormouse (*Glis glis*): a consequence of forest fragmentation in Turkey. *Biological Journal of the Linnean Society*, 107, 611-623.

- Helvacı, Z., Çolak, E. ve Yavuz, G. 2013. Doğu Karadeniz Bölgesinde Yayılış Gösteren *Apodemus* Kaup, 1829 (Mammalia: Rodentia) Cinsinin Morfometrik Analizi. *Journal of Anatolian Natural Sciences*, 4(1), 17-27.
- Hewitt, G.M. 1996. Some genetic consequences of ice ages and their role in divergence and speciation. *Biological Journal of the Linnean Society*, 58, 247-276.
- Hewitt, G.M. and Butlin, R.K. 1997. Causes and consequences of population structure. In: *Behavioural Ecology: An Evolutionary Approach*. Krebs, J. ve Davies, N. (eds), Blackwell, 350-372, Oxford.
- Hewitt, G.M. 1999. Post-glacial re-colonisation of European biota. *Biological Journal of the Linnean Society*, 68, 87-112.
- Hewitt, G.M. 2001. Speciation, hybrid zones and phylogeography- or seeing genes in space and time. *Molecular Ecology*, 10, 537-549.
- Hewitt, G.M. 2004. Genetic consequences of climatic changes in the Quaternary. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B*, 359, 183-195.
- Hudson, R.R., Slatkin, M. and Maddison, W.P. 1992. Estimation of levels of gene flow from DNA sequence data. *Genetics*, 132, 583-589.
- Huelsenbeck, J.P. and Ronquist, F. 2001. MrBayes: Bayesian inference of phylogenetic trees. *Bioinformatics*, 17, 754-755.
- Irwin, D.M., Kocher, T.D. and Wilson, A.C. 1991. Evolution of the cytochrome *b* gene of mammals. *Journal of Molecular Evolution*, 32, 128-144.
- Jakobsson, M. and Rosenberg, N.A. 2007. CLUMPP: A cluster matching and permutation program for dealing with label switching and multimodality in analysis of population structure. *Bioinformatics*, 23, 1801-1806.
- Jansson, R. and Dynesius, M. 2002. The fate of clades in a world of recurrent climatic change: Milankovitch oscillations and evolution. *The Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 33, 741-777.
- Jojic, V., Bugarski-Stanojevic, V., Blagojevic, J. and Vujosevic, M. 2014. Discrimination of the sibling species *Apodemus flavicollis* and *A. sylvaticus* (Rodentia, Muridae). *Zoologischer Anzeiger*, 253, 261-269.
- Juskaitis, R. 2002. Spatial distribution of the yellow-necked mouse (*Apodemus flavicollis*) in large forest areas and its relation with seed crop of forest trees. *Mammalian Biology*, 67, 206-211.
- Kelkar, Y.D., Strubczewski N., Hile, S.E., Chiaromonte, F., Eckert, K.A. and Makova, K.D. 2010. What is a microsatellite: a computational and experimental

definition based upon repeat mutational behavior at A/T and GT/AC repeats. *Genome Biology and Evolution*, 2, 620-635.

- Kerey, E., Meriç, E., Tunoğlu, C., Kelling, G., Brenner, R.L. and Doğan, A.U. 2004. Black Sea-Marmara Sea Quaternary connections: new data from the Bosphorus, İstanbul, Turkey. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 204, 277-295.
- Kimura, M. 1980. A simple method for estimating evolutionary rate of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *Journal of Molecular Evolution*, 16, 111-120.
- Klug, W.S, Cummings, M.R. ve Spencer, C.A. 2011. Genetik Kavramlar (Öner, C., Sümer, S., Öner, R., Ögüş, A. ve Açık, L. Çev.) Palme Yayıncılık, 764 s., Ankara.
- Korkmaz-Ağaoğlu, Ö. ve Ertuğrul, O. 2010. Mikrosatellitlerin önemi ve kullanım Alanları. *Veteriner Hekimleri Derneği Dergisi*, 81(1), 39-43.
- Kornfield, I. and Smith, P.F. 2000. African cichlid fishes: model systems for evolutionary biology. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 31, 163-196.
- Kosswig, C. 1955. Zoogeography of the Near East. *Systematical Zoology*, 4, 49-73.
- Koufos, G.D., Kostopoulos, D.S. and Vlachou, T.D. 2005. Neogene/Quaternary mammalian migrations in Eastern Mediterranean. *Belgian Journal of Zoology*, 135(2), 181-190.
- Kozakiewicz, M., Gortat, T., Panagiotopoulou H., Gryczynska-Sięmiątkowska, A., Rutkowski, R., Kozakiewicz, A. and Abramowicz K. 2009. The spatial genetic structure of bank vole (*Myodes glareolus*) and yellow-necked mouse (*Apodemus fl avicollis*) populations: The effect of distance and habitat barriers. *Animal Biology*, 59, 169-187.
- Krystufek, B., Vohlarik, V. and Obuch, J. 2009. Endemism, vulnerability and conservation issues for small terrestrial mammals from the Balkans and Anatolia. *Folia Zoologica*, 58(3), 291-302.
- Krystufek, B. and Vohlarik, V. 2009. Mammals of Turkey and Cyprus. Rodentia II: Cricetinae, Muridae, Spalacidae, Calomyscidae, Capromyidae, Hystricidae, Castoridae. *Zalozba Annales*, 374 p., Koper.
- Krystufek, B. 2010. *Glis glis* (Rodentia: Gliridae). *Mammalian Species*, 42, 195-206.
- Krystufek, B., Luznik, M. and Buzan, E.V. 2012. Mitochondrial cytochrome *b* sequences resolve the taxonomy of field mice (*Apodemus*) in the western Balkan refugium. *Acta Theoriologica*, 57, 1-7.

- Kuru, M. 2009. Omurgalı Hayvanlar. Palme Yayıncılık, 841 s., Ankara.
- Lacy, R.C. 1997. Importance of genetic variation to the viability of mammalian populations. *Journal of Mammalogy*, 78(2), 320-335.
- Langella, O. 1999. Populations 1.2.32: Population genetic software (individuals or populations distances, phylogenetic trees). Free Software Foundation, Boston, USA. (<http://bioinformatics.org/~tryphon/populations/>).
- Lawton, J.H. 1993. Range, population abundance and conservation. *Trends in Ecology and Evolution*, 8, 409-413.
- Lebart, L., Morineau, A. and Warwick, K.M. 1984. Multivariate descriptive analysis: Correspondence analysis and related techniques for large matrices. Wiley, 304 p., Chichester.
- Liprado, P. and Rozas, J. 2009. DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics*, 25, 1451-1452.
- Lodish, H. 2011. Moleküler Hücre Biyolojisi (Geçkil, H., Özmen, M. M. ve Yeşilada, Ö., Çev.) Palme Yayıncılık, 1150 s., Ankara.
- Macey, J.R., Schulte, J.A., Ananjeva, N.B., Larson, A., Rastegar-Pouyani, N., Shammakov, S.M. and Papenfuss, T.J. 1998. Phylogenetic relationships among agamid lizards of the *Laudakia caucasia* species group: Testing hypotheses of biogeographic fragmentation and an area cladogram for the Iranian Plateau. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 10, 118-131.
- Macholan, M, Filippucci, M.G., Benda, P., Frynta, D. and Sadlova, J. 2001. Allozyme variation and systematics of the genus *Apodemus* (Rodentia: Muridae) in Asia Minor and Iran. *Journal of Mammalogy*, 82(3), 799-813.
- Makova, K.D., Patton, J.C., Krysanov, E.Y., Chesser, R.K. and Baker, R.J. 1998. Microsatellite markers in wood mouse and striped field mouse (genus *Apodemus*). *Molecular Ecology*, 7, 247-255.
- Makova, K.D., Nekrutenko, A. and Baker, R.J. 2000. Evolution of Microsatellite Alleles in Four Species of Mice (Genus *Apodemus*). *Journal of Molecular Evolution*, 51, 166-172.
- Marsh, A.W., Poulton, S. and Harris, S. 2001. The Yellow-necked Mouse *Apodemus flavicollis* in Britain: status and analysis of factors affecting distribution. *Mammal Society, Mammal Review*, 31(3), 203-227.
- Martin, P.R. and McKay, J.K. 2004. Latitudinal variation in genetic divergence of populations and the potential for future speciation. *Evolution*, 58, 938-945.

- Michaux, J. et Pasquier, L. 1974. Dynamique des populations de mulots (Rodentia, *Apodemus*) en Europe durant le Quaternaire. Premières Données Bulletins Société Géologique France, 7, 431- 439.
- Michaux, J., Aguilar, J.P., Montuire, S., Wolff, A. et Legendre, S., 1997. Les Murinae (Rodentia, Mammalia) neogenes du Sud de la France: Evolution et paleoenvironnements. Geobios, 20, 379-385.
- Michaux, J.R., Kinet, S., Filippucci, M.G., Libois, R., Besnard, A. and Catlefsis, F. 2001. Molecular identification of three sympatric species of wood mice (*Apodemus sylvaticus*, *A. flavicollis*, *A. alpicola*) in Western Europe (Muridae: Rodentia). Molecular Ecology Notes, 1, 260-263.
- Michaux, J.R., Chevret, P., Filippucci, M.G. and Macholán, M. 2002. Phylogeny of the genus *Apodemus* with a special emphasis on the subgenus *Sylvaemus* using the nuclear IRBP gene and two mitochondrial markers: cytochrome b and 12S rRNA. Molecular Phylogenetics and Evolution, 23, 123-136.
- Michaux, J.R., Magnanou, E., Paradis, E., Nieberding, C. and Libois, R.M. 2003. Mitochondrial phylogeography of the woodmouse (*Apodemus sylvaticus*) in the Western Palearctic region. Molecular Ecology, 12, 685-697.
- Michaux, J.R., Filippucci, M.G. and Libois, R. 2004. Phylo-geographic history of the yellow-necked fieldmouse (*Apodemus flavicollis*) in Europe and in the Near and Middle East. Molecular Phylogenetics and Evolution, 32, 188-198.
- Michaux, J.R., Libois, R. and Filippucci, M.G. 2005. So close and so different: comparative phylogeography of two small mammal species, the yellow-necked fieldmouse (*Apodemus flavicollis*) and the woodmouse (*Apodemus sylvaticus*) in the western Palearctic region. Heredity, 94, 52-63.
- Musser, G.G., Brothers, E.M., Carleton, M.D. and Hutterer, R. 1996. Taxonomy and distributional records of Oriental and European *Apodemus*, with a review of the *Apodemus*–*Sylvaemus* problem. Bonn zoological Bulletin, 46, 143-190.
- Nei, M. 1972. Genetic distance between populations. American Naturalist, 106, 283-292.
- Nei, M. 1977. F-statistics and analysis of gene diversity in subdivided populations. Annals of Human Genetics, 41(2), 225-33.
- Nei, M., Tajima, F. and Tateno, Y. 1983. Accuracy of estimated phylogenetic trees from molecular data. Journal of Molecular Evolution, 19, 153-170.
- Nei, M. 1987. Molecular Evolutionary Genetics. Columbia University Press, 512 p., New York.
- Neuhauser, G. 1936. Die Muriden von Kleinasien. Z. Säugetierkunde, 11, 161-236.

- Özkan, B. and Krystufek, B. 1999. Wood mice, *Apodemus* of two Turkish islands Gökçeada and Bozcaada. *Folia Zoologica*, 48, 17-24.
- Özşensoy, Y. and Kurar, E. 2012. Marker systems and applications in genetic characterization studies. *Journal of Cell and Molecular Biology*, 10(2), 11-19.
- Paetkau, D. and Strobeck, C. 1995. The molecular basis and evolutionary history of a microsatellite null allele in bears. *Molecular Ecology*, 4(4), 519-520.
- Paetkau, D., Waits, L.P., Clarkson, P.L., Craighead, L. and Strobeck, C. 1997. An empirical evaluation of genetic distance statistics using microsatellite data from bear (Ursidae) populations. *Genetics*, 147(4), 1943-57.
- Patton, J.L. and Smith, M.F. 1990. The evolutionary dynamics of the pocket gopher *Thomomys bottae* with emphasis on California populations. University of California Publications, Zoology, 123, 1-161.
- Patwardhan, A., Ray, S. and Roy, A. 2014. Molecular markers in phylogenetic studies- A review. *Journal of Phylogenetics and Evolutionary Biology*, 2(2), 131-139.
- Peakall, R. and Smouse P.E. 2012. GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research – an update. *Bioinformatics*, 28, 2537-2539.
- Petit, R.J., Aguinagalde, I., de Beaulieu, J.L., Bittkau, C., Brewer, S. and Cheddadi, R. 2003. Glacial refugia: hotspots but not melting pots of genetic diversity. *Science*, 300, 1563-1565.
- Pocock, M.J.O, Hauffe, H.C. and Searle, J.B. 2005. Dispersal in house mice. *Biological Journal of the Linnean Society*, 84, 565-583.
- Posada, D. and Crandall, K.A. 1998. Modeltest: testing the model of DNA substitution. *Bioinformatics*, 14, 817-818.
- Posada, D. and Buckley, T.R. 2004. Model selection and model averaging in phylogenetics: advantages of Akaike information criterion and Bayesian approaches over likelihood ratio tests. *Systematic Biology*, 53, 793–808.
- Pritchard, J.K., Stephens, M. and Donnelly, P. 2000. Inference of Population Structure Using Multilocus Genotype Data. *Genetics*, 155(2), 945-959.
- Rambaut, A. 2014. FigTree version 1.4.2. Institute of Evolutionary Biology, University of Edinburgh, United Kingdom. (<http://tree.bio.ed.ac.uk/>).
- Rambaut, A., Suchard, M.A., Xie, D. and Drummond, A.J. 2014. Tracer v1.6, Available from <http://beast.bio.ed.ac.uk/Tracer>.

