

T.C.
ARTVİN ÇORUH ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**TÜRKİYE’DE YAYILIŞ GÖSTEREN *Arvicola amphibius*’un (MAMMALIA:
RODENTIA) ORTA ANADOLU VE DOĞU ANADOLU’DA YAYILIŞ GÖSTEREN
POPULASYONLARININ NÜKLEER DNA (INTERPHOTORECEPTOR
RETINOID BINDING PROTEIN, IRBP) VARYASYONLARI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Derya GÖKÇE BEKTAŞ

Danışman

Dr. Öğr. Üyesi Perinçek Seçkinozan ŞEKER

Artvin 2023

TEZ BEYANNAMESİ

Artvin oruh Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsüne Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum ‘‘Türkiye’de Yayılış Gösteren *Arvicola amphibius*’un (Mammalia: Rodentia) Orta Anadolu ve Doğu Anadolu’da Yayılış Gösteren Populasyonlarının Nükleer DNA (Interphotoreceptor Retinoid Binding Protein, IRBP) Varyasyonları’’ başlıklı bu çalışmayı baştan sona kadar danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Perinçek Seçkinozan şEKER’in sorumluluğunda tamamladığımı, verileri/örnekleri kendim topladığımı, deneyleri/analizleri ilgili laboratuvarlarda yaptığımı/yaptırdığımı, başka kaynaklardan aldığım bilgileri metinde ve kaynakçada eksiksiz olarak gösterdiğimi, çalışma sürecinde bilimsel araştırma ve etik kurallara uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul ettiğimi beyan ederim. 02/02/2023

Derya GÖKÇE BEKTAş

LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE

Dr. Öğr. Üyesi Perinçek Seçkinozan ŞEKER danışmanlığında, Derya GÖKÇE BEKTAŞ tarafından hazırlanan çalışma 24/02/2023 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Biyoloji Anabilim Dalı'nda yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan : Dr. Öğr. Üyesi Hayal AKYILDIRIM BEĞEN İmza:.....

Jüri Üyesi : Dr. Öğr. Üyesi Münir UÇAK İmza:.....

Jüri Üyesi : Dr. Öğr. Üyesi Perinçek Seçkinozan ŞEKER İmza:.....

Yukarıdaki imzalar adı geçen öğretim üyelerine aittir.

Doç. Dr. Çağatay KORKMAZ / /
Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

“Türkiye’de Yayılış Gösteren *Arvicola amphibius*’un (Mammalia: Rodentia) Orta Anadolu ve Doğu Anadolu’da Yayılış Gösteren Populasyonlarının Nükleer DNA (Interphotoreceptor Retinoid Binding Protein, IRBP) Varyasyonları” konusunda yapılan bu çalışma; Artvin Çoruh Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında yüksek lisans tezi olarak hazırlanmıştır.

Bu çalışma için beni yönlendiren, çalışmanın hazırlanması süresince bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım, çalışma kapsamında örneklerini kullandığım, çalışmanın her aşamasında yardımcı olan değerli danışmanın Dr. Öğr. Üyesi Perinçek Seçkinozan ŞEKER’e teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmanın laboratuvar sürecinde yardımlarını esirgemeyen, laboratuvar malzemesi desteği sağlayan değerli hocam Dr. Öğr. Üyesi Hayal AKYILDIRIM BEĞEN’e teşekkürlerimi sunarım.

Maddi ve manevi destekleri ile bu çalışmanın hayata geçirilmesinde yardımlarını esirgemeyen aileme teşekkürü bir borç bilirim.

Bu çalışmanın her aşamasıyla araştırmacılara yararlı olmasını dilerim.

Derya GÖKÇE BEKTAŞ

Artvin - 2023

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
TEZ BEYANNAMESİ	I
ÖNSÖZ	III
İÇİNDEKİLER.....	IV
ÖZET	V
SUMMARY	VI
TABLolar DİZİNİ.....	VII
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VIII
KISALTMALAR DİZİNİ.....	IX
1. GİRİŞ	1
2. MATERYAL VE YÖNTEM.....	4
2.1 Örnekleme	4
2.2 Laboratuvar çalışmaları	4
2.2.1 DNA saflaştırma	5
2.2.2 DNA çoğaltımı	6
2.2.3 Agaroz jel elektroforezi	8
2.3 Biyoinformatik analizler	10
3. BULGULAR.....	12
3.1 Filogenetik analizler	12
3.2 Genetik yapı analizleri	15
4. TARTIŞMA.....	17
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	19
EKLER	20
KAYNAKLAR.....	35
ÖZGEÇMİŞ	38

ÖZET

TÜRKİYE'DE YAYILIŞ GÖSTEREN *Arvicola amphibius*'un (MAMMALIA: RODENTIA) ORTA ANADOLU VE DOĞU ANADOLU'DA YAYILIŞ GÖSTEREN POPULASYONLARININ NÜKLEER DNA (INTERPHOTORECEPTOR RETINOID BINDING PROTEIN, IRBP) VARYASYONLARI

Bu çalışmada, sucul habitatlarda yaşamaya uyum sağlamış bir kemirgen olan *Arvicola amphibius*'un Orta ve Doğu Anadolu'da yaşayan populasyonlarının nükleer DNA interphotoreceptor retinoid-binding protein (IRBP) gen dizilerindeki varyasyonlar belirlenerek populasyonlar arasındaki filogenetik ilişkiler ve genetik farklılıklar araştırıldı. IRBP gen bölgesi için toplam 12 özgün haplotip belirlendi. Neighbour-Joining (NJ), Maximum Likelihood (ML) ve network analizleri ile incelenen populasyonların Orta Anadolu ve Doğu Anadolu olmak üzere iki farklı coğrafik soy grubu oluşturduğu tespit edildi. IRBP gen dizilimi bakımından her iki coğrafik soy grubunu oluşturan populasyonlar arasında genetik farklılaşmanın yüksek düzeyde olduğu, gen akışının da düşük seviyede olduğu tespit edildi. Kimura 2-parametresi temel alınarak hesaplanan genetik uzaklık değeri, alttür ya da tür düzeyindeki genetik farklılaşmadan ziyade, soy grupları arasında tür içi varyasyon düzeyinde bir genetik farklılaşmanın olduğunu gösterdi. İki farklı coğrafik soy grubunun oluşmasındaki en önemli unsurun, soy grupları arasındaki gen akışını engelleyen Anadolu Diyagonali'ni oluşturan sıradağların olabileceği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: *Arvicola amphibius*, nükleer DNA, interphotoreceptor retinoid-binding protein geni, genetik varyasyon, Türkiye

SUMMARY

VARIATIONS OF THE NUCLEAR DNA (INTERPHOTORECEPTOR RETINOID BINDING PROTEIN, IRBP) IN THE POPULATIONS OF *Arvicola amphibius* (MAMMALIA: RODENTIA) DISTRUBUTED IN CENTRAL AND EAST ANATOLIA LIVING IN TURKIYE

In this study, phylogenetic relationships and genetic differences between populations were investigated by determining the variations in nuclear DNA interphotoreceptor retinoid-binding protein (IRBP) gene sequences of *Arvicola amphibius*, a rodent adapted to living in aquatic habitats, living in Central and Eastern Anatolia. A total of 12 specific haplotypes were determined for the IRBP gene region. It was determined that the populations examined by Neighbour-Joining (NJ), Maximum Likelihood (ML) and network analyses formed two different geographical lineages, namely Central Anatolia and East Anatolia. In terms of IRBP gene sequencing, it was determined that the genetic differentiation was at a high level and the gene flow was at a low level between the populations constituting both geographical lineage groups. The genetic distance value calculated according to the Kimura 2-parameter indicated that there was genetic variation at the intraspecific level of variation among lineages rather than at the subspecies or species level. It is believed that the most significant agent in the formation of two different geographical lineage groups may be the mountain ranges forming the Anatolian Diagonal, which prevents gene flow between lineage groups.

Key Words: *Arvicola amphibius*, nuclear DNA, interphotoreceptor retinoid-binding protein gene, genetic variation, Türkiye

TABLÖLAR DİZİNİ

Sayfa No

Tablo 1. IRBP gen bölgesi nükleotid diziliminin ML analizinde kullanılan en uygun nükleotid değişim modeli	11
Tablo 2. <i>A. amphibius</i> 'un IRBP gen bölgesi haplotip listesi.....	12
Tablo 3. Orta Anadolu ve Doğu Anadolu coğrafik soy gruplarının kısmi IRBP gen dizilimine ait belirtici istatistikler.....	16
Tablo 4. <i>A. amphibius</i> 'un coğrafik soy gruplarında gözlenen genetik çeşitlilik istatistikleri.....	16
Tablo 5. <i>A. amphibius</i> 'un IRBP coğrafik soy grupları arasındaki genetik mesafe matrisi .	16
Tablo 6. <i>A. amphibius</i> 'un IRBP gen bölgesi coğrafik soy grupları arasındaki genetik farklılaşma ve gen akışı değerleri.....	16

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 1. Tez çalışmasında kullanılan örneklerin toplandığı lokaliteler	4
Şekil 2. Saflaştırılan DNA'ların jel üzerindeki bant görüntüleri (kalitatif kalite tayini).....	6
Şekil 3. PCR çalışmasında kullanılan kimyasallar ile araç ve gereçler	7
Şekil 4. PCR cihazı ve PCR koşulları.....	8
Şekil 5. Elektroforez sistemi.....	9
Şekil 6. PCR sonrası ürünlerin agaroz jel görüntüsü.....	9
Şekil 7. <i>A. amphibus</i> IRBP gen bölgesinin kısmi nükleotid dizilimi ve veri dosyası	10
Şekil 8. <i>A. amphibus</i> populasyonları arasındaki evrimsel ilişkileri gösteren Neighbour- Joining (NJ) ağacı.....	13
Şekil 9. <i>A. amphibus</i> populasyonları arasındaki evrimsel ilişkileri gösteren Maximum- Likelihood (ML) ağacı.	14
Şekil 10. <i>A. amphibus</i> ve dış gruplarda belirlenen toplam 15 haplotip arasındaki evrimsel ilişki örgüsü.	15

KISALTMALAR DİZİNİ

%	Yüzde
π	Nükleotid Çeşitliliği
°C	Santigrat Derece
μ l	Mikrolitre
μ mol	Mikromol
A	Adenin
AICc	Corrected Akaike Information Criterion (Düzeltilmiş Akaike Bilgi Kriteri)
BIC	Bayesian Information Criterion (Bayesian Bilgi Kriteri)
BME	Betamerkaptoetanol
C	Sitozin
CTAB	Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide
dATP	Deoksiadenozin Trifosfat
dCTP	Deoksisitidin Trifosfat
ddNTP	Dideoksiribonükleotid Ttrifosfat
dGTP	Deoksiguanozin Trifosfat
DNA	Deoksiribonükleik Asit
dNTP	Deoksiribonükleotid Trifosfat
dTTP	Deoksitimidin Trifosfat
EDTA	Etilendiamintetraasetik Asit
EtBr	Etidyum Bromür
F _{ST}	Genetik Farklılaşma İndisi
h	Haplotip Çeşitliliği
I	Değişken olmayan bölge
K2P	Kimura 2-Parametresi
G	Guanin
mg	Miligram
ml	Mililitre
mM	Milimolar
M	Molar
MA	Molekül Ağırlığı

ML	Maximum Likelihood (Maksimum Olasılık)
n	Örnek sayısı
NaCl	Sodyum Klorür
ng	Nanogram
NJ	Neighbour-Joining (Komşu Birleştirme)
Nm	Gen Akışı
P	Parsimonik bilgilendirici bölge
pH	Power of Hydrogen (Hidrojen Gücü)
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RNA	Ribonükleik Asit
RNase	Ribonükleaz
rpm	Dakikadaki Devir Sayısı
rRNA	Ribosomal RNA
T	Timin
TAE	Tris asetat EDTA
<i>Taq</i>	<i>Thermus aquaticus</i>
TE	Tris-EDTA
TN92	Tamura-3 nükleotid değişim modeli
tRNA	Transfer RNA
UV	Ultraviyole
V	Değişken Bölge

1. GİRİŞ

Su sıçanı olarak bilinen *Arvicola amphibius* kemirgenler (Rodentia) takımında yer alan, akarsu ve göller gibi sucul habitatları çevreleyen sazlık alanlarda yaşamaya uyum sağlamış küçük bir memeli türüdür. Ülkemiz genelinde geniş bir coğrafyada yayılımı vardır (Şeker ve ark., 2018). Geçmişteki çalışmalarda bu tür için geçerli bilimsel isim olarak *Arvicola terrestris* kullanılmış olsa bile; güncel çalışmalarda *Arvicola amphibius* kullanımı tercih edilen bilimsel isimdir (Şeker ve ark., 2018).

Türkiye’de kemirgenler üzerine geçmiş yıllarda yapılan sistematik çalışmalarda çoğunlukla çalışılan türün biyometrik özellikleri dikkate alınmıştır. Mursaloğlu (1975) biyometrik özelliklerine göre Türkiye genelinde *A. amphibius*’un üç farklı alttürünün varlığını tespit etmiştir. Bu alttürler ve yayılım alanları şöyledir; Trakya’da *Arvicola amphibius cernjanskii*, Anadolu’da *Arvicola amphibius persicus* ve Hatay’da *Arvicola amphibius hintoni*. Bu çalışmaya müteakip geçmişte yapılan diğer çalışmalarda (Özkurt ve ark., 1999; Tez ve ark., 2011), *A. amphibius*’un biyometrik özellikleri incelenmiş ve elde edilen bulguların Mursaloğlu (1975) tarafından yapılan çalışmanın sonuçları ile uyumlu olduğunu belirtilmiştir.

Bu kemirgen türünün Türkiye’de yaşayan popülasyonlarının standart karyotipinin 36 kromozomdan oluştuğu ($2n=36$, $NF=64$ ve $NFa=60$) belirlenmiştir (Özkurt ve ark., 1999). Ancak, farklı araştırmacılar tarafından geçmişte yapılan karyotip çalışmalarında, *A. amphibius*’un ayrı coğrafyalarda yaşayan popülasyonlarının kromozom özelliklerinin otozomal kromozom morfolojisi bakımından değişkenlik gösterdiği belirlenmiştir (Gözcüoğlu ve ark., 2006, Tez ve ark., 2011, Arslan ve ark., 2011, Şeker ve ark., 2018).

