KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Myotis myotis (Borkhausen, 1797) ve *Myotis blythii* (Tomes, 1857) (Mammalia: Chiroptera) Türlerinin Moleküler Karakterizasyonu

Meryem GENÇ

TEMMUZ 2015

Biyoloji Anabilim Dalında Meryem GENÇ tarafından hazırlanan *Myotis myotis* (Borkhausen, 1797) ve *Myotis blythii* (Tomes, 1857) (Mammalia:Chiroptera) türlerinin moleküler karakterizasyonu adlı Yüksek Lisans Tezinin Anabilim Dalı standartlarına uygun olduğunu onaylarım.

Prof. Dr. İlhami TÜZÜN
Anabilim Dalı Başkanı

Bu tezi okuduğumu ve tezin **Yüksek Lisans Tezi** olarak bütün gereklilikleri yerine getirdiğini onaylarım.

Doç. Dr. Ayten ÇELEBİ KESKİN
Ortak Danışman

Doç. Dr. Nursel AŞAN BAYDEMİR
Danışman

Jüri Üyeleri
Başkan : Yrd. Doç. Dr. Nahit PAMUKOĞLU
Üye (Danışman) : Doç. Dr. Nursel AŞAN BAYDEMİR
Üye : Yrd. Doç. Dr. Tuba YAĞCI

...../...../.....

Bu tez ile Kırıkkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu Yüksek Lisans derecesini onaylamıştır.

Prof. Dr. Mustafa YİĞİTOĞLU
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ÖZET

MYOTİS MYOTİS (BORKHAUSEN, 1797) VE *MYOTİS BLYTHİİ* (TOMES, 1857) (MAMMALİA: CHİROPTERA) TÜRLERİNİN MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONU

GENÇ, Meryem

Kırıkkale Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Doç. Dr. Nursel AŞAN BAYDEMİR

Ortak Danışman: Doç. Dr. Ayten ÇELEBİ KESKİN

Temmuz 2015, 71 sayfa

Myotis cinsi Holoarktik bölgede 103 türle temsil edilmektedir. Bu türlerden *Myotis myotis* (Borkhausen, 1797) ve *Myotis blythii* (Tomes, 1857) iki sibling tür olup halen taksonomik durumları ve kesin yayılışları hakkında eksik bilgi bulunmaktadır. Morfolojik ve karyolojik olarak birbirlerine çok fazla benzeyen bu iki türün ayrımı halen belirsizlik göstermektedir. Ayrıca bu iki türün yayılış alanlarının da ortak olması birbirlerinden ayrımlarını daha da zorlaştırmaktadır.

Türkiye'de 39 yarasa türü bulunmaktadır. Bunlardan 1 tanesi meyve ile beslenirken 38 tanesi böcekle beslenmektedir. Türkiye'de *Motis* cinsi 10 türle temsil edilmektedir.

Her iki sibling tür çeşitli araştırıcılar tarafından Türkiye'de taksonomik, karyolojik ve moleküler yönden çalışılmıştır. Moleküler açıdan genetik olarak

mikrosatellit, mitokondrial DNA (mtDNA) ve sitokrom b'leri çalışılmıştır. Buna karşılık, Türkiye'de PCR- bazlı RAPD tekniği ile moleküler karakterizasyonu yapılmamıştır.

Bu çalışmada PCR-bazlı RAPD tekniği ile iki sibling türün DNA profilleri belirlenerek genetik bakımdan farklı olup olmadıklarına incelenmiştir. Sekiz primer ile 85 farklı bant elde edilmiştir. Toplam 85 bantın 74'ü polimorfik çıkmıştır. Türler arasındaki genetik uzaklıklar NTSYS istatistik programı kullanılarak hesaplanmış ve türler arasındaki filogenetik ilişkiyi gösteren dendrogram oluşturulmuştur. Bu sonuçlara göre *Myotis myotis* ve *Myotis blythii* ikifarklı gruba ayrılmıştır.

Bu çalışma Palearktik bölgedeki her iki türün taksonomisine katkı sağlayacaktır.

Anahtar Kelimeler : *Myotis myotis, Myotis blythii,* PCR- bazlı RAPD tekniği, DNA profili, taksonomi, sistematik, evrim, yayılış, sibling tür, Palearktik

ABSTRACT

MOLECULAR CHARACTERİZATİON OF *MYOTİS MYOTİS* (BORKHAUSEN, 1797) VE *MYOTİS BLYTHİİ* (TOMES, 1857) (MAMMALİA: CHİROPTERA)

GENÇ, Meryem

Kırıkkale University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Biology, Master of Science Thesis

Supervisor : Assoc. Prof. Dr. Nursel AŞAN BAYDEMİR

Co Supervisor : Assoc. Prof. Dr. Ayten ÇELEBİ KESKİN

July 2015, 71 pages

The genus *Myotis* is represented by 103 species in the Holoarctic region. Two of them, *Myotis myotis* (Borkhausen, 1797) and *Myotis blythii* (Tomes, 1857) are sibling species and their taxonomic status and exact distribution are still lacked of knowledge. Due to resembling morphologically and karyologically, the separation of both species is still uncertain. In addition, both species lives sympatrically therefore, the separation becomes more difficult.

Totally, 39 bat species are distributed in Turkey. One of them is frugivorous while the others are insectivorous. The genus *Myotis* is represented by 10 species in the country.

Both species are examined with regard to taxonomical, karyological and molecular pecularities by various authors in Turkey. Microsatellites, mitochondrial

DNA (mtDNA) and cytochrome *b* of both sibling species are studied whereas, the PCR-based RAPD technique has not been achieved yet in Turkey.

In this study, the genetic profiles of both species were determined by PCR-based RAPD technique and the species are examined whether both are genetically different or not. Eighty-five bands were obtained by using 8 primers. The genetic distance between both species was calculated using NTSYS statistical programme and a phylogenetic relationship between both sibling species was indicated by a dendogram. According to the results *Myotis myotis* and *M.blythii* are seperated distinctly into two clusters.

The results of this study will make a contribution to the taxonomy of both sibling species in the Palearctic region.

Key Words: *Myotis myotis, Myotis blythii*, PCR-based RAPD technique, DNA profile, Taxonomy, Systematic, Evolution, Distribution, Sibling species, Palearctic region, Western Anatolia, Turkey

TEŞEKKÜR

Tezimin hazırlanması esnasında hiçbir yardımı esirgemeyen ve biz genç araştırmacılara büyük destek olan, bilimsel deney imkanlarını sonuna kadar bizlerin hizmetine veren, tez yöneticisi hocam, Sayın Doç. Dr. Nursel AŞAN BAYDEMİR' e tez çalışmalarım esnasında, bilimsel konularda daima yardımını gördüğüm hocam, Sayın Doç. Dr. Ayten ÇELEBİ KESKİN'e, maddi katkılarından dolayı Kırıkkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi (BAP) (2014-31 nolu proje)'ne büyük fedakarlıklarla bana destek olan arkadaşım tezimin birçok aşamasında yardım gördüğüm Ayşe Merve KARÖZ, Merve ŞİMŞEK GÜR, Deniz ATASOY ve Alev GÜNEŞ'e ayrıca tez süresince maddi ve manevi yanımda olan annem Senem GENÇ'e teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

Sayfa

ÖZET …… i

ABSTRACT ……..iii

TEŞEKKÜR ……...v

İÇİNDEKİLER DİZİNİ ……..……..vi

ŞEKİLLER DİZİNİ ……viii

ÇİZELGELER DİZİNİ ……..……xiii

KISALTMALAR DİZİNİ ……..…….xiv

1. GİRİŞ ……..……1

1.1. Yangochiroptera ……...……3

1.2. Yinpterochiroptera ……...…….……4

1.3. Sistematik ……..…….……10

1.4. *Myotis myotis* ve *Myotis blythii* türlerinin biyolojisi, ekolojisi ve yayılışları

……11

1.4.1. Tür : *Myotis myotis* (Borkhausen, 1797) ……..12

1.4.2. Tür : *Myotis blythii* (Tomes, 1857) ……...…….15

1.5. Rastgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA (RAPD) …….……17

2. MATERYAL VE METOD ……...…….21

2. 1. Moleküler çalışma ……..……28

3. SONUÇ VE TARTIŞMA ……..……..33

3. 1. *Myotis myotis* (Borkhausen, 1797) ……...……..33

3. 1. 1. Ayırıcı özellikler ……33

3. 1. 2. Kürk rengi ……..34

3. 1. 3. Örneklerin alındığı iller ……..……35

3. 2. *Myotis blythii* (Tomes, 1857) …….37

3.2.1. Ayırıcı özellikler ……..……37

3. 2. 2. Kürk rengi ……..……39

3. 2. 3 Örneklerin alındığı iller …….……40

3.3. Moleküler çalışmalar …….……..……43

KAYNAKLAR 62

ŞEKİLLER DİZİNİ

ŞEKİL Sayfa

1. 1. Gen sekans analizine göre dört ana klada ayrılmış plasentalı memeli takımları(Harris2016'danalınmıştır)http://www.mhhe.com/biosci/pae/zoology/animalphylogenetics/index.mhtml 2

1. 2. Yeni sınıflandırmaya göre Chiroptera takımı ……..…….…..4

1. 3. A.B.D'de bulunan fosil yarasa türleri A. *Icaronycteris index*, B. *Onychonycteris finneyi* (http://www.nps.gov/media/photo/gallery.htm) 6

1. 4. Vespertilionidae familyasının yayılış alanı (http://tolweb.org/Vespertilionidae/16140) …….7

1. 5. IUCN Kırmızı Liste (2008)'e göre palearktik bölgede Farekulaklı büyük yarasanın yayılışı (http://maps.iucnredlist.org/map.html?id=14133) (IUCN, 2016) …….13

1. 6. *Myotis myotis* bireyleri tarafından oluşturulan dişi koloni ……..…..13

1. 7. Türkiye'de *Myotis myotis* ve *Myotis blythii* türlerinin Aşan vd. (2011)'a göre yayılışları (Kırmızı noktalar: *Myotis myotis*, yeşil noktalar: *Myotis blythii*) ……..……...15

1. 8. IUCN Kırmızı Liste (2008)'e göre Palearktik bölgede farekulaklı küçük yarasanın yayılışı (http://maps.iucnredlist.org/map.html?id=14133) (IUCN, 2016) ……..16

1. 9. Rastgele çoğaltılmış polimorfik DNA tekniği
(Abed vd. 2005'den değiştirilerek) ……..19
2. 10. *Myotis myotis* bireylerinin oluşturduğu yaz kolonisi ……..……....….21
2. 11. *Myotis blythii* bireylerinin oluşturduğu yaz kolonisi ……....….22
2. 12. *Myotis myotis* bireylerinin alındığı Konya ilindeki mağaranın girişi ……..23
2. 13. *Myotis myotis* bireylerinin alındığı Muğla ili Milas ilçesindeki
mağaranın girişi ……..……..23
2. 14. *Myotis blythii* bireylerinin alındığı Kırıkkale ili Keskin ilçesindeki
tünelin girişi …….…….……...24
2. 15. Erkek bir örneğin kumpas ile önkol uzunluğunun alınması ……..…….25
2. 16. Laboratuvara getirilen ve DNA'sı izole edilen örneklerin kafataslarının
ölçüm için temizlenmesi …….26
2. 17. Edirne ilinden alınan *Myotis myotis* türüne ait ergin bir
erkek birey……...…….27
2. 18. Kırıkkale ilinden alınan *Myotis blythii* türene ait genç erkek bir birey …….27
2. 19. Genomik DNA izolasyonu ile elde edilen *Myotis myotis*
türüne ait DNA …….……31
3. 20. Kırıkkale ilinden alınan bir *Myotis myotis* örneği …….……..33
3. 21. *Myotis myotis* türünün bakulumlarında görülen varyasyon (Albayrak ve Aşan
2001'den alınmıştır) …….34
3. 22. *Myotis myotis* türüne ait bir bireyde kürk rengi……...35
3. 23. Bu çalışma için *Myotis myotis* türüne ait bireylerinin alındığı lokaliteler ….36
3. 24. Konya ili, Sızma köyündeki mağarada bulunan *Myotis myotis* kolonisi …....36
3. 25. Muğla, Milas, Gökçeler köyündeki bir mağarada *Myotis myotis* bireyi …....37
3. 26. Kırıkkale ilinden alınan *Myotis blythii* türüne ait bir birey ……38

3. 27. *Myotis blythii* türünün bakulumlarında görülen varyasyon (Albayrak ve Aşan 2001'den alınmıştır) …….…….39

3.28. *Myotis blythii* türüne ait bireylerde kürk rengi …….…..40

3.29. Bu çalışma için *Myotis blythii* türüne ait bireylerinin alındığı lokaliteler ….41

3. 30. *Myotis blythii* türüne ait bireylerinin alındığı Kırıkkale ili Keskin ilçesindeki bir tünel …….……..41

3. 31. Kırıkkale ilindeki bir tünelde *Myotis myotis/Myotis blythii* türleri ile birlikte sonbahar aylarında simpatrik yaşayan *Rhinolophus ferrumequinum* bireyi ……...……42

3. 32.**OPB 05 primeri** ile elde edilen agaroz jel elektroforezi. **M:** Marker (Fermentas SM0321), 1- 14001, 2- 14010, 3- 14011, 4- 14012, 5- 14013, 6- 14014, 7- 14009, 8- 14004, 9- 14002, 10- 14003, 11- 14005, 12- 14006, 13- 14007, 14- 14008 …….44

3.33**. OPC 02 primeri** ile elde edilen agaroz jel elektroforezi. **M:** Marker (Fermentas SM0321), 1- 14001, 2- 14010, 3- 14011, 4- 14012, 5- 14013, 6- 14014, 7- 14009, 8- 14004, 9- 14002, 10- 14003, 11- 14005, 12- 14006, 13- 14007, 14- 14008 ……..….44

3.34.**B18 primeri** ile elde edilen agaroz jel elektroforezi. **M:** Marker (Fermentas SM0321), 1- 14001, 2- 14010, 3- 14011, 4- 14012, 5- 14013, 6- 14014, 7 14009, 8- 14004, 9- 14002, 10- 14003, 11- 14005, 12- 14006, 13- 14007, 14- 14008 ……...……..45

3.35.**OPW 06 primeri** ile elde edilen agaroz jel elektroforezi. **M:** Marker (Fermentas SM0321), 1- 14001, 2- 14010, 3- 14011, 4- 14012, 5- 14013, 6- 14014, 7 14009, 8- 14004, 9- 14002, 10- 14003, 11- 14005, 12- 14006, 13- 14007, 14- 14008 …….…..45

3.36.**UBC 103 primeri** ile elde edilen agaroz jel elektroforezi. **M:** Marker (Fermentas SM0321), 1- 14001, 2- 14010, 3- 14011, 4- 14012, 5- 14013, 6- 14014, 7 14009, 8- 14004, 9- 14002, 10- 14003, 11- 14005, 12- 14006, 13- 14007, 14- 14008 ……..46

3.37.**UBC 375 primeri** ile elde edilen agaroz jel elektroforezi. **M:** Marker (Fermentas SM0321), 1- 14001, 2- 14010, 3- 14011, 4- 14012, 5- 14013, 6- 14014, 7 14009, 8- 14004, 9- 14002, 10- 14003, 11- 14005, 12- 14006, 13- 14007, 14- 14008 ……...46

3.38.**UBC 413 primeri** ile elde edilen agaroz jel elektroforezi. **M:** Marker (Fermentas SM0321), 1- 14001, 2- 14010, 3- 14011, 4- 14012, 5- 14013, 6- 14014, 7 14009, 8- 14004, 9- 14002, 10- 14003, 11- 14005, 12- 14006, 13- 14007, 14- 14008 ……..…...47

3.39.**UBC 432 primeri** ile elde edilen agaroz jel elektroforezi. **M:** Marker (Fermentas SM0321), 1- 14001, 2- 14010, 3- 14011, 4- 14012, 5- 14013, 6- 14014, 7 14009, 8- 14004, 9- 14002, 10- 14003, 11- 14005, 12- 14006, 13- 14007, 14- 14008 ……..……..47

3. 40.RAPD verileri sonucu cluster analizi ile *Myotis myotis* ve *Myotis blythii* türleri arasındaki genetik farklılıkları gösteren dendogram (**1:** 14001, Kırıkkale: **2:** 14010, Edirne; **3:** 14011, Konya; **4:** 14012, Konya; **5:** 14013, Edirne; **6:** 14014, Bolu; **7:** 14009, Edirne; **8:** 14004, Ankara; **9:** 14002, Kırıkkale; **10:** 14003, Kırıkkale; **11:** 14005, Kırıkkale; **12:** 14006, Kırıkkale; **13:** 14007, Keskin;**14:** 14008, Bolu) …….48

3. 41. Genetik mesafe ve genetik benzerlik hesaplamaları (Nei 1978) (**1:** 14001, Kırıkkale: **2:** 14010, Edirne; **3:** 14011, Konya; **4:** 14012, Konya; **5:** 14013, Edirne; **6:** 14014, Bolu; **7:** 14009, Edirne; **8:** 14004, Ankara; **9:** 14002, Kırıkkale; **10:** 14003, Kırıkkale; **11:** 14005, Kırıkkale; **12:** 14006, Kırıkkale; **13:** 14007, Keskin;**14:** 14008, Bolu) ……..……...…..49

3. 42. *Myotis myotis* örneklerine ait kafatasları (14001, Kırıkkale; 14010, Edirne; 14011, Konya; 14012, Konya; 14013, Edirne; 14014, Bolu) ……..…….50

3. 43.*Myotis blythii* örneklerine ait kafatasları (14009, Edirne; 14003, Kırıkkale; 14004, Ankara; 14005, Kırıkkale; 14006, Kırıkkale; 14007, Keskin;14008, Bolu)……...….50

3. 44. *Myotis myotis* ve *M. blythii* özellikleri gösteren örneğin kafatası (14002, Kırıkkale) ……..…..51

ÇİZELGELER DİZİNİ

ÇİZELGE Sayfa

1.1. Bu çalışmada RAPD-PCR için kullanılan primerler ……..……..29

3. 2. Batı Anadolu *Myotis myotis* ergin erkek örneklerinde dış, ağırlık ve iç özellik ölçüleri, örnek sayısı (n), varyasyon alt ve üst sınırları (s), ortalama (ort) ve standart sapma (std) değerleri (mm) ……...…..…….52

3. 3. Batı Anadolu *Myotis myotis* genç erkek örneklerinde dış, ağırlık ve iç özellik ölçüleri, örnek sayısı (n), varyasyon alt ve üst sınırları (s), ortalama (ort) ve standart sapma (std) değerleri (mm) ……..…….53

3. 4. Batı Anadolu *Myotis blythii* genç erkek örneklerinde dış, ağırlık ve iç özellik ölçüleri, örnek sayısı (n), varyasyon alt ve üst sınırları (s), ortalama (ort) ve standart sapma (std) değerleri (mm) ……...…….54

KISALTMALAR DİZİNİ

PCR	Polimer Zincir Reaksiyonu
RAPD-PCR	Rastgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA
SSR-PCR	Mikrosatellit
RFLP	Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi
AFLP	Çoğaltılmış parça polimorfizmi
ISSR	Basit dizi tekrarları arası
SSCP	Tek zincir konformasyonel polimorfizm
PGGE	Denatüre Gradiyent Jel elektroforezi
CAPs	Kesilmiş amplifiye polimorfik dizi
SCARs	Amplifiye edilmiş karakterize dizi bölgesi

1. GİRİŞ

Hayvanlar 200 milyon yıl boyunca yaşamlarını sürdürmelerine karşılık yaklaşık 65 milyon yıl önce farklılaşmaya başlamıştır. Günümüzde 5490 memeli türü yayılış göstermektedir ve bu memeli türlerinin birçoğu ufak memeli olarak adlandırılmaktadır. Ufak memeliler (kemiriciler, yarasalar ve sivri fareler) yaklaşık 31 cm'den küçük olup, yaklaşık % 90'ı 5 kg'dan azdır. Memelilerin en fazla takımı 32 familya ve yaklaşık 2300 türü ile kemiricilerdir. Kemiriciler günümüzde yaşayan tüm memeli türlerinin yaklaşık %42'sini oluşturmaktadır. Memeli sınıfının tür bakımından zengin ikinci takımı ise 18 familya, 197 cins ve yaklaşık 1300 türü ile yarasalardır (*L*. Chiroptera: eli kanatlılar). Bu takım memeli türlerinin % 21'ini oluşturmaktadır (1-3).

