

**ANADOLU ÜNİVERSİTESİ**



**BİLECİK ŞEYH EDEBALI  
ÜNİVERSİTESİ**

**Fen Bilimleri Enstitüsü**

**Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı**

**İÇ ANADOLU BÖLGESİNDE YAYILIŞ GÖSTEREN  
*NANNOSPALAX XANTHODON* SATUNİN, 1898  
(MAMMALIA: RODENTIA)'UN  $2n = 54$  ve  $2n = 60$   
SİTOTİPLERİNİN ISSR TEKNİĞİ KULLANILARAK  
MOLEKÜLER FİLOGENİSİ**

**Eda ŞEN**

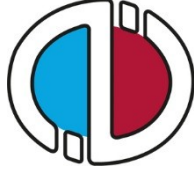
**Yüksek Lisans**

**Tez Danışmanı**

**Yrd. Doç. Dr. Tuba YAĞCI**

**BİLECİK, 2017**

**Ref.No: 10160990**



**ANADOLU ÜNİVERSİTESİ**



**BİLECİK ŞEYH EDEBALI  
ÜNİVERSİTESİ**

**Fen Bilimleri Enstitüsü**

**Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı**

**İÇ ANADOLU BÖLGESİNDE YAYILIŞ GÖSTEREN  
*NANNOSPALAX XANTHODON* SATUNİN, 1898  
(MAMMALIA: RODENTIA)'UN  $2n = 54$  ve  $2n = 60$   
SİTOTİPLERİNİN ISSR TEKNİĞİ KULLANILARAK  
MOLEKÜLER FİLOGENİSİ**

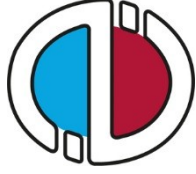
**Eda ŞEN**

**Yüksek Lisans**

**Tez Danışmanı**

**Yrd. Doç. Dr. Tuba YAĞCI**

**BİLECİK, 2017**



**ANADOLU UNIVERSITY**



**BILECIK SEYH EDEBALI  
UNIVERSITY**

**Institute of Science  
Department of Molecular Biology and Genetics**

**MOLECULAR PHYLOGENY OF THE  $2n = 54$  AND  $2n = 60$   
CYTOTYPES OF *NANNOSPALAX XANTHODON*  
SATUNIN, 1898 (MAMMALIA: RODENTIA) FROM  
CENTRAL ANATOLIA BY ISSR MARKER TECHNIQUE**

**Master's  
Eda ŞEN**

**Thesis Advisor  
Assistant Professor Tuba YAĞCI**

**BILECIK, 2017**



BİLECİK ŞEYH EDEBALI ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS

JÜRİ ONAY FORMU

Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunun 21.06.2017 tarih ve ..32.... sayılı kararıyla oluşturulan jüri tarafından 18.07.2017 tarihinde tez savunma sınavı yapılan ..Erola.. Sen.....'ın "İç Anadolu Bölgesinde..Yayılız..Göstereç..Morapacı..Kırmızı..Sarı..1898 (Mammata: Kadıköy)..2014..ve..2016..Sitatipinin..ISSR..Tekniği...Kullanılarak Moleküler...Filyajeni..." başlıklı tez çalışması ..Moleküler..Biyoloji..ve..Genetik.... Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS tezi olarak oy birliği/oy çokluğu ile kabul edilmiştir.

JÜRİ

ÖYE

(TEZ DANIŞMANI): Yrd. Doç. Dr. Tuba YAĞCI

ÖYE: Yrd. Doç. Dr. Zafar SANCIK

ÖYE: Yrd. Doç. Dr. Volkan KILIÇ

ONAY

Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunun ...../...../..... tarih ve ..... sayılı kararı.

İMZA/MÖHÜR

## TEŞEKKÜR

Tez sürecim boyunca bana bilgi , beceri ve deneyimleri ile yol gösteren, gerek okul gerekse günlük yaşamımda hiçbir alanda desteklerini esirgemeyen Danıőman Hocam Yrd. Doç. Dr. Tuba Yağcı' ya teőekkürü borç bilirim. Ayrıca eğitimime imkan ve olanak sağlayan tüm Moleküler Biyoloji ve Genetik bölümü hocalarıma teşekkür ederim.

İnandığım, inanmak istediğim, baőardıđım ve hayal ettiğim ne varsa hayata geçirmemde her daim yanımda olduklarını bildiğim baőta annem Safiye Şen'e ve babam Eyüp Şen'e , kardeőlerime ve tüm aileme çok teőekkürlerimi sunarım.

Gerektiğinde hoca, gerektiğinde abla, gerektiğinde arkadaő olan Gülçin Çetin'e, Damla Yüksel'e ve Özge Kaygusuz'a, çalışma arkadaőım Hüseyin İzgördü'ye teşekkür ediyorum.

Ve bu güzel heyecanımlı benimle birlikte yaőayıp paylaőan Erdoğan Aldemir'e çok teőekkürler...

## ÖZET

İç Anadolu bölgesinde yayılış gösteren *Nannospalax xanthodon*' un  $2n = 54$  ve  $2n = 60$  sitotiplerine ait toplam 36 örnek ISSR-PCR (Inter Simple Sequence Repeat-Polymerase Chain Reaction) tekniği kullanılarak analiz edildi. Optimizasyonu sağlanan 7 ISSR primerinden ((AG)<sub>8</sub>T, (GGAGA)<sub>5</sub>, (GACA)<sub>4</sub>, (TG)<sub>8</sub>A, (CAG)<sub>5</sub>GC, (CAG)<sub>4</sub>AC ve (GA)<sub>8</sub>AC) 101'i polimorfik olmak üzere 112 bant üretildi. Bu primerlerden (AG)<sub>8</sub>T ve (GA)<sub>8</sub>AC primerleri  $2n = 54$  ve  $2n = 60$  sitotiplerine özgü bantlar üreterek, sitotipleri ayırt edebilmek için en bilgilendirici oldu. En iyi optimizasyonun sağlandığı markörler aracılığıyla belirlenen polimorfizm oranları kullanılarak 'Genetik mesafe matrisi' hesaplandı. Jaccard katsayısına dayalı olarak hesaplanan UPGMA (Unweighted Pair Group Mean Average) analizinde iki sitotipin belirgin olarak ayrıldığı tespit edildi.

**Anahtar Kelimeler:** *Nannospalax xanthodon*, ISSR, genetik çeşitlilik, Türkiye

## ABSTRACT

A total of 36 samples of  $2n = 54$  and  $2n = 60$  cytotypes of *Nannospalax xanthodon*, spreading in the Central Anatolia region, were analysed by using ISSR-PCR (Inter-Simple Sequence Repeat-Polymerase Chain Reaction) technique. 112 bands were produced, 101 of which were polymorphic, from optimised 7 ISSR primers ((AG)<sub>8</sub>T, (GGAGA)<sub>5</sub>, (GACA)<sub>4</sub>, (TG)<sub>8</sub>A, (CAG)<sub>5</sub>GC, (CAG)<sub>4</sub>AC and (GA)<sub>8</sub>AC). (AG)<sub>8</sub>T and (GA)<sub>8</sub>AC primers which were from these primers were most informative to distinguish cytotypes by producing bands specific for  $2n = 54$  and  $2n = 60$  cytotypes. The genetic distance matrix was calculated using the polymorphism rates determined by the markers provided with the best optimisation. It was determined that the two cytotypes were distinctly separated in the UPGMA (Unweighted Pair Group Mean Average) analysis calculated based on the Jaccard coefficient.

**Keywords:** *Nannospalax xanthodon*, ISSR, genetic diversity, Turkey

## İÇİNDEKİLER

<b>JÜRİ ONAY SAYFASI</b>	
<b>TEŞEKKÜR</b>	
<b>ÖZET.....</b>	<b>i</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>ii</b>
<b>İÇİNDEKİLER .....</b>	<b>iii</b>
<b>ÇİZELGELER .....</b>	<b>iv</b>
<b>ŞEKİLLER .....</b>	<b>v</b>
<b>SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ .....</b>	<b>vi</b>
<b>1.GİRİŞ .....</b>	<b>1</b>
<b>2. LİTERATÜR ÖZETİ .....</b>	<b>2</b>
2.1. <i>Nannospalax xanthodon</i> ' un Kromozomal Evrimi ve Taksonomisi .....	2
2.2. Moleküler Markörler .....	7
<b>3. MATERYAL ve METOD .....</b>	<b>11</b>
3.1. Materyal.....	11
Şekil 3.2.....	12
3.2. Metod.....	13
3.2.1. Genomik DNA İzolasyonu .....	13
3.2.2. PCR ( Polimeraz Zincir Reaksiyonu ) analizi.....	14
3.2.3. PCR Ürünlerinin agaroz jel elektroforezi .....	17
3.2.4. Filogenetik veri analizi .....	17
<b>4. BULGULAR.....</b>	<b>18</b>
4.1. PCR Analizi.....	18
<b>5. TARTIŞMA SONUÇ .....</b>	<b>26</b>
<b>KAYNAKLAR .....</b>	<b>29</b>
<b>EK 1: Türkiye <i>N. xanthodon</i> türüne ait karyolojik veriler.....</b>	<b>35</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>38</b>

## ÇİZELGELER

<b>Çizelge 3.1.</b> 10 X TBE tampon (1 litre).....	14
<b>Çizelge 3.2.</b> Agaroz jel bileşenleri.....	14
<b>Çizelge 3.3.</b> Primer baz dizilimleri ve baz sayıları.....	16
<b>Çizelge 3.4.</b> PCR bileşenleri.....	17
<b>Çizelge 4.1.</b> ISSR primerlerinin polimorfizm listesi.....	21
<b>Çizelge 4.2.</b> 2n değerlerine göre ayrılmış <i>N. xanthodon</i> örneklerinde Nei (1978)'nin genetik benzerlik (üst diyagonal) ve genetik mesafe (alt diyagonal) matrisi.....	22
<b>Çizelge 4.3.</b> <i>N. xanthodon</i> türünün 2n değerlerine göre genetik çeşitliliği. Örnek sayısı (N), lokuslarda gözlenen ortalama allel sayısı (Na), efektif allellerin ortalama sayısı (Ne) , Shannon indeksi (I), beklenen heterozigotluk (H), polimorfik lokus yüzdesi (%P). .....	22
<b>Çizelge 4.4.</b> Lokalitelere göre ayrılmış <i>N. xanthodon</i> örneklerinde Nei (1978)'nin genetik benzerlik (üst diyagonal) ve genetik mesafe (alt diyagonal) matrisi (1: Ankara, 2: Konya, 3: Eskişehir, 4: Çankırı, 5: Kayseri, 6: Kırıkkale, 7: Yozgat, 8: Kırşehir).....	23
<b>Çizelge 4.5.</b> <i>N. xanthodon</i> türünün lokalite dağılımına göre genetik çeşitliliği. Örnek sayısı (N), lokuslarda gözlenen ortalama allel sayısı (Na), efektif allellerin ortalama sayısı (Ne), Shannon indeksi (I), beklenen heterozigotluk (H), polimorfik lokus yüzdesi (% P). .....	24

**ŞEKİLLER**

<b>Şekil 2.1.</b> ISSR markörlerin çalışma prensibi.....	10
<b>Şekil 3.1.</b> Örneklerin alındığı lokaliteler.....	11
<b>Şekil 3.2.</b> <i>Nannospalax xanthodon</i> . ....	12
<b>Şekil 3.3.</b> PCR protokolü. ....	15
<b>Şekil 4.1.</b> UBC 873 primeri jel görüntüsü. ....	18
<b>Şekil 4.2.</b> UBC 880 primeri jel görüntüsü. ....	19
<b>Şekil 4.4.</b> UBC 828 primeri jel görüntüsü. ....	20
<b>Şekil 4.5.</b> UBC 830 primeri jel görüntüsü. ....	20
<b>Şekil 4.6.</b> Nei (1978) genetik mesafe matrisi temel alınarak çizilen UPGMA dendrogramı. ....	25
.....	25

**SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ**

%	Yüzde
°C	Santigrad Derece
DEPC	Dietilpirokarbonat
DMSO	Dimetilsülfoksit
DNA	Deoksiribonükleik asit
EDTA	Etilendiamin tetra asetik asit
EtBr	Etidyum Bromür
g	Gram
Mg	Miligram
MgCl <sub>2</sub>	Magnezyum Klorür
ml	Mililitre
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
µl	Mikrolitre
µM	mikromolar
dNTP	Deoksiribonükleotit Trifosfat
rpm	Dakikadaki Devir Sayısı
TBE	Tris- Borak asit- EDTA
2n	Diploit kromozom sayısı
NF	Temel Kromozom Kol Sayısı
NFa	Otozomal Kol Sayısı

## 1.GİRİŞ

Anadolu jeolojik tarihi ve ekolojik özellikleri ile geçmişten günümüze birçok türü barındıran bir gen merkezi niteliğindedir. Ülkemiz üç kıtanın birleştiği bir coğrafyada bulunması nedeniyle de zengin biyoçeşitliliğe sahiptir (Kışlalıoğlu ve Berkes, 1987; Benda ve Horacek, 1998).

Doğada genetik çeşitlilik üzerine yapılan araştırmalarda türlerin biyocoğrafik yayılışında, nehir ve yakın çevresinin ekolojik ve fiziksel özelliklerinin, ekolojik bariyer olarak işlev gördüğü bilinmektedir.

Genetik çeşitlilik, ekolojik dengenin korunması ve türlerin devamlılığı için önemli bir faktördür. Fakat günümüzde yerküre hareketleri, ekolojik dengedeki bozulmalar ve daha bir çok doğa olayı genetik çeşitliliğin giderek yok olmasına neden olmaktadır. Genetik çeşitliliğin ve gen kaynaklarının korunmasına yönelik tür tespitleri ve kayıtları önceki yıllarda morfolojik ve fizyolojik özelliklerden yararlanılarak belirlenmiştir. Başvurulan bu yöntemler morfolojik olarak ayrımı zor olan türlerde kesin sonuç vermemesi nedeni ile araştırmacılar arasında fikir ayrılığına sebep olmuştur.

Son yıllarda PCR temelli tekniklerin ve moleküler markörlerin geliştirilmesi ile tür tespiti ve genetik yapıların aydınlatılarak akrabalık ilişkilerinin çözümlenmesi gibi daha birçok soruna çözüm üretilmiştir. Moleküler markörler diğer tekniklere göre daha güvenilir , ucuz , hızlı ve kullanışlı olma özellikleri ile ön plana çıkmaktadır.

