

ÇAYIR ÇEKİRGESİ *Chorthippus parallelus* (Zetterstedt,
1821) (ACRİDİDAE: ORTHOPTERA)'UN
ANADOLU POPULASYONLARININ FİLOCOĞRAFYASI
ve COĞRAFİK GENETİĞİ

ERTAN MAHİR KORKMAZ

DOKTORA TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI
2011

CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ÇAYIR ÇEKİRGESİ *Chorthippus parallelus* (Zetterstedt, 1821)
(ACRIDİDAE: ORTHOPTERA)'UN ANADOLU
POPULASYONLARININ
FİLOCOĞRAFYASI ve COĞRAFİK GENETİĞİ

ERTAN MAHİR KORKMAZ

DOKTORA TEZİ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANLARI
PROF.DR. NACİ DEĞERLİ
PROF.DR. HASAN HÜSEYİN BAŞIBÜYÜK

SİVAS
2011

Bu alışma Cumhuriyet Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanmış ve jürimiz tarafından BİYOLOJİ Anabilim Dalı'nda doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan

Üye

Üye

Üye

Üye (Danışman)

ONAY

Bu tez çalışması, 08.04.2011 tarihinde Enstitü Yönetim Kurulu tarafından belirlenen ve yukarıda imzaları bulunan jüri üyeleri tarafından kabul edilmiştir.

Prof. Dr. MUSTAFA DEĞİRMENCİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRÜ

Bu tez Cumhuriyet Üniversitesi Senatosu'nun 24.09.2008 tarihli ve 9 sayılı toplantısında kabul edilen Fen Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Tez Yazım Kılavuzu adlı yönergeye göre hazırlanmıştır.

Aileme ve tüm dostlarıma...

ÖZET

ÇAYIR ÇEKİRGESİ *Chorthippus parallelus* (ZETTERSTEDT, 1821)
(ACRİDİDAE: ORTHOPTERA)'UN ANADOLU POPULASYONLARININ
FİLOCOĞRAFYASI ve COĞRAFİK GENETİĞİ

ERTAN MAHİR KORKMAZ

Doktora Tezi, Biyoloji Anabilim Dalı

Danışmanlar: Prof. Dr. Naci DEĞERLİ, Prof. Dr. Hasan Hüseyin BAŞIBÜYÜK

2011, xiv + 178 sayfa

Bir bölgenin biyolojik ya da genetik çeşitliliği o bölgenin hem güncel hem de tarihsel ve iklimsel dinamikleri ile ilişkilendirilebilir. Anadolu'nun karmaşık paleocoğrafik tarihi ve değişken iklimsel yapısı bu genetik çeşitliliği açıklamada temel öneme sahiptir. Anadolu aynı zamanda birçok Palearktik türün yayılış aralığının güney sınırını oluşturur. Dolayısıyla *ardıl kenar* populasyonlarını barındırır. Türün iklimsel dalgalanmalara olası yanıtını belirlemede kritik öneme sahip olan bu bölge populasyonlarının mevcut genetik yapılarının geniş bir kapsamda değerlendirilmesi, tür içi genetik çeşitliliğin uzun süreli korunması ve türün evrimsel potansiyeli açısından gereklidir. Burada, geniş Palearktik yayılış sergileyen *Chorthippus parallelus*'un tüm Anadolu ve Trakya populasyonlarının filocoğrafik yapılanması mitokondri genomundan *COI-tRNA^{Leu}-COII* gen bölgesi (1341 bç) ve çekirdek genomundan kodlama yapmayan tek kopyalı çekirdek DNA gen bölgesi (*Cpnl-1*, 314 bç) kullanılarak araştırılmıştır. Her iki belirteç açısından da haplotip çeşitliliği ve özgün haplotip sayısının yüksek gözlemlendiği Anadolu populasyonları arasında anlamlı düzeyde genetik farklılaşma saptanmıştır. Populasyonların yayılış örüntüsü bir yandan yüksekliğe bağlı dikey farklılaşmalara, diğer yandan boylamsal farklılaşmalara işaret ederken, enlemsel bir farklılaşma tespit edilememiştir. Ayrıca, Anadolu Diyagonali'nin populasyonların doğu batı eksenli bir farklılaşma sergilemelerinde özel bir öneme sahip olduğu belirlenmiştir.

Önemli bir sığınak ödevi gören Anadolu'da *C. parallelus* populasyonlarının tarihsel demografyaları ve coğrafik-genetik yapılanmalarına dayandırılan analizler

son 0,5-0,6 my'dan itibaren ardışık buzul ve buzullar arası dönemlerin etkili olduğuna işaret etmektedir. Türün yayılışında son bir genişlemenin son buzul dönemlerini takiben Holosen'de yaşandığına işaret etmiştir. Doğu popülasyonlarının tüm diğer popülasyonlardan atasal bir pozisyona sahip oldukları hem Bayesiyen hem de filogenetik analizler ile doğrulanmaktadır. Bununla birlikte kuzeydoğu-güneybatı eksenli bir yayılış koridorunun varlığı Pleistosen dönemde türün hem Kafkaslar hem de Balkanlar kanalıyla kuzeye genişlemesinde etkili olabileceğine işaret etmektedir. Bu kapsamda gerçekleştirilen Göç ile İzolasyon Modeli, türün Balkanlar ve Avrupa ile bağlantısında Boğazlar'ın bir bariyer ödevi görmediği sonucuyla da desteklenmektedir.

Anahtar kelimeler: Anadolu, buzul sığınağı, ardıl kenar popülasyonlar, *Chorthippus parallelus*, mtDNA, çekirdek DNA, filocoğrafya, coğrafik genetik

ABSTRACT

PHYLOGEOGRAPHY and LANDSCAPE GENETICS OF ANATOLIAN
POPULATIONS OF THE MEADOW GROSSHOPPER *Chorthippus parallelus*
(ZETTERSTEDT, 1821)
(ACRIDIDAE: ORTHOPTERA)

ERTAN MAHİR KORKMAZ

Doctor of Philosophy, Department of Biology

Supervisors: Prof. Dr. Naci DEĞERLİ, Prof. Dr. Hasan Hüseyin BAŞIBÜYÜK

2011, xiv+ 178 pages

Biological or genetic diversity of a geographic region can be related with historical dynamics of its. The complex palaeogeographic history and climatic variations of Anatolia are of the fundamental importance in explaining its genetic diversity. Anatolia also inhabits the southern latitudinal margin of many cold adapted Palearctic species distribution ranges and therefore is considered as *rear edge*. The current genetic structures of populations in such region have critical importance in species responses to climatic fluctuating and are essential for long-term conservation plans and evolutionary potential of species. Here, the phylogeographical structures of the *Chorthippus parallelus* populations across its Anatolia and Thracia range to infer population history are investigated by using 1341 bp of the mitochondrial *COI-tRNA^{Leu}-COII* gene region and 314 bp of the single-copy nuclear DNA fragment. In addition to the high level of diversity indices, the level of genetic differentiation among populations is also seemed to be high for both molecular markers. The expansion patterns of Anatolian populations as response to climatic shifts in Pleistocene ice ages indicate vertical range changes in an altitudinal gradient as well as longitudinal range changes. However, it was not observed a horizontal change pattern in a latitudinal gradient. Anatolian Diagonal has also a special importance in east-west orientations in differentiation of populations.

The historical demographic patterns and geographic genetic structuring of *C. parallelus* populations in Anatolia as a Pleistocene refugium are estimated

being under effect of successive glacial and interglacial cycles beyond the last 0.6-0.5 million years. A recent sudden population expansion corresponds to Holocene period. East populations exhibit ancestral position due to their basal placement in phylogenetic trees. On the other hand, presence of a distribution corridor with a northeast-southwest orientation indicates that the species extended its range to the north both through Caucasians and Balkans in Pleistocene period. In addition, the result of the isolation with migration model do not support that Bosphorus is a strong barrier between Anatolia and Balkans.

Keywords: Anatolia, glacial refugia, rear edge populations, *Chorthippus parallelus*, mtDNA, nuclear DNA, phylogeography, landscape genetics

TEŞEKKÜR

Tez konusunun önerilmesi, yürütülmesi, veri setlerinin üretilmesi ve analiz sonuçlarının değerlendirilmesi sırasında bilgi ve deneyimleriyle yol gösteren, maddi ve manevi ortamı hazırlayan tez danışmanlarım Prof. Dr. Naci Değerli ve Prof. Dr. Hasan Hüseyin Başbüyük'e teşekkür ederim.

Tez konusunun önerilmesi, arazi çalışmalarına katkısı, örneklerin teşhisi, veri setlerinin analiz edilmesi ve sonuçlarının değerlendirilmesinde bilimsel katkı sağlayan Prof. Dr Battal Çıplak'a müteşekkirim. YÖK doktora araştırma bursu kapsamında altı ay süre ile ziyaret edilen Hull Üniversitesi, Biyoloji Bölümü, Evrimsel Ekoloji Grubu başkanı Dr. Dave H. Lunt'a, veri setlerinin analiz edilmesi amacıyla biyoinformatik laboratuvarı olanaklarından yararlanma ve sonuçların değerlendirilmesindeki yardımlarından dolayı teşekkür ederim.

Çalışma kapsamında arazi çalışmaları ve analizler aşamasındaki katkılarından dolayı Araş. Gör. Mahir Budak, Sarp Kaya ve Araş. Gör. Mahir Yıldırım'a; DNA izolasyonu ve çoğaltılması çalışmalarında laboratuvar desteklerinden dolayı yüksek lisans öğrencileri Hasret Öztürk, Sibel Kızıldağ ve Burcu Temel'e teşekkür ederim.

Yükseköğretim Kurulu, tez kapsamında üretilen veri setlerinin analiz ve değerlendirilmesi aşamasında altı aylık doktora yurt dışı araştırma bursu (Department of Biology, University of Hull, Hull, UK) sağlayarak destekte bulunmuştur. Bu tez Cumhuriyet Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyon Başkanlığı (CUBAP F-245) tarafından desteklenmiştir.

Sevgili aileme tez çalışmam süresince gösterdikleri anlayış, sabır ve kesintisiz maddi ve manevi desteklerinden dolayı teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	iii
TEŞEKKÜR.....	v
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	viii
TABLolar DİZİNİ.....	x
EKLER DİZİNİ DİZİNİ.....	xi
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	xii
1.GİRİŞ.....	1
1.1. Buzul Dönemleri, Sığınaklar ve Farklılaşma Üzerine Etkileri.....	2
1.2. Ardıl Kenar Populasyon Kavramı.....	5
1.3. Kararlı Bir Ardıl Kenar Olarak Anadolu.....	7
1.3.1. Anadolu'nun Paleocoğrafik ve Paleoiklimsel Tarihi.....	7
1.3.2. Anadolu Buzul Sığınağının Genetik Çeşitliliği Üzerine Yapılan Bazı Çalışmalar.....	15
1.4. Günümüz Akdeniz Buzul Sığınakları Açısından Model Bir Takson <i>Chorthippus parallelus</i> (Zetterstedt, 1821) (Acrididae: Orthoptera).....	18
2. MATERYAL ve METOD.....	23
2.1. Arazi Çalışması ve Örneklem Bilgisi.....	23
2.2. DNA Analizi.....	27
2.2.1. Mitokondri ve Çekirdek DNA İçerisinde İlgili Gen Bölgelerinin Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile Çoğaltılması.....	30
2.2.2. Çoğaltım Ürünlerinin Çöktürülmesi ve Jelden İzolasyonu.....	33
2.2.3. <i>Cpnl-1</i> ve <i>COI-tRNA^{Leu}-COII</i> Gen Fragmanlarının Dizilenmesi ve Hizalanması.....	35
2.3. Veri Analizi.....	36
2.3.1. Genetik Çeşitlilik ve Gen Karakterizasyonu.....	36
2.3.2. Coğrafik Genetik Yapılanma.....	39
2.3.3. Filogeni ve Filocoğrafya.....	40
2.3.3.1. Uzaklık Analizleri.....	41
2.3.3.2. Maksimum Olasılık Analizleri.....	42
2.3.3.3. Maksimum Parsimoni Analizleri.....	43
2.3.3.4. Bayesiyen Tabanlı Filogenetik Analizler.....	44
2.3.3.5. Şebeke Analizleri.....	45
2.3.3.6. Farklılaşma Zamanlarının Tahmin Edilmesi.....	45
2.3.3.7. Populasyon Farklılaşmasında Göç ile İzolasyon Modeli.....	47
3.BULGULAR.....	50
3.1. Arazi Çalışması ve Örneklem.....	50
3.2. Genetik Çeşitlilik.....	50
3.2.1. <i>COI-tRNA^{Leu}-COII</i> Mitokondri DNA Belirteci.....	50
3.2.2. <i>Cpnl-1</i> Çekirdek DNA Belirteci.....	55

3.3. Coğrafik Genetik Yapılanma.....	67
3.4. Filogeni ve Filocoğrafya	93
3.4.1. <i>Filogenetik Analizler</i>	93
3.4.1.1. Uzaklık Analizleri	94
3.4.1.2. Maksimum Olasılık Analizleri.....	96
3.4.1.3. Maksimum Parsimoni Analizleri	103
3.4.1.4. Bayesiyen Tabanlı Filogenetik Analizler.....	109
3.4.1.5. Şebeke Analizleri	117
3.4.1.6 Farklılaşma Zamanlarının Tahmin Edilmesi	120
3.4.1.7. Populasyon Farklılaşmasında Göç ile İzolasyon Modeli.....	122
4.TARTIŞMA VE SONUÇ	125
4.1. Mitokondri ve Çekirdek DNA Belirteçlerinin Karakterizasyonu	126
4.2. <i>Chorthippus paralellus</i> Anadolu Populasyonlarının Coğrafik Genetik Yapılanmalarının Karşılaştırılması.....	127
4.3. Genetik Açından Zengin Kararlı Bir Ardıl Populasyon: Anadolu	130
4.4. Farklılaşma Zamanları ve Boğazların Durumu	136
5. KAYNAKLAR.....	141
6. ÖZGEÇMİŞ	161
7. EKLER	163
EK.1. <i>C. parallelus</i> populasyonlarında gözlenen 90 mitokondri haplotipleri ve nükleotid dizisi	163
EK.2. Populasyonlarda <i>COI-tRNALeu-COII</i> haplotiplerinin dağılımı.....	166
EK.3. <i>C. parallelus</i> populasyonlarında gözlenen 143 <i>Cpnl-1</i> haplotipleri ve nükleotid dizisi	170
EK.4. Populasyonlarda <i>Cpnl-1</i> haplotiplerinin dağılımı	172

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1 Anadolu paleo-buzul birikintileri.	11
Şekil 1.2 <i>C. parallelus</i> türünün dişi (a) ve erkek (b) bireyleri.	19
Şekil 1.3 <i>C. parallelus</i> türünün yayılış alanını.	20
Şekil 2.1 Örneklerin toplandığı lokaliteler.	24
Şekil 2.2 %0,8'lik agaroz jel ortamında total genomik DNA görüntüsü.	31
Şekil 2.3 a) <i>Cpnl-1</i> gen bölgesi çoğaltım ürünleri b) <i>COI-tRNA^{Leu}-COII</i> gen bölgesi çoğaltım ürünleri.	33
Şekil 2.4 <i>Cpnl-1</i> ve <i>COI-tRNA^{Leu}-COII</i> gen bölgelerine ait bazı dizi kromatogramları.	36
Şekil 2.5 Anadolu tektonik haritası.	38
Şekil 2.6 Anadolu biyocoğrafik birimleri.	38
Şekil 2.7 Anadolu Diyagonali.	39
Şekil 2.8 50 milyon zincirli Bayesiyen MCMC taramasına ait ağaçların a) olasılık dağılım izleri, b) olasılık dağılım eğrileri.	47
Şekil 2.9 Trakya ve Batı Anadolu populasyonları açısından Boğazlar'ın bir bariyer ödevi görüp görmediğini tespit etmek üzere analizde kullanılan populasyonların lokalitelerini gösteren harita.	49
Şekil 3.1 <i>C. parallelus</i> populasyonları habitat tercihi.	52
Şekil 3.2 <i>COI-tRNA^{Leu}-COII</i> gen bölgesi boyunca baz başına nükleotid çeşitliliği (Pi).	53
Şekil 3.3 <i>C. parallelus</i> populasyonlarının mitokondri haplotip paylaşımlarına göre dağılımı.	54
Şekil 3.4 Amino asit dizisindeki değişken pozisyonlar.	56
Şekil 3.5 <i>Cpnl-1</i> gen bölgesi boyunca baz başına nükleotid çeşitliliği (Pi)	57
Şekil 3.6 <i>C. parallelus</i> populasyonlarının çekirdek DNA haplotip paylaşımlarına göre dağılımı.	58
Şekil 3.7 Anadolu tektonik birimlerine göre <i>C. parallelus</i> populasyonlarının yayılışları.	59
Şekil 3.8 Anadolu tektonik birimlerine göre genetik çeşitliliğin dağılımı.	60
Şekil 3.9 Anadolu biyocoğrafik birimlerine (Çıplak 2008) göre <i>C. parallelus</i> populasyonlarının yayılışları.	61
Şekil 3.10 Anadolu biyocoğrafik birimlerine göre genetik çeşitliliğin dağılımı. .	63
Şekil 3.11 Anadolu Diyagonali'ne göre <i>C. parallelus</i> populasyonlarının yayılışları.	64
Şekil 3.12 Anadolu Diyagonali'ne göre genetik çeşitliliğin dağılımı.	65
Şekil 3.13 <i>COI-tRNA^{Leu}-COII</i> belirteci açısından SAMOVA sonuçları.	68
Şekil 3.14 Çekirdek DNA belirteci açısından SAMOVA sonuçları.	70
Şekil 3.15 Mitokondri DNA belirteci dizisinin temel bileşen analizi.	78
Şekil 3.16 Çekirdek DNA belirteci dizisinin temel bileşen analizi.	85
Şekil 3.17 Genetik uzaklık ve coğrafik uzaklık arasındaki ilişki.	87
Şekil 3.18 Olasılık haritalama analizi.	95
Şekil 3.19 Mitokondri haplotipleri arasında Komşu Bağlama (NJ) dendogramı. .	97

Şekil 3.20 <i>Cpnl-1</i> haplotipleri arasında Komşu Bağlama (NJ) dendogramı. . . .	98
Şekil 3.21 Populasyonlar arasında mitokondri DNA bazlı Fitch fenogramı.	99
Şekil 3.22 Populasyonlar arasında çekirdek DNA bazlı Fitch fenogramı.	100
Şekil 3.23 Mitokondri haplotipleri arası maksimum olasılık yöntemine dayalı filogenetik ağaç.	102
Şekil 3.24 <i>Cpnl-1</i> haplotipleri arası maksimum olasılık yöntemine dayalı filogenetik ağaç.	101
Şekil 3.25 Mitokondri haplotipleri arası maksimum parsimoni yöntemine dayalı %50 Çoğunluk kuralı uyumluluk ağacı.	105
Şekil 3.26 <i>Cpnl-1</i> haplotipler arası maksimum parsimoni yöntemine dayalı %50 Çoğunluk kuralı uyumluluk ağacı.	106
Şekil 3.27 Mitokondri haplotiplerinin populasyonlarda temsil edilip edilmemesiyle oluşturulan maksimum parsimoni yöntemine dayalı %50 Çoğunluk kuralı uyumluluk ağacı.	107
Şekil 3.28 <i>Cpnl-1</i> haplotiplerinin populasyonlarda temsil edilip edilmemesiyle oluşturulan maksimum parsimoni yöntemine dayalı % 50 Çoğunluk kuralı uyumluluk ağacı.	108
Şekil 3.29 Mitokondri haplotipleri arasındaki filogenetik ilişki.	112
Şekil 3.30 <i>Cpnl-1</i> haplotipler arasındaki filogenetik ilişki.	113
Şekil 3.31 Mitokondri haplotipleri ile oluşturulan populasyonlar arasındaki filogenetik ilişki.	114
Şekil 3.32 <i>Cpnl-1</i> haplotipleri ile oluşturulan populasyonlar arasındaki filogenetik ilişki.	115
Şekil 3.33 Mitokondri ve <i>Cpnl-1</i> haplotipleri ile oluşturulan populasyonlar arasındaki filogenetik ilişki.	116
Şekil 3.34 MJ şebeke yönteminden elde edilen <i>C. parallelus</i> haplotipleri arasındaki soyhattu ilişkisi.	119
Şekil 3.35 <i>C. parallelus</i> türü Anadolu populasyonlarında evrimsel süreçlere işaret eden bir kronogram.	121
Şekil 3.36 IMA2 analiz sonuçlarının harita üzerinde görsel sunumu	124

TABLolar DİZİNİ

Tablo 1	Çalışma kapsamında analiz edilen <i>C. parallelus</i> populasyonlarının lokalite isimleri, kodları, enlem ve boylamsal bilgileri ile her bir lokaliteden toplanan birey sayısı.	25
Tablo 2	Anadolu tektonik birimlerine göre <i>C. parallelus</i> populasyonlarının yayılışları, sayısı, toplam birey sayısı, haplotiplerin sayısı, özgün haplotip sayısı ve paylaşılan haplotip sayısı.	59
Tablo 3	Beş ana biyocoğrafik bölge bazında Anadolu <i>C. parallelus</i> populasyonlarının yayılışları, sayısı, toplam birey sayısı, haplotiplerin sayısı, özgün haplotip sayısı ve paylaşılan haplotip sayısı.	62
Tablo 4	Anadolu Diyagonalı'nın doğu ve batı kısımlarında <i>C. parallelus</i> populasyonlarının yayılışları, sayısı, toplam birey sayısı, haplotiplerin sayısı, özgün haplotip sayısı ve paylaşılan haplotip sayısı.	64
Tablo 5	Mitokondri DNA belirteci açısından analiz edilen populasyonlardaki genetik çeşitlilik üzerine enlem, boylam ve yüksekliğin etkisini araştıran regresyon testleri.	66
Tablo 6	Çekirdek DNA belirteci açısından analiz edilen populasyonlardaki genetik çeşitlilik üzerine enlem, boylam ve yüksekliğin etkisini araştıran regresyon testleri.	67
Tablo 7	IMa2 analiz sonuçlarının harita üzerinde görsel sunumu.	68
Tablo 8	Çekirdek DNA belirteci açısından SAMOVA sonuçları.	70
Tablo 9	Populasyonlar arasında genetik farklılaşma düzeylerini gösteren mitokondri DNA dizisinin ikili FST değerleri.	72
Tablo 10	Populasyonlar arasında genetik farklılaşma düzeylerini gösteren mitokondri DNA dizisinin ikili qST değerleri.	74
Tablo 11	Populasyonlar arasında genetik farklılaşma düzeylerini gösteren çekirdek DNA dizisinin ikili FST değerleri.	80
Tablo 12	Populasyonlar arasında genetik farklılaşma düzeylerini gösteren çekirdek DNA dizisinin ikili qST değerleri.	82
Tablo 13	AMOVA sonuçları.	89
Tablo 14	Nükleotid dizileri kullanılarak gerçekleştirilen Bayesiyan analizlerinde 1. ve 2. yürütme örneklemelerin model parametre özetleri.	110
Tablo 15	IMa2 analiz aşamasında otokorelasyonlar ve efektif örneklem büyüklüğü (ESS) tahminleri i.	122
Tablo 16	Göç ile izolasyon modeli analiz sonuçları.	123

EKLER DİZİNİ

Ek 1 <i>C. parallelus</i> populasyonlarında gözlenen 90 mitokondri haplotipleri ve nükleotid dizisi.	163
Ek 2 Populasyonlarda <i>COI-tRNA^{Leu}-COII</i> haplotiplerinin dağılımı.	166
Ek 3 <i>C. parallelus</i> populasyonlarında gözlenen 143 <i>Cpnl-1</i> haplotipleri ve nükleotid dizisi.	169
Ek 4 Populasyonlarda <i>Cpnl-1</i> haplotiplerinin dağılımı.	172

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

A	Adenin
AIC	Akaike Bilgi Kıstası
AMOVA	Moleküler Varyans Analizi
bç	Baz çifti
BIC	Bayesian Bilgi Kıstası
C	Sitozin
C _{DNA}	DNA konsantrasyonu
CI	Uyumluluk İndeksi
COI	Sitokrom oksidaz I geni
COII	Sitokrom oksidaz II geni
cpDNA	Kloroplast DNA
<i>Cpnl-1</i>	Kodlama yapmayan tek kopyalı çekirdek DNA fragmanı
Cytb	Sitokrom oksidaz b geni
<i>D</i>	Tajima'nın nötralite istatistiği
dH ₂ O	Distile su
df	Serbestlik derecesi
dk	dakika
DNA	Deoksiribonükleik asit
dNTP	Deoksiribonükleotid trifosfat
ECCUS	Cumhuriyet Üniversitesi Entomoloji Koleksiyonu
EDTA	Etilendiamintetraasetik asit
ESS	Efektif Örneklem Büyüklüğü
EtOH	Etanol
<i>F_{CT}</i>	Gruplar arası fiksasyon indeksi
<i>F_S</i>	Fu'nun nötralite istatistiği
<i>F_{SC}</i>	Grup içi populasyonlar arası fiksasyon indeksi
<i>F_{ST}</i>	Gruplar arası populasyonlar arası fiksasyon indeksi
G	Guanin
GTR	Genel Zaman Dönüşümlü
GTR + CAT	Pozisyon başına oran kategorili GTR mutasyon modeli
GTR + G + I	Gamma parametrelili, değişken olmayan pozisyonların oranının tahmin edilmesini öneren GTR mutasyon modeli
H	Haplotip sayısı
<i>H_d</i>	Haplotip çeşitliliği
<i>H_S</i>	Paylaşılan haplotip sayısı
<i>H_U</i>	Özgün haplotip sayısı
Hap ₋	Çekirdek DNA haplotiplerini gösterir
HI	Homoplazi İndeksi
HiPt	En yüksek posterior olasılığı
HPD95Üst	% 95 güvenilirlik aralığının üst değeri
HPD95Alt	% 95 güvenilirlik aralığının alt değeri
IBD	Uzaklıkla İzolasyon

indel	İnsersiyon-delesyon
<i>k</i>	İkili nükleotid farklılıklarının ortalama sayısı
<i>K</i>	SAMOVA analizlerinde total genetik varyans oranının maksimum düzeye ulaştığı yerde coğrafik açıdan homojen ve genetik olarak farklılaşmış populasyonların oluşturduğu grupların sayısı
KCl	Potasyum klorür
K2-P	İki parametrelili Kimura genetik uzaklık modeli
<i>K_{ST}</i>	Genetik farklılaşma indeksi
Lat/Long	Enlem/Boylam
M	Sitozin ya da Adenin analogu
<i>M</i>	Populasyon göç oranı
<i>m</i>	Mutasyon başına göç oranı
mA	Miliamper
MCMC	Markov Chain Monte Carlo
MgCl ₂	Magnezyum klorür
Mit_	Mitokondriyal DNA haplotiplerini gösterir
MJ	Median joining
<i>N_e</i>	Efektif populasyon büyüklüğü
NJ	Neighbour Joining (Komşu Bağlama)
nst	nükleotid değişim pozisyonu
ml	Mililitre
ML	Maksimum Olasılık
mM	Milimolar
MP	Maksimum Parsimoni
MS	Mean of squared (Varyasyon karelerin ortalaması)
MTA	Maden Tetkik Arama Enstitüsü
mtDNA	Mitokondriyal DNA
myö	Milyon yıl önce
<i>N</i>	Birey sayısı
NaCl	Sodyum klorür
nm	Nanometre
O.D.	Optik Yoğunluk
<i>p</i>	İstatistiksel açıdan anlamlılık derecesi
<i>P_i</i>	Baz başına nükleotid çeşitliliği
PAUP	Phylogenetic Analysis Using Parsimony (Parsimoni Kullanımlı Filogenetik Analiz)
PCA	Principal Component Analysis (Temel Bileşen Analizi)
PCR	Polymerase Chain Reaction (Polimeraz Zincir Reaksiyonu)
pmol	Pikomol
PSRF	Potential Scale Reduction Factor
R	Guanin ya da Adenin analogu
<i>R</i>	Transisyon transversiyon oranı
<i>R²</i>	Belirleme katsayısı

RC	Rescaled Consistency Index (Yeniden ölçeklenmiş uyumluluk indeksi)
RFLP	Restriksiyon Fragman Uzunluk Polimorfizmi
RI	Retention Index (Birikim indeksi)
RNaz	Ribonükleaz
S	Polimorfik pozisyon sayısı
SAMOVA	Moleküler Varyansın Mekansal Analizi
SDS	Sodyum dodesil sülfat
S.K.	Seyreltme katsayısı
SS	Varyasyon karelerinin toplamı
T	Timin
<i>T</i>	Yıl açısından zaman
T_A	Bağlanma sıcaklığı
T_m	Erime sıcaklığı
TBE	Tris Borikasit EDTA tamponu
TBR	Tree Bisection Reconnection
TE	Tris-EDTA tamponu
TMRCA	En son ortak ataya varma zamanı
<i>tRNA^{Leu}</i>	tRNA lösün gen bölgesi
W	Timin ya da Adenin analogu
Y	Sitozin ya da Timin analogu
yö	Yıl önce
%	Yüzde
-	Tire
-	Eksi
+	Artı
±	Artı/Eksi
°C	Santigrat derece
°N	Kuzey enlemi
°E	Doğu boylamı
µl	Mikrolitre
µg/ml	Mikrogram/mililitre
θ_{TT}	Sekanslar arasındaki nükleotid çeşitliliği
θ_{ST}	Populasyonlar arası genetik farklılaşma indeksi
Φ_{CT}	Gruplar arası total genetik varyans oranı
Φ_{SC}	Grup içi populasyonlar arası varyans oranı
Φ_{ST}	Populasyon içi genetik varyans oranı
ε	Epsilon
∞	Sonsuz
α	Alfa
τ	Populasyonların farklılaşma zamanları
μ	Mutasyon oranı
θ	Populasyon farklılaşma indeksleri

1. GİRİŞ

Populasyonların yapısı mekan ve zamanda genetik çeşitliliğin yayılışıyla ilişkili olup hem demografik hem de evrimsel süreçlerin bir sonucudur (Hewitt ve Butlin 1997). Moleküler belirteçler populasyon büyüklüğü, gen akışı, eş seçimi, üreme başarısı, uyum gücü, darboğazlar, populasyonların ayrılma zamanları ve farklılaşmaları gibi populasyon karakteristiklerinin belirlenmesi ile genetik sürüklenme, seçilim, dağılma yeteneği ve hibrid zonlar gibi günümüz süreçlerini betimlemede kullanışlı araçlar sağlar (Hewitt 1999; Eckert ve ark. 2008). Günümüzde populasyon ya da tür genomlarının farklı matematiksel ve evrimsel metodolojilerden yararlanarak geçmişte yaşanmış olayları tanımlama ve DNA verilerinde saklı olan evrimsel süreçlerin gözlemlenmesi ve yorumlanmasına imkan sağlamaktadır. Özellikle görece genç bir disiplin olan filocoğrafyanın son 20 yılda hızla gelişmesiyle birlikte, bu süreç ivme kazanmıştır. Bu disiplin tür içi ve/veya yakın akraba türler arasında gen soy-hatlarının coğrafik yayılışlarından sorumlu model ve süreçlerle ilgilenmektedir. Zaman ve mekan olmak üzere iki ana enstrüman üzerinden hareket eder (Avisé 2007). Bu enstrümanları kullanarak, diğer bir ifade ile populasyon yapısının zamansal ve mekansal bileşenlerini kalitatif ve kantitatif yönden ele alarak, sorumlu evrimsel ve ekolojik süreçleri açığa çıkarmak filocoğrafyanın ana hedefidir. Bu aşamada öncelikle birey ve genler üzerine uygun örneklem yapıldıktan sonra, biyocoğrafik hipotezleri test edebilme, populasyonlarda üreme izolasyonunun evrimi ve biyo- ya da genetik çeşitliliğin orijini, yayılışı ve devamlılığı gibi süreçleri tanımlama potansiyeline sahip olunabilir. Filocoğrafya populasyon - tür ilişkisine ve demografik ya da evrimsel tarihine odaklandığı için coğrafik varyasyon, türleşme, tarihsel biyocoğrafya, koruma biyolojisi, biyoçeşitlilik, paleoekoloji ve paleoklimatoloji gibi önemli çalışma alanlarına büyük ölçekte katkı sağlar (Avisé 2000; Cruzan ve Templeton 2000; Moritz 2000; Hewitt 2000, 2001; Emerson 2002; Templeton 2005; Torroni ve ark. 2006; Beheregaray 2008).

Populasyonlarda genetik yapılanma evrimsel soy-hatlarının farklı düzeylerde genetik çeşitlilik modelleri sergilemesiyle açığa çıkar. Birçok tür yayılış alanlarının farklı coğrafik parçalarında genetik açıdan farklılaşmış populasyonlar içermektedir. Genetik çeşitlilikte gözlenen farklılaşma ile hem yayılış alanındaki bölgesel dinamiklerini hem de temelde populasyonların evrimsel hikayesini yayılış alanının jeolojik tarihi ile ilişkilendirilebilir. Buzul devirlerinin ve özellikle Pleistosen buzullaşmalarının günümüz Avrupa populasyonlarının evrimsel tarihi üzerine ciddi ve

şiddetli bir etki sergilemiş olduğu bilinmektedir (Taberlet ve ark. 1998; Hewitt 1999; Knowles ve Richards 2005; Schmitt 2007). Ancak bu etkilerin populasyon ya da türün farklılaşmasında nasıl bir süreç izlediği ise hala açık değildir. Günümüzde türlerin orijin dönemlerine ilişkin analizler sonucunda Pleistosen buzullarının olası etkilerinin taksonlar arasında değişkenlik sergilediği netlik kazanmıştır (Weir ve Schuller 2004). Bu iklimsel değişim dönemleri bazı türlerde farklılaşmaya yol açarken, bazı türlerde ise tam tersine yok oluşlara ya da herhangi bir etkiye sahip olmadığı gözlenmektedir (Birmingham ve ark. 1992; Bush 1994; Riddle 1996; Klicka ve Zink 1997; Avise ve Walker 1998; Knowles 2000; Ayoub ve Riechert 2004; Knowles ve Richards 2005). Tür ya da populasyonların bu dinamik sürece farklı tepkiler sergilemesinin nedenlerini anlamak için öncelikle farklılaşmaya katkı sağlayan faktörlerin neler olduğunu belirlemek gerekmektedir. Bu kapsamda öncelikli olarak Dünya'nın iklimsel sisteminin evriminden ve Dünya'da gerçekleşmiş olan önemli buzul dönemleri ve nedenlerinden söz etmek çok daha bilgi verici olacaktır.

1.1 Buzul Dönemleri, Sığınaklar ve Farklılaşma Üzerine Etkileri

Son 65 milyon yıl öncesinden itibaren Dünya'nın iklimsel sistemi önemli ve karmaşık bir evrimsel süreç göstermiştir. Bu değişimler 10^5 ile 10^7 yıllık zaman aralığında tektonik süreçlerden ve 10^4 ile 10^6 yıllık zaman aralığında ise yörüngesel süreçlerden kaynaklı ritmik ya da periyodik döngülerin ardışık ısınma ve soğuma trendlerini içerir (Zachos ve ark. 2001). Milankovitch teorisine göre Dünya'nın güneş yörüngesindeki geometrik konumundan kaynaklı değişimler güneş enerjisinden yararlanma ve alınan enerji miktarının dağılımındaki farklılıkları oluşturmaktadır. Bu süreç Tersiyer döneminde başlayan soğuma periyodunu, günümüzden 2,5 milyon yıl önce başlayan ve Kuvaterner olarak bilinen dönemdeki iklimsel dalgalanmaları oluşturmuştur (Hays ve ark. 1976; Taberlet ve ark. 1998; Zachos ve ark. 2001). Bu dönemde her 20 000, 41 000 ve çoğunlukla da 100 000 yıllık periyodik döngülerle buzullarda ciddi bir şekilde ilerleme ve geri çekilmeler olduğu ve son 700 000 yıl boyunca küresel iklimsel dalgalanmaların gerçekleştiği bilinmektedir (Webb ve Bartlein 1992). Kısa süreli ve yüksek şiddette iklimsel dalgalanmaların geç Pleistosen ($130\ 000 \pm 10\ 000$ yıl) süresince hem buzul hem de buzullar arası dönem içinde gerçekleştiği de rapor edilmektedir (Roy ve ark. 1996). Bu şekilde gerçekleşen sıcaklık kaymaları Kuzey Atlantik Okyanusu'ndaki buzulların devasa ölçüde boşalmalarına bağlı olabilir (Bond ve ark. 1993). Bu kapsamda son 8 000 yıl süresince kaydedilen iklimdeki görece

kararlılık genel kabulün dışında bir süreç olarak kabul edilmektedir. Buzul ve buzullar arası dönemde yaşanan bu iklimsel dalgalanmaların, sıcaklıkta 12-14 °C arasında bir değişikliğe yol açtığı da savunulmaktadır (Dansgaard ve ark. 1993; Roy ve ark. 1996; Taberlet ve ark. 1998; Çıplak 2004; Hewitt 2004). Böylelikle buzulların Pleistosen döneminde (2,5 milyon \pm 12 000 yıl önce) artış sergilediği, özellikle de türün yayılışında gözlenen tekrarlı kaymalar sonucunda tartışmasız olarak dramatik bir özelliğe sahip olduğu söylenebilirken, biyolojik çeşitlilikte büyük değişimlere yol açan iklimsel dalgalanmaların ise açık bir biçimde Tersiyer dönemine ulaştığı bilinmektedir (Webb ve Bartlein 1992; Joseph ve ark. 1995; Green ve ark. 1996; Hewitt 1996; Roy ve ark. 1996; Knowles ve Richards 2005). Özellikle Pleistosen döneminde dört önemli buzul çağının biyolojik çeşitlilikte önemli bir etkiye sahip olduğu bilinmektedir (Webb ve Bartlein 1992; Hewitt 1996; Cox ve Moore 2005; Çıplak 2008). Bu buzul çağlarından ilki Günz buzullaşması (0,78-0,45 myö) olup, bu dönemi görece uzun (yaklaşık 30 000 yıllık bir dönem) bir ısınma dönemi ve sonrasında ise Mindel (0,42-0,3 myö) adı verilen yeni bir buzullaşma periyodu takip etmiştir. Üçüncü ve dördüncü buzul çağları ise sırasıyla Riss (0,14-0,08 myö) ve Würm (0,065-0,02 myö) buzullaşmalarıdır. Son buzullar arası dönem olarak bilinen Holosen ise günümüzden yaklaşık 20-18 000 yıl önce başlamıştır. Uzun buzul dönemlerin ardından gelen bu buzullar arası dönemlere geçişler genellikle çok ani değildir. Aralarda daha kısa dönemlerle ifade edilen küçük buzul ya da sıcak devirleri de bulunmaktadır.

Türün yayılış alanında buzul dönemlerinin etkisi enlem ve topografyaya bağlı olarak değişiklik sergilemektedir (Çıplak 2004, Hewitt 2004). Yayılış alanındaki bu değişiklikler türlerin mekansal yayılışına dayalı analizlerden ve çeşitli fosil kayıtlardan elde edilmiştir (Schmitt 2007). Bu kapsamda elde edilen veri setleri genel anlamda genetik veri setlerinin analiz sonuçları ile de desteklenmektedir (Hewitt 1996, 1999, 2000, 2001; Taberlet ve ark. 1998). Yüksek enlemler buzullarla kaplı iken, iklimsel açıdan ılımlı ve tropikal bölgeler ise ekvatora doğru baskılanmıştır. Kuraklığın artmasıyla birlikte tropikal ormanlar gözle görülebilir düzeyde azalmış ve paralelinde çöl alanlarında büyük genişlemeler gerçekleşmiştir. Dünyanın 40. paralelleri arasında kalan dağlık alanlar ise değişken bir topografya sergiledikleri için ayrıca önemlidir (Hewitt 2004; Çıplak 2008). Bu değişken topografyada geniş çayır alanlarının bulunması yüksek dağ habitatlarına özelleşmiş türlerin buzul dönemlerinde aşağı kesimlere doğru ilerleyerek yayılış alanlarının genişlemesine olanak sağlamıştır (Hewitt

1996; Knowles ve Richards 2005). Buzullar arası döneme girildikten sonra ısınma ile birlikte tekrar dağ yükseltilerine geri çekilmeler sergileyerek küçük, izole ve parçalı populasyonların oluşmasına yol açmıştır. Böylelikle dağcıl soğuk seven formlara kendi bölgesi içerisinde iklimsel dalgalanmalara karşı mücadele edebilme yeteneği kazandırmıştır. Ardışık buzul ve buzullar arası dönemler sonucunda soğuk seven formlarda gözlenen tekrarlı genişleme ve geri çekilmeler belirli allopatrik dönemlerin oluşmasını tetikleyecektir. Bu allopatrik dönemler sonrasında populasyonlar arasında ikincil temasların açığa çıkması (böylelikle gen akışını) ve paralelinde izolasyon döneminin uzunluğuna ve her bir populasyon ya da populasyonların maruz kaldığı stokastik ve mekansal süreçlere bağlı olarak populasyonlar arasında genetik farklılaşmaların farklı düzeylerde gözlenmesi ya da izole olan populasyonların yok oluşu muhtemeldir.

Biyocoğrafik açıdan değerlendirildiği zaman soğuk seven türlerde iklimsel dalgalanmalar, sığınak alanları içerisinde yüksekliğe bağlı farklılaşmalar ya da yok oluşlara yol açabileceği gibi, populasyonlar arasında enlemsel farklılaşmaların da ana kaynağını oluşturacaktır. Enlemsel farklılaşmalar buzul dönemlerinde sıcaklığın azalmasıyla birlikte türlerin yayılış alanlarının sığınak adı verilen güney uçlarına doğru çekilmesi ve böylelikle kuzey populasyonlarının yok oluşu ve diğer taraftan buzullar arası dönemlerde ise sıcaklıktaki artışa paralel olarak kuzeye doğru sığınaklardan bir genişleme ile karakterize edilir. Tekrarlı daralma ve genişleme şeklinde gözlenen bu yeniden kolonizasyon süreçleri populasyonları ardışık darboğazlara sokarak, soğuk seven formlar hariç kuzey populasyonlarında genetik çeşitliliğin büyük ölçüde kaybına yol açacaktır (Hewitt 1996; Taberlet ve ark. 1998; Seddon ve ark. 2001; Çıplak 2008). Buzul sonrası kolonizasyon olarak bilinen bu süreçte populasyonların yayılış yollarının belirlenmesi büyük önem taşımaktadır. Birçok türde yeniden kolonizasyon yolları genellikle ya coğrafik ya da diğer soy-hatlarının genişleme yollarından kaynaklı bariyerler nedeniyle sınırlandırılmıştır (Hewitt 1996; Horn 2009). Farklı sığınak alanlarından köken alan soy-hatlarının buzullar sonrası yayılış alanlarının çakışması sonucu “sütur zonlar” açığa çıkar. İlk kez Remington (1968) tarafından bazı tür çiftleri ya da zonlar içerisinde hibridleşen tür altı taksonlar dahil ana biyotik topluluklar arasında geniş ya da dar çaplı coğrafik üst üste gelmelerin gözlemlendiği alanlar için kullanılmıştır. Bu kavramın açığa çıkışı hibrid zonların sınırlı alanlar içerisinde yoğunlaşmış olduğunun gözlenmesinden dolayıdır (Taberlet ve ark. 1998). Bu kavram

bir buzul sonrası genişlemeyle birlikte farklı populasyonların karşılaştığı yerleri karakterize etmek için tür içi düzeye kolay bir şekilde genişletilebilir. Bu alanlarda genetik çeşitliliğin diğer coğrafik bölgelere oranla daha yüksek olması beklenmektedir (Petit ve ark. 2003).

Günümüzde Kantabriya, Pireneler, Alpler ve doğuda Kafkas Dağları eksenli doğu-batı oryantasyonu ile Asya kıtasıyla bağlantılı, güneyinde güçlü bir bariyer ödevi gören Akdeniz'i bulduran ve bu şekilde değişken bir iklimsel ve topografik yapıya sahip olan Avrupa'nın birçok türü buzul dönemlerinde sığınak ödevi gören ve güney hattında yer alan stok populasyonlardan köken almıştır (Taberlet ve ark. 1998; Rokas ve ark. 2003; Schmitt 2007). Avrupa'nın günümüz biyoçeşitliliğine önemli derecede katkı sağlayan bu bölgeleri İber Yarımadası, İtalya, Yunanistan, Balkanlar ve Anadolu olmak üzere beş ana sığınak altında toplayabiliriz (Cooper ve ark. 1995; Flanagan ve ark. 1999; Hewitt 1996, 1999, 2000, 2001; İbrahim ve ark. 2002; Petit ve ark. 2002; Hampe ve ark. 2003; Çıplak 2003, 2004, 2008; Dubey ve ark. 2006, 2007; Heuertz ve ark. 2006; Atkinson ve ark. 2007; Schmitt 2007; Korkmaz ve ark. 2010). Bu bölgelerin en önemli karakteristiklerinden biri ise Güney Avrupa'nın dağlık alanlarına lokalize olmalarıdır. Avrupa'da yayılış sergileyen bir türün uzun süreli varlığı, ısınma dönemlerinde önemli olduğu kadar soğuma dönemleri boyunca da bu alanlarda yaşayabilirliği açısından önem taşımaktadır (Bennett ve ark. 1991). Aynı şekilde bir türün populasyonlarının ısınma döneminde sığınaklarda bulunmaması ya da yok olması bir sonraki soğuma sürecinde o türün tümüyle yok olmasına yol açacaktır.

1.2 Ardıl Kenar Populasyon Kavramı

Türün yayılış alanı boyunca populasyonların farklı genetik yapılanma sergilemeleri uzun süreli bir tartışma konusudur. Genetik çeşitlilik ve genetik farklılaşma populasyonların coğrafik pozisyonlarından nasıl ve ne derecede etkilendiği ile ilgili tahmin ve yorumlar kısa bir süre öncesine göre yaygın bir kabul görmüş olan *merkez-çevre (center-peripheral) modeli* ile tam olarak açıklanamamaktadır (Hampe ve Petit 2005; Korkmaz ve ark. 2010). Bu modele göre periferde yer alan populasyonlar yok olmaya daha eğilimlidirler. Populasyon büyüklükleri ve az tercih edilen habitatlarda meydana gelme eğilimlerinden dolayı merkez populasyonlara oranla daha az genetik çeşitlilik sergilerler (Lawton 1993; Vucetich ve Waite 2003; Hampe ve Petit 2005). Bölgesel ölçekten ziyade lokal düzeyde bu modelden yararlanma genel kabul görmesine

rağmen, son dönemlerdeki deneysel çalışmalar geniş coğrafik ölçeklerde uygun bir model olmadığını açığa çıkarmıştır (Channell ve Lomolino 2000; Vucetich ve Waite 2003). Şimdiye kadar birçok noktada da değinildiği üzere, coğrafik konumlarına göre populasyonlarda gözlenen genetik yapılanmalar deterministik bir yaklaşım olan merkez-çevre modelinden ziyade, genellikle türün evrimsel tarihini de göz önünde bulunduran daha karmaşık modellerle açıklanabilir (Hewitt 2000, 2004; Hampe ve Petit 2005).

Son 15 yıl boyunca günümüz populasyonlarının yayılış alanlarına sadece demografik ve stokastik açıdan bakmaktan ziyade, buzul ve buzullar arası dönemlerinde etkisini içeren daha dinamik bir yaklaşım getirilme çabaları artış sergilemektedir. Bu amaçla son dönemlerde geliştirilen *ardıl kenar populasyon modeli* günümüzde türün yayılış alanının güney uçlarını ya da sınırlarını işgal eden populasyonlar için kullanılmaktadır (Hampe ve Petit 2005). Bu yaklaşımda özellikle sığınak populasyonlarının dinamiklerinin türün olası iklimsel dalgalanmalara karşı yanıtını belirlemede kritik öneme sahip olduğu belirtilmektedir (Thomas ve ark. 2001; Travis ve Dytham 2004; Hampe ve Petit 2005). Böyle populasyonlar çoğunlukla hem soğuk hem de sıcak dönem koşullarında türün devamlılığı için uygun koşullar sağlayan bölgelerde oluşurlar (Tzedakis ve ark. 2002). Bu bölgeler yüksekliğe dayalı görece küçük kaymalarla populasyonların uygun iklimsel koşullarla eşleşmesine izin veren heterojen bir topografyaya ev sahipliği yapmaktadır. Buzul formlarının yayılış alanlarındaki bu vertikal değişimler, diğer bir deyişle, bu tekrarlı üst ve alt kesimlere kaymalar populasyonları farklı yollarla etkilemektedir. Soğuk dönemlerde, populasyonlar yayılışlarını alt kesimlere genişlettikleri zaman, farklı yükseltilerde izole kalmış olan populasyonların az ya da çok farklılaşma gösteren gen havuzlarının karşılaşması ve mümkün olduğu kadar çok sayıda hibrid gen havuzlarının oluşması mümkündür (Hewitt 1996, 2000; Çıplak 2008). Tam tersine sıcak dönemlerde ise, bu populasyonlar dağ eteklerinden üst kısımlara tekrar yönelmekte; yeniden küçük ve izole populasyonlara dönüşmektedir. Bu populasyonlar sınırlı sayıda birey tarafından kurulmuş oldukları için, genetik sürüklenmeye maruz kalan darboğaz populasyonları oluşturmaları kaçınılmaz olacaktır (Çıplak 2008). Ardışık buzul döngülerine paralel bir biçimde bu süreçlerinin tekrarlanması, hızlandırılmış bir türleşme sürecini tetikleyecektir (Hampe ve Petit 2005).

Ardıl kenar populasyonlar, çoğunlukla ardıl kenardaki topografik heterojeniteye bağlı oluştukları için tipik olarak oldukça küçük ve izoledir. Bu nedenle bölgesel populasyon dinamikleri, lokal yok olma olgularını kolay bir şekilde bertaraf edemezler. Ancak küçük populasyon boyutlarına rağmen, uzun süreli yaşayabilme yeteneği sergilemeleri önemli bir karakteristikleri olarak kabul edilmektedir. Bu yetenekleri büyük ölçekli iklimsel dalgalanmalar ve güncel olgulardan kaynaklı yok olmaların, merkez-çevre modelinin aksine ne kadar küçük bir role sahip olduğunu göstermektedir (Pamilo ve Savolainen 1999; Eckstein ve ark. 2006). Bununla birlikte küçük populasyon boyutları ve uzun süreli izolasyonlarından dolayı populasyon içi genetik çeşitliliğin düşük; tam tersine coğrafik açıdan komşu olsalar dahi gen akışı oranının az ya da hiç olmaması nedeniyle populasyonlar arasındaki genetik farklılaşmanın ise yüksek olması beklenir (Lammi ve ark. 1999; Hutchison ve Templeton 1999; Castric ve Bernatchez 2003; Petit ve ark. 2003; Chang ve ark. 2004; Eckstein ve ark. 2006). Ancak yapılan bazı çalışmalar ardıl kenar populasyonlardaki genetik çeşitliliğin populasyonun sadece yayılış alanındaki pozisyonuna bağlı olmadığını, aynı zamanda tarihsel süreçlerden kaynaklı olguları da kendi genetik mirasında biriktirerek hem onun mekansal hem de demografik yapısıyla şekillendiğine dair dikkate değer sonuçlar sunmaktadır (Lesica ve Allendorf 1992, 1995; Petit ve ark. 1998; Vucetich ve Waite 2003; Schmitt ve Hewitt 2004; Huang ve ark. 2005; Korkmaz ve ark. 2010). Tüm bu özelliklerinden dolayı günümüz türlerinin ardıl kenarlarını işgal eden populasyonların Kuvaterner dönemi boyunca biyolojik çeşitliliğin devam etmesi açısından anahtar bir rol oynadığı söylenebilir (Hewitt 2004; Hampe ve Petit 2005). Bu yüzden, ardıl kenar populasyonlarının mevcut genetik yapılarının geniş bir kapsamda değerlendirilmesi, tür içi ve türler arası genetik çeşitliliğin uzun süreli korunması, türün filogenetik tarihi ve evrimsel potansiyeli açısından gereklidir.

1.3 Kararlı Bir Ardıl Kenar Olarak Anadolu

1.3.1 Anadolu'nun Paleocoğrafik ve Paleoiklimsel Tarihi

Bütünü ile Alp-Himalaya orojenik kıvrım kuşağında yer alan Anadolu, Afrika-Arap plakası ile Asya'nın çarpışması, ardından da bu çarpışmanın neticesi olarak oluşan asimetric tektonik uzaklaşma sisteminin en iyi geliştiği bir bölgeyi temsil eder. Ortalama 1000 m yükseltiye sahip olan bu yarımada engebeli ve tektonizmanın jeomorfolojiyi renklendirdiği bir platodur. Jeolojik evrimi boyunca transgresyon (su

altından çıkma) ve regresyon (su altına geçme) faaliyetleri ardışık olarak gerçekleşmiştir. Sonuç olarak zincirleme çökeltiler, fiziksel yapının değişimi ve bu paleocoğrafik gelişimsel süreçlerin etkisiyle volkanik faaliyetlerin açığa çıkması, Anadolu'yu karmaşık yapıda bir yarımada olarak ifadelendirmeye itmiştir (Bisque ve Heller 1967). Akdeniz jeosenklinal bölgede konuşlanan Anadolu, uzun eksenine paralel bir takım kuşaklar içermektedir. Bu kuşaklar doğu-batı doğrultusu sergiler. Pontid, Anatolid, Torid, İrani ve Kenar kıvrımları olmak üzere beş ana tektonik ve stratigrafik kuşak altında toplanabilirler (Baykal 1974). Tersiyer özellikle de Miyosen dönemi boyunca çok aktif bir yapı sergileyen Anadolu'nun Geç Holosen'de İstanbul Boğazı'nın oluşumu ve Pleistosen buzul dönemi boyunca Anadolu ile doğu Ege adalarının tekrarlı bağlantıları dışında, Pliyosen sonrasında kara ve deniz yapılandırması ve topografyası açısından önemli bir değişiklik gerçekleşmemiştir (Van Andel ve Shackleton 1982; Steininger ve Rögl 1984; Meriç ve ark. 2000; Görür ve Tüysüz 2001; Meulenkamp ve Sissingh 2003). Özellikle günümüz topografik yapılanmasını 4. jeolojik zaman olarak bilinen Kuvaterner döneminde büyük ölçüde tamamlamıştır. Anadolu'nun paleocoğrafik evrimi jeolojik bölgeler bazında genel bir değerlendirmeyle aşağıdaki gibi özetlenebilir.

Kretase okyanus havzası, Paleosen-Oligosen döneminde Afrika ve Avrasya kıtasal plakalarının çarpışmalarına bağlı olarak, Tetis Denizi içerisinde çok sayıda küçük plakaların oluşumuyla artmaya başlamıştır (Robertson 1998; Görür ve Tüysüz 2001; Meulenkamp ve Sissingh 2003). Afrika ve Arap plakasının kuzeye doğru devamlı hareketinden kaynaklanan Doğu Akdeniz'in yükselmesi, Geç Oligosen ve Erken Miyosen'de başlıca küçük Tetis adalarını açığa çıkararak görece büyük bir karasal kütle oluşmasına yol açmıştır (Robertson 1998; Rögl 1999; Bozkurt 2001; Görür ve Tüysüz 2001; Toret ve ark. 2001; Meulenkamp ve Sissingh 2003). Biyocoğrafik açıdan değerlendirildiği zaman, Akdeniz bölge etrafında bu dönemden sonraki coğrafik değişimler çok daha önemlidir. Özellikle Neojen boyunca gerçekleşen önemli coğrafik değişimler arasında Alpler, Dinaridler, Balkanlar'ın Helenik Dağları ve Türkiye'de Toros aralığının oluşumu sayılabilir (Çıplak 2010). Diğer taraftan Kuzeybatı Anadolu bölgesinin jeolojik evriminde Orta Miyosen döneminin (13-12 myö) etkileri gözlenmektedir. Bu süreçte Çamdağ-Akçakoca, Güney Trakya ve Istranca Dağları'nın günümüz şekillenmelerinin büyük ölçüde gerçekleştiği söylenebilir (Elmas 2003). Bununla birlikte Marmara Bölgesi'nde kuzey-güney genişleme süreci de bu dönemde

başlamıştır. Bu genişleme bölgede günümüzdeki birçok çöküntü ve yükseltilerin oluşumuna yol açmıştır. Sakarya Nehri'nin doğusuna kadar Karadeniz Dağları olarak bilinen dağ silsilesinin ve batıda Trakya-Kocaeli erozyon ovasının varlığı ve Kuvaterner şekillenmelerinin pozisyonu da bu genişlemenin birer sonucudur. Kuzey-güney doğrultulu bu genişlemenin bir diğer önemli etkisi ise Geç Miyosen döneminden itibaren Akdeniz ve Paratetis'in günümüz Marmara Denizi'ni doldurmasıdır (Elmas 2003). Aynı zamanda Kuzey Anadolu bloğunun kuzeydoğu yönündeki hareketi Pleistosen döneminde Dardanel, Marmara çöküntüsü ve İzmit-Adapazarı/Adapazarı-Karasu koridorları kanalıyla Karadeniz ve Ege/Akdeniz arasında bir deniz bağlantısı oluşturmuştur (Elmas 2003).

Anadolu'da paleocoğrafik yapılanmaların bir diğer önemli sonucu ise Ege takımadalarının oluşum sürecidir. Ege takımadaları tektonizm, volkanizm ve deniz seviyesindeki değişimlerin diferansiyel etkileri sonucunda günümüz şekillenmelerini kazanmıştır (Douris ve ark. 2007). Bu paleocoğrafik süreçler özetlenecek olursa, Ege Bölgesi'nin paleocoğrafik evriminde dört ana safhadan söz edilebilir. Üst ve orta Miyosen dönemine (23-12 myö) denk gelen ilk safhada, bütünlük sergileyen büyük bir kara parçası mevcuttur (Dermitzakis and Papanikolaou 1981; Douris ve ark. 2007). İkinci safha ise geç Serravaliyen döneminden erken Tortoniyen'e (12-5 myö) kadar olan dönemi kapsar. Bu safha orta Miyosen döneminin sonunda başlayan ve geç Miyosen'in başlangıçlarında tümüyle tamamlanan bir deniz kanalının oluşumundan dolayı Ege Bölgesi'nin kabaca bir ayrımını sergiler (Dermitzakis and Papanikolaou 1981). Bu süreç batı ve doğu Ege adalarının ayrılmasıyla sonuçlanmıştır. Messiniyen döneminde (6-5,3 myö) Cebelitarık Boğazı'nın kapanmasının bir sonucu olarak Akdeniz havzasının kısmen kuruması (Krijgsman ve ark. 1999), buna paralel olarak ada ve kıtalar arasında kara köprüleri yoluyla bir göç olgusunun gerçekleşmiş olduğu öngürülebilir. Bu boğazın 5,3 myö tekrar açılması (Beerli ve ark. 1996; Krijgsman ve ark. 1999; Duggen ve ark. 2003) sonucunda, yaklaşık 1000 yıllık bir zaman diliminde Atlantik Okyanusu kanalıyla Akdeniz havzasının yeniden doldurulması ve Ege deniz yolunun tekrar kalıcı bir hal kazanması söz konusudur (Douris ve ark. 2007). Üçüncü safhada (5-2 myö) ise ileri düzeyde bir deniz genişlemesi ve karasal alanın bölümlenmesi gerçekleşmiştir. Pliyosen ve üst Pleistosen süresince (3,6-3,3 myö) bir deniz yolu ile Kuzey Siklades'ten (Ege Denizi'nde yirmiden daha fazla sayıdaki adalar topluluğuna verilen bir bölge adı) izole olan Güney Sikladik platosu ayrı bir kara parçası olarak açığa çıkmıştır (Anastassakis

ve Dermitzakis 1990). Rodos adası ise Anadolu'dan geç Pliyosen ya da ilk Pleistosen döneminde izole olmuştur. Bununla birlikte, kuzey Oniki Adalar ve bu adalara göre zıt pozisyonlu Anadolu kıyıları arasındaki kara bağlantısı Holosen döneminin başlangıçlarına kadar sürdürülmüştür. Son olarak, Pleistosen dönemine denk gelen dördüncü safha iklimsel ve deniz seviyesindeki yoğun değişimlerden sorumlu olan safhadır. Bir diğer önemli bulgu ise Ege adalarının Pleistosen döneminde günümüz adaları ile aynı pozisyona sahip olmasıdır (Perissoratis ve Conispoliatis 2003). Ancak, deniz seviyesinin buzul dönemi boyunca günümüzdekinden 200 m kadar daha düşük seviyede olduğunun belirtilmesi de gerekmektedir (Beerli ve ark. 1996).

Anadolu'nun güneydoğusunda yer alan Doğu Anadolu (Anadolu-İran) Platosu, Anadolu açısından önemli bir diğer paleocoğrafik alandır. Bu plato aktif Alpin-Himalayan orojenezi ile ilişkili olup, dikkate değer düzeyde yükselti bir alanı içermektedir (Nicoll 2010). Bu bölgenin paleocoğrafik evrimi Güney Neo-Tetis Okyanusu'nun (Bitlis Okyanusu) kapanmasından itibaren topografik yükseltilerin ve litosferik deformasyonunun gelişimi gibi yüzey süreçleri ve tektonik etkileşimleri yansıtmaktadır.

Anadolu Yarımadası paleocoğrafik evrimsel süreçlerin etkisi ile birlikte kendi içerisinde dahi farklılıklar sergileyen bir biyocoğrafik yapılanmaya sahiptir. Bu nedenle Anadolu'yu paleocoğrafik yapılanmasının yanı sıra biyocoğrafik açıdan tanımlamak da gerekmektedir. Bu kapsamda değerlendirildiği zaman, çok sayıda dağ aralıklarının birincil derecede etkisine paralel olarak Anadolu'yu birkaç bölgeye ayırmak mümkündür (Oosterbroek ve Arntzen 1992; Çıplak 2003, 2008). Bu dağ aralıkları Alp-Himalaya sisteminin genel uzanışından kaynaklı doğu-batı doğrultusunda bir uzanış sergilemektedirler. Ege bölgesi buzul formlarının yayılışı için koridor ödevi görebilecek nitelikte devamlı yüksekliğe bağlı silsileler oluşturamayan birkaç sıralı ya da bireysel dağlar ile Anadolu'nun görece daha az dağlık alanıdır. Bu bölgede en baskın yükselti Kazdağ, Bozdağ, Babadağ ve Menteşe ile Sultan Dağları arasında uzanmaktadır. Bunlar içerisinden yalnızca Sultan Dağları Ege, Orta ve Akdeniz Anadolu bölgesi sınırlarında soğuk seven formlar için bir yayılış koridoru olarak ödev görebilen görece büyük bir aralık oluşturur (Çıplak 2008). Yukarıda belirtilen tüm diğer dağlar görece küçük silsileler ya da izole yükseltilerdir, ancak birçoğu günümüz ısınma dönemi boyunca orthopterler gibi birçok soğuk seven taksona ev sahipliği yapmış olabileceği öngörülmektedir (Çıplak 2008). Akdeniz Anadolu Bölgesi, Anadolu'nun en dağlık

bölgelerinden birisi olup, batı parçasındakinden çok daha yüksek ve görece büyük olan dağ silsilelerini içermektedir. Bu bölgenin çok dinamik bir paleocoğrafik tarihe sahip olduğu söylenebilir. En batı ucu Beydağları ve Akdağlar tarafından işgal edilmektedir. Bir batı-doğu doğrultusuyla Orta ve Akdeniz Anadolu Bölgesi boyunca uzanan Güney Toros Dağları bölgedeki en belirgin yükseltilerdir. Bu yükseltiler Anadolu'da günümüz biyoçeşitlilik örüntülerini ya da tarihsel biyocoğrafyayı betimlemede önemli bir topografik birim olarak öngörülmektedir (Çıplak 2003, 2004, 2008; Çıplak ve ark. 2005; Gündüz ve ark. 2007). Akdeniz Bölgesi'nin doğu sınırını diğer dağ kuşakları kanalıyla Suriye'den İsrail'e kadar topografik açıdan benzer bir yapıya sahip olan Amanos Dağları tanımlar. Anadolu'nun en dağlık bölgesi ise ortalama 1500 m yükseklikle doğu parçasıdır. Bununla birlikte, bu ortalama yükseklikten çok daha yüksek dağ aralıkları da bulunmaktadır. Anadolu'nun doğu parçasında çok yüksek dağların varlığı, günümüz ısınma döneminde yüksek bölgelere sığınan soğuk seven taksonlar için yayılış koridorları oluşturabilecek özelliktedir (Çıplak 2008). Güneydoğu Toroslar, Maraş Üçgeni'nden (Güney, Güneydoğu ve Doğu Toroslar'ın bağlantı noktası) Zagros Dağları'na kadar uzanır ve Doğu Anadolu'nun dağlık bölgesi ve Mezopotamya'nın çöl benzeri bölgesi arasındaki bir sınırı tanımlar. Tekrar değinecek olursak, çoklu alt yayılış alanları oluşturan Doğu Toroslar, bir güneybatı-kuzeydoğu doğrultusuyla Anadolu'nun Akdeniz ve Karadeniz/Doğu bölgeleri arasında uzanmaktadır. Bu süper aralık Anadolu Yarımadası'nı iki ana parçaya ayırdığı için Anadolu Diyagonalı olarak bilinmektedir ve bu yüksekliğe bağlı kuşakta yayılışın en doğu ya da batı sınırında bulunan soy-hatları vardır (Davis 1971; Ekim ve Güner 1986; Çıplak ve Demirsoy 1993; Çıplak 2008). Bir diğer en belirgin aralık ise Anadolu'nun biyocoğrafik açıdan doğu sınırlarını tarif eden Elburuz ve Zagros dağlarıdır (Oosterbroek ve Arntzen 1992). Göze çarpan bu aralıklara ek olarak, Doğu Anadolu'yu yükseltisi fazla ve özgün bir topografyaya sahip bir bölge özelliği kazandıran Ağrı ve Süphan Dağı gibi bireysel dağlar; Nurhak, Esence, Mercan ve Bingöl dağları gibi küçük ara dağ silsileleri bulunmaktadır. Doğu Anadolu'daki bu yükseltiler belirgin bir biçimde Pliyosen sonlarına doğru bir blok şeklinde başlamış ve günümüzde de kuzey-güney yönünde bir daralma ile yükselmenin devam ettiği düşünülmektedir. Anadolu Yarımadası'nın kuzey sınırını, Karadeniz kıyısından adım adım artış sergileyen Pontidler oluşturmaktadır. Bu dağ aralığı batıda Bulgaristan sınırları içerisinde yer alan Rodop Dağları'ndan başlar ve doğuda ise Küçük Kafkaslar'a kadar uzanır (Yılmaz ve ark. 1997; Akçar ve ark. 2007). Batı, Orta ve Doğu Pontidler olmak üzere üç tektonik

yapılanma sergilerler (Yılmaz ve ark. 1997). Batı Pontidler, Istranca Dağları'ndan Kargı Dağları'na kadar uzanır. Doğu Pontidler ise Kafkaslar'ın batıya doğru olan uzantılarıdır. Kuzeydoğu Anadolu'nun dağ silsilelerini kapsar ve Ankara-Erzincan sütünunun kuzeyi ile Kargı Dağları'nın doğusuna kadar olan alana denk gelir. Kargı Dağları ve çevresini oluşturan alan ise Orta Pontidleri oluşturur. Anadolu'nun kuzey sınırlarını oluşturan bu bölgedeki en belirgin yükselti batı kısmında Köroğlu, Ilgaz ve Küre Dağı kuşakları ve doğu kısmında ise Balaban, Rize ve Kaçkar Dağları gibi birkaç küçük silsileyi oluşturan Pontid Toroslar'dır. Orta Anadolu çevresi yukarıda söz edilen dağ silsileleri ile sınırlandırılmış ve yaklaşık 1000 m yükseltiye sahip olma özelliğiyle adeta yüksek bir plato görünümündedir.

