

**KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**TÜRKİYE'DEKİ *Hyla orientalis* VE *Hyla savignyi* TÜRLERİNİN
MITOKONDRIYAL VE NÜKLEER GENLER KULLANILARAK MOLEKÜLER
DÜZEYDE KARŞILAŞTIRILMASI**

DOKTORA TEZİ

Serkan GÜL

**MART 2012
TRABZON**

**KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**TÜRKİYE'DEKİ *Hyla orientalis* VE *Hyla savignyi* TÜRLERİNİN
MİTOKONDRIYAL NÜKLEER GENLER KULLANILARAK MOLEKÜLER
DÜZEYDE KARŞILAŞTIRILMASI**

Serkan GÜL

**Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsünde
“DOKTOR (BİYOLOJİ)”
Unvanı Verilmesi İçin Kabul Edilen Tezdir.**

**Enstitüye Verildiği Tarih: 13/02/2012
Tezin Savunma Tarihi : 12/03/2012**

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Bilal KUTRUP

Trabzon 2012

Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Ana Bilim Dalında

Serkan Gül Tarafından Hazırlanan

**TÜRKİYE'DEKİ *Hyla orientalis* VE *Hyla savignyi* TÜRLERİNİN
MİTOKONDRIYAL VE NÜKLEER GENLER KULLANILARAK MOLEKÜLER
DÜZEYDE KARŞILAŞTIRILMASI**

başlıklı bu çalışma, Enstitü Yönetim Kurulunun 28 / 02 / 2012 gün ve 1446 sayılı
kararıyla oluşturulan jüri tarafından yapılan sınavda

DOKTORA TEZİ

olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

Başkan : Prof. Dr. Mahmut EROĞLU

Üye : Prof. Dr. Bilal KUTRUP

Üye : Prof. Dr. Yusuf KUMLUTAŞ

Üye : Prof. Dr. Mustafa YAMAN

Üye : Yrd. Doç. Dr. Ufuk BÜLBÜL


.....
.....
.....
.....
.....

Prof. Dr. Sadettin KORKMAZ

Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

Türkiye'deki *Hyla orientalis* ve *Hyla savignyi* Türlerinin Mitokondriyal ve Nükleer Genler Kullanılarak Moleküler Düzeyde Karşılaştırılması amacıyla yapılan bu çalışma, Rize Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü'nde yapıлып, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Ana Bilim Dalında "Doktora Tezi" olarak hazırlanmıştır.

Doktora tez danışmanlığımı üstlenerek, konunun seçilmesinde ve çalışmalarımın yürütülmesinde yardımlarını ve ilgisini hiçbir zaman esirgemeyen sayın hocam Prof. Dr. Bilal KUTRUP'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Tez çalışmamın çeşitli aşamalarında desteklerini esirgemeyen değerli hocam Yrd. Doç Dr. Nurhayat ÖZDEMİR'e, yoğun arazi çalışmamın çoğu kısmında bana kolaylık sağlayan Yrd. Doç Dr. Serdar MAKBUL'e, bu çalışmayı yapabilmem için desteklerini hiç bir zaman esirgemeyen Sayın Rize Üniversitesi Rektörü Prof. Dr. Nazmi Turan OKUMUŞOĞLU'na ve başta değerli Bölüm Başkanım Prof. Dr. Vagıf ATAMOV olmak üzere tüm Rize Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü çalışanlarına sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

Çalışmamın büyük bir kısmını gerçekleştirmem için gerekli bütün desteği esirgemeyen Stony Brook Üniversitesi, Ekoloji ve Evrim Bölümünden Associate Prof. Dr. John J. WIENS'e ve tüm laboratuvar ekibine çok teşekkür ederim. Ayrıca Doktora Yurt Dışı Araştırma Burs programı kapsamında doktora tez döneminde ABD, Stony Brook Üniversitesinde bulunmam için beni destekleyen YÖK'e teşekkürlerimi sunarım.

Arazi çalışmalarım sırasında her daim destekte bulunan değerli dostum İsmail SEVİMLİ'ye teşekkür ediyorum.

Bu günlere gelmemde büyük emeği olan, hayatım boyunca her zaman maddi ve manevi yanımda olan, desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen başta ANNEM ve BABAM olmak üzere tüm aileme teşekkür ederim.

Yoğun çalışma dönemimin en yoğun ve sıkıntılı zamanlarında maddi ve manevi her konuda yanımda olan eşim Seyran GÜL'e teşekkürlerimi sunuyorum.

Serkan GÜL
Trabzon 2012

TEZ BEYANNAMESİ

Doktora Tezi olarak sunduğum “Türkiye'deki *Hyla orientalis* ve *Hyla savignyi* Türlerinin Mitokondriyal ve Nükleer Genler Kullanılarak Moleküler Düzeyde Karşılaştırılması” başlıklı bu çalışmayı baştan sona kadar danışmanım Prof. Dr. Bilal KUTRUP'un sorumluluğunda tamamladım. Örnekleri kendim topladığımı, 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 12.03.2012

Serkan GÜL

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
ÖNSÖZ	III
TEZ BEYANNAMESİ	IV
İÇİNDEKİLER	V
ÖZET	VIII
SUMMARY	IX
ŞEKİLLER DİZİNİ	X
TABLolar DİZİNİ	XI
SEMBOLLER DİZİNİ	XII
1. GENEL BİLGİLER	1
1.1. Giriş	1
1.2. Amfibilerin Genel Özellikleri	5
1.2.1. Amfibilerin Evolusyonu	6
1.2.2. <i>Hyla orientalis</i> 'in Morfolojik Özellikleri	7
1.2.3. <i>Hyla savignyi</i> 'nin Morfolojik Özellikleri	8
1.3. Nükleer DNA (nuDNA) ve Mitokondriyal DNA (mtDNA)	8
1.3.1. Mitokondriyal DNA'nın Yapısı ve Evolusyonu	10
1.4. Moleküler Evolusyon	10
1.4.1. Dizi Değişiminin Miktar ve Hızı	12
1.4.2. Moleküler Evolusyonun Nötral Teorisi	12
1.5. Türleşme Mekanizmaları	13
1.5.1. Tür Kavramları	13
1.5.1.1. Biyolojik Tür Kavramı	14
1.5.1.2. Filogenetik Tür Kavramı	14
1.5.1.3. Morfolojik Tür Kavramı	15
1.5.1.4. Alttür Kavramı (Subspecies, ssp., subsp.)	15
1.6. İzolasyon Mekanizmaları	17
1.6.1. Fiziksel İzolasyon	17
1.6.2. Vikaryans Yoluyla Coğrafik İzolasyon	18

1.6.3.	Kromozomlarda Değişiklikler.....	18
1.7.	Varyasyon ve Varyasyonun Nedenleri	18
1.7.1.	Genetik Varyasyon	19
1.7.1.1.	Kendileştirme Baskısı.....	19
1.7.1.2.	Protein Polimorfizmi	19
1.7.1.3.	Kromozomal Polimorfizm	20
1.7.1.4.	DNA Baz Dizisi Polimorfizmi.....	20
1.7.2.	Fenotipik Varyasyon	21
1.8.	DNA Dizin Analizi Sonucunda Evrimsel Ağaçların Oluşturulması.....	22
1.8.1.	MrModeltest v. 2. 3 ile Evrimsel Baz Değişim Modelinin Bulunması.....	23
1.8.1.1.	MrModeltest v. 2. 3'daki Baz Değişim Modelleri	26
1.8.2.	TCS Analizi.....	27
1.8.3.	Filogenetik Network 4.6.0.0. Analizi	28
1.8.4.	Bayesian Analizi.....	29
1.9.	Filogenetik Analizler	29
1.9.1.	Maksimum Parsimoni.....	29
1.9.2.	Maksimum Olasılık ve Genetik Uzaklık.....	30
1.9.3.	Ağaçların Değerlendirilmesi	31
1.9.3.1.	Seç-bağla Testi (Bootstrapping).....	32
2.	YAPILAN ÇALIŞMALAR	33
2.1.	Materyal.....	33
2.1.1.	<i>Hyla orientalis</i> Bireyi İçin Örnekler.....	33
2.1.2.	<i>Hyla savignyi</i> Bireyi İçin Örnekler.....	35
2.2.	Yöntem	37
2.2.1.	Örneklerin Toplandığı Alan	37
2.2.2.	Örneklerin Toplanması	38
2.2.3.	Moleküler Analizler.....	38
2.2.3.1.	Kurbağa Parmaklarından Genomik DNA'ların İzolasyonu.....	38
2.2.3.2.	Mitokondriyal 12S rRNA, Cyt <i>b</i> ve Nükleer Histon 3(H3) Genlerinin PCR Yardımı ile Artırılması ve DNA Dizin Analizi	38
2.2.4.	DNA Dizin Analizi Sonucunda Evrimsel Ağaçların Oluşturulması.....	39
2.2.4.1.	MrModeltest v. 2.3 ile En Uygun Baz Değişim Modelinin Bulunması.....	40
2.2.4.2.	TCS ve Network Analizi.....	40

2.2.4.3.	Maksimum Olasılık	40
2.2.4.4.	Bayesian Analizi	40
2.2.4.5.	FigTree v1.3.1 Programı	41
3.	BULGULAR	42
3.1.	Moleküler Analizler	42
3.1.1.	DNA Dizin Analizi	42
3.1.2.	DNA Dizilerinin Clustal X ve BioEdit 7.0 Programları Kullanılarak Karşılaştırılması	42
3.1.3.	TCS Analizi	42
3.1.4.	MrModeltest 2.3 Programı ile En Uygun Baz Değişim Modelinin Bulunması	44
3.1.5.	Maksimum Likelihood (Maksimum Olasılık) Analizi	46
3.1.6.	Bayesian Analizi	46
4.	TARTIŞMA	49
5.	SONUÇLAR	54
6.	ÖNERİLER	56
7.	KAYNAKLAR	57
8.	EKLER	64
ÖZGEÇMİŞ		

Doktora Tezi

ÖZET

TÜRKİYE'DEKİ *Hyla orientalis* VE *Hyla savignyi* TÜRLERİNİN
MİTOKONDRIYAL VE NÜKLEER GENLER KULLANILARAK MOLEKÜLER
DÜZEYDE KARŞILAŞTIRILMASI

Serkan GÜL

Karadeniz Teknik Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı
Danışman: Prof. Dr. Bilal KUTRUP
2012, 63 sayfa, 28 Ek sayfa

Palearktik *Hyla* cinsine ait ağaç kurbağalarının filogenisi üzerine daha önceden çalışmalar yapılmış olmasına rağmen, Türkiye'deki *Hyla* cinsine ait ağaç kurbağalarının sistematigi ile ilgili problemler hala devam etmektedir. Bu tezde, Türkiye'deki ağaç kurbağalarının (*Hyla orientalis* ve *Hyla savignyi*) sistematigi kombine mitokondriyal genler (12S ve *cyt b*) ve bir nükleer gen (H3) kullanılarak ve 51 lokaliteden toplam 102 birey örneklenerek çalışıldı. *Hyla orientalis* türü mitokondriyal genler ve nükleer gen tarafından sadece tek bir soya temsil etmesine karşın, *Hyla savignyi* türü mitokondriyal genler tarafından iki soya ayrıldığı ancak bu durumun nükleer gende ortaya çıkmadığı bulundu. Gürcistan alttürü olan *Hyla arborea schelkownikowi*'nin hem kombine mitokondriyal genler hem de nükleer gen bakımından Türkiye'nin kuzeydoğu Karadeniz bölgesinde dağılım göstermediği bulundu ve bu sonuçlara göre *Hyla arborea schelkownikowi*, *Hyla orientalis*'in bir junior sinonimi olduğu hipotezi doğrulandı. Ayrıca bu tez çalışması, Türkiye'deki ağaç kurbağalarının filogenisine ilave bir kanıt ve gelecek araştırmalar için yeni lokaliteler sağladı.

Anahtar Kelimeler: *Hyla orientalis*, *Hyla savignyi*, filogeni, *cyt b*, 12S rRNA, H3, Türkiye

PhD. Thesis

SUMMARY

COMPARISON OF *Hyla orientalis* AND *Hyla savignyi* SPECIES IN TURKEY
BY USING MITOCHONDRIAL AND NUCLEAR GENES AT MOLECULAR-LEVEL

Serkan GÜL

Karadeniz Technical University
The Graduate School of Natural and Applied Sciences
Biology Graduate Program
Supervisor: Prof. Dr. Bilal KUTRUP
2012, 63 Pages, Appendix 28

Despite previous work on the phylogeny of Palearctic *Hyla*, several problems still exist regarding systematics of *Hyla* in Turkey. In this thesis, the systematics of tree frogs (*Hyla orientalis* and *Hyla savignyi*) in Turkey was studied using combined mitochondrial genes (12S ribosomal RNA and cytochrome *b*) and a nuclear gene (H3), and sampling a total of 102 individuals from 51 localities. It was found that *Hyla orientalis* was represented by a single lineage, whereas *Hyla savignyi* was divided into two lineages by the mitochondrial genes, but not the nuclear gene. It also was confirmed that *Hyla arborea schelkownikowi*, which is subspecies of Georgia, is a junior synonym of *Hyla orientalis* using both combined mitochondrial genes and nuclear gene, and was found that its distribution is not in the northeastern Black Sea Regions of Turkey. This thesis also provided additional evidence on the phylogeny of treefrogs in Turkey, and demonstrates new localities for future researches.

Key Words: *Hyla orientalis*, *Hyla savignyi*, Phylogeny, *cyt b*, 12S rRNA, H3, Turkey

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 1. IUCN’ deki dağılım haritası: <i>Hyla arborea</i>	2
Şekil 2. IUCN’ deki dağılım haritası: <i>Hyla savignyi</i>	3
Şekil 3. Omurgalı hayvan mitokondriyal DNA’sı (Inoue vd. (2003)).....	8
Şekil 4. MrModeltest v. 2.3’de kullanılan hiyerarşiler (Posada ve Crandall, 2001).....	25
Şekil 5. 24 baz değişim modelinin karşılaştırılması (Salemi ve Vandamme, 2003)	27
Şekil 6. Network programının genel iş akış şeması.....	29
Şekil 7. Rize (Fındıklı)’den yakalanan <i>Hyla orientalis</i> bireyi.....	33
Şekil 8. İstanbul (Durusu)’dan yakalanan <i>Hyla orientalis</i> bireyi (dorsal)	34
Şekil 9. İstanbul (Durusu)’dan yakalanan <i>Hyla orientalis</i> bireyi (dorsal)	34
Şekil 10. İskenderun (Sariseki)’den yakalanan <i>Hyla savignyi</i> bireyi	35
Şekil 11. İskenderun (Sariseki)’den <i>Hyla savignyi</i> bireyi.....	35
Şekil 12. Gaziantep (Şehitkamil)’ten yakalanan <i>Hyla savignyi</i> bireyi (dorsal)	36
Şekil 13. Gaziantep (Şehitkamil)’ten yakalanan <i>Hyla savignyi</i> bireyi (ventral).....	36
Şekil 14. <i>Hyla savignyi</i> ve <i>Hyla orientalis</i> türleri için arazi çalışmasının yapıldığı lokaliteler	37
Şekil 15. 12S geni için oluşan haplotip verileri. Mv değerleri düğümleri göstermektedir.....	43
Şekil 16. Cyt <i>b</i> geni için oluşan haplotip verileri. Mv değerleri düğümleri göstermektedir.....	43
Şekil 17. H3 geni için oluşan haplotip verileri. Mv değerleri düğümleri göstermektedir.....	44
Şekil 18. Kombine mitokondriyal genlerin (12S ve cyt <i>b</i>) Bayesian ve Maksimum olasılık analizi esas alınarak Türkiye’deki <i>Hyla</i> popülasyonunun filogenisi	47
Şekil 19. Nükleer genin (H3) Bayesian ve Maksimum olasılık analizi esas alınarak Türkiye’deki <i>Hyla</i> popülasyonunun filogenisi	48
Şekil 20. Davis (1971)’e göre, Türkiye’deki fitocoğrafik bölgelerin yaklaşık sınırları.....	51
Şekil 21. http://www.dkm.org.tr/anadolu-caprazi/anadolu-caprazi-nedir.php göre Anadolu Çaprazı gösterilimi	52

TABLULAR DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 1. 12S rRNA geninin MrModeltest v. 2.3 programının Akaike Bilgi Kriteri (AIC) analiz sonuçları	44
Tablo 2. Cyt <i>b</i> geninin MrModeltest v. 2.3 programının Akaike Bilgi Kriteri (AIC) analiz sonuçları	45
Tablo 3. H3 geninin MrModeltest v. 2.3 programının Akaike Bilgi Kriteri (AIC) analiz sonuçları.....	45

SEMBOLLER DİZİNİ

IUCN	: Uluslararası Doğayı Koruma Birliği
ATP	: Adenozin trifosfat
AIC	: Akaike bilgi ölçütü (kriteri)
ML	: Maksimum olasılık
LRTs	: Olasılık oran testleri
BIC	: Bayesian bilgi ölçütü (kriteri)
DT	: Performansa dayalı karar teorisi
dLRT	: Dinamik olasılık oran testleri
hLRT	: Hiyerarşik olasılık oran testleri
MCMC	: Markov Chain Monte Carlo
MYÖ	: Milyon yıl önce
DNA	: Deoksiribonükleik asit
RNA	: Ribonükleik asit
tRNA	: Taşıyıcı RNA
mtDNA	: Mitokondriyal DNA
H3	: Histon geni
Cyt <i>b</i>	: Sitokrom <i>b</i> geni
12S	: 12S Ribozomal RNA geni

1. GENEL BİLGİLER

1.1. Giriş

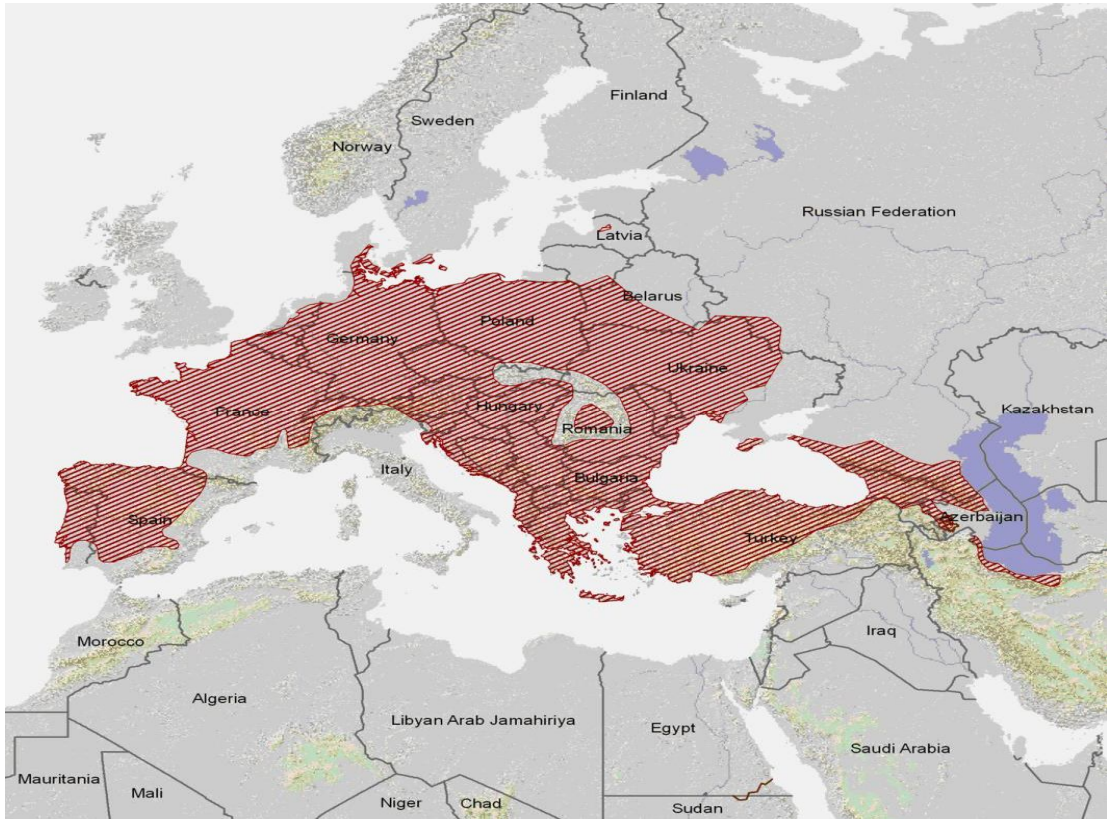
Canlıların fenotipik benzerliklerine bakılarak yapılan sınıflandırma halen kullanılmasına rağmen, bu özellikler birbirlerine çok benzeyen organizmaların ayrılmasında ve canlıların filogenetik akrabalıklarının ortaya çıkarılmasında başarılı değildir. Ortaya çıkan bu tip problemlerin çözümlenmesinde, nükleik asitlerle yapılan çalışmaların kullanılmaya başlanması ile taksonomik çalışmalar daha kesin ve doğru olarak yapılabilmektedir. Sınıflandırma çalışmalarında genomik ilişkilerin kullanılması birçok faydalar sağlar. Örneğin; yapılan tür tayinleri daha kesindir, sık sık veya kökten meydana gelen değişikliklere konu olmaz. Ayrıca eldeki verilere bakılarak canlıda meydana gelen değişiklikler ve akrabalar arasındaki ilişkilerin nasıl olduğu bu yolla daha iyi ortaya çıkarılır.

Moleküler biyolojideki hızlı ilerlemeler ve DNA teknolojisinin moleküler biyolojide kullanıma girmesi ile birlikte güçlü teknikler geliştirilmiş ve bunlardan DNA ile protein, canlı nesillerini ve akrabalıklarını belirlemede kullanılmaya başlanmıştır. Bu moleküler belirleyiciler morfolojik analizlere alternatif bir yöntem olmayıp tamamlayıcı faktörlerdir. Morfolojinin cevap veremediği birçok soruya cevap verebilmektedir (Başibüyük vd., 2000).

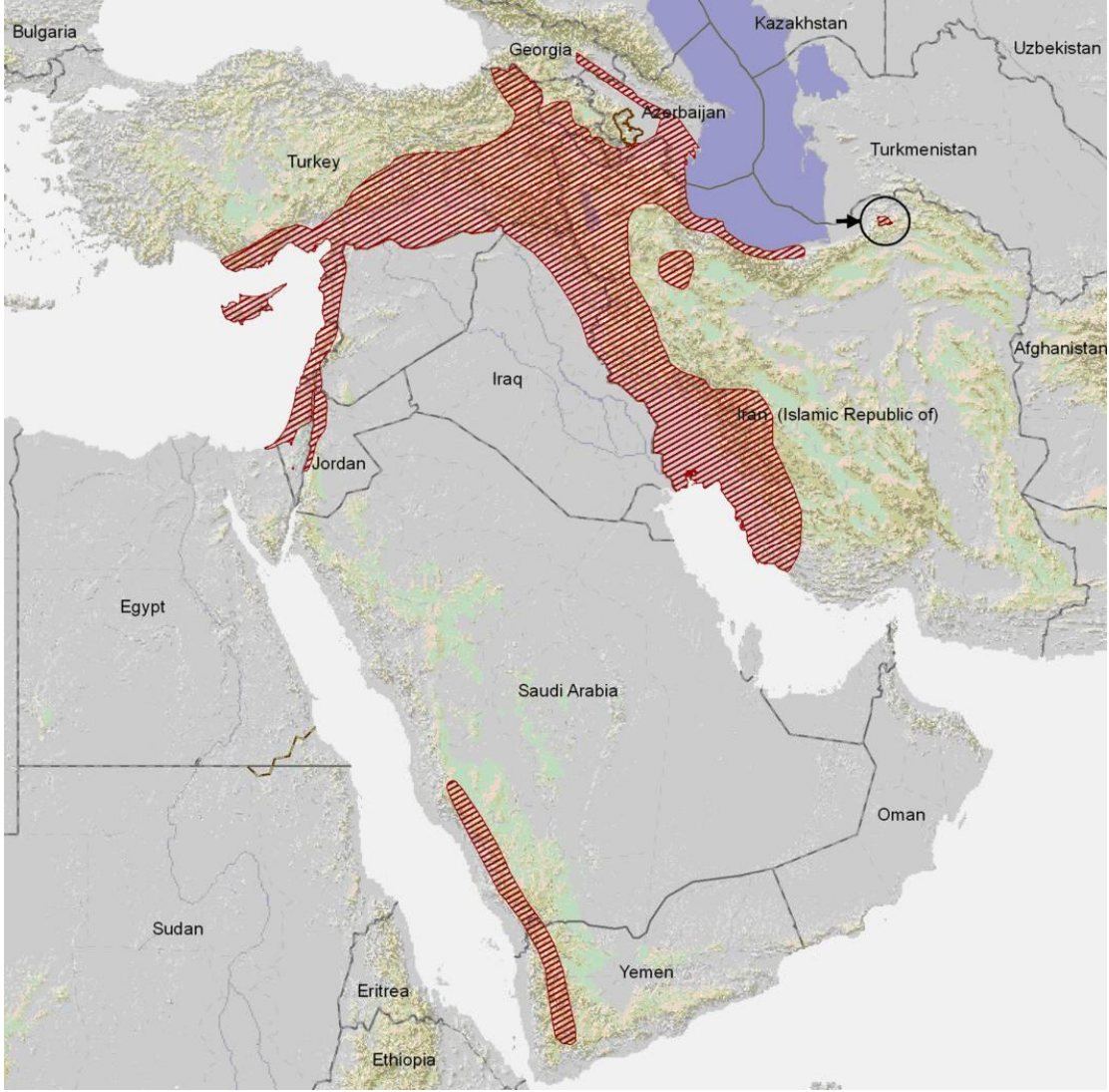
Omurgalı hayvanların bir sınıfını teşkil eden amfibilerin Anura ve Urodela takımına ait türlerin taksonomisi hakkında ülkemizde birçok çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalar daha çok morfolojik (Tok, 1999; Kaya, 2001; Grach vd., 2007; Pellet vd., 2007; Gvozdik vd., 2008), biyoakustik (Kaya ve Megela S. A. 1999; Schneider, 2001; Castellano vd., 2002; Márquez vd., 2005; Grach vd., 2007), serolojik (Tosunoğlu ve Taşkavak, 2001) analizlere dayanmaktadır. Kurbağa sistematigi alanında yapılan yeni çalışmaların çoğu da moleküler tekniklerle gelişmiş ve daha güvenli hale gelmiştir (Hertwig vd., 2004). Moleküler tekniklerin uygulanması amfibi filogenetiği çalışmalarını oldukça teşvik etmiştir (Garcia-Paris ve Jockusch, 1999; Clough ve Summers, 2000; Zardoya ve Meyer, 2001; Hoegg vd., 2004; Faivovich vd., 2005; Smith vd., 2005; Wiens vd., 2005; Zhang vd., 2005; Kutrup vd., 2006; Smith vd., 2007; Özdemir ve Kutrup, 2007; Stöck vd., 2008, Özdemir vd., 2009; Hua vd., 2009; Gvozdik vd., 2010; Wiens vd., 2010).

Mertens (1952)'e göre Anadolu'nun batı ve kuzey kısımlarında *Hyla arborea arborea*'nın, güneydoğu bölgesinde ise *Hyla arborea savignyi* bulunması olasıdır. Wettstein (1953)'a göre Batı Anadolu da yaşayan popülasyonlar nominal ırkı değil, *Hyla arborea kretensis*'i temsil etmektedir. Bu konunun aydınlatılması amacıyla Zaloğlu (1972) tarafından yapılan çalışmada *H. arborea kretensis*'in dağılış sahası içine Ege bölgesinin dâhil edilmesinin doğru olmadığı vurgulanmakta; Ege ve Marmara bölgelerinin popülasyonlarının *H. arborea arborea*'ya dahil edilebileceği, Akdenizin doğu bölgesindekilerin ise Mertens (1952)'in kabul ettiği gibi *H. arborea savignyi* olabileceği belirtilmiştir (Özeti ve Yılmaz, 1994).

IUCN web sitesine göre *Hyla arborea* ve *Hyla savignyi* türlerinin tüm Avrupa genelinde ve ülkemizdeki dağılımları aşağıdaki gibi gösterilmiştir.



Şekil 1. IUCN' deki dağılım haritası: *Hyla arborea*



Şekil 2. IUCN' deki dağılım haritası: *Hyla savignyi*

Hyla arborea (=Ağaç kurbağası) Asya dâhil olmak üzere birçok Avrupa ülkesi ve Afrika boyunca geniş bir yayılım ağı göstermektedir. Türkiye'de ise bu türe Marmara, Ege, Karadeniz ve Batı Akdeniz bölgelerinde 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 canlıların alttür durumları hakkında kesin bir hüküm vermek mümkün olmamıştır (Kaya, 2001).

Kaya (2001)'in yaptığı çalışmada Anamur'un Melleç köyünde *Hyla arborea*'nın ve 11 km uzaklığındaki Anamur'un merkezinde ise *Hyla savignyi* türünün bulunduğunu yaptığı çalışmayla ortaya koymuştur. Ayrıca Schneider (2001) ise yaptığı çalışmada

Alanya’da *Hyla arborea* türünün olduğunu, Alanya’nın 10 km uzağında bulunan Anamur’da ise *Hyla savignyi* türünün bulunduğunu bildirmiştir.

Kaya (2001) ve Schneider (2001) Türkiye’de yaşayan *Hyla arborea* ve *Hyla savignyi*’nin taksonomik durumu hakkında yapmış oldukları incelemede Karadeniz Bölgesi, Marmara Bölgesi, Ege Bölgesi, Batı Akdeniz Bölgesi, Orta Akdeniz Bölgesi, Doğu Akdeniz Bölgesi ve Güneydoğu Anadolu Bölgesi ve İç Anadolu Bölgesi’nden 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 ortaya koymuşlardır. Bunun yanı sıra Rize formunun biyoakustik 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.

Ayrıca Stöck vd., (2008) tarafından yapılan çalışmada Türkiye’den Trakya-İğneada, İzmir-Selçuk, Mersin(İçel)-Yeniköy lokalitelerinden aldıkları örneklerle yapılan filogenetik analizler sonucunda 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 3320 baz uzunluğuna sahip mitokondriyal ve 820 baz uzunluğuna sahip nükleer seviyede %99 *Hyla savignyi* taksonunun olduğunu ortaya koymuşlardır. Stöck vd., (2008) ayrıca Türkiye’ye yakın olan Girit Adası’ndan temin ettikleri örneklerin *Hyla arborea kretensis* olduğunu ortaya koymuşlardır. 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.

