



**T.C.
AKSARAY ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**ANADOLU'DA YAYILIŞ GÖSTEREN *NANNOSPLAX*
XANTHODON (Nordmann, 1840)'DA Y- KROMOZOMU DİZİ
VARYASYONLARI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
EKREM TINAZ**

**DANIŞMAN
Doç. Dr. TOLGA KANKILIÇ**

AKSARAY, 2019

Aksaray Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü'nün 112307407 numaralı Yüksek Lisans öğrencisi, **Ekrem TINAZ** tarafından hazırlanan “**ANADOLU’DA YAYILIŞ GÖSTEREN *NANNOSPALAX XANTHODON* (NORDMANN, 1840)’DA Y-KROMOZOMU DİZİ VARYASYONLARI**” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ ile Biyoloji Anabilim Dalında **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Doç. Dr. Tolga KANKILIÇ

Aksaray Üniversitesi



Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum.

Üye: Doç. Dr. Mehmet KARACA

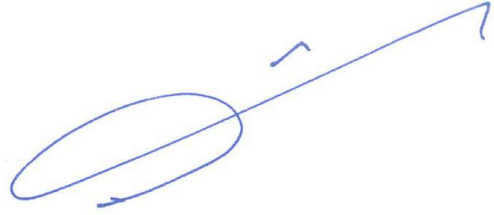
Aksaray Üniversitesi



Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum.

Üye: Doç. Dr. Hakan GÜR

Ahi Evran Üniversitesi



Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum.

Tez Savunma Tarihi: 24/05/2019

Jüri tarafından kabul edilen bu tezin Yüksek Lisans Tezi olması için gerekli şartları yerine getirdiğini onaylıyorum.

Doç. Dr. Mehmet Ali HINIS

DOĞRULUK BEYANI

Yüksek lisans tezi olarak sunduğum bu çalışmayı, akademik kurallara ve bilimsel etik, ahlak ve geleneklere aykırı düşecek bir yol ve yardıma başvurmaksızın yazdığımı, yararlandığım eserlerin kaynakçada gösterilenlerden oluştuğunu, çalışmamda kullandığım verilerin orijinallliğini ve her türlü intihalden uzak olduğunu beyan ederim.

Enstitü tarafından belli bir zamana bağlı olmaksızın, tezimle ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçlara katlanacağımı bildiririm.

Ekrem TİNAZ

TEŞEKKÜR

Tanıştığımız ilk günlerden bu zamana kadar geçen süreçte desteğini ve bilgisini hiç esirgemeyen, tüm sorunlarıma anlayış ve sabırla yaklaşan, sadece akademik olarak değil aynı zamanda insani yönleriyle de örnek aldığım danışman hocam Doç. Dr. Tolga KANKILIÇ'a,

Yürütücülüğünü yaptığı ve TÜBİTAK tarafından desteklenen 112T660 kodlu proje kapsamında toplanan örneklerden bir bölümünü bizimle paylaştığı için Doç. Dr. Teoman KANKILIÇ'a,

Filogenetik analizler konusundaki bilgisini benimle cömertçe paylaşan, tezin oluşumunda birçok konuda fikir alışverişinde bulunduğum, Üniversite yıllarımdan bu yana yol arkadaşlığı yaptığımız dostum Öğretim Görevlisi Kamil CANDAN'a,

Laboratuvar çalışmalarında yardımını esirgemeyip değerli vaktini ayıran ve tez işlemleri sırasında benim adıma da yorulan, Eylül İLASLAN'a

Aksaray'da bulunduğum süreçte varlığıyla her şeyi kolaylaştıran arkadaşım Biyolog Salih ARIBAŞ ve değerli ailesi'ne,

Yüksek lisans çalışmamla eş zamanlı olarak yürüttüğüm iş hayatım süresince farklı zamanlarda farklı şirketlerde birlikte çalıştığım, bana her zaman destek verip beni inat ve inançla yüreklendiren bütün emekçi arkadaşlarıma,

Sevgi ve içtenlikle teşekkür ederim.

Tezimin gerçekleşmesinde 2017-034 numaralı proje ile maddi destek sağlayan Aksaray Üniversitesi BAP Koordinasyon birimine teşekkür ederim.

Ekrem TINAZ
AKSARAY, 2019

Bu çalışma,
Aramızdan çok erken yaşta ayrılan sınıf arkadaşım
Melike ÜLKER'in
Güzel anısına adanmıştır.



Bilgi, bir başkasına aktarılabilir; bilgelikse hayır.
Siddhartha – Hermann Hesse

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER	iii
ÖZET.....	iv
ABSTRACT	v
ŞEKİLLER DİZİNİ	vi
ÇİZELGELER DİZİNİ	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	viii
1. GİRİŞ	1
2. LİTERATÜR ÖZETİ	4
2.1 Körfareler (<i>Spalacidae</i>).....	4
2.1.1 Körfarelerin kökeni	4
2.1.2 <i>Spalacidae</i> familyasının filogenisi ve taksonomik durumu	5
2.1.3 Körfarelerde türleşme ve kromozomal evrim	7
2.1.4 Koruma durumu.....	9
2.2 <i>Nannospalax</i> (Palmer, 1903)	9
2.2.1 <i>Nannospalax xanthodon</i> (Nordmann, 1840).....	11
2.3. Y Kromozomu	13
2.3.1 Memelilerde Y kromozomunun yapısı	14
2.3.2 Y kromozomu belirteçlerinin geliştirilmesi.....	15
2.3.3 YCATS	16
2.4. Moleküler Filogeni ve Filogenetik Yöntemler	16
2.4.1 Filogenetik analiz basamakları	18
2.4.2 Filogenetik ağaç oluşturmak	18
2.4.3 Ağaçların değerlendirilmesi	21
3. MATERYAL VE YÖNTEM	22
3.1 Örneklem	22
3.2 DNA İzolasyonu.....	24
3.3 Y Kromozomu için Kullanılan Primerler ve Primer Optimizasyonu.....	25
3.4 PCR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu).....	26
3.4.1 PCR ürünün agaroz jel elektroforezinde yürütülmesi	27
3.5 DNA Dizi Analizi.....	28
3.5.1 Dizilerin hazırlanması ve tanımlayıcı istatistikler	28
3.6 Filogenetik Analizler	28
4. ARAŞTIRMA BULGULARI	30
4.1 Genetik Çeşitlilik.....	30
4.2 Y Kromozomu Gen Bölgeleri için Filogenetik Analizler	33
4.3 Y Kromozomu Gen Bölgeleri için Network Analizi.....	37
5. TARTIŞMA VE SONUÇLAR	39
KAYNAKLAR	44
ÖZGEÇMİŞ	56

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ANADOLU'DA YAYILIŞ GÖSTEREN NANNOSPLAX XANTHODON (Nordmann, 1840)'DA Y- KROMOZOMU DİZİ VARYASYONLARI

Ekrem TINAZ

Aksaray Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Tolga KANKILIÇ

ÖZET

Körfareler genel görüşe göre Türkiye Cumhuriyeti sınırları içerisinde 3 tür ile temsil edilmektedir. Türkiye körfarelerin gen kaynağı olmasına rağmen, yapılan çalışmalar ağırlıklı olarak kromozomlar ve morfoloji üzerine yoğunlaşmış, sınırlı sayıda genetik çalışma yapılmıştır.

Bu tez çalışmasında, Anadolu'da geniş bir yayılış alanına sahip olan *Nannosplax xanthodon* popülasyonları arasındaki genetik farklılıklar ilk kez Y kromozomu, yani babasal hat üzerinden ortaya çıkarılmaya çalışılmıştır. Bu amaçla, söz konusu kromozom üzerinde yer alan ZFY ve SMCY8 gen bölgeleri PCR yöntemi ile çoğaltılarak dizi analizleri yapılmış ve farklı filogenetik yaklaşımlar ile değerlendirilmiştir.

60 lokaliteden 12 farklı diploit kromozom ($2n = 36, 38, 40, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60$) sayısına sahip 65 erkek bireyin kullanıldığı çalışma sonucunda, ZFY gen bölgesi için 6, SMCY 8 gen bölgesi için ise 8 farklı haplotip tespit edilmiştir. İki gen bölgesi için de yapılan filogenetik analizler benzer örüntüler verirken, Anadolu'da yayılış gösteren *Nannosplax xanthodon* popülasyonunun genetik olarak iki ana gruba ayrıldığı net şekilde görülmektedir. Özellikle İç Anadolu ve çevresini kapsayan merkez popülasyonunun daha önceki çalışmalarda da belirtildiği şekilde diğer örneklerden ayrıldığı görüşü desteklenmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Nannosplax xanthodon*, Körfare, Filogenetik, Y kromozomu, ZFY, SMCY 8, Anadolu.

Mayıs, 2019; 59 sayfa

M.Sc. THESIS

**Y-CHROMOSOME SEQUENCE VARIATIONS IN THE *NANNOSPLAX*
XANTHODON (Nordmann, 1840) SPREADING IN ANATOLIA**

Ekrem Tınaz

**Aksaray University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biyoloji**

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Tolga KANKILIÇ

ABSTRACT

Mole rats are represented by three species in the Republic of Turkey according to the general opinion. Although Turkey is a source of mole rat genes, studies have mainly focused on the chromosome and morphology was made a limited number of genetic studies.

In this thesis, the genetic differences between the populations of *Nannosplax xanthodon* species which have a wide spread area in Anatolia have been tried to be revealed for the first time on the Y chromosome, that is, on the paternal line. For this purpose, ZFY and SMCY 8 gene regions on the chromosome Y were amplified by PCR method and sequence analyzes were performed and evaluated with different phylogenetic approaches.

As a result of the study using 65 male subjects with 12 different diploid chromosomes ($2n = 36, 38, 40, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60$) from 60 localities, 6 for ZFY and 8 different haplotypes were detected for the SMCY 8 gene region. While phylogenetic analyzes performed for two gene regions give similar patterns, it is clearly seen that *Nannosplax xanthodon* species distributed in Anatolia is genetically divided into two main groups. In particular the view that separated from the other sample as stated in previous studies of population centers including Turkey and the surrounding interior is supported.

Keywords: *Nannosplax xanthodon*, Mole Rats, Phylogenetic, Chromosome Y, ZFY, SMCY 8, Anatolia.

May, 2019; 59 pages

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 Jeolojik devirler tablosu	5
Şekil 2.2 <i>Nannosplax xanthodon</i> 'un yayılış haritası (IUCN)	12
Şekil 2.3 <i>Nannosplax xanthodon</i> türüne ait bir birey	13
Şekil 2.4 Y kromozomu genleri	14
Şekil 2.5 Darwin'e ait B kodlu not defterinin 36. Sayfasında yer alan çizim.....	17
Şekil 3.1 DNA izolatlarının agaroz jel görüntüsü	24
Şekil 3.2 SMCY 8 gen bölgesi PCR ürününün agaroz jel görüntüsü	27
Şekil 3.3 ZFY gen bölgesi PCR ürününün agaroz jel görüntüsü	28
Şekil 4.1 ZFY gen bölgesi dizileriyle oluşturulan Neighbor Joining ağacı.....	34
Şekil 4.2 ZFY gen bölgesi dizileriyle oluşturulan Maksimum olasılık ağacı	34
Şekil 4.3 ZFY gen bölgesi dizileriyle oluşturulan Bayesian Interference ağacı.....	35
Şekil 4.4 SMCY 8 gen bölgesi dizileriyle oluşturulan Neighbor Joining ağacı	35
Şekil 4.5 SMCY 8 gen bölgesi dizileriyle oluşturulan Maksimum Olasılık ağacı ..	36
Şekil 4.6 SMCY 8 gen bölgesi dizileriyle oluşturulan Bayes ağacı	36
Şekil 4.7 ZFY gen bölgesi dizileriyle oluşturulan Network ağacı.....	37
Şekil 4.8 SMCY 8 gen bölgesi dizileriyle oluşturulan Network ağacı	38
Şekil 4.9 Çalışmada kullanılan örneklerin kromozomal dağılımı	41
Şekil 4.10 SMCY 8 gen bölgesinin analizine göre mevcut haplotip dağılımı	42
Şekil 4.11 ZFY gen bölgesinin analizine göre mevcut haplotip dağılımı	43

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1 Çalışmada kullanılan örnekler	22
Çizelge 3.1 (devam) Çalışmada kullanılan örnekler	23
Çizelge 3.1 (devam) Çalışmada kullanılan örnekler	24
Çizelge 3.2 Çalışılan primerlerin listesi	26
Çizelge 4.1 ZFY dizilerinde nükleotitler arasındaki transisyon ve transversiyon değişim oranları	30
Çizelge 4.2 SMCY 8 dizilerinde nükleotitler arasındaki transisyon ve transversiyon değişim oranları	31
Çizelge 4.3 ZFY ve SMCY 8 gen bölgelerinin analiz sonuçlarına göre belirlenen haplotipler	32
Çizelge 4.3 (devam) ZFY ve SMCY 8 gen bölgelerinin analiz sonuçlarına göre belirlenen haplotipler	33



SİMGELER VE KISALTMALAR

AIC	Akaike information criterion
BIC	Bayesian information criterion
bp	Baz çifti (base pair)
DBY	Dead Box Y gene
DNA	Deoksiribonükleik asit
H	Haplotip sayısı
Hd	Haplotip çeşitliliği
IUCN	Uluslararası Doğal Hayatı ve Doğal Kaynakları Koruma Birliği
K	Pairwise nükleotit farklılıkları ortalaması
mb	Milyon Baz
MCMC	Markov Chain Monte Carlo
mtDNA	Mitokondriyal DNA
NF	Kromozom Kol Sayısı
NFa	Otozomal Kromozom Kol Sayısı
NOR	Nükleolar Organizasyon bölgeleri
RAPD	Rastgele Çoğaltılmış polimorfik DNA
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
rpm	Round Per Minute
rRNA	Ribozomal RNA
S	Segregating site
YCATS	Y Chromosome conserved anchored tagged sequence
µl	Mikrolitre
°C	Santigrat Derece

1. GİRİŞ

Türkiye, Palearktik bölgede yüksek tür zenginliğine sahip, Akdeniz havzası, Kafkaslar ve İran-Anadolu gibi 3 önemli 'biyoçeşitlilik sıcak noktası' nın (hotspots) paydaşı olan bir ülkedir. Anadolu, çeşitliliğini çok sayıda abiyotik faktöre, toprak kullanım tarihine ve Asya, Avrupa ve Afrika için önemli biyolojik geçiş yollarından biri olmasına borçludur. Ayrıca, son buzul döneminde Avrupa'daki bazı bitki ve hayvanlar için sığınak görevi görerek evrimsel bir rol oynamıştır ve dolayısıyla tür içi çeşitliliğin merkezidir. Anadolu, halen tür bakımından zengin yarı doğal bozkırlar ve bozkır ormanları bulunan geniş bir alanı kaplar (Ambarlı vd., 2016).

Anadolu özelinde Türkiye, son dönemlerde hem jeolojik olaylar bakımından hem de klimatolojik bakımdan dünyanın en hareketli bölgesini oluşturmuştur. Volkanik faaliyetler, fay hareketlerine bağlı olarak kırılmalar, kıvrılmalar, buzul ve buzul arası dönemler, göçler ve antropolojik etkiler, Anadolu'daki canlıların gen yapısını başka hiçbir ülkeyle karşılaştıramayacak derecede karıştırmıştır. Sonuçta, birçok araştırmacının kabul ettiği gibi, Anadolu bir alttür ve alttür altı çeşitlenmeler cenneti olmuştur (Demirsoy, 2002).

Dünya genelindeki 250'den fazla kemirgen türü yaşamlarının büyük bölümünü kendi inşa ettikleri yuvalarda geçirirler. Yeraltı ekotopları karanlık, mikroklimatik olarak kararlı, hipoksik ve hiperkapniktir ve yer üstünde bulunan çoğu duyuşal ipucundan yoksundur. Yuvalar yırtıcılara, iklimsel aşırılık ve dalgalanmalara karşı sığınak sağlar, ancak kazma işlemi enerjisel olarak maliyetlidir ve toprağın verimi nispeten düşüktür, çünkü besin kaynakları çoğunlukla tahmin edilemez ve düzensiz şekilde dağılmıştır. Yer altı kemirgenleri, yiyecek arama, çiftleşme ve üreme gibi birçok olayın yeraltında gerçekleştiği eşsiz yaşam tarzları için birçok yönden uzmanlaşmıştır (Begall vd., 2007).

Stresli yeraltı ekosistemi, aynı zamanda birçok olumsuz faktörden korunmuş yeraltı memelilerini ortaya çıkarmıştır. Tüm yeraltı memelileri, ortak bir ekotop ile konvergent moleküler ve organizmal adaptasyonları paylaşırlar. Yer altı ekotopunun başlıca belirleyicileri, özelleşme, rekabet ve izolasyondur. Bu özellikler, tüm organizasyonel seviyelerdeki adaptasyonları yeraltındaki memeli yaşamı için yerel

olarak optimize eden, evrimsel kalıp ve süreçlere yol açmıştır (Begall vd., 2007).

Körfareler toprakaltı yaşama adapte olmuş küçük memelilerdir (Méhely, 1909; Topachevskii, 1969; Savić ve Nevo, 1990). Vücutları silindirik şekillidir. Kulak kepçeleri bulunmaz. Kuyrukları körelmiştir ve tamamen kördürler. Bütün hayatlarını yeraltına inşa ettikleri tünel sistemlerinde geçirirler (Topachevskii, 1969).

Körfareler, izole topluluklarda yaşayan yalnız hayvanlardır. Ekili arazilerde, seyrek ormanlık alanlarda, bozkırlarda ve dağ yamaçlarında bulunurlar, yoğun ormanlarda görülmezler. Yaşam alanları kazıya elverişli topraklarla sınırlıdır ve ekinlere zarar verdikleri için bazı dağılım alanlarında zararlı olarak değerlendirilirler (Savić, 1982; Savić ve Nevo 1990; Nevo, 1993; Sözen, 2005; Yiğit vd., 2006; Kryštufek ve Vohralík, 2009; Arslan vd., 2016).

Körfareler herbivordur. Çoğunlukla bitki kökleri, yumru ve rizomlarıyla beslenirler. Toprağı kazmak için kesici ön dişlerini, kürek olarak da alt çenelerini kullanırlar. Agresif davranış yapılarından dolayı dağılımları parçalıdır (Savic vd., 2017). Oldukça tekdüze bir dış görünüme sahip olmaları nedeniyle sistematik yapıları son yüzyılda sıkça tartışılmıştır. Diğer kemirgen gruplarına kıyasla, yaşam biçimlerinden kaynaklanan koşullar morfolojik çeşitliliği azaltmıştır. Bu nedenle tüm türler hem eksternal olarak hem de osteolojik olarak oldukça benzerdir (Nevo, 2000).

Körfarelerin filogenisi ve sistematik yapısı üzerinde uzun zamandır süregelen bir tartışma ve anlaşmazlık mevcuttur (Savić ve Nevo, 1990; Musser ve Carleton, 2005). Taksonlar arası ilişkiler, morfolojik özelliklerin yakınlığı ve moleküler verilerin uyumsuzluğundan dolayı çözülememiş, bu nedenle de araştırmacılar arasında henüz bir görüş birliğine varılamamıştır.

Körfare sistematigi alanındaki ilk kapsamlı çalışma Méhely (1909), tarafından yayınlanmıştır. Kafatası ve diş yapıları arasındaki küçük farklılıkları incelediği bu çalışmada Méhely körfareleri 3 alt cinse ve 14 alttürden oluşan 8 türe ayırmıştır. Daha sonra Ellerman ve Morrison-Scott, (1951) tarafından yapılan çalışmada körfarelerin tek bir cins ve 3 türden oluştuğu belirtilmiştir (Csorba vd., 2015).

Körfare sistematigi konusundaki bir sonraki temel çalışma ise yüzlerce örneği inceleyen ve Méhely, (1909) ile aynı sonuçlara ulaşan Topachevskii (1969),

tarafından yayınlanmıştır. Bu eski sınıflandırma şeması güncel çalışmalarda da (Németh vd., 2009; Arslan vd., 2011; Kryštufek vd., 2012; Chisamera vd., 2013) kabul görmüştür. Bununla beraber sitogenetik (Lyapunova vd., 1971) ve moleküler genetik (Hadid vd., 2012) araştırmalar familya içindeki derin taksonomik farklılıkları desteklemiş ve iki cinsin (*Spalax* ve *Nannospalax*) varlığını göz önüne almıştır (Csorba vd., 2015).

Genel olarak *Nannospalax* cinsinin Türkiye’de üç türü yaşadığı belirtilmektedir. Trakya’da *N. leucodon*, Anadolu’da batıdan doğuya kadar uzanan alanda *N. xanthodon* ve Güney Doğu Anadolu bölgesinde ise *N. ehrenbergi*. Bu üç türe ait, Anadolu ve Trakya’dan farklı kromozom yapısında olan 50’den fazla sitotip kaydedilmiştir. Ancak bu tür ve sitotiplerin taksonomik durumları tartışmalı olup, yüksek çeşitliliği oluşturan süreçler hakkında bilgiler yetersiz kalmaktadır.

Türkiye körfarelerinde çok sayıda bireyin kullanıldığı geniş örneklemli morfolojik çalışmalar yapılmıştır, fakat morfometrik özelliklerle farklılıkların çözülmesi zordur (Kankılıç vd., 2017).

Sunulan bu tez çalışması ile Anadolu’da yayılış gösteren *Nannospalax xanthodon*’ un farklı lokalitelerdeki popülasyonlarında Y kromozom dizilerinin farklılıkları araştırılmış ve bu popülasyonlar arasındaki filogenetik ilişkiler babasal hat (Y kromozomu) üzerinden ortaya konulmuştur.

2. LİTERATÜR ÖZETİ

2.1 Körfareler (*Spalacidae*)

Spalacidae familyası toprak altı yaşama adapte olmuş kazıcı kemirgenleri içerir. Gözlerinin bulunmayışı ve kulak kepçelerinin körelmiş olmasıyla diğer kemirgenlerden ayrılırlar (Coşkun ve Ulutürk, 2004).

Spalacidae temsilcileri günümüzde Güneydoğu Avrupa, Anadolu, Kafkasya, Transkafkasya, Ukrayna, Ermenistan, Suriye, Filistin, İsrail, Irak, Ürdün ve Kuzey Afrika'da yayılış göstermektedir (Corbet, 1978; Savic ve Nevo, 1990; Harrison ve Bates, 1991; Wilson ve Reeder, 2005).

Son dönemlerde yapılan taksonomik çalışmalara göre mevcut 8 türle temsil edilmelerine rağmen körfarelerin 70'den fazla farklı kromozom formuna ya da sitotipine bölünebileceği kabul edilir. Bu durum memeliler arasında oldukça istisnai bir durumdur (Krystufek ve Vohralik, 2005; Yiğit vd., 2006; Arslan vd., 2016; Kankılıç vd., 2017).