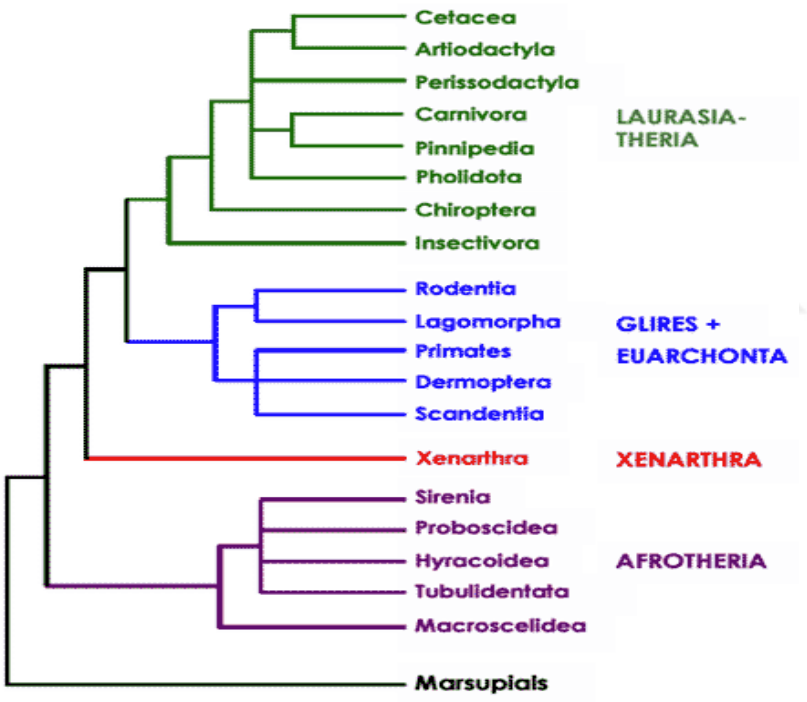
Çeşitli araştırıcılar mağaraların özelliği ve mağarada yaşayan canlıların arasındaki ilişkiye dayanarak sınıflandırma yapmıştır. Rocovitza (4) tarafından öne sürülen sınıflandırma günümüzde halen kullanılan bir sınıflandırmadır. Araştırıcıya göre mağarada yaşayan canlılar ekolojik adaptasyonlarına göre üçe ayrılmaktadır: Trogloksen, troglofil ve troglobit canlılar. Daha sonraki yıllarda Pavan (5) ve Ruffo (6) bu sınflandırmayı biraz daha geliştirerek troglofil canlıları da kendi arasında ikiye ayırmışlardır: ötroglofil ve subtroglofil canlılar. Sket (7) ise en son sınıflandırmayı öne sürmüştür:

1. **Troglobiont canlılar:** Yeraltı habitatlarında yaşamaya mecbur canlılar
2. **Ötroglofil canlılar:** Yeraltı habitatlarında yaşama zorunluluğu olmayan canlılar

3. **Subtroglofil canlılar:** Yeraltı habitatlarında yaşamaya zorunlu ya da zorunlu olmayan canlılardır. Bu canlılar yaşam döngülerinin belli bir kısmında dış çevre ile iletişim halinde olmak zorundadır.
4. **Trogloksen canlılar:** Yeraltı habitatlarında arada sırada görülen canlılardır.

Bu sınıflandırmaya göre yarasalar, kuşlar ve bazı balık türleri subtroglofil canlılar grubuna dahil edilmektedir (8).

Chiroptera takımı memelilerin Laurasiatheria kladının bir parçasıdır. Antartika hariç tüm kıtalar da yayılış göstermektedirler (Şekil 1.) (9).



Şekil1.1Gen sekans analizine göre dört ana kolda ayrılmış plasentalı memeli takımları(Harris(10)'danalınmıştır)http://www.mhhe.com/biosci/pae/zoology/animal phylogenetics/index.mhtml

Yarasalar kuzey ve güney yarımkürenin soğuk alanları ve bazı okyanus adaları dışında birçok karasal habitatta yayılış göstermektedirler. Tür sayısı,ılıman kuşaklara nazaran çeşitli besinlerin bulunduğu ekvatora doğru gittikçe artmaktadır. Ayrıca türler besin, sıcaklık ve uygun tünek alanı bakımından çeşitlilik gösteren niş tiplerine göre yayılış göstermektedir (1).

Kemiklerinin çok ince ve narin olması nedeniyle günümüze kadar pek fazla yarasa fosili gelmemiştir, bu nedenle evrimsel gelişimleri hakkında henüz tam bir bilgi bulunmamaktadır. Yaygın olan bir görüşe göre yarasalar ağaçlara tırmanan sivri fare benzeri bir memeliden evrimleşmiştir. Meyve yarasaları ise farklı bir orijinden gelmektedir (1). Beyin morfolojisi ve sinir sistemi ile ilgili kısımlar incelendiğinde Megachiroptera'nın Primat takımının erken zamanda ayrılan bir kolu olduğu ileri sürülmüştür (11). Bilinen en eski meyve yiyen yarasa fosili 35 milyon yıl öncesine aittir. Meyve yiyen yarasalar bazı özellikleri bakımından böcek ile beslenen yarasalara benzerlik göstermesine karşılık, kafatası ve diş yapısı, boyun omurları ve ellerindeki kemikler bakımından oldukça farklılık göstermektedir (1).

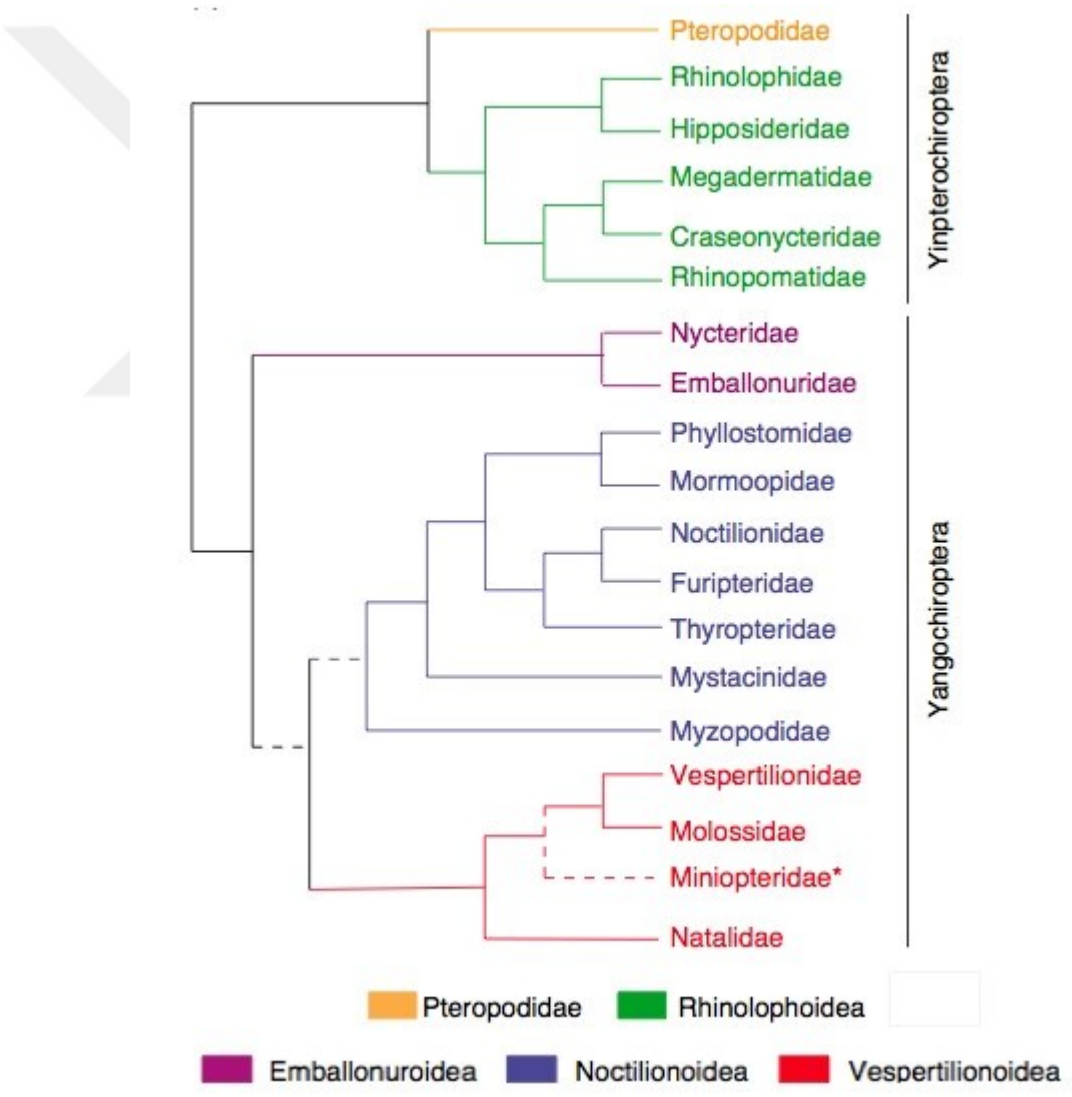
Çeşitli araştırıcılar tarafından genellikle yarasalar iki alt takıma ayrılmaktadır: Megachiroptera (Eski dünya meyve yarasaları) ve Microchiroptera. Bu ayrım paleontolojik ve morfolojik verilere dayanarak yapılmıştır fakat günümüz çalışmalarında duyusal algıya göre ayrım yapılmaktadır. Buna göre Megachiroptera larenjal ekolokasyon yerine görme duyusunu kullanırken, Microchiroptera ise larenjal ekolokasyonu kullanmaktadır. Microchiroptera'da 17 familya bulunmaktadır ve bunlar premaksillanın maksilla ile birleşmesi veya bulunup bulunmamasına göre iki infra takıma ayrılmaktadır:

1.1. Yangochiroptera

Vespertilionidae, Molossidae, Natalidae, Phyllostomidae, Noctilionidae, Furipteridae, Antrozoidae, Emballonuridae, Nycteridae, Thyropteridae, Mormoopidae, Mystacinidae, Myzopodidae ve Miniopteridae familyalarını içermektedir.

1.2. Yinpterochiroptera

Rhiholophidae, Pteropodidae, Craseonycteridae, Rhinopomatidae, Hipposideridae ve Megadermatidaefamilyalarını içermektedir (Şekil 2).



Şekil 1. 2. Yeni sınıflandırmaya göre Chiroptera takımı

(http://www.reed.edu/biology/professors/srenn/pages/teaching/web_2008/ssmb_acoustic_mimicry/phylogeny.html)

En eski yarasa fosili 2008 yılına kadar A.B.D.'de bulunan ve Eosen dönemine ait olduğu tespit edilen *Icaronycteris index* olarak bilinmekteydi. Kanat yapısı günümüz yarasa türlerine benzemekte olup ekolokasyon yaptığına dair kafatasında bazı özelikler tespit edilmiştir. Buna karşılık, 2008 yılında Simmons ve ark. (12) A.B.D.'de Eosen döneminin başlarına ait yeni bir fosil yarasa bulmuşlar ve *Onychonycteris finneyi* olarak adlandırmışlardır. Bu fosil yarasanın uzun kanat benzeri parmaklara ve diğer postkraniyal özelliklere sahip olmasına karşılık, ekolokasyon yapma yeteneğine sahip olmadığı tespit edilmiştir. Bu fosillere dayanarak Simmons ve ark. (12)'na göre uçma yeteneği ekolokasyon yeteneğinden önce evrilmiş ve ekolokasyon Eosen döneminde gelişmiştir (Şekil 3).

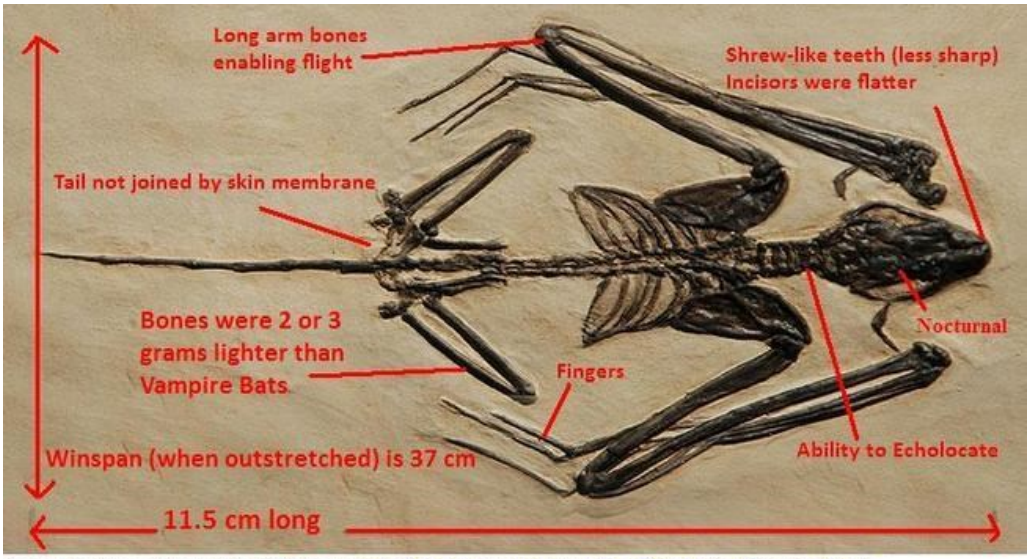
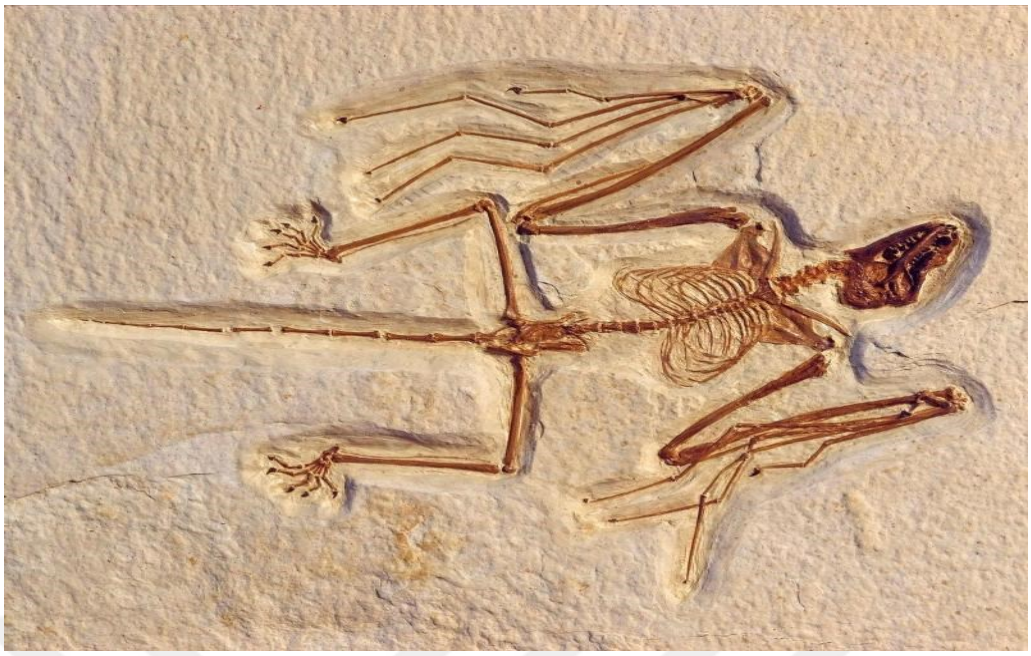


Image Retrieved June 21, 2011 from http://www.kennethoppel.ca/darkwing/fossils.shtml



Şekil 1. 3. A.B.D'de bulunan fosil yarasa türleri A. *Icaronycteris index*, B.*Onychonycteris finneyi* (http://www.nps.gov/media/photo/gallery.htm)

Yarasa takımı içinde en fazla çeşitlilik gösteren cinsler; *Artibeus* (Fam: Phyllostomidae), *Molossus* ve *Eumops* (Fam= Molossidae) ile *Myotis* ve *Eptesicus* (Fam: Verspertilionidae)'dur. Bu cinlere ait türlerin teşhisi morfolojik ve kafatası özelliklerine dayanarak yapılmıştır (13).

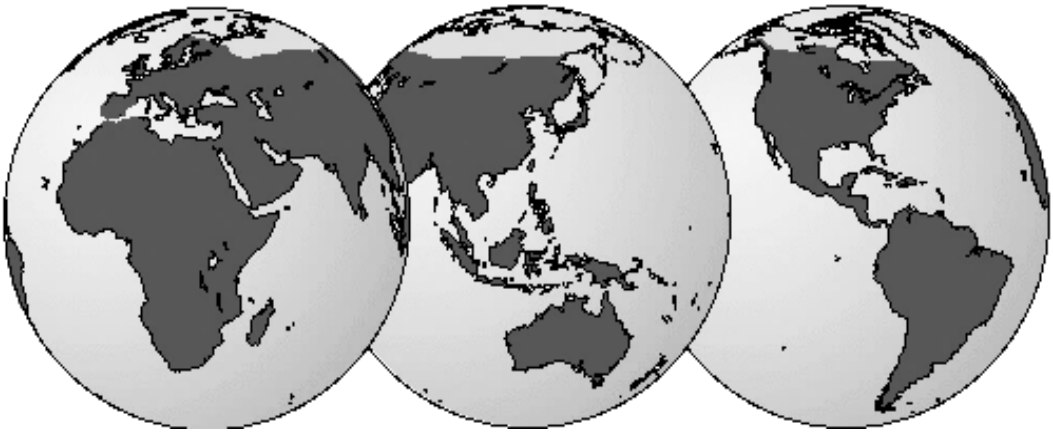
Superfamily: Vespertilionoidea

Vespertilionidae, Molossidae, Natalidae ve Miniopteridae familyalarını içermektedir.

Family: Vespertilionidae Gray, 1821 (Gececil yarasalar, vesper yarasalar)

Günümüzde yaşayan yarasaların yaklaşık 1/3'ünü içermektedir. Beş alt familya bilinmektedir: Vespertilioninae (27 cins, 180 tür), Antrozoinae, Myotinae (2 cins, 86 tür), Miniopterinae (1 cins, 10 tür), Murininae (2 cins, 16 tür) ve Kerivoulinae (1 cins, 22 tür). Miniopterinae, Murininae ve Kerivoulinae monofiletiktir. Myotinae'nin Vespertilioninae'den farkı kromozomal veri ve filogenetik analizlerle tespit edilmiştir. Tüm vespertilionid'ler böcekçildir, çoğu avını uçarken havada yakalamaktadır. Bazı türler ise avlarını yerden almaktadır.

Vespertiionidae familyası Antartika dışında her kıtada geniş yayılış gösteren bir familyadır (Şekil 4).



Şekil 1. 4. Vespertilionidae familyasının yayılış alanı

(http://tolweb.org/Vespertilionidae/16140)

Kozmopolit olarak yayılış gösterdikleri habitatlar tropikalden ılıman alanlara kadar değişiklik göstermektedir. Sıklıkla ormanlık veya açık alanları tercih etmektedirler. Bazı vespertilionidler ise çöllerde bulunmaktadır. Birçok tür karanlık, kapalı alanlarda özellikle mağaralar, madenler, tüneller ve insanın bulunduğu habitatlarda yayılış göstermektedir. Eşeyse dimorfizm birçok vespertilionid türde görülmektedir. Bazı durumlarda eşeyler arasındaki büyüklük belirgindir özellikle dişiler daima erkeklerden büyüktür. Bu durum dişilere daha iyi bir sıcakkanlılık sağlar böylece vücut daha fazla yağlanmaktadır. Çiftleşme davranışları da oldukça çeşitlidir. Monoöstrik veya poliöstrik olabilirler ama poliöstrik tip tropikal türlerde daha yaygındır. Dişiler yavrular doğduktan sonra özel ilgi göstermektedir.