Tür üzerine allozim özelliklerini belirlemeye yönelik biyokimyasal çalışmalar da yapılmıştır. Bu çalışmalardan birinde, Kırşehir popülasyonlarının genetik çeşitlilik seviyesinin yüksek olduğu belirlenmiştir (İyigün ve Çolak, 2004). Bunun yanı sıra, Gözcüoğlu (2009) tarafından tapılan bir diğer allozim çalışmasının sonuçlarına göre Trakya’da yaşayan *A. a. cernjanskii* alttürü ile Anadolu’da yaşayan *A. a. persicus* alttürlerinin genetik olarak birbirinden ayrıldığı tespit edilmiştir.

Üstünbaş ve ark., (2011) tarafından yapılan RAPD-PCR çalışmasının sonuçlarına göre Trakya'da yaşayan alttür *A. a. cernjavskii* ile Anadolu'da yaşayan alttür *A. a. persicus*'un makul seviyede genetik farklılıkları olan populasyonlar olduğu belirlenmiştir. Bu genetik farklılıkların sebebinin, Marmara Denizi ve İstanbul Boğazı'nın coğrafik bariyer olarak görev yapmasından kaynaklanan, *A. amphibius*'un Trakya ve Anadolu populasyonları arasında gen akışının kesilmesi olabileceğini belirtmişlerdir. Daha geniş kapsamlı mitokondriyal DNA temelli bir diğer çalışmada, Şeker (2015) Türkiye genelindeki *A. amphibius* populasyonlarının genetik varyasyonlarını ortaya koymuştur. Buna göre tür içinde genetik bakımdan yüksek seviyede farklılaşmış populasyonlar tespit edilmiş olup, söz konusu genetik farklılıkların Türkiye'nin jeomorfolojik özellikleri ile beraber, güncel topografik yapısından kaynaklanmış olabileceği ifade edilmiştir.

Bu tür üzerinde ülkemizde şu ana kadar yapılan çalışmaların sonuçları özetlenecek olursa, *A. amphibius* populasyonlarının biyometrik, biyokimyasal (allozim), sitogenetik (karyolojik) ve genetik özellikleri (mitokondriyal DNA) bakımından farklılaşmış populasyonlara sahip olduğu söylenebilir. Buna göre, bu türün Trakya'da *A. a. cernjavskii*, Anadolu'da *A. a. persicus* ve Hatay'da *A. a. hintoni* olmak üzere üç alttürünün yaşadığı geçmiş çalışmalarla onaylanmıştır (Mursaloğlu, 1975; Özkurt ve ark., 1999; Tez ve ark., 2011). Mitokondriyal DNA varyasyonları göz önüne alındığında ise beş farklı soy hattının varlığı (Trakya, Batı Anadolu, Orta Anadolu, Hatay ve Doğu Anadolu soy hatları) belirlenmiştir (Şeker, 2015).

Mitokondriyal DNA verilerine göre oluşturulan filogenilerde sadece anne tarafından gelen soy hattının evrimsel geçmişi izlenebilirken, nükleer genler tarafından oluşturulan filogenetik ağaçlar, türün evrimsel geçmişine yönelik daha güçlü çıkarımlar yapmak için mitokondriyal DNA verileri ile birlikte yaygın olarak kullanılmaktadır. *A. amphibius*'un Türkiye populasyonları üzerine biyometrik, biyokimyasal (allozim), sitogenetik (karyolojik) ve mitokondriyal DNA temelli çalışmalar yapılmış olmasına rağmen nükleer gen dizilerini kullanan bir çalışma mevcut değildir. Bu bağlamda, bu tez çalışması ile *A. amphibius*'un Orta Anadolu ve Doğu Anadolu populasyonları arasındaki genetik farklılıkların, bir nükleer gen olan interphotoreceptor retinoid-binding protein (IRBP) dizi varyasyonlarına dayalı olarak araştırılması amaçlandı. IRBP geni, tek kopyalı bir nükleer gendir (Stanhope ve ark., 1992). Bu gen, omurgalıların gözlerinde ifade edilir ve aydınlık ile karanlık faz adaptasyonu sırasında retinoidlerin transferinde işlev görür (Bridges ve ark., 1986; Fong ve ark., 1990).

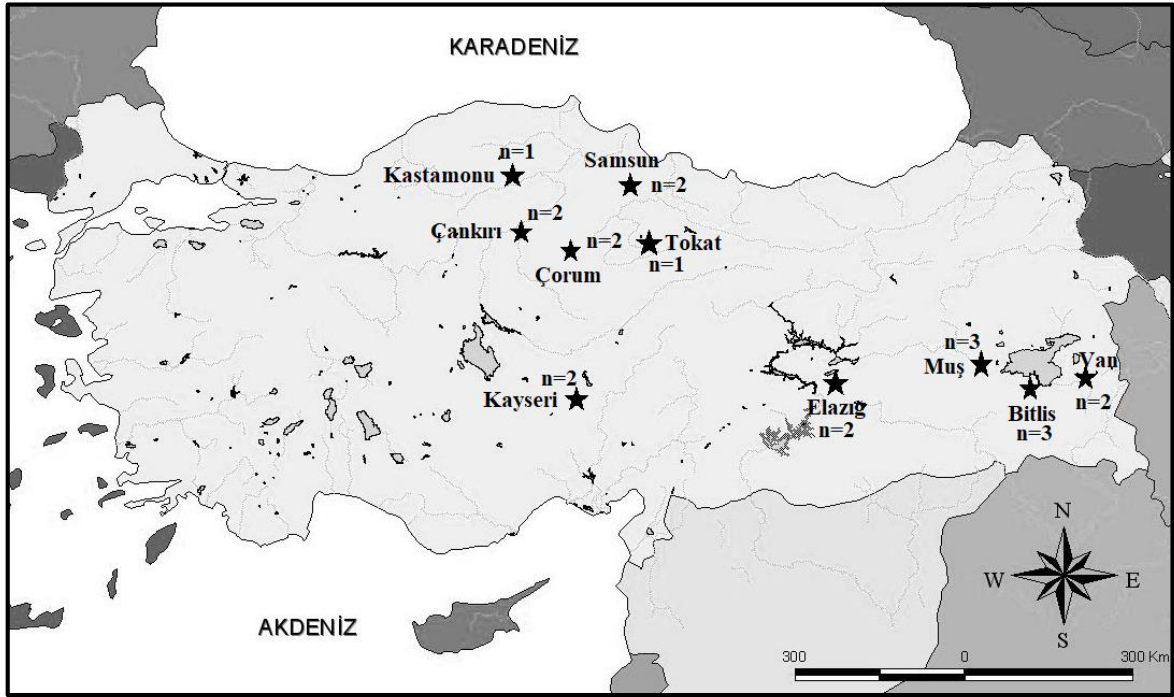
Bu genin nükleotid dizilimindeki varyasyonun, memeliler arasındaki daha yüksek düzeyli evrimsel ilişkileri aydınlatmak için yararlı olduğu kanıtlanmıştır (Stanhope ve ark., 1992; Springer ve ark., 1997; Jansa ve Voss, 2000). Son zamanlarda bu gen, daha alt düzeydeki taksonomik ilişkileri açığa çıkarmak amacıyla memeli çalışmalarında da kullanılmıştır (Jansa ve Voss, 2000; Serizawa ve ark., 2000; Suzuki ve ark., 2000).



2. MATERYAL VE YÖNTEM

2.1 Örnekleme

Bu tez çalışması kapsamında kullanılan örnekler tez danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Perinçek Seçkinozan ŞEKER'in doktora tezi kapsamında toplanan ve daha önceden etik kurul izni alınmış örneklerdir. Bu nedenle yeni bir etik kurul kararı gerekmemektedir (Ankara Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu, 29.12.2011 tarih ve sayılı 2011-127-492 kararı). Çalışmada Orta ve Doğu Anadolu'daki 10 lokaliteden elde edilen toplam 20 örnek kullanıldı (Şekil 1).



Şekil 1. Tez çalışmasında kullanılan örneklerin toplandığı lokaliteler

2.2 Laboratuvar çalışmaları

Laboratuvar çalışmaları Artvin Çoruh Üniversitesi Bilim-Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde gerçekleştirildi. Laboratuvar çalışmaları DNA saflaştırma ve polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile DNA çoğaltımı olmak üzere iki kısımdan oluştu. DNA çoğaltımı aşamasından sonra elde edilen PCR ürünleri dizileme reaksiyonları için hizmet alımı vasıtasıyla ticari olarak faaliyet gösteren firmaya gönderildi (<https://www.bmlabosis.com>).

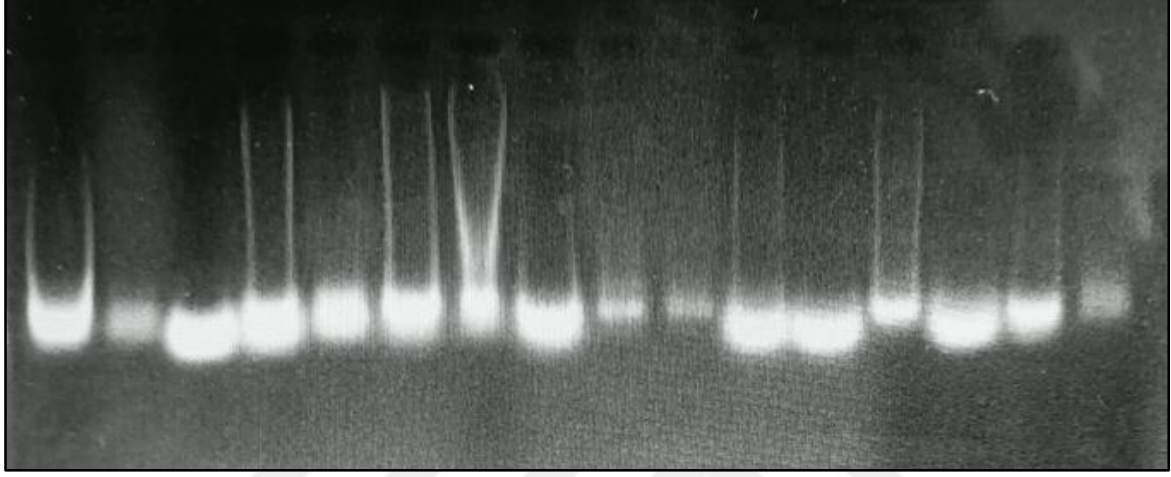
2.2.1 DNA saflaştırma

DNA saflaştırma amacıyla CTAB izolasyon yöntemi kullanıldı (Doyle ve Doyle, 1990). DNA saflaştırma işlemine başlamadan önce saflaştırmada kullanılacak olan CTAB tamponu hazırlandı. CTAB tamponu hazırlanmasında Tris Base, EDTA, NaCl çözeltileri kullanıldı. Öncelikli olarak, Tris Base çözeltisi hazırlamak için 12,11 gr Tris Base tartıldı ve dH₂O ile 100 ml'ye tamamlandı. Sonrasında EDTA çözeltisi hazırlandı. Bunun için 18,61 gr EDTA tartıldı ve dH₂O ile 100 ml'ye tamamlandı, EDTA'nın su içinde çözünmesini hızlandırmak için NaOH pelleti kullanıldı. NaCl çözeltisi hazırlamak için ise 29,22 gr NaCl tartıldı ve dH₂O ile 100 ml'ye tamamlandı. Bu çözeltiler hazırlandıktan sonra CTAB tamponu hazırlanması aşamasına geçildi. Bunun için, 2 gr CTAB, 28 ml NaCl (5 M), 4 ml EDTA (0,5 M, pH: 8,0) ve 10 ml Tris Base (1 M, pH: 8,0) karıştırıldı ve üzerine 100 ml dH₂O eklendi. Hazırlanan CTAB tamponu düşük ısıda, manyetik karıştırıcı üzerinde bütün bileşenlerin iyi şekilde çözünmesi amacıyla bir süre karıştırıldı.

CTAB tamponu hazırlandıktan sonra DNA saflaştırma işlemine geçildi. Bu yöntemle göre, öncelikli olarak örneklere ait yaklaşık 4-5 gram ağırlığındaki dokular deney tüpü içinde 600 µl CTAB tamponu ile ezildi ve mekanik olarak ezilen dokulardan homojen bir karışım elde edildi. Sonraki aşamada homojenata 50 µl β-merkaptoetanol (BME) ilave edildi ve iyice karışması sağlandı. Bu karışım yaklaşık 1 saat süresince 65°C' ye ısıtılmış su banyosunda inkübasyona bırakıldı. Bu süre sonunda su banyosundan alınan örneklerin üzerine 500 µl 24:1 oranında karışım haldeki kloroform izoamil alkol (C:IAA) eklendi ve deney tüpleri iyice karıştırıldı. Tüpler, +4°C'de 15 dakika süresince 13.000 rpm'de santrifüj edildi. Santrifüjden sonra deney tüpleri içindeki DNA'yı içeren üst faz mikropipet kullanılarak yeni deney tüplerine aktarıldı. Bu işlemden sonra deney tüplerine -20°C'de soğutulmuş 500 µl izopropanol eklendi ve tüpler hassas bir şekilde çalkalandıktan sonra -80°C'de 30 dakika bekletildi. Bu aşama tamamlandıktan sonra +4°C'de 13.000 rpm'de 10 dakika santrifüj işlemi gerçekleştirildi. Santrifüj sonrası saflaştırılan ve deney tüplerinin dibine çöken DNA üzerindeki atık sıvı kısım uzaklaştırıldı. Sonraki aşamada saflaştırılan DNA'lar -20°C'de soğutulmuş % 70'lik ve % 100'lük etanol ile 2'şer kere yıkandı. Yıkama işlemi sonrasında pellet şeklindeki tüplerin tabanına yapışmış halde bulunan DNA'lar kurumaya bırakıldı. Kurutma aşamasından sonra, her bir tüpe 100 µl Tris-EDTA (TE) tamponu eklendi ve DNA'ların tampon içinde çözünmesi sağlandı. En son aşamada çözünmüş DNA'ların

üzerine 2 µl RNase A eklendi ve 30 dakika süresince 37 °C'deki etüvde bekletildi. Böylece DNA saflaştırma işlemi tamamlanmış oldu.