2.1.1 Körfarelerin kökeni

Körfareler ilk olarak Balkanlar'da yaklaşık 24 Milyon yıl önce geç Oligosen döneminde (de Leeuw vd., 2011) ortaya çıkmış ve evrimsel geçmişleri boyunca mevcut dağılım aralığı ile sınırlı kalmışlardır (Kryštufek vd., 2012). Dahası bulundukları alanlar giderek azalmaktadır. Bu nedenle günümüzde Almanya, Avusturya, Polonya, Batı ve Orta Macaristan, Güney Yunanistan ve Ege adalarının toprakları artık bu canlılar tarafından terk edilmiş durumdadır. (Savic ve Nevo, 1990; Savic vd., 2017).

Anadolu körfareleri ise geçmişi erken miyosene uzanan uzun ve kesintisiz bir fosil kaydına sahiptir (Ünay, 1996). Genel kanı, mevcut körfarelerin Pliosen'in Ruscian periyodunda nesli tükenen *Pliospalax*'tan oluştuğu yönündedir (Kowalski vd., 2001; Kryštufek vd., 2012).

DEVİR	ZAMAN	DÖNEM	BÖLÜM	
Fanerozoik Devir (545s myö-günümüz)	Senezoik (65.5 myö-günümüz)	Kuaterner (1.8 myö-günümüz)	Holosen (0.01 myö-günümüz)	
			Pleyistosen (1.8 myö-0.01 myö)	
		Neojen (23.03 myö-1.8 myö)	Pliyosen (5.33 myö-1.8 myö)	
			miyosen (23.03 myö-5.33 myö)	
			Oligosen (33.9 myö-23.03 myö)	
		Paleojen (65.5 myö-23.03 myö)	Eosen (55 myö-33.9 myö)	
			Oalosen (65.5 myö-55 myö)	
	Mesozoyik (251.4 myö-65.5 myö)	Kretase (145.5 myö-65.5 myö)		
		Jura (199.6 myö-161.2 myö)		
		Trias (251 myö-199.6 myö)		
	Paleozoik (542 myö-251.4 myö)	Permien (299 myö-251 myö)		
		Karbonifer (359 myö-299 myö)		
		Devoniyen (416 myö-359 myö)		
		Silüriyen (443 myö-416 myö)		
		Ordovisyen (490 myö-443 myö)		
		Kambriyen (542 myö-490 myö)		
	Kambriyen Öncesi (4.5 milyar -542 milyon yıl öncesi)	Proterozoik Devir (2.5 milyar yıl önce-542 milyon yıl önce)		
		Arkeyan Devir (3.6-2.5 milyar yıl önce)		
	myö: milyon yıl önce			

myö: milyon yıl önce

Şekil 2.1. Jeolojik devirler tablosu.

2.1.2 *Spalacidae* familyasının filogenisi ve taksonomik durumu

Körfarelerin taksonomisini ve filogenisini aydınlatmak için daha çok morfolojik yaklaşımlar kullanılmıştır (Topachevskii, 1969; Kıvanç, 1988; Nevo vd., 1988b; Coşkun, 1998; Kankılıç vd., 2006, 2014; Puzachenko, 2006; Korobchenko ve Zagorodniuk, 2009; Németh vd., 2013a). Bununla birlikte, toprak altı yaşam biçimlerinden kaynaklanan homojen bir dış görünüşe sahip olmaları sınırlı değerinde bilgi sağlamaktadır (Arslan vd., 2016).

Körfarelerin taksonomisinde morfolojik ve karyolojik özelliklere dayanan iki farklı görüş öne çıkmaktadır. Birincisi, *monogeneric* (tek cinsli) model iken diğer görüş körfarelerin büyük ya da küçük gövdeli olarak ayrılmasına dayanan *two-generic* (iki cinsli) görüştür. Bu iki cinsin taksonomik farklılığı ve monofiletik geçmişi güncel moleküler kanıtlarla desteklenmektedir. Oldukça benzer olmalarına rağmen, büyük gövdeli körfare cinsi *Spalax* (Guldenstaedt, 1770), küçük gövdeli körfare cinsi *Nannospalax*'tan (Palmer, 1903) belirgin morfolojik farklılıklar ile ayırt edilebilmektedir (Savic vd., 2017).

Savić ve Nevo, (1990); Musser ve Carleton, (2005); Kryštufek ve Vohralík, (2009); *Spalacidae*'yi sadece *Spalax* cinsini içeren monogenerik bir familya olarak değerlendirirken, diğer bazı araştırmacılar familyayı *Spalax* (Güldenstaedt, 1770) ve *Nannospalax* (Palmer, 1903) olmak üzere iki ayrı cinse ayırmışlardır (Topachevskii, 1969; Savić, 1982; Savić ve Soldatović, 1984; Németh vd., 2009, 2013a). *Spalax* cinsi, yüksek diploid kromozom sayılı karyotiplere sahip türler içerirken ($2n = 60$ ya da 62), *Nannospalax* cinsi, karyotipleri son derece değişken ($2n = 36-62$) türleri içerir (Topachevskii, 1969; Lyapunova vd., 1974; Savić ve Soldatović, 1984; Arslan vd., 2016). Aynı zamanda *Spalax* daha fazla sayıda subtelosentrik kromozom sayısına sahiptir. (*Spalax* NF= 116-124 ve *Nannospalax* NF= 72-98) (Lyapunova vd., 1971; Savić ve Nevo, 1990; Németh vd., 2009; Kandemir vd., 2012).

Yapılan çok sayıda çalışmaya rağmen körfare türleri, kromozomal formlar ve mevcut popülasyonlar arasındaki filogenetik ilişkiler net bir çözüme ulaşmamıştır. Bununla birlikte, mevcut analizlerden bazı önemli bulgular ortaya çıkmaktadır. *Spalacidae* familyasının iki büyük soy hattı olan *Spalax* ve *Nannospalax* cinslerinin monofiletik karakterinin doğrulandığı görülmektedir (Topachevskii, 1969; Hadid vd., 2012; Chişamera vd., 2014).

Körfareler, fosil (Hofmeijer ve de Bruijn, 1985) ve genomik (Catzeflis vd., 1989) kayıtlara göre Anadolu'dan orjinlenmesine rağmen Türkiye körfarelerinin genetik yapısı üzerine az sayıda çalışma gerçekleştirilmiştir. Aynı şekilde Türkiye'de dağılım gösteren farklı kromozomal formların filogenisi ve taksonomisi de belirsiz durumdadır. Bu karmaşıklığı gidermek için bugüne kadar Türkiye'deki bazı kromozomal formlar arasında, morfolojik (Kıvanç, 1988; Kankılıç vd., 2006), sitogenetik veriler ile (Sözen vd., 2006a; Ivanitskaya vd., 2008; Kankılıç vd., 2007a; Arslan vd., 2010a), allozim (Nevo vd., 1994, 1995; Kankılıç vd., 2005), rRNA ve mtDNA (Nevo ve Beiles, 1992; Nevo vd., 1993; Arslan vd., 2010b) varyasyonları araştırılmıştır (Kankılıç vd., 2013).

Türkiye körfareleri yerel ölçekte bile yüksek genetik çeşitlilik göstermektedir. Bununla beraber atasal popülasyonları içeren Türkiye körfareleri birbirlerinden oldukça farklılaşmıştır. Diploid kromozom sayılarının artan bozkır koşullarıyla pozitif korelasyon içinde olduğu gösterilmiştir (Kankılıç vd., 2013).

Körfarelerin taksonomisi moleküler ve koromozomal dataların eşleştirildiği, morfolojik, fizyolojik ve davranışsal bilgilerle desteklenen modern bir revizyona ihtiyaç duymaktadır (Savic ve Nevo, 1990; Krystufek ve Vohralik, 2009; Kandemir vd., 2012).

2.1.3 Körfarelerde türleşme ve kromozomal evrim

Spalacidae familyası, türleşme olaylarını incelemek için olağanüstü ilginç bir model sunmaktadır. Ne yazık ki, bugüne kadar genetik çeşitliliği ve yapısı hakkında sadece çok az bilgi elde edilmiştir (Kankılıç vd., 2013).

Türkiye'nin coğrafi özellikleri bir izolasyon mekanizması gibi rol oynamakta ve kromozomal formların ayrılmasına yol açmaktadır. Buna rağmen Türkiye'deki birçok kromozomal soy herhangi bir bariyer olmadan farklılaşmıştır.

Körfareler tüm hayatlarını yeraltında geçirirken yer üstündeki iklimsel dalgalanmalara ve predatörlere karşı korunmaktadır. Bununla birlikte, karanlık, enerji gereksinimi, hipoksi, hiperkapni, gıda kıtlığı ve patojenite de dahil olmak üzere birçok stresle karşılaşır (Arslan vd., 2016).

Nevo vd., (1994b), Anadolu ve Orta Doğu'daki kör farelerin kromozomal türleşme ve adaptif yayılımının, ekolojik stresin artışı ile korelasyon gösterdiği ve bu korelasyonun mevcut taksonların tüm üyelerini kapsadığı görüşünü belirtmiştir. Ivanitskaya vd., (2005) ve Matur vd., (2011, 2013), körfarelerde kromozomal füzyonu karyotip evriminin ana kaynağı olarak değerlendirmiştir.

Körfarelerdeki kromozomal evrimin yönü, kuraklık derecesi arttıkça diploid kormozom sayısının da artışı şeklindedir (Nevo vd., 1994b, 1995). Bu hipotez Matur vd., (2011) tarafından eleştirilmiştir. Türkiye ile birlikte İsrail, Kuzey Afrika, Balkanlar, Ukrayna ve Rusya'da en çok diploid sayıya sahip olan türler ve formlar en kurak ve nemsiz bölgelerde yaşarken, en düşük diploid sayılara sahip formlar, dağılım alanının en nemli bölgelerinde ortaya çıkmaktadır (Arslan vd., 2016).

Körfarelerdeki oldukça karmaşık karyotip evrimi çeşitli türdeki kromozomal yeniden düzenlemeleri içerir. Robertsonian mutasyonlar (füzyonlar ve fizyonlar), perisentrik inversiyonlar, sentromerik kaymalar ve C-heterokromatin içeriğindeki değişiklikler

bu gruptaki kromozomal evrim mekanizmalarıdır. Aynı zamanda NOR bölgelerinin pozisyonel değişiminin körfarelerdeki evrimde önemli bir rolü olabilir (Ivanitskaya vd., 1997, 2008; Nevo vd., 2000; Arslan vd., 2014a; Arslan ve Zima, 2015a, b).

Genel görüşe göre Robertsonian mutasyonlar, körfarelerde diploid kromozom sayısındaki değişimin ana mekanizmasıdır ve farklılaşma süreci muhtemelen peripatriktir (Nevo, 1991; Sözen, 2004). Öte yandan Nevo, (1991) ve Nevo vd., (1994b, 1995, 2000) iki kollu akrosentrik kromozlardaki fizyonların kromozom sayısını arttırmasını, kör farelerde kromozomal evrimin başlıca mekanizması olduğunu ileri sürmüştür. Bu görüşe göre, en düşük diploid kromozom sayısı ($2n=38$) atasal form olarak kabul edilerek evrimleşmenin düşükten yüksek kromozom sayısına doğru olduğu ileri sürülmüştür (Sözen, 2004; Hadid vd., 2012). Kromozomal evrimleşme konusundaki diğer görüşe göre ise, değişim atasal form olan en yüksek diploit formdan ($2n=60$) düşük diploit sayılı formlara doğrudur (Ivanitskaya vd., 2008; Matur vd., 2013; Matur vd., 2019).

Mevcut körfare taksonlarını ayırt etmek için kullanılabilecek evrensel kromozom farklılıklarını bulmak oldukça zordur. *Spalax* cinsinde sınıflandırılan türlerin karyotipindeki hemen hemen tüm otozomal kromozom çiftleri iki kollu olarak ayırt edilirken, *Nannospalax* içinde sınıflandırılan 60 kromozomlu popülasyonlar çoğunlukla akrosentrik otozomal kromozomlar içerir. Körfarelerdeki karyotiplerin inanılmaz çeşitliliği, bireysel kromozom formları arasındaki hibridizasyon sorununu ortaya çıkarır. Şaşırtıcı şekilde, hibrit türler yalnızca zaman zaman görülür ve dağılım alanının büyük bölümlerinde bulunmazlar (Arslan vd., 2016). Örneğin balkan popülasyonlarında hiç hibritleşme görülmemiştir. Bu durum parapatrik oluşumların görüldüğü nadir alanlarda hatta temas bölgelerinde bile doğrulanmış durumdadır (Savić ve Soldatović, 1984).

Türkiye’de hibrit türler oldukça nadir görülür (Nevo vd., 1995; Ivanitskaya vd., 1997; Sözen 2004; Sözen vd., 2006a, 2013). Tek istisna, Doğu Anadolu'nun ortasında bulunan muhtemelen hibrit karyotipe sahip ($2n=49$) üç heterozigot bireydir (Coşkun vd., 2010b).

Formlar arasındaki hibridizasyonun düzenli olarak görüldüğü tek bölge İsrail'dir (Wahrman vd., 1969a, b; Ivanitskaya vd., 2010).

Savić ve Soldatović, (1984), çeşitli formlarda çaprazlama deneyleri yapmış ancak bazı denemelerde çiftleşme bile olmamıştır. Bu, farklı karyotiplere sahip popülasyonlar arasında güçlü bir çiftleşme bariyeri olduğunu düşündürmektedir. Körfarelerde kromozomal değişikliklerle üretilen üreme izolasyonu mekanizmaları hakkındaki bilgilerimiz hala oldukça sınırlıdır. Çiftleşme öncesi olası izolasyon mekanizmalarının varlığıyla ilgili az sayıda bilgi vardır (Arslan vd., 2016).

2.1.4 Koruma durumu

Taksonomik belirsizlik yanında körfare taksonlarının koruma statüsünün belirlenmesi, popülasyon büyüklüklerini değerlendirmeyi güçleştiren toprakaltı yaşam tarzları tarafından engellenmektedir (Csorba vd., 2015).

Uluslararası Doğal Hayatı ve Doğal Kaynakları Koruma Birliği (IUCN) tarafından hazırlanan kırmızı listede, körfarelerin sadece 3 türü kabul görür ve bu 3 tür '*Data Deficient*' (Yetersiz Veri) kategorisi altında değerlendirilir (Savic vd., 2017).

Pek çok popülasyonun doğal yaşam alanlarının kaybolması ve parçalanması nedeniyle ciddi tehdit altında olduğu açıktır. Bu durum, küçük boyutlu ve endemik popülasyonların ortaya çıkmasına neden olur. Çözülmemiş taksonomik problemler, doğru korumaya yönelik değerlendirmelerde ciddi dezavantaj oluşturmaktadır (Németh vd., 2013b; Csorba vd., 2015; Arslan vd., 2016).

2.2 *Nannospalax* (Palmer, 1903)

Nannospalax cinsi, düşük diploid sayılı çok sayıda akrosentrik kromozoma sahip küçük gövdeli türlerden oluşur. Palearktik memelilerin 26 cinsi arasında, bu cins en yüksek karyotip değişkenliğine sahip gruptur. *Nannospalax* türleri ve popülasyonları belirgin 2N ve NF çeşitliliği sergiler, ancak mevcut karyotipleri hangi olayların şekillendirdiği net değildir (Savic vd., 2017).

Nannospalax cinsinin Anadolu'dan köken aldığı varsayılmaktadır (Savic ve Nevo, 1990). Günümüzde bu cinsin üyeleri; Güneydoğu Avrupa, Karadeniz ve Hazar Denizini çevreleyen Güneybatı Rusya ve Ukrayna, Anadolu, Kafkasya, Ortadoğu'nun Akdeniz kıyıları ve Kuzeydoğu Afrika boyunca dağılım göstermektedir (Wilson ve Reeder, 2005; Kankılıç ve Gürpınar, 2014).

Nannospalax' ların Avrupa'da kabul edilen tür sayıları 1 ile 14 arasında değişmektedir. Ancak birçok araştırmacı sadece üç tür tanımlamaktadır. Bunlar, Güneydoğu Avrupa'da yaşayan ve Akdeniz Körfaresi olarak isimlendirilen *N. leucodon* (Nordmann, 1840); Transkafkasya, Anadolu'nun büyük bölümü ve bazı Ege adalarında yaşayan ve Anadolu körfaresi olarak isimlendirilen *N. xanthodon* (Nordmann, 1845) (sinonimi: *N. nehringi* (Satunin, 1898); son olarak da Türkiye, Güneydoğu Anadolu, Irak, Suriye, Lübnan, İsrail, Ürdün ve Mısır'da yaşayan İsrail Körfaresi (Savic vd., 2017).

Morfolojiye dayalı çalışmalar *Nannospalax*'ın Türkiye'de bu üç türle temsil edildiğini göstermektedir (Wilson ve Reeder, 2005; Kankılıç ve Gürpınar, 2014). 30 farklı kromozom formuna ($2n= 32-62$, $NFa= 64-84$) sahip olan *Nannospalax xanthodon* (Nordman, 1840) Batı Anadolu'dan Doğu Anadolu'ya kadar uzanan bölgedeki bireyleri içerir (Nevo vd., 1995; Sözen, 2004; Sözen vd., 2006a, 2006b; Kankılıç vd., 2007a, 2007b, 2009, 2010). 12 farklı kromozom formuna ($2n= 48-58$, $NFa= 62-82$) sahip *Nannospalax ehrenbergi* bireyleri Güneydoğu Anadolu'da (Sözen vd., 2006b), 2 farklı kromozom formuna ($2n= 56$, $NFa= 72,74$) sahip *Nannospalax leucodon* bireyleri ise Trakya bölgesinde dağılım göstermektedir (Sözen, 2004; Sözen vd., 2006b; Kankılıç vd., 2013).

Birkaç araştırmacı, *N. xanthodon* ve *N. leucodon*'u, *N. leucodon* süper türü (Sözen vd., 2006; Nevo vd., 1995) veya ayrı bir *Mesospalax* cinsi olarak (Kryštufek vd., 2012) birleştirmiştir.

Cins içindeki en belirgin kromozomal çeşitlilik Türkiye körfarelerinde kaydedilmiştir. Anadolu'daki kurak ve yarı kurak bölgelerdeki Rodent faunasının önemli bir bileşenidirler (Kankılıç vd., 2013, 2017). Karyolojik çalışmalar, *Nannospalax*'ın Türkiye'de 30 dan fazla sitotipi olduğunu göstermiştir (Sözen vd., 2013)

Geçmiş çalışmalar *N. leucodon*'un Güneydoğu Anadolu hariç tüm Türkiye'de yayıldığını kabul ederken (Méhely, 1909; Ognev, 1947; Corbet, 1978; Kıvanç, 1988; Harrison ve Bates, 1991), Kryštufek ve Vohralik, 2009; Anadolu'da sadece *N.xanthodon* ve *N.ehrenbergi*'nin bulunduğunu belirtmiş ve *N.nehringi*, *N.xanthodon*'un sinonimi olarak değerlendirilmiştir. Bununla birlikte, *N.*

xanthodon'un Anadolu'daki geçerliliği hala tartışılmaktadır. *Nannospalax*'ın kromozomal çeşitliliğinin ana merkezi, sitotip çeşitliliğinin yaklaşık %60'ını barındıran Anadolu'dur. Türkiye körfarelerin gen kaynağı olmasına rağmen, yapılan çalışmalar ağırlıklı olarak kromozomlar ve morfoloji üzerine yoğunlaşmış, sınırlı sayıda genetik çalışma yapılmıştır. *Nannospalax* içindeki ilişkileri anlamaya yönelik allozimlerin (Nevo vd., 1995), RAPD'in (Kankılıç vd., 2013), mitokondriyal sekansların (Arslan vd., 2010; Hadid vd., 2012; Kandemir vd., 2012; Kryštufek vd., 2012) ve sitogenetik verilerin kullanıldığı (Ivanitskaya vd., 2008; Arslan vd., 2011) çalışmalar yapılmıştır (Kankılıç ve Gürpınar, 2014).

Anadolu, Körfarelerin kromozomal evrimindeki farklılaşma süreçlerinin temel alanı olarak değerlendirilebilir, zira üç *Nannospalax* da bu bölgede kaydedilmiştir. *Nannospalax* grubundaki kromozomal evrim mekanizmaları; Robertsonian yeniden düzenlemeler, C-heterokromatin eklemeleri ve silinmeleri, perisentrik inversiyonlar, sentromerik kaymalar, ökromatin delesyonları, NOR bölgelerinin pozisyonel değişimleri ya da tam kromozom kayıpları şeklinde gerçekleşmektedir. Genel olarak Robertsonian yeniden düzenlemeler, *Nannospalax*'daki kromozom değişikliklerinin ana mekanizması olarak düşünülür. Bu düzenlemelere neden olan faktör hala kesin olarak bilinmemekte ve detaylı kromozomal çalışmalara ihtiyaç olduğunu göstermektedir (Savic vd., 2017).

2.2.1 *Nannospalax xanthodon* (Nordmann, 1840)

Sinonimleri:

Nannospalax nehringi (Satunin, 1898)

Spalax munzuri (Coşkun, 2004)

Spalax nehringi (Satunin, 1898)

Spalax xanthodon (Nordman, 1840)

N. xanthodon Anadolu'nun büyük bölümünde yayılış gösterir ve bu takson diploid kromozom sayıları $2n = 36, 38, 40, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60$ ve 62 olan 30 farklı kromozom formu içerir (Arslan vd., 2016; Kankılıç vd., 2017). Bununla

beraber NF değerleri de 66-92 arasında değişmektedir (Nevo vd., 1994, 1995; Sözen vd., 1998a, 1998b, 1999, 2000a, 2000b, 2011; Coşkun, 2003, 2004; Matur ve Sözen, 2005; Kankılıç vd., 2005, 2007, 2010; Ivanitskaya vd., 2008; Aşan ve Yağcı, 2008; Matur vd., 2011; Sözen vd., 2013).



şekil 2.2. *Nannosplax xanthodon*'un yayılış haritası (IUCN).

Bazı alışmalar kromozomal formların her birinin tür düzeyinde genetik farklılıklara sahip olduğunu gösterirken (Nevo vd., 1995; Arslan vd., 2010b; Kandemir vd., 2012) bazı araştırmacılar da her kromozomal formun bir türe eşit olduğu yaklaşımını reddetmektedir (Kankılıç vd., 2014; Kankılıç ve Gürpınar, 2014).

Arslan vd. (2010b), mtDNA sitokrom b gen bölgesinin 630 baz çiftini içeren kısmıyla yaptığı çalışmada *N.xanthodon*'un 3 kromozomal formunun ($2n=40, 58$ ve 60) genetik farklılıklar gösterdiğini ve bu 3 formun ayrı türler olabileceğini belirtmiştir. Aynı şekilde Kandemir vd. (2012); sitokrom b gen bölgesinin 420 baz çiftini içeren başka bir kısmıyla yaptığı çalışmada, *N.xanthodon*'a ait 6 kromozomal formdaki popölasyonların yeni tür olduklarını gösteren önemli ölçüde farklı genetik özellikler tespit etmiştir.

