



**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**TÜRKİYE'DE YAYILIŞ GÖSTEREN KIZIL TILKI (*VULPES VULPES*) VE İKİ KANID TÜRÜNÜN (*CANIS LUPUS* VE *C. AUREUS*)
(CARNIVORA: MAMMALIA) Y KROMOZOMAL DNA ZFY GEN
BÖLGESİ DİZİLERİNİN GENETİK ANALİZİ**

**Hazırlayan
Ömer Fikret GÜRKAN**

**Danışman
Prof. Dr. Coşkun TEZ**

Yüksek Lisans Tezi

**Kasım 2013
KAYSERİ**

**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**TÜRKİYE’DE YAYILIŞ GÖSTEREN KIZIL TILKI
(*VULPES VULPES*) VE İKİ KANİD TÜRÜNÜN (*CANIS
LUPUS* VE *C. AUREUS*) (CARNIVORA: MAMMALIA) Y
KROMOZOMAL DNA ZFY GEN BÖLGESİ DİZİLERİNİN
GENETİK ANALİZİ
(Yüksek Lisans Tezi)**

**Hazırlayan
Ömer Fikret GÜRKAN**

**Danışman
Prof. Dr. Coşkun TEZ**

**Bu çalışma; Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi
tarafından FBY-12-4146 kodlu proje ile desteklenmiştir.**

**Kasım 2013
KAYSERİ**

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

Bu çalışmadaki tüm bilgilerin, akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda bu kural ve davranışların gerektirdiği gibi, bu çalışmanın özünde olmayan tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı ve referans gösterdiğimi belirtirim.

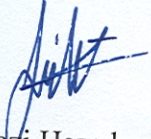
Ömer Fikret GÜRKAN

İmza:



YÖNERGEYE UYGUNLUK

“Türkiye’de Yayılış Gösteren Kızıl Tilki (*Vulpes Vulpes*) ve İki Kanid Türünün (*Canis lupus* ve *C. aureus*) (Carnivora: Mammalia) Y Kromozomal DNA Zfy Gen Bölgesi Dizilerinin Genetik Analizi” adlı Yüksek Lisans tezi, Erciyes Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi’ne uygun olarak hazırlanmıştır.



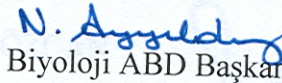
Tezi Hazırlayan

Ömer Fikret GÜRKAN



Danışman

Prof. Dr. Coşkun TEZ



N. Ayyıldız

Biyoloji ABD Başkanı

Prof. Dr. Nusret AYYILDIZ

Prof. Dr. Coşkun TEZ danışmanlığında **Ömer Fikret GÜRKAN** tarafından hazırlanan “Türkiye 'de Yayılış Gösteren Kızıl Tilki (*Vulpes vulpes*) ve İki Kanid Türünün (*Canis lupus* ve *C. aureus*) (Carnivora: Mammalia) Y Kromozomal DNA Zfy Gen Bölgesi Dizilerinin Genetik Analizi” adlı bu çalışma, jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Biyoloji** Anabilim Dalında **Yüksek Lisans** tezi olarak kabul edilmiştir.

04.11.2013

JÜRİ:

Başkan : Prof. Dr. Nusret AYYILDIZ

N. Ayyıldız

Üye : Prof. Dr. Coşkun TEZ

Üye : Doç. Dr. Servet ÖZCAN

[Signature]

ONAY:

Bu tezin kabulü, Enstitü Yönetim Kurulunun 05.11.2013 tarih ve 2013/18-12 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

05.11.2013
[Signature]

Prof. Dr. Kazım KEŞLIOĞLU

Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Her konuda yardımlarını, bilgilerini ve değerli zamanlarını benden esirgemeyen danışman hocam Prof. Dr. Coşkun TEZ ve doktora öğrencisi Uzm. Osman İBİŞ'e, doktora öğrencisi Metin KILIÇ'a bana laboratuvarını açarak çalışmama imkan sağlayan ve çalışmalarım sırasında bilgilerini benimle paylaşan sayın Doç. Dr. Servet Özcan'a en içten teşekkürlerimi sunarım. Laboratuara geldiğim ilk günden beri bana desteklerini esirgemeyen laboratuvar hocalarım ve arkadaşlarıma, her zaman yanımda olan ve desteklerini esirgemeyen değerli dostlarıma teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışmayı maddi olarak FBY-12-4146 kodlu proje ile destekleyen Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimine teşekkür ederim.

Benim bugünlere gelmemde durumum ne olursa olsun, maddi manevi beni her şartta destekleyen dünyadaki tek varlıklarım olan canımdan değerli annem Gülhanım GÜRKAN, babam Mustafa Süha GÜRKAN ve ablam Fatma Burçin İNCETAN' a sonsuz ve en değerli teşekkürlerimi sunarım.

**TÜRKİYE 'DE YAYILIŞ GÖSTEREN KIZIL TİLKİ (*VULPES VULPES*) VE İKİ
KANİD TÜRÜNÜN (*CANIS LUPUS* ve *C. AUREUS*) (CARNIVORA:
MAMMALIA) Y KROMOZOMAL DNA ZFY GEN BÖLGESİ DİZİLERİNİN
GENETİK ANALİZİ**

Ömer Fikret GÜRKAN

Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü

Yüksek Lisans Tezi, Kasım 2013

Danışman: Prof. Dr. Coşkun TEZ

ÖZET

Bu çalışmada, Türkiye'de yayılış gösteren kanid türlerinin Y kromozomal DNA'sında genetik varyasyonu araştırmak ve filogenetik ilişkilerini ortaya koymak için ilk önce kanid örneklerinin eşey tayini yapıldı. Daha sonra üç kanid türünün (*Vulpes vulpes*, *Canis lupus* ve *C. aureus*) Y kromozom DNA'sı üzerindeki Zfy geninin (539-562 bp) nükleotid dizileri elde edildi. Her bir tür için bir haplotip tespit edildi. Üç kanid türü için Türkiye ve Gen Bankası'ndan elde edilen DNA dizileri birlikte analiz edildi ve bu analiz her bir tür için DNA dizilerinin aynı haplotipe ait olduğunu ortaya çıkardı. Analiz sonuçlarına göre, her bir türün DNA dizileri arasında varyasyon bulunmamaktadır. Bu çalışma, üç kanid türünde analiz edilen Zfy gen bölgesinin oldukça korunmuş olduğunu gösterdi.

Anahtar Kelimeler: *Vulpes vulpes*, *Canis lupus*, *Canis aureus*, Y kromozomu,

Zfy geni, Türkiye

**GENETIC ANALYSIS OF ZFY GENE SEQUENCES ON Y CHROMOSOMAL
DNA OF THE RED FOX (*VULPES VULPES*) AND TWO CANID SPECIES
(*CANIS LUPUS* and *C. AUREUS*) (CARNIVORA: MAMMALIA) DISTRIBUTED
IN TURKEY**

Ömer Fikret GÜRKAN

Graduate School of Natural and Applied Sciences, Erciyes University,

M.Sc. Thesis, November 2013

Supervisor: Prof. Dr. Coşkun TEZ

ABSTRACT

In the present study, to investigate the genetic variation and to infer phylogenetic relationships of Turkish canids, firstly, the sex determination of canid samples were performed. Secondly, sequences of the Zfy gene (539-562 bp) on the Y chromosome DNA for three canid species (*Vulpes vulpes*, *Canis lupus* and *C. aureus*) were obtained. It was determined that each species had single haplotype. The sequences obtained from Turkish samples and GenBank for three canid species were analyzed together, and this revealed that all sequences belonged to single haplotype for each species. According to the present analysis, there was no variation among the sequences of each canid species. This study indicated that the Zfy gene region analyzed in three the Turkish canid species was highly conserved.

Key Words: *Vulpes vulpes*, *Canis lupus*, *Canis aureus*, Y chromosome, Zfy gene,

Turkey

İÇİNDEKİLER

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK.....	i
YÖNERGEYE UYGUNLUK.....	i
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER.....	vii
TABLolar LİSTESİ.....	xi
ŞEKİLLER LİSTESİ	xii
GİRİŞ	1

1.BÖLÜM

GENEL BİLGİLER

1.1. Takım: Carnivora	4
1.1.1. Familya: Canidae.....	4
1.1.1.1. Tür: <i>Vulpes vulpes</i> (Linnaeus, 1758)	4
1.1.1.1.1. Görünüşü	4
1.1.1.1.2. Habitatı ve Ekolojisi.....	5
1.1.1.1.3. Yayılışı	5
1.1.1.2. Tür: <i>Canis lupus</i> (Linnaeus, 1758)	6
1.1.1.2.1. Görünüşü	6
1.1.1.2.2. Habitatı ve Ekolojisi.....	6
1.1.1.2.3. Yayılışı	6
1.1.1.3. Tür: <i>Canis aureus</i> (Linnaeus, 1758)	7
1.1.1.3.1. Görünüşü	7

