

**KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**TÜRKİYE'DEKİ *Hyla orientalis* VE *Hyla savignyi* TÜRLERİ ARASINDA İSKELET
KASI PROTEİN BANTLARININ KARŞILAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Biyolog Ali İhsan EROĞLU

**HAZİRAN 2012
TRABZON**

**KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**TÜRKİYE'DEKİ *Hyla orientalis* VE *Hyla savignyi* TÜRLERİ ARASINDA İSKELET
KASI PROTEİN BANTLARININ KARŞILAŞTIRILMASI**

Biyolog Ali İhsan EROĞLU

**Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'nce
“YÜKSEK LİSANS (BİYOLOJİ)”
Unvanı Verilmesi İçin Kabul Edilen Tezdir.**

**Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 21.05.2012
Tezin Savunma Tarihi : 07.06.2012**

Tez Danışmanı : Yrd. Doç. Dr. Ufuk BÜLBÜL

Trabzon 2012

Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Ana Bilim Dalında

Ali İhsan EROĞLU Tarafından Hazırlanan

**TÜRKİYE'DEKİ *Hyla orientalis* VE *Hyla savignyi* TÜRLERİ ARASINDA İSKELET
KASI PROTEİN BANTLARININ KARŞILAŞTIRILMASI**

başlıklı bu çalışma, Enstitü Yönetim Kurulunun 22/05/ 2012 gün ve 1457 sayılı
kararıyla oluşturulan jüri tarafından yapılan sınavda
YÜKSEK LİSANS TEZİ
olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

Başkan : Prof. Dr. Mahmut EROĞLU

Üye : Prof. Dr. Bilal KUTRUP

Üye : Yrd. Doç. Dr. Ufuk BÜLBÜL

Prof. Dr. Sadettin KORKMAZ

Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

“TÜRKİYE'DEKİ *Hyla orientalis* VE *Hyla savignyi* TÜRLERİ ARASINDA İSKELET KASI PROTEİN BANTLARININ KARŞILAŞTIRILMASI” adlı bu çalışma KTÜ Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı’nda Yüksek Lisans Tezi olarak hazırlanmıştır.

Yüksek Lisans tezimin danışmanlığını üstlenerek, gerek konunun seçilmesi gerekse hazırlanması sırasında her konuda, yakın ilgi ve desteğini esirgemeyen ve çalışmalarımı yönlendiren danışman hocam sayın Yrd. Doç. Dr. Ufuk BÜLBÜL’e teşekkür etmeyi bir borç bilirim.

Tez hazırlama sırasında yardımlarını esirgemeyen değerli hocam sayın Prof. Dr. Bilal KUTRUP’a, iskelet kası protein numunelerinin hazırlanmasında ve laboratuvar çalışmalarında yardımlarını esirgemeyen değerli eşim ve aynı zamanda meslektaşım Sara ALTINKAYNAK EROĞLU’na ve değerli meslektaşım Zeynep MUTANOĞLU KAYA’ya yardımlarından dolayı teşekkür ederim.

Tez yazım aşamasında maddi manevi hiçbir desteği esirgemeyen değerli arkadaşlarım Çağrı BEKİRCAN ve Mustafa CÜCE’ye yardımlarından dolayı teşekkür ederim.

Hayatım boyunca ve bu zorlu tez sürecinde maddi ve manevi destekleri ile hep yanımda olan ve bana güvenen sevgili aileme şükranlarımı bir borç bilirim.

Ali İhsan EROĞLU
Trabzon 2012

TEZ BEYANNAMESİ

Yüksek lisans tezi olarak sunduğum “Türkiye'deki *Hyla orientalis* Ve *Hyla savignyi* Türleri Arasında İskelet Kası Protein Bantlarının Karşılaştırılması” başlıklı bu çalışmayı baştan sona kadar danışmanım Yrd. Doç. Dr. Ufuk BÜLBÜL'ün sorumluluğunda tamamladığımı, örnekleri kendim topladığımı ve bazı örnekleri danışmanım Yrd. Doç. Dr. Ufuk BÜLBÜL'ün katkılarıyla temin ettiğimi, deneyleri ilgili laboratuarlarda yaptığımı, 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.07/06/2012

Ali İhsan EROĞLU

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
ÖNSÖZ.....	III
TEZ BEYANNAMESİ.....	IV
İÇİNDEKİLER.....	V
ÖZET.....	VII
SUMMARY	VIII
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	IX
TABLolar DİZİNİ.....	X
SEMBOLLER DİZİNİ	XI
1. GENEL BİLGİLER	1
1.1. Giriş.....	1
1.2. Amfibilerin Genel Özellikleri	3
1.3. Amfibilerin Sistemattteki Yeri.....	4
1.4. Amfibilerin Evrimi.....	5
1.5. Amfibilerin Sınıflandırılması.....	6
1.5.1. I. Ordo: Apoda (Gymnophiona- Bacaksız Kurbağalar).....	6
1.5.2. II. Ordo: Urodela(Kuyruklu Kurbağalar).....	7
1.5.3. III. Ordo: Anura (Kuyruksuz Kurbağalar).....	9
1.5.3.1. Familya: Hylidae (Esas Ağaç Kurbağaları).....	10
1.5.3.2. <i>Hyla orientalis</i> Türünün Genel Özellikleri	12
1.5.3.3. <i>Hyla savignyi</i> Türünün Genel Özellikleri	14
1.6. Sodyum Dodesil Sülfat-Poliakrilamid Jel Elektroföresi (SDS-PAGE).....	15
2. YAPILAN ÇALIŞMALAR.....	17
2.1. Materyaller	17
2.2. Yöntem.....	25
2.2.1. SDS-PAGE	25
3. BULGULAR.....	26
4. TARTIŞMA	29
5. SONUÇLAR.....	32
6. ÖNERİLER.....	33
7. KAYNAKLAR	34

ÖZGEÇMİŞ

Yüksek Lisans

ÖZET

TÜRKİYE'DEKİ *Hyla orientalis* VE *Hyla savignyi* TÜRLERİ ARASINDA İSKELET KASI
PROTEİN BANTLARININ KARŞILAŞTIRILMASI

Ali İhsan EROĞLU

Karadeniz Teknik Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı
Danışman: Yrd. Doç. Dr. Ufuk BÜLBÜL
2012, 36 Sayfa.

Bu çalışmada, Türkiye'deki *Hyla orientalis* türünün üç popülasyonun bireyleri ile *H. savignyi* türünün altı popülasyonunun bireyleri arasında iskelet kası protein bantları SDS-PAGE vasıtasıyla karşılaştırılmıştır. SDS-PAGE karakterizasyonunda toplam 26 ergin (14 dişi ve 12 erkek) *H. orientalis* örneği ve 54 ergin (25 dişi ve 29 erkek) *H. savignyi* örneği kullanılmıştır. Birinci grubun (*H. arborea*'nin Kuzeybatı popülasyonları) 34 benzer protein bandına sahip olduğu görülürken, ikinci grubun (*H. savignyi*'nin Güneydoğu popülasyonları) 32 banda sahip olduğu görülmüştür. Birinci grubun 2 adet ilave ve diğer grupta olmayan protein bandına sahip olduğu görülmektedir. Bu çalışmanın sonuçları, Türkiye'deki *H. orientalis* ve *H. savignyi* popülasyonlarındaki bireylerin iskelet kası protein bantlarının toplam sayısına göre biyokimyasal olarak farklı olduklarını göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: İskelet kası, SDS-PAGE, Ağaç kurbağaları, Türkiye

Master Thesis

SUMMARY

COMPARISON OF SKELETAL MUSCLE PROTEIN BANDS BETWEEN *Hyla orientalis* AND *Hyla savignyi* SPECIES IN TURKEY

Ali Ihsan EROGLU

Karadeniz Technical University

The Graduate School of Natural and Applied Sciences

Biology Graduate Program

Supervisor: Assis. Prof. Dr. Ufuk BULBUL

2012, 36 Pages.

In this study, skeletal muscle protein bands of the *Hyla orientalis* specimens from three populations and *H. savignyi* specimens from six populations in Turkey were compared by SDS-PAGE (Sodium Dodecyl Sulphate-Poly Acrylamide Gel Electrophoresis). Totally 26 adult (14 females and 12 males) *H. orientalis* specimens and 54 adult (25 females and 29 males) *H. savignyi* specimens were used in SDS-PAGE characterization. The first group (Northwestern populations of *H. arborea*) had 34 homologous protein bands whereas the second group (Southeastern populations of *H. savignyi*) had 32 bands. It was shown that the first group had two additional and unique bands. The results of the present study show that specimens of the *H. orientalis* and *H. savignyi* populations in Turkey are biochemically different according to total number of skeletal muscle protein bands.

Key Words: Skeletal muscle, SDS-PAGE, Tree frogs, Turkey

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 1. Urodela ordosuna ait <i>Mertensiella caucasica</i> bireyi.	8
Şekil 2. Hylidae familyasının dünya üzerindeki dağılımı (URL-2, 2012).....	11
Şekil 3. <i>Hyla arborea</i> türünün IUCN' deki dağılış haritası (2011).	12
Şekil 4. <i>Hyla orientalis</i> 'te amplexus davranışı (Gül, 2012'den).	14
Şekil 5. <i>Hyla savignyi</i> türünün IUCN' deki dağılış haritası (2011).....	15
Şekil 6. <i>Hyla orientalis</i> ve <i>Hyla savignyi</i> örneklerinin toplandığı lokaliteler	18
Şekil 7. <i>Hyla savignyi</i> dişi bireyinin lateral görünümü (Gaziantep).....	20
Şekil 8. <i>Hyla savignyi</i> dişi bireyinin ventral görünümü (Gaziantep).....	20
Şekil 9. <i>Hyla savignyi</i> erkek bireyinin lateral görünümü (Elazığ).....	21
Şekil 10. <i>Hyla savignyi</i> erkek bireyinin ventral görünümü (Elazığ).	21
Şekil 11. <i>Hyla savignyi</i> dişi bireyinin ventral görünümü (Adana).	22
Şekil 12. <i>Hyla savignyi</i> dişi bireyinin lateral görünümü (Adana).	22
Şekil 13. <i>Hyla orientalis</i> erkek bireyinin lateral görünümü (Bursa).	23
Şekil 14. <i>Hyla orientalis</i> erkek bireyinin ventral görünümü (Bursa).	23
Şekil 15. <i>Hyla orientalis</i> erkek bireyinin lateral görünümü (Trabzon)	24
Şekil 16. <i>Hyla orientalis</i> erkek bireyinin ventral görünümü (Trabzon)	24
Şekil 17. <i>H. savignyi</i> populasyonlarına ait bireylerin SDS-PAGE ile karşılaştırılması ...	26
Şekil 18. <i>H. savignyi</i> ve <i>H. orientalis</i> populasyonlarına ait bireylerin SDS-PAGE ile karşılaştırılması.....	27

TABLULAR DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 1. Omurgalı sınıfları ve bunların daha büyük gruplar halinde birleştirilmesi.	4
Tablo 2. Örneklerin toplandığı yerler ve birey sayıları.....	18
Tablo 3. <i>Hyla orientalis</i> ve <i>Hyla savignyi</i> populasyonlarına ait bireylerin toplandığı koordinatlar.....	19
Tablo 4. İskelet kası proteinlerinin elektroforezde ortaya çıkan bant sayıları.	28

SEMBOLLER DİZİNİ

12S	: 12S Ribozomal RNA geni
β	: Beta
CBB	: Coomassie Brilliant Blue
Cyt <i>b</i>	: Sitokrom b geni
ddH ₂ O	: Double distilled water
H3	: Histon geni
IUCN	: Uluslararası Doğayı Koruma Birliđi
PAGE	: Poliakrilamid Jel Elektroforezi
SDS	: Sodyum Dodesil Sülfat
TEMED	: Tetramethylethylenediamine

1. GENEL BİLGİLER

1.1. Giriş

Omurgalı hayvanların bir sınıfını teşkil eden amfibilerin Anura ve Urodela takımına ait türlerin taksonomisi hakkında ülkemizde birçok çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalar daha çok morfolojik (Tok, 1999; Kaya, 2001, Grach vd., 2007; Pellet vd., 2007; Gvoždík vd., 2008), biyoakustik (Kaya ve Megela, 1999; Schneider, 2001; Castellano vd., 2002; Márquez vd., 2005; Grach vd., 2007, serolojik (Tosunoğlu ve Taşkavak, 2001) ve moleküler (Gül, 2012) analizlere dayanmaktadır.