Günümüz iklimsel koşulları eski dönemlerdeki iklimsel değişimleri anlamak için anahtar ödevi görmektedir. Bugünkü atmosferik döngü örüntülerindeki önemli dalgalanmalar, geçmişte (özellikle son buzul-buzullar arası geçiş gibi) küresel sınır koşullarındaki dramatik değişimlere yanıtlarla gerçekleşmiştir. Buzullar yüksek enlemlerin ve dağ kuşaklarındaki yükselti iklimsel arşivleri oldukları için, küresel sınır koşullarındaki dramatik değişimler hakkında jeolojik kanıtlar üretirler (Broecker 2001; Akçar ve Schlüchter 2005). Kuvaterner dönemdeki iklimsel değişimler Anadolu açısından özel bir öneme sahiptir. Anadolu 36°– 42°N ve 26°– 45°E arasında kalan Doğu Akdeniz bölgesinde konuşlanmıştır. Genellikle nemli ve kurak bölgeler arasında uzandığı için, bu yarımada yağışlardaki küçük ölçekli değişimlere dahi aşırı duyarlıdır. Ek olarak, yukarıda da söz edildiği üzere Anadolu tektonik ve sismik açıdan aktif bir zon üzerinde bulunmaktadır. Anadolu iklimi (1) orta enlemlerden yüksek enlemlere doğru kuzey ve kuzeybatı yönlü batıdan esen rüzgarlar, (2) Sahara boyunca genellikle Atlantik'ten genişleyen orta enlemlerli subtropikal yüksek basınç sistemleri ve (3) Hindistan ve Doğu Afrika'nın muson iklimleri olmak üzere üç ana atmosferik sistemden etkilenmektedir. Kış dönemlerinde ise Asya kıtasının büyük bir kısmını kapsayan (Siberyan) güçlü termal yüksek basınç sistemleri tarafından etkilenmektedir.

Anadolu'da gözlenen yüksekliğe bağlı kuşaklar Anadolu'yu birkaç topografik parçaya ayırmaktadır. Dahası, bu dağ aralıkları özellikle güney kısımlarında vadiler tarafından ayrılmışlardır ve böyle bir topografya Anadolu yarımadası içinde mikro ve makrohabitat oluşumunu güçlü bir şekilde etkilemektedir. Hem topografik hem de iklimsel değişiklikler çok sayıda lokal vejetasyon tiplerini barındırmasının ana nedenleri arasındadır (Parolly 2004). Sonuç olarak, yüksek derecede heterojen topografya

Akdeniz, Euxsin ve Karasal gibi farklı iklim tiplerinin varlığına yol açmıştır. Bu ana iklimsel kuşaklara ek olarak her biri çölden (Mezopotamya benzeri) tundraya (Sibirya benzeri) kadar çok sayıda farklı iklimsel alttıpleri de sergilerler (Çıplak 2008). Özellikle, Kuvaterner döneminde gerçekleşen periyodik iklimsel değişimler, günümüz Anadolu topoğrafyasının şekillenmesinde, kıyı bölgelerindeki deltaların oluşumu ve gelişmesinde ve bitki örtüsünün dağılışında önemli etkiler sergilemiştir. Bu amaçla bir sığınak ödevi gören Anadolu'da gerçekleşen son buzul ve buzullar arası dönemlerin ardışık etkilerine değinmek gerekmektedir. Günümüzden yaklaşık olarak 75-12 bin yıl arasındaki bir dönemi kapsayan ve en şiddetli dönemi ise $18\ 000 \pm 2000$ yıl öncesine denk gelen son buzul çağında, Anadolu'nun farklı bölgelerinde buzullaşmaların olduğu gözlenmektedir (Doğu ve ark. 1994; Gürgen 2001; Çiner 2003; Çiçek 2004). Anadolu'nun kıyı kesimindeki dağların 2500-2600 m ve İç Anadolu ve Doğu Anadolu'daki dağların 2700-2800 m ve üzeri yükseltileri buzullarla kaplanmıştır (Şekil 1.1). Bu birikintiler Karadeniz Dağları'nın doğu ve batı parçalarına (Doğu ve ark. 1996, 1997), Toros Dağları'na (Doğu 1993; Çiner ve ark. 1999; Doğu ve ark. 1999), Doğu Anadolu Dağları'na, Uludağ ve Erciyes, Süphan ve Ağrı Dağı gibi iç kısımlardaki izole volkanik dağlar üzerinde lokalize olmuşlardır (Akçar ve Schlüchter 2005).



Şekil 1.1 Anadolu paleo-buzul birikintileri [Akçar ve Schlüchter (2005)'den alıntılanmıştır.]

Dünya genelindeki soğumaya paralel olarak orta ve yüksek enlemlerde soğuk ve kurak iklim koşulları gözlenmiştir. Yağış sularının kuzey enlemlerde ve Orta kuşağın yüksek kesimlerinde buzul halinde kalmasıyla deniz seviyesinde önemli miktarda çekilmeler gerçekleşmiştir (Flemming ve ark. 1998; Ergin ve ark. 2007). Karadeniz'in

Marmara Denizi ve dolayısıyla Ege/Akdeniz denizleri ile bağlantısının kesilmesi, bu havzanın bir tatlı su gölüne dönüşmesine yol açmıştır. Diğer taraftan Marmara Denizi'nin üçte ikisi, özellikle Batı Anadolu'daki kıyı kesiminin bir bölümü kara haline gelmiştir. Anadolu'nun iç kesimlerinde ise buharlaşmanın azalmasından ve yüksek yerlerden gelen kar ve buz sularının etkisiyle göllerin oluşumu ya da mevcut göllerin seviyesinde bir yükselme gerçekleşmiştir. Son buzul döneminin en önemli etkilerinden bir diğeri ise değişen iklim koşullarını yansıtan bitki örtüsüdür. Bu dönemde Anadolu'nun iç kesimindeki alçak alanlar soğuk ve kurak iklim koşullarından dolayı tümüyle steplerle kaplanmıştır. Kuzey Anadolu ve Toros Dağları ile İç Anadolu'nun yüksek kesimlerinde ise tundra benzeri ormanlar yaygınlaşmıştır. (Atalay 1995, 2004; Bottema ve Woldring 1984; van Zeist ve Bottema 1991).

Kuvaterner döneminin son dönemi olan Holosen'in (günümüzden yaklaşık 10 000 yö) en önemli özelliği ise yağış ve sıcaklığın artarak günümüz iklim koşullarının oluşmaya başlamasıdır. Yüksek dağlardaki buzulların eriyerek hareket etmesi sonucunda, buzul topografyası şekillerine Doğu Karadeniz Dağları'nda, Toroslar'da ve Uludağ, Erciyes ile Sultan dağları, Dedegöl, Barla, Süphan ve Ağrı dağları üzerinde rastlanmaktadır. Buzulların erimeye başlamasıyla birlikte deniz seviyesinde kademeli bir artış başlamıştır. Tatlı su gölü halinde olan Karadeniz'e, boğazlar kanalıyla Akdeniz'in suları ulaşmış ve günümüzden yaklaşık 3 000 yıl kadar önce Karadeniz bugünkü tuzluluk seviyesine ulaşmıştır (Atalay 1987). Anadolu'da bir taraftan buzulların erimesi diğer taraftan da yağışların artması ile katastrofik karakterde seller ve su baskınları meydana gelmiştir (Atalay 1996). Toprak oluşum süreçleri de iklim bölgelerine göre değişmeye başlamıştır. Yağışların fazla olduğu ve sıcaklık koşullarının orta derecede olduğu Karadeniz kıyı kuşağında asitleşme; diğer taraftan, Akdeniz ikliminin etkili olduğu Ege ve Akdeniz bölgelerinin büyük bölümünde ise toprakların kırmızı renk almasında etkili olan lateritleşme süreci ön plana çıkmıştır. Karasal iklim koşullarının etkili olduğu kuzey ve güney sınırları arasında kalan iç bölgelerde ise kireçlenme süreci başlamıştır. Holosen dönemiyle birlikte yaklaşık 8000 yö başlayan bitki örtüsü kuşakları günümüz şekillenmelerini kazanmaya başlamış ve genişleme/daralma eksenli bu süreç halen devam etmektedir.

Son buzul döneminde Doğu Karadeniz kıyısına kadar inen soğuk seven bitkiler yavaş yavaş yükseklerle doğru çekilirken, bunların yerlerini geniş yapraklı ormanlar almaya başlamıştır (Atalay 2004; van Zeist ve Bottema 1991). Akdeniz Bölgesi'nin kıyı

kesiminde Akdeniz bitki topluluklarının egemen olduğu gör÷lmektedir. Ancak bu bölgenin iç ve yüksek kesimlerine doğru yer yer sarıçamlardan oluşan bazı Avrupa-Sibirya kökenli bitkiler bulunmaktadır. İç Anadolu'ya gelince son buzul döneminde bozkırlarla kaplı olan İç Anadolu'nun yüksek kesimlerinde sarıçam toplulukları yayılmıştır. Ancak günümüz iklim koşullarında bozkırlar ve kurakçıl ormanlar Anadolu'nun iç kesimlerini kaplamıştır. Munzur, Ağrı, Erciyes ve Nemrut dağlarında gör÷len huş (*Betula torminalis*), daha önce bu alanlarda yaygın olan Avrupa Sibirya kökenli bitkilerin kalıntısı olarak değerlendirilebilir (Atalay 1994).

1.3.2 Anadolu Buzul Sığınağının Genetik Çeşitliliği Üzerine Yapılan Bazı Çalışmalar

Bir bölgenin biyolojik ya da genetik çeşitliliği genel olarak o bölgenin günümüz yapılanma örüntüleri ve evrimsel tarihi ile ilişkilendirilebilir. Evrimsel tarihinde etkili olan faktörler arasında o bölgenin coğrafik pozisyonu, paleocoğrafik evrimi ve paleoklimsel yapısının yanı sıra birbirini takip eden buzul ve buzullar arası dönemler gibi zamana bağlı ardışık değişimlerin varlığı da sayılabilir. Günümüz biyo- ya da genetik çeşitlilik bir önceki dönemin kompozisyonundan orijinlenirken, bu süreç bir önceki dönemde başka bir öncü kompozisyon tarafından orijinlenen çeşitlilikle devam eder (Çıplak 2008). Anadolu'nun günümüz genetik çeşitliliği ise Holosen dönemindeki genetik kompozisyondan oluşmakta iken, Holosen dönemi ise Mindel Buzul dönemine gitmektedir. Bu süreç ardışık olarak birbirini takip etmektedir. Anadolu genetik çeşitliliği üzerine bu ardışık buzul dönemlerinin etkisi ile birlikte, kendi içerisinde değişkenlik sergileyen topografik ve iklimsel yapıya sahip olması da bu coğrafyada türleşmeyi tetikleyerek, bölgenin genetik çeşitliliğini artıran bir dinamik sağlayacaktır. Bu nedenle Anadolu yarımadasını sadece kuzey türleri açısından bir buzul sığınağı olarak nitelendirmek yerine, "sığınak içinde sığınak" şeklinde tanımlamak daha doğru bir yaklaşım olacaktır (Çıplak 2008).

Anadolu yarımadasının biyo- ve genetik çeşitliliği ve bir buzul sığınağı olarak Avrupa biyoçeşitliliğine katkısı, son dönemlerde hem faunal hem de floral açıdan farklı taksonlar düzeyinde yapılan çalışmalarla artan bir şekilde desteklenmektedir. King ve Ferris (1998) *Alnus glutinosa* (L.) taksonunda türün Avrupa'da doğal yayılış aralığını kapsayan 101 populasyon ve 217 örnekte *cpDNA* moleküler belirteci yardımıyla tür içi genetik çeşitlilik ve muhtemel buzul sığınak alanlarını belirlemek amacıyla bir

filocoğrafik çalışma planlamışlardır. Bu çalışma sonucunda, cpDNA çeşitliliğinin İspanya ile birlikte Anadolu da, özellikle de Anadolu'nun güneybatı bölgesinde yüksek düzeyde olduğunu ve Anadolu'nun son buzul döneminde ev sahipliği yapmış olabileceğini öngörmüşlerdir. Bir diğer çalışmada ise, Suriye, Lübnan, Ermenistan, İran ve Anadolu'dan toplanan *Triticum urartu* Tumanian ex Gandilyan türünün 23 popülasyonunda popülasyonlar arası ve popülasyon içi genetik çeşitliliğin yayılışı sekiz polimorfik lokusta izozim belirteci kullanılarak test edilmiştir (Moghaddam ve ark. 2000). Bu çalışma sonucunda Anadolu popülasyonlarının yüksek genetik çeşitliliğe ve yüksek özgün alel sayısına sahip olduğu ve coğrafik açıdan komşu bölgeler olmasına rağmen, Anadolu popülasyonlarının genetik açıdan farklı bir evrimsel hikayeye işaret ettiğini belirlemişlerdir. *Frangula alnus* Mill. (Rhamnaceae) Avrupa ve Batı Asya'nın birçok kısmında yetişen küçük ve çalı karakteristlikli bir ağaçtır. Bu türün İber Yarımadası, Balkanlar ve Anadolu gibi sığınak alanları da dahil olmak üzere, 21 ülkeden toplanan 78 popülasyonunda cpDNA varyasyonu PCR-RFLP yöntemi kullanılarak analiz edilmiştir (Hampe ve ark. 2003). Araştırmacılar bu gen bölgesi açısından 21 farklı haplotipin varlığını ortaya koymuşlardır. Haplotip çeşitliliği en yüksek İber Yarımadası ve Anadolu'da gözlenmiştir. Aynı zamanda popülasyonlar arasında güçlü bir genetik farklılaşma oranı, filocoğrafik bir yapılanma ve buzullar sonrası kolonizasyon alanları (Kuzey ve Orta Avrupa gibi) ile sığınak alanları arasında keskin bir ayırım bulunmuştur. Rokas ve ark. (2003), yayılış alanları Anadolu dahil Akdeniz Havzası'nın kuzey kıyıları boyunca Fas'tan İran'a kadar uzanan meşe galarıları [*Andricus quercustozae* (Bosc)] için aşağıdaki soruları yanıtlamak amacıyla bir çalışma planlamışlardır: (1) Doğu popülasyonları bir ya da birkaç ayrı sığınak alanı mıdır? (2) Bu türün günümüz genetik çeşitlilik merkezi hangi bölge ya da bölgelerdir? Bu amaçla mitokondri genomundan sitokrom b (*Cytb*) gen bölgesi için dizi verisine ve 12 polimorfik allozim lokusu açısından ise alel frekansına dayalı bir çalışma gerçekleştirmişlerdir. Çalışma sonucunda meşe galarılarının beş ayrı buzul sığınağından (İber Yarımadası, İtalya, Balkanlar, Güneybatı Anadolu ve Kuzeydoğu Anadolu) orijinlendikleri önerilmiştir. Daha da önemlisi, genetik çeşitlilik en yüksek Anadolu sığınağında temsil edilmesiyle birlikte, günümüz Avrupa popülasyonlarının Anadolu'dan türevlendiklerine işaret etmişlerdir. Michaux ve ark. (2004) ise *Apodemus flavicollis* (Melchior) türünün genetik yapısını betimleyen bir çalışmada, Palearktik memelileri için Anadolu'nun potansiyel önemini doğrulamışlardır. Bu amaçla Batı Palearktik bölgenin büyük bir kısmını kapsayan 53 lokalitede yapılan örneklem

sonrasında 124 bireyde mtDNA *Cytb* gen bölgesi dizi analizi gerçekleştirilmiştir. Analiz sonuçlarında 95 haplotip sergileyen tarla faresinin genetik ve coğrafik yapılanmasında Kuvaterner buzullaşma dönemlerinin etkisi açık bir şekilde ortaya konmuştur. Bu türe, buzul dönemlerinde İtalya-Balkan ve Anadolu olmak üzere iki bölgenin ev sahipliği yaptığı ve Anadolu'nun haplotip çeşitliği açısından ($H_d = 0,99 \pm 0,028$) en yüksek bölge olduğu belirtilmiştir. Sert ve ark. (2004) Anadolu ve Avrupa yabani tavşan (*Lepus europaeus* Pallas) populasyonları arasındaki akrabalık ilişkisini ve Anadolu populasyonlarının genetik çeşitliliğini tespit etmek üzere çok lokuslu bir allozim yaklaşımı geliştirmişlerdir. Yabani tavşan populasyonlarının tümü göz önünde bulundurulduğu zaman, Anadolu % 39,6 polimorfik lokus oranı ile genetik çeşitliliğin en yüksek olduğu bölge olarak belirlenmiş ve bu çeşitliliğin arka planında Anadolu'nun biyocoğrafik pozisyonu ve son buzul döneminde bu taksonun uzun süreli varlığı sonucunu öngörmüşlerdir. Üç farklı Avrupa dışbudak ağacının (*Fraxinus* spp.) yayılış alanında filocoğrafik varyasyonu araştırmak üzere cpDNA mikrosatellit belirteçlerine dayalı yapılan bir çalışma, Anadolu'nun *Fraxinus angustifolia* Vahl türü için bir buzul sığınağı olduğunu göstermiştir (Heuertz ve ark. 2006). Ayrıca çalışmanın dikkat çeken bir diğer sonucu ise, Anadolu populasyonlarının altı özgün haplotipe sahip olmaları ve türün yayılış alanındaki diğer populasyonlardan çok daha polimorfik ve daha az farklılaşmış düzey sergilemeleridir. Sarıçam (*Pinus sylvestris* L.) Avrasya'nın büyük bir kısmını kapsayan geniş bir doğal yayılış aralığına sahip bir İskandinav koniferidir. Günümüz genetik yapılanmasındaki parçalanmaların belirlenmesi, buzul vikaryansının sonuçları ve muhtemel sığınak alanlarının günümüz yayılışına nasıl bir katkı sunduğu hakkında yorum yapılabilmesine izin verecektir. Bu amaçla Sarıçam taksonunun populasyon yapısı mtDNA polimorfizmine bağlı olarak, doğal yayılış alanında araştırılmıştır (Naydenov ve ark. 2007). Yüksek populasyon farklılaşması sergileyen bu taksonda haplotiplerin dağılımı, genetik açıdan farklılaşmış dört atasal soy-hattının varlığıyla coğrafik olarak yüksek düzeyde yapılanma göstermiştir. Bu soy-hatlarından birisinin sadece Anadolu'ya özgü olması, Anadolu'nun buzul dönemleri açısından bir sığınak fonksiyonu olduğu savını güçlendirmektedir. Dubey ve ark. (2007) tarafından Batı Paleartik yayılış sergileyen *Crocidura leucodon* (Hermann) taksonunda mitokondri ve çekirdek DNA belirteçleri kullanılarak yapılan bir çalışma, türün günümüz yayılış alanı açısından Batı Anadolu populasyonlarının kaynak populasyon olabileceğini işaret etmiştir. Son dönemlerde yapılan bir diğer çalışma ise, uzun kanatlı yarasa olarak da bilinen *Miniopterus schreibersii* (Kuhl) türünün Anadolu ve komşu

bölgelerden toplanan populasyonlarında türün genetik yapılanması ve filocoğrafyası hem morfometrik yöntemler hem de mitokondri DNA'sı kontrol bölgesi kullanılarak analiz edilmiştir (Furman ve ark. 2008). Çalışma Balkanlar ve Anadolu'da yayılış sergileyen monofiletik iki ayrı soy-hattının varlığını desteklemiştir. Bu farklılaşmanın muhtemelen Balkanlar ve Hazar Bölgesi/Kafkas sığınağı buzul dönemleri boyunca uzun süreli izolasyonlarından kaynaklandığı düşünülmektedir. Büyük nalburunlu yarasa olarak da bilinen *Rhinolophus ferrumequinum* (Schreber) türü Palearktik yayılış sergilemektedir. Türün doğal yayılış aralığı kapsamında 45 farklı lokaliteden toplanan populasyonlar, hem mitokondri hem de çekirdek DNA'ya ait belirteçler kullanılarak filocoğrafik açıdan analiz edilmişlerdir (Flanders ve ark. 2009). Analiz sonuçlarında bu tür açısından bir atasal sığınak ve son buzul döneminden önce büyük nalburunlu yarasa populasyonlarının Avrupa'yı kolonizasyonunda kaynak populasyon olarak Anadolu'nun önemini vurgulamışlardır. Özetlendirilerek sunulmaya çalışılan bu çalışmalar populasyon düzeyinde gerçekleştirilen moleküler belirteçlerin kullanımına dayalı çalışmalardır. Elbette bu çalışmaların sayısı artırılabilir. Diğer taraftan -taksonomi çalışmaları kapsamında Anadolu'nun biyocoğrafik yapısının önemini ve birçok tür açısından bir türleşme merkezi olduğunu kanıtlayan birçok çalışmadan da söz edilebilir. Ancak burada sadece farklı taksonomik statülere sahip türlere filocoğrafya ve populasyon genetiği kapsamında değinilerek genel bir özet sunulmak istenmiştir.

1.4 Günümüz Akdeniz Buzul Sığınakları Açısından Model Bir Takson: *Chorthippus parallelus* (Zetterstedt, 1821) (Acrididae: Orthoptera)

Chorthippus parallelus (Orthoptera, Acrididae, Gomphocerinae), kuru olmayan mera ya da çayır alanlarında bulunan çekirgelerin en yaygın türlerinden birisidir. Nemli vejetasyonları tercih eden bir tür olması nedeniyle çayır çekirgesi olarak da isimlendirilmektedir. Bu türün baskın rengi yeşildir. Ancak bazı populasyonlarında genetik olarak belirlenmiş olan pembe-mor renkli bireylerine de rastlanılmaktadır. *C. parallelus* (Zetterstedt) pronotumdaki karınların neredeyse paralel konuşlanmış olmasıyla diğer akraba türlerinden ayırt edilmekte ve türe ismini bu karakteri vermektedir (Harz 1975). Dişi bireyler yaklaşık olarak 2 cm, erkek bireyler ise 1,5 cm büyüklüğe kadar ulaşmaktadır (Şekil 1.2). Göz çevresi boyunca ilerleyen koyu gri ya da kahverengi bir şerite ve abdomenin yan kenarlarında genellikle az ya da çok siyah benekli bir yapı ya da ayrı siyah şeritimsi bir yapıya sahiplerdir. Arka femur orta kısımdan üste doğru genişleyen açık kahve ya da yeşilimsidir. Çayır alanlarındaki renk

değişimine paralel bir biçimde, diğer çekirge türlerine oranla daha az gözlenmekle birlikte, ilginç renk varyasyonları sergilemektedirler. Her iki cinsiyette, bireyler genellikle indirgenmiş kanatlıdır (brachypterous) ve erkek bireyler çağrı sesi için daha uzun ön kanatlara sahiplerdir. Diğer taraftan kanatlarındaki indirgenmiş yapı nedeniyle uçuş yeteneğine sahip değildirler. Türün uzun kanatlı (macropterous) bireyleri de bulunmasına rağmen, doğal populasyonlardaki sıklıkları yok denecek kadar azdır (Ritchie et al. 1987). *C. parallelus* bireylerinin her iki cinsiyet açısından nesil başına ortalama yayılış hızları 20-30 m arasında olup, yavaş yayılma sergileyen bir taksondur (Virdee ve Hewitt 1990; Opitz ve ark. 1998). Taksonomik açıdan değerlendirildiği zaman tanımlanmış üç farklı alttüründen söz etmek mümkündür. Bunlar Yunanistan’da bulunan *C. parallelus tenuis* (Brullé, 1832); İber Yarımadası’nda *C. parallelus erythropus* Faber, 1958; ve nominal alttür olarak da belirtebileceğimiz ve yayılış alanının kalan tüm kısımlarında yer alan *C. parallelus parallelus* taksonudur (Hewitt 1996). Anadolu populasyonları ise nominal alttür içerisinde değerlendirilmektedir (Harz 1975; Ragge ve Reynolds 1998; Hewitt 1996).



a)

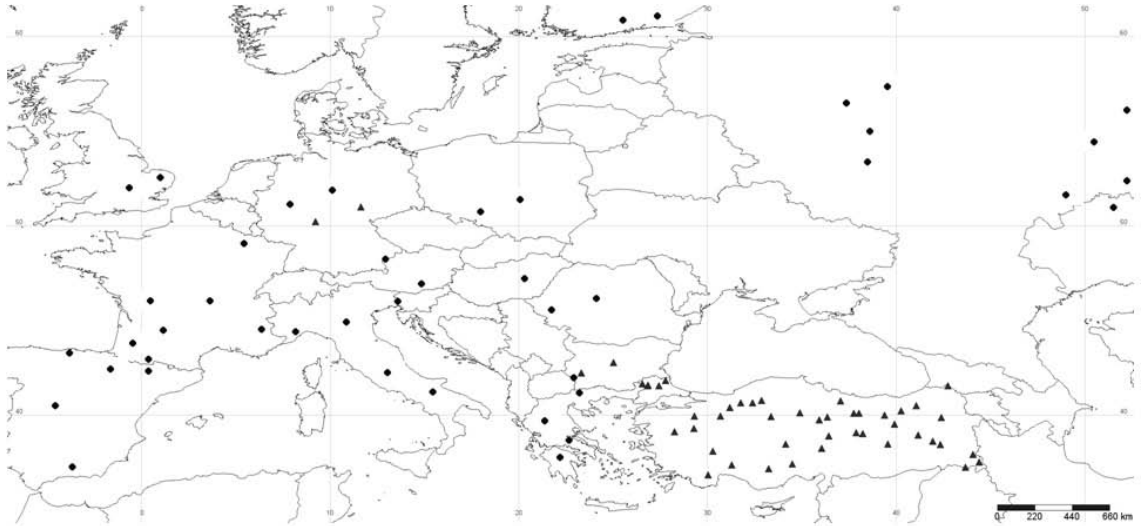


b)

Şekil 1.2 *C. parallelus* türünün dişi (a) ve erkek (b) bireyi

C. parallelus Avrupa-Sibirya yayılışlı ve yayılış alanı batıda Fransa’nın Atlantik kıyılarından doğuda Moğol steplerine (Orta Asya stepleri), kuzeyde İskoçya ve İskandinavya’dan güneyde İspanya, İtalya ve Yunanistan ile Anadolu-İran’a kadar uzanmaktadır (Şekil 1.3). Soğuk seven bir form olan bu tür, deniz seviyesinden subalpin çayırlara kadar (Alp’lerde 2270 m, Bulgaristan dağlarında 2400 m) enlemsel yayılış

alanında sıcaklığa paralel olarak değişkenlik sergileyen bir yayılış izlemektedir (Tregenza ve ark. 2000a, 2000b, 2002). *C. parallelus* kuzeyde düşük rakımlı, güneyde ise yüksek rakımlı habitatları tercih etmektedir ve tipik habitatları dışında rastlanılmaz (Harz 1975; Peshev ve Andrééva 1986). Bu nedenle toplam yayılış alanı içerisinde güneye inildikçe devamlı yayılış, kesintili bir yayılışa dönüşür ve çoğunlukla yüksek rakımlarda izole küçük populasyonlar halinde görülür. Bu habitat tercihi ve yayılış modeli nedeniyle buzul dönemlerinde güneydeki sığınaklarda barınmış ve buzul sonrası dönemde tekrar kuzeye doğru yayılış alanında genişleme sergileyen bir tür olarak kabul edilmiştir (Cooper ve ark. 1993, 1995; Hewitt 1994; Lunt ve ark. 1998; Korkmaz ve ark. 2010). Bu amaçla günümüz populasyonlarının genetik yapılanmasına paleoçevresel değişimlerin etkisi *C. parallelus* taksonunda yoğun bir şekilde araştırılmıştır. Karışık vejetasyonlu nemli çayırların oluşturduğu habitatların dağılımı ve paralelinde *C. parallelus*'un yayılışı kabaca geniş yapraklı ormanların yayılışıyla ilişkilendirilebilir (Cooper ve ark. 1995). Bu yüzden son buzul döneminde kuzey-orta Avrupa'da bu türün yayılış sergilediği söylenemez. *C. parallelus* sadece Avrupa'nın güney kısımlarındaki sığınak alanlarında yaşamını sürdürebilmiştir.



Şekil 1.3 *C. parallelus* türünün yayılış alanını

Günümüz Avrupa populasyonlarına paleoçevresel değişimlerin etkisini değerlendirmek açısından yukarıda da değinilen özellikleriyle ideal bir organizma olan *C. parallelus* türü 1980'lerden itibaren özellikle G.M. Hewitt ve ekibi tarafından sığınaklarda genetik çeşitliliğin miktarının tahmini, türleşme olguları, buzul

dönemlerinin gen havuzlarına etkisi, hibrit zonlarının morfolojik, davranışsal ve genetik doğası ve buzullar sonrası yayılış modelleri gibi hususlara açıklama getirilme amacı, birçok çalışma ile sınanmıştır (Butlin ve Hewitt 1985a, 1985b; Ritchie ve ark. 1987, 1989, 1992; Butlin ve ark. 1991; Cooper ve ark. 1993, 1995; Buño ve ark. 1994; Nichols ve Hewitt 1994; Lunt ve ark. 1998; Flanagan ve ark. 1999; Tregenza ve ark. 2000ab, 2002; Parkin ve Butlin 2004; Korkmaz ve ark. 2010). Bu bir dizi çalışmanın sonuçlarından hareketle; (i) *C. parallelus* taksonunun günümüz yayılış alanında beş ayrı coğrafik altbirime sahip olduğu (İber Yarımadası, İtalya, Balkanlar, Türkiye ve Karpat Dağları'nın batısı), (ii) Çekirdek ve mitokondri DNA dizi verilerinden hareketle bu ayrılmanın yaklaşık olarak 500 bin yıl öncesinde gerçekleştiği (iii) İber Yarımadası populasyonlarının (*C. parallelus erythropus*) Pireneler'de *C. parallelus parallelus* populasyonları ile bir hibrit zon oluşturdukları ve benzer hibrit zonların yine Alpler'de de gözlemlendiğini (iv) Orta ve Kuzey Avrupa populasyonlarının İber Yarımadası ve/veya Güney İtalya populasyonlarından ziyade Balkanlar'da yayılış sergileyen öncü populasyonlarla kurulduğu çıkarımlarında bulunmuşlardır. Diğer taraftan Hewitt (1996, 1999, 2000, 2001, 2004), bu çalışmaların ve diğer model taksonların kullanımıyla elde edilen verilerin birlikte değerlendirilmesi sonucunda sınanmaya aday bir dizi hipotez öne sürmüştür. Bu hipotezlerden en dikkat çekenler arasında (i) İber Yarımadası populasyonları kadar Güney İtalya, Yunanistan ve Anadolu populasyonlarının her birinin genetik açıdan farklılaşma düzeylerinin yüksek olabileceği, (ii) bu farklılaşmaya paralel olarak Güney İtalya ve Alpler'de yayılış sergileyen *C. parallelus parallelus* populasyonları ile Balkan populasyonları arasında birer hibrit zonun bulunabileceği ve (iii) türün tüm yayılış örüntüsü tanımlandığında, gen merkezinin Anadolu populasyonları ve Balkan populasyonunun Anadolu populasyonundan köken almış olabileceği sayılabilir. Bu son hipoteze göre *C. parallelus* türünün köken populasyonu Anadolu olarak kabul edilecekse, Anadolu dışına yayılışın ya Boğazlar yoluyla Balkanlara ya Kafkaslar üzerinden Doğu Avrupa'ya ya da her iki koridorun kullanılmış olması öngörülebilir.

Tüm bu öngörülen hipotezlerin ve Anadolu'nun özellikle Pliyosen ve Pleistosen dönemlerinde yaşanan iklimsel değişimlerin türün enlemsel yayılışına etkilerinin bir dereceye kadar açıklığa kavuşturabilmesi açısından, öncelikle *C. parallelus* Anadolu populasyonlarının genetik çeşitliliğinin ve genetik yapılanmasının hem populasyon genetiği hem de filocoğrafik analiz yöntemleri kullanılarak belirlenmesi gerekmektedir.

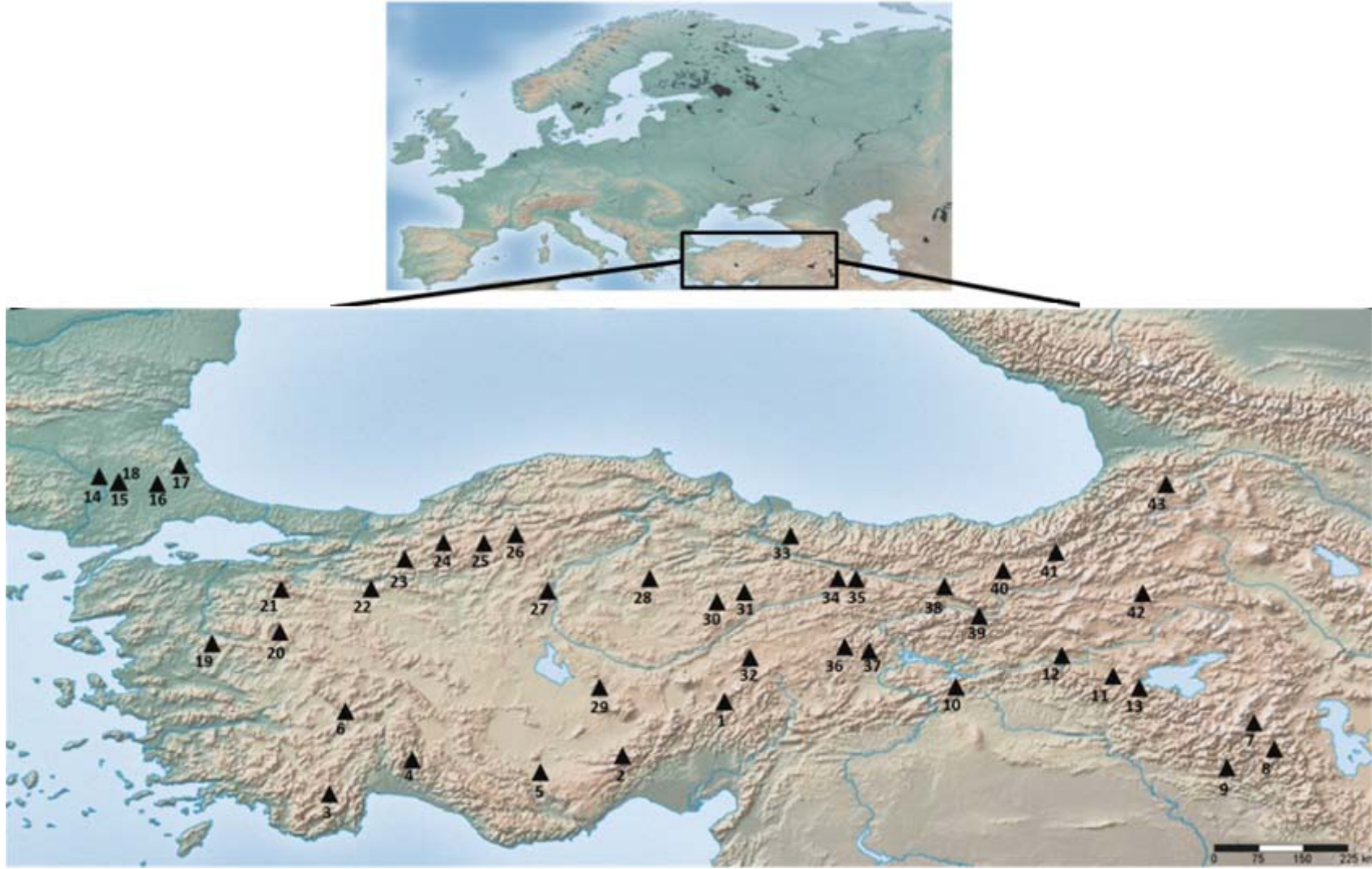
Tüm bu nedenlerden dolayı, bu çalışmada Anadolu *C. parallelus* populasyonlarının genetik olarak çalışılması sonucunda aşağıda belirtilen başlıkların araştırılması amaçlanmıştır:

- i) Anadolu populasyonlarına ilişkin bilgi eksikliğini giderilmesi,
- ii) Anadolu populasyonlarının barındırdığı genetik çeşitlilik miktarının saptanması,
- iii) Teorik olarak önerilmiş ancak verilerle sınanmamış olan “ardıl kenar populasyon” hipotezinin sınanması,
- iv) Anadolu için önerilen “sığınak içerisinde sığınak” modelinin sınanması,
- iv) Anadolu ve Trakya populasyonları arasında boğazların güçlü bir bariyer oluşturup oluşturmadıklarının sınanması,
- v) Anadolu populasyonlarının evrimsel hikayeleri hakkında öngörülerde bulunarak Anadolu’da gerçekleşen paleocoğrafik ve paleoklimsel değişimlerin geçmişte ne kadar geriye doğru izlenebildiği.

2. MATERYAL ve METOD

2.1 Arazi Çalışması ve Örneklem Bilgisi

C. parallelus örnekleri, 2005-2009 yılları arasında Anadolu ve Trakya olmak üzere, topografik yapıyı temsil edecek şekilde toplam 43 farklı lokaliteden toplanmıştır (Şekil 2.1, Tablo 1). Arazi çalışmaları, türün yayılış modeli ve habitat tercihi yanı sıra enlemsel farklılıklardan kaynaklanan erginleşme dönemlerindeki zamansal farklılıklar da temel alınarak Haziran-Ağustos ayları arasında gerçekleştirilmiştir. Örneklem aşamasında çapı 40 cm olan bir atrap kullanılmıştır. Arazi çalışmalarında toplanan örnekler, zaman kaybetmeksizin içerisinde %99'luk etanol (EtOH) bulunduran falkon tüplere alınmıştır. Laboratuvar ortamına getirilen örneklerin alkollerini periyodik olarak değiştirilerek -80 °C'de saklanmaktadır. Lokalite başına düşen birey sayısı, ilgili lokalitedeki bireylerin sayısından dolayı değişkenlik sergilemekle birlikte her bir lokaliteden ortalama 20 birey alınması hedeflenmiştir. *C. parallelus* örneklerinin teşhisi Akdeniz Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü öğretim üyesi Prof. Dr. Battal Çıplak tarafından doğrulanmıştır. Her bir lokaliteyi temsil eden bireyler (populasyonlar) Cumhuriyet Üniversitesi Entomoloji Koleksiyonu'nun veri tabanına (ECCUS) aktarılmıştır. Populasyonların etiketleme ve kayıt bilgileri Tablo 1'de verilmiştir.



Şekil 2.1 Örneklerin toplandığı lokaliteler

Tablo 1. Çalışma kapsamında analiz edilen *C. parallelus* populasyonlarının lokalite isimleri, kodları, enlem ve boylamsal bilgileri ile her bir lokaliteden toplanan birey sayısı

Lokalite Adı	Toplama Tarihi	Yükseklik (m)	Enlem	Boylam	Birey Sayısı	Pop. Adı
Adana-Develi	09.07.2005	1789	38° 11'19.40"N	35° 57'31.90"E	20	1
Niğde-Ulukisla	18.07.2005	2316	37° 21'11.00"N	34° 28'48.00"E	20	2
Antalya-Saklıkent	20.08.2006	1802	36° 49'08.20"N	30° 17'06.11"E	20	3
Konya-Beyşehir	02.06.2008	1135	37° 35'51.28"N	31° 28'09.13"E	21	4
Karaman-Tavşanlı	18.07.2005	1386	37° 07'16.16"N	33° 11'20.30"E	15	5
Afyon-Keçiborlu	16.07.2009	1003	38° 03'14.10"N	30° 16'04.13"E	20	6
Van-Hakkari	10.07.2009	1885	37° 55'02.78"N	44° 04'38.86"E	20	7
Hakkari-Şemdinli	10.07.2009	1902	37° 51'06.99"N	44° 38'21.50"E	20	8
Hakkari-Çukurca	11.07.2009	1674	37° 14'12.80"N	43° 39'49.02"E	20	9
Elazığ-Maden	12.07.2009	1232	38° 46'08.60"N	39° 54'47.20"E	20	10
Muş-Tatvan	09.07.2009	1281	38° 37'31.91"N	41° 56'20.22"E	20	11
Bingöl-Karacabey	09.07.2009	1544	38° 56'14.03"N	41° 09'37.04"E	20	12
Bitlis-Tatvan	09.07.2009	1739	38° 44'07.27"N	42° 33'07.85"E	20	13
Edirne-Havsa	11.07.2009	-	41° 33'57.52"N	26° 49'44.16"E	20	14
Edirne-Karaağac	11.07.2009	510	41° 39'32.60"N	26° 32'30.50"E	19	15
Tekirdağ-Lüleburgaz	10.07.2009	-	41° 32'22.10"N	27° 25'31.90"E	20	16

Kırklareli- Pınarhisar	10.07.2009	640	41° 49'24.07"N	27° 45'44.19"E	20	17
Kırklareli- Lüleburgaz	11.07.2009	-	41° 33'27.40"N	26° 49'31.40"E	19	18
Manisa- Gördes	06.06.2007	1020	39° 06'06.70"N	28° 14'08.20"E	24	19
Kütahya- Çavdar	17.07.2009	1150	39° 17'42.60"N	29° 17'06.17"E	20	20
Bursa- Keleş	19.07.2009	1310	39° 56'38.90"N	29° 18'00.91"E	20	21
Eskişehir- Sarıcakaya	21.07.2009	1036	39° 57'08.05"N	30° 40'06.77"E	20	22
Bolu- Nallıhan	20.07.2009	760	40° 24'08.96"N	31° 10'51.80"E	20	23
Bolu- Kartalkaya	21.07.2009	1674	40° 39'08.74"N	31° 10'51.80"E	20	24
Çankırı- Çerkes	22.06.2008	1400	40° 07'07.28"N	32° 08'07.81"E	20	25
Bolu- Ankara	21.07.2009	1431	40° 38'44.60"N	32° 23'06.06"E	20	26
Kırıkkale- Ankara	21.07.2009	699	39°55'09.80"N	33°21'07.20"E	20	27
Çorum- Alaca	22.07.2009	992	40° 06'33.40"N	34° 54'08.19"E	20	28
Aksaray- Nevşehir	24.07.2009	1184	38° 27'23.20"N	34° 08'09.39"E	20	29
Yozgat- Sorgun	22.07.2009	1107	39° 45'08.67"N	35° 55'07.25"E	20	30
Sivas- Yıldızeli	24.07.2008	1385	39° 53'24.08"N	36° 32'59.12"E	20	31
Kayseri- Şarkışla	29.07.2005	1508	38° 48'36.10"N	36° 24'08.78"E	20	32
Ordu- Akkuş	30.06.2008	1149	40° 44'07.23"N	37° 01'08.21"E	20	33
Sivas- Şerefiye	25.07.2008	1558	40° 08'08.82"N	37° 40'23.52"E	25	34

Sivas- Suşehri	25.07.2008	1754	40° 09'09.55"N	38° 03'24.90"E	20	35
Malatya- Hekimhan	06.07.2006	1860	39° 03'06.84"N	37° 51'04.41"E	20	36
Malatya- Arguvan	03.07.2008	1500	39° 04'01.28"N	38° 21'06.30"E	20	37
Erzincan- Kelkit	28.07.2005	2370	39° 53'37.30"N	39° 21'07.33"E	28	38
Erzincan- Tunceli	08.07.2009	1694	39° 31'56.06"N	39° 54'02.84"E	20	39
Bayburt- İspir	28.07.2008	1435	40° 23'00.24"N	40° 26'08.26"E	23	40
Erzurum- İspir	28.07.2008	1500	40° 30'13.70"N	41° 01'06.88"E	27	41
Erzurum- Horasan	26.07.2005	2169	39° 52'46.60"N	42° 23'13.10"E	10	42
Ardahan- Posof	31.07.2008	2524	41° 29'19.81"N	42° 43'10.10"E	23	43

2.2 DNA Analizi

Alkolde saklanan *C. parallelus* bireylerinden DNA izolasyonu her bir örneğin arka femuru kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla her bir bireye ait arka bacak parçası pens ile koparılarak, femur kısmındaki kitin tabaka steril bir neşterle uzaklaştırılmıştır. Kitin tabakası uzaklaştırılan femurdan kas doku pens yardımıyla büyük oranda alınarak 1,5 ml'lik mikrosentrifüj (ependorf) tüplerine aktarılmıştır. Etiketleme işlemleri tamamlanan ependorf tüp içerisindeki doku örnekleri alkolün uzaklaştırılması amacıyla oda sıcaklığında kurumaya bırakılmıştır. Kurutma işlemi sonrasında iki kez distile suyla (dH₂O) yıkanan örneklerden total genomik DNA izolasyon protokollerine geçilmiştir.

DNA izolasyonu aşamasında başlangıçta standart fenol-kloroform ve Walsh ve ark. (1991) tarafından geliştirilen ve Chelex-100 kullanımına dayalı olan DNA izolasyon protokolleri olmak üzere iki farklı yöntemden, bazı modifikasyonlar yapılarak yararlanılmıştır. Bu yöntemlerden hem polimeraz zincir reaksiyonu aşamasındaki verimliliği hem de yöntemin diğerine göre daha az zaman alıcısı olması nedeniyle Chelex 100 kullanımına dayalı DNA izolasyon protokolü tercih edilmiştir. Ancak

çalışma aşamasında zaman zaman *in vitro* çoğaltma başarısızlığıyla karşılaşıldığı durumlarda fenol kloroform yöntemine de başvurulmuştur. Her iki yöntemin laboratuvar ortamında optimizasyonu sağlanan uygulama aşamaları sırasıyla aşağıdaki gibidir.

a) Standart Fenol Kloroform Protokolü

1. Doku örneklerine pipet ucu yardımıyla mekanik ezme gerçekleştirilir.
2. Mekanik ezme gerçekleştirilen örnek, 2 ml homojenizasyon tamponu [100 mM NaCl, 10 mM EDTA (etilendiamintetraasetikasit), 300 mM Tris-CI (pH 8.0), %10 SDS (Sodyum dodesil sülfat)] ile süspansiyon edilir. Son konsantrasyon 50 µg/ml olacak şekilde proteinaz K eklenir ve 37 °C'de belirli aralıklarla karıştırmak üzere gece boyu inkübasyona bırakılır.
3. Özütleme sonrası özütlere bir hacim fenol ve bir hacim kloroform-izoamil alkol (24:1) eklenir, karıştırılır ve 13000 x g'de 3 dk santrifüj edilir. Üst faz yeni bir tüpe aktarılır ve aynı işlem bir kez daha tekrarlanır.
4. Üst faz üzerine bir hacim kloroform-izoamil alkol eklenir, karıştırılır ve 13000 x g'de 3 dk santrifüj edilir.
5. Bu işlem sonrası iki ayrı yol izlenebilir.

A)

1. Örnek üzerine 1 hacim saf izopropanol eklenerek karıştırılır ve yumak gözlenen örneklerdeki DNA yumağı pipet ucu yardımıyla 600 µl %70 EtOH içeren yeni bir tüpe taşınır ve B basamağının 3. adımından itibaren izolasyona devam edilir.
2. Yumak görülmeyen örnekler ise 28500 x g'de 6 dk santrifüj edilerek çöktürülür ve iki kez % 70 EtOH içerisinde yıkanır.
3. Alkol uzaklaştırma işlemi gerçekleştirildikten sonra örnekler 300 µl TE (10 mM Tris-CI, 1 mM EDTA, pH 8.0) içerisinde çözülür.
4. Örnek üzerine 10 µg/ml konsantrasyonda RNAaz eklenir ve 1 saat 37 °C inkübasyona bırakılır.
5. Örnekler bir hacim fenol bir hacim kloroform-izoamil alkol ekstraksiyonundan geçirilir.
6. Üst faz üzerine bir hacim kloroform-izoamil alkol eklenir karıştırılır ve aynı hızda santrifüj edilir.
7. Üst faz yeni bir tüpe aktarılır ve B basamağının 1. adımından itibaren işleme devam edilir.

B)

1. Üst faz üzerine 1/10 hacim 5 M NaCl ve 2 hacim soğuk absolute etanol eklenerek, örnekler buz üzerinde ya da -20 °C'de 2 saat bekletilir.
2. +4 °C'de 28500 x g'de 6 dk santrifüj edilerek çöktürülür. Alkol uzaklaştırılır.
3. Örnek üzerine 600 µl %70 EtOH eklenir ve 28500 x g'de 6 dk tekrar santrifüj edilir. Alkol uzaklaştırılır. Bu işlem ikinci kez tekrarlanır.
4. Kısa çöktürme yapılarak kalan alkol mikropipet yardımıyla uzaklaştırılır ve örnekler oda sıcaklığında kurutularak 100 µl TE (10 mM Tris-Cl, 1 mM EDTA, pH 8.0) içerisinde çözülür.
5. İhtiyaç duyulursa çözünmesi amacıyla örnekler sıcak-soğuk şokuna (65 °C'de 10 dk ve -20 °C'de 20 dk) maruz bırakılabilir.

b) Chelex 100 Kullanımına Dayalı DNA İzolasyon Protokolü

1. Doku örneklerine pipet ucu yardımıyla mekanik ezme gerçekleştirilir.
2. Örnek üzerine 1,5 ml Tampon A (200 mM EDTA, 10 mM Tris-Cl, pH 8.0) eklenir ve 10 dk karıştırılarak doku ile tamponun etkileşmesi sağlanır. 6250 x g'de 8 dk santrifüj edilir ve üst faz uzaklaştırılır.
3. Pelet üzerine 500 µl Tampon B (100 mM NaCl, 10 mM EDTA, 300 mM Tris-Cl pH 8.0) eklenir, 5 dk karıştırıldıktan sonra 18900 x g'de 2 dk santrifüj edilir. Santrifüjleme işlemi sonrası üst faz uzaklaştırılır.
4. Örnek üzerine 100 µl dH₂O ve 200 µl %5 (ağırlık/hacim) Chelex 100 çözeltisi eklenerek 56 °C'de 2 saat inkübasyona bırakılır. İnkübasyon sonrası 8 dk kaynatılan örnekler 28500 x g' de 2 dk santrifüj edilir.
5. Üst faz dikkatli bir biçimde 50 µl hacimli tüplere bölünerek -20 °C'de saklanır.

DNA izolasyonu sonrasında izolasyonu gerçekleştirilen DNA'ların kalite ve kantite tayinleri hem agaroz jel elektroforez tekniği hem de 260 ve 280 nm dalga boylarındaki spektrofotometrik ölçümlerle belirlenmiştir. Elektroforez uygulaması %0,8'lik agaroz jel ortamında total genomik DNA'nın yürütülmesi esasına dayanır. Yürütülen DNA örneklerinin kalitesi DNA'nın yürüme şekline bakılarak (Şekil 2.2), kantitesi ise bilinen bir belirteç DNA yardımıyla tahmini olarak bulunmuştur. Diğer taraftan DNA örneklerinin konsantrasyonlarının belirlenmesi için spektrofotometrede 260 nm dalga boyunda soğurumları (absorbansları) okunmuştur. Okunan optik dansite

(O.D.) değerlerinden yararlanılarak aşağıdaki formülle DNA konsantrasyonu hesaplanmıştır:

$$C_{\text{DNA}} = \text{O.D.} \times \text{S.K.} \times 50$$

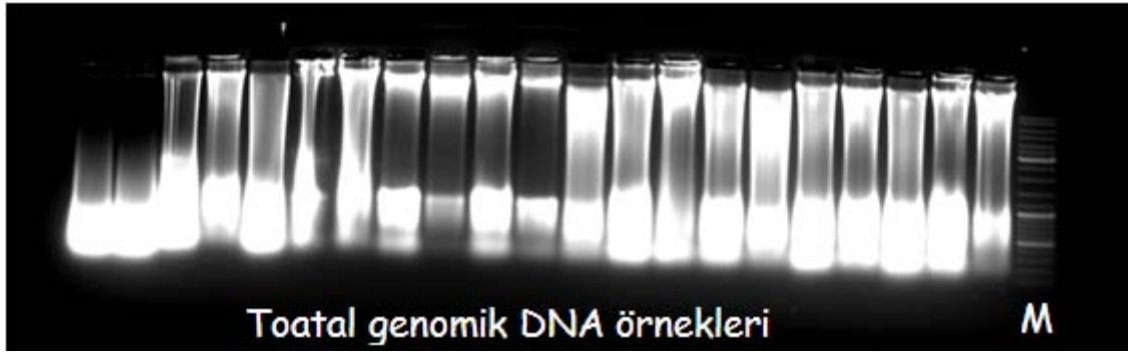
O.D. - Optik Dansite (260 nm’de okunan absorban değeri).

S.K. - Sulandırma katsayısı.

50 - Çift iplikli DNA için her absorbanstaki µg DNA miktarı.

2.2.1 Mitokondri ve Çekirdek DNA İçerisinde İlgili Gen Bölgelerinin Polimeraz Zincir Reaksiyonuyla Çoğaltılması

Total genomik DNA izolasyonu ve DNA kalite ve kantite tayinleri sonrasında her birey için çekirdek ve mitokondri genomuna ait olmak üzere iki gen bölgesi polimeraz zincir reaksiyonu çalışmaları için seçilmiştir. Seçilen gen bölgelerinden ilki çekirdek DNA’ya ait olup bu gen bölgesinin [tek kopyalı kodlama yapmayan çekirdek DNA fragmanı (*Cpnl-1*), 410 bp] seçiminde iki temel özellik göz önünde bulundurulmuştur; (i) *Cpnl-1* gen bölgesi Cooper ve Hewitt (1993) tarafından geliştirilen ve sadece *C. parallelus* türüne özgün bir bölgedir, (ii) ilgili gen bölgesi daha önce Cooper ve Hewitt (1993) ve Cooper ve ark. (1995) tarafından yapılan *C. parallelus* türünün Avrupa popülasyonlarının genetik yapılarının belirlenmesi çalışmalarında kullanılmış olup, popülasyonlar arasındaki filogenetik ve filocoğrafik ilişkilerin belirlenmesinde bilgi verici olduğu belirtilmiştir. İkinci gen bölgesi ise mitokondri DNA’ya ait kodlama yapan sitokrom oksidaz 1 ve 2 gen bölgelerinin yaklaşık 1433 baz çiftlik bir bölümünden (*COI-tRNA^{Leu}-COII* gen bölgesi) oluşmaktadır.



Şekil 2.2 %0,8'lik agaroz jel ortamında total genomik DNA görüntüsü

Cpnl-1 gen bölgesinin *in vitro* çoğaltılması amacıyla Korkmaz ve ark. (2010) tarafından daha önce tanımlanan seçici primer çifti kullanılmıştır. Buna göre kullanılan CpnlF1/CpnlR1 primerlerinin dizisi şu şekildedir:

CpnlF1 : 5'–CACGGAAGTACAACGTTTGTGTAATC–3'

CpnlR1 : 5'–CTTACATCCCCGTCCTGTTCGT–3'

COI-tRNA^{Leu}-COII gen bölgesinin *in vitro* çoğaltılması amacıyla kullanılan primer çifti ise GenBank veri tabanında X95575.1 ulaşım numarasıyla (accession number) kayıtlı olan *C. parallelus* mitokondri genomundan Primer-BLAST programı kullanılarak tasarlanmıştır. Yeni tasarlanan bu primer çiftinin dizisi şu şekildedir:

COIMF : 5'–TTGACCCAGCTGGAGGTGGAGAC–3'

COIIMR : 5'–TGATTCCAATAGCAGGAACTGCTC–3'

Seçilen gen bölgelerinin *in vitro* çoğaltılması öncesinde primer çiftlerinin absorbans-sıcaklık eğrilerinin orta noktası olan erime sıcaklığı (T_m) değerleri, aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır:

$$T_m = 69,3 \text{ }^\circ\text{C} + 0,41(\% \text{ G} + \text{C}) - 650/\text{Primer Uzunluğu}$$

Hesaplama sonrasında primerlerin T_m değerleri sırasıyla aşağıdaki gibidir:

CpnlF1 : 61,64 °C COIMF : 65,99 °C

CpnlR1 : 64,21 °C COIIMR : 62,72 °C

Her bir gen bölgesinin PCR reaksiyonu sırasında primer bağlanma (annealing)

sıcaklığı (T_A), T_m değerlerinden hareket edilerek gradient PCR uygulaması yapılarak bulunmuştur. Primerlerin T_A değerleri aşağıda gen bölgelerine özgü *in vitro* çoğaltma koşullarını gösteren formulasyonda gösterilmiştir. Her bir PCR reaksiyonu 50 μ l son hacimde hazırlanmıştır. 50 μ l'lik reaksiyon hacminin içeriğine 0,5 U *Taq* DNA polimeraz (MBI Fermentas, Hanover, MD), 5 μ l 10 \times reaksiyon tampon (100 mM Tris-HCl, pH 8,8, 500 mM KCl, %0,8 Nonidet P-40), primerlerin her birinden 10 pmol (Iontek, İstanbul, Türkiye), 0,2 mM her bir dNTP (MBI Fermentas), 1,5 mM MgCl₂ ve 50-100 ng kalıp DNA eklenmiştir. PCR reaksiyonları bir DNA engine PTC-200 termal cyclers (MJ research, Watertown, MA) aletinde aşağıdaki koşullar altında gerçekleştirilmiştir:

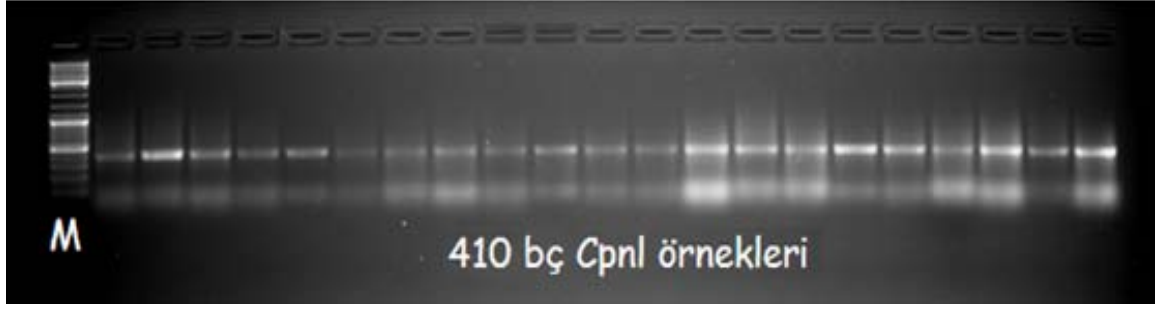
***Cpnl-1*:**

Başlangıç denatürasyonu	: 94 °C, 2 dakika	
Denatürasyon	: 94 °C, 45 saniye	} 35 döngü
Primer bağlanma (Annealing)	: 57,5 °C, 1 dakika	
Uzama- Sentez (Extension)	: 72 °C, 30 saniye	
Son Uzama (Final Extension)	: 72 °C, 5 dakika	

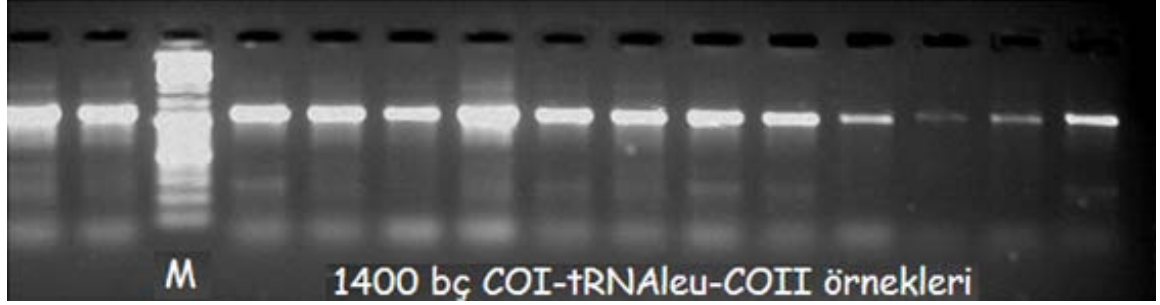
***COI-tRNA^{Leu}-COII*:**

Başlangıç denatürasyonu	: 94 °C, 5 dakika	
Denatürasyon	: 94 °C, 1 dakika	} 35 döngü
Primer bağlanma (Annealing)	: 60,5 °C, 1 dakika	
Uzama- Sentez (Extension)	: 72 °C, 30 saniye	
Son Uzama (Final Extension)	: 72 °C, 5 dakika	

Cpnl-1 gen bölgesinin *in vitro* çoğaltma ürünleri, %2 (ağırlık/hacim) agaroz jel elektroforezinde; *COI-tRNA^{Leu}-COII* gen bölgesi ürünleri ise %1 agaroz jel elektroforezinde yürütülerek, çoğaltma sonrası istenilen gen bölgelerinin yeterli oranda ve saflıkta olup olmadığı kontrol edilmiştir (Şekil 2.3).



a)



b)

Şekil 2.3 a) *CpnI-1* gen bölgesi çoğaltım ürünleri, b) *COI-tRNAleu-COII* gen bölgesi çoğaltım ürünleri (M: 100 bç uzunluğunda DNA markırı)

2.2.2 Çoğaltım Ürünlerinin Çöktürülmesi ve Jelden İzolasyonu

PCR reaksiyonu sonucunda *in vitro* çoğaltımı yapılan hem *CpnI-1* hem de *COI-tRNAleu-COII* DNA örneklerinden bazılarının yeterli miktarda ürün sağlanamamıştır. Bu ürün zayıflığıyla özellikle *CpnI-1* gen bölgesinde karşılaşılmış olup ya farklı PCR tekniklerine başvurularak (Touchdown PCR gibi) ya da çoklu hacimlerde çoğaltımları gerçekleştirilerek çözüm bulunmaya çalışılmıştır. Ancak bu PCR ürünü elde edememe ya da zayıf ürün eldesi bazı *C. parallelus* bireyleri açısından üstesinden gelinemeyecek bir problem olarak not edilmiştir. Bunun temel nedeni olarak ilgili gen bölgesinin oldukça değişken ve kodlama yapmadığı için de mutasyonlara açık olmasından dolayı primer bağlanma bölgesindeki olası mutasyon/mutasyonlardan kaynaklı çoğaltım aşamasındaki başarısızlık gösterilebilir. Zayıf çoğaltım sonucuyla karşılaşılan örnekler için 3 ya da 4 tekrarlı çoğaltım işlemi gerçekleştirilmiştir. Yaklaşık 150-200 µl hacimli DNA örnekleri, etanol ile çöktürüldükten sonra, 20 µl son hacimde TE tamponunda yeniden çözünmüştür. Etanol çöktürme yönteminin basamakları şu şekildedir:

1. İlgili DNA çözeltisinin hacmi tahmin edilir.

2. DNA çözeltisine son konsantrasyon 300 mM olacak şekilde 1/10 hacim 3M Sodyum asetat (pH 5.2) eklenir.
3. DNA çözeltisinin 2 hacimi soğuk absolute etanol eklenir ve karıştırılır. (DNA konsantrasyonu >100 ng/μl konsantrasyonda ise, son konsantrasyon 10 mM olacak şekilde MgCl₂ eklenir.)
4. Bir gece boyunca -20 °C'de bekletilir.
5. DNA +4 °C'de 12000 × g'de 10 dk santrifüj edilir.
6. Üst faz uzaklaştırılır ve %70'lik EtOH ile yıkanarak 12000 × g'de 2 dk santrifüj edilir.
7. 6. basamak tekrarlanır.
8. Alkol uzaklaştırılması gerçekleştirildikten sonra örnekler istenilen hacimde 1x TE tamponu eklenerek çözündürülür.

PCR ürünlerinin çöktürülmesi işlemi ardından reaksiyon sonrası ortamda kalan primer ve kalıp DNA artıklarının ve bazı PCR reaksiyonları sonucunda çoğaltılan spesifik olmayan bant ürünlerinin uzaklaştırılması için jelden DNA izolasyon uygulamasına geçilmiştir. Bu yöntemde DNA belirteçleri arasındaki fragman boyutundaki farklılıktan dolayı *Cpnl-1* gen bölgesi için %1,5 agaroz jel, *COI-tRNA^{leu}-COII* gen bölgesi ürünleri için ise %0,8 agaroz jel elektroforezi tercih edilmiştir. Yürütme işlemi 20 mA'de bir saat, sonrasında 60 mA'de 2 saat ve ortalama jelin 2/3'lük kısmına kadar yapılmıştır. Agaroz jel ortamında yürütülen örnekler UV ışık altında görüntülenmiştir. PCR ürünlerinin izolasyonu amacıyla DNA Ekstraksiyon Kiti (Fermentas) kullanılmıştır. UV ışık altında istenilen bantlar jelden sırasıyla temiz bir neşter aracılığı ile dikkatlice kesilerek darası alınan ependorf tüplere aktarılmıştır. Tüpler etiketlendikten sonra içerisindeki hacim ölçülerek 3 katı kadar Binding Solution (DNA bağlama solüsyonu) eklenmiştir. Tüpler karıştırılarak, agaroz jel parçaları tümüyle eriyinceye dek 55 °C'de inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra ilk hacmin yarısı kadar 1 X TBE tamponu; 4,5 katı kadar ise DNA bağlama solüsyonu eklenmiştir. Her bir tüpe DNA'nın 2,5 μg'ı için 5μl ve sonraki her 1μg DNA için ise 2μl Silica Powder Suspension (Silika Toz Çözeltisi) eklenmiş ve karıştırıldıktan sonra her iki dakikada bir 55 °C'te karıştırılarak 5-10 dakika süresince inkübe edilmiştir. Beş saniye 19000 ×g hızda santrifüj edildikten sonra üst tabaka uzaklaştırılmıştır. Dip kısımda kalan pelet içerisine 500 μl soğuk washing buffer (Soğuk Yıkama Tamponu) eklenmiş ve karıştırılarak beş saniye 19000 ×g hızda tekrar santrifüj edilmiştir. Üst tabaka tekrar

uzaklaştırılmış ve bu basamak toplam üç kez tekrar edilmiştir. Son tekrardan sonra pelet, tekrar 2-3 saniye santrifüj aracılığıyla döndürülmüş ve dipte kalan sıvı kısım pipet yardımıyla dikkatlice uzaklaştırılmıştır. Pelet boncuklar şeklinde kuruyuncaya dek alkolün uzaklaşması için bekletilmiştir. Kalan pelete, konulan silika toz çözeltisi miktarı kadar distile su eklenmiştir. Pelet çözününceye kadar karıştırılmış ve 55 °C’de 7 dakika inkübasyona bırakılmıştır. 30 saniye 19000 ×g hızda santrifüj edilmiş ve üst tabaka alınarak yeni bir tüpe aktarılmıştır. Bu işlem tekrar gerçekleştirilerek etiketli tüplerde bulunan 18-20 µl hacimli DNA ürünlerinin kontrolü için, 2 µl’si agaroz jelde yürütülmüştür.