- Ratkiewicz, M. and Borkowska, A. 2006. Genetic structure is influenced by environmental barriers: empirical evidence from the common vole *Microtus arvalis* populations. *Acta Theriologica*, 51, 337-344.
- Redeker, S., Andersen, L.W., Pertoldi, C., Madsen, A.B., Jensen, T.S. and Jorgensen, J.M. 2006. Genetic structure, habitat fragmentation and bottlenecks in Danish bank voles (*Clethrionomys glareolus*). *Mammalian Biology*, 71, 144-158.
- Reece, J.B., Urry, L.A., Urry, M.L.C., Wasserman, S.A., Minorsky, P.V. ve Jackson, R.B. 2013. *Campbell Biyoloji* (Gündüz, E. ve Türkan, İ., Çev.) Palme Yayıncılık, 1236 s., Ankara.
- Rico, A., Kindlmann, P. and Sedlacek, F. 2007. Road crossing in bank voles and yellow-necked mice. *Acta Theriologica*, 51, 85-94.
- Rogers, A.R. and Harpending, H. 1992. Population growth makes waves in the distribution of pairwise genetic differences. *Molecular Biology and Evolution*, 9, 552-569.
- Rosenberg, N.A. 2004. Distruct: A program for the graphical display of population structure. *Molecular Ecology Notes*, 4, 137-138.
- Sagarin, R.D. and Gaines, S.D. 2002. The abundant center distribution: to what extent is it a biogeographical rule? *Ecology Letters*, 5, 137-147.
- Schmitt, T. and Hewitt, G.M. 2004. The genetic pattern of population threat and loss: a case study of butterflies. *Molecular Ecology*, 13(1), 21-31.
- Seddon, J.M., Santucci, F., Reeve, N.J. and Hewitt, G.M. 2001. DNA footprints of European hedgehogs, *Erinaceus europaeus* and *E. concolor*: Pleistocene refugia, postglacial expansion and colonization routes. *Molecular Ecology*, 10, 2187-2198.
- Serizawa, K., Suzuki, H. and Tsuchiya, K. 2000. A phylogenetic view on species radiation in *Apodemus* inferred from variation of nuclear and mitochondrial genes. *Biochemical Genetics*, 38(1/2), 27- 40.
- Simon, C., Buckley, T.R., Frati, F., Stewart, J.B. and Beckenbach, A.T. 2006. Incorporating Molecular Evolution into Phylogenetic Analysis, and a New Compilation of Conserved Polymerase Chain Reaction Primers for Animal Mitochondrial DNA. *Annual Review of Ecology Evolutionary Systematics*, 37, 545-79.
- Slatkin, M. 1985. Rare alleles as indicators of gene flow. *Evolution*, 39(1), 53-65.
- Strand, M., Prolla, T.A., Liskay, R.M. and Petes, T.D. 1993. Destabilization of tracts of simple repetitive DNA in yeast by mutations affecting DNA mismatch repair. *Nature*, 365, 274-276.

- Sullivan, J. and Joyce, P. 2005. Model selection in phylogenetics. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 36, 445-466.
- Suzuki, H., Tsuchiya, K. and Takezaki, N. 2000. A molecular phylogenetic framework for the Ryuyku endemic rodents *Tokudaia osimensis* and *Diplothrix legata*. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 15, 15-24.
- Suzuki, H., Sato, J.J., Tsuchiya, K., Luo, J., Zhang, Y.P., Wang, Y.X. and Jiang, X.L. 2003. Molecular phylogeny of wood mice (*Apodemus*, Muridae) in East Asia. *Biological Journal of the Linnean Society*, 80, 469-481.
- Suzuki, H., Shimada, T., Terashima, M., Tsuchiya, K. and Aplin, K. 2004. Temporal, spatial, and ecological modes of evolution of Eurasian *Mus* based on mitochondrial and nuclear gene sequences. *Molecular Phylogenetics of Evolution*, 33, 626-646.
- Suzuki, H., Filippucci, M.G., Chelomina, G.N., Sato, J.J., Serizawa, K. and Nevo, E. 2008. A biogeographic view of *Apodemus* in Asia and Europe inferred from nuclear and mitochondrial gene sequences. *Biochemical Genetics*, 46, 329-346.
- Swofford, D.L., Olsen, G.J., Waddell, P.J. and Hillis, D.M. 1996. Phylogenetic inference. In: *Molecular Systematics*, Hillis, D. M., Moritz, C. M. ve Mable, B. K. (eds), MA: Sinauer, 407-514, Sunderland.
- Szacki, J. 1999. Spatially structured populations: how much do they match the classic metapopulation concept? *Landscape Ecology*, 14, 369-379.
- Taberlet, P., Fumagalli, L., Wust-Saucy, A.G. and Cosson, J.F. 1998. Comparative phylogeography and postglacial colonization routes in Europe. *Molecular Ecology*, 7, 453-464.
- Tajima, F. 1989. The effect of change in population size on DNA polymorphism. *Genetics*, 123, 597-601.
- Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipski, A. and Kumar, S. 2013. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0. *Molecular Biology and Evolution*, 30, 2725-2729.
- Tapio, M., Ozerov, M., Tapio, I., Toro, M., Marzanov, N., Cinkulov, M., Goncharenko, G., Kiselyova, T., Murawski, M. and Kantanen, J. 2010. Microsatellite-based genetic diversity and population structure of domestic sheep in northern Eurasia. *BMC Genetics*, 11(1), 76.
- Türkyılmaz, S. ve Esendal, Ö. M. 2002. Polimeraz Zincir Reaksiyonu ve Mikrobiyolojide Kullanım Alanları. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 8(1), 71-76.
- Tzedakis, P.C., Lawson, I.T., Frogley, M.R., Hewitt, G.M. and Preece, R.C. 2002. Buffered tree population changes in a quaternary refugium: evolutionary implications. *Science*, 297, 2044-2047.

- Vignieri, S.N. 2005. Streams over mountains: influence of riparian connectivity on gene flow in the Pacific jumping mouse (*Zapus trinotatus*). *Molecular Ecology*, 14, 1925-1937.
- Vucetich, J.A. and Waite, T.A. 2003. Spatial patterns of demography and genetic processes across the species range: null hypotheses for landscape conservation genetics. *Conservation Genetics Resources*, 4, 639-645.
- Wang, Y.H., Yang, K.C., Bridgman, C.L. and Lin, L.K. 2008. Habitat suitability modelling to correlate gene flow with landscape connectivity. *Landscape Ecology*, 23, 989-1000.
- Wolff, J.O. and Sherman, P.W. 2007. Rodent societies: An ecological & evolutionary perspective. The University of Chicago Press, 627 p., Chicago and London.
- Wright, S. 1951. The genetical structure of populations. *Annals of Eugenics*, 15, 323-354.
- Wright, S. 1965. The Interpretation of population structure by F-statistics with special regard to systems of mating. *Evolution*, 19(3), 395-420.
- Yang, Z. and Rannala, B. 2012. Molecular phylogenetics: principles and practice. *Genetics*, 13, 303-314.
- Zhang, D. X. ve Hewitt, G. M. 2003. Nuclear DNA analyses in genetic studies of populations: practice, problems and prospects. *Molecular Ecology*, 12(3), 563-584.
- Zimmermann, K. 1962. Die untergattungen der gattung *Apodemus* kaup. *Bonn zoological Bulletin*, 13, 198-208.

EKLER

EK 1 Sitokrom *b* Bölgesine Ait Haplotipler

EK 2 Pseudogen ve Sitokrom *b* Bölgesine Ait Dizilerin Karşılaştırılması

EK 3 Mikrosatellit Lokuslarına Ait Allel Büyüklükleri

EK 1 Sitokrom *b* bölgesine ait haplotipler

	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100
	CCCCATCCAAATATTTCATCATGATGAAC	TTTGGCTCCC	TATTAGGAAT	TCGCTAATAATCCAGAT	TCCTTACAGGCCTATT	CTCTAGCAATACACTACAC				
Hap 1 Bolu										
Hap 2 Kilis										
Hap 3 Kiris-Ordu-Rize					T					
Hap 4 Kirklareli-Bosnahrsek		C		C		A		T		T
Hap 5 Kirklareli		C		C		A		T		T
Hap 6 Kirklareli		C		C		A		T		T
Hap 7 Kirklareli		C		C		A		T		T
Hap 8 Kirklareli		C		C		A		T		T
Hap 9 Kirklareli		C		C		A		T		T
Hap 10 Konya				C		A		T		T
Hap 11 Konya					T					
Hap 12 Konya-Samsun					T					
Hap 13 Konya					T					
Hap 14 Burdur						A				
Hap 15 Samsun					T					
Hap 16 Artvin					T					
Hap 17 Artvin					T					
Hap 18 Artvin					T					
Hap 19 Artvin					T					
Hap 20 Corum					T					
Hap 21 Corum					T					
Hap 22 Corum					T					
Hap 23 Ordu				C						
Hap 24 Ordu					T					
Hap 25 Bursa										
Hap 26 Bursa					T					
Hap 27 Bursa					T					
Hap 28 Bursa										
Hap 29 Zonguldak					T		A			
Hap 30 Zonguldak										
Hap 31 Zonguldak					T					
Hap 32 Zonguldak					T					
Hap 33 Trabzon										
Hap 34 Giresun									T	
Hap 35 Erzincan					T					
Hap 36 Erzincan					T					
Hap 37 Istanbul					T			T		C
Hap 38 Istanbul							A			
Hap 39 Istanbul					T					
Hap 40 Rize					T					
Hap 41 Rize					T					
Hap 42 Canakkale										
Hap 43 Canakkale										
Hap 44 Canakkale										
Hap 45 Canakkale										
Hap 46 AJ605667 Mugla					T	T				
Hap 47 AJ605668 Mugla-Isparta				T						
Hap 48 AJ605676 Mugla					T					
Hap 49 AJ605677 Mugla					T					
Hap 50 AJ605669 Isparta										
Hap 51 AJ605687 Iran					T					
Hap 52 AJ605690 Israil									T	
Hap 53 JF819962 Makedonya		C		C		A		T		T
Hap 54 JF819963 Makedonya		C		C		A		T		T
Hap 55 JF819964 Makedonya		C		C		A		T		T
Hap 56 AJ605642 Makedonya		C		C		A		T		T
Hap 57 JF819969 Bosna-hersek		C		C		A		T		T
Hap 58 JF819970 Bosna-hersek		C		C		A		T		T
Hap 59 AJ605646 Romanya		C		C		A		T		T
Hap 60 AJ605647 Romanya		C		C		A		T		T
Hap 61 AJ605648 Romanya		C		C		A		T		T
Hap 62 AJ605691 Yugoslavya		C		C		A		T		T
Hap 63 AJ605692 Yugoslavya		C		C		A		T		T
Hap 64 AJ605672 Trakya		C		C		A		T	C	T
Hap 65 AJ605673 Trakya		C		C		A		T		T
Hap 66 AJ605618 Yunanistan		C		C		A		T		T
Hap 67 AJ605619 Yunanistan		T	C	C		A		T		T
Hap 68 J605620 Yunanistan		C		C		A		T		T
Hap 69 AJ605622 Yunanistan		T	C	C		A		T		T
Hap 70 AJ605624 Yunanistan		C		C		A		T		T
Hap 71 AJ605634 Macaristan		C		C		A		T		T
Hap 72 AJ605656 Slovenya		C		C		A		T		T
Hap 73 AJ605657 Slovenya		C		C		A		T		T
Hap 74 AJ311150 Italya		C		C		A		T		T
Hap 75 AJ605635 Italya		C		C		A		T		T
Hap 76 AJ605640 Italya		C		C		A		T	C	T
Hap 77 AJ311151 Fransa-Belcika		C		C		A		T		T
Hap 78 AJ298602 Fransa		T	C	C		A		T		T
Hap 79 AJ605660 Ispanya		C		C		A		T		T
Hap 80 AJ605661 Ispanya		C		C		A		T		T
Hap 81 AJ605663 Isvec		C		C		A		T		T
Hap 82 AJ605664 Isvec		C		C		A		T		T
Hap 83 AJ605616 Almanya		C		C		A		T		T
Hap 84 AJ298603 Almanya		C		C		A		T		T
Hap 85 AJ605600 Avusturya		C		C		A		T		T
Hap 86 AJ605610 Estonya		C		C	A		A	T		T
Hap 87 AJ605611 Estonya		C		C	A		A	T		T
Hap 88 AJ605608 Cek		C		C	A		A	T		T
Hap 89 AJ605609 Cek		C		C		A		T		T
Hap 90 AJ605641 Litvanya		C		C	A		A	T		T
Hap 91 AJ605601 Belarus		C		C	A		A	T		T
Hap 92 AJ605603 Belarus		C		C	A		A	T		T
Hap 93 AJ605652 Rusya		C		C		A		T		T
Hap 94 AJ605653 Rusya		C		C		A		T		T
Hap 95 A. mystacinus	C	C		C	A	T	T	A	A	C
Hap 96 A. mystacinus	C	C	C	C	A	T	T	A	A	C
Hap 97 A. sylvaticus	T	C	C	C		A		T		C
Hap 98 A. sylvaticus	T	C	C	C	AT	GC		G		C
Hap 99 R. norvegicus	T	C	C	C	T	C	G	A	C	G
Hap 100 R. norvegicus	T	C	C	C	T	C	A	C	G	A
Hap 101 M. macedonicus	C			G	T	TC		G	A	C
Hap 102 M. domesticus	C			G	TC	G		G	A	A

