

ANKARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TÜRKİYE'DE YAYILIŞ GÖSTEREN *Muscardinus avellanarius* LINNAEUS,
1758 (MAMMALIA: RODENTIA) POPULASYONLARINDA NÜKLEER DNA
APOLİPROTEİN B (*APOB*) VE MİTOKONDRIYAL DNA NADH
DEHİDROJENAZ ALT ÜNİTE 1 (*ND1*) GEN BÖLGELERİNİN ANALİZİ

Müge KOCAAY

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ANKARA

2019

Her hakkı saklıdır

TEZ ONAYI

Müge KOCAAY tarafından hazırlanan “Türkiye’de Yayılış Gösteren *Muscardinus avellanarius* Linnacus,1758 (Mammalia: Rodentia) Populasyonlarında Nükleer DNA Apolipoprotein B (*APOB*) ve Mitokondriyal DNA NADH Dehidrojenaz Alt Ünite 1 (*ND1*) Gen Bölgelerinin Analizi” adlı tez çalışması 14/06/2019 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği / oy çokluğu ile Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı’nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Danışman : Prof. Dr. Ercüment ÇOLAK
Ankara Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalı

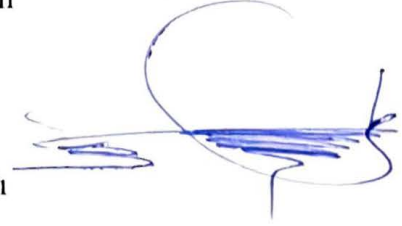


Jüri Üyeleri:

Başkan: Prof. Dr. İrfan KANDEMİR
Ankara Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalı



Üye : Prof. Dr. Ercüment ÇOLAK
Ankara Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalı



Üye : Prof. Dr. Şakir Önder ÖZKURT
Ahi Evran Üniversitesi Fen Bilgisi Eğitimi Anabilim Dalı



Yukarıdaki sonucu onaylarım.

Prof. Dr. Özlem YILDIRIM
Enstitü Müdür Vekili

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.

14.06.2019



Müge KOCAAY

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

TÜRKİYE’DE YAYILIŞ GÖSTEREN *Muscardinus avellanarius* LINNAEUS,1758
(MAMMALIA: RODENTIA) POPULASYONLARINDA NÜKLEER DNA
APOLİPOPROTEİN B (*APOB*) VE MİTOKONDRİYAL DNA NADH
DEHİDROJENAZ ALT ÜNİTE 1 (*NDI*) GEN BÖLGELERİNİN ANALİZİ

Müge KOCAAY

Ankara Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Ercüment ÇOLAK

Bu çalışmada, *Muscardinus avellanarius*’a ait altı lokaliteden toplanan 25 örneğin mitokondriyal DNA’dan NADH dehidrojenaz alt ünite 1 (*NDI*) ve nükleer (çekirdek) DNA’dan Apolipoprotein B (*APOB*) gen bölgelerine ait dizileri analiz edildi. Türkiye’den *APOB* gen bölgesi için 7 haplotip, *NDI* gen bölgesi için ise 11 haplotip elde edildi. Her iki gen bölgesi için oluşturulan filogenetik ilişkileri gösteren ağaçlara göre Türkiye’deki *M. avellanarius* örnekleri doğu ve batı olmak üzere iki farklı soy hattına ayrıldı. *NDI* gen bölgesine göre batı soy hattında her iki filogenetik ağaçta da Bursa-Uludağ örnekleri ayrılma gösterdi, fakat doğu soy hattında göstermedi. *NDI* gen bölgesine dayanarak oluşturulan evrimsel ayrılma zamanı analizinde (BI) doğu ve batı soy hatlarının günümüzden yaklaşık 2.2 Myö birbirlerinden ayrıldığı tahmin edildi. Bursa (Uludağ) populasyonunun ise grubun geri kalanından yaklaşık 1.09 Myö farklılaştığı belirlendi. *M. avellanarius*’daki bu farklılaşma zamanı Geç Pliyosen-Pleyistosen iklim dalgalanmaları dönemlerine karşılık gelmektedir. *M. avellanarius*’un iki soy hattı da iki alttürünün (*Muscardinus avellanarius abanticus* ve *M. a. trapezius*) yayılış alanlarıyla örtüştü.

Haziran 2019, 95 sayfa

Anahtar Kelimeler: Apolipoprotein B (*APOB*), NADH dehidrojenaz alt ünite 1 (*NDI*), *Muscardinus avellanarius*, filogeni, Türkiye

ABSTRACT

Master Thesis

ANALYSIS OF NUCLEAR DNA APOLIPOPROTEIN B (*APOB*) AND
MITOCHONDRIAL DNA NADH DEHYDROGENASE SUBUNIT 1 (*NDI*) GENE
REGIONS OF *Muscardinus avellanarius* LINNAEUS, 1758 (MAMMALIA:
RODENTIA) POPULATIONS DISTRIBUTED IN TURKEY

Müge KOCAAY

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

Supervisor: Prof. Dr. Ercüment ÇOLAK

In this study, 25 samples belong to *Muscardinus avellanarius* from six localities was analyzed based on sequences of mitochondrial DNA NADH dehydrogenase subunit 1 (*NDI*) and nuclear DNA Apolipoprotein B (*APOB*) gene regions. 7 haplotypes for *APOB* gene region, for *NDI* gene region 11 haplotypes were obtained. Turkey samples of *M. avellanarius* divergenced to two distinct lineages as west and east in phylogenetic relationships trees of both gene regions. Western lineage including specimens of Bursa (Uludağ) splitted from remain of western lineage in both phylogenetic trees of *NDI*, but not in eastern one. According to Bayesian Inference (BI) analysis based on *NDI*, it was estimated that western lineage divergenced from eastern lineage about 2.2 Ma. Also, Bursa (Uludağ) population differentiated from rest of group about 1.09 Ma. Divergence time in *M. avellanarius* corresponded Late Pliocene–Pleistocene climatic fluctuation periods. Two lineages of *M. avellanarius* overlapped on distribution areas of two subspecies (*Muscardinus avellanarius abanticus* and *M. a. trapezius*).

June 2019, 95 pages

Keywords: Apolipoprotein B (*APOB*), NADH dehydrogenase subunit 1 (*NDI*), *Muscardinus avellanarius*, phylogeny, Turkey

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam boyunca tüm bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşarak yol gösteren, bilimsel bir bakış açısı kazanmamı sağlayan ve beni bu yaklaşımla yetiştiren danışman hocam sayın Prof. Dr. Ercüment ÇOLAK'a, bilgi ve deneyimleriyle öğrenimime büyük katkıları olan hocalarım sayın Prof. Dr. Nuri YİĞİT (Ankara Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalı) ve sayın Prof. Dr. Reyhan ÇOLAK'a (Ankara Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalı), tezimi değerlendirerek önemli katkılar sunan tez jüri üyelerim sayın Prof. Dr. İrfan KANDEMİR (Ankara Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalı) ve sayın Prof. Dr. Şakir Önder ÖZKURT'a (Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Fen Bilgisi Eğitimi Anabilim Dalı), tezde kullanılan örneklerin toplanmasına katkıda bulunan sayın Doç. Dr. Teoman KANKILIÇ (Niğde Ömer Halidemir Üniversitesi Biyoteknoloji Anabilim Dalı) ve sayın Dr. Öğr. Üyesi Perinçek Seçkinozan ŞEKER'e (Artvin Çoruh Üniversitesi Ormancılık Bölümü Avcılık ve Yaban Hayatı Programı) teşekkürlerimi bir borç bilirim. Yüksek lisansa başladığım günden beri laboratuvar ve lisansüstü tüm tecrübelerini aktararak benim yetişmeme katkı sağlayan, her zorlukta yol gösterici olan ve destekleriyle süreci kolaylaştıran Öğr. Gör. Dr. Engin SELVİ'ye (Ankara Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalı), laboratuvar çalışmalarımda bilgi ve tecrübeleri ile yol göstererek öğrenme sürecine katkı sağlayan Öğr. Gör. Dr. Münir UÇAK'a (Düzce Üniversitesi Bitkisel ve Hayvansal Üretim Bölümü Arıcılık Programı) tezimle ilgili deneylerde ve yazım aşamasında olmak üzere her konuda yardımlarını esirgemeyen, birlikte çok şey öğrendiğimiz laboratuvar arkadaşlarım Arş. Gör. Mahir Can ŞENKUŞ'a (Atılım Üniversitesi Temel Tıp Bilimleri Bölümü) ve doktora öğrencisi Salih Berkay BERKCAN'a, çalıştığım tür hakkında gözlemlerini benimle paylaşarak kaynak sağlayan arkadaşım Cemrecan NOMER ve ailesine çok teşekkür ederim. Hem maddi hem de manevi olarak en büyük destekçilerim olan annem Hatice KOCAAY, babam Yusuf KOCAAY, ablam Mine KOCAAY'a ve her zaman yanımda duran tüm aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca tez çalışmama 113Z822 numaralı proje ile kaynak sağlayan TÜBİTAK'a teşekkür ederim.

Bu tez çalışması Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü (BAP) tarafından 19L0430001 numaralı proje ile desteklenmiştir.

Müge KOCAAY
Ankara, Haziran 2019

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAY SAYFASI

ETİK.....	i
ÖZET.....	ii
ABSTRACT.....	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xi
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xiii
1. GİRİŞ.....	1
2. KURAMSAL TEMELLER.....	8
2.1 Ordo: Rodentia Bowdich, 1821.....	8
2.2 Familya: Gliridae Muirhead, 1819.....	9
2.3 Alt Familya: Leithiinae Lydekker, 1896.....	11
2.4 Cins: <i>Muscardinus</i> Kaup, 1829.....	11
2.5 Tür: <i>Muscardinus avellanarius</i> Linnaeus, 1758.....	11
2.5.1 Genel özellikleri.....	11
2.5.2 <i>Muscardinus avellanarius</i> 'un yayılış gösterdiği alanlar.....	13
2.5.3 <i>Muscardinus avellanarius</i> 'un fosil kayıtları.....	14
2.6 Bazı Önemli İklimsel, Tektonik ve Jeolojik Olaylar.....	16
2.6.1 Akdeniz (Messiniyen) tuzluluk krizi (MSC) (5.97- 5.33 Myö).....	17
2.6.2 Buzul çağları.....	17
2.6.3 Anadolu'da meydana gelen tektonik olaylar.....	19
2.6.4 İstanbul ve Çanakkale Boğazı'nın oluşumu.....	20
2.6.5 Karadeniz'in oluşumu.....	22
2.7 İber Yarımadası ve <i>Muscardinus avellanarius</i> Arasındaki İlişki.....	23
2.8 Moleküler Filogenetik ve Genler Arasındaki İlişki.....	24
2.8.1 Mitokondriyal DNA (mtDNA) ve <i>ND1</i> gen bölgesi.....	25
2.8.2 Nükleer DNA (nDNA) ve <i>APOB</i> gen bölgesi.....	27

3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	29
3.1 DNA İzolasyonu.....	32
3.2 Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR).....	37
3.2.1 Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) çalışmasında kullanılan temel bileşenler.....	39
3.2.2 Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) basamakları.....	41
3.3 Jel Elektroforezi.....	43
3.3.1 Agaroz jel elektroforezi.....	44
3.4 İstatistiksel Analizler.....	47
4. ARAŞTIRMA BULGULARI.....	51
4.1. Nükleer DNA Apolipoprotein B (APOB) Gen Bölgesi Analiz Sonuçları.....	51
4.2 Mitokondriyal DNA NADH Dehidrojenaz Alt Ünite 1 (NDI) Gen Bölgesi Analiz Sonuçları.....	61
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	72
5.1 APOB Gen Bölgesi İçin Elde Edilen Sonuçların Değerlendirilmesi.....	72
5.2 NDI Gen Bölgesi İçin Elde Edilen Sonuçların Değerlendirilmesi.....	75
5.3 Muscardinus avellanarius'un Filocoğrafyası.....	77
5.4 Öneriler.....	82
KAYNAKLAR.....	83
ÖZGEÇMİŞ.....	95

SİMGELER DİZİNİ

-	Eksi
%	Yüzde
+	Artı
°C	Santigrat derece
♀	Dişi Birey
♂	Erkek Birey
2n	Diploid kromozom sayısı
A	Adenin
C	Sitozin
dH ₂ O	Distile su
F _{ST}	Genetik farklılaşma değeri
G	Gram
G	Guanin
Hd	Haplotip çeşitliliği
k	Nükleotid farklılığının ortalama sayısı
KCl	Potasyum klorür
m	Metre
M	Molar
M ₃	Alt çenenin üçüncü molar dişi
mg	Miligram
Mg ⁺²	Magnezyum
MgCl ₂	Magnezyum klorür
ml	Mililitre
mm	Milimetre
mM	Milimolar
NaCl	Sodyum klorür
NFa	Otozomların kol sayısı
ng	Nanogram
N _m	Gen akışı değeri

nm	Nanometre
P	İstatistiksel testlerin önem derecesi
P ¹	Üst çenenin birinci premolar dişi
pH	Power of Hydrogen (Hidrojen Gücü)
pmol	Pikomol
r	Korelasyon katsayısı
R	Transisyon/Transversiyon oranı
rpm	Dakikadaki devir sayısı
T	Timin
µl	Mikrolitre
µmol	Mikromol
π	Nükleotid çeşitliliği

Kısaltmalar

AMOVA	Moleküler Varyans Analizi (Analysis of Molecular Variance)
<i>APOB</i>	Apolipoprotein B
<i>BFIBR</i>	Beta fibrinojen
BI	Bayesian Çıkarsaması (Bayesian Inference)
BME	Betamerkaptoetanol
C: IAA	Kloroform izoamil alkol
<i>COI</i>	Sitokrom oksidaz alt ünite I
CTAB	Cetyl trimethyl ammonium bromide
<i>Cytb</i>	Sitokrom b
dATP	Deoksiadenozin trifosfat
dCTP	Deoksisitozin trifosfat
dGTP	Deoksiguanozin trifosfat
<i>D-loop</i>	Kontrol bölgesi
DNA	Deoksiribonükleik asit
dNTP	Deoksinükleotid trifosfat

dTTP	Deoksitimidin trifosfat
EDTA	Etilendiamintetraasetik asit
EL	Kulak uzunluğu
ESS	Etkin Örnek Büyüklüğü (Effective Sample Size)
EtBr	Etidyum bromür
FCT	Gruplar arası fiksasyon indeksi
FSC	Gruplar içerisinde yer alan populasyonlar arası fiksasyon indeksi
FST	Populasyonlar içerisindeki fiksasyon indeksi
Hap	Haplotip
HF	Ayak uzunluğu
HKY+G	Hasegawa, Kishino ve Yano modeli, G parametresi
IBR	Direnç ile izolasyon (Isolation by Resistance)
<i>IRBP</i>	İnterfotoreseptör retinoid bağlayıcı protein
KAF	Kuzey Anadolu Fayı
LC	Düşük risk
LGM	Son Buzul Maksimum (Last Glacial Maximum)
MA	Molekül ağırlığı
MIS	Deniz İzotop Katları (Marine Isotope Stages)
ML	Maximum Likelihood (Maksimum Olasılık)
MMCT	Orta Miyosen İklim Geçişi (Middle Miocene Climatic Transition)
MP	Maximum Parsimony (Maksimum Tutumluluk)
MSC	Messiniyen tuzluluk krizi (Messinian Salinity Crisis)-Akdeniz tuzluluk krizi
mtDNA	Mitokondriyal DNA
Myö	Milyon yıl önce
<i>NDI</i>	NADH Dehidrojenaz Alt Ünite 1
nDNA	Nükleer DNA
NT	Tehdite yakın
PZR	Polimeraz zincir reaksiyonu
<i>RAG1</i>	Rekombinasyon aktive edici 1
RAPD	Rasgele çoğaltılmış polimorfik DNA

RFLP	Kesilen parçaların uzunluk polimorfizmi
RNA	Ribonükleik Asit
RNase A	Ribonükleaz A
rRNA	Ribosomal RNA
T92	Tamura 3- parametre modeli
T92+G	Tamura 3-parametre modeli, G parametresi
TAE	Tris asetik asit EDTA
TaL	Kuyruk uzunluğu
<i>Taq</i>	<i>Thermus aquaticus</i>
TBE	Tris borik asit EDTA
TE	Tris-EDTA
TL	Tam boy uzunluğu
tRNA	Transfer RNA
UV	Ultraviyole
VTH	Parçalı populasyon (Fragmented Population)

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 <i>Muscardinus avellanarius</i>	12
Şekil 2.2 <i>Muscardinus avellanarius</i> 'un habitatı.....	13
Şekil 2.3 <i>Muscardinus</i> cinsinin filogenisi.....	15
Şekil 2.4 Marmara Denizi'nin İstanbul ve Çanakkale Boğazları ile bağlantısı.....	21
Şekil 2.5 Nükleotit yapısı.....	25
Şekil 2.6 Mitokondriyal DNA'nın yapısı ve gen bölgeleri.....	26
Şekil 2.7 <i>APOB</i> 'un kromozomal lokasyonu.....	28
Şekil 3.1 Tez çalışmasında kullanılan <i>Muscardinus avellanarius</i> örneklerinin toplandığı lokasyonlar.....	30
Şekil 3.2 Bulut şeklinde gözlenen nükleik asit iplik yapısı.....	34
Şekil 3.3 Yumak halinde gözlenen nükleik asit iplik yapısı.....	34
Şekil 3.4 DNA izolasyonu sırasında kullanılan çözeltiler.....	37
Şekil 3.5 Elektroforez tankında koşturulmuş örnekler.....	45
Şekil 3.6 <i>APOB</i> gen bölgesine ait jel görüntüsü.....	46
Şekil 3.7 <i>NDI</i> gen bölgesine ait jel görüntüsü.....	46
Şekil 3.8 Dizileme işlemi sonucunda gelen kromatogram dosyası.....	47
Şekil 3.9 BioEdit programı ile hizalanıp budanan diziler.....	48
Şekil 4.1 <i>APOB</i> gen gölgesi için MEGA programında belirlenen en uygun ağaç modelleri.....	57
Şekil 4.2 <i>Muscardinus avellanarius</i> 'un T92+G parametre modeli ile çizilen <i>APOB</i> gen bölgesine ait Maximum Likelihood (ML) ağacı.....	58
Şekil 4.3 <i>Muscardinus avellanarius</i> 'un <i>APOB</i> gen bölgesine ait Maximum Parsimony (MP) ağacı.....	59
Şekil 4.4 <i>Muscardinus avellanarius</i> 'un <i>APOB</i> gen bölgesine ait Median-Joining ağacı.....	61
Şekil 4.5 <i>NDI</i> gen gölgesi için MEGA programında belirlenen en uygun ağaç modelleri.....	66

Şekil 4.6 <i>Muscardinus avellanarius</i> 'un HKY+G parametre modeli ile çizilen <i>NDI</i> gen bölgesine ait Maximum Likelihood (ML) ağacı.....	67
Şekil 4.7 <i>Muscardinus avellanarius</i> 'un <i>NDI</i> gen bölgesine ait Maximum Parsimony (MP) ağacı.....	68
Şekil 4.8 <i>Muscardinus avellanarius</i> 'un <i>NDI</i> gen bölgesine ait Median-Joining ağacı.....	69
Şekil 4.9 <i>Muscardinus avellanarius</i> 'un <i>NDI</i> gen bölgesine ait Bayesian ağacı.....	71
Şekil 5.1 <i>Muscardinus avellanarius</i> alttürlerinin yayılış gösterdiği bölgeler.....	80

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1 Dünya çapında büyük ölçeklere ulaşmış buzul çağları.....	18
Çizelge 3.1 <i>Muscardinus avellanarius</i> 'un müze numarası, eşey ve lokalite bilgileri.....	29
Çizelge 3.2 <i>APOB</i> gen bölgesi için dış grup örnekleri.....	30
Çizelge 3.3 <i>NDI</i> gen bölgesi için dış grup örnekleri.....	31
Çizelge 3.4 Çalışmada kullanılan örneklerin DNA miktarları ve saflık değerleri.....	35
Çizelge 3.5 <i>APOB</i> ve <i>NDI</i> gen bölgeleri için kullanılan primerler.....	42
Çizelge 3.6 <i>APOB</i> gen bölgesi için PZR koşulları.....	42
Çizelge 3.7 <i>NDI</i> gen bölgesi için PZR koşulları.....	43
Çizelge 4.1 <i>Muscardinus avellanarius</i> 'un <i>APOB</i> gen bölgesi haplotipleri.....	51
Çizelge 4.2 <i>Muscardinus avellanarius</i> 'un <i>APOB</i> gen bölgesi için Hd, π ve k değerleri.....	53
Çizelge 4.3 <i>Muscardinus avellanarius</i> örneklerinin <i>APOB</i> gen bölgesi için yapılan nötralite testlerine ait sonuçlar.....	54
Çizelge 4.4 Tajima's <i>D</i> testinin <i>D</i> değeri anlamları.....	54
Çizelge 4.5 <i>Muscardinus avellanarius</i> örneklerinin <i>APOB</i> gen bölgesi için nükleotit değişim oranları.....	55
Çizelge 4.6 <i>Muscardinus avellanarius</i> 'un <i>APOB</i> gen bölgesi için AMOVA analizi sonuçları.....	55
Çizelge 4.7 F_{ST} değerlerinin anlamı.....	56
Çizelge 4.8 <i>Muscardinus avellanarius</i> populasyonlarının <i>APOB</i> gen bölgesine ait F_{ST} değerleri ve P değerlerine göre önem dereceleri.....	56
Çizelge 4.9 <i>Muscardinus avellanarius</i> populasyonlarının <i>APOB</i> gen bölgesine ait M değeri matrisi.....	57
Çizelge 4.10 <i>Muscardinus avellanarius</i> 'un <i>NDI</i> gen bölgesi haplotipleri.....	62
Çizelge 4.11 <i>Muscardinus avellanarius</i> 'un <i>NDI</i> gen bölgesi için Hd, π ve k değerleri.....	63
Çizelge 4.12 <i>Muscardinus avellanarius</i> örneklerinin <i>NDI</i> gen bölgesi için yapılan nötralite testlerine ait sonuçlar.....	63

Çizelge 4.13 <i>Muscardinus avellanarius</i> örneklerinin <i>NDI</i> gen bölgesi için nükleotit değişim oranları.....	64
Çizelge 4.14 <i>Muscardinus avellanarius</i> 'un <i>NDI</i> gen bölgesi için AMOVA analizi sonuçları.....	64
Çizelge 4.15 <i>Muscardinus avellanarius</i> populasyonlarının <i>NDI</i> gen bölgesine ait F_{ST} değerleri ve P değerlerine göre önem dereceleri.....	65
Çizelge 4.16 <i>Muscardinus avellanarius</i> populasyonlarının <i>NDI</i> gen bölgesine ait M değeri matrisi.....	65
Çizelge 5.1 <i>APOB</i> gen bölgesi için karşılaştırmalı Hd ve π değerleri.....	73
Çizelge 5.2 <i>APOB</i> ve <i>NDI</i> gen bölgelerinin karşılaştırmalı Hd ve π değerleri.....	81
Çizelge 5.3 <i>APOB</i> ve <i>NDI</i> gen bölgelerine ait Fu's F_s değerlerinin karşılaştırmalı sonuçları.....	81

1. GİRİŞ

Fındık faresi, *Muscardinus avellanarius* Gliridae familyasının bir üyesidir (Yiğit vd. 2006). Gliridae familyası Rodentia (Kemiriciler) takımında yer almaktadır ve Palearktik bölgede yayılış gösteren, ağaçlarda yaşamaya uyum sağlamış, kış uykusuna yatan türleri bünyesinde barındırır. Bu familyaya ait ülkemizde sekiz tür; *Glis glis*, *Dryomys laniger*, *Dryomys nitedula*, *Dryomys pictus*, *Muscardinus avellanarius*, *Myomimus roachi*, *Myomimus setzeri* ve *Eliomys melanurus* yaşamaktadır.

Avrupa'da, Akdeniz ve Karadeniz havzasında ve Anadolu'da gerçekleşen jeolojik olaylar ile Anadolu'da yaşanan iklimsel değişiklikler birçok hayvan türünde olduğu gibi ormanlarda yaşayan *M. avellanarius* taksonomisini ve filocoğrafyasını da etkilemiştir. Bu süre içerisinde *M. avellanarius*'ın içinde yer aldığı Gliridae familyası üyeleri Avrupa'dan Anadolu'ya yayılmışlardır (Ünay vd. 2003). Popov vd. (2004) Geç Eosen'den (37-34 Myö) itibaren Anadolu'nun jeolojik evrimini açıklamaya çalışmışlardır. Anadolu kara parçası Geç Eosen'den Geç Pliyosen'e kadar geçen süre içerisinde bazen ada şeklinde izole olmuş, bazen de Avrupa'ya, Kafkaslar'a, Asya'ya bağlanmıştır. Böylece bu kıtalardan Anadolu'ya bitki ve hayvan girişleri olmuştur. Bunun yanı sıra izole bir ada şeklinde kaldığı zaman kendine özgü birçok endemik tür Anadolu'da evrimleşmiştir (Rögl 1998, 1999, Ünay vd. 2003, Popov vd. 2004). Gerek küresel gerekse de Akdeniz havzasında yaşanan iklimsel değişiklikler geçmişten günümüze kadar *M. avellanarius*'un farklılaşması üzerinde etkili olmuştur. Bu iklimsel değişikliklerden en önemlisi Orta Miyosen'de (14.6-13.2 Myö) yaşanan Orta Miyosen İklimsel Geçiş (MMCT) dönemidir. Bu dönemde ormanlık alanlar parçalanmış ve step alanlar genişlemiştir. Bu sebeple Gliridae familyasında yeni türleşme olayları başlamıştır (Montgelard vd. 2003, Frigola vd. 2018). Geç Miyosen'de (5.96-5.33 Myö) Akdeniz havzasında yaşanan kuraklık ve soğuk iklim Karadeniz ve Akdeniz havzasını etkilemiştir. Akdeniz Tuzluluk Krizi (Messiniyen Tuzluluk Krizi) olarak bilenen bu olay sonucu hem Akdeniz'de hem de Karadeniz havzasında deniz seviyesinde düşüşler meydana gelmiştir (Duggen vd. 2003). Bu kurak dönemde step alanların genişlemesi ve ormanlık alanların daralması *M. avellanarius*'un yayılış alanlarını daraltmıştır. Geç Pliyosen ve Pleyistosen dönemlerinde yaşanan buzullaşmalar Anadolu'nun fauna ve

florasını etkilemiştir. Anadolu’da en önemli buzul sığınağı alanlarının Akdeniz, Batı Anadolu, Marmara ve Kuzey Anadolu bölgelerinde bulunduğu birçok araştırmada ortaya konmuştur (Dubey vd. 2006, Dubey vd. 2007, Wielstra vd. 2010, Riemsdijk vd. 2017). Bu buzul sığınaklarında Anadolu’da birçok tür farklı soy hatlarına gelişmiş ve bu soy hatları alttür hatta tür seviyesinde farklılaşarak günümüze kadar ulaşmışlardır. Jeolojik ve tektonik olaylarla beraber iklim dalgalanmaları Gliridae familyasında çoğu türün yok olmasına, yayılış alanlarının değişmesine, yeni oluşan farklı çevrelerde yeni soy hatlarının farklılaşmasına ve yeni türlerin oluşmasına neden olmuştur.

Gliridae familyası üzerinde en önemli filogenetik ve filocoğrafik çalışma Montgelard vd. (2003) tarafından yapılmıştır. Montgelard vd. (2003)’nin yaptığı çalışmada, üç nükleer parçacık (SPTBN, TH ve LCAT) ve bir tane mitokondriyal gen (12S rRNA) kullanılarak Gliridae familyasının filogenetik ilişkileri araştırılmıştır. Sonuçlara göre, *Dryomys* ile *Eliomys* arasındaki ayrılma zamanının Geç Oligosen'e (yaklaşık 28 Myö) dayandığı bulunmuştur. *Dryomys laniger* ve *Dryomys nitedula* türleri arasındaki ayrılma zamanının (17 Myö), *Eliomys melanurus* ve *Eliomys quercinus* türlerine (7 Myö) göre çok daha eski olduğu tespit edilmiştir. *Muscardinus avellanarius* ve *Myomimus roachi* arasındaki ayrılmanın ise yaklaşık 40-38 Myö (Üst Eosen) gerçekleştiği görülmüştür. Glirinae alt familyası sadece *Glis glis* ve *Glirulus japonicus*'u içerecek şekilde ayrılmıştır ve *Muscardinus avellanarius*'da Leithiinae alt familyasına dâhil edilmiştir. Bu iki eski soy hattı arasındaki ayrılmanın yaklaşık 28 Myö olduğu tahmin edilmiştir. *Graphiurus* türleri arasındaki ayrılma zamanının yaklaşık 8-10 Myö olduğu tespit edilmiştir. Daha sonra Nunome vd. (2007) üç nükleer gen bölgesi (*APOB*, *IRBP* ve *RAG1*) kullanarak Gliridae'nin üç alt familyası olan Glirinae, Graphiurinae ve Leithiinae'yi temsil eden altı tür arasındaki filogenetik ilişkileri araştırmışlardır. Araştırmacılar göre, Glirinae alt familyası içerisinde gösterilen *Muscardinus avellanarius*'un tüm gen analizlerinde *Eliomys* ve *Dryomys* soy hattı ile bağlantılı olduğu tespit edilmiştir. Bu sonuçlar ile de *Muscardinus*'un Leithiinae alt familyasına dâhil olduğu desteklenmiştir. *Glis* ve *Glirulus*, yapılan analizlerin hemen hemen hepsinde birbiri ile bağlantılı çıkmıştır ve bu da diğer bir alt familya olan Glirinae'ye dâhil edildiklerini göstermiştir. *Graphiurus* ise üçüncü glirid alt familyası olan Graphiurinae'ye dâhil edilmiştir. *Eliomys* ve *Dryomys* arasındaki ayrılma zamanı

yaklaşık olarak 9.3-18.9 Myö meydana gelmiştir. *Glis* ve *Glirulus* arasındaki ayrılmanın da yaklaşık 24.1-29.9 Myö olduğu görülmüştür. *Muscardinus*'un, *Eliomys* ve *Dryomys*'ten ayrılmasının yaklaşık 18.1-27.6 Myö olduğu düşünülmektedir. *Graphiurus*'un *Lethiinae*'den (*Eliomys*, *Dryomys* ve *Muscardinus*) ayrılma zamanının yaklaşık 24.1-33.0 Myö olduğu tahmin edilirken, üç glirid alt familyası arasındaki ayrılma zamanlarının yaklaşık 25.7-34.5 Myö olduğu düşünülmektedir.

Gliridae familyasının Türkiye'de yayılış gösteren türlerinden biri olan fındık faresi, *M. avellanarius Muscardinus* (Kaup 1829) cinsinin tek türüdür. Avrupa'da ve Anadolu'da yayılış göstermektedir. Anadolu'dan ilk *M. avellanarius* kaydı Nehring (1903) tarafından İstanbul-Ümraniye-Alemdağ'dan verilmiştir. Miller (1908) Trabzon-Coşandere'den *Muscardinus trapezius* olarak yeni bir tür tanımlamıştır. Ellerman (1948) yapmış olduğu revizyonda *M. trapezius*'u alttür seviyesine indirmiştir. Kıvanç (1983) Bolu (Abant-Soğuksu, Yenice, Köseköy, Yığılca), Bursa-Yenikonak, Ordu-Ulubey, Trabzon-Yomra'dan türe ait örnekleri incelemiş ve tip yeri Bolu-Abant-Soğuksu olan *Muscardinus avellanarius abanticus* alttürünü tanımlamıştır. Bunu takiben Kıvanç (1989) Türkiye'deki *M. avellanarius* populasyonlarında coğrafik farklılaşmaları tespit etmek için diş köklerindeki varyasyonları çalışmış ve elde ettiği sonuçları Yunanistan, Korfu, Nominant Form ve İtalya populasyonları ile karşılaştırmıştır. Bu çalışma sonucunda P¹'de iki köklü varyasyon çeşidi olduğu saptanmıştır. Araştırmacı P¹'in iki köklü olduğunu ve Batı Karadeniz populasyonunun diğer populasyonlara göre daha az varyasyon gösterdiğini belirlemiştir. Ayrıca, diğer populasyonlardan farklı olarak Türkiye örneklerine ait M₃'te 4 köklülük olduğunu tespit etmiştir. Batı ve Doğu Karadeniz populasyonlarının bazı alveol varyasyon tipleri açısından hem kendi aralarında hem de karşılaştırılan diğer populasyon örnekleri arasında istatistiksel olarak farklı olduğunu bulmuştur. Diş köklerinin özelliklerine göre Batı ve Doğu populasyonlarının ayrıldığını tespit etmiştir. Kıvanç ve Yardımcı (2000) Türkiye'deki *M. avellanarius*'un molarları üzerindeki çığneme yüzeylerinin yapısını incelemişlerdir. Çalışma sonucunda, fosil *Muscardinus* cinsinin türleri arasında karşılaştırılan karakterler açısından Türkiye'de günümüzde var olan *M. avellanarius*'un, fosil *M. avellanarius*'a daha yakın olduğunu bulmuşlardır. Engin (2010) *M. avellanarius*'un iskelet sisteminin makro anatomisini çalışmıştır. Bu çalışmada

Türkiye'deki *M. avellanarius*'un tüm iskelet yapısı makro anatomik olarak araştırılmış ve tüm iskeletteki kemik sayısı belirlenmiştir. Morfolojik olarak alttür seviyesindeki *M. a. trapezius*'un Trabzon (Vakfikebir) örneklerinde bakulum özelliklerini inceleyen Doğramacı ve Kefelioğlu (1992), bakulumun distal kısmının ön tarafının hafifçe oval yapıda olduğunu ve bu kısmın topuz yapıda görüldüğünü, sap kısmının ise iğne şeklinde, uç kısmının oval yapıda ve distal kısımdan proksimal kısma doğru incelerek uzadığını tespit etmişlerdir.

Tür üzerinde morfolojik çalışmaların yanı sıra karyolojik çalışmalar da yapılmıştır. Doğramacı ve Kefelioğlu (1992) *M. a. trapezius* (Trabzon-Vakfikebir) için diploid kromozom sayısının $2n=46$, otozomların kol sayısının $NFa=88$, X kromozomunun orta büyüklükte metasentrik ve Y kromozomunun karyotip içerisinde en küçük kromozom ve akrosentrik yapıda olduğunu belirlemişlerdir. Şekeroğlu vd. (2011) Türkiye'den *M. a. trapezius*'a ait on örneğin G- ve C- bantlı karyotiplerini araştırmışlardır. Araştırmacılar bu alttürde diploid kromozom sayısı $2n = 46$, $NF = 90$ ve $NFa = 86$ olarak tespit edilmiştir. Karyotip içerisinde X kromozomunun orta büyüklükte metasentrik, Y kromozomunun da çok küçük bir akrosentrik yapıda olduğu görülmüştür.