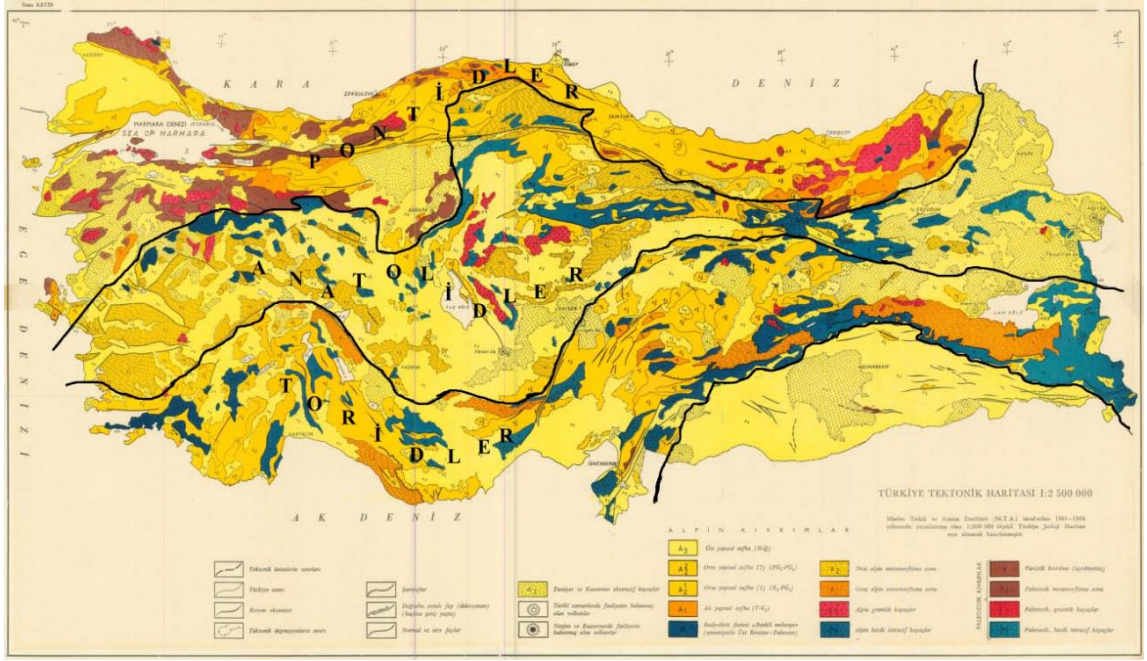
2.2.3 *Cpnl-1* ve *COI-tRNA^{Leu}-COII* Gen Fragmanlarının Dizilenmesi ve Hizalanması

Agaroz jelden izole edilen saf DNA fragmanlarının dizileme işlemleri ticari bir dizileme şirketi olan MacroGen (908 World Meridian Venture Center, #60-24, Gasan-dong, Geumchun-gu, Seoul, 153-781, Korea) firmasına yaptırılmıştır. Dizileme reaksiyonları PCR uygulamasındaki primer çiftleri kullanılarak iki yönlü gerçekleştirilmiştir (Şekil 2.4).

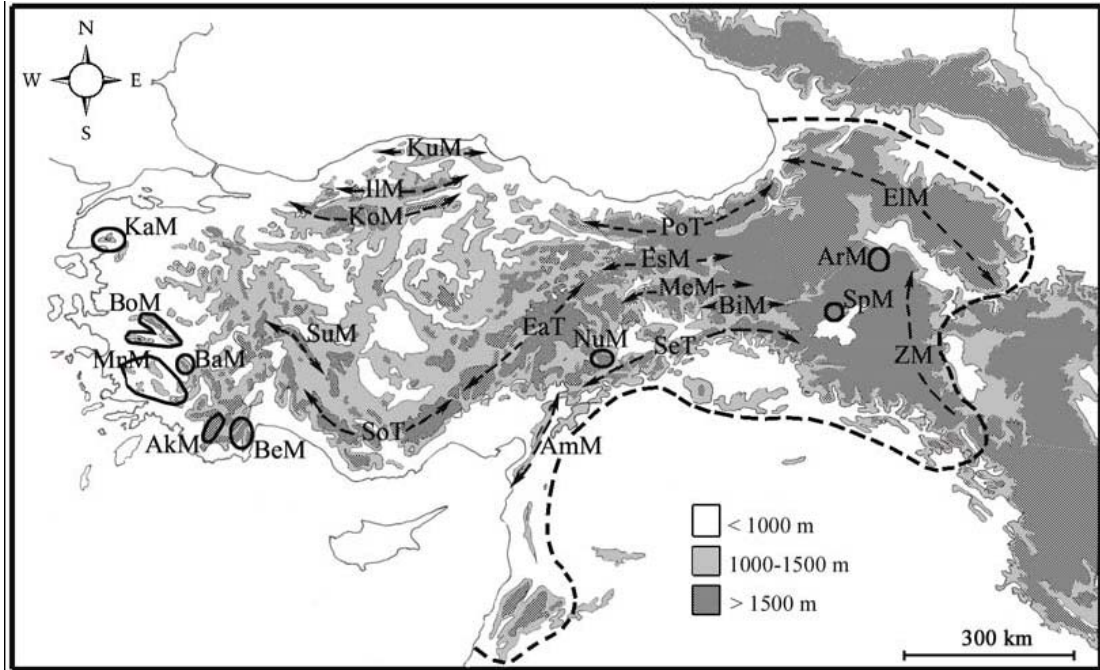
Dizileme reaksiyonları gerçekleştirilen DNA fragmanlarının bu aşamadan sonraki hizalama ve veri analiz aşamaları Yükseköğretim Kurulu Yurt Dışı Doktora Araştırma Bursu kapsamında Mart - Eylül 2010 tarihleri arasında Dr. David H. Lunt (Department of Biological Sciences, University of Hull, HULL, HU6 7RX, UK) ile birlikte İngiltere’de gerçekleştirilmiştir. Forward ve reverse nükleotid dizileri CodonCode Aligner 3.5.6 (Ewing ve ark. 1998) programı kullanılarak gözle hizalanmıştır. Hem *Cpnl-1* hem de *COI-tRNA^{Leu}-COII* nükleotid dizilerinin hizalama işlemlerinde daha önceki çalışmalardan *C. parallelus* türünün mevcut referans nükleotid dizileri kullanılmıştır [Genbank erişim numaraları: *Cpnl-1* için X82936.1 (Cooper ve Hewitt 1993) ve *COI-tRNA^{Leu}-COII* için X95574.1 (Szymura ve ark. 1996)]. Bu aşamada her bir gen bölgesi için önce bireylerin forward ve reverse dizi hizalamaları, sonra populasyon içi ve son olarak da populasyonlar arasında çoklu nükleotid dizi hizalamaları yapılmıştır. Dizilerin eşit olmayan uzunlukları ve forward ve reverse dizilerinin çakışmayan kısımlarının bulunmasından dolayı her birey için konsensüs dizisi FR_consensus.py yazılım programı kullanılarak elde edilmiştir. Konsensüs dizilerinin hizalanmasında ise Mega 4.0 programına (Tamura ve ark. 2007) başvurulmuştur.

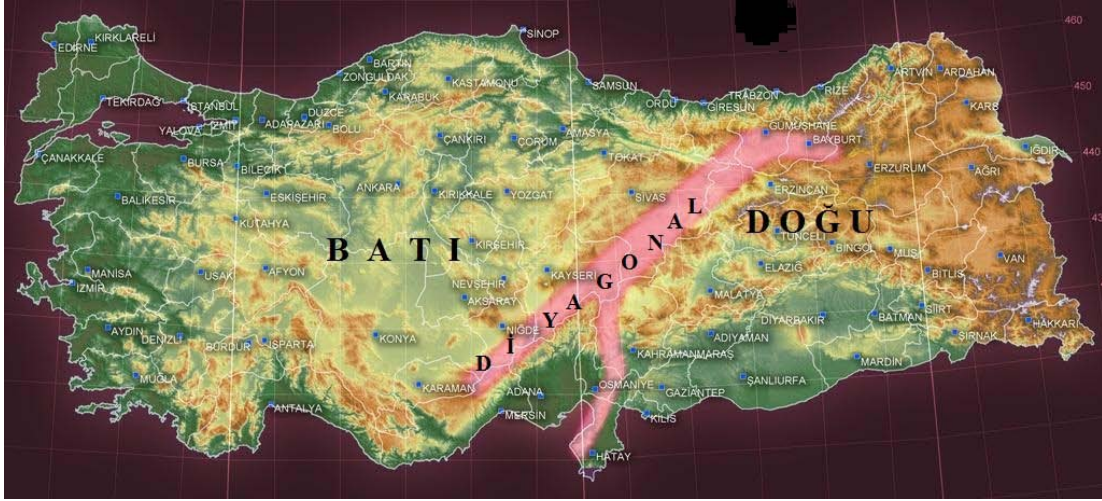
Populasyon içi ve populasyonlar arası nükleotid çeşitliliği [P_i (Nei 1987) ve θ_{TT} (Tajima 1983)], ikili nükleotid farklılıklarının ortalama sayısı k (Tajima 1983), haplotip çeşitliliği (H_d), haplotip sayısı (H) ve populasyonlara özgün haplotip sayısı (H_U) hem *COI-tRNA^{Leu}-COII* hem de *Cpnl-1* gen bölgeleri için ayrı ayrı hesaplanmıştır. (Tajima 1983; Nei 1987). Hesaplamalar DnaSP 5.0 ve Arlequin 3.11 (Excoffier ve ark. 2005) programları kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Aynı zamanda mitokondri DNA belirtecinde nükleotid çeşitliliğinin seçilim baskısına maruz kalıp kalmadığı, diğer bir deyişle nötraliteden uzaklaşıp uzaklaşmadığı hakkında bilgi edinmek amacıyla Arlequin 3.11 paket programında yer alan Tajima'nın D (Tajima 1989) ve Fu'nun F_S (Fu 1997) analizleri, nötralite istatistiklerinin hesaplanmasında kullanılmıştır. Anlamlılık düzeyleri 1000 tekrarlı rastgele permütasyon analiziyle elde edilmiş ve anlamlılık derecesi olarak $p < 0,05$ düzeyi kabul edilmiştir.

Anadolu'da biyocoğrafik açıdan önemli alanların ve böylelikle "sığınak içerisinde sığınak" hipotezine destek verebileceği düşünülebilecek bölgelerin belirlenebilmesi amacıyla çalışma alanı boyunca genetik çeşitliliğin yayılışı üç farklı coğrafik kümelemeye karşı test edilmiştir. Bu amaçla yapılan kümeler sırasıyla; (i) Anadolu'da tektonik yapılanmayı temel alarak Toridler, Anatolidler ve Pontidler (Şekil 2.5), (ii) Çıplak (2008) tarafından önerilen biyocoğrafik bölgeleri temel alarak Ege Anadolu, Akdeniz Anadolu, Doğu Anadolu, Karadeniz Havzası ve aralarında kalan Orta Anadolu (Şekil 2.6) ve (iii) Anadolu diyagonalinin doğusu ve batısı şeklinde oluşturulmuştur (Şekil 2.7). Genetik çeşitlilik coğrafik lokaliteler arasında kalan populasyonların, bireylerin, haplotiplerin, populasyona özgün ve paylaşılan haplotiplerin toplam yüzde değerleri hesaplanarak tahmin edilmiştir.



Şekil 2.5 Anadolu tektonik haritası (Harita MTA'dan alınmıştır.)





Şekil 2.7 Anadolu Diyagonali (Harita, Davis 1971'e göre yeniden düzenlenmiştir)

2.3.2 Coğrafik Genetik Yapılanma

Anadolu *C. parvulus* türünde genetik yapılanmayı belirlemek için, Φ istatistiklerine dayalı moleküler varyansın mekansal analizi (SAMOVA) araştırılmıştır. Bu amaçla SAMOVA 1.0 programından yararlanılmıştır (Dupanloup ve ark. 2002). Bu yazılımda sağlanan yöntem total genetik varyans oranının (Φ_{CT}) maksimum düzeye ulaştığı yerde coğrafik açıdan homojen ve genetik olarak farklılaşmış popülasyonların oluşturduğu grupları (K) ifade etmektedir. AMOVA (Excoffier ve ark. 1992) gibi popülasyon gruplarının bir ön tanımlamayla analize dahil edildiği bazı testlerin tersine bu program yalnızca popülasyonların coğrafik pozisyonu ve genetik verisi üzerine dayalı bir genetik yapılanmayı bulur. Ancak, bu program bir K sayısına ihtiyaç duymaktadır. Bu yüzden mevcut veri setlerinin analizlerinde aralığı 2 - 10 arasında değişen farklı K setleri üzerine SAMOVA analizleri gerçekleştirilmiştir. Her analizde 250 simüle edilmiş bağlanma işlemleri uygulanmış ve sonuçların analizler arasında uyumlu olup olmadığını kontrol etmek için her bir analiz tekrarlanmıştır. Diğer taraftan Φ istatistiklerinin anlamlılık düzeyleri 1000 rastgele permütasyon tarafından tahmin edilmiştir.

Popülasyonların ikili (pairwise) genetik farklılaşmaları ikili F_{ST} ve θ_{ST} değerleri Arlequin 3.11 programıyla hesaplanmıştır (Weir ve Cockerham 1984). Genetik farklılaşma değerlerinin anlamlılık dereceleri 1000 rastgele permütasyon üzerinden hesaplanmıştır. Popülasyonlar arasında genetik ilişkinin görsel bir gösterimini oluşturmak için, GenA1Ex 6.3 paket programında (Peakall ve Smouse 2006) ikili θ_{ST} ve F_{ST} değerlerini kullanarak temel bileşen analizleri (PCA) uygulanmıştır. Bu analizlere

ek olarak, genetik yapılanmanın oluşumunda coğrafik uzaklıkla genetik uzaklık arasında bir ilişkinin [isolation by distance (IBD)] var olup olmadığı, olası IBD örüntülerinin araştırılmasıyla sınırlanmıştır. Bu analizlerde populasyonların ikili θ_{ST} ve F_{ST} değerlerine karşı Öklidyen coğrafik uzaklıklarının regresyonuna başvurulmuştur (Hutchison ve Templeton 1999). Analizler GenAlEx 6.3 paket programında yer alan Mantel opsiyonu kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Populasyonlar arasındaki coğrafik uzaklıklar yine aynı paket programında yer alan ondalık düzeyde (decimal degree) Lat/Long koordinatlarından coğrafik uzaklık hesaplama seçeneği kullanılarak oluşturulmuştur. Populasyonların enlemsel ve boylamsal koordinatları ise, ondalık düzeye http://www.calculatorcat.com/latitude_longitude.phtml online programı kullanarak dönüştürülmüştür. Tüm Mantel testlerinin istatistiksel açıdan anlamlılık düzeyleri ise genetik uzaklık matrisinin 10000 rastgele permütasyonlarıyla değerlendirilmiştir.

C. parallelus populasyonlarında bir ön tanımlama ile sınırları belirlenen bazı biyocoğrafik örüntüler ve temel bileşen analizleri sonucunda elde edilen kümelenmeler açısından genetik yapılanma moleküler varyasyonun hiyerarşik analizleriyle (AMOVA) Arlequin 3.11 programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla her iki DNA belirteci için de beş farklı analize başvurulmuştur: (i) Anadolu'da tektonik yapılanmayı temel alarak Toridler, Anatolidler ve Pontidler, (ii) Çıplak (2008) tarafından önerilen biyocoğrafik bölgeleri temel alarak Ege Anadolu, Akdeniz Anadolu, Doğu Anadolu, Karadeniz Havzası ve aralarında kalan Orta Anadolu, (iii) Anadolu diyagonalinin doğusu ve batısı, (iv) temel bileşen analizleri sonucunda gözlenen kümelenmeler ve (v) kümeleme yapmaksızın çalışma aralığında kalan tüm populasyonlar. İlk dört analizde varyasyonun hiyerarşik testleri gruplar arasında, grup içinde populasyonlar arasında ve populasyon içinde, moleküler varyasyonun paylaşımı belirlenmiştir. Son analizde ise sadece populasyonlar arasında ve populasyon içinde moleküler varyasyonun paylaşımı test edilmiştir. AMOVA tarafından belirlenen fiksasyon indekslerinin anlamlılık dereceleri Excoffier ve ark. (1992) tarafından önerilen 1000 permütasyonla test edilmiştir.

2.3.3 Filogeni ve Filocoğrafya

C. parallelus populasyonlarının filogenileri farklı algoritmalar kullanılarak hesaplanmıştır. Analizler DNA uzaklık, maksimum olasılık (ML), maksimum parsimoni

(MP) ve Bayesiyen çıkarsamalı olmak üzere dört farklı yaklaşımda gerçekleştirilmiştir. Her iki gen bölgesine ait haplotiplerin nükleotid dizileri ayrı analiz edilmiştir. Analizler nükleotid dizilerinin yanı sıra haplotiplerin populasyonlarda bulunup bulunmaması şeklinde (0 = yok; 1 = var) kodlanarak ayrıca tekrarlanmıştır. Analizler öncesinde her iki DNA belirteci için de uygun mutasyon modelinin belirlenmesinde Mega 5 (Tamura ve ark. 2011) programından yararlanılmıştır. Hem AIC (Akaike Information Criterion) hem de BIC (Bayesiyen Information Criterion) parametreleri mevcut DNA dizilerinden mtDNA için en uygun model olarak altı parametrelili GTR + G + I modelini saptamıştır. Bu model altında transisyon/transversiyon oranı (R) = 2,7701; denge baz frekansları A = 0,3698, T = 0,3564, G = 0,1325 ve C = 0,1463; gamma şekil parametresi = 0,60867 ve invariant şekil parametresi = 0, 72283 olarak belirlenmiştir. Çekirdek DNA için saptanan en uygun model mtDNA belirteciye benzer şekilde altı parametrelili GTR + G + I modelidir. Bu model altında R = 0,5478; denge baz frekansları A = 0,3068, T = 0,2525, G = 0,2756 ve C = 0,1651; gamma şekil parametresi = 0,40141 ve invariant şekil parametresi = 0, 65788 olarak belirlenmiştir. Maksimum parsimoni analizleri dışında kalan tüm diğer analizler sonucunda inşa edilen gen ağaçları FigTree v1.3.1 (Rambaut 2009) programı kullanılarak çizilmiştir.

Analizler öncesinde her iki belirtece ait veri setlerinin ne kadar evrimsel bir bilgiye sahip olduklarının miktar olarak saptanması ve bu filogenetik sinyalin görsel olarak sunulması amacıyla maksimum olasılık haritalama yöntemine (Strimmer ve von Haeseler 1997) başvurulmuştur. Analizler Tree-Puzzle v5.2 programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Schmidt ve ark. 2002).

2.3.3.1 Uzaklık Analizleri

Minimum evrim prensibi kullanımına dayalı komşu-bağlama (NJ) yönteminde evrimsel uzaklık, doğada transisyonel nükleotid değişimlerinin transversiyonel değişimlerden daha yüksek olması nedeniyle bu konseptten hareket ederek çoklu değişimleri değerlendirebilen Kimura 2-Parametre (K2-P) modeline (Kimura 1980) başvurulmuş ve gerçekleştirilmiştir. Nükleotid değişimlerine transisyon ve transversiyon değişimlerinin tümü dahil edilmiştir. Nükleotid pozisyonları arasındaki nükleotid değişim oranındaki varyasyon için gamma dağılım seçilmiştir ve daha önce saptanan en uygun modellerden elde edilen α değerleri kullanılmıştır. Analizler MEGA 5.0 programı kullanılarak

gerçekleştirilmiştir. Ağaç nodlarının kararlılığını değerlendirebilmek amacıyla, tüm analizlerde bootstrap değerleri 1000 permütasyon üzerinden yapılmıştır.

NJ fenogramlarına ek olarak populasyon çiftleri arasındaki ikili F_{ST} değerleri kullanımına dayalı Fitch analizleri Phylip 3.69 (Felsenstein 1989, 2004) paket programından yararlanılarak gerçekleştirilmiştir. Fitch programı ikili populasyon karşılaştırmalarından elde edilen genetik uzaklık değerlerine (F_{ST} , θ_{ST} ya da K_{ST} gibi) en uygun fenogram için Fitch ve Margoliash (1967) yöntemine başvurur. Bu yönteme ek olarak analizde Cavalli-Sforza ve Edwards'ın en düşük kareler (*least square*) yöntemi kullanılmaktadır. Analizler her iki DNA belirtecinden oluşturulan ikili F_{ST} değerleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

2.3.3.2 Maksimum Olasılık Analizleri

Filogeni tahmini için Felsenstein (1981) tarafından önerilen Maksimum Olasılık analizleri <http://www.phylo.org/portal2/home.action> sayfasında yer alan ve orijinal olarak fastDNAmL (Olsen ve ark. 1994) yaklaşımından türetilen RAxML (Randomized Axelerated Maximum Likelihood) 7.2.7 on ABE adlı ve Alexandros Stamatakis and Wayne Pfeiffer tarafından geliştirilen hibrid bir program kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bu program özellikle takson ve karakter sayısı açısından büyük olan ve olasılık araştırma süresini diğer benzer programlara oranla ciddi bir şekilde azaltan birkaç "heuristic" kullanılmaktadır (Stamatakis 2006). Bunlar (i) rastgele ikili (stepwise) eklemeler kullanarak parsimoni altında bir başlangıç ağacı inşa etmek, (ii) dal optimizasyonundan kaynaklı zaman kaybını azaltmak amaçlı dal değiş tokuşlarında Lazy Subtree Rearrangements seçeneğini kullanmak, (iii) GTR + G'nin yerine GTR + CAT (GTR with per site rate categories) kullanmak ve (iv) simüle edilmiş bağlanma kullanmak. Ek olarak bu hibrid programda maksimum olasılık araştırması için GTR + G ve hızlı bootstrap testi içinse GTR + CAT algoritmaları kullanılabilir.

Her iki belirteç için kullanılan veri doğası nedeniyle farklı parametreler kullanılarak analiz edilmiştir. mtDNA veri analizinde Populasyon 42 (Erzurum-Horasan)'ye ait Mit_89 haplotipi tüm diğerlerinden genetik olarak en uzak olduğu için dış grup olarak atanmıştır. Değişken olmayan pozisyonların oranının tahmin edilmesi için GTR + G + I tercih edilmiştir. Protein kodlayan bir gen bölgesi olması nedeniyle dizilerde bölümlenme (DNA partition) parametresi seçilmiştir:

DNA, COIcodon1 = 1-822\3

DNA, COIcodon2 = 2-822\3

DNA, COIcodon3 = 3-822\3

DNA, tRNAleu = 823-887

DNA, COIcodon1 = 888-1341\3

DNA, COIcodon2 = 889-1341\3

DNA, COIcodon3 = 890-1341\3

Kodlama yapmayan çekirdek DNA belirtecinde DNA bölümlene seçeneği kullanılmamıştır. Programın doğası nedeniyle indel pozisyonları tüm dizilerden çıkarılmış ve analiz 297 karakter üzerinden yürütülmüştür. Değişken olmayan pozisyonların oranının tahmin edilmesi için GTR + G + I tercih edilmiştir.

2.3.3.3 Maksimum Parsimoni Analizleri

Maksimum parsimoni analizleri Power Mac G4 marka bilgisayarda Swofford (2002) tarafından geliştirilen PAUP* 4.0b10 (Altevec) Beta Versiyon (Phylogenetic Analysis Using Parsimony) filogenetik analiz programı ile yürütülmüştür. Analizler her iki belirteç için ayrı ayrı olmak üzere, haplotiplerin nükleotid dizileri ve populasyonlarda bulunup bulunmaması (alan analizi) olmak üzere toplamda dört farklı analiz uygulanarak gerçekleştirilmiştir. Tüm analizlerde maksimum ağaç sayısı 2000 ile sınırlandırılmıştır. Taksonlar birden fazla karakter durumuna sahip olduğu durumlarda tercih edilen seçeneklerden birisi olan ‘belirsizlik’ (uncertainty) seçeneği tercih edilmiştir. Karakter polarizasyonu seçeneği **düzensiz** (unordered) seçilmiştir. Heuristic yöntemin ilk basamağında, ‘**adım-adım-ekleme**’ evresine dayalı ‘**basit**’ (simple) algoritması tercih edilmiştir. Bu algoritma, bir çeşit ‘uzaklık matrisi’ kullanarak taksonları bağlamaktadır. Önce bütün taksonların bir referans taksona uzaklıkları belirlenir. Daha sonra referans takson ve buna yakın iki takson bağlanarak üç-takson ağacı oluşturulur ve diğer taksonlarda oransal uzaklıklarına göre ağaca bağlanırlar. İkinci basamağında ise ‘dal-değiş-tokuşu’ evresine dayalı TBR (Tree Bisection Reconnection) algoritması seçilmiştir.

2.3.3.4 Bayesiyen Tabanlı Filogenetik Analizler

Bayesiyen çıkarsamalı ve Markov Chain Monte Carlo (MCMC) temelli filogenetik analizler MrBayes 3.1.2 (Huelsenbeck ve Ronquist 2001; Ronquist ve Huelsenbeck 2003) programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Birçok istatistiksel yöntem tarafından kullanılan veride sunulan öncül ya da prior [Pr(D)] olarak bilinen parametre değerlerinin olasılığını maksimize etmek yerine, Bayesiyen yaklaşım ardıl ya da posterior [Pr(D)] olarak bilinen parametre değerlerine odaklanır. Bayes kuralı posterior değerlerinin şu şekilde hesaplanacağını önermektedir:

$$\Pr(D) = \Pr(\text{veri} | D) \Pr(D) / \Pr(\text{veri})$$

Model karmaşık olduğu zaman posterior MCMC örnekleme kullanılarak tahmin edilmektedir. Analizler her iki belirteç için ayrı ayrı olmak üzere, haplotiplerin nükleotid dizileri, populasyonlarda bulunup bulunmaması (alan analizi) ve son olarak da alan analizi açısından her iki verinin birleştirildiği total analiz olmak üzere toplamda beş farklı analiz uygulanarak gerçekleştirilmiştir. Dizi verilerine dayalı analizlerde Mega 5 programı tarafından belirlenen en uygun model seçilmiştir. Buna göre nükleotid pozisyonları boyunca gamma dağılımlı oran varyasyonlu GTR nükleotid yer değişim modeli ve değişken olmayan pozisyonların oranının tahmin edilmesini öneren model seçilmiştir. Nükleotid değişiminin genel yapısını belirleyen nst seçeneği GTR algoritması için önerilen “nst = 6” olarak belirlenmiştir. Diğer taraftan alan analizlerinde ise bu seçenek tüm yer değişimlerin aynı orana sahip olduğu anlamını taşıyan “nst = 1” ve oran ise “rates = equal” tercih edilmiştir. 10⁶ jenerasyon sayısı için her biri dört zincirli (3 ısıtılmış ve 1 soğuk zincir) iki bağımsız yürütme gerçekleştirilmiş ve ağaçlar her 1000 döngüde bir örneklenmiştir. Durağan dağılım üzerine konvergans, ayrılma frekanslarının ortalama standart sapması iki bağımsız yürütme arasında 0,05 değerinin altında olup olmadığı kontrol edilerek doğrulanmıştır. Bayesiyen posterior olasılıkları son 750 örneklenen ağaç arasından (Örnekleme %25 yani 250 örnekleme ön deneme yani burn-in olarak uzaklaştırılmıştır.) Çoğunluk-Kuralı Konsensüs Ağacı (Majority-Rule Consensus Tree) oluşturularak tahmin edilmiştir.

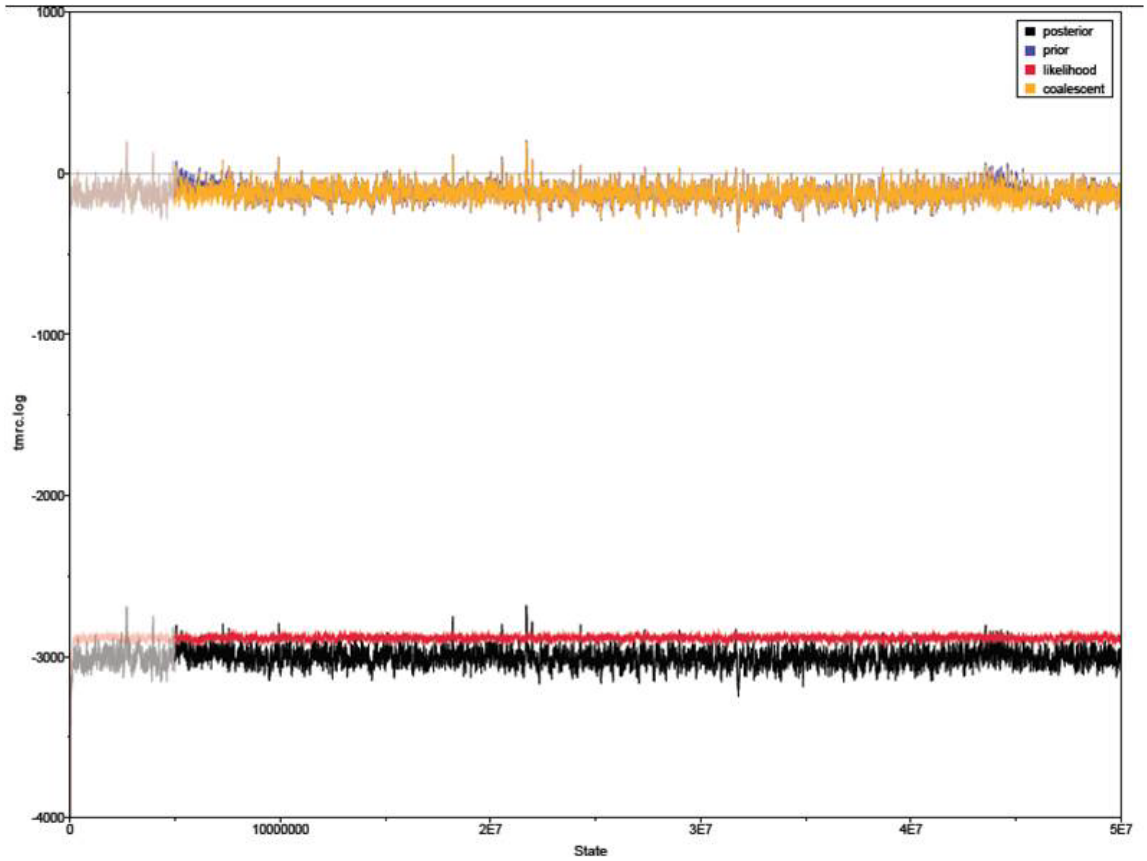
2.3.3.5 Şebeke Analizleri

Gen ağaçlarının inşa edilmesine ek olarak, popülasyonları oluşturan bireylerin her iki DNA belirtecine ait nükleotid dizilerine dayandırılarak bireyler arasındaki soy-hattı ilişkisini araştırmak için ortanca-bağlama (median-joining, MJ) şebeke yaklaşımı (Bandelt ve ark. 1995, 1999) Network 4.5.1.6 (<http://www.fluxus-technology.com>) programına başvurularak gerçekleştirilmiştir. Analiz aşamasında mitokondri DNA belirtecinde Popülasyon 42 (Erzurum-Horasan)'ye ait bireyler analizden uzaklaştırılırken, çekirdek DNA belirtecinde ise analiz tüm bireyler üzerinden gerçekleştirilmiştir. Şebeke inşası MJ yöntemi ($\epsilon = 0$) ve ardından maksimum parsimoni hesaplaması yapılarak gerçekleştirilmiştir. İnşa edilen bu şebekelerde karmaşıklığı azaltmak ve tarihsel demografik genişleme (expansion) örüntülerini değerlendirmek amacıyla, aynı programda yer alan *star contraction* algoritması kullanılarak ek bir analiz gerçekleştirilmiştir.

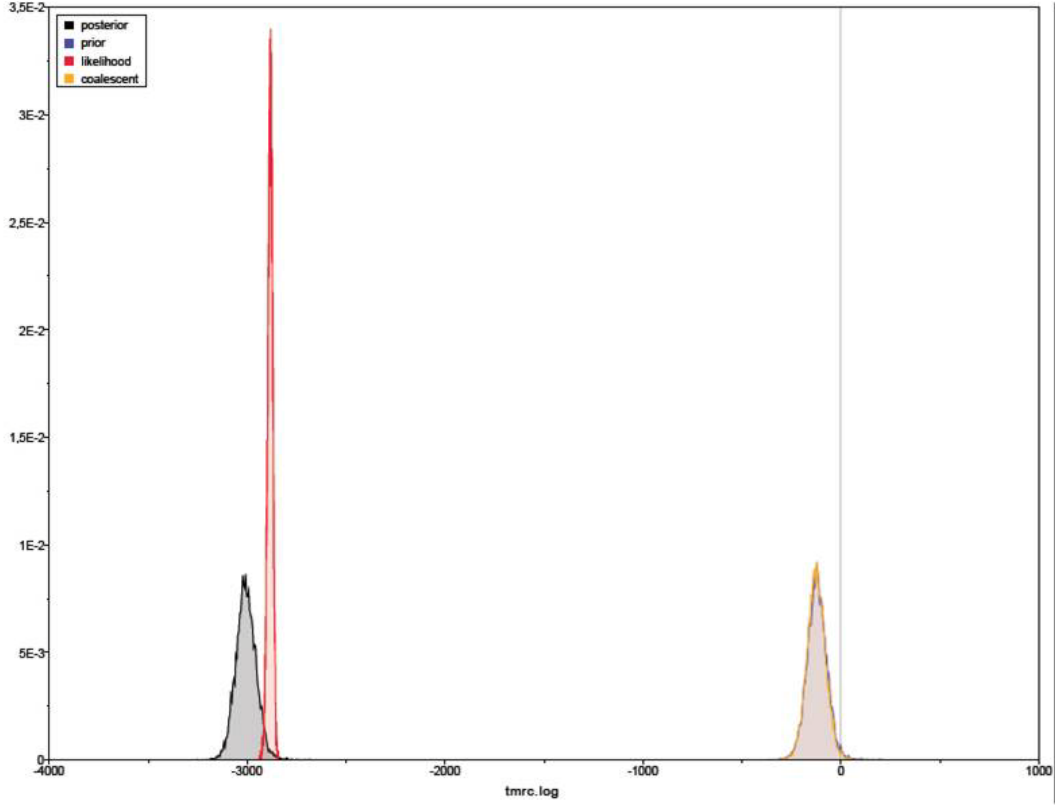
2.3.3.6 Farklılaşma Zamanlarının Tahmin Edilmesi

C. parallelus popülasyonlarında genetik çeşitlenme ve farklılaşma zamanlarını tahmin etmek ve tarihsel süreçlerle ilişkilendirmek amacıyla Bayesiyen çıkarımsal ve MCMC yaklaşımli bir filogenetik analiz BEAST version 1.6.1 (Drummond ve Rambaut 2007) programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bu analiz, diğer tüm analizlerde gözlenen bulgular ışığında kladların ayrılma zamanları hakkında bilgi verebileceği tahmin edilen mitokondri veri seti için gerçekleştirilmiştir. Analiz aşamasında GTR + G + I mutasyon modeli altında ilişkisiz üssel gevşek moleküler saat (Uncorrelated exponential relaxed molecular clock) kullanılmıştır. Coalescent ağacı sabit popülasyon büyüklükleri altında oluşturulmuştur ve mitokondri haplotiplerinin tümü analize dahil edilmiştir. Analizlerde tercih edilen ön olasılık dağılımları her parametre için aşağıda sunulmuştur. DNA bazlarının denge durum frekanslarının ön olasılıkları alt limiti 0, üst limiti ∞ olan tekdüze dağılımdan gerçekleştirilmiştir. Gamma şekil parametresinin ön olasılıkları ise alt limiti 0, üst limiti 1000 olan tekdüze dağılımdan gerçekleştirilmiştir. Veri seti, dizi çiftleri arasında milyon yılda % 2,69 farklılaşma hızı ile kalibre edilmiştir (Bir nesilde dizi başına bir pozisyonun mutasyona uğrama olasılığı $1,345 \times 10^{-8}$). Bu mutasyon oranı böceklerde mitokondri genomu için yeni belirlenen yıl başına mutasyon oranına dayandırılarak seçilmiştir (Papadopoulou ve ark. 2010, mutasyon aralığını belirlemek için ayrıca Percy ve ark. 2004 ve Shapiro ve ark. 2006 literatüründen yararlanılmıştır).

Dizi çiftleri arasındaki ortalama farklılaşma hızlarının ön olasılık değerleri ortalaması 2,69 standart sapması 0,5 olan log-normal dağılımdan çekilmiştir. Yürütmeler 50 milyon zincir üzerinden gerçekleştirilmiş ve ağaçlar her 5000 zincirde bir örneklenerek toplamda 10000 ağaç elde edilmiştir. Örneklenen ağaçların olasılık (likelihood) değerlerinin sabitlenip sabitlenmediği ve böylelikle uygun posterior olasılık dağılımının oluşup oluşmadığının anlaşılması için model parametrelerin Efektif Örneklem Büyüklüğü (ESS) TRACER v1.5 programı yardımıyla kontrol edilerek belirlenmiştir (Şekil 2.8ab). Örneklenen 10 000 ağaçtan ön deneme olan %10'u yakılarak uzaklaştırılmış ve kalan 9000 ağaç üzerinden maksimum klad-güvenilirlik ağacı (maximum clade-credibility tree) TREEANNOTATOR programıyla inşa edilmiştir.



a) Olasılık dağılım izleri



b) Olasılık dağılım eğrileri

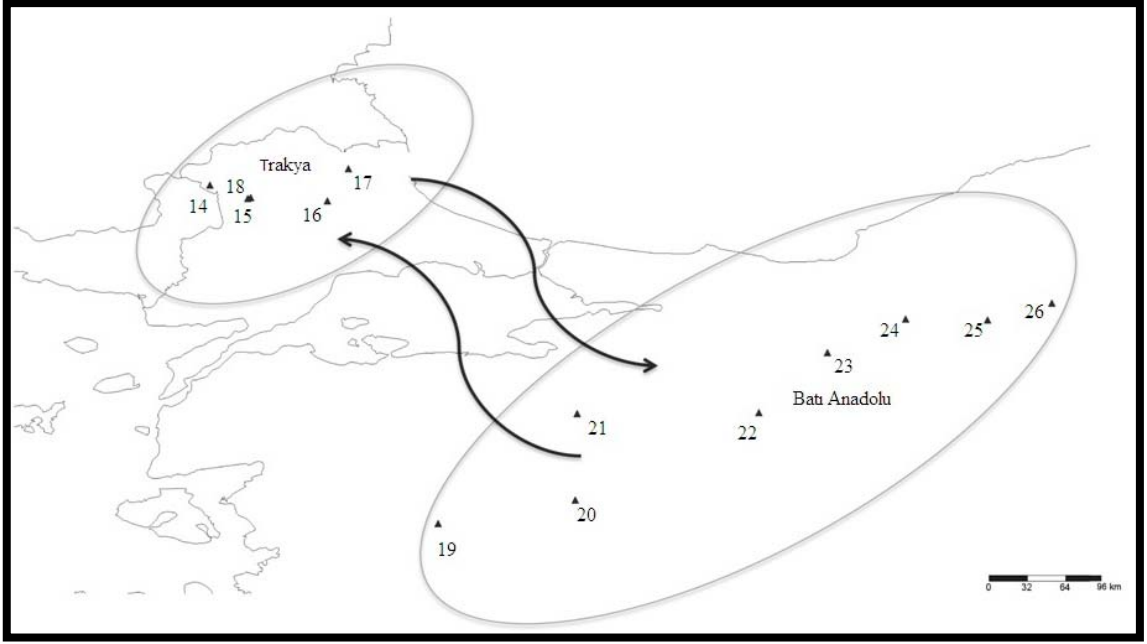
Şekil 2.8. 50 milyon zincirli Bayesiyen MCMC taramasına ait ağaçların **a)** olasılık dağılım izleri, **b)** olasılık dağılım eğrileri. Prior (mavi), posterior (siyah), likelihood (kırmızı) ve coalescent (sarı). Açık renkli izler burn-in olarak elenen kısmı göstermektedir. Bu aralık dışında kalan izlerden elde edilen örneklemeler filogenetik ağaçların ve tüm diğer parametrelerin tahminlenmesinde kullanılmıştır.

2.3.3.7 Populasyon Farklılaşmasında Göç ile İzolasyon Modeli

C. parallelus türünün Trakya ve Batı Anadolu populasyonları açısından Boğazlar'ın bir bariyer ödevi görüp görmediğini belirlemek ve eğer bariyer fonksiyonuna sahip ise populasyonların ayrılma zamanları ve her iki yönde gen akışı oranını tespit etmek üzere IMA2 analiz programı (Hey 2010) kullanarak Göç ile İzolasyon Modelinin MCMC simülasyonları gerçekleştirilmiştir. IMA2 programı (i) populasyonların ayrılma zamanı (τ), [$\tau = T\mu$; T yıl açısından zaman ve μ ise mutasyon oranı] parametrelerinin marjinal posterior olasılık yoğunluklarını, (ii) atasal populasyon (θ_A) ve iki mevcut soy-hattının [θ_1 (Trakya) ve θ_2 (Batı Anadolu)] populasyon farklılaşma indekslerini [tek ebeveynli (uniparental) kalıtılan lokuslar için $\theta = 2N_e\mu$ ya da diploid otozomal lokuslar için $\theta = 4N_e\mu$; N_e efektif populasyon büyüklüğü] ve (iii) her iki populasyon için göç oranını (m_1 ve m_2) [m mutasyon başına göç oranı olup $m = M/\mu$ ve M ise populasyon göç oranı ($M = 2N_e m = \theta m$)] belirlemek için kullanılabilir.

Populasyon 14, 15, 16, 17 ve 18 Trakya metapopulasyonu ve Populasyon 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25 ve 26 ise Batı Anadolu metapopulasyonu olarak kabul edilmiştir (Şekil 2.9). Analiz aşamasında nükleotid değişim modeli Hasegawa, Kishino ve Yano (HKY), kalıtımın miktarını hesaplamak için bir lokus kalıtım skalası = 0,25 ve mitokondri veri seti için ortalama mutasyon oranı ise $0,95 \times 10^{-8}$ / pozisyon / yıl ile 4×10^{-8} / pozisyon / yıl aralığında olmak üzere $\mu = 2,69 \times 10^{-8}$ / pozisyon / yıl tercih edilmiştir. Çekirdek DNA belirteci için yıl başına mutasyon oranı bilinmediği için aynı parametreler bu veri seti için de kullanılmıştır.

Analizler başlangıç aşamasında her parametrenin üst sınırlarını ayarlamak için Ima2 kullanım kılavuzunda tarif edilen önerilerden θ ($\theta_1 = \theta_2 = \theta_A$) = 10, $\tau = 10$, $m_1 = 10$, $m_2 = 10$) yararlanılarak yürütülmüştür. Bu üst sınırlar için uygun başlangıç değerlerini elde etmek için farklı rastgele sayıda hücreler (seed) kullanılarak çoklu yürütmelere başvurulmuştur. Sonrasında parametre belirlemede skalaları tanımlamak için daha kabul edilebilir [her iki uç açısından da sıfıra yaklaşan unimodal olasılık eğrilerinin (unimodal likelihood curves) gözlemlendiği uyumlu marjinal pik lokasyonlarının saptanması] üst sınırlara sahip ek yürütmeler gerçekleştirilmiştir [Detaylar için Hey ve Nielsen (2007) literatürüne bakınız]. Parametreleri tahmin eden öncülle yürütülen son analiz şu şekildedir $\theta = 200$, $\tau = 2$, $m_1 = 10$, $m_2 = 10$. Yürütmelerde 2,5 milyon örneklem jenerasyonu, her 100. jenerasyonda örneklem ve 100 000 burn-in için iki bağımsız MCMC yürütmesine başvurulmuştur. Aynı zamanda bu analiz farklı rastgele hücre değerleri kullanılarak üç kez tekrarlanmıştır.



Şekil 2.9. Trakya ve Batı Anadolu populasyonları açısından Boğazlar'ın bir bariyer ödevi görüp görmediğini tespit etmek üzere analizde kullanılan populasyonların lokalitelerin gösteren harita. Trakya populasyonları (14, 15, 16, 17 ve 18), Batı Anadolu populasyonları (19, 20, 21, 22, 23 24, 25 ve 26)

3. BULGULAR

3.1 Arazi Çalışması ve Örneklem

Bu çalışma kapsamında, *C. parallelus* Anadolu populasyonlarının genetik yapılarının belirlenmesiyle, türün yayılış alanının en güney ucunu temsil eden Anadolu populasyonlarının güncel ve tarihsel örüntüleri hakkında bilgi edinilmesi ve böylelikle buzul ve buzullar arası dönemlerin Anadolu yarımadasının genetik çeşitliliği üzerine etkileri araştırılmak istenmiştir. En genel anlamda yukarıda özetlenen amacı güden bu çalışmanın ilk basamağını arazi çalışmaları ve örneklerin Anadolu yarımadasındaki yayılış örüntüleri oluşturmaktadır. Arazi çalışmaları, türün Anadolu yayılış örüntüsünün tümünü temsil etmesi amacıyla 43 lokaliteden 874 bireyin toplanmasıyla gerçekleştirilmiştir. Populasyonların etiketlenmesinde populasyon kod numarası ve o populasyona ait bireyi ifade eden alfabetik sıraya uygun harf sırası dikkate alınmıştır (Örneğin, 1a ya da 2c. Burada 1 ve 2 ilgili populasyonun kod numarası ve a ya da c ise ilgili populasyondaki 1. ve 3. birey anlamına gelmektedir.). Populasyonlar 500 m ile 2500 m arasında değişen yükseltilerde bulunmuşlardır. Anadolu'nun kuzey hatlarından güneye doğru inildikçe populasyonların bulunma yükseltilerinin arttığı gözlenmiştir. Aynı zamanda, tür parçalı ve Anadolu'nun yükseltileri ile paralel bir yayılış sergilemektedir. Özellikle yüksek vadelerde nemli vejetasyonların bulunduğu küçük izole çayırları tercih etmektedir (Şekil 3.1). Türün hem erkek hem de dişi bireylerinde çayır rengine paralel bir renk değişimi gözlenmiştir. Habitatlarının yeşil olduğu dönemlerde bireylerde de yeşil renk baskınken, mevsim sonuna doğru açık kahve ya da saman rengine değişen, çayır otlarına paralel bir şekilde açık kahve ya da saman renginde bireylere rastlanmıştır. Çok ender rastlanan uzun kanatlı bireylerine arazi çalışmalarında rastlanmamıştır.

3.2 Genetik Çeşitlilik

3.2.1 *COI-tRNA^{Leu}-COII* Mitokondri DNA Belirteci

DNA izolasyonu, çoğaltım, dizileme ve hizalama uygulamaları sonucunda *COI-tRNA^{Leu}-COII* gen bölgesi açısından toplamda 39 populasyona ait 585 bireyde konsensüs dizisi elde edilmiş ve analizler bu nükleotid dizileri üzerinden gerçekleştirilmiştir. Analizlere dahil edilemeyen populasyonlar Karaman-Tavşanlı (5), Elazığ-Maden (10), Malatya-Hekimhan (36) ve Erzincan-Kelkit (38)'dir. Analiz edilen

mitokondri DNA dizilerinin her kromotogramda tekli piklere sahip oldukları, insersiyon ve delesyon (in-del) bölgeleri içermedikleri, dizi içerisinde rastgele stop kodonlar bulundurmadıkları ve en yüksek nükleotid yer değişimine 3. kodon pozisyonunda sahip oldukları gözlenmiştir. Tüm bu bulgular ışığında analiz edilen nükleotid dizisinin fonksiyonel bir mitokondri gen bölgesi olduğu söylenebilir. Dizi hizalama çalışmaları sonucunda 1341 bç olarak belirlenen bu gen bölgesi sekiz pozisyon açısından heteroplazmi sergilemiştir. Bunlar 168, 282, 1241, 1255 ve 1280. pozisyonlarda C-T-Y, 1035. pozisyonda C-A-M, 1227. pozisyonda G-A-R ve 1245. pozisyonda T-A-W değişimleridir. Hangi nükleotidin doğru olabileceği öngörülemediği için, bu pozisyonların filogenetik ve filocoğrafik analizlerden çıkarılmasına karar verilmiştir. Ancak nükleotid kompozisyonu, nükleotid değişim oranları ve kodon kullanım indeksleri açısından değerlendirilme çalışmalarında ise referans dizideki ilgili nükleotidin dahil edilmesi uygun görülmüştür. Bu gen bölgesinin hem *COI* hem de *COII* genlerine ait dizi içermesi nedeniyle ilgili nükleotid dizisinin ayrıştırılması sonucunda 1-822. pozisyonlar arası *COI*, 823-886. nükleotid pozisyonlarının *tRNA lösün* ve 888-1341. pozisyonların ise *COII* gen bölgesine ait olduğu belirlenmiştir. Gen bölgelerinin ayrıştırılmasına dayalı olarak *tRNA lösün* bölgesi karakterizasyon analizlerinde dizilerden çıkarılmış ve kalan iki gen bölgesi kullanılmıştır.

Analiz edilen 585 bireye ait nükleotid konsensüs dizisi içerisinde 111 adet mutasyon, 108 polimorfik (değişken) pozisyon sayısı (*S*) ve 1233 adet değişken olmayan pozisyon bulunmuştur. Bu polimorfik pozisyonlardan parsimoni bilgi verici pozisyon sayısı 84'tür. Nükleotid değişimlerinin tanımlanması aşamasında altı kodon pozisyonu karmaşık olduğu için program tarafından analize dahil edilmemiş ve 105 nükleotid değişiminden 61 tanesi sinonim, 44 tanesi ise sinonim olmayan nükleotid değişimi olarak hesaplanmıştır. Diziler arasındaki nükleotid çeşitliliği $\theta_{TT} = 15,544$ (baz başına $0,01159 \pm 0,00237$), baz başına nükleotid çeşitliliği $P_i = 0,00371$ ve ikili nükleotid farklılıklarının ortalama sayısı $k = 4,981$ olarak belirlenmiştir. Baz başına nükleotid çeşitliliğini gösteren grafik incelendiği zaman nükleotid değişiminin en fazla 425-475. pozisyonlar arasında olduğu ve bu bölgenin *COI* geninin 5' ucuna ait olduğu gözlenmiştir (Şekil 3.2). Dizinin en korunmuş bölgesi ise 150-375. baz pozisyonları



a)



b)

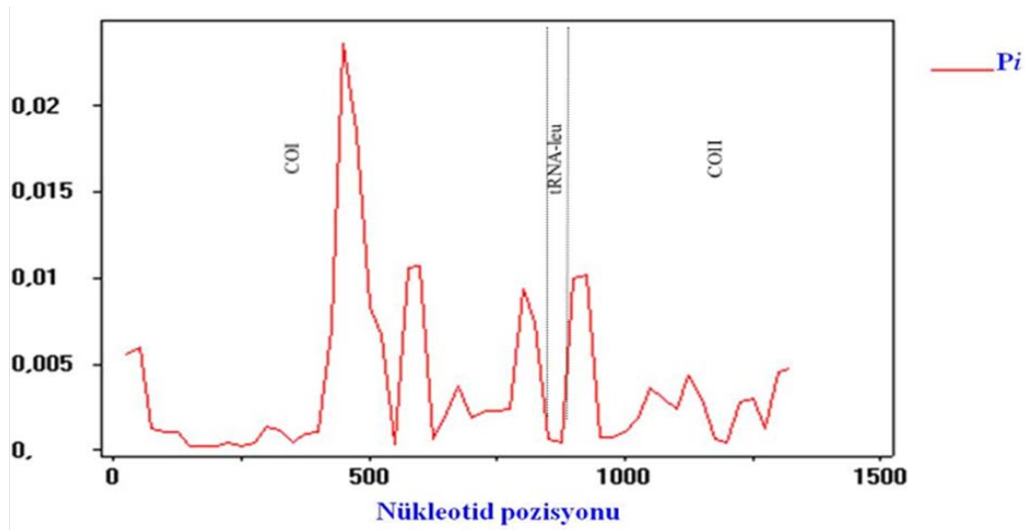


c)

Şekil 3.1 *C. parallelus* populasyonları habitat tercihi. Yüksek vadilerde (a) yer alan küçük ve izole çayırılık alanlar (b ve c).

arasında yer almıştır. tRNA lösin nükleotid dizisi (823-886. pozisyonlar arası) ise gen bölgesinin korunmuşluk düzeyi yüksek olan kısımları arasındadır. Nükleotid dizileri arasındaki farklılaşmada nötral süreçlerden bir uzaklaşma olup olmadığını belirleyebilmek amacıyla Tajima'nın D ve Fu'nun F_S değerleri hesaplanmıştır (Tajima 1989, Fu 1997). Tajima'nın D testi polimorfik pozisyonların frekanslarındaki dağılımları özetlemektedir ve anlamlılık sergileyen negatif değerler populasyonlarda nadir varyantların, pozitif değerler ise orta düzeyde frekansa sahip pozisyonların fazla bulunmasından kaynaklanmaktadır. Bu nedenle negatif D değeri son dönemde gözlenen bir pozitif seçilime ya da hızlı bir büyüme sergileyen populasyona işaret etmektedir. Halbuki pozitif D değeri ise populasyon yapılanmasının varlığına ya da dengeleyici seçilime işaret etmektedir (Pybus ve Shapiro 2009). Nötralite analizleri tüm populasyonlar üzerine gerçekleştirildiği zaman her iki test açısından da nötrallikten anlamlı derecede bir uzaklaşma gözlenmiştir ($D = -1,96048$ $p = 0,001$; $F_S = -24,68381$ p

= 0,000). Ancak Populasyon 2 (Erzurum-Horasan) populasyonuna ait bireylerin nükleotid farklılıkları oldukça yüksek olarak gözlemlendiği için bu populasyonun dahil edilmediği yeni bir analiz gerçekleştirilmiştir. Bu analiz sonucunda ise Tajima'nın D testi açısından bir anlamlılık gözlenmezken ($D = -1,20859$ $p = 0,092$), özellikle populasyonların ani büyümlerine karşı oldukça hassas olan ve böylesi durumlarda yüksek negatif değer vermesi beklenen F_u 'nun F_s değeri açısından nötraliteden anlamlı derecede bir uzaklaşma tespit edilmiştir ($F_s = -24,93145$ $p = 0,000$).

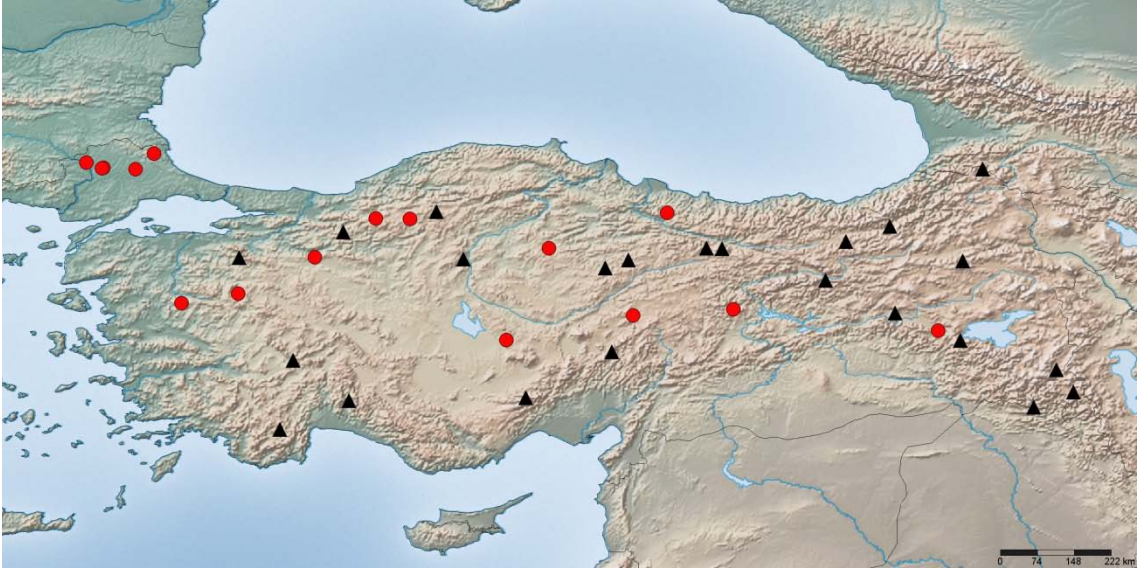


Şekil 3.2 COI-tRNA_{Leu}-COII gen bölgesi boyunca baz başına nükleotid çeşitliliği (P_i).

C. parallelus populasyonlarında mitokondri haplotip çeşitliliği yüksek olup ($H_d = 0,932 \pm 0,005$) 90 haplotip (H) elde edilmiştir (Ek 1). Bu aşamada haplotiplerin kodlanmasında çekirdek DNA belirteci ait haplotiplerle (Hap_...) karıştırılmaması için "Mit_..." kodlaması tercih edilmiştir. Haplotiplerin populasyonlar açısından dağılımları, Ek 2'de sunulmuştur. Haplotiplerin dağılımları incelendiği zaman herhangi bir populasyon tarafından paylaşılmayan haplotip sayısının $H_U = 71$, en az iki populasyon tarafından paylaşılan haplotip sayısının ise 19 olduğu gözlenmiştir (Şekil 3.3). Populasyonların % 41'i özgün haplotip içermemektedir (populasyon 11, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 22, 24, 26, 28, 29, 32, 33 ve 37). Populasyon 8 (Hakkari-Şemdinli) 13 haplotipin varlığıyla en yüksek sayıda haplotipe sahip populasyondur. Aynı zamanda bu populasyon, özgün haplotip sayısının en yüksek (12) olduğu populasyon olarak tespit edilmiştir. Haplotip çeşitliliği sergilemeyen, diğer bir deyişle tüm bireyleri tek bir haplotiple temsil edilen populasyonlar ise Populasyon 11 (Muş-Tatvan), Populasyon 32

(Kayseri-Şarkışla) ve Populasyon 33 (Ordu-Akkuş)'tür. Bulunma sıklığı en yüksek olan ilk iki haplotip sırasıyla Mit_9 ve Mit_11 haplotipleridir. Bu haplotiplerden Mit_9 populasyonların % 46,15 ve bireylerin ise % 18,6'sında temsil edilirken, Mit_11 ise populasyonların % 46,15 ve bireylerin %10,2'sinde bulunmuştur.

Nükleotid kompozisyonunun A + T yönünde eğilim sergilediği gözlenmiş olup, ortalama nükleotid yüzdesi toplamda sırasıyla A = 36,7; T = 35,7; G = 13,1; C= 14,4 bulunmuştur. Her bir kodon pozisyonu açısından A + T içeriği değişkenlik gösterdiği ve 1. pozisyonda % 60,9; 2. pozisyonda % 63,1 ve 3. pozisyonda ise % 92,2 oranında olduğu belirlenmiştir. 3. kodon pozisyonunda en düşük oranda nükleotid G (% 1,3) ve en yüksek oranda ise A nükleotidi (% 54,1) gözlenmiştir. T ve C nükleotidlerinin en yüksek sıklıkları ikinci kodon pozisyonunda bulunmuştur (T = % 41; C = % 21,6). Haplotipler arasında 43 aminoasit değişimi gözlenmiştir (Şekil 3.4). Bu değişimler genellikle Prolin-Serin, Fenilalanin-Treonin ya da Treonin-Alanin gibi hidrofobik aminoasitler arasında gerçekleşmiştir. Populasyon 42 (Erzurum-Horasan) aminoasit değişimlerinin en sık gözlemlendiği populasyondur.



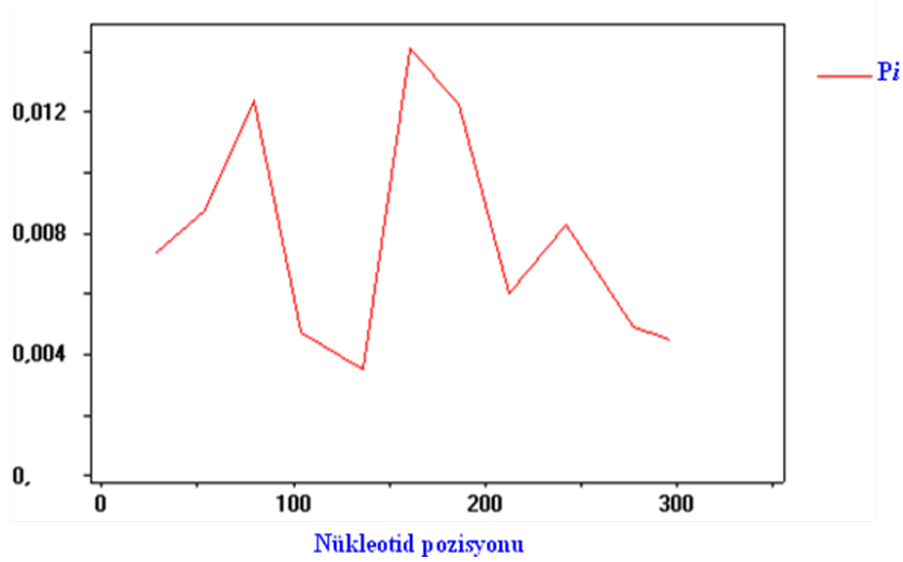
Şekil 3.3 *C. parvulus* populasyonlarının mitokondri haplotip paylaşımlarına göre dağılımı (● Haplotiplerinin tümünü paylaşan populasyonlar ▲ Özgün haplotip içeren populasyonlar)

3.2.2 *Cpnl-1* Çekirdek DNA Belirteci

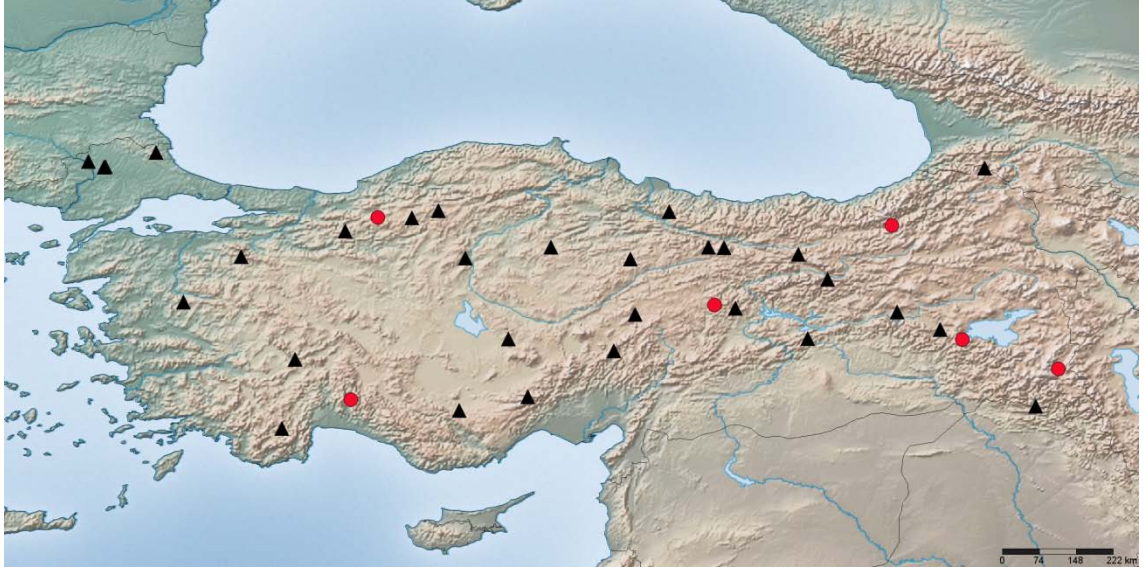
Cpnl-1 gen bölgesi 36 populasyon ve 536 bireyde elde edilen nükleotid dizileri kullanılarak analiz edilmiştir. Analizlere dahil edilemeyen populasyonlar Hakkari-Şemdinli (8), Tekirdağ-Lüleburgaz (16), Kırklareli-Pınarhisar (17), Kütahya-Çavdar (20), Eskişehir-Sarıcakaya (22), Yozgat-Sorgun (30) ve Bayburt-İspir (40)'dir. Kodlama yapmayan tek kopyalı bir fragman olan *Cpnl-1*'in 532 bireye ait 314 baz çiftlik konsensüs dizisi çoklu baz tekrarlı ve indel pozisyonları içeren oldukça polimorfik bir bölge olarak gözlenmiştir. Nükleotid dizileri arasında 34 pozisyon parsimoni açısından bilgi verici olmak üzere toplam polimorfik pozisyon sayısı $S = 52$ olup 27 adet indel içermektedir. İndel pozisyonları değerlendirildiği zaman 8-10. pozisyonlar arasında ACT, 127-129. pozisyonlar arasında TAT, 130-133 pozisyonlar arasında TACT ya da TAGT, 209. pozisyonda A, 217-218. pozisyonlarda AA, 219-221. pozisyonlar arasında CTT ve 257-266. pozisyonlar arasında ise GAG, GAGA ya da GAGACAGAGA değişimleri gözlenmiştir (Şekil 3.5). Diziler arasındaki nükleotid çeşitliliği $\theta_{TT} = 7,588$ (baz başına $0,02644 \pm 0,00367$), baz başına nükleotid çeşitliliği $P_i = 0,00371 \pm 0,00034$ ve ikili nükleotid farklılıklarının ortalama sayısı $k = 2,358$ olarak belirlenmiştir. Baz başına nükleotid çeşitliliğini gösteren grafik incelendiği zaman nükleotid değişiminin 314 baz çiftlik fragmanın neredeyse tümü açısından değişken olduğu gözlenmiştir (Şekil 3.5).

Analiz edilen 532 nükleotid dizisi içerisinde haplotip çeşitliliği yüksek olup ($H_d = 0,9445 \pm 0,005$) 143 haplotip (H) bulunmuştur. Bu haplotipler Ek 3'te verilmiş ve haplotiplerin populasyonlarda dağılımları ise Ek 4'de gösterilmiştir. Haplotiplerin populasyonlarda dağılımları değerlendirildiğinde herhangi bir populasyon tarafından paylaşılmayan, sadece ilgili populusyona özgün haplotip sayısı $H_U = 103$ (toplam haplotiplerin % 72'si), en az iki populasyon tarafından paylaşılan haplotip sayısı ise 40 (% 28) olarak gözlenmiştir. Özgün haplotip sayısı açısından zengin olan *C. parallelus* populasyonları, toplam populasyonlarının sadece %16,66 sında tüm haplotiplerini en az bir populasyonla paylaşmaktadır (Şekil 3.6). Bu populasyonlar arasında Populasyon 4 (Konya-Beyşehir), 7 (Van-Hakkari), 13 (Bitlis-Tatvan), 24 (Bolu-Kartalkaya), 36 (Malatya-Hekimhan) ve 41 (Erzurum-İspir) yer almaktadır. Populasyon 27 (Kırıkkale-Ankara) 16 haplotiple en yüksek sayıda haplotip içeren populasyon olarak gözlenmiştir. Bu populasyonu 14 haplotiple Populasyon 23 (Bolu-Nallıhan) takip

etmiştir. Populasyon 21 (Bursa-Keleş) ise özgün haplotip sayısının en yüksek olduğu (dokuz haplotipin sekizi) populasyon olarak tespit edilmiştir. Ayrıca haplotiplerinin tümü özgün olan populasyonlar arasında Populasyon 18 (Kırklareli-Lüleburgaz) ve 19 (Manisa-Gördes) yer almaktadır. Haplotip çeşitliliğinin en düşük oranda (iki) gözleendiği populasyonlar içerisinde Populasyon 13 (Bitlis-Tatvan), 28 (Çorum-Alaca), 36 (Malatya-Hekimhan), 41 (Erzurum-İspir) ve 42 (Erzurum-Horasan) yer almıştır. Bulunma sıklığı en yüksek olan ilk iki haplotip sırasıyla Hap_1 ve Hap_3 haplotipleridir. Bu haplotiplerden Hap_1 populasyonların % 58,3'ünde 93 bireyle, Hap_3 ise populasyonların % 41,7'sinde 51 bireyle temsil edilmiştir. Birey açısından bulunma sıklığı yüksek (45 birey) olarak gözlenen bir diğer haplotip ise Hap_38'dir. Bu haplotipin populasyonlarda bulunma sıklığı ise % 13,9 oranındadır.



