

ANKARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KIZILIRMAK NEHRİNİN *Apodemus mystacinus*'un (MAMMALIA:
RODENTIA) KUZEY ANADOLU'DAKİ İKİ SOY HATTI ÜZERİNDE
İZOLASYON ETKİSİNİN BELİRLENMESİ

Saime KÜÇÜKKARAKAŞ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ANKARA
2022

Her hakkı saklıdır

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

KIZILIRMAK NEHRİNİN *Apodemus mystacinus*'un (MAMMALIA: RODENTIA)
KUZEY ANADOLU'DAKİ İKİ SOY HATTI ÜZERİNDE İZOLASYON
ETKİSİNİN BELİRLENMESİ

Saime KÜÇÜKKARAKAŞ

Ankara Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Reyhan ÇOLAK

Eş Danışman: Dr. Öğt. Üyesi Gül OLGUN KARACAN

Oligosen'den itibaren canlıların evrimleşmesine katkıda bulunan birçok jeolojik ve tektonik olaylar meydana gelmiştir. Anadolu'da bu olaylar sonucu meydana gelen ve daha önce farklı türlerde yapılan çalışmalarda popülasyonlar üzerinde bariyer etkisine sebep olduğu düşünülen Kızılırmak'ın *Apodemus mystacinus* üzerindeki etkisi merak konusudur. Bu tür, Türkiye'de Trakya hariç her yerde yayılış göstermektedir. Bu tez çalışmasında Kızılırmak nehri yakınlarından 6 farklı lokaliteden toplanan 37 *A. mystacinus* örneği kullanıldı. *Cytb* gen bölgesi PCR ile çoğaltılarak dizi analizi yapıldı. *Cytb* gen bölgesi analizleri sonucunda 18 haplotip elde edildi. Oluşturulan filogenetik ağaçlarda Kızılırmak nehrinin iki yakasındaki örnekler bir arada kümelendi. Nehrin *A. mystacinus* popülasyonlarını ayırmada bariyer etkisi olmadığı sonucuna varıldı.

Aralık 2022, 57 sayfa

Anahtar kelimeler: *Apodemus mystacinus*, mtDNA, *cytb*, DNA izolasyonu

ABSTRACT

Master Thesis

DETERMINATION OF ISOLATION EFFECT OF KIZILIRMAK RIVER ON TWO LINEAGES OF *Apodemus mystacinus* (MAMMALIA: RODENTIA) IN NORTHERN ANATOLIA REGION

Saime KÜÇÜKKARAKAŞ

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

Supervisor: Prof.Dr. Reyhan ÇOLAK
Co-Supervisor: Assist Prof. Dr. Gül OLGUN KARACAN

Since the Oligocene, many geological and tectonic events have occurred that contributed to the evolution of living things. The effect of Kızılırmak on *Apodemus mystacinus*, which occurred as a result of these events in Anatolia and was thought to have a barrier effect on populations in previous studies on different species, is a matter of curiosity. This species spreads everywhere in Turkey except Thrace. In this thesis study, 37 *A. mystacinus* specimens collected from 6 different localities near the Kızılırmak river were used. Sequence analysis was performed following PCR amplification of the *cytb* gene region. As a result of *cytb* gene region analysis, 18 haplotypes were obtained. In the phylogenetic trees created, the samples on both sides of the Kızılırmak river were clustered together. It was concluded that the river did not have a barrier effect in separating *A. mystacinus* populations.

December 2022, 57 pages

Keywords: *Apodemus mystacinus*, mtDNA, *cytb*, DNA isolation

TEŞEKKÜR

Araştırmalarımın her aşamasında bilgi ve önerileri ile destek veren, gelişmeme katkı sağlayarak, düşünceleriyle destek olan, beni cesaretlendiren, sakinleştiren kıymetli tez danışmanım Prof. Dr. Reyhan ÇOLAK 'a, eş danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Gül OLGUN KARACAN 'a, örneklerin temini ve teşhisine yardımcı olan Prof. Dr. Ercüment ÇOLAK 'a, laboratuvarında hazırlık aşamasında görüşlerinden yararlandığım Öğr. Gör. Dr. Engin SELVİ 'ye, manevi olarak büyük destek olan Yüksek Lisans öğrencisi Ceren KARAGÖZ 'e, örneklerimin hazırlanmasında büyük katkıları ve fedakarlıkları bulunan doktora öğrencileri Müge KOCAAY ve Mahir Can ŞENKUŞ 'a teşekkür ederim.

Her zaman bilgilerini sonuna kadar doğru ve anlaşılır biçimde aktaran ablam Mehtap KAVİ 'ye, ablam Ayşe BÜKÜLMEZ' e, ablam Hatice İNAN' a, ablam Havva BİLİNGEN' e, kardeşim Hüseyin KÜÇÜKKARAKAŞ' a, canım annem Fatma KÜÇÜKKARAKAŞ' a, babam Kâmil KÜÇÜKKARAKAŞ' a ve yeğenlerime sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Lisans ve Yüksek Lisans hayatım boyunca her konuda fedakârlık yapıp yanımda olan, beni destekleyen Necmi Arda ÖNAY 'a en içten duygularım ile teşekkür ederim.

Saime KÜÇÜKKARAKAŞ

Ankara, Aralık 2022

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAY SAYFASI

ETİK.....	i
ÖZET.....	ii
ABSTRACT	iii
TEŞEKKÜR	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ	x
1.GİRİŞ	1
2.KURAMSAL TEMELLER.....	6
2.1 Ordo: Rodentia (Kemirgenler)	6
2.2 Familia: Muridae (Fareler ve sıçanlar).....	8
2.3 Genus: <i>Apodemus</i> Kaup, 1829.....	9
2.4 Species: <i>Apodemus mystacinus</i>	9
2.5 Mitokondriyal DNA (mtDNA)	14
2.6 Sitokrom <i>b</i> (<i>cytb</i>)	16
2.7 PCR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu).....	17
2.8 Kızılırmak Nehri	18
2.9 Moleküler Çalışmalar	18
2.10 Morfolojik Çalışmalar	20
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	21
3.1 Örnek Tasnifi.....	21
3.2 DNA İzolasyonu.....	28
3.3 PCR Uygulamaları.....	30
3.4 Agaroz Jel Elektrophorez Uygulaması ve Jel görüntüleme	32
3.5 Biyoistatistiksel Analizler	33
4.ARAŞTIRMA BULGULARI.....	35
4.1 Biyoistatistiksel Analizler	35
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	43
KAYNAKLAR	49
ÖZGEÇMİŞ.....	57

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

%	Yüzde
°C	Santigrat derece
2n	Diploid kromozom sayısı
dk	Dakika
g	Gram
G	Guanin
h	Haplotip çeşitliliği
i	Kesici diş
Kg	Kilogram
Km	Kilometre
Km ²	Kilometrekare
M	Molar diş
m	Metre
M1	Alt çenenin birinci molar dişi
Mg ⁺²	Magnezyum
MgCl ²	Magnezyum klorür
ML	Mililitre
Mm	Milimetre
mM	Milimolar
ng	Nanogram
Pm	Premolar
pmol	Pikomol
µl	Mikrolitre
µM	Mikrometre
π	Nükleotit çeşitliliği

Kısaltmalar

A	Adenin
---	--------

ATP	Adenozin trifosfat
BI	Bayesian Çıkarımı (Bayesian Inference)
bp	Baz çifti
c	Köpek dişi
C	Sitozin
C: IAA	Kloroform: izoamil alkol
CBL	Condyllo-basal Lenght (Kondilobasal uzunluk)
COI	Sitokrom c Oksidaz Alt Ünite 1
CTAB	Setil Trimetil Amonyum Bromid
<i>Cytb</i>	Sitokrom <i>b</i>
dH ₂ O	Distile su
D-loop	Kontrol bölgesi
DNA	Deoksiribonükleik asit
EDTA	Etilen Diamin Tetra Asetik Asit
EL	Ear Lenght (Kulak Uzunluğu)
ESS	Etkili örneklem büyüklüğü (Effective Sample Size)
Est	Esteraz enzimi
EtBr	Etidyum Bromür
ETS	Elektron Taşıma Sistemi
F	Forward
GTR+G+I	General Time Reversible+ Gamma+Invariable site
HF	Hindfoot Length (Ardayak uzunluğu)
HKY+G	Gamma parametrelili Hasegawa, Kishino ve Yano modeli
K2P	Kimura-2 parametresi
LD	Yükleme boyası (Loading dye)
LGM	Son Buzul Dönemi (Last Glacial Maximum)
MCMC	Markov Chain Monte Carlo
ML	Maksimum Olasılık (Maximum Likelihood)
mtDNA	Mitokondriyal DNA
Myö	Milyon yıl önce

nDNA	Nükleer DNA
NF	Temel kromozom kol sayısı
NFa	Otozomal kromozom kol sayısı
NJ	Neighbour-Joining
PCR	Polimeraz zincir reaksiyonu (Polimerase Chain Reaction)
R	Reverse
RFLP	Kesilen Parça Uzunluk Polimorfizmi ((Restriction Fragment Length Polymorphism)
RNA	Ribonükleik Asit
RNAse	Ribonükleaz
rpm	Dakikadaki dönüş hız birimi (revolution per minute)
rRNA	Ribozomal RNA
SDS-PAGE	Sodium dodecyl sulphate-polyacrylamide gel
T	Timin
Ta	Primerin bağlanma sıcaklığı
TaL	Tail Length (Kuyruk uzunluğu)
Taq	<i>Thermus aquaticus</i>
TBE	Tris borik asit EDTA
TE	Tris EDTA
TL	Total Length (Toplam boy uzunluğu)
Tm	Primerin erime sıcaklığı
tRNA	Taşıyıcı RNA
U	Urasil
UPGMA	Aritmetik ortalama ile ağırlıklandırılmamış çift grup yöntemi (Unweighted Pair Group Mean Arithmetic)
UV	Ultraviyole
X	Dişi eşey kromozomu
Y	Erkek eşey kromozomu
βME	β-Merkaptoetanol

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 Memeli takımlarının pasta grafiği ile gösterimi	6
Şekil 2. 2 Bir kemirgen kafatasında Diastema, Molar dişler ve Kesici dişlerin gösterimi7	
Şekil 2.3 Yanak keselerinde yiyecek olan bir sincap	8
Şekil 2.4 <i>A. mystacinus</i> Türkiye’deki yayılış alanları.....	10
Şekil 2.5 <i>A. mystacinus</i> ‘un post karakterleri.....	11
Şekil 2.6 <i>A. mystacinus</i> kafatasının lateral (yan yüzey) görünüşü.....	11
Şekil 2.7 <i>A. mystacinus</i> kafatasının dorsal (üst yüzey) görünüşü	12
Şekil 2.8 <i>A. mystacinus</i> kafatasının ventral (alt yüzey) görünüşü.....	12
Şekil 2.9 <i>A. mystacinus</i> ‘un karyotipi.....	13
Şekil 2.10 Türkiye’deki <i>A. mystacinus</i> alt türlerinin yayılış alanları.....	14
Şekil 2.11 Mitokondriyal DNA yapısı ve gen lokusları.....	15
Şekil 2.12 Mitokondriyal DNA Sitokrom <i>b</i> gen lokusu	16
Şekil 2.13 Polimeraz zincir reaksiyonunun (PCR) üç aşaması	18
Şekil 3.1 Örnek toplanan lokaliteler.....	21
Şekil 3.2 <i>A.mystacinus</i> ’ un Kızılırmak Nehri’nin batı yakasından örnek alınan lokalitesi (Kargı, Çorum).....	24
Şekil 3.3 <i>Apodemus mystacinus</i> ’un yaşadığı habitat (Kargı, Çorum)	24
Şekil 3.4 <i>A.mystacinus</i> ’ un Kızılırmak Nehri’nin doğu yakasından örnek alınan lokalitesi (Kamil, Osmancık, Çorum).....	25
Şekil 3.5 <i>Apodemus mystacinus</i> ’un yaşadığı habitat (Kamil, Osmancık, Çorum)	25
Şekil 3.6 <i>A.mystacinus</i> ’ un Kızılırmak Nehri’nin batı yakasından örnek alınan lokalitesi (Durağan, Sinop).....	26
Şekil 3.7 <i>A.mystacinus</i> ’ un Kızılırmak Nehri’nin doğu yakasından örnek alınan lokalitesi (Bafra, Samsun).....	27
Şekil 3.8 <i>Apodemus mystacinus</i> ’un yaşadığı habitatı (Bafra, Samsun)	27
Şekil 3.9 Nükleik asit ipliği.....	29
Şekil 3.10 Sitokrom <i>b</i> gen bölgesine ait agaroz jel görüntüsü.....	33
Şekil 4.1 Maksimum Likelihood yaklaşımıyla oluşturulan haplotip ağacı	37
Şekil 4.2 Maksimum Likelihood yaklaşımıyla oluşturulan birey ağacı	38
Şekil 4.3 Median-joining ilişki ağı.....	39
Şekil 4.4 Maksimum Likelihood yaklaşımıyla oluşturulan filogenetik ağaç.....	40
Şekil 4.5 Bayesian MCMC yöntemiyle oluşturulan filogenetik ağaç.....	41
Şekil 4.6 Median-joining ilişki ağı	42

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1 Çalışmada kullanılan <i>A.mystacinus</i> örnekleri	22
Çizelge 3.2 <i>Cytb</i> bölgesi için kullanılan PCR kimyasal bileşenlerinin hacimleri.....	30
Çizelge 3.3 Sitokrom <i>b</i> için kullanılan Primerler (Irwin vd. 1991)	31
Çizelge 3.4 PCR şartları.....	31
Çizelge 4.1 Tez çalışmasında elde edilen haplotipler ve bunlara ait müze numaraları	35
Çizelge 4.2 GenBank'tan kullanılan diziler	35



1.GİRİŞ

Kayalık faresi *Apodemus mystacinus* Danford ve Alston, 1877 Rodentia (Kemirici memeli hayvanlar) takımına (Ordo) ait bir türdür. Dünya’da Balkanlar, Orta doğu ülkeleri ve Kafkaslar’da yayılış göstermektedir (Ellermen ve Morrison-Scott 1951, Corbet 1978, Musser ve Carleton 1993, Krystufek ve Vohralik 2005, Yiğit vd. 2006). Bu tür Sebil’den (Mersin) tanımlanmış ve Trakya hariç Türkiye’nin geri kalanında kayalık alanlarda, zemini kayalıklarla kaplı ormanlık ve çalılık alanlarda yaşar.

Türkiye’deki yayılışı alanı deniz seviyesinden yaklaşık 2700 m yüksekliğe kadar uzanır. Geniş yapraklı ağaçların olduğu, ılıman iklime sahip bölgelerde daha sık görülmektedir. Bugüne kadar *A. mystacinus*’un yayılış alanında 5 alt türü; nominatif alttür *A. m. mystacinus* Danford ve Alston (1877) Türkiye’nin güneyindeki Sebil’den, *A. m. epimelas* Nehring (1902) Yunanistan ve İyon Adaları’ndan, *A. m. smyrnensis* Thomas (1903) Türkiye’nin batısından, *A. m. rhodius* Festa (1914) Rodos ve Girit’ten ve *A. m. euxinus* Allen (1915), Kuzey Anadolu’da Altındere’den (Trabzon) tanımlanmıştır. Neuhâuser (1936) *A. m. mystacinus* Toroslar’dan, *A. m. smyrnensis* Türkiye’nin batısından ve *A. m. euxinus* Artvin’den Soğukpınar’a (Bursa) kadar uzanan bir bölgeden tanımlamıştır. Ellerman (1948) *A. m. rhodius* ve *A. m. smyrnensis*’in *A.m. mystacinus* ile aynı olduğunu ortaya koymuştur. Ellerman ve Morrison-Scott (1951)’a göre *A. m. euxinus* farklı bir alt türdür ve *A. m. smyrnensis* *A.m. mystacinus*’la aynıdır. *A. m. epimelas* alttürünün taksonomik statusu uzun yıllar tartışılmıştır. Mezhzherin (1997), *A. epimelas*’ı farklı bir tür olarak değerlendirmiştir. Allozim analize dayanarak bu görüş Filippucci vd (2002) tarafından da desteklenmiştir. Vohralik vd. (2002), *A. m. mystacinus* ve *A. m. epimelas*’in geçerliliğini kabul ederken, ancak Altındere’den (Trabzon) *A. m. euxinus*’un geçerli olmadığını ileri sürmüşlerdir. Vohralik vd. (2002) *A. mystacinus*’un Anadolu popülasyonlarını morfolojik olarak analiz etmişler ve morfolojik olarak Anadolu popülasyonlarının homojen olduğunu ortaya koymuşlardır. Daha sonra yapılan çalışmalarda *A. m. epimelas*, *A. epimelas* olarak tür seviyesine çıkarılmıştır.

Apodemus cinsine Paleolitik dönemde rastlanmıştır. *A. mystacinus* 'a ait Miyosen dönemiyle tarihlenen fosil kayıtları, bu türün atasal kökeninin Avrupa olduğunu (*A. primaevus*) (Michaux ve Pasquier 1974, Michaux vd. 1997), gerçek *A. mystacinus* 'un ise Orta Pliyosen'de *A. primaevus* olarak kendini gösterdiğini (Martin- Suárez ve Mein 1998) ortaya koymuştur. Avrupa'da yayılış gösteren tür, günümüze kadar farklılaşmış ve *A. epimelas* (Nehring 1902) olarak adlandırılmıştır. Miyosen döneminden itibaren Avrupa'daki ata soyun Anadolu'ya giriş yapması ile Anadolu ve Avrupa arasındaki bağlantısı kesilmiştir. *A. epimelas* ve *A. mystacinus* 'un yaklaşık 5 Myö Pliyosen döneminde farklılaştığı evrimsel ayrılma zamanı hesaplarıyla ortaya koyulmuştur (Michaux ve Pasquier 1974).