Kankılıç vd., (2013)'e göre *N.xanthodon* 3 ana gruba ayrılmakta ve bu ayrımın Türkiye'deki coğrafi bölgeler ve ekolojik yapıyla da uyumlu olduğu görölmektedir. Çoğunlukla ülkenin batısında yer alan birinci grup düşük diploid kromozom sayısına sahip bireylerden oluşurken, daha çok orta Anadolu'da yayılan ikinci grup yüksek

diploid kromozom sayılı bireylerden oluşmaktadır. $2n=50$ diploid kromozom sayısına sahip diğer grup ise Türkiye'nin doğusunda insular yayılım göstermektedir.

Kankılıç vd., (2014) yaptıkları çalışmada *N.xanthodon*'un tüm Anadolu'da değil sadece batı Anadolu'da yayılım gösterdiğini belirlemiş, Türkiye'de 5 türün varlığından bahsetmiştir (Trakya'da *N. leucodon*, Güneydoğu Anadolu'da *N. ehrenbergi*, Doğu Anadolu'da *N. nehringi*, Batı Anadolu'da *N. xanthodon* ve Orta Anadolu'da *N. labaumei*).



Şekil 2.3. *Nannosplax xanthodon*'a ait bir birey (Fotoğraf: T. Kankılıç).

2.3 Y Kromozomu

Y kromozomu erkek bireylere özgü, düşük gen sayısına sahip bir kromozomdur. Genellikle baskın bir şekilde eşeyi belirler. Babadan oğula kalıtlanır ve bu nedenle dişilerde bulunmaz. Kromozoma dayalı eşey belirleme sistemine sahip birçok yüksek organizmada, tamamen haploid karakteristiğe sahip tek kromozomdur. Y kromozomunun rekombine olmayan bölgesi MSY olarak adlandırılır ve insanlarda kromozomun %95 ini oluşturur. Geri kalan %5 lik bölge kromozomun telomer ucunda yer alan pseudo-otozomal bölgedir ve PAR olarak adlandırılır. Mayoz sırasında X kromozomuyla beraber rekombine olur (Hellborg, 2004).

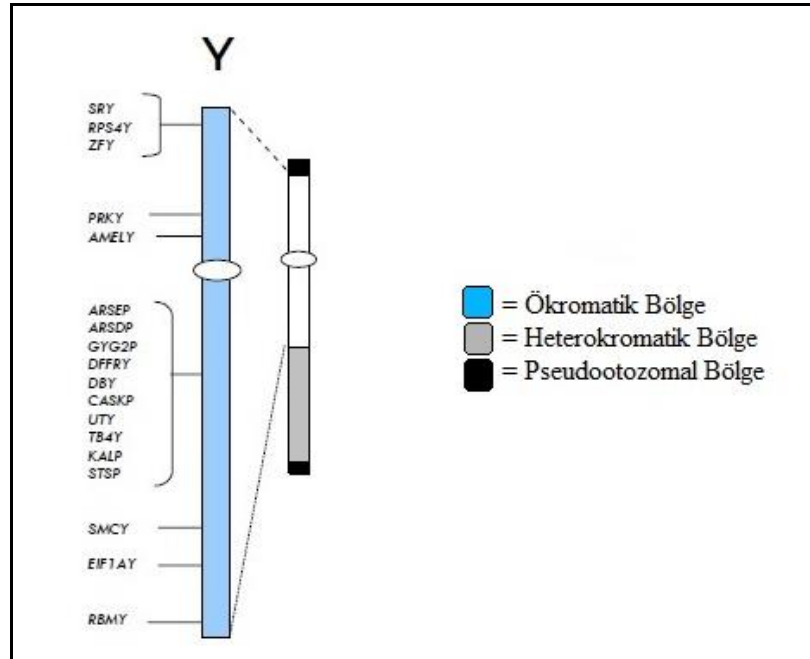
Y kromozomundaki birçok gen X kromozomundaki genlerle homologtur. Bununla birlikte genomdaki diğer kısımlardan transpozisyon ya da translokasyon yoluyla edinilmiş bazı çok kopyalı genler de mevcuttur (Skaletsky, 2003).

Bu eşsiz özellikler Y kromozomunu ilginç kılmakta ve popülasyon genetiği, evrim ve adli tıp gibi birçok alan için kullanışlı hale getirmektedir (Hellborg, 2004).

2.3.1 Memelilerde Y kromozomunun yapısı

Monotremeler (Tek delikliler) farklılaşmış ilk memeli soy hattıdır. Çok büyük heteromorfik Y kromozomlarına sahiptirler. Monotremelerin aksine Marsupialler (Keseliler) 12 mb çifti ve bir avuç genden oluşan çok küçük bir Y kromozomuna sahiptirler (Hellborg, 2004).

Birçok placentallı Y kromozomu genomdaki en küçük kromozomlardan biridir. Genellikle küçük bir ökromatik kısım ve büyüklüğü türden türe değişen heterokromatik bir bölge içerir (Leithe-Silva vd., 2003; Marchal vd., 2003; Nova vd., 2002; Toder vd., 1997; Wolf vd., 1965). Ökromatik kısım çoğu placentallı memeli ve keselilerde SRY dahil olmak üzere birkaç gen içerir (Marshall Graves 2002a; Toder vd., 2000a; Waters vd., 2001). DFFRY, SMCY, DBY, ZFY ve UTY birçok memeli ordosunda mevcut olan diğer 5 gendir (Murphy vd., 1999). (Şekil 2.4.)



Şekil 2.4. Y kromozomu genleri.

Spermatogenez sırasında bu bölgelerdeki mutasyonlar blokajla sonuçlandığı için bu genlerin önemli erkek spesifik işlevlere sahip oldukları düşünülmektedir (Mazeyrat vd., 1998).

Y kromozomunun gen içeriği ve genlerin konumu türler arasında çeşitlilik göstermektedir. Örneğin amelogenin geni sığırlarda PAR bölgesinde yer alırken insanlarda bu bölgede değildir (Liu vd., 2002). Farelerde amelogenin geni sadece X kromozomundaki bir kopyayla temsil edilirken (Chapman vd., 1991) monotremelerde ve marsupiallerde otozomal bir gendir (Watson vd., 1992).

Gen kopyalarının sayısı türler arasında farklılık gösterir. Örneğin farelerde, ZFY, Zfy1 and Zfy2 genleri iki kopya olarak bulunurken insanlarda birer kopyadır (Mazeyrat vd., 1998). Bazı türlerde Y kromozomunun tamamı kaybolmuştur (Just vd., 2002; Just vd., 1995; Vogel vd., 1998).

2.3.2 Y kromozomu belirteçlerinin geliştirilmesi

Erkek spesifik modellere odaklanan popülasyon genetiği ya da evrim çalışmaları, Y kromozomundan elde edilen genetik belirteçlere ihtiyaç duyar. Bu belirteçler, tür içi çalışmalarda polimorfik diziler şeklinde ya da herhangi bir Y kromozom spesifik dizi şeklinde de olabilir (Hellborg, 2004).

Yakın zamana kadar Y kromozom belirteçlerinin kullanımı neredeyse sadece insanlarla sınırlı kalmıştır. Y kromozomu polimorfizmlerini tanımlamaya yönelik ilk çalışmalarda; SINE (short interspersed nuclear element) ve LINE (long interspersed nuclear element) insersiyonları, tek nükleotid polimorfizmleri (SNPs), mikrosatellitler ve minisatellitler (Kayser vd., 2004) gibi Y spesifik belirteçler kullanılmıştır (Luo vd., 2007).

İnsan dışındaki memelilerin doğal popülasyonlarındaki Y kromozom polimorfizmlerinin araştırılması, uygun Y spesifik belirteçlerin eksikliği nedeniyle kısıtlanmaktadır. Bu belirteçlerin eksikliğinin nedenlerinden biri, Y kromozomunun seçici süpürme (selective sweep) ve/veya efektif popülasyon boyutundan kaynaklı düşük genetik çeşitliliğe sahip olduğu konusundaki yaygın varsayımdır (Dorit vd., 1995; Hellborg ve Ellegren, 2004). Mitokondriyal DNA'da olduğu gibi Rekombine olmayan Y kromozomu da otozomal DNA'nın dörtte biri kadar efektif popülasyon

büyüklüğüne sahiptir. Bu nedenle genetik sürüklenmeye duyarlı olduğu tahmin edilmektedir (Petit vd., 2002). İkinci sebep; bu kromozomda yüksek oranda bulunan gen konversiyonu, dejenerasyon ve tekrarlı diziler gibi oluşumların, Y spesifik genetik belirteçlerin tespitini zorlaştırmasıdır (Rozen vd., 2003; Skaletsky vd., 2003).

2.3.3 YCATS

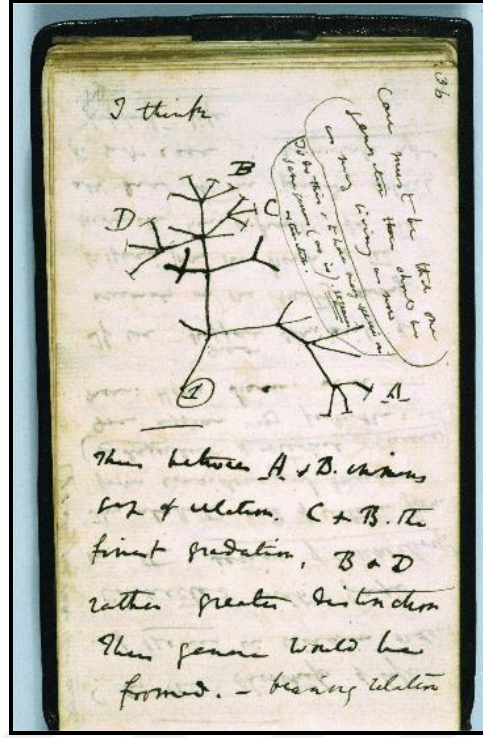
Popülasyon genetiği ve evrim çalışmaları, Y kromozomundan elde edilen genetik belirteçlere ihtiyaç duyan erkek spesifik modellere odaklanmıştır (Hellborg, 2004). Birçok türde Y kromozomu belirteçlerinin miktarı kısıtlıdır. Bu nedenle bu türlerdeki popülasyon genetiği çalışmalarında otozomal belirteçler ve mtDNA belirteçleri kullanılmaktadır.

O'Brien vd., (1993) ile Lyons vd., (1997) karakterize edilmemiş genomlardaki sekanslar için CATS bölgelerinin geniş ölçekli kullanımı kavramını dile getirdiler. CATS (comperative anchored tagged sequences) bölgeleri; bir organizmaya ait spesifik bir gen içindeki, bu geni veya bir başka türdeki varyasyonlarını tespit etmede bir belirteç görevi gören herhangi bir dizidir ve türler arasında büyük ölçüde korunmuş durumdadır. CATS yaklaşımı ile türler arasında dizi farklılıkları (polimorfizmler) tespit edilebilir veya genler haritalandırılabilir (Kahl, 2015). Sınırlı genetik bilgiye sahip türler ile insan ve fare gibi geniş genetik haritaya sahip türlerdeki bilgi faydalı hale getirilebilir (Lyons vd., 1999).

2.4 Moleküler Filogeni ve Filogenetik Yöntemler

Filogeni kelimesi; 'kabile' veya 'aile' anlamına gelen Yunanca kökenli *phyl* ile 'köken' anlamına gelen *geny* kelimelerinden oluşmuştur. Yaşamın tarihçesini, yani atalar ile onların soyları arasındaki kalıtsal bağlantıları ifade eder. Bir diğer deyişle yaşamın evrimsel tarihidir (Avice, 2006).

1837'de Darwin türlerin dönüşümüyle ilgili düşüncelerini kaydettiği deftere ilk filogeni tasvirlerini yapmıştır (Şekil 2.4).



Şekil 2.4. Darwin'e ait B kodlu not defterinin 36. Sayfası'nda yer alan çizim.

Bir filogeni üzerinde yer alan türler arasındaki evrimsel ilişkiler, paylaştıkları son ortak atadan itibaren geçen göreceli zaman ile tanımlanır. Birbirleriyle daha yakın bir ortak atayı paylaşan türler, kardeş türler (sister species) olarak değerlendirilir. Bu türler birbirlerinin yaşayan en yakın akrabalarıdır. Evrimsel ilişkiler, yalnızca ağaçtaki dallanma noktalarının düzeni ve bu düzende tanımlanan ortak ataların göreceli yaşları ile belirlenir (Herron ve Freeman, 2007).

Evrimsel bir ağaç hiçbir zaman ortaya çıkarılmış bir gerçeği ifade etmez. Sadece belirli bir teknikle analiz edilmiş belirli bir veri kümesine dayanan bir hipotezi ifade eder. Ancak belirli bir filogenetik ağaç için güçlü kanıtlar olduğunda, örneğin; çeşitli tekniklerle farklı araştırmacı ekipleri tarafından analiz edilen çoklu veri setleri aynı hipotezi destekliyorsa, bu ağacın iyi kurulduğunu söyleyebiliriz. Bu durumda bile ağacın geçici olduğu kabul edilmelidir (Herron ve Freeman, 2007).

Moleküler filogeniler, karşılaştırmalı çalışmaları desteklemek, biyocoğrafik hipotezleri test etmek, türleşmenin zamanlamasını değerlendirmek, nesli tükenmiş proteinlerin amino asit dizisini çıkarmak, hastalıkların gelişimini izlemek ve hatta kriminal vakalarda kanıt sağlamak için kullanılmaktadır (Linder ve Warnow, 2005).

2.4.1 Filogenetik analiz basamakları

Filogenetik çalışmaların doğası ve kapsamı önemli derecede değişebilir ve farklı veri setleri ve hesaplama yöntemleri gerektirse de, herhangi bir filogenetik analizde temel adımlar aynı kalır: Bir veri seti bir araya getirilip hizalanır. Hesaplama yöntemleri ve olasılıksal modeller kullanılarak dizilerden filogenetik ağaçlar oluşturulur. Tahmini ağaçlar istatistiksel olarak test edilir ve değerlendirilir (Durbin vd., 1998; Linder ve Warnow, 2005; Lio ve Goldman, 1998).

2.4.2 Filogenetik ağaç oluşturmak

Filogenetik ağaçlar, evrimsel içerik sağlayan veri setlerinden üretilir. Bu veriler; DNA, RNA veya amino asitlerin dizi hizalamalarından, tek nükleotid polimorfizmleri (SNP) veya restriksiyon fragman uzunluğu polimorfizmleri (RFLP) gibi moleküler belirteçlerden ya da morfolojik verilerden oluşabilir.

Filogenetik ağaçlar oluşturulurken, ağaç topolojisini belirlemek ve dizilerin filogenetik ilişkilerini en iyi tanımlayan dalların uzunluklarını hesaplamak için istatistiksel yöntemler uygulanır. Ağaçları oluştururken kullanılan birçok yöntem mevcuttur. Uygulanan en yaygın hesaplama yöntemleri arasında uzaklık matriksine dayalı yöntemler ile kesikli veri yöntemleri olarak tanımlanan yöntemler bulunur (Durbin vd., 1998; Li, 1997; Liò ve Goldman, 1998).

2.4.2.1 Uzaklık yöntemleri

Uzaklık matriksi yöntemleri diziler arasındaki mesafeleri hesaplar ve pratikte oldukça hızlıdır. Bu yöntemler, diziler arasındaki nükleotid veya amino asit yer değiştirme sayıları gibi evrimsel uzaklıkları hesaplamak için kümeleme teknikleri (Clustering) kullanırlar. Daha sonra, uzaklık değerleri arasındaki fonksiyonel ilişkilere dayalı algoritmalar kullanarak filogenetik ağaçlar oluştururlar (Durbin vd., 1998; Li, 1997).

Neighbor-Joining (NJ)

Dizi verilerini analiz etmek için sıklıkla kullanılan uzaklık temeline dayanan yöntemlerden biri *Neighbor Joining (NJ)*’tir (Saitou ve Nei, 1987). Bu yöntemde

hesaplama işlemi oldukça basittir. Algoritmada farklı topolojilerin karşılaştırması yer alır ve hem topoloji hem de dal uzunlukları ile son ağaç otomatik olarak üretilir (Miyamoto ve Cracraft, 1991). *Neighbor Joining*, hesaplama hızının sonuç benzersizliği ile birleştiği, ağaç oluşturma için yaygın olarak kullanılan bir çeşit kümeleme (Clustering) yöntemidir. Bu yöntemin çoğu uygulaması tek bir ağaç verir (Page ve Holmes, 1998).

2.4.2.2 Kesikli veri yöntemleri

Kesikli veri yöntemleri, çoklu dizi veri setinin her bir sütununu ayrı ayrı inceler ve bu bilgileri en iyi temsil eden ağacı bulmaya çalışır. Uzaklığa dayalı yöntemler, kesikli veri yöntemlerinden çok daha hızlı olma eğiliminde olsalar da, temel ağaç yapısının dışında genellikle daha az bilgi verirler. Diğer taraftan, kesikli veri analizleri bilgi açısından zengindir. Bu yöntemler hizalamadaki her sütun için ayrı bir ağaç oluşturur, bu nedenle belirli bir dizi içindeki spesifik ögelere ait evrimsel geçmişi izlemek mümkündür (Hall, 2004; Li, 1997; Linder ve Warnow, 2005; Liò ve Goldman, 1998).

Kesikli veri yöntemlerinin genellikle evrimsel tarihe dair en iyi değerlendirmeleri ürettiği düşünülür. Bununla birlikte, bu yöntemler hesaplama açısından külfetli olabilir ve büyük veri kümeleri için makul bir doğruluk düzeyi elde etmek haftalar veya aylar sürebilir (Linder ve Warnow, 2005).

Maksimum Parsimoni (MP)

En yaygın kullanılan ağaç tahmin tekniklerinden maksimum parsimoni, minimum sayıda evrimsel değişiklik gözlemlenen ağacı oluşturmak için bir dizi algoritma uygular. Maksimum parsimoni algoritmaları, filogenetik olarak bilgilendirici alanları tanımlar.

Bu yöntemde, atasal türlerin DNA (veya amino asit) dizileri, belirli bir ağaç topolojisi göz önüne alınarak, mevcut türlerin DNA dizilimlerinden çıkarılır ve diziler arasında gözlemlenen tüm farkları açıklamak için gereken minimum evrimsel değişiklik sayısı hesaplanır. Bu sayı tüm olası topolojiler için elde edilir ve en az sayıda evrimsel değişiklik gösteren topoloji son ağaç olarak seçilir. Bu yöntem

ağırlıklı olarak bir ağacın topolojisini bulmak için kullanılır ancak dal uzunlukları bazı varsayımlar altında tahmin edilebilir (Fitch, 1971; Miyamoto ve Cracraft, 1991).

Maksimum Olasılık (*Likelihood*, ML)

Maksimum olasılık yöntemi, nükleotid değişimini tahmin etmek için olasılıksal bir evrim modeli oluşturur. Bu yöntem, gözlemlenen verileri en makul hale getiren en yüksek olasılıklıları seçerek, rakip hipotezleri değerlendirir. Bir hipotezin olasılığı, hipotezi veren verinin olasılığı olarak tanımlanır. Filogenetik yapılanmada hipotezler, evrimsel ağaç ve evrimsel modelin diğer parametreleridir (Li, 1997; Liò ve Goldman, 1998).

Evrimsel ağaçlar için gerekli olasılık hesaplamaları basitlikten uzaktır ve genellikle hipotezlenmiş karmaşık hesaplamalar gerektirir. Bu yöntem, bir zaman aralığında her daldaki bir nükleotidin başka bir nükleotide değişme olasılığını belirtir.

Maksimum olasılık, dizi evriminin açık modellerini içerebildiği ve evrimsel hipotezlerin istatistiksel testlerine izin verdiği için cazip bir yöntemdir. ML iki problemi çözmelidir. Hangi dal uzunlukları, gözlemlenen verileri en olası hale getirir (yani, bu ağaç için maksimum olasılık değeri nedir) ve muhtemel tüm ağaçlar içinden hangi ağaç en yüksek olasılığa sahiptir (Page ve Holmes, 1998).

Bayesian Analizi (*Bayesian Inference*, BI)

Bayesian analizi, diğer birçok analiz yöntemi ile aynı evrim modellerini kullanmasına rağmen, evrimsel biyolojide uzun süredir devam eden karmaşık soruların ele alınması için güçlü bir araç olmuştur. Bayesian analizi, bir ağaçtaki filogenilerin sonraki (*posterior*) olasılık dağılımlarının hesaplanmasına dayanır. Bir ağacın *posterior* olasılığı, ağacın doğru olma olasılığı olarak yorumlanabilir. Grubun tarihi ile ilgili çıkarımlar, ağaçların sonraki olasılıklarına bağlıdır. Örneğin, en yüksek *posterior* olasılığa sahip ağaç, filogeninin en iyi ölçümü olarak seçilebilir (Huelsenbeck vd., 2001).

2.4.3 Ağaçların değerlendirilmesi

Ağaç oluşturma algoritmaları bir veya daha fazla optimal ağaç üretir. Bu olası ağaçlar, bir ağacın diğerinden daha kullanışlı olup olmadığını görmek ve önerilen filogeninin makul olup olmadığını değerlendirmek için bir dizi istatistiksel teste tabi tutulur. Ağaçları değerlendirebilmek için kullanılan en yaygın yöntemlerden biri, “*Bootstrap*” analizidir.

***Bootstrap* Analizi**

Bir filogeni analizi yapılırken sorulması gereken ilk soru analizin ne kadar güvenli olduğudur. Bunu cevaplamamanın en iyi yolu daha fazla karakter için veri toplamak ve analizi defalarca tekrarlamaktır (Herron ve Freeman, 2007).

Bootstrap, anlamlı istatistiksel dağılımlar üreten ağaçların değerlendirilmesi için kullanılan istatistiksel bir yöntemdir. *Bootstrap* analizi kullanılarak, tam olarak hesaplanması zor olan dağılımlar, yapay veri kümelerinin tekrar tekrar oluşturulması ve analizi ile tahmin edilir. Analizin amacı, tüm veri kümesinin ağacı destekleyip desteklemediğini test etmektir (Baldauf, 2003; Durbin vd., 1998; Li, 1997).

