

ANKARA ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOKTORA TEZİ

TÜRKİYE'DE YAYILIŞ GÖSTEREN SU SIÇANI *Arvicola amphibius*  
(LINNAEUS, 1758) (MAMMALIA: RODENTIA) POPULASYONLARININ  
mtDNA (SİTOKROM B VE KONTROL BÖLGESİ) VARYASYONLARI

Perinçek Seçkinozan ŞEKER

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ANKARA  
2015

Her hakkı saklıdır

## TEZ ONAYI

Perinçek Seçkinozan ŞEKER tarafından hazırlanan “Türkiye’de yayılış gösteren su sıçanı *Arvicola amphibius* (Linnaeus, 1758) (Mammalia: Rodentia) populasyonlarının mtDNA (Sitokrom *b* ve kontrol bölgesi) varyasyonları ” adlı tez çalışması 03/07/2015 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı’nda **DOKTORA TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

**Danışman** : Prof. Dr. Ercüment ÇOLAK

### Jüri Üyeleri:

**Başkan:** Prof. Dr. Nuri YİĞİT

Ankara Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalı

**Üye** : Prof. Dr. Ercüment ÇOLAK

Ankara Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalı

**Üye** : Prof. Dr. Mustafa SÖZEN

Bülent Ecevit Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalı

**Üye** : Prof. Dr. Nursel GÜL

Ankara Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalı

**Üye** : Doç. Dr. Şakir Önder ÖZKURT

Ahi Evran Üniversitesi Fen Bilgisi Öğretmenliği Anabilim Dalı

**Yukarıdaki sonucu onaylarım.**

**Prof. Dr. İbrahim DEMİR**

**Enstitü Müdürü**

## **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.

03.07.2015

Perinçek Seçkinozan ŞEKER

## ÖZET

Doktora Tezi

TÜRKİYE’DE YAYILIŞ GÖSTEREN SU SIÇANI *Arvicola amphibius* (LINNAEUS, 1758)  
(MAMMALIA: RODENTIA) POPULASYONLARININ MTDNA (SİTOKROM *b* VE KONTROL  
BÖLGESİ) VARYASYONLARI

Perinçek Seçkinozan ŞEKER

Ankara Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Ercüment ÇOLAK

*Arvicola amphibius* yarı sucul bir kemirgen türüdür ve su sıçanı olarak bilinir. Türkiye’yi de içine alan Palearktik bölgede oldukça geniş bir alanda yayılış gösterir. Bu tez çalışmasında Türkiye genelinde toplanan örnekler morfometrik ve moleküler analizlerle değerlendirildi. Morfometrik analizlerde 24 farklı lokaliteden elde edilen 175 örnek çok değişkenli istatistik yöntemler kullanılarak karşılaştırmalı olarak analiz edildi. Bütün örnekler, istatistiksel değerlendirmeler için populasyonların elde edildiği lokalitelerin coğrafik konumları, önceden bilinen alttürlerin yayılış alanları ve bu çalışmadaki moleküler analizler sonucunda belirlenen haplotip grupları göz önüne alınarak beş gruba ayrıldı. Tek yönlü varyans analizleri (ANOVA ve MANOVA), ayrışım fonksiyon analizi (DFA), kümeleme analizi (CLUSTER) ve temel bileşenler analizlerinin (PCA) sonuçları ile Türkiye’deki *A. amphibius* populasyonlarının belirgin morfometrik farklılıklara sahip olduğu ve iki farklı morfometrik soy hattı oluşturduğu belirlendi. Birinci soy hattı, Trakya, Orta Anadolu ve Doğu Anadolu gruplarını oluşturan populasyonlardan oluştu. İkinci soy hattı ise Hatay ve Batı Anadolu gruplarını oluşturan populasyonlardan meydana geldi. Moleküler analizlerde ise 27 farklı lokaliteden elde edilen toplam 121 örneğin mitokondriyal DNA’sının sitokrom *b* ve kontrol bölgesindeki varyasyonlar belirlenerek populasyonlar arasındaki filogenetik ilişkiler, populasyonların genetik yapıları ve evrimsel ayrılma zamanları açığa çıkarıldı. Sitokrom *b* bölgesi için 40, kontrol bölgesi için 28 yeni haplotip belirlendi. Her iki bölge için belirlenen haplotipler üzerinden gerçekleştirilen mesafe, model ve evrimsel ilişki örgüsü analizleri ile sadece bütün örneklerin sitokrom *b* dizilerini içeren Bayesian çıkarsaması analizi, bu türün Türkiye’de coğrafik yayılış alanları çakışmayan, kontrol bölgesindeki iki haplotip hariç aralarında paylaşılan haplotip bulunmayan ve yüksek seviyede genetik farklılıklara sahip beş farklı genetik soy hattının olduğunu gösterdi. Bunlar, Trakya, Batı Anadolu, Orta Anadolu, Hatay ve Doğu Anadolu soy hatlarıdır. Bütün soy hatlarını oluşturan populasyonlar bir arada değerlendirildiğinde *A. amphibius*’un Türkiye populasyonlarının, bu türün Avrupa’daki populasyonlarından sitokrom *b* bölgesinde yaklaşık üç buçuk kat, kontrol bölgesinde ise yaklaşık bir buçuk kat daha fazla nükleotid çeşitliliğine sahip olduğu belirlendi. Bu durum ile beraber kontrol bölgesinde Trakya soy hattı ile Batı Anadolu soy hattı arasında paylaşılan iki haplotip bulunması, Anadolu’nun Kuarterner’de bu tür için sığınak görevi yapmış olabileceğini işaret etmektedir. Evrimsel ayrılma zamanlarının belirlenmesine yönelik analiz sonucunda, soy hatlarının farklılaşmasında, Türkiye’nin günümüzdeki jeolojik yapısının şekillenmesinde rol oynayan jeomorfolojik oluşum süreçleri ve Kuarterner’de gerçekleşen iklimsel dalgalanmaların etkisinin olduğu tespit edildi. Trakya (*A. a. cernjavskii*), Anadolu (*A. a. persicus*) ve Hatay (*A. a. hintoni*), bölgelerinde bu türün populasyonlarında genetik ve morfometrik farklılaşmaların gözlenmesi daha önce tanımlanan alttürlerinin geçerliliğini destekledi.

**Temmuz 2015, 161 sayfa**

**Anahtar Kelimeler:** *Arvicola amphibius*, mitokondriyal DNA, sitokrom *b*, kontrol bölgesi, genetik varyasyon, Türkiye

## ABSTRACT

Ph.D. Thesis

### MTDNA (CYTOCHROME *B* AND CONTROL REGION) VARIATIONS OF WATER VOLE *Arvicola amphibius* (LINNAEUS, 1758) (MAMMALIA: RODENTIA) POPULATIONS DISTRIBUTED IN TURKEY

Perinçek Seçkinozan ŞEKER

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

Supervisor: Prof. Dr. Ercüment ÇOLAK

*Arvicola amphibius*, which is known as water vole, is a semi aquatic rodent species. It is widely distributed in Palearctic region including Turkey. In this study, samples collected from Turkey were evaluated by morphometric and molecular analyses. A total of 175 samples from 24 different localities were comparatively investigated by employing multivariate statistical analyses in the morphometric evaluations. For statistical analyses, all samples were divided into five groups, according to geographic positions of their collected localities, distribution areas of previously known subspecies, and haplotype groups revealed by molecular analyses in this study. Results of one way analysis of variance (ANOVA), multivariate analysis of variance (MANOVA), discriminant function (DFA), cluster and principal component analyses (PCA) showed that *A. amphibius* populations in Turkey have certain morphometric differences and they formed two different morphometric lineages. The first lineage included Thrace, Central Anatolia and East Anatolia groups. The second lineage comprised Hatay and West Anatolia groups. In molecular analyses, phylogeny, genetic structure and divergence times estimations of populations were revealed by the detection of variations in the cytochrome *b* and control region of mitochondrial DNA in 121 samples from 27 different localities. 40 new haplotypes for cytochrome *b* and 28 new haplotypes for control region were determined. Distance, model, and network analyses based on determined haplotypes and Bayesian inference including only cytochrome *b* sequences of all samples revealed that *A. amphibius* has five highly differentiated genetic lineages in Turkey that have non-overlapping geographic distributions and no shared haplotypes except two haplotypes in control region. These lineages were Thrace, West Anatolia, Central Anatolia, Hatay and East Anatolia lineages. It was detected that *A. amphibius* populations in Turkey have approximately three and a half and one and a half fold higher nucleotide diversity in cytochrome *b* and control region, respectively, than those in Europe, when populations constituting all lineages were evaluated together. This case and presence of two shared haplotypes in control region between Thrace and West Anatolia lineages pointed out that Anatolia might have served as a refuge in Quaternary for this species. Results of estimation of divergence times analysis revealed that geomorphological conglomeration process shaping current geology of Turkey and climatic oscillations in Quaternary has an impact for differentiation of lineages. Validity of three subspecies determined by previous studies was supported by observation of genetic and morphometric differentiations in the populations from Thrace (*A. a. cernjavskii*), Anatolia (*A. a. persicus*) and Hatay (*A. a. hintoni*) province.

**July 2015, 161 pages**

**Key Words:** *Arvicola amphibius*, mitochondrial DNA, cytochrome *b*, control region, genetic variation, Turkey

## TEŞEKKÜR

Bu tez çalışmasını öneren, çalışma süresince her aşamada beni yönlendiren ve çalışmanın yürütülmesinde büyük emekleri olan, tez danışmanım, saygı değer hocam Prof. Dr. Ercüment ÇOLAK'a (Ankara Üniversitesi, Biyoloji Anabilim Dalı), çalışmanın başından sonuna kadar olan süreçte görüşleri ile çalışmanın şekillenmesine büyük katkıları olan değerli hocalarım Prof. Dr. Nuri YİĞİT (Ankara Üniversitesi, Biyoloji Anabilim Dalı) ve Prof. Dr. Mustafa SÖZEN'e (Bülent Ecevit Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü), arazi çalışmalarında yardımları bulunan ve istatistiksel analizlerde görüşlerinden faydalandığım Doç. Dr. Tolga KANKILIÇ'a (Aksaray Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü), arazi ve laboratuvar çalışmalarında katkıları bulunan Doç. Dr. Teoman KANKILIÇ'a (Niğde Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü),

Bu çalışma boyunca arazi, laboratuvar çalışmalarında ve tez içerisindeki görsel öğelerin düzenlenmesinde büyük emekleri bulunan, fikir ve görüşlerinden faydalandığım değerli çalışma arkadaşlarım Dr. Münir UÇAK, Doktora öğrencisi Engin SELVİ ve Yüksek Lisans öğrencisi Ayşegül ÜNVERDİ'ye,

Çalışma süresince moleküler biyoloji konusunda görüşlerinden faydalandığım çalışma arkadaşlarım Arş. Gör. Başar KARACA, Arş. Gör. Neslihan TAŞKALE KARATUĞ, Doktora öğrencisi Fatma Neslihan YÜKSEL ve Prokaryot Genetiği Laboratuvarı'ndaki adını sayamadığım diğer arkadaşlarıma,

Lisansüstü öğrenime başlamam için beni teşvik eden ve öğrenim hayatım boyunca madden ve manen her zaman destek olan babam Bahattin ŞEKER, annem Edalet ŞEKER, ağabeyim Mengücek Fırat ŞEKER ve kardeşim Gökçek Tankutonat ŞEKER'e

Tez çalışması süresince büyük fedakarlık ve sabır gösteren, maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen değerli eşim Öznur ÇAKMAKÇI ŞEKER ve ÇAKMAKÇI ailesine teşekkürü bir borç bilirim.

Bu tez çalışması Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi Koordinatörlüğü tarafından 12B4240010 no'lu proje ile desteklenmiştir.

Perinçek Seçkinozan ŞEKER

Ankara, Temmuz 2015

## İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI .....	i
ETİK.....	ii
ÖZET.....	iii
ABSTRACT .....	iv
TEŞEKKÜR .....	v
KISALTMALAR .....	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	xi
ÇİZELGELER DİZİNİ .....	xiii
1. GİRİŞ .....	1
2. KURAMSAL TEMELLER.....	11
2.1 Takım: Rodentia .....	11
2.2 Aile: Cricetidae.....	12
2.3. Cins: <i>Arvicola</i> Lacépède, 1799 .....	12
2.4 Tür: <i>Arvicola amphibius</i> (Linnaeus, 1758).....	13
2.5 Filocoğrafya ve Mitokondriyal DNA.....	14
2.6 Biyolojik Kaynaklardan DNA Eldesi .....	19
2.7 Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) .....	19
2.8 DNA Dizi Analizi .....	20
2.9 Filogeni ve Genetik Yapı Analizlerinde Kullanılan İstatistiksel Yöntemler .....	20
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	27
3.1 Arazi Çalışmaları .....	29
3.2 Morfometrik Çalışmalar .....	34
3.3. Moleküler Çalışmalar .....	38
3.3.1 DNA izolasyonu .....	39
3.3.2 Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) .....	44
3.3.3 İstatistiksel analizler .....	45
4. ARAŞTIRMA BULGULARI .....	50
4.1 Morfometrik Analizler .....	50
4.1.1 Tek yönlü varyans analizleri (ANOVA-MANOVA).....	50
4.1.2 Ayırışım fonksiyon analizi (DFA) .....	53

4.1.3 Kümeleme (CLUSTER) analizi .....	55
4.1.4 Temel bileşenler analizi (PCA) .....	57
4.2 Moleküler Analizler .....	60
4.2.1 Sitokrom <i>b</i> bölgesine ilişkin filogenetik analizler.....	60
4.2.2 Sitokrom <i>b</i> bölgesinin genetik yapısına ilişkin analizler .....	69
4.2.3 Kontrol bölgesine ilişkin filogenetik analizler .....	76
4.2.4 Kontrol bölgesinin genetik yapısına ilişkin analizler.....	85
4.2.5 Evrimsel ayrılma zamanları (TMRCA, Ortak ataya varma zamanı).....	90
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	92
5.1 Yayılış ve Morfometri.....	92
5.2 Moleküler Filogeni ve Filocoğrafya.....	104
KAYNAKLAR .....	120
EKLER.....	131
EK 1 <i>A. amphibius</i> 'un sitokrom <i>b</i> bölgesinin ileri ve geri okumalarını gösteren örnek kromotogram dosyası.....	132
EK 2 <i>A. amphibius</i> 'un kontrol bölgesinin ileri ve geri okumalarını gösteren örnek kromotogram dosyası .....	133
EK 3 <i>A. amphibius</i> 'un 22 popülasyonu arasındaki Mahalanobis mesafe değerleri .....	134
EK 4 Sitokrom <i>b</i> analizlerinde kullanılan <i>A. amphibius</i> ve diğer türlere ait haplotiplerin GenBank erişim numaraları.....	135
EK 5 <i>A. amphibius</i> ve dış grupların sitokrom <i>b</i> bölgesi haplotiplerinin sekansları .....	136
EK 6 Kontrol bölgesi analizlerinde kullanılan <i>A. amphibius</i> ve diğer türlere ait haplotiplerin GenBank erişim numaraları.....	153
EK 7 <i>A. amphibius</i> ve dış grupların kontrol bölgesi haplotipleri .....	154
EK 8 <i>A. amphibius</i> 'un 120 örneğinin kontrol bölgesi dizileri üzerinden Kimura 2-Parametresine göre oluşturulan NJ ağacı .....	158
EK 9 <i>A. amphibius</i> 'un GenBank'tan kullanılan Avrupa popülasyonlarının nükleotid çeşitliliği.....	159
ÖZGEÇMİŞ.....	160



## KISALTMALAR

%	Yüzde
$\pi$	Nükleotid Çeşitliliği
°C	Santigrat Derece
$\mu$ l	Mikrolitre
$\mu$ mol	Mikromol
A	Adenin
AIC	Akaike Information Criterion (Akaike Bilgi Kriteri)
AICc	Corrected Akaike Information Criterion (Düzeltilmiş Akaike Bilgi Kriteri)
AMOVA	Analysis of Molecular Variance (Moleküler Varyans Analizi)
ANOVA	Analysis of Variance (Varyans Analizi)
BIC	Bayesian Information Criterion (Bayesian Bilgi Kriteri)
BME	Betamerkaptoetanol
C	Sitozin
CLUSTER	Kümeleme Analizi
CTAB	Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide
$D^2$	Mahalanobis Mesafesi
dATP	Deoksiadenozin Trifosfat
dCTP	Deoksisitidin Trifosfat
ddNTP	Dideoksiribonükleotid Ttrifosfat
DFA	Ayrışım Fonksiyon Analizi
dGTP	Deoksiguanozin Trifosfat
DNA	Deoksiribonükleik Asit
dNTP	Deoksiribonükleotid Trifosfat
dTTP	Deoksitimidin Trifosfat
EDTA	Etilendiamintetraasetik Asit
ESS	Effective Sample Size (Etkin Örnek Büyüklüğü)
EtBr	Etidyum Bromür
FCT	Gruplar Arası Fiksasyon İndeksi
FSC	Grupları Oluşturan Populasyonlar Arası Fiksasyon İndeksi

FST	Populasyonları Oluşturan Bireyler Arası Fiksasyon İndeksi
F <sub>ST</sub>	Genetik Farklılaşma İndisi
h	Haplotip Çeşitliliği
HSD	Tukey'in Çoklu Karşılaştırma Testi
HKY+G	Kesikli Gamma Dağılımı ve Hasegawa, Kishino ve Yano mutasyon modeli
k	Ortalama Nükleotid Farklılıklarının Sayısı
Km	Kilometre
KMO	Kaiser-Meyer-Olkin testi
K2P	Kimura 2-Parametresi
G	Guanin
m	Metre
mg	Miligram
ml	Mililitre
mm	Milimetre
mM	Milimolar
M	Molar
MA	Molekül Ağırlığı
MANOVA	Multivariate Analysis of Variance (Çok Değişkenli Varyans Analizi)
ML	Maximum Likelihood (Maksimum Olasılık)
MP	Maximum Parsimony (Maksimum Tutumluluk)
mtDNA	Mitokondriyal DNA
myö	Milyon yıl önce
M <sub>1</sub>	Alt Çenenin Birinci Molar Dişi
M <sub>2</sub>	Alt Çenenin İkinci Molar Dişi
M <sub>3</sub>	Alt Çenenin Üçüncü Molar Dişi
M <sup>1</sup>	Üst Çenenin Birinci Molar Dişi
M <sup>2</sup>	Üst Çenenin İkinci Molar Dişi
M <sup>3</sup>	Üst Çenenin Üçüncü Molar Dişi
NaCl	Sodyum Klorür
ng	Nanogram

NJ	Neighbour Joining (Komşu Birleştirme)
Nm	Gen Akışı
nm	Nanometre
p	İstatistiksel Testlerin Önem Derecesi
PCA	Temel Bileşenler Analizi
pH	Power of Hydrogen (Hidrojen Gücü)
pmol	Pikamol
PZR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
R	Transisyon/Transversiyon oranı
r	Korelasyon Katsayısı
<i>rg</i>	Raggedness İstatistiği
RAPD	Rasgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA
RNA	Ribonükleik Asit
RNase	Ribonükleaz
rpm	Dakikadaki Devir Sayısı
rRNA	Ribosomal RNA
SSD	Varyasyon Kareler Toplamı
Syst. Nat. 10th ed	Systema Naturae 10. Edition
T	Timin
TAE	Tris asetat EDTA
<i>Taq</i>	<i>Thermus aquaticus</i>
TBR	Tree-Bisection-Reconnection (İkiye Bölme Yeniden Bağlama)
TE	Tris-EDTA
TMRCA	Times to Most Recent Common Ancestor (Evrimsel Ayrılma Zamanı, Ortak Ataya Varma Zamanı)
TN93+G	Kesikli Gamma dağılımı ve Tamura-Nei 1993 nükleotid değişim modeli
tRNA	Transfer RNA
UPGMA	Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean (Ortalamalara Bağlı Ağırlıklı Olmayan Çift Grup Yöntemi)
UV	Ultraviyole

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2. 1 Türkiye’de yaşayan ve yarı sucul bir kemirici türü <i>A. amphibius</i> ’un genel görünümü.....	13
Şekil 2.2 Bir tür içindeki soy hatlarının filocoğrafya ekseninde zaman ve mekan arasındaki ilişkiye dayalı olarak belirlenen coğrafik yayılış haritası .....	15
Şekil 2.3 Filocoğrafya ile mikroevrimsel ve makroevrimsel disiplinler arasındaki ilişki .....	16
Şekil 2.4 İnsan mtDNA’sının şematik gösterimi .....	17
Şekil 2.5 Memeli mtDNA’sı kontrol bölgesinin başlıca üç bölgesinin şematik gösterimi .....	18
Şekil 2.6 Otomatikleştirilmiş DNA dizi analizinin prensipleri.....	21
Şekil 3.1 <i>A. amphibius</i> örneklerinin toplandığı lokaliteler .....	28
Şekil 3.2 Farklı habitatlarda <i>A. amphibius</i> ’un varlığını gösteren izler. ....	31
Şekil 3.3 <i>A. amphibius</i> ’a ait izlerin bulunduğu habitatlarda canlı yakalama kapanlarının kurulması .....	31
Şekil 3.4 <i>A. amphibius</i> ’un farklı lokalitelerdeki habitatları. ....	32
Şekil 3.5 <i>A. amphibius</i> ’un Kocaali’deki (Sakarya) habitatı.....	34
Şekil 3.6 <i>A. amphibius</i> ’un kafatası karakter ölçülerinin alındığı yerler.....	38
Şekil 3.7 Bazı lokalitelerden <i>A. amphibius</i> örneklerine ait DNA izolasyonunun kalitatif tayini.....	42
Şekil 4.1 Beş <i>A. amphibius</i> grubunun iki boyuttaki dağılımlarını gösteren serpilme diyagramı.....	54
Şekil 4.2 Beş <i>A. amphibius</i> grubu arasındaki Mahalanobis mesafe matrisine göre oluşturulan UPGMA dendogramı .....	56
Şekil 4.3 <i>A. amphibius</i> ’un 22 popülasyonu arasındaki Mahalanobis mesafe matrisine göre oluşturulan UPGMA dendogramı .....	56
Şekil 4.4 <i>A. amphibius</i> ’un 42 haplotipi ile dış gruplara ait haplotiplerin sitokrom <i>b</i> verilerinden Kimura 2-Parametresine göre oluşturulan Neighbor-Joining ağacı.....	65
Şekil 4.5 <i>A. amphibius</i> ’un 42 haplotipi ile dış gruplara ait haplotiplerin sitokrom <i>b</i> TN93+G nükleotid değişim modeline göre oluşturulan Maximum Likelihood ağacı.....	66

Şekil 4.6 <i>A. amphibius</i> 'un 42 haplotipi ile dış gruplara ait haplotiplerin sitokrom <i>b</i> verilerinden TBR metoduna göre oluşturulan Maximum Parsimony ağacı .....	67
Şekil 4.7 <i>A. amphibius</i> populasyonlarında belirlenen 42 sitokrom <i>b</i> haplotipi ile dış gruplara ait haplotiplerden oluşturulan evrimsel ilişki örgüsü.....	68
Şekil 4.8 <i>A. amphibius</i> 'un sitokrom <i>b</i> haplotiplerinin Türkiye'deki coğrafik dağılımı.....	69
Şekil 4.9 <i>A. amphibius</i> 'un sitokrom <i>b</i> soy hatlarının uyumsuzluk dağılımı grafikleri ...	74
Şekil 4.10. Sitokrom <i>b</i> verilerine göre coğrafik mesafe ve genetik farklılaşma arasındaki ilişkiyi gösteren grafik .....	75
Şekil 4.11 <i>A. amphibius</i> 'un 28 haplotipi ile dış gruplara ait haplotiplerin kontrol bölgesi verilerinden No. of differences mesafesine göre oluşturulan Neighbor-Joining ağacı .....	80
Şekil 4.12 <i>A. amphibius</i> 'un 28 haplotipi ile dış gruplara ait haplotiplerin kontrol bölgesi verilerinden HKY+G nükleotid değişim modeline göre oluşturulan Maximum Likelihood ağacı .....	81
Şekil 4.13 <i>A. amphibius</i> 'un 28 haplotipi ile dış gruplara ait haplotiplerin kontrol bölgesi verilerinden TBR metoduna göre oluşturulan Maximum Parsimony ağacı .....	82
Şekil 4.14 <i>A. amphibius</i> ve dış gruplara ait kontrol bölgesi verilerine göre oluşturulan evrimsel ilişki örgüsü .....	83
Şekil 4.15 <i>A. amphibius</i> 'un kontrol bölgesi haplotiplerinin Türkiye'deki dağılımı .....	84
Şekil 4.16 <i>A. amphibius</i> 'un kontrol bölgesi soy hatlarının uyumsuzluk dağılımı grafikleri .....	88
Şekil 4.17 Kontrol bölgesi verilerine göre coğrafik mesafe ve genetik farklılaşma arasındaki ilişkiyi gösteren grafik .....	90
Şekil 4.18 Bayesian analizi sonucunda belirlenen <i>A. amphibius</i> 'un sitokrom <i>b</i> soy hatları arasındaki evrimsel ayrılma zamanları ve ardıl olasılık değerleri ....	91

## ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1 Tez çalışmasında kullanılan <i>A. amphibius</i> örneklerinin toplandığı lokaliteler. ....	29
Çizelge 3.2 Morfometrik analizlerde kullanılan iç ve dış karakterler.....	36
Çizelge 3.3 Morfometrik analizlerde kullanılan <i>A. amphibius</i> 'a ait beş gruba oluşturan populasyonların lokaliteleri .....	38
Çizelge 3.4 DNA izolasyonunda kullanılan çözeltiler ve hazırlanışları .....	41
Çizelge 3.5 <i>A. amphibius</i> örneklerinden elde edilen DNA miktarları ve saflık dereceleri.....	43
Çizelge 3.6 PZR karışımında kullanılan çözeltiler ve miktarları.....	44
Çizelge 3.7 Sitokrom <i>b</i> ve kontrol bölgesinin çoğaltılmasında kullanılan PZR koşulları .....	44
Çizelge 3.8 Sitokrom <i>b</i> ve kontrol bölgesinin çoğaltılmasında kullanılan primerler .....	45
Çizelge 3.9 GenBank'tan elde edilen <i>A. amphibius</i> ile dış grup olarak kullanılan farklı türlere ait DNA dizilerinin erişim numaraları.....	46
Çizelge 4.1 Beş <i>A. amphibius</i> grubuna ait örneklerden alınan dış ve iç karakter ölçülerinin ortalama ve standart hata değerleri.....	51
Çizelge 4.2 <i>A. amphibius</i> populasyonlarındaki bireylerden elde edilen morfometrik karakterlerinin varyans analizi (ANOVA) sonuçları .....	52
Çizelge 4.3 <i>A. amphibius</i> populasyonlarındaki bireylerden elde edilen morfometrik karakterlerinin çoklu varyans analizi (MANOVA) sonuçları.....	53
Çizelge 4.4 Ayırışım fonksiyon analizi (DFA) ile belirlenen <i>A. amphibius</i> gruplarının sınıflandırma sonuçları.....	53
Çizelge 4.5 Gruplar arasındaki uzaklığı gösteren Mahalanobis mesafe ( $D^2$ ) matrisi .....	55
Çizelge 4.6 Veri setinin temel bileşenler analizi için uygunluğunun KMO ve Barlett testleri ile kontrol edilmesi .....	58
Çizelge 4.7 <i>A. amphibius</i> populasyonlarındaki toplam varyasyonu açıklayan ilk beş temel bileşen .....	58
Çizelge 4.8 <i>A. amphibius</i> populasyonlarında gözlenen toplam varyasyonu açıklayan beş temel bileşende morfometrik karakterlerin ağırlıklarını gösteren döndürülmüş faktör matrisi.....	59
Çizelge 4.9 <i>A. amphibius</i> 'un 26 lokalitedeki populasyonlarının sitokrom <i>b</i> bölgesindeki haplotipleri ve genetik çeşitlilik parametreleri.....	60

Çizelge 4.10 <i>A. amphibius</i> 'un sitokrom <i>b</i> bölgesi haplotipleri.....	61
Çizelge 4.11. <i>A. amphibius</i> 'un 120 örneğinin sitokrom <i>b</i> bölgesindeki nükleotid değişim oranları .....	62
Çizelge 4.12 <i>A. amphibius</i> 'un beş farklı genetik soy hattını oluşturan popülasyonların lokaliteleri .....	62
Çizelge 4.13 <i>A. amphibius</i> 'un sitokrom <i>b</i> soy hatlarına ait genetik çeşitlilik parametreleri .....	70
Çizelge 4.14 <i>A. amphibius</i> 'un beş farklı sitokrom <i>b</i> soy hattı ve dış gruplar arasındaki TN93+G mesafesine göre hesaplanan genetik uzaklıklar ve standart sapmaları .....	71
Çizelge 4.15 <i>A. amphibius</i> 'un beş farklı sitokrom <i>b</i> soy hattı ve dış gruplar arasında Kimura 2-Parametresine göre hesaplanan genetik uzaklık matrisi.....	71
Çizelge 4.16 <i>A. amphibius</i> sitokrom <i>b</i> soy hatlarına ilişkin moleküler varyans analizi (AMOVA) sonuçları .....	72
Çizelge 4.17 <i>A. amphibius</i> 'un sitokrom <i>b</i> soy hatları arasındaki genetik farklılaşma ( $F_{ST}$ ) ve gen akışı ( $Nm$ ) değerleri .....	72
Çizelge 4.18 <i>A. amphibius</i> 'un sitokrom <i>b</i> uyumsuzluk dağılımı analizine ilişkin sonuçlar .....	74
Çizelge 4.19 <i>A. amphibius</i> 'un sitokrom <i>b</i> soy hatlarına ilişkin nötralite testleri .....	75
Çizelge 4.20 <i>A. amphibius</i> 'un 26 lokalitedeki popülasyonlarının kontrol bölgesindeki haplotipleri ve genetik çeşitlilik parametreleri.....	76
Çizelge 4.21 <i>A. amphibius</i> 'un kontrol bölgesi haplotipleri.....	77
Çizelge 4.22 <i>A. amphibius</i> 'un 120 örneğinin kontrol bölgesindeki nükleotid değişim oranları .....	78
Çizelge 4.23 <i>A. amphibius</i> 'un kontrol bölgesi soy hatlarına ilişkin genetik çeşitlilik parametreleri .....	85
Çizelge 4.24 <i>A. amphibius</i> 'un kontrol bölgesi soy hatları ve dış gruplar arasında Kimura 2-Parametresine göre hesaplanan genetik uzaklıklar ve standart sapmaları .....	86
Çizelge 4.25 <i>A. amphibius</i> 'un kontrol bölgesi soy hatları ve dış gruplar arasında ikili farklılıklara (No. of differences) göre hesaplanan genetik uzaklıklar ve standart sapmalar.....	86
Çizelge 4.26 <i>A. amphibius</i> 'un kontrol bölgesi soy hatlarının moleküler varyans analizi sonuçları .....	87
Çizelge 4.27 <i>A. amphibius</i> 'un kontrol bölgesi soy hatları arasındaki genetik farklılaşma ve gen akışı değerleri .....	87

Çizelge 4.28 <i>A. amphibius</i> 'un kontrol bölgesi soy hatlarının uyumsuzluk dağılımı analizine ilişkin sonuçlar .....	89
Çizelge 4.29 <i>A. amphibius</i> 'un kontrol bölgesi soy hatlarına ilişkin nötralite testleri .....	89



## 1. GİRİŞ

Türkiye'deki memeli türleri arasında sucul, toprak altı, ağaç, kara, step ve orman olmak üzere farklı habitatları kullanan ve 5 tanesi endemik olmak üzere toplam 67 tane kemirici türü yayılış göstermektedir (Yiğit vd. 2006, Gündüz vd. 2007). Bu kemirici türlerinden bir tanesi de *Arvicola* Lacépède, 1799 cinsi içinde yer alan ve su sıçanı olarak bilinen *Arvicola amphibius*'tur. Günümüzde *Arvicola* cinsine ait üç tür bulunmaktadır. Birinci tür Avrupa ve Asya kıtası boyunca yayılış gösteren ve Avrupa kıtasının batısında İber (İspanya-Portekiz) yarımadasına kadar uzanan ve Avrupa su sıçanı olarak bilinen *A. amphibius*'tur. İkinci tür, yayılışı İber yarımadası ve Fransa ile sınırlı olan ve güney su sıçanı olarak bilinen *A. sapidus*'tur. Her iki türün yayılış alanı İber yarımadasının kuzeyinde, Fransa'nın güneyinde ve Alp Dağları'nda çakışmaktadır. Yayılış alanı Avrupa'da; Alp Dağları, Karpatlar, Cantabria Dağları, Massif Central ve Pireneler gibi belirli alanlarla sınırlı olan üçüncü tür ise küçük ve kazıcı özellikleri olan *A. scherman*'dır (Wilson ve Reeder 2005).

Bu takson için *Mus amphibius* ve *Mus terrestris* isimleri aynı zamanda önerilmiştir (Linnaeus, 1758). Günümüzde birçok araştırmacı tarafından *Arvicola amphibius* ve *Arvicola terrestris* aynı takson için geçerli isimler olarak kullanılmaktadır. Türkiye'de yakın zamanda yapılan, kromozom morfolojisindeki farklılıkların ve yeni yayılış kayıtlarının verildiği (Tez vd. 2011), RAPD-PCR yöntemi kullanılarak genetik yapısının incelendiği (Üstünbaş vd. 2011) ve ekolojisi üzerine araştırmaların yapıldığı bu taksona ait üç çalışmada araştırmacılar geçerli isim olarak *A. amphibius*'u kullanmışlardır. Kryštufek vd. (2014) ise Türkiye'den örneklerin de kullanıldığı ancak çoğunluğu Avrupa'dan elde edilen örnekleri içeren çalışmada bu takson için *A. amphibius* ismini kullanmışlardır. Arslan vd. (2011) bu türün karyolojik yapısını Avrupa popülasyonları ile karşılaştırmalı olarak inceledikleri çalışmada ise *A. terrestris* ismini kullanmışlardır. Corbet (1978) öncelik kuralı gereğince *A. amphibius*'un kullanılması gerektiği belirtmiştir. Wilson ve Reeder (2005) Corbet (1978)'e bağlı kalarak, hangi ismin kullanılması gerektiği konusundaki karmaşıklığı azaltmak amacı ile *A. amphibius*'un kullanılmasını önermişlerdir. Bu nedenle bu tez çalışmasında bu takson için geçerli isim olarak *A. amphibius* ismi kullanıldı.

*Arvicola amphibius*, İspanya'nın kuzeyi ve Portekiz'in kuzeyi dahil tüm Avrupa boyunca, İrlanda hariç Büyük Britanya, Sibirya'nın güneyinden Lena Irmağı'na kadar olan bölge, Kuzey Buz Denizi'nin güneyinden Baykal Gölü ve Xinjiang'a kadar olan bölge, İran'ın kuzeybatısı, Irak, İsrail'in kuzeyi, Kafkasya ve Türkiye olmak üzere Palaeartik bölgede oldukça geniş yayılış alanına sahiptir (Wilson ve Reeder 2005). Türkiye'de Trakya bölgesi ve Anadolu'da yayılış göstermektedir (Yiğit vd. 2006).

Su sıçanı olarak da bilinen *A. amphibius* akarsular, göller, bataklık alanlar, sulama kanallarının civarı, ovalar ve dağlık bölgeler gibi değişik alanlarda yayılış gösterir. Vejetasyonun zengin olduğu akarsuların dik kenarlarını tercih eder. İyi yüzme, tırmanma özelliklerinin yanı sıra kazıcı özellikleri de vardır (Batsaikhan 2008). Sahip olduğu genel habitat gereksinimlerine benzer olarak *A. amphibius* Türkiye'de de akarsuların göllenerek durgunlaştığı, toprak yapısının oturmuş olduğu, dik ve üzeri çimenlerle kaplı olan su kenarlarının yuva yapmaya elverişli olduğu yerlerde bulunur ve suya bağımlı olarak yaşar. Göllerde ise sulak alanlarda bol miktarda bulunan saz cinslerinden biri olan *Typha* cinsine dahil bitki türlerinin bulunduğu ve bu bitkiler arasında yer yer toprak adacıkların olduğu bölümlerde yaşar (Mursaloğlu 1975). Ayrıca, göllerin ve barajların kıyılarında bulunan sazlık alanların içindeki galerilerde ve kuru otlardan yapılmış yuvalarda da yaşadıkları tespit edilmiştir (Özkurt vd. 1999). Yavuz (2007) *A. amphibius*'un ekolojisi ve biyolojisi üzerine Ankara'nın Ayaş İlçesi içerisinde bulunan İlhan Çayı'nda yapmış olduğu çalışmada bu türün habitatında karasal ve sucul bitkilerden oluşan makrofit vejetasyonunun baskın olarak bulunduğunu belirtmiş ve 34 farklı bitki türünün varlığını tespit etmiştir.

Türkiye'de yapılan *A. amphibius*'a ait çalışmalar çoğunlukla bu türün taksonomik statüsünü belirlemeye yönelik morfolojik, karyolojik, yayılış kayıtlarını içeren çalışmalar ile enzim özelliklerini temel alan bir biyokimyasal çalışma ve yakın zamanda yapılan DNA'ya dayalı tek bir moleküler çalışmadan oluşmaktadır. Mursaloğlu (1975) morfolojik ve morfometrik değerlendirmelerin sonucunda Türkiye'de bu türün üç alttürünün yaşadığını belirlemiştir. Buna göre; *Arvicola amphibius cernjavskii* Trakya'da, *Arvicola amphibius persicus* Anadolu'da ve *Arvicola amphibius hintoni*'de Hatay civarında yaşamaktadır. Özkurt vd. (1999) Kırşehir örneklerini dış karakterler,

kafatası karakterleri, bakulum ve fallus morfolojisi ile beraber karyolojik olarak, Gözcelioğlu vd. (2006) ise Trakya örneklerini sadece karyolojik yönden incelemiş ve araştırıcılar her iki çalışmada bu türün karyotip değerlerini  $2n=36$ ,  $NF=64$  ve  $NFa=60$  olarak vermişlerdir. Gözcelioğlu (2009) Batı Anadolu örneklerini karyolojik, morfolojik, geometrik morfometrik ve izozim analizi yöntemleri ile incelemiştir. Tez vd. (2011) yaptıkları çalışmada, Lüleburgaz'dan aldıkları örneğin karyotipinin, diploid kromozom sayısı, temel kromozom kol sayısı ve otozomal kromozom kol sayısı bakımından Gözcelioğlu vd. (2006) tarafından verilen değerler ile aynı olduğunu bulmuşlardır. Ancak, otozomal kromozom morfolojisi bakımından farklılık gözlemlenmişler ve bu farklılığın bu tür içerisinde yeni bir kromozomal form olabileceğini ifade etmişlerdir. Araştırıcılar aynı zamanda Kırklareli, Kastamonu, Kayseri, Erzurum, Kars ve Ardahan'dan yaptıkları örneklemelemlerle *A.amphibius*'a ait Türkiye için yeni yayılış kayıtlarını vermişlerdir. İyigün ve olak (2004), Kırşehir örneklerinde, esteraz enziminde heterozigotluğun yüksek olması ve kan serum proteinlerinde de polimorfizm bulunmasından dolayı varyasyon bulunduğunu belirtmiş ve *A. amphibius*'un Kırşehir populasyonlarında genetik darboğaz olmadığını söylemişlerdir. Yavuz (2007) ve Yavuz vd. (2013) Ankara populasyonları üzerinde yapmış oldukları çalışmalarda *A. amphibius*'un tahmini populasyon yoğunluğu, eşey oranı, üreme zamanı, habitat yapısı gibi ekolojik özelliklerini ortaya koymuştur. Üstünbaş vd. (2011), bugüne kadar Türkiye'de *A. amphibius*'un genetik yapısına ilişkin DNA seviyesinde herhangi bir çalışma yapılmadığını belirterek bu türün Trakya ve Anadolu populasyonlarının taksonomik statüsü ile populasyon genetiğine katkıda bulunmak ve genetik çeşitliliğinin derecesini belirlemek için RAPD-PCR moleküler belirteç sistemi kullanmışlardır. Bu moleküler belirteç sisteminin, *A. amphibius*'un Trakya'da *A. a. cernjavskii*, Anadolu'da ise *A. a. persicus* alttürlerinin varlığını onayladığını ve Marmara Denizi ile İstanbul Boğaz'ının Trakya ve Anadolu populasyonları arasında bir bariyer olarak gen akışını kesmiş olabileceğini ifade etmişlerdir. Sonuç olarak yaptıkları çalışmanın Türkiye'de *Arvicola* cinsine ait moleküler yöntem kullanan ilk çalışma olduğunu ve Trakya ve Anadolu populasyonları arasında önemli derecede genetik farklılık bulunduğunu ifade ederek, bu türün evrimi ve populasyon dinamiklerine ait daha kesin sonuçlara ulaşmak için daha fazla sayıda moleküler temelli çalışmanın yapılmasını önermişlerdir. Arslan vd. (2011) bu türün

Türkiye ve Avrupa populasyonlarını kromozom bantlama teknikleri kullanarak karyolojik bakımdan karşılaştırmışlardır. *A. amphibius*'un C bantlı karyotipinin Azerbaycan ve Balkan yarım adasındaki populasyonlar ile benzer, Orta Avrupa ve bu türün yayılış gösterdiği diğer alanlardaki populasyonlardan ise farklılık gösterdiğini ifade etmişlerdir. Türkiye örneklerinin de kullanıldığı çalışmada kafatası karakteri bakımından morfolojik farklılığa sahip ve Avrupa'da yayılışa sahip *A. amphibius* ve *A. scherman*'ın filogenetik durumu Kryštufek vd. (2014) tarafından araştırılmış ve *A. scherman*'ın monofiletik bir takson olmadığını belirlenmiştir.

Avrupa'da yapılan çalışmalar ise mtDNA dizi varyasyonlarına dayanan bu türün evrimsel geçmişini ve filocoğrafyasını araştıran çalışmaların yanı sıra, polimorfik mikrosatellit lokusların tespit edildiği, metapopulasyon seviyesinde gen akışı, genetik çeşitlilik, demografik özellikler ve dispersal yetenekleri arasındaki ilişkilerin araştırıldığı, bu türün genetik yapısının belirlenmesine ilişkin koruma biyolojisine yönelik çalışmaları kapsamaktadır. Taberlet vd. (1998) farklı canlı gruplarına ait filocoğrafik verileri analiz ederek Avrupa'nın genel filocoğrafyasını belirlemeyi amaçladığı çalışmada *Arvicola* cinsine dahil türlerin moleküler filogenetik analizleri sonucunda mitokondriyal DNA sitokrom *b* dizilerinde net nükleotid farklılığının % 3,8 ile 7,6 arasında değiştiğini bulmuşlardır. Buna göre dört tane farklı genetik soy hattı belirlenmiş ve bunlardan birisinin İspanya ve Fransa'nın batısında yayılış gösteren *A. sapidus*, diğer üç soy hattının ise *A. amphibius*'un alttürleri olduğu belirtilmiş ve Fransa'daki *A. sapidus* populasyonlarının İber yarımadasındaki sığınaktan geldiği ifade edilmiştir. Piertney vd. (2005) tarafından yapılan çalışmada Birleşik Krallık'taki (İskoçya, İngiltere ve Galler) 57 lokaliteden elde edilen örnekler ile İspanya, Fransa, İsviçre ve Finlandiya'dan elde edilen *A. amphibius* örneklerinin mtDNA kontrol bölgesi analiz edilerek bu türe ait bir filocoğrafik model oluşturulmaya çalışılmıştır. Bu çalışmada 27 farklı haplotip tespit edilmiş, bu haplotiplerin İskoçya ve İngiltere-Galler olmak üzere iki farklı şekilde kümelendikleri ve bunun da allopatrik bir parçalanma sonucunda gerçekleştiği belirtilmiştir. Sonuç olarak Birleşik Krallık'ın, İber yarım adasından İskoçya'ya ve daha doğudaki sığınaklardan İngiltere ve Galler'e açılım yapan iki farklı soy hattı tarafından işgal edilmiş olabileceği ifade edilmiştir. Centeno-Cuadros vd. (2009), İber yarım adası ve Fransa'da yapmış oldukları çalışmada *A. amphibius*

*scherman* ve *A. sapidus*'un mitokondriyal DNA sitokrom *b* ve kontrol bölgelerinin birleştirilerek analiz edilmesine dayanan bir model kullanarak her iki türün ayrılma zamanlarını tahmin edebilmeyi ve ayrıldıktan sonra aralarında gen akışı olup olmadığını belirleyebilmeyi amaçlamışlardır. Her iki türün ayrılış zamanının yaklaşık olarak 252.000 yıl önceki dördüncü Mindel buzul dönemine rastladığı ve bu sonucun klasik filogenetik çalışmalardan elde edilen sonuca yakın olduğu belirtilmiştir. Centeno-Cuadros ve Godoy (2010), *A. sapidus*'un mitokondriyal DNA'sının kontrol bölgesinin yapı ve organizasyonunu kendi tasarlamış oldukları primerler vasıtasıyla çoğaltıp analiz ederek, gelecekte bu türe ait özel koruma stratejilerinin belirlenebilmesi amacıyla yapılacak çalışmalar için yararlı bir moleküler araç belirlemeye çalışmışlardır. Kontrol bölgesinde birinci yüksek çeşitlilik gösteren bölgenin hem tür içi hem de türler arası ölçekteki çalışmalar için en çok bilgi sağlayan mitokondriyal belirteç olduğunu ve geliştirilen primerlerin *A. sapidus* ve muhtemelen bu türe yakın akraba türlerin evrim ve populasyon genetiği çalışmaları için yararlı olacağını ifade etmişlerdir.

Türlerin habitat parçalanması ile yayılma (dispersal) yetenekleri arasındaki dengenin, yani bir habitat parçasından (yama) diğerine koridorlar vasıtasıyla geçebilmesinin bölgesel anlamda genetik çeşitliliğin seviyesini ve dolayısı ile tüm populasyonun genetik yapısının derecesini belirleyen önemli bir süreç olduğu ve oldukça önemli ekolojik ve evrimsel sonuçları beraberinde getirdiği ifade edilmektedir. Bu düşünce ile Avrupa'da *A. amphibius* üzerinde yamalarda yayılışı olan kolonilerin oluşturduğu birbirini ile bağlantılı populasyonlar (metapopulasyon) arasındaki gen akışı seviyesini belirleyebilmek amacıyla mikrosatellit belirteçleri kullanılarak çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Kolonilerdeki birey sayısındaki değişimler ve üreme yeteneğine sahip bireylerin yamalar arasındaki geçiş yapabilme yetenekleri arasındaki ilişkiler analiz edilerek *A. amphibius* metapopulasyonlarının genetik yapısı açıklanmaya çalışılmıştır (Stewart vd. 1998, 1999, Telfer vd. 2003, Berthier vd. 2004, 2005, 2006, Aars vd. 2006).

Birçok araştırmada günümüzde dünya üzerinde görülen tür içi çeşitliliğe neden olan soy hatlarının evriminin ve yayılışının Kuaterner buzul dönemi ve bu dönemde sığınak görevi yapan bölgeler tarafından etkilendiği belirtilmektedir. Avrupa kıtası için

Kuaterner dönemi iklimde görülen değişimlerden dolayı türlerin coğrafik yayılış alanlarının birçok kez daralıp genişlemesiyle karakterize edilmektedir. Türlerin yayılış alanları soğuk dönem esnasında güneye doğru daralırken, bunu takip eden sıcak dönemde önemli kenar bölgelerden genişlemiştir (Hewitt 1996, Hewitt 1999, Taberlet vd. 1998). Bu model kullanılarak, yüksek oranda tür çeşitliliğinin güney bölgelerde bulunması gerektiği ve kuzey bölgelerdeki tür içi çeşitliliğin dağılışının buzul dönemlerdeki sığınaklardan açılım yapılırken kullanılan yollar tarafından belirlenmiş olmasının gerektiği düşünülmektedir. Günümüzdeki filocoğrafik veriler hem bu düşünceyi hem de türlerin yayılış alanlarının daralma ve genişleme modelini güçlü bir şekilde desteklemektedir (Taberlet vd. 1998, Hewitt 1999).

Avrupa kıtasının doğusunda bulunan, bünyesinde Balkan ve Kafkas kökenli türleri barındıran Anadolu'nun, Avrupa'daki tür içi çeşitlilik için buzul dönemde potansiyel bir kaynak ve sığınak görevi yapmış olabileceği ancak, iklimsel, jeolojik, ekolojik ve coğrafik özellikleri bakımından detaylı bir şekilde çalışılmadığı belirtilmiştir (Hewitt 1996, Taberlet vd. 1998, Bilgin 2011). Benzer şekilde Michaux vd. (2004) Türkiye ve yakın doğudaki *Apodemus flavicollis* populasyonlarının Avrupa'daki populasyonlardan az çok genetik farklılıklar gösterdiğini ifade etmişlerdir. Bu durumun allopatrik izolasyonu izleyen geçmiş periyotlardaki farklı olaylar ve Kafkaslar ve Karadeniz gibi güçlü coğrafik bariyerlerden kaynaklandığını belirterek, söz konusu farklılıklara neden olan değişik olayların ve güçlü biyocoğrafik bariyerlerin etkilerinin iyi bir şekilde belirlenmemiş olduğuna dikkat çekmişlerdir. Bu sebeple Avrupa'nın doğusunda bulunan ve buzul dönemde muhtemelen sığınak görevi yapmış olan bölgelerin çok daha detaylı çalışılması gerektiğinden söz etmişlerdir. Avrupa'nın Türkiye'yi de içeren güney bölgelerindeki *Apodemus sylvaticus* populasyonlarının Avrupa'nın kuzey bölgelerindeki populasyonlarından daha yüksek seviyede genetik çeşitlilik gösterdiği tespit edilmiş ve Türkiye'yi de içeren bölgelerin buzul dönemde bu tür için bir sığınak bölge olduğu ifade edilmiştir (Michaux vd. 2003).

Biyocoğrafik açıdan oldukça farklı makro ve mikro habitatların oluşmasını sağlayan değişik topoğrafik ve iklimsel özelliklere sahip olan Anadolu; Akdeniz, Ege Denizi ve Karadeniz tarafından çevrelenmiş bir yarımadadır. Avrupa kıtasının güneyinde Asya ve

Avrupa arasında bir köprü olmasına ilaveten, Arap yarımadası vasıtasıyla Etiyopya zoocoğrafik bölgesiyle bağlantı sağlar ve böylelikle türlerin kuzey-güney ve doğu-batı yönünde yayılışı için doğal bir geçiş yolu teşkil eder. Anadolu Diyagonali, Toros Dağları, Karadeniz Dağları, Batı Anadolu Dağları, Orta Anadolu Platosu, Marmara Denizi ve Orta Anadolu Göl Sistemi gibi gen akışını engelleyen birçok geçmiş ve güncel bariyeri kapsamaktadır. Tersiyer ve Kuaterner dönemleri süresince yer katmanlarının hareketi açısından sürekli değişim gösteren bir evrimsel geçmişe sahiptir. Bu sebeplerden dolayı Anadolu, tür içi genetik farklılaşmaların gözlenebilmesi için oldukça önemli bir alandır ve biyolojik açıdan oldukça fazla çeşitlilik göstermektedir (Çıplak 2003, Bilgin 2011).

Anadolu'nun değişken topoğrafik ve iklimsel özellikleri ile uyumlu olarak türlerin yayılış alanlarının belirlenmesi günümüzdeki biyolojik çeşitliliğin ve gelişen koruma stratejilerinin anlaşılabilmesi için özel bir öneme sahiptir (Çıplak 2003). Anadolu'nun sahip olduğu yüksek dağ sıraları, derin ve izole vadiler, ovalar, akarsular, göller, İstanbul ve Çanakkale boğazları gibi tür içi çeşitliliğe neden olan coğrafik etmenler uzun süren jeomorfolojik farklılaşmaların sonucunda oluşmuştur.

Türkiye gibi coğrafik olarak izole olmuş birçok bölgeyi barındıran ve jeolojik olarak aktif olan alanlar coğrafik türleşme hipotezlerinin test edilmesi için ideal alanlardır. İç Anadolu'da yayılış gösteren *Aphanius* ve *Pseudophoxinus* tür gruplarının moleküler filogenisi ve biyocoğrafik geçmişini belirlemeye yönelik iki ayrı çalışmada Anadolu'nun jeolojik geçmişinin tür farklılaşması üzerine olan etkileri araştırılmıştır (Hrbek vd. 2002, Hrbek vd. 2004). Weisrock vd. (2001), bir tektonik birim olan Menderes-Toros bloğunun güneybatı bölümündeki *Mertensiella luschani* populasyonları üzerinde yaptıkları çalışmada populasyonlar arasında üreme izolasyonu olduğunu ve bu populasyonların yaklaşık olarak 7 milyon yıl önce farklılaştıklarını belirlemişlerdir. Veith vd. (2003), aynı zamanda Weisrock vd. (2001) tarafından da çalışılmış bir coğrafik bölge olan Menderes-Toros bloğunun güneybatı bölümünde bir sığınak keşfetmişlerdir. Bu sığınakta bulunan *Rana macrocnemis* populasyonlarının birbirlerinden çok az genetik farklılıklar gösterdiklerini ve günümüzde İç Anadolu Bölgesi'nde bulunan populasyonların bu sığınaktan köken almadığını, aksine

Transkafkasya'daki sığınaktan açılım yaptıklarını belirlemişlerdir. Yapılan bu çalışmalar ile Anadolu'nun jeolojik yapısını biçimlendiren başlıca beş tektonik bloğun ve Arap plakası ile Alanya Masifinin kuzeye doğru hareket etmesi sonucunda, bu tektonik bloklardan birisi olan Menderes-Toros bloğunu oluşturan jeomorfolojik süreçlerin bu bölgedeki genel biyocoğrafya üzerinde önemli derecede etkileri olduğu belirlenmiştir. İlaveten bu durumun bu bölgedeki tüm taksonları aynı şekilde etkilemediği de açığa çıkmıştır (Hrbek vd. 2004). Böylece Anadolu'nun günümüzdeki topografik yapısını meydana getiren jeolojik oluşum sürecinin tür çeşitliliği ve türlerin yayılışı üzerine etkileri ortaya konmuştur.

Türkiye'nin doğusundaki tektonik değişimler Orta Miyosen'de başlamıştır. Bu dönemde deniz seviyesine yakın geniş düzlük alanlar şeklinde (peneplen) olan bölge coğrafyası tektonik hareketler ve volkanizma ile yapısal ve jeomorfolojik olarak değişim geçirmiş ve bu geniş düzlükler dağ oluşturacak şekilde gelişme göstermişlerdir (Şaroğlu ve Güner 1981). Alp-Himalaya dağ oluşumu esnasında Doğu Anadolu Bölgesi'nde meydana gelen dağ sıraları Anadolu Diyagonali olarak adlandırılmaktadır. Anadolu Diyagonali, Anadolu'yu coğrafik olarak doğu-batı yönünde ikiye ayıran ve Anadolu'nun sahip olduğu flora ve faunanın şekillenmesinde önemli derecede rol oynayan bir etmendir (Nilson vd. 1990, Çıplak vd. 1993, Gülkaç ve Yüksel 1999, Mutun 2010, Ahmadzadeh vd. 2013, Gül 2013, Jandzik vd. 2013). (Davis 1971) Anadolu Diyagonali'nin doğusundaki ve batısındaki populasyonların farklılaşmasının sadece çevresel faktörler tarafından açıklanamayacağını, bu farklılıkların meydana gelmesinde jeolojik geçmişin de bir diğer önemli faktör olduğunu belirtmiştir.

Türk boğaz sistemi olarak nitelendirilen Marmara Denizi ile İstanbul ve Çanakkale Boğazları (Korkmaz vd. 2014) Trakya ve Anadolu arasındaki karasal bağlantıyı kesmektedir. Marmara Denizi ve buna yakın coğrafik bölgeler Akdeniz ile Paratetis arasında Miyosen ortalarından beri kesintili bir bağlantı sağladığından dolayı bu iki bölge arasında gerçekleşen su değişimlerinin doğasının anlaşılabilmesi ve zamanlamasının belirlenebilmesi için bu bölgelerin jeolojik geçmişinin bilinmesi gerekir (Çağatay vd. 2006). Kuaterner'de gerçekleşen deniz seviyesindeki dalgalanmalar sırasında İstanbul ve Çanakkale Boğazları'nın özgün morfolojik



yapısından dolayı Akdeniz ile Karadeniz arasında başlayan su değişimleri muhtemelen Marmara Denizi'nin oluşumuna neden olmuştur (Gökaşan vd. 2010). Çanakkale Boğazı Pliyosen (5,33 myö) ve Kuaterner arasında (2,60 myö) oluşmuştur (Çağatay vd. 2006, Gökaşan vd. 2010). İstanbul Boğazı'ndan su akışı ise Holosen'de (11,7 bin yıl ile günümüz) gerçekleşmiştir (Kerey vd. 2004).

Türkiye'nin Asya ve Avrupa arasındaki kara bağlantısını kesen ve coğrafik türleşme için önemli bariyer teşkil eden boğazların oluşum sürecinin çok sayıda taksonun genetik açıdan çeşitli seviyelerde farklılaşmasında önemli rolünün olduğu birçok çalışma ile gösterilmiştir. *Apodemus flavicollis*'in Türkiye ve Avrupa örneklerinin genetik olarak birbirlerinden belirgin şekilde farklı olduğu, *Apodemus sylvaticus*'un Türkiye popülasyonunun ise bu türün Avrupa popülasyonlarına genetik olarak daha yakın olduğu bulunmuştur (Michaux vd. 2003, Michaux vd. 2004). *Glis glis* üzerine gerçekleştirilen filocoğrafik çalışmada Türkiye'den Uludağ ve Istranca örneklerinin Avrupa'daki birçok ülkeden elde edilen örnekler ile aynı sitokrom *b* haplotipini taşıdığı belirlenmiştir (Hürner vd. 2010). *Glis glis*'in morfometrik ve genetik yapısı üzerine yapılan bir başka çalışmada ise bu türün Trakya ve Anadolu örneklerinin genetik yapısının homojen olduğu onaylanmıştır (Helvacı vd. 2012). Fransa'dan Orta ve Doğu Avrupa, Türkiye ve Gürcistan'a kadar olan alanda yayılış gösteren sivri fare *Crocidura leucodon*'un iki farklı mtDNA soy hattına ayrılmasında buzul dönemin bitişiyle birlikte deniz seviyesinin yükselmesi sonucunda İstanbul Boğazı'nda meydana gelen su akışının etkisinin olduğu belirlenmiştir (Dubey vd. 2007). Toros Dağları'nda yayılış gösteren Türkiye'ye endemik bir kemirici türü olan *Spermophilus taurensis*'in günümüzden yaklaşık 2,5 myö *Spermophilus citellus* ile Avrupa'da ortak ataya sahip olduğu bildirilmiştir (Gündüz vd. 2007). Bu iki türün muhtemelen İstanbul Boğazı'ndan su akışından önce ortak atadan Avrupa'nın güneyinde farklılaşmaya başladığı ve *Spermophilus taurensis*'in bugünkü yayılış alanına ise dispersal sonucu ulaştığı belirlenmiştir (Gündüz vd. 2007).

Böylece farklı türlere ait birçok filocoğrafik çalışma ile Anadolu'nun uzun süren jeomorfolojik oluşum sürecinin, bu süreç sonucunda meydana gelen günümüzdeki jeolojik yapısının, coğrafik özelliklerinin ve sahip olduğu iklimsel koşulların tür içi

genetik farklılaşmaya neden olan ve türlerin yayılış alanlarını etkileyen önemli faktörler olduğu açık şekilde ortaya konmuştur.

Bu çalışma ile Türkiye'deki *Arvicola amphibius* populasyonlarının mitokondriyal DNA'sının protein kodlayan bölgesi olan sitokrom *b* ve mitokondriyal genomun organizasyonundan sorumlu protein kodlamayan bölgesi olan kontrol bölgesindeki varyasyonlar açığa çıkarılarak, populasyonlar arasındaki filogenetik ilişkilerin, populasyonların sahip olduğu genetik çeşitliliğin seviyesinin ve populasyonların farklılaşma zamanlarının belirlenmesi amaçlandı. Böylece tür içi genetik çeşitliliğin Türkiye'deki coğrafik yayılışına neden olan jeomorfolojik oluşum süreçleri, iklimsel faktörler ve bilinen coğrafik bariyerlerin etkileri belirlenerek, bu türe ait filocoğrafik bir model oluşturulacak ve Anadolu'nun genel filocoğrafyasına katkı sağlanacaktır. Daha önceden morfolojik ve morfometrik özellikler göz önüne alınarak tespit edilmiş olan üç alttürün taksonomik statüleri yeniden gözden geçirilecek ve bu alttürlerin geçerlilikleri araştırılacaktır.

## 2. KURAMSAL TEMELLER

### 2.1 Takım: Rodentia

Kemiriciler iki binin üzerindeki tür sayısı ile (2227) memeli hayvanlar sınıfının en geniş takımıdır ve dünya üzerinde yaşayan memeli hayvanların yaklaşık olarak % 42'sini oluştururlar (Wilson ve Reeder 2005).

Antarktika, Yeni Zelanda ve bazı okyanus adaları hariç dünya üzerinde oldukça geniş bir alanda yayılış gösterirler. Ekolojik bakımdan oldukça farklı habitatlara uyum sağlamışlardır. Birçoğu step, orman, çöl gibi karasal habitatlarda yaşarken, bazı kemiriciler toprakaltı yaşamı için özelleşmiştir. Yarı sucul ve ağaç üzerinde yaşayan kemirici türleri de vardır. Vücutlarında yaşam ortamlarına bağlı olarak çeşitli adaptasyonlar meydana gelmiştir. Toprak altı yaşama adapte olanlarda gözler küçülmüş ya da körelerek deri altında kalmıştır. Gözler gececi olanlarda büyüktür, suda yaşayanlarda başın üst kısmındadır. Gözlere benzer olarak kulaklar da toprak altı ve suda yaşayanlarda küçülmüştür. Kazıcı ve ağaçta yaşayan türlerde tırnaklar uzamıştır (Demirsoy 1992).

Kemiricilerin diğer takımlardan ayrılmasında kullanılan belirgin yapısal özellikler her iki çenede bulunan kesici dişler ve üst çenelerinde köpek ve ön azı dişlerinin kaybolması sonucunda oluşmuş, beslenme esnasında besinlerin toplanmasına yarayan ve diastema olarak bilinen boşluktur. Kesici dişler köksüzdür, yani sürekli büyüme eğilimi gösterirler. Kesici dişler zarar gördüğünde ya da yerinden söküldüğünde yerine yenisi çıkmadığından dolayı kemirme işlemi gerçekleştirilemez ve dolayısı ile bu da hayvanın ölümüne sebep olur (Demirsoy 1992).

Kemiriciler çiğneme kaslarının konumu ve kafatası özelliklerine göre Sciuromorpha, Castorimorpha, Myomorpha, Anomaluomorpha ve Hystricomorpha olmak üzere 5 alttakıma ayrılır (Ognev 1948, Wilson ve Reeder 2005).

Kemiriciler genelde herbivordur ancak, bazı türler omnivordur. Bazı türlerde besin toplamaya yarayan yanak keseleri vardır. Kemiriciler basit bir mideye sahiptir.

Kuyrukları uzundur ve bazı türlerde pullarla kaplıdır. Oldukça hızlı ürerler. Gebelik süreleri 16 ile 170 gün arasındadır. Yılda birkaç kez doğururlar. Bir seferde 1 ile 18 arası yavru yaparlar. Kuduz ve veba gibi hastalıkları taşırlar. Bazı türleri de tarım zararlısıdır (Demirsoy 1992).