Mertens'e (1952) göre Anadolu'nun batı ve kuzey kısımlarında *Hyla arborea arborea*'nın, güneydoğu kısımlarında ise *Hyla arborea savignyi*'nin bulunması olasıdır. Wettstein'a (1953) göre Batı Anadolu da yaşayan populasyonlar nominant ırkı değil, *Hyla arborea kretensis*'i kapsamaktadır. Bu konunun aydınlatılması amacıyla Zaloğlu (1972) tarafından yapılan çalışmada *H. arborea kretensis*'in dağılış sahası içinde Ege Bölgesi'nin dahil edilmesinin doğru olmadığı vurgulanmaktadır. Ege ve Marmara Bölgeleri'ndeki populasyonlarının *H. arborea arborea*'ya dahil edilebileceği, Akdeniz'in doğu kesimindekilerin ise Mertens'in (1952) kabul ettiği gibi *H. arborea savignyi* olabileceği belirtilmiştir.

Hyla arborea (=Ağaç kurbağası) Asya dahil olmak üzere birçok Avrupa ülkesi ve Afrika boyunca geniş bir yayılış ağı göstermektedir. Türkiye'de ise bu türe hemen hemen tüm bölgelerde rastlamak mümkündür. Fakat bugüne kadar Türkiye'den üç alttürü bildirilmesine rağmen (*Hyla arborea arborea*, *Hyla arborea savignyi*, *Hyla arborea kretensis*), yapılan çalışmaların çoğu morfolojik verilere dayandığı için bu populasyonların alttür durumları hakkında kesin bir hüküm vermek mümkün olmamıştır (Kaya, 2001).

Kaya (2001) Anamur'un Melleç köyünde *Hyla arborea*'nın ve bu köye 11 km uzaklıktaki Anamur'un merkezinde de ise *Hyla savignyi* türünün bulunduğunu yaptığı çalışmayla rapor etmiştir. Ayrıca Schneider (2001) yaptığı çalışmada Alanya'da *Hyla arborea* türünün bulunduğunu, Alanya'nın 10 km uzağında bulunan Anamur'da ise *Hyla savignyi* türünün bulunduğunu bildirmiştir.

Türkiye'de yaşayan *Hyla arborea* ve *Hyla savignyi* türlerinin taksonomik durumunun belirlenmesi için Kaya (2001) ve Schneider (2001)'in Türkiye'nin altı

bölgesinden toplanan örneklerle yaptıkları çalışmalarda bu türlerin taksonomik bakımdan farklı olduklarını rapor etmişlerdir. Bunun yanı sıra Rize formunun sistematiksel değerlerinin diğer bölgelerdeki değerlerden farklı çıkması, acaba Kafkasya formu olan *Hyla arborea schelkownikowi*'nin varlığının Rize'de de olup olmadığı sorusunu kafalarda uyandırmıştır. Ancak yapılan çalışmalar morfolojik düzeyde olduğu için tam bir netlik söz konusu değildir.

Stöck vd. (2008) tarafından Türkiye'de Trakya, Ege ve Akdeniz'deki popülasyonlardan alınan örneklerle yapılan filogenetik analizler sonucunda, Mersin-Kazanlı lokalitesine ait örnekler dışındakilerin *H. arborea* var. *orientalis* olduğu ve Kazanlı örneklerinin ise *Hyla savignyi* türüne ait olduğu sonucuna varmışlardır. Stöck vd. (2008) çok kapsamlı olarak filogenetik çalışma yapmasına rağmen Türkiye'den aldıkları örneklerin ve lokalitelerin az olmasından dolayı ülkemizdeki *Hyla* cinsine ait taksonların net bir durumunu açıklığa kavuşturamamışlardır.

Gvoždík vd. (2008) tarafından yapılan morfolojik, coğrafik ve iklimsel verilere dayanan çalışmada *Hyla* cinsine ait kurbağalardan analizler sonucu elde edilen verilere göre; Türkiye'deki ağaç kurbağalarının *Hyla savignyi* ve *Hyla arborea* türleri ile temsil edildiğini ve Rize'nin Pazar ilçesindeki popülasyonun bireylerinin *H. arborea schelkownikowi* alttürüne olduğunu rapor etmişlerdir. Bu çalışmanın devamında Gvoždík vd. (2010)'nin yaptıkları moleküler verilere dayanan revizyon çalışmasına göre ülkemizde *Hyla orientalis* (eski ismi: *Hyla arborea*) ve *Hyla savignyi* türlerinin bulunduğu belirtilmiştir.

Gül vd. (2012) *Hyla* cinsine ait bireyleri moleküler düzeyde incelemiş ve Türkiye'deki ağaç kurbağalarının *Hyla orientalis* ve *Hyla savignyi* olmak üzere iki temel kümeye (clade) ayrıldığını ve *Hyla savignyi* türünün kendi içerisinde iki soya ayrıldığını rapor etmiştir.

Bu çalışmanın amacı Türkiye'deki *Hyla* cinsine ait *H. orientalis* ve *H. savignyi* popülasyonlarındaki bireylerin biyokimyasal olarak farklı bir bakış açısıyla iskelet kası protein bantlarının karşılaştırılması ve en son literatürde belirtilen *H. savignyi* türüne ait iki ayrı filogenetik soy arasında biyokimyasal bir farklılık olup olmadığının incelenmesidir.

1.2. Amfibilerin Genel Özellikleri

Amfibiler (kurbağalar), balıklarla sürüngenler arasında yer alan bir omurgalı sınıfıdır. Çünkü bazı özellikleri balıklara, bazı özellikleri de daha üst gruplara benzemektedir. Nitekim embriyoları balık embriyosuna, dört ayaklarının bulunması da kara omurgalılarına benzer. “Amfibia” Yunanca çift yaşamlı manasındadır. Çünkü kurbağaların bir kısmı kısmen suda, kısmen de karada yaşarlar. Gelişmeleri genellikle suya bağlıdır. Yumurtalarını genellikle suya bırakırlar, larva evreleri de genellikle suda geçer. Karada yaşayanlar da yumurta bırakmak üzere suya girerler. Balıklara benzer atadan meydana geldikleri kabul edilen amfibiler, karada yaşayabilmek için bazı değişiklikler geçirmişlerdir. Örneğin yüzgeçler yerine bacaklar, solungaçlar yerine de akciğerler meydana gelmiştir (Baran ve Atatür, 1998).

Sudan karaya geçen grup olarak tanınan amfibilerin bazı tipik özellikleri şöyle sıralanabilir; derileri çıplaktır, yani deride pul, tüy ve kıl gibi yapılar bulunmaz. Derileri bol salgı bezi içerir. Bu bezlerin salgıları ile deri devamlı olarak ıslak tutulur. Ayrıca derilerinde zehir etkisi yapan salgı bezleri de mevcuttur (Baran ve Atatür, 1998).

Ergin kurbağalar boylarına göre diğer hayvan türlerini yiyerek beslenirler. Böcekler, solucan ve salyangozlar başlıca besinlerini teşkil eder. Larva evresinde kuyruklu kurbağalar etçil, kuyruksuz kurbağalar ise bitkisel besin alırlar. Gelişmeleri genel olarak metamorfozudur, yani gelişmelerinde bir larva evresi vardır. Metamorfoz evresi türlere, sıcaklık derecesine ve diğer dış şartlara göre uzun veya kısa olabilmektedir (Baran ve Atatür, 1998).

Kuyruklu kurbağa türleri çok canlı renklerde olmasına karşılık, kuyruksuz olanlarda vücut rengi ortama uyum sağlamıştır. Örneğin, *Rana dalmatina* (çevik kurbağa) türünün yanından geçerken ancak hayvanın sıçraması sonucunda fark edilmesi mümkündür. Kurbağa türleri iki faktöre tahammül edemezler. Bunlar kuraklık ve tuzluluktur. Bu nedenle kurbağalar denizlerde bulunamazlar. Yine kurbağalar deri yapıları ve diğer özellikleri nedeniyle kurak yerlerde yaşayamazlar (Baran ve Atatür, 1998).

1.3. Amfibilerin Sistematikteki Yeri

Omurgalı hayvanların bir sınıfını teşkil eden Amfibiler, balıklar ve sürüngenler arasında yer alır. Amfibilerin balık sınıfıyla ortak yanı, embriyolojik gelişmelerinde amnion zarının bulunmayışıdır, yani embriyoları çıplaktır. Bu özelliklerinden dolayı balıklar ve amfibiler, omurgalıların Anamnia grubunu meydana getirirler. Diğer taraftan Amfibiler, dört ayaklı omurgalıların (Tetrapoda'nın), başka bir deyişle kara omurgalıların birinci sınıfını teşkil eder (Özeti ve Yılmaz 1994).

Tablo 1. Omurgalı sınıfları ve bunların daha büyük gruplar halinde birleştirilmesi.

1.Yuvarlak Ağızlı Balıklar (<i>Cyclostomata</i>)	Amnion zarı olmayanlar (<i>Anamnia</i>)	Balıklar (<i>Pisces</i>)	Vücut sıcaklığı değişken olanlar (<i>Poikilotherm</i>)
2.Kıkırdaklı Balıklar (<i>Chondrichthyes</i>)			
3.Kemikli Balıklar (<i>Osteichthyes</i>)			
4.Amfibiler (<i>Amphibia</i>)			
5.Sürüngenler (<i>Reptilia</i>)	Amnion zarı bulunanlar (<i>Amniota</i>)	Dört ayaklılar (<i>Tetrapoda</i>)	Vücut sıcaklığı sabit olanlar (<i>Homoiotherm</i>)
6.Kuşlar (<i>Aves</i>)			
7.Memeliler (<i>Mammalia</i>)			

Bu sınıfa Amfibi adının verilmesi yaşam tarzlarından ileri gelir (Yunanca *amphi*=çift, iki taraflı; *bios*= yaşam, hayat). Amfibi sınıfının birçok türleri, kısmen karada kısmen suda yaşarlar (Özeti ve Yılmaz 1994). Bununla beraber bütün hayatlarını tamamen suda (*Typhlomolge*, *Perennibranchiate*) veya karada (*Mertensiella*) geçirenler de var. Kara kurbağaları gençlik evrelerini suda, ergin evrelerini ise tamamen karada geçirirler. Ergin olarak karaya çıktığında çokları yine üreme zamanında suya gider. Genellikle dişiler yumurtalarını suya bırakırlar (Budak ve Göçmen, 2008).