3. MATERİYAL VE YÖNTEM

3.1 Örneklem

Bu çalışma Aksaray Üniversitesi Bilimsel ve Teknolojik Uygulama ve Araştırma Merkezi, Moleküler Biyoloji ve Metabolizma Laboratuvarı'nda yürütülmüştür. Bu çalışmada kullanılan körfare örnekleri Doç. Dr. Teoman KANKILIÇ' ın yürütücülüğünü yaptığı TÜBİTAK tarafından desteklenen 112T660 kodlu “DNA’da SSR (Mikrosatellit) Analiz Yöntemiyle Körfare (*Nannospalax nehringi*) Populasyonlarının Genetik Yapısının Araştırılması” isimli proje kapsamında toplanan örneklerden sağlanmıştır. Türkiye’deki 60 lokaliteden toplanan, 12 farklı diploit kromozom sayısına ($2n= 36, 38, 40, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60$) sahip 65 adet *Nannospalax xanthodon* örneği kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan örneklerin listesi Çizelge 3.1’de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan örnekler.

No	Müze No	Lokalite	Kromozom
1	6251	Aydın- Koçarlı - Haydarlı Köyü	$2n= 36$ NF= 68
2	6209	Aydın- Koçarlı - Haydarlı Köyü	$2n= 36$ NF= 68
3	231	Gökçeada	$2n= 38$ NF= 74
4	6144	Balıkesir - Kepsut	$2n= 38$ NF= 74
5	6131	Manisa - Akhisar	$2n= 38$ NF= 74
6	6138	İzmir - Foça	$2n= 38$ NF= 74
7	6164	İzmir - Foça	$2n= 38$ NF= 74
8	6254	Isparta - Yenişarbademli	$2n= 40$ NF= 72
9	6266	Isparta - Yenişarbademli	$2n= 40$ NF= 72
10	6269	Isparta - Yenişarbademli	$2n= 40$ NF= 72
11	6255	Konya - Yeşildağ	$2n= 40$ NF= 72
12	73	Tunceli - Kırmızı Köprü	$2n= 44$ NF=72
13	449	Osmaniye - Kadirli	$2n= 46$ NF= 70
14	248	Adana - Kozan	$2n= 46$ NF= 70
15	78	Ağrı - Taşlıçay	$2n= 48$ NF= 68
16	79	Van - Kocapınar	$2n= 48$ NF= 68
17	3370	Erzurum - 20 km doğu	$2n= 50$ NF= 72
18	4642	Giresun - Eğribel	$2n= 50$ NF= 72
19	4661	Bayburt - Demirözü	$2n= 50$ NF= 72
20	4846	Rize - Ovit	$2n= 50$ NF= 72

Çizelge 3.1 (devam). Çalışmada kullanılan örnekler.

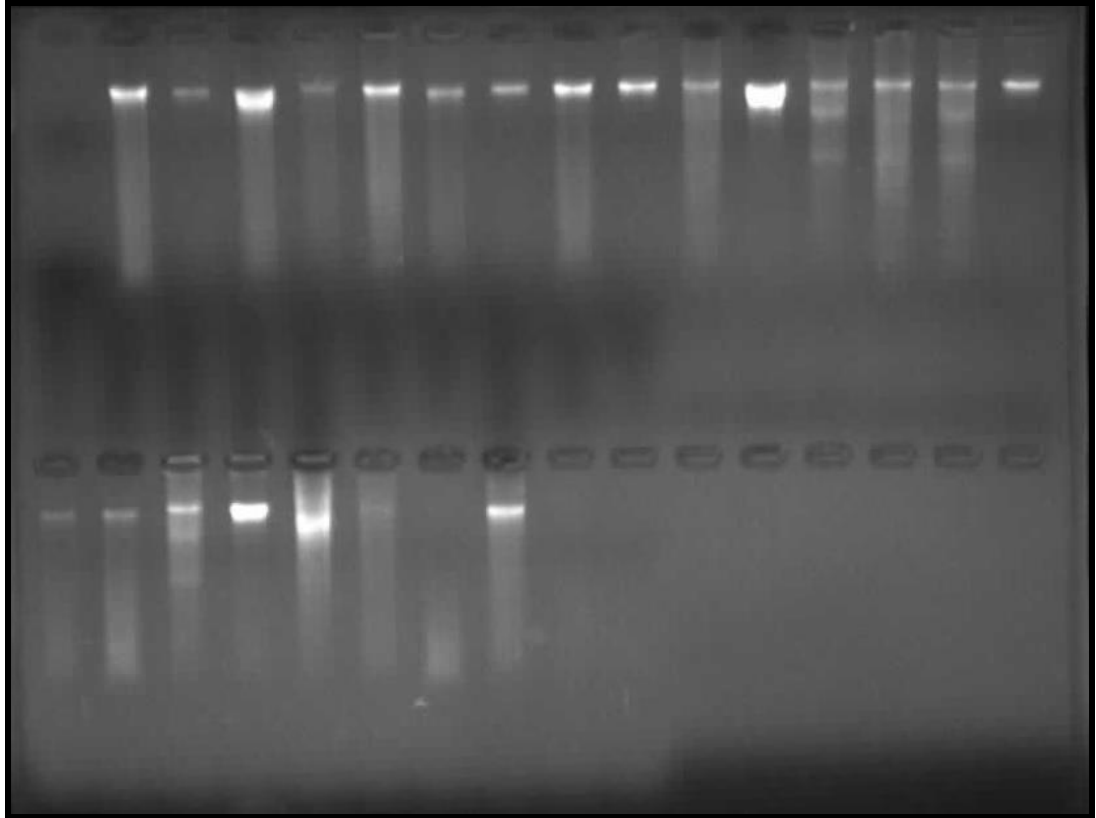
21	4880	Kars - Selim	2n= 50 NF= 70
22	4881	Kars	2n= 50 NF= 70
23	4012	Bolu - Yeniçağ	2n= 52 NF= 70K
24	4202	Bolu - Abant	2n= 52 NF= 70K
25	4834	Bolu - Gerede	2n= 52 NF= 70K
26	3985	Bolu - Mengen - Demirciler Köyü	2n= 52 NF= 70K
27	120	Mersin - Sebil Yaylası	2n= 52 NF= 72G
28	123	Mersin - Çamlıyayla	2n= 52 NF= 72G
29	242	Kırıkkale - Sulakyurt	2n= 54 NF= 74
30	4913	Kırıkkale - Keskin	2n= 54 NF= 74
31	571	Adana - Karaisalı	2n=54 NF=74
32	565	Adana - Karaisalı	2n=54 NF=74
33	566	Adana - Tufanbeyli	2n= 54 NF= 74
34	575	Adana - Saimbeyli	2n= 54 NF= 74
35	74	Bingöl - Yolçatı	2n= 54 NF= 74
36	77	Bitlis - Rahva	2n= 54 NF= 74
37	87	Muş - Bozbulut	2n= 54 NF= 74
38	6117	Manisa - Kula	2n= 56 NF= 72B
39	152	Mersin - Gülek	2n= 56 NF= 72G
40	134	Adana - Pozantı	2n= 56 NF= 72G
41	36	Niğde - Çamardı	2n= 58 NF= 72
42	430	Mersin - Gülnar	2n= 58 NF= 72
43	174	Niğde - Ulukışla	2n= 58 NF= 72
44	166	Niğde - Madenköy	2n= 58 NF= 72
45	569	Aksaray - Bozcatepe	2n= 60 NF= 74
46	573	Adana - Feke	2n= 60 NF= 74
47	574	Adana - Feke - Mansurlu	2n= 60 NF= 74
48	197	Kahramanmaraş - Göksun	2n= 60 NF= 74
49	4307	Konya - Beyşehir - Kireli	2n= 60 NF= 76
50	5848	Kütahya - Emet	2n= 60 NF= 76
51	5944	Eskişehir - Sivrihisar - Günyüzü	2n= 60 NF= 76
52	6119	Kütahya - Simav	2n= 60 NF= 76
53	6201	Isparta - Gönen	2n= 60 NF= 78
54	4933	Bolu - Ayman Yaylası	2n= 60 NF= 78
55	5052	Samsun - Kavak	2n= 60 NF= 78
56	4915	Ankara - Kızılcahamam - Soğuksu	2n= 60 NF= 80

Çizelge 3.1 (devam). Çalışmada kullanılan örnekler.

57	4657	Sivas - İmranlı	2n= 60 NF= 80
58	4538	Konya - Kulu	2n= 60 NF= 80
59	4534	Ankara - Bala	2n= 60 NF= 80
60	5304	Yozgat - Saraykent	2n= 60 NF= 80
61	4646	Erzincan - Refahiye	2n= 60 NF= 80
62	6199	Denizli - Acıpayam	2n= 60 NF= 84
63	6223	Denizli - Çameli - Bıçaklı köyü	2n= 60 NF= 84
64	6198	Burdur - Yeşilova	2n= 60 NF= 84
65	6253	Burdur - Yeşilova - Harmanlı	2n= 60 NF= 84

3.2 DNA İzolasyonu

Y kromozomundaki genetik farklılıkları ölçmek üzere -80 °C’de saklanmakta olan farklı coğrafik bölgelere ait 65 adet erkek *N. xanthodon* bireyinin (Çizelge 3.1) doku örneklerinden 15-20 mg alınarak DNA izolasyon kiti (Qiagen DNeasy Blood & Tissue kit) ile izolasyon yapılmıştır. Doku örneklerinin total DNA izolatları agaroz jel elektroforezinde yürütülmüştür (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. DNA izolatlarının agaroz jel görüntüsü.

1. Öncelikle alınan her bir doku, steril bistüri ya da sıvı azot ile steril havanda mekanik olarak parçalanarak 1.5 ml’lik ependorf tüplerine aktarılmıştır.
2. Mekanik olarak parçalanan dokular, 180 µl ATL Buffer ve 20 µl Proteinaz K eklenerek, 56°C’de tamamen parçalanana kadar inkübe edilmiştir.
3. Elde edilen lizat 15.000 rpm’de 3 dk santrifüj edilmiş ve süpernatant yeni bir ependorf tüpüne alınmıştır.
4. 4 µl RNase A (100 mg / ml) eklenerek vortekslenmiş ve oda sıcaklığında 2 dk bekletilmiştir.
5. 200 µl AL Buffer ve 200 µl %96’lık Etil alkol eklenerek vortekslenmiştir.
6. Bu aşamadan sonra örnekler, DNeasy Mini Spin kolona alınıp, 8000 rpm’de 1 dk santrifüj edilmiştir.
7. Kolon boşaltıldıktan sonra, örnek üzerine 500 µl AW1 Buffer eklenmiş, 8000 rpm’de 1 dk santrifüj edilmiştir.
8. Kolon tekrar boşaltılmış ve bu defa AW2 eklenerek santrifüj işlemi 15.000 rpm’de 3 dk olacak şekilde tekrarlanmıştır.
9. Kolon tekrar boşaltılarak AW2 Buffer artığını tamamen uzaklaştırmak için 15.000 rpm’de 1 dk daha santrifüj edilmiştir.
10. Spin kolonu yeni bir steril ependorf tüpüne alınmış ve üzerine 70°C’de ısıtılmış 80 µl AE Buffer eklenerek 20 dk oda sıcaklığında bekletilmiştir.
11. 15.000 rpm’de 1 dk santrifüj ile DNeasy Mini Spin kolonun filtresine bağlanmış olan DNA ependorf tüpüne AE Buffer ile düşürülmüştür.
12. 80 µl AE içindeki toplam DNA, çalışılmak üzere -20 °C derin dondurucuda saklanmıştır.

3.3 Y Kromozom için Kullanılan Primerler ve Primer Optimizasyonu

Tez önerisinde DBY 14 intron ve DBY 4 intron bölgelerinin çoğaltılması planlanmıştır. Ancak bu primerlerin optimizasyonu gerçekleştirilememiştir. Optimizasyon için Y kromozomuna ait farklı primerler düzenlenerek, bunlardan en iyi sonuç veren ikisi kullanılmıştır. Her gen bölgesinin ileri ve geri primerlerinin dizaynı “BM laboratuvar Sistemleri” adlı ticari firmaya yaptırılmıştır. Optimizasyon için deneme yapılan tüm primerler Çizelge 3.2’de gösterilmiştir. Y kromozomu varyasyonunu belirlemek için ZFY (Zinc Finger Protein Y-Linked) ve SMCY 8 gen bölgeleri çoğaltılmıştır.

Çizelge 3.2. Çalışılan primerlerin listesi.

Gen	Denenen Primer Çiftleri	Optimizasyon Başarısı	Kaynaklar
DBY 14	F: 5'-CAAGAAGTGCCTTCTTGTTG- 3' R: 5'- GGCTCCAAATCCTCCACTG - 3'	Başarısız	Hellborg ve Ellegren, 2003
UTY 11	F: 5'-CATCAATTTTGTAYMAATCCAAAA-3' R: 5'- TGGTAGAGAAAAGTCCAAGA-3'	Başarısız	Hellborg ve Ellegren, 2003
SMCY 7	F: 5'-TGGAGGTGCCCRARTGTA-3' R: 5'-AACTCTGCAAASTRTACTCCT-3'	Başarısız	Hellborg ve Ellegren, 2003
SMCY 8	F: 5'-TTGGATCTCAATCTAGCAGT -3' R: 5'-CGCTCAGCYTCCGTGAYG -3'	Başarılı	Hellborg ve Ellegren, 2003
SRY	F:5'-AATCCACAGGGGTTTGGTT-3' R:5'-GGGAGCAGGCCCTTTATTAC-3' SRYS286 5'- GTTGGGCGGGTTGAGGGGTGTTGAGGGCGGAG -3' HMG777 5'-GGCCGATACTTATAGTTTCGGGTATTT-3' SRY-X1:5'-TCCCCATACTGGAGTGTGTTAC-3' SRY-T:5'-TGAGGACCCAAATAGAAATGAG-3'	Başarısız	Turner vd., 2007 Sinclair vd., 1990 Marchal vd., 2008
ZFY	P1-5EZ 5'-ATAATCACATGGAGAGCCACAAGCT-3' P2-3EZ 5'-GCACTTCTTTGGTATCTGAGAAAGT-3'	Başarılı	Aasen ve Medrano, 1990

3.4 PCR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu)

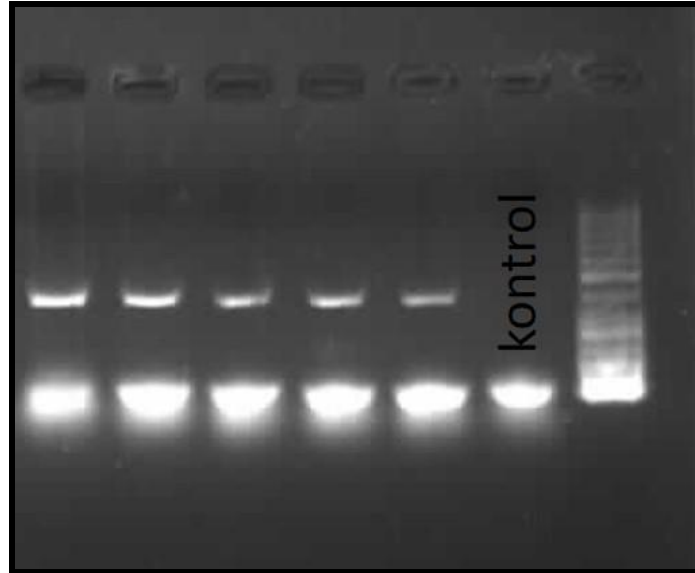
Her iki gen bölgesinin PCR ile çoğaltılması sırasında 2 farklı denatürasyon, bağlanma ve uzama koşulu kullanılmıştır. Her iki gen bölgesi içinde *Touch Down* PCR tekniği uygulanmıştır. Bağlanma sıcaklığı her döngüde 0,5°C azalacak şekilde gerçekleştirilmiştir. Başlangıç denetürasyonu 95°C'de 5 dakika, denatürasyon 94°C'de 45 saniye, bağlanma sıcaklığı ise her iki primerde farklı olacak şekilde düzenlenmiştir. SMCY 8 bölgesi için 60-50°C ve ZFY bölgesi için 55-45°C aralığında her döngüde 0,5°C azalmaktadır (*Touchdown* PCR) ve bağlanma süresi 1

dakika olarak belirlenmiştir. Uzama evresi 72°C de 1 dakikadır. Bu şekilde denatürasyon, bağlanma ve uzama evresi 20 döngü olarak tekrarlanmaktadır.

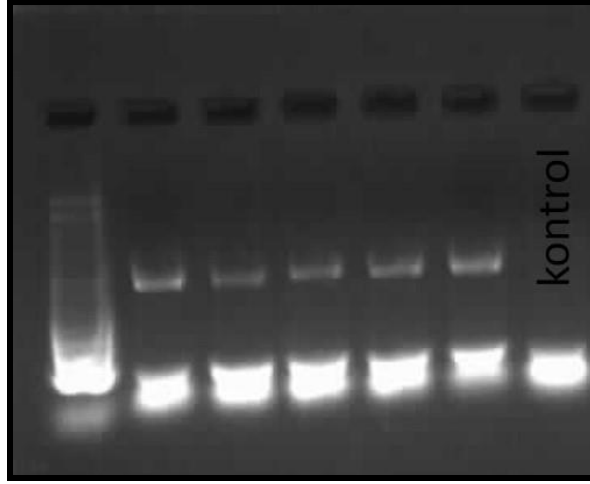
Bundan sonra denatürasyon 94°C’de 30 saniye, her iki primer için en düşük bağlanma sıcaklığında (SMCY 8 için 50°C ve ZFY için 45°C) 1 dakika ve uzama evresi 72°C’de 1 dakika olacak şekilde 20 döngü daha tekrarlanır. Toplamda 40 döngü olur. Son uzama evresi ise 72°C’de 10 dakika olacak şekilde PCR sonlandırılır.

3.4.1 PCR ürününün agaroz jel elektroforezinde yürütülmesi

PCR ürünleri %1,5 olarak hazırlanmış agaroz jele yüklenmiştir. Elektroforez tankı içine yerleştirilen agaroz jel elektrik akımı ile koşturulduktan sonra jel görüntüleme sistemi kullanılarak ultraviyole ışık altında fotoğraflanmıştır (Şekil 3.2 ve 3.3). Agaroz jel hazırlanırken jeldeki ilk kuyucuğa 5 µl 100 bp DNA Ladder yüklenmiştir. Örnekler ise 3’er µl alınmış ve 3 µl 5x Green Reaction Buffer (yükleme çözeltisi) ile karıştırılarak sırayla diğer kuyucuklara yüklenmiştir. En son kuyucuğa örnek eklenmeksizin yalnızca PCR kontrol karışımı konarak herhangi bir kontaminasyon olup olmadığı gözlenmiştir.



Şekil 3.2. SMCY 8 gen bölgesi PCR ürününün agaroz jel görüntüsü.



Şekil 3.3. ZFY gen bölgesi PCR ürününün agaroz jel görüntüsü.

3.5. DNA Dizi Analizi

Örneklerden elde edilen PCR ürünlerinin agaroz jelde temiz ve saf bant verip vermedikleri kontrol edilmiştir. Uygun bant veren örnekler iki yönlü (ileri ve geri) sekans analizine gönderilmiştir. Sekans reaksiyonu için BigDye Terminator cycle sequencing kit (Applied Biosystems) kullanılmış ve sekans ürünleri ABI Prism 3730 kapılar otomatik sekans cihazında (Applied Biosystems) yürütülmek üzere “BM Laboratuvar Sistemleri” ticari firmasına gönderilmiştir.

3.5.1 Dizilerin hazırlanması ve tanımlayıcı istatistikler

Diziler, Sequencher v.4.8 (Gene Codes Corp.) ile düzenlenmiş ve Mega versiyon X' de (Kumar vd., 2018) *ClustalW* uygulanarak hizalanmıştır. Nükleotit kompozisyonu, değişken ve parsimoni bilgisi veren sitelerin sayısı (the number of variable and parsimony-informative sites) ve transisyon / transversiyon oranı Mega versiyon X' de (Kumar vd., 2018) hesaplanmıştır. Haplotip sayısı (H), segregating sites (S), haplotip çeşitliliği (Hd), nükleotit çeşitliliği (π), pairwise nükleotit farklılıkları ortalaması (K) ve sitelerin parsimoni bilgisi her bir gen bölgesi için tüm örneklerde DnaSp 6.12 (Rozas vd., 2017) programında hesaplanmıştır.

3.6 Filogenetik Analizler

En uygun evrimsel model AIC (Akaike information criterion) ve BIC (Bayesian information criterion) kriterleri kullanılarak Mega version X programında

belirlenmiştir. Filogenetik ilişkilerin yapılandırılmasında Bayes çıkarımı (*Bayesian phylogenetic inference*, BI), maksimum olasılık (*Maximum Likelihood*, ML) ve *Neighbor Joining* (NJ) yaklaşımları kullanılmıştır. NJ ağacı Mega version X programı kullanılarak çizilmiştir.

BI analizi BEAST 1.10.4 (Suchard vd., 2018) programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Her bir kodon pozisyonu için uygun nükleotit altünite modeli (nucleotide substitution models) ve türleşme için “*Yule model, strick clock*” ve varsayılan oran 1 değerinde bırakılarak MCMC (*Markov Chain Monte Carlo*) zinciri 1000 örnekleme frekansı ile 10 milyon jenerasyon olarak uygulanmıştır. TRACER 1.7 (Rambaut vd., 2018) kullanılarak konvergens ve efektif örnek büyüklüğü değerlendirilmiş ve “*The maximum clade credibility*” ağacı ise TreeAnnotator 1.10.4 programında üretilmiştir.

ML analizi, “*the ML+thorough bootstrap*” ile 1 kez 1000 tekrar ve uygun alt model kullanılarak RAxML versiyon 8 (Stamatakis, 2014) programında yapılmıştır.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. Genetik Çeşitlilik

Bu tez çalışmasında Türkiye’de yayılış gösteren üç körfare türünden biri olan *Nannosplax xanthodon*’a ait 65 örneğin ZFY ve SMCY 8 gen bölgelerinin dizi analizi yapılmıştır. Analiz verileri Sequencher 4.8 (Gene Codes Corp.) ile düzenlenmiş ve Mega versiyon X’de (Kumar vd., 2018) *ClustalW* uygulanarak hizalanmıştır. ZFY gen bölgesinin tüm dizilerinden 425 bp uzunluğunda bir bölümü analiz edilmiştir. Çalışılan örneklerde ZFY dizilerinin Timin / Urasil nükleotitleri bakımından zengin olduğu belirlenmiştir. Bazların yüzde oranları % 32.35 Timin / Urasil, % 24.07 Adenin, % 22.96 Sitozin ve % 20.62 Guanin şeklinde sıralanmaktadır. Pürinlerin pürinlere (A ↔ G) veya pirimidinlerin pirimidinlere (T ↔ C) değişimine neden olan transisyon nokta mutasyonları ve pürinlerin primidinlere (C ↔ A, C ↔ G) veya primidinlerin pürinlere değişimine (T ↔ A, T ↔ G) neden olan transversiyon nokta mutasyonları tüm örnekler için hesaplanmıştır (Çizelge 4.1) Tüm örneklerde 11 pozisyonda nükleotit değişimi gözlenmiştir. Transisyon / Transversiyon oranı pürinler (A ve G) için $k_1 = 1000$, pirimidinler (T, U, S) için $k_2 = 189.035$ olarak belirlenmiştir. Toplam Transisyon / Transversiyon oranı ise $R = [A * G * k_1 + T * C * k_2] / [(A + G) * (T + C)]$ formülü ile hesaplanmış ve $R = 257.578$ olarak belirlenmiştir.