## 2.2 Aile: Cricetidae

Cricetidae familyası 6 alt familya, 130 cins ve 681 türü içermesi bakımından memeli hayvanlar sınıfı içindeki familyalar arasında en büyük familyadır. Cricetidae familyası Kuzey Amerika, Güney Amerika, Avrupa ve Asya kıtasının büyük bölümü olmak üzere oldukça geniş bir alanda yayılış göstermektedir. Bu familyanın temsilcileri çayırlar, otlaklar, tarımsal alanlar, ormanlık alanlar, kayalık bölgeler, çöller, akarsular, göller, göletler ve bataklıklar gibi oldukça çeşitlilik gösteren kurak, sulak, ılık ve soğuk habitatlarda yaşamaktadırlar. Vücut yapısı çeşitlilik gösterir. Bazı türler yuvarlak vücut yapısı, kısa kuyruk ve tamamen kürk tarafından örtülmüş küçük gözlere ve kulaklara sahiptirler. Kürk rengi sırt kısmında çoğunlukla kahverengi ve grinin yanı sıra siyah tonlarını da içermektedir. Karın bölgesinin kürk rengi ise sırt bölgesine göre daha soluk renklidir, birçok türde ise beyazdır. Kuyruk türlere göre püsküllü, kıllı ya da büyük oranda çıplak olabilir. Diş formülü  $1/1, 0/0, 0/0, 3/3 = 16$ 'dır (Nowak 1999, Musser ve Carleton 2005).

## 2.3. Cins: *Arvicola* Lacépède, 1799

1799. *Arvicola* Lacépède, Tab. des Mamm. 10. *Mus amphibius* Linnaeus.

*Arvicola* cinsi nispeten büyük vücut yapısına sahip, güçlü ve yoğun tüylü kürke sahip yarı sucul kemirgenleri içerir. Palearktik bölgede yayılış gösteren üç türe sahiptir. *Arvicola sapidus*, İber yarımadasında, *Arvicola scherman* Orta Avrupa'nın dağlık yüksek kesimlerinde ve *Arvicola amphibius*'da bu iki türün yayılış alanlarının dışında Palearktik bölgenin geri kalan kısmında geniş yayılış göstermektedir. Bu cinsin temsilcileri yoğun vejetasyonla kaplanmış, durgun akan akarsu, göl, gölet, baraj gölleri, sulama kanalları ve bataklık alanlar gibi suyun daimi olduğu sulak alanlarda yaşar. Kürk

rengi sırtta açık sarımsı kahverengiden, koyu kahverengi hatta siyaha yakın tonlardadır. Karın bölgesi ise beyaz ya da beyazımsı griden, koyu griye kadar değişiklik gösterir. Tırnaklar iyi gelişmiştir. Yetişkin bireylerde baş büyük ve güçlü, kafatası geniş, kavisli ve kemikleri belirgindir. Molar dişler köksüzdür ve bireylerin yaşamı boyunca büyümeye devam ederler. Molar dişler oldukça taçlı ve prizmatiktir. Diş formülü 1/1, 0/0, 0/0, 3/3 = 16'dır (Nowak 1999, Musser ve Carleton 2005, Kryštufek ve Vohralík 2005).

#### 2.4 Tür: *Arvicola amphibius* (Linnaeus, 1758)

*Mus terrestris* Linnaeus, 1758 (Linnaeus, Syst. Nat. 10th ed. 1: 61)

Tip lokalitesi: Upsala, İsveç

*Mus amphibius* Linnaeus, 1758 (Linnaeus, Syst. Nat. 10th ed. 1: 61)

Tip lokalitesi: İngiltere



Şekil 2. 1 Türkiye’de yaşayan ve yarı sucul bir kemirici türü *A. amphibius*’un genel görünümü

Wilson ve Reeder (2005)'e göre bu türün farklı lokalitelerden hem fosil hem de yaşayan formları için farklı araştırmacılar tarafından farklı zamanlarda toplam 64 sinonim isimi mevcuttur. Araştırmacılar bu türün isimlendirmesinde karmaşık bir durumun söz konusu olduğunu belirterek, hem *A. amphibius* hem de *A. terrestris* isimlerinin Linnaeus (1758) tarafından aynı zamanda önerildiğini ifade etmişlerdir. Bu karmaşanın aşılabilmesi için ise öncelik kuralı (priority) gereği (Corbet 1978'e dayanarak) ve bu türü ilk revize eden Blasius (1857)'nin de *A. terrestris*'in *A. amphibius*'un subjektif sinonimi olduğunu ifade ederek *A. amphibius* isminin kullanılması gerektiğini öne sürmüşlerdir. Bu türün Türkiye'deki popülasyonları Mursaloğlu (1975) tarafından morfolojik ve morfometrik olarak değerlendirilmiş ve Trakya popülasyonları *A. amphibius cernjavskii*, Hatay popülasyonları *A. amphibius hintoni* ve Anadolu popülasyonları *A. amphibius persicus* olarak tanımlanmıştır.

**1. *Arvicola amphibius persicus* de Filippi, 1865**

Tip lokalitesi: Elbruz Dağlarının Güney kesimi, Sultaniye, İran

**2. *Arvicola amphibius hintoni* Aharoni, 1932**

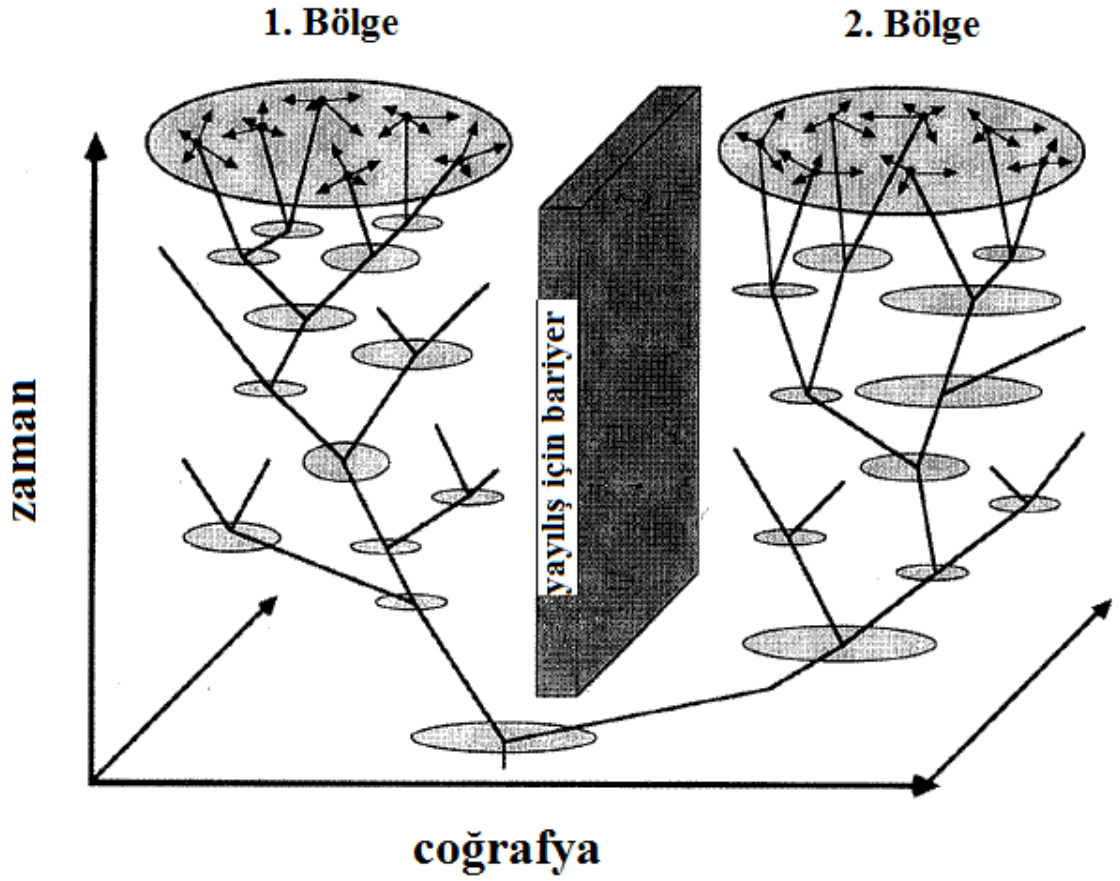
Tip Lokalitesi: Tel El Sultan Adası, Amik Gölü, Hatay

**3. *Arvicola amphibius cernjavskii* Petrov, 1949**

Tip Lokalitesi: Ponor, (1350m), Dojkinci köyü, Stara Planina Dağları, Sırbistan

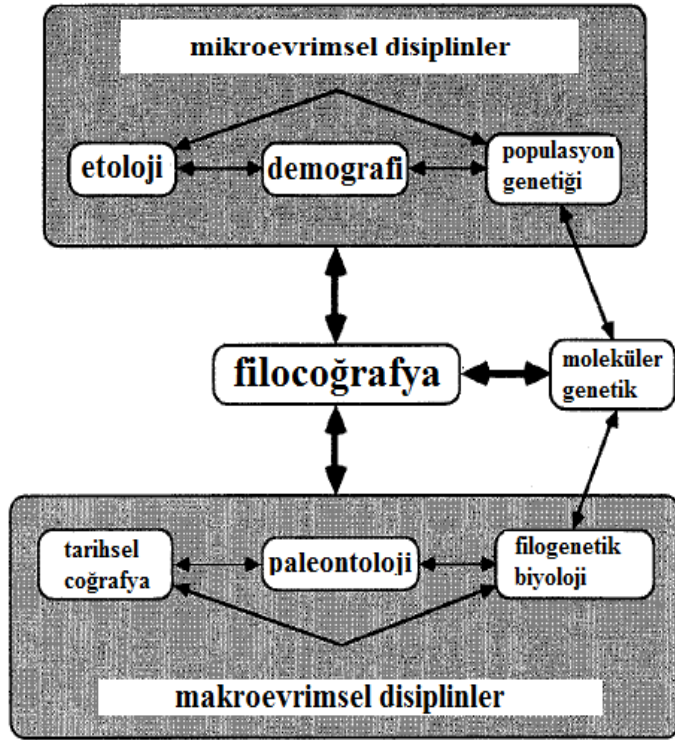
## **2.5 Filocoğrafya ve Mitokondriyal DNA**

Filocoğrafya soy hatlarının coğrafik dağılışlarını analiz eden, yeni ve hızlı büyüyen bir alandır. Diğer bir deyişle yakın akraba türlerin arasındaki ve içindeki soy hatlarının coğrafik yayılışlarını yöneten süreçler ve ilkelerle ilgilenen bir çalışma alanıdır. Filocoğrafya, soy hatlarının mekansal yayılışlarının tarihi ve filogenetik bileşenleri ile ilgilenir. Zaman ve mekan, ilgilenilen belirli soy hattının haritasını çıkaran filocoğrafya ekseninde birlikte göz önünde tutulur (şekil 2.1) (Avisé 2000).



Şekil 2.2 Bir tür içindeki soy hatlarının filocoğrafya ekseninde zaman ve mekan arasındaki ilişkiye dayalı olarak belirlenen coğrafik yayılış haritası (Avice 2000)

Soy hatlarının yayılışının analizi ve yorumlanması, moleküler genetik, populasyon genetiği, etoloji, demografi, filogenetik biyoloji, paleontoloji, jeoloji ve tarihsel coğrafya alanlarından kapsamlı verilerin elde edilmesini gerektirir. Bundan dolayı, filocoğrafya farklı mikro ve makro evrimsel disiplinlerin kesişme noktalarına uzanan birleştirici bir faaliyettir (Şekil 2.2) (Avice 2000). Günümüzde, DNA kullanan çok sayıdaki teknik yeni analitik metotlar ve son zamanlardaki paleoklimatik ve jeolojik çalışmalarla birleştirilmiştir ve böylelikle dünya üzerindeki genetik çeşitliliğin yayılışını ve nasıl evrimleştiğini anlamak daha da olası hale gelmiştir. Daha derin filogenetik geçmiş için daha yavaş evrimleşen dizilere ihtiyaç duyulurken, belki sadece on binlerce yıllı ölçülen yakın zamandaki evrimsel olaylar için daha fazla çeşitlilik gösteren ya da daha hızlı evrimleşen belirteçlere gereksinim vardır (Avice 2000).

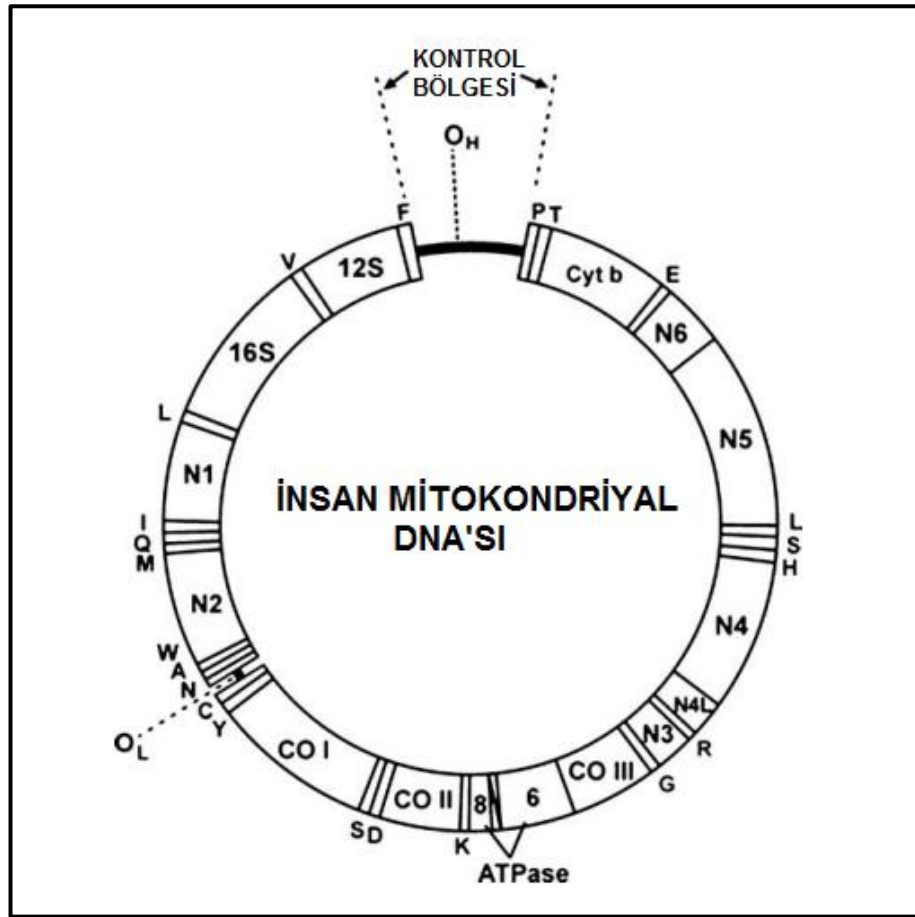


Şekil 2.3 Filocoğrafya ile mikroevrimsel ve makroevrimsel disiplinler arasındaki ilişki (Avice 2000)

Bu bilim dalının tarihsel kökeni hayvan mitokondriyal İSTATİSTİKDNA'sının deneysel çalışmaları ile iç içedir. 1970'li yıllar ve 1980'li yılların başındaki araştırmalar mitokondriyal DNA'nın önemli moleküler ve genetik aktarım özelliklerini açığa çıkarmıştır. Bu durum özel bir değere sahip olan bu molekülü bir mikroevrimsel filogenetik belirteç olarak kabul görmesini sağlamıştır (Şekil 2.3). Bu bağlamda maternal kalıtım, genellikle moleküller arası genetik rekombinasyon olmaması, nükleotid dizi seviyesindeki hızlı evrim ve bireyler içindekinden ziyade büyük çoğunluğu tür içinde bölüştürülmüş kapsamlı bir polimorfizm görülmesi gibi durumlar mitokondriyal DNA çalışmalarına önem kazandırmıştır. Bunun yanı sıra hayvanlarda mitokondriyal DNA dizilerinin teknik olarak kolay erişilebilirliği bu alanı alevlendirmiş ve canlandırmıştır. Yeni tekniklerin ortaya çıkmasıyla türlerin yayılış gösterdiği alanlarda, bireylerdeki DNA dizi varyasyonlarının belirlenmesi olası hale gelmiş ve dolayısı ile soy hatlarının çıkarsamasının yapılması mümkün olmuştur. İnsan mitokondriyal DNA'sı 16.539 baz çifti uzunluğunda halkasal, çift iplikli bir moleküldür. Bu molekül oksidatif fosforilasyon sisteminin 13 alt ünitesi, 2 ribosomal

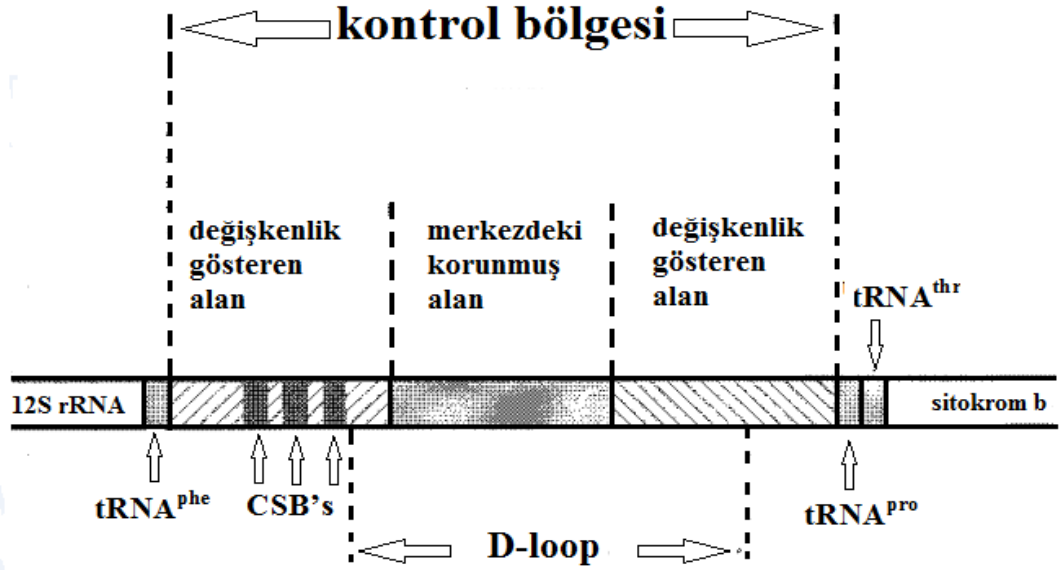


RNA (rRNA) ve 22 tane transfer RNA (tRNA) olmak üzere toplam 37 gen kodlar. Mitokondriyal DNA hücre çekirdeği yerine hücrenin enerji üretiminden sorumlu organeli olan mitokondri içinde bulunur. Hücrenin içerdiği mitokondri sayısı ile doğru orantılı olarak mitokondriyal DNA'nın yüksek sayıda kopyası mevcuttur. Kontrol bölgesi başlıca düzenleyici fonksiyonlardan sorumludur ve mtDNA'nın protein kodlamayan bölgesidir. Yaklaşık 1100 baz çifti uzunluğundadır. Mitokondriyal DNA'nın evrimsel ve populasyon tarihine yönelik çalışmalarda yaygın olarak kullanılmasının nedenleri; yüksek kopya sayısı, maternal kalıtım, rekombinasyon olmaması ve çoğunlukla çekirdek DNA'sına göre daha yüksek mutasyon oranına sahip olmasıdır (Pakendorf ve Stoneking 2005).



Şekil 2.4 İnsan mtDNA'sının şematik gösterimi (Pakendorf ve Stoneking 2005)

12S ve 16S iki Ribozomal RNA'yı, COI-COIII sitokrom oksidazın alt ünitelerini, N1, N6 ve N4 NADH alt ünitelerini, 6 ve 8 F1ATPas alt ünitelerini, Cyt b sitokrom genini işaret etmektedir. Farklı harfler (F, V, L, I, Q, M, W, A, N, C, Y, S, D, K, G, R, H, S, L, E, T ve P) ise 22 tRNA genini göstermektedir. O<sub>H</sub> ve O<sub>L</sub> iki replikasyon orijinini belirtmektedir



Şekil 2.5 Memeli mtDNA'sı kontrol bölgesinin başlıca üç bölgesinin şematik gösterimi (Avisé 2000)

Kontrol bölgesinin merkezinde daha fazla korunmuş alan ve bunun sağ ve sol tarafında yüksek çeşitlilik gösteren iki alan bulunmaktadır. Buna ilaveten yüksek çeşitlilik gösteren alanların bir tanesinde üç tane (bazen iki) tipik olarak korunmuş dizi blokları bulunmaktadır (CSB). D-loop kontrol bölgesinin mikroskop altında görülebilen ve DNA replikasyonu ile ilgili bölgesidir

Hayvan mitokondriyal DNA'sının kendine has özellikleri mikroevrim üzerinde alışılmışın dışında bazı görüşlerin ortaya çıkmasına katkıda bulunmuştur. Aynı tür organizmaların ana tarafından gelen geçmişleri ortaya çıkarılabilir. Mitokondriyal DNA tarafından temsil edildiği gibi belirli gen ağaçları farklı organizmalara ait soy ağaçlarını bağlayan hiyerarşik ve dallanmış filogenetik bileşenleri oluşturur. Bundan dolayı bazı verilerin analizlerinde bireysel organizmalar işlevsel taksonomik birimler olarak değerlendirilecekler ve genellikle tür içi evrim tartışmalarına haklı olarak filogenetik bakış açısı da eklenecektir (Avisé 2000).

Geçmiş süreçlere odaklanmasıyla, filocoğrafya mikroevrimde doğal seçilimin rolünü vurgulayan ekocoğrafik bakış açısını çevresindeki öğelerle birlikte ele alır ve dengeler. Tarihsel biyocoğrafya içerisinde, filocoğrafya genetik özelliklerin coğrafik yayılışlarını açıklamak amacıyla sıklıkla yarışan vikaryans ve dispersalist senaryoların nispi doğruluklarını ölçmek için yararlı bir kavramsal çerçeve sunar. Filocoğrafya mikro ve makro evrimdeki birbirleri ile bağlantısı bulunmayan bazı farklı disiplinler arasındaki kritik bağlantı noktalarında bulunur (Avisé 2000).

## 2.6 Biyolojik Kaynaklardan DNA Eldesi

Farklı biyolojik kaynaklardan, organizmaların sahip olduğu toplam genomik DNA'nın saflaştırılabilmesi için farklı yöntemler bulunmaktadır. Bu yöntemler biyolojik kaynağa göre farklılık gösterse bile esasında ardışık üç basamaktan oluşur. Birinci aşama, fiziksel ya da kimyasal yolla hücrenin parçalanmasıdır. Bu işlem sırasında hücre içinde bazı özel proteinler ve RNA ile karmaşık bir yapı oluşturan DNA molekülünün, bu karmaşık yapının bozularak suda çözünebilir hale geçmesi için bazı ekstraksiyon çözeltileri kullanılır. İkinci aşamada serbest ya da suda çözünür hale getirilen DNA molekülleri santrifüjleme işlemi ile hücre kalıntılarından ayrılır. Sonrasında fenol-kloroform uygulaması yapılarak DNA, proteinler, RNA ve diğer makromoleküllerden temizlenir. Üçüncü aşamada diğer hücresel bileşenler ve moleküllerden ayrılan ve sulu fazda çözülmüş halde bulunan DNA çöktürülerek saflaştırılır ve geri kazanılır. Bunun için saf etanol ve soğuk koşullarda (-20 ve -70 °C) inkübasyondan faydalanılır (Gözükırmızı vd. 2011).

## 2.7 Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)

Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) ile saflaştırılmış olan DNA molekülünün seçilen bir bölgesinin hücre dışı koşullarda çoğaltılması sağlanır. DNA molekülünün istenilen bölgesi, özgün oligonükleotidler (primerler), serbest halde bulunan deoksiribonükleotid trifosfatlar (dATP, dGTP, dCTP ve dTTP), *Taq* polimeraz enzimi ve magnezyum iyonları varlığında denatürasyon, hibritleşme ve sentez basamaklarından oluşan bir döngüsel reaksiyonun birçok kez tekrarlanması ile çoğaltılır. Denatürasyon aşamasında sıcaklık 94 °C'ye yükseltilerek DNA molekülünün iki ipliğini bir arada tutan hidrojen bağları kırılır. Hibritleşme aşamasında sıcaklık primerlerin bağlanması için uygun olan 50-60 °C aralığına düşürülür ve primerlerin denatüre olmuş DNA ipliklerine yapışması sağlanır. Sentez aşamasında sıcaklık *Taq* polimeraz enziminin çalışması için en uygun sıcaklığa 74 °C'ye yükseltilerek ortamda serbest halde bulunan deoksiribonükleotid trifosfatların kalıp DNA ipliklerine bağlanması sağlanır ve bu döngü 25-30 kez tekrarlanır. Sonuçta istenilen başlangıç DNA molekülünün çok sayıda kopyası elde edilmiş olur. (Brown 2009).

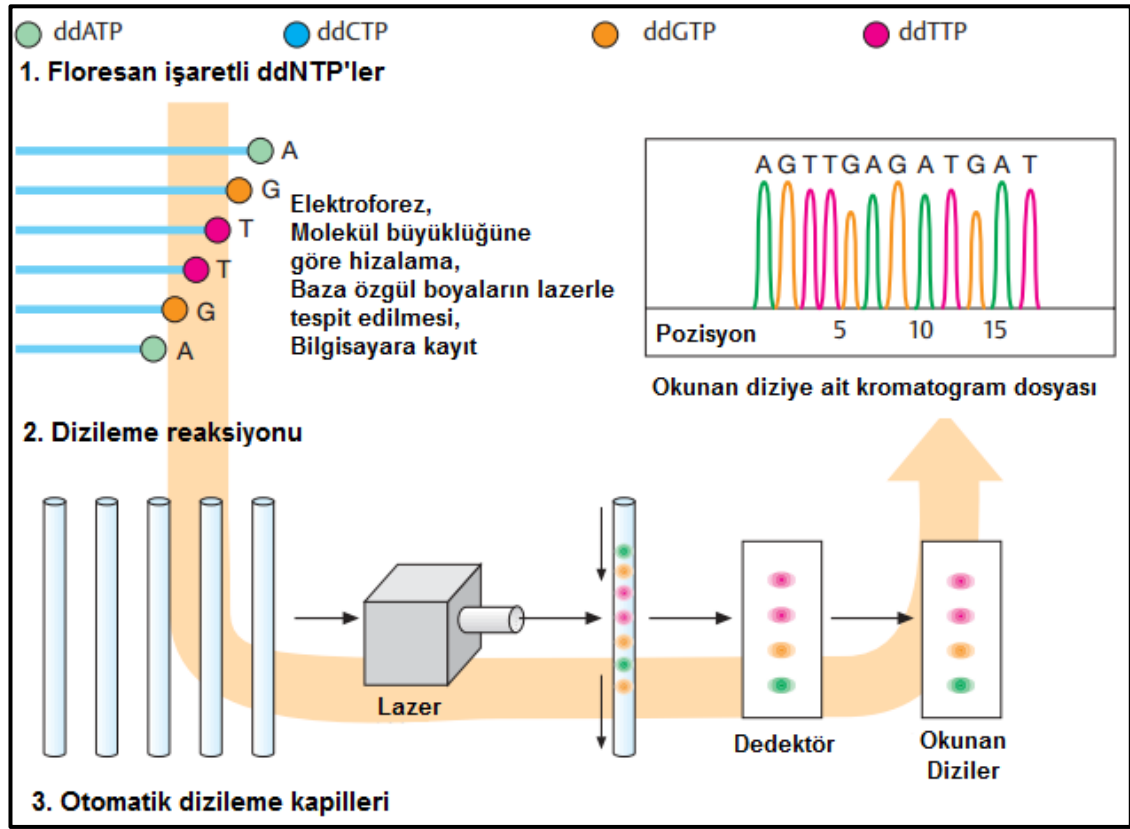
## 2.8 DNA Dizi Analizi

DNA dizileme, DNA molekülünün istenilen bölgesinin nükleotid sırasının tam olarak belirlenmesidir. DNA dizilemek için hemen hemen aynı zamanda geliştirilmiş olan Maxam-Gilbert kimyasal yıkılım metodu ve Sanger-Coulson zincir sonlandırma metodu olmak üzere iki teknik mevcuttur. Uygulanması tamamen farklı olan bu iki teknik kısa zamanda birkaç kilobaz uzunluğundaki DNA dizilerinin belirlenmesini sağlar. Kimyasal yıkılım tekniğinde kullanılan kimyasalların toksik olmasından ve kullanıcı sağlığına zarar vermesinden dolayı günümüzde yapılan çalışmalarda zincir sonlandırma tekniği yaygın olarak kullanılmaktadır. Bununla birlikte zincir sonlandırma tekniğinin yaygın olarak kullanılmasının esas nedeni bu tekniğin otomatikleştirilebilmesinin nispeten daha kolay olmasıdır (Brown 2009). Zincir sonlandırma yöntemi temelde kalıp DNA molekülüne bağlanan ve normal hidroksil grubu taşıyan deoksiribonükleotid trifosfatların (dNTP) mevcudiyetinde DNA sentezin devam etmesi ve dideoksiribonükleotid trifosfatların (ddNTP) DNA molekülüne bağlandığı yere göre de polimerizasyon reaksiyonunun DNA üzerinde parçalı olarak gerçekleşmesi prensibine dayanmaktadır. Bu yöntemin sonunda poliakrilamid sekans jeline yüklenen ve reaksiyonda zincir sonlanmasına neden olan floresan işaretli dideoksiribonükleotid trifosfatlar jelde yürüme sıralarına göre floresan temelli otomatik dizi analiz sisteminde detektörden geçerken lazer ile farklı renklerde işaretlenerek dizileme işlemi gerçekleştirilir (Gözükırmızı vd. 2011).

## 2.9 Filogeni ve Genetik Yapı Analizlerinde Kullanılan İstatistiksel Yöntemler

Durağan bir bilim dalı olmayan biyoloji bilimi temelinde evrim, yapı-fonksiyon ilişkisi ile taksonomi ve sistematik gibi önemli kavramlara sahiptir. Dünya üzerindeki biyolojik çeşitliliğin kaynağı, yani evriminin anlaşılabilmesi ve biyolojik çeşitliliğin korunabilmesi için türlerin evrimsel geçmişinin ve genetik yapılarının detaylı bir şekilde araştırılması oldukça önemlidir (Centeno-Cuadros vd. 2009). Bu nedenle, geçmişte yapılmış morfolojiye dayalı çalışmalara ilaveten günümüzde teorik ve analitik gelişmelerle birlikte ilerleme kaydeden ve kolay uygulanabilir bir hal alan moleküler yaklaşımları kullanan çalışmalar giderek artmakta ve geçerlilik kazanmaktadır.

Dolayısıyla biyolojik çeşitliliğin kaynağına inen, günümüzde belirli bir coğrafyada bulunan türlere ait soy hatlarının yayılışını inceleyen ve moleküler genetik, popülasyon



Şekil 2.6 Otomatikleştirilmiş DNA dizi analizinin prensipleri (Passarge 2001)

genetiği, etoloji, demografi, filogenetik biyoloji, paleontoloji, jeoloji ve tarihsel coğrafya gibi birçok mikro ve makro evrimsel disiplini bir araya getiren ve çokdisiplinli bir bilim dalı olan filocoğrafya çalışmaları önem kazanmaktadır (Avisé 2000). Filocoğrafik çalışmalar maternal kalıtım gösteren ve nükleotid dizisinde yüksek evrimleşme hızına sahip önemli bir moleküler belirteç olan mitokondriyal DNA'nın farklı bölgelerine ait dizi verilerini kullanmaktadır.

Zamansal ve mekansal boyutta değişim gösteren allel frekanslarına bağlı olarak popülasyonların genetik yapısındaki değişimleri açıklayan parametreleri ortaya koyan ve böylece popülasyonların evrimsel geçmişini açığa çıkarmayı amaçlayan, moleküler düzeydeki çalışmalardan elde edilen veri setlerinin doğru bir şekilde analiz edilmesi ve değerlendirilmesi popülasyon genetiği çalışmalarında oldukça önem kazanmaktadır. Bu nedenle, seçilen moleküler belirtece bağlı olarak değişiklikler gösteren veri setlerinin

gereken analizler için doğru bir şekilde hazırlanması gerekir. Oluşturulan veri setlerinin yine doğru bir şekilde analiz edilmesi ve analizler sonucunda elde edilen istatistiklerden popülasyonların hem evrimsel geçmişini ortaya koyan hem de genetik yapısını açıklayan parametrelerin doğru bir şekilde tahmin edilebilmesi de gerekir. Bu noktada sonuçları güvenilir ve geçerli çalışmalar yapabilmek için dizi analizini temel alan istatistiksel yöntemlerin iyi bir şekilde uygulanmasının gerekliliği ortaya çıkmaktadır.

Günümüzde gerçekleştirilen birçok çalışmada kullanılan DNA dizi verilerinin analizi için çoğunluğu internet üzerinden kolaylıkla erişilebilen ve kullanım açısından karmaşık olmayan birçok biyoinformatik araç mevcuttur. Bunlardan ClustalW, BioEdit ve ChromasPro gibi bazıları çalışılan genomun belirli bir bölgesine ait sekanslardan oluşan veri setinin hazırlanması için kullanılır. jModeltest, MEGA gibi bazı biyoinformatik araçlar da veri seti için uygun nükleotid değişim modelinin (evrimsel modelin) belirlenmesinde kullanılır. MEGA, PAUP, MrBayes, BEAST, Network ve TCS gibi bazı yazılımlar ise evrimsel uzaklıkların belirlenmesi, mesafe ya da model temelli filogenetik ağaçların oluşturulması, evrimsel ilişki örgülerinin belirlenmesi ve evrimsel ayrılma zamanlarının açığa çıkarılması gibi analizlerde kullanılmaktadır. Ayrıca, DNAsp, MEGA, ARLEQUIN gibi popülasyonların genetik yapısı hakkında bilgi veren nükleotid çeşitliliği ( $\pi$ ), haplotip çeşitliliği ( $h$ ), gen akışı ( $Nm$ ) ve genetik farklılaşma indisi ( $F_{ST}$ ) gibi tanımlayıcı istatistikleri belirleyen ve popülasyonların genetik farklılaşmasının tahmininde kullanılan parametreleri ortaya koyan birçok biyoinformatik araç mevcuttur.

Popülasyonlar arasındaki evrimsel ilişkileri görselleştirebilmek için en uygun yöntem filogenetik ağaç oluşturmaktır. Filogenetik ağaç çiziminde uzaklık (UPGMA, Neighbor Joining, Minimum Evolution) ya da nükleotid dizisini temel alan yöntemler (Maximum Parsimony, Maximum Likelihood ve Bayesian Inference) kullanılmaktadır. Karmaşık evrimsel ilişkilerin görsel hale getirilmesinde ise evrimsel ilişki örgüsü (Network) analizi kullanılır (Koban vd. 2008).

Filogenetik analizler, protein ya da nükleotid dizilerinin elde edilmesi, homolog dizilerin hizalanması, protein ya da nükleotid evrimi için uygun istatistiksel modelin

belirlenmesi, filogenetik ağaç oluşturulması ve filogenetik ağacın değerlendirilmesi olmak üzere beş temel aşamadan oluşur (Pevsner 2009).

Çalışılan canlı grubuna ait nükleotid dizilerine ait ileri ve geri okumaların karşılaştırılması ile ortak (consensus) diziler elde edilir. Bu diziler önce hizalanır, sonra aynı hizada başlayıp aynı hizada bitmesi için yani her bir örneğe ait eşit uzunlukta dizilerin elde edilmesi için budama işlemi (trim) gerçekleştirilir. Filogenetik analizlerin bazıları nükleotid değişim modellerini temel aldığı için bütün örnekleri içeren veri seti elde edildikten sonra veri seti için uygun nükleotid değişim modeli belirlenir. Uzaklığı temel alan yöntemler için (distance), ikili olarak karşılaştırılan nükleotid dizilerinde farklılığa neden olan nükleotid değişimlerinin sayısı kullanılarak filogenetik ağaç oluşturulur. Uzaklığa dayalı yöntemlerde amaç nükleotid dizilerinde en az farklılık gösteren bireyleri doğru bir şekilde yerleştirip kullanılan veriyi en iyi yansıtan filogenetik ağacı oluşturmaktır. UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean, Ortalamalara Bağlı Ağırlıklı Olmayan Çift Grup Yöntemi) metoduna göre oluşturulan filogenetik ağacın dalları boyunca evrimsel değişim hızının sabit olduğu varsayılır. Neighbour Joining (NJ, Komşu birleştirme) metodu ise filogenetik ağacın dalları boyunca evrimsel değişim hızının farklı olduğunu kabul eder. Maximum Likelihood (ML, Maksimum Olabilirlik) bireylerin nükleotid dizilerinde gözlenen varyasyonu açıklayan en iyi ağacı oluşturabilmek için olasılık hesapları kullanır. Bütün olası ağaçlar incelenir ve ağaç oluştururken evrimsel modeller kullanır. Bayesian Inference (BI, Bayesian Çıkarsaması) yönteminde tek bir doğru filogenetik ağacı bulmaktan ziyade bütün muhtemel filogenetik ağaçların sonraki (posterior, ardıl) olasılık dağılımlarının hesaplanması amaçlanır. Maximum Parsimony (MP, Maksimum Tutumluluk) bireylerin nükleotid dizilerinde gözlenen varyasyonun açığa çıkarılabilmesi için gereken en az sayıda basamağı içeren filogenetik ağacı (the most parsimonious, en cimri) oluşturur (Koban vd. 2008, Pevsner 2009).

ML algoritmasının kullanıldığı filogenetik analizler evrimsel modellere gereksinim duyar. Bu algoritmanın kullanıldığı filogenetik analizlerde sıklıkla kullanılan General Time Reversible (GTR) ailesi, nükleotid dizilerindeki değişimler için kullanılan parametrelerin farklı kombinasyonlarına sahip 64 tane nükleotid değişim modelini içerir. Model temelli filogenetik analizlerde kullanılacak nükleotid dizilerinden oluşan veri seti

için bu nükleotid değişim modellerinden hangisinin kullanılmasının uygun olacağı Modeltest, jModeltest, MEGA gibi programlar tarafından AIC (Akaike Information Criteria), BIC (Bayesian Information Criteria), AICc (Corrected Akaike Information Criteria) gibi bazı istatistiksel kıstaslara göre belirlenir. Bu nükleotid değişim modellerinden birisi olan ve evrimsel analizlerde sıklıkla kullanılan Kimura 2-Parametresi (K2P) (Kimura 1980), protein kodlayan bölgelerde aminoasit dizisinin değişmesine neden olan transisyon ve transversiyonların olasılığını açıklamak için transversiyonlara daha fazla ağırlık verecek şekilde transisyon ve transversiyon oranlarını ayarlar. Bir diğer nükleotid değişim modeli TN93'tür (Tamura ve Nei 1993). Bu modele göre baz frekansları değişkenlik gösterebilir, transversiyon oranları eşit iken, transisyon oranları değişkendir. HKY (Hasegawa vd. 1985) nükleotid değişim modelinde ise baz frekansları değişkenlik gösterir ve transisyon ve transversiyon oranları arasında farklılık olduğu varsayılır. Gamma modeli nükleotid dizilerinde değişkenlik gösteren bölgeler boyunca eşit olmayan değişim oranlarını açıklar. Bu dağılımın şekli gamma şekil parametresi ( $\alpha$ ) tarafından belirlenir. Nükleotid dizileri arasında yüksek varyasyon oranına sahip genler ortalama olarak düşük nükleotid değişimine sahiptirler. Bundan dolayı  $\alpha$  değeri yükselir ve bu evrimleşme hızının yavaş olduğu anlamına gelir. Hızlı evrimleşen proteinler ise düşük  $\alpha$  değerine sahiptirler (Pevsner 2009).

Nükleotid çeşitliliği ( $\pi$ ), haplotip çeşitliliği ( $h$ ), gen akışı ( $Nm$ ) ve genetik farklılaşma indisi ( $F_{ST}$ ) gibi bazı tanımlayıcı istatistikler incelenen populasyonların genetik yapısını yansıtmak için kullanılmaktadır. Nükleotid çeşitliliği bir populasyon içindeki polimorfizmin derecesini ölçmek için kullanılan bir kavramdır. İki DNA dizisi arasındaki ortalama nükleotid farklılıklarının sayısıdır ve  $\pi$  ile gösterilir (Nei ve Li 1979). Haplotip çeşitliliği ise bir populasyonda belirli bir haplotipin benzersiz olma durumunu yansıtan bir ölçüttür ve  $h$  ile gösterilir (Nei ve Tajima 1981).

Fiksasyon indisi olarak da bilinen  $F_{ST}$  değeri alt populasyonlar arasındaki genetik farklılaşmanın derecesinin tahmin edilmesine olanak sağlar. Bu değer, ana populasyona dair bir alt populasyon içerisinde soy içi üremenin derecesinin ölçüsüdür ve bir alt populasyon içerisinden tesadüfen çekilen iki alelin yeni nesil ile özdeş olma olasılığını



yansıtır. Eğer iki populasyon aynı alel frekanslarına sahipse genetik olarak farklılaşmamışlardır ve dolayısı ile  $F_{ST}$  değeri “0” olacaktır. Zıt durumda ise, yani iki populasyon farklı aleller için fikse olmuş ise  $F_{ST}$  değeri 1’e eşit olacaktır. 0 ve 1 aralığı içerisinde, 0-0,05 arasındaki  $F_{ST}$  değeri populasyonlar arasında çok az genetik farklılaşma olduğunu, 0,05-0,25 arasındaki  $F_{ST}$  değeri orta dereceli bir genetik farklılaşma olduğunu, 0,25’den büyük  $F_{ST}$  değeri ise oldukça bariz bir genetik farklılaşma olduğunu gösterir (Freeland 2005).

Gen akışı allel ya da genlerin bir populasyondan diğerine taşınmasını ifade eder. Populasyonlar arasındaki gen akışının ölçütü  $Nm$  değerinin hesaplanması ile belirlenir.  $Nm$  ve  $F_{ST}$  değerleri ters orantılıdır.  $Nm$  değerinin 1’den büyük olması populasyonlar arasındaki genetik farklılaşmanın az olduğu anlamına gelir ve düşük  $F_{ST}$  değerine sebep olur. Eğer,  $Nm$  değeri 1’den küçük olursa populasyonlar arasındaki genetik farklılaşmanın derecesi de artar ve  $F_{ST}$  değeri büyür.

Populasyon içi genetik varyasyonu açıklamada kullanılan ölçütlerden birisi de uyumsuzluk dağılımı (mismatch distribution) analizidir. Bu yöntem kullanılarak populasyonun demografik geçmişini belirlemeye yönelik bilgilere ulaşılabilir. Uyumsuzluk dağılımı analizi sonucunda elde edilen düzgün, çan eğrisi dağılımına sahip grafikler (unimodal, tek tepeli) hızlı populasyon büyümesini işaret eder. Eğer grafikte çok tepeli (multimodal) dağılım görülüyor ise bu populasyonun büyüklüğünde değişim olmadığı yani populasyonun demografik kararlılıkta olduğu anlamına gelir. Bu iki dağılım şekli arasındaki farkı belirlemek için Raggedness istatistiği ( $rg$ ) kullanılmaktadır (Harpending 1994). Raggedness istatistiği ( $rg$ ) dağılım grafiklerinde komşu iki tepe arasındaki farkın kareleri toplamına eşittir. Hızlı populasyon büyümesini gösteren düzgün, çan eğrisi ya da tek tepeli (unimodal) uyumsuzluk dağılımlarında Raggedness istatistiğinin değeri küçüktür (sekans verileri için  $r < 0,03$ ). Demografik kararlılıktaki populasyonları gösteren çok tepeli (multimodal) uyumsuzluk dağılımlarında ise bu istatistik daha büyük değerler alır (Koban vd. 2008).

Populasyonların geçmişte seçilime uğrayıp uğramadıklarını belirlemek için nötralite testleri kullanılır. Tajima’nın  $D$  ve Fu’nun  $F_S$  istatistikleri bu amaçla populasyon

genetiğinde sıkça kullanılan nötralite testleridir. Tajima'nın  $D$  istatistiği yüksek miktarda yeni mutasyonların olması ya da yakın zamanda populasyon büyümesi gerçekleştiğinde negatif değer alır. Yeni mutasyonların az miktarda olması, dengeli seçilim ya da populasyon azalması durumlarında ise bu istatistik pozitif değer alır.  $F_u$ 'nun  $F_S$  istatistiği populasyonda yeni oluşan haplotiplerin yüksek miktarda görülmesi ya da populasyon genişlemesi görüldüğünde yüksek negatif değerler alır (Koban vd. 2008).

Bireyler ya da populasyonlar arasındaki genetik benzerlik ya da farklılıklar çeşitli istatistiksel yöntemler ile değerlendirilebilir. Bunlardan birisi "isolation by distance" (coğrafik mesafeye bağlı genetik farklılaşma) yöntemidir. Bu yöntem populasyonlar arasındaki genetik benzerlik ya da farklılıkları bu populasyonlar arasındaki coğrafik mesafenin bir fonksiyonu olarak grafik halinde gösterilmesini sağlar. Elde edilen grafikte birbirinden uzak populasyonların genetik olarak en farklı populasyonlar olması beklenir (Bohonak 2002). Bu yöntemi kullanarak coğrafik mesafe ile genetik farklılaşma arasındaki ilişkiyi değerlendirebilmek (isolation by distance) için Mantel testi (Mantel 1967) en yaygın kullanılan istatistiksel yöntemdir (Diniz-Filho vd. 2013). Mantel tetsti populasyon arasındaki genetik benzerlik ya da farklılığı gösteren matris ile aynı populasyonlar arasındaki coğrafik mesafe matrisi arasındaki korelasyonu hesaplar.

### 3. MATERYAL VE YÖNTEM

Tez çalışması, arazi çalışmaları sonrasında Türkiye'deki farklı lokalitelerden elde edilen örneklere ait post, kafatası ve çeşitli dokuların (kalp, karaciğer, böbrek, kas ve dalak) laboratuvarında morfometrik ve moleküler yöntemler kullanılarak incelenmesiyle gerçekleştirildi. Bu çalışmada kullanılan örneklerin bir kısmı geçmiş yıllarda yapılan arazi çalışmalarından elde edildi. Bu tez çalışması kapsamında yapılan arazi çalışmalarından elde edilen örnekler ise T.C. Çevre ve Orman Bakanlığı Doğa Koruma ve Milli Parklar Genel Müdürlüğü tarafından B.18.0.DMP.0.02.510.02-59992 sayılı ile verilen yasal araştırma izni kapsamında toplandı. Yakalanan örneklerden arazide standart dış ölçüleri (tüm boy uzunluğu, kuyruk uzunluğu, arka ayak uzunluğu ve kulak uzunluğu) alındı. Ankara Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 2011-127-492 sayılı kararı uyarınca tahnit işlemi arazide gerçekleştirildi ve örneklerden çeşitli dokular alındı. Örneklerden arazide elde edilen dokular daha sonra DNA çalışmalarında kullanılmak üzere -86 °C'deki derin dondurucuya kaldırıldı. Müze materyali haline getirilen postlar ve kafatasları Ankara Üniversitesi Memeli Hayvan Araştırma Koleksiyonu'nda (AUMAC, [www.mammalia.ankara.edu.tr](http://www.mammalia.ankara.edu.tr)) muhafaza edilmektedir. Morfometrik analizlerde kullanılan kafatasları % 15'lik amonyak çözeltisi içerisinde 1 saat kadar 70 °C'deki su banyosunda bekletildi ve sonrasında ince uçlu pens ve bisturi yardımıyla temizlendi. Temizlenen kafatasları daha sonra 37 °C'deki etüv içerisinde bir ya da iki gün kadar tamamıyla kuruyuncaya kadar bekletildi ve etiketlenerek uygun saklama kutuları içerisine yerleştirildi. Morfometrik analizlerde 24 farklı lokaliteden toplam 175 örnek, moleküler analizlerde 27 farklı lokaliteden toplam 121 örnek kullanıldı (Şekil 3.1 ve Çizelge 3.1). Ayrıca, moleküler analizlerde kullanılan, *Arvicola amphibius*, *Arvicola sapidus*, *Chionomys roberti*, *Myodes glareolus*, *Mus musculus* ve *Rattus norvegicus* türlerine ait diziler GenBank'tan elde edildi.



Şekil 3.1 *A. amphibius* örneklerinin toplandığı lokaliteler

Harita üzerindeki her bir rakam ve rakamların yanındaki simge çizelge 3.1'deki lokaliteleri göstermektedir.

Çizelge 3.1 Tez çalışmasında kullanılan *A. amphibius* örneklerinin toplandığı lokaliteler

	Lokaliteler	Örnek Sayısı		Koordinatlar		Yükseklik (m)
		A	B	X	Y	
1	İnce Deresi, Kırklareli	10	10	41°40'29.19"K	27° 4'21.48"D	101
2	Yenişehir, Uşak	4	5	38°39'46.07"K	29° 0'56.51"D	926
3	Çivril, Denizli	12	9	38°16'47.01"K	29°54'16.82"D	886
4	Kocaali, Sakarya	-	6	41° 4'3.45"K	30°50'51.64"D	8
5	Gülçayır, Eskişehir	6	7	39°14'54.87"K	31°23'44.15"D	843
6	Eber Gölü, Afyon	9	5	38°37'6.69"K	31°12'56.87"D	968
7	Beysşehir, Konya	9	6	37°40'58.61"K	31°43'13.53"D	1148
8	Yeniçağa, Bolu	7	4	40°49'12.06"K	32° 5'8.82"D	1001
9	Ayaş, Ankara	16	5	40° 1'57.19"K	32°13'31.12"D	981
10	Tosya, Kastamonu	1	1	40°56'4.21"K	33°51'50.79"D	716
11	Kızılırmak, Çankırı	2	2	40°20'35.92"K	33°58'7.91"D	552
12	Kılıçözü Deresi, Kırşehir	32	8	39°11'20.24"K	34° 8'41.05"D	1008
13	Akkaya Baraj Gölü, Niğde*	1	1	37°56'11.39"K	34°37'35.40"D	1186
14	Sungurlu-Alaca Karayolu, Çorum	5	5	40° 8'37.02"K	34°34'42.14"D	930
15	Ovaçiftliği-Kuşçu Köyleri sınırı, Kayseri	6	6	38°14'52.34"K	35° 9'8.01"D	1080
16	Ladik, Samsun	3	3	40°54'58.73"K	35°52'44.39"D	916
17	Kaz Gölü, Tokat	-	1	40°16'33.41"K	36° 9'27.46"D	540
18	Göksun, Kahramanmaraş	13	5	38° 0'6.29"K	36°29'50.94"D	1342
19	Reyhanlı, Hatay	6	6	36°18'31.35"K	36°32'6.43"D	87
20	Kangal, Sivas**	-	1	39°14'10.30"K	37°23'34.11"D	1534
21	Sivrice, Elazığ	2	2	38°27'52.79"K	39°16'35.31"D	1252
22	Erzurum'un 20 km. doğusu, Erzurum	11	5	39°56'14.92"K	41°21'17.28"D	1936
23	Altınova kavşağı, Muş,	2	2	38°37'57.95"K	41°55'18.12"D	1279
24	Selim, Kars	5	5	40°28'3.84"K	42°47'41.45"D	1858
25	Tatvan, Bitlis	3	3	38°28'7.87"K	42°28'24.09"D	1654
26	Çamlıçatak, Ardahan	6	4	41° 7'56.57"K	42°50'54.41"D	1800
27	Erçek Gölü, Van	4	4	38°36'20.07"K	43°34'20.97"D	1808
<b>TOPLAM</b>		<b>175</b>	<b>121</b>			

Analizlerde kullanılan örnek sayıları morfometrik analizler için "A" sütununda moleküler analizler için "B" sütununda gösterildi. "\*" Yalnızca sitokrom *b* bölgesi, "\*\*" yalnızca kontrol bölgesi analizlerinde kullanıldı.

### 3.1 Arazi Çalışmaları

Tez çalışması kapsamında arazi çalışmaları 2012, 2013 ve 2014 yılları içerisinde gerçekleştirildi. 2012 yılı yaz döneminde Marmara Bölgesi'nde (Trakya; Yıldız Dağları ve Ergene Bölümleri ile Güney Marmara Bölümü) arazi çalışmaları yapıldı. Trakya'da Edirne ve Kırklareli (Yıldız Dağları ve Ergene Bölümü) civarında uygun olabileceği düşünülen habitatlar tespit edildi, ancak örnek elde edilemedi. Güney Marmara Bölümü'nde Marmara Adası (Balıkesir), Bozcaada ve Gökçeada (Çanakkale) olmak üzere, büyük yüzölçümüne sahip üç adada arazi çalışmaları gerçekleştirildi. Ancak *Arvicola amphibius* için uygun habitata rastlanmadı. Marmara Adası'nda mevcut bir dere yatağı bulunmasına rağmen aktif halde akarsu, göl, gölet ya da sulama kanalı gibi *A. amphibius*'un bulunabileceği habitatın olmadığı gözlemlendi. Mevcut dere

yatağının kış aylarında yağın kar ve yağmur suları ile beslendiği dolayısı ile arazi çalışması yapılan yaz döneminde kurumuş olduğu gözlemlendi. Benzer durum Bozcaada'da da gözlemlendi. Gökçeada'da ise yağmur sularının oluşturduğu gölet tespit edildi ancak *A. amphibius* için uygun habitat bulunamadı.

2013 yılı Haziran ayında Doğu Anadolu Bölgesi ve Güneydoğu Anadolu Bölgesi, Temmuz ve Ağustos aylarında ise Marmara Bölgesi (Trakya'nın tamamı), İç Anadolu Bölgesi ve Karadeniz Bölgesi (Orta Karadeniz Bölümü) olmak üzere Türkiye'nin farklı coğrafik bölgelerinde arazi çalışmaları gerçekleştirildi. Arazi çalışmalarında öncelikli olarak *A. amphibius*'un yaşama ihtimalinin olduğu ve kenarında sık sazlıkların bulunduğu durgun akan akarsu, gölet veya göller tespit edildi. Sonrasında bu alanlardaki sazlık kesimler ile suyun kenarındaki yamaç bölgeler arasında hayvanın dışkı ile beslenme sırasında hayvanın kemirdiği ve kümelenmiş halde bulunan saz ve kamış yığınları arandı. Hayvana ait izlerin (Şekil 3.2) tespit edildiği uygun olan yerlere canlı yakalama kapanları kuruldu (Şekil 3.3) ve hayvan yakalandı. Su kenarlarındaki sazlık alanlarda hasır otu olarak bilinen *Typha angustifolia* ile su kamışı olarak bilinen *Phragmites australis* türlerinin ayrı olarak ya da bir arada bulunduğu gözlemlendi. *A. amphibius*'un farklı lokalitelerdeki habitatları Şekil 3.4'te gösterildi.

*Arvicola amphibius* hem gündüz hem de geceleri aktif olan bir kemirgen olduğundan dolayı arazide hem gündüz hem de geceleri kapan kuruldu. Ancak elde edilen hayvanların çoğu gündüz kurulan ve gece boyu bekletilen kapanlardan elde edildi. Elazığ ve Çankırı'dan ise birer örnek gündüz yakalandı. Canlı yakalama kapanlarında yem olarak salatalık ve havuç kullanıldı. Bazı lokalitelerde hayvanın kapanın girişi ve üst kısmına dışkıladığı ve kapandaki yemi tüketmediği gözlemlendi. Bunun da yarı sucul bir kemirgen olan ve genellikle ıslak ortamlarda bulunan *A. amphibius*'un ortamdaki besin bolluğundan dolayı kapandaki yeme ilgi göstermekten ziyade kuru ortam arayışından kaynaklandığı düşünülmektedir.



Şekil 3.2 Farklı habitatlarda *A. amphibius*'un varlığını gösteren izler.

Çankırı (A), Tokat (B) ve Kastamonu'daki (C) habitatlarda hayvana ait dışkıların genel görüntüsü. Tokat (D) ve Çankırı'da (E) kümelenmiş haldeki kemirilmiş kamış yığınları. Çankırı'da (F) yuva girişi.



Şekil 3.3 *A. amphibius*'a ait izlerin bulunduğu habitatlarda canlı yakalama kapanlarının kurulması



Şekil 3.4 *A. amphibius*'un farklı lokalitelerdeki habitatları.

A. Çankırı, B. Çorum, C. Kastamonu, D. Samsun, E. Tokat, F. Kayseri, G. Van, H. Bitlis. I. Kastamonu'dan yakalanan örnek.

Doğu Anadolu Bölgesi'nde sırasıyla Elazığ, Tunceli, Bingöl, Muş, Bitlis, Van ve Ağrı illerinde gerçekleştirilen arazi çalışmalarında 4 farklı lokaliteden toplam 11 örnek elde edildi. Elazığ'dan elde edilen iki örnek Sivrice ilçesinin girişinde Hazar Gölü'ne yakın durgun akan bir dereден yakalandı. Muş-Bitlis karayolu üzerinde Altınova ilçesi kavşağında etrafında yoğun sazlık alanlar bulunan akarsudan iki örnek elde edildi. Bitlis'ten elde edilen üç örnek Tatvan-Reşadiye karayolu üzerinde Yassıca köyü kavşağında Van Gölü'nün hemen kenarında bulunan ve karayolu ile bölünmüş, ancak göl ile bağlantısı bulunan sulak bir alandan yakalandı. Van'dan elde edilen örnekler Van-Özalp karayolu üzerinde bulunan ve yüksek biyolojik çeşitliliğe sahip küçük bir göl olan Erçek Gölü'nden yakalandı. Trakya'da Gelibolu yarımadasından (Çanakkale), Malkara, Hayrabolu (Tekirdağ), Pınarhisar, Demirköy (Kırklareli)'e doğru olan hat boyunca Cumalı deresi, Munipbey Deresi, Batkın Deresi, İslambeyli Deresi, Hamdibey



Deresi ve Balaban Deresi gibi kenarında zaman zaman yoğun sazlık alanların bulunduğu ve *A. amphibius*'un habitatı olabileceği düşünülen alanlar tespit edildi, fakat hayvanın izine rastlanmadı. Bu bölgelerde yapılan arazi çalışması sırasında uygun habitat olabileceği düşünülen alanlardaki su kaynaklarının sanayiden kaynaklanan kirlenmeye ve tarımsal amaçlı sulamadan kaynaklanan azalmaya hatta kurumaya maruz bırakıldığı ve bazı alanlarda ise oldukça sık sazlık alanlar bulunmasına rağmen suyun kuruduğu, devamlılık göstermediği ve kıyı bölgelerdeki çamurlu alanların çatladığı gözlemlendi.

Trakya'dan sonra İç Anadolu Bölgesi ve Orta Karadeniz Bölümü'nde, sırasıyla, Kayseri, Çorum, Çankırı, Kastamonu, Sinop, Samsun ve Tokat'ta arazi çalışmaları yapıldı. Kayseri'den elde edilen altı örnek, Niğde-Kayseri yolu üzerinde Araplı-Yeşilhisar ilçeleri arasındaki karayolu yolu üzerinde Ovaçiftliği ve Kuşçu köyleri sınırında Sultan Sazlığı Milli Parkı'na yakın bir sazlık alandan toplandı. Çorum'dan elde edilen beş örnek, Sungurlu-Alaca karayolunda Şekerhacılı köyü istikametinde, etrafında çok fazla sazlık alanın bulunmadığı ve büyük bir su ile bağlantılı olduğu düşünülmeyen bir sulama kanalından elde edildi. Bu bölgede hayvanın izleri yoğun olarak gözlenmedi, ancak, havanın kararmasına yakın bir zaman diliminde hayvan canlı olarak gözle tespit edildi. Bu alanda *A. amphibius*'un yuvasını hemen sulama kanalının kıyı bölgelerinde değil, kanalın kenarlarının üst kısmında ve kanala birkaç metre mesafedeki düzlük alanda yaptığı tespit edildi. Dolayısı ile kapanlar sulama kanalının kıyısı yerine kanalın üst kısmındaki düzlük alanlarda kanala 1-2 metre mesafede bulunan ve yoğun olmayan sazlık alanlar ile bazen de tamamen çıplak alanlara kuruldu. Çankırı'da Tımarlı Köyü ve Kızılırmak ilçesi arasındaki karayolu üzerinde Çankırı Karatekin Üniversitesi Meslek Yüksekokulu Araştırma ve Uygulama Arazisi kenarında bulunan yoğun sazlık alandan iki örnek yakalandı. Çankırı-Tosya karayolu üzerinde Çiftlik ve Avşar köyleri arasında yoğun bir şekilde bulunan çeltik tarlaları arasındaki sazlık alana kurulan kapanlar gece çiftçilerin çeltik tarlalarındaki mevcut suyu kapanların kurulduğu alana bırakmasından dolayı su altında kaldı ve buradan sadece bir örnek elde edilebildi. Ayrıca, Kastamonu Sinop illeri arasında Seydiler, Devrekani ve İnebolu hattında arazi çalışması yapıldı, ancak, bu hat boyunca uygun habitat tespit edilemedi. Samsun'dan elde edilen üç örnek ise Ladik ilçesi kuzey girişindeki sazlık

alandan elde edildi. Tokat'ın Pazar ilçesinde bulunan Kaz Gölü'nün yanındaki dere den bir örnek yakalandı. Böylelikle İç Anadolu bölgesi ve Orta Karadeniz Bölümü'nden toplam 17 örnek elde edildi.

2014 yılı Ocak ayı içerisinde Sakarya ili Karasu ilçesi ile Akçakoca (Düzce) arasında bulunan Kocaali ilçesi girişinde, etrafında su kamışı bulunan ve evsel atıkların karıştığı gözlenen su kanalının kenarı ile kanalın hemen yanında bulunan bataklık alandan ise altı örnek elde edildi. Örneklerin üç tanesi gündüz üç tanesi de gece yakalandı. Örneklerden yalnızca bir tanesi su kanalının kenarından, geri kalan 5 tanesi ise civarı sık kamışlık olan bataklık alandan yakalandı (Şekil 3.5).



Şekil 3.5 A. *amphibius*'un Kocaali'deki (Sakarya) habitatu

A, B ve C: A. *amphibius*'un habitatu, D.Yuva girişi, E. Kemirilmiş küme halindeki su kamışları, F.Dışkı

### 3.2 Morfometrik Çalışmalar

Türkiye'deki 24 farklı lokaliteden elde edilen toplam 175 *Arvicola amphibius* örneği morfometrik olarak değerlendirildi. Morfometrik verilerin değerlendirilmesinde canlı örneklerden alınan standart 4 dış ölçü, örneklerin kafatasından alınan 26 ölçü ve dişlerden elde edilen 8 ölçü kullanıldı (Çizelge 3.2 ve Şekil 3.6). Bütün örnekler istatistiksel değerlendirmeler için popülasyonların elde edildiği lokalitelerin coğrafik konumları, önceden bilinen üç alttürün yayılış alanları ve bu çalışmada elde edilen

moleküler analizler sonucunda belirlenen haplotip grupları göz önüne alınarak beş gruba ayrıldı (Çizelge 3.3). Tanımlayıcı istatistiklerden beş grubu oluşturan populasyonların iç ve dış karakter ölçülerinin ortalama ve standart hata değerleri belirlendi Grup ortalamaları arasındaki fark, tek yönlü varyans analizleri (ANOVA ve MANOVA) ile belirlendi. Morfometrik veriler, önceden belirlenmiş olan grupları aralarındaki korelasyondan yararlanarak, bu grupları birbirlerinden ayıran fonksiyonları belirleyen ve grupları oluşturan bireyleri kendi gruplarına atayan çok değişkenli bir analiz yöntemi olan ayrışım fonksiyon analizi (DFA) ile değerlendirildi. Her üç analiz SPSS 15.0 for Windows (Anonymous, 2006) paket programı ile yapıldı. Gruplar arasındaki uzaklığı belirten Mahalanobis mesafe matrisi STATISTICA 7 (Statsoft Inc. 2004) paket programı ile hesaplandı. Bir diğer çok değişkenli analiz yöntemi olan kümeleme (CLUSTER) analizinde, hem beş gruba ayrılan populasyonlar hem de örneklerin elde edildiği tüm lokaliteler ayrı ayrı değerlendirildi. Bu analiz Mahalanobis mesafe matrisinden yararlanılarak NTSYSpc 2.2 (Rohlf 1993) paket programı ile gerçekleştirildi ve sonuçlar UPGMA metoduna göre oluşturulan iki ayrı dendogram ile gösterildi. Bütün lokaliteleri üzerinden gerçekleştirilen kümeleme analizinde birer örnek içeren Kastamonu ve Niğde lokaliteleri hariç tutuldu. SPSS 15 (Anonymous, 2006) programı içindeki faktör analizi seçeneği kullanılarak bir boyut indirgeme yöntemi olan Temel Bileşenler Analizi (PCA) ile morfometrik karakterlere dayalı olarak gözlenen varyasyonlar, aralarında korelasyon bulunan yani birbirleri ile ilişkili olan çok sayıdaki morfometrik karakter yerine, bu karakterlerin belirli oranda katkı yaptığı, anlamlı ve daha az sayıdaki temel bileşen ile açıklandı.