	110	120	130	140	150	160	170	180	190	200
Hap 1 Bolu	ATCAGATACAATAACAGCATTTCCTTCAGTAACATATTTGCCGAGACGTAAATTACGGATGACTAATTCGATATATACACGCAACGGAGCCCTCAATA									
Hap 2 Killis										
Hap 3 Killis-Ordu-Rize										
Hap 4 Kirklareli-Bosnahersek	C	C	C	C	T	T	T	T	T	T
Hap 5 Kirklareli	C	C	C	C	T	T	T	T	T	T
Hap 6 Kirklareli	C	C	C	C	T	T	T	T	T	T
Hap 7 Kirklareli	C	C	C	C	T	T	T	T	T	T
Hap 8 Kirklareli	C	C	C	C	T	T	T	T	T	T
Hap 9 Kirklareli	C	C	C	C	T	T	T	T	T	T
Hap 10 Konya	C	C	C	C	T	T	T	T	T	T
Hap 11 Konya-Samsun	C	C	C	C	T	T	T	T	T	T
Hap 12 Konya	C	C	C	C	T	T	T	T	T	T
Hap 13 Konya	C	C	C	C	T	T	T	T	T	T
Hap 14 Burdur	C	C	C	C	T	T	T	T	T	T
Hap 15 Samsun	C	C	C	C	T	T	T	T	T	T
Hap 16 Artvin	C	C	C	C	T	T	T	T	T	T
Hap 17 Artvin	C	C	C	C	T	T	T	T	T	T
Hap 18 Artvin	C	C	C	C	T	T	T	T	T	T
Hap 19 Artvin	C	C	C	C	T	T	T	T	T	T
Hap 20 Corum	C	C	C	C	T	T	T	T	T	T
Hap 21 Corum	C	C	C	C	T	T	T	T	T	T
Hap 22 Corum	C	C	C	C	T	T	T	T	T	T
Hap 23 Ordu	C	C	C	C	T	T	T	T	T	T
Hap 24 Ordu	C	C	C	C	T	T	T	T	T	T
Hap 25 Bursa	C	C	C	C	T	T	T	T	T	T
Hap 26 Bursa	C	C	C	C	T	T	T	T	T	T
Hap 27 Bursa	C	C	C	C	T	T	T	T	T	T
Hap 28 Bursa	C	C	C	C	T	T	T	T	T	T
Hap 29 Zonguldak	C	C	C	C	T	T	T	T	T	T
Hap 30 Zonguldak	C	C	C	C	T	T	T	T	T	T
Hap 31 Zonguldak	C	C	C	C	T	T	T	T	T	T
Hap 32 Zonguldak	C	C	C	C	T	T	T	T	T	T
Hap 33 Trabzon	C	C	C	C	T	T	T	T	T	T
Hap 34 Giresun	C	C	C	C	T	T	T	T	T	T
Hap 35 Erzincan	C	C	C	C	T	T	T	T	T	T
Hap 36 Erzincan	C	C	C	C	T	T	T	T	T	T
Hap 37 Istanbul	C	C	C	C	T	T	T	T	T	T
Hap 38 Istanbul	C	C	C	C	T	T	T	T	T	T
Hap 39 Istanbul	C	C	C	C	T	T	T	T	T	T
Hap 40 Rize	C	C	C	C	T	T	T	T	T	T
Hap 41 Rize	C	C	C	C	T	T	T	T	T	T
Hap 42 Canakkale	C	C	C	C	T	T	T	T	T	T
Hap 43 Canakkale	C	C	C	C	T	T	T	T	T	T
Hap 44 Canakkale	C	C	C	C	T	T	T	T	T	T
Hap 45 Canakkale	C	C	C	C	T	T	T	T	T	T
Hap 46 AJ605667 Mugla	C	C	C	C	T	T	T	T	T	T
Hap 47 AJ605668 Mugla-Isparta	C	C	C	C	T	T	T	T	T	T
Hap 48 AJ605676 Mugla	C	C	C	C	T	T	T	T	T	T
Hap 49 AJ605677 Mugla	C	C	C	C	T	T	T	T	T	T
Hap 50 AJ605669 Isparta	C	C	C	C	T	T	T	T	T	T
Hap 51 AJ605687 Iran	C	C	C	C	T	T	T	T	T	T
Hap 52 AJ605690 Israil	C	C	C	C	T	T	T	T	T	T
Hap 53 JF819962 Makedonya	C	C	C	C	T	T	T	T	T	T
Hap 54 JF819963 Makedonya	C	C	C	C	T	T	T	T	T	T
Hap 55 JF819964 Makedonya	C	C	C	C	T	T	T	T	T	T
Hap 56 AJ605642 Makedonya	C	C	C	C	T	T	T	T	T	T
Hap 57 JF819969 Bosna-hersek	C	C	C	C	T	T	T	T	T	T
Hap 58 JF819970 Bosna-hersek	C	C	C	C	T	T	T	T	T	T
Hap 59 AJ605646 Romanya	C	C	C	C	T	T	T	T	T	T
Hap 60 AJ605647 Romanya	C	C	C	C	T	T	T	T	T	T
Hap 61 AJ605648 Romanya	C	C	C	C	T	T	T	T	T	T
Hap 62 AJ605691 Yugoslavya	C	C	C	C	T	T	T	T	T	T
Hap 63 AJ605692 Yugoslavya	C	C	C	C	T	T	T	T	T	T
Hap 64 AJ605672 Trakya	C	C	C	C	T	T	T	T	T	T
Hap 65 AJ605673 Trakya	C	C	C	C	T	T	T	T	T	T
Hap 66 AJ605618 Yunanistan	C	C	C	C	T	T	T	T	T	T
Hap 67 AJ605619 Yunanistan	C	C	C	C	T	T	T	T	T	T
Hap 68 J605620 Yunanistan	C	C	C	C	T	T	T	T	T	T
Hap 69 AJ605622 Yunanistan	C	C	C	C	T	T	T	T	T	T
Hap 70 AJ605624 Yunanistan	C	C	C	C	T	T	T	T	T	T
Hap 71 AJ605634 Macaristan	C	C	C	C	T	T	T	T	T	T
Hap 72 AJ605656 Slovenya	C	C	C	C	T	T	T	T	T	T
Hap 73 AJ605657 Slovenya	C	C	C	C	T	T	T	T	T	T
Hap 74 AJ311150 Italya	C	C	C	C	T	T	T	T	T	T
Hap 75 AJ605635 Italya	C	C	C	C	T	T	T	T	T	T
Hap 76 AJ605640 Italya	C	C	C	C	T	T	T	T	T	T
Hap 77 AJ311151 Fransa-Belcika	C	C	C	C	T	T	T	T	T	T
Hap 78 AJ298602 Fransa	C	C	C	C	T	T	T	T	T	T
Hap 79 AJ605660 Ispanya	C	C	C	C	T	T	T	T	T	T
Hap 80 AJ605661 Ispanya	C	C	C	C	T	T	T	T	T	T
Hap 81 AJ605663 Isvet	C	C	C	C	T	T	T	T	T	T
Hap 82 AJ605664 Isvet	C	C	C	C	T	T	T	T	T	T
Hap 83 AJ605616 Almany	C	C	C	C	T	T	T	T	T	T
Hap 84 AJ298603 Almany	C	C	C	C	T	T	T	T	T	T
Hap 85 AJ605600 Avusturya	C	C	C	C	T	T	T	T	T	T
Hap 86 AJ605610 Estonya	C	C	C	C	T	T	T	T	T	T
Hap 87 AJ605611 Estonya	C	C	C	C	T	T	T	T	T	T
Hap 88 AJ605608 Cek	C	C	C	C	T	T	T	T	T	T
Hap 89 AJ605609 Cek	C	C	C	C	T	T	T	T	T	T
Hap 90 AJ605641 Litvanya	C	C	C	C	T	T	T	T	T	T
Hap 91 AJ605601 Belarus	C	C	C	C	T	T	T	T	T	T
Hap 92 AJ605603 Belarus	C	C	C	C	T	T	T	T	T	T
Hap 93 AJ605652 Rusya	C	C	C	C	T	T	T	T	T	T
Hap 94 AJ605653 Rusya	C	C	C	C	T	T	T	T	T	T
Hap 95 A. mystacinus	C	C	C	C	T	T	T	T	T	T
Hap 96 A. mystacinus	C	C	C	C	T	T	T	T	T	T
Hap 97 A. sylvaticus	C	C	C	C	T	T	T	T	T	T
Hap 98 A. sylvaticus	C	C	C	C	T	T	T	T	T	T
Hap 99 R. norvegicus	C	C	C	C	T	T	T	T	T	T
Hap 100 R. norvegicus	C	C	C	C	T	T	T	T	T	T
Hap 101 M. macedonicus	C	C	C	C	T	T	T	T	T	T
Hap 102 M. domesticus	C	C	C	C	T	T	T	T	T	T