Bu tür için Türkiye'de yapılan çalışmalar genellikle yayılış kayıtları ve morfolojik farklılıklar üzerinde yoğunlaşmıştır. *M. avellanarius*'un genetik farklılıklarını, filocoğrafik ve filogenetik özelliklerini ortaya koymak için Mouton vd. (2012a,b) ve Mouton vd. (2017) tarafından araştırmalar yapılmıştır. Mouton vd. (2012a) bir mitokondriyal gen bölgesi (*Cytb*) kullanarak *M. avellanarius*'a ait filogenetik ilişkileri araştırmışlardır. Toplam 120 örnek için 35 haplotip belirlemişlerdir. Filogenetik analizlerde 35 haplotipin 2 ana soy hattına ayrıldığı görülmüştür. Birinci soy hattı, iki tane altsoy hattına ayrılmıştır. İlk altsoy hattı, Batı Avrupa'dan (Belçika, İsviçre ve Fransa) bireyleri kapsarken, ikinci altsoy hattının İtalya'taki tüm haplotipleri içerdiği bulunmuştur. İkinci soy hattının ise Orta Avrupa'dan (Litvanya, Almanya, Letonya, Çek Cumhuriyeti, Slovakya), Balkan Yarımadası'ndan (Slovenya, Sırbistan, Makedonya) ve Türkiye'den gelen bireyleri kapsadığı belirlenmiştir. Benzer şekilde Mouton vd. (2012b) tek bir mitokondriyal gen bölgesi (*Cytb*) kullanarak aynı filogenetik yapılanmanın olduğunu ortaya koymuşlardır. Mouton vd. (2017)'nin daha kapsamlı yaptığı bir

çalışmada bir tane mitokondriyal gen bölgesi (*Cytb*), iki tane nükleer gen bölgesi (*BFIBR*, *APOB*) ve 10 tane otozomal mikrosatellit genotiplendirme kullanarak *M. avellanarius*'un filogenetik ilişkilerini araştırmışlardır. Araştırmacılar mtDNA gen bölgesi için 216, çekirdek gen bölgeleri için ise 65 örnek analiz etmişlerdir. *Cytb* gen bölgesi için elde edilen sonuçlar, daha önce Mouton vd. (2012a,b) tarafından bildirildiği gibi, coğrafi olarak yapılandırılmış iki ana soy hattının varlığını ortaya koymuştur. Çekirdek genlerin, mitokondriyal gen olan *Cytb* geni ile aynı ölçüde farklılaşma göstermediği görülmüştür. Mikrosatellitlerin ayrılan iki ana soy hattı ile uyumlu olarak aynı derecede farklılaşma sergilediği belirlenmiştir.

Habitat parçalanmaları, habitat kayıpları, ormancılık işletmeleri ve otoyolların karışık ormanlarda yaşayan *M. avellanarius*'u tehdit ettiği çeşitli çalışmalarla ortaya konmuştur. Goodwin vd. (2018a) İngiltere ve Galler boyunca yaptıkları çalışmada iklim, habitat ve ormancılık yönetiminin *M. avellanarius* populasyonları üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. Çalışma sonucunda aktif bir yönetimle ormanlık alanların artırılıp, habitat parçalanmasının azaltılması, habitat devamlılığı ve çalılık alanların geliştirilmesi, ağaçlar ve çalılıklar habitatlar arasında 5-10 m mesafe bırakılarak hanımeli, porsuk ağacı, huş ağacı, fındık ağacı, söğüt ağacı ve böğürtlenle desteklenmesi gerektiğini, ancak kozalaklı ağaçlar ve çınar ağaçlarının uzaklaştırılmasını öne sürmüşlerdir. Başka bir çalışmada ise Dietz vd. (2018) tür için potansiyel bağlantı koridorlarını gösteren bir model geliştirmişlerdir. Koruma yönetimi için habitat koridorlarını hesaplayan araştırmacılar, ortaya çıkan model ile fındık faresinin çeşitli kenar habitatları içeren, doğasına uygun habitatlarla dar bir ekolojik nişi işgal ettiğini göstermektedir. Geliştirdikleri model, bir haritadaki habitat parçalarını birbirine bağlamak için yenileme önlemleri gerektiren alanları gösterir ve böylece tanımlanmasını kolaylaştırır. Fındık faresi populasyonları arasındaki bağlantıyı geliştirmeye yönelik stratejiler, orman habitatlarının çok küçük aralıklarla kesişen daha çeşitli ve kenar habitatlarca zengin olana doğru geliştirilmesini içerebilir. Daha büyük aralıkların, fındık faresinin habitat parçaları arasında yer değiştirmesini sağlayan ağaçlardan oluşan çitler dikilerek kapatılmasını önermişlerdir. Bani vd. (2018) yaptıkları çalışmada habitat parçalanmasının türün genetik farklılaşması üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. Parçalı populasyon (VTH-Fragmented Population)'da dağılıma

işlemini oldukça engelleyen bir direnç ile izolasyon (IBR-Isolation by Resistance) etkisi bulmuş ve soy içi üreme ve genetik sürüklenmenin VTH'da endişe verici boyutlarda olduğunu ortaya koymuşlardır. Büyük habitat parçaları veya ağaçlardan oluşan çitlerle sarılı habitat kısımları içerisinde türün sınırlı olduğunu tespit etmişlerdir. Ağaç çitlerinin devamlılığı ve özelliklerini artırarak etkili bir ekolojik ağ oluşturulması gerektiğini önermişlerdir.

Goodwin vd. (2018b) fındık faresinin habitat tercihleri ve ağaç kesilmesinin, türün hareketleri üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. Çalışma sonuçları *M. avellanarius*'un, hem değişen hem de dinlenme alanları için düşük oranlarda (10 m'den uzun) yüksek orman alanlarıyla, orta boylu ormanlık yaşam alanını (5-10 m boyunda) tercih ettiğini, değişen habitatların da genellikle ormanlık alan kıyılarında ve nispeten yoğun bitki örtüsü üzerinde yer aldığını göstermiştir. Fındık faresinin dolaştığı mesafelerde, ağaç kesilmesinden önce ve sonra çok fazla fark gözlenmediği, ancak ağaçların kesilmeyen bölgelerindeki fındık faresinin, kesilen bölgelere göre daha az değişim gösterdiği saptanmıştır. Ağaçların kesilmesinden sonra ortaya çıkan fındık faresinin orta ve üst düzey yaşam alanı gereklilikleri, popülasyonlarının korunması için ve optimum seviyelerde popülasyon yenilenmesinin olmasının gerekli olduğu anlamına geldiğini belirtmişlerdir. Ağaç kesimi yapılırken oluşan ses ile orman faaliyetlerinin habitat değişikliğine sebep olduğu da tespit edilmiştir. Bir başka çalışmada ise Friebe vd. (2018) güneydoğu Schleswig-Holstein-Almanya-'da yaptıkları çalışmada anayolların fındık faresi popülasyonlarının genetik yapıları ve çeşitlilikleri üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. 177 örnek ile yapılan çalışmada 10 mikrosatellit lokusu kullanmışlardır. Sonuçlara göre *M. avellanarius*'un otoyollardan geçip, yolun diğer tarafında yaşayan bireylerle yakın ilişkiler kurduğunu ve bu yüzden de soy içi üreme veya darboğaz kanıtı bulunmadığını tespit etmişlerdir. Küçük bir alanda yakalanan çok sayıda örnekte, yol boyunca uzun mesafelere rağmen kısmen düşük genetik farklılaşma görülmesi, yol kenarındaki çalılıkların fındık faresi için iyi bir yaşam alanı olabileceğini ve göç için uygun koridorlar sağlayabileceğini göstermiştir.

Bu tez çalışmasıyla Türkiye'de yayılış gösteren *M. avellanarius*'un ilk kez mitokondriyal DNA'sından NADH dehidrojenaz alt ünite 1 (*ND1*) ve nükleer

DNA'sından Apolipoprotein B (*APOB*) gen bölgeleri analiz edilerek türün filogenetik, filocoğrafik ve taksonomik durumu araştırıldı. İki gen bölgesi için de morfolojik olarak tanımlanmış türe ait iki alttürün moleküler düzeyde geçerliliğinin araştırılması, türün yayılış alanında tespit edilecek farklı populasyonlar arasındaki genetik farklılıkların ortaya konması ve türün genetik parametrelerinin tespit edilmesi amaçlanmaktadır. Bu amaçla, moleküler olarak farklı oldukları tespit edilecek olan haplo grupların (soy hatları) bugünkü coğrafik dağılımları ve bu coğrafik dağılım biçimleri üzerinde geçmişte meydana gelmiş olan jeolojik, tektonik ve iklimsel olayların etkileri tartışılacaktır. Böylece türün Türkiye'deki filocoğrafik örgüsü ortaya konmaya çalışılacaktır. Ayrıca iki gen bölgesine ait Genbank'ta mevcut olan diziler kullanılarak türün daha geniş yayılış alanındaki filocoğrafik özelliklerinin ortaya konması planlanmaktadır. Bir orman türü olan *M. avellanarius*'un filogenetik ve filocoğrafik özelliklerinin belirlenmesi, hem Marmara hem de Kuzey Anadolu Bölgesi'nin buzul sığınağı özelliklerinin ortaya koyulması bakımından önemlidir.

2. KURAMSAL TEMELLER

Memeliler (Mammalia), evrimsel olarak en gelişmiş omurgalı sınıfıdır. Prototheria (Yumurtlayan Memeliler/ İlkel Memeliler), Marsupialia/ Metatheria (Keseli Memeliler) ve Placentalia/ Eutheria (Plentalı Memeliler) olmak üzere 3 alt sınıfa ayrılırlar. Placentalia; Primates (Maymunlar), Lagomorpha (Tavşansılar), Carnivora (Etçiller), Cetacea (Balinalar) ve Rodentia (Kemiriciler) gibi birçok takımı içeren ve takım sayısı diğer alt sınıflardan daha fazla olan bir alt sınıftır.

2.1 Ordo: Rodentia Bowdich, 1821

Rodentia ordosu (kemiriciler), ilk kez geç Paleyosen (65.5-23 Myö) döneminde ortaya çıkmıştır. 10 milyon yıldan beri çok hızlı bir şekilde çeşitlenmiş ve memeli takımları arasında en fazla tür sayısına sahip olmuştur. Yaklaşık olarak 2800'den fazla türe sahip olması nedeniyle dünyadaki memeli türlerinin neredeyse yarısını oluşturmaktadır. Kutup bölgeleri haricinde dünyanın her tarafında yayılış göstermektedir.

Birçok habitat türünü işgal etmişlerdir. Toprak altı, ağaçlar, çöl ve su gibi habitatlarda yaşayan türleri bulunmaktadır. Ağaç tepelerinden orman zeminine, kaya yarıklarından ağaç oyuklarına, toprak altındaki kompleks tüneller ve galerilerden sucul ortamlarda bitki örtüsü ile yapılmış barınaklara kadar çok çeşitli yuvalar yapabilirler. Genellikle tüm yıl aktiftirler. Bazı türler hibernasyona yatabilir. Gündüz, gece veya ikisinin bir bölümünde aktif olabilirler.

Sosyal hayvanlardır ve bu sosyal yapıları türler arasında değişkenlik göstermektedir. Çoğu tür birçok şekil ve büyüklükte kuyruğa sahip olmasına rağmen bazı türlerde kuyruk bulunmamaktadır. Genellikle çok iyi şekilde gelişmiş görme, duyma ve koku alma duyularına sahiplerdir. Hamsterlar gibi bazı kemirici türlerinde yiyecekleri saklama ve taşımalarını sağlayan yanak keseleri (avurt) bulunmaktadır. Yürüme, koşma, zıplama, yüzme, tünel kazma, tırmanma gibi çeşitli hareket kabiliyetleri vardır. Kuşlar

ve diğler memeliler gibi birçok canlıya av görevi gördükleri için ekosistemde kilit rol oynarlar.

Alt ve üst çenelerinde sürekli olarak uzayan, köksüz bir çift insisör (kesici) dişleri bulunmaktadır. Kesici dişlerin ön kısmında kalın mine tabakası mevcuttur. Bu tabaka aşınmalara karşı keskin diş şeklinin korumasını sağlamaktadır. Kemirgenlerin köpek dişleri yoktur. Diş formülleri 1/1, 0/0, 0/0, 3/3 x 2 = 16 veya 1/1, 0/0, 2/1, 3/3 x 2 = 22 şeklinde olabilir. Kesici dişler ve azı dişler arasında diastema boşluğu adı verilen büyük bir boşluk vardır. Kesici dişler kemirmeye, azı dişler çiğnemeye yarar. Çene kasları çok güçlüdür. Tüm bu özellikleri ile diğler memelilerden ayrılırlar.

Kemirgenlerin üreme kabiliyetleri oldukça yüksektir. Erkek bireylerde distal ve proksimal olmak üzere 2 parçadan oluşan bakulum (penis kemiği) bulunmaktadır. Dişi bireylerde görülen dubleks uterus tipi yıl içerisinde birden fazla doğum yapabilmelerini sağlar. Tek seferde doğan yavru sayısı 1 ile 18 arasında değişebilir. Gebelik süreleri 14-170 gün arasında değişkenlik göstermektedir (Buckie ve Smith 1994). Çoğu kemirgen türü 100 gramdan az bir ağırlığa sahipken, en ağır kemirgen türü 66 kilogra ma varan vücut ağırlığı ile kapibaralardır. Genellikle herbivorlardır, ancak omnivor olanları da bulunmaktadır. Diyetlerini yapraklar, meyveler, tohumlar, kökler, çiçekler ve küçük omurgasızlar gibi çeşitli yiyecekler oluşturur. Selülozca zengin bir şekilde beslendikten sonra yiyecekler midede yumuşar ve selüloz çekumda sindirilmeye başlar. Dışkı yeme kemirgenler arasında yaygın olarak görülmektedir. Kaprofaji adı verilen bu olayda dışkı tekrar yenilerek içerisinde bulunan protein, vitamin ve az miktarda selüloz vücuda geri alınarak besinlerden tam olarak faydalanılır.

2.2 Familya: Gliridae Muirhead, 1819

Rodentia ordosu Türkiye’de 11 familya ve 65 tür ile temsil edilmektedir. Bu türler sucul ortamlardan ağaçlara, tarlalardan toprak altına kadar uzanan çeşitli habitatlarda yaşamaya evrimleşmişlerdir. Türkiye’deki 11 familya içerisinde biri olan Gliridae (yediyuurlar) familyası en eski ailelerden biridir. Palearktik bölge ve Afrika boyunca

yayılış gösteren üyelere sahiptir. Küçük veya orta boy büyüklükte kemirgenlerdir. Ekstremiteleri nispeten kısadır ve ayakları geniştir. Ön ayaklarında 4, arka ayaklarında 5 adet parmak bulunur. Ayak parmakları kısadır ve tırnakları kavislidir. Vücutları yoğun bir kürkle kaplıdır. Kuyrukları fırça şeklinde ve püsküllüdür. Bazı türlerin göz çevresinde belirgin siyah bir sürme bulunmaktadır (Nowak 1999). Görme, duyma, koklama ve dokunma duyuları iyi gelişmiştir. Diş formülleri 1/1, 0/0, 1/1, 3/3 = 20 şeklindedir. *Selevinia* cinsinde ön azı dişleri bulunmamaktadır (Klingener 1984, Storch 1995, Vaughan vd. 2000).

Çiftleşme sezonu ilkbahar ve yaz ayları içerisinde gerçekleşir. Dişi bireyler yılda 1-2 defa doğum yapabilirler ve tek seferde 2-10 arasında yavru meydana getirirler. Dişiler doğumdan kısa bir süre önce özel yuvalar yaparak yavrularını bu yuvalarda dünyaya getirip bakımını sağlarlar. Doğumdan yaklaşık 3 hafta sonra yavruların gözleri açılır ve süten kesilirler. 4-6 hafta kadar sonra da anneden bağımsız hale gelirler (Nowak 1999).

Ormanlar, çalılık alanlar, bahçeler, kayalık araziler ve bozkırlar gibi çok çeşitli habitatlarda yaşarlar. Ağaçlara tırmanmak için iyi adapte olmuş ekstremitelere sahiptirler. Yuvalarını ağaçlar, çalılıklar, kayalık alanlar gibi yerlere yaparlar. Bu familya üyelerinin tamamı kış uykusuna yatar. Genellikle nokturnallardır (gececi). Gliridler omnivorlardır. Diyetlerini meyveler, fındık, böcekler, kuş yumurtaları ve küçük omurgalılar oluşturur.

Gliridae ailesi Glirinae, Leithiinae ve Graphiurinae olmak üzere 3 alt familyaya ayrılır ve 9 cins, 28 tür ile temsil edilir. Glirinae; *Glis* ve *Glirulus*'dan, Leithiinae; *Chaetocauda*, *Dryomys*, *Eliomys*, *Myomimus*, *Muscardinus*, *Selevinia*'dan, Graphiurinae; *Graphiurus* cinslerinden oluşur. Graphiurinae alt ailesi alt Sahra Afrika'ya özgü iken, Glirinae ve Leithiinae alt aileleri batı Palearktiğin kurak ve ılıman bölgelerinde sınırlanmışlardır (Kryštufek ve Vohralík 2005). Gliridae ailesi türlerinden *Glis glis*, *Dryomys nitedula*, *Dryomys laniger*, *Dryomys pictus*, *Eliomys melanurus*, *Myomimus roachi*, *Myomimus setzeri* ve *Muscardinus avellanarius* Türkiye'de yayılış göstermektedir.

Gliridler, Avrupa’da Eosen sırasında *Eoglriravus* ve *Gliravus*’tan köken almıştır (Stehlin ve Schaub 1951, Thaler 1966, Hartenberger 1971, Daams ve De Bruijn 1995). Geç Oligosen döneminin sonunda ve Erken Miyosen döneminin başlangıcında Gliridae ailesinin tür sayısı artmıştır. Sıcaklıklar arttıkça gliridler farklı yaşam alanlarına adapte olarak Avrupa ve Asya’daki çok çeşitli bölgelere dağılmıştır. Orta Miyosen döneminde, Türkiye’de Gliridae ailesi *Microdyromys*, *Myomimus*, *Miodyromys*, *Peridyromys*, *Muscardinus*, *Vasseuromys*, *Glirulus* ve *Paraglis*’ten oluşmaktaydı. Avrupa ve Doğu Akdeniz’de Orta Miyosen döneminden Geç Miyosen dönemine kadar olan ekosistem değişiklikleri sonucunda Gliridae türlerinin sayısında hızlı bir düşüş yaşanmıştır. Gliridae familyası, Geç Miyosen döneminde 6 cins ile temsil edilmekteydi; *Glirulus*, *Microdyromys*, *Miodyromys*, *Myomimus*, *Muscardinus* ve *Ramys* (Kaya ve Kaymakçı 2013).

2.3 Alt Familya: Leithiinae Lydekker, 1896

Leithiinae alt familyası, göze çarpan uçlara ve silik çıkıntılara sahip olan azı dişlerinin konkav oklüzal yüzeyleri ile diğer alt ailelerden ayrılır (Kryštufek ve Vohralík 2005).

2.4 Cins: *Muscardinus* Kaup, 1829

Avrupa ve Kuzey Anadolu’da yayılış gösteren monotipik bir cinstir (Kryštufek ve Vohralík 2005).

2.5 Tür: *Muscardinus avellanarius* Linnaeus, 1758

2.5.1 Genel özellikleri

Muscardinus avellanarius (findık faresi) (Şekil 2.1), nispeten büyük gözlü, kuyruğu kafa ve gövdesinden biraz daha kısa olan, gliridler arasındaki en küçük kemirgen türüdür. Vücudun üst kısmını kaplayan kürk yoğun sarımsı kahverengiden sarımtırak

kızıla dönüşmektedir. Boğaz ve göğüs kremi beyaz renktedir ve göbek kısmı pembemsi devetüyü rengindedir. Kuyruk kısmı kısmen tutunmaya yarar, oldukça kıllı olup, dorsalden bakıldığında kahverengimsi ve ventralden bakıldığında daha soluk renktedir. Parmaklar kısmen uzundur. Arka ayak oldukça kısa ve geniştir. Burun küt, gözler iri ve kulaklar nispeten küçüktür. Dişi bireylerde 8 tane meme başı bulunur. Kafatası orta boydadır. Rostrum aşağı doğru bükülür ve zigomatik yay maksillar kısma doğru yanal olarak genişler. Beyin kapsülü geniş ama düzgün değildir. Timpanik bulla nispeten küçüktür. Koronoid çıkıntı yüksektir. Bakulumun distal kısmı dardır. Kesici dişlerinin ön tarafında turuncu veya sarı renkte mine tabakası bulunmaktadır. Alt ve üst çenede bulunan ön azı dişleri azı dişlerinden daha küçüktür. Ön azı dişleri tek köklüdür ve azı dişlerinin kök sayısı 3 ile 5 arasında değişmektedir (Kryštufek ve Vohralík 2005, Yiğit vd. 2006). *M. avellanarius abanticus*'un bazı ortalama ölçümleri şu şekildedir; TL= 80.4 mm, TaL= 66.4 mm, HF= 16.7 mm, EL= 11.9 mm, CBL= 22.4 mm (Kıvanç 1983).



Şekil 2.1 *Muscardinus avellanarius* (Fotoğraf: Öğr. Gör. Dr. Engin Selvi)

Fındık faresi ağaçlarda yaşar. İyi bir tırmanıcıdır. Nokturnal bir türdür. Yaşam alanı olarak tercih ettiği yerler yaprak döken ormanlar olmakla beraber yüksek çeşitlilikte ağaç, çalılık alanlar ve bazen de fındık bahçelerinin kıyılarıdır (Şekil 2.2). Parçalanmış ağaç kabuğu, çimen, yaprak, çalı veya ot gibi çeşitli materyaller kullanarak küre şeklinde yuva yapar. Yuvalar çalılık veya ağaç dallarının altındadır ve genellikle yerden

1-2 metre yüksektedir. Yuvaların çapı genellikle 60-80 mm arasındadır, ancak yavrular ile dişilerin bir arada bulunduğu yuvalar yaklaşık olarak 120 mm çapındadır. Kış uykusu için başka bir yuva kullanır. Bu yuva bir oyukta, kütükte, yosun tutmuş bir yerin altında, yaprak ve diğer birikintilerin altında bulunur. Sıcaklık, kış uykusunun ne zaman başlayacağını belirler. Kış uykusu için önemli olan sıcaklık 16°C'dir ve bu sıcaklığın altında fındık faresi hibernasyona yatar. Hibernasyon dönemi Ağustos ayından Mayıs ayına kadar sürebilir. Fındık faresinin diyetini taze fındık, yapraklar, tohumlar, tomurcuklar, meyveler, böcekler ve kuş yumurtaları gibi yiyecekler oluşturmaktadır. Yaz boyunca bazı yiyecekleri saklayabilir ve kış mevsiminde kısa süreli dönemlerde bunları kullanabilir. *Glis*'ten farklı olarak yumuşak, cıvıl cıvıl bir ısıklık sesi üretir. Üreme mevsimi Nisan ayından Ekim ayına kadar sürer ve bir sezonda 2 veya nadiren 3 doğum yapabilir. Gebelik 22-24 gün kadar sürmektedir. Bir doğumda 3-7 arasında yavru dünyaya gelir. Yavruların gözleri 18 günde açılır ve 40 günde anneden bağımsız hale gelirler. Ömürleri maksimum 4-6 yıldır (Kıvanç 1990, Bright ve Morris 1990-1991, Sara vd. 2001, Büchner vd. 2003, Juškaitis 2003, Yiğit vd. 2006).



Şekil 2.2 *Muscardinus avellanarius*'un habitatu; A) Abant (Bolu) B) Yukarıkızılen Köyü (OrduUlubey) (Fotoğraf: Prof. Dr. Ercüment Çolak)

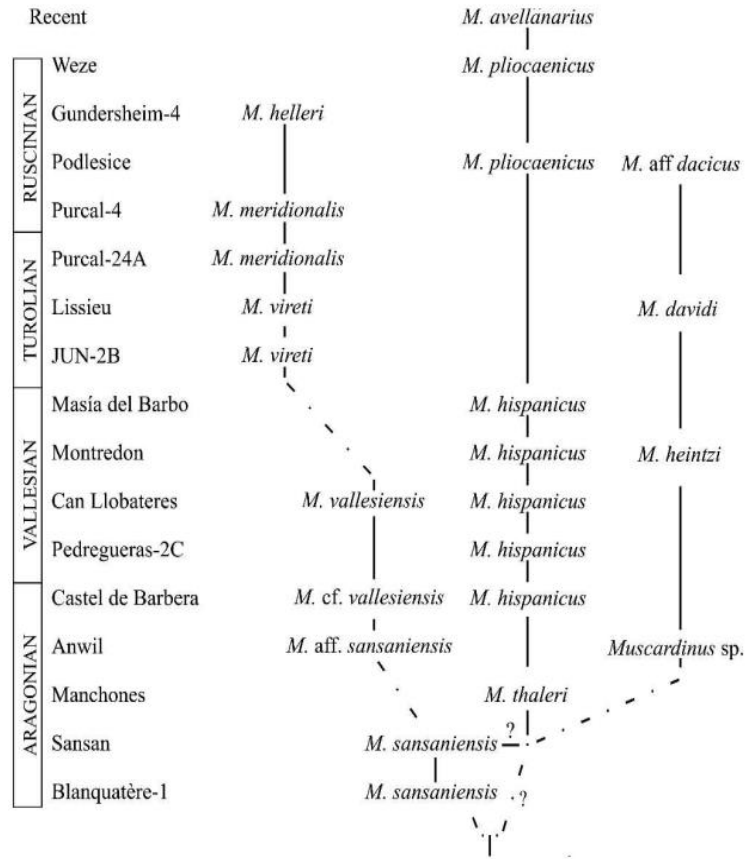
2.5.2 *Muscardinus avellanarius*'un yayılış gösterdiği alanlar

Muscardinus avellanarius, güneyde aşağı yukarı Akdeniz kıyısında, doğuda Volga (İdil) Nehri'nin orta kesimi boyunca, kuzeyde Baltık ülkelerinde ve batıda İberya

dışında kalan yerlerde yayılış göstermektedir. Akdeniz adalarında daha nadir görülmektedir (Storch 1978). Türkiye’de Marmara Bölgesi, Batı Karadeniz ve Doğu Karadeniz hattı boyunca yayılış göstermektedir. Türkiye’de Alemdağ-kuzeydoğu Üsküdar, Uludağ-Bursa, Yenikonak-Bursa, Abant-Bolu, Soğuksu-Abant-Bolu, Yenicefelakettinköyü-Bolu, Köseköy-Bolu, Yığılca-Düzce, Tosya-Kastamonu, Ulubey-Ordu, Vakfikebir-Trabzon, Coşandere-Trabzon, Sümela (=Meryemana)-Trabzon ve Yomra-Trabzon’dan kayıtları bulunmaktadır (Kryštufek ve Vohralík 2005).

2.5.3 *Muscardinus avellanarius*’un fosil kayıtları

Muscardinus avellanarius, soyu tükenmiş olan *Muscardinus pliocaenicus*’dan köken almıştır (Kurtén 2007) (Şekil 2.3). İlk kez Avrupa’da Villaniyen [Geç Piliyosen (Piyasenziyen) ile Erken Pleyistosen (Gelasiyen) arasını kapsar] döneminde ortaya çıkmıştır ve Pleyistosen döneminde hayatta kalmayı başarmıştır. Balkanlar’daki fosil kaydı Orta ve Üst Pleyistosen döneminden kaydedilmiştir (Kryštufek ve Vohralík 2005).



Şekil 2.3 *Muscardinus* cinsinin filogenisi (García-Alix vd. 2008)

Türün Avrupa'daki fosil kayıtlarına bakıldığında;

- Polonya'da Erken Pleyistosen (Gelasiyen) döneminden
- İtalya'da Erken Pleyistosen (Kalabriyen) ve Orta Pleyistosen döneminden
- Fransa'da Erken Pleyistosen - Orta Pleyistosen arası bir dönemden
- Almanya'da Orta Pleyistosen döneminden
- Macaristan'da Orta Pleyistosen döneminden kaydedildiği görülmektedir (Anonymous 2017).

Muscardinus avellanarius türünün Türkiye'den fosil kaydı bulunmamaktadır. Ancak Türkiye'de *Muscardinus* cinsine ait fosil kayıtlar bulunmaktadır. Bunlar;

- Adapazarı havzasında yapılan çalışmada Değirmendere Vadisi'nden Geç Pliyosen dönemine ait *Muscardinus* sp. kaydı verilmiştir (Ünay vd. 2001).
- Çankırı Çandır Formasyonu'nda Erken Miyosen (Burdigaliyen çağı) döneminden *Muscardinus aff. thaleri* kaydedilmiştir (Kaymakçı vd. 2003).
- Çankırı-Çorum havzasından yaklaşık 15,97-13,65 Myö *Muscardinus thaleri* kaydedilmiştir (Karadenizli 2011).
- Denizli'nin Çameli ilçesine bağlı olan Ericcek Köyü'nde Geç Miyosen (Turoliyen) döneminden *Muscardinus* sp. kaydedilmiştir (Van den Hoek Ostende vd. 2015).
- Çankırı'daki Tuğlu Formasyonu'nda Orta Miyosen (Astarasiyen) döneminden *Muscardinus aff. thaleri* olarak kaydedilmiştir (Joniak ve De Bruijn 2015).

2.6 Bazı Önemli İklimsel, Tektonik ve Jeolojik Olaylar

Türkiye'deki kemirici türlerinin evrimi üzerinde birçok iklimsel, tektonik ve jeolojik olaylar etkili olmuştur. Bu olaylar, diğer kemirici türlerinde olduğu gibi Gliridae familyası türlerinin de evrimsel değişimlerine katkıda bulunmuştur.

En önemli iklimsel değişiklikler Miyosen (yaklaşık 25-5.33 Myö) ve Pleyistosen (yaklaşık 1.81 Myö) dönemleri süresince meydana gelmiştir. Miyosen döneminde meydana gelen iklimsel değişiklikler ormanlık alanların azalmasına ve parçalanmasına neden olmuştur. Böylece birçok yeni tür oluşurken, birçok tür de yok olmuştur. Pleyistosen iklim değişiklikleri ise Gliridae familyası türlerinin ikincil parçalanmasına sebep olmuştur. Bunun sonucunda ise günümüzde yaşayan birçok soy hattı meydana gelmiştir. Pleyistosen döneminde deniz seviyesinde birçok kez düşmeler ve yükselmeler meydana gelmiştir. Deniz seviyesindeki düşüşler kıtalar arasında kara köprüleri kurulmasına neden olmuştur. Bu dönemde Anadolu'dan Avrupa'ya ve Avrupa'dan Anadolu'ya hayvan göçleri yaşanmıştır.

2.6.1 Akdeniz (Messiniyen) tuzluluk krizi (MSC) (5.97- 5.33 Myö)

Senozoyik zamanın en önemli olayı olan Messiniyen Tuzluluk Krizi, Miyosen döneminin sonunda, 5.97-5.33 Myö Akdeniz'in tamamen kuruması ile meydana gelmiştir. MSC süresince Akdeniz'in su seviyesi iki aşamada düşmüştür. İlk aşamada (yaklaşık 5.8 Myö) deniz seviyesi 100 metreden daha az düşerek sadece Akdeniz havza kenarları etkilenmiştir. İkinci aşamada (yaklaşık 5.6 Myö) ise tüm havzanın deniz seviyesinde 1500 metreyi aşan çok ciddi bir düşüş yaşanmıştır (Popov vd. 2006).

Arap plakası ile Anadolu'nun çarpışması sonucunda Toridler ve Zagros Dağları yükselmiştir ve bu olay Neotetis (Akdeniz)'in Hint Okyanusu ile bağlantısının kesilmesine neden olmuştur. Geç Miyosen döneminde Cebelitarık Boğazı'nın tektonik bir olayla kapanması ile Akdeniz ve Atlantik Okyanusu'nun bağlantısı da kopmuştur. Bunun sonucunda Akdeniz yoğun buharlaşmaya maruz kalarak kurumaya başlamıştır (Anonim 2013). Akdeniz çevresinde yaşanan bu kriz sonucunda sürekli soğuyan ve kuraklaşan bir iklim ortaya çıkmıştır. Karasal alanlarda artış meydana geldiğinden Afrika ve Avrupa arasında hayvan göçleri yaşanmıştır (İlgar 2015). Akdeniz Tuzluluk Krizi'nin son bulması "Zankleyen Transgresyonu" olarak adlandırılır. Bu olay Cebelitarık Boğazı'nın tektonik olarak çöküp açılması sonucu gerçekleşmiştir ve Atlantik Okyanusu'nun suları çok hızlı bir şekilde Akdeniz'e boşalmıştır (Garcia-Castellanos vd. 2009, Govers 2009). Havzanın yeniden sularla dolması ile Akdeniz bugünkü halini almıştır. MSC, Akdeniz Bölgesi'ndeki karasal ve denizel ekosistemleri kalıcı olarak etkilemiştir (Krijgsman vd. 1999).

2.6.2 Buzul çağları

Kuvaterner devrinin (yaklaşık 2.58 Myö) büyük bir kısmını kapsayan Pleyistosen dönemi "Buzul Çağı" olarak adlandırılır. Buzul dönemlerinin oluşmasını sağlayan en önemli faktör iklim değişikliğidir. Bu devirde Deniz İzotop Katları (MIS) ile numaralandırılmış en az 21 buzul çağının geliştiği düşünülmektedir. Bu buzul çağlarından dört tanesi dünya üzerinde büyük çaplara ulaşmıştır. Bunlar en eskiden en

yeniye sırasıyla MIS 16, MIS 12, MIS 10-6-8 ve MIS 4-2'dir (Gibbard ve Cohen 2008) (Çizelge 2.1). Günümüze en yakın olan ve son buzul çağı olarak adlandırılan "Würm Buzul Çağı" MIS 4-2'yi kapsamaktadır (Rose 2007). MIS-4 (Würm I) 71 ile 57 bin yıl önce meydana gelmişken, MIS-2 (Würm II) 29-14 bin yıl önce meydana gelmiştir. MIS-2 aynı zamanda Son Buzul Maksimum (LGM)'u olarak da bilinmektedir ve 19-23 bin yıl önce (ortalama 21 bin yıl önce) maksimum boyutlara ulaşmıştır (Mix vd. 2001, Sarıkaya ve Çiner 2015).

Çizelge 2.1 Dünya çapında büyük ölçeklere ulaşmış buzul çağları

Deniz İzotop Katları (MIS)	Buzul Dönemi Adı
MIS 16	Günz (600-540 bin yıl arası)
MIS 12	Mindel (480-430 bin yıl arası)
MIS 10-6-8	Riss (240-180 bin yıl arası)
MIS 4	Würm I (71-57 bin yıl arası)
MIS 2	Würm II (29-14 bin yıl arası)

LGM sırasında buzullar Kuzey Avrupa, Kuzey Amerika, Asya ve birçok bölgede en yüksek boyutlarına ulaşmıştır. Büyük buzullanmalar deniz seviyesinin düşmesine sebep olmuş ve bunun sonucunda dünyanın çeşitli yerlerinde kara köprüleri meydana gelmiştir (Hewitt 2000). Oluşan kara köprüleri ile kıtalar arasında hayvan göçleri sağlanmıştır.

Türkiye'de LGM'nin izleri yaklaşık 14 bin yıl öncesine dayanmaktadır. Son Buzul Çağı'nda yeryüzündeki sıcaklığın düşmesi ile okyanus ve denizlerde buharlaşmanın azalmasından dolayı yağışlar azalmıştır. Yağışların azalması ve buzulların artması nedeniyle deniz seviyesi yaklaşık 125 m kadar düşmüştür. Böylece kıyı bölgelerimiz kara haline gelmiştir. Bu dönemde Avrupa-Sibirya kökenli bitkiler Anadolu'ya doğru yayılmıştır. Sıcaklığın dünya genelinde düşmesine bağlı olarak özellikle kuzey enlemler ve orta kuşağın yüksek kesimlerindeki dağlarda buzullaşma olmuştur (Atalay 2005, Sarıkaya ve Çiner 2015). Anadolu, buzul dönemleri boyunca çok önemli bir sığınak görevi görmüştür.