Çizelge 3.2 Morfometrik analizlerde kullanılan iç ve dış karakterler

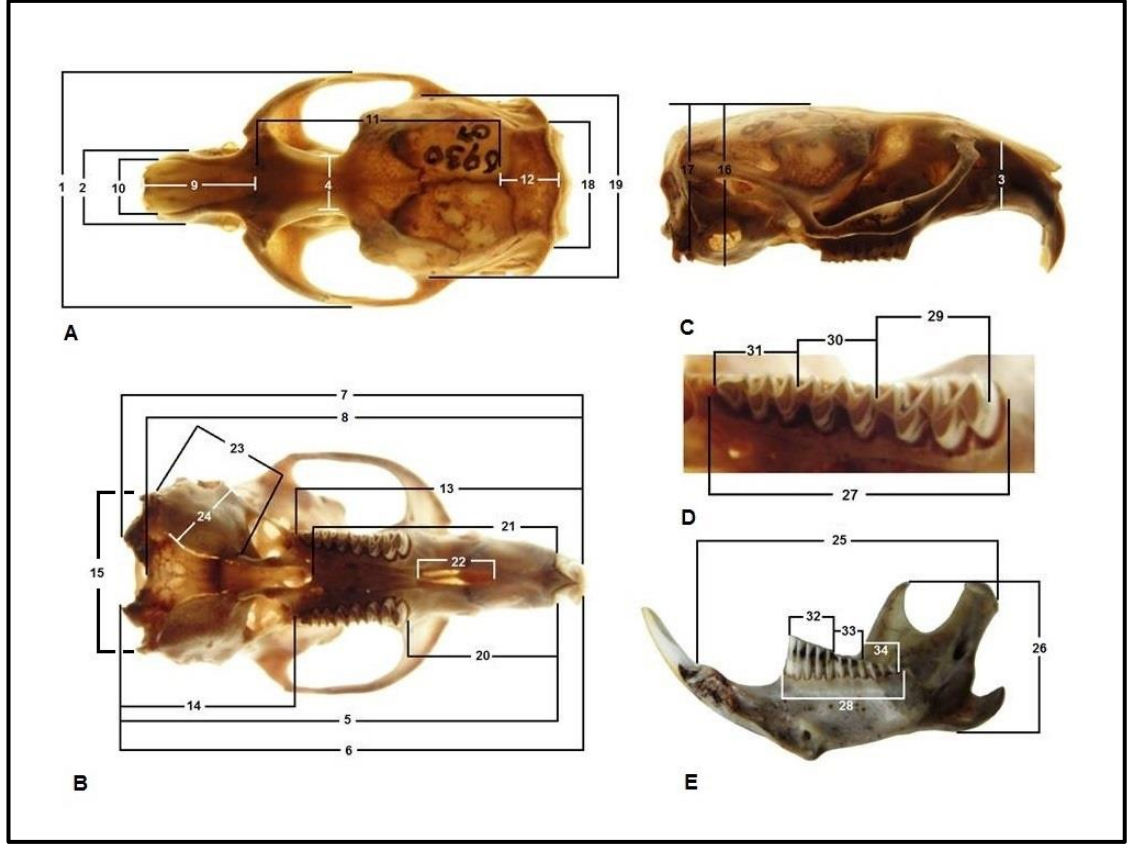
<b>A Dış karakterler</b>	
1	<b>Tüm boy uzunluğu:</b> Burun ucundan kuyruk ucuna kadar olan mesafenin uzunluğu
2	<b>Kuyruk uzunluğu:</b> Anüsün arka ucundan kuyruk ucuna kadar olan mesafe
3	<b>Arka ayak uzunluğu:</b> Arka ayağın en uzun parmağının tırnak ucundan topuğun arka kenarına kadar olan mesafenin uzunluğu
4	<b>Kulak uzunluğu:</b> Kulak kepçesinin en derin yeri ile en tepe noktası arasındaki mesafe
<b>B Kafatasına ait (Kranial) karakterler</b>	
1	<b>Zygomatik genişlik:</b> Başın median hattına dik olacak şekilde zygomatik kavislerin en dış noktaları arasındaki mesafenin uzunluğu
2	<b>Rostrum genişliği:</b> Rostrumun en dış iki noktası arasındaki mesafenin uzunluğu
3	<b>Rostrum yüksekliği:</b> Rostrumun en dış iki noktası arasındaki mesafenin genişliği
4	<b>İnterorbital daralma:</b> Frontal kemiklerin orbitler arasında en çok daraldığı bölgedeki en iç iki nokta arasındaki mesafenin uzunluğu
5	<b>Kondilobazal uzunluk:</b> Oksipital kondillerin en art noktalarını birleştiren hat ile kesicilerin arasındaki premaksilla kemiklerinin en ön noktalarını birleştiren hat arasındaki en kısa mesafenin uzunluğu
6	<b>Kondilonazal uzunluk:</b> Oksipital kondillerin en art noktalarını birleştiren hat ile nasal kemiklerin en ileri noktalarını birleştiren hat arasındaki en kısa mesafe
7	<b>Oksipitonazal uzunluk:</b> Oksipital kemiğin en art noktası ile nasal kemiklerin en uç noktası arasındaki mesafenin uzunluğu
8	<b>Bazal uzunluk:</b> Foramen magnum'un ventralindeki en ön noktası ile maksil kemiğin en uç noktası arasındaki mesafenin uzunluğu
9	<b>Nazal uzunluk:</b> Nasal kemiklerin en ileri noktaları ile nasofrontal dikişin ortasından median hatta dik olarak geçen doğru arasındaki en kısa mesafenin uzunluğu
10	<b>Nazal genişlik:</b> Nasal kemiğin uzun eksenine dik olacak şekilde, kemiğin en dış iki noktası arasındaki mesafenin uzunluğu
11	<b>Sagital crest uzunluğu:</b> Lambdoid ve sagital crest'lerin kesiştiği noktadan nasofrontal dikişin orta noktası arasındaki mesafe
12	<b>İnterparietal uzunluk:</b> Parietal kemiğin en arkadaki ve en öndeki noktaları arasındaki maksimum uzunluğu
13	<b>Yüz bölgesi uzunluğu:</b> Nasal kemiklerin öndeki en uç noktası ile M <sup>3</sup> alveollerinin en arka noktalarını birleştiren doğru arasındaki en kısa mesafenin uzunluğu
14	<b>Beyin bölgesi uzunluğu:</b> M <sup>3</sup> alveollerinin en art noktalarını birleştiren doğru ile oksipital kondillerin en arka noktalarını birleştiren doğru arasındaki mesafenin uzunluğu
15	<b>Mastoid genişlik:</b> Paramastoid çıkıntılar arasındaki mesafenin uzunluğu
16	<b>Bullal beyin kapsülü yüksekliği:</b> Timpanik bullaların en alt noktalarından geçen düzlemle kafatasının en üst noktalarından geçen düzlem arasındaki mesafenin uzunluğu

Çizelge 3.2 Morfometrik analizlerde kullanılan iç ve dış karakterler (devam)

- 17 **Bullasız beyin kapsülü yüksekliği:**  $M^3$  alveolünün ön noktası ile kafatasının en üst noktası arasındaki mesafenin uzunluğu
- 18 **Oksipital genişlik:** Oksipital kemiğin lateral yüzeylerde meydana getirdiği iki çıkıntı arasında kalan mesafe
- 19 **Beyin kapsülü genişliği:** Parietal kemiklerin en geniş iki noktası arasındaki mesafe
- 20 **Diastema uzunluğu:** Sol üst kesici dişin alveolünün en art noktası ile sol  $M^1$  alveolünün ön noktası arasındaki mesafenin uzunluğu
- 21 **Damak uzunluğu:** Foramen insisivanın en art noktalarını birleştiren doğru ile foramen post incisivanın en ön noktalarını birleştiren doğru arasındaki en kısa mesafenin uzunluğu
- 22 **Foramen insisiva uzunluğu:** Foramen insisiva'nın en ön noktalarını birleştiren doğru ile en art noktalarını birleştiren doğru arasındaki en kısa mesafenin uzunluğu
- 23 **Timpanik bulla uzunluğu:** Timpanik bullanın ventraldeki en büyük uzunluğu
- 24 **Timpanik bulla genişliği:** Timpanik bullanın ventraldeki en büyük genişliği
- 25 **Mandibul uzunluğu:** Alt kesicilerin alveollerinin ön kenarı ile angular çıkıntının en ard noktası arasındaki mesafenin uzunluğu
- 26 **Mandibul yüksekliği:** Koronoid proses'in en uç noktası ile mandibulun en alt noktası arasındaki en kısa mesafenin uzunluğu

**C Dişlere ait (Dental) karakterler**

- 27 **Üst molar alveolleri uzunluğu:** Sağ üst molar alveollerinin en ön noktası ile en arka noktası arasındaki mesafenin uzunluğu
- 28 **Alt molar alveolleri uzunluğu:** Sağ alt molar alveollerinin en ön noktası ile en arka noktası arasındaki mesafenin uzunluğu
- 29  **$M^1$  taç uzunluğu:** Üst çenenin 1. molarının çiğneme yüzeyinin uzunluğu
- 30  **$M^2$  taç uzunluğu:** Üst çenenin 2. molarının çiğneme yüzeyinin uzunluğu
- 31  **$M^3$  taç uzunluğu:** Üst çenenin 3. molarının çiğneme yüzeyinin uzunluğu
- 32  **$M_1$  taç uzunluğu:** Alt çenenin 1. molarının çiğneme yüzeyinin uzunluğu
- 33  **$M_2$  taç uzunluğu:** Alt çenenin 2. molarının çiğneme yüzeyinin uzunluğu
- 34  **$M_3$  taç uzunluğu:** Alt çenenin 3. molarının çiğneme yüzeyinin uzunluğu



Şekil 3.6 A. *amphibius*'un kafatası karakter ölçülerinin alındığı yerler

Çizelge 3.3 Morfometrik analizlerde kullanılan A. *amphibius*'a ait beş grubu oluşturan popülasyonların lokaliteleri

GRUPLAR	POPULASYONLAR
1 TRAKYA	Kırklareli
2 HATAY	Hatay
3 DOĞU ANADOLU	Erzurum, Kars, Ardahan, Van, Bitlis, Muş ve Elazığ
4 BATI ANADOLU	Eskişehir, Afyon, Uşak, Denizli ve Konya
5 ORTA ANADOLU	Bolu, Ankara, Kastamonu, Çankırı, Çorum, Kırşehir, Niğde, Kayseri, Kahramanmaraş ve Samsun

### 3.3 Moleküler Çalışmalar

Moleküler çalışmalarda Türkiye'deki 27 farklı lokaliteden toplanan 121 *Arvicola amphibius* örneği kullanıldı (Şekil 3.1, Çizelge 3.1 - 3.5). Örneklerden elde edilen dokulardan öncelikle toplam genomik DNA izole edildi. Daha sonra mitokondriyal DNA'nın (mtDNA) sitokrom *b* ve kontrol bölgesi özgül primerler kullanılarak

polimeraz zincir reaksiyonu ile çoğaltıldı. DNA dizileme reaksiyonları Elips Sağlık Ürünleri İthalat ve İhracat Ltd. Şti (Ankara/Türkiye) vasıtasıyla BGI.tech (Hong Kong/Çin) firmasına yaptırıldı. Elde edilen dizi verileri istatistiksel olarak analiz edildi. Tüm istatistiksel analizlerde dış grup olarak GenBank'tan alınan farklı türlere ait diziler kullanıldı (Çizelge 3.9).

### 3.3.1 DNA izolasyonu

Tez çalışması kapsamında Türkiye'deki 27 farklı lokaliteden toplanmış 121 *Arvicola amphibius* örneğinden Doyle ve Doyle (1990) protokolu takip edilerek CTAB ((C<sub>16</sub>H<sub>33</sub>)N(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>Br, setiltrimetilamonyum bromide ya da hegzadesiltrimetilamonyum bromide) metodu ile total genomik DNA izolasyonu gerçekleştirildi. Bu izolasyon yöntemi aşağıdaki basamaklardan oluşmaktadır;

1. Örneklere ait 2-3 gram ağırlığında, küçük parçalara ayrılmış böbrek, kas ya da karaciğer dokusu buz kalıpları üzerinde bekletilen ependorf tüplerin içerisine konularak üzerlerine 100 µl CTAB lizis tamponu ilave edildi ve dokular tek kullanımlık havaneli ile ezilmeye başlandı. Dokular bir süre ezildikten sonra her bir tüpe 200 µl CTAB lizis tamponu daha ilave edildi ve mekanik parçalama işleminin tamamlanması için mümkün olduğu kadar homojen bir sıvı elde edinceye kadar ezme işlemine devam edildi.
2. Elde edilen homojenata sırasıyla 300 µl CTAB ve 50 µl BME (2-Merkaptoetanol, β-merkaptoetanol (HO-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-SH)) eklendi ve iyice karıştırıldı.
3. Karışım 65°C'lik su banyosunda 1 saat inkübe edildi.
4. İnkübasyon sonrası tüplere 500 µl C:IAA (Kloroform izoamil alkol) (24:1) ilave edildi ve tüp içeriği süte benzer bir kıvam alıncaya kadar iyice karıştırıldı.
5. Bu işlemden sonra karışımın olduğu tüpler 13.000 rpm'de +4°C'de 15 dakika santrifüj edildi. Santrifüj işlemi sonrasında ependorf tüplerin içerisinde iki faz gözlemlendi. Üstteki sulu faz DNA'yı içeren fazdır. Alttaki faz kloroform fazıdır ve bozulmuş proteinler, lipitler ve birçok ikincil bileşikler içerir. İki faz arasındaki yüzeyde ise hücre kalıntıları ve bazı bozulmuş proteinleri bulunur. DNA'nın olduğu

faz ile ara ve alt fazın karışmasını önlemek için tüpler hassas bir biçimde sarsmadan buz üzerine yerleştirildi.

6. DNA molekülünü içeren sulu üst faz 1000 µl'lik geniş uçlu pipetle önceden numaralandırılmış yeni tüplere aktarıldı. Sulu fazda bulunan DNA molekülü uzun, ince ve kolaylıkla kırılabilir olduğundan dolayı aktarım esnasında geniş uçlu pipet kullanıldı. Elde edilecek DNA'nın kalitesini arttırmak için bu işlem hassas şekilde yapıldı.
7. DNA'yı çöktürmek için tüplerin üzerine -20°C'de soğutulmuş 500 µl izopropanol eklendi ve tüpler iyice karıştırıldı. Bu aşamada tüplerin içerisinde ya topak ya da bulut şeklinde oldukça fazla miktarda nükleik asit ipliğinin oluştuğu gözlemlendi.
8. Bir sonraki aşamada tüpler -80°C'de 30 dakika inkübe edildi. Bu sürenin sonunda donmuş haldeki tüplerin erimesine izin verilmeden hemen +4°C'de 13.000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Santifirüj sonrasında DNA molekülünün tüplerin dibinde kenar kısmına yapışık olarak çöktüğü gözlemlendi.
9. Sonraki aşamada süpernatant döküldü ve tüpün dibine yapışmış halde bulunan DNA pelletini çöktürmek için -20°C'de bekletilen % 70'lik ve % 100'lük etil alkol (C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH) ile 2'şer kere yıkama işlemi gerçekleştirildi.
10. DNA pelletini içeren tüpler ters çevrilerek kurutma kağıdı üzerinde 60 dakika kurumaya bırakıldı.
11. Bu sürenin sonunda tüplerin içerisine 100 µl Tris-EDTA (TE) tamponu ilave edilerek DNA pelletleri çözüldü.
12. Son aşamada Tris-EDTA tamponu içerisinde çözülmüş halde bulunan DNA molekülünü RNA'dan arındırmak amacıyla her bir tüpe 2 µl RNase A (10mg/ml, Fermentas) ilave edildi ve 30 dakika 37 °C'deki etüv içerisinde inkübasyona bırakıldı.
13. İnkübasyon sonrasında izolasyonu gerçekleştirilen örneklerin DNA konsantrasyonları ve 260 nanometredeki absorbans değerleri (A<sub>260</sub>) spektrofotometre (Thermo Scientific NanoDrop 2000) ile ölçüldü.
14. Elde edilen DNA'lar sonraki çalışmalarda kullanılmak üzere -20 °C'lik derin dondurucuya kaldırıldı.



DNA izolasyonu için CTAB, Tris Base, EDTA, NaCl, Tris-EDTA Buffer, RNase ve BME çözeltileri kullanıldı (Çizelge 3.4).

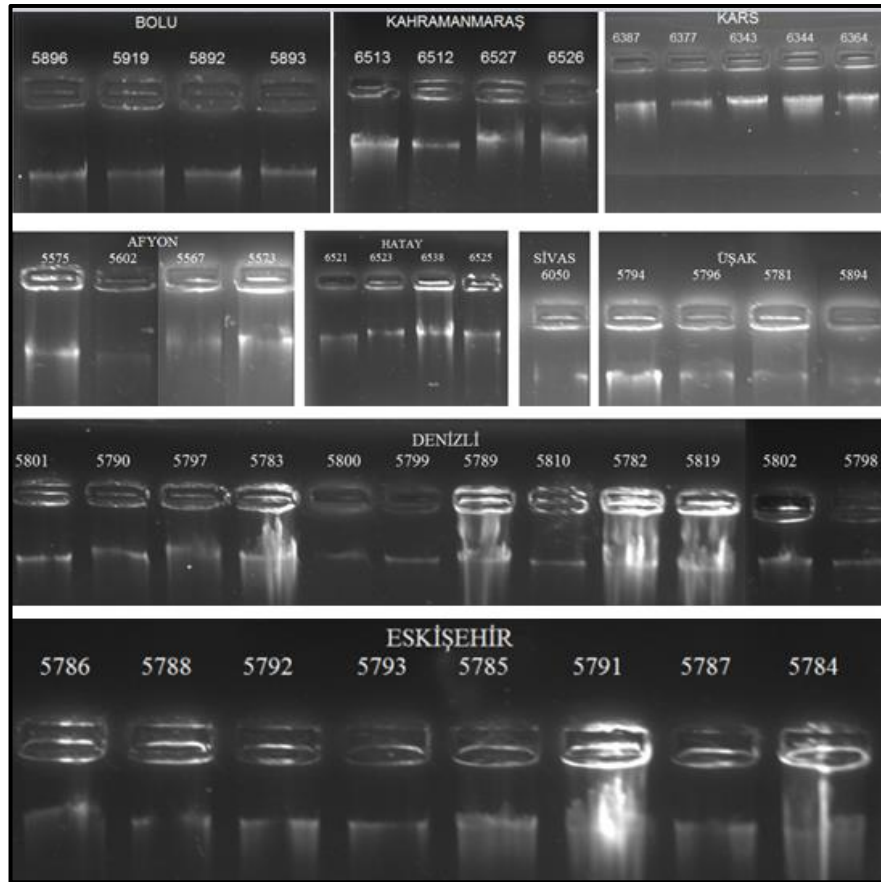
Çizelge 3.4 DNA izolasyonunda kullanılan çözeltiler ve hazırlanışları

Çözelti	Hazırlanışı
<b>CTAB</b>	2 gr CTAB, 10 ml Tris Base (1 M, pH: 8,0), 4 ml EDTA (0,5 M, pH: 8,0) ve 28 ml NaCl (5 M) karıştırıldı ve dH <sub>2</sub> O ile 100 ml'ye tamamlandı. Hazırlanan çözelti manyetik karıştırıcı ile düşük ısıda bütün bileşenler çözününceye kadar karıştırıldı.
<b>Tris Base (1M), pH: 8,0 (MA: 121,1)</b>	12,11 gr Tris Base dH <sub>2</sub> O ile 100 ml'ye tamamlandı.
<b>EDTA (0,5M) pH: 8,0 (MA: 372,2 gr)</b>	18,61 gr EDTA dH <sub>2</sub> O ile 100 ml'ye tamamlandı. EDTA pH:8'de iyi çözündüğü için NaOH pelleti kullanıldı.
<b>NaCl (5M) (MA: 58,44 gr)</b>	29,22 gr NaCl dH <sub>2</sub> O ile 100 ml'ye tamamlandı.
<b>TE Buffer, pH: 8,0</b>	1 ml Tris Base çözeltisi (1M) ve 20 µl EDTA dH <sub>2</sub> O ile 100 ml'ye tamamlandı.
<b>RNase A</b>	2 µl (10mg/ml, Fermentas)
<b>BME STOCK (β- Merkaptoethanol) (MA: 78,13 gr) (250 ml)</b>	17,5 ml BME, 232,5 ml dH <sub>2</sub> O ile 250 ml'ye tamamlandı.

Nükleik asitler UV ışığını sahip oldukları bazların konjuge aromatik özelliklerine göre soğurmaktadırlar. Nükleik asitlerin UV ışığını soğurma özellikleri teşhiste, miktar tayininde ve saflığın değerlendirilmesinde kullanılmaktadır. DNA için UV ışığın maksimum derecede soğurulduğu dalga boyu 260 nm.'dir ( $\lambda_{max} = 260$ ). İzole edilmiş DNA'ların yaklaşık saflığı UV ışığın 260 ve 280 nm.'deki soğurulmalarının oranıyla ( $A_{260}/A_{280}$ ) belirlenir. Saf DNA için bu oranın 1,8–2 arasında olması beklenir. 1,8'den daha düşük değerler protein kontaminasyonu, 2'den daha büyük değerler ise RNA kontaminasyonu olduğu anlamına gelir (Turner vd. 2004). Bu tez çalışmasında kullanılan örneklere ait DNA izolasyonlarının spektrofotometrik ölçümleri çizelge 3.5'te gösterildi.

Spektroskopik ölçümlere ilaveten, elde edilen DNA'ların saflığı (kalitesi) kalitatif olarak elektroforetik analizlerle belirlendi (Şekil 3.7). Agaroz jel üzerindeki bant profillerine dayanarak DNA'ların PZR çalışmaları için uygunlukları kontrol edildi. Örnekler % 0,8'lik agaroz jel üzerinde 70 voltta 90 dakika yürütüldü. 50 ml hacme sahip elektroforez tankı için gereken jeli hazırlamak amacıyla 0,40 gram agar tartıldı ve 250 ml'lik erlenmayer içerisinde 50 ml 1X Tris-asetat-EDTA (TAE) ile çözüldü. 1X

TAE hazırlamak için stok halde bulunan 50X TAE'den 20 ml alındı ve üzerine 980 ml distile su ilave edildi. Çözelti mikrodalga fırın içerisinde homojen (saydam) hale gelinceye kadar kaynatıldı. Hazırlanan jel elle tutulabilecek kadar soğuduktan sonra elektroforez tankı içerisindeki tarakları düzgün bir şekilde yerleştirilmiş olan kaset içerisine kabarcık oluşmamasına dikkat edilerek köşeden yavaşça döküldü. Jelin donması beklendi ve jel donduktan sonra taraklar dikkatli bir şekilde çıkarılarak örnekler kuyulara yüklendi. Örneklerin jele yüklenmesi aşamasında 5 µl yükleme boyası (gel loading dye) parafilm üzerine konuldu. Örnek DNA'sından da 5 µl alındı ve parafilm üzerindeki yükleme boyası üzerine eklendi. Hazırlanmış olan jel üzerindeki kuyulara parafilm üzerindeki örnek DNA'sı ve yükleme boyası karışımı kuyulardan taşmamasına dikkat edilerek yüklendi ve 70 voltta yaklaşık 1 saat koşturuldu. Elektroforez sonrasında jel etidyum bromür (EtBr) çözeltisinde yaklaşık 30 dakika bekletildi ve sonrasında Kodak jel görüntüleme sistemi ile görüntüldü.



Şekil 3.7 Bazı lokalitelerden *A. amphibius* örneklerine ait DNA izolasyonunun kalitatif tayini

Çizelge 3.5 A. *amphibius* örneklerinden elde edilen DNA miktarları ve saflık dereceleri

Sıra	Kolleksiyon Numarası	Lokalite	N.A. Kons. (ng/µl)	A <sub>260</sub> /A <sub>280</sub>
1	6387	Kars	1974,1	1,89
2	6377	Kars	3525	1,91
3	6343	Kars	3614,9	1,88
4	6344	Kars	2656,1	1,85
5	6364	Kars	3588,6	1,88
6	6513	Kahramanmaraş	3011,5	1,89
7	6507	Kahramanmaraş	751	1,95
8	6512	Kahramanmaraş	6588,1	1,87
9	6527	Kahramanmaraş	2801,3	1,85
10	6526	Kahramanmaraş	4682,8	1,9
11	6395	Ardahan	1220,4	1,92
12	6394	Ardahan	575,7	2,02
13	6374	Ardahan	374,5	2
14	6381	Ardahan	259,5	1,87
15	6521	Hatay	4085,5	1,92
16	6540	Hatay	925,7	1,81
17	6523	Hatay	2744,7	1,91
18	6538	Hatay	4208,5	1,88
19	6514	Hatay	238	1,92
20	6525	Hatay	327,5	1,86
21	6337	Erzurum	2731,1	2,06
22	6333	Erzurum	1066,4	1,85
23	6376	Erzurum	3104,6	1,84
24	6375	Erzurum	4706,2	1,95
25	6336	Erzurum	398,1	1,88
26	5602	Afyon	6536	1,9
27	5572	Afyon	6139,3	1,87
28	5570	Afyon	5178,5	1,93
29	5574	Afyon	4700,4	1,92
30	5573	Afyon	10998	1,92
31	6050	Sivas	5923,5	1,9
32	5478	Kırklareli	5773,1	1,89
33	5476	Kırklareli	4299,4	1,88
34	5477	Kırklareli	1280	1,85
35	6463	Kırklareli	3909,1	1,89
36	5479	Kırklareli	8461,4	1,91
37	5475	Kırklareli	5412,7	1,89
38	6462	Kırklareli	3790,6	1,92
39	5472	Kırklareli	4972,6	1,89
40	5455	Kırklareli	4754,9	1,89
41	5467	Kırklareli	3767,8	1,89
42	5896	Bolu	6148,7	1,9
43	5919	Bolu	5004,1	1,86
44	5892	Bolu	4608,4	1,93
45	5893	Bolu	9916,9	1,9
46	5794	Uşak	6172,7	1,86
47	5796	Uşak	6015,4	1,9
48	5781	Uşak	4361	1,88
49	5795	Uşak	3530,8	1,9
50	5894	Uşak	3588,1	1,88
51	5801	Denizli	8569,7	1,92
52	5790	Denizli	5341,4	1,89
53	5797	Denizli	5475,6	1,91
54	5783	Denizli	6165,8	1,88
55	5800	Denizli	4455,4	1,89
56	5789	Denizli	5010,6	1,89
57	5810	Denizli	1962,3	1,91
58	5782	Denizli	4047,9	1,9
59	5819	Denizli	5362,2	1,89
60	5786	Eskişehir	6116,9	1,88
61	5787	Eskişehir	5887,1	1,89

Sıra	Kolleksiyon Numarası	Lokalite	N.A. Kons. (ng/µl)	A <sub>260</sub> /A <sub>280</sub>
62	5788	Eskişehir	7647,7	1,91
63	5792	Eskişehir	5714	1,89
64	5793	Eskişehir	5849	1,89
65	5785	Eskişehir	7647,5	1,93
66	5791	Eskişehir	4947,9	1,91
67	5034	Ankara	1246,8	1,82
68	4583	Ankara	4786,9	1,89
69	5035	Ankara	9209,7	1,88
70	4981	Ankara	3561,5	1,91
71	4584	Ankara	4716,2	1,92
72	5571	Konya	6863,1	1,9
73	5564	Konya	4416,9	1,87
74	5603	Konya	1105	1,83
75	5577	Konya	5241,3	1,89
76	5565	Konya	8921,7	1,89
77	5604	Konya	4284,8	1,88
78	4140	Kırşehir	2851,9	1,82
79	4567	Kırşehir	5610,4	1,89
80	4563	Kırşehir	3646,1	1,86
81	4569	Kırşehir	1104,1	1,86
82	4154	Kırşehir	4454,9	1,9
83	4153	Kırşehir	5942,5	1,85
84	4564	Kırşehir	8222	1,87
85	4566	Kırşehir	5176,3	1,85
86	6924	Van	5965,6	1,97
87	6926	Van	2385	1,84
88	6927	Van	2956,4	1,85
89	6928	Van	3459,9	1,89
90	6925	Bitlis	2502,2	1,8
91	6929	Bitlis	3776,5	1,91
92	6932	Bitlis	5180,8	1,94
93	6930	Muş	4565,1	1,67
94	6934	Muş	4480,9	1,8
95	6931	Elazığ	4860,6	1,97
96	6933	Elazığ	5633,4	1,87
97	6974	Samsun	3896,4	1,89
98	6980	Samsun	4220,4	1,87
99	6994	Samsun	9187,1	1,9
100	6976	Çankırı	5437,3	1,91
101	6981	Çankırı	7840,1	1,89
102	6970	Çorum	4892,6	1,89
103	6971	Çorum	4035,3	1,9
104	6972	Çorum	6107,2	1,87
105	6973	Çorum	3182,3	1,88
106	6984	Çorum	3174	1,95
107	6975	Kastamonu	5899,6	1,94
108	6977	Kayseri	3166,4	1,86
109	6982	Kayseri	6912,1	1,89
110	6983	Kayseri	4169,4	1,86
111	6985	Kayseri	5120,1	1,88
112	6986	Kayseri	4776,7	1,89
113	6987	Kayseri	5432,9	1,88
114	7059	Sakarya	3829	1,93
115	7060	Sakarya	3832	1,94
116	7061	Sakarya	4934,9	1,92
117	7062	Sakarya	4521	1,93
118	7063	Sakarya	2996	1,94
119	7064	Sakarya	3525,7	1,92
120	7031	Tokat	9340,7	1,99
121	25	Niğde	4786,9	1,86

### 3.3.2 Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR)

Bu tez çalışmasında Türkiye'deki 27 farklı lokaliteden toplanan 121 örneğin mitokondriyal DNA'sının hem sitokrom *b* hem de kontrol bölgesi polimeraz zincir reaksiyonu ile çoğaltıldı. Reaksiyon karışımı, reaksiyon koşulları, kullanılan primerler çizelge 3.6 - 3.8'de gösterildi.

Çizelge 3.6 PZR karışımında kullanılan çözeltiler ve miktarları

Çözeltiler	Miktar (µl)
Steril su	21,9
Tampon (750 mM TrisHCl pH: 8,8, 200 mM (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ; Fermentas)	3,75
dNTP Set (4x25µmol, 0.25 ml 100 mM dATP, dCTP, dGTP, dTTP, Fermentas)	6
F primer (20 pmol Macrogen)	0,45
R primer (20 pmol Macrogen)	0,45
MgCl <sub>2</sub> (2 mM, Fermentas)	3
<i>Taq</i> DNA polimeraz (100 unite Fermentas)	0,45
DNA (500 ng/ µl)	1,5
Toplam	37,5

Çizelge 3.7 Sitokrom *b* ve kontrol bölgesinin çoğaltılmasında kullanılan PZR koşulları

Sitokrom <i>b</i>	Basamak	Sıcaklık	Süre	Döngü Sayısı
	Ön Denatürasyon	94°C	5 Dakika	1
	Denatürasyon	93 °C	1 Dakika	30
	Bağlanma	50 °C	1 Dakika	
	Uzama	72 °C	5 Dakika	
	Son Uzama	72 °C	1 Dakika	1
Kontrol Bölgesi	Basamak	Sıcaklık	Süre	Döngü Sayısı
	Ön Denatürasyon	90 °C	3 Dakika	1
	Denatürasyon	90 °C	30 Saniye	40
	Bağlanma	56 °C	30 Saniye	
	Uzama	72 °C	30 Saniye	

Çizelge 3.8 Sitokrom *b* ve kontrol bölgesinin çoğaltılmasında kullanılan primerler

Bölge	Primer Adı	Primer Dizisi	Referans
Sitokrom <i>b</i>	H15915R	5'-GGAATTCATCTCTCCGGTTTACAAGAC-3'	Irwin vd. 1991
	L14724 <sup>a</sup>	5'-CGAAGCTTGATATGAAAAACCATCGTTG-3'	Irwin vd. 1991
Kontrol Bölgesi	F15708	5'-TTA ATCTACCATCCTCCGTGAAACC-3	Piertney vd. 2005
	R92	5'-TKG ACACTGGTCTAGGGATATTTGC-3'	Piertney vd. 2005

### 3.3.3 İstatistiksel analizler

Moleküler çalışmalar sonucunda elde edilen DNA dizi verileri, populasyonların evrimsel geçmişi ve akrabalık ilişkilerini ortaya koyan filogenetik analizler, populasyonların genetik yapılarının belirlenmesine yönelik analizler ve populasyonların ortak ataya varma zamanının (evrimsel ayrılma zamanı/TMRCA) tahmin edilmesi için gerçekleştirilen analizler olmak üzere üç farklı şekilde değerlendirildi. Genetik mesafe ve coğrafik mesafe arasındaki ilişki mesafeye bağlı yalıtım yöntemi ile araştırıldı.

Filogenetik analizlerin gerçekleştirilmesi için *Arvicola amphibius* mitokondriyal DNA'sının sitokrom *b* ve kontrol bölgesine ait ileri ve geri okumalardan ortak (konsensus) dizilerin elde edilmesi, ortak dizilerin hizalaması ve düzenlemesi işlemleri BioEdit 7.0.9 (Hall 1999) programı ile program içindeki ClustalW modülü kullanılarak gerçekleştirildi (EK 1ve EK 2). Bu işlemler sonrasında sitokrom *b* bölgesi için 1027, kontrol bölgesi için 553 ve 558 arasında değişen nükleotidden oluşan veri seti elde edildi ve filogenetik analizler, genetik yapı analizleri ve evrimsel ayrılma zamanlarının belirlenmesi analizlerinde kullanıldı. Haplotip sayısı, haplotip çeşitliliği ( $h$ ) ve nükleotid çeşitliliği ( $\pi$ ) DnaSP v5 (Librado ve Rozas 2009) programı ile belirlendi. Filogenetik ağaçlar, her iki bölge için belirlenen haplotipler üzerinden, neighbour-joining (NJ), maximum parsimony (MP) ve maximum likelihood (ML) yöntemlerini uygulayabilen MEGA 6 (Tamura vd. 2013) programı kullanılarak oluşturuldu. NJ ağacı sitokrom *b* bölgesi için Kimura 2-Parametresi (K2P) (Kimura 1980), kontrol bölgesi için no. of differences (iki DNA dizisi arasındaki farklılık gösteren nükleotid sayısı) parametresi kullanılarak, MP ağacı ise TBR (Tree-Bisection-Reconnection)

seçeneği kullanılarak oluşturuldu. Ayrıca bütün bireylerin kontrol bölgesi verilerinden Kimura 2-Parametresine göre NJ ağacı oluşturuldu. ML çıkarsaması için en uygun nükleotid değişim modelinin AIC (Akaike Bilgi Kriteri), AICc (Düzeltilmiş Akaike Bilgi Kriteri) ve BIC (Bayesian Bilgi Kriteri), kriterlerine göre sitokrom *b* bölgesi için TN93+G (Tamura ve Nei 1993), kontrol bölgesi için HKY+G (Hasegava vd. 1985) olduğu jModeltest 0.1.1 (Posada 2008) ve MEGA 6 (Tamura vd. 2013) programları kullanılarak belirlendi. Bütün filogenetik ağaçların gücü ya da geçerliliği 1000 tekrarlı bootstrap (Felsenstein 1985) yeniden örnekleme ile değerlendirildi. Haplotipler arasındaki evrimsel ilişki örgüsü median-joining (Bendelt vd. 1999) yöntemine göre Network 4.6.1.3 programı ile belirlendi. Sitokrom *b* bölgesinin evrimsel ilişki örgüsü analizinde *Rattus norvegicus* ve *Mus musculus* örnekleri hariç tutuldu. Geçmişte yapılmış çalışmalarda belirlenmiş ve bu tez çalışmasındaki filogenetik analizlerde kullanılan *A. amphibius* haplotiplerinin ve diğer türlere ait haplotiplerin GenBank erişim numaraları çizelge 3.9, EK 1 ve EK 2’de gösterildi.

Çizelge 3.9 GenBank’tan elde edilen *A. amphibius* ile dış grup olarak kullanılan farklı türlere ait DNA dizilerinin erişim numaraları

Tür	Genbank Erişim Numarası	Lokalite
<i>Arvicola amphibius</i>	KM005045.1 <sup>a</sup>	Ayaş/Ankara/TÜRKİYE
<i>Arvicola amphibius</i>	KM005046.1 <sup>a</sup>	Aksaray/TÜRKİYE
<i>Arvicola amphibius</i>	KM005047.1 <sup>a</sup>	Aksaray/TÜRKİYE
<i>Arvicola amphibius</i>	KM005044.1 <sup>a</sup>	SİRBİSTAN
<i>Arvicola amphibius</i>	KM005040.1 <sup>a</sup>	SLOVENYA
<i>Arvicola amphibius</i>	KM005039.1 <sup>a</sup>	SLOVENYA
<i>Arvicola amphibius</i>	KM005038.1 <sup>a</sup>	SLOVENYA
<i>Arvicola amphibius</i>	KM005037.1 <sup>a</sup>	SLOVENYA
<i>Arvicola amphibius</i>	KM005036.1 <sup>a</sup>	SLOVENYA
<i>Arvicola amphibius</i>	KM005035.1 <sup>a</sup>	RUSYA
<i>Arvicola amphibius</i>	KM005034.1 <sup>a</sup>	RUSYA
<i>Arvicola amphibius</i>	KM005033.1 <sup>a</sup>	RUSYA
<i>Arvicola amphibius</i>	KM005032.1 <sup>a</sup>	RUSYA
<i>Arvicola amphibius</i>	KM005031.1 <sup>a</sup>	RUSYA
<i>Arvicola amphibius</i>	KM005030.1 <sup>a</sup>	ROMANYA
<i>Arvicola amphibius</i>	KM005029.1 <sup>a</sup>	ROMANYA
<i>Arvicola amphibius</i>	KM005028.1 <sup>a</sup>	ROMANYA
<i>Arvicola amphibius</i>	KM005015.1 <sup>a</sup>	MACARİSTAN
<i>Arvicola amphibius</i>	KM005014.1 <sup>a</sup>	MACARİSTAN

<sup>a</sup>, sitokrom *b*, <sup>b</sup> kontrol bölgesi, <sup>c</sup> ortak ataya varma zamanının tahmini analizlerinde kullanılan örnekleri işaret etmektedir

Çizelge 3.9 GenBank'tan elde edilen *A. amphibius* ile dış grup olarak kullanılan farklı türlere ait DNA dizilerinin erişim numaraları (devam)

Tür	Genbank Erişim Numarası	Lokalite
<i>Arvicola amphibius</i>	KM005013.1 <sup>a</sup>	MACARİSTAN
<i>Arvicola amphibius</i>	KM005012.1 <sup>a</sup>	MACARİSTAN
<i>Arvicola amphibius</i>	KM005011.1 <sup>a</sup>	MACARİSTAN
<i>Arvicola amphibius</i>	KM005010.1 <sup>a</sup>	BOSNA HERSEK
<i>Arvicola amphibius</i>	KM005009.1 <sup>a</sup>	BOSNA HERSEK
<i>Arvicola amphibius</i>	KM005001.1 <sup>a</sup>	AVUSTURYA
<i>Arvicola amphibius</i>	KM005000.1 <sup>a</sup>	AVUSTURYA
<i>Arvicola amphibius</i>	KM004999.1 <sup>a</sup>	AVUSTURYA
<i>Arvicola amphibius</i>	AY948543.1 <sup>b</sup>	BİRLEŞİK KRALLIK
DIŞ GRUPLAR		
<i>Chionomys roberti</i>	AY513850.1 <sup>a</sup>	TÜRKİYE
<i>Arvicola sapidus</i>	FJ539342.1 <sup>a</sup>	İSPANYA
<i>Arvicola sapidus</i>	FJ539341.1 <sup>a</sup>	İSPANYA
<i>Arvicola sapidus</i>	JX457749.1 <sup>a</sup>	PORTEKİZ
<i>Arvicola sapidus</i>	JX457748.1 <sup>a</sup>	PORTEKİZ
<i>Arvicola sapidus</i>	JX457747.1 <sup>a</sup>	PORTEKİZ
<i>Arvicola sapidus</i>	FJ502319.1 <sup>b</sup>	İSPANYA
<i>Myodes glareolus</i>	HQ288335.1 <sup>a</sup>	BULGARİSTAN
<i>Myodes glareolus</i>	HQ288341.1 <sup>a</sup>	HIRVATİSTAN
<i>Myodes glareolus</i>	HQ288370.1 <sup>a</sup>	FRANSA
<i>Rattus norvegicus</i>	HQ655913.1 <sup>b</sup>	ÇİN
<i>Rattus norvegicus</i>	HQ655911.1 <sup>b</sup>	ÇİN
<i>Rattus norvegicus</i>	HQ655909.1 <sup>b</sup>	ÇİN
<i>Rattus norvegicus</i>	HQ655907.1 <sup>b</sup>	ÇİN
<i>Rattus norvegicus</i>	AB746365.1 <sup>a,c</sup>	VIETNAM
<i>Rattus norvegicus</i>	AB746363.1 <sup>a,c</sup>	VIETNAM

“<sup>a</sup>”, sitokrom *b*, “<sup>b</sup>” kontrol bölgesi, “<sup>c</sup>” ortak ataya varma zamanının tahmini analizlerinde kullanılan örnekleri işaret etmektedir

Populasyonların genetik yapısını belirlemeye yönelik olarak nükleotid çeşitliliği ( $\pi$ ), haplotip çeşitliliği ( $h$ ) ve gen akışı parametreleri ( $F_{ST}$ ) analizleri DnaSP v5 (Librado ve Rozas 2009) programı ile gerçekleştirildi. ARLEQUIN version 3.5 (Excoffier ve Lischer 2010) programı tarafından uygulanabilen Moleküler Varyans Analizi Tekniği (AMOVA) kullanılarak populasyonların genetik yapısına ilişkin parametreler elde edildi. AMOVA ile *A. amphibius* populasyonlarının genetik yapısında gözlenen varyasyonun kaynağı gruplar arası, gruplar içindeki populasyonlar arası ve populasyonlar içindeki bireyler arası olmak üzere üç farklı seviyede araştırıldı. Elde

edilen parametrelerin önem derecesi 1000 permütasyonlu mesafe matrisi kullanılarak belirlendi. Farklı haplotip gruplarının demografik geçmişlerine ait çıkarsamalar ikili uyumsuzluk dağılımı (pairwise mismatch distribution) analizi ile hem popülasyon büyüme azalma modeli hem de sabit popülasyon büyüklüğü modeli altında DnaSP v5 (Librado ve Rozas 2009) programı ile gerçekleştirildi. Popülasyonlar üzerinde seçim baskısının etkilerini ortaya koyabilmek için varyasyon kareler toplamı (SSD), Raggedness istatistiği ( $rg$ ), Fu's  $F_S$  (Fu 1997) ve Tajima's  $D$  (Tajima 1989, Tajima 1989a) istatistikleri hesaplandı.

*Arvicola amphibius* popülasyonlarının ortak ataya varma zamanlarının (evrimsel ayrılma zamanları/TMRCA) tahmin edilebilmesi için BEAST v1.8.0 (Drummond vd. 2012) programı içerisinde sıkı saat (strict-clock) yaklaşımı kullanıldı. Bu analizde 26 lokaliteden elde edilen bütün örneklerin mitokondriyal DNA'sının 1027 baz uzunluğundaki sitokrom *b* bölgesi kullanıldı. Sıkı saat yaklaşımı için nükleotid değişim oranı milyon yılda nükleotid başına % 2 (0,01) olacak şekilde ayarlandı (Taberlet vd. 1998, Johns ve Avise 1998). Moleküler saat ayarlaması 8-15 milyon yıl önce gerçekleşen *Mus-Rattus* ayrımına göre ortalaması 11,7, standart sapması 0,4 olacak şekilde normal dağılım kullanılarak gerçekleştirildi (Benton ve Donoghue 2007, Voloch ve Schrago 2012). Bu analiz için nükleotid değişim modeli olarak TN93+G (Tamura ve Nei 1993) ve soy hattı başına sabit türleşme oranını varsayan Yule tree prior seçeneği kullanıldı. Analiz her 1000 nesilde bir örnekleme yapılarak, 10.000.000 nesil için, üç tekrarlı olacak şekilde yürütüldü. Böylece, toplamda 30.000.000 nesil için oluşturulan 30.000 filogenetik ağaç içeren üç farklı ağaç dosyası ve her bir parametrenin ardıl olasılık dağılımlarının tahmini içeren dosya elde edildi (log file). Her bir log file için hem ayrı ayrı olarak hem de birleştirilmiş dosyaların sonuçları Tracer v1.6 (Rambaut vd. 2014) ile değerlendirildi ve her lokalitedeki popülasyonlara ait efektif örnek büyüklüğü (effective sample size, ESS) değerinin 200'ün üzerinde olduğu belirlendi. Sonrasında LogCombiner v1.8.0 (Rambaut ve Drummond 2002-2013) kullanılarak birleştirilmiş ağaç dosyası (combined tree file) elde edildi. Tree Annotator v1.8.0 (Drummond ve Rambaut 2007) kullanılarak ardıl olasılık sınırı 0,5 ve burn-in değeri 3000 olacak şekilde ağaçlar özetlendi (elde edilen ağaçların %10'u göz



ardı edildi ve toplam 27.000 ağaç değerlendirildi) ve en uygun ağaç belirlenerek FigTree v1.8.0 (Rambaut 2008) ile görselleştirildi.

Populasyonlar arasında kuşbakışı olarak belirlenen km cinsinden uzaklık ile genetik mesafe matrisi ( $F_{ST}$ ) arasındaki ilişki mesafeye bağlı yalıtım yöntemi ile NTSYSpc 2.2 (Rohlf 1993) paket programı içerisindeki Mantel testi (Mantel 1967) ile araştırıldı.

## 4. ARAŞTIRMA BULGULARI

### 4.1 Morfometrik Analizler

Morfometri çalışmaları için beş gruba ayrılan *Arvicola amphibius* populasyonlarını oluşturan tüm örneklerin 4 tane dış ve 34 tane iç morfometrik karakteri ölçüldü. Beş grubu temsil eden tüm örneklere ait morfometrik karakterlerin ortalamaları ve standart hata değerleri hesaplandı (Çizelge 4.1).

#### 4.1.1 Tek yönlü varyans analizleri (ANOVA-MANOVA)

Beş gruba ayrılan *Arvicola amphibius* populasyonlarını oluşturan örneklerin morfometrik karakterlerinin (değişken) ortalamaları arasında bir farklılık olup olmadığını test etmek amacıyla tek yönlü varyans analizleri (ANOVA-MANOVA) gerçekleştirildi. Varyans analizinin ön şartlarından biri olan varyansların homojenliği şartı rostrum genişliği, bullalı ve bullasız beyin kapsülü yüksekliği ve foramen insisiva uzunluğu hariç diğer değişkenler için sağlandı. Bu nedenle çoklu karşılaştırma testlerinde varyansların homojenliği ön şartını sağlayan değişkenlerin ortalamaları arasında fark olup olmadığı Tukey's (HSD) testi ile kontrol edildi. Ön şartı sağlamayan üç değişkenin ortalamaları arasında fark olup olmadığı ise eşit olmayan varyans yaklaşımını kullanan Tamhane T2 testi ile kontrol edildi. Buna göre tek yönlü varyans analizi sonucunda 38 değişkene ait ortalamalar arasında, 2 tanesinin  $p < 0,05$  düzeyinde, 27 tanesinin ise  $p < 0,01$  düzeyinde anlamlı farklılık gösterdiği, 9 değişkeninin ortalaması arasında ise farklılık olmadığı tespit edildi (Çizelge 4.2).

*Arvicola amphibius*'un beş grubuna ait populasyonlardan elde edilen morfometrik verilerin çoklu varyans analizi (MANOVA) sonuçlarına göre, tüm populasyonların, grup ortalama vektörleri birbirinden önemli düzeyde farklı bulundu. Pillai'nin iz istatistiği, Hotelling  $T^2$  testi ve Roy'un en büyük kök testlerinin sonuçları beş grubun ortalamaları arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık olduğunu gösteren yüksek pozitif değerlerde bulundu. Sıfıra yakın bir değer alan ve negatif değerli bir test olan Wilk's Lamda testinin sonucu da diğer testlerin sonuçları ile uyumlu olarak grupların

ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunduğunu gösterdi (Kalaycı 2005). MANOVA analizi sonucunda önem derecesi (p), bütün testler için  $p < 0,001$

Çizelge 4.1 Beş *A. amphibius* grubuna ait örneklerden alınan dış ve iç karakter ölçülerinin ortalama ve standart hata değerleri

MORFOMETRİK KARAKTERLER	1		2		3		4		5	
	Ort.	S. H.	Ort.	S. H.	Ort.	S. H.	Ort.	S. H.	Ort.	S. H.
Tüm Boy Uz.	296,10	10,30	330,50	8,93	292,21	7,51	307,95	6,82	287,19	3,25
Kuyruk Uz.	112,60	4,64	136,33	3,84	120,24	3,59	125,28	3,19	114,25	2,05
Arka Ayak Uz.	34,67	0,52	40,67	0,61	35,55	0,28	37,30	0,47	35,55	0,27
Kulak Uz.	16,00	0,70	18,67	0,61	17,42	0,47	16,73	0,38	16,42	0,28
Zygomatik Gen.	22,41	0,61	23,72	0,52	22,30	0,40	22,72	0,36	22,10	0,20
Rostrum Gen.	6,49	0,11	6,91	0,08	6,77	0,15	6,57	0,07	6,53	0,07
Rostrum Yük.	7,16	0,19	7,82	0,19	7,70	0,16	7,61	0,12	7,35	0,09
İnterorbital Daralma	4,70	0,08	4,70	0,10	4,61	0,06	4,70	0,06	4,72	0,04
Kondilobazal Uz.	36,68	0,69	39,10	0,71	36,01	0,50	37,91	0,44	35,92	0,26
Kondilonazal Uz.	37,50	0,70	39,95	0,74	37,19	0,49	39,02	0,47	37,08	0,27
Oksipitonazal Uz.	37,94	0,66	40,79	0,70	37,24	0,51	39,78	0,44	37,42	0,26
Bazal Uz.	35,29	0,75	37,04	1,18	34,93	0,53	36,61	0,46	34,61	0,27
Nazal Uz.	10,33	0,26	11,90	0,24	10,85	0,64	11,14	0,18	10,37	0,10
Nazal Gen.	4,74	0,12	4,98	0,10	4,68	0,09	4,68	0,06	4,59	0,06
Sagittal Crest Uz.	20,38	0,37	22,54	0,36	20,41	0,25	21,93	0,26	20,39	0,13
İnterparietal Uz.	4,76	0,14	4,13	0,30	4,47	0,10	4,34	0,09	4,82	0,07
Yüz Bölgesi Uz.	24,32	0,62	27,14	0,44	23,82	0,40	26,02	0,34	24,26	0,20
Beyin Bölgesi Uz.	13,94	0,27	14,59	0,34	13,76	0,25	14,21	0,19	13,53	0,12
Mastoid Gen.	11,42	0,10	12,10	0,17	11,01	0,12	11,61	0,08	10,66	0,07
Bullalı Beyin Kap. Yük.	13,41	0,64	13,60	0,22	12,86	0,12	13,22	0,11	12,70	0,06
Bullasız Beyin Kap. Yük.	10,62	0,20	11,46	0,11	10,69	0,12	10,86	0,12	10,63	0,05
Oksipital Gen.	14,99	0,22	14,83	0,15	15,15	0,23	14,84	0,22	14,78	0,12
Beyin Kapsülü Gen.	16,06	0,20	16,79	0,20	16,09	0,13	16,52	0,14	15,94	0,07
Diastema Uz.	12,63	0,38	13,66	0,32	12,34	0,23	13,19	0,22	12,35	0,11
Damak Uz.	21,27	0,47	22,84	0,56	20,67	0,34	21,82	0,30	20,89	0,16
Foramen İnsisiva Uz.	6,33	0,15	6,55	0,18	6,22	0,09	6,54	0,11	6,38	0,06
Timpanik Bulla Uz.	10,19	0,20	10,30	0,15	9,88	0,14	10,24	0,12	9,82	0,07
Timpanik Bulla Gen.	6,84	0,12	7,33	0,09	6,75	0,09	7,13	0,09	6,95	0,04
Mandibul Uz.	25,71	0,58	27,71	0,56	24,86	0,35	26,86	0,33	25,19	0,17
Mandibul Yük.	13,08	0,27	14,75	0,23	12,81	0,20	14,33	0,18	13,24	0,09
Üst Molar Alveolleri Uz.	9,63	0,20	10,96	0,13	9,50	0,12	10,34	0,13	9,61	0,06
Alt Molar Alveolleri Uz.	9,73	0,22	9,91	0,20	9,09	0,10	9,81	0,11	9,23	0,07
M <sup>1</sup> Taç uz.	3,71	0,08	4,04	0,09	3,51	0,04	3,88	0,05	3,68	0,03
M <sup>2</sup> Taç uz.	2,71	0,08	3,03	0,06	2,52	0,03	2,81	0,04	2,58	0,02
M <sup>3</sup> Taç uz.	2,63	0,07	2,89	0,07	2,55	0,05	2,75	0,04	2,57	0,03
M <sub>1</sub> Taç uz.	3,95	0,11	4,25	0,08	3,78	0,05	4,03	0,05	3,85	0,04
M <sub>2</sub> Taç uz.	2,55	0,07	2,46	0,05	2,32	0,04	2,49	0,04	2,38	0,02
M <sub>3</sub> Taç uz.	2,53	0,10	2,41	0,04	2,20	0,04	2,37	0,04	2,28	0,03

1. Trakya, 2. Hatay, 3. Doğu Anadolu, 4. Batı Anadolu, 5. Orta Anadolu. Ortalama (Ort), standart hata (S.H.), uzunluk (uz.), genişlik (gen.) ve yükseklik (yük.) olarak kısaltılmıştır

Çizelge 4.2 *A. amphibius* populasyonlarındaki bireylerden elde edilen morfometrik karakterlerinin varyans analizi (ANOVA) sonuçları

Morfometrik Karakterler	Gruplar Arası Kareler Toplamı	Grup İçi Kareler Toplamı	F Değeri	S.D. (Gruplar Arası)	S.D. (Grup İçi)	p değeri
Tüm Boy Uz.	19.785,320	221.425,797	3,798	4	170	0,006**
Kuyruk Uz.	5.748,357	62.425,594	3,914	4	170	0,005**
Arka Ayak Uz.	239,276	1.003,636	10,132	4	170	0,000**
Kulak Uz.	51,997	1.084,467	2,038	4	170	0,091
Zygomatik Gen.	22,289	706,290	1,341	4	170	0,257
Rostrum Gen.	2,209	64,942	1,446	4	170	0,221
Rostrum Yük.	5,513	111,278	2,106	4	170	0,082
Interorbital Daralma	0,292	19,996	0,621	4	170	0,648
Kondilobazal Uz.	156,447	1.124,486	5,913	4	170	0,000**
Kondilonazal Uz.	142,313	1.198,420	5,047	4	170	0,001**
Oksipitonazal Uz.	219,255	1.136,427	8,200	4	170	0,000**
Bazal Uz.	131,648	1.227,092	4,560	4	170	0,002**
Nazal Uz.	27,801	565,022	2,091	4	170	0,084
Nazal Gen.	1,116	37,833	1,253	4	170	0,290
Sagital Crest Uz.	90,299	303,084	12,662	4	170	0,000**
İnterparietal Uz.	9,016	63,107	6,072	4	170	0,000**
Yüz Bölgesi Uz.	148,340	681,086	9,256	4	170	0,000**
Beyin Bölgesi Uz.	16,894	236,910	3,031	4	170	0,019*
Mastoid Gen.	33,421	58,369	24,335	4	170	0,000**
Bullalı Beyin Kapsülü Yük.	12,898	101,077	5,423	4	170	0,000**
Bullasız Beyin Kapsülü Yük.	4,877	60,105	3,449	4	170	0,010**
Oksipital Gen.	3,408	239,404	0,605	4	170	0,660
Beyin Kapsülü Gen.	11,936	89,507	5,667	4	170	0,000**
Diastema Uz.	28,183	228,677	5,238	4	170	0,001**
Damak Uz.	48,719	486,715	4,254	4	170	0,003**
Foramen insisivum Uz.	2,091	57,071	1,557	4	170	0,188
Timpanik Bulla Uz.	6,316	80,936	3,316	4	170	0,012*
Timpanik Bulla Gen.	3,661	32,751	4,750	4	170	0,001**
Mandibul Uz.	122,491	557,966	9,330	4	170	0,000**
Mandibul Yük.	59,434	164,754	15,332	4	170	0,000**
Ust Molar Alveolleri Uz.	25,799	73,676	14,882	4	170	0,000**
Alt Molar Alveolleri Uz.	15,050	71,254	8,976	4	170	0,000**
M <sup>1</sup> Taç Uz.	3,220	15,755	8,687	4	170	0,000**
M <sup>2</sup> Taç Uz.	2,855	8,716	13,923	4	170	0,000**
M <sup>3</sup> Taç Uz.	1,525	12,220	5,303	4	170	0,000**
M <sub>1</sub> Taç Uz.	2,127	17,679	5,113	4	170	0,001**
M <sub>2</sub> Taç Uz.	0,820	7,993	4,360	4	170	0,002**
M <sub>3</sub> Taç Uz.	1,124	9,355	5,104	4	170	0,001**

“\*” p<0,05, “\*\*” p<0,01 ve S.D= Serbestlik derecesi

düzeyinde anlamlı olarak bulundu, yani beş gruba ayrılarak analiz edilen *A. amphibius* populasyonlarını oluşturan bireylerin morfometrik karakterlerinin ortalamaları arasındaki farkın tesadüften ileri gelmediği, aksine istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlendi (Çizelge 4.3).

Çizelge 4.3 *A. amphibius* populasyonlarındaki bireylerden elde edilen morfometrik karakterlerinin çoklu varyans analizi (MANOVA) sonuçları

Etki		Test sonuçları	F değeri	Serbestlik derecesi	Hata serbestlik derecesi	Önem derecesi
Gruplar	Pillai's Trace	2,036	3,710	152	544	,000***
	Wilks' Lambda	0,038	4,439	152	532,637	,000***
	Hotelling's Trace	6,421	5,555	152	526	,000***
	Roy's Largest Root	4,269	15,278	38	136	,000***

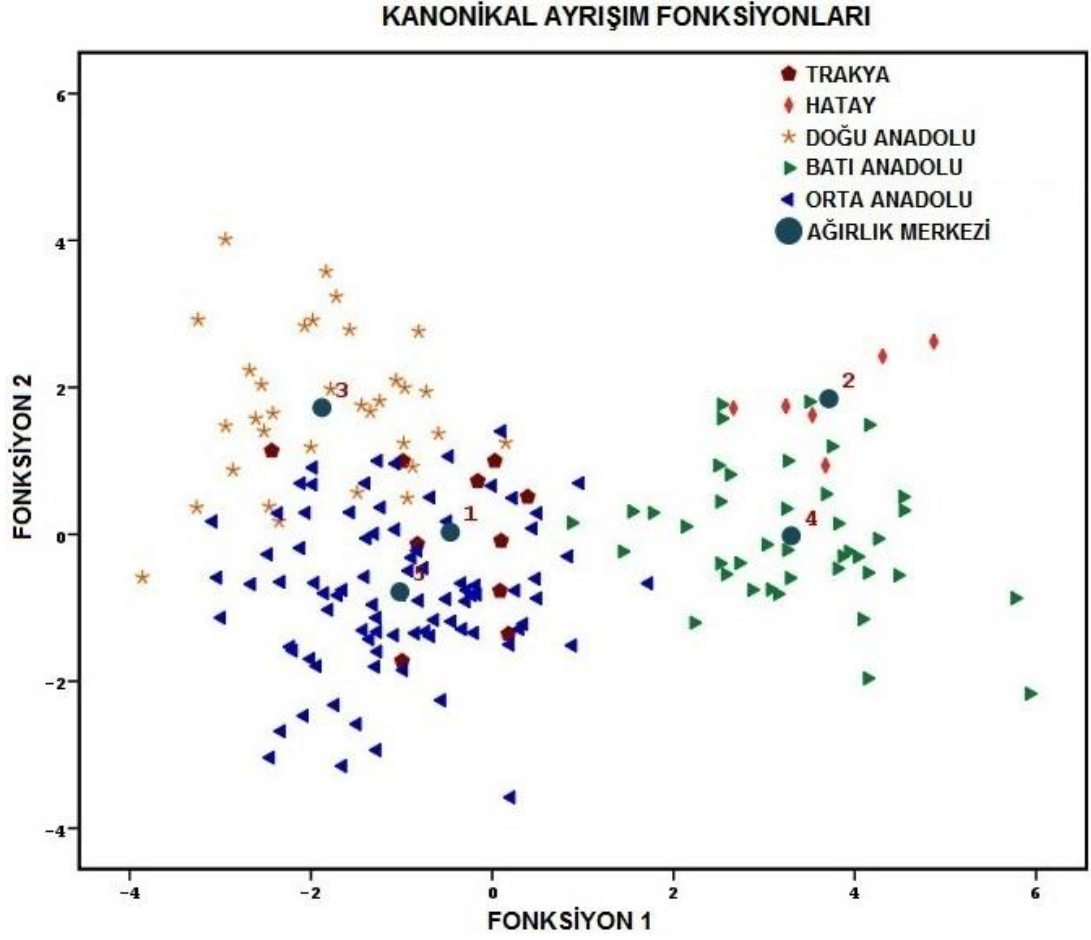
\*\*\*p<0,001

#### 4.1.2 Ayırışım fonksiyon analizi (DFA)

Ayırışım Fonksiyon Analizi (DFA) sonucunda, morfometrik olarak analiz edilen beş grupta gözlenen toplam varyasyonun (% 100), % 82,2'si ilk iki kanonikal ayırışım fonksiyonu ile açıklandı. Gözlenen varyasyonun % 66,5'i birinci fonksiyon, % 15,7'si ise ikinci fonksiyon tarafından açıklandı. Elde edilen kanonikal skorlara göre, DFA sonucunda oluşan grupların dağılımları serpilme diyagramında iki boyutlu grafik olarak gösterildi (Şekil 4.1). Grafiğe göre, populasyonların ağırlık merkezleri dikkate alındığında; Batı Anadolu, Orta Anadolu ve Doğu Anadolu gruplarının belirgin olarak birbirlerinden uzak kümeleniği gözlemlendi. Trakya grubunu oluşturan on bireyden sekizi Orta Anadolu grubu içinde, iki tanesi de Doğu Anadolu grubu içinde kümeleni. Hatay grubu ise Batı Anadolu grubu içinde yer aldı. DFA sonucunda elde edilen sınıflandırma matrisinde, analiz öncesi beş gruba atanan toplam 175 bireyin % 89,7'sinin doğru olarak gruplandırıldığı belirlendi (Çizelge 4.4).