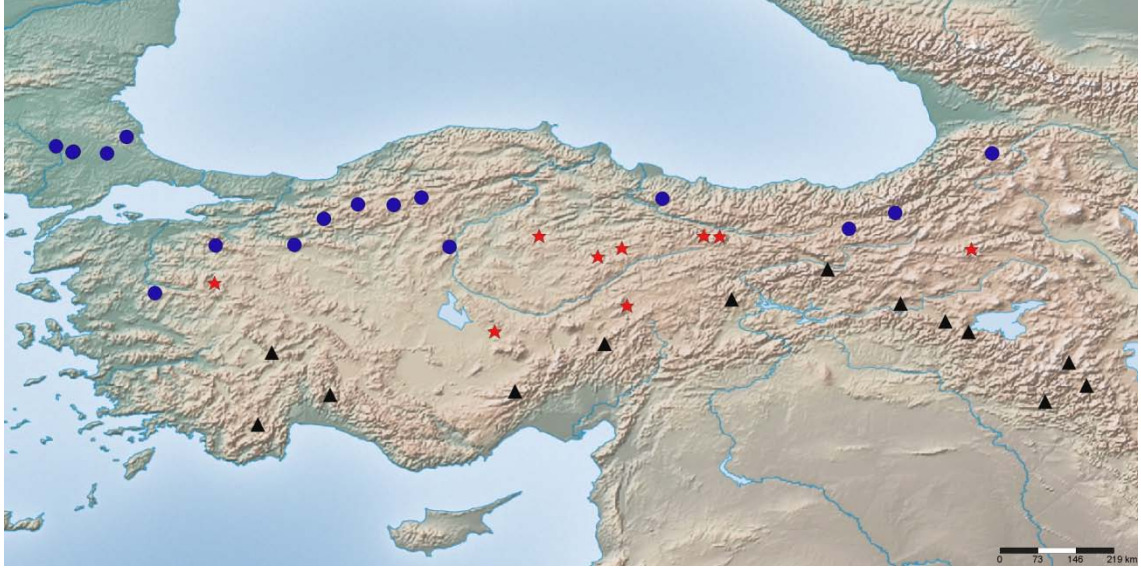
Şekil 3.5 *Cpn1-1* gen bölgesi boyunca baz başına nükleotid çeşitliliği (P_i)



Şekil 3.6 *C. parallelus* populasyonlarının çekirdek DNA haplotip paylaşımlarına göre dağılımı (● Haplotiplerinin tümünü paylaşan populasyonlar ▲ Özgün haplotip içeren populasyonlar)

C. parallelus populasyonlarında her iki gen belirteci açısından ayrı ayrı olmak üzere haplotip çeşitliliğinin Anadolu biyocoğrafik yapılanmalarına karşı yayılışlarını test etmek amacıyla üç farklı analiz gerçekleştirilmiştir.

Analiz 1: Anadolu Toridler, Anatolidler ve Pontidler olmak üzere üç ana parçaya ayrılmıştır. Bu tektonik yapılanmada yer alan populasyonlar Şekil 3.7’de gösterilmiştir. Herbir kümelemeye ait populasyon, birey ve haplotip bilgileri Tablo 2’de sunulmuştur. Analiz aşamasında her bir parçada yer alan populasyonların, bireylerin, haplotiplerin, özgün ve paylaşılan haplotiplerin toplamdaki sayılarına yüzde oranları hesaplanarak Şekil 3.8’deki grafikler elde edilmiştir. Mitokondri DNA belirteci bazında populasyonların ve bireylerin bulunma oranları sırasıyla Pontidler, Toridler ve Anatolidler iken, çekirdek DNA belirtecinde ise Toridler, Pontidler ve Anatolidler şeklindedir. Ancak populasyon ve birey sayısına oranla, en fazla haplotip ve özgün haplotip sayısına sahip kısım, mitokondri haplotipleri açısından Toridler, *Cpnl-1* haplotipleri açısından ise Pontidler olarak tespit edilmiştir. Her iki belirteç açısından en az sayıda çeşitlilik sergileyen kısım ise Anatolidler’dir. Paylaşılan haplotipler temelinde değerlendirildiğinde biyocoğrafik birimler arasında paylaşılan haplotiplerin büyük bir kısmının mitokondri DNA açısından Anatolidler (% 54,16, Tablo 2a), çekirdek DNA açısından ise Pontidler (%94,11, Tablo 2b) biriminde olduğu gözlenmiştir.



Şekil 3.7 Anadolu tektonik birimlerine göre *C. parallelus* populasyonlarının yayılışları (▲ Toridlerde yayılış sergileyen populasyonlar, ★ Anatolidlerde yayılış sergileyen populasyonlar, ● Pontidlerde yayılış sergileyen populasyonlar)

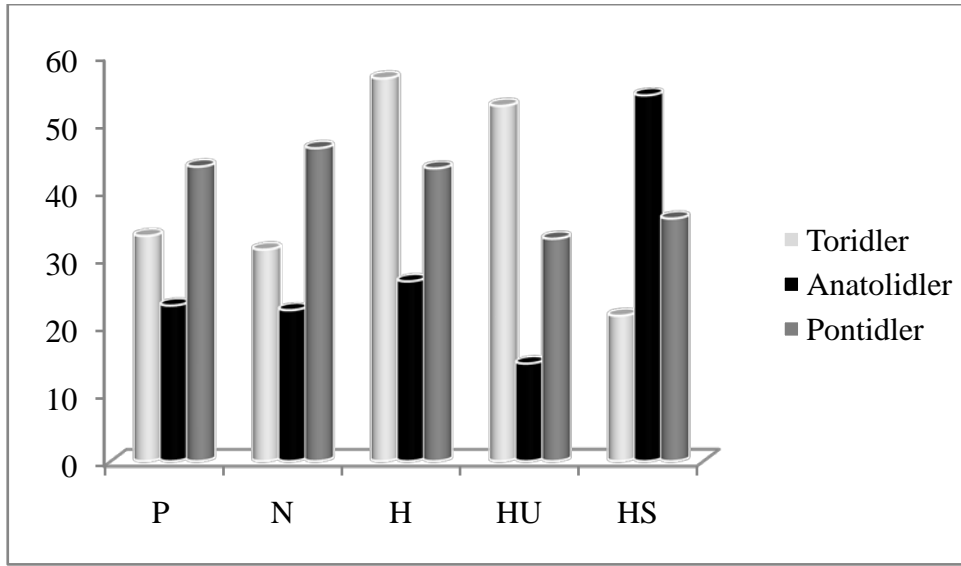
Tablo 2. Anadolu tektonik birimlerine göre *C. parallelus* populasyonlarının yayılışları, populasyonların sayısı (P), toplam birey sayısı (N), haplotiplerin sayısı (H), özgün haplotip sayısı (H_U) ve paylaşılan haplotip sayısı (H_S)

a) Mitokondri DNA belirteci temelinde

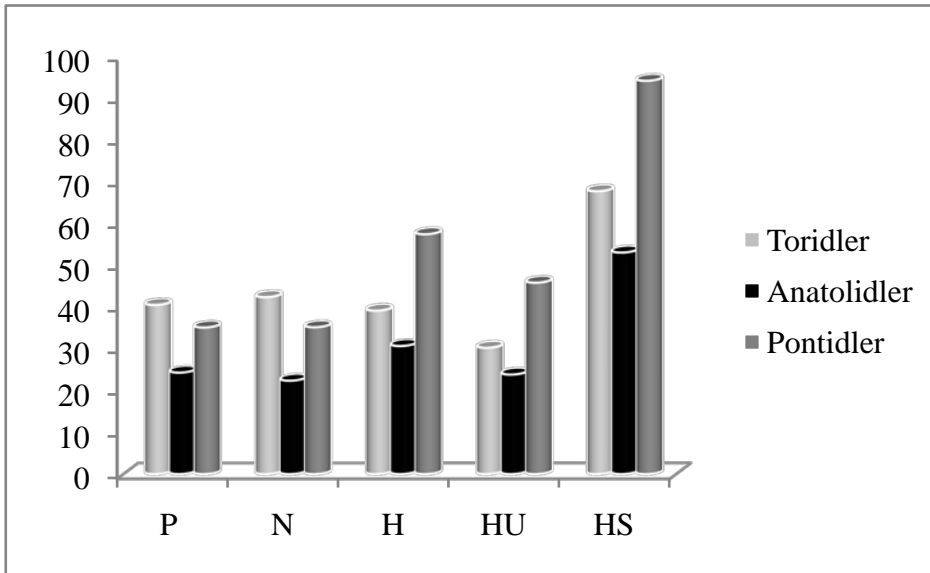
	Toridler	Anatolidler	Pontidler
Populasyonlar	1, 2, 3, 4, 6, 7, 8, 9, 11, 12, 13, 37, 39	20, 28, 29, 30, 31, 32, 34, 35, 42	14, 15, 16, 17, 18, 19, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 33, 40, 41, 43
P	13	9	17
N	183	131	271
H	51	24	39
H_U	40	11	25
H_S	11	13	14

b) *Cpnl-1* belirteci bazında

	Toridler	Anatolidler	Pontidler
Populasyonlar	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 9, 10, 11, 12, 13, 36, 37, 39	28, 29, 31, 32, 34, 35, 38, 42	14, 15, 18, 19, 21, 23, 24, 25, 26, 27, 33, 41, 43
P	15	8	13
N	235	124	195
H	56	44	82
H_U	33	26	50
H_S	23	18	32



a) *COI-tRNA_{leu}-COII* belirteci bazında

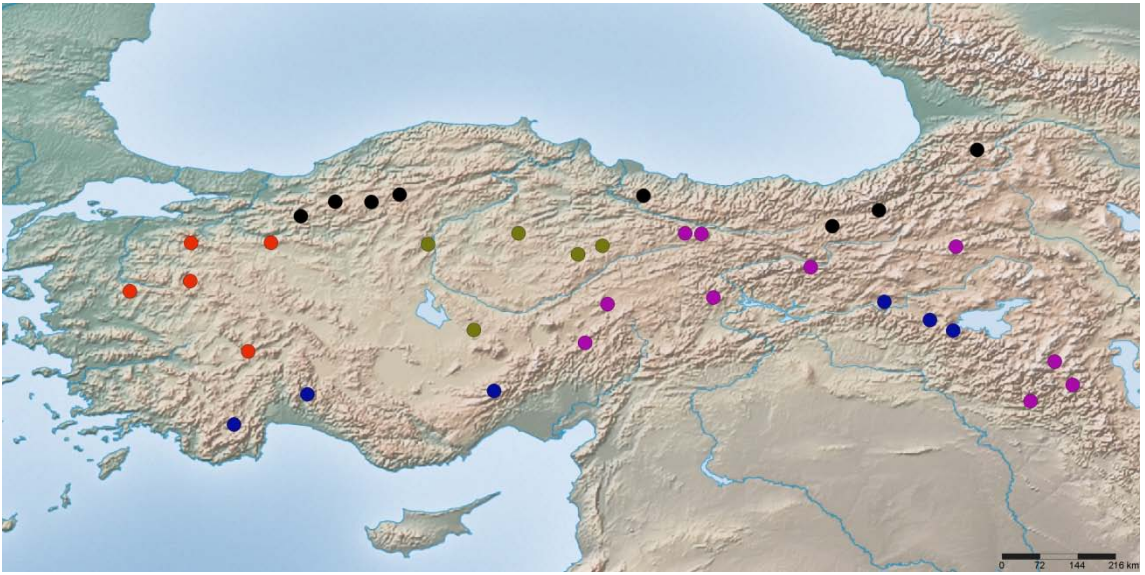


b) *Cpn1-1* belirteci bazında

Şekil 3.8 Anadolu tektonik birimlerine göre genetik çeşitliliğin dağılımı.

Analiz 2: Bu analizde Anadolu Ege Anadolu, Akdeniz Anadolu, Doğu Anadolu, Karadeniz Havzası ve Orta Anadolu olmak üzere toplam beş biyocoğrafik bölgeye ayrılmıştır (Şekil 3.9). Analize çalışma alanının Trakya parçasında kalan populasyonlar (14, 15, 16, 17, 18) dahil edilmemiştir. Herbir kümelemeye ait populasyon, birey ve haplotip bilgileri Tablo 3'te sunulmuştur. Analiz aşamasında her bir biyocoğrafik birimde yer alan populasyonların, bireylerin, haplotiplerin özgün ve paylaşılan haplotiplerin toplam yayılış örüntülerindeki sayılarına yüzde oranları hesaplanarak Şekil 3.10'daki grafikler elde edilmiştir. Mitokondri DNA belirteci bazında haplotip ve özgün

haplotip çeşitliliği en fazla Doğu Anadolu (43 haplotip ve 34 özgün haplotip) ve Karadeniz Havzası'nda (31 haplotip ve 15 özgün haplotip) gözlenmiştir (Tablo 3a). Bu bölgeler arasında paylaşılan haplotiplerin büyük bir çoğunluğu Karadeniz Havzası'na (% 94,11) aittir. Diğer taraftan çekirdek DNA belirteci bazında birimlerdeki genetik çeşitlilik farklılıklar göstermiştir (Tablo 3b). Populasyon ve birey sayısı açısından benzer ilişki olmasına rağmen toplam haplotip ve özgün haplotip çeşitliliği en fazla Karadeniz Havzası'nda (52 haplotip ve 31 özgün haplotip) gözlenmiştir. Paylaşılan haplotiplerin büyük bir çoğunluğu mitokondri DNA belirtecine benzer bir örüntü ile Karadeniz Havzası'na (% 75) aittir.



Şekil 3.9 Anadolu biyocoğrafik birimlerine (Çıplak 2008) göre *C. parallelus* populasyonlarının yayılışları (● Ege Anadolu'sunda yayılış sergileyen populasyonlar, ● Akdeniz Anadolu'sunda yayılış sergileyen populasyonlar, ● Doğu Anadolu'da yayılış sergileyen populasyonlar, ● Karadeniz Havzası'nda yayılış sergileyen populasyonlar, ● Orta Anadolu'da yayılış sergileyen populasyonlar)

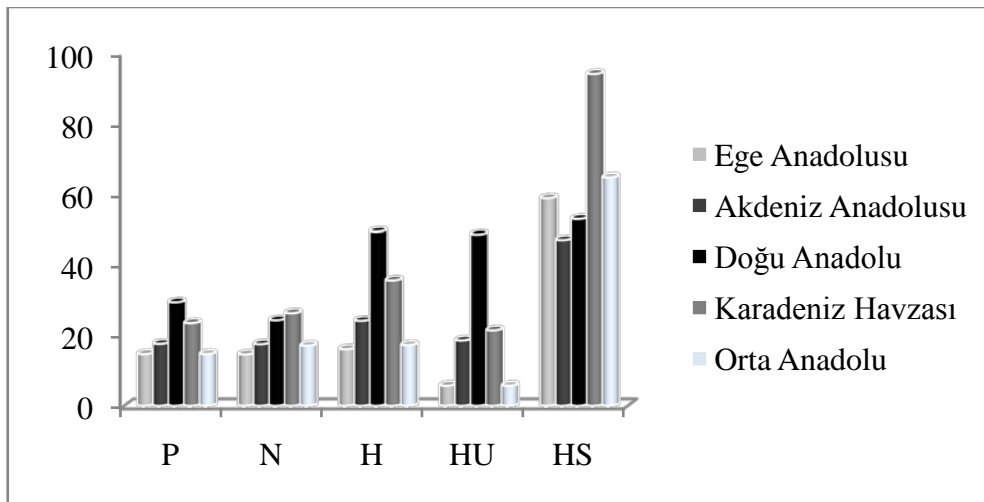
Tablo 3. Beş ana biyocoğrafik bölge bazında Anadolu *C. parallelus* populasyonlarının yayılışları, populasyonların sayısı (*P*), toplam birey sayısı (*N*), haplotiplerin sayısı (*H*), özgün haplotip sayısı (*H_U*) ve paylaşılan haplotip sayısı (*H_S*)

a) *COI-tRNA^{Leu}-COII* belirteci bazında

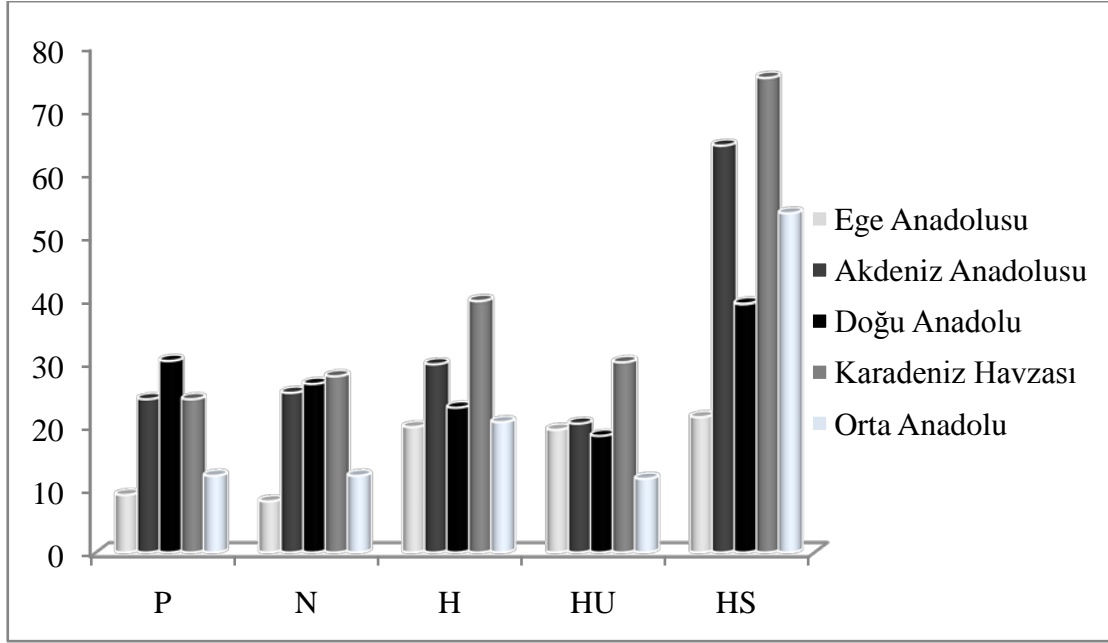
	Ege Anadolu	Akdeniz Anadolu	Doğu Anadolu	Karadeniz Havzası	Orta Anadolu
Populasyonlar	6, 19, 20, 21, 22	2, 3, 4, 11, 12, 13	1, 7, 8, 9, 32, 34, 35, 37, 39, 42	23, 24, 25, 26, 33, 40, 41, 43	27, 28, 29, 30, 31
<i>P</i>	5	6	10	8	5
<i>N</i>	75	90	125	135	88
<i>H</i>	14	21	43	31	15
<i>H_U</i>	4	13	34	15	4
<i>H_S</i>	10	8	9	16	11

b) *Cpnl-1* belirteci bazında

	Ege Anadolu	Akdeniz Anadolu	Doğu Anadolu	Karadeniz Havzası	Orta Anadolu
Populasyonlar	6, 19, 21	2, 3, 4, 5, 10, 11, 12, 13	1, 7, 9, 32, 34, 35, 36, 37, 39, 42	23, 24, 25, 26, 33, 38, 41, 43	27, 28, 29, 31
<i>P</i>	3	8	10	8	4
<i>N</i>	40	125	132	138	60
<i>H</i>	26	39	30	52	27
<i>H_U</i>	20	21	19	31	12
<i>H_S</i>	6	18	11	21	15



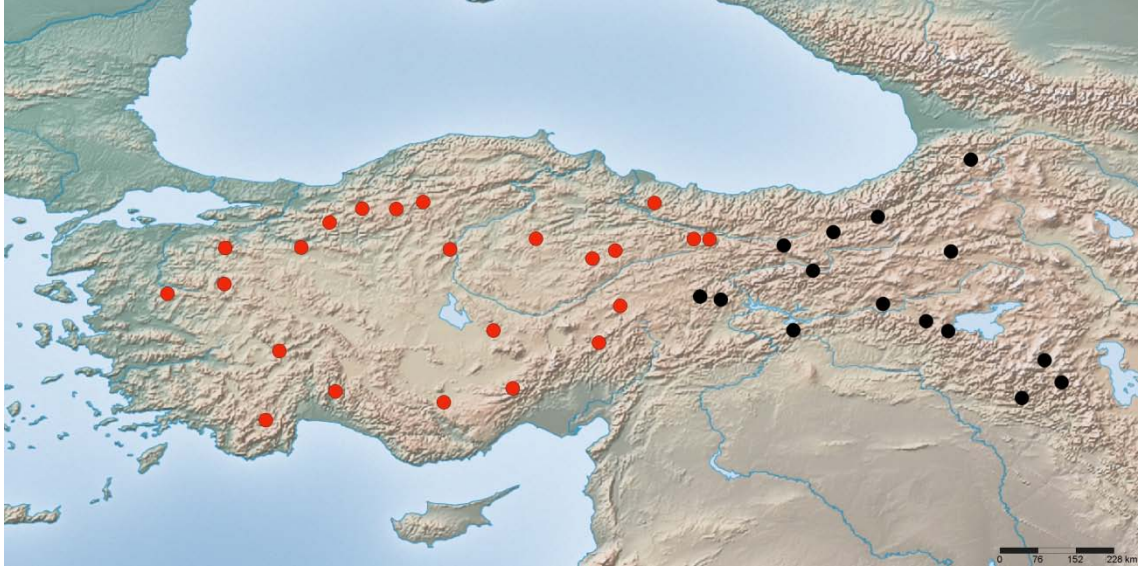
a) *COI-tRNA^{Leu}-COII* belirteci bazında



b) *Cpnl-1* belirteci bazında

Şekil 3.10 Anadolu biyocoğrafik birimlerine göre genetik çeşitliliğin dağılımı.

Analiz 3: Bu analizde Anadolu Diyagonalı'nın doğusu ve batısı olmak üzere Anadolu iki ana biyocoğrafik birime ayrılmıştır (Şekil 3.11). Analize çalışma alanınının Trakya parçasında kalan popülasyonlar (14, 15, 16, 17, 18) dahil edilmemiştir. Herbir kümelemeye ait popülasyon, birey ve haplotip bilgileri Tablo 4'te sunulmuştur. Analiz aşamasında diyagonalin doğu ve batı birimlerinde yer alan popülasyonların, bireylerin, haplotiplerin, özgün haplotiplerin toplam yayılış örüntülerindeki sayılarına yüzde oranları hesaplanarak Şekil 3.12'deki grafikler elde edilmiştir. Analiz kapsamında diyagonalin doğusunda yer alan popülasyon ve birey sayısı batısına oranla yarı yarıya daha az sayıda iken, mitokondri DNA bazında haplotip ve özgün haplotip çeşitliliği doğu kısmında (55 haplotip, 46 özgün haplotip) batı kısmından (41 haplotip, 32 özgün haplotip) daha fazla sayıda gözlenmiştir (Tablo 4a). Mitokondri DNA belirtecinde gözlenen değerlerin tersine, çekirdek DNA bazında diyagonalin batısında bariz bir haplotip çeşitliliği (106 haplotip, 95 özgün haplotip; Tablo 4b) dikkat çekmektedir.



Şekil 3.11 Anadolu Diyagonali'ne göre *C. parallelus* populasyonlarının yayılışları (Anadolu Diyagonali'nin doğusunda ■ ve batısında ■ yayılış sergileyen populasyonlar)

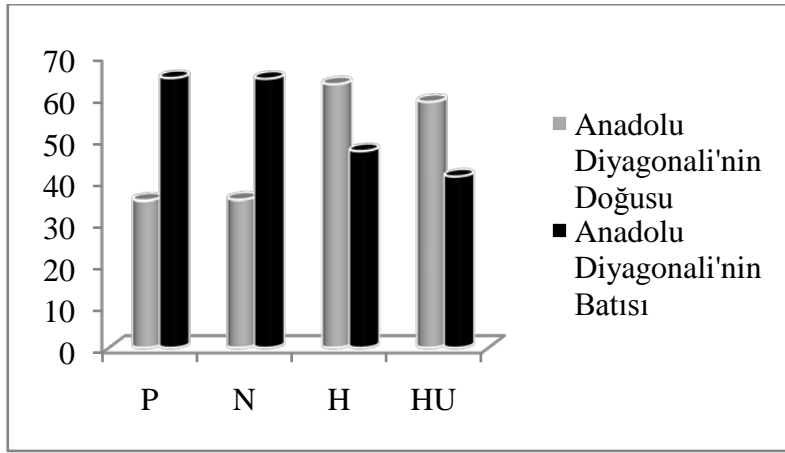
Tablo 4. Anadolu Diyagonali'nin doğu ve batı kısımlarında *C. parallelus* populasyonlarının yayılışları, populasyonların sayısı (P), toplam birey sayısı (N), haplotiplerin sayısı (H), özgün haplotip sayısı (H_U) ve paylaşılan haplotip sayısı (H_S)

a) *COI-tRNA^{Leu}-COII* belirteci bazında

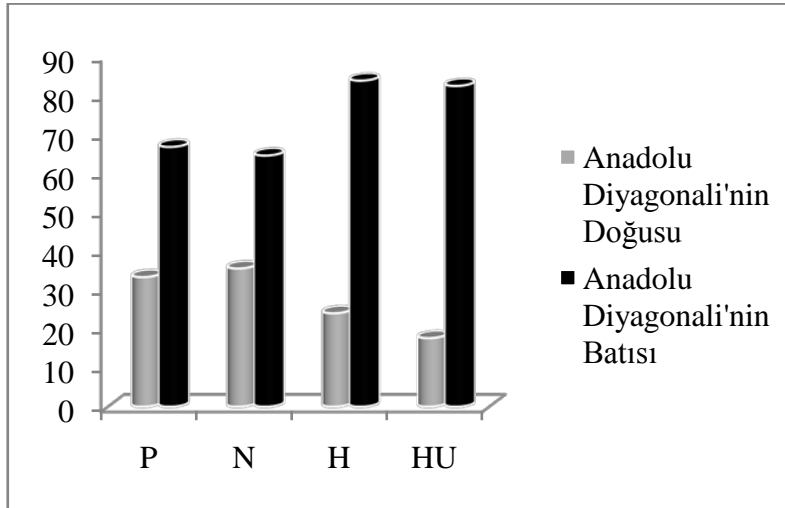
	Anadolu Diyagonali'nin Doğusu	Anadolu Diyagonali'nin Batısı
Populasyonlar	7, 8, 9, 11, 12, 13, 37, 39, 40, 41, 42, 43	1, 2, 3, 4, 6, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35
P	12	22
N	182	331
H	55	41
H_U	46	32
H_S	9	9

b) *Cpnl-1* belirteci bazında

	Anadolu Diyagonali'nin Doğusu	Anadolu Diyagonali'nin Batısı
Populasyonlar	7, 9, 10, 11, 12, 13, 37, 38, 39, 41, 42, 43	1, 2, 3, 4, 5, 6, 19, 21, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 31, 32, 33, 34, 35, 36
P	12	21
N	190	305
H	34	106
H_U	23	95
H_S	11	11



a) *COI-tRNA^{Leu}-COII* belirteci bazında



b) *Cpnl-1* belirteci bazında

Şekil 3.12 Anadolu Diyagonali'ne göre genetik çeşitliliğin dağılımı. *C. parallelus* populasyonlarının (P), toplam birey sayısının (N), haplotiplerin sayısının (H) ve özgün haplotip sayısı (H_U)'nın toplam sayılarına yüzdeleri

Hem mitokondri hem de çekirdek DNA açısından populasyonların barındırdığı genetik çeşitlilik parametreleri (H , P_i , H_U) üzerine enlem, boylam ve yükseklik gibi coğrafik lokasyon parametrelerinin etkilerini değerlendirmek üzere regresyon analizleri gerçekleştirilmiştir. Bu analizler sonucunda her iki belirteç açısından da coğrafik lokasyon parametrelerinin genetik çeşitlilik üzerine benzer etkiler sergilediği tespit edilmiştir. Enlemsel farklılaşmanın populasyonların içerdikleri genetik çeşitlilik üzerine anlamlı bir etkisi bulunamamıştır [mitokondri DNA'sı için ($p = 0,275$), çekirdek DNA için ($p = 0,537$) Tablo 5a ve Tablo 6a]. Diğer taraftan hem boylam hem de yükseklik gibi coğrafik parametrelerin her iki belirteç açısından da populasyonlarda gözlenen genetik çeşitlilik üzerine anlamlı bir etkisi gözlenmiştir (Tablo 5bc ve Tablo 6bc).

Tablo 5. Mitokondri DNA belirteci açısından analiz edilen populasyonlardaki genetik çeşitlilik üzerine (H , P_i , H_U) enlem (a), boylam (b) ve yüksekliğin (c) etkisini araştıran regresyon testleri. ($p < 0,05$)

a) Enlem

Kaynak	df	SS	MS	F değeri	p-değeri
Regression	3	7,45092238	2,48364079	1,34702	0,275
Residual	35	64,53277008	1,84379343		
Total	38	71,98369246			

b) Boylam

Kaynak	df	SS	MS	F değeri	p-değeri
Regression	3	417,015904	139,005301	6,46056	0,001
Residual	35	753,0586381	21,5159611		
Total	38	1170,074542			

c) Yükseklik

Kaynak	df	SS	MS	F değeri	p-değeri
Regression	3	2051477,574	683825,858	3,17521	0,036
Residual	35	7537722,17	215363,491		
Total	38	9589199,744			

Tablo 6. Çekirdek DNA belirteci açısından analiz edilen populasyonlardaki genetik çeşitlilik üzerine (H , P_i , H_U) enlem (a), boylam (b) ve yüksekliğin (c) etkisini araştıran regresyon testleri. ($p < 0,05$)

a) Enlem

Kaynak	df	SS	MS	F değeri	p-değeri
Regression	3	4,18745285	1,39581762	0,7381834	0,537
Residual	32	60,5082198	1,89088187		
Total	35	64,69567265			

b) Boylam

Kaynak	df	SS	MS	F değeri	p-değeri
Regression	3	357,1843881	119,061463	6,67095	0,001
Residual	32	571,1273209	17,8477288		
Total	35	928,311709			

c) Yükseklik

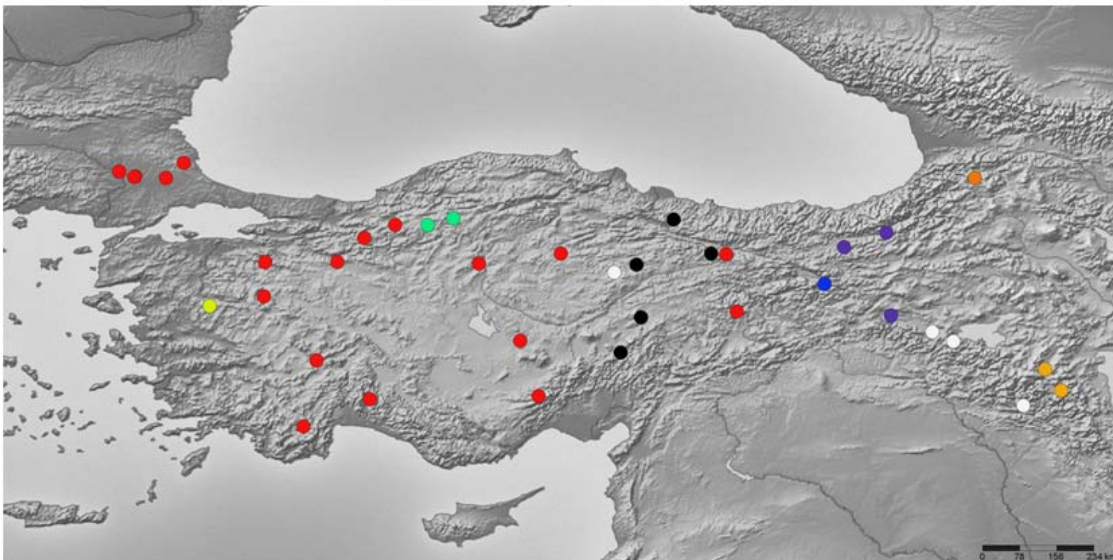
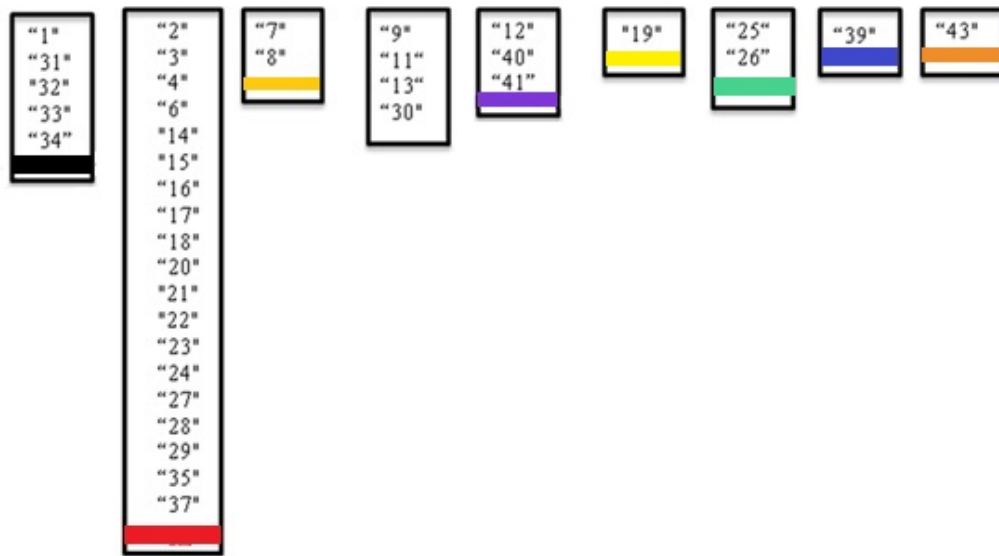
Kaynak	df	SS	MS	F değeri	p-değeri
Regression	3	3029645,37	1009881,79	5,51094	0,004
Residual	32	5864009,38	183250,293		
Total	35	8893654,75			

3.3 Coğrafik Genetik Yapılanma

Populasyonların coğrafik yayılış örüntüleri ve populasyonlar arası varyasyon oranı arasında bir ilişki bulunup bulunmadığını araştırmak üzere moleküler varyansın mekansal analizleri (SAMOVA) her iki belirteç için ayrı ayrı yapılmıştır. Analizlere genetik farklılaşma oranı yüksek olan Populasyon 42 (Erzurum-Horasan) dahil edilmemiştir. İlk olarak mitokondri DNA belirtecine göre *C. parallelus* populasyonlarında total genetik varyans oranının maksimum düzeye ulaştığı ($\Phi_{CT} = 63,16$; $p = 0,000$) gruplandırma sayısı ($K = 9$) varyans değerleri ile birlikte Tablo 7’de ve Şekil 3.13’te gösterilmiştir. Populasyonların yayılışları genel olarak homojen görülmekle birlikte Anadolu’nun topografik yapısıyla da bir dereceye kadar bağlantılı çıkmıştır.

Tablo 7. Mitokondri DNA belirteci açısından SAMOVA sonuçları (Φ istatistiklerinin anlamlılık düzeyleri 1000 rastgele permütasyon tarafından tahmin edilmiştir. $p < 0,05$)

Varyasyonun Kaynağı	df	SS	% Varyasyon	p- değeri
Gruplar arasında (Φ_{CT})	8	724,935	63,16	0.0000 \pm 0.0000
Grup içi popülasyonlar arasında (Φ_{SC})	29	99,592	6,39	0.0000 \pm 0.0000
Popülasyonlar içinde (Φ_{ST})	541	440,901	30,45	0.0000 \pm 0.0000
Toplam	578	1265,428	30,45	



Şekil 3.13 *COI-tRNA^{Leu}-COII* belirteci açısından SAMOVA sonuçları (Moleküler varyansın en yüksek düzeyde gözlemlendiği popülasyon grupları ve harita üzerinde dağılımları)

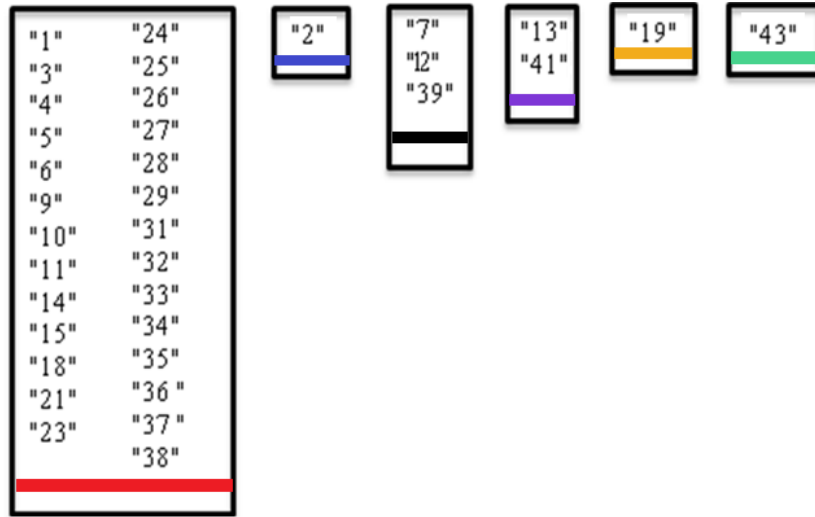
Çekirdek DNA belirteci kullanılarak gerçekleştirilen SAMOVA analiz sonuçlarına göre *C. parallelus* populasyonlarında total genetik varyans oranının maksimum düzeye ulaştığı ($\Phi_{CT} = 35,08$; $p = 0,000$) gruplandırma sayısı ($K = 6$) varyans değerleri ile birlikte Tablo 8’de sunulmuş ve Şekil 3.14’te gösterilmiştir. Mitokondri yapılanmasının tersine bu belirteç açısından varyasyonun büyük bir kısmı gruplar arasından ziyade populasyon içi varyasyondan ($\Phi_{ST} = 52,23$) kaynaklandığı gözlenmiştir. Populasyonların yayılışları genel olarak homojen görülmekle birlikte bazı izole populasyonların varlığına işaret etmektedir.

Populasyonlar arasında genetik farklılaşma düzeylerinin belirlenebilmesi amacıyla ikili F_{ST} ve θ_{ST} indekslerinden yararlanılmıştır. Mitokondri DNA belirteci bazında ikili F_{ST} değerleri populasyonlar arasında genetik farklılaşmanın bariz bir biçimde yüksek olduğuna (toplam $F_{ST} = 0,621$) işaret etmiştir (Tablo 9). F_{ST} değerleri -0,08 ile 1,00 arasında değişkenlik sergilemiştir. Bu değer 39 populasyonun ikili karşılaştırmaları, farklılaşmanın özellikle Populasyon 42 (Erzurum-Horasan)’den kaynaklandığını göstermiştir. Populasyon 42 tüm diğer populasyonlardan anlamlı derecede ($p = 0,000$) farklılaşmaya sahiptir. Populasyonlar arasında farklılaşmanın en yüksek (F_{ST} değeri = 1,00) olarak gözlemlendiği ikili populasyonlar arasında Populasyon 32 (Kayseri-Şarkışla) ile 33 (Ordu-Akkuş) ve Populasyon 11 (Muş-Tatvan) ile Populasyon 32 ve 33 sayılabilir. İkili F_{ST} değerinin en düşük olduğu ($F_{ST} = -0,08$) populasyon çifti ise Populasyon 2 (Niğde-Ulukışla) ile 3 (Antalya-Saklıkent) olarak belirlenmiştir. Populasyonlar arasında genetik farklılaşmanın bir diğer göstergesi olan θ_{ST} populasyonlarda haplotiplerin bulunma sıklıklarından hareketle populasyonlar arasında ikili genetik farklılaşma değerlerini belirleyen F_{ST} parametresinden farklılık sergilemektedir. θ_{ST} değerinin belirlenmesinde haplotip sıklıklarının tersine nükleotid düzeyinden hareket edilmekte ve bu nedenle özellikle akraba populasyonlar arasındaki genetik farklılaşmanın belirlenmesinde daha bilgi verici olduğu bilinmektedir. Bu amaçla populasyonlar arası ikili F_{ST} değerlerinin yanı sıra θ_{ST} değerleri de hesaplanmıştır. *C. parallelus* populasyonları arasında genetik farklılaşmanın F_{ST} değerlerinin aksine daha düşük olduğuna işaret etmiştir (Tablo 10). θ_{ST} değerleri -0,048 ile 1,000 arasında değişkenlik sergilemiştir. Populasyonlar arasındaki ikili farklılaşma durumları değerlendirildiği zaman F_{ST} değerlerinden elde edilen bulgulardan bazı

sapmalar göstermiştir. Ancak kendi içerisinde değişkenlik sergilese de F_{ST} değerlerine benzer bir şekilde, genetik farklılaşma özellikle Populasyon

Tablo 8. Çekirdek DNA belirteci açısından SAMOVA sonuçları (Φ istatistiklerinin anlamlılık düzeyleri 1000 rastgele permütasyon tarafından tahmin edilmiştir. $p < 0,05$)

Varyasyonun Kaynağı	df	SS	% Varyasyon	p- değeri
Gruplar arasında (Φ_{CT})	5	299.084	35,08	0.0000 \pm 0.0000
Grup içi populasyonlar arasında (Φ_{SC})	29	264.141	12,68	0.0000 \pm 0.0000
Populasyonlar içinde (Φ_{ST})	496	949.184	52,23	0.0000 \pm 0.0000
Toplam	530	1512.409		



Şekil 3.14 Çekirdek DNA belirteci açısından SAMOVA sonuçları (Moleküler varyansın en yüksek düzeyde gözlemlendiği populasyon grupları ve harita üzerinde dağılımları)

11, 32 ve 33'ten kaynaklanmıştır. Populasyon 33 (Ordu-Akkuş) tüm diğer populasyonlardan anlamlı derecede ($p = 0,000$) farklılaşmaya sahiptir. Populasyon 42 (Erzurum-Horasan)'nin diğer populasyonlarla ikili karşılaştırmaları değerlendirildiği zaman genetik farklılaşma düzeyi çok yüksek olmasa da Populasyon 1 ve 3 hariç tüm diğer populasyonlarla anlamlı derecede ($p = 0,000$) farklılaşmaya sahip olduğu gözlenmiştir. Populasyonlar arasında farklılaşmanın en yüksek (θ_{ST} değeri = 1,00) olarak gözlendiği ikili populasyonlar arasında Populasyon 32 (Kayseri-Şarkışla) ile 33 (Ordu-Akkuş) ve Populasyon 11 (Muş-Tatvan) ile Populasyon 32 ve 33 sayılabilir. İkili θ_{ST} değerinin en düşük olduğu populasyon çiftleri ise Populasyon 3 (Antalya-Saklıkent) ile 4 (Konya-Beyşehir) ($\theta_{ST} = -0,048$), Populasyon 3 (Antalya-Saklıkent) ile 24 (Bolu-Kartalkaya) ($\theta_{ST} = -0,045$) ve Populasyon 2 (Niğde-Ulukışla) ile 3 (Antalya-Saklıkent) ($\theta_{ST} = -0,044$) olarak belirlenmiştir. Bu populasyonlar arasındaki istatistiksel açıdan anlamlılık sergilemeyen genetik farklılaşma değerleri benzer şekilde ikili F_{ST} değerlerinde de gözlenmiştir.

Tablo 9. Populasyonlar arasında genetik farklılaşma düzeylerini gösteren mitokondri DNA bazlı ikili F_{ST} değerleri [$p = 0,000 (+)$]

	1	2	3	4	6	7	8	9	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
1		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2	0,325		-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-
3	0,32	-0,082		-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-
4	0,395	-0,007	0,021		-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+
6	0,488	0,061	0,076	0,023		+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	+	+
7	0,766	0,664	0,695	0,659	0,688		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
8	0,684	0,541	0,577	0,551	0,574	0,166		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
9	0,855	0,635	0,76	0,527	0,629	0,722	0,582		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
11	0,908	0,708	0,847	0,556	0,683	0,755	0,614	0,493		+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
12	0,763	0,583	0,661	0,559	0,626	0,706	0,608	0,582	0,619		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
13	0,874	0,652	0,787	0,523	0,636	0,732	0,588	0,364	0,043	0,585		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
14	0,625	0,218	0,313	0,141	0,091	0,667	0,537	0,457	0,475	0,562	0,423		-	+	+	-	+	+	-	+	+	+
15	0,646	0,23	0,367	0,187	0,195	0,644	0,494	0,374	0,376	0,520	0,318	0,005		+	+	+	+	+	-	+	+	+
16	0,656	0,231	0,292	0,129	0,008	0,734	0,624	0,724	0,791	0,679	0,736	0,091	0,244		-	-	+	+	+	+	-	+
17	0,606	0,188	0,235	0,148	0,049	0,689	0,559	0,786	0,891	0,664	0,815	0,166	0,279	0,076		+	+	-	-	-	+	-
18	0,708	0,292	0,405	0,154	0,096	0,722	0,602	0,636	0,708	0,630	0,637	0,000	0,131	0,074	0,304		+	+	-	+	-	+
19	0,816	0,585	0,708	0,494	0,628	0,700	0,566	0,628	0,744	0,357	0,641	0,526	0,482	0,726	0,747	0,665		+	+	-	+	+
20	0,586	0,225	0,256	0,209	0,188	0,745	0,642	0,82	0,891	0,723	0,841	0,350	0,424	0,233	0,168	0,449	0,796		+	-	+	+
21	0,601	0,221	0,305	0,176	0,127	0,656	0,529	0,441	0,456	0,550	0,418	0,017	0,04	0,134	0,175	0,064	0,502	0,342		+	+	+
22	0,426	0,054	0,048	0,070	0,023	0,700	0,600	0,646	0,685	0,653	0,651	0,216	0,267	0,116	0,089	0,246	0,647	0,050	0,235		+	+
23	0,717	0,325	0,419	0,195	0,125	0,758	0,655	0,737	0,805	0,683	0,749	0,136	0,295	0,068	0,332	0,057	0,728	0,421	0,170	0,247		+
24	0,397	-0,012	-0,03	0,118	0,103	0,714	0,613	0,707	0,755	0,681	0,717	0,292	0,337	0,243	0,142	0,371	0,698	0,200	0,289	0,088	0,371	
25	0,869	0,733	0,813	0,662	0,759	0,783	0,695	0,794	0,855	0,467	0,809	0,709	0,701	0,818	0,835	0,792	0,443	0,857	0,688	0,760	0,817	0,795
26	0,798	0,574	0,688	0,502	0,610	0,704	0,581	0,518	0,559	0,310	0,499	0,497	0,438	0,682	0,696	0,611	0,063	0,754	0,482	0,636	0,681	0,679
27	0,518	0,093	0,161	0,155	0,099	0,699	0,587	0,648	0,700	0,643	0,654	0,166	0,185	0,118	0,066	0,243	0,653	0,080	0,170	0,071	0,238	0,081
28	0,442	-0,007	0,031	0,031	-0,02	0,662	0,542	0,567	0,610	0,598	0,567	0,084	0,121	0,063	0,018	0,145	0,579	0,137	0,110	0,019	0,191	0,019
29	0,594	0,160	0,282	0,138	0,138	0,653	0,519	0,360	0,343	0,531	0,309	0,008	-0,04	0,198	0,237	0,096	0,469	0,382	0,046	0,235	0,237	0,262
30	0,858	0,611	0,753	0,477	0,590	0,728	0,583	0,340	0,028	0,583	0,032	0,369	0,249	0,695	0,777	0,578	0,622	0,815	0,369	0,617	0,711	0,685
31	0,135	0,545	0,584	0,548	0,653	0,824	0,760	0,912	0,953	0,826	0,927	0,742	0,769	0,783	0,787	0,818	0,893	0,745	0,719	0,578	0,823	0,587
32	0,349	0,191	0,200	0,299	0,472	0,762	0,662	0,925	1,000	0,763	0,951	0,627	0,665	0,700	0,729	0,764	0,880	0,622	0,590	0,317	0,775	0,287
33	0,135	0,590	0,676	0,558	0,689	0,833	0,765	0,955	1,000	0,839	0,970	0,769	0,809	0,834	0,883	0,865	0,935	0,828	0,740	0,599	0,871	0,623
34	0,084	0,525	0,542	0,544	0,635	0,824	0,765	0,890	0,923	0,824	0,901	0,729	0,750	0,754	0,740	0,791	0,873	0,699	0,710	0,565	0,794	0,565
35	0,376	-0,054	0,028	-0,005	0,044	0,626	0,505	0,447	0,472	0,489	0,438	0,096	0,087	0,135	0,129	0,135	0,415	0,198	0,115	0,082	0,182	0,071
37	0,68	0,226	0,319	0,143	0,018	0,716	0,589	0,814	0,938	0,663	0,849	0,105	0,286	-0,053	0,147	0,115	0,772	0,341	0,123	0,144	0,036	0,240
39	0,893	0,780	0,850	0,729	0,803	0,794	0,707	0,878	0,974	0,757	0,924	0,775	0,781	0,876	0,899	0,863	0,859	0,907	0,747	0,796	0,888	0,833
40	0,844	0,724	0,785	0,679	0,753	0,782	0,707	0,771	0,814	0,275	0,783	0,716	0,703	0,800	0,799	0,776	0,484	0,829	0,700	0,760	0,798	0,786
41	0,767	0,623	0,685	0,606	0,669	0,726	0,646	0,675	0,711	0,270	0,684	0,634	0,606	0,715	0,694	0,684	0,392	0,742	0,621	0,688	0,713	0,709
42	0,608	0,542	0,518	0,654	0,633	0,685	0,636	0,645	0,692	0,646	0,674	0,653	0,595	0,673	0,544	0,654	0,546	0,643	0,646	0,680	0,685	0,678
43	0,793	0,558	0,673	0,462	0,584	0,700	0,573	0,527	0,576	0,409	0,509	0,464	0,406	0,663	0,681	0,589	-0,048	0,743	0,450	0,612	0,662	0,66

	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	37	39	40	41	42	43
1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+
3	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+
4	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
6	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+
7	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
8	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
9	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
11	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
12	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
13	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
14	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
15	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
16	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
17	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+
18	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
19	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
20	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
21	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
22	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+
23	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
24	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
25		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
26	0,312		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
27	0,772	0,629		-	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+
28	0,728	0,566	0,010		-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+
29	0,677	0,439	0,165	0,077		+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
30	0,800	0,490	0,621	0,520	0,244		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
31	0,915	0,865	0,666	0,609	0,711	0,916		+	-	+	+	+	+	+	+	+	+
32	0,908	0,828	0,472	0,372	0,578	0,931	0,662		+	+	+	+	+	+	+	+	+
33	0,940	0,891	0,703	0,636	0,734	0,958	0,111	1,000		-	+	+	+	+	+	+	+
34	0,900	0,852	0,646	0,596	0,701	0,889	0,055	0,538	-0,025		+	+	+	+	+	+	+
35	0,607	0,414	0,068	-0,005	0,046	0,393	0,536	0,275	0,546	0,535		-	+	+	+	+	+
37	0,848	0,704	0,118	0,074	0,215	0,809	0,842	0,869	0,946	0,791	0,119		+	+	+	+	+
39	0,895	0,813	0,819	0,773	0,750	0,913	0,944	0,971	0,985	0,925	0,689	0,927		+	+	+	+
40	0,447	0,470	0,766	0,730	0,694	0,779	0,890	0,862	0,906	0,882	0,633	0,805	0,855		+	+	+
41	0,377	0,387	0,683	0,647	0,614	0,682	0,826	0,765	0,835	0,825	0,548	0,694	0,776	0,069		+	+
42	0,685	0,641	0,660	0,636	0,663	0,683	0,709	0,502	0,685	0,745	0,603	0,522	0,527	0,694	0,669		+
43	0,492	0,113	0,605	0,536	0,405	0,492	0,864	0,829	0,894	0,849	0,388	0,693	0,823	0,555	0,477	0,631	

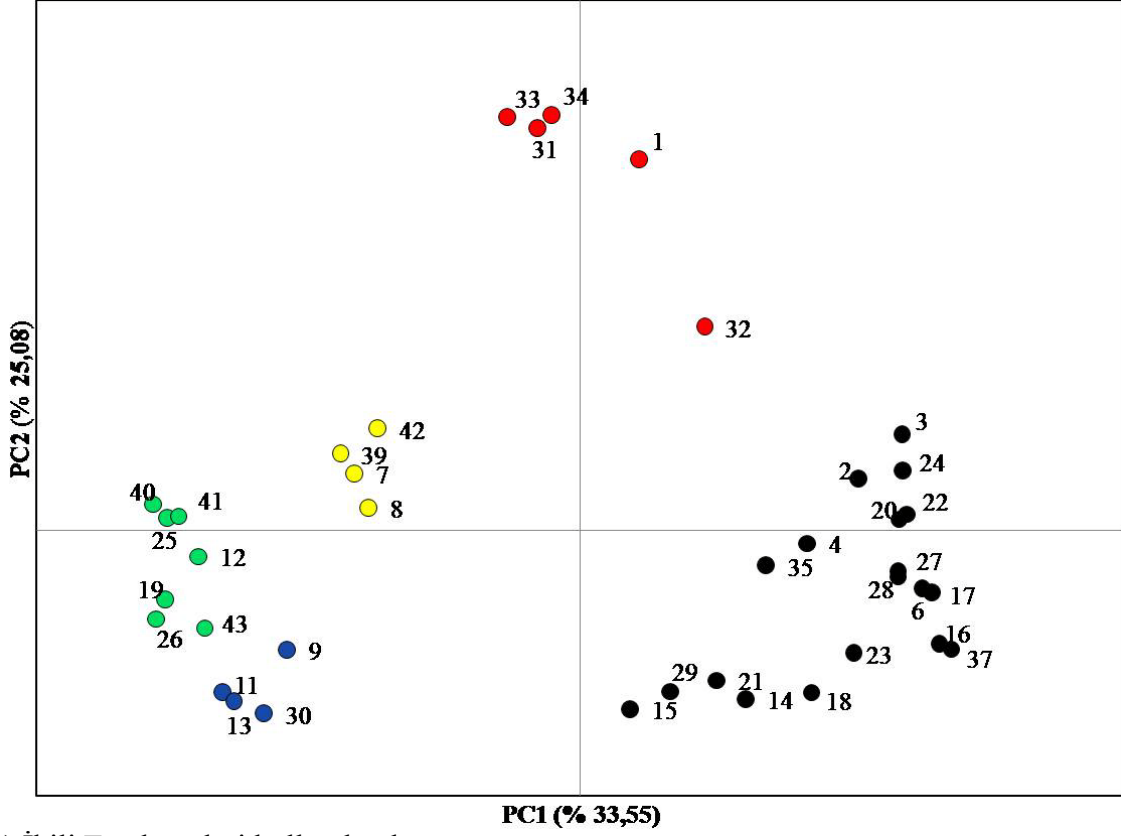
Tablo 10. Populasyonlar arasında genetik farklılaşma düzeylerini gösteren mitokondri DNA bazlı ikili θ_{ST} değerleri [$p = 0,000 (+)$]

	1	2	3	4	6	7	8	9	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
1		+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2	0,072		-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
3	0,035	-0,044		-	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-
4	0,073	0,013	-0,048		-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
6	0,107	0,122	0,019	0,045		+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	+	+	+	-	+	+
7	0,252	0,291	0,256	0,278	0,284		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
8	0,067	0,106	0,070	0,093	0,099	0,195		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
9	0,278	0,261	0,281	0,304	0,310	0,441	0,256		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
11	0,544	0,472	0,548	0,570	0,576	0,708	0,523	0,233		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
12	0,093	0,108	0,097	0,119	0,125	0,257	0,072	0,199	0,382		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
13	0,437	0,377	0,440	0,462	0,468	0,600	0,415	0,181	0,003	0,293		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
14	0,103	0,093	0,051	0,073	0,002	0,267	0,082	0,181	0,337	0,071	0,253		-	-	+	-	+	+	-	+	+	+
15	0,192	0,162	0,184	0,214	0,167	0,355	0,170	0,112	0,109	0,107	0,061	0,040		+	+	+	+	+	-	+	+	+
16	0,169	0,169	0,097	0,130	-0,011	0,333	0,148	0,358	0,625	0,174	0,517	0,017	0,173		+	-	+	+	+	-	+	+
17	0,312	0,337	0,315	0,338	0,144	0,476	0,291	0,439	0,643	0,296	0,549	0,174	0,213	0,113		+	+	+	+	+	+	+
18	0,174	0,150	0,079	0,111	0,001	0,337	0,152	0,300	0,504	0,157	0,410	-0,010	0,147	-0,011	0,241		+	+	+	+	-	+
19	0,169	0,196	0,173	0,195	0,201	0,333	0,148	0,303	0,514	0,137	0,418	0,159	0,213	0,250	0,379	0,240		+	+	+	+	+
20	0,250	0,263	0,220	0,263	0,194	0,413	0,228	0,438	0,705	0,254	0,597	0,187	0,216	0,122	0,281	0,204	0,330		+	+	+	+
21	0,165	0,130	0,129	0,176	0,142	0,329	0,144	0,160	0,232	0,105	0,167	0,032	0,038	0,148	0,340	0,080	0,203	0,262		+	+	+
22	0,129	0,151	0,082	0,094	0,020	0,292	0,107	0,318	0,584	0,133	0,476	0,051	0,159	0,039	0,208	0,070	0,209	0,078	0,163		+	+
23	0,267	0,231	0,159	0,228	0,135	0,430	0,245	0,456	0,722	0,271	0,614	0,114	0,310	0,086	0,483	0,032	0,347	0,239	0,158	0,170		+
24	0,071	-0,020	-0,045	0,023	0,076	0,290	0,105	0,315	0,582	0,131	0,474	0,091	0,195	0,128	0,266	0,141	0,207	0,244	0,172	0,133	0,230	
25	0,232	0,264	0,235	0,258	0,264	0,395	0,210	0,391	0,629	0,227	0,527	0,233	0,303	0,313	0,448	0,309	0,306	0,393	0,286	0,272	0,410	0,269
26	0,157	0,147	0,160	0,183	0,189	0,320	0,135	0,190	0,300	0,096	0,227	0,102	0,092	0,238	0,341	0,203	0,133	0,318	0,112	0,197	0,335	0,194
27	0,110	0,121	0,083	0,120	0,102	0,285	0,100	0,311	0,577	0,126	0,469	0,087	0,134	0,105	0,220	0,159	0,202	0,070	0,182	0,061	0,244	0,067
28	0,078	0,051	0,017	0,076	0,030	0,266	0,081	0,167	0,308	0,066	0,228	0,003	0,013	0,058	0,139	0,066	0,156	0,129	0,047	0,049	0,190	0,043
29	0,132	0,075	0,077	0,118	0,111	0,316	0,131	0,116	0,158	0,082	0,100	0,014	-0,018	0,153	0,245	0,106	0,183	0,275	0,026	0,152	0,258	0,101
30	0,442	0,382	0,438	0,454	0,460	0,606	0,421	0,184	0,003	0,298	-0,006	0,249	0,063	0,513	0,554	0,402	0,423	0,603	0,171	0,471	0,614	0,479
31	0,069	0,296	0,260	0,283	0,289	0,420	0,235	0,446	0,713	0,262	0,605	0,271	0,360	0,338	0,480	0,342	0,338	0,418	0,333	0,297	0,435	0,294
32	0,444	0,139	0,262	0,307	0,576	0,708	0,523	0,733	1,000	0,549	0,892	0,559	0,647	0,625	0,768	0,629	0,625	0,705	0,621	0,584	0,722	0,248
33	0,244	0,583	0,548	0,570	0,576	0,708	0,523	0,733	1,000	0,549	0,892	0,559	0,647	0,625	0,768	0,629	0,625	0,705	0,621	0,584	0,722	0,582
34	0,211	0,536	0,500	0,523	0,529	0,660	0,475	0,686	0,952	0,501	0,845	0,511	0,600	0,577	0,720	0,582	0,577	0,658	0,573	0,537	0,675	0,534
35	0,049	-0,042	-0,029	0,021	0,061	0,246	0,061	0,205	0,405	0,057	0,312	0,027	0,093	0,093	0,239	0,080	0,126	0,202	0,070	0,092	0,171	-0,006
37	0,259	0,234	0,180	0,254	0,062	0,422	0,237	0,448	0,714	0,263	0,606	0,075	0,252	-0,014	0,161	0,013	0,339	0,222	0,176	0,149	0,056	0,185
39	0,306	0,345	0,310	0,332	0,338	0,470	0,285	0,495	0,762	0,311	0,654	0,321	0,409	0,387	0,530	0,391	0,387	0,467	0,383	0,346	0,484	0,344
40	0,153	0,192	0,156	0,178	0,184	0,316	0,131	0,342	0,608	0,087	0,500	0,167	0,256	0,233	0,376	0,237	0,192	0,313	0,229	0,192	0,330	0,190
41	0,087	0,142	0,106	0,129	0,135	0,266	0,081	0,292	0,558	0,096	0,451	0,117	0,206	0,183	0,326	0,188	0,166	0,264	0,179	0,143	0,281	0,140
42	0,078	0,117	0,081	0,104	0,110	0,241	0,056	0,267	0,533	0,082	0,425	0,092	0,181	0,158	0,301	0,163	0,158	0,238	0,154	0,118	0,256	0,115
43	0,197	0,221	0,200	0,223	0,229	0,360	0,175	0,319	0,519	0,161	0,426	0,182	0,228	0,277	0,404	0,265	-0,056	0,358	0,221	0,237	0,375	0,234

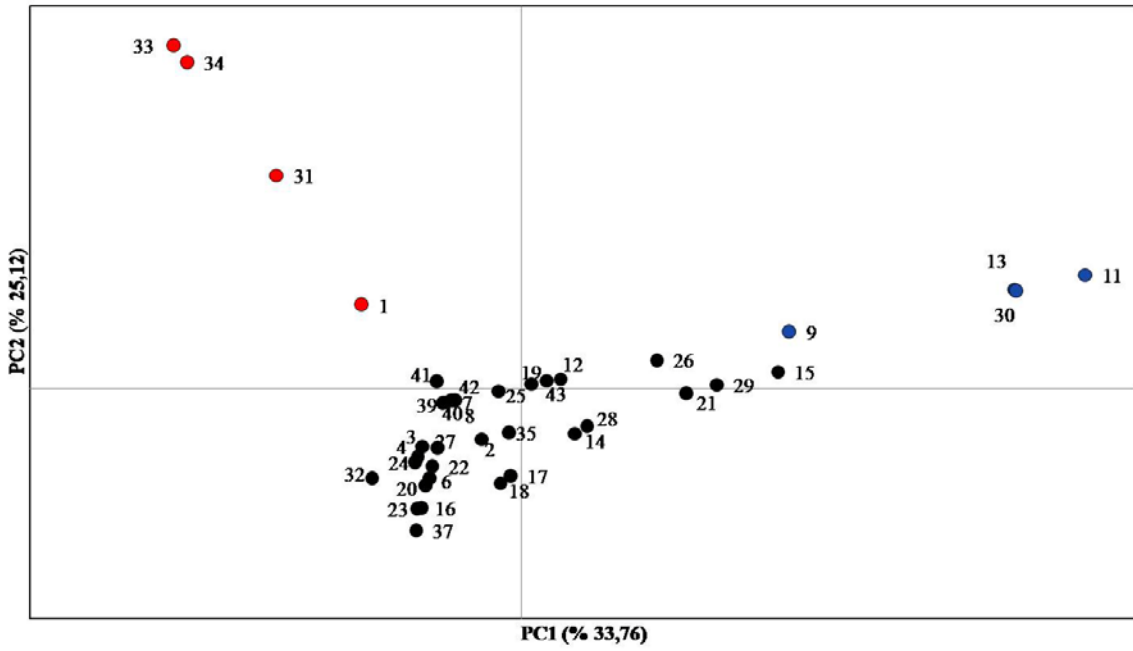
	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	37	39	40	41	42	43
1	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+
2	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+
3	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+
4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
6	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
7	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
8	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
9	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
11	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
12	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
13	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
14	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+
15	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
16	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
17	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
18	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
19	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
20	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
21	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
22	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
23	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
24	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
25		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
26	0,083		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
27	0,265	0,190		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
28	0,231	0,093	0,055		-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
29	0,269	0,080	0,126	-0,003		+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
30	0,533	0,231	0,475	0,232	0,100		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
31	0,400	0,325	0,290	0,271	0,320	0,610		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
32	0,688	0,613	0,518	0,496	0,508	0,898	0,713		+	+	+	+	+	+	+	+	+
33	0,688	0,613	0,577	0,558	0,608	0,898	0,088	1,000		-	+	+	+	+	+	+	+
34	0,640	0,565	0,530	0,511	0,560	0,850	0,070	0,952	0,000		+	+	+	+	+	+	+
35	0,182	0,067	0,080	0,005	0,033	0,316	0,251	0,271	0,538	0,490		+	+	+	+	+	+
37	0,402	0,327	0,207	0,121	0,222	0,612	0,427	0,714	0,714	0,667	0,148		+	+	+	+	+
39	0,449	0,374	0,339	0,320	0,370	0,660	0,474	0,762	0,762	0,714	0,300	0,476		+	+	+	+
40	0,268	0,201	0,185	0,167	0,216	0,506	0,321	0,608	0,608	0,561	0,143	0,322	0,370		+	+	+
41	0,246	0,171	0,136	0,117	0,166	0,456	0,238	0,558	0,506	0,461	0,097	0,273	0,320	0,092		+	+
42	0,221	0,146	0,111	0,092	0,141	0,431	0,246	0,533	0,533	0,486	0,071	0,248	0,295	0,142	0,092		+
43	0,332	0,152	0,230	0,177	0,200	0,431	0,365	0,652	0,652	0,605	0,150	0,367	0,414	0,261	0,211	0,186	

Mitokondri DNA belirtecine dayalı popülasyonlar arasında gözlenen ikili F_{ST} ve θ_{ST} farklılaşma düzeyleri temel bileşen analizleri sonuçlarına da bazı farklılıklarla birlikte yansımıştır. İkili F_{ST} değerleri kullanılarak gerçekleştirilen temel bileşen analizine göre beş farklı kümelenme gözlenmiştir (Şekil 3.15a). Temel bileşenlerin ilk iki eksenini (PC1 ve PC2) toplam genetik varyasyonun % 58,63'ünü açığa çıkarmıştır. Temel bileşenlerin 1. ve 3. eksenlerinin (PC1 ve PC3) açığa çıkardığı toplam varyasyon oranı % 48,15; PC2 ve PC3'ün sergilediği toplam varyasyon oranı ise % 40,38 olarak gözlenmiştir. İlk iki eksen de gözlenen kümelenmeler farklı renk işaretlemeleri ile hem grafik eksenleri hem de harita üzerinde gösterilmiştir (Şekil 3.15ac). Kümelenmelerden ilki kırmızı ile gösterilmiş olup 1 (Adana-Develi), 31 (Sivas-Yıldızeli), 32 (Kayseri-Şarkışla), 33 (Ordu-Akkuş) ve 34 (Sivas-Şerefiye) popülasyonlarından oluşmaktadır. İkinci kümelenme ise sarı ile gösterilen 7 (Van-Hakkari), 8 (Hakkari-Şemdinli), 39 (Erzincan-Tunceli) ve 42 (Erzurum-Horasan)'den oluşan popülasyonlardır. Yeşil renkle gösterilen kümelenme ise 12 (Bingöl-Karacabey), 19 (Manisa-Gördes), 25 (Çankırı-Çevkeş), 26 (Bolu-Ankara), 40 (Bayburt-İspir), 41 (Erzurum-İspir) ve 43 (Ardahan-Posof) popülasyonları arasında gözlenmiştir. Dördüncü kümelenme ise mavi ile gösterilen 9 (Hakkari-Çukurca), 11 (Muş-Tatvan), 13 (Bitlis-Tatvan) ve 30 (Yozgat-Sorgun) popülasyonlarından oluşmuştur. Kalan tüm diğer popülasyonlar ise birlikte kümelenmiş ve siyah ile gösterilmiştir. Popülasyon kümelenmelerinin harita üzerindeki dağılımlarına bakıldığında ise bazılarının sadece Anadolu Diyagonalı'nın doğusunda, bazıları ise batısında gözlendiği dikkat çekmektedir (Şekil 3.15c). Özellikle siyah ve kırmızı ile gösterilen popülasyonlar diyagonalin batısında gözlenirken; sarı ile gösterilen popülasyonlar ise doğusunda yer almıştır. Diğer taraftan ikili θ_{ST} değerleri kullanılarak gerçekleştirilen temel bileşen analizinde popülasyonlar arasında gözlenen genetik farklılaşma düzeyleri ikili F_{ST} değerlerinden düşük olduğu için, bu kümelenmeler bir dereceye kadar gözlenmiştir (Şekil 3.15b). Temel bileşenlerin ilk iki eksenini (PC1 ve PC2) toplam genetik varyasyonun % 58,88'ini açığa çıkarmıştır. Temel bileşenlerin 1. ve 3. eksenlerinin (PC1 ve PC3) açığa çıkardığı toplam varyasyon oranı % 50,65; 2. ve 3. eksenlerinin (PC2 ve PC3) sergilediği toplam varyasyon oranı ise % 41,99 olarak gözlenmiştir. İkili F_{ST} değerleri kullanılarak yapılan temel bileşen analizine paralel olarak kırmızı ile gösterilen Popülasyon 1, 31, 33, 34 ve mavi ile gösterilen Popülasyon 9, 11, 13, 30 birlikte kümelenmiştir (Şekil 3.15b). Kalan tüm diğer popülasyonlar ise birlikte kümelenmiş ve siyah ile gösterilmiştir. İkili θ_{ST} değerleri açısından anlamlı derecede farklılaşma sergileyen Popülasyon 32'nin farklılaşma düzeyi

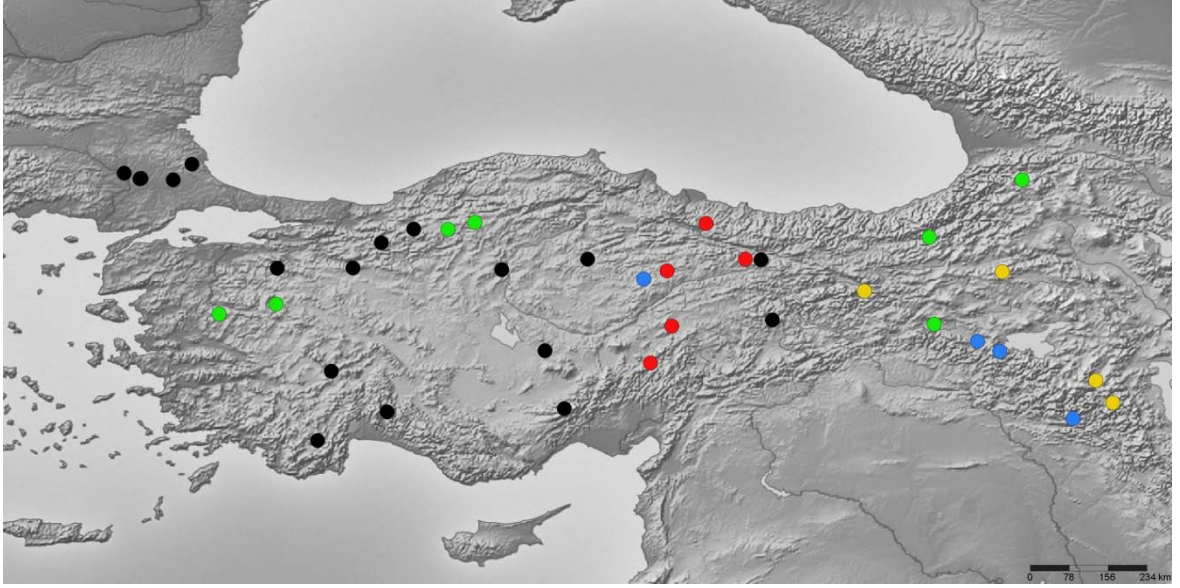
bu analize yansımamıştır. Ayrıca her iki genetik farklılaşma indeksine göre gerçekleştirilen temel bileşen analizlerinde gözlenen bu kümelenmelere SAMOVA sonuçlarında da rastlanmıştır.



a) İkili F_{ST} değerleri kullanılarak



b) İkili θ_{ST} değerleri kullanılarak



c) Kümelenmelerin harita üzerinde dağılımı

Şekil 3.15 Mitokondri DNA belirteci bazlı temel bileşen analizi a) İkili F_{ST} değerleri kullanılarak b) İkili θ_{ST} değerleri kullanılarak c) Kümelenmelerin harita üzerinde dağılımı

Çekirdek DNA belirteci bazında ikili F_{ST} değerleri mitokondri DNA belirtecinde gözlenen farklılaşmaya oranla daha düşük ancak önemli bir genetik farklılaşmanın (toplam $F_{ST} = 0.334$) varlığına işaret etmiştir (Tablo 11). F_{ST} değerleri -0,097 ile 0,928 arasında değişkenlik sergilemiştir. 36 popülasyonun ikili karşılaştırmaları, farklılaşmanın özellikle Popülasyon 11 (Muş-Tatvan)'den kaynaklandığını göstermiştir. Popülasyon 11 tüm diğer popülasyonlardan anlamlı derecede ($p = 0,000$) farklılaşmaya sahiptir. Bu popülasyona ek olarak Popülasyon 13 (Bitlis-Tatvan), Popülasyon 28 (Çorum-Alaca) ve Popülasyon 33 (Ordu-Akkuş) genetik farklılaşma oranı yüksek olduğu gözlenen diğer iki popülasyondur. Popülasyonlar arasında farklılaşmanın en yüksek (F_{ST} değeri = 0,928) olarak gözlemlendiği popülasyon çifti Popülasyon 13 (Bitlis-Tatvan) ile 28 (Çorum-Alaca)'dir. İkili F_{ST} değerinin en düşük olduğu ($F_{ST} = -0,097$) popülasyon çifti ise Popülasyon 35 (Sivas-Suşehri) ile 36 (Malatya-Hekimhan) olarak belirlenmiştir. Popülasyonlar arasında genetik farklılaşmanın bir diğer göstergesi olan θ_{ST} değerleri de hesaplanmıştır (Tablo 12). θ_{ST} değerleri *C. parallelus* popülasyonları arasında genetik farklılaşmanın -0,041 ile 0,812 arasında değişkenlik sergilediğine işaret etmiştir. Popülasyonlar arasındaki ikili farklılaşma durumları değerlendirildiği zaman F_{ST} değerlerinden elde edilen bulgulardan bazı sapmalar göstermiştir. Genetik farklılaşmanın çoğunlukla doğu popülasyonlarından olmak üzere, özellikle Popülasyon 7 (Van-Hakkari), 9 (Hakkari-Çukurca), 11 (Muş-Tatvan), 12 (Bingöl-Karacabey), 13 (Bitlis-Tatvan), 18 (Kırklareli-Lüleburgaz), 28

(Çorum-Alaca), 33 (Ordu-Akkuş), 39 (Erzincan-Tunceli) ve 41 (Erzurum-İspir)'den kaynaklandığı gözlenmiştir. Populasyon 7, 11, 18 ve 28 tüm diğer populasyonlardan anlamlı derecede ($p = 0,000$) farklılaşmaya sahiptir. Populasyonlar arasında farklılaşmanın en yüksek olarak gözlendiği ikili populasyonlar arasında Populasyon 28 ile Populasyon 7 (θ_{ST} değeri = 0,812) ve 33 (θ_{ST} değeri = 0,801) sayılabilir. Populasyonlar arasında ikili genetik farklılaşma değerleri açısından en az farklılaşma gösteren, diğer bir deyişle farklılaşma değerleri istatistiksel açıdan anlamlılık sergilemeyen populasyonlar sırasıyla Populasyon 1 (Adana-Develi), 5 (Karaman-Tavşanlı) ve 14 (Edirne-Havsa)'tür. İkili θ_{ST} değerinin en düşük olduğu populasyon çiftleri ise Populasyon 29 (Aksaray-Nevşehir) ile 43 (Ardahan-Posof) ($\theta_{ST} = -0,041$), Populasyon 14 (Edirne-Havsa) ile 15 (Edirne-Karaağaç) ($\theta_{ST} = -0,035$) ve Populasyon 1 (Adana-Develi) ile 31 (Sivas-Yıldızeli) ($\theta_{ST} = -0,029$) olarak belirlenmiştir. Bu populasyonlar arasındaki istatistiksel açıdan anlamlılık sergilemeyen genetik farklılaşma değerleri benzer şekilde ikili F_{ST} değerlerinde de gözlenmiştir.