1.1.1.3.2.	Habitatı ve Ekolojisi.....	8
1.1.1.3.3.	Yayılışı	8
1.2.	ZFX ve ZFY Genleri	8

2. BÖLÜM

MATERYAL VE METOT

2.1.	Örneklerin Toplanması ve Saklanması.....	10
2.2.	Üç Kanid Türüne Ait Dokulardan DNA izolasyonu	28
2.3.	Total DNA izolasyon işlemleri:	28
2.3.1.	İncelenen Örneklerin Cinsiyet Tayini.....	29
2.3.2.	Y kromozomal DNA'nın ZFY Gen Bölgesinin PCR ile Çoğaltılması	30
2.3.3.	PCR Ürünlerinin Agaroz Jelde Yürütülmesi ve Görüntülenmesi	31
2.3.4.	PCR Ürünlerinin DNA Dizi Analizi.....	32
2.3.5.	Y Kromozomal DNA'nın Zfy Gen Bölgesine Ait Dizilerin Okunması ve Düzenlenmesi	32
2.3.6.	Y Kromozom DNA Zfy Gen Bölgesi Dizilerinin Genetik Analizi.....	33

3. BÖLÜM

BULGULAR

3.1.	Üç Kanid Türünün (<i>Vulpes vulpes</i> , <i>Canis lupus</i> ve <i>C. aureus</i>) Y Kromozom DNA Zfy Gen Bölgesinin Analizi.....	34
3.1.1.	İncelenen Üç Türe (<i>Vulpes vulpes</i> , <i>Canis lupus</i> ve <i>C. aureus</i>) Ait Örneklerden Total DNA İzolasyonu.....	35
3.1.2.	İncelenen Üç Türe (<i>Vulpes vulpes</i> , <i>Canis lupus</i> ve <i>C. aureus</i>) Ait Örneklerin Cinsiyet Tayini	35
3.1.3.	İncelenen Üç Türe (<i>Vulpes vulpes</i> , <i>Canis lupus</i> ve <i>C. aureus</i>) Ait Örneklerin Y Kromozomal DNA Zfy Gen Bölgesinin PCR ile Çoğaltılması	37
3.2.	İncelenen Üç Türe (<i>Vulpes vulpes</i> , <i>Canis lupus</i> ve <i>C. aureus</i>) Ait Örneklerin Y Kromozomal DNA Zfy Gen Bölgesi Dizilerinin Genetik Analizi.....	37

3.2.1. Kızıl Tilki (<i>Vulpes vulpes</i>) Türüne Ait Örneklerden Elde Edilen Y Kromozom DNA Zfy Gen Bölgesi Dizilerinin Genetik Analizi	38
3.2.2. Gri Kurt (<i>Canis lupus</i>) Türüne Ait Örneklerden Elde Edilen Y Kromozom DNA Zfy Gen Bölgesi Dizilerinin Genetik Analizi	39
3.2.3. Altın Çakal (<i>Canis aureus</i>) Türüne Ait Örneklerden Elde Edilen Y Kromozom DNA Zfy Gen Bölgesi Dizilerinin Genetik Analizi	40
3.2.4. Üç Kanid Türüne (<i>Vulpes vulpes</i> , <i>Canis lupus</i> ve <i>C. aureus</i>) Ait Örneklerin Y Kromozomal DNA Zfy Gen Bölgesi Dizileri Arasındaki Genetik Uzaklık Değerlerinin Hesaplanması ve Neighbor-Joining Analizi	42
3.3. Türkiye'de Yayılış Gösteren Üç Kanid Türüne (<i>Vulpes vulpes</i> , <i>Canis lupus</i> ve <i>C. aureus</i>) Ait Diziler ile Gen Bankasından Elde Edilen Y Kromozom DNA Zfy Gen Bölgesi Dizilerinin Birlikte Genetik Analizi	43

4. BÖLÜM

TARTIŞMA VE SONUÇ

4.1. Tartışma	44
4.2. Sonuç ve Öneriler	50
KAYNAKLAR.....	li
ÖZGEÇMİŞ.....	lix

KISALTMALAR VE SİMGELER

Sembol	Anlamı
A:	Adenin
bç:	Baz çifti
C:	Sitozin
DNA:	Deoksiribo Nükleik Asit
D-loop:	Kontrol bölgesi
dH ₂ O:	Distile su
dNTP:	Di Nükleotid Tri-fosfat
EDTA:	Ethylenediaminetetraacetic Asit
G:	Guanin
K2P:	Kimura 2 Parametre baz değişim modeli
mtDNA:	mitokondriyal DNA
NJ:	Neighbor joining
PCR:	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
T:	Timin
TAE:	Tris, Glasial Asetik Asit, EDTA
UV:	Ultraviyole
°C:	Santigrat Derece

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 2.1. Toplanan örneklerin listesi, müze numarası ve koordinat bilgileri.....	14
Tablo 2.2. Gen Bankası'ndan elde edilen Canidae familyasının üç türüne ait Y kromozom DNA Zfy gen bölgesi dizileri.....	33
Tablo 3.1. Canidae familyasının Türkiye'de yayılış gösteren üç türüne (<i>Vulpes vulpes</i> , <i>Canis lupus</i> ve <i>C. aureus</i>) ait cinsiyet oranı	36
Tablo 3.2. Türkiye' de yayılış gösteren üç canid türünün baz kompozisyonu.....	41
Tablo 3.3. Kimura 2-Parametre baz değişim modeli kullanılarak hesaplanmış üç kanid türüne ait Türkiye haplotipleri arasındaki genetic uzaklık değerleri.....	42

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1.1.	<i>Vulpes vulpes</i> (Linnaeus, 1758)'in Dünya'daki yayılışı.....	5
Şekil 1.2.	<i>Canis lupus</i> Linnaeus, 1758'un Dünya'daki yayılışı	7
Şekil 1.3.	<i>Canis aureus</i> Linnaeus, 1758'un Dünya'daki yayılışı	8
Şekil 2.1.	Karayolunda motorlu taşıtın çarpması sonucu yaşamı sonlanmış bir kızıl tilki örneği, Söke-Aydın, örnek no:1406, 09.08.2012 (Fotoğraf Doğa Can TEZ).....	11
Şekil 2.2.	Karayolunda motorlu taşıtın çarpması sonucu yaşamı sonlanmış bir altın çakal örneği; Ovacık-Artvin, örnek no:1271, 14.08.2009 (Fotoğraf Servet Özcan).....	11
Şekil 2.3.	Karayolunda motorlu taşıtın çarpması sonucu ölmüş ve doku aldığımız bir gri kurt örneği, Sorgun-Yozgat, örnek no:1336, 27.09.2010 (Fotoğraf Osman İBİŞ).....	12
Şekil 2.4.	<i>Vulpes vulpes</i> , <i>Canis aureus</i> ve <i>Canis lupus</i> örneklerinin toplandığı yerleri gösteren harita	13
Şekil 3.1.	Kızıl tilki (<i>Vulpes vulpes</i>) türüne ait total DNA'ların agaroz jel görüntüsü.....	35
Şekil 3.2.	Kızıl tilki (<i>Vulpes vulpes</i>) türüne ait örneklerin cinsiyet tayini için Lgl 331 ve Lgl 335 primerleri kullanılarak elde edilen PCR ürünlerinin agaroz jel elektroforez görüntüsü.	36
Şekil 3.3.	Kızıl tilki (<i>Vulpes vulpes</i>) türüne ait örneklerin Y kromozom DNA Zfy gen bölgesi için Lgl 331 ve Yint2 335 primerleri kullanılarak elde edilen PCR ürünlerinin agaroz jel elektroforez görüntüsü.....	37
Şekil 3.4.	<i>Vulpes vulpes</i> 'in baz kromotogramı.	39
Şekil 3.5.	<i>Canis lupus</i> 'un dizi kromotogramı	40
Şekil 3.6.	<i>Canis aureus</i> 'un dizi kromotogramı.	41
Şekil 3.7.	Türkiye'de yayılış gösteren üç kanid türüne ait örneklerden tespit edilen haplotipler arasındaki ilişkiyi gösteren 10.000 tekrarlı NJ ağacı	42

KISALTMALAR VE SİMGELER

Sembol	Anlamı
A:	Adenin
bç:	Baz çifti
C:	Sitozin
DNA:	Deoksiribo Nükleik Asit
D-loop:	Kontrol bölgesi
dH ₂ O:	Distile su
dNTP:	Di Nükleotid Tri-fosfat
EDTA:	Ethylenediaminetetraacetic Asit
G:	Guanin
K2P:	Kimura 2 Parametre baz değişim modeli
mtDNA:	mitokondriyal DNA
NJ:	Neighbor joining
PCR:	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
T:	Timin
TAE:	Tris, Glisial Asetik Asit, EDTA
UV:	Ultraviyole
°C:	Santigrat Derece

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 2.1. Toplanan örneklerin listesi, müze numarası ve koordinat bilgileri.....	14
Tablo 2.2. Gen Bankası'ndan elde edilen Canidae familyasının üç türüne ait Y kromozom DNA Zfy gen bölgesi dizileri.....	33
Tablo 3.1. Canidae familyasının Türkiye'de yayılış gösteren üç türüne (<i>Vulpes vulpes</i> , <i>Canis lupus</i> ve <i>C. aureus</i>) ait cinsiyet oranı.....	36
Tablo 3.2. Türkiye' de yayılış gösteren üç canid türünün baz kompozisyonu.....	41
Tablo 3.3. Kimura 2-Parametre baz değişim modeli kullanılarak hesaplanmış üç canid türüne ait Türkiye haplotipleri arasındaki genetik uzaklık değerleri.....	42