Böyle bir yaşam tarzı yüzgeçler yerine bacaklar, solungaçlar yerine akciğerler gibi önemli morfolojik ve anatomik değişiklikleri gerektirmiştir. Bununla birlikte, larva evrelerinde sucul karakterler daha belirgindir. Fakat yine de bu sucul larvaların yüzgeçleri yoktur. Esasında su formundan kara formuna geçişteki mekanizma, balıktan amfibiye geçişteki evrim mekanizmasından farklıdır (Özeti ve Yılmaz 1994).

1.4. Amfibilerin Evrimi

İlk karasal omurgalılar amfibilerdir. Karada vücutlarına destek sağlayan pektoral ve pelvik bacaklarının gelişmiş olması, akciğerlerinde oksijenlenen kanı tekrar pompalamak üzere kalbe taşıyan akciğer toplardamarının meydana gelmiş olması ve yaklaşık 370 milyon yıl önce (MYÖ), Karbonifer devrinde elverişli ekolojik koşulların ortaya çıkması, bu sınıfın üyelerinin karada bol miktarda bulunmalarına olanak sağlamıştır. Bu nedendir ki, Karbonifer devrine Amfibi Çağı da denilmektedir (Bahçeci, 2000).

İlksel Amfibilerin vücudu daha çok balığa benzemektedir. Onların vücudu, su kaybını önleyen pullar ve kuru bir deri ile kaplıydı. Yaklaşık 160 MYÖ, bu ilksel amfibiler tamamen yok olmuşlardır. Çünkü Permiyenin sonu, gerek jeolojik ve gerekse biyolojik bakımından büyük değişimlerin yaşandığı bir devirdir. Bu devirde son trilobitler ve son plakodermiler ortadan kalkmış; bir zamanlar bol miktarlarda bulunan brachiopodlar azalmış; mercanların, molluskaların, ekinodermilerin, kabukluların ve balıkların daha ilksel tiplerinin yerini bu grupların modern temsilcileri almıştır. Bu Permo-Triyasik krizde, birçok amfibi grubunun nesli de tükenmiştir. Trias'ın sonuna kadar sadece suya bağımlı olarak yaşamlarını sürdüren amfibiler kalmış ve günümüzde yaşayan az sayıdaki form bunların soyundan gelmiştir (Bahçeci, 2000).

Amfibi yumurtalarının, su kaybını önleyen iç membranları ve kabukları olmadığı için dış ortamda çok çabuk kururlar; bu nedenle yumurtalar doğrudan doğruya suya ya da ıslak yerlere bırakılır. İlk gerçek akciğerler amfibilerde gelişmiştir, fakat bu organlar tam bir solunum için yetersizdir. Solunum nemli glandular derileri ve ağızlarını çevreleyen zar vasıtasıyla da yapılır.

Amfibiler, derilerinin su kaybetmesi nedeniyle, nemli habitatlardan fazla uzak kalamazlar. Amfibi larvaları ve sürekli olarak suda yaşayan türlerin erginleri, solungaçlarıyla solunum yaparlar (Bahçeci, 2000).

Amfibiler, her ne kadar ilkel görünseler de, gerçekte onlar başarılı hayvan gruplarıdır. Onlar dinozorlardan uzun bir süre önce evrimleşmiş olmalarına karşın, dinozorların soyunun tükenmesinden bu yana, yani 65 milyon yıldır yaşamlarını sürdürmeyi başarmışlardır (Bahçeci, 2000).

1.5. Amfibilerin Sınıflandırılması

1.5.1. I. Ordo: Apoda (Gymnophiona- Bacaksız Kurbağalar)

Vücutları silindir şeklinde ve halkalıdır. Ekstremiteleri, hatta bunların bağlandığı omuz (göğüs) ve kalça kemerleri de yoktur. Kafatası kemik bir çatıya sahiptir. Toprak altındaki yuvalarda gizlenme açısından modifiye olmuşlardır. Omur sayısı fazla ve kaburgaları oldukça uzundur. Derileri düz ve enine halkalıdır. Gerek mukus, gerekse irrite eden bir sıvı çıkaran zehir bezleri bulunur. Deri içinde dermis orjinli, kalker içeren küçük kemik pullar bulunur ve bunlar derideki halkasal katlanmalar içerisinde yer alır. Göz ve nostriller arasında dışa doğru çıkıntı oluşturabilen küçük bir tentakül bulunur. Yer altındaki yaşam tarzlarından dolayı, gözler az çok körelmiş durumdadır. Gözleri kapaksız ve indirgenmiş olup, deri altında yahut kafatası kemikleri altında yerleşir (Budak ve Göçmen, 2008). Vücudun anüsten sonra gelen kısmı (kuyruk) çok kısadır. Dolayısıyla kloak yarığı vücudun hemen hemen sonunda yer alır. Erkeklerinde çiftleşme organı bulunur. İç döllenme vardır. Bir kısmı yumurta bırakmak suretiyle çoğalır (ovipardır), diğerlerinde ise yumurta vücut içinde gelişir ve dışarıya tam teşekkül etmiş yavru çıkar (Özeti ve Yılmaz 1994).

Bacakları bulunmayan bu hayvanlar dış görünüşleri bakımından yılan veya solucana benzerler. Genel olarak derileri dış taraftan halkalara ayrılmıştır. Birçoklarının derilerinin içinde, dermal kökenli kalker içeren pullar vardır. Aslında her pul çok sayıda küçük pulcuklardan oluşur. Bu hayvanlar elle tutulduğu zaman derilerindeki zehirli salgı dolayısıyla aksırtıcı etki yapar (Özeti ve Yılmaz 1994).

Vücudun anüsten sonra gelen kısmı çok kısadır, dolayısıyla kloak yarığı vücudun hemen hemen sonunda yer alır. Erkeklerinde çiftleşme organı bulunur. İç döllenme vardır. Bir kısmı yumurta bırakmak suretiyle çoğalır(ovipardır), diğerlerinde ise yumurta vücut içinde gelişir ve dışarıya tam teşekkül etmiş canlı yavru çıkar (vivipar). Bazen bunun gibi

tam teşekkül etmiş yavru meydana getiren bazı Amfibi türleri için vivipar terimi kullanılmaktadır. Bunu memeliler için kullanılan terimlerden ayır etmek gerekir. Zira dar manada vivipar deyince embriyo ile ana birey arasında bir dolaşım bağlantısı bulunduğu ve vücut içinde gelişmekte olan yavrunun bu suretle beslendiği anlaşılır ki Amfibilerde tam buna uygun bir hal yoktur. Birde bazı Amfibi türlerinde yumurta gelişimini bir kısmı vücut içinde tamamlanır ve larva halinde dışarı verilir, buna ovovivipar denir (Özeti ve Yılmaz 1994).

Apoda takımına dahil türler yer altında yaşadıklarından gözleri az veya çok derecede körelmiştir. Vücutları parmak kalınlığında olan bu kurbaçalarda en büyük boy 50 cm yi ancak geçer (Özeti ve Yılmaz 1994).

1.5.2. II. Ordo: Urodela(Kuyruklu Kurbağalar)

Boyları genelde 8-20 cm arasında, ender olarak birkaç cm olmakla birlikte, Dev Semender (*Andrius japonicus*)’de olduğu gibi, boyu 1 m’yi aşanları da vardır. Erginlerinde hem kuyruk, hem de birbirine az çok eşit ön ve arka bacaklar bulunur. Üyelerin bağlandığı kemerler vardır, ancak büyük oranda kıkırdaktan yapılmışlardır. Bazı türlerde yalnız ön bacaklar bulunur (örneğin, *Siren*). Dış görünüşleri kertenkeleye benzer. Fakat derilerinin çıplak oluşuyla kolay ayırt edilirler. Dölllenme çoğunlukla vücut içinde gerçekleşir. Fakat erkeklerinde çiftleşme organı yoktur. Üreme zamanında erkek ve dişiler arasında türe has hareketleri kapsayan “aşk oyunları” sonunda, erkek spermlerini küme halinde zemine bırakır, buna Spermateka (Spermatheca) adı verilen bir seri tüpçükten oluşmuş bir sperm kesesi içinde bunları depolar. Dişi bunları kloakı vasıtasıyla vücut içine alır. (Özeti ve Yılmaz, 1994).

Gelişimleri metamorfozludur, fakat larva ile ergin arasında, Anurada olduğu gibi çok büyük farklar bulunmaz. Dış görünüş bakımından larvada göze çarpan özellik, dış solungaçlarının bulunmasıdır. Kuyruk ergin dönemde de mevcuttur, bacaklar larvaların erken evrelerinde görülür (Özeti ve Yılmaz, 1994).

Kuyruklu kurbağaların bir kısmında dış solungaçlar ergin dönemde de kalır. Bunlar hayat devrelerini suda geçirirler (Özeti ve Yılmaz, 1994).

Bugün yaşayan Kuyruklu kurbağalar 62 cins içinde 352 tür ile temsil edilirler. Nesli tükenmiş olan 67 türden bazıları bu gün yaşayan bazı cinsler içinde yer alırlar. Günümüz kuruklu kurbağaları 9 familya altında toplanırlar (Özeti ve Yılmaz, 1994).

Bazı türlerde dölllenme haricidir. Çoğunda larva safhası mevcuttur. Fakat bunlar erginlerden çok farklı değildir. En önemli fark dış solungaçlarının bulunmasıdır. Bazılarında serbest bir larva safhası bulunmayabilir. Yumurtadan doğrudan minyatür bireyler çıkar (örneğin, *Plethodon* cinsinde böyledir.), bazı türlerde ise ovipari haricinde vivipari de görülür. Larva yahut embriyo ovidukta gelişir ve doğar (örneğin, *Mertensiella luschani* ve *Salamandra atra*) (Budak ve Göçmen, 2008).

Fosil bazı türler haricinde, günümüzde yaşayan kuyruklu kurbağalar yaklaşık 380 tür, 62 cins, 4 alttakım ve 8 ailede toplanmıştır (Budak ve Göçmen, 2008).



Şekil 1. Urodela ordosuna ait *Mertensiella caucasica* bireyi.