2.6.3 Anadolu'da meydana gelen tektonik olaylar

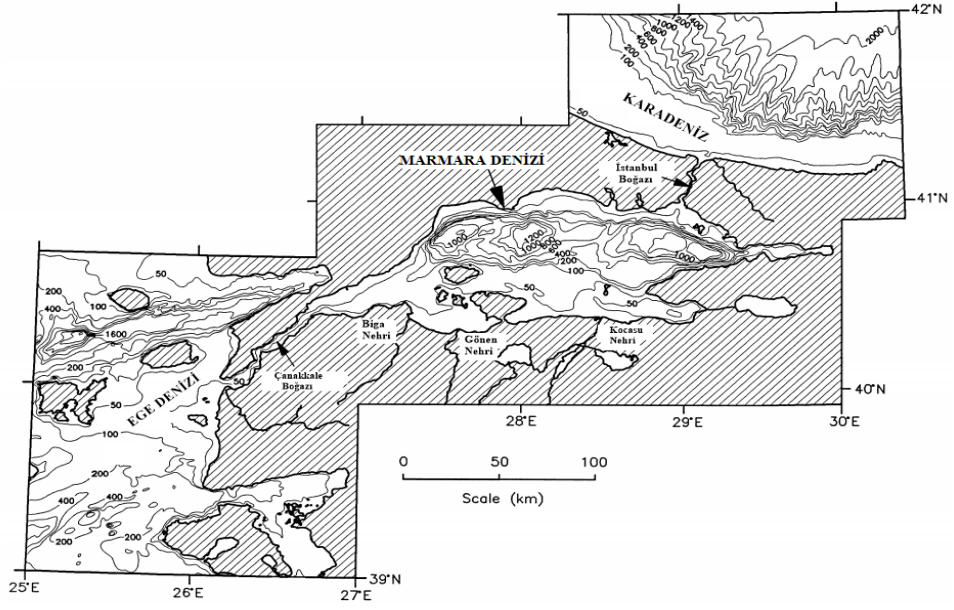
Anadolu; Akdeniz Havzası, İnan-Turan ve Kafkasya olmak üzere 3 bölgenin kesiştiği yerde bulunmaktadır (Gür 2016). Afrika plakasının Avrasya plakasıyla çarpışması sonucunda Anadolu'da ve Kafkasya'da birçok jeolojik değişiklikler meydana gelmiştir. Bu değişikliklerden en önemlileri Anadolu Diyagonali'nin oluşması, dağ kuşaklarının ve platoların yükselmesidir. Meydana gelen bu jeolojik olaylar Gliridae familyası türlerinin farklılaşmasına sebep olmuştur.

“Anadolu Diyagonali” olarak adlandırılan biyocoğrafik sınır Anadolu'yu doğu ve batı olarak birbirinden ayırmaktadır. Bu sınır Bayburt-Gümüşhane yakınlarından kuzeyde Karadeniz'e, güneyde de iki kola ayrılarak Akdeniz'e uzanmaktadır. Bu kollardan biri Amanos Dağları üzerinden Akdeniz'e ulaşırken diğer kol Orta Toros Dağları'nı izleyerek Akdeniz'e ulaşmaktadır (Gür 2016). Anadolu, Orta Miyosen'den neotektonik dönemin başlangıcına kadar tektonik, volkanik aktivitelere bağlı olarak Doğu Anadolu'dan değişmeye başlamıştır (Uslu vd. 2011). Türkiye'deki dağ kuşaklarının oluşumu sürekli tekrarlayan çarpışmalar sonucunda ortaya çıkmıştır. Orta Anadolu Havzaları Sakarya Kıtası ve Kırşehir Bloğu olmak üzere iki kıtasal birimden oluşmuştur. Bu havzalar Geç Kretase'den Miyosen'e kadar gelişmiştir. Geç Kretase dönemi esnasında Kırşehir Bloğu, Sakarya Kıtası ve Menderes-Toros Platformu birbirlerinden ayrılmıştır (Şengör ve Yılmaz 1983, Görür vd. 1998). Türkiye'nin kara parçaları Paleozoyik dönem öncesinde oluşmaya başlamıştır. Bu parçalar Neotetis Okyanusu'nun temelini oluşturmuştur. Kretase döneminin sonlarında yaşanan olaylardan sonra Anadolu'nun 4 temel tektonik kuşağı (Pontidler, Anatolidler, Toridler ve Güneydoğu Anadolu) oluşmaya başlamıştır. Üst Kretase sonlarına doğru gerçekleşen tektonik bir olay ile Karadeniz açılmaya, Neotetis'in kolları da sıkışmaya başlamıştır. Bu tektonik hareket sonucunda Anadolu günümüzdeki halini almaya başlamıştır. Paleyosen-Eosen dönemlerinde Neotetis'in kolları genel olarak kapanmıştır. Kuvaterner döneminde Anadolu tamamen karasal hale gelmiştir (Erol 1989).

2.6.4 İstanbul ve Çanakkale Boğazı'nın oluşumu

Marmara Denizi, Pliyosen'den itibaren neotektonik dönem görünümüne kavuşmaya başlamıştır. Pliyosen döneminde Akdeniz'in uzantısı sığ bir deniz olan Marmara Denizi, Kuvaterner dönemiyle birlikte gerek iklimin deniz seviyesi üzerindeki etkisi gerekse de tektonik olaylardan dolayı bölgenin yükselmesi ile günümüzdeki haline ulaşmıştır. Akdeniz Tuzluluk Krizi'nden sonra gerçekleşen Zankleyen Transgresyonu'na rağmen Akdeniz sularının Marmara Denizi'nin batısındaki Kuzey Anadolu Fayı (KAF) tarafından gelişen yapılar ile Marmara Denizi'ne gelişi engellenmiştir. Akdeniz'in suları Geç Pliyosen'de Marmara Denizi'ne ulaşmıştır. Pliyosen döneminin başlarında Marmara Denizi'nin Akdeniz ve Paratetis ile bağlantısı kopmuştur. Akdeniz'in geri kalanı ile Marmara ve Paratetis arasında dünya çapında görülen deniz seviyesinin yükselmesi ve KAF'ın aktivitesindeki artış sonucunda oluşan bağlantı, Geç Pliyosen dönemine kadar tekrar kurulmamıştır. Pleyistosen'in buzularası dönemlerinde Marmara Denizi Akdeniz ve Paratetis'in hâkimiyetindedir. Buzul dönemlerinde ise Karadeniz tipi bir acı su gölü haline gelmiştir. Geç Pleyistosen döneminden sonra KAF'ın aktivitesi en yüksek seviyesine ulaşmıştır ve Marmara Denizi günümüzdeki görünümünü kazanmaya başlamıştır. Pleyistosen döneminin sonunda görülen Son Buzul Çağı'nda (Würm Buzul Çağı) deniz seviyesinin yaklaşık 105 m düşmesi nedeniyle Marmara Denizi'nin Akdeniz ve Paratetis ile bağlantısı kesilmiştir. Alt Holosen döneminde görülen ve son transgresyon olarak adlandırılan Flandriyen Transgresyonu (yaklaşık 12 bin yıl önce) ile Akdeniz-Marmara-Karadeniz arasındaki ilişki yeniden kurulmuştur (Smith vd. 1995, Görür vd. 1997, Emre vd. 1998, Sakıncı 1998, Aksu vd. 1999, Erturaç 2002, Çağatay 2006).

Marmara Denizi, diğer denizler ile bağlantısını iki boğaz aracılığıyla sağlayan bir iç denizdir (Şekil 2.4). Bunlardan ilki Marmara ve Karadeniz arasındaki bağlantıyı sağlayan İstanbul Boğazı, ikincisi ise Marmara ile Ege Denizi arasında oluşan Çanakkale Boğazı'dır.



Şekil 2.4 Marmara Denizi'nin İstanbul ve Çanakkale Boğazları ile bağlantısı (Aksu vd. 1999)

İstanbul Boğazı, Würm II Buzul Çağı'ndan beri varlığını sürdüren ve fay aktivitesi ile açılmış eski bir akarsu vadisidir. Kuvaterner'in başlarında oluşmuştur. Pleyistosen döneminde deniz bağlantısı kurulmuştur. İstanbul Boğazı oluşmadan önce doğuda Sakarya Boğazı oluşmuştur ve İstanbul Boğazı'nın oluşumunda rol almıştır. Flandriyen Transgresyonu ile Akdeniz doğuya doğru ilerleyerek Çanakkale vadisini tamamen deniz suları kaplamıştır ve su seviyesi yükselmiştir. Yükselen deniz suları Çanakkale'den çıkarak sığ bir deniz olan Marmara'ya doğru ilerlemiştir. Böylece Akdeniz suları boğazı tamamen kaplamış ve oradan geçerek Karadeniz'e ulaşmıştır. Bu ilerleme devam ederken boğazda biri daha az tuzlu su içeren (Karadeniz) ve güneye ilerleyen üst akıntı, diğeri ise tuzlu su (Akdeniz) içeren ve kuzeye doğru ilerleyen alt akıntı olmak üzere zıt yönlü 2 akıntı sistemi gelişmiştir (Uluğ vd. 1995).

Çanakkale Boğazı, Miyosen başlarından beri Tetis ve Paratetis arasında geçiş noktası olmuştur. Boğaz, Çanakkale havzasında fay aktivitesine bağlı olarak Pliyosen ve Alt Pleyistosen dönemlerinde gelişmiş bir akarsu vadisidir. Deniz suları ile kaplanması Üst Pleyistosen ve Holosen dönemlerinde olmuştur. Akdeniz suları Orta ve Üst Pleyistosen buzularası dönemlerde zaman zaman Çanakkale ve Marmara'ya girmiştir. Bu sular ilk kez Alt Pleyistosen sonundaki Mindel-Riss buzularası döneminde görülen Tirenien

Transgresyonu ile boğazları ve Marmara Bölgesi'ni kapladıktan sonra Karadeniz'e ulaşmıştır. Suların ikinci kez istilası Üst Pleyistosen sonlarına doğru görülen Riss-Würm buzularası dönemde Monastriyen Transgresyonu ile olmuştur. Akdeniz sularının üçüncü kez boğazlar, Marmara ve Karadeniz'i kaplaması Alt Holosen döneminde görülen Flandriyen Transgresyonu sonucunda gerçekleşmiştir (Erol 1987, Türkeş 2007).

2.6.5 Karadeniz'in oluşumu

Karadeniz; Bulgaristan ve Romanya'nın batısında, Gürcistan'ın doğusunda, Ukrayna ve Rusya'nın güneyinde, Türkiye'nin ise kuzeyinde sınırlanan, Batı ve Doğu Karadeniz Havzası olmak üzere 2 derin havzadan oluşan bir bölgedir. Karadeniz Havza'sı Büyük Kafkasya, Pontidler, Güney Kırım ve Balkanidler olmak üzere 4 tane dağ kuşağı tarafından çevrilmiştir (Nikishin vd. 2003).

Karadeniz Bölgesi erken Paleozoyik'ten Tersiyer'e kadar tektonik olaylar varlığında oluşmuştur ve Geç Kretase döneminde açılmıştır. Doğu ve Batı Karadeniz Havzaları'nın açılması Geç Kretase dönemine kadar sürmüştür. Kretase döneminden önce Pontidler Lavrasya'ya bitişik haldeydi. Pontidler, Istranca Masifi, İstanbul ve Sakarya bölgeleri ile de Tersiyer'den önce birleşik durumdaydı (Nikishin vd. 2003, Okay ve Nikishin 2015). Eosen döneminde Transkafkasya Bölgesi ve Pontidler'de tektonik hareketler hâkim olmuştur. Orta ve Geç Eosen'de Balkanidler Batı Karadeniz Havzası'na itilmiştir. Oligosen döneminde Transkafkasya ve Türkiye'de yükselme başlamıştır. Karadeniz'deki güncel dağların yükselmesi Geç Sarmatien (yaklaşık 10 Myö) (Serravaliyen döneminin sonu) döneminde başlamıştır. Geç Miyosen döneminde Karadeniz Paratetis'in bir parçasını oluşturmuştur ve suları acı su haline gelmiştir. Miyosen dönemi sonunda Kuzey Anadolu Fay hareketi başlamıştır (Görür ve Tüysüz 2001, Nikishin vd. 2003). Pliyosen döneminde Karadeniz acı bir deniz havzası olmaya devam etmiştir. Geç Miyosen döneminde Karadeniz ve Ege Denizi arasında kurulan acı deniz bağlantısı Pliyosen döneminde ortadan kalkmıştır (Görür vd. 1995). Üst Pleyistosen döneminin başında Karangatiyen Transgresyonu ile Karadeniz en büyük deniz suyu hacmine ulaşmıştır. Bu dönemde tuzlu ve sıcak olan Akdeniz suları

Karadeniz'e girmiştir. Holosen dönemi, şu anki Karadeniz'in ve kıyı bölgesinin temel özelliklerinin oluştuğu zaman olmuştur. Bu dönemle birlikte son transgresyon olan Flandriyen Transgresyonu meydana gelmiştir. Bu transgresyon sonucunda Akdeniz suları taşarak boğazları geçmiş ve Karadeniz'e dökülmüştür. Karadeniz'deki tuzluluk oranı kademeli ve sürekli olarak artmaya başlamıştır. Böylece tuzluluk oranı günümüzdeki değerine ulaşmıştır (Svitoch vd. 2000).

2.7 İber Yarımadası ve *Muscardinus avellanarius* Arasındaki İlişki

İberya, Prekambriyen döneminde oluşmaya başlamıştır. Bölgedeki dağların çoğu Variskan ve Alpin orojenezi ile meydana gelmiştir (Jabaloy vd. 2002). Paleosen döneminin başlarında İber Yarımadası'nda tropikal bir iklim görülmüştür. Bu dönemde Arecaceae, Fagaceae, Magnoliaceae, Myricaceae, Nyssa, Sciadopityaceae, Symplocaceae gibi bitki aileleri ortaya çıkmıştır. Üst Eosen döneminde çok yaygın bulunmasalar da Arctotertiary kökenli cinsler ortaya çıkmıştır ve Oligosen döneminde de varlığını sürdürmüştür. Daha sonra bu cinsler dayanıklı hale gelerek ilk kez *Carpinus* (gürgen), *Corylus* (findık), *Fagus* (kayın) gibi bitki toplulukları ortaya çıkmıştır. Oligosen'deki fosil kayıtlara bakıldığında mevsimsel kurak dönemlere adapte olmuş subtropikal bitki örtüsü görülmüştür. İber Yarımadası'nda Miyosen döneminin Messiniyen çağında önemli bir kuraklık yaşanmıştır. Bunun sonucunda bu koşullara uygun bitki aileleri ortaya çıkmıştır. Pliyosen döneminde meydana gelen iklimsel değişiklikler flora üzerinde değişikliklere neden olmuştur. Yaklaşık 3.1-3.2 Myö yaz yağışlarında azalma olmuş ve sıcak, kuru bir döneme girilmiştir. Bunun sonucunda da Akdeniz mevsimselliği başlamıştır. Bu değişiklikler ile subtropikal ağaçlar ortadan kalkmıştır ve yerini günümüzde yaşayan Akdeniz bitki örtüsü almıştır (Barrón vd. 2010).

Muscardinus cinsine ait en eski kayıt İspanya'da Orta Miyosen'den gelmektedir. Daams ve De Bruijn (1995), İspanya'da Orta Miyosen'den elde edilen ilk fosil kaydını *Muscardinus thaleri*'ye yerleştirmişlerdir. Ayrıca *Muscardinus*'un atasının *Glirudinus* olabileceğini ve cinsin Geç Miyosen'den itibaren İber Yarımadası'ndan Avrupa'ya

yayıldığını önermişlerdir. Aguilar ve Lazzari (2006) cinsin ilk kaydını *Muscardinus sansaniensis* olarak tanımlamışlardır. Cinsin Miyosen döneminde İber Yarımadası'nda önemli bir yayılma gösterdiği ve böylece İspanya'da *M. thaleri* tarafından, Fransa ve Orta Avrupa'da ise *M. sansaniensis* tarafından temsil edildiği söylenmiştir (Daams ve De Bruijn 1995). Geç Miyosen'de Menorca Adası'nda *Muscardinus cyclopaeus* tanımlanmıştır (Agustí 1990). Cinsin İber Yarımadası'ndaki en son fosil kayıtları Alt Pliyosen döneminden *Muscardinus meridionalis* olarak tanımlanmıştır (García-Alix vd. 2008). O zamandan beri İber Yarımadası'nda fındık faresi yaşayan ya da fosil olarak kaydedilmemiştir ve muhtemelen bölgesel olarak soyu tükenmiştir. Cins, Erken Pleyistosen sırasında özellikle Doğu Avrupa'da yoğun bir şekilde bulunuyordu. Döneme ait tek kayıt olan *M. pliocaenicus* Rivoli Veronese'den kaydedilmiştir. Orta Pleyistosen'de sayısında azalma olmuştur. Bu dönemde *Muscardinus* cinsi Orta ve Güney Avrupa boyunca yayılmıştır. Romanya'da bulunan *Muscardinus dacicus malvensis*'in fosil kaydı, bu dönemde *Muscardinus avellanarius* haricindeki cinse ait diğer türlerin yok olduğunu göstermektedir. Geç Pleyistosen sırasında tür 50° enlem paralelinin aşağısına doğru yayılmıştır (García-Ibaibarriaga vd. 2015).

2.8 Moleküler Filogenetik ve Genler Arasındaki İlişki

Filogenetik, bir tür ya da taksonlar arasındaki atasal ilişkiyi evrimsel ağaç diyagramları oluşturarak inceleyen alt bilim dalıdır. Moleküler filogenetik de DNA veya protein dizilerinin homologları karşılaştırılarak organizmalar veya genler arasındaki ilişkiler çalışılır. Moleküler yaklaşımlarda DNA ve RNA'nın nükleotid sekansları veya belirlenen bir proteinin amino asit sekansları kullanılır (Patwardhan vd. 2014).

Hücre, ökaryot canlılarda çekirdek ve sitoplazmadan meydana gelen en küçük birimdir. Hücre çekirdeğinin içerisinde kromozomlar bulunmaktadır. Kromozomlar, DNA molekülü ve histon proteinlerinden meydana gelmektedir. DNA genetik bilgileri taşıyan bir nükleik asittir ve nükleotit adı verilen yapı taşlarından oluşmaktadır. Nükleotit yapısı bir fosfat grubu, beş karbonlu bir riboz veya deoksiriboz şekeri ve azotlu bir organik bazdan meydana gelir (Şekil 2.5). Azotlu bazlar pürin ve pirimidin olarak ikiye ayrılır.

Pürinler adenin ve guaninden, pirimidinler sitozin, timin (DNA) ve urasil (RNA)'den oluşmaktadır.



Şekil 2.5 Nükleotit yapısı (<http://webders.net/172/nukleotit-nedir.html> 2016)

Kalıtsal bilgileri içeren DNA parçaları gen olarak isimlendirilir. DNA'nın büyük bir kısmı nükleus da bulunmasına rağmen mitokondrilerin de kendi özgü DNA'sı vardır. Çekirdekte bulunan DNA nükleer DNA (nDNA), mitokondri de bulunan DNA ise mitokondriyal DNA (mtDNA) olarak adlandırılmaktadır.

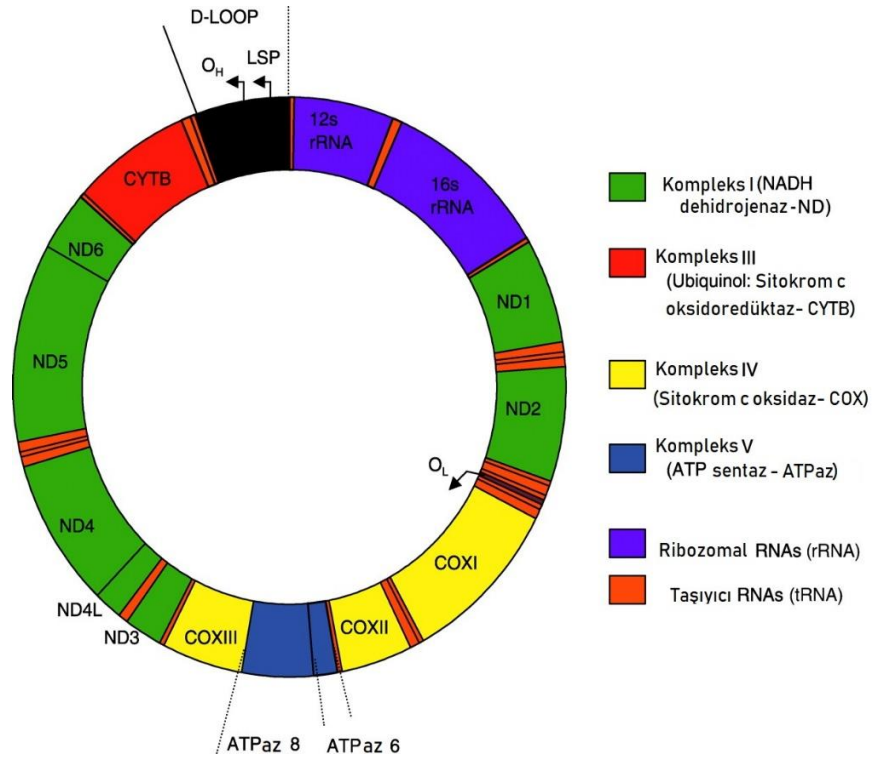
2.8.1 Mitokondriyal DNA (mtDNA) ve *ND1* gen bölgesi

Mitokondri, oksijenli solunum yaparak enerji üreten ökaryotik bir hücre organelidir. Proteobakterilerden gelişmiştir. Endosimbiyotik Teori'ye göre ilkel ve daha büyük olan bakteriler, bugün mitokondri olarak tanımlanan ve enerji üreten kendisinden daha küçük bakteriyi hücre içine almış ve sindirememiştir. Konak ve onun hücresinin içerisinde olan bakteri zamanla birbirlerinin genetik materyallerine uyum sağlayarak birlikte yaşamaya devam etmiştir. Bunun sonucunda mitokondri organeli oluşmuştur. Mitokondri organelinin kendisine özgü DNA'sı bulunmaktadır.

Ökaryot hücrelerin birçoğu, mtDNA kromozomlarının birden fazla kopyasını içeren çok sayıda mitokondri bulundurmaktadır. Memeli mitokondriyal genomuna bakıldığında 15 000 ile 17 000 baz çifti uzunluğunda dairesel, çift sarmallı bir DNA molekülünden oluştuğu görülmektedir. Mitokondriyal DNA 37 gen kodlamaktadır (Şekil 2.6). Bu

genlerden 24 tanesi (22'si tRNA, 2'si rRNA) translasyon da görev alırken, 13 tanesi elektron taşıma zincirinin alt birimlerinde görev almaktadır (Ballard ve Whitlock 2004). mtDNA'nın maternal yolla kalıtıldığı söylense de paternal olarak da kalıtıldığı da bulunmuştur.

Mitokondriyal genler nükleer genlerden bazı özellikleri ile farklılık göstermektedir. mtDNA'da etkili bir tamir mekanizması yoktur ve rekombinasyona uğramaz. Histon proteinleri ve intron bölgesi bulunmamaktadır. Nükleer DNA'dan bağımsız olarak kendini eşlemektedir. Mutasyon hızı nükleer DNA'dan 5-10 kat daha yüksektir. Bu durum DNA tamir mekanizmasının olmaması ve polimeraz etkinliğinin düşük olmasından kaynaklıdır ve bundan dolayı mutasyonlar kalıcıdır. Mitokondriyal DNA'nın evrimsel hızı da nükleer DNA'dan daha fazladır. Mitokondriyal DNA bunlar gibi özellikleri sayesinde filogenetik ve genetik çalışmalarda tercih edilen bir materyal haline gelmiştir (Ballard ve Whitlock 2004, Özdemir ve Doğru 2007).



Şekil 2.6 Mitokondriyal DNA'nın yapısı ve gen bölgeleri (John vd. 2004)

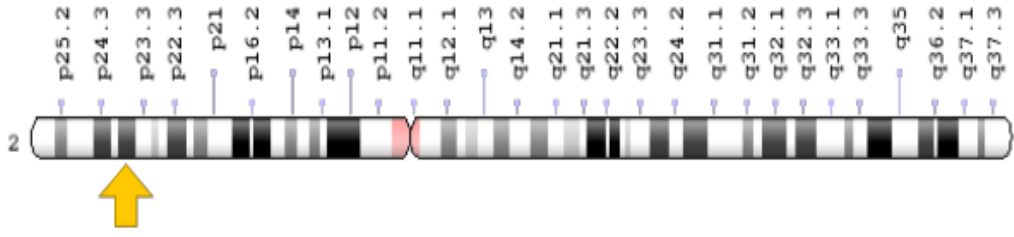
Yaptığımız tez çalışmasında mitokondriyal DNA'dan NADH Dehidrojenaz Alt Ünite 1 (*ND1*) gen bölgesi kullanılmıştır. *ND1* geni *MT-ND1* geni olarak da bilinir ve yaklaşık olarak 3,307-4,262 baz çiftinden oluşmaktadır. Bu gen NADH Dehidrojenaz 1 proteininin yapılmasında görev alır. Bu protein mitokondride Kompleks I olarak adlandırılan büyük bir enzim kompleksinin parçasıdır. Kompleks I, oksidatif fosforilasyon için gerekli olan birkaç enzim kompleksinden biridir. Bu kompleksler mitokondri içerisinde iç mitokondriyal membran adı verilen özel bir yerde gömülü olarak bulunmaktadır. Elektron taşıma sisteminin ilk adımında görev alan Kompleks I, memeli mitokondrisinde 46 farklı alt birimden oluşmaktadır (Kervinen vd. 2006, Anonymous 2019).

2.8.2 Nükleer DNA (nDNA) ve *APOB* gen bölgesi

Nükleer DNA, ökaryot organizmalarda bazı istisnalar haricinde her hücre çekirdeğinin içerisinde bulunur ve genomun büyük bir kısmını kodlamaktadır. Mitokondriyal DNA'dan farklı olarak çok sayıda kopya yerine her hücre için tek kopya içermektedir. Diploiddir. Çift sarmallı ve doğrusal bir yapı gösterir. Yarısı anneden yarısı babadan gelerek kalıtılırlar. Replikasyon yapabilir. Nükleer DNA'da mutasyon görülür. Bir hasar meydana geldiğinde bunu onaran çok çeşitli DNA tamir mekanizmaları vardır.

Yapılan tez çalışmasında nükleer DNA'dan Apolipoprotein B (*APOB*) gen bölgesi çalışılmıştır. *APOB* geni, Apolipoprotein B proteininin Apolipoprotein B-48 ve Apolipoprotein B-100 olmak üzere 2 formunun oluşturulmasını sağlar. Apolipoprotein B, lipidlerin düzenlenmesi, salgılanması, taşınması gibi olaylarda rol oynayan büyük bir glikoproteindir. ApoB-48 ve ApoB-100 kandaki yağ ve yağ benzeri maddeleri taşıyan lipoproteinlerin parçalarıdır ve bu iki form memelilerde bulunur. ApoB-100 sadece insan karaciğerinde sentezlenirken, ApoB-48 tüm memelilerin bağırsaklarında sentezlenmektedir. ApoB-48 bağırsakta üretilir ve şilomikron adı verilen bir lipoprotein türünün yapı taşıdır. Şilomikronlar, yemek yenilip sindirildikten sonra bağırsaktan kan dolaşımına yağ ve kolesterol taşınmasında görev alırlar. Bununla beraber vitamin A ve vitamin E gibi yağda çözünen vitaminlerin emilmesini de sağlamaktadır. ApoB-100 ise

karaciğerde üretilir. Çok düşük yoğunluklu lipoprotein (VLDL), orta yoğunluklu lipoprotein (IDL) ve düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL)'in yapısını oluşturur. Bu moleküller sayesinde kan dolaşımına katılan yağlar ve kolesterol taşınır. ApoB-100 LDL'nin ana protein bileşenidir. *APOB* ikinci kromozom üzerinde bulunmaktadır ve 2p23-2p24 kromozomu üzerinde haritalanmıştır (Şekil 2.7) (Anonymous 2018, Crooke vd. 2018).



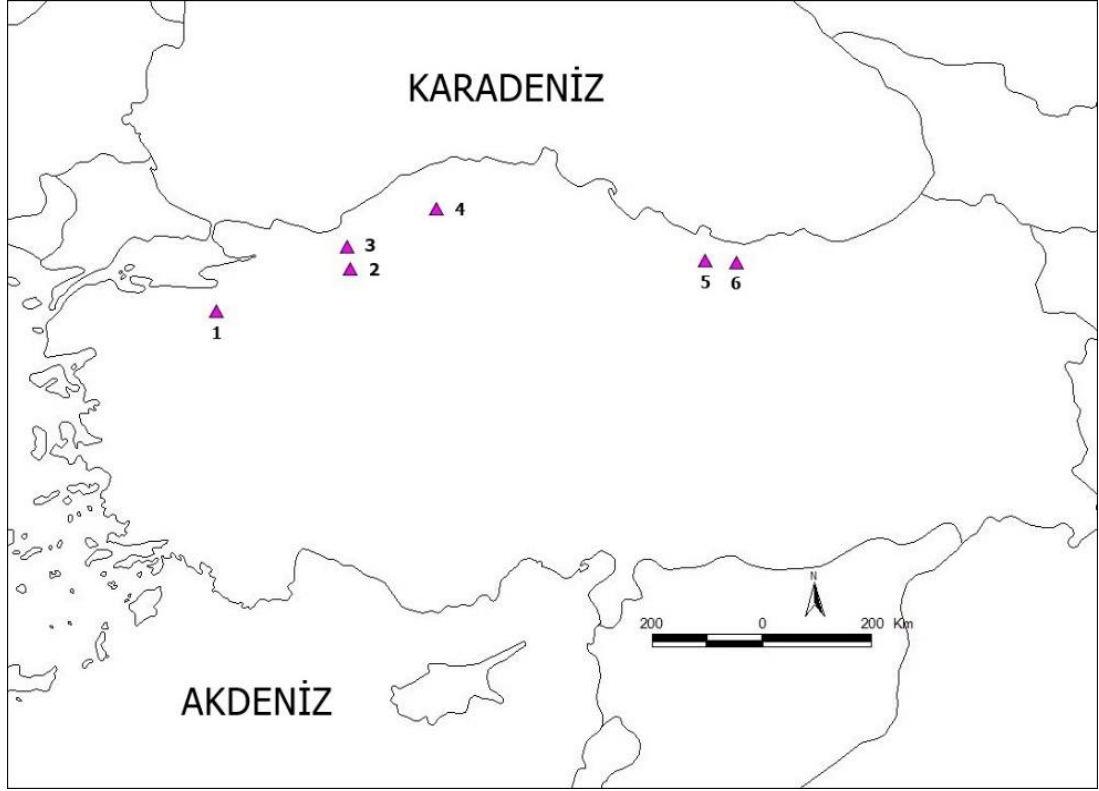
Şekil 2.7 *APOB*'un kromozomal lokasyonu (Anonymous 2018)

3. MATERYAL VE YÖNTEM

Bu tez çalışmasında daha önce TÜBİTAK tarafından desteklenen 113Z822 numaralı proje kapsamında Giresun, Ordu, Bolu, Düzce, Karabük, Bursa'dan toplanan (Çizelge 3.1, Şekil 3.1) ve laboratuvarımızda muhafaza edilen toplam 25 *Muscardinus avellanarius* örneğine ait dokular (kalp, karaciğer, böbrek, kas, dalak, akciğer) değerlendirildi.

Çizelge 3.1 *Muscardinus avellanarius*'un müze numarası, eşey ve lokalite bilgileri

Sıra	Müze Numarası	Tür İsmi	Lokalite	Eşey
1	7185	<i>Muscardinus avellanarius</i>	Bolu-Abant	♂
2	7200	<i>Muscardinus avellanarius</i>	Bolu-Abant	♀
3	7205	<i>Muscardinus avellanarius</i>	Giresun-Bulancak	♀
4	7206	<i>Muscardinus avellanarius</i>	Giresun-Bulancak	♀
5	7210	<i>Muscardinus avellanarius</i>	Giresun-Bulancak	♂
6	7211	<i>Muscardinus avellanarius</i>	Giresun-Bulancak	♂
7	7388	<i>Muscardinus avellanarius</i>	Ordu-Ulubey-Yukarıkızılen	Juvenil
8	7387	<i>Muscardinus avellanarius</i>	Ordu-Ulubey-Yukarıkızılen	Juvenil
9	7383	<i>Muscardinus avellanarius</i>	Ordu-Ulubey-Yukarıkızılen	Juvenil
10	7382	<i>Muscardinus avellanarius</i>	Ordu-Ulubey-Yukarıkızılen	♀
11	7370	<i>Muscardinus avellanarius</i>	Ordu-Ulubey-Yukarıkızılen	♀
12	7369	<i>Muscardinus avellanarius</i>	Ordu-Ulubey-Yukarıkızılen	♀
13	7445	<i>Muscardinus avellanarius</i>	Düzce-Yığılca	♂
14	7446	<i>Muscardinus avellanarius</i>	Düzce-Yığılca	♂
15	7447	<i>Muscardinus avellanarius</i>	Bolu-Abant	♀
16	7450	<i>Muscardinus avellanarius</i>	Bolu-Abant	♂
17	7451	<i>Muscardinus avellanarius</i>	Bolu-Abant	♂
18	7486	<i>Muscardinus avellanarius</i>	Bolu-Abant	♀
19	7487	<i>Muscardinus avellanarius</i>	Bolu-Abant	♂
20	7463	<i>Muscardinus avellanarius</i>	Bursa-Uludağ	♂
21	7464	<i>Muscardinus avellanarius</i>	Bursa-Uludağ	♀
22	7453	<i>Muscardinus avellanarius</i>	Düzce-Yığılca	♂
23	7454	<i>Muscardinus avellanarius</i>	Düzce-Yığılca	♀
24	7604	<i>Muscardinus avellanarius</i>	Karabük-Eflani	♂
25	7605	<i>Muscardinus avellanarius</i>	Karabük-Eflani	♀



Şekil 3.1 Tez çalışmasında kullanılan *Muscardinus avellanarius* örneklerinin toplandığı lokasyonlar:

1) Bursa-Uludağ, 2) Bolu-Abant, 3) Düzcce-Yığılca, 4) Karabük-Eflani, 5) Ordu-Ulubey-Yukarıkızılen, 6) Giresun-Bulancağ

APOB gen bölgesi için laboratuvarında muhafaza edilen *Myomimus roachi*, *Dryomys laniger*, *Mus musculus domesticus* dokuları kullanılarak ve GenBank'tan *Muscardinus avellanarius*, *Glis glis*, *Dryomys nitedula*, *Eliomys quercinus*, *Graphiurus murinus*, *Apodemus flavicollis* ve *Rattus norvegicus*'a ait diziler alınarak dış grup oluşturuldu (Çizelge 3.2). *ND1* gen bölgesi için oluşturulan dış grupta, laboratuvarında muhafaza edilen *Myomimus roachi* dokusu ve GenBank'tan alınan *Dryomys laniger*, *Dryomys nitedula*, *Glis glis*, *Graphiurus kelleni*, *Mus musculus*, *Rattus rattus* ve *Apodemus agrarius* dizileri kullanıldı (Çizelge 3.3).