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1.1.	<i>Vulpes vulpes</i> (Linnaeus, 1758)'in Dünya'daki yayılışı.....	5
Şekil 1.2.	<i>Canis lupus</i> Linnaeus, 1758'un Dünya'daki yayılışı	7
Şekil 1.3.	<i>Canis aureus</i> Linnaeus, 1758'un Dünya'daki yayılışı	8
Şekil 2.1.	Karayolunda motorlu taşıtın çarpması sonucu yaşamı sonlanmış bir kırmızı tilki örneği, Söke-Aydın, örnek no:1406, 09.08.2012 (Fotoğraf Doğa Can TEZ).....	11
Şekil 2.2.	Karayolunda motorlu taşıtın çarpması sonucu yaşamı sonlanmış bir altın çakal örneği; Ovacık-Artvin, örnek no:1271, 14.08.2009 (Fotoğraf Servet Özcan).....	11
Şekil 2.3.	Karayolunda motorlu taşıtın çarpması sonucu ölmüş ve doku aldığımız bir gri kurt örneği, Sorgun-Yozgat, örnek no:1336, 27.09.2010 (Fotoğraf Osman İBİŞ).....	12
Şekil 2.4.	<i>Vulpes vulpes</i> , <i>Canis aureus</i> ve <i>Canis lupus</i> örneklerinin toplandığı yerleri gösteren harita	13
Şekil 3.1.	Kırmızı tilki (<i>Vulpes vulpes</i>) türüne ait total DNA'ların agaroz jel görüntüsü.....	35
Şekil 3.2.	Kırmızı tilki (<i>Vulpes vulpes</i>) türüne ait örneklerin cinsiyet tayini için Lgl 331 ve Lgl 335 primerleri kullanılarak elde edilen PCR ürünlerinin agaroz jel elektroforez görüntüsü.	36
Şekil 3.3.	Kırmızı tilki (<i>Vulpes vulpes</i>) türüne ait örneklerin Y kromozom DNA Zfy gen bölgesi için Lgl 331 ve Yint2 335 primerleri kullanılarak elde edilen PCR ürünlerinin agaroz jel elektroforez görüntüsü.	37
Şekil 3.4.	<i>Vulpes vulpes</i> 'in baz kromotogramı.	39
Şekil 3.5.	<i>Canis lupus</i> 'un dizi kromotogramı	40
Şekil 3.6.	<i>Canis aureus</i> 'un dizi kromotogramı	41
Şekil 3.7.	Türkiye'de yayılış gösteren üç kanid türüne ait örneklerden tespit edilen haplotipler arasındaki ilişkiyi gösteren 10.000 tekrarlı NJ ağacı	42

GİRİŞ

Memeli hayvanlar sınıfı olarak bilinen Mammalia'nın Carnivora takımına ait Canidae familyası içerisinde 13 cins ve 35 tür yer almaktadır [1]. Bu türlerden kızıl tilki, *Vulpes vulpes* (Linnaeus, 1758), Kuzey Amerika'nın büyük bir kısmı, bütün Avrupa, hemen hemen tüm Asya, Kuzey Afrika ve 19. yüzyılda Avustralya'ya insanlar tarafından getirildikten sonra günümüzde kıtanın büyük bir kısmında yayılış göstermektedir [1, 2]. Gri kurt (*Canis lupus* Linnaeus, 1758), kuzey yarımküre boyunca çok geniş bir alanda yayılış göstermektedir [3]. Altın çakal (*Canis aureus* Linnaeus, 1758) ise orta ve kuzey Afrika, Balkan yarımadası ve Türkiye'yi de kapsayacak şekilde Ortadoğu, Orta, Güney ve Güneydoğu Asya'da yayılış göstermektedir [1]. Canidae familyasının bu üç türü Türkiye'de de geniş yayılış göstermektedir [1, 4].

Son yıllarda Canidae familyasının bu üç türü ile ilgili moleküler temelli olarak allozim, mikrosatellit ve maternal (anaya ait) kökenli mitokondrial DNA'ya (sitokrom b, kontrol bölgesi-d-loop) dayalı çok sayıda çalışma mevcut olup mitokondriyal DNA'ya dayalı çalışmalarda çok sayıda haplotip ve soy hattı tespit edilmiştir [5-33]. Buna karşılık bu üç kanid türü ile ilgili paternal (babaya ait) kökenli çalışmalar nispeten azdır [34, 35].

Yabani popülasyonlarda bireylerin eşey tayini bu popülasyonların dinamiklerini ve yapısını anlama açısından önemlidir [36, 37]. Ayrıca eşey tayini doğal popülasyonların ekolojik durumlarının tespiti açısından da gereklidir [38]. Eşey kromozomlarından olan Y kromozom DNA'sında bulunan Zfy (zinc finger protein) genleri, oldukça korunmuş omurgalı bir gen ailesidir [39-42]. Euteryan memelilerde Zfy genleri, yaklaşık 100 milyon yıl önce keseli ve euteryan memeli soy hatları ayrıldıktan sonra eşey kromozomları içerisine dahil olduğundan, cinsiyete bağlıdır [43]. Y kromozom DNA belirteçleri, erkek bireylerin genetik ve filocoğrafik tarihinin yeniden oluşturulması için potansiyel olarak yüksek değere sahiptirler. Yaygın olarak kullanılan

mitokondriyal DNA'nın avantaj sağlayan özelliklerinin birçoğu Y kromozomu ile de paylaşılmaktadır. Özellikle hem mtDNA hem de Y kromozom DNA'sı haploittir. Rekombinasyona maruz kalmaz, klonlonarak babadan kalıtılır ve hem anadan hem de babadan gelen nükleer lokuslarla kıyaslandığında nispeten daha hızlı bir şekilde evrim geçirmektedir. Euteryan memelilerde Y kromozomunun rekombinasyon yapmayan (non-recombining region=NRY) bölgesinde yer alan Zfy geni, maternal ve paternal olarak kanıtlanan moleküler belirteçlerle kıyaslama yapılması için iyi bir adaydır [44-48]. Dizi analizi yapılacak olan Y kromozomu üzerindeki Zfy final intron bölgesinin önemli özelliklerinden biri, paternal soy hatları bilgisini sağlaması sayesinde mtDNA'dan elde edilen bilgileri tamamlayabilmesidir [50]. Yapılan çalışmalar, Zfy geni final intron bölgesinin tür ve tür üstü seviyelerde filogenetik olarak bilgi verici olduğunu göstermektedir [49, 50].

Carnivora takımına ait taksonlarla ilgili olarak eşey tayini ve eşey kromozomlarındaki gen bölgelerine ait dizilerdeki polimorfizmi tespit etmek için bir çok çalışma bulunmaktadır [35, 37, 51-63]. Slattey ve ark. [51], karnivor memelilerdeki üç Y kromozom geninden izole ettikleri SINE elementleri arasındaki çeşitliliğin desenlerini belirlemişlerdir. Murakami ve ark. [52], ise köpeklerde, Lucchini ve ark. [53], batı İtalya Alplerinde kolonize olan kurt sürülerinin moleküler takibi için, Hattori ve ark. [54], deniz su samurlarında, Williams ve ark. [35], koyunlar için bir predatör olan *Canis latrans*'ı tanımlamak için Ortega ve ark. [55], ise beş kanid türünde eşey tanımlaması için Zfx ve Zfy gen bölgelerini çalıştılar. Memeli hayvanlar için Shaw ve ark. [37], karnivora türlerini de kapsayan cinsiyet tespiti için güvenilir bir metod geliştirdiler. Diğer yandan Curtis ve ark. [56], pinniped bireylerinin eşeylerini tespit etmek için bir protokol geliştirmiş ve test etmişlerdir. Ayrıca Y kromozom DNA Zfy gen bölgesinin dizi analizini yapmışlardır. Statham ve ark. [57], beş mustelid türünün moleküler eşey tanımlamasını ve beş türün Zfx ve Zfy gen bölgelerindeki varyasyonu belirlerken Xu ve ark. [58], dev panda türünde eşey tespiti için ve Pagès ve ark. [59] ise bir karnivor familyası olan Ursidae'nin filogenisi oluştururken Zfy gen bölgesi dizilerini kullanmışlardır. Bunlardan başka iki gri kurt (*Canis lupus* ve *C. lycaon*) ile kırmızı kurt (*Canis latrans*) arasındaki genetik farklılaşmayı araştıran Rutledge ve ark. [60], bu çalışmada Zfx ve Zfy gen bölgelerine ait dizileri de kullanmışlardır. Tashima ve ark. [61], ise Carnivora takımı içerisinde yer alan Mustelidae familyasının *Meles* cinsine ait porsuk türlerinin Zfy geni final intronundaki CAN-SINE'lerin moleküler

varsasyonlarını ve tanımlamasını araştırmışlardır. Son zamanda yapılan çalışmalarda Wilson ve ark. [62], Kuzey doğu Amerika'da üç *Canis* türü arasındaki hibridasyonun geniş belirtilerini Y kromozom DNA analizinden elde edilen kanıtla desteklendiğini tespit ederken, Bo ve ark. [63], iki sansar türünde (*Martes zibellina* ve *M. foina*) eşey tayini ve Zfx ile Zfy gen bölgelerindeki dizi polimorfizmini araştırmışlardır.