1.5.3. III. Ordo: Anura (Kuyruksuz Kurbağalar)

Kozmopolit bir gruptur, dünyanın her tarafında bulunur. Vücut genişçe yapılı olup, baş ile gövde arasında, boyun kısmı bulunmaz. Kafatası ince ve sert olmayıp oldukça indirgenmiştir. Az sayıda kemik içerir. Omurgada omur sayısı azdır. Omurganın sonunda çok sayıda omurun birleşmesi ile şekillenmiş uzunca yapılı bir Urostil (Urostyl) kemiği bulunur. Kaburgalar indirgenmiş yahut hiç yoktur. İskeletlerinde önemli derecede kıkırdak bulunur. Ön bacaklar kısa, arka bacaklar nispeten daha uzundur. Bu nedenle sıçarlar. Onun için takımın diğer bir ismi de Salientia'dır. Suya bağımlı olanlarda parmak aralarında yüzme zarı bulunur. Bazı türlerin erkeklerinde ses keseleri bulunur (Budak ve Göçmen, 2008). Çoğunda boy, 5-13 cm arasında değişir (Özeti ve Yılmaz, 1994).

Derinin büyük kısmı alttaki kas tabakasına ancak dar şeritler halinde yapışıktır. Arada lenf ile dolu boşluklar bulunur. Bu nedenle derileri kolay soyulur. Yumurta bırakımı ve dölleme, çoğunlukla tür göre farklı şekillerde gelişen ve farklı zaman aralıklarında gerçekleşen kucaklaşma davranışı (Ampleksus) ardından, dış dölleme şeklinde gerçekleşir (Budak ve Göçmen, 2008).

Pek az istisna ile dölleme dışıdır. İç dölleme sadece Amerika'da yaşayan *Ascopus* ile Afrika'da bulunan *Nectophrynoïdes* cinslerinde görülür. *Ascopus*'da küçük bir kuyruk şeklinde olan kloak uzantısı kopulasyon organı olarak görev yapar. Diğer kuyruksuz kurbağalarda böyle bir özellik bulunmaz. Genel olarak larva evreleri mevcuttur ve hayvan bu evrede iken erginden bariz şekilde farklıdır.

Zamanımızda yaşayan Amfibilerin coğrafi dağılışı Takımlara göre özellik gösterir. Tür sayısı bakımından en büyük zengin grubu oluşturan Kuyruksuz kurbağalar (Anura) kozmopolittirler, yani bütün dünya üzerinde dağılmışlardır. Kuyruklu kurbağaların yayılış alanı dünyanın yalnız kuzey yarım küresidir. Bacaksız kurbağalar ise sıcak ülkelerde yaşarlar (Özeti ve Yılmaz, 1994).

Dişinin suya bıraktığı yumurtalar, harici olarak erkek tarafından döllendir. Üreme zamanı bazı türlerin erkeklerinde dişiye kavramaya yarayacak şekilde şişkince bir nasır gelişir, bazılarında kol üzerinde, vücut üzerinde kabarcıklar oluşur. Üreme dönemi sonunda ise kaybolurlar. Ergin safhada kuyruk yoktur. Yumurtaları küresel olup, herbirinde ovumu saran jelatin yapısında bir veya çok sayıda kılıf bulunur. Yumurtalar suya bırakıldığında jelatin kılıf şişer. Ovumun animal kutbu koyu pigmentlidir. *Bufo* türlerinde ovum tamamen siyah renklidir. *Bombina* hariç yurdumuzdaki anurular

yumurtalarını küme veya kordon şeklinde suya bırakırlar. *Bombina* ise tek tek bırakır ve bunları su içindeki bitkilere yapıştırır. Larvaları genelde sucul, bazen arboreal (ağaçlarda) olup, kuyrukludurlar. Erginleşmek için 46 kadar safhaya (Gosner evreleri) ayrılabilen metamorfoz geçirirler (Budak ve Göçmen, 2008).

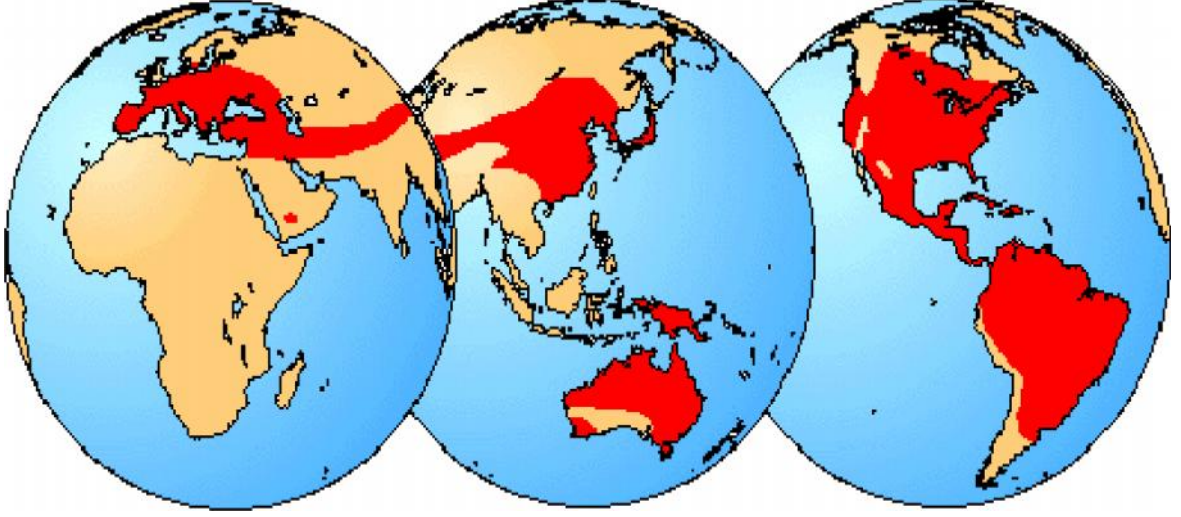
Larvalar erken safhada tek veya çift kabarcık halinde yapışma organı ile sudaki bitkilere tutunur ve geliştikçe bu yapışma organı kaybolur. Baş kısmında bir deri kıvrıntısı şeklinde, operkulum gelişerek solungaçları örter. Gövde üzerinde tek veya çift solungaç deliği olan spirakulum bulunur. Larvalarda gerçek dişler bulunmaz. Bunun yerine, gaga şeklinde keratin dişler vardır. Larva bu safhada herbivor beslendiğinden bağırsak çok uzun ve halkalar şeklinde dolanmış durumdadır. Önce arka ve sonra ön bacakların çıkması, solungaç solunumundan akciğer solunumuna geçilmesi ile metamorfoz tamamlanır (Budak ve Göçmen, 2008).

Bugün yaşadığı saptanan 3000 kadar Anura türü, çok sayıda cins ve yaklaşık 20 kadar familyada toplanmaktadır. Ülkemizde bunlardan sadece 6 aileye dahil türler bulunur.

1.5.3.1. Familya: Hylidae (Esas Ağaç Kurbağaları)

Boyları 3-12 cm arasında değişiklik gösterir. 8 presakral omur bulunur, aralarında kaynaşma yoktur. Çeneleri dişlidir. Sakral diapofizleri geniştir. Parmak uçlarındaki kemikler (terminal phalanjlar) pençe yahut “T” harfi şeklinde olup, disk şeklinde genişlemiş etsi kısımlarla desteklenir. Bu yapıları ile yapışmak veya tutunmak için özelleşmişlerdir. Bu nedenle ağaç ve kayalara kolaylıkla tırmanırlar. Genel olarak ağaç kurbağaları (arboreal) denir. Ampleksus aksillar tiptedir. Kozmopolit bir familya olup, dünyanın her tarafında bulunur. En bol olarak Tropik Amerika’da yayılmışlardır. Yurdumuzda ailenin en yaygın cinsi, *Hyla*’ya dahil 2 türü bulunur (URL-1, 2012)

Bu familyaya dahil türlerin çoğu ağaçlarda, az bir kısmı yerde yaşar. Bazı özelliklerine göre alt familyalara ayrılan bu kurbağalar daha ziyade Yenidünyada ve özellikle Amerika’nın tropik bölgelerinde bulunur (Özeti ve Yılmaz 1994).



Şekil 2. Hylidae familyasının dünya üzerindeki dağılımı (URL-2, 2012).

Hylidae familyası 900'ün üstünde tür içerdiğinden dünyadaki kuyruksuz kurbağaların en geniş ailelerinden biridir. Faivovich vd. (2005) tarafından yapılan çalışmada; Hylidae familyası üç altfamilya (Pelodyadinae, Phyllomedusinae, Hylinae) altında incelenmiştir. *Hyla* cinsinin dahil olduğu Hylinae altfamilyasının Kuzey, Güney ve Merkez Amerika da, Avrasya da ve Kuzey Afrika da geniş bir dağılım gösterdiğini ve bu alt familyanın 45 cins ve 200'e yakın tür içerdiği bulunmuştur.

Altfamilya: Phyllomedusinae: Bu altfamilya 6 cins ve bu cinslere ait 52 tür ile temsil edilmektedir.

Altfamilya: Pelodyadinae: Bu altfamilya tek cins ve bu cinse ait 160 tür ile temsil edilmektedir.

Altfamilya: Hylinae: Bu altfamilya 40 adet cins ve 698 tür ile temsil edilmektedir.

Cins: *Hyla* (Laurenti 1768) (URL-3, 2012)

Hyla cinsinin dünya genelinde 37 türü vardır ve Türkiye'de iki tür ile temsil edilmektedir. Göz bebeği yataydır. Dil, bütün veya arkadan hafif girintilidir. Ön ayak parmakları serbest veya zarlıdır. Arka ayak parmakları daima zarlıdır. Parmakların uç tarafları disk şeklinde genişlemiştir. Omosternum ve sternum kıkırdaktan yapılmıştır. Kozmopolit bir cinstir (Özeti ve Yılmaz 1994).

Tür 1: *Hyla orientalis* (Bedriaga, 1890)

Tür 2: *Hyla savignyi* (Audoin, 1827)

1.5.3.2. *Hyla orientalis* Türünün Genel Özellikleri



Şekil.3. *Hyla arborea* türünün IUCN' deki dağılışı haritası (2011).

Renkleriyle çevresel uyumu çok iyidir ve bundan dolayı fark edilmeleri zordur. Sırt bölgesi genel olarak parlak yeşildir. Üzerinde koyu renkli küçük benekleri vardır. Karnın yan tarafında, burun deliklerinden başlayıp, arka bacaklarının olduğu yere kadar uzanan, koyu renkli (grimsi, kahverengi ya da siyah) bir çift bant bulunur. Korkutuldukları zaman gri, sarımsı ya da siyahımsı renge dönüşebilirler. Çenelerin birleştiği yerin arkasında, ince, beyaz kenarla çevrili yeşil bir bölge bulunur. Türe ait genç bireylerin üst tarafı yeşilimsi, alt tarafı altın renginde olur. Üreme zamanında (Şubat-Nisan), bitkisi çok olan temiz sulara girerler. Bir defada 800-1000 kadar yumurta bırakabilirler. Erkeklerde şiştiği zaman baştan daha büyük olabilen, başın alt kısmında bir ses kesesi bulunur. Bu sayede çok uzaktan (1 km) duyulabilecek kadar yüksek ses çıkartırlar. Derilerinden oldukça zehirli bir sıvı salgırlar. Bu sıvı insan derisinin hassas bölgelerinde acıya neden olur. Bir tanesi otlayan bir inek tarafından yenirse, ineği zehirleyerek öldürebilir (Demirsoy, 1996). Alacakaranlıkta aktiflik gösterirler. Gündüzleri yaprakların altında bulunurlar. Ana besinlerini böcek, örümcek gibi eklem bacaklılar oluşturur. 22 yıl kadar yaşarlar. Boyları 5 cm kadar olabilir.