Çizelge 4.1. ZFY dizilerinin nükleotitler arasındaki transisyon ve transversiyon değişim oranları (Koyu yazılan sayılar transisyon değişimlerini, italik yazılanlar transversiyon değişim oranlarını göstermektedir).

	A	T	C	G
A	-	0.06	0.04	37.26
T	0.04	-	7.84	0.04
C	0.04	11.05	-	0.04
G	43.48	0.06	0.04	-

SMCY 8 gen bölgesinin 355 bp uzunluğunda bir kısmı analiz edilmiştir. Bu bölgedeki dizilerde Adenin, Guanin ve Timin / Urasil baz oranlarının birbirine yakın olduğu ancak Sitozin’in diğer bazlara göre daha düşük oranda olduğu gözlenmiştir. Bazların yüzde oranları % 28.56 Timin / Urasil, % 26.87 Guanin, % 26.58 Adenin ve

% 17.98 Sitozin şeklinde sıralanmaktadır. Tüm örneklerde 5 pozisyonda nükleotit değişimi gözlenmiştir. SMCY 8 dizilerinin nükleotitler arasındaki transisyon ve transversiyon değişim oranları Çizelge 4.2’de verilmiştir. Transisyon / Transversiyon oranı pürinler (A ve G) için $k_1= 19.418$, pirimidinler (T, U, S) için $k_2= 0.714$ olarak belirlenmiştir. Toplam Transisyon / Transversiyon oranı ise $R= 5.723$ olarak hesaplanmıştır.

Çizelge 4.2. SMCY 8 dizilerinin nükleotitler arasındaki transisyon ve transversiyon değişim oranları (Koyu yazılan sayılar transisyon değişimlerini, italik yazılanlar transversiyon değişim oranlarını göstermektedir).

	A	T	C	G
A	-	2.25	1.41	41.05
T	2.09	-	1.01	2.11
C	2.09	1.60	-	2.11
G	40.61	2.25	1.41	-

Çalışılan körfare örneklerinde her iki gen bölgesi (ZFY ve SYMC8) için haplotip sayısı (H), segregating sites (S), haplotip çeşitliliği (H_d), nükleotit çeşitliliği (π), pairwise nükleotit farklılıkları ortalaması (K) ve sitelerin parsimoni bilgisi hesaplanmıştır. Çalışılan körfare örneklerinin her iki gen bölgesinin haplotipleri Çizelge 4.3’de verilmiştir.

ZFY gen bölgesinde 65 örneğin dizi analizinde 409 site monomorfik olup polimorfik site sayısı 5, parsimoni bilgisi veren site sayısı 3 (bu sitelerin pozisyonları 252, 273, 381), pairwise nükleotit farklılıkları ortalaması $k= 0.793$ olarak hesaplanmıştır. ZFY gen bölgesi için 6 haplotip belirlenmiş, haplotip çeşitliliği $H_d= 0.634$ (standart sapma: 0.039), nükleotit çeşitliliği $\pi= 0.00192$ (standart sapma: 0.00020) bulunmuştur.

SMCY8 gen bölgesinde 342 site monomorfik olup 8 polimorfik site, 5 parsimoni bilgisi veren site (bu sitelerin pozisyonları 20, 90, 104, 158 ve 361.), pairwise nükleotit farklılıkları ortalaması $k= 1.391$ olarak hesaplanmıştır. Tüm örnekler için belirlenen haplotip sayısı 8, haplotip çeşitliliği $H_d= 0.668$ (standart sapma: 0.037), nükleotit çeşitliliği $\pi = 0.00398$ (standart sapma: 0.00030) olarak hesaplanmıştır.

Çizelge 4.3. ZFY ve SMCY8 gen bölgeleri analizi sonuçlarına göre belirlenen haplotipler.

Müze No	Lokalite	Kromozom	Haplotip ZFY	Haplotip SMCY 8
6251	Aydın - Koçarlı - Haydarlı	2n= 36 NF= 68	H1	H1
6209	Aydın - Koçarlı - Haydarlı	2n= 36 NF= 68	H1	H1
231	Gökçeada	2n= 38 NF= 74	H1	H1
6144	Balıkesir - Kepsut	2n= 38 NF= 74	H2	H1
6131	Manisa - Akhisar	2n= 38 NF= 74	H1	H1
6138	Foça	2n= 38 NF= 74	H1	H4
6164	Foça	2n= 38 NF= 74	H1	H4
6255	Konya - Yeşildağ	2n= 40 NF= 72	H1	H2
6254	Isparta - Yenişarbademli	2n= 40 NF= 72	H1	H2
6269	Isparta - Yenişarbademli	2n= 40 NF= 72	H1	H2
6266	Isparta - Yenişarbademli	2n= 40 NF= 72	H1	H2
73	Tunceli - Kırmızı Köprü	2n= 44 NF= 72	H1	H1
449	Osmaniye - Kadirli	2n= 46 NF= 70	H1	H1
248	Adana - Kozan	2n= 46 NF= 70	H3	H3
78	Ağrı - Taşlıçay	2n= 48 NF= 68	H1	H1
79	Van - Kocapınar	2n= 48 NF= 68	H1	H1
3370	Erzurum - 20 km doğu	2n= 50 NF= 72	H1	H1
4642	Giresun - Eğribel	2n= 50 NF= 72	H1	H1
4661	Bayburt - Demirözü	2n= 50 NF= 72	H1	H1
4846	Rize - Ovit	2n= 50 NF= 72	H1	H1
4880	Kars - Selim	2n= 50 NF= 70	H1	H1
4881	Kars	2n= 50 NF= 70	H1	H1
4012	Bolu -Yeniçağ	2n= 52 NF= 70K	H4	H1
4202	Bolu - Abant	2n= 52 NF= 70K	H1	H1
4834	Bolu - Gerede	2n= 52 NF= 70K	H4	H1
3985	Bolu - Mengen - Demirciler Köyü	2n= 52 NF= 70K	H4	H1
120	Mersin - Sebil Yaylası	2n= 52 NF= 72G	H3	H3
123	Mersin - Çamlıyayla	2n= 52 NF= 72G	H3	H3
242	Kırıkkale - Sulakyurt	2n= 54 NF= 74	H1	H1
4913	Kırıkkale - Keskin	2n= 54 NF= 74	H5	H1
571	Adana - Karaisalı	2n=54 NF= 74	H1	H1
565	Adana - Karaisalı	2n=54 NF= 74	H1	H1
566	Adana - Tufanbeyli	2n= 54 NF= 74	H1	H1
575	Adana - Saimbeyli	2n= 54 NF= 74	H1	H1
74	Bingöl - Yolçatı	2n= 54 NF= 74	H1	H1
77	Bitlis - Rahva	2n= 54 NF= 74	H1	H1
87	Muş - Bozbulut	2n= 54 NF= 74	H1	H1
6117	Manisa - Kula	2n= 56 NF= 72B	H3	H3
152	Mersin - Gülek	2n= 56 NF= 72G	H1	H4
134	Adana - Pozantı	2n= 56 NF= 72G	H1	H4
36	Niğde - Çamardı	2n= 58 NF= 72	H3	H3
430	Mersin - Gülnar	2n= 58 NF= 72	H1	H3
174	Niğde - Ulukışla	2n= 58 NF= 72	H3	H3
166	Niğde - Madenköy	2n= 58 NF= 72	H3	H3
569	Aksaray - Bozcatepe	2n= 60 NF= 74	H3	H6
573	Adana - Feke	2n= 60 NF= 74	H3	H3
574	Adana - Feke - Mansurlu	2n= 60 NF= 74	H3	H3
197	Kahramanmaraş - Göksun	2n= 60 NF= 74	H3	H3
4307	Konya - Beyşehir - Kireli	2n= 60 NF= 76	H3	H3
5848	Kütahya - Emet	2n= 60 NF= 76	H3	H5
5944	Eskişehir - Sivrihisar - Günyüzü	2n= 60 NF= 76	H3	H3

Çizelge 4.3 (devam). ZFY ve SMCY 8 gen bölgelerinin analizleri ile belirlenen haplotipler.

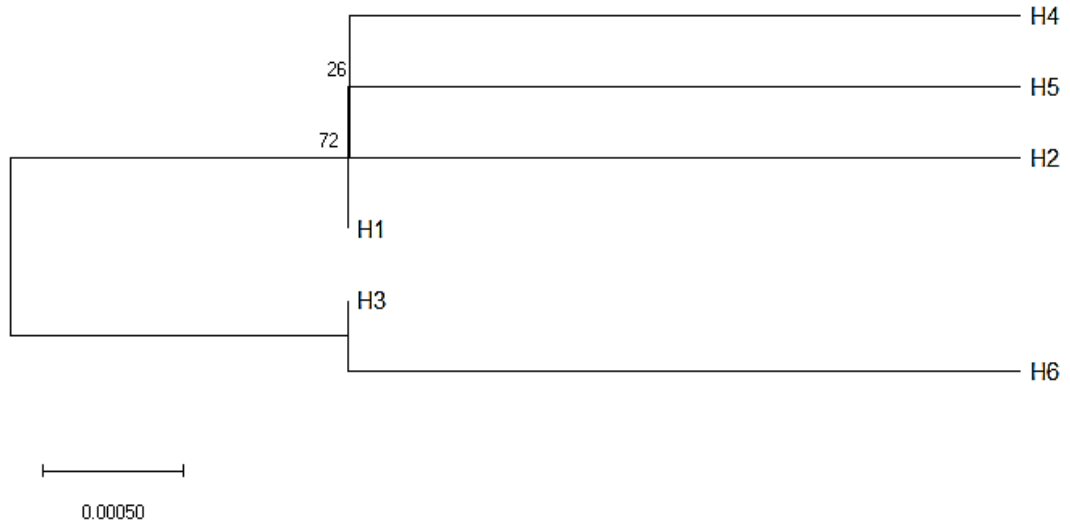
6119	Kütahya - Simav	2n= 60 NF= 76	H3	H3
6201	Isparta - Gönen	2n= 60 NF= 78	H6	H3
4933	Bolu - Ayman Yaylası	2n= 60 NF= 78	H3	H3
5052	Samsun - Kavak	2n= 60 NF= 78	H3	H3
4915	Ankara - Kızılcahamam - Soğuksu	2n= 60 NF= 80	H3	H3
4657	Sivas - İmranlı	2n= 60 NF= 80	H3	H8
4538	Konya - Kulu	2n= 60 NF= 80	H3	H3
4534	Ankara - Bala	2n= 60 NF= 80	H3	H3
5304	Yozgat - Saraykent	2n= 60 NF= 80	H3	H7
4646	Erzincan - Refahiye	2n= 60 NF= 80	H3	H3
6199	Burdur - Yeşilova	2n= 60 NF= 84	H6	H3
6253	Burdur - Yeşilova - Harmanlı	2n= 60 NF= 84	H6	H3
6223	Denizli - Çameli - Bıçaklı köyü	2n= 60 NF= 84	H6	H3
6198	Denizli - Acıpayam	2n= 60 NF= 84	H6	H3

4.2 Y Kromozomu Gen Bölgeleri İçin Filogenetik Analiz

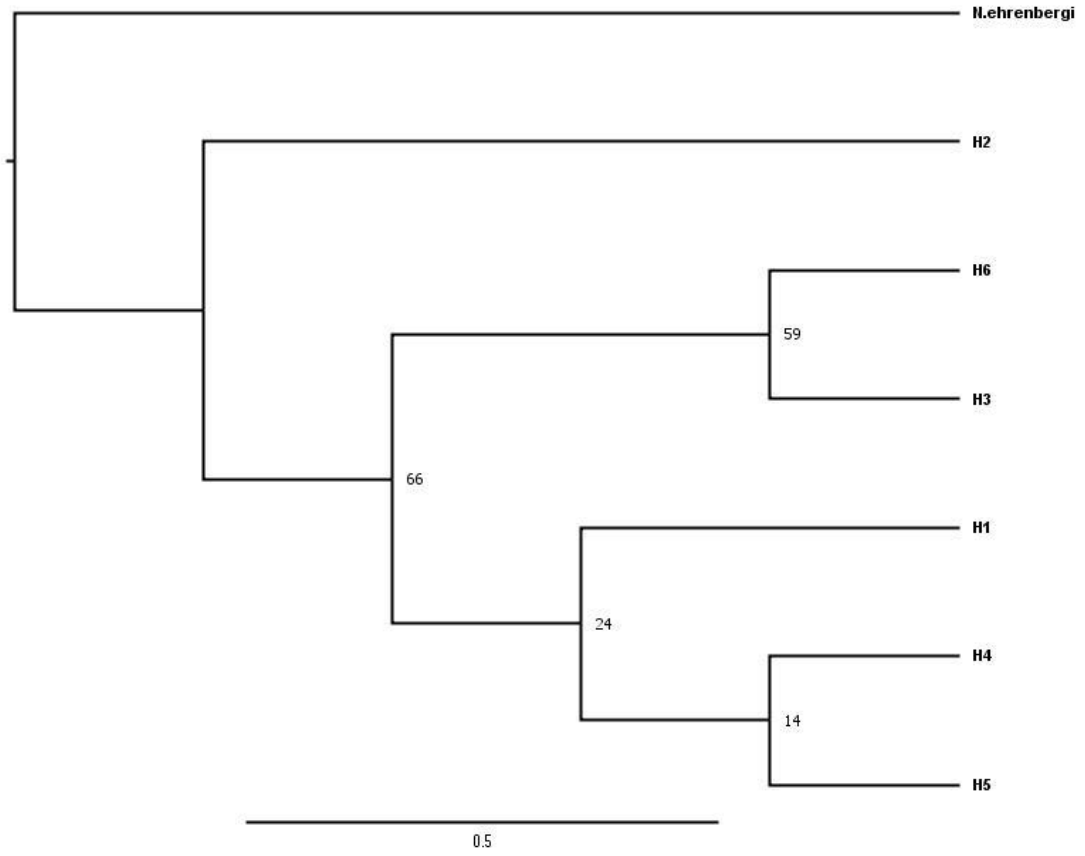
Körfare örneklerinde her iki gen bölgesinde saptanan haplotiplerin nükleotit dizileri ile Bayes çıkarımı (BI), Maksimum olasılık (ML) ve *Neighbor Joining* (NJ) yaklaşımları kullanılarak filogenetik analizleri yapılmıştır. Filogenetik analizler için en uygun evrimsel modeller AIC (Akaike information criterion) ve BIC (Bayesian information criterion) kriterleri kullanılarak her iki gen bölgesinde ayrı ayrı çözümlenmiştir. Dış grup olarak *Nannospalax ehrenbergi* (Nehring, 1898) kullanılmıştır.

ZFY gen bölgesi için “K2: Kimura parameter” ve SMCY8 gen bölgesi için “JC: Jukes- Cantor” filogenetik analizlerde kullanılacak en uygun evrimsel modeller olarak belirlenmiştir

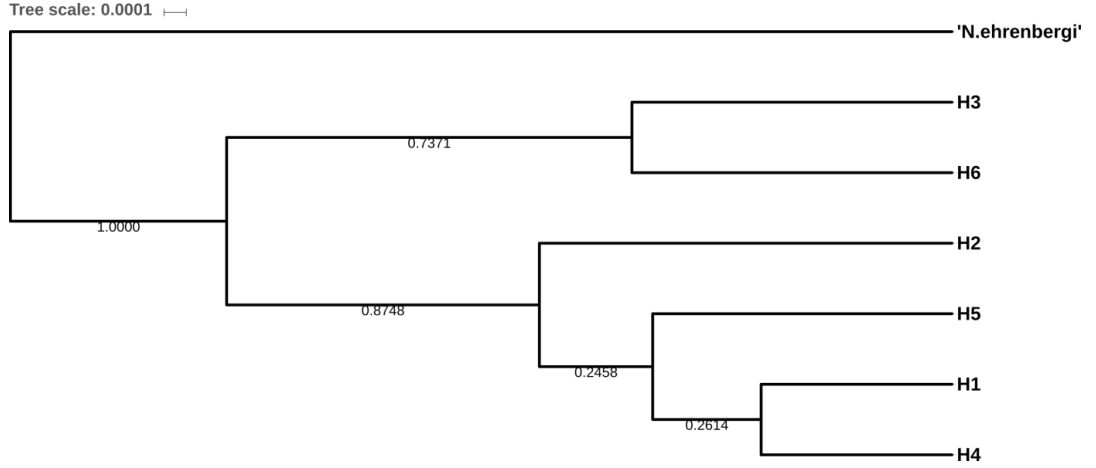
ZFY gen bölgesi için belirlenen haplotip dizileri “K2: Kimura parameter” modeli ile Neighbor joining, Maksimum olasılık ve Bayes analizi kullanılarak yapılan filogenetik ağaçlar Şekil 4.1, 4.2 ve 4.3’de verilmiştir. Üç filogenetik ağaç da çoğunlukla benzer örüntüye sahiptir ve *N.xanthodon*’un temel olarak iki ana klada ayrıldığı görülmektedir. Birinci ana klad 2n=60, 58K, 56B, 52G ve 46B diploit kromozomlu popülasyonları içermektedir. İkinci ana klad ise türün 2n= 36, 38, 40, 44, 46, 48, 50, 52K, 54, 56G ve 58G diploit kromozomlu popülasyonlarını kapsamaktadır.



Şekil 4.1. ZFY gen bölgesi dizileriyle oluşturulan Neighbor Joining ağacı.

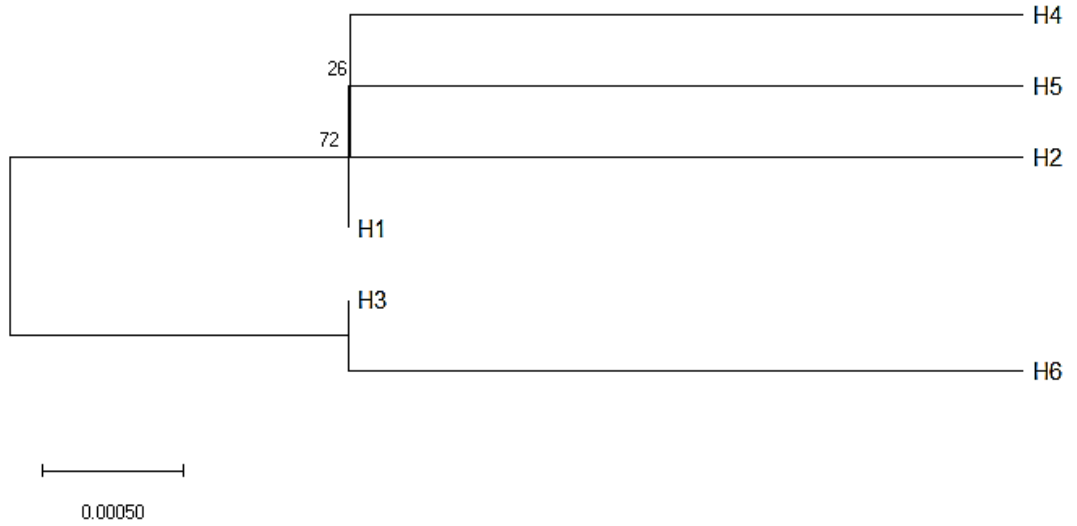


Şekil 4.2. ZFY gen bölgesi dizileriyle oluşturulan Maksimum Olasılık ağacı.

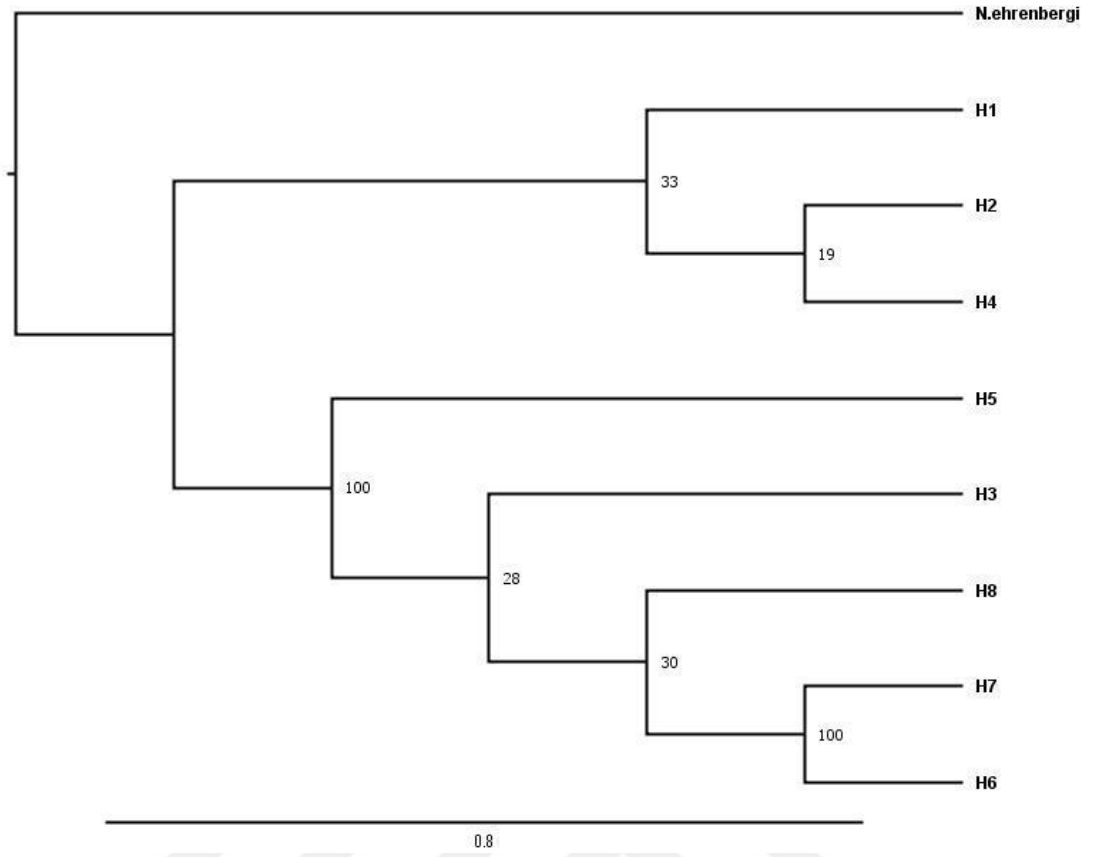


Şekil 4.3. ZFY gen bölgesi dizileriyle oluşturulan Bayes ağacı.