V. vulpes, *C. lupus* ve *C. aureus* türleri ile ilgili dünyanın değişik yerlerinde eşey tayinine dayanan moleküler çalışmalar mevcut olup [34, 35] bu çalışmalar içerisinde eşey kromozomal (X ve Y) DNA genlerine dayanan karşılaştırmalı çalışmalar az sayıdadır [34, 35]. Bu çalışmalarda paternal Y kromozom DNA'sı Zfy gen bölgesi ile ilgili çalışmalar ağırlıklı olarak *Canis* türlerini kapsarken [34, 35] *Vulpes* türleri ile ilgili olarak nispeten az çalışma vardır [34].

Türkiye'de yayılış gösteren Canidae familyasına ait üç türle ilgili moleküler temelli genetik çalışmalar çok sınırlı sayıda olup sadece kızıl tilki (*V. vulpes*) ile ilgili olarak mtDNA'nın kullanıldığı bir çalışmaya rastlanılmıştır [64]. Buna karşılık Türkiye'de yayılış gösteren Canidae familyasının üç türünün eşey kromozom (X ve Y) DNA'larının genetik analizinin yapıldığı çalışmalara rastlanılmamıştır.

Bu çalışmada, paternal Y kromozomal DNA'nın Zfy final intron dizilerinin analizini yaparak Türkiye'de yayılış gösteren Canidae familyasına ait üç türdeki genetik varyasyonun tespit edilmesi ve bu sayede Türkiye'nin farklı bölgelerinden elde edilen üç türe ait bireyler arasındaki genetik ilişkinin ortaya konulması, Gen Bankası'ndan elde edilecek verilerle birlikte Türkiye'de yayılış gösteren kızıl tilki, gri kurt ve altın çakalın Zfy gen bölgesindeki dizilerin karşılaştırmasının yapılması ve cinsiyeti bilinmeyen örneklerin cinsiyet tayinini yaparak dişi erkek oranını tespit edilmesi amaçlanmıştır.

1.BÖLÜM

GENEL BİLGİLER

1.1. Takım: Carnivora

Bu takımın üyeleri etçil ve iyi birer avcıdırlar. Genel olarak koku alma duyuları gelişmiş olup geniş kafatasları vardır. Premolar ve molar dişler, köpek dişlerine benzer bir değişim göstermiştir. Genelde alt ve üst çenede üç parçalı kesici dişleri vardır. Köpek dişleri oldukça iyi gelişmiştir [65].

Karnivorlar, tropiklerden kutuplara karasal habitatın hemen hemen her tipinde ve birçok sucul habitatta bulunurlar. Bu takımın üyeleri, ormanlarda çöllerde, çayırliklarda, çalılıkarda, tundra bölgesinde açık buz üzerinde yaşarlar. Sucul ve yarı sucul türler ise, tatlı su nehirlerinde, göllerde, sazliklarda deniz kıyısındaki alanlarda ve açık denizlerde yaşarlar. Karnivorlar, tüm büyük kara kütleleri üzerinde (Avustralya'da çok az sayıda) ve tüm okyanuslarda yayılış gösterirler [66].

1.1.1. Familya: Canidae

Canidae temsilcileri orta büyüklükte karnivorlardandır. Kurtlar, çakallar, tilkiler, köpekler bu grubun üyeleri arasındadır ve bu familya 13 cins ve 35 tür içermektedir [1].

1.1.1.1. Tür: *Vulpes vulpes* (Linnaeus, 1758)

1.1.1.1.1. Görünüşü

Orta boyuta sahip kanidlerdendir. *Vulpes* cinsi içerisinde en büyük vücutlu grubu oluşturur. Yetişkin vücut ağırlığı 3 ila 14 kg arasında dağılım göstermektedir. Erkek bireyler genel itibari ile dişilerden daha büyüktür. Avrupa kırmızı tilkilerinde erkekler ortalama 6,7 kg, dişiler ise ortalama 5,4 kg'dır. Avrupa ve Kuzey Amerika da yaşayanlara göre Orta doğu çöllerindeki kırmızı tilkiler, daha küçüktürler. Kuzey Amerika'daki kırmızı tilkilerde eşeysel dimorfizm açık bir şekilde gözlemlenir [2, 3]. Dudağın üst kısmında beyaz bir bölge bulunan ince bir ağza sahiptirler.

Burun bölgesi uzun olup, köpek dişleri uzun ve sivridir. Molar dişleri çok da geniş değildir. Diş formülü $3/3, 1/1, 3/4, 3/3= 42'$ dir. Kulaklar, sivri uçlu, geniş, kalkık ve arka kısmı siyah renklidir. Kürk, kırmızımsı kahverengidir, ancak renk kahverengiden koyu kırmızıya veya sarımsı griye kadar çok çeşitli tonlarda olabilir. Boyun ve/veya göğüs beyaz renge sahip olabilir. Bacaklar uzun, incedir. Bacakların alt kısmı siyah renktedir. Uzun kuyruk, kalın ve yoğun şekilde kıllarla kaplıdır. Bazen kuyruğun uç kısmı beyaz olabilir. Yetişkin kızıl tilkinin vücut ve baş uzunluğu, 455–900 mm arasında, kuyruk uzunluğu 300–555 mm omuz yüksekliği 350–400 mm arasındadır [3].

1.1.1.1.2. Habitatı ve Ekolojisi

Kızıl tilkiler tundra çöl, orman, bozkır ve şehir merkezi gibi çok çeşitli habitatları tercih ederler. Doğal habitatı kurak, makiliği bol olan karışık alanlar ve ağaçlık alandır. Kızıl tilkiler, bozkırlarda, dağlık, çölümsü, kumul alanlarda ve tarım arazilerinde bol miktarda bulunur. Yerleşim alanlarına da girerler. Değişik küçük memelilerle beslendikleri gibi çöplerle de beslenirler. Bu yüzden omnivordurlar [67].

1.1.1.1.3. Yayılışı



Şekil 1.1. *Vulpes vulpes* (Linnaeus, 1758)'in Dünya'daki yayılışı [68].

Kızıl tilki *Vulpes vulpes*, Kuzey Amerika'nın büyük bir kısmı, bütün Avrupa, hemen hemen tüm Asya, Kuzey Afrika ve 19. yüzyılda kıtaya getirilmesiyle Avustralya'nın büyük bir kısmında yayılış göstermektedir [1, 2].

Kızıl tilkinin yaşam alanı olarak, tundralar, çöller, ormanlar ve şehir merkezlerinin de dahil olduğu çeşitli yerlerden kayıtlar verilmiştir. Doğal habitatı kurak, karma araziler, makilikler, bozkırlar, dağlık alanlar, tarım arazileri ve ormanlık alanların kıyı kesimleridir. Deniz seviyesinden 4500 m yüksekliğe kadar olan yerlerde

yaşayabilirler [3, 69]. Kızıl tilki, Palaearktik bölge içerisinde yer alan ülkemizde de çok geniş bir yayılım alanına sahiptir [4].

1.1.1.2.Tür: *Canis lupus* (Linnaeus, 1758)

