ANKARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TÜRKİYE'DEKİ KARACALARDA (*Capreolus capreolus*) MİTOKONDRİYAL DNA DİZİ VARYASYONU

Ali Onur SAYAR

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ANKARA
2014

Her hakkı saklıdır

ETİK

Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez içindeki bütün bilgilerin doğru ve tam olduğunu, bilgilerin üretilmesi aşamasında bilimsel etiğe uygun davrandığımı, yararlandığım bütün kaynakları atıf yaparak belirttiğimi beyan ederim.

25.12.2014

Ali Onur SAYAR

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

TÜRKİYE'DEKİ KARACALARDA (*Capreolus capreolus*) MİTOKONDRİYAL DNA DİZİ VARYASYONU

Ali Onur SAYAR

Ankara Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. İrfan KANDEMİR

Bu çalışmanın temel amacı ülkemizin önemli otçul memelilerinden karaca (*Capreolus capreolus* Linnaeus, 1758) populasyonlarının filogenetik durumu ve genetik çeşitlilik açısından hem Türkiye hem de dünyadaki konumunun araştırılmasıdır. Bu bağlamda Ulusal DNA ve Hücre Bankasını oluşturma projesi için Türkiye'nin çeşitli bölgelerinde av turizmi kapsamında vurulan veya yavru/yaralı/ölü ele geçen 20 tane karaca bireyinden alınan kan ve kas örneklerinden DNA elde edilmiştir. Bu DNA'ların mitokondriyal sitokrom b genine özgün prımerler kullanılarak 266 bazlık kısmı PZR yöntemiyle çoğaltılmıştır. Bu dizilerden 4 tane haplotip elde edilmiştir. Haplotip çeşitliliği 0,6053, nükleotit çeşitliliği ise 0,00265 bulunmuştur. 3 haplotipin, HAP1 adı verilen haplotipten birer baz değişikliği ile türediği tespit edilmiştir. Türkiye ve Avrupa'daki karaca popülasyonlarının karşılaştırılabilmesi için Avrupa'ya ait cyt-b dizileri GenBank'tan elde edilmişti. Bu haplotiplerden Fransa haplotipi HAP1 ile birebir örtüşmektedir. En uzak haplotip ile 11 baz farklılığı vardır. . Bu haplotiplerle Neigbour Joining, Maximum Likelihood ve Median Joining ağaçları oluşturulmuştur. Türkiye ve Polonya popülasyonları karşılaştırıldığında ikili farklılıkların yüksek olmadığı, gen akışı değerlerinin ise düşük olduğu gözlenmiştir.

Aralık, 2014 57 sayfa

Anahtar Kelimeler: Karaca, mtDNA, cyt-b, genetik varyasyon, Türkiye, Filogeni

ABSTRACT

Master Thesis

MITOCHONDRIAL DNA SEQUENCE VARIATION IN ROE DEER (*Capreolus capreolus*) IN TURKEY

Ali Onur SAYAR

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

Advisor: Prof. Dr. İrfan KANDEMİR

The main aim of the present study was to investigate the position of roe deer (*Capreolus capreolus* Linnaeus, 1758) populations, which is one of the most important herbivore mammals of our country, in terms of phylogenetic situation and genetic diversity both in Turkey and in the world. In this scope, for the project of constituting National DNA and Cell Bank, DNA samples are obtained from muscle and blood samples of 20 roe deer individuals which are shot within hunting tourism or captured as fawn/injured/dead. 266 bases portion of mitochondrial cytochrome b gene of these DNAs are amplified with PCR method by using specific primers. The number of 4 haplotypes are acquired from these sequences. Haplotype diversity is founded as 0,6053 and nucleotide diversity is founded as 0,00265. It is observed that 3 haplotypes are mutated from a haplotype called HAP1 with one base change for each. cyt-b sequences that belong to Europe are taken from GenBank in order to compare the roe deer populations in Turkey and Europe. These haplotypes are aligned according to 266 bases. Among these haplotypes, the French haplotype overlaps with HAP1 completely. The most distant haplotype changes 11 bases. Neigbour Joining, Maximum Likelihood and Median Joining trees are formed with these haplotypes. When Turkey and Poland's populations are compared, it is seen that pairwise differences are not high and gene flow values are low.

December, **2014 57 pages**

Key Words: Roe deer, mtDNA, cyt-b, genetic variation, Turkey, phylogeny

TEŞEKKÜR

Büyük memeliler konusunda çalışma isteğimi geri çevirmeyen, engin görüşleriyle beni her zaman yönlendiren, zorlandığım anlarda yolumu açan, bilgisini ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen tez danışmanım, değerli hocam Prof. Dr. İrfan KANDEMİR'e (Ankara Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalı), değerli yorumlarıyla doğrularımı eksiklerimi belirten tez jürilerim Prof. Dr. Reyhan ÇOLAK ve Prof. Dr. Selim S. ÇAĞLAR'a, Prof. Dr. İrfan KANDEMİR'in öğrencisi olmamı sağlayan ve büyük memeliler konusunda çalışmak istediğimi dikkate alan Doç. Dr. Önder Şakir Özkurt'a, örnek temini, laboratuvar çalışmaları, arazi çalışmaları gibi her konuda yardımını, desteğini, bilgisini esirgemeyen ve projenin bir parçası olmamı sağlayan proje yürütücüsü Dr. Evren KOBAN'a, her daim sorularıma cevap veren, yaşanan sıkıntıları çözmemi sağlayan Melis DENİZCİ'ye, laboratuvar çalışmalarını sağlayan ve burs işlerimi düzenleyen proje yürütücüsü Doç. Dr. Zafer BULUT'a, projeye başladığımda tüm konularda inançlarını eksik etmeyen, arazi çalışmaların gerçekleşmesini sağlayan, ekipman, personel ve tecrübelerini aktaran Dr. Hasan EMİR, Dr. Taner HATİPOĞLU, Cemal AKCAN, Haluk AKGÖNÜLLÜ ve tüm DKMP teşkilatına, lisans öğrencisiyken beni büyük memeli arazi çalışmalarına katılmamı sağlayarak ilk adımı atmamı sağlayan, bildikleri her şeyi anlatan, referanslarını eksik etmeyen, benim bu konuda ilerlemem için desteklerini ve değerli tecrübelerini hiçbir zaman esirgemeyen arazi partnerlerim, hocalarım Yrd. Doç. Dr. Anıl SOYUMERT ERTÜRK ve Alper ERTÜRK'e, lisans hayatım boyunca akıl hocalığını eksik etmeyen değerli hocam Yrd. Doç. Dr. Fatih DİKMEN'e, labaratuar çalışmalarında emeği çok olan, aynı yolu farklı hayvanlarla yaşadığımız yardımcı pilotum, arazi partnerim F. Dilan SAATOĞLU'na, laboratuvar çalışmalarını öğreten ve tecrübe etmemi sağlayan Hakan ELİGÜL ve Azar PEİMAN'a, bazı programları öğrenmemi sağlayan, analizlerimde yardımcı olan Dr. Ebru Özdemir'e, burs işlerini zamanında halleden, laboratuvar çalışmalarında yardımını esirgemeyen İ. Selim YILDIRIM'a, tezin son düzeltmelerini büyük bir özenle gerçekleştiren ve istatistik konularında yardımcı olan S. Maryam AYATOLLAHİ ve Özlem SAĞLAM'a, yıllardır arkadaşlıklarını ve desteklerini esirgemeyen Andaç BİNGÖL, Anıl ATAK, Berhan TARIM, Ece SEZGİN, Engin PEK, Gülşah DAL, Pınar KARAŞAR, Pelin İnal ve Umut KOLAÇ'a, her süreçte yanımda olan, elleriyle okula kayıt işlemlerini yapan, arazideyken aylarca bekleyen, her zaman dinleyen, sıkıntılarıma çözüm bulmaya çalışan, her şeye rağmen gülümsemesini, sevgisini eksik etmeyen hayat kaynağım nam-ı değer Sevdiceğim Özge ÖRÜCÜ'ye, ideallerimi gerçekleştirme konusunda ömrüm boyunca maddi-manevi desteklerini sürdüren, bana değerli sabırlarını, sevgilerini gösteren ve beni yetiştiren güzel aileme teşekkürü borç biliyorum. Sizlerin desteği olmasa çalışmalarımı gerçekleştiremezdim.

Bu çalışma TÜBİTAK MARMARA ARAŞTIRMA MERKEZİ 109G016 No'lu proje ile desteklenmiştir.

Ali Onur SAYAR

Ankara, Aralık 2014

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAY SAYFASI
ETİK ……i
ÖZET …….....……..…….…ii
ABSTRACT …….……..…...iii
TEŞEKKÜR …….....…….....….iv
SİMGELER DİZİNİ ……..……..…...….vii
ŞEKİLLER DİZİNİ ...…….....viii
ÇİZELGELER DİZİNİ …….....ix
1. GİRİŞ ……..…….....1
2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ÖZETLERİ 3
2.1 Karaca Sistematiği, Biyolojisi, Morfolojisi, Ekolojisi ve Dağılımı ...…..……3
2.1.1 Karacanın Türkiye'deki dağılımı …..……...…...…....8
2.1.2 Karacanın dünyadaki dağılımı ...…...……...……...…….....9
2.1.3 Türkiye'de karaca ile yapılmış çalışmalar ...……10
2.2 Mitokondriyal DNA …….……...……...11
2.2.1 Mitokondriyal DNA'nın özellikleri …..…….....11
2.2.2 Moleküler işaret olarak mtDNA …..……..11
2.2.3 mtDNA sitokrom-b gen Bölgesi …..……...…13
2.3 Cervidae familyası ve karaca türü ile ilgili yapılmış genetik çalışmalar ….....14
2.3.1 Cervidae familyası filogenisi ……...……...14
2.3.2 Karaca ile yapılmış genetik çalışmalar …..……...…15
2.3.2.1 Genetik çeşitlilik ...……..……..15
2.3.2.2 Karaca filocoğrafyası ...……..……...16
3. MATERYAL VE YÖNTEM …….....21
3.1 Proje ...…….21
3.2 Örneklerin Elde Edilmesi ...……...21
3.3 DNA İzalasyonu ...……..24
3.3.1 Kan örneklerinden DNA izolasyonu ……..……...……24
3.3.2 Kas örneklerinden DNA izalasyonu …..……...….26
3.4 cyt-b Bölgesinin PZR yöntemi ile çoğaltılması ...……...….27

3.5 Filogenetik Analizler……...30
4. ARAŞTIRMA BULGULARI ...…….....35
4.1 PZR Ürünlerinin Görüntülenmesi ...……...….35
4.2 Haplotiplerin Belirlenmesi …...…….....35
4.3 İstatistikler ve Filogenetik Ağaçlar ……..…38
4.3.1 Korunan ve değişken alanlar ...……..38
4.3.2 Nükleotid kompozisyonu ve nükleotit çeşitliliği ...…..…….…….39
4.3.3 Filogenetik ağaçlar ...……...41
4.3.3.1 Model seçimi ...……..41
4.3.3.2 Neighbour joining (NJ)ağacı ...……42
4.3.3.3 Maximum Likelihood ağacı ...…….....43
4.3.3.4 Median-Joining ağacı ...…….....44
4.4 Popülasyonların genetik yapısı ...…….....45
5. TARTIŞMA VE SONUÇ ...…….…49
KAYNAKLAR ...……..……52
ÖZGEÇMİŞ ...…….…….57

SİMGELER DİZİNİ

µl	Mikro litre
π	Nükleotit çeşitliliği
%	Yüzde
°C	Santigrat derece

Kısaltmalar

A	Adenin
AIC	Akaike Information Criterion (Akaike Bilgi Kıstası)
AMOVA	Analysis of Molecular Variance (Moleküler Varyans Analizi)
BIC	Bayesian Information Criterion (Bayesian Bilgi Kıstası)
C	Sitozin
cyt-b	Mitokondriyal DNA sitokrom b bölgesi
dNTP	Dideoksiribonükleotid trifosfat
D-Loop	Mitokondriyal DNA kontrol bölgesi
DNA	Deoksiribonükleik asit
dNTP	Deoksiribonükleotid trifosfat
Fct	Gruplar arası fiksasyon indeksi
Fst	Populasyonlar arası fiksasyon indeksi
G	Guanin
kg	Kilogram
$MgCl_2$	Magnezyum diklorür
ML	Maksimum Olasılık (Maximum Likelihood)
MP	Maksimum Tutumluluk (Maximum Parsimony)
mtDNA	Mitokondriyal DNA
NJ	Neighbour Joining (Komşu Katılımlı)
PZR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RFLP	Restriction Fragment of Length Polymorphism
T	Timin
si/sv	Transisyon/transversiyon

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 Yavrusu ile dişi karaca bireyinin fotokapan görüntüsü ……..……...4
Şekil 2.2 Erkek karaca bireyi ……..……..……..…..5
Şekil 2.3 Karaca bireyi fotokapan fotoğrafı .…….…….……..6
Şekil 2.4 Kastamonu'da yaşayan karacaların yaşam ortamı ……...…….……7
Şekil 2.5 İki adet karaca bireyi ……....8
Şekil 2.6 Karacanın Türkiye'deki Dağılımı ……..…9
Şekil 2.7 Karacanın dünyadaki dağılımı ……10
Şekil 2.8 mtDNA'nın anasal kalıtımı ……12
Şekil 2.9 Lorenzini ve Lovari'inin mikrosatelit lokuslarındaki pairwise değerlerine göre Neigbour Joining ağacı...……..……19
Şekil 2.10 Karacaların doğudaki sığınaklardan dağılımı ……....20
Şekil 3.1 Yavru bir karacadan kan örneği alınırken ……...22
Şekil 3.2 Karaca bireylerinin örneklendiği iller ve örnekleme sayıları ……....……24
Şekil 3.3 Chromas programında ham dizilerin görüntülenmesi ve temizlenmesi ……30
Şekil 3.4 Haplotiplerin Lokasyonları …….……...……32
Şekil 3.5 BIOEDIT programı aracılığıyla haplotiplerin dizilenmesi ……33
Şekil 4.1 Laboratuvar çalışmalarında elde edilen dizilerin elekforez yöntemi kullanılarak elde edilen jel görüntüsü …….……..…….……35
Şekil 4.2 Haplotiplerin örnekleme yerlerine göre dağılımı …….……....…….37
Şekil 4.3 Neigbour Joining ağacı...…….42
Şekil 4.4 Maximum Likelihood metodu ağacı……...……..……..….43
Şekil 4.5 Median Joining Ağacı ……...……...…….44
Şekil 4.6 İkili Fst matriks grafiği ……46
Şekil 4.7 Türkiye popülasyonun uyumsuzluk dağılımı …..……48

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1 Gilbert'e (2006) göre yeni sınıflandırma ……..……..……15
Çizelge 2.2 Avrupa kıtasında karaca populasyonların haplotiplere göre dağılımı …….17
Çizelge 3.1 Karaca örneklemesi yapılan iller …….……....23
Çizelge 3.2 PZR karışımı …….……...27
Çizelge 3.3 PZR koşulları …….……..28
Çizelge 3.4 Dizileme karışımı ...…….28
Çizelge 3.5 PZR koşulları ..……..……...29
Çizelge 3.6 Gen bankasından alınan haplotipler ve haplotiplere dair bilgiler ……....31
Çizelge 4.1 Yapılan analizlerde 4 haplotipin bireylere dağılımı ……36
Çizelge 4.2 Yapılan analizlerde 20 bireyin haplotiplere illere genel dağılımı ……..…37
Çizelge 4.3 Korunan ve değişken alanların bazlara dağılımı ……..……...38
Çizelge 4.4 Nükleotid çifti frekansları ortalaması ……..…38
Çizelge 4.5 Haplotip ve nükleotid çeşitliliği ……...……...……39
Çizelge 4.6 Türkiye haplotipleri arasındaki farklılık matriksi ……..……39
Çizelge 4.7 Nükleotit kompozisyonu …….……...……40
Çizelge 4.8 Ağaç oluşturulurken kullanılacak istatistik modelin paramatre değerleri 41
Çizelge 4.9 Moleküler varyans analizleri ……..…..……..……45
Çizelge 4.10 Karaca popülasyonları arasındaki ikili farklılıklara göre Fst matriksi değerleri ……..……46
Çizelge 4.11 Popülasyonlar arası Nm değerleri ……..……..….47
Çizelge 4.12 Nötralite testleri ……..……...47

1. GİRİŞ

Son yıllarda doğal alanlardaki insan popülasyonu ve bu alanlardaki insan etkisi artmıştır. Bu durum özelikle nadir ve soyu tükenmekte olan türlere karşı tehditler dünyanın her yerinde ciddi boyutlara gelmiştir. Aynı zamanda son yıllarda gen bölgelerinin dizisi, mikrosatelit lokuslar, restriksiyon parça uzunluk polimorfizmi (RFLP), DNA parmak izi ve benzeri moleküler teknikler hızla gelişmiştir. Bu alanların gelişmesi koruma biyolojisinin içinde hızla kullanılmaya başlanmıştır. Bu tekniklerin sundukları bilgilerle hızlı ve doğru koruma politikaları uygulanmaktadır (Hedrick 1996).

Koruma biyologları dünya üzerindeki yaşamı üç bakış açısından yararlanarak araştırırlar. Yaşayan organizmaların sistemlerdeki biyolojik çeşitliliği, bu sistemlerin yapısı, bileşenleri, fonksiyonları ve bu sistemlerin zaman içinde dayanıklılık durumlarına ve yenilenmelerini göz önünde bulundururlar (Callicott vd. 1999). Genetik çeşitliliğin korunması, koruma biyolojisinin temel ilgi alanlarından biridir (Frankham 1995).