## 2. LİTERATÜR ÖZETİ

### 2.1. *Nannospalax xanthodon*' un Kromozomal Evrimi ve Taksonomisi

Yaşamlarını toprak altında geçiren memelilerin bu yaşama en iyi şekilde adapte olmuş türleri, Rodentia ordosunun Spalacidae familyasında görülmektedir. Spalacidae familyası, 1821 yılında tanımlanmış ve tek cins *Spalax* (Güldenstaedt, 1770) olarak kabul edilmiştir (Topachevskii, 1969; Harrison, 1972; Savic ve Nevo, 1990; Nevo, 1991). Daha sonraki yıllarda morfolojik özellikler kullanılarak verilen tür kayıtları, familyanın taksonomisinde yeni düzenlemelere ihtiyaç olduğu gerçeğini açığa çıkarmıştır.

Topachevskii (1969), taksonomi de 2 cins önerisinde bulunmuştur: *Microspalax* ve *Spalax*. Daha sonra Gromov ve Baranova (1981); *microspalax* ismi bir eklem bacaklı türü ile eş anlamlı olduğundan, körfareler de *Nannospalax Palmer* (1903) kullanılması gerektiğini belirterek *Nannospalax* ve *Spalax* cinslerini esas almışlardır. Zima ve Kral (1984), Corbet ve Hill (1991), tarafından belirtilen kriterlere göre Türkiye'de yayılış gösteren kör farelerin *Nannospalax* cinsine ait oldukları ve *N. ehrenbergi*, *N. nehringi*, *N. leucodon* olmak üzere üç türün bulunduğu kaydedilmiştir. Kryštufek ve Vohralik (2009), Kryštufek vd., (2012), *nehringi* ismi yerine *xanthodon* ismini kullanarak bu türü *N. xanthodon* türünün sinonimi olarak kabul etmiştir. Araştırmacılara göre *N. leucodon* Trakya'da, *N. ehrenbergi* Güneydoğu Anadolu bölgesinde, *N. xanthodon* ise bu bölgeler hariç tüm Anadolu'da yayılış göstermektedir.

Günümüze kadar Türkiye'de Spalacidae familyasının taksonomik karmaşasını aydınlatmak amacı ile birçok karyolojik araştırma yapılmıştır. Fakat bu araştırmalar sonucunda verilen yeni tür ve alt tür kayıtları araştırmacılar arasında fikir ayrılıklarına neden olup, taksonomisi zaten problemlili olan familyayı daha karmaşık bir hale getirmiştir. Bu problemin nedeni ise körfarelerin morfolojik olarak ayırt edilememesi ve kromozomal olarak olağanüstü çeşitlilik göstermesidir. Palearktik bölgede yayılış gösteren Spalacidae familyasının 50'den fazla kromozomal formu tespit edilmiştir. Bunların arasında karyolojik yönden en fazla çeşitlilik, yaklaşık 30 forma sahip olmasıyla Türkiye'de görülmektedir (Sözen, 2004). 2n değeri 36'dan 60'a, NF

değerleri 66'dan 92'ye değişen bu kromozomal formların tam olarak dağılım sınırları da halen kesinlik kazanmamıştır (Sözen, vd., 2011).

*Nannospalax* cinsinde görülen  $2n$  çeşitliliğinin, Robertsonian translokasyonlarından kaynaklandığı düşünülmektedir. Akrosentrik kromozomların sentromer bölgelerinden birleşerek füzyonu, ya da bir kromozomun sentromer bölgesinden bölünerek iki kromozom oluşturduğu füzyonu sonucu yeni kromozomal formlar meydana gelmektedir. Sentromer pozisyonunun değişimine neden olan perisentrik inversiyonlar ise kromozomların kol sayısında artış ya da azalışa neden olarak temel kromozomal kol sayısını (NF) etkilemektedir (Savic ve Nevo, 1990; Nevo, 1991; Nevo vd., 1994, 1995). *Spalax*'ın atasal karyotipinin çoğunlukla metasentrik kromozomlardan oluşan  $2n = 38$  olduğu ve kromozomların füzyonu sonucu diğer formların oluştuğu kabul edilmektedir. Ivanitskaya vd., (1997), ise atasal karyotipin akrosentrik kromozomlardan oluşan  $2n = 60$  olduğunu, kromozomların füzyonu ve perisentrik inversiyonlarla yeni karyotiplerin oluştuğunu kabul etmektedir.

Anadolu'nun milyonlarca yıldır geçirdiği jeolojik değişiklikler ile sahip olduğu coğrafik ve iklimik çeşitlilik, flora ve faunasında da farklılıklara neden olmuştur. Yaşadığı habitat yapısı, yükseklik, iklimik faktörler gibi coğrafik ve ekolojik etmenlerden oldukça fazla etkilenen *Spalax*'ın türleşmesi üzerinde Anadolu'nun topografik yapısı etkili rol oynamıştır (Gülkaç ve Yüksel, 1999).

İsrail'de yayılış gösteren *Spalax ehrenbergi* üst türünü diploid kromozom sayısı 52, 54, 58 ve 60 olan 4 kromozomal form oluşturmaktadır. Bu kromozomal formların yayılış sınırları iklimik çeşitlilik ile ilişkilendirilmiştir. Serin ve nemli bölgelerde  $2n = 52$ , serin ve yarı kural bölgelerde  $2n = 54$ , sıcak ve nemli bölgelerde  $2n = 58$ , sıcak ve kurak bölgelerde ise  $2n = 60$  formu yayılış göstermektedir (Nevo vd., 1994). Ayrıca, temel kromozom kol sayısı (NF), allozimlerin gen çeşitliliği ( $H_e$ ), heterozigotluk (H), ve polimorfizm (P) güneye doğru kuraklık stresi ve tahmin edilemeyen iklim koşulları ile artmaktadır. Benzer bir eğilim Türkiye'de ki *N. leocodon*'un üsttürlerinde de bulunmuştur (Nevo, vd., 1994, 1995). Kuraklığa bağlı  $2n$  artışı daha sonra ki karyolojik çalışmalarda tam olarak desteklenmemiştir (Sözen, vd., 2006a). Körfareler ile ilgili şimdiye kadar yapılan karyolojik araştırmaların sonuçları değerlendirildiğinde, Türkiye'de kromozom sayılarının oldukça değişken olduğu (özellikle bireysel varyasyonların

varlığı) *Nannospalax* cinsine ait türlerin biyocoğrafik yayılışında, iklim özellikleri ile kromozomal özellikler ( $2n$ , NF, NFa) arasında kurulan ilişkiler sıklıkla başvurulan araçlardandır. Ancak kuraklığın etkisi konusunda elde edilen sonuçlar, farklı ve çelişkili yorumlara açık niteliktedir. Lokalite olarak çok yakın bölgelerden alınan örneklerde yapılan çalışmalar  $2n$  ve NF değerleri bakımından yüksek çeşitlilik göstermektedir. Bu sonuçlar, karyolojik olarak oldukça karmaşık olan türün daha bir çok çalışma ile araştırılması gerektiğini göstermiştir.

Kuzey Irak bölgesinden 3 farklı lokaliteden toplanan 11 körfare örneği üzerinde gerçekleştirilen bir çalışmada morfolojik özellikler incelenmiştir. Bazı taksonomik özellikleri, dış vücut ve baş iskeleti ölçüleri araştırılmıştır. Örneklerden elde edilen bilgiler literatür bilgileriyle karşılaştırılmıştır. Sonuçlar ise bu bölgede ki körfarelerinin incelenen popülasyonlarının benzer morfolojik özelliklere sahip olduklarını göstermektedir. Böylece, Kuzey Irak popülasyonları morfolojik bakımından *Nannospalax ehrenbergi* türü olarak değerlendirilmiştir.

Yüksel ve Gülkaç (2001), farklı  $2n$  değerlerine sahip *N. xanthodon* sitotipleri arasında çiftleşmenin gerçekleşmediğini verimli döl oluşumunun meydana gelmediğini söylemişlerdir.

Arslan vd., (2010) *N. xanthodon*' un  $2n = 40$ ,  $2n = 58$  ve  $2n = 60$  sitotipleri üzerinde yaptıkları bir çalışmada mtDNA sitokrom-b bölgelerini karşılaştırmışlardır. Çalışma sonucunda;  $2n = 40$ ,  $2n = 58$  ve  $2n = 60$  sitotiplerinin farklı birer tür olarak değerlendirilebileceğini ve allopatrik bir türleşme gösterdiklerini söylemiştir.

Sözen vd., (2011), dört farklı  $2n = 50$  formundan Kuzey (N), Güney (S), Batı (W) ve Doğu (E) olmak üzere 15 adet körfare örneğine C ve G-bantlama işlemleri uygulamışlar ve elde edilen veriler ışığında bir karşılaştırma yapmışlardır. Karyolojik sonuçlar,  $2n = 50S$  formunun, Türkiye'de körfareler için yeni bir form olduğunu ortaya koymuştur.  $2n = 50$  formu Kahramanmaraş 'dan saptanmış ve NF = 70'dir.  $2n = 50W$  ve NF = 74 formu ise diğerlerinden farklılıklar göstermiştir. Bantlama sonuçları,  $2n = 50$ ' nin tamamında ki heterokromatin blokların farklı olduğunu gösterirken sadece  $2n = 50W$  formunda telomerik heterokromatin blokları bulunmuştur. Bununla birlikte, G-bantlama sonuçları, kromozom formları arasındaki farklılıkları göstermiştir.

Karşılaştırılma yapıldığında, Robertsonian füzyonunun Türkiye'de ki körfarelerin kromozomal evrimi üzerinde etkin bir kuvvet olduğunu ve  $2n = 50W$  formunda telomerik heterokromatinin ayırıcı bir karakter olduğunu tespit etmişlerdir.

Matur vd., (2013), 10 farklı lokasyona ait 10 farklı kromozomal ırktan 33 körfare ile yaptıkları çalışma da kromozomal ırkları karşılaştırmak ve aralarındaki ilişkileri açıklığa çıkarmak için G ve C bantlama tekniklerini uygulamışlardır. Karyolojik analizler sonucunda  $2n = 60$ ' in diğer kromozomal ırkların atası olduğuna karar vermişlerdir. Araştırmacılar 10 kromozomal ırkın kapsamlı bir karşılaştırmasını ve kromozomal olarak yeniden düzenlenmesini sunmak için kladistik analiz yapmışlardır. Oluşan bu kladistik ağaca göre, düşük diploid sayıdaki kromozomal ırklar monofilik bir grup oluşturmuştur.

Sözen vd., (2013a), İç Anadolu'da ki Çankırı ve Çorum illerinde örneklenen *Nannospalax nehringi* (Nehring, 1898) türünde 38 lokaliteden 91 örneğin karyotipleri analiz etmişlerdir. Aynı  $2n$  değerlerine sahip farklı kromozomal formlara Türkiye'de ki coğrafi konumlarına göre harfler atamışlardır: Merkezi formlar için C, Kuzey formları için N, Güney formları için S, Doğu formları E ve Batı formları için W harflerini kullanmışlardır. Karyolojik çalışmalar sonucunda *N. nehringi*' nin  $2n = 54C$  ve  $NF = 74$  olduğu;  $2n = 56N$  ve  $NF = 72$ ;  $2n = 58N$  ve  $NF = 74$  ve bu alanlardaki  $2n = 60$  popülasyonunun da  $NF = 78$ ,  $NF = 82$  formları olduğunu bulmuşlardır. Bu çalışma ile Çankırı ve Çorum illerinde körfare kromozom formlarının dağılımındaki boşluklar doldurulmuş ve bölgede ki  $2n = 54C$ ,  $56N$ ,  $58N$  ve  $60$  formlarının dağılım alanları aydınlatılmıştır.

Sözen vd., (2013b), Batı Anadolu *N. xanthodon* türü üzerine yaptıkları çalışmada 54 lokasyondan 121 örneğin karyolojisini araştırmışlardır. Yaptıkları çalışma sonucunda 7 farklı diploid sayıda kromozom formuna ( $2n = 36, 38, 40, 50, 52, 56$  ve  $2n = 60$ ) rastlamışlardır. Karyotipi  $2n = 36$  olan popülasyonların  $NF = 70$ ,  $NFa = 66$  ve X kromozomu submetasentrik, Y akrosentriktir. Karyotipi  $2n = 38$  olan popülasyonlarda  $NF = 74$ ,  $NFa = 70$  ve X kromozomu submetasentrik, Y akrosentriktir. Karyotip  $2n = 40$  olan popülasyonlar  $NF = 72$ ,  $NFa = 68$  ve X kromozomu orta büyüklükte bir metasentrik, Y kromozomu küçük boyutlu bir akrosentriktir. Karyotip  $2n = 50$  olan popülasyonlar  $NF = 74$ ;  $NFa = 70$  ve X kromozomu, orta büyüklükte bir

submetasentriktir. Karyotip  $2n = 52$  olan popülasyonları  $NF = 70$ ,  $NFa = 66$  ve X kromozomu orta büyüklükte bir metasentriktir.  $2n = 56$  karyotipi olan popülasyonlar  $NF = 72$  ve  $NFa = 68$  X kromozomu orta ölçekli submetasentrik ve Y kromozomu küçük bir akrosentriktir. Karyotipi  $2n = 60$  olan popülasyonlar için  $NF = 74, 76, 78, 80, 82, 84$  olmak üzere 6 farklı sitotip belirlemişlerdir.

Arslan vd., (2014); Türkiye'de *N. leucodon* ve *N. xanthodon* türlerinin  $2n = 56$  sitotiplerinde C-bantlama ve AgNOR boyama teknikleri ile kromozom profillerini karşılaştırmışlardır. İncelenen beş popülasyonun her birinden alınan örneklerin, diğer popülasyonlardan farklı bir karyotip ortaya koyduğunu ve temel kromozomal kol sayısının 68'den 72'ye kadar değişim gösterdiğini bulmuşlardır. C-heterokromatin miktarını *N.leucodon* örneğinde *N. xanthodon'* a kıyasla daha fazla bulmuşlardır. Ayrıca aktif NOR bölgelerini *N. leucodon'* da beş otozom çiftinde kaydederken, *N. xanthodon'* da sadece üç veya dört çiftte kaydetmişleridir. Araştırmalar sonucunda  $2n = 56$ , *N. leucodon* ve *N. xanthodon* türlerinin karyolojik olarak oldukça farklı olduklarını ortaya koymuşlardır.