Çizelge 3.2 *APOB* gen bölgesi için dış grup örnekleri

Tür Adı	Müze/GenBank Erişim Numarası	Lokalite	Kaynak
<i>Muscardinus avellanarius</i>	LT614857.1	Litvanya	Mouton vd. 2017
<i>Muscardinus avellanarius</i>	LT614856.1	Romanya	Mouton vd. 2017

Çizelge 3.2 *APOB* gen bölgesi için dış grup örnekleri (devam)

<i>Muscardinus avellanarius</i>	LT614855.1	Romanya	Mouton vd. 2017
<i>Muscardinus avellanarius</i>	LT614854.1	Slovakya	Mouton vd. 2017
<i>Muscardinus avellanarius</i>	LT614851.1	Makedonya	Mouton vd. 2017
<i>Muscardinus avellanarius</i>	LT614840.1	Makedonya	Mouton vd. 2017
<i>Muscardinus avellanarius</i>	LT614830.1	Makedonya	Mouton vd. 2017
<i>Muscardinus avellanarius</i>	LT614849.1	Slovenya	Mouton vd. 2017
<i>Muscardinus avellanarius</i>	LT614846.1	Danimarka	Mouton vd. 2017
<i>Muscardinus avellanarius</i>	LT614834.1	Almanya	Mouton vd. 2017
<i>Muscardinus avellanarius</i>	LT614847.1	Zonguldak	Mouton vd. 2017
<i>Muscardinus avellanarius</i>	LT614848.1	Bursa	Mouton vd. 2017
<i>Muscardinus avellanarius</i>	LT614838.1	İsviçre	Mouton vd. 2017
<i>Muscardinus avellanarius</i>	LT614836.1	Fransa	Mouton vd. 2017
<i>Muscardinus avellanarius</i>	LT614831.1	Belçika	Mouton vd. 2017
<i>Muscardinus avellanarius</i>	LT614839.1	Hollanda	Mouton vd. 2017
<i>Muscardinus avellanarius</i>	LT614835.1	İtalya-Lazio	Mouton vd. 2017
<i>Muscardinus avellanarius</i>	LT614843.1	İtalya-Sicilya	Mouton vd. 2017
<i>Muscardinus avellanarius</i>	AB253949.1	Rusya	Mouton vd. 2017
<i>Glis glis</i>	AB253955.1	İtalya	Nunome vd. 2007
<i>Dryomys nitedula</i>	AB253946.1	Rusya	Nunome vd. 2007
<i>Eliomys quercinus</i>	AB253947.1	Fransa	Nunome vd. 2007
<i>Graphiurus murinus</i>	AB253950.1		Nunome vd. 2007
<i>Rattus norvegicus</i>	U53873.1		Shimmin 1996
<i>Apodemus flavicollis</i>	AB285422.1	İsviçre	Sato ve Suzuki 2006
<i>Myomimus roachi</i>	7204	Çanakkale	AUMAC
<i>Dryomys laniger</i>	7485	Malatya	AUMAC
<i>Mus musculus domesticus</i>	3781	Ordu	AUMAC

Çizelge 3.3 *NDI* gen bölgesi için dış grup örnekleri

Tür Adı	Müze/GenBank Erişim Numarası	Lokalite	Kaynak
<i>Dryomys laniger</i>	MF449455.1	Niğde-Madenköy	Kankılıç vd. 2018
<i>Dryomys nitedula</i>	MF449453.1	Bolu-Abant	Kankılıç vd. 2018
<i>Glis glis</i>	NC_001892.1		Reyes vd. 1998
<i>Graphiurus kelleni</i>	HE978360.1		Fabre vd. 2013
<i>Mus musculus</i>	KY018919.1		St. John 2016
<i>Rattus rattus</i>	FJ355927.1		Nilsson vd. 2010
<i>Apodemus agrarius</i>	KY851960.1		Andersen vd. 2017
<i>Myomimus roachi</i>	7161	Edirne	AUMAC

Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü (BAP) tarafından desteklenen 19L0430001 numaralı tez projesinin arazi ve laboratuvar çalışmaları için Orman ve Su İşleri Bakanlığı Doğa Koruma ve Milli Parklar Genel Müdürlüğü'nden

(72784983-488.04-104616) ve Ankara Üniversitesi Hayvan Denepleri Yerel Etik Kurulu'ndan (2018-23-152) gerekli izinler alındı. Örnekler, Hayvan Denepleri Etik Kurulu yönetmeliğine uygun şekilde yüksek dozda anestejik madde ile uyutuldu ve DNA dizi analizi çalışmalarında kullanılacak olan kalp, böbrek, karaciğer, akciğer, dalak ve kas dokuları alınarak laboratuvarındaki -86°C'lik dolapta muhafaza edildi. Örneklerden alınan kafatasları ve müze materyali şeklinde doldurulan postları saklanmak için Ankara Üniversitesi Memeli Hayvan Koleksiyonu'na (AUMAC) kaldırıldı.

M. avellanarius örneklerine ait dokulara DNA izolasyonu yöntemi uygulandı. Daha sonra izole edilen DNA'lar hedef gen bölgelerine (*APOB* ve *NDI*) ait primerler kullanılarak Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) yöntemi ile çoğaltılması sağlandı. Oluşan PZR ürünleri agaroz jel elektroforez yöntemi ile jelde koşturuldu ve sonrasında boyama işlemi yapılarak görüntülenmesi sağlandı. Bu gen bölgelerine ait sonuçlar istatistiksel analiz programları kullanılarak değerlendirildi.

3.1 DNA İzolasyonu

M. avellanarius örneklerinden elde edilen dokuların DNA izolasyonları Doyle ve Doyle (1991) prosedürü izlenerek CTAB (Cetyl trimethylammonium bromide) DNA izolasyon metodu ile gerçekleştirildi.

Bu izolasyon yöntemi aşağıdaki basamaklardan oluşmaktadır;

- 1) Örnekler için dokuların herhangi birinden küçük parçalar alınıp, buz kalıplar içerisinde bekletilen ependorf tüplere konularak üzerlerine 300 µl CTAB (Kloroform, Tris-HCl, EDTA, NaCl) lizis tamponu ilave edildi ve tek kullanımlık havaneli ile dokular iyice ezilerek homojen bir sıvı elde edildi.
- 2) Elde edilen bu homojenata tekrar 300 µl CTAB eklendi ve son bir kez karıştırıldı. Daha sonra 50 µl BME (β-Merkaptoetanol) eklenip iyice karıştırıldı.

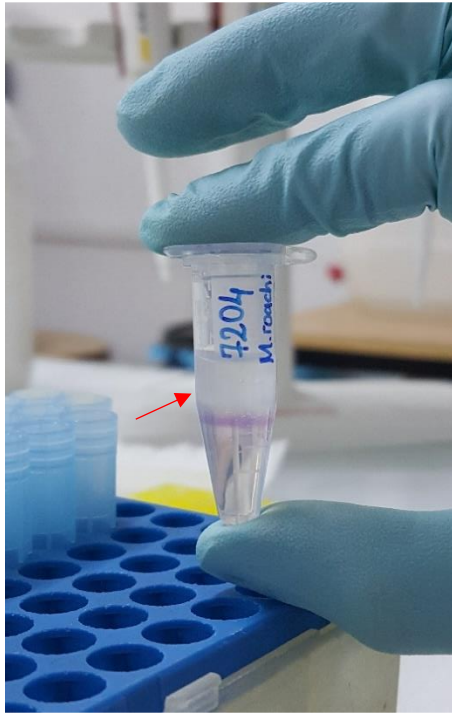
- 3) Karışım 65°C'lik su banyosunda 1 saat inkübe edildi.
- 4) İnkübasyon sonrasında tüplere 500 µl C: IAA (Kloroform izoamil alkol) (24:1) ilave edildi ve tüpler içerisindeki karışım süte benzer bir kıvam alınca kadar iyice karıştırıldı.
- 5) Daha sonra tüpler 13.000 rpm'de +4°C'de 15 dakika santrifüj edildi. Santrifüjden sonra ependorf tüpler içerisinde iki faz gözlemlendi.
- 6) Gözlenen alt ve üst fazlar karıştırılmadan ependorf tüpler hassas bir şekilde buza yerleştirildi.
- 7) DNA'yı içeren üstteki sıvı faz pipetle çekildi ve önceden numaralandırılmış ayrı bir ependorf tüpe konuldu.
- 8) DNA'yı içeren bu ependorf tüplerin içerisine DNA'yı çöktürmek için -20°C'de soğutulmuş 500 µl izopropanol eklendi ve tüpler yavaşça karıştırıldı. Bu karıştırma sırasında tüpler içerisinde bulut şeklinde nükleik asit ipliği gözlemlendi (Şekil 3.2- 3.3).
- 9) Tüpler -20°C'de bir gece veya -80°C'de 30 dakika bekletilip inkübe edildi.
- 10) Daha sonra donmuş haldeki tüpler erimeden 13.000 rpm'de +4°C'de 10 dakika santrifüj edildi ve santrifüj sonunda tüplerin dibinde DNA moleküllerinin çöktüğü gözlemlendi.
- 11) Tüplerin dibine yapışmış olan DNA moleküllerinin düşmesine izin vermeden tüpler içerisindeki süpernatantlar döküldü.
- 12) DNA pelletleri 2-3 kere -20°C'de bekletilen %70'lik veya %100'lük etil alkol ile yıkandı.

13) Ependorf tüp içerisindeki pellet laminar flow kabinde en az 1 saat kurumaya bırakıldı.

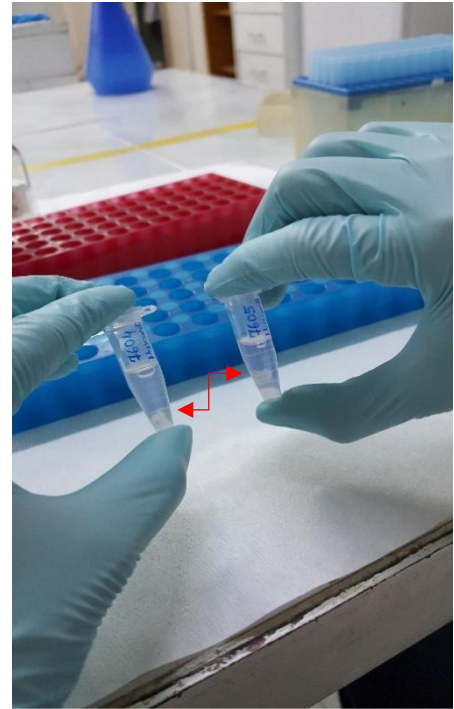
14) Kuruyan DNA'ların üzerine 100 µl TE (Tris-EDTA) tamponu ilave edilip DNA çözdürüldü. Çözdürülen DNA'nın RNA'dan arındırılması için her bir tüpe 2 µl RNase A (10mg/ml) ilave edilerek 37°C'de 30 dakika etüvde inkübasyona bırakıldı.

15) İnkübasyon sonrasında izolasyonu gerçekleştirilen örneklerin DNA konsantrasyonları ve 260 nanometredeki absorban değerleri (A260) spektrofotometre (NanoDrop) ile ölçüldü. Ölçümü yapılan DNA'ların miktarları ve saflık değerleri çizelge 3.4'te gösterilmiştir.

16) Ölçüm yapıldıktan sonra DNA tüpleri çalışmalarda kullanılmak üzere -20 C°'de saklandı.



Şekil 3.2 Bulut şeklinde gözlenen nükleik asit iplik yapısı



Şekil 3.3 Yumak halinde gözlenen nükleik asit iplik yapısı

Çizelge 3.4 Çalışmada kullanılan örneklerin DNA miktarları ve saflık değerleri

Sıra	Müze Numarası	Nükleik Asit Konsantrasyonu (ng/µl)	260/280	260/230
1	7185	814,4	1,83	1,84
2	7200	1108,5	1,87	1,99
3	7205	1793,6	1,88	1,92
4	7206	1978,2	1,88	2,06
5	7210	3079,5	1,92	1,99
6	7211	2897,5	1,87	2,02
7	7388	2498,3	1,88	1,97
8	7387	1282,4	1,89	1,9
9	7383	2749,4	1,84	1,84
10	7382	3703,5	1,88	1,9
11	7370	6957,1	1,9	1,9
12	7369	3557,5	1,88	1,91
13	7445	999,2	1,87	1,81
14	7446	1237,2	1,89	1,91
15	7447	1887,4	1,89	1,91
16	7450	3959,3	1,87	1,83
17	7451	2440,4	1,86	1,74
18	7486	3557,4	1,86	1,45
19	7487	2663,1	1,86	1,77
20	7463	1651	1,87	1,93
21	7464	3271,8	1,83	1,84
22	7453	1960,2	1,89	1,94
23	7454	3294,8	1,82	1,83
24	7604	1720,8	1,86	1,82
25	7605	3885,6	1,86	1,92

DNA izolasyonu sırasında kullanılan çözeltiler (Şekil 3.4) aşağıdaki gibi hazırlanmıştır;

CTAB Tamponunun Hazırlanması (100 ml için)

CTAB : 2 gr

Tris Base : 1 M 10 ml pH: 8.0

EDTA : 0.5 M 4 ml pH: 8.0

NaCl : 5 M 28 ml

dH₂O ile 100 ml'ye tamamlanır. CTAB'ın çözdürülmesi için gerekirse sıcaklık uygulanabilir.

Tris Base (1M) pH: 8.0 (MW: 121.1)

12.11 gr Tris Base dH₂O ile 100 ml'ye tamamlanır.

EDTA (0.5M) pH: 8.0 (MW: 372.2)

18.61 gr EDTA dH₂O ile 100 ml'ye tamamlanır. EDTA'nın çözdürülmesi için NAOH peleti kullanılabilir.

NaCl (5M) (MW: 58.44)

29.22 gr NaCl dH₂O ile 100 ml'ye tamamlanır.

RNase A (10mg/ml, Fermentas) : 2 µl

TE Tamponu pH: 8.0

Tris Base çözeltisi (1M) : 1 ml

EDTA : 20 µl dH₂O ile 100 ml'ye tamamlanır.

BME STOCK (β- Merkoptoethanol) (MA: 78.13 gr) (250 ml)

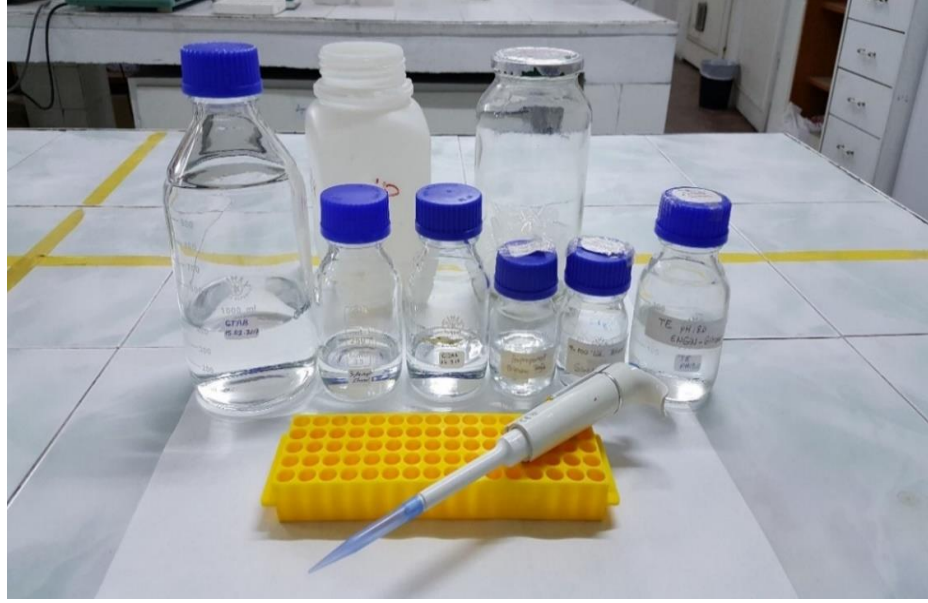
1000 ml 78.13 gr 1 ml 1.14 gr

250 ml X X 19.45 gr

X= 19.45 gr

X= 17.5 ml

17.5 ml BME, 232.5 ml dH₂O ile 250 ml'ye tamamlanır.



Şekil 3.4 DNA izolasyonu sırasında kullanılan çözeltiler

3.2 Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)

Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR), DNA içerisinde yer alan ve dizisi bilinen bir bölgenin *in vitro* ortamda uygun koşullar sağlanarak kopyalarının sayısının artırılması yöntemidir. İlk kez 1985 yılında Kary Mullis tarafından keşfedilmiştir. PZR, kalıtsal hastalıkların teşhisi, genetik parmak izlerinin tanımlanması, genlerin klonlanması, babalık testi gibi çeşitli konularda yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. PZR, distile su (dH_2O), tampon çözelti (Tris-HCl), magnezyum klorür ($MgCl_2$), deoksinükleotid trifosfatlar (dNTP), primerler, *Taq* DNA polimeraz enzimi ve kalıp DNA olmak üzere 7 farklı bileşen ile yapılmaktadır. Yöntem; DNA zincirinin yüksek sıcaklığa maruz kalarak açılması (Denatürasyon), primerlerin açılan DNA zincirindeki hedef gen bölgesine bağlanması (Annealing) ve primerlerin bağlandığı bölgeden enzim aracılığıyla DNA zincirinin uzamasını sağlaması (Extension) olmak üzere 3 temel basamaktan oluşmaktadır ve bu basamaklar bir PZR devrini temsil etmektedir. Bu işlem, 25-40 defa tekrar edilerek başlangıçtaki DNA dizisinden milyonlarca yeni kopya oluşturmaktadır.

PZR yönteminin keşfinden sonra birçok metot geliştirilmiştir. Bu metotlar çoğaltılması istenen DNA dizilerinin bulunduğu durumlarda kullanılan PZR metotları, çoğaltılması istenen DNA dizilerinin bilinmediği durumlarda kullanılan PZR metotları ve PZR'nin diğer tekniklerle birlikte kullanıldığı metotlar olmak üzere 3'e ayrılır (Yılmaz ve Devran 2003).

Çoğaltılması istenen DNA dizilerinin bulunduğu durumlarda kullanılan PZR metotları;

- 1) Standart PZR
- 2) Ters Transkriptaz PZR (Reverse Transcriptase PCR, RT-PCR)
- 3) Katlı PZR (Multiplex PCR)
- 4) Antiserumla Sabitleme PZR (Immunocapture PCR)
- 5) İç içe PZR (Nested PCR)
- 6) Renkli PZR (Colorimetric PCR)
- 7) Damlatma PZR (Spot PCR)
- 8) Kademeli Sıcaklık Düşürme PZR (Touchdown PCR)
- 9) Canlı Hücre Belirleyen PZR (Bio PCR)

Çoğaltılması istenen DNA dizilerinin bilinmediği durumlarda kullanılan PZR metotları;

- 1) Değişken DNA Dizilerinin Tesadüfen Çoğaltılması (Random Amplified Polymorphic DNA; RAPD-PCR)
- 2) Ters PZR (Inverse-PCR)
- 3) Kanca PZR (Anchored PCR)
- 4) Asimetrik PZR

PZR'nin diğer tekniklerle birlikte kullanıldığı metotlar;

- 1) Çoğaltılan Fragmentlerin Uzunluk Polimorfizmi (Amplified Fragment Length Polymorphism; AFLP)
- 2) PZR Ürününün Enzimle Kesilmesi (PCR-RFLP)

- 3) oğaltılmış DNA Dizilerinin Enzimle Kesilmesi (Cleaved Amplified Polymorphic Sequence; CAPS)
- 4) RAPD Bantlarının Spesifik Primere Dönüştürülmesi (Sequence Characterized Amplified Region; SCAR)

3.2.1 Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) alışmasında kullanılan temel bileşenler

PZR yapılırken distile su (dH₂O), tampon özelti (Tris-HCl), magnezyum klorür (MgCl₂), deoksinükleotid trifosfatlar (dNTP), çoğaltılması istenen gen bölgesine özđü primerler, *Taq* DNA polimeraz enzimi ve kalıp DNA olmak üzere 7 farklı bileşen kullanılarak bir karışım hazırlanmaktadır.

Tampon özeltisi, DNA polimeraz enzimi için gerekli olan elektrolitleri, koenzimleri ve pH'ı sağlar. Kullanılan enzimin tipi ve özelliğine göre çözeltinin içeriği belirlenir. PZR uygulamasında genellikle 10-50 mM Tris-HCl tampon çözeltisi (pH 8.3-8.8) kullanılır. Hazırlanan karışım içerisine 50 mM KCl ilave edilirse primer bağlanması kolaylaşır, ancak bu miktarın üzerine çıkılırsa veya 50 mM NaCl konulursa enzimin aktivitesi engellemiş olur (Innis ve Gelfand 1990, Demeke ve Adams 1992, Henson ve French 1993).

Mg⁺² konsantrasyonu PZR işlemi sonunda alınacak ürün verimi açısından son derece önemlidir. Konsantrasyona bağlı olarak kalıp DNA'nın açılma sıcaklığı, primerlerin açılan DNA zincirlerine bağlanması, PZR sonunda elde edilen DNA kalitesi, primer-dimer oluşumları, enzim aktivitesi ve güvenilirliği etkilenmektedir (Innis ve Gelfand 1990, Hadidi vd. 1995). PZR uygulaması için hazırlanan karışıma MgCl₂ olarak eklenir. MgCl₂ konsantrasyonu genellikle 0.5-2.5 mM arasındadır, yapılacak olan deneye göre optimize edilmektedir. Düşük Mg⁺² konsantrasyonu yeterli ürün sentezlenmemesine, yüksek Mg⁺² konsantrasyonu ise spesifik olmayan (nonspesifik) ürünlerin birikimine yol açar.

Deoksinükleotid trifosfatlar (dATP, dGTP, dTTP, dCTP = dNTP) DNA sentezi için gereklidir. Dört bazın konsantrasyon içerisindeki oranı birbirine eşit olmalıdır. dNTP konsantrasyonunun yüksek olduğu durumlarda yeni sentezlenen DNA dizilerinde hatalı diziler ortaya çıkabilir. Bu durumu önlemek için düşük konsantrasyonda dNTP kullanmak gerekir (Innis ve Gelfand 1990, Hadidi vd. 1995, Weising vd. 1995).

Primerler, çoğaltılacak olan DNA'ya bağlanıp yeni DNA sentezini başlatan kısa DNA parçacıklarıdır. Çoğaltılması istenen gen bölgesine özgün olarak tasarlanırlar. Primer uzunluğu genel olarak 16-30 baz arasında değişim göstermektedir. Primerlerin baz dizilişlerindeki guanin-sitozin (GC) oranı ile primerlerin bağlanması için gerekli olan sıcaklık (Tm) arasındaki dengenin kurulması PZR'nin sonucunun iyi olmasını sağlar. Bu sebeple primer dizilerinde GC bazlarının toplam oranının % 50 veya bunun daha üzerinde olması istenmektedir. Uygulama için karışım hazırlanırken kullanılacak olan primerlerin konsantrasyonu önemlidir. Konsantrasyonun yüksek olması durumunda primerler yanlış bağlanmaktadır ve spesifik olmayan DNA bantlarının üretilmesine neden olmaktadır (Innis ve Gelfand 1990, Dieffenbach vd. 1993, Kwok vd. 1994).

DNA polimeraz enzimleri, kalıp DNA ipliğindeki baz dizisini kullanarak uzun polinükleotid zincirin sentezini kataliz ederler ve kalıp ipliğe tamamlayıcı olan bir DNA ipliği meydana getirirler. Sentezi başlatabilmeleri için primerlere gereksinim duyarlar. Günümüzde kullanılan polimeraz enzimi *Taq* DNA polimerazdır. "*Thermus aquaticus*" adlı termofilik bakteriden elde edilir ve ısıya dayanıklı bir enzimdir. PZR'de kullanılacak enzim konsantrasyonu kalıp DNA ve primere göre değişiklik göstermektedir. Enzim konsantrasyonunun düşük olduğu durumda elde edilecek ürün de azalma meydana gelir, yüksek olduğu durumda ise spesifik olmayan (nonspesifik) bantlar ortaya çıkabilir (Innis ve Gelfand 1990, Erlich vd. 1991, Yang vd. 1992).

Kalıp DNA, çoğaltılacak olan DNA bölgesidir. Kalıp olarak bakteri, virüs, çeşitli genler veya başka hücrelerin genomik DNA'sının bir bölümü kullanılabilirdiği gibi RNA'da kullanılabilir.

3.2.2 Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) basamakları

PZR'nin ilk basamağı olan denatürasyon, DNA iplikçiklerinin birbirinden ayrılması işlemidir. Bu işlem, kalıp DNA'nın ortalama 92-95°C'de 1-2 dakika tutularak çift sarmal yapısındaki iplikçiklerin birbirinden tamamen ayrılması sağlanana kadar devam eder. Birbirinden ayrılan iplikçikler, primerlerin bağlanması için komplementer alanların açılmasını sağlar. Bazı durumlarda DNA zincirini ayırmak için 5-10 dakika ön denatürasyon yapılması gerekebilir (Watson vd. 1992, Hadidi vd. 1995, Caner ve Çarlı 2001).

Bağlanma (Annealing) basamağında primerler kalıp DNA üzerine bağlanır. Açılan DNA zincirlerinin baz dizilerine karşılık gelen bölgesine oligonükleotid primerlerinin bağlanması, reaksiyon sıcaklığının 37-65°C'ye düşürülmesi ile gerçekleşir. Bu aşama, 30-60 saniyede gerçekleşmektedir. Bağlanma sıcaklığı çok yüksek olursa primer bağlanması gerçekleşmez, sıcaklık çok düşük olursa da primerler yanlış yerlere bağlanabilir veya primer dimerleri oluşabilir. Bu yüzden bağlanma sıcaklığının optimize edilmesi gereklidir (Innis ve Gelfand 1990, Caner ve Çarlı 2001).

Son aşama olan uzama (Extension) basamağı, DNA zincirleri üzerine bağlanan primerlerin *Taq* DNA polimeraz aracılığıyla uzatılması olayıdır. *Taq* DNA polimeraz enzimi genellikle 72°C sıcaklıkta daha iyi çalışmaktadır. Sıcaklığın uygun olmadığı durumlarda DNA polimerazın optimize edilmesi gereklidir. Bu basamak genellikle 2 dakika da gerçekleşir, fakat çoğaltılacak olan DNA bölgesinin uzun olması durumunda süre arttırılabilir. Son uzama sıcaklığı tekrar yükseltilerek 94°C'ye çıkarılır. Bu işlemler sonucunda 1 döngü tamamlanmış olur ve her döngüde DNA miktarı 2 kat daha artar (Caner ve Çarlı 2001, Yılmaz ve Devran 2003).

Bu tez çalışmasında 6 farklı lokaliteden toplanan 25 adet *M. avellanarius* örneğinin ilk aşamada dokularından DNA izole edilmiştir. İzole edilen DNA'lar, çalışmada kullanılmış olan *APOB* (nükleer DNA) ve *ND1* (mitokondriyal DNA) gen bölgelerine

ait primerler kullanılarak PZR yöntemi ile çoğaltılmıştır. Çalışmada kullanılan primerler çizelge 3.5'te gösterilmiştir.

Çizelge 3.5 *APOB* ve *ND1* gen bölgeleri için kullanılan primerler

Bölge	Primer Adı	Primer Dizisi (5'-3')	Referans
Apolipoprotein B (<i>APOB</i>)	187F	5'- GTGCCAGGTTCAATCAGTATAAGT -3'	Amrine-Madsen vd. 2003
	J1R	5'- CCAGCAAAATTTTCTTTTACTTCAA -3'	Jiang vd. 1998
NADH Dehidrojenaz Alt Ünite 1 (<i>ND1</i>)	ND1-6AF	5'- GCAGAGCTTGGAATTGCAT -3'	Hadid vd. 2012
	ND1-ER89	5'-CTCTATCAAAGTAACTCTTTTATCAGAC-3'	Mayer ve Helversen 2001

Nükleer DNA'ya ait *APOB* gen bölgesi için 18 µl distile su (dH₂O), 3,7 µl 10X KCl'li *Taq* Buffer (Thermo Scientific), 4,5 µl MgCl₂ (Thermo Scientific), 6 µl dNTP (Thermo Scientific), 1,5 µl forward primer, 1,5 µl reverse primer ve 0,8 µl *Taq* DNA polimeraz enzimi (Thermo Scientific) olmak üzere, her örneğe 36 µl'lik hacimde PZR karışımı hazırlandı ve bu karışım PZR tüpleri içerisine dağıtıldı. Çalışılan örnekler için kalıp DNA, tüplerdeki karışım içerisine 1,5 µl hacimde ilave edildi. Tüpler, optimize edilmiş çalışma koşullarında (Çizelge 3.6) PZR cihazına konularak reaksiyona sokuldu. Reaksiyon sonucunda oluşan PZR ürünleri agaroz jel elektroforezinde koşturuldu ve boyama yapılarak ürünlerin çoğalıp çoğalmadığına bakıldı.

Çizelge 3.6 *APOB* gen bölgesi için PZR koşulları

Basamak	Sıcaklık	Süre	Döngü Sayısı
Ön Denatürasyon	94°C	3 Dakika	1
Denatürasyon	94°C	30 Saniye	30
Bağlanma	55°C	30 Saniye	
Uzama	72°C	30 Saniye	
Son Uzama	72°C	5 Dakika	1

Mitokondriyal DNA'ya ait *NDI* gen bölgesi için 15,9 µl distile su (dH₂O), 3,75 µl 10X KCl'li *Taq* Buffer (Thermo Scientific), 3,75 µl MgCl₂ (Thermo Scientific), 6 µl dNTP (Thermo Scientific), 3 µl forward primer, 3 µl reverse primer ve 0,6 µl *Taq* DNA polimeraz enzimi (Thermo Scientific) olmak üzere, her örneğe 36 µl'lik hacimde PZR karışımı hazırlandı ve bu karışım PZR tüpleri içerisine dağıtıldı. Çalışılan örnekler için kalıp DNA tüplerindeki karışım içerisine 1,5 µl hacimde ilave edildi. Tüpler, optimize edilmiş çalışma koşullarında (Çizelge 3.7) PZR cihazına konularak reaksiyona sokuldu. Reaksiyon sonucunda oluşan PZR ürünleri agaroz jel elektroforezinde koşturularak boyama yapılarak ürünlerin çoğalıp çoğalmadığına bakıldı.

Çizelge 3.7 *NDI* gen bölgesi için PZR koşulları

Basamak	Sıcaklık	Süre	Döngü Sayısı
Ön Denatürasyon	94°C	5 Dakika	1
Denatürasyon	94°C	45 Saniye	40
Bağlanma	60°C	1,30 Dakika	
Uzama	72°C	1,40 Dakika	
Son Uzama	72°C	10 Dakika	1

3.3 Jel Elektroforezi

Jel elektroforezi, elektriksel bir alanda jel boyunca hareket eden saflaştırılmış biyolojik makromoleküllerin molekül ağırlığını, yükünü, alt tiplerini ve miktarını belirleyen bir yöntemdir. Moleküllerin elektrik yüklerine göre göç etme prensibine dayanır. Jelde hareket etme kabiliyeti moleküllerin özelliklerine göre değişmektedir. Büyük moleküller daha yavaş ve zor, küçük moleküller ise daha hızlı ve rahat hareket ederler. En sık kullanılan jel elektroforez yöntemleri agaroz jel elektroforezi ve poliakrilamid jel elektroforezidir. Genellikle nükleik asitler için agaroz jel elektroforezi, proteinler için ise poliakrilamid jel elektroforezi kullanılmaktadır. DNA ve RNA molekülleri eksi yüklü moleküller olduğu için jel üzerinde katoddan (- kutup) anoda (+ kutup) doğru

hareket ederler. Protein molekülleri ise üzerlerinde hem artı hem de eksi yükler taşıdıkları için ortamın pH'sına göre hareket ederler.

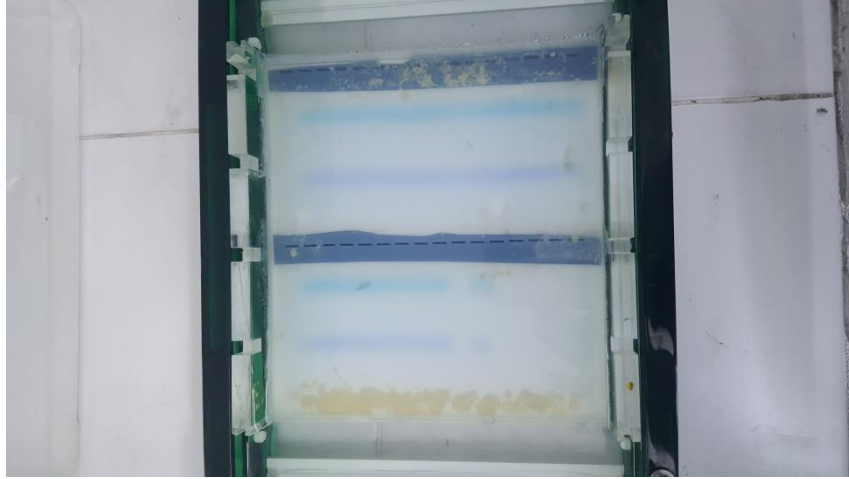
3.3.1 Agaroz jel elektroforezi

DNA ve RNA moleküllerini ayırmak için agaroz jel elektroforez yöntemi kullanılır. Bu yöntemde elektroforez tankı ve güç kaynağı, jel tepsisi, jelde örnek yükleme kuyucukları oluşturmak için taraklar, oluşan görüntüye bakmak için ultraviyole ışık kaynağı ve görüntüyü çekmek için görüntüleme cihazı kullanılır. Agaroz jel elektroforezi için gerekli olan temel bileşenler agaroz, elektroforez tamponu, marker DNA, yükleme tamponu (boya) ve PZR ürünlerinden oluşmaktadır.

Agaroz, genellikle kırmızı deniz yosunundan elde edilen bir polisakkarittir. Jel hazırlanırken kullanılır. Kuru toz halindedir ve sıvı bir tampon çözelti içerisine konulup kaynatılarak çözündürülür. Elde edilen sıvı jel çözeltisi jel tepsisine döküldükten sonra soğuyup katı bir hal almaya bırakılır. Elektroforez tamponu elektrik iletimi için önem taşır. Genellikle Tris-asetik asit-EDTA (TAE) veya Tris-borat-EDTA (TBE) tamponları kullanılır. Marker DNA, jel üzerinde yürüyen DNA'ların yaklaşık boyutunu belirlemek için kullanılır. Yükleme tamponu, jeldeki örneklerin hareketlerini izlemek için kullanılan, bir veya iki mavi renk içeren boyadan oluşmaktadır.