Çekirdek DNA belirteci bazlı populasyonlar arasında gözlenen ikili F_{ST} ve θ_{ST} farklılaşma düzeyleri temel bileşen analizleri ile test edilmiştir. İkili F_{ST} değerleri kullanılarak gerçekleştirilen temel bileşen analizine göre dört farklı kümelenme gözlenmiştir (Şekil 3.16a). Temel bileşenlerin ilk iki eksenini (PC1 ve PC2) toplam genetik varyasyonun % 54,68'ini açığa çıkarmıştır. Temel bileşenlerin 1. ve 3. eksenlerini (PC1 ve PC3) açığa çıkardığı toplam varyasyon oranı % 49,31; PC2 ve PC3'ün sergilediği toplam varyasyon oranı ise % 46,07 olarak gözlenmiştir. İlk iki eksen de gözlenen kümelenmeler farklı renk işaretlemeleri ile hem grafik eksenleri hem de harita üzerinde gösterilmiştir (Şekil 3.16ac). Kümelenmelerden ilki sarı ile gösterilmiş olup 7 (Van-Hakkari), 9 (Hakkari-Çukurca), 10 (Elazığ-Maden), 11 (Muş-Tatvan), 12 (Bingöl-Karacabey), 13 (Bitlis-Tatvan), 39 (Erzincan-Tunceli) ve 41 (Erzurum-İspir) populasyonlarından oluşmaktadır. İkinci kümelenme ise kırmızı ile gösterilen 1 (Adana-Develi), 2 (Niğde-Ulukışla), 3 (Antalya-Saklıkent), 5 (Karaman-Tavşanlı), 19 (Manisa-Göğdes), 29 (Aksaray-Nevşehir), 34 (Sivas-Şerefiye), 35 (Sivas-Suşehri), 36 (Malatya-Hekimhan), 38 (Erzincan-Kelkit) ve 43 (Ardahan-Posof) nolu populasyonlardır. Mavi renkle gösterilen kümelenme ise 33 (Ordu-Akkuş) ve 42 (Erzurum-Horasan) nolu populasyonları arasında gözlenmiştir. Kalan tüm diğer populasyonlar ise birlikte kümelenmiş ve siyah ile gösterilmiştir. Populasyon kümelenmelerinin harita üzerindeki dağılımlarına bakıldığında

Tablo 11. Populasyonlar arasında genetik farklılaşma düzeylerini gösteren çekirdek DNA bazlı ikili F_{ST} değerleri [$p = 0,000 (+)$]

	1	2	3	4	5	6	7	9	10	11	12	13	14	15	18	19	21
1		+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+
2	0,423		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3	0,063	0,415		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
4	0,081	0,652	0,188		-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+
5	-0,014	0,446	0,105	0,069		+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+
6	0,199	0,710	0,214	0,250	0,253		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
7	0,587	0,893	0,595	0,668	0,629	0,672		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
9	0,189	0,626	0,272	0,203	0,214	0,269	0,234		+	+	+	+	+	+	+	+	+
10	0,171	0,716	0,225	0,224	0,219	0,125	0,567	0,098		+	+	+	+	+	+	+	+
11	0,242	0,738	0,242	0,313	0,316	0,169	0,644	0,234	0,103		+	+	+	+	+	+	+
12	0,425	0,806	0,450	0,477	0,471	0,494	0,125	0,111	0,352	0,409		+	+	+	+	+	+
13	0,472	0,908	0,385	0,655	0,571	0,510	0,914	0,530	0,536	0,425	0,778		+	+	+	+	+
14	0,059	0,665	0,201	0,083	0,080	0,243	0,622	0,155	0,192	0,344	0,460	0,644		-	+	+	+
15	0,229	0,824	0,348	0,215	0,252	0,376	0,746	0,230	0,314	0,486	0,585	0,836	0,010		+	+	+
18	0,327	0,795	0,383	0,371	0,392	0,390	0,791	0,391	0,423	0,443	0,622	0,772	0,400	0,559		+	+
19	0,215	0,531	0,045	0,371	0,251	0,353	0,787	0,401	0,406	0,418	0,619	0,682	0,418	0,624	0,576		+
21	0,113	0,582	0,174	0,091	0,140	0,258	0,582	0,216	0,242	0,346	0,453	0,553	0,082	0,174	0,402	0,303	
23	0,089	0,633	0,207	0,092	0,095	0,189	0,590	0,186	0,189	0,339	0,457	0,592	0,019	0,111	0,382	0,391	0,123
24	0,145	0,631	0,200	0,161	0,162	0,179	0,633	0,246	0,209	0,289	0,478	0,563	0,164	0,272	0,388	0,316	0,151
25	0,038	0,576	0,148	0,030	0,048	0,141	0,545	0,154	0,133	0,254	0,405	0,493	-0,009	0,073	0,310	0,315	0,066
26	0,115	0,674	0,213	0,027	0,126	0,269	0,731	0,272	0,293	0,311	0,532	0,684	0,206	0,388	0,365	0,396	0,231
27	0,028	0,480	0,120	-0,02	-0,004	0,224	0,584	0,204	0,210	0,297	0,436	0,533	0,071	0,195	0,336	0,233	0,086
28	0,195	0,855	0,311	0,177	0,274	0,321	0,856	0,282	0,340	0,363	0,624	0,928	0,265	0,552	0,476	0,614	0,295
29	0,019	0,260	0,111	0,121	-0,002	0,320	0,614	0,266	0,295	0,375	0,480	0,570	0,147	0,319	0,414	0,200	0,138
31	-0,018	0,524	0,134	0,048	-0,05	0,264	0,654	0,203	0,216	0,330	0,487	0,632	0,051	0,231	0,399	0,319	0,141
32	0,055	0,597	0,133	0,130	0,149	0,257	0,617	0,229	0,207	0,294	0,453	0,524	0,138	0,281	0,396	0,318	0,135
33	0,172	0,795	0,311	0,146	0,192	0,329	0,722	0,211	0,274	0,442	0,568	0,781	-0,006	0,027	0,523	0,596	0,152
34	0,008	0,556	0,034	0,185	0,117	0,179	0,636	0,215	0,181	0,214	0,450	0,428	0,120	0,322	0,374	0,216	0,142
35	0,048	0,200	0,132	0,226	0,051	0,371	0,657	0,319	0,346	0,419	0,524	0,605	0,221	0,407	0,464	0,210	0,218
36	0,010	0,254	0,106	0,203	-0,026	0,418	0,784	0,299	0,397	0,485	0,592	0,822	0,222	0,528	0,558	0,213	0,194
37	-0,009	0,616	0,105	0,104	0,082	0,163	0,631	0,185	0,121	0,178	0,443	0,471	0,077	0,230	0,331	0,319	0,141
38	-0,045	0,367	0,063	0,086	-0,004	0,195	0,535	0,195	0,177	0,241	0,404	0,418	0,058	0,203	0,306	0,207	0,104
39	0,340	0,727	0,390	0,367	0,373	0,405	0,128	0,006	0,217	0,334	0,025	0,651	0,331	0,416	0,521	0,526	0,363
41	0,424	0,891	0,341	0,604	0,529	0,449	0,894	0,496	0,473	0,334	0,749	0,135	0,598	0,793	0,728	0,638	0,516
42	0,143	0,822	0,253	0,137	0,172	0,299	0,754	0,150	0,233	0,421	0,530	0,881	-0,007	0,042	0,527	0,515	0,108
43	0,114	0,101	0,144	0,346	0,146	0,460	0,794	0,397	0,468	0,515	0,627	0,785	0,361	0,620	0,586	0,198	0,310

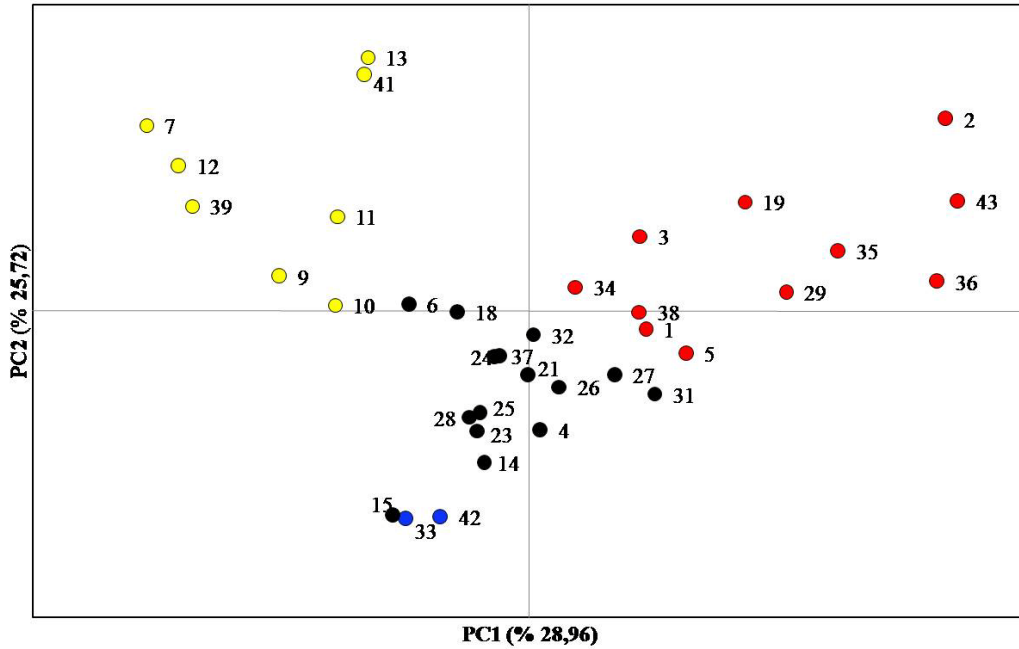
	23	24	25	26	27	28	29	31	32	33	34	35	36	37	38	39	41	42	43
1	+	+	-	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-
2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-
3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	+	+	+	+
4	+	+	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
5	+	+	-	+	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-
6	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
7	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
9	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+
10	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
11	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
12	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
13	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+
14	-	+	-	+	-	+	+	-	+	-	-	+	+	-	-	+	+	-	+
15	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
18	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
19	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
21	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
23		+	-	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
24	0,132		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
25	-0,02	0,082		+	-	+	+	-	+	-	+	+	+	-	-	+	+	-	+
26	0,196	0,188	0,108		-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
27	0,044	0,123	0,019	0,055		+	-	-	+	+	+	+	-	+	-	+	+	-	+
28	0,265	0,283	0,155	0,092	0,191		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
29	0,169	0,216	0,126	0,190	0,038	0,326		-	+	+	+	-	-	+	-	+	+	+	-
31	0,066	0,160	0,022	0,109	-0,014	0,262	0,020		+	+	+	-	-	-	-	+	+	-	+
32	0,153	0,234	0,109	0,250	0,123	0,314	0,167	0,151		+	-	+	-	-	+	+	+	-	+
33	0,056	0,236	0,019	0,308	0,141	0,422	0,280	0,157	0,255		+	+	+	+	+	+	+	-	+
34	0,164	0,202	0,093	0,232	0,140	0,290	0,130	0,130	0,067	0,271		+	-	-	-	+	+	+	+
35	0,248	0,278	0,200	0,268	0,121	0,400	-0,017	0,085	0,225	0,373	0,149		-	+	-	+	+	+	-
36	0,237	0,274	0,169	0,277	0,043	0,616	-0,106	0,023	0,207	0,473	0,158	-0,097		+	-	+	+	-	-
37	0,107	0,153	0,035	0,138	0,088	0,167	0,159	0,067	0,022	0,170	0,008	0,206	0,220		-	+	+	+	+
38	0,092	0,144	0,045	0,115	0,037	0,174	0,016	-0,006	0,094	0,151	0,004	0,045	0,004	0,022		+	+	-	-
39	0,346	0,389	0,309	0,433	0,353	0,465	0,406	0,375	0,358	0,408	0,359	0,451	0,468	0,339	0,336		+	+	+
41	0,552	0,518	0,446	0,628	0,492	0,857	0,540	0,586	0,478	0,735	0,363	0,577	0,783	0,399	0,377	0,622		+	+
42	0,043	0,204	0,004	0,333	0,119	0,648	0,233	0,161	0,162	0,007	0,200	0,319	0,420	0,150	0,137	0,340	0,823		+
43	0,377	0,375	0,312	0,380	0,204	0,618	0,007	0,210	0,299	0,585	0,189	-0,028	-0,086	0,320	0,095	0,537	0,755	0,507	

Tablo 12. Populasyonlar arasında genetik farklılaşma düzeylerini gösteren çekirdek DNA bazlı ikili θ_{ST} değerleri [$p = 0,000 (+)$]

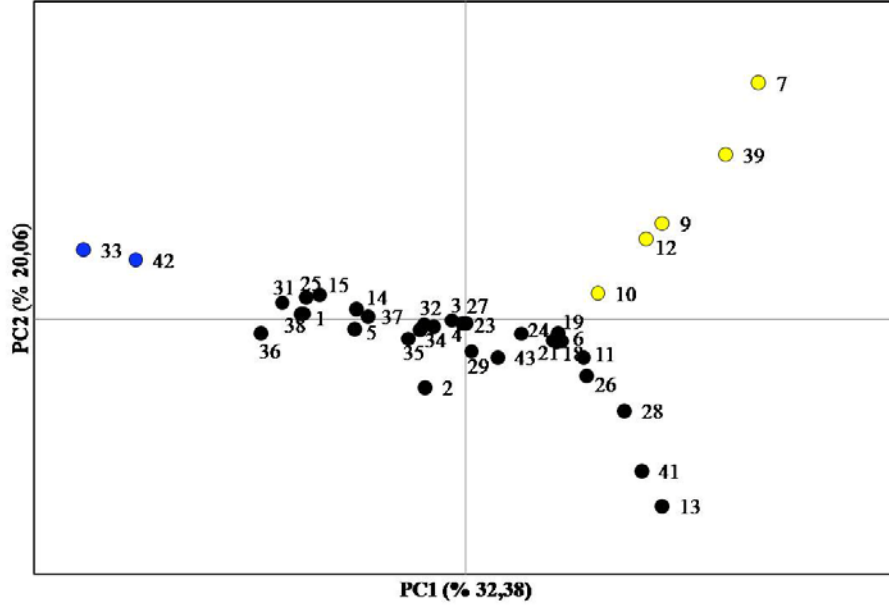
	1	2	3	4	5	6	7	9	10	11	12	13	14	15	18	19	21
1		+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+
2	0,221		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3	0,067	0,385		-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
4	0,032	0,381	0,033		-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+
5	-0,02	0,238	0,029	0,016		+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+
6	0,125	0,38	0,064	0,05	0,095		+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+
7	0,479	0,746	0,435	0,424	0,448	0,431		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
9	0,202	0,417	0,157	0,154	0,168	0,153	0,158		+	+	+	+	+	+	+	+	+
10	0,125	0,381	0,055	0,059	0,087	0,028	0,311	0,074		+	-	+	+	+	+	-	+
11	0,185	0,454	0,153	0,117	0,169	0,079	0,494	0,216	0,071		+	+	+	+	+	+	+
12	0,177	0,429	0,127	0,112	0,148	0,099	0,182	0,068	0,053	0,13		+	+	+	+	+	+
13	0,483	0,726	0,425	0,421	0,387	0,42	0,786	0,493	0,421	0,418	0,469		+	+	+	+	+
14	0,013	0,342	0,047	0,023	0,002	0,105	0,454	0,18	0,106	0,179	0,154	0,452		-	+	+	+
15	0,033	0,448	0,066	0,035	0,023	0,141	0,486	0,22	0,142	0,216	0,19	0,488	-0,035		+	+	+
18	0,195	0,438	0,137	0,133	0,157	0,132	0,498	0,211	0,133	0,206	0,181	0,479	0,163	0,2		+	+
19	0,124	0,367	0,065	0,062	0,086	0,061	0,426	0,111	0,043	0,135	0,11	0,407	0,092	0,128	0,119		+
21	0,15	0,393	0,092	0,088	0,112	0,087	0,453	0,166	0,088	0,161	0,136	0,433	0,118	0,154	0,145	0,074	
23	0,057	0,364	0,026	0,006	0,026	0,054	0,415	0,136	0,048	0,132	0,106	0,404	0,036	0,057	0,116	0,044	0,057
24	0,104	0,369	0,057	0,05	0,07	0,05	0,426	0,142	0,064	0,137	0,112	0,409	0,076	0,107	0,121	0,05	0,076
25	-0,002	0,396	0,052	0,012	-0,01	0,12	0,475	0,208	0,133	0,206	0,18	0,478	0,009	0,006	0,19	0,119	0,145
26	0,205	0,448	0,142	0,043	0,167	0,114	0,507	0,221	0,143	0,216	0,19	0,488	0,173	0,209	0,20	0,129	0,155
27	0,043	0,353	0,013	-0,01	0,009	0,03	0,404	0,126	0,037	0,121	0,096	0,393	0,022	0,043	0,105	0,034	0,046
28	0,509	0,752	0,451	0,295	0,471	0,392	0,812	0,525	0,447	0,52	0,495	0,792	0,477	0,513	0,504	0,433	0,459
29	0,042	0,133	0,064	0,072	0,02	0,079	0,45	0,15	0,063	0,161	0,136	0,433	0,071	0,128	0,145	0,074	0,084
31	-0,03	0,296	0,073	0,029	-0,01	0,132	0,492	0,225	0,13	0,178	0,187	0,502	0,015	0,023	0,214	0,143	0,169
32	0,049	0,315	0,06	-0,01	0,031	0,092	0,448	0,166	0,094	0,167	0,141	0,439	0,049	0,074	0,151	0,079	0,106
33	0,137	0,735	0,267	0,203	0,158	0,429	0,75	0,508	0,43	0,503	0,478	0,775	0,164	0,116	0,487	0,416	0,442
34	-0,01	0,278	0,028	0,01	-0,01	0,065	0,419	0,132	0,066	0,114	0,113	0,397	0,013	0,037	0,123	0,052	0,078
35	0,006	0,178	0,061	0,045	-0,001	0,094	0,45	0,156	0,095	0,153	0,143	0,432	0,036	0,076	0,152	0,081	0,107
36	-0,02	0,043	0,167	0,138	0,009	0,237	0,583	0,286	0,238	0,311	0,286	0,583	0,085	0,133	0,295	0,224	0,25
37	0,000	0,355	0,046	-0,02	0,000	0,075	0,449	0,184	0,081	0,127	0,138	0,455	0,015	0,023	0,167	0,095	0,121
38	-0,03	0,223	0,08	0,045	-0,01	0,136	0,492	0,215	0,135	0,193	0,188	0,497	0,025	0,046	0,209	0,137	0,163
39	0,307	0,554	0,252	0,244	0,272	0,238	0,042	0,032	0,126	0,301	0,065	0,594	0,279	0,315	0,306	0,204	0,261
41	0,343	0,586	0,284	0,281	0,265	0,279	0,645	0,338	0,281	0,23	0,328	0,06	0,311	0,347	0,338	0,266	0,293
42	0,08	0,643	0,192	0,138	0,095	0,337	0,663	0,416	0,338	0,411	0,386	0,683	0,102	0,062	0,395	0,324	0,35
43	0,044	0,099	0,075	0,071	0,029	0,07	0,436	0,132	0,071	0,144	0,119	0,417	0,074	0,138	0,129	0,057	0,083

	23	24	25	26	27	28	29	31	32	33	34	35	36	37	38	39	41	42	43
1	+	+	-	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-
2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
3	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	-
4	-	+	-	-	-	+	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+	-	-
5	-	+	-	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+	-
6	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
7	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
9	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+
10	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
11	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
12	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
13	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+
14	-	+	-	+	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-
15	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-	+
18	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
19	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
21	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
23		+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+
24	0,038		+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+
25	0,036	0,093		+	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	+
26	0,118	0,131	0,20		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
27	-0,02	0,024	0,021	0,107		+	+	+	-	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+
28	0,43	0,435	0,504	0,09	0,419		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
29	0,051	0,073	0,101	0,155	0,036	0,459		+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	-
31	0,062	0,119	-0,01	0,224	0,051	0,528	0,073		-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-
32	0,029	0,071	0,04	0,16	0,015	0,465	0,062	0,061		+	-	-	-	-	-	+	+	+	-
33	0,272	0,369	0,087	0,493	0,254	0,801	0,387	0,096	0,27		+	+	+	+	+	+	+	-	+
34	0,013	0,042	0,006	0,133	0,001	0,437	0,029	0,021	0,028	0,222		-	-	-	-	+	+	-	-
35	0,046	0,072	0,049	0,162	0,034	0,466	0,011	0,03	0,046	0,272	0,003		-	-	-	+	+	+	-
36	0,157	0,204	0,085	0,305	0,143	0,609	0,038	0,012	0,116	0,237	0,072	0,017		-	-	+	+	-	-
37	0,036	0,078	0,002	0,11	0,022	0,351	0,077	-0,01	0,02	0,146	0,012	0,038	0,086		-	+	+	-	-
38	0,071	0,117	0,012	0,218	0,056	0,522	0,051	-0,02	0,053	0,15	0,012	0,016	-0,01	0,005		+	+	-	-
39	0,231	0,237	0,305	0,315	0,22	0,62	0,261	0,323	0,266	0,603	0,238	0,268	0,411	0,274	0,32		+	+	+
41	0,263	0,269	0,337	0,347	0,252	0,652	0,293	0,362	0,298	0,635	0,225	0,272	0,443	0,314	0,356	0,453		+	+
42	0,194	0,282	0,035	0,405	0,176	0,709	0,300	0,046	0,196	-0,02	0,15	0,197	0,18	0,086	0,093	0,511	0,543		+
43	0,054	0,059	0,111	0,138	0,034	0,442	-0,04	0,075	0,056	0,425	0,024	0,002	0,033	0,081	0,053	0,244	0,276	0,333	

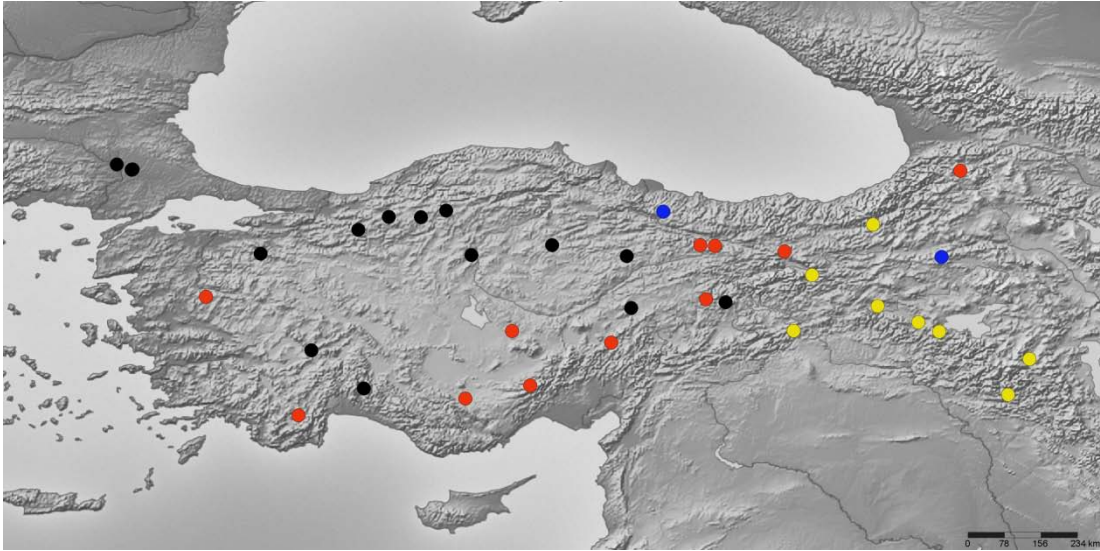
bazılarının Anadolu Diyagonalı'nın sadece doğusunda, bazılarının ise batısında yayılış örüntüsüne sahip olduğu gözlenmiştir. Özellikle sarı ile gösterilen populasyonlar diyagonalin doğusunda yayılış sergilerken; kırmızı ve siyah ile gösterilen populasyonlar ise batısında bir örüntülenmeye sahiplerdir. Diğer taraftan ikili θ_{ST} değerleri kullanılarak gerçekleştirilen temel bileşen analizinde populasyonlar arasında gözlenen genetik farklılaşma düzeyleri ikili F_{ST} değerlerinden düşük olduğu için, bu örüntü bir dereceye kadar gözlenmiştir (Şekil 3.16b). Temel bileşenlerin ilk iki eksenini (PC1 ve PC2) toplam genetik varyasyonun % 52,44'ünü açığa çıkarmıştır. Temel bileşenlerin 1. ve 3. eksenlerini (PC1 ve PC3) açığa çıkardığı toplam varyasyon oranı % 50,30; 2. ve 3. eksenlerini (PC2 ve PC3) sergilediği toplam varyasyon oranı ise % 37,98 olarak gözlenmiştir. İkili F_{ST} değerleri kullanılarak yapılan temel bileşen analizine paralel olarak sarı ile gösterilen Populasyon 7, 9, 10, 12, 39 ve mavi ile gösterilen Populasyon 33, 42 birlikte kümelenmiştir (Şekil 3.16bc). Kalan tüm diğer populasyonlar ise birlikte kümelenmiş ve siyah ile gösterilmiştir. Kırmızı renkle gösterilen yayılış örüntüsünün bu analizde kaybolduğu gözlenmiştir. Her iki genetik farklılaşma indeksine göre gerçekleştirilen temel bileşen analizlerinde gözlenen bu kümelenmelerin bazılarında SAMOVA sonuçlarında da rastlanmıştır.



a) İkili F_{ST} değerleri kullanılarak



b) İkili θ_{ST} değerleri kullanılarak

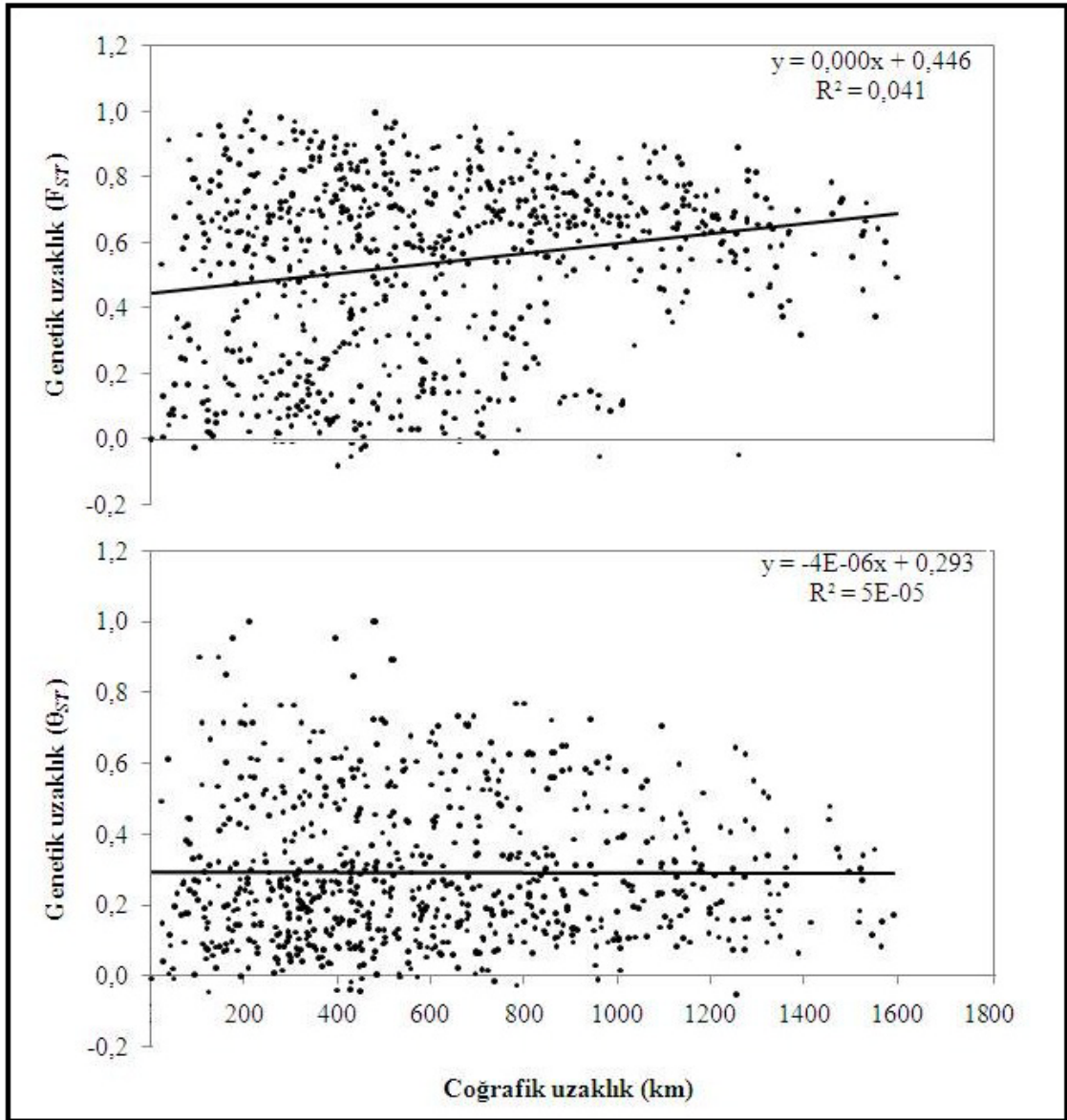


c) Kümelenmelerin harita üzerinde dağılımı

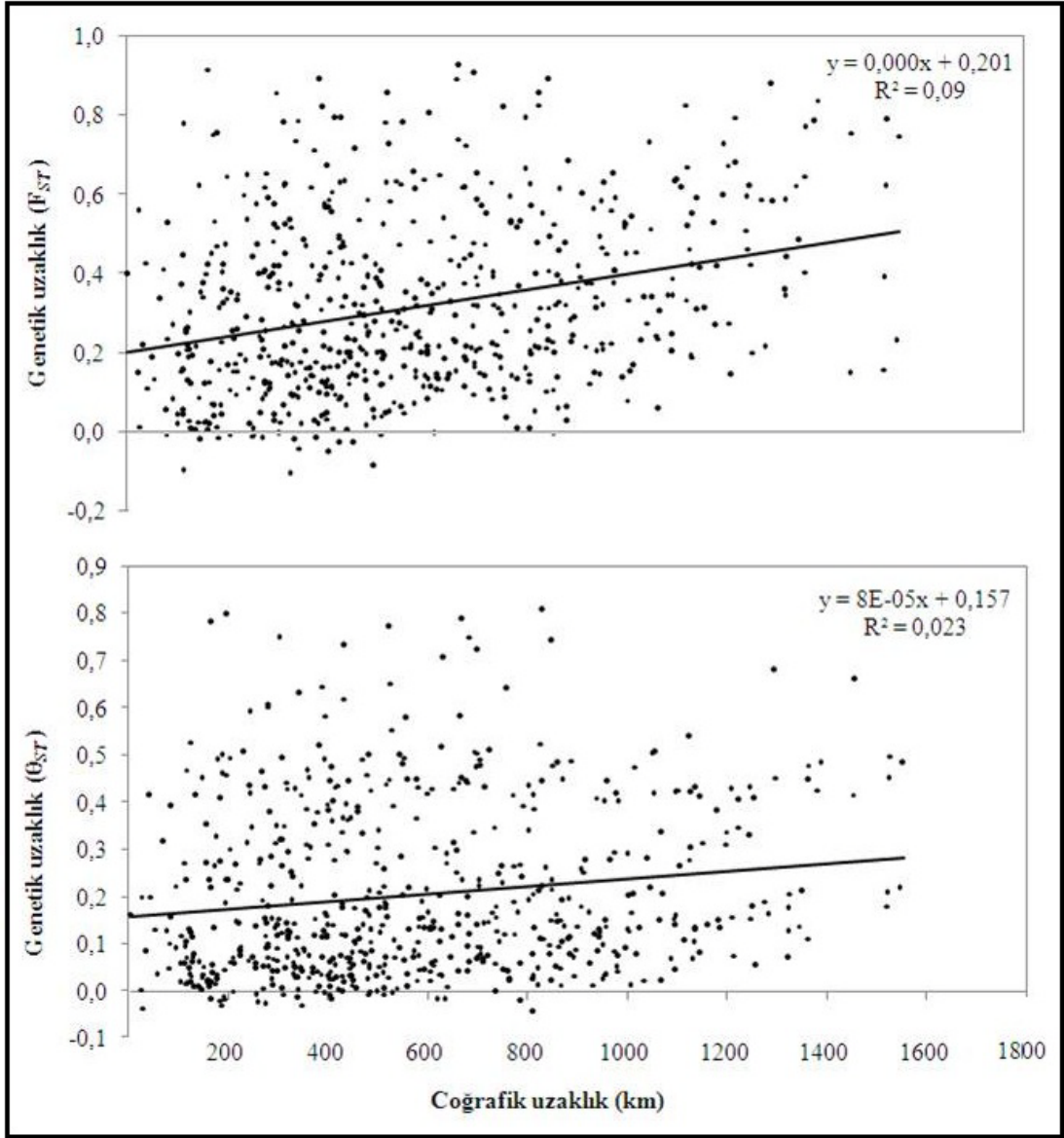
Şekil 3.16 Çekirdek DNA belirteci bazlı temel bileşen analizi **a)** İkili F_{ST} değerleri kullanılarak **b)** İkili θ_{ST} değerleri kullanılarak **c)** Kümelenmelerin harita üzerinde dağılımı

C. parallelus populasyonlarında genetik yapılanmanın oluşumunda gen akışı ve genetik sürüklenmenin görece önemi ve bu ilişkiden herhangi bir sapma olup olmadığı populasyonların genetik uzaklıklarına karşın coğrafik uzaklıklarının regresyonuyla test edilmiştir (Hutchison ve Templeton 1999). Her iki gen bölgesi için ikili F_{ST} ve θ_{ST} değerlerinin analiz edilmesi sonucunda, toplamda dört farklı Mantel testi gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.17). Populasyonların yayılış aralıklarında coğrafik uzaklıkla

mitokondri DNA belirteciye dayalı ikili F_{ST} değerleri arasında anlamlı bir korelasyon gözlenmiştir ($R^2 = 0,041$; $p = 0,002$; Şekil 3.17a). Ancak bu ilişki ikili θ_{ST} değerleri açısından gözlenememiştir ($R^2 = 5E-05$; $p = 0,472$; Şekil 3.17a). Çekirdek DNA belirteciye dayalı ikili F_{ST} değerlerinin coğrafik uzaklıkla ilişkisinin regresyonunda ise mitokondri DNA belirteciye benzer bir şekilde güçlü bir bağlantı çıkmıştır ($R^2 = 0,09$; $p = 0,001$; Şekil 3.17b). Bu ilişkinin ikili θ_{ST} değerleri açısından analizinde ise farklılaşmanın daha az düzeyde ama istatistiksel açıdan anlamlılık sergilediği gözlenmiştir ($R^2 = 0,023$; $p = 0,037$; Şekil 3.17b).



a) Mitokondri DNA belirteci bazlı ikili F_{ST} ve θ_{ST} değerlerine karşın coğrafik uzaklık



b) Çekirdek DNA belirteci bazlı ikili F_{ST} ve θ_{ST} değerlerine karşın coğrafik uzaklık

Şekil 3.17 Genetik uzaklık ve coğrafik uzaklık arasındaki ilişki **a)** Mitokondri DNA belirteci bazlı ikili F_{ST} ve θ_{ST} değerlerine karşın coğrafik uzaklık **b)** Çekirdek DNA belirteci bazlı ikili F_{ST} ve θ_{ST} değerlerine karşın coğrafik uzaklık

Bazı biyocoğrafik örüntüler ve bu örüntülerdeki genetik yapılanmaya bağlı olarak açığa çıkan varyasyon oranlarının araştırılması amacıyla AMOVA analizleri gerçekleştirilmiştir. İlk analizde Toridler, Anatolidler ve Pontidler olmak üzere üç gruba ayrılmış olan Anadolu tektonik yapılanmasının genetik farklılaşma üzerine etkisi araştırılmıştır (Tablo 13 a1a2). Genetik varyasyonun gruplar arasında paylaşımı her iki DNA belirteci açısından da oldukça düşük ancak istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur (mtDNA için % 4,92; $p = 0,0391$ / çekirdek DNA için % 3,23; $p = 0,0322$). Genetik

varyasyonun büyük bir kısmı mitokondri DNA belirteci açısından grup içi populasyonlar arasında ($F_{SC} = \% 57,82$; $p = 0,0000$), çekirdek DNA belirtecinde ise populasyon içinde ($F_{ST} = \% 65,80$; $p = 0,0000$) gözlenmiştir. Ancak belirteçler arasında gözlenen bu farklılığın populasyon ve birey sayılarındaki farklılıktan kaynaklanma ihtimalinin yüksek olacağı düşünülmektedir. Anadolu'nun beş ana biyocoğrafik bölge bazında test edildiği ikinci analizde ise genetik varyasyonun gruplar arasında paylaşımı her iki DNA belirteci açısından istatistiksel olarak anlamlılık sergilememiştir (mtDNA için $p = 0,1329$; çekirdek DNA için $p = 0,2864$; Tablo 13 b1b2). Benzer bir durum ise populasyon içi bireyler arasında gözlenmiştir (mtDNA için $\% 36,07$; $p = 0,0000$ / çekirdek DNA için $\% 67,06$; $p = 0,2864$). Anadolu Diyagonali'nin doğu ve batı olmak üzere iki parçaya ayrılarak genetik örüntülenme üzerine etkisinin test edildiği üçüncü analizde bu yapılanmanın populasyonların genetik yapısı üzerine önemli bir etkisi olduğu gözlenmiştir. Diğer biyocoğrafik yapılanmaların aksine varyasyon oranı gruplar arasında yüksektir (mtDNA için $\% 21,98$; $p = 0,0000$ / çekirdek DNA için $\% 10,27$; $p = 0,0000$; Tablo 13 c1c2). Şimdiye kadar değerlendirilen ilk üç analizin tümünde genetik varyasyonun büyük bir kısmının ya grup içi populasyonlar arasındaki ya da populasyon içi bireyler arasındaki farklılardan tüevlendiği dikkat çekmektedir. Temel bileşen analizlerinde açığa çıkan kümelenmelerde moleküler varyasyonun paylaşımı her üç varyasyon kaynağı açısından da anlamlılık sergilemiştir ($p = 0,0000$; Tablo 13 d1d2). Mitokondri DNA belirteci açısından açığa çıkan 5 grup arasındaki varyasyon oranı $F_{CT} = \% 45,78$; grup içi populasyonlar arasında ise $F_{SC} = \% 21,04$ 'tür. Çekirdek DNA belirtecinde ise varyasyon oranının büyük bir kısmının gruplar arasından ($F_{CT} = \% 17,65$) ziyade, populasyon içinde paylaşıldığı ($F_{ST} = \% 63,82$) dikkat çekmiştir. Bu analizlere ek olarak gerçekleştirilen son analizde ise *C. parallelus* populasyonlarının homojen bir yayılış örüntüsüne sahip olup olmadığı test edilmiştir. Populasyonların yapılanma örüntüleri özellikle mitokondri DNA'sı olmak üzere her iki gen bölgesi için de bir genetik yapılanmaya işaret etmektedir. Mitokondri DNA belirteci açısından populasyonlar arasındaki farklılıktan tüevlenen genetik varyasyon oranının ($\% 62,1$) populasyon içindeki farklılıklardan ($\%37,9$) daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Ancak çekirdek DNA belirteci tam tersi bir sonuç vermiştir. Populasyonlar arasında gözlenen varyasyon oranı ($\% 33,64$) populasyon içi farklılıklardan daha düşüktür ($\% 66,54$).

Tablo 13. AMOVA sonuçları

a1) Anadolu tektonik birimlerine göre moleküler varyasyonun paylaşımı (Mitokondri DNA belirteci dayalı)

	Toridler	Anatolidler	Pontidler		
Populasyonlar	1, 2, 3, 4, 6, 7, 8, 9, 11, 12, 13, 37, 39	20, 28, 29, 30, 31, 32, 34, 35, 42	14, 15, 16, 17, 18, 19, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 33, 40, 41, 43		
AMOVA sonuçları	Varyasyonun Kaynağı	df	SS	% Varyasyon	p değeri
	Gruplar arasında (F_{CT})	2	97,860	4,92	0,0391 ± 0,0061
	Grup içi populasyonlar arasında (F_{SC})	36	832,676	57,82	0,0000 ± 0,0000
	Populasyonlar içinde (F_{ST})	546	523,934	37,26	0,0000 ± 0,0000
	Toplam	584	1454,47		

a2) Anadolu tektonik birimlerine göre moleküler varyasyonun paylaşımı (Çekirdek DNA belirteci dayalı)

	Toridler	Anatolidler	Pontidler		
Populasyonlar	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 9, 10, 11, 12, 13, 36, 37, 39	28, 29, 31, 32, 34, 35, 38, 42	14, 15, 18, 19, 21, 23, 24, 25, 26, 27, 33, 41, 43		
AMOVA sonuçları	Varyasyonun Kaynağı	df	SS	% Varyasyon	p değeri
	Gruplar arasında (F_{CT})	2	64,641	3,23	0,0322 ± 0,0048
	Grup içi populasyonlar arasında (F_{SC})	33	501,729	30,97	0,0000 ± 0,0000
	Populasyonlar içinde (F_{ST})	500	955,384	65,80	0,0000 ± 0,0000
	Toplam	535	1521,75		

b1) Beş ana biyocoğrafik bölge bazında moleküler varyasyonun paylaşımı (Mitokondri DNA belirtecine dayalı)

	Ege Anadolusu	Akdeniz Anadolusu	Doğu Anadolu	Karadeniz Havzası	Orta Anadolu
Populasyonlar	6, 19, 20, 21, 22	2, 3, 4, 11, 12, 13	1, 7, 8, 9, 32, 34, 35, 37, 39, 42	23, 24, 25, 26, 33, 40, 41, 43	27, 28, 29, 30, 31
AMOVA sonuçları					
	Varyasyonun Kaynağı	df	SS	% Varyasyon	p değeri
	Gruplar arasında (F_{CT})	4	154,947	3,64	0,1329 ± 0,0103
	Grup içi populasyonlar arasında (F_{SC})	29	745,192	60,29	0,0000 ± 0,0000
	Populasyonlar içinde (F_{ST})	479	477,146	36,07	0,0000 ± 0,0000
	Toplam	512	1377,29		

b2) Beş ana biyocoğrafik bölge bazında moleküler varyasyonun paylaşımı (Çekirdek DNA belirtecine dayalı)

	Ege Anadolusu	Akdeniz Anadolusu	Doğu Anadolu	Karadeniz Havzası	Orta Anadolu
Populasyonlar	6, 19, 21	2, 3, 4, 5, 10, 11, 12, 13	1, 7, 9, 32, 34, 35, 36, 37, 39, 42	23, 24, 25, 26, 33, 38, 41, 43	27, 28, 29, 31
AMOVA sonuçları					
	Varyasyonun Kaynağı	df	SS	% Varyasyon	p değeri
	Gruplar arasında (F_{CT})	4	80,544	1,16	0,2864 ± 0,0140
	Grup içi populasyonlar arasında (F_{SC})	28	442,946	31,78	0,0000 ± 0,0000
	Populasyonlar içinde (F_{ST})	462	911,219	67,06	0,0000 ± 0,0000
	Toplam	494	1434,71		

c1) Anadolu Diyagonali'ne bağlı moleküler varyasyonun paylaşımı (Mitokondri DNA belirtecine dayalı)

	Anadolu Diyagonali'nin Doğusu	Anadolu Diyagonali'nin Batısı			
Populasyonlar	7, 8, 9, 11, 12, 13, 37, 39, 40, 41, 42, 43	1, 2, 3, 4, 6, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35			
AMOVA sonuçları					
	Varyasyonun Kaynağı	df	SS	% Varyasyon	p değeri
	Gruplar arasında (F_{CT})	1	184,865	21,98	0,0000 ± 0,0000
	Grup içi populasyonlar arasında (F_{SC})	32	715,273	45,91	0,0000 ± 0,0000
	Populasyonlar içinde (F_{ST})	479	477,146	32,11	0,0000 ± 0,0000
	Toplam	512	1377,29		

c2) Anadolu Diyagonali'ne bağlı moleküler varyasyonun paylaşımı (Çekirdek DNA belirtecine dayalı)

	Anadolu Diyagonali'nin Doğusu	Anadolu Diyagonali'nin Batısı			
Populasyonlar	7, 9, 10, 11, 12, 13, 37, 38, 39, 41, 42, 43	1, 2, 3, 4, 5, 6, 19, 21, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 31, 32, 33, 34, 35, 36			
AMOVA sonuçları					
	Varyasyonun Kaynağı	df	SS	% Varyasyon	p değeri
	Gruplar arasında (F_{CT})	1	90,040	10,27	0,0000 ± 0,0000
	Grup içi populasyonlar arasında (F_{SC})	31	433,450	26,04	0,0000 ± 0,0000
	Populasyonlar içinde (F_{ST})	462	911,219	63,69	0,0000 ± 0,0000
	Toplam	494	1434,71		

d1) Temel bileşen analizleri sonucunda gözlenen 5 kümelenme arasında moleküler varyasyonun paylaşımı (Mitokondri DNA belirtecine dayalı)

	<u>Kırmızı Zon</u>	<u>Sarı Zon</u>	<u>Yeşil Zon</u>	<u>Mavi Zon</u>	<u>Siyah Zon</u>
Populasyonlar	1, 31, 32, 33, 34	7, 8, 39, 42	12, 19, 25, 26, 40, 41, 43	9, 11, 13, 30	2, 3, 4, 6, 14, 15, 16, 17, 18, 20, 21, 22, 23, 24, 27, 28, 29, 35, 37
AMOVA sonuçları	Varyasyonun Kaynağı	df	SS	% Varyasyon	p değeri
	Gruplar arasında (F_{CT})	4	591,743	45,78	0,0000 ± 0,0000
	Grup içi populasyonlar arasında (F_{SC})	34	338,792	21,04	0,0000 ± 0,0000
	Populasyonlar içinde (F_{ST})	546	523,934	33,17	0,0000 ± 0,0000
	Toplam	584	1454,47		

d2) Temel bileşen analizleri sonucunda gözlenen 5 kümelenme arasında moleküler varyasyonun paylaşımı (Çekirdek DNA belirtecine dayalı)

	<u>Sarı Zon</u>	<u>Kırmızı Zon</u>	<u>Mavi Zon</u>	<u>Siyah Zon</u>	
Populasyonlar	7, 9, 10, 11, 12, 13, 39, 41	1, 2, 3, 5, 19, 29, 34, 35, 36, 38, 43	33, 42	4, 6, 14, 15, 18, 21, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 31, 32, 37	
AMOVA sonuçları	Varyasyonun Kaynağı	df	SS	% Varyasyon	p değeri
	Gruplar arasında (F_{CT})	3	219,917	17,65	0,0000 ± 0,0000
	Grup içi populasyonlar arasında (F_{SC})	29	303,573	18,53	0,0000 ± 0,0000
	Populasyonlar içinde (F_{ST})	462	911,219	63,82	0,0000 ± 0,0000
	Toplam	494	1434,71		

e1) Kümeleme yapmaksızın tüm çalışma aralığı boyunca populasyonlar arasında moleküler varyasyonun paylaşımı (Mitokondri DNA belirtecine dayalı)

AMOVA sonuçları

Varyasyonun Kaynağı	df	SS	% Varyasyon	p değeri
Populasyonlar arasında	38	930,536	62,1	0,0000 ± 0,0000
Populasyonlar içinde	546	523,934	37,9	0,0000 ± 0,0000
Toplam	584	1454,47		

e2) Kümeleme yapmaksızın tüm çalışma aralığı boyunca populasyonlar arasında moleküler varyasyonun paylaşımı (Çekirdek DNA belirtecine dayalı)

AMOVA sonuçları

Varyasyonun Kaynağı	df	SS	% Varyasyon	p değeri
Populasyonlar arasında	35	566,370	33,46	0,0000 ± 0,0000
Populasyonlar içinde	500	955,384	66,54	0,0000 ± 0,0000
Toplam	535	1521,75		

3.4 Filogeni ve Filocoğrafya

3.4.1 Filogenetik Analizler

Maksimum olasılık haritalama yöntemi eşkenar üçgen alanını yedi bölgeye ayırmaktadır (Şekil 3.18a). Köşelerde yer alan üç ikizkenar yamuk (Bölge 1, 2 ve 3) tam olarak dikotomik ağaçları destekleyen bölgeleri sunmaktadır. Yanlarda yer alan üç dikdörtgen (Bölge 4, 5 ve 6) iki ağaç arasında verilecek olan kararın net olmadığı bölgeleri sunmaktadır. Üçgenin merkezi (Bölge 7) ise tüm ağaçların eşit olarak desteklendiği bölgeye denk gelmektedir. Biyolojik açıdan değerlendirildiği zaman ikizkenar yamuklara ait olan bölgeler tümüyle çözünmüş ağaç topolojilerinin, üçgenin merkezinde yer alan bölge yıldız benzeri (star-like) filogenilerin ve dikdörtgenlerin oluşturduğu bölge ise şebeke benzeri (network-like) filogeninin yüzdesine işaret etmektedir. Yıldız benzeri ya da şebeke benzeri bölgelerdeki noktaların %20-%30'undan daha fazlasını gösteren bir olasılık

haritalama analizi kullanılan DNA verisinin filogenetik çıkarsama için güvenilir olmadığını önermektedir (Schmidt 2009).

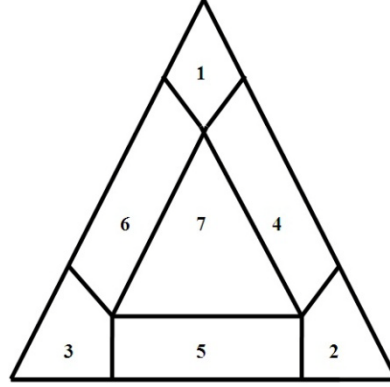
Her iki DNA veri seti için gamma dağılımlı oran varyasyonlu GTR nükleotid yer değişim modeli ve değişken olmayan pozisyonların oranının tahmin edilmesini öneren model seçilmiştir. Rastgele seçimli 20 000 dörtlü kullanım seçeneğinin yanı sıra parametre tahminlerinde ise yaklaşık seçeneğine başvurulmuştur. Nükleotidlerin bulunma ve değişim sıklıkları için veri setinden seçme parametresi kullanılmıştır. Bu yöntemle başvurularak gerçekleştirilen analiz sonuçları Şekil 3.18b ve c’de sunulmuştur. Mitokondri DNA veri setinde tam olarak çözülmüş ağaç benzeri sinyale sahip bölgeler % 77,6 oranla temsil edilirken, yıldız ya da şebeke benzeri filogeniyi öneren bölgelerin toplam miktarı ise % 22,4’e denk gelmiştir (Şekil 3.18b). Bu oranlar çekirdek DNA veri seti için değerlendirilecek olursa, dikotomik ağaçları destekleyen bölgelerin toplam miktarı % 65 ile daha düşük, yıldız ya da şebeke benzeri filogeniyi öneren bölgelerin toplam miktarı % 35 ile daha yüksek oranda gözlenmiştir (Şekil 3.18c).

3.4.1.1 Uzaklık Analizleri

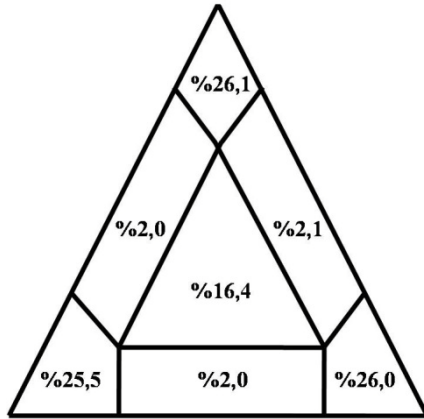
Mitokondri DNA belirtici kullanılarak gerçekleştirilen NJ dendogramı *C. parallelus* populasyonlarında altı farklı kümelenmeye işaret etmiştir (Şekil 3.19). Bu kümelenmelerde ilk gözlenen bulgu Anadolu Diyagonalı’nın doğusunda yer alan populasyonların genel olarak ayrı bir kümelenme oluşturmasıdır. Batı populasyonları ise iki farklı kümelenme göstermiş olup bu kümelenmelerden kırmızı ile gösterilen grupta Trakya populasyonlarının yer almadığı saptanmıştır. Diyagonalin batısında yer alan kümelenmelerde birer doğu populasyonu olan Populasyon 12 (Bingöl-Karacabey), 40 (Bayburt-İspir), 41 (Erzurum-İspir) ve 43 (Ardahan-Posof) bulunmuştur. Aynı zamanda Populasyon 42 (Erzurum-Horasan) 3 haplotipi ile en dışta yer almış olup, tüm diğer populasyonlardan ayrı bir kümelenme oluşturmuştur. Bu kümelenme % 100 desteklenmiştir. Dendogramda gözlenen bir diğer bulgu ise bazı doğu populasyonları dışında (Erzurum-Horasan, Hakkari-Çukurca ve Bitlis-Tatvan) kalan tüm diğer populasyonların bootstrap değerlerinin oldukça düşük gözlenmesidir.

Cpnl-1 haplotipleri arasında genetik uzaklık veri matrisine dayandırılarak oluşturulan NJ dendogramında ise Anadolu topografyasında doğrudan bir kümelenme gözlenememiştir (Şekil 3.20). Bu dendogramda kırmızı, mavi, sarı ve siyah olmak üzere dört farklı kümelenme gösterilmekle birlikte istatistiksel açıdan bir anlamlılık ifade etmemektedir.

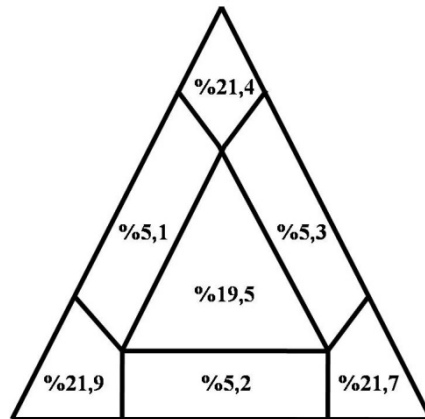
Ancak güvenilirlik değerleri çok düşük olmakla birlikte bazı doğu popülasyonlarını temsil eden haplotiplerin ayrı bir grup oluşturması (sarı ile gösterilen grup) dikkat çekmektedir. Haplotiplerin dağılımlarının güvenilirlik değerleri çok düşük bir aralıkta yer almıştır. NJ dendogramında gözlenen bu durumun özellikle kodlama yapmayan, tekrarlı bir gen fragmanı olan *Cpnl-1* belirtecinin doğasından kaynaklandığı düşünülmektedir.



a) Eşkenar üçgende farklı evrimsel hikayeleri destekleyen yedi ana bölge



b) Mitokondri DNA veri seti



c) Çekirdek DNA veri seti

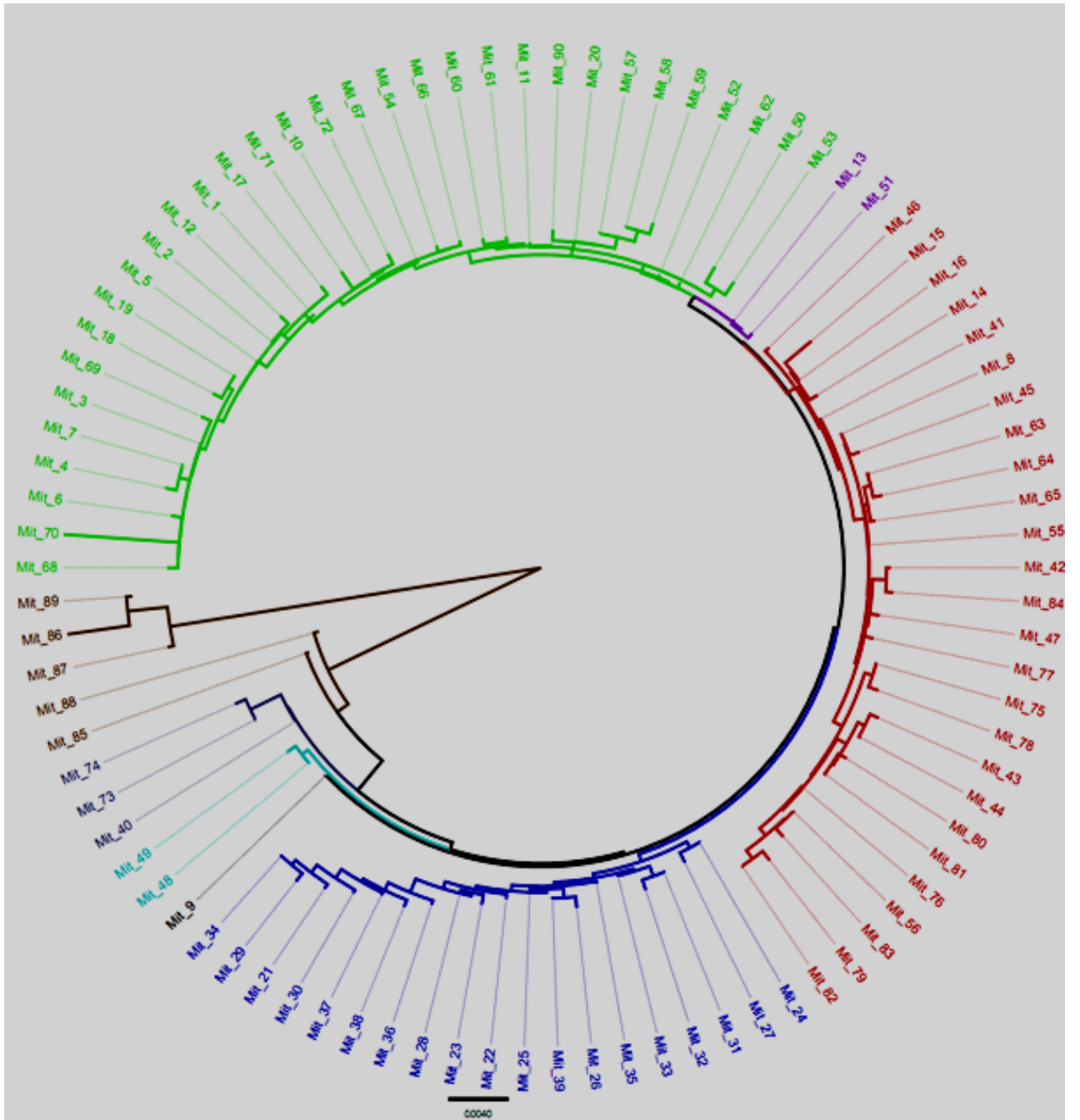
Şekil 3.18 Olasılık haritalama analizi a) Eşkenar üçgende farklı evrimsel hikayeleri destekleyen yedi ana bölge b) Mitokondri DNA veri seti c) Çekirdek DNA veri seti. Numaralar (1-7) metinde açıklanan bölgeleri göstermektedir. Bölgelerde verilen yüzde değerleri tümüyle çözülmüş (köşeler, 1-3), kısmen çözülmüş (kenarlar boyunca, 4-6) ve tümüyle çözülmemiş dörtlülerin (merkez, 7) oranını göstermektedir.