Geçtiğimiz yüzyılda evrimsel süreci ve popülasyonların türlerin geçmişini anlamamızda popülasyon genetiği çalışmaları damga vurmuştur. Moleküler işaretlerin ve PZR teknolojisinin yayılması bu çalışmaları arttırmıştır. Molecular Ecology adlı derginin 2003 yılına kadar kapsayan son 9 yılda yayınlanan makaleler incelenmiş ve %29.8'i mtDNA ve %42.5'u mikrosatelit DNA çalışmalarından oluştuğu gözlenmiştir (Zhang ve Hewitt 2003).

Popülasyonlar arasındaki genetik uzaklığı ve genetik deseni anlamak türlerin korunması ve efektif koruma planları geliştirebilmek için son derece önemlidir (Allendorf ve Luikart 2007). Yeniden yerleştirme ya da esaret altındaki (üretme istasyonu) doğaya salınımı bazen popülasyonlar üzerinde pozitif etkisi olsa da negatif etkileri de olabilmektedir Bu yüzden popülasyonların gen akışı oranlarını, yapılarını ve ekoloji

farklılıklarını göz önüne alınarak yapılan yeniden yerleştirme/esaret altındaki popülasyonları doğaya bırakma gibi eylemler daha doğru olacaktır (Storfer 1999).

Karacalar en azından 400 yıldır popüler bir av hayvanıdır. Bu yüzden yerel yok oluşlara maruz kalmışlardır. Yeniden yerleştire veya taşıma gibi insan kaynaklı durumlardan dolayı filocoğrafik eksiklikler mevcuttur (Lorenzini ve Lovari 2006, Sommer vd. 2009).

Türkiye'de geyik, yaban keçisi, alageyik, ceylan ve yaban koyunu gibi türlere ait üretme istasyonları Ordu'da kurulan karaca üretim istasyonu 2006 yılında kapatılmıştır mevcuttur ve bu istasyonlardan doğaya bırakma gibi eylemler devam etmektedir. 1984 yılında, bireyler yine aynı bölgeye bırakılmışlardır. İstasyon kurulurken bireylerin nereden alındığı bilgisi ise mevcut değildir (Hatipoğlu 2014).

Türkiye'de daha önce karacalar üzerine detaylı genetik çalışmalar yapılmamıştır. Bu tezin amacı Türkiye'deki karacaların mitokondriyal DNA'sına göre genetik çeşitliliğini, filogenisini ve Avrupa popülasyonları ile ilişkisini açıklamaktır.

2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ÖZETLERİ

2.1 Karaca Sistematiği, Biyolojisi, Morfolojisi, Ekolojisi ve Dağılımı

Karacalar (*Capreolus capreolus* Linnaeus, 1758) ve çift toynaklılar hakkında bu bölümde verilen genel bilgiler Turan (1984), MacDonald ve Barrett (1993), Nowak (1999), Mithchell-Jones ve diğerleri (1999) kaynak kitapları ve Soyumert'in (2010) doktora tezi kullanılarak yapılmıştır.

Karacalar omurgalı hayvanlardan çift tırnaklılar (Artioyodaktiller) takımının bir üyesidir. Çift tırnaklılar kendi içinde üç alttakıma ayrılır. Bu takımlar 10 familya, 86 cins ve 221 türden oluşur. Bunlar; Nonruminantia (geviş getirmeyenler), Ruminantia (geviş getirenler) ve Tylopoda'dır (Nowak 1999).

Artiyodaktiller Avustralya, Yeni Zelanda, Yeni Gine, Antarktika ve bazı okyanus adaları dışında dünyanın her yerinde yaygındırlar. 0.7 ve 8 kg arasında değişen ağırlığıyla *Tragulus* cinsinden 4,5 tonluk *Hippopotamus*'a kadar çeşitli ağırlıklardan olabilir. 450-500 mm uzunluğundaki yine aynı *Tragulus* cinsinden 5-8 metreye kadar ulaşabilen *Giraffe* cinsine kadar çeşitli ağırlıklarda bulunabilirler (Nowak 1999).

Karaca alttakımlar arasında Ruminantia takımın bir familyası olan Cervidae içerisinde yer alır. Ruminantia alttakımı bireylerin ortak özelliği besinlerini özel mide yapıları sonucu geviş getirerek tüketebilmeleridir. Bir diğer takım olan Tylopoda'daki türlerde geviş getirirler fakat mide yapıları Ruminantia türlerinden farklıdır. Cervidae Güney Amerika'da yaşayan 8 kilogramlık *Pudu* olarak bilinen türden 800 kilogramlık *Elk* türüne kadar çeşitli ölçülerde bulunabilirler. Bu familya 17 cins ve 41 tür ile temsil edilmektedir. *Hydropotes* cinsi hariç tüm türlerde boynuz bulunmaktadır. Diğer cinslerden farklı olarak *Rangifer* cinsinde dişilerde de boynuz bulunur. Diş formülleri $\frac{0}{3}, \frac{0-1}{1}, \frac{3}{3}, \frac{3}{3}$ X2 şeklindedir (Nowak 1999).

Geyikgillerin birçok türünde erkeklerde her yıl yenilenen boynuz bulunmaktadır. Çoğunlukla bu boynuzlar ikinci yıl gözükse de karaca ve beyaz kuyruklu geyik gibi türlerde doğumdan sonraki ilk sonbaharda gözlemek mümkündür. Bu boynuzlar her yıl yenilenir ve bu yenilenme hormonal kontrol altındadır. Boynuzlar harem oluştururken erkeklerin kavgası sırasında kullanılır. Erkeklerin kavgası sırasında galip gelen birey haremini oluşturur. Bu boynuzlar sonbahar ayında bireyler arasındaki kavgadan sonra aniden atılır. Hamilelikler genellikle 6-9 ay arasında sürse de *Capreolus* cinsinde 10 ayı bulur. Genellikle iki yavru doğururlar. Nadiren 3-4 yavru doğar (Mithchell-Jones vd. 1999, Nowak 1999) (Şekil 2.1).



Şekil 2.1 Yavrusu ile dişi karaca bireyinin fotokapan görüntüsü (Soyumert 2010)

Cervidae'ler erken Oligosen'de Asya'ya, geç oligosen'de Avrupa'ya, erken miyosen'de Kuzey Amerika'ya, geç pleistosen'de Güney Amerika'ya yayılmışlardır. Cervidae'nin en yüksek cinse sahip olduğu dönem Pleistocene dönemidir (Nowak 1999).

Karacaların vücut uzunluğu 95 cm ila 150 cm, kuyruk uzunluğu ise 2-4 cm arasındadır. Ağırlığı ise 15-50 kg arasında değişmektedir. Burun ve ağız bölgesi siyah ve çene bölgesi beyazdır. Kısa bir kuyruğa ve kuyruk çevresinde bir beyazlığa sahiptirler. Yetişkin bireylerde benek yoktur. Yazları saman sarısından kızıl kahveye, kışları ise gri-kahverengiden (Şekil 2.2) siyahımsı renklere kadar değişik tipte olabilirler (Mithchell-Jones vd. 1999).



Şekil 2.2 Erkek karaca bireyi (Orijinal: Emir 2014)

Karacaların boynuz yenileme aralığı Eylül–Haziran (Turan 1984) olarak bilinse dahi bölgesel olarak Ekim–Nisan aylarında gerçekleşebildiği gözlenmiştir (Soyumert 2010).

Soyumert'in (2010) yılında yaptığı fotokapan çalışmasında Batı Karadeniz Bölgesi'nde çoğunluka gündüz aktif olduğunu aynı zamanda gececil aktivitelerini de gözlemlemiştir. Yine aynı çalışmada fotokapan gün değerlerine göre mevsimsel olarak en aktif oldukları

dönemin Nisan – Temmuz ayları arasında olduğunu belirtmiştir. Genellikle 2400 metrenin üzerindeki yükseklikllerde yaşamazlar. Soyumert'in (2010) çalışmasında fotokapan görüntüleri analiz edildiğinde Batı Karadeniz bölgesinde 600 ve 1700 metre arasındaki tüm yüksekliklerde karaca kayıtlarına rastlamıştır (Şekil 2.3).



Şekil 2.3 Karaca bireyi fotokapan fotoğrafı (Soyumert 2010)

Yaşam ömürleri doğal ortamlarında çoğunlukla 10 – 12 yıl olsa da 17 yıla kadar yaşayabilirler. Çok çeşitli habitatları kullanabilirler. Çoğunlukla ormanlık alanları ve bazen de tarım alanlarını tercih ederler (Şekil 2.4). Taze sürgün, ot, yaprak ve tomurcuk genel diyetlerini oluşturur. Bunların yanı sıra mantar, erik ve üzümsü meyvelerle de beslenirler (Turan 1984).



Şekil 2.4 Kastamonu'da yaşayan karacaların yaşam ortamı (Orijinal: Emir 2014)

Popülasyon durumu: 1960'lardan sonra hızla artan nüfus orta Avrupa'da 15 milyon civarında birey olduğu hesaplanmıştır. Uygun habitatlarda 100 ha alanda 10-20 birey arasında yoğunluğuna sahiptir. Sadece Almanya'da 1000000 birey olduğu düşünülmektedir. Hollanda 10000, Norveç 50000-60000, İsveç 300000, Macaristan 40000 civarında bireye sahip olduğu çeşitli çalışmalarla belirlenmiştir (Macdonald ve Barrett 1993).

Yurt alanı erkekler için 151 ha iken dişilerde 141 ha olarak hesaplanmıştır. Alan kullanımı davranışı mevsimlere ve çiftleşme zamanına göre değişim gösterebilir. Çoğunlukla yalnız veya küçük gruplar halinde yaşarlar (Şekil 2.5). Büyük gruplar kış aylarında gözlenmektedir. Aynı zamanda predatörleri olan kurt ve vaşağa göre de dağılım göstermektedirler (Macdonald ve Barrett 1993).

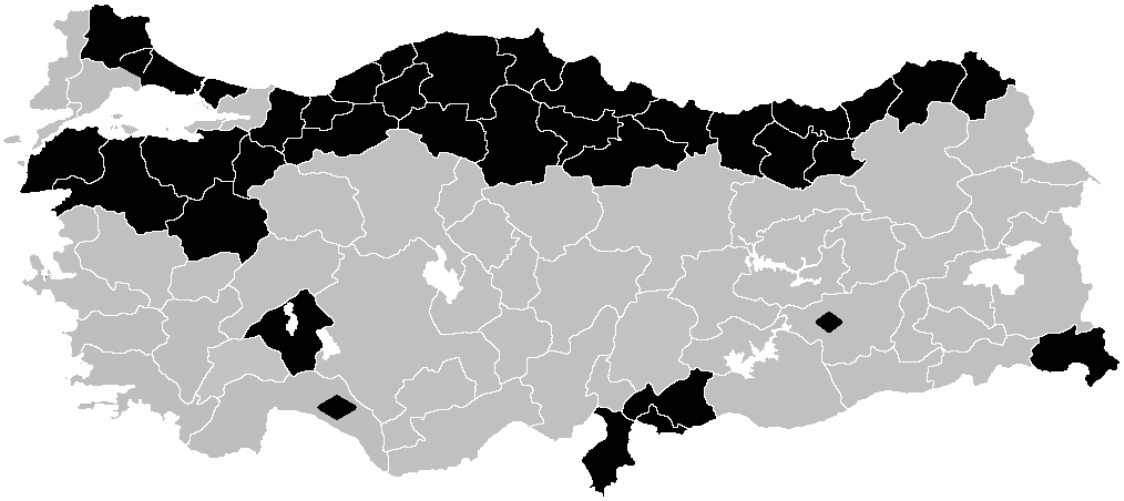


Şekil 2.5 İki adet karaca bireyi (Soyumert 2010)

Soyumert (2010) türlere ait genel bilgilerle hareket etmek yerine, ayrıntılı çalışmalarla yerel koşullar altındaki özelliklerin belirlenmesi ülkedeki literatüre ve dolayısıyla koruma çalışmalarına önemli katkıda bulunacağını belirtmiştir.

2.1.1 Karaca'nın Türkiye'deki dağılımı

Karaca Türkiye sınırları içerisinde Karadeniz sahili boyunca, Marmara Denizi çevresinde ve Karadeniz Bölgesi'nin İç Anadolu ve Doğu Anadolu Bölgesi ile kesiştiği alanlarda geniş yayılım göstermektedir. Bunun yanı sıra Kuzey Anadolu Çaprazı'nın Akdeniz'e yakın bölgesinde, İç Batı Anadolu, Doğu Anadolu ve Akdeniz Bölgeleri'nin bazı kesimlerinde dar alanlarda da bulunmaktadır (Şekil 2.6) (Turan 1984).



Şekil 2.6 Karacanın Türkiye'deki dağılımı (Turan 1984)

2.1.2 Karaca'nın dünyadaki dağılımı

Palearktik bölgede bulunan karacalar İber Yarım Adası'ndan İskandinavya'ya kadar Avrupa'nın büyük bölümünde ve Rusya'nın bir kısmında yayılım göstermektedir (Mitchell-Jones vd. 1999) (Şekil 2.7). Avrupa bölgesinde yaşayan karaca Akdeniz Bölgesi'nde ungulat faunasını en iyi temsil eden türlerden biridir (Gentile vd. 2009). Randi ve diğerleri (2004) yılında İtalya ve İspanya'da karacanın iki alt türü daha olduğunu sırasıyla *C.c italicus* alttürünü Festa (1925)'nın ve *C.c. garganta* alttürünü ise Meunier (1983)'ın tanımladığını söylemiştir.

Bunlara ek olarak son birkaç yüzyılda artan avcılık, habitat parçalanması gibi durumlar yüzünden karacaların dağılımı azalmış ve birey sayılarında azalmalar olmuştur. Fakat son yıllarda yapılan yeniden yerleştirmeler sayesinde yoğunluklularında ve coğrafik yayılımlarında bir artış gözlenmektedir (Wang ve Schreiber 2001, Ward 2005).



Şekil 2.7 Karacanın dünyadaki dağılımı (http://www.iucnredlist.org/)

2.1.3 Türkiye'de karaca ile yapılmış çalışmalar

Lorenzini ve Lovari (2006) Avrupa'daki karaca popülasyonlarından örnekler toplayarak filocoğrafik teorileri gözden geçirmişler, analizlerden bazılarında sınırlıda olsa Türkiye'den verilerde kullanmışlardır. Soyumert (2010) doktora çalışmasında Batı Karadeniz Bölgesi'nde yaptığı fotokapan çalışmasında karacaların ekolojisine dair bilgiler elde etmiştir. Açıcı vd. (2012) çalışmasında Samsun ilinde yaşayan avcılar tarafından vurulmuş 17 karaca üzerindeki dış parazitleri incelemişlerdir. Evcin (2013) Kastamonu ilindeki karacaların gözlem ve envanter çalışmalarını temel alarak önemli yayılış alanları üzerine yüksek lisans tezi yapmıştır. Çalışmada habitat parçalanmasının karacaların yayılışını olumsuz etkilediğini gözlemlemiştir.

2.2 Mitokondriyal DNA

2.2.1 Mitokondriyal DNA'nın özellikleri

Mitokondriler küçük bir bakteri büyüklüğündedir ve bakteriler gibi halkasal DNA molekülünden oluşan kendi ribozomları ve kendi transfer RNA'ları vardır. Mitokondri DNA'sı (mtDNA) insan organizmasında 16.550 nükleotit çiftinden oluşur. Bu DNA 13 eletron taşıma sistemi için protein, 2 ribozomal RNA bileşeni ve 22 taşıyıcı RNA'yı da translasyon mekanizması için kodlar. İnsan genomunu baz alarak 3 milyar baz çifti nükleer genomu oluştururken, mtDNA genomu sadece 16000 baz çiftinden oluşur. Bu da tüm genomun % 0,00055'ini oluşturmaktadır (Ballard ve Whitlock 2004).