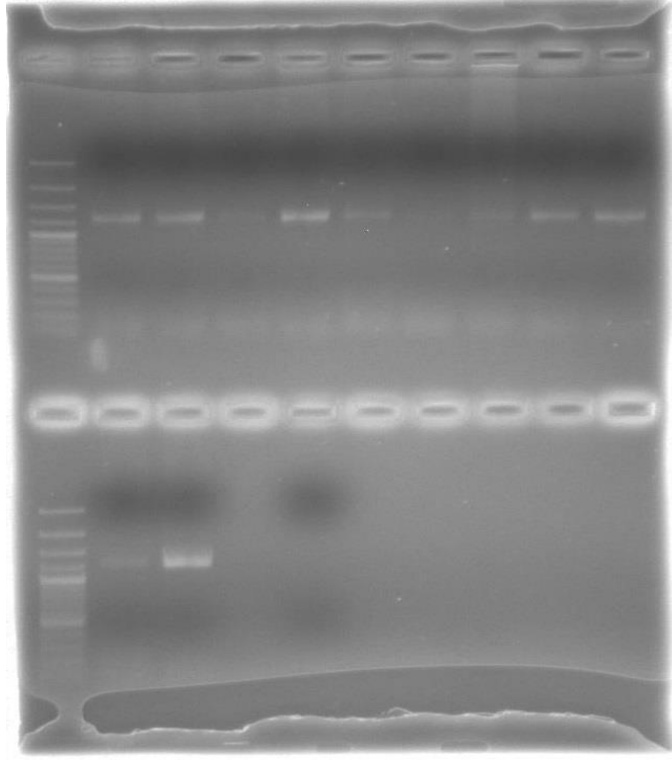
Bu tez çalışmasında PZR sonucunda elde edilen DNA'ların çoğalıp çoğalmadığını gözlemlemek için agaroz jel elektroforez yöntemi kullanılmıştır. İşleme başlarken %1'lik agaroz jel hazırlandı ve 150 ml hacimdeki elektroforez tankında örnekler yürütüldü. Agaroz jeli hazırlamak için 1,5 gram agaroz hassas terazide tartıldı ve 250 ml'lik erlenmeyer içerisine aktarıldı. Üzerine mezür ile ölçülen 150 ml 1X Tris-asetat-EDTA (TAE) tamponu ilave edildi. 1X TAE tamponu hazırlamak için stok halinde bulunan 50X TAE'den 20 ml alındı ve üzerine 980 ml distile su ilave edildi Çözelti mikrodalga fırında homojen bir görünüm alıp agaroz çözülene kadar kaynatıldı. Kaynatma sırasında çözelti hacminde azalma meydana gelmemesi için çözelti sık sık takip edildi. Hazırlanan jel elle tutulabilecek kıvama gelinceye kadar soğutulmaya

bırakıldı. Yeterli miktarda soğuyan jel elektroforez tankı içerisinde yer alan, tarakları önceden yerleştirilmiş olan jel tepsisine üzerinde kabarcık oluşturulmamasına dikkat edilerek yavaş bir şekilde döküldü. Jel donduktan sonra taraklar dikkatli bir şekilde çıkartıldı. Tarakların çıkartılmasından sonra oluşan kuyucuklara PZR ürünleri yüklendi. Bu aşamada bir parça parafilm üzerine her bir örnek için 3 µl yükleme boyası (gel loading dye) mikropipet ile koyuldu. Yükleme boyaları üzerine örneklerin DNA'sından 3 µl konulup mikropipet 6 µl hacme getirildikten sonra 1-2 defa pipetaj yapıldı. Hazırlanan boya-DNA karışımı jel üzerinde yer alan kuyucuklara dikkatli bir şekilde, jelin yırtılmamasına özen gösterilerek yüklendi. İlk kuyucuklara da 3 µl DNA ladder yüklendikten sonra örnekler 70 voltta 1,5 saat koşturuldu (Şekil 3.5).

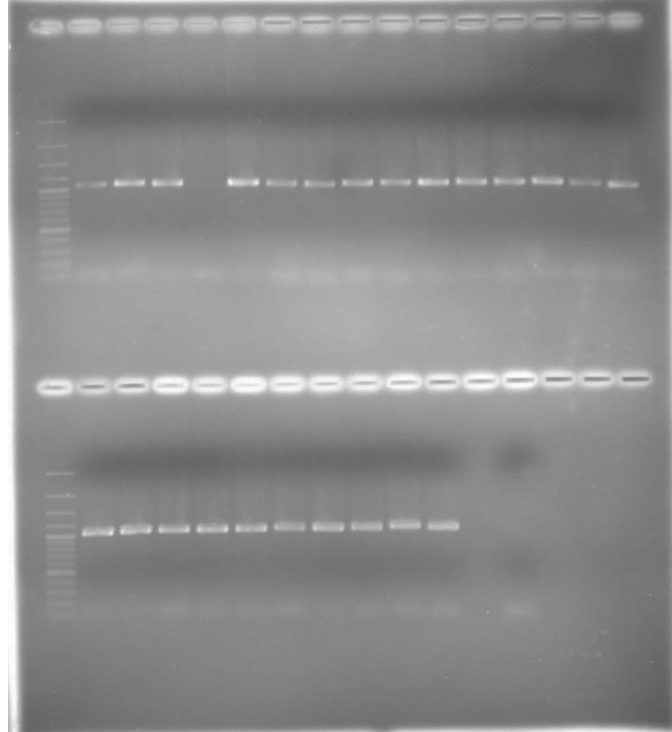


Şekil 3.5 Elektroforez tankında koşturulmuş örnekler

Jel, elektroforez işlemi sonunda etidyum bromür (EtBr) çözeltisi içerisinde alındı ve 15-20 dakika kadar çözeltide boyanması sağlandı. Boyama işlemi tamamlandığında ilk önce UV ışık altında jelde görüntü oluşup oluşmadığına bakıldı. Görüntü olduğu gözlemlendiğinde jel görüntüleme cihazına konuldu. Oluşan görüntünün fotoğrafı çekildikten sonra kaydedildi. *APOB* gen bölgesi için agaroz jel elektroforez görüntüsü şekil 3.6'da, *NDI* gen bölgesi için agaroz jel elektroforez görüntüsü şekil 3.7'de gösterilmiştir.



Şekil 3.6 *APOB* gen bölgesine ait jel görüntüsü (Fotoğraf: Müge Kocaay)

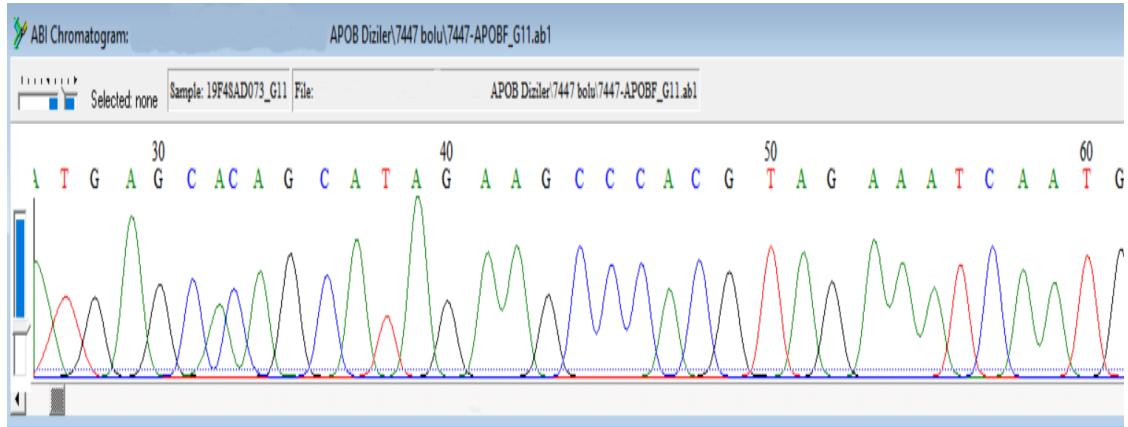


Şekil 3.7 *NDI* gen bölgesine ait jel görüntüsü (Fotoğraf: Müge Kocaay)

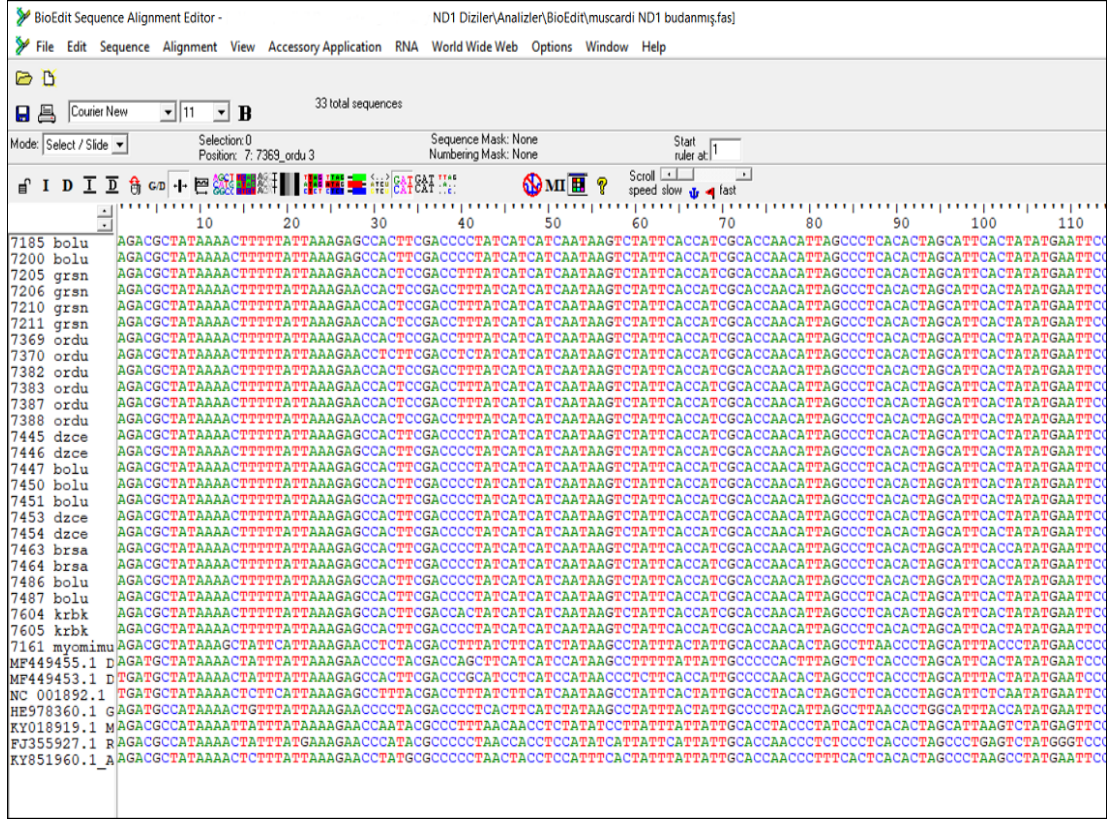
3.4 İstatistiksel Analizler

Yapılan çalışmalar sonucunda PZR ile çoğaltılan iki gen bölgesine ait DNA'ların dizileme işlemleri hizmet alımı şeklinde gerçekleştirildi (Şekil 3.8). Gelen sonuçlar çeşitli istatistiksel metotlar kullanılarak değerlendirildi.

BioEdit 7.0.5.3 (Hall 1999) programı ve bu programın içerdiği ClustalW modülü kullanılarak çalışılan gen bölgelerine ait forward (ileri) ve reverse (geri) dizi okumaları kesildikten sonra birleştirilerek konsensus diziler elde edildi. Bu dizilere dış gruplar eklendikten sonra aynı program kullanılarak hizalanıp budandı ve analizlerde kullanılacak olan veri setleri oluşturuldu (Şekil 3.9). Hem *APOB* hem de *ND1* gen bölgesi için Türkiye'den toplanmış olan 25 *M. avellanarius* örneğinin dizileri kendi içerisinde hizalanıp budanarak veri setleri elde edildi.



Şekil 3.8 Dizileme işlemi sonucunda gelen kromatogram dosyası



Şekil 3.9 BioEdit programı ile hizalanıp budanan diziler

Dış grup eklenerek oluşturulan veri setlerinin haplotip sayıları DnaSP 5.10 (Librado ve Rozas 2009) programı ile belirlendi. Aynı program kullanılarak 25 örneğin veri setlerinden haplotip sayıları, haplotip çeşitliliği, nükleotid çeşitliliği ve nötralite testlerinin bulguları tespit edildi.

Her iki gen bölgesi için de populasyonların genetik yapıları ve gen akışı parametreleri Arlequin 3.5.2.2 (Excoffier ve Lischer 2010) programı kullanılarak belirlendi. Bu program, elde edilen veriler hakkında genetik ve demografik bilgiler sağlamaktadır. Analizlerde, iki gen bölgesi için ayrı ayrı hazırlanan 25 adet *M. avellanarius* örneğinin budanmış dizi veri setlerinden elde edilen haplotipler kullanıldı. Bu veri setleri programın formatına uygun hale getirilerek *APOB* ve *ND1* gen bölgelerinin haplotipleri gruplandırıldı. Elde edilen veri dosyalarına Arlequin programının içerisinde yer alan 1000 permütasyon güvenilirlikli moleküler varyans analizi (AMOVA) testi yapılarak gruplar arasındaki (FCT), gruplar içerisinde yer alan populasyonlar arasındaki (FSC) ve

populasyonlar içerisindeki (F_{ST}) varyasyon yüzdeleri belirlendi. Ayrıca genetik farklılaşma değerleri (F_{ST}) ve gen akışı değerleri (N_m) tespit edildi.

MEGA 7 (Kumar vd. 2016) (Molecular Evolutionary Genetics Analysis) programı ile her iki gen bölgesi için dış grup dâhil edilerek oluşturulan haplotip veri setlerinden en uygun ağaç modeli belirlendi. Belirlenen en uygun ağaç modeli kullanılarak *APOB* ve *NDI* gen bölgelerinin haplotipleri üzerinden 1000 tekrarlı bootstrap ile güvenilirliği sağlanan Maximum Likelihood (ML) ve Maximum Parsimony (MP) filogenetik ağaçları çizildi. Daha sonra her iki gen bölgesinin sadece 25 *M. avellanarius* örneğinden oluşan haplotip veri setlerinden en uygun ağaç modeli belirlendikten sonra bu modele göre Transisyon/Transversiyon oranları (R), nükleotit frekansları ve nükleotit değişim oranları hesaplandı.

Hem *APOB* hem de *NDI* gen bölgesi için *M. avellanarius* örneklerinin dış gruplarla birlikte belirlenen haplotipleri arasındaki filogenetik ağ ilişkisi Network 5.0.1.1 (Forster vd. 1996, Polzin ve Daneshmand 2003) programı ile Median-Joining ağacı çizilerek ortaya konuldu.

BEAST 1.10.4 (Suchard vd. 2018) programı kullanılarak *NDI* gen bölgesi için evrimsel ayrılma zamanı tespit edildi. Bu işlem yapılırken *M. avellanarius* ve *Mus-Rattus* dizilerinin veri seti BEAUti 1.10.4 (Suchard vd. 2018) programı ile taksonlara ayrıldı. Model olarak bu veri seti için belirlenen HKY+G parametre modeli seçildi ve saat Strict clock olarak alındı. Ağaç çizimi için Yule Process seçeneği kullanıldı. *Mus-Rattus* ayırımına göre (Ortalama: 11.7 Standart Sapma: 0.4) normal dağılım kullanılarak moleküler saat ayarlaması yapıldı ve bir sonraki aşamada kullanılacak olan dosya elde edildi. Elde edilen dosyadan BEAST 1.10.4 programı ile filogenetik ağaç ve log dosyası oluşturuldu. Log dosyası, Tracer 1.6 (Rambaut vd. 2014) programı kullanılarak her bir lokalitedeki populasyonlar için efektif örnek büyüklük (Effective Sample Size, ESS) değerinin 200'ün üzerine çıktığı tespit edildi. TreeAnnotator 1.10.4 (Suchard vd. 2018) programı ile ağaç doyasında yer alan ağaçların ardıl olasılık sınırı 0.5 ve burnin değeri 1000 olarak girilerek en uygun ağaç elde edildi. FigTree 1.4.2 (Rambaut 2014) programı kullanılarak belirlenen en uygun ağaç görsel hale getirildi.

BEAST 1.10.4 programı, *APOB* gen bölgesi için belirlenen en uygun ağaç modelini içermemesinden dolayı bu gen bölgesinin evrimsel ayrılma zamanı belirlenmemiştir.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. Nükleer DNA Apolipoprotein B (APOB) Gen Bölgesi Analiz Sonuçları

Bu tez çalışmasında *APOB* gen bölgesi için Türkiye’de 6 farklı lokaliteden toplanmış olan 25 adet *M. avellanarius* örneği kullanıldı. Dış grup olarak Türkiye’den toplanmış olan Gliridae familyasına ait 1 adet *Myomimus roachi*, 1 adet *Dryomys laniger* ve Muridae familyasına ait 1 adet *Mus musculus domesticus* örneğinin izolasyonu yapıldı ve dizileri elde edildi. GenBank’tan da 19 adet *M. avellanarius*, 4 farklı Gliridae ve 2 farklı Muridae örneğine ait diziler kullanıldı. Toplam 53 örnek ile çalışma yapıldı. Bu örneklere ait diziler hizalanıp budandı ve 1034 baz uzunluğunda veri seti oluşturuldu. Filogenetik analizler bu veri seti kullanılarak yapıldı ve toplam 29 haplotip elde edildi (Çizelge 4.1). Türkiye’den toplanan 25 adet *M. avellanarius* örneği kendi içerisinde hizalanıp budandığında *APOB* gen bölgesi için 1041 baz uzunluğunda veri seti oluşturuldu ve 7 haplotip tespit edildi. Bu veri seti kullanılarak genetik farklılıklar, varyasyon yüzdeleri, genetik farklılaşma değerleri (F_{ST}), gen akışı değerleri (N_m) ve nötralite testleri hesaplandı.

Çizelge 4.1 *Muscardinus avellanarius*’un *APOB* gen bölgesi haplotipleri

Tür İsmi	Haplotip	Haplotip Frekansı	Müze/GenBank Numarası	Lokalite/Örnek Sayısı
<i>Muscardinus avellanarius</i>	Hap_1	2	7185-7446	Bolu (1), Düzce (1)
<i>Muscardinus avellanarius</i>	Hap_2	10	7200-7445-7447-7450-7451-7486-7487-7453-7454-LT614847.1	Bolu (6), Düzce (3), Zonguldak (1)
<i>Muscardinus avellanarius</i>	Hap_3	10	7205-7206-7210-7211-7369-7370-7382-7383-7387-7388	Giresun (4), Ordu (6)
<i>Muscardinus avellanarius</i>	Hap_4	3	7463-7464-LT614848.1	Bursa (3)
<i>Muscardinus avellanarius</i>	Hap_5	2	7604-7605	Karabük (2)

Çizelge 4.1 *Muscardinus avellanarius*'un *APOB* gen bölgesi haplotipleri (devam)

<i>Muscardinus avellanarius</i>	Hap_6	1	LT614857.1	Litvanya (1)
<i>Muscardinus avellanarius</i>	Hap_7	1	LT614856.1	Romanya (1)
<i>Muscardinus avellanarius</i>	Hap_8	2	LT614855.1- AB253949.1	Romanya (1), Rusya (1)
<i>Muscardinus avellanarius</i>	Hap_9	1	LT614854.1	Slovakya (1)
<i>Muscardinus avellanarius</i>	Hap_10	1	LT614851.1	Makedonya (1)
<i>Muscardinus avellanarius</i>	Hap_11	2	LT614840.1-LT614830.1	Makedonya (2)
<i>Muscardinus avellanarius</i>	Hap_12	1	LT614849.1	Slovenya (1)
<i>Muscardinus avellanarius</i>	Hap_13	1	LT614846.1	Danimarka (1)
<i>Muscardinus avellanarius</i>	Hap_14	1	LT614834.1	Almanya (1)
<i>Muscardinus avellanarius</i>	Hap_15	1	LT614838.1	İsviçre (1)
<i>Muscardinus avellanarius</i>	Hap_16	1	LT614836.1	Fransa (1)
<i>Muscardinus avellanarius</i>	Hap_17	1	LT614831.1	Belçika (1)
<i>Muscardinus avellanarius</i>	Hap_18	1	LT614839.1	Hollanda (1)
<i>Muscardinus avellanarius</i>	Hap_19	1	LT614835.1	İtalya-Lazio (1)
<i>Muscardinus avellanarius</i>	Hap_20	1	LT614843.1	İtalya-Sicilya (1)
<i>Myomimus roachi</i>	Hap_21	1	7204	Çanakkale (1)
<i>Dryomys laniger</i>	Hap_22	1	7485	Malatya (1)
<i>Glis glis</i>	Hap_23	1	AB253955.1	İtalya (1)
<i>Dryomys nitedula</i>	Hap_24	1	AB253946.1	Rusya (1)
<i>Eliomys quercinus</i>	Hap_25	1	AB253947.1	Fransa (1)

Çizelge 4.1 *Muscardinus avellanarius*'un *APOB* gen bölgesi haplotipleri (devam)

<i>Graphiurus murinus</i>	Hap_26	1	AB253950.1	(1)
<i>Mus musculus domesticus</i>	Hap_27	1	3781	Ordu (1)
<i>Rattus norvegicus</i>	Hap_28	1	U53873.1	(1)
<i>Apodemus flavicollis</i>	Hap_29	1	AB285422.1	(1)

25 adet *Muscardinus avellanarius* örneğine ait veri setinden genetik farklılık hesaplamaları yapıldı. Bu hesaplamalar ile *APOB* gen bölgesi için haplotip çeşitliliği (Hd) değeri, nükleotit çeşitliliği (π) değeri ve nükleotit farklılığının ortalama sayısı (k) tespit edildi (Çizelge 4.2). Değişken olmayan (monomorfik) bölge sayısının 1034, değişken olan (polimorfik) bölge sayısının 7, parsimonik bilgilendirici bölge sayısının 6 olduğu belirlendi.

Çizelge 4.2 *Muscardinus avellanarius*'un *APOB* gen bölgesi için Hd, π ve k değerleri

Haplotip Çeşitliliği (Hd)	Nükleotit Çeşitliliği (π)	Nükleotit Farklılığının Ortalama Sayısı (k)
0,787	0,00206	2,147

Aynı veri seti kullanılarak populasyonların geçmişte seçilime uğrayıp uğramadığını ve dengede olup olmadığını tespit edebilmek için nötralite testleri yapıldı. Bu testler ile Tajima's *D* (Tajima 1989) değeri, Fu ve Li's *D** ve *F** (Fu ve Li 1993) değerleri ve Fu's *F_s* (Fu 1997) değeri hesaplandı (Çizelge 4.3). Yeni mutasyonlar fazla olduğu zaman veya populasyon genişlemesinin olduğu durumlarda Tajima's *D* negatif değer alırken yeni mutasyonların az sayıda görülmesi, dengeli seçim veya populasyonda azalmanın olması durumlarında Tajima's *D* pozitif değer alır (Çizelge 4.4). Fu ve Li's *D** ve *F** değerleri fazla sayıda ender haplotip belirlendiğinde veya populasyon genişlemesi görüldüğünde negatif çıkar. Fu's *F_s* değeri alel fazlalığı görüldüğünde veya yeni bir populasyon genişlemesi olduğunda negatif değer alırken, alel eksikliğinde veya populasyon darboğaza girdiğinde pozitif değerde sonuç verir.

APOB gen bölgesi için yapılan Tajima's *D* ve Fu ve Li's *D** ve *F** testleri sonucunda pozitif değerler elde edildi fakat bu değerlerin istatistiksel olarak önemli olmadığı görüldü. Fu's *F_s* testinin sonucunda düşük bir negatif değer elde edildi.

Çizelge 4.3 *Muscardinus avellanarius* örneklerinin *APOB* gen bölgesi için yapılan nötralite testlerine ait sonuçlar

Tajima's <i>D</i>	Fu ve Li's <i>D*</i> Testi	Fu ve Li's <i>F*</i> Testi	Fu's <i>F_s</i>
0,48844	0,61942	0,67519	-0,549
P > 0.10 (İstatistiksel önemi yok)	P > 0.10 (İstatistiksel önemi yok)	P > 0.10 (İstatistiksel önemi yok)	

Çizelge 4.4 Tajima's *D* testinin *D* değeri anlamları

Tajima's <i>D</i> Testi	
<i>D</i> < 0	Populasyon genişlemesi ve nadir aleller gözlenir.
<i>D</i> = 0	Beklenen değişime benzer olarak gözlenen değişim vardır ve seçim için kanıt yoktur.
<i>D</i> > 0	Çoklu aleller, dengeli seçim ve beklenmedik populasyon darboğazı gözlenir.

MEGA programı kullanılarak *M. avellanarius*'un 25 örneğine ait veri setinden en uygun model olarak T92 (Tamura 1992) parametre modeli belirlendi. Bu modele göre Transisyon/Transversiyon oranı (*R*), nükleotit frekansları ve nükleotitlerin değişim oranlarını (Çizelge 4.5) hesaplandı. Transisyon, bir pirimidinin başka bir pirimidine veya bir pürinin başka bir pürine değişmesi olayıdır. Transversiyonda ise bir pürinin iki pirimidinden herhangi birine veya bir pirimidinin iki pürinden herhangi birine değişimi gerçekleşir. Bu iki olay tek baz değişikliğinden kaynaklanan nokta mutasyonlarıdır. 25 örnekten elde edilen Transisyon/Transversiyon oranı (*R*) = 2,50 olarak bulundu. Nükleotit frekanslarının A = % 29.82, T/U = % 29.82, C = % 20.18 ve G = % 20.18 olduğu tespit edildi.

Çizelge 4.5 *Muscardinus avellanarius* örneklerinin *APOB* gen bölgesi için nükleotit değişim oranları (**koyu** olarak yazılanlar transisyon, *italik* olarak yazılanlar transversiyon yer değiştirmelerini gösterir)

Nükleotit	A	T/U	C	G
A	-	<i>4.14</i>	<i>2.80</i>	14.57
T/U	<i>4.14</i>	-	14.57	<i>2.80</i>
C	<i>4.14</i>	21.54	-	<i>2.80</i>
G	21.54	<i>4.14</i>	<i>2.80</i>	-

25 örneğe ait veri setinden *APOB* gen bölgesi için Arlequin programı ile moleküler varyans analizi (AMOVA) testi yapıldı. AMOVA testi yapılırken biri *M. a. abanticus*'a ait haplotipler (Bolu, Düzce, Bursa, Karabük), diğeri ise *M. a. trapezius*'a ait haplotipler (Giresun, Ordu) olmak üzere iki ana haplotip grubu oluşturuldu. Varyasyonlar gruplar arasında, gruplar içerisinde yer alan popülasyonlar arasında ve popülasyonlar içerisinde olmak üzere üç seviyede araştırıldı (Çizelge 4.6). İki ana haplotip grubu arasındaki varyasyon % 41.95 olarak tespit edildi. Gruplar içerisinde yer alan popülasyonlar arasındaki varyasyon yüzdesi % 49.31 olarak bulundu ve bu sonucun hem gruplar arasındaki varyasyon yüzdesinden hem de popülasyonlar içerisindeki varyasyon yüzdesinden (% 8.74) daha yüksek olduğu belirlendi.

Çizelge 4.6 *Muscardinus avellanarius*'un *APOB* gen bölgesi için AMOVA analizi sonuçları

Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi (d.f.)	Kareler Toplamı	Varyasyon Bileşenleri	Varyasyon Yüzdesi
Gruplar Arası	1	14.827	0.68010 Va	41.95
Gruplar İçerisinde Yer Alan Popülasyonlar Arası	3	8.100	0.79948 Vb	49.31
Popülasyonlar İçerisi	20	2.833	0.14167 Vc	8.74
Toplam	24	25.760	1.62125	
Fiksasyon İndeksleri				
FCT : 0.41949 Va (P = 0.18866+-0.01190) FSC : 0.84947 Vb (P = 0.00000+-0.00000) FST : 0.91262 Vc (P = 0.00000+-0.00000)				

Aynı program kullanılarak populasyonlar arasındaki genetik farklılaşma (F_{ST}) ve gen akışı değerleri (N_m) belirlendi. F_{ST} değeri 0 ile 1 arasında bir değer alır ve aldığı değerlere göre yorumlanır (Çizelge 4.7). F_{ST} değerinin 0 olması genetik materyalin paylaşılması anlamına gelir. Eğer değer 1 veya 1'e yakın çıkarsa genetik materyal paylaşılmıyordur ve populasyonlar genetik olarak birbirlerinden farklılaşmıştır. N_m değeri 1'den küçük çıkarsa populasyonlar arasında farklılaşma olduğu söylenebilir. F_{ST} ve N_m değerleri birbirleri ile ters orantılıdır. $N_m=0$ ve $F_{ST}=1$ değeri almışsa populasyonlar birbirlerinden tamamen izole olmuştur (Hedrick 2005).

Çizelge 4.7 F_{ST} değerlerinin anlamı (Anonim 2010)

F_{ST} Değer Aralığı	
0-0.05	Altpopulasyonlar arasındaki farklılaşma düşük seviyede
0.25 üstü	Çok yüksek derecede genetik farklılaşma vardır

Genetik farklılaşma sonuçlarına göre iki ana haplotip grubunu oluşturan Giresun-Ordu populasyonları ile Bolu-Düzce, Bolu, Bursa ve Karabük populasyonları arasındaki F_{ST} değerleri 1 ve 1'e yakın değer olarak yüksek bulundu (Çizelge 4.8). N_m değerleri M değeri matrisinden $M=2N_m$ formülü ile hesaplandı (haploid veri için $M=N_m$, diploid veri için $M=2N_m$) (Çizelge 4.9). *APOB* gen bölgesine ait N_m değerlerine göre iki ana haplotip grubu arasındaki değerlerin 0 ya da 0'a yakın olduğu tespit edildi.

Çizelge 4.8 *Muscardinus avellanarius* populasyonlarının *APOB* gen bölgesine ait F_{ST} değerleri ve P değerlerine göre önem dereceleri

	Bolu-Düzce	Bolu	Bursa	Karabük	Giresun-Ordu
Bolu-Düzce	0.00000				
Bolu	0.42937*	0.00000			
Bursa	0.83838***	0.48936	0.00000		
Karabük	0.88706***	0.67568	1.00000	0.00000	
Giresun-Ordu	0.94193***	0.89950**	1.00000***	1.00000*	0.00000

* $P < 0.05$; ** $P < 0.001$; *** $P < 0.0001$ (* olmayanlar istatistiksel olarak anlamlı değildir)

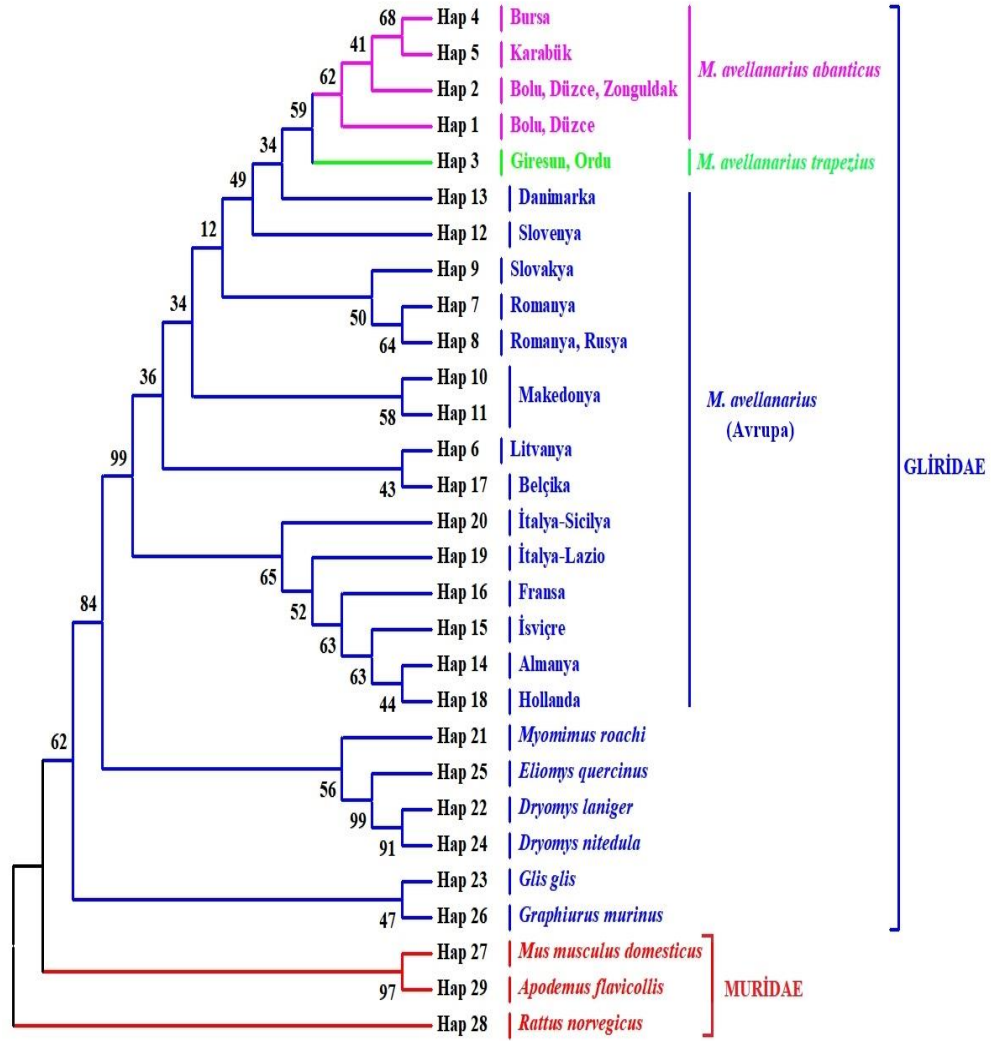
Çizelge 4.9 *Muscardinus avellanarius* populasyonlarının *APOB* gen bölgesine ait M değeri matrisi ($M=2N_m$)

	Bolu-Düzce	Bolu	Bursa	Karabük	Giresun-Ordu
Bolu-Düzce					
Bolu	0.33225				
Bursa	0.048195	0.26087			
Karabük	0.03183	0.12	0.00000		
Giresun-Ordu	0.01541	0.027935	0.00000	0.00000	

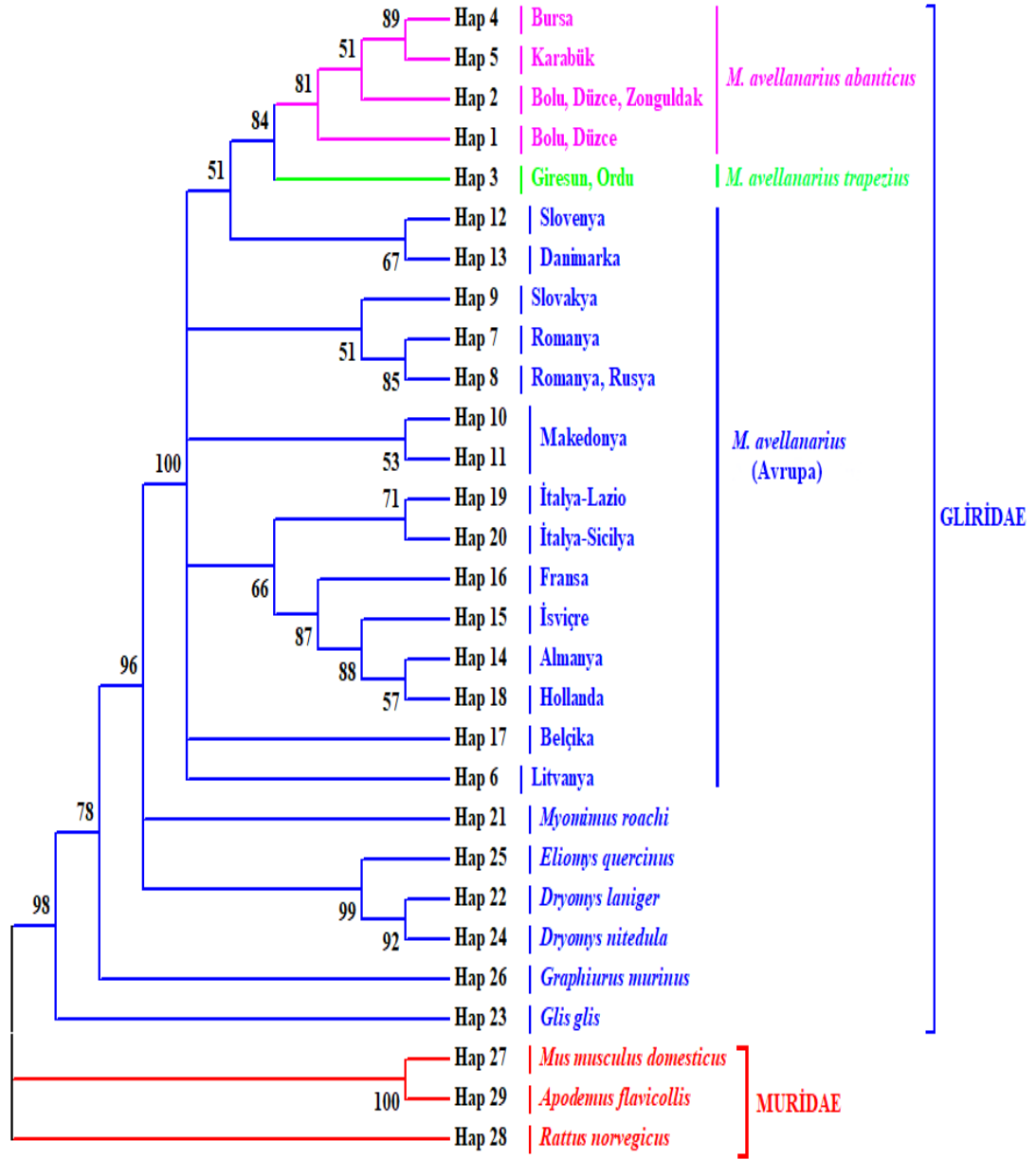
M. avellanarius örneklerinin dış gruplar ile birlikte analizi sonucunda elde edilen 29 haplotip arasındaki filogenetik ilişkileri ortaya koymak için MEGA programı kullanıldı. Bu program ile en uygun ağaç modeli (*APOB* gen bölgesi için en iyi model: T92+G parametresi) (Şekil 4.1) belirlendikten sonra Maximum Likelihood (ML) (Şekil 4.2) ve Maximum Parsimony (MP) (Şekil 4.3) filogenetik ağaçları çizildi.