	210	220	230	240	250	260	270	280	290	300
Hap 1 Bolu	TTCTTCATTGCTTGTGTTCTACACGTAGGACGAGGAATGTATTACGGATCATATACCTTCATAGAAACATGAAACATCGGGTGAATTCCTCTATTGCGAG									
Hap 2 Kilis										
Hap 3 Kilis-Ordu-Rize										
Hap 4 Kirklareli-Bosnahersek		A.		A.		C.			T.	C.
Hap 5 Kirklareli		A.		A.		C.			T.	C.
Hap 6 Kirklareli		A.		A.		C.				C.
Hap 7 Kirklareli		A.		A.		C.				C.
Hap 8 Kirklareli		A.		A.		C.				C.
Hap 9 Kirklareli		A.		A.		C.			T.	C.
Hap 10 Konya										C.
Hap 11 Konya-Samsun										C.
Hap 12 Konya										C.
Hap 13 Konya		C.								C.
Hap 14 Burdur					G.					C.
Hap 15 Samsun										C.
Hap 16 Artvin										C.
Hap 17 Artvin		C.								C.
Hap 18 Artvin										C.
Hap 19 Artvin										C.
Hap 20 Corum										C.
Hap 21 Corum										C.
Hap 22 Corum										C.
Hap 23 Ordu										C.
Hap 24 Ordu										C.
Hap 25 Bursa										C.
Hap 26 Bursa										C.
Hap 27 Bursa										C.
Hap 28 Bursa										C.
Hap 29 Zonguldak										C.
Hap 30 Zonguldak										C.
Hap 31 Zonguldak					C.					C.
Hap 32 Zonguldak										C.
Hap 33 Trabzon										C.
Hap 34 Giresun										C.
Hap 35 Erzincan		C.								C.
Hap 36 Erzincan		C.								C.
Hap 37 Istanbul										C.
Hap 38 Istanbul										C.
Hap 39 Istanbul										C.
Hap 40 Rize							T.			C.
Hap 41 Rize										C.
Hap 42 Canakkale										C.
Hap 43 Canakkale										C.
Hap 44 Canakkale				G.						C.
Hap 45 Canakkale				G.						C.
Hap 46 AJ605667 Mugla										C.
Hap 47 AJ605668 Mugla-Isparta		C.					C.			C.
Hap 48 AJ605676 Mugla										C.
Hap 49 AJ605677 Mugla										C.
Hap 50 AJ605669 Isparta										C.
Hap 51 AJ605687 Iran										C.
Hap 52 AJ605690 Israil							T.			C.
Hap 53 JF819962 Makedonya		A.		A.		C.				C.
Hap 54 JF819963 Makedonya		A.		A.		C.				C.
Hap 55 JF819964 Makedonya		A.		A.		C.				C.
Hap 56 AJ605642 Makedonya		A.		A.		C.				C.
Hap 57 JF819969 Bosna-hersek		A.		A.		C.			C.	C.
Hap 58 JF819970 Bosna-hersek		A.		A.		C.				C.
Hap 59 AJ605646 Romanya		A.		A.		C.			T.	C.
Hap 60 AJ605647 Romanya		A.		A.		C.				C.
Hap 61 AJ605648 Romanya		A.		A.		C.				C.
Hap 62 AJ605691 Yugoslavya		A.		A.		C.		G.	T.	C.
Hap 63 AJ605692 Yugoslavya		A.		A.		C.		G.	T.	C.
Hap 64 AJ605672 Trakya		A.		A.		C.				C.
Hap 65 AJ605673 Trakya		A.		A.		C.				C.
Hap 66 AJ605618 Yunanistan		A.	C.		A.		C.			C.
Hap 67 AJ605619 Yunanistan		A.			A.		C.			C.
Hap 68 J605620 Yunanistan		A.		A.		C.				C.
Hap 69 AJ605622 Yunanistan		A.			A.		C.			C.
Hap 70 AJ605624 Yunanistan		A.			A.		C.			C.
Hap 71 AJ605634 Macaristan		A.			A.		C.			C.
Hap 72 AJ605656 Slovenya		A.			A.		C.			C.
Hap 73 AJ605657 Slovenya		A.			A.		C.			C.
Hap 74 AJ311150 Italya		A.			A.	G.	C.			C.
Hap 75 AJ605635 Italya		A.			A.		C.			C.
Hap 76 AJ605640 Italya		T.			A.		C.			C.
Hap 77 AJ311151 Fransa-Belcika		A.	A.			A.	C.			C.
Hap 78 AJ298602 Fransa		A.			A.		C.			C.
Hap 79 AJ605660 Ispanya		A.			A.		C.			C.
Hap 80 AJ605661 Ispanya		C.	A.			A.		C.		C.
Hap 81 AJ605663 Isvec		A.			A.		C.			C.
Hap 82 AJ605664 Isvec		A.			A.		C.			C.
Hap 83 AJ605616 Almanya		A.			A.		C.			C.
Hap 84 AJ298603 Almanya		A.			A.		C.			C.
Hap 85 AJ605600 Avusturya		A.			A.		C.			C.
Hap 86 AJ605610 Estonya		A.			A.		C.			C.
Hap 87 AJ605611 Estonya		A.			A.		C.			C.
Hap 88 AJ605608 Cek		A.			A.		C.			C.
Hap 89 AJ605609 Cek		A.			A.		C.			C.
Hap 90 AJ605641 Litvanya		A.			A.		C.			C.
Hap 91 AJ605601 Belarus		A.			A.		C.			C.
Hap 92 AJ605603 Belarus		A.			A.		C.			C.
Hap 93 AJ605652 Rusya		A.			A.		C.			C.
Hap 94 AJ605653 Rusya		A.			A.		C.			C.
Hap 95 A. mystacinus		T.	C.	T.	A.	C.	C.	T.	C.	TG.
Hap 96 A. mystacinus		T.	C.	T.	A.	C.	C.	T.	C.	TG.
Hap 97 A. sylvaticus		T.	T.	C.	A.	C.	T.			C.
Hap 98 A. sylvaticus		T.	T.	C.	A.	C.	T.	TT.	T.	
Hap 99 R. norvegicus		T.	C.	C.	AC.	C.	C.	T.	G.	CC.
Hap 100 R. norvegicus		T.	C.	C.	AC.	C.	C.	T.	G.	CC.
Hap 101 M. macedonicus		T.	T.	C.	A.	C.	T.	C.		A.
Hap 102 M. domesticus		T.	T.	C.	A.	C.	T.	C.		A.

	310	320	330	340	350	360	370	380	390	400
Hap 1 Bolu	TAATAGCCACAGCATT	CATAGGATATGTT	CTTCCATGAGGACA	AATATCTTCT	GAGGAGCAACAGTA	ATTACAAATCT	TATTATCAGCAAT	CCCATATAT		
Hap 2 Kilis										
Hap 3 Kilis-Ordu-Rize										
Hap 4 Kirklareli-Bosnahersek			T	C		G			T	C
Hap 5 Kirklareli			T	C		G			T	C
Hap 6 Kirklareli			T	C		G			T	C
Hap 7 Kirklareli			T	C		G		C	T	C
Hap 8 Kirklareli			T	C		G			T	C
Hap 9 Kirklareli			T	C		T	G		T	C
Hap 10 Konya										
Hap 11 Konya-Samsun										
Hap 12 Konya										
Hap 13 Konya										
Hap 14 Burdur										
Hap 15 Samsun										
Hap 16 Artvin										
Hap 17 Artvin										
Hap 18 Artvin										
Hap 19 Artvin										
Hap 20 Corum										
Hap 21 Corum								T		
Hap 22 Corum										
Hap 23 Ordu										
Hap 24 Ordu								T		
Hap 25 Bursa						G				
Hap 26 Bursa										
Hap 27 Bursa			C							
Hap 28 Bursa										
Hap 29 Zonguldak										
Hap 30 Zonguldak										
Hap 31 Zonguldak										
Hap 32 Zonguldak										
Hap 33 Trabzon										
Hap 34 Giresun			C							
Hap 35 Erzincan										
Hap 36 Erzincan										
Hap 37 Istanbul										
Hap 38 Istanbul										
Hap 39 Istanbul										
Hap 40 Rize								T		
Hap 41 Rize										
Hap 42 Canakkale										
Hap 43 Canakkale										
Hap 44 Canakkale										
Hap 45 Canakkale										
Hap 46 A1605667 Mugla										
Hap 47 A1605668 Mugla-Isparta										
Hap 48 A1605676 Mugla										
Hap 49 A1605677 Mugla										
Hap 50 A1605669 Isparta								T		
Hap 51 A1605687 Iran										
Hap 52 A1605690 Israil										
Hap 53 JF819962 Makedonya		C	C			G			T	C
Hap 54 JF819963 Makedonya		T	C			G			T	C
Hap 55 JF819964 Makedonya		T	C			G			T	C
Hap 56 A1605642 Makedonya		T	C			G			T	C
Hap 57 JF819969 Bosna-hersek		T	C			G			T	C
Hap 58 JF819970 Bosna-hersek		C	C			G			T	C
Hap 59 A1605646 Romanya		T	C			G			T	C
Hap 60 A1605647 Romanya		T	C			G			T	C
Hap 61 A1605648 Romanya		T	C			G			T	C
Hap 62 A1605691 Yugoslavya		T	C			G	C		T	C
Hap 63 A1605692 Yugoslavya		T	C			G		C	T	C
Hap 64 A1605672 Trakya		T	C			G			T	C
Hap 65 A1605673 Trakya		T	C			G	G	T	T	C
Hap 66 A1605618 Yunanistan		T	C			G			T	C
Hap 67 A1605619 Yunanistan		T	C			G			T	C
Hap 68 J605620 Yunanistan		T	C			G			T	C
Hap 69 A1605622 Yunanistan		T	C			G			T	C
Hap 70 A1605624 Yunanistan		T	C						T	C
Hap 71 A1605634 Macaristan		T	C	G		G			T	C
Hap 72 A1605656 Slovenya		T	T	C		G			T	C
Hap 73 A1605657 Slovenya		T	C						T	C
Hap 74 A1311150 Italya		T	C			G			T	C
Hap 75 A1605635 Italya		T	C			G			T	C
Hap 76 A1605640 Italya		T	C			G			T	C
Hap 77 A1311151 Fransa-Belcika		T	C			G			T	C
Hap 78 A1298602 Fransa		T	C			G			T	C
Hap 79 A1605660 Ispanya		T	C			G			T	C
Hap 80 A1605661 Ispanya		T	C			G			T	C
Hap 81 A1605663 Isvec	G		T	C		G			T	C
Hap 82 A1605664 Isvec		T	C	G					T	C
Hap 83 A1605616 Almany		T	C			G			T	C
Hap 84 A1298603 Almany		T	G			G			T	C
Hap 85 A1605600 Avusturya		T	C			G			T	C
Hap 86 A1605610 Estonya		T	C			G			T	C
Hap 87 A1605611 Estonya		T	C			G			T	C
Hap 88 A1605608 Cek		T	C						T	C
Hap 89 A1605609 Cek		T	C	G		G			T	C
Hap 90 A1605641 Litvanya		T	C			G			T	C
Hap 91 A1605601 Belarus		T	C			G			T	C
Hap 92 A1605603 Belarus		T	C			G			T	C
Hap 93 A1605652 Rusya		T	C			G			T	C
Hap 94 A1605653 Rusya		T	C			G		A	T	C
Hap 95 A. mystacinus	T	T	T	G	A	G	T		T	T
Hap 96 A. mystacinus	T	T	T	G	A	G	T		T	T
Hap 97 A. sylvaticus	T	T	T	G	A	G	T		T	T
Hap 98 A. sylvaticus	T	T	T	G	A	G	T		T	T
Hap 99 R. norvegicus	C	A	T	G	C	A	C	A	T	C
Hap 100 R. norvegicus	C	A	T	G	C	A	C	A	T	C
Hap 101 M. macedonicus	T	C	C	A	C	A	G	T	T	C
Hap 102 M. domesticus	C	T	C	C	C	A	T	C	T	C

	410	420	430	440	450	460	470	480	490	500
	CGGAAC	TACCC	TAGTAG	AATGG	ATCTG	AGGAGG	ATTCTC	AGTAGATA	AAAGCT	ACACACGTTTCTTCGCTTCCACTTTATCTTACCATTTCATCATT
Hap 1 Bolu										
Hap 2 Killis										
Hap 3 Killis-Ordu-Rize										
Hap 4 Kirklareli-BosnaHersek		G..A					T..C			
Hap 5 Kirklareli			A				C			
Hap 6 Kirklareli		G..A					C			
Hap 7 Kirklareli			A		C		C			
Hap 8 Kirklareli			A				C			
Hap 9 Kirklareli			A				C			
Hap 10 Konya	T									
Hap 11 Konya-Samsun					G					
Hap 12 Konya										
Hap 13 Konya										
Hap 14 Burdur										
Hap 15 Samsun										
Hap 16 Artvin										
Hap 17 Artvin					C					
Hap 18 Artvin					C					
Hap 19 Artvin			G							
Hap 20 Corum										
Hap 21 Corum							T			
Hap 22 Corum										
Hap 23 Ordu										
Hap 24 Ordu										
Hap 25 Bursa					C					
Hap 26 Bursa					G					
Hap 27 Bursa										
Hap 28 Bursa										
Hap 29 Zonguldak							T			
Hap 30 Zonguldak					C					
Hap 31 Zonguldak										
Hap 32 Zonguldak	T									
Hap 33 Trabzon		A								
Hap 34 Giresun										
Hap 35 Erzincan							A			
Hap 36 Erzincan							A			
Hap 37 Istanbul										
Hap 38 Istanbul										
Hap 39 Istanbul										
Hap 40 Rize					C					
Hap 41 Rize							A			
Hap 42 Canakkale										
Hap 43 Canakkale										
Hap 44 Canakkale										
Hap 45 Canakkale							T			
Hap 46 AJ605667 Mugla					G					
Hap 47 AJ605668 Mugla-Isparta					T					
Hap 48 AJ605676 Mugla										
Hap 49 AJ605677 Mugla										
Hap 50 AJ605669 Isparta										
Hap 51 AJ605687 Iran										
Hap 52 AJ605690 Israil										
Hap 53 JF819962 Makedonya		A				C				
Hap 54 JF819963 Makedonya		A				C				
Hap 55 JF819964 Makedonya		A				C				
Hap 56 AJ605642 Makedonya		A				C				
Hap 57 JF819969 Bosna-hersek	T	G..A				C				
Hap 58 JF819970 Bosna-hersek		G..A				C				
Hap 59 AJ605646 Romanya		A			C		C			
Hap 60 AJ605647 Romanya		A				C				
Hap 61 AJ605648 Romanya		A			C		C			
Hap 62 AJ605691 Yugoslavya		A			C		C			
Hap 63 AJ605692 Yugoslavya		A			C		C			
Hap 64 AJ605672 Irakya		A				C				
Hap 65 AJ605673 Irakya		G..A				C				
Hap 66 AJ605618 Yunanistan		G..A				C				
Hap 67 AJ605619 Yunanistan		G..A				C				
Hap 68 J605620 Yunanistan		G..A				C			T	
Hap 69 AJ605622 Yunanistan		G..A				C				
Hap 70 AJ605624 Yunanistan		G..A				C				
Hap 71 AJ605634 Macaristan		G..A				C				
Hap 72 AJ605656 Slovenya		G..A				C				
Hap 73 AJ605657 Slovenya		G..A				C				
Hap 74 AJ311150 Italya		G..A				C				
Hap 75 AJ605635 Italya		G..A				C				
Hap 76 AJ605640 Italya		G..A				C			T	
Hap 77 AJ311151 Fransa-Belcika		G..A				C				
Hap 78 AJ298602 Fransa		G..A				C				
Hap 79 AJ605660 Ispanya		G..A				C				
Hap 80 AJ605661 Ispanya		G..A				C				
Hap 81 AJ605663 Isvec	G	G..A				C				
Hap 82 AJ605664 Isvec		G..A				C				
Hap 83 AJ605616 Almany		G..A				C				
Hap 84 AJ298603 Almany		G..A				C				
Hap 85 AJ605600 Avusturya		G..A				C				
Hap 86 AJ605610 Estonya		A				C				
Hap 87 AJ605611 Estonya		A				C				
Hap 88 AJ605608 Cek		G..A				C				
Hap 89 AJ605609 Cek		G..A				C				
Hap 90 AJ605641 Litvanya		A				C				
Hap 91 AJ605601 Belarus		A				C				
Hap 92 AJ605603 Belarus		G..A				C				
Hap 93 AJ605652 Rusya		A				C				
Hap 94 AJ605653 Rusya		A				C				
Hap 95 A. mystacinus	C	C..T			G..G		C	T	A	TC C...T..T..C
Hap 96 A. mystacinus	C	C..T			G..G		C	C	T	TC C...T..T..C
Hap 97 A. sylvaticus		A					C	T	A	TC C...T..T..C
Hap 98 A. sylvaticus		A					C	T	A	TC C...T..T..C
Hap 99 R. norvegicus	T	G			C		C	A	C	C...C...T..C
Hap 100 R. norvegicus	T	G			C		C	A	C	C...C...T..C
Hap 101 M. macedonicus		A			C	A	T	G	C	CT G..T..A...C...T..T..C
Hap 102 M. domesticus	T	A			C	A	T	C	C	CT G..T..A...C...T..T..C