Gvozdik vd., (2008) tarafından yapılan; morfolojik, coğrafik ve iklimsel olarak *Hyla* cinsine ait kurbağalarda ölçtükleri 17 özelliğin birçok istatistiksel hesaplamalarına ve aralarındaki ilişkiyi belirlemeye dayanan çalışmada elde ettikleri verilerde Türkiye’den temin ettikleri 116 örnekte; Hakkari, Birecik, Kahramanmaraş, Adana, Mersin ve çevresi ilçelerinden aldıkları örneklerin *Hyla savignyi*, Edirne’nin Havsa ilçesi, Alanya, Kütahya, Bilecik, Bursa, İznik ve çevre ilçelerden aldıkları örneklerin *Hyla arborea*, Rize’nin Pazar ilçesinden aldıkları örneğin *H. arborea schelkownikowi* olduğunu savunmuşlardır.

Hyla cinsine ait bireylerle ülkemizde son yıllarda Gvozdik vd., (2010)'nin yaptıkları çalışma 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 Ortadoğuyu kapsadığı için ülkemizin Marmara bölgesinden örnek kullanmamışlardır ve önceki yıllarda Gvozdik vd., (2008) yaptıkları çalışmada Gürcistan formu olan *H. arborea schelkownikowi* bireyinin ülkemize kadar yayılışı olduğunu söylemelerine rağmen, yeni yaptıkları çalışmada bu bireyin *Hyla orientalis*'in bir junior subjective synonym olduğunu belirtmişlerdir (Gvozdik vd., 2010; Stöck vd., 2008). Fakat bu durum ülkemizin Karadeniz Bölgesinden aldıkları tek bir lokaliteden örnekle açıklığa kavuşturulmamıştır.

Sonuç olarak, son yıllarda ülkemizden elde edilen önemli sayıda *Hyla* cinsine ait örnek ile filogenetik olarak yapılan çalışmalarda; Stöck vd., (2008)'nin yaptığı çalışmada ülkemizden elde ettikleri örneklerin az sayıda olması ülkemizle ilgili durumu net bir şekilde ortaya koymamaktadır. Bunun yanı sıra Gvozdik vd., (2010)'nin yaptığı çalışma çok kapsamlı olmasına rağmen ülkemizin Marmara Bölgesini çalışmalarına katmamışlardır ve Gürcistan formu olan *H. arborea schelkownikowi*'nin dağılımının ülkemizde var olup olmadığını ve eğer var ise nereye kadar dağılım gösterdiğini net bir şekilde ortaya koyamamışlardır. Bu tez çalışmasının amacı ise ülkemizdeki *Hyla* cinsine ait bireylerin mitokondriyal genler (12S, *cyt b*) ve nükleer gen (H3) bakımından dağılımlarını ortaya çıkarmak, Gürcistan formu olan *H. arborea schelkownikowi*'nin dağılımının ülkemizde var olup olmadığını ve eğer var ise nereye kadar dağılım gösterdiğini belirlemek, daha önce yapılan çalışmaların eksik yönlerini tamamlamak ve bu çalışmayla farklı bir nükleer gen bölgesi olan Histon 3 geniyle bu canlıları moleküler düzeyde incelemektir.

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 Atatürk, 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 Atatürk, 1998).

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

Kuyruklu kurbağa türleri çok canlı renklerde olmasına karşılık, kuyruksuz olanlarda vücut rengi ortama uyum sağlamıştır. Örneğin, *Rana dalmatina* (çevik kurbağa) türünün yavından 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 Atatürk, 1998).

1.2.1. Amfibilerin Evolüsyonu

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 benzemekteydi. 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, molluskların, ekinodermilerin, kabukluların ve balıkların daha ilkel 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 dinazorlardan uzun bir süre önce evrimleşmiş olmalarına karşın, dinazorların soyunun tükenmesinden bu yana, yani 65 milyon yıldır yaşamlarını sürdürmeyi başarmışlardır (Bahçeci, 2000).

1.2.2. *Hyla orientalis* Bireyinin Morfolojik Özellikleri

Renkleriyle çevresel uyumu çok iyi ve bundan dolayı fark edilmeleri zordur. Sırt bölgesi genel olarak parlak yeşil. Üzerinde koyu renkli küçük benekleri var. 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. Yavruların 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. Gündüzleriye yaprakların altında bulunurlar. Ana besinlerini böcek, örümcek gibi eklembacaklılar oluşturur. 22 yıl kadar yaşarlar. Boyları 5 cm kadar olabilir.

1.2.3. *Hyla savignyi* Bireyinin Morfolojik Özellikleri

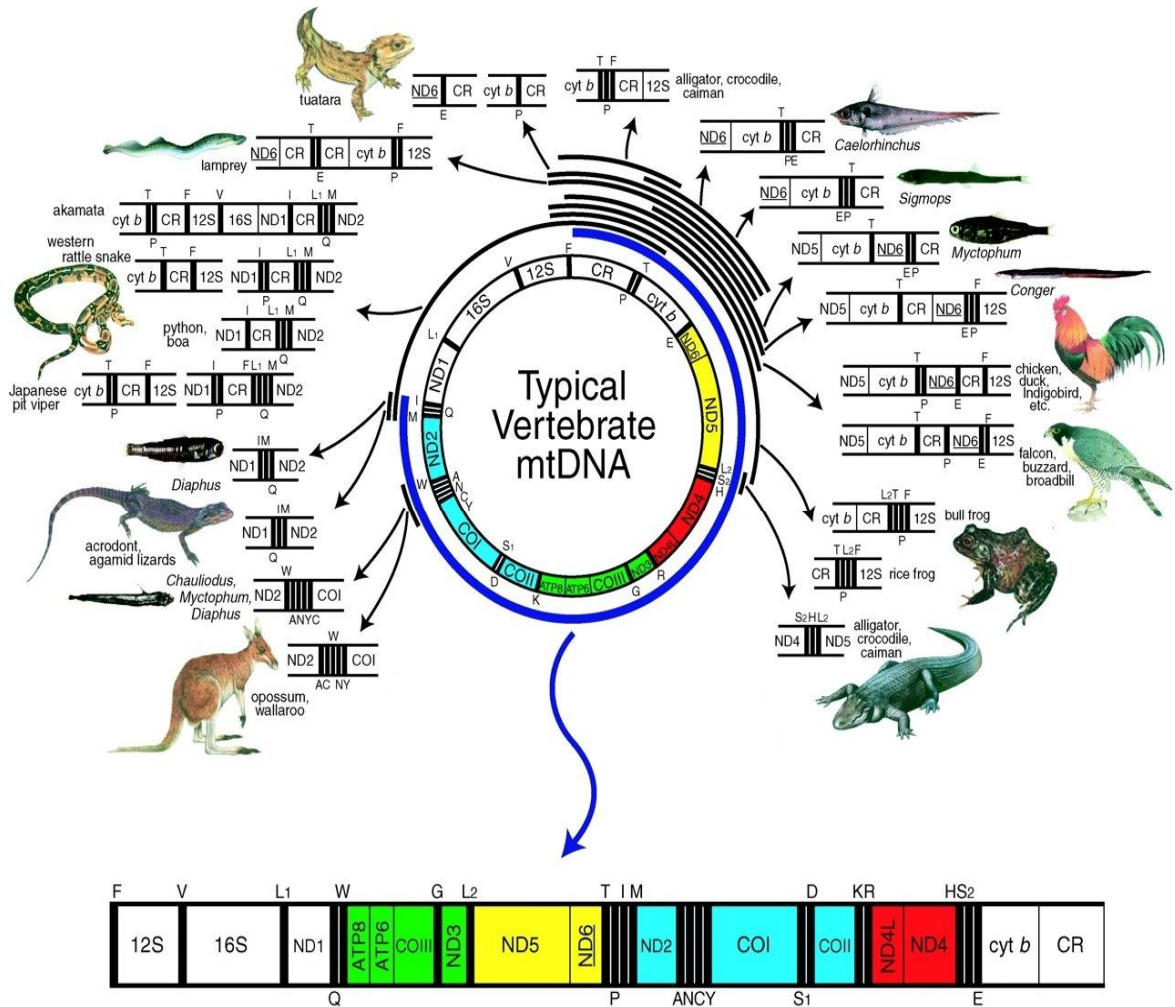
Hyla orientalis türüne çok benzer. *H. orientalis*'den arka bacaklarının biraz daha uzun olmasıyla ve vücudun yan tarafındaki şeridin kasık bölgesinden yukarıya ve öne doğru bir çıkıntı yapmamasıyla ayrılır. Ayrıca *H. orientalis*'den daha farklı bir ses çıkarır. Renkleriyle çevresel uyumu çok iyi ve bundan dolayı fark edilmeleri zordur. Sırt bölgesi genel olarak parlak yeşil. Üzerinde koyu renkli küçük benekleri var. 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 salgırlarlar. Bu sıvı insan derisinin hassas bölgelerinde acıya neden olur. Alacakaranlıkta aktiflik gösterirler. Gündüzleriye yaprakların altında bulunurlar. Ana besinlerini böcek, örümcek gibi eklembacaklılar oluşturur. Boyları 5 cm kadar olabilir.

1.3. Nükleer DNA (nuDNA) ve Mitokondriyal DNA (mtDNA)

Bir filogenetik çalışmada seçilen genler, ilgili taksonomik seviyede filogenetik geçmişi yansıtan korunmuş bilgiler içermelidir. Nükleer genler ve özellikle mitokondriyal ribozomal genler, çok geniş alandaki canlı gruplarında birçok filogenetik soruyu cevaplamaktadır (Hertwig, 2004). Omurgalı hayvanların mitokondriyal DNA'sı halkasal yapıda ve çoğunda olduğu gibi 16-18000 baz çifti uzunluğundadır. Bu DNA üzerinde 13 protein kodlayan bölge, 2 rRNA geni, bir replikasyon kontrol bölgesi ve 22 tRNA geni bulunmaktadır (Şekil 3). Bunların sırası genelde omurgalılarda korunmuştur. Nükleer DNA da ise RAG1, Histone 3, POMC gibi genler amfibilerin filogenetik çalışmalarında oldukça yaygın kullanılmaktadır. Mitokondriyal DNA'da intronlar yoktur ve tRNA'ların splicingi mRNA kalıplarını üretir ve mtDNA kendi kendine replike olur. Sitokrom oksidaz, ATP sentetaz ve NADH sistemleri sayesinde hücre solunum sistemlerine katkıda bulunur.

mtDNA'nın en önemli özelliği de anne tarafından nesilden nesile aktarılıyor olmasıdır. Böylece rekombinasyonun olmaması kalıtımının daha kolay izlenilmesini sağlar ve popülasyonların geçmişleri hakkında güçlü bir bilgi sağlar. Ayrıca mtDNA daha yüksek organizmalı hayvanlarda tek bir nükleer DNA kopyasından çok daha hızlı evrimleşmektedir.

Nükleer ribozomal RNA genleri ve mtDNA'nın tamamı çok eskiye dayalı filogenetik ilişkilerin ortaya çıkarılmasında kullanılır. Hayvanlar üzerinde yapılan çalışmaların çoğunda ise popülasyon ve daha düşük seviyedeki taksonomik ilişkilerin ortaya koyulmasında bazı mtDNA genleri kullanılır. Bunlar 12S, 16S ve sitokrom b (cyt b) genleridir (Farias vd., 2001).



Şekil 3. Omurgalı hayvan mitokondriyal DNA'sı (Inoue vd. (2003)).

Mitokondriyal DNA'nın 16S rRNA, 12S rRNA ve *cyt b* genlerinin baz sıralarının karşılaştırılmasına dayanan çok sayıda taksonomik ve filogenetik çalışma bulunmaktadır. Bu yüzden bu genlerin çoğaltılmasında kullanılan primerler, oldukça geniş bir kullanım alanına sahiptir. Canlı gruplarındaki farklılıkları belirlemek için yapılacak en doğru iş, DNA'daki değişiklikleri de gösterdiği için mtDNA'nın baz sırasının analiz edilmesidir (Kocher vd., 1989).

1.3.1. Mitokondriyal DNA'nın Yapısı ve Evolusyonu

Mitokondrilerde, şekerlerde depolanan enerji adenzin trifosfat (ATP)'in sentezi için güç kaynağı olarak kullanılmaktadır. Hücresel solunumda kullanılan proteinlerin çoğunluğu mitokondriyal DNA (mtDNA) tarafından kodlanmaktadır. Kloroplast DNA'sı gibi, mtDNA'da genellikle kromozomal proteinlerden yoksun halkasal bir çift sarmaldır. Her bir hücre başına mitokondri sayısı, bazı tek hücreli mantarlarda olduğu gibi dörtten, omurgalıların kas hücrelerinde olduğu gibi bine kadar çok değişkenlik göstermektedir.

Hayvanların mitokondriyal DNA'ları nispeten küçüktür. Türler arasında nispeten az varyasyonlu, genellikle yaklaşık 16 kb uzunluğunda ve tümü halkasaldır. İntronları yoktur, rekombinasyon yok veya çok nadirdir, anadan kalıttır (Freeman ve Herron, 2002).

1.4. Moleküler Evrim

Protein ve DNA dizilerini çalışmak için geliştirilen tekniklerin keşfi evrim çalışmaları için yeni bir alan açmıştır. 1960'larda ilk büyük ölçekli aminoasit dizisi çıkarma çalışmaları ile başlayan ve günümüzde toplam genom dizilerini çıkarma üzerine veri patlaması şeklinde devam eden çalışmalar sonucunda, araştırmacılar zaman içinde proteinler ve nükleik asitlerin nasıl değiştikleri hakkında pek çok soruya cevap bulmuşlardır.

Moleküler evrimsel çalışmaların en temel hedeflerinden biri dört evlusioner gücün (mutasyon, göç, sürüklenme ve seçim) dizilerde günümüzde gözlenen çeşitliliği nasıl ürettiğini anlamaya çalışmaktır. Nötral teori bu girişimde önemlidir, çünkü uyum gücü bakımından nötr olan ve bu yüzden yalnızca sürüklenme nedeniyle frekansları değişen aleller için, sabitlenmenin hızını belirtir. Sonuç olarak, moleküler evlusionun gözlenen

hız ve modellerinden pozitif seçilimin mi yoksa sürüklenmenin mi sorumlu olduğunu sınamak için bir sıfır model sağlar. Popülasyon büyüklüğünün bir fonksiyonu olarak, sürüklenme ve seçilimin nasıl etkileştiklerini belirlediğinden, yaklaşık nötral model, teorinin önemli bir uzantısıdır (Freeman ve Herron, 2002).

Sürüklenme yoluyla meydana gelen evölüsyon oranı, yalancı genler çalışılarak saptanabilir. Nötral teori tarafından öngörüldüğü gibi, yalancı genler, kodlayıcı ve kodlayıcı olmayan diziler arasında gözlenmiş değişimin en yüksek oranına sahiptir. Kodlayıcı dizilerin büyük bir çoğunluğunda, baz değişimleri, değiştirici baz değişimlerinden çok daha hızlı birikirler. Lokuslar arasında, moleküler evölüsyon hızı, bir genin hücre için öneminin bir fonksiyonu olarak değişkenlik gösterir. Bu gözlemler, moleküler evölüsyonun zararlı mutasyonlara karşı sürüklenme ve seçim yolu ile kontrol altında tutulduğunu önermektedir. Bununla birlikte, araştırmacılar önemli örneklerde, değiştirici baz değişimlerinin yüksek oranının, yararlı mutasyonlar üzerine seçilimin bir ürünü olarak oluştuğunu gösterebilmişlerdir (Freeman ve Herron, 2002).

Baz değişimlerinin, proteinlerin aminoasit dizilerini değiştirmeseler bile, doğal seçilime cevap olarak frekansları azalır veya artabilir. tRNA'ların bulunuş durumlarındaki varyasyon, translasyon etkinliği için seçilime neden olabilir ve kodon eğilimine yol açabilir. Avantajlı mutasyonlar üzerindeki seçim, bağlantılı suskun baz değişimlerini (bir gen tarafından kodlanan aminoasit dizisini değiştirmeyen bir DNA baz dizisi) sabitlenmeye götürebilir; zararlı mutasyonlar üzerine seçim ise bağlantılı suskun baz değişimlerinin ayıklanmasına yol açabilir (Freeman ve Herron, 2002).

Hareketli elementler ökaryotik ve prokaryotik genomların belirgin bileşenleridir. Bu lokuslar aracı RNA veya DNA'larla hareket ederler, fakat konak organizmanın uyum gücünü artıran ürünler için kodlama yapmazlar. Çünkü bunlar genomda yeni bir yere hareket ettiklerinde, zararlı mutasyonlara neden olduklarından, parazit olarak tanımlanırlar. Kloroplast ve mitokondriler endosimbiyotik bakteriler olarak ortaya çıkmışlardır ve evölüsyon tarihinin en büyük yatay gen transfer olaylarını temsil ederler. Kloroplast ve mitokondriyal DNA'da gen sırası, gen organizasyonu ve dizi değişim oranı değişmekle birlikte, bu organellerin bilgi içerikleri oldukça iyi korunmuştur (Freeman ve Herron, 2002).

1.4.1. Dizi Değişiminin Miktar ve Hızı

Moleküler evölüsyon sahası, 1960'ların ortasında biyokimyacıların hemoglobin, sitokrom c ve özellikle insan ve omurgalılarda bol miktarda bulunan ve iyi çalışılmış diğer proteinlerin aminoasit dizi tayininde başarılı olmalarıyla başlatıldıdır. Türler arasındaki moleküler değişimin hız ve miktarını karşılaştırmada evölusyoner biyologlara ilk fırsatı bu veri setleri sağlamıştır (Freeman ve Herron, 2002).

1.4.2. Moleküler Evölüsyonun Nötral Teorisi

Kimura (1968, 1983), aminoasit dizi farklılaşmasının gözlenen modellerini açıklamak amacıyla, moleküler evölüsyonun Nötral teorisini formüle etmiştir. Bu teori, popölasyonlarda sabitlenen baz değişimlerinin çoğunun uyum gücü açısından nötr olduğu ve DNA dizileri düzeyindeki evölüsyonda, genetik sürüklenmenin baskın olduğunu iddia eder. Kimura, türler arasında moleküler düzeyde gözlenen farklılıkların, yararlı mutasyonlar üzerine doğal seçilimin işlemesi şeklindeki bir açıklamanın büyük ölçüde geçersiz olduğuna inanmaktadır.

Kimura tarafsız (nötr) mutasyonların evrimini aşağıdaki şekilde modelleştirir:

— Eğer diploid bir popölasyonda N birey varsa, söz konusu popölasyonda her bir genin $2N$ kopyası mevcuttur.

— Şimdiki popölasyonda yer alan $2N$ kopyaların tümü geçmişte herhangi bir dönemde var olmuş olan tek bir alelden türemiştir. Buna karşın, günümüzde varlığını sürdüren $2N$ kopyalarından yalnızca bir tanesi, gelecekte bir zaman, popölasyonda bulunan bütün kopyaların atası olacaktır.

— Eğer genlerin tüm $2N$ kopyaları seçim bakımından eşdeğere veya taşıyıcının uyum gücü üzerindeki etkileri açısından tarafsız (nötr) iseler, her birinin popölasyonda sabitlenecek alel olma bakımından şansları eşittir. Bu şans $1/2N$ 'ye eşittir.

— Her nesilde mutasyon popölasyona yeni tarafsız (nötr) aleller katacaktır. Eğer v her bir başarılı gamet başına her bir genin mutasyon oranı ise $2Nv$ her bir neslin popölasyonuna katacağı yeni mutantları olacaktır.

— Yukarıdaki saptamalara dayalı olarak yeni tarafsız (nötr) mutantların popölasyonda sabitlenme oranları $(2Nv)$ $(1/2N)$ veya basitçe v 'ye eşittir.

1.5. Türleşme Mekanizmaları

Bugün yaşayan tüm organizmaların ataları yaşamın ortaya çıktığı yaklaşık 3,8 milyar yıl öncesine dayanmaktadır. O günden bugüne popülasyonların bölünmesi ve yeni türler oluşturmak üzere farklılaşması şeklinde, milyarlarca değilse de milyonlarca dallanma olayı meydana gelmiştir. Mutasyon, doğal seçim, göç ve genetik sürüklenme, popülasyon içi alel frekanslarını değiştiren süreçlerdir ve popülasyonlar arasında genetik farklılaşmaya sebep olurlar.

Türleşmeyi incelemek, yaşam tarihi çalışmalarına bir temel sağlamanın yanında, bazı önemli pratik uygulamalara da sahiptir. İnceleyeceğimiz materyalin çoğu, farklılaşmış organizma grupları arasındaki gen akışının boyutları ve nedenleri (ya da gen akışının olmaması) üzerine odaklanmaktadır. Bu konuları anlamak, biyolojik çeşitliliğin korunması ve gen mühendisliğiyle üretilip çevreye bırakılan organizmaları yönetmek açısından önemlidir (Freeman ve Herron, 2002).

1.5.1 Tür Kavramları

Pek çok tür kavramları ortaya atılmış ise de, hepsi bir türün ayırt edici karakteristiğinin evrimsel bağımsızlık olduğu konusunda uzlaşırlar. Farklı tür kavramları evrimsel bağımsızlığı belirlemek için uyguladıkları ölçütler (kriter) açısından farklıdırlar.

Türleşme üç aşamalı bir süreç olarak analiz edilebilir: (1) Dağılım, vikaryans, ya da poliploidi gibi büyük çaplı kromozomal değişimler nedeniyle popülasyonların izole olması. (2) Genetik sürüklenme veya seçim sayesinde farklılaşma ve (3) İkincil temas ile farklılaşmanın elemesini (eliminasyon) ya da tamamlanması. Bununla birlikte, bu sıraya uymayan çok sayıda istisna vardır. Bazı durumlarda farklılaşmayı sağlayan seçim baskısı o kadar güçlüdür ki popülasyonlar fiziksel yalıtım (izolasyon) olmadan da farklılaşabilir. Ayrıca, ikincil temas olduktan sonra çok çeşitli sonuçların ortaya çıkması olasıdır. Bunlar kararlı hibrit zonların oluşması ve her iki atasal popülasyondan genler içeren yeni bir türün oluşmasını kapsar.

Mutasyon, seçim, göç ve genetik sürüklenme her tür üzerinde ayrı ayrı işlendiği zaman evolüsyoner bağımsızlık ortaya çıkar. Bu, türün kendi alellerinin yayılabileceği bir

sınır oluşturması anlamına gelir. Sonuç olarak; farklı türler bağımsız evolusyoner yörüngeler izler (Freeman ve Herron, 2002).

1.5.1.1. Biyolojik Tr Kavramı

Biyolojik tür kavramına göre, evrimsel bağımsızlığı tanımlayan ölçüt (kriter), üreme izolasyonudur. Yani, eğer popülasyonlar veya organizmalar hibritleşemez veya hibritleşse bile verimli döller vermezlerse o zaman popülasyonlar üreme izolasyonuna sahiptir ve geçerli bir tür olarak kabul edilir. Biyolojik tür kavramı, Ernst Mayr tarafından 1942 yılında ortaya atılmasından bu yana ders kitaplarında verilen tür tanımı olmuştur. Bu kavram pek çok zoolog tarafından pratikte kullanılmaktadır ve Birleşik Devletlerin simgesi haline gelmiş, soyu tehlike altındaki türlerin korunması için atılacak adımları düzenleyen (Endangered Species Acts) temel biyolojik çeşitlilik yasasında uygulanan yasal bir tanımlamadır.

Üreme yalıtımı (izolasyon), gen akışı olmadığının kesin bir kanıtı olduğundan, tür kavramında kullanılabilir gerçekten uygun bir kriterdir. Üreme yalıtımı (izolasyon) evrimsel bağımsızlığın turnusol testidir. Biyolojik tür kavramının şartları kavramsal olarak zorlayıcı ve bazı durumlarda faydalı sonuçlar verse de çoğunlukla uygulanması zordur. Örneğin, eğer komşu popülasyonların yayılışı çakışmıyorsa, bu popülasyonlar arasında üreme izolasyonunun olup olmadığını hiçbir zaman bilemeyiz. Bu yüzden biyologlar şöyle bir somut yaklaşım içerisine girmek zorundadırlar: “Bu popülasyonlar zaten yeter derecede farklılaşmış olduğundan gelecekte bir araya gelseler bile aralarında çiftleşme olmayacaktır ve bu yüzden biz farklı türler olarak adlandırırız.” Bu durumlarda, tür teşhislerini verilerle test etmek mümkün değildir. Bunun dışında, biyolojik tür kavramı fosil formlara uygulanamaz. Eşeysiz üreyen popülasyonlara uygulanması da zaten söz konusu değildir (Freeman ve Herron, 2002).

1.5.1.2. Filogenetik Tr Kavramı

Filogenetik tür kavramına göre, yakın akraba popülasyonlar arasındaki filogeninin ortaya çıkartılması ve en kk monofiletik grupların bulunmasıyla türler belirlenir. Byleyi bir filogenetik ağaçta, türler ağacının u kısımlarını oluşturur.

Filogenetik tür kavramının arkasındaki mantığa göre, eğer popülasyonlar yalıtım (izolasyon) sonucu birbirinden ayrılmışlarsa, sadece özellikler bir filogeni üzerinde popülasyonları ayırt edebilir. Bu popülasyonların, karakterler yardımıyla, filogenetik olarak ayırt edilmesi mümkündür. Başka bir deyişle, filogenetik tür kavramına göre ayrı bir tür tanımlamak için, tanımlayıcı özelliklerinin ortaya çıkışına yetecek kadar uzun süre popülasyonların evrimsel olarak bağımsız olmuş olmaları gerekmektedir. Bu yaklaşımın cazip tarafı, test edilebilir olmasıdır. Türler filogeninin tahmininde kullanılan özelliklerdeki önemli istatistiksel farklılıklar doğrultusunda isimlendirilirler.

Tahminler değişse de genel görüş, filogenetik tür kavramı uygulandığı takdirde bugünkü tür sayısının kolayca ikiye katlanacağı şeklindedir. Filogenetik tür kavramının önde gelen savunucuları bu durumdan rahatsız değildirlere. Bu kavramın savunucuları buna “eğer tür sayısında böyle bir artış olursa bu sadece biyolojik gerçekliliği yansıtır” şeklinde cevap vermektedirler.

1.5.1.3. Morfolojik Tür Kavramı

Paleontologlar, türleri fosiller arasındaki morfolojik farklılıkları esas alarak tanımlarlar. Morfolojik tür kavramının en büyük avantajı, yaygın olarak uygulanabilir olmasıdır. Ancak, dikkatli bir şekilde uygulanmadığında tür tanımlamaları keyfi ve kişiye özgü olabilmektedir. En kötü durum ise, farklı araştırmacılar tarafından yapılan tanımlamaların karşılaştırılabilir olmamasıdır.

Türleri tanımlarken paleontologlar başka sınıtlarla da uğraşmak zorundadırlar. Yumuşak doku anatomileri veya renkleri farklı olan fosil türler ayırt edilemezler. Aynı şekilde, morfolojik olarak benzer fakat ötüş, ısıya ve kuraklığa tolerans, habitat kullanımı veya kur davranışları gibi özellikleri yönünden oldukça farklılaşmış olabilirler. Bunlara kriptik türler adı verilir (Freeman ve Herron, 2002).

1.5.1.4. Alttür Kavramı (*Subspecies*, *ssp.*, *subsp.*)

Türün altında yer alan, bugün için kabul edilen en küçük sistematik kategoridir. Mayr'e göre alttür; türün diğer benzeri alt bölümlerinden taksonomik olarak farklı ve

coğrafi olarak sınırlandırılmış olan mahalli popülasyonlara ait bir topluluktur. Bu tarife göre;

1. Alttürün coğrafi olarak tarif edilmesi gerekir ve alttürün yayılış sahası türün coğrafi yayılış sahası içinde bulunur.

2. Alttürler genellikle bir tek popülasyondan teşkil edilmeyip, popülasyon topluluklarından yapılmıştır. Çok nadir durumlarda bir alttür, hatta bir tür tek bir popülasyondan ibaret olabilir.

3. Diğer benzeri gruplardan taksonomik olarak ayrılabilmelidir. Bu sebepten, herhangi bir hayvan grubuna, bilinen bir türün yeni bir alttürüdür diyebilmek için, o türün bilinen popülasyonlarından hangi taksonomik karakterler bakımından farklı olduğu kesin ve net olarak belirtilmelidir. Ayırıcı veya farklılığı gösterici taksonomik karakterler kalitatif (nitelik olarak) ve kantitatif (sayısal olarak ölçülebilen) olarak belirtilebilecek özellikler olmalıdır. Renk ve desen özellikleri kalitatif, bütün ölçülebilen karakterler ise kantitatifir.

Alttürler taksonomik bir kaide olarak üç isimle isimlendirilirler ve bu duruma trinomial isimlendirme denilir. Mesela; *Triturus vulgaris kosswigi*, *Mertensiella luschani finikensis*, *Anguis fragilis colchicus* gibi.

Herhangi bir tür monotipik olduğu takdirde, onun alttürü yok demektir. Alttürler ancak politipik türler için söz konusudur ve politipik bir türün belirli bir sahada birden fazla alttürü bulunamaz, çünkü aynı sahada yaşayan fertler aynı gen havuzuna sahip olduklarından üreme yalıtımı (izolasyon) söz konusu değildir. Monotipik olarak bilinen bir türün yeni bir alttürü bulunarak politipik hale geçmesi söz konusu olduğunda monotipik tür ismi nominant alttürün ismi olur (Yılmaz, 1997).