SMCY 8 için belirlenen haplotip dizileri “JC: Jukes- Cantor” modeli ile Neighbor Joining, Maksimum olasılık ve Bayes analizi kullanılarak yapılan filogenetik ağaçlar Şekil 4.4., 4.5. ve 4.6.’da verilmiştir. ZFY gen bölgesinde olduğu gibi bu gen bölgesinde de *N.xanthodon* temel olarak iki ana klada ayrılmaktadır. Birinci ana klad türün 2n= 46, 52G, 56B, 58, 60 diploit kromozomlu popülasyonlarını içermektedir. İkinci ana klad ise 2n= 36, 38, 40, 44, 48, 50, 52K, 54 ve 56G diploit kromozomlu popülasyonları içermektedir.

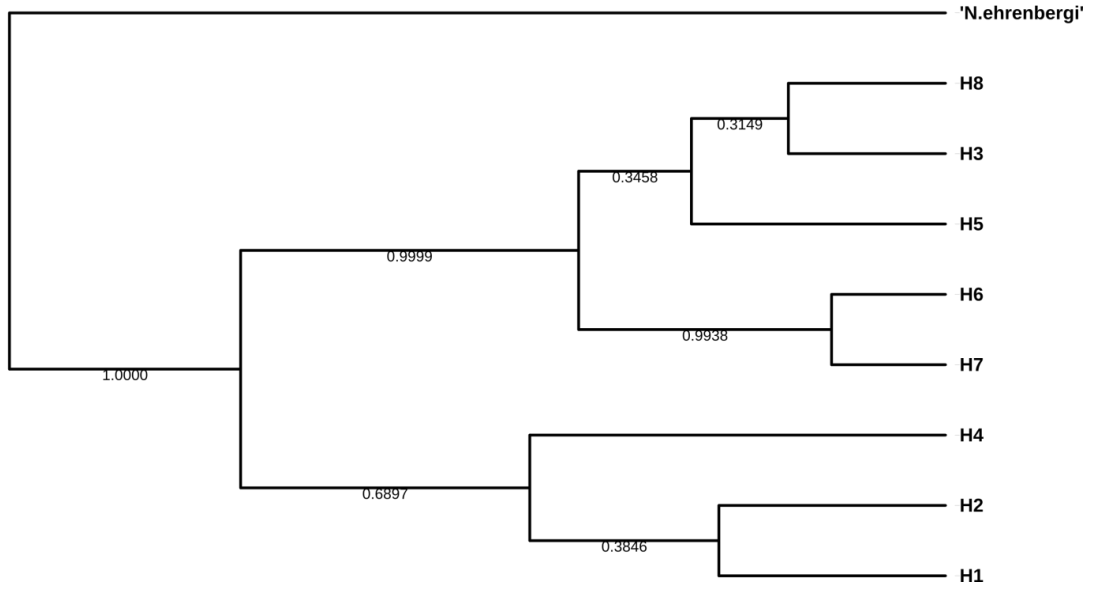


Şekil 4.4. SMCY 8 gen bölgesi dizileriyle oluşturulan Neighbor Joining ağacı.



Şekil 4.5. SMCY 8 gen bölgesi dizileriyle oluşturulan Maksimum Olasılık ağacı.

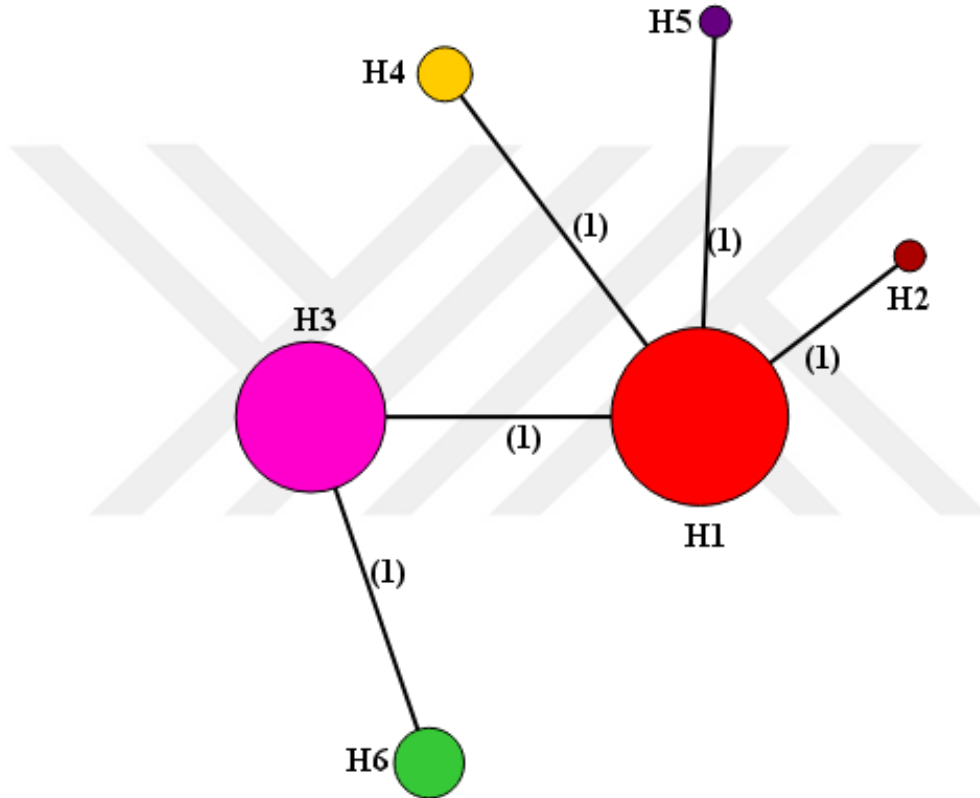
Tree scale: 0.0001



Şekil 4.6. SMCY 8 gen bölgesi dizileriyle oluşturulan Bayes ağacı.

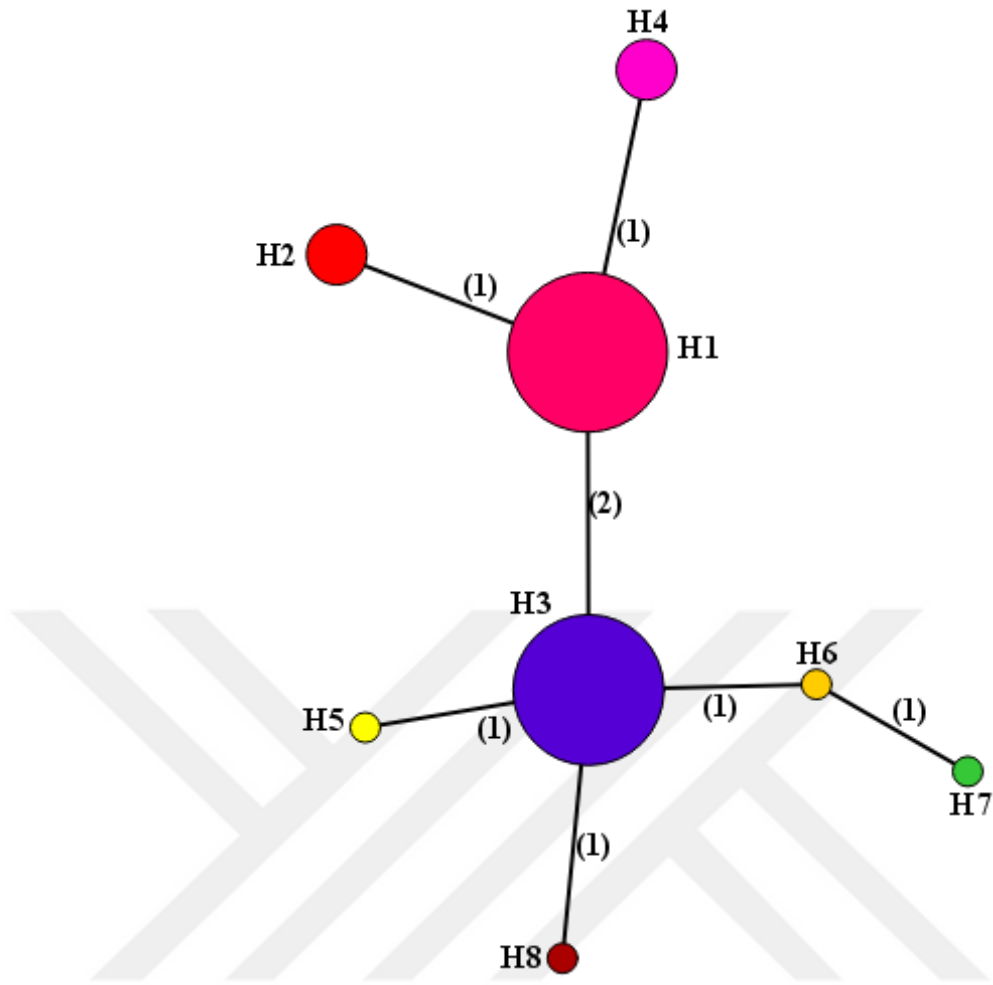
4.3 Y Kromozomu Gen Bölgeleri İçin Network Analizi

ZFY gen bölgesine göre Network Median-Joining yaklaşımı ile oluşturulan ağ örgüsü Şekil 4.7’de verilmiştir. Network ağ örüntüsü oluşturulan filogenetik ağaçlara benzer bir yapı oluşturmuştur. *N. xanthodon*’un iki ana haplogruba ayrıldığı görülmektedir. Birinci grup $2n= 46B, 52G, 56B, 58K, 60$ kromozomlu popülasyonları, ikinci ana grup ise $2n= 36, 38, 40, 44, 46G, 48, 50, 52K, 54, 56G$ ve $58G$ diploit kromozomlu popülasyonları kapsamaktadır.



Şekil 4.7. ZFY gen bölgesi DNA dizi analizi verileri kullanılarak oluşturulan Network ağacı (Parantez içindeki rakamlar haplotipler arasındaki mutasyon sayılarını göstermektedir).

SMCY 8 gen bölgesine göre Network-Median-Joining yaklaşımı ile oluşturulan ağ örgüsü Şekil 4.8’da verilmiştir. Network ağ örüntüsü, oluşturulan filogenetik ağaçları destekleyen bir yapı göstermiştir. Bu gen bölgesi için de, *N. xanthodon*’un iki ana dala ayrıldığı görülmektedir. Birinci ana grup $2n= 46B, 52G, 56B, 58, 60$ diploit kromozomlu popülasyonları içerirken, ikinci grup ise $2n= 36, 38, 40, 44, 48, 50, 52K, 54$ ve $56G$ diploit kromozomlu popülasyonları içermektedir.



Şekil 4.8. SMCY 8 gen bölgesi DNA dizi analizi verileri kullanılarak oluşturulan Network ağacı (Parantez içindeki rakamlar haplotipler arasındaki mutasyon farkını göstermektedir).

5. TARTIŞMA VE SONUÇLAR

Nevo vd., (1995), Anadolu'da yayılış gösteren her bir kromozom formunun farklı birer biyolojik tür olabileceğini ve tür sayısının 14-20 arasında olabileceğini belirtmiştir. Ancak günümüze kadar yapılan moleküler çalışmalar tür sayısının bu kadar yüksek sayıda olamayacağına işaret etmektedir. Bununla beraber bazı araştırmacılar ise kriptik türlerin varlığını göz önünde bulundurmuşlardır (Hadid vd., 2012; Kankılıç ve Gürpınar, 2014; Kankılıç vd., 2015). Bu tez çalışmasında da Y kromozomu gen bölgeleri ile yapılan analizler önceki moleküler çalışmaları desteklemiştir.

Kankılıç vd., (2015), Bolu ve civarında yayılış gösteren $2n= 52K$ popülasyonlarının mtDNA verilerine göre yeni bir tür olarak adlandırılması gerektiğini belirtmiştir. Mitokondriyal DNA'yı esas alan (maternal hat) bu çalışmalarda genetik çeşitlilik oldukça yüksektir. Haplotip çeşitliliği $Hd= 0.9$ 'dan yüksek ve nükleotid çeşitliliği $\pi = 0.01$ 'den daha büyük orandadır. Bu çalışmada ise, kullanılan Y kromozom belirteçleri ZFY ve SMCY 8 gen bölgeleri mtDNA'ya göre çok düşük bir genetik çeşitlilik göstermiştir. Tüm sitotiplerde 6-8 haplotip tespit edilmiştir. ZFY için $Hd= 0.634$, $\pi = 0.00192$ ve SMCY 8 için $Hd= 0.668$, nükleotid çeşitliliği $\pi = 0.00398$ olarak hesaplanmıştır. Bu değerler mtDNA çalışmalarıyla karşılaştırıldığında genetik çeşitlilik son derece düşük olmasına karşın bu grubun diğer popülasyonlardan genetik olarak farklılaştığı savı desteklenmektedir.

Y kromozomu, sahip olduğu düşük genetik çeşitlilik nedeniyle popülasyon genetiği ve evrimsel genetik çalışmalarında yaygın kullanıma sahip değildir. Bu tez çalışmasında Y kromozomu belirteçleri, *Spalacidae* familyası için ilk kez kullanılmıştır ve ilgili gen bölgelerini çoğaltacak primerlerin belirlenmesinde sorunlarla karşılaşmıştır.

Bu çalışma için daha önce memeli türlerinde çalışılan birçok primer denenmiş ve sadece ZFY ve SMCY 8 gen bölgelerine ait primerlerde başarı sağlanabilmiştir. İki gen bölgesi de genetik farklılıkların açığa çıkartılmasında oldukça başarılı olmuş ve son derece benzer sonuçlar vermiştir. İki gen bölgesi arasındaki tek fark, $2n= 58$ diploit kromozomlu Mersin - Gülnar (NF= 72) örneğinin ayrımında gözükmemektedir. SMCY 8 gen bölgesinin analizine göre bu örnek, Niğde ili sınırları içerisinde

toplanan ve kendisiyle aynı diploit kromozom ve NF değerlerine sahip diğer üç bireyle aynı haplogrupa konumlanmıştır. Ancak ZFY gen bölgesinin analizi sonucunda, bu örnek aynı diploit kromozom sayısına sahip diğer üç örnekten ayrılarak farklı haplogruba yerleşmiştir.

N. xanthodon'un tek başına tüm Anadolu körfare popülasyonlarını temsil eden bir tür olamayacağı görülmektedir. Y kromozomu belirteçlerinden olan iki gen bölgesi de incelendiğinde poligenik bir yapı görülmekte ve tür açık şekilde iki ana klada ayrılmaktadır (İç Anadolu ve yakın çevresini kapsayan merkez popülasyonu ve merkezdeki bu grubu çevreleyen ikinci bir popülasyon). Merkezdeki popülasyon için daha önce Kankılıç ve Gürpınar, (2014) ile Kankılıç vd., (2014) tarafından *Nannosplax labaumei* ismi kullanılmıştır. Hadid vd., (2012)'de orta Anadolu'daki yüksek kromozumlu (60-62) türleri *Nannosplax vasvarii* soyhattı olarak tanımlamıştır. $2n= 62$ formu Nevo vd., (1994b, 1995) tarafından Anadolu'daki çeşitli bölgelerde (Afyon, Ankara, Konya, Kayseri, Sivas) tespit edilmiş ancak daha sonra bir daha kaydedilmemiştir ve bu nedenle varlığı şüpheli olarak kabul edilir (Sözen vd., 2006b; Coşkun vd., 2010b; Arslan vd., 2016).

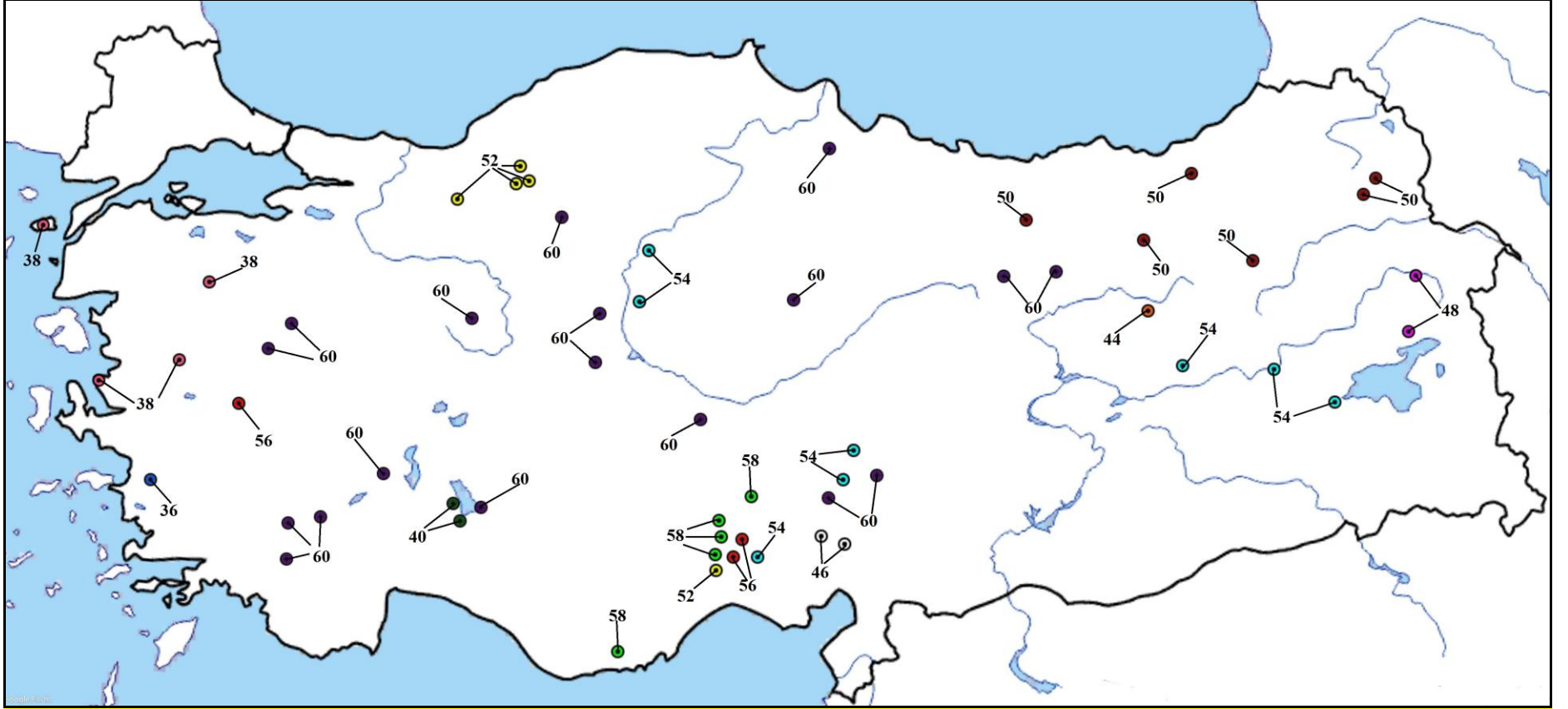
$2n= 38$ sitotipi, $2n= 60$ ile birlikte Anadolu'daki en yaygın iki formdan biridir (Arslan vd., 2016). Bu form ($2n= 38$), Savić ve Soldatović, (1984) tarafından *Nannosplax nehringi anaticus* olarak tanımlanırken Kryštufek ve Vohralík, (2009) tarafından İzmir sitotipi olarak adlandırılmıştır. Daha sonra Kankılıç vd., (2009) $2n= 38$ kromozumlu popülasyonu *Nannosplax leucodon anaticus* olarak yeniden isimlendirirken Kankılıç ve Gürpınar, (2014) bu sitotipi *Nannosplax xanthodon*'a dahil etmiştir.

$2n= 38$ sitotipi ve $2n= 60$ sitotipleri farklı çalışmalarda atasal form olarak önerilmişlerdir (Sözen, 2004; Ivanitskaya vd., 2008; Hadid vd., 2012; Matur vd., 2013). Moleküler verilerin kullanıldığı tüm çalışmalarda bu iki form ayrı kladlarda konumlanmıştır (Hadid vd., 2012; Kandemir vd., 2012; Kryštufek vd., 2012; Kankılıç vd., 2013; Kankılıç vd., 2015). Son olarak Matur vd., (2019), mtDNA ve mikrosatellitleri kullanarak yaptıkları çalışmada benzer bir sonuca ulaşmışlardır. Bu tez çalışması özelinde de Y kromozomu verileriyle gerçekleştirdiğimiz filogenetik analizlerde bu iki form farklı soy hatlarında yer almıştır.

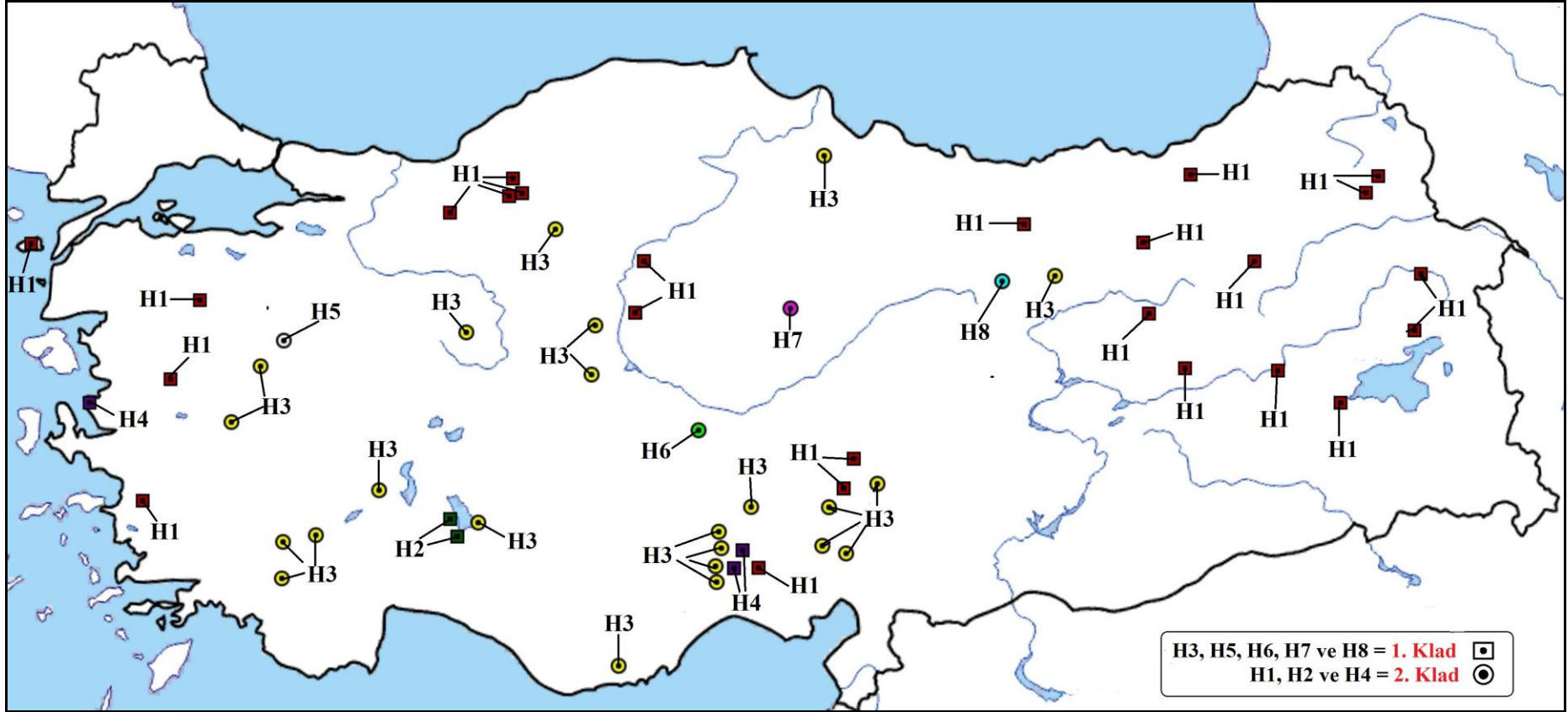
Matur vd., (2019)'un ileri sürdüğü, $2n= 52$ sitotipinin Batı Anadolu popülasyonuna genetik olarak daha yakın olduğu görüşü bu çalışmada da desteklenmiştir. Bolu civarından alınan bu örnekler Batı Anadolu örnekleriyle aynı haplogrubu paylaşmıştır.