1.1.1.2.1. Görünüşü

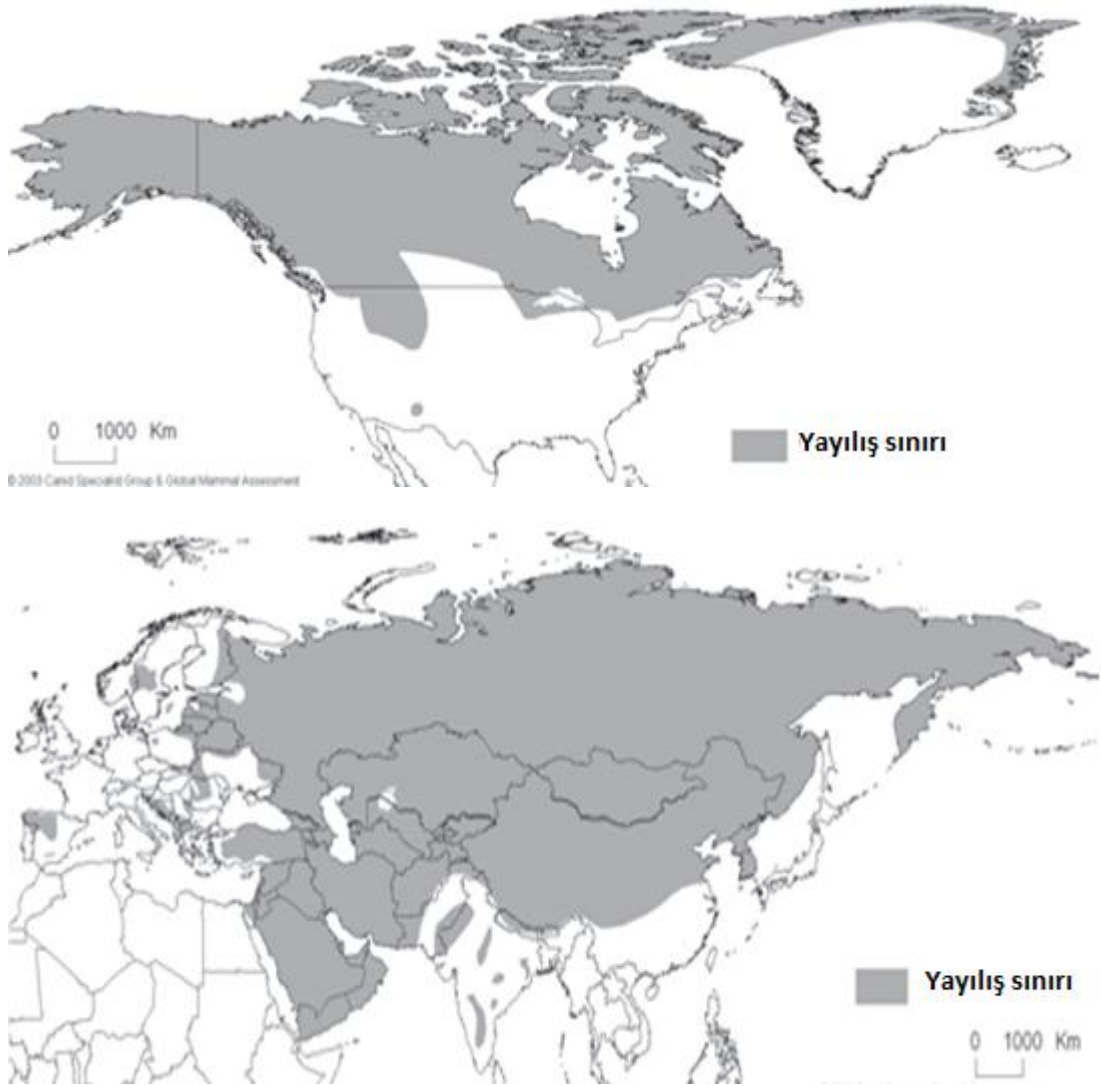
Gri kurt olarak bilinen *Canis lupus*, 60 kg'ın üzerinde ağırlığı olan en büyük kanid türüdür. Genel görünüm ve oransal olarak daha uzun bacaklar, daha büyük ayaklar, daha kısa kulaklar, eğik gözler, kıvrık kuyruk, daha uzun ve daha gür kış kürkü ve kışın çene hizasına gelen perçemi hariç büyük bir Alman çoban köpeğinden farklı değildir. Kürk kalın ve genellikle benekli gri, ancak siyah neredeyse saf beyaz, kırmızı veya kahverengi olarak değişebilir [68].

1.1.1.2.2. Habitatı ve Ekolojisi

Kuzey yarımkürenin karasal habitatlarındaki uygun besinleri yerler. Besinleri ekstrem olarak değişken olup çoğunlukla büyük ungulatlardan (değişik geyik türleri gibi) oluşmaktadır. Kurtlar ayrıca daha küçük av hayvanlarını, çiftlik hayvanlarını, leşleri ve çöpleri de yerler [69].

1.1.1.2.3. Yayılımı

Gri kurdun (*Canis lupus*) tarihsel dağılışı Kuzey Amerika'da 15° N ve Hindistan'da ise 12° N olup dünyanın en geniş yayılışasahip memeli türüdür. Gri kurt Batı Avrupa ve ABD'nin çoğunda ve Meksika'da popülasyonları yok olmuş durumdadır. Günümüzdeki dağılışı çok daha sınırlıdır. Kurtlar öncelikle yaklaşık olarak 75° N den 12° N enleme kadar özellikle Kanada, Alaska, Kuzey Amerika ve Asya'da vahşi insanlardan uzak alanlarda bulunmaktadır. Gri kurdun günümüzdeki yayılımı Şekil 1.2'de gösterilmektedir [68].



Şekil 1.2. *Canis lupus* Linnaeus, 1758'un Dünya'daki yayılışı [68].

1.1.1.3. Tür: *Canis aureus* (Linnaeus, 1758)

1.1.1.3.1. Görünüşü

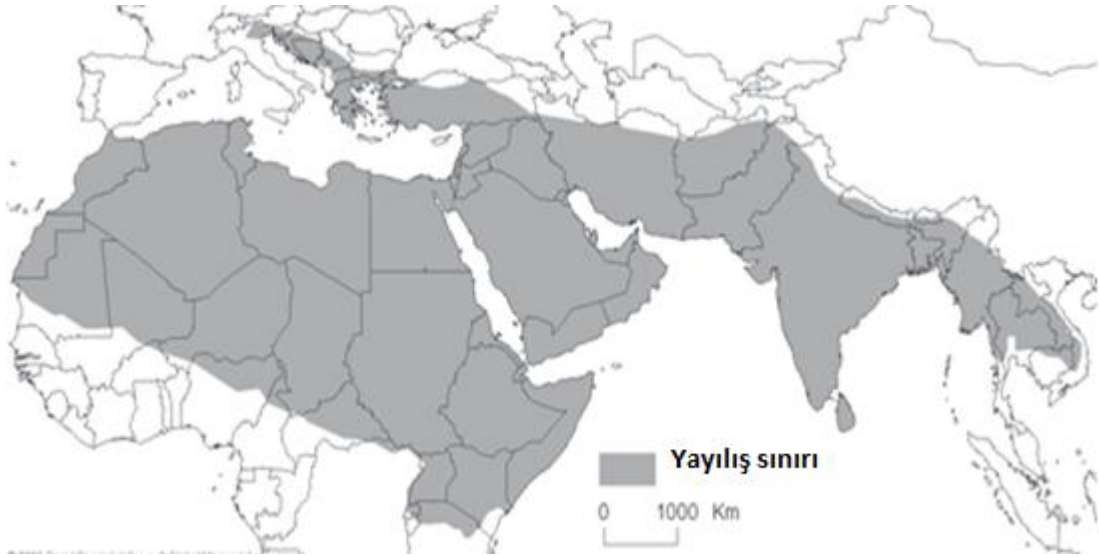
Altın çakal olarak bilinen *Canis aureus* orta büyüklükte bir kanid olup *Canis* cinsinin en tipik temsilcisidir. Erkek ve dişi bireyler arasında vücut ağırlığı bakımından yaklaşık olarak % 12'lik fark vardır. Temel kürk rengi altın rengidir. Bununla birlikte kürk rengi mevsimsel olarak soluk krem sarısından koyu sarımsı kahverengiye kadar değişiklik gösterebilir. Sırt tarafında post, genellikle siyah, kahverengi ve beyaz kılların karışımından ibarettir. Kuyruk siyah uçlu ve bronz renkli püsküllüdür. Bacaklar nispeten uzun olup küçük ayak uçlu, narin ayakları vardır [68].

1.1.1.3.2. Habitatı ve Ekolojisi

Altın çakal, kuru habitatlara toleransı ve omnivor beslenme tarzından dolayı, karasal ortamın çok değişik habitatlarında yaşar. Çöl ortamından her zaman yeşil olan ormanlara kadar değişik habitatları işgal ederler. Altın çakallar, fırsatçı olup geceleyin insan habitatlarına girerek çöplerdeki besinleri de yiyebilirler [70].

1.1.1.3.3. Yayılışı

Altın çakal Afrika'nın batı sahilindeki Senegal'den doğuda Mısır'a kadar Kuzey Afrika'da ve Kuzey-doğu Afrika'da geniş yayılışlıdır. Yayılış alanı içerisinde Kuzeyde Fas, Cezayir ve Libya güneyde Nijerya, Çad ve Tanzanya yer almaktadır. Altın çakal yayılış sınırını Arabistan yarımadasından Batı Avrupa içlerine Avusturya ve Bulgaristan'a ve doğu boyunca Türkiye, Suriye, Irak, İran, Orta Asya, tüm Hindistan altkıtası, ondan sonra doğu ve güneyde SriLanka, Myanmar, Tayland ve Çin Hindi'ne kadar genişletmiştir (Şekil 1.3) [68].



Şekil 1.3. *Canis aureus* Linnaeus, 1758'un Dünyada'ki yayılışı [68].