Türkiye'de çok farklı habitatlarda yaşayan *A. mystacinus*'un yayılış alanını etkileyen birçok nehir, geçit, sıra dağlar ve coğrafik oluşumlar vardır. Pleyistosen iklim değişiklikleri de *A. mystacinus*'un yayılış alanında yaşayan popülasyonları derinden etkilemiştir. Özellikle Kuzey Anadolu Bölgesinde yayılış gösteren hayvan popülasyonları üzerinde yapılan çalışmalarda, bölgede buzul sığınaklarının olabileceği ve buna paralel olarak da yeni tür ve genetik soy hatlarının farklılaştığı ileri sürülmüştür (Sağlam vd. 2014, Wielstra vd. 2010, 2013, 2017, Kankılıç vd. 2017, 2019, Riemsdijk vd. 2022). Gerek coğrafik oluşumlar gerekse iklim değişiklikleri *A. mystacinus*'un popülasyon yapısını etkilemiş olabilir.

Türkiye, Avrupa, Asya ve Afrika kıtaları olmak üzere üç kıtanın birleştiği alanda Paleolitik bölgede yer almaktadır. Anadolu ve Trakya olmak üzere iki bölgeye ayrıldığında ise, Anadolu'nun jeolojik evrimi Eosen' de başlamıştır. Üst Kretase'de tektonik hareketler sonucu Anadolu'nun bugünkü morfolojik çizgileri oluşmaya başlamıştır. Bunun yanında küresel bazı olaylar da buzul dönemlerini meydana getirmiştir. Jeolojik ve tektonik olaylar sonucunda Çanakkale Boğazı, Marmara Denizi ve İstanbul Boğazı, Anadolu'da Karadeniz Dağları, Toros dağları ve Anadolu çaprazı oluşmuştur. Yer kabuğu yüzey yükselmeleri sırasında akarsular, yer kabuğunu aşındırarak birçok nehir kanyonu ve tektonik olaylar sonucu da grabenler oluşmuştur.

Bunların en önemlileri Çoruh Nehri, Fırat Nehri ve Büyük Menderes Nehri ile Grabeni ve Kızılırmak Nehri'dir (Anonymous 2022).

Bu tez çalışmasında *A. mystacinus*'un Kuzey Anadolu popülasyonları üzerindeki etkisi araştırılacak olan Kızılırmak Nehri, çok geniş bir su toplama havzasına sahip olmakla birlikte, taşıdığı malzeme ile delta oluşumunda etkili olmuştur. Türkiye'nin en uzun nehri olan Kızılırmak, 1355 km uzunluğa sahiptir. Orta Anadolu Platosunu geçmektedir. Nehir aşınma menderesleriyle ünlüdür. Kuzeyde, Karadeniz'e aktığı yerde yoğun bir delta yapmaktadır (Akkan 1970, Demir vd. 2004, Çiner vd. 2015). Nehir Doğu Anadolu'nun batı kesiminden doğar. Batıya doğru genişleyerek Orta Anadolu Platosunun iç kısımlarını geçer ve daha sonra kuzey doğuya doğru yönünü değiştirir. Karadeniz'e ulaşmadan önce Kuzey Anadolu Fay hattını geçer ve çaprazlanarak Kuzey Orta Türkiye'de yer alan tektonik olarak aktif Karadeniz dağlarını (Pondit) aşar. Nehir böylece Orta Anadolu Platosu'nun tüm kuzey kanadını ve Pondit dağ oluşumlarını aşar. Çalışma alanında yer alan Orta Ponditler 2000 m kadar yüksekliğe ulaşabilirler. Ponditler, Karadeniz sahil hattı ile Kuzey Anadolu Fay Hattı arasında orogenik bir alan oluşturur (Yıldırım vd. 2011, 2013a, b). Doğu ve batı Anadolu arasındaki geçişte Kuzey Anadolu Fay Hattı (NAF) geniş bir kısıtlama bükümüne sahiptir (Şengör vd. 2005). NAF'ın bu bölümü Orta Ponditlerle çakışmaktadır (Okay ve Tüysüz 1999, Yıldırım vd. 2011, 2013b). Ponditlerin evrimi de çalışma alanını etkilemiş olabilir. Tez çalışmasında örnek toplanan lokalitelerden bir tanesi de Bafra'da yer almaktadır. Bu bölgede Bafra fayı yer almaktadır. Bu fay hattı Pliyosen'den (5.33 Myö) beri aktiftir (Rangin vd. 2002).

Anadolu, Oligosen'den itibaren oldukça fazla türleşme ve coğrafik yayılım gösteren memeliler için köprü ve sığınak olarak görev yapmıştır. Bundan dolayı da Asya, Avrupa ve Afrika kıtaları arasında coğrafik bir kara köprüsü olmuştur. Kıtalar arasında yer almasından dolayı birçok canlı grubunun oluşumuna ve yayılış göstermesine de katkı sağlamıştır. Anadolu bu özelliklerine bağlı olarak yaklaşık 65 kemirici hayvan türünü bünyesinde barındırmaktadır. Bu türlerden bir tanesi de *A. mystacinus* (Kayalık faresi)'dir. *A. mystacinus*'un Orta Pliosen'de ortaya çıktığı kaynaklarca belirtilmiştir (Anonymous 2022).

A.mystacinus' un en eski fosili İspanya'dan 3,4-2,6 Milyon yıl yaşındaki fosil yataklarından elde edilmiştir. Bunun dışında Güney Avrupa ülkeleri ve Kafkaslardan daha genç fosilleri de elde edilmiştir (Anonymous 2022). *A. mystacinus*'a ait Türkiye'deki en eski fosil kayıtları 1.95 Myö (Milyon yıl önce) 'dir. Emirkaya'dan (Seydişehir) ve Yarımburgaz Mağaralar (Trakya)'dan da 1,4-0,9 Myö ait fosil kaydı bulunmasına rağmen bugün bu alanlarda rastlanmamaktadır (Anonymous 2022). Bu fosil kayıtları bu türün geçmişte Anadolu'da ve Trakya'da geniş bir alanda yaşadığını göstermektedir. Bu alanlardan türün yok olmasına sebep olan iklimsel, jeolojik ve tektonik olayların incelenmesi ve tartışılması büyük önem taşır. Bu da *A. mystacinus*' un yayılışını en çok etkileyen faktörlerin tespit edilmesine yardımcı olabilir. Bu faktörler dikkate alınarak bu türün populasyon genetik yapısını belirlemek için son zamanlarda en önemli çalışmalar, Olgun Karacan vd. (2021) mtDNA ve çekirdek genlerine dayanarak *A. mystacinus*'un Türkiye'de üç tane genetik soy hattının bulunduğunu ortaya koymuşlardır. Olgun Karacan vd. (2015)'teki gibi, Olgun Karacan vd. (2021) Anadolu Diyagonalı (Anadolu çaprazı), Çoruh, Seyhan ve Ceyhan nehirlerinin *A. mystacinus*'un populasyon yapısı üzerinde etkisinin olmadığını ortaya koymuşlardır. Kankılıç vd. (2013) Kızılırmak'ın *Nannospalax*'in iki kromosomal formu için coğrafik bariyer gibi görüldüğünü öne sürmüşlerdir. Kankılıç vd. (2013)'ü destekler şekilde Olgun Karacan vd. (2021) Kızılırmak'ın doğu soy hattının (Grup A1) batıya genişlemesi önünde engel teşkil edebileceğini ileri sürmüştür. Ayrıca Çolak vd. (2007), Olgun vd. (2009), Olgun Karacan (2013), Olgun Karacan vd. (2015) ve Olgun Karacan ve Beteş (2019) tarafından türün populasyon yapısı üzerinde çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmalarda türün Türkiye'de dört buzul soy hattının varlığı ortaya koyulmuştur. Özellikle Olgun Karacan vd. (2021) Kızılırmak Nehri, Büyük Menderes Nehri ve Grabeni ve Gülek Geçitinin tespit edilen soy hatları arasında gen akışını kesebileceği vurgulanmıştır. Kuzey Anadolu Bölgesi'nde yer alan iki soy hattının birbirlerinden yaklaşık 760 bin yıl önce ayrıldığı ve bu ayrılma üzerinde Kızılırmak nehrinin etkili olabileceği ortaya koyulmuştur. Yapılan bu çalışmalarda Kuzey Anadolu Bölgesi'nin batısında Kızılırmak'a en yakın lokalite olan Hanönü'nden (Kastamonu) örnek incelenmiştir. Kızılırmak'ın doğusunda ise Gürgentepe'den (Ordu) toplanan örnekler değerlendirilmiştir. Bu iki lokalite de Kızılırmak nehrine oldukça uzaktır. Bugüne kadar yapılan çalışmalarda Kızılırmak nehrinin izolasyon etkisi ele

alınmamıştır. *A. mystacinus*'un Kuzey Anadolu Bölgesi'nde yayılış gösteren iki soy hattı arasındaki gen akışını Kızılırmak'ın kestiğini kesin olarak ortaya koyabilmek için Kızılırmak nehrine en yakın lokalitelerden toplanan örneklerin analiz edilmesi önemlidir. Bilindiği üzere *A. mystacinus* kayalık alanlara özelleşmiş bir türdür. Tür orman, tarla ve bahçe gibi alanlardan kaçınmaktadır. Buzul dönemi ya da buzul dönemi sonrası Kızılırmak nehri çevresinde oluşan ekolojik değişiklikler iki soy hattı arasındaki gen akışını kesmiş olabilir mi? Bu sorunun cevabını bulmak da önemlidir.

Bu tez çalışmasında ele alınan Kuzey Anadolu Bölgesi'nde *A. mystacinus*'un iki soy hattı yayılış göstermektedir. Bu soy hatlarından bir tanesi Kızılırmak Nehrinin doğusunda diğeri ise batısında yayılış göstermektedir. Bu tez çalışmasında da mtDNA *cytb* (Mitokondriyal DNA Sitokrom *b*) genetik belirteci kullanılarak Kızılırmak Nehrinin *A. mystacinus*'a ait soy hattının izolasyonu üzerindeki etkisi incelenmiştir.

2.KURAMSAL TEMELLER

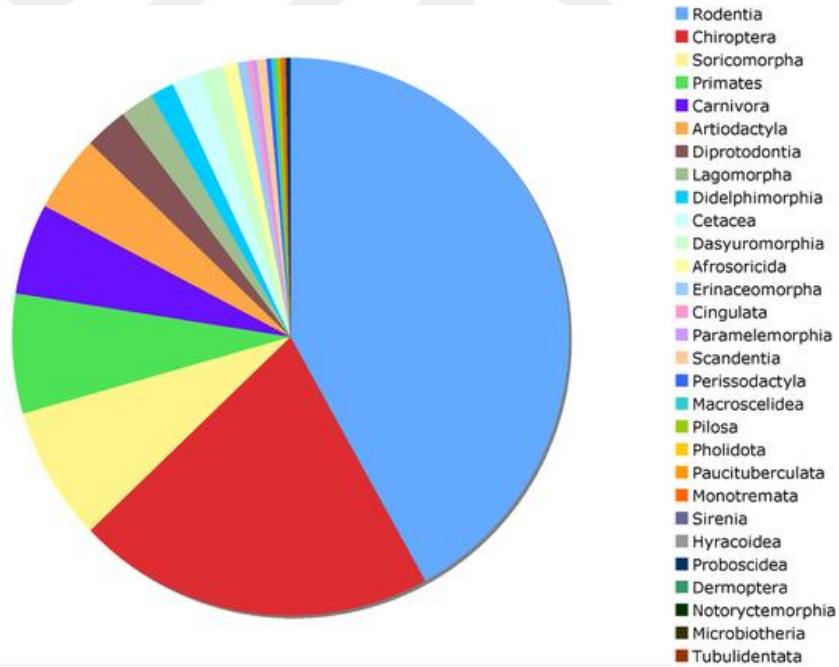
Regnum: Animalia

Classis: Mammalia

Subclassis: Eutheria

2.1 Ordo: Rodentia (Kemirgenler)

Latince “Rodere” yani “kemirmek” kelimesinden köken almıştır. Rodentia ordosu 29 familya, 400’ü aşkın cins ve 2800’ün üzerinde türüyle memeli sınıfının en büyük takımıdır (Wilson ve Reeder 2005). Antarktika, Yeni Zelanda ve bazı okyanus adaları dışında Dünya’nın her yerinde yayılış gösterirler.

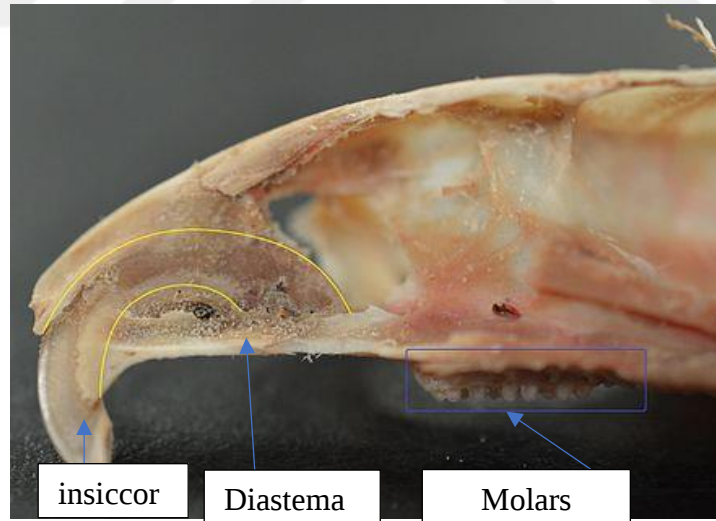


Şekil 2.1 Memeli takımlarının pasta grafiği ile gösterimi (Anonymus 2008)

Bazı türleri karada yağmur ormanları gölgesinde, nadir bir kısmı ise yerin altında, bir kısmı ise yarı sucul olarak yaşamlarını sürdürürler. Fareler, sıçanlar, kunduzlar, köstebekler, hamsterlar ve oklu kirpiller bu takımın en bilinenleridir. Bir kısmı omnivor beslenirken, bir kısmı böcekçil ve otçul beslenirler. En küçük türü 10 gr ağırlığından

daha az olan Afrika cüce fareleri (*Mus minutoides*), en büyük türü ise Kapibara (*Hydrochoerus hydrochaeris*)' dır. Kemirgenler; yaşadıkları habitatlara uygun olarak koku, işitme ve görme duyularını geliştirmişlerdir.

Kemirgenlerin ayırt edici özelliklerinden bir tanesi, oldukça keskin, açık köklü (köksüz) ve devamlı büyüyen dişlere sahip olmasıdır. Dişleri, kemirmek için evrilmiştir. Tüm kemirgenler üstte tek bir çift alt ve bir çift üst kesici dişlere, bir veya birden fazla azı dişe veya küçük azı dişlere sahiptirler. Köpek dişleri indirgenmiştir. Anterior ve lateral yüzeyleri mine tabakası ile kaplıdır. Alt çenedeki kesici dişler, çenenin boğumlu kısmına kadar geriye doğru uzanan bir oyuk içinde yer alır (Miller ve Gidley 1918, Corbet ve Southern 1977, Macdonald ve Barrett 1993). En belirleyici diagnostik ayırt edici özellik ise “Diastema boşluğu” dur. Diastema boşluğu, üst kesici dişler ile 1.Molar dişler arasında bulunur. Ağızlarına ve boğazlarına talaş gibi maddelerin kaçmasını engellemek için yanaklarını emmelerini ve atık maddelerin ağız kenarından atılmasını da sağlar.



Şekil 2. 2 Bir kemirgen kafatasında Diastema, Molar dişler ve Kesici dişlerin gösterimi (Anonymous 2003)

Bazı türlerinde besinleri toplamak için yanak bölgelerinde kürkle kaplı yanak keseleri vardır. Çene kasları oldukça güçlüdür. Çiğnemelerinde önemli rol oynayan “Masseter” kasları toplam kas kütlelerinin yaklaşık %60-%80’ini oluşturur. Kemiriciler genel olarak 1/1-0/0-0/0/-3/3=16 şeklinde diş formülüne sahiptirler (Yiğit vd. 2006).



Şekil 2.3 Yanak keselerinde yiyecek olan bir sincap (Anonymous 2022)

Bitkisel materyalle beslenirler. Pullarla kaplı kuyruklara sahiptirler. Gece ve gündüz aktivite gösteren türleri vardır. Kulakları da yaşadıkları ortama göre farklı büyüklükte olabilir. Yıl içinde birkaç defa çoğalırlar ve her seferinde yaklaşık 1-18 tane yavru yaparlar. Yüksek doğum ve yavru sayısına sahiptirler. Yaşam süreleri genellikle kısadır. İnsanlar için ekonomik ve hastalık taşımaları sebebiyle tehlike oluştururlar (Buckie ve Smith 1994).

2.2 Familia: Muridae (Fareler ve sıçanlar)

Muridae familyası neredeyse bütün dünyada yayılış göstermektedirler. Tropikal yağmur ormanlarından çöllere, tarım alanlarından yerleşim alanlarına, batıklara, çayırlara kadar birçok farklı ortamlara adapte olmuş en büyük kemirgen ve memeli familyasıdır. Kuyrukları uzundur. (Yaklaşık vücudun 2/3 kadardır.) Kulakları ve gözleri yuvarlak, burunları sivridir. Ardayakları nispeten büyüktür. Bu ailedeki çoğu türde dişiler, 6-13 arası yavru doğurabilirler. Vücut büyüklükleri bakımından av olduklarından doğada en

fazla 2 yıl yaşayabilirler. Kış uykusuna yatmazlar. Genel olarak tüm yıl boyunca aktiflerdir, fakat bazı türlerinin metabolizması yavaşlayabilir (Nowak 1999).

Molar dişleri daima köklüdür ve çiğneme yüzeyleri üst kısmı çıkıntılıdır. Ayrıca kafatasında büyük bir infraorbital kanal vardır (Yiğit vd. 2006).

2.3 Genus: *Apodemus* Kaup, 1829

Palearktik bölgede geniş alanlarda yaşayan türleri vardır. Fosillerine orta Pliyosen’de rastlanmaktadır (Martin- Suárez ve Mein 1998).

Apodemus cinsine ait türler küçük ve orta büyüklükte dirler. Uzun ve ince kıllarla kaplı kuyrukları vardır. Gözleri ve kulakları büyüktür. Dorsali sarımsı kahverengi ile koyu kahverengi arasında farklılık gösterebilir. Ventrali ise grimsi beyaz renktedir. Dişteki mine tabakasının (enamel) katlanma şekilleri *Apodemus* cinsinin ayırt edilmesinde önemli rol oynar. Kürkleri genel olarak yumuşak yapıdadır. Diş formülleri; (i 1/1, c 0/0, Pm 0/0, M 3/3) x 2 = 16 gibidir. Türkiye’de tespit edilen altı türü: *Apodemus mystacinus*, *Apodemus sylvaticus*, *Apodemus flavicollis*, *Apodemus agrarius*, *Apodemus uralensis* ve *Apodemus whitherbyi*’dir (Mergenci 2009).