Alttürler normal olarak kendine ait özel bir coğrafi alanı işgal ettiğine göre birçok sistematikçinin kabul ettiği şekilde bu durum aynı zamanda bir coğrafi ırk demektir. Dünyadaki ekolojik şartlar bakımından birbirinin tamamen aynısı olan iki coğrafi saha bulunmayacağından her alttür teorik olarak farklı ekolojik şartlarda yaşıyor ve oraya uyum göstermiş demektir. Bu durumu göz önünde tutan bazı sistematikçiler ekolojik ırk tabirini kullanırlar. Coğrafi ırkta esas olan mesafe olduğu halde, ekolojik ırkta esas olan farklı çevre şartlarına sahip olmadır. Sıcakkanlı ve çevre değiştirme kabiliyetleri yüksek olan hayvanlar ekolojik şartlar bakımından çok fazla sınırlandırılmayacağından bunlar coğrafi ırk kabul edilir. Ancak fazla yer değiştiremeyen, çevre şartlarına çok bağımlı soğukkanlı hayvanlar için ekolojik ırk veya ekotip tabiri daha uygun görülmektedir. Mesela; coğrafi olarak birbirine çok yakın bir bölgedeki bataklıkta, çayırdaki ve ormanlık sahada yaşayan bir

gastropod türü *Arianta arbustorum*'un her üç biotopta farklı bir alttürü yaşar. Ekotipler özellikle habitata ait şartlar tarafından meydana geliyor ve fenotipteki değişkenliklerin genetik bir temeli yoksa bunlara ekofenotip denir. Özellikle tatlı sularda yaşayan salyangoz ve midyelerde sıklıkla rastlanan bu durumun tespit edilmesiyle çok sayıdaki alttürün yanlış olduğu anlaşılmış ve sadece biyotop özelliklerine bağlı olup, genotip karşılığı olmadan meydana gelen fenotipik farklılıkların ayrı tür veya alttür yapılmasının önüne geçilmiştir (Yılmaz, 1997).

Mayr ve bazı sistematikçiler ekolojik ırk yerine mikro coğrafik ırk terimini de kullanırlar, çünkü coğrafik olarak çok fazla bir mesafe olmamakla birlikte ekolojik şartların farklı olduğu çok kısa mesafeler söz konusudur. Dolayısıyla her coğrafi ırk aynı zamanda bir ekolojik ırk ve her ekolojik ırk da mesafeye bağlı olarak coğrafi veya mikrocoğrafi ırktır (Yılmaz, 1997).

Neticede ister coğrafi ırk, ister ekolojik ırk, isterse biyolojik ırk olsun hepsi de alttür kategorisi içinde kabul edilirler. Genellikle biyolojik ve ekolojik ırklar nadir olmalarına karşılık, coğrafi ırklar çok yaygındır (Yılmaz, 1997).

1.6. İzolasyon Mekanizmaları

Türleşme üç-evreli bir süreç olarak analiz edilebilir: ilk basamak popülasyonun izole olma süreci, ikinci basamak çiftleşme taktikleri ve habitat kullanımını gibi özelliklerin değişime uğramasıyla sonuçlanan süreç ve son basamak ise üreme izolasyonunu oluşturan süreçtir.

1.6.1. Fiziksel İzolasyon

Fiziksel izolasyon, gen akışını durduran önemli bir bariyerdir ve şüphesiz türleşme sürecinin ikinci basamağı olan genetik ve ekolojik farklılaşmayı başlatan önemli bir tetikleyicidir. Coğrafi yalıtımın (izolasyon) ortaya çıkışı, dağılıma ve yeni bir habitata yerleşme yoluyla ya da vıkaryans olayları yani mevcut bir dağılım alanının yeni bir fiziksel bariyer ile bölünmesi yoluyla olabilir (Freeman ve Herron, 2002).

1.6.2. Vikaryans Yoluyla Coğrafik İzolasyon

Vikaryans türün yayılış alanını, birbirinden izole olmuş iki veya daha fazla alana bölerek aralarındaki gen akışını engelleyen olaydır. Vikaryansın pek çok mekanizması vardır, bu mekanizmalar dağların yükselmesi ve ormanlık alanların bölünmesine neden olan uzun süreli kuraklıklar gibi yavaş süreçli olabileceği gibi, bir salyangoz popülasyonunun ikiye bölünmesine neden olabilen kilometrelerce uzunluktaki lavlar gibi hızlı süreçlerde olabilir (Freeman ve Herron, 2002).

1.6.3. Kromozomlarda Değişiklikler

Eğer bir mutasyon bir bireyin kromozomlarında büyük çapta değişikliğe neden olursa, bu olay mutasyona uğramış bireyin meydana getireceği döllerin ata popülasyondan hızlı ya da ani izolasyonuna sebep olabilir.

Yakın akraba türlerin karyotipleri karşılaştırıldığında, küçük çapta kromozomal değişiklikler oldukça yaygındır. Böylesine mutasyonlar, popülasyonlar arasında genetik farklılaşmaya neden olması açısından önemli olabilse de (White, 1978), bugüne kadar kromozom farklılaşması üzerine yapılan ayrıntılı çalışmaların büyük bir kısmı nadiren korelasyon göstermektedir (Freeman ve Herron, 2002).

1.7. Varyasyon ve Varyasyonun Nedenleri

Bir popülasyon çok sayıdaki bireylerden meydana gelir. Her insanın kendine özgü anatomik ve fiziksel özelliklerinin olduğu, farklı yetenek ve davranışsal özelliklere sahip bulunduğu bilinmektedir. Aynı şekilde, yakından tanıdığımız köpeklerde, kedilerde ve atlarda da bu gibi bireysel varyasyonların (farklılıkların) olduğu çok iyi görülmektedir. Fakat nar bülbülü, sincaplar, toprak solucanları, denizyıldızları, karahindiba ve mısır bitkisi gibi uzaktan tanıdığımız türlerdeki bireysel varyasyonlara genellikle dikkat etmeyiz. Bütün bu fenotipik varyasyonlar tüm canlılarda görülür ve genellikle bireylerin genetik yapılarındaki farklılıklardan kaynaklanmaktadır. Bu nedenledir ki, varyasyonları genetik ve fenotipik varyasyonlar diye ayırmak mümkündür (Bahçeci, 2000).

1.7.1. Genetik Varyasyon

Genetik varyasyonun meydana çıkarılması zor bir iştir; ancak çeşitli tekniklerin kullanılmasıyla mümkün olmaktadır. Bu tekniklerden bazıları: kendileştirme baskısı, protein ve kromozomal polimorfizm, DNA sekansı polimorfizmi'dir.

1.7.1.1. Kendileştirme Baskısı

Genetik varyasyonu ölçmenin yollarından birisi, popülasyondaki alellerin hangi fonksiyonlarının zararlı olduğunun saptanmasıdır. Zararlı aleller, kendileşmenin bir sonucu olan homozigotlukta artışın gözlenmesiyle araştırılabilir. Kendileşme ile önceden heterozigot durumda bulunan resesif aleller homozigot duruma geçecekler ve eğer bu aleller zararlı iseler, kendileştirme baskısı olarak ifade edilen yaşama yeteneğindeki azalma, sonraki nesillerde ortaya çıkacaktır (Bahçeci, 2000).

Zararlı aleller heterozigot durumda muhafaza edildiklerine göre, elbette ki nötr ya da potansiyel olarak avantaj sağlayan aleller heterozigot durumda muhafaza edilecek ve popülasyonları karakterize eden normal heterozigot genotipler içerisindeki gizli genetik varyasyonu temsil edeceklerdir (Bahçeci, 2000).

1.7.1.2. Protein Polimorfizmi

Mendel genetiğinin kullanılmasıyla genetik varyasyonun ortaya konması hem yorucu ve hem de uzun süre gerektiren bir iştir. Bunun yerine, jel elektroforezi tekniği daha kısa zaman içerisinde, elektrik yüklerinin farklılığından yararlanılarak protein moleküllerinin birbirlerinden ayırt edilmesinde güvenilir bir şekilde kullanılmaktadır. Örneğin yapısal bir gendeki varyasyon glutamik asit gibi yüklü bir aminoasidin glisin gibi yüksüz bir amino asidin yerini almasıyla sonuçlanıyorsa, protein üzerindeki net yük değişecektir; yükteki bu değişim ise elektroforez ile ortaya çıkarılabilecektir (Bahçeci, 2000).

Bir lokusa ait iki alel hafifçe farklı elektroforetik form meydana getirdikleri zaman, yani henüz aynı fonksiyon gerçekleştirildiği zaman meydana gelen proteinler allozimler diye isimlendirilir. İncelenen farklı türlere ait lokusların büyük bir oranı, sürpriz bir şekilde allozimleri meydana getirmektedir. Elektroforezis, muhtemelen aminoasit substitüsyonuna

(aminoasitlerin birbirinin yerine geçmesi) bağlı gerçek varyasyonun sadece %30'unu ortaya koymaktadır; çünkü birçok substitüsyon olayı, molekül üzerindeki net elektrik yükünü değiştirmemektedir (Bahçeci, 2000).

1.7.1.3. Kromozomal Polimorfizm

Herhangi bir canlı türü için kromozom sayısı sabit olmakla beraber, inversiyonlar ve translokasyonların meydana gelmesine bağlı olarak türün kromozom materyalinin düzenlenmesi genellikle polimorfiktir.

İnversiyonlar alel frekanslarını değiştirmedeği gibi, onun varlığı herhangi bir yeni genin oluşumuna da yol açmaz. Ancak, inversiyon krosingoverli gametlerin gözlenmesini engeller. Böyle olunca, inversiyonlar, ilgili kromozomun inversiyon yapan kısmı boyunca sıralanmış özellikli alelleri koruma eğilimi gösterirler. Bu nedenle, eğer bir türde inversiyonlar varsa, inversiyon heterozigotlarının lehine işleyen selektif bir etkinin ortaya çıktığına inanılır. Bir başka ifadeyle, inversiyon elverişli bir gen düzenlenmesini koruyarak popülasyonun özellikli bir habitata uyumunu kısmen de olsa sağlar. Bu durumda linkaj (gen bağlantısı), seleksiyon için olası bir ölçüt durumuna gelir.

Heterozigot translokasyonların genellikle subfertil olmaları ve %50 oranında anormal gametleri meydana getirmeleri nedeniyle, onlar genetik varyasyonu azaltırlar. Translokasyonlar hayvan popülasyonlarında nadir olarak görülürlerse de, heterozigot translokasyonlar birçok bitkide bulunmaktadır (Bahçeci, 2000).

1.7.1.4. DNA Baz Dizisi Polimorfizmi

Genetik varyasyonu ortaya koymanın en kestirme yolu, bir popülasyonun bireyleri arasında DNA'larının baz dizilişindeki gerçek farklılaşmayı incelemektir.

Genetik varyasyonun sebeplerine bakıldığında; eşeyssel olarak çoğalan organizmalarda varyasyonun üç temel kaynağı vardır. Bunlar mayoz bölünme sırasında ortaya çıkan krosingover, haploid gametlerin birleşmesi, yani eşeyssel rekombinasyon ve mutasyondur. Bunlardan ilk ikisinin yeni alellerin oluşumuna herhangi bir etkileri yoktur; ancak onlar var olan alellerin yeni birleşimler meydana getirmesine yol açarak varyasyonlara sebep olurlar.

Bunlara karşılık nokta mutasyonları ve ekzon rekombinasyonu gibi büyük ölçekli mutasyonlar yeni alellerin oluşmasını sağlayan potansiyel kaynaklardır.

Birlikte ele alındığında, bütün bu işlemler, yeni alelleri ve yeni gen birleşimlerini meydana getirerek yeni genetik değişkenliklere sebep olurlar ve bunların üzerine de doğal seleksiyon etki ederek evolüsyoner değişimleri başlatır (Bahçeci, 2000).

1.7.2. Fenotipik Varyasyon

Doğal seleksiyon sadece, fenotipte ifade edilen genetik varyasyonlar üzerinde etkili olabilir. Bir populasyon içerisindeki herhangi bir fenotipik varyasyon iki birey arasında reproduktif farklılaşmaya sebep olabilir. Örneğin, gelişim sırasında farklı çevresel koşullara, bir hastalığa veya kazaya maruz kalma sonucu ortaya çıkan varyasyon doğal seleksiyondan etkilenir. Eğer, küçük bir popülasyonda, nadir bulunan alellerin taşıyıcısı, bir kaza sonucu ölürse, popülasyonun gen frekansları değişecektir.

Buna karşılık, somatik mutasyonlar tarafından meydana getirilen varyasyonlar evolüsyoner değişimler için ham materyal olmaz. Örneğin, bir hayvanın gelişimi sırasında, erken embriyonik dönemde ektodermal bir hücrede önemli bir mutasyonun olması mümkündür. Bu mutant hücreden meydana gelecek bütün hücreler aynı mutant tipte olacaktır. Bunun sonucunda, hayvanın sinir sisteminde önemli bir değişiklik meydana gelecek, fakat bu değişim hayvanın yavrularına geçemeyecektir; çünkü ektoderm hücreleri gametleri verecek olan ana hücreler değildir. Bu nedenle, somatik mutasyonlar tarafından meydana getirilen varyasyonlar üzerinde doğal seleksiyon iş görmeyecektir.

Doğal seleksiyon yoluyla evölüsyon teorisi, 19. yüzyılda J.B. Lamarck'ın kazanılmış karakterlerin katılımı yoluyla evölüsyon görüşüne rakip olarak ortaya çıkmıştır. Lamarck, bir bireyin yaşama süresince kazanmış olduğu somatik karakterlerin kendi yavrularına aktarıldığını düşünmekteydi. O'na göre her neslin özellikleri vücut parçalarının kullanılması ve kullanılmaması sonucu ortaya çıkan modifikasyonlar tarafından belirlenmekte ve sonraki nesillere aktarılmaktaydı. Lamarck'a göre evölüsyoner değişimler, birçok nesil boyunca kazanılan bu gibi modifikasyonları tedrici olarak birikmesiyle olmaktadır ve bunun en klasik örneği uzun boyunlu zürafaların evölüsyonudur.

Lamarck'çı görüşe göre, kısa boyunlu atasal zürafalar, beslenmek amacıyla boyunlarını ağaçların yapraklarına erişecek şekilde uzatmak durumundaydılar. Boynun bu şekilde sık sık uzatılması onların yavrularının boyunlarının da azar azar uzamasına sebep olmuştur. Daha yuksekteki ve daha yeşil yapraklara ulaşmak için boynun sürekli olarak uzatılmasının sonucu olarak, her nesil kendinden önceki nesilden daha uzun boyunlu olmuştur.

Diğer taraftan, C. Darwin'in doğal seleksiyon teorisi, atasal zürafaların muhtemelen kısa boyunlu olduklarını fakat boynun uzunluğunun -farklı genotiplere sahip olmaları nedeniyle- bir bireyden diğerine değiştiğini ileri sürer. Beslenme bakımından ortam koşullarında bir olumsuzluk ortaya çıktığında, daha uzun boylu zürafalar yaşamlarını sürdürmek ve yavru vermek, yani nesillerini devam ettirmek açısından daha avantajlı bir duruma geçmişlerdir. Bu, bütün kısa boyunlu bireylerin telef olduklarını ya da bütün uzun boyunlu bireylerin yaşamlarını sürdürerek çoğaldıklarını ifade etmez; fakat uzun boyunlu olanların oransal olarak daha çok sayıda hayatta kaldıklarını ve yavru bıraktıklarını ifade eder. Sonuç olarak, uzun boyunlu olmayı sağlayan genlere sahip olan bireylerin oranı müteakip nesillerde giderek artmıştır. Ağaçlar üzerindeki besinlere ulaşma bakımından rekabetin artması uzun boyunlu bireyler için selektif bir avantaj sağlamış ve zürafaların evölüsyonu böylece devam etmiştir (Bahçeci, 2000).

1.8. DNA Dizin Analizi Sonucunda Evrimsel Ağaçların Oluşturulması

Bir grubun gelişimsel tarihi onun filogenisi olarak adlandırılır. Bir filogenetik ağaç, bu tarihin grafiksel bir özetidir. Ağaç, dallanma olaylarının modelini ve bazı durumlarda zamanını tanımlar. Türleşme sırasını kaydeder ve hangi taksonların yakın ya da uzak akraba olduklarını belgeler.

Filogeni tahmininde ilk adım, filogenetik olarak bilgi verici karakterlerin seçimi ve ölçülmesidir. Filogenetik çalışmalarda kullanılacak moleküler ve morfolojik karakterler, bağımsız, homolog, çalışmadaki taksonlar arasında farklılık gösteren ve homoplasiye dirençli olmak zorundadırlar. Filogenetik çalışmalarda ikinci adım, eldeki verinin analizinde parsimoni, maksimum olasılık, uzaklık ya da bayesian metotlarından hangisinin en uygun olduğuna karar vermektir (Freeman ve Herron, 2002). Parsimoni yaklaşımları, her bir karakterdeki değişme modelini oluşturmak yoluyla karakter durumu değişmez

sayısı en az olan durumlara uygulanır. Bu işlem her bir aday ağaç üzerinde her bir karakter için tekrarlanır. Birkaç farklı bilgisayar algoritması oldukça çok sayıdaki olası ağaç arasında tarama yapmak ve bunları değerlendirmek için uygulanmaktadır. Parsimoni kriterine göre, örneğin en iyi ağaç, mevcut veri için değişmez sayısı en küçük olanı (tüm karakterler için) ortaya koyan ağaçtır. Daha sonra, çeşitli istatistiksel teknikler tüm ağaç ya da belli kladlar (monofiletik grup) için destek derecesini değerlendirmede kullanılır (Freeman ve Herron, 2002). Maksimum olasılık; dizi verilerinde gözlenen varyasyonu açıklayan en iyi ağacı bulmak için olasılık hesaplarını kullanır, bütün olası ağaçları inceler, farklı soylarda (lineage) mutasyonları içeren ağaçları değerlendirebilir, hesaplamalarda baz dizisi kompozisyonunda varyasyona izin veren evrimsel modeller kullanabilir (Felsenstein, 1981).

Filogenetik düşünce, evrimsel biyolojide HIV (Human Immunodeficiency Virus) bulaşmasından yaşam çeşitliliğini sınıflandırma sistemlerine kadar çok çeşitli problemlere uygulanmaktadır. Filogenlerin bilgi verici olarak kullanımları, fosil kayıtlarda iyi belgelenmemiş olayların zamanlarının saptanması, filogeni oluşturmada kullanılan karakterler dışında kalan karakterlerin evrimleşme modeli ve oranı çalışmaları ve birlikte-evrim çalışmalarını kapsamaktadır (Freeman ve Herron, 2002).

1.8.1. MrModeltest v. 2. 3 ile Evrimsel Baz Değişim Modelinin Bulunması

DNA dizilerinin analizinde, özellikle filogenetik ağaçların oluşturulmasında ve evrimsel parametrelerin tahmininde baz değişim modelleri sıkça kullanılır. Bir araştırmacının genelde karşılaştığı problem, objektif olarak doğru modeli seçmesidir. MrModeltest v. 2.3 (Nylander, 2004) baz değişiminin en iyi modelini istatistiksel yolla çözen bir bilgisayar programıdır. MrModeltest hem PAUP*4 (Swofford, 1998) hemde MrBayes v. 3'de uygulanan nükleotid baz değişim modellerinin yaklaşık AIC ya da AICc değerlerini hesaplamak ve hiyerarşik olasılık oran testlerini yapmak içindir. MrModeltest, PAUP programı tarafından oluşturulan olasılık skor değerlerini (.scores dosyası) kullanan bir çalışma prensibine sahiptir (Posada, 2003).

MrModeltest v. 2.3 David Posada'nın Modeltest v. 3.6'nın değiştirilmiş bir sürümüdür. Yani, MrModeltest v. 2.3 56 nükleotid baz değişim modelinin yerine 24 nükleotid baz değişim modelini karşılaştırabilmek için tekrardan yazılmıştır ve bu 24

modelin tümü MrBayes v. 3'de uygulanabilir. Ayrıca, MrModeltest olasılık oran testleri için dört farklı hiyerarşi kullanmaktadır (Şekil. 4a-d).

MrModeltest, en uygun baz değişim modelini hesaplanan hLRT (Hierarchical Likelihood Ratio Tests) veya AIC (Akaike Information Criterion) değerlerine göre karar verir. hLRT veya AIC sonuçlarının hangisinin kullanılacağı isteğe bağlıdır.

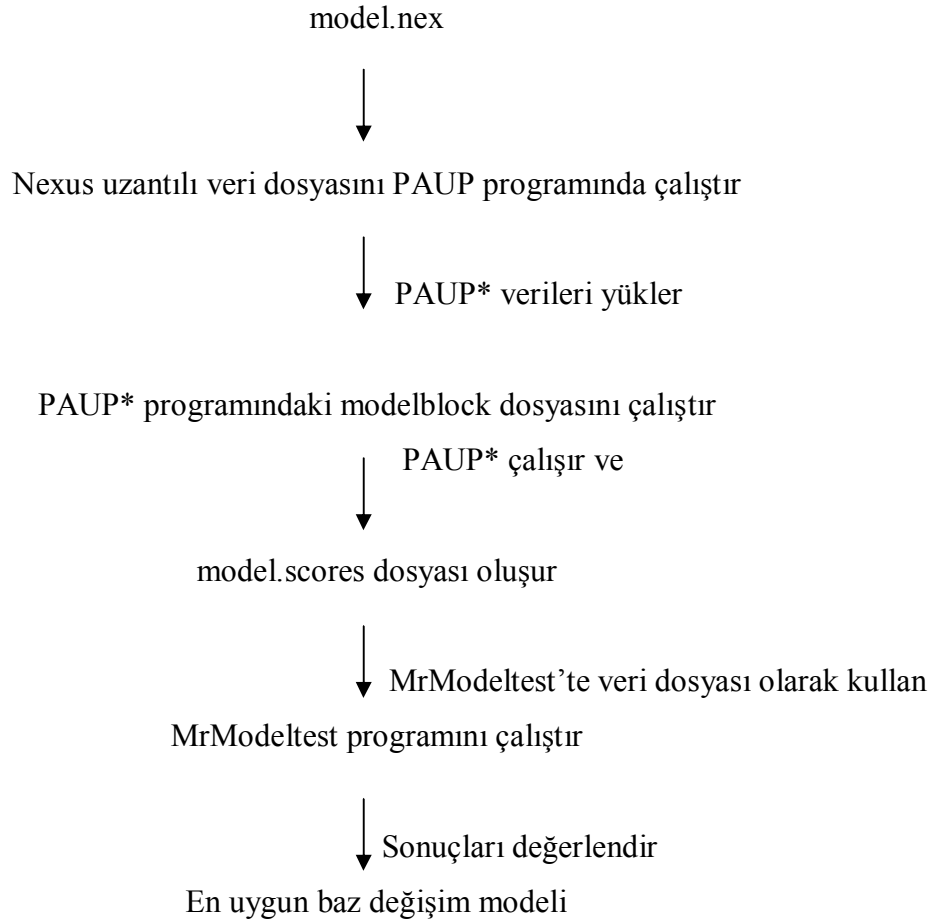
$$LRT = 2(\ln L_1 - \ln L_0)$$

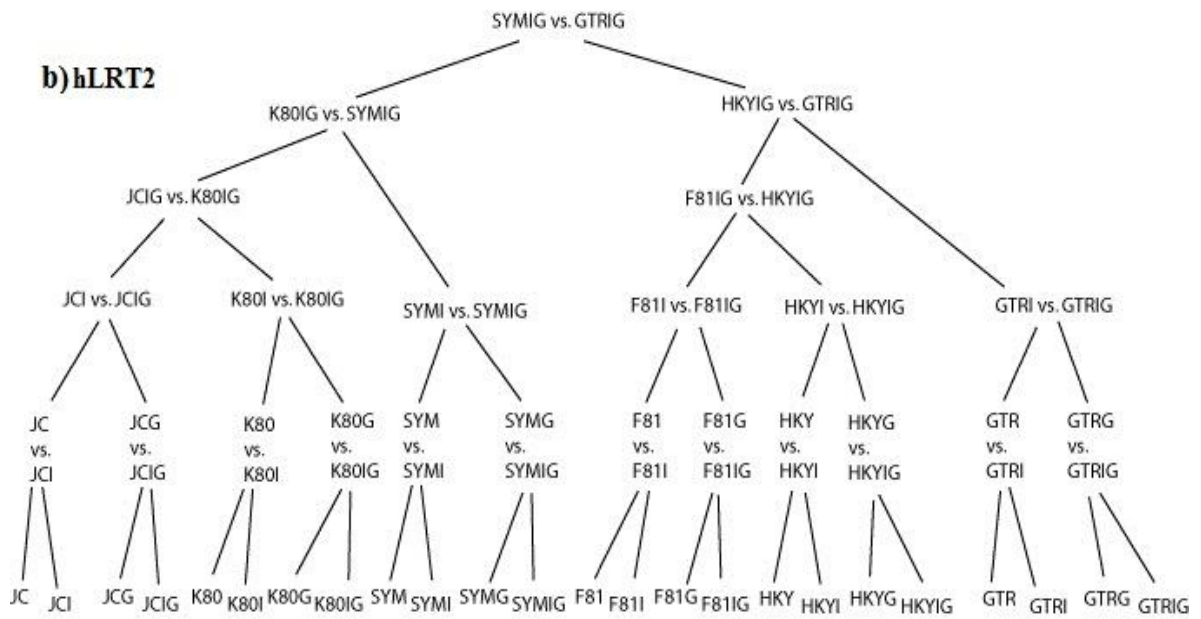
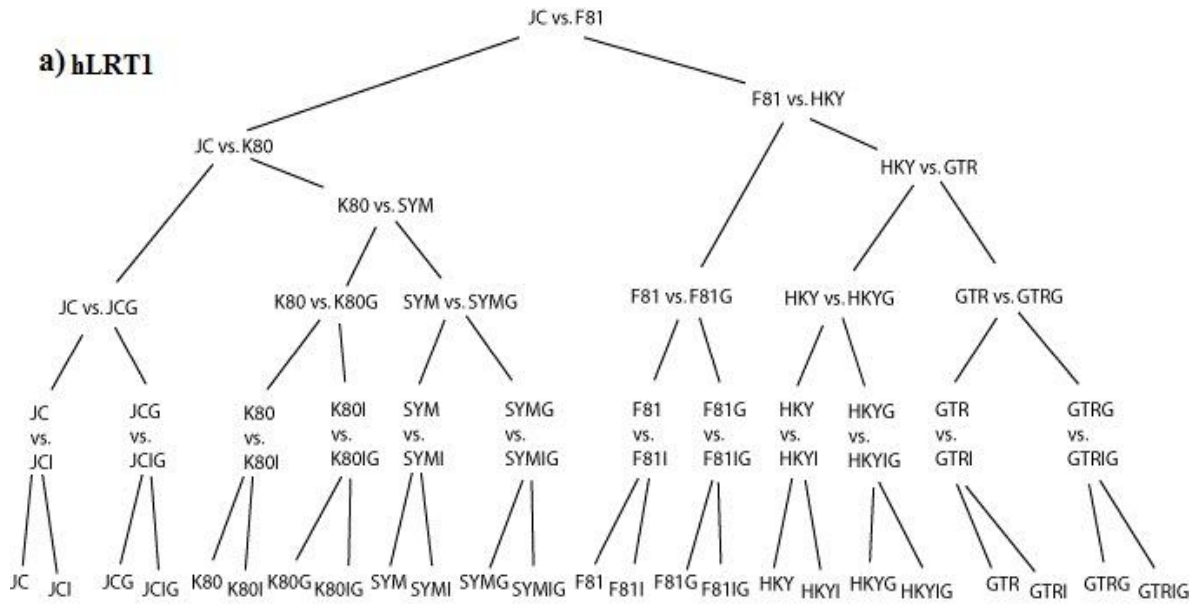
L_1 = daha karmaşık olan modelin olasılığı (alternatif hipotez)

L_0 = Basit olan modelin olasılığı (sıfır hipotezi)

LRT değeri her zaman sıfıra eşit veya ondan büyüktür. LRT değeri sıfıra yaklaştıkça karmaşık modelin uygunluğu azalıyor demektir. AIC (Akaike, 1974) bir modelin doğruluğu araştırılırken kaybolan bilginin ölçüsüdür. AIC değeri ne kadar küçükse model, o veri setine o kadar uygun demektir (Posada, 2003).

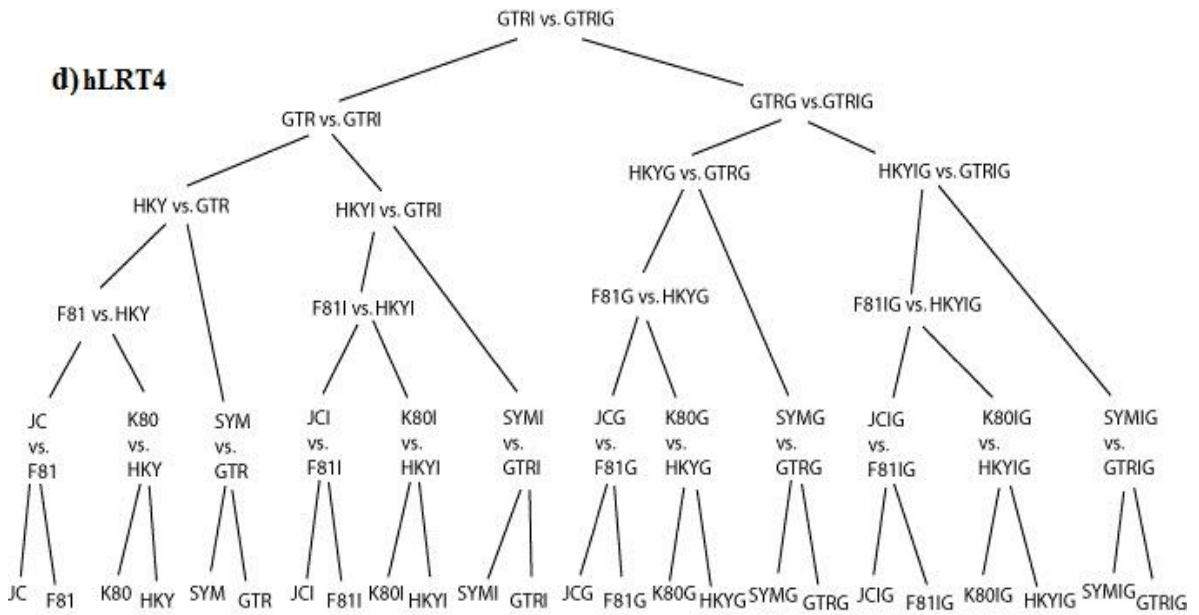
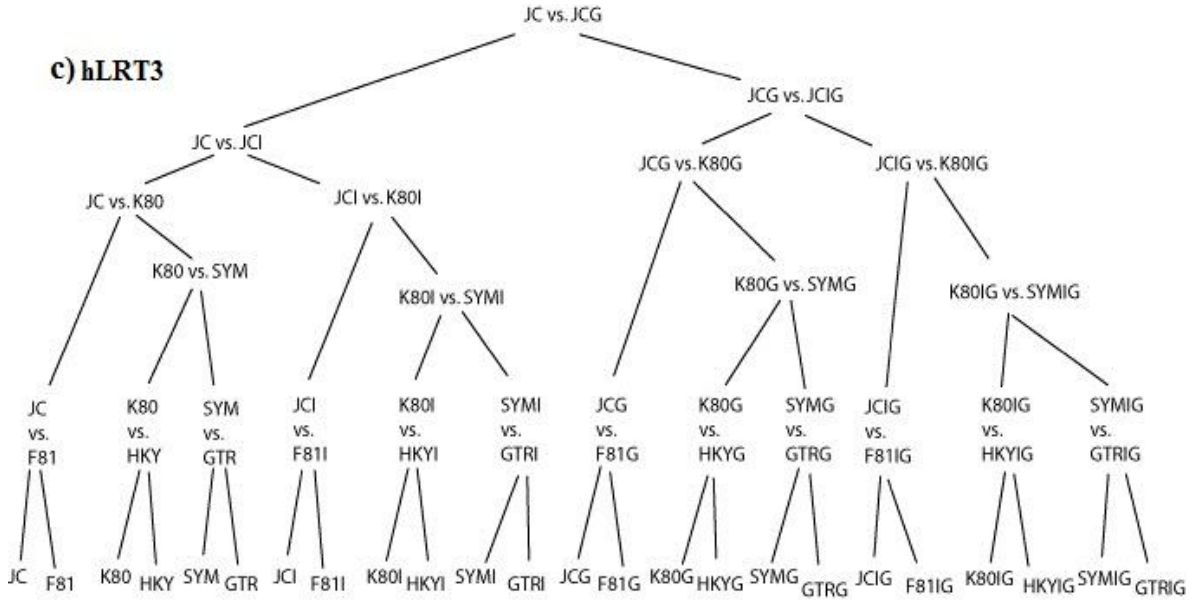
MrModeltest'in çalışma prensibi;





Şekil 4. MrModeltest v. 2.3'de kullanılan hiyerarşiler (Posada ve Crandall, 2001).