Çizelge 4.4 Ayırışım fonksiyon analizi (DFA) ile belirlenen *A. amphibius* gruplarının sınıflandırma sonuçları

GRUPLAR	Sınıflandırma Matrisi					
	Yüzde Doğruluk	TRAKYA	HATAY	DOĞU ANADOLU	BATI ANADOLU	ORTA ANADOLU
TRAKYA	80	8	0	0	0	2
HATAY	83,3	0	5	0	1	0
DOĞU ANADOLU	78,8	1	0	26	0	7
ORTA VEBATI ANADOLU	97,5	0	0	0	39	1
ORTA ANADOLU	91,9	1	0	5	1	79



Şekil 4.1 Beş *A. amphibius* grubunun iki boyuttaki dağılımlarını gösteren serpilme diyagramı

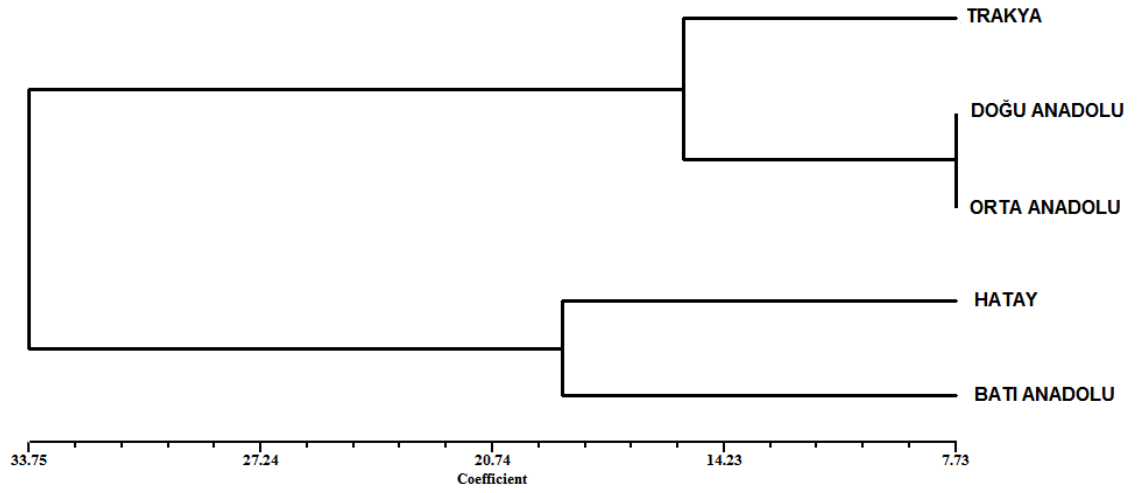
Gruplar arasındaki uzaklığı belirten Mahalanobis mesafe matrisi STATISTICA 7 (Statsoft Inc. 2004) paket programı ile hesaplandı (Çizelge 4.5). En yüksek iki Mahalanobis mesafe değerinin ( $D^2$ ), diğer gruplarla kıyaslandığında serpilme diyagramında ağırlık merkezleri birbirlerinden en uzak olan Doğu Anadolu/Hatay ( $D^2 = 43,98736$ ) ve Trakya/Hatay ( $D^2 = 42,37685$ ) grupları arasında olduğu tespit edildi. En küçük iki mesafe değeri ise sırasıyla Orta Anadolu/Doğu Anadolu grupları ( $D^2 = 7,72676$ ) ve Orta Anadolu/Trakya grupları arasındadır ( $D^2 = 13,51886$ ). Grupların serpilme diyagramındaki nispi pozisyonları ile morfometrik verilere dayalı olarak birbirleri arasındaki uzaklığı gösteren Mahalanobis mesafe değerleri uyum göstermektedir. Ayrıca 22 farklı lokaliteden elde edilen örnekler arasındaki uzaklığı gösteren Mahalanobis mesafesi de hesaplandı (Ek 3).

Çizelge 4.5 Gruplar arasındaki uzaklığı gösteren Mahalanobis mesafe ( $D^2$ ) matrisi

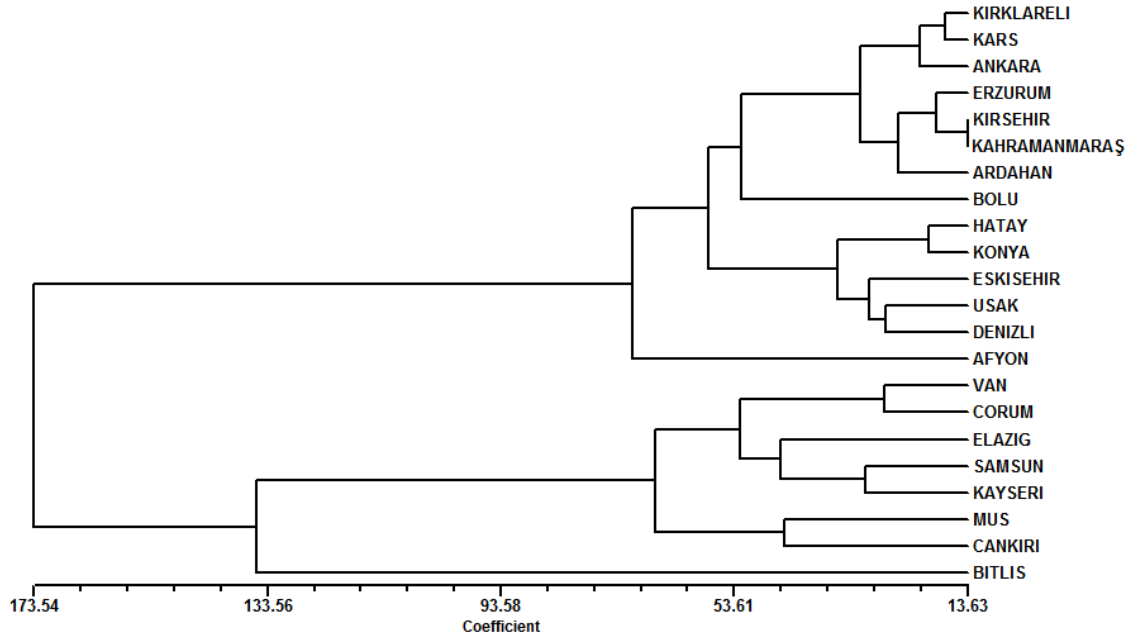
$D^2$	TRAKYA	HATAY	DOĞU ANADOLU	BATI ANADOLU	ORTA ANADOLU
TRAKYA	<b>0,00000</b>				
HATAY	<b>42,37685</b>	<b>0,00000</b>			
DOĞU ANADOLU	<b>17,23173</b>	<b>43,98736</b>	<b>0,00000</b>		
BATI ANADOLU	<b>26,83248</b>	<b>18,78976</b>	<b>30,69159</b>	<b>0,00000</b>	
ORTA ANADOLU	<b>13,51886</b>	<b>38,66750</b>	<b>7,72676</b>	<b>19,94107</b>	<b>0,00000</b>

#### 4.1.3 Kümeleme (CLUSTER) analizi

Kümeleme (CLUSTER) analizi, Mahalanobis mesafe matrisinden yararlanılarak NTSYSpc 2.2 (Rohlf 1993) paket programı ile yapıldı ve morfometrik verilere göre elde edilen sonuçlar UPGMA dendogramı ile gösterildi (Şekil 4.2). Beş gruba göre gerçekleştirilen analiz sonucunda elde edilen dendograma göre başlıca iki klad belirlendi. Birinci kladda Trakya grubu, Doğu Anadolu ile Orta Anadolu gruplarından oluşan alt kladdın dışında yer aldı. İkinci kladda ise Hatay ve Batı Anadolu grupları bir arada kümelendi. Kastamonu ve Niğde haricinde 22 farklı lokaliteden elde edilen örneklerin değerlendirildiği analiz sonucunda ise başlıca iki klad oluştu (Şekil 4.3). Buna göre birinci klad iki alt klada ayrıldı. Birinci alt kladda Trakya (Kırklareli), Doğu Anadolu (Kars, Erzurum ve Ardahan) ve Orta Anadolu (Ankara Kırşehir ve Akdeniz Bölgesi'nin kuzeydoğusundan Kahramanmaraş) ve Kuzey Anadolu'daki (Bolu) lokaliteler bir arada kümelendi. İkinci alt kladda ise Hatay ile beraber Orta Anadolu (Konya) ve Batı Anadolu'daki (Eskişehir, Uşak, Denizli ve Afyon) lokaliteler bir arada kümelendi. İkinci klad Orta Anadolu (Kayseri ve Çankırı), Kuzey Anadolu (Çorum ve Samsun) ve Doğu Anadolu'daki lokalitelerden oluştu (Elazığ, Muş, Bitlis ve Van).



Şekil 4.2 Beş *A. amphibius* grubu arasındaki Mahalanobis mesafe matrisine göre oluşturulan UPGMA dendrogramı



Şekil 4.3 *A. amphibius*'un 22 popülasyonu arasındaki Mahalanobis mesafe matrisine göre oluşturulan UPGMA dendrogramı



#### 4.1.4 Temel bileşenler analizi (PCA)

Bir boyut indirgeme yöntemi olan Temel Bileşenler Analizi (PCA) ile *Arvicola amphibius* populasyonlarında morfometrik karakterlere dayalı olarak gözlenen varyasyonlar, aralarında korelasyon bulunan yani birbirleri ile ilişkili olan çok sayıdaki morfometrik karakter yerine, bu karakterlerin belirli oranda katkı yaptığı, anlamlı ve daha az sayıdaki temel bileşen ile açıklandı. Bu yöntemle öncelikli olarak morfometrik karakterler arasındaki maksimum varyasyonu açıklayan birinci faktör (temel bileşen) hesaplandı. Sonrasında ise, geriye kalan varyasyonu yine en üst seviyede açıklayan faktörler sırasıyla hesaplandı. Böylelikle aralarında korelasyon olmayan yani birbirleri ile ilişkisiz faktörler elde edildi ve çok sayıdaki morfometrik karakter yerine daha az sayıdaki temel bileşen ile *Arvicola amphibius* populasyonlarında morfometrik karakterlere dayalı olarak gözlenen varyasyonlar açıklandı. Bu yöntemde öncelikle morfometrik karakterlerden oluşan veri setinin analiz için uygun olup olmadığı, korelasyon matrisi, Kaiser-Meyer-Olkin (KMO) ve Barlett testleri ile kontrol edildi. Çok fazla sayıda değişken olduğundan dolayı korelasyon matrisinin anlamlandırılması zor olacağı için veri setinin uygunluğu KMO ve Barlett testleri ile kontrol edildi. KMO testi sonucunda elde edilen değer 0,50'den büyük olması istenir (Kalaycı 2005). Bu test sonucunda veri seti için 0,960 (% 96) değeri elde edildi. Bu değer veri setinin analiz için mükemmel derecede uygun olduğunu göstermektedir. Ayrıca Barlett testi de anlamlı bulundu ( $p < 0,001$ ). Bu da morfometrik karakterlerden oluşan veri setinde değişkenler arasında yüksek korelasyon olduğunu ve veri setinin analiz için oldukça uygun olduğunu göstermektedir (Çizelge 4.6).

Populasyonlarda gözlenen varyasyonu açıklamak için çok sayıdaki değişkenin daha az sayıdaki anlamlı temel bileşene indirgenmesinde ölçüt olarak öz değer (Eigen value) istatistiği göz önüne alındı (Kalaycı 2005). Buna göre Eigen değeri 1'den büyük olan 5 Temel Bileşenin toplam varyasyonun % 76,402'lik kısmını açıkladığı belirlendi (Çizelge 4.7).

Çizelge 4.6 Veri setinin temel bileşenler analizi için uygunluğunun KMO ve Bartlett testleri ile kontrol edilmesi

<b>KMO ve Bartlett Testi</b>		
Örneklem Yeterliliğinin Kaiser-Meyer-Olkin ölçümü		0,960
Bartlett Testi	Yaklaşık. Ki-kare Değeri	9000,596
	Serbestlik Derecesi	703
	Önem Derecesi (p)	0,000

Çizelge 4.7 *A. amphibius* populasyonlarındaki toplam varyasyonu açıklayan ilk beş temel bileşen

<b>Açıklanan Toplam Varyasyon</b>			
Temel Bileşenler	Başlangıç Eigen Değerleri		
	Toplam	Varyasyon %	Toplam %
1	22,731	59,819	59,819
2	2,345	6,172	65,990
3	1,784	4,695	70,686
4	1,141	3,004	73,689
5	1,031	2,713	76,402

Faktör analizinin kesin sonucu ise elde edilen faktörlerin anlamlandırılması ile elde edilir. Bu işlem de döndürülmüş faktör matrisi sonuçlarına göre gerçekleştirildi. Matriste orijinal değişken ve bu değişkenin belirli oranda katkı yaptığı faktör arasındaki korelasyonların mutlak değerine bakılır. Bu değer 0,5'den büyük ise elde edilen az sayıdaki faktörde o değişkenin ağırlığının yüksek olduğu düşünülür ve buna göre o faktör isimlendirilir ya da diğer bir ifadeyle faktör anlamlandırılır (Kalaycı 2005). Döndürülmüş faktör matrisi incelendiğinde; birinci faktör altında kafatası ve dişere ait yirmi iki karakterin yüksek ağırlığa sahip olduğu görülmektedir (Korelasyon mutlak değeri > % 50). İkinci faktör altında ise mandibul uzunluğu ve mandibul yüksekliğine ilaveten dental karakterlerin ağırlığının daha yüksek olduğu gözlenmektedir (Çizelge 4.8).

Çizelge 4.8 A. *amphibius* populasyonlarında gözlenen toplam varyasyonu açıklayan beş temel bileşende morfometrik karakterlerin ağırlıklarını gösteren döndürülmüş faktör matrisi

MORFOMETRİK KARAKTERLER	FAKTÖRLER				
	1	2	3	4	5
Yüz Bölgesi Uzunluğu	0,831	0,426	0,085	-0,010	-0,122
Oksipitonazal Uzunluk	0,802	0,423	0,277	0,125	-0,024
Beyin Bölgesi Uzunluğu	0,781	0,289	0,392	0,087	0,036
Tüm Boy Uzunluğu	0,776	0,154	0,313	0,243	-0,048
Kondilobazal Uzunluk	0,775	0,415	0,402	0,129	0,010
Bazal Uzunluk	0,763	0,382	0,448	0,071	0,018
Zygomatik Genişlik	0,752	0,365	0,463	-0,031	0,001
Diastema Uzunluğu	0,743	0,394	0,455	0,111	0,006
Kondilonazal Uzunluk	0,740	0,405	0,461	0,146	0,031
Damak Uzunluğu	0,728	0,418	0,458	0,064	0,009
Timpanik Bulla Uzunluğu	0,712	0,251	0,274	0,152	0,088
Bullasız Beyin Kapsülü Yüksekliği	0,706	0,269	0,336	0,064	0,041
Sagital Crest Uzunluğu	0,692	0,439	0,251	0,251	-0,182
Kuyruk Uzunluğu	0,684	-0,025	0,152	0,312	0,005
Mandibul Uzunluğu	0,681	0,536	0,370	0,154	-0,036
Bullalı Beyin Kapsülü Yüksekliği	0,670	0,338	0,192	0,031	0,172
Mandibul Yüksekliği	0,665	0,517	0,311	0,179	-0,010
Üst Molar Alveol Uzunluğu	0,622	0,605	0,102	0,119	-0,168
Timpanik Bulla Genişliği	0,567	0,319	0,441	0,140	0,097
Kulak Uzunluğu	0,521	-0,001	-0,019	0,183	-0,367
Mastoid Genişlik	0,493	0,177	0,290	0,356	-0,105
M <sub>2</sub> Taç Uzunluğu	0,160	0,762	0,414	0,065	0,073
Alt Molar Alveol Uzunluğu	0,296	0,759	0,428	0,098	0,006
M <sub>3</sub> Taç Uzunluğu	0,135	0,743	0,367	0,162	0,159
M <sup>2</sup> Taç Uzunluğu	0,494	0,732	0,102	-0,010	-0,084
M <sub>1</sub> Taç Uzunluğu	0,278	0,681	0,401	0,156	-0,031
M <sup>1</sup> Taç Uzunluğu	0,560	0,643	-0,113	0,003	-0,109
M <sup>3</sup> Taç Uzunluğu	0,494	0,607	0,297	0,097	-0,094
Rostrum Yüksekliği	0,144	0,273	0,842	0,125	0,081
Oksipital Genişlik	0,212	0,110	0,837	0,256	0,137
Rostrum Genişliği	0,344	0,307	0,754	0,119	0,005
Nazal Genişlik	0,530	0,252	0,580	-0,175	0,009
Nazal Uzunluk	0,317	0,248	0,538	-0,113	-0,153
Beyin Kapsülü Genişliği	0,430	0,291	0,517	0,390	0,118
İnterorbital Daralma	-0,336	-0,269	-0,487	0,346	0,243
Foramen İnsisiva Uzunluğu	0,372	0,178	0,463	0,410	0,128
Arka ayak Uzunluğu	0,391	0,250	0,112	0,665	-0,119
İnterparietal Uzunluk	0,052	-0,010	0,083	-0,004	0,900

Sütunlardaki gri gölgelendirmeler her bir faktör ile aralarındaki korelasyonun (r) mutlak değeri 0,5'den büyük olan morfometrik karakterleri göstermektedir.

## 4.2 Moleküler Analizler

### 4.2.1 Sitokrom *b* bölgesine ilişkin filogenetik analizler

Türkiye'deki 26 farklı lokaliteden elde edilen 120 *Arvicola amphibius* örneği için toplam 42 haplotip belirlendi (Çizelge 4.9, EK 4 ve EK 5). Bu haplotipler her bir *A. amphibius* örneğine ait mitokondriyal DNA'nın toplam 1027 baz uzunluğundaki sitokrom *b* bölgesine ait DNA dizilerinden oluşan veri seti kullanılarak belirlendi. Analiz edilen 120 örneğe ait sitokrom *b* dizisinden oluşan veri setinde haplotip çeşitliliği değeri oldukça yüksek bulundu ( $h=0,95854$ ). Belirlenen 42 haplotip içinde altı farklı lokalitedeki popülasyonlardan toplam 18 bireyin taşıdığı Haplotip 29, frekansı en yüksek olan ve en yaygın haplotip olarak belirlendi (Çizelge 4.10).

Çizelge 4.9 *A. amphibius*'un 26 lokalitedeki popülasyonlarının sitokrom *b* bölgesindeki haplotipleri ve genetik çeşitlilik parametreleri

Popülasyonlar	Birey Sayısı	Haplotip Sayıları	Nükleotid Çeşitliliği ( $\pi$ )	Haplotip Çeşitliliği ( $h$ )
AFYON	5	3 (Hap_21, 22 ve 23)	0,00117	0,70000
ANKARA	5	2 (Hap_29 ve 30)	0,00078	0,40000
ARDAHAN	4	2 (Hap_7 ve 8)	0,00195	0,66667
BİTLİS	3	2 (Hap_9 ve 10)	0,00195	0,66667
BOLU	4	2 (Hap_30 ve 31)	0,00130	0,66667
ÇANKIRI	2	1 (Hap_32)	0,00000	0,00000
ÇORUM	5	1 (Hap_29)	0,00000	0,00000
DENİZLİ	9	3 (Hap_22, 24 ve 25)	0,00260	0,66667
ELAZIĞ	2	1 (Hap_11)	0,00000	0,00000
ERZURUM	5	3 (Hap_12, 13 ve 14)	0,00467	0,70000
ESKİŞEHİR	7	2 (Hap_21 ve 26)	0,00111	0,57143
HATAY	6	3 (Hap_4, 5 ve 6)	0,00143	0,73333
KAHRAMANMARAŞ	5	1 (Hap_33)	0,00000	0,00000
KARS	5	3 (Hap_7, 15 ve 16)	0,00253	0,70000
KAYSERİ	6	2 (Hap_34 ve 35)	0,00117	0,60000
KIRKLARELİ	10	3 (Hap_1, 2 ve 3)	0,00344	0,51111
KİRŞEHİR	8	3 (Hap_29, 36 ve 37)	0,00212	0,60714
KONYA	6	3 (Hap_21, 23 ve 28)	0,00110	0,73333
MUŞ	2	2 (Hap_10 ve 17)	0,00195	1,00000
SAMSUN	3	3 (Hap_29, 40 ve 41)	0,00260	1,00000
UŞAK	5	2 (Hap_24 ve 27)	0,01519	0,40000
VAN	4	3 (Hap_18, 19 ve 20)	0,00179	0,83333
SAKARYA	6	1 (Hap_39)	0,00000	0,00000
TOKAT	1	1 (Hap_42)	-	-
NİĞDE	1	1 (Hap_38)	-	-
KASTAMONU	1	1 (Hap_29)	-	-
<b>Bütün Popülasyonlar</b>	<b>120</b>	<b>-</b>	<b>0,04031</b>	<b>0,95854</b>

Çizelge 4.10 A. *amphibius*'un sitokrom *b* bölgesi haplotipleri

Haplotipler	Haplotip Frekansı	Lokaliteler ve Örnek Sayıları
Hap_1	2	KIRKLARELİ (2)
Hap_2	7	KIRKLARELİ (7)
Hap_3	1	KIRKLARELİ (1)
Hap_4	2	HATAY (2)
Hap_5	3	HATAY (3)
Hap_6	1	HATAY (1)
Hap_7	5	ARDAHAN (2), KARS (3)
Hap_8	2	ARDAHAN (2)
Hap_9	2	BİTLİS (2),
Hap_10	2	BİTLİS (1), MUŞ (1)
Hap_11	2	ELAZIĞ (2)
Hap_12	3	ERZURUM (3)
Hap_13	1	ERZURUM (1)
Hap_14	1	ERZURUM (1)
Hap_15	1	KARS (1)
Hap_16	1	KARS (1)
Hap_17	1	MUŞ (1)
Hap_18	2	VAN (2)
Hap_19	1	VAN (1)
Hap_20	1	VAN (1)
Hap_21	7	AFYON (3), ESKİŞEHİR (3), KONYA (1)
Hap_22	6	AFYON (1), DENİZLİ (5)
Hap_23	4	AFYON (1), KONYA (3)
Hap_24	6	DENİZLİ (2), UŞAK (4)
Hap_25	2	DENİZLİ (2)
Hap_26	4	ESKİŞEHİR (4)
Hap_27	1	UŞAK (1)
Hap_28	2	KONYA (2)
Hap_29	18	ANKARA (4), BOLU (2), ÇORUM (5), KASTAMONU (1), KIRŞEHİR (5), SAMSUN (1)
Hap_30	1	ANKARA (1)
Hap_31	2	BOLU (2)
Hap_32	2	ÇANKIRI (2)
Hap_33	5	KAHRAMANMARAŞ (5)
Hap_34	3	KAYSERİ (3)
Hap_35	3	KAYSERİ (3)
Hap_36	2	KIRŞEHİR (2)
Hap_37	1	KIRŞEHİR (1)
Hap_38	1	NİĞDE (1)
Hap_39	6	SAKARYA (6)
Hap_40	1	SAMSUN (1)
Hap_41	1	SAMSUN (1)
Hap_42	1	TOKAT (1)
<b>TOPLAM</b>	<b>120</b>	

A. *amphibius*'un 120 örneğinden oluşan veri setinde 817 bölge değişkenlik göstermezken (monomorfik, invariable), 210 bölgenin değişkenlik gösterdiği tespit edildi (polimorfik, variable). Parsimonik bilgilendirici bölge sayısı ise 171 olarak bulundu. TN93+G (Tamura ve Nei 1993) nükleotid değişim modeline göre ortalama

Transisyon/Transversiyon oranı ( $R$ ) 4,10 olarak hesaplandı. 1027 bazdan oluşan veri seti için nükleotid frekansları  $A = \% 28,12$ ,  $T/U = \% 29,97$ ,  $C = \% 27,59$  ve  $G = \% 14,32$  olarak bulundu. Veri setindeki nükleotidlerin değişim oranlarını gösteren matris maximum likelihood algoritmasına göre TN93+G (Tamura ve Nei 1993) nükleotid değişim modeli kullanılarak hesaplandı (Çizelge 4.11).

Çizelge 4.11. *A. amphibius*'un 120 örneğinin sitokrom *b* bölgesindeki nükleotid değişim oranları

	A	T/U	C	G
A	-	2,87	2,65	<b>13,78</b>
T/U	2,70	-	<b>19,17</b>	1,37
C	2,70	<b>20,82</b>	-	1,37
G	<b>27,05</b>	2,87	2,65	-

*Arvicola amphibius*'un mevcut soy hatlarının nispi pozisyonlarını belirleyebilmek için gerçekleştirilen filogenetik analizler sonrasında, dallanma biçimleri büyük oranda birbirinin benzeri olan NJ ve ML ağaçları ile dallanma biçimi her iki ağaçtan farklılık gösteren MP ağacı elde edildi. Oluşturulan evrimsel ağaçlarda genel olarak yüksek bootstrap değerleri ile birbirinden ayrılan beş temel genetik soy hattı belirlendi. Bunlar; Trakya ve Avrupa'daki farklı lokalitelerdeki mevcut haplotipleri içeren soy hattı, Batı Anadolu haplotiplerini içeren soy hattı, Orta Anadolu haplotiplerini içeren soy hattı, Hatay haplotiplerini içeren soy hattı ve Doğu Anadolu haplotiplerini içeren soy hattıdır. Soy hatlarını oluşturan lokaliteler Çizelge 4.12'de gösterildi.

Çizelge 4.12 *A. amphibius*'un beş farklı genetik soy hattını oluşturan populasyonların lokaliteleri

SOY HATLARI	POPULASYONLARIN LOKALİTELERİ
1 TRAKYA	Kırklareli
2 HATAY	Hatay
3 DOĞU ANADOLU	Erzurum, Kars, Ardahan, Van, Bitlis, Muş ve Elazığ
4 BATI ANADOLU	Eskişehir, Afyon, Uşak, Denizli ve Konya
5 ORTA ANADOLU	Bolu, Ankara, Sakarya, Kastamonu, Çankırı, Çorum, Tokat, Sivas, Kırşehir, Niğde, Kayseri, Kahramanmaraş ve Samsun

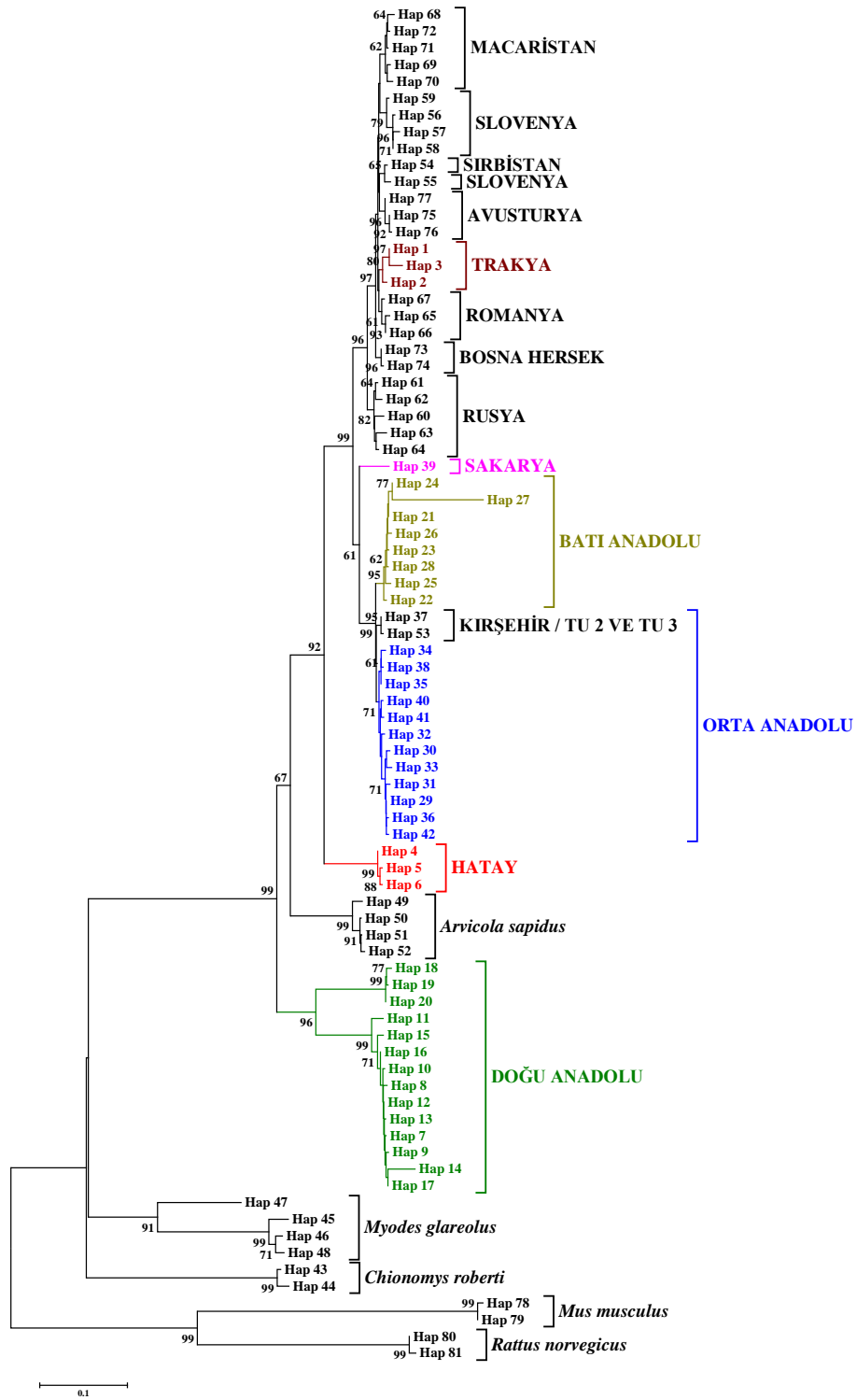
NJ ağacında Doğu Anadolu haplotipleri % 99 bootstrap değeri ile diğer bölgelerdeki haplotiplerden ayrıldı ve filogenetik ağacın en dışında gruplandı. Hatay haplotipleri % 92 bootstrap değeri ile Trakya ve *A. amphibius*'un Avrupa (GenBank) haplotiplerinden oluşan klad ile Anadolu'daki haplotiplerden oluşan kladdan daha dışarıda yer aldı. Trakya ve *A. amphibius*'un Avrupa (GenBank) haplotiplerinden oluşan klad ise Anadolu haplotiplerinden oluşan kladdan % 99 bootstrap değeri ile ayrıldı. Sakarya'dan elde edilen tek bir haplotip ile Anadolu haplotipleri nispeten düşük bir bootstrap desteği ile (% 61) birbirlerinden ayrıldı. Anadolu haplotipleri ise kendi içinde % 99 bootstrap desteği ile Batı Anadolu ile Orta Anadolu haplotipleri olmak üzere iki ayrı dala ayrıldı (Şekil 4.4).

ML ağacında ortaya çıkan benzer dallanma biçiminde Doğu Anadolu haplotipleri düşük bootstrap değeri ile (% 41) yine diğer bölgelerdeki haplotiplerden dışarıda kümelendi. Hatay haplotipleri NJ ağacındakine yakın bootstrap değeri ile (% 85) Trakya ile *A. amphibius*'un Avrupa (GenBank) haplotipleri ve Anadolu haplotiplerinden oluşan kladdan ayrıldı. Trakya ile *A. amphibius*'un Avrupa (GenBank) haplotipleri NJ ağacının aksine, nispeten daha düşük bir bootstrap değeri ile (% 76) Anadolu haplotiplerinden ayrıldı. Sakarya haplotipi NJ ağacına göre yüksek bootstrap desteği ile (% 86) Anadolu'daki haplotiplerden daha dışarıda yer aldı. Anadolu haplotipleri de kendi içerisinde NJ ağacındakine yakın ve oldukça yüksek bir bootstrap değeri ile (% 98) Batı Anadolu haplotipleri ile Orta Anadolu haplotiplerini içeren iki ayrı dala ayrıldı (Şekil 4.5).

MP ağacının dallanma biçimi neredeyse NJ ağacının dallanma biçimi ile aynıydı ve bu ağaçta da Doğu Anadolu haplotipleri yüksek bootstrap desteği ile (% 99) diğer haplotiplerin dışında yer aldı. Hatay haplotipleri diğer iki filogenetik ağaca benzer şekilde ancak daha düşük bir bootstrap desteği ile (% 74) diğer haplotiplerden daha dışarıda gruplandı. Trakya ile *A. amphibius*'un Avrupa (GenBank) haplotipleri yüksek bootstrap değeri ile Anadolu haplotiplerinden ayrıldı (% 94). Sakarya haplotipi % 77 bootstrap değeri ile Anadolu'daki diğer haplotiplerden ayrıldı. Anadolu haplotipleri NJ ve ML ağaçlarındakine benzer şekilde yüksek bootstrap desteği olarak (% 99) Orta Anadolu ile Batı Anadolu haplotiplerinden oluşan iki klada ayrıldı (Şekil 4.6).

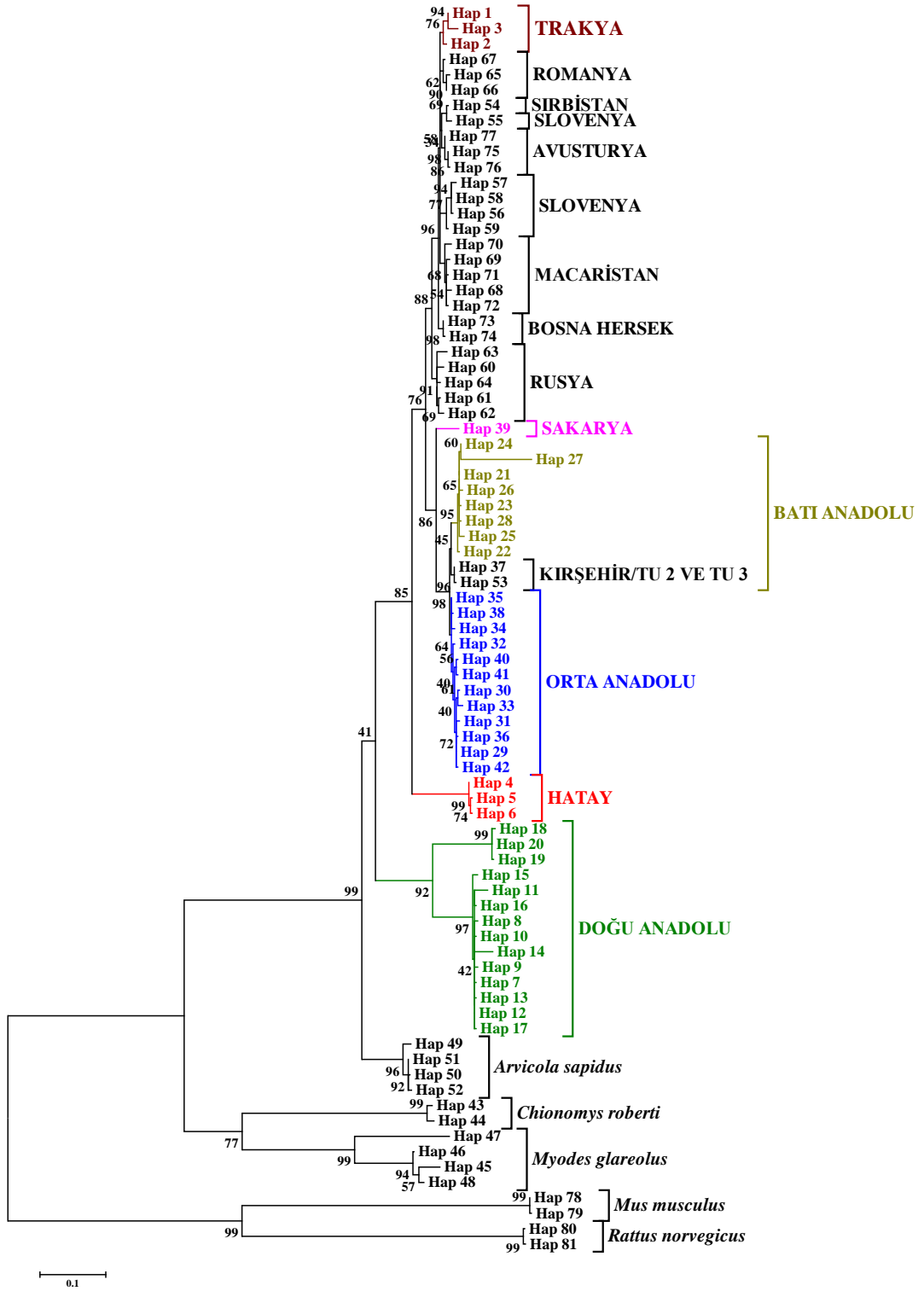
Bütün evrimsel ağaçlarda Sakarya haplotipi Anadolu haplotiplerinden daha dışarıda yer aldı. Kırşehir/TU2 (Haplotip 37) ve TU3 haplotipi (Haplotip 53, Kryštufek vd. 2014) NJ ağacında Orta Anadolu haplotipleri ile beraber gruplanırken, ML ve MP ağaçlarında Batı Anadolu haplotiplerinin dışında bu haplotiplere daha yakın olacak şekilde gruplandı. Analizlerde dış grup olarak kullanılan *Mus musculus*, *Rattus norvegicus*, *Chionomys roberti* ve *Myodes glareolus* türlerine ait haplotiplerin pozisyonu bütün filogenetik ağaçlarda hemen hemen aynıydı ve bu haplotipler doğal olarak her üç filogenetik ağaçta en dışta gruplandı. *Arvicola sapidus* haplotipleri ise NJ ve MP ağaçlarında Doğu Anadolu haplotiplerine göre daha içeride yer alırken ML ağacında daha dışarıda yer aldı.





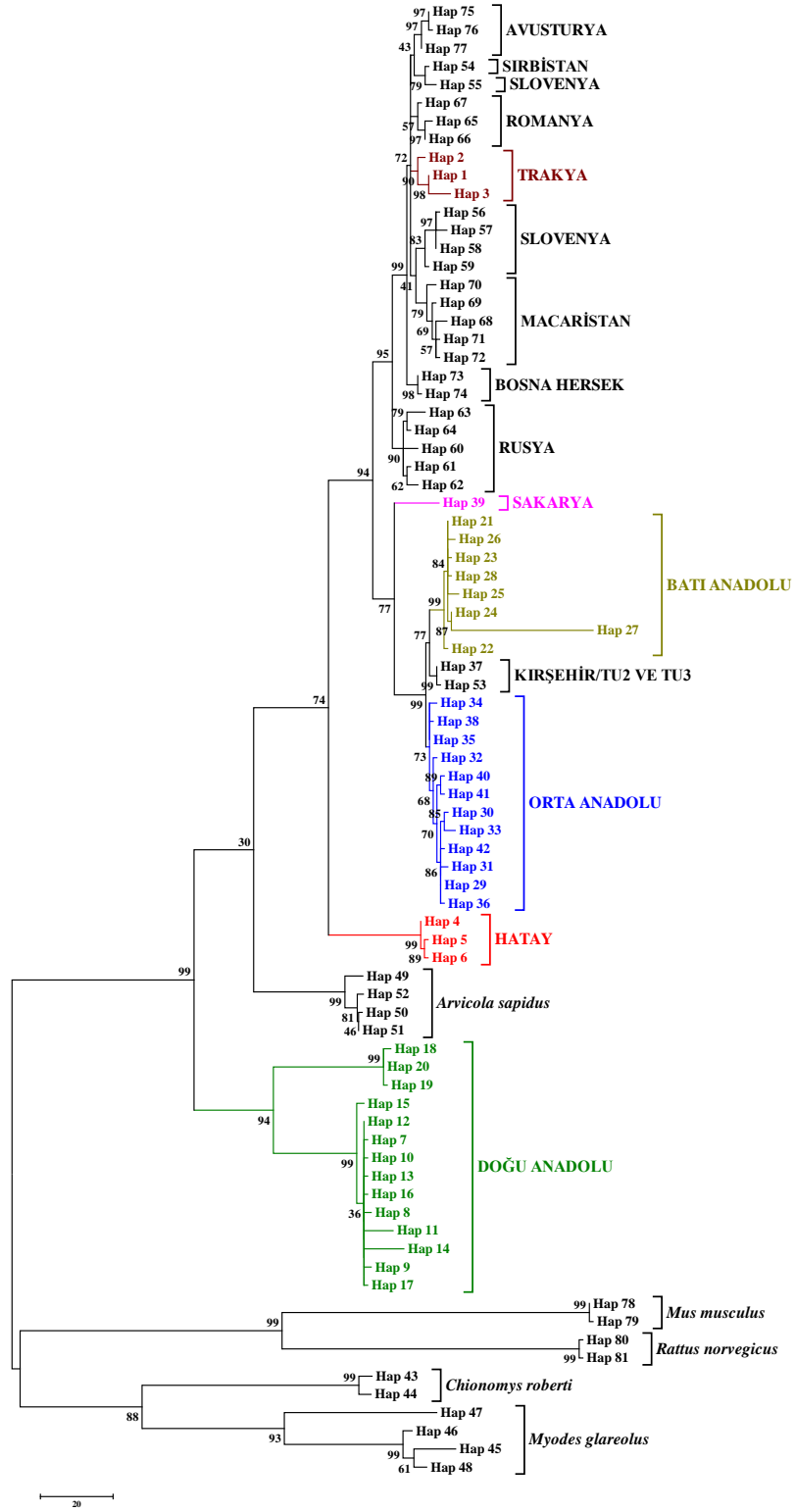
Şekil 4.4 *A. amphibius*'un 42 haplotipi ile dış gruplara ait haplotiplerin sitokrom *b* verilerinden Kimura 2-Parametresine göre oluşturulan Neighbor-Joining ağacı

Nodlar üzerindeki rakamlar bootstrap değerlerini belirtmektedir. TU2 ve TU3 Kryštufek vd. (2014) tarafından verilen Türkiye haplotiplerini göstermektedir.



Şekil 4.5 *A. amphibius*'un 42 haplotipi ile dış gruplara ait haplotiplerin sitokrom *b* TN93+G nükleotid değişim modeline göre oluşturulan Maximum Likelihood ağacı

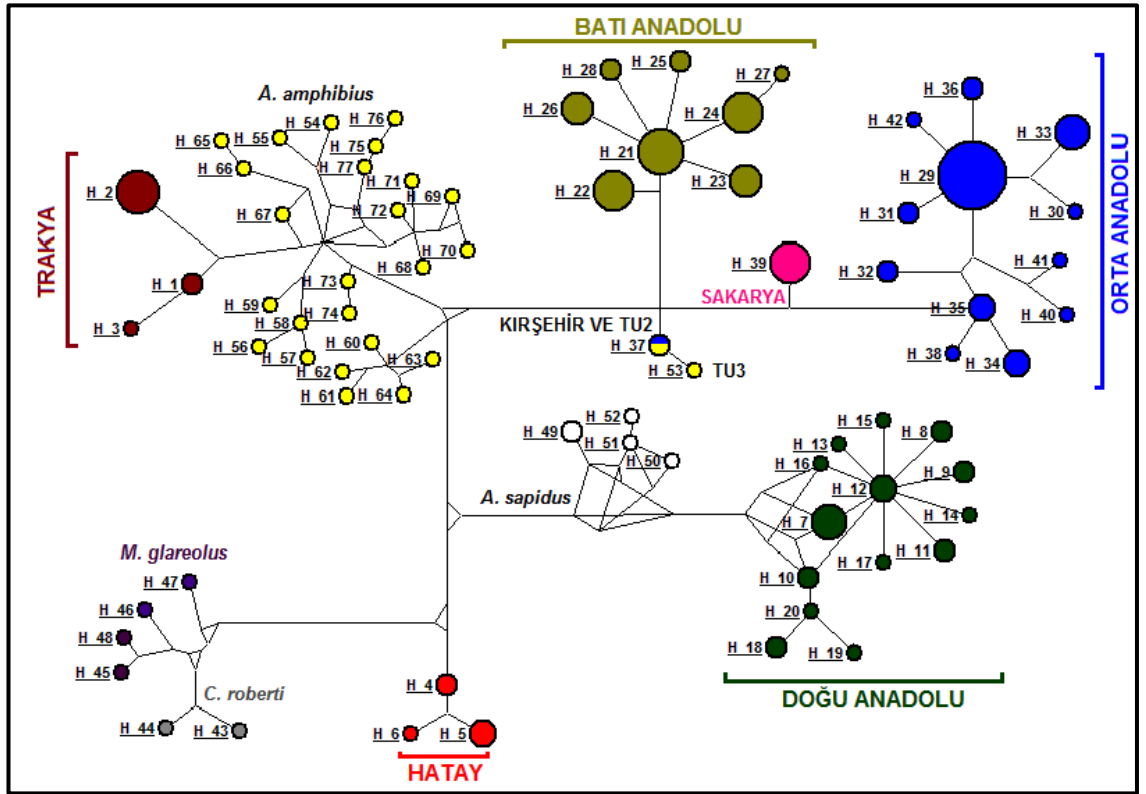
Nodlar üzerindeki rakamlar bootstrap değerlerini belirtmektedir. TU2 ve TU3 Kryštufek vd. (2014) tarafından verilen Türkiye haplotiplerini göstermektedir.



Şekil 4.6 A. amphibius'un 42 haplotipi ile dış gruplara ait haplotiplerin sitokrom b verilerinden TBR metoduna göre oluşturulan Maximum Parsimony ağacı

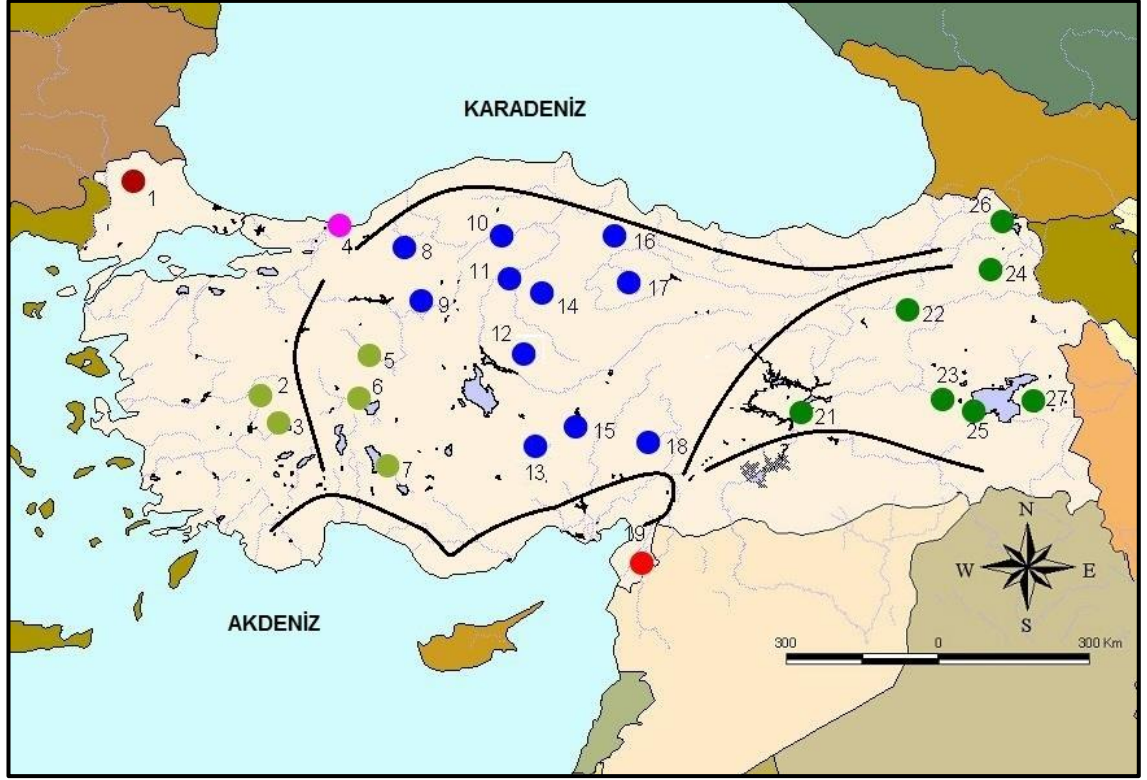
Nodlar üzerindeki rakamlar bootstrap değerlerini belirtmektedir. TU2 ve TU3 Kryštufek vd. (2014) tarafından verilen Türkiye haplotiplerini göstermektedir.

Filogenetik ağaçlar ile benzer olarak, median-joining yöntemi ile oluşturulan haplotipler arasındaki evrimsel ilişki örgüsü temelinde 5 ana haplotip grubu (genetik soy hattı/soy hattı) ortaya çıkardı. Bunlar; Trakya haplotipleri ve Avrupa haplotiplerinden oluşan grup, Batı Anadolu haplotip grubu, Orta Anadolu haplotip grubu, Doğu Anadolu haplotip grubu ve Hatay haplotip grubudur (Şekil 4.7). Her bir soy hattına (haplotip grubu) ait haplotiplerin Türkiye’deki dağılımı şekil 4.8’de gösterildi.



Şekil 4.7 *A. amphibius* populasyonlarında belirlenen 42 sitokrom *b* haplotipi ile dış gruplara ait haplotiplerden oluşturulan evrimsel ilişki örgüsü

Haplotiplerin numaraları her bir dairenin yanında belirtilmiştir. Çizelge 4.10’da her bir haplotipin lokalitesi ve o haplotipe sahip örnek sayısı açıklanmıştır. Her bir haplotipi gösteren dairelerin boyutu haplotip frekansları ile orantılıdır. En küçük daire 1 en büyük daire 18 haplotipi göstermektedir.



Şekil 4.8 A. *amphibius*'un sitokrom *b* haplotiplerinin Türkiye'deki coğrafik dağılımı

1. İncece (Kırklareli), 2. Yenişehir (Uşak), 3. Çivril (Denizli), 4. Kocaali (Sakarya), 5. Gülçayır (Eskişehir), 6. Eber Gölü (Afyon), 7. Beyşehir (Konya), 8. Yeniçağa (Bolu), 9. Ayaş (Ankara), 10. Tosya (Kastamonu), 11. Kızılırmak (Çankırı), 12. Kılıçözü Deresi (Kırşehir), 13. Akkaya Baraj Gölü (Niğde), 14. Sungurlu-Alaca Karayolu (Çorum), 15. Ovaçiftliği-Kuşçu Köyleri sınırı (Kayseri), 16. Ladik (Samsun), 17. Kaz Gölü (Tokat), 18. Göksun (Kahramanmaraş), 19. Reyhanlı (Hatay), 21. Sivrice (Elazığ), 22. Erzurum'un 20 km. doğusu, 23. Altınova kavşağı (Muş), 24. Selim (Kars), 25. Tatvan (Bitlis), 26. Çamlıçatak (Ardahan), 27. Erçek Gölü (Van). 20 numaralı lokalite olan Kangal'dan (Sivas) elde edilen örnek sitokrom *b* analizlerinde kullanılmadığından harita üzerinde gösterilmemiştir. Harita üzerindeki daireler renklerine göre haplotip gruplarını temsili olarak göstermektedir; Bordo: Trakya, Açık yeşil: Batı Anadolu, Mavi: Orta Anadolu, Koyu yeşil: Doğu Anadolu ve Kırmızı: Hatay. Pembe daire ise Sakarya haplotiplerini göstermektedir. Türkiye genelinde belirlenen 42 haplotipin lokalitelere göre dağılımı çizelge 4.9 ve 4.10'da açıklanmıştır.

#### 4.2.2 Sitokrom *b* bölgesinin genetik yapısına ilişkin analizler

*Arvicola amphibius* mitokondriyal DNA'sının sitokrom *b* gen bölgesinin genetik çeşitlilik ve genetik farklılaşma analizleri, filogenetik analizler sonrasında oluşan beş temel soy hattı ile beraber analizlerde kullanılan dış gruplar üzerinden gerçekleştirildi. Analizlerde filogenetik ağaçlarda ayrı olarak yer alan Sakarya ve Kırşehir haplotipleri coğrafik konumu dolayısıyla Orta Anadolu haplotipleri ile beraber değerlendirildi. Buna göre 14 haplotip ile en yüksek haplotip sayıları Doğu Anadolu ile Orta Anadolu

soy hatlarında belirlendi. Tüm soy hatları bir arada değerlendirildiğinde yüksek nükleotid çeşitliliğinden söz edilebilirken, her bir soy hattı için ayrı değerlendirmeler yapıldığında nükleotid çeşitliliğinin düşük seviyede olduğu gözlemlendi. En yüksek nükleotid çeşitliliğinin Doğu Anadolu soy hattında olduğu belirlendi (Çizelge 4.13).

Populasyonlar arasındaki genetik mesafe değeri jModeltest 0.1.1 (Posada 2008) tarafından belirlenen TN93+G (Tamura ve Nei 1993) nükleotid değişim modeli ve Kimura 2-Parametresi (Kimura 1980) kullanılarak hesaplandı. Buna göre her iki model kullanılarak elde edilen sonuçlarda en yüksek genetik mesafe değerinin Doğu Anadolu soy hattı ile diğer dört soy hattı arasında olduğu belirlendi. En düşük genetik mesafe değerinin ise Orta Anadolu soy hattı ile Batı Anadolu soy hattı arasında olduğu bulundu (Çizelge 4.14 - 4.15).

*Arvicola amphibius* populasyonlarının mtDNA sitokrom *b* bölgesinde gözlenen varyasyonun kaynağını açıklayabilmek için gerçekleştirilen moleküler varyans analizi (AMOVA) sonucunda soy hatları arasındaki farklılığın nedeninin populasyon içindeki bireyler ya da soy hatlarını oluşturan populasyonlar arasındaki varyasyondan ziyade büyük oranda soy hatları arasındaki varyasyon olduğu belirlendi. Ancak, toplam varyasyonun küçük bir kısmını açıklayan soy hatlarını oluşturan populasyonlar arası ve populasyonlar içindeki bireylerden kaynaklanan varyasyonlara ait fiksasyon indeksleri de anlamlı bulundu (Çizelge 4.16).

Çizelge 4.13 *A. amphibius*'un sitokrom *b* soy hatlarına ait genetik çeşitlilik parametreleri

Soy Hatları	Birey Sayısı (N)	Haplotip Sayısı	Nükleotid Çeşitliliği ( $\pi$ )	Haplotip çeşitliliği (h)
Trakya	10	3	0,00344	0,51111
Hatay	6	3	0,00143	0,73333
Doğu Anadolu	25	14	0,01857	0,94000
Batı Anadolu	32	8	0,00446	0,86895
Orta Anadolu	47	14	0,00789	0,82701
<b>BÜTÜN SOY HATLARI</b>	<b>120</b>	<b>42</b>	<b>0,04031</b>	<b>0,95854</b>

Çizelge 4.14 *A. amphibius*'un beş farklı sitokrom *b* soy hattı ve dış gruplar arasındaki TN93+G mesafesine göre hesaplanan genetik uzaklıklar ve standart sapmaları

SOY HATLARI (TN93+G)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1.TRAKYA		0,008	0,011	0,005	0,005	0,020	0,018	0,009	0,005	0,002	0,028	0,026
2.HATAY	0,055		0,011	0,008	0,007	0,021	0,017	0,010	0,007	0,007	0,024	0,025
3.D. ANADOLU	0,095	0,102		0,011	0,010	0,020	0,017	0,010	0,011	0,011	0,026	0,024
4.O. ve B. ANADOLU	0,034	0,057	0,103		0,003	0,021	0,018	0,009	0,002	0,005	0,028	0,025
5.O.ve K. ANADOLU	0,032	0,054	0,100	0,014		0,020	0,018	0,009	0,002	0,005	0,029	0,025
6. <i>Chionomys roberti</i>	0,215	0,202	0,205	0,215	0,211		0,015	0,020	0,021	0,020	0,022	0,024
7. <i>Myodes glareolus</i>	0,203	0,186	0,204	0,205	0,204	0,157		0,017	0,018	0,018	0,022	0,022
8. <i>Arvicola sapidus</i>	0,071	0,080	0,086	0,083	0,081	0,201	0,190		0,009	0,008	0,026	0,024
9.TU	0,030	0,054	0,100	0,007	0,011	0,215	0,204	0,082		0,005	0,028	0,025
10.AVRUPA	0,012	0,056	0,098	0,033	0,031	0,210	0,204	0,072	0,030		0,027	0,026
11. <i>Mus musculus</i>	0,318	0,283	0,299	0,317	0,322	0,275	0,277	0,304	0,320	0,311		0,019
12. <i>Rattus norvegicus</i>	0,299	0,283	0,294	0,289	0,290	0,280	0,270	0,283	0,290	0,297	0,210	

Diyagonalin alt kısmı genetik uzaklıkları üst kısmı ise standart sapmaları göstermektedir (TU: Türkiye haplotipleri Kryštufek vd. (2014)).

Çizelge 4.15 *A. amphibius*'un beş farklı sitokrom *b* soy hattı ve dış gruplar arasında Kimura 2-Parametresine göre hesaplanan genetik uzaklık matrisi

SOY HATLARI (K2P)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1.TRAKYA		0,007	0,009	0,005	0,005	0,013	0,012	0,008	0,005	0,002	0,017	0,017
2.HATAY	0,052		0,009	0,007	0,007	0,014	0,012	0,008	0,007	0,006	0,016	0,016
3.D. ANADOLU	0,086	0,092		0,009	0,009	0,013	0,012	0,008	0,009	0,009	0,016	0,015
4.O. ve B. ANADOLU	0,033	0,054	0,093		0,003	0,014	0,012	0,008	0,002	0,005	0,017	0,016
5.O.ve K. ANADOLU	0,031	0,051	0,091	0,014		0,013	0,012	0,008	0,002	0,004	0,017	0,016
6. <i>Chionomys roberti</i>	0,179	0,169	0,172	0,178	0,175		0,011	0,013	0,014	0,013	0,014	0,016
7. <i>Myodes glareolus</i>	0,170	0,158	0,172	0,173	0,172	0,137		0,012	0,012	0,012	0,014	0,014
8. <i>Arvicola sapidus</i>	0,067	0,074	0,080	0,077	0,076	0,169	0,162		0,008	0,007	0,016	0,016
9.TU	0,029	0,051	0,091	0,007	0,010	0,178	0,172	0,076		0,004	0,017	0,016
10.AVRUPA	0,011	0,053	0,089	0,032	0,030	0,175	0,171	0,067	0,029		0,017	0,017
11. <i>Mus musculus</i>	0,253	0,233	0,242	0,252	0,254	0,227	0,228	0,244	0,253	0,250		0,013
12. <i>Rattus norvegicus</i>	0,241	0,230	0,239	0,234	0,235	0,228	0,220	0,231	0,235	0,240	0,178	

Diyagonalin alt kısmı genetik uzaklıkları üst kısmı ise standart sapmaları göstermektedir (TU: Türkiye haplotipleri Kryštufek vd. 2014).

Soy hatları arasındaki genetik farklılaşmanın derecesini ve gen akışının seviyesini belirlemek amacıyla fiksasyon indisi olarak bilinen  $F_{ST}$  değerleri ve gen akışı parametresi olarak bilinen  $Nm$  değerleri hesaplandı. En yüksek genetik farklılığın Hatay/Batı Anadolu soy hatları arasında, en düşük genetik farklılığın ise Batı Anadolu/Orta Anadolu soy hatları arasında olduğu belirlendi. Gen akışı değerlerine bakıldığında ise en düşük gen akışı değerinin Hatay/Batı Anadolu ile Trakya/Hatay soy

hatları arasında olduğu tespit edildi. En yüksek gen akışı değeri ise Trakya/Orta Anadolu soy hattı arasında bulundu (Çizelge 4.17).

Çizelge 4.16 *A. amphibius* sitokrom *b* soy hatlarına ilişkin moleküler varyans analizi (AMOVA) sonuçları

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi (df)	Kareler toplamı	Varyans bileşenleri	Varyasyon yüzdesi
Soy hatları arası	4	1957,587	21,25462 Va	79,80
Soy hatlarının oluşturan popülasyonlar arası	21	395,293	4,20562 Vb	15,79
Popülasyonlar içi	94	110,537	1,17592 Vc	4,41
<b>Toplam</b>	<b>119</b>	<b>2463,417</b>	<b>26,63616</b>	
<b>Fiksasyon indeksleri</b>				
FSC :	0,78149 (Vb)	P<0,000		
FST :	0,95585 (Vc)	P<0,000		
FCT :	0,79796 (Va)	P<0,000		

Çizelge 4.17 *A. amphibius*'un sitokrom *b* soy hatları arasındaki genetik farklılaşma ( $F_{ST}$ ) ve gen akışı ( $N_m$ ) değerleri

$F_{ST} / N_m$	1	2	3	4	5
<b>1.TRAKYA</b>		0,05	0,11	0,14	0,18
<b>2.HATAY</b>	0,91402		0,09	0,04	0,08
<b>3.DOĞU ANADOLU</b>	0,81381	0,83550		0,13	0,16
<b>4.BATI ANADOLU</b>	0,78611	0,92194	0,79110		0,41
<b>5.ORTA ANADOLU</b>	0,73381	0,86346	0,76172	0,42006	

Diagonalin alt kısmı  $F_{ST}$ , üst kısmı  $N_m$  değerlerini göstermektedir

*Arvicola amphibius*'a ait beş farklı soy hattının demografik geçmişlerine yönelik çıkarsamalar hem popülasyon büyümesi-düşüşü hem de sabit popülasyon büyüklüğü modeli kullanılarak uyumsuzluk dağılımı analizi ile belirlendi. Böylelikle haplotip çiftleri arasındaki gözlenen ikili nükleotid farklılıklarının sayısının dağılımı ortaya çıkarıldı. Bu dağılımın şekli demografik olarak istikrarlı bir yapı gösteren popülasyonlarda çok tepelidir (multimodal), bunun aksine, yakın geçmişte demografik genişleme yaşamış ya da ani popülasyon genişlemesine maruz kalmış popülasyonlarda ise tek tepeli (unimodal) bir dağılım görülür. Ayrıca, bu analiz ile varyasyon kareler toplamı (SSD) ve Raggedness istatistiği ( $rg$ ) ile bu istatistiklere ait önem dereceleri ( $p$ )



belirlendi. Analiz sonrasında her iki istatistik için belirlenen küçük değerler, eğer istatistiksel olarak da anlamlı bulunurlarsa ( $p < 0.05$ ), yakın zamanda genişlemeye maruz kalmış populasyonları ifade eder; büyük değerler ise demografik açıdan kararlı olan ya da populasyon darboğazı yaşayan populasyonları işaret eder. Bu analizlere ilaveten, populasyonların seçilim baskısına maruz kalıp kalmadığını tespit edebilmek için Tajima's  $D$  (Tajima 1989) ve Fu's  $F_S$  (Fu 1997) istatistikleri hesaplandı. Populasyon genişlemesi gibi populasyonun boyutunda görülen değişimler ya da doğrudan seçilim baskısı altındaki herhangi bir lokus,  $D$  istatistiğinin negatif değer almasına neden olur. Aksi yönde, ana populasyonun alt populasyonlara ayrılması, dengeli seçilim ya da, yakın zamanda gerçekleşen populasyon darboğazı bu istatistiğin pozitif değer almasına neden olur. Fu's  $F_S$  değeri ise populasyonların demografik genişlemesine karşı oldukça hassastır ve genişleme görülen populasyonlarda negatif yönde büyük değerler belirlenir.