Kankılıç ve Gürpınar (2014); sitotiplerin çeşitliliğini belirlemek ve tür ilişkilerini aydınlatmak amacıyla *Nannospalax xanthodon* ve *Nannospalax ehrenbergi* türlerinde RFLP tekniği ile mitokondriyal DNA'nın D - loop ve sitokrom b bölgelerindeki genetik farklılıkları belirlemişlerdir. 62 lokaliteden 94 örnek ile gerçekleştirdikleri çalışmada, 4 farklı kesim enzimi kullanmışlardır. RFLP analizi sonucunda 94 örneğe ait D - loop bölgesi için 4 haplotip ve sitokrom b bölgesi için 8 haplotip saptamışlardır. Çalışmanın sonuçlarına göre, Doğu Anadolu'da dağılım gösteren örnekler için *N. nehringi* geçerli tür adı olduğunu ve *N. xanthodon* ile sinonim olmadığını savunmuşlardır. Ayrıca Anadolu körfarelerinin yalnızca 2 türle temsil edilemeyeceğini *N. xanthodon* ve *N. ehrenbergi* ' ye ek olarak *N. nehringi* ve *N. labaumei* türlerinin de geçerli olabileceğini söylemişlerdir.

Sözen vd., (2015); Türkiye *N. xanthodon* (Satunin, 1898) ve *N. ehrenbergi* (Nehring, 1898) türlerinde gerçekleştirdikleri çalışmada 30 lokaliteden 63 örnek ile karyotip analizi yapmışlardır. Adana'dan  $2n = 54$  ve Karaman'dan  $2n = 56$  olan iki yeni sitotip,  $2n = 54$  ve  $2n = 58$  sitotiplerinin iki farklı popülasyonu ve *N. xanthodon'* da  $2n = 60$  sitotipin dört farklı NF değeri ( $NF = 74, 76, 78$  ve  $80$ ) tespit etmişlerdir. Adana

ilinde Tufanbeyli ve Saimbeyli'den  $2n = 54$ ,  $NF = 74$  ve Karaman'dan  $2n = 56$ ,  $NF = 70$  olarak belirttikleri sitotipler Türkiye'de *N. xanthodon* türü için yenidir. Güney Anadolu'daki Osmaniye ilçesinden gelen *N. ehrenbergi* popülasyonu  $2n = 56$ ,  $NF = 70$  olarak kaydetmişlerdir. Yaptıkları bu çalışma ile sitotipler için ilave karyolojik kayıtlar vererek bilinen dağılım alanlarını genişletmiş ve Türkiye'de ki karyolojik boşlukların çoğunu doldurmuşlardır.

## 2.2. Moleküler Markörler

Moleküler teknikler bilim dünyasına Kary Mullis'in PCR'ı geliştirmesiyle girmiştir. Polimeraz zincir reaksiyonu, hedeflenmiş DNA dizisinin uygun primerler ve ortam sayesinde in vitro koşullarda klonlanması, kopyalanmasıdır. Bilinen bölgelere göre dizayn edilen primerler bu diziler arasını ısı döngüleyici cihazlar kullanarak çoğaltmaya yarar. Bu cihazlar önce genomik DNA'nın iki ipliğini birbirinden ayırır, sonra primerlerin komplementeriyle bağ yapabileceği G-C oranına göre hesaplanan sıcaklık değerine ortam sıcaklığını düşürür ve polimerizasyon tepkimesinin gerçekleşeceği sıcaklığa geçip uzamayı sağlar. Bu döngü yaklaşık 30 kez tekrarlanır.

Moleküler markörler, genomda herhangi bir gen bölgesi ya da gen bölgesi ile ilişkili DNA parçasıdır. Moleküler markörler; genetik markörlerin, DNA tabanlı tipini oluşturduklarından, DNA markörleri olarak da bilinirler. DNA markörleri farklı genotiplere ait DNA diziliş farklılığını çeşitli şekillerde ortaya koyan markörlerdir (Yorgancılar, vd., 2015). Moleküler markörlerde bulunması gereken bazı özellikleri sıralayacak olursak;

- Moleküler markörler yüksek polimorfizm göstermeli
- Hızlı , kolay ve ucuz uygulanabilirlik sağlamalı
- Tüm doku türlerinde uygulanabilmeli
- Genom içerisinde sık aralıklar ile düzgün bir dağılım göstermeli
- Tekrarlanabilirlikleri fazla olmalı
- Maliyet açısından kullanışlı olmalı
- Farklı genotipler arasında ayırım sağlayabilmeli
- Laboratuvar ortamında standardize edilebilmeliler

- En önemlisi; aynı materyal üzerinde kullanılan bir markör her kullanışta aynı sonuçları vermelidir.

***Moleküler markörleri gruplandırarak olursak;***

1. Hibridizasyona dayalı markörler: RFLP
2. PCR temelli markörler: SSR, RAPD, AFLP, ISSR

RFLP: Restriksiyon enzimleri kullanılarak DNA'nın farklı büyüklükteki fragmanlara ayrılması RFLP (Restriksiyon Fragment Length Polymorphism) olarak adlandırılır. Bu yöntem polimorfizm çalışmalarında sıklıkla kullanılmaktadır. Restriksiyon enzimleri, DNA üzerinde yaklaşık 5-10 baz uzunluğunda belirli bir nükleotid dizisini tanıyarak bu noktada kesim yapar ve DNA'yı parçalara ayırır. Daha sonra çeşitli boyuttaki DNA parçaları manüel ya da otoradyografi yöntemi ile gözlemlenir. Her restriksiyon enziminin farklı bir tanıma bölgesi vardır. Bu teknik güvenilir olmasının yanı sıra pahalı, zaman alıcı ve radyoaktif prob kullanılması gibi nedenlerden dolayı tercih edilmeyebilir.

SSR: Mikrosatellit olarak da bilinen SSR'lar DNA dizilerinde tekrar edilen en küçük birimlerdir ve yaklaşık 1-6 baz çifti arasında değişmektedir. Mikrosatellitlerin aşağı ve yukarı yönündeki diziler bilindiğinde yaklaşık 20-25 baz çifti uzunluğunda primerler dizayn edilerek bu bölgelerin amplifikasyonu sağlanabilir. DNA replikasyonu sırasında yanlış baz eşleşmesi vb. olaylar nedeniyle mikrosatellit sayılarında farklılık meydana gelebilir ve bu farklılık elektroforez teknikleriyle belirlenebilir. Yüksek polimorfizm gösterir, populasyon genetiği çalışmalarında kullanılabilir (Powel, vd., 1996). Yüksek polimorfizm ve PCR kolaylığı sağlayan bu teknikte yeni markörlerin geliştirilmesi oldukça güçtür.

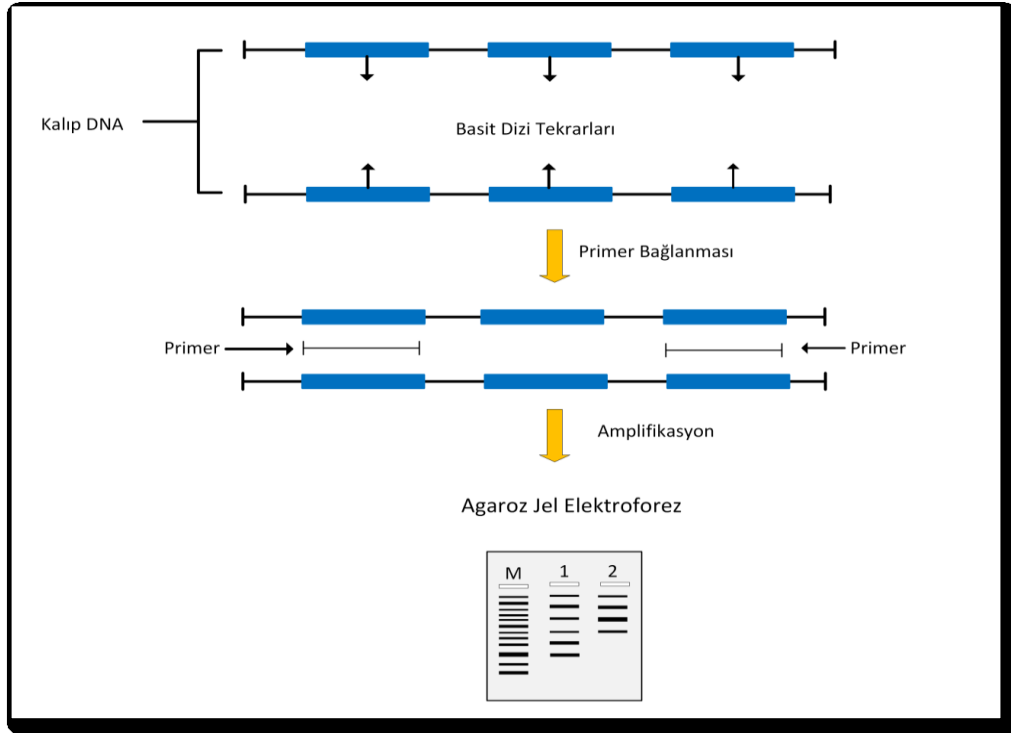
RAPD: Williams ve arkadaşları (1990), DNA örneklerinden rastgele fragmentler oluşturmak için 10 bazdan daha kısa primerler kullanarak RAPD (Rastgele Arttırılmış Polimorfik DNA) tekniğini geliştirmiştir (Cushwa ve Medrano, 1996). Sentetik olarak oluşturulan rastgele nükleotid dizisine sahip primerler (örneğin: ACGGTCAC TG), genomik DNA'nın çeşitli bölgelerinin çoğaltımında kullanılmaktadır (Cushwa ve Medrano, 1996). RAPD fragmentleri genetik markör olarak veya bir tür DNA parmak izi olarak kullanılabilir. RAPD yönteminin temel prensibi, türe ait genomik

DNA üzerinde, rastgele seçilmiş 9-10 bp uzunluğundaki tek bir oligonükleotidin, düşük bağlanma sıcaklığında tesadüfi olarak bağlanarak PCR ile çoğaltma yapmasıdır. Kısa primerlerin ve düşük annealing sıcaklıklarının kullanımı genom içine dağılmış çeşitli kısımların fazla miktarda amplifikasyonunu sağlar. Primerler bu teknikte gelişmiş güzel bir genin veya genomun tamamında rastgele tanıdığı bölgelerle hibritleşmektedir ve sonucunda farklı uzunluklarda bantlar agaroz jel elektroforezinde görülür. RAPD bantlarının olup olmayışlarına göre bireyler arasındaki nükleotit dizilimi farkından oluşan polimorfizm belirlenir. RAPD tekniği hızlı sonuç veren, az iş gücü gerektiren ve az miktarlarda DNA gerektiren, fakat tekrarlanabilirlik ve güvenilirlik açısından olumsuz bir tekniktir.

AFLP: Çoğaltılmış parça uzunluk polimorfizmi (AFLP- “Amplified fragment length polymorphism”) tekniği, RE enzimleri ile kesilmiş genomik DNA parçalarının seçici PCR ile çoğaltılması temeline dayanmaktadır. Bu teknik, DNA'nın enzimlerle kesilmesi ve oligonükleotid adaptörlerin bağlanması, kesilen bölgelerin seçici PCR yöntemiyle çoğaltılması ve çoğalan bölgenin poliakrilamid jelde analiz edilmesi olmak üzere 3 temel aşamadan meydana gelmektedir (Özşensoy ve Kurar, 2012). Polimorfizm oranı yüksek ve RFLP tekniğine göre daha hızlı bir yöntemdir.

ISSR: ISSR yöntemi, ökaryotik genomlarda tekrar eden 2, 3, 4, 5 gibi nükleotid birimlerinin lokustan bağımsız bir şekilde genomda rastgele dağılımlarını esas alan ve birbirine ters yönlü ve yakın olan mikrosatellit bölgelerin amplifikasyonuna dayanan bir tekniktir (Zietkiewicz, vd., 1994; Gupta, vd., 1994). Mikrosatellit diziler genomda oldukça fazla ve orantılı şekilde dağılmış konumdadır. Birbirine ters olarak konumlanmış iki mikrosatellit arasında kalan DNA'yı çoğaltmak için birkaç ISSR tekrarından oluşan PCR primerleri kullanılır ve yaklaşık olarak boyutları 16 - 25 bp uzunluğundadır. (Şekil 2.1.) ISSR tekniğinde kullanılan primerlerin bazıları 5' veya 3' ucundan rastgele bazlardan oluşan seçici baz dizilimlerine sahiptir (S'anchez de la Hoz vd., 1996). Mikrosatellit markörler, az DNA gerektirmesi, dominant ve kararlı markör sistemi olması, genomda bol ve dağınık bulunması, tekrarlanabilir ve otomasyona uygun olması, yüksek polimorfizm barındırması, bilgilendirici bir markör sistemi oluşundan dolayı popülasyon genetiği ve gen haritalama çalışmalarında etkin olarak kullanılabilirlikte kullanılabilmektedir.

ISSR tekniği filogenetik çalışmalar, genetik çeşitliliğin belirlenmesi, genom haritalanması, evrimsel biyoloji gibi bir çok alanda kullanılmaktadır. Diğer yöntemler ile karşılaştırıldığında; uygulaması kolay, maliyeti düşük, n dizi bilgisi gerektirmeyen, az miktarda genomik DNA ile çalışması, hızlı ve güvenilir sonuçlar vermesi açısından oldukça fazla tercih edilmektedir.



şekil 2.1. ISSR markörlerin çalışma prensibi.

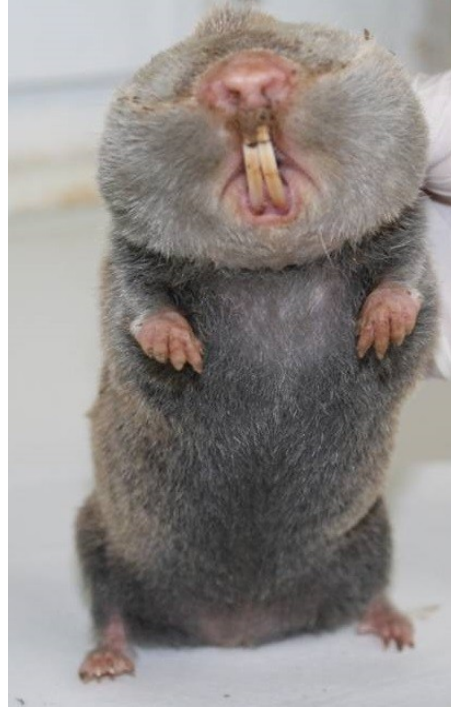
### 3. MATERYAL ve METOD

#### 3.1. Materyal

Bu çalışmada İç Anadolu bölgesinin 8 farklı lokalitesinden alınan 36 adet *Nannospalax xanthodon* (Satunin, 1898) örneği kullanılmıştır. Araştırmada kullanılan örnekler, Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Departmanı Laboratuvarı'nda 2006-2010 yılları arasında yakalanan ve  $-80^{\circ} \text{C}$ 'de muhafaza edilen karaciğer dokularıdır. Karyolojik veriler önceki kayıtlardan elde edilmiştir. Örneklerin toplandığı lokaliteler Şekil 3.1' de gösterilmiştir.



Şekil 3.1. Örneklerin alındığı lokaliteler.