Popülasyonlar arasında genetik farklılaşma değerlerinin görsel olarak sunulması amaçlanarak Fitch Margoliash modeli kullanılarak F_{ST} değerlerinden (istatistiksel açıdan anlamlılık sergilemeyenler de dahil) inşa edilen fenogramlar Şekil 3.21 ve 22'de sunulmuştur. Bu fenogramlar bir soy-hattına işaret etmemekte ve popülasyonlar arasında bir akrabalık ilişkisi hakkında da bilgi vermektedir. Mitokondri veri setinden oluşturulan fenogramda bazı popülasyon geçişlerinin olmasıyla birlikte Anadolu Diyagonalı'nın

doğusunda yer alan populasyonlarda bir yapılanma mevcuttur. Ayrıca bu populasyonlar içerisinde Erzincan-Tunceli, Erzurum-Horasan, Van-Hakkari ve Hakkari-Şemdinli populasyonları diğer tüm populasyonlardan ayrılmaktadır. Diğer bir kümelenme ise Sivas-Yıldızeli, Sivas-Şerefiye ve Ordu-Akkuş populasyonları arasında gözlenmiştir (Şekil 3.21). Antalya-Saklıkent, Niğde-Ulukışla, Bolu-Kartalkaya populasyonları ile Adana-Develi, Sivas-Suşehri, Çorum Alaca ve Kayseri-Şarkışla populasyonları olmak üzere iki farklı kümelenme ile birlikte, toplamda Orta ve Güney Anadolu geçiş zonlarına işaret eden bir yapılanma sergilemiştir. Çekirdek DNA veri setinden oluşturulan fenogram benzer bir şekilde doğu batı ayrımına işaret etmekle birlikte Erzurum-Horasan populasyonunun batı ve özellikle de Trakya populasyonları arasında yer alması dikkat çekmiştir. Doğu yapılanmasında Erzincan-Tunceli, Bingöl-Karacabey, Hakkari-Çukurca ve Van-Hakkari populasyonları ile Elazığ-Maden, Muş-Tatvan, Erzurum-İspir ve Bitlis-Tatvan populasyonları olmak üzere iki ayrı yapılanma yer almıştır (Şekil 3.22). Populasyonların mitokondri ikili F_{ST} değerlerinde gözlenen Orta ve Güney Anadolu yapılanmasına benzer ve özelde daha geniş bir yelpazeyi kapsayan bir Kuzeydoğu, Orta ve Güneybatı Anadolu geçiş zonu çekirdek DNA veri setinden inşa edilen bu fenogramda da gözlenmiştir.

3.4.1.2 Maksimum Olasılık Analizleri

Filogeni tahmini için Felsenstein (1973) ve Farris (1973) tarafından geliştirilen bir yöntemdir. Bu yöntemin ön kabulüne göre evrimsel değişimler yani her bir karakterin diğer bir duruma değişmesinin ya da yeni bir karakterin açığa çıkmasının belirli bir olasılığı bulunmaktadır. Özellikle DNA dizi verisine dayalı filogeni tahminlerinde oldukça kullanışlı bir yöntemdir. En hızlı ve oldukça güvenilir bir dizi verisine dayalı filogeni programlarından olan RAxML kullanılarak inşa edilen ML ağaçlarında mitokondri DNA verisi Erzurum-Horasan populasyonunu tüm diğer populasyonlardan ayırmıştır (Şekil 3.23). Aynı zamanda NJ dendogramına ve Fitch fenogramına benzer bir şekilde Anadolu populasyonları açısından bir doğu batı örüntülenmesine işaret etmiştir. Ancak çekirdek DNA verisi kullanılarak inşa edilen ML ağacında bu örüntünün kaybolduğu gözlenmiştir (Şekil 3.24). Örüntünün kaybolduğunu gösterebilmek için mitokondri haplotiplerinde gözlenen yapılanmaları işaret eden renkler (Şekil 3.24), bu ağaç üzerinde de gösterilmiştir.



Niğde-Ulukışla	Çorum-Alaca
Antalya-Saklıkent	Aksaray-Nevşehir
Konya-Beyşehir	Yozgat-Sorgun
Afyon-Kaçıborlu	Sivas-Yıldızeli
Trakya popülasyonları	Kayseri-Şarkışla
Kütahya-Çavdar	Ordu-Akkuş
Bursa-Keleş	Sivas-Şerefiye
Eskişehir-Sarıcakaya	Sivas-Suşehri
Bolu-Nallıhan	Malatya-Arğuvan
Bolu-Kartalkaya	Erzurum-İspir
Kırkkale-Ankara	Ardahan-Posof

Niğde-Ulukışla	Bolu-Ankara
Konya-Beyşehir	Sivas-Suşehri
Bingöl-Karacabey	Bayburt-İspir
Manisa-Gördes	Erzurum-İspir
Çankırı-Çevreş	Ardahan-Posof

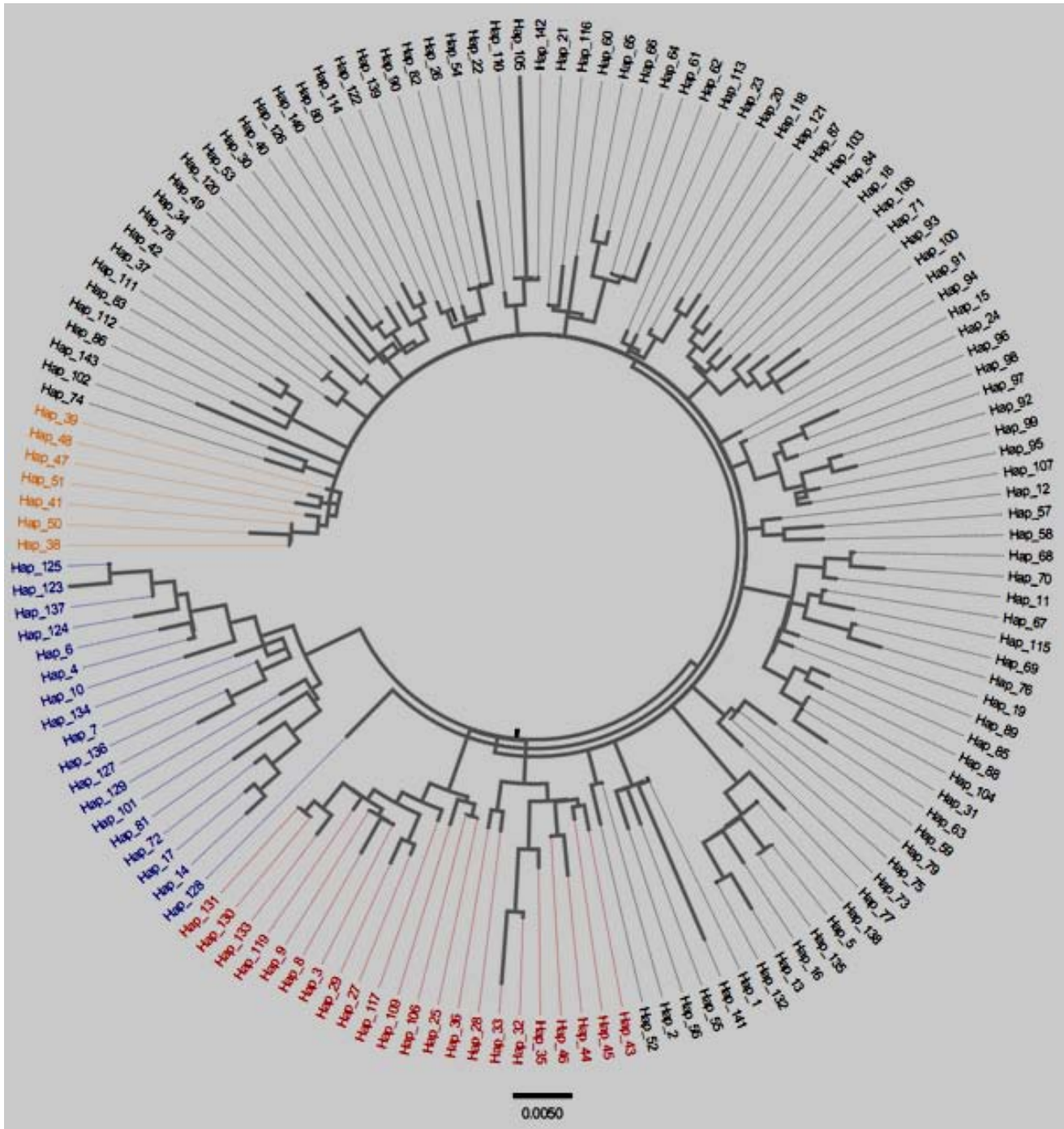
Van-Hakkari	Hakkari-Şemdinli
-------------	------------------

Bitlis-Tatvan

Hakkari-Çukurca	Erzincan-Tunceli
-----------------	------------------

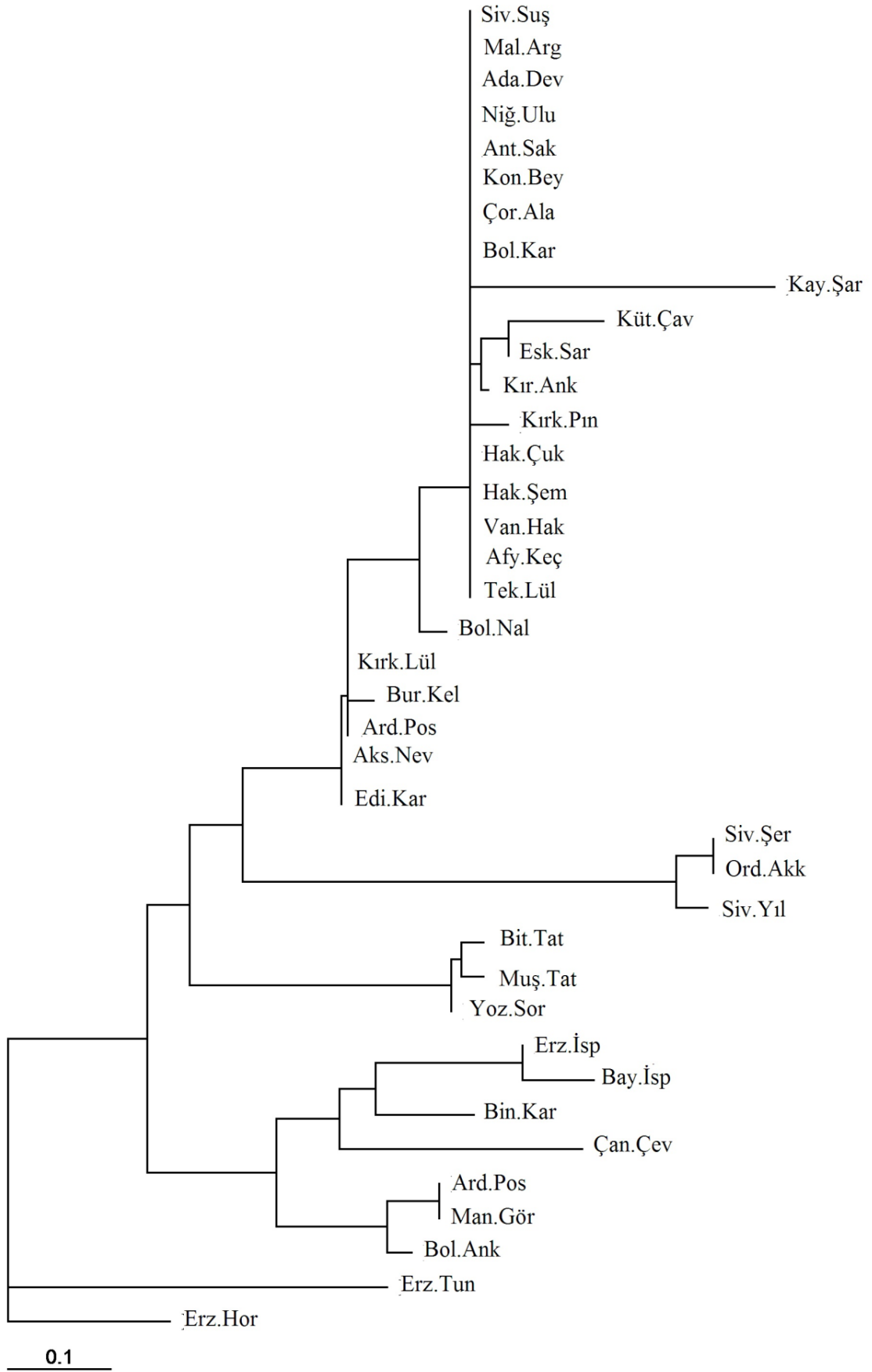
Erzurum-Horasan

Şekil 3.19 Mitokondri haplotipleri arasında Komşu Bağlama (NJ) dendrogramı (Genetik uzaklık veri matrisine dayalı K2-P modeli ile oluşturulmuştur.)

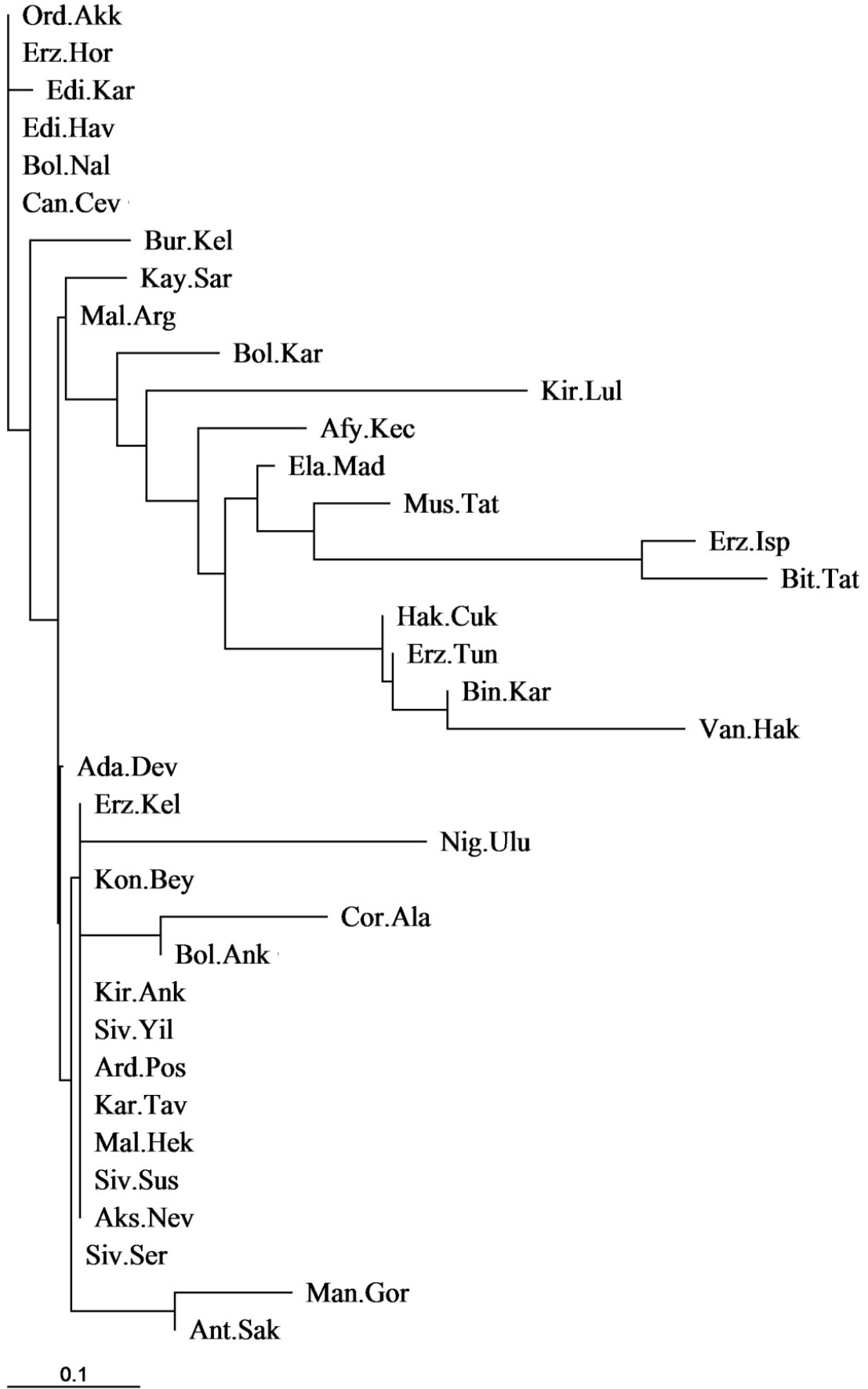


Van-Hakkari	Elazığ-Maden	Erzincan-Tunceli	Adana-Develi	Kayseri-Şarkışla
Hakkari-Çukurca	Bingöl-Karacabey		Niğde-Ulukışla	Sivas-Şerefiye
			Antalya-Saklıkent	Sivas-Suşehri
			Manisa-Göğdes	Malatya-Arğıvan
			Çankırı-Çevkeş	Erzincan-Kelkit
Adana-Develi	Kırıkkale-Ankara	Sivas-Şerefiye		
Niğde-Ulukışla	Aksaray-Nevşehir	Sivas-Suşehri		
Antalya-Saklıkent	Hakkari-Çukurca	Malatya-Hekimhan		
Karaman-Tavşanlı	Edirne-Havsa	Malatya-Arğıvan		
Çankırı-Çevkeş	Sivas-Yıldızeli	Erzincan-Kelkit		
Bolu-Ankara	Kayseri-Şarkışla	Ardahan-Posof		

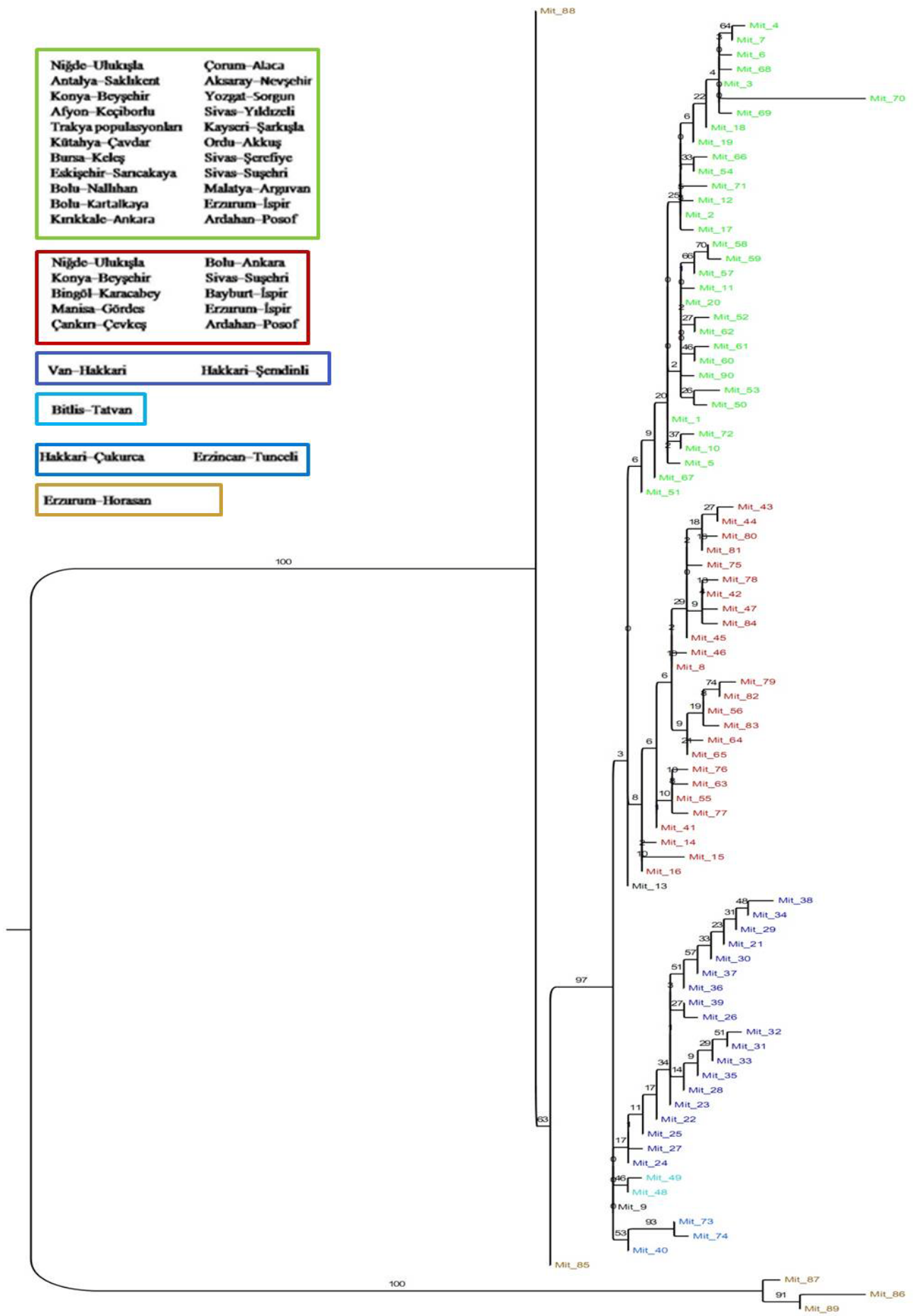
Şekil 3.20 *Cpn1-1* haplotipleri arasında Komşu Bağlama (NJ) dendrogramı (Genetik uzaklık veri matrisine dayalı K2-P modeli ile oluşturulmuştur.)



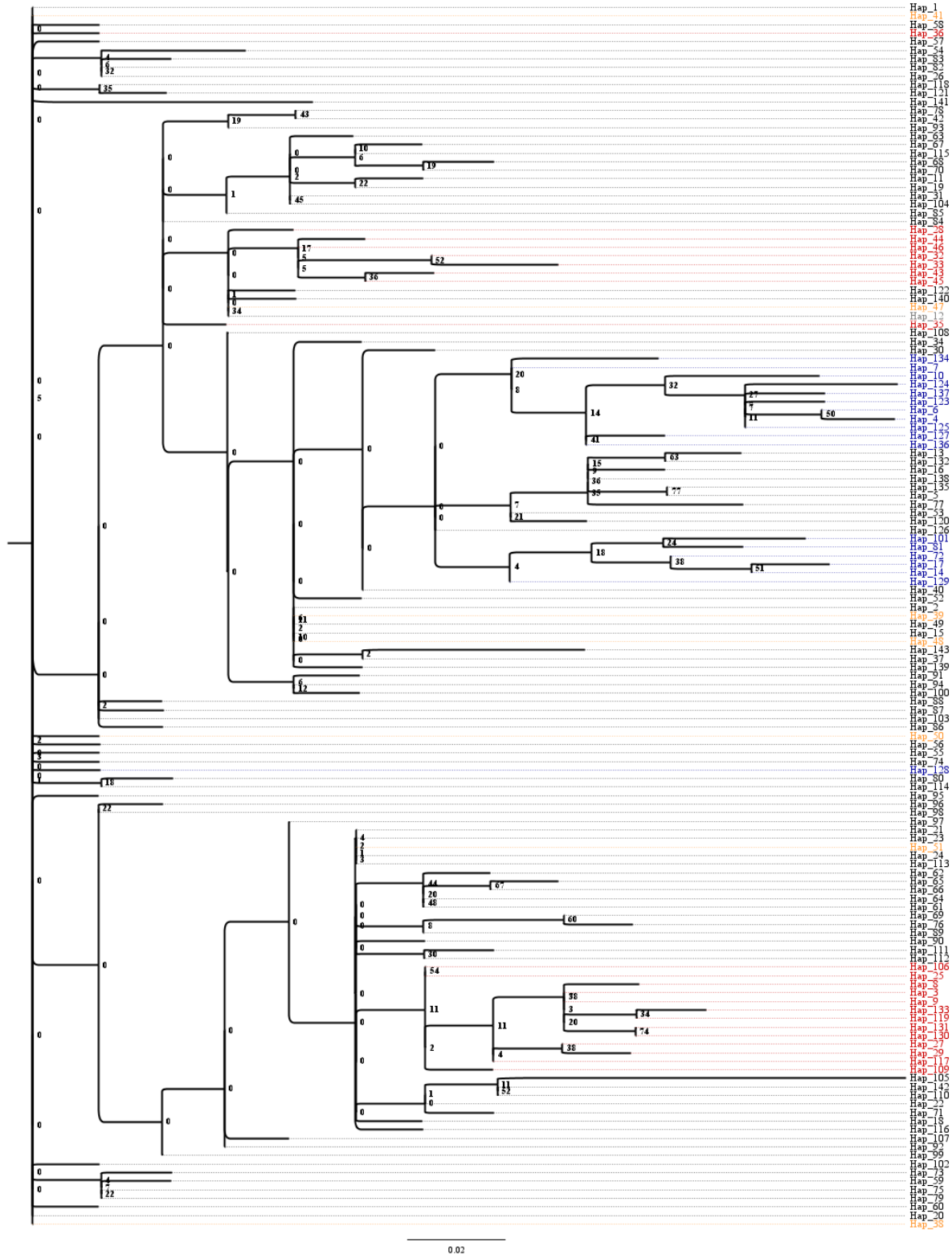
Şekil 3.21 Populasyonlar arasında Mitokondri DNA bazlı Fitch fenogramı (İkili F_{ST} değerleri kullanımına dayalı Fitch ve Margoliash yöntemi ile oluşturulmuştur.)



Şekil 3.22 Populasyonlar arasında çekirdek DNA bazlı Fitch fenogramı (İkili F_{ST} değerleri kullanımına dayalı Fitch ve Margoliash yöntemi ile oluşturulmuştur.)



Şekil 3.23 Mitokondri haplotipleri arası maksimum olasılık yöntemine dayalı filogenetik ağaç (GTR+G+I modeli ve DNA partition parametresi kullanılarak inşa edilmiştir. Skala genetik uzaklığı göstermektedir.)



Şekil 3.24 *Cpl-1* haplotipler arası maksimum olasılık yöntemine dayalı filogenetik ağaç (GTR+G+I modeli kullanılarak inşa edilmiştir. Tüm indel pozisyonları uzaklaştırılmıştır. Skala çubuğu genetik uzaklığı göstermektedir.)

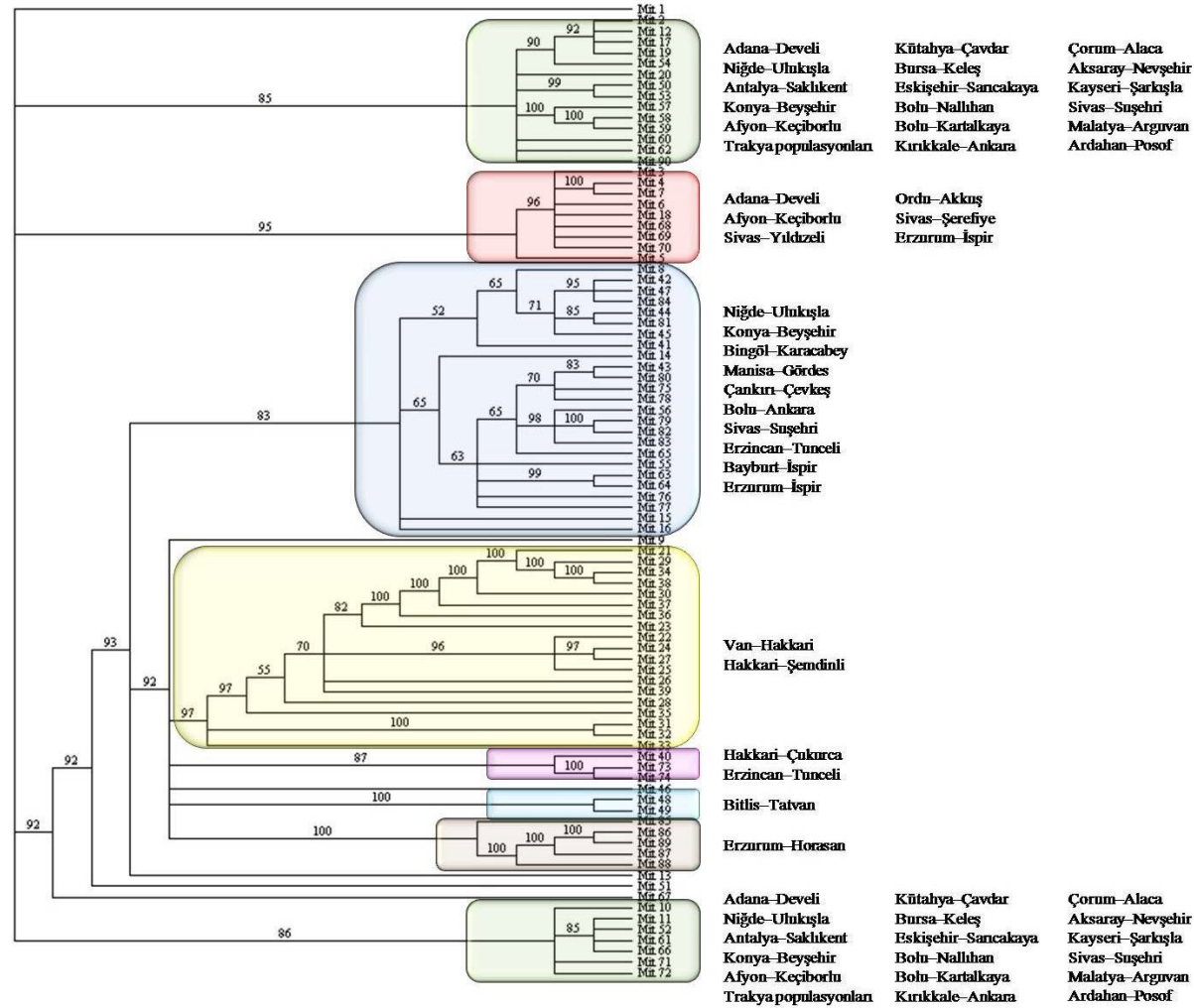
3.4.1.3 Maksimum Parsimoni Analizleri

Taksonlar arasında filogenetik ilişkinin açığa çıkarılmasında yaygın biçimde kullanım alanı bulan ve şimdiye kadarki uygulamalarda iyi sonuç veren bu yöntem Camin ve Sokal (1965) tarafından geliştirilen bir algoritmadır. Evrimin en kısa yolu izlediği, diğer bir deyişle doğanın tutucu bir biçimde tutumlu olduğu ve evrimsel süreçlerin ekonomik olduğu ön kabulünden hareketle çalışmaktadır. Bir grubun filogenisini en iyi tahmin eden ağacın en az evrimsel değişme (karakter değişmesi) gösteren ağaç olduğu prensibinden hareketle çalışmaktadır.

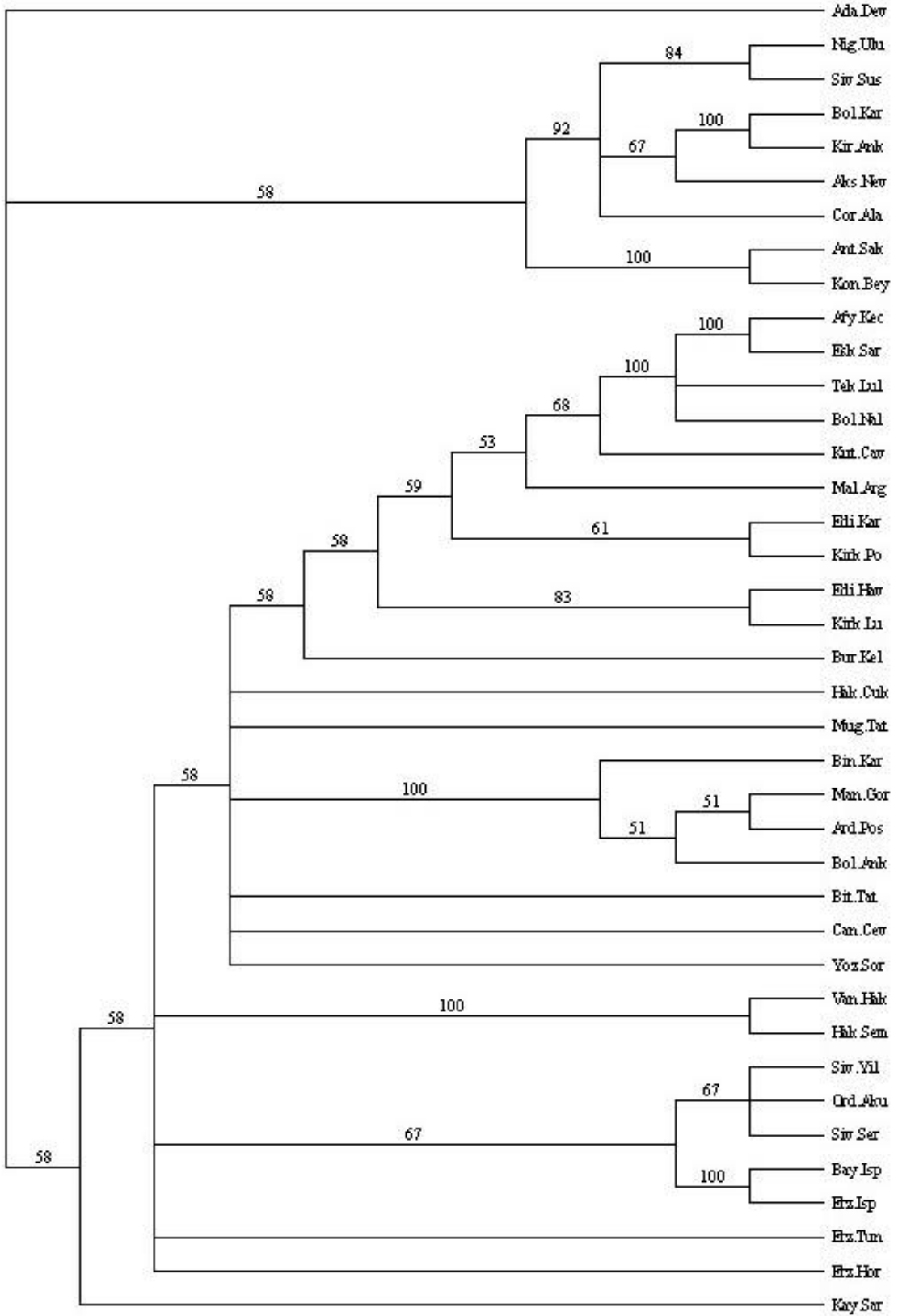
İlk analiz mitokondri haplotipler arasında maksimum parsimoni algoritması kullanılarak inşa edilmiştir. Analiz sonucunda ağaç uzunluğu 164 adım olarak belirlenmiştir. Karakterlerin performansı PAUP'un analizi sırasında elde ettiği çeşitli indekslerle değerlendirilebilir. CI (consistency index; Kluge ve Farris 1969), RI (retention index; Farris 1969) ve RC (rescaled consistency index; Farris 1989) bunlardan bazılarıdır. RC'nin karakter performansını belirlemede daha iyi sonuç verdiği önerilmektedir (Quicke 1993). Bu indeksler daha çok bir karakterin ağaca pozitif katkısını değerlendiren indekslerdir. Bu indeks değerlerinin dışında HI (homoplasi index) bulunmaktadır ve bir karakterin ne kadar homoplasi gösterdiğini ölçmektedir. İlk analizde inşa edilen ağaçlarda karakterlerin performans indeksleri sırasıyla CI: 0,6768; HI: 0,3232; RI: 0,8753 ve RC: 0,5924'tür. Analiz sonrasında alternatif parsimonik ağaçların bulunduğu durumlarda, bu ağaçlardaki ortak olan bilgiyi özetleyen %50 Çoğunluk Kuralı Ağacı (50% Majority Rule) Şekil 3.25'te sunulmuştur. Ağaç topolojisi farklı kümelenmelere işaret etmiştir ve bu kümelenmeler renklendirilerek ağaç üzerinde gösterilmiştir (Şekil 3.25). Bu kümelenmelerden Van-Hakkari ve Hakkari-Şemdinli populasyonlarına, Hakkari-Çukurca ve Erzincan-Tunceli populasyonlarına, Bitlis-Tatvan populasyonuna ve Erzurum-Horasan populasyonuna ait haplotipler kendi içinde ayrı bir kümelenme göstermekte ve bir doğru kladı olarak dikkat çekmektedirler. Ayrıca bu kladla monofiletik bir ilişki sergileyen diğer bir kladda ise bazı doğru populasyonlarının (Erzurum-İspir, Bayburt-İspir ve Erzincan-Tunceli populasyonları gibi) bulunması da doğru batı populasyonları arasında bir geçiş zonunun varlığına işaret etmektedir. Bu muhtemel geçiş zonunu temsil eden kladda yer alan populasyonlarda Trakya Bölgesi'ne ait populasyonlar bulunmamıştır.

Cpnl-1 haplotipler arasındaki filogenetik ilişkiyi tahmin etmek amacıyla gerçekleştirilen ikinci analiz sonucunda ise ağaç uzunluğu 140 adım olarak belirlenmiştir. Maksimum ağaç sayısı 2000 ile sınırlandırılmış olan bu ağaçlarda karakterlerin performans indeksleri sırasıyla CI: 0,4143; HI: 0,5857; RI: 0,7831 ve RC: 0,3244'tür. Analiz sonrasında alternatif parsimonik ağaçların bulunduğu durumlarda, bu ağaçlardaki ortak olan bilgiyi özetleyen %50 Çoğunluk Kuralı Ağacı (50% Majority Rule) Şekil 3.26'da sunulmuştur. Ağaç topolojisi değerlendirildiği zaman mitokondri haplotiplerinde gözlenen bulguların tersine bir doğu batı farklılaşması gözlenememiştir. Ancak her iki belirteç tarafından desteklenen ve ayrıca diğer gen ağaçlarında da gözlenen bir Kuzeydoğu, Orta ve Güneybatı Anadolu geçiş zonu saptanmıştır (Şekil 3.26).

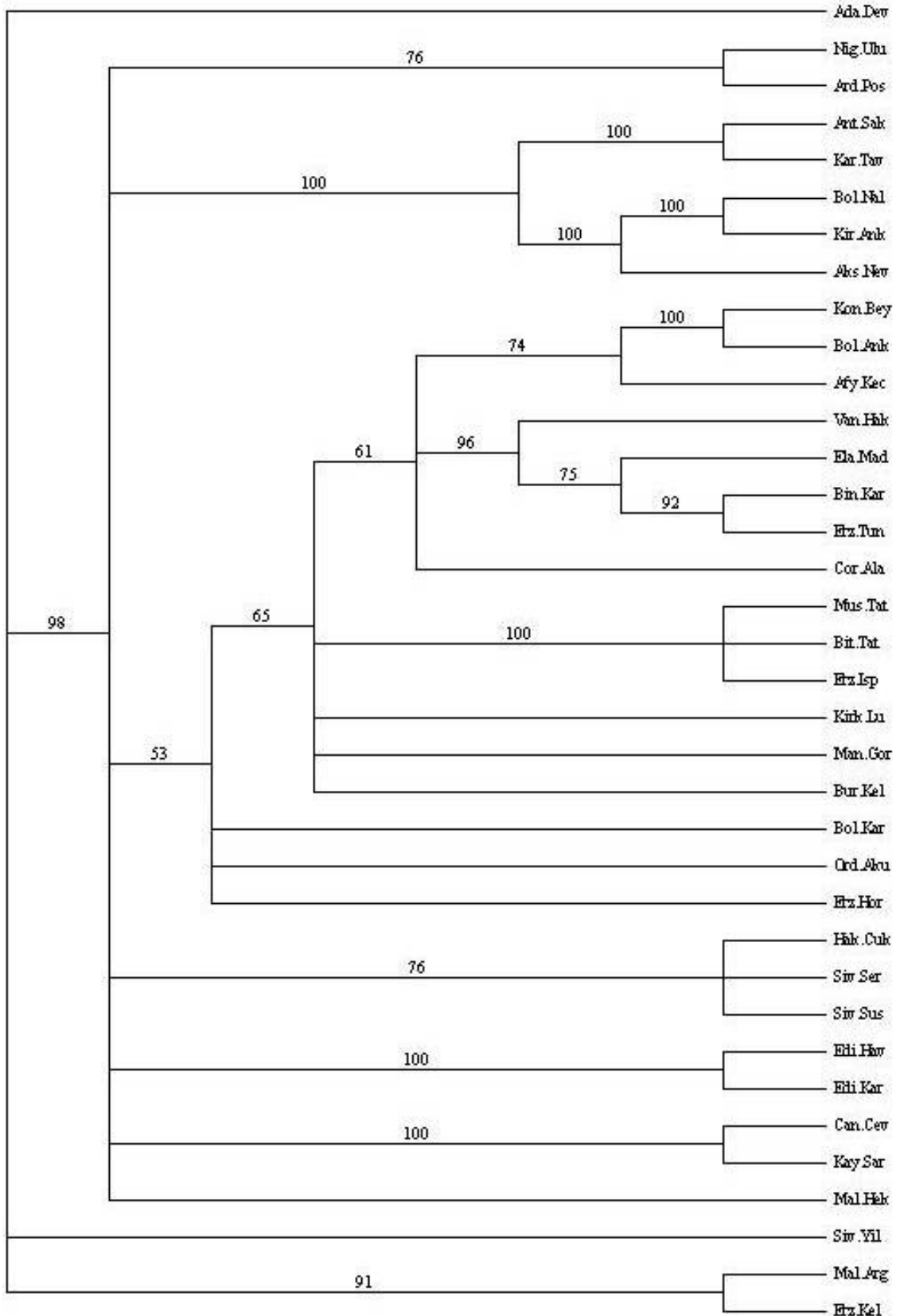
Haplotiplerin nükleotid dizilerine ek olarak populasyonlarda bulunup bulunmamasına göre kodlanarak gerçekleştirilen parsimoni analizlerinden mitokondri DNA haplotiplerine ait analizde ağaç uzunluğu 120 adım olan toplam 901 ağaç elde edilmiştir. Bu ağaçlarda karakterlerin performans indeksleri sırasıyla CI: 0,7417; HI: 0,2583; RI: 0,7182 ve RC: 0,5327'dir. Analiz sonrasında alternatif parsimonik ağaçların bulunduğu durumlarda, bu ağaçlardaki ortak olan bilgiyi özetleyen %50 Çoğunluk Kuralı Ağacı (50% Majority Rule) Şekil 3.27'de sunulmuştur. Diğer taraftan *Cpnl-1* haplotiplerini temsil eden populasyonlarda gerçekleştirilen analizde toplam 2000 ağaç ile sınırlandırılan ve ağaç uzunluğu 187 adım olan ağaçlar elde edilmiştir. Bu ağaçlarda karakterlerin performans indeksleri sırasıyla CI: 0,7647; HI: 0,2353; RI: 0,5644 ve RC: 0,4316'dır. Analiz sonrasında alternatif parsimonik ağaçların bulunduğu durumlarda, bu ağaçlardaki ortak olan bilgiyi özetleyen %50 Çoğunluk Kuralı Ağacı (50% Majority Rule) Şekil 3.28'de sunulmuştur. Her iki analizde de bir doğu batı yapılanması kısmen de olsa gözlenmekle birlikte bu yapılanma mitokondri haplotipleri kullanılarak oluşturulan ağaç topolojisinde daha fazla dikkat çekmektedir. Ayrıca Trakya populasyonları içinde benzer bir durumdan söz etmek mümkündür.



Şekil 3.25 Mitokondri haplotipleri arası maksimum parsimoni yöntemine dayalı %50 Çoğunluk kuralı uyumluluk ağacı. Renkli gruplar haplotiplerin temsil ettiği popülasyonları göstermektedir.



Şekil 3.27 Mitokondri haplotiplerinin populasyonlarda temsil edilip edilmemesiyle oluşturulan maksimum parsimoni yöntemine dayalı %50 Çoğunluk kuralı uyumluluk ağacı.



Şekil 3.28 *Cpl-1* haplotiplerin populasyonlarda temsil edilip edilmemesiyle oluşturulan maksimum parsimoni yöntemine dayalı %50 Çoğunluk kuralı uyumluluk ağacı.

3.4.1.4 Bayesiyen Tabanlı Filogenetik Analizler

C. parallelus populasyonlarının her iki gen bölgesi açısından içerdikleri haplotipler arasındaki nükleotid dizilerine dayalı filogenetik ilişkileri ve olası farklı soy-hatlarının diğerlerinden ayrılma zamanları ve günümüz örüntüleri hakkında bilgi verebilen Bayesiyen tabanlı filogenetik analizler gerçekleştirilmiştir. Analiz sonuçlarında iki yürütme sonucunda açığa çıkan örneklemeler üzerine model parametrelerinin özetleyen bilgiler Tablo 14’te sunulmuştur. Parameter değerleri arasında yer alan PSRF (potential scale reduction factor) konvergans tanımlayıcı olarak ödev görmekte ve analiz sırasında iki yürütmenin birbirine yaklaşmış olup olmadığı hakkında bize bilgi vermektedir. Bu analizlerin sonuçları Şekil 3.29 ve 30’da sunulmuştur. Mitokondri DNA haplotipleri tarafından inşa edilen kladogram 0,52 ile 1,00 posterior güvenilirlik aralığında kalan iki kladın varlığına işaret etmiştir (Şekil 3.29). Bu kladlardan birisi Populasyon 42 (Erzurum-Horasan) olup pozisyon başına değişimlerin birimi açısından da tüm diğerlerinden oldukça farklılaşmıştır. İkinci klad ise kendi içerisinde iki ana klada ayrılmış olup, bu kladlar yakın zamanlı ayrılmalar sergileyen alt kladlarla desteklenmektedir. Ağaç topolojisi bir bütün olarak değerlendirilecek olursa populasyonların ani bir genişleme modeli sergilediklerine işaret etmektedir (Şekil 3.29). Ani genişleme modeli *Cpnl-1* haplotipleri kullanılarak oluşturulan Bayesiyen ağacı ile de desteklenmektedir (Şekil 3.30). Bu kladogramda ise 0,66 ile 0,87 posterior güvenilirlik aralığında iki ana kladın bulunduğu gözlenmiştir. Yeşil renkle gösterilen ilk kladda Populasyon 1 (Adana-Develi), 2 (Niğde-Ulukışla), 32 (Kayseri-Şarkışla), 34 (Sivas-Şerefiye), 35 (Sivas-Suşehri), 37 (Malatya-Arguvan) ve 38 (Erzincan-Kelkit) populasyonları yer almıştır. İkinci klad ise kendi içerisinde iki ana alt klada ve her bir klad içerisinde ise farklı renklerle gösterilen alt kladlara ayrılmıştır (Şekil 3.30). Ancak bu ayrılmalar doğrudan bir coğrafik örüntüye işaret etmektedir. Her dalda pozisyon başına nükleotid değişimleri biriminde verilen dal uzunluğu değerleri kladların birbirlerinden ayrılma zamanına da atıfta bulunmaktadır.

Tablo 14. Nükleotid dizleri kullanılarak gerçekleştirilen Bayesiyen analizlerinde 1. ve 2. yürütme örneklerinin model parametre özetleri. a) Mitokondri DNA haplotipleri b) *Cpnl-1* haplotipleri

a) Mitokondri DNA haplotiplerine uygulanan Bayesiyen yaklaşım yürütme özet bilgileri

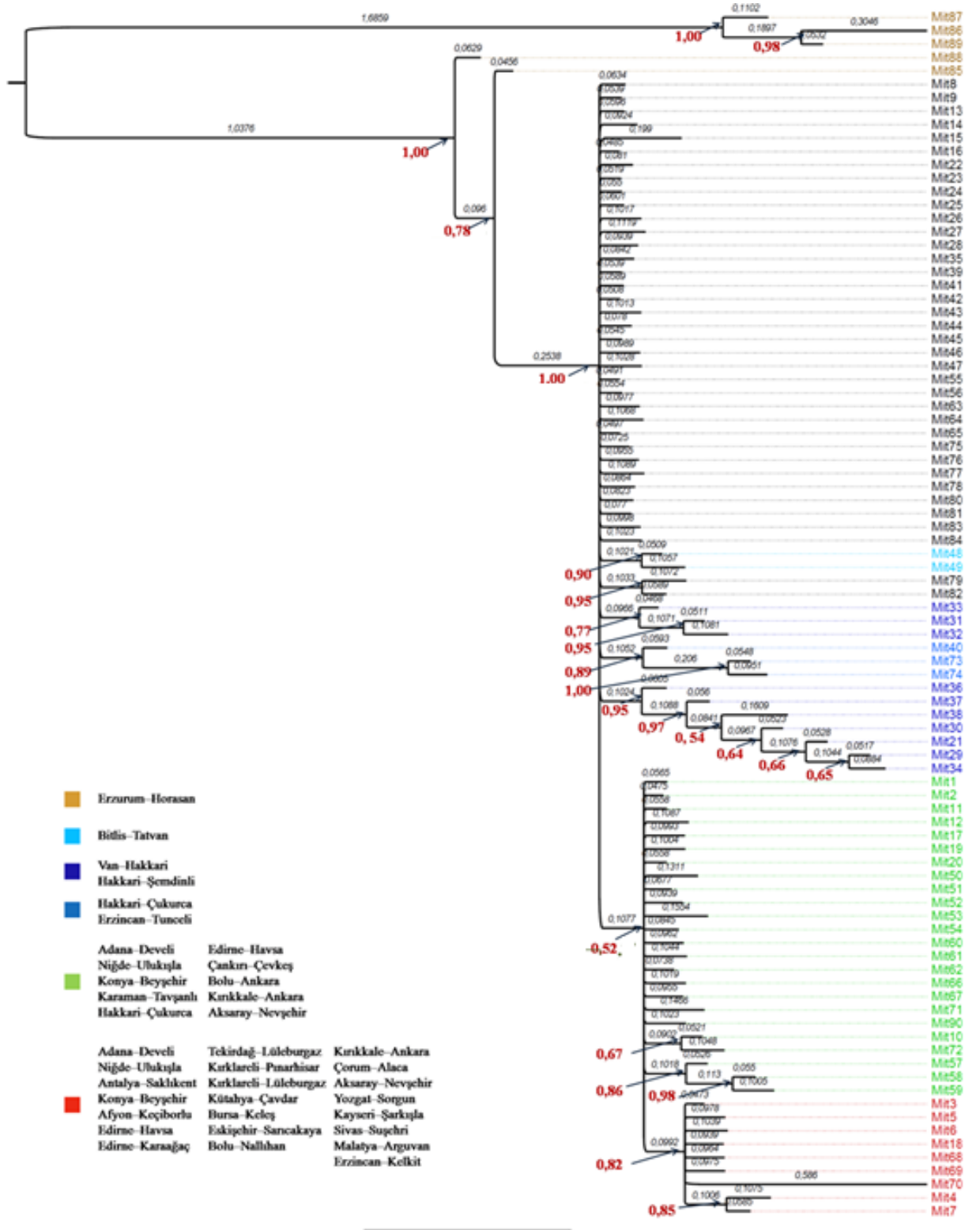
Parametreler	Ortalama	Varyans	% 95 Güvenilirlik Aralığı		Ortanca	PSRF*
			Alt	Üst		
TL	17,731602	1,938955	15,142000	20,577000	17,716000	1,011
r(A<->C)	0,098394	0,000587	0,056448	0,15414	0,096051	1,003
r(A<->G)	0,339697	0,002331	0,247927	0,440531	0,337929	1,000
r(A<->T)	0,058624	0,000204	0,033427	0,08948	0,05754	1,000
r(C<->G)	0,040211	0,000557	0,007498	0,094693	0,035912	1,000
r(C<->T)	0,441509	0,002193	0,35447	0,535795	0,43789	1,000
r(G<->T)	0,021565	0,000187	0,002483	0,053467	0,018992	1,001
pi(A)	0,368259	0,000169	0,342234	0,392747	0,368982	1,004
pi(C)	0,151059	0,000085	0,133099	0,170441	0,15067	1,010
pi(G)	0,130539	0,000081	0,113658	0,149015	0,130479	1,002
pi(T)	0,350144	0,000154	0,326138	0,375329	0,349683	1,000
alpha	0,059963	0,000003	0,056723	0,063448	0,059976	1,000
pinvar	0,804671	0,000332	0,766823	0,839597	0,805145	1,000

*Konvergens tanımlayıcı [PSRF = potential scale reduction factor (Gelman ve Rubin 1992)]. PSRF konvergens için genel bir kaynak olarak kullanılabilir ve yürütmeler birbirlerine yaklaşıyorsa 1,000 değerine ulaşmalıdır.

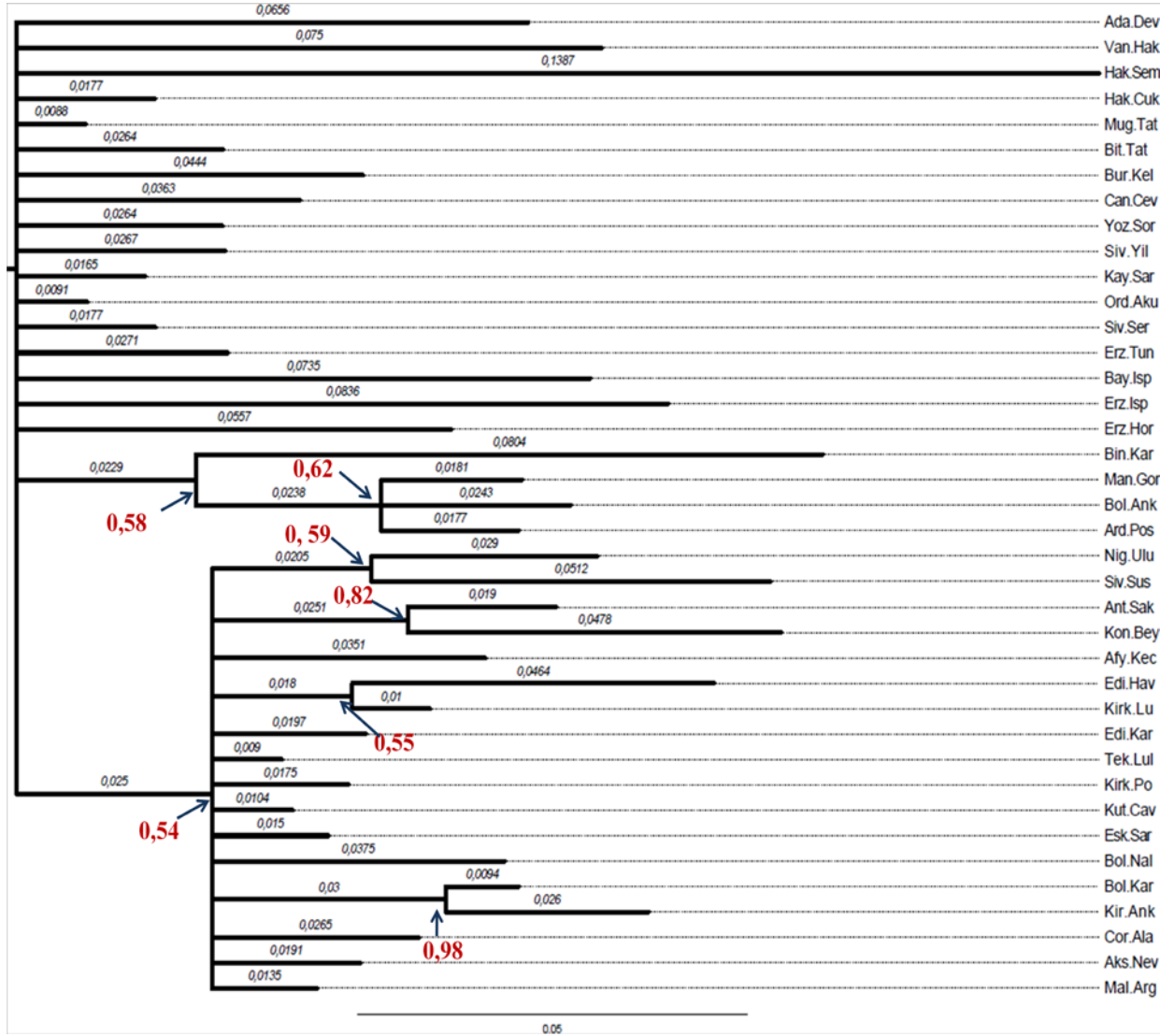
b) *Cpnl-1* haplotiplerine uygulanan Bayesiyen yaklaşım yürütme özet bilgileri

Parametreler	Ortalama	Varyans	% 95 Güvenilirlik Aralığı		Ortanca	PSRF
			Alt	Üst		
TL	26,844209	2,823043	23,637000	30,352000	26,776000	1,002
r(A<->C)	0,025756	0,000198	0,007296	0,061611	0,023040	1,000
r(A<->G)	0,109976	0,000700	0,064710	0,167100	0,107666	1,003
r(A<->T)	0,257779	0,003790	0,147378	0,382588	0,255212	1,010
r(C<->G)	0,307150	0,002964	0,201816	0,414997	0,306171	1,003
r(C<->T)	0,226026	0,002169	0,143991	0,323469	0,223051	1,002
(G<->T)	0,073313	0,000551	0,034443	0,125717	0,070938	1,014
pi(A)	0,297736	0,000662	0,248113	0,348909	0,297383	1,002
pi(C)	0,206955	0,000410	0,168692	0,247373	0,206425	1,004
pi(G)	0,263046	0,000489	0,220837	0,307553	0,262895	1,003
pi(T)	0,232262	0,000478	0,190911	0,277173	0,231505	1,003
alpha	0,159329	0,000053	0,146161	0,174620	0,158917	1,001
pinvar	0,665555	0,001226	0,594880	0,731327	0,666636	1,000

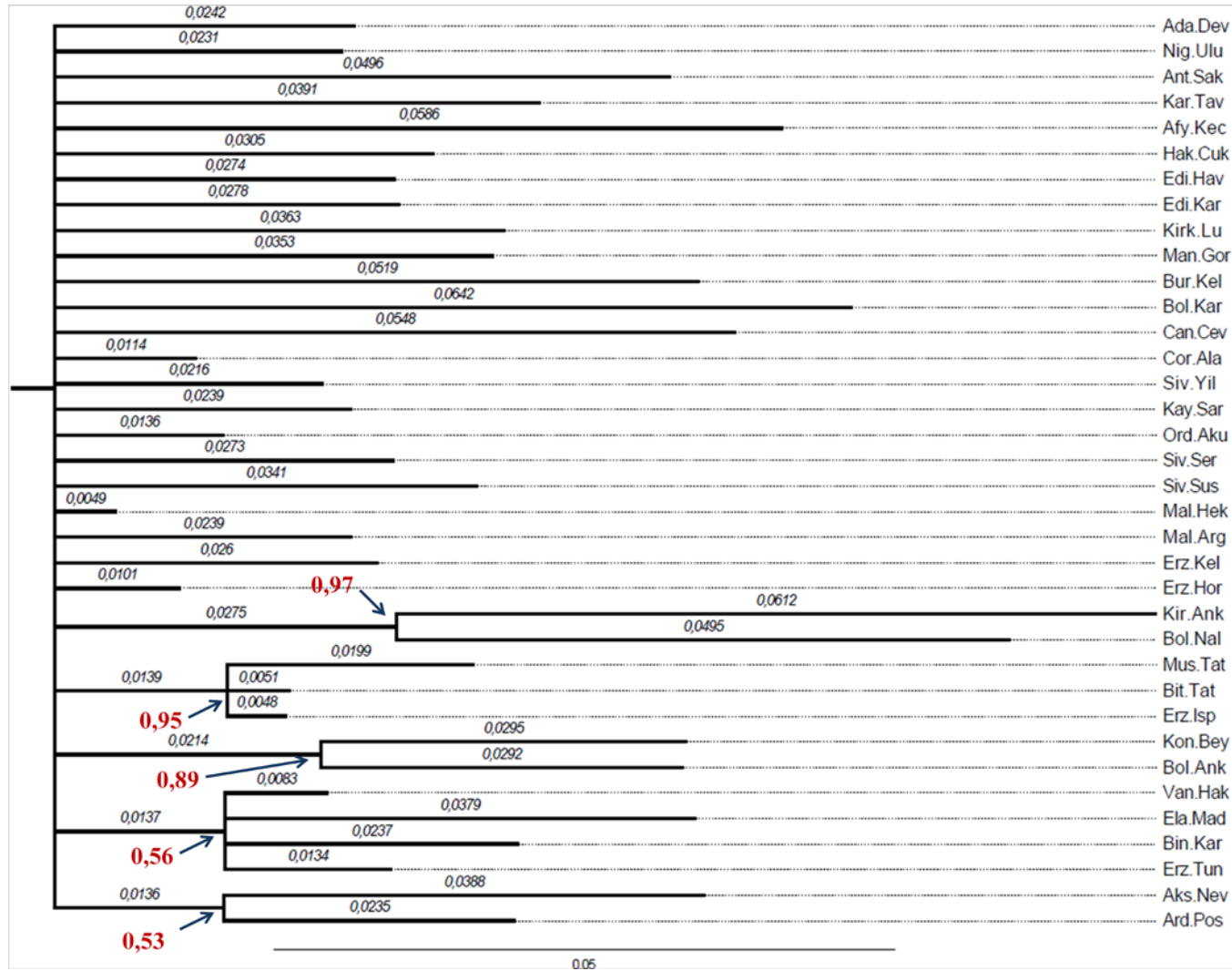
Haplotiplerin bulunup bulunmaması temel alınarak yürütülen Bayesiyen analizlerine ait iki yürütme sonucunda açığa çıkan örneklem sonucunda inşa edilen çoğunluk kuralı konsensüs kladogramları Şekil 3.31 ve 32’de sunulmuştur. Bu analizler açısından her iki yürütme sonucunda örneklem üzerine model parametrelerini özetleyen bilgiler örneklem sayısının düşük olması nedeniyle güvenilir olmayacağı için (MrBayes program el kılavuzu) burada verilmemiştir. Her iki gen açısından da nükleotid dizileri kullanılarak gerçekleştirilen Bayesiyen yaklaşımlarına benzer bir şekilde populasyonların ani genişleme örüntüsü sergiledikleri gözlenmiştir. Ayrıca mitokondri haplotiplerinin kullanıldığı ilk analizde doğu populasyonlarını barındırmayan ve Anadolu Diyoganali’nin batısında yer alan bazı populasyonlarla Trakya populasyonlarının % 54 güvenilirlik aralığında bir farklılaşma gösterdikleri belirlenmiştir (Şekil 3.31). *Cpnl-1* haplotipleriyle oluşturulan ikinci analizde ise doğrudan tüm diğerlerine monofiletik bir yapılanma sergileyen populasyon ya da populasyonlar bulunmamakla birlikte bazı populasyonların % 53 ile %97 güvenilirlik aralığında yer alan küçük ölçekli genetik farklılaşmalar sergiledikleri saptanmıştır (Şekil 3.32). Her iki DNA belirteci için haplotipler kullanılarak populasyonlar arasındaki filogenetik ilişkinin analiz edildiği Bayesiyen ağacında ise tekli analizlerde gözlenen örüntünün kaybolduğu gözlenmiştir (Şekil 3.33).



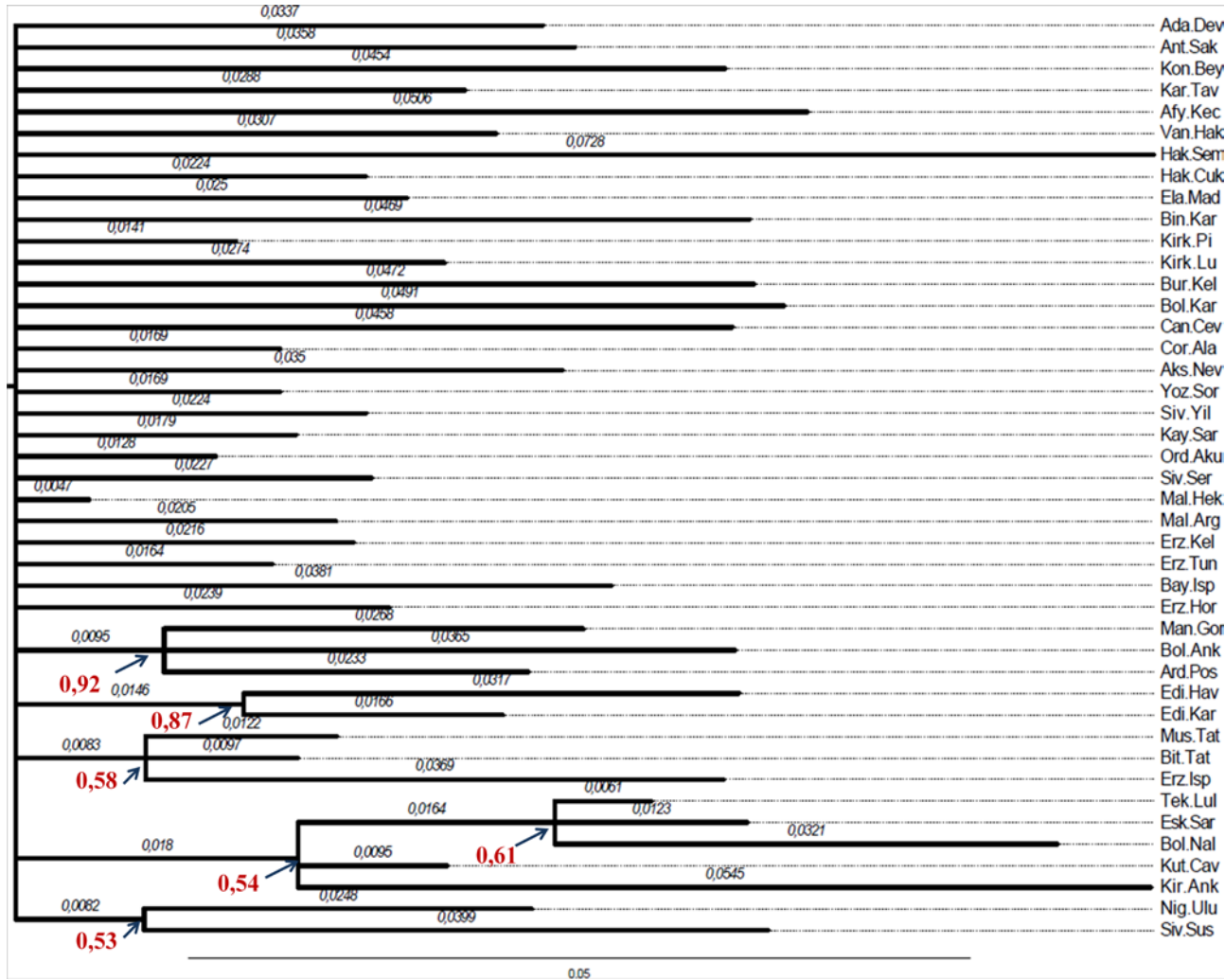
Şekil 3.29 Mitokondri haplotipleri arasındaki filogenetik ilişki. Ağaç Bayesiyen analizine dayalı bir çoğunluk kuralı uyumluluk ağacıdır. Her düğümde klad destekleme değerleri (kırmızı ile gösterilmiştir.) Bayesiyen posterior olasılıklardır. Her dal pozisyon başına değişimlerin biriminde dal uzunluğu ile etiketlenmiştir. Her dalın uçlarındaki haplotip renklendirmeleri şekilde gösterilen ilgili populasyonları temsil etmektedir. Siyahla gösterilen haplotipler tüm populasyonları temsil etmektedir.