Model	#Parametreler	BIC	AICc	lnL	Invariant	Gamma	R
T92+G	58	6424,433282	5987,179838	-2935,344579	n/a	11,58104434	2,833210104
T92	57	6425,835265	5996,112466	-2940,819227	n/a	n/a	2,777840801
HKY	59	6433,529601	5988,7458	-2935,119082	n/a	n/a	2,776849864
T92+G+I	59	6433,980594	5989,196794	-2935,344579	0	11,58104434	2,833210104
T92+I	58	6435,689285	5998,435841	-2940,972581	0	n/a	2,777843428
HKY+G	60	6440,423354	5988,109487	-2933,792303	n/a	11,58104434	2,831804321
K2+G	57	6444,438796	6014,715997	-2950,120992	n/a	10,06098378	2,821139755
K2	56	6446,670454	6024,47859	-2956,010478	n/a	n/a	2,758264852
TN93+G	61	6447,078398	5987,234753	-2932,346168	n/a	11,58104434	2,848790093
K2+I	57	6447,833392	6018,111121	-2951,818554	0	n/a	2,758161978
TN93	60	6448,545647	5996,23178	-2937,853449	n/a	n/a	2,792767017
TN93+I	61	6449,711737	5989,868092	-2933,662838	0	n/a	2,79271767
HKY+G+I	61	6449,970667	5990,127022	-2933,792303	0	11,58104434	2,831804321
HKY+I	60	6451,681159	5999,367291	-2939,421205	0	n/a	2,776902613
K2+G+I	58	6453,986108	6016,732664	-2950,120992	0	10,06098378	2,821139755
TN93+G+I	62	6456,62571	5989,252577	-2932,346168	0	11,58104434	2,848790093
GTR	63	6462,476487	5987,574155	-2930,4979	n/a	n/a	2,790862328
GTR+G	64	6469,310179	5986,878938	-2929,14109	n/a	11,23707574	2,842372794
GTR+I	64	6472,023799	5989,592559	-2930,4979	0	n/a	2,790862401
GTR+G+I	65	6478,857491	5988,897631	-2929,14109	0	11,23707574	2,842372794
JC+G	56	6652,250361	6230,058496	-3058,800431	n/a	3,573267195	0,5
JC	55	6654,880328	6240,219687	-3064,889071	n/a	n/a	0,5
JC+G+I	57	6661,797673	6232,074874	-3058,800431	0	3,573267195	0,5
JC+I	56	6664,427641	6242,235776	-3064,889071	0	n/a	0,5

Şekil 4.1 *APOB* gen bölgesi için MEGA programında belirlenen en uygun ağaç modelleri



Şekil 4.2 *Muscardinus avellanarius*'un T92+G parametre modeli ile çizilen *APOB* gen bölgesine ait Maximum Likelihood (ML) ağacı

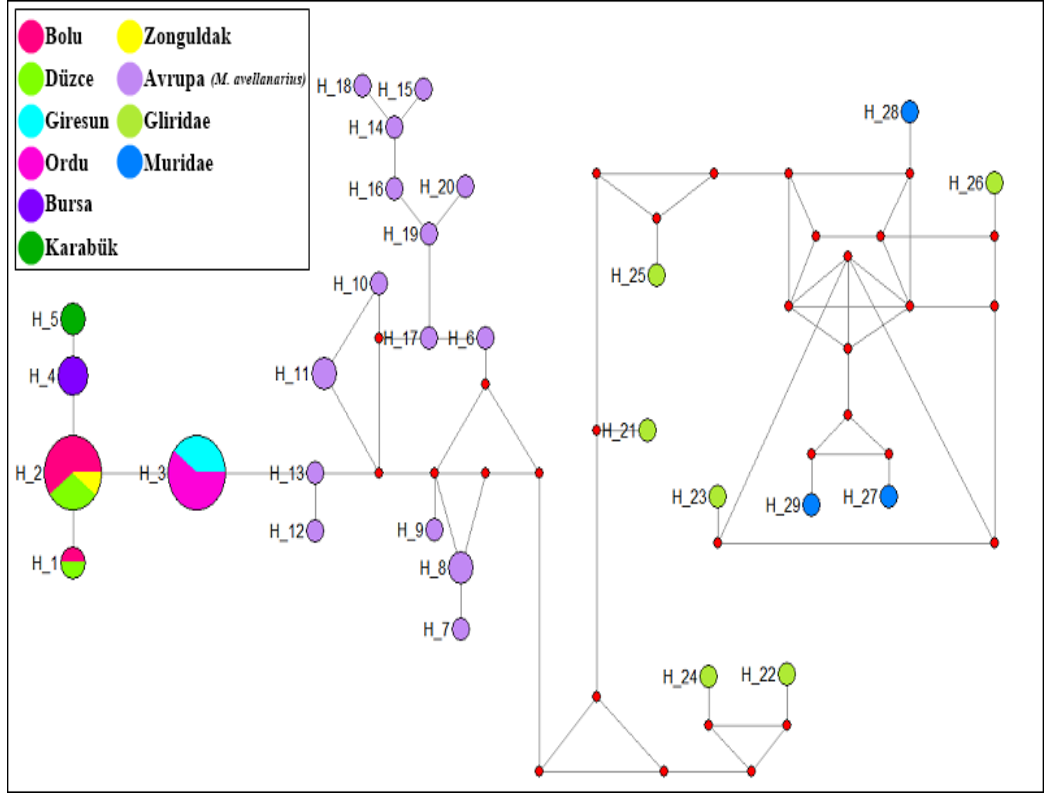


Şekil 4.3 *Muscardinus avellanarius*'un APOB gen bölgesine ait Maximum Parsimony (MP) ağacı

APOB gen bölgesine ait ML ağacı sonucuna göre *M. avellanarius* örneklerinin %99 bootstrap değeri ile iki ana soy hattına ayrıldığı tespit edildi. İlk soy hattını Türkiye, Danimarka, Slovenya, Slovakya, Romanya, Rusya, Makedonya, Litvanya ve Belçika örnekleri oluşturdu. İkinci soy hattında İtalya, Fransa, İsviçre, Almanya ve Hollanda yer aldı. İki soy hattı da kendi içerisinde alt soy hatlarına ayrıldı. İlk ana soy hattında yer alan Türkiye örnekleri iki alt soy hattına ayrıldı. Birinci alt soy hattı Bolu, Düzce, Bursa, Karabük ve Zonguldak'ı kapsarken, ikinci alt soy hattında Giresun ile Ordu yer

aldı. GenBank'tan alınan Türkiye dizileri (Zonguldak ve Bursa) ilk alt soy hattına dâhil oldu. Çizilen MP ağacının sonucuna göre *M. avellanarius* örnekleri %100 bootstrap değeri iki ana soy hattına ayrıldı. İlk soy hattında Türkiye, Slovenya, Danimarka, Slovakya, Romanya, Rusya ve Makedonya örnekleri yer alırken, ikinci soy hattında İtalya, Fransa, İsviçre, Almanya, Hollanda, Belçika ve Litvanya yer aldı. Her iki soy hattı da kendi içerisinde alt soy hatlarına ayrıldı. Tez çalışmasında kullanılan Türkiye örnekleri iki alt soy hattına ayrıldı. İlk alt soy hattı Bolu, Düzce, Bursa, Karabük ve Zonguldak örneklerinden oluşurken, ikinci alt soy hattında Giresun ve Ordu yer aldı. GenBank'tan alınan Türkiye dizileri (Zonguldak ve Bursa) ilk alt soy hattına dâhil oldu.

29 haplotip arasındaki filogenetik ağ ilişkisini belirlemek için Network programı kullanıldı ve bu program ile Median-Joining ağacı çizildi (Şekil 4.4). Türkiye örneklerinden Hap_1 (Bolu ve Düzce), Hap_2 (Bolu, Düzce ve Zonguldak), Hap_3 (Giresun ve Ordu), Hap_4 (Bursa) ve Hap_5 (Karabük) olmak üzere 5 haplotip elde edildi. GenBank'tan alınan Türkiye örneklerine ait diziler (Zonguldak ve Bursa) Hap_2 ve Hap_4'e dâhil oldu. Türkiye haplotipleri kendi içerisinde iki gruba ayrıldı. İlk grup Hap_1 (Bolu ve Düzce), Hap_2 (Bolu, Düzce ve Zonguldak), Hap_4 (Bursa) ve Hap_5 (Karabük)'i kapsarken, ikinci grubu Hap_3 (Giresun ve Ordu) oluşturdu. *Muscardinus avellanarius abanticus* ilk grupta (Hap_1, Hap_2, Hap_4, Hap_5), *M. a. trapezius* ikinci grupta (Hap_3) yer aldı. Dış gruplar Avrupa (*M. avellanarius*) örnekleri (Hap_6, Hap_7, Hap_8, Hap_9, Hap_10, Hap_11, Hap_12, Hap_13, Hap_14, Hap_15, Hap_16, Hap_17, Hap_18, Hap_19, Hap_20), Gliridae familyası (Hap_21, Hap_22, Hap_23, Hap_24, Hap_25, Hap_26) ve Muridae familyası (Hap_27, Hap_28, Hap_29) olmak üzere 3 gruba ayrıldı. Bu sonuç *APOB* gen bölgesi için çizilmiş olan ML ve MP ağaçlarını desteklemektedir.



Şekil 4.4 *Muscardinus avellanarius*'un *APOB* gen bölgesine ait Median-Joining ağacı

4.2 Mitokondriyal DNA NADH Dehidrojenaz Alt Ünite 1 (*NDI*) Gen Bölgesi

Analiz Sonuçları

Bu tez çalışmasında *NDI* gen bölgesi için Türkiye’de 6 farklı lokaliteden toplanmış olan 25 adet *M. avellanarius* örneği kullanıldı. Dış grup olarak Türkiye’den toplanmış olan Gliridae familyasına ait 1 adet *Myomimus roachi* örneği izole edildi ve dizi verisi oluşturuldu. GenBank’tan da 4 farklı Gliridae ve 3 farklı Muridae örneğine ait diziler kullanıldı. Toplam 33 örnek ile çalışma yapıldı. Bu örneklerle ait diziler hizalanıp budandı ve *NDI* gen bölgesine ait 715 baz uzunluğunda veri seti oluşturularak toplamda 19 haplotip elde edildi (Çizelge 4.10). Filogenetik analizler bu veri seti kullanılarak yapıldı. *NDI* gen bölgesi için Türkiye’den toplanan 25 adet *M. avellanarius* örneği kendi içerisinde hizalanıp budandı ve 847 baz uzunluğunda veri seti oluşturularak 11 haplotip elde edildi. Bu veri setinden genetik farklılıklar, varyasyon yüzdeleri, genetik farklılaşma değerleri (F_{ST}), gen akışı değerleri (N_m) ve nötralite testleri hesaplanarak populasyonların genetik yapısı hakkında bilgi edinildi.

Çizelge 4.10 *Muscardinus avellanarius*'un *NDI* gen bölgesi haplotipleri

Tür İsmi	Haplotip	Haplotip Frekansı	Müze/GenBank Erişim Numarası	Lokale/Örnek Sayısı
<i>Muscardinus avellanarius</i>	Hap_1	6	7185-7445-7446-7450-7454-7487	Bolu (3), Düzce (3)
<i>Muscardinus avellanarius</i>	Hap_2	1	7200	Bolu (1)
<i>Muscardinus avellanarius</i>	Hap_3	4	7205-7206-7210-7211	Giresun (4)
<i>Muscardinus avellanarius</i>	Hap_4	5	7369-7382-7383-7387-7388	Ordu (5)
<i>Muscardinus avellanarius</i>	Hap_5	1	7370	Ordu (1)
<i>Muscardinus avellanarius</i>	Hap_6	1	7447	Bolu (1)
<i>Muscardinus avellanarius</i>	Hap_7	2	7451-7486	Bolu (2)
<i>Muscardinus avellanarius</i>	Hap_8	1	7453	Düzce (1)
<i>Muscardinus avellanarius</i>	Hap_9	2	7463-7464	Bursa (2)
<i>Muscardinus avellanarius</i>	Hap_10	1	7604	Karabük (1)
<i>Muscardinus avellanarius</i>	Hap_11	1	7605	Karabük (1)
<i>Myomimus roachi</i>	Hap_12	1	7161	Edirne (1)
<i>Dryomys laniger</i>	Hap_13	1	MF449455.1	Niğde-Madenköy (1)
<i>Dryomys nitedula</i>	Hap_14	1	MF449453.1	Bolu-Abant (1)
<i>Glis glis</i>	Hap_15	1	NC_001892.1	(1)
<i>Graphiurus kelleni</i>	Hap_16	1	HE978360.1	(1)
<i>Mus musculus</i>	Hap_17	1	KY018919.1	(1)
<i>Rattus rattus</i>	Hap_18	1	FJ355927.1	(1)
<i>Apodemus agrarius</i>	Hap_19	1	KY851960.1	(1)

25 adet *M. avellanarius* örneğinin kendi içerisinde hazırlanan veri setinden genetik farklılık hesaplamaları yapıldı. Bu hesaplamalar ile *NDI* gen bölgesi için haplotip çeşitliliği (Hd) değeri, nükleotit çeşitliliği (π) değeri ve nükleotit farklılığının ortalama sayısı (k) tespit edildi (Çizelge 4.11). Değişken olmayan (monomorfik) bölge sayısının

795, değişken olan (polimorfik) bölge sayısının 52, parsimonik bilgilendirici bölge sayısının 44 olduğu belirlendi.

Çizelge 4.11 *Muscardinus avellanarius*'un *NDI* gen bölgesi için Hd, π ve k değerleri

Haplotip Çeşitliliği (Hd)	Nükleotit Çeşitliliği (π)	Nükleotit Farklılığının Ortalama Sayısı (k)
0,890	0,02255	19,100

Aynı veri seti kullanılarak populasyonların geçmişte seçilime uğrayıp uğramadığını ve dengede olup olmadığını tespit edebilmek için nötralite testleri yapıldı. Bu testler ile Tajima's *D* (Tajima 1989) değeri, Fu ve Li's *D** ve *F** (Fu ve Li 1993) değerleri ve Fu's *F_s* (Fu 1997) değeri hesaplandı (Çizelge 4.12).

NDI gen bölgesi için yapılan Tajima's *D* ve Fu ve Li's *D** ve *F** testleri sonucunda pozitif değerler elde edilirken, Fu's *F_s* testinin sonucunda yüksek bir pozitif değer elde edildi. Tajima's *D* ve Fu ve Li's *D** ve *F** testlerinin istatistiksel öneminin olmadığı belirlendi.

Çizelge 4.12 *Muscardinus avellanarius* örneklerinin *NDI* gen bölgesi için yapılan nötralite testlerine ait sonuçlar

Tajima's <i>D</i> Testi	Fu ve Li's <i>D*</i> Testi	Fu ve Li's <i>F*</i> Testi	Fu's <i>F_s</i> Testi
1,39244	0,68624	1,06851	5,194
P > 0.10 (İstatistiksel önemi yok)	P > 0.10 (İstatistiksel önemi yok)	P > 0.10 (İstatistiksel önemi yok)	

MEGA programı kullanılarak *M. avellanarius*'un 25 örneğine ait veri setinden *NDI* gen bölgesi için en uygun model HKY+G (Hasegawa, Kishino ve Yano 1985) parametre modeli olarak belirlendi. Bu modele göre Transisyon/Transversiyon oranı (*R*), nükleotit frekansları ve nükleotitlerin değişim oranlarını (Çizelge 4.13) hesaplandı. Transisyon/Transversiyon oranı (*R*) = 6,13 olarak bulundu. Nükleotit frekanslarının A = % 33.17, T/U = % 29.62, C = % 25.77 ve G = % 11.44 olduğu tespit edildi.

Çizelge 4.13 *Muscardinus avellanarius* örneklerinin *NDI* gen bölgesi için nükleotit değişim oranları (**koyu** olarak yazılanlar transisyon, *italik* olarak yazılanlar transversiyon yer değiştirmelerini gösterir)

Nükleotit	A	T/U	C	G
A	-	1.94	1.69	9.94
T/U	2.17	-	22.39	0.75
C	2.17	25.74	-	0.75
G	28.82	1.94	1.69	-

25 adet *M. avellanarius* örneğine ait veri seti kullanılarak Arlequin programı ile AMOVA analizi yapıldı. Analiz için iki ana haplotip grubu oluşturuldu. Bunlardan ilki *M. a. abanticus*'a ait haplotipleri (Bolu, Düzce, Bursa ve Karabük), ikincisi *M. a. trapezius*'a ait haplotipleri (Giresun ve Ordu) içermektedir. Gözlenen varyasyonlar gruplar arasında, gruplar içerisinde yer alan populasyonlar arasında ve populasyonlar içerisinde olmak üzere üç seviyede araştırıldı (Çizelge 4.14). İki ana haplotip grubu arasındaki varyasyon % 80.75 olarak belirlendi. Gruplar içerisinde yer alan populasyonlar arasındaki varyasyon yüzdesinin (% 14.26) populasyonlar içerisindeki varyasyon yüzdesinden (% 4.99) daha fazla olduğu tespit edildi.

Çizelge 4.14 *Muscardinus avellanarius*'un *NDI* gen bölgesi için AMOVA analizi sonuçları

Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi (d.f.)	Kareler Toplamı	Varyasyon Bileşenleri	Varyasyon Yüzdesi
Gruplar Arası	1	172.900	13.40302 Va	80.75
Gruplar İçerisinde Yer Alan Populasyonlar Arası	5	41.383	2.36694 Vb	14.26
Populasyonlar İçerisi	18	14.917	0.82870 Vc	4.99
Toplam	24	229.200	16.59866	
Fiksasyon İndeksleri				
FCT : 0.80748 Va (P = 0.05376+-0.00726) FSC : 0.74068 Vb (P = 0.00000+-0.00000) FST : 0.95007 Vc (P = 0.00000+-0.00000)				

Aynı program ile populasyonlar arasındaki genetik farklılaşma (F_{ST}) ve gen akışı değerleri (N_m) belirlendi. F_{ST} sonuçlarına göre, iki ana haplotip grubunu oluşturan populasyonlar arasındaki F_{ST} değerlerinin 1 ve 1'e yakın değerler aldığı ve bu değerlerin yüksek olduğu tespit edildi (Çizelge 4.15). N_m değerleri M değeri matrisinden $M=2N_m$ formülü ile hesaplandı (haploid veri için $M=N_m$, diploid veri için $M=2N_m$) (Çizelge 4.16). Sonuçlara bakıldığında, iki ana haplotip grubu arasındaki N_m değerlerinin 0 ve 0'a yakın değerler aldığı belirlendi.

Çizelge 4.15 *Muscardinus avellanarius* populasyonlarının *ND1* gen bölgesine ait F_{ST} değerleri ve P değerlerine göre önem dereceleri

	Bolu-Düzce	Bolu	Düzce	Bursa	Karabük	Giresun	Ordu
Bolu-Düzce	0.00000						
Bolu	0.40702***	0.00000					
Düzce	1.00000	0.15556	0.00000				
Bursa	1.00000**	0.85647	1.00000	0.00000			
Karabük	0.87755**	0.25506	0.50000	0.94444	0.00000		
Giresun	1.00000***	0.95238**	1.00000	1.00000	0.98543	0.00000	
Ordu	0.94359***	0.89055***	0.89055	0.91016***	0.89802**	0.52122**	0.00000

* $P < 0.05$; ** $P < 0.001$; *** $P < 0.0001$ (* olmayanlar istatistiksel olarak anlamlı değildir)

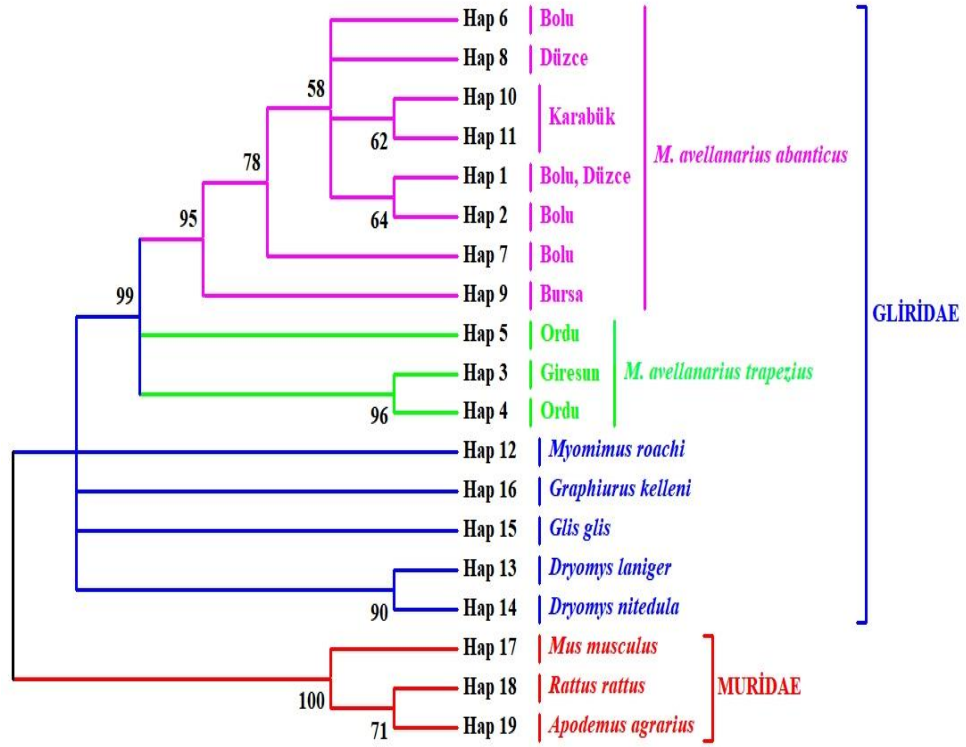
Çizelge 4.16 *Muscardinus avellanarius* populasyonlarının *ND1* gen bölgesine ait M değeri matrisi ($M=2N_m$)

	Bolu-Düzce	Bolu	Düzce	Bursa	Karabük	Giresun	Ordu
Bolu-Düzce							
Bolu	0.364215						
Düzce	0.00000	1.357145					
Bursa	0.00000	0.041895	0.00000				
Karabük	0.034885	0.73016	0.25	0.014705			
Giresun	0.00000	0.0125	0.00000	0.00000	0.003695		
Ordu	0.014945	0.030725	0.030725	0.02468	0.02839	0.229645	

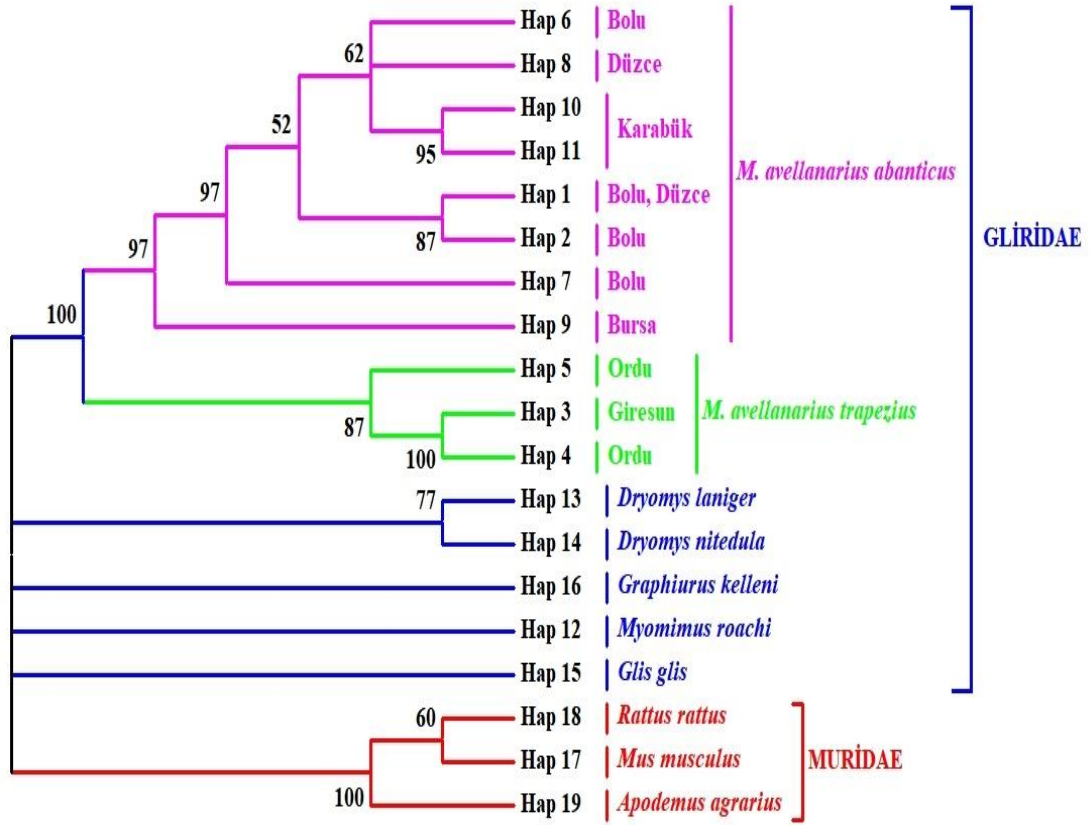
M. avellanarius örneklerine dış gruplar dâhil edilerek oluşturulan veri setinden 19 haplotip elde edildi ve bu haplotipler arasındaki filogenetik ilişkileri ortaya koymak için MEGA programı kullanıldı. Bu program ile en uygun ağaç modeli (*NDI* gen bölgesi için en iyi model: HKY+G parametresi) (Şekil 4.5) belirlendikten sonra Maximum Likelihood (ML) (Şekil 4.6) ve Maximum Parsimony (MP) (Şekil 4.7) filogenetik ağaçları çizildi. Her iki ağaçta da bootstrap değerleri %50'nin altında kalanlar gösterilmedi.

Model	#Parametreler	BIC	AICc	lnL	Invariant	Gamma	R
HKY+G	40	7054,720361	6784,058348	-3351,775186	n/a	4,365253388	2,313696411
TN93+G	41	7063,499318	6786,083536	-3351,77504	n/a	4,365253388	2,313151035
HKY+G+I	41	7063,499611	6786,08383	-3351,775186	0	4,365253388	2,313696411
TN93+G+I	42	7072,278567	6788,109645	-3351,77504	0	4,365253388	2,313151035
GTR+G	44	7085,31459	6787,641271	-3349,513801	n/a	4,63658569	2,277097315
GTR+G+I	45	7094,09384	6789,669264	-3349,513801	0	4,63658569	2,277097315
HKY	39	7095,003423	6831,095806	-3376,306342	n/a	n/a	1,88004336
TN93	40	7103,551879	6832,889867	-3376,190945	n/a	n/a	1,8924141
HKY+I	40	7103,782673	6833,12066	-3376,306342	0	n/a	1,880040956
TN93+I	41	7112,331129	6834,915348	-3376,190945	0	n/a	1,892414052
GTR	43	7119,024294	6828,102859	-3370,758278	n/a	n/a	1,895324066
GTR+I	44	7127,803543	6830,130224	-3370,758278	0	n/a	1,895324061
T92+G	38	7402,868912	7145,716318	-3534,628712	n/a	5,178585487	2,235503338
T92+G+I	39	7411,648162	7147,740545	-3534,628712	0	5,178585487	2,235503338
T92	37	7427,58206	7177,185115	-3551,37491	n/a	n/a	2,093411049
T92+I	38	7431,444045	7174,29145	-3548,916278	0	n/a	2,093411049
K2+G	37	7561,257609	7310,860664	-3618,212685	n/a	5,178585487	2,514941255
K2	36	7564,51407	7320,8734	-3624,23054	n/a	n/a	2,35508743
K2+G+I	38	7570,036859	7312,884264	-3618,212685	0	5,178585487	2,514941255
K2+I	37	7579,487031	7329,090086	-3627,327396	0	n/a	2,35508743
JC+G	36	7697,119989	7453,479319	-3690,533499	n/a	9,227456972	0,5
JC	35	7698,987636	7462,103868	-3695,856948	n/a	n/a	0,5
JC+G+I	37	7705,899238	7455,502293	-3690,533499	0	9,227456972	0,5
JC+I	36	7708,101611	7464,460941	-3696,02431	0	n/a	0,5

Şekil 4.5 *NDI* gen bölgesi için MEGA programında belirlenen en uygun ağaç modelleri



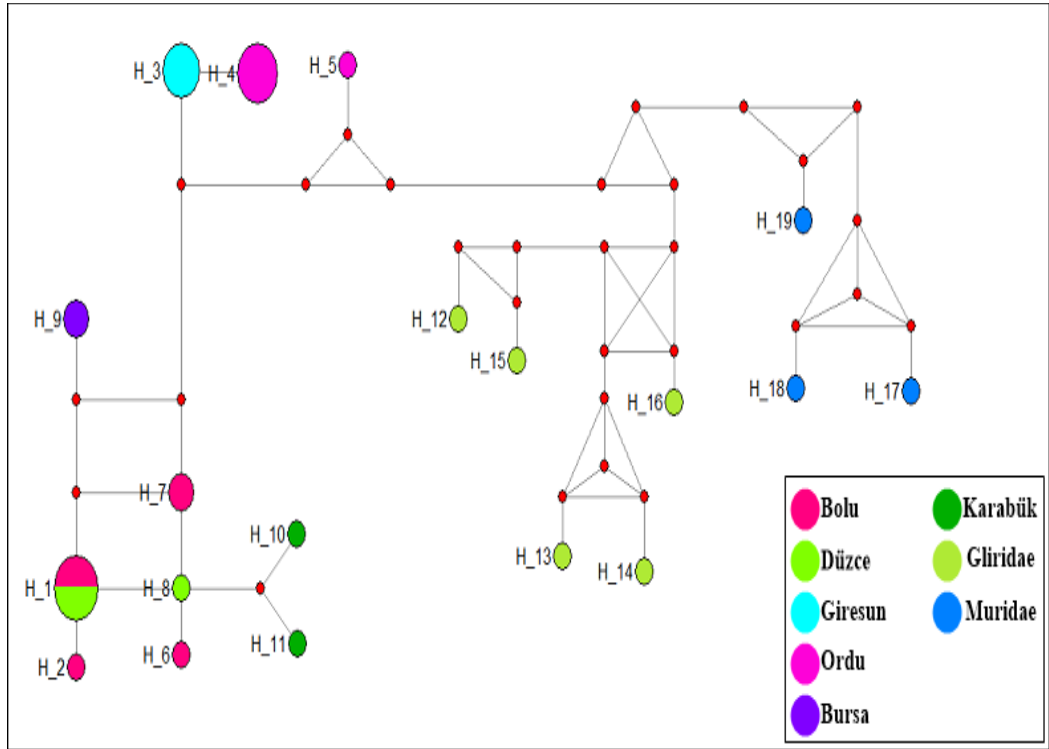
Şekil 4.6 *Muscardinus avellanarius*'un HKY+G parametre modeli ile çizilen *NDI* gen bölgesine ait Maximum Likelihood (ML) ağacı



Şekil 4.7 *Muscardinus avellanarius*'un *NDI* gen bölgesine ait Maximum Parsimony (MP) ağacı

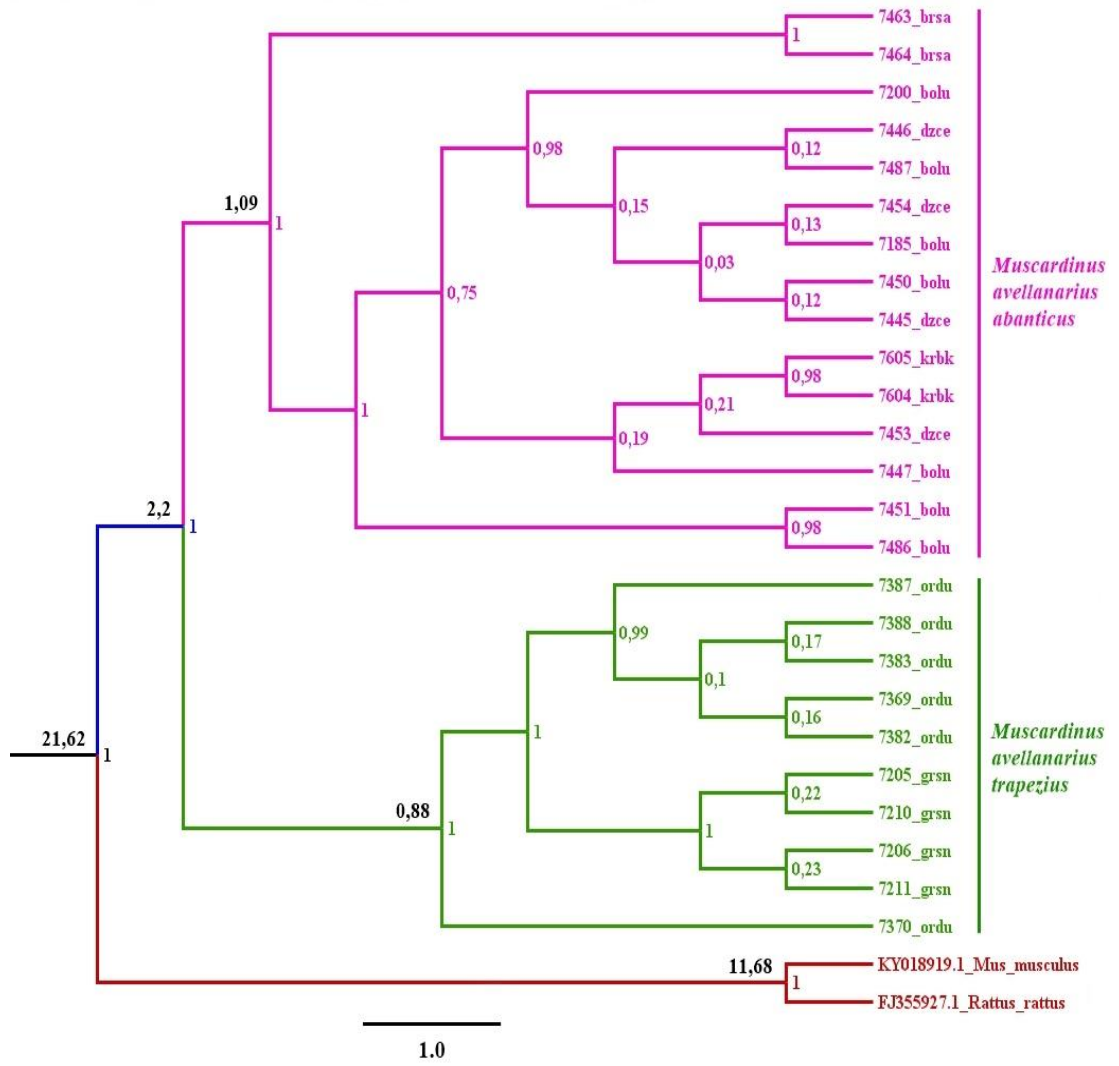
NDI gen bölgesi için çizilen ML ağacının sonucunda *M. avellanarius* örneklerinin %99 bootstrap değeri ile iki ana soy hattına ayrıldığı belirlendi. İlk soy hattı Bolu, Düzce, Bursa ve Karabük örneklerinden oluşurken, ikinci soy hattında Giresun ile Ordu örnekleri yer aldı. Birinci soy hattı kendi içerisinde %95 bootstrap değeri ile iki alt soy hattına ayrıldı. İlk alt soy hattında Bolu, Düzce ve Karabük örnekleri, ikinci alt soy hattında Bursa örnekleri yer aldı. MP ağacına bakıldığında *M. avellanarius* örneklerinin %100 bootstrap değeri ile iki ana soy hattına ayrıldığı görüldü. İlk soy hattını Bolu, Düzce, Bursa ve Karabük örnekleri oluştururken, ikinci soy hattını Giresun ve Ordu örnekleri oluşturdu. İlk ana soy hattının kendi içerisinde %97 bootstrap değeri ile iki alt soy hattına ayrıldığı tespit edildi. Birinci alt soy hattını Bolu, Düzce ve Karabük, ikinci alt soy hattını Bursa örnekleri oluşturdu. İkinci ana soy hattı kendi içerisinde %87 bootstrap değeri ile iki alt soy hattına ayrıldı. İlk alt soy hattında Ordu örneği, ikinci alt soy hattında Giresun ve Ordu örnekleri yer aldı.