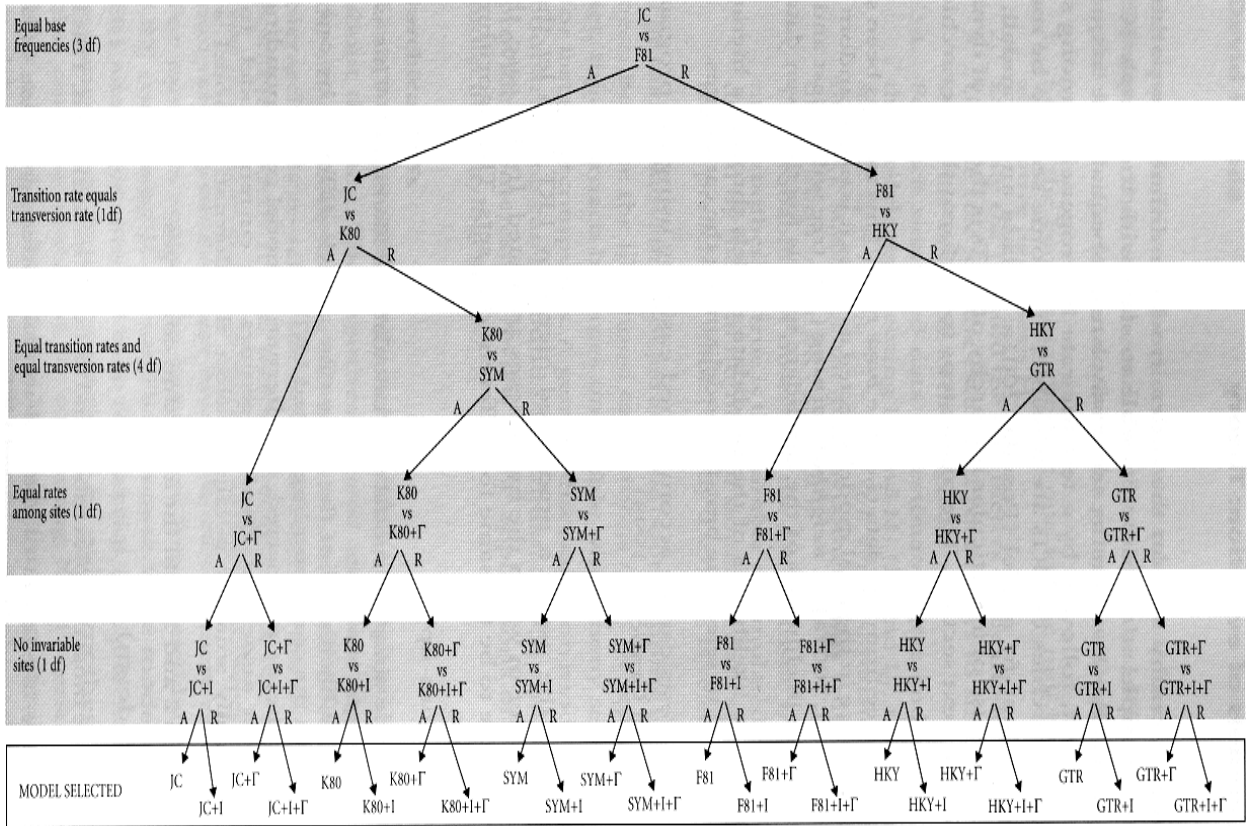
Şekil 4'ün devamı



1.8.1.1. MrModeltest v. 2. 3'deki Baz Değişim Modelleri

Uygun baz modeli, olası modellerin birçok hipotezinin hiyerarşik olarak test edilmesiyle bulunur. Bu hipotezler; Baz frekansları eşit mi? Transisyon / transversiyon (ti / tv) eğilimi var mı? Transisyon oranları eşit mi? Değişmeyen (sabit) bölgeler var mı?

Bölgeler arasında oransal homojenlik var mı? Örneğin; baz frekanslarının eşit olup olmadığını test etmek için JC ile F81, LRT ile karşılaştırılır. Çünkü iki model arasındaki tek fark, F81 modelinde eşit olmayan baz frekansları (alternatif hipotez) söz konusuysen JC modeli eşit baz frekansları üzerine (sıfır hipotezi) kurulmuştur. Olası modellerin hiyerarşik olasılık oran testleri ile karşılaştırılması Şekil 5’de gösterilmiştir.



Şekil 5. 24 baz değişim modelinin karşılaştırılması (Salemi ve Vandamme, 2003). DNA baz değişim modelleri; JC (Jukes ve Cantor, 1969), K80 (Kimura, 1980), SYM (Zharkikh, 1994), F81 (Felsenstein, 1981), HKY (Hasegawa vd., 1985), ve GTR (Rodriguez vd., 1990). Γ = bölgeler arasındaki heterojenlik, I = sabit bölgelerin oranı, df: serbestlik derecesi.

1.8.2. TCS Analizi

TCS, DNA baz dizileri dikkate alınarak genlerin soyağacını (seceresini) tahmin etmede kullanılan bir bilgisayar programıdır (Templeton vd., 1992). Bu metot maksimum parsimoni, maksimum olasılık, neighbour joining gibi geleneksel yöntemlerle birlikte

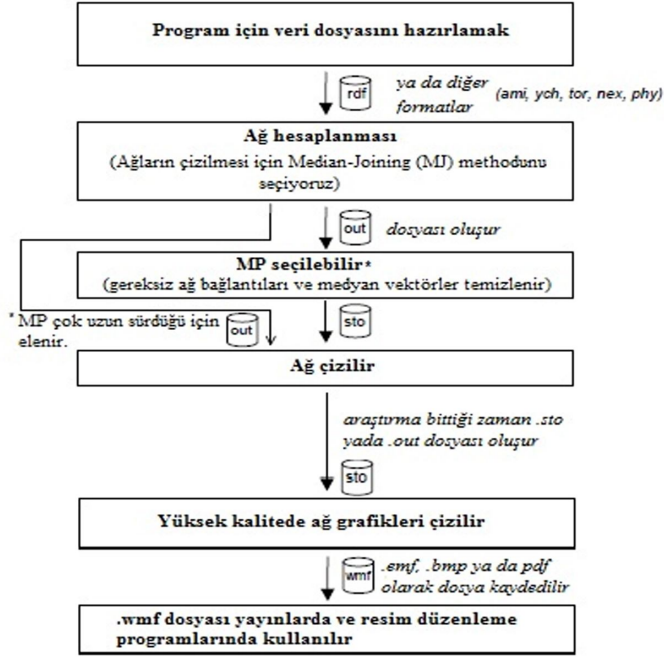
kullanılan tür içi varyasyonu gösteren bir analizdir ve TCS adı verilen bir paket program kullanılır (Clement vd., 2000).

TCS programı Nexus (Madison vd., 1997) veya PHYLIP (Felsenstein, 1991) formatındaki DNA dizin dosyalarını açar. Haplotipleri bulur ve örnek içindeki frekanslarını hesaplayarak haplotipler arasındaki ikili uzaklık matrislerini oluşturur. Parsimoni metoduna dayanır ve haplotipleri bir ağ şeklinde birbirine bağlar. Analiz sonucunda sekanslar, ikili uzaklık matrisleri, % 95'lik sınırın ötesindeki mutasyonel adımların parsimoni olasılıkları ve ağ şeklinde bir grafik dosyası olarak ortaya çıkar (Clement vd., 2000). TCS, Java formatında yazılmış bir programdır ve oluşturulan ağ Postscript dosyası olduğundan, görmek için başka grafik programlarına ihtiyaç duyar.

1.8.3. Filogenetik Network 4.6.0.0 Analizi

DNA nükleotit dizileri, Protein amino asit dizileri, STR yada microsatellit gibi verilerin evrimsel ilişkilerini ağ şeklinde gösterir. Büyük veri dosyalarının network analizinden önce "Star Contraction" işlemi uygulanarak bazı veriler gruplandırılır ve temel iskelet network çizilebilir. Network çiziminde iki tip metot kullanır. Bunlar; Reduced Median (İndirgenmiş ayırıcı) networks ve Median-Joining (Ayırıcı birleşme) networks.

İndirgenmiş ayırıcı (RM) ikili veriyi kullanır (T yada C). Ayırıcı birleşme (MJ) ise tüm veri tiplerini kullanır (A, T, G ve C). Programın çalışma prensibi Şekil 6'daki gibidir.



Şekil 6. Network programının genel iş akış şeması.

1.8.4. Bayesian Analizi

MrBayes programı (Posada ve Crandall, 1998) John Huelsenbeck tarafından yazılmıştır ve Bayesian analizi olarak bilinir. Nexus formatındaki veri dosyalarını okur, Modeltest sonucunda bulunan en uygun baz değişim modelinin kullanılmasına izin veren bir programdır. Öncelikle ağaç topolojilerinin bir dağılımını oluşturur ve daha sonra Markov Chain Monte Carlo (MCMC) metotlarını kullanarak ağaç topolojilerinin son dağılımını oluşturur.

1.9. Filogenetik Analizler

1.9.1. Maksimum Parsimoni

Evrimsel akrabalık ilişkisini belirlemenin en temel düzeydeki mantığı basittir: En yakın akraba taksonlar en fazla ortak özelliğe sahip olmalıdırlar. Üzerinde çalışılan taksonlar arasındaki değişken, kalıtsal ve biri diğerinden bağımsız her bir özellik ya da

karakter, kimin kimden geliştiğini ortaya koymak için bize yardım eder. Bu karakterler; DNA dizisi, belli iskelet elementleri ya da çiçek kısımlarının varlığı ya da yokluğu gibi özellikler olabilir. Tek koşul, farklı karakterlerin birbirlerinden bağımsız olmaları ve her birinin çalışılan tüm türlerde homolog bir karakter durumu olarak kodlanabilmeleridir (Freeman ve Herron, 2002).

Ancak çalışılacak karakterleri seçerken evolüsyoner akrabalık ilişkilerinin, sadece ortak bir atadan geldikleri için benzer olan özelliklerin yardımıyla açıklanabileceğini kavramak gerekir. Bu paylaşılan türemiş karakter durumları, grubun bütün üyelerinin ortak atasındaki karakter durumlarında bir değişime bağlı olarak ortaya çıkan benzerliklerdir. Böyle ortak bir atadan değiştikleri için paylaşılan özellikler sinapomorfi olarak bilinirler (Freeman ve Herron, 2002).

Parsimoni, olası birçokları arasından hangi dallanma modelinin evrimsel tarihi en doğru biçimde yansıttığını tanımlamada bir yaklaşım sağlar. Parsimoniye göre tercih edilen ağaç, açığa çıkmış olan evrimsel değişimin toplam miktarını en aza indirgeyen ağaçtır. Parsimoniyi davet eden mantık basit ve zorlayıcıdır. Birçok durumda, konvergens ve geriye dönüşün, ortak bir atadan gelen değişime bağlı olan benzerliğe oranla daha az olacakları varsayılabilir. Öyleyse en parsimonik ağacın, veriden elde edilen homoplasi (konvergens ve geriyedönüş) miktarını azaltacağını ve bunun çalışılan türler arasındaki gerçek filogenetik akrabalığın en iyi tahmini olacağını söylemek mümkündür (Freeman ve Herron, 2002).

1.9.2. Maksimum Olasılık ve Genetik Uzaklık

Parsimoni metotlarının bir sakıncası bir araştırmacıya sunulan bütün bilgiyi kullanamamasıdır. Moleküler filogeniler için olasılık yaklaşımı şu soruyu sormaktadır: Farklı tipteki nükleotid değişikliğinin açığa çıkma olasılıklarını tanımlayan bir matematiksel formül ve dal uzunlukları bilinen belli bir ağaç verildiğinde, bu belli DNA dizisi setini elde etme olasılığı nedir? Bu stratejiyi hayata geçirmek için, bir bilgisayar programı her ağaç topolojisini değerlendirir veya gözlenen verinin oluşturulması olasılığını hesaplar. Eğer ağaç doğruysa her dalın oluşturulma olasılıkları toplamı gözlenen verinin oluşturulması olasılığını temsil eder. Bu olasılık ağaçların olasılığı olarak rapor edilir. Öyleyse, yarışan ağaç topolojilerinin kabul ya da reddi için kriter en yüksek olasılığı olan

ağacı seçmektir. Maalesef, olasılık metotları hesaplamada yavaştırlar ve bu teknikle çok büyük veri setleri, daha hızlı parsimoni metotları kullanılarak yapıldığı kadar kapsamlı analiz edilemezler (Freeman ve Herron, 2002).

Oldukça radikal bir yaklaşım, karakterler verisini (morfolojik bir özelliğin varlığı veya yokluğu ya da bir gendeki homolog bir bölgede bir nükleotidin kimliği gibi) bir uzaklık değerine dönüştürmektedir. Örneğin, iki takson arasında nükleotid pozisyonu yüzdesi farklılıkları hesaplanabilir (% 10 farklılık, 100 baz başına ortalama 10 nükleotidin değiştiği anlamına gelir). Ayrık karakterlerin tek bir uzaklık ölçüsüne dönüştürülmesi, spesifik bilginin kaybı ile sonuçlanır, fakat taksonlar arasındaki toplam benzerlik derecesini ifade edebilir (Freeman ve Herron, 2002).

Olasılık metotlarında olduğu gibi, uzaklık analizleri de, araştırmacıların çoklu karakterlerden gelen bilgiyi iki takson arasındaki tek bir bütün uzaklığın ölçümüne çevirmek için bir karakter evrim modeli öngörmelerine gereksinim duyar. DNA dizileri için yaygın biçimde kullanılan bir formül, aynı yerdeki çoklu baz değişimleri ile transisyon ve transversiyon baz değişimlerinin frekansındaki farklılıkları düzeltir (Kimura, 1980).

Uzaklık verisinden bir filogeni tahmini yapmak için, taksonları kümeleyen bilgisayar programları kullanılır; en benzer formlu sonuçlar arasında biri diğerine yakın bulunur. Taksonları kümelemeyi benzerlikler temelinde yapan bu genel stratejiye fenetik yaklaşım adı verilir (Sneath ve Sokal, 1973). Tercih edilen ağaç, taksonlar arasında toplam mesafeyi en aza indirgeyen ağaçtır. Birkaç farklı kümeleme algoritması yaygın biçimde kullanılmakta olup, analiz edilen mesafenin doğası konusunda az ya da çok sınırlayıcı öngörülerde bulunabilir. Bu yaklaşım sonucunda diziler arasındaki genetik uzaklık çiftleri matrisi oluşturulur ve aynı pozisyonlardaki çoklu değişiklikleri ortaya koymak için geliştirilen bir formül kullanılarak hesaplanır (Kimura, 1980). Küçük genetik uzaklık ortak atadan yakın zamanda ayrılmaya ve yakın filogenetik ilişkiye işaret etmelidir (Freeman ve Herron, 2002).

1.9.3. Ağaçların Değerlendirilmesi

Birkaç (ya da tüm) olası ağaçları karşılaştırdıktan sonra, sorulması gereken soru; en parsimonik ağacın ne kadar iyi olduğudur. Birçok araştırmacı optimal ağaca yakın ağaç topolojilerini gözle inceler ve optimalden nasıl farklı oldukları üzerine tahmini bir yargıya

varırlar. Eğer, optimale yakın ağaçlar, optimal ağaçtan sadece az bakımdan farklıysalar, en optimal ağacı grubun gelişimi konusunda sonuca varmak için kullanmak daha güvenli olabilir. Buna ek olarak, bilgisayar programları çok sayıda ağacı değerlendirebilir ve optimale yakın bütün ağalarca desteklenen bir topolojiyi temsil eden bir uyumluluk ağacı oluşturabilirler (Freeman ve Herron, 2002).

1.9.3.1. Seç-bağla Testi (Bootstrapping)

En tutumlu ağaçların güvenirlilik dereceleri istatistiksel olarak da değerlendirilebilir (Swofford vd., 1996; Huelsenbeck ve Rannala, 1997). Bu probleme yönelik yaklaşımlardan biri seç-bağla testi (bootstrapping) olarak adlandırılır. Seç-bağla testinde, bilgisayar mevcut veri setinden tekrarlı örnekleme yoluyla yeni bir veri seti oluşturur. Örneğin, çalışmada 300 baz çiftlik bir dizi bulunuyorsa, bilgisayar bu pozisyonlardan birini rastgele seçmek ve bunu yeni veri setinde ilk öğe olarak kullanmakla seç-bağla testine başlar. Daha sonra, rastgele seçtiği bir pozisyon, yeni veri setinin ikinci veri noktasını oluşturur (ikinci veri noktasının birincisinin aynı olma şansı 1/300'dür). Bilgisayar orijinal verinin rastgele bir örneklemesini temsil eden, 300 baz çifti içeren yeni bir veri seti oluşturuncaya kadar bu işleme devam eder. Sonra, bu yeni veri seti filogeniyi hesaplamak için kullanılır. Bu işlemleri tekrarlamak suretiyle araştırmacı, yeniden örneklenmiş veri setinden oluşan ağaçlarda belli bir dalın açığa çıkma yüzdesini % 50, % 80 ya da % 100 şeklinde ortaya koyabilir. Seç-bağla tahmininde bir dal ne kadar çok kere açığa çıkarsa, bu dalın gerçekte var olduğu konusunda ki güvenimiz artmaktadır. Eğer belli bir dal için seç-bağla desteği az ise, araştırmacı genellikle ağaın bu kısmındaki dallama modelini belirleyemediği sonucuna vararak ve bunun sonucunda da yayınladığı ağaçta bu dalı tek düğümden çok-çatallı olarak verir (Freeman ve Herron, 2002).

2. YAPILAN ÇALIŞMALAR

2.1. Materyal

Bu çalışmada materyal olarak ağaç kurbağası, *Hyla orientalis* ve *Hyla savignyi* türleri kullanılmıştır. Hylidae familyası 900'un üstünde tür içerdiğinden dünyadaki kuyuksuz kurbağaların en geniş ailelerinden biridir. Faivovich vd., (2005) tarafından yapılan çalışmada; Hylidae familyası üç altfamilya (Pelodyadinae, Phyllomedusinae, Hyalinae) altında incelenmiştir. *Hyla* cinsinin dahil olduğu Hyalinae 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.

Alem	: Animalia
Şube	: Chordata
Altşube	: Vertebrata
Sınıf	: Amphibia
Takım	: Anura
Aile	: Hylidae
Cins	: <i>Hyla</i>
Tür1	: <i>Hyla orientalis</i>
Tür2	: <i>Hyla savignyi</i>

2.1.1. *Hyla orientalis* Bireyine Ait Örnekler



Şekil 7. Rize (Fındıklı)'den yakalanan amplexus halindeki *Hyla orientalis* bireyleri.



Şekil 8. İstanbul (Durusu)'dan yakalanan *Hyla orientalis* bireyi (dorsal).



Şekil 9. İstanbul (Durusu)'dan yakalanan *Hyla orientalis* bireyi (ventral).

2.1.2. *Hyla savignyi* Bireyine Ait Örnekler



Şekil 10. İskenderun (Sariseki)'dan yakalanan *Hyla savignyi* bireyi.



Şekil 11. İskenderun (Sariseki)'dan yakalanan amplexus halindeki *Hyla savignyi* bireyi.



Şekil 12. Gaziantep (Sehitkamil)'den yakalanan *Hyla savignyi* bireyi (dorsal).

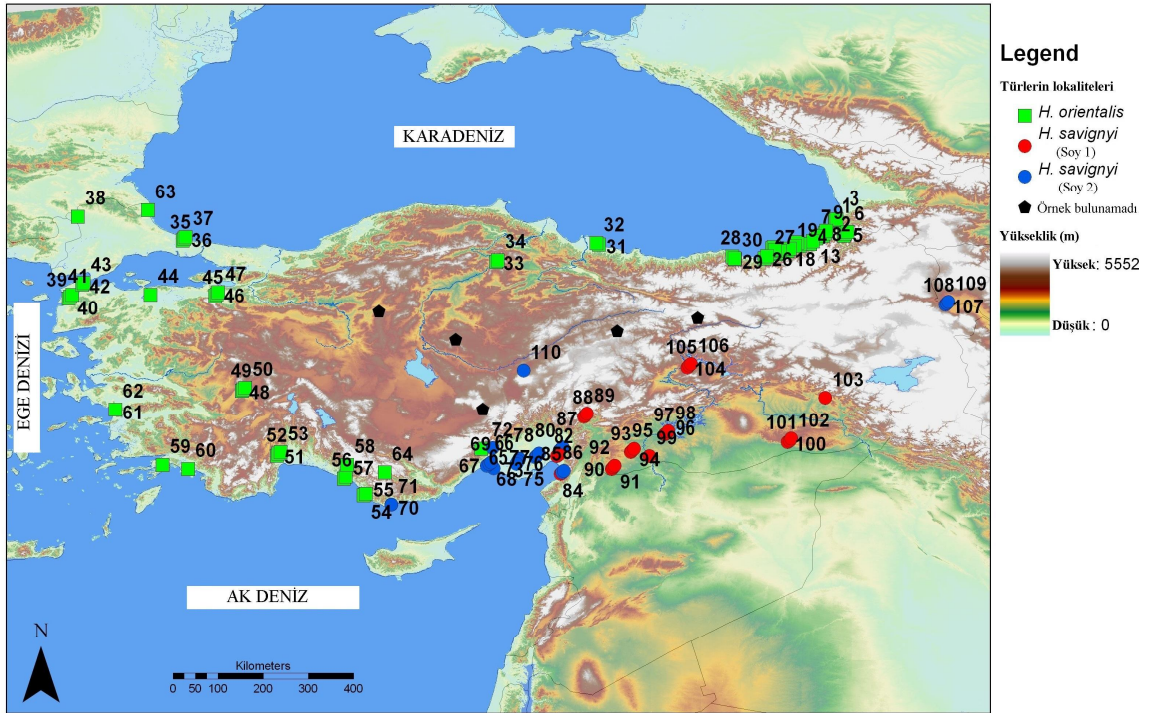


Şekil 13. Gaziantep (Sehitkamil)'den yakalanan *Hyla savignyi* bireyi (ventral).

2.2. Yöntem

2.2.1. Örneklerin Toplandığı Alan

Bu çalışmada incelenen *Hyla orientalis* ve *Hyla savignyi* örneklerinin toplandığı yerler; Iğdır, Artvin (Borçka, Hopa, Arhavi), Rize (Fındıklı, Ardeşen, Pazar, Çayeli, Merkez ve Derepazarı), Trabzon (Of, Gürbulak, Akçaabat), Samsun, Çorum, İstanbul, Edirne, Çanakkale (Merkez, Gelibolu), Balıkesir (Manyas Kuş Cenneti), Bursa, Denizli, Antalya (Gazipaşa, Konaklı, Yeniköy), Mersin (Kazanlı, Tarsus), Adana (Ceyhan, Yüreğir), Osmaniye (Kadirli, Toprakkale), Kilis, Gaziantep, Elazığ, Kahramanmaraş, Şanlıurfa, Batman, Mardin, Hatay (İskenderun), Gürcistan (Batum). Ayrıca Gvozdik vd., (2010)'den 10 lokalite, Stock vd., (2008)'den 2 lokalite GenBank'dan alınarak çalışmaya dahil edildi (Ek 2'de).



Şekil 14. *Hyla orientalis* ve *Hyla savignyi* türleri için arazi çalışmasının yapıldığı lokaliteler. Yeşil renkli kareler *Hyla orientalis*, kırmızı renkli daireler *Hyla savignyi*'nin birinci soyunu, mavi renkli daireler *Hyla savignyi*'nin ikinci soyunu temsil etmektedir. Siyah renkli beşgenler ise arazi çalışması yapılmasına rağmen birey bulunamadığını göstermektedir. Lokalite numaraları Ek'1 de verilmiştir.

2.2.2. Örneklerin Toplanması

Çalışma süresince (2008-2010) Türkiye'nin çeşitli bölgelerinden ve *Hyla arborea schelkownikowi*'nin dağılımını incelemek amacıyla Gürcistan Batum'dan yakalanan örnekler K.T.Ü. Biyoloji Bölümü, Zooloji Laboratuvarlarında %96'lık ethanol içinde muhafaza edilmiştir ve toplam 102 örnek incelenmiştir. Bu örneklerle ait bilgiler Ek'1 de ve buldukları lokalite numaraları Şekil 14'de verilmiştir.

2.2.3. Moleküler Analizler

2.2.3.1. Kurbağa Parmaklarından Genomik DNA'ların İzolasyonu

Genomik DNA'ların izolasyonu, bireylerin parmak uçlarından alınan kas örneklerinden NucleoSpin kiti kullanılarak gerçekleştirilmiş ve kullanılıncaya kadar -20 °C'de saklanmıştır.

2.2.3.2. Mitokondriyal 12S rRNA, Cyt *b* ve Nükleer Histon 3(H3) Genlerinin PCR Yardımı ile Artırılması ve DNA Dizin Analizi

12S rRNA, saflaştırılan genomik DNA'dan L1091 (5'-AAAAGCTTCAAAGTGGATTAGATACCCCACTAT-3') forward primeri ile H1478 (5'-TGACTGCAGAGGGTGACGGGCGGTGTGT-3') revers primerleri kullanılarak polimeraz zincir reaksiyonuyla (PCR) çoğaltıldı (Kocher vd., 1989). Reaksiyon karışımı, 10 µl (10X) PCR tamponu, 1 µl dNTPmix'den, 1'er µl forward ve reverse primer DNA'sı (10 mM), 3 µl MgCl₂ (1,5 mM), 0,2 µl Taq DNA (2,5 u) ve 32.8 µl dH₂O ilave edilerek hazırlandı. PCR reaksiyonu ise başlangıç denaturasyon için 94°C'de 2 dakika daha sonraki döngülerde 94°C'de 15 saniye, zincirlerin çoğaltılması (annealing) için 50°C'de 15 saniye, zincirlerin uzaması (extension) için 72°C'de 45 saniye ve son basamağı 72°C'de 5 dakikaya ayarlanarak 35 döngü şeklinde yapıldı.

Cyt *b* geni, saflaştırılan genomik DNA'dan MVZ15 (5'-GAACTAATGGCCCACACWWTACGNAA-3') forward primeri ile MVZ16 (5'-AAATAGGAARTATCAYTCTGGTTTRAT-3') revers primerleri kullanılarak polimeraz zincir reaksiyonuyla (PCR) çoğaltıldı (Moritz vd., 1992). Reaksiyon karışımı, 10 µl (10X)

PCR tamponu, 1 µl dNTPmix'den, 5'er µl forward ve reverse primer DNA'sı (10 mM), 4 µl MgCl₂ (1,5 mM), 0,2 µl Taq DNA (2,5 u) ve 23,8 µl dH₂O ilave edilerek hazırlandı. PCR reaksiyonu ise başlangıç denaturasyon için 93°C'de 10 dakika daha sonraki döngülerde 93°C'de 1 dakika, zincirlerin çoğaltılması (annealing) için 47°C'de 1 dakika, zincirlerin uzaması (extension) için 72°C'de 2 dakika ve son basamağı 72°C'de 10 dakikaya ayarlanarak 39 döngü şeklinde yapıldı.

Histone 3 (H3) nükleer geni, saflaştırılan genomik DNA'dan H3F (5'- ATG GCT CGT ACC AAG CAG ACV GC-3') forward primeri ile H3R (5'- ATA TCC TTR GGC ATR ATR GTG AC-3') revers primerleri kullanılarak polimeraz zincir reaksiyonuyla (PCR) çoğaltıldı (Colgan vd., 1998). Reaksiyon karışımı, 10 µl (10X) PCR tamponu, 1 µl dNTPmix'den, 1'er µl forward ve reverse primer DNA'sı (10 mM), 3 µl MgCl₂ (1,5 mM), 0,2 µl Taq DNA (2.5 u) ve 32.8 µl dH₂O ilave edilerek hazırlandı. PCR reaksiyonu ise başlangıç denaturasyon için 94°C'de 3 dakika daha sonraki döngülerde 94°C'de 1 dakika, zincirlerin çoğaltılması (annealing) için 50°C'de 1 dakika, zincirlerin uzaması (extension) için 72°C'de 1 dakika ve son basamağı 72°C'de 6 dakikaya ayarlanarak 34 döngü şeklinde yapıldı.