2.4 Species: *Apodemus mystacinus*

İlk kez Danford ve Alston, (1877) tarafından *Mus mystacinus* olarak tanımlanan bu tür daha sonra “kayalık orman faresi”, “geniş dişli orman faresi”, “Doğu geniş dişli orman faresi” olarak da bilinir.

Türkiye’de yayılış göstermektedirler (Şekil2.4). Mersin Sebil yaylalarında tespit edilmiştir.



Şekil 2.4 *A. mystacinus* Türkiye’deki yayılış alanları (Amori vd. 2021)

Ormanların kayalık ve taşlık, küçük çalılar veya 2700 m yüksekliğe kadar olan kısımlarında yaşarlar (Vohralik vd. 2002, Çolak vd. 2004).

2.4.1 Morfolojisi

Dorsal kürk rengi solgun (açık) griden kızılımsı griye renklenmiştir. Yanlara doğru renkler daha açıktır. Dorsal ve karın bölgesi arasında sınır çizgisi vardır. Ventrali grimsi-beyazdır. Kuyruğu iki renklidir; üst kısmı sarımsı gri ya da açık kahve, alt kısmı ise beyazımsı gridir. Ön ve ardayak tabanları çıplak ve incedir. Ayakların vücuda doğru olan kısımları karın kürküne benzerdir. Göğsünde leke bulunmamaktadır (Şekil 2.5).



Şekil 2.5 *A. mystacinus* 'un post karakterleri (Olgun Karacan 2013)

Foramen kesici uzun ve geniştir ve arka ucu M^1 alveollerinin ötesine uzanır veya aynı seviyede geniştir.

Türkiye’de yayılış gösteren *Apodemus* türleri içinde en büyük kafatasına sahip olan türüdür. Kafatasındaki yüz bölgesinin özellikle nasal kemiklerin olduğu kısımdan itibaren düzdür ve çok belirgin öne doğru kavisli bir eğimi vardır.



Şekil 2.6 *A. mystacinus* kafatasının lateral (yan yüzey) görünüşü (Ceyhan 2007)



Şekil 2.7 *A. mystacinus* kafatasının dorsal (üst yüzey) görünüşü (Ceyhan 2007)



Şekil 2.8 *A. mystacinus* kafatasının ventral (alt yüzey) görünüşü (Ceyhan 2007)

Ortalama ölçüleri aşağıdaki gibidir:

Total boy TL: 238 mm, TaL: 125 mm, HF: 26 mm, EL: 21 mm, CBL: 27 mm.

2.4.2 Karyolojisi

A. mystacinus $2n=48$ diploid kromozoma sahiptir. Otozomal kromozomlarda $NFa=50$, toplamda ise (eşey kromozomları dahil) $NF=52$ kol vardır (Çolak vd. 2004). Metafaz plağında 4 metasentrik ve 42 akrosentrik kromozom gözlemlenmektedir. X ve Y kromozomu akrosentrik özellikte olup erkek eşey kromozomu orta büyüklüktedir (Çolak vd. 2004) (Şekil 2.9).



Şekil 2.9 *A. mystacinus* 'un karyotipi. Ardanoç (Artvin) (Çolak vd. 2004)

A. mystacinus türünün, revize edilmiş 4 alt türü vardır (Şekil 2.10).



Şekil 2.10 Türkiye’deki *A. mystacinus* alt türlerinin yayılış alanları (Olgun Karacan 2013)

2.5 Mitokondriyal DNA (mtDNA)

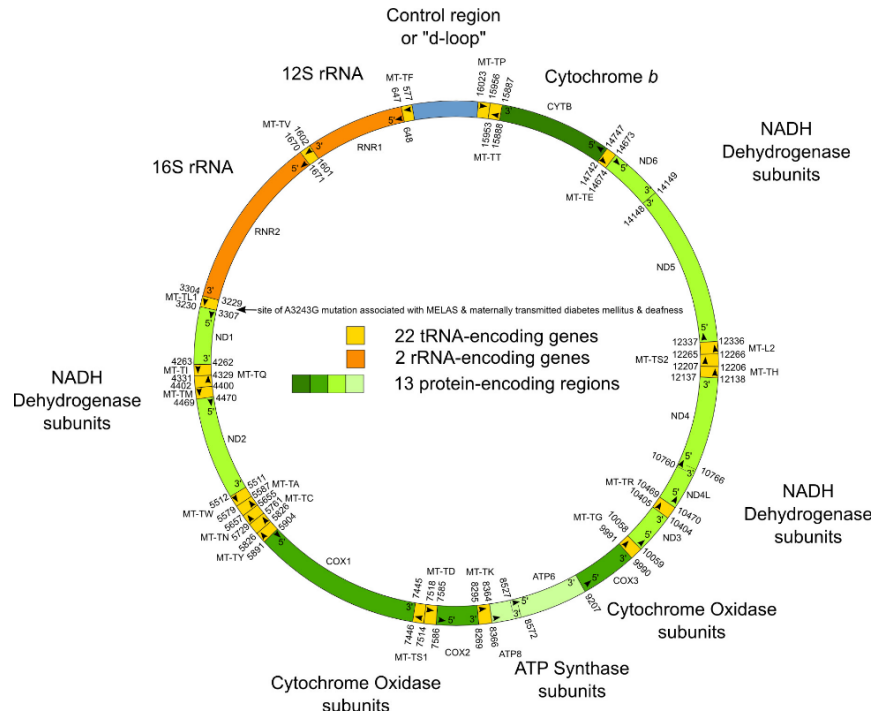
1967 yılında Lynn Margulis tarafından ortaya atılan “endosimbiyotik teori”ye göre bugün mitokondri ve kloroplast gibi kendi DNA’sı bulunan organeller, prokaryotik bir hücrenin endositoz ile ökaryotik bir hücreye alınması ve bu iki hücrenin ortak bir yaşam geliştirmesinden köken alır (Sagan 1967). Mitokondriyal protein kompleksinde (proteom) 1500’den fazla peptit içerir ve sadece 13 polipeptit mtDNA tarafından kodlanır. Bu sebepten dolayı canlı organizmanın yapısı, hücre sayısı ve enerji ihtiyacına göre farklılık gösterir (Calvo vd. 2016).

Mitokondriyal DNA, kuşların, sürüngenlerin primatların, amfibilerin, memelilerin evrimsel değişiminin analizinde önemli bir rol oynamıştır (Southern vd. 1988). mtDNA dizi analizleri, farklı haplotip ve haplogruplarının varlığıyla evrimsel süreçteki gelişimi ilişkilendirebilir. mtDNA, aynı veya farklı popülasyonlardaki bireyler arasındaki farklılık ve benzerlikleri karşılaştırmak için kullanılan moleküler bir yapıdır.

Mitokondriyal DNA, küçük, dairesel yapıda ve çift iplikli bir moleküldür. Belirli miktarda gen içerir ve genlerin büyük bir kısmı intronsuzdur.

Memelilerden hayvan mtDNA'sı, 13 protein kodlayan gen bulundurur. Ayrıca 22 tane tRNA ve 2 tane de rRNA (12S ve 16S) toplam 24 tane RNA bileşenini ve oksidatif fosforilasyon sistemi için de 12 alt birim içermektedir. Mitokondri için gerekli faktörlerden biri olan Kontrol bölgesi (D-Loop-Displacement Loop); düzenleyici olarak görev alır, transkripsiyon ve replikasyonu başlatmak için diziler içerir. mtDNA'nın büyük kısmı rekombinasyona uğramamaktadır. Birçok hayvanda ve insanlarda mtDNA, anneden (maternal) taşınır, özetle anneden çocuğa aktarılır. Ancak yapılan bazı çalışmalar sonucunda farelerde (Gyllensten ve Wilson 1987), kuşlarda (Kvist vd. 2003) ve insanlarda (Schwarz ve Vissing 2002) istisnai olarak babadan (paternal) desteklendiği de ifade edilmiştir. (Olgun Karacan 2013)

Mitokondriyal DNA çalışmalarında, yaygın olarak kullanılan teknik PCR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu) dur. MtDNA'nın araştırılmak istenilen bölümleri PCR ile çoğaltılıp dizilenir. Hayvanlarla ilgili yapılan popülasyon genetiği çalışmalarında mtDNA'nın dizi analizi için kullanılmasındaki etmenler; gen dizilişinin korunması ve küçük yapılı olması, mutasyona uğrama olasılığının fazla olması, rekombinasyon olmamasıdır.

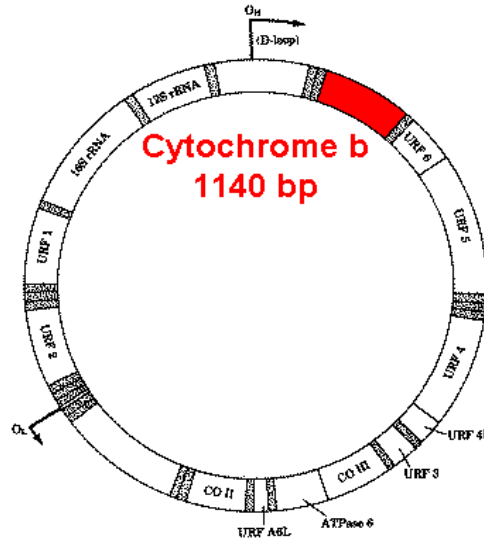


Şekil 2.11 Mitokondriyal DNA yapısı ve gen lokusları (Graff 2011)

Sahip olduğu eşsiz genomu ile mtDNA, nükleer DNA (nDNA) analizinin yetersiz kaldığı biyolojik örneklerin tanınmasına katkı sağlayan ve adli birçok olayın açığa çıkmasında kullanılan bir alternatiftir (Sullivan vd. 1992, Wilson vd. 1993). Vücut hücreleri (somatik hücreler); iki kopya nükleer DNA(nDNA) içerirken, yüzlerce veya binlerce mtDNA kopyası içermektedir (Şoroğlu vd. 2021). Bu yüzden yapılan araştırmalarda mtDNA kullanımı hem zamandan kazanç hem de doğru sonuçlar elde edilmesinde büyük önem taşır.

2.6 Sitokrom *b* (*cytb*)

Ökaryotlarda ve prokaryotlarda bulunan mitokondrial DNA'nın protein kodlayan bir bölümüdür. Sitokrom *b*, solunum zinciri kompleks III adı verilen bir grup proteinin 11 bileşeninden biridir. ETS (elektron taşıma zincirinin) nin bir parçası olarak görev alırken transmembran sitokrom bc1 ve b6f komplekslerinin de ana alt birimleridir. Bc1 kompleksi ya da ubikinol-sitokrom c redüktaz olarak da ifade edilmektedir (Robert 2009). Sitokrom *b*/b6' nın 8 transmembran bölümünün yaklaşık 400 aminoasit kalıntısından oluşan bir membran proteini olduğu düşünülmüştür (Crimi vd. 1993).



Şekil 2.12 Mitokondriyal DNA Sitokrom *b* gen lokusu (Anonymous 2005)

Sitokrom *b*, dizi değişikliği sebebiyle organizmalar arasındaki filogenetik ilişkiyi belirlemek için kullanılır (Castresana 2001).

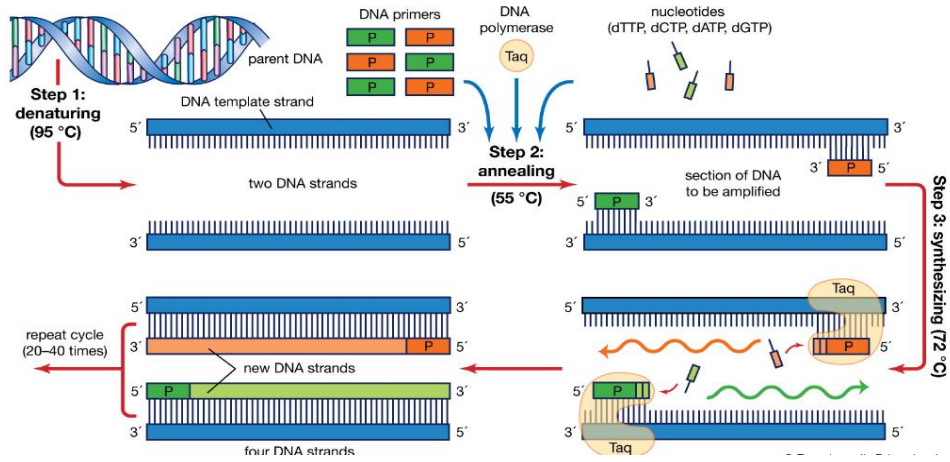
2.7 PCR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu)

Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR), ilk kez 1985 yılında Kary Mullis tarafından in vitro koşullarında DNA dizilerinin çoğaltılması amacıyla uygulanan bir tekniktir. Uygulama laboratuvarlarında kontaminasyon riski oldukça yüksektir. Bu yüzden amplifikasyon tek bir kapalı tüpte gerçekleştirilir. PCR ile iki primer arasında istenilen gen bölgesi çoğaltılabilir. Uygulanabilirliği basit, spesifik, hassasiyet gerektiren ve tekrarlanabilen bir tekniktir (Saiki vd. 198). Üç temel aşamadan oluşmaktadır:

Denatürasyon (Denaturation): Kalıp (templete) DNA , yüksek sıcaklıkta (90-95° C) de yaklaşık 5 dakika içinde sarmal yapıdaki DNA iplikçiklerinin arasında bulunan hidrojen bağlarının birbirinden ayrılmasıdır.

Bağlanma (Annealing): Reaksiyon sıcaklığının 37-65° C ye düşürülerek oligonükleotit primerlerinin, denatüre olan DNA zincirlerindeki baz dizilerinin karşılık gelen bölgeye bağlanmasıdır. Bu aşama, üretilen baz uzunluğuna bağlı olarak 30-60 saniye arasında farklılık gösterebilir.

Uzama (Extension): PCR 'ın son aşamasıdır. DNA zincirleri üzerine bağlanan primerlerin, DNA polimeraz enzimi (Taq DNA Polimeraz) ile uzatılmasıdır. 72 ° C ısıda en yüksek aktivasyon gösteren Taq DNA Polimeraz enzimi, nükleotitleri 5' uçtan 3' uca bağlayarak primerlerin uzamasını sağlar. Böylece hedef DNA (target DNA), çift zincirli kopyasını oluşturmuş olur (Yılmaz ve Devran 2003).



Şekil 2.13 Polimeraz zincir reaksiyonunun (PCR) üç aşaması (Britannica 2020)

2.8 Kızılırmak Nehri

Kızılırmak nehri, Türkiye’de denize dökülen en uzun nehirdir. Sivas ilinin doğusundan, İç Anadolu Bölgesi’nin platoları içerisinde geniş bir kavis (yay) şeklinde uzandıktan sonra kuzeye yönelerek Karadeniz’e dökülür. Nehrin izlediği yol Neotektonik dönemde oluşmuş aktif fay kuşakları tarafından çizilmiştir (Doğan ve Şenkul 2017).

Oligosen ve Neojen dönemlerinde birbirinden ayrılan kayaçlarla kaplı kaya kütleleri arasındaki Kızılırmak nehri’nin taban kısmı, orojenez faaliyetleri sonucu oluşmuştur (Yalçınlar 1998).

2.9 Moleküler Çalışmalar

Çolak vd. (2007) tarafından yapılan çalışmada Türkiye’de 10 bölgeden (Kemalpaşa, Buharkent, Burdur, Akseki, Beyşehir, Sebil, Akçakoca, Altındere, Göksun ve Ardanuç) 44 tane *A.mystacinus* örneği toplanarak Esteraz enzim sistemi (*Est*) , poliakrilamid jel elektroforezi ile analiz edilmiştir. *Est-1*, *Est-2* ve *Est-3* olmak üzere üç lokus

belirlenmiştir. Yapılan çalışma sonucu *A.mystacinus* 'ta *Est-2* ve *Est-3* lokuslarında 4 allel ayrıca ek allelde keşfedilmiştir.

Olgun Karacan vd. (2015) tarafından yapılan çalışmada *A. mystacinus*'un moleküler varyasyonunu incelemek için Türkiye'de 19 lokaliteden (Balıkesir, İzmir, Aydın, Muğla, Antalya, Burdur, Konya, Mersin, Adana, Kahramanmaraş, Adıyaman, Erzincan, Artvin, Rize, Trabzon, Ordu, Kastamonu, Zonguldak, Düzce) 108 örnek toplanmıştır. Genetik çeşitlilik ve popülasyon yapısını araştırmak için mtDNA'nın Sitokrom *b* ve D-Loop bölgeleri ve PCR-RFLP tekniği kullanılmıştır. DNA dizi analizi sonucu UPGMA dendogramı ile 3 alttür (*A. m. euxinus*, *A. m. mystacinus* ve *A. m. smyrnensis*) belirlenmiştir. Yüksek haplotip çeşitliliği gözlenmiştir. Bunun sebebinin PCR-RLFP tekniği ile coğrafik bariyerlerin (Kızılırmak Nehri, Seyhan Nehri, Ceyhan Nehri) olduğu desteklenmiştir.

Olgun Karacan ve Beteş (2019) tarafından yapılan çalışmada SSR (basit dizi tekrarları) lokusları kullanılarak *A. mystacinus*' un genetik çeşitliliği ve bu çeşitliliğin nedenleri incelenmiştir. Çalışmada Türkiye'de 18 lokaliteden (İzmir, Aydın, Düzce, Muğla, Antalya, Balıkesir, Zonguldak, Kastamonu, Mersin, Adana, Kahramanmaraş, Ordu, Trabzon, Rize, Artvin, Erzincan, Konya, Adıyaman) toplanan 96 *A. mystacinus* örnekleri kullanılmıştır. Neighbour-Joining (NJ) ağacı ile yapılan filogenetik analizler sonucu Türkiye'de iki fare soyunun varlığı SSR lokusları ile belirlenmiştir. *A. mystacinus* 'un iki alttürü *A.m. mystacinus* ve *A.m. euxinus* olarak ifade edilmiştir.