Şekil 3.31 Mitokondri haplotipleri ile oluşturulan populasyonlar arasındaki filogenetik ilişki. Ağaç Bayesiyen analizine dayalı bir çoğunluk kuralı uyumluluk ağacıdır. Her düğümde klad destekleme değerleri (kırmızı ile gösterilmiştir.) Bayesiyen posterior olasılıklardır. Her dal üzerinde dal uzunluğu gösterilmiştir.



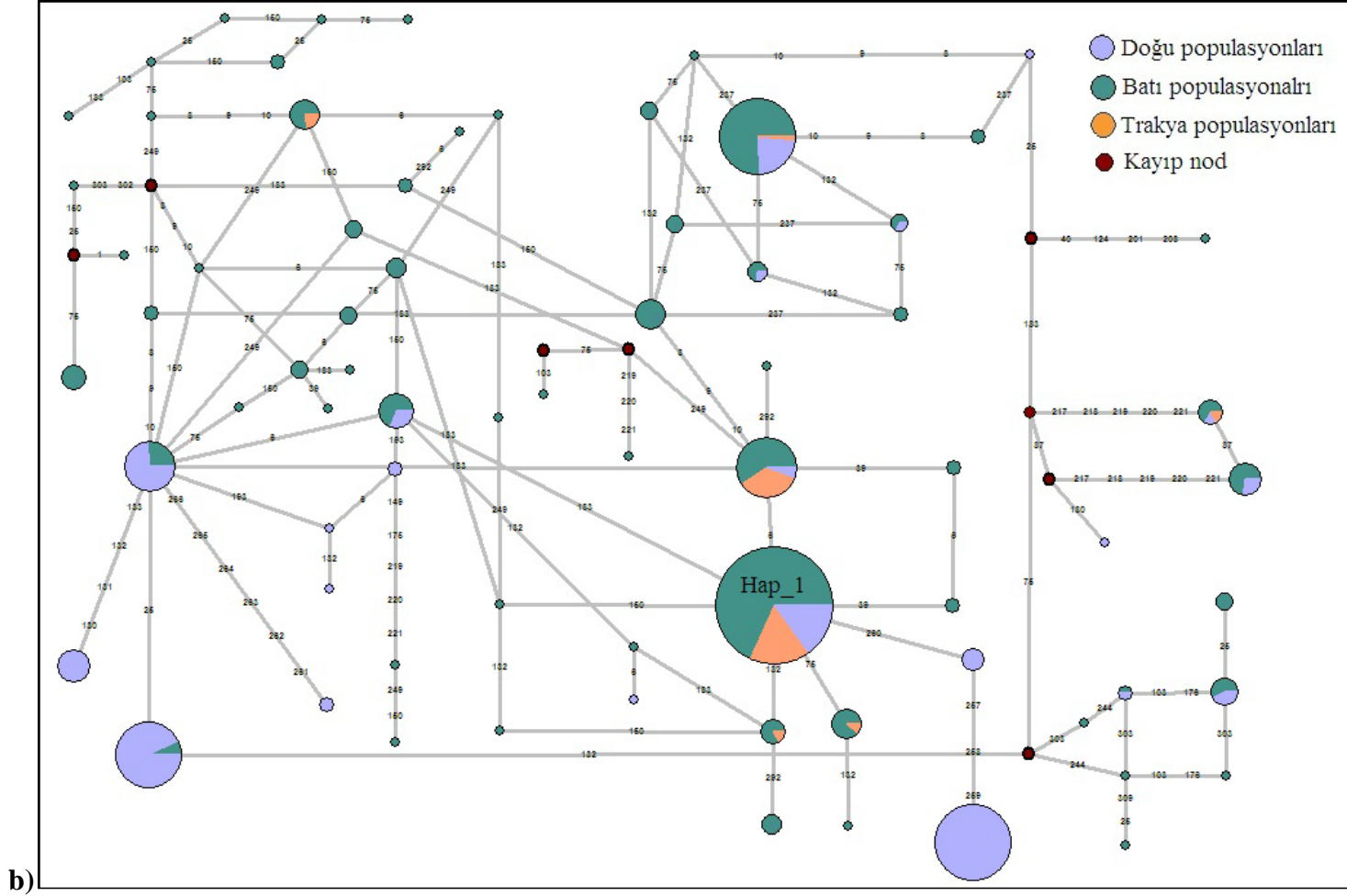
Şekil 3.32 *Cpn1-1* haplotipleri ile oluşturulan populasyonlar arasındaki filogenetik ilişki. Ağaç Bayesiyen analizine dayalı bir çoğunluk kuralı uyumluluk ağacıdır. Her düğümde klad destekleme değerleri (kırmızı ile gösterilmiştir.) Bayesiyen posterior olasılıklardır. Her dal üzerinde dal uzunluğu gösterilmiştir.



Şekil 3.33 Mitokondriyal ve *Cpn1-1* haplotipleri ile oluşturulan populasyonlar arasındaki filogenetik ilişki. Ağaç Bayesiyen analizine dayalı bir çoğunluk kuralı uyumluluk ağacıdır. Her düğümde klad destekleme değerleri (kırmızı ile gösterilmiştir.) Bayesiyen posterior olasılıklarıdır. Her dal üzerinde dal uzunluğu gösterilmiştir.

3.4.1.5 Şebeke Analizleri

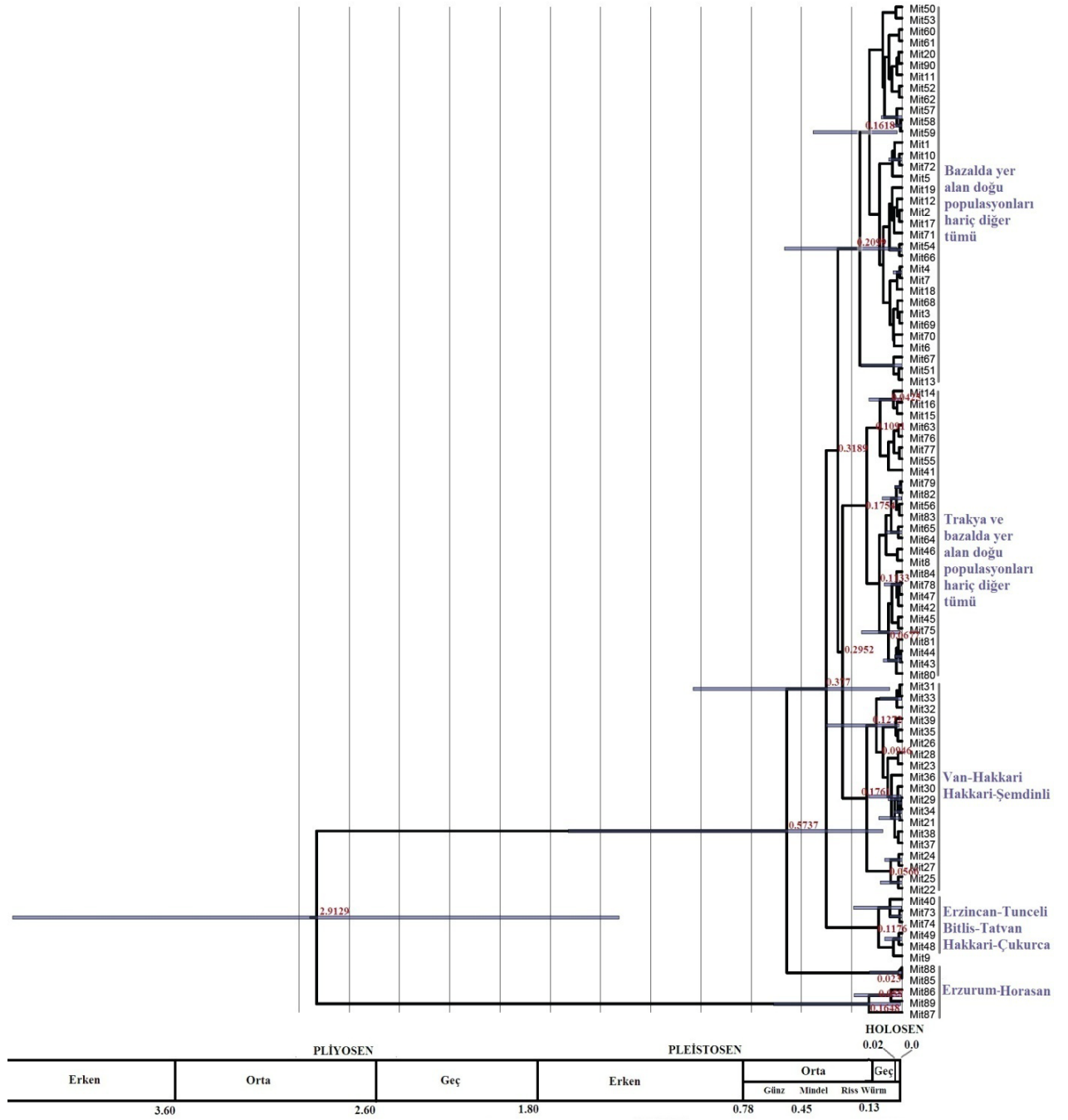
Mitokondri ve çekirdek DNA haplotipleri arasındaki soy-hattı ilişkisi Şekil 3.34ab' de gösterilen MJ şebekeleriyle tahmin edilmiştir. MJ şebeke yaklaşımı öncelikle tek bir şebeke içinde tüm minimum uzunluktaki ya da ölçüm aralığındaki ağaçları birleştirir ve sonrasında en son inşa edilen ağacın uzunluğunu azaltmak ve arada yer alan haplotipleri çıkarsamak için parsimoni ölçütünü kullanır. Şebeke analizlerinde halkasal alanlar Anadolu Diyagonalı'nın doğusu, batısı ve Trakya populasyonları (bakınız Şekil 3.34) olmak üzere üç ana renkle gösterilmiştir. Her bir halkasal alan bireylerin o halka içerisinde bulunma sıklıklarına göre orantılanmıştır. Ana nodlar hangi haplotiplerle temsil edildiği yazılarak gösterilmiştir. Halkalar arasındaki bağlantıları gösteren dallar üzerinde nükleotid değişim pozisyonları rakamla gösterilmiştir. Mitokondri DNA verisi kullanılarak oluşturulan MJ şebekesi filocoğrafik yapılanmanın derin olmayan ya da sığ bir örüntüye sahip olduğunu vurgulamakla birlikte bir doğu batı yapılanmasına da işaret etmiştir. Ancak bu yapılanmalar arasında net bir genetik farklılaşma olmadığı öngörüsü bağlantı nodları arasında bir ya da iki nükleotid değişiminin bulunmasıyla desteklenmektedir. Diğer taraftan bu yapılanmalarda populasyonların bir yıldız benzeri örüntüyle desteklenen yakın zamanda hızlı bir yayılmaya maruz kaldıkları önerilebilir. Genetik yapılanmaya ek olarak bu analizde soy-hattı akrabalık ilişkisi için gözlenen en parsimonik açıklama, tüm haplotiplerin merkezi bir pozisyona sahip olması nedeniyle atasal bir form sunması en yüksek olasılığa sahip olan Mit_9 haplotipinden evrildikleridir. Bu haplotip analize dahil edilen 38 populasyonun 18'i ve 585 bireyin 109'unda bulunmaktadır. 532 bireye ait *Cpnl-1* verisinin kullanılarak inşa edildiği MJ şebekesi mitokondri DNA verisinde gözlenen örüntünün aksine populasyonlar arasında bir filocoğrafik yapılanmayı reddetmiştir. Yıldız benzeri bir örüntüye işaret eden bu şebekede 8 atasal kayıp nodun bulunduğu gözlenmiştir. Ayrıca nodlar arasında homoplazi sergileyen karakter sayısının fazlalığı da dikkat çekmektedir. Genetik yapılanmaya ek olarak bu analizde soy-hattı akrabalık ilişkisi için gözlenen en parsimonik açıklama, Hap_1 haplotipinin tüm haplotiplerin merkezinde bir pozisyona sahip olması nedeniyle atasal bir form sunmasıdır. Bu haplotip analize dahil edilen 36 populasyonun 21'i ve 532 bireyin ise % 17,4'ünde bulunmaktadır.



Şekil 3.34 MJ şebeke yönteminden elde edilen *C. parallelus* haplotipleri arasındaki soy-hattı ilişkisi. **a)** Mitokondri haplotiplerine dayalı, **b)** *Cpnl-1* haplotiplerine dayalı. Halkasal alanlar bireylerin sıklıklarına göre orantılandırılmıştır. Halkalar arasındaki bağlantıları gösteren dallar üzerinde nükleotid değişim pozisyonları rakamla gösterilmiştir. Dal uzunlukları mutasyon sayısıyla orantılı değildir.

3.4.1.6 Farklılaşma Zamanlarının Tahmin Edilmesi

Mitokondri veri seti için gerçekleştirilen DNA uzaklık (Şekil 3.19), filogenetik (Şekil 3.23) ve şebeke analizleri (Şekil 3.34a), göz önünde bulundurularak, BEAST analizi [Populasyon 42 (Erzurum-Horasan)'ye ait haplotipler (Mit_86, Mit_87 ve Mit_89) + diğer tümü] topolojisi baz alınarak gerçekleştirilmiştir. Milyon yıl başına % 2,69 farklılaşma gösterdiği ön kabulü ile kalibre edilmiş moleküler saat yöntemi sonucunda, GTR + G + I modeli altında bu DNA fragmanının bir saat benzeri evrim gösterdiği (ucld.mean= 0.0267, ucld.stdev = 0.955; milyon yıl başına % 2,91'lik mutasyon oranına denk gelmektedir.) gözlenmiştir (Şekil 3.35). Analiz sonucunun hem ML ve Bayesiyen ağaçları hem de şebeke analizleri ile uyumlu olduğu sonucuna varılmıştır. Dış grup olarak seçilen Erzurum-Horasan haplotiplerinin yaklaşık 2,91 myö (%95 Güvenilirlik Aralığı= 1,91 - 4,37 myö) ve aynı populasyona ait diğer iki haplotipin (Mit_85 ve Mit_88) ise yaklaşık 0,57 myö tüm diğer haplotiplerden ayrıldıkları gözlenmiştir. Bir diğer soy-hattı ayrımı ise yaklaşık 0,38 myö gerçekleşen üç doğu populasyonu olan Populasyon 9 (Hakkari-Çukurca) ve Populasyon 13 (Bitlis-Tatvan) ve Populasyon 39 (Erzincan-Tunceli) 'in ayrı bir evrimsel sürece girmiş olmalarıdır. Bir diğer ayrılma zamanı ise yaklaşık 0,31 myö'e denk gelen Populasyon 7 (Van-Hakkari) ve Populasyon 8 (Hakkari-Şemdinli)'ile kuzeydoğu-güneybatı populasyonlarınca zengin ve Trakya populasyonlarını barındırmayan iki ayrı alt kladin Kuzeybatı Anadolu ve Trakya populasyonlarınca zengin bir diğer populasyon grubunun oluşmasıyla sonuçlanmaktadır. Populasyonlar arasında paylaşım oranı en sık olan ilk iki haplotipten Mit_9 Erzurum-Horasan populasyonunu temsil eden haplotiplerden hemen sonra gelen bazal kladda yer alırken, Mit_11 ise Kuzeybatı Anadolu ve Trakya populasyonlarınca oluşan en üst kladda bulunmaktadır (Şekil 3.35). Diğer taraftan terminal filogrupların çeşitlenmesi ise Riss ve Würm buzul dönemlerini takip etmekte ve özellikle Holosen döneminde ani bir radyasyon sergilemektedir.



Şekil 3.35 *C. parallelus* türü Anadolu populasyonlarında evrimsel süreçlere işaret eden bir kronogram. Soy-hatlarının ayrılma zamanları BEAST v1.6.1 programında, GTR + G + I mutasyon modeli altında ilişkisiz üssel gevşek moleküler saat kullanılarak tahmin edilmiştir. Ayrılma zamanları ağaç üzerinde gösterilmiştir. Dğümler üzerinde yer alan çubuklar %95 güvenilirlik aralığını göstermektedir.

3.4.1.7 Populasyon Farklılaşmasında Göç ile İzolasyon Modeli

IMa analizleri efektif örneklem büyüklüğü 100 ve üzeri oluncaya kadar yürütülmüştür ve otokorelasyonlar Markov zincirlerinin yeteri kadar konvergens yaptığını ve karıştığını önermiştir (Tablo 15). Bu analizler üç tekrarda da benzer sonuçlar üretmiştir.

Tablo 15. IMa2 analiz aşamasında otokorelasyonlar ve efektif örneklem büyüklüğü (ESS) tahminleri

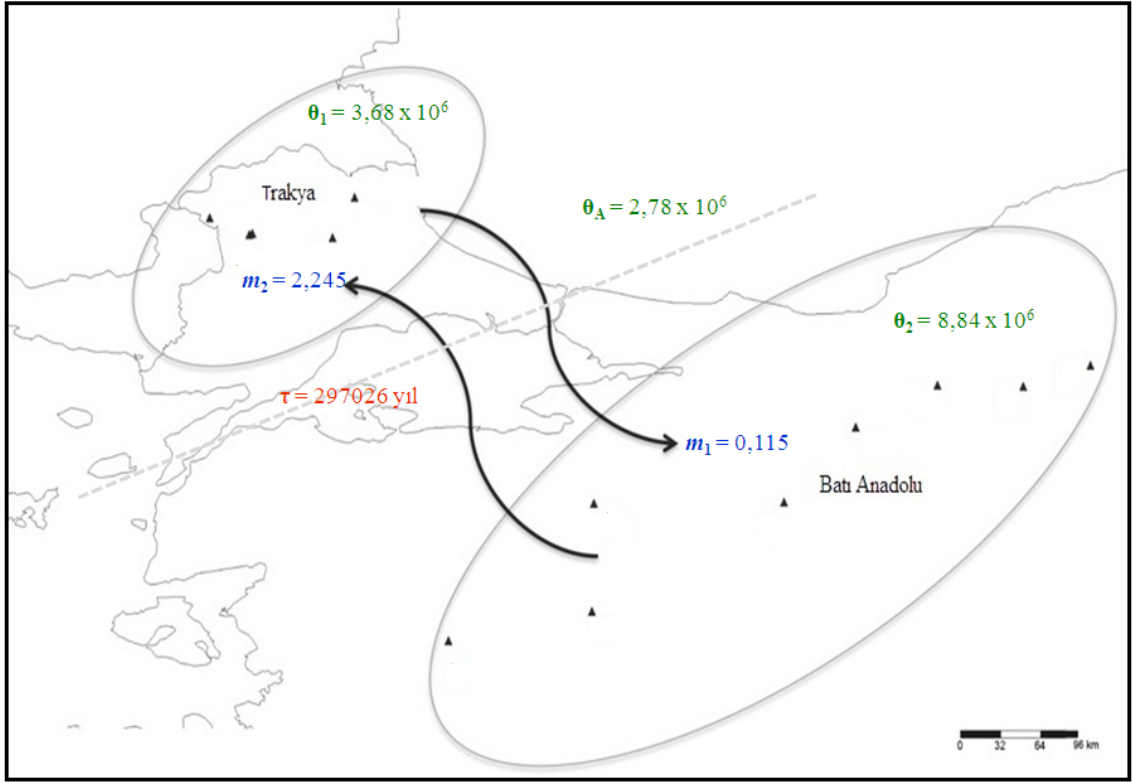
Değerler ve Otokorelasyon Tahminleri Arasındaki Adımlar				
Adımlar	Log[P]	t0	Tmrca (Trakya)	Tmrca (Batı Anadolu)
1	0,9467	0,9773	0,9931	0,9889
10	0,7651	0,9053	0,9699	0,9464
50	0,6947	0,8604	0,9325	0,8870
100	0,6767	0,8286	0,8938	0,8319
500	0,6303	0,6918	0,6724	0,5592
1000	0,5982	0,6033	0,5077	0,3950
5000	0,5043	0,2889	0,1555	0,0953
10000	0,4451	0,1653	0,0839	0,0498
5.0e4	0,4454	0,1648	0,0840	0,0499
1.0e5	0,4441	0,1652	0,0840	0,0499
5.0e5	0,4467	0,1649	0,0851	0,0504
1.0e6	0,4489	0,1618	0,0845	0,0487
ESS	< 28	< 76	< 145	< 245

Trakya ve Batı Anadolu metapopulasyonların ayrılma zamanlarının ortak tahminleri IMa2 programı tarafından ayrılma zamanlarının çok boyutlu pik lokasyonları olarak verilmektedir. Çok boyutlu pik lokasyonlarının tümü marjinal posterior yoğunluk dağılımlarının % 95'lik güvenilirlik aralığına düşmektedir (Tablo 16). Ayrılma zamanlarının bu tahminleri $\tau = 0,799$ (0,415-1,999) olarak saptanmıştır (Tablo 16). Ayrılma zamanları açısından hesaplanan bu değer mutasyon oranı [$2,69 \times 10^{-6}$ ($0,95 \times 10^{-6}$ ile 4×10^{-6}) / pozisyon / yıl] kullanılarak yıl dönüştürüldüğü zaman yaklaşık 297000 (%95 en yüksek olasılık densite aralığı: 154275 ile 743122 yıl) yıl öncesine denk gelmektedir. Populasyonlar arasında ayrılma zamanlarının hesaplanmasına ek olarak mevcut bariyerin populasyon parametreleri üzerine nasıl bir etkiye sahip olduğunu belirlemek amacıyla efektif populasyon büyüklüğü ve populasyonlar arasında gen akış

oranları belirlenmiştir (Tablo 16). Ayrılma zamanlarına benzer bir şekilde mutasyon oranı ile yeniden ölçeklendirilen efektif popülasyon büyüklükleri Tablo 16’de gösterilmiştir. Batı Anadolu metapopülasyonunun efektif örneklem büyüklüğünün [$\theta_{2(\text{BatıAnadolu})} = 23,9$ (11,9-45,5)] Trakya metapopülasyonunun efektif örneklem büyüklüğünden [$\theta_{1(\text{Trakya})} = 9,9$ (2,3-25,1)] çok daha büyük olduğu gözlenmiştir. Diğer taraftan Atasal popülasyonda efektif örneklem büyüklüğü ($\theta_A(\text{Atasal}) = 7,5$ (0,0-28,5)) her iki metapopülasyondan daha küçüktür. İki grup arasındaki gen akış oranı Batı Anadolu-Trakya ($m_2 = 2,245$) yönünde tam tersi yöndekinden ($m_1 = 0,115$) yaklaşık 20 kat daha fazladır (Tablo 16). Tüm bu veriler aynı zamanda Şekil 3.36’da görsel olarak sunulmuştur.

Tablo 16. Göç ile izolasyon modeli analiz sonuçları. Boğazlar’ın Batı Anadolu ve Trakya *C. parallelus* popülasyonları arasında bir farklılaşma örüntüsüne yol açıp açmadığını belirlemek amacıyla *COI-tRNA^{Leu}-COII* ve *Cpnl-1* gen bölgeleri kullanılarak IMA2 programında yer alan göç ile izolasyon modeli analiz sonuçları. Parametre tahminleri efektif popülasyon büyüklüğü (θ), göç oranı (m) ve ayrılma zamanları (τ) için gösterilmiştir. Marjinal posterior olasılık dağılımından en yüksek posterior olasılığı (HiPt) ve % 95 güvenilirlik aralığının alt (HPD95Alt) ve üst sınır (HPD95Üst) değerleri sunulmuştur. Her bir tahmin değeri Materyal ve Metod bölümünde verilen mutasyon oranı ile yeniden ölçeklendirilmiştir.

	Popülasyon Büyüklüğü			Göç		Ayrılma zamanları
	θ_1 (Trakya)	θ_2 (BatıAnadolu)	θ_A (Atasal)	m_1 (Trakya- BatıAnadolu)	m_2 (BatıAnadolu- Trakya)	τ
Tahmin						
HiPt	9,9	23,9	7,5	0,115	2,245	0,799
HPD95Alt	2,3	11,9	0,0	0,0	0,015	0,415
HPD95Üst	25,1	45,5	28,5	8,2750	5,325	1,999
Dönüştürme						
HiPt	$3,68 \times 10^6$	$8,84 \times 10^6$	$2,78 \times 10^6$	0,0011	0,0224	297026
HPD95Alt	$0,85 \times 10^6$	$4,42 \times 10^6$	0	0,0000	0,0001	154275
HPD95Üst	$9,3 \times 10^6$	$16,9 \times 10^6$	$10,6 \times 10^6$	0,0820	0,0532	743122



Şekil 3.36 Trakya ve Batı Anadolu populasyonları açısından Boğazlar'ın bir farklılaşma örüntüsüne yol açıp açmadığını belirlemek amacıyla gerçekleştirilen IMA2 analiz sonuçlarının harita üzerinde görsel sunumu

4. TARTIŞMA ve SONUÇ

Dünyanın tektonik açıdan en aktif kuşaklarından biri olan Anadolu, çok dinamik bir paleocoğrafik tarihe ev sahipliği yapmıştır (Çıplak 2010). Anadolu'nun jeolojik tarihi ile birlikte enlemsel pozisyonu, kendine özgün yüksek bir plato görünümlü ve değişken topografik yapı sergileyen özel bir türleşme merkezini oluşturmuştur. Bu merkezin alpin ya da subalpin kuşaklarda yayılış sergileyen taksonlar açısından yüksek çeşitlilik sergilemesi ve bu taksonların geleceğinde de özel bir öneme sahip olacağı öngörüsü her geçen gün artan bir şekilde desteklenmektedir (Çıplak ve ark. 2002, Çıplak 2008, 2010). Hem türler arası hem de tür içi düzeyde genetik çeşitliliğin yüksek olması, özellikle buzul dönemleri boyunca ev sahipliği rolünü vurgulamaktadır. Anadolu'nun sığınak rolü buzul dönemlerinde soğuk seven formların yayılış aralığında kuzeyden güneye doğru çekilmeler aşamasında hem Balkanlar hem de ya Kafkaslar ya da Hazar Denizi'nin güneyinden uygun yayılış koridorlarına sahip olmasından kaynaklanmaktadır (Hewitt 1996, Çıplak 2008). Aynı zamanda kendi içerisinde sergilediği değişken topografya ve iklimsel yapı uygun habitatların varlığına yol açarak taksonlarda enlemsel farklılaşmayla birlikte boylamsal ve vertikal farklılaşmayı da tetiklemektir (Çıplak 2008). Özellikle Toroslar ve Doğu Karadeniz dağ silsileleri gibi Anadolu dağ yükseltilerinin konumu ve oluşturdukları Anadolu Diyagonali gibi biyocoğrafik bariyerler bu tarz farklılaşma ve paralelinde genetik çeşitlenme örüntülerinin açığa çıkmasında büyük bir öneme sahip olmaktadır. Atasal stoklardan günümüz soy-hatlarının açığa çıkmasında her üç tipte farklılaşmanın rol oynadığı Anadolu'nun, Avrupa biyoçeşitliliğine katkısı ve kendine özgün yerel bir biyocoğrafik merkez oluşturması kaçınılmazdır.

Bu tez kapsamında hem giriş bölümünde kapsamlı bir biçimde hem de yukarıda özet olarak değinilen kapsam doğrultusunda günümüz Akdeniz buzul sığınakları açısından model bir takson olarak kabul gören *C. parallelus* Anadolu populasyonlarının genetik örüntüleri test edilmiştir. Bu amaçla türün güncel ve tarihsel yapısının belirlenmesi, Anadolu yayılış örüntülerinin saptanması ve böylelikle Anadolu'nun barındırdığı genetik çeşitliliğin arka planında yer alan evrimsel süreçlerin nasıl bir etki sergiledikleri belirlenmek istenmiştir.

4.1 Mitokondri ve Çekirdek DNA Belirteçlerinin Karakterizasyonu

Analiz edilen mitokondri DNA fragmanı COI ve COII gen bölgeleri ile birlikte, bir genler arası bölge olan tRNA^{Leu}'ne ait 1341 bç uzunluğunda bir nükleotid dizisinden oluşmaktadır. Bu DNA fragmanında COI gen bölgesinin ve bu bölgenin ise 5' ucunun 3' ucundan tür içi düzeyde daha bilgi verici olduğu anlaşılmıştır [(Şekil 3.2), Simon ve ark. 1994, Juan ve ark. 1996, Erpenbeck ve ark. 2005]. Bu durum dejenaratif kodon pozisyonlarında sinonim değişimlerden kaynaklanmaktadır ve yakın akraba türler arasında olduğu kadar, tür içi düzeyde akrabalık ilişkilerinin araştırılması açısından da yeterli varyasyon sağlamaktadır (Johnson ve ark. 2008, Korkmaz ve ark. 2011). Diğer taraftan karakterize edilen bu fragmanda her iki gen bölgesi arasında yer alan tRNA lösün nükleotid dizisi tüm diğer böceklerde olduğu gibi tümüyle korunmuştur (Sperling ve Hickey 1994). A + T yönünde eğilim, T ve C nükleotidlerinin 2. pozisyonda yüksek sıklıkta bulunması gibi nükleotid kompozisyonunda gözlenen bu özellikler, hem Orthoptera hem de diğer birçok böcek grubu açısından benzerlik sergilemektedir (Lunt ve ark. 1996). Nükleotid kompozisyonuna ek olarak karakterize edilen amino asit kompozisyonunda tespit edilen değişimlerin çoğunlukla hidrofobik amino asitler arasında gerçekleştiği gözlenmiştir (Şekil 3.4). Bu değişimler benzer moleküler hacim ve hidrofobisiteye sahip olmaları açısından genin evrimsel olarak korunmuş olduğuna işaret etmektedir (French ve Robson 1983). Ayrıca *C. parallelus* bireyleri arasında gözlenen bu amino asit değişimleri, yayılış örüntülerinde gözlenen yükseklik farklılıklarından kaynaklı ortamlara adaptasyonlarıyla da ilişkilendirilebilir (Korkmaz ve ark. 2011). Sonuç olarak çalışma kapsamında kullanılan mitokondri DNA fragmanında gözlenen varyasyon miktarının çalışma aralığında yer alan *C. parallelus* populasyonları arasındaki farklılıkları göstermek için yeteri kadar hızlı, son birkaç milyon yıldan fazla sürede yinelenen mutasyonlarla doyumluğa ulaşamayacak kadar da yavaş olduğu söylenebilir (Hewitt 1996, 2001; Avise ve ark. 1998).

Çalışma kapsamında yararlanılan bir diğer DNA belirteci ise tek kopyalı kodlama yapmayan tekrarlı bir çekirdek DNA fragmanıdır. Çekirdek DNA için seçilen belirteç kodlama yapmayan ve ardışık tekrarlı bir bölge olduğu için mutasyonlara çok açık olup ne negatif ya da pozitif ne de dengeleyeci olmak üzere belirli bir seçim baskısı altında değildir. Bu nedenle populasyon içinde tek nokta mutasyonlu varyantların kısa zaman dilimi içerisinde birikmesine yol açabilecektir. Ayrıca bu nadir varyantların farklı populasyonlarda eş zamanlı ya da farklı zaman dilimleri içerisinde açığa çıkması da

mümkündür. Tüm bu nedenlerden dolayı böylesi DNA fragmanlarının populasyonların tarihsel süreçleri hakkında bilgi vermesini beklemekten ziyade, günümüz demografik yapılarına katkı sunmalarını beklemek daha avantajlı görülmektedir (Hewitt 1996; Avise ve ark. 1998). *C. parallelus* bireyleri arasında *Cpnl-1* gen bölgesi beş farklı indel pozisyonu bulundurması ile dikkat çekmektedir. Benzer bir sonuç birkaç Anadolu populasyonu dahil olmak üzere, Avrupa populasyonları için aynı gen fragmanı kullanılarak gerçekleştirilen bir çalışma ile de desteklenmektedir (Cooper ve ark. 1995). Bu çalışmanın sonuçlarına paralel olarak 8-10. pozisyonlar arasında ACT, 127-129. pozisyonlar arasında TAT, 130-133. pozisyonlar arasında TACT ya da TAGT ve 209. pozisyonda gözlenen A değişimi sadece Anadolu populasyonlarına özgünlük sergilemektedir. Diğer taraftan 217-221. pozisyonlarda gözlenen AACTT değişimleri ise özellikle İspanya olmak üzere, Fransa, İtalya, Bulgaristan ve Rusya populasyonlarında da gözlenmiştir. Aynı zamanda gen bölgesinde gözlenen yüksek nükleotid değişimi (Şekil 3.5) ve kodlama yapmayan bir bölge olması nedeniyle mutasyonlara açık olması, çalışma kapsamında bazı populasyonlara ait bireylerde bu bölgenin çoğaltılmasına izin vermemiştir. Bu durum populasyonlar açısından değerlendirildiği zaman, belirli bir coğrafik bölgeye özgünlük göstermemiş olup, genel olarak homojen bir yayılım göstermiştir.

4.2 *C. parallelus* Anadolu Populasyonlarının Coğrafik Genetik Yapılanmalarının Karşılaştırılması

Anadolu *C. parallelus* populasyonlarının günümüz uzamsal yayılışlarının araştırılması amacıyla farklı evrimsel hikayeleri barındıran çekirdek ve mitokondri genomuna ait iki farklı DNA belirteci kullanılmıştır. Her iki belirteç doğal gereği farklı evrimsel hikayelere işaret etmektedir. Mitokondri DNA belirteci açısından en fazla haplotip içeren populasyon Populasyon 8 (Hakkari-Şemdinli) olup, aynı zamanda özgün haplotip sayısının da en yüksek olduğu populasyondur (Ek 1). Ancak bu populasyon PCR çoğaltımları başaramadığı için çekirdek DNA belirteci açısından değerlendirilememiştir. Çekirdek DNA belirteci açısından ise haplotip çeşitliliğinin en yüksek olduğu populasyon Trakya Bölgesi'ne aittir (Populasyon 16, Ek 2). Mitokondri haplotiplerinin tümünü paylaşan populasyonlar özellikle Trakya ve Anadolu'nun orta ve kuzeybatı populasyonları olup, doğu populasyonları ise özgün haplotip açısından zenginlerdir. Bu sonuç doğu ile batı populasyonları arasında gen akışının düşük olduğuna ve bu durumun bir coğrafik bariyerin varlığından kaynaklandığına işaret

etmektedir. Ayrıca Doğu Anadolu'nun yüksek topografik yapısına paralel bir biçimde, komşu populasyonlar olmasına rağmen doğu populasyonlarının kendi aralarında yüksek olmayan bir gen akışına sahip oldukları, özgün haplotip sayılarının fazla olmasından çıkarılabılır. Ancak bu örüntü çekirdek DNA belirteci tarafından bir dereceye kadar desteklenmektedir. Tüm bireyleri açısından tek bir mitokondri haplotipiyle temsil edilen populasyonlar arasında Populasyon 11 (Muş-Tatvan), Populasyon 32 (Kayseri-Şarkışla) ve Populasyon 33 (Ordu-Akkuş) bulunmaktadır. Bu populasyonlar bölgesel düzeyde görece daha izole ve küçük populasyonlar olup, bu yüzden sürüklenme ve/veya seçimden dolayı haplotip çeşitliklerini kaybetmişlerdir. Aynı zamanda Anadolu populasyonları açısından muhtemelen atasal bir pozisyona sahip olabilecek Mit_9 ve Mit_11 haplotiplerinin de bu populasyonlardan 32 ve 33'te bulunmaması bu öngörüğü destekler niteliktedir. Diğer taraftan bu üç populasyon arasında gözlenen genetik farklılaşma indekslerinin (Tablo 9 ve 10; $p = 0,000$) çok yüksek olması da soy-içi üreme baskısına işaret etmektedir. Bu örüntü bir dereceye kadar çekirdek DNA belirteci ile de desteklenmiştir (Tablo 11, $p = 0,000$). Sonuç olarak böyle izole populasyonlarda rastgele genetik sürüklenmenin etkisi bir taraftan düşük genetik çeşitliliğe, diğer taraftan ise tüm diğer populasyonlardan güçlü bir genetik farklılaşmaya yol açmaktadır (Eckstein ve ark. 2006).

Populasyonlarda coğrafik genetik yapılanma ya çevrelerine karşı sergiledikleri adaptif yanıtın ya da coğrafik izolasyon gibi populasyonlarda gen akışını doğrudan etkileyen bir olgudan kaynaklanabilir. Bununla birlikte populasyonlarda yapılanma hem süre giden hem de tarihsel süreçlerin etkileriyle de mümkün olabilir (Hewitt 1999). Anadolu populasyonları arasında gözlenen toplam genetik farklılaşma indeksleri özellikle mitokondri belirteci açısından oldukça yüksek olup (mtDNA için toplam $F_{ST} = 0,621$; çekirdek DNA için toplam $F_{ST} = 0,334$), benzer bir hikayeye populasyonların lokal koşullara adaptasyonunu önermektedir. Bazı populasyonlar arasında gözlenen düşük genetik farklılaşma, bu populasyonların görece benzer koşullara uyum sağlamak için pozitif seçim baskısı altında olabileceklerini önermektedir (Tablo 9-12, Şekil 3.15 ve 16). Diğer taraftan populasyonlar arasında genetik farklılaşma bir dereceye kadar coğrafik uzaklıktan kaynaklanmış olabilir. Her iki belirteç açısından da farklılaşmanın coğrafik uzaklıkla doğrudan bir ilişkisi olduğu öngörüsü, populasyonlar arasında coğrafik uzaklık arttıkça genetik farklılaşma değerlerinin de artış göstermiş olmasıyla açıklanabilir ($p < 0,05$; Şekil 3.17ab). Sonuçta türün yayılış örüntüsüne (küçük, izole ve

alpin ya da subalpin bölgeler) paralel olarak, coğrafik uzaklık gen akış oranında bir kesintiye ve böylelikle populasyonların farklı evrimsel süreçlere maruz kalmalarının desteklenmesi yönünde iş görür.

C. parallelus populasyonlarında hem tarihsel ve mekansal hem de genetik ve/veya coğrafik yapılanma arasındaki ilişkilerin araştırıldığı analizler, bir bütün olarak Anadolu populasyonlarında son bir ani yayılış modeli ile birlikte karmaşık bir coğrafik yapılanma örüntüsüne de vurgu yapmaktadır. Polimorfik pozisyonlar açısından nükleotid dizileri arasında gözlenen farklılaşmaların nötral süreçlerle olan ilişkileri araştırıldığında, F_u 'nun F_S analizi populasyonlarda ani bir büyümenin varlığına işaret etmiştir ($F_S = -24,93145$ $p = 0,000$). Tajima'nın D testi ise populasyonlarda gözlenen genetik farklılaşmanın doğrudan bir pozitif ya da negatif seçilimle ilişkilendirilemeyeceğini önermektedir ($p = 0,092$). Bu sonuçlar Anadolu *C. parallelus* populasyonlarının son bir populasyon genişlemesine maruz kaldıklarına işaret etmektedir (Tajima 1989, Fu 1997). Anadolu populasyonlarında gözlenen son ve ani bir populasyon genişlemesi örüntüsü özellikle çekirdek DNA fragmanı ile inşa edilen gen ağaçları olmak üzere tüm filogenetik ve şebeke analizleri ile de desteklenmektedir (Şekil 3.19-34). Filogenetik analizler sonucunda oluşturulan gen ağaçlarında çözümsüzlük sergileyen politomik kısımlar bulunmaktadır. Ağaçlarda haplotiplerce oluşturulan bu kısımların bulunması bu öngörüyle uyumludur.

Mantel testlerinin sonuçları *C. parallelus* populasyonlarının yayılış örüntüleri açısından gen akışı ve genetik sürüklenme arasında bir denge olduğunu öneren sıfır hipotezini reddetmektedir (Şekil 3.17). Tüm bireylerin yayılış noktaları değerlendirildiği zaman genetik çeşitliliğin bölgesel yayılışı açısından gen akışının genetik sürüklenmeden görece daha az önem arz ettiğini belirlemektedir (Peakall ve Smouse 2006). Populasyonlar arasında genetik farklılaşma türün tüm Anadolu yayılış aralığı boyunca coğrafik uzaklığın artmasıyla birlikte artış sergileme eğiliminde olduğu göz ardı edilemez. Ancak bu örüntü mitokondri genomu açısından populasyonlar arasında genetik farklılaşmanın % 62,1'i; çekirdek DNA açısından ise yalnızca % 33,46'sı ile açıklanabilmektedir (Tablo 13e1 ve e2). Kalan oranlar ise populasyon içi varyasyona atfedilebilir. Her iki belirteç açısından yaklaşık iki katı kadar büyük oranda bir farklılık gözlenmiştir. Mitokondri DNA belirtecinde populasyon içi varyasyondan kaynaklanan oran % 38,9 iken, çekirdek DNA'da bu oran % 66,54 ile temsil edilmektedir. Aralarındaki farkın bu kadar yüksek olması türe özgü bir durum olmaktan

ziyade, her iki genin kendi fonksiyonel ödevlerinden ya da güncel olguların olası etkilerinden kaynaklanabilir. Benzer bir şekilde SAMOVA ve temel bileşen analizleri genetik yapılanmanın yalnızca coğrafik uzaklıktan kaynaklı izolasyonla ilişkili olmadığını; aynı zamanda farklı yapılanma örüntülerine işaret ederek (Şekil 3.13-16), bu farklılaşmalarda çeşitli tarihsel olguların da önemli bir rol oynamış olabileceğini önermektedir. Diğer taraftan bu analizlerde gözlenen genetik yapılanmaların her iki belirteçte farklılık göstermesi de Anadolu populasyonları için önerilen bu hipotezi destekler niteliktedir. Ayrıca bu sonuçlar haplotip çeşitlilik indeksleri ve haplotiplerin populasyonlarda yayılışları ile de doğrulanmaktadır (Ek 1 ve 2).

4.3 Genetik Açından Zengin Kararlı Bir Ardıl Populasyon: Anadolu

Genetik çeşitlilik, kullanılan moleküler belirtecin doğasına bağlı olmak üzere nükleotid çeşitliliği, haplotip çeşitliliği, allelik zenginlik ve özgün haplotip sayısı gibi farklı parametreler kullanılarak ölçülmektedir. Çalışma kapsamında 71 tanesi özgün olmak üzere 90 *COI-tRNA_{Leu}-COII* ve 103 tanesi özgün olmak üzere 143 *Cpnl-1* haplotipinin saptanması, Anadolu populasyonlarının yüksek düzeyde bir genetik çeşitliliğe sahip olduğuna işaret etmektedir (Ek 1, 2). Aynı zamanda haplotip çeşitlilik indeksleri de bunu doğrular niteliktedir (*COI-tRNA_{Leu}-COII* için $H_d = 0,932 \pm 0,005$; *Cpnl-1* için $H_d = 0,9445 \pm 0,005$). Bu sonuçlar benzer çalışmalarla da desteklenmektedir. Korkmaz ve ark. (2010) tarafından Anadolu *C. parallelus* türünün genetik yapılanması, *Cpnl-1* gen bölgesi kullanılarak SSCP tekniği ile araştırılmış ve 10 populasyon, 116 bireyde 11 tanesi özgün olmak üzere 20 alelin varlığı bildirilmiştir. Yine benzer bir sonuç aynı türün birkaç Anadolu populasyonu da dahil olmak üzere aynı gen bölgesine başvuru bir araştırma ile rapor edilmiştir (Cooper ve ark. 1995). 88 Paleartik populasyonu ve 350 bireyinin dahil edildiği çalışmada toplamda 72 alelin varlığı bildirilmiştir. Bu alellerin 18 tanesi özgün olmak üzere 22 tanesi Anadolu'da bulunmuştur. Bu sonuçlar temelinde Cooper ve ark. (1995), Anadolu *C. parallelus* populasyonlarının yakın bir zaman dilimi içerisinde etkin bir biçimde allopatrik farklılaşmaya maruz kalmış olabileceklerini ve Balkan populasyonlarıyla da sınırlı bir gen akışına sahip olduklarını önermiştir. Ancak çalışma kapsamında değerlendirilen Trakya populasyonlarının özellikle Anadolu'nun kuzeybatısı olmak üzere birçok populasyonla ortak haplotiplere sahip oldukları ve bu nedenle doğrudan aralarında sınırlı bir gen akışının olduğunu söylemek mümkün değildir (Ek 1 ve 2). Ancak son dönemlerde ayrılmış ve bu nedenle de genetik olarak yeteri kadar farklılaşmamış iki ana populasyon olabilecekleri ihtimali

de göz ardı edilmemelidir. Aslında bu öngörülerle birlikte her iki bölge arasında etkin bir bariyerin var olup olmadığı ilerleyen kısımlarda detaylandırılacaktır. Buna rağmen Anadolu populasyonlarında özgün haplotiplerin yüksek oranda bulunması, farklı bir genom olabileceği ihtimalini de akla getirmektedir (Hewitt 1996, Korkmaz ve ark. 2010). Bu çalışmanın sonuçlarına paralel olarak önerilen hipotez desteklenebilir niteliktedir. Hem haplotip çeşitliliğinin hem de özgün haplotip sayısının yüksek olmasının yanı sıra *Cpnl-1* haplotiplerinin nükleotid dizilerinde gözlenen indel pozisyonlarının varlığı ve Avrupa populasyonları ile karşılaştırılması sonucunda elde edilen bulgular öngörülen bu hipotezin doğrulunu güçlendirmektedir. Çünkü *Cpnl-1* nükleotid dizilerinde gözlenen altı indel pozisyonundan beş tanesi sadece Anadolu populasyonlarına özgündür. Bu karakteristiğe ek olarak, bir indel pozisyonu (AACTT) ise diğer birçok Paleartik populasyonlarla paylaşılmaktadır ve bu paylaşım bir başka öngörüü de beraberinde getirmektedir. Acaba son dönemlerde etkin bir alloptarik farklılaşmaya maruz kalmış olan Anadolu populasyonları türün yayılış aralığındaki tüm diğer populasyonların atası mıdır? Bu soruyu ilk olarak Hewitt (1996) sormuş ve detaylı bir çalışma ile aydınlatılması gerekliliğini belirtmiştir. Ancak bu soruya şimdiye kadar açıklanan bulgular doğrultusunda cevap vermek belki tam yeterli olmayabilir. Ancak indel pozisyonlarının varlığından bu hipoteze biraz da olsa destek aranabilir. Cooper ve ark. (1995) tarafından 88 Paleartik populasyon üzerine gerçekleştirilen araştırma biraz daha detaylandırılacak olursa 217-221. pozisyonlarda tespit ettikleri AACTT indel pozisyonu, o çalışmada Anadolu populasyonlarına ek olarak İspanya, İtalya, Bulgaristan gibi ana sığınak bölgelerinde ve ayrıca Fransa, Batı ve Doğu Rusya bölgelerinden saptanan haplotiplerde gözlenmiştir. Bu çalışmada ise Populasyon 1, 3, 6, 14, 21, 23, 25, 29, 33, 34, 35, 38, 39 ve 43 olmak üzere 14 populasyonda tespit edilmiştir. Bu populasyonların yayılışları Anadolu'da birçok soğuk seven form için önerilen buzul ve buzullar arası dönemlerdeki yayılış koridorlarına ve olası iki yönlü yayılışa işaret etmektedir (Çıplak 2008). Yayılış yönlerinden biri kuzeydoğu-kuzeybatı olmak üzere Pontidler kanalıyla, diğeri ise kuzeydoğu-güneybatı eksenlidir. İndel pozisyonların işaret ettiği öngörü, yüksek genetik çeşitliliğin arka planında yer alan yakın dönem evrimsel tarihiyle de açıklanabilir (Christopher ve ark. 2003). Anadolu populasyonlarında gözlenen yüksek genetik çeşitlilik, türün yakın dönem evrimsel geçmişinde Anadolu'daki yayılışı açısından büyük bir efektif populasyon büyüklüğüne erişmiş olmasına atıfta bulunabilir. Bu tür dışında bazı diğer organizmalar üzerine yapılan çalışmalar da Anadolu populasyonlarında ayrı bir genomun varlığını

doğrulamakta ve uzun süreli bir biyocoğrafik izolasyonu önermektedir (Seddon ve ark. 2001, Hampe ve ark. 2003, Rokas ve ark. 2003, Gündüz ve ark. 2007, Naydenov ve ark. 2007, Nieberding ve ark. 2008, Çıplak ve ark. 2010, Murienne ve ark. 2010). Dubey ve ark. (2007) *Crocidura leucodon* türünde ana genetik soy-hatlarının belirlenmesi ve Pleistosen buzul döneminin etkisinin araştırılması amacıyla gerçekleştirdikleri çalışmalarında Anadolu populasyonlarının farklı bir soy-hattı içerdiğini ve özgün haplotip sayısının ise kuzey Avrupa populasyonları kadar diğer güney sığınak bölgelerinden dahi dikkate değer oranda yüksek olduğunu tespit etmişlerdir. Anadolu'nun bu genetik çeşitliliği muhtemelen farklı etkilere sahip birkaç buzul dönemi sonucunda varyasyonun birikmesinden ve kararlı bir sığınak pozisyonundan kaynaklanmaktadır (Hewitt 1996, 2001; Dubey ve ark. 2007; Korkmaz ve ark. 2010).

Kararlı bir sığınak pozisyonu ise Anadolu'nun uzun süreli ve karmaşık paleocoğrafik tarihinin yanı sıra yüksek habitat heterojenitesi, topografik ve iklimsel varyasyonlar sergilemesinden kaynaklanmakta ve tüm bu özellikler içerdiği mevcut biyoçeşitliliği açıklamada temel öneme sahip görünmektedir (Çıplak 2010). Temelde türün yayılış aralığında populasyonların farklı genetik yapılanmalar sergilemesi uzun süreli bir tartışma konusudur (Lesica ve Allendorf 1995; Barton 2001; Hampe ve Petit 2005; Eckert ve ark. 2008; Korkmaz ve ark. 2010). Genetik çeşitliliğin ve farklılaşmanın populasyonların coğrafik pozisyonları tarafından nasıl etkileneceği ile ilgili tahminlerin sadece tek bir modelle açıklanabilmesi mümkün değildir (Çıplak 2008, Korkmaz ve ark. 2010). Tarihsel süreçlerdeki iklimsel kaymalara yanıt olarak yayılış aralıklarında daralma ve genişlemeler gösteren birçok takson grubunda enlemsel bir farklılaşma beklenmektedir (Hampe ve Petit 2005). Taksonların yayılış aralığında son buzul sonrası dönemin oluşturduğu tür zenginliği ve tür içi genetik çeşitlilikle ilgili çalışmaların çoğu bu yöndedir (Taberlet ve ark. 1998; Hewitt 1999, 2000; Rokas ve ark. 2003; Challis ve ark. 2007). Ancak türün tüm yayılış aralığı açısından doğru olmakla birlikte lokal ve özellikle de değişken topografyaya sahip Anadolu gibi güney sığınaklarında sadece bu modelin kullanılmasıyla taksonların yayılış örüntülerini açıklamada yeterli olacağı beklenemez (Çıplak 2008, Çıplak ve ark. 2010). Bu hipotezi test etmek amacıyla başvuru hem haplotip ve özgün haplotiplerin Anadolu coğrafyasında yayılışları, hem genetik çeşitliliğin enlem boylam ve yükseklik gibi ana farklılaşma parametreleri ile ilişkisini aydınlatan regresyon analizleri hem de genetik varyasyonun yapılanmasına işaret eden AMOVA analizleri benzer hikayeye işaret

etmişlerdir. Öncelikle beş ana biyocoğrafik bölgeye ayrılan Anadolu'da genetik çeşitliliğin özellikle Karadeniz Havzasında ve Doğu Anadolu Bölgesinde yüksek gözlenmesi (Şekil 3.10, Tablo 3) ve AMOVA analizleri ile bu bölgeler arasındaki genetik farklılaşmanın reddedilmesi bu hipotezi doğrulamaktadır (Tablo 13b1b2). Diğer taraftan yapılan bir diğer analizde ise genetik çeşitliliğin, özellikle dağ silsilelerinin konuşlanmasına paralel bir örüntü sergilediği fark edilmektedir. Tektonik olarak Toridler, Anatolidler ve Pontidler olmak üzere (Şekil 3.8, Tablo 2) üç ana gruba ayrılan Anadolu populasyonlarında, Torid ve Pontidlerin hem haplotip hem de özgün haplotip sayısınınca zengin olması bu öngörüyü desteklemektedir. Bu durum genetik varyasyonun küçük bir oranının gruplar arasında olmasına rağmen istatistiksel açıdan anlamlılık sergileyen AMOVA analizleri ile uyumlu görünmektedir (Tablo a1a2). Aslında, soğuk seven birçok formun özellikle de Orthoptera grubunun Anadolu'nun yükseltilerine paralel bir yayılış örüntüsü sergilediği birçok çalışmayla desteklenmektedir (Çıplak 2003, 2004; Çıplak ve ark. 2010). Anadolu coğrafyasına paralel uzanan bu ana dağ yükseltilerinin enlemsel bir farklılaşmaya yol açtıkları regresyon analizleri tarafından reddedilmektedir (Tablo 5a ve Tablo 6a). Mevcut veri böylesi bir örüntüye işaret etmesine rağmen, buzul ve buzullar arası dönemlerden kaynaklanan iklimsel değişimler yüksekliğe bağlı bir farklılaşma ile soğuk seven Anadolu formlarının dikey yayılış değişimlerine yol açmış olabilir (Çıplak 2008, Çıplak ve ark. 2010). Bu yüzden gerçekleştirilen ikinci bir regresyon analizi, yüksekliğin hem genetik çeşitliliğin yayılışında hem de genetik farklılaşmada etkili olduğunu göstermiştir (Tablo 5c ve Tablo 6c). Böylesi bir sonucu yansıtan veriyi destekleyen diğer ipuçları arasında ise arazi çalışmaları sırasında doğrudan gözlemediğimiz örnek toplama yerleridir. Günümüz populasyonları Holosen ısınma döngüsüne ait oldukları için, bu dağcıl formların yayla olarak da nitelendirebileceğimiz yükseltilerle sınırlı olduklarını ve ova gibi düşük rakımlı bölgelerde görünmedikleri tespit edilmiştir. Günümüze kadar bu taksonlara düşük yükseltilerde rastlanmamakta ve bu nedenle de her populasyon kendi yükseltisinde coğrafik açıdan izole, gen akışının sınırlandırıldığı bir pozisyon kazanmaktadır (Çıplak ve ark. 2010).

Şimdiye kadar yapılan çalışmalarda türüçi genetik çeşitlilikte boylamsal farklılaşma örüntülerinin olası etkileri daha az göz önünde bulundurulmuştur (Challis ve ark. 2007). Özellikle Kuvaterner buzul dönemlerinin baskın bir etkiye sahip olduğu soğuk seven batı Palearktık formları Güney Avrupa, Anadolu, İran ve Kafkaslar'ı

kapsayan güney sığınak alanlarında bir boylamsal yayılış alanına sığınmışlardır (Taberlet ve ark. 1998; Hewitt 1999, 2004, Challis ve ark. 2007). Birçok türün sığınak popülasyonları arasında uzun süreli üreme izolasyonu ve sığınanın kendi iç dinamiklerine özgün polimorfizmleri biriktirmesi sonucunda elbette genetik farklılaşmalar göstermesi beklenir. Özellikle karmaşık bir paleocoğrafik tarihe sahip olan Anadolu'da son buzul dönemi sonrası yayılış yollarının irdelenmesinde boylamsal kolonizasyonun nasıl bir etki sergilediği önem arz etmektedir. Bu amaçla yapılan analizler Anadolu *C. parallelus* popülasyonlarında yükseltiye bağlı vertikal değişimlerden kaynaklanan farklılaşmaya ek olarak, boylamsal bir farklılaşma örüntüsünü de desteklemektedir (Tablo 5b ve Tablo 6b). Benzer sonuçlar birkaç çalışma ile de rapor edilmiştir (Tzedakis 1993, Ferris ve ark. 1998, Taberlet ve ark. 1998, Rokas ve ark. 2003, Hewitt 2004, Gündüz ve ark. 2005, Çıplak ve ark. 2010). Özellikle *C. parallelus* gibi geniş yayılış sergileyen taksonlarda boylamsal farklılaşmanın açığa çıkmasının temelinde Pleistosen döneminin büyük bir etkisi olduğu son dönemlerde belirtilmektedir (Taberlet ve ark. 1998, Hewitt 1999, Challis ve ark. 2007).

Sığınak içinde sığınak ödevi gören Anadolu'da genetik farklılaşmalara yol açan biyocoğrafik etkenlerden bir diğeri ise Anadolu Yarımadası'nı iki anaparçaya ayıran Anadolu Diyagonali'dir. Çoklu alt yayılış alanları oluşturan Doğu Torosların, bir güneybatı-kuzeydoğu doğrultusuyla Anadolu'nun Akdeniz ve Karadeniz/Doğu bölgeleri arasında uzanması sonucunda açığa çıkan bu süper aralığın her iki tarafında yer alan popülasyonlar arasında genetik farklılaşmanın anlamlı olduğu söylenebilir (Tablo 13c1c2, $p = 0,000$). Aslında bu yüksekliğe bağlı kuşakta yayılışın doğu ya da batı sınırında farklı soy-hatlarının olduğu da bilinmektedir (Davis 1971; Ekim ve Güner 1986; Çıplak ve ark. 1993; Çıplak 2008). Popülasyonların yayılış yetenekleri ile de doğrudan ilişkili olan bu bariyerin jenerasyon başına yayılış hızı düşük olan taksonlar üzerinde daha etkili olacağı düşünülmektedir. Bu analizlere ek olarak gerçekleştirilen SAMOVA sonuçlarında da kısmen de olsa benzer bir yapılanma dikkat çekmektedir (Şekil 3.13 ve 3.14). Ancak bariyerin asıl etkisini gösteren sonuçlar temel bileşen analizleri (Şekil 3.15 ve 3.16), filogenetik (Şekil 3.19, 3.22-25, 3.28-29) ve şebeke analizleri (Şekil 3.34) ile doğrulanmaktadır. Bu analizler sonucunda Diyagonalin doğusunda yer alan popülasyonlar kendi içerisinde alt soy-hatlarına ayrılmakla birlikte, bir bütün olarak doğu kladını oluşturmaktadırlar. Diyagonal açısından dikkat çeken bir diğer durum doğu batı farklılaşmasında bazı geçiş pozisyonlarının yer almasıdır.

Özellikle diyagonalin kuzey doğu ucunun yer aldığı Gümüşhane, Bayburt ve Erzurum'un doğusunda yer alan coğrafik alan doğu batı arasında kuzeydoğu-güneybatı eksenli bir geçiş zonuna yol açmaktadır. Bu geçiş zonu hem şebeke hem de farklı algoritmalar kullanılarak oluşturulan gen ağaçlarında da yer almaktadır. Özellikle mitokondri DNA belirtecine dayalı tüm filogenetik analizler bu örüntüyü desteklemektedir. Çekirdek DNA belirtecinde ise populasyonlar arasında ikili F_{ST} değerlerinin kullanımına dayalı temel bileşen analizleri ve Fitch fenogramında bu örüntü bariz bir şekilde açığa çıkmaktadır (Şekil 3.16 ve 3.22). Mutasyon oranı yüksek olan böylesi tek kopyalı kodlama yapmayan gen bölgeleri için (Szymura ve ark. 1996) diğer filogenetik analizlerden ziyade, bu analizin kullanışlı olduğu daha önce aynı türün populasyonlarının karşılaştırıldığı bir başka çalışmada da önerilmiştir (Cooper ve ark. 1995). Aynı zamanda bu gen bölgesinin doğrudan dikotomik ağaçları destekleme miktarının düşük olduğu ve filogenetik çıkarsamalar için başvurulacak yöntemlerin birçoğunda çözümsüz kalacağı maksimum olasılık haritalama yöntemiyle de doğrulanmıştır (Şekil 3.18c).

Coğrafik genetik yapılanmanın açığa çıkarılmasında elverişli olan SAMOVA ve temel bileşenler analizlerinden elde edilen diğer iki önemli sonuç da Anadolu için öngördüğümüz “sığınak içerisinde sığınak” savını güçlendirmektedir. Bunlardan ilki Populasyon 1, 31, 32, 33 ve 34 arasında gözlenen ve boylamsal bir farklılaşmaya işaret eden sonuçtur. Diğer bir sonuç ise muhtemelen Kafkaslar ve Balkanlar arasında hem buzul hem de buzullar arası dönemlerde önemli bir yayılış koridorunun varlığı ve coğrafik pozisyonudur. Çıplak ve ark. (2005) ve Çıplak (2008) tarafından “**Toros Yolu**” olarak isimlendirilen bu koridor, Anadolu'nun en kuzeydoğu ucundan ya da güney Kafkaslar'dan başlayan ve Diyagonal'in coğrafik pozisyonuna paralel bir şekilde yayılış sergileyerek Orta Anadolu'nun kuzeyinden güneye doğru inen ve buradan da güney Toros dağ silsilesi boyunca ilerleyerek batı uca doğru yönelmekte ve daha sonra da Ege bölgesinde yer alan dağ silsilesini izleyerek kuzeybatı Anadolu'ya ulaşmaktadır (Şekil 3.16c). Cooper ve ark. (1995) tarafından aynı türün Batı paleartik populasyonlarının genetik yapılanmasının araştırıldığı çalışmada yer alan Batı ve Doğu Rusya populasyonlarına ait haplotiplerin nükleotid dizileri tekrar değerlendirildiği zaman bu yayılış koridoru savının doğruluğu güçlenmektedir. O çalışmada yer alan Rusya haplotiplerinin bir kısmı doğu populasyonlarıyla, bir kısmı ise Trakya populasyonlarıyla paylaşılmaktadır. Benzer yayılış örüntüsü bazı diğer Orthoptera

gruplarında da gözlenmiştir ve bu taksonların radyasyonları muhtemelen Kuvaterner'deki iklimsel dalgalanmalarla ilişkilidir (Çıplak 1998, 2000; Çıplak ve ark. 2005). Çıplak (1998, 2000) tarafından Anadolu'da yayılış sergileyen *Parapholidoptera* türlerinde yayılış örüntülerinin belirlenmesi amacıyla gerçekleştirilen bir çalışma sonucunda, aynı yayılış koridoru önerilmiş, hatta filogenetik analizlerde en bazal hattın kuzeydoğuda yer alması sonucunda Anadolu'nun sığınak pozisyonuna da atıfta bulunulmuştur. Çıplak ve ark. (2005) tarafından bildirilen bir diğer soy-hattı ise kısa kanatlı *Chorthippus demokidovi* tür grubu olup yine benzer bir yayılış örtütüsüne sahiptir. Hem mevcut veriden hem de diğer bazı Orthoptera gruplarından edinilen bu bulgu Anadolu topografik yapılanmasıyla ilişkili, özellikle de soğuk seven formlar için genel bir yayılış örüntüsüne işaret etmektedir.

4.4 Farklılaşma Zamanları ve Boğazların Durumu

Mitokondri DNA belirteci tabanlı filogenetik analizler sonucunda Anadolu *C. parallelus* populasyonlarında farklılaşma Diyagonalin doğusu, batısı ve geçiş zonunun oluşturduğu üç ana kladin varlığına işaret etmektedir (Şekil 3.35). İlk ayrılma zamanı orta Pliyosen dönemine denk gelmektedir. Bu dönemde gerçekleşen ayrılma Erzurum Horasan populasyonuna ait üç haplotipin tüm diğerlerinden farklılaşmasıyla sonuçlanmıştır. Ancak diğer filogenetik analizler sonucunda da gözlenen bu farklılaşma populasyonlar arası genetik uzaklıktan ziyade ayrı bir türe ait haplotipler olacağı yönündedir. Bu durum örneklem hatası ya da laboratuvar çalışmalarından kaynaklanan bir DNA kontaminasyonu olabilir. Ancak çalışma kapsamında doğru bir filogenetik topolojinin açığa çıkarılması açısından kullanışlı olabileceği düşüncesiyle bu analizde değerlendirmeye alınmıştır. Bu populasyona ait diğer iki haplotipin ayrılması Orta Pleistosen döneminde gerçekleşmiştir (Şekil 3.35). Günz buzullaşmasını takiben gerçekleşen bu ayrılmayı yaklaşık 200 000 yıl sonra ve Mindel buzullaşmasının hemen sonrasına denk gelen doğu batı eksenli bir farklılaşma takip etmektedir. Yine Mindel Riss buzul dönemleri arasına denk gelen ve bir önceki ayrılmadan hemen sonra (yaklaşık 70 bin yıl sonrasında) gerçekleşen süreç ise iki doğu populasyonun ayrılmasıdır. Bu populasyonların ayrılmasına ek olarak bu dönemde gözlenen ve populasyonların evrimsel tarihinde önemli bir etkiye sahip olan bir diğer ayrılma ise Pleistosen yayılış koridorunun varlığını desteklemektedir. Özellikle kuzeydoğu-güneybatı oryantasyonlu bir kladin varlığı dikkat çekmektedir. Bu kladda yer alan populasyonların ayrı bir evrimsel örüntüye sahip oldukları bazı populasyon genetiği

(Şekil 3.16, Tablo 13d2), filogenetik (Şekil 3.19-23, 3.25-26, 3.28-30) ve şebeke analizleri (Şekil 3.34a) ile de desteklenmektedir. Ayrılma zamanları yalnızca yaklaşık tahminler olmasına rağmen, Anadolu populasyonlarında genetik çeşitlenmenin özellikle son buzul döneminin (20 000 yö) hemen sonrasında gerçekleştiği gözlenmektedir. Bu buzul periyodunun birçok takson açısından oldukça sert iklimsel koşullarının artan sıcaklıklarla birlikte değişmeye başladığı ve günümüz koşullarını da oluşturan (4000 yö) kararlı bir iklimsel yapının açığa çıktığı döneme denk gelmesiyle örtüşmektedir (Graham ve ark. 1996).