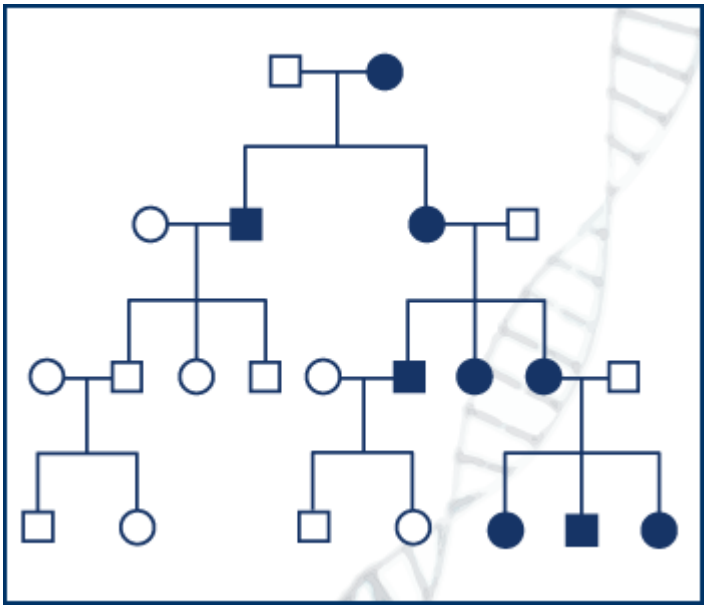
2.2.2 Moleküler işaret olarak mtDNA

Koruma biyolojisi bilimin multi-disipliner bir alanıdır. Dünyadaki biyolojik çeşitliliğin koruması ve anlaşılması için kullanılışlı araçlar üretmeyi hedefler. Bu multi-disiplinlerden birisi olan popülasyon genetiği çalışmaları ise geçmişteki ve günümüzdeki olayların popülasyonlara nasıl etki ettiğini anlamamıza katkı sağlar. mtDNA kullanılarak yapılan çalışmalar antropojenik etkilerin ve küresel ısınma benzeri olayların geçmişte popülasyonları nasıl etkilendiğini ve gelecekte nasıl hareket etmemiz gerektiğine dair çıkarımlar yapmamızı sağlar (Hoelzel 2010).

mtDNA evrimcilere soya dair esaslı çıkarımlar yapılabilmesi için kapsamlı ve kolaylıkla kullanabilen veri sağlar. Aynı zamanda mtDNA nükleotid içeriği rekombinasyon olmadığından dolayı anasal kalıtım yoluyla iletildiği için filogenetik analizlere diğer nükleer gen sistemi ile karşılaştırılamaz bir şekilde mikro-evrimsel boyutta avantaj sağlar (Şekil 2.8). mtDNA verilerinin bu özellikleri tür içi evrimsel süreç çalışmalarına filogenetik perspektifin eklenmesini mecbur etmiştir. Ayrıca sistematiğin disiplinleri ve popülasyon genetiği arasında deneysel ve kavramsal bir köprü sağlamıştır (Avise vd. 1987). Kocher vd. (1989) PZR yöntemi kullanarak uzun

dizi elde etmesi mtDNA'nın moleküler işaret olarak yaygınlaşmasında dönüm noktası olmuştur.

Mitokondri genlerinin evrim hızı göreceli olarak yüksek olduğundan, yakın evrimsel olayların tarihlerinin tahmin edilmesinde mtDNA dizilerinin karşılaştırılması özellikle yararlı olmaktadır (Ballard ve Whitlock 2004).



Şekil 2.8 mtDNA'nın anasal kalıtımı (http://www.hihg.med.miami.edu)

mtDNA türlerin ve popülasyonların evrimsel ve demografik geçmişini açıklamak için moleküler ekoloji ve filocoğrafik çalışmalarda sıkça kullanılan bir araç durumundadır. mtDNA yakın türlerin veya popülasyonların ne zaman ayrıldıklarını, bir araya gelişlerini, hangi dönem izole olduklarını ya da disparselini anlamamızda yardımcı olur. mtDNA sayesinde soyların ilerleyişini ve hibritleşme anlaşabilmektedir. Aynı zamanda mutasyon oranı nükleer DNA'dan daha yüksektir. Efektif popülasyon büyüklüğü nükleer DNA'nın yarısıdır. Bunun sebebi ise az veya yok denecek kadar rekombinasyon olması olmasıdır (Ballard ve Whitlock 2004).

Tüm bu özelliklerin aksine mtDNA tek bir lokusu açıklar, dolayısıyla evrimsel sürece tek bir pencereden bakılmasını sağlar. Çoğunlukla anasal kalıtımdan gerçekleştiği için tüm popülasyon hakkında tüm bilgi elde edilmesini engeller. Efektif popülasyon büyüklüğünün nükleer DNA'ya göre ortalama 4 kat daha az olması, mtDNA soylarının daha hızlı oluşmasını ve kaybolan allel oranın daha çok olmasını sağlar. Dolayısıyla mtDNA basitleşmiş bir evrimsel ilişki ortaya koyar. Ek olarak genetik çeşitlilik daha az hesaplanır ve popülasyonların hikayelerinde eksikler gözlemlenemeyecektir (Zhang ve Hewitt 2003).

Bu yönlerinden dolayı iyi bir moleküler işaret olmasa da mtDNA karakterize edilmemiş türleri anlamamızda ilk fikrin oluşmasında en kolay yöntemlerden biridir (Galtier vd. 2009).

2.2.3 mtDNA sitokrom-b gen bölgesi

cyt-b bölgesi 1140 baz uzunluğunda mtDNA'nın bir parçasıdır. Johns ve Avise (1998) omurgalı hayvan taksonları arasındaki genetik uzaklıkları Genbank'tan elde ettiği cyt-b dizileri karşılaştırmışlar, genetik uzaklıkları hesaplamada, diğer çoklu lokuslu allozim gibi yöntemlerle paralellik gösterdiğini ve bu sonuçları desteklediği gözlenmiştir. (Johns ve Avise 1998). cyt-b gen bölgesi türleri ayırt etmekte kullanılabilmektedir. Parson vd. (2000) yaptıkları çalışmada, karacanın da dahil olduğu 5 omurgalı grubunda bulunan 44 farklı türün cyt-b bölgelerini karşılaştırarak türleri ayırt etmeye çalışmışlardır. Çalışma sonucunda cyt-b bölgesinin türleri ayırt etmede güvenilirliğini ve kullanılabilirliğini ortaya koymuşlar.

2.3 Cervidae Familyası ve Karaca Türü ile İlgili Yapılmış Genetik Çalışmalar

2.3.1 Cervidae familyası filogenisi

Fosil kayıtları Capreolinae ve Cervinae altfamilyalarının Orta Asya'da geç miyosende 5-6 milyon yıl önce çeşitlendiğini daha sonra Amerika'ya yayıldığını göstermektedir (Di Stefano ve Petronio 2002)

Geyikgiller familyası içerisindeki türlerin belirlenmesinde çoğunlukla boynuz varlığı veya yokluğuna dayanan morfolojik verilerle taksonomik sınıflandırılmalar incelenmiştir. Ek olarak moleküler yöntemlerin gelişmesiyle farklı gen bölgeleri kullanılarak türler arası filogenetik çalışmalar yapılmış ve önceki yöntemlerle karşılaştırılmıştır. Bunlardan Douzery ve Randi (1997) mtDNA kontrol bölgesini ve Randi vd. (1998) cyt-b bölgesini kullanarak çalışmalar yapmışlar benzer sonuçlar bulmuşlardır. Gilbert vd. (2006) yaptıkları çalışmada ise 4 gen bölgesini, daha fazla örnek ve diğer türleri ekleyip çoğaltarak yapılan sınıflandırmaları gözden geçirmiştir. Bu çalışmayla Cervidae familyasını iki ana dala ayrılmıştır. Bunlardan biri Cervinae diğer altfamilya ise karacanın da içinde bulunduğu Capreolinae'dir Capreolinae altfamilyası kendi içinde 3 klana ayrılır. Bunlardan biri karacanın da içinde bulunduğu *Capreolus* ve *Hydropotes* cinslerinin bulunduğu daldır. Bir diğer klan *Alces* türlerinin bulunduğu, diğeri ise Amerika kıtalarında bulunan ve *Rangifer* cinslerinin bulunduğu daldır (Çizelge 2.1).

Çizelge 2.1 Gilbert'e (2006) göre yeni sınıflandırma

Alt familya Cervinae		**Alt familya Capreolinae**		
Cervini	**Muntiacini**	**Alceini**	**Capreolini**	**Odocoileini**
Cervus	*Muntiacus*	*Alces*	*Capreolus*	*Blastocerus*
Axis	*Elaphodus*		*Hydropotes*	*Hippocamelus*
Rucervus				*Mazama*
Dama				*Odocoileus*
				Ozotoceros
				Pudu
				Rangifer

2.3.2 Karaca ile yapılmış genetik çalışmalar

2.3.2.1 Genetik çeşitlilik

Karaca ile yapılmış ilk genetik çalışmalar Hartl vd. (1988) ve (1991) yaptıkları çalışmalardı. Avrupa'daki karacaların genetik çeşitliliğini izoenzimler aracılığıyla ortaya koymuşlardır. Bu çalışmalarda geyikgiller içerisinde en yüksek çeşitliliğe sahip tür olduğunu belirtmişlerdir.

Wiehler ve Tiedeman (1998) çalışmalarında haplotip çeşitliliğin (0,94) yüksek, nükletoid çeşitililiğin (%0,88) ise diğer memeli türlerine göre normal olduğunu belirtmişlerdir. Haplotip çeşitliliğin yüksek olması, daha önce yapılan Hartl vd. (1991) allozim çalışmalarını destekler nitelikte olduğunu ortaya koymuştur. Nükleotit çeşitliliğin normal olmasını geç pleistosende karacaların darboğaz etkisinden geçtiklerini gösterdiğini belirtmişlerdir.

Randi vd. (2004) mtDNA ve STR kullanarak Avrupa kıtasından 773 karaca örneğinin mtDNA d-loop bölgesi ile çalışmalarında mtDNA nükleotit ve haplotip çeşitliliğinini en çok Doğu dalında yani Sırbistan, Kosova gibi ülkelerde gözlemişlerdir.

Lorenzini ve Lovari (2006), mtDNA haplotip çeşitliliğini en düşük Yunanistan (0.33) en yüksek haplotip çeşitliliğini ise (0,82) Romanya popülasyonunda gözlemlemişlerdir. Lorenzini ve Lovari (2006), aynı zamanda Avrupa'nın çeşitli bölgelerden toplanan karaca örneklerini kullanılarak 10 mikrosatelit lokusunun genetik çeşitliliğini hesaplanmıştır. Türkiye'den yeteri kadar örnek olmak olmadığı için bu çalışmanın dışında bırakılmıştır. En yüksek allel zenginliği Polanya'da en düşük ise İsveç bölgesindeki karacalarda hesaplanmıştır. Ayrıca en yüksek genetik çeşitlilik Fransa'da mevcut iken en düşük genetik çeşitlilik yine İsveç'te gözlenmiştir.

2.3.2.2 Karaca filocoğrafyası

Karacalar 600000 yıldır Avrupa'da bulunmaktadır. Bu tür aynı zamanda geç kuartener döneminde 3000 fosil ile en yüksek sıklıkla bulunan memelidir. Karacalar son dönemlerde birçok kez çalışılmıştır ve buzul dönemi sonrası tekrar kolonize olmaları açısından en kompleks canlılardandır (Sommers vd. 2009).

Wiehler ve Tiedeman (1998) Avrupa'da bulunan karaca popülasyonlarının mtDNA d-loop (kontrol bölgesi) bölgesi ile ilk çalışmaları yapmışlardır. Aynı zamanda bu çalışmada karacalar için doğu ve batı olmak üzere iki ana dala ayrıldığını belirtmişlerdir. Bu iki ayrı dalın sebebini iki farklı senaryo ile açıklamışlardır. Bunlardan birincisi, geç pleistosen buzul döneminde iki ayrı sığınağın olduğudur. Bu sığınaklar Akdeniz bölgesindedir. Doğu ve batı dallarının orijini sırasıyla Balkan ve İber Yarım Adası sığınaklarıdır. Buzullar eriyince bu iki sığınaktaki popülasyonlar tekrar kolonize olmuş ve Orta Avrupa'da buluşmuştur. Bir diğer senaryo ise tek bir sığınak vardır ve bu sığınak Avrupa'nın batısında, Akdeniz'e yakın olan bir bölgededir. Popülasyonlar kurucu etkisinden sonra bu bölgeden Avrupa'nın doğusuna doğru yayılmış olabilir. Bir adet sığınak senaryosu Vernessi vd. (2002) çalışmasında bu

durumun mümkün olmayabileceğini, daha çok sığınağın olduğuna dair tespitler yapmışlardır.

Randi vd. (2004) filogenetik çalışmalarında ise Wiehler ve Tideman'ın (1998) ulaştığı gibi iki ana dala ayrıldığını, bunlardan Batı Ana Dalı'nın iki ayrı dala daha ayrıldığı sonucuna ulaşmışlardır. Batı Ana Dalı'nın kollarından biri Merkez Dal'ın tüm Avrupa'yı, diğer kısmı ise Avrupa'nın uzak batısını yani Portekiz, İspanya bölgesini kapsamakta olduğunu belirtmişlerdir (Çizelge 2.2). Tüm bu dallardan en yaygın olan Merkez Dal'dır ve bu dal Yunanistan hariç tüm bölgelerde bulunmaktadır. Fransa'daki popülasyonlar sadece Merkez dalındadır. İtalya popülasyonları örneklenirken üç coğrafik bölgeye ayrılmıştır. Bunlar İtalya'nın güneyi, Alpler ve Apenin Dağları'dır. Alpler ve Apenin'deki popülasyonlar üç dalda da haplotiplere sahiptir. Güney bölgedeki alt tür olan *C.c italicus* sadece merkez dala ait haplotipleri barındırmaktadır.

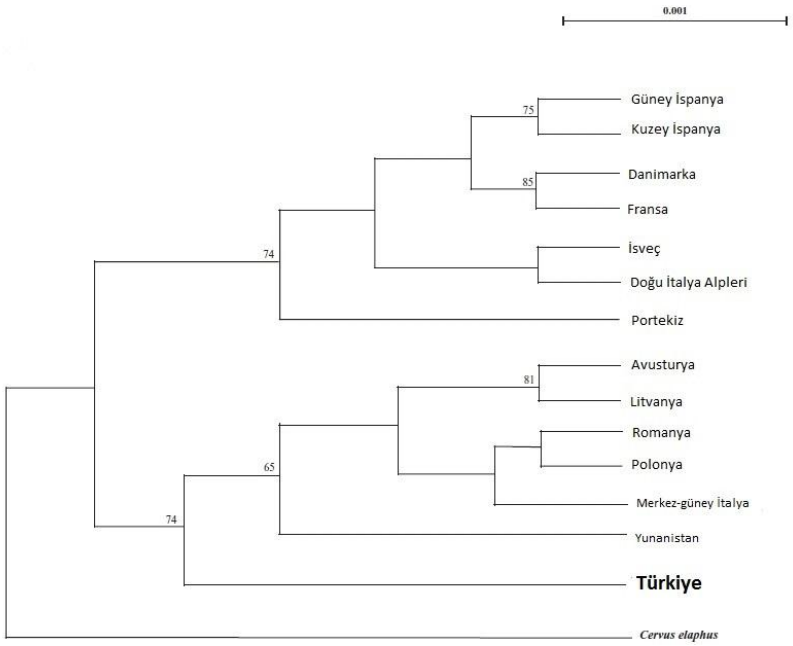
Çizelge 2.2 Avrupa kıtasında karaca popülasyonların haplotiplere göre dağılımı (Randi vd. 2004)

Doğu Ana Dalı		Batı Ana Dalı	
Perifer Doğu	**Merkez Doğu**	**Merkez Dal**	**Perifer Batı Dalı**
Doğu Avrupa (Polonya, Litvanya)	Polonya	Kuzey Avrupa ve Doğu Avrupa'nın bir kısmı	Portekiz
Yunanistan	Almanya	Merkez Avrupa	İspanya
Sırbistan	Kuzey İtalya	Kuzey İtalya	Merkez İtalya

Wiehler ve Tiedeman'in önerdiği senaryolardan biri olan tek bir sığınağın olduğu Vernessi ve diğerleri (2002) söylediği gibi muhtemel değildir. Çünkü Randi ve diğerleri sadece Doğu dalında olan hapolotiplerin batıya doğru yayılmadığını ortaya koymuşlar, Merkez Avrupa dalındaki haplotiplerin Doğu Avrupa'ya yayıldıklarını gözlemlemişlerdir. Sonuç olarak birkaç sığınağın buzul dönemlerinde var olabileceğini

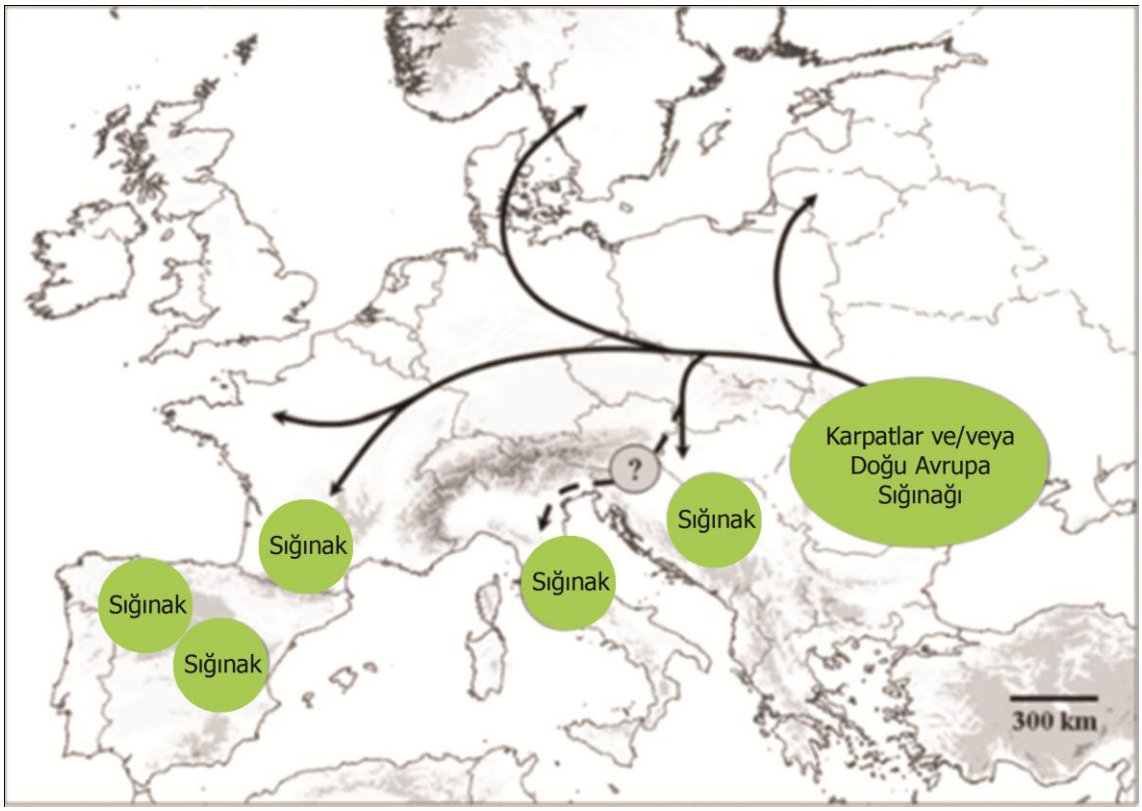
ortaya koymuşlardır. Bu bilgileri STR (Kısa Bitişik Tekrarlar) analizlerini (izolasyon, dağılma, insan baskısı vs) değerlendirildiğinde genetik çeşitliliği düşük çıkan Yunanistan, Kuzey Portekiz popülasyonlarının buzul çağından kalan, diğer popülasyonlarla karışmamış relik popülasyonlar olduğu sonucuna varmışlardır.