	510	520	530	540	550	560	570	580	590	600
Hap 1 Bolu	ACCGCCCTAGTAATTGTCATCTCCATTTCTTCATGAACTGGATCAATAATCCACAGGCCTTAACTCAGACGCCGATAAAATTCATTTTCATCGT									
Hap 2 Killis										C..
Hap 3 Killis-Ordu-Rize					G..					
Hap 4 Kirklareli-BosnaHersek	G..	C..	C..	C..	C..	T..	C..	C..	C..	
Hap 5 Kirklareli	G..	C..	C..	C..	C..	T..	C..	C..	C..	
Hap 6 Kirklareli	G..	C..	C..	C..	C..	T..	C..	C..	C..	
Hap 7 Kirklareli	G..	C..	C..	C..	C..	T..	C..	C..	C..	
Hap 8 Kirklareli	G..	C..	C..	C..	C..	T..	C..	C..	C..	
Hap 9 Kirklareli	G..	C..	C..	C..	C..	T..	C..	C..	C..	
Hap 10 Konya										C..
Hap 11 Konya-Samsun										C..A.
Hap 12 Konya								C..		C..A.
Hap 13 Konya					C..					C..
Hap 14 Burdur			T..							C..
Hap 15 Samsun										C..
Hap 16 Artvin										C..
Hap 17 Artvin										C..
Hap 18 Artvin										C..
Hap 19 Artvin										C..
Hap 20 Corum					G..					C..
Hap 21 Corum										C..
Hap 22 Corum										C..
Hap 23 Ordu										C..
Hap 24 Ordu										C..
Hap 25 Bursa										C..A.
Hap 26 Bursa										C..A.
Hap 27 Bursa										C..
Hap 28 Bursa			C..							C..
Hap 29 Zonguldak										C..
Hap 30 Zonguldak										C..
Hap 31 Zonguldak										C..A.
Hap 32 Zonguldak										C..
Hap 33 Trabzon						C..				C..
Hap 34 Giresun			C..	C..	C..					C..
Hap 35 Erzincan										C..
Hap 36 Erzincan										C..
Hap 37 Istanbul										C..
Hap 38 Istanbul										C..
Hap 39 Istanbul										C..
Hap 40 Rize										C..
Hap 41 Rize					G..					C..
Hap 42 Canakkale						T..				C..
Hap 43 Canakkale										C..
Hap 44 Canakkale										C..A.
Hap 45 Canakkale										C..A.
Hap 46 A1605667 Mugla										C..A.
Hap 47 A1605668 Mugla-Isparta										C..
Hap 48 A1605676 Mugla										C..
Hap 49 A1605677 Mugla										C..
Hap 50 A1605669 Isparta								C..		C..A.
Hap 51 A1605687 Iran										C..A.
Hap 52 A1605690 Israil			C..	C..	C..					C..
Hap 53 JF819962 Makedonya	G..	C..	C..	C..	C..	T..	C..	C..	C..	
Hap 54 JF819963 Makedonya	G..	C..	C..	C..	C..	T..	C..	C..	C..	
Hap 55 JF819964 Makedonya	G..	C..	C..	C..	C..	T..	C..	C..	C..	
Hap 56 A1605642 Makedonya	G..	C..	C..	C..	C..	T..	C..	C..	C..	
Hap 57 JF819969 Bosna-hersek	G..	C..	C..	C..	C..	T..	C..	C..	C..	
Hap 58 JF819970 Bosna-hersek	G..	C..	C..	C..	C..	T..	C..	C..	C..	
Hap 59 A1605646 Romanya	G..	C..	A..							C..
Hap 60 A1605647 Romanya	G..	C..	A..							C..
Hap 61 A1605648 Romanya			A..							C..
Hap 62 A1605691 Yugoslavya	G..		G..A..T..			C..				C..
Hap 63 A1605692 Yugoslavya	G..		G..A..T..			C..				C..
Hap 64 A1605672 Trakya	G..	C..	C..	C..	C..	T..	C..	C..	C..	
Hap 65 A1605673 Trakya	G..	C..	C..	C..	C..	T..	C..	C..	C..	
Hap 66 A1605618 Yunanistan	G..	C..	C..T..			C..	T..	C..	C..	C..
Hap 67 A1605619 Yunanistan	G..	C..	C..	C..	C..	T..	C..	C..	C..	
Hap 68 J605620 Yunanistan	G..	C..	A..	C..	C..	T..	C..	C..	C..	
Hap 69 A1605622 Yunanistan	G..	C..	C..A..	C..	C..	T..	C..	C..	C..	
Hap 70 A1605624 Yunanistan	G..	C..	C..	C..	C..	T..	C..	C..	C..	
Hap 71 A1605634 Macaristan	G..	C..	C..	C..	C..	T..	C..	C..	C..	
Hap 72 A1605656 Slovenya	G..	C..	C..	C..	C..	T..	A..	C..	C..	
Hap 73 A1605657 Slovenya	G..	C..	C..	C..	C..	T..	C..	C..	C..	
Hap 74 A1605635 Italya	G..	C..	C..	C..	C..	T..	C..	C..	C..	
Hap 75 A1605635 Italya	G..	C..	C..	C..	C..	T..	C..	C..	C..	
Hap 76 A1605640 Italya	G..	C..	C..	C..	C..	T..	C..	C..	C..	
Hap 77 A1605640 Fransa-Belcika	G..	C..	C..	C..	C..	T..	C..	C..	C..	
Hap 78 A1605660 Fransa	G..	C..	C..	C..	C..	T..	C..	C..	C..	
Hap 79 A1605660 Ispanya	G..	C..	C..	C..	C..	T..	C..	C..	C..	
Hap 80 A1605661 Ispanya	G..	C..	C..	C..	C..	T..	C..	C..	C..	
Hap 81 A1605663 Isvec	G..	C..	C..	C..	C..	T..	C..	C..	C..	
Hap 82 A1605664 Isvec	G..	C..	C..	C..	C..	T..	C..	C..	C..	
Hap 83 A1605616 Almany	G..	C..	C..	C..	C..	T..	C..	C..	C..	
Hap 84 A1605603 Almany	G..	C..	C..	C..	C..	T..	C..	C..	C..	
Hap 85 A1605600 Avusturya	G..T..	C..	C..	C..	C..	T..	C..	C..	C..	
Hap 86 A1605610 Estonya	G..	C..	C..	C..	C..	T..	C..	C..	C..	
Hap 87 A1605611 Estonya	G..	C..	C..	C..	C..	T..	C..	C..	C..A.	
Hap 88 A1605608 Cek	G..	C..	C..	C..T..	C..	C..	T..	C..	C..	
Hap 89 A1605609 Cek	G..	C..	C..	C..	C..	T..	C..	C..	C..	
Hap 90 A1605641 Litvanya	G..	C..	C..	C..	C..	T..	C..	C..	C..	
Hap 91 A1605601 Belarus	G..	C..	C..	C..	C..	T..	C..	C..	C..	
Hap 92 A1605603 Belarus	G..	C..	C..	C..	C..	T..	C..	C..	C..	
Hap 93 A1605652 Rusya	G..	C..	A..	C..	C..	T..	C..	C..	C..	
Hap 94 A1605653 Rusya	G..	C..	A..	C..	C..	T..	C..	C..	C..	
Hap 95 A. mystacinus		T..		AT..	C..	C..	T..	C..A..T..G..T..	C..	C..A.
Hap 96 A. mystacinus		T..		A..	C..	C..	T..	C..A..T..A..T..	C..	C..A.
Hap 97 A. sylvaticus	G..T..	T..C..T..G..C..C..	C..	C..	T..	C..A..	A..	T..	C..	C..T.
Hap 98 A. sylvaticus	G..T..	T..C..T..G..C..C..	C..	C..	T..	C..A..	A..	T..	C..	C..T.
Hap 99 R. norvegicus	G..	T..C..	A..	T..T..C..C..C..A..	C..	C..	AT..A..	C..A..C..	C..	C..A.
Hap 100 R. norvegicus	G..	T..C..	A..	T..T..C..C..C..A..	C..	C..	AT..A..	C..A..C..	C..	C..A.
Hap 101 M. macedonicus	G..G..	C..C..T..C..T..T..C..C..C..A..	C..	C..A..	C..	C..	AT..G..	A..G..	C..	C..C.
Hap 102 M. domesticus	G..G..	C..C..T..C..T..T..C..C..C..A..	C..	C..A..	C..	C..	AT..A..	T..A..	C..	C..C.