Saflaştırılan DNA'ların kalitesinin belirlenmesinde agaroz jel elektroforezi yöntemi kullanıldı ve jel üzerindeki bant desenlerine bakıldı. Elektroforez sırasında DNA'lar % 0,8 oranında hazırlanan agaroz jelde 90 dakika süresince 70 voltta yürütüldü (Şekil 2).



Şekil 2. Saflaştırılan DNA'ların jel üzerindeki bant görüntüleri (kalitatif kalite tayini)

2.2.2 DNA çoğaltımı

Tez çalışmasında nükleer DNA'nın interphotoreceptor retinoid-binding protein (IRBP) gen bölgesini çoğaltmak için polimeraz zincir reaksiyonu kuruldu. Bu reaksiyonda IRBP217 (5'ATGGCCAAGGTCCTCTTGGATAACTACTGCTT3') ve IRBP1531 (5'CGCAGGTCCATGATGAGGTGCTCCGTGTCCTG3') primer çifti kullanıldı (Stanhope ve ark., 1992). PCR reaksiyon karışımı için örnek başına toplam 36 µl hacimde olacak şekilde PCR master mix hazırlandı. Buna göre master mix, steril su 21,9 µl, *Taq* DNA polimeraz (FIREPol® DNA Polymerase (5 U/µl), Solis BioDyne) 0,45 µl, Tampon (10x Reaction buffer B (Mg²⁺ free) 0.8 M Tris-HCl, 0.2 M (NH₄)₂SO₄, 0.2% w/v Tween-20, Solis BioDyne) 3,75 µl, MgCl₂ (25 mM, Solis BioDyne) 3 µl, dNTP Mix (20 mM, Solis BioDyne) 6 µl, F primer 0.45 µl, R Primer 0.45 µl hacimlerindeki bileşenleri içerdi (Şekil 3). Sonrasında her bir PCR tüpüne 1,5 µl örnek DNA'sı eklendi. Hazırlanan PCR karışımları Biorad Thermal Cycler cihazına yerleştirildi. Reaksiyon koşulları; ön denatürasyon 95 °C'de 1 dakika, 30 döngü olacak şekilde: denatürasyon 94 °C'de 1 dakika, bağlanma 65,9 °C'de 1,5 dakika ve uzama 72 °C'de 1 dakika ve son uzama 72 °C'de 5 dakika olacak şekilde ayarlandı (Şekil 4).



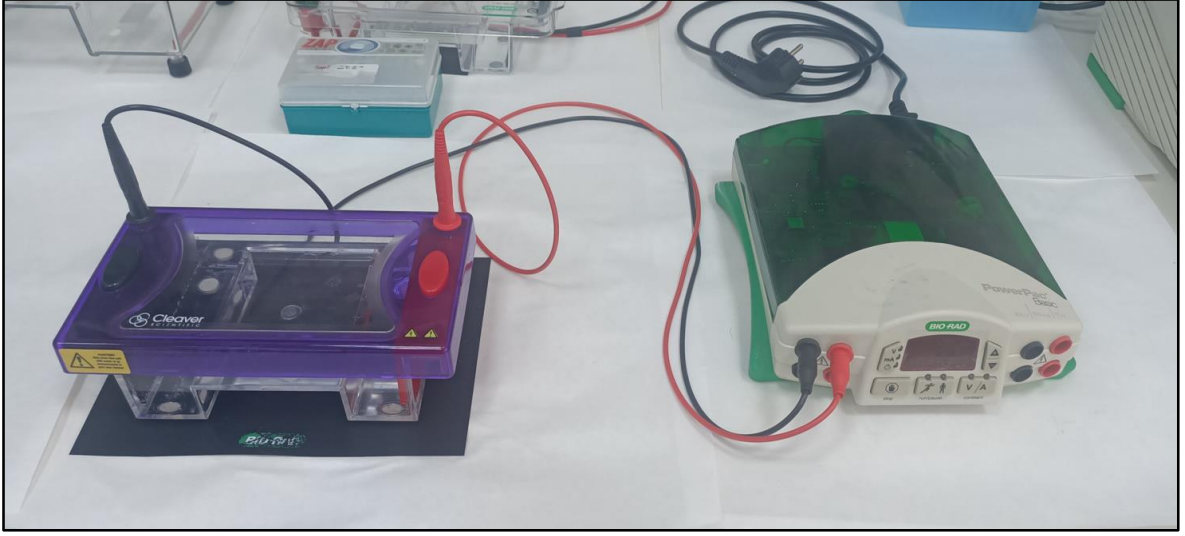
Şekil 3. PCR çalışmasında kullanılan kimyasallar ile araç ve gereçler



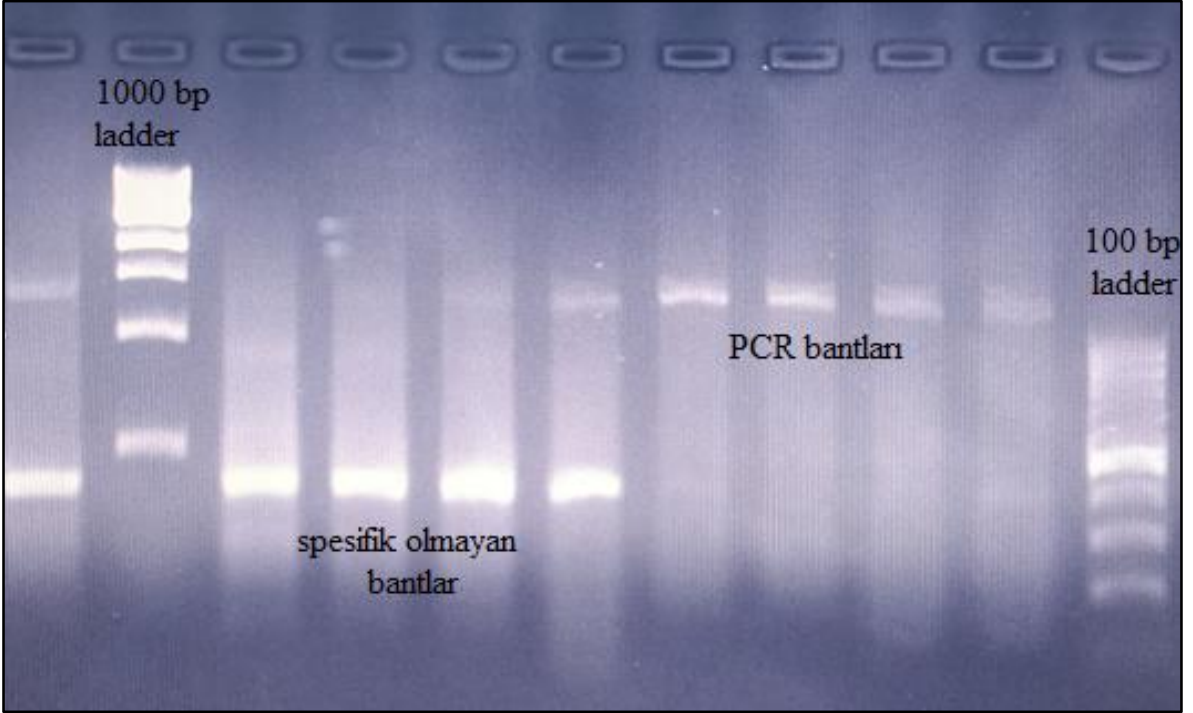
Şekil 4. PCR cihazı ve PCR koşulları

2.2.3 Agaroz jel elektroforezi

PCR ile elde edilen ürünlerin kalitesi ve miktarı agaroz jel elektroforezi yöntemi kullanılarak belirlendi. Agaroz jel, 50 ml hacimli Tris-asetat-EDTA (1X TAE) tampon çözeltisi içinde 0,40 g agarozun mikrodalga fırında çözdürülmesiyle hazırlandı. Hazırlanan jel bir süre soğuduktan sonra elektroforez tankına dikkatli bir şekilde boşaltılarak donması beklendi. Jelin katı bir hal almasından sonra taraklar dikkatlice çıkarıldı ve PCR ürünleri jel üzerindeki kuyucuklara yüklendi. Örnekler jele yüklenmeden önce parafilm üzerinde 2 µl izleme boyası 8 µl örnek DNA'sı olacak şekilde boya ile karıştırıldı. Elektroforez işlemi 70 voltta yaklaşık 1 saat kadar devam ettirildi ve sonrasında jel görüntüleme sistemi ile görüntüleme işlemi gerçekleştirildi. PCR sonrası elde edilen ürünlerin DNA dizileme reaksiyonları hizmet alımı vasıtasıyla gerçekleştirildi.



Şekil 5. Elektroforez sistemi



Şekil 6. PCR sonrası ürünlerin agaroz jel görüntüsü

Tablo 1. IRBP gen bölgesi nükleotid diziliminin ML analizinde kullanılan en uygun nükleotid değişim modeli

Model	Parameters	BIC	AICc	lnL	(+I)	(+G)	R	f(A)	f(T)	f(C)	f(G)	r(AT)	r(AC)	r(AG)	r(TA)	r(TC)	r(TG)	r(CA)	r(CT)	r(CG)	r(GA)	r(GT)	r(GC)
T92	47	2844.954	2482.089	-1193.910	n/a	n/a	1.42	0.204	0.204	0.296	0.296	0.041	0.060	0.176	0.041	0.176	0.060	0.041	0.121	0.060	0.121	0.041	0.060
T92+G	48	2849.185	2478.606	-1191.162	n/a	0.05	1.42	0.204	0.204	0.296	0.296	0.041	0.060	0.176	0.041	0.176	0.060	0.041	0.121	0.060	0.121	0.041	0.060
T92+I	48	2851.658	2481.078	-1192.398	0.48	n/a	1.42	0.204	0.204	0.296	0.296	0.041	0.060	0.176	0.041	0.176	0.060	0.041	0.121	0.060	0.121	0.041	0.060
JC	45	2852.746	2505.312	-1207.532	n/a	n/a	0.50	0.250	0.250	0.250	0.250	0.083	0.083	0.083	0.083	0.083	0.083	0.083	0.083	0.083	0.083	0.083	0.083
K2	46	2854.896	2499.746	-1203.744	n/a	n/a	1.42	0.250	0.250	0.250	0.250	0.052	0.052	0.147	0.052	0.147	0.052	0.052	0.147	0.052	0.147	0.052	0.052
JC+G	46	2857.054	2501.904	-1204.823	n/a	0.05	0.50	0.250	0.250	0.250	0.250	0.083	0.083	0.083	0.083	0.083	0.083	0.083	0.083	0.083	0.083	0.083	0.083
T92+G+I	49	2858.887	2480.594	-1191.150	0.08	0.05	1.41	0.204	0.204	0.296	0.296	0.041	0.060	0.176	0.041	0.176	0.060	0.041	0.121	0.060	0.121	0.041	0.060
K2+G	47	2859.083	2496.218	-1200.974	n/a	0.05	1.43	0.250	0.250	0.250	0.250	0.052	0.052	0.147	0.052	0.147	0.052	0.052	0.147	0.052	0.147	0.052	0.052
JC+I	46	2859.373	2504.223	-1205.982	0.48	n/a	0.50	0.250	0.250	0.250	0.250	0.083	0.083	0.083	0.083	0.083	0.083	0.083	0.083	0.083	0.083	0.083	0.083
K2+I	47	2861.518	2498.654	-1202.192	0.48	n/a	1.42	0.250	0.250	0.250	0.250	0.052	0.052	0.147	0.052	0.147	0.052	0.052	0.147	0.052	0.147	0.052	0.052
HKY	49	2864.126	2485.832	-1193.769	n/a	n/a	1.42	0.207	0.201	0.302	0.291	0.041	0.061	0.173	0.042	0.180	0.059	0.042	0.119	0.059	0.123	0.041	0.061
JC+G+I	47	2866.351	2503.487	-1204.608	0.14	0.05	0.50	0.250	0.250	0.250	0.250	0.083	0.083	0.083	0.083	0.083	0.083	0.083	0.083	0.083	0.083	0.083	0.083
K2+G+I	48	2868.418	2497.839	-1200.779	0.15	0.05	1.43	0.250	0.250	0.250	0.250	0.051	0.051	0.147	0.051	0.147	0.051	0.051	0.147	0.051	0.147	0.051	0.051
HKY+G	50	2868.754	2482.746	-1191.220	n/a	0.05	1.41	0.207	0.201	0.302	0.291	0.041	0.061	0.173	0.042	0.179	0.059	0.042	0.119	0.059	0.123	0.041	0.061
HKY+I	50	2870.811	2484.802	-1192.248	0.48	n/a	1.42	0.207	0.201	0.302	0.291	0.041	0.061	0.173	0.042	0.180	0.059	0.042	0.119	0.059	0.123	0.041	0.061
TN93	50	2873.330	2487.322	-1193.508	n/a	n/a	1.42	0.207	0.201	0.302	0.291	0.041	0.061	0.143	0.042	0.210	0.059	0.042	0.140	0.059	0.102	0.041	0.061
TN93+G	51	2878.206	2484.484	-1191.083	n/a	0.05	1.41	0.207	0.201	0.302	0.291	0.041	0.061	0.149	0.042	0.203	0.059	0.042	0.135	0.059	0.106	0.041	0.061
HKY+G+I	51	2878.354	2484.632	-1191.157	0.08	0.05	1.41	0.207	0.201	0.302	0.291	0.041	0.061	0.173	0.042	0.179	0.059	0.042	0.119	0.059	0.123	0.041	0.061
GTR	53	2878.827	2469.678	-1181.667	n/a	n/a	0.86	0.207	0.201	0.302	0.291	0.211	0.036	0.134	0.217	0.126	0.000	0.025	0.084	0.035	0.095	0.000	0.036
TN93+I	51	2880.131	2486.408	-1192.045	0.48	n/a	1.42	0.207	0.201	0.302	0.291	0.041	0.061	0.144	0.042	0.209	0.059	0.042	0.139	0.059	0.103	0.041	0.061
GTR+G	54	2883.267	2466.404	-1179.024	n/a	0.05	0.89	0.207	0.201	0.302	0.291	0.212	0.034	0.141	0.218	0.123	0.000	0.023	0.082	0.033	0.100	0.000	0.034
GTR+I	54	2885.261	2468.398	-1180.021	0.48	n/a	0.86	0.207	0.201	0.302	0.291	0.211	0.036	0.135	0.218	0.125	0.000	0.025	0.083	0.035	0.096	0.000	0.036