ZFY gen bölgesi için Isparta, Burdur ve Denizli civarında yer alan $2n= 60$ diploit kromozomlu örnekler ayrı bir haplotip altında gruplanırken SMCY 8 gen bölgesi verileri böyle bir ayrımı desteklememiştir.

Anadolu'nun merkezinden kıyılara doğru gidildikçe diploit kromozom sayısının genellikle azaldığı görülmektedir. Merkezi çevreleyen kenar popülasyonunun üyeleri merkez gruptaki bazı bireylerle aynı diploit kromozom sayısını paylaşsalar da kendi içlerinde genetik olarak daha yakın durumdadırlar. Bir başka deyişle Batı Anadolu popülasyonu ile Doğu Anadolu popülasyonu coğrafi olarak oldukça uzak olmalarına rağmen merkezde yer alan diğer türlere göre genetik benzerlikleri daha fazladır. (Çalışmada kullanılan kromozom formlarının Anadolu'daki dağılımı ve gen bölgelerine göre haplotip dağılımları şekil 4.9, 4.10 ve 4.11'de verilmiştir).



Şekil 4.9. Çalışmada kullanılan örneklerin kromozomal dağılımı.



Şekil 4.10. SMCY 8 gen bölgesinin analizine göre mevcut haplotip dağılımı.

KAYNAKLAR

- Aasen, E. ve Medrano, J.F., 1990. Amplification of the ZFY and ZFX genes for sex identification in humans, cattle, sheep and goats, *Nature Biotechnology*, 8, 12, 1279-1281.
- Ambarlı, D., Zeydanlı, U.S., Balkız, Ö., Aslan, S., Karaçetin, E., Sözen, M., Ilgaz, Ç., Ergen, A.G., Lise, Y., Çağlayan, S.D., Welch, H.J., Welch, G., Turak, A. S., Bilgin, C.C., Özkil, A. ve Vural, M., 2016. An overview of biodiversity and conservation status of steppes of the Anatolian Biogeographical Region, *Biodiversity and Conservation*, 25, 12, 2491-2519.
- Arslan, E., Gülbahçe, E., Arıkoğlu, H., Arslan, A., Buzan, E.V. ve Krystufek B., 2010a. Mitochondrial Divergence Between Three Cytotypes of the Anatolian Mole Rat, *Nannospalax xanthodon* (Nordmann, 1840), *Zool. Midd. East.*, 50, 27-34.
- Arslan, A. ve Bölükbaş, F., 2010b. C-heterochromatin and NORs distribution of mole rat, *Nannospalax xanthodon* from Aksaray, Turkey, *Caryologia* 63, 4, 398-404.
- Arslan, A., Akan, Ş. ve Zima J., 2011a. Variation in C-heterochromatin and NORs distribution among chromosomal races of mole rats (*Spalacidae*) from Central Anatolia, Turkey, *Mamm. Biol.*, 76, 28-35.
- Arslan, A., Toyran, K., Gözütok, S. ve Yorulmaz, T., 2011b. C- and NOR stained karyotypes of mole rat, *Nannospalax xanthodon* (2n= 54) from Kırıkkale, Turkey, *Turk. J. Biol.*, 35, 6, 655-661.
- Arslan, A., Arısoy, A. ve Zima, J., 2014a. Comparison of the chromosome banding pattern in the 2n= 56 cytotypes of *Nannospalax leucodon* and *N. xanthodon* from Turkey, *The Scientific World Journal*, 2014, 121690.
- Arslan, A. ve Zima, J., 2015a. Comparison of the chromosome banding pattern in the 2n= 52 cytotypes of *Nannospalax xanthodon* and *N. ehrenbergi* from Turkey, *Zool. Stud.*, 54, 6.
- Arslan, A. ve Zima, J., 2015b. Chromosome banding pattern retrieves an independent origin of 2n= 50 chromosome populations of *Nannospalax xanthodon* from Turkey, *Mamm. Biol.*, 80, 5, 440-445.
- Arslan, A., Kryštufek, B., Matur, F. ve Zima, J., 2016. Review of chromosome races in blind mole rats (*Spalax* and *Nannospalax*), *Folia Zool.*, 65, 4, 249-301.
- Aşan, N. ve Yağcı, T., 2008. Karyotype and hair structure of *Nannospalax leucodon* (Nordmann, 1840) from central Anatolia (Rodentia: *Spalacidae*), *Turk. J. Zool.*, 32, 125-130.
- Avice, J.C., 2006. Evolutionary pathways in nature, A phylogenetic approach, Cambridge University Press, UK.

- Baldauf, S.L., 2003. Phylogeny for the faint of heart: a tutorial, *Trends in Genetics*, 19, 6, 345-351.
- Begall, S., Burda, H. ve Schleich, C. E., 2007. Subterranean Rodents: News from Underground, In: Begall, S., Burda, H. and Schleich, C. E., eds., *Subterranean Rodents*, Springer, Berlin, Heidelberg.
- Catzefflis, F.M., Nevo, E., Ahlquist, J.E. ve Sibley, C., 1989. Relationships of the chromosomal species in the Eurasian mole rats of the *Spalax ehrenbergi* group as determined by DNA-DNA hybridization and an estimate of the spalacid-muroid divergence time, *J. Mol. Evol.*, 29, 3, 223-232.
- Chapman, V.M., Keitz, B.T., Disteché, C.M., Lau, E.C. ve Snead, M.L., 1991. Linkage of amelogenin (Amel) to the distal portion of the mouse X chromosome, *Genomics*, 10, 1, 23-8.
- Chişamera, G., Bužan, E.V., Sahlean, T., Murairu, D., Zupan, S. ve Kryštufek, B., 2014. Bukovina blind mole rat *Spalax graecus* revisited: Phylogenetics, morphology, taxonomy, habitat associations and conservation, *Mammal Rev.*, 44, 1, 19-29.
- Corbet, G.B., 1978. *The Mammals of the Palaearctic Region: A Taxonomic Review*, London, UK.
- Coşkun, Y., 1998. Morphological and karyological peculiarities of *Spalax ehrenbergi*, (Nehring, 1898) (Rodentia: *Spalacidae*) from Şırnak province, XVI Ulusal Biyoloji Kongresi Tebliğleri, Samsun, zooloji seksiyonu 3, 114-122.
- Coşkun, Y., 2003. A study on the morphology and karyology of *Nannospalax nehringi* (Satunin, 1898) (Rodentia: *Spalacidae*) from north-eastern Anatolia, Turkey, *Turk. J. Zool.*, 27, 3, 171-176.
- Coşkun, Y., 2004c. Morphological and karyological characteristics of *Nannospalax ehrenbergi* (Nehring, 1898) (Rodentia: *Spalacidae*) from Hatay Province, Turkey, *Turk. J. Zool.*, 28, 205-212.
- Coşkun, Y. ve Ulutürk, S., 2004. Türkiye *Spalax ehrenbergi* (*Spalacidae*: Rodentia) Türünün Taksonomisi, Dağılışı ve Karyolojisi, TÜBİTAK-TBAG 2097 nolu Proje.
- Coşkun, Y., Ulutürk, S. ve Kaya, A., 2010b. Karyotypes of *Nannospalax* (Palmer, 1903) populations (Rodentia: *Spalacidae*) from central eastern Anatolia, Turkey, *Hystrix* 21, 1, 89-96.
- Csorba, G., Krivek, G., Sendula, T., Homonnay, Z.G., Hegyeli, Z., Sugár, S., Farkas, J., Stojnić, N. ve Németh, A., 2015. How can scientific researches change conservation priorities? A review of decade-long research on blind mole-rats (Rodentia: *Spalacinae*) in the Carpathian Basin, *Therya*, 6, 1, 103-121.

- Dorit, R.L., Akashi, H. ve Gilbert, W., 1995. Absence of polymorphism at the ZFY locus on the human Y chromosome, *Science*, 268, 5214, 1183-1185.
- Demirsoy, A., 2002. Genel Zoocoğrafya ve Türkiye Zoocoğrafyası, Hayvan Coğrafyası, 5. Baskı, Meteksan A.Ş., Ankara.
- Durbin, R., Eddy, S.R., Krogh, A. ve Mitchison, G., 1998. *Biological Sequence Analysis*, Cambridge University Press, Cambridge, U.S.A.
- Ellermann, J.R. ve Morrison-Scott, T.C.S., 1951. *Checklist of Palaearctic and Indian mammals 1758 to 1946*, British Museum, London, UK.
- Fitch, W.M., 1971. Towards defining the course of evolution: minimum change for a specific tree topology, *Syst. Zool.*, 20, 4, 406-416.
- Gülkaç, M.D. ve Yüksel, E., 1989. A cytogenetic investigation on the genus *Spalax* (Rodentia: *Spalacidae*) from Malatya district, Doğa, *Turk. J. Biol.*, 13, 63-71.
- Hadid, Y., Nemeth, A., Snir, S., Pavlicek, T., Csorba, G., Kazmer, M., Major, A., Mezhzherin, S., Rusin, M., Coşkun, Y. ve Nevo, E., 2012. Is evolution of blind mole rats determined by climate oscillations? *PLoS ONE*, 7, 1, 1-7.
- Hall, B.G., 2004. *Phylogenetic Trees Made Easy: A How-To Manual*, 2nd ed., Sinauer Associates, Inc., Sunderland, Massachusetts, U.S.A.
- Harrison, D.L., Bates, P.J.J., 1991. *Mammals of Arabia*, 2nd ed., London, UK.
- Hellborg, L., 2004. *Evolutionary studies of the Mammalian Y Chromosome*, Acta Universitatis Upsaliensis, Faculty of Science and Technology, 951, 55pp., Uppsala, Sweden.
- Hellborg, L. ve Ellegren, H., 2003. Y chromosome conserved anchored tagged sequences (YCATS) for the analysis of mammalian malespecific DNA, *Mol. Ecol.*, 12, 283-291.
- Hellborg, L. ve Ellegren, H., 2004. Low levels of nucleotide diversity in mammalian Y chromosomes, *Mol. Biol. Evol.*, 21, 158-163.
- Herron, J.C. ve Freeman, S., 2007. *Evolutionary Analysis*, Pearson Education, Inc., UK.
- Hofmeijer, K.G. ve de Bruijn, H., 1985. The mammals from the Lower Miocene of Aliveri (Island of Evia, Greece). Part 4, The *Spalacidae* and *Anomalomyidae*, *Proc. Koninkl. Ned. Akad. Wet. Ser. B.*, 88, 185-198.
- Huelsenbeck, J.P., Ronquist, F., Nielsen, R. ve Bollback, J.P., 2001. Bayesian inference of phylogeny and its impact on evolutionary biology, *Science*, 294, 2310-2314.

- Ivanitskaya, E., Coşkun, Y. ve Nevo, E., 1997. Banded karyotypes of mole rats (*Spalax*, *Spalacidae*, Rodentia) from Turkey: a comparative analysis, J. Zool. Sys. Evol. Res., 35, 171-177.
- Ivanitskaya, E., Belyayev, A. ve Nevo, E., 2005. Heterochromatin differentiation shows the pathways of karyotypic evolution in Israeli mole rats (*Spalax*, *Spalacidae*, Rodentia), Cytogenet. Genome Res., 111, 159-165.
- Ivanitskaya, E., Sözen, M., Rashkovetsky, L., Matur, F. ve Nevo, E., 2008. Discrimination of $2n=60$ *Spalax leucodon* cytotypes (*Spalacidae*, Rodentia) in Turkey by means of classical and molecular cytogenetic techniques, Cytogenet. Genome Res., 122, 139-149.
- Ivanitskaya, E., Rashkovetsky, L. ve Nevo, E., 2010. Chromosomes in a hybrid zone of Israeli mole rats (*Spalax*, Rodentia), Russ. J. Genet., 46, 1149-1151.
- Just, W., Rau, W., Vogel, W., Akhverdian, M., Fredga, K., Graves, J.A. ve Lyapunova E., 1995. Absence of Sry in species of the vole *Ellobius*, Nat. Genet., 11, 2, 117-8.
- Just, W., Baumstark, A., Hameister, H., Schreiner, B., Reisert, I., Hakhverdyan, M. ve Vogel, W., 2002. The sex determination in *Ellobius lutescens* remains bizarre, Cytogenet. Genome Res., 96, 1-4, 146-153.
- Kahl, G., 2015. The Dictionary of Genomics, Transcriptomics and Proteomics, Fifth, Greatly Enlarged Edition, Wiley Co., Weinheim, Deutschland.
- Kandemir, İ., Sözen, M., Matur, F., Kankılıç, T., Martinkova, N., Çolak, R., Özkurt, S.Ö. ve Çolak, E., 2012. Phylogeny of species and cytotypes of mole rats (*Spalacidae*) in Turkey inferred from mitochondrial cytochrome b gene sequences, Folia Zool., 61, 1, 25-33.
- Kankılıç, T., Çolak, E., Çolak, R. ve Yiğit, N., 2005. Allozyme variation in *Spalax leucodon* (Nordmann, 1840) (Rodentia: *Spalacidae*) in the area between Ankara and Beyşehir, Turk. J. Zool., 29, 377-384.
- Kankılıç, T., Kankılıç, T., Çolak, R., Kandemir, İ. ve Çolak, E., 2006. Morphological comparisons of seven chromosomal forms of *Spalax leucodon* (Nordmann, 1840) (Mammalia: Rodentia) in Turkey, Pakistan J Biol, Sci 9, 2419-2425.
- Kankılıç, T., Çolak, R., Kankılıç T. ve Çolak, E., 2007a. On the morphology and karyology of *Spalax leucodon armeniacus* (Mehely, 1909) and *Spalax leucodon cilicicus* (Mehely, 1909), (Mammalia: Rodentia) in Turkey, Acta Zool. Bulg, 59, 41-46.
- Kankılıç, T., Kankılıç, T., Çolak, R., Çolak, E. ve Karataş, A., 2007b. Karyological comparison of populations of the *Spalax leucodon* (Nordmann, 1840) superspecies (Rodentia: *Spalacidae*) in Turkey, Zool Middle East, 42, 1, 15-24.

- Kankılıç, T., Çolak, E. ve Kankılıç T., 2009. Macro-anatomical and karyological features of two blind mole rat subspecies (Rodentia: *Spalacidae*) from Turkey, Anat. Histol. Embryol, 38, 2, 145-153.
- Kankılıç, T., Kankılıç, T., Şeker, P.S., Çolak, R., Selvi, E. ve Çolak, E., 2010. Contributions to the karyology and distribution areas of cytotypes of *Nannospalax leucodon* (Rodentia: *Spalacidae*) in western Anatolia, Acta Zool Bulg., 62, 2, 161-167.
- Kankılıç, T., Kankılıç, T., Sözen, M. ve Çolak, E., 2013. Genetic diversity and geographic variation of chromosomal races of *Nannospalax xanthodon* (Normann, 1840) and *Nannospalax ehrenbergi* (Nehring, 1898) from Turkey, revealed by RAPD analysis, Acta Zool. Bulg., 65, 45-58.
- Kankılıç, T., Kankılıç, T., Şeker, P.S.O. ve Kıvanç, E., 2014. Morphological and biometrical comparisons of the baculum in the genus *Nannospalax* (Palmer, 1903) (Rodentia: *Spalacidae*) from Turkey with consideration of its taxonomic importance, Turk. J. Zool., 38, 2, 144-157.
- Kankılıç, T. ve Gürpınar, C., 2014. Revised classification design of the Anatolian species of *Nannospalax* (Rodentia: *Spalacidae*) using RFLP analysis, Turk. J. Zool., 38, 1, 68-78.
- Kankılıç, T., Kankılıç, T., Sözen, M. ve Çolak, E., 2015. Allozyme variations in Anatolian populations and cytotypes of the blind mole rats (*Nannospalax*), Biochemical Systematic and Ecology, 59, 126-134.
- Kankılıç, T., Arslan, A., Şeker, P.O., Kankılıç, T., Toyran, K. ve Zima, J., 2017. A new chromosomal race ($2n= 44$) of *Nannospalax xanthodon* from Turkey (Mammalia: Rodentia), Zoology in the Middle East, 63, 3, 181-188.
- Kayser, M., Kittler, R., Erler, A., Hedman, M., Lee, A.C., Mohyuddin, A., Mehdi, S.Q., Rosser, Z., Stoneking, M., Jobling, M.A., Sajantila, A. ve Tyler-Smith, C.A., 2004. A comprehensive survey of human Y-chromosomal microsatellites, Am. J. Hum. Genet., 74, 6, 1183-1197.
- Kıvanç, E., 1988. Geographic variation of Turkish *Spalax* species (*Spalacidae*, Rodentia, Mammalia), Ankara Üniversitesi, Ankara.
- Korobchenko, M. ve Zagorodniuk, I., 2009. Taxonomy and levels of differentiation in mole rats (*Spalacidae*) of the fauna of Ukraine and adjacent countries, Scientific Bulletin of the Uzhgorod University, Series Biology, 26, 1-14
- Kowalski, K., 2001. Pleistocene rodents of Europe, Folia Quaternaria, 72, 1-389.
- Kryštufek, B. ve Vohralík, V., 2009. Mammals of Turkey and Cyprus. Rodentia II. *Cricetinae*, *Muridae*, *Spalacidae*, *Calomyscidae*, *Capromyidae*, *Hystricidae*, *Castoridae*, Koper, Slovenia: Knjižnica Annales Majora, University of Primorska Science and Research Centre, Slovenija.

- Kryštufek, B., Ivanitskaya, E., Arslan, A., Arslan, E. ve Bužan, E. V., 2012. Evolutionary history of mole rats (genus *Nannospalax*) inferred from mitochondrial cytochrome b sequences, *Biol. J. Linn. Soc.*, 105, 446-455.
- Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C. ve Tamura, K., 2018. MEGA X: Molecular evolutionary Genetics Analysis Across Computing Platforms, *Molecular Biology and Evolution*, 35, 6, 1547-1549.
- Li, W.H., 1997. *Molecular Evolution*, Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts, U.S.A.
- Linder, C.R. ve Warnow, T., 2005. An overview of phylogeny reconstruction. In the *Handbook of Computational Molecular Biology*, Chapman and Hall/CRC Computer and Information Science Series, vol 9, CRC Press, Boca Raton, Florida, U.S.A.
- Liò, P. ve Goldman, N., 1998. Models of Molecular Evolution and Phylogeny, *Genome Research*, 8, 1233-1244.
- Liu, W.S., Mariani, P., Beattie, C.W., Alexander, L.J. ve Ponce De Leon, F.A., 2002. A radiation hybrid map for the bovine Y Chromosome, *Mamm. Genome*, 13, 320-326.
- de Leeuw, A., Mandić, O., de Bruijn, H., Marković, Z., Reumer, J., Wessels, W., Šišić, E. ve Krijgsman, W., 2011. Magnetostratigraphy and small mammals of the Late Oligocene Banovići Basin in NE Bosnia and Herzegovina, *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 310, 400-412.
- Luo, S.J., Johnson, W.E., David, V.A., Menotti-Raymond, M., Stanyon, R., Cai, Q.X., Beck, T., Yuhki, N., Pecon-Slattery, J., Smith, J.L. ve O'Brien, S.J., 2007. Development of Y chromosome intraspecific polymorphic markers in the *Felidae*, *J. Hered.*, 98, 5, :400-413.
- Lyapunova, E.A., Vorontsov, N.N. ve Martynova, L., 1971. Cytological differentiation of burrowing mammals in the Palaearctic, In *Symposium Theriologicum II. Prague*, 203-205.
- Lyapunova, E.A., Vorontsov, N.N. ve Martynova, L., 1974. Cytological differentiation of burrowing mammals in the Palaearctic. In Kratochvíl, J. and Obrtel, R., eds., *Symposium Theriologicum II. Academia, Prague*, 203-215.
- Leite-Silva, C., Santos, N., Fagundes, V., Yonenaga-Yassuda, Y. ve de Souza, M.J., 2003. Karyotypic characterization of the bat species *Molossus ater*, *M. molossus* and *Molossops planirostris* (Chiroptera, *Molossidae*) using FISH and banding techniques, *Hereditas*, 138, 94-100.
- Lyons, L.A., Laughlin, T.F., Copeland, N.G., Jenkins, N.A., Womack, J.E. ve O'Brien, S.J., 1997. Comparative anchor tagged sequences (CATS) for integrative mapping of mammalian genomes, *Nat. Genet.*, 15, 47-56.