**Şekil 3.2.** *Nannospalax xanthodon*.

*Nannospalax xanthodon*' un sistematiği;

Classis: Mammalia

Ordo: Rodentia

Familya: Spalacidae

Altfamilya: Spalacinae (Gray, 1921)

Cins: *Nannospalax* (Palmer, 1903)

Tür: *Nannospalax leucodon* , *Nannospalax ehrenbergi* , *Nannospalax nehringi* , *Nannospalax cilicicus* , *Nannospalax captorum* , *Nannospalax xanthodon*

### 3.2. Metod

Çalışmamızda *N. xanthodon* örneklerinin karaciğer dokularından ‘Thermo Scientific GeneJET Genomic DNA Purification Kit’ kullanılarak genomic DNA izolasyonu gerçekleştirilmiştir.

#### 3.2.1. Genomik DNA İzolasyonu

Yaklaşık olarak 20 mg karaciğer dokusu sıvı azot ile dövülerek homojenize edildi. Sıvı hale gelen doku örnekleri 1.5 µl’ lik ependorflara alındı. Üzerlerine 180 µl Digestion Solution ve 20 µl Proteinase K Solution eklendi. Tüpler vorteks ya da pipetaj yardımı ile homojenize olana kadar alt üst edildi. Doku tamamen eriyene ve partikül kalmayana dek 56 ° C’de inkübe edildi. İnkübasyon sırasında ara ara tüpler çalkalandı. Daha sonra tüplere 20 µl RNase A Solution eklendi ve vorteks yardımı ile karıştırılan tüpler 10 dakika oda sıcaklığında inkübe edildi. 200 µl Lysis Solution eklendi ve tüpler 15 saniye boyunca vorteklendi. Sonrasında 400 µl % 50 ethanol çözeltisi eklendi ve pipetaj yardımı ile homojenize olana kadar karıştırıldı.

Oluşan lizat filtre ve toplama kolonu olarak 2 bölmeden oluşan GeneJET Genomic DNA Purification tüpüne aktarıldı. Tüpler 6000 g’ de 1 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonrası çözeltinin toplandığı toplama kolonları atıldı yerine 2 µl’ lik yeni GeneJET Genomic DNA Purification toplama kolonları takıldı. Tüplere 500 µl Wash Buffer I eklendi ve 1 dakika boyunca 8000 g’ de santrifüj edildi. Santrifüj sonrası kolonda toplanan sıvı döküldü ve tekrar takıldı. Tüplere ikinci yıkama tamponu olarak 500 µl Wash Buffer II eklendi ve maksimum hızda (13 000 g) 3 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonunda toplama tüpü atılarak ve 1,5 µl’ lik yeni steril ependorflar takıldı.

Tüplere 200 µl Elution Buffer eklenerek oda sıcaklığında 15 dakika çözülmeye bırakıldı. Daha sonra 8000 g’ de 1 dakika santrifüj edilerek izole edilen DNA ependorfda toplandı.

İzolasyon sonucu elde edilen genomik DNA’ lar %1’ lik agaroz jel elektroforezinde yürütülerek görüntüleme cihazında görüntülenmiştir. Agaroz jel elektroforezinde 10 X TBE tampon hazırlanmış ve 1 / 10 oranında seyreltilerek kullanılmıştır (Çizelge 3.1.). 1 gram agaroz tartılarak bir erlene alınıp üzere 100 ml TBE tampon eklenmiştir. Çözelti mikrodalga fırında orta seviyede ısıtılarak homojen olarak çözünmesi sağlanmıştır. Hazırlanan çözelti oda sıcaklığında hafif

soğutulduktan sonra içerisine 5 µl etidyum bromid (10 mg / ml) eklenip çalkalama yardımı ile karıştırılmıştır (Çizelge 3.2.). Hazırlanan agaroz jel kuyucuk oluşturmak için tarakları oturtulan elektroforez cihazına kabarcık kalmayacak şekilde dökülmüş ve yaklaşık 30 dakika polimerize olmaya bırakılmıştır.

Polimerize olan jelden taraklar yavaşça ve dikkatlice çıkarılmış, jel 1 X TBE tampon içeren elektroforez tankına yerleştirilmiştir. Hazırlanan agaroz jel kuyucuklarına mikropipet yardımı ile 5 µl Loding Dye (6X) DNA yükleme boyası ve 1 µl genomik DNA olacak şekilde örnekler yüklenmiştir. Elektroforez 90 V akım ile 30 dakika yürütülerek görüntülenmiştir.

**Çizelge 3.1.** 10 X TBE tampon (1 litre).

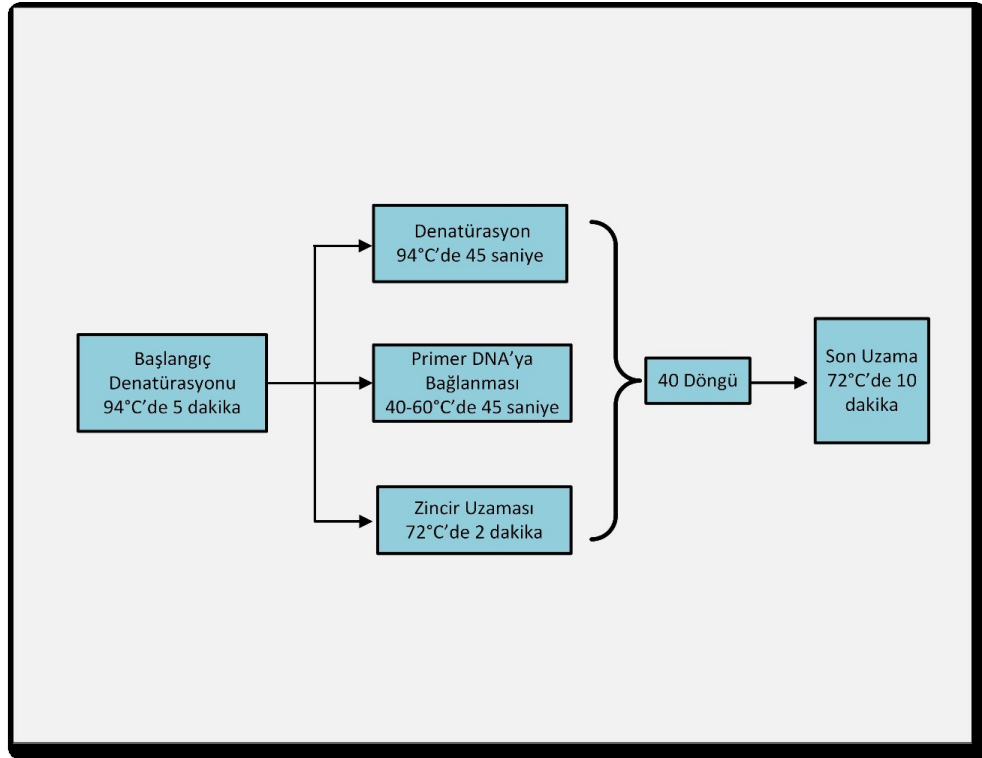
<b>Kimyasalın Adı</b>	<b>Miktarı</b>
Tris	108 g
Borik Asit	55 g
Edta	7.45 g

**Çizelge 3.2.** Agaroz jel bileşenleri.

<b>Agaroz Jel Bileşeni</b>	<b>Miktarı</b>
1 X TBE Tampon	100 ml
Agaroz	1 gr
Etidyum Bromid	5 µl

### **3.2.2. PCR ( Polimeraz Zincir Reaksiyonu ) analizi**

*N. xanthoton* türü bireyleri arasındaki genetik farklılığın karşılaştırılması için Zietkiewicz vd., (1994) geliştirmiş olduğu klonlama temelli ISSR ( Basit Dizi Tekrarları Arası Polimorfizm) tekniği kullanılmıştır. ISSR PCR tekniği için literatür taramalarından elde edilen 30 adet ISSR primeri kullanılmıştır (Çizelge 3.3.). Başlangıç olarak primerlerin spesifik bağlanma sıcaklığı (Ta) optimizasyonu gerçekleştirilmiştir. Bunun için Gradient - PCR yöntemi kullanılarak primerler 40 – 60 °C arasında primerlerin çalışma sıcaklıkları tespit edilmiştir (Şekil 3.2.).



Şekil 3.3. PCR protokolü.

**Çizelge 3.3.** Primer baz dizimleri ve baz sayıları.

<b>Sıra Numarası</b>	<b>Baz Dizilimi ( 5 ' → 3 ' )</b>	<b>Baz Sayısı</b>
1	ATA TAT ATA TAT ATA TC	17
2	AGA GAG AGA GAG AGA GT	17
3	AGA GAG AGA GAG AGA GC	17
4	GAG AGA GAG AGA GAG AC	17
5	CAC ACA CAC ACA CAC AG	17
6	GTG TGT GTG TGT GTG TC	17
7	TCT CTC TCT CTC TCT CC	17
8	TGT GTG TGT GTG TGT GA	17
9	ACC ACC ACC ACC ACC ACC	18
10	ACA CAC ACA CAC ACA CC	17
11	AGT AGT AGT AGT AGT AGT	18
12	GGA GAG GAG AGG AGA	15
13	CAC ACA CAC ACA CAC AT	17
14	GAT AGA TAG ACA GAC A	16
15	TGC ATG CAT GCA TGC A	16
16	ATA TAT ATA TAT ATA TT	17
17	GAC AGA CAG ACA GAC A	16
18	CTA GCT AGC TAG CAT G	16
19	CCC TCC CTC CCT CCC T	16
20	CAG CAG CAG CAG CAG GC	17
21	CAC ACA CAC ACA CAC AA	17
22	GAA GAA GAA GAA GAA GAA	18
23	CAG CAG CAG CAG AC	14
24	GGA TGG ATG GAT GGA T	16
25	GAT AGA TAG ATA GAT A	16
26	GAG AGA GAG AGA GAG AAC	18
27	ATG ATG ATG ATG ATG ATG	18
28	CTA GCT AGC TAG CTA G	16
29	ACT TCC CCA CAG GTT AAC ACA	21
30	GTG TGT GTG TGT GTG TT	17

Çalışma sıcaklıkları belirlenen primerlerin PCR reaksiyonları gerçekleştirildi. PCR bileşenleri Çizelge 3.4.' de verilmiştir.

**Çizelge 3.4.** PCR bileşenleri.

PCR Bileşeni	Konsantrasyon	Miktar
10 X PCR Buffer	10 X	2,5 µl
MgCl <sub>2</sub>	50 mM	1,8 µl
dNTP	2,5 mM	0,5 µl
dH <sub>2</sub> O		17,9 µl
Taq DNA Polimeraz	5 U / µl	0,3 µl
Genomik DNA	50 ng / µl	1 µl
ISSR Primeri	10 µM	1 µl
Total Hacim		25 µl

### 3.2.3. PCR Ürünlerinin agaroz jel elektroforezi

Polimeraz zincir reaksiyonu sonucunda elde edilen amplifikasyon ürünler % 1' lik agaroz jel (Çizelge 3.2.) elektroforezinde 90 V akım altında yürütülerek görüntülendi. Amplifikasyon ürünlerinin boyutlarını belirlemek için 100-10000 bp DNA ladder marker (Thermo Scientific GeneRuler DNA Ladder Mix) kullanılmıştır. Agaroz jel görüntüleri amplifikasyon ürünleri belirgin olacak şekilde fotoğraflanarak veri analizi için kaydedilmiştir.

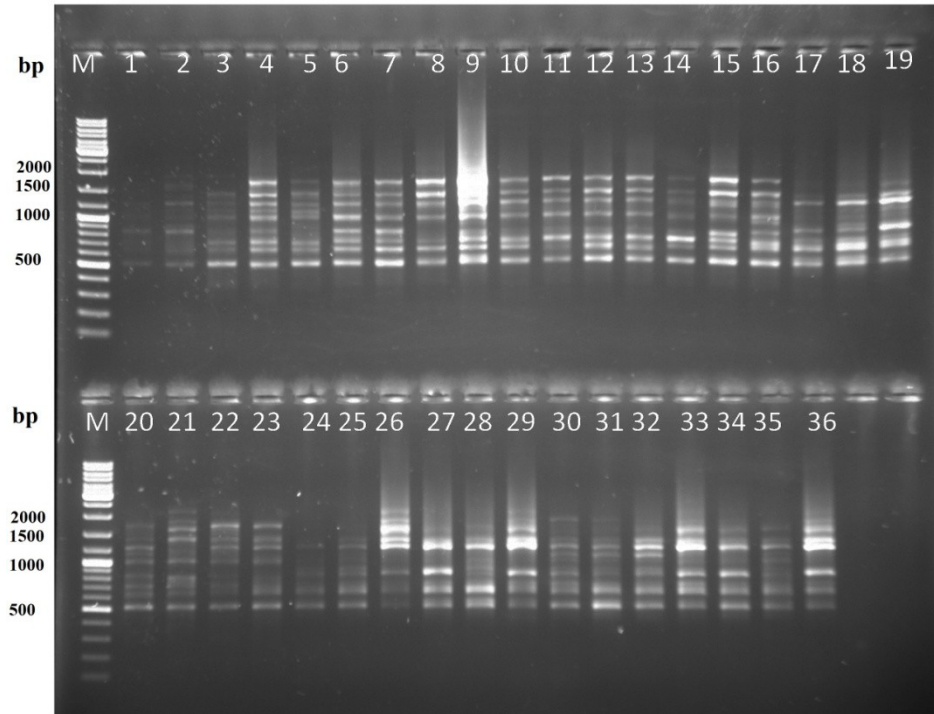
### 3.2.4. Filogenetik veri analizi

DNA bant profilleri jel fotoğraflarından DNA ladder baz alınarak skorlanmıştır. Skoreleme bant varlığı durumunda (1) ve bant yokluğu durumunda (0) yazılarak yapılmıştır. Skoreleme yapılırken belirgin bantların dikkate alınmasına özen gösterilmiştir. Bandların varlığını ve yokluğunu gösteren ikili matris, Nei genetik çeşitliliğine (1978) (H) dayalı genetik çeşitliliği hesaplamak için MVSP (MultiVariate Statistical Package) versiyon 3.22 ve POPGENE v. 1.32 (Population Genetic Analysis) (Yeh, vd., 1999) kullanılarak analiz edildi.