Çolak (2002) tarafından yapılan çalışmada albumin ve globülin proteinleri SDS-PAGE (sodium dodecyl sulphate- polyacrylamide gel electrophoresis) tekniği ile *Apodemus* cinsine ait popülasyon varyasyonları incelenmiştir. Hopa, Ardanuç (Artvin), Ayder ve İkizdere (Rize), Altındere, Sümela (Trabzon), Bulancak, Tirebolu (Giresun), Akkuş, Efirli (Ordu) ve Samsun' dan toplanan 56 örnek ile analiz yapılmıştır. Analizler sonucu Karadeniz Bölgesinde yaşayan *Apodemus* cinsine ait bir popülasyon değil iki popülasyonun yaşadığı ortaya konmuştur.

2.10 Morfolojik Çalışmalar

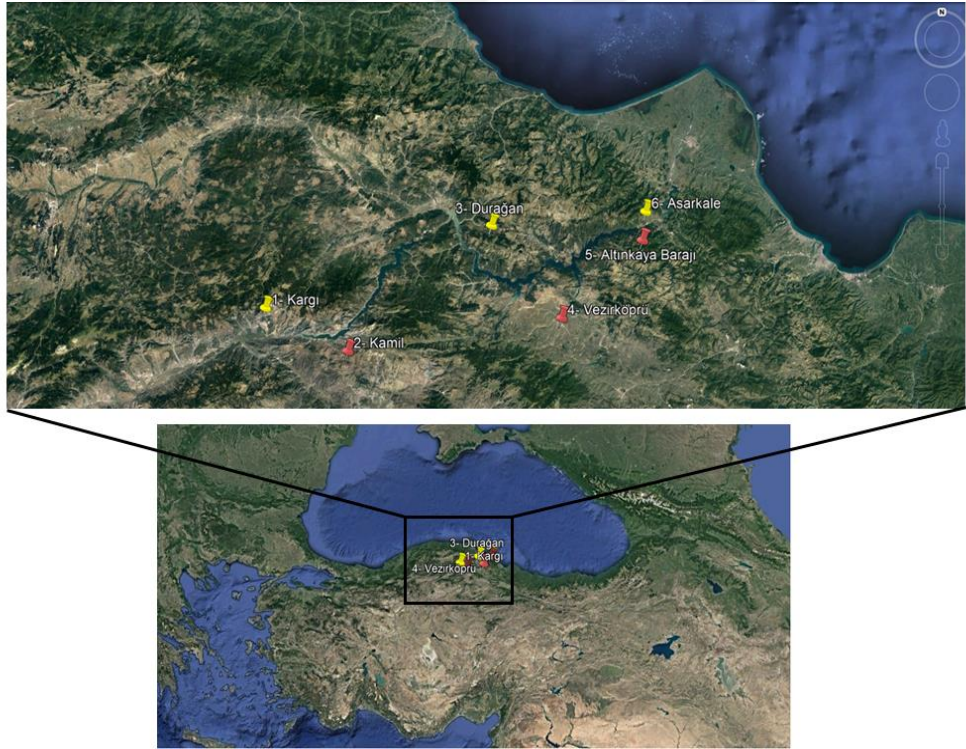
Ceyhan (2007) tarafından yapılan tez çalışmasında Doğu Karadeniz Bölgesi'nden (Rize ve Artvin il sınırları içi) 126 *Apodemus* cinsine ait örneklerin kafatası ve post karakterleri incelenmiştir. İncelenen 4 *Apodemus* türü (*Apodemus uralensis*, *Apodemus flavicollis*, *Apodemus iconicus* ve *Apodemus mystacinus*) morfometrik ve biyometrik analizler sonucunda birbirinden ayrılmışlardır. Bu türlerden *A. mystacinus* birçok farklı morfolojik özelliğe sahip olduğundan diğer 3 türe en uzak tür olarak belirlenmiştir.

Mergenci (2009) tarafından yapılan tez çalışmasında Ankara, Bolu, Zonguldak hattından toplanan 72 *Apodemus* örneğinin kafatası ve post karakterleri incelenmiştir.

3. MATERİYAL VE YÖNTEM

3.1 Örnek Tasnifi

Bu tez çalışmasında kullanılan örnekler, arazi çalışmasında canlı hayvan yakalama kapanları ile Hayvan Deneyleri Etik Kurulu yönetmeliğine uygun bir şekilde toplanmıştır. Toplanan örnekler, uygun kimyasallarla uyutularak dokuları alınmış ve laboratuvarında -86 ° C’de saklanmıştır. Çalışma için Kızılırmak nehri çevresindeki 6 lokaliteden toplanan 37 örnek (Çizelge 3.1) kullanılarak analizler yapılmıştır.



Şekil 3.1 Örnek toplanan lokaliteler (1. Kızılırmak nehri batı, Kargı, 2. Kızılırmak nehri doğu, Kamil, 3. Kızılırmak nehri batı, Durağan, 4. Kızılırmak nehri doğu, Vezirköprü, 5. Kızılırmak nehri doğu, Altınkaya barajı yanı, 6. Kızılırmak nehri batı, Asarkale) (Harita: Google maps’ten uyarlandı).

Örneklere ait yukarıda belirtilen haritadaki lokalite numaraları, müze kayıt numaraları, örnekler ait eşeyler Çizelge 3.1’de verilmiştir.

Çizelge 3.1 Çalışmada kullanılan *A.mystacinus* örnekleri

SIRA	MÜZE NUMARASI	TÜR İSMİ	LOKALİTE
1	7812♀	<i>Apodemus mystacinus</i>	Samsun-Bafra, Asar, Kızılırmak Doğu
2	7813♂	<i>Apodemus mystacinus</i>	Samsun-Bafra, Asar, Kızılırmak Doğu
3	7814♀	<i>Apodemus mystacinus</i>	Samsun-Bafra, Asar, Kızılırmak Doğu
4	7815♂	<i>Apodemus mystacinus</i>	Samsun-Bafra, Asar, Kızılırmak Doğu
5	7816♂	<i>Apodemus mystacinus</i>	Samsun-Bafra, Asar, Kızılırmak Doğu
6	7817 ♀	<i>Apodemus mystacinus</i>	Samsun-Bafra, Asar, Kızılırmak Doğu
7	7818♀	<i>Apodemus mystacinus</i>	Samsun-Bafra, Asar, Kızılırmak Doğu
8	7819♀	<i>Apodemus mystacinus</i>	Samsun-Bafra, Asar, Kızılırmak Doğu
9	7820♂	<i>Apodemus mystacinus</i>	Samsun-Bafra, Asar, Kızılırmak Doğu
10	7821♂	<i>Apodemus mystacinus</i>	Samsun-Bafra, Asar, Kızılırmak Doğu
11	7822♂	<i>Apodemus mystacinus</i>	Samsun-Bafra, Asar, Kızılırmak Batı
12	7824♂	<i>Apodemus mystacinus</i>	Samsun-Bafra, Asar, Kızılırmak Batı
13	7825♀	<i>Apodemus mystacinus</i>	Samsun-Bafra, Asar, Kızılırmak Batı
14	7826♀	<i>Apodemus mystacinus</i>	Samsun-Bafra, Asar, Kızılırmak Batı
15	7827♂	<i>Apodemus mystacinus</i>	Samsun-Bafra, Asar, Kızılırmak Batı
16	7828♀	<i>Apodemus mystacinus</i>	Samsun-Vezirköprü, Kızılırmak Doğu
17	7829♀	<i>Apodemus mystacinus</i>	Samsun-Vezirköprü, Kızılırmak Doğu
18	7830♂	<i>Apodemus mystacinus</i>	Samsun-Vezirköprü, Kızılırmak Doğu
19	7831♂	<i>Apodemus mystacinus</i>	Samsun-Vezirköprü, Kızılırmak Doğu
20	7834♂	<i>Apodemus mystacinus</i>	Samsun-Vezirköprü, Kızılırmak Doğu

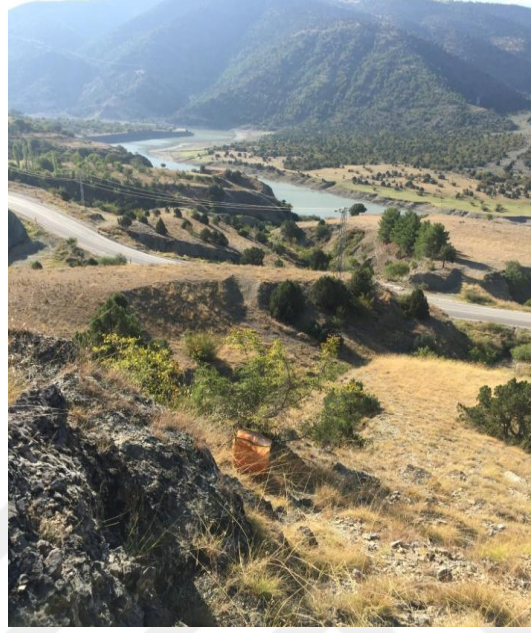
Çizelge 3.1 Çalışmada kullanılan *A.mystacinus* örnekleri (devamı)

SIRA	MÜZE NUMARASI	TÜR İSMİ	LOKALİTE
21	7837♂	<i>Apodemus mystacinus</i>	Sinop-Durağan, Kızılırmak Batı
22	7838♂	<i>Apodemus mystacinus</i>	Sinop-Durağan, Kızılırmak Batı
23	7840♀	<i>Apodemus mystacinus</i>	Sinop-Durağan, Kızılırmak Batı
24	7841♀	<i>Apodemus mystacinus</i>	Sinop-Durağan, Kızılırmak Batı
25	7842♀	<i>Apodemus mystacinus</i>	Samsun-Bafra, Asar, Kızılırmak Batı
26	7843♂	<i>Apodemus mystacinus</i>	Samsun-Bafra, Asar, Kızılırmak Batı
27	7844♀	<i>Apodemus mystacinus</i>	Samsun-Bafra, Asar, Kızılırmak Batı
28	7707♀	<i>Apodemus mystacinus</i>	Çorum-Kargı, Kızılırmak Batı
29	7708♀	<i>Apodemus mystacinus</i>	Çorum-Kargı, Kızılırmak Batı
30	7709♀	<i>Apodemus mystacinus</i>	Çorum-Kargı, Kızılırmak Batı
31	7710♀	<i>Apodemus mystacinus</i>	Çorum-Kargı, Kızılırmak Batı
32	7699♂	<i>Apodemus mystacinus</i>	Çorum-Osmancık, Kamil, Kızılırmak Doğu
33	7700♀	<i>Apodemus mystacinus</i>	Çorum-Osmancık, Kamil, Kızılırmak Doğu
34	7701♀	<i>Apodemus mystacinus</i>	Çorum-Osmancık, Kamil, Kızılırmak Doğu
35	7702♂	<i>Apodemus mystacinus</i>	Çorum-Osmancık, Kamil, Kızılırmak Doğu
36	7703♂	<i>Apodemus mystacinus</i>	Çorum-Osmancık, Kamil, Kızılırmak Doğu
37	7704♀	<i>Apodemus mystacinus</i>	Çorum-Osmancık, Kamil, Kızılırmak Doğu

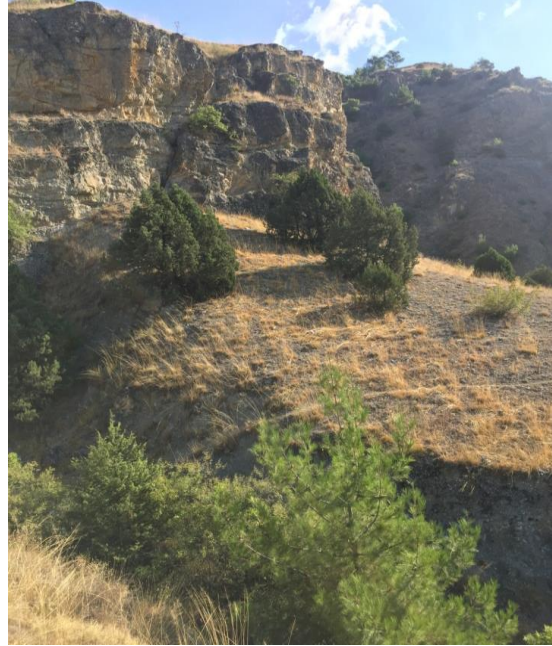
Bu tez çalışmasında Kızılırmak nehri çevresindeki 6 lokaliteye arazi çalışması yapıp 37 örnek elde edilmiştir.

Lokalite 1: Kızılırmak nehri'nin batı yakası Kargı (Çorum) ve doğu yakası Kamil Osmancık (Çorum). Parçalı blok kayalar, açık alan, kayalıklar arasında kesinti

oluşturabilecek geniş otlu alanlarda yaşamaktadır. Örnek alınan lokalitenin Kızılırmak Nehri'ne uzaklığı yaklaşık 300 m kadardır (şekil 3.2 ve 3.3).



şekil 3.2 *A.mystacinus*' un Kızılırmak Nehri'nin batı yakasından örnek alınan lokalitesi (Kargı, çorum) (Fotoğraf: Prof.Dr. Ercüment çOLAK)



şekil 3.3 *Apodemus mystacinus*'un yaşadığı habitat (Kargı, çorum) (Fotoğraf: Prof.Dr. Ercüment çOLAK)

Lokalite 1: Kızılırmak Nehri'nin doğu yakası Kamil, Osmancık, (Çorum). Yoğun orman ve çalılıkların bulunduğu alanda aralıklarla blok kayalıkların çevresinde yaşamaktadır. Kızılırmak'a uzaklığı yaklaşık olarak 250 m kadar tahmin edilmiştir (şekil 3.4 ve 3.5).



şekil 3.4 *A.mystacinus*' un Kızılırmak Nehri'nin doğu yakasından örnek alınan lokalitesi (Kamil, Osmancık, Çorum) (Fotoğraf: Prof.Dr. Ercüment ÇOLAK)



şekil 3.5 *Apodemus mystacinus*'un yaşadığı habitatı (Kamil, Osmancık, Çorum) (Fotoğraf: Prof.Dr. Ercüment ÇOLAK)

Lokalite 2: a. Kızılırmak Nehri'nin batı yakası Durağan'a 11 km Durağan (Sinop). Yola yakın orman içi kayaların bulunmadığı, zemini toprak çalı şeklinde bitkilerle örtülü alanda yaşamaktadır (Şekil 3.6).

b. Kızılırmak Nehri'nin doğu yakası Kocakaya tüneli yanı, Vezirköprü (Samsun). Yola yakın zemini seyrek kayalık çam ağaçlarıyla kaplı önünde yüksek büyük kayalık tepe bulunan alanda yaşamaktadır.



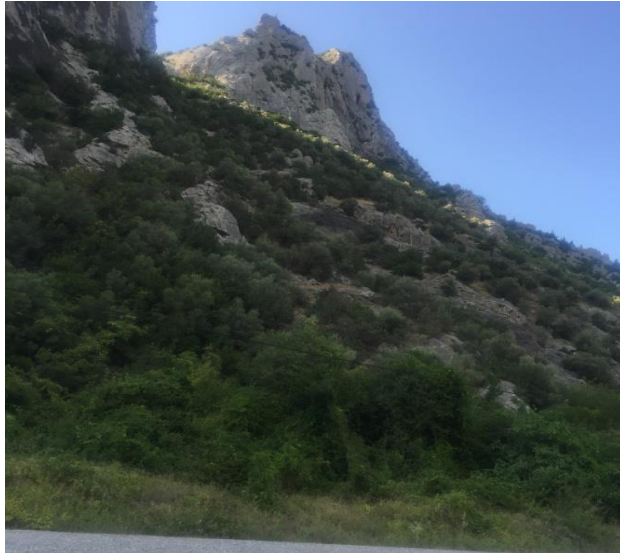
Şekil 3.6 *A.mystacinus*' un Kızılırmak Nehri'nin batı yakasından örnek alınan lokalitesi (Durağan, Sinop) (Fotoğraf: Prof.Dr. Ercüment ÇOLAK)

Lokalite 3: a. Kızılırmak Nehri'nin doğu yakası, Altinkaya baraj gövdesinin yanında 2 km arayla iki lokalite, Asar, Bafra (Samsun). Bu alanda iki farklı lokaliteden örnekler alındı. Lokaliteler arasında çok belirgin fark görülmemiştir. Yoğun çam ormanı ve yoğun çalılıkla örtülü alanın alt zemini seyrek küme şeklinde kayalıklarla kaplı alanda yaşamaktadır. Birbirine yakın iki lokaliteden bir tanesinin Kızılırmak'a mesafesi yaklaşık 20 m olarak tahmin edilmiştir (Şekil 3.7). Diğerinin Altinkaya baraj gölüne uzaklığı yaklaşık 700 m olarak tahmin edilmiştir.



Şekil 3.7 *A.mystacinus*' un Kızılırmak Nehri'nin doğu yakasından örnek alınan lokalitesi (Bafra, Samsun) (Fotoğraf: Prof.Dr. Ercüment ÇOLAK)

Lokalite 3: b. Kızılırmak Nehri'nin batı yakası Asar köyü, Asar kalesi yanı Asar, Bafra (Samsun). Sık çalılıklarla kaplı zemini kayalık alanlarda yaşamaktadır. Kızılırmak'a uzaklığı 200 m olarak tahmin edilmiştir (Şekil 3.8).



Şekil 3.8 *Apodemus mystacinus*'un yaşadığı habitatı (Asar, Bafra, Samsun) (Fotoğraf: Prof.Dr. Ercüment ÇOLAK)

3.2 DNA İzolasyonu

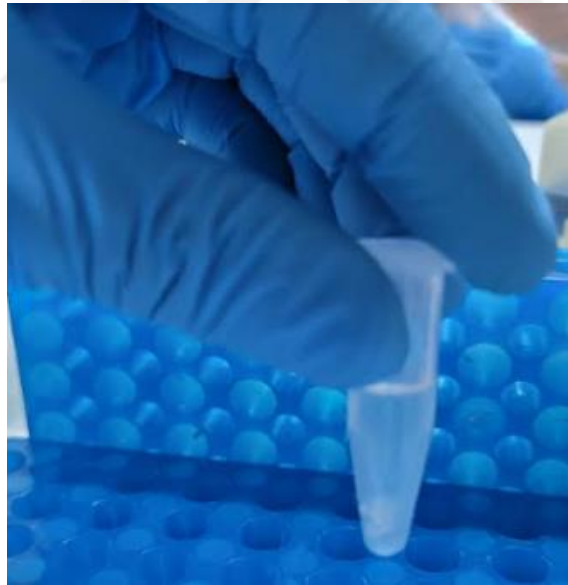
Bu tez çalışmasında *A. mystacinus*' a ait örneklerin DNA'ları, karaciğer dokularından elde edilmiştir.