3. BULGULAR

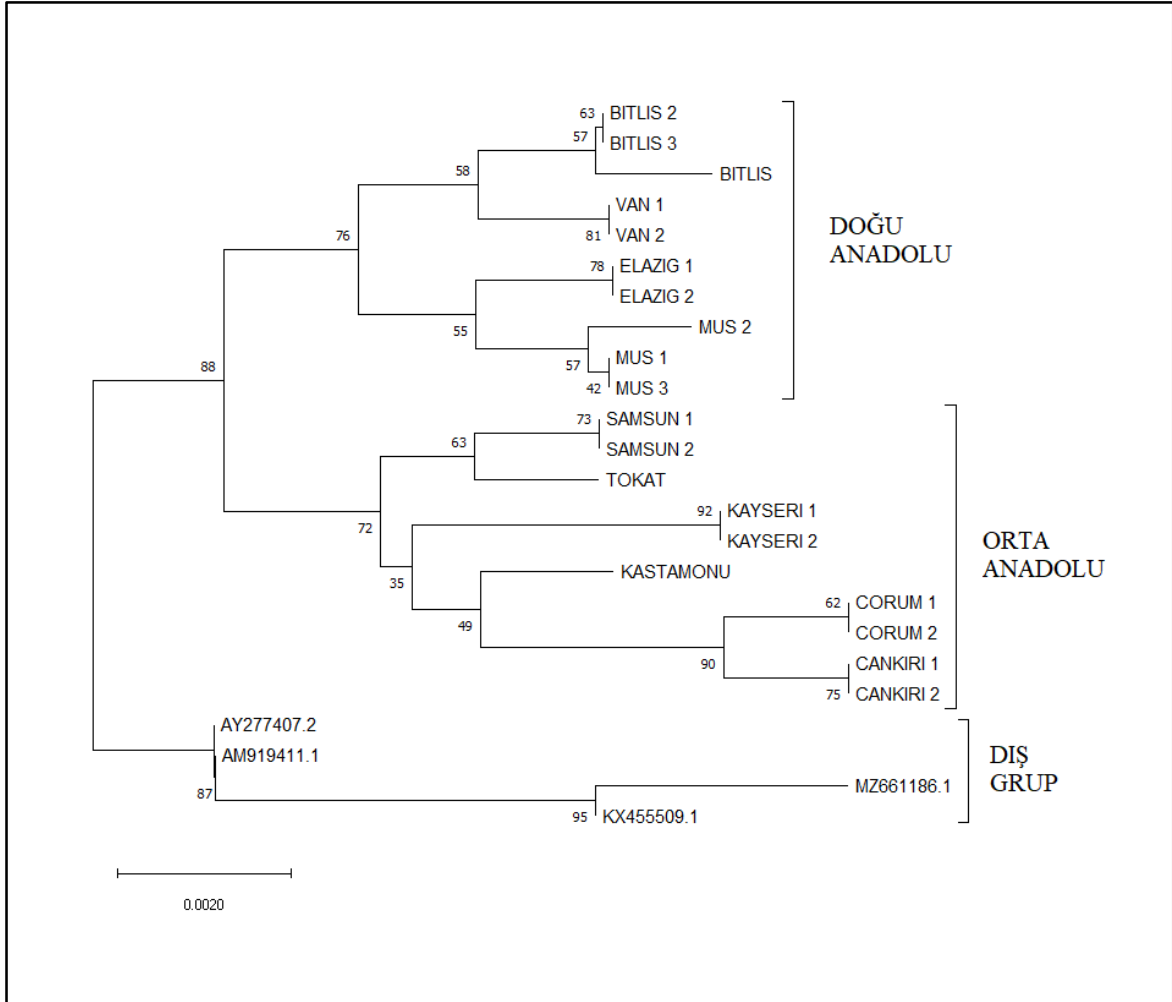
3.1 Filogenetik analizler

Türkiye’deki Orta Anadolu ve Doğu Anadolu’daki 10 farklı lokaliteden elde edilen 20 *A. amphibius* örneğinin nükleer DNA IRBP gen bölgesinin 698 nükleotid uzunluğundaki kısmi dizilerinde gözlenen varyasyonlar sonucunda, bu gen bölgesi için toplam 12 farklı haplotip belirlendi. Bütün haplotipler, örneklerin elde edildiği lokalitelere özgü olduğu, lokaliteler arasında paylaşılan haplotip bulunmadığı tespit edildi (Tablo 2).

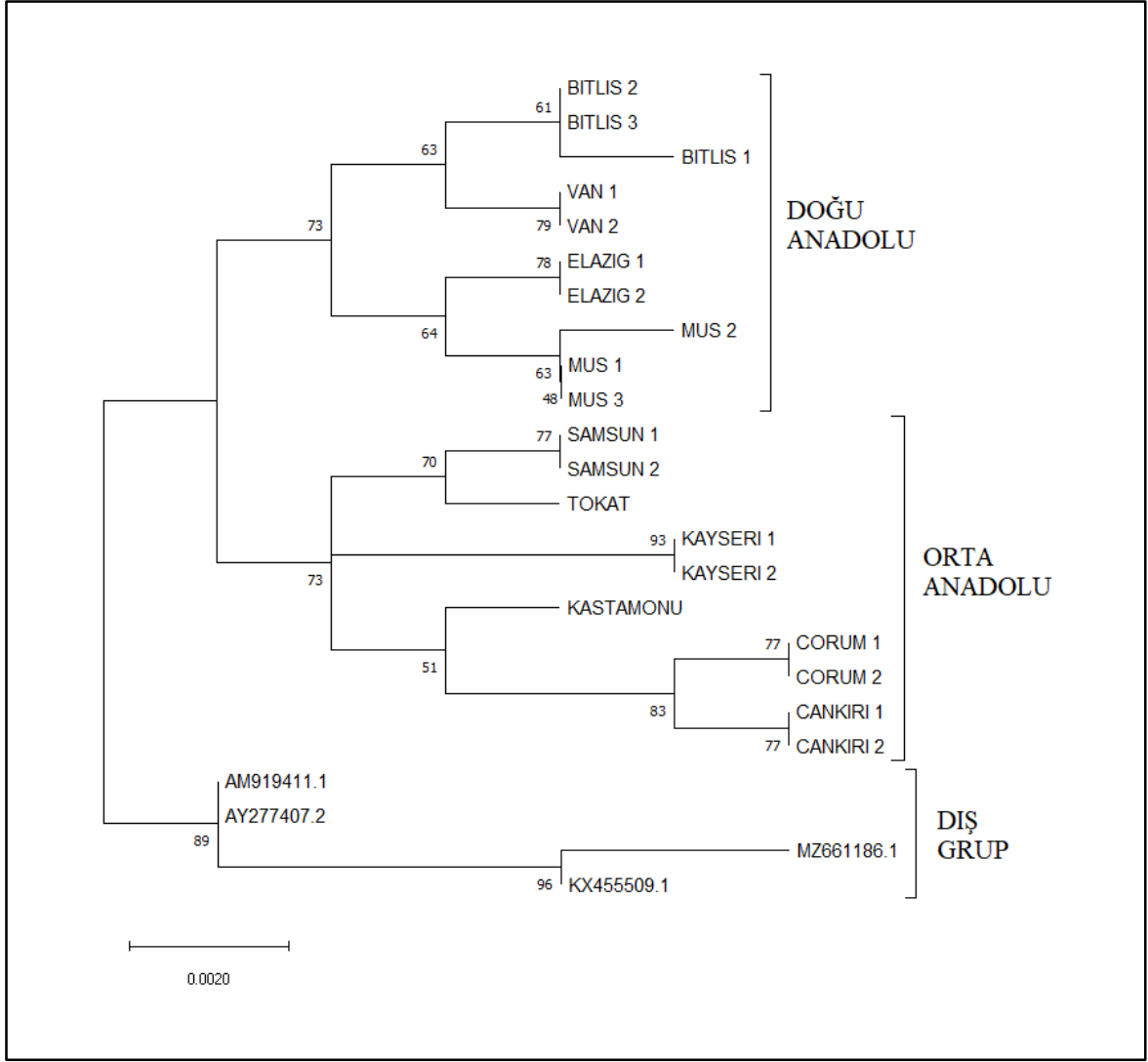
Tablo 2. *A. amphibius*’un IRBP gen bölgesi haplotip listesi

Haplotip Numarası	Haplotip Frekansı	Lokalite ve GenBank Numarası	Coğrafiik Soy Grubu
1	1	MZ661186.1	
2	1	KX455509.1	
3	2	AY277407.2 AM919411.1	
4	1	Bitlis	Doğu Anadolu
5	2	Bitlis	Doğu Anadolu
6	2	Muş	Doğu Anadolu
7	1	Muş	Doğu Anadolu
8	2	Elazığ	Doğu Anadolu
9	2	Van	Doğu Anadolu
10	1	Kastamonu	Orta Anadolu
11	1	Tokat	Orta Anadolu
12	2	Samsun	Orta Anadolu
13	2	Çorum	Orta Anadolu
14	2	Çankırı	Orta Anadolu
15	2	Kayseri	Orta Anadolu

A. amphibius'un IRBP gen bölgesinin DNA dizi varyasyonlarına göre, NJ ve ML filogenetik analizlerinin sonucunda çıkarsaması yapılan filogenetik ağaçların dallanma biçimlerinin tamamen aynı olduğu gözlemlendi. Buna göre NJ ve ML filogenetik ağaçlarında birbirlerinden ayrılan 2 coğrafik soy grubu (Orta Anadolu ve Doğu Anadolu) belirlendi (Şekil 8 ve 9).



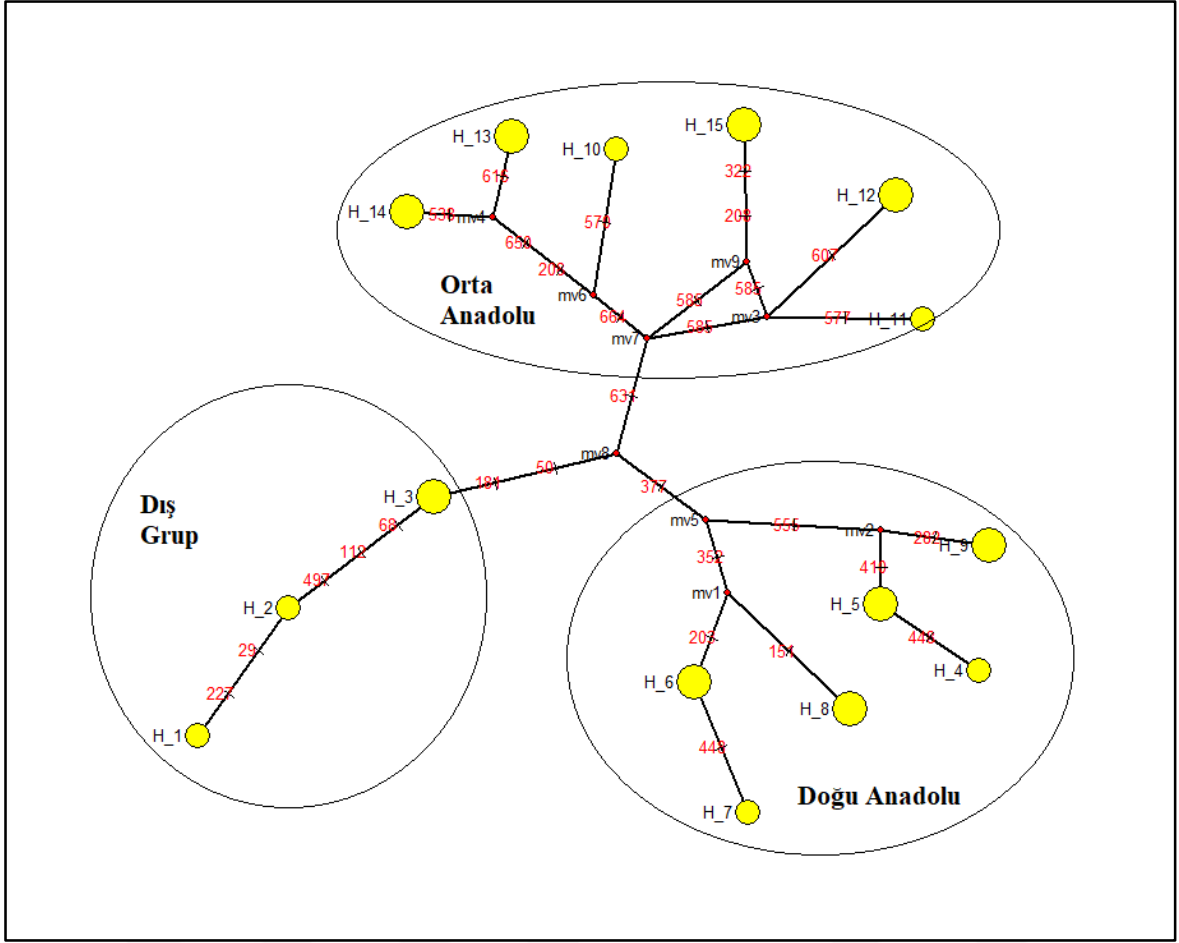
Şekil 8. *A. amphibius* populasyonları arasındaki evrimsel ilişkileri gösteren Neighbour-Joining (NJ) ağacı



Şekil 9.A. *amphibius* populasyonları arasındaki evrimsel ilişkileri gösteren Maximum-Likelihood (ML) ağacı

Her iki ağaçta, Orta Anadolu soy grubunu oluşturan populasyonlardan Çorum ve Çankırı birbirlerine yakın olarak kümelenirken, Kastamonu populasyonu bu iki populasyonun dışında yer aldı. Kayseri populasyonu ise bu populasyonların en dışında kümelendi. Bu coğrafik soy grubunun içinde Samsun ve Tokat populasyonu ise birbirlerine daha yakın olarak gruplandı. Doğu Anadolu coğrafik soy grubu içinde Bitlis ve Van populasyonları birbirlerine yakın olarak kümelenirken, Muş ve Elazığ populasyonları da birbirlerine yakın gruplandı (Şekil 8 ve 9).