En önemli özelliği parmak uçlarının disk şeklinde gelişmiş olmasıdır. Deri üst tarafta düz alt tarafta granüllüdür. Tırmanıcı bir kurbağadır. Ekseriyetle ağaçlarda ya da ağaçsı bitkilerde yaşar, bazen daha küçük boydaki bitkiler üzerinde görülür. Suya yalnız üreme zamanında gider (Özeti ve Yılmaz 1994).

Vomer dişleri iki yuvarlak veya oval küme halinde iç burun delikleri arasında bulunur. Dil yuvarlak arkadan hafif serbest ve az girintilidir. Kulak zarı daima barizdir. Kaide kısımlarında hafif zarlı olan ön ayak parmaklarının uçlarında yapışmaya yarayan diskler bulunur. Tibio-tarsal eklem kulak zarına veya göze kadar uzanır. Dış metatarsal tüberkül çok küçüktür (Özeti ve Yılmaz 1994).

Üst çenenin alt kenarları beyaz renklidir. Ayrıca çenelerin birleştiği yerin arkasında ince beyaz bir kenarla çevrili yeşil bir bölge bulunur. Vücudunun arkasında enine veya ters V şeklinde beyazımsı çizgi mevcuttur. Bu ince beyazımsı çizgiler ön ve arka bacakların dış kenarlarında da görülür (Özeti ve Yılmaz 1994).

Erkeklerinde başın alt tarafında bir dış ses kesesi vardır. Sarı kahverengi ve yeşil renklerde olan bu kese hava ile dolduğu zaman baştan daha büyük olur. Üreme zamanında erkeklerin ön ayağındaki birinci parmakta bariz nasırlar meydana gelmez (Özeti ve Yılmaz 1994).

Gündüzleri genellikle yaprak altında gizlenirler. Güneşin battığı sıralarda faaliyete geçer. Ovalık yerlerde görülen bu kurbağaya yaklaşık 1500 m. ye kadar olan yüksekliklerde de rastlanır. Suya yalnız üreme zamanında gider. Tercih ettiği sular, vegetasyonlu oldukça derin ve berrak havuzlardır. Ekseriyetle erkekler daha evvel suya geçmiş bulunurlar, dişiler ise tam yumurta bırakacakları zaman giderler. Çiftleşme ve yumurta bırakma çoğunlukla gece vuku bulur ve kısa sürer. Kopulasyon, erkeğin ön bacakları ile dişiyi koltuk bölgesinden yakalaması ile olur (Özeti ve Yılmaz 1994).



Şekil 4. *Hyla orientalis*'te amplexus davranışı (Gül, 2012'den).

1.5.3.3. *Hyla savignyi* Türünün Genel Özellikleri

Hyla orientalis türüne çok benzer. *H. orientalis*'den arka bacaklarının biraz daha uzun olmasıyla ve vücudun yan tarafındaki şeridin kasık bölgesinden yukarıya ve öne doğru bir çıkıntı yapmamasıyla ayrılır. Ayrıca *H. orientalis*'den daha farklı bir ses çıkarır. Renkleriyle çevresel uyumu çok iyi ve bundan dolayı fark edilmeleri zordur. Sırt bölgesi genel olarak parlak yeşildir. Üzerinde koyu renkli küçük benekleri vardır. Korkutuldukları zaman gri, sarımsı ya da siyahımsı renge dönüşebilirler. Üreme zamanında (Şubat-Nisan), bitkisi çok olan temiz sulara girerler. Bir defada 800-1000 kadar yumurta bırakabilirler. Erkeklerde şiştiği zaman baştan daha büyük olabilen, başın alt kısmında bir ses kesesi bulunur. Bu sayede çok uzaktan (1 km) duyulabilecek kadar yüksek ses çıkartırlar. Derilerinden oldukça zehirli bir sıvı salgırlar. Bu sıvı insan derisinin hassas bölgelerinde acıya neden olur. Alacakaranlıkta aktiflik gösterirler. Gündüzleri ise yaprakların altında bulunurlar. Ana besinlerini böcek, örümcek gibi eklembacaklılar oluşturur. Boyları 5 cm kadar olabilir.

Hyla savignyi türü Güney Transkafkasya Bölgesi'nden Azerbaycan'ın orta kısımları, Ermenistan'ın güney-batısından İran'ın batı kısımlarını kapsayacak şekilde Basra Körfezi'ne kadar uzanırken, Türkiye'nin güneydoğusunu kapsayacak şekilde, Suriye'nin batısı, Lübnan, İsrail, Ürdün'ün batısından Sina Yarımadası'na kadar dağılışı göstermektedir. Bu türün allopatrik populasyonları Kuzey Yemen'in bazı kısımları ile birlikte Suudi Arabistan'ın bu ülkeye yakın olan güney-batı kısmında dağılışı göstermektedir (Kuzmin vd., 2004).



Şekil 5. *Hyla savignyi* türünün IUCN' deki dağılışı haritası (2011).

1.6. Sodyum Dodesil Sülfat-Poliakrilamid Jel Elektrofrezisi (SDS-PAGE)

Proteinlerin molekül ağırlıklarını belirlemede en yaygın kullanılan yöntem Poliakrilamid Jel Elektrofrezidir. Sodyum Dodesil Sülfat (SDS) bir anyonik deterjan olup, proteinlere sıkıca bağlanarak proteinlerin denatürasyonunu sağlar. Yaklaşık 1 g proteine 1,4 g SDS bağlanır. Proteinler, birim kütle başına sabit negatif elektriksel yük kazanırlar. Yani SDS, protein molekülünde her üç aminoasitlik birime bağlanarak proteinlere homojen

negatif bir yük kazandırır. Böylece proteinler yük bakımından eşitlendiği için moleküler ağırlıklarına göre ayrılmaları gerçekleşecektir.

Oluşan SDS-protein kompleksi elektroforez sırasında anoda doğru göç eder. Jelin moleküler elek özelliğinden dolayı belirli bir sürede kat ettikleri mesafe moleküler ağırlığa göre proteinden proteine farklılık gösterecektir. Moleküler ağırlığı bilinen standart bir protein ile analizi yapılacak örnek aynı ortamda yürütülecek olursa, örnek proteinlerin moleküler ağırlıkları bulunabilir. Standart SDS-PAGE uygulamaları dikey elektroforez şeklinde gerçekleştirilir.

Protein örnekleri genellikle pH'sı 6,8 olan örnek hazırlama tamponu içinde çözülür. Bu tampon denatüran olarak SDS, disülfid bağlarını indirgeyen β -merkaptoetanol, yoğunluk oluşturan sükroz veya gliserol ve bromofenol blue mavisini içermektedir.

Elektroforez uygulamasında kullanılan jel, genellikle stacking (yığıma) ve separating (ayırma) jeli olarak iki kısımdan oluşur. Her iki jel de içerdikleri akrilamid konsantrasyonları bakımından birbirlerinden farklılık gösterir. Bu iki jeldeki pH ve konsantrasyon farklılığı sayesinde, protein karışımlarının birbirlerinden ayrılması ve belirgin bantlar oluşması sağlanır.

SDS-PAGE uygulamalarının diğer bir şekli gradient jellerdir. %5 ila %25 arasında dikey pozisyonda hazırlanan jel içerisinde, aşağıdan yukarı doğru jel konsantrasyonunun farklılaşması söz konusudur. En altta en yoğun jel tabakası oluşurken en üstte yoğunluğu en düşük tabaka meydana gelir. Bunun sonucunda elde edilen jelin en üst tabakasındaki por çapı en geniş, en alt tabakasındaki por çapı ise en dar olmuştur.

Gradient SDS-PAGE uygulaması ile homojen jelde tek bir bant şeklinde görülen, moleküler ağırlığı birbirine çok yakın protein yapıları birbirinden ayrılarak ayrı ayrı bantlaşma meydana gelir.

İki boyutlu (two-dimesional) jeller kompleks protein karışımlarının yüksek bir çözünme oranı ile ayrılmalarını sağlar. Örnekler birinci boyutta izoelektrik fokuslama ile izoelektrik nokta farklılıklarına göre kısmen ayrılırlar. İkinci boyutta örnekler, SDS-PAGE ortamında ayırıcı jel ortamına doğru yürütülerek moleküler büyüklüklerine göre ayrıştırılırlar (Aygan, 2008)

2. YAPILAN ÇALIŞMALAR

2.1. Materyaller

Bu çalışmada, Türkiye'deki *Hyla orientalis* türünün üç popülasyonun bireyleri ile *H. savignyi* türünün altı popülasyonunun bireyleri arasında iskelet kası protein bantları SDS-PAGE vasıtasıyla karşılaştırılmıştır. SDS-PAGE karakterizasyonunda toplam 26 ergin (14 dişi ve 12 erkek) *H. orientalis* örneği ve 54 ergin (25 dişi ve 29 erkek) *H. savignyi* örneği kullanılmıştır (Tablo 2).

Türlerin Sistematığı

Şube	: Chordata
Alt şube	: Vertebrata
Sınıf	: Amphibia
Takım	: Anura
Aile	: Hylidae
Altfamilya	: Hylinae
Cins	: <i>Hyla</i>
Tür 1	: <i>Hyla orientalis</i>
Tür 2	: <i>Hyla savignyi</i>

Tablo 2. Örneklerin toplandığı yerler ve birey sayıları

Tür ismi	Toplandığı Yer	Birey Sayıları
<i>H. orientalis</i>	Bursa (Orhangazi)	4♂, 5♀
<i>H. orientalis</i>	Trabzon (Of)	5♂, 5♀
<i>H. orientalis</i>	Edirne (Büyükdöllük)	3♂, 4♀
<i>H. savignyi</i>	Adana (Seyhan)	5♂, 4♀
<i>H. savignyi</i>	Hatay (Antakya)	5♂, 4♀
<i>H. savignyi</i>	Gaziantep(Merkez)	4♂, 3♀
<i>H. savignyi</i>	Kilis (Sünnep Gölü)	5♂, 5♀
<i>H. savignyi</i>	Siirt (Ziyaret Beldesi)	5♂, 4♀
<i>H. savignyi</i>	Elazığ (Taşören Köyü)	5♂, 5♀

Şekil 6. *Hyla orientalis* ve *Hyla savignyi* örneklerinin toplandığı lokaliteler

Tablo 3. *Hyla orientalis* ve *Hyla savignyi* populasyonlarına ait bireylerin toplandığı koordinatlar.