19 haplotip arasındaki filogenetik ağ ilişkisini belirlemek için Network programı kullanıldı ve bu program ile Median-Joining ağacı çizildi (Şekil 4.8). Türkiye örneklerinden Hap_1 (Bolu ve Düzce), Hap_2 (Bolu), Hap_3 (Giresun), Hap_4 (Ordu), Hap_5 (Ordu), Hap_6 (Bolu), Hap_7 (Bolu), Hap_8 (Düzce), Hap_9 (Bursa), Hap_10 (Karabük) ve Hap_11 (Karabük) olmak üzere 11 haplotip elde edildi. Türkiye haplotipleri kendi içerisinde iki gruba ayırdı. İlk grup Hap_1 (Bolu ve Düzce), Hap_2 (Bolu), Hap_6 (Bolu), Hap_7 (Bolu), Hap_8 (Düzce), Hap_9 (Bursa), Hap_10 (Karabük) ve Hap_11 (Karabük)'i kapsarken, ikinci grupta Hap_3 (Giresun), Hap_4 (Ordu) ve Hap_5 (Ordu) yer aldı. *Muscardinus avellanarius abanticus* ilk grupta (Hap_1, Hap_2, Hap_6, Hap_7, Hap_8, Hap_9, Hap_10, Hap_11), *M. a. trapezius* ikinci gruba (Hap_3, Hap_4, Hap_5) dâhil oldu. Dış gruplar Gliridae familyası (Hap_12, Hap_13, Hap_14, Hap_15, Hap_16) ve Muridae familyası (Hap_17, Hap_18, Hap_19) olarak ayrıldı. Bu sonuç *ND1* gen bölgesi için çizilmiş olan ML ve MP ağaçlarını desteklemektedir.



Şekil 4.8 *Muscardinus avellanarius*'un *ND1* gen bölgesine ait Median-Joining ağacı

Muscardinus avellanarius'un *ND1* gen bölgesi için *Mus musculus* ve *Rattus rattus* dış grupları kullanılarak HKY+G parametre modeli ile evrimsel ayrılma zamanlarını gösteren Bayesian ağacı (BI) çizildi (Şekil 4.9). Yapılan analizin sonucuna göre *M. avellanarius* örnekleri iki soy hattına ayrıldı. İlk soy hattında *M. a. abanticus* (Bursa, Bolu, Düzce ve Karabük), ikinci soy hattında *M. a. trapezius* (Ordu ve Giresun) alttürlerine ait örnekler yer aldı. Bu iki alttür arasındaki evrimsel ayrılma zamanı günümüzden yaklaşık 2,2 Myö (Güven Aralığı: 1,49-3,04 Myö) olarak tespit edildi. *M. a. abanticus* alttürüne ait popülasyonların yaklaşık 1,09 Myö (Güven Aralığı: 0,63-1,61 Myö) birbirlerinden ayrıldığı görüldü. *M. a. trapezius* alttürüne ait popülasyonların ise yaklaşık 0,88 Myö (Güven Aralığı: 0,46-1,37 Myö) birbirlerinden ayrıldığı belirlendi. *M. avellanarius* ve Muridae familyası arasındaki evrimsel ayrılma zamanı yaklaşık olarak 21,62 Myö (Güven Aralığı: 16,94-26,71 Myö) olarak tespit edildi. Muridae familyasından *Mus musculus* ve *Rattus rattus* türleri arasındaki ayrılma zamanının ise yaklaşık olarak 11,68 Myö (Güven Aralığı: 10,89-12,47 Myö) gerçekleştiği belirlendi.



Şekil 4.9 *Muscardinus avellanarius*'un *ND1* gen bölgesine ait Bayesian ağacı (Sol taraftaki değerler evrimsel ayrılma zamanlarını, sağ taraftaki değerler ardıl olasılık (posterior probability) değerlerini göstermektedir)

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

5.1 APOB Gen Bölgesi İçin Elde Edilen Sonuçların Değerlendirilmesi

Nunome vd. (2007)'nin yaptığı çalışmada Gliridae familyasından *Eliomys quercinus*, *Dryomys nitedula*, *Muscardinus avellanarius*, *Graphiurus murinus*, *Glis glis* ve *Glirulus japonicus* örnekleri ile 3 nükleer gen bölgesi (*APOB*, *IRBP* ve *RAG1*) kullanılarak filogenetik analizler yapılmıştır. Üç gen bölgesinin de analiz sonuçlarına bakıldığında *M. avellanarius*'un *Eliomys* ve *Dryomys* soy hattı ile bağlandığı tespit edilmiştir. *E. quercinus* ve *D. nitedula* arasındaki evrimsel ayrılma zamanının yaklaşık olarak 9.3-18.9 Myö, *M. avellanarius*'un *Eliomys* ve *Dryomys*'ten ayrılma zamanının da yaklaşık 18.1-27.6 Myö olduğu belirlenmiştir.

Mouton vd. (2017) bir tane mitokondriyal gen bölgesi (*Cytb*), iki tane nükleer gen bölgesi (*BFIBR*, *APOB*) ve 10 tane otozomal mikrosatellit genotiplendirme kullanarak *M. avellanarius*'un filogenisi üzerine çalışma yapmışlardır. Çalışmada, Türkiye'de Bursa-Uludağ ve Zonguldak'tan alınmış olan bireyler de dâhil olmak üzere Avrupa'dan alınan örnekler ile veri seti oluşturmuşlardır. Bu veri setlerinden MtDNA için gen dizilerinden, nükleer genler için de aleller üzerinden analizler yapılmıştır. *Cytb* ve nükleer genler (*APOB*, *BFIBR*) ayrı ayrı değerlendirilmiş ve daha sonra üç gen bölgesi bir arada (*Cytb*, *APOB*, *BFIBR*) analiz edilmiştir. Yapılan analizler sonucunda Maximum Likelihood (ML) ve Bayesian ağacı çizilmiştir. Çizilen ağaçların tümünde örneklerin iki ana soy hattına ayrıldığı görülmüştür. İlk soy hattı İtalya ve Batı Avrupa alt soy hatlarından oluşurken, ikinci soy hattı Balkanlar, Türkiye ve Orta Kuzey Avrupa alt soy hatlarından oluşmaktadır. Nükleer genler için çizilen ağaçta Türkiye örnekleri, Makedonya ve Slovenya örnekleri ile bir soy hattı oluşturmuştur ve ikinci soy hattına Orta Kuzey Avrupa örnekleri girmiştir. *APOB* geninin değişken olan bölge sayısını 35 olarak belirlemişlerdir. Nükleer alel frekanslarına bakıldığında iki ana soy hattı arasında hiçbir alelin paylaşılmadığı görülmüştür ve genetik farklılaşma testleri anlamlı olarak bulunmuştur ($p < 0.001$). İlk soy hattında, İtalyan alt soy hattı ile Batı Avrupa alt soy hattı tek bir *APOB* ve *BFIBR* aleli paylaşırken, ikinci soy hattında hiçbir alel

paylaşılmamıştır. Nükleer genlerin (*APOB*, *BFIBR*) haplotip çeşitliliği (H_d) değeri 0.071-1 arasında, mitokondriyal genin (*Cytb*) haplotip çeşitliliği (H_d) değeri 0.245-0.775 arasında oldukça yüksek bulunmuştur. Nükleer genlerin nükleotit çeşitliliği (π) değeri 0.0008-0.007 arasında, mitokondriyal genin nükleotit çeşitliliği (π) değerinin ise 0.006-0.014 arasında düşük olarak tespit edilmiştir. Tüm bu sonuçlara bakıldığında nükleer genlerin (*APOB* ve *BFIBR*) mitokondriyal genlerle (*Cytb*) aynı derecede farklılaşma göstermediği görülmüştür. Çıkan sonuçlara bakılarak, nükleer genlerin evrimsel hızının mitokondriyal genlerden daha yavaş olması ilişkilendirilmiştir.

Literatür çalışmalarına bakıldığında Türkiye'deki örnekler üzerinde detaylı bir çalışma yapılmadığı görülmektedir. Bu tez çalışmasında *APOB* gen bölgesi için yapılan analizlerde Türkiye'den toplanmış 25 adet *M. avellanarius* örneğinden haplotip çeşitliliği (H_d) değeri, nükleotit çeşitliliği (π) değeri, nükleotit farklılığının ortalama sayısı (k), değişken olmayan (monomorfik) bölge sayısı, değişken olan (polimorfik) bölge sayısı ve parsimonik bilgilendirici bölge sayısı belirlendi. Değişken olan bölge sayıları, haplotip çeşitliliği değeri ve nükleotit çeşitliliği değerinin Mouton vd. (2017)'nin tespit ettikleri değerlerle farklılık gösterdiği görüldü (Çizelge 5.1).

Çizelge 5.1 *APOB* gen bölgesi için karşılaştırmalı H_d ve π değerleri

Yapılan Çalışmalar	Haplotip Çeşitliliği (H_d)	Nükleotit Çeşitliliği (π)	Değişken Olan Bölge Sayısı
Mouton vd. (2017)	0.071-1	0.0008-0.007	35
Tez Sonuçları	0,787	0,00206	7

25 örnekten elde edilen F_u 's F_s değerinin sonucunda düşük bir negatif değer (-0,549) elde edildi (Çizelge 4.3). F_u 's F_s değerinin negatif ve düşük olması nedeniyle Türkiye'de yayılış gösteren *M. avellanarius* popülasyonlarında önemli bir popülasyon genişlemesi bulunmadığı belirlendi.

Aynı veri setinden iki ana haplotip grubu oluşturularak populasyonlar arasındaki genetik farklılaşma (F_{ST}) ve gen akışı değerleri (N_m) hesaplandı (Çizelge 4.8-4.9). F_{ST} sonuçlarına göre Giresun-Ordu populasyonu ile Bolu-Düzce ($F_{ST}=0.94$) ve Bolu ($F_{ST}=0.89$) populasyonları arasındaki değerler 1'e yakın bulundu. Giresun-Ordu populasyonu ile Bursa ve Karabük populasyonları arasındaki F_{ST} değeri 1 olarak tespit edildi. Karabük populasyonu ile Bolu-Düzce ($F_{ST}=0.88$), Bolu ($F_{ST}=0.67$) ve Bursa ($F_{ST}=1$) populasyonları arasındaki değerler 1 ve 1'e yakın değerler olarak yüksek bulundu. Bursa ve Bolu-Düzce populasyonları arasındaki F_{ST} değeri 0.83 olarak belirlendi. N_m değerlerine bakıldığında Giresun-Ordu populasyonu ile Bolu-Düzce ($N_m=0.01$) ve Bolu ($N_m=0.02$) populasyonları arasındaki değerler düşük tespit edildi. Bursa ve Karabük populasyonları ile Giresun-Ordu populasyonu arasındaki N_m değeri 0 olarak bulundu. Karabük populasyonu ile Bolu-Düzce ($N_m=0.03$) ve Bolu ($N_m=0.12$) populasyonları arasındaki değerler 0'a yakın bulundu. Karabük ve Bursa populasyonları arasındaki N_m değeri ise 0 olarak tespit edildi. Bursa ve Bolu-Düzce populasyonları arasındaki N_m değeri 0.04 olarak belirlendi.

APOB gen bölgesi için elde edilen bu sonuçlara göre; Giresun-Ordu populasyonları ile Bolu, Düzce, Bursa ve Karabük populasyonları arasında 1 ve 1'e yakın F_{ST} değerleri, 0 ya da 0'a yakın N_m değerleri tespit edilmesi iki ana haplotip grubu arasında gen akışının kesildiğini ve iki ana grubun birbirlerinden izole olduklarını gösterir. Karabük populasyonu ile Bursa populasyonu arasındaki değerler ile iki populasyon arasında gen akışının tamamen kesildiği ve birbirlerinden izole oldukları tespit edildi. Karabük ile Bolu ve Düzce arasında ve Bursa ile Bolu-Düzce arasında tespit edilen değerlere bakıldığında neredeyse gen akışının kesildiği belirlendi. Elde edilen sonuçlar, *M. a. trapezius* ve *M. a. abanticus* alttürlerinin birbirlerinden tamamen izole olduklarını göstermektedir. *M. a. abanticus* populasyonlarının da kendi içerisinde gen akışı seviyesinin neredeyse kesildiği belirlendi.

APOB gen bölgesi için bölgesi için çizilen ML ve MP ağaçlarına bakıldığında Mouton vd. (2017)'de olduğu gibi *M. avellanarius* örneklerinin iki ana soy hattına ayrıldığı görüldü. ML ağacında Türkiye örnekleri Danimarka, Slovenya, Slovakya, Romanya, Rusya, Makedonya, Litvanya ve Belçika örnekleri ile ilk ana soy hattını oluşturdu.

İkinci ana soy hattında ise İtalya, Fransa, İsviçre, Almanya ve Hollanda örnekleri yer aldı. Çizilen MP ağacının ilk soy hattında Türkiye, Slovenya, Danimarka, Slovakya, Romanya, Rusya ve Makedonya örnekleri yer alırken, ikinci soy hattında İtalya, Fransa, İsviçre, Almanya, Hollanda, Belçika ve Litvanya yer aldı. Türkiye örnekleri her iki ağaçta da iki alt soy hattına ayrıldı. İlk alt soy hattı Bolu, Düzce, Bursa, Karabük ve Zonguldak örneklerinden oluşurken, ikinci alt soy hattında Giresun ve Ordu yer aldı. İlk alt soy hattı *M. a. abanticus*'un, ikinci alt soy hattı *M. a. trapezius*'un varlığını ortaya koydu.

5.2 *NDI* Gen Bölgesi İçin Elde Edilen Sonuçların Değerlendirilmesi

Muscardinus avellanarius'un *NDI* gen bölgesine dair daha önce yapılan bir çalışma bulunmamaktadır. İlk kez bu tez çalışması ile Türkiye'de yayılış gösteren *M. avellanarius* populasyonlarının *NDI* gen bölgesi çalışılmıştır.

M. avellanarius'un 25 adet örneği kendi içerisinde değerlendirilip *NDI* gen bölgesi için haplotip çeşitliliği (H_d) değeri 0,890 ve nükleotid çeşitliliği (π) değeri 0,02255 olarak hesaplandı. *NDI* gen bölgesi için F_u 's F_s testinin sonucunda yüksek bir pozitif değer (5,194) belirlendi (Çizelge 4.12). F_u 's F_s testinin sonucuna göre Türkiye'de yayılış gösteren *M. avellanarius* populasyonlarının populasyon genişlemesine maruz kalmadığı tespit edildi.

M. avellanarius örneklerinin veri seti kullanılarak iki ana haplotip grubu oluşturuldu ve populasyonlar arasındaki genetik farklılaşma (F_{ST}) ile gen akışı değerleri (N_m) hesaplandı (Çizelge 4.15-4.16). F_{ST} değerlerinin sonucuna göre; Ordu populasyonu ile Bolu-Düzce ($F_{ST}=0.94$), Bolu ($F_{ST}=0.89$), Düzce ($F_{ST}=0.89$), Bursa ($F_{ST}=0.91$) ve Karabük ($F_{ST}=0.89$) populasyonları arasındaki değerler yüksek olarak tespit edildi ve 1'e yakın bulundu. Giresun populasyonu ile Bolu ($F_{ST}=0.95$) ve Karabük ($F_{ST}=0.98$) populasyonları arasındaki değerler 1'e yakın çıkarak yüksek bulundu. Giresun ile Bolu-Düzce, Düzce ve Bursa populasyonları arasındaki F_{ST} değerinin 1 olduğu belirlendi. Karabük populasyonu ile Bolu-Düzce ($F_{ST}=0.87$) ve Bursa ($F_{ST}=0.94$) populasyonları

1'e yakın değerler olarak yüksek bulundu. Bursa ile Bolu-Düzce ($F_{ST}=1$), Bolu ($F_{ST}=0.85$) ve Düzce ($F_{ST}=1$) populasyonları arasındaki F_{ST} değeri 1 ve 1'e yakın olarak belirlendi. Düzce ve Bolu-Düzce populasyonları arasındaki F_{ST} değeri 1 olarak tespit edildi. N_m değerlerinin sonuçlarına bakıldığında ise Ordu populasyonu ile Bolu-Düzce ($N_m=0.01$), Bolu ($N_m=0.03$), Düzce ($N_m=0.03$), Bursa ($N_m=0.02$) ve Karabük ($N_m=0.02$) populasyonları arasındaki değerler 0'a yakın bulundu. Giresun ve Bolu-Düzce ($N_m=0$), Bolu ($N_m=0.01$), Düzce ($N_m=0$), Bursa ($N_m=0$) ve Karabük ($N_m=0.003$) arasındaki değerlerin düşük ve 0 ya da 0'a yakın olduğu tespit edildi. Karabük populasyonu ile Bolu-Düzce ($N_m=0.03$) ve Bursa ($N_m=0.01$) populasyonları arasındaki N_m değerlerinin 0'a yakın olduğu belirlendi. Bursa ile Bolu-Düzce ve Düzce populasyonları arasında belirlen N_m değeri 0 olarak tespit edildi. Bursa ve Bolu arasındaki N_m değeri ise 0.04 olarak belirlendi. Düzce ve Bolu-Düzce populasyonları arasındaki N_m değerinin de 0 olduğu hesaplandı.

NDI gen bölgesi için hesaplanan F_{ST} ve N_m değerlerinin sonuçlarına göre; Giresun ve Ordu populasyonları ile Bolu-Düzce, Bolu, Düzce, Bursa ve Karabük populasyonları arasında belirlenen F_{ST} değerlerinin 1 ve 1'e yakın, N_m değerlerinin 0 ya da 0'a yakın olarak belirlenmesi iki ana haplotip grubu arasındaki gen akışının kesildiğini ve iki ana haplotip grubunun birbirlerinden izole olduğunu göstermektedir. Karabük populasyonu ve Bolu-Düzce, Bursa populasyonları ile arasındaki F_{ST} değerlerinin yüksek ve N_m değerlerinin düşük çıkması ile aralarındaki gen akışının neredeyse tamamen kesildiği belirlendi. Bursa ile Bolu-Düzce ve Düzce arasında tespit edilen $F_{ST}=1$ ve $N_m=0$ değerleri, Bursa populasyonu ile diğer populasyonlar arasındaki gen akışının tamamen kesildiğini gösterir. Ayrıca Bursa ve Bolu populasyonları arasında belirlenen değerler ile iki populasyonun gen akışında hemen hemen bir kesilme olduğu tespit edildi. Düzce ve Bolu-Düzce arasındaki 1 F_{ST} ve 0 N_m değerlerine bakıldığında gen akışının kesildiği ve birbirlerinden izole oldukları görüldü. Bu sonuçlar ile *M. a. trapezius* (Giresun, Ordu) ve *M. a. abanticus* (Bolu, Düzce, Bursa, Karabük) alttürlerinin birbirlerinden neredeyse tamamen izole oldukları belirlendi. Ayrıca *M. a. abanticus* populasyonları arasındaki gen akışının bazı yerlerde kesildiği, bazı yerlerde ise kesilmek üzere olduğu tespit edildi.

NDI gen bölgesi için çizilen ML ağacına göre *M. avellanarius* örnekleri iki ana soy hattına ayrıldı. İlk soy hattı Bolu, Düzce, Bursa ve Karabük'ten, ikinci soy hattı Giresun ile Ordu örneklerinden oluştu. Birinci soy hattı kendi içerisinde Bolu, Düzce, Karabük örnekleri ve Bursa örnekleri olmak üzere iki alt soy hattına ayrıldı. MP ağacı ile ML ağacının aynı sonucu verdiği tespit edildi. Her iki ağacın da sonuçlarına bakıldığında *M. avellanarius* örneklerinin iki ana soy hattına ayrıldığı görülmektedir. İlk soy hattının *M. a. abanticus* ile ikinci soy hattının da *M. a. trapezius* ile temsil edildiği belirlendi.

5.3 *Muscardinus avellanarius*'un Filocoğrafyası

M. avellanarius'un *NDI* gen bölgesi için çizilen Bayesian ağacı sonucunda *M. avellanarius* örneklerinin iki soy hattına ayrıldığı tespit edildi. İlk soy hattında *M. a. abanticus* (Bursa, Bolu, Düzce ve Karabük), ikinci soy hattında *M. a. trapezius* (Ordu ve Giresun) alttürlerine ait örnekler yer aldı. Bu iki alttür arasındaki evrimsel ayrılma zamanı günümüzden yaklaşık 2.2 Myö (Güven Aralığı: 1,49-3,04 Myö) olarak tespit edildi. Bu ayrılma zamanı büyük kuzey yarım küre buzullaşmalarının başladığı zamana karşılık gelmektedir (Rögl 1999, Sosdian ve Rosenthal 2009). Sosdian ve Rosenthal (2009) Geç Pliyosen (2.5-3 Myö) ve Orta Pleyistosen iklim geçiş dönemleri (1.2-0.85 Myö) olmak üzere iki farklı iklim soğumasının gerçekleşmiş olduğunu ortaya koymuşlardır. Bu iki iklimsel değişikliğin de *M. avellanarius*'u etkilediği görüldü. Benzer şekilde Karadeniz Bölgesi'nde yayılış gösteren bazı populasyonlar üzerinde yapılan filocoğrafik çalışmalarda Pleyistosen iklim değişikliklerinin populasyonların farklılaşmaları üzerinde etkili olduğu ortaya konulmuştur. Ayrıca bu dönem yüzey yükselmelerinin, tektonik olayların, kanyon oluşumlarının, volkanik aktivitelerin devam ettiği bir dönemdir. *M. a. abanticus* alttürü içerisindeki (Bursa soy hattı ile Bolu-Düzce-Karabük soy hatlarının ayrılması) ayrılma zamanının yaklaşık 1,09 Myö (Güven Aralığı: 0,63-1,61 Myö) olduğu görüldü. Bu ayrılma zamanı Pleyistosen döneminin sonlarına denk gelmektedir. *M. a. trapezius* alttürünün soy hatları arasındaki ayrılma zamanı yaklaşık 0,88 Myö (Güven Aralığı: 0,46-1,37 Myö) olarak belirlendi. Bu zaman aralığı da Pleyistosen döneminin sonlarında yer almaktadır. *M. avellanarius* ve Muridae familyası arasındaki evrimsel ayrılma zamanı yaklaşık olarak 21,62 Myö (Güven Aralığı: 16,94-26,71 Myö) (Alt Miyosen dönemi) olarak tespit edildi. Muridae

familyasından *Mus musculus* ve *Rattus rattus* türleri arasındaki ayrılma zamanının ise yaklaşık olarak 11,68 Myö (Güven Aralığı: 10,89-12,47 Myö) gerçekleştiği belirlendi. Bu zaman aralığı Orta Miyosen dönemine denk gelmektedir.

Çolak vd. (2018) Türkiye ve Balkan Yarımadası'ndaki Gliridae familyası türleri arasındaki genetik ilişkileri ortaya koymak için mtDNA'nın üç gen bölgesini (*Cytb*, *COI*, kontrol bölgesi) çalışmışlardır. *Cytb* gen bölgesinin evrimsel ayrılma analizinde (BI) *M. avellanarius*'un, *Mus-Rattus*'dan 18.23 Myö ayrıldığı belirlenmiştir. İki alttürün ise (*M. a. abanticus* ve *M. a. trapezius*) 1.69 Myö ayrıldığı tespit edilmiştir. Bu iki alttür *COI* gen bölgesi analizlerinde 1.47 Myö birbirlerinden ayrılmıştır. Bu sonuçlar yapılan tez çalışmasındaki evrimsel ayrılma zamanlarıyla tutarlı bulunmuştur. Hem bu çalışma hem de önceki çalışmalarla *M. avellanarius*'un morfolojik olarak tanımlanmış iki alttürünün varlığı genetik çalışmalarla da ispatlanmıştır.

Karadeniz Bölgesi jeolojik olarak Pontidler üzerinde yer almaktadır. Pontidler (Büyük Kafkasları'da içermektedir) kuzeyde Scythiyan Platformu ile güneyde Anadolu-Toros bloğu arasında bulunmaktadır. Pontidler Balkanlar'da Kırım'a kadar uzanmaktadır (Sheremet vd. 2016, Okay ve Topuz 2017). Pontidler üzerinde meydana gelen tektonik ve yüzey yükselmeleri birçok türün farklılaşmasına neden olmuştur. İstanbul Boğazı açılmadan önce Marmara Denizi'nin Karadeniz'le bağlantısı İznik-Sapanca Gölleri-Sakarya Vadisi ile sağlanmaktaydı (Elmas 2003, Nazik vd. 2011). Riemsdijk vd. (2017)'nin *Ommatotriton* cinsi üzerinde yaptıkları çalışmada, farklı *O. nesterovi* gruplarının bugün Karadeniz (Pontik) dağlarının yükseltileriyle ayrıldığını ortaya koymuşlardır. *O. ophryticus* türüne ait üç farklı soy hattının bölgede yayılış gösterdiğini, bu soy hatları arasında farklılaşmanın 2.6 Myö başladığını ve halen devam ettiğini tespit etmişlerdir. Meydana gelen bu parçalanmaya Kuvaterner iklim değişikliğinin sebep olabileceğini ileri sürmüşlerdir. *M. avellanarius*'un iki soy hattı arasında tahmin edilen 2.2 Myö ayrılma zamanı Geç Pliyosen-Erken Pleyistosen zamanına denk gelmektedir. Bu da Riemsdijk vd. (2017)'un sonuçlarıyla uyum içindedir. Atalay (1996) Pleyistosen döneminde Anadolu'da meydana gelen iklim değişikliklerinin Anadolu'nun iklimini ve vejetasyonunu değiştirdiğini ortaya koymuştur. Bu da iklim değişikliklerinin *M. avellanarius*'un Karadeniz Bölgesi'ndeki

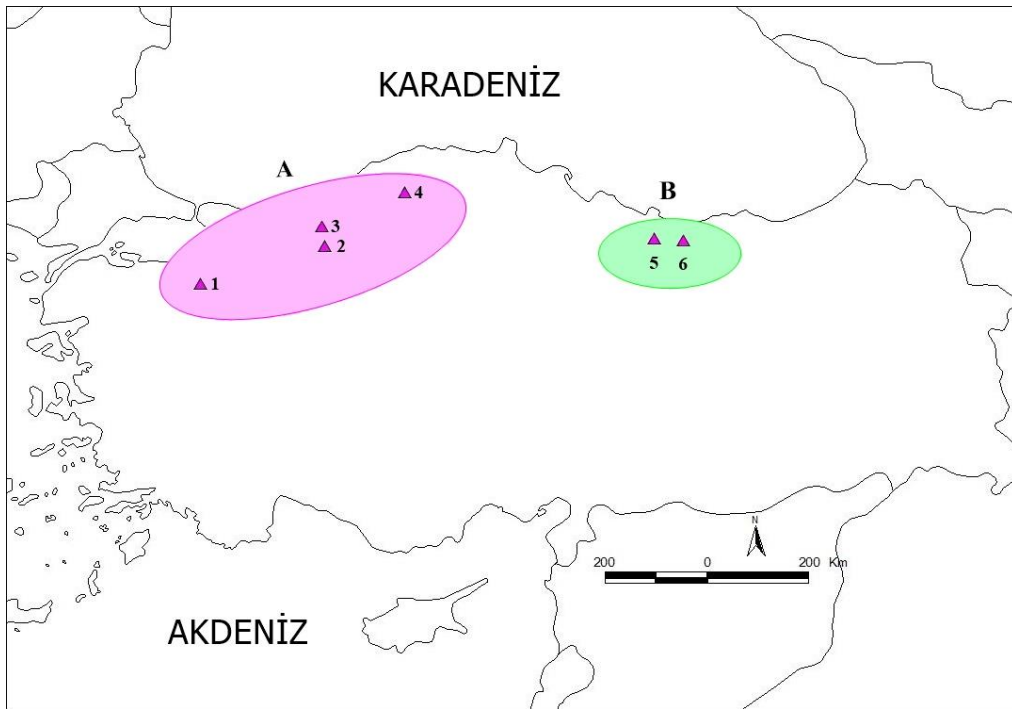
farklılaşması üzerinde etkili olduğunu göstermektedir. Kankılıç vd. (2018), Gliridae familyasının bir başka temsilcisi olan *Dryomys nitedula* üzerinde *NDI* gen bölgesini çalışarak Karadeniz Bölgesi'nde tür içi farklılaşmanın 1.84 Myö başladığını ortaya koymuşlardır. Bu sonucun, tez çalışmasında elde edilen sonuçla uyum içerisinde olduğu görüldü.

Mouton vd. (2012b) genetik çeşitliliğin yüksek olması nedeniyle Kuzey Anadolu bölgesinde buzul sığınağının olabileceğini ortaya koymuşlardır. Mouton vd. (2017) *M. avellanarius*'un yayılış alanında iki soy hattının olduğunu ve Türkiye alt soy hattı içinde Uludağ örneklerinin ayrıldığını tespit etmişlerdir. Benzer şekilde bu tez çalışmasında da *M. avellanarius* örnekleri ayrıldı. Mouton vd. (2017) *M. avellanarius*'taki birincil parçalanmanın sebebini Geç Miyosen döneminde görülen iklim değişikliklerine bağlamışlardır. Gliridae familyasının başka bir temsilcisi olan *Glis glis* üzerinde Helvacı vd. (2012) tarafından yapılan mtDNA *Cytb* gen bölgesi analizinde, Kuzey Anadolu bölgesinde yaşayan populasyonlarda genetik çeşitliliğin düşük olduğu ve yakın geçmişte (10 bin yıl önce) tür içinde genişlemenin bulunduğu ortaya koyulmuştur. Benzer şekilde Hürner vd. (2010) *G. glis*'teki düşük genetik çeşitliliği türün iklim değişikliklerine karşı duyarlı olmasına bağlamışlardır. Bu tez çalışmasında *M. avellanarius*'ta yüksek genetik çeşitlilik tespit edilmiştir.

Naderi vd. (2014) *G. glis*'in *Cytb* gen bölgesini çalışarak yaptıkları çalışmada Geç Miyosen iklim değişikliklerinin Avrupa-Anadolu populasyonlarının ayrılmasına yol açtığını ortaya koymuşlardır. Kuzey Anadolu bölgesinde yayılış gösteren *Myodes glareolus* üzerinde mtDNA'dan *Cytb* ve *D-loop* gen bölgeleri dizilerine dayanarak yapılan bir çalışmada türün 0.36 Myö Doğu ve Batı Karadeniz olmak üzere iki farklı gruba farklılaştığı ortaya konmuştur (Çolak vd. 2016). Benzer şekilde *Cytb* ve *D-loop* gen bölgelerinin RFLP analizine dayanarak *Apodemus mystacinus* üzerinde yapılan bir çalışmada türün biri doğu biri de batı olmak üzere iki farklı soy hattına ayrıldığı tespit edilmiştir (Karacan vd. 2015). Yapılan iki çalışmaya da bakıldığında, bölgede yayılış gösteren her iki türün farklılaşmasına Pleyistosen buzullarının sebep olabileceği ortaya konmuştur. Bu iki çalışmada elde edilen bulguların *M. avellanarius*'un sonuçlarından

farklı olduğu görüldü ve *M. avellanarius* farklılaşmasının Geç Pliyosen ve Erken Pleyistosen dönemlerinde başladığı ortaya koyuldu.

Tez çalışması sonucunda, morfolojik karakterlere dayanarak tanımlanan *M. a. trapezius*'un Giresun ve Ordu'da, *M. a. abanticus*'un Bolu, Düzce, Bursa ve Karabük'te yayılış gösterdiği her iki gen bölgesi için yapılan analizler ile tespit edildi (Şekil 5.1). Bu bakımdan, bu çalışmada elde edilen genetik sonuçların morfolojik sonuçlarla uyum içerisinde olduğu görüldü.



Şekil 5.1 *Muscardinus avellanarius* alttürlerinin yayılış gösterdiği bölgeler:

A. *Muscardinus avellanarius abanticus* (1. Bursa-Uludağ 2. Bolu-Abant 3. Düzce-Yığılca 4. Karabük-Eflani) B. *Muscardinus avellanarius trapezius* (5. Ordu-Ulubey-Yukarıkızılen 6. Giresun-Bulancak)

Hem haplotip çeşitliliği değeri hem de nükleotit çeşitliliği değerine göre, mitokondriyal gen olan *ND1*'in nükleer gen olan *APOB*'dan daha yüksek değerler aldığı tespit edildi (Çizelge 5.2). Bunun nedeninin mitokondriyal genlerin nükleer genlere oranla daha çok mutasyona (5-10 kat fazla) uğradığı şeklinde açıklanmaktadır. MtDNA'da mutasyon oranının fazla olması etkin bir tamir mekanizmasının bulunmaması ve dolayısıyla

meydana gelen mutasyonların kalıcı olmasından kaynaklanmaktadır (Ballard ve Whitlock 2004, Özdemir ve Doğru 2007). Nükleer genlerde çok çeşitli DNA tamir mekanizmalarının bulunmasından dolayı mutasyonların kalıcı olma olasılığı daha düşüktür. Bir mutasyon meydana geldiğinde DNA tamir mekanizmaları devreye girer. Bu yüzden de nükleer genler mitokondriyal genlere oranla daha korunmuş bir yapı sergiler.