1.2. ZFX ve ZFY Genleri

Euteryan X kromozomu bir zinc finger geni (insanlarda ZFX ve diğer türlerde Zfx şeklinde ifade edilir) içermektedir. Buna karşılık bir homolog gen (insanlarda ZFY veya diğer türlerde Zfy) Y kromozomu üzerinde bulunmaktadır. Bu genler tüm euteryanların eşey (cinsiyet) kromozomları üzerinde yer almaktadır [71]. Euteryan memelilerdeki X ve Y kromozomları pseudootozomal bölge denilen kısa bir bölgeyi paylaşırlar ve orada rekombinasyon gerçekleşebilir [72]. Zfx lokusunun kromozomal

lokasyonu insanlarda ve farelerde farklıdır [73]. Ancak her iki taksonda pseudootozomal bölgenin dışında yerleşmiştir. Bu yüzden X ve Y kromozomal genlerinin rekombinasyon olmaksızın birbirinden bağımsız olarak evrimleştiği tahmin edilmektedir [71]. Bir çok euteryan memeli türü hem X hem de Y kromozomunda tek bir kopya olarak zinc finger genine sahiptirler [73-75].

Son yıllarda yapılan çalışmalarda Y kromozomu üzerinde 20 gen tanımlanmış ve bu genlerin % 55'i erkek bireylerde testislerin gelişimi ve sperm üretimiyle ilgisi bulunmuştur [76]. Zfy geni orjinal olarak testislerin belirleyici faktör olduğu düşünülen zinc finger proteini için kodlama yapmaktadır. Aktif olarak erkek bireylerde kopyası vardır ve spermlerin veya testislerin olgunlaşmasıyla ilgili olduğu kabul edilmektedir [77]. Zfy geni memeli hayvanların bir çok türünde oldukça korunmuş bir gen olup kemirgenler ve insanlar ile ilgili popülasyon çalışmalarında Y kromozomu için ve yabani yaşamla ilgili çalışmalarda eşey spesifik bir belirteç olarak kullanılmaktadır [37, 78-80]. Ayrıca karnivorların geyikgillerin ve kemirgenlerin filogenetik çalışmalarında da kullanılmıştır [50, 78, 81].

Y kromozom belirteçleri erkek bireyin genetik ve filocoğrafik tarihinin yeniden inşası için potansiyel olarak yüksek bir değere sahiptir. Dişi popülasyon genetiği çalışması için kullanılan mitokondriyal DNA'nın avantajlı özelliklerinin çoğu Y kromozomu ile paylaşılır. Özellikle her ikisi de haploid olup rekombinasyon yapmazlar ve klonlanarak kalıtılırlar. Ayrıca biparental olarak kalıtılan nükleer lokuslarla karşılaştırıldığında nispeten hızlı bir şekilde evrimleşirler [44, 45, 48, 82, 83]. İnsandaki Y kromozomu bir kısa ve bir uzun kola sahiptir. Kısa koldaki pseudootozomal bölge 2600 kb iken uzun koldaki 500 kb olarak tespit edilmiştir [84].

2. BÖLÜM

MATERYAL VE METOT

2.1. Örneklerin Toplanması ve Saklanması

Bu çalışmada, hiçbir canlı hayvanın yaşamına son verilmeden tamamen kara yollarında kaza sonucu ölmüş Canidae familyasının Türkiye'de yayılış gösteren üç türü kızıl tilki (*Vulpes vulpes*) (Şekil 2.1), gri kurt (*Canis lupus*) (Şekil 2.2) ve altın çakal (*Canis aureus*) (Şekil 2.3) örneklerine ait 2002–2013 yılları arasında toplanmış dokular, paternal Y kromozomal DNA'nın Zfy gen bölgesine ait dizileri elde etmek için kullanıldı.

Alınan dokular, ölü hayvan örneklerinden steril ve tek kullanımlık bisturi ile alındıktan sonra, % 99 etil alkol içerisine konuldu ve çalışmaya kadar +4 °C de Erciyes Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümün'de muhafaza edildi. Çalışma sırasında üç kanid türünün toplam 93 örneğine ait dokular kullanıldı. Çalışılan örneklerle ait ayrıntılı bilgi (lokalite, koordinat, tarih vb.) ve örneklerin üç taksona göre dağılımları, Şekil 2.4 ve Tablo 2.1'de gösterilmiştir.

Yapılan çalışmanın metodu ve kullanılan hayvan örneği sayısı, Erciyes Üniversitesi, Deney Hayvanları Yerel Etik Kurulu tarafından hayvan hakları ve hayvan deneyleri etiğine uygun bulunmuştur.



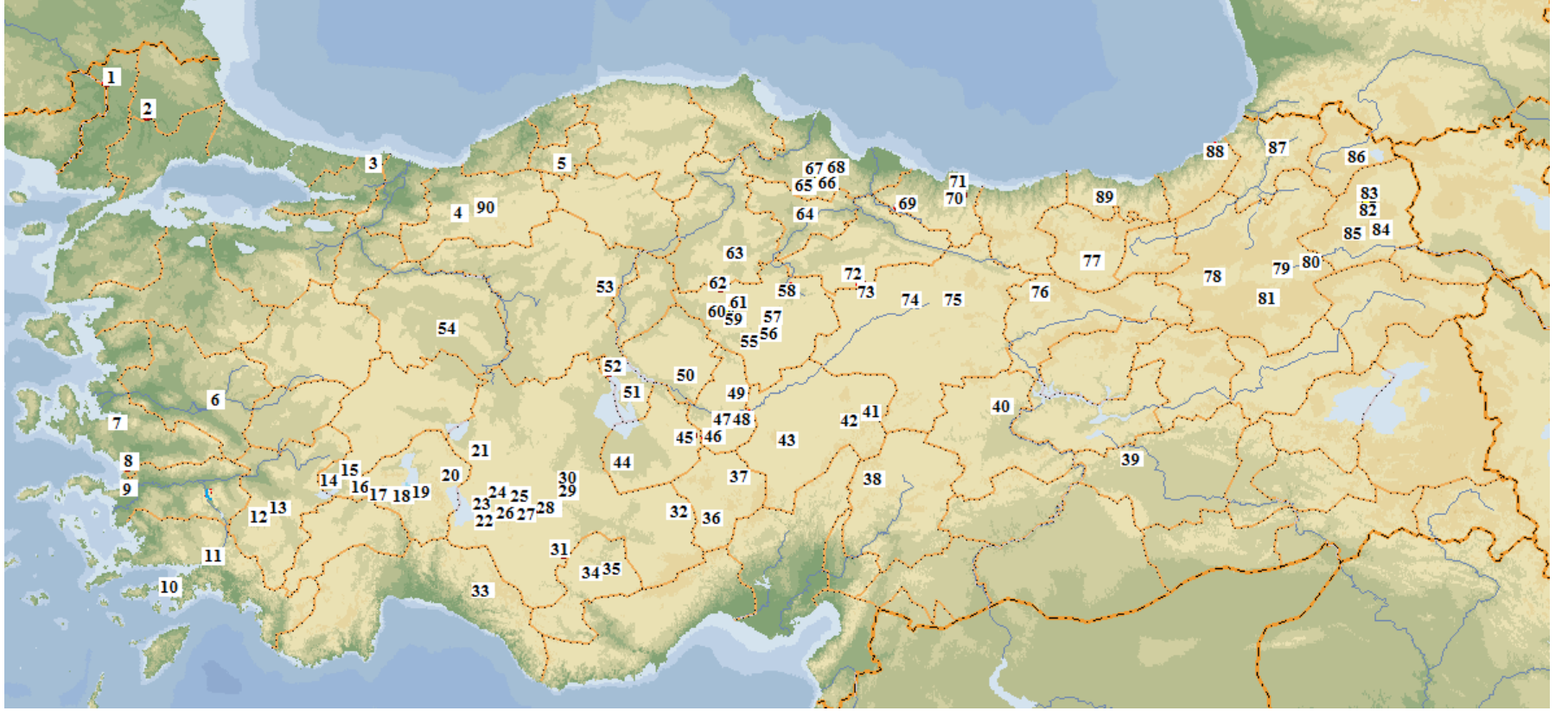
Şekil 2.1. Karayolunda motorlu taşıtın çarpması sonucu yaşamı sonlanmış bir kızıl tilki örneği, Söke-Aydın, örnek no:1406, 09.08.2012 (Fotoğraf Doğa Can TEZ).



Şekil 2.2. Karayolunda motorlu taşıtın çarpması sonucu yaşamı sonlanmış bir altın çakal örneği; Ovacık-Artvin, örnek no:1271, 14.08.2009 (Fotoğraf Servet Özcan).



Şekil 2.3. Karayolunda motorlu taşıtın çarpması sonucu ölmüş ve doku aldığımız bir gri kurt örneği, Sorgun-Yozgat, örnek no:1336, 27.09.2010 (Fotoğraf Osman İBİŞ).



Şekil 2.4. *Vulpes vulpes*, *Canis aureus* ve *Canis lupus* örneklerinin toplandığı yerleri gösteren harita

Tablo 2.1. Toplanan örneklerin listesi, müze numarası ve koordinat bilgileri.