No	Populasyon Adı	Adet		Koordinatlar
		♂	♀	
1	Bursa (Orhangazi)	4	5	40° 30' 04" N 29° 18' 38" E
2	Trabzon (Of)	5	5	40° 56' 42" N 40° 16' 08" E
3	Edirne (Büyükdöllük)	3	4	41° 45' 35" N 26° 36' 13" E
4	Adana (Seyhan)	5	4	36° 55' 23" N 35° 10' 09" E
5	Hatay (Antakya)	5	4	36° 12' 00" N 36° 10' 34" E
6	Gaziantep (Merkez)	4	3	37° 03' 55" N 37° 23' 00" E
7	Kilis (Sünnep Gölü)	5	5	36° 48' 04" N 27° 07' 26" E
8	Siirt (Ziyaret Beldesi)	5	4	38° 07' 02" N 41° 43' 30" E
9	Elazığ (Taşören Köyü)	5	5	38° 42' 45" N 39° 46' 13" E



Şekil 7. *Hyla savignyi* dişi bireyinin lateral görünümü (Gaziantep).



Şekil 8. *Hyla savignyi* dişi bireyinin ventral görünümü (Gaziantep).



Şekil 9. *Hyla savignyi* erkek bireyinin lateral görünümü (Elazığ).



Şekil 10. *Hyla savignyi* erkek bireyinin ventral görünümü (Elazığ).



Şekil 11. *Hyla savignyi* dişi bireyinin ventral görünümü (Adana).



Şekil 12. *Hyla savignyi* dişi bireyinin lateral görünümü (Adana).



Şekil 13. *Hyla orientalis* erkek bireyinin lateral görünümü (Bursa).



Şekil 14. *Hyla orientalis* erkek bireyinin ventral görünümü (Bursa).



Şekil 15. *Hyla orientalis* erkek bireyinin lateral görünümü (Trabzon).



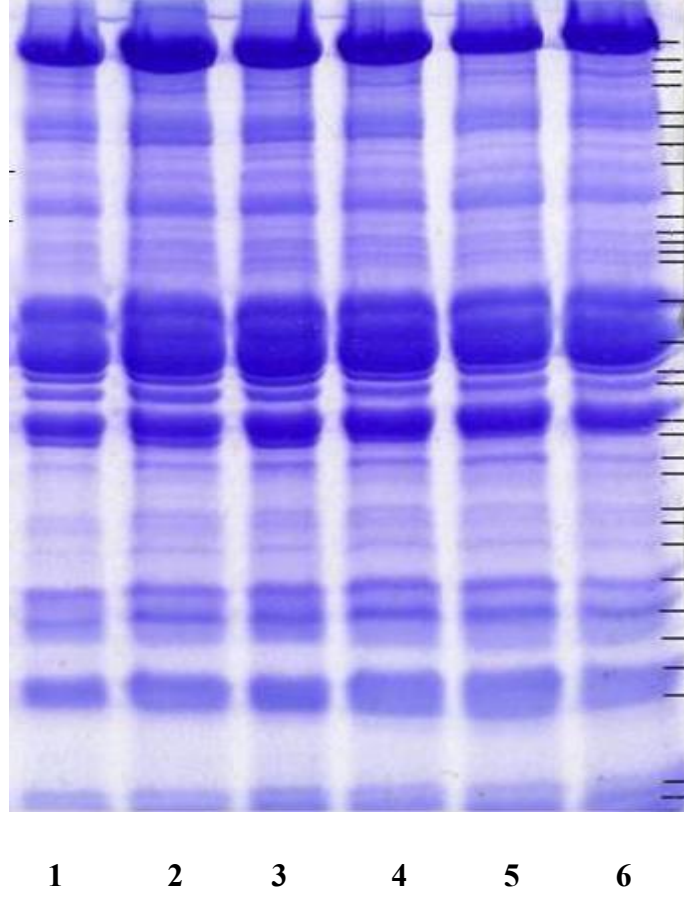
Şekil 16. *Hyla orientalis* erkek bireyinin ventral görünümü (Trabzon).

2.2. Yöntem

2.2.1. SDS-PAGE

H. orientalis ve *H. savignyi* populasyonlarındaki bireylerin iskelet kaslarındaki protein bantlarını karşılaştırmak için Bülbül ve Kutrup (2007)'un Türkiye'deki *Bufo viridis* populasyonları için kullandığı yönteme uygun olarak, kurbağalar dietil eterle bayıldıktan sonra arka ayaklarının birinden kesilerek sıvı azotta öğütülmüştür. Daha sonra öğütülen bu proteinlerden her bir örnekleme tüpüne 0,1 g alınmıştır. Üzerine 0,1 ml ddH₂O ve 0,2 ml 2 × numune tamponu (100 mM Tris pH 6,8, %4 SDS, %0,2 Bromofenol blue ve %20 gliserol) eklenmiştir (Sambrook vd., 1989). Bu karışım proteinleri jele yüklemeye önce denatüre etmek için bir termal blok cihazında 99 °C'de 2 dakika kaynatıldıktan sonra SDS-PAGE örnekleri hazır hale getirilmiştir (Lutz ark. 2001). Deneylerde kullanılan mini jellerin boyutları 8,3 x 7,3 cm olup, çözücü jel (resolving gel) %12'lik hazırlanmıştır (Bülbül ve Kutrup 2007). %12'lik jel; 3,3 ml ddH₂O, 4 ml %30'luk akrilamid karışımı, (% 29,2 akrilamid ve % 0,8 N,N'-methylene-bis-akrilamid), 2,5 ml 1,5 M Tris pH 8,8, 0,1 ml %10'luk SDS, 0,1 ml %10'luk amonyum persülfat ve 0,004 ml TEMED bir beherde karıştırılarak hazırlanmıştır. Proteinleri yüklemek için kullanılan tarakların yerleştirildiği %5'lik yığıma jel (stacking gel) ise; 2,7 ml ddH₂O, 0,67 ml % 30 akrilamid karışımı, 0,5 ml 1,5 M Tris pH 6,8, 0,04 ml % 10'luk SDS, 0,04 ml amonyum persülfat ve 0,004 ml TEMED bir beherde karıştırılarak hazırlanmıştır (Sambrook vd., 1989). SDS-PAGE deneyleri, her 1 µl örnek için 1,85 mikrogram protein gelecek şekilde jeldeki kuyucuklara protein örnekleri yüklenerek gerçekleştirilmiştir (Bülbül ve Kutrup, 2007). Jeller sürekli akımda 20 mA (miliamper)'de 60 dakika sürece boyunca yürütülmüştür (Lutz vd., 2001). Jelleri boyamak için Coomassie Brilliant Blue (CBB) R-250 boyası kullanılmıştır. Boyanan jeller, 60 dakika süreyle 1. yıkama solusyonuna (50 ml metanol, 10 ml glisial asetik asit ve 40 ml ddH₂O karışımı) ve sonra da 60 dakika süreyle 2. yıkama solusyonunda (7 ml glisial asetik asit, 5 ml metanol ve 88 ml ddH₂O karışımı) yıkanmışlardır (İnan, 2005). Yıkanan jeller bir tarayıcı cihazında taranmış ve görüntüleri elde edilmiştir.

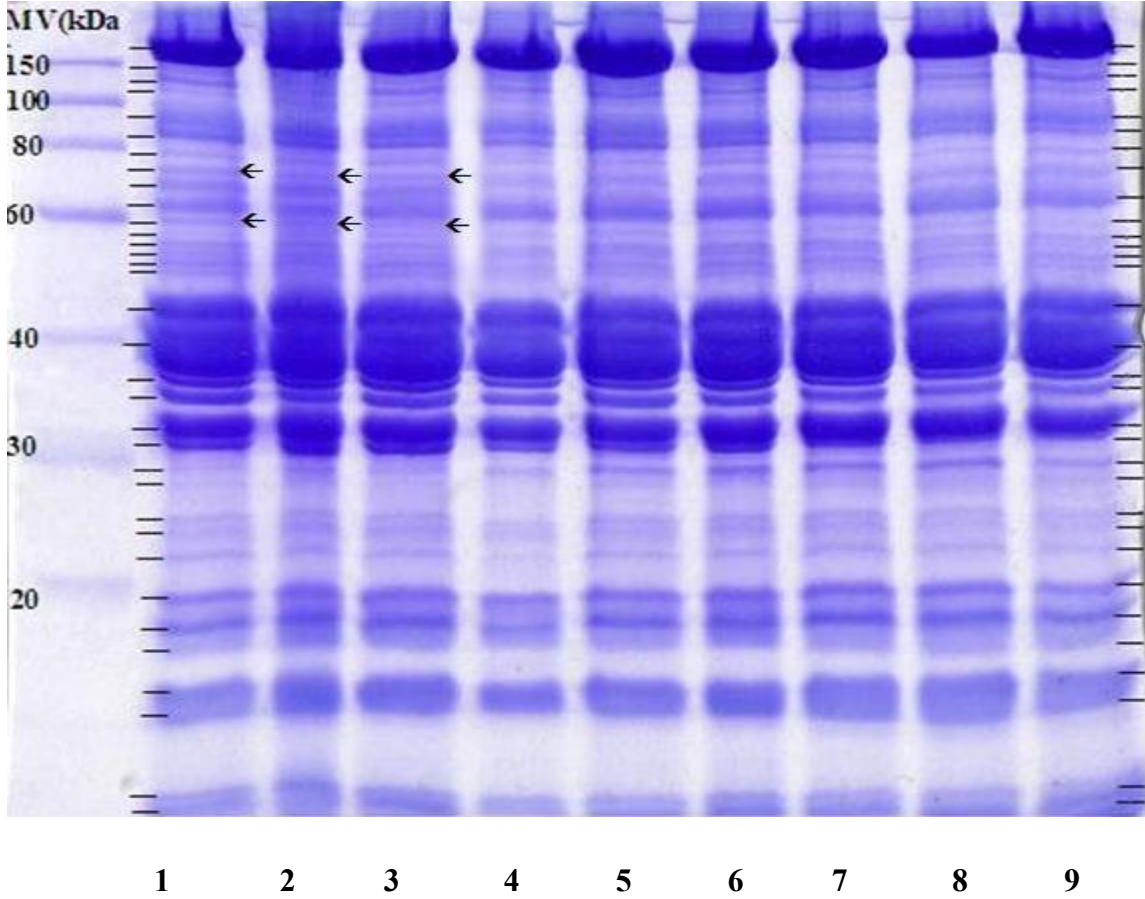
3. BULGULAR



Şekil 17. *H. savignyi* populasyonlarına ait bireylerin SDS-PAGE ile karşılaştırılması. 1 (Adana), 2 (Hatay), 3 (Gaziantep), 4 (Kilis), 5 (Siirt), 6 (Elazığ).

Şekil 17’de görüldüğü gibi 6 ilden toplanan *Hyla savignyi* populasyonlarının SDS-PAGE’de elde edilen iskelet kası protein bantları karşılaştırılmış ve herhangi bir farklılığın ortaya çıkmadığı tespit edilmiştir. Her bir bireyin 32 adet iskelet kası protein bandına sahip olduğu gözlemlenmiştir.

Türkiye'deki *Hyla orientalis* türüne ait üç popülasyonun bireyleri ile *H. savignyi* türüne ait altı popülasyonunun bireyleri arasında iskelet kası protein bantları moleküler ağırlıklarına göre SDS-PAGE yöntemi kullanılarak karşılaştırılmıştır. SDS-PAGE karakterizasyonunda toplam 26 ergin (14 dişi ve 12 erkek) *H. orientalis* örneği ve 54 ergin (25 dişi ve 29 erkek) *H. savignyi* örneği kullanılmıştır. Birinci grubun (*H. arborea*'nın Kuzeybatı popülasyonları) kendi içinde 34 benzer protein bandına sahip olduğu görülürken, ikinci grubun (*H. savignyi*'nin Güneydoğu popülasyonları) kendi içinde 32 benzer banda sahip olduğu görülmüştür. Birinci grubun 2 adet ilave ve diğer grupta olmayan protein bandına sahip olduğu görülmektedir.