Çizelge 5.2 *APOB* ve *NDI* gen bölgelerinin karşılaştırmalı Hd ve π değerleri

Gen Bölgesi	Haplotip Çeşitliliği (Hd)	Nükleotit Çeşitliliği (π)
<i>APOB</i>	0,787	0,00206
<i>NDI</i>	0,890	0,02255

Nötralite testleri sonucunda elde edilen *APOB* gen bölgesine ait Fu's F_s değerinin negatif ve düşük değer alması (-0,549), *NDI* gen bölgesinde ise Fu's F_s değerinin yüksek bir pozitif değer (5,194) alması (Çizelge 5.3) Türkiye'de yayılış gösteren *M. avellanarius* populasyonlarının populasyon genişlemesine maruz kalmadığını göstermektedir.

Çizelge 5.3 *APOB* ve *NDI* gen bölgelerine ait Fu's F_s değerlerinin karşılaştırmalı sonuçları

Gen Bölgeleri	Fu's F_s
<i>APOB</i>	-0,549
<i>NDI</i>	5,194

Hem *APOB* hem de *NDI* gen bölgeleri için genetik farklılaşma (F_{ST}) ve gen akışı değerlerine (N_m) bakıldığında; *M. avellanarius*'a ait iki alttürün birbirlerinden neredeyse tamamen izole oldukları görüldü. *M. a. abanticus* populasyonlarının da gen akışının bazı populasyonlar arasında tamamen kesildiği, bazı populasyonlar arasında ise kesilmek üzere olduğu belirlendi.

5.4 Öneriler

M. avellanarius Palearktık bölgede geniş bir yayılışa sahip olmasına rağmen habitat parçalanmasından dolayı popülasyonlarında yüksek oranda azalma meydana geldiği yapılan çalışmalarla ortaya koyulmuştur (Goodwin vd. 2018a,b, Dietz vd. 2018, Bani vd. 2018). Bu nedenle Türkiye'deki popülasyonlarının genetik özelliklerinin ortaya koyulması önemlidir. Yapılan arazi çalışmalarında daha önce örnek kaydının bulunduğu birçok lokaliteden örnek elde edilememesi türün Türkiye'deki popülasyonlarında bir daralma olduğunu işaret ediyor olabilir. Bu bakımdan türün yaşadığı alanlarda habitat tahribatının azaltılması önem taşımaktadır. Uludağ (Bursa)-Düzce ve Karabük-Ordu arasındaki alanlardan ve Giresun'un doğusundan yeni örnekler elde edilmeli ve ilave edilecek gen bölgeleriyle analiz yapılmalıdır. Böylece türün genetik yapısının, tür içi farklılaşmaların, genetik soy hatlarının, türün filocoğrafyasını etkileyen geçmişte yaşanan iklimsel değişikliklerin ve jeolojik olayların etkileri daha net olarak ortaya koyulabilir. Geçmişte var olan İzmit Körfezi-Sapanca Gölü-Sakarya Vadisi-Karadeniz su yolunun (Elmas 2003) Uludağ soy hattının farklılaşmasında, Kızılırmak Nehri'nin ise doğu-batı soy hatlarının farklılaşması üzerinde etkili olup olmadığı araştırılabilir.

KAYNAKLAR

- Aguilar, J.P. ve Lazzari, V. 2006. Nouvelles especes de glirides du gisement karstique de Blanquaterre 1 (Miocene moyen, sud de la France). *Geodiversitas*, 28, 277-295.
- Agustí, J. 1990. The miocene rodent succession in Eastern Spain: a Zoogeographical appraisal. In: Lindsay, E.H., Fahlbusch, V., Mein, P. (Eds.), *European Neogene Mammal Chronology*. Plenum Pres, New York, 373-404.
- Aksu, A.E., Hiscott, R.N., ve Yaşar, D. 1999. Oscillating Quaternary water levels of the Marmara Sea and vigorous outflow into the Aegean Sea from the Marmara Sea–Black Sea drainage corridor. *Mar. Geol.*, 153, 275–302.
- Amrine-Madsen, H., Koepfli, K.P., Wayne, R.K. ve Springer, M.S. 2003. A new phylogenetic marker, apolipoprotein B, provides compelling evidence for eutherian relationships. *Mol. Phylogenet. Evol.*, 28, 225-240.
- Anonim. 2010. Web Sitesi: http://uhrakahraman.blogspot.com/2010/11/populasyon-genetigi_06.html Erişim Tarihi: 10.04.2019.
- Anonim. 2013. Web Sitesi: http://www.kursatozcan.com/ders_notlari/tarihsel_jeoloji/fa/5_senozoyik.pdf Erişim Tarihi: 25.02.2019.
- Anonim. 2016. Web Sitesi: <http://webders.net/172/nukleotit-nedir.html> Erişim Tarihi: 03.02.2019.
- Anonymous. 2017. Web Sitesi: <https://paleobiodb.org/navigator/> Erişim Tarihi: 10.12.2017.
- Anonymous. 2018. Web Sitesi: <https://ghr.nlm.nih.gov/gene/APOB> Erişim Tarihi: 12.02.2019.
- Anonymous. 2019. Web Sitesi: <https://ghr.nlm.nih.gov/gene/MT-ND1> Erişim Tarihi: 12.02.2019.
- Atalay, İ. 1996. Palaeosoils as indicators of the climatic changes during Quaternary period in S. Anatolia. *Journal of Arid Environments*, 32, 23–35.
- Atalay, İ. 2005. Kuvarterner'deki iklim değişmelerinin Türkiye doğal ortamı üzerindeki etkileri. *Türkiye Kuvarterner Sempozyumu TURQUA V. 2-5 Haziran 2005.* (121-128).
- Ballard, J.W.O. ve Whitlock, M.C. 2004. The incomplete natural history of mitochondria. *Mol. Ecol.*, 13, 729–744.

- Bani, L., Orioli, V., Pisa, G., Dondina, O., Fagiani, S., Fabbri, E., Randi, E., Mortelliti, A., Sozio, G. 2018. Landscape determinants of genetic differentiation, inbreeding and genetic drift in the hazel dormouse (*Muscardinus avellanarius*). *Conserv Genet.*, 19, 283-296.
- Barrón, E., Rivas-Carballo, R., Postigo Mijarra, J.M., Alcalde Olivares, C., Vieira, M., Castro, L., Pais, J., Valle-Hernández, M. 2010. The Cenozoic vegetation of the Iberian Peninsula: a synthesis. *Review of Palaeobotany and Palynology*, 162, 382–402.
- Bright, P.W. ve Morris, P.A. 1990. Habitat requirements of dormice (*Muscardinus avellanarius*) in relation to woodland management in Southwest England. *Biological Conservation*, 54(4); 307-326.
- Bright, P.W. ve Morris, P.A. 1991. Ranging and Nesting Behaviour of the Dormouse *Muscardinus avellanarius* in diverse low-growing woodland. *Journal of Zoology*, 224(2); 77–190.
- Buckie, A.P. ve Smith, R.H. 1994. *Rodent Pests and Their Control*, 2nd ed., CABI, Londra.
- Büchner, S., Stubbe, M. ve Striese, D. 2003. Breeding and biological data for the common dormouse (*Muscardinus avellanarius*) in Eastern Saxony (Germany). *Acta Zool. Acad. Sci. Hung.*, 49(1); 19–26.
- Caner, V. ve Çarlı, K.T 2001. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Pcr) ve Bazı Tavuk İnfeksiyonlarındaki Yeri. *J Fac Vet Med.*, 20, 137-145.
- Crooke, R.M., Graham, M.J., Freier, S.M. 2018. Effects Of Apolipoprotein B Inhibition On Gene Expression Profiles In Animals. US Patent App.
- Çağatay, N., Görür, N., Flecker, R., Sakinç, M., Tünoglu, C., Ellam, R., Krijgsman, W., Vincent, S., Dikbaş, A. 2006. Paratethyan– Mediterranean connectivity in the Sea of Marmara region (NW Turkey) during the Messinian. *Sed. Geol.*, 188–189, 171–187.
- Çolak, E., Yiğit, N. ve Çolak, R. 2018. Türkiye’deki ve Balkan Yarımadasındaki Gliridae (Mammalia: Rodentia) Familyası Türlerinin Sistematiği, Yayılışı ve Genetik Farklılıkları. TÜBİTAK Proje No: 113Z822; Ankara.
- Çolak, R., Olgun Karacan, G., Kandemir, I., Çolak, E., Kankılıç, T., Yiğit, 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.
- Daams, R. ve De Bruijn, H. 1995. A classification of the Gliridae (Rodentia) on the basis of dental morphology. *Hystrix*, 6, 3–50.
- Demeke, T. ve Adams, F.P. 1992. The effects of plant polysaccharides and buffer additives on PCR. *BioTechniques*, 12, 332-335.

- Dieffenbach, C.W., Lowe, T.M.J. ve Dveksler, G.S. 1993. General concepts for PCR primer design. PCR Methods and Applications, 530-537.
- Dietz, M., Büchner, S., Hillen, J. ve Schulz, B. 2018: A small mammal's map. Identifying and improving the large-scale and cross-border habitat connectivity for the common dormouse *Muscardinus avellanarius* in a fragmented agricultural landscape. Biodiversity and Conservation, 27, 1891–1904.
- Doğramacı, S. ve Kefelioğlu, H. 1992. Türkiye *Muscardinus avellanarius* (Mammalia: Rodentia) türünün karyotipi. Doğa- Tr. J. of Zool., 16, 43-49.
- Doyle, J.J. ve Doyle, J.L. 1991. Isolation of plant DNA from fresh tissue. Focus, 12(1); 13-15.
- Dubey, S., Cosson, J.F., Magnanou, C.E., Vohralík, V., Benda, P., Frynta, D., Hutterer, R., Vogel, V. ve Vogel, P. 2007. Mediterranean populations of the lesser white-toothed shrew (*Crocidura suaveolens* group): an unexpected puzzle of Pleistocene survivors and prehistoric introductions. Molecular Ecology, 16, 3438–3452
- Dubey, S., Zaitsev, M., Cosson, J.F., Abdulkadir, A. ve Vogel, P. 2006. Pliocene and Pleistocene diversification and multiple refugia in a Eurasian shrew (*Crocidura suaveolens* group). Mol. Phylogenet. Evol., 38, 635–647.
- Duggen, S., Hoernle, K., Van den Bogaard, P., Rupke, L., Morgan, J.P. 2003. Deep roots of the Messinian salinity crisis. Nature, 422, 602-606.
- Ellerman, J.R. 1948. A key to the rodents of Southwest Asia in the British Museum collection. Proc. Zool. Soc. Lond., 118, 765-816.
- Elmas, A. 2003. Late Cenozoic tectonics and stratigraphy of northwestern Anatolia: the effects of the North Anatolian Fault to the region. International Journal of Earth Sciences, 92, 380-396.
- Emre, Ö., Erkal, T., Tchepalyga, A., Kazancı, N., Keçer, M., Ünay, E. 1998, Doğu Marmara Bölgesi'nin Neojen-Kuvaternerdeki Evrimi. MTA Dergisi, 120, 289-314.
- Emre, Ö., Kazancı, N., Erkal, T., Görür, N. 1998. Güney Marmara Bölgesi Kuvaterner olayları ve muhtemel tarihçesi. TÜBİTAK YDABÇAG Projesi (598/G) proje raporu.
- Engin, E. 2010. Türkiye Fındıkfaresi' nin (*Muscardinus avellanarius* Linnaeus, 1758) (Rodentia: Mammalia) İskelet Sisteminin Makro Anatomisi. Yüksek Lisans Tezi. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Erlich, H.A., Gelfand, D.H. ve Sninsky, J.J. 1991. Recent advances in polymerase chain reaction. Science, 252, 1643-1650.

- Erol, O. 1987. Çanakkale yöresinde Kuvaterner kıyı oynamaları. Ankara Üniversitesi Dil ve Tarih-Coğrafya Fakültesi Yayınları, 179-187.
- Erol, O. 1989. Türkiye Jeomorfolojisi. Türkiye'nin Jeomorfolojik Evrimi ve Bugünkü Genel Jeomorfolojik Görünümü. Yayınlanmamış Ders Notu, İstanbul.
- Erturaç, M.K. 2002. Marmara denizi kıyıları veri tabanı. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul Teknik Üniversitesi, Avrasya Yerbilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Excoffier, L. ve Lischer, H.E.L. 2010. Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources*, 10, 564-567.
- Forster, P., Harding, R., Torroni, A., Bandelt, H.J. 1996. Origin and Evolution of Native American mtDNA Variation: A reappraisal. *American Journal of Human Genetics*, 59, 935-945.
- Friebe, K., Steffens, T., Schulz, B., Valqui, J., Reck, H. ve Hartl, G. 2018. The significance of major roads as barriers and their roadside habitats as potential corridors for hazel dormouse migration—a population genetic study. *Folia Zoologica*, 67(2); 98-109.
- Frigola, A., Prange, M., Schulz, M. 2018. Boundary conditions for the Middle Miocene Climate Transition (MMCT v1.0). *Geosci. Model Dev.*, 11, 1607–1626.
- Fu, Y.X. 1997. Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking and background selection. *Genetics*, 147, 915–925.
- Fu, Y.X. ve Li, W.H. 1993. Statistical tests of neutrality of mutations. *Genetics*, 133, 693–709.
- Garcia-Alix, A., Minwer-Barakat, R., Martin-Suarez, E., Freudenthal, M. 2008. *Muscardinus meridionalis* sp. nov. a new species of Gliridae (Rodentia, Mammalia) and its implications for the phylogeny of *Muscardinus*. *Journal of Vertebrate Paleontology*, 28(2); 568–573.
- Garcia-Castellanos, D., Estrada, F., Jiménez-Munt, I., Gorini, C., Fernandez, M., Vergés, J., De Vicente, R. 2009. Catastrophic flood of the Mediterranean after the Messinian salinity crisis. *Nature Letters*, 462, 37–49.
- Garcia-Ibaibarriaga, N., Arrizabalaga, A., Iriarte-Chiapusso, M.J., Rofes, J., ve Murelaga, X. 2015. The return to the Iberian Peninsula: first Quaternary record of *Muscardinus avellanarius* and palaeogeographical overview of the genus in Europe. *Quaternary Science Reviews*, 119, 106–115.
- Gibbard, P.L. ve Cohen, K.M. 2008. Global chronostratigraphical correlation table for the last 2.7 million year. *Episodes*, 31, 242-247.

- Goodwin, C.E.D., Hodgson, D.J., Bailey, S., Bennie, J. ve McDonald, R.A. 2018b. Habitat preferences of hazel dormice *Muscardinus avellanarius* and the effects of tree-felling on their movement. *Forest Ecology and Management*, 427, 190–199.
- Goodwin, C.E.D., Suggitt, A.J., Bennie, J., Silk, M.J., Duffy, J.P., Al-Fulaij, N., Bailey, S., Hodgson, D.J. ve McDonald, R.A 2018a. Climate, landscape, habitat, and woodland management associations with hazel dormouse *Muscardinus avellanarius* population status. *Mammal Review*, 48, 209–223.
- Govers, R. 2009. Choking the Mediterranean to dehydration: The Messinian salinity crisis. *Geology*, 37(2); 167–170.
- Görür, N. ve Tüysüz, O. 2001. Cretaceous to Miocene palaeogeographic evolution of Turkey: implications for hydrocarbon potential. *Journal of Petroleum Geology*, 24(2); 119-146.
- Görür, N., Çağatay, M.N., Sakınç, M., Sümengen, M., Şentürk, K., Yaltrak, C., Tchepalyga, A. 1997. Origin of the sea of Marmara as deduced from Neogene to Quaternary paleogeographic evolution of its frame. *Int. Geol. Rev.*, 39, 342-352.
- Görür, N., Sakınç, M., Barka, A. ve Akkök, R. 1995. Miocene to Pliocene palaeogeographic evolution of Turkey and its surroundings. *J. Hum. Evol.*, 28, 309–324.
- Görür, N., Tüysüz, O., Şengör, A.M.C. 1998. Tectonic evolution of the Central Anatolian basins. *International Geology Review*, 40, 831–850.
- Gür, H. 2016. The Anatolian diagonal revisited: testing the ecological basis of a biogeographic boundary. *Zoology in the Middle East*, 62, 189–199.
- Hadid, Y., Németh, A., Snir, S., Pavlíček, T., Csorba, G., Kázmér, M., Major, Á., Mezhzherin, S., Rusin, M., Coşkun, Y., Nevo, E. 2012. Is evolution of blind mole rats determined by climate oscillations? *PLoS One*, 7(1); e30043.
- Hadidi, A., Levy, L., Podleskis, E.V. 1995. Polymerase chain reaction technology in plant pathology. In: *Molecular Methods in Plant Pathology*, 167-187. Eds. R. P. Singh, U. S. Singh. Boca Raton: CRS Press.
- Hall, T.A. 1999. A user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucl. Acids. Symp. Ser.*, 41, 95-98.
- Hartenberger, J.L. 1971. Contribution l'étude des genres *Gliravus* et *Microparamys* (Rodentia) de l'Eocène d'Europe. *Palaeovertebrata*, 4, 97–135.
- Hasegawa, M., Kishino, H. ve Yano, T. 1985. Dating the human-ape splitting by a molecular clock of mitochondrial DNA. *Journal of Molecular Evolution.*, 22, 160-174.

- Hedrick, P. 2005. A standardized genetic differentiation measure. *Evolution*, 59(8).
- Helvacı, Z., Renaud, S., Ledevin, R., Adriaens, D., Michaux, J., Çolak, R., Kankılıç, T., Kandemir, İ., Yiğit, N. ve 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.
- Henson, J.M. ve Frech, R. 1993. The polymerase chain reaction and plant disease diagnosis. *Annual Review of Phytopathology*, 31, 81-109.
- Hewitt, G. 2000. The genetic legacy of the Quaternary ice ages. *Nature*, 405, 907–13.
- Hürner, H., Krystufek, B., Sara, M., Ribas, A., Ruch, T., Sommer, R., Ivashkina, V. ve Michaux, J.R. 2010. Mitochondrial phylogeography of the edible dormouse (*Glis glis*) in the western Palearctic region. *Journal of Mammalogy*, 91(1); 233–242.
- Ilgar, A. 2015. Messiniyen Tuzluluk Krizi Akdeniz'in kurumasına ilişkin bir derleme. *Doğal Kay. ve Eko. Bült.*, 20, 73-80.
- Innis, M.A. ve D.H. Gelfand. 1990. Optimization of PCRs In Innis, M.A, Gelfand, D.H., Sninsky, J.J.and White T.J (eds.). *PCR protocols A guide to methods and applications*. Academic Press., 3-12.
- Jabaloy, A., Galindo-Zaldívar, J. ve Gonza'lez-Lodeiro, F. 2002. Palaeostress evolution of the Iberian Peninsula (Late Carboniferous to present-day). *Tectonophysics*, 357, 159–186.
- Jiang, Z., Priat, C., Galibert, F. 1998. Traced orthologous amplified sequence tags (TOASTs) and mammalian comparative maps. *Mammal. Genome*, 9, 577–587.
- John, J.C.S., Lloyd, R.E.I., Bowles, E.J., Thomas, E.C. ve El Shourbagy, S. 2004. The Consequences of Nuclear Transfer for Mammalian Foetal Development and Offspring Survival. A Mitochondrial DNA Perspective. *Society for Reproduction and Fertility*, 127, 631-641.
- Joniak, P. ve De Bruijn, H. 2015. Rodents from the Upper Miocene Tuğlu Formation (Çankırı Basin, Central Anatolia, Turkey). *Paläontologische Zeitschrift*, 89, 1039–1056.
- Juškaitis, R. 2003. Abundance dynamics and reproduction success in the common dormouse, *Muscardinus avellanarius*, populations in Lithuania. *Folia Zoologica*, 52(3); 239-248.
- Kankılıç, T., Şeker, P.S., Erdik, A.C., Kankılıç, T., Selvi, E., Yiğit, N., 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*, 29, 933-942.

- Karacan, G.O., Çolak, R. ve Çolak, E. 2015. Determination of genetic variations between *Apodemus mystacinus* populations distributed in Turkey inferred from mtDNA PCR-RFLP. *Turkish Journal of Zoology*, 39(4); 630-642.
- Karadenizli, L. 2011. Oligocene to Pliocene palaeogeographic evolution of the Çankırı-Çorum Basin, central Anatolia, Turkey. *Sedimentary Geology*, 237, 1-29.
- Kaya, F. ve Kaymakçı, N. 2013: Systematics and dental microwear of the late Miocene Gliridae (Rodentia, Mammalia) from Hayranlı, Anatolia: implications for paleoecology and paleobiodiversity. *Palaeontologia Electronica*, 16, 1-22.
- Kaymakçı, N., De Bruijn, H., White, S.H., Van Dijk, P.M., Saraç, G. ve Ünay, E. 2003. Tectonic implications of the Neogene stratigraphy of the Çankırı Basin with special reference to the Çandır locality (North-Central Anatolia, Turkey). *Cour. Forsch.-Inst. Senckenberg*, 240, 9-28.
- Kervinen, M., Hinttala, R., Helander, H.M., Kurki, S., Uusimaa, J., Finel, M., Majamaa, K., Hassinen, I.E. 2006. The MELAS mutations 3946 and 3949 perturb the critical structure in a conserved loop of the ND1 subunit of mitochondrial complex I. *Hum. Mol. Genet.*, 1, 2543–2552.
- Kıvanç, E. 1983. Die Haselmaus, *Muscardinus avellanarius* L., in der Türkei. *Bonn. zool. Beitr.*, 34, 419-428.
- Kıvanç, E. 1989. Türkiye Fındıkfaresinin, *Muscardinus avellanarius* (L.1758) Diş köklerinin varyasyonu. *Doğa Tu.Biyol.D.*,13(1); 29-34.
- Kıvanç, E. 1990. Fındıkfaresinin (*Muscardinus avellanarius* Linnaeus,1758) Türkiye'deki Üreme Biyolojisi. *J. Biol. Fac. Sci. Arts Gazi Univ.*, 1, 31-41.
- Kıvanç, E. ve Yardımcı, M. 2000. Türkiye Fındıkfaresinde (*Muscardinus avellanarius* L.,1758) Molarların çiğneme yüzeylerinin yapısı. *Gazi Üniv. Fen bil. Enst. Derg.*,13(4); 1047-1057.
- Klingener, D. 1984. Gliroid and dipodoid rodents. Pp. 381-388 in S Anderson, J Jones, Jr., eds. *Orders and Families of Recent Mammals of the World*. New York: John Wiley and Sons.
- Krijgsman, W., Hilgen, F.J., Raffi, I., Sierro, F.J., Wilson, D.S. 1999. Chronology, causes and progression of the Messinian salinity crisis. *Nature*, 400, 652–655.
- Kryštufek, B. ve Vohralík, V. 2005. Mammals of Turkey and Cyprus: Rodentia 1: Sciuridae, Dipodidae, Gliridae, Arvicolinae. *Zgodovinsko društvo za južno Primorsko*. 3, 87-92, Koper.
- Kumar, S., Stecher, G., Tamura, K. 2016. MEGA7: molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. *Mol Biol Evol.*, 33(7); 1870–1874.
- Kurtén, B. 2007. *Pleistocene Mammals of Europe*. Chicago: Aldine Pub. Co., 206.

- Kwok, S., Chang, S.Y., Sninsky, J.J. ve Wang A.1994. A guide to the design and use of mismatched and degenerate primers. *PCR Methods and Applications*, 539-547.
- Librado, P. ve Rozas, J. 2009. DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics*, 25, 1451-1452.
- Mayer, F., ve Von Helversen, O. 2001. Cryptic diversity in European bats. *Proceedings of the Royal Society of London B*, 268, 1825–1832.
- Miller, G.S. 1908. Two new mammals from Asia Minor. *Ann. & Mag. Nat. Hist.*, 8th Ser., 1, 68-70.
- Mix, A., Bard, A., Schneider, R. 2001. Environmental processes of the ice age, land, oceans, glaciers (EPILOG). *Quaternary Science Reviews*, 20, 627-657.
- Montgelard, C., Matthee, C.A., Robinson, T.J. 2003. Molecular systematics of dormice (Rodentia: Gliridae) and the radiation of *Graphiurus* in Africa. *Proc R Soc Lond B.*, 270, 1947-1955.
- Mouton, A., Grill, A., Sara, M., Kryštufek, B., Randi, E., Amori, G., vd. 2012a. Using phylogeography to promote dormouse conservation: the case of *Muscardinus avellanarius* (Rodentia, Gliridae). *Peckiana*, 8, 255–264.
- Mouton, A., Grill, A., Sara, M., Kryštufek, B., Randi, E., Amori, G., Jus̄kaitis, R., Aloise, G., Mortelliti, A., Panchetti, F., Michaux, J. 2012b. Evidence of a complex phylogeographic structure in the common dormouse, *Muscardinus avellanarius* (Rodentia: Gliridae). *Biol J Linn Soc*, 105, 648–664.
- Mouton, A., Mortelliti, A., Grill, A., Sarà, M., Krystufek, B., Jus̄kaitis, R., Latinne, A., Amori, G., Randi, E., Büchner, S., Schulz, B., Ehlers, S., Lang, J., Adamik, P., Verbeylen, G., Dorenbosch, M., Trout, R., Elmeros, M., Aloise, G., Mazzotti, S., Matur, F., Poitevin, F., Michaux, J. 2017. Evolutionary hystory and species delimitations: a case study of the hazel dormouse, *Muscardinus avellanarius*. *Conservation genetics*, 18(1); 181–196.
- Naderi, G., Kaboli, M., Koren, T., Karami, M., Zupan, M., Rezaei, H.R., Kryštufek, B. 2014. Mitochondrial evidence uncovers a refugium for the fat dormouse (*Glis glis* Linnaeus, 1766) in Hyrcanian forests of northern Iran. *Mammalian Biology*, 79, 202–207.
- Nazik, A., Meriç, E., Avşar, N., Ünlü, S., Esenli, V. ve Gökaşan, E. 2011. Possible waterways between the Marmara Sea and the Black Sea in the late Quaternary: evidence from ostracod and foraminifer assemblages in lakes Iznik and Sapanca, Turkey. *Geo-Mar. Lett.*, 31, 75–86.
- Nehring, A. 1903. *Über Myoxus glis orientalis*, n. subsp., und *Muscardinus avellanarius* aus Kleinasien. *Zool. Anzeiger*, 26, 533-534.

- Nikishin, A.M., Korotaev, M.V., Ershov, A.V. ve Brunet, M.F. 2003. The Black-Sea basin: tectonic history and Neogene-Quaternary rapid subsidence modelling. *Sedimentary Geology*, 156, 149–168.
- Nowak, R. 1999. *Walker's Mammals of the World*, v.2. Baltimore and London: The Johns Hopkins University Press.
- Nunome, M., Yasuda, S.P., Sato, J.J., Vogel, P., Suzuki, H. 2007. Phylogenetic relationships and divergence times among dormice (Rodentia, Gliridae) based on three nuclear genes. *Zool Scripta*, 36, 537–546.
- Okay, A.I. ve Nikishin, A.M. 2015. Tectonic evolution of the southern margin of Laurasia in the Black Sea region. *Int. Geol. Rev.*, 57, 1051–1076.
- Okay, A.I. ve Topuz, G. 2017. Variscan orogeny in the Black Sea region. *Int. J. Earth Sci.*, 106, 569-592.
- Özdemir, M. ve Doğru, Ü. 2007. Genetik Karakterizasyonda Mitokondriyal DNA Kullanımı. *Atatürk Univ Ziraat Fak Derg*, 38(1); 105-11.
- Patwardhan, A., Ray, S., Roy, A. 2014. Molecular markers in phylogenetic studies-a review. *J Phylogen Evol Biol.*, 2-2.
- Polzin, T., Daneschmand, S.V. 2003. On Steiner trees and minimum spanning trees in hypergraphs. *Operations Research Letters*, 31, 12-20.
- Popov, S.V., Rögl, F., Rozanov, A.Y., Steininger, F.F., Shcherba, I.G., Kovac, M. 2004. Lithological-Paleogeographic maps of Paratethys-10 Maps Late Eocene to Pliocene. *Courier Forschungsinstitut Senckenberg 250*, Frankfurt/Main.
- Popov, S.V., Shcherba, I.G., Ilyina, L.B., Nevesskaya, L.A., Paramonova, N.P., Khondkarian, S.O. ve Magyar, I. 2006. Late Miocene to Pliocene palaeogeography of the Paratethys and its relation to the Mediterranean. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 238, 91-106.
- Rambaut, A. 2014. FigTree, Version 1.4.2., Available from <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/FigTree/>.
- Rambaut, A., Suchard, M.A., Xie, D. ve Drummond, A.J. 2014. Tracer v1.6, Available from <http://beast.bio.ed.ac.uk/Tracer>.
- 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.
- Rose, J. 2007. The use of time units in Quaternary Science Reviews, *Quaternary Science Reviews*, 26, 1193.

- Rögl, F. 1998. Palaeogeographic considerations for Mediterranean and Paratethys seaways (Oligocene to Miocene). *Annalen des Naturhistorischen Museums in Wien*, 99, 279–310.
- Rögl, F. 1999. Mediterranean and Paratethys. Facts and hypotheses of an Oligocene to Miocene paleogeography (short overview). *Geologica Carpathica*, 50, 339–349.
- Sakınç, M. 1998. İstanbul Boğazı (Haliç–Sarayburnu–Üsküdar) Bentik Foraminifer (Holosen) Paleobiyofasiyesleri: Akdeniz– Karadeniz Su geçişi üzerine yeni bir yaklaşım. *MTA Dergisi*.
- Sara, M., Casamento, G., Spinnato, A. 2001. Density and breeding of *Muscardinus avellanarius* L., 1758 in woodlands of Sicily. *Trakya University (Turkey), Journal of Scientific Research, Series B*, 2, 85-93.
- Sarıkaya, M.A. ve Çiner, A. 2015. Late Pleistocene glaciations and paleoclimate of Turkey. *Bulletin of the mineral, Res Explor.*, 151, 107–127.
- Sheremet, Y., Sosson, M., Ratzov, G., Sydorenko, G., Voitsitskiy, Z., Yegorova, T., Gintov O. ve Murovskaya, A. 2016. An Offshore-Onland Transect across the north-eastern Black Sea basin (Crimean margin): Evidence of Paleocene to Pliocene two-stage compression. *Tectonophysics*, 688, 84-100.
- Smith, A.D., Taymaz, T., Oktay, F., Yüce, H., Alpar, B., Bşaran, H., Jackson, J.A., Kara, S., Şimşek, M. 1995. High resolution seismic reflection profiling in the Sea of Marmara (northwest Turkey): Late Quaternary Sedimentation and sea-level changes. *Bull. Geo. Soc. Am.*, 107(8); 923-936.
- Sosdian, S. ve Rosenthal, Y. 2009. Deep-sea temperature and ice volume changes across the Pliocene-Pleistocene climate transitions. *Science*, 325, 306-310.
- Stehlin, H.G. ve Schaub, S. 1951. Die Trigonodontie der Simplicidentaten Nager. *Schweiz. Abhandlungen*, 67, 1-385.
- Storch, G. 1978. *Muscardinus avellanarius* (Linnaeus, 1758)-Haselmaus. In: Niethammer, J. & Krapp, F. (eds.) *Handbuch der Säugetiere Europas. Band 1, Nagetiere I. Akademische Verlagsgesellschaft, Wiesbaden*, 259-271.
- Storch, G. 1995. Affinities among living dormouse genera. *Proceedings of II Conference on Dormice. Hystrix*, 6(1-2); 51-62.
- Suchard, M.A, Lemey, P., Baele, G., Ayres, D.L., Drummond, A.J. ve Rambaut, A. 2018. Bayesian phylogenetic and phylodynamic data integration using BEAST 1.10. *Virus Evolution*, 4.
- Svitoch, A.A., Selivanov, A.O., Yanina, T.A. 2000. Paleohydrology of the Black Sea Pleistocene basins. *Water Resources*, 27, 594–603.

- Şekeroğlu, V., Kefelioğlu, H., Şekeroğlu, Z.A. 2011: G- and C-banded karyotype of hazel dormouse, *Muscardinus avellanarius trapezius* (Mammalia: Rodentia) in Turkey. *Turk. J. Zool.*, 35, 375–379.
- Şengör, A.M.C ve Yılmaz, Y. 1983. Türkiye’de Tetis’in Evrimi: Levha Tektoniği Açısından Bir Yaklaşım. Türkiye Jeoloji Kurumu Yerbilimleri Özel Dizisi, No. 1, İstanbul.
- Tajima, F. 1989. Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. *Genetics*, 123, 585–595.
- Tamura, K. 1992. Estimation of the number of nucleotide substitutions when there are strong transition-transversion and G+C content biases. *Mol. Biol. Evol.*, 9, 678–687.
- Thaler, L. 1966. Les rongeurs fossiles du BasLanguedoc dans leurs rapports avec l'histoire des faunes et la stratigraphie du Tertiaire d'Europe. Mémoires du Muséum national d'histoire naturelle, série C, Sciences de la Terre, tome XVI.
- Türkeş, M. 2007. Prof. Dr. Oğuz Erol’a Göre Çanakkale Yöresinin Jeomorfolojik ne Neotektonik Evrimi. Çanakkale Araştırmaları Türk Yılı, 129-145.
- Uluğ, A., Şenöz, M., Günay, C. 1995. İstanbul Boğazı jeolojisinin deniz sismik çalışmaları ile araştırılması. *Jeofizik Dergisi*, 9(10); 349-356.
- Uslu, E., Bakış, Y. ve Babaç, M.T. 2011. A study on biogeographical distribution of Turkish oak species and their relations with the Anatolian diagonal. *Acta Botanica Hungarica*, 53, 423–440.
- Ünay E., Emre, Ö., Erkal, T. ve Keçer, M. 2001. The Rodent fauna from the Adapazarı pull-apart basin (NW Anatolia): its bearing on the age of the North Anatolian Fault. *Geodin. Acta*, 14, 169–75.
- Ünay, E., De Bruijn, H. ve Saraç, G. 2003. A preliminary zonation of the continental Neogene of Anatolia based on rodents. *Deinsea*, 10, 539-547.
- van den Hoek Ostende, L.W., Gardner, J.D., van Bennekom, L., Alçiçek, M.C., Murray, A., Wesselingh, F.P., Alçiçek, H., Tesakov, A. 2015. Ericek, a new Pliocene vertebrate locality in the Çameli Basin (southwestern Anatolia, Turkey). *Palaeobiodivers, Palaeoenviron*, 95(3); 305–320.
- Vaughan, T.J., Ryan, N. 2000. *Czaplewski. Mammalogy*. Stamford, CT: Thomson Learning, Inc..
- Watson, J.D., Gilman, M., Witkowski J. ve Zoller M. 1992. The polymerase chain reaction In: *Recombinant DNA*. Second Edition. New York, 79-98.
- Weising, K., Nybom, H., Wolff K. ve Meyer W. 1995. *DNA Fingerprinting in plants and fungi*. CRS Press. Florida.

- 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.
- Yang, X., Hadidi, A. ve Garnsey S.M. 1992. Enzymatic cDNA amplification of citrus exocortis and cachexia viroids from infected citrus hosts. *Phytopathology*, 82, 279.
- 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., Karataş, A. 2006. Rodents Of Türkiye (Türkiye Kemiricileri), *METEKSAN*. 7, 90.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı: Müge KOCAAY

Doğum Yeri: Çankaya

Doğum Tarihi: 07.10.1994

Medeni Hali: Bekar

Yabancı Dili: İngilizce

Eğitim Durumu

Lise : Çankaya Lisesi (2012)

Lisans : Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü (2016)

Yüksek Lisans: Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı
(Eylül 2016-Haziran 2019)

Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Veteriner Fakültesi
Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı (Şubat 2017-Haziran 2018)