DNA izolasyonu için "CTAB (cetyltrimethylammoniumbromide) DNA İzolasyonu" metodu (Doyle ve Doyle 1991) kullanılmıştır.

DNA İzolasyon aşamaları:

1. Farklı bölgelerden toplanmış örneklerin dokularından çok küçük miktarlarda bistüri ve pens yardımıyla alınıp ependorf tüplerine konuldu. Sonra üzerlerine 100 µl CTAB tamponu eklenerek tek kullanımlık havaneli ile ezildi.
2. Her bir tüpe 20 µl CTAB tamponu daha ilave edilerek dokular iyice ezilip homojen hale getirildi.
3. Homojenata 300 µl CTAB ve 50 µl BME (β - Merkaptotanol) eklenerek iyice karıştırıldı.
4. Tüpler su banyosunda (65 °C' lik) bir saat inkübe edildi.
5. İnkübasyondan sonra tüplere 200 µl C: IAA (Kloroform izoamil alkol) (24:1) ilave edilerek süte benzer kıvam alıncaya kadar hafifçe karıştırıldı.
6. Santrifüj işlemi 13.000 rpm'de +4°C'de 15 dakika boyunca yapıldı. İşlemden sonra tüplerde iki faz gözlemlendi. Tüpler karıştırılmadan dikkatlice kara (buz üzerine) yerleştirildi.
7. DNA'yı içeren üst faz, DNA'nın kırılmaması için geniş uçlu mikropipet ile dikkatli bir şekilde çekildi. (Kloroform çekilmesi halinde mikropipetin ucundan düşmesi beklendi). Sonrasında numaralandırılan yeni ependorf tüplerine aktarıldı.

8. -20 °C’de bekletilen 500 µl izopropanol, DNA içeren ependorf tüplere eklenerek DNA ‘yı çöktürülmesi sağlandı. Karışımda bulut şekline benzer DNA ipliği gözlemlendi (Şekil 3.9).
9. Sonrasında tüpler 30 dakika boyunca -80 °C’de bekletildi.
10. İnkübasyondan sonra donmuş tüpler 10 dakika boyunca +4°C’de 13.000 rpm’de santrifüj edildi. Santrifüjden sonra DNA moleküllerinin çöktüğü gözlemlendi.
11. Tüp içerisindeki süpernatantlar DNA’yı düşürmeden dököldü.
12. DNA peletleri -20°C’de bekletilen %70’lik ve %100’lük Etanol (alkol) ile 2-3 defa yıkandı.
13. Yıkamadan sonra tüpler ters çevrilerek kuruyana kadar kurutma kağıdı üzerinde bekletildi.



Şekil 3.9 Nükleik asit ipliği

14. Kuruyan pellet üzerine 100 µl Tris-EDTA tamponu eklenerek DNA’nın çözünmesi sağlandı.

15. RNA'yı uzaklaştırmak için tüplere 2 µl RNase eklenip 30 dakikada 37 °C'de etüvde inkübe edildi.

İzole edilen DNA'lar PCR yapılana kadar derin dondurucuda saklandı.

3.3 PCR Uygulamaları

Tez çalışması için mtDNA'nın Sitokrom *b* bölgesinin amplifikasyonu PCR ile gerçekleştirilmiştir. PCR için kimyasal bileşenler uygun koşullarda mikropipet yardımıyla 1,5 mL'lik ependorf tüplerine ilave edilerek PCR karışımı hazırlanmıştır (Çizelge 3.2). PCR karışımı her bir örnek için ayrı hazırlanmış ve negatif kontrolde ayrı bir ependorf tüpüne eklenerek daha iyi karışması için birkaç saniye vortekslenmiştir. Müze numaralarının yazılı olduğu PCR tüplerine hazırlanan karışımdan 24 µl ilave edilmiştir. Daha sonra her bir PCR tüpüne izole edilen kalıp DNA 1 µl eklenerek homojen karışması için pipetaj yapılarak PCR için hazırlanmıştır.

Çizelge 3.2 Cyt *b* bölgesi için kullanılan PCR kimyasal bileşenlerinin hacimleri

BİLEŞENLER	HACİM
dH ₂ O (steril distile su)	9,5 µl
Buffer [750mM Tris-HCl ph:8.8, 200mM (NH ₄) ₂ SO ₄]	2,5 µl
MgCl ₂ (Magnezyum Klorür) (2 mM)	3,5 µl / 4 µl
dNTP (Deoksinükleosid trifosfat) (0,2 mM)	4 µl
Forward Primeri (F) (20 pmol)	2 µl
Reverse Primeri (R) (20 pmol)	2µl
Taq polimeraz enzimi (Taq) (1,5 u)	0,5 µl
DNA (Kalıp DNA) (80 ng)	1 µl
Toplam hacim	25 µl

Sitokrom *b* gen bölgesini çoğaltmak için L14724a (Forward) ve H15915a (Reverse) primerleri kullanılmıştır (Çizelge 3.3). Bu bölgenin çoğaltılması için gerekli PCR koşulları (Çizelge 3.4) verilmiştir. Ayrıca bu primer çifti ile yaklaşık 1200 bp (baz çifti) uzunluğundaki bölge çoğaltılmıştır.

Çizelge 3.3 Sitokrom *b* için kullanılan Primerler (Irwin vd. 1991)

PRİMER	GEN BÖLGESİ	PRİMER BAZ DİZİSİ
L14724 (Forward)	Ctyb	(5'-CGAAGCTTGATATGAAAAACCATCGTTG-3')
H15915 (Reverse)		(5'-GGAATTCATCTCTCCGGTTTACAAGAC-3')

Çizelge 3.4 PCR şartları

Basamak	Sıcaklık (° C)	Süre (s/dk)	Döngü
Ön Denatürasyon	93 ° C	3 dk	1
Denatürasyon	93 ° C	30 s	35
Bağlanma (Annealing)	50 ° C-54 ° C	30 s	
Uzama (Extension)	72 ° C	1 dk	
Son Uzama	72 ° C	7 dk	1

DNA izolasyonu ve PCR analizleri, Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Moleküler Sistemik Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. Çoğaltılan gen bölgelerinin DNA dizi analizi sonuçları bilgisayar ortamında elde edilmiştir.

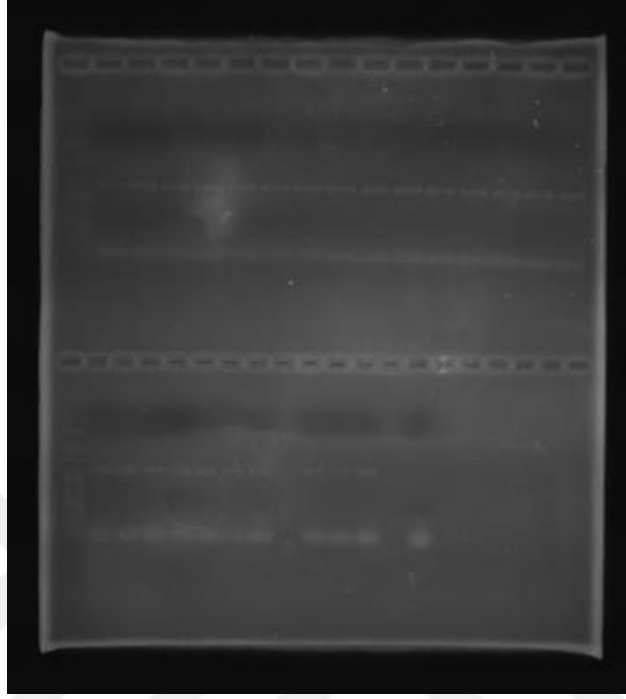
3.4 Agaroz Jel Elektroforez Uygulaması ve Jel görüntüleme

DNA moleküllerini gözlemek için agaroz jel elektroforezi tekniği kullanıldı. %1'lik agaroz jelin hazırlanması için, 150 mL TAE (Tris -Acetate-EDTA) tampon çözelti hazırlandı. Hassas terazi ile 1.5 g agaroz tartılarak erlenmayer içindeki TAE çözeltisine ilave edildi. Oluşturulan karışımın homojen dağılması için erlenmayerde karıştırılıp mikrodalga fırına yerleştirildi. Çözeltinin içinde partiküllerin olmaması için karıştırıldı ve homojen jel kıvamına gelene kadar ısıtma işlemine devam edildi. Homojen haldeki jelin soğuması için yaklaşık 5-10 dakika bekletildi ve bu süre içinde erlenmayer hafifçe karıştırıldı. Jel uygun kıvama geldikten sonra elektroforez için, elektroforez tankına taraklar uygun aralıklarla yerleştirildi ve jelin tank dışına taşmaması için de kenarları ince lastik ile sabitlendi. Jel hava kabarcığı yapmadan yavaşça tankın içine döküldü ve soğumaya bırakıldı. Jel soğuduktan sonra taraklar jeli yırtmadan dikkatli bir şekilde çıkarıldı.

Hazırlanan jel, elektroforez tankına yerleştirildikten sonra alabileceği maksimum kapasitesine kadar 1XTAE konuldu. Yükleme boyası (Loading dye-LD) ve PCR ürünü (DNA) 1:1 oranında karıştırılarak mikropipet yardımıyla tek tek kuyulara yüklendi. Jelin ilk sırasına çoğaltılan DNA'ların boyutlarını belirlemek için marker yüklendi. Ayrıca kontrol amacıyla DNA içermeyen bir tane negatif kontrol jelin son kuyusuna yüklendi. Agaroz jel elektroforezi, güç kaynağına bağlanarak 70 V 'da 90 dakika koşuruldu.

Elektroforez işlemi tamamlandıktan sonra jeller, boyanan DNA'ları UV ışığı altında gözlemlemek için 10 dakika boyunca etidyum bromür solüsyonunda bekletildi. KODAK Jel Görüntüleme Sistemi ile UV ışığı altında fotoğraflanarak bilgisayar

üzerinde görüntü kaydedildi. Sitokrom *b* bölgesine ait jel görüntüsü şekil 3.10'da verilmiştir.



Şekil 3.10 Sitokrom *b* gen bölgesine ait agaroz jel görüntüsü

3.5 Biyoistatistiksel Analizler

Polimeraz zincir reaksiyonu ile mitokondriyal sitokrom-b gen bölgesi çoğaltılan örneklerin dizi analizleri hizmet alımı karşılığı yapılmıştır. Elde edilen kromatogram dosyaları Chromas Lite 2.1.1 (www.technelysium.com.au) ile fasta formatına çevrilerek analize hazır hale getirilmiştir.

Fasta formatına çevrilen tüm DNA dizileri (Genbank'tan elde edilen veriler de dahil) BioEdit 7.2.5 (Hall 1999) programı kullanılarak hizalanmıştır. Öncelikle oluşturulan veri setine ait haplotipler DnaSP (ver.6.12.03) programı ile belirlenmiştir (Rozas vd., 2017). Bu haplotip seti kullanılarak oluşturulan Maksimum likelihood (ML) ağaçları,

örnekler arasındaki filogenetik ilişkileri belirlemek için kullanılmıştır. Bu ağaçları oluşturmak için sırasıyla MEGAX (Kumar vd., 2018) yazılımları kullanılmıştır. ML ağaçlarını oluşturmak için Akaike ölçütü (Akaike information criterion-AIC) ile belirlenen en uygun nükleotid değişim modeli, MEGAX (Kumar vd., 2018) yazılımıyla ortaya konmuştur. Haplotipler arasındaki bağlantı ilişkileri Network (ver. 10.1.0) (Bandelt vd., 1999) yazılımı kullanılarak median joining ağacıyla ortaya konmuştur. Ağaçlarda ortaya çıkan gruplar arasında genetik farklılaşma oranı MEGA X programı kullanılarak hesaplanmıştır.



4.ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1 Biyoistatistiksel Analizler

Bu tez çalışması sonucu Kızılırmak Nehri kıyısından yakalanan 37 yeni *Apodemus mystacinus* örneğinden toplam 18 haplotip elde edildi (Çizelge 4.1). Genbank'tan da Karadeniz Bölgesindeki 7 lokaliteden toplanan 15 örneğin kayıtlı dizileri de karşılaştırma yapmak için kullanıldı (Çizelge 4.2). Ayrıca dış grup olarak 1 *Apodemus flavicollis* (GenBank erişim no: JX457732) örneği kullanıldı.

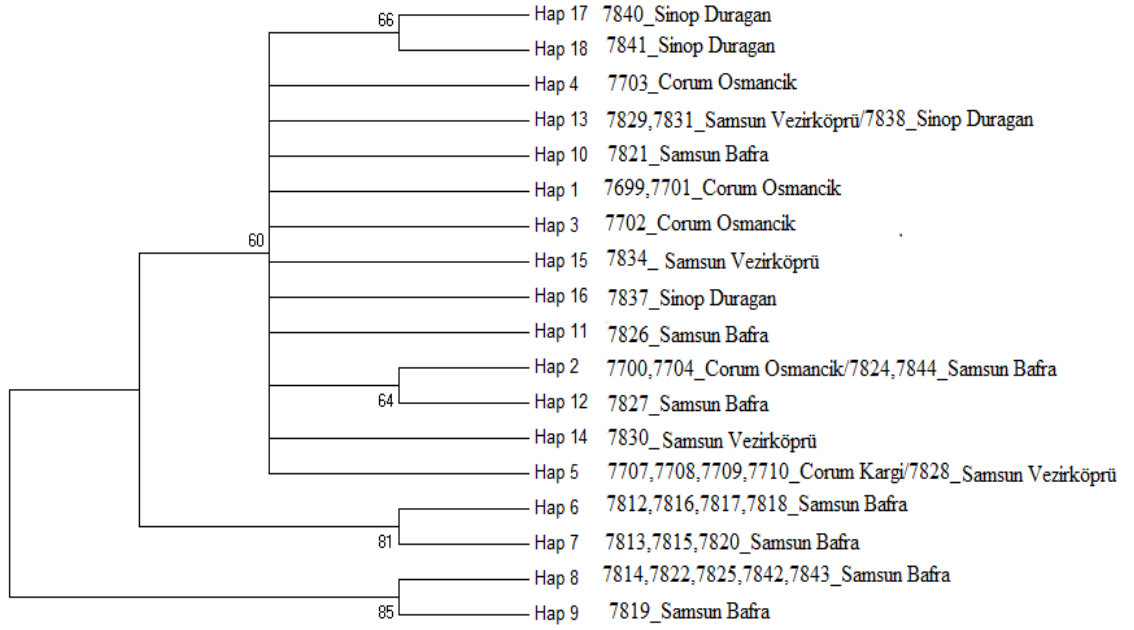
Çizelge 4.1 Tez çalışmasında elde edilen haplotipler ve bunlara ait müze numaraları

Haplotip	Örnek sayısı	Müze No
Hap 1	2	7699,7701
Hap 2	4	7700, 7704, 7824, 7844
Hap 3	1	7702
Hap 4	1	7703
Hap 5	5	7707, 7708, 7709, 7710, 7828
Hap 6	4	7812, 7816, 7817, 7818
Hap 7	3	7813, 7815, 7820
Hap 8	5	7814, 7822, 7825, 7842, 7843
Hap 9	1	7819
Hap 10	1	7821
Hap 11	1	7826
Hap 12	1	7827
Hap 13	3	7829, 7831, 7838
Hap 14	1	7830
Hap 15	1	7834
Hap 16	1	7837
Hap 17	1	7840
Hap 18	1	7841