	610	620	630	640	650	660	670	680	690	700
	ACTATACAATCAAGGACATCTAGGGCACTCATAATAGTACTATTCTTAATGACCCTAGTACTCTTTTCCCTGACCTCTTAGGCGACCCGTGACAACTA									
Hap 1 Bolu										
Hap 2 Killis										
Hap 3 Killis-Ordu-Rize										
Hap 4 Kirklareli-BosnaHersek	T	A	T	A	T	GTC	C	A	T	T
Hap 5 Kirklareli	T	A	T	A	T	GTC	C	A	T	T
Hap 6 Kirklareli	T	A	T	G	T	GTC	C	A	T	T
Hap 7 Kirklareli	T	A	T	T	T	GTC	C	A	T	T
Hap 8 Kirklareli	T	A	T	T	T	GTC	C	A	T	T
Hap 9 Kirklareli	T	A	T	A	T	GTC	C	A	T	T
Hap 10 Konya										
Hap 11 Konya-Samsun										
Hap 12 Konya										
Hap 13 Konya				T						
Hap 14 Burdur										
Hap 15 Samsun										
Hap 16 Artvin										
Hap 17 Artvin										
Hap 18 Artvin										
Hap 19 Artvin	C							C		
Hap 20 Corum	C									
Hap 21 Corum										
Hap 22 Corum									C	
Hap 23 Ordu	C							A		
Hap 24 Ordu										
Hap 25 Bursa	T									
Hap 26 Bursa	T								T	
Hap 27 Bursa										
Hap 28 Bursa										
Hap 29 Zonguldak										
Hap 30 Zonguldak	T	T								
Hap 31 Zonguldak										
Hap 32 Zonguldak										
Hap 33 Trabzon										
Hap 34 Giresun										
Hap 35 Erzincan										
Hap 36 Erzincan										
Hap 37 Istanbul										
Hap 38 Istanbul					T	A				
Hap 39 Istanbul										
Hap 40 Rize										
Hap 41 Rize										
Hap 42 Canakkale										
Hap 43 Canakkale			A							
Hap 44 Canakkale										
Hap 45 Canakkale										
Hap 46 AJ605667 Mugla										
Hap 47 AJ605668 Mugla-Isparta					T					
Hap 48 AJ605676 Mugla										
Hap 49 AJ605677 Mugla										
Hap 50 AJ605669 Isparta										
Hap 51 AJ605687 Iran										
Hap 52 AJ605690 Israil										
Hap 53 JF819962 Makedonya	T	A	T	T	T	GTC	C	A	T	T
Hap 54 JF819963 Makedonya	T	A	T	A	T	GTC	C	A	T	T
Hap 55 JF819964 Makedonya	T	A	T	T	T	GTC	C	A	T	T
Hap 56 AJ605642 Makedonya	T	A	T	A	T	GTC	C	A	T	T
Hap 57 JF819969 Bosna-hersek	T	A	T	A	T	GTC	C	A	T	T
Hap 58 JF819970 Bosna-hersek	T	A	T	G	T	GTC	C	A	T	T
Hap 59 AJ605646 Romanya	T	A	T	T	T	A	GTC	C	A	T
Hap 60 AJ605647 Romanya	T	A	T	T	T	A	GTC	C	A	T
Hap 61 AJ605648 Romanya	T	A	T	T	T	A	GTC	C	A	T
Hap 62 AJ605691 Yugoslavya	T	A	T	T	T	A	GTC	C	A	T
Hap 63 AJ605692 Yugoslavya	T	A	T	T	T	A	GTC	C	A	T
Hap 64 AJ605672 Trakya	T	A	T	T	T	GTC	C	A	T	T
Hap 65 AJ605673 Trakya	T	A	T	A	T	GTC	C	A	T	T
Hap 66 AJ605618 Yunanistan	T	A	T	A	T	C	GTC	C	A	T
Hap 67 AJ605619 Yunanistan	T	A	T	A	T	A	GTC	C	A	T
Hap 68 J605620 Yunanistan	T	A	T	A	T	GTC	C	A	T	T
Hap 69 AJ605622 Yunanistan	T	A	T	A	T	GTC	C	A	T	T
Hap 70 AJ605624 Yunanistan	T	A	T	A	T	GTC	C	A	T	T
Hap 71 AJ605634 Macaristan	T	A	T	A	T	GTC	C	A	T	T
Hap 72 AJ605656 Slovenya	T	A	T	A	T	GT	C	A	T	T
Hap 73 AJ605657 Slovenya	T	A	T	A	T	GTC	C	A	T	T
Hap 74 AJ311150 Italya	T	A	T	A	T	GT	C	A	T	T
Hap 75 AJ605635 Italya	T	A	T	A	T	GTC	C	A	T	T
Hap 76 AJ605640 Italya	T	A	T	A	T	GT	C	A	T	T
Hap 77 AJ311151 Fransa-Belcika	T	A	T	G	T	GTC	C	A	T	T
Hap 78 AJ298602 Fransa	CT	A	T	G	T	GTC	C	A	T	T
Hap 79 AJ605660 Ispanya	T	A	T	A	T	GTC	C	A	T	T
Hap 80 AJ605661 Ispanya	T	A	T	A	T	GTC	C	A	T	T
Hap 81 AJ605663 Isvec	T	A	T	A	T	GTC	C	A	T	T
Hap 82 AJ605664 Isvec	T	A	T	A	T	GTC	C	A	T	T
Hap 83 AJ605616 Almanya	T	A	T	A	T	GTC	C	A	T	T
Hap 84 AJ298603 Almanya	T	A	T	A	T	GTC	C	A	T	T
Hap 85 AJ605600 Avusturya	T	A	T	A	T	GTC	C	A	T	T
Hap 86 AJ605610 Estonya	T	A	T	T	T	GTC	C	A	T	T
Hap 87 AJ605611 Estonya	T	A	T	T	T	GTC	C	A	T	T
Hap 88 AJ605608 Cek	T	A	T	A	T	GTC	C	A	T	T
Hap 89 AJ605609 Cek	T	A	T	A	T	GTC	C	A	T	T
Hap 90 AJ605641 Litvanya	T	A	T	T	T	GTC	C	A	T	T
Hap 91 AJ605601 Belarus	T	A	T	T	T	C	GTC	C	A	T
Hap 92 AJ605603 Belarus	T	A	T	G	T	GTC	C	A	T	T
Hap 93 AJ605652 Rusya	T	A	T	T	T	A	GTC	C	A	T
Hap 94 AJ605653 Rusya	T	A	T	T	T	A	GTC	C	A	T
Hap 95 A. mystacinus	T	A	T	T	TAIT	T	G	A	TA	C
Hap 96 A. mystacinus	T	A	T	T	TAIT	A	T	G	A	TA
Hap 97 A. sylvaticus	T	A	T	T	T	A	TTCC	C	A	T
Hap 98 A. sylvaticus	T	A	T	T	T	A	TTCC	C	A	T
Hap 99 R. norvegicus	T	A	T	C	T	T	T	T	C	T
Hap 100 R. norvegicus	T	A	T	C	T	T	T	T	C	T
Hap 101 M. macedonicus	C	T	A	C	T	T	A	T	C	T
Hap 102 M. domesticus	A	T	A	C	T	T	A	T	C	T

	710	720	730	740	750	760	770	780	790	800	
Hap 1 Bolu	CATGCTGC	CACCCATTA	AAATACTC	CACCAACAT	CAAAACG	AATGATATT	TCCTATT	TGCATACG	CAATCCT	ACGATCTAT	CTCCTAACAAATTAGGA
Hap 2 Killis		C									
Hap 3 Killis-Ordu-Rize		C									
Hap 4 Kirkklareli-Bosnahersek	T	A		C		T		G	C		T
Hap 5 Kirkklareli	T	A		C		C		T		C	T
Hap 6 Kirkklareli	T	A		C		C		T		C	T
Hap 7 Kirkklareli	T	A		C		C		T		C	T
Hap 8 Kirkklareli	T	A		C		C		T		C	T
Hap 9 Kirkklareli	T	A		C		C		T		C	T
Hap 10 Konya		C		C		T		G	C		T
Hap 11 Konya-Samsun		C		C							
Hap 12 Konya		C									
Hap 13 Konya		C									
Hap 14 Burdur		C									
Hap 15 Samsun		C									
Hap 16 Artvin		C									
Hap 17 Artvin		C									
Hap 18 Artvin		C									
Hap 19 Artvin		C									
Hap 20 Corum		C									
Hap 21 Corum		C									
Hap 22 Corum		C									
Hap 23 Ordu		C									
Hap 24 Ordu		C									
Hap 25 Bursa		C									
Hap 26 Bursa		C									
Hap 27 Bursa		C									
Hap 28 Bursa		C									
Hap 29 Zonguldak		C									
Hap 30 Zonguldak		C									
Hap 31 Zonguldak		C									
Hap 32 Zonguldak		C									
Hap 33 Trabzon		C									
Hap 34 Giresun		C									
Hap 35 Erzincan		C									
Hap 36 Erzincan		C									
Hap 37 Istanbul		C									
Hap 38 Istanbul		C									
Hap 39 Istanbul	A		C								
Hap 40 Rize		C									
Hap 41 Rize		C									
Hap 42 Canakkale		C									
Hap 43 Canakkale		C									
Hap 44 Canakkale		C									
Hap 45 Canakkale		C									
Hap 46 AJ605667 Mugla		C									
Hap 47 AJ605668 Mugla-Isparta		C									
Hap 48 AJ605676 Mugla		C									
Hap 49 AJ605677 Mugla		C									
Hap 50 AJ605669 Isparta		C									
Hap 51 AJ605687 Iran		C									
Hap 52 AJ605690 Israil		C									
Hap 53 JF819962 Makedonya	T	A		C		C		T		G	C
Hap 54 JF819963 Makedonya	T	A		C		C		T		G	C
Hap 55 JF819964 Makedonya	T	A		C		C		T		G	C
Hap 56 AJ605642 Makedonya	T	A		C		C		T		G	C
Hap 57 JF819969 Bosna-hersek	T	A		C		C		T		G	C
Hap 58 JF819970 Bosna-hersek	T	A		C		C		T		G	C
Hap 59 AJ605646 Romanya	T	A		C		C		T		G	C
Hap 60 AJ605647 Romanya	T	A		C		C		T		G	C
Hap 61 AJ605648 Romanya	T	A		C		C		T		G	C
Hap 62 AJ605691 Yugoslavya	T	A		C		C		T		G	C
Hap 63 AJ605692 Yugoslavya	T	A		C		C		T		G	C
Hap 64 AJ605672 Trakya	T	A		C		C		T		G	C
Hap 65 AJ605673 Trakya	T	A		C		C		T		G	C
Hap 66 AJ605618 Yunanistan	T	A		C		C		T		G	C
Hap 67 AJ605619 Yunanistan	T	A		C		C		T		G	C
Hap 68 J605620 Yunanistan	T	A		C		C		T		G	C
Hap 69 AJ605622 Yunanistan	T	A		C		C		T		G	C
Hap 70 AJ605624 Yunanistan	T	A		C		C		T		G	C
Hap 71 AJ605634 Macaristan	T	A		C		C		T		G	C
Hap 72 AJ605656 Slovenya	T	A		C		C		T		G	C
Hap 73 AJ605657 Slovenya	T	A		C		C		T		G	C
Hap 74 AJ311150 Italya	T	A		C		C		T		G	C
Hap 75 AJ605635 Italya	T	A		C		C		T		G	C
Hap 76 AJ605640 Italya	T	A		C		C		T		G	C
Hap 77 AJ311151 Fransa-Belcika	T	A		C		C		T		G	C
Hap 78 AJ298602 Fransa	T	A		C		C		T		G	C
Hap 79 AJ605660 Ispanya	T	A		C		C		T		G	C
Hap 80 AJ605661 Ispanya	T	A		C		C		T		G	C
Hap 81 AJ605663 Isec	T	A		C		C		T		G	C
Hap 82 AJ605664 Isec	T	A		C		C		T		G	C
Hap 83 AJ605616 Almanyaa	T	A		C		C		T		G	C
Hap 84 AJ298603 Almanyaa	T	A		C		C		T		G	C
Hap 85 AJ605600 Avusturyaa	T	A		C		C		T		G	C
Hap 86 AJ605610 Estonya	T	A		C		C		T		G	C
Hap 87 AJ605611 Estonya	T	A		C		C		T		G	C
Hap 88 AJ605608 Cek	T	A		C		C		T		G	C
Hap 89 AJ605609 Cek	T	A		C		C		T		G	C
Hap 90 AJ605641 Litvanyaa	T	A		C		C		T		G	C
Hap 91 AJ605601 Belarus	T	A		C		C		T		G	C
Hap 92 AJ605603 Belarus	T	A		C		C		T		G	C
Hap 93 AJ605652 Rusya	T	A		C		C		T		G	C
Hap 94 AJ605653 Rusya	T	A		C		C		T		G	C
Hap 95 A. mystacinus	.CA	.G	.CC	.C	.C	.T	.T	.C	.T	.T	.C
Hap 96 A. mystacinus	.CA	.A	.CC	.CC	.C	.T	.T	.C	.T	.C	.T
Hap 97 A. sylvaticus	.T	.C	.T	.C	.C	.T	.T	.C	.T	.C	.C
Hap 98 A. sylvaticus	T	A	.C	.C	.C	.C	.T	.C	.C	.C	.C
Hap 99 R. norvegicus	T	CA	.C	.T	.CC	.C	.C	.C	.C	.T	.C
Hap 100 R. norvegicus	T	CA	.C	.T	.CC	.C	.C	.C	.C	.T	.C
Hap 101 M. macedonicus	.A	.A	.C	.C	.C	.C	.T	.T	.C	.C	.C
Hap 102 M. domesticus	.A	.A	.T	.C	.C	.C	.T	.T	.C	.C	.C