Sıra No	Haritada Lokalite Kodu	Müze No / Eşey	Takson Adı	Doku Tipi	Lokalite	Koordinatlar	Tarih
1	1	1361 / Dişi	<i>V. vulpes</i>	Kas + Kuyruk	Kumlucabağları EDİRNE	41°40 ' N 26° 34' E	08.11.2010
2	2	923 / Erkek	<i>V. vulpes</i>	Kuyruk + Kas	Taşköprü Babaeski KIRKLARELİ	41° 21 N 27° 02'E	13.07.2002
3	3	610 / Erkek	<i>V. vulpes</i>	Kuyruk	Kandıra KOCAELİ	41° 04'907" N 30° 10'238" E 41m	05.08.2007
4	5	637 / Dişi	<i>V. vulpes</i>	Kuyruk	KARABÜK	41° 09'810" N 32° 38'428" E 304m	23.08.2007
5	6	1389 / Erkek	<i>V. vulpes</i>	Kas	Çakırlarköyü Köprübaşı MANİSA	38° 40'787" N 28° 20'282" E 1155feet	20.07.2011
6	7	1410/Bilinmiyor	<i>V. vulpes</i>	Kas + Kuyruk	Uzundere Gaziemir İZMİR	38° 21'197" N 27° 05'545" E 170m	09.08.2011
7	8	1408 / Dişi	<i>V. vulpes</i>	Kas + Kuyruk	Selçuk İZMİR	37° 56'575" N 27° 18'096" E 21m	09.08.2011

Tablo 2.1'in devamı

Sıra No	Haritada Lokalite Kodu	Müze No / Eşey	Takson Adı	Doku Tipi	Lokalite	Koordinatlar	Tarih
8	9	1406 / Erkek	<i>V. vulpes</i>	Kas	Söke çıkışı Kuşadası AYDIN	37° 45'415" N 27° 21'162" E 153m	09.08.2011
9	10	1332/Bilinmiyor	<i>V. vulpes</i>	Kulak	Kurucabük(Datcaya 30km) Datca MUĞLA	36° 45'598" N 27° 54'341" E 72feet	12.07.2010
10	11	1404 / Dişi	<i>V. vulpes</i>	Kas	Yaraş MUĞLA	37° 09'536" N 28° 28'458" E 720m	04.08.2011
11	12	925 / Dişi	<i>V. vulpes</i>	Kuyruk	Tavas DENİZLİ		02.08.2002
12	14	1380 / Erkek	<i>V. vulpes</i>	Alt Dudak	Bozan Dazkırı AFYON	37° 58'228" N 29° 54'232" E 2890feet	17.07.2011
13	15	669 / Erkek	<i>V. vulpes</i>	Kuyruk	Dikici köyü Dinar AFYON	38° 00'140" N 30° 11'522" E 940m	07.09.2007

Tablo 2.1'in devamı

Sıra No	Haritada Lokalite Kodu	Müze No / Eşey	Takson Adı	Doku Tipi	Lokalite	Koordinatlar	Tarih
14	15	670 / Erkek	<i>V. vulpes</i>	Kuyruk	Dikici köyü Dinar AFYON	38° 00'140" N 30° 11'522" E 940m	07.09.2007
15	16	1323 / Dişi	<i>V. vulpes</i>	Kas	Aydoğmuş Keçiborlu ISPARTA	37° 55' N 30° 17' E	21.06.2010
16	17	706 / Dişi	<i>V. vulpes</i>	Kuyruk	ISPARTA	37° 52'539" N 30° 30'730" E 935m	09.09.2007
17	18	707 / Dişi	<i>V. vulpes</i>	Kuyruk	Eğirdir ISPARTA	37° 50'753" N 30° 51'579" E 922m	09.09.2007
18	19	924 / Erkek	<i>V. vulpes</i>	Kuyruk + Kas	Eğirdir ISPARTA	37° 50' N 30° 51' E	02.08.2002
19	20	668 / Dişi	<i>V. vulpes</i>	Kuyruk	ISPARTA	38° 03'203" N 31° 25'615" E 1200m	06.09.2007
20	21	1107 / Dişi	<i>V. vulpes</i>	Kas + Kulak	İlgın KONYA	38° 18'062" N 31° 39'356" E 1080m	07.09.2008

Tablo 2.1'in devamı

Sıra No	Haritada Lokalite Kodu	Müze No / Eşey	Takson Adı	Doku Tipi	Lokalite	Koordinatlar	Tarih
21	22	1326/Bilinmiyor	<i>V. vulpes</i>	Kas	Avşar köyü Beyşehir KONYA	37° 42'477" N 31° 44'533" E 1140m	08.07.2010
22	23	1377/Bilinmiyor	<i>V. vulpes</i>	Kas	Sarıköy Beyşehir, KONYA	37° 47' N 31° 48' E	16.07.2011
23	24	1111 / Erkek	<i>V. vulpes</i>	Kas + Kulak	Beyşehir KONYA	37° 54'691" N 31° 56'955" E 1270m	10.09.2008
24	25	664 / Dişi	<i>V. vulpes</i>	Kuyruk	KONYA	37° 53'613" N 32° 09'022" E 1565m	05.09.2007
25	26	1434 / Dişi	<i>V. vulpes</i>	Kas	Seydişehir KONYA	37° 45'037" N 32° 05'392" E 1573m	08.11.2011
26	27	1122 / Dişi	<i>V. vulpes</i>	Kas + Kulak	KONYA	37° 45'674" N 32° 12'683" E 1328m	14.09.2008
27	28	926 / Erkek	<i>V. vulpes</i>	Kuyruk	20.km G. Konya Seydişehir yolu KONYA		01.07.2003

Tablo 2.1'in devamı

Sıra No	Haritada Lokalite Kodu	Müze No / Eşey	Takson Adı	Doku Tipi	Lokalite	Koordinatlar	Tarih
28	29	663 / Dişi	<i>V. vulpes</i>	Kuyruk	KONYA	38° 01'340" N 32° 51'829" E 1001m	05.09.2007
29	30	1325 / Erkek	<i>V. vulpes</i>	Kulak	Zincirli KONYA	38° 02' N 32° 53' E	08.07.2010
30	31	1495 / Dişi	<i>V. vulpes</i>	Kulak	Çumra KONYA	37° 21'751" N 32° 47'701" E 1064m	10.08.2012
31	32	1480 / Erkek	<i>V. vulpes</i>	Kulak	Zengen Ereğli KONYA	37° 49'219" N 34° 16'607" E 3615feet	07.08.2012
32	33	1248/Bilinmiyor	<i>V. vulpes</i>	Kulak + Kuyruk	Geriş Akseki ANTALYA	36° 58'049" N 31° 44'840" E 748m	17.7.2009
33	34	1494 / Erkek	<i>V. vulpes</i>	Kulak	KARAMAN	37° 11'653" N 33° 08'748" E 1035m	10.08.2012
34	35	1017 / Dişi	<i>V. vulpes</i>	Kas + Kulak	Kayaönü mah. KARAMAN	37° 14'318" N 33° 21'128" E 1039m	29.07.2008

Tablo 2.1'in devamı

Sıra No	Haritada Lokalite Kodu	Müze No / Eşey	Takson Adı	Doku Tipi	Lokalite	Koordinatlar	Tarih
35	36	627 / Erkek	<i>V. vulpes</i>	Kuyruk	Kemerhisar Bor NİĞDE	37° 45'509" N 34° 34'032" E 1128m	20.08.2007
36	37	708/Bilinmiyor	<i>V. vulpes</i>	Kuyruk	Çarıklı NİĞDE	38° 11'639" N 34° 59'174" E 1368m	22.09.2007
37	38	927 / Erkek	<i>V. vulpes</i>	Kas	Kanlıkavak Göksun K.MARAŞ		11.08.2003
38	39	1356 / Erkek	<i>V. vulpes</i>	Deri	Ergani DİYARBAKIR	38° 15' N 39° 46' E	
39	40	803 / Erkek	<i>V. vulpes</i>	Kas	Arguvan MALATYA		22.06.2008
40	41	1160 / Dişi	<i>V. vulpes</i>	Kulak	Pınarbaşı KAYSERİ	38° 43' N 36° 33' E	06.02.2009
41	42	953 / Dişi	<i>V. vulpes</i>	Kulak	Pınarbaşı KAYSERİ	38° 41'848" N 36° 21'790" E 1546m	11.07.2008

Tablo 2.1'in devamı

Sıra No	Haritada Lokalite Kodu	Müze No / Eşey	Takson Adı	Doku Tipi	Lokalite	Koordinatlar	Tarih
42	43	952 / Erkek	<i>V. vulpes</i>	Kulak	Erciyes Dağı KAYSERİ	38° 31'587" N 35° 31'566" E 2215m	11.07.2008
43	44	1108/Bilinmiyor	<i>V. vulpes</i>	Kulak	Eşmekaya AKSARAY	38° 15'152" N 33° 28'976" E 971m	07.09.2008
44	45	934 / Dişi	<i>V. vulpes</i>	Kuyruk + Kulak	AKSARAY	38° 30'969" N 34° 21'098" E 1227m	08.07.2008
45	46	933 / Erkek	<i>V. vulpes</i>	Kuyruk + Tüberkül	Acıgöl NEVŞEHİR	38° 32'691" N 34° 29'174" E 1264m	08.07.2008
46	47	660 / Erkek	<i>V. vulpes</i>	Kuyruk	Bozca Avanos NEVŞEHİR	38° 44'331" N 35° 02'312" E 1048m	05.09.2007
47	48	661 / Dişi	<i>V. vulpes</i>	Kuyruk + Dil	Avanos NEVŞEHİR	38° 41'409" N 34° 48'850" E 1012m	05.09.2007
48	49	1137 / Erkek	<i>V. vulpes</i>	Kas + Kulak	Çalış NEVŞEHİR	38° 58'846" N 34° 54'890" E	25.10.2008