Lorenzini ve Lovari'de (2006) Randi vd. (2004) çalışmalarına benzer bir yöntemle yakın sonuçlar bulmuşlardır. Ek olarak Türkiye'den sınırlı sayıdaki örneği katmışlardır. Mikrosatelit değerlerinden oluşturdukları Neigbour Joining ağacında Avrupa'yı iki ana dal olarak ayırmışlardır. Batı dalında Fransa, İsveç, Portekiz gibi batı, kuzey batı ve kuzey İber Yarım Adası ülkeleri vardır. Doğu dalında ise Yunanistan, Litvanya, Avusturya ve Türkiye gibi Avrupa'nın Balkan ve merkez-doğusundaki ülkeler vardır. Türkiye bu Doğu dalında diğer doğu Avrupa örneklerinden ayrı bir dal oluşturmuştur (Şekil 2.9). Kuzey Avrupa'daki popülasyonlar geçmişte dağılım gösterirken Akdeniz'deki sığınaklardan ziyade merkez ve doğuda bulunan sığınaklardan yayıldığını tahmin etmektedirler. Bunun sebebinin ise Balkan bölgesinde dağların kuzey-güney doğrultusunda olmasına bağlamışlardır. Aynı şekilde bu dağlar İber Yarım Adası ve Balkan sığınaklarındaki karacaların birbirleri arasındaki gen akışını engellemiştir. Bu bölgedeki popülasyonlarda genetik farklılaşma buzul dönemindeki sığınaklardayken olduğunu tahmin etmektedirler.



Şekil 2.9 Lorenzini ve Lovari'inin mikrosatelit lokuslarındaki ikili değerlerine göre Neigbour Joining ağacı

Sommers vd. (2009) yukarıda bahsedilen teorileri ve genetik verileri fosil kayıtları ile bir arada değerlendirip yeni bir hipotez ortaya sunmuşlardır. İber Yarım Adası, güney Fransa, İtalya ve Balkan'larda bulunan sığınaklara, Karpatları ve/veya daha doğu Avrupa'yı eklemişlerdir. Bu hipoteze göre Merkez-Kuzey dalının (Fransa, İsveç, Danimarka) kökeni Avrupa'nın Balkan bölgesinden değil daha doğusundan ya da Karpatlar'dan veya daha doğusundan gelmektedir (Şekil 2.10). Buzul dönemlerinde doğu bölgesindeki sığınak ya da sığınaklarda bulunan popülasyonlar Avrupa'nın merkezine ve kuzeyine buradan göç etmişlerdir. Fakat Avrupa'nın bu bölgesinden yeterli sayıda genetik ve paleontolojik çalışma yoktur. Bu bölgelerden daha fazla çalışma karacanın karmaşık filocoğrafik dağılımını daha da iyi anlatacaktır.



Şekil 2.10 Karacaların doğudaki sığınaklardan dağılımı (Sommers vd. 2009)

Matosiuk vd. (2014) son olarak Polonya'da yaptıkları çalışmalar Sommers vd. (2009) hipotezini destekler niteliktedir, Karpat dağlarındaki veya daha doğudaki sığınaklar, yaptıkları tür dağılımı modellerine uygunluk göstermektedir. Bu modellere göre Karpat dağlarındaki ve daha doğusundaki habitatların sığınak görevi görmeye uygun olduğunu belirtmişlerdir. Güneydeki sığınaktaki popülasyonlara ait haplotiplerin ise Polonya'da sıklığının az olmasını gözlemlemişlerdir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 Proje

Bu tez içerisinde yer alan çalışmalar TÜBİTAK Marmara Araştırma Merkezi, Orman ve Su İşleri Bakanlığı Doğa Koruma Milli Parklar Genel Müdürlüğü ve Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesinin ortaklaşa yürüttüğü "Ulusal Biyoçeşitliliğin ve Gen Kaynaklarının Korunması Hedefleri Doğrultusunda Büyük Memeli Türlerinin Araştırılması, Korunması ve Yönetimi" projesi dahilinde gerçekleşmiştir. Bu proje, Türkiye'de yaşayan karaca (*Capreolus capreolus*), ceylan (*Gazella gazella*), kızıl geyik (*Cervus elaphus*), alageyik (*Dama dama*), yaban koyunu (*Ovis* gmelini), yaban keçisi (*Capra aegagrus)* çengel boynuzlu dağ keçisi (*Rupicapra rupicapra*), çizgili sırtlan (*Hyeana hyeana*), karakulak (*Caracal caracal*), vaşak (*Lynx lynx*), kurt (*Canis lupus*) ve bozayı (*Ursus arctos*) türlerini kapsamıştır.

Bu türlerin genetik ve hücre bankalarını oluşturmak asıl hedeftir. Bunların yanında genetik işaretler kullanarak tür ve/veya alt tür tanımlamalarını yapabilmek için bilgi sağlamak, koruma stratejileri ve sürdürülebilir yönetim mevzuatının oluşturulması/güncellenmesi için tür içi genetik çeşitliliği belirlemek, envanter çalışmalarına bilimsel delil sağlamaya yöneliktir. Proje esnasında yukarıda sayılan tüm türlerden hücre, kan, kas, kıl veya kemik örnekleri alınmıştır. Bu örneklerle DNA ve hücre bankası oluşturulmuştur.

3.2 Örneklerin Elde Edilmesi

Proje kapsamında çeşitli yerlerden karacaların kan ve doku örnekleri toplanmıştır. Bazı örnekler av turizmi kapsamında vurulun hayvanlardan, bazıları sakatlanmış veya yavru haldeki karacalardan bazı örnekler ise ölü olarak ele geçen hayvanlardan elde edilmiştir (Şekil 3.1-3.2, Çizelge 3.1). Örnekler söz konusu projede gen bankasına konmak üzere TÜBİTAK Marmara Araştırma Merkezi (MAM) Genetik ve Biyoteknoloji Enstitüsü (GMBE)'ne gönderilmiştir. Laboratuvar çalışmaları TÜBİTAK MAM GMBE ve Konya

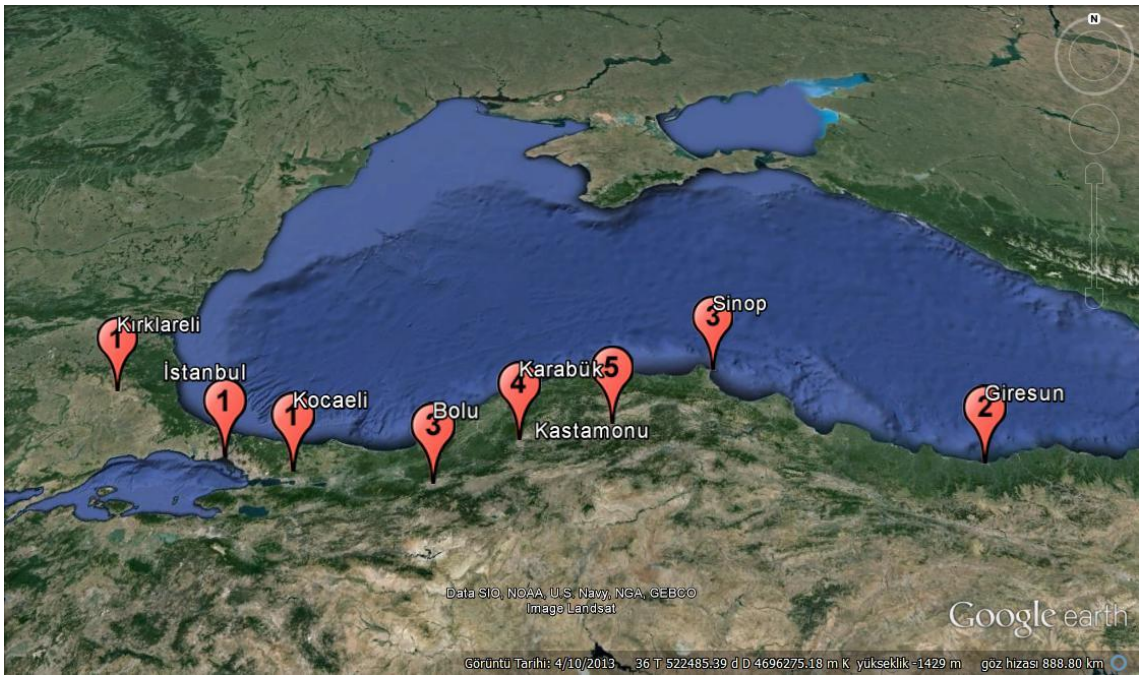
Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı ortaklaşa gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3.1 Yavru bir karacadan kan örneği alınırken

Çizelge 3.1 Karaca örneklemesi yapılan iller

Örnek No	**Örneklenen İl**	**Cinsiyet**
Cap01	Kastamonu	Erkek
Cap02	Kastamonu	Dişi
Cap03	Bolu	Erkek
Cap04	Bolu	Erkek
Cap05	Kastamonu	Erkek
Cap06	Sinop	Dişi
Cap07	İzmit	Erkek
Cap08	Sinop	Erkek
Cap09	Karabük	Erkek
Cap10	Kırklareli	Dişi
Cap11	İstanbul	?
Cap12	Karabük	Erkek
Cap13	Kastamonu	Erkek
Cap14	Kastamonu	Erkek
Cap15	Giresun	Erkek
Cap16	Bolu	Erkek
Cap17	Giresun	Erkek
Cap18	Karabük	Erkek
Cap19	Sinop	Erkek
Cap20	Karabük	Erkek



Şekil 3.2 Karaca bireylerinin örneklendiği iller ve örnekleme sayıları

3.3 DNA İzolasyonu

Kan örneği alınan bireylerle kas örneği alınan bireylerle DNA izolasyonu farklı metotlar ile yapılmıştır.

3.3.1 Kan örneklerinden DNA izolasyonu

Kan örneklerinden DNA izolasyonu aşağıda belirtilen yöntemle yapılmıştır.

1. 9-10 ml kan 0,5 ml EDTA (0,5 M, pH 8,0) içeren falkon tüpe konur ve 2X parçalama tamponu ile 50ml'ye tamamlanır.
2. 10 dakika boyunca tüpler yavaşça alt üst edilerek iyice karıştırılır ve 30 dakika buzun içinde bekletilir.
3. Daha sonra tüpler 10 dakika santrifüj edilir (3000 rpm, +,4 °C)

4. Süpernatant fazı atılır ve pelete 3 ml tuz/EDTA (75 mM NaCl, 25 Mm EDTA) eklenerek vortekslenir.

5. 0,3 ml % 10 SDS solüsyonu ve 150 µ ml proteinaz K (10 mg/ml) eklenerek örnekler 55 °C ± 2°C'de 1-3 saat su banyosunda veya etüvde bekletilir.

6. Bekleme süresi bittiğinde 3 ml fenol (pH 8,0) eklenir. Tüpler 20 saniye oldukça sert bir şekilde çalkalanır. Sonra yumuşak bir şekilde 5 dakika boyunca ters yüz edilir.

7. Daha sonra tüpler 10 dakika boyunca santrifüj edilir (3000 rpm, +4 °C).

8. Süpernatant fazı temiz ve uygun şekilde etiketlenmiş yeni steril falkon tüpe transfer edilir. Bu işlem sırasında ara ve alt fazları bozmamak için ucu kesilmiş steril 1ml'lik pipet uçları kullanılır.

9. Yeni tüpe aktarılan süpernatant fazının üzerine 3 ml fenol:kloroform:izoamil alkol (25:24:1) eklenir. Tüpler 20 saniye oldukça sert bir şekilde çalkalanır, sonra yumuşak bir şekilde 5 dakika boyunca ters yüz edilir.

10. Daha sonra tüpler 10 dakika santrifüj edilir (3000 rpm, +4 °C).

11. Süpernatant fazı, steril ve uygun şekilde etiketlenmiş cam tüpe veya falkon tüpe aktarılır. Bu işlem sırasında yine ara ve alt fazları bozmamak için ucu kesilmiş steril 1 ml'lik pipet uçları kullanılır.

12. Cam/falkon tüpe aktarılan bu fazın üzerine 2 katı kadar -20 °C ±3 °C'de soğutulmuş saf etanol eklenir. Cam/falkon tüpler sert bir şekilde sallanır ve yoğunlaşarak çöken DNA cam çubuk ile (ya da mikropipet yardımı ile) alınarak steril ve uygun şekilde etiketlenmiş 1,5 ml eppendorf tüpe aktarılır.

13. DNA aktarılan tüpler 2 dakika 12.000 rpm'de santrifüj edilir, içindeki etanol mikropipet yardımıyla tüpten uzaklaştırılır. Oda sıcaklığında tüpler ters çevrilerek ya da vakum kurutucuda 37 °C'de 15 dakika çevrilerek kurutulur.

14. Kuruduktan sonra üzerine 0,3 ml – 0,5 ml 10 mM Tris-HCL (pH 8,0) tamponu eklenerek çözdürülür.

15. Eğer saf etanol eklendiğinde DNA yeterince yoğunlaşıp çökmedi ise gece boyu 20 °C ±3°C'de bekletildikten sonra santrifüj işlemi ile çöktürülebilir.

16. DNA hemen kullanılacaksa buzdolabında + 4-8 °C'de, saklanacak ise -20 ±3 °C'de muhafaza edilir.

17. DNA kalite ve miktar tayini öncesi DNA örnekleri 37 °C ±2 °C'de gece boyunca ya da 55 °C ±2°C'de 20 dakika bekletilir.

3.3.2 Kas örneklerinden DNA izalasyonu

Kan örneklerinden DNA izolasyonu aşağıda belirtilen yöntemle yapılmıştır.

1. Kas örneğinden 1g veya 1adet karaciğer örneğinde 300 mg tartılır.
2. Örnekler sıvı nitrojen ile havanda parçalanır ve 50 ml steril falkonlara aktarılır.
3. 5 ml 55 °C'de bekletilmiş CTAB solüsyonu (%2 w/v CTAB, 1,4 M NaCl, 20 mM EDTA, 100 mM Tris-HCl pH: 8,0), 75 µl proteinaz (10mg/ml), 200 µl 0,5 M EDTA eklenir.
4. Aralıklarla vortekslenerek 55 °C'de gece boyu inkubasyona bırakılır.
5. 3 ml kloroform-isoamilalkol (24:1) eklenir ve 20 saniye sert bir biçimde çalkalanır. 6. Daha sonra 30 dakika karıştırmaya bırakılır.
7. 5000 rpm'de 20 dakika santrifüj edilerek, üst faz steril bir falkona aktarılır.
8. Tekrar 3 ml kloroform-isoamilalkol (24:1) eklenir ve 20 saniye sert bir biçimde çalkalanır, daha sonra 10 dakika karıştırmaya bırakılır.
9. 5000 rpm'de 20 dakika santrifüj edilerek, üst faz steril bir falkona aktarılır.
10. Üzerlerine 3 katı hacminde %99 soğuk etanol eklenir.
11. 5-6 kere yavaşça çalkalanarak, DNA'nın çökmesi beklenir.
12. Çöken DNA'lar mikropipet yardımıyla steril bir eppendorfa aktarılır.
13. Üzerlerine %70 soğuk etanol eklenerek, 12000 rpm'de 2 dakika santrifüj edilir.
14. Alkol uzaklaştırılarak, pelet vakum kurutucu yardımıyla kurutulur.
15. Örneklerin üzerlerine 300-500 µl TE tamponu (10 mM Tris, 1 mM EDTa, pH 8,0) eklenerek çözülmeleri için 2-3 saat 55 °C'de inkübasyona bırakılır.
16. Daha sonra, örneklere 1,5 µl RNAse eklenerek 37 °C'de gece boyu inkubasyona bırakılır.
17. DNA hemen kullanılacaksa buzdolabında (+4-8 °C), saklanacak ise (-20 °C ±3 °C)'de muhafaza edilir.

3.4 cyt-b-Bölgesinin PZR Yöntemi ile Çoğaltılması

Elde edilen DNA'lardan mitokondriyal cyt-b lokusuna özgün primerler (Rodríguez vd. 2009) kullanılarak polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) işlemi ile aşağıda belirtilen karışım ve koşullarda çoğaltılmıştır (Çizelge 3.2-3.3).