Median-joining yöntemine göre oluşturulan network analizinin sonucu filogenetik analizlerin sonuçları ile uyumluydu. Buna göre *A. amphibius*'un Orta Anadolu ve Doğu Anadolu coğrafik soy gruplarını gösteren bir evrimsel ilişki örgüsü belirlendi. (Şekil 10).



Şekil 10. *A. amphibius* ve dış gruplarda belirlenen toplam 15 haplotip arasındaki evrimsel ilişki örgüsü

3.2 Genetik yapı analizleri

Toplam 20 örneğin nükleer DNA IRBP gen bölgesinin 698 nükleotid uzunluğundaki kısmi dizilerinde 679 bölgenin korunmuş (conserved) olduğu tespit edildi. Toplam 19 bölge değişkenlik gösterirken (variable), 17 bölgenin de parsimonik bilgilendirici olduğu tespit edildi. Belirlenen 2 coğrafik soy grubuna ilişkin belirtici istatistikler Tablo 3’de verildi. Toplam 20 örneğe ait nükleotid çeşitliliği istatistikleri ılımlı derecede yüksek değerlere sahipken, haplotip çeşitliliği istatistiklerinin de yüksek olduğu tespit edildi (Tablo 4). Filogenetik analizler ve network analizi ile belirlenen iki coğrafik soy grubu arasındaki Kimura 2-parametresi temel alınarak hesaplanan genetik uzaklık değerleri, iki coğrafik soy grubu arasında yaklaşık % 1 seviyesinde genetik farklılaşma olduğunu gösterdi (Tablo 5). Coğrafik soy grupları arasındaki genetik farklılaşmayı ve gen akışını tahmin etmek için hesaplanan F_{ST} ve N_m istatistiklerine göre, iki coğrafik soy grubu arasında bariz belirgin bir

genetik farklılığın söz konusu olduğu ve gen akışının ise düşük bir seviyede olduğu belirlendi (Tablo 6).

Tablo 3. Orta Anadolu ve Doğu Anadolu coğrafik soy gruplarının kısmi IRBP gen dizilimine ait belirtici istatistikler

Coğrafik Soy Grupları	N	I	V	P	% A	% T/U	% C	% G
Orta Anadolu	10	688	10	8	20,82	19,84	30,29	29,05
Doğu Anadolu	10	691	7	7	20,50	20,32	30,04	29,14
Toplam	20	679	19	17	20,66	20,08	30,16	29,10

Tablo 4. *A. amphibius*'un coğrafik soy gruplarında gözlenen genetik çeşitlilik istatistikleri

Coğrafik Soy Grupları	N	h	$\pi \pm SD$	$h \pm SD$
Orta Anadolu	10	6	0,00592 $\pm$ 0,00046	0,911 $\pm$ 0,062
Doğu Anadolu	10	6	0,00446 $\pm$ 0,00042	0,911 $\pm$ 0,062
Toplam	20	12	0,00789 $\pm$ 0,00037	0,958 $\pm$ 0,023

Tablo 5. *A. amphibius*'un IRBP coğrafik soy grupları arasındaki genetik mesafe matrisi

K2P		
Coğrafik soy grubu	1	2
Orta Anadolu		0,00298
Doğu Anadolu	0,0104	

Tablo 6. *A. amphibius*'un IRBP gen bölgesi coğrafik soy grupları arasındaki genetik farklılaşma ve gen akışı değerleri.

F_{ST} / N_m		
Coğrafik Soy Grupları	1	2
Orta Anadolu		0,25
Doğu Anadolu	0,49691	

4. TARTIŞMA

Bu tez kapsamında ile Türkiye’de yayılış gösteren ve su sıçanı olarak bilinen *A. amphibius*’un Orta Anadolu ve Doğu Anadolu populasyonlarının nükleer DNA interphotoreceptor retinoid-binding protein (IRBP) gen dizilimi varyasyonları araştırıldı. İlgili gen bölgesinin kısmi nükleotid dizilimine dayalı olarak iki farklı coğrafik alandaki populasyonlar arasındaki genetik farklılıklar ortaya konularak, populasyonlar arasındaki evrimsel ilişkiler belirlendi.

Orta ve Doğu Anadolu’daki 10 farklı lokaliteden toplanan 20 örneğe ait, nükleer DNA’nın 698 nükleotid uzunluğundaki IRBP geninin kısmi dizilimindeki varyasyonların belirlenmesiyle toplam 12 özgün haplotip ilk kez bu tez çalışması ile belirlendi.

Bu tez çalışması ile IRBP geninin kısmi nükleotid dizilimine dayalı olarak yapılan filogenetik analizler (NJ ve ML) ile network analizi sonucunda, Orta Anadolu ve Doğu Anadolu’da yaşayan *A. amphibius* populasyonlarının iki farklı coğrafik soy grubu oluşturduğu tespit edildi. Genetik farklılaşma seviyesini gösteren F_{ST} değerinin yüksek olması ($F_{ST} = 0,49691$), filogenetik analizlerle belirlenen iki coğrafik soy grubu arasında makul bir genetik farklılaşmanın ($F_{ST} > 0,25$) olduğunu gösterdi (Freeland, 2005). Orta Anadolu ve Doğu Anadolu coğrafik soy grupları arasındaki gen akışı seviyesinin de düşük olması genetik farklılaşmanın makul bir seviyede olduğunu işaret eden bir diğer gösterge olarak kabul edilebilir ($N_m = 0,25$). Bradley ve Baker, (2001) tarafından öne sürülen “genetik tür kavramına” göre memelilerde aynı türün populasyonları arasında genetik uzaklık değerinin % 2’den az olması alttür ya da tür düzeyinde bir genetik farklılaşmadan ziyade tür içi genetik varyasyon olarak değerlendirilmektedir. Bu tez çalışmasında, Orta Anadolu ve Doğu Anadolu coğrafik soy grupları arasında hesaplanan Kimura 2-parametresine göre yaklaşık % 1 seviyesinde olan genetik farklılık değeri, *A. amphibius* içinde tür içi genetik varyasyonların belirli bir seviye olduğunu göstermektedir.

Nükleotid ve haplotip çeşitliliği istatistikleri bakımından Orta ve Doğu Anadolu coğrafik soy grupları birbirine yakın çeşitlilik değerlerine sahiptir ve bu değerlere göre iki coğrafik soy grubunun genetik çeşitlilik seviyesinin yüksek olduğu söylenebilir. Ayrıca coğrafik soy

gruplarının genetik çeşitlilik seviyesinin yüksek olması, söz konusu coğrafik soy gruplarında genetik darboğaz olmadığını gösteren bir diğer bulgu olarak dikkate alınabilir.

Arvicola amphibius'un Doğu Anadolu soy grubunu oluşturan populasyonlar ile Orta Anadolu soy grubunu oluşturan populasyonlar arasındaki gen akışının kesilerek coğrafik bir yalıtım sağlayan unsur olarak Anadolu Diyagonali olarak bilinen sıra dağlar göz önüne alınabilir. Anadolu Diyagonali, Doğu Anadolu bölgesinin kuzeydoğusundan Akdeniz bölgesinin kuzey doğusuna kadar, peşi sıra uzanan sıradağlardan oluşan bir topografik yapı olarak göz önüne alınır. Anadolu Diyagonali'nin tür farklılaşmaları üzerine olana etkileri ilk olarak, Davis (1971) tarafından bitkiler üzerinde yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur. Buna ilaveten Mutun (2010) tarafından Hymenoptera (zar kanatlılar) türleri üzerinde yapılan bir çalışmada Anadolu Diyagonali olarak bilinen dağ sıralarının doğusu, batısı ve güney doğusundaki populasyonların genetik olarak birbirinden farklılaşmış populasyonlar olduğu tespit edilmiştir. Aynı zamanda, Gür (2017) tarafından yapılan bir çalışmada, Anadolu Diyagonali'nin ortalama yükseltisi 1500 metrenin altındaki İç Anadolu bölgesi ile ortalama yükseltisi 1500 metrenin üstündeki Doğu Anadolu bölgesini ekolojik olarak ayıran ve tür farklılaşmalarına neden olan bir ekolojik bariyer olduğu belirtilmiştir. Bu tez çalışmasından elde edilen sonuçlar, *A. amphibius*'un Orta Anadolu ve Doğu Anadolu coğrafik soy grupları arasında yüksek seviyede bir genetik farklılaşmanın, düşük seviyede bir gen akışının ve tür içi genetik varyasyonları işaret eden %1'e yakın genetik mesafenin olduğunu göstermiştir. Bu veriler ışığında, filogenetik analizlerin de gösterdiği gibi Orta Anadolu ve Doğu Anadolu coğrafik soy gruplarının allopatrik olarak farklılaşması üzerinde Anadolu Diyagonali olarak bilinen topografik yapının etkisi olabileceği düşünülebilir. Bu çıkarılamayı destekler şekilde, Şeker ve ark., (2018a ve 2018b) tarafından yapılan sitogenetik ve mitokondriyal DNA temelli çalışmalarda Anadolu Diyagonalinin etkisi ve Doğu Anadolu populasyonlarının coğrafik olarak ayrı populasyonlar olabileceği ifade edilmiştir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu tez çalışması ile *Arvicola amphibius*'un Orta ve Doğu Anadolu'da yaşayan popülasyonlarının nükleer DNA varyasyonları ilk kez araştırıldı. Söz konusu coğrafik alanlarda yaşayan popülasyonların arasındaki genetik farklılıklar ve moleküler filogenisi interphotoreceptor retinoid-binding protein gen dizilimine dayalı olarak belirlendi. Sonuç olarak Orta ve Doğu Anadolu'da yaşayan popülasyonlarının belirgin genetik farklılıklara sahip olduğu ve Anadolu Diyagonalı olarak bilinen sıra dağların bu popülasyonların genetik farklılaşmasında coğrafik bariyer olarak rol oynamış olabileceği düşünüldü.

Türkiye'de yaşayan yaklaşık 170 memeli türünden biri olan ve sucul alanlara uyum sağlamış olarak yaşayan *A. amphibius* popülasyonlarının genetik çeşitlilik ve genetik farklılaşma seviyesinin, ilk kez nükleer DNA varyasyonları seviyesinde araştırılmış olması; tür içi mitokondriyal ve nükleer gen varyasyonlarının karşılaştırılmasına olanak sağlaması bakımından önemlidir. Bunun yanı sıra tür içi genetik varyasyonların açığa çıkarılması ülkemiz biyolojik çeşitliliğinin genetik çeşitlilik düzeyinde belgelenebilmesi adına bir diğer önemli husustur. İlave çalışmalarda, türün popülasyon yapısına ilişkin daha kapsamlı çıkarımlar yapabilmek için mikrosatellitler ya da tüm organel genomu ile beraber ilave nükleer DNA belirteçlerinin kullanılması faydalı olacaktır.

EKLER

EK-1. IRBP veri dosyası

	10	20	30	40	50
60	70	80	90	100	

....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....
|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....
BITLIS_1
TTCTGGGCATCTCAGACCCTCAGACGCTGGCCCATGTGCTGACAGCCGGGGTGCAGAGTTCCTTGAACG
ACCCACGCCTCTTTATCTCCTATGAGCCAC
BITLIS_2
TTCTGGGCATCTCAGACCCTCAGACGCTGGCCCATGTGCTGACAGCCGGGGTGCAGAGTTCCTTGAACG
ACCCACGCCTCTTTATCTCCTATGAGCCAC
BITLIS_3
TTCTGGGCATCTCAGACCCTCAGACGCTGGCCCATGTGCTGACAGCCGGGGTGCAGAGTTCCTTGAACG
ACCCACGCCTCTTTATCTCCTATGAGCCAC
MUS_1
TTCTGGGCATCTCAGACCCTCAGACGCTGGCCCATGTGCTGACAGCCGGGGTGCAGAGTTCCTTGAACG
ACCCACGCCTCTTTATCTCCTATGAGCCAC
MUS_2
TTCTGGGCATCTCAGACCCTCAGACGCTGGCCCATGTGCTGACAGCCGGGGTGCAGAGTTCCTTGAACG
ACCCACGCCTCTTTATCTCCTATGAGCCAC
MUS_3
TTCTGGGCATCTCAGACCCTCAGACGCTGGCCCATGTGCTGACAGCCGGGGTGCAGAGTTCCTTGAACG
ACCCACGCCTCTTTATCTCCTATGAGCCAC
ELAZIG_1
TTCTGGGCATCTCAGACCCTCAGACGCTGGCCCATGTGCTGACAGCCGGGGTGCAGAGTTCCTTGAACG
ACCCACGCCTCTTTATCTCCTATGAGCCAC
ELAZIG_2
TTCTGGGCATCTCAGACCCTCAGACGCTGGCCCATGTGCTGACAGCCGGGGTGCAGAGTTCCTTGAACG
ACCCACGCCTCTTTATCTCCTATGAGCCAC
VAN_1
TTCTGGGCATCTCAGACCCTCAGACGCTGGCCCATGTGCTGACAGCCGGGGTGCAGAGTTCCTTGAACG
ACCCACGCCTCTTTATCTCCTATGAGCCAC
VAN_2
TTCTGGGCATCTCAGACCCTCAGACGCTGGCCCATGTGCTGACAGCCGGGGTGCAGAGTTCCTTGAACG
ACCCACGCCTCTTTATCTCCTATGAGCCAC
KASTAMONU
TTCTGGGCATCTCAGACCCTCAGACGCTGGCCCATGTGCTGACAGCCGGGGTGCAGAGTTCCTTGAACG
ACCCACGCCTCTTTATCTCCTATGAGCCAC
TOKAT
TTCTGGGCATCTCAGACCCTCAGACGCTGGCCCATGTGCTGACAGCCGGGGTGCAGAGTTCCTTGAACG
ACCCACGCCTCTTTATCTCCTATGAGCCAC
SAMSUN_1
TTCTGGGCATCTCAGACCCTCAGACGCTGGCCCATGTGCTGACAGCCGGGGTGCAGAGTTCCTTGAACG
ACCCACGCCTCTTTATCTCCTATGAGCCAC
SAMSUN_2
TTCTGGGCATCTCAGACCCTCAGACGCTGGCCCATGTGCTGACAGCCGGGGTGCAGAGTTCCTTGAACG
ACCCACGCCTCTTTATCTCCTATGAGCCAC
CORUM_1
TTCTGGGCATCTCAGACCCTCAGACGCTGGCCCATGTGCTGACAGCCGGGGTGCAGAGTTCCTTGAACG
ACCCACGCCTCTTTATCTCCTATGAGCCAC