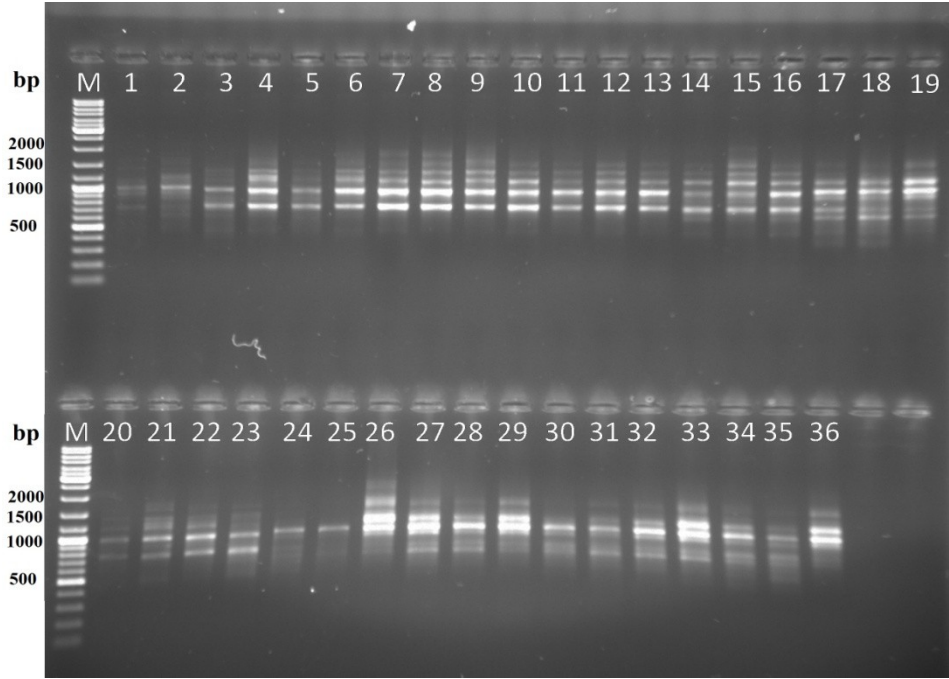
## 4. BULGULAR

### 4.1. PCR Analizi

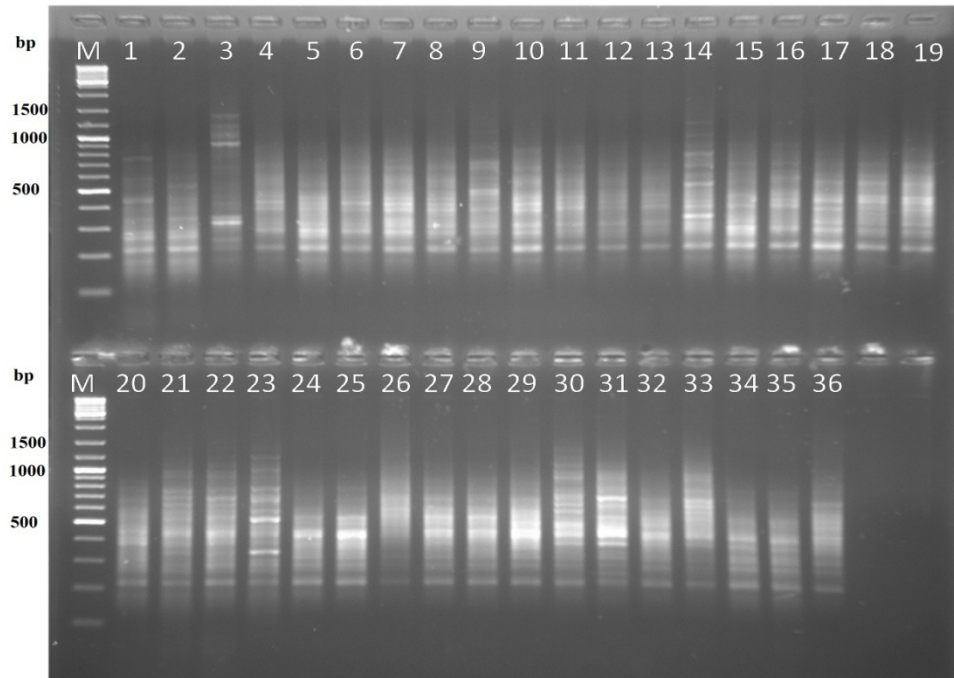
30 adet ISSR primerinin PCR analizi sonucunda 7 adet primerin polimorfik bantlar verdiği diğer primerlerin ise bant oluşturmadığı gözlemlenmiştir (Şekil 4.1., Şekil 4.2., Şekil 4.3., Şekil 4.4. ve Şekil 4.5.). Çalışmaya bu 7 primer ile devam edilmiştir. Primerlere ait jel görüntüleri üzerinde belirgin bantlar dikkate alınarak bant varlığında (1), yokluğu durumunda ise (0) yazılarak skorlama yapılmış ve analiz verileri oluşturulmuştur.



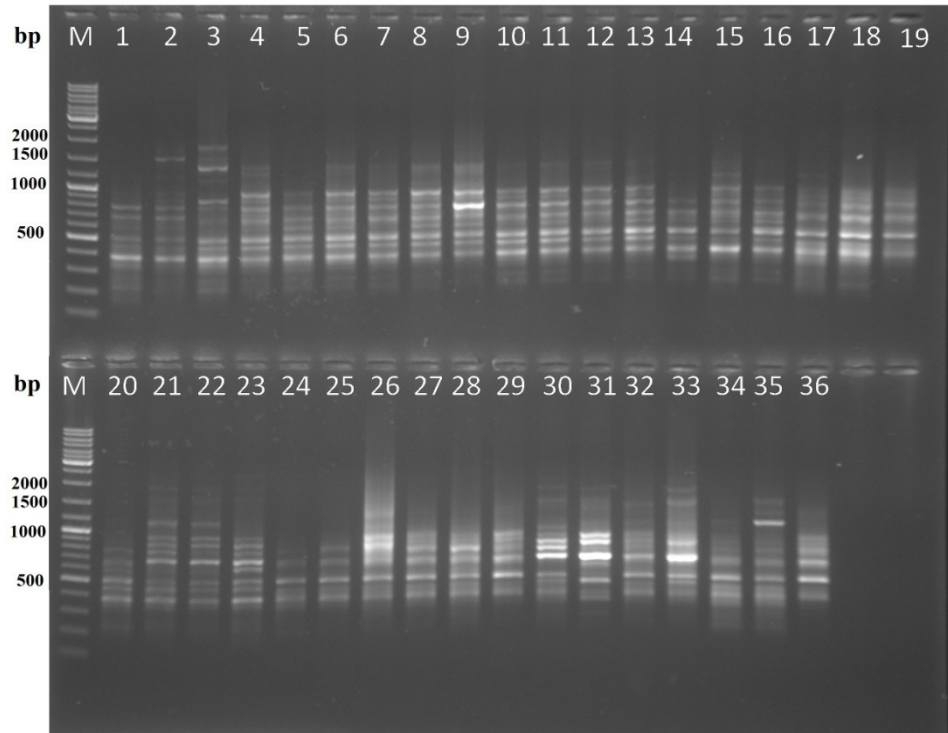
Şekil 4.1. UBC 873 primeri jel görüntüsü.



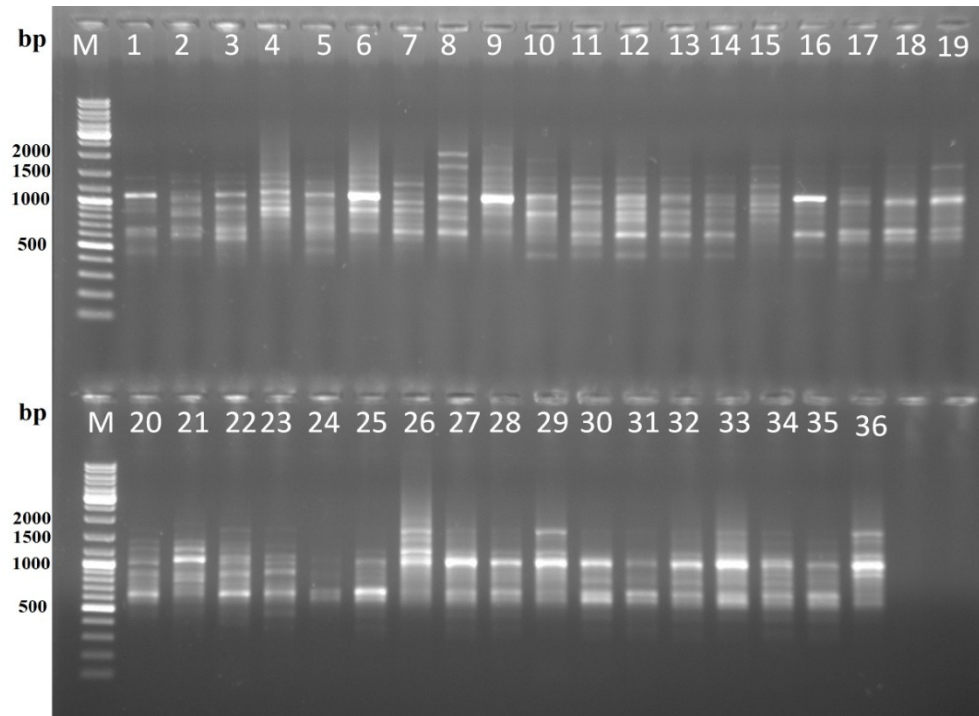
**Şekil 4.2.** UBC 880 primeri jel görüntüsü.



**Şekil 4.3.** UBC 807 primeri jel görüntüsü.



Şekil 4.4. UBC 828 primeri jel görüntüsü.



Şekil 4.5. UBC 830 primeri jel görüntüsü.

Çalışmamızda toplam 7 ISSR primeri kullanılarak 101'i polimorfik olmak üzere 112 bant üretilmiş total polimorfizm oranı % 90 olarak kaydedilmiştir. Primerlerin polimorfizm oranları % 78 ile % 100 arasında değişmektedir. Primerlerin oluşturdukları bant sayıları 9 – 20 arasında değişmektedir. UBC 807 primeri 20 bant ile hem en yüksek bant sayısını hemde en yüksek polimorfizm oranını göstermiştir. UBC 828 primeride oluşturduğu 9 bantın 7 adedinin polimorfik olması ile en düşük polimorfizm oranını vermiştir. Primer başına düşen ortalama polimorfik bant sayısı da 14.42' dir. Bu verilere göre yüksek ve  $2n = 54$  ve  $2n = 60$  sitotiplerine özgü bantlar üreten  $(AG)_8T$  ve  $(GA)_8AC$  primerleri sitotipleri ayırebilmek için en ideal primerlerdir. Maximum ve minimum polimorfizm oranları Çizelge 4.1.'de belirtilmiştir.

**Çizelge 4.1.** ISSR primerlerinin polimorfizm listesi.

Primer Dizisi	Total Bant Sayısı	Polimorfik Bant Sayısı	% Polimorfizm
$(AG)_8T$	20	20	% 100
$(TG)_8A$	9	7	% 78
$(GACA)_4$	14	12	% 86
$(GGAGA)_5$	17	15	% 88
$(CAG)_5GC$	19	16	% 84
$(CAG)_4AC$	19	17	% 89
$(GA)_8AC$	14	14	% 100
ISSR Total	112	101	% 90

Nei'nin orijinal genetik mesafeleri, lokalite olarak ayrılmış örnekler (8 lokalite) ve  $2n$  seviyesinde ayrılmış ( $2n = 54, 60$ ) örnekler olarak ayrı ayrı hesaplanmıştır. *N. xanthodon* türünün  $2n = 54$  ve  $2n = 60$  sitotiplerinde 7 ISSR markörü kullanılarak hesaplanan ortalama benzerlik 89% olup, ortak atalarından dolayı yüksek benzerlik göstermiştir (Çizelge 4. 2.).

**Çizelge 4.2.** 2n değerlerine göre ayrılmış *N. xanthodon* örneklerinde Nei (1978)'nin genetik benzerlik (üst diyagonal) ve genetik mesafe (alt diyagonal) matrisi.

	2n = 60	2n = 54
2n=60	****	0.8984
2n=54	0.1071	****

**Çizelge 4.3.** *N. xanthodon* türünün 2n değerlerine göre genetik çeşitliliği. Örnek sayısı (N), lokuslarda gözlenen ortalama allel sayısı ( $n_a$ ), efektif allellerin ortalama sayısı ( $n_e$ ), Shannon indeksi (I), beklenen heterozigotluk (H), polimorfik lokus yüzdesi (%P).

2n	N	$n_a$	$n_e$	I	H	%P
2n = 60	20	1.803	1.402	0.367	0.240	% 80.36
2n = 54	16	1.687	1.358	0.321	0.211	% 68.75

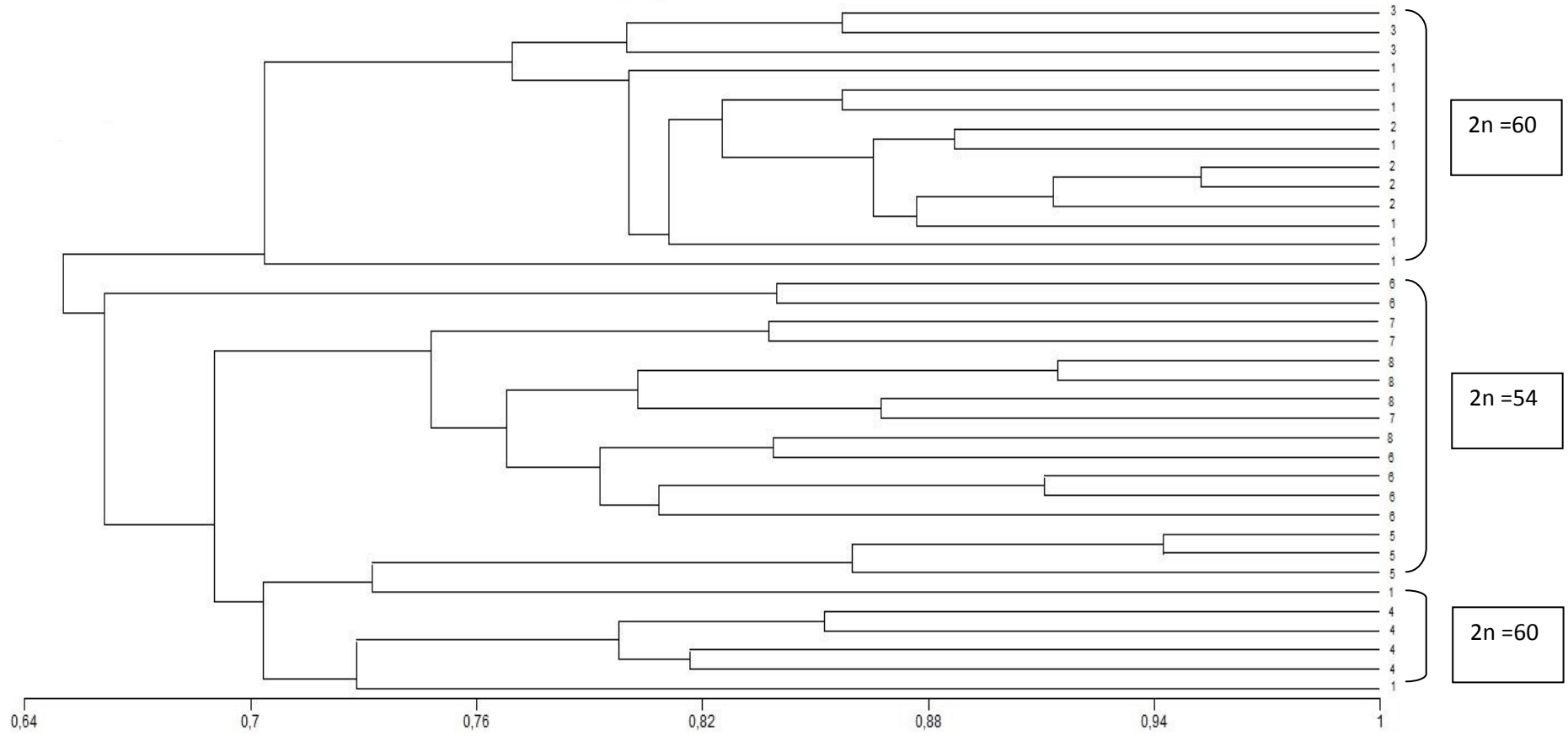
Lokalitelere göre ayrılan örnekler değerlendirildiğinde ise en yüksek benzerlik 91% olup Ankara ve Konya popülasyonlarındadır. Ankara ili ve Konya ili örneklerini aynı diploid kromozom sayısına (2n=60) sahip bireyler oluşturmaktadır. Ortalama uzaklık en yüksek % 35 olup Konya ve Yozgat popülasyonlarında görülmektedir. Bu coğrafik örnekler birbirinden diploid kromozom sayıları ile ayrılmaktadır (sırasıyla 2n = 60, 2n = 54).