Çizelge 4.2 GenBank'tan kullanılan diziler

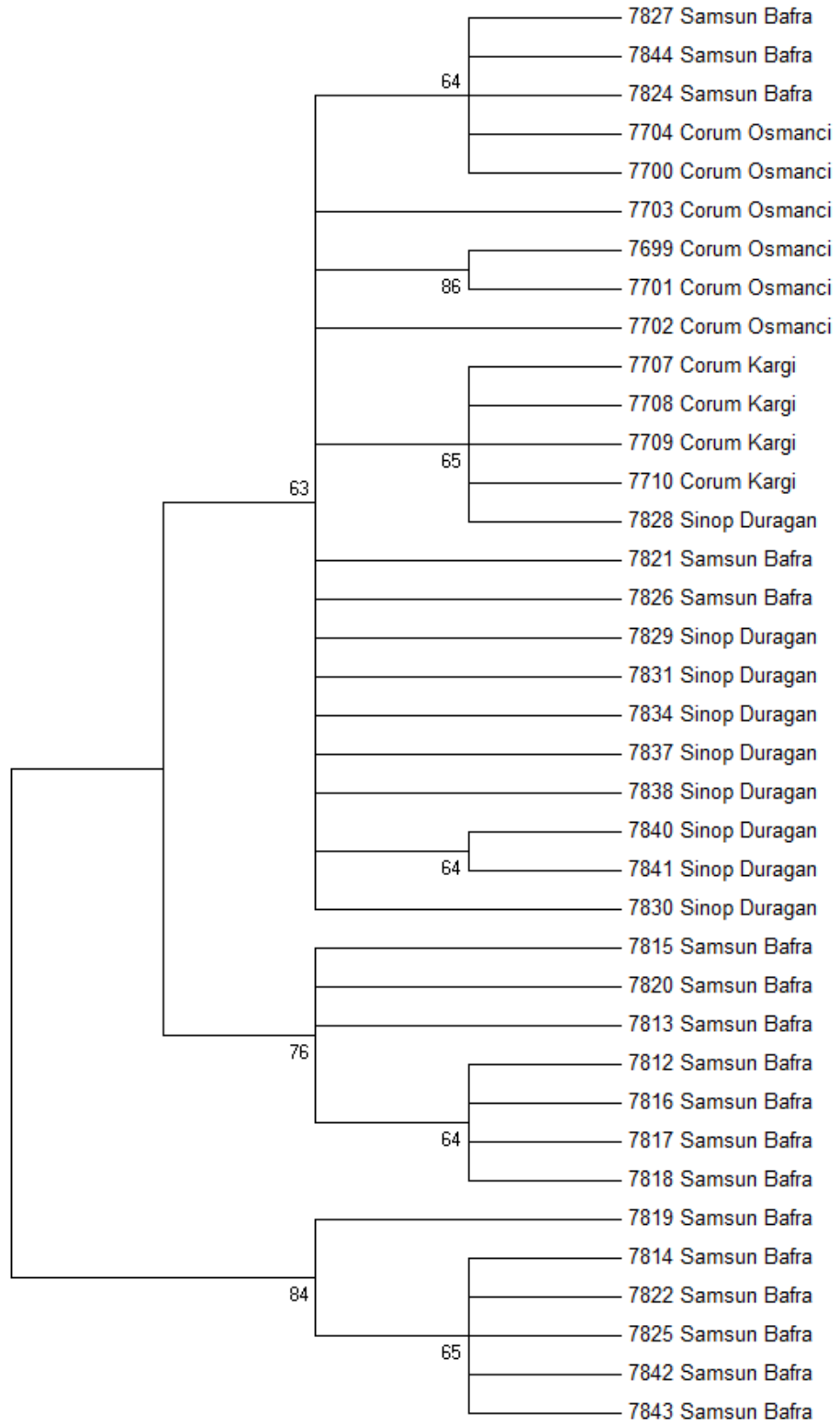
SIRA	Genbank no	TÜR İSMİ	LOKALİTE
1	KM669215	<i>Apodemus mystacinus</i>	Ordu
2	KM669216	<i>Apodemus mystacinus</i>	Ordu
3	KM669217	<i>Apodemus mystacinus</i>	Trabzon
4	KM669218	<i>Apodemus mystacinus</i>	Trabzon
5	KM669219	<i>Apodemus mystacinus</i>	Rize
6	KM669220	<i>Apodemus mystacinus</i>	Rize
7	KM669221	<i>Apodemus mystacinus</i>	Artvin
8	KM669222	<i>Apodemus mystacinus</i>	Artvin
9	KM669223	<i>Apodemus mystacinus</i>	Artvin
10	KM669224	<i>Apodemus mystacinus</i>	Artvin
11	KM669225	<i>Apodemus mystacinus</i>	Artvin
12	KM669226	<i>Apodemus mystacinus</i>	Artvin
13	KM669253	<i>Apodemus mystacinus</i>	Zonguldak
14	KM669254	<i>Apodemus mystacinus</i>	Düzce
15	KM669250	<i>Apodemus mystacinus</i>	Sebil-Mersin

Çalışmada dizi analizi yapılan 37 yeni *A. mystacinus* örneğine ait dizilerin hizalama ve budama işlemleri sonucunda *Cytb* geninin 834 baz çiftlik (bp) bölgesi analizlerde kullanıldı. Filogenetik analizlerde AIC yaklaşımına göre en uygun nükleotid değişim modeli GTR+G+I (General Time Reversible+ Gamma+Invariable site) belirlenerek ML ağaçları oluşturuldu.



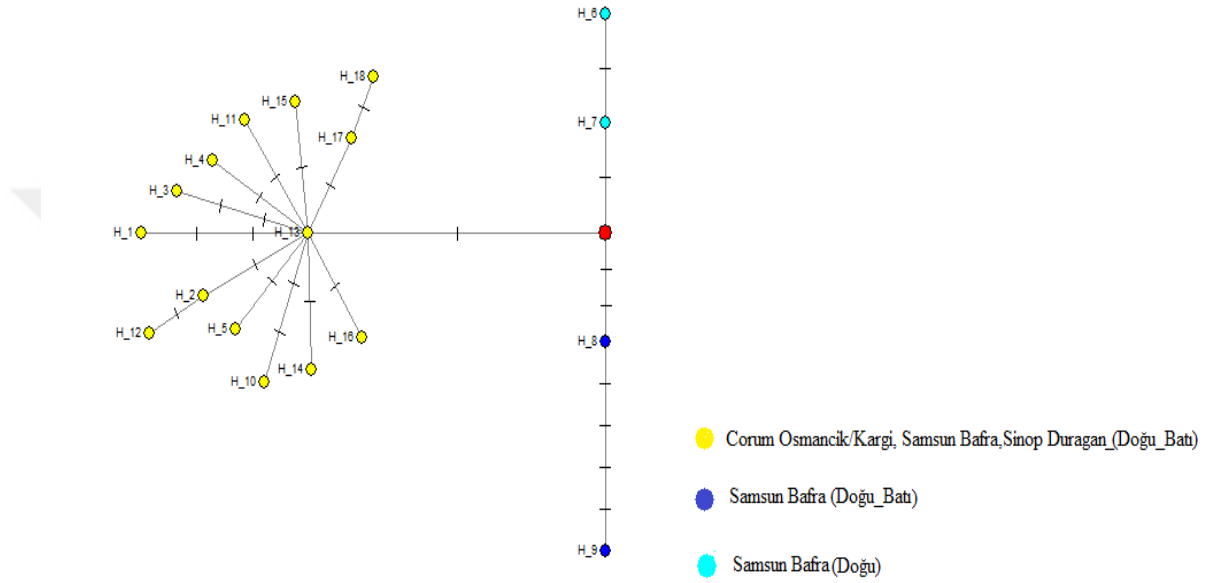
Şekil 4.1 Maksimum Likelihood yaklaşımıyla oluşturulan haplotip ağacı (Güvenirlilik oranları her bir dal üzerinde % olarak verilmiştir)

Çorum Osmancık, Sinop Durağan ve Samsun Bafra'dan, Kızılırmak'ın doğu ve batısından alınan örneklerin analizi sonucunda bireylerin, moleküler açıdan büyük bir farklılık göstermediği ve ağaçta birlikte oldukları görüldü (Şekil 4.1).



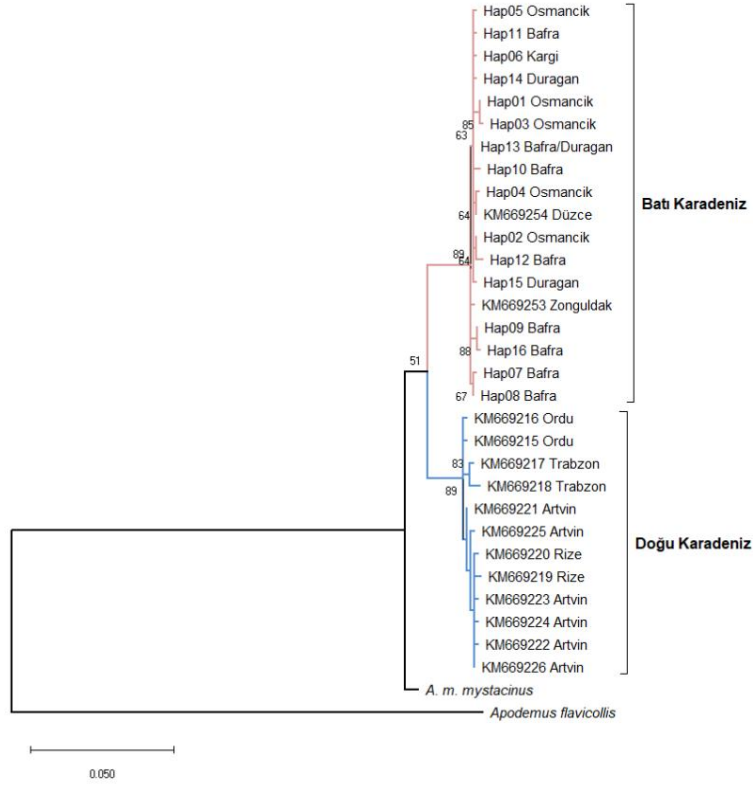
Şekil 4.2 Maksimum Likelihood yaklaşımıyla oluşturulan birey ağacı (Güvenirlilik oranları her bir dal üzerinde % olarak verilmiştir)

A. mystacinus haplotipleri arasındaki ilişki ağını ortaya koymak için oluşturulan median joining ağacında Kızılırmak Nehri'nin her iki kıyısından alınan örneklerle ait haplotiplerin yıldız benzeri bir kümelenme gösterdiği ortaya kondu (Şekil 4.3). Ağaçta örneklerin baskın haplotipinin (H-13) Sinop Durağan doğu ve batı örneklerini içerdiği gözlemlendi.

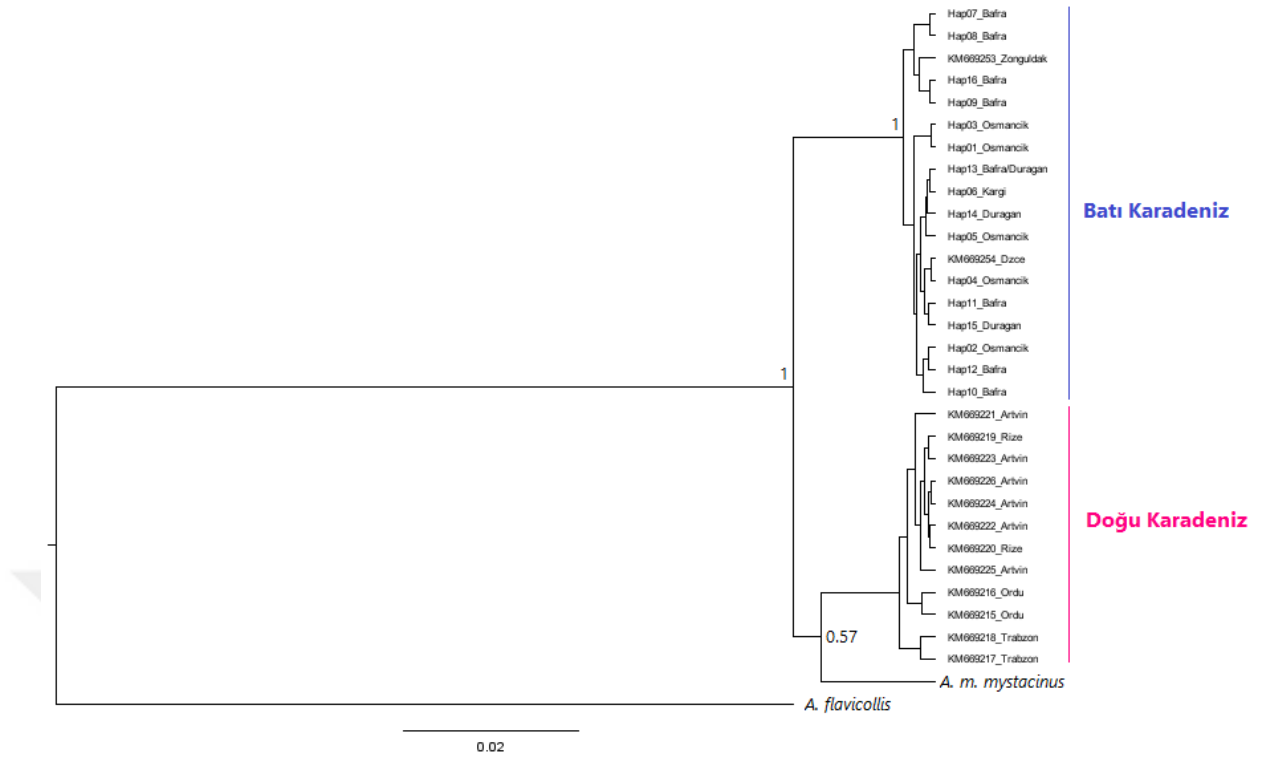


Şekil 4.3 Median-joining ilişki ağı

Genbank'tan alınan örnekler ile yapılan filogenetik analizlerde AIC yaklaşımına göre en uygun nükleotid değişim modeli HKY+G (Hasegawa-Kishino-Yano + Gamma) belirlenerek ML ve Bayesian ağaçları oluşturuldu. Buna göre hem bu çalışmada elde edilen yeni örnekler hem de GenBank'tan elde edilen dizilerle oluşturulan her iki filogenetik ağaçta da Karadeniz Bölgesi örneklerinin Doğu ve Batı Karadeniz olarak yüksek güvenilirlikle desteklenerek (ML: %51, BI: 1) iki farklı grupta toplandığı ortaya kondu. Bununla beraber Kızılırmak Nehri kıyısından elde edilen örneklerin Batı Karadeniz soy hattıyla kümelendiği görüldü. ML ve Bayesian ağaçları sonucu oluşturulan ağaçlar Şekil 4.4 ve Şekil 4.5'te verilmiştir.

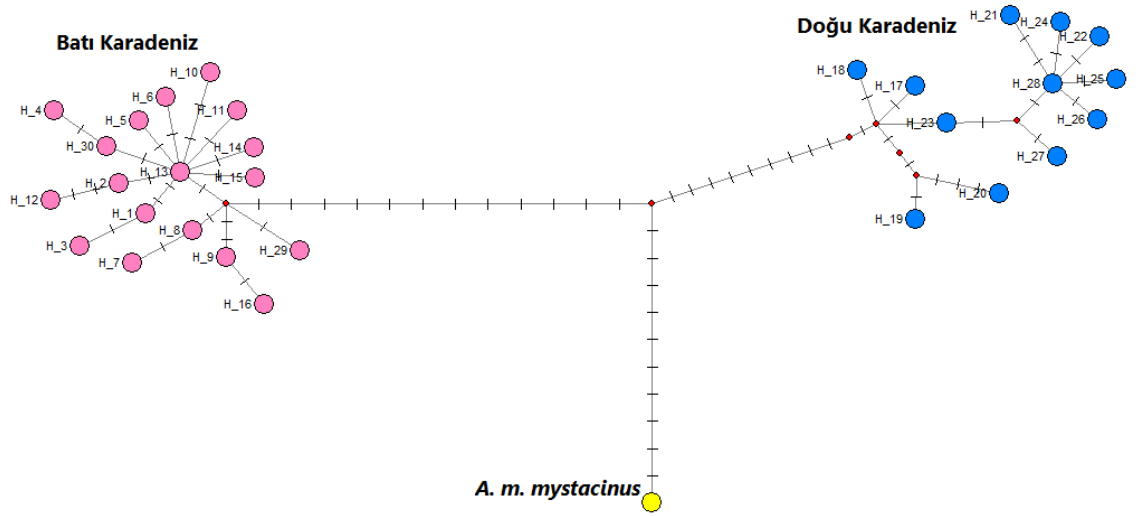


Şekil 4.4 Maksimum Likelihood yaklaşımıyla oluşturulan filogenetik ağaç (Güvenirlilik oranları her bir dal üzerinde % olarak verilmiştir)



Şekil 4.5 Bayesian MCMC yöntemiyle oluşturulan filogenetik ağaç (BI–Bayesian Inference değerleri her dal için gösterilmektedir)

A. mystacinus haplotipleri arasındaki ilişki ağını ortaya koymak için oluşturulan median joining ağacında Kızılırmak Nehri’nin her iki kıyısından alınan örneklerle ait haplotiplerin Batı Karadeniz haplotipleriyle yıldız benzeri bir kümelenme gösterdiği ortaya kondu (Şekil 4.6). Ağaçta Batı Karadeniz olarak adlandırılan örneklerin baskın haplotipinin (H-13) Bafra-Samsun ve Durağan-Sinop örneklerini içerdiği gözlemlendi.



Şekil 4.6 Median-joining ilişki ağı (Haplotipler arasındaki mutasyon sayısı çizgilerle ifade edilmiştir. *A. m. mystacinus* dış grup olarak kullanılmıştır.)

Batı Karadeniz ve Doğu Karadeniz popülasyonlarının nükleotid çeşitliliği (π) yakın olmakla birlikte Batı Karadeniz popülasyonunun nükleotid çeşitliliğinin daha az olduğu ortaya kondu (Batı Karadeniz, $\pi = \%0,32$; Doğu Karadeniz, $\pi = \%0,48$). Bunun yanında *A. mystacinus*'un Batı ve Doğu Karadeniz popülasyonları arasındaki genetik farklılaşma değeri yüksek bulundu ($K2P = \%2,9$).

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu tez çalışması Türkiye’de kemirici hayvan soy hatlarının izolasyonu üzerinde coğrafik bariyerlerin etkisini ortaya koymaya yönelik ilk çalışmalardan olmuştur. Yapılan çalışma ve analizler sonucunda türün coğrafik bariyer etkisi altında, popülasyon içi tür çeşitliliği ve tür içi varyasyon olup olmadığı verilerle ortaya koyulmuştur.

Türkiye’de ilk defa *A. mystacinus*’un soy hatları arasında gen akışını kestiği önerilen Kızılırmak’ın etkisi araştırıldı. Bunun için örneklemeler Kızılırmak’ın doğu ve batı yakalarında yapıldı. Örneklem alanı olarak güneyden kuzeye uzanan yaklaşık 150 km’lik bir nehir hattı seçildi. Üç lokalite oluşturuldu. Lokaliteler arasında en az 50 km bir mesafe oluşturuldu. Örneklemeler karşılıklı doğu ve batı şeklinde yapıldı. Örnek alınan alanlar ile nehir arasındaki mesafe 50-250 m arasında değişiklik göstermiştir. Her bir lokaliteden en az altı örnek alındı. Bu çalışmada yapılan mtDNA *cytb* dizilerinden oluşturulan ML ağaçlarında, Kızılırmak’ın hem doğusu hem de batısından alınan örneklerin *A. mystacinus*’un batı soy hattına katıldığı ve Kızılırmak’ın soy hatları arasında gen akışını kesmediği ortaya koyulmuştur. Bu sonucu destekleyen bir çalışmada Vohralik vd. (2002) Anadolu’da yayılış gösteren *A. mystacinus* popülasyonlarının morfolojik olarak homojen yapıda olduğunu ortaya koymuşlardır. Bunun aksine ise Türkiye’de morfolojik bakımdan türe ait dört alttürün yaşadığı ortaya koyulmuştur (Olgun Karacan 2013). Yapılan bu çalışmalarda, farklı olduğu tespit edilen popülasyonların yayılış sınırları ortaya koyulmamıştır.