CORUM_2
TTCTGGGCATCTCAGACCCTCAGACGCTGGCCCATGTGCTGACAGCCGGGGTGCAGAGTTCCTTGAACG
ACCCACGCCTCTTTATCTCCTATGAGCCAC
CANKIRI_1
TTCTGGGCATCTCAGACCCTCAGACGCTGGCCCATGTGCTGACAGCCGGGGTGCAGAGTTCCTTGAACG
ACCCACGCCTCTTTATCTCCTATGAGCCAC
CANKIRI_2
TTCTGGGCATCTCAGACCCTCAGACGCTGGCCCATGTGCTGACAGCCGGGGTGCAGAGTTCCTTGAACG
ACCCACGCCTCTTTATCTCCTATGAGCCAC
KAYSERI_1
TTCTGGGCATCTCAGACCCTCAGACGCTGGCCCATGTGCTGACAGCCGGGGTGCAGAGTTCCTTGAACG
ACCCACGCCTCTTTATCTCCTATGAGCCAC
KAYSERI_2
TTCTGGGCATCTCAGACCCTCAGACGCTGGCCCATGTGCTGACAGCCGGGGTGCAGAGTTCCTTGAACG
ACCCACGCCTCTTTATCTCCTATGAGCCAC

		110	120	130	140	150
160	170	180	190	200		

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....
|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....
BITLIS_1
CACCTCGAGGTTCCCCAGCCAGCAGCGACACTCACCAACCTCACCCAAGAAGAACTGCTGGCCAGCT
ACAGAAGAGCACCCACCATGAAGTCCTTGAG
BITLIS_2
CACCTCGAGGTTCCCCAGCCAGCAGCGACACTCACCAACCTCACCCAAGAAGAACTGCTGGCCAGCT
ACAGAAGAGCACCCACCATGAAGTCCTTGAG
BITLIS_3
CACCTCGAGGTTCCCCAGCCAGCAGCGACACTCACCAACCTCACCCAAGAAGAACTGCTGGCCAGCT
ACAGAAGAGCACCCACCATGAAGTCCTTGAG
MUS_1
CACCTCGAGGTTCCCCAGCCAGCAGCGACACTCACCAACCTCACCCAAGAAGAACTGCTGGCCAGCT
ACAGAAGAGCACCCACCATGAAGTCCTTGAG
MUS_2
CACCTCGAGGTTCCCCAGCCAGCAGCGACACTCACCAACCTCACCCAAGAAGAACTGCTGGCCAGCT
ACAGAAGAGCACCCACCATGAAGTCCTTGAG
MUS_3
CACCTCGAGGTTCCCCAGCCAGCAGCGACACTCACCAACCTCACCCAAGAAGAACTGCTGGCCAGCT
ACAGAAGAGCACCCACCATGAAGTCCTTGAG
ELAZIG_1
CACCTCGAGGTTCCCCAGCCAGCAGCGACACTCACCAACCTCACCCAAGGAGAACTGCTGGCCAGCT
ACAGAAGAGCACCCACCATGAAGTCCTTGAG
ELAZIG_2
CACCTCGAGGTTCCCCAGCCAGCAGCGACACTCACCAACCTCACCCAAGGAGAACTGCTGGCCAGCT
ACAGAAGAGCACCCACCATGAAGTCCTTGAG
VAN_1
CACCTCGAGGTTCCCCAGCCAGCAGCGACACTCACCAACCTCACCCAAGAAGAACTGCTGGCCAGCT
ACAGAAGAGCACCCACCATGAAGTCCTTGAG
VAN_2
CACCTCGAGGTTCCCCAGCCAGCAGCGACACTCACCAACCTCACCCAAGAAGAACTGCTGGCCAGCT
ACAGAAGAGCACCCACCATGAAGTCCTTGAG
KASTAMONU
CACCTCGAGGTTCCCCAGCCAGCAGCGACACTCACCAACCTCACCCAAGAAGAACTGCTGGCCAGCT
ACAGAAGAGCACCCACCATGAAGTCCTTGAG
TOKAT
CACCTCGAGGTTCCCCAGCCAGCAGCGACACTCACCAACCTCACCCAAGAAGAACTGCTGGCCAGCT
ACAGAAGAGCACCCACCATGAAGTCCTTGAG

SAMSUN_1
CACCTCGAGGTTCCCCAGCCAGCAGCGACACTCACCAACCTCACCCAAGAAGAACTGCTGGCCCAGCT
ACAGAAGAGCACCCACCATGAAGTCCTTGAG
SAMSUN_2
CACCTCGAGGTTCCCCAGCCAGCAGCGACACTCACCAACCTCACCCAAGAAGAACTGCTGGCCCAGCT
ACAGAAGAGCACCCACCATGAAGTCCTTGAG
CORUM_1
CACCTCGAGGTTCCCCAGCCAGCAGCGACACTCACCAACCTCACCCAAGAAGAACTGCTGGCCCAGCT
ACAGAAGAGCACCCACCATGAAGTCCTTGAG
CORUM_2
CACCTCGAGGTTCCCCAGCCAGCAGCGACACTCACCAACCTCACCCAAGAAGAACTGCTGGCCCAGCT
ACAGAAGAGCACCCACCATGAAGTCCTTGAG
CANKIRI_1
CACCTCGAGGTTCCCCAGCCAGCAGCGACACTCACCAACCTCACCCAAGAAGAACTGCTGGCCCAGCT
ACAGAAGAGCACCCACCATGAAGTCCTTGAG
CANKIRI_2
CACCTCGAGGTTCCCCAGCCAGCAGCGACACTCACCAACCTCACCCAAGAAGAACTGCTGGCCCAGCT
ACAGAAGAGCACCCACCATGAAGTCCTTGAG
KAYSERI_1
CACCTCGAGGTTCCCCAGCCAGCAGCGACACTCACCAACCTCACCCAAGAAGAACTGCTGGCCCAGCT
ACAGAAGAGCACCCACCATGAAGTCCTTGAG
KAYSERI_2
CACCTCGAGGTTCCCCAGCCAGCAGCGACACTCACCAACCTCACCCAAGAAGAACTGCTGGCCCAGCT
ACAGAAGAGCACCCACCATGAAGTCCTTGAG

		210	220	230	240	250
260	270	280	290	300		

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....
|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|

BITLIS_1
GGCAACGTGGGTTACCTAAGAGTGGATGACCTCCCCGGCCAGGAGGTACTGAGTGAGCTGGGGGGGTTC
TTGGTGACCCATATGTGGAGGCAGCTCATGG
BITLIS_2
GGCAACGTGGGTTACCTAAGAGTGGATGACCTCCCCGGCCAGGAGGTACTGAGTGAGCTGGGGGGGTTC
TTGGTGACCCATATGTGGAGGCAGCTCATGG
BITLIS_3
GGCAACGTGGGTTACCTAAGAGTGGATGACCTCCCCGGCCAGGAGGTACTGAGTGAGCTGGGGGGGTTC
TTGGTGACCCATATGTGGAGGCAGCTCATGG
MUS_1
GGTAACGTGGGTTACCTAAGAGTGGATGACCTCCCCGGCCAGGAGGTACTGAGTGAGCTGGGGGGGTTC
TTGGTGACCCATATGTGGAGGCAGCTCATGG
MUS_2
GGTAACGTGGGTTACCTAAGAGTGGATGACCTCCCCGGCCAGGAGGTACTGAGTGAGCTGGGGGGGTTC
TTGGTGACCCATATGTGGAGGCAGCTCATGG
MUS_3
GGTAACGTGGGTTACCTAAGAGTGGATGACCTCCCCGGCCAGGAGGTACTGAGTGAGCTGGGGGGGTTC
TTGGTGACCCATATGTGGAGGCAGCTCATGG
ELAZIG_1
GGCAACGTGGGTTACCTAAGAGTGGATGACCTCCCCGGCCAGGAGGTACTGAGTGAGCTGGGGGGGTTC
TTGGTGACCCATATGTGGAGGCAGCTCATGG
ELAZIG_2
GGCAACGTGGGTTACCTAAGAGTGGATGACCTCCCCGGCCAGGAGGTACTGAGTGAGCTGGGGGGGTTC
TTGGTGACCCATATGTGGAGGCAGCTCATGG
VAN_1
GGCAACGTGGGTTACCTAAGAGTGGATGACCTCCCCGGCCAGGAGGTACTGAGTGAGCTGGGGGGGTTC
TTGGTGACCCATATGTGGAGGCAGCTCATGG

VAN_2
 GGCAACGTGGGTTACCTAAGAGTGGATGACCTCCCCGGCCAGGAGGTACTGAGTGAGCTGGGGGGGTTC
 TTGGTGACCCATGTGTGGAGGCAGCTCATGG
 KASTAMONU
 GGCAACGTGGGTTACCTAAGAGTGGATGACCTCCCCGGCCAGGAGGTACTGAGTGAGCTGGGGGGGTTC
 TTGGTGACCCATATGTGTGGAGGCAGCTCATGG
 TOKAT
 GGCAACGTGGGTTACCTAAGAGTGGATGACCTCCCCGGCCAGGAGGTACTGAGTGAGCTGGGGGGGTTC
 TTGGTGACCCATATGTGTGGAGGCAGCTCATGG
 SAMSUN_1
 GGCAACGTGGGTTACCTAAGAGTGGATGACCTCCCCGGCCAGGAGGTACTGAGTGAGCTGGGGGGGTTC
 TTGGTGACCCATATGTGTGGAGGCAGCTCATGG
 SAMSUN_2
 GGCAACGTGGGTTACCTAAGAGTGGATGACCTCCCCGGCCAGGAGGTACTGAGTGAGCTGGGGGGGTTC
 TTGGTGACCCATATGTGTGGAGGCAGCTCATGG
 CORUM_1
 GGCAACGAGGGTTACCTAAGAGTGGATGACCTCCCCGGCCAGGAGGTACTGAGTGAGCTGGGGGGGTTC
 TTGGTGACCCATATGTGTGGAGGCAGCTCATGG
 CORUM_2
 GGCAACGAGGGTTACCTAAGAGTGGATGACCTCCCCGGCCAGGAGGTACTGAGTGAGCTGGGGGGGTTC
 TTGGTGACCCATATGTGTGGAGGCAGCTCATGG
 CANKIRI_1
 GGCAACGAGGGTTACCTAAGAGTGGATGACCTCCCCGGCCAGGAGGTACTGAGTGAGCTGGGGGGGTTC
 TTGGTGACCCATATGTGTGGAGGCAGCTCATGG
 CANKIRI_2
 GGCAACGAGGGTTACCTAAGAGTGGATGACCTCCCCGGCCAGGAGGTACTGAGTGAGCTGGGGGGGTTC
 TTGGTGACCCATATGTGTGGAGGCAGCTCATGG
 KAYSERI_1
 GGCAACGAGGGTTACCTAAGAGTGGATGACCTCCCCGGCCAGGAGGTACTGAGTGAGCTGGGGGGGTTC
 TTGGTGACCCATATGTGTGGAGGCAGCTCATGG
 KAYSERI_2
 GGCAACGAGGGTTACCTAAGAGTGGATGACCTCCCCGGCCAGGAGGTACTGAGTGAGCTGGGGGGGTTC
 TTGGTGACCCATATGTGTGGAGGCAGCTCATGG

		310	320	330	340	350
360	370	380	390	400		

....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....
 |....|....|....|....|....|....|....|
 BITLIS_1
 ACACCTCGTCCTTGGTCCTCGATCTCCGGGACTGTGCTGGTGGGCACATCTCTGGGATCCCTTATTTCA
 TCTCCTATTTGTACCCTGGGAACACCGTCAT
 BITLIS_2
 ACACCTCGTCCTTGGTCCTCGATCTCCGGGACTGTGCTGGTGGGCACATCTCTGGGATCCCTTATTTCA
 TCTCCTATTTGTACCCTGGGAACACCGTCAT
 BITLIS_3
 ACACCTCGTCCTTGGTCCTCGATCTCCGGGACTGTGCTGGTGGGCACATCTCTGGGATCCCTTATTTCA
 TCTCCTATTTGTACCCTGGGAACACCGTCAT
 MUS_1
 ACACCTCGTCCTTGGTCCTCGATCTCCGGGACTGTGCTGGTGGGCACATCTTTGGGATCCCTTATTTCA
 TCTCCTATTTGTACCCTGGGAACACCGTCAT
 MUS_2
 ACACCTCGTCCTTGGTCCTCGATCTCCGGGACTGTGCTGGTGGGCACATCTTTGGGATCCCTTATTTCA
 TCTCCTATTTGTACCCTGGGAACACCGTCAT
 MUS_3
 ACACCTCGTCCTTGGTCCTCGATCTCCGGGACTGTGCTGGTGGGCACATCTTTGGGATCCCTTATTTCA
 TCTCCTATTTGTACCCTGGGAACACCGTCAT