	810	820	830	840	850	860
Hap 1 Bolu	GGAGTCCTAGCCCTAATCTTATCTATCCTTATTCTTGCCCTATTACCACTTCCTCACACCTCTAAACA					
Hap 2 Killis						
Hap 3 Killis-Ordu-Rize						
Hap 4 Kirklareli-Bosnahersek		T		A		C
Hap 5 Kirklareli		T		A		C
Hap 6 Kirklareli		T		A		C
Hap 7 Kirklareli		T		A		C
Hap 8 Kirklareli		T		A		C
Hap 9 Kirklareli		T		A		C
Hap 10 Konya						
Hap 11 Konya-Samsun				C	C	
Hap 12 Konya						
Hap 13 Konya						
Hap 14 Burdur						
Hap 15 Samsun				C		
Hap 16 Artvin						
Hap 17 Artvin		T				
Hap 18 Artvin						
Hap 19 Artvin						C
Hap 20 Corum						
Hap 21 Corum						
Hap 22 Corum						
Hap 23 Ordu						
Hap 24 Ordu						
Hap 25 Bursa						
Hap 26 Bursa				C	C	
Hap 27 Bursa						C
Hap 28 Bursa						
Hap 29 Zonguldak						
Hap 30 Zonguldak						
Hap 31 Zonguldak						
Hap 32 Zonguldak						
Hap 33 Trabzon						
Hap 34 Giresun						
Hap 35 Erzincan						
Hap 36 Erzincan						C
Hap 37 Istanbul						
Hap 38 Istanbul						
Hap 39 Istanbul				C	C	
Hap 40 Rize						
Hap 41 Rize						
Hap 42 Canakkale						
Hap 43 Canakkale						
Hap 44 Canakkale						
Hap 45 Canakkale						
Hap 46 AJ605667 Mugla				C	C	
Hap 47 AJ605668 Mugla-Isparta						
Hap 48 AJ605676 Mugla						
Hap 49 AJ605677 Mugla						
Hap 50 AJ605669 Isparta						
Hap 51 AJ605687 Iran						
Hap 52 AJ605690 Israil						
Hap 53 JF819962 Makedonya		T		A		C
Hap 54 JF819963 Makedonya		T		A		C
Hap 55 JF819964 Makedonya		T		A		C
Hap 56 AJ605642 Makedonya		T		A		C
Hap 57 JF819969 Bosna-hersek	A	T		A		C
Hap 58 JF819970 Bosna-hersek	T	T		A		C
Hap 59 AJ605646 Romanya		T		A		A
Hap 60 AJ605647 Romanya	T	T		A		A
Hap 61 AJ605648 Romanya	T	T		A	A	A
Hap 62 AJ605691 Yugoslavya		T		A		A
Hap 63 AJ605692 Yugoslavya		T		A		A
Hap 64 AJ605672 Trakya		T		A		C
Hap 65 AJ605673 Trakya		T		A		C
Hap 66 AJ605618 Yunanistan		T		A		C
Hap 67 AJ605619 Yunanistan		T		A		C
Hap 68 J605620 Yunanistan		T		A		C
Hap 69 AJ605622 Yunanistan		T		A		C
Hap 70 AJ605624 Yunanistan		T		A	C	C
Hap 71 AJ605634 Macaristan		T		A		C
Hap 72 AJ605656 Slovenya				A		C
Hap 73 AJ605657 Slovenya		T		A		C
Hap 74 AJ311150 Italya		T		A		C
Hap 75 AJ605635 Italya		TC		A		C
Hap 76 AJ605640 Italya		T		A		C
Hap 77 AJ311151 Fransa-Belcika		T		A		C
Hap 78 AJ298602 Fransa		T		A		C
Hap 79 AJ605660 Ispanya		T		A		C
Hap 80 AJ605661 Ispanya		T		A		C
Hap 81 AJ605663 Ispanya		T		A		C
Hap 82 AJ605664 Ispanya		T		A		C
Hap 83 AJ605616 Almanya		T		A		C
Hap 84 AJ298603 Almanya		T		A		C
Hap 85 AJ605600 Avusturya		T		A		C
Hap 86 AJ605610 Estonya		T		A		C
Hap 87 AJ605611 Estonya		T		A		C
Hap 88 AJ605608 Cek		T		A		C
Hap 89 AJ605609 Cek		TC		A		C
Hap 90 AJ605641 Litvanya		T		A		C
Hap 91 AJ605601 Belarus		T		A		C
Hap 92 AJ605603 Belarus		T		A		C
Hap 93 AJ605652 Rusya		T		A		A
Hap 94 AJ605653 Rusya		T		A		A
Hap 95 A. mystacinus		C	TC	A	A	T
Hap 96 A. mystacinus		TC	A	A	A	T
Hap 97 A. sylvaticus		G	TC	A	A	T
Hap 98 A. sylvaticus		G	TC	A	A	T
Hap 99 R. norvegicus		G		A	CT	A
Hap 100 R. norvegicus		G		A	CT	A
Hap 101 M. macedonicus		T	C	A	T	A
Hap 102 M. domesticus		T	T	A	A	T

EK 2 Pseudogen ve sitokrom *b* bölgesine ait dizilerin karşılaştırılması

	10	20	30	40	50	60	70	80
2885 Kilis pseudogen	AGGAGCAAC	-AGTAATTACAACTTACTATCAGCAATCCC	-ATACA	-TCGGAAC	TA-CCCTAGTAGAATGAATCTGAGG			
2885 Kilis sitokrom b		TC..T.....		T.....		G.....		
2384 Kırklareli pseudogen	G.....	A.....		C.....				
2384 Kırklareli sitokrom b	..G.....	TC..T.....	T.....		G.....			
2582 Konya pseudogen	G.....	C.....	T.....	G.....	C.ATC.....		CT.....	G.....
2582 Konya sitokrom b		TC..T.....		T.....	T.....		G.....	
2603 Burdur pseudogen								
2603 Burdur sitokrom b		TC..T.....		T.....			G.....	
3400 Artvin pseudogen		C.....	C.....	C.....	T..TT..T..C.....	-CAC.....	C.....	G.....G.....
3400 Artvin sitokrom b		TC..T.....		T.....			G.....	
3428 Ordu pseudogen							G.....	
3428 Ordu sitokrom b		TC..T.....		T.....	T.....		G.....	
3685 Bursa pseudogen								G.....
3685 Bursa sitokrom b		TC..T.....		T.....			G.....	
3748 Zonguldak pseudogen						CTA.....		
3748 Zonguldak sitokrom b		TC..T.....		T.....	T.....		G.....	
3909 Trabzon pseudogen								
3909 Trabzon sitokrom b		TC..T.....		T.....				
3911 Giresun pseudogen		-CAGT.A.T.....	CA.....		C.....	T.....		
3911 Giresun sitokrom b		TC..T.....		T.....			G.....	
5271 Erzincan pseudogen		C.C.....	-CA.T.....	C.....	CT..CT.....	T..C..CA	-TCG.A.CT..C..TAGT.....	G.....G.....
5271 Erzincan sitokrom b		TC..T.....		T.....			G.....	
4003 İstanbul pseudogen	G..G.....	-GT.....	C.....			A.....	CTA.....	
4003 İstanbul sitokrom b		TC..T.....		T.....			G.....	
	90	100	110	120	130	140	150	160
2885 Kilis pseudogen	AGGATTCTCAGTAG	-ACAAAGCTACACTAACACGTTTTTCG	-CTTTTCACTTT	-ATTCTTCCATTTCATTACC	-GCC			
2885 Kilis sitokrom b		T.....		C.....		CT.A.....		
2384 Kırklareli pseudogen		A.....	C.C.....		-C.....		GC..	
2384 Kırklareli sitokrom b		T.....		C..T.....	C..C.....	CT.A.....	G.....	
2582 Konya pseudogen	..G..G.....		T.....	C.....	CT..C.....	A-T.CT.....	A.....	G.....
2582 Konya sitokrom b		T.....		C.....		CT.A.....		
2603 Burdur pseudogen								
2603 Burdur sitokrom b		T.....		C.....		CT.A.....		
3400 Artvin pseudogen		T.....		ATC..C.....		C.....	C.....	T.....CA.....CC..
3400 Artvin sitokrom b		T.....		C.....		C.....	CT.A.....	
3428 Ordu pseudogen					CG.....		A.....	G.....
3428 Ordu sitokrom b		T.....		C.....		C.....	CT.A.....	
3685 Bursa pseudogen	..GG.....	T.....						
3685 Bursa sitokrom b		T..G.....		C.....		CT.A.....		
3748 Zonguldak pseudogen	..G.....		A.....		-C.C.....	A.....	CT.C.....	C.....CA.....-CG.
3748 Zonguldak sitokrom b		T.....		C.....		C.....	CT.A.....	
3909 Trabzon pseudogen		T.....		C.....		C.....		C.....
3909 Trabzon sitokrom b		T.....		C.....		C.....	CT.A.....	
3911 Giresun pseudogen			C.....		C.....	A.....	A.....	C.....T.....
3911 Giresun sitokrom b		T.....		C.....		C.....	CT.A.....	
5271 Erzincan pseudogen	G..G..T.....	G.....		C.....	CACT..AT.CT..	A.....	C.....	CA.T..C...
5271 Erzincan sitokrom b		T.....		C.....	A.....	C.....	CT.A.....	
4003 İstanbul pseudogen				C.....			A..C.....	-G.....
4003 İstanbul sitokrom b		T.....		C.....		C.....	CT.A.....	
	170	180	190	200	210	220	230	240
2885 Kilis pseudogen	CTAGTAGTTGT	-CCACCTTTTATTTCTTC	-ACGAAACTGGGTCAAATAATCCCACAGGCC	TTAATT	CAGATGCCGATAAA			
2885 Kilis sitokrom b		A.....		T.....		C.....	C.....	
2384 Kırklareli pseudogen	T.....	G.....				AC.....		
2384 Kırklareli sitokrom b		A.C.....	T..CC.....	C.....	T.....	A.....	C.....	C.....C.....
2582 Konya pseudogen		T.....		C.....		C.....	AT..G.....	C.....GA.G.....
2582 Konya sitokrom b		A.....		T..CC.....		T.....	A.....	C.....C.....
2603 Burdur pseudogen		A.....						
2603 Burdur sitokrom b		A.....		T..T..CC.....		T.....	A.....	C.....C.....
3400 Artvin pseudogen		A.....		T.C.....	C.....	T.....	C.....	A.A.....
3400 Artvin sitokrom b		A.....		T..CC.....		T.....	A.....	C.....C.....
3428 Ordu pseudogen		G.....						A.....
3428 Ordu sitokrom b		A.....		T..CC.....		T.....	A.....	C.....C.....
3685 Bursa pseudogen		A.....		T.....		C.....		
3685 Bursa sitokrom b		A.....		T..CC.....		T.....	A.....	C.....C.....
3748 Zonguldak pseudogen	..A.A.....	T.C.....	A..TC.....	C..G.....	G.....	AT..T.....	C.....	C.....A..C.GA.A.....A.....
3748 Zonguldak sitokrom b		A.....		T..CC.....		T.....	A.....	C.....C.....


```

3909 Trabzon pseudogen      .....A.....T..C.....C.....A.....A.....C.....
3909 Trabzon sitokrom b     ....A.....T..CC.....T.....A.....C.....C.....
3911 Giresun pseudogen      ..AG.....C.....C..G..C.....AT..T.....A.....A.....
3911 Giresun sitokrom b     .....A.C.....T..CC.....C..T.....A.....C.....C.....
5271 Erzincan pseudogen    .....GAA..T.....C.....
5271 Erzincan sitokrom b   .....A.....T..CC.....T.....A.....C.....C.....
4003 Istanbul pseudogen    .....A.....T.....C.....A.....A.A.....
4003 Istanbul sitokrom b   .....A.....T..CC.....T.....A.....C.....C.....

      250      260      270      280      290      300      310      320
.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
2885 Killis pseudogen      ATCCCATTTACCCATACTATACAATTAAGACATCCTAGGTGTGCTCATAATAGTCTCATTCCATAAACCCTAGTCCT
2885 Killis sitokrom b     ..T.....G.....C..G.....C.CA.....ACT...T.....A..
2384 Kirklareli pseudogen  .....T.....T.....T.....T.....T.....T.....T.....
2384 Kirklareli sitokrom b ..T.....G.....T.....A..A.....G.....T.....T.....
2582 Konya pseudogen       ..T..CA.....ATA..AT..A.....G..AT.....G...G.....A.T..CA.T.....A...
2582 Konya sitokrom b     ..T.....G.....C..G.....C.CA.....ACT...T.....A..
2603 Burdur pseudogen     ..T.....G.C.....A.T.....T.....
2603 Burdur sitokrom b    ..T.....G.....C..G.....C.CA.....ACT...T.....A..
3400 Artvin pseudogen     ..T..C.C.....C.TA..T.....C.....G.G.G.....A.T.....
3400 Artvin sitokrom b    ..T.....G.....C..G.....C.CA.....ACT...T.....A..
3428 Ordu pseudogen       ..T.....C.....G.C.....T.....A.....
3428 Ordu sitokrom b     ..T.....G.....C..G.....C.CA.....ACT...T.....A..
3685 Bursa pseudogen      ..T.....C.C.....A.....
3685 Bursa sitokrom b     ..T.....C..G.....C.CA.....ACT...T.....A..
3748 Zonguldak pseudogen  ..T..CA.....CATA..AT.C.A.....AG.C.T.....G.GTG.....A.T..CA.T.....A.T.C
3748 Zonguldak sitokrom b ..T.....G.....C..G.....C.CA.....ACT...T.....A..
3909 Trabzon pseudogen    ..T.....C.....C.....C.C.....A.T.....T.....
3909 Trabzon sitokrom b   ..T.....G.....C..G.....C.CA.....ACT...T.....A..
3911 Giresun pseudogen    ..T..C.....C..A..AT.....C.....T.....G..G.....A.....A.....T.....
3911 Giresun sitokrom b   ..T.....G.....C..G.....C.CA.....ACT...T.....A..
5271 Erzincan pseudogen   ..T.....C.....A.....C.....G.C.....T.....
5271 Erzincan sitokrom b  ..T.....G.....C..G.....C.CA.....ACT...T.....A..
4003 Istanbul pseudogen  ..T..C.....T...T.....G.G.G.....A.T..CA.....T.....
4003 Istanbul sitokrom b  ..T.....T..G.....C..G.....C.CA.....ACT...T...G.....A..

      330      340      350      360      370      380      390      400
.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
2885 Killis pseudogen      TTTTTCAGATCTACTAGGTGATCCAGACA-CTACATGCCTGCCAACCCACTAAATACTCCGCCACACATCAAACCAG
2885 Killis sitokrom b     C.....C..T..C.....C..C..T..A.....A.....
2384 Kirklareli pseudogen  .....T.....T.....T.....
2384 Kirklareli sitokrom b C..C..C.....C..T.....C..G...A..T..A.....C..A.....T.....
2582 Konya pseudogen       .....T.....
2582 Konya sitokrom b     C..C..C..T..C.....C..C..T..A.....C..A.....
2603 Burdur pseudogen     .....G.....T..A.....
2603 Burdur sitokrom b    C.....C..T..C.....C..C..T..A.....A.....
3400 Artvin pseudogen     .....A.....
3400 Artvin sitokrom b    C.....C..T..C.....C..C..T..A.....A.....
3428 Ordu pseudogen       .....A.....T.....
3428 Ordu sitokrom b     C.....C..T..C.....C..C..T..A.....A.....
3685 Bursa pseudogen      .....A.....
3685 Bursa sitokrom b     C.....C..T..C.....C..T..A.....A.....
3748 Zonguldak pseudogen  .....A.....T.....
3748 Zonguldak sitokrom b C.....C..T..C.....C..C..T..A.....A.....
3909 Trabzon pseudogen    C.....C.....A.....
3909 Trabzon sitokrom b   C.....C..T..C.....C..C..T..A.....A.....
3911 Giresun pseudogen    .....T.....A.....C..C.C.....
3911 Giresun sitokrom b   C.....C..T..C.....C..C..T..A.....A.....
5271 Erzincan pseudogen   .....G.....A.....T.....
5271 Erzincan sitokrom b  C.....C..T..C.....C..C..T..A.....A.....
4003 Istanbul pseudogen  .....A.....T.....
4003 Istanbul sitokrom b  C.....C..T..C.....C..C..T..A.....T.....A.....

      410      420      430      440      450      460      470      480
.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
2885 Killis pseudogen      AATGATACTTCCTATTCGGCTACGCAATCCTACGATCCATCCCTAATAAACTAGGTGGGGTTCTAGCTCTAATCTTATCT
2885 Killis sitokrom b     .....T.....T..A.....T.....C...T.....A..A..C.....
2384 Kirklareli pseudogen  .....T.....T.....T.....C...T.....A..C.....C.....T.....
2384 Kirklareli sitokrom b ..G.....T..A.....T.....C...T.....A..C.....C.....T.....
2582 Konya pseudogen       .....T.....T.....T.....C...T.....A..A..C.....C.....
2582 Konya sitokrom b     .....T.....T..A.....T.....C...T.....A..A..C.....C.....