**Çizelge 4.4.** Lokalitelere göre ayrılmış *N. xanthodon* örneklerinde Nei (1978)'nin genetik benzerlik (üst diyagonal) ve genetik mesafe (alt diyagonal) matrisi (1: Ankara, 2: Konya, 3: Eskişehir, 4: Çankırı, 5: Kayseri, 6: Kırıkkale, 7: Yozgat, 8: Kırşehir).

	1	2	3	4	5	6	7	8
1	****	0.9126	0.8750	0.8412	0.8141	0.8422	0.7713	0.7861
2	0.0914	****	0.8711	0.7527	0.7812	0.7672	0.6992	0.7765
3	0.1335	0.1380	****	0.7995	0.8172	0.7798	0.7439	0.7906
4	0.1729	0.2840	0.2237	****	0.7875	0.8242	0.7999	0.7931
5	0.2057	0.2469	0.2019	0.2388	****	0.8225	0.8140	0.8319
6	0.1717	0.2650	0.2487	0.1934	0.1954	****	0.8549	0.8815
7	0.2597	0.3578	0.2958	0.2232	0.2058	0.1568	****	0.8667
8	0.2407	0.2530	0.2350	0.2319	0.1841	0.1261	0.1430	****

**Çizelge 4.5.** *N. xanthodon* türünün lokalite dağılımına göre genetik çeşitliliği. Örnek sayısı (N), lokuslarda gözlenen ortalama allel sayısı ( $n_a$ ), efektif allellerin ortalama sayısı ( $n_e$ ), Shannon indeksi (I), beklenen heterozigotluk (H), polimorfik lokus yüzdesi (% P).

Lokasyon	2n, NF	N	$n_a$	$n_e$	I	H	% P
Ankara	2n = 60, NF = 82	9	1.687	1.368	0.328	0.216	% 68.75
Konya	2n = 60, NF = 80	4	1.160	1.102	0.089	0.059	% 16.07
Eskişehir	2n = 60, NF = 80	3	1.285	1.197	0.165	0.112	% 28.57
Çankırı	2n = 60, NF = 78	4	1.348	1.244	0.200	0.137	% 34.82
Kayseri	2n = 54, NF = 74	3	1.160	1.111	0.093	0.063	% 16.07
Kırıkkale	2n = 54, NF = 74	6	1.410	1.248	0.218	0.145	% 41.07
Yozgat	2n = 54, NF = 74	3	1.258	1.190	0.154	0.106	% 25.89
Kırşehir	2n = 54, NF = 74	4	1.330	1.198	0.175	0.116	%33.04



Şekil 4.6. Nei (1978) genetik mesafe matrisi temel alınarak çizilen UPGMA dendrogramı.

## 5. TARTIŞMA SONUÇ

ISSR analizi ile İç Anadolu bölgesine ait 36 *N. xanthodon* örneğine ait  $2n=54$  ve  $2n=60$  sitotiplerinde ayırım sağlanmıştır. Elde edilen veriler  $2n$  ve lokalite çeşitliliği dikkate alınarak değerlendirilmiştir.

Lokalite örnekleri değerlendirildiğinde en yüksek benzerlik % 91 olup Ankara ve Konya populasyonlarındadır. Ankara ili ve Konya ili birbirine coğrafik olarak sınır iller olup örnekleri aynı diploid kromozom sayısına ( $2n=60$ ) sahip bireyler oluşturmaktadır. En düşük benzerlik ise % 69 olup Konya ve Yozgat populasyonları arasındadır. Ortalama uzaklık en yüksek % 35 olup Konya ve Yozgat populasyonlarında görülmekte ve benzerlik değerlerini destekler niteliktedir. Bu coğrafik örnekler birbirinden hem Kızılırmak Nehri hemde diploid kromozom sayıları ile ayrılmaktadır (sırasıyla  $2n=60$ ,  $2n=54$ ). Matur ve Sözen (2005), Sakarya Nehri'nin Bilecik ilinde *N. xanthodon* populasyonunu  $2n=52$  ve  $2n=60$  sitotipleri şeklinde ayırdığını ve nehrin bu sitotipler arasında bir bariyer görevi gördüğünü belirtmişlerdir. Akarsu, nehir gibi coğrafik bariyerler türlerin hareket yeteneklerini kısıtlaması nedeni ile gen akışımında yavaşlatma ya da durdurma gibi sonuçlara sebep olmaktadır.

Spalacidae familyasının Türkiye' de ki kromozomal dağılımında iklimsel özelliklerin etkili olduğu görüşü, nemli bir iklime sahip Ege bölgesinde  $2n=38$ , kurak İç Anadolu bölgesinde ise  $2n=60$  sitotiplerinin dağılımı ile desteklenmiştir (Nevo vd. 1994, Nevo vd, 1995). Bu araştırmada kurak bir iklime sahip İç Anadolu Bölgesinde çalışılan 8 lokalite iklimsel olarak aynı özelliklere sahip olması ancak iki farklı sitotipi barındırması, kuraklığın etkisinin farklı ve çelişkili yorumlara açık nitelikte olduğunu göstermektedir. Bu nedenle bizim çalışmamızda elde edilen sonuçlar da bu konuda belirgin bir kural olduğunu ortaya koyar özellikte değildir. Bundan sonra yapılacak çalışmalarda, aynı iklim kuşağındaki lokaliteler olsa bile, sadece yağış özellikleri değil, kuraklığın diğer iklimsel özelliklerle birlikte kullanılışı değerlendirmeye alınabilir. Örneğin, lokalitelerin jeolojik yapısı, su tutma özellikleri, eğim, yükselti vb.

*N. xanthodon*' un lokalite örnekleri ile sitotipleri arasındaki genetik polimorfizm, İç Anadolu bölgesinin 8 ilinde toplam 36 *N. xanthodon* bireyleri arasında ve iki sitotip arasındaki olası farklılıkları sunmak amacıyla hesaplandı.  $2n=60$  ve  $2n=54$  sitotiplerine

bakıldığında polimorfizm oranları sıra ile % 80 ve % 68 olup,  $2n=60$  popülasyonunda ki polimorfizmin çok daha fazla olduğu görülmektedir. Lokalite olarak değerlendirildiğinde en yüksek genetik çeşitlilik indeksi Ankara örneklerinde (H: 0.216 and I: 0.328) bulunurken, Konya örnekleri en düşük genetik çeşitliliğe sahiptir (H: 0.059, I: 0.089). Sitotiplere ayrılan örnekler dikkate alındığında ise  $2n=60$  örneklerinde polimorfik lokusların yüzdesi  $2n=54$  örneklerine göre daha yüksektir (Çizelge 4.5). Kankılıç ve Gürpınar (2014), *Nannospalax xanthodon* ve *Nannospalax ehrenbergi*' de Mitokondriyal DNA seviyesinde yaptıkları RFLP analizi çalışmasında Orta Anadolu'da en fazla sayıda ortak allele sahip sitotipin  $2n=60$  olduğunu vurgulamışlardır. Bizim araştırmamızda da  $2n=60$  sitotipinde görülen yüksek genetik çeşitlilik bu verileri desteklemektedir. Ayrıca Kankılıç ve Gürpınar (2014), Anadolu sitotiplerinde hiç biri tür seviyesinde bölünebilecek farklılıklar göstermesede bazı *N. xanthodon* sitotipleri arasında belirgin farklılıklar olduğunu ve bu farklılıkların daha fazla moleküler teknikler ile araştırılmasını ve taksonomik durumunun yeniden değerlendirilmesini gerektiğini önermişlerdir. ISSR tekniği kullanılarak yapılan bu araştırmada da  $2n=54$  ve  $2n=60$  sitotipleri arasında belirgin bir ayırım olduğu kaydedilmiştir.

Çizelge 1' de belirtilen markörler aracılığıyla belirlenen polimorfizm oranları kullanılarak Genetik mesafe matrisi hesaplanmıştır. Jaccard katsayısına dayalı olarak hesaplanan UPGMA analizinde iki ana grup belirgin olarak ortaya konmuştur. Grup I, diploid kromozom sayısı  $2n=60$  ve birbirine sınır olan lokalite örneklerinden (Eskişehir, Ankara, Konya) oluşmuştur. Grup II ise Kızılırmak havzasının iç kısmında kalan  $2n=54$  örneklerinin tamamı (Kırıkkale, Kırşehir, Yozgat, Kayseri) ile Grup I den ayrılmıştır. Bu iki grup hem kromozomal hem de coğrafik olarak Kızılırmak nehri ile birbirlerinden ayrılmıştır. Grup III olarak bahsedebileceğimiz  $2n=54$  den izole 6 örneği içeren küçük bir popülasyon İç Anadolu' nun kuzey konumunda kalan Çankırı ili ile Ankara ilinin kuzeyinden alınan birbirine sınır  $2n=60$  örneklerini içermektedir (Şekil 4.6.).

Sözen vd. (2004) ve Sözen vd. (2006b), Kuzey Anadolu sitotiplerinin Orta Anadolu sitotiplerinden farklı olduğunu söylemiştir. Ivanitskaya (2008), Kastamonu'da ki  $2n=60$  nüfusunun klasik ve moleküler teknikler kullanılarak araştırılması sonucunda Orta Anadolu'da ki  $2n=60$  nüfusundan farklı olduğunu söylemişlerdir. Matur (2009), 10 farklı körfare sitotipi üzerinde G ve C bantlama modellerini kullanarak yapılan

çalışmada, bu sitotipleri ortak atadan gelmelerine rağmen 3 gruba ayırmıştır. Kuzey grubu (  $2n=54, 58, 60$ ), Orta grubu ( $2n=52, 56, 60$ ) ve Batı grubu ( $2n=36, 38, 40, 50$ ) olarak 3 gruba ayrılan sitotiplerin Kuzey grubunun Batı grubundan daha küçük bir alanı kapladığı belirtilmiştir. Kankılıç ve Gürpınar (2014),  $2n= 54$  sitotipinin  $2n= 60$ ' dan farklı olarak sahip olduğu genetik çeşitliliğin tür seviyesinde olmadığını belirtmiştir. Kankılıç vd. (2013), RAPD primerlerini kullanarak yaptığı çalışmada İç Anadolu' da yayılış gösteren  $2n= 60$  ve  $2n= 54$  kromozomal ırklarının genetik uzaklığa dayanarak geçerli biyolojik türler olabileceğini belirtmiştir. ISSR analizi ile bizim çalışmamızda da  $2n= 54$  ve  $2n= 60$  sitotipleri birbirlerinden ayrılmış fakat genetik olarak tamamen tür seviyesinde farklılaşmamıştır.

Bu sonuçlara göre bazı sitotiplerin ayrı tür olabileceği hipotezi ISSR markörleri kullanılarak desteklense de, Türkiye' deki *Nannospalax* cinsinin sitotipleri arasındaki genetik farklılıkların derecesinin halen netlik kazanamadığı görülmektedir. Bu nedenle bu cinse ait moleküler filogenetik çalışmaların artırılması ve verilerin sadece bölgesel değil tüm Anadolu sitotipleri incelenerek değerlendirilmesi gerekmektedir.

## KAYNAKLAR

- Arslan, E., Gülbahçe. E., Arıkoğlu, H., Arslan, A., Bužan, EV. & Kryštufek, B., ‘Mitochondrial divergence between three cytotypes of the Anatolian mole rat, *Nannospalax xanthodon*’, ***Zoology in the Middle East***, 50: 27–34 (2010).
- Arslan, A., Arısoy, A., ve Zima, J., ‘Comparison of the Chromosome Banding Pattern in the  $2n = 56$  Cytotypes of *Nannospalax leucodon* and *N. xanthodon* from Turkey’, ***The Scientific World Journal***, 34: 110-117 (2014).
- Aşan, N., and Yagcı, T., ‘Karyotype and hair scale structure of *Nannospalax leucodon* (Nordmann, 1840) from central Anatolia (Rodentia: Spalacidae)’, ***Turk. J. Zool.***, 32: 125-132 (2008).
- Benda, P., Horáček, I., ‘Bats (Mammalia:Chiroptera) of the Eastern Mediterranean. Part 1. Review of distribution and taxonomy of bats in Turkey’, ***Acta Societatis Zoologicae Bohemicae***, 62: 255-313(1998).
- Corbet, G.B., and Hill, J.E., ‘A World List of Mammalian Species’, ***Natural History Museum Publications & Oxford University Press, London and Oxford***, v-viii: 1-243 (1991).
- Coskun, Y., ‘A Study on the morphology and karyology of *Nannospalax nehringi* (Satunin, 1898) (Rodentia: Spalacidae) from Northeast Anatolia, Turkey’, ***Turk. J. Zool.***, 27: 171-176 (2003).
- Coşkun, Y., ‘A new species of mole rat, *Nannospalax munzuri* sp. n., and karyotype of *Nannospalax tuncelicus* (Coskun, 1996) (Rodentia: Spalacidae) in eastern Anatolia’, ***Zoology in the Middle East***, 33: 153-162 (2004b).
- Coşkun, Y., ‘Morphological and karyological characteristics of *Nannospalax ehrenbergi* (Nehring, 1898) (Rodentia: Spalacidae) from Hatay Province’ ***Turkey***, ***Turk. J. Zool.***, 28: 205-212 (2004a).
- Cushwa, W.T., and Medrano, J.F., ‘Applications of the random amplified polymorphic DNA (RAPD) assay for genetic analysis of livestock species’, ***Anim. Biotechnol.***, 7: 11-31 (1996).
- Çataklı, K., ‘Çankırı ili *Spalax leucodon* Nordmann, 1840 (Mammalia:Rodentia)’ larının karyolojik ve morfolojik analizi’, ***Yüksek Lisans Tezi (yayınlanmamış), Z. K.Ü., Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Zonguldak***, (2004).
- Eroğlu, F., ‘Çorum ili *Spalax leucodon* Nordmann, 1840 (Mammalia: Rodentia) larının karyolojik ve morfolojik analizi’, ***Bilim Uzmanlığı Tezi, Zonguldak Karaelmas Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Zonguldak***, (2006).