PCR reaksiyonu sonucu her bir gen bölgesi için oluşan ürünler % 1,2'lik agaroz jelde yürütüldü.

2.2.4. DNA Dizin Analizi Sonucunda Evrimsel Ağaçların Oluşturulması

Elde edilen baz dizileri çeşitli metotlar kullanılarak analiz edilmiştir. RAxMLv7.0.3 (Stamatakis, 2006) programı kullanılarak maksimum olasılık ve MrBayes versiyon 3.1.2 (Huelsenbeck ve Ronquist, 2001) kullanılarak Bayesian analizleri yapılmıştır. Ayrıca filogenetik analizler için en uygun baz değişim modelini bulmak için PAUP* ile birlikte MrModeltest v. 2.3 (Nylander, 2004), baz dizilerinin bu programlar için uygun formatlara dönüştürülmesi için Clustal X, Clustal W (Thompson vd. 1997) ve BioEdit 7.0 (Hall, 1999) programları ve ağaç dosyalarını görüntülemek için FigTree v1.3.1 (Rambaut ve Drummond, 2010) programı kullanılmıştır.

2.2.4.1. MrModeltest v. 2.3 ile En Uygun Baz Değişim Modelinin Bulunması

En uygun evrimsel baz değişim modeli MrModeltest v. 2.3 (Nylander, 2004), programını kullanılarak, Akaike bilgi kriteri (AIC; Akaike, 1974) değerlerine göre karar verilmiştir ve en uygun evrimsel modeller belirlenmiştir. Bu analize göre 12S geni için HKY+I, *cyt b* geni için HKY+I+G ve H3 geni için HKY+I evrimsel modeli tespit edilmiştir.

2.2.4.2. TCS ve Network Analizi

DNA baz dizisi öncelikle Nexus formatına dönüştürülmüş, TCS (Clement vd., 2000) programı kullanılarak haplotipler belirlenmiş ve ve tür içi varyasyonu gösteren bir ağ Network 4.6.0.0. programı kullanılarak oluşturulmuştur.

2.2.4.3. Maksimum Olasılık

Maksimum olasılık analizinde, RAxMLv7.0.3 (Stamatakis, 2006) programının izin verdiği oran heterojenliğinin Γ modeli ile nükleotid baz değişiminin GTR (general time reversible) modeli (GTRGAMMA) dikkate alındı. Ancak HKY gibi diğer modeller sadece daha genel olan GTR modelinin özel durumlarda olduğu dikkate alınmalıdır (Felsenstein, 2004). GTRGAMMA modeli hız ve doğruluk arasındaki uygun bir değiş-tokuşu temsilden 4 farklı oran kategorisi kullanmaktadır. RAxML en iyi maksimum olasılık skoru için araştırma ve hızlı bir bootstrap analizi yapmaktadır. Böylece alışılmamış hızlı bootstrap algoritması başlatmaktadır. Tüm bu hususlar dikkate alınarak 200 sonuçluk çıkarımlar 1000 tekrarlı parametrik olmayan bootstrap ile yapılmıştır.

2.2.4.4. Bayesian Analizi

Nexus formatına dönüştürülen DNA baz dizilerinden oluşan veri dosyası, Modeltest analizi sonucunda bulunan baz değişim modelini kullanarak MrBayes 3.1.2 programı (Huelsenbeck ve Ronquist, 2001) ile Bayesian analizi yapılmıştır. 5.0×10^6 nesil için iki tekrarlı araştırma çalıştırılmış ve her 1000. nesildeki örnek kaydedilmiştir.

2.2.4.5. FigTree v1.3.1 Programı

Filogenetik analizler sonucu oluşan ağaçların görüntülenmesi için FigTree v1.3.1 programı kullanılmıştır.

3. BULGULAR

3.1. Moleküler Analizler

3.1.1. DNA Dizin Analizi

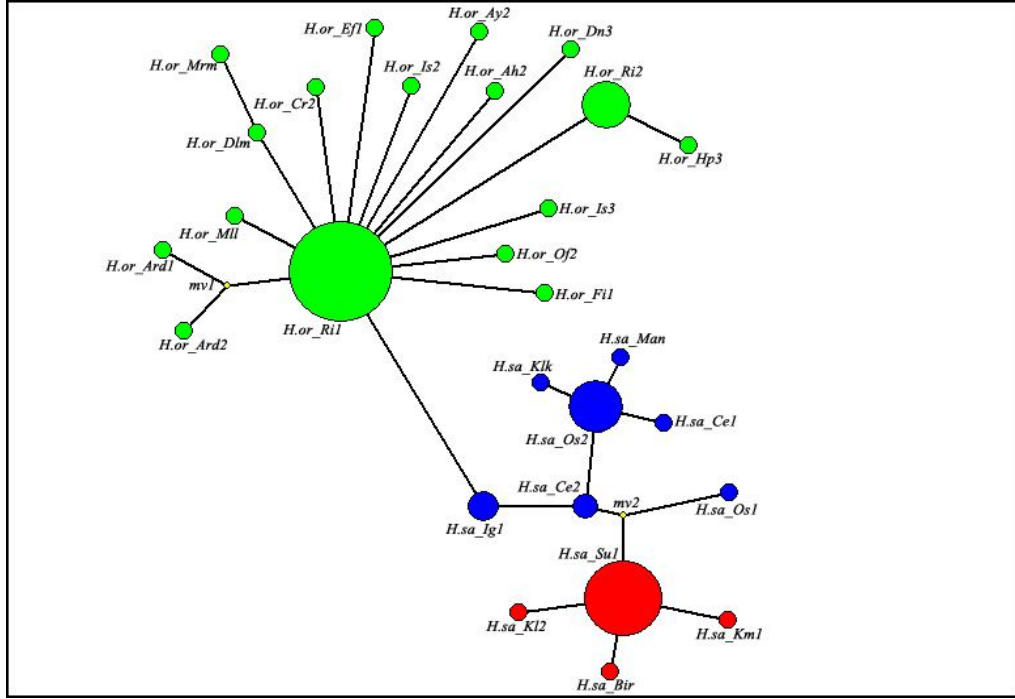
Bu çalışmada 51 lokaliteden toplam 102 bireyin mitokondriyal DNA'sı için 12S ribosomal RNA geninin 322, *cyt b* geninin 542 ve nükleer histon 3 genin 207 bazlık kısmının DNA dizin analizi yapılmıştır. Kullanılan örneklerin elde edildiği lokasyonları, haplotiplerin listesi ve GenBank numaraları Ek 2-3'de verilmiştir. Bunun yanı sıra gen sıralarında ayrıca Ek 4-6'da verilmiştir.

3.1.2. DNA Dizilerinin Clustal X ve BioEdit 7.0 Programları Kullanılarak Karşılaştırılması

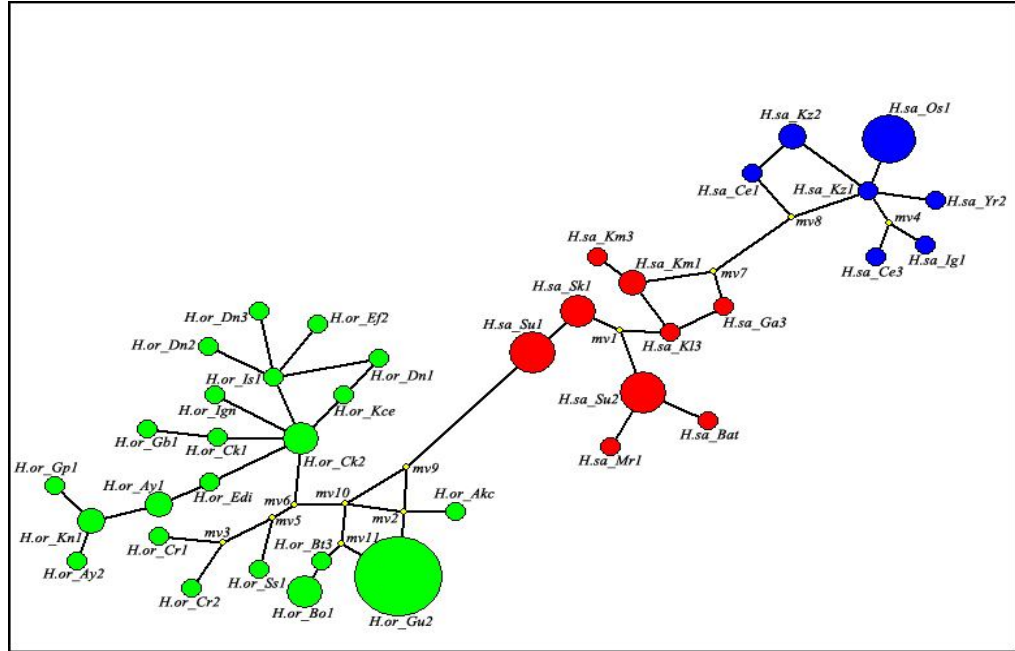
DNA dizileri Clustal X ve BioEdit programları kullanılarak karşılaştırılmış ve analizler için uygun olan Fasta, Nexus ve PHYLIP formatlarına dönüştürülmüştür.

3.1.3. TCS Analizi

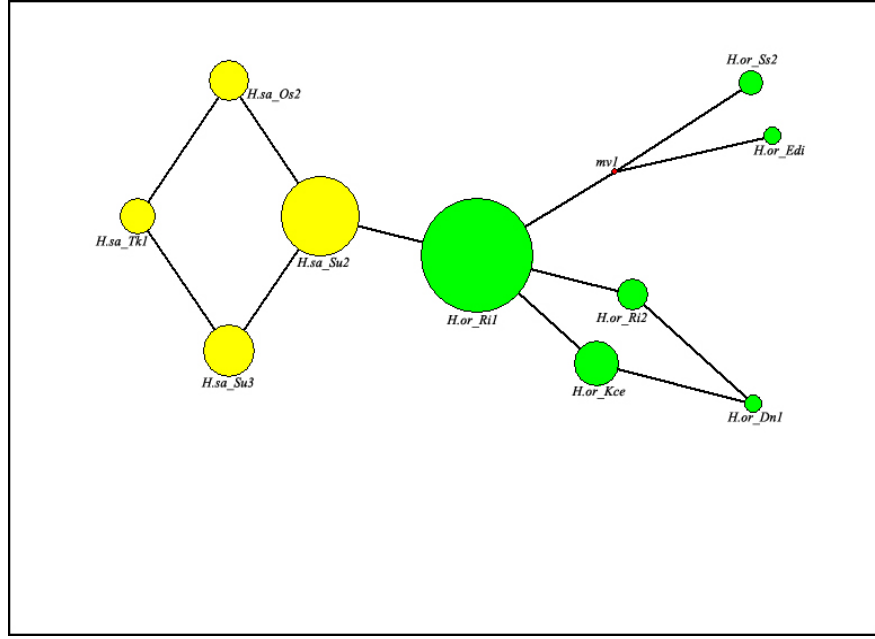
TCS analizine göre incelenen 12S geni için 28 haplotip, *cyt b* geni için 38 haplotip ve H3 geni için 10 haplotip bulunmuştur (Ek 3). Hem 12S hem de *cyt b* geni için oluşan ağlarda *Hyla savignyi*'nin iki soyda kümelendiği, H3 geni için *Hyla savignyi* ve *Hyla orientalis* taksonlarının ayrı iki küme oluşturduğu bulunmuştur. Bu sonuçlar Network analizi sonucunda oluşan filogenetik ağlar halinde Şekil 15-17'de gösterilmiştir.



Şekil 15. 12S geni için oluşan haplotip verileri. Mv1 ve mv2 düğümleri göstermektedir.



Şekil 16. Cyt *b* geni için oluşan haplotip verileri. Mv değerleri düğümleri göstermektedir.



Şekil 17. H3 geni için oluşan haplotip verileri. Mv değeri düğümleri göstermektedir.

3.1.4. MrModeltest 2.3 Programı ile En Uygun Baz Değişim Modelinin Bulunması

Her bir gen bölgesinin en iyi baz değişim modelini bulmak için MrModeltest v. 2.3 (Nylander, 2004) programının imkan verdiği Akaike Bilgi Kriteri (AIC) testlerine göre en uygun baz değişim modelinin mitokondriyal genler olan 12S rRNA geni için HKY+I (Hasegawa vd., 1985), *cyt b* geni için HKY+I+G (Hasegawa vd., 1985) ve nükleer gen olan H3 geni için HKY+I (Hasegawa vd., 1985) olduğu görülmüştür (Tablo 1-3).

Tablo 1. 12S rRNA geninin MrModeltest v. 2.3 programının Akaike Bilgi Kriteri (AIC) analiz sonuçları.

Seçilen Model:	HKY+I	Baz frekansları
lnL=	341.435	freqA=0,1826
K=	5	freqC=0,3558
AIC=	692.87	freqG=0,2938
Ti/tv oranı=	4.0963	freqT=0,1678

Tablo 1'in devamı

-lnL=	Negatif logaritmik olasılık değeri
K=	Hesaplanan parametrelerin numaraları
AIC=	Akaike bilgi kriteri

Tablo 2. Cyt *b* geninin MrModeltest v. 2.3 programının Akaike Bilgi Kriteri (AIC) analiz sonuçları.

Seçilen Model:	HKY+I+G	Baz frekansları
-lnL=	1783.969	freqA=0,2658
K=	6	freqC=0,2966
AIC=	3579.938	freqG=0,1758
Ti/tv oranı=	9.6575	freqT=0,2618
-lnL=	Negatif logaritmik olasılık değeri	
K=	Hesaplanan parametrelerin numaraları	
AIC=	Akaike bilgi kriteri	

Tablo 3. H3 geninin MrModeltest v. 2.3 programının Akaike Bilgi Kriteri (AIC) analiz sonuçları.

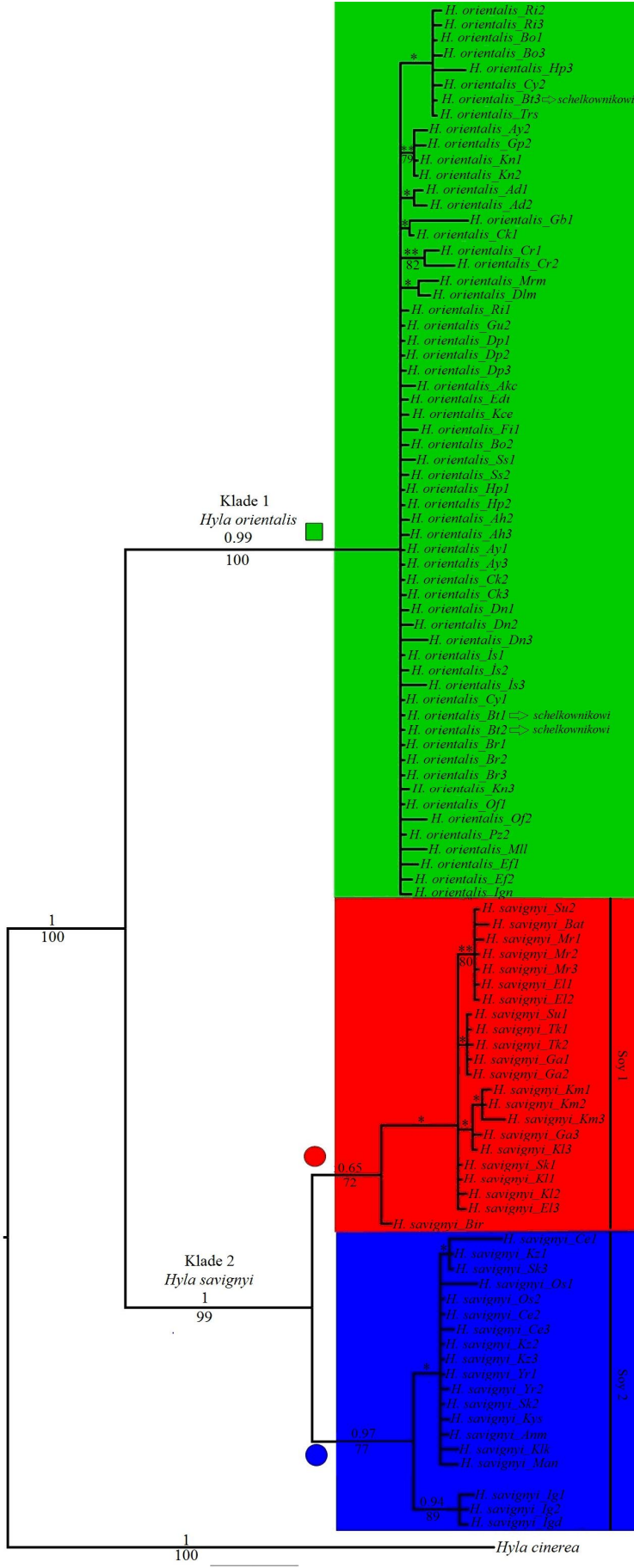
Seçilen Model:	HKY+I	Baz frekansları
lnL=	340.696	freqA=0,1826
K=	5	freqC=0,3603
AIC=	691.393	freqG=0,2938
Ti/tv oranı=	4.0593	freqT=0,1633
-lnL=	Negatif logaritmik olasılık değeri	
K=	Hesaplanan parametrelerin numaraları	
AIC=	Akaike bilgi kriteri	

3.1.5. Maksimum Likelihood (Maksimum Olasılık) Analizi

Maksimum olasılık testi RAxMLv7.0.3 (Stamatakis, 2006) programı kullanılarak yapılmıştır. Bu analizin uygulamasında mtDNA genler (12S rRNA ve cyt *b*) birleştirilmiştir ve sonuç olarak 864 karakter incelenmiştir. Nükleer H3 geninin ise ayrı analizi yapılmıştır. Hem birleştirilmiş mtDNA hem de nükleer DNA için 1000 tekrarlı parametrik olmayan seç-bağla komutuyla ağaçlar oluşturulmaya başlanmıştır ve bu 200 sonuçluk çıkarım için uygulanmıştır. Şekil 18’de birleştirilmiş mtDNA genleri için oluşan ağaç görülmektedir. Şekil 19’de ise nükleer gen için oluşan ağaç görülmektedir. Her iki ağaçta da Türkiye’deki *Hyla* cinsi ağaç kurbağaları iki küme oluşturmuştur. Ancak birleştirilmiş mtDNA analizinde *Hyla savignyi* taksonu iki soya ayrılırken nükleer genin analizinde bu durum ortaya çıkmamıştır.

3.1.6. Bayesian Analizi

Bayesian analizi MrBayes sürüm 3.1.2 (Huelsenbeck and Ronquist, 2001) programı kullanılarak yapılmıştır. Default parametreleri kullanılarak ve her 1000 nesilli örnek 5 milyon nesil için iki tekrarlı araştırmayla çalıştırıldı. Bayesian analizi sonucu oluşan majority rule uzlaşma (konsensüs) ağaç ve posterior olasılık değerleri Şekil 18’de görülmektedir. Ağacın topolojisi incelendiğinde Maksimum olasılık analizinde olduğu gibi Türkiye’deki ağaç kurbağaları kombine mtDNA ve Nükleer DNA analizlerine göre *Hyla orientalis* ve *Hyla savignyi* olmak üzere iki taksona ayrılmaktadır. *Hyla savignyi* taksonu mtDNA analizinde kendi içerisinde iki soya ayrılırken nükleer DNA analizinde bu durum ortaya çıkmamaktadır.



Şekil 18. Kombine mitokondriyal genlerin (12S ve cyt b) Bayesian ve Maksimum olasılık analizi esas alınarak Türkiye'deki *Hyla* popülasyonlarının filogenisi. Dalların üzerindeki numaralar Bayesian posterior olasılık değerini gösterirken dalların altında kalan numaralar maksimum olasılık bootstrap destek değerini göstermektedir. *Hyla savignyi*'nin iki soyu sağ tarafa listelenmektedir (Soy 1, 2). Tek yıldız işareti hem Bayesian hem de Maksimum olasılık analizi sonuçlarının çok güçlü olmadığını göstermektedir (bootstrap değeri <70% ve Bayesian posterior olasılığı <0.95), çift yıldızlar ise Bayesian analizinde güçlü desteklenmediğini göstermektedir (Bayesian posterior olasılığı <0.95).

4. TARTIŞMA

Hyla cinsi ağaç kurbağasının taksonomik durumu bugüne kadar yapılan morfolojik ve moleküler çalışmalarla ortaya konulmaya çalışılmıştır. Bu tez çalışmasında ise aynı türün daha önceki çalışmalarından elde edilmiş lokalitelere ilave olarak yeni lokalitelerle çalışılarak, bazı ilave sonuçlar elde edilmiş ve daha önce Türkiye'deki bireyler için çalışılmamış olan nükleer histon 3 (H3) geninin 207 bazlık kısmı dizin analizi yapılarak tür içi varyasyon ve filogenetik sonuçlar tespit edilmiştir.

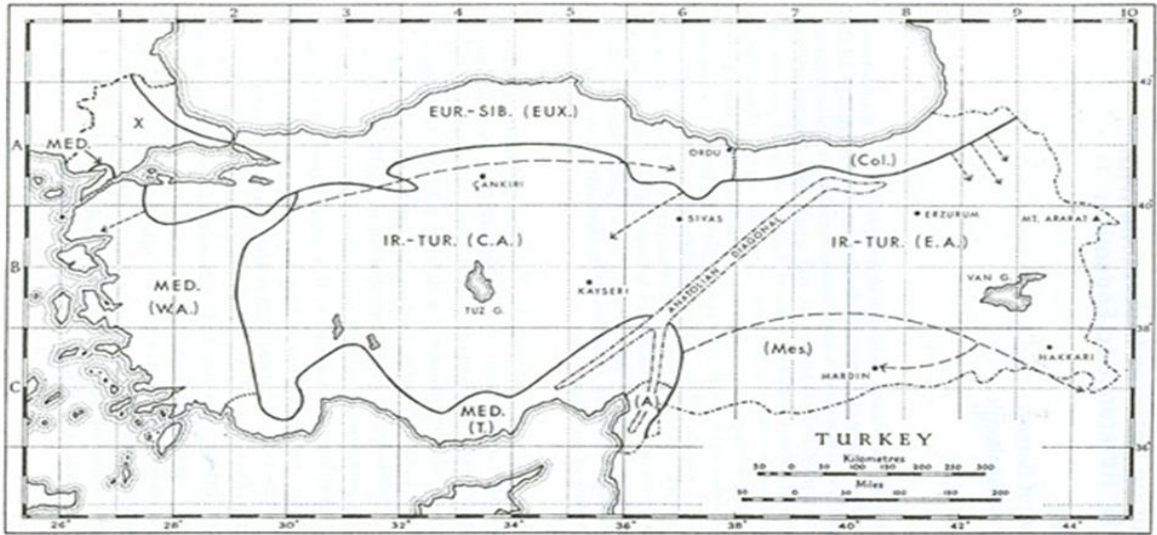
Moleküler veriler kullanılarak Türkiye'deki *Hyla* cinsinin filogenisini ele alan iki çalışma bulunmaktadır (Stock vd., 2008; Gvozdík vd., 2010). Ancak, bu çalışmalar Türkiye'nin bütün bölgelerini ele almamaktadır. Stock vd., (2008) tarafından yapılan çalışmada Türkiye'den sadece dört lokalite kullanılmıştır. Gvozdík vd., (2010) ise lokalite sayısını geniş tutmasına rağmen Marmara Bölgesini çalışmasına dahil etmemiştir ve bunun yanı sıra *Hyla* cinsi ağaç kurbağasının Kafkasya formu olan *Hyla arborea schelkownikowi*'nin Türkiye'de dağılımının olup olmadığını belirlemek için sadece Artvin Hopa'dan tek bir lokaliteyi çalışmasında kullanmıştır. Önemli olan bir diğer durum ise Türkiye'deki engebeli dağların var olmasından ötürü morfolojik olarak *Hyla*'nın keşfedilmemiş türünün olabileceği ele alınmamıştır. Bu tez çalışmasında, Gürcistanın yanı sıra Türkiye'nin bütün bölgelerini kapsayan popülasyonlardan yoğun örnekler elde edilmesiyle bir nükleer genin (H3) ve birleştirilmiş mitokondriyal genlerin (12S ve *cyt b*) analizlerine dayanarak bu problemi durum açıklığa kavuşturulmaya çalışılmıştır.

Bu çalışmada, Türkiye'deki *Hyla orientalis* ve *Hyla savignyi* türlerinin monofiletik olarak desteklendiği görülmüştür (bootstrap değeri >70% ve Bayesian posterior olasılığı >0. 95). Bu sonuç daha önceki moleküler çalışmalarla tutarlı bir şekilde ilişki göstermiştir. Bu çalışmaların yanı sıra daha önceki yıllarda yapılan morfolojik ve bioakustik çalışmalarda Türkiye'deki *Hyla* cinsine ait olan ağaç kurbağaları *Hyla orientalis* ve *Hyla savignyi*'nin farklı olduğunu desteklemektedir (Kaya ve Simons, 1999; Schneider, 2000; Kaya, 2001; Schneider, 2001; Gvozdík vd., 2008). Bu çalışmalara göre, Türkiye'nin Orta Anadolu, Orta Akdeniz, Batı Akdeniz, Ege, Marmara ve Karadeniz bölgelerinde *Hyla orientalis* (eskiden *Hyla arborea*) türü dağılım gösteriyorken, Doğu Akdeniz ve Güneydoğu Anadolu bölgelerinde *Hyla*

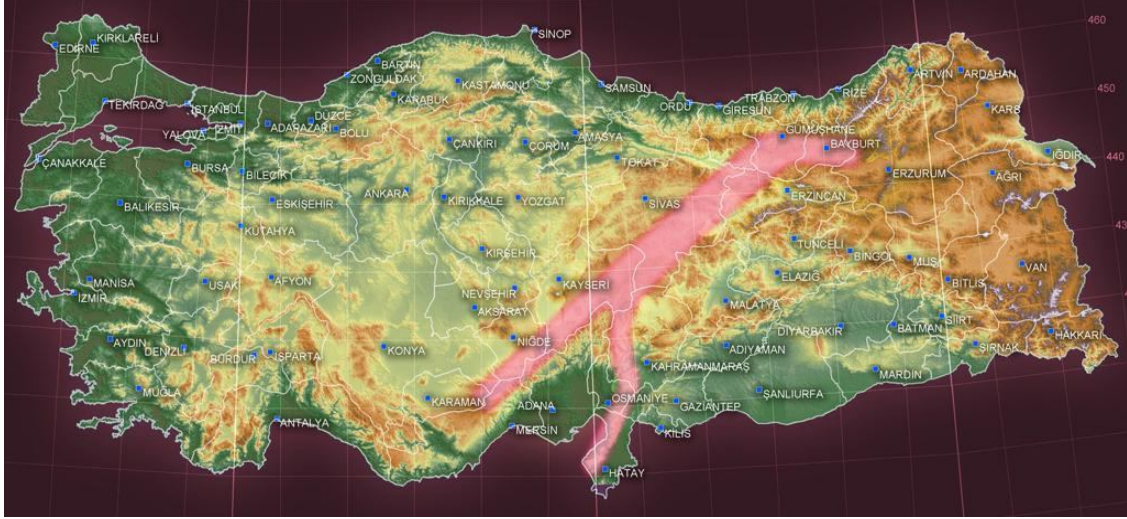
savignyi türü dağılım göstermektedir. Benzer olarak, bu çalışma (ve diğer filogenetik çalışmalar) *Hyla orientalis* ve *Hyla savignyi* arasındaki coğrafik sınırları ortaya çıkarmıştır. Hem bu çalışma hem de diğer filogenetik çalışmalar *Hyla savignyi* türünün Fırat Nehri'nin kuzey bölgesinde [Kemah, 16S ribosomal RNA (Gvozdik vd., (2010)], Orta Anadolu (lok. 109; Şekil. 14) ve Orta Akdeniz bölgelerinde (lok. 70, 71; Şekil. 14) var olduğunu göstermektedir. Bu sonuçların aksine, *Hyla orientalis*'in dağılımı Karadeniz, Marmara, Ege, Batı Akdeniz, Orta Akdeniz ve Orta Anadolu bölgelerini kapsamaktadır. Bunlara ilave olarak bu çalışmada *Hyla orientalis*'in Mersin ilinin Çamlıyayla ilçesinden yeni bir lokalitesi bulunmuştur (lok. 65; Şekil. 14). Stock vd., (2008)'nin yaptıkları çalışmada Mersin'in kuzey bölgesindeki Yeniköy lokalitesinden aldıkları örneği, yaptıkları filogenetik analizler sonucunda *Hyla orientalis* olarak göstermişlerdir. Mersin'in güney bölgesindeki Kazanlı lokalitesinden aldıkları örneği ise *Hyla savignyi* olarak göstermişlerdir. Benzer olarak Gvozdik vd., (2010)'nin yaptıkları çalışmada Mersin'in güney bölgesi olan Tarsus ilçesinin Kulak (lok. 66; Şekil. 14) köyünden aldıkları örneği *Hyla savignyi* olarak rapor etmişlerdir. Bu tez çalışmasında da daha önceki çalışmalarla benzer sonuçlar bulunmuştur yani Mersin'in kuzey bölgesindeki Çamlıyayla lokalitesinden alınan örneğin *Hyla orientalis* olduğu, Mersin'in güney bölgesinden Kazanlı'dan alınan örneğin ise *Hyla savignyi* olduğu tespit edilmiştir. Bu iki türün aynı coğrafik bölgede bulunmasının sebebi muhtemelen buldukları lokalitelerin deniz seviyesine göre yüksekliklerinin farklı olmasından kaynaklanmaktadır çünkü Mersin ili Tarsus ilçesi Kulak köyünün deniz seviyesine göre yüksekliği 4-10 m arasında değişirken Mersin ilinin Çamlıyayla ilçesinin deniz seviyesine göre yüksekliği 1100-1500 m arasında değişmektedir. Bu verilere göre *Hyla savignyi* türünün yüksek rakımlı bölgelere dağılım göstermediği tespit edilmiştir.