Primerler;

CRa F 5′-AGGAGAACAACTAACCTCCC-3′

CR R 5'-GGTTTCACGCGGCATGG′-3′

Çizelge 3.2 PZR Karışımı

Karışım	Miktar
dH_2O	14,9 µl
10X Buffer	4,0 µl
25 mM $MgCl_2$	1,5 µl
10 mM dNTP	1,5 µl
10 uM İleri Primer	1,0 µl
10 uM Geri Primer	1,0 µl
DNA örneği	2,0 µl
Taq Polimeraz Enzimi	0,1 µl
Toplam	25,0 µl

Çizelge 3.3 PZR Koşulları

Basamak	Sıcaklık	Süre	Döngü Sayısı
Ön Denatürasyon	95 °	3 dk	1
Denatürasyon	94 °	20 sn	35
Bağlanma	56 °	45 sn	35
Uzama	72 °	1 dk	35
Son Uzama	72 °	10 dk	1

PZR işlemi ile çoğalan DNA parçaları % 1'lik agaroz jel elektroforezi yöntemi ile görüntülenmiştir. Çoğalan PZR ürünleri nanodrop ile ölçülmüştür. Her biri yaklaşık 50 ng/µl olacak şekilde steril dH_2O ile sulandırılır. Sulandırma işleminden sonra dizileme reaksiyonu için aşağıdaki karışım ve koşullar uygulanarak tekrar PZR işlemine sokulur (Çizelge 3.4-3.5).

Çizelge 3.4 Dizileme Karışımı

Karışım	Miktar
dH_2O	4,5 µl
dITP	2,0 µl
PZR ürünü	2 µl
4uM primer	1,5 µl
Toplam	10,0 µl

Çizelge 3.5 PZR Koşulları

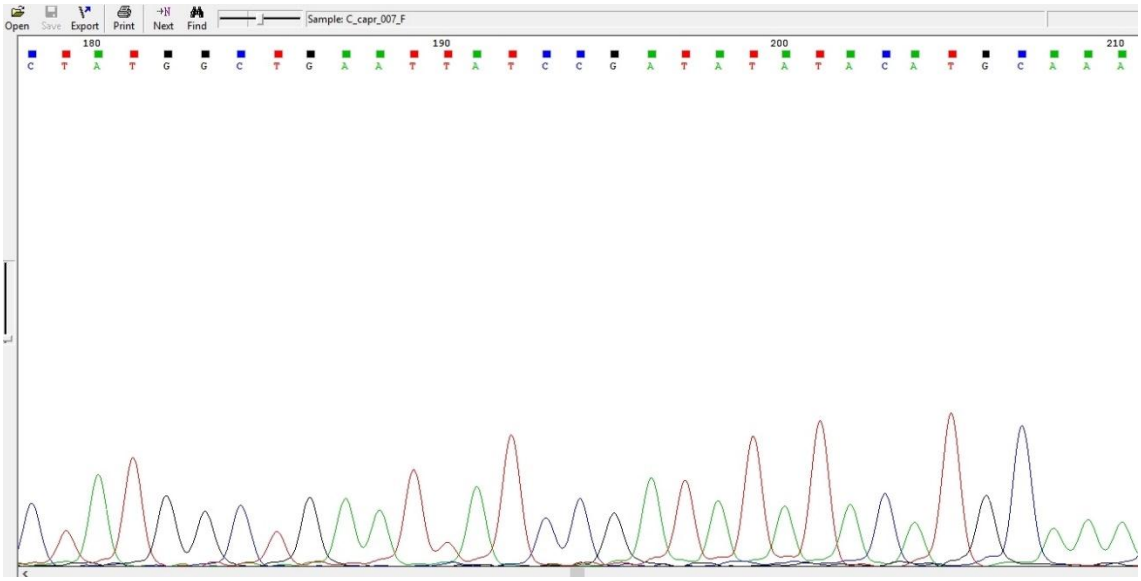
Basamak	Sıcaklık	Süre	Döngü Sayısı
Ön Denatürasyon	96 °	1 dk	1
Denatürasyon	96 °	20 sn	30
Bağlanma	50 °	20 sn	30
Uzama	60 °	4 dk	30

Elde PZR ürünleri daha sonra aşağıdaki protokol uygulanarak çöktürülmüştür.

1. 0,5 ml tüpleri etiketlenir.
2. Tüp başına 2 µl Na Asetat, 2 µl 100 mM EDTA ve 1 µl glycogen olacak şekilde taze karıştırılıp 5er µl her bir eppendorf tüpe paylaştırılır.
3. PZR ürünlerini etiketine uygun olarak tüplere aktarılır ve 2-5 sn vortekslenir.
4. Tüplere %95lik buzlukta saklanan etanolden 60 µl eklenir ve hızlıca karıştırılıp 15 dakika 14.000 rpm hızında (4 °C) santrifüj ile çöktürülür.
5. Beyaz bir çökelti oluşur.
6. Pipet yardımıyla, çökeltiye dokunmadan etanolü uzaklaştırıp her bir tüpe 200 µl %70lik etanol (buzlukta saklanmış) eklenir.
7. 2 dakika 14.000 rpm hızında (4 °C) santrifüj ile çöktürülür.
8.. Pipet yardımıyla, çökeltiye dokunmadan etanolü uzaklaştırıp her bir tüpe yine 200 µl %70lik etanol (buzlukta saklanmış) eklenir.
9. 2 dakika 14.000 rpm hızında (4 °C) santrifüj ile çöktürülür.
10. Pipet yardımıyla, çökeltiye dokunmadan etanol uzaklaştırılır ve tüpler kurumaya bırakılır. Tüplerin kapağı açık olarak oda sıcaklığında tezgah üzerinde kuruyabilir.
11. 30 µl SLS buffer'da çözdürülür.

Temiz PZR ürünü elde edildikten sonra tüm örnekler Beckman Coulter'ın DTSC Quick Start kiti kullanılarak dizileme işi yapılmıştır. Dizileme Beckman Coulter CEQ 8800 Genetic Analysis sistemi ile görüntülenmiş ve örneklerin ham mtDNA dizileri elde edilmiştir.

Daha sonra ham haldeki ileri-geri diziler Chromas-Pro ver. 1.7.6 (http://www.technelysium.com) programının aracılığıyla birbirleriyle örtüştürülerek her bir karaca için konsensus dizileri oluşturulmuştur (Şekil 3.3).



Şekil 3.3 Chromas programında ham dizilerin görüntülenmesi ve temizlenmesi

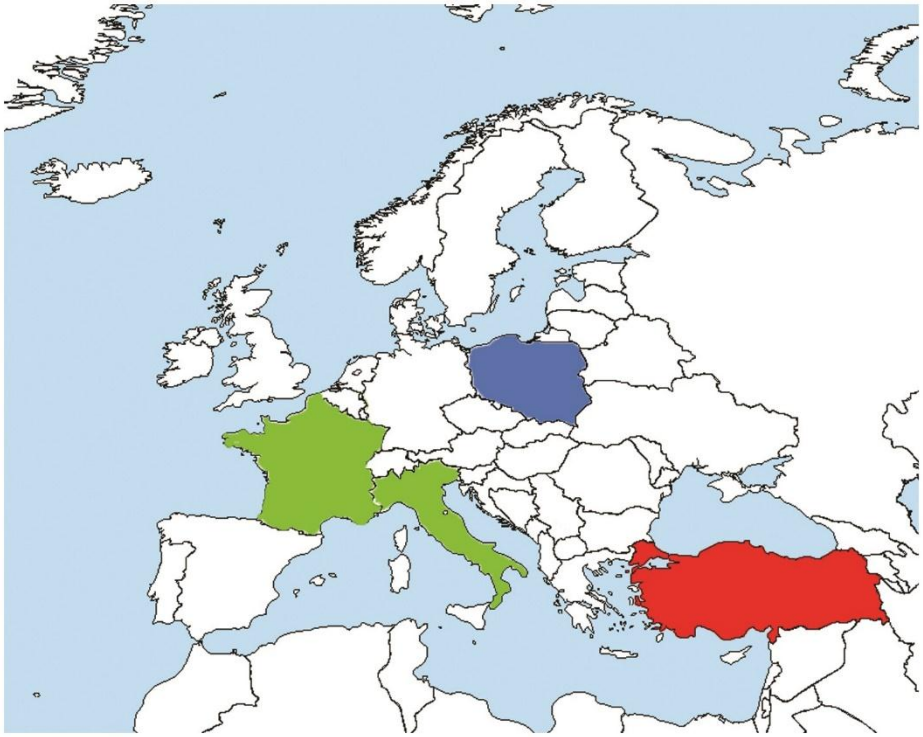
Birleştirilen diziler BIOEDIT ver. 7.2.5 (Hall 1999) programı içerisindeki CLUSTALW (Thompson vd. 1994) uygulaması ile alt alta dizilenmiş ve nükleotit dizilerinin sıraları eşitlenmiştir.

3.5 Filogenetik Analizler

Elde edilen 20 karaca bireyinin DNA dizileri DNASP ver. 5.1 (Librado ve Rozas, 2009) programı ile haplotipleri belirmek için analize sokulmuştur. Daha sonra dünyada yapılan diğer karaca sitokrom b gen bölgesinin haplotipleri GenBank aracılığıyla elde edilmiştir. Kullanılan haplotipler aşağıdaki çizelgede verilmiştir (Çizelge 3.6, Şekil 3.4).

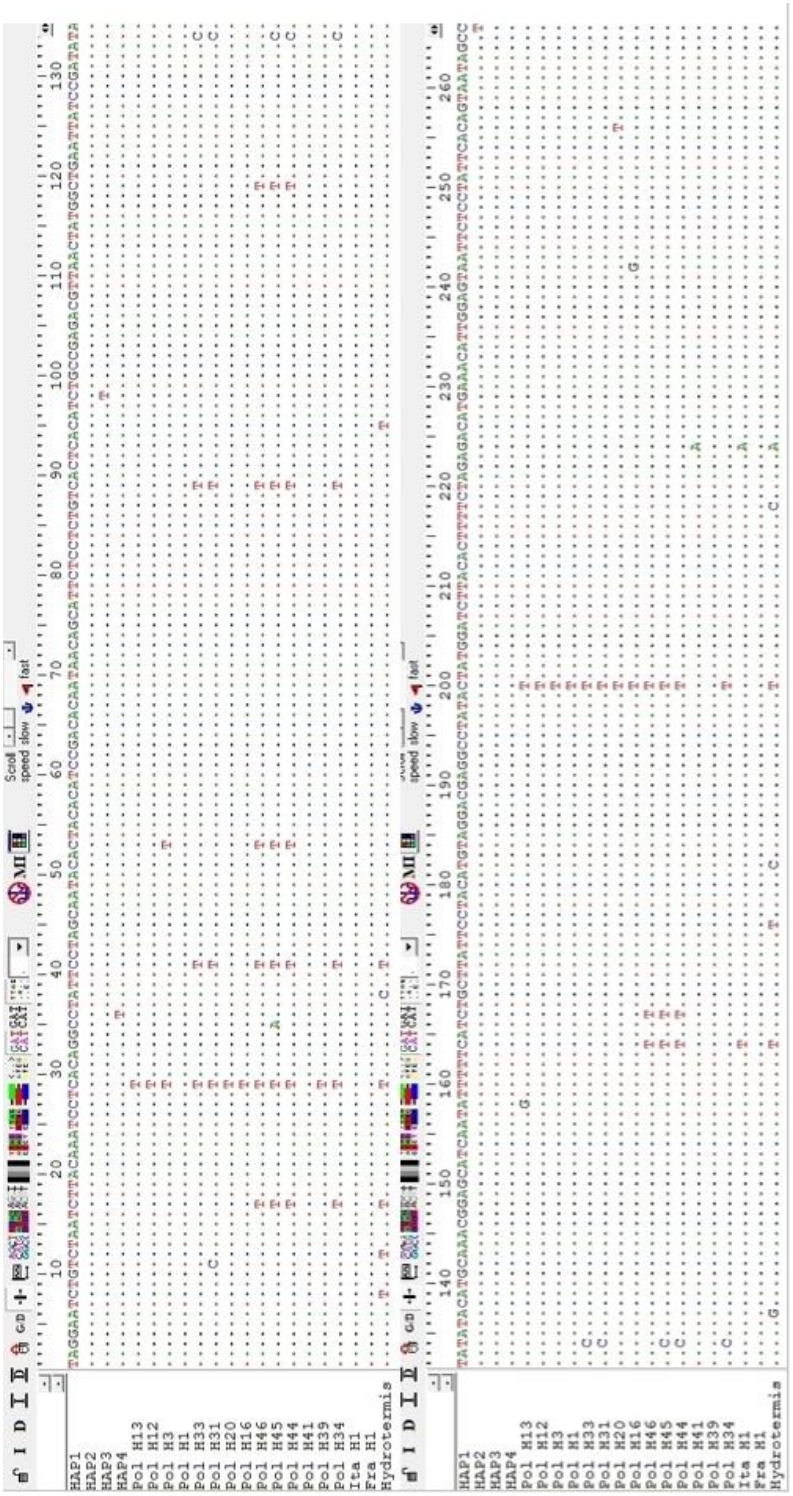
Çizelge 3.6 Gen bankasından alınan haplotipler ve haplotiplere dair bilgiler

Haplotip	Erişim No	Lokasyon	İlgili Yayın
Pol_H1	KJ558288	Polonya	Matosiuk vd. 2014
Pol_H12	KJ558299	Polonya	Matosiuk vd. 2014
Pol_H13	KJ558300	Polonya	Matosiuk vd. 2014
Pol_H16	KJ558303	Polonya	Matosiuk vd. 2014
Pol_H20	KJ558307	Polonya	Matosiuk vd. 2014
Pol_H3	KJ558290	Polonya	Matosiuk vd. 2014
Pol_H31	KJ558318	Polonya	Matosiuk vd. 2014
Pol_H33	KJ558320	Polonya	Matosiuk vd. 2014
Pol_H34	KJ558321	Polonya	Matosiuk vd. 2014
Pol_H39	KJ558326	Polonya	Matosiuk vd. 2014
Pol_H41	KJ558328	Polonya	Matosiuk vd. 2014
Pol_H44	KJ558331	Polonya	Matosiuk vd. 2014
Pol_H45	KJ558332	Polonya	Matosiuk vd. 2014
Pol_H46	KJ558333	Polonya	Matosiuk vd. 2014
Ita_H1	AJ000024	İtalya	Randi vd. 1998
Fra_H1	NC_020684	Fransa	Hassanin vd. 2012
Hydropotes	EU315254	Çin	Yayınlanmamış



Şekil 3.4 Haplotiplerin lokasyonları

Türkiye'deki haplotipler daha sonra dünyadaki diğer karaca sitokrom b bölgelerinin haplotipleriyle birlikte BIOEDIT programı aracılığı tekrar ile dizilenmiştir (Şekil 3.5).



Şekil 3.5 BIOEDIT programı aracılığıyla haplotiplerin dizilenmesi

Dizilenen bireyler tekrar DNASP programı ile analize sokulmuş, haplotipler arasındaki benzerliğe bakılmıştır. Bu haplotiplere ek olarak ağacın doğruluğunu kontrol etmek için

dış grup olarak *Hydropotes inermis* bireyinin sitoktrom b bölgesinin haplotipi GenBank'tan elde edilmiştir. Haplotipler arasındaki filogenetik ilişkiyi ortaya koymak için MEGA ver. 6.0 (Tamura vd. 2013) programı kullanılmıştır. MEGA 6 programı aracılığı ile en uygun model belirlenmiş, bu modele göre Neighbour Joining (Komşu Katılımlı) ve Maximum Likelihood (Maksimum Benzerlik) ağaçları oluşturulmuştur.

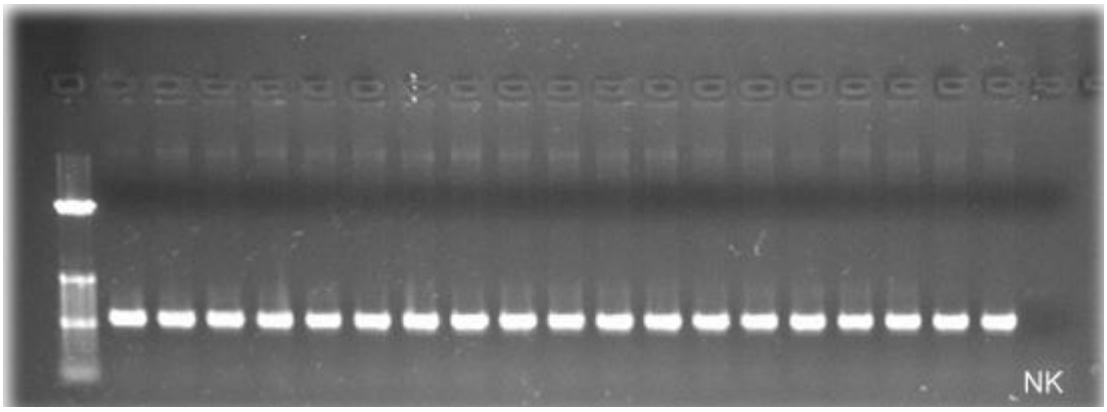
Bunların yanında filogeni oluşturulurken tür içi genetik uzaklıkların az olması karşılaşılan zorluklardan biridir. Bu gibi durumlarda haplotipler arasındaki ilişkiyi Median-Joining metodu ile açıklanabilir (Bandelt vd. 1999). GenBank'tan alınan haplotipler Türkiye'deki haplotipler Median-Joining metodu kullanan NETWORK 4.6.1.0 (www.fluxus-engineering.com) programı ile analiz edilmiştir.