Vespertilionid yarasalar doğal hayatta 4-6 yıl yaşamaktadır fakat bazı *Myotis* türlerinin 20 yıl kadar yaşadığı da tespit edilmiştir. Öncelikle böcekler ve

diğer eklembacaklılar ile beslenmektedirler. Birçok vespertilionid böcek predatörüdür. Yüzlerce böceği bir gecede tüketmektedirler. Bu durum özellikle ılıman türlerde yaz aylarında ve süt verme döneminde dişilerde görülmektedir. Zararlı böcekleri tüketmek ile tarımsal zararlıların kontrolünü sağlamaktadırlar. 2008 IUCN verilerine göre 44 vespertilionid yarasa türü yok olma tehlikesi altında idi. Bunlardan 7 tanesi kritik tehlikede, 17 tanesi tehlikede, 20 tanesi ise hassas idi. IUCN'e göre yakın gelecekte bu sayıya 30 tür daha eklenebilir. En büyük yüzde *Myotis* cinsine aittir bu da muhtemelen vespertilionid yarasaların en büyük türlerine sahip cinsi olmasından kaynaklıdır (14).

Vespertilionidae familyası kriptik türleri içermektedir. *Myotis mystacinus*, *M.brandti* ve *M. alcathoe* bir grubu oluştururken, *M. myotis* ve *M. blythii* diğer bir grubu oluşturmaktadır. Bununla birlikte araştırıcılara göre simpatrik yaşayan türlerinde hibrit bireylerin görülmesi de muhtemeldir. (15).

Genus: *Myotis* Kaup, 1829

Tip tür: ***Vespertilio myotis*** Borkhausen, 1797

Cinsin en önemli özelliklerinden biri de kulaklarının uzunluğunun genişliğinden fazla olması ayrıca uzun bir tragusunun bulunmasıdır. Yunanca'da *Myotis* ve *Myosotis* "Fare kulaklı" anlamına gelmektedir. Son yıllarda yapılan moleküler çalışmalar sonucunda 100'den fazla tür ile temsil edilmektedir. Bu cins çeşitlilik göstermekle kalmaz aynı zamanda en başarılı yayılış gösteren cinslerden biridir. Türlerinin neredeyse morfolojik olarak birbirlerinden ayrımlarının zor olması ve birçok plesiomorfik özelliği paylaşmalarından dolayı bu cinsin taksonomik olarak ayrılması oldukça zordur. Avrasya ve Amerika türleri üzerine yapılan geniş fenetik

çalışma sonucunda Tate (16) yedi grup ayırmıştır: *Selysius, Isotus, Paramyotis, Myotis, Chrysopteran, Leuconoe, Ricketlia***.** Findley (17), numerik taksonomik çalışma ile 48 cranial ve dış özelliklere dayanarak bu grupları sadece 3 altcinse ayırmıştır: *Myotis, Selysius* ve *Leuconoe*.

1. **Altcins:** *Leuconoe*

Tip türü: *Myotis daubentonii* (Kuhl, 1817)

Bu altcins genellikle nispeten uzun ayak, kıllı bacak ve su yüzeyinden avlanmasına imkan veren ufak bir plagiopatagium ile karakterizedir.

2. **Altcins:** *Selysius*

Tip türü: *Myotis mystacinus* (Kuhl, 1817)

Nispeten daha küçük ayaklıdır ve uçan böcekleri avlayabilmek için daha geniş bir uropatagiuma sahiptir.

3. **Altcins:** *Myotis*

Tip tür: *Myotis myotis* (Borkhausen, 1797)

Nispeten büyük hayvanlar olup, uzun kulaklara, geniş kanatlara ve daha gelişmiş bir diş yapısına sahiptirler bu şekilde sert yüzeylerden bile besinlerini alabilmektedirler.

Bu 3 klasik altcinse ilaveten güney Afrika'dan bir altcins kaydı daha verilmiştir: Cistugo. Bu altcins güney Afrika'ya endemik olup tip türü *Myotis seabrai*'dir. Bu tür farklılaşmış kanat bezleri ve kendine has karyolojisi ile diğer *Myotis* cinslerinden ayrılmaktadır. Dört altcins de Koopman (18) tarafından kabul edilmiştir (19).

Dış ve kafatası morfolojisine dayanarak yapılan çalışmada Findley (17) *Myotis* cinsinin 60 türe sahip olduğunu belirtmiştir. Morfolojik ve genetik çalışmalar ile bu sayı artmış ve günümüzde 100'ü geçmiştir. *Myotis* cinsi memeliler içinde en fazla çeşitliliğe sahip cinslerden biridir. Memeliler içinde en fazla türleşme ve çeşitliliği çalışılan cins *Crocidura* (sivri burunlu fare)'dır (9).

1. 3. SİSTEMATİK

Domain : Eukaryota

Kingdom : Animalia

Subkingdom : Eumetazoa

Phylum : Chordata

Subphylum : Vertebrata

Infraphylum : Gnathostomata

Class : Mammalia

Subclass : Eutheria

Order : Chiroptera

Suborder : Microchiroptera

Infraorder : Yangochiroptera

Family : Vespertilionidae

Genus : *Myotis*Kaup, 1829

Species : *Myotis myotis* (Borkhausen, 1797)

Subspecies : *Myotis myotis myotis* (Borkhausen, 1797)

Myotis myotis macrocephalicus Harrison and Lewis, 1961

Species : *Myotis blythii* (Tomes, 1857)

Subspecies : *Myotis blythii blythii* (Tomes, 1857)

Myotis blythii oxygathus (Monticelli, 1885)

Myotis blythii omari (Thomas, 1906)

1. 4. *Myotis myotis* ve *Myotis blythii* TÜRLERİNİN BİYOLOJİSİ, EKOLOJİSİ VE YAYILIŞLARI

Paleontolojik, morfolojik ve genetik verilere dayanarak farekulaklı büyük ve küçük yarasa türleri *Myotis myotis* ve *Myotis blythii;* Pleistosen'den itibaren ortak bir atadan gelmekte ve farklı tarzda yiyecek arama, mikrohabitat seçimi ve farklı av seçimi ayırt edilmektedir.Kafatası özellikleri incelendiğinde farekulaklı küçük yarasanın atasal forma daha yakın olduğu ileri sürülmüştür. Atasal *M. myotis* batıda yayılışa adapte olmuştur ve Akdeniz bölgesi gibi ormanlık alanları tercih etmektedir. Buna karşılık atasal *M. blythii* Asya'nın step alanlarına adapte olmuştur (20). *Myotis myotis,* taze olarak kesilmiş çayırlık zeminden avlanır, kısa ot veya orman yapraklı ölü örtü ve çoğunlukla ormanlık yerde carabid böcekleri ile beslenir. *Myotis blythii* ise yoğun çim kaplaması olan yerlerde çoğunlukla avını arar, step ya da saman çayırları gibi yoğun otlaktan avladıkları cırcır böcekleri ile beslenmektedir (21, 22).Bu iki sibling tür Güney ve Orta Avrupa'nın büyük bir kısmında simpatrik olarak

yaşamakta ve genellikle karışık koloniler oluşturmaktadır. Her iki türü morfolojik açıdan ayırt etmek zor olsa da kardeş tür olarak adlandırılırlar ve birçok morfolojik ölçümlerinin birleşimi, genellikle her iki tür arasında kesin bir ayrıma olanak sağlar. İki türün ekolojisi ve fizyolojisi farklılık göstermektedir ayrıca doğum zamanları da farklıdır (20). *Myotis myotis* ve *Myotis blythii*'nin üreme veya çiftleşme için oluşturdukları koloniler aynı tünekleri işgal etmektedir (23).

1. 4. 1. Tür : *Myotis myotis* (Borkhausen, 1797)

Farekulaklı büyük yarasa, batı Palearktik'te (batı, orta ve güney Avrupa, Anadolu, Levanten) yayılış gösteren bir türdür. *Myotis myotis* erken Pleistosen'de özellikle İspanya'da ortaya çıkmıştır. Orta Avrupa'da Holosen'de ortaya çıkmıştır (24, 25).

Yayılış alanı: Arnavutluk, Andorra, Avusturya, Beyaz Rusya, Belçika, Bosna Hersek, Bulgaristan, Hırvatistan, Kıbrıs, Çek Cumhuriyeti, Fransa, Almanya, Cebelitarık, Yunanistan, Macaristan, İsrail, İtalya, Lübnan, Litvanya, Lüksemburg, Makedonya, Malta, Karadağ, Hollanda, Polonya, Portekiz, Romanya, San Marino, Sırbistan, Slovakya, Slovenya, İspanya, İsveç, İsviçre, Suriye, Türkiye, Ukrayna' dır (26) (Şekil 5).

Şekil 1. 5. IUCN Kırmızı Liste (2008)'e göre palearktik bölgede farekulaklı büyük yarasanın yayılışı (http://maps.iucnredlist.org/map.html?id=14133) (26'dan alınmıştır)

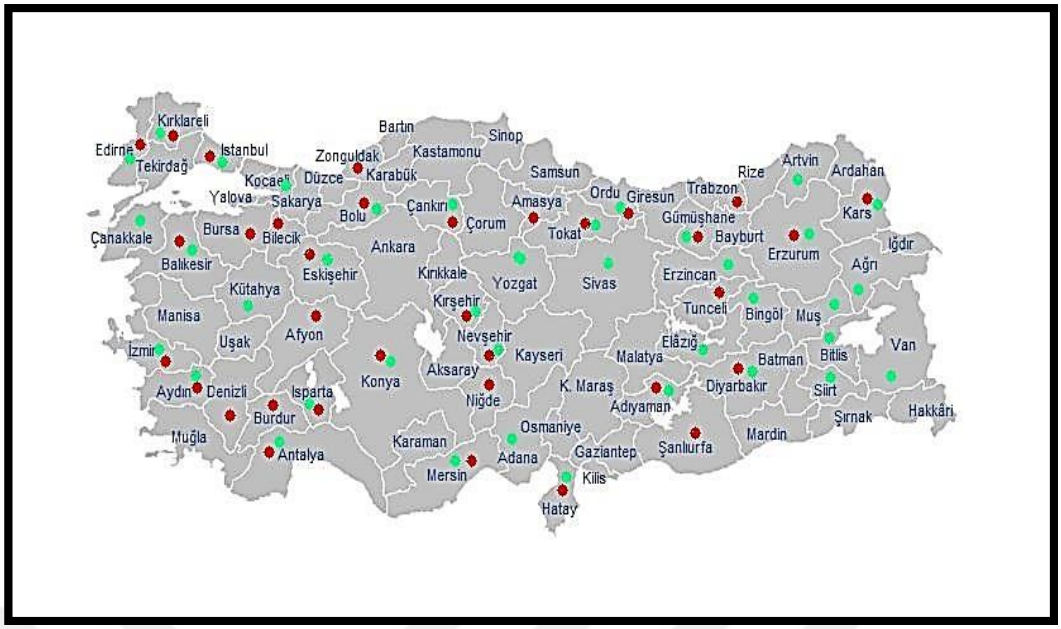
1980 ve 1990'larda orta Avrupa'da sayı bakımından oldukça fazla iken yakın bir tarihte büyük ölçüde popülasyonlarında azalma görülmüştür. Farekulaklı büyük yarasa hiç göç etmez ya da bölgesel göç etmektedir. Dişiler filopatriktir (25). Özellikle mağaralarda sayıca büyük dişi koloniler oluşturmaktadırlar (Şekil 6).

Şekil 1. 6. *Myotis myotis* bireyleri tarafından oluşturulan dişi koloni

İngiltere'de muhtemelen nesli tükenmiştir buna karşılık Balkanlar ve Türkiye'de sayıları sabittir. IUCN verilerine göre yayılışı "az endişe"dir (26).

Myotis myotis'in alttürlerinin ya da belirli bölgelere dağılmış bazı Akdeniz ve Asya populasyonlarının durumu hala belirsiz ve tartışma konusudur. İki alttürü olduğu kabul edilmektedir ancak Avrupa'da şu anda sadece bir nominant form kabul edilmektedir. Palearktik bölge içinde büyüklüğü batıdan doğuya doğru artmaktadır. Güney'de mağaralarda ve madenlerde tüm yıl boyunca ikamet etmektedir. Kuzey bölgelerinde insanlarla birlikte yaşayan türler çoğunlukla tavan aralarında, binalarda ve fidanlıklarda koloniler oluşturur. Hamile tünekler genellikle ova bölgelerinde 600 metrenin altında bulunmaktadır. Mağaralarda, madenlerde, mahzenlerde ve nadiren köprülerde kış uykusuna yatarlar (27).

Türkiye'de yaşayan böcekçil yarasaların en büyüklerinden biridir ve ilk defa Satunin (28) tarafından Kars'ın Aralık ilçesinden kaydedilmiştir. Bu tür ılıman sıcaklıkta özellikle Akdeniz ve Karadeniz bölgesinde yayılış göstermektedir. Bu türün yayılışına ait son kaydı Aşan vd. (29) tarafından verilmiştir. Araştırıcılara göre türün yayılışı Artvin-Erzurum-Batman-Şanlıurfa şeklinde yeniden düzenlenmiştir (Şekil 7).



Şekil 1. 7. Türkiye'de *Myotis myotis* ve *Myotis blythii* türlerinin Aşan vd. (29)'ne göre yayılışları (Kırmızı noktalar: *Myotis myotis*, yeşil noktalar: *Myotis blythii*)

1. 4. 2. Tür : *Myotis blythii* (Tomes, 1857)

Türkiye'de geniş yayılış gösteren diğer bir vespertilionid türdür (30). *Myotis blythii*'nin *M. myotis* türünden morfolojik olarak farklılıkları; boyut olarak daha küçük, kulakları daha dar ve küçük, tibiası görsel olarak daha kısa olmasıdır (27). Bu türe ait bilinen en uzun yaş kaydı 33 yıl 8 aydır (31). Avrupa'daki çok yoğun ağaç ve maki örtüsü bölgelerini ayrıca kireçtaşı alanları ve insan yerleşim alanlarını tercih etmektedirler. Yaz aylarında, genellikle tünek olarak mağaranın yanı sıra, aynı zamanda kuzeyde sıcak tavan aralarında da bulunmaktadırlar. Çok nadiren ağaç kovuklarında yaşarlar. Beslenmeleri açık yaşam alanlarındaki çimenler üzerinden çekirgeler ile olmaktadır (27). Populasyon yoğunlukları sibling türü ile karşılaştırıldığında daha düşüktür (32).

Yayılış alanı: Güney Palearktik ve oriental olarak yayılış göstermektedir (32). Afganistan, Arnavutluk, Cezayir, Ermenistan, Avusturya, Azerbaycan, Bangladeş,

Bosna Hersek, Bulgaristan, Çin, Hırvatistan, Kıbrıs, Çek Cumhuriyeti, Fransa, Gürcistan, Almanya, Cebelitarık, Yunanistan, Macaristan, Hindistan, İran, Irak, İsrail, İtalya, Ürdün, Kazakistan, Kırgızistan, Lübnan, Libya, Makedonya, Moldova, Monako, Moğolistan, Karadağ, Fas, Nepal, Pakistan, Polonya, Portekiz, Romanya, Rusya, Sırbistan, Slovakya, Slovenya, İspanya, İsviçre, Suriye, Tacikistan, Türkiye, Türkmenistan, Ukrayna' dır (26) (Şekil 8).

Şekil 1. 8. IUCN Kırmızı Liste (2008)'e göre Palearktik bölgede farekulaklı küçük yarasanın yayılışı (http://maps.iucnredlist.org/map.html?id=14133) (26)

IUCN verilerine göre yayılışı "az endişe"dir (26). *Myotis blythii* olduğu düşünülen fosiller Orta Avrupa ve Bulgaristan'da Pliosenin başında ortaya çıkmıştır (24).

Mitokondriyal genlere dayanarak yapılan sekans analizlerinde Castella vd. (33), Ruedi ve Mayer (19) ve Simmons (34) *Myotis* cinsinin 4 türden oluştuğunu kabul etmişlerdir: *Myotismyotis*, *M.blythii*, *M.oxygnathus*ve *M.punicus*. Bununla birlikte birçok araştırıcı tarafından *Myotis blythii* ve *M. oxygnathus* ayrı türler olarak kullanılmasına karşılık henüz tam bir ayrım yapılmamıştır (26).

Simmons (34), *Myotis blythii* türündeki mitokondriyal parafili problemini çözmek için Avrupa taksonu *oxygnathus* ve kuzey Afrika'da bulunan *punicus*'u tür seviyesine çıkarmayı teklif etmiştir. *M. blythii* türünün sadece *omari* ve *blythii* alttürüne sahip olmasını ileri sürmüştür.

Türkiye'de yarı kurak iklim koşulları gösteren Doğu ve Güneydoğu Anadolu'da yayılış göstermektedir (Şekil 3).

Moleküler veriler günümüzdeki türlerin genetik yapısını oluşturmada etken olan yakın geçmiş ve tarihsel olayları belirlemek için kullanılmaktadır. Canlılarda genetik farklılaşmalar;

1. Mevsimsel göç
2. Coğrafik bariyer
3. Tarihi demografik olaylar ile meydana gelmektedir (25).

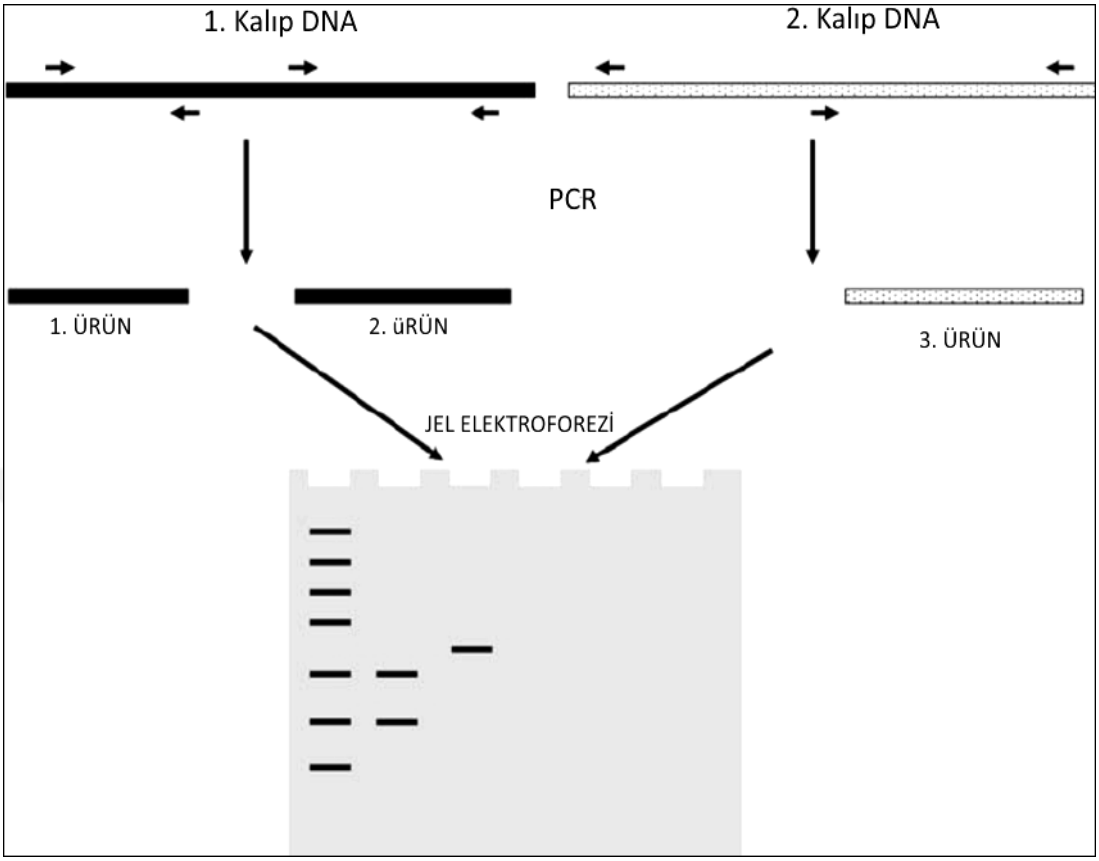
1. 5. Rastgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA (RAPD)

Moleküler genetik teknikleri populasyon, davranış ve evrimsel biyoloji için önemlidir. Bugüne kadar bu çalışmalarda klasik morfolojik metotlar kullanılmıştır (35). Moleküler genetik marker teknikleri bireylerin genotip belirlenmesi, genom yapısının araştırılması, taksonomik çalışmalar, evrimsel sorunlar, populasyon biyolojisi, ebeveyn belirlenmesi, türler arası ve tür içindeki genetik farklıkların tespiti, özgün gen lokuslarının belirlenmesi, adli tıp, prenatal tanı, salgınlar ve canlıların ekolojisinin belirlenmesinde önemli bir role sahiptir. En çok kullanılan metotlar RAPD-PCR, SSR-PCR (Mikrosatellit), RFLP (Restriksiyon Fragment Uzunluk Polimorfizmi), AFLP (Çoğaltılmış parça polimorfizmi), ISSR (Basit dizi tekrarları arası), SSCP (Tek zincir konformasyonel polimorfizm), PGGE (Denatüre

Gradient Jel elektroforezi), CAPs (Kesilmiş amplifiye polimorfik dizi) ve SCARs (Amplifiye edilmiş karakterize dizi bölgesi)'dir (36, 37).