### KAYNAKLAR (Devam Ediyor)

- Gromov, I. M, Baranova, G. I, ‘Catalogue of Mammals in USSR’ *Leningrad: Nauka*, (1981).
- Gupta, M., Chyi, Y.S., Romero-Severson, J. and Owen, J.L., ‘Amplification of DNA markers from evolutionarily diverse genomes using single primers of simple-sequence repeats’, *Theor. Appl. Genetics*, 89: 998-1006 (1994).
- Gülkaç, M.D. and Yüksel, E., ‘Malatya yöresi körfareleri (Rodentia; Spalacidae) üzerine sitogenetik bir inceleme’, *Doğa Tu. Biyol. D.*, 13: 63–71 (1989).
- Gülkaç, M.D., ve Yüksel, E., ‘Türkiye’deki *Spalax* tür ve alttürlerinin dağılımına ve türleşmesine coğrafik izolasyonun etkisi’, *Tr. J. Zool.*, 23(2): 491-496 (1999).
- Harrison, D. L., ‘The Mammals of Arabia’, *Lagomorpha Rodentia*, Vol. III, 382-670 (1972).
- Ivanitskaya, E., Coşkun, Y., Nevo, E., ‘Banded karyotypes of mole rats (*Spalax*, Spalacidae, Rodentia) from Turkey: a comparative analysis’, *Journal Zoology Syts. Evol. Research*, 35: 171-177 (1997).
- Ivanitskaya, E., Sözen, M., Rashkovetsky, L., Matur, F., ve Nevo, E., ‘Discrimination of 2n=60 *Spalax leucodon* cytotypes (Spalacidae, Rodentia) in Turkey by means of classical and molecular cytogenetic techniques’, *Cytogenetic and Genome Research*, vol. 122, no. 2, pp. 139–149 (2008).
- Joshi, S.P., Gupta, V.S., Aggarwal, R.K., Ranjekar, P.K. & Brar, D.S., ‘Genetic diversity and phylogenetic relationship as revealed by inter simple sequence repeat (ISSR) polymorphism in the genus *Oryza*’, *Theoretical and Applied Genetics*, 100: 1311–1320 (2000).
- Kandemir, İ., Sözen, M., Matur, F., Kankılıç, T., Martínkova, N., Çolak, R., Özkurt, S.Ö. & Çolak, E., ‘Phylogeny of species and cytotypes of mole rats (Spalacidae) in Turkey inferred from mitochondrial cytochrome b gene sequences’, *Folia Zoologica*, 61: 25–33 (2012).
- Kankılıç, T. & Gürpınar, C., ‘Revised classification design of the Anatolian species of *Nannospalax* (Rodentia: Spalacidae) using RFLP analysis’, *Turkish Journal of Zoology*, 38: 68–78 (2014).
- Kankılıç, T., Kankılıç, T., Çolak, R., Kandemir, I., Çolak, E., ‘Morphological comparison of seven chromosomal forms of *Spalax leucodon* Nordman, 1840 (Mammalia: Rodentia) in Turkey’, *Pakistan J. Biol. Sci.*, 9(13): 2419-2425 (2006).

### KAYNAKLAR (Devam Ediyor)

- Kankılıç, Te., Kankılıç, To., Çolak, R., Çolak, E., Karatas, A., 'Karyological comparison of populations of the *Spalax leucodon* Nordmann, 1840 superspecies (Rodentia: Spalacidae) in Turkey', *Zool. Middle East*, 42: 15-24 (2007).
- Kankılıç, Te., Kankılıç, To., Sözen, M. & Çolak, E., 'Genetic diversities and geographic variations of chromosomal forms of *Nannospalax nehringi* (Satunin, 1898) and *Nannospalax ehrenbergi* (Nehring, 1898) from Turkey, revealed by RAPD Analysis', *Acta Zoologica Bulgarica*, 65: 45–58 (2013).
- Kışlalıoğlu, M and Berkes, F., 'Biyolojik Çeşitlilik', *Türkiye Çevre Sorunları Vakfı Yayını*, pp: 122 (1987).
- Kryštufek, B., and Vohralik, V., 'Mammals of Turkey and Cyprus - Rodentia II. Ljubljana, Slovenia: *Bibliotheca Annales Majora*, (2009).
- Kryštufek, B., Ivanitskaya, E., Arslan, A., Arslan, E., Bužan, E.V. , 'Evolutionary history of mole rats (genus *Nannospalax*) inferred from mitochondrial cytochrome *b* sequence. *Biol J Linn Soc*, 105: 446–455 (2012).
- Matur, F., and Sözen, M., 'A karyological study on Subterranean mole rats of the *Spalax leucodon* Nordmann, 1840 (Mammalia: Rodentia) superspecies in northwestern in Turkey', *Zoology in the Middle East*, 36: 5-10 (2005).
- Matur, F., 'Comparison of chromosomal form of *Nannospalax* (Mammalia: Rodentia) from Western Turkey inferred from G and C banding' (2009).
- Matur, F., Çolak, F., Ceylan T., Sevindik, M., Sözen, M., 'Chromosomal evolution of the genus *Nannospalax* (Palmer, 1903) (Rodentia, Muridae) from western Turkey', *Turkish Journal of Zoology*, 37: 470-487 (2013).
- Nei, M., 'Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals', *Genetics*, 89: 583-590 (1978).
- Nevo, E., 'Evolutionary theory and processes of active speciation and adaptive radiation in subterranean mole rats, *Spalax ehrenbergi* superspecies in Israel', *Journal of Evolutionary Biology*, 25: 1-125 (1991).
- Nevo, E., Filippucci, M.G., Redi, C., Korol, A., Beiles, A., 'Chromosomal speciation and adaptive radiation of mole rats in Asia Minor correlated with increased ecological stress', *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 91: 8160-8164 (1994).

### KAYNAKLAR (Devam Ediyor)

- Nevo, E., Filippucci, M.G., Redi, C., Simson, S., Heth, G., Beiles A., ‘Karyotype and genetic evolution in speciation of subterranean mole rats of the genus *Spalax* in Turkey’, *Biological Journal of the Linnean Society*, 54: 203-229 (1995).
- Özsensoy, Y., and Kurar, E., ‘Marker Systems and Applications in Genetic Characterization Studies’, *Journal of Cell and Molecular Biology*, 10: 11-19 (2012).
- Powell, R.A., Single. H.M., ve Lloyd, K., ‘Focus groups and mental health research: enhancing the validity of existing questionnaires’, *Int. J. Soc. Psychiat.*, 42: 193-206 (1996).
- Sanchez de la Hoz M.P., Davalia J.A., Loarce Y. and Ferrer E., ‘Simple sequence repeat primers used in polymerase chain reaction amplification to study genetic diversity in barley’, *Genome*, 39: 112–117 (1996).
- Savic, I., and Nevo E., ‘The Spalacidae: evolutionary history, speciation, and population biology, In: Evolution of Subterranean Mammals at the Organismal and Molecular Levels, *New York: Wiley-Liss*, 129–154 (1990).
- Savic, I., and Nevo, E., ‘The Spalacidae: Evolutionary history, speciation, and population biology. In: Evolution of subterranean mammals at the organismal and molecular levels’, *Alan R. Liss, Inc. New York*, 129-143 (1990).
- Savic, I., and Soldatovic, B., ‘Distribution range and evolution of chromosomal forms in the Spalacidae of the Balkan Peninsula and bordering regions’, *Journal Of Biogeography*, 6: 363-374 (1979).
- Sözen M., Sevindik, M., Matur F., ‘Karyological and morphological characteristics of *Spalax leucodon* Nordmann, 1840 (Mammalia: Rodentia) superspecies around Kastamonu Province, Turkey’, *Turkish Journal of Zoology*, 30: 205-219 (2006a).
- Sözen, M., ‘A karyological study on subterranean mole rats of the *Spalax leucodon* Nordmann, 1840 superspecies in Turkey’, *Mamm Biol*, 69: 420–429 (2004).
- Sözen, M., and Kivanç, E., ‘A new karyotype of *Spalax leucodon cilicicus* Mehely, 1909 (Mammalia: Rodentia) from type locality in Turkey’, *Isr. J. Zool.*, 44: 53-56 (1998b).
- Sözen, M., and Kivanç, E., ‘Two new karyotypic forms of *Spalax leucodon* (Nordmann, 1840) (Mammalia: Rodentia) from Turkey’, *Z. Säugetierkunde*, 63: 307-310 (1998a).

### KAYNAKLAR (Devam Ediyor)

- Sözen, M., Çataklı, K., Eroğlu, F., Matur, F., Sevindik, M., 'Distribution of chromosomal forms of *Nannospalax nehringi* (Satunin, 1898) (Rodentia: Spalacidae) in Çankırı and Çorum provinces, Turkey', *Turk J Zool*, 35: 367–374 (2011).
- Sözen, M., Çataklı, K., Eroğlu, F., Matur, F., Sevindik, M., Distribution of chromosomal forms of *Nannospalax nehringi* (Satunin, 1898) (Rodentia: Spalacidae) in Çankırı and Çorum provinces, Turkey', *Turkish Journal of Zoology*, 35: 367-374 (2013a).
- Sözen, M., Çolak, E., Yigit, N., 'A Study on karyotypic evolution of the genus *Spalax* Güldenstaedt, 1770 (Mammalia: Rodentia) in Turkey', *Isr. J. Zool.*, 46: 239-242 (2000b).
- Sözen, M., Çolak, E., Yigit, N., 'Contributions to the karyology and taxonomy of *Spalax leucodon nehringi* Satunin, 1898 and *Spalax leucodon armeniacus* Mehely, 1909. (Mammalia: Rodentia) in Turkey', *Z. Säugetierkunde*, 65: 309-312 (2000a).
- Sözen, M., Çolak, E., Yigit, N., Özkurt, S., Verimli, R., 'Contributions to the karyology and taxonomy of the genus *Spalax* Güldenstaedt, 1770 (Mammalia: Rodentia) in Turkey' *Z. Säugetierkunde*, 64: 210-219 (1999).
- Sözen, M., Çolak, F., Sevindik, M. & Matur, F., 'Cytotypes of *Nannospalax xanthodon* (Satunin, 1898) (Rodentia: Spalacidae) from western Anatolia', *Turkish Journal of Zoology*, 37: 462–469 (2013).
- Sözen, M., Çolak, F., Sevindik, M., Ferhat, M., 'Cytotypes of *Nannospalax xanthodon* (Satunin, 1898) (Rodentia: Spalacidae) from western Anatolia', *Turkish Journal of Zoology*, 37: 462-469 (2013b).
- Sözen, M., Matur, F., Çolak, E., Özkurt, Ş., Karataş A., 'Some karyological records and a new chromosomal form for *Spalax* (Mammalia: Rodentia) in Turkey', *Folia Zoology*, 55: 247-256 (2006b).
- Sözen, M., Matur, F., Sevindik, M., Çolak, E., 'Batı Anadolu körfarelerinin, *Nannospalax nehringi* (Mammalia: Rodentia) kromozomal formlarının belirlenmesi', *Proje No: TBAG-HD 164(106T225) nihai raporu*, (2008).
- Sözen, M., Çolak, F., Sevindik, M., ve Matur, F., 'Two new cytotypes and additional karyological records for blind mole rats, *Nannospalax xanthodon* and *N. ehrenbergi* (Mammalia, Rodentia) in Turkey', *Folia Zoology*, 64 (2): 167-172 (2015).

### KAYNAKLAR (Devam Ediyor)

- Suzuki, H., Wakana, S., Yonekawa, H., Moriwaki, K., Sakurai, S., Nevo, E., 'Variations in Ribosomal DNA and Mitochondrial DNA among Chromosomal Species of Subterranean Mole Rats', *Molecular Biology and Evolution*, 13: 85-92 (1996).
- Tez, C., Gündüz, I., Kefelioglu, H., 'Karyological Study of  $2n=38$  *Spalax leucodon* (Nordmann, 1840) in central Anatolia', *Pakistan J. Biol. Sci.*, 4: 869- 871 (2001).
- Tez, C., Gündüz, I., Kefelioglu, H., 'New data on the distribution of  $2n=38$  *Spalax leucodon* (Nordmann, 1840) cytotype in Turkey', *Isr. J. Zool.*, 48: 155- 159 (2002).
- Topachevskii, V. A., 'The fauna of the USSR: Mammals, mole rats, Spalacidae', *Akademija Nauka Leningrad*, III(3):1-308 (1969).
- Yeh, F. C., Yang, R. C., Boyle, T., 'Popgene Version 1.31 Microsoft windows-based software for population genetics analysis', *University of Alberta and Centre for International Forestry Research, Alberta, Canada*, 28 (1999).
- Yiğit, N., Çolak, E., Sözen, M., Karataş, A., 'Rodents of Türkiye. Eds. Demirsoy, A.', *Meteksan, Co. Ankara*, (2006).
- Yorgancılar, M., Yakışır, E., Erkoyuncu M.T., 'Moleküler Markörlerin Bitki Islahında Kullanımı', *Bahri Dağbaşı Bitkisel Araştırma Dergisi*, 4: 1-12 (2015).
- Yüksel, E. and Gülkaç, M.D., 'The cytogenetical comparisons of *Spalax* (Rodentia: Spalacidae) populations from middle Kızılırmak Basin, Turkey', *Turk. J. Biol.*, 25: 17-24 (2001).
- Yüksel, E., 'Cytogenetic Study in *Spalax* (Rodentia; Spalacidae) from Turkey', *Communications, C; Biologie*, 2: 1-12 (1984).
- Zietkiewicz, E., Rafalski, A., Labuda, D., 'Genome fingerprinting by simple sequence repeats (SSR)- anchored PCR amplification', *Genomics*, 20: 176- 183 (1994).
- Zima, J., and Král, B., 'Karyotypes of European mammals', *II. Acta Sc Nat Brno*, 18: 1-62 (1984).
- Williams, J.G.K., Kubelik, A.R., Livak, K.J., Rafalski, J.A. ve Tingey, S.V., 'DNA Polimorphisms Amplified by Arbitrary Primers are Useful as Genetic Markers', *Nucl. Acids Res.*, 18, 6531-6535 (1990).