ELAZIG_1
ACACCTCGTCCTTGGTCCTCGATCTCCGGGACTGTGCTGGTGGGCACATCTTTGGGATCCCTTATTTCA
TCTCCTATTTGTACCCTGGGAACACCGTCAT
ELAZIG_2
ACACCTCGTCCTTGGTCCTCGATCTCCGGGACTGTGCTGGTGGGCACATCTTTGGGATCCCTTATTTCA
TCTCCTATTTGTACCCTGGGAACACCGTCAT
VAN_1
ACACCTCGTCCTTGGTCCTCGATCTCCGGGACTGTGCTGGTGGGCACATCTCTGGGATCCCTTATTTCA
TCTCCTATTTGTACCCTGGGAACACCGTCAT
VAN_2
ACACCTCGTCCTTGGTCCTCGATCTCCGGGACTGTGCTGGTGGGCACATCTCTGGGATCCCTTATTTCA
TCTCCTATTTGTACCCTGGGAACACCGTCAT
KASTAMONU
ACACCTCGTCCTTGGTCCTCGATCTCCGGGACTGTGCTGGTGGGCACATCTCTGGGATCCCTTATTTCA
TCTCCTACTTGTACCCTGGGAACACCGTCAT
TOKAT
ACACCTCGTCCTTGGTCCTCGATCTCCGGGACTGTGCTGGTGGGCACATCTCTGGGATCCCTTATTTCA
TCTCCTACTTGTACCCTGGGAACACCGTCAT
SAMSUN_1
ACACCTCGTCCTTGGTCCTCGATCTCCGGGACTGTGCTGGTGGGCACATCTCTGGGATCCCTTATTTCA
TCTCCTACTTGTACCCTGGGAACACCGTCAT
SAMSUN_2
ACACCTCGTCCTTGGTCCTCGATCTCCGGGACTGTGCTGGTGGGCACATCTCTGGGATCCCTTATTTCA
TCTCCTACTTGTACCCTGGGAACACCGTCAT
CORUM_1
ACACCTCGTCCTTGGTCCTCGATCTCCGGGACTGTGCTGGTGGGCACATCTCTGGGATCCCTTATTTCA
TCTCCTACTTGTACCCTGGGAACACCGTCAT
CORUM_2
ACACCTCGTCCTTGGTCCTCGATCTCCGGGACTGTGCTGGTGGGCACATCTCTGGGATCCCTTATTTCA
TCTCCTACTTGTACCCTGGGAACACCGTCAT
CANKIRI_1
ACACCTCGTCCTTGGTCCTCGATCTCCGGGACTGTGCTGGTGGGCACATCTCTGGGATCCCTTATTTCA
TCTCCTACTTGTACCCTGGGAACACCGTCAT
CANKIRI_2
ACACCTCGTCCTTGGTCCTCGATCTCCGGGACTGTGCTGGTGGGCACATCTCTGGGATCCCTTATTTCA
TCTCCTACTTGTACCCTGGGAACACCGTCAT
KAYSERI_1
ACACCTCGTCCTTGGTCCTCGTTCTCCGGGACTGTGCTGGTGGGCACATCTCTGGGATCCCTTATTTCA
TCTCCTACTTGTACCCTGGGAACACCGTCAT
KAYSERI_2
ACACCTCGTCCTTGGTCCTCGTTCTCCGGGACTGTGCTGGTGGGCACATCTCTGGGATCCCTTATTTCA
TCTCCTACTTGTACCCTGGGAACACCGTCAT

		410	420	430	440	450
460	470	480	490	500		

....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....
|....|....|....|....|....|....|....|
BITLIS_1
GCACGTGGAAACCATCTATGATCGCCCCCTCCAATACCACCACCGAGAACTGGACCCTGCCCAAGGTCTCT
AGGGGAGAGATACAGCGCTGACAAAGATGTG
BITLIS_2
GCACGTGGAAACCATCTATGATCGCCCCCTCCAATACCACCACCGAGATCTGGACCCTGCCCAAGGTCTCT
AGGGGAGAGATACAGCGCTGACAAAGATGTG
BITLIS_3
GCACGTGGAAACCATCTATGATCGCCCCCTCCAATACCACCACCGAGATCTGGACCCTGCCCAAGGTCTCT
AGGGGAGAGATACAGCGCTGACAAAGATGTG

MUS_1
GCACGTGGATACCATCTATGATCGCCCCCTCCAATACCACCACCGAGATCTGGACCCTGCCCAAGGTCCT
AGGGGAGAGATACAGCGCTGACAAAGATGTG

MUS_2
GCACGTGGATACCATCTATGATCGCCCCCTCCAATACCACCACCGAGAACTGGACCCTGCCCAAGGTCCT
AGGGGAGAGATACAGCGCTGACAAAGATGTG

MUS_3
GCACGTGGATACCATCTATGATCGCCCCCTCCAATACCACCACCGAGATCTGGACCCTGCCCAAGGTCCT
AGGGGAGAGATACAGCGCTGACAAAGATGTG

ELAZIG_1
GCACGTGGATACCATCTATGATCGCCCCCTCCAATACCACCACCGAGATCTGGACCCTGCCCAAGGTCCT
AGGGGAGAGATACAGCGCTGACAAAGATGTG

ELAZIG_2
GCACGTGGATACCATCTATGATCGCCCCCTCCAATACCACCACCGAGATCTGGACCCTGCCCAAGGTCCT
AGGGGAGAGATACAGCGCTGACAAAGATGTG

VAN_1
GCACGTGGATACCATCTATGATCGCCCCCTCCAATACCACCACCGAGATCTGGACCCTGCCCAAGGTCCT
AGGGGAGAGATACAGCGCTGACAAAGATGTG

VAN_2
GCACGTGGATACCATCTATGATCGCCCCCTCCAATACCACCACCGAGATCTGGACCCTGCCCAAGGTCCT
AGGGGAGAGATACAGCGCTGACAAAGATGTG

KASTAMONU
GCACGTGGATACCATCTATGATCGCCCCCTCCAATACCACCACCGAGATCTGGACCCTGCCCAAGGTCCT
AGGGGAGAGATACAGCGCTGACAAAGATGTG

TOKAT
GCACGTGGATACCATCTATGATCGCCCCCTCCAATACCACCACCGAGATCTGGACCCTGCCCAAGGTCCT
AGGGGAGAGATACAGCGCTGACAAAGATGTG

SAMSUN_1
GCACGTGGATACCATCTATGATCGCCCCCTCCAATACCACCACCGAGATCTGGACCCTGCCCAAGGTCCT
AGGGGAGAGATACAGCGCTGACAAAGATGTG

SAMSUN_2
GCACGTGGATACCATCTATGATCGCCCCCTCCAATACCACCACCGAGATCTGGACCCTGCCCAAGGTCCT
AGGGGAGAGATACAGCGCTGACAAAGATGTG

CORUM_1
GCACGTGGATACCATCTATGATCGCCCCCTCCAATACCACCACCGAGATCTGGACCCTGCCCAAGGTCCT
AGGGGAGAGATACAGCGCTGACAAAGATGTG

CORUM_2
GCACGTGGATACCATCTATGATCGCCCCCTCCAATACCACCACCGAGATCTGGACCCTGCCCAAGGTCCT
AGGGGAGAGATACAGCGCTGACAAAGATGTG

CANKIRI_1
GCACGTGGATACCATCTATGATCGCCCCCTCCAATACCACCACCGAGATCTGGACCCTGCCCAAGGTCCT
AGGGGAGAGATACAGCGCTGACAAAGATGTG

CANKIRI_2
GCACGTGGATACCATCTATGATCGCCCCCTCCAATACCACCACCGAGATCTGGACCCTGCCCAAGGTCCT
AGGGGAGAGATACAGCGCTGACAAAGATGTG

KAYSERI_1
GCACGTGGATACCATCTATGATCGCCCCCTCCAATACCACCACCGAGATCTGGACCCTGCCCAAGGTCCT
AGGGGAGAGATACAGCGCTGACAAAGATGTG

KAYSERI_2
GCACGTGGATACCATCTATGATCGCCCCCTCCAATACCACCACCGAGATCTGGACCCTGCCCAAGGTCCT
AGGGGAGAGATACAGCGCTGACAAAGATGTG

		510	520	530	540	550	
560	570	580	590	600			

....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....
|....|....|....|....|....|....|

BITLIS_1
 GTAGTCCTCACCAGTGGACGCACTGGGGGTGTGGCTGAGGACATCGCCTACATCTTCAAGCAGATGCGG
 AGGGGCATCGTGGTGGGCGAGCGGACGGAGG
 BITLIS_2
 GTAGTCCTCACCAGTGGACGCACTGGGGGTGTGGCTGAGGACATCGCCTACATCTTCAAGCAGATGCGG
 AGGGGCATCGTGGTGGGCGAGCGGACGGAGG
 BITLIS_3
 GTAGTCCTCACCAGTGGACGCACTGGGGGTGTGGCTGAGGACATCGCCTACATCTTCAAGCAGATGCGG
 AGGGGCATCGTGGTGGGCGAGCGGACGGAGG
 MUS_1
 GTAGTCCTCACCAGTGGACGCACTGGGGGTGTGGCTGAGGACATCGCCTACATCCTCAAGCAGATGCGG
 AGGGGCATCGTGGTGGGCGAGCGGACGGAGG
 MUS_2
 GTAGTCCTCACCAGTGGACGCACTGGGGGTGTGGCTGAGGACATCGCCTACATCCTCAAGCAGATGCGG
 AGGGGCATCGTGGTGGGCGAGCGGACGGAGG
 MUS_3
 GTAGTCCTCACCAGTGGACGCACTGGGGGTGTGGCTGAGGACATCGCCTACATCCTCAAGCAGATGCGG
 AGGGGCATCGTGGTGGGCGAGCGGACGGAGG
 ELAZIG_1
 GTAGTCCTCACCAGTGGACGCACTGGGGGTGTGGCTGAGGACATCGCCTACATCCTCAAGCAGATGCGG
 AGGGGCATCGTGGTGGGCGAGCGGACGGAGG
 ELAZIG_2
 GTAGTCCTCACCAGTGGACGCACTGGGGGTGTGGCTGAGGACATCGCCTACATCCTCAAGCAGATGCGG
 AGGGGCATCGTGGTGGGCGAGCGGACGGAGG
 VAN_1
 GTAGTCCTCACCAGTGGACGCACTGGGGGTGTGGCTGAGGACATCGCCTACATCTTCAAGCAGATGCGG
 AGGGGCATCGTGGTGGGCGAGCGGACGGAGG
 VAN_2
 GTAGTCCTCACCAGTGGACGCACTGGGGGTGTGGCTGAGGACATCGCCTACATCTTCAAGCAGATGCGG
 AGGGGCATCGTGGTGGGCGAGCGGACGGAGG
 KASTAMONU
 GTAGTCCTCACCAGTGGACGCACTGGGGGTGTGGCTGAGGACATCGCCTACATCCTCAAGCAGATGCGG
 GGGGGCATCGTGGTGGGCGAGCGGACGGAGG
 TOKAT
 GTAGTCCTCACCAGTGGACGCACTGGGGGTGTGGCTGAGGACATCGCCTACATCCTCAAGCAGATGCGG
 AGGGGCAACGTGGTGTGCGAGCGGACGGAGG
 SAMSUN_1
 GTAGTCCTCACCAGTGGACGCACTGGGGGTGTGGCTGAGGACATCGCCTACATCCTCAAGCAGATGCGG
 AGGGGCATCGTGGTGTGCGAGCGGACGGAGG
 SAMSUN_2
 GTAGTCCTCACCAGTGGACGCACTGGGGGTGTGGCTGAGGACATCGCCTACATCCTCAAGCAGATGCGG
 AGGGGCATCGTGGTGTGCGAGCGGACGGAGG
 CORUM_1
 GTAGTCCTCACCAGTGGACGCACTGGGGGTGTGGCTGAGGACATCGCCTACATCCTCAAGCAGATGCGG
 AGGGGCATCGTGGTGGGCGAGCGGACGGAGG
 CORUM_2
 GTAGTCCTCACCAGTGGACGCACTGGGGGTGTGGCTGAGGACATCGCCTACATCCTCAAGCAGATGCGG
 AGGGGCATCGTGGTGGGCGAGCGGACGGAGG
 CANKIRI_1
 GTAGTCCTCACCAGTGGACGCACTGGGGGTGTGGCTGGGGACATCGCCTACATCCTCAAGCAGATGCGG
 AGGGGCATCGTGGTGGGCGAGCGGACGGAGG
 CANKIRI_2
 GTAGTCCTCACCAGTGGACGCACTGGGGGTGTGGCTGGGGACATCGCCTACATCCTCAAGCAGATGCGG
 AGGGGCATCGTGGTGGGCGAGCGGACGGAGG
 KAYSERI_1
 GTAGTCCTCACCAGTGGACGCACTGGGGGTGTGGCTGAGGACATCGCCTACATCCTCAAGCAGATGCGG
 AGGGGCATCGTGGTGGGCGAGCGGACGGAGG

KAYSERI_2

GTAGTCCTCACCAGTGGACGCACTGGGGGTGTGGCTGAGGACATCGCCTACATCCTCAAGCAGATGCGG
AGGGGCATCGTGGTGAGCGAGCGGACGGAGG

610 620 630 640 650
660 670 680 690

....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....
|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....