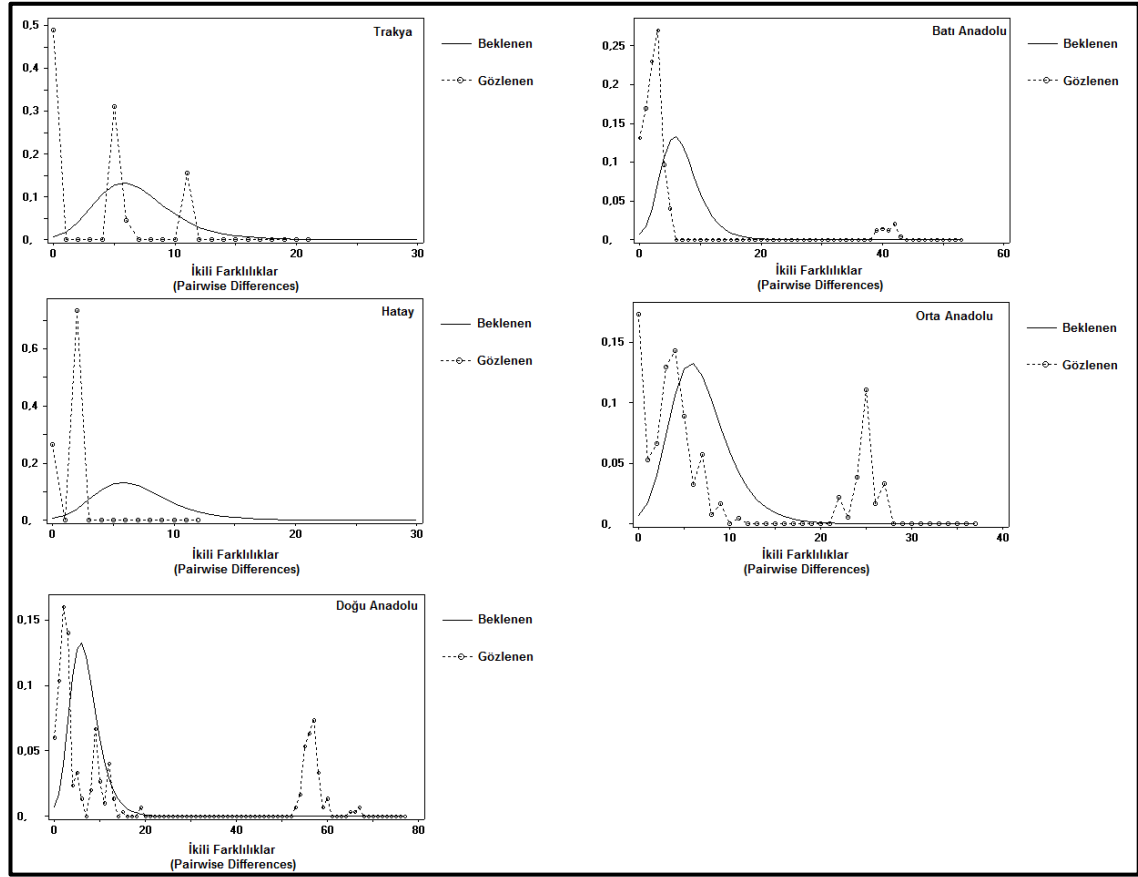
Uyumsuzluk dağılımı analizi ile hem sabit populasyon büyüklüğü hem de populasyon büyümesi-düşüşü modelleri altında, bütün soy hatlarına ilişkin ikili nükleotid farklılıkların dağılımını gösteren grafikler çok tepeli (multimodal) olarak belirlendi (Şekil 4.9).

Trakya populasyonu için SSD, Hatay populasyonu için de Raggedness istatistiği anlamlı bulundu (Çizelge 4.18).

Tajima's  $D$  istatistiği Hatay soy hattında pozitif, diğer soy hatlarında küçük negatif değerlerde hesaplandı ve Batı Anadolu soy hattı dışında istatistiksel olarak anlamsız bulundu. Fu's  $F_S$  değerleri bütün soy hatları için pozitif ve istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (Çizelge 4.19). Böylelikle bütün soy hatlarının yakın geçmişte genişlemeye maruz kalmadığı ve demografik kararlılıkta olduğu tespit edildi.

*Arvicola amphibius* populasyonları arasındaki genetik farklılaşma ile uzaklık arasındaki ilişki mesafeye bağlı yalıtım (isolation by distance) yöntemi ile araştırıldı. Bu yöntemde populasyonlar arasındaki genetik farklılaşma matrisi ile kuş uçuşu mesafelerin hesaplanmasından oluşan uzaklık matrisi arasındaki korelasyon Mantel testi (Mantel

1967) ile hesaplandı. Buna göre sitokrom *b* veri seti kullanılarak elde edilen genetik farklılaşma matrisi ile uzaklık matrisi arasında pozitif yönde orta dereceli korelasyon tespit edildi ( $r = 0,50080$ ). Analiz sonuçları şekil 4.10'da gösterildi.



Şekil 4.9 *A. amphibius*'un sitokrom *b* soy hatlarının uyumsuzluk dağılımı grafikleri

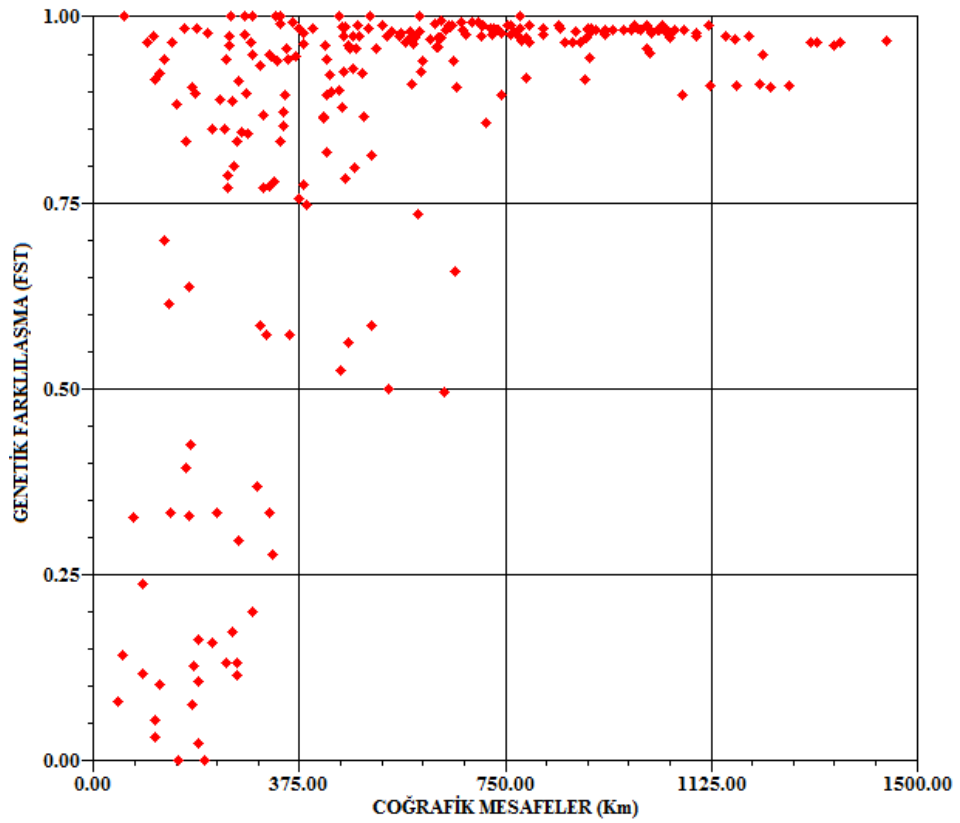
Çizelge 4.18 *A. amphibius*'un sitokrom *b* uyumsuzluk dağılımı analizine ilişkin sonuçlar

SOY HATLARI	$\tau$	$\theta_0$	$\theta_1$	SSD	P	<i>rg</i>	P
TRAKYA	0,0	0,00000	99999,00000	0,38420	0,00000	0,45728	0,94000
HATAY	2,3	0,00000	99999,00000	0,29990	0,04000	1,14667	0,05000
DOĞU ANADOLU	0,7	5,07305	99999,00000	0,03193	0,41000	0,03042	0,41000
BATI ANADOLU	2,6	0,00176	17,42188	0,00994	0,28000	0,04212	0,58000
ORTA ANADOLU	3,9	1,86836	6,41113	0,03134	0,25000	0,04587	0,38000

$\tau = 2ut$ , mutasyon oranı ve popülasyon genişleme zamanına göre popülasyon büyümesine ilişkin parametre,  $\theta_0$  = genişleme öncesi popülasyon büyüklüğü,  $\theta_1$  = genişleme sonrası popülasyon büyüklüğü, SSD = varyasyon karelerinin toplamı, *rg* = raggedness istatistiği, P = istatistiklere ait önem dereceleri

Çizelge 4.19 *A.amphibius*'un sitokrom *b* soy hatlarına ilişkin nötralite testleri

	TRAKYA	HATAY	DOĞU ANADOLU	BATI ANADOLU	ORTA ANADOLU
Tajima's <i>D</i>	-0,40883	0,60031	-0,55928	-2,29710	-0,36124
P	0,35200	0,72200	0,31100	0,00100	0,41600
Fu's <i>F<sub>S</sub></i> testi	3,61969	0,46205	2,09484	1,79278	1,38523
P	0,94700	0,50500	0,83100	0,77800	0,73900



Şekil 4.10. Sitokrom *b* verilerine göre coğrafik mesafe ve genetik farklılaşma arasındaki ilişkiyi gösteren grafik

#### 4.2.3 Kontrol bölgesine ilişkin filogenetik analizler

Türkiye’deki 26 farklı lokaliteden elde edilen 120 *Arvicola amphibius* örneği için toplam 28 haplotip belirlendi (Çizelge 4.20, EK 6 ve EK 7). Bu haplotipler her bir *A. amphibius* örneğine ait mitokondriyal DNA’nın toplam 553 ve 558 arasında değişen uzunluktaki kontrol bölgesine ait DNA dizilerinden oluşan veri seti kullanılarak belirlendi. Veri setinde toplam 83 nükleotid pozisyonu boşluklardan (gap) oluştu. Analiz edilen 120 kontrol bölgesi dizisinden oluşan veri setinde haplotip çeşitliliği değeri oldukça yüksek bulundu ( $h=0,95034$ ). Belirlenen 28 haplotip içinde, beş farklı lokalitedeki populasyonlardan toplam 16 bireyin taşıdığı Haplotip 19, frekansı en yüksek olan ve en yaygın haplotip olarak belirlendi (Çizelge 4.21).

Çizelge 4.20 *A. amphibius*’un 26 lokalitedeki populasyonlarının kontrol bölgesindeki haplotipleri ve genetik çeşitlilik parametreleri

Populasyonlar	Birey Sayısı	Haplotip Sayısı	Nükleotid Çeşitliliği ( $\pi$ )	Haplotip Çeşitliliği ( $h$ )
AFYON	5	3 (Hap_1, 14 ve 15)	0,01134	0,70000
ANKARA	5	2 (Hap_19 ve 20)	0,00081	0,40000
ARDAHAN	4	2 (Hap_7 ve 8)	0,00270	0,66667
BİTLİS	3	2 (Hap_9 ve 10)	0,00405	0,66667
BOLU	4	1 (Hap_19)	0,00000	0,00000
ÇANKIRI	2	1 (Hap_21)	0,00000	0,00000
ÇORUM	5	1 (Hap_19)	0,00000	0,00000
DENİZLİ	9	4 (Hap_14, 15, 16 ve 17)	0,00236	0,77778
ELAZIĞ	2	1 (Hap_11)	0,00000	0,00000
ERZURUM	5	2 (Hap_7 ve 12)	0,00567	0,40000
ESKİŞEHİR	7	1 (Hap_1, 14 ve 15)	0,00000	0,00000
HATAY	6	3 (Hap_14)	0,00202	0,60000
KAHRAMANMARAŞ	5	1 (Hap_20)	0,00000	0,00000
KARS	5	2 (Hap_7 ve 10)	0,00121	0,60000
KAYSERİ	6	1 (Hap_23)	0,00000	0,00000
KIRKLARELİ	10	3 (Hap_1, 2 ve 3)	0,00639	0,51111
KIRŞEHİR	8	3 (Hap_1, 14 ve 15)	0,00311	0,60714
KONYA	6	2 (Hap_19, 24 ve 25)	0,00216	0,53333
MUŞ	2	2 (Hap_7 ve 10)	0,00202	1,00000
SAMSUN	3	2 (Hap_20 ve 28)	0,03509	0,66667
UŞAK	5	1 (Hap_16)	0,00000	0,00000
VAN	4	1 (Hap_13)	0,00000	0,00000
SAKARYA	6	2 (Hap_27)	0,00135	0,33333
TOKAT	1	1 (Hap_19)	-	-
SİVAS	1	1 (Hap_20)	-	-
KASTAMONU	1	1 (Hap_22)	-	-
<b>Bütün Populasyonlar</b>	120	-	0,02646	0,95034

Çizelge 4.21 *A. amphibius*'un kontrol bölgesi haplotipleri

Haplotipler	Haplotip Frekansı	Lokaliteler ve Örnek Sayıları
Hap_1	8	KIRKLARELİ (7), AFYON (1)
Hap_2	2	KIRKLARELİ (2)
Hap_3	5	KIRKLARELİ (1), KONYA (4)
Hap_4	4	HATAY (4)
Hap_5	1	HATAY (1)
Hap_6	1	HATAY (1)
Hap_7	10	ARDAHAN (2), ERZURUM (4), KARS (3), MUŞ (1)
Hap_8	2	ARDAHAN (2)
Hap_9	2	BİTLİS (2),
Hap_10	4	BİTLİS (1), KARS (2), MUŞ (1)
Hap_11	2	ELAZIĞ (2)
Hap_12	1	ERZURUM (1)
Hap_13	4	VAN (4)
Hap_14	12	AFYON (3), DENİZLİ (2), ESKİŞEHİR (7)
Hap_15	5	AFYON (1), DENİZLİ (4)
Hap_16	7	DENİZLİ (2), UŞAK (5)
Hap_17	1	DENİZLİ (1)
Hap_18	2	KONYA (2)
Hap_19	16	ANKARA (4), BOLU (4), ÇORUM (5), KIRŞEHİR (2), TOKAT (1)
Hap_20	9	ANKARA (1), KAHRAMANMARAŞ (5), SİVAS (1), SAMSUN (2)
Hap_21	2	ÇANKIRI (2)
Hap_22	1	KASTAMONU (1)
Hap_23	6	KAYSERİ (6)
Hap_24	5	KIRŞEHİR (5)
Hap_25	1	KIRŞEHİR (1)
Hap_26	1	SAKARYA (1)
Hap_27	5	SAKARYA (5)
Hap_28	1	SAMSUN (1)
<b>TOPLAM</b>	<b>120</b>	

Hizalama sonrasında toplam 553 ve 558 nükleotidden oluşan veri setinde 475 bölge değişkenlik göstermezken (monomorfik, invariable), 73 bölgenin değişkenlik gösterdiği tespit edildi (polimorfik, variable). Parsimonik bilgilendirici bölge sayısı ise 56 olarak bulundu. HKY+G (Hasegawa vd. 1985) nükleotid değişim modeline göre ortalama Transisyon/Transversiyon oranı ( $R$ ) 3,25 olarak hesaplandı. Boşluklar hariç tutulduğunda örneklere göre 553 ve 558 nükleotidden oluşan veri seti için nükleotid frekansları A = % 32,45, T= % 27,61, C = % 24,94 ve G = % 14,99 olarak bulundu. Veri setindeki nükleotidlerin değişim oranlarını gösteren matris maximum likelihood algoritmasına göre HKY+G (Hasegawa vd. 1985) nükleotid değişim modeli kullanılarak hesaplandı (Çizelge 4.22).

Çizelge 4.22 *A. amphibius*'un 120 örneğinin kontrol bölgesindeki nükleotid değişim oranları

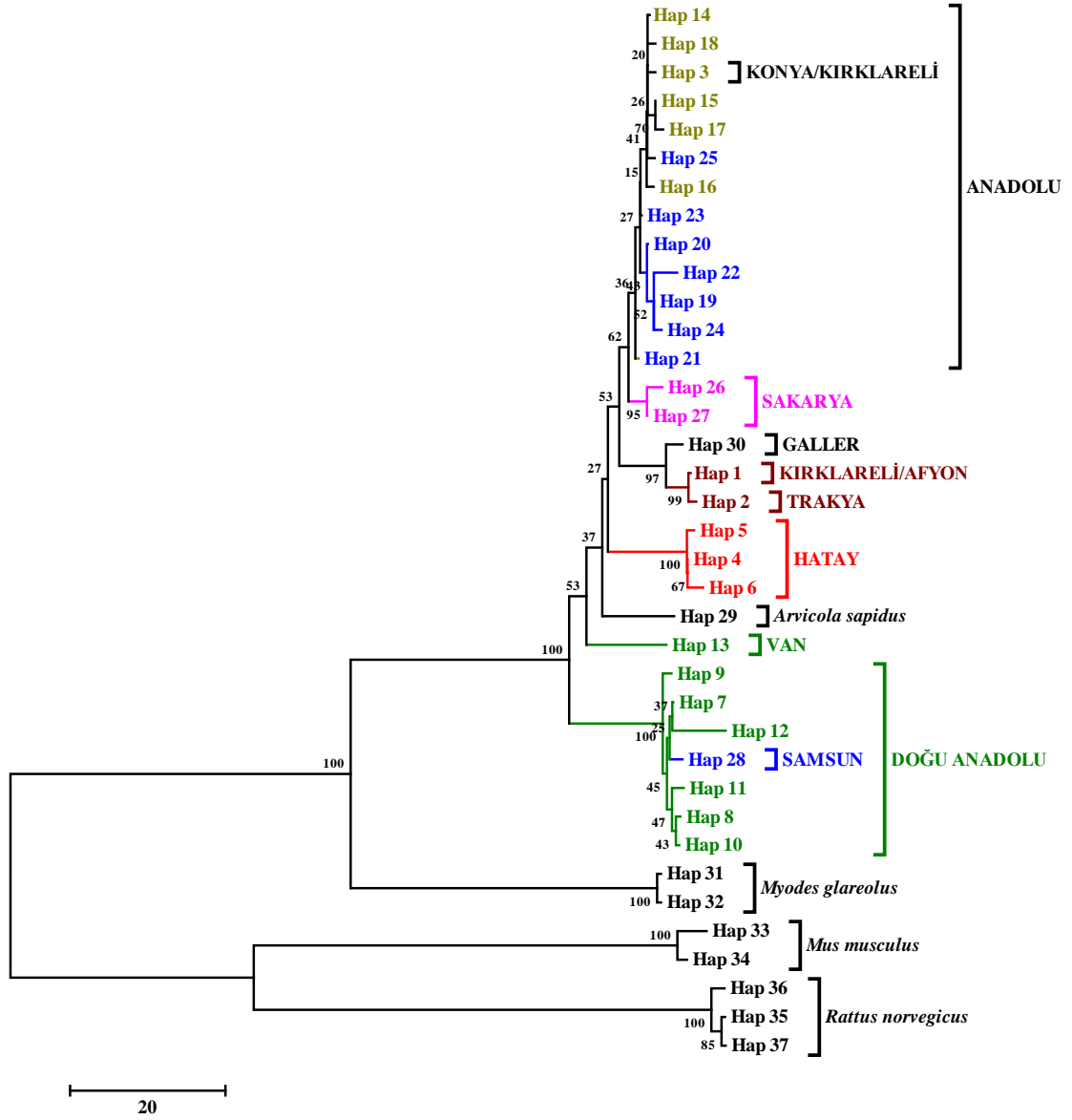
	A	T/U	C	G
A	-	3,10	2,80	<b>11,62</b>
T/U	3,65	-	<b>19,33</b>	1,69
C	3,65	<b>21,40</b>	-	1,69
G	<b>25,16</b>	3,10	2,80	-

Mitokondriyal DNA kontrol bölgesi verilerine göre *Arvicola amphibius*'un mevcut soy hatlarının nispi pozisyonlarını belirleyebilmek için gerçekleştirilen filogenetik analizler sonrasında, ikili farklılıklara (No. of differences) (Nei ve Kumar 2000) göre oluşturulan NJ ağacında haplotipler başlıca iki klada ayrıldı. Birinci klad Doğu Anadolu haplotiplerinden oluştu ve % 100 bootstrap desteği ile ikinci kladdan ayrıldı. İkinci klad, Hatay, Trakya ve Anadolu haplotiplerinden oluşan üç alt klada ayrıldı. Bu ağaçta Doğu Anadolu haplotipleri içinde yer alması beklenen Van haplotipleri, Doğu Anadolu haplotiplerinden ayrı olarak ikinci kladdaki haplotiplere daha yakın kümelendi. İkinci kladda Hatay haplotiplerinden oluşan birinci alt klad düşük bootstrap desteği (% 27) ile Trakya ve Anadolu haplotiplerinin oluşturduğu diğer iki alt kladdan daha dışarıda yer aldı. Trakya haplotipleri ile Anadolu haplotipleri ise % 53 bootstrap desteği ile iki ayrı alt klad olacak şekilde kümelendi. Trakya'dan iki haplotipin oluşturduğu bu klad Trakya soy hattından yedi bireyin (Kırklareli), Batı Anadolu soy hattından bir bireyin (Afyon) taşıdığı Haplotip 1 ve Trakya soy hattından iki bireyin taşıdığı Haplotip 2'den oluştu. Sakarya haplotipleri sitokrom *b* verilerinden elde edilen sonuçlara benzer şekilde Anadolu'daki haplotiplerin oluşturduğu alt kladdan daha dışarıda kümelendi. Üçüncü alt kladdaki Anadolu haplotipleri arasında bariz bir ayırım gözlenmese bile yine de, Orta Anadolu haplotipleri ve Batı Anadolu haplotiplerinin birbirlerinden ayrılma eğiliminde olduğu gözlemlendi. Ancak, Orta Anadolu soy hattı içinde yer alması beklenen Kırşehir lokalitesine ait bir örneğin temsil ettiği haplotip (Haplotip 25) Batı Anadolu'daki haplotiplerden oluşan alt kladda içinde yer aldı. Batı Anadolu soy hattından dört bireyin (Konya), Trakya soy hattından ise (Kırklareli) bir bireyin taşıdığı Haplotip 3 Batı Anadolu haplotipleri ile birlikte kümelendi (Şekil 4.11). Kimura 2-Parametresine göre bütün bireyler üzerinden oluşturulan NJ ağacının dallanma biçimi de bu filogenetik ağaç ile aynıydı (EK 8)

İkili farklılıklara göre oluşturulan filogenetik ağaca benzer bir görünüm HKY+G (Hasegawa vd 1985) nükleotid değişim modeline göre oluşturulan ML ağacında elde edildi (Şekil 4.12). Birinci kladı oluşturan Doğu Anadolu haplotipleri NJ ağacına göre oldukça düşük bir bootstrap desteği (% 46) ile Hatay, Trakya ve Anadolu haplotiplerinden oluşan ikinci kladdan ayrıldı. NJ ağacının aksine, bu ağaçta Van haplotipleri, Doğu Anadolu haplotiplerinden oluşan kladın içerisinde yer aldı. Diğer haplotip gruplarının filogenetik ağaçtaki pozisyonu ikili farklılıklara göre oluşturulan filogenetik ağaç ile benzerlik gösterdi. Haplotiplerin filogenetik ağaçtaki pozisyonları düşük bootstrap değerleri ile desteklendi (Hatay % 30, Trakya % 45). Trakya ile Batı Anadolu soy hatları arasında paylaşılan iki haplotipin (Haplotip 1 ve Haplotip 3) pozisyonu da NJ ağacı ile aynıydı.

Diğer iki filogenetik ağaca göre MP ağacındaki en büyük farklılık Trakya haplotiplerinin Anadolu haplotipleri içinde kümelenmesiydi (Şekil 4.13). Doğu Anadolu ve Hatay haplotiplerinin pozisyonu ise NJ ve ML ağaçları ile benzerdi ve aldıkları bootstrap desteği düşüktü. (sırasıyla; % 54 ve % 35). Trakya ile Batı Anadolu soy hatları arasında paylaşılan iki haplotipin (Haplotip 1 ve Haplotip 3) pozisyonu da NJ ve ML ağacı ile aynıydı.

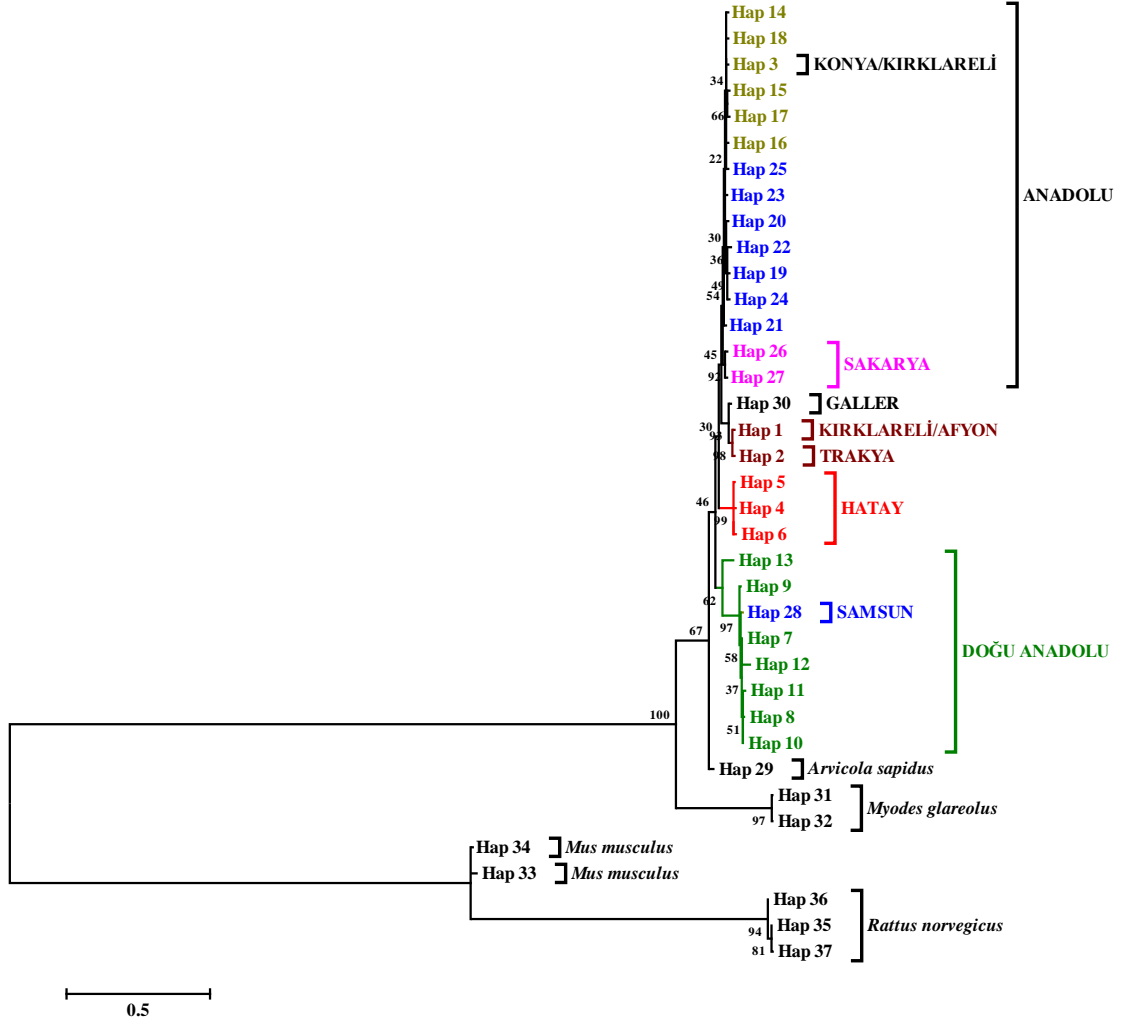
Her üç ağaçta, Samsun lokalitesinden elde edilen haplotipin (Haplotip 28) Orta Anadolu haplotip grubu ile kümelenmesi beklenirken, bu haplotip Doğu Anadolu haplotip grubu içerisinde yer aldı. *A. amphibius*'un Avrupa haplotipi her üç ağaçta Trakya haplotipleri ile bir arada kümelendi. Dış grup olarak kullanılan *A. sapidus* haplotipi NJ ağacında Doğu Anadolu Bölgesi haplotiplerinden daha içeride kümelendi. ML ve MP ağaçlarında ise bu durumun tersi olarak *A. sapidus* haplotipi Doğu Anadolu Bölgesi haplotiplerinden dışarıda kümelendi. Dış grup olarak kullanılan diğer türlere ait haplotipler (*M. glareolus*, *M. musculus* ve *R. norvegicus*) her üç filogenetik ağaçta en dışta yer aldı.



Şekil 4.11 *A. amphibius*'un 28 haplotipi ile dış gruplara ait haplotiplerin kontrol bölgesi verilerinden No. of differences mesafesine göre oluşturulan Neighbor-Joining ağacı

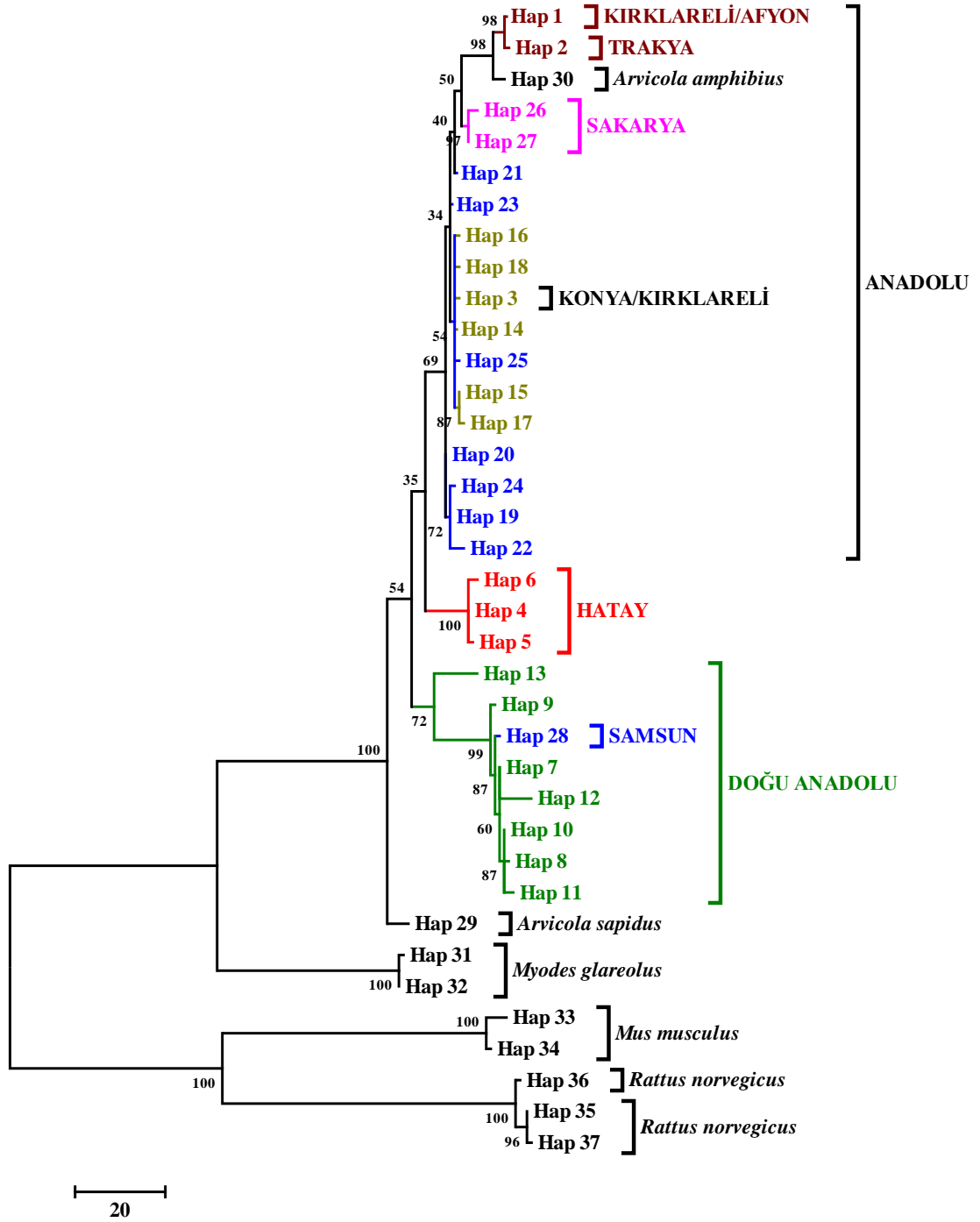
Nodlar üzerindeki rakamlar bootstrap değerlerini belirtmektedir. TU2 ve TU3 Kryštufek vd. (2014) tarafından verilen Türkiye haplotiplerini göstermektedir. Haplotip 1 ve Haplotip 3 Trakya ve Batı Anadolu soy hatları arasında paylaşılan haplotipleri göstermektedir.





Şekil 4.12 A. *amphibius*'un 28 haplotipi ile dış gruplara ait haplotiplerin kontrol bölgesi verilerinden HKY+G nükleotid değişim modeline göre oluşturulan Maximum Likelihood ağacı

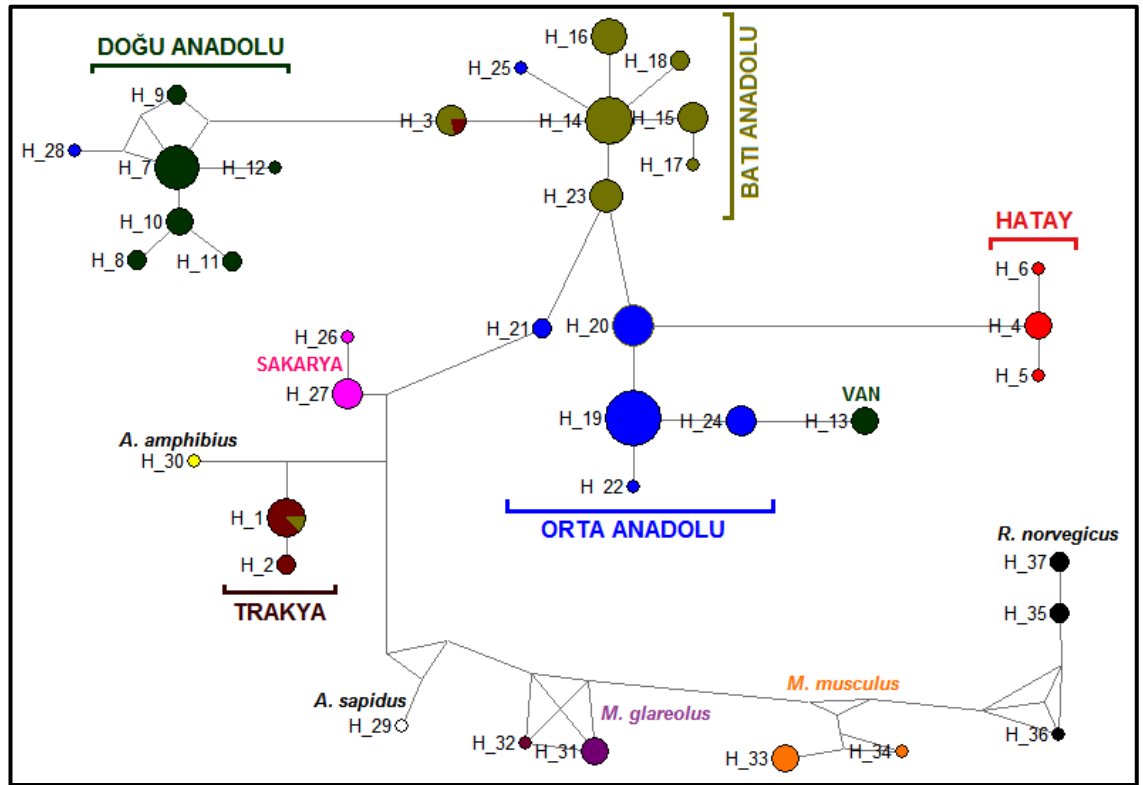
Nodlar üzerindeki rakamlar bootstrap değerlerini belirtmektedir. TU2 ve TU3 Kryštufek vd. (2014) tarafından verilen Türkiye haplotiplerini göstermektedir. Haplotip 1 ve Haplotip 3 Trakya ve Batı Anadolu soy hatları arasında paylaşılan haplotipleri göstermektedir.



Şekil 4.13 *A. amphibius*'un 28 haplotipi ile dış gruplara ait haplotiplerin kontrol bölgesi verilerinden TBR metoduna göre oluşturulan Maximum Parsimony ağacı

Nodlar üzerindeki rakamlar bootstrap değerlerini belirtmektedir. TU2 ve TU3 Kryštufek vd. (2014) tarafından verilen Türkiye haplotiplerini göstermektedir. Haplotip 1 ve Haplotip 3 Trakya ve Batı Anadolu soy hatları arasında paylaşılan haplotipleri göstermektedir.

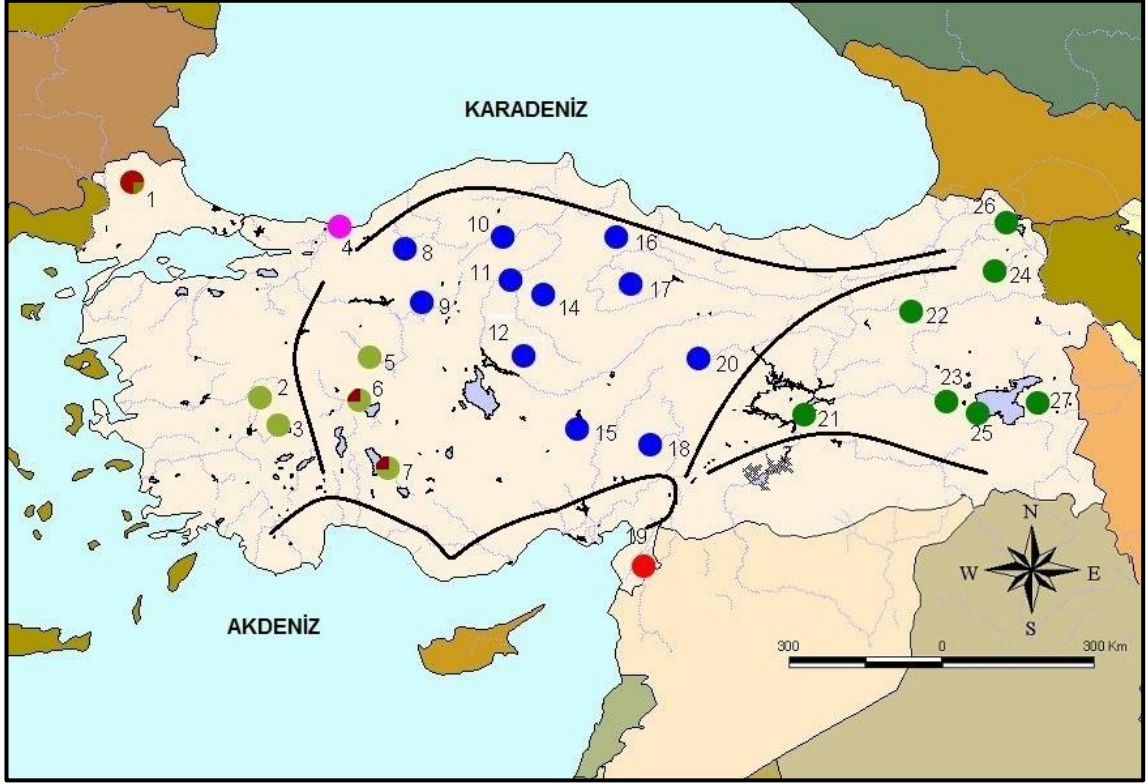
Filogenetik ağaçlar ile benzer olarak, median-joining yöntemi ile oluşturulan haplotipler arasındaki evrimsel ilişki örgüsü temelde 5 ana haplotip grubu ortaya çıkardı (Şekil 4.14). Bunlar; Trakya ve Avrupa örneklerinden oluşan haplotip grubu, Batı Anadolu Haplotip grubu, Orta Anadolu haplotip grubu, Doğu Anadolu haplotip grubu ve Hatay haplotip grubudur. İlave, kontrol bölgesi verilerine göre oluşturulan evrimsel ilişki örgüsünde Haplotip 1 (Kırklareli/Afyon) ve Haplotip 3 (Kırklareli/Konya) Trakya ile Batı Anadolu haplotip grupları arasında paylaşılan haplotipler açığa çıkarıldı. Doğu Anadolu haplotip grupları içerisinde yer alması beklenen Van lokalitesinden elde edilen örneklere özgü Haplotip 13 Orta Anadolu haplotip grubu ile kümelendi. Benzer şekilde Orta ve Kuzey haplotip grubu içinde yer alması düşünülen Samsun lokalitesinden bir örneğin taşıdığı Haplotip 28 Doğu Anadolu haplotipleri ile bir araya geldi.



Şekil 4.14 *A. amphibius* ve dış gruplara ait kontrol bölgesi verilerine göre oluşturulan evrimsel ilişki örgüsü

Haplotiplerin numaraları her bir dairenin yanında belirtilmiştir. Çizelge 4.21’de her bir haplotipin lokalitesi ve o haplotipe sahip örnek sayısı açıklanmıştır. Her bir haplotipi gösteren dairelerin boyutu haplotip frekansları ile orantılıdır. En küçük daire 1 en büyük daire 16 haplotipi göstermektedir.

Orta Anadolu haplotipleri içerisinde yer alması beklenen Kırşehir lokalitesinden bir örneğin taşıdığı Haplotip 25 ise Batı Anadolu haplotip grubu içerisinde yer aldı. Haplotiplerin Türkiye’deki dağılımı şekil 4.15’de gösterildi.



Şekil 4.15 A. *amphibius*'un kontrol bölgesi haplotiplerinin Türkiye’deki dağılımı

1. İnce (Kırklareli), 2. Yenişehir (Uşak), 3. Çivril (Denizli), 4. Kocaali (Sakarya), 5. Gülçayır (Eskişehir), 6. Eber Gölü (Afyon), 7. Beyşehir (Konya), 8. Yeniçağa (Bolu), 9. Ayaş (Ankara), 10. Tosya (Kastamonu), 11. Kızılırmak (Çankırı), 12. Kılıçözü Deresi (Kırşehir), 14. Sungurlu-Alaca Karayolu (Çorum), 15. Ovaçiftliği-Kuşçu Köyleri sınırı (Kayseri), 16. Ladik (Samsun), 17. Kaz Gölü (Tokat), 18. Göksun (Kahramanmaraş), 19. Reyhanlı (Hatay), 20. Kangal (Sivas), 21. Sivrice (Elazığ), 22. Erzurum’un 20 km. doğusu, 23. Altınova kavşağı (Muş), 24. Selim (Kars), 25. Tatvan (Bitlis), 26. Çamlıçatak (Ardahan), 27. Erçek Gölü (Van). 13 numaralı lokalite olan Akkaya Baraj Gölü’nden (Niğde) elde edilen örnek kontrol bölgesi analizlerinde kullanılmadığından harita üzerinde gösterilmemiştir. Harita üzerindeki daireler renklerine göre haplotip gruplarını göstermektedir; Bordo: Trakya, Açık yeşil: Batı Anadolu, Mavi: Orta Anadolu, Koyu yeşil: Doğu Anadolu ve Kırmızı: Hatay. Pembe daire ise Sakarya haplotiplerini göstermektedir. Trakya ile Batı Anadolu soy hatları arasında paylaşılan haplotipler 1, 6 ve 7 numaralı lokalitelerde gösterilmiştir. Türkiye genelinde belirlenen 28 haplotipin lokalitelere göre dağılımı çizelge 4.20 ve 4.21’de açıklanmıştır.

#### 4.2.4 Kontrol bölgesinin genetik yapısına ilişkin analizler

*Arvicola amphibius* mitokondriyal DNA'sının kontrol bölgesine ait genetik çeşitlilik ve genetik farklılaşma analizleri, filogenetik analizler sonrasında oluşan beş temel soy hattı ile beraber analizlerde kullanılan dış gruplar üzerinden gerçekleştirildi. Buna göre 10 haplotip ile en yüksek haplotip sayısının Orta Anadolu soy hattında olduğu belirlendi. Her bir soy hattı için ayrı değerlendirmeler yapıldığında nükleotid çeşitliliğinin düşük seviyede olduğu gözlemlendi. En yüksek nükleotid çeşitliliğinin Doğu Anadolu soy hattında olduğu belirlendi (Çizelge 4.23).

Çizelge 4.23 *A. amphibius*'un kontrol bölgesi soy hatlarına ilişkin genetik çeşitlilik parametreleri

Soy Hatları	Birey Sayısı (N)	Haplotip Sayısı	Nükleotid Çeşitliliği ( $\pi$ )	Haplotip çeşitliliği (h)
Trakya	10	3	0,00639	0,51111
Hatay	6	3	0,00202	0,60000
Doğu Anadolu	25	7	0,01653	0,80000
Batı Anadolu	32	7	0,00382	0,79032
Orta Anadolu	47	10	0,00728	0,82239
<b>BÜTÜN SOY HATLARI</b>	<b>120</b>		<b>0,02646</b>	<b>0,95034</b>

Populasyonlar arasındaki genetik mesafe değeri Kimura 2-Parametresi (Kimura 1980) ve ikili farklılıkların (No. of Differences) sayısına (Nei ve Kumar 2000) göre hesaplandı. Buna göre her iki parametre kullanılarak elde edilen sonuçlarda en yüksek genetik mesafe değerinin Trakya/Doğu Anadolu soy hatları arasında olduğu belirlendi. En düşük genetik mesafe değerinin ise Orta Anadolu/Orta ve Güney Anadolu soy hatları arasında olduğu tespit edildi (Çizelge 4.24 - 4.25).

Çizelge 4.24 A. *amphibius*'un kontrol bölgesi soy hatları ve dış gruplar arasında Kimura 2-Parametresine göre hesaplanan genetik uzaklıklar ve standart sapmaları

SOY HATLARI (K2P)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1.TRAKYA		0,010	0,011	0,006	0,006	0,009	0,004	0,021	0,040	0,041
2.HATAY	0,049		0,009	0,008	0,008	0,010	0,009	0,021	0,041	0,040
3.DOĞU ANADOLU	0,065	0,054		0,009	0,009	0,010	0,011	0,021	0,040	0,038
4.BATI ANADOLU	0,026	0,035	0,049		0,003	0,008	0,007	0,021	0,040	0,040
5.ORTA ANADOLU	0,027	0,033	0,050	0,009		0,008	0,007	0,020	0,040	0,041
6. <i>Arvicola sapidus</i>	0,038	0,045	0,058	0,033	0,034		0,009	0,021	0,041	0,040
7. <i>Arvicola amphibius</i>	0,012	0,043	0,063	0,026	0,026	0,036		0,021	0,041	0,042
8. <i>Myodes glareolus</i>	0,186	0,184	0,196	0,179	0,177	0,173	0,183		0,039	0,042
9. <i>Mus musculus</i>	0,478	0,477	0,478	0,470	0,477	0,479	0,487	0,463		0,027
10. <i>Rattus norvegicus</i>	0,501	0,478	0,472	0,487	0,495	0,481	0,505	0,499	0,289	

Diyagonalin alt kısmı genetik uzaklıkları üst kısmı ise standart sapmaları göstermektedir.

Çizelge 4.25 A. *amphibius*'un kontrol bölgesi soy hatları ve dış gruplar arasında ikili farklılıklara (No. of differences) göre hesaplanan genetik uzaklıklar ve standart sapmalar

SOY HATLARI No. of Differences	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1.TRAKYA		4,53	4,85	3,02	2,95	4,02	2,09	8,22	10,41	10,26
2.HATAY	23,00		4,26	3,92	3,68	4,68	4,28	7,94	10,48	10,37
3.DOĞU ANADOLU	30,24	25,49		4,06	4,03	4,68	4,82	8,12	10,23	9,94
4.O. VE B.ANADOLU	12,28	16,84	23,40		1,31	3,87	3,18	8,09	10,31	10,30
5.O. VE K. ANADOLU	12,74	16,05	23,66	4,13		3,82	3,09	7,92	10,40	10,38
6. <i>Arvicola sapidus</i>	18,00	21,50	27,24	15,72	16,19		4,03	8,07	10,44	10,20
7. <i>Arvicola amphibius</i>	6,00	20,50	29,24	12,41	12,72	17,00		8,19	10,48	10,38
8. <i>Myodes glareolus</i>	81,00	80,33	84,80	78,53	77,53	76,00	80,00		10,28	10,66
9. <i>Mus musculus</i>	174,22	173,97	174,17	172,11	173,83	174,40	176,40	170,20		8,85
10. <i>Rattus norvegicus</i>	179,80	174,17	172,60	176,59	178,49	175,00	181,00	179,60	118,20	

Diyagonalin alt kısmı genetik uzaklıkları üst kısmı ise standart sapmaları göstermektedir.

*Arvicola amphibius* popülasyonlarının mtDNA kontrol bölgesinde gözlenen varyasyonun kaynağını açıklayabilmek için gerçekleştirilen moleküler varyans analizi (AMOVA) sonucunda soy hatları arasındaki farklılığın büyük bölümünün soy hatları arasındaki varyasyondan kaynaklandığı belirlendi (% 69,91). Soy hatlarının oluşturan popülasyonlar arasındaki varyasyon ise toplam varyasyonun % 19,84'lük kısmını oluşturdu. Her üç hiyerarşik seviye için fiksasyon indeksleri anlamlı bulundu. (Çizelge 4.26).

Çizelge 4.26 *A. amphibius*'un kontrol bölgesi soy hatlarının moleküler varyans analizi sonuçları

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi (df)	Kareler toplamı	Varyans bileşenleri	Varyasyon yüzdesi
Soy hatları arası	4	679,712	7,17675 Va	69,91
Soy hatlarının oluşturan populasyonlar arası	21	201,596	2,03706 Vb	19,84
Populasyonlar içi	94	98,883	1,05195 Vc	10,25
<b>Toplam</b>	<b>119</b>	<b>980,192</b>	<b>10,26576</b>	
<b>Fiksasyon indeksleri</b>				
FSC :	0,65945 (Vb)	P<0,000		
FST :	0,89753 (Vc)	P<0,000		
FCT :	0,69910 (Va)	P<0,000		

Soy hatları arasındaki genetik farklılaşmanın derecesini ve gen akışının seviyesini belirlemek amacıyla fiksasyon indisi olarak bilinen  $F_{ST}$  değerleri ve gen akışı parametresi olarak bilinen Nm değerleri hesaplandı. En yüksek genetik farklılık değerleri Batı Anadolu/Hatay ve Trakya/Hatay soy hatları arasında, en düşük genetik farklılık değerleri ise Batı Anadolu/Orta Anadolu soy hatları arasında bulundu. Gen akışı değerlerine bakıldığında ise en düşük gen akışı değerinin Batı Anadolu/Hatay ve Trakya/Hatay soy hatları arasında olduğu tespit edildi. En yüksek gen akışı değeri ise genetik farklılaşmanın en az olduğu Batı Anadolu soy hattı/Orta Anadolu soy hattı arasında bulundu (Çizelge 4.27).

Çizelge 4.27 *A. amphibius*'un kontrol bölgesi soy hatları arasındaki genetik farklılaşma ve gen akışı değerleri

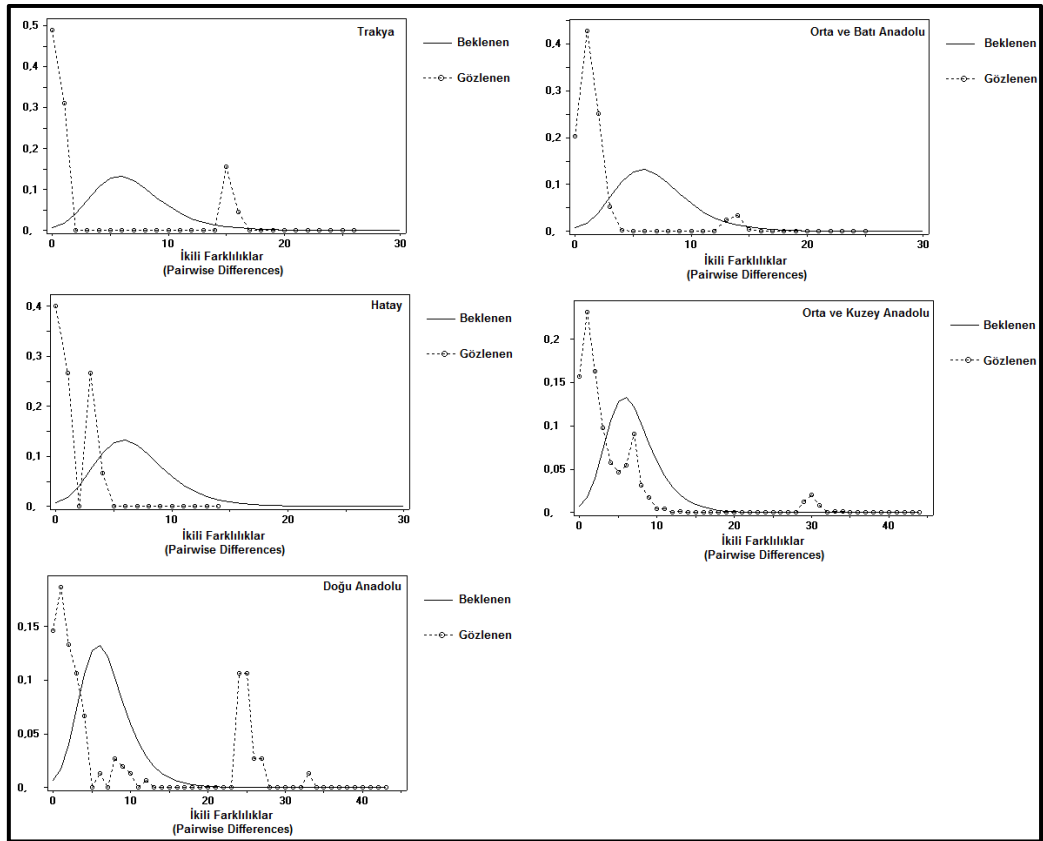
$F_{ST}$ /Nm	1	2	3	4	5
1.TRAKYA		0,05	0,11	0,14	0,18
2.HATAY	0,89892		0,09	0,04	0,08
3.DOĞU ANADOLU	0,76102	0,74760		0,13	0,16
4.BATI ANADOLU	0,80048	0,90965	0,79611		0,70
5.ORTA ANADOLU	0,69089	0,79811	0,77044	0,36770	

Diagonalin alt kısmı  $F_{ST}$ , üst kısmı Nm değerlerini göstermektedir

Hem sabit popülasyon büyüklüğü hem de popülasyon büyümesi-düşüşü modelleri altında gerçekleştirilen uyumsuzluk dağılımı analizi ile bütün soy hatlarına ilişkin kontrol bölgesindeki ikili nükleotid farklılıkların dağılımını gösteren grafikler çok tepeli (multimodal) olarak belirlendi (Şekil 4.16).

Trakya ve Doğu Anadolu soy hatları için varyasyon kareler toplamı (SSD) istatistiksel olarak anlamlı bulundu Raggedness istatistiği ise bütün soy hatları için istatistiksel olarak anlamsızdı (Çizelge 4.28).

Tajima's  $D$  istatistiği Trakya, Orta Anadolu ve Batı Anadolu soy hatlarında istatistiksel olarak anlamlı bulundu.  $F_u$ 's  $F_5$  değeri sadece Batı Anadolu soy hattında negatif olarak hesaplandı, ancak oldukça küçük olan bu değer istatistiksel olarak anlamsızdı. (Çizelge 4.29).



Şekil 4.16 A. *amphibius*'un kontrol bölgesi soy hatlarının uyumsuzluk dağılımı grafikleri



Çizelge 4.28 *A. amphibius*'un kontrol bölgesi soy hatlarının uyumsuzluk dağılımı analizine ilişkin sonuçlar

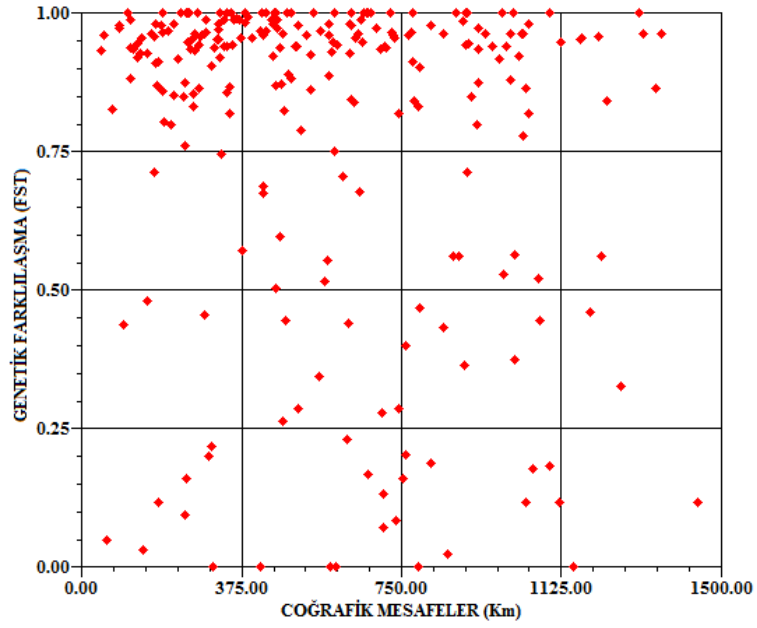
SOY HATLARI	$\tau$	$\theta_0$	$\theta_1$	SSD	P	$rg$	P
TRAKYA	0,0	0,00000	99999,00000	0,39802	0,00000	0,51259	0,91000
HATAY	5,6	0,00000	1,59316	0,07589	0,34000	0,20444	0,76000
DOĞU ANADOLU	5,3	0,00352	7,08008	0,08509	0,02000	0,12053	0,09000
BATI ANADOLU	1,5	0,00000	99999,00000	0,00370	0,51000	0,05928	0,48000
ORTA ANADOLU	1,1	2,95117	6,66406	0,04351	0,23000	0,10877	0,11000

$\tau$ = 2ut, mutasyon oranı ve popülasyon genişleme zamanına göre popülasyon büyümesine ilişkin parametre,  $\theta_0$  =genişleme öncesi popülasyon büyüklüğü,  $\theta_1$  =genişleme sonrası popülasyon büyüklüğü, SSD= varyasyon karelerinin toplamı,  $rg$ = raggedness istatistiği, P= istatistiklere ait önem dereceleri

Çizelge 4.29 *A. amphibius*'un kontrol bölgesi soy hatlarına ilişkin nötralite testleri

	TRAKYA	HATAY	DOĞU ANADOLU	BATI ANADOLU	ORTA ANADOLU
Tajima's $D$	-1,88270	-1,29503	-0,13523	-1,88831	-1,89848
P	0,01000	0,07500	0,49400	0,01300	0,01100
Fu's $F_S$ test	3,88540	0,68774	6,92804	-0,07243	1,59860
P	0,96700	0,62800	0,98700	0,52100	0,75700

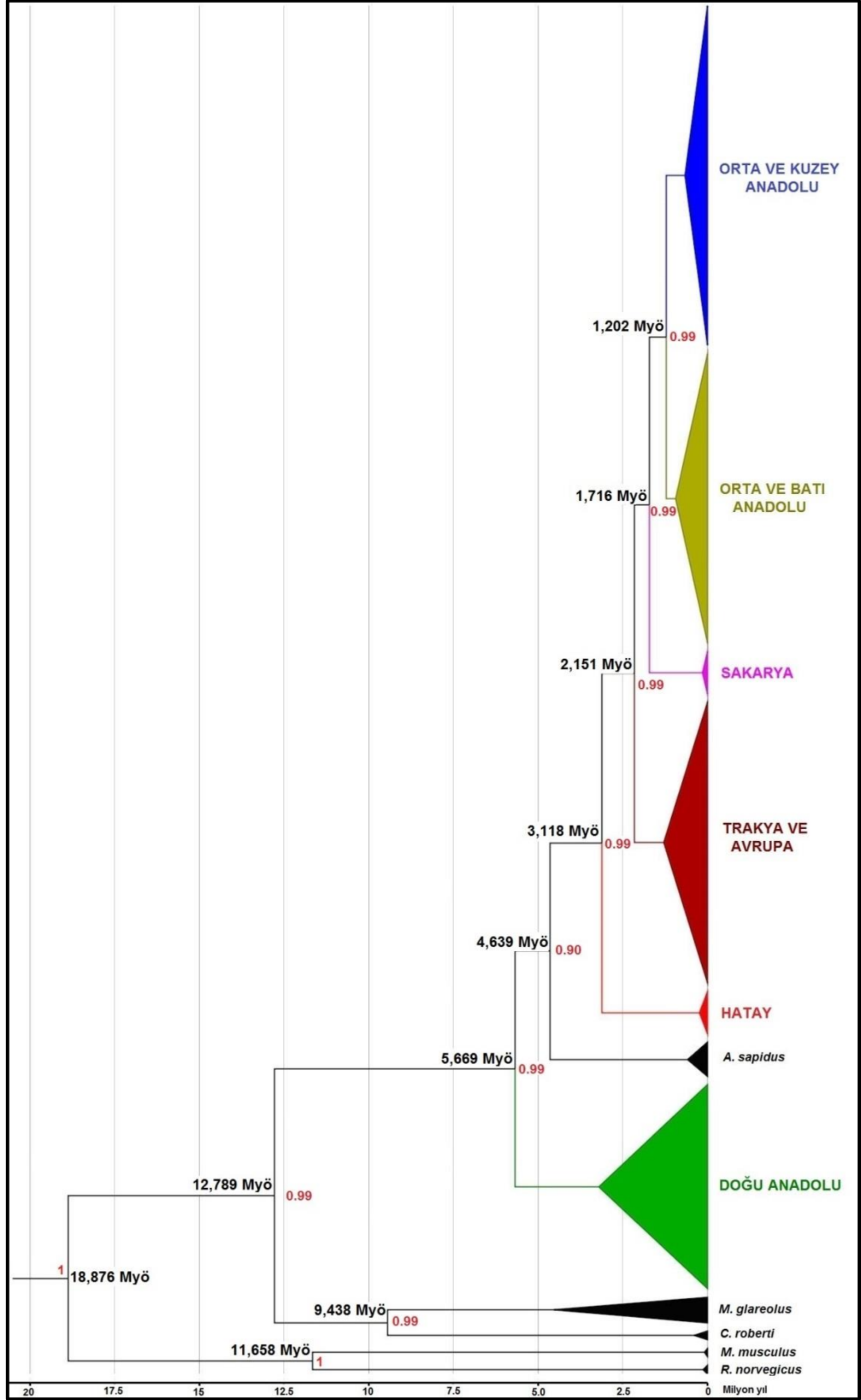
*Arvicola amphibius* popülasyonları arasındaki genetik farklılaşma ile uzaklık arasındaki ilişki kontrol bölgesi verileri kullanılarak mesafeye bağlı yalıtım (isolation by distance) yöntemi ile araştırıldı. Bu yöntemde popülasyonlar arasındaki genetik farklılaşma matrisi ile kuş uçuşu mesafelerin hesaplanmasından oluşan uzaklık matrisi arasındaki korelasyon Mantel testi ile hesaplandı. Buna göre kontrol bölgesi veri seti kullanılarak elde edilen genetik farklılaşma matrisi ile uzaklık matrisi arasında negatif yönde düşük seviyeli korelasyon tespit edildi ( $r = -0,17626$ ). Analiz sonuçlarına ilişkin grafik şekil 4.17'de gösterildi.



Şekil 4.17 Kontrol bölgesi verilerine göre coğrafik mesafe ve genetik farklılaşma arasındaki ilişkiyi gösteren grafik

#### 4.2.5 Evrimsel ayrılma zamanları (TMRCA, Ortak ataya varma zamanı)

*Arvicola amphibius* soy hatları arasındaki ortak ataya varma zamanlarının (TMRCA) tahmin edilebilmesi için yapılan Bayesian analizi *Arvicola amphibius*'un Doğu Anadolu soy hattının, Hatay, Anadolu'daki iki farklı soy hattı ve Trakya soy hatlarından yaklaşık 5,669 (% 95 güven aralığı = 4,298-7,160 myö) milyon yıl önce ayrıldığını ortaya çıkardı. Hatay soy hattının, Anadolu ve Trakya soy hatlarından ayrılma zamanı günümüzden yaklaşık olarak 3,118 milyon yıl öncesi olarak belirlendi (% 95 güven aralığı = 2,286-4,077 myö). Trakya ve Anadolu soy hatlarının ortak ataya varma zamanlarının ise günümüzden 2,151 milyon yıl öncesine dayandığı açığa çıkarıldı (%95 güven aralığı = 1,569-2,796 myö). Filogenetik analizler sonucunda Anadolu'daki soy hatlarının daha dışında kümelenen Sakarya popülasyonunun Anadolu'daki diğer soy hatlarından ayrılma zamanı ise yaklaşık 1,716 milyon yıl öncesi olarak bulundu (% 95 güven aralığı = 1,227-2,279 myö). Anadolu'daki her iki soy hattının birbirlerinden ayrılma zamanı ise günümüzden 1,202 milyon yıl öncesi olarak tespit edildi (% 95 güven aralığı = 0,84-1,642 myö). Dış gruplar ile beraber bütün soy hatlarının ayrımı oldukça yüksek ardıl olasılık değerleri ile desteklendi (Şekil 4.18).