Popülasyonların birbiri arasında ve popülasyon içlerindeki moleküler varyans analizlerini, popülasyonlar arasındaki farklılıkları, uyumsuzluk değerlerini hesaplamak için ARLEQUIN 3.5.1.2 (Excoffier ve Lischer, 2010) programı kullanılmıştır. Türkiye'deki karacaların popülasyonun genişlediğini ve daraldığını anlamak için nötralite testleri olan Tajima'nın D (Tajima 1989) ve Fu'nun Fs (Fu 1997) değerleri DNASP ver. 5.1 ile yapılmıştır.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1 PZR Ürünlerinin Görüntülenmesi

PZR sonucu oluşan DNA'lar agoroz jelde görüntülenmiştir. Bireylerin hepsi jelde DNA'nın çoğaldığını gösteren bantlar oluşturmuştur (Şekil 4.1).



Şekil 4.1 Laboratuvar çalışmalarında elde edilen dizilerin elekforez yöntemi kullanılarak elde edilen jel görüntüsü

4.2 Haplotiplerin Belirlenmesi

Yapılan analiz sonucunda Türkiye'den örneklenen 20 karaca bireyinin mtDNA sitokrom b bölgesinin 266 bazlık bölgesi çoğaltılmıştır. Toplam 3 farklı değişken bölge bulunmuştur. Sonuç olarak 20 bireyden toplam 4 haplotip elde edilmiştir (Çizelge 4.1-4.2, Şekil 4.2). Haplotip çeşitliliği ise 0,6053'tür.

Matosiuk vd. (2014) yaptığı çalışmada bulunan 42 haplotip, 1140 bazın dizilenmesi sonucu bulunmuştur. Türkiye'deki karacaların 266 baz bölgesi çoğaltıldığı için, bu bölgeye karşılık gelen baz dizisinin dizilenmesi sonucu baz uzunlukları farklı olduğu için yinelenen haplotipler olmuş, bu yüzden yukarıdaki çalışmadan 14 haplotip kullanılmıştır. Yapılacak analizlerde çizelgede verilen GenBank erişim numaraları verilen 14 haplotip kullanılmıştır. NC_020684 erişim numarasına sahip Fransa'daki

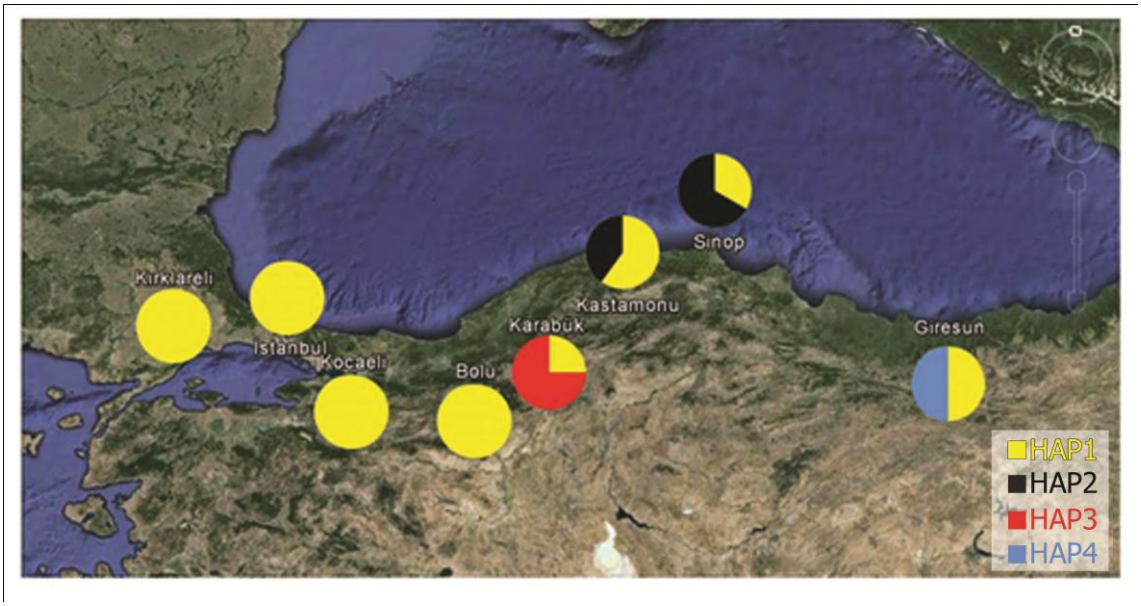
karaca popülasyona sahip haplotipin 266 bazlık bölümü, Türkiye'deki haplotiplerden HAP1 ile birebir örtüşmektedir.

Çizelge 4.1 Yapılan analizlerde 4 haplotipin bireylere dağılımı

HAPLOTİPLER	ÖRNEKLENEN BİREYLER
HAP1	Cap01_Kastamonu, Cap02_Kastamonu, Caap03_Bolu, Cap04_Bolu, Cap06_Sinop, Cap07_İzmit, Cap10_Kırklareli, Cap11_İstanbul, Cap12_Karabük, Cap14_Kastamonu Cap15_Giresun, Cap16_Bolu
HAP2	Cap05_Kastamonu, Cap08_Sinop, Cap13_Kastamonu, Cap19_Sinop
HAP3	Cap09_Karabük Cap18_Karabük Cap20_Karabük
HAP4	Cap17_Giresun

Çizelge 4.2 Yapılan analizlerde 20 bireyin haplotiplere illere genel dağılımı

	HAP1	HAP2	HAP3	HAP4
Kastamonu	3	2	-	-
Bolu	3	-	-	-
Sinop	1	2	-	-
İzmit	1	-	-	-
Karabük	1	-	3	-
Kırklareli	1	-	-	-
İstanbul	1	-	-	-
Giresun	1	-	-	1
TOPLAM	12	4	3	1



Şekil 4.2 Haplotiplerin örnekleme yerlerine göre dağılımı

4.3 İstatistikler ve Filogenetik Ağaçlar

4.3.1 Korunan ve değişken alanlar

Yapılan analizlerde karacaya ait tüm haplotipler dikkate alındığında 19 baz konumunda değişiklik olduğu gözlenmiş, 247 baz konumunun korunduğu ortaya çıkmıştır. 266 bazlık dizi içerisinde tüm haplotipler içerisinde sadece 8 baz konumunda tek bir nükleotid baz değişikliği gözlenmiştir. Birden fazla nükleotid değişikliği olan yani parsimoni bilgisi içeren bölgeler ise 11 adettir (Çizelge 4.3). Nükleotid bazlarının çiftli frekansları ortalaması çizelge 4.4'te verilmiştir. Oluşan mutasyonların hepsi transisyon sonucu oluşmuştur.

Çizelge 4.3 Korunan ve değişken alanların bazlara dağılımı

Korunan Bölge	247/266
Değişken Bölge	19/266
Singleton	8/266
Parsimonik Bilgi	11/266
Toplam	**266/266**

Çizelge 4.4 Nükleotid ikili frekansları ortalaması

Domain	ii	si	sv	R	TT	TC	TA	TG	CT	CC	CA	CG	AT	AC	AA	AG	GT	GC	GA	GG	Total
Avg	261	5	0	46,11	80	3	0	0	2	62	0	0	0	0	82	0	0	0	0	38	266
1st	89	0	0	nc	38	0	0	0	0	18	0	0	0	0	17	0	0	0	0	16	89
2nd	84	5	0	44,11	17	3	0	0	1	27	0	0	0	0	40	0	0	0	0	1	89
3rd	88	0	0	nc	25	0	0	0	0	17	0	0	0	0	25	0	0	0	0	21	88

*ii: Aynı çiftleri
*si: Transisyon olan bazlar
*sv: Transversiyon olan bazlar
*R: si/sv

4.3.2 Nükleotit kompozisyonu ve nükleotit çeşitliği

MEGA programı ile analiz edilen Türkiye ve Avrupa popülasyonlarının haplotiplerinin nükleotit kompozisyonu çizelge 4.7'te verilmiştir.

DNASP programı ile aracılığıyla Türkiye popülasyonuna ait 20 bireyin nükleotit çeşitliliği (π) 0,00265 olarak hesaplanmıştır. İkili Farklılıklarının ortalama sayısı (k) ise 0,705 olarak hesaplanmıştır (Çizelge 4.5). Türkiye popülasyonuna ait haplotip arasındaki farklılık matriksi .çizelge 4.6'da verilmiştir.

Çizelge 4.5 Haplotip ve nükleotid çeşitliliği

	N	N_h	h	π
Türkiye	20	4	0,605	0,00265
Polonya*	114	42	0,93	0,006

N: örneklenen birey sayısı, N_h : Haplotip sayısı h : Haplotip çeşitliliği π : Nükleotit çeşitliliği
*Bu değerler Matosiuk ve diğerleri (2014) çalışmalarından alınmıştır ve söz konusu çalışmada 1140 bazlık sitokrom-b bölgesi çoğaltılmıştır.

Çizelge 4.6 Türkiye haplotipleri arasındaki farklılık matriksi

	HAP1	HAP2	HAP3	HAP4
HAP1		0.9981	0.9981	0.9981
HAP2	1.0000		1.4089	1.4089
HAP3	1.0000	2.0000		
HAP4	1.0000	2.0000	2.0000	

Çizelge 4.7 Nükleotid Kompozisyonu

	T(U)	C	A	G	Top	T-1	C-1	A-1	G-1	Poz #1	T-2	C-2	A-2	G-2	Poz #2	T-3	C-3	A-3	G-3	Poz #3
HAP1	29,7	25,2	30,8	14,3	266,0	43	20,2	19,1	18,0	89,0	18	36,0	44,9	1,1	89,0	28	19,3	28,4	23,9	88,0
HAP2	30,1	24,8	30,8	14,3	266,0	43	20,2	19,1	18,0	89,0	19	34,8	44,9	1,1	89,0	28	19,3	28,4	23,9	88,0
HAP3	30,1	24,8	30,8	14,3	266,0	43	20,2	19,1	18,0	89,0	19	34,8	44,9	1,1	89,0	28	19,3	28,4	23,9	88,0
HAP4	30,1	24,8	30,8	14,3	266,0	43	20,2	19,1	18,0	89,0	18	36,0	44,9	1,1	89,0	30	18,2	28,4	23,9	88,0
Pol_H13	30,5	24,4	30,5	14,7	266,0	43	20,2	19,1	18,0	89,0	20	33,7	43,8	2,2	89,0	28	19,3	28,4	23,9	88,0
Pol_H12	30,5	24,4	30,8	14,3	266,0	43	20,2	19,1	18,0	89,0	20	33,7	44,9	1,1	89,0	28	19,3	28,4	23,9	88,0
Pol_H3	30,8	24,1	30,8	14,3	266,0	43	20,2	19,1	18,0	89,0	21	32,6	44,9	1,1	89,0	28	19,3	28,4	23,9	88,0
Pol_H1	30,1	24,8	30,8	14,3	266,0	43	20,2	19,1	18,0	89,0	19	34,8	44,9	1,1	89,0	28	19,3	28,4	23,9	88,0
Pol_H33	30,8	24,1	30,8	14,3	266,0	43	20,2	19,1	18,0	89,0	21	32,6	44,9	1,1	89,0	28	19,3	28,4	23,9	88,0
Pol_H31	30,5	24,4	30,8	14,3	266,0	43	20,2	19,1	18,0	89,0	20	33,7	44,9	1,1	89,0	28	19,3	28,4	23,9	88,0
Pol_H20	30,8	24,1	30,8	14,3	266,0	44	19,1	19,1	18,0	89,0	20	33,7	44,9	1,1	89,0	28	19,3	28,4	23,9	88,0
Pol_H16	30,5	24,4	30,5	14,7	266,0	43	20,2	19,1	18,0	89,0	20	33,7	43,8	2,2	89,0	28	19,3	28,4	23,9	88,0
Pol_H46	33,1	21,8	30,8	14,3	266,0	43	20,2	19,1	18,0	89,0	28	25,8	44,9	1,1	89,0	28	19,3	28,4	23,9	88,0
Pol_H45	32,7	21,8	31,2	14,3	266,0	43	20,2	19,1	18,0	89,0	27	25,8	46,1	1,1	89,0	28	19,3	28,4	23,9	88,0
Pol_H44	32,7	22,2	30,8	14,3	266,0	43	20,2	19,1	18,0	89,0	27	27,0	44,9	1,1	89,0	28	19,3	28,4	23,9	88,0
Pol_H41	29,7	25,2	31,2	13,9	266,0	43	20,2	19,1	18,0	89,0	18	36,0	46,1	,0	89,0	28	19,3	28,4	23,9	88,0
Pol_H39	30,1	24,8	30,8	14,3	266,0	43	20,2	19,1	18,0	89,0	19	34,8	44,9	1,1	89,0	28	19,3	28,4	23,9	88,0
Pol_H34	31,2	23,7	30,8	14,3	266,0	43	20,2	19,1	18,0	89,0	22	31,5	44,9	1,1	89,0	28	19,3	28,4	23,9	88,0
Ita_H1	30,1	24,8	31,2	13,9	266,0	43	20,2	19,1	18,0	89,0	19	34,8	46,1	,0	89,0	28	19,3	28,4	23,9	88,0
Ort.	30,7	24,1	30,8	14,3	266,0	43	20,2	19,1	18,0	89,0	21	32,9	45,0	1,1	89,0	28	19,3	28,4	23,9	88,0

4.3.3 Filogenetik ağaçlar

4.3.3.1 Model seçimi

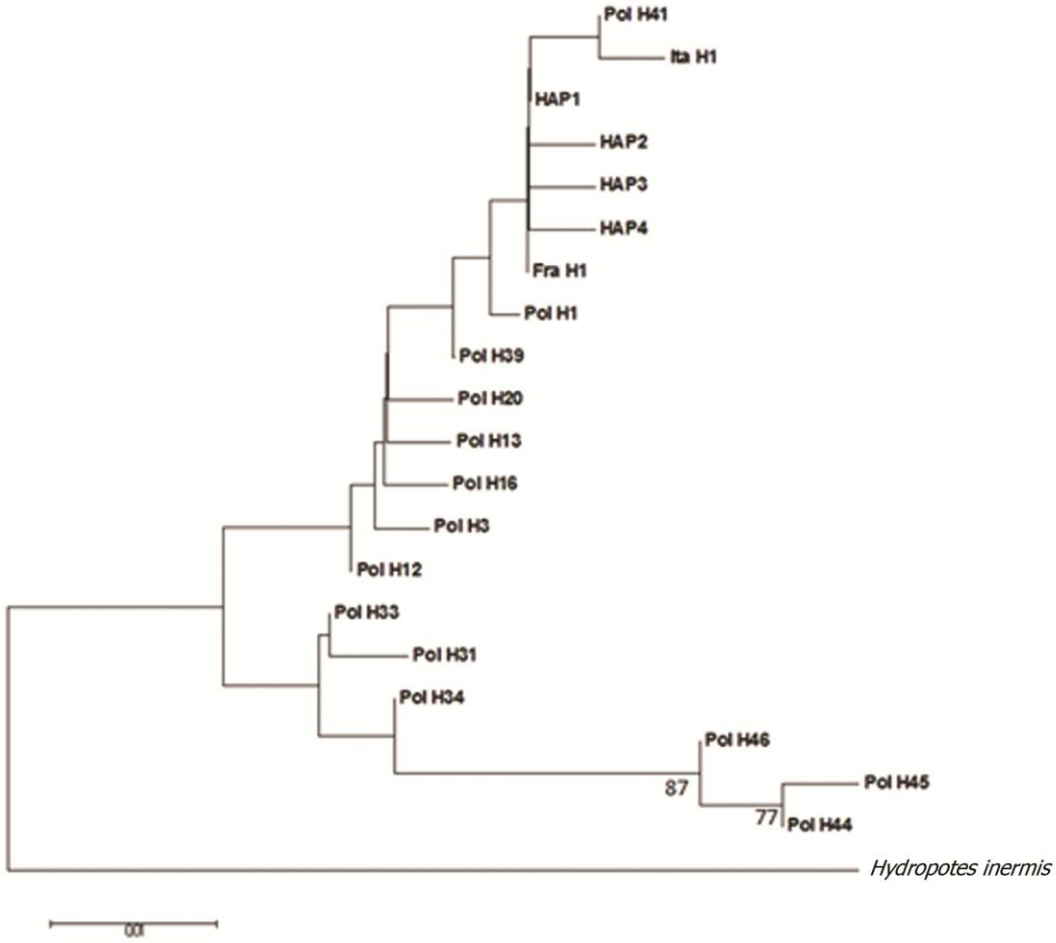
Mutasyon modeli seçiminde Bayesian Information Criteria (BIC) ve Akaike Information Criterion (AIC) değerlerinin en düşük olanı en uygun model olarak belirlenmiştir. Sonuçlara göre analizler için uygun model Tamura-3 parametresi+G (T92+G) çıkmıştır. Gamma değeri 0,13337 belirlenmiştir. Yapılan analizlerde bu parametre kullanılacaktır (Çizelge 4.8) (Nei ve Kumar, 2000, Tamura vd, 2013).