Bu teknik ilk kez Williams ve arkadaşları tarafından 1990 yılında rastgele çoğaltılmış polimorfik DNA olarak tanımlamış ve genetik polimorfizmi belirleyen, yeni bir teknik olarak ortaya koymuşlardır. Aynı yıllarda (1991) başka araştırıcılar da AP-PCR (Arbitrariy Primer PCR) olarak bu tekniğe benzer bir teknik daha isimlendirmişlerdir (36). RAPD-PCR, PCR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu) metoduna bağlı bir teknik olup; rastgele dizilimdeki kısa oligonükleotit primerler kullanılarak genomik DNA üzerinde belirlenen parçacıklar çoğaltılmaktadır. Bu yöntemin avantajı reaksiyonun gerçekleşmesi için araştırılan genomun baz dizilimi hakkında diğer moleküler çalışmalarda yapılan ve taksonun genleri ile ilgili herhangi bir ön bilgiye gerek yoktur (36, 38).Bu yöntem özellikle bitki ve hayvanlarda tür, alttür ve popülasyonlararasında çeşitliliği tespit etmede kullanışlı bir metottur. Bu metotta genomda çok sayıda lokus aranmaktadır bu da genetik çeşitlilik ve filogeni analizi için oldukça önemlidir (13, 36,39).

RAPD tekniği ilgili türe ait genomik DNA'da bulunan ve rastgele seçilmiş 8-10 bp'lik DNA fragmentlerinin düşük bağlanma sıcaklığında tesadüfi olarak bağlanmak suretiyle PCR ile çoğaltılmasıdır. Çoğaltılan ürün etidyum bromid yardımıyla standart agaroz jel elektroforezinde yürütülür ve UV ışık altında bantlar ortaya çıkmaktadır. Bantların varlığı ve yokluğuna göre değerlendirme yapılmaktadır. Kullanılan primer arttıkça bant sayısında da artış görülür (36, 40) (Şekil 9).



Şekil 1.9. Rastgele çoğaltılmış polimorfik DNA tekniği (41'den değiştirilerek)

Amplifiye edilen fragmentlerin sayısı, ökaryotik türlerde polimorfizmin derecesi, nükleotid sekansı ve sekonder yapısının her biri RAPD deneyi için kullanılan primerlerin sayısına bağlıdır. Bu nedenle RAPD-PCR yöntemi, mümkün moleküler filogenetik çalışmalar yapmak için ilişkili türlerin ve farklı organizmaların popülasyonları arasındaki genetik varyasyonu tespit etmek için başarılı bir şekilde kullanılmaktadır (13).RAPD analizleri genellikle saf, yüksek moleküler ağırlıklı DNA ve DNA örneklerinin kontamine olmaması gerekmektedir. Ayrıca bazı çalışmalar da RFLP ile birlikte yapılmaktadır (40, 42).

Bu çalışmanın amacı Türkiye'de geniş yayılış gösteren, morfolojik ve karyolojik olarak birbirine benzeyen iki sibling tür *Myotis myotis* ve *Myotis blythii*'nin RAPD-PCR tekniği ile tür seviyesinde ayrılıp ayrılmadığını, ayrıca iki tür arasındaki genetik çeşitliliğin varsa tespit edilmesidir. Elde edilecek sonuçlar Palearktik bölgede yayılış gösteren iki türün taksonomilerine katkıda bulunacaktır.

2. MATERYAL VE METOT

Bu araştırma 2011-2014 tarihleri arasında Batı Anadolu'nun çeşitli illerinden yakalanan *Myotis myotis* ve *Myotis blythii* örneklerinin RAPD-PCR metodu ile genetik varyasyonunun tespitine dayanmaktadır (Şekil 10 ve 11). Örnekler tüneklerden özel yarasa ağları ve eldivenli el ile alınmıştır. Laboratuvara getirilen örneklerin standart dört dış ölçüsü ile ağırlıkları Bogdanowicz (43)'e göre kaydedilmiştir.

Proje kapsamında arazi programı;

1. Kırıkkale-İzmir-Manisa-Muğla-Aydın-Denizli-Kütahya-Uşak-Afyon
2. Kırıkkale-Kırklareli-Tekirdağ- Edirne-İstanbul-Yalova-Kocaeli-Çanakkale-Balıkesir-Bursa-Sakarya olarak yapılmıştır.

Şekil 2.10. *Myotis myotis* bireylerinin oluşturduğu yaz kolonisi

Şekil 2. 11. *Myotis blythii* bireylerinin oluşturduğu yaz kolonisi

İllere ve ilçelere gidiş sırası bölgelerin iklimi ve yarasaların kış uykusundan uyanma ile aktif oldukları zamanlara göre değişmektedir. Yarasalar yakalandıktan sonra hemen laboratuvara dönmek zorunda olunduğundan türlerin yayılış gösterdiği ve literatürlerde (44) daha önce bu örneklerin kaydedildiği bölgeleri temsilen bir veya iki ile gidilmiştir (Şekil 12-14).

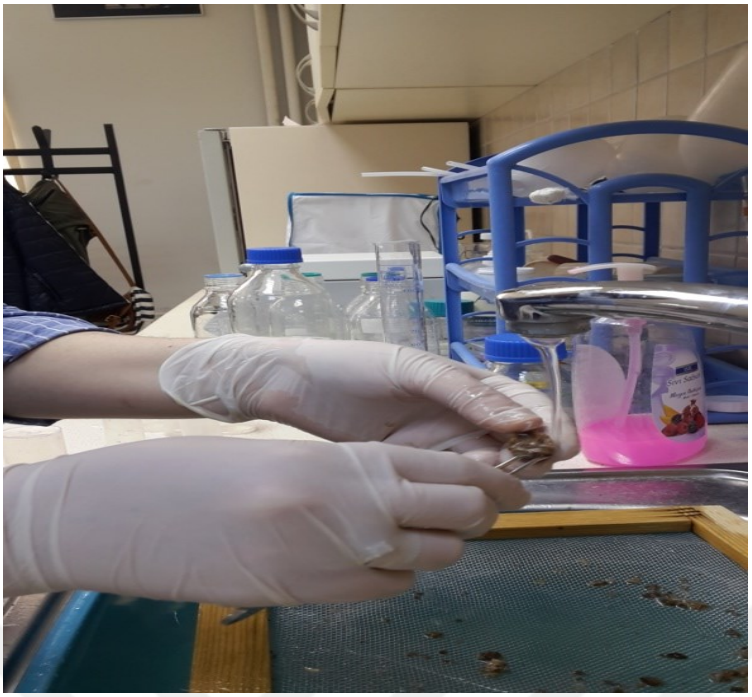
Şekil 2. 12. *Myotis myotis* bireylerinin alındığı Konya ilindeki mağaranın girişi

Şekil 2. 13. *Myotis myotis* bireylerinin alındığı Muğla ili Milas ilçesindeki mağaranın girişi

Şekil 2. 14. *Myotis blythii* bireylerinin alındığı Kırıkkale ili Keskin ilçesindeki tünelin girişi

Baş iskeletleri Southern (45) ve Mahoney (46)'e göre %15'lik amonyak çözeltisinde 70-80°C'de kaynatılmış, temizlendikten sonra kurulup numaralandırılmıştır. Yaş grupları için köpek ve kesici dişlerdeki aşınma dereceleri bioküler mikroskop altında incelenmiştir. Örneklerin standart dış ölçüleri milimetrik bir cetvel ile alınmıştır. İç karakter ölçümleri 0.1 mm hassas kumpas ile ölçülmüştür (Şekil 15 ve 16).

Şekil 2. 15. Örneklerin kumpas ile önkol uzunlularının alınımı



Şekil 2. 16. Laboratuvara getirilen ve DNA'sı izole edilen örneklerin kafataslarının ölçüm için temizlenmesi

Türlerin teşhisi Arlettaz vd. (21) ve Dietz ve Kiefer (47)'e göre yapılmıştır (Şekil 17 ve 18).

Şekil 2. 17. Edirne ilinden alınan *Myotis myotis* türüne ait ergin bir erkek birey

Şekil 2. 18. Kırıkkale ilinden alınan *Myotis blythii* türene ait genç erkek bir birey

Arlettaz vd. (21) tarafından verilen diskriminant fonksiyonu:

******Z= 4.231 X Kafatasının en büyük uzunluğu + 0.115 X Zygomatik genişlik + 1.682 X CM^3-110.987**

Eğer çıkan sonuçta Z > 0 *Myotis myotis*, Z< 0 *Myotis blythii*

*******Z= 0.433 X Önkol uzunluğu+ 3.709 X kulak uzunluğu -114.887**

Eğer çıkan sonuçta Z > 0 *Myotis myotis*, Z< 0 *Myotis blythii*

Ergin, genç ve yavru yaş gruplarındaki örneklerin morfometrik ölçülerinin varyasyon uç değerleri, ortalama ve standart sapma değerleri tablo halinde verilmiştir.

2. 1. Moleküler çalışma

Tampon ve çözeltiler

DNA izolasyonu için gerekli çözeltiler

- Stok Tris çözeltisi: 500 mM Tris (pH 8).
- Stok EDTA çözeltisi: 500 mM EDTA (Etilendiamin-tetra-asetik asit disodyum tuzu) (pH 8).
- Ekstraksiyon tamponu (2xCTAB tamponu): 100 mM Tris-HCl (pH 8), 50 mM EDTA (pH 8), 1.4 M NaCl, %2 (w/v) CTAB (Setiltrimetilamonyum bromid), Proteinase K (0.1 mg/ml), 0.2% beta-mercaptoethanol.
- Fenol / Kloroform / İzoamilalkol (25:24:1)
- %99'luk Alkol
- %70'lik Alkol
- TE tamponu: 10mM Tris-HCl (pH 8), 1mM EDTA (pH 8).

Polimeraz zincir reaksiyonunda kullanılan tampon ve çözeltiler

- Taq polimeraz tamponu 10x: 100 mM Tris-HCl (pH 8,3), 500 mM KCl, 1 mg/ml jelatin.
- $MgCl_2$: 25 mM
- Nükleotit Karışımı: 25 mM dNTP (dATP, dGTP, dTTP, dCTP)
- Taq polimeraz: 5 u/ µl
- Primerler: Kullanılan primerler Çizelge 1' de verilmiştir.

Çizelge 2. 1. Bu çalışmada RAPD-PCR için kullanılan primerler.

Primerin Adı	Primerin Dizisi (5'….3')	Toplam Bant Sayısı	Polimorfik Bant Sayısı	% Polimorfizm
OPB05	TGCGCCCTTC	10	8	80
OPC02	GGTCTACACC	10	10	100
B18	CCACAGCAGT	7	6	86
OPW06	AGGCCCGATG	11	8	73
UBC 103	GTGACGCCGC	9	9	100
UBC 375	CCGGACACGA	14	12	86
UBC 413	GAGGCGGCGA	12	11	92
UBC 432	AGCGTCGACT	12	10	83
	Toplam bant sayısı	**85**		

Agaroz jel elektroforezi için kullanılan çözeltiler

- Agaroz: %2 'lik (w/v) agaroz TAE tamponunda çözülerek hazırlanmıştır.

- Tris asetat (TAE) tamponu (x50) (pH 8): 242 g Tris base, 57,1 ml Glasial asetik asit, 0,5 M 100 ml EDTA (pH 8), saf su.
- Yükleme tamponu: % 40 sukroz, % 0,025 bromofenol mavisi, %0,25 ksilen siyanol. Etidyum bromür: 10 mg/ml derişimde hazırlanmış ve koyu renkli şişelerde muhafaza edilmiştir.

Sterilizasyon

Steril kullanılması gereken tüm tampon ve çözeltiler, 121 °C'da 20 dakika sterilizasyona tabi tutulmuştur.

DNA izolasyonu

Myotis myotis ve *M. blythii* türlerinin genomik DNA izolasyonları Winnepenninckx ve arkadaşları (1993)'na göre yapılmıştır.

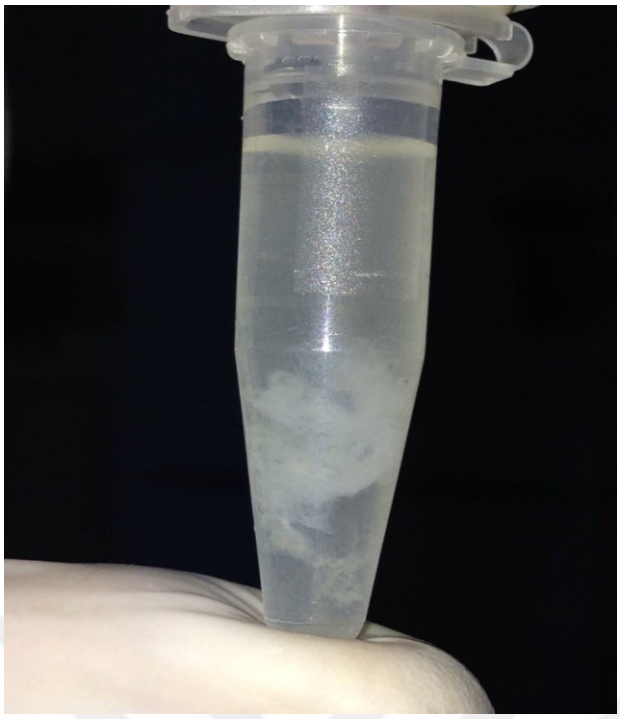
1- - 80^0C' de saklanan karaciğer dokuları DNA izolasyonu için kullanılmıştır. Dokular küçük parçalara ayrılarak steril ependorf tüpüne konulmuş ve üstlerine 700 µl 2XCTAB tamponu, Proteinaz K ve β-Merkaptoetanol ilave edilerek 65^0C'de 1 saat inkübe edilmiştir.

2- Daha sonra üzerine 700 µl Fenol/Kloroform/İzoamilalkol ilave edilmiş ve 10.000 rpm'de 10 dak. santrifüjlenmiştir.

3- Süpernatatnt yeni bir tüpe alınmış ve üstüne % 99'luk etanol ilave edilerek (-) 20^0C'de yarım saat bekletilmiştir.

4- 5 dak. yüksek devirde santrüfüjlenmiştir. Pelet iki kez 1 ml %70 etanol ile yıkanmış, santrifüjlenmiş ve kurutulmuştur.

5- Üstüne TE (10 mM Tris, 1 mM EDTA, pH 7.5) eklenerek -20^0C'de saklanmıştır (Şekil 19).



Şekil 2. 19. Genomik DNA izolasyonu ile elde edilen *Myotis myotis* türüne ait DNA

DNA derişim tayini

Elde edilen genomik DNA'ların derişim (konsantrasyon) tayinleri ve DNA saflıklarınıbelirlemek için UV absorbans spektrofotometresi ile 260 nm'de ölçüm yapılmıştır. Buna göre A_{260} = 1 olduğunda DNA miktarı 50 µg/ml'dir. DNA saflığı için ise A_{260}/A_{280} = 1,8 formülü ile hesaplanmıştır (48).

Rastgele çoğaltılmış polimorfik DNA polimeraz zincir reaksiyonu (RAPD-PCR)

RAPD-PCR uygulamaları için Açık vd (49) tarafından önerilen yöntem kullanılmıştır. Çizelge 1'debaz dizilimleri verilen rastgele seçilmiş primerlerin her biri ile hedef DNA'nın herhangi bir bölümü rastgele çoğaltılmıştır.

Uygulanan PCR programı:

96 °C'da	40 saniye	┐
30 °C'da	40 saniye	45 döngü
72 °C'da	40 saniye	┘

Elde edilen PCR ürünleri –20 °C'da saklanmış ve agaroz jel elektroforezi ile incelenmiştir.

Agaroz jel elektroforezi

Kullanılan elektroforez (BIORAD) yatay konumda olup jel plaklarının büyüklüğü 70 x 70 mm'dir. %2 (w/v) agaroz, TAE tamponu içinde kaynatılarak çözüldükten sonra 1 µl etidyum bromür çözeltisi eklenmiş ve plağa dökülmüştür (50). Jel polimerleştikten sonra 15 µl PCR ürünü ile yükleme tamponu karıştırılarak jelde oluşturulan kuyucuklara yüklenmiştir ve 90 V serbest akımda DNA Ladder (Fermentas, Gene Ruler™ DNA Ladder Mix, ready-to use SM 0321) ile birlikte yürütülmüştür. Jeller UV translüminatör (BioDoc) üzerinde görüntülenmiş ve fotoğrafları çekilmiştir.

Bu çalışma T.C. Orman ve Su İşleri Bakanlığı Doğa Koruma ve Milli Parklar Genel Müdürlüğü tarafından verilen 72784983-488.04-77739 nolu izni ile yapılmıştır.

3. SONUÇ VE TARTIŞMA

3. 1. *Myotis myotis* (Borkhausen, 1797)

1797.*Vespertilio myotis* Borkhausen, Deutsche Fauna, 1:80

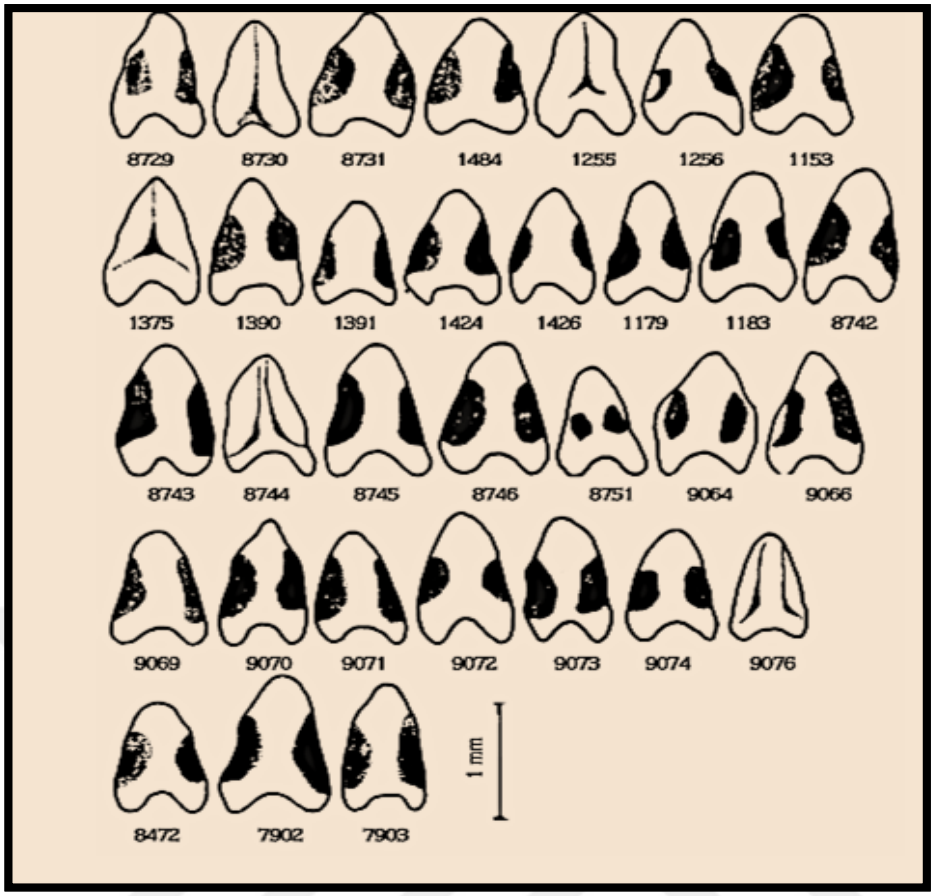
Tip yeri: Almanya

1897.*Myotis myotis* Miller, Ann. Mag. Nat. Hist., 20 (6): 383.