Şekil 18. *H. savignyi* ve *H. orientalis* popülasyonlarına ait bireylerin SDS-PAGE ile karşılaştırılması. 1 (Bursa), 2 (Trabzon), 3 (Edirne), 4 (Adana), 5 (Hatay), 6 (Gaziantep), 7 (Kilis), 8 (Siirt), 9 (Elazığ).

Tablo 4. İskelet kası proteinlerinin elektroforezde ortaya çıkan bant sayıları.

Tür ismi	Toplandığı Yer	Bant Sayıları
<i>H. orientalis</i>	Bursa (Orhangazi)	34
<i>H. orientalis</i>	Trabzon (Of)	34
<i>H. orientalis</i>	Edirne (Büyükdöllük)	34
<i>H. savignyi</i>	Adana (Seyhan)	32
<i>H. savignyi</i>	Hatay (Antakya)	32
<i>H. savignyi</i>	Gaziantep(Merkez)	32
<i>H. savignyi</i>	Kilis (Sünnep Gölü)	32
<i>H. savignyi</i>	Siirt (Ziyaret Beldesi)	32
<i>H. savignyi</i>	Elazığ (Taşören Köyü)	32

4. TARTIŞMA

Bu çalışmada, Türkiye'deki *Hyla orientalis* türünün üç popülasyonunun bireyleri ile *H. savignyi* türünün altı popülasyonunun bireyleri arasında iskelet kası protein bantları SDS-PAGE vasıtasıyla karşılaştırılmıştır. SDS-PAGE karakterizasyonunda toplam 26 ergin (14 dişi ve 12 erkek) *H. orientalis* örneği ve 54 ergin (25 dişi ve 29 erkek) *H. savignyi* örneği kullanılmıştır. Birinci grubun (*H. arborea*'nın Kuzeybatı popülasyonları) 34 benzer protein bandına sahip olduğu görülürken, ikinci grubun (*H. savignyi*'nin Güneydoğu popülasyonları) 32 banda sahip olduğu görülmüştür. Birinci grubun 2 adet ilave ve diğer grupta olmayan protein bandına sahip olduğu görülmektedir. Toplam iskelet kası protein bant sayısının hayvan türleri arasında karşılaştırılması geçmiş yıllardaki çalışmalarda kullanılmıştır. Hasnain vd. (2005) çözümlü kas proteinlerini 4 balık türü için SDS-PAGE kullanarak karşılaştırmış ve *Channa gachua* and *Channa striatus* türlerinde 16, *C. marulus* türünde 10 ve *C. punctatus* türünde 15 protein bandı olduğunu rapor etmiştir. Bülbül ve Kutrup (2007) Türkiye'deki gece kurbağası (*Bufo viridis*) türünün farklı popülasyonlarını karşılaştırmış ve Hatay örneklerinin Kayseri, Rize ve Tekirdağ örnekleriyle benzer, Mersin örneklerinden farklı olduğunu belirtmişlerdir. Bülbül ve Kutrup (2011) un yapmış oldukları diğer bir çalışmada *Pelophylax ridibundus* örnekleri ve *Pelophylax caralitanus* örnekleri karşılaştırılmış ve *Pelophylax ridibundus* bireylerinde 27 bant, *Pelophylax caralitanus* bireylerinde 28 bant bulunduğunu rapor etmişlerdir. Bülbül vd.'nin (2012) Anura örnekleri ile yapmış olduğu bir başka çalışmada *Bombina bombina bombina* alttürü ile *B. b. arifiyensis* alttürüne ait bireylerin arasında iskelet kası protein bantları SDS-PAGE vasıtasıyla karşılaştırmış ve *Bombina bombina bombina* alt türünün 26, *B. b. arifiyensis* alt türünün 28 banta sahip olduklarını rapor etmişlerdir.

Diğer taraftan kuyruklu kurbağalarda yapılan bir elektroforez çalışmasında Kutrup ve Bülbül (2011) *Ommatotriton ophryticus* türünün alt türleri olan *Ommatotriton ophryticus ophryticus* ve *O. o. nesterovi*, arasında iskelet kası proteinleri bant sayılarını karşılaştırmış ve Doğu Karadeniz'deki *Ommatotriton ophryticus ophryticus* popülasyonunun bireylerinde 26, Batı Karadeniz'deki *O. o. nesterovi* popülasyonunun bireylerinde ise 25 banta sahip olduklarını bildirmişlerdir. Bu veriler iskelet kası protein bant sayılarının türler ya da alttürler arasında farklı olduğunu ve sistematik çalışmalarda kullanılabilirliğini göstermektedir.

Bu tez çalışmasının *H. orientalis* ve *H. savignyi* türleri arasında geçmiş yıllarda yapılmış birçok çalışmayı destekler nitelikte olduğu görülmüştür. Kaya (2001) ve Schneider (2001) Türkiye’de yaşayan *Hyla arborea* ve *Hyla savignyi*’nin taksonomik durumu hakkında yapmış oldukları incelemede Karadeniz, Marmara, Ege, Akdeniz, Güneydoğu Anadolu ve İç Anadolu bölgelerinden alınan örneklerde taksonomik bakımdan farklılıkların olduğunu ortaya koymuştur. Özellikle Doğu Akdeniz ve Güneydoğu Anadolu Bölgelerini kapsayan Mersin, Adana, Antakya, Kahramanmaraş, Şanlıurfa ve Hakkâri illerinden temin edilen örneklerin biyoakustik ve yanal çizgi bakımından diğer bölgelerden farklı olduğunu belirtmişlerdir.

Stöck vd. (2008) tarafından yapılan çalışmada, Türkiye’den Trakya-İğne ada, İzmir-Selçuk, Mersin-Yeniköy lokalitelerinden aldıkları örneklerle yapılan filogenetik analizler sonucunda bu örneklerin 3320 baz uzunluğuna sahip mitokondriyal seviyede (%80) ve 820 baz uzunluğuna sahip nükleer seviyede (%69) *H. arborea* var. *orientalis* olduğu sonucuna varmışlardır. Bunun yanı sıra Stöck vd. (2008), Mersin-Kazanlı lokalitesinden aldıkları örneklerle yaptıkları filogenetik analizler sonucunda bu örneklerin 3320 baz uzunluğuna sahip mitokondriyal ve 820 baz uzunluğuna sahip nükleer seviyede %99 *Hyla savignyi* taksonuna ait olduğunu belirtmişlerdir.

Gvoždík vd. (2008) tarafından yapılan çalışmada *Hyla* cinsine ait kurbağalarda ölçtükleri 17 özelliğin birçok istatistiksel hesaplamalarda ve aralarındaki ilişkiyi belirlemek amacıyla yaptıkları analizler sonucu elde ettikleri verilerde Türkiye’den temin ettikleri 116 örnek için; Hakkari, Birecik, Kahramanmaraş, Adana, Mersin ve çevresi ilçelerinden aldıkları örneklerin *Hyla savignyi*’ye, Edirne’nin Havsa ilçesi, Alanya, Kütahya, Bilecik, Bursa, İznik ve çevre ilçelerden aldıkları örneklerin *Hyla arborea*’ya, Rize’nin Pazar ilçesinden aldıkları örneğin *H. arborea schelkownikowi*’ye ait olduğunu öne sürmüşlerdir.

Hyla cinsine ait bireylerle ülkemizde son yıllarda Gvoždík vd. (2010)’nin yaptıkları araştırma oldukça kapsamlı bir moleküler çalışmayı içermektedir. Bu çalışmanın moleküler verilerine göre ülkemizde *Hyla orientalis* (eski ismi: *Hyla arborea*) ve *Hyla savignyi* türleri bulunmaktadır. Ancak yaptıkları çalışma sadece Ortadoğu’yu kapsadığı için ülkemizin Marmara bölgesinden örnek katmamışlardır ve önceki yıllarda Gvoždík vd. (2008) yaptıkları çalışmada Gürcistan formu olan *H. arborea schelkownikowi* bireyinin ülkemize kadar yayılışının bulunduğunu belirtmelerine rağmen, yeni yaptıkları çalışmada bu bireyin *Hyla orientalis*’in bir junior subjective synonym olduğunu belirtmişlerdir (Gvoždík vd. 2010; Stöck vd., 2008).

Gül vd. (2012) *Hyla* cinsine ait bireylerin bazı mitokondriyal genleri (12S, cyt *b*) ve bir nükleer geni (H3) bakımından dağılımlarını ortaya çıkarmak, Gürcistan formu olan *H. arborea schelkownikowi*'nin dağılımının ülkemizde bulunup bulunmadığını ve eğer var ise nereye kadar dağılım gösterdiğini belirlemek için bu canlıları moleküler düzeyde incelemiş ve birleştirilmiş mitokondriyal genlerin analizinde Türkiye'deki ağaç kurbağalarının temel olarak iki kümeye (clade) ayrıldığını ve bunların *Hyla orientalis* ve *Hyla savignyi* türleri olduğunu belirtmiştir. Ancak yaptıkları analizler sonucunda Türkiye'nin Akdeniz, Güneydoğu Anadolu, Doğu Anadolu ve İç Anadolu bölgelerinin bir kısmını kapsayan *Hyla savignyi* türünün kendi içerisinde iki soya ayrıldığını, bu bölgelerde farklı bir tür ya da alttür durumunun olabileceğini ve bu bölgedeki *Hyla savignyi* türüne ait bireylerin morfolojik olarak detaylı bir şekilde irdelenerek aralarında önemli bir farklılığın var olup olmadığının araştırılması gerektiğini önermişlerdir. Bu tez çalışmasında Gül vd. (2012) belirttiği *H. savignyi*'ye ait iki ayrı soyu temsil eden Adana popülasyonunun bireyleri ile Hatay, Gaziantep, Kilis ve Elazığ popülasyonlarının bireyleri karşılaştırılmış ve iskelet kası protein bant sayılarına göre herhangi bir farklılık bulunmamıştır. Bu çalışmanın sonuçları, Türkiye'deki *H. orientalis* ve *H. savignyi* popülasyonlarındaki bireylerin iskelet kası protein bantlarının toplam sayısına göre biyokimyasal olarak farklı olduklarını ancak *Hyla savignyi* ye ait olduğu literatürde belirtilen iki soyun arasında biyokimyasal olarak herhangi bir farklılık olmadığını göstermektedir. Ayrıca Türkiye'de yaşayan *Hyla orientalis* bireyleri ile Avrupa'da yaşayan *Hyla arborea* bireyleri karşılaştırılması ve bu bireyler arasındaki farkların ortaya çıkarılması için ayrıntılı bir çalışma yapılmasının gerekliliği ortaya çıkmıştır.