Yakın zamanda yapılan çalışmada Olgun Karacan vd. (2021) moleküler yöntemlerle tespit edilmiş olan üç soy hattının Kızılırmak, Büyük Menderes nehirleri ve Gülek boğazı tarafından ayrılmış olabileceğini önermişlerdir. Olgun Karacan vd. (2021) *A. mystaciunus*’un doğu soy hattı ile batı soy hattı arasında ayrılma zamanının 760 bin yıl (0.641-0.702 Ma) olarak tahmin etmişlerdir. Bu ayrılma zamanı Doğan (2010) tarafından Kızılırmak havzasının oluşma zamanı sınırları içinde yer almaktadır. Doğan (2010) Kızılırmak nehri vadisinin oluşma sürecinde yaklaşık 2 milyon yıldan beri kendi

vadisini bazı yerlerde yaklaşık 160 m aşındırdığı ortaya koymuştur. Bu da Olgun Karacan vd. (2021) tarafından doğu ve batı soy hatları arasında tahmin edilen 760 bin yıllık ayrılma zamanı Doğan (2010) tarafından verilen nehir havzası oluşma zamanı sınırları içinde yer aldığı görüldü. Bu ayrılmada Pleyistosen dönemine karşılık gelmektedir. Pleyistosen dönemi önemli buzullaşma periyotlarının etkisi altında kalmıştır. Buzul dönemlerinde özellikle LGM’de (20-10 bin yıl önce) deniz seviyesinin 120 m kadar düştüğü tahmin edilmektedir. Bu su seviyelerindeki düşüşlerin nehirleri de etkilediği ve nehirlerin kuruduğu ve hayvan geçişlerine izin verdiği ortaya koyulmuştur (Doğan 2010). Olgun Karacan vd. (2021) *A. mystacinus* doğu ve batı soy hatları için doğuda ve batıda buzul sığınaklarının olabileceği ve buzul arası dönemlerde buzul sığınağından değişik yönler genişlemenin olduğunu ve Doğan (2010, 2011)’e atıf yaparak bu genişlemenin önünde Kızılırmak nehrinin fiziki bir bariyer olarak engel olabileceğini önermişlerdir. Yapılan bu tez çalışmasında ise Kızılırmak nehrinin *A. mystacinus*’un batı mtDNA *Cytb* soy hattının doğuya genişlemesi önünde bir engel teşkil etmediği görüldü. Bu durumda *A. mystacinus*’un doğu ve batı soy hatları arasındaki gen akışını kesen engelin ekolojik, vejetasyon, topografik ve iklim özelliklerinin bir karışımının oluşturabileceği bir zonun varlığını akla getirmektedir. Böyle bir alanın da doğu soy hattının en batı ucunda yer alan Ordu ile batı soy hattının en doğu ucunda yer alan Vezirköprü (Samsun)-Asar, Bafra (Samsun) arasında uzanan hattın arasında bir yerde olabileceği tahmin edilmektedir. Bunun yanında bu tez çalışmasında doğu ve batı soy hatları arasında muhtemel bir çakışma (simpatri) ya da melez bölgenin olabileceği önerilmektedir.

Bu tez çalışmasında yapılan önerilerin yapılan bazı çalışmalarda da önerildiği tespit edildi (Wielstra vd. 2010, 2013, 2017, Dufresnes vd. 2019, Üzümlü vd. 2019, Riemsdijk vd. 2017, 2022). Bu araştırmacılar kuzey batı Karadeniz ve orta Karadeniz bölgelerinde kurbağa ve semender popülasyonları arasında temas bölgelerinin olabileceğini ileri sürmüşlerdir. Altun vd. (2018) *COI* ve *nCTB* kullanarak *Bombus lapidarius* üzerinde yaptıkları çalışmada Karadeniz bölgesinde doğu ve batı soy hattı şeklinde farklılaşmanın olduğunu ortaya koymuşlardır. Ayrıca araştırmacılar, batı popülasyonlarının son türemiş popülasyonlar olduğunu önermişlerdir. Araştırmacılar

Tokat popölasyonlarının doğu ve batı popölasyonları arasında bir geçiş sergilediğini tespit etmişlerdir.

Bu çalışmalara ek olarak Helvacı vd. (2012) *Glis glis* üzerinde yapmış olduğu çalışmada Melet ırmağının *G. glis*'te doğu ve batı şeklinde popölasyon farklılaşmasına yol açmış olabileceğini ortaya koymuşlardır. Helvacı vd. (2012) batı Karadeniz (Zonguldak) morfolojik olarak inceledikleri *G. glis* örneklerinin hem Trakya hem de kuzey Doğu Türkiye morfotiplerine benzediğini belirterek bunun da bu bölgenin doğu ve batı popölasyonları için temas alanı olabileceğini önermişlerdir. Araştırıcılar *G. glis*'in farklılaşan iki grubunun varlığını dikkate alarak elde ettikleri sonuçların batı Karadenizde kıyı boyunca bir çakışma zonunu desteklediğini belirtmişlerdir. Araştırıcılar orta Karadeniz kıyı (Ordu) popölasyonunun doğu Karadeniz'in kolşik lokalitelerinden (Trabzon, Rize, Artvin, Ardahan) ayrıldığını ortaya koymuşlardır. Araştırıcılar doğu ve batı şeklinde ayrılmanın sebepleri ekolojik, vegetasyon ve iklimsel özelliklerin karma etkisinin olabileceğini ileri sürmüşlerdir.

Türkiye dışında yapılan çalışmalarda *M. glareolus* mtDNA *cytb* soy hatları arasında gen akışının kesilme nedeninin ekolojik farklılaşmalar olduğu vurgulanmıştır. Bu çalışmalardan en önemlisi ise Polonya'da yapılmıştır. Polonya'da mtDNA *cyt b* gen bölgesi dizileri kullanılarak yapılan çalışmalarda ekolojik koşulların *Myodes glareolus*'un soy hatları arasındaki gen akışını kestiği ortaya konmuştur. Polonya'da yapılan bu çalışmaları daha sonra yeni çalışmalar izlemiş ve farklı genetik belirteçler kullanılarak soy hatları arasında melez bölgeler tespit edilmiştir (Tarnowska vd. 2016).

Kankılıç vd. (2013) tarafından yapılan çalışmada *Nannospalax nehringi*'ye ait iki karyotipik soy hattının ayrılmasında Kızılırmak Nehri'nin coğrafik bir bariyer olabileceği önerilmiştir. Selvi (2019) tarafından *Apodemus* cinsi üzerine yapılan tez çalışmasında *A. mystacinus*'un Sitokrom *b* için toplam 18 haplotip belirlenmiştir. *A. mystacinus*'un Batı Karadeniz ve Orta/Doğu Karadeniz popölasyonları şeklinde iki soy

hattı oluşturduğu ve bu iki soy arasında haplotip paylaşımı olmadığı belirtilmiştir. Düşük nükleotid çeşitliliği ve yüksek haplotip çeşitliliği ile popülasyonların genişlemediği aksine sabit olduğu ifade edilmiştir. Kimura-2 parametresine göre belirlenen genetik mesafe değeri ile genetik soy hatları arasında orta seviyede bir farklılaşmanın olduğu ortaya konmuştur. *A. mystacinus*' un her iki genetik soy hattı arasındaki gen akışının kesilmesinde coğrafik bariyer olarak Kızılırmak deltası ve Ilgaz Dağları'nın sebep olduğu düşünülmüştür. Kızılırmak nehrinin, yapılan bu iki çalışmada gen akışını keserek iki soy hattı oluşmasında büyük rol oynadığı ifade edilmiştir. Fakat bu tez çalışmasında, Kızılırmak nehrinin doğu ve batı yakasından toplanan *A.mystacinus* örneklerinin birlikte olduğu ve gen akışının kesilmediği sonucuna varılmıştır.

Türkiye'de bulunan nehir ve kanyon sistemlerinden en önemlilerinden biri de Çoruh nehri ve kanyonudur. Yapılan bazı araştırmalarda Çoruh nehrinin hayvan popülasyonları arasında gen akışını kestiği ortaya konmuştur (Sağlam vd. 2014, Kankılıç vd. 2018). Sağlam vd. (2014) Hatalı yaylası, Beyazsu yaylası ve Madenli köylerinden almış oldukları *Phonochorion* (*Orthoptera*) örneklerini mtDNA ND4 ve mtDNA *cytb* gen bölgeleri haplotiplerine dayanarak analiz etmişlerdir. Araştırmacılar *P. satunini*, *P. artviensis* ve *P. uvarovi* soy hatlarını ortaya koyarak, haplotip ve nükleotid çeşitliliğinin batı soy hattında en yüksek olduğunu doğuya doğru ise azaldığını ortaya koymuşlardır. Araştırmacılar Çoruh kanyonunun doğu ve batısında farklı iki evrimsel soy hattının olduğunu ortaya koymuşlardır. Araştırmacılar doğu ve batı soy hatlarının ayrılma zamanını 3.7-8.5 Myö arasında tahmin etmişlerdir. Araştırmacılar soy hatlarının farklılaşmasının Çoruh kanyonunun açılma zamanına denk geldiğini ileri sürmüşlerdir. Araştırmacılar bütün soy hatları arasında ya da içinde farklılaşmanın 870-90 yıl aralığında gerçekleştiğini bu dönemin de yoğun buzulaşmanın olduğu orta Pleyistosen dönemine karşılık geldiğini ortaya koymuşlardır. Sağlam vd. (2014) Çoruh nehrinin iki ana soy hattını ayırmış olabileceğini ileri sürmesine karşın araştırmacıların incelediği örneklerin lokalitelerinin Çoruh kanyonundan oldukça uzakta olduğu görülmektedir. Yapılan bu çalışmalarda, örnek toplanan lokalitelerin Çoruh kanyonuna uzaklığı sebebiyle gen akışını kesmiş olabileceğini önermişlerdir. Bu tez çalışmasında ise Kızılırmak nehrinin

doğu ve batı yakalarındaki örneklerin birbirine daha yakın mesafeden toplanması sebebiyle gen akışını kesmediği sonucunu düşündürmektedir.

Olgun Karacan vd. (2021) tarafından önerilen Kızılırmak nehrinin *A. mystacinus*'un kuzey Anadolu'daki iki soy hattı arasında muhtemel coğrafik bariyer önerisi bu tez çalışmasında test edildi ve Kızılırmak nehrinin *A. mystacinus*'un doğu ve batı soy hatları arasında gen akışını kesmediği ortaya koyuldu. Olgun Karacan vd. (2021) tarafından da belirtildiği gibi iki soy hattının ayrılmasında ekolojik uyumsuzlukların etkili olabileceği bu tez çalışmasında da önerilmektedir. Bu tez çalışmasında yapılan bu öneri Helvacı vd. (2012) tarafından *G. glis* popülasyonları üzerindeki ekolojik farklılıkların da etkili olabileceği şeklindeki önerisiyle uyum içinde olduğu görüldü. Kankılıç vd. (2018) *Dryomys nitedula* üzerinde yapmış oldukları çalışmada Sağlam vd (2014) tarafından yapılan çalışmada olduğu gibi Çoruh nehri kanyonunun *D. nitedula*'nın iki soy hattını ayırmış olabileceğini ileri sürmüşlerdir. Sağlam vd. (2014) tarafından yapılan çalışmada olduğu gibi Kankılıç vd (2018) tarafından incelenen örneklerin Çoruh kanyonuna uzak olduğu görülmektedir. Bu da bölgedeki nehir ve kanyonların soy hatları arasındaki gen akışını kestiği hipotezini tartışılır duruma getirmektedir. Bu tez çalışmasında *A. mystacinus*'un iki soy hattının ayrılmasında Kızılırmak nehrinin muhtemel bir etkisinin olmaması, bölgede soy hatlarının ayrılmasında Pleyistosen dönemi sığınaklarından popülasyon genişlemesi ve habitat özelliklerinin de dikkate alınması önerilmektedir. Bu tez çalışmasında önerildiği gibi Tarkhishvili vd. (2008) Kafkas semenderi *Mertensiella caucasica*'nın iki soy hattının farklılaşmasında habitatların parçalanmasından daha ziyade farklı iklimsel gereksinimlerin etkili olduğunu ortaya koymuşlardır. Çolak vd. (2016) bu tez çalışmasında elde edilen sonucun aksine sonuçlar elde etmişlerdir. Çolak vd. (2016) *Myodes glareolus* kuzey Anadolu popülasyonlarının mtDNA *cytb* gen bölgesi analizini yaparak bölgede doğu ve batı olmak üzere türün iki soy hattının yaşadığını ortaya koymuşlardır. Araştırmacılar yapmış oldukları analiz sonucunda doğu soy hattının en batısında bulunan Çakallı'dan (Samsun) aldıkları örneklerin doğu soy hattı içinde yer aldığını tespit etmişlerdir. Araştırmacılar Kızılırmak Deltası'nın orman habitatını kesintiye uğrattığını bunun sonucu olarak da popülasyonlar arası gen akışının kesintiye uğramış olabileceğini ve Kızılırmak Vadisi'nin *M. glareolus*'un iki soy hattını ayırdığını

önermişlerdir. Bu tez çalışmasında çalışılan *A. mystacinus* kayalık alanlara özelleştiği halde *M. glareolus* ise kayın ormanlarının dominant olduğu spesifik habitatlara uyum sağlamışlardır. Bu bakımlardan her iki türü de habitat farklılıkları etkilemiş olabilir. Kuzey Anadolu bölgesinde yaşayan bir başka memeli hayvan türü ise *Muscardinus avellanarius*'tur. Bu tür Gliridae familyası mensubudur ve kış uykusuna yatmaktadır. Türün bu özelliği türün iklim değişikliklerinden etkilenebileceğini göstermektedir. Bu tür üzerinde yapılan morfolojik çalışmalar sonucunda Kızılırmak nehrinin doğusu ve batısı olabilecek şekilde Kıvanç (1983) doğu ve batı olmak üzere türe ait iki farklı alttürün tanımını yapmıştır. Bunu takiben yapılan çalışmalarda (Kocaay 2019) Kızılırmak Nehri'nin doğusunda ve batısında iki farklı soy hattının varlığını ortaya koyarak Kıvanç (1983) tarafından tanımlanan alttürlerin geçerliliğini teyit etmişlerdir. Bu çalışmalarda (Kocaay 2019) yapılan örneklemelerde Karabük'ten Ordu'ya kadar uzanan alanlardan örnek elde edilememiştir. Gerek *M. glareolus* gerekse *M. avellanarius* orman türleridir ve *A. mystacinus*'ta olduğu gibi habitatları özeldir.

Bu tez çalışmasında Kızılırmak nehrinin *A. mystacinus* soy hatları arasında gen akışını kesmediği sonucuna varılmıştır. Bundan sonra yapılabilecek daha detaylı çalışmalar soy hatları arasında muhtemel hibrit bölgelerinin varlığını ortaya koyabilir.

KAYNAKLAR

- Akkan, E. 1970. Bafra Burnu-Delice Kavşağı Arasında Kızılırmak Vadisinin Jeomorfolojisi, A.Ü. DTCTF Yay. No: 191, Ankara. Ardos, M., 1996, Türkiye’de Kuaterner Jeomorfolojisi, Çantay Kitabevi Yay., İstanbul.
- Altun, B.T., Korkmaz, E.M., Başbüyük, H.H. 2018. Anadolu Bombus Lapidarius L. (Apidae: Hymenoptera) Popülasyonlarının Genetik Yapılanması. Anadolu Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi C- Yaşam Bilimleri ve Biyoteknoloji, 7 (2), 180-195.
- Amori, G., Hutterer, R., Kryštufek, B., Yigit, N., Mitsainas, G. & Muñoz, L. 2021. *Apodemus mystacinus* (amended version of 2016 assessment). The IUCN Red List of Threatened Species 2021:e.T1898A197270494.
- Anonymous. 2003. Web sitesi: <https://stringfixer.com/tr/Rodent>. Erişim Tarihi: 18.06.2022.
- Anonymous. 2003. Web sitesi: <https://stringfixer.com/tr/Teeth>. Erişim Tarihi: 19.07.2022.
- Anonymous. 2005. Web sitesi: https://www.mun.ca/biology/scarr/mtDNA_Cytb.htm. Erişim tarihi: 19.06.2022.
- Anonymous. 2008. Web sitesi: <https://mammal2015.weebly.com/classification.html>. Erişim tarihi: 18.06.2022.
- Anonymous. 2022. Web sitesi: <http://www.helsinki.fi/science/now>. Erişim Tarihi: 10.06.2022.
- Anonymous. 2022. Web sitesi: <https://rare-gallery.com/968365-squirrel-animals-mammals-sciuridae.html>. Erişim tarihi: 19.07.2022.
- Bandelt, H. J., Forster, P. ve Röhl, A. 1999. Median-Joining Networks for Inferring Intraspecific Phylogenies. Molecular Biology and Evolution, 16, 37–48.
- Buckie, A.P. ve Smith, R.H., 1994. Rodent Pets and Their Control. CAB int. Press, Bulletins Société Géologique France, 7, 431– 439, 405p, London.
- Britannica.2020.Websitesi: <https://www.britannica.comhttps://www.britannica.com/science/polymerase-chain-reaction>. Erişim tarihi: 16.06.2022.
- Calvo SE, Clauser KR, Mootha VK. 2016. MitoCarta2.0: An updated inventory of Mammalian mitochondrial proteins. Nucleic Acids Res, 44, 1251-1257.