3. 1. 1. Ayırıcı özellikler

Kafatasının en büyük uzunluğu 23.2-26.0 mm; tüm kafatası uzunluğu 22.1-25.7 mm; condylobasal uzunluk 21.3-23.9; zygomatik genişlik 13.9-16.0 mm; üstçene diş dizisi uuznluğu 9.2-10.4 nmm; altçene diş dizisi uzunluğu 9.6-11.3 mm; altçene uzunluğu 16.6-19.4 mm. Bu türün bakulumlarında proksimalde iki kol birbirine yakındır ve bu kollar arasında belirgin şekilde derin ve dar bir girinti bulunmaktadır. Lateral kenarlar distal uca doğru nispeten yavaş yavaş daralmakta ve yuvarlak bir uç ile sonlanmaktadır (Şekil 20 ve 21).

Şekil 3. 20. Kırıkkale ilinden alınan bir *Myotis myotis* örneği



Şekil 3. 21. *Myotis myotis* türünün bakulumlarında görülen varyasyon (Albayrak ve Aşan (51)'den alınmıştır).

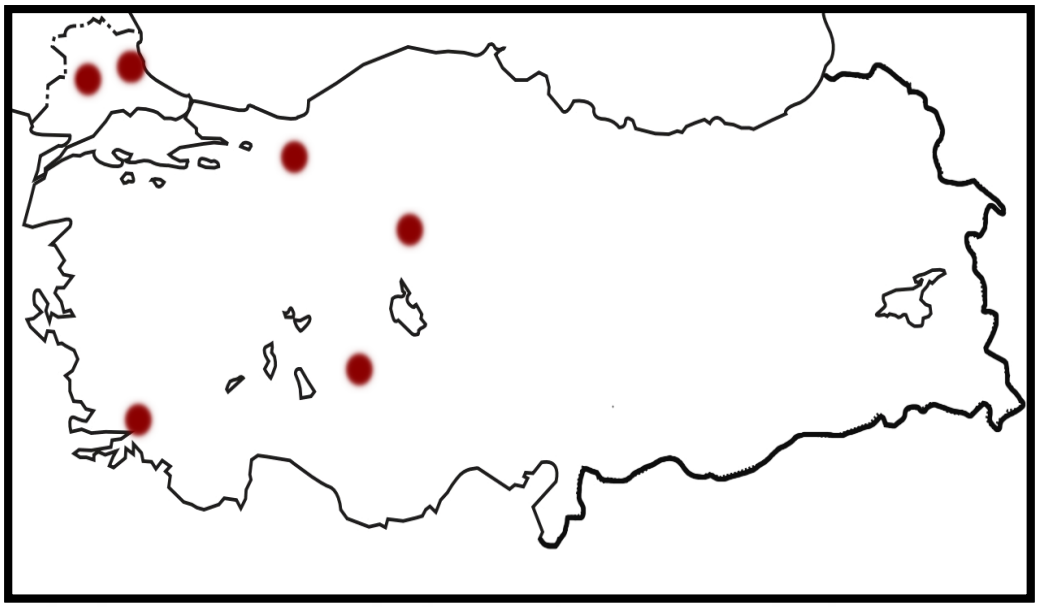
3. 1. 2. Kürk rengi

Baş ve ensede soluk beyazımsı griden soluk sarımsı griye, sırt ve arkaya doğru çok hafif kahverengiye çalan griden soluk sarımsı kahverengiye kadar değişmektedir. Ventral kısmı ise boyun ve gerdan kısmında beyazımsı kirli gri veya sarımsı kül renginden sarımsı kirli beyaza kadar değişmektedir (Şekil 22).

Şekil 3. 22. *Myotis myotis* türüne ait bir bireyde kürk rengi

3. 1. 3. Örneklerin alındığı iller:

Edirne, merkez, 2 ♂♂; Kırklareli, Koyunbaba köyü, 2 ♀♀; Kırıkkale, Keskin, 10 (6 ♂♂, 4 ♀♀); Bolu, Gerede, Karacadağ köyü 3 ♀♀, Muğla, Gökçeler köyü 1♂; Konya, Sızma köyü 5♂♂ (Şekil 23-25).



Şekil 3. 23. Bu çalışma için *Myotis myotis* türüne ait bireylerinin alındığı lokaliteler

Şekil 3.24. Konya ili, Sızma köyündeki mağarada bulunan *Myotis myotis* kolonisi

Şekil 3. 25. Muğla, Milas, Gökçeler köyündeki bir mağarada *Myotis myotis* bireyi

3. 2. *Myotis blythii* (Tomes, 1857)

1857. *Vespertilio blythii* Tomes, Proc. Zool. Soc. London, 53-54.

Tip Yeri: Nasirabad, Rajputana, Hindistan

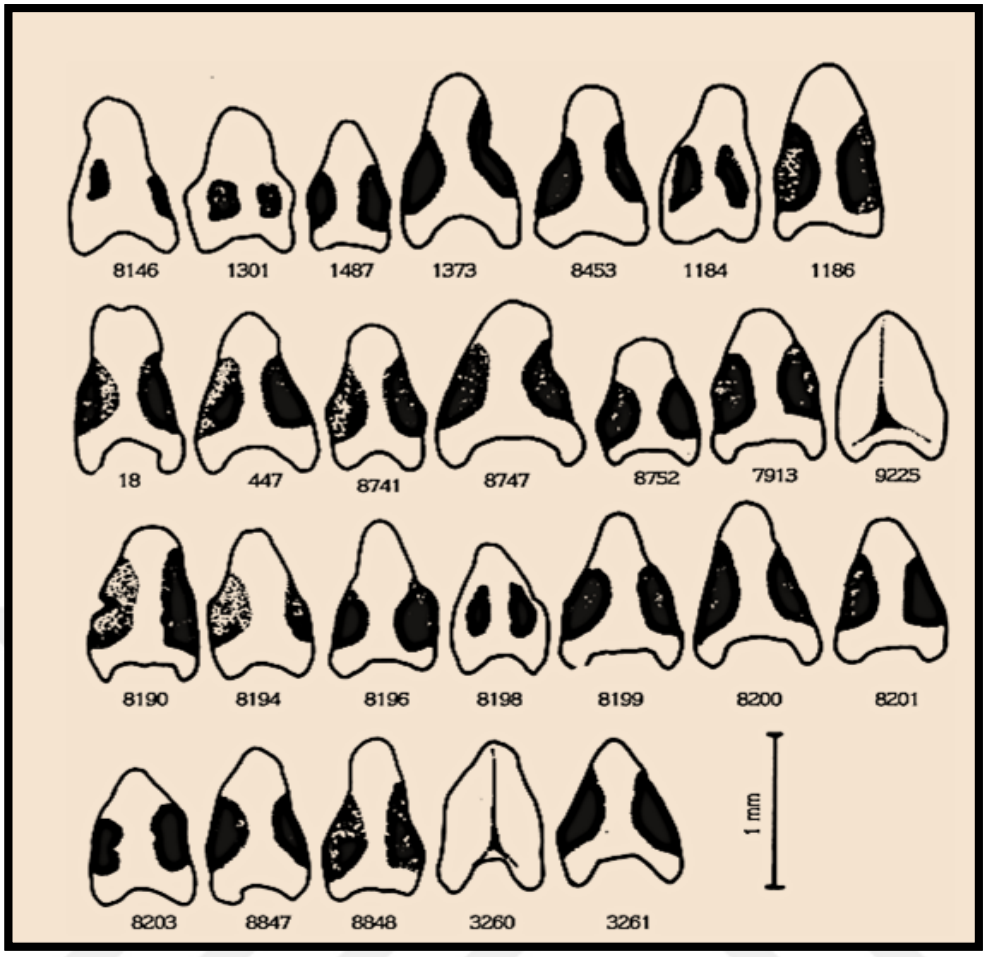
1951. *Myotis blythii* Ellerman and Morrison-Scott, Checklist of Palearctic and Indian Mammals, 1758-1946. Brit. Mus. (Nat. Hist.) 144-145.

3.2.1. Ayırıcı özellikler

Kafatasının en büyük uzunluğu 21.9-23.2 mm, tüm kafatası uzunluğu 21.1-22.7 mm, condylobasal uzunluk 20.0-21.4 mm; zygomatik genişlik 13.1-13.9 mm; üstçene diş dizisi uzunluğu 8.4-9.3 mm; altçene diş dizisi uzunluğu 9.3-9.8 mm; altçene uzunluğu 15.5-17.0 mm. Bu türün bakulumunda proksimalde kollar

birbirinden uzak olup aradaki oyuk *Myotis myotis*'e nazaran daha az derindir. Lateral kenarlar distal uca doğru bakulumun yaklaşık yarı boyuna kadar paralel gitmektedir. Bakulum distal uca doğru bazen çok hafif bir boğumla *M. myotis*'e nazaran daha geniş bir yuvarlak yaparak sonlanmaktadır (Şekil 26 ve 27).

Şekil 3. 26. Kırıkkale ilinden alınan *Myotis blythii* türüne ait bir birey



Şekil 3. 27. *Myotis blythii* türünün bakulumlarında görülen varyasyon (Albayrak ve Aşan (51)'den alınmıştır).

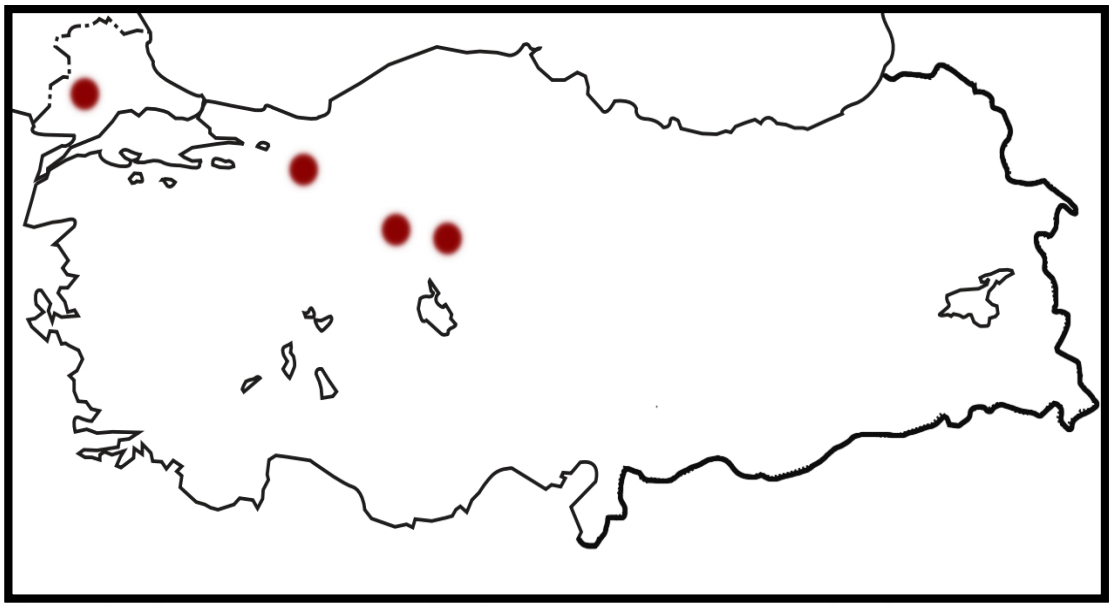
3. 2. 2. Kürk rengi

Dorsal kısımda sarıya çalan grimsi kahverengiden koyu kahverengiye çalan griye kadar değişmektedir. Ventral kısım çok hafif kirli beyazdan grimsi beyaza kadar değişmektedir (Şekil 28)

Şekil 3. 28. *Myotis blythii* türüne ait bireylerde kürk rengi

3. 2. 3 Örneklerin alındığı iller:

Edirne, Lalapaşa 2 ♀♀; Bolu, Gerede, 2 ♂♂; Ankara, Kalecik, 4 ♂♂, 2 ♀♀; Kırıkkale, Keskin, 10 ♂♂ (Şekil 29 ve 30)



Şekil 3. 29. Bu çalışma için *Myotis blythii* türüne ait bireylerinin alındığı lokaliteler

Şekil 3. 30. *Myotis blythii* türüne ait bireylerinin alındığı Kırıkkale ili Keskin ilçesindeki bir tünel

Myotis myotis ve *M. blythii* türleri Türkiye'de mağaralarda genellikle *Rousettus aegyptiacus, Rhinolophusferrumequinum* (Büyük Nalburunlu yarasa), *Rhinolophus hipposideros* (Küçük Nalburunlu yarasa), *Rhinolophus euryale* (Akdeniz Nalburunlu yarasası), *Myotis capaccinii* (Uzun ayaklı yarasa), *Miniopterus schreibersii*(Uzun kanatlı yarasa) türleri ile birlikte simpatrik yaşamaktadır (Şekil 31).

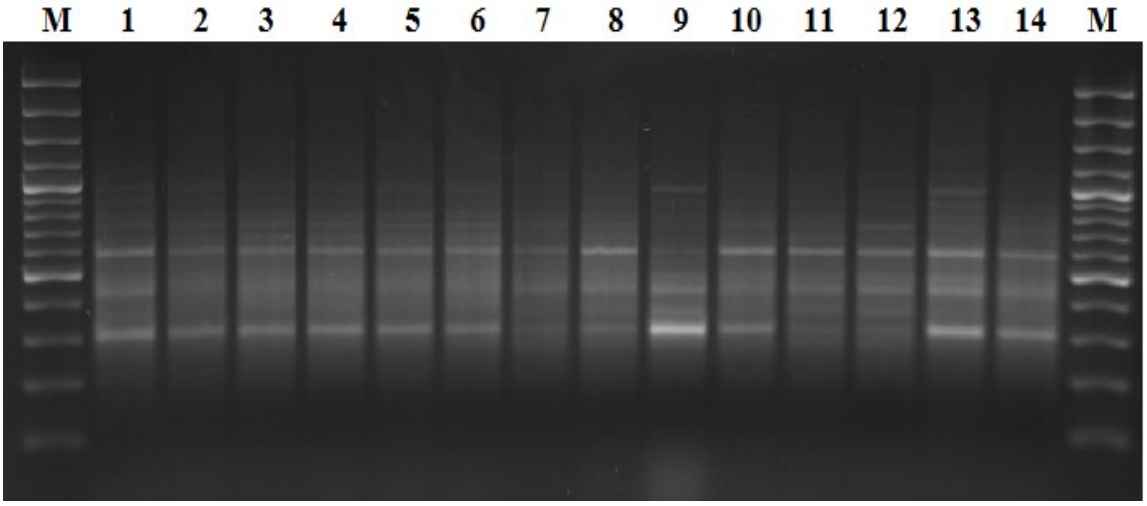
Şekil 3.31. Kırıkkale ilindeki bir tünelde *Myotis myotis/Myotis blythii* türleri ile birlikte sonbahar aylarında simpatrik yaşayan *Rhinolophus ferrumequinum* bireyi

3.3. Moleküler çalışmalar

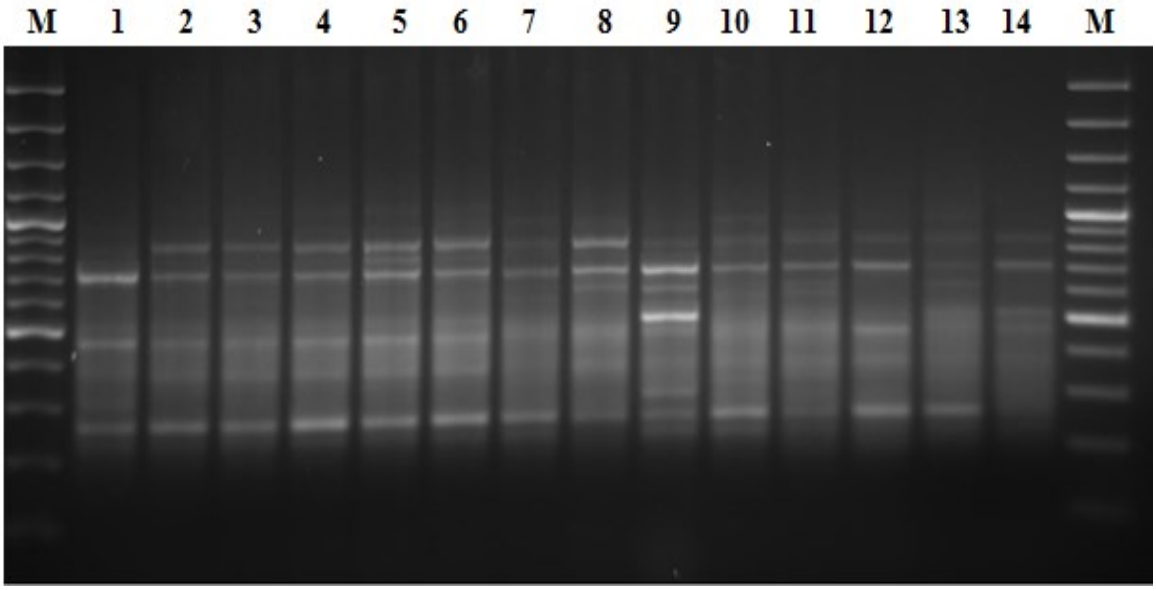
Myotis myotis ve *M. blythii* türlerine ait en iyi DNA'nın elde edildiği toplam 14 adet örnek çalışılmıştır (örnek numaraları: 14001-14014). Rasgele seçilmiş 20 primerin her biri ile hedef DNA'nın herhangi bir bölümünü rasgele çoğaltmak için PCR işlemleri gerçekleştirilmiştir. Örneklerin RAPD-PCR ürünleri %2'lik agaroz jelde DNA Ladder (Fermentas, Gene Ruler^{TM} DNA Ladder Mix, ready-to-use SMO321) ile birlikte yürütülmüştür. Jeller UV translüminatör (BioDoc) üzerinde görüntülenmiş ve fotoğrafları çekilmiştir. Kullanılan primerlerden sekiz tanesi ile daha iyi sonuçlar elde edildiği için değerlendirmeye bu primerler alınmıştır. Türler arasındaki genetik uzaklıklar POPGEN istatistik programları kullanılarak hesaplanmış ve türler arasındaki filogenetik ilişkiyi gösteren dendrogram oluşturulmuştur.

RAPD-PCR işlemleri sonucunda kullanılan sekiz primer ile 85 farklı bant elde edilmiştir. Toplam 85 bantın 74'ü polimorfik çıkmıştır. Her bir primer ile elde edilen çoğaltılmış DNA fragmenti sayısının 7-14 arasında olduğu gözlenmiştir. En çok bant oluşturan primer UBC 375 (14 bant), en az bant oluşturan primer ise B18 (7 bant) olmuştur. En polimorfik primerler UBC 103 VE OPC 02 (%100 polimorfik) iken en az polimorfizn gösteren primer OPW 06 (%73) olmuştur. Fragment büyüklükleri 100 bp – 2000 bp arasında değişmektedir.