5. SONUÇLAR

Türkiye'deki ağaç kurbağaları (*Hyla orientalis* ve *Hyla savignyi*)'nın iskelet kası protein bant sayısı yönünden karşılaştırıldığı bu çalışmada Türkiye'nin beş bölgesine ait 9 ilden toplam 80 bireye [26 ergin (14 dişi ve 12 erkek) *H. orientalis* ve 54 ergin (25 dişi ve 29 erkek) *H. savignyi* örneği] ait iskelet kası protein örneği temin edilmiştir ve SDS-PAGE karakterizasyonunda aşağıdaki sonuçlar bulunmuştur:

1. *H. orientalis* bireyelerinin 34 benzer protein bandına sahip olduğu görülürken *H. savignyi* bireyelerinin 32 banda sahip olduğu görülmüştür.
2. Türkiye'deki *H. orientalis* ve *H. savignyi* populasyonlarındaki bireylerin iskelet kası protein bantlarının toplam sayısına göre biyokimyasal olarak farklı olduklarını göstermektedir.
3. Adana bireyleri ile Hatay, Gaziantep, Kilis ve Elazığ bireyleri karşılaştırılmış ve iskelet kası proteini bant sayılarına göre herhangi bir farklılık bulunmamıştır. Bu da incelenen bölgede *Hyla savignyi* bireyleri arasında fark olmadığını göstermektedir.
4. Son olarak yapmış olduğumuz çalışma neticesinde Türkiye'deki *Hyla* cinsine ait populasyonlar iskelet kası proteini bant sayısı yönünden incelendiğinde ülkemizde iki farklı tür ile temsil edildiği, *Hyla savignyi* türü için literatürde belirtilen iki farklı soy arasında bir farklılık bulunmadığı ortaya çıkmıştır.

6. ÖNERİLER

Daha önceki çalışmalar dikkate alınarak yapılan bu çalışmada Türkiye de ağaç kurbağası olarak iki türün mevcudiyeti bir kez daha teyit edilmiştir. Fakat bu çalışma *Hyla orientalis* ve *Hyla savignyi* türlerinin Türkiye'deki populasyonlarından toplanan örneklerinden yapıldığı için bu türlerin yayılış gösterdiği diğer ülkelerden de örnekler toplanarak daha geniş kapsamlı çalışma yapılabilir. Ayrıca *Hyla arborea* türünün Avrupa'daki bireyleri ile *Hyla orientalis* türünün Türkiye'deki bireylerini karşılaştıran ayrıntılı bir çalışmanın yapılması *Hyla* cinsinin sistematik durumu hakkında daha doğru bilgilere ulaşılmasını sağlayacaktır.

7. KAYNAKLAR

- Aygan, A., 2008. Haloalkalofil *Bacillus sp.* İzolasyonu, Amilaz, Selülaz ve Ksilanaz Enzimlerinin Üretimi, Karakterizasyonu ve Biyoteknolojik Uygulamalarda Kullanılabilirliği, Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.
- Bahçeci, Z., 2000. Evrim, Öğrenci Kitabevi Yayınları, Kırşehir, 216 s.
- Baran, İ. ve Atatür, M. K., 1998. Turkish Herpetofauna (Amphibians and Reptiles), Ankara, 214 s.
- Budak, A. ve Göçmen, B., 2008. Herpetoloji, 2. Baskı, Ege Üniversitesi Yayınları, Bornova-İzmir, 230 s.
- Bülbül, U. ve Kutrup, B. 2007. Comparison of skeletal muscle protein bands among five populations of *Bufo viridis* in Turkey, Turk. J. Zool., 31, 419-422.
- Bülbül, U. ve Kutrup, B. 2011. Comparison of skeletal muscle protein bands between *Pelophylax ridibundus* (Pallas, 1771) and *Pelophylax caralitanus* (Arıkan, 1988) populations in Turkey by SDS-PAGE, Turk. J. Zool., 35, 769-775.
- Bülbül, U., Eroğlu, S. A., Eroğlu, A. İ. ve Kaya, Z. M., 2012. Biochemical Differentiation between *Bombina bombina bombina* (Linnaeus, 1761) and *B. b. arifiyensis* (Özeti and Yılmaz, 1987) as Revealed by the Skeletal Muscle Protein Bands, Journal of Animal and Veterinary Advances, 11, 1007-1011.
- Castellano S., Cuatto B., Rinella R., Rosso A. ve Giacomina C., 2002. The Advertisement Call of the European Treefrogs (*Hyla arborea*), A Multilevel Study of Variation, Ethology, 108, 75–89.
- Demirsoy, A., 1996. Genel ve Türkiye Zoocoğrafyası, Hayvan Coğrafyası, Meteksan A.T., Ankara, 630 s.
- Faivovich, J., Haddad, C.F.B, Garcia, P.C.A, Frost, D.R., Campbell, J.A. ve Wheeler, W.C. 2005. Systematic review of the frog family Hylidae, with special reference to Hylinae: a phylogenetic analysis and taxonomic revision, Bull. AMNH, 294, 1–240.
- Grach, C., Plesser, Y. ve Werner, Y. L., 2007. A new, sibling, tree frog from Jerusalem (Amphibia: Anura: Hylidae), Journal of Natural History, 41,(9–12), 709–728.
- Gül, S., Kutrup, B., ve Özdemir, N., 2012. Patterns of distribution of tree frogs in Turkey based on molecular data, Amphibia-Reptilia, 33, 95-103.

- Gül, S., 2012. Türkiye'deki *Hyla orientalis* ve *Hyla savignyi* Türlerinin Mitokondroyal Genler Kullanılarak Moleküler Düzeyde Karşılaştırılması, Doktora Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
- Gvozdik, V., Moravec J. ve Kratochvil, L., 2008. Geographic morphological variation in parapatric western Palearctic tree frogs, *Hyla arborea* and *Hyla savignyi*: are related species similarly affected by climatic conditions?, Biological Journal of the Linnean Society, 95,539–556.
- Gvozdik, V., Moravec, J., Klutsch, C. ve Kotlik, P., 2010. Phylogeography of the Middle Eastern tree frogs (*Hyla*, Hylidae, Amphibia) as inferred from nuclear and mitochondrial DNA variation, with a description of a new species, Molecular Phylogenetics and Evolution, 55, 1146–1166.
- Gvozdik, V. 2010. Second species of tree frog, *Hyla orientalis* (formely *H. arborea*), from Iran confirmed by acoustic data, Herpetology Notes, 3, 041–044.
- Hasnain, A., Hasan, A.S., Ahmad, R. ve Pandey, R.B., 2005. Identification of species – marker bands in native and SDS-PAGE patterns of soluble muscle proteins of four species of Genus *Channa* (Channidae: Channiformes) with evidence of some intraspecies heterogeneity, Asian Fish. Sci, 18, 49-58.
- İnan, K., 2005. Türkiye'nin Çeşitli Kaplıcalarından Anoxybacillus Türlerinin İzolasyonu, Karakterizasyonu ve Tanımlanması, Yüksek Lisans Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
- Kaya, U. ve Megela, S., 1999. Advertisement calls of the tree frogs, *Hyla arborea* and *Hyla savignyi* (Anura: Hylidae) in Turkey, Bioacoustics, 10, 175–190.
- Kaya, U., 2001. Morphological investigation of turkish tree frogs, *Hyla arborea* and *Hyla savignyi* (Anura: Hylidae), Israel Journal of Zoology, 47, 123–134.
- Kutrup, B. ve Bülbül, U., 2011. Comparison of skeletal muscle protein bands and trunk vertebrae count between *Ommatotriton ophryticus nesterovi* and *O. o. ophryticus* populations in Turkey, Turk. J. Zool., 35, 579-584.
- Lutz, G. J., Brenner, S.N., Bade M.J. ve Lieber, R.L., 2001. Identification of myosin light chains in *Rana pipiens* skeletal muscle and their expression patterns along single fibres, The J. Exper. Biol., 204, 4237-4248.
- Márquez, R., Moreira, C., Amaral, J.P.S., Pargana J.M. ve Crespo E.G., 2005. Sound pressure level of advertisement calls of *Hyla meridionalis* and *Hyla arborea*, Amphibia-Reptilia, 26, 391–395.
- Mertens, R., 1952. Über den Glattechsen-Namen *Ablepharus pannonicus*. Zool. Anz, 149, 48–50.
- Özeti, N. ve Yılmaz, İ., 1994. Türkiye Amfibileri, Ege Üniversitesi Basımevi, İzmir, 221 s.

- Pellet, J., Helfer, V. ve Yannic, G.,2007. Estimating population size in the European tree frog (*Hyla arborea*) using individual recognition and chorus counts, Amphibia-Reptilia, 28, 287–294.
- Sambrook, J., Fritsch, E.F. ve Maniatis, T., 1989. Molecular cloning: A laboratory manual. Cold Spring Harbour Laboratory, New York.
- Schneider, H., 2001. The distribution of *Hyla arborea* and *Hyla savignyi* on the South coast of Turkey (Amphibia: Anura), Zoology in the Middle East, 23, 61–69.
- Stöck, M., Dubey, S., Klutsch, C., Litvinchuk, S., Scheidt, U. ve Perin, N., 2008. Mitochondrial and nuclear phylogeny of circum-Mediterranean tree frogs from the *Hyla arborea* group, Molecular Phylogenetics and Evolution, 49, 1019-1024.
- Tosunoğlu, M. ve Taşkavak, E., 2001. A Serological Investigation of *Bufo bufo* (Abura, Bufonidae) Populations in Southern Marmara (Manyas, Balıkesir) and Eastern Black Sea (Çamlıhemşin-Rize) Regions, Italian Journal of Zoology, 68, 2, 165-168.
- Tok, C.V., 1999. Reşadiye (Datça) Yardımadası'nın Anura Türleri Hakkında Morfolojik bir Araştırma (Anura: Bufonidae, Hylidae, Ranidae), Tr. J. of Zoology, 23, 2, 565–581.
- Wettstein, O., 1953. Herpetologia Aegaea. Sitzungsber. österreich. Akad. Wiss., Wien, mathemath.-naturwiss, Klasse, 1, 162, 651–833.
- Zaloglu, S., 1972. Türkiye'de *Hyla arborea* (L.)(Amphibia, Anura)'nin subspezifik ayırımı üzerine bir araştırma, Ege. Univ., Fen Fak., Ilmi Kit. Ser. No: 162. (Türkiye).
- URL-1, www.turkherptil.org. 10 Mayıs 2012.
- URL-2, www.tolweb.org/Hylidae. 10 Mayıs 2012.
- URL-3, www.amphibiaweb.org/lists/Hylidae.shtml. 10 Mayıs 2012.

ÖZGEÇMİŞ

2 Ocak 1987 tarihinde Gümüşhane’de doğdu. İlköğretimini Gebze Barbaros ilköğretim Okulu’nda tamamladı. Orta öğretimini Gebze Anadolu Lisesi’nde tamamladıktan sonra Trabzon Karadeniz Teknik Üniversitesi Biyoloji bölümünde lisans eğitimine başladı. 4 yıllık lisans eğitiminin ardından Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dal’ında Yüksek Lisans’a başladı. 8 Mayıs 2011 tarihinde evlendi. İyi derecede İngilizce bilmektedir.