Anadolu populasyonlarında ana klad ayrılmalarının özellikle Orta Pleistosen dönemine denk gelmesi, bu dönemde gözlenen buzullar arası dönemlerin etkisinden kaynaklanmış olabilir. Bu dönemlerde Anadolu'da ortalama sıcaklığın 4–5 °C düşük seyretmiş olması, yoğun ve uzun süreli bir kar yağışı periyoduna yol açmıştır (Erinç 1978). Bu süreç özellikle 2200 m üzerindeki bölgelerin birçoğunun buzul plakalarıyla kaplanmış olmasına ve muhtemelen 1500 m üzerindeki bölgelerin dahi çok daha sert iklimsel koşullara maruz kalmasına neden olmuştur. Günümüzde izole ve yüksek çayırılık alanları tercih eden ve soğuk seven bir form olan *C. paralleus* populasyonları için uygun habitatların yok olmasına yol açan bu buzul süreci ana farklılaşmaları da tetiklemiştir. Muhtemelen populasyonlarda yüksekliğe bağlı olarak aşağı çekilmeler ve diğer tarafta uygun habitat arayışına paralel olarak uzun ve geniş çayırlarla kaplı alanlara yönelme söz konusu olabilir. Bu dönemlerde Anadolu'nun özellikle iç kesimindeki alçak alanların step benzeri olup geniş çayırlıklarla kaplı olması (Bottema ve Woldring 1984, van Zeist ve Bottema 1991) bu yönelmede etkili olmuştur. Bu yayılış koridoru muhtemelen iki yönlüdür. Populasyonların bir kısmı uzun bir vadi ödevi gören ve kuzeydoğu güneybatı eksenli bir yayılış koridorunu izlemişlerdir. Böylelikle populasyonlar açısından daha uygun habitatların var olduğu Balkanlara yönelme gerçekleşmiş olabilir (Hewitt 1996; Schmitt 2007). Diğer taraftan özellikle günümüz doğu populasyonlarını oluşturan grubun ise Hazar Denizi'nin güneyi ile Kafkaslar'da yer alan uygun habitatlara doğru yayılış sergilemiş olma ihtimalidir. Buzul dönemleri sonrasında ise Anadolu'nun iç bölgelerinde yer alan çoklu dağ blokları, komşu populasyonlar olsa dahi populasyonlar arasında gen akışını engellemiş ve günümüz populasyonlarında gözlenen bu farklılaşmaya yol açmıştır. Bu buzul dönemleri yayılış koridorlarına ait hipotezler hem şebeke hem de BEAST analizleriyle desteklenmektedir. En sık gözlenen ve muhtemelen atasal bir pozisyona sahip olan

Mit_9 haplotipi özellikle doğu populasyonlarınca zengin bazal kladda yer almaktadır. Bir diğer en sık bulunan haplotip olan Mit_11 ise ayrılma dönemi Riss Würm buzullar arasına denk gelen Trakya populasyonlarınca zengin bir kladda yer almaktadır. Mit_11 haplotipinin özellikle doğu populasyonlarında bulunmaması (Ek 1) ve ayrılma zamanlarının da dikkate alınması sonucu Anadolu'da kuzey doğudan güney batıya ve muhtemelen Boğazlar üzerinden Balkanlar'a bir genel yayılış örüntüsü öngörülebilir. Bu nokta da Boğazlar'ın coğrafik konumu ve doğu batı farklılaşmasında öngörülen bu yayılış örüntüsüne bir engel oluşturabileceği sorusunu akla gelmektedir. Aslında bu ihtimal mevcut veri tarafından şiddetle reddedilmektedir. Özellikle kuzeybatı Anadolu ve Trakya populasyonları arasında paylaşılan haplotiplerin yüksek sayıda olması (Ek 1 ve 2), filogenetik ve şebeke analizlerinde benzer genetik yapılanma sergilemeleri, populasyonlar arasında bir ayrıma işaret etmemektedir. *C. parallelus* türü yavaş bir yayılış hızına sahip olmasına rağmen, son dönemlerde ayrılmış olma ve bu nedenle de genetik açıdan farklılaşma gösterecekleri kadar yeterli zamana sahip olmama ihtimalleri göz önünde bulundurularak gerçekleştirilen IMA analizlerinde de benzer sonuçlar bulunmuştur. Kuzeybatı Anadolu ve Trakya populasyonları arasında Riss buzullaşması sonrasına denk gelen bir ayrılma olması bir buzul dönemini takiben deniz seviyesindeki artıştan kaynaklanmış olabilir (Dubey ve ark. 2007). Ancak populasyonlar arasında gözlenen bu ayrılmanın Boğazların tarihsel süreçlerdeki pozisyonlarına uygun bir biçimde deniz seviyesindeki artma ve azalmalarla tekrarlı gen akışlarına yol açtığına işaret etmektedir (Şekil 3.36, Tablo 16). Dünya genelinde soğumaya paralel olarak yağış sularının kuzey enlemlerde ve orta kuşanın yüksek kesimlerinde buzul halinde kalması sonucunda deniz seviyesinde önemli miktarda çekilmeler gerçekleşmiştir (Flemming ve ark. 1998; Ergin ve ark. 2007). Özellikle Batı Anadolu kısmı olmak üzere Marmara Denizi'nin büyük bir kısmının kara kütlesi haline gelmesine yol açmıştır. *C. parallelus* populasyonlarında Anadolu'dan Trakya yönüne doğru gerçekleşen ve 20 kat gibi yüksek oranda seyreden göç olgusu tüm bu tarihsel süreçlere paralel bir izlenim sergilemektedir. Gen akışının Anadolu üzerinden Balkanlar'a doğru gerçekleşmesi Anadolu için önerdiğimiz ana bir buzul sığınağı ve atasal populasyon olma savını kuvvetle desteklemektedir. Aynı zamanda efektif populasyon büyüklükleri açısından atasal populasyondan ayrılma gerçekleştikten sonra populasyonların genişleme (yayılma) gösterdiklerine işaret etmektedir.

Anadolu popülasyonlarında gözlenen doğu batı farklılaşma dönemi (0,4-0,3 myö) diğer Avrupa popülasyonlarının ayrı coğrafik genomlar arasında gözlenen dizi farklılaşma düzeyi ile (yaklaşık 0,45 myö) de uyumluluk sergilemektedir. Hewitt (1999) İspanya, İtalya, Yunanistan ve Balkanlar'da *C. parallelus* popülasyonların neredeyse 4-6 buzul dönemi öncesinde bölgelerine ulaşmış olmalarına ve o dönemden itibaren de devamlılıklarını sürdürerek farklı evrimsel senaryolara maruz kalmış olduklarına işaret etmektedir. Bu veriyi İspanya ve Fransa genomları arasında birkaç gen için ortalama %1'den küçük mtDNA ayrılması sonucuyla da desteklemiştir (Hewitt 1999). Ancak böyle bir farklılaşma zamanı ayrı bir tartışmayı da beraberinde getirmektedir. Eğer bu dönem öncesinde başka bir atasal popülasyon vardığıysa, o popülasyon/popülasyonların Kızıl Deniz seviyesindeki değişikliklerden elde edilen veriler sonucunda yaklaşık 0,45 myö gerçekleşen ciddi ve şiddetli bir buzullaşmayla yok olmuş olmaları gerekmektedir (Rohling ve ark. 1998; Hewitt 1999). Bu nedenle Hewitt (1999) ana kolonizasyonun muhtemelen başka bir popülasyondan gerçekleştiği ve bu atasal popülasyonun ise Anadolu'da barınmış olabileceğine işaret etmiştir. Aslında çalışma kapsamında genetik açıdan oldukça farklılaşmış ve filogenetik analizlerde en bazal hattı oluşturan Erzurum-Horasan popülasyonuna ait haplotiplerin yaklaşık olarak 0,57 myö tüm diğer popülasyonlardan ayrılmış olmaları bu öngörüğü destekler niteliktedir. Diğer taraftan Erzurum-Horasan popülasyonunun *Cpnl-1* haplotiplerinde bu öngörüğü destekleyen önemli bir ipucu bulunmaktadır. Bu popülasyonun bazı bireylerinin Doğu Rusya popülasyonlarına ait ve genetik açıdan oldukça farklılaşmış bazı haplotiplerle (bakınız Cooper ve ark. 1995) nükleotid benzerliğinin tüm diğerlerinden daha fazla seyretmesidir. Ancak bu sonuçlar özellikle doğu popülasyonları olmak üzere daha fazla örneklem ve gen bölgesi kullanımıyla yeniden araştırılmalıdır.

Bu tez kapsamında varılan ortak sonuçlardan biri Anadolu popülasyonlarında karmaşık bir yapılanma örüntüsünün varlığı ve bu nedenle de türün tüm Anadolu boyunca yayılışında genetik çeşitliliğin ve farklılaşmanın popülasyonların coğrafik pozisyonundan nasıl etkilenmiş olduğunun, geniş bir kabul gören merkez-çevre modeli ile açıklanamayacağıdır. Özellikle perifer popülasyonlarda düşük genetik çeşitlilik öneren bu modelin aksine, Anadolu için, türün evrimsel tarihini de göz önünde bulunduran "kararlı ardıl kenar" modelinin daha uygun olacağı yönündedir. Bir taraftan popülasyonlarda son bir ani genişleme örüntüsü ve popülasyon içi genetik çeşitlilik düzeylerinin ve özgün haplotip sayılarının yüksek olması, diğer taraftan komşu

populasyonlar olmasına rağmen aralarında gözlenen yüksek F_{ST} değerleri sonucunda sınırlı gen akışının bulunması bu modeli desteklemektedir. Çalışma kapsamında varılan bir diğer sonuç ise “sığınak içinde sığınak” öngörümüzün doğru olmasıdır. Anadolu'nun enlemsel pozisyonun yanı sıra karmaşık paleocoğrafik tarihi, heterojen topografyası ve değişken bir iklim yapısı, hem yüksekliğe bağlı dikey değişimlere hem de boylamsal farklılaşmalara eş zamanlı izin verebilmektedir. *C. parallelus* populasyonlarında gözlenen Anadolu Diyagonali'nden kaynaklı doğu batı farklılaşması da bu sonucu destekler niteliktedir. Diğer varılan bir sonuç ise Anadolu'nun birden çok buzul dönemine ev sahipliği yapmış olmasının ampirik olarak desteklenmesidir. Özellikle Anadolu *C. parallelus* populasyonlarında gözlenen ayrılma zamanlarının Orta Pleistosen döneminden itibaren yaklaşık olarak 4-6 buzul dönemine denk gelmesi bu sonucu desteklemektedir. Aynı zamanda kuzeydoğu güneybatı eksenli yayılış koridorunun varlığı da bir buzul sığınağı olduğu savına işaret etmekle birlikte, Anadolu'nun birçok palearktik takson için önemli bir geçiş yolu olduğunu ortaya koymaktadır.

5. KAYNAKLAR

- Akçar, N. and Schlüchter, C. (2005). Paleoglaciations in Anatolia: A schematic review and first results. *Eiszeitalter und Gegenwart* 55, 102–121
- Akçar, N., Yavuz, V., Ivy-Ochs, S., et al. (2007). Paleoglacial records from Kavron Valley, NE Turkey: Field and cosmogenic exposure dating evidence. *Quaternary International*, 1664, 170-183.
- Anastassakis, G.C., Dermitzakis, M. (1990). Post-Middle-Miocene palaeogeographic evolution of the Central Aegean Sea and detailed Quaternary reconstruction of the region. Its possible influence on the distribution of the Quaternary mammals of the Cyclades Islands, *Neues Jahrb. Geol. Palaontol. Abh.* 1, 1–16.
- Atalay, İ. (1987). *Türkiye Jeomorfolojisine Giriş*, E.Ü. Edeb. Fak. Yay. No: 9, İzmir.
- Atalay, İ. (1995). Effects of the climatic changes on the vegetation in the Near East. *Bull. Egyptian Geog. Society*, 68, 157–177.
- Atalay, İ. (1996). Paleosols as indicators of the climatic changes during Quaternary period in S Anadtolia. *J Arid Environ*, 32, 23–35.
- Atalay, İ. (2004). Relic and endemic plant communities and their importance in terms of climatic changes in Anatolia. *Proc. of International Symposium on Earth System Sciences 2004*, İstanbul, Turkey. 113.
- Atkinson, R.J., Rokas, A. and Stone, G.N. (2007). Longitudinal patterns in species richness and genetic diversity in European oaks and oak gallwasps, pp. 127–151, Eds. Weiss S. and Ferrand N., *Phylogeography of Southern European Refugia*. Springer, Dordrecht, The Netherlands.
- Avise, J.C. (2000). *Phylogeography. The history and formation of species*. Harvard University Press. Cambridge, MA.
- Avise, J.C. (2007). Twenty-five key evolutionary insights from the phylogeographic revolution in population genetics, pp. 7–21, Eds. Weiss S. and Ferrand N., *Phylogeography of Southern European Refugia*. Springer, Dordrecht, The Netherlands.

- Avise, J.C. and Walker, D. (1998). Pleistocene phylogeographic effects on avian populations and the speciation process. *Proceedings of the Royal Society of London B*, 265, 457–463.
- Avise, J.C., Walker, D., Johns, G. (1998). Speciation durations and Pleistocene effects on vertebrate phylogeography. *Proceedings of the Royal Society of London B*, 265, 1707–1712.
- Ayoub, N.A. and Riechert, S.E. (2004). Molecular evidence for Pleistocene glacial cycles driving diversification in a North American desert spider, *Agelenopsis aperta*. *Molecular Ecology*, 13, 3453–3465.
- Bandelt, H.J., Forster P., Sykes, B.C., and Richards, M.B. (1995). Mitochondrial portraits of human populations using median networks. *Genetics*, 141, 743–753.
- Bandelt, H.J., Forster, P., Röhl, A. (1999). Median-Joining Networks for Inferring ntraspecific Phylogenies. *Molecular Biology and Evolution* 16, 37–48.
- Barton, N.H. (2001). Adaptation at the edge of a species' range, pp. 365–392, Eds. Silvertown J. and Antonovics J., *Integration Ecology and Evolution in a Spatial Context*, Blackwell Science, Oxford, UK.
- Berli, P., Hotz, H., and Uzzell, T. (1996). Geologically dated sea barriers calibrate a protein clock for Aegean water frogs. *Evolution*, 50, 1676–1687.
- Beheregaray, L.B. (2008). Twenty years of phylogeography: the state of the field and the challenges for the Southern Hemisphere. *Molecular Ecology*, 17, 3754–3774.
- Bennett, K.D., Tzedakis, P.C., and Willis, K.J. (1991). Quaternary refugia of North European trees. *Journal of Biogeography*, 18, 103–115.
- Bermingham, E., Rohwer, S., Freeman, S., et al. (1992). Vicariance biogeography in the Pleistocene and speciation in North American wood warblers: a test of Mengel's model. *Proceedings of the National Academy of Science of the USA*, 89, 6624–6628.
- Bond, G., Broecker, W., Johnsen S., et al. (1993). Correlations between climate records from North Atlantic sediments and Greenland ice. *Nature*, 365, 143–147.

- Bottema, S., and Woldring, H., (1984). Late Quaternary vegetation and climate of southwestern Turkey. *Paleohistoria*, 26, 123–149.
- Broecker, W., Hemming, S. (2001). Climate swings come into focus. *Science*, 294, 2308–2309.
- Buño, I., Torroja, E., Lopez-Fernandez, C., et al. (1994). A hybrid zone between two subspecies of the grasshopper *Chorthippus parallelus* along the Pyrenees: the west end. *Heredity*, 73, 625–634.
- Bush, M. (1994). Amazonian speciation: a necessarily complex model. *Journal of Biogeography*, 21, 5–17.
- Butlin, R.K., Hewitt, G.M. (1985a). A hybrid zone between *Chorthippus parallelus parallelus* and *Chorthippus parallelus erythropus* (Orthoptera: Acrididae): morphological and electrophoretic characters. *Biological Journal of the Linnean Society*, 26, 269–285.
- Butlin, R.K., Hewitt, G.M. (1985b). A hybrid zone between *Chorthippus parallelus parallelus* and *Chorthippus parallelus eiythropus* (Orthoptera: Acrididae): behavioural characters. *Biological Journal of the Linnean Society*, 26, 287–299.
- Butlin, R.K., Ritchie, M.G., Hewitt, G.M. (1991). Comparisons among morphological characters and between localities in the *Chorthippus parallelus* hybrid zone (Orthoptera: Acrididae). *Phil. Trans. R. Soc. B*, 334, 297–308.
- Camin, J.H., and Sokal, R.R. 1965. A method for deducing branching sequences in phylogeny. *Evolution*, 19: 311–326.
- Castrica, V. and Bernatchez, L. (2003). The rise and fall of isolation by distance in the anadromous brook charr (*Salvelinus fontinalis* Mitchill). *Genetics*, 163, 983–996.
- Challis, R., Mutun, S., Nieves-Aldrey J.L., et al. (2007). Longitudinal range expansion and cryptic eastern species in the western Palearctic oak gallwasp, *Andricus coriarius*. *Molecular Ecology*, 16: 2103–2114.
- Chang, C.S., Kim, H., Park, T.Y., Maunder, M. (2004). Low levels of genetic variation among southern peripheral populations of the threatened herb, *Leontice microrhyncha* (Berberidaceae) in Korea. *Biological Conservation*, 119, 387–396.

- Channell, R. and Lomolino, M.V. (2000). Dynamic biogeography and conservation of endangered species. *Nature*, 403, 84–86.
- Christopher, N., Balakrishnan, S.L., Minfort, A.G., et al. (2003). Phylogeography and conservation genetics of Eld's deer (*Cervus eldi*). *Molecular Ecology*, 12, 1–10.
- Cooper, S.J.B., Hewitt, G.M. (1993). Nuclear DNA sequence divergence between parapatric subspecies of the grasshopper *Chorthippus parallelus*. *Insect Molecular Biology*, 2, 185–194.
- Cooper, S.J.B., Ibrahim, K.M., Hewitt, G.M. (1995). Postglacial expansion and genome subdivision in the European grasshopper *Chorthippus parallelus*. *Molecular Ecology*, 4, 49–60.
- Cox, C.B., and Moore, D.P. (2005). *Biogeography: An ecological and evolutionary approach*, 7th eds. Blackwell Publishing, Oxford.
- Cruzan, M.B., Templeton, A.R. (2000). Paleogeography and coalescence: phylogeographic analysis of hypotheses from the fossil record. *Trends in Ecology and Evolution*, 15, 491–496.
- Çıplak, B. (2003). Systematics, phylogeny and biogeography of *Anterastes* (Orthoptera, Tettigoniidae, Tettigoniinae): evolution within a refugium. *Zoologica Scripta*, 33, 19–44.
- Çıplak, B. (2004). Biogeography of Anatolia: the marker group Orthoptera. *Memorie della Società Entomologica Italiana*, 82, 357–372.
- Çıplak, B. (2008). The analogy between interglacial and global warming for the glacial relicts in a refugium, pp. 135–163. Ed. Fattorini S., *Insect Ecology and Conservation, Research Signpost*.
- Çıplak, B., Demirsoy, A., and Bozcuk, A.N. (1993). Distribution of Orthoptera in relation to the Anatolian Diagonal in Turkey. *Articulata* 8, 1–20.
- Çıplak, B., Heller, K.G., and Demirsoy, A. (2002). Review and key to species of *Platycleis* from Turkey (Orthoptera: Tettigoniidae) with descriptions of *Yalvaciana* subgen. n., *P. salmani* sp. n. and *P. melendisensis* sp. n. *Journal of Natural History* 36, 197–236.

- Çıplak, B., Mol, A., Şirin, D., et al. (2005). The *demokidovi*-like short winged *Glyptobothrus* (Orthoptera, Gomphocerinae, *Chorthippus*) of Anatolia with description of two new species: from Balkans to Caucasus through southern Anatolia. *Transactions of American Entomological Society* 131, 463–489.
- Çıplak, B., Heller, K–G., and Willemse, F. (2010). Phylogeny and biogeography *Eupholidoptera* Mañan (Orthoptera, Tettigoniidae): morphological speciation in correlation with the geographical evolution of the eastern Mediterranean. *Systematic Entomology*, 35, 722–738.
- Çıplak, B., Kaya S., and Gündüz, İ. (2010). Phylogeography of *Anterastes serbicus* species group (Orthoptera, Tettigoniidae): phylogroups correlate with mountain belts, but not with the morphospecies. *Journal of Orthoptera Research*, 19, 29–40.
- Çiçek, İ., Gürgen, G., Tuncel, H., et al. (2004) Glacial morphology of Eastern Black Sea Mountains (Turkey). *Caucasian Geographical Review*, 4.
- Çiner, A., Deynoux, M., and Çörekçiöğlü, E. (1999). Hummocky moraines in the Namaras and Susam valleys, Central Taurids, SW Turkey. *Quaternary Science Reviews*, 18, 659–669.
- Çiner, A. (2003). Recent glaciers and late Quaternary glacial deposits of Turkey. *Geological Bulletin of Turkey*, 46, 55–78.
- Dansgaard, W., Johnsen, S.J., Clausen, H.B., et al. (1993). Evidence for general instability of past climate from a 250-kyr ice-core record. *Nature*, 364, 218–220.
- Davis P.H. (1971). Distribution patterns in Anatolia with particular reference to endemism, pp. 15–27, Eds. Davis P.H., Harper P.C. and Hedge I.C., *Plant life of south-west Asia*. Botanical Society Edinburgh.
- Dermitzakis, D.M., and Papanikolaou, D.J. (1981). Paleogeography and geodynamics of the Aegean region during the Neogene. *Annales Geologique des Pays Hellenic* 30, 245–289.
- Doğu, A.F. (1993). Sandıras dağında buzul şekilleri. *Türkiye Coğrafyası Araştırma ve Uygulama Merkezi Dergisi*, Ankara Üniversitesi, 2, 263–274

- Doğu, A.F., Çiçek, İ., Tunçel, H., ve ark. (1994). Goller (Hunut) Dağında buzul şekilleri, yaylalar ve turizm. A. Ü. Coğrafya Araştırma ve Uygulama Merkezi Dergisi, 6, 63–92.
- Doğu, A.F., Çiçek, I., Gürgen, G. ve ark. (1996). Üçdoruk (Verçenik) dağında buzul şekilleri, yaylalar ve turizm. Ankara Üniversitesi, Türkiye Coğrafyası Araştırma ve Uygulama Merkezi Dergisi, 5, 29–52.
- Doğu, A.F., Gürgen, G., Tunçel, H. ve ark. (1997). Bulut-Aıtıparmak dağlarında buzul şekilleri, yaylalar ve turizm. Ankara Üniversitesi, Türkiye Coğrafyası Araştırma ve Uygulama Merkezi Dergisi, 6, 63–91.
- Doğu, A.F., Çiçek, I., Gürgen, G., ve ark. (1999). Akdağ'ın jeomorfolojisi ve bunun beşeri faaliyetler üzerindeki etkisi (Fethiye-Muğla). Ankara Üniversitesi, Türkiye Coğrafyası Araştırma ve Uygulama Merkezi Dergisi, 7, 95–120.
- Douris, V., Giokas, S., Thomaz, D., et al. (2007). Inference of evolutionary patterns of the land snail *Albinaria* in the Aegean archipelago: Is vicariance enough? *Molecular Phylogenetic and Evolution*, 44, 1224–36.
- Drummond, A.J., Rambaut, A. (2007). BEAST: Bayesian evolutionary analysis by sampling trees. *BMC Evolutionary Biology*, 7, 214
- Dubey, S., Zaitsev, M., Cosson, J.F., et al. (2006). Pliocene and Pleistocene diversification and multiple refugia in a Eurasian shrew (*Crocidura suaveolens* group). *Molecular Phylogenetic and Evolution*, 38, 635–647.
- Dubey, S., Cosson, J.F., Vohralík, V., et al. (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.
- Duggen S, Hoernle K, van den Bogaard, P, et al. (2003). Deep roots of the Messinian salinity crisis. *Nature*, 422, 602–606
- Dupanloup, I., Schneider, S., Excoffier, L. (2002). A simulated annealing approach to define the genetic structure of populations. *Molecular Ecology*, 11, 2571–81.

- Eckert, C.G., Samis, K.E., Lougheed, S.C. (2008). Genetic variation across species' geographical ranges: the central–marginal hypothesis and beyond. *Molecular Ecology*, 17, 1170–1188.
- Eckstein, R.L., O'neill, R.A., Danihelka, J., et al. (2006). Genetic structure among and within peripheral and central populations of three endangered floodplain violets. *Molecular Ecology*, 15, 2367–2379.
- Ekim, T. and Güner, A. (1986). The Anatolian diagonal: fact or fiction? *Proceedings of the Royal Society of Edinburgh. Section B: Biology*. 89, 69–77.
- Elmas, A. (2003). Late Cenozoic tectonics and stratigraphy of northwestern Anatolia: the effects of the North Anatolian Fault to the region. *International Journal of Earth Sciences*, 92, 380–396.
- Emerson, B.C. (2002). Evolution on oceanic islands: molecular phylogenetic approaches to understanding pattern and process. *Molecular Ecology*, 11, 951–966.
- Ergin, M., Uluadam, E., Sarıkavak, K., et al. (2007). Late Quaternary sedimentation and tectonics in the submarine Şarköy Canyon, western Marmara Sea (Turkey), pp. 231–257, Eds. Taymaz T., Yılmaz Y. and Dilek Y., *The geodynamics of the Aegean and Anatolia*. Geological Society, London, Special Publications.
- Erpenbeck, D., Hooper, J.N.A., Wörheide, G. (2005). CO1 phylogenies in diploblasts and the 'Barcoding of Life' —are we sequencing a suboptimal partition? *Molecular Ecology Notes*, 6, 550–553.
- Excoffier, L., Smouse, P.E., Quattro, J.M. (1992). Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics*, 131, 479–491.
- Excoffier, L., Laval, G., and Schneider, S. (2005) Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics Online*, 1, 47–50.
- Farris, J.S. (1969). A successive approximations approach to character weighting. *Systematic Zoology*, 18, 374–385.

- Farris, J.S. (1973). A probability model for inferring evolutionary trees. *Systematic Zoology*, 22, 250–256.
- Felsenstein, J. (1973). Maximum likelihood and minimum-steps methods for estimating evolutionary trees from data on discrete characters. *Systematic Zoology*, 22, 240–249.
- Felsenstein, J. (1981). Evolutionary trees from DNA sequences: A maximum likelihood approach. *Journal of Molecular Evolution*, 17: 368–376.
- Felsenstein, J. (1989). PHYLIP - Phylogeny Inference Package (Version 3.2). *Cladistics* 5: 164–166.
- Felsenstein, J. (2004). PHYLIP (Phylogeny Inference Package) version 3.69. Distributed by the author. Department of Genome Sciences, University of Washington, Seattle.
- Ferris, C., King, R.A., Vainola, R., Hewitt, G.M. (1998). Chloroplast DNA recognizes three refugial sources of European oaks and suggests independent eastern and western immigrations to Finland. *Heredity*, 80, 584–593.
- Fitch, W.M., and Margoliash, E. (1967). Construction of phylogenetic trees. *Science*, 155, 279–284.
- Flanagan N.S., Mason, P.L., Gosalvez, J., et al. (1999). Chromosomal differentiation through an Alpine hybrid zone in the grasshopper *Chorthippus parallelus*. *Journal of Evolutionary Biology*, 12, 577–585.
- Flanders, J., Jones, G., Benda, P., et al. (2009). Phylogeography of the greater horseshoe bat, *Rhinolophus ferrumequinum*: contrasting results from mitochondrial and microsatellite data. *Molecular Ecology*, 18, 306–318.
- Fleming, K., Johnston, P., Zwartz, D., et al. (1998). Refining the eustatic sea-level curve since the Last Glacial Maximum using far- and intermediate-field sites. *Earth and Planetary Science Letters*, 163, 327–342.
- French, S., Robson, B. (1983). What is a conservative substitution? *Journal of Molecular Evolution*, 19, 171–175.

- Fu, Y-X. (1997). Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking and background selection. *Genetics*, 147, 915–925.
- Furman, A., Postawa, T., Öztunç, T., et al. (2010). Cryptic diversity of the bent-wing bat, *Miniopterus schreibersii* (Chiroptera: Vespertilionidae), in Asia Minor. *BMC Evolutionary Biology*, 10:121.
- Gelman, A., and Rubin, D.B. (1992), Inference from Iterative Simulation Using Multiple Sequences. *Statistical Science*, 7, 457–472.
- Görür, N. and Tüysüz, O. (2001). Cretaceous to Miocene palaeogeographic evolution of Turkey: Implications for hydrocarbon potential. *Journal of Petroleum Geology*, 24, 119–146.
- Green, A.J., Fox, A.D., Hilton, G., et al. (1996). Threats to Burdur Lake ecosystem, Turkey and its waterbirds, particularly the white-headed duck *Oxyura leucocephala*. *Biological Conservation*, 76, 241–252.
- Gündüz, I., Rambau, R.V., Tez, C., et al. (2005). Mitochondrial DNA variation in the western house mouse (*Mus musculus domesticus*) close to its site of origin: studies in Turkey. *Biological Journal of Linnean Society*, 84, 473–485.
- Gündüz, I., Jaarola, M., Tez, C., et al. (2007). Multigenic and morphometric differentiation of ground squirrels (*Spermophilus*, Sciuridae, Rodentia) in Turkey. *Molecular Genetics and Evolution*, 43, 916–935.
- Gürgen, G., 2001, Karadağ (Gümüşhane) çevresinin glasyal morfolojisi ve turizm potansiyeli. *A. Ü. Türkiye Coğrafyası Araştırma ve Uygulama Merkezi Dergisi*, 8, Ankara.
- Hampe, A., Arroyo, J., Jordano, P., et al. (2003). Rangelwide phylogeography of a bird-dispersed Eurasian shrub: contrasting Mediterranean and temperate glacial refugia. *Molecular Ecology*, 12, 3415–3426.
- Hampe, A., Petit, R.J. (2005). Conserving biodiversity under climate change: the rear edge matters. *Ecology Letters*, 8, 461–467.
- Harz, K. (1975). *The Orthoptera of Europe (Die Orthopteren Europas)*. Hague.

- Hays, J.D., Imbrie, J. and Shackleton, N.J. (1976). Variations in the earth's orbit: pacemaker of the ice ages. *Science*, 194: 1121–1132.
- Heuertz, M., Carnevale, S., Fineschi, S., et al. (2006). Chloroplast DNA phylogeography of European ashes, *Fraxinus* sp. (Oleaceae): roles of hybridization and life history traits. *Molecular Ecology*, 15, 2131–2140.
- Hewitt, G.M. (1996). Some genetic consequence of ice ages, and their role in diverging 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.
- Hewitt, G.M. (2000). The genetic legacy of the Quaternary ice ages. *Nature*, 405, 907–913.
- Hewitt, G.M. (2001). Speciation, hybrid zones and phylogeography—or seeing genes in space and time. *Molecular Ecology*, 10, 537–549.
- Hewitt, G.M. (2004). Genetic consequences of climatic oscillations in the Quaternary. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 359, 183–195.
- Hewitt, G.M., Butlin, R.K. (1997). Causes and consequences of population structure, pp. 350–372, Eds. Krebs J.R. and Davies N.B., *Behavioural Ecology. An Evolutionary Approach*. Blackwell Science, Horn.
- Hey, J. (2010). Isolation with migration models for more than two populations. *Molecular Biology and Evolution*, 27, 905–920.
- Hey, J., Nielsen, R. (2007). Integration within the Felsenstein equation for improved Markov chain Monte Carlo methods in population genetics. *Proceedings of the National Academy of Science, USA*, 104, 2785–2790.
- Horn, A., Stauffer, C., Lieutier, F., et al. (2009). Complex postglacial history of the temperate bark beetle *Tomicus piniperda* L. (Coleoptera, Scolytinae). *Heredity*, 103, 238–247.

- Huang, Z., Liu, N., Zhou, T. (2005). A comparative study of genetic diversity of peripheral and central populations of Chukar Partridge from Northwestern China. *Biochemical Genetics*, 43.
- Huelsenbeck, J.P., Ronquist, F. (2001). MrBayes: Bayesian inference of phylogenetic trees. *Bioinformatics*, 17, 754–755.
- Hutchison, D.W., Templeton, A.R. (1999). Correlation of pairwise genetic and geographic distance measures: inferring the relative influences of gene flow and drift on the distribution of genetic variability. *Evolution*, 53, 1898–1914.
- Ibrahim, K.M., Cooper, S.J., Hewitt, G.M. (2002). Testing for recombination in a short nuclear DNA sequence of the European meadow grasshopper, *Chorthippus parallelus*. *Molecular Ecology*, 11, 583–90.
- Johnson, S.B., Waren, A., Vrijenhoek, R.C. (2008). DNA barcoding of *Lepetodrilus limpets* reveals cryptic species. *Journal of Shellfish Research*, 27, 43–51.
- Joseph, L., Moritz, C., Hugall, A. (1995). Molecular support for vicariance as a source of diversity in rainforest. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, 260, 177–182.
- Juan, C., Oromi, P., Hewitt, G.M. (1996). Phylogeny of the genus *Hegeter* (Tenebrionidae, Coleoptera) and its colonization of the Canary Islands deduced from cytochrome oxidase I mitochondrial DNA sequences. *Heredity*, 76, 392–403.
- Kimura, M. (1980). A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *Journal of Molecular Evolution*, 16, 111–20.
- King, R.A., Ferris, C. (1998). Chloroplast DNA phylogeography of *Alnus glutinosa* (L.) Gaertn. *Molecular Ecology*, 7, 1151–1161.
- Klicka, J., Zink, R.M. (1997). The importance of recent ice ages in speciation: a failed paradigm. *Science*, 277, 1666–1669.
- Kluge, A.G., and Farris, J.S. (1969). Quantitative phyletics and evolution of anurans. *Systematic Zoology*, 18, 1–32.

- Knowles, L.L. (2000). Tests of Pleistocene speciation in montane grasshoppers from the sky islands of western North America (genus *Melanoplus*). *Evolution*, 54, 1337–1348.
- Knowles, L.L., Richards, C.L. (2005). Genetic drifts importance during Pleistocene divergence as revealed by analysis of genomic variation. *Molecular Ecology*, 14, 4023–4032.
- Korkmaz, E.M, Sari, M., Başibüyük, H.H. (2010). Genetic Structure of *Chorthippus parallelus* (Orthoptera: Acrididae: Gomphocerinae) populations in Anatolia: a stable rear edge population. *Annals of the Entomological Society of America*, 103, 625–634.
- Korkmaz, E.M., Budak, M., Başibüyük H.H. (2011) Utilisation of cytochrome oxidase I in *Cephus pygmeus* (L.) (Cephididae: Hymenoptera). *Turkish Journal of Biology*, (in press).
- Krijgsman, W., Hilgen, F.J., Raffi, I, Sierro, F.J. and Wilson, D.S. (1999). Chronology, causes and progression of the Messinian salinity crisis. *Nature*, 400, 652–655.
- Lammi, A., Siikamaki, P., Mustajarvi, K. (1999). Genetic diversity, population size, and fitness in central and peripheral populations of a rare plant *Lychnis viscaria*. *Conservation Biology*, 13, 1069–1078.
- Lawton, J.H. (1993). Range, population abundance, and conservation. *Trends in Ecology and Evolution*, 8, 409–413.
- Lesica, P., Allendorf, F.W. (1992). Are small populations of plants worth preserving? *Conservation Biology*, 6, 135–139.
- Lesica, P., Allendorf, F.W. (1995). When are peripheral populations valuable for conservation? *Conservation Biology*, 9, 753–760.
- Librado, P., and Rozas, J. (2009). DnaSP v5.0, A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics*, 25, 1451–1452.
- Lunt D.H., Zhang, D.-X., Szymura, J.M., et al. (1996). The insect cytochrome oxidase I gene: evolutionary patterns and conserved primers for phylogenetic studies. *Insect Molecular Biology*, 5, 153-165.

- Lunt, D.H., Hewitt, G.M., Ibrahim K.M. (1998). MtDNA phylogeography and post-glacial patterns of subdivision in the meadow grasshopper, *Chorthippus parallelus*. *Heredity*, 80, 63–641.
- Meriç, E., Kerey, İ.E., Tunoğlu. C., Taner, G., Kapan-Yeşilyurt, S., Ünsal, İ. ve Rosso, A. (2000). Geç Kuvarterner (Holosen)'de İstanbul Boğazı yolu ile Marmara Denizi – Karadeniz bağlantısı hakkında yeni bulgular. *Türkiye Jeoloji Bülteni*, 43, 73–118.
- Meulenkamp, J.E., and Sissingh, W. (2003). Tertiary palaeogeography and tectonostratigraphic evolution of the Northern and Southern Peri-Tethys platforms and the intermediate domains of the African–Eurasian convergent plate boundary zone. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 196, 209–228.
- Michaux, J.R., Libois, R., Paradis, E., 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, 788–792.
- Moghaddam, M., Ehdaie, B., Waines, J.G. (2000). Genetic diversity in populations of wild diploid wheat *Triticum urartu* Tum. ex. Gandil. revealed by isozyme markers. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 47, 323–334.
- Moritz, C., Patton, J.L., Schneider, C.J., et al. (2000). Diversification of rainforest faunas: An integrated molecular approach. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 31, 533–563.
- Murienne, J., Karaman, I., Giribet, G. (2010). Explosive evolution of an ancient group of *Cyphophthalmi* (Arachnida: Opiliones) in the Balkan Peninsula. *Journal of Biogeography*, 37, 90–102.
- Naydenov, K., Senneville, S., Beaulieu, J., et al. (2007). Glacial vicariance in Eurasia: mitochondrial DNA evidence from Scots pine for a complex heritage involving genetically distinct refugia at mid-northern latitudes and in Asia Minor. *BMC Evolutionary Biology*, 7, 233–244.
- Nei, M. (1987). *Molecular Evolutionary Genetics*. Columbia University Press, New York.

- Nichols, R.A., Hewitt, G.M. (1994). The genetic consequences of long distance dispersal during colonization. *Heredity*, 72, 312–317.
- Nicoll, K. (2010). Landscape development within a young collision zone: implications for post- Tethyan evolution of the Upper Tigris River system in southeastern Turkey. *International Geology Review*, 52, 404–422.
- Nieberding, C.M., Durette-Desset, M.C., Vanderpoorten, A., et al. (2008). Geography and host biogeography matter for understanding the phylogeography of a parasite. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 47, 538–554.
- Olsen, G. J., Matsuda, H., Hagstrom, R., and Overbeek, R. 1994. fastDNAMl: A tool for construction of phylogenetic trees of DNA sequences using maximum likelihood. *Comput. Appl. Biosci.* 10: 41–48.
- Oosterbroek, P., and Arntzen, J.W. (1992). Area-cladograms of Circum-Mediterranean taxa in relation to Mediterranean palaeogeography. *Journal of Biogeography*, 19, 3–20.
- Opitz, S, Köhler, G, Mabelis, A. (1998). Local movement of the grasshopper *Chorthippus parallelus* (ZETT.). *Proceedings of the Section Experimental and Applied Entomology of the Netherlands Entomological Society*, 9, 53–58.
- Pamilo, P., Savolainen, O. (1999). Post-glacial colonization, drift, local selection and conservation value of populations: a northern perspective. *Hereditas*, 130, 229–238.
- Papadopoulou, A., Anastasiou, I., and Vogler, A.P. (2010). Revisiting the insect mitochondrial molecular clock: the Mid-Aegean trench calibration. *Molecular Biology and Evolution*, 27, 1659–1672.
- Parkin, E.J., Butlin, R.K. (2004). Within- and between-individual sequence variation among ITS1 copies in the meadow grasshopper *Chorthippus parallelus* indicates frequent intrachromosomal gene conversion. *Molecular Biology and Evolution*, 8, 1595–1601.

- Parolly, G. (2004). The high mountain vegetation of Turkey - a state of the art report, including a first annotated conspectus of the major syntaxa. *Turkish Journal of Botany*, 28, 39–63.
- Peakall, R., Smouse, P.E. (2006). GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes*, 6, 288–295.
- Percy, D.M., Page, R.D.M., Cronk, Q.C.B. (2004). Plant-insect interactions: double-dating associated insect and plant lineages reveals asynchronous radiations. *Systematic Biology*, 53, 120–127.
- Perissoratis, C., and Conispoliatis, N. (2003). The impacts of sea-level changes during latest Pleistocene and Holocene times on the morphology of the Ionian and Aegean Seas (SE Alpine Europe). *Marine Geology*, 196, 145–156.
- Peshev, G.P., Andréeva, E. (1986). Orthopteran fauna (Orthoptera) in southwestern Bulgaria. I. Fauna. *Fauna of Southwestern Bulgaria*, 1, 82–117.
- Petit, R.J., Mousadik, A.E., Poas, O. (1998). Identifying populations for conservation on the basis of genetic markers. *Conservation Biology*, 12, 844–855.
- Petit, R.J., Brewer, S., Bordács, S., et al. (2002). Identification of refugia and post-glacial colonisation routes of European white oaks based on chloroplast DNA and fossil pollen evidence. *Forest Ecology and Management*, 156, 49–74
- Petit, R.J., Aguinagalde, I., de Beaulieu, J.L., et al. (2003). Glacial refugia: hotspots but not melting pots of genetic diversity. *Science*, 300, 1563–1565.
- Pybus, O.G and Shapiro, B. (2009). Natural selection and adaptation of molecular sequences, pp. 407–418, Eds. Lemey P., Salemi M and Vandamme A–M., *The Phylogenetic Handbook: a Practical Approach to Phylogenetic Analysis and Hypothesis Testing*. Cambridge University Press.
- Quicke, D.L.J. (1993). *Principles and Techniques of Contemporary Taxonomy*. Blackie Academic and Professional, London.
- Ragge, D.R., Reynolds W.J. (1998). *The songs of the grasshoppers and crickets of Western Europe*. Harley Books, London.

- Rambaut A. 2009. FigTree v1.3.1 Available from: <<http://tree.bio.ed.ac.uk/software/FigTree/>>.
- Remington, C.L. (1968). Suture-zones of hybrid interaction between recently joined biotas, pp. 321–428, Eds. Dobzhansky T., Hecht M.K. and Steere W.C., *Evolutionary Biology*. Plenum Press, New York.
- Riddle, B.R. (1996). The molecular phylogeographic bridge between deep and shallow history in continental biotas. *Trends in Ecology and Evolution*, 11, 187–228.
- Ritchie, M.G., Butlin, R.K., Hewitt, G.M. (1987). Causation, fitness effects and morphology of macropterism in *Chorthippus parallelus* (Orthoptera: Acrididae). *Ecological Entomology*, 12, 209–218.
- Ritchie, M.G., Butlin, R.K., Hewitt, G.M. (1989). Assortative mating across a hybrid zone in *Chorthippus parallelus* (Orthoptera: Acrididae). *Journal of Evolutionary Biology*, 2, 339–352.
- Ritchie, M.G., Butlin, R.K., Hewitt, G.M. (1992). Fitness consequences of potential assortative mating inside and outside a hybrid zone in *Chorthippus parallelus* (Orthoptera: Acrididae): implications for reinforcement and sexual selection theory. *Biological Journal of the Linnean Society*, 45, 219–234.
- Robertson, A.H.F., Comas M.C. (1998). Collision-related processes in the Mediterranean region. *Tectonophysics*, Special Issue, 298.
- Rokas, A., Atkinson, R.J., Webster, L.M.I., et al. (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.
- Ronquist, F., Huelsenbeck, J.P. (2003). MRBAYES 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics* 19, 1572–1574.
- Roy, K., Valentine, J.W., Jablonski, D., et al. (1996). Scales of climatic variability and time averaging in Pleistocene biotas: implications for ecology and evolution. *Trends in Ecology and Evolution*, 11, 458–463.

- Rögl, F., (1999). Oligocene and Miocene palaeogeography and stratigraphy of the Circum-Mediterranean region, pp. 485–500, Eds. Whybrow P.J. and Hill A., Fossil Vertebrates of Arabia, Yale University.
- Schmidt, H.A., Strimmer, K., Vingron, M., et al. (2002). TREE-PUZZLE: maximum likelihood phylogenetic analysis using quartets and parallel computing. *Bioinformatics*, 18, 502–504.
- Schmidt, H.A. (2009). Testing tree topologies, pp. 381–404, Eds. Lemey P., Salemi M., Vandamme A.M., *The Phylogenetic Handbook: a Practical Approach to Phylogenetic Analysis and Hypothesis Testing*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Schmitt, T. (2007). Molecular biogeography of Europe: Pleistocene cycles and postglacial trends. *Frontiers in Zoology*, 4, 1.
- Schmitt, T., Hewitt, G.M. (2004). The genetic pattern of population threat and loss: a case study of butterflies. *Molecular Ecology*, 13, 21–31.
- Seddon, J.M., Santucci, F., Reeve, N.J., et al. (2001). DNA footprints of European hedgehogs, *Erinaceus europaeus* and *E. concolor*: Pleistocene refugia, postglacial expansion and colonization routes. *Molecular Ecology*, 10, 2187–2198.
- Sert, H., Suchentrunk, F., Erdoğan, A. (2005). Genetic diversity within Anatolian brown hares (*Lepus europaeus* Pallas, 1778) and differentiation among Anatolian and European populations. *Mammalian Biology*, 70, 171–186.
- Shapiro, L.H., Strazanac, J.S., Roderick, G.K. (2006). Molecular phylogeny of Banza (Orthoptera: Tettigoniidae), the endemic katydids of the Hawaiian Archipelago. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 41, 53–63.
- Simon, C., Frati, F., Beckenbach, A., et al. (1994). Evolution, weighting and phylogenetic utility of mitochondrial gene sequences and compilation of concerted polymerase chain reaction primers. *Annual Entomological Society of America*, 87, 651–701.

- Sperling, F.A.H., Hickey, D.A. (1994). Mitochondrial DNA sequence variation in the spruce budworm species complex (*Choristoneura*: Lepidoptera). *Molecular Biology and Evolution*, 11, 656–665.
- Stamatakis, A. (2006). RAxML-VI-HPC: maximum likelihood-based phylogenetic analyses with thousands of taxa and mixed models. *Bioinformatics*, 22, 2688–2690.
- Steininger, F.F. and Rögl, F. (1984). Palaeogeography and palinspastic reconstruction of the Neogene of the Mediterranean Paratethys, pp. 659–668, Eds. Dixon J.E. and Robertson A.H.F., *The Geological Evolution of the Eastern Mediterranean*. The Geological Society, Blackwell Scientific, Oxford.
- Strimmer, K., and von Haeseler, A. (1997). Likelihood-mapping: A simple method to visualize phylogenetic content of a sequence alignment. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 94, 6815–6819.
- Swofford, D.L. (2002). PAUP: Phylogenetic Analysis Using Parsimony, Version 4.0 beta Computer program distributed by Sinauer Associates, Sunderland.
- Szymura, J.M., Lunt, D.H., Hewitt, G.M. (1996). The sequence and structure of the meadow grasshopper (*Chorthippus parallelus*) mitochondrial srRNA, ND2, COI, COII, ATPase8 and 9 tRNA genes. *Insect Molecular Biology*, 5, 127–139.
- Taberlet, P., Fumagalli, L., Wust-Saucy, A.G., Cosson, J.F. (1998). Comparative phylogeography and postglacial colonization routes in Europe. *Molecular Ecology*, 7, 453–464.
- Tajima, F. (1983). Evolutionary relationship of DNA sequences in finite populations. *Genetics*, 105, 437–460.
- Tajima, F. (1989). The effect of change in population size on DNA polymorphism. *Genetics*, 123, 597–601.
- Tamura, K., Dudley, J., Nei, M., et al. (2007). MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version 4.0. *Molecular Biology and Evolution*, 24, 1596–1599.

- Tamura, K., Peterson D., Peterson N., et al. (2011) MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using Likelihood, Distance, and Parsimony methods. *Molecular Biology and Evolution*.
- Templeton, A.R. (2005). Haplotype trees and modern human origins. *Yearbook of Physical Anthropology*, 48, 33–59.
- Thomas, C.D., Bodsworth, E.J., Wilson, R.J., et al. (2001). Ecological and evolutionary processes at expanding range margins. *Nature*, 411, 577–581.
- Torrioni, A., Achilli, A., Macaulay, V., et al. (2006). Harvesting the fruit of the human mtDNA tree. *Trends in Genetics* 22, 339.
- Travis, J.M.J., and Dytham, C. (2004). A method for simulating patterns of habitat availability at static and dynamic range margins. *Oikos*, 104, 410–416.
- Tregenza, T., Pritchard, V.L., Butlin, R.K. (2000a). Patterns of trait divergence between populations of the meadow grasshopper, *Chorthippus parallelus*. *Evolution* 54, 574–585.
- Tregenza, T., Pritchard, V.L., Butlin, R.K. (2000b). The origins of premating reproductive isolation: testing hypotheses in the grasshopper *Chorthippus parallelus*. *Evolution* 54, 1687–1698.
- Tregenza, T., Pritchard, V.L., Butlin, R.K. (2002). The origins of postmating reproductive isolation: testing hypotheses in the grasshopper *Chorthippus parallelus*. *Population Ecology*, 44, 137–144
- Tzedakis, P.C. (1993). Long-term tree populations in northwest Greece through multiple Quaternary climate cycles. *Nature*, 364, 437–440.
- Tzedakis, P.C., Frogley, M.R., Heaton, T.H.E., 2002. Duration of last interglacial conditions in northwest Greece. *Quaternary Research*, 58, 53–55.
- Walsh, P.S., Metzger, D.A., Higuchi, R. (1991). Chelex 100 as a medium for simple extraction of DNA for PCR-based typing from forensic material. *Biotechniques*. 10, 506–13.

- Webb, T., and Bartlein, P.J. (1992). Global changes during the last 3 million years: climatic controls and biotic responses. *Annual Reviews of Ecology and Systematics*, 23, 141–173.
- Weir, B.S., Cockherham, C.C. (1984). Estimating F–statistics for the analysis of population structure. *Evolution*, 38, 1358–1370.
- Weir, J.T. and Schluter, D. (2004). Ice sheets promote speciation in boreal birds. *Proceedings of the Royal Society of London Series B, Biological Sciences*, 271, 1881–1887.
- van Andel, T.H. and Shackleton, J.C. (1982). Late Paleolithic and Mesolithic coastlines of Greece and the Aegean. *Journal of Field Archeology*, 9, 445–454.
- Van Zeist, W., and Bottema, S., 1991. Late Quaternary vegetation of the Near East Wiesbaden: Beihefte zum Tubinger Atlas des Vorderen Orients. Reihe A (Naturwissenschaften), 18.
- Virdee, S.R., Hewitt, G.M. (1990). Ecological components of a hybrid zone in the grasshopper *Chorthippus parallelus* (Zetterstedt) (Orthoptera: Acrididae). *Boletín de Sanidad Vegetal: Plagas*, 20, 299–309.
- Vucetich, J.A., Waite, T.A. (2003). Spatial patterns of demography and genetic processes across the species' range: null hypotheses for landscape conservation genetics. *Conservation Genetics*, 4, 639–645.
- Yılmaz, Y., Tüysüz, O., Yiğitbaş, E., Genç, S.C., Sengör, A.M.C. (1997). Geology and tectonic evolution of the Pontides, pp. 183–226, Ed. Robinson A.G., *Regional and Petroleum Geology of the Black Sea and Surrounding Region*. AAPG Memoir, Tulsa.
- Zachos, J., Pagani, M., Sloan, L., et al. (2001). Trends, rhythms, and aberrations in global climate 65 ma to present. *Science*, 292, 686–693.

6. ÖZGEÇMİŞ

Kişisel bilgiler

Adı Soyadı	Ertan Mahir KORKMAZ
Doğum Yeri ve Tarihi	Sivas, 18/03/1980
Medeni Hali	Bekar
Yabancı Dil	İngilizce
İletişim Adresi	Cumhuriyet Üniversitesi, Fen Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, 58140-Sivas
E-posta Adresi	ekorkmaz@cumhuriyet.edu.tr

Eğitim ve Akademik Durumu

Lise	1994-1997, Zara Çok Programlı Lise
Lisans	1998-2002, Atatürk Üniversitesi, Fen-Ed. Fak. Biyoloji Bölümü,
Yüksek Lisans	2003-2006 , C.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü

Akademik ve Mesleki Deneyimler

Yüksek Lisans Öğrencisi	Mart-2003, C.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji A.B.D. Öğrencisi
Araştırma Görevlisi	Aralık-2004, C.Ü. Fen Fak. Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü
Doktora Öğrencisi	Mart-2006, C.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji A.B.D. Öğrencisi

Uluslararası Makaleler (SCI kapsamı)

Korkmaz EM, Budak M, Başbüyük HH. Utilisation of cytochrome oxidase I in *Cephus pygmeus* (L.) (Cepidae: Hymenoptera). (In press, Turkish Journal of Biology)

Arslan S, Açikkol A, **Korkmaz EM**. Optimization of aDNA extraction protocol and sex determination of bronz age individuals from Oylum Höyük (Kilis, Turkey). (In press, Turkish Journal of Biology)

Korkmaz EM, Sarı M, Başbüyük HH (2010). Genetic structure of *Chorthippus parallelus* (Orthoptera: Acrididae: Gomphocerinae) populations in Anatolia: A stable rear edge population. Annals of the Entomological Society of America, 103: 625-634.

Korkmaz EM, Budak M, Hastaoğlu Örgen S, Bağda E, Gençer L, Ülgentürk S, Başbüyük HH (2010). New records and a checklist of Cepidae (Hymenoptera: Insecta) of Turkey with a short biogeographical consideration. Turkish Journal of Zoology, 34: 203-211.

Korkmaz EM, Hastaoğlu Örgen S, Gençler L, Ülgentürk S, Başibüyük HH (2010). Determination of wheat stems sawflies and their parasitoids in wheat fields of Central Anatolia Region. Turkish Journal of Entomology, 34: 361-377.

Kongre ve Bildiriler

Korkmaz EM, Arslan S, Ciplak B and Başibüyük HH. Analyses of *Cpnl-I* nuclear DNA sequences from Anatolian populations of the meadow grasshopper *Chorthippus parallelus* (Orthoptera, Acrididae, Gomphocerinae). 10th International Congress of Orthopterology 21/25 June 2009 Antalya, Turkey.

Korkmaz EM. Investigations on the meadow grasshopper *Chorthippus parallelus* (Orthoptera, Acrididae, Gomphocerinae) populations of Anatolia using the non-coding single copy nuclear DNA. Darwin-200 Anniversary Symposium. 22/25.04.2009 İstanbul, Turkey.

Arslan S, Açikkol A, **Korkmaz EM**, Özgün Başibüyük G. Bir Oylum Höyük populasyonunda genetik cinsiyet tayini III. Ulusal Biyolojik Antropoloji Sempozyumu 27/28.10.2008 Ankara, Türkiye.

Açikkol A, **Korkmaz EM**. İskelet çalışmalarında fenetik analiz kullanımı: Acmhöyük Modeli. 24. Arkeometri Sonuçları Toplantısı (243-252) 26/30.05.2008 Ankara, Türkiye.

Korkmaz EM, Bardakçı F, Başibüyük HH. Orta Anadolu *Cephus* (Cephidæ: Hymenoptera: Insecta) türlerinin sistematığı ve filogenisi. XVIII. Ulusal Biyoloji Kongresi, 26/30.06.2006 Kuşadası/Aydın, Türkiye.

Başibüyük HH, **Korkmaz EM**, Budak M. Anadolu Cephidæ (Hymenoptera: Insecta) türlerinin moleküler filogenisi. Ulusal Biyoloji Kongresi, 26/30.06.2006 Kuşadası/Aydın, Türkiye.

Korkmaz EM, Başibüyük HH. Orta Anadolu *Cephus* (Cephidæ: Hymenoptera) türlerinin moleküler karakterizasyonu. XVII. Ulusal Biyoloji Kongresi, Haziran-2004 Adana, Türkiye.

Araştırma Projeleri

Biyçeşitlilik ve Koruma: Anadolu Buzul Sığınağında Genetik Topografya CUBAP 2008-, **Yardımcı Araştırmacı**

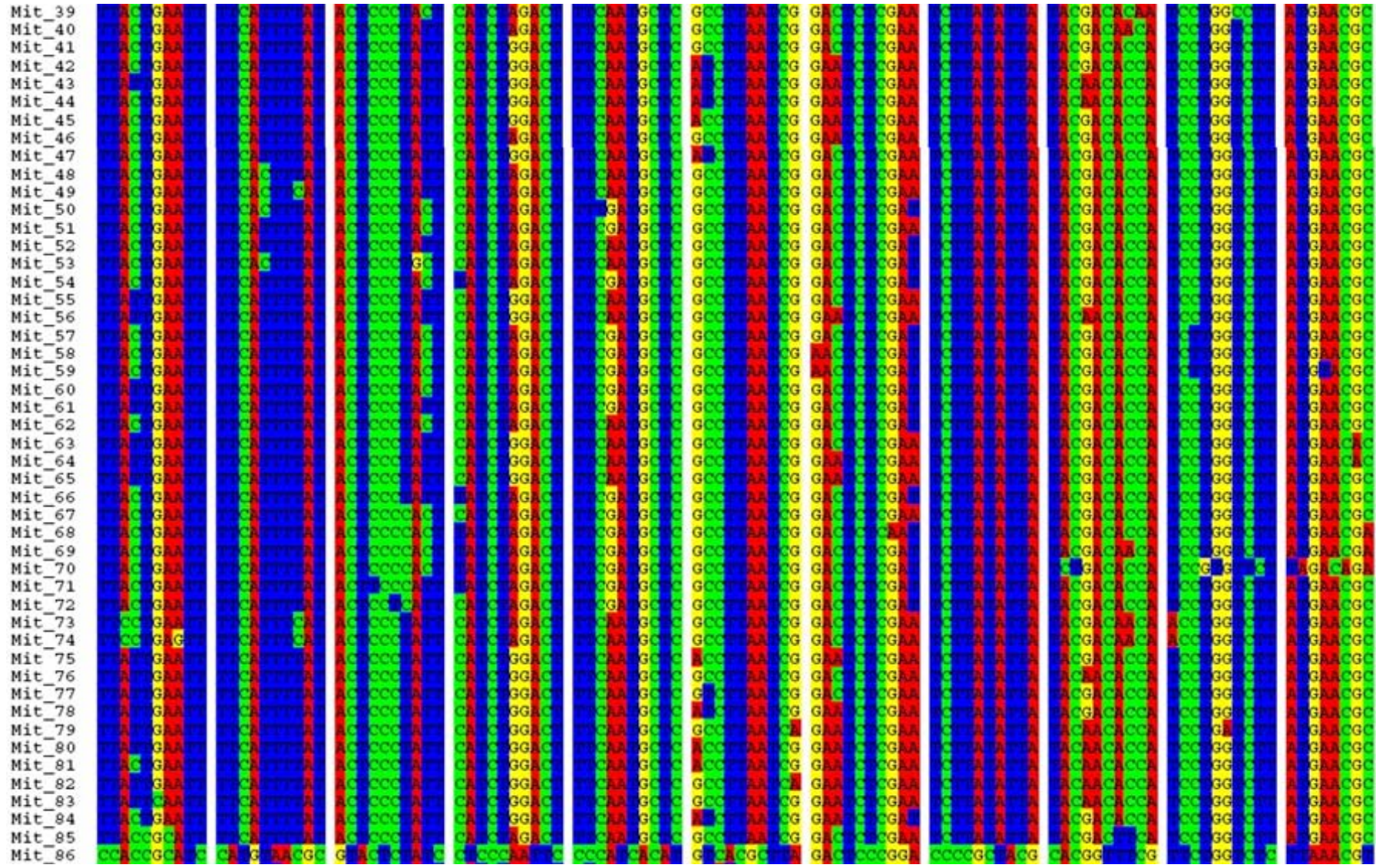
Oylum Höyük Kazılarında Elde Edilen Çocuk ve Yetişkin İskeletlerinin Morfometrik ve Genetik Cinsiyet Tayini CUBAP 2008-, **Yardımcı Araştırmacı**

Ekin Zararlısı *Cephus* (Cephidæ: Hymenoptera) Türlerinin Moleküler Yöntemlerle Tanımlanması, CUBAP 2004-2006, **Yardımcı Araştırmacı**

Ödüller, Teşvikler ve Üyelikler

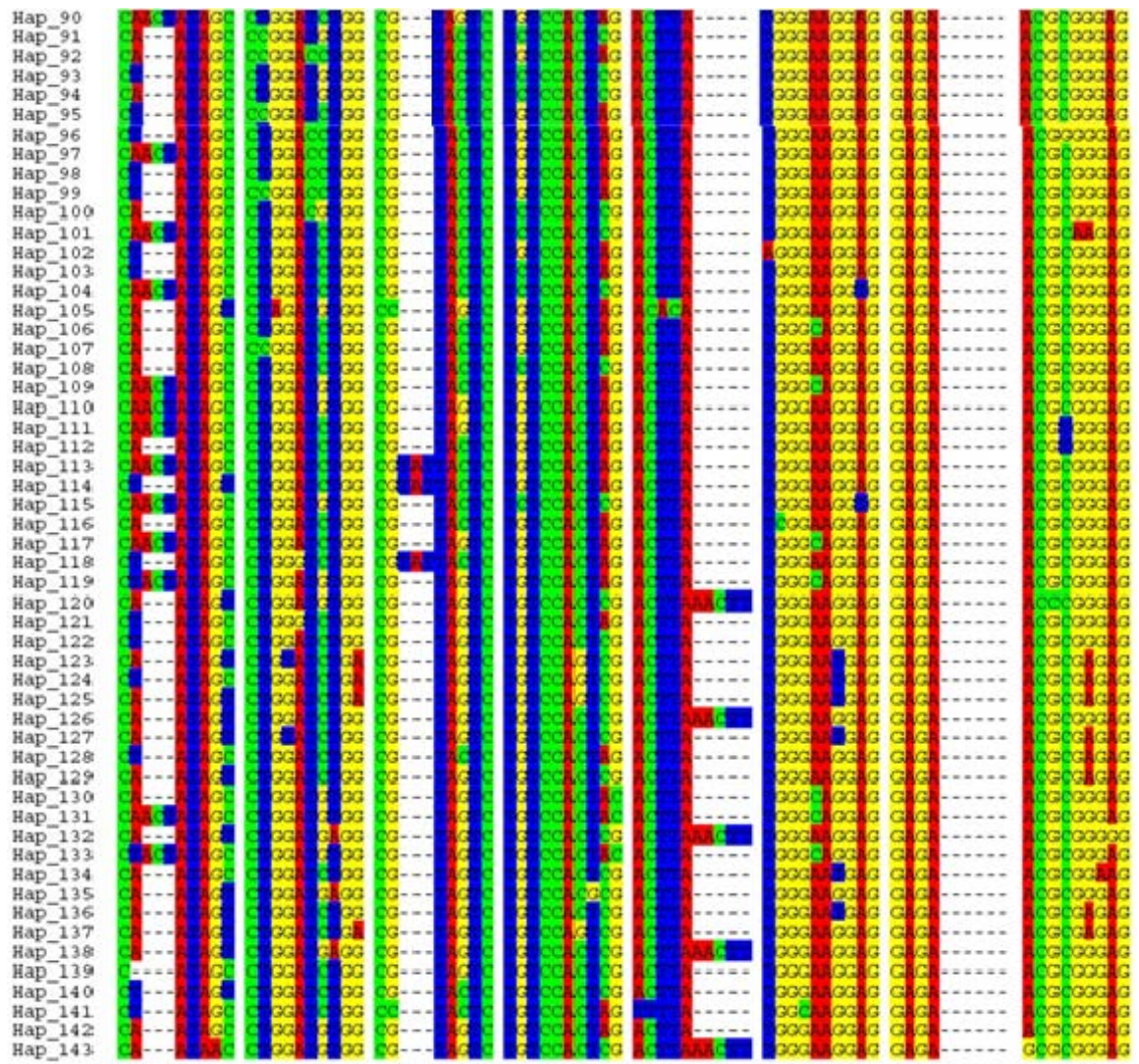
YÖK

Yurtdışı Doktora Araştırma Bursu (University of Hull, Hull, UK), 2010



Ek 2. Populasyonlarda *COI-tRNA^{Leu}-COII* haplotiplerinin dağılımı. *N* birey sayısı, *H* toplam haplotip sayısı, *H_U* Özgün haplotip sayısı. Kare içerisinde gösterilenler populasyonlar açısından ilgili haplotipi taşıyan birey sayısıdır. Gri renk özgün haplotiplere, renksiz kareler ise paylaşılan haplotiplere işaret etmektedir.

Pop. Adı	1	2	3	4	6	7	8	9	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	37	39	40	41	42	43		
<i>N</i>	10	9	7	19	15	20	18	16	19	18	18	18	13	17	8	16	9	13	18	20	18	18	17	16	17	16	20	19	16	5	13	21	15	7	7	19	19	6	15		
<i>H</i>	7	6	5	8	6	7	13	2	1	9	3	8	5	4	3	4	4	3	5	5	5	6	4	6	7	7	7	3	3	1	1	2	10	2	2	7	9	5	4		
<i>H_U</i>	4	1	1	4	1	6	12	1	-	5	2	3	-	-	-	-	-	-	3	-	2	-	2	-	1	-	-	1	2	-	-	1	1	-	2	4	6	5	1		
Mit_1	1	1	2	3	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	3	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Mit_2	1	4	2	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1	2	-	-	5	-	-	-	4	-	-	-	-	-	
Mit_3	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	10	-	13	20	-	-	-	-	1	-	-	-	
Mit_4	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Mit_5	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Mit_6	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Mit_7	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Mit_8	-	1	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	
Mit_9	-	1	-	-	-	-	8	19	3	16	4	7	-	1	2	1	-	7	-	-	-	-	1	5	-	4	9	17	-	-	-	-	-	-	2	-	-	-	-	2	-
Mit_10	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Mit_11	-	1	1	1	3	-	-	-	-	-	4	1	6	-	7	-	3	5	3	12	2	-	-	1	2	2	-	-	-	-	-	-	-	-	2	4	-	-	-	-	
Mit_12	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Mit_13	-	-	1	5	4	-	-	-	-	-	3	-	3	-	4	-	-	-	-	-	-	4	2	-	-	-	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Mit_14	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Mit_15	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Mit_16	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Mit_17	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Mit_18	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	



Ek 4. Populasyonlarda *Cpnl-1* haplotiplerinin dağılımı. *N* birey sayısı, *H* toplam haplotip sayısı, *H_U* Özgün haplotip sayısı. Kare içerisinde gösterilenler populasyonlar açısından ilgili haplotipi taşıyan birey sayısıdır. Gri renk özgün haplotiplere, renksiz kareler ise paylaşılan haplotiplere işaret etmektedir.

Pop. Adı	1	2	3	4	5	6	7	9	10	11	12	13	14	15	18	19	21	23	24	25	26	27	28	29	31	32	33	34	35	36	37	38	39	41	42	43
<i>N</i>	15	18	16	12	15	17	20	20	15	18	15	16	12	14	15	7	16	19	18	20	15	18	11	16	15	10	18	9	15	5	14	25	19	17	5	6
<i>H</i>	7	4	10	8	9	11	3	6	9	5	6	2	7	6	6	6	9	14	12	12	8	16	2	10	6	6	3	7	8	2	7	8	5	2	2	5
<i>H_U</i>	3	3	5	-	3	6	-	2	5	1	2	-	3	3	6	6	8	7	-	5	3	6	1	4	1	2	1	3	5	-	2	3	1	-	1	2
Hap_1	6	-	3	3	5	-	1	-	-	-	-	-	4	6	-	-	-	3	1	9	-	3	-	1	7	2	16	2	3	2	5	10	-	-	4	-
Hap_2	1	-	-	1	-	3	1	-	3	7	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-	2	2	1	-	-	-
Hap_3	4	15	-	-	3	-	-	1	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	5	3	1	-	1	4	3	1	7	-	-	-	2
Hap_4	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hap_5	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-	-	-	1	-	-	-	-	
Hap_6	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hap_7	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hap_8	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hap_9	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hap_10	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hap_11	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hap_12	-	-	2	-	1	1	-	-	3	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	1	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hap_13	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hap_14	-	-	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hap_15	-	-	1	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hap_16	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hap_17	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Pop. Adi	1	2	3	4	5	6	7	9	10	11	12	13	14	15	18	19	21	23	24	25	26	27	28	29	31	32	33	34	35	36	37	38	39	41	42	43		
Hap_138	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-	-	-	-	
Hap_139	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	
Hap_140	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	
Hap_141	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-
Hap_142	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-
Hap_143	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-