Şekil 4.18 Bayesian analizi sonucunda belirlenen *A. amphibius*'un sitokrom *b* soy hatları arasındaki evrimsel ayrılma zamanları ve ardıl olasılık değerleri

## 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

### 5.1 Yayılış ve Morfometri

Bu çalışma ile Türkiye’de Trakya ve Anadolu’da yayılış gösteren *Arvicola amphibius* populasyonlarından geniş çapta coğrafik örnekleme yapıldı. Bu populasyonlar çok değişkenli istatistiksel yöntemler kullanılarak morfometrik açıdan karşılaştırmalı olarak analiz edildi. Bununla birlikte arazi çalışmalarıyla belirlenen yeni lokalite kayıtları kullanılarak *A. amphibius*’un Türkiye’deki yayılış haritasına katkı sağlandı.

*Arvicola amphibius persicus* alttürü de Filippi (1865) tarafından İran’dan tanımlanmıştır. Bu tanımlama için kullanılan örnek serisi içerisinde Türkiye’de Van civarından elde edilen bir örneğin de kullanıldığı belirtilmiştir (Mursaloğlu 1975). Bu nedenle, de Filippi’nin bu çalışmasında yer alan *A. amphibius*’un Van örneği, bu türün Türkiye’den ilk yayılış kayıdır. Thomas (1907) çalışmasında, *A. a. armenius* alttürünü Van civarından tanımlanmış olup, bu tanımı bir tip ve bir paratipe dayandırmıştır. Bu alttürün daha sonra *A. a. persicus* alttürünün junior sinonimi olduğu anlaşılmıştır (Ellerman ve Morrison-Scott 1951, Mursaloğlu 1975). Aharoni (1932) şimdiki Amik ovasının yerinde bulunan ve sıtma hastalığı ile mücadele için kurutulan Amik gölünden elde ettiği örnekleri *A. a. hintoni* alttürü olarak kaydetmiştir. Steiner ve Vauk (1966) Beyşehir Gölü’nden elde ettikleri iki örneğe dayanarak *A. amphibius*’un bu bölgeden yayılış kaydını vermişlerdir. Mursaloğlu (1975) morfolojik ve morfometrik değerlendirmelere göre Türkiye’de *A. amphibius*’un üç alttürünün yaşadığını belirlemiştir. Trakya’da yayılış gösteren populasyonları *A. a. cernjavskii* alttürü olarak değerlendirmiş ve Yörükdere (Lüleburgaz, Kırklareli), Kağıthane ve Alibey Dereleri (İstanbul), Çorlu Deresi (Tekirdağ) lokalitelerini bu alttüre ait yayılış kaydı olarak vermiştir. *A. a. hintoni* alttürü olarak değerlendirdiği populasyonların yayılış alanı olarak, Amik Gölü (Hatay), Karasu Bakras Köprüsü (Hatay), Murat Gölü (Gölbaşı köyü, Kırıkhan, Hatay) ve Elazığ lokalitelerini belirtmiştir. Hatay hariç Anadolu’nun tamamında yaşayan populasyonları ise üçüncü alttür olan *A. a. persicus* olarak değerlendirmişdir. Bu alttürün yayılış alanı olarak Berk Köyü deresi (Bolu), Mor Dağ 1900 m (Yüksekova, Hakkari), Kurubaş Köyü (Van), Yolugüzel Köyü (Ağrı), Malatya

(23 km Batısı) ve Muş lokalitelerini belirtmiştir. Özkurt vd. (1999) Kırşehir'den elde ettikleri örnekleri morfolojik ve karyolojik bakımdan incelemişlerdir. Kryštufek ve Vohralik (2005) *A. amphibius*'un yayılış haritasında 15 farklı lokaliteyi göstermiştir. Önceki çalışmalardan farklı olarak İzmit'in 8 km doğusu, Abant Gölü (Bolu), İnsuyu Köyü (Konya), Dikmen (Sinop), Şerefiye ve Güllüoğlu arası (Sivas), Ovit Dağı Geçidi (Rize), Bağdaşan'ın 5 km Batısı (Kars), Erence'nin 1 km kuzeyi (Erzurum) ve Tatvan *A. amphibius*'un yayılış haritasına dahil edilmiştir. Yiğit vd. (2006) *A. amphibius*'un Türkiye'nin tamamında yayılış gösterdiğini ifade ederek bu türün Türkiye haritası üzerinde yayılış alanını sahil bölgeleri dışındaki alanlar olarak göstermişlerdir. Üstünbaş vd. (2011) Türkiye'deki 9 farklı lokaliteden (Kırklareli, Denizli, Uşak, Afyon, Konya, Eskişehir, Bolu, Ankara ve Kırşehir) örneklerin genetik yapısını RAPD-PCR moleküler belirteç sistemi ile alttür seviyesinde incelemişlerdir. Tez vd. (2011) türün morfolojisi, karyolojisi ve yayılışına katkı yaptıkları çalışmada altı farklı lokaliteden (Kırıkköy, Lüleburgaz, Kırklareli; Seydiler, Kastamonu; Elagöz, (Sarımsaklı Deresi), Kayseri; Tafdağ, Dumlu, Erzurum; Dereiçi, Kars ve Sugöze, Ardahan) elde ettikleri örnekleri değerlendirmişlerdir. Arslan vd. (2011) C ve NOR bantlama teknikleri ile *A. amphibius*'un karyolojik yapısını inceledikleri çalışmada Abant Gölü (Bolu), Ayaş (Ankara) ve Güzelyurt (Aksaray) lokalitelerinden elde ettikleri örnekleri kullanmışlardır. Yavuz (2007) ve Yavuz vd. (2013) *A. amphibius*'a ait ekolojik değerlendirmeler yaptıkları çalışmada ise İlhan Çayı'ndan (Ayaş, Ankara) elde ettikleri örneklerle çalışmışlardır. Güzelyurt (Aksaray) ve Ayaş (Ankara) örnekleri, Kryštufek vd. (2014) tarafından yapılan çalışmada Avrupa'da yaşayan ve kafatası bakımından morfolojik farklılık gösteren *A. scherman* ve *A. amphibius* türleri arasındaki filogenetik ilişkilerin belirlenmesi amacıyla kullanılmıştır. Bugüne kadar yapılan çalışmalar *A. amphibius*'un Türkiye'de 40 farklı lokaliteden kaydedildiğini ortaya koymuştur. Bu tez çalışması kapsamında Türkiye genelinde yapılan arazi çalışmaları sonucu *A. amphibius*'un yaşadığı sekiz yeni lokalite (Kocaali, Sakarya; Kızılırmak, Çankırı; Ladik, Samsun; Kaz Gölü, Tokat; Sungurlu-Alaca Karayolu, Çorum; Akkaya Baraj Gölü, Niğde; Göksun, Kahramanmaraş ve Kangal, Sivas) ilk kez tespit edilerek, bu türün Türkiye'deki yayılış haritasına katkı sağlandı. *A. amphibius*'un Van, Muş, Elazığ, Kastamonu, Kayseri, Erzurum, Kars ve Ardahan'da yayılışının olduğu daha önceki çalışmalardan bilinmektedir. Bu çalışmada ise *A. amphibius*'un bu illerdeki farklı

lokalitelerdeki yeni yaşam alanları tespit edildi (Tosya, Kastamonu; Kuşcu-Ovaçifliği köyleri sınırı, Kayseri; Erzurum'un 20 km doğusu; Selim, Kars; Çamlıçatak, Ardahan; Erçek Gölü, Van; Sivrice, Elazığ ve Altınova Kavşağı, Muş-Bitlis Karayolu). Yiğit vd. (2006) *A. amphibius*'un yayılış hartitasında sahil bölgelerini hariç tutmuşlardır. Yavuz vd. (2013) ise *A. amphibius*'un sahil bölgeleri hariç Türkiye'nin tamamında yayılış gösterdiğini ifade etmişlerdir. Bu tez çalışması kapsamında Karadeniz sahiline yaklaşık 1 km mesafe ve denizden sadece 8 m yükseklikteki Kocaali (Sakarya) lokalitesinden örnekleme yapılarak, *A. amphibius*'un Türkiye'nin sahil bölgelerinde de yaşayabileceği tespit edildi.

Petrov (1949) Stara Planini Dağları'ndan (Ponor, Dojkinci köyü, Sırbistan) toplanan tip örneği (yetişkin erkek birey) ile 16 paratip (altı yetişkin, on genç birey) üzerinden *A. a. cernjavskii* alttürünü tanımlamıştır. Bunu yaparken sadece kafatasına ait dört morfometrik karakterin ölçüsünü vermiştir. Mursaloğlu (1975) Yörükdere'den (Lüleburgaz, Kırklareli) elde ettiği beş örneği morfolojik benzerliklerine göre *A. a. cernjavskii* alttürü olduğunu öne sürerek, çalışmasında üç örneğe ait altı dış ve altı iç karakter ölçümünü vermiştir. *A. amphibius*'un yeni yayılış kayıtlarının, morfolojik ve karyolojik özelliklerin verildiği çalışmada, Tez vd. (2011) Kırıkköy'den (Lüleburgaz, Kırklareli) elde ettikleri bir örneğe ait toplam 21 karakterin ölçümlerini vermişlerdir. Bu tez çalışmasında Türkiye'nin Avrupa kıtasındaki bölümü olan Trakya'da İnece Deresi'nden elde edilen (İnece, Kırklareli) 10 örnek morfometrik bakımdan değerlendirildi. Örneklerin dış morfometrik karakterlerine ait ortalama ölçümler ve minimum, maksimum değerlerin (tüm boy, kuyruk, kulak, arka ayak uzunlukları), Mursaloğlu (1975) ve Tez vd. (2011) tarafından yapılan çalışmalardaki ölçümlerle uyumlu olduğu görüldü. Petrov (1949) dış morfometrik karakterlere ait ölçüm vermediği için herhangi bir karşılaştırma yapılamadı. Petrov (1949) tarafından *A. a. cernjavskii* alttürü için verilen kafatasına ait ölçümler ile (kondilobazal uzunluk, interorbital genişlik, foramen insisiva uzunluğu ve molar dişlerin alveol uzunluğu) bu çalışmadaki 10 örnekten elde edilen ölçümlerin tamamen uyum gösterdiği belirlendi. Mursaloğlu (1975) tarafından verilen kafatası karakterlerinden üç tanesinin (zygomatik genişlik, interorbital genişlik ve bazal uzunluk) bu çalışmada elde edilen ölçümlerin minimum ve maksimum değerleri arasında olduğu tespit edildi. Kondilobazal uzunluk

ve üst molar alveol uzunluk değerlerinin ise bu çalışmada elde edilen ölçümlerin maksimum değerlerinden daha fazla olduğu belirlendi (sırasıyla; 41,23 ve 10,76 mm). Bu çalışmada damak genişliği ölçümü yapılmadığı için bu karakter bakımından Mursaloğlu (1975) ile karşılaştırma yapılamadı. Tez vd. (2011) tarafından tek bir dişi örneğe dayalı olarak verilen ölçümler ile karşılaştırma yapıldığında ise, bu çalışmada elde edilen ölçümlerin büyük çoğunluğunun söz konusu çalışmadaki ölçümlerle uyum gösterdiği belirlendi. Bu çalışmada ölçülen beyin bölgesi uzunluğu ve rostrum yüksekliğinin, Tez vd. (2011) tarafından verilen değerlerden daha düşük değerlere sahip olduğu, timpanik bulla, foramen insisiva uzunluğu ve mandibul uzunluğu değerlerinin ise daha yüksek olduğu tespit edildi.

*Arvicola amphibius hintoni* alttürü şimdiki Amik Ovası'nın yerinde bulunan Amik Gölü'ndeki Tel El Sultan Adası'ndan Aharoni (1932) tarafından bir erkek tip örneği (holotip) ve üç paratip olmak üzere dört örneğe dayalı seri üzerinden tanımlanmıştır. Holotipin baş/beden, kuyruk, arka ayak ve kulak uzunluğu olmak üzere dört dış karakter ölçüsü verilmiştir. Mursaloğlu (1975) dört farklı lokaliteden elde ettiği 10 örnekten ergin olan üç örneğe ait 12 morfometrik karakterin ölçümlerini vermiştir. Bu çalışmada Reyhanlı'dan (Hatay) elde edilen altı örneğe ait baş/beden ölçümünün ortalamasının Aharoni (1932) tarafından verilen ölçümden daha büyük olduğu belirlendi. Aharoni (1932) tarafından holotip için verilen tüm boy ölçümü değerinin bu çalışmadaki örneklerin minimum değerlerine denk geldiği tespit edildi (307 mm). Kuyruk uzunluğu ölçümünün bu çalışmadaki ölçümlerin minimum ve maksimum değerleri arasında olduğu, arka ayak ve kulak uzunluklarının ise daha küçük değerlere sahip olduğu görüldü. Dış morfometrik karakterler bakımından bu çalışmada elde edilen ölçümler Mursaloğlu (1975) ile karşılaştırıldığında; baş/beden ve tüm boy uzunluklarının ortalama değerlerinin Mursaloğlu (1975)'na göre daha küçük olduğu kuyruk, arka ayak ve kulak uzunluklarının ise daha büyük olduğu görüldü. Kafatası karakterlerinden kondilobazal uzunluk ve üst molar alveollleri uzunluğunun ortalama değerlerinin Mursaloğlu (1975) tarafından verilen değerlerden çok az fark ile küçük olduğu, bazal uzunluk, zygomatik genişlik ve interorbital daralma ölçümlerinin ortalama değerlerinin ise çok az farkla büyük olduğu belirlendi.

*Arvicola amphibius persicus* alttürü, de Filippi (1865) tarafından Elbruz Dağları'nın güneyindeki Sultaniye'den elde edilen (İran) örnekler ve Van'dan bir paratip üzerinden tanımlanmıştır. Sonrasında, Thomas (1907) Van civarından elde edilen bir tip ve bir paratip örneğini molar diş morfolojisindeki farklılığa göre *A. a. armenius* şeklinde yeni bir alttür olarak tanımlamış ve tip örneğinin 12 iç ve dış morfometrik karakterinin ölçüsünü vermiştir. Daha sonra bu örneklerin *A. a. persicus* alttürünün junior sinonimi olduğu anlaşılmıştır. Hinton (1926) *A. a. persicus*'un 15 iç morfometrik karakterine ait ölçümleri, tip örneğini (Thomas 1907) değerlendirerek vermiştir. Mursaloğlu (1975), Anadolu'daki 7 farklı lokaliteden elde edilen 59 örneği *A. a. persicus* alttürü olarak değerlendirmiş ve bu örneklerden 11 ergin örneğe ait 12 morfometrik karakterin minimum, maksimum ve ortalama ölçümlerini vermiştir. Özkurt vd. (1999), Kırşehir ilindeki farklı lokalitelerden elde edilen 15 tane örneği morfolojik ve karyolojik bakımdan incelediği çalışmada, örneklere ait toplam 25 tane morfometrik karakterin ölçümlerini vermiştir. Hatay hariç, Anadolu'nun tamamında yayılış gösteren su sıçanları, Mursaloğlu (1975) tarafından *A. a. persicus* alttürü olarak değerlendirilmiştir. Kryštufek vd. (2014) ise hem Anadolu hem de Hatay'da yayılış gösteren su sıçanlarının *A. a. persicus* alttürü kapsamında değerlendirilebileceğini öne sürmüştür. Bu çalışmada geçmişte yapılan çalışmalarda *A. a. persicus* alttürü olarak değerlendirilen örnekler ile morfometrik bakımdan alttür düzeyinde karşılaştırma yapabilmek için Hatay örnekleri haricinde Anadolu'daki diğer lokalitelerden elde edilen toplam 159 örnek istatistiksel olarak değerlendirildi. Bu örneklere ait baş/beden ve kuyruk uzunluğu ölçümlerinin, Thomas (1907) tarafından *A. a. persicus* için verilen ölçümlere göre daha küçük değerlere sahip olduğu belirlendi. İç ve dış morfometrik karakterlere ait diğer ölçümlerin (arka ayak uzunluğu, kulak uzunluğu, kondilobazal uzunluk, bazal uzunluk, zygomatik genişlik, nazal uzunluk, nazal genişlik, interorbital daralma, üst molar alveol uzunluğu) ise Thomas (1907) ile uyumlu olduğu bulundu. Bu çalışmadaki mandibul uzunluğu ölçümünün Hinton (1926) tarafından bu karakter için verilen değerden çok az farkla küçük olduğu tespit edildi. Diğer karakterlere ait ölçümler (kondilobazal uzunluk, zygomatik genişlik, interorbital daralma, oksipital genişlik, beyin bölgesi uzunluğu, nazal uzunluk, nazal genişlik, diastema uzunluğu, üst molar alveol uzunluğu, mandibul uzunluğu ve alt molar alveol uzunluğu) ise Hinton (1926) ile uyumlu bulundu. Mursaloğlu (1975) tarafından verilen ortalama baş/beden uzunluğu, tüm boy uzunluğu,



kondilobazal uzunluk, bazal uzunluk, zygomatik genişlik ve üst molar alveol uzunluk değerlerinin bu çalışmada elde edilen aynı karakterlere ait ölçümlerden daha büyük değerlere sahip olduğu görüldü. Bu çalışmadaki arka ayak uzunluğu ölçümünün ise Mursaloğlu (1975) tarafından verilen değerden daha büyük, kulak uzunluğu ve interorbital genişlik ölçümlerinin ise aynı değerde olduğu bulundu. Özkurt vd. (1999) tarafından verilen 25 morfometrik karaktere ait ölçümden 4 tanesinin (nazal uzunluk, beyin kapsülü genişliği, timpanik bulla uzunluğu ve mandibul uzunluğu) bu çalışmada elde edilen ölçümlerden daha düşük değere sahip olduğu belirlendi. Oksipital genişlik ölçümünün ise aynı değerde olduğu tespit edildi. Özkurt vd. (1999) tarafından verilen tüm boy uzunluğu, baş/beden uzunluğu, kuyruk uzunluğu, arka ayak uzunluğu, kulak uzunluğu, zygomatik genişlik, interorbital daralma, kondilobazal uzunluk, bazal uzunluk, oksipitonazal uzunluk, nazal uzunluk, nazal genişlik, mastoid genişlik, beyin kapsülü yüksekliği, beyin kapsülü uzunluğu, beyin kapsülü genişliği, damak uzunluğu, timpanik bulla uzunluğu, diastema uzunluğu, foramen insisiva uzunluğu, oksipital genişlik, mandibul uzunluğu, üst molar alveol uzunluğu ve alt molar alveol uzunluğu değerlerinin bu çalışmada bulunan değerlerden daha yüksek olduğu görüldü. Tez vd. (2011) tarafından Anadolu'daki 5 farklı lokaliteden toplanan 7 örnek için verilen ölçümlerden 15'inin (Tüm boy uzunluğu, baş/beden uzunluğu, kuyruk uzunluğu, arka ayak uzunluğu, kulak uzunluğu, zygomatik genişlik, kondilobazal uzunluk, oksipitonazal uzunluk, nazal uzunluk, beyin kapsülü yüksekliği, beyin kapsülü genişliği, timpanik bulla uzunluğu, foramen insisiva uzunluğu, mandibul uzunluğu ve üst molar alveol uzunluğu) ortalama değerinin bu çalışmada elde edilen ölçümlerden daha küçük olduğu tespit edildi. Sadece interorbital daralma, rostrum yüksekliği, beyin kapsülü uzunluğu ve alt molar alveol uzunluk değerlerinin bu çalışmada elde edilen değerlerden daha büyük olduğu belirlendi.

Türkiye'deki 24 farklı lokaliteden elde edilen *A. amphibius* populasyonları, Trakya, Hatay, Doğu Anadolu, Batı Anadolu ve Orta Anadolu olmak üzere beş gruba ayrılıp, 38 morfometrik karakter bakımından karşılaştırmalı olarak çok değişkenli istatistiksel analizlerle incelendi. Tek yönlü ANOVA analizi sonucunda gruplar arasında, 38 morfometrik karakterden 2 tanesinin  $p < 0,05$  düzeyinde, 27'sinin ise  $p < 0,01$  düzeyinde istatistiksel açıdan anlamlı farklılık gösterdiği tespit edildi. Tek yönlü MANOVA

analizi sonucunda düşük değerde bulunan Wilks' Lambda istatistiği (0,038) ve yüksek pozitif değerde bulunan Pillai'nin iz istatistiği, Hotelling T<sup>2</sup> testi ve Roy'un en büyük kök testleri *A. amphibius*'un beş grubu arasında morfometrik karakterler bakımından belirgin farklılık olduğunu gösterdi (p<0,001).

Tukey's (HSD) çoklu karşılaştırma testi sonucunda Kırklareli örneklerini içeren Trakya grubunun, arka ayak uzunluğu, bullasız beyin kapsülü yüksekliği, sagital crest uzunluğu, mandibul uzunluğu ve üst molar alveol uzunlukları olmak üzere toplam beş morfometrik karakter bakımından Hatay grubundan farklılık gösterdiği belirlendi. Trakya grubu ile Batı Anadolu grubu arasında bullasız beyin kapsülü yüksekliği hariç, Trakya grubu ile Hatay grubu arasında belirlenen dört karakter bakımından farklılık olduğu tespit edildi. Trakya grubunun, mastoid genişlik ve M<sub>3</sub> uzunlukları olmak üzere iki morfometrik karakter bakımından Orta Anadolu grubundan, M<sub>2</sub> ve M<sub>3</sub> uzunlukları olmak üzere yine iki karakter bakımından Doğu Anadolu grubundan farklılık gösterdiği ortaya çıkarıldı. Mursaloğlu (1975) Trakya'da yayılış gösteren *A. a. cernjavskii* alttürünün Hatay'da yayılış gösteren *A. a. hintoni* alttrnden arka ayağın küçük ve kulağın büyük oluşuyla belirgin olarak ayrıldığını ifade etmiştir. Bu çalışmadaki bulgular Trakya ve Hatay grupları arasındaki arka ayak büyüklüğünden kaynaklanan dış morfometrik farklılığı destekledi ve bu karakterden başka ayırıcı i morfometrik karakterleri ortaya çıkardı. İki grup arasında kulak büyüklükleri bakımından ise istatistiksel olarak farklılık tespit edilmedi. Morfometrik karakterler temel alınarak oluşturulan Mahalanobis mesafe matrisindeki en yüksek ikinci değer, morfometrik karakter sayısı bakımından diğer gruplara oranla aralarında daha fazla farklılık bulunan Trakya ve Hatay grupları arasındadır ( $D^2= 42,37685$ ). Trakya grubunun dört morfometrik karakter bakımından farklılık gösterdiği Batı Anadolu grubu ile arasındaki Mahalanobis mesafe değeri de yüksektir ( $D^2= 26,83248$ ). Trakya grubunun sadece ikişer morfometrik karakter bakımından farklılık gösterdiği Orta Anadolu ( $D^2= 13,51886$ ) ve Doğu Anadolu grupları ( $D^2= 17,23173$ ) ile arasındaki Mahalanobis mesafe değerleri ise orta seviyede yüksek ve birbirine yakın olarak bulundu. Ayrışım fonksiyon analizi (DFA) sonucunda elde edilen ve bütün gruplara ait örneklerin birbirleri ile olan nispi pozisyonlarını gösteren serpilme diyagramında Trakya grubu, Hatay ile Batı Anadolu gruplarına oldukça uzak, Doğu Anadolu ile Orta Anadolu

gruplarına ise yakın olarak kümelendi. Morfometrik karakterler arasındaki benzerliklerden kaynaklanan bu durum ayrışım fonksiyon analizi ile elde edilen sınıflandırma matrisinde Trakya grubundaki 10 bireyden ikisinin, diğer gruplarla karşılaştırıldığında, aralarında en küçük Mahalanobis mesafesi bulunan Orta Anadolu grubu içinde sınıflandırılmasıyla desteklendi. Beş *A. amphibius* grubu arasındaki Mahalanobis mesafe matrisi temel alınarak gerçekleştirilen kümeleme analizi sonucunda oluşturulan UPGMA dendogramda Trakya grubu sadece ikişer karakter bakımından farklılık gösterdiği Orta Anadolu ile Doğu Anadolu gruplarından oluşan alt kladın dışında bu iki gruba yakın olarak kümelendi. Bu sonuca benzer olarak Trakya örnekleri (Kırklareli), 22 lokaliteden popülasyonların değerlendirildiği kümeleme analizi sonucunda elde edilen dendogramda Orta Anadolu, Kuzey Anadolu ve Doğu Anadolu'daki lokalitelerdeki örnekler ile bir arada kümelendi. Temel bileşenler analizi sonucunda oluşturulan döndürülmüş faktör matrisinde, Trakya grubu ile Hatay ve Batı Anadolu grupları arasında farklılık gösteren morfometrik karakterlerden sadece arka ayak uzunluğu toplam varyasyonun % 4,695'lik kısmını açıklayan üçüncü faktör altında yüksek ağırlığa sahipken ( $r=0,665$ ), diğer morfometrik karakterler toplam varyasyonun % 59,819'unu açıklayan birinci faktör altında yüksek ağırlığa sahiptirler ( $r\geq 0,622$ ). Trakya grubu ile Orta Anadolu grubu arasında farklılık gösteren mastoid genişlik değeri hiçbir faktör altında önemli derecede ağırlığa sahip değildir. Bu iki grup arasında farklılık gösteren  $M_3$  taç uzunluğu, ikinci faktör altında önemli derecede ağırlığa sahiptir ( $r=0,743$ ). Trakya ve Doğu Anadolu grubu arasında morfometrik açıdan farklı bulunan  $M_2$  ( $r=0,762$ ) ve  $M_3$  ( $r=0,743$ ) taç uzunluklarının her ikisi ikinci faktör altında önemli ağırlığa sahiptir.

*Arvicola amphibius hintoni* alttürünün tip yeri olan ve o zamanki adıyla Amik Gölü olarak bilinen gölün bulunduğu Hatay ilinin Reyhanlı ilçesinden elde edilen 6 örnek toplam 15 morfometrik karakter bakımından Orta Anadolu grubundan farklılık gösterdi. Bu karakterler; tüm boy uzunluğu, arka ayak uzunluğu, kondilobazal uzunluk, oksipitonazal uzunluk, sagittal crest uzunluğu, yüz bölgesi uzunluğu, mastoid genişlik, bullasız beyin kapsülü yüksekliği, mandibul uzunluğu, mandibul yüksekliği, üst molar alveol uzunluğu,  $M^1$ ,  $M^2$ ,  $M^3$  ve  $M_1$  uzunluklarıdır. Hatay grubu, bu karakterlere ilaveten alt molar alveol uzunluğu olmak üzere toplamda 16 morfometrik karakter

bakımından Doğu Anadolu grubundan farklılık gösterdi. Hatay grubu ile Batı Anadolu grubu arasında ise sadece iki morfometrik karakter (arka ayak uzunluğu ve bullasız beyin kapsülü yüksekliği) farklılık gösterdi. Hatay grubu ile Doğu Anadolu ve Orta Anadolu grubu arasında farklılık gösteren karakter sayısı oldukça fazla, Batı Anadolu grubu arasında ise azdır. Farklılık gösteren karakter sayısı ile doğru orantılı olarak, en yüksek Mahalanobis mesafe değeri Hatay ve Doğu Anadolu grupları arasındadır ( $D^2=43,98736$ ). Hatay ve Orta Anadolu arasındaki Mahalanobis mesafe değeri de oldukça yüksektir ( $D^2=38,66750$ ) ve bütün gruplar arasındaki en yüksek üçüncü mesafe değeridir. Hatay ve Batı Anadolu grubu arasındaki Mahalanobis mesafe değeri ise orta seviyeli yüksek bir değerdir ( $D^2=18,78976$ ). Serpilme diyagramında Hatay grubu örnekleri, aralarında en küçük Mahalanobis mesafe değeri bulunan Batı Anadolu grubu örnekleri içinde yer aldı. Ayrışım fonksiyon analizi sonucunda oluşturulan sınıflandırma matrisinde ise, Hatay grubunu oluşturan altı örnekten bir tanesinin Batı Anadolu grubu içinde yer alması gerektiği belirlendi. Bu durum aralarında çok sayıda morfometrik karakter farklılığı bulunan Doğu Anadolu ile Orta Anadolu gruplarına göre Hatay grubunun Batı Anadolu grubu ile olan morfometrik karakterler bakımından yakınlığını desteklemektedir ve serpilme diyagramında da açıkça görülmektedir. Bu diyagramda, Hatay grubu Mahalanobis mesafe değerlerine uygun olarak, Orta Anadolu grubu ile Doğu Anadolu grubuna daha uzak, Batı Anadolu grubuna ise daha yakın olarak kümelendi. Benzer durum, kümeleme analizleri sonucunda oluşturulan her iki UPGMA dendogramında da açık şekilde görülmektedir. Hatay grubu, Batı Anadolu grubu ile Trakya, Orta Anadolu ve Doğu Anadolu gruplarını kapsayan kladın dışında ayrı bir klad oluşturdu. Temel bileşenler analizi sonucunda elde edilen döndürülmüş faktör matrisinde Hatay grubu ile Doğu Anadolu ve Orta Anadolu grupları arasında farklılık gösteren morfometrik karakterlerden dokuz tanesi birinci faktör altında, beş tanesi ikinci faktör altında ve bir tanesi de dördüncü faktör altında yüksek ağırlığa sahiptir ( $r>0,5$ ). Mastoid genişlik ise hiçbir faktör altında önemli derecede ağırlığa sahip değildir. Hatay grubu ile Batı Anadolu grubu arasında farklılık gösteren iki morfometrik karakterden, bullasız beyin kapsülü yüksekliği ( $r=0,706$ ) birinci faktör altında, arka ayak uzunluğu ise dördüncü faktör altında yüksek ağırlığa sahiptir ( $r=0,665$ ).

Doğu Anadolu'daki yedi farklı lokaliteden elde edilen örnekler toplam 22 morfometrik karakter bakımından Batı Anadolu grubundan farklılık gösterdi. Bu karakterler; arka ayak uzunluğu, kondilobazal uzunluk, kondilonazal uzunluk, oksipitonazal uzunluk, sagittal crest uzunluğu, interparietal uzunluk, yüz bölgesi uzunluğu, mastoid genişlik, bullasız beyin kapsülü yüksekliği, diastema uzunluğu, damak uzunluğu, timpanik bulla genişliği, mandibul uzunluğu, mandibul yüksekliği, üst molar alveol uzunluğu, alt molar alveol uzunluğu,  $M^1$ ,  $M^2$ ,  $M^3$ ,  $M_1$ ,  $M_2$  ve  $M_3$  taç uzunluklarıdır. Bu grubun Orta Anadolu grubundan ise interparietal uzunluk ve mastoid genişlik olmak üzere sadece iki morfometrik karakter bakımından farklı olduğu bulundu. Doğu Anadolu grubu ile Batı Anadolu grubu arasındaki yüksek Mahalanobis mesafe değeri ( $D^2= 30,69159$ ), iki grup arasında çok sayıda morfometrik karakter bakımından kaynaklanan farklılığı destekledi. En küçük Mahalanobis mesafe değeri Doğu Anadolu grubu ile Orta Anadolu grubu arasında olduğu tespit edildi ( $D^2= 7,72676$ ) ve bu iki grup arasında sadece iki morfometrik karakter bakımından farklılık belirlendi. Mahalanobis mesafe değerleri ile uyumlu olarak, serpilme diyagramında Doğu Anadolu grubu, Batı Anadolu grubundan oldukça uzak şekilde kümelenirken, Orta Anadolu grubuna ise yakın olarak kümelendi. Doğu Anadolu grubu beş grubun değerlendirildiği kümeleme analizi sonucunda oluşturulan UPGMA dendogramında Hatay ile Batı Anadolu grubunun dışındaki kladda, Orta Anadolu grubu ile birlikte Trakya kladına yakın ayrı bir klad oluşturdu. Bu sonuç ile örneklerin elde edildiği her bir lokalite arasındaki Mahalanobis mesafesine dayalı olarak gerçekleştirilen kümeleme analizi sonucu uyum gösterdi. Doğu Anadolu grubu ile Batı Anadolu grubu arasında morfometrik bakımdan farklılık gösteren yirmi iki karakterden on iki tanesi birinci faktör altında, yedi tanesi de ikinci faktör altında yüksek ağırlığa sahiptir ( $r>0,5$ ). Birer tane karakterin ise dördüncü (arka ayak uzunluğu,  $r=0,665$ ) ve beşinci faktör altında (interparietal uzunluk,  $r=0,900$ ) yüksek ağırlığı bulunmaktadır. Doğu Anadolu grubu ile Orta Anadolu grubu arasında morfometrik bakımdan farklılık gösteren karakterlerden mastoid genişlik hiçbir faktör altında önemli derecede ağırlığa sahip değilken, interparietal uzunluk beşinci faktör altında önemli ağırlığa sahiptir ( $r=0,900$ ).

Batı Anadolu ile Orta Anadolu grupları arasında ilgi çekici bir şekilde, bütün gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılığa sebep olan toplam 29 morfometrik

karakterden 26 tanesi farklılık gösterdi. Bu karakterlerden üçü dış morfometrik karakterlerdir (tüm boy uzunluğu, kuyruk uzunluğu ve arka ayak uzunluğu). Farklılık gösteren iç morfometrik karakterler ise istatistiksel olarak anlamlı bulunan bütün kafatası karakterlerinden, bazal uzunluk, bullasız beyin kapsülü yüksekliği, timpanik bulla genişliği ve M<sub>3</sub> taç uzunluğu haricindeki karakterlerdir. Bu iki grup arasındaki Mahalanobis mesafe değeri orta seviyeli yüksektir ( $D^2=19,94107$ ). İki grup arasındaki çok sayıda morfometrik karakterden kaynaklanan farklılık serpilme diyagramında oldukça açık bir şekilde görülmektedir. Kümeleme analizleri sonucunda her iki UPGMA dendogramında Batı Anadolu grubu Hatay grubu ile kümelenirken Orta Anadolu grubu bu iki grubun dışında, Doğu Anadolu grubu ile Trakya grubuna yakın ayrı bir klad oluşturdu. Döndürülmüş faktör matrisinde iki grup arasında farklılık gösteren karakterlerden on altı tanesi birinci faktör altında, altı tanesi de ikinci faktör altında yüksek ağırlığa sahiptir ( $r>0,5$ ). Beyin kapsülü genişliği ( $r=0,517$ ), arka ayak uzunluğu ( $r=0,665$ ) ve parietal uzunluk ( $r=0,900$ ) ise sırasıyla, üç, dört ve beşinci faktörler altında yüksek ağırlığa sahiptir.

Morfometrik olarak birbirlerine en yakın iki grup, önemli bir coğrafik bariyer olan Anadolu diyagonalinin doğusunda yaşayan popülasyonların temsil ettiği Doğu Anadolu grubu ile Anadolu Diyagonalinin batısındaki popülasyonlardan oluşan Orta Anadolu grubudur. Bu iki grup arasında hem farklılık gösteren karakter sayısı azdır hem de Mahalanobis mesafe değeri en küçüktür. Bu gruplara en yakın grup ise, bir diğer coğrafik bariyer olan boğazlar vasıtasıyla Anadolu'dan izole olduğu düşünülen Trakya grubudur. Trakya grubu, her iki gruptan yalnızca ikişer morfometrik karakter yönünden farklıdır ve bu iki grup ile arasındaki mesafe değerleri de birbirine yakındır. Bu grupların dışında, Amanos Dağları'nın doğusunda ve Güneydoğu Toroslar'ın güneyinde yaşayan Hatay grubu ile Batı Anadolu grupları birbirlerine yakın olan diğer gruplardır. Birbirleri ile morfometrik karakterler bakımından yakınlık gösteren, Doğu Anadolu, Trakya ve Orta Anadolu grupları, yine birbirlerine morfometrik benzerlik gösteren Hatay ve Batı Anadolu grupları ile oldukça farklılık gösteren gruplardır. Mursaloğlu (1975), morfolojik ve morfometrik değerlendirmeler sonucunda Türkiye'de *A. amphibius*'un üç alttürünün yaşadığını öne sürmüştür. Trakya'da yaşayan popülasyonları *A. a. cernjavsikii*, Hatay hariç Anadolu'nun tamamında yaşayan

populasyonları *A. a. persicus*, Türkiye'nin güneyinde, Hatay ve yakın lokalitelerde yaşayan populasyonları ise *A. a. hintoni* olarak değerlendirmiştir. Bu alttürler arasında kürk rengi ve yapısında görülen varyasyonların yanı sıra genellikle ayırıcı karakterler olarak dış morfolojik karakterleri göz önüne almıştır. *A. a. hintoni*'nin diğer iki alttüre göre daha büyük vücuda ve arka ayağa sahip olduğunu, *A. a. cernjavskii* ve *A. a. persicus* alttürlerinin ise *A. a. hintoni*'ye göre daha büyük kulaklı olduğunu ifade etmiştir. Bunların dışında alttürler arasında belirgin morfolojik farklılıklar olmadığını belirtmiştir. Mursalıoğlu (1975)'in verdiği alttürlerin yayılış alanına yakın lokalitelerden toplanan, Reyhanlı (Hatay) örneklerinin, Trakya'daki İnce Deresi (Kırklareli) ile Doğu Anadolu, Batı Anadolu ile Orta Anadolu'dan toplanan örneklerden belirgin olarak daha büyük vücutlu ve daha büyük ayaklı olduğu belirlendi. İlâveten, Hatay örneklerinin Trakya örneklerinden belirgin olarak daha uzun kuyruklu oldukları da tespit edildi. Kulak uzunluğu bakımından ise üç alttürün yayılış gösterdiği coğrafyalardaki lokalitelerden toplanan örnekler arasında herhangi bir farklılık bulunamadı. Morfolojik açıdan yakın olarak bulunan Trakya, Orta Anadolu ve Doğu Anadolu gruplarını oluşturan populasyonları belirgin olarak ayıran herhangi bir dış morfolojik karakter belirlenemedi. Batı Anadolu grubunun çok belirgin olmamak kaydı ile hem Trakya hem de Doğu Anadolu grubundan daha büyük vücuda ve daha büyük arka ayağa sahip olduğu tespit edildi. Gözcelioğlu (2009) Trakya'daki *A. a. cernjavskii* populasyonu ile *A. a. persicus*'un Batı Anadolu'da yaşayan populasyonlarını geometrik morfolojik ve klasik morfolojik yöntemlerle karşılaştırmıştır. Geometrik morfolojik analizlerde Trakya ve Anadolu'nun batısındaki lokalitelerden elde edilen örnekler arasında bir ayırım bulamamıştır. Klasik morfolojik analizlerde ise Trakya örnekleri Batı Anadolu örneklerinden ayrılmıştır. Bu çalışmada belirlenen Trakya ve Anadolu'nun batısındaki lokalitelerinde yer aldığı Batı Anadolu grupları arasındaki morfolojik ayırım Gözcelioğlu (2009)'un klasik morfolojik dayanan sonuçlarını doğrulamaktadır. Ancak, önceki çalışmalarda *A. a. cernjavskii* olarak değerlendirilen Trakya'daki örneklerin *A. a. persicus* olarak değerlendirilen Anadolu örneklerinden morfolojik bakımdan net bir biçimde ayrılmadığı aksine, Trakya, Orta Anadolu ve Doğu Anadolu gruplarının morfolojik olarak birbirine yakın olduğu tespit edildi. Bu çalışmada geniş coğrafik örnekleme ve karşılaştırmalı morfolojik analizler ile kapsamlı olarak değerlendirilen Türkiye'de farklı coğrafik bölgelerde yayılış gösteren

*A. amphibius* populasyonları arasında belirgin morfometrik varyasyonların olduğu açığa çıkarıldı.

## 5.2 Moleküler Filogeni ve Filocoğrafya

Bu tez çalışması kapsamında Türkiye’de yaşayan *Arvicola amphibius* populasyonlarının mitokondriyal DNA’sının sitokrom *b* ve kontrol bölgesi varyasyonları belirlendi. Böylece populasyonlar arasındaki evrimsel ilişkiler açığa çıkarıldı ve türün Türkiye’deki filocoğrafik modelini belirlemeye yönelik çıkarımlar yapıldı.

Türkiye genelinde geniş örnekleme yapılarak 27 farklı lokaliteden elde edilen 121 *A. amphibius* örneğinin mitokondriyal genomunda, sitokrom *b* bölgesi için Kryštufek vd. (2014) tarafından verilen 2 sitokrom *b* haplotipi haricinde 40 yeni haplotip, kontrol bölgesi için ise 28 yeni haplotip belirlendi. Trakya ve Batı Anadolu soy hatları arasında sadece iki tane paylaşılan kontrol bölgesi haplotipi olduğu belirlendi (Haplotip 1 ve 3). Bu durum hariç tutulduğunda, mitokondriyal DNA’nın her iki bölgesinin ayrı olarak değerlendirildiği mesafe, model, Bayesian temelli filogenetik analizler ve evrimsel ilişki örgüsü analizleri sonucunda Türkiye’de yaşayan *A. amphibius* populasyonlarının, coğrafik yayılış alanları çakışmayan 5 farklı genetik soy hattına ayrıldığı tespit edildi. Bu soy hatları; Trakya, Hatay, Doğu Anadolu, Batı Anadolu ile Orta Anadolu soy hatlarıdır.

Kontrol bölgesine dayalı olarak gerçekleştirilen tüm filogenetik analizlerde beklenenden farklı iki durum ortaya çıktı. Bunlardan bir tanesi; Samsun’dan bir haplotipin (Haplotip 28), Doğu Anadolu Bölgesi haplotipleri ile bir arada gruplanmasıdır. Diğeri ise ikili farklılıklar (No of differences) ve K2P mesafesine göre oluşturulan NJ ağaçlarında Van haplotipinin (Haplotip 13, Van’dan 4 örnek) Doğu Anadolu soy hattının dışında diğer soy hatlarının oluşturduğu kladın en dışında yer almasıdır. Her iki haplotipin farklı filogenetik ağaçlarda bu şekilde yer almasının kontrol bölgesi dizilerindeki yüksek benzerliklerden kaynaklandığı tahmin edilmektedir. Bu durumun nedeninin ise populasyonlar arasındaki ortalama nükleotid farklılıklarının sayısından (k) kaynaklandığı düşünülmektedir. Haplotip 28’i taşıyan bir Samsun örneği ile Van hariç



Doğu Anadolu soy hattını oluşturan lokalitelerdeki 21 örneğin kontrol bölgesine ait DNA dizileri karşılaştırıldığında örnekler arasındaki ortalama nükleotid farklılıklarının sayısının  $k=4,333$  olduğu tespit edildi. Aynı örnek ile Orta Anadolu soy hattını oluşturan lokaliteler arasındaki ortalama nükleotid farklılıklarının sayısı ise  $k=30,065$ 'dir. Haplotip 13'ü taşıyan 4 Van örneği ile Doğu Anadolu soy hattını oluşturan diğer lokalitelerdeki bireylerin arasında ortalama farklılık gösteren nükleotid sayısı,  $k= 25,286$  olarak tespit edildi. Haplotip 13'ün tüm filogenetik ağaçlarda en dışında yer aldığı diğer soy hatlarını oluşturan bireyler (94 örnek) ile arasındaki ortalama farklılık gösteren nükleotid sayısı ise  $k= 22,94$ 'tür. Dolayısıyla Samsun örneğinin taşıdığı Haplotip 28'in Doğu Anadolu haplotip grubu içinde, Van örneklerinin taşıdığı Haplotip 13'ün ise diğer soy hatlarının en dışında kümelenmesi, bu haplotipleri taşıyan bireylerin nükleotid dizilerinin yakın kümelendikleri haplotip gruplarını oluşturan bireylerin nükleotid dizileri ile olan benzerlikten kaynaklanmaktadır. Bunun yanında bu durum protein kodlamayan kontrol bölgesinin protein kodlayan sitokrom *b* bölgesine göre evrim hızının daha yüksek olmasından kaynaklanmış olabilir (Avice 2000). Böyle bir durum sitokrom *b* bölgesinden oluşturulan filogenetik ağaçlarda rastlanmamış olması, sitokrom *b* bölgesinin filogenetik çalışmalarda kontrol bölgesine göre daha güvenilir bir genetik belirteç olabileceğini gösterdi.

Bütün soy hatlarını oluşturan örnekler bir arada değerlendirildiğinde, sitokrom *b* bölgesinin yüksek nükleotid çeşitliliğine sahip olduğu tespit edildi ( $\pi=0,04031$ ). Benzer şekilde, kontrol bölgesi de yüksek nükleotid çeşitliliğine sahiptir, ancak, sitokrom *b* bölgesine göre nükleotid çeşitliliği nispeten daha düşüktür ( $\pi=0,02646$ ). Haplotip çeşitliliği her iki bölge için oldukça yüksek seviyededir (sitokrom *b* için  $h=0,95854$ , kontrol bölgesi için  $h=0,95034$ ). Her bir soy hattı için ayrı değerlendirmeler yapıldığında, sitokrom *b* ( $\pi=0,01857$ ) ve kontrol bölgesinde ( $\pi=0,01653$ ) en yüksek nükleotid çeşitliliğinin Doğu Anadolu soy hattını oluşturan popülasyonlarda olduğu görüldü. Hatay soy hattının ise sitokrom *b* ( $\pi=0,0143$ ) ve kontrol bölgesi ( $\pi=0,00202$ ) için en düşük nükleotid çeşitliliğine sahip soy hattı olduğu belirlendi. Her iki bölge için, haplotip çeşitliliğinin bütün soy hatlarında yüksek seviyede olduğu bulundu. Sitokrom *b* soy hatları arasındaki genetik uzaklığı gösteren en yüksek Kimura 2-Parametre (K2P) (Kimura 1980) değerinin Doğu Anadolu soy hattı ile diğer dört soy hattı arasında olduğu

tespit edildi (% 8,6 ve % 9,3 arasında değişmektedir). En düşük üç K2P değeri ise sırasıyla, Batı Anadolu/Orta Anadolu (% 1,4), Trakya/Orta Anadolu (% 3,1) ve Trakya/Batı Anadolu (% 3,3) soy hatları arasındadır. TN93+G (Tamura ve Nei 1993) nükleotid değişim modeline göre elde edilen genetik uzaklık değerleri de K2P değerleri ile uyumlu sonuçlar verdi. Kontrol bölgesi verilerine göre en yüksek K2P değeri Trakya/Doğu Anadolu soy hatları arasında (% 6,5), en düşük değer ise Batı Anadolu/Orta Anadolu soy hatları arasındadır (% 0,9). Kontrol bölgesi verilerinden ikili farklılıklara (No. of differences) (Nei ve Kumar 2000) göre oluşturulan genetik uzaklık matrisi de benzer sonuçları gösterdi.

Moleküler varyans analizi (AMOVA) ile sitokrom *b* bölgesinde gözlenen toplam varyasyonun büyük kısmının beş farklı genetik soy hattı arasındaki farklılıklardan kaynaklandığı belirlendi (% 79,80). Benzer sonuç, sitokrom *b* bölgesinde gözlenen toplam varyasyona nispeten daha düşük olsa da kontrol bölgesi için de geçerlidir (% 69,91). Her iki yüksek varyasyon yüzdesi, *A. amphibius* populasyonlarında gözlenen genetik farklılığın Türkiye'deki coğrafik dağılımını desteklemektedir. Soy hatlarını oluşturan populasyonlar arasındaki varyasyon oranı da dikate değerdir ve kontrol bölgesinde (% 19,84) sitokrom *b* bölgesine (% 15,79) göre daha yüksektir. Soy hatları arasındaki genetik farklılaşma derecesini gösteren  $F_{ST}$  değerleri yüksektir. Bu değerler, sitokrom *b* bölgesi için  $0,42006 \leq F_{ST} \leq 0,92194$  değerleri arasında, kontrol bölgesi için ise  $0,36770 \leq F_{ST} \leq 0,90965$  değerleri arasındadır ve bariz populasyon farklılaşmasını ( $F_{ST} > 0,25$ ) göstermektedir (Freeland 2005). Genetik farklılaşma değerleri ile uyumlu olarak, populasyonlar arasındaki gen akışı seviyesini gösteren  $N_m$  değerleri de oldukça düşüktür. Uyumsuzluk dağılımı analizleri ve nötralite testleri, tüm sitokrom *b* ve kontrol bölgesi soy hatlarının demografik kararlılıkta olduğunu ve yakın zamanda populasyon genişlemesi yaşanmadığını gösterdi. Mantel testi sonuçlarına göre populasyonlar arasında mesafeye bağlı orta seviye de genetik yalıtım söz konusudur.

Evrimsel ayrılma zamanlarının belirlenmesine yönelik analiz sonuçlarına göre; *Arvicola amphibius*'un Doğu Anadolu soy hattını oluşturan populasyonların günümüzden yaklaşık 5,669 myö (Geç Miyosen ve Erken Pliyosen arasında; 11,62 ile 3,6 myö) diğer soy hatlarından farklılaştığı belirlendi. Bu farklılaşmaya neden olan en büyük coğrafik

etmenin Anadolu Diyagonalı olduğu düşünölmektedir. Anadolu Diyagonalı bitki ve hayvan türlerinin yayılması ve farklılaşmasında hem dispersale izin veren hem de vikaryansa yol açan önemli bir coğrafik oluşumdur (Ansell vd. 2011, Kornilios vd. 2011, Kaplı vd. 2013, Ahmadzadeh vd. 2013). Diyagonal, Anadolu'yu coğrafik olarak doğu-batı yönünde ikiye ayıran ve mevcut flora ve faunanın şekillenmesinde önemli derecede rol oynayan bir etmendir (Davis 1971, Nilson vd. 1990, Çıplak vd. 1993, Gülkaç ve Yüksel 1999, Mutun 2010, Ahmadzadeh vd. 2013, Gül 2013, Jandzik vd. 2013). Anadolu Diyagonalı, Kuzeydoğu Anadolu'dan Güneybatı Anadolu'ya kadar uzanan ve sonrasında bir kolu Amanos Dağları'na bir kolu da Toros Dağları'na ulaşan, hem kuzey-güney hem de doğu-batı yönünde ardı sıra dizilmiş dağlardan oluşmaktadır. Anadolu Diyagonalı'ni oluşturan dağ sıralarının yükselmesi Geç Miyosen (11,62 ile 5,333 myö) ve Erken Pliyosen (5,333 ile 3,6 myö) aralığında gerçekleşmiştir (Şengör ve Yılmaz 1981, Demirsoy 2002). Bu dağ sıraları Alp-Himalaya orojenezine sebep olan, Afrika, Arap ve Hint levhalarının Mezozoik başında (252 myö) başlayan ve gümüzde de aktif olarak devam eden, kuzeye doğru hareketleri sonrasında Avrupa ve Asya kıtaları ile çarpışmasıyla oluşmuştur. Davis (1971), Anadolu Diyagonalı'nin doğusundaki ve batısındaki popülasyonlar arasındaki farklılıkların sadece çevresel faktörler tarafından açıklanamayacağını ve bu farklılıkların meydana gelmesinde jeolojik geçmişin de bir diğer önemli faktör olduğunu belirtmiştir. Bu çalışmada Doğu Anadolu bölgesindeki *A. amphibius* popülasyonlarının diğer bölgelerdeki popülasyonlardan farklılaşma zamanı 5,669 myö olarak bulundu. Bu sonuç Davis (1971)'in görüşü ile uyumludur.

Bu çalışmada Hatay soy hattının yaklaşık 3,118 myö *A. amphibius*'un diğer soy hatlarından ayrıldığı belirlendi. Hatay soy hattının diğer soy hatları ile olan yalıtımına sebep olan jeolojik olaylar, aynı coğrafik bölgede yaşayan Anadolu kertenkelesi (*Apatya* spp.) türlerinin farklılaşmasına sebep olan başlıca iki tektonik olay ile açıklanabilir (Kaplı vd. 2013). Bunlardan birincisi, Anadolu Diyagonalı'nin Toros dağlarına göre daha doğuda yer alan kolu olan Amanos Dağlarının Geç Pliyosen'deki (3,6 myö) oluşumudur. İkincisi ise yine Geç Pliyosen'de (3,3 myö, Geç Kimmerian) Doğu Paratetis'i daha güneyden yalıtan Pontidler, Küçük Kafkaslar ve Güneydoğu Toros Dağları gibi dağ sıralarının şekillenmesidir (Popov vd. 2006).

Bu çalışmada belirlenen Hatay soy hattının *A. amphibius*'un diğer soy hatlarından farklılaşmasına zamanını destekleyen başka bir çalışma da Neumann vd. (2006) tarafından gerçekleştirilmiştir. Araştırmacılar *A. amphibius*'un Hatay soy hattıyla aynı coğrafik bölgede yaşayan *Mesocricetus auratus*'un Anadolu Diyagonali'nin batısında yayılış gösteren *M. brandti*'den Geç Pliyosen'de (5,333 ile 3,6 myö) farklılaştığını ortaya koymuşlardır. Bu çalışmada elde edilen sonuç Neumann vd. (2006)'ın sonucuyla uyum içindedir. İlave olarak Neumann vd. (2006)'a göre *Mesocricetus auratus*'un *M. brandti*'den farklılaşmasına bu dönemde gerçekleşen tektonik hareketlere ilaveten kuru step habitatın genişlemesi gibi habitat değişimlerinin de etkisi olmuştur.

Türkiye'nin Asya ve Avrupa arasındaki kara bağlantısını kesen ve coğrafik türleşme için önemli bariyer teşkil eden İstanbul ve Çanakkale Boğazları'nın jeomorfolojik oluşum sürecine ilişkin birçok çalışma bulunmaktadır (Ryan vd. 1997, Gökaşan vd. 1997, Hiscott vd. 2002, Ryan vd. 2003, Kerey vd. 2004, McHugh vd. 2008, Gökaşan vd. 2010). Kuaterner'de gerçekleşen deniz seviyesindeki dalgalanmalar sırasında İstanbul ve Çanakkale Boğazları'nın özgün morfolojik yapısından dolayı Akdeniz ile Karadeniz arasında başlayan su değişimleri muhtemelen Marmara Denizi'nin oluşumuna neden olmuştur (Gökaşan vd. 2010). Sedimental ve paleontolojik veriler İstanbul Boğazı'nın jeolojik oluşumunun Kuaterner'de (2,6 myö ile günümüz) kuzeyde Karadeniz ile güneyde Marmara Denizi arasında yarık şeklinde oluşan vadinin şekillenmesi ile başladığını göstermiştir (Kerey vd. 2004). Çanakkale Boğazı'nın oluşumu ise Pliyosen (5,33 myö) ve Kuaterner arasında (2,60 myö) gerçekleşmiştir (Çağatay vd. 2006, Gökaşan vd. 2010). İstanbul Boğazı'ndan Karadeniz ve Marmara Denizi arasındaki su akışı günümüzden yaklaşık 7.000-5.300 yıl önce Geç Pleistosen ve Erken Holosen'de deniz seviyesinin önemli derecede yükselmesiyle gerçekleşmiştir (Gökaşan vd. 1997, Kerey vd. 2004). Birçok türe ait filocoğrafik çalışmada Trakya'dan örnekleri de kapsayan Avrupa ve Anadolu populasyonları arasında çeşitli seviyelerde genetik farklılaşmalar tespit edilmiştir. Bu çalışmaların bazılarında tür içi genetik homojenlik ya da düşük seviye de genetik farklılaşma tespit edilmiş (Michaux vd. 2003, Hürner vd. 2010, Helvacı vd. 2012), bazılarında ise yüksek genetik farklılıklar belirlenmiştir (Michaux vd. 2004, Dubey vd. 2007, Gündüz vd. 2007). Populasyonlar arasında değişik seviyelerde farklılaşmaların görülmesi yakın zamanda gerçekleşen

boğazlardan su akışı ve Pliyosen ile Pleistosen arasında başlayan boğazların jeomorfolojik oluşum süreci ile ilişkilendirilebilir. Evrimsel ayrılma zamanlarının belirlenmesine yönelik analiz, *A. amphibius*'un Trakya soy hattını oluşturan İnce (Kırklareli) populasyonlarının günümüzden yaklaşık 2,151 myö (%95 güven aralığı = 1.569-2.796 myö) Kuaterner'in başlangıcında (Pleistosen) Anadolu'daki iki soy hattından ayrıldığını gösterdi. Bu durumda Holosen'de (11,7 bin yıl ile günümüz) gerçekleşen boğazlar arasındaki su akışından (7.000 ile 5.300 yıl önce) ziyade Geç Pliyosen ve Orta Pleistosen arasında (3,6 myö ile 0,7 myö) boğazların oluşumuna neden olan jeomorfolojik değişimlerin Trakya soy hattının Anadolu'daki iki soy hattından farklılaşmasında etkisinin olduğu söylenebilir.

Birçok araştırmada günümüzde dünya üzerinde görülen tür içi çeşitliliğe neden olan soy hatlarının evriminin ve yayılışının Kuaterner buzul dönemi ve bu dönemde sığınak görevi yapan bölgeler tarafından etkilendiği belirtilmektedir (Hewitt 1996, Taberlet vd. 1998). Türlerin yayılış alanları soğuk dönem esnasında güneye doğru daralırken, bunu takip eden sıcak dönemde önemli kenar bölgelerden genişlemiştir (Hewitt 1996, Taberlet vd. 1998). Bu durumda Avrupa'nın güneyindeki bölgelerde tür içi çeşitliliğin kuzeyindeki bölgelere göre daha yüksek olması beklenebilir (Hewitt 1996, Hewitt 1999, Taberlet vd. 1998, Michaux vd. 2004, Hürner vd. 2010). Bu düşünce ile hareket edildiğinde, Avrupa kıtasının doğusunda bulunan, bünyesinde Balkan ve Kafkas kökenli türleri barındıran Anadolu'nun, Avrupa'daki tür içi çeşitlilik için buzul dönemde potansiyel bir kaynak ve sığınak görevi yapmış olabileceği muhtemeldir. Ancak, Anadolu'nun, iklimsel, jeolojik, ekolojik ve coğrafik özellikler bakımından, bu görüşü destekleyebilecek nitelikte detaylı olarak çalışılmadığı belirtilmiştir (Hewitt 1996, Taberlet vd. 1998, Bilgin 2011). Bu amaç doğrultusunda yapılmış bazı küçük memeli türlerinin filocoğrafyasını araştıran çalışmalar mevcuttur. Bu çalışmaların bazılarında incelenen türlerin Avrupa ve Anadolu populasyonları arasında yüksek seviyede genetik farklılık tespit edilirken, bazılarında ise düşük seviyede genetik farklılık tespit edilmiştir (Michaux vd. 2003, Michaux vd. 2004, Gündüz vd. 2007, Dubey vd. 2007). Gliridae familyasının Türkiye'deki en büyük üyesi olan ve Trakya ile Anadolu'nun kuzey hattı boyunca yayılış gösteren *Glis glis*'in Anadolu ve Avrupa populasyonlarının ise genetik açıdan homojen olduğu belirlenmiştir (Hürner vd. 2010, Helvacı vd. 2012). Trakya soy

hattı bütün sitokrom *b* ve kontrol bölgesi dizilerine göre oluşturulan bütün filogenetik ağaçlarda *A. amphibius*'un Avrupa haplotipleri ile bir arada kümelendi. Bayesian ağacında ise Trakya soy hattını oluşturan bireyler Bosna Hersek, Sırbistan, Avusturya ve Romanya haplotipleri (Kryštufek vd. 2014) ile aynı kladda yer aldı ve Trakya soy hattının bu haplotiplerden yaklaşık olarak 0,7 myö önce Orta Pleistosen'de farklılaştığı belirlendi. Trakya ve Anadolu'daki iki farklı soy hattı arasındaki ayrılma zamanı ise 2,151 myö olarak bulundu. Buna göre Trakya soy hattı bu türün Avrupa haplotiplerinden Anadolu'daki iki soy hattından daha yakın bir zamanda farklılaşmıştır. Bu sonuç ile birlikte kontrol bölgesinde Trakya ve Batı Anadolu soy hattı arasında paylaşılan haplotiplerin bulunması Anadolu'nun *A. amphibius* için buzul dönemde sığınak olarak görev yapmış olabileceğini gösterdi (Hewit 1996, Taberlet vd. 1998, Michaux vd. 2004, Bilgin 2011). Dolayısıyla, bu sonuca göre Trakya ve Anadolu'daki soy hatlarının farklılaşmasında boğazların jeomorfolojik oluşum sürecinin yanı sıra Dubey vd. (2006) tarafından *Crocidura leucodon* populasyonlarının farklılaşmasına neden olduğu belirtilen Pleistosen buzul döneminin etkisinin olduğu da söylenebilir.

Bu çalışmada belirlenen sonuca göre Batı Anadolu ile Orta Anadolu soy hatlarını oluşturan populasyonlar günümüzden yaklaşık 1,202 myö farklılaşmışlardır. Batı Anadolu soy hattını oluşturan populasyonlar, coğrafik olarak İç Anadolu Bölgesi'ndeki düzlük alanlar olan Yukarı Sakarya Bölümü (Havzası) ve Konya Bölümü'nü (Cihanbeyli Platosu), Ege Bölgesi'nin İç Batı Anadolu Bölümü'nden ayıran Batı Anadolu Dağları'na yakın lokalitelerden elde edildi. Orta Anadolu soy hattını oluşturan populasyonlar ise, Kuzeyde Karadeniz Dağları (Köroğlu Dağları, Ilgaz Dağları, Canik Dağları), doğuda Anadolu Diyagonali, güneyde Toros Dağları ve batıda Batı Anadolu Dağları arasında kalan bölgedeki lokalitelerden elde edildi. Tersiyer'deki (65 myö ile 2,6 myö arası) Avrupa faunası için, biri Ege ve Batı Anadolu bölgesi, diğeri de Doğu Anadolu Bölgesi'nde olmak üzere Anadolu'da iki sığınak bölge bulunmaktadır (Koswigg 1955). Bu iki sığınak bölge, İç Anadolu Göl Sistemi olarak bilinen, kapladığı alan bakımından günümüzdeki İç Anadolu Bölgesi'nin neredeyse tamamını kapsayan ve varlığını Pliyosen sonuna (günümüzden 2,6 myö) kadar sürdüren büyük bir tatlı su kütlesi ile birbirinden ayrılmaktadır (Koswigg 1955, Demirsoy 2002, Bilgin 2011). Koswigg (1955) bu tatlı su sisteminin batıdaki sınırının Büyük Menderes nehrinin

kaynağından başladığını ve Doğu Anadolu'daki yükseltilere kadar uzandığını ifade etmiştir. Anadolu'da bulunan bu iki sığınağa, Orta Avrupa ve bugünkü Karadeniz'in batısında yer alan Sarmatik Denizi'nde bulunan faunanın iki yoldan giriş ve çıkış yaptıkları varsayılmaktadır. Bunlardan birisi Kuzey Marmara Havzası ve Ege Bölgesi'ndeki düzlük alanlardır. Bu yol uzun süre varlığını sürdürmüştür ve buzul arası dönemlerde Akdeniz tarafından kaplanıp kesintiye uğramış, buzul dönemlerde ise eski haline dönmüştür. Diğer yol ise birinci yolun daha doğusunda, Sakarya havzasının bulunduğu bölgede bulunmaktadır ve bu yol vasıtası ile Anadolu'nun batısının yanı sıra güney ve doğu bölgelerine geçiş sağlanmıştır (Kosswig 1955). Trakya soy hattı ile Batı Anadolu soy hatları arasında (İnece-Kırklareli, Eber Gölü-Afyon ve Gülçayır-Eskişehir) paylaşılan kontrol bölgesi haplotipi bulunması, Kosswig (1955) tarafından öne sürülen Avrupa ve Anadolu faunası arasında buzul dönemde geçiş yapmak için kullanılan yolların ve mevcut sığınakların varlığını desteklemektedir.