Çizelge 4.8 Ağaç oluşturulurken kullanılacak istatistik modelin paramatre değerleri (AIC ve BIC değerleri en düşük olan en uygun modeldir (Nei ve Kumar 2000, Tamura vd. 2013)

Model	#Parametre	BIC	AICc	lnL	Invariant	Gamma
T92+G	42	1465	1187	-551,4	n/a	0,13337
T92	41	1471	1200	-558,5	n/a	n/a
T92+I	42	1471	1194	-554,4	0,351	n/a
HKY+G	44	1474	1183	-547,3	n/a	0,13769
T92+G+I	43	1475	1190	-551,8	1E-05	0,13501
HKY	43	1476	1192	-552,5	n/a	n/a
K2+G	41	1477	1206	-561,7	n/a	0,08667
HKY+I	44	1478	1187	-549,3	0,456	n/a
TN93+I	45	1479	1181	-545,1	0,555	n/a
TN93+G	45	1479	1181	-545,3	n/a	0,23026
TN93	44	1480	1189	-550,4	n/a	n/a
K2	40	1481	1216	-567,8	n/a	n/a
HKY+G+I	45	1483	1186	-547,5	0	0,13884
K2+I	41	1484	1213	-565,2	0,375	n/a
K2+G+I	42	1486	1208	-561,7	0	0,08655
TN93+G+I	46	1486	1182	-544,6	0,094	0,27652
GTR+G	48	1500	1183	-542,9	n/a	0,24932
GTR	47	1501	1190	-547,8	n/a	n/a
GTR+G+I	49	1509	1185	-543	0,099	0,3071
GTR+I	48	1510	1192	-547,8	1E-05	n/a
JC+G	40	1529	1264	-591,9	n/a	0,11256
JC	39	1529	1271	-596,3	n/a	n/a
JC+I	40	1534	1270	-594,7	0,243	n/a
JC+G+I	41	1537	1266	-591,9	0	0,11256

4.3.3.2 Neighbour joining (NJ) ağacı

Tüm haplotipler *Hydropotes* dış grup olarak belirlendikten sonra modeli Tamura3+G parametresi baz alınarak 10000 bootstrap ile NJ metodu kullanılarak orijinal ağaç oluşturulmuştur (Şekil 4.3)

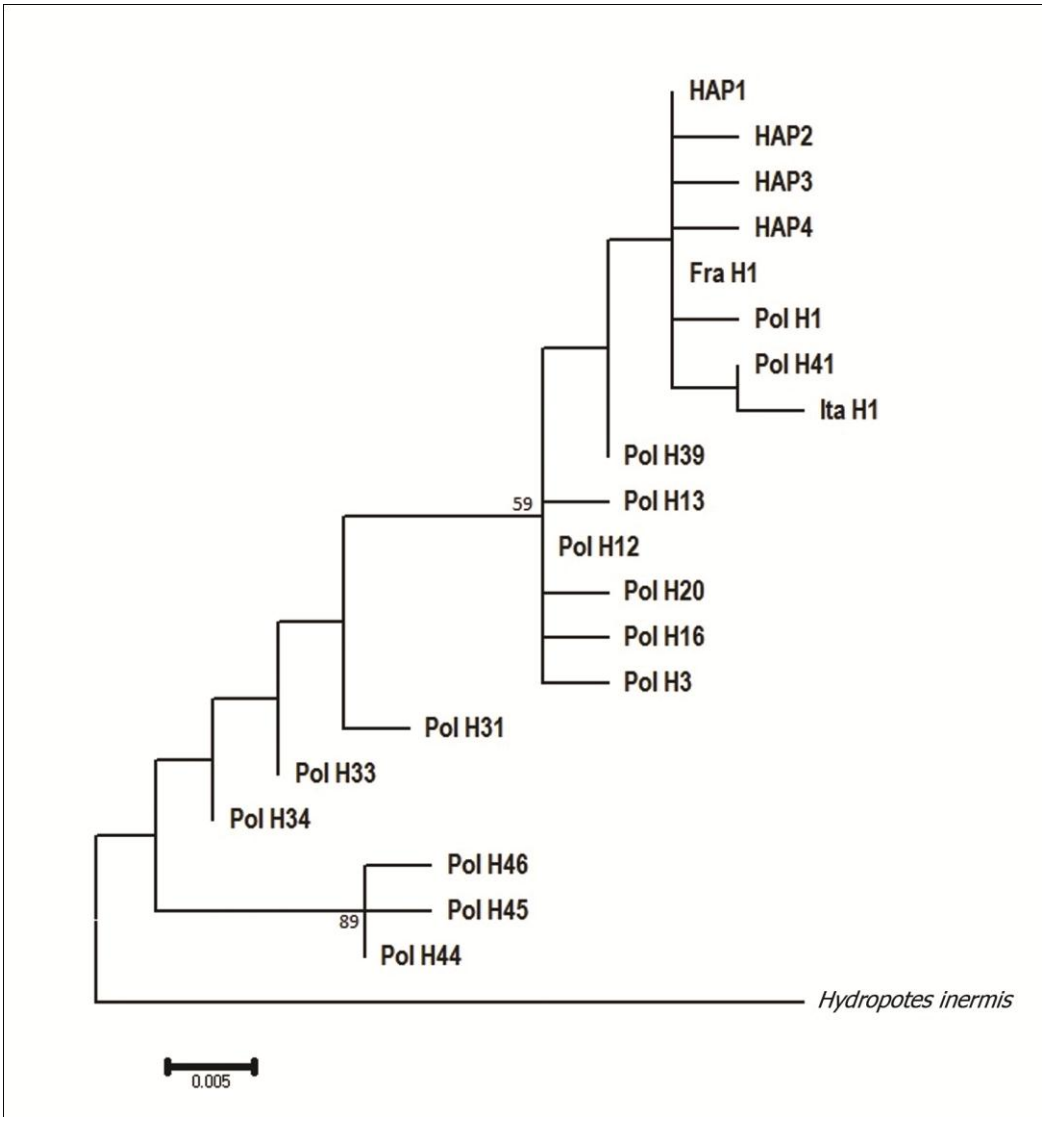


Şekil 4.3 Neigbour Joining Ağacı

Not : Bu ağaç neigbour joining methodu kullanılarak MEGA programı ile Tamura3+G parametresiyle oluşturulmuştur. Gamma dağılım değeri 0,13337 olarak alınmıştır (Saitou ve Nei 1997, Tamura 1992, Tamura vd. 2013). (Not: 50 değerinin altında olan bootstrap değerleri gösterilmemiştir)

4.3.3.3 Maximum Likelihood ağacı

Tüm haplotipler *Hydropotes intermis* türü dış grup olarak belirlendikten sonra modeli Tamura3+G parametresi baz alınarak 10000 bootstrap ile Maximum Likelihood metodu kullanılarak orijinal ağaç oluşturulmuştur (Şekil 4.4)

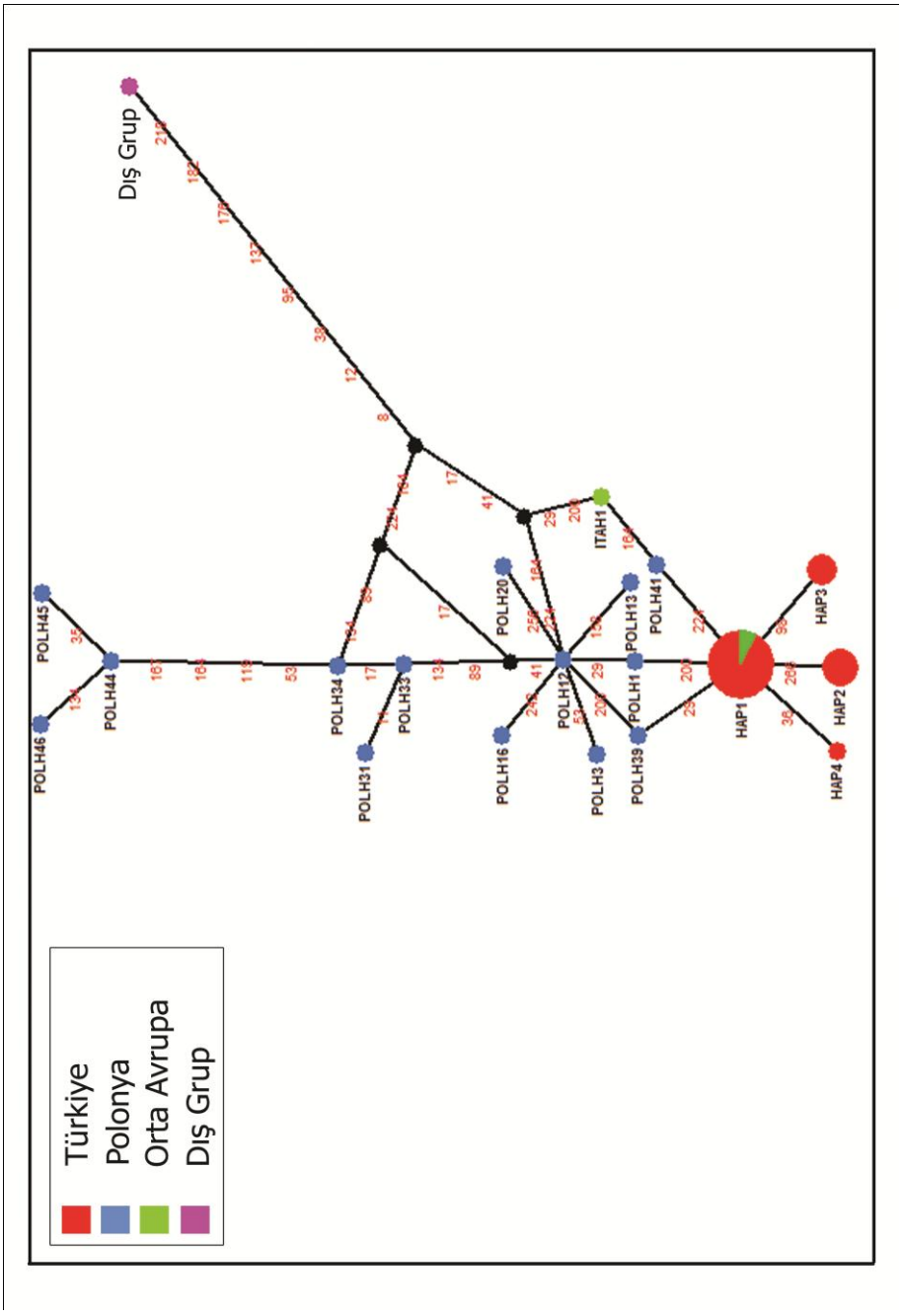


Şekil 4.4 Maximum Likelihood ağacı

Not: Bu ağaç maximum likelihood methodu kullanılarak MEGA programı ile Tamura3+G parametresiyle oluşturulmuştur. Gamma dağılım değeri 0,13337 olarak alınmıştır (Tamura 1992, Tamura vd. 2013).

4.3.3.4 Median Joining ağacı

Tüm haplotipler *Hydropotes* dış grup olarak belirlendikten sonra Median Joining Network ağacı oluşturulmuştur (Şekil 4.5). Şekil 4.5'deki haplotipler arasındaki kırmızı ile renklendirilmiş sayılar hangi bazda nükleotit değişikliğini olduğunu ifade etmektedir.



Şekil 4.5 Median Joining Ağacı

4.4 Popülasyonların genetik yapısı

Popülasyonlar arasındaki genetik varyasyon AMOVA ile hesaplanmış, çizelge 4.9'da gösterilmiştir. Bu analizde Orta Avrupa örnekleri örneklem açısından az olduğu için analiz dışı bırakılmış sadece Türkiye ve Polonya örnekleri değerlendirilmiştir.

Çizelge 4.9 Moleküler varyans analizleri

	S.D	Kareler Toplamı	Varyans Bileşenleri	Varyans Oranı %
Popülasyonlar arasında	2	20.943	0.95925 Va*	44.45
Popülasyon içinde	33	39.557	1.19870 Vb*	55.55
Total	35	60.500	2,157950	
Fiksasyon İndeksi	F_{ST} 0.44452			

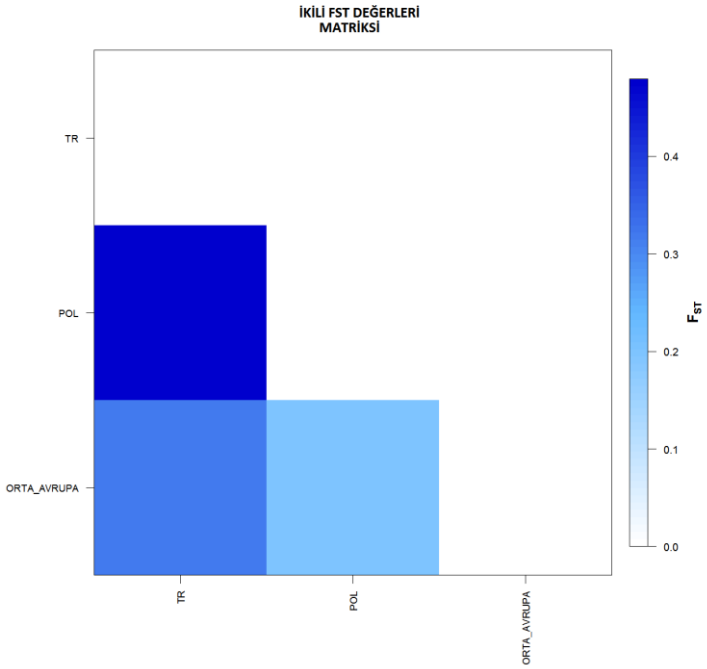
*Va = F_{CT}
Vb = F_{SC}
SD = Serbestlik derecesi

Popülasyonlar arasındaki ikili Fst değerleri matriksi çizelge verilmiştir. Orta Avrupa popülasyonları istatiksel olarak anlamsız bulunmuşturç Yapılan analiz sonucu popülasyonlar arasında çok farklılaşma olmadığı gözlenmiştir (Çizelge 4.10, Şekil 4.6). En yüksek farklılaşma değeri Türkiye ve Polonya arasında, en düşük farklılık ise Polonya ve Orta Avrupa popülasyonları arasında gözlenmiştir.

Çizelge 4.10 Karaca popülasyonları arasındaki ikili farklılıklara göre Fst matriksi değerleri

	TR	POL	ORTA AVRUPA
Türkiye	0.00000		
Polonya	0.47889	0.00000	
Orta Avrupa	0.31449*	0.19940*	0.00000

*P<0,05 istatiksel olarak anlamlı değil



Şekil 4.6 İkili Fst matriks grafiği

Popülasyonlar arasındaki gen akışı değerleri (Nm) çizelge 4.11'te gösterilmiştir. En yüksek değer Polonya ve Avrupa popülasyonları arasındadır. Türkiye ve Polonya popülasyonları arasındaki değer oldukça düşüktür.

Çizelge 4.11 Popülasyonlar arası Nm değerleri

	TR	POL	ORTA AVRUPA
TR	0.00000		
POL	0.54407	0.00000	
ORTA AVRUPA	1.08988	2.00748	0.00000

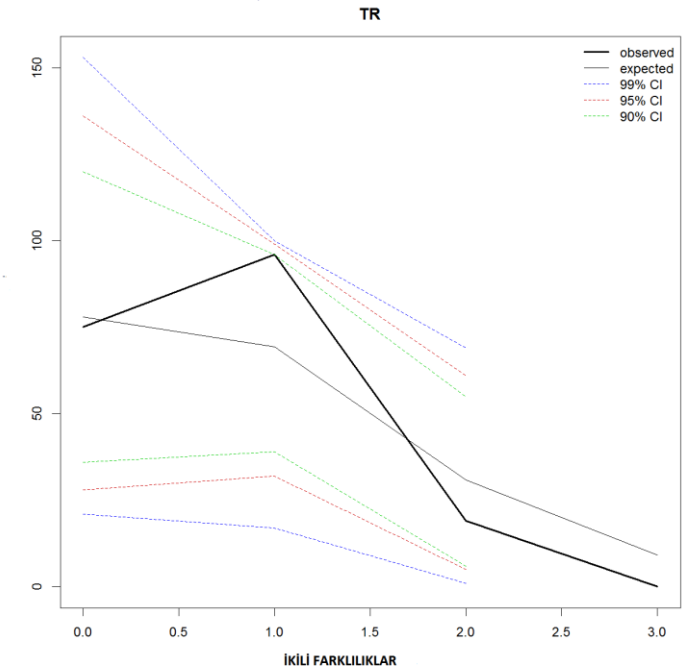
Türkiye popülasyonların seçilimi oluşturan bileşenlerden etkilenip etkilenmediği, popülasyonların genişleyip genişlemediğini anlayabilmek için nötralite testleri yapılmıştır. Fu'nun Fs değeri ve Tajima'nın D değerleri hesaplanmıştır (Çizelge 4.12). Fu'nun Fs testi Tajima'nın D testine göre daha hassastır (Fu 1997). Analizler sonucunda popülasyonların negatif değer alması popülasyonların genişlediğine göstermektedir. Yapılan testler istatiksel olarak anlamlı değildir.

Çizelge 4.12 Nötralite testleri

	Tajima'nın D'si	Fu'nun Fs
Türkiye Popülasyonu	-0,44328 *	-0,44328*

*P>0,1 istatiksel olarak anlamlı değil

Ayrıca popülasyonların tarihte büyüme geçirmediğini geçirmediği ikili farklılıların dağılımı olan "Uyumsuzluk Dağılımı" analizlerine bakılarak da yapılmıştır (Şekil 4.7).



Şekil 4.7 Türkiye popülasyonun uyumsuzluk dağılımı

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Yapılan çalışmada Türkiye'de ilk kez karaca popülasyonun, moleküler yöntemler kullanılarak filogenisine ve genetik çeşitliliğine dair veriler elde edilmiştir. Bu çalışmada Türkiye'nin çeşitli bölgelerinden alınmış 20 karaca bireyinin mtDNA cyt-b gen bölgesinin 266 bazlık dizisi PZR yöntemiyle çoğaltılmıştır. Bu popülasyonlara ait 4 tane haplotip belirlenmiştir. Bu 4 haplotip hem kendi içinde hem dünyadaki diğer cyt-b dizilerine sahip haplotiplerle karşılaştırılmıştır.