BITLIS_1

GTGGTGCCCTGGACCTGCAGAAGCTGAGAATAGGCCAGTCCAACCTTCTTCCTCACACTGCCTGTGTCCA
GGTCCCTGGGGCCCTTGGGAGGAGGTGGC

BITLIS_2

GTGGTGCCCTGGACCTGCAGAAGCTGAGAATAGGCCAGTCCAACCTTCTTCCTCACACTGCCTGTGTCCA
GGTCCCTGGGGCCCTTGGGAGGAGGTGGC

BITLIS_3

GTGGTGCCCTGGACCTGCAGAAGCTGAGAATAGGCCAGTCCAACCTTCTTCCTCACACTGCCTGTGTCCA
GGTCCCTGGGGCCCTTGGGAGGAGGTGGC

MUS_1

GTGGTGCCCTGGACCTGCAGAAGCTGAGAATAGGCCAGTCCAACCTTCTTCCTCACACTGCCTGTGTCCA
GGTCCCTGGGGCCCTTGGGAGGAGGTGGC

MUS_2

GTGGTGCCCTGGACCTGCAGAAGCTGAGAATAGGCCAGTCCAACCTTCTTCCTCACACTGCCTGTGTCCA
GGTCCCTGGGGCCCTTGGGAGGAGGTGGC

MUS_3

GTGGTGCCCTGGACCTGCAGAAGCTGAGAATAGGCCAGTCCAACCTTCTTCCTCACACTGCCTGTGTCCA
GGTCCCTGGGGCCCTTGGGAGGAGGTGGC

ELAZIG_1

GTGGTGCCCTGGACCTGCAGAAGCTGAGAATAGGCCAGTCCAACCTTCTTCCTCACACTGCCTGTGTCCA
GGTCCCTGGGGCCCTTGGGAGGAGGTGGC

ELAZIG_2

GTGGTGCCCTGGACCTGCAGAAGCTGAGAATAGGCCAGTCCAACCTTCTTCCTCACACTGCCTGTGTCCA
GGTCCCTGGGGCCCTTGGGAGGAGGTGGC

VAN_1

GTGGTGCCCTGGACCTGCAGAAGCTGAGAATAGGCCAGTCCAACCTTCTTCCTCACACTGCCTGTGTCCA
GGTCCCTGGGGCCCTTGGGAGGAGGTGGC

VAN_2

GTGGTGCCCTGGACCTGCAGAAGCTGAGAATAGGCCAGTCCAACCTTCTTCCTCACACTGCCTGTGTCCA
GGTCCCTGGGGCCCTTGGGAGGAGGTGGC

KASTAMONU

GTGGTGCCCTGGACCTGCAGAAGCTGAGAAAAGGCCAGTCCAACCTTCTTCCTCACACTGCCTGAGTCCA
GGTCCCTGGGGCCCTTGGGAGGAGGTGGC

TOKAT

GTGGTGCCCTGGACCTGCAGAAGCTGAGAAAAGGCCAGTCCAACCTTCTTCCTCACACTGCCTGTGTCCA
GGTCCCTGGGGCCCTTGGGAGGAGGTGGC

SAMSUN_1

GTGGTGACCTGGACCTGCAGAAGCTGAGAAAAGGCCAGTCCAACCTTCTTCCTCACACTGCCTGTGTCCA
GGTCCCTGGGGCCCTTGGGAGGAGGTGGC

SAMSUN_2

GTGGTGACCTGGACCTGCAGAAGCTGAGAAAAGGCCAGTCCAACCTTCTTCCTCACACTGCCTGTGTCCA
GGTCCCTGGGGCCCTTGGGAGGAGGTGGC

CORUM_1

GTGGTGCCCTGGACCAGCAGAAGCTGAGAAAAGGCCAGTCCAACCTTCTTTCTCACACTGCCTGAGTCCA
GGTCCCTGGGGCCCTTGGGAGGAGGTGGC

CORUM_2

GTGGTGCCCTGGACCAGCAGAAGCTGAGAAAAGGCCAGTCCAACCTTCTTTCTCACACTGCCTGAGTCCA
GGTCCCTGGGGCCCTTGGGAGGAGGTGGC

CANKIRI_1
GTGGTGCCCTGGACCTGCAGAAGCTGAGAAAAGGCCAGTCCAACCTTCTTTCTCACACTGCCTGAGTCCA
GGTCCCTGGGGCCCTTGGGAGGAGGTGGC
CANKIRI_2
GTGGTGCCCTGGACCTGCAGAAGCTGAGAAAAGGCCAGTCCAACCTTCTTTCTCACACTGCCTGAGTCCA
GGTCCCTGGGGCCCTTGGGAGGAGGTGGC
KAYSERI_1
GTGGTGCCCTGGACCTGCAGAAGCTGAGAAAAGGCCAGTCCAACCTTCTTCCTCACACTGCCTGTGTCCA
GGTCCCTGGGGCCCTTGGGAGGAGGTGGC
KAYSERI_2
GTGGTGCCCTGGACCTGCAGAAGCTGAGAAAAGGCCAGTCCAACCTTCTTCCTCACACTGCCTGTGTCCA
GGTCCCTGGGGCCCTTGGGAGGAGGTGGC



[illegible]

Hap_3

 Hap_4

 Hap_5
G.....

 Hap_6

 Hap_7

 Hap_8

 Hap_9

 Hap_10

 Hap_11

 Hap_12

260 270 280 290 300 210 220 230 240 250

....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....
 |....|....|....|....|....|....|....|
 Hap_1
 GGCAACGTGGGTTACCTAAGAGTGGATGACCTCCCCGGCCAGGAGGTACTGAGTGAGCTGGGGGGGTTC
 TTGGTGACCCATATGTGGAGGCAGCTCATGG
 Hap_2

 Hap_3
 ..T.....

 Hap_4
 ..T.....

 Hap_5

 Hap_6
G.....

 Hap_7

460 470 480 490 500 440 450

....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....
|....|....|....|....|....|....|....|

Hap_1
GCACGTGGAAACCATCTATGATCGCCCCCTCCAATACCACCACCGAGAACTGGACCCTGCCCAAGGTCCT
AGGGGAGAGATACAGCGCTGACAAAGATGTG

Hap_2
.....T.....
.....

Hap_3
.....T.....T.....
.....

Hap_4
.....T.....
.....

Hap_5
.....T.....T.....
.....

Hap_6
.....T.....T.....
.....

Hap_7
.....T.....T.....
.....

Hap_8
.....T.....T.....
.....

Hap_9
.....T.....T.....
.....

Hap_10
.....T.....T.....
.....

Hap_11
.....T.....T.....
.....

Hap_12
.....T.....T.....
.....

560 570 580 590 600 540 550

....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....
|....|....|....|....|....|....|....|

Hap_1
GTAGTCCTCACCAGTGGACGCACTGGGGGTGTGGCTGAGGACATCGCCTACATCTTCAAGCAGATGCGG
AGGGGCATCGTGGTGGGCGAGCGGACGGAGG

Hap_2
.....
.....

Hap_3
.....C.....
.....

Hap_4
.....C.....
.....
Hap_5
.....C.....
.....
Hap_6
.....
.....
Hap_7
.....C.....
G.....
Hap_8
.....C.....
.....A.....T.....
Hap_9
.....C.....
.....T.....
Hap_10
.....C.....
.....
Hap_11
.....G.....C.....
.....
Hap_12
.....C.....
.....A.....
660 670 680 690 630 640 650

....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....
|....|....|....|....|....|....|....
Hap_1
GTGGTGCCCTGGACCTGCAGAAGCTGAGAATAGGCCAGTCCAACTTCTTCCTCACACTGCCTGTGTCCA
GGTCCCTGGGGCCCTTGGGAGGAGGTGGC
Hap_2
.....
.....
Hap_3
.....
.....
Hap_4
.....
.....
Hap_5
.....
.....
Hap_6
.....
.....
Hap_7
.....A.....A.....
.....
Hap_8
.....A.....
.....

Hap_9
A.....A.....

 Hap_10
A.....A.....T.....A.....

 Hap_11
A.....T.....A.....

 Hap_12
A.....



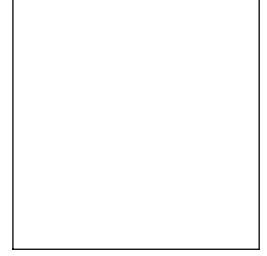
KAYNAKLAR

- Arslan, A., Yorulmaz, T., Toyran, K., Gözütok, S., Zima, J., 2011. C-heterochromatin variation and NOR distribution in the karyotype of water vole *Arvicola terrestris* (Mammalia, Rodentia), *Caryologia*, 64: 215-222.
- Bendelt, H., Froster, P., Rohl, A., 1999. Median joining network for inferring intraspecific phylogenies, *Molecular Biology and Evolution*, 16: 37– 48.
- Bradley, R.D. and Baker, R.J., 2001. A test of the Genetic Species Concept: cytochrome *b* sequences and mammals, *Journal of Mammalogy*, 82: 960–973.
- Bridges, C.D.B., Liou, G.I., Alvarez, R.A., Landers, R.A., Landry, A.M., Jr, Fong S-L., 1986. Distribution of interstitial retinol-binding protein (IRBP) in the vertebrates, *Journal of Experimental Zoology*, 239: 335–346.
- Davis, P.H., 1971. Distribution patterns in Anatolia with particular reference to endemism. In: Davis PH, Harper PC, Hedge IC. eds. Plant life of southwest Asia, Aberdeen, 15–28.
- Doyle, J.J. and Doyle, J.L., 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue, *Focus*, 12 (1): 13-15.
- Felsenstein, J., 1985. Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap, *Evolution*, 39: 783-791.
- Fong, S-L., Fong, W-B., Morris, T.A., Kedzie, K.M., Bridges, C.D.B, 1990. Characterization and comparative structural features of the gene for human interstitial retinol-binding protein, *Journal of Biology Chemistry*, 265: 3648–3653.
- Freeland, J.R. 2005. Molecular Ecology. 388 p, England
- Gözcüoğlu, B., Çolak, E., Çolak R., 2006. Karyotype of *Arvicola terrestris* (Mammalia: Rodentia) in Turkish Thrace, *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 9 (12): 2387-2388.
- Gözcüoğlu, B., 2009. Batı Anadolu'daki Su Sıçanının (*Arvicola terrestris* Linnaeus, 1758) Taksonomik Durumu ve Allozim Varyasyonları, Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Gür, H., 2017. Anadolu diyagonali: Bir biyocoğrafı sınırın anatomisi, *Kebikeç, İnsan Bilimleri İçin Kaynak Araştırmaları Dergisi*, 43: 177-187.
- Hall, T.A., 1999. A user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT, *Nucleic Acids Symposium Series*, 41: 95-98.
- İyigün, C. and Çolak, R., 2004. An electrophoretic study on esterase and blood serum proteins of the water vole *Arvicola terrestris* (L., 1758) (Mammalia: Rodentia), in Kırşehir province, *Turkish. Journal of Biology*, 28: 47-53.

- Jansa, S.A. and Voss, R.S., 2000. Phylogenetic studies on didelphid marsupials I. Introduction and preliminary results from nuclear IRBP gene sequences, *Journal of Mammalian Evolution*, 7: 43–77.
- Kimura, M., 1980. A simple method for estimating evolutionary rate of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences, *Journal of Molecular Evolution*, 16: 111-120.
- Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C., Tamura, K., 2018. MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms, *Molecular Biology and Evolution*, 35:1547-1549.
- Mursaloğlu, B., 1975. Türkiye su sıçanlarının *Arvicola* coğrafik varyasyonları, TÜBİTAK V. Bilim Kongresi Tebliğleri, 353-368.
- Mutun, S., 2010. Intraspecific Genetic Variation and Phylogeography of the Oak Gallwasp *Andricus caputmedusae* (Hymenoptera: Cynipidae): Effects of the Anatolian Diagonal, *Acta Zoologica Academiae Scientiarum Hungaricae*, 56: 153–172.
- Özkurt, Ş., Çolak, E., Yiğit, N., Sözen, M., Verimli, R., 1999. Contributions to the Karyology and Morphology of *Arvicola terrestris* (Lin. 1758) (Mammalia: Rodentia) in Central Anatolia, *Turkish Journal of Zoology*, 23: 253-257.
- Rozas, J., Ferrer-Mata, A., Sánchez-DelBarrio, J.C., Guirao-Rico, S., Librado, P., Ramos-Onsins, S.E., ve Sánchez-Gracia, A., 2017. DnaSP v6: DNA Sequence Polymorphism Analysis of Large Datasets, *Molecular Biology and Evolution*, 34: 3299-3302.
- Serizawa, K., Suzuki, H., Tsuchiya, K., 2000. A phylogenetic view on species radiation in *Apodemus* inferred from variation of nuclear and mitochondrial genes, *Biochemical Genetics*, 38: 27–40.
- Springer, M.S., Burk, A., Kavanagh, J.R., Waddell, V.G., Stanhope, M.J., 1997. The interphotoreceptor retinoid binding protein gene in therian mammals: Implications for higher level relationships and evidence for loss of function in the marsupial mole, *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 94: 13754–13759.
- Stanhope, M.J., Czelusniak, J., Si, J-S., Nickerson, J., Goodman, M., 1992. A molecular perspective on mammalian evolution from the gene encoding interphotoreceptor retinoid binding protein, with convincing evidence for bat monophyly, *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 1: 148–160.
- Suzuki, H., Tsuchiya, K., Takezaki, N., 2000. A molecular phylogenetic framework for the Ryukyu endemic rodents *Tokudaia osimensis* and *Diplothrix legata*, *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 15: 15–24.
- Şeker, P., 2015. Türkiye’de Yayılış Gösteren Su Sıçanı *Arvicola Amphibius* (Linnaeus, 1758) (Mammalia: Rodentia) Populasyonlarının mtDNA (Sitokrom *b* ve Kontrol Bölgesi) Varyasyonları, Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 177 s.

- Şeker, P. S., Arslan, A., Selvi, E., Kankılıç, T., Zima, J., 2018. Variation in the Conventional and Banded Karyotypes among Populations of *Arvicola amphibius* (L., 1758)(Mammalia: Rodentia) from Turkey, *Acta Zoologica Bulgarica*, 70(2): 147-152.
- Şeker, P. S., Selvi, E., Kankılıç T. ve Çolak, E., 2018. Geographical Distribution Pattern of Mitochondrial DNA Cytochrome *b* Diversity in Populations of *Arvicola amphibius* (Linnaeus, 1758) (Mammalia: Rodentia) in Turkey as Determined by PCR-RFLP. *Acta Zoologica Bulgarica*, 70 (1): 19-30.
- Tamura, K., and Nei, M., 1993. Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees, *Molecular Biology and Evolution*, 10: 512-526.
- Tez, C., İbiş, O., Tez, R., Kılıç, M., Telcioğlu, M., 2011. Distributional, morphological and karyotypic contributions for the Eurasian water vole, *Arvicola amphibius* (Linnaeus, 1758) (Rodentia: Mammalia), from Turkey, *Archives of Biological Science*, 63 (2): 407-412.
- Üstünbaş, S., Çolak, R., Karacan, G.O., Çolak, E., 2011. RAPD-PCR analysis of water vole *Arvicola amphibius* (Linnaeus, 1758) (Mammalia: Rodentia) distributed in Turkey, *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 10 (13): 1673-1677.

ÖZGEÇMİŞ



Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : Derya GÖKÇE BEKTAŞ
Uyruğu :
Doğum tarihi ve yeri :
Medeni hali :
Yabancı Dili : İngilizce

Eğitim

Derece

Eğitim Birimi

Mezuniyet Tarihi

Lisans

Artvin Çoruh Üniversitesi
Eğitim Fakültesi
Fen Bilgisi Öğretmenliği

01.06.2017

Lise

Oltu Yusuf Ziya Bey
Anadolu Lisesi

2011