Bu iki yolu kullanarak Batı ve Doğu Anadolu'daki sığınaklara geçiş yapan canlı grupları arasındaki etkileşim belirli coğrafik bariyerler vasıtasıyla kesilmektedir. Orta Anadolu'daki yüksek düzlükleri, Ege Bölgesi'nden ayıran ve popülasyon farklılaşması için önemli bir etmen olan en olası bariyer Batı Anadolu Dağ Sistemi'dir (Kosswig 1955). Bu olası bariyerin aksine, Batı Anadolu Dağları'nın Ege'ye bakan yamaçlarında bulunan farklı ırmakların üst kesimlerde bulunan yatakları ise Anadolu'daki yüksek düzlükler ve İç Anadolu Göl Sistemi'nin kalıntıları ile kısmen bağlantılıdır (Kosswig 1955). Uşak örnekleri kaynağını Murat Dağı'ndan alan Gediz nehrine yakın bir yerden, Denizli örnekleri, Büyük Menderes nehrinin kaynağı olan Çivril Gölü'ne (Işıklı gölü) yakın bir sulak alandan, Konya örnekleri Beyşehir Gölü'nden ve Afyon örnekleri de Eber Gölü'nden elde edilmiştir. Eskişehir örnekleri ise Yukarı Sakarya Havzası'nda bulunan Gülçayır'dan elde edilmiştir. Bu lokalitelerde yayılış gösteren haplotiplerin bir arada bulunması, Batı Anadolu'daki ırmaklar ve İç Anadolu Göl Sistemi'nin Kosswig (1955) tarafından belirtilen kısmi bağlantısı ile ilişkilendirilebilir. En az genetik farklılığın Batı Anadolu ile Orta Anadolu soy hatları arasında bulunmasına etki eden faktör ise Pliyosen sonuna kadar (günümüzden 2,6 myö) kademeli olarak varlığını sürdüren İç Anadolu Göl Sistemi olarak düşünülebilir. Bu iki soy hattını oluşturan popülasyonlar arasında paylaşılan haplotip bulunmamaktadır. Bu soy hatlarının

farklılaşmasında ise Kosswig (1955) tarafından bariyer olarak görev yaptığı ileri sürülen Batı Anadolu Dağ sisteminin rol oynadığı söylenebilir.

Anadolu'nun jeolojik geçmişinin tür içi farklılaşmalar üzerine olan etkileri tatlı su balıkları ve iki yaşamlılar üzerine yapılan çalışmalar ile açıklanmaya çalışılmıştır. Bu çalışmalarda Anadolu'nun günümüzdeki jeolojik yapısını oluşturan levha tektoniklerinin oluşum sürecinin, Anadolu'daki değişik canlı gruplarında görülen genetik farklılaşmalar açısından birbirleri ile çelişen sonuçlar ortaya çıkardığı belirtilmiştir (Hrbek vd. 2004). Yapılan çalışmalarda *Aphanius* (Hrbek vd. 2002) ve *Pseudophoxinus* (Hrbek vd. 2004) tür grupları ile *Mertensiella luschani* (Weisrock vd. 2001) populasyonlarında levha tektoniklerinin oluşum süreci olan Pliyosen'e kadar (5,333 myö ile 2,6 myö) uzanan derin filogenetik farklılıklar tespit edilmiştir. Bu durumun aksine, *Rana macrocnemis* populasyonları üzerine yapılan çalışma ise, bu türün populasyonlarının Pleistosen'de (2,6 myö ile günümüz) farklılaştıklarını belirlemiştir (Veith vd. 2003). Bu çalışmalar sonucunda Arap plakası ve Alanya Masifinin kuzeye doğru hareket etmesi sonucunda Menderes-Toros bloğunu oluşturan mekanizmanın muhtemelen bölgenin genel biyocoğrafyası üzerinde önemli derecede etkisinin bulunduğu, ancak bu durumdan tüm taksonların aynı şekilde etkilenmediği açığa çıkmıştır (Hrbek vd. 2004). Bu tez çalışmasında Batı Anadolu ile Orta Anadolu soy hatları arasındaki farklılaşma *R. macrocnemis* (Veith vd. 2003) populasyonlarında görülen farklılaşma ile benzer şekilde Pleistosen'de (1,202 myö) gerçekleşmiştir. Bu durum *A. amphibius* soy hatlarının farklılaşmasında, Pliyosen sonu Pleistosen başında sonlanan levha tektoniklerinin oluşumunda rol oynayan jeolojik değişimlerin yanı sıra, *Rana macrocnemis* populasyonlarının farklılaşmasında etkili olan Pleistosen döneminde meydana gelen iklimsel dalgalanmaların da etkisinin olabileceğini düşündürmektedir (Veith vd. 2003).

Sakarya'dan elde edilen örnekler sitokrom *b* bölgesi için bir ve kontrol bölgesi için iki haplotip ile temsil edilmektedirler. Bu haplotiplerin elde edildiği lokalite olan Kocaali Batı Karadeniz Dağları'nın kuzeyinde Karadeniz sahiline yaklaşık 1 km mesafededir. Bu haplotiplerin filogenetik ve evrimsel ayrılma zamanlarının belirlenmesine yönelik



analizlerde Anadolu'daki iki soy hattından daha dışarıda kümelenmesinin nedeni Batı Karadeniz Dağları tarafından sağlanan yalıtım olabilir.

Sitokrom *b* bölgesinde bir milyon yılda gerçekleşen mutasyon oranı % 2 olarak kabul edilmektedir (Johns ve Avise 1998, Taberlet vd. 1998). Doğu Anadolu soy hattı ile diğer soy hatları arasındaki genetik farklılığı gösteren K2P değerleri % 8,6 ve 9,3 arasındadır. Bu değerlere göre Doğu Anadolu soy hattının farklılaşmasının günümüzden yaklaşık 4,65-4,3 milyon yıl öncesinde gerçekleştiği söylenebilir. Anadolu Diyagonali'ni oluşturan dağ sıralarının Geç Miosen ve Erken Pliyosen'deki oluşum zamanını işaret eden bu sonuç, evrimsel ayrılma zamanlarının belirlenmesi için gerçekleştirilen analizinin sonuçları ile benzerdir. Bu durum Doğu Anadolu'daki soy hattının diğer soy hatlarından farklılaşmasında Geç Miyosen (11,62 ile 5,333 myö) ve Erken Pliyosen'de (5,333 ile 3,6 myö) gerçekleşen ve Anadolu Diyagonali olarak bilinen dağ sıralarının oluşumuna sebep olan jeomorfolojik olayların etkili olduğunu gösteren bir başka bulgudur. Hatay soy hattı ile diğer soy hatları arasındaki K2P değeri % 5,1 ve 9,2 arasındadır. Bu da, Hatay ile diğer soy hatları arasında yaklaşık olarak Pliyosen'de (5,333 ile 2,6 myö) gerçekleşen ayrılma ile uyumlu bir sonuçtur. Kryštufek vd. (2014) *A. amphibius*'un Türkiye ve Avrupa popülasyonları arasında % 2,3±0.5 (K2P değeri) oranında genetik farklılık bulmuştur. Söz konusu çalışmada kullanılan örnekler, Trakya örneklerini içermemektedir ve bu tez çalışmasında Orta Anadolu soy hattı içinde değerlendirilen Ankara ve ona yakın bir lokalite olan Aksaray'dan elde edilmiştir. Bu tez çalışmasında Trakya soy hattı ile Orta Anadolu, Batı Anadolu soy hatları arasındaki genetik farklılığı gösteren K2P değerleri sırasıyla % 3,1 ve 3,3 olarak bulundu. Bu değerler, Kryštufek vd. (2014) tarafından belirtilen Türkiye ve Avrupa popülasyonları arasındaki genetik farklılaşma değeri ile uyumludur ve *A. amphibius*'un Trakya ve Anadolu soy hatları arasındaki farklılaşmanın yaklaşık 1,65 ile 1,55 myö Pleistosen'de meydana geldiğini göstermektedir. Bu tez çalışmasında Trakya soy hattı ile Avrupa haplotipleri arasındaki genetik farklılığı gösteren K2P değeri ise % 1,1 olarak bulundu. Bu sonuç Trakya soy hattı ile *A. amphibius*'un Avrupa popülasyonlarının yaklaşık olarak 0,55 myö Orta Pleistosen'de farklılaştığını göstermektedir. K2P değerlerine göre Trakya soy hattı ile Anadolu'daki iki soy hattı arasındaki genetik farklılık, Trakya soy hattı ile Avrupa haplotipleri arasındaki genetik farklılıktan daha fazladır. Bu iki soy

hattı buzul dönemin başlangıcına yakın bir zamanda (2,151 myö) ayrılmıştır ve aralarında paylaşılan kontrol bölgesi haplotipleri bulunmaktadır. Bu sonuçlar *A. amphibius*'un Trakya ve Anadolu arasında buzul dönemin ve boğazların jeomorfolojik oluşum süreçlerinin başlangıcına kadar karşılıklı olarak geçiş yapmış olabileceğini ve dolayısı ile Anadolu'nun buzul devirde bu tür için sığınak olarak görev yapmış olabileceğini göstermektedir. Soy hatları arasındaki en düşük K2P değeri ise Batı Anadolu ile Orta Anadolu soy hatları arasındadır (% 1,4). Bu değer, iki soy hattı arasındaki farklılaşmanın yine buzul dönem olarak bilinen Pleistosen ortalarında gerçekleştiğini göstermektedir. Böylece bütün soy hatları arasındaki K2P değerleri popülasyonlar arasındaki evrimsel ayrılma zamanının belirlenmesine yönelik sonuçları desteklemektedir.

Avrupa'da yapılan çalışmalarda, *A. amphibius* popülasyonlarının sahip olduğu nükleotid çeşitliliğine ilişkin veri yok denecek kadar azdır. Bundan dolayı *A. amphibius*'un Avrupa' popülasyonlarının nükleotid çeşitliliği GenBank örnekleri üzerinden hesaplandı ve tez çalışmasında elde edilen sonuçlarla karşılaştırıldı (EK 9). Buna göre, Avrupa'daki 7 farklı lokaliteden 24 örnek için (Kryštufek vd. 2014) nükleotid çeşitliliği değeri  $\pi=0,01151$  olarak belirlendi. Bu tez çalışmasında Türkiye'den 27 farklı lokaliteden elde edilen örneklerin sitokrom *b* bölgesi için nükleotid çeşitliliği değeri, Avrupa popülasyonlarının sahip olduğu değerden yaklaşık üç buçuk kat daha yüksektir ( $\pi=0,04031$ ). Bu tez çalışmasında bulunan kontrol bölgesine ilişkin nükleotid çeşitliliği değeri ( $\pi=0,02646$ ), Piertney vd. (2005) tarafından yapılan çalışmada Birleşik Krallık örnekleri için bulunan değerden ( $\pi=0,017$ ) yaklaşık bir buçuk kat daha yüksektir. Piertney vd. (2005) tarafından kontrol bölgesi verilerine göre, Birleşik Krallık'ta yüksek genetik farklılık gösteren iki farklı *A. amphibius* soy hattı bulunduğu tespit edilmiştir. Bu durumun, Birleşik Krallık'taki iki farklı soy hattının, Avrupa'nın güneyindeki İber yarımadası ve daha doğudaki sığınak bölgelerde bulunan ve birbirinden büyük çapta genetik farklılık gösteren iki farklı atasal soy hattından köken almasından kaynaklanmış olabileceği belirtilmiştir (Piertney vd. 2005). Ayrıca, Avrupa filocoğrafyası üzerine yapılan birçok çalışma, güney ve doğu bölgelerdeki sığınaklarda bulunan popülasyonların, Avrupa'nın kuzey bölgelerindeki popülasyonlara göre daha yüksek genetik çeşitliliğe sahip olduğunu göstermiştir (Taberlet vd. 1998, Hewitt 1999, Hürner

vd. 2010). Dolayısı ile Avrupa'nın güneydoğusunda bulunan Türkiye'de yaşayan *A. amphibius* populasyonlarının, Avrupa populasyonlarına göre sitokrom *b* ve kontrol bölgesinde oldukça yüksek nükleotid çeşitliliği ihtiva etmesi ve Piertney vd. (2005)'in sonuçları, buzul döneminde Anadolu'nun, *A. amphibius* için sığınak olarak görev yapmış olabileceğini işaret etmektedir.

Rokas vd. (2003), Avrupa'daki tür içi çeşitliliğin açıklanmasında genetik çeşitliliğin enlemsel boyutta güneyden kuzeye doğru kademeli olarak azalmasının yaygın bir şekilde kullanıldığını ancak boylamsal olarak genetik çeşitliliğin değişiminin filocoğrafik çalışmalarda göz önüne alınmadığını ifade etmişlerdir. Bu amaçla meşe mazi arısı üzerine yaptıkları çalışmada Anadolu ve Avrupa'daki sığınak bölgelerdeki populasyonların boylamsal olarak genetik çeşitliliğinin değişimini araştırmışlardır ve sonuçta Türkiye'nin diğer sığınak bölgelere göre daha fazla genetik çeşitlilik barındırdığını ifade ederek bu tür için gen merkezi olabileceğini öne sürmüşlerdir. *Arvicola amphibius* soy hatlarının nükleotid çeşitliliği değerleri birbirleri ile karşılaştırıldığında sitokrom *b* ve kontrol bölgesinde Türkiye'nin doğusundan batısına ve Avrupa'ya doğru gidildikçe bu değerlerde kademeli olarak bir azalmanın olduğu görüldü. Bütün soy hatları bir arada değerlendirildiğinde ise mtDNA'nın her iki bölgesi için Türkiye'deki populasyonların, bu türün Avrupa populasyonlarına oranla çok yüksek seviyede nükleotid çeşitliliği ihtiva ettiği belirlendi. Bu sonuçlar Rokas vd. (2003)'ün bulguları ile uyumludur.

*Arvicola* cinsi Palearktık bölgede oldukça geniş yayılışa sahiptir. Birçok paleontolojik çalışma *Arvicola* cinsinin *Mimomys* cinsinden (*Mimomys occitanus*-*M. stehlini*-*M. polonicus*-*M. pliocaenicus*-*M. ostromosensis*-*M. savini* soy hattından) Orta Pleistosen zamanında köken aldığını göstermiştir (Chaline ve Graff 1988, Kolfshoten 1992, Chaline vd. 1993, Neraudeau vd 1995). *M. savini* Orta Pleistosen Avrupa faunasında yaşamış ve köklü molar dişlere sahip olan su sıçanı olarak bilinmektedir. Bu türe ait populasyonlardan günümüzdeki su sıçanlarının atası olduğu öne sürülen *A. cantiana* meydana gelmiştir. Bu olay günümüzden yaklaşık 700-600 bin yıl önce, Cromerian kompleks III ve IV olarak bilinen Pleistosen alt çağlarında gerçekleşmiştir (Kolfshoten 1992). Molar diş morfolojisine dayalı paleontolojik çalışmalar, günümüzdeki *A.*

*amphibius* ve *A. sapidus*'un ortak atadan ayrılmasının Mindel buzulu zamanında (500-300 bin yıl önce) meydana geldiğini belirtmektedir (Chaline ve Graff 1988). Centeno-Cuadros vd. (2009) tarafından moleküler veriler kullanılarak yapılan çalışma, *A. a. scherman* ve *A. sapidus*'un ayrılma zamanının Mindel buzulunda gerçekleştiğini desteklemiştir. Avrupa filocoğrafyası üzerine kapsamlı olarak gerçekleştirilen çalışmada, monofiletik bir kökene sahip olan *A. amphibius* ve *A. sapidus*'un mtDNA sitokrom *b* dizilerinde yüksek bir seviye (% 7,6) nükleotid farklılaşması bulunduğu, dolayısıyla ile bu iki türün Kuaterner döneminin öncesinde farklılaşmış olabileceği belirtilmiştir (Taberlet vd. 1998). Benzer şekilde, Kryštufek vd. (2014) tarafından *A. sapidus* ile *A. amphibius* ve *A. scherman*'dan oluşan populasyonlar arasında yüksek genetik farklılık (K2P=% 6,2±0.9) tespit edilmiştir. Aynı çalışmada Türkiye'deki *A. amphibius* haplotipleri ile Avrupa'daki *A. amphibius* ile *A. scherman* haplotiplerinden oluşan klad arasında ise % 2,3±0.5 oranında genetik farklılık tespit edilmiştir. Ayrıca, nükleer genlerdeki varyasyonlar ise *Arvicola* cinsinin *Microtus* ve *Chionomys* cinslerinin oluşturduğu kladdan ayrımının yaklaşık 3,5 milyon yıl önce Pliyosen dönemine gerçekleştiğini göstermektedir (Abramson vd. 2009). Sitokrom *b* dizilerinde milyon yılda % 2 nükleotid farklılaşmasının gerçekleştiği göz önüne alındığında (Johns ve Avise 1998, Taberlet 1998), Avrupa'daki populasyonları kapsayan yukarıdaki çalışmalara göre iki türün ortak atadan ayrılma zamanının Kuaterner döneminin öncesinde gerçekleşmiş olabileceği görülmektedir. Bu durum paleontolojik çalışmalardan elde edilen morfolojik verilerin sonuçları ve Centeno-Cuadros vd. (2009)'un bulguları ile çelişmektedir. Bu tez çalışmasında GenBank'tan elde edilen *A. sapidus*'a ait dizilerin kullanıldığı sitokrom *b* analizlerinde, Türkiye'deki *A. amphibius* soy hatları ile *A. sapidus* kladı arasında % 6,7 ve % 8 arasında değişen K2P değerleri bulunmuştur. Bu sonuç Avrupa'da mtDNA'ya dayalı olarak yapılan çalışmalardan elde edilen sonuçlar ile uyumludur ve Avrupa'da yayılış gösteren her iki türün Taberlet vd. (1998)'in de belirttiği gibi Kuaterner öncesi Pliyosen'de farklılaşmış olabileceğini göstermektedir.

Genetik tür kavramı, kendisine benzer canlı gruplarından genetik bakımından farklılaşmış, benzer genetik yapıya sahip bireyleri içeren ve kendi aralarında çiftleşebilen doğal populasyonlar olarak tanımlanmaktadır (Bradley ve Baker 2001).

“Genetik Tür Konsepti” altında yapılan tür tanımı ise; iki soy hattı arasında, genetik yalıtıma yol açan ve böylece birbirinden bağımsız evrimsel süreçlerle şekillenen iki ayrı gen havuzunun oluşmasına neden olan genetik değişikliklerin birikmesi olarak ifade edilmektedir (Bradley ve Baker 2001). Bu kavrama göre türü tanımlayabilmek için populasyonlar arasındaki genetik farklılığı ya da uzaklığı belirleyebilmek gerekir. Bu amaçla sitokrom *b* gen bölgesine ait DNA dizi verilerinden elde edilen genetik uzaklık değerinin (K2P) memeli hayvanlarda tür seviyesindeki farklılaşmaların ya da tür sınırlarının belirlenmesinde kullanılıp kullanılmayacağı araştırılmıştır. Buna göre % 2’den az genetik uzaklık değerleri tür içi genetik farklılaşmaları, % 2 ile % 11 arasındaki değerler geçerli bir tür tanımlayabilmek için ilave çalışmaları gerektirebilecek şekilde büyük olasılıkla yeni bir biyolojik türü, % 11’den büyük değerler ise geçerli bir biyolojik türü belirtmektedir (Bradley ve Baker 2001, Baker ve Bradley 2006). Kemiricilerde ise % 4,1’den düşük değerler tür içi varyasyonları, % 4,9’dan büyük değerler ise türler arası varyasyonları göstermektedir (Bradley ve Baker 2001, Baker ve Bradley 2006, Kryštufek vd. 2014). *A. amphibius*’un Doğu Anadolu soy hattı ile diğer soy hatları arasındaki genetik uzaklığı yansıtan K2P değerleri “Genetik Tür Konsepti” kavramı altında geçerli bir biyolojik türü işaret edecek şekilde yüksektir ve % 8,6 ve 9,3 arasında değişmektedir. Benzer durum Hatay soy hattı ile diğer soy hatları arasında görülmektedir ve bu soy hattı ile diğer soy hatları arasındaki K2P değerleri % 5,1 ve 9,2 arasındadır. Trakya soy hattı ve Batı Anadolu ile Orta Anadolu soy hatları arasındaki değerler ise sırasıyla % 3,3 ve % 3,1’dir ve bu soy hatları arasında alttür seviyesinde genetik farklılaşmadan daha fazla farklılaşma olduğunu işaret etmektedir.

Sonuç olarak bu tez çalışması ile Türkiye’de yaşayan 67 kemirici türünden birisi olan ve yarı sucul olarak, özelleşmiş ve parçalı habitatlarda yaşamını sürdüren *Arvicola amphibius*’un Türkiye’deki filocoğrafik durumu, filogenisi, çalışılan genomun yansıttığı ölçüde genetik yapısı ve morfometrik farklılıkları belirlendi. *A. amphibius* populasyonlarının iki farklı morfometrik ve beş farklı genetik soy hattına ayrıldığı tespit edildi. Soy hatlarının farklılaşmasında Kuaterner’deki iklimsel değişimlerin, Türkiye’nin günümüzdeki topografik yapısını oluşturan jeomorfolojik oluşum süreçlerinin ve orojenik olayların etkisinin olduğu belirlendi. Özellikle, bu türün Doğu

Anadolu popülasyonlarının, Alp-Himalaya orojenezinin etkisi ile günümüzden yaklaşık olarak 5,7 milyon yıl önce (Miyosen sonu-Pliyosen başlangıcı) yükselmeye başlayan ve Anadolu Diagonali olarak bilinen dağ sıralarının oluşumu sonucunda farklılaştığı ve tür seviyesinde genetik farklılıkları barındırdığı tespit edildi. Böylece, birçok organizmanın farklılaşma sürecinde etkisi belgelenen Anadolu Diagonali'nin Türkiye'de yaşayan memeli hayvanların tür seviyesinde farklılaşmasına neden olabilecek seviyede de etkisinin olduğu bu çalışma ile ortaya çıkarıldı. Bunun yanında diğer soy hatlarının farklılaşmasında Amanos Dağları ve Türk Boğaz sisteminin (Marmara Denizi, İstanbul ve Çanakkale Boğazları) (Korkmaz vd. 2014) gen akışını kesen coğrafik engeller olarak rol oynadıkları ortaya çıkarıldı. Kontrol bölgesinde, Trakya ile Batı Anadolu soy hatları arasında paylaşılan haplotiplerin varlığı ve sitokrom *b* ile kontrol bölgesinde Avrupa popülasyonlarına göre oldukça yüksek seviyede nükleotid ve haplotip çeşitliğinin olması Anadolu'nun Kuaterner'de bu tür için sığınak görevi yapmış olabileceğini ve bu tür için Anadolu'nun gen merkezi olabileceğini gösterdi. *A. amphibius* popülasyonları arasındaki filogenetik ilişkileri ortaya koyma bakımından kontrol bölgesine göre sitokrom *b* gen bölgesinin daha güvenilir olduğu ortaya kondu. Genetik farklılaşmanın aksine (beş soy hattı) sadece iki farklı morfometrik soy hattının varlığı, *A. amphibius* popülasyonlarının morfolojik evriminin tam olarak gerçekleşmediğini gösterdi. Morfolojik evrimin genetik evrime göre daha yavaş ilerlemesi *A. amphibius* popülasyonlarının özelleşmiş benzer habitatlarda yaşamasına bağlanabilir. Popülasyonlar arasındaki genetik yapıda görülen yüksek seviyedeki farklılaşmalar, alttür ve tür seviyesinde farklılaşmaları desteklemektedir.

*Arvicola amphibius*'un Türkiye'deki yayılış alanları ve Türkiye'deki coğrafik bölgeler dikkate alındığında Trakya (*A. a. cernjavskii*), Anadolu (*A. a. persicus*) ve Hatay (*A. a. hintoni*) bölgelerinde bu türün popülasyonlarında genetik ve morfometrik farklılaşmaların gözlenmesi daha önce tanımlanan alttürlerinin geçerliliğini desteklemektedir. Bu çalışmada belirlenen soy hatları arasındaki genetik farklılaşma değerleri karşılaştırıldığında Doğu Anadolu soy hattındaki genetik farklılaşma derecesinin (sitokrom *b* bölgesinde K2P= % 8,6 ve 9,3 arasında değişmektedir) tür seviyesinde olduğu gözlemlendi.

Koruma biyolojisi için en önemli ölçütler olan biyolojik türlerin tespit edilmesi, yayılış sınırlarının çizilmesi ve türlerin genetik yapısını yansıtan parametrelerinin ortaya çıkarılması gibi önemli ölçütler (Primack 2012) bu tür için büyük ölçüde gerçekleştirildi ve böylece, bu türe yönelik koruma biyolojisi çalışmaları için temel hazırlandı. Koruma biyoloji bakımından *A. amphibius* populasyonlarında yüksek genetik çeşitliliğin varlığı, türün geleceği bakımından önemlidir.

## KAYNAKLAR

- Anonymous, 2006. SPSS 15.0 (Statistical Package for Social Sciences) for Windows. [www.spss.com](http://www.spss.com).
- Aars, J., Dallas, J.F., Piertney, S.B., Marshall, F., Gow, J.L., Telfer, S. and Lambin, X. 2006. Widespread gene flow and high genetic variability in populations of water voles *Arvicola terrestris* in patchy habitats. *Molecular Ecology* 15; 1455–1466.
- Abramson, N.I., Lebedev, V.S., Bannikova, A.A. and Tesakov, A.S. 2009. Radiation events in the subfamily Arvicolinae (Rodentia): evidence from nuclear genes. *Doklady Biological Sciences*, 428; 458–461.
- Aharoni, B. 1932. Die Muriden von Palestine und Syrien, *Zeitschrift. Säugetierk.* Berlin. 7;166-240
- Ahmadzadeh, F., Flecks, M., Rödder, D., Böhme, W., Ilgaz, Ç., Harris, D.J., Engler, J.O., Üzümlü, N. and Carretero, M.A. 2013. Multiple dispersal out of Anatolia: biogeography and evolution of oriental green lizards. *Biological Journal of the Linnean Society* 110; 398–408.
- Ansell, S.W., Stenoi H.K., Grundmann, M., Russel, S.J., Koch, M., Schneider, H. and Vogel, J.C.. 2011. The importance of Anatolian mountains as the cradle of global diversity in *Arabis alpina*, a key arctic-alpine species. *Annals of Botany* 108 : 241 – 252
- Arslan, A., Yorulmaz, T., Toyran, K., Gözütok, S. and Zima, J. 2011. C-heterochromatin variation and NOR distribution in the karyotype of water vole *Arvicola terrestris* (Mammalia, Rodentia). *Caryologia*, 64; 215-222.
- Avice JC 2000 *Phylogeography: The History and Formation of Species*. Harvard University Press, 447 p, Cambridge.
- Baker, R.J. and R.D. Bradley. 2006. Speciation in mammals and the genetic species concept. *Journal of Mammalogy*, 87; 643 – 662.
- Batsaikhan, N., Henttonen, H., Meinig, H., Shenbrot, G., Bukhnikashvili, A., Amori, G., Hutterer, R., Kryštufek, B., Yiğit, N., Mitsain, G. and Muñoz, L.J.P. 2008. *Arvicola amphibius*. In: IUCN 2011. IUCN Red List of Threatened Species. Version 2011.1. [www.iucnredlist.org](http://www.iucnredlist.org). Downloaded on 21 July 2011.
- Bendelt, H., Froster, P. and Rohl, A. 1999. Median joining network for inferring intraspecific phylogenies. *Molecular Biology and Evolution*, 16; 37– 48.
- Benton, M.J., and Donoghue, P.C. 2007. Paleontological evidence to date the tree of life. *Molecular Biology Evolution*, 24;26–53.



- Berthier, K., Galan, M., Weber, A., Loiseau, A. and Cosson, J.F. 2004. A multiplex panel of dinucleotide microsatellite markers for the water vole, *Arvicola terrestris*. *Molecular Ecology Notes*, 4; 620–622.
- Berthier, K., Galan, M., Foltête, J.C., Charbonnel, N. and Cosson, J.F. 2005. Genetic structure of the cyclic fossorial water vole (*Arvicola terrestris*): Landscape and demographic influences. *Molecular Ecology*, 14; 2861–2871.
- Berthier, K., Charbonnel, N., Galan, M., Chaval, Y. and Cosson, J.F. 2006. Migration and recovery of the genetic diversity during the increasing density phase in cyclic vole populations. *Molecular Ecology*, 15; 2665–2676.
- Bilgin, R. 2011. Back to the Suture: The Distribution of Intraspecific Genetic Diversity in and Around Anatolia. *International Journal of Molecular Sciences*, 12; 4080–4103.
- Blasius, J.H. 1857. *Naturgeschichte der Säugethiere Deutschlands und der Angrenzenden Länder von Mitteleuropa Braunschweig*, 549 pp.
- Bradley, R.D. and Baker, R.J. 2001. A test of the Genetic Species Concept: cytochrome-*b* sequences and mammals. *Journal of Mammalogy*, 82; 960–973.
- Brown, T.A. 2009. *Gene cloning and DNA analysis. An introduction. Fifth Edition.* 396 p, Manchester, UK.
- Bohonak, A.J. 2002. IBD (Isolation by Distance): a program for analyses of isolation by distance. *Journal of Heredity*, 93;153–154.
- Centeno-Cuadros, A., Delibes, M. and Godoy, J.A. 2009. Dating the divergence between southern and european water voles using molecular coalescent-based methods. *Journal of Zoology*, 279; 404–409.
- Centeno-Cuadros, A. and Godoy, J.A. 2010. Structure, organization and nucleotide diversity of the mitochondrial control region and cytochrome b of southern water vole (*Arvicola sapidus*). *Mitochondrial DNA*, 21(2); 48–53.
- Chaline, J. and Graf, J.D. 1988. Phylogeny of the Arvicolinae (Rodentia): biochemical and paleontological evidence. *Journal of Mammalogy*, 69;22–33.
- Chaline, J., Laurin, B., Brunet-Lecomte, P. and Viriot L. 1993. Morphological trends and rates of evolution in Arvicolids (Arvicolidae, Rodentia) towards a punctuated equilibria/disequilibria model. *Quaternary International*, 19; 27–39.
- Corbet, G.B. 1978. *The mammals of the Palaearctic region: a taxonomic review.* British Museum (Natural History), 314 p., London.

- Çağatay, M.N., Görür, N., Flecker, R., Sakıncı, M., Tünoğlu, C., Ellam, R., Krijgsman, W., Vincent, S. and Dikbas, A. 2006. Paratethyan–Mediterranean connectivity in the Sea of Marmara region (NW Turkey) during the Messinian. *Sedimentary Geology*, 188; 171–187.
- Çıplak, B., Demirsoy, A. and Bozcuk, A.N. 1993. Distribution of Orthoptera in relation to the Anatolian Diagonal in Turkey. *Articulata*, 8 (1); 1-20.
- Çıplak, B. 2003. Distribution of Tettigoniinae (Orthoptera, Tettigoniidae) bush-crickets in Turkey: the importance of the Anatolian Taurus Mountains in biodiversity and implications for conservation. *Biodiversity and Conservation*, 12; 47–64.
- Davis P.H. 1971. Distribution patterns in Anatolia with particular reference to endemism. In: Davis PH, Harper PC, Hedge IC. eds. *Plant life of southwest Asia*. 15–28 Aberdeen
- De Filippi, F. 1865. *Note di un viaggio in Persia nel 1862.*, Volume unico, 396 p, Milano
- Demirsoy, A. 1992. *Yaşamın Temel Kuralları, Omurgalılar/Amniyota (Sürüngenler, Kuşlar, Memeliler)*, 942 s, Ankara.
- Demirsoy, A. 2002. *Genel Zoocoğrafya ve Türkiye Zoocoğrafyası*. 1007 s, Ankara.
- Diniz-Filho, J.A.F., Soares, T.N., Lima, J.S., Dobrovolski, R., Landeiro, V.L., Telles, M.P.D., Rangel, T.F. and Bini, L.M. 2013. Mantel test in population genetics. *Genetics and Molecular Biology*, 36: (4) ;475-485.
- Doyle, J.J. and Doyle, J.L. 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus*, 12(1); 13-15.
- Drummond, A.J. and Rambaut, A. 2007. BEAST: Bayesian evolutionary analysis by sampling trees. *BMC Evolutionary Biology* 7, 214
- Drummond, A.J., Suchard, M.A., Xie, D. and Rambaut, A. 2012. Bayesian phylogenetics with BEAUti and the BEAST 1.7. *Molecular Biology and Evolution*, 29; 1969–1973.
- Dubey, S., Cosson, J., Vohralik, V., Kryštufek, 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.
- Ellerman, J. R. and Morrison-Scott, T.C.S. 1951. *Checklist of Palaearctic and Indian Mammals 1758-1946*. British Museum of Natural History, London.

- 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.
- Felsenstein, J. 1985. Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap. *Evolution*, 39; 783-791.
- Freeland, J.R. 2005. *Molecular Ecology*. 388 p, England.
- Fu, Y.X. 1997. Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking and background selection. *Genetics*; 147; 915-25.
- Göktaş, E., Demirbağ, E., Oktay, F.Y., Ecevitoğlu, B., Simsek, M. and Yüce, H., 1997. On the origin of the Bosphorus. *Marine Geology*, 140 (1-2); 183-199.
- Göktaş, E., Tur, H., 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(2); 113-131.
- Gözcelioğlu, B., Çolak, E. and Çolak R. 2006. Karyotype of *Arvicola terrestris* (Mammalia: Rodentia) in Turkish Thrace. *Pakistan Journal of. Biological. Sciences*, 9 (12); 2387-2388.
- Gözcelioğlu, B. 2009. Batı Anadolu'daki Su Sıçanının (*Arvicola terrestris* Linneaus, 1758) Taksonomik Durumu ve Allozim Varyasyonları. Doktora Tezi. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Gözükırmızı, N., Ertuğrul, F. Hasaıçebi, S. Karakaş, Ö. ve Türктаş, M. 2011. Floresan Temelli Yeni Nesil Genetik Analiz Uygulamaları: DNA Dizi Analizi, Moleküler Markör Uygulamaları ve Çoklu Gen Anlatım Analizleri Uygulamalı Eğitimi. Gen Mühendisliği ve Biyoteknoloji Enstitüsü, Marmara Araştırma Merkezi, Tübitak, İzmit.
- Gül, S., 2013. Ecological divergence between two evolutionary lineages of *Hyla savignyi* (Audouin, 1827) in Turkey: effects of the Anatolian Diagonal. *Animal Biology*. 63; 285-295
- Gülkaç, M.D. ve Yüksel, E. 1999. Türkiye'deki *Spalax* Tür ve Alttürlerinin Dağılımına ve Türleşmesine Coğrafik İzolasyonun Etkisi. *Turkish. Journal of Zoology* 23 (Ek Sayı 2); 491 -496.
- Gündüz, İ., Jaarola, M., Tez, C., Yenyurt, C., Polly, P.D. and Searle, J.B. 2007. Multigenic and morphometric differentiation of ground squirrels (*Spermophilus*, Scuridae, Rodentia) in Turkey, with a description of a new species. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 43; 916-935.

- Hrbek, T., Küçük, F., Frickey, T., Stölting, K.N., Wildekamp, R.H. and Meyer, A. 2002. Molecular phylogeny and historical biogeography of the *Aphanius* (Pisces, Cyprinodontiformes) species complex of central Anatolia, Turkey. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 25; 125–137.
- Hrbek, T., Stölting, K.N., Bardakci, F., Küçük, F., Wildekamp, R.H. and Meyer, A. 2004. Plate tectonics and biogeographical patterns of the *Pseudophoxinus* (Pisces: Cypriniformes) species complex of central Anatolia, Turkey. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 32; 297–308.
- Hall, T.A. 1999. A user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids. Symposium. Series*, 41; 95–98.
- Harpending, H.C. 1994. Signature of ancient population growth in a low-resolution mitochondrial DNA mismatch distribution. *Human Biology*, 66; 591–600.
- Hasegawa, M., Kishino, H. and Yano, T. 1985. Dating of human-ape splitting by a molecular clock of mitochondrial DNA. *Journal of Molecular Evolution*, 22 (2); 160–174.
- 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 the edible dormouse (*Glis glis*): a consequence of forest fragmentation in Turkey. *Biological Journal of the Linnean Society*. 107; 611–623.
- 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. 1999. Post-glacial re-colonization of European biota. *Biological Journal of The Linnean Society*, 68; 87–112.
- Hinton, M.A. 1926. *Monograph of the Voles and Lemmings (Microtinae)*. British Museum (Natural History), London.
- Hiscott, R.N. and Aksu, A.E. 2002. Late Quaternary history of the Marmara Sea and Black Sea from high-resolution seismic and gravity-core studies. *Marine Geology*, 190; 261–282.
- Hürner, H., Kryštufek, B., Sarà, M., Ribas, A., Ruch, T., Sommer, R., Ivashkina, V. and Michaux, J.R. 2010. Mitochondrial phylogeography of the edible dormouse (*Glis glis*) in the western Palearctic region. *Journal of Mammalogy*, 91; 233–242.
- 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.

- İyigün, C. and Çolak, R. 2004. An electrophoretic study on esterase and blood serum proteins of the water vole *Arvicola terrestris* (L., 1758) (Mammalia: Rodentia), in Kırşehir province. Turkish Journal of Biology, 28: 47-53.
- Jandzik, D., Avcı, A. and Gvoždik, V. 2013. Incongruence between taxonomy and genetics: three divergent lineages within two subspecies of the rare Transcaucasian rat snake (*Zamenis hohenackeri*). Amphibia-Reptilia, 34; 579-584.
- Johns, G.C. and Avise J.C.1998. A comparative summary of genetic distances in the vertebrates from the mitochondrial cytochrome *b* gene. Molecular Biology and Evolution, 15;1481–1490.
- Kalaycı, Ş. 2005. SPSS uygulamalı çok değişkenli isttistik teknikleri. 425 s, Ankara.
- Kaplı, P., Botoni, D., Ilgaz, C., Kumlutas, Y., Avcı, A., Rastegar-Pouyani, N., Fathinia, B., Lymberakis, P., Ahmadzadeh, F. and Poulakakis, N. 2013. Molecular phylogeny and historical biogeography of the Anatolian lizard *Apathya* (Squamata, Lacertidae). Molecular Phylogenetics Evolution. 66; 992-1001.
- 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. Paleogeography, 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.
- Koban, E., Berkman, C., Dinç, H. ve Togan, İ. 2008. Türk Haygen-I Projesi, Populasyon Genomiği Çalışmayı-II. ODTÜ Biyoloji Bölümü. Ankara
- Kolfschoten, T.V. 1992. Aspects of the migration of mammals to northwestern Europe during the pleistocene, in particular the reimmigration of *Arvicola terrestris*. Courier Forsch.-Inst. Senckenberg. 153; 213-220.
- Korkmaz, E.M., Lunt, D.H., Çıplak, B., Değerli, N. and Başibüyük, H.H. 2014. The contribution of Anatolia to European phylogeography: the centre of origin for the meadow grasshopper *Chorthippus parallelus*. Journal of Biogeography, 41; 1793–1805.
- Kosswig, C. 1955. Zoogeography of the near east. Systematic Zoology, 4 (2); 49-73+96.
- Kornilios, P., Ilgaz, C., Kumlutas, Y., Giokas, S., Fraguadakis-Tsolis, S. and Chondropoulos, B. 2011. The role of Anatolian refugia in herpetofaunal diversity: an mtDNA analysis of *Typhlops vermicularis* Merrem, 1820 (Squamata, Typhlopidae). Amphibia-Reptilia 32; 351–363.

- Kryštufek, B. and Vohralík, V. 2005. Mammals of Turkey and Cyprus. Rodentia I: Sciuridae, Dipodidae, Gliridae, Arvicolinae, 292 p, Založba Annales, Koper.
- Kryštufek, B. Koren, T., Engelberger, S., Horváth, G.F., Purger, J.J., Arslan, A., Chişamera, G. and Murariu, D. 2014. Fossorial morphotype does not make a species in water voles. *Mammalia*, 78 (1); 1-11.
- Librado, P. and Rozas, J. 2009. DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics*, 25; 1451-1452.
- Linnæus, C. 1758. *Systema naturæ per regna tria naturæ, secundum classes, ordines, genera, species, cum characteribus, differentiis, synonymis, locis. Tomus I. Editio decima, reformata.* – pp. [1–4], 1–824. Holmiæ. (Salvius)
- Mantel, N. 1967. The detection of disease clustering and a generalized regression approach. *Cancer Research*, 27(2); 209-220.
- McHugh, C.M.G., Gurung, D., Giosan, L., Ryan, W.B.F., Mart, Y., Sancar, U., Burckle, L. and Çagatay, N. 2008 The last reconnection of the Marmara Sea (Turkey) to the World Ocean: a paleoceanographic and paleoclimatic perspective. *Marine Geology*, 255; 64–82.
- 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., Libois, R., Paradis, E. and Filippucci, M.G. 2004. Phylogeographic history of the yellow-necked fieldmouse (*Apodemus flavicollis*) in Europe and in the Near and Middle East. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 32; 788–798.
- Mursaloglu, B. 1975. Türkiye su sıçanlarının *Arvicola* coğrafik varyasyonları. TÜBİTAK V. Bilim Kongres Tebliğleri, 353-368.
- Musser, G.G. and M.D. Carleton. 2005. Superfamily Muroidea. In: (D.E. Wilson and D.A.M. Reeder, eds.) *Mammal species of the World. A taxonomic and geographic reference.* 3rd ed. Vol. 2. John Hopkins University Press, 894-1531 p, Baltimore.
- Mutun, S., 2010. Intraspecific Genetic Variation and Phylogeography of the Oak Gallwasp *Andricus caputmedusae* (Hymenoptera: Cynipidae): Effects of the Anatolian Diagonal. *Acta Zoologica Academiae Scientiarum Hungaricae* 56; 153–172.
- Nei, M. and Li, W. 1979. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *PNAS* 76-10; 5269–5273.

- Nei, M. and Tajima, F. 1981. DNA polymorphism detectable by restriction endonucleases, *Genetics*, 97; 145-163.
- Nei, M. and Kumar, S. 2000. *Molecular Evolution and Phylogenetics*. Oxford University Press, 352 p, New York.
- Neraudeau, D., Viriot, L., Chaline, J., Laurin, B. and Kolfshoten, T.V. 1995. Discontinuity in the Plio-Pleistocene Eurasian water vole lineage *Paleontology*, 38; Part 1, 1995.
- Neumann, K., Michaux, J., Lebedev, V., Yigit, N., Colak, E., Ivanova, N., Poltoraus, A., Surov, A., Markov, G., Maak, S., Neumann, S. and Gattermann, R. 2006. Molecular phylogeny of the Cricetinae subfamily based on the mitochondrial cytochrome b and 12SrRNA genes and the nuclear vWF gene. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 39; 135-148.
- Nilson, G., Andrén, C. and Flärdh, B. 1990. *Vipera albizona*, a new mountain viper from central Turkey, with comments on isolating effects of the Anatolian "Diagonal". *Amphibia-Reptilia*, 11; 285-294.
- Nowak, R. 1999. *Walker's mammals of the world, vol. 2.: The Johns Hopkins University Press*. Baltimore, Maryland.
- Ognev, S.I. 1948. *Mammals of the USSR and adjacent countries, Rodents Vol VI.*, 508 p, Moscow.
- Özkurt, Ş., Çolak, E., Yiğit, N., Sözen, M. and Verimli, R. 1999. Contributions to the Karyology and Morphology of *Arvicola terrestris* (Lin. 1758) (Mammalia: Rodentia) in Central Anatolia. *Turkish Journal of Zoology*, 23; 253-257.
- Pakendorf, B. and Stoneking, M. 2005. Mitochondrial DNA and human evolution. *Annual Review of Genomics and Human Genetics*, 6; 165-83.
- Passarge, M.D. 2001. *Color Atlas of Genetics*, 468 p, New York.
- Petrov, B.M. 1949. Materials for the classification and geographical distribution of Water voles, (*Arvicola terrestris* L.) in Serbia. *Bull Mus. Hist. nat. Pays Serbe (B)* 1-2, 1949 171-199
- Pevsner, J. 2009. *Bioinformatics and Functional Genomics*, 951 p, New Jersey.
- Piertney, S.B., Stewart, W.A., Lambin, X., Telfer, S., Aars, J. and Dallas, J.F. 2005. Phylogeographic structure and postglacial evolutionary history of water voles (*Arvicola terrestris*) in the United Kingdom. *Molecular Ecology*, 14;1435-1444.

- Popov, S.V., Shcherba, I.G., Ilyina, L.B., Nevesskaya, L.A., Paramonova, N.P., Khondkarian, S.O. and Magyar, I., 2006. Late Miocene to Pliocene palaeogeography of the paratethys and its relation to the Mediterranean. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 238; 91–106.
- Primack, R.B. 2012. *Koruma Biyolojisi*. 605 s. Ankara.
- Posada, D. 2008. jModelTest: Phylogenetic Model Averaging. *Molecular. Biology. Evolution*, 25(7); 1253–1256.
- Rambaut, A. and Drummond, A.J. 2003. Tracer, Version 1.3. Available at: <http://evolve.zoo.ox.ac.uk>
- Rambaut A. 2008. FigTree, Version 1.2. Available at: <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/FigTree/>
- Rambaut, A., Suchard, M.A., Xie, D. and Drummond A.J. 2014 Tracer v1.6, Available from <http://beast.bio.ed.ac.uk/Tracer>.
- Rambaut, A. and Drummond A.J. 2002-2013. LogCombiner v1.8.0. Part of BEAST package
- Rohlf, J.F. 1993. NTSYS-pc, Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System, Exeter Publishing, Setauket, New York.
- Rokas, A., Atkinson, R., Webster, L., Csoka, G. and Stone, G.N. 2003. Out of Anatolia: longitudinal gradients in genetic diversity support an eastern origin for a circum-Mediterranean oak gallwasp *Andricus quercustozae*. *Molecular Ecology*, 12; 2153–2174.
- Ryan, W.B.F., Pitman III, W.C., Major, C.O., Shimkus, K., Maskelonko, V., Jones, G.A., Dimitrov, P., Görür, N., Sakiñç, M. and Yüce, H. 1997. An abrupt drowning of the Black Sea shelf. *Marine Geology*, 138; 119–126.
- Ryan, W.B.F., Major, C.O., Lericolais, G. and Goldstein, S.L. 2003. Catastrophic flooding of the Black Sea. *Annual. Review of. Earth and Planetary. Sciences*, 31; 525–554
- StatSoft, Inc. 2004. STATISTICA (data analysis software system), version 7. [www.statsoft.com](http://www.statsoft.com).
- Steiner, H.M. and Vauk, G. 1966. Säugeterie aus dem Beyşehir-Gebiet (Wil. Konya, Kleinasien). *Zoologischer. Anzeiger*, 176(2); 98-102,
- Stewart, W.A., Piertney, S.B. and Dallas, J.F. 1998. Isolation and characterization of highly polymorphic microsatellites in the water vole, *Arvicola terrestris*. *Molecular Ecology*, 7; 1258–1259.



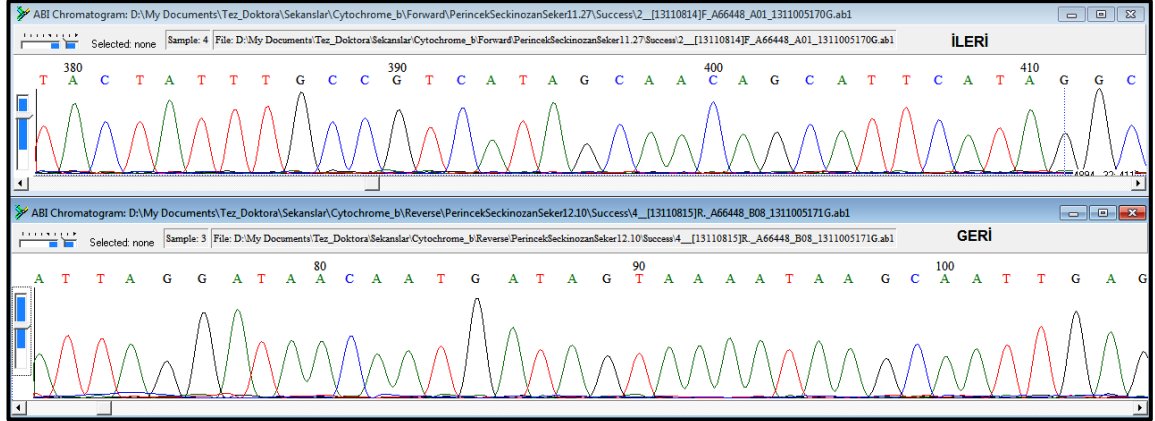
- Stewart, W.A., Dallas, J.F., Piertney, S.B., Marshall, F., Lambin, X. and Telfer, S. 1999. Metapopulation genetic structure in the water vole, *Arvicola terrestris*, in NE Scotland. *Biological Journal of The Linnean Society*, 68;159–171.
- Şaroğlu, F. ve Güner, Y. 1981 Doğu Anadolu'nun jeomorfolojik gelişimine etki eden öğeler; jeomorfoloji, tektonik, volkanizma ilişkileri: Türkiye Jeoloji Kurumu Bülteni, 24 (2); 39-50.
- Şengör, A.M.C. and Yılmaz, Y. 1981. Tethyan evolution of Turkey: a plate tectonic approach. *Tectonophysics*, 75; 181 –241.
- Taberlet, P., Fumagalli, L., Wust-Saucy, A.G. and Cossons, J.F. 1998. Comparative phylogeography and post-glacial colonization routes in Europe. *Molecular Ecology*, 7: 453-461.
- Tamura, K and Nei, M. 1993. Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees. *Molecular Biology and Evolution*, 10; 512-526.
- 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.
- Tajima, F. 1989. The effect of change in population size on DNA polymorphism. *Genetics*, 123; 597-601.
- Tajima, F. 1989a. Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. *Genetics*, 123; 585–595.
- Telfer, S., Dallas, J.F., Aars, J., Piertney, S.B., Stewart, W.A. and Lambin X. 2003. Demographic and genetic structure of fossorial water voles *Arvicola terrestris* on Scottish islands. *Journal of Zoology*, 259; 23–29.
- Tez, C., İbiş, O., Tez, R., Kılıç, M. and Telcioğlu, M. 2011. Distributional, morphological and karyotypic contributions for the Eurasian water vole, *Arvicola amphibius* (Linnaeus, 1758) (Rodentia: Mammalia), from Turkey. *Archives of Biological Science*, 63 (2); 407-412.
- Thomas, O. 1907. *Microtus terrestris armenius* Ann. Mag. N.H. 20; 201.
- Turner, P.C., McLennan, A.G., Bates, A.D and White, M.R.H. 2004 *Instant Notes in Molecular Biology*, Bios Scientific Publishers, 307 p, Oxford, UK.
- Üstünbaş, S., Çolak, R., Karacan, G.O. and Çolak, E. 2011. RAPD-PCR analysis of water vole *Arvicola amphibius* (Linnaeus, 1758) (Mammalia: Rodentia) distributed in Turkey. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 10 (13); 1673-1677.

- Weisrock, D.W., Macey, J.R., Ugurtas, I.H., Larson, A. and Papenfuss, T.J. 2001. Molecular phylogenetics and historical biogeography among salamandrids of the true salamander clade: rapid branching of numerous highly divergent lineages in *Mertensiella luschani* associated with the rise of Anatolia. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 18; 434–448.
- Veith, M., Schmidtler, J.F., Kosuch, J., Baran, I. and Seitz, A. 2003. Palaeoclimatic changes explain Anatolian mountain frog evolution: a test for alternating vicariance and dispersal events. *Molecular Ecology*, 12; 185–199.
- Wilson, D.E. and Reeder, D.M. 2005. *Mammal Species of the World: A Taxonomic and Geographic Reference Third Edition*, 2.142 p., Baltimore.
- Voloch, C.M., and Schrago, C.G. 2012. Impact of the Partitioning Scheme on Divergence Times Inferred from Mammalian Genomic Data Sets. *Evolutionary Bioinformatics Online*, 8; 207–218.
- Yavuz, G. 2007. Ankara Civarında Yayılış Gösteren Su sıçanı *Arvicola terrestris* L., 1758 (Mammalia: Rodentia)’in Ekolojisi Üzerinde Araştırmalar. Yüksek Lisans Tezi. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Yavuz, G. Çolak, E. and Kankilic, T. 2013. Investigations on the Ecology of Eurasian Water Vole, *Arvicola amphibius* (Rodentia: Mammalia) in Ankara Province. *Pakistan Journal of Zoology*, 45 (6); 1599-1605
- Yiğit, N., Çolak, E., Sözen, M., and A. Karataş. 2006. Rodents of Türkiye “Türkiye Kemiricileri”, 154 s, Ankara.

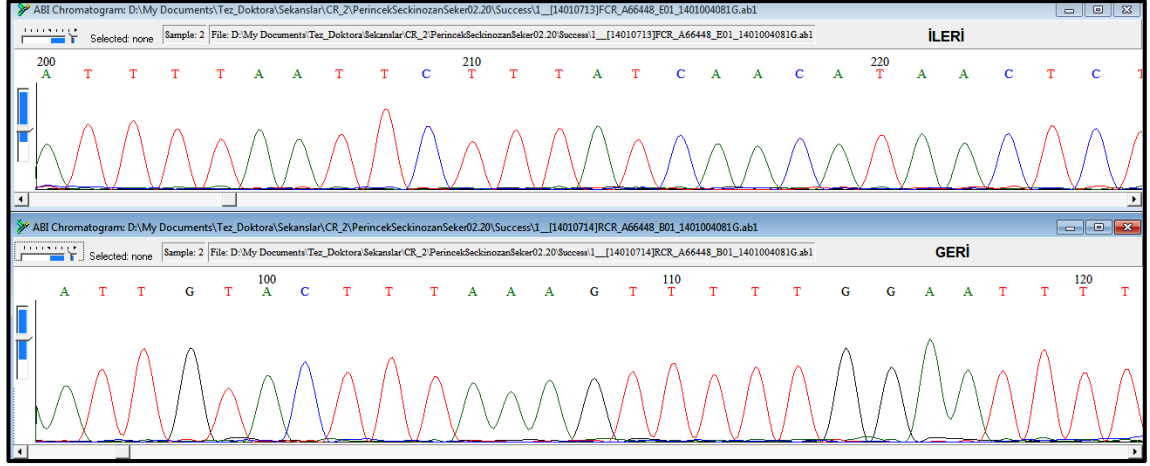
## EKLER

- EK 1** *A. amphibius*'un sitokrom *b* bölgesinin ileri ve geri okumalarını gösteren örnek kromotogram dosyası
- EK 2** *A. amphibius*'un kontrol bölgesinin ileri ve geri okumalarını gösteren örnek kromotogram dosyası
- EK 3** *A. amphibius*'un 22 popülasyonu arasındaki Mahalanobis mesafe değerleri
- EK 4** Sitokrom *b* analizlerinde kullanılan *A. amphibius* ve diğer türlere ait haplotiplerin GenBank erişim numaraları
- EK 5** *A. amphibius* ve dış grupların sitokrom *b* bölgesi haplotiplerinin sekansları
- EK 6** Kontrol bölgesi analizlerinde kullanılan *A. amphibius* ve diğer türlere ait haplotiplerin GenBank erişim numaraları
- EK 7** *A. amphibius* ve dış grupların kontrol bölgesi haplotiplerinin sekansları
- EK 8** *A. amphibius*'un 120 örneğinin kontrol bölgesi dizileri üzerinden Kimura 2-Parametresine göre oluşturulan NJ ağacı
- EK 9** *A. amphibius*'un GenBank'tan kullanılan Avrupa popülasyonlarının nükleotid çeşitliliği

**EK 1 *A. amphibius*'un sitokrom *b* bölgesinin ileri ve geri okumalarını gösteren örnek kromotogram dosyası (Lokalite: Bolu, Koleksiyon Numarası: 5896)**



**EK 2 A. *amphibius*'un kontrol bölgesinin ileri ve geri okumalarını gösteren örnek kromotogram dosyası (Lokalite: Bolu, Koleksiyon Numarası: 5919)**



**EK 3 A. *amphibius*'un 22 popülasyonu arasındaki Mahalanobis mesafe değerleri**

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22
1.KIRKLARELİ	0,00																					
2.HATAY	56,33	0,00																				
3.ERZURUM	27,72	53,58	0,00																			
4.ARDAHAN	48,86	56,96	23,62	0,00																		
5.KARS	17,43	60,88	18,16	24,05	0,00																	
6.VAN	110,84	171,99	113,37	118,28	114,00	0,00																
7.BİTLİS	267,84	348,25	286,91	271,52	265,70	131,97	0,00															
8.MUŞ	160,19	229,56	186,89	178,83	161,52	67,78	98,54	0,00														
9.ELAZIĞ	110,18	177,60	126,16	130,55	120,58	38,05	137,35	58,95	0,00													
10.ESKİŞEHİR	54,76	38,22	50,98	66,39	68,19	160,60	367,98	242,11	174,03	0,00												
11.AFYON	40,69	73,92	69,71	75,28	46,08	105,51	244,52	149,43	118,25	76,39	0,00											
12.UŞAK	85,43	43,47	73,69	66,07	87,00	179,76	389,80	259,69	190,58	33,84	105,36	0,00										
13.DENİZLİ	88,08	42,75	79,95	85,16	101,09	200,99	381,97	294,29	218,61	32,29	109,14	27,59	0,00									
14.KONYA	45,98	20,33	33,67	44,78	52,53	144,28	324,90	211,42	155,10	30,65	62,47	52,03	38,35	0,00								
15.SAMSUN	79,32	155,72	108,55	104,79	89,37	85,24	208,12	92,78	57,96	154,79	83,44	177,69	206,06	131,75	0,00							
16.ÇORUM	112,68	174,37	132,06	124,63	114,96	27,98	125,44	54,83	54,50	180,57	85,72	188,44	212,57	143,48	70,40	0,00						
17.KIRŞEHİR	41,22	45,02	24,19	31,63	40,43	124,56	290,17	209,13	130,95	32,35	79,89	39,10	43,41	31,03	122,23	141,39	0,00					
18.KAYSERİ	93,33	162,93	121,98	130,47	110,43	38,96	154,57	58,00	34,25	167,27	74,44	195,89	216,07	138,89	31,05	29,21	142,03	0,00				
19.ÇANKIRI	172,80	236,03	196,98	188,03	181,74	63,74	102,63	44,96	86,03	250,62	143,53	267,69	286,54	201,96	102,88	30,72	210,77	56,09	0,00			
20.MARAŞ	32,29	59,37	17,72	23,71	20,82	106,68	259,25	189,10	127,61	43,84	65,37	58,54	64,72	42,20	120,02	125,15	14,21	132,05	190,65	0,00		
21.BOLU	44,43	72,96	52,40	57,26	58,28	142,62	311,56	195,83	143,19	59,07	90,40	82,87	99,80	65,78	106,17	142,00	56,52	131,67	211,78	58,84	0,00	
22.ANKARA	18,36	57,59	33,96	48,52	27,48	107,94	275,50	176,19	110,54	43,78	47,90	77,82	79,85	53,92	81,51	119,10	33,64	94,89	182,18	27,20	42,81	0,00

**EK 4 Sitokrom *b* analizlerinde kullanılan *A. amphibius* ve diğer türlere ait haplotiplerin GenBank erişim numaraları**

Hap_21: KM005045.1	Hap_55: KM005040.1	Hap_69: KM005014.1
Hap_31: KM005046.1	Hap_56: KM005039.1	Hap_70: KM005013.1
Hap_43: AY513850.1	Hap_57: KM005038.1	Hap_71: KM005012.1
Hap_44: AY513851.1	Hap_58: KM005037.1	Hap_72: KM005011.1
Hap_45: HQ288335.1	Hap_59: KM005036.1	Hap_73: KM005010.1
Hap_46: HQ288341.1	Hap_60: KM005035.1	Hap_74: KM005009.1
Hap_47: HQ288370.1	Hap_61: KM005034.1	Hap_75: KM005001.1
Hap_48: HQ288366.1	Hap_62: KM005033.1	Hap_76: KM005000.1
Hap_49: FJ539342.1, FJ539341.1	Hap_63: KM005032.1	Hap_77: KM004999.1
Hap_50: JX457749.1	Hap_64: KM005031.1	Hap_78: JX457720.1
Hap_51: JX457748.1	Hap_65: KM005030.1	Hap_79: JX457718.1
Hap_52: JX457747.1	Hap_66: KM005029.1	Hap_80: AB746365.1
Hap_53: KM005047.1	Hap_67: KM005028.1	Hap_81: AB746363.1
Hap_54: KM005044.1	Hap_68: KM005015.1	

## EK 5 *A. amphibius* ve dış grupların sitokrom *b* bölgesi haplotiplerinin sekansları

	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100	
Hap_1	TCATCCTGATGAAACTTTGGCTCACTTCTCGGCCTATGTCTAGTGATTCAAATCCTTACAGGACTTTTCCTAGCTATACATTACACATCAGATACATCAA										
Hap_2											
Hap_3											
Hap_4											
Hap_5											
Hap_6											
Hap_7											
Hap_8											
Hap_9											
Hap_10											
Hap_11											
Hap_12											
Hap_13											
Hap_14											
Hap_15											
Hap_16											
Hap_17											
Hap_18											
Hap_19											
Hap_20											
Hap_21											
Hap_22											
Hap_23											
Hap_24											
Hap_25											
Hap_26											
Hap_27	GAG										
Hap_28											
Hap_29											
Hap_30											
Hap_31											
Hap_32											
Hap_33											
Hap_34											
Hap_35											
Hap_36											
Hap_37											
Hap_38											
Hap_39											
Hap_40											
Hap_41											
Hap_42											
Hap_43											
Hap_44											
Hap_45											
Hap_46											
Hap_47											
Hap_48											
Hap_49											
Hap_50											
Hap_51											
Hap_52											
Hap_53											
Hap_54											



```

Hap_55 .....C.....
Hap_56 .....C...T.....
Hap_57 .....C.....
Hap_58 .....C.....
Hap_59 .....C.....
Hap_60 .....C.....G.....
Hap_61 .....C.....
Hap_62 .....C.....
Hap_63 .....G.C.....
Hap_64 .....C.....
Hap_65 .....C.....
Hap_66 .....C.....
Hap_67 .....C.....
Hap_68 .....C.....
Hap_69 .....C.....
Hap_70 .....C.....
Hap_71 .....C.....
Hap_72 .....C.....
Hap_73 .....C.....C.....
Hap_74 .....C.....C.....
Hap_75 .....C.....
Hap_76 .....C.....
Hap_77 .....C.....
Hap_78 .....A.....G..C.....A..AG.C.C...A..AG.C.....A.....T.....T.....C.....C.....AT..
Hap_79 .....A.....G..C.....A..AG.C.C...A..AG.C.....A.....T.....T.....C.....C.....AT..
Hap_80 .....A.....C.....T..A..A..AA...C..CA..AG.A.....C.....CT.A.....A.....C.....G..T.....CAT..
Hap_81 .....A.....C.....T..A..A..AG...C..CA..AG.A.....C.....CT.A.....A.....C.....G..T.....CAT..

```

110      120      130      140      150      160      170      180      190      200

```

Hap_1 CAGCATTCTCATCAGTCGCCCATATCTGCCGAGACGTAACACTATGGATGGCTGATCCGCTATGCCACGCCAACGGAGCTTCAATATTTTCATCTGCCT
Hap_2 .....T.....
Hap_3 ...TG.....GG.....
Hap_4 .....T.....G..A..A.....T.....T.....
Hap_5 .....T.....G..A..A.....T.....T.....
Hap_6 .....T.....G..A..A.....T.....T.....
Hap_7 .....T.....T.....T.....C...AT.A.....T.....C.....
Hap_8 .....T.....T.....T.....C...AT.A.....T.....C.....
Hap_9 .....T.....T.....T.....C...AT.A.....T.....C.....
Hap_10 .....T.....T.....T.....C...AT.A.....T.....C.....
Hap_11 .....T.....T.....T.....C...AT.A.....T.....C.....
Hap_12 .....T.....T.....T.....C...AT.A.....T.....C.....
Hap_13 .....T.....T.....T.....C...AT.A.....T.....C.....
Hap_14 ...G..T...G.....G..T.....T.....C...AT.A.....T.....C.....
Hap_15 .....T.....T.....T.....C...AT.A.....T.....C.....
Hap_16 .....T.....T.....T.....C...AT.A.....T.....C.....
Hap_17 .....T.....T.....T.....C...AT.A.....T.....C.....
Hap_18 .....T.....T.....T.....A.....T.....T.....C.....T.....
Hap_19 .....T.....T.....T.....A.....T.....T.....C.....T.....
Hap_20 .....T.....T.....T.....A.....T.....T.....C.....T.....
Hap_21 .....T.....A.....T.....T.....C.....T.....
Hap_22 .....T.....A.....A.....T.....T.....C.....T.....
Hap_23 .....T.....A.....T.....T.....C.....T.....
Hap_24 .....T.....A.....T.....T.....C.....T.....