Tüm bu sonuçlara ilave olarak bu çalışmada birleştirilmiş mitokondriyal genlerin analizine göre Türkiye'deki *Hyla savignyi* türü kendi içinde iki soya ayrılmaktadır. Muhtemelen bu durum Anadolu Çaprazının (Anatolian Diagonal) bir sonucu olarak ortaya çıkmaktadır çünkü Anadolu'nun dağları Kuvaterner periyodu süresince hem iklimsel dalgalanmalar ve hemde Pleistosen buzulları tarafından aşırı olarak etkilenmiştir (Avice, 2000; Hewitt, 2000). "Anadolu Çaprazı" ismi ilk defa Türkiye ve Doğu Ege Adaları Florası'nın editörü P.H. Davis (1971) tarafından ortaya atılmıştır. Davis'e göre Orta Anadolu ile Doğu Anadolu bitki çeşitliliği arasında görülen büyük farklılıkların en önemli nedeni Kuzeydoğu Anadolu dağlarından başlayan, Güneybatı

Antitoroslarla devam eden, bir kolu Toroslara diğer kolu ise Güneyde Amanos Dağları'na kadar uzanan bu dağ silsilelerinin oluşturduğu "Anadolu Çaprazı"dır. Davis, çaprazın doğu ve batısı arasındaki farklılıkların sadece çevresel koşullarla açıklanamadığını; alanın jeolojik geçmişinin de önemli bir etken olduğunu belirtmiştir. Davis'ten sonra Anadolu Çaprazı üzerinde yapılan bir çok çalışma da bu bulguları destekler niteliktedir (Gülkaç ve Yüksel 1999, Özkurt vd., 2002, Çıplak vd., 1993; Rokas vd., 2003; Çıplak, 2004a; Çıplak, 2004b; Mutun, 2010). Bu görüşlere göre dağlık bölge Anadolu'da canlı çeşitliliği gelişirken hem evrimsel bir türleşme merkezi hem de bazı canlı grupları için yayılma engeli oluşturmuştur (Şekil. 20, 21)



Şekil 20. Davis (1971)'e göre, Türkiye'deki fitocografik bölgelerin yaklaşık sınırları. EUR-SIB (EUX.): Avrupa-Sibirya bölgesi (Euxine illeri); Col. Euxine illeri'nin Colchic sector; MED. Akdeniz Bölgesi (Doğu Akdeniz illeri); W.A.: Batı Anadolu ayrımı; T.: Toros ayrımı; A.: Amanos ayrımı. IR-TUR. İran-Turan bölgesi; C.A.: İç Anadolu; E. A.: Doğu Anadolu (Mes.: Mezopotamya). X: muhtemelen Avrupa-Sibirya bölgesinin merkez Avrupa/Balkan illeri.



Şekil 21. <http://www.dkm.org.tr/anadolu-caprazi/anadolu-caprazi-nedir.php> göre Anadolu Çaprazı.

Bu yüzden, Anadolu Çaprazının doğusuna yerleşen popülasyonlar (lok. 81,82, 86-105) Soy 1 i oluştururken Çaprazın güneybatı bölgesine yerleşen popülasyonlar (lok. 66-80, 84, 85, 106-109) Soy 2 yi oluşturmaktadır. Pleistosen süresince Anadolunun dağları sadece buz tabakasıyla örtülü olmasına rağmen iklimsel ve çevresel dalgalanmalar Türkiye'deki *Hyla savignyi* popülasyonlarının çeşitlenmesinde önemli bir rol oynamaktadır.

Bu çalışma ayrıca *Hyla arborea schelkownikowi* Cernov, 1926'nun durumu üzerine ışık tutmaktadır. Tarkhnishvili ve Gokhelashvili (1999)'ye göre *Hyla arborea schelkownikowi* Karadeniz Bölgesinin kuzeydoğu (özellikle, Artvin ve Borçka) kesimlerinde ve Kafkasya'nın hemen hemen bütün bölgesine dağılmaktadır. İlave olarak, Kaya (2001) Kafkasya bölgesine yakın olan Rize'deki *Hyla arborea* popülasyonunun Türkiye'nin diğer bölgeleri olan Marmara, Ege, Akdeniz ve Orta Anadolu bölgelerinde dağılım gösteren *Hyla arborea* türünden biyoakustik bakımdan farklılık gösterdiği bulunmuştur. Ayrıca, Türkiye'nin kuzeydoğu bölgesinden ağaç kurbağaları Kafkasya bölgesinin alttörü olan *Hyla arborea schelkownikowi* olarak belirtilmiştir (Kuzmin, 1999). Benzer bir şekilde, Gvozdík vd., (2008) tarafından morfolojideki coğrafik varyasyonlar üzerine yapılan çalışmada Rize'nin Pazar ilçesinden temin ettikleri örneklerin incelenen sonuçları *Hyla arborea schelkownikowi*'nin Türkiye'deki *Hyla arborea*'nin Batı Anadolu popülasyonlarından farklı olduğunu göstermiştir. Daha sonra, Gvozdík vd., (2010) tarafından yapılan çalışmada *H. arborea schelkownikowi* (Chernov, 1926) *Hyla*

orientalis'in bir junior subjective sinonimi olarak göz önünde bulundurulmuştur. Ancak, Stock vd., (2008) bu sonuç için Türkiye'nin Kuzeydoğu bölgesinden herhangi bir örnek kullanmamasına rağmen Gvozdík vd., (2010) Türkiye'nin Kuzeydoğu bölgesinden sadece tek bir lokaliteden (Artvin, Hopa) örnek kullanmışlardır. Bu yüzden, bu çalışmada, Türkiye'nin Kuzeydoğu bölgesinin tüm Karadeniz sahilini kapsayan (Artvin ilinin Hopa, Arhavi, Borçka ilçeleri; Rize ilinin Fındıklı, Ardeşen, Pazar, Çayeli, Derepazarı ilçeleri; Trabzon ilinin Of, Akçaabat ilçeleri ve Gürbulak beldesi (lok. 4-30; Şekil 14)) il ve ilçelerden örnek sayısı ve lokalite sayısı genişletilmiştir. Türkiye'nin yanı sıra *Hyla arborea schelkownikowi*'nin tip lokalite yerlerinden olan Gürcistan Batum'dan (lok. 1-3; Şekil 14) örnek alınarak Türkiye'deki dağılımı incelenmiştir.

Sonuçlar Türkiye'nin Kuzeydoğu bölgesinden örneklerle *H. arborea schelkownikowi*'nin tip lokalitedeki örnekler ile aynı haplotiplere sahip olduğunu göstermiştir. Bu sonuç hem kombine mitokondriyal genin (12S ve *cyt b*) hem de nükleer genin (H3) filogenetik analizlerinde ortaya çıkmıştır. Bu yüzden, bu çalışmadaki birleştirilmiş mitokondriyal genlere ve nükleer gene dayanan sonuçlar *Hyla arborea schelkownikowi*'nin *Hyla orientalis*'in bir junior sinonimi olduğu hipotezini desteklemektedir.

5. SONUÇLAR

Türkiye'deki ağaç kurbağaları (*Hyla orientalis* ve *Hyla savignyi*)'nin sistematığının moleküler yönden incelendiği bu çalışmada aşağıdaki sonuçlar bulunmuştur:

1. Türkiye'nin yedi bölgesine ait 51 lokaliteden toplam 102 bireye ait doku örneği temin edilmiştir. Bu doku örneklerinin her birinin DNA'sı izole edilmiş ve izole edilen DNA'ların mitokondriyal genleri 12S ribozomal RNA, *cyt b* ve nükleer geni Histon 3 (H3)'nin nükleotid sırası belirlenip bu genlere ait nükleotid sırası çoğaltılmıştır.

2. Birleştirilmiş mitokondriyal genlerin (12S rRNA ve *cyt b*) analizine 85 taksa dahil edilmiş ve toplam 864 (12S rRNA için 322 bp ve *cyt b* için 542 bp) baz uzunluğunda nükleotid pozisyon incelenmiştir. Nükleer gende (H3) ise toplam 97 taksa dahil edildi ve 207 baz uzunluğunda nükleotid pozisyon incelenmiştir.

3. 322 baz uzunluğuna sahip 12S ribozomal RNA geni 85 taksa içinde 28 haplotipe sahiptir (Şekil 15). 542 baz uzunluğuna sahip *cyt b* geninin 76 taksanında 38 farklı haplotip bulunmaktadır (Şekil 16) ve son olarak 207 baz uzunluğuna sahip olan H3 nükleer geni 97 taksa arasında 10 haplotipe sahiptir (Şekil 17).

4. Birleştirilmiş mitokondriyal genlerin analizinde Türkiye'deki ağaç kurbağaları temel olarak iki klade (küme)'ye ayrıldı. Bunlar *Hyla orientalis* ve *Hyla savignyi* türleridir.

5. Mitokondriyal DNA verilerine dayanarak yapılan analizde *Hyla savignyi* türü kendi içinde iki temel soya ayrıldığı hem olasılık bootstrap değerinde hem de Bayesian posterior olasılığında güçlü olarak desteklenmiştir (bootstrap değeri >70% ve Bayesian posterior olasılığı >0.95). *Hyla savignyi*'nin birinci soyu Türkiye'nin Doğu Akdeniz ve Güneydoğu Anadolu bölgesinden 22 haplotipten oluşmaktadır. Buna karşın *Hyla savignyi*'nin ikinci soyu Türkiye'nin Doğu Anadolu, İç Anadolu ve Doğu Akdeniz bölgelerini kapsayan 20 haplotipten oluşmaktadır. Ayrıca ikinci soyda Türkiye'nin Doğu Anadolu bölgesindeki Iğdır lokalitesinden biriktirilen örnekler birleştirilmiş mitokondriyal genlerin analizinde monofiletik olarak güçlü bir şekilde desteklenmiştir. Ayrıca Kazanlı (lok. 67-69), Ceyhan (lok. 75-77), Yüregir (lok. 72-74), Kulak (lok. 66), Anamur (lok. 71), Anamur (lok. 70), Ovaçiftliği (lok. 109), Osmaniye (loc. 78-80) and Sarıseki (loc. 83, 85) lokalitelerini kapsayan Türkiye'nin İç Anadolu ve Akdeniz bölgelerindeki taksalarda güçlü olarak desteklenmiştir (Şekil 18).

6. *Hyla savignyi*'nin ilk soyunda da benzer olarak Elazığ (lok. 103-105), Kilis (lok. 89-91), Sarıseki (lok. 83), Gaziantep (lok. 92-94), Kahramanmaraş (lok. 86-88), Toprakkale (lok. 81, 82), Şanlıurfa (lok. 95-97), Mardin (lok. 99-101), Birecik (lok. 98) ve Batman (lok. 102) lokalitelerini kapsayan Türkiye'nin Akdeniz, Güneydoğu Anadolu ve Doğu Anadolu bölgesindeki taksalarında iyi desteklendiği görülmüştür (Şekil 18).

7. Nükleer genin (H3) analizinde *Hyla savignyi* türü kendi içinde iki soya ayrılmadığı görülmüştür (Şekil 19).

8. İkinci tür olan *Hyla orientalis* hem mtDNA hem de nükleer DNA'nın analizinde güçlü olarak desteklenmiştir (Şekil 18-19). Bu türün Akdeniz'in kuzeydoğu ve batı Bölgesin'de (lok. 51-58, 64, 65), Ege Bölgesin'de (lok. 48-50, 59-62), Marmara Bölgesin'de (lok. 35-47, 63) ve Karadeniz Bölgesin'de (lok. 4-30) dağılım gösterdiği görülmüştür.

9. Türkiye'nin Akdeniz Bölgesinin Kuzeydoğusuna yerleşen Mersin ilinin Çamlıyayla ilçesindeki lokaliteden alınan örnek başlangıçta *Hyla savignyi* olarak düşünülmüş ancak birleştirilmiş mitokondriyal genlerin ve nükleer genin analizinde tam olarak *Hyla orientalis* olduğu ortaya çıkmıştır. Bu yüzden iki türün kontak bölgesine dahil olan yeni bir lokalite belirlenmiştir.

6. ÖNERİLER

Daha önceki çalışmalar da dikkate alınarak yapılan bu çalışmada Türkiye’de ağaç kurbağası olarak iki türün yaşadığı doğrulanmıştır. Ancak yapılan analizler sonucunda Türkiye’nin Akdeniz, Güneydoğu Anadolu, Doğu Anadolu ve İç Anadolu bölgesinin bir kısmını kapsayan *Hyla savignyi* türünün kendi içerisinde ikiye ayrılması bu bölgelerde farklı bir tür ya da alttür durumunun olup olmayacağını düşündürmektedir. Bu nedenle gelecek araştırmalarda bu bölgedeki *Hyla savignyi* türüne ait bireyler morfolojik olarak iyi bir şekilde irdelenerek aralarında önemli bir farklılığın var olup olmadığı ortaya çıkartılabilir. Eğer önemli bir farklılık var ise *Hyla savignyi*’nin Türkiye’deki sistematik durumu yenilenebilir ve böylece Türkiye’nin biyo çeşitliliğine katkı sağlanmış olunabilir.

7. KAYNAKLAR

- Akaike, H., 1974. A New Look at the Statistical Model Identification, IEEE Trans. Aut. Control, 19, 716–723.
- Avise, J.C., 2000. *Phylogeography: The History and Formation of Species*. Harvard Univ. Press, Cambridge, MA. 447.
- Bahçeci, Z., 2000. *Evrım, Öğrenci Kitabevi Yayınları*, Kırşehir, 216 s.
- Baran, I., Tosunoğlu, M., Kaya, U. and Kumlutaş, Y., 1997. Çamlıhemşin (Rize) Civarının Herpetofaunası Hakkında, Tr. J. of Zoology. 21, 409–416.
- Baran, İ. and Atatür, M. K., 1998. *Turkish Herpetofanua (Amphibians and Reptiles)*, Ankara.
- Başbüyük, H., Bardakçı, F., Belshaw, R. and Quicke, D. L. J., 2000. *Phylogenetic Systematics, First Edition*, Sivas.
- Sergio, C., Barbara, C., Rosalba, R., Alessandra, R., and Cristina, G., 2002. The Advertisement Call of the European Treefrogs (*Hyla arborea*): A Multilevel Study of Variation. Ethology. 108, 75–89.
- Clement, M., Posada, D. and Crandall, K. A., 2000. TCS, a computer program to estimate gene genealogies, Mol Ecol. 9, 1657-1659.
- Clough, M. and Summers, K., 2000. Phylogenetic Systematic and Biogeography of the Poison frogs: Evidence from Mitochondrial DNA Sequences, Biol. J. Linnean Society, 70, 515–540.
- Colgan, D.J., McLauchlan, A., Wilson, G.D.F., Livingston, S.P., Edgecombe, G.D., Macaranas, J., Cassis, G. and Gray, M. R. Histone H3 and U2 snRNA DNA sequences and arthropod molecular evolution. Aust. J. Zool. 46 (1998) 419–437.
- Çıplak, B., Demirsoy, A. and Bozcuk, A. N., 1993. Distribution of Orthoptera in relation to the Anatolian Diagonal in Turkey. Articulata 8, 1,1–20.
- Çıplak, B., 2004a. Biogeography of Anatolia: the marker group Orthoptera. Memor. Soc. Entomol. Ital. 82, 2, 357–372.
- Çıplak, B., 2004b. Systematics, phylogeny and biogeography of Anterastes (Orthoptera, Tettigoniidae, Tettigoniinae): evolution within a refugium. Zoolog. Scripta 33, 19–44.

- Davis, P. H., 1971. Distribution patterns in Anatolia with particular reference to endemism. Pp. 15–27. *In*: Davis, P. H., Harper, P. C. & Hedge, I. C. (eds): Plant life of South-West Asia. Botanical Society of Edinburgh, Edinburgh.
- Demirsoy, A., 1996. Genel ve Türkiye Zoocoğrafyası, Hayvan Coğrafyası, Meteksan A.T., Ankara.
- Farias, I. P., Orti, G., Sampaio, I., Schneider, H. and Meyer, A., 2001. The Cytochrome b gene as a phylogenetic marker: The limits of the resolution for analyzing relationships among cichlid fishes, *J. Mol. Evol.* 53, 89–103.
- Faivovich, J., Haddad, C.F.B, Garcia, P.C.A, Frost, D.R, Campbell, J.A, 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.
- Felsenstein, J., 1981. Evolutionary Trees from DNA Sequences: A Maximum Likelihood Approach.
- Felsenstein, J., 1991. PHYLIP: Phylogeny inference package, version 3.4. Department of Genetics, University of Washington, Seattle.
- Felsenstein, J., 2004. Inferring Phylogenies. Sunderland, MA: Sinauer Associates.
- Freeman, S. and Herron, J.C. 2002. / Çev. Ed.: Çıplak, B., Başbüyük, H.H., Karaytuğ, S., Gündüz, İ. Evrimsel Analiz, Palme Yayıncılık, Ankara, 708 s.
- Garcia-Paris, M. and Jockusch, E.L., 1999. A Mitochondrial DNA Perspective on the Evolution of Iberian *Discoglossus* (Amphibia: Anura), *J. Zool. Lond.*, 209–218.
- Grach Constantin, Plesser Yeshurun & Werner Yehudah L., 2007. A new, sibling, tree frog from Jerusalem (Amphibia: Anura: Hylidae). *J. Nat. Hist.* 41, 9–12, 709–728.
- Gülkaç, M.D. ve Yüksel, E., 1999. Türkiye'deki *Spalax Tür* ve *Alttürlerinin Dağılımına ve Türleşmesine Coğrafik İzolasyonun Etkisi*, *Tr. J. of Zoology*, 23, 2, 491–496.
- Gvozdik, V., Moravec J., 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? *Biol. J. Linn. Soc.* 95, 539–556.
- Gvozdik, V., Moravec, J, Klutsch, C, 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. *Mol. Phylogenet. Evol.* 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.

- Hall, T. A., 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. Nucl. Acids. Symp. Ser. 41, 95–98.
- Hasegawa, M., Kishino, K. and Yano, T., 1985. Dating the Human-Ape Splitting by a Molecular Clock of Mitochondrial DNA, J. Mol. Evol. 22, 160–174.
- Hertwig, S., De Sa, R. O. and Haas, A., 2004. Phylogenetic signal and the Utility of 12S and 16S mtDNA in Frog Phylogeny, J. Zool. Syst. Evol. Research. 42, 2–18.
- Simone, H., Miguel, V., Henner, B., and Axel, M., 2004. Phylogeny and Comparative Substitution Rates of Frogs Inferred from Sequences of Three Nuclear Genes. Mol. Biol. Evol. 21,7, 1188–1200.
- Hua, X., Fu, C, Li, J, De Oca, A. N. M, Wiens, J. J., 2009. A revised phylogeny of Holarctic treefrogs (genus *Hyla*) based on nuclear and mitochondrial DNA sequences. Herpetologica 65, 246–259.
- Huelsenbeck, J.P. and Rannala, B., 1997. Phylogenetic Methods Come of Age: Testing Hypotheses in an Evolutionary Context, Science, 276, 227–232.
- Huelsenbeck, J.P. and Ronquist, F., 2001. MRBAYES: Bayesian Inference of Phylogenetic Trees, Bioinformatics, 17, 8, 754–755.
- Hewitt, G. M., 2000. The genetic legacy of the Quaternary ice ages. Nature 405, 907–913.
- Inoue JG, Miya M, Tsukamoto K, Nishida M., 2003. Evolution of the deep-sea gulper eel mitochondrial genomes: Large-scale gene rearrangements originated within the eels. Mol. Biol. Evol. 20, 1917–1924.
- Jukes, T.H. and Cantor, C.R., 1969. Evolution of Protein Molecules. In: ed. H.M. Munro, *Mammalian Protein Metabolism*, 21–32, New York, Academic Press.
- Kaya, U., Simons, M., 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 J. Zool. 47, 123–134.
- Kimura, M., 1968. Evolutionary Rate at the Molecular Level, Nature, 217, 624–626.
- Kimura, M., 1980. A Simple Method for Estimating Evolutionary Rates of Base Substitution Through Comparative Studies of Nucleotide Sequences, J. Mol. Evol. 16, 111–120.
- Kimura, M., 1983. The Neutral Theory of Molecular Evolution. In M. Nei and R.K. Koehn, eds. *Evolution of Genes and Proteins*. Sunderland, MA: Sinauer, 208–233.
- Kocher, T. D., Thomas, W. K. , Meyer, A., Edwards, S. V., Paabo, S., Villablanca, F. X. and Wilson, A.C., 1989. Dynamics of Mitochondrial DNA Evolution in Animals:

- Amplification and Sequencing with Conserved Primers, Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 86, 6196–6200.
- Kutrup, B., Bülbül, U., Yılmaz, N., 2006. Effects of the ecological conditions on morphological variations of the green toad, *Bufo viridis*, Turkey. Ecol. Res. 21, 208–214.
- Kuzmin, S.L., 1999. The Amphibians of the former Soviet Union, Pensoft (ed.), Sofia, Moscou, 538 p.
- Madison, D.R., 1997. Swofford, D.L. and Maddison, W.P. NEXUS: An Extensible File Format for Systematic Information, Syst. Biol. 46, 590–621.
- Márquez R., Moreira C., J.P.S. do Amaral, Pargana J.M., Crespo E.G., 2005. Sound pressure level of advertisement calls of *Hyla meridionalis* and *Hyla arborea*. Amphibia-Reptilia 26, 391–395.
- Mayr, E., 1942. Systematics and the Origin of Species, Columbia University Press.
- Mertens R., 1952. Über den Glattechsen-Namen *Ablepharus pannonicus*. Zool. Anz. 149, 48–50.
- Moritz, C., Schneider, C. J., Wake, D. B., 1992. Evolutionary relationships within the *Ensatina escholtzii* complex confirm the ring species interpretation. Syst. Biol. 41, 273–291.
- Mutun, S., 2010. Intraspecific genetic variation and phylogeography of the oak gallwasp *Andricus caputmedusae* (Hymenoptera: Cynipidae): effects of the Anatolian Diagonal. Acta Zool. Hung. 56, 2, 153–172.
- Nylander, J. A. A., 2004. MrModeltest 2.0. Program distributed by the author, Evolutionary Biology Centre, Uppsala University. Available at <http://www.ebc.uu.se/systzoo/staff/nylander.html>.
- Özdemir N., & Kutrup B., 2007. Intraspecific variation of Turkish Green Toads, *Bufo (Pseudepidalea) viridis* Laurenti, 1768, based on 16S ribosomal RNA sequences. Herpetozoa. 20, 3–10.
- Özdemir, N., Üzüm, N., Avcı, A., and Olgun, K., 2009. Phylogeny of *Neurergus crocatus* and *Neurergus strauchii* in Turkey Based on Morphological and Molecular Data. Herpetologica. 65, 3, 280–291.
- Özeti, N., 1994. Yılmaz, İ. Türkiye Amfibileri, Ege Üniversitesi Basımevi, İzmir, 221 s.
- Özkurt, Ş., Yiğit, N., Çolak, E., 2007. Karyotype variation in Turkish populations of *Spermophilus* (Mammalia: Rodentia). Z. Säugetierkunde. 67, 117–119.

- Jérôme, P., Véronique, H., Glenn, Y., 2007. Estimating population size in the European tree frog (*Hyla arborea*) using individual recognition and chorus counts. Amphibia-Reptilia, 28, 287–294.
- Posada, D., and Crandall, K. A., 1998. Modeltest: Testing the Model of DNA Substitution. Bioinformatics, 14, 817–818.
- Posada, D. and Crandall, K. A., 2001. Intraspecific Gene Genealogies: Tree Grafting into Networks, Trends Ecol. Evol. 16, 37–45.
- Posada, D., 2003. Selecting Models of Evolution. In the Phylogenetic Handbook. Vandamme, A.M., Salemi, M., (eds). Cambridge University Press, 256–282.
- Rambaut A, Drummond A., 2010. FigTree v1.3.1. Institute of Evolutionary Biology, University of Edinburgh, Edinburgh, United Kingdom. <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>
- Rodriguez, E., Oliver, J.F., Marin, A. and Medina, J. R., 1990. The General Stochastic Model of Nucleotide Substitution, J. Theor. Biol. 142, 485–501.
- Rokas, A., Atkinson, R. J., Webster, L. M. I., Gyorgy, C. & Stone, G. N., 2003. Out of Anatolia: longitudinal gradients in genetic diversity support an eastern origin for a circum-Mediterranean oak gallwasp *Andricus quercustoeae*. Mol. Ecol. 12, 2153–2174.
- Salemi, M. and Vandamme, A. M., 2003. The Phylogenetic Handbook: A Practical Approach to DNA and Protein Phylogeny, 406 p., Cambridge University Press.
- Schneider, H., 2000. Bioacoustic demonstration of the tree frog, *Hyla arborea*, (Amphibia: Anura) in western Turkey. Zool. Middle East 21, 77–85.
- Schneider, H., 2001. The distribution of *Hyla arborea* and *Hyla savignyi* on the South coast of Turkey (Amphibia: Anura). Zool. Middle East, 23, 61–69.
- Sneath, P.H.A. and Sokal, R. R., 1973. Numerical Taxonomy: The Principles and Practice of Numerical Classification, San Francisco, Freeman.
- Smith, S. A., Stephens, P. R., Wiens, J. J., 2005. Replicate patterns of species richness, historical biogeography, and phylogeny in Holarctic treefrogs. Evolution 59, 2433–2450.
- Smith, S. A., Nieto Montes De Oca, T. W. Reeder, and Wiens., J. J., 2007. A phylogenetic perspective on elevational species richness patterns in Middle American treefrogs: Why so few species in lowland tropical forests? Evolution 61, 1188–1207.
- Stamatakis, A., 2006. RAxML-VI-HPC: Maximum likelihood-based phylogenetic analyses with thousands of taxa and mixed models. Bioinformatics 22, 2688–2690.

- Stock M., Dubey S, Klutsch C, Litvinchuk S, Scheidt U, and Perin N., 2008. Mitochondrial and nuclear phylogeny of circum-Mediterranean tree frogs from the *Hyla arborea* group. Mol. Phylogenet. Evol. 49, 1019-1024.
- Swofford, D. L., Olsen, G.J., Waddell, P. J. and Hillis, D. M., 1996. Phylogenetic Inference. In D.M. Hillis, C. Moritz, and B.K. Mable, eds. *Molecular Systematics*. Sunderland, MA: Sinauer, 407–514.
- Swofford, D. L., 1998. PAUP* Phylogenetic Analysis Using Parsimony, and other methods, Sinauer Associates, Sunderland, MA.
- Tarkhishvili, D., Gokhelashvili, R. K., 1999. *The Amphibians of The Caucasus*. Pensoft, Sofia, Moscow.
- Templeton, A.R., Crandall, K. A., and Sing, C. F., 1992. A Cladistic Analysis of Phenotypic Associations with Haplotypes Inferred from Restriction Endonuclease Mapping and DNA Sequence Data, III. Cladogram estimation, Genetics, 132, 619-633.
- Tosunoğlu, M. and Taşkavak, E., 2001. A Serological Investigation of *Bufo bufo* (Abura, Bufonidae) Populations in Southern Marmara (Manyas, Balıkesir) and Eastern Black Sea (Çamlıhemşin-Rize) Regions. Ital. J. Zool. 68, 2, 165-168.
- Thompson J.D., Gibson, T.J., Plewniak, F., Jeanmougin, F. and Higgins, D. G., 1997. The ClustalX Windows Interface: Flexible Strategies for Multiple Sequence Alignment Aided by Quality Analysis Tools, Nucleic Acids Res., 24, 4876-4882.
- 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.
- White, M. J. D., 1978. *Modes of Speciation*. San Francisco, W.H. Freeman.
- Wiens, J. J., J. W. Fetzner, C. L. Parkinson, and Reeder., T. W., 2005. Hylid frog phylogeny and sampling strategies for speciose clades. Syst. Biol. 54, 719–748.
- Wiens, J. J., Kuczynski, C. A, Hua, X, and Moen, D. S., 2010. An expanded phylogeny of treefrogs (Hylidae) based on nuclear and mitochondrial sequence data. Mol. Phylogenet. Evol. 55, 871–882.
- Yılmaz, İ., 1997. *Taksonomik Zoolojinin Prensipleri ve Metodları*, Oral yayıncılık, İzmir, 209s.
- Zaloglu, S., 1972. Türkiye'de *Hyla arborea* (L.)(Amphibia, Anura)'nin subspecies ayırımı üzerine bir araştırma. Ege. Univ. Fen Fak. Ilmi Kit. Ser. No: 162. (in Turkish).

Zardoya, R. and Meyer, A., 2001. On the Origin of and Phylogenetic Relationships Among Living Amphibians, PNAS, 98, 7380-7383.

Zhang Peng, Zhou Hui, Chen Yue-Qin, Liu Yi-Fei, and Qu Liang-Hu., 2005. Mitogenomic Perspectives on the Origin and Phylogeny of Living Amphibians. Soc. Syst. Biol. 54, 3, 91-400.

Zharkikh, A., 1994. Estimation of evolutionary distances between nucleotide sequences. J. Mol. Evol. 39, 315-329.

<http://www.fluxus-engineering.com/about.htm> Network © Copyright Fluxus Technology Ltd 1999-2010.