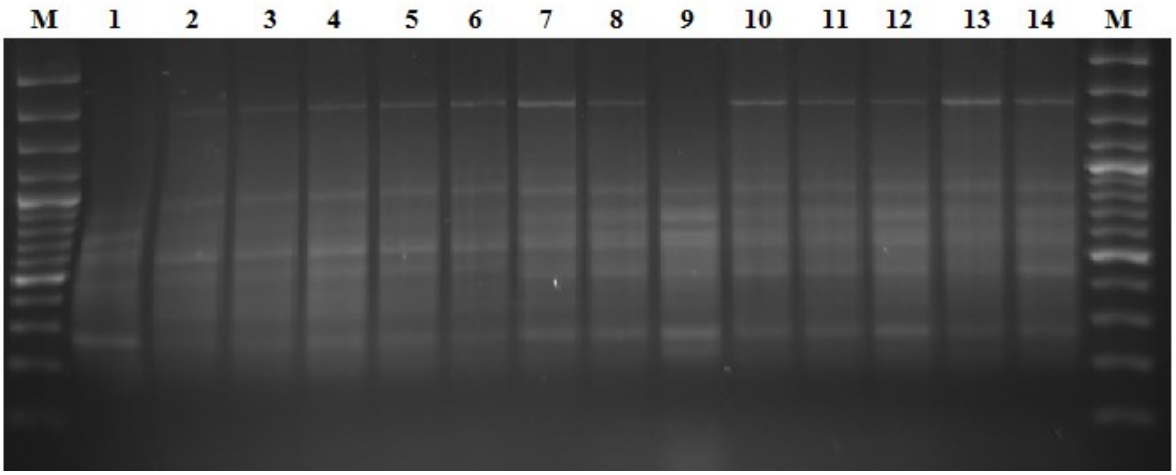
UV translüminatör üzerinde görüntülenen agaroz jel fotoğrafları Şekil 32 – 39' da verilmiştir.



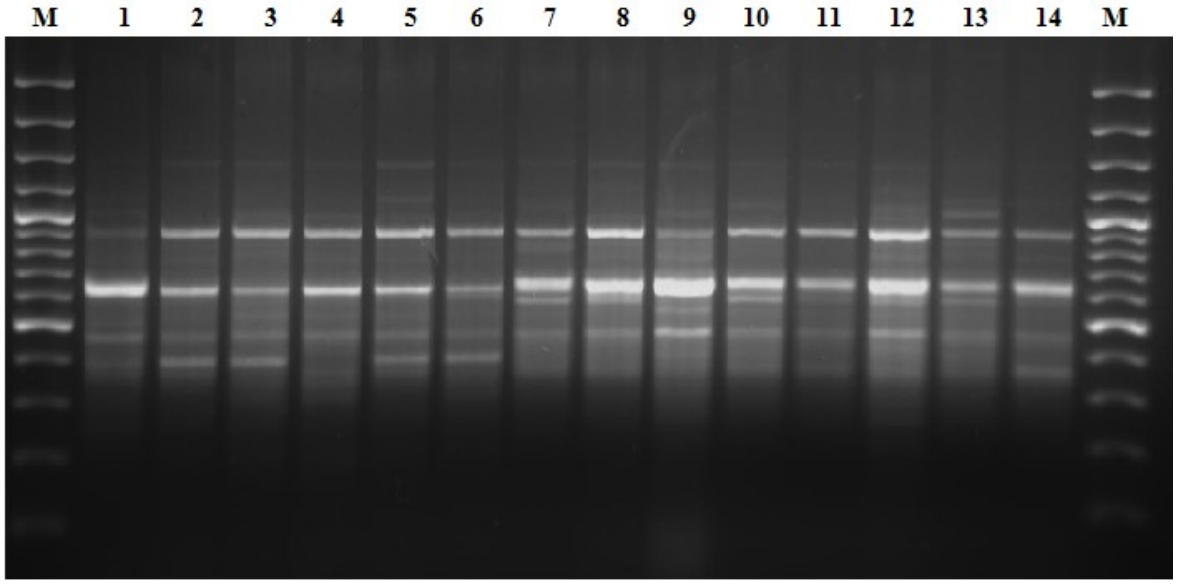
Şekil 3. 32. **OPB 05 primeri** ile elde edilen agaroz jel elektroforezi. **M:** Marker (Fermentas SM0321), 1- 14001, 2- 14010, 3- 14011, 4- 14012, 5- 14013, 6- 14014, 7- 14009, 8- 14004, 9- 14002, 10- 14003, 11- 14005, 12- 14006, 13- 14007, 14- 14008



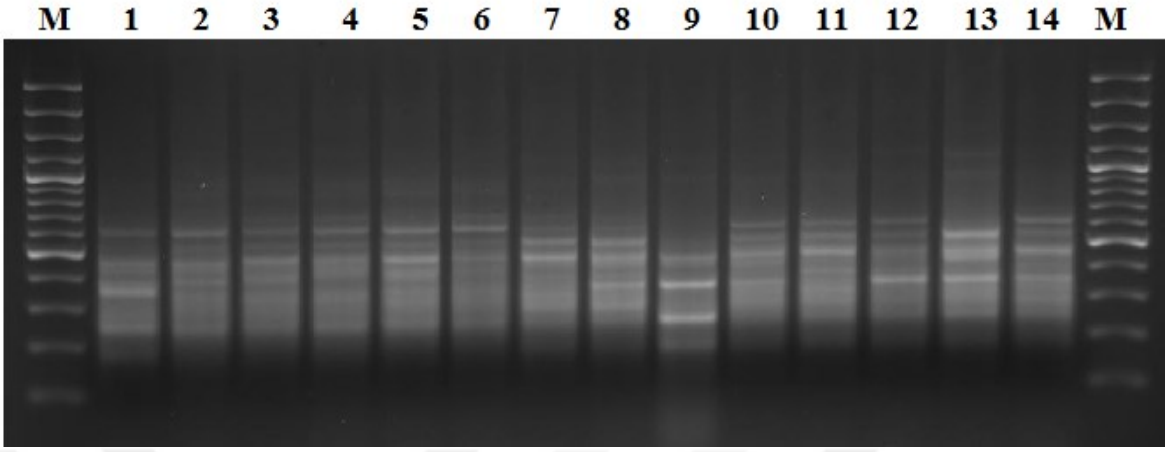
Şekil 3. 33**. OPC 02 primeri** ile elde edilen agaroz jel elektroforezi. **M:** Marker (Fermentas SM0321), 1- 14001, 2- 14010, 3- 14011, 4- 14012, 5- 14013, 6- 14014, 7- 14009, 8- 14004, 9- 14002, 10- 14003, 11- 14005, 12- 14006, 13- 14007, 14- 14008.



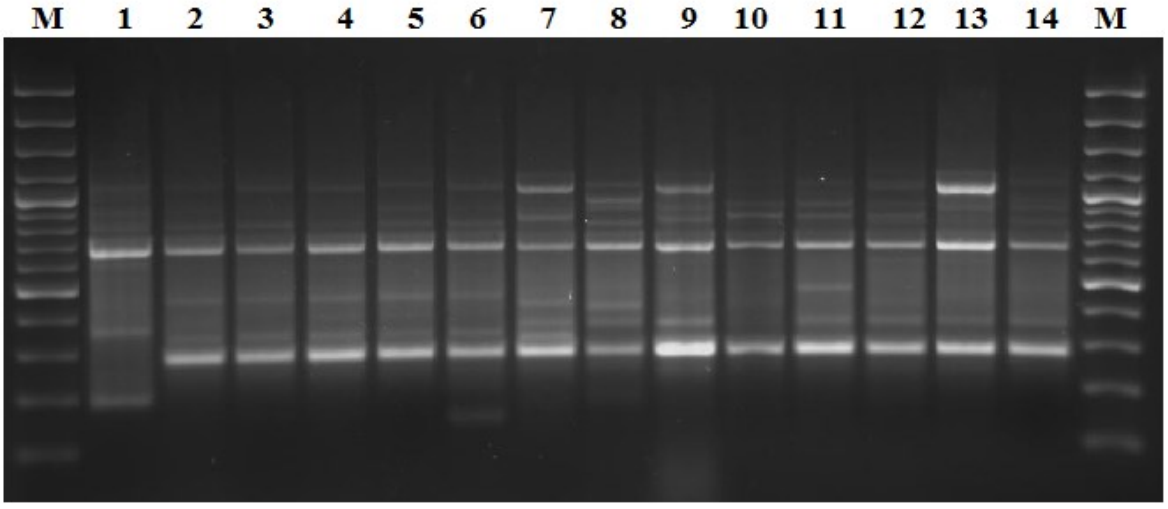
Şekil 3. 34. **B18 primeri** ile elde edilen agaroz jel elektroforezi. **M:** Marker (Fermentas SM0321), 1- 14001, 2- 14010, 3- 14011, 4- 14012, 5- 14013, 6- 14014, 7 14009, 8- 14004, 9- 14002, 10- 14003, 11- 14005, 12- 14006, 13- 14007, 14- 14008



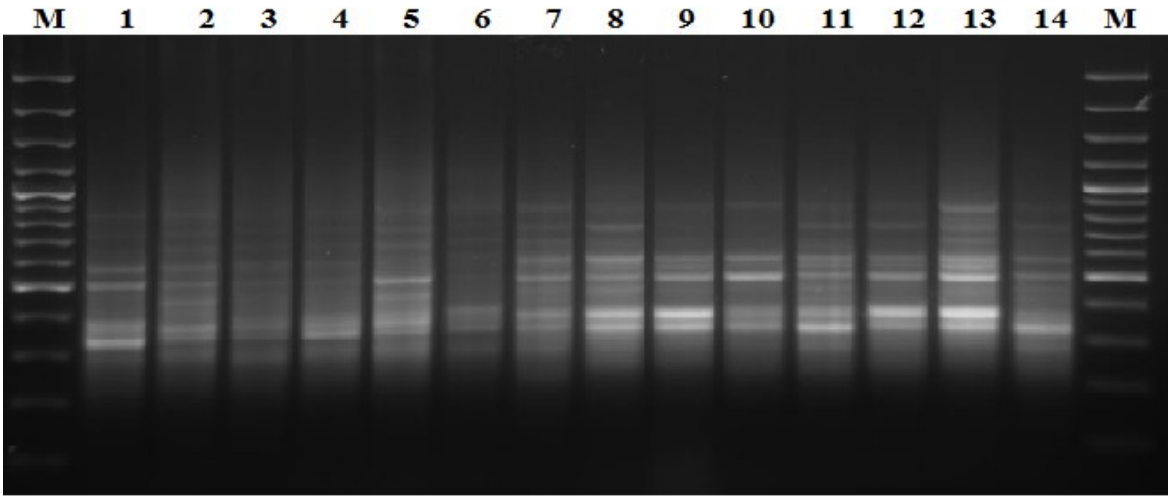
Şekil 3. 35. **OPW 06 primeri** ile elde edilen agaroz jel elektroforezi. **M:** Marker (Fermentas SM0321), 1- 14001, 2- 14010, 3- 14011, 4- 14012, 5- 14013, 6- 14014, 7 14009, 8- 14004, 9- 14002, 10- 14003, 11- 14005, 12- 14006, 13- 14007, 14- 14008



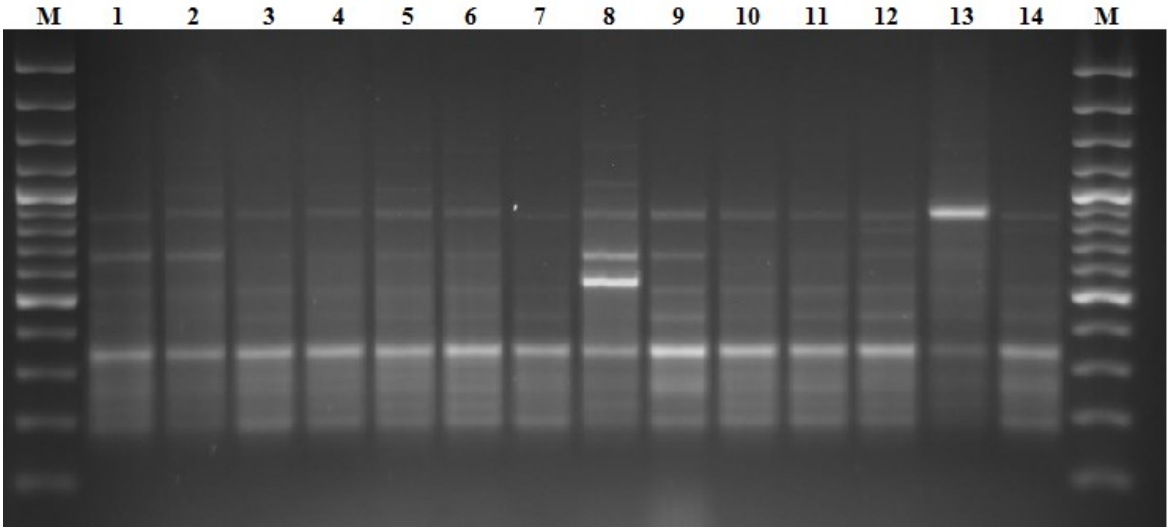
Şekil 3. 36. **UBC 103 primeri** ile elde edilen agaroz jel elektroforezi. **M:** Marker (Fermentas SM0321), 1- 14001, 2- 14010, 3- 14011, 4- 14012, 5- 14013, 6- 14014, 7 14009, 8- 14004, 9- 14002, 10- 14003, 11- 14005, 12- 14006, 13- 14007, 14- 14008



Şekil 3. 37.**UBC 375 primeri** ile elde edilen agaroz jel elektroforezi. **M:** Marker (Fermentas SM0321), 1- 14001, 2- 14010, 3- 14011, 4- 14012, 5- 14013, 6- 14014, 7 14009, 8- 14004, 9- 14002, 10- 14003, 11- 14005, 12- 14006, 13- 14007, 14- 14008

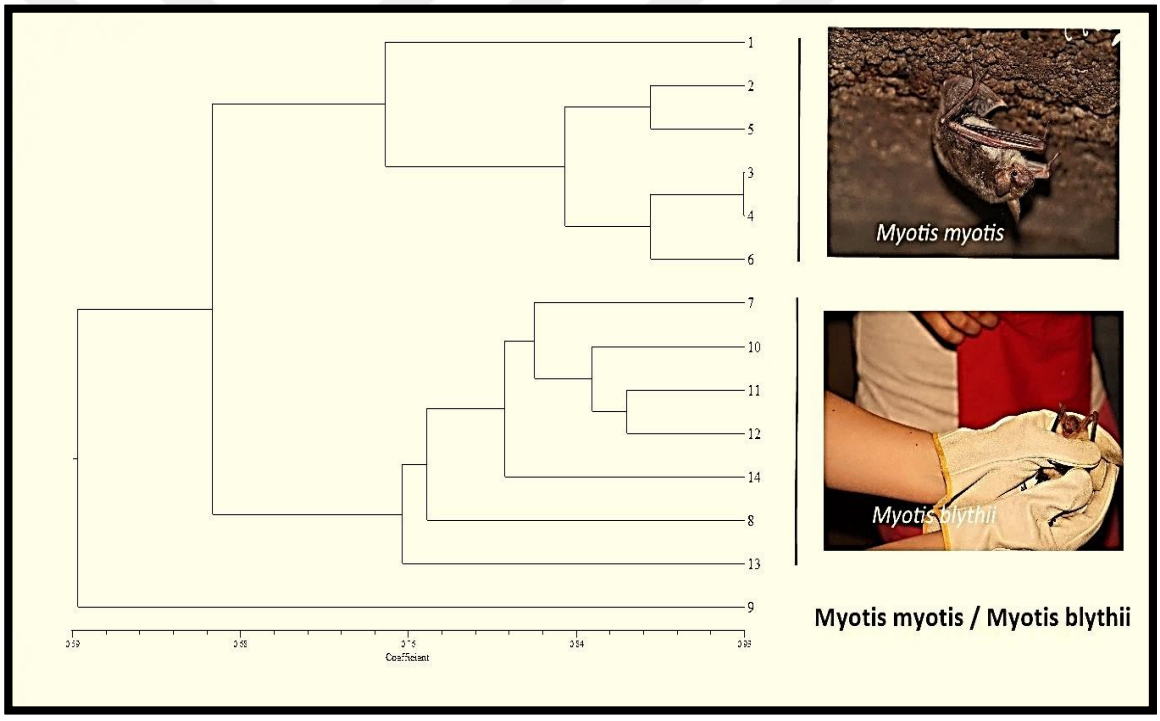


Şekil 3. 38. **UBC 413 primeri** ile elde edilen agaroz jel elektroforezi. **M:** Marker (Fermentas SM0321), 1- 14001, 2- 14010, 3- 14011, 4- 14012, 5- 14013, 6- 14014, 7 14009, 8- 14004, 9- 14002, 10- 14003, 11- 14005, 12- 14006, 13- 14007, 14- 14008



Şekil 3. 39. **UBC 432 primeri** ile elde edilen agaroz jel elektroforezi. **M:** Marker (Fermentas SM0321), 1- 14001, 2- 14010, 3- 14011, 4- 14012, 5- 14013, 6- 14014, 7 14009, 8- 14004, 9- 14002, 10- 14003, 11- 14005, 12- 14006, 13- 14007, 14- 14008

Türler arasındaki genetik uzaklıklar NTSYS istatistik programı kullanılarak hesaplanmış ve türler arasındaki filogenetik ilişkiyi gösteren dendrogram oluşturulmuştur. Bu sonuçlara göre *Myotis myotis* ve *Myotis blythii* oluşturulan dendogramda iki gruba ayrılmıştır. Birinci grupta 14001, 14010, 14011, 14012, 14013 ve 14014, ikinci grupta ise 14003, 14004, 14005, 14006, 14007, 14008, 14009numaralı örnekler yer almıştır. 14002 numaralı örnek ise bu iki gruba sonradan bağlanmıştır. Özellikle Konya'dan alınan 14011 ve 14012 numaralı iki erkek örnek yakın akrabadır (Şekil 40 ve 41).