```

2603 Burdur pseudogen	T.....T..A.....T.....T....A..A..C....C.....
2603 Burdur sitokrom b	T.....T..A.....T.....T....A..A..C....C.....
3400 Artvin pseudogen	T.....T..A.....T.....C...T....A..A..C....C.....
3400 Artvin sitokrom b	T.....T..A.....T.....C...T....A..A..C....C.....
3428 Ordu pseudogen	T.....T..A.....T.....C...T....A..A..C....C.....
3428 Ordu sitokrom b	T.....T..A.....T.....C...T....A..A..C....C.....
3685 Bursa pseudogen	T.....T..A.....T.....C...T....A..A..C....C.....
3685 Bursa sitokrom b	T.....T..A.....T.....C...T....A..A..C....C.....
3748 Zonguldak pseudogen	T.....T..A.....T.....C...T....A..A..C....C.....
3748 Zonguldak sitokrom b	T.....T..A.....T.....C...T....A..A..C....C.....
3909 Trabzon pseudogen	T.....T..A.....T.....C...T....A..A..C....C.....
3909 Trabzon sitokrom b	T.....T..A.....T.....C...T....A..A..C....C.....
3911 Giresun pseudogen	T.....T..A.....T.....C...T....A..A..C....C.....
3911 Giresun sitokrom b	T.....T..A.....T.....C...T....A..A..C....C.....
5271 Erzincan pseudogen	T.....T..A.....T.....C...T....A..A..C....C.....
5271 Erzincan sitokrom b	T.....T..A.....T.....C...T....A..A..C....C.....
4003 Istanbul pseudogen	T.....T..A.....T.....C...T....A..A..C....C.....
4003 Istanbul sitokrom b	T.....T..A.....T.....C...T....A..A..C....C.....
490 500 510 520	
2885 Kilis pseudogen	ATTCTAATCCTAGCCCTATTACCATTTCTTCACACCTCCAAACA
2885 Kilis sitokrom b	..C..T..T..T.....C.....T.....
2384 Kırklareli pseudogen	C.....T.....
2384 Kırklareli sitokrom b	..C..T..T.....C..C.....T.....
2582 Konya pseudogen	C.....T.....
2582 Konya sitokrom b	..C..T..T..T.....C.....T.....
2603 Burdur pseudogen	C.....T.....
2603 Burdur sitokrom b	..C..T..T..T.....C.....T.....
3400 Artvin pseudogen	C.....T.....
3400 Artvin sitokrom b	..C..T..T..T.....C.....T.....
3428 Ordu pseudogen	C.....T.....
3428 Ordu sitokrom b	..C..T..T..T.....C.....T.....
3685 Bursa pseudogen	C.....T.....
3685 Bursa sitokrom b	..C..T.....C.....C.....T.....
3748 Zonguldak pseudogen	C.....T.....
3748 Zonguldak sitokrom b	..C..T..T..T.....C.....T.....
3909 Trabzon pseudogen	C.....T.....
3909 Trabzon sitokrom b	..C..T..T..T.....C.....T.....
3911 Giresun pseudogen	C.....T.....
3911 Giresun sitokrom b	..C..T..T..T.....C.....T.....
5271 Erzincan pseudogen	C.....T.....
5271 Erzincan sitokrom b	..C..T..T..T.....C.....T.....
4003 Istanbul pseudogen	C.....T.....
4003 Istanbul sitokrom b	..C..T..T..T.....C.....T.....

EK 3 Mikrosatellit lokuslarına ait allel büyüklükleri

Örnek no	GTTF9A	MSAF22	GTTD9A	GTTD8S	GATAE10A	MSAF8	GACAA12A
2129	92-98	136-145	207-211	100-107	216-216	134-143	250-262
2178	90-96	123-129	207-217	100-107	216-216	000000	262-262
2885	92-98	119-131	210-214	100-107	216-216	134-138	262-262
2384	91-97	000000	207-211	101-108	216-216	107-152	246-246
2385	92-97	131-149	198-211	104-111	216-216	141-141	246-255
2386	92-97	127-152	204-207	100-108	202-216	156-156	246-255
2387	92-97	131-140	207-211	101-108	216-216	107-156	245-255
2389	92-97	132-144	195-207	101-113	216-216	107-156	245-255
6752	92-97	127-136	211-214	101-113	216-216	150-156	245-255
2582	92-98	125-131	211-211	99-108	203-216	133-159	262-262
2583	92-98	129-140	197-211	104-111	216-216	134-150	250-262
2584	92-98	125-149	197-214	110-110	216-216	136-159	250-262
2585	92-98	127-152	200-219	99-108	203-216	141-150	250-262
2586	92-98	121-121	197-214	99-108	216-216	124-139	262-262
2603	92-98	131-136	211-214	99-108	203-216	145-152	250-262
2851	92-98	129-144	210-214	100-108	216-216	134-139	250-262
2852	92-98	121-136	204-211	100-107	216-216	139-167	262-262
3379	92-98	121-131	211-211	110-110	216-216	161-161	250-262
3400	92-98	119-135	210-214	110-110	216-216	130-130	250-262
3447	92-98	127-133	210-214	104-110	216-216	131-150	250-262
3448	92-98	135-135	204-214	110-110	216-216	131-161	250-262
3790	93-98	123-134	211-211	100-108	216-216	148-161	250-262
5657	91-96	119-135	204-207	104-110	203-216	131-143	250-262
5702	91-97	125-143	207-211	100-107	203-216	148-154	250-262
3452	93-98	125-152	211-211	104-110	216-216	148-154	262-262
3453	92-98	129-136	207-211	104-110	216-216	161-161	250-262
3454	92-98	121-125	204-211	104-110	216-216	154-154	262-262
3455	98-98	129-136	207-207	110-110	216-216	145-158	250-262
2839	92-98	117-117	211-224	100-108	216-216	138-150	250-262
3428	92-98	127-127	211-211	104-110	216-216	130-141	250-262
3471	93-98	123-129	197-211	110-110	216-216	139-152	250-262
3472	93-98	129-133	204-211	104-110	216-216	138-145	250-262
3473	93-98	123-129	211-211	110-110	216-216	130-136	262-262
3670	92-98	121-129	204-207	104-110	216-216	126-136	250-262
3677	92-98	125-135	211-211	104-110	216-216	143-161	250-262
3685	91-97	121-134	197-211	104-110	216-216	141-166	262-262
3695	92-98	129-134	214-217	104-110	203-216	146-163	250-262
3696	92-98	121-132	214-217	104-110	216-216	139-143	250-262
3671	92-98	117-129	207-211	110-110	216-216	139-139	250-262
3709	93-98	129-129	211-211	104-110	216-216	141-156	262-262

3710	98-98	125-129	211-211	104-110	216-216	136-148	262-262
3734	92-98	125-134	210-214	104-110	216-216	000000	262-262
3748	92-98	129-129	214-217	104-110	216-216	133-141	250-262
3909	92-98	127-127	211-211	104-110	216-216	141-148	250-262
3911	92-98	133-133	211-211	110-110	216-216	139-154	250-262
5271	91-97	119-136	211-211	104-110	216-216	133-145	250-262
5272	93-98	136-136	211-211	104-110	216-216	133-158	250-262
5273	92-98	115-136	207-211	104-110	216-216	130-130	250-262
5274	91-97	127-136	207-211	110-110	216-216	133-148	262-262
5275	92-98	127-136	207-211	104-110	203-216	133-158	250-262
5283	93-98	127-136	207-211	100-108	203-216	133-158	250-262
4003	92-98	125-133	207-211	104-110	216-216	143-152	250-262
4004	92-98	127-136	200-211	104-110	216-216	139-139	262-262
4005	92-98	125-136	197-211	104-110	216-216	169-169	250-262
4008	92-98	125-125	211-211	104-110	216-216	141-152	250-262
5295	93-98	125-125	211-211	100-107	203-216	139-146	250-262
5297	93-98	115-127	197-211	104-110	203-216	146-154	250-262
5347	93-98	119-134	211-211	104-110	216-216	000000	250-262
5298	93-98	119-119	214-217	104-110	216-216	144-167	262-262
7212	92-98	123-127	214-221	100-108	216-216	000000	262-262
7213	92-98	127-140	000000	104-110	203-216	130-136	250-262
7241	92-98	123-127	200-214	110-110	216-216	000000	262-262
7248	98-98	123-127	197-211	110-110	216-216	000000	262-262

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı: Dilek BETEŞ

Doğum Yeri: Balıkesir

Doğum Tarihi: 18.10.1984

Medeni Hali: Bekâr

Yabancı Dili: İngilizce

Eğitim Durumu

Lise: Edremit Yabancı Dil Ağırlıklı Lisesi (2002)

Lisans: Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü (2007)

Yüksek Lisans: Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı (Ocak 2010)

Yayınlar (SCI)

Beteş, D., Çolak, R., Karacan, G. O, Kandemir, İ., Kankılıç, T. ve Çolak, E. 2014. Population genetic variability of *Myodes glareolus* (Schreber, 1780) (Mammalia: Rodentia) distributed in Northern Anatolia revealed by RAPD-PCR analysis. Acta Zoologica Bulgarica, 66(1): 31-37.

Çolak, E., **Beteş D.**, Yiğit, N., Çolak, R., Özkurt Ş. Ö., Kankılıç, T. ve Kankılıç, T. 2016. Allozyme variability of the genus *Mus* L., 1758 (Mammalia: Rodentia) in Turkey. Turkish Journal of Zoology, 39: (Basım aşamasında)

Uluslararası Kongre Sunum

Beteş, D., Çolak, R., Karacan, G., Kandemir, İ., Kankılıç, T. ve Çolak E. Molecular phylogeny of *Myodes glareolus* distributed in Northern Anatolia inferred from RAPD-PCR. 16th Evolutionary Biology Meeting at Marseilles, 18-21 September 2012. Abstract Book, p. 124, Fransa (Sözlü+Poster sunumu)

Ulusal Kongre Sunum

Beteş, D., Çolak, R. ve Çolak, E. Türkiye *Apodemus flavicollis* (Melchior, 1834) (Mammalia: Rodentia) Populasyonlarının MtDNA (Sitokrom *b*) Dizi Analizi. 22. Ulusal Biyoloji Kongresi 23-27 Haziran 2014. Bildiri Özet Kitabı, s. 1648, Eskişehir (Poster sunumu).

Çolak, E., **Beteş, D.**, Yiğit, N., Çolak, R., Özkurt, Ş. Ö., Kankılıç, T. ve Kankılıç T. Türkiye’ deki *Mus domesticus* ve *Mus macedonicus* (Mammalia: Rodentia)’un Allozim Varyasyonları. 6. Ekoloji Sempozyumu, 6-9 Mayıs 2015. Bildiri Özet Kitapçığı s. 199, Sinop (Poster sunumu).