8. EKLER

Ek. 1 Loalitelere ait bilgiler

Taxa	Enlem/Boylam	Lokaliteler	Lokaliteler Numaraları
		GÜRCİSTAN	
<i>H.orientalis_Bt1</i>	41° 39' N, 41° 39' E	Batum	1
<i>H.orientalis_Bt2</i>	41° 39' N, 41° 39' E	Batum	2
<i>H.orientalis_Bt3</i>	41° 39' N, 41° 39' E	Batum	3
		TÜRKİYE	
		Artvin	
<i>H.orientalis_Bo1</i>	41° 23' N, 41° 51' E	Borçka	4
<i>H.orientalis_Bo2</i>	41° 23' N, 41° 51' E	Borçka	5
<i>H.orientalis_Bo3</i>	41° 23' N, 41° 51' E	Borçka	6
<i>H.orientalis_Hp1</i>	37° 27' N, 38° 17' E	Hopa	7
<i>H.orientalis_Hp2</i>	37° 27' N, 38° 17' E	Hopa	8
<i>H.orientalis_Hp3</i>	37° 27' N, 38° 17' E	Hopa	9
<i>H.orientalis_Ah2</i>	41° 20' N, 41° 18' E	Arhavi	10
<i>H.orientalis_Ah3</i>	41° 20' N, 41° 18' E	Arhavi	11
		Rize	
<i>H.orientalis_Fi1</i>	41° 13' N, 41° 11' E	Fındıklı	12
<i>H.orientalis_Ad1</i>	41° 11' N, 40° 58' E	Adeşen	14
<i>H.orientalis_Ad2</i>	41° 11' N, 40° 58' E	Adeşen	15
<i>H.orientalis_Pz2</i>	41° 10' N, 40° 53' E	Pazar	17
<i>H.orientalis_Cy2</i>	41° 05' N, 40° 44' E	Çayeli	19
<i>H.orientalis_Ri2</i>	41° 01' N, 40° 30' E	Merkez	21
<i>H.orientalis_Dp1</i>	41° 01' N, 40° 25' E	Derepazarı	23
<i>H.orientalis_Dp3</i>	41° 01' N, 40° 25' E	Derepazarı	25
<i>H.orientalis_Of1</i>	40° 56' N, 40° 16' E	Of	26
<i>H.orientalis_Gu3</i>	40° 58' N, 39° 38' E	Gürbulak	29
		Samsun	
<i>H.orientalis_Ss1</i>	41° 12' N, 36° 58' E	Terme	31
<i>H.orientalis_Ss2</i>	41° 12' N, 36° 58' E	Terme	32
		Çorum	
<i>H.orientalis_Cr1</i>	40° 52' N, 34° 55' E	İncesu mevkii	33
<i>H.orientalis_Cr2</i>	40° 52' N, 34° 55' E	İncesu mevkii	34

Ek. 1'in devamı

		<i>İstanbul</i>	
<i>H.orientalis_Is1</i>	41° 17' N, 28° 40' E	Durusu	
<i>H.orientalis_Is3</i>	41° 17' N, 28° 40' E	Durusu	37
		<i>Edirne</i>	
<i>H.orientalis_Edi</i>	41° 45' N, 26° 35' E	Büyükdöllük	38
		<i>Çanakkale</i>	
<i>H.orientalis_Ck1</i>	40° 09' N, 26° 24' E	Merkez	39
<i>H.orientalis_Ck2</i>	40° 09' N, 26° 24' E	Merkez	40
<i>H.orientalis_Ck3</i>	40° 09' N, 26° 24' E	Merkez	41
<i>H.orientalis_Gb1</i>	40° 25' N, 26° 40' E	Gelibolu	42
<i>H.orientalis_Gb2</i>	40° 25' N, 26° 40' E	Gelibolu	43
		<i>Balıkesir</i>	
<i>H.orientalis_Kce</i>	40° 13' N, 28° 02' E	Kuş cenneti	44
		<i>Bursa</i>	
<i>H.orientalis_Br1</i>	40° 12' N, 29° 19' E	Gölbaşı köyü	45
<i>H.orientalis_Br2</i>	40° 12' N, 29° 19' E	Gölbaşı köyü	46
<i>H.orientalis_Br3</i>	40° 12' N, 29° 19' E	Gölbaşı köyü	47
		<i>Denizli</i>	
<i>H.orientalis_Dn1</i>	38° 19' N, 29° 51' E	Çivril	48
<i>H.orientalis_Dn2</i>	38° 19' N, 29° 51' E	Çivril	49
<i>H.orientalis_Dn3</i>	38° 19' N, 29° 51' E	Çivril	50
		<i>Antalya</i>	
<i>H.orientalis_Ay1</i>	37° 02' N, 30° 33' E	Yeniköy	51
<i>H.orientalis_Ay2</i>	37° 02' N, 30° 33' E	Yeniköy	52
<i>H.orientalis_Ay3</i>	37° 02' N, 30° 33' E	Yeniköy	53
<i>H.orientalis_Gp1</i>	36° 15' N, 32° 17' E	Gazipaşa	54
<i>H.orientalis_Gp2</i>	36° 15' N, 32° 17' E	Gazipaşa	55
<i>H.orientalis_Kn1</i>	36° 35' N, 31° 53' E	Konaklı	56
<i>H.orientalis_Kn2</i>	36° 35' N, 31° 53' E	Konaklı	57
<i>H.orientalis_Kn3</i>	36° 35' N, 31° 53' E	Konaklı	58
		<i>Muğla</i>	
<i>H.orientalis_Mrm</i>	36° 87' N, 28° 27' E	Marmaris	59
<i>H.orientalis_Dlm</i>	36° 77' N, 28° 80' E	Dalaman	60
		<i>İzmir</i>	
<i>H.orientalis_Ef1</i>	37° 95' N, 27° 37' E	Selçuk	61
<i>H.orientalis_Ef2</i>	37° 95' N, 27° 37' E	Selçuk	62
		<i>Kırklareli</i>	
<i>H.orientalis_Ign</i>	41° 86' N, 27° 97' E	İğneada	63

Ek. 1'in devamı

		Mersin	
<i>H.orientalis_Mll</i>	36° 07' N, 32° 70' E	Melleç	64
<i>H.orientalis_TrS</i>	37° 10' N, 34° 37' E	Tarsus/Çamlıyayla	65
<i>H.savignyi_Klk</i>	36° 80' N, 34° 90' E	Tarsus/Kulak	66
<i>H.savignyi_Kz1</i>	36° 50' N, 34° 44' E	Kazanlı	67
<i>H.savignyi_Kz2</i>	36° 50' N, 34° 44' E	Kazanlı	68
<i>H.savignyi_Kz3</i>	36° 50' N, 34° 44' E	Kazanlı	69
<i>H.savignyi_AnM</i>	36° 10' N, 32° 79' E	Anamur, 5km NW	70
<i>H.savignyi_Man</i>	36° 03' N, 32° 81' E	Anamurium	71
		Adana	
<i>H.savignyi_Yr1</i>	36° 58' N, 35° 23' E	Yüreğir	72
<i>H.savignyi_Yr2</i>	36° 58' N, 35° 23' E	Yüreğir	73
<i>H.savignyi_Yr3</i>	36° 58' N, 35° 23' E	Yüreğir	74
<i>H.savignyi_Ce1</i>	37° 00' N, 35° 42' E	Ceyhan	75
<i>H.savignyi_Ce2</i>	37° 00' N, 35° 42' E	Ceyhan	76
<i>H.savignyi_Ce3</i>	37° 00' N, 35° 42' E	Ceyhan	77
		Osmaniye	
<i>H.savignyi_Os1</i>	37° 08' N, 36° 11' E	Merkez	78
<i>H.savignyi_Os2</i>	37° 08' N, 36° 11' E	Merkez	79
<i>H.savignyi_Os3</i>	37° 08' N, 36° 11' E	Merkez	80
<i>H.savignyi_Tk1</i>	37° 01' N, 36° 08' E	Toprakkale	81
<i>H.savignyi_Tk2</i>	37° 01' N, 36° 08' E	Toprakkale	82
		Hatay	
<i>H.savignyi_Sk1</i>	36° 40' N, 36° 12' E	Sariseki	83
<i>H.savignyi_Sk2</i>	36° 40' N, 36° 12' E	Sariseki	84
<i>H.savignyi_Sk3</i>	36° 40' N, 36° 12' E	Sariseki	85
		Kahramanmaraş	
<i>H.savignyi_Km1</i>	37° 48' N, 36° 40' E	Tekir	86
<i>H.savignyi_Km2</i>	37° 48' N, 36° 40' E	Tekir	87
<i>H.savignyi_Km3</i>	37° 48' N, 36° 40' E	Tekir	88
		Kilis	
<i>H.savignyi_Kl1</i>	36° 46' N, 37° 13' E	Konak Göleti	89
<i>H.savignyi_Kl2</i>	36° 46' N, 37° 13' E	Konak Göleti	90
<i>H.savignyi_Kl3</i>	36° 46' N, 37° 13' E	Konak Göleti	91
		Gaziantep	
<i>H.savignyi_Ga1</i>	37° 06' N, 37° 36' E	Şehit Kamil	92
<i>H.savignyi_Ga2</i>	37° 06' N, 37° 36' E	Şehit Kamil	93
<i>H.savignyi_Ga3</i>	37° 06' N, 37° 36' E	Şehit Kamil	94

Ek. 1'in devamı

		Şanlıurfa	
<i>H.savignyi_Su1</i>	37° 27' N, 38° 17' E	Bozova	95
<i>H.savignyi_Su2</i>	37° 27' N, 38° 17' E	Bozova	96
<i>H.savignyi_Su3</i>	37° 27' N, 38° 17' E	Bozova	97
<i>H.savignyi_Bir</i>	37° 03' N, 37° 99' E	Birecik	98
		Mardin	
<i>H.savignyi_Mr1</i>	37° 18' N, 40° 44' E	Kızıltepe	99
<i>H.savignyi_Mr2</i>	37° 18' N, 40° 44' E	Kızıltepe	100
<i>H.savignyi_Mr3</i>	37° 18' N, 40° 44' E	Kızıltepe	101
		Batman	
<i>H.savignyi_Bat</i>	38° 11' N, 41° 29' E	Kozluk	102
		Elazığ	
<i>H.savignyi_El1</i>	38° 47' N, 38° 44' E	Keban	103
<i>H.savignyi_El2</i>	38° 47' N, 38° 44' E	Keban	104
<i>H.savignyi_El3</i>	38° 47' N, 38° 44' E	Keban	105
		Iğdır	
<i>H.savignyi_Ig1</i>	40° 01' N, 43° 52' E	Çalpala	106
<i>H.savignyi_Ig2</i>	40° 01' N, 43° 52' E	Çalpala	107
<i>H.savignyi_Igd</i>	40° 05' N, 43° 66' E	Tuzluca	108
		Kayseri	
<i>H.savignyi_Kys</i>	38° 24' N, 35° 20' E	Ovaçiftliği	109

Ek. 2 GenBank numaraları

Taxa	GenBank Numaralari			Referanslar
	12S	Cytb	H3	
<i>H.orientalis_Bt1</i>	JF499461	JF499540	JF499633	Bu çalışma
<i>H.orientalis_Bt2</i>	JF499462	JF499541	JF499634	Bu çalışma
<i>H.orientalis_Bt3</i>	JF499463	JF499542	JF499635	Bu çalışma
<i>H.orientalis_Bo1</i>	JF499411	JF499493	JF499576	Bu çalışma
<i>H.orientalis_Bo2</i>	JF499412	-	JF499577	Bu çalışma
<i>H.orientalis_Bo3</i>	JF499413	-	JF499578	Bu çalışma
<i>H.orientalis_Hp1</i>	JF499419	JF499498	JF499586	Bu çalışma
<i>H.orientalis_Hp2</i>	JF499420	JF499499	JF499587	Bu çalışma
<i>H.orientalis_Hp3</i>	JF499421	JF499500	JF499588	Bu çalışma
<i>H.orientalis_Ah2</i>	JF499423	-	JF499591	Bu çalışma
<i>H.orientalis_Ah3</i>	JF499424	JF499503	JF499592	Bu çalışma
<i>H.orientalis_Fi1</i>	JF499408	JF499490	JF499571	Bu çalışma
<i>H.orientalis_Fi2</i>	-	-	JF499572	Bu çalışma
<i>H.orientalis_Ad1</i>	JF499409	JF499491	JF499573	Bu çalışma
<i>H.orientalis_Ad2</i>	JF499410	JF499492	JF499574	Bu çalışma
<i>H.orientalis_Ad3</i>	-	-	JF499575	Bu çalışma
<i>H.orientalis_Pz2</i>	-	JF499554	JF499650	Bu çalışma
<i>H.orientalis_Cy1</i>	JF499448	JF499528	JF499620	Bu çalışma
<i>H.orientalis_Cy2</i>	JF499449	-	JF499621	Bu çalışma
<i>H.orientalis_Ri1</i>	JF499396	-	JF499557	Bu çalışma
<i>H.orientalis_Ri2</i>	JF499397	-	JF499558	Bu çalışma
<i>H.orientalis_Ri3</i>	JF499398	-	JF499559	Bu çalışma
<i>H.orientalis_Dp1</i>	JF499403	JF499484	JF499565	Bu çalışma
<i>H.orientalis_Dp2</i>	JF499404	JF499485	JF499566	Bu çalışma
<i>H.orientalis_Dp3</i>	-	JF499486	JF499567	Bu çalışma
<i>H.orientalis_Of1</i>	JF499476	JF499553	JF499648	Bu çalışma
<i>H.orientalis_Of2</i>	JF499477	-	JF499649	Bu çalışma
<i>H.orientalis_Gu2</i>	JF499399	JF499481	JF499560	Bu çalışma
<i>H.orientalis_Gu3</i>	JF499400	-	JF499561	Bu çalışma
<i>H.orientalis_Akc</i>	JF499405	JF499487	JF499568	Bu çalışma
<i>H.orientalis_Ss1</i>	JF499414	-	JF499579	Bu çalışma
<i>H.orientalis_Ss2</i>	JF499415	JF499494	JF499580	Bu çalışma
<i>H.orientalis_Cr1</i>	JF499456	JF499535	JF499628	Bu çalışma
<i>H.orientalis_Cr2</i>	JF499457	JF499536	JF499629	Bu çalışma
<i>H.orientalis_Is1</i>	JF499445	JF499526	JF499617	Bu çalışma
<i>H.orientalis_Is2</i>	JF499446	JF499527	JF499618	Bu çalışma
<i>H.orientalis_Is3</i>	JF499447	-	JF499619	Bu çalışma
<i>H.orientalis_Edi</i>	JF499406	JF499488	JF499569	Bu çalışma

Ek. 2'nin devamı

<i>H.orientalis_Ck1</i>	JF499436	JF499516	JF499606	Bu çalışma
<i>H.orientalis_Ck2</i>	JF499437	JF499517	JF499607	Bu çalışma
<i>H.orientalis_Ck3</i>	-	JF499518	JF499608	Bu çalışma
<i>H.orientalis_Gb1</i>	JF499416	JF499495	JF499581	Bu çalışma
<i>H.orientalis_Gb2</i>	-	-	JF499582	Bu çalışma
<i>H.orientalis_Kce</i>	JF499407	JF499489	JF499570	Bu çalışma
<i>H.orientalis_Br1</i>	JF499467	JF499546	JF499639	Bu çalışma
<i>H.orientalis_Br2</i>	JF499468	JF499547	JF499640	Bu çalışma
<i>H.orientalis_Br3</i>	JF499469	JF499548	JF499641	Bu çalışma
<i>H.orientalis_Dn1</i>	JF499442	JF499523	JF499614	Bu çalışma
<i>H.orientalis_Dn2</i>	JF499443	JF499524	JF499615	Bu çalışma
<i>H.orientalis_Dn3</i>	JF499444	JF499525	JF499616	Bu çalışma
<i>H.orientalis_Ay1</i>	JF499426	JF499505	JF499594	Bu çalışma
<i>H.orientalis_Ay2</i>	JF499427	JF499506	JF499595	Bu çalışma
<i>H.orientalis_Ay3</i>	JF499428	JF499507	JF499596	Bu çalışma
<i>H.orientalis_Gp1</i>	JF499441	JF499522	JF499612	Bu çalışma
<i>H.orientalis_Gp2</i>	-	-	JF499613	Bu çalışma
<i>H.orientalis_Kn1</i>	JF499473	JF499551	JF499645	Bu çalışma
<i>H.orientalis_Kn2</i>	JF499474	JF499552	JF499646	Bu çalışma
<i>H.orientalis_Kn3</i>	JF499475	-	JF499647	Bu çalışma
<i>H.orientalis_Mrm</i>	GQ916752	-	-	Gvozdik vd. 2010
<i>H.orientalis_Dlm</i>	GQ916750	-	-	Gvozdik vd. 2010
<i>H.orientalis_Ef1</i>	GQ916745	-	-	Gvozdik vd. 2010
<i>H.orientalis_Ef2</i>	-	FJ226859	-	Stock vd. 2008
<i>H.orientalis_Ign</i>	-	FJ226855	-	Stock vd. 2008
<i>H.orientalis_Mll</i>	GQ916748	-	-	Gvozdik vd. 2010
<i>H.orientalis_TrS</i>	JF499478	JF499555	JF499651	Bu çalışma
<i>H.savignyi_Klk</i>	GQ916732	-	-	Gvozdik vd. 2010
<i>H.savignyi_Kz1</i>	JF499431	JF499511	JF499600	Bu çalışma
<i>H.savignyi_Kz2</i>	JF499432	JF499512	JF499601	Bu çalışma
<i>H.savignyi_Kz3</i>	JF499433	JF499513	JF499602	Bu çalışma
<i>H.savignyi_Anm</i>	GQ916723	-	-	Gvozdik vd. 2010
<i>H.savignyi_Man</i>	GQ916725	-	-	Gvozdik vd. 2010
<i>H.savignyi_Yr1</i>	JF499434	JF499514	JF499603	Bu çalışma
<i>H.savignyi_Yr2</i>	JF499435	JF499515	JF499604	Bu çalışma
<i>H.savignyi_Yr3</i>	-	-	JF499605	Bu çalışma

Ek. 2'nin devamı

<i>H.savignyi_Ce1</i>	JF499429	JF499508	JF499597	Bu çalışma
<i>H.savignyi_Ce2</i>	JF499430	JF499509	JF499598	Bu çalışma
<i>H.savignyi_Ce3</i>	-	JF499510	JF499599	Bu çalışma
<i>H.savignyi_Os1</i>	JF499417	JF499496	JF499583	Bu çalışma
<i>H.savignyi_Os2</i>	JF499418	JF499497	JF499584	Bu çalışma
<i>H.savignyi_Os3</i>	-	-	JF499585	Bu çalışma
<i>H.savignyi_Tk1</i>	JF499422	JF499501	JF499589	Bu çalışma
<i>H.savignyi_Tk2</i>	-	JF499502	JF499590	Bu çalışma
<i>H.savignyi_Sk1</i>	JF499458	JF499537	JF499630	Bu çalışma
<i>H.savignyi_Sk2</i>	JF499459	JF499538	JF499631	Bu çalışma
<i>H.savignyi_Sk3</i>	JF499460	JF499539	JF499632	Bu çalışma
<i>H.savignyi_Km1</i>	JF499438	JF499519	JF499609	Bu çalışma
<i>H.savignyi_Km2</i>	JF499439	JF499520	JF499610	Bu çalışma
<i>H.savignyi_Km3</i>	JF499440	JF499521	JF499611	Bu çalışma
<i>H.savignyi_Kl1</i>	JF499464	JF499543	JF499636	Bu çalışma
<i>H.savignyi_Kl2</i>	JF499465	JF499544	JF499637	Bu çalışma
<i>H.savignyi_Kl3</i>	JF499466	JF499545	JF499638	Bu çalışma
<i>H.savignyi_Ga1</i>	JF499453	JF499532	JF499625	Bu çalışma
<i>H.savignyi_Ga2</i>	JF499454	JF499533	JF499626	Bu çalışma
<i>H.savignyi_Ga3</i>	JF499455	JF499534	JF499627	Bu çalışma
<i>H.savignyi_Su1</i>	JF499401	JF499482	JF499562	Bu çalışma
<i>H.savignyi_Su2</i>	JF499402	JF499483	JF499563	Bu çalışma
<i>H.savignyi_Su3</i>	-	-	JF499564	Bu çalışma
<i>H.savignyi_Bir</i>	GQ916729	-	-	Gvozdik vd. 2010
<i>H.savignyi_Mr1</i>	JF499450	JF499529	JF499622	Bu çalışma
<i>H.savignyi_Mr2</i>	JF499451	JF499530	JF499623	Bu çalışma
<i>H.savignyi_Mr3</i>	JF499452	JF499531	JF499624	Bu çalışma
<i>H.savignyi_Bat</i>	JF499425	JF499504	JF499593	Bu çalışma
<i>H.savignyi_El1</i>	JF499470	JF499549	JF499642	Bu çalışma
<i>H.savignyi_El2</i>	JF499471	JF499550	JF499643	Bu çalışma
<i>H.savignyi_El3</i>	JF499472	-	JF499644	Bu çalışma
<i>H.savignyi_Ig1</i>	JF499479	JF499556	JF499652	Bu çalışma
<i>H.savignyi_Ig2</i>	JF499480	-	JF499653	Bu çalışma
<i>H.savignyi_Igd</i>	GQ916735	-	-	Gvozdik vd. 2010
<i>H.savignyi_Kys</i>	GQ916731	-	-	Gvozdik vd. 2010

Ek. 3 Haplotipler

Taxa	Haplotipler		
	12S	Cytb	H3
<i>H.orientalis_Bt1</i>	<i>H.orientalis_Ri1</i>	<i>H.orientalis_Gu2</i>	<i>H.orientalis_Ri1</i>
<i>H.orientalis_Bt2</i>	<i>H.orientalis_Ri1</i>	<i>H.orientalis_Gu2</i>	<i>H.orientalis_Ri1</i>
<i>H.orientalis_Bt3</i>	<i>H.orientalis_Ri2</i>	<i>H.orientalis_Bt3</i>	<i>H.orientalis_Ri1</i>
<i>H.orientalis_Bo1</i>	<i>H.orientalis_Ri2</i>	<i>H.orientalis_Bo1</i>	<i>H.orientalis_Ri1</i>
<i>H.orientalis_Bo2</i>	<i>H.orientalis_Ri1</i>	-	<i>H.orientalis_Ri1</i>
<i>H.orientalis_Bo3</i>	<i>H.orientalis_Ri2</i>	-	<i>H.orientalis_Ri1</i>
<i>H.orientalis_Hp1</i>	<i>H.orientalis_Ri1</i>	<i>H.orientalis_Gu2</i>	<i>H.orientalis_Ri1</i>
<i>H.orientalis_Hp2</i>	<i>H.orientalis_Ri1</i>	<i>H.orientalis_Gu2</i>	<i>H.orientalis_Ri1</i>
<i>H.orientalis_Hp3</i>	<i>H.orientalis_Hp3</i>	<i>H.orientalis_Bo1</i>	<i>H.orientalis_Ss2</i>
<i>H.orientalis_Ah2</i>	<i>H.orientalis_Ah2</i>	<i>H.orientalis_Gu2</i>	<i>H.orientalis_Ri1</i>
<i>H.orientalis_Ah3</i>	<i>H.orientalis_Ri1</i>	-	<i>H.orientalis_Ri1</i>
<i>H.orientalis_Fi1</i>	<i>H.orientalis_Fi1</i>	<i>H.orientalis_Gu2</i>	<i>H.orientalis_Ri1</i>
<i>H.orientalis_Fi2</i>	-	-	<i>H.orientalis_Ri1</i>
<i>H.orientalis_Ad1</i>	<i>H.orientalis_Ad1</i>	<i>H.orientalis_Gu2</i>	<i>H.orientalis_Ri1</i>
<i>H.orientalis_Ad2</i>	<i>H.orientalis_Ad2</i>	<i>H.orientalis_Gu2</i>	<i>H.orientalis_Ri1</i>
<i>H.orientalis_Ad3</i>	-	-	<i>H.orientalis_Ri1</i>
<i>H.orientalis_Pz2</i>	-	<i>H.orientalis_Gu2</i>	<i>H.orientalis_Ri1</i>
<i>H.orientalis_Cy1</i>	<i>H.orientalis_Ri1</i>	<i>H.orientalis_Gu2</i>	<i>H.orientalis_Ri1</i>
<i>H.orientalis_Cy2</i>	<i>H.orientalis_Ri2</i>	-	<i>H.orientalis_Ri1</i>
<i>H.orientalis_Ri1</i>	<i>H.orientalis_Ri1</i>	-	<i>H.orientalis_Ri1</i>
<i>H.orientalis_Ri2</i>	<i>H.orientalis_Ri2</i>	-	<i>H.orientalis_Ri2</i>
<i>H.orientalis_Ri3</i>	<i>H.orientalis_Ri2</i>	-	<i>H.orientalis_Ri1</i>
<i>H.orientalis_Dp1</i>	<i>H.orientalis_Ri1</i>	<i>H.orientalis_Gu2</i>	<i>H.orientalis_Ri1</i>
<i>H.orientalis_Dp2</i>	<i>H.orientalis_Ri1</i>	<i>H.orientalis_Gu2</i>	<i>H.orientalis_Ri2</i>
<i>H.orientalis_Dp3</i>	-	<i>H.orientalis_Gu2</i>	<i>H.orientalis_Ri1</i>
<i>H.orientalis_Of1</i>	<i>H.orientalis_Ri1</i>	<i>H.orientalis_Gu2</i>	<i>H.orientalis_Ri1</i>
<i>H.orientalis_Of2</i>	<i>H.orientalis_Of2</i>	-	<i>H.orientalis_Ri1</i>
<i>H.orientalis_Gu2</i>	-	<i>H.orientalis_Gu2</i>	<i>H.orientalis_Ri1</i>
<i>H.orientalis_Gu3</i>	<i>H.orientalis_Ri1</i>	-	<i>H.orientalis_Ri1</i>
<i>H.orientalis_Akc</i>	<i>H.orientalis_Ri1</i>	<i>H.orientalis_Akc</i>	<i>H.orientalis_Ri1</i>
<i>H.orientalis_Ss1</i>	<i>H.orientalis_Ri1</i>	<i>H.orientalis_Ss1</i>	<i>H.orientalis_Ri1</i>
<i>H.orientalis_Ss2</i>	<i>H.orientalis_Ri1</i>	-	<i>H.orientalis_Ss2</i>
<i>H.orientalis_Cr1</i>	<i>H.orientalis_Ri1</i>	<i>H.orientalis_Cr1</i>	<i>H.orientalis_Ri1</i>
<i>H.orientalis_Cr2</i>	<i>H.orientalis_Cr2</i>	<i>H.orientalis_Cr2</i>	<i>H.orientalis_Ri1</i>
<i>H.orientalis_Is1</i>	<i>H.orientalis_Ri1</i>	<i>H.orientalis_Is1</i>	<i>H.orientalis_Ri1</i>
<i>H.orientalis_Is2</i>	<i>H.orientalis_Is2</i>	<i>H.orientalis_Ck2</i>	<i>H.orientalis_Ri1</i>
<i>H.orientalis_Is3</i>	<i>H.orientalis_Is3</i>	-	<i>H.orientalis_Ri1</i>
<i>H.orientalis_Edi</i>	<i>H.orientalis_Ri1</i>	<i>H.orientalis_Edi</i>	<i>H.orientalis_Edi</i>

Ek. 3'ün devamı

<i>H.orientalis_Ck1</i>	<i>H.orientalis_Ri1</i>	<i>H.orientalis_Ck1</i>	<i>H.orientalis_Ri1</i>
<i>H.orientalis_Ck2</i>	<i>H.orientalis_Ri1</i>	<i>H.orientalis_Ck2</i>	<i>H.orientalis_Ri1</i>
<i>H.orientalis_Ck3</i>	-	<i>H.orientalis_Ck2</i>	<i>H.orientalis_Ri1</i>
<i>H.orientalis_Gb1</i>	-	<i>H.orientalis_Gb1</i>	<i>H.orientalis_Ri1</i>
<i>H.orientalis_Gb2</i>	-	-	<i>H.orientalis_Kce</i>
<i>H.orientalis_Kce</i>	<i>H.orientalis_Ri1</i>	<i>H.orientalis_Kce</i>	<i>H.orientalis_Kce</i>
<i>H.orientalis_Br1</i>	<i>H.orientalis_Ri1</i>	<i>H.orientalis_Gu2</i>	<i>H.orientalis_Ri2</i>
<i>H.orientalis_Br2</i>	<i>H.orientalis_Ri1</i>	<i>H.orientalis_Gu2</i>	<i>H.orientalis_Ri1</i>
<i>H.orientalis_Br3</i>	<i>H.orientalis_Ri1</i>	<i>H.orientalis_Gu2</i>	<i>H.orientalis_Ri1</i>
<i>H.orientalis_Dn1</i>	<i>H.orientalis_Ri1</i>	<i>H.orientalis_Dn1</i>	<i>H.orientalis_Dn1</i>
<i>H.orientalis_Dn2</i>	<i>H.orientalis_Ri1</i>	<i>H.orientalis_Dn2</i>	<i>H.orientalis_Kce</i>
<i>H.orientalis_Dn3</i>	<i>H.orientalis_Dn3</i>	<i>H.orientalis_Dn3</i>	<i>H.orientalis_Kce</i>
<i>H.orientalis_Ay1</i>	<i>H.orientalis_Ri1</i>	<i>H.orientalis_Ay1</i>	<i>H.orientalis_Kce</i>
<i>H.orientalis_Ay2</i>	<i>H.orientalis_Ay2</i>	<i>H.orientalis_Ay2</i>	<i>H.orientalis_Ri1</i>
<i>H.orientalis_Ay3</i>	<i>H.orientalis_Ri1</i>	<i>H.orientalis_Ay1</i>	<i>H.orientalis_Ri1</i>
<i>H.orientalis_Gp1</i>	<i>H.orientalis_Ri1</i>	<i>H.orientalis_Gp1</i>	<i>H.orientalis_Ri1</i>
<i>H.orientalis_Gp2</i>	-	-	<i>H.orientalis_Kce</i>
<i>H.orientalis_Kn1</i>	<i>H.orientalis_Ri1</i>	<i>H.orientalis_Kn1</i>	<i>H.orientalis_Ri1</i>
<i>H.orientalis_Kn2</i>	<i>H.orientalis_Ri1</i>	<i>H.orientalis_Kn1</i>	<i>H.orientalis_Ri1</i>
<i>H.orientalis_Kn3</i>	<i>H.orientalis_Ri1</i>	-	<i>H.orientalis_Ri1</i>
<i>H.orientalis_Mrm</i>	<i>H.orientalis_Mrm</i>	-	-
<i>H.orientalis_Dlm</i>	<i>H.orientalis_Dlm</i>	-	-
<i>H.orientalis_Ef1</i>	<i>H.orientalis_Ef1</i>	-	-
<i>H.orientalis_Ef2</i>	-	<i>H.orientalis_Ef2</i>	-
<i>H.orientalis_Ign</i>	-	<i>H.orientalis_Ign</i>	-
<i>H.orientalis_Mll</i>	<i>H.orientalis_Mll</i>	-	-
<i>H.orientalis_TrS</i>	<i>H.orientalis_Ri2</i>	<i>H.orientalis_Bo1</i>	<i>H.orientalis_Ri1</i>
<i>H.savignyi_Klk</i>	<i>H.savignyi_Klk</i>	-	-
<i>H.savignyi_Kz1</i>	<i>H.savignyi_Os2</i>	<i>H.savignyi_Kz1</i>	<i>H.savignyi_Su3</i>
<i>H.savignyi_Kz2</i>	<i>H.savignyi_Os2</i>	<i>H.savignyi_Kz2</i>	<i>H.savignyi_Su2</i>
<i>H.savignyi_Kz3</i>	<i>H.savignyi_Os2</i>	<i>H.savignyi_Os1</i>	<i>H.savignyi_Su3</i>
<i>H.savignyi_Anm</i>	<i>H.savignyi_Os2</i>	-	-
<i>H.savignyi_Man</i>	<i>H.savignyi_Man</i>	-	
<i>H.savignyi_Yr1</i>	<i>H.savignyi_Os2</i>	<i>H.savignyi_Os1</i>	<i>H.savignyi_Su3</i>
<i>H.savignyi_Yr2</i>	<i>H.savignyi_Os2</i>	<i>H.savignyi_Yr2</i>	<i>H.savignyi_Su2</i>
<i>H.savignyi_Yr3</i>	-	-	<i>H.savignyi_Su2</i>
<i>H.savignyi_Ce1</i>	<i>H.savignyi_Ce1</i>	<i>H.savignyi_Ce1</i>	<i>H.savignyi_Su2</i>
<i>H.savignyi_Ce2</i>	<i>H.savignyi_Ce2</i>	<i>H.savignyi_Os1</i>	<i>H.savignyi_Su2</i>
<i>H.savignyi_Ce3</i>	-	<i>H.savignyi_Ce3</i>	<i>H.savignyi_Su2</i>
<i>H.savignyi_Os1</i>	<i>H.savignyi_Os1</i>	<i>H.savignyi_Os1</i>	<i>H.savignyi_Su2</i>