- Lyons, L.A., Kehler, J.S. ve O'Brien, S.J., 1999. Development of comparative anchor tagged sequences (CATS) for canine genome mapping, *Journal of Heredity*, 90, 15-26.
- Marchal, J.A., Acosta, M.J., Bullejos, M., Diaz de la Guardia, R. ve Sanchez, A., 2003. Sex chromosomes, sex determination, and sex-linked sequences in *Microtidae*, *Cytogenet. Genome Res.*, 101, 266-273.
- Marchal, J.A., Acosta, M.J., Bullejos, M., Diaz de la Guardia, R. ve Sánchez, A., 2008. Origin and spread of the SRY gene on the X and Y chromosomes of the rodent *Microtus cabreræ*: role of L1 elements, *Genomics*, 91, 2, 142-151.
- Marshall Graves, J.A., 2002a. The rise and fall of SRY, *Trends Genet.*, 18, 259-64.
- Matur, F. ve Sözen, M., 2005. A karyological study on subterranean mole rats of the *Spalax leucodon* (Nordmann, 1840) (Mammalia: Rodentia) in northwestern Turkey, *Zool. Middle East*, 36, 1, 5-10.
- Matur, F., Çolak, F., Sevindik, M. ve Sözen, M., 2011. Chromosome differentiation of four $2n=50$ chromosomal forms of Turkish mole rat, *Nannospalax nehringi*, *Zool. Sci.*, 28, 1, 61-67.
- Matur, F., Çolak, F., Ceylan, T., Sevindik, M., Sözen, M., 2013. Chromosomal evolution of the genus *Nannospalax* (Palmer, 1903) (Rodentia, *Muridae*) from western Turkey, *Turk. J. Zool.*, 37, 470-487.
- Matur, F., Yanchukov, A., Çolak, F., Sözen, M., 2019. Two major clades of blind mole rats (*Nannospalax* sp.) revealed by mtDNA and microsatellite genotyping in Western and Central Turkey, *Mammalian Biology*, 94, 38-47.
- Mazeyrat, S., Saut, N., Sargent, C.A., Grimmond, S., Longepied, G., Ehrmann, I.E., Ellis, P.S., Greenfield, A., Affara, N.A. ve Mitchell, M.J., 1998. The mouse Y chromosome interval necessary for spermatogonial proliferation is gene dense with syntenic homology to the human AZFa region, *Hum. Mol. Genet.*, 7, 11, 1713-1724.
- Méhely, L., 1909. Species generis *Spalax*. A földi kutyák fajai származás- és rendszertani tekintetben, Magyar Tudományos Akadémia, Budapest, Hungary.
- Miyamoto, M.M. ve Cracraft, J., 1991. Phylogenetic analysis of DNA sequences, Oxford University Press, Oxford, UK.
- Murphy, W.J., Sun, S., Chen, Z.Q., Pecon-Slaterry, J., ve O'Brien, S.J., 1999. Extensive conservation of sex chromosome organization between cat and human revealed by parallel radiation hybrid mapping, *Genome Res.*, 9, 12, 1223-1230.
- Musser, G. ve Carleton, M., 2005. Superfamily Muroidea. In: Wilson D.E. and Reeder D.M., eds., *Mammal species of the world. A taxonomic and*

geographic reference, The Johns Hopkins University Press, 3rd edition, Baltimore, U.S.A.

- Nova, P., Reutter, B.A., Rabova, M. ve Zima, J., 2002. Sex-chromosome heterochromatin variation in the wood mouse, *Apodemus sylvaticus*, Cytogenet. Genome Res., 96, 1-4, 186-190.
- Németh, A., Révay, T., Hegyeli, Z., Farkas, J., Czabán, D., Rózsás, A. ve Csorba, G., 2009. Chromosomal forms and risk assessment of *Nannospalax* (superspecies *leucodon*) (Mammalia: Rodentia) in the Carpathian Basin, Folia Zool., 58, 3, 349-361.
- Németh A., Homonnay Z.G., Krizsik V., Révay, T., Czabán, D., Stojnić N., Farkas, J. ve Csorba, G., 2013a. Old views and new insights: taxonomic revision of the Bukovina blind mole rat, *Spalax graecus* (Rodentia: Spalacinae), Zool. J. Linn. Soc., 169, 4, 903-914.
- Németh, A., Krnács, G., Krizsik, V., Révay, T., Czabán, D., Stojnić N., Farkas, J. ve Csorba, G., 2013b. European rodents on the edge: Status and distribution of the Vojvodina blind mole rat, Springerplus, 2013, 2, 2.
- Nevo, E., Tchernov, E. ve Beiles, A., 1988b. Morphometrics of speciating mole rats: adaptive differentiation in ecological species, J. Zool. Syst. Evol. Res, 26, 283-314.
- Nevo, E., 1991. Evolutionary theory and process of active speciation and adaptive radiation in subterranean mole rats, *Spalax ehrenbergi* superspecies in Israel, Evol. Biol. 25, 1-125.
- Nevo, E. ve Beiles A., 1992. mtDNA polymorphisms: evolutionary significance in adaptation and speciation of subterranean mole rats, Biol. J. Linn. Soc, 47, 385-405.
- Nevo, E., 1993. Mode, tempo, and pattern of evolution in subterranean mole rats of the *Spalax ehrenbergi* superspecies in the Quaternary of Israel, Quat. Int., 19, 13-19.
- Nevo, E., Filippucci, M.G. ve Beiles, A., 1994a. Genetic polymorphisms in subterranean mammals (*Spalax ehrenbergi* superspecies) in the Near East revisited: Patterns and theory, Heredity, 72, 465-487.
- Nevo, E., Filippucci, M.G., Redi, C., Korol, A. ve Beiles, A., 1994b. Chromosomal speciation and adaptive radiation of mole-rats in Asia Minor correlated with increased ecological stress, Proc. Natl. Acad. Sci., 91, 8160-8164.
- Nevo, E., Filippucci, M.G., Redi, C., Simson, S., Heth, G. ve Beiles, A., 1995. Karyotype and genetic evolution in speciation of subterranean mole rats of the genus *Spalax* in Turkey, Biol. J. Linn. Soc., 54, 203-229.

- Nevo, E., Ivanitskaya, E., Filippucci, M.G. ve Beiles, A., 2000. Speciation and adaptive radiation of subterranean mole rats, *Spalax ehrenbergi* superspecies, in Jordan, Biol. J. Linn. Soc., 69, 263-281.
- O'Brien, S.J., Womack, J.E., Lyons, L.A., Moore, K.J., Jenkins, N.A. ve Copeland, N.G., 1993. Anchored reference loci for comparative genome mapping in mammals, Nature Genetics, 3, 103-112.
- Ognev, S.I., 1947. Mammals of the U.S.S.R. and Adjacent Countries. Vol. V. Rodents, Jerusalem, Israel Program for Scientific Translations.
- Page, R.D.M. ve Holmes, E.C., 1998. Molecular Evolution: A Phylogenetic Approach, Blackwell Science Ltd., NJ., U.S.A.
- Petit, E., Balloux, F. ve Excoffier, L., 2002. Mammalian population genetics: why not Y?, Trends Ecol. Evol., 17, 28-33.
- Puzachenko, A.I., 2006. Variability of skull in lesser mole rats of the genus *Nannospalax* (Spalacidae, Rodentia), Zool. Zh., 85, 235-253.
- Rambaut, A., Drummond, A.J., Xie, D., Baele, G. ve Suchard, M.A., 2018. Posterior Summarization in Bayesian Phylogenetics Using Tracer 1.7, Systematic Biology, 67, 5, 901-904.
- Rozas, J., Ferrer-Mata, A., Sánchez-DelBarrio, J.C., Guirao-Rico, S., Librado, P., Ramos-Onsins, S.E. ve Sánchez-Gracia, A., 2017. DnaSP 6: DNA sequence polymorphism analysis of large data sets, Molecular biology and evolution, 34, 12, 3299-3302.
- Rozen, S., Skaletsky, H., Marszalek, J.D., Minx, P.J., Cordum, H.S., Waterston, R.H., Wilson, R.K. ve Page, D.C., 2003. Abundant gene conversion between arms of palindromes in human and ape Y chromosomes, Nature, 423, 873-876.
- Saitou, N. ve Nei, M., 1987. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees, Mol. Biol. Evol., 4, 406-425.
- Savić, I., 1982. Familie *Spalacidae* (Gray, 1821) - Blindmäuse. In: Niethammer, J. ve Krapp, F., eds., Handbuch der Säugetiere Europas, Akademische Verlagsgesellschaft, Wiesbaden, 539-584.
- Savić, I. ve Soldatović B., 1984. Karyotype evolution and taxonomy of the genus *Nannospalax* (Palmer, 1903), Mammalia, in Europe, Serbian Academy of Sciences and Arts, Separate editions, 59, 1-104.
- Savić, I. ve Nevo, E., 1990. The *Spalacidae*: Evolutionary history, speciation, and population biology. In Evolution of Subterranean Mammals at the Organismal and Molecular Levels, Nevo, E., Reig, O.A., eds., Alan R. Liss, Inc. New York, U.S.A.

- Sinclair, A.H., Berta, P., Palmer, M.S., Hawkins, J.R., Griffiths, B.L., Smith, M.J., Foster, J.W., Frischauf, A.M., Lovell-Badge, R. ve Goodfellow, P.N., 1990. A gene from the human sex-determining region encodes a protein with homology to a conserved DNA-binding motif, *Nature* 346, 240-244.
- Skaletsky, H., Kuroda-Kawaguchi, T., Minx, P.J., Cordum, H.S., Hillier, L., Brown, L.G., Repping, S., Pyntikova, T., Ali, J., Bieri, T., Chinwalla, A., Delehaunty, A., Delehaunty, K., Du, H., Fewell, G., Fulton, L., Fulton, R., Graves, T., Hou, S.F., Latrielle, P., Leonard, S., Mardis, E., Maupin, R., McPherson, J., Miner, T., Nash, W., Nguyen, C., Ozersky, P., Pepin, K., Rock, S., Rohlfsing, T., Scott, K., Schultz, B., Strong, C., Tin-Wollam, A., Yang, S.P., Waterston, R.H., Wilson, R.K., Rozen, S. ve Page D.C., 2003. The male-specific region of the human Y chromosome is a mosaic of discrete sequence classes, *Nature*, 423, 825-837.
- Sözen, M. ve Kıvanç, E., 1998a. Two new karyotypic forms of *Spalax leucodon* (Nordmann, 1840) (Mammalia: Rodentia) from Turkey, *Z. Säugetierkd*, 63, 307-310.
- Sözen, M. ve Kıvanç E., 1998b. A new karyotype of *Spalax leucodon cilicicus* (Mehely, 1909) (Mammalia: Rodentia) from type locality in Turkey, *Isr. J. Zool*, 44, 53-56.
- Sözen, M., Çolak, E., Yiğit, N., Özkurt, Ş. ve Verimli, R., 1999. Contributions to the karyology and taxonomy of the genus *Spalax* (Güldenstaedt, 1770) (Mammalia: Rodentia) in Turkey, *Z. Säugetierkd*, 64, 210-219.
- Sözen, M., Çolak, E. ve Yiğit, N., 2000a. Contributions to the karyology and taxonomy of *Spalax leucodon nehringi* (Satunin, 1898) and *Spalax leucodon armeniacus* (Mehely, 1909) (Mammalia: Rodentia) in Turkey, *Z. Säugetierkd*, 65, 309-312.
- Sözen, M., Çolak, E. ve Yiğit, N., 2000b. A study on karyotypic evolution of the genus *Spalax* (Güldenstaedt, 1770) (Mammalia: Rodentia) in Turkey, *Isr. J. Zool.*, 46, 239-242.
- Sözen, M., 2004. A karyological study on subterranean mole rats of the *Spalax leucodon* (Nordmann, 1840) superspecies in Turkey, *Mamm. Biol.*, 64, 420-429.
- Sözen, M., 2005. A biological investigation on Turkish *Spalax* (Guldenstaedt, 1770) (Mammalia, Rodentia), *Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi* 18, 167-181.
- Sözen, M., Matur, F., Çolak, E., Özkurt, Ş. ve Karataş, A., 2006a. Some karyological records and a new chromosomal form for *Spalax* (Mammalia: Rodentia) in Turkey, *Folia Zool.*, 55, 247-256.
- Sözen, M., Sevindik, M. ve Matur, F., 2006b. Karyological and some morphological characteristics of *Spalax leucodon* (Nordmann, 1840) (Mammalia: Rodentia)

- superspecies around Kastamonu province, Turkey, Turk. J. Zool., 30, 205-219.
- Sözen, M., Çataklı, K., Eroğlu, F., Matur, F. ve Sevindik, M., 2011. Distribution of chromosomal forms of *Nannospalax nehringi* (Satunin, 1898) (Rodentia: Spalacidae) in Çankırı and Çorum provinces, Turkey, Turk. J. Zool., 35, 367-374.
- Sözen, M., Çolak, F., Sevindik, M. ve Matur, F., 2013. Cytotypes of *Nannospalax xanthodon* (Satunin, 1898) (Rodentia, Spalacidae) from western Anatolia, Turk. J. Zool., 37, 462-469.
- Stamatakis, A., 2014. RAxML version 8: a tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies, Bioinformatics, 30, 9, 1312-1313.
- 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, 1.
- Tez, C., Gündüz, İ. ve Kefelioğlu, H., 2001. Karyological study of *Spalax leucodon* (Nordmann, 1840) in central Anatolia, Pakistan J. Biol., Sci. 4, 869-871.
- Toder, R., Wienberg, J., Voullaire, L., O'Brien, P.C., Maccarone, P. ve Graves, J.A.M., 1997. Shared DNA sequences between the X and Y chromosomes in the tammar wallaby-evidence for independent additions to eutherian and marsupial sex chromosomes, Chromosoma, 106, 94-98.
- Toder, R., Wakefield, M.J. ve Graves, J.A., 2000a. The minimal mammalian Y chromosome-the marsupial Y as a model system, Cytogenet. Cell Genet., 91, 285-292.
- Topachevskii, V.A., 1969. The fauna of the USSR: mammals, mole rats, Spalacidae, Vol 3, Nauka, Leningrad, Russia
- Turner, M.E., Martin, C., Martins, A.S., Dunmire, J., Farkas, J., Ely, D.L. ve Milsted, A., 2007. Genomic and expression analysis of multiple Sry loci from a single *Rattus norvegicus* Y chromosome, BMC genetics, 8, 1, 11.
- Ünay, E., 1996. On fossil Spalacidae. In: Bernor R.L., Fahlbusch V., Mittman H.W., eds. The evolution of western Eurasian Neogene mammal faunas, Columbia University Press, New York, U.S.A.
- Wahrman, J., Goitein, R. ve Nevo, E., 1969a. Mole rat *Spalax*: evolutionary significance of chromosome variation, Science, 164, 82-84.
- Wahrman, J., Goitein, R. ve Nevo, E., 1969b. Geographic variation of chromosome forms in *Spalax*, a subterranean mammal of restricted mobility. In: Benirschke, K., eds., Comparative mammalian cytogenetics, Springer-Verlag, New York, U.S.A.

- Waters, P.D., Duffy, B., Frost, C.J., Delbridge, M.L. ve Graves, J.A., 2001. The human Y chromosome derives largely from a single autosomal region added to the sex chromosomes 80-130 million years ago, *Cytogenet. Cell Genet.*, 92, 74-79.
- Watson, J.M., Spencer, J.A., Graves, J.A., Snead, M.L. ve Lau, E.C., 1992. Autosomal localization of the amelogenin gene in monotremes and marsupials: implications for mammalian sex chromosome evolution, *Genomics*, 14, 785-789.
- Wilson, D.E. ve Reeder, D.M., 2005. *Mammal Species of the World: A Taxonomic and Geographic Reference*. 3rd ed., The Johns Hopkins University Press, Baltimore, MD, U.S.A.
- Wolf, U., Flinspach, G., Böhm, R. ve Ohno, S., 1965. DNS- Reduplikationsmuster bei den riesen-geschlechtschromosomen von *Microtus agrestis*, *Chromosoma*, 16, 609-617.
- Yiğit, N., Çolak, E., Sözen, M. ve Karataş, A., 2006. *Rodents of Türkiye*, Meteksan A.Ş., Ankara.
- Yüksel, E., 1984. Cytogenetic study in *Spalax* (Rodentia: *Spalacidae*) from Turkey, *Communications de la Faculte des Sciences de l'Université d'Ankara, Serie C, Biologie*, 2, 1-12.
- Yüksel, E. ve Gülkaç M. D., 2001. The cytogenetical comparison of *Spalax* (Rodentia: *Spalacidae*) populations from middle Kızılırmak basin, Turkey, *Turk. J. Biol.*, 25, 17-24.

ÖZGEÇMİŞ

Adı ve Soyadı: Ekrem TINAZ

Doğum Yeri: İstanbul

Doğum Tarihi: 16.01.1987

E-posta adresi: ekremtinaz@yahoo.com

EĞİTİM BİLGİLERİ

Lisans: Adnan Menderes Üniversitesi, Biyoloji Bölümü (2006-2011)

Lisans: Anadolu Üniversitesi, AÖF, Sosyoloji Bölümü (2016-devam)

Yüksek Lisans: Aksaray Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü (2011-2019)

MESLEKİ DENEYİM

- Atafen A.Ş, İzmir (2018-devam)
- Safe Spice Gıda Sterilizasyon A.Ş, İzmir (2016-2018)
- Aybak Natura Analiz Laboratuvar Hizmetleri A.Ş, İzmir (2013-2016)

PROJE DENEYİMİ

- T.C. Çevre ve Şehircilik Bakanlığı, Göksu deltası (Silifke - Mersin) Özel Çevre Koruma Bölgesi, Deniz Kaplumbağaları ve Nil Kaplumbağası Popülasyonlarının Korunması ve İzlenmesi Projesi (Alan sorumlusu).

AKADEMİK ÇALIŞMALAR

A. Hakemli Dergilerde Yayımlanan Makaleler

- A1.** Altinyazar, V., Günderici, A., **Tinaz E.** ve Kirci, C., 2015. No association of catechol-O-methyltransferase (COMT) gene haplotypes in patients with schizophrenia in the Turkish population. Bulletin of Clinical Psychopharmacology, 25, 2, 129-135.

A.2. Durmuş, H., Güçlü, Ö., Candan, K. ve **Tınaz, E.**, 2013. Reproductive Biology of the Loggerhead Sea Turtle, CARETTA CARETTA, in Dalyan Beach, Turkey, Eur. J. Environ., 1, 11-15.

B. Yurtdışı Kongrelerde Sunulan Bildiriler

B.1. K. Candan, E. Tınaz, Ö. Güçlü, T. Kankılıç ve S.H. Durmuş, 2012. Göksu Kumsalı'ndaki Çakal (*Canis aureus*) ve Tilki (*Vulpes vulpes*) Populasyonlarının Tespiti ve *Caretta caretta* Yumurtaları Üzerindeki Predasyon Etkilerinin Saptanması, First International Biology Congress, Bishkek, Kyrgyzstan, September 24-27 (Poster sunumu).

B.2. Z. Eskin, K. Candan, E. Tınaz, N. Beser, A. Apak, O. Guclu, B. Bozdogan, 2010. Antibacterial effects of soil bacteria isolated from beach sand at Dalyan, Turkey, American Society For Microbiology, 110th general meeting, San Diego, California, U.S.A., May 23-27 (Poster sunumu).

C. Yurtiçi Kongrelerde Sunulan Bildiriler

C.1. F. Çakmak, **E. Tınaz**, D. Özdemir, M. Karadağ ve G. Türköz Bakırcı, 2016. Tüketime Sunulan Çeşitli Gıda Gruplarının *Bacillus cereus* ile Kontaminasyonu, Korelasyonu ve Halk Sağlığı Üzerine Etkilerinin Araştırılması, Türkiye 12. Gıda Kongresi, Trakya Üniversitesi, Edirne, 5-7 Ekim (Sözlü Sunum).

C.2. **E. Tınaz**, F. Çakmak, N. Demir, Ozan Yıldırım, G. Türköz Bakırcı ve F. Bakırcı, 2015. Ege Bölgesi'nde Satışa Sunulan Kuru Üzüm Örneklerinde Küf ve Okratoksin A İlişkisinin İncelenmesi, 9. Gıda Mühendisliği Kongresi, Selçuk, İzmir, 12-14 Kasım (Sözlü Sunum).

C.3. **E. Tınaz**, S. Eser, G. Türköz Bakırcı ve F. Bakırcı, 2015. İklim Değişikliğinin Gıda Güvenliğine Etkileri, 12. Ulusal Ekoloji ve Çevre Kongresi, Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Muğla, 14-17 Eylül (Poster sunumu).

C.4. **E. Tınaz**, F. Çakmak, D. İtik ve G. Türköz Bakırcı, 2015. İzmir'de Tüketime Sunulan Hazır Yemek Örneklerinde Stafilocokal Enterotoksin Aranması, 5. Gıda Güvenliği Kongresi, İstanbul, 7-8 Mayıs (Poster sunumu).

C.5. F. Çakmak, D. İtik, **E. Tınaz** ve G. Türköz Bakırcı, 2015. Baharat ve Çeşni Veren Bitkilerde *Enterobacteriaceae* Üyelerinin Kromojenik Besiyerleri ile Tespiti, 5. Gıda Güvenliği Kongresi, İstanbul, 7-8 Mayıs (Poster sunumu).

C.6. T. Kankılıç, K. Candan, **E. Tınaz**, Ö. Güçlü ve S.H. Durmuş, 2012. Göksu Kumsalı'ndaki Çakal (*Canis aureus*) ve Tilki (*Vulpes vulpes*) Populasyonlarının Tespiti ve *Caretta caretta* Yumurtaları Üzerindeki Predasyon Etkilerinin Saptanması, 4. Ulusal Deniz Kaplumbağaları Sempozyumu, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Çanakkale, 11-13 Ekim (Poster sunumu).

- C.7.** Ö. Güçlü, K. Candan, S.H. Durmuş ve **E. Tınaz**, 2012. 2011 Üreme Döneminde Göksu Kumsalı'nda Yuvalayan *Caretta caretta* Populasyonunun Üreme Ekolojisi, 4. Ulusal Deniz Kaplumbağaları Sempozyumu, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Çanakkale, 11-13 Ekim (Sözlü sunum).
- C.8.** V. Altınyazar, A. Günderici, Ç. Kırıcı Dallıoğlu, A. İşsever, B. Gündüz, **E. Tınaz**, S. Ildırlı ve F. Dereboy, 2011. Şizofreni ve COMT Geni Haplotipleri, Dopamin Transporter ve Glutamat Transporter Gen Polimorfizmlerinin İlişkisi, Türkiye Psikiyatri Derneği Yıllık Toplantısı, 15. Bahar sempozyumu, Antalya, 12-16 Nisan (Sözlü sunum).
- C.9.** **E. Tınaz**, A. Apak, N. Beşer, K. Candan, Ö. Güçlü, Z. Eskin ve B. Bozboğan, 2010. Kum Örneklerinden İzole Edilen Bakterilerin Antimikrobiyal Etkilerinin İncelenmesi, 20. Ulusal Biyoloji Kongresi, Pamukkale Üniversitesi, Denizli, 21-25 Haziran (Poster sunumu).
- C.10.** **E. Tınaz**, K. Candan, T. İlhan, S.İ. Cihangir, G. Boyacı ve S.H. Durmuş, 2009. 2009 Üreme Döneminde Dalyan Kumsalında *Caretta Caretta* Ergin Dişilerinin Yuvalama Potansiyelinin Değerlendirilmesi ve Popülasyona Yönelik Koruma Tedbirleri, 3. Ulusal Deniz Kaplumbağaları Sempozyumu, Mersin Üniversitesi, Mersin, 3-5 Aralık (Sözlü sunum).