**EK 1:** Türkiye *N. xanthodon* türüne ait karyolojik veriler.

Lokalite	2n	NF	X	Y	Yazar
İzmir (Bayındır)	36	70	-	-	Sözen vd., 1999
Muğla, Aydın	36	70	-	-	Sözen vd., 2008
Balıkesir (Dursunbey), Bursa (Karacabey), Manisa (Kırkağaç, Akhisar)	38	74	Sm	A	Sözen vd., 2008
Balıkesir (Havran), İzmir (Selçuk)	38	74	Sm	A	Savic ve Soldatovic, 1979
Balıkesir, İzmir	38	74	Sm	A	Nevo vd., 1994, 1995
Balıkesir (Bigadiç)	38	74	Sm	A	Sözen, 2004
İzmir (Dikili), Balıkesir (Bigadiç)	38	74	Sm	A	Tez vd., 2002
Konya (Beyşehir)	40	72	Sm	-	Nevo vd., 1994, 1995
Konya (Yeşildağ, Beyşehir)	40	72	M	A	Kankılıç vd., 2007
Konya (Gökçimen, Bayavşar, Beyşehir)	40	72	M	St	Arslan vd., 2010
Ağrı, Van	48	68	Sm	A	Coşkun, 2003
Gümüşhane	48	71	-	-	Sözen vd., 2006b
Aydın	50	-	-	-	Nevo vd., 1994, 1995
Ankara (Beypazarı, Keltepe)	50	70	Sm	A	Sözen, 2004
Karabük	50	70	Sm	A	Sözen vd., 2006b
Erzurum, Kars (Sarıkamış)	50	70	Sm	-	Nevo vd., 1994, 1995
Erzurum, Kars	50	70	Sm	A	Coşkun, 2003
Erzurum, Kars (Susuz), Ardahan	50	72	Sm	A	Sözen vd., 2000a
Erzincan	50	72	-	-	Sözen vd., 2006b
Rize (Ovit)	50	72	-	-	Sözen vd., 2006b
Giresun (Eğribel), Rize (Ovit), Bayburt (Demirözü), Erzincan (Yollarüstü)	50	72	M	A	Kankılıç vd., 2007
Mersin (Sebil)	52	72	Sm	A	Sözen ve Kıvanç, 1998b
Mersin (Çamlıyayla)	52	72	Sm	A	Sözen vd., 2000b
Yalova (Merkez)	52	72	Sm	A	Sözen vd., 2008
Bolu, Kocaeli (Karamürsel)	52	70	Sm	A	Sözen, 2004
Bolu (Merkez, Seben, Gerede)	52	70	M	-	Kankılıç vd., 2007
Bilecik (Gölpazarı), Sakarya	52	70	Sm	A	Matur ve Sözen, 2005
Karabük (Eflani), Kastamonu (Daday), Tokat (Başçiftlik)	54	72	Sm	A	Sözen, 2004
Karabük (Eflani), Kastamonu (Pınarbaşı, Taşpınar)	54	72	Sm	A	Sözen vd., 2006a
Çorum (Çadırhöyük)	54	74	Sm	A	Çataklı, 2004
Çorum (Çadırhöyük, Uğurludağ, Alaca, Boğazkale, Sungurlu, Aydıncık)	54	74	Sm	A	Eroğlu, 2006
Kırıkkale (Merkez, Keskin)	54	74	Sm	-	Kankılıç vd., 2007
Kırıkkale	54	74	Sm	A	Aşan ve Yağcı, 2008
Kırşehir (Kaman), Nevşehir (Kozaklı), Yozgat (Sorgun), Adana (Tufanbeyli)	54	74	Sm	A	Sözen vd., 2008
Yozgat	54	74	Sm	St	Yüksel ve Gülkaç, 2001
Bingöl	54	-	-	-	Nevo vd., 1994, 1995
Tunceli, Elazığ, Bingöl	54	74	Sm	A	Coşkun, 2004b
Tokat (Merkez, Erbaa)	54	75	-	-	Sözen vd., 2000b
Bolu	54	-	Sm	-	Nevo vd., 1994, 1995

Isparta (Aksu)	56	-	-	-	Kankılıç vd., 2006
Isparta (Yılanlı, Aksu)	56	72	M	A	Kankılıç vd., 2007
Mersin (Tarsus, Gülek)	56	72	M	A	Sözen ve Kıvanç, 1998a
Mersin (Tekir)	56	72	M	A	Sözen vd., 2000b
Adapazarı	56	72	Sm	A	Sözen vd., 2006b
Kastamonu (Daday, Tosya)	56	72	Sm	A	Sözen, 2004
Kastamonu (Aşağıçiftlik, Safranbolu)	56	74	Sm	A	Sözen, 2004
Kastamonu (Tosya, Daday)	56	74	Sm	A	Sözen vd., 2006a
Çankırı (Ilgaz Dağı)	56	74	Sm	A	Çatakli, 2004
Tunceli	58	68	Sm	A	Coşkun, 2004a
Niğde (Ulukışla, Madenköy)	58	72	Sm	A	Sözen vd., 2000b
Konya (Ereğli)	58	72	Sm	A	Sözen vd., 2006b
Konya (Ereğli)	58	72	Sm	St	Arslan vd., 2010
Niğde (Ulukışla, Çamardı, Demirkazık)	58	72	Sm	A	Sözen vd., 2008
Adana (Pozantı)	58	72	Sm	A	Sözen vd., 2006b
Çorum (Kargı)	58	74	Sm	St	Eroğlu, 2006
Kastamonu (Taşköprü)	58	74	Sm	A	Sözen vd., 2006b
Kastamonu (Sarıkavak)	58	78	Sm	A	Sözen, 2004
Niğde (Ulukışla)	60	72	Sm	A	Sözen vd., 2000b
Aksaray	60	74	Sm	A	Sözen vd., 2006b
Adana (Mansurlu, Kostanteli), Antalya (Dağbeli), Burdur (Budak)	60	74	Sm	A	Sözen vd., 2008
Antalya (Akseki)	60	74	-	-	Sözen vd., 2006b
Kahramanmaraş (Göksun)	60	74	Sm	St	Sözen vd., 2006b
Kastamonu (Azdavay, Küre, Ağlı, Seydiler)	60	74	Sm	A	Sözen vd., 2006a
Aksaray	60	76	Sm	A	Sözen vd., 2006a
Konya (Hadim, Karatay)	60	74	Sm	St	Arslan vd., 2010
Yozgat (Çayıralan, Selendi), Manisa (Kula), Kayseri (Bakırdağ), Karaman (Ayrancı)	60	76	Sm	A	Sözen vd., 2008
Konya (Akşehir)	60	76	Sm	St	Sözen vd., 1999
Kütahya	60	76	Sm	St	Sözen vd., 2006b
Amasya (Karaali, Gümüşhacıköy)	60	77	Sm	St	Sözen vd., 2006b
Samsun (Havza)	60	77	-	-	Sözen vd., 2006b
Malatya (Pınarbaşı)	60	78	Sm	A	Nevo vd., 1994, 1995
Kayseri (Gürün)	60	78	Sm	-	Tez vd., 2001
Ankara (Nallıhan, Beypazarı), Bolu (Bakırlı, Kartalkaya)	60	78	Sm	St	Sözen, 2004
Eskişehir (İnönü), Bursa (İnegöl)	60	78	Sm	St	Matur ve Sözen, 2005
Çankırı	60	78	Sm	St	Çatakli, 2004
Bolu (Dörtdivan, Samat, Gerede, Bağören)	60	78	Sm	St	Sözen, 2004 Sözen vd., 2006b
Bolu (Ayman), Isparta (Yalvaç, Gelendost), Ankara (Çeltikli), Samsun (Kavak)	60	78	Sm	A	Kankılıç vd., 2007
Çorum (Osmancık, Öbektaş)	60	78	Sm	A	Sözen vd., 2008
Amasya (Gediksaray)	60	78	Sm	A	Sözen vd., 2008
Samsun (Ladik)	60	78	Sm	A	Sözen vd., 2008
Tokat (Turhal, Çamiçi)	60	78	Sm	A	Sözen vd., 2008
Kütahya (Söbealan, Murat Dağı)	60	78	Sm	A	Sözen vd., 2008
Uşak (Banaz)	60	78	-	A	Sözen vd., 2008
Mersin (Fındıkpınarı)	60	78	Sm	S	Sözen vd., 2008
Konya (Ilgaz, Hüyük, Sarayönü)	60	78	Sm	St	Arslan vd., 2010
Konya (Bozkır, Çumra, Güneysınır, Meram, Selçuklu)	60	79	Sm	St	Arslan vd., 2010

Malatya	60	80	Sm	St	Yüksel, 1984
Kırşehir, Nevşehir, Kayseri	60	80	Sm	St	Yüksel ve Gülkaç, 2001
Malatya (Yazihan)	60	80	Sm	St	Yüksel ve Gülkaç, 1989
Ankara (Batıkent, Sarayköy)	60	80	Sm	St	Sözen, 20004
Ankara ( ODTÜ, Batıkent, Sarayköy, Elmadağ, Kalecik, Beypazarı, Kızılcahamam, Ayaş, Nallıhan, Gündül, Haymana, Gölbaşı, Polatlı, Bala)	60	80	Sm	St	Kankılıç vd., 2007
Konya (Cihanbeyli)	60	80	Sm	St	Arslan vd., 2010
Yozgat (Çekerek), Kayseri (Bakırdağ, Dereşimli), Niğde (Hüyük, Altınhisar), Kütahya (Simav, Emet, Tavşanlı), Bursa (Gemlik, Harmancık), Denizli (Seki, Çameli), Antalya (Elmalı, Kızlar Sivrisi)	60	80	Sm	A	Sözen vd., 2008
Çorum (Osmancık, Laçın, Akören, Gölköy, İskilip, Cemilbey, Kırkdilim, Bayat)	60	82	Sm	St	Eroğlu, 2006
Malatya (Arguvan)	60	82	Sm	-	Gülkaç ve Yüksel, 1989
Ankara, Afyon	60	82	Sm	St	Sözen vd., 1999
Çankırı (Ağzıbüyük, Kızılırmak, Yapraklı, Ovacık)	60	82	Sm	St	Çataklı, 2004
Burdur	60	84	Sm	St	Sözen vd., 1999
Denizli	60	-	-	-	Nevo vd., 1994, 1995
Karaman	60	-	-	-	Nevo vd., 1994, 1995
Kütahya, Afyon, Konya, Sivas, Ankara, Kayseri, Samsun, Sivas	62	-	-	-	Nevo vd., 1994, 1995

## ÖZGEÇMİŞ



### **Kişisel Bilgiler**

Adı Soyadı: Eda ŞEN

Doğum Yeri ve Tarihi: Samsun / 22.01.1993

### **Eğitim Durumu**

Lisans Öğrenimi: 2010 - 2014 Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi  
Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü

Bildiği Yabancı Diller: İngilizce

### **İş Deneyimi**

#### **Stajlar :**

1. Hacettepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Metabolizma Araştırma Laboratuvarı, 2014  
30 iş günü

#### **Projeler :**

1. Bilecik ŞEÜ. BAP Sakarya Nehri Hattı (Bilecik İli) Küçük Memeli Faunası Gen Kaynaklarının Korunmasına ve Biyoçeşitliliğin Belirlenmesine Yönelik Moleküler Araştırmalar, Araştırmacı, 2015- devam ediyor.

### **İletişim**

Adres : Bahçelievler Mahallesi, Sarmaşık Sk. Efetaniş1 Apt. No:33/A Kat: 5 Daire no:  
10, Bilecik\ Merkez

Tel : 0531 839 56 33

E-Posta Adresi : [edasen\\_1993@hotmail.com](mailto:edasen_1993@hotmail.com) ve [edasenmbg@gmail.com](mailto:edasenmbg@gmail.com)

### Akademik Çalışmaları

1. Şen, E., İnal M.S., Akarsu, Ş., Akçay, D., Alkoç E.M., Ünal, D., ‘PCR-RFLP yöntemi ile *Xanthoria parietina*, *Evernia prunastri*, *Pseudevernia furfuraceae* ve *Cladonia sp.* Türlerine ait P700 klorofil a-apoprotein (psA2) Gen Bölgesi Arasındaki Polimorfizmin Belirlenmesi’ 2.Ulusal Moleküler Biyoloji Biyoteknoloji Kongresi, Kasım 2012.
2. Şen, E., YAĞCI, T., AŞAN, N., ÇAKIR, Ş., ‘*Nannospalax nehringi* (Satunin, 1898)’ de Karyolojik Polimorfizmin Allozim Varyasyonlarına Etkisi (Rodentia: Spalacidae)’, 4.Ulusal Moleküler Biyoloji ve Biyoteknoloji kongresi, Mayıs 2015.
3. Şen, E., Yağcı, T., İzgördü, H., ‘Bilecik ilindeki *Nannospalax xanthodon* (Satunin, 1898) türüne ait bireylerde Kromozomal Polimorfizmin Belirlenmesi’, XII. Ulusal Ekoloji ve Çevre Kongresi, Eylül 2015.
4. Şen, E., Yağcı, T., ‘Molecular Phylogeny of the Cytotypes of *Nannospalax xanthodon* Satunin, 1898 (Mammalia: Rodentia) from Central Anatolia by ISSR Marker Technique’, International DNA Day and Genome Congress (IDDGC), Nisan 2017.
5. Şen, E., Yağcı, T., ‘Determination of Biodiversity of Small Mammalian Fauna in Bilecik Province’, Ecology 2017 International Symposium, Mayıs 2017.
6. Şen, E., Yağcı, T., ‘Bilecik İlinde *Apodemus flavicollis* ve *Mus musculus* Türlerinin (Rodentia: Mammalia) Sitotaksonomik Karakteristiği ve Ekolojik Özellikleri’, International Congress on Zoology and Technology Congress (ICZAT), Afyon 2017.
7. Şen, E., Yağcı, T., Alkaya, A., ‘Türkiye Kıyı Sularındaki *Palaemon adspersus* (Rize, Karadeniz), *Parapenaeus longirostris* (Yalova, Marmara), *Aristeus antennatus* (Antalya, Akdeniz) Türlerinin Ağır Metal Konsantrasyonlarının Analizi’, International Congress on Zoology and Technology Congress (ICZAT), Afyon 2017.