Ek. 3'ün devamı

<i>H.savignyi_Os2</i>	-	<i>H.savignyi_Os1</i>	<i>H.savignyi_Os2</i>
<i>H.savignyi_Os3</i>	-	-	<i>H.savignyi_Su2</i>
<i>H.savignyi_Tk1</i>	<i>H.savignyi_Su1</i>	<i>H.savignyi_Su1</i>	<i>H.savignyi_Tk1</i>
<i>H.savignyi_Tk2</i>	-	<i>H.savignyi_Su1</i>	<i>H.savignyi_Su2</i>
<i>H.savignyi_Sk1</i>	<i>H.savignyi_Su1</i>	<i>H.savignyi_Sk1</i>	<i>H.savignyi_Su2</i>
<i>H.savignyi_Sk2</i>	<i>H.savignyi_Os2</i>	<i>H.savignyi_Os1</i>	<i>H.savignyi_Su2</i>
<i>H.savignyi_Sk3</i>	<i>H.savignyi_Os2</i>	<i>H.savignyi_Kz2</i>	<i>H.savignyi_Su2</i>
<i>H.savignyi_Km1</i>	<i>H.savignyi_Km1</i>	<i>H.savignyi_Km1</i>	<i>H.savignyi_Su2</i>
<i>H.savignyi_Km2</i>	<i>H.savignyi_Su1</i>	<i>H.savignyi_Km1</i>	-
<i>H.savignyi_Km3</i>	<i>H.savignyi_Su1</i>	<i>H.savignyi_Km3</i>	<i>H.savignyi_Tk1</i>
<i>H.savignyi_Kl1</i>	<i>H.savignyi_Su1</i>	<i>H.savignyi_Sk1</i>	<i>H.savignyi_Os2</i>
<i>H.savignyi_Kl2</i>	<i>H.savignyi_Kl2</i>	<i>H.savignyi_Sk1</i>	<i>H.savignyi_Su3</i>
<i>H.savignyi_Kl3</i>	<i>H.savignyi_Su1</i>	<i>H.savignyi_Kl3</i>	<i>H.savignyi_Su2</i>
<i>H.savignyi_Ga1</i>	<i>H.savignyi_Su1</i>	<i>H.savignyi_Su1</i>	<i>H.savignyi_Su2</i>
<i>H.savignyi_Ga2</i>	<i>H.savignyi_Su1</i>	<i>H.savignyi_Su1</i>	<i>H.savignyi_Su3</i>
<i>H.savignyi_Ga3</i>	<i>H.savignyi_Su1</i>	<i>H.savignyi_Ga3</i>	<i>H.savignyi_Su3</i>
<i>H.savignyi_Su1</i>	<i>H.savignyi_Su1</i>	<i>H.savignyi_Su1</i>	-
<i>H.savignyi_Su2</i>	<i>H.savignyi_Su1</i>	<i>H.savignyi_Su2</i>	<i>H.savignyi_Su2</i>
<i>H.savignyi_Su3</i>	-	-	<i>H.savignyi_Su3</i>
<i>H.savignyi_Bir</i>	<i>H.savignyi_Bir</i>	-	-
<i>H.savignyi_Mr1</i>	<i>H.savignyi_Su1</i>	<i>H.savignyi_Mr1</i>	<i>H.savignyi_Su3</i>
<i>H.savignyi_Mr2</i>	<i>H.savignyi_Su1</i>	<i>H.savignyi_Su2</i>	<i>H.savignyi_Os2</i>
<i>H.savignyi_Mr3</i>	<i>H.savignyi_Su1</i>	<i>H.savignyi_Su2</i>	<i>H.savignyi_Tk1</i>
<i>H.savignyi_Bat</i>	<i>H.savignyi_Su1</i>	<i>H.savignyi_Bat</i>	<i>H.savignyi_Su2</i>
<i>H.savignyi_El1</i>	<i>H.savignyi_Su1</i>	<i>H.savignyi_Su2</i>	<i>H.savignyi_Os2</i>
<i>H.savignyi_El2</i>	<i>H.savignyi_Su1</i>	<i>H.savignyi_Su2</i>	<i>H.savignyi_Os2</i>
<i>H.savignyi_El3</i>	<i>H.savignyi_Su1</i>	-	<i>H.savignyi_Su2</i>
<i>H.savignyi_Ig1</i>	<i>H.savignyi_Ig1</i>	<i>H.savignyi_Ig1</i>	<i>H.savignyi_Su2</i>
<i>H.savignyi_Ig2</i>	<i>H.savignyi_Ig1</i>	-	<i>H.savignyi_Tk1</i>
<i>H.savignyi_Igd</i>	<i>H.savignyi_Ig1</i>	-	-
<i>H.savignyi_Kys</i>	<i>H.savignyi_Ce2</i>	-	-

Ek 4'ün devamı

JF499464A.....
JF499465G.....A.....
JF499466A.....
JF499467
JF499468
JF499469
JF499470A.....
JF499471A.....
JF499472A.....
JF499473
JF499474
JF499475
JF499476
JF499477T.....
JF499478T.....
JF499479
JF499480
	110 120 130 140 150
JF499396	A C C T C C G T C G T C A G C T T A C C T C G T G A G C C G A A A T T T A G T G A G C T C A A T G T C C T T A C A T C A
JF499397
JF499398
JF499399
JF499400
JF499401T.....T C.....
JF499402T.....T C.....
JF499403
JF499404
JF499405
JF499406
JF499407
JF499408T.....T.....
JF499409
JF499410
JF499411
JF499412
JF499413
JF499414
JF499415
JF499416G.....
JF499417G.....T.....T C.....
JF499418T.....T C.....
JF499419
JF499420
JF499421
JF499422T.....T C.....
JF499423
JF499424
JF499425T.....T C.....
JF499426
JF499427
JF499428
JF499429T.....T C.....
JF499430T.....T C.....
JF499431T.....T C.....
JF499432T.....T C.....
JF499433T.....T C.....
JF499434T.....T C.....
JF499435T.....T C.....
JF499436
JF499437
JF499438G.....T.....T C.....
JF499439T.....T C.....
JF499440T.....T C.....
JF499441
JF499442
JF499443
JF499444C.....
JF499445

Ek 4'ün devamı

JF499446
 JF499447
 JF499448
 JF499449
 JF499450
 JF499451
 JF499452
 JF499453
 JF499454
 JF499455
 JF499456
 JF499457
 JF499458
 JF499459
 JF499460
 JF499461
 JF499462
 JF499463
 JF499464
 JF499465
 JF499466
 JF499467
 JF499468
 JF499469
 JF499470
 JF499471
 JF499472
 JF499473
 JF499474
 JF499475
 JF499476
 JF499477
 JF499478
 JF499479
 JF499480

210 220 230 240 250
 JF499396 GGGCTACACTCTCTAATTTAGAAAACACGAAAAGACTACATATGAAATTC TAGTCAGAAG
 JF499397
 JF499398
 JF499399
 JF499400
 JF499401 C C T T CC
 JF499402 C C T T CC
 JF499403
 JF499404
 JF499405
 JF499406
 JF499407
 JF499408
 JF499409
 JF499410
 JF499411
 JF499412
 JF499413
 JF499414
 JF499415
 JF499416 T
 JF499417 C C T T CC
 JF499418 CC C T T CC
 JF499419
 JF499420
 JF499421
 JF499422 C C T T CC
 JF499423
 JF499424
 JF499425 C C T T CC
 JF499426
 JF499427

Ek 4'ün devamı

JF499428
 JF499429 CC C T T CC T A
 JF499430 C C T T CC
 JF499431 CC C T T CC
 JF499432 CC C T T CC
 JF499433 CC C T T CC
 JF499434 CC C T T CC
 JF499435 CC C T T CC
 JF499436
 JF499437
 JF499438 C C T T CC
 JF499439 C C T T CC
 JF499440 C C T T CC
 JF499441
 JF499442
 JF499443
 JF499444 A
 JF499445
 JF499446
 JF499447 G C
 JF499448
 JF499449
 JF499450 C C T T CC
 JF499451 C C T T CC
 JF499452 C C T T CC
 JF499453 C C T T CC
 JF499454 C C T T CC
 JF499455 C C T T CC
 JF499456
 JF499457 G
 JF499458 C C T T CC
 JF499459 CC C T T CC
 JF499460 CC C T T CC
 JF499461
 JF499462
 JF499463
 JF499464 C C T T CC
 JF499465 C C T T CC
 JF499466 C C T T CC
 JF499467
 JF499468
 JF499469
 JF499470 C C T T CC
 JF499471 C C T T CC
 JF499472 C C T T CC
 JF499473
 JF499474
 JF499475
 JF499476
 JF499477
 JF499478
 JF499479 C C T CC
 JF499480 C C T CC

JF499396 C C C G G C A C T G G G G T G T G T A C A C
 JF499397
 JF499398
 JF499399
 JF499400
 JF499401
 JF499402
 JF499403
 JF499404
 JF499405
 JF499406
 JF499407
 JF499408
 JF499409

Ek 5'in devamı

```

JF499549 . . . . . T . . . . . G . . . . . G . C . . . . . A . . . . . C . . . . .
JF499550 . . . . . T . . . . . G . . . . . G . C . . . . . A . . . . . C . . . . .
JF499551 . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . .
JF499552 . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . .
JF499553 . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . .
JF499554 . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . .
JF499555 . . . . . . . . . . . . . . . . . A . . . . . . . . . . . . . . . .
JF499556 . . . . . . . . . . . . . . . . . G . . . . . T . G . C . . . . . A . . . . . C . . . . .

```

```

              110              120              130              140              150
JF499481 G A G C C T C A I T T T T T C T T C A T C T G C A T T T A C C T C C A C A T C G G A C G A G G A A T A T A T T A C G G A
JF499482 . . . . . C . . . . . . . . . . . C . . . . . G . . . . . G . G . . . . .
JF499483 . . . . . C . . . . . . . . . . . C . T . . . . . G . G . G . . . . .
JF499484 . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . .
JF499485 . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . .
JF499486 . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . .
JF499487 . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . T . . .
JF499488 . G . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . .
JF499489 . G . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . .
JF499490 . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . .
JF499491 . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . .
JF499492 . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . .
JF499493 . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . G . . .
JF499494 . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . .
JF499495 . G . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . G . . .
JF499496 . G . . . . . C . . . . . . . . . . . T . T . . . . . G . . . . . G . . . . .
JF499497 . G . . . . . C . . . . . . . . . . . T . T . . . . . G . . . . . G . . . . .
JF499498 . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . .
JF499499 . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . .
JF499500 . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . G . . .
JF499501 . . . . . C . . . . . . . . . . . C . . . . . G . . . . . G . G . . .
JF499502 . . . . . C . . . . . . . . . . . C . . . . . G . . . . . G . G . . .
JF499503 . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . .
JF499504 . . . . . C . . . . . . . . . . . C . T . . . . . A . G . G . G . . . . .
JF499505 . G . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . .
JF499506 . G . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . .
JF499507 . G . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . .
JF499508 . G . . . . . C . . . . . . . . . . . T . T . . . . . G . . . . . G . . . . .
JF499509 . G . . . . . C . . . . . . . . . . . T . T . . . . . G . . . . . G . . . . .
JF499510 . G . . . . . C . . . . . . . . . . . T . T . . . . . G . . . . . G . . . . .
JF499511 . G . . . . . C . . . . . . . . . . . T . T . . . . . G . . . . . G . . . . .
JF499512 . G . . . . . C . . . . . . . . . . . T . T . . . . . G . . . . . G . . . . .
JF499513 . G . . . . . C . . . . . . . . . . . T . T . . . . . G . . . . . G . . . . .
JF499514 . G . . . . . C . . . . . . . . . . . T . T . . . . . G . . . . . G . . . . .
JF499515 . G . . . . . C . . . . . . . . . . . T . T . . . . . G . . . . . G . . . . .
JF499516 . G . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . G . . .
JF499517 . G . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . .
JF499518 . G . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . .
JF499519 . . . . . C . . . . . . . . . . . C . . . . . G . . . . . G . G . . .
JF499520 . . . . . C . . . . . . . . . . . C . . . . . G . . . . . G . G . . .
JF499521 . . . . . C . . . . . . . . . . . C . . . . . G . . . . . G . G . . .
JF499522 . G . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . .
JF499523 . G . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . .
JF499524 . G . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . T . . .
JF499525 . G . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . T . . .
JF499526 . G . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . T . . .
JF499527 . G . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . .
JF499528 . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . .
JF499529 . . . . . C . . . . . . . . . . . C . T . . . . . G . G . G . . . . .
JF499530 . . . . . C . . . . . . . . . . . C . T . . . . . G . G . G . . . . .
JF499531 . . . . . C . . . . . . . . . . . C . T . . . . . G . G . G . . . . .
JF499532 . . . . . C . . . . . . . . . . . C . . . . . G . . . . . G . G . . .
JF499533 . . . . . C . . . . . . . . . . . C . . . . . G . . . . . G . G . . .
JF499534 . . . . . C . . . . . . . . . . . C . . . . . G . . . . . G . G . . .
JF499535 . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . .
JF499536 . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . G . . .
JF499537 . . . . . C . . . . . . . . . . . C . . . . . G . . . . . G . G . . .
JF499538 . G . . . . . C . . . . . . . . . . . T . T . . . . . G . . . . . G . . . . .
JF499539 . G . . . . . C . . . . . . . . . . . T . T . . . . . G . . . . . G . . . . .

```

Ek 5'in devamı

JF499540
 JF499541
 JF499542
 JF499543 C C G G G
 JF499544 C C G G G
 JF499545 C C G G G
 JF499546
 JF499547
 JF499548
 JF499549 C C T G G G
 JF499550 C C T G G G
 JF499551 G
 JF499552 G
 JF499553
 JF499554
 JF499555 G
 JF499556 G C C T T G G C

JF499481 210 220 230 240 250
 JF499481 A C T T T T C C T G G T T A T A G C A A C A G C C T T T G T C G G C T A C G T A T T G C C A T G G G G C C A A A T G T
 JF499482 G T A C A T C A A
 JF499483 G T A C A T C A A
 JF499484
 JF499485
 JF499486
 JF499487
 JF499488 C
 JF499489 C
 JF499490
 JF499491
 JF499492
 JF499493 G C
 JF499494 C
 JF499495 C
 JF499496 G T A C C A A T C A A T A
 JF499497 G T A C C A A T C A A T A
 JF499498
 JF499499
 JF499500 G G C
 JF499501 G T A C A T C A A
 JF499502 G T A C A T C A A
 JF499503
 JF499504 G T A C A T C A A
 JF499505 T C T
 JF499506 T C T
 JF499507 T C T
 JF499508 G T A C C A A T C A A T A
 JF499509 G T A C C A A T C A A T A
 JF499510 G T A C C A A T C A A T A
 JF499511 G T A C C A A T C A A T A
 JF499512 G T A C C A A T C A A T A
 JF499513 G T A C C A A T C A A T A
 JF499514 G T A C C A A T C A A T A
 JF499515 G T A C C A A T C A A T A
 JF499516 C
 JF499517 C
 JF499518 C
 JF499519 G T A C A T C A A
 JF499520 G T A C A T C A A
 JF499521 T G T A C A T C A A
 JF499522 T C T
 JF499523 C
 JF499524 C
 JF499525 C
 JF499526 C
 JF499527 C
 JF499528
 JF499529 G T A C A T C A A
 JF499530 G T A C A T C A A

Ek 5'in devamı

```

JF499522 . . . . . C . . . . . G . . . . . T . . . . .
JF499523 . . . . . . . . . . . G . . . . . T . . . . .
JF499524 . . . . . G . . . . . . . . . . . T . . . . .
JF499525 . . . . . . . . . . G . . . . . T . . . . . G . . . . .
JF499526 . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . T . . . . .
JF499527 . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . T . . . . .
JF499528 . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . .
JF499529 . . . . . A . A . G . G . G . . . . . A . . . . . C . C . . . C .
JF499530 . . . . . A . A . G . G . G . . . . . A . . . . . C . C . . . C .
JF499531 . . . . . A . A . G . G . G . . . . . A . . . . . C . C . . . C .
JF499532 . . . . . A . A . G . G . G . . . . . A . . . . . C . C . . . C .
JF499533 . . . . . A . A . G . G . G . . . . . A . . . . . C . C . . . C .
JF499534 . . . . . A . A . G . G . G . . . . . A . . . . . C . C . . . C .
JF499535 . . . . . C . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . G . . . . .
JF499536 . . . . . C . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . G . . . . .
JF499537 . . . . . A . A . G . G . G . . . . . A . . . . . C . C . . . C .
JF499538 . . . . . C . . . . C . G . A . . . . . G . G . . . A . . . . . C . C . . .
JF499539 . . . . . C . . . . C . G . A . . . . . G . G . . . A . . . . . C . C . . .
JF499540 . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . .
JF499541 . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . .
JF499542 . . . . . C . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . G . . . . .
JF499543 . . . . . A . A . G . G . G . . . . . A . . . . . C . C . . . C .
JF499544 . . . . . A . A . G . G . G . . . . . A . . . . . C . C . . . C .
JF499545 . . . . . A . A . G . G . G . . . . . A . . . . . C . C . . . C .
JF499546 . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . .
JF499547 . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . .
JF499548 . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . .
JF499549 . . . . . A . A . G . G . G . . . . . A . . . . . C . C . . . C .
JF499550 . . . . . A . A . G . G . G . . . . . A . . . . . C . C . . . C .
JF499551 . . . . . C . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . G . . . . . T . . . . .
JF499552 . . . . . C . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . G . . . . . T . . . . .
JF499553 . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . .
JF499554 . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . .
JF499555 . . . . . C . . . . . . . . . . . G . . . . . . . . . . G . . . . .
JF499556 . . . . . C . . . . C . G . A . . . . . G . G . . . A . . . . . C . C . . .

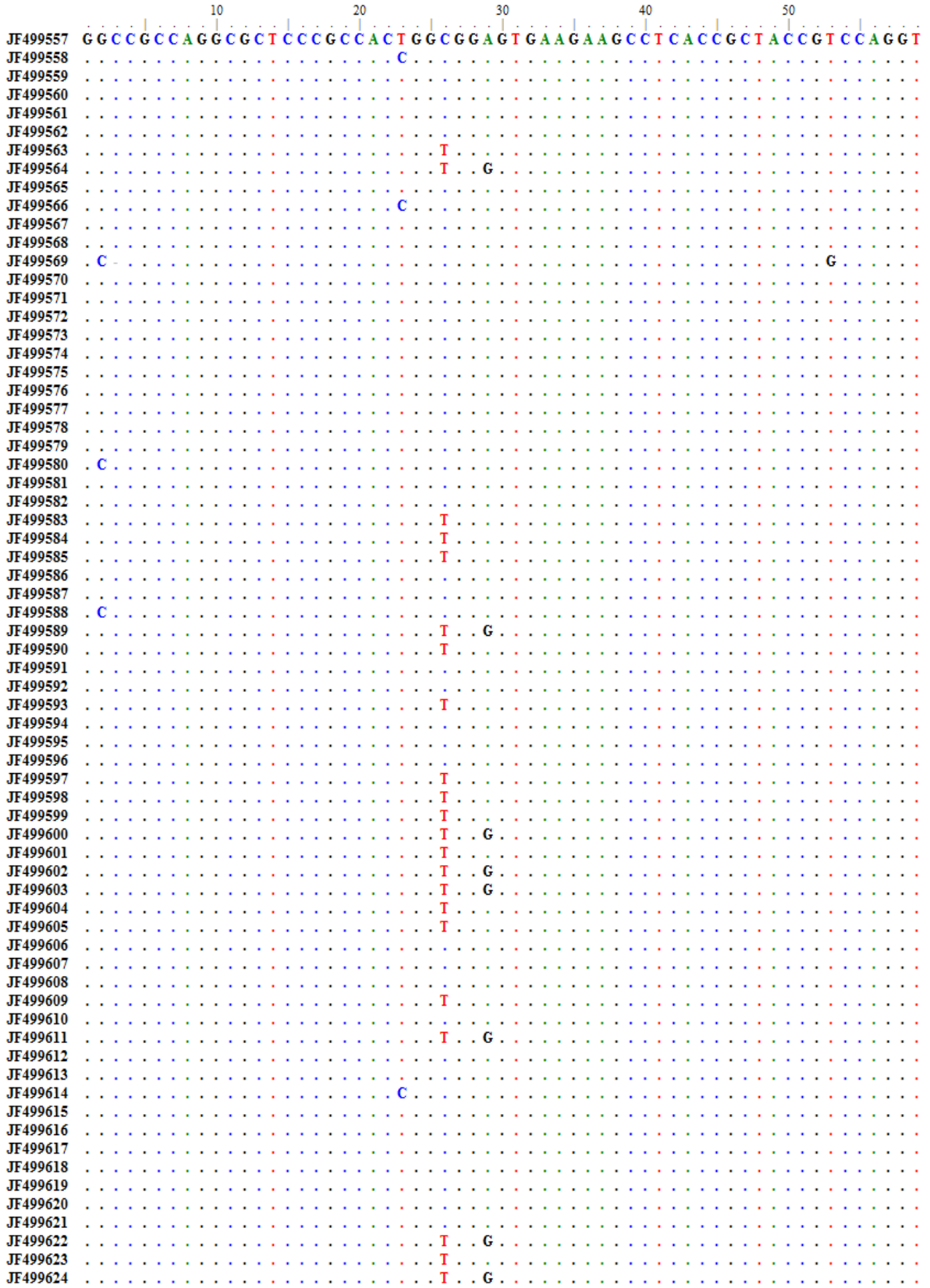
```

```

          410          420          430          440          450
JF499481 C A T T C A T T A T T G C A G G G G C C T C A A T A A T C C A C C T T C T T T T C C T C C A C C A A A A C C G G C T C A
JF499482 . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . C . G . T . T . . . . . A . . . . .
JF499483 . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . C . G . T . T . . . . . A . . . . .
JF499484 . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . .
JF499485 . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . .
JF499486 . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . .
JF499487 . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . .
JF499488 . . . . . A . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . .
JF499489 . . . . . A . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . .
JF499490 . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . .
JF499491 . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . .
JF499492 . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . .
JF499493 . . . . . T . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . .
JF499494 . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . .
JF499495 . . . . . . . . . . A . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . .
JF499496 G . . . . C . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . G . T . T . C . G . T . T . . . . G . A . T . .
JF499497 G . . . . C . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . G . T . T . C . G . T . T . . . . G . A . T . .
JF499498 . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . .
JF499499 . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . .
JF499500 . . . . . T . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . .
JF499501 . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . .
JF499502 . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . .
JF499503 . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . .
JF499504 . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . .
JF499505 . . . . . . . . . . A . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . .
JF499506 . . . . . . . . . . A . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . .
JF499507 . . . . . . . . . . A . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . .
JF499508 G . . . . C . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . T . C . G . T . T . . . . . G . A . T . .
JF499509 G . . . . C . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . G . T . T . C . G . T . T . . . . . G . A . T . .
JF499510 G . . . . C . . . . G . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . T . T . C . G . T . T . . . . . G . A . T . .
JF499511 G . . . . C . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . T . T . C . G . T . T . . . . . G . A . T . .
JF499512 G . . . . C . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . T . T . C . G . T . T . . . . . G . A . T . .

```


Ek. 6 Dizin analizi yapılan H3 geninin 207 bazlık nükleotid sırası.



Ek 6'nın devamı

JF499625 T
 JF499626 T . G
 JF499627 T . G
 JF499628
 JF499629
 JF499630 T
 JF499631 T
 JF499632 T
 JF499633
 JF499634
 JF499635
 JF499636 T
 JF499637 T . G
 JF499638 T
 JF499639 C
 JF499640
 JF499641
 JF499642 T
 JF499643 T
 JF499644 T
 JF499645
 JF499646
 JF499647
 JF499648
 JF499649
 JF499650
 JF499651
 JF499652 T
 JF499653 T . G

JF499557 C G A G C T G C T G A T C C G G A A G C T C C C C T T C C A G C G C C T G G T G A G A G A G A T C G C C C A G G A C T
 JF499558
 JF499559
 JF499560
 JF499561
 JF499562
 JF499563
 JF499564
 JF499565
 JF499566
 JF499567
 JF499568
 JF499569
 JF499570
 JF499571
 JF499572
 JF499573
 JF499574
 JF499575
 JF499576
 JF499577
 JF499578
 JF499579
 JF499580
 JF499581
 JF499582
 JF499583
 JF499584 A
 JF499585
 JF499586
 JF499587
 JF499588 A
 JF499589
 JF499590
 JF499591
 JF499592
 JF499593
 JF499594

Ek 6'nın devamı

JF499595
 JF499596
 JF499597
 JF499598
 JF499599
 JF499600
 JF499601
 JF499602
 JF499603
 JF499604
 JF499605
 JF499606
 JF499607
 JF499608
 JF499609
 JF499610
 JF499611 A
 JF499612
 JF499613
 JF499614
 JF499615
 JF499616
 JF499617
 JF499618
 JF499619
 JF499620
 JF499621
 JF499622
 JF499623 A
 JF499624 A
 JF499625
 JF499626
 JF499627
 JF499628
 JF499629
 JF499630
 JF499631
 JF499632
 JF499633
 JF499634
 JF499635
 JF499636 A
 JF499637
 JF499638
 JF499639
 JF499640
 JF499641
 JF499642 A
 JF499643 A
 JF499644
 JF499645
 JF499646
 JF499647
 JF499648
 JF499649
 JF499650
 JF499651
 JF499652
 JF499653 A

JF499557 C T G C A G G
 JF499558
 JF499559
 JF499560
 JF499561
 JF499562
 JF499563
 JF499564

Ek 6'nın devamı

JF499565
JF499566
JF499567
JF499568
JF499569
JF499570
JF499571
JF499572
JF499573
JF499574
JF499575
JF499576
JF499577
JF499578
JF499579
JF499580
JF499581
JF499582
JF499583
JF499584
JF499585
JF499586
JF499587
JF499588
JF499589
JF499590
JF499591
JF499592
JF499593
JF499594
JF499595
JF499596
JF499597
JF499598
JF499599
JF499600
JF499601
JF499602
JF499603
JF499604
JF499605
JF499606
JF499607
JF499608
JF499609
JF499610
JF499611
JF499612
JF499613
JF499614
JF499615
JF499616
JF499617
JF499618
JF499619
JF499620
JF499621
JF499622
JF499623
JF499624
JF499625
JF499626
JF499627
JF499628
JF499629
JF499630
JF499631
JF499632
JF499633
JF499634

Ek 6'nın devamı

JF499635
JF499636
JF499637
JF499638
JF499639
JF499640
JF499641
JF499642
JF499643
JF499644
JF499645
JF499646
JF499647
JF499648
JF499649
JF499650
JF499651
JF499652
JF499653

ÖZGEÇMİŞ

1978 Rize’de doğdu. İlkokulu 50. Yıl İlköğretim Okulunda, orta öğretimini Rize Mehmet Akif Ersoy Ortaokulu ve Mimar Sinan Endüstri Meslek Lisesi Elektronik Bölümü’nde tamamladı. 1998 yılında Karadeniz Teknik Üniversitesi Rize Fen-Edebiyat Fakültesini kazandı. 2002 yılında aynı fakülteden Biyolog ünvanı ile mezun oldu, aynı yıl Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsünde Tezsiz Yüksek Lisans programına başladı. 2006 yılında KTÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji ABD’nda doktora eğitimine başladı. 15.09.2010-15.06.2011 tarihleri arasında YÖK Doktora araştırma bursunu kazanarak bu burs kapsamında 9 ay süre ile Stony Brook Üniversitesi, Ekoloji ve Evrim Bölümü, New York-USA’de bulundu. Rize Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesinde 10.12.2007 tarihinden beri araştırma görevlisi olarak çalışmakta olup, iyi derece İngilizce bilmektedir.

TEZ KAPSAMINDA YAYIMLANAN MAKLELER:

Gül, S., B.Kutrup, N.Özdemir (2012). Patterns of distribution of tree frogs in Turkey based on molecular data. *Amphibia-Reptilia*, 33: 95-10.

TEZ KAPSAMINDAKİ ULUSLAR ARASI BİLDİRİLER:

Gül, S., N. Özdemir, B. Kutrup, A. Altunışık & T. Ergül. Systematics of Treefrogs (*Hyla*, Hylidae, Amphibia) in Turkey based on mitochondrial dna sequences. SEH European Congress of Herpetology & DGHT Deutscher Herpetologentag, Luxembourg and Trier, 25th to 29th September 2011.