```

Hap\_25 .....T.....A.....T..  
 Hap\_26 .....T.....A.....T..  
 Hap\_27 GTTTG.GTGA..GG...A.G.....TTG.G...A.....ATT.....T..  
 Hap\_28 .....T.....A.....T..  
 Hap\_29 .....T.....G.A.....T..  
 Hap\_30 .....T.....G.A.....A.....T..  
 Hap\_31 .....T.....G.A.....T..  
 Hap\_32 .....T.....G.A.....T..  
 Hap\_33 .....T.....G.A.....T..  
 Hap\_34 .....T.....A.....T..  
 Hap\_35 .....T.....A.....T..  
 Hap\_36 .....T.....G.A.....T..  
 Hap\_37 .....T.....A.....C.....T..  
 Hap\_38 .....T.....A.....T..  
 Hap\_39 .....T.....C.....A.A.....T..  
 Hap\_40 .....T.....G.A.....T..  
 Hap\_41 .....T.....G.A.....T..  
 Hap\_42 .....T.....G.A.....T..  
 Hap\_43 .....T...T.G...C.T.T.....C.C.A.A.....CATA..T.....C.....C.....T...  
 Hap\_44 .....T...T.G...C.T.T.....C.C.A.A.....CATA..T.....C.....C.....T...  
 Hap\_45 .....T...TA.T.C...T.....C.C.A.T.....CATG..T..A.....C..T...C...T...  
 Hap\_46 .....T...TA...C...T.....C.C.A.T.....ATG..T..A.....C..C...C...T...  
 Hap\_47 .....T...A.T.C...T.....C.C.A.C.....ATA..T..A..T.....C..C...C...T...  
 Hap\_48 .....T...TA...C...T.....C.C.A.T.....ATG..T..A.....C..C..G..C...T...  
 Hap\_49 .....T.....C...A.T.....C.....C.....T...  
 Hap\_50 .....T.....C...A.T.....C.....T...  
 Hap\_51 .....T.....C...A.T.....C.....C.....T...  
 Hap\_52 .....T.....C...A.T.....C.....C.....T...  
 Hap\_53 .....T.....A.....C.....T...  
 Hap\_54 .....T.....A.....T...  
 Hap\_55 .....T.....T..A.....T...  
 Hap\_56 .....T.....T.....T...  
 Hap\_57 .....T.....T.....T...  
 Hap\_58 .....T.....T.....T...  
 Hap\_59 .....T.....T.....A.....T...  
 Hap\_60 .....T.....A.....C.....T...  
 Hap\_61 .....T.....A.....T...  
 Hap\_62 .....T.....A.....T...  
 Hap\_63 .G.....T.....A.....T...  
 Hap\_64 .....T.....A.....T...  
 Hap\_65 .....T.....T.....T...  
 Hap\_66 .....T.....T.....T...  
 Hap\_67 .....T.....T.....T...  
 Hap\_68 .....T.....G.....T...  
 Hap\_69 .....T.....G.....T...  
 Hap\_70 .....T.....G.....T...  
 Hap\_71 .....T.....G.....T...  
 Hap\_72 .....T.....G.....T...  
 Hap\_73 .....T.....T.....T...  
 Hap\_74 .....T.....T.....T...  
 Hap\_75 .....T.....T.....A.....T...  
 Hap\_76 .....T.....T.....A.....T...  
 Hap\_77 .....T.....T.....A.....T...  
 Hap\_78 .....C..T.....AA.A.C.T.T.....G..T.C...A.A...A..ATA...A.....C.....T..T...T..

```

Hap_79 .....C..T.....AA.A..C..T..T.....G..T..C.....A..A.....A...ATA.....A.....T..T...T.
Hap_80 .....T.....A.....C.....C..C..A..A.....A..CCTA.....C..C.....
Hap_81 .....T.....A.....C.....C..C..A..A.....A..CCTA.....C..C.....

          210      220      230      240      250      260      270      280      290      300
Hap_1  GTTTCCTCCACGTAGGACGAGGAGTCTACTACGGCTCCTACAACATAATTGAAACCTGAAACATAGGAATTATCCTACTATTTGCCGTCATAGCAACAGCA
Hap_2  A.....
Hap_3  .....
Hap_4  A..C.....A.....C.....T.....C.....G.....
Hap_5  A..C.....A.....C.....T.....C.....A.....G.....
Hap_6  A..C.....A.....C.....T.....C.....G.....
Hap_7  A..C.....G.....C.....C..G.A..T.....C.....
Hap_8  A..C.....G.....C.....C..G.A..T.....C.....
Hap_9  A..C.....G.....C.....C..G.A..T.....C.....
Hap_10 A..C.....G.....C.....C..G.A..T.....C.....
Hap_11 A..C.....G.....C.....C..G.A..T.....C..T.....
Hap_12 A..C.....G.....C.....C..G.A..T.....C.....
Hap_13 A..C.....G.....C.....C..G.A..T.....C.....
Hap_14 A..C.....A..G.....C.....C..G.A..T.....C.....
Hap_15 A..C.....G.....C.....C..G.A..T.....C.....
Hap_16 A..C.....G.....C.....C..G.A..T.....C.....
Hap_17 A..C.....G.....C.....C..G.A..T.....C.....
Hap_18 A..C.....C..G.....T.....C.....C..G.A..C.....
Hap_19 A..C.....C..G.....T.....C.....C..G.A..C.....
Hap_20 A..C.....C..G.....T.....C.....C..G.A..C.....
Hap_21 ..C.....G.....G.....
Hap_22 ..C.....G.....
Hap_23 ..C.....G.....G.....
Hap_24 ..C.....G.....G.....
Hap_25 ..C.....G.....G.....
Hap_26 ..C.....G.....G.....
Hap_27 ..C.....G.....T.....G.....T.....
Hap_28 ..C.....G.....G.....
Hap_29 ..C.....G.....G.....
Hap_30 ..C.....G.....G.....
Hap_31 ..C.....G.....G.....
Hap_32 ..C.....G.....G.....
Hap_33 ..C.....G.....
Hap_34 ..C.....G.....G.....
Hap_35 ..C.....G.....G.....
Hap_36 ..C.....G.....G.....
Hap_37 ..C.....G.....
Hap_38 ..C.....G.....G.....
Hap_39 ..C.....A.....
Hap_40 ..C.....GA.....
Hap_41 ..C.....G.....
Hap_42 ..C.....G.....G.....
Hap_43 A..C..T..T.....G.....CA.T.....A.....T.....A.....C.....TT.....C..T..A.....
Hap_44 A..C..T..T.....CA.T.....T..A.....T.....A.....T.....TT.....C..T..A.....
Hap_45 T.....T.....CA.A.....T.....C.....T.....C..T..A.....
Hap_46 T.....T.....CA.A.....T.....T.....T.....C.....T.....C..T..A.....
Hap_47 T..C.....CA.A..T..T.....T..C..T.G.....C..T..A.....
Hap_48 T.....T.....CA.A.....T.....T.....C.....T.....C..T..A.....

```

```

Hap_49 ...C.....T.....C.....G.....T.....
Hap_50 ...C.....C.....G.....T.....
Hap_51 ...C.....C.....G.....T.....
Hap_52 ...C.....C.....G.....T.....
Hap_53 ...C.....G.....
Hap_54 ...A.....
Hap_55 ...A.....
Hap_56 .....
Hap_57 .....G.....G.....T.....
Hap_58 .....
Hap_59 .....
Hap_60 .....
Hap_61 .....
Hap_62 A.....T.....
Hap_63 .....A.....
Hap_64 .....
Hap_65 .....
Hap_66 .....
Hap_67 .....
Hap_68 .....A.....
Hap_69 .....A.....
Hap_70 .....A.....
Hap_71 .....A.....
Hap_72 .....A.....
Hap_73 .....G.....
Hap_74 .....G.....
Hap_75 .....
Hap_76 .....
Hap_77 .....
Hap_78 A..C..T..T..C.....CT.A..T..T..A..A..T.CAT.T..A.....T..G.AC.T.....G..C..A.....C.....
Hap_79 A..C..T..T..C.....CT.A..T..T..A..A..T.CAT.T..A.....T..G.AC.T.....G..C..A.....C.....
Hap_80 A..C.....T..G.....CC.A.....T..A.....CTT.CC.A.....T..G..C..T.....A.....T...
Hap_81 AC.C.....T..G.....CC.A.....T..A.....CTT.CC.A.....T..G..C..T.....A.....T...

```

```

          310      320      330      340      350      360      370      380      390      400
Hap_1 |TTCATAGGCTATGTACTCCATGAGGACAGATATCCTTTTGAGGGGCTACAGTAATTACAAACCTCCTATCAGCCATCCCCTACATCGGCACAACCTAG
Hap_2 |..T.....
Hap_3 |.....
Hap_4 |..T.....A.....A.....C...
Hap_5 |..T.....A.....A.....C...
Hap_6 |..T.....A.....A.....C...
Hap_7 |..T...T..C..G..C..G.....C.....T.....T.....T.....
Hap_8 |..T...T..C..G..C..G.....C.....T.....T.....T.....
Hap_9 |..T...T..C..G..C..G.....C.....C.....T.....T.....T.....
Hap_10|..T...T..C..G..C..G.....C.....T.....T.....T.....
Hap_11|..T...T..C..G..C.....A.....C.....T.....T.....T.....
Hap_12|..T...T..C..G..C..G.....C.....T.....T.....T.....
Hap_13|..T...T..C..G..C..G.....C.....T.....T.....T.....
Hap_14|..T...T..C..G..C..G.....C.....T.....T.....T.....
Hap_15|..T...T..C..G..C..G.....C.....T.....T.....T.....
Hap_16|..T...T..C..G..C..G.....C.....T.....T.....T.....
Hap_17|..T...T..C..G..C..G.....C.....T.....T.....T.....
Hap_18|.....T.....G.....A.....C.....T.....T.....T.....C...

```



```

Hap_73 ..T.....
Hap_74 ..T.....G.....
Hap_75 ..T.....T.....
Hap_76 ..T.....T.....
Hap_77 ..T.....T.....
Hap_78 ..T.....C..C.....A..A..C...T..C...T.....A..T..T..A...C...
Hap_79 ..T.....C..C.....A..A..C...T..C...T.....A..T..T..A...C...
Hap_80 ..G.....C.....C.....A..A..C...A.....AT.....T.....T.....T..G..T..C...
Hap_81 ..G.....C.....A..A..C...A.....AT.....T.....T.....T..G..T..C...

          410      420      430      440      450      460      470      480      490      500
.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
Hap_1  TTGAATGAATCTGAGGGGGATTCTCAGTCGACAAAGCCACTCTTACACGATTCTTTGCATTCCATTTTATTCTCCATTTCATCATCGCCGCTCTTGCTT
Hap_2  .....T.....T.....
Hap_3  .....
Hap_4  .....C.....C.....T..T..A.....
Hap_5  .....C.....C.....C.....T..T..A.....
Hap_6  .....C.....C.....C.....T..T..A.....
Hap_7  .....T.....T.....G....C.....C.....C.....C.....C.....T.....C...C.
Hap_8  .....T.....T.....G....C.....C.....C.....C.....T.....C...C.
Hap_9  .....T.....T.....G....C.....C.....C.....C.....T.....C...C.
Hap_10 .....T.....A.....T.....G....C.....C.....C.....C.....T.....C...C.
Hap_11 .....T.....T.....G....C.....C.....C.....C.....T.....C...C.
Hap_12 .....T.....T.....G....C.....C.....C.....C.....T.....C...C.
Hap_13 .....T.....T.....G....C.....C.....C.....C.....T.....C...C.
Hap_14 .....T.....T.....G....C.....C.....CC.....C.....T.....C...C.
Hap_15 .....T.....T.....G....C.....C.....C.....C.....T.....C...C.
Hap_16 .....T.....T.....G....C.....C.....C.....C.....T.....C...C.
Hap_17 .....T.....T.....G....C.....C.....C.....C.....T.....C...C.
Hap_18 .....T.....A.....T.....C.....C.....T..T..T.....
Hap_19 .....T.....A.....T.....C.....C.....T..T..T.....
Hap_20 .....T.....A.....T.....C.....C.....T..T..T.....
Hap_21 .....A.....C.....T.....
Hap_22 .....A.....C.....T.....
Hap_23 ..C.....A.....C.....T.....
Hap_24 .....A..G.....C.....T.....
Hap_25 .....A.....C.....T.....
Hap_26 .....A.....C.....T.....
Hap_27 .....A..G.....C.....T.....
Hap_28 .....A.....C.....T.....
Hap_29 .....T.....
Hap_30 .....T.....
Hap_31 .....T.....
Hap_32 .....T.....
Hap_33 .....C.....T.....
Hap_34 .....T.....
Hap_35 .....T.....
Hap_36 .....T.....
Hap_37 .....T.....
Hap_38 .....T.....
Hap_39 .....A.....G.....T.....T.....
Hap_40 .....T.....
Hap_41 .....T.....
Hap_42 .....T.....

```

```

Hap_43 .A.....G.....G..T.....C.....T.....C..C..A.....T..TA...C....A..
Hap_44 .A.....G.....G..T.....C.....T.....C..C..C..A.....T..TA...C....A..
Hap_45 .A.....A.....A..T.....C.....C.....C.....C..G..T.....A..A..C..C..T..
Hap_46 .A.....G.....A..T.....C.....C.....C.....C..G..T.....A..A..C..C..T..
Hap_47 .A.....C..G.....A..T.....C.....C.....C.....C..G..T.....A..A..C..C..T..
Hap_48 .A.....G.....A..T.....C.....C.....C.....C..G..T.....A..A..C..C..T..
Hap_49 .....A.....T.....G.....C.....C.....C.....T.....TA.....C.....
Hap_50 .....A.....T.....C.....C.....C.....T.....TA.....C.....
Hap_51 .....A.....T.....C.....C.....C.....T.....TA.....C.....
Hap_52 .....A.....T.....C.....C.....C.....T.....TA.....C.....
Hap_53 .....T.....
Hap_54 .....T.....
Hap_55 .....T.....
Hap_56 .....A.....T.....
Hap_57 .....A.....T.....
Hap_58 .....A.....T.....
Hap_59 .....T.....
Hap_60 .....C.....T.....
Hap_61 .....C.....T.....
Hap_62 .....C.....A.....T.....
Hap_63 .....C.....T.....
Hap_64 .....C.....T.....
Hap_65 .....G.....T.....
Hap_66 .....A.....T.....
Hap_67 .....T.....
Hap_68 .....GA.....T.....
Hap_69 .....T.....
Hap_70 .....G.....T.....
Hap_71 .....T.....
Hap_72 .....T.....
Hap_73 .....T.....
Hap_74 .....T.....
Hap_75 .....T.....
Hap_76 .....T.....
Hap_77 .....T.....
Hap_78 .....C.....T.....A..C.....A.....CT..G..C.....C..T.....C..C..CT..A.....T..T.....G..C..A..CAA.
Hap_79 .....C.....T.....A..C.....A.....CT..G..C.....C..T.....C..C..CT..A.....T..T.....G..C..A..CAA.
Hap_80 .....C.....A..C.....A.....A..C..A.....C.....C.....C.....C.....C.....T.....C.....CAA.
Hap_81 .....C.....A..C.....A.....A..C..A.....C.....C.....C.....C.....T.....C.....CAA.

```

```

                    510      520      530      540      550      560      570      580      590      600
Hap_1  ....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|
Hap_2  AGTTCACCTATTATTCCTACACGAAACAGGATCAAACAACCCATCAGGACTAAACTCAGACGCAGATAAAATCCCATTCCATCCTTATTACACAATCAA
Hap_3  .....A.....
Hap_4  .....C.....C..T..C.....
Hap_5  .....C.....C..T..C.....
Hap_6  .....C.....C..T..C.....
Hap_7  .....C.....T.....G.....T.....C.....T.....C..C.....
Hap_8  .....C.....T.....G.....T.....C.....T.....C..C.....
Hap_9  .....C.....T.....G.....T.....C.....T.....C..C.....
Hap_10 .....C.....T.....G.....T.....C.....T.....C..C.....
Hap_11 .....C.....T.....G.....T.....C.....T.....C..C.....
Hap_12 .....C.....T.....G.....T.....C.....T.....C..C.....

```

Hap\_13 .....C.....T.....G.....T.....C.....T.....C..C.....  
 Hap\_14 .....C.....T.....G.....T.....C.....T.....C..C.....  
 Hap\_15 .....C.....T.....T.....C.....T.....C..C.....  
 Hap\_16 .....C.....T.....G.....T.....C.....T.....C..C.....  
 Hap\_17 .....C.....T.....G.....T.....C.....T.....C..C.....  
 Hap\_18 .....CC.....T.....T.....T..G.....C.....T.....C.....  
 Hap\_19 .....CC.....T.....T.....T..G.....C.....T.....C.....  
 Hap\_20 .....CC.....T.....T.....T..G.....C.....T.....C.....  
 Hap\_21 .....  
 Hap\_22 .....  
 Hap\_23 .....  
 Hap\_24 .....  
 Hap\_25 .....  
 Hap\_26 .....  
 Hap\_27 .....  
 Hap\_28 .....  
 Hap\_29 .....G.....  
 Hap\_30 .....A.....G.....  
 Hap\_31 .....G.....  
 Hap\_32 .....  
 Hap\_33 .....A.....G.....  
 Hap\_34 .....  
 Hap\_35 .....  
 Hap\_36 .....G.....  
 Hap\_37 .....  
 Hap\_38 .....  
 Hap\_39 .....G.....  
 Hap\_40 .....  
 Hap\_41 .....  
 Hap\_42 .....G.....  
 Hap\_43 .....C..T.....T.....C..T..T..A..T.....T.....T.....C..A..C..T.....  
 Hap\_44 .....C..T.....T.....C..T..T..A..T.....T.....T.....C.....C..A..C..T.....  
 Hap\_45 .....C.....T.....T.....C.....A.....T.....T.....G..C.....C..C.....T.....  
 Hap\_46 .....C..C.....T.....C.....A.....T.....G..C.....C..C.....C..T.....  
 Hap\_47 .....C..C.....T.....C.....A.....C.....T.....C.....C..T..C..C..C.....  
 Hap\_48 .....C.....T.....C.....A.....T.....G..C.....C.....C.....T.....  
 Hap\_49 .....CC.....T..T.....T.....C.....T..C.....C.....  
 Hap\_50 .....CC.....T..T.....T.....C.....T..C.....C.....  
 Hap\_51 .....CC.....T..T.....T.....C.....T..C.....C.....  
 Hap\_52 .....CC.....T..T.....T.....C.....T..C.....C.....  
 Hap\_53 .....  
 Hap\_54 .....G.....  
 Hap\_55 .....G.....C.....  
 Hap\_56 .....G.....C.....  
 Hap\_57 .....G.....C.....  
 Hap\_58 .....G.....C.....  
 Hap\_59 .....G.....  
 Hap\_60 .....  
 Hap\_61 .....  
 Hap\_62 .....  
 Hap\_63 .....  
 Hap\_64 .....  
 Hap\_65 .....G.....T.....  
 Hap\_66 .....G.....T.....



```

Hap_67 .....G.....T.....
Hap_68 .....
Hap_69 .....
Hap_70 .....
Hap_71 .....
Hap_72 .....
Hap_73 .....
Hap_74 .....
Hap_75 .....
Hap_76 .....
Hap_77 .....
Hap_78 C.....CC.T....C.....A...T.....T.....T.....T...C..C..C..T.....
Hap_79 C.....CC.T....C.....A...T.....T.....T.....T...C..C..C..T.....
Hap_80 T..A..T..TC.T....C.....T....CA...T.....C.....C.....A...T.....T...
Hap_81 T..A..T..TC.T....C.....T....CA...T.....C.....C.....A...T.....T...

```

```

          610      620      630      640      650      660      670      680      690      700
Hap_1  GACTTCCTAGGAGTTCTCATCTTATTAATAGTTCTCATAATTTGGTTTATTTTCCCAGATGTTCTCGGAGACCCTGATAATTTACTCCTGCAAATC
Hap_2  .....
Hap_3  .....
Hap_4  .....C..T.....
Hap_5  .....C..T.....
Hap_6  .....C..T.....
Hap_7  ..C.....C.....
Hap_8  ..C.....C.....
Hap_9  ..C.....C.....
Hap_10 ..C.....C.....
Hap_11 ..C.....C.....
Hap_12 ..C.....C.....
Hap_13 ..C.....C.....
Hap_14 ..C.....C.....
Hap_15 ..C.....C.....
Hap_16 ..C.....C.....
Hap_17 ..C.....C.....
Hap_18 ..C.A..G....C.....
Hap_19 ..C.A..G....C.....T.....
Hap_20 ..C.A..G....C.....
Hap_21 .....T.....
Hap_22 .....T.....
Hap_23 .....T.....
Hap_24 .....T.....
Hap_25 .....
Hap_26 .....T.....
Hap_27 .....T.....
Hap_28 .....T.....
Hap_29 .....T.....
Hap_30 .....T.....
Hap_31 .....T.....
Hap_32 .....T.....
Hap_33 .....T.....
Hap_34 .....TT.....T.....
Hap_35 .....T.....
Hap_36 .....T.....

```

```

Hap_37 .....T.....
Hap_38 .....T.....
Hap_39 .....T.....
Hap_40 .....T.....
Hap_41 .....T.....
Hap_42 .....T.....
Hap_43 .....T.....C...G.TC.T.....C.T.....C...AC.....A.....A.....
Hap_44 .....T.....C...G.TC.T.....C.T.....C...AC.....A.....A.....
Hap_45 ..T..TT...G..C..T.....G.....AC.G.....A.....AC.....
Hap_46 ..T..TT...G..C..T.....G.....AC.G.....A.....AC.....
Hap_47 ..T..T...G..C..T.....G.....A..G.....G.....AC.....
Hap_48 ..T..TT...C..T.....G.....AC.G.....A.....AC.....
Hap_49 .....G.....C.....
Hap_50 .....G.....C.....
Hap_51 .....G.....C.....
Hap_52 .....G.....C.....
Hap_53 .....G.....T.....
Hap_54 .....
Hap_55 .....
Hap_56 .....
Hap_57 .....
Hap_58 .....
Hap_59 .....
Hap_60 .....C.....A.....
Hap_61 .....T.....A.....
Hap_62 .....A.....
Hap_63 .....A.....
Hap_64 .....A.....
Hap_65 .....
Hap_66 .....
Hap_67 .....
Hap_68 .....C.....
Hap_69 .....C.....
Hap_70 .....C.....
Hap_71 .....C.....
Hap_72 .....C.....
Hap_73 .....
Hap_74 .....
Hap_75 .....
Hap_76 .....
Hap_77 .....
Hap_78 ..TA.....TA.C..A...A...CT..A.....CCC.A..A.....CA.A..A.....A..C..C.AC.TA..A..T...
Hap_79 ..TA.....TA.C..A...A...CT..A.....CCC.A..A.....CA.A..A.....A..C..C.AC.TA..A..T...
Hap_80 ..C.....T..AT.T..A...C..T..T.C..A...CCC.A..AC...C.....CC.A..A.....A..C...A..A..C..T..C.
Hap_81 ..C.....T..AT.T..A...C..T..T.C..A...CCC.A..AC...C.....CC.A..A.....A..C...A..A..C..T..C.

          710      720      730      740      750      760      770      780      790      800
Hap_1  CACTCAATACTCCACCACACATTAAACCAGAATGATACTTTCTTTTGGCTTACGCCATCCTACGTTCTATCCCAAATAAACTAGGAGGGGTCCTAGCACT
Hap_2  .....
Hap_3  .....
Hap_4  .....A.....T..T.....
Hap_5  .....A.....T..T.....
Hap_6  .....A.....A..T..T.....

```

Hap\_7 .....C.....G.T...A...C.....G.T.....  
 Hap\_8 .....C.....G.T...A...C.....G.T.....  
 Hap\_9 .....C.....G.T...A...C.....G.T.....  
 Hap\_10 .....C.....G.T...A...C.....G.T.....  
 Hap\_11 .....C.....T...A...C.....G.C.....  
 Hap\_12 .....C.....G.T...A...C.....G.T.....  
 Hap\_13 .....C.....G.T...A...C.....G.T...G.....  
 Hap\_14 .....C.....G.T...A...C.....G.T.....  
 Hap\_15 .....C.....G.T...A...C.....G.T.....  
 Hap\_16 .....C.....G.T...A...C.....G.T.....  
 Hap\_17 .....C.....G.T...A...C...T.....G.T.....  
 Hap\_18 .....C.....G.T...A.C.C.T.....C.C.....T.....  
 Hap\_19 .....C.....G.T...A.C.C.T.....C.C.....T.....  
 Hap\_20 .....C.....G.T...A.C.C.T.....C.C.....T.....  
 Hap\_21 .....C.....A.....C.....C.....C.....  
 Hap\_22 .....C.....A.....C.....C.....C.....  
 Hap\_23 .....C.....A.....C.....C.....C.....  
 Hap\_24 .....C.....A.....C.....C.....C.....  
 Hap\_25 .....C.....A.....C.....C.....C.....  
 Hap\_26 .....C.....A.....C.....C.....C.....  
 Hap\_27 .....C.....A.....C.....C.....C.....  
 Hap\_28 .....C.....A.....C.....C.....C.....  
 Hap\_29 .....C.....A.....C.....C.....C.....  
 Hap\_30 .....C.....A.....C.....C.....C.....  
 Hap\_31 .....C.....A.....C.....C.....C.....  
 Hap\_32 .....C.....A.....C.....C.....C.....  
 Hap\_33 .....C.....A.....C.....C.....C.....  
 Hap\_34 .....C.....A.....C.....C.....C.....  
 Hap\_35 .....C.....A.....C.....C.....C.....  
 Hap\_36 .....C.....A.....C.....C.....C.....  
 Hap\_37 .....C.....A.....C.....C.....C.....  
 Hap\_38 .....C.....A.....C.....C.....C.....  
 Hap\_39 .....C.....A.....C.....C.....T.....  
 Hap\_40 .....C.....A.....C.....C.....C.....  
 Hap\_41 .....C.....A.....C.....C.....C.....  
 Hap\_42 .....C.....A.....C.....C.....C.....  
 Hap\_43 .....C.....T.C.....C.....A.C...T.C.....T.T.A...CT.  
 Hap\_44 .....C.C.....T.C.....A.C...T.C.....T.T.A...CT.  
 Hap\_45 .....C...G.....T...C.C.C.....T.C.....C.....A...T...C.  
 Hap\_46 .....C...G.....T...C.C.C.....T.C.....T.....C...T...C.  
 Hap\_47 .....C...G.....C.....C.....T.....G.C...T...C.  
 Hap\_48 .....C...G.....T...C.C.C.....T.C.....T.....C...T...C.  
 Hap\_49 .....C.....T...A.....C.....T.....T...T.....  
 Hap\_50 .....C.....T...A.....C.....T.....T...T.....  
 Hap\_51 .....C.....T...A.....C.....T.....T...T.....  
 Hap\_52 .....C.....T...A.....C.....T.....T...TT.....  
 Hap\_53 .....C.....A.....C.....C.....C.....  
 Hap\_54 .....C.....C.....C.....C.....C.....  
 Hap\_55 .....C.....C.....C.....C.....C.....  
 Hap\_56 .....C.....C.....C.....C.....C.....  
 Hap\_57 .....C.....C.....C.....C.....C.....  
 Hap\_58 .....C.....C.....C.....C.....C.....  
 Hap\_59 .....C.....C.....C.....C.....C.....  
 Hap\_60 .....C.....A.....C.....C.....T.....

```

Hap_61 .....A.....T.....
Hap_62 .....A.....T.....
Hap_63 .....A.....C.....T.....
Hap_64 .....A.....T.....
Hap_65 .....A.....
Hap_66 .....
Hap_67 .....
Hap_68 .....
Hap_69 .....
Hap_70 .....
Hap_71 .....
Hap_72 .....
Hap_73 .....
Hap_74 .....
Hap_75 .....
Hap_76 .....A.....
Hap_77 .....
Hap_78 ...A..C..C...C..T.....C.....T..C..A...A.....T.....C..A...C.....T.....CT.
Hap_79 ...A..C..C...C..T.....C.....T..C..A...A.....T.....C..A...C.....T.....CT.
Hap_80 .C.....C..C...C...C.....T.....C.....C.....T..T.....C..C..T..C..C.....A..G...C..
Hap_81 .C.....C..C...C...C.....T.....C.....C.....T..T.....C..C..T..C..C.....A..G...C..

```

```

      810      820      830      840      850      860      870      880      890      900
Hap_1 TATTCTATCTATCCTAATCCTGGCCATCATACCACTACTGCACACCTCAAAAACAACGAGGATTGACATTCGGCCCAATCACACAAACCGTCTACTGAATC
Hap_2 .....
Hap_3 .....
Hap_4 ..C..G.....A.....A.....G.....T.....
Hap_5 ..C..G.....A.....A.....G.....T.....
Hap_6 ..C..G.....A.....A.....G.....T.....
Hap_7 .....A..C.....T..A..T.....A.....TA.....T
Hap_8 .....C.....T..A..T.....A.....TA.....T
Hap_9 ..C.....A..C.....T..A..T.....A.....TA.....T
Hap_10 .....A..C.....T..A..T.....A.....TA.....T
Hap_11 .....A..C.....T..A..T.....A.....TA.....T
Hap_12 .....A..C.....T..A..T.....A.....TA.....T
Hap_13 .....A..C.....T..A..T.....A.....TA.....T
Hap_14 .....A..C.....T..A..T.....A.....TA.....T
Hap_15 .....A..C.....T..A..T.....A.....TA..A.....T
Hap_16 .....A..C.....T..A..T.....A.....TA.....T
Hap_17 .....A..C.....T..A..T.....A.....TA.....T
Hap_18 ...T.....A..C.....T..A.....TA..T.....
Hap_19 ...T.....A..C.....T..A.....TA..T.....
Hap_20 ...T.....A..C.....T..A.....TA..T.....
Hap_21 .....A.....G..T.....G.....T.....
Hap_22 .....A.....G..T.....G.....T.....
Hap_23 .....A.....G..T.....G.....T.....
Hap_24 .....A.....G..T.....G.....T.....
Hap_25 .....A.....G..T.....G.....T.....A.....T
Hap_26 ...C.....A.....G..T.....G.....T.....
Hap_27 .....A.....G..T.....G.....T.....
Hap_28 .....A.....G..T.....G.....T.....
Hap_29 .....A.....G..T.....G.....T.....
Hap_30 .....A.....G..T.....G.....T.....

```

Hap\_31 .....A.....G..T.....T  
 Hap\_32 .....A.....G..T.....T  
 Hap\_33 .....A.....G..T.....T  
 Hap\_34 .....A.....G..T.....T  
 Hap\_35 .....A.....G..T.....T  
 Hap\_36 .....A.....G..T.....T  
 Hap\_37 .....A.....G..T.....T  
 Hap\_38 .....A.....G..T.....T  
 Hap\_39 .....T..A.....G.....A.....T  
 Hap\_40 .....A.....G..T.....T  
 Hap\_41 .....A.....G..T.....A.....T  
 Hap\_42 .....A.....G..T.....T  
 Hap\_43 A..C..C.....A..AC.T..G...C..C.....C.C.T..C.....C...AA.A.....  
 Hap\_44 A..C..C.....A..AC.T..G...C..C.....C.C.T..C.....C...AA.A.....  
 Hap\_45 A..C...A.....T..A...C.TC...C..C..T.....C...C.C..C.....A.....AA.A.....  
 Hap\_46 A..C...A.....T..A...C.TC...C..C..T.....C...GC.C..C.....A.....AA.A.....  
 Hap\_47 A..C...A.....A...C..C...C..T.....C...C.C..C.....A...T.....AA.G...G..  
 Hap\_48 A..C...A.....T..A...C.TC...C..C..T.....C...GC.C..C.....A.....AA.A.....  
 Hap\_49 A..C..G..C.....A...C.....C.....T..A.....  
 Hap\_50 A..C..G..C.....A..C.....C.....T..A.....  
 Hap\_51 A..C..G..C.....A...C.....C.....T..A.....  
 Hap\_52 A..C..G..C.....A...C.....C.....T..A.....  
 Hap\_53 .....A.....G..T.....T.....T  
 Hap\_54 .....G.....T.....T  
 Hap\_55 .....G.....T.....T  
 Hap\_56 .....G.....C.....T.....T  
 Hap\_57 .....G.....C.....T.....T  
 Hap\_58 .....G.....C.....T.....T  
 Hap\_59 .....G.....C.....T.....T  
 Hap\_60 .....A.....G.....A.....T.....T  
 Hap\_61 .....A.....G.....A.....T.....T  
 Hap\_62 .....A.....G.....A.....T.....T  
 Hap\_63 .....A.....G.....A.A.....T.....T  
 Hap\_64 .....A.....G.....A.A.....T.....T  
 Hap\_65 .....G.....A.....T.....T  
 Hap\_66 .....G.....A.....T.....T  
 Hap\_67 .....G.....T.....T  
 Hap\_68 .....G.....T.....T  
 Hap\_69 .....G.....T.....T  
 Hap\_70 .....G.....C.....T.....T  
 Hap\_71 .....G.....T.....T  
 Hap\_72 ..C.....G.....T.....T  
 Hap\_73 .....A.....G.....T.....T  
 Hap\_74 .....A.....G.....T.....T  
 Hap\_75 .....TT...G.....T.....T  
 Hap\_76 .....TT...G.....T.....T  
 Hap\_77 .....G.....T.....T  
 Hap\_78 A..CT.....TT.A...C.A...TT.C..T..T.....G.....A.CC.A.T.....TTT.G.....  
 Hap\_79 A..CT.....TT.A...C.A...TT.C..T..T.....G.....A.CC.A.T.....TTT.G.....  
 Hap\_80 A..CT...A.....T.A...T.C...T.C...T..T.....CA.C..A.....C...T.C.T.....  
 Hap\_81 A..CT...A.....T.A...T.C...T.C...T..T.....CA.C..A.....C...T.C.T.....

	910	920	930	940	950	960	970	980	990	1000												
Hap_1	CTAGTATCCGACCTATTAATCCTTACATGAATTGGCGGCCAACCAAGTTGAATATCCCTTTATCATTATTGGACAGGCAGCCTCAATTGCTATTTACTA																					
Hap_2																						
Hap_3																						
Hap_4		GC				C		C														
Hap_5		GC				C		C														
Hap_6		GC				C		C														
Hap_7		T	C	T		T		C		CG												
Hap_8		T	C	T		C		C		CG												
Hap_9		T	C	T		T		C		CG												
Hap_10		T	C	T		T		C		CG												
Hap_11	G	T	C	T	G	T		C		CG												
Hap_12		T	C	T		T		C		CG												
Hap_13		T	C	T		T		C		CG												
Hap_14		T	C	T		T		C		CG												
Hap_15		T	C	T		T		C		CG												
Hap_16		T	C	T		T		C		CG												
Hap_17		T	C	T		T		C		CG												
Hap_18		C			T	C	C	C	C	C												
Hap_19		C			T	C	C	C	C	C												
Hap_20		C			T	C	C	C	C	C												
Hap_21		G			C		G		C													
Hap_22		G			C		G		C													
Hap_23		G			C		G		C													
Hap_24		G			C		G		C													
Hap_25		G			C		G		C													
Hap_26		G			C		G		C	T												
Hap_27		G			C		G		C													
Hap_28		G			C		G	C		C												
Hap_29		G			C		G		C													
Hap_30		G			C		G		C													
Hap_31		G			C		G		C													
Hap_32		G			C		G		C													
Hap_33		G			C		G		C													
Hap_34		G			C		G		C													
Hap_35		G			C		G		C													
Hap_36		G			C		G		C	C												
Hap_37		G			C		G		C													
Hap_38		G			C		G		C													
Hap_39		T			C		G		C													
Hap_40		G			C		G		C													
Hap_41		G			C		G		C													
Hap_42		G			C		G		C													
Hap_43	G	CC	C	C	A	A	G	A	G	C	T	C	T	A	C	A	T	C	C	C	CG	C
Hap_44	G	CC	C	C	A	A	G	A	G	C	T	C	T	A	C	A	T	C	C	C	CG	C
Hap_45	G	T	C	CG	T	C	C	A	T	A	C	T	C	C	C	AAT	C	A	C	C	G	C
Hap_46	G	T	C	C	T	C	C	G	A	C	T	C	C	C	AAT	C	C	C	C	CG	C	
Hap_47	G	T	C	C	T	A	C	A	A	C	C	T	C	T	AAT	C	C	C	C	CG	C	
Hap_48	G	T	C	C	T	C	C	A	A	C	T	C	C	C	AAT	C	A	C	C	G	C	
Hap_49	A	T													A					CG		
Hap_50	A	T													A					CG		
Hap_51	A	T													A					CG		
Hap_52	A	T													A					CG		
Hap_53		G																				
Hap_54																						

```

Hap_55 .....C.....
Hap_56 .....C.....
Hap_57 .....C.....
Hap_58 .....C.....
Hap_59 .....C.....
Hap_60 .....C.....
Hap_61 .....C.....
Hap_62 .....C.....
Hap_63 .....C.....
Hap_64 .....C.....
Hap_65 .....C.....
Hap_66 .....C.....
Hap_67 .....C.....
Hap_68 .....T.....
Hap_69 .....C.....
Hap_70 .....C.....
Hap_71 .....C.....
Hap_72 .....C.....
Hap_73 .....C.....
Hap_74 .....C.....
Hap_75 .....C.....
Hap_76 .....C.....
Hap_77 .....C.....
Hap_78 .....G.A....C.T...T.A..C.....G.....A..C.C.A....T..C....C..ACT.....C..CT.A..C..CT.A.
Hap_79 .....G.A....C.T...T.A..C.....G.....A..C.C.A....T..C....C..ACT.....C..CT.A..C..CT.A.
Hap_80 .....G.A....CC....T.A....C..A.C.....A..C.C.A....C..ACT.....C..CAGC..C...T.A.
Hap_81 .....G.A....CC....T.A....C..A.C.....A..C.C.A....C..ACT.....C..CAGC..C...T.A.

```

```

          1010      1020
...|...|...|...|...|...|..
Hap_1 TCATTGTTATCCTAATGCCAATCGCAG
Hap_2 .....
Hap_3 .....
Hap_4 .T.....T..A.....
Hap_5 .T.....T..A.....
Hap_6 .T.....T..A.....
Hap_7 .T.....A.....
Hap_8 .T.....A.....
Hap_9 .T.....A.....
Hap_10 .T.....A.....
Hap_11 .T.....A.....
Hap_12 .T.....A.....
Hap_13 .T.....A.....
Hap_14 .T.....A.....
Hap_15 .T.....A.....
Hap_16 .T.....A.....
Hap_17 .T.....A.....
Hap_18 .T.....A.....GA
Hap_19 .T.....A.....
Hap_20 .T.....A.....
Hap_21 .....
Hap_22 .....
Hap_23 .....
Hap_24 .....

```

Hap\_25 .....  
 Hap\_26 .....  
 Hap\_27 .....  
 Hap\_28 .....  
 Hap\_29 .....  
 Hap\_30 .....  
 Hap\_31 .....  
 Hap\_32 .....T.....  
 Hap\_33 .....  
 Hap\_34 .....  
 Hap\_35 .....  
 Hap\_36 .....  
 Hap\_37 .....  
 Hap\_38 .....  
 Hap\_39 .....C.....  
 Hap\_40 .....  
 Hap\_41 .....  
 Hap\_42 .....  
 Hap\_43 .....A..TT.C..A.....  
 Hap\_44 .....A...T.C..A.....  
 Hap\_45 .....C..C..TT.C..A.....A....  
 Hap\_46 .....C..C..TT.C..A.....A....  
 Hap\_47 ..T..C..C...T.C..A.....A....  
 Hap\_48 .....C..C..TT.C..A.....A....  
 Hap\_49 .....A.....G..A.....  
 Hap\_50 .....A.....T..A.....  
 Hap\_51 .....A.....G..A.....  
 Hap\_52 .....A.....G..A.....  
 Hap\_53 .....  
 Hap\_54 .....  
 Hap\_55 .....C.....  
 Hap\_56 .....C.....  
 Hap\_57 .....C.....  
 Hap\_58 .....C.....  
 Hap\_59 .....C.....  
 Hap\_60 .....  
 Hap\_61 .....  
 Hap\_62 .....  
 Hap\_63 .....  
 Hap\_64 .....  
 Hap\_65 .....  
 Hap\_66 .....  
 Hap\_67 .....  
 Hap\_68 .....  
 Hap\_69 .....C.....  
 Hap\_70 .....C.....  
 Hap\_71 .....  
 Hap\_72 .....  
 Hap\_73 .....  
 Hap\_74 .....  
 Hap\_75 .....  
 Hap\_76 .....  
 Hap\_77 .....  
 Hap\_78 ....CT.A..T..T..A.....T...  
  
 Hap\_79 ....CT.A..T..T..A.....T...  
 Hap\_80 .T..CC.C..T..C..A.....T.T.  
 Hap\_81 .T..CC.C..T..C..A.....T.T.



**EK 6 Kontrol bölgesi analizlerinde kullanılan *A. amphibius* ve diğer türlere ait haplotiplerin GenBank erişim numaraları**

Hap_29: FJ502319.1
Hap_30: AY948543.1
Hap_31: AF364682.1, AF364681.1, AF364680.1, AF364678.1
Hap_32: AF364679.1
Hap_33: KC139204.1, KC139206.1, KC139200.1, KC139198.1
Hap_34: KC139202.1
Hap_35: HQ655915.1, HQ655913.1
Hap_36: HQ655911.1
Hap_37: HQ655909.1, HQ655907.1

## EK 7 *A. amphibius* ve dış grupların kontrol bölgesi haplotipleri

	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100	
Hap_1	GTAGCTAATGTGAAACTTTATCAGACATCTGGTCTTACTTCAGGGCCAT-T-AATGTTTATCGTCCATACGTTCCCCTTAAATAAGACATCTCGATGG										
Hap_2	.....										
Hap_3	.....										
Hap_4	.....										
Hap_5	.....										
Hap_6	.....										
Hap_7	.....										
Hap_8	.....										
Hap_9	.....										
Hap_10	.....										
Hap_11	.....										
Hap_12	.....										
Hap_13	.....										
Hap_14	.....										
Hap_15	.....										
Hap_16	.....										
Hap_17	A.....										
Hap_18	.....										
Hap_19	.....										
Hap_20	.....										
Hap_21	.....										
Hap_22	.....										
Hap_23	.....										
Hap_24	.....										
Hap_25	.....										
Hap_26	.....										
Hap_27	.....										
Hap_28	.....										
Hap_29	.....										
Hap_30	.....										
Hap_31	.....										
Hap_32	.....										
Hap_33	.....AC.....										
Hap_34	.....AC.....										
Hap_35	..GA..TAC.....C..G.....										
Hap_36	..GA..TAC.....C..G.....										
Hap_37	..GA..TCC.....C..G.....										
		110	120	130	140	150	160	170	180	190	200
Hap_1	TA-CGGGTCTAATCAGCCCATGCCTAACATAACTGTGGTCTCGGGCAGTTGGTATTTTTTAATTTT-GGGATGGTATCA-TCAGCATAGCCGTCAAGGCA										
Hap_2	.....										
Hap_3	.....										
Hap_4	.....										
Hap_5	.....										
Hap_6	.....										
Hap_7	.....										
Hap_8	.....										
Hap_9	.....										
Hap_10	.....										
Hap_11	.....										
Hap_12	.....										
Hap_13	.....										
Hap_14	.....										
Hap_15	.....										
Hap_16	.....										
Hap_17	.....										
Hap_18	.....										
Hap_19	.....										
Hap_20	.....										
Hap_21	.....										
Hap_22	.....										
Hap_23	.....										
Hap_24	.....										
Hap_25	.....										

```

Hap_26 .....
Hap_27 .....
Hap_28 .....C.....
Hap_29 .....
Hap_30 .....
Hap_31 .....
Hap_32 .....
Hap_33 .....A.C.....G..AT...T.....T.....CC.AC.T...A.....
Hap_34 .....A.C.....G..AT...T.....T.....TC.AC.T...A.....
Hap_35 .....ATC.....GATATA..T.....-C...CCT..C...A.....
Hap_36 .....ATC.....GATATA..T.....-C...CCT..C...A.....
Hap_37 .....ATC.....GATATA..T.....-C...CCT..C...A.....

```

```

                210      220      230      240      250      260      270      280      290      300
Hap_1  TGAA-GGTCACCTTGCTCTGTAGCTGGACTTCT-ATT-AAGTATCATTACCCACATAAAATACCTTACCAA---CATATT-ATCAATGGATC-GGGACAT
Hap_2  .....C.....
Hap_3  .....T.....G.....
Hap_4  .....T.....C.C...CC.....
Hap_5  .....T.....C.C...CC.....
Hap_6  .....T.....C.C...CC.....
Hap_7  .....T.....GG...CCG.....
Hap_8  .....T.....GG...CCG.....
Hap_9  .....T.....GG...CCG.....
Hap_10 .....T.....GG...CCG.....
Hap_11 .....T.....GG...CCG.....
Hap_12 .....T.....GG...CCG.....
Hap_13 .....A..A.....G.....
Hap_14 .....T.....
Hap_15 .....T.....
Hap_16 .....T.....
Hap_17 .....T.....
Hap_18 .....T.....

```

```

Hap_19 .....T.....
Hap_20 .....T.....
Hap_21 .....T.....
Hap_22 .....T.....
Hap_23 .....T.....
Hap_24 .....T.....
Hap_25 .....T.....
Hap_26 .....T.....
Hap_27 .....T.....
Hap_28 .....T.....GG...CCG.....
Hap_29 .....T.....
Hap_30 .....T.....
Hap_31 .....A...A.AG.C.....C-.....T..C...C...CCTG.....G...T...C..-A.....
Hap_32 .....A...A.AG.C.....C-.....T..T...C...CCTG.....G...T...C..-A.....
Hap_33 .....A..G.ACACAG.C...AC.C..C.AC-GG...A.....AGT..G..A.CCCCAA.C...T---TA...TC...CT.G-TA....
Hap_34 .....A..G.ACACAG.C...AC.C..C.AC-GG...A.....AGT..G..A.CCCCAA.C...T---TA...TC...CT.G-TA....
Hap_35 .....G.ACAAAG.CCT.TG.A..C.T.-G...GG.....T..T...G.C.AAGCT.G...TAT...TC...TT.G-AA....
Hap_36 .....G.ACAAAG.CCT.TG.A..C.T.-G...GG.....T..T...G.C.AAGCT.G...TAT...TC...TT.G-AA....
Hap_37 .....G.ACAAAG.CCT.TG.A..C.T.-G...GG.....T..T...G.C.AAGCT.G...TAT...TC...TT.G-AA....

```

```

                310      320      330      340      350      360      370      380      390      400
Hap_1  A-A-GTTAAGCAGTCCTATTG---AAATACT-T-----C--CTCTA-TAGACTAA-TT-T-CATGTTAAAT-----CATA-ATATATTA-A
Hap_2  .....
Hap_3  .....A.....C.C...G.....G.....T...C.....
Hap_4  -T-A.....A---G.....C.C...G.....G.....C.....
Hap_5  -T-A.....A---G.....C.C...G.....G.....C.....
Hap_6  -T-A.....A---G.....C.C...G.....G.....C.....
Hap_7  -A.....T...A---G.....CC-AGAG.....-A...TG...C...C...
Hap_8  -A.....A...A---G.....CC-AGAG.....-A...TG.C...C...C...
Hap_9  -A.....A...A---G.....CC-AGAG.....-A...TG...C...C...C...
Hap_10 -A.....T...A---G.....CC-AGAG.....-A...TG.C...C...C...
Hap_11 -A.....G..T...A---G.....CC-AGAG.....-A...TG.C...C...C...

```

```

Hap_12  ...-A.....T...A---G.....-----CC-AGAG..G.-...-A....TG.....C..C...
Hap_13  .....A---G.C.....-----CTCG.....-A....TG.C.....C..C...
Hap_14  .....A.....-----C.C.....G.....G.....T...C...
Hap_15  .....A.....-----C.C.....G.....G.....T...C...
Hap_16  .....A.....C.....-----C.C.....G.....G.....T...C...
Hap_17  .....A.....-----C.C.....G.....G.....T...C...
Hap_18  .....A.....-----C.C.....G.....G.....T...C...
Hap_19  .....A---G.C.....-----C.C.....G.....G.....T...C...
Hap_20  .....A---G.....-----C.C.....G.....G.....T...C...
Hap_21  .....A.....-----C.....G.....G.....T...C...
Hap_22  .....A---G.C.....-----C.C.....G.....T.A.....T...C...
Hap_23  .....A.....-----C.C.....G.....G.....T...C...
Hap_24  .....A---G.C.....-----C.C.....G.....G.....T...C...
Hap_25  .....A.....-----C.C.....G.....G.....T...C...
Hap_26  .....A.....-----C.....G.....G.....T...C...
Hap_27  .....A.....-----C.....G.....G.....T...C...
Hap_28  ...-A.C.....T...A---G.....-----CC-AGAG.....-A....TG.....C..C...
Hap_29  ...-A.....T...CA---G.....-----C..G.....G.....T.....C...
Hap_30  .....A.....-----G.....G.....T.....C...
Hap_31  ...-CAC.....A..A.A---G..G.....-----A--C.CG...G..T.....TTC.....CA..AT.-T
Hap_32  ...-CAC.....A..A.A---G..G.....-----A--C.CG...G..T.....TTC.....CA..AT.-T
Hap_33  ...-C..CTT.A.A.C.AAT---T..CT...-C-----A--C.CC-ACCC.CTC-.C--A...CC...C-----CC-.A.C.C...
Hap_34  ...-C..CT..A.A.C.AAT---T..CT...-C-----A--C.CC-ACCC.CTC-.C--A...CC...C-----CC-.A.C.C...
Hap_35  ...-A..T.TA.A.A..GAAA-----TCTG.-G-----C.CC-ACAC..G.-AC--A...CC...C-----CC-.A.C...
Hap_36  ...-A..T.TA.A.A..GAAA-----TCTG.-A-----A--C.CC-ACAC..G.-AC--A...CC...C-----CC-.A.C...
Hap_37  ...-A..T.TA.A.A..GAAA-----TCTG.-G-----C.CC-ACAC..G.-AC--A...CC...C-----CC-.A.C...

```

```

                410      420      430      440      450      460      470      480      490      500
Hap_1  A---CTTTGCTTGCCAAACCCC-CC---CCCC---CT--AAATGCCATTCTTGCCAAACCCCAAAAACAAGC-AAACAAAATC-----TGT
Hap_2  .....
Hap_3  .....A.....T...C.....
Hap_4  ...-A..A.C.....T.....

```

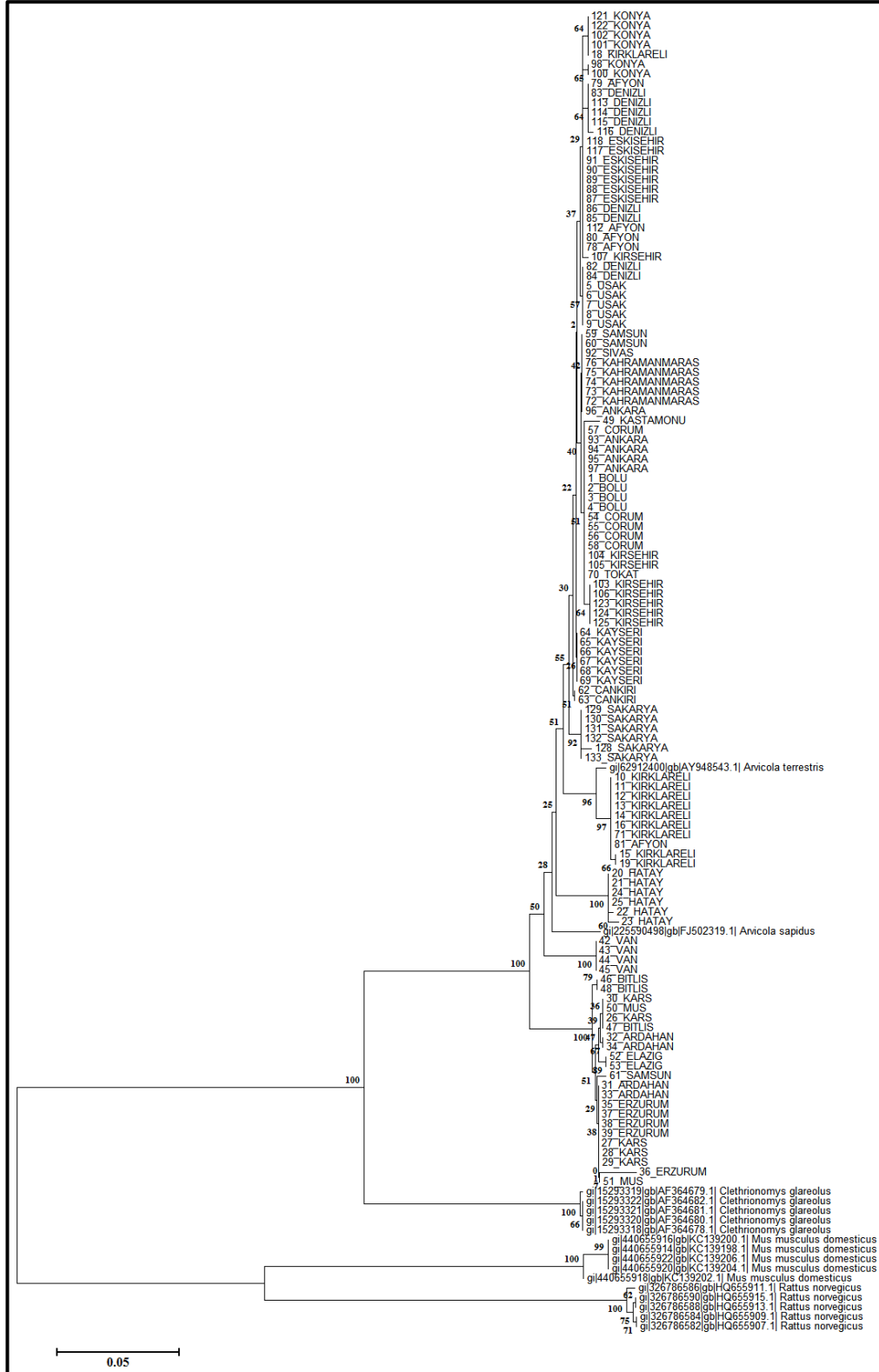
```

Hap_5  ...-A..A.C.....T.....
Hap_6  ...-A..A.C.....GT.....
Hap_7  .....A.....T.....C--T...T...C.....
Hap_8  .....A.....T.....C--T...T...C.....
Hap_9  .....A.....T.....C--T...T...A.....
Hap_10 .....A.....T.....C--T...T...C.....
Hap_11 .....A.....T.....C--T...T...C.....
Hap_12 .....A.....T.....C--T...T...C.....
Hap_13 .....A.....T.....T.....T.....
Hap_14 .....A.....T.....T.....C.....
Hap_15 .....A..A.....T.....C.....
Hap_16 .....A.....T.....C.....
Hap_17 .....A..A.....T.....C.....
Hap_18 .....A.....T.....C.....
Hap_19 .....A.....T.....C.....
Hap_20 .....A.....T.....C.....
Hap_21 .....A.....T.....C.....
Hap_22 .....A.....T.....C.....
Hap_23 .....A.....T.....C.....
Hap_24 .....A.....T.....C.....
Hap_25 .....A.....T.....C.....
Hap_26 .....A.....T.....T.....
Hap_27 .....A.....T.....T.....
Hap_28 .....A.....T.....C--T...T.....
Hap_29 .....C.A.....T.....
Hap_30 .....A.....T.....C.....
Hap_31 ...-T.A.CTC.....T.....C--TT...T..C..A.....T...G-CT...T...C.
Hap_32 ...-T.A.CTC.....T.....C--TT...T..C..A.....T...G-CT...T...C.
Hap_33 ...-AAAGA.A.ATA.T.TTAA-.T---AA.....TG.C.TG..CAA.T.T.GTAGTTCCC..A.TAT-G.CTT.T..T-----TA
Hap_34 ...-AAAGA.A.ATA.T.TTAA-.T---AA.....TG.C.TG..CAA.T.T.GTAGTTCCC..A.TAT-G.CTT.T..T-----TA
Hap_35 G---AA..AAA.AAA.C.AAAA-.T---AATT-----G..TTC.C.A.T.T.GTAGA.C.C..A.TTT-.CTT.....TA
Hap_36 G---AA..AAA.AAA.C.AAAA-.T---AATT-----G..TTC.C.A.T.T.GTAGA.C.C..A.TTT-.CTT.....TA
Hap_37 G---AA..AAA.AAA.C.AAAA-.T---AATT-----G..TTC.C.A.T.T.GTAGA.C.C..A.TTT-.CTT.....TA

```

	510	520	530	540	550	560	570
Hap_1	GTACTTGAAAGTAGACC	--AAA	-----AAAATTTAGTACTCAGAAAAAA	-AAAA	-TCAAAAATTTACTACCAA		
Hap_2	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
Hap_3	.....C.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
Hap_4	.....C.....	.....	.....	.....G.....	.....	.....	.....
Hap_5	.....C.A.....	.....	.....	.....G.....	.....	.....	.....
Hap_6	.....C.....	.....	.....	.....C.G.....	.....	.....	.....
Hap_7	.....C.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
Hap_8	.....C.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
Hap_9	.....C.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
Hap_10	.....C.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
Hap_11	.....C.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
Hap_12	.....C.....	.....	.....	.....G.G.....	.....GG.G.....	.....T.....	.....
Hap_13	.....C.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
Hap_14	.....C.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
Hap_15	.....C.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
Hap_16	.....C.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
Hap_17	.....C.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
Hap_18	.....C.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
Hap_19	.....C.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
Hap_20	.....C.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
Hap_21	.....C.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
Hap_22	.....C.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....T.....
Hap_23	.....C.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
Hap_24	.....C.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
Hap_25	.....C.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
Hap_26	.....C.A.....	.....	.....	.....A.....	.....	.....	.....
Hap_27	.....C.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
Hap_28	.....C.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
Hap_29	.....C.....	.....	.....	.....A.....	.....	.....	.....T.....
Hap_30	.....	.....	.....	.....G.....	.....	.....	.....
Hap_31	A.T.G.T.TGCT.T	---T-----	.....AA.A.....	..T.-AT...CCCC.A...AG.			
Hap_32	A.T.G.T.TGCT.T	---T-----	.....AA.A.....	..T.-AT...CCCC.A...AG.			
Hap_33	.....T.AA.TTTT	---C-----	...TCA.GT.C.GTGA.CC...	-CTCT-ATC.C.C.C..T...GC.			
Hap_34	.....T.AA.TTTT	---C-----	...TCA.GT.C.ATGA.CC...	-CTCT-ATC.C.C.C..T...GC.			
Hap_35	.C.T.G.T.AATTT	---C-----	...C.TTCCTC.TA.CT...	-CCCT-.TT.CTTGCCTACC.TC.			
Hap_36	.C.T.G.T.AATTT	---C-----	...C.TTCCTC.TA.CT...	-CCCT-.TT.CTTGCCTACC.TC.			
Hap_37	.C.T.G.T.AATTT	---C-----	...C.TTCCTC.TA.CT...	-CCCT-.TT.CTTGCCTACC.TC.			

**EK 8 A. *amphibius*'un 120 örneğinin kontrol bölgesi dizileri üzerinden Kimura 2-Parametresine göre oluşturulan NJ ağacı**



**EK 9 *A. amphibius*'un GenBank'tan kullanılan Avrupa populasyonlarının nükleotid çeşitliliği**

<b>ÜLKELER</b>	<b>Birey Sayısı (N)</b>	<b>Haplotip Sayısı</b>	<b>Nükleotid Çeşitliliği (<math>\pi</math>)</b>	<b>Haplotip çeşitliliği (h)</b>
SIRBISTAN	1	1	-	1
SLOVENYA	5	5	0,00584	1
RUSYA	5	5	0,00662	1
ROMANYA	3	3	0,00325	1
MACARİSTAN	5	5	0,00438	1
BOSNA HERSEK	2	2	0,00097	1
AVUSTURYA	3	3	0,00195	1
<b>TOPLAM</b>	<b>24</b>	<b>24</b>	<b>0,01151</b>	<b>1</b>

## ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Perinçek Seçkinozan ŞEKER

Doğum Yeri : Ankara

Doğum Tarihi : 09/10/1979

Medeni Hali : Evli

Yabancı Dili : İngilizce

### Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)

Lise : Dikmen Lisesi (1993-1996)

Lisans : Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü (1996-2006)

Yüksek Lisans: Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı  
(2009)

### Çalıştığı Kurumlar ve Yıl:

Artvin Çoruh Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü (2009 Ocak- 2009 Ağustos )

Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü (2009 Ağustos- halen)

### SCI Yayınlar

Kankılıç, T., Kankılıç, T., Şeker, P.S., and Kıvanç, E. 2014. Morphological and biometrical comparisons of the baculum in the genus *Nannospalax* Palmer, 1903 (Rodentia: Spalacidae) from Turkey with consideration of its taxonomic importance. Turkish Journal of Zoology, 38 (1); 144-157.

Kankılıç, T., Kankılıç, T., Şeker, P.S., Çolak, R., Selvi, E. and Çolak, E. 2010. Contributions to the Karyology and Distribution of Cytotypes of *Nannospalax leucodon* (Rodentia: Spalacidae) in Western Anatolia. Acta Zoologica Bulgarica, 62(2); 161-167.



## Uluslararası Kongreler

- Şeker, P.S.**, Kankılıç, T., Selvi, E., Gözcelioğlu, B. and Çolak, E. 2014. Morphometric analysis of *Arvicola amphibius* populations from Turkey, 14. Rodens et Spatium, International Conference on Rodent Biology, Lisbon, (Poster Sunumu).
- Yiğit, N., Çolak, E., Çetintürk, D., **Şeker, P.S.** and Selvi, E. 2014. Mitochondrial Cyt *b* diversity in Turkish specimens of *Meriones tristrami* (Rodentia: Gerbillinae) using RFLP, 14. Rodens et Spatium International Conference on Rodent Biology, Lisbon, (Poster Sunumu).
- Şeker, P.S.** and Çolak, E. 2014. Mitochondrial phylogeny of *Arvicola amphibius* from Turkey, 14. Rodens et Spatium International Conference on Rodent Biology Lisbon, (Poster Sunumu).
- Şeker, P.S.**, Kankılıç, T., Selvi, E. and Çolak, E. 2014. Determination of mitochondrial DNA variations in *Arvicola amphibius* (Mammalia: Rodentia) populations by PCR-RFLP. 3. International Molecular Biology and Biotechnology Congress, (Sözlü Bildiri).

## Ulusal Kongreler

- Şeker, P.S.**, Selvi, E., Yavuz, G., Helvacı Z. ve Çolak, E. 2014. Gökçeada, Marmara Adası ve Bozcaada Kemirici Faunasına Katkıları. 22. Ulusal Biyoloji Kongresi, (Poster).
- Şeker, P.S.**, Kankılıç, T., Selvi, E. ve Çolak, E. 2014. Türkiye'de yayılış gösteren *Arvicola amphibius* (Mammalia:Rodentia) populasyonlarının karyolojik bakımdan incelenmesi. 22. Ulusal Biyoloji Kongresi, (Sözlü Bildiri).