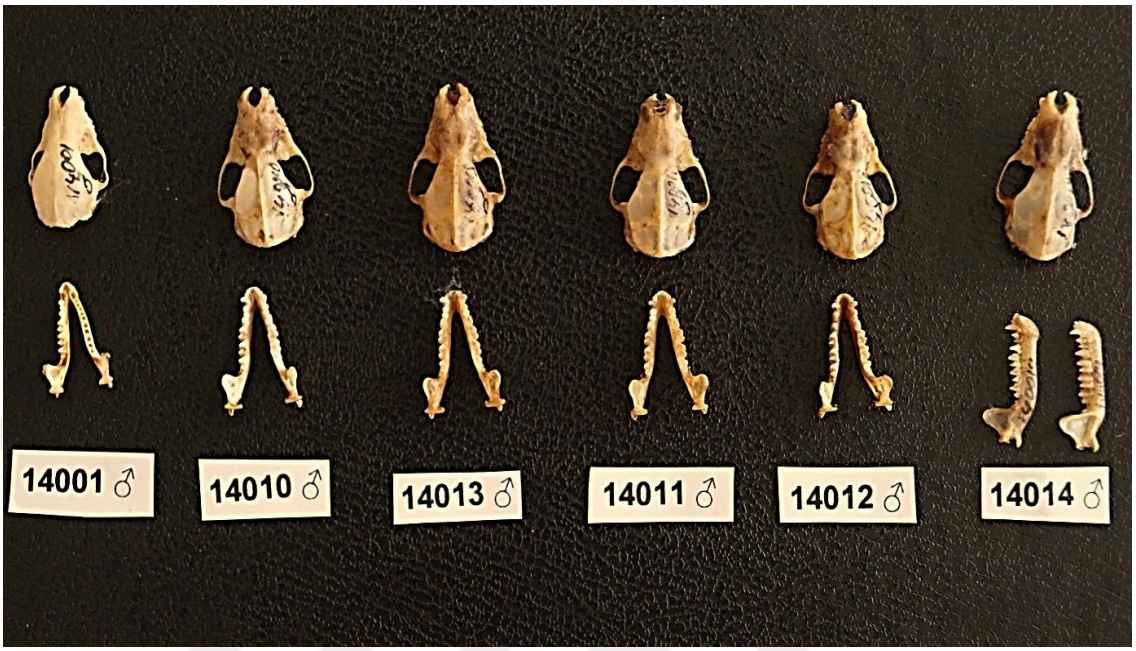


Şekil 3. 40. RAPD verileri sonucu cluster analizi ile *Myotis myotis* ve *Myotis blythii* türleri arasındaki genetik farklılıkları gösteren dendogram (**1:** 14001, Kırıkkale: **2:** 14010, Edirne; **3:** 14011, Konya; **4:** 14012, Konya; **5:** 14013, Edirne; **6:** 14014, Bolu; **7:** 14009, Edirne; **8:** 14004, Ankara; **9:** 14002, Kırıkkale; **10:** 14003, Kırıkkale; **11:** 14005, Kırıkkale; **12:** 14006, Kırıkkale; **13:** 14007, Keskin;**14:** 14008, Bolu)

Rows\Cols	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
1	1.0000000													
2	0.7882353	1.0000000												
3	0.7529412	0.8470588	1.0000000											
4	0.7529412	0.8235294	0.9294118	1.0000000										
5	0.7176471	0.8823529	0.8705882	0.8235294	1.0000000									
6	0.7294118	0.8235294	0.9058824	0.8588235	0.8470588	1.0000000								
7	0.6470588	0.6470588	0.7529412	0.7529412	0.6705882	0.7058824	1.0000000							
8	0.6470588	0.6000000	0.6823529	0.7058824	0.5764706	0.6352941	0.8117647	1.0000000						
9	0.6117647	0.5176471	0.5294118	0.5294118	0.4705882	0.5058824	0.6352941	0.5882353	1.0000000					
10	0.6705882	0.6000000	0.7058824	0.7294118	0.6000000	0.6352941	0.8117647	0.7647059	0.6352941	1.0000000				
11	0.6352941	0.6352941	0.7647059	0.7411765	0.6588235	0.6705882	0.8235294	0.7529412	0.6470588	0.8470588	1.0000000			
12	0.6941176	0.6235294	0.7294118	0.7294118	0.6470588	0.6823529	0.8352941	0.7882353	0.7058824	0.8588235	0.8705882	1.0000000		
13	0.6235294	0.5764706	0.5882353	0.6352941	0.5529412	0.5411765	0.7647059	0.7411765	0.6588235	0.7647059	0.7764706	0.7647059	1.0000000	
14	0.7058824	0.6117647	0.7176471	0.7411765	0.6352941	0.6470588	0.7764706	0.7294118	0.6705882	0.8000000	0.8117647	0.8470588	0.7294118	1.0000000

Şekil 3. 41. Genetik mesafe ve genetik benzerlik hesaplamaları (Nei 1978) (**1:** 14001, Kırıkkale: **2:** 14010, Edirne; **3:** 14011, Konya; **4:** 14012, Konya; **5:** 14013, Edirne; **6:** 14014, Bolu; **7:** 14009, Edirne; **8:** 14004, Ankara; **9:** 14002, Kırıkkale; **10:** 14003, Kırıkkale; **11:** 14005, Kırıkkale; **12:** 14006, Kırıkkale; **13:** 14007, Keskin;**14:** 14008, Bolu)

Morfolojik çalışmaların sonuçları değerlendirildiğinde alınan örneklerin yine iki gruba ayrıldıklarını ve 14002 nolu örneğin kafatasının gerek şekil gerekse ölçüler bakımından iki gruptan farklı olduğu gözlenmiştir (Şekil 42 - 44).



Şekil 3. 42. *Myotis myotis* örneklerine ait kafatasları (14001, Kırıkkale; 14010, Edirne; 14011, Konya; 14012, Konya; 14013, Edirne; 14014, Bolu)

Şekil 3. 43. *Myotis blythii* örneklerine ait kafatasları (14009, Edirne; 14003, Kırıkkale; 14004, Ankara; 14005, Kırıkkale; 14006, Kırıkkale; 14007, Keskin;14008, Bolu)

Şekil 3. 44. *Myotis myotis* ve *M. blythii* özellikleri gösteren örneğin kafatası (14002, Kırıkkale)

Batı Anadolu'dan *Myotis myotis* türüne ait 2 ergin ve 4 genç bireylerin iç ve dış özellik ölçüleri tablo halinde verilmiştir (Çizelge 3. 2 – 3. 4).

Çizelge 3. 2. Batı Anadolu *Myotis myotis* ergin erkek örneklerinde dış, ağırlık ve iç özellik ölçüleri, örnek sayısı (n), varyasyon alt ve üst sınırları (s), ortalama (ort) ve standart sapma (std) değerleri (mm)

ÖZELLİKLER	**n**	**s**	**ort**	**std**
Tümboy uzunluğu	2	123-128	125.5	3.53
Kuyruk uzunluğu	2	50-52	51	1.41
Ardayak uzunluğu	2	14-15	14.5	0.70
Kulak uzunluğu	2	24-26	25	1.41
Kafatasının en büyük uzunluğu	2	23.2-24.2	23.7	0.70
Condylobasal uzunluk	2	22.5-23	22.7	0.35
Zygomatik genişlik	2	13.7-14.3	14.0	0.42
İnterorbital genişlik	2	5.2-5.3	5.25	0.07
Üstçene diş dizisi uzunluğu	2	8.7-9.5	9.1	0.56
Altçene diş dizisi uzunluğu	2	11.0-11.6	11.3	0.42
Altçene uzunluğu	2	17.2-18.5	17.9	0.91
Ağırlık	2	25.0-29.5	27.25	3.18

Çizelge 3. 3. Batı Anadolu *Myotis myotis* genç erkek örneklerinde dış, ağırlık ve iç özellik ölçüleri, örnek sayısı (n), varyasyon alt ve üst sınırları (s), ortalama (ort) ve standart sapma (std) değerleri (mm)

ÖZELLİKLER	**n**	**s**	**ort**	**std**
Tümboy uzunluğu	4	125-130	128.2	2.75
Kuyruk uzunluğu	4	49-60	52.2	5.18
Ardayak uzunluğu	4	11-15	13.7	1.89
Kulak uzunluğu	4	24-25	24.7	0.50
Kafatasının en büyük uzunluğu	3	24-24.9	24.3	0.51
Condylobasal uzunluk	3	22.2-23.8	22.9	0.80
Zygomatik genişlik	4	12-15.9	14.6	1.78
İnterorbital genişlik	4	4.9-5.5	5.2	0.25
Üstçene diş dizisi uzunluğu	4	8.2-9.8	9.3	0.75
Altçene diş dizisi uzunluğu	4	9.5-11.9	11	1.06
Altçene uzunluğu	4	8.0-9.8	9.3	0.75
Ağırlık	4	21-27	24.3	2.68

Çizelge 3. 4. Batı Anadolu *Myotis blythii* genç erkek örneklerinde dış, ağırlık ve iç özellik ölçüleri, örnek sayısı (n), varyasyon alt ve üst sınırları (s), ortalama (ort) ve standart sapma (std) değerleri (mm)

ÖZELLİKLER	**n**	**s**	**ort**	**std**
Tümboy uzunluğu	5	124-135	128.8	3.97
Kuyruk uzunluğu	5	45-59	52.2	5.21
Ardayak uzunluğu	5	12-16	14.2	1.48
Kulak uzunluğu	5	20-22	20.8	1.09
Kafatasının en büyük uzunluğu	6	21-21.6	21.3	0.24
Condylobasal uzunluk	6	20-21.2	20.6	0.44
Zygomatik genişlik	6	13.2-14.5	13.8	0.54
İnterorbital genişlik	6	5-5.5	5.25	0.16
Üstçene diş dizisi uzunluğu	6	8.5-9.2	8.9	0.25
Altçene diş dizisi uzunluğu	6	9.2-11.1	10.1	0.60
Altçene uzunluğu	6	16.1-17.2	16.7	0.38
Ağırlık	6	17-31	26.4	4.96

Genetik farklılaşmada 14014 numaralı örnek *Myotis myotis* kümesi içinde yer almaktadır. Arlettaz vd (21) tarafından verilen diskriminant fonksiyonu uygulandığında sonuç Z= 11.798 çıkmıştır. Bu sonuç Z > 0 olduğu için,örneğin Farekulaklı büyük yarasaya ait olduğunu ispatlamaktadır. Buna karşılık aynı hesaplama 14005 numaralı *M. blythii* için yapıldığında ise; Z= -20.09 çıkmaktadır. Bu sonuç da Z<0 olduğu için örneğin Farekulaklı küçük yarasaya ait olduğunu ispatlamaktadır. Genetik farklılaşmada iki kümeden farklı olan 14002 numaralı örneğe diskriminant fonksiyonu uygulandığında Z= -5.434 çıkmaktadır. Sonuç aslında Z<0 olduğu için *Myotis blythii* olduğunu gösterse de bu örnek genetik farklılaşma dendogramında*M.blythii* kümesinde yer almamaktadır. Kafatası morfolojik yönden incelendiğinde *M. blythii* örneklerinin kafatasına benzerlik göstermekle birlikte, örnek ergin bir birey olmasına karşılık,türün kafatası ölçü değerlerinden daha küçük değerlere sahiptir.

Arlettaz vd. (21) *Myotis myotis* ve *M. blythii* türlerinin allozim lokuslarını çalışmış ve her iki türün birbirinden ayrıldığını tespit etmişlerdir. Buna karşılık araştırıcılar iki sibling türün aynı tüneği paylaşmalarına rağmen hiç çiftleşmediğini de ifade etmişlerdir.

Albayrak ve Aşan (52) *Myotis myotis* türüne ait 146 örneği taksonomik olarak incelemiş ve Türkiye'de *Myotis myotis myotis* ve *M.m. macrocephalicus* alttürlerinin yayılış gösterdiğini belirtmişlerdir. Araştırıcılar ayrıca batıdan doğuya doğru geniş bir hibrid alanın da bulunduğunu ilave etmişlerdir. Bu çalışmada Konya ilinden alınan örneklerin iç ve dış ölçü değerleri Antalya, Adana, Mersin ve Hatay'da yayılış

gösteren *M. m. macrocephalicus* alttürünün morfometrik değerlerine benzerlik göstermektedir.

Berthier vd (20), Farekulaklı büyük ve küçük yarasanın bazı morfometrik özellikleri ve morfolojik özellikleri bakımından birbirlerinden ayrıldığını belirtmişlerdir. Araştırıcılar inceledikleri 300'den fazla örnekte iki allozim lokusunun türleri kesin olarak birbirinden ayırdığını tespit etmişlerdir. Bununla birlikte hibrit genotip kaydının olmadığını ifade etmişlerdir. Son yıllarda yapılan çalışmalar mtDNA ve nükleer DNA marker'ları ile yapıldığından daha ayrıntılı incelemeye imkan sağlamakta ve daha farklı sonuçların ortaya çıkarmaktadır.

Nasari vd (53), birbirine çok benzeyen iki kemirici türünü RAPD-PCR tekniği ile çalışmışlardır. Bu çalışmalarında 9 primer kullanmış ve *Apodemus ovicennicus* ile *A.witherbyi* türlerinin birbirlerinden bu teknik ile kesin ayrıldığını belirtmişlerdir.

Bachanek ve Postawa (54)'ya göre bazı hibrit bireyler morfometrik özellikleri bakımından ayrılmaktadır buna karşılık bu bireyler henüz moleküler çalışmalar ile doğrulanmamıştır. Bu çalışma ile simpatrik olarak yaşadıkları bir tünekte *Myotis myotis* ve *M. blythii*'nin gerek morfometrik gerekse RAPD-PCR ile ayrıldığı ayrıca hibrit bir birey de bu teknikle ortaya çıkarılmıştır.

Ruedi ve Mayer (19), Berthier vd. (20) ve Mayer vd (55) Orta Avrupa'nın bazı bölgelerinde *Myotis blythii*(*oxygnathus*) türünün *M.myotis* ile simpatrik olarak bulunduğu bölgelerde az da olsa hibrit bireyler oluşturduğunu ve aynı mtDNA haplotiplerini paylaştıklarını belirtmişlerdir.

Bogdanowicz vd (24) nükleer (RAG2) ve mitokondriyal markerlar kullanarak Karpat havzasında farekulaklı büyük ve küçük yarasalar arasında hibritleşme tespit etmişlerdir. Araştırıcılar kafatası ölçüleri ile de bu bireylerin hibrit olduklarını

ispatlamıştır. Bu çalışmada da RAPD-PCR tekniği ile 8 primer kullanarak iki tür birbirinden ayrılmıştır.

Bachanek ve Postawa (54)'a göre *Myotis myotis* ve *M. oxygnathus* simpatrik olarak yayılış gösterdiğinde aynı mtDNA haplotiplerine sahiptir. Araştırıcılar hibrit bireylerin tespiti için klasik morfometrik metotlar kullanmışlardır. Bu metotlara göre iki tür birbirinden kesin ayrılmaktadır fakat 6 örnekte ara değerler tespit etmişler ve bu örnekleri hibrit bireyler olarak kabul etmişlerdir. Bu çalışmada gerek morfometrik metotlar gerekse genetik metotlar ile Batı Anadolu'da hibrit olduğu düşünülen bir birey tespit edilmiştir.

Furman vd. (56) Farekulaklı büyük ve küçük yarasaların Trakya ve Anadolu'daki morfometrik varyasyon ve genetik çeşitliliğini incelemişlerdir. Morfometrik varyasyon için üstçene diş dizisi uzunluğu ve rostral genişlik değerlerini kullanmışlardır. Araştırıcılar üstçene diş dizisi uzunluklarında önemli bir varyasyon belirlemelerine rağmen bazı bölgelerde bu çeşitliliğin belirgin olmadığını ifade etmişlerdir. 307 baz çiftlik mitokondriyal kontrol bölgesinde ise genetik çeşitliliğin Trakya ve Anadolu'da oldukça yüksek olduğunu kaydetmişler ve Trakya ve Anadolu'da bir ya da daha fazla glacial refugia'ya ev sahipliği yaptığını ileri sürmüşlerdir. Araştırıcılara göre farekulaklı küçük ve büyük yarasalar aynı veya çok benzer haplotiplere sahiptir. Bu haplotipler araştırıcılar tarafından daha önceki yayınlarında belirtilen haplogrup D'ye aittir. Bu haplogrup ayrıca Balkanlar, Kırım ve Orta Avrupa'da bulunmaktadır. Bachanek (57) ise yarasaların ayrımında en iyi sonuç veren ölçülerin condylobasal uzunluk, kafatasının en büyük uzunluğu, interorbital genişlik, LC^1-M^3 ile WC^1-C^1 olduğunu belirtmiştir.

Tür içi ve türlerarası genetik farklılaşma ekolojik, evrimsel ve tarihsel nedenlerden meydana gelebilir (13). Furman vd. (58)'ne göre sitonükleer ayrımda

iki marker kullanılmaktadır: Mitokondriyal ve nükleer. Nükleer marker'lar taksonlar arası farklılıkları gösterirken mitokondriyal markerlar göstermezler buna karşılık bu markerlar hibritleşme ve introgresyonu ortaya çıkarmaktadır. Araştırıcılara göre Anadolu'daki Farekulaklı küçük yarasa Anadolu'dan İstanbul boğazı ile Doğu Avrupa'ya Holosenin başında geçmiştir. Bu geçiş esnasında iki türün üreme izolasyonu henüz tamamlanmamış olduğundan iki tür hibridize olmaktadır. Ayrıca *M.m.macrocephalicus* olarak bilinen ve morfolojik ölçü bakımından nominatif alttüre nazaran daha büyük örneklerin batıdan doğuya doğru ölçü bakımından klinal bir artış gösterdiği için bu örneklerin sadece *M.myotis* türünün coğrafik varyantları olduğunu, herhangi bir taksona ait olmadığını ileri sürmüşlerdir. Araştırıcılar iki tip *Myotis myotis* alt popülasyonu olduğunu belirtmişlerdir: Avrupa'da bulunan *M. myotis* ve Anadolu'da bulunan *M.myotis*. Her iki altpopulasyon Balkanlar'da karşılaşmaktadır. Morfolojik bakımdan teşhis edilen *M.myotis* ve *M.blythii* türleri nükleer mikrosatellit verileri bakımından ayrılmaktadır. Bu çalışmada da RAPD-PCR metodu ile türler birbirinden ayrılmakta ve farklı kümeler oluşturmaktadır. Özellikle simpatrik olarak yaşadıkları tüneklerin incelenmesinde oldukça faydalı bir metot olduğu bu çalışma ile gösterilmiştir.

Sara vd. (59) üç lokaliteden *Crocidura sicula* türüne ait 12 birey incelemiş ve bireylerin belirgin şekilde RAPD-PCR metodu ile birbirinden ayrıldığını tespit etmişlerdir.

Spiridonova vd. (60) *Mus musculus*'un altı alttürünün RAPD-PCR ile genetik uzaklıklarını çalışmışlardır. Çalışma sonucunda *domesticus* ve *castaneus* alttürlerinin birbirlerine yakın akraba olduklarını tespit etmişlerdir. Bununla birlikte *bacterianus* alttürü *musculus* ve *gansuensis* alttürüne ait bireyler ile aynı kümenin içinde yer almaktadır.

Ramadan (61) Mısır'da yayılış gösteren *Rousettus aegyptiacus* ve *Rhinopoma hardwickei* türlerinin arasındaki genetik varyasyonu incelenmiş ve türler arasında 39 banttan 34'ünde (%87,18) polimorfizm tespit edilmiştir. *Rousettus aegyptiacus* türünün içindeki düşük genetik varyasyon Pteropodidae familyasının diğer türlerinde de tespit edilmiştir. Sonuç olarak araştırıcı *Rousettus aegyptiacus* ve *Rhinopoma hardwickei* türlerinin RAPD bant profillerinin çok açık ve kesin olduğunu belirtmiştir.

Riaz vd (62)'ne göre RAPD-PCR tekniği sadece polimorfizmi değil aynı zamanda hibrit bireylerin de ortaya çıkmasını sağlayan bir tekniktir. Barbanera vd (63) ise keklik türleri olan *A. barbara* ve *A. rufa* türlerinin çiftleşmesi sonucu oluşan hibrit bireyi RAPD-PCR tekniği ile tespit etmişlerdir. Bu çalışmada da *Myotis myotis* ve *M. blythii* kümelerinden ayrı bulunan bir birey tespit edilmiştir. Bu birey Kırıkkale ili Keskin ilçesindeki bir tünelden alınmıştır. Tünel yaz ve kış aylarında *M. blythii* türü tarafından sürekli kullanılırken *M. myotis* türüne ait dişiler sadece Nisan-Mayıs aylarında gelip sonbaharda tüneli terk etmektedir. Hibrit birey muhtemelen iki türün sonbahar ayında çiftleşmesi sonucu ortaya çıkmıştır.

Boston vd. (64) üç yarasa türünü (*Myotis mystacinus*, *M. brandtii* ve *M. alcathoe*) RAPD-PCR tekniği ile birbirlerinden ayrıldığını belirtmişlerdir. Bu çalışmada da *M. myotis* ve *M. blythii* belirgin bir şekilde birbirlerinden ayrılmaktadır.

Selçuk vd. (65) Türkiye'de 7 lokaliteden 35 *Glis glis* örneğini çalışmıştır. Araştırıcılar 20 RAPD primer kullanmış bunlardan sadece 12 tanesi 74 bant ortaya çıkarmıştır. Çalışmada Kırklareli ve Zonguldak illerinden alınan örneklerin en yakın, Zonguldak ve Rize illerinden alınan örneklerin ise en uzak örnekler olduklarını tespit etmişlerdir. Bu tür için Doğramacı ve Tez (66) ve Çolak vd. (67) farklı sonuçlar elde etmişlerdir. Morfolojik ve morfometrik olarak *G.g.pindicus* Trakya, *G.g.orientalis*

ise Anadolu'dan kayıt verilmiştir. Buna karşılık 28 allozim lokusu incelendiğinde iki alttür arasında farklılık bulunmamıştır. RAPD-PCR ile yapılan çalışmada ise iki alttür birbirinden ayrılmamış ve Çolak vd. (67)'in verileri desteklenmiştir. Bu çalışmada Ankara, Kırıkkale, Bolu, Konya ve Edirne illerinden iki yarasa türüne ait örnekler çalışılmış ve türlerin açıkça ayrıldığı tespit edilmiştir.