- Castresana, J. 2001. Cytochrome b phylogeny and the taxonomy of great apes and mammals. *Molecular Biology and Evolution*, 18(4), 465-471.
- Ceyhan, Z. 2007. Doğu Karadeniz Bölgesinde yayılış gösteren *Apodemus* Kaup, 1829 (Mammalia: Rodentia) cinsinin morfolojik analizi. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Biyoloji Anabilim Dalı, 51, Ankara.
- Corbet, G.B. ve Southern, H.N., 1977. The Handbook of British Mammals, Second Edition. Blackwell Scientific Publications, 560 p, Oxford.
- Corbet, G.B. 1978. The Mammals of the Palaearctic region: A taxonomic review. British Museum (Natural History), 314 pp, London.
- Crimi, M., Degli Esposti, M., De Vries S., Ghelli, A., Patarnello, T., Meyer, A. 1993. Mitochondrial cytochrome b: evolution and structure of the protein. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*, 1143(3), 243-271.
- Çiner, A., Doğan, U., Yıldırım, C., Akçar, N., IvyOchs, S., Alfimov, V., Kubik, P.W. and Schlüchter, C., 2015. Quaternary uplift rates of the Central Anatolian Plateau, Turkey: insights from cosmogenic isochron-burial nuclide dating of the Kızılırmak River terraces. *Quaternary Science Reviews*, 107, 81-97.
- Çolak, R. 2002. Electrophoretic Aspects of Blood Serum Proteins of the Genus *Apodemus* in the Black Sea Region, Turkish. *J. of Biology*, 26, 125-131.
- Çolak, E., Yiğit, N., Çolak, R., Sözen, M., Özkurt, Ş., Kankılıç, T. 2004. Taxonomic Status and Distribution of *Apodemus mystacinus* (Danford and Alston, 1877) (Mammalia: Rodentia) in Turkey. *Turkish Journal of Zoology*, 28, 285-294.
- Çolak, R., Kandemir, İ., Çolak, E., Yiğit, N. 2007. Esterase Variation in Rocky Mouse, *Apodemus mystacinus* (Danford and Alston, 1877) (Mammalia: Rodentia) in Turkey. *Acta Zoologica Bulgarica*, 59 (1), 47-52.
- Çolak, R., Olgun Karacan, G., Kandemir, İ., Çolak, E., Kankılıç, T., Yigit N. & Michaux, J. 2016. Genetic variations of Turkish bank vole, *Myodes glareolus* (Mammalia: Rodentia) inferred from mtDNA, Mitochondrial DNA Part A 27:6,4372-4379.
- Demir, T., Yeşilnacar, İ., Westaway, R. 2004. River terrace sequences in Turkey: sources of evidence for lateral variations in regional uplift. *Proceedings of the Geologists' Association*, 115(4), 289-311.
- Doğan, B. 2010. Kuzey Anadolu Fay Sistemi Güney Kolunun Geyve- Gemlik Arasındaki Kesiminin Morfotektonik, Tektonostratigrafik ve Paleosismolojik evrimi. İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Jeoloji Mühendisliği Ana Bilim Dalı, 288, İstanbul.

- Doğan, B., Tuysuz, O. 2011. Kuzey Anadolu Fay Sistemi Güney Kolunun Geyve-Gemlik Arasındaki Kesiminin Tektonostratigrafik Tarihçesi, İtü Dergisi / Tı Mühendislik, 10(4), 107- 118, İstanbul.
- Doğan, U., Şenku, Ç. 2017. Kızılırmak nehri'nin drenaj sistemi ne zaman ve nasıl oluştu? ,70. Türkiye Jeoloji Kurultayı Bildiri Özleri, 378-379, Ankara.
- Doyle, J.J. ve Doyle, J.L. 1991. Isolation of plant DNA from fresh tissue. Focus, 12(1), 13-15.
- Dufresnes, C., Strachinis, I., Suriadna, N., Mykytynets, G., Cogălniceanu, D., Székely, P., Denoël, M. 2019. Phylogeography of a cryptic speciation continuum in Eurasian spadefoot toads (Pelobates). Molecular Ecology, 28(13); 3257-3270.
- Ellerman, J.R. 1948. Key to the Rodents of Southwest Asia in the British Museum Collection. Proc. Zool. Soc., 118, 765–816.
- Ellerman, J.R. and Morrison-Scott, T.C.S. 1951. Checklist of Palaearctic and Indian Mammals, Brit. Mus. Nat. Hist., 1758-1946, 810 pp, London.
- Filippucci, M.G., Macholán, M., Michaux J. R. 2002. Genetic Variation and Evolution in the genus *Apodemus* (Muridae: Rodentia). Biological Journal of the Linnean Society, 75(3), 395- 419
- Graff G. 2011. Web sitesi:<https://www.doccheck.com/en/detail/photos/5957-human-mitochondrial-dna> . Erişim Tarihi: 03.06.2022.
- Gyllensten, U. and Wilson, A.C. 1987. Interspecific mitochondrial DNA transfer and the colonization of Scandinavia by mice. Genetical Research Cambridge, 49, 25-29.
- Hall, T.A. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment, editor and analysis program for Windows 95/98/ NT. Nucleic Acids Symposium Series, 41, 95–98.
- Helvacı, Z., Renaud, S., Ledevin, R., Adriaens, D., Michaux, J., Çolak, R., Kankılıç, T., Kandemir, İ., Yiğit, N., Çolak, E. 2012. Morphometric and genetic structure of the edible dormouse (*Glis glis*): a consequence of forest fragmentation in Turkey. Biological Journal of the Linnean Society, 107, 611-623.
- Irwin, D.M., Kocher, T.D., Wilson A.C. 1991. Evolution of the Cytochrome-B Gene of Mammals. Journal of Molecular Evolution, 32, 128–144.
- Kankılıç, T., Çolak, E., Kankılıç, T., Sözen, M. 2013. Genetic Diversity and Geographic Variation of Chromosomal races of *Nannospalax xanthodon* (Nordmann, 1840) and *Nannospalax ehrenbergi* (Nehring, 1898) from Turkey, Revealed by RAPD Analysis. Acta Zoologica Bulgarica, 65(1), 45-58.

- Kankılıç, T., Arslan, A., Şeker, P.S., Kankılıç, T., Toyran, K., Zima, J. 2017. A new chromosomal race (2n=44) of *Nannospalax xanthodon* from Turkey (Mammalia: Rodentia). *Zoology in the Middle East*, 36(3), 181-188.
- Kankılıç, T., Şeker, P.S., Erdik, A.C., Kankılıç, T., Selvi, E., Yiğit, N. and Çolak E. 2018. Determination of genetic variations in the genus *Dryomys* Thomas, 1906 (Rodentia: Gliridae) distributed in Turkey using NADH dehydrogenase 1 (ND1) gene. *Mitochondrial DNA Part A*, Vol. 29, No. 6, 933-942.
- Kankılıç, T., Şeker, P.S., Aydın, B., Altunbaş, D., Selvi, E., Yiğit, N. and Çolak E. 2019. Nuclear and organelle genes based phylogeny of *Dryomys* (Gliridae, Rodentia, Mammalia) from Turkey. *Acta zoologica academicae scientiarum Hungaricae: an international journal of animal taxonomy and ecology*, 65(4), 399-413.
- Kivanç, E. (1983). Die Haselmaus, *Muscardinus avellanarius* L. *Bonn. zool. Beitr*, 34(4), 419.
- Kocaay, M. 2019. Türkiye’de yayılış gösteren *Muscardinus avellanarius* Linnaeus, 1758 (Mammalia: Rodentia) populasyonlarında nükleer Dna Apolipoprotein B (APOB) ve mitokondriyal DNA NADH dehidrojenaz alt ünite 1 (ND1) gen bölgelerinin analizi. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Biyoloji Anabilim Dalı, 95, Ankara.
- Kryštufek, B. ve Vohralik, V. 2005. Mammals of Turkey and Cyprus Rodentia 1: Sciuridae, Dipodidae, Gliridae, Arvicolinae. *Zgodovinsko društvo za južno Primorsko*, 3, 105-143, Koper.
- Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C. ve Tamura, K. 2018. MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms. *Mol Biol Evol.*, 35, 1547-1549.
- Kvist, L., Martens, J., Nazarenko, A.A., Orell, M. 2003. Paternal Leakage of mitochondrial DNA in the great Tit (*Parus major*). *Molecular Biology and Evolution*, 20, 243-247.
- Macdonald, D.W., Barrett, P., 1993. *Mammals of Europe*. Princeton University Press, 312p, Oxford.
- Martin-Suárez, E. and Mein, P. 1998. Revision of the genera *Parapodemus*, *Apodemus*, *Rhagamys* and *Rhagapodemus* (Rodentia, Mammalia). *Geobios*, 31(1), 87-97.
- Mergenci, A.D. 2009. Ankara-Bolu-Zonguldak Hattında yayılış gösteren *Apodemus Kaup*, 1829 (Mammalia: Rodentia) cinsinin morfolojik analizi. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 102, Ankara.

- Mezhzherin, S.V. 1997. Revision of mice genus *Apodemus* (Rodentia, Muridae) of Northern Eurasia. Vestnik Zool., Kiev 31(4), 29-41 (in Russian, English summary).
- Michaux, J., Pasquier, L. 1974. Dynamique des populations de Mulots (Rodentia, *Apodemus*) en Europe durant le Quaternaire; premieres donnees. Bulletin de la Société géologique de France, 7(4); 431-439.
- Michaux, J., Aguilar, J. P., Montuire, S., Wolff, A., Legendre, S. 1997. Les Murinae (Rodentia, Mammalia) néogènes du Sud de la France: évolution et paléoenvironnements. Geobios, 30, 379-385.
- Miller, G. ve Gidley, J., 1918. Synopsis of Supergeneric Groups of Rodents. Journal of the Washington Academy of Science, 8, 431-448.
- Musser, G.G., Carleton, M.D. 1993. Rodentia: Sciurognathi: Muridae: Spalacinae. Mammals of the world: a taxonomic and geographic reference. 2nd ed. In: Wilson, D.E., Reeder, D.A.M., eds. Smithsonian Institution Press, Washington, pp. 753–755.
- Neuhäuser, G. 1936. Die Muriden von Kleinasien. Zeit. Säugetierk., 158-236, II, p. Leipzig.
- Nowak, R., 1999. Walker's Mammals of the World. Johns Hopkins University Press, 1936p, London.
- Okay, A. I., Tüysüz, O., 1999. Tethyan sutures of northern Turkey. Geological Society, London, Special Publications, 156 (1), 475-515.
- Olgun, G., Çolak, R., Kandemir, İ., Çolak, E., Yiğit, N. 2009. Genetic variation in Rocky Mouse, *Apodemus mystacinus* (Danford & Alston 1877) (Mammalia: Rodentia) in Turkey. Acta Zoologica Bulgarica, 61(2), 123-129.
- Olgun Karacan, G. 2013. Türkiye'deki *Apodemus mystacinus* (Mammalia: Rodentia)'un Mtdna (sitokrom *b* ve kontrol bölgesi) RFLP ve DNA dizi analizi. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi (yayınlanmamış), Biyoloji Anabilim Dalı, 171, Ankara.
- Olgun Karacan, G., Çolak, R., Çolak, E. 2015. Determination of genetic variations between *Apodemus mystacinus* populations distributed in Turkey inferred from mtDNA PCR–RFLP. Turkish Journal of Zoology, 39, 630-642.
- Olgun Karacan, G., Beteş, D. 2019. Determination of Genetic Diversity in *Apodemus mystacinus* (Mammalia: Rodentia) based on SSRs. Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 9(2), 1098-1108.

- Olgun Karacan G., Çolak R., Çolak, E. 2021. The roles of possible geographic barriers and geological events on the phylogeographic structure of the Eastern broad toothed field mouse (*Apodemus mystacinus*). *Mammalia*, 85(5), 401-411.
- Rangin, C., Bader A.G., Pascal, G., Ecevitoglu B., Görür, N. 2002. Deep structure of the Mid Black Sea High (offshore Turkey) imaged by multi-channel seismic survey. *Marine Geology*, 182; 265-278.
- Riemsdijk, I.V., Arntzen, J.W., Bogaerts, S., Franzen, M., Litvinchuk, S.N., Kurtuluş, O. ve Wielstra, B. 2017. The Near East as a cradle of biodiversity: A phylogeography of banded newts (genus *Ommatotriton*) reveals extensive inter- and intraspecific genetic differentiation. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 114, 73–81.
- Riemsdijk, I.V., Arntzen, J.W., Bogaerts, S., Franzen, M., Litvinchuk, S.N., Kurtuluş, O., Babik, W., Kalaentzis, K., Wielstra, B. ve Wijnands P.M. 2022. Next-generation phylogeography of the banded newts (*Ommatotriton*): A phylogenetic hypothesis for three ancient species with geographically restricted interspecific gene flow and deep intraspecific genetic structure. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 167, 1-9.
- Robert, B. 2009. *Molecular Mechanisms of Photosynthesis*. Blackwell Publishing, 124–132.
- Rozas, J., Ferrer-Mata, A., Sánchez-DelBarrio, J. C., Guirao-Rico, S., Librado, P., Ramos-Onsins, S. E. ve Sánchez-Gracia, A. 2017. DnaSP 6: DNA Sequence Polymorphism Analysis of Large Datasets. *Mol Biol Evol.*, 34, 3299-3302.
- Sagan, L. 1967. On the origin of mitosing cells. *J Theoret. Biol* 14, 225-74.
- Sağlam, K.İ., Küçükyıldırım, S., Çağlar, S.S. 2014. Diversification of montane species via elevation shifts: the case of the Kaçkar cricket *Phonochorion* (Orthoptera). *J Zoolog Syst Evol Res*, 52(3), 177-189.
- Saiki, R. K., S. Scharf, F. Faloona, K. B. Mullis, G. T. Horn, H. A. Erlich and N. Arnheim. 1985. Enzymatic amplification of B-globulin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. *Science*, 230,1350-1354.
- Schwartz, M. and Vissing, J. 2002. Paternal inheritance of mitochondrial DNA. *New England Journal of Medicine*, 347, 576-580.
- Selvi, E. 2019. Kuzey Anadolu ve Trakya'daki *Apodemus* Kaup, 1829 (Mammalia: Rodentia) cinsine ait türlerin mitokondriyal dna (sitokrom *b* ve kontrol bölgesi) analizi. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Biyoloji Anabilim Dalı, 199, Ankara.

- Southern, S.O., Southern, J.P., Dizon, A.E. 1988. Molecular characterization of a cloned dolphin mitochondrial genome. *Journal of Molecular Evolution*, 28 (1/2), 32 – 42.
- Sullivan, K. M., Hopgood, R., Gill, P. 1992. Identification of human remains by amplification and automated sequencing of mitochondrial DNA. *International journal of legal medicine*, 105(2), 83-86.
- Şengör, A.M.C., Tüysüz, O., İmren, C., Sakıncı, M., Eyidoğan, H., Görür, N., Le Pichon, X., Rangin, C. 2005. The North Anatolian Fault: A new look. *Annu. Rev. Earth Planet. Sci.*, 33, 37-112.
- Şoroğlu, V.C., Berkay, E.G., Vural, B. 2021. Mitokondriyal DNA, Anaerkil Kalıtım ve İnsan. *Sağlık Bilimlerinde İleri Araştırmalar Dergisi*, 4(2), 66-68.
- Tarkhnishvili, D., Kaya, U., Gavashelishvili, A., Serbinova, I. 2008. Ecological divergence between two evolutionary lineages of the Caucasian Salamander: Evidence from the GIS analysis. *Herpetol J.*, 18, 155–163.
- Tarnowska, E., Niedziałkowska, M., Gerc, J., Korbut, Z., Gorny, M., Jędrzejewska, B. 2016. Spatial distribution of the Carpathian and Eastern mtDNA lineages of the bank vole in their contact zone relates to environmental conditions. *Biological Journal of the Linnean Society*, 119(3); 732-744, Poland.
- Üzüm, N., Avcı, A., Olgun, K., Bülbül, U., Fahrbach, M., Litvinchuk, S.N., Wielstra, B. 2019. Cracking cryptic species: external characters to distinguish two recently recognized banded newt species (*Ommatotriton ophryticus* and *O. nesterovi*). *Salamandra*, 55, 131–134.
- Vohralík V, Frynta D, Mikulová P, Benda P, Nova P. 2002. Multivariate morphometrics of *Apodemus mystacinus* in the Near east and its divergence from European *A. m. epimelas* (Mammalia: Rodentia). *Israel Journal of Zoology*, 48, 135-148.
- Wielstra, B., Espregueira Themudo, G., Güçlü, Ö., Olgun, K., Poyarkov, N.A. ve Arntzen, J.W. 2010. Cryptic crested newt diversity at the Eurasian transition: the mitochondrial DNA phylogeography of Near Eastern *Triturus* newts. *Mol. Phylogenet. Evol.*, 56, 888–896.
- Wielstra B, Baird AB, Arntzen JW. 2013. A multimarker phylogeography of crested newts (*Triturus cristatus* superspecies) reveals cryptic species. *Mol Phylogenet Evolution*, 67, 167-175.
- Wielstra, B., Burke, T., Butlin, R.K., Avcı, A., Üzüm, N., Bozkurt, E., Olgun, K., Arntzen, J. W. 2017. A genomic footprint of hybrid zone movement in crested newts. *Evolution Letters*, 1, 93–101.

- Wilson, I. G., Gilmour, A., Cooper, J. E. 1993. Detection of enterotoxigenic microorganisms in foods by PCR. New techniques in food and beverage microbiology. Scientific Publishers, Blackwell Oxford, United Kingdom.
- Wilson, D.E., Reeder, D.A.M. 2005. Mammal species of the world. A taxonomic and geographic reference (3rd ed), Johns Hopkins University Press, 2,142 pp.
- Yalçınlar, İ. 1998. Kızılırmak ve Toroslar arasında Jeolojik ve Jeomorfolojik bir havza. Türk Coğrafya Dergisi, 33, 585-587.İstanbul.
- Yıldırım, C., Melnick, V., Schildgen, F.T., Echtler, A., N., Strecker, M.R., Bookhagen, B., Çiner, A., Niedermann, S., Merchel, S., Martschini, M., Steier, P. 2013(a). Tectonic implications of fluvial incision and pediment deformation at the northern margin of the Central Anatolian Plateau based on multiple cosmogenic nuclides. Tectonics, 32(5), 1107-1121.
- Yıldırım, C., Melnick, V., Ballato, P., Schildgen, F.T., Echtler, H., Evren Erginal, A., Güneç Kıyak, N., Strecker, M.R. 2013(b). Differential uplift along the northern margin of the Central Anatolian Plateau: inferences from marine terraces. Quaternary Science Reviews, 81,12-28.
- Yıldırım, C., Schildgen, T. F., Echtler, H., Melnick, D., Strecker, M. R. 2011. Late Neogene and active orogenic uplift in the Central Pontides associated with the North Anatolian Fault: Implications for the northern margin of the Central Anatolian Plateau, Turkey. Tectonics, 30(5).
- Yılmaz, S. ve Devran, Z. 2003. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Pzr) ve Bitki Biyoteknolojisinde Yaygın Uygulamaları. Derim, 20, 31-42.
- Yiğit, N., Çolak, E., Sözen, M. and Karataş. A. 2006. Rodents of Türkiye, “Türkiye Kemiricileri”. Meteksan Co. Ankara.