Türkiye'deki diğer 3 haplotipin HAP1'den sadece bir nükleotit değişimi ile ayrıldığı tespit edilmiştir. Bu nükleotit değişimlerinin hepsi transisyon ile oluşmuştur. Haplotipler arasından HAP3 sadece Karabük ilinde (dört bireyin üçünde), HAP4 ise sadece Giresun ilinde (iki bireyin birinde) gözlenmiştir. Yapılan analizlerde haplotiplerden ve bireyler arasında en yaygın olan HAP1, Fransa'daki haplotip ile (Hassanin vd. 2012) birebir örtüştüğü gözlenmiştir.

Matosiuk vd. (2014) Polonya karacaları üzerine yaptığı çalışmada 154 bireyden aldıkları DNA örneklerinden cyt b bölgesi kodlayan 1140 baz dizisinde toplam 42 haplotip bulmuşlardır. Haplotip çeşitliliği 0,93 çıkmış, nükleotid çeşitliliği ise 0,006 olarak hesaplamışlardır. Türkiye'deki 20 karaca bireyinden alınan DNA örneklerinden cyt b bölgesini kodlayan için 266 baz dizisinde toplam 4 haplotip bulunmuştur. Haplotip çeşitliliği 0,6053, nükleotid çeşitliliği ise 0,00265 olarak bulunmuştur. Bu değer Polonya popülasyonuna göre daha azdır.

cyt-b bölgesi Avrupa'nın Polonya hariç diğer popülasyonlarında d-loop bölgesine nazaran daha az araştırılmıştır. Matosiuk vd. (2014) Avrupa popülasyonlarının ana dallarını Randi vd. (2004)'nin d-loop bölgesine göre tanımladığı şekilde baz almıştır. Türkiye popülasyonun bu dallar arasında yerini belirleyebilmek için bu çalışmalardaki sınıflandırmalar göz önünde bulundurulmuştur.

NJ, ML ve Median Joining ağaçları birlikte değerlendirildiğinde Pol_H45, Pol_H46, Pol_H44 haplotiplerinin, Türkiye'deki haplotiplere en uzak dallarda kümelendiği gözlenmiştir. Bu üç haplotip arasında Pol_H45'in HAP1 ile arasında toplam 11 nükleotit değişikliği vardır. Aynı zamanda bu haplotipler Matosiuk ve diğerleri (2014) yaptığı çalışmada bu haplotiplerin d-loop bölgesi için Doğu dalına ait haplotipler olduklarını belirtmişlerdir.

NJ, ML ve Median Joining ağacında tespit edilen HAP1'e en yakın üç haplotip belirlenmiştir. Bunlar POL_H1, POL_H39, POL_H41'dir. Bu haplotipler Matosiuk ve diğerleri (2014) yılında yaptığı çalışmada D-loop bölgesi açısından sırasıyla şu ana dallar arasında yer almışlardır; Merkez, Batı ve Batı'dır. Fakat aynı çalışmada d-loop ile cyt b sekansları ile birlikte değerlendirildiğinde ise bu haplotiplerin hepsi Merkez dalda yer almıştır.

Bu çalışma da bulunan HAP1, Fransa popülasyonundan elde edilen Fra_H1 haplotipi ile birebir örtüşmüştür. Randi vd. (2004) ve Lorenzini ve Lovari (2006) yaptıkları çalışmalarda, Fransa popülasyonunu her zaman Merkez Dal'da yer almıştır. Fransa'nın aksine yapılan yukarıdaki çalışmalarda Polonya ve İtalya üç ana dalda da haplotipleri barındırmaktadır.

Üç analiz birlikte değerlendirildiğinde Merkez ve Batı haplotipleri Türkiye popülasyonuna yakındır. Doğu dalındaki haplotipler ise diğer dallara göre nispeten daha uzaktır.

Bu verilerin aksine Lorenzini ve Lovari'nin (2006) yaptığı mikrosatelit verilerine göre oluşturduğu ağaçta iki ana daldan, Türkiye Avrupa'nın doğu Avrupa ve Balkan popülasyonlarının bulunduğu grupta yer almış, orta ve batı Avrupa ülkelerindeki popülasyonların bulunduğu dalda yer almamıştır. Türkiye bulunduğu grupta ise diğer popülasyonlardan ayrı bir dalda yer almıştır. Bu gruptaki popülasyonlar Doğu Dalında yer alan popülasyonlardır ve en yakını Yunanistan'dır. Lorenzini ve Lovari (2014) yılındaki çalışmada d-loop verilerine göre Yunanistan'ı Doğu Dalı'nda belirtmiştir.

Randi vd. (2004), Lorenzini ve Lovari (2006) ve Matosiuk vd. (2014) yaptıkları çalışmaların hepsinde d-loop bölgesi kullanılmıştır. Bu yüzden cyt b ile yapılan analizler Türkiye'nin Avrupa popülasyonları arasındaki durumunu çok aydınlatmamıştır.

Polonya ve Türkiye popülasyonları ikili farklılıklara göre karşılaştırıldığında yüksek derecede farklılık gözlenmemiştir. Gen akışı değerleri de aynı zamanda düşük çıkmıştır. Orta Avrupa'dan cyt-b bölgesi yeterince analiz edilmediği için örnek sayısı az olmuş ve bu analizlerde istatiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Gen akışı mikrosatelit verileri ile daha gözlemlenmektedir.

Türkiye popülasyonunun nükleotit çeşitliliği cyt-b bölgesi açısından Matosiuk vd. (2014) bulduğu değerlere göre daha düşüktür. Lorenzini ve Lovari (2006) yılında Türkiye'yi mikrosatelit verilerine göre yakın dalda bulduğu Yunanistan popülasyonunun da d-loop gen bölgesinin nükleotit çeşitliliğini diğer popülasyonlara göre düşük bulmuştur.

Nötralite testleri negatif değerleri yani popülasyon büyümesine dair değerlere işaret etse dahi istatiksel olarak bu değerler anlamlı değildir. Aynı zamanda popülasyon büyümesini tespit etmek için yapılan uyumsuzluk dağılımı analizlerinde popülasyon genişlemesi gözlemlenmektir. Bu testler daha fazla bireyle analiz edildiğinde daha doğru sonuçlar elde edilebilecektir.

Yapılan çalışmalar karaca için Türkiye'de ilk kez yapılmıştır. Elde edilen veriler daha fazla bireyin ve daha çok gen bölgesinin araştırılmasının gerekliliğini doğurmaktadır. Karaca popülasyonların moleküler verileri göz önüne alınırsa koruma politikalarının gözden geçirilebilir. Olası yeniden yerleştirme veya doğaya birey salma gibi eylemler genetik bilgiler ışığında daha doğru olacaktır. Ayrıca kaçak avcılık ve av turizmi kapsamında yapılan yapay seçilimin etkileri gözlenebilecektir.

KAYNAKLAR

Anonymous. 2014. Web sitesi: http://www.iucnredlist.org. Erişim tarihi 01.08.2014.

Anonymous. 2014. Web sitesi: http://www.technelysium.com. Erişim tarihi: 09.09.2014.

Anonymous. 2014. Web sitesi: http://www.hihg.med.miami.edu. Erişim tarihi 12.09.2014.

Anonymous. 2014. Web sitesi: www.fluxus-engineering.com. Erişim tarihi 15.09.2014.

Acici, M., and Bölükbaş, C. 2012. Ectoparasites on roe deer (*Capreolus capreolus*) in Samsun, Turkey. Turk. J. Vet. Animal 36(4); 456–459.

Allendorf, F. W., and Luikart, G. 2007. Conservation and the Genetics of Populations. (J. N. M. Smith, L. F. Keller, A. B. Marr, and Peter Arcese, Eds.) Blackwell Publishing, Vol. 97, p. 642.

Avise, J. C., Arnold, J., Ball, R. M., Bermingham, E., Lamb, T., Neigel, J. E., and Saunders, N. C. 1987. Intraspecific Phylogeography: The Mitochondrial DNA Bridge Between Population Genetics and Systematics. Annual Review of Ecology and Systematics, Volume: 18, Issue: 1, Pages: 489-522.

Ballard, J., and Whitlock, M. 2004. The incomplete natural history of mitochondria. Molecular Ecology, 13(4); 729–744.

Bandelt, H., Forster, P., and Röhl, A. 1999. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. Molecular Biology and Evolution, 37–48.

Callicott, J. B., Crowder, L. B., and Mumford, K. 1999. Current normative concepts in conservation. Conservation Biology, Volume: 13, Issue: 1, Pages: 22-35.

Di Stefano, G., and Petronio, C. 2002. Systematics and evolution of the Eurasian Plio-Pleistocene tribe Cervini (Artiodactyla, Mammalia). Geologica Romana, 36; 311–334.

Douzery, E., and Randi, E. 1997. The mitochondrial control region of Cervidae: evolutionary patterns and phylogenetic content. Molecular Biology and Evolution, 14(11); 1154–1166.

Emir, H, 2014.

Evcin, Ö. 2013. Karacanın (*Capreolus capreolus*) Kastamonu İlindeki Yayılışı Ve Yaşam Alanlarının Belirlenmesi,. Master Tezi. Kastamonu Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Orman Mühendisliği Anabilim Dalı, 57 s.

Excoffier, L., and Lischer, H. E. L. (2010). Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. Molecular Ecology Resources, 10(3); 564–567.

Frankham, R. (1995). Conservation genetics. Annual Review of Genetics, Vol. 29: 305-327.

Fu, Y. X. 1997. Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking and background selection. Genetics, 147(2); 915–925.

Galtier, N., Nabholz, B., Glémin, S., and Husrt, G. (2009). Mitochondrial DNA as a marker of molecular diversity? : a reappraisal. Molecular Ecology, 18(22); 4541–4550.

Gentile, G., Vernesi, C., Vicario, S., Pecchioli, E., Caccone, A., Bertorelle, G., and Sbordoni, V. 2009. Mitochondrial DNA variation in roe deer (*Capreolus capreolus*) from Italy: Evidence of admixture in one of the last C. c. italicus pure populations from central-southern Italy. Italian Journal of Zoology, 76(1); 16–27.

Gilbert, C., Ropiquet, A., and Hassanin, A. 2006. Mitochondrial and nuclear phylogenies of Cervidae (Mammalia, Ruminantia): Systematics, morphology, and biogeography. Molecular Phylogenetics and Evolution, 40(1); 101–117.

Hall, T. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. Nucleic Acids Symposium Series, 41, 95–98.

Hartl, G. B., Reimoser, F., Willing, R., and Koller, J. 1991. Genetic-Variability and Differentiation in Roe Deer (*Capreolus capreolus* L) of Central-Europe. Genetics Selection Evolution, 23(4), 281–299.

Hartl, G., and Reimoser, F. 1988. Biochemical variation in roe deer (*Capreolus capreolus* L.): are r-strategists among deer genetically less variable than K-strategists. Heredity, 60; 221–227.

Hassanin, A., Delsuc, F., Ropiquet, A., Hammer, C., Jansen Van Vuuren, B., Matthee, C., Couloux, A. 2012. Pattern and timing of diversification of Cetartiodactyla (Mammalia, Laurasiatheria), as revealed by a comprehensive analysis of mitochondrial genomes. Comptes Rendus - Biologies, 335(1); 32–50.

Hatipoğlu, T. 2014. Yazılı görüşme. Orman ve Su İşleri Bakanlığı Doğa Koruma ve Milli Parklar Genel Müdürlüğü. Ankara, Türkiye.

Hedrick, P. W. 1996. Molecular Genetic Approaches in Conservation Thomas B. Smith, Robert K. Wayne (eds) Oxford University Press, 459-473, New York..

Hoelzel, A. R. 2010. Looking backwards to look forwards: Conservation genetics in a changing world. Conservation Genetics, 11(2); 655–660.

Johns, G. C., and Avise, J. C. 1998. A Comparative Summary of Genetic Distances in the Vertebrates from the Mitochondrial Cytochrome b Gene, 15(11); 1481–1490.

Librado, P., and Rozas, J. 2009. DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. Bioinformatics, 25(11), 1451–1452.

Lorenzini, R., Garofalo, L., Qin, X., Voloshina, I., and Lovari, S. 2014. Global phylogeography of the genus *Capreolus* (Artiodactyla: Cervidae), a Palaearctic meso-mammal. Zoological Journal of the Linnean Society, 170(1); 209–221.

Lorenzini, R., and Lovari, S. 2006. Genetic diversity and phylogeography of the European roe deer: The refuge area theory revisited. Biological Journal of the Linnean Society, 88(1); 85–100.

Macdonald, D. and Barrett, P. 1993. Mammals of Britain and Europe. UK: Harper Collins Publishers. 312 p., Hong Kong.

Matosiuk, M., Borkowska, A., Swislocka, M., Mirski, P., Borowski, Z., Krysiuk, K., and Ratkiewicz, M. 2014. Unexpected population genetic structure of European roe deer in Poland: an invasion of the mtDNA genome from Siberian roe deer. Molecular Ecology, 23(10); 2559–72.

Mitchell-Jones A J, Amori G., Bogdanowicz W., Krystufek B., Reijnders P. J.H., Spitzenberger F., Stubbe M, Thissen J. B.M., Vohralík V., and Zima J. 1999. The Atlas of European Mammals, Academic Press, 484 p., London, UK.

Nowak, R. M. 1999. Walker's Mammals of the World. (R. M. Nowak, Ed.) Perissodactyla Oddtoed Ungulates Hoofed Mammals Vol. 1, Johns Hopkins University Press, 2015 p., Maryland.

Parson, W., Pegoraro, K., Niederstatter, H., Foger, M., and Steinlechner, M. 2000. Species identification by means of the cytochrome b gene. International Journal of Legal Medicine, 114(1-2); 23–28.

Randi, E., Pierpaoli, M., and Danilkin A. 1998. Mitochondrial DNA polymorphism in populations of Siberian and European roe deer (*Capreolus pygargus* and *C. capreolus*). Heredity, 80; 429–437.

Randi, E., Alves, P. C., Carranza, J., Milosevic-Zlatanovi, S., Sfougaris, A., and Mucci, N. 2004. Phylogeography of roe deer (*Capreolus capreolus*) populations: The effects of historical genetic subdivisions and recent nonequilibrium dynamics. Molecular Ecology, 13(10); 3071–3083.

Rodríguez, F., Hammer, S., Pérez, T., Suchentrunk, F., Lorenzini, R., Michallet, J., Domínguez, A. 2009. Cytochrome b phylogeography of chamois (Rupicapra spp.). Population contractions, expansions and hybridizations governed the diversification of the genus. Journal of Heredity, 100(1); 47–55.

Saitou N and Nei M 1987. The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. Molecular Biology and Evolution 4:406-425.

Sommer, R. S., Fahlke, J. M., Schmölcke, U., Benecke, N., and Zachos, F. E. 2009. Quaternary history of the European roe deer *Capreolus capreolus*. Mammal Review, 39(1); 1–16.

Soyumert, A. (2010). Kuzeybatı Anadolu Ormanlarında Fotokapan Yöntemiyle Büyük Memeli Türlerinin Tespiti Ve Ekolojik Özelliklerinin Belirlenmesi. Doktora Tezi. Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, 132 s.

Storfer, A. 1999. Gene flow and endangered species translocations: A topic revisited. Biological Conservation, 87(2); 173–180.

Tajima, F. 1989. The effect of change in population size on DNA polymorphism. Genetics, 123(3); 597–601.

Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipski, A., and Kumar, S. 2013. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0. Molecular Biology and Evolution, 30(12); 2725–9.

Thompson, J. D., Higgins, D. G., and Gibson, T. J. 1994. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. Nucleic Acids Research, 22(22); 4673–4680.

Turan, N. 1984. Türkiye'nin Av ve Yaban Hayvanları – Memeliler. Ongun Kardeşler Matbaacılık Sanayi, Türkiye, 178 s., Ankara.

Vernesi, C., Pecchioli, E., Caramelli, D., Tiedemann, R., Randi, E., and Bertorelle, G. 2002. The genetic structure of natural and reintroduced roe deer (*Capreolus capreolus*) populations in the Alps and central Italy, with reference to the mitochondrial DNA phylogeography of Europe. Molecular Ecology, 11(8); 1285–1297.

Wang, M., and Schreiber, A. 2001. The impact of habitat fragmentation and social structure on the population genetics of roe deer (*Capreolus capreolus* L .) in Central Europe. Heredity, vol 86; 703–715.

Ward, A. I. 2005. Expanding ranges of wild and feral deer in Great Britain. Mammal Review, 35(2), 165–173.

Wiehler, J., and Tiedemann, R. 1998. Phylogeography of the European roe deer *Capreolus capreolus* as revealed by sequence analysis of the mitochondrial Control Region. Acta Theriologica ,187–197.

Zhang, D., and Hewitt, G. (2003). Nuclear DNA analyses in genetic studies of populations: practice, problems and prospects. Molecular Ecology, 563–584.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Ali Onur SAYAR

Doğum Yeri : Ankara

Doğum Tarihi : 13.02.1986

Medeni Hali : Bekar

Yabancı Dili : İngilizce

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)

Lise : Kocatepe Mimar Kemal Lisesi (2004)

Lisans : Hacettepe Üniversite, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü (2011)

Yüksek Lisans : Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı (Ocak 2015)