Çoraman vd. (68)'ne göre *Myotis myotis* ve *M. blythii* morfolojik olarak benzemekte ve Anadolu'da aynı mtDNA haplotiplerini paylaşmaktadır. Araştırıcılar hibrid bireylerin morfolojik yönden *M. myotis* türüne daha yakın olduğunu belirtmişlerdir. Bu çalışmada hibrid olarak kabul edilen birey gerek morfolojik bakımdan gerekse RAPD-PCR tekniği ile çalışıldığında *M. blythii* türüne yakın olduğu tespit edilmiştir.

Furman vd. (69)'a göre kardeş türler arasındaki genetik ayrılık cytochrome b geni bakımından %5'den fazla ise bu bireyler biyolojik tür olarak adlandırılırken, genetik ayrımı %2'den düşük olanlara konspesifik morfotip denir. Araştırıcılara göre büyük *Myotis* türleri arasındaki genetik farklılıklar kesin değildir ve *Myotis blythii*ile*M. myotis* türleri Anadolu ve Avrupa'da allopatrik türleşme ile ayrılmıştır böylece doğu ve batı mitokondriyal soyları ortaya çıkmıştır.

Kanuch vd. (70) Çek Cumhuriyeti ve Slovakya'dan aldığı kriptik Pipistrellus pipistrellus ve P. pygmaeus türlerinin RAPD-PCR metodu ile türe özel bantlar oluşturması nedeniyle teşhislerinin yapılabildiğini belirtmişlerdir.

Herhangi bir türün populasyon biyolojisini çalışmak istersek bu türlerin öncelikle genetik bakımdan birbirlerinden ayrılması gerekmektedir. Yarasalar tarafından oluşturulan koloniler genellikle akraba olmayan ya da uzak akraba olan farklı yaşlardaki dişilerden oluşmaktadır. Bu tip kolonilerde genetik varyasyonu artırmaktadır (71). Bu çalışma ile Türkiye'de ilk defa *Myotis myotis* ve *Myotis blythii*

türlerinin genetik uzaklıkları RAPD–PCR ile belirlenmiştir. Bununla birlikte gerek morfolojik gerekse RAPD-PCR sonuçlarına göre bu bireyin hibrit birey olduğu düşünülebilir. Bu nedenle bundan sonraki çalışmalarda türlerin yayılış gösterdiği tüm Türkiye'den örnek almak suretiyle incelenecek sayısı arttırılarak hem morfolojik hem PCR işlemlerinin daha ayrıntılı incelenecektir.

KAYNAKLAR

[1] Richardson, P. 2011. Bats. Natural History Museum Life Sciences. London Natural History Museum, London, 1-128.

[2] Merrit, J.F. 2010. The biology of small mammals. The Johns Hopkins University Press. Baltimore, 1-312.

[3] Bogdanowicz, W., Rajan, K. E., Arasamuthu, A. S., Marimuthu, G., Dabrowski, M. 2014. Baby sitting and aspects of non-maternal infant support in the carnivorous bat *Megaderma lyra*. XIIIth European Bat Research Symposium, 1- 5 th September 2014, Siberik, Crotia.

[4] Racovitza, E.G., 1907. Essai surles problemes biospeologiques. Arch Zool. Exp. Gen (Biospeol I), 4e serie, 6: 371-388.

[5] Pavan, M., 1944. Considerazioni sui concetti di troglobio, troglofilo e troglosseno. Le Grotte d'Italia, ser 2. 5: 35-41.

[6] Ruffo, S., 1957. Le attuali conoscenze sulla fauna cavernicola delle Regione Pugliese. Mem Biogeogr Adriat. 3: 1-143.

[7] Sket, B., 2008, Can we agree on an ecological classification of subterranean animals? Journal of Natural History. V. 42, no. 1-2, p. 1549-1563.

[8] Culver, D. C., and Pipan, T., 2010,The Biology of Caves and Other Subterranean Habitats:UK, Oxford University Press, p. 254.

[9] Ruedi, M., Stadelmann, B., Gager, Y., Douzery, E.J.P., Francis, C. M., Lin, L.-K., Guillen-Sevent, A., Cibois, A., 2013. Molecular Phylogenetic reconstructions identify East Asia as the cradle for the evolution of the cosmopolitan genus *Myotis* (Mammalia, Chiroptera). Moleculer Phylogenetics and Evolution, 69: 437-449.

[10] Harris, C.L., 2016. Teaching Animal Molecular Phylogenetics. McGraw Hill, U.S.A., 62 p.
<http://www.mhhe.com/biosci/pae/zoology/animalphylogenetics/index.mhtml|>

[11] Nowak, R. M. 1999. Walker's Mammals of the World. 6th Edition. The John Hopkins University Press, Baltimore, 1-11550.

[12] Simmons, N. B., Seymour, K. L., Habersetzer, J., Gunnell, G. F. 2008. Primitive early eosen bat from Wyoming and the evolution of flight and echolocation. Natura, 451: 818-821.

[13] Moreira, P.R.L., Morielle-Versute, E., 2006. Genetic variability in species of bats revealed by RAPD- analysis. Genetics and Molecular Research. 5 (4): 804-815.

[14] http:// animal diversity.ummz.umich.edu/accounts/Vespertilionidae.

[15] Galimberti, A., Martinoli, A., Russo, D., Mucedda, M., Casiraghi, M., 2010. Molecular identification of Italian mouse-eared bats (genus *Myotis*). In: Nimis, P.L., Vignes, L.R. (eds.).Tools for Identifying Biodiversity: Progress and Problems, pp. 289-294.

[16] Tate, G. H. H., 1942. Results of the Archbold Expeditions 47. Review of the Vespertilionine bats, with special attention to genera and species of the Archbold Collections. Bulletin of the American Museum of Natural History, 80(7): 221–297.

[17] Findley, J.S., 1972. Phenetic Relationships among Bats of the Genus *Myotis*. Systematic Biology. 21 (1): 31-52.

[18] Koopman, K.F., 1994. Order Chiroptera. In: Mammal Species of the World. A Taxonomic and Geographic Reference. Second Edition (Eds. D.E. Wilson,

D.M. Reeder). Pp. 137-241, Smithsonian Institution Press, Washington and London.

[19] Ruedi, M., Mayer, F., 2001. Molecular Systematics of bats of the genus *Myotis* (vespertilionidae) suggests deterministic ecomorphological convengences. Molecular Phylogenetics and Evolution. 21 (3): 436-448.

[20] Berthier, P., Excoffier, L., Ruedi, M., 2006. Recurrent replacement of mtDNA and cryptic hybridization between two sibling bat species *Myotis myotis* and *Myotis blythii*. Proc. R. Soc. B., 273: 3101-3019.

[21] Arlettaz, R., Ruedi, M., Ibanez, C., Palmeirim, J., Hausser, J., 1997. A new perspective on the zoogeography of the sibling mouse-eared bat species *Myotis myotis* and *Myotis blythii*: morphological, genetical and ecological evidence. J. Zool. Lond., 242: 45-62.

[22] Russo, D., Jones, G., Arlettaz, R., 2007. Echolocation and passive listening by foraging mouse-eared bats *Myotis myotis* and *M. blythii*. The Journal of Experimental Biology. 210: 166-176.

[23] Arlettaz, R., 1999. Habitat selection as a major resource partitioning mechanism between the two sympatric sibling bat species *Myotis myotis* and *Myotis blythii. Journal of Animal Ecology. 68 (3): 460-471.*

[24] Bogdanowicz, W., Van den Bussche, R.A., Gajewska M., Postawa, T., 2009. Ancient and contemporary DNA sheds light on the history of mouse-eared bats in Europe and the Caucasus. Acta Chiropterologica, 11 (2): 289-305.

[25] Bryja, J., Uhrin, M., Kanuch, P., Bemova, P., Martinkova, N., Zukal, J., 2010. Mitochondrial DNA confirms low genetic variation of the greater mouse-eared bats, *Myotis myotis* in Central Europe. Acta Chiropterologica, 12 (1): 73-81.

[26] Hutson, A.M., Spitzenberger, F., Aulagnier, S., Coroiu, I., Karataş, A., Juste J., Paunovic, M., Palmeirim, J., Benda P., 2008. *Myotis myotis* and *Myotis blythii*. The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2015, 2. <www. iucnredlist.org> Downloaded on 07. August 2016.

[27] Mitchell-Jones, A.J., Amori, G., Bogdnowicz, B., Krystufek, B., Reijnders, P.J.H., Spitzenberger, F., Stubbe, M., Thissen, J.B.M., Vohralik, V., Zima, J., 1999. The Atlas of European Mammals. Academic Press, U.K., 150 p.

[28] Satunin, K., 1913. Über die zoogeographischen Grenzen des Kaukasusgebietes. Vorlaufige Mitteilung. Mitt. Kaukas.Mus. Tiflis. 7: 56-106.

[29] Asan, N., Albayrak, I., Yorulmaz, T., 2010. Noteworthy new records and conservation of *Myotis myotis* (Borkhausen, 1797) and *Myotis blythii* (Tomes, 1857) (Mammalia: Vespertilionidae) in Turkey. Lynx. 41: 145-150.

[30] Aşan Baydemir N., 2014, Bat Fauna of Turkey and Northern Cyprus: Species Diversity, Anthropogenic Roost Disturbance and Conservation Status. Journal of International Environmental Application and Science, v. 9, no. 5, p. 590-596.

[31] Uhrin, M., Benda, P, Obuch, J., Danko, S., 2008. Lesser mouse-eared bat (*Myotis blythii*) in Slovakia: distributional status with notes on its biology and ecology (Chiroptera: Vespertilionidae). Lynx. 39 81): 153-190.

[32] Uhrin, M., Benda, P., Obuch, J., Danko, S., 2008. Lesser mouse-eared bat (*Myotis blythii*) in Slovakia: distributional status with notes on its biology and ecology (Chiroptera: Vespertilionidae). Lynx 39 (1): 153-190.

[33] Castella, V., Ruedi, M., Excoffier, L., Ibanez, C., Arlettaz, A., Hausser, J., 2000. Is the Gibraltar Starit a barrier to gene flow fort he bat Myotis myotis (Chiroptera: Vespertilionidae)? Molecular Ecology, 9: 1761-1772.

[34] Simmons, N.B., 2005. Order: Chiroptera. In: D.E. Wilson and D.M. Reeder (eds.). Mammal Species of the World: a Taxonomic and Geographical Reference. Pp. 312-529. Johns Hopkins University Press, Baltimore.

[35] Rajan, K.E., Marimuthu, G., 2006. A preliminary examination of genetic diversity in the Indian false vampire bat *Megaderma lyra*. Animal Biodiversity and Conservation. 29 (2): 109-115.

[36] Aydın, S.O., 2004. RAPD (Rastgele arttırılmış polimorfik DNA) belirliyecileri ve bitki sistematiği. Dumlupınar Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 6: 113-130.

[37] Ali, R.A.M., 2011. Molecular Phylogenetic Relationship between and within the fruit bat (*Rousettus agyptiacus*) and the lesser tailed bat (*Rhipoma hardwicki*) deduced from RAPD-PCR analysis. Journal of American Science, 7 (10): 678-682.

[38] Devrim, A.K., Kaya, N., 2006. An investigation on DNA polymorphism of the cattle breeds in the province of kars by RAPD-PCR technique. Revue Med. Vet. 157 (2): 88-91.

[39] Attia, W.T., El Desouki, N.I., Madkour, G.A., Sayed, A., El-Hady, I., El Nabi, S.E.H., Refaiy, A.I., 2007. Cytogenetical and molecular studies on two common species of bats from Egypt, *Rousettus agyptiacus* and *Taphozous nudiventris*. Egypt J. Exp. Biol., 3: 251-260.

[40] Kumar, P., Grupta, V.K., Misra, A.K., Modi, D.R., Pandley, B.K., 2009. Potential of molecular markers in Plant Biotechnology. Plant Omics Journal, 2 (4): 141-162.

[41] Abed, M.M.R, Grötzchel, S., 2005. Applications of denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) and microsensor techniques in oil biodegradation studies. Developments in Earth and Environmental Sciences, 3: 7-91.

[42] Özşensoy, Y., Kurar, E., 2012. Markör sistemleri ile Genetik karakterizasyon çalışmalarında kullanımı. Journal of Cell and Molecular Biology, 10 (2): 11-19.

[43] Bogdanowicz, W., 2009. Analysis of Bat Morphology. In: T. Kunz and S. Parsons (eds.). Ecological and behavioral methods for the study of bats. 2nd edition. pp. 409-435. The Johns Hopkins University Press, Baltimore.

[44] Benda, P., Horacek, I., 1998. Bats (Mammalia: Chiroptera) of the Eastern Mediterranean. Part 1. Review of distribution of taxonomy of bats in Turkey. Acta. Soc. Bohem. 62: 255-313.

[45] Southern, H.N., 1964. The Handbook of British Mammals. Blackwell Scientific Publications. Oxford, 342 pp.

[46] Mahoney, R., 1973. Laboratory techniques in Zoology. 2nd edition. Butterworths, London, 120 pp.

[47] Dietz, C., and Kiefer, A., 2014. Die Fledermäuse Europas: Germany, Kosmos Naturführer, p. 394.

[48] Maniatis, T., Fritch, E.F., Sambrook, J., 1989. In Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor,New York

[49] Açık, L., Samancı, B., Duman, H., Ünal, F., 1997. Polymorphism and phylogenetic relations among Turkish species in the genus *Sternbergia* as determined RAPD-PCR, Tr J of Botany. 21: 265-268.

[50] Welsh, J., McClelland, M., Sobral, B.W.S., 1991. Parentage determination in maize hybrids using arbitrarily primed polymerase chain reaction (AP-PCR), Theor. Appl. Genet., 82: 473-476.

[51] Albayrak, I., Asan, N., 2001. The structure of baculum in *Myotis myotis* and *Myotis blythii* (Chiroptera: Vespertilionidae) from Turkey. Turk. J Zool, 25(3):229-233.

[52] Albayrak, İ., Aşan, N. 1998. Geographic variation and taxonomic status of *Myotis myotis* (Borkhausen, 1797) in Turkey (Chiroptera: Vespertilionide). Turk J Zool., 22 (4): 267-275.

[53] Naseri, C.Z., Jalal, R., Darvish, J., 2006. Genetic study on *Apodemus ovicennicus* and *Apodemus witherbyi* by RAPD-PCR. Iranian Journal of Animal Biosystematics (IJAB)., 2 (1): 77-81.

[54] Bachenek, J., Postawa, T., 2010. Morphological evidence for hybridization in the sister species *Myotis myotis* and *Myotis oxygnathus* (Chiroptera: Vespertilionidae) in the Carpathian Basin. Acta Chiropterologica, 12 (2): 439-448.

[55] Mayer, F., Dietz, C., Kiefer, A., 2007. Molecular species identification boosts bat diversity. Frontiers in zoology, 4: 1-5.

[56] Furman, A., Bachanek, J., Postawa, T., Çoraman, E., 2011. Morphometric variation and genetic diversity of the lesser and greater mouse-eared bats (Chiroptera: Vespertilionidae) in Thrace and Anatolia. Acta Chiropterologica, 13 (2): 291-298.

[57] Bachanek, J., 2008. The Northern distribution limits of the lesser mouse-eared bat *Myotis oxygnathus* (Chiroptera: Vespertilionidae) in Central Europe. Acta Zoologica Crocovensia, 51 (1-2): 59-64.

[58] Furman, A., Çoraman, E., Çelik, Y.E., Postawa, T., Bachanek, J., Ruedi, M., 2014. Cytonuclear discordance and the species status of *Myotis myotis* and *Myotis blythii* (Chiroptera). Zoologica Scripta, 43 (6): 549-561.

[59] Sara, M., Aiuto, C., Cognetti, G., 1997. Microevolution in the Sicilian shrew *Crocidura sicula* (Mammalia, Soricidae) tested by RAPD-PCR fingerprinting. Italian Journal of Zoology. 64 (1): 41-48.

[60] Spridonova, L.N., Korobitsyna, K.V., Yakimenko, L.V., Bogdanov, A.S. 2008. Genetic differentiation of subspecies of the house mouse *Mus musculus* and their taxonomic relationships inferred from RAPD-PCR data. Russian Journal of Genetics. 44 (6): 732-739.

[61] Ramadan, A.M.A., 2011. Molecular Phylogenetic Relationship Between and Within the Fruit Bat (*Rousettus aegyptiacus*) and the Lesser Tailed Bat (*Rhinopoma h*ardwickei) Deduced From RAPD-PCR Analysis. Journal of American Science. 7 (10): 678-687.

[62] Riaz, M., Khan, A.A., Babar, M., Akhter, N., Muhammed, S., Khaliq, I., 2011. High genetic diversity revealed by RAPD merkers in the black Francolin (*Francolinus francolinus*, Galliformes) of Pakistan. Pakistan J. Zool. 43 (5): 889-896.

[63] Barbanera, F., Guerrini, M., Bertoncinii, F., Cappelli, F., Muzzeddu, M., Dini, F., 2011. Sequenced RAPD markers to detect hybridization in the barbary patridge (*Alectorisbarbara*, Phasianidae). Molecular Ecology Resources, 11: 180-184.

[64] Boston, S.M.,E., Hanrahan, N., Puechmaille, S.S., Ruedi, M., Buckley, D.J., Lundy, M.G., Scott, D.D., Prodöhl, P.A., Montgomery, W.I., Teeling E.L., 2011. A rapid-PCR based assey for identification of cryptic *Myotis* spp. (*Myotis myctacinus, Myotisbradtii* and *Myotis alcathoe*). Conservation Genet Resour., 3: 557-563.

[65] Selçuk, S.E., Çolak, R., Karacan, G.O., Çolak, E., 2012. Population structure of edible dormouse Glis glis 8Linnaeus, 1766) in Turkey, inferred from RAPD-PCR. Acta Zoologica Bulgarica. 64 (1): 77-83.

[66] Doğramacı, S., Tez, C., 1991. Türkiye Glis glis (Mammalia: Rodentia) türünün coğrafik varyasyonları ve karyolojik özellikleri. Turk J. Zool. 15: 275-288.

[67] Çolak, R., Kankılıç, T., Olgun, G., Kandemir, İ., Çolak, E., 2008. Türkiye'de yayılış gösteren Glis glis'te allozim varyasyonları. 19th National Biology Congress, abstract book, June 2008, Trabzon.

[68] Çoraman, E., Furman, A., Karataş, A., Bilgin, R., 2013. Phylogeographic analysis of Anatolian bats highlights the importance of the region for preserving the Chiropteran mitochondrial genetic diversity in the Western Palearctic. Conservation Genetics, 14: 1205-1216.

[69] Furman, A., Çoraman E., Nagy, Z., Postawa, T., Bilgin, R., Gajewska, M., Bogdanowicz, W., 2013. Phylogeography of the large *Myotis* bats (Chiroptera: Vespertilionidae) in Europe, Asia Minor, and Transcaucasia. Biological Journal of the Linnean Society. 108: 189-209.

[70] Kanuch, P., Hajkova, P., Rehak, Z., Bryja, J., 2007. A rapid PCR-based test for species identification of two cryptic bats *Pipistrellus pipistrellus* and *P. pygmaeus* and its application on museum and dropping samples. Acta Chiropterologica, 9 (1): 277-282.

[71] Karuppudurai, T., Sripathi, K., 2010. Molecular genetic analysis of male alternative strategy and reproductive success in polygynaous mating bat *Cynopterus sphinx*. Journal of Cell and Animal Biology. 4 (2): 42-50.