Tablo 2.1'in devamı

Sıra No	Haritada Lokalite Kodu	Müze No / Eşey	Takson Adı	Doku Tipi	Lokalite	Koordinatlar	Tarih
49	50	1096 / Dişi	<i>V. vulpes</i>	Kas + Kulak	KIRŞEHİR	39° 05'094" N 34° 16'287" E 1200m	03.09.2008
50	51	1497 / Dişi	<i>V. vulpes</i>	Kulak + Kuyruk	Şereflikoçhisar ANKARA	38° 57'381" N 33° 33'780" E 993m	13.08.2012
51	52	1496 / Dişi	<i>V. vulpes</i>	Deri	Şereflikoçhisar ANKARA	39° 08'980" N 33° 17'645" E	12.08.2012
52	53	1097 / Dişi	<i>V. vulpes</i>	Kulak	Elmadağ ANKARA	39° 55'348" N 33° 15'923" E 1072m	05.09.2008
53	54	1100 / Dişi	<i>V. vulpes</i>	Kas + Kulak	ESKİŞEHİR	39° 30'058" N 31° 13'424" E 1028m	05.09.2008
54	55	536 / Erkek	<i>V. vulpes</i>	Kuyruk	Özlüce Boğazlıyan YOZGAT	39° 29'185" N 35° 04'298" E 1099 m	23.07.2007
55	56	587 / Erkek	<i>V. vulpes</i>	Kuyruk	Bahadin Sarıkaya YOZGAT	39° 36'066" N 35° 15'707" E 1123m	28.07.2007

Tablo 2.1'in devamı

Sıra No	Haritada Lokalite Kodu	Müze No / Eşey	Takson Adı	Doku Tipi	Lokalite	Koordinatlar	Tarih
56	59	1438 / Erkek	<i>V. vulpes</i>	Kulak	Topçu köyü YOZGAT	39° 43' N 34° 49' E	05.11.2011
57	60	1439 / Dişi	<i>V. vulpes</i>	kuyruk	Divanlı köyü YOZGAT	39° 45' N 34° 48' E	05.11.2011
58	61	733 / Erkek	<i>V. vulpes</i>	Kuyruk	YOZGAT	39° 48'504" N 34° 46'330" E 1204m	27.10.2007
59	62	538/Bilinmiyor	<i>V. vulpes</i>	Kas	Boğazkale ÇORUM	39° 56'087" N 34° 42'963" E 1215m	23.07.2007
60	63	1337 / Dişi	<i>V. vulpes</i>	Kas + Kulak	Alaca ÇORUM	40° 18'711" N 34° 48'126" E 3524feet	27.09.2010
61	64	777 / Erkek	<i>V. vulpes</i>	Dil	AMASYA	40° 41'779" N 35° 48'765" E 408m	11.06.2008
62	65	821 / Dişi	<i>V. vulpes</i>	Kulak	Bekdiğin Havza SAMSUN	40° 59'861" N 35° 46'125" E 725m	29.06.2008

Tablo 2.1'in devamı

Sıra No	Haritada Lokalite Kodu	Müze No / Eşey	Takson Adı	Doku Tipi	Lokalite	Koordinatlar	Tarih
63	66	1344 / Dişi	<i>V. vulpes</i>	Kulak	Bayındır köyü Kavak SAMSUN	41° 01' N 36° 02' E	06.11.2010
64	67	1343 / Dişi	<i>V. vulpes</i>	Kas	Ahırlı köyü Kavak SAMSUN	41° 05' N 35° 59' E	31.10.2010
65	68	1345 / Erkek	<i>V. vulpes</i>	Kas	Göçebe köyü Kavak SAMSUN	41° 09' N 36° 08' E	07.11.2010
66	68	1346 / Dişi	<i>V. vulpes</i>	Kas	Göçebe köyü Kavak SAMSUN	41° 09' N 36° 08' E	07.11.2010
67	69	1254 / Dişi	<i>V. vulpes</i>	Kulak	Gökçebayır Akkuş ORDU	40° 41'648" N 36° 59'460" E 1028m	28.07.2009
68	70	954 / Erkek	<i>V. vulpes</i>	Böbrek	Karakoca Ulubey, ORDU		23.12.2007
69	72	760 / Dişi	<i>V. vulpes</i>	Kuyruk + Kas	TOKAT	40° 03'833" N 36° 29'187" E 1143m	08.06.2008

Tablo 2.1'in devamı

Sıra No	Haritada Lokalite Kodu	Müze No / Eşey	Takson Adı	Doku Tipi	Lokalite	Koordinatlar	Tarih
70	73	763 / Erkek	<i>V. vulpes</i>	Kulak	Çamlıbel TOKAT	40° 04'261" N 36° 29'011" E	09.06.2008
71	73	1273 / Dişi	<i>V. vulpes</i>	Eos	Çamlıbel geçidi TOKAT	39° 56'971" N 36° 31'742" E 1577m	16.08.2009
72	74	1027 / Dişi	<i>V. vulpes</i>	Kas + Kulak	Zara SİVAS	39° 51'772" N 37° 37'428" E 1340m	18.08.2008
73	75	1266/Bilinmiyor	<i>V. vulpes</i>	Kuyruk	Seyfibeli geçidi, (Gökdin) SİVAS	39° 48'925" N 37° 08'300" E 1420m	09.08.2009
74	76	1269 / Dişi	<i>V. vulpes</i>	Kas + Kulak	Refahiye ERZİNCAN	39° 56'265" N 38° 44'499" E 1554m	09.08.2009
75	77	1070 / Dişi	<i>V. vulpes</i>	Kas + Kulak	Kelkit GÜMÜŞHANE	40° 14'022" N 39° 27'077" E 1723m	29.08.2008
76	78	1045 / Erkek	<i>V. vulpes</i>	Yanak	Ilıca ERZURUM	39° 58'751" N 40° 56'382" E 1881m	20.08.2008

Tablo 2.1'in devamı

Sıra No	Haritada Lokalite Kodu	Müze No / Eşey	Takson Adı	Doku Tipi	Lokalite	Koordinatlar	Tarih
77	79	1046 / Dişi	<i>V. vulpes</i>	Üst Çene	Horasan ERZURUM	40° 00'299" N 41° 57'455" E 1594m	21.08.2008
78	80	1270 / Dişi	<i>V. vulpes</i>	Kulak + Kuyruk	Horosan ERZURUM	40° 04'220" N 42° 14'473" E 1539m	11.08.2009
79	82	1409 / Erkek	<i>V. vulpes</i>	Kas	Kars Erzurum çıkışı KARS	40° 34' N 43° 02' E	08.08.2011
80	84	1470 / Dişi	<i>V. vulpes</i>	Kas + Kuyruk	Kağızman yol ayrımı KARS	41° 31'018" N 42° 57'181" E 1790m BAKILACAK	30.06.2012
81	89	1445 / Dişi	<i>V. vulpes</i>	Kulak	Maçka TRABZON		14.12.2011
82	13	1381 / Dişi	<i>C. aureus / V. vulpes</i>	Deri	Serinhisar DENİZLİ	37° 37'214" N 29° 15'493" E 3575feet	17.02.2011
83	71	1339 / Dişi	<i>C. aureus</i>		Efirli ORDU	41° 00'276" N 37° 49'613" E	

Tablo 2.1'in devamı

Sıra No	Haritada Lokalite Kodu	Müze No / Eşey	Takson Adı	Doku Tipi	Lokalite	Koordinatlar	Tarih
84	87	1271 / Erkek	<i>C. aureus</i>	Kas	Ovacık ARTVİN	41° 09'095" N 41° 55'162" E 632m	
85	88	1257 / Dişi	<i>C. aureus</i>	Kulak	4 Km Batı, Fındıklı RİZE	41° 14'840" N 41° 06'350" E 7m	
86	4	1448 / Erkek	<i>C. lupus</i>	Kuyruk/ Kulak/Kas	Yazıcı köyü Kıbrısçık BOLU	40° 24' N 31° 57' E	15.02.2012
87	57	1437 / Erkek	<i>C. lupus</i>	Kulak	Sarıkaya YOZGAT	40° 00' N 35° 34' E	05.11.2011
88	58	1336 / Erkek	<i>C. lupus</i>	Kulak/ Kas	Sorgun YOZGAT	39° 49'471" N 35° 03'128" E 3744feet	27.09.2010
89	81	1334 / Dişi	<i>C. lupus</i>	Arka Damak	Tekman ERZURUM	39° 38' N 41° 33' E	?
90	83	1516 / Dişi	<i>C. lupus</i>		KARS	40° 37' N 43° 07' E	28.02.2013

Tablo 2.1'in devamı

Sıra No	Haritada Lokalite Kodu	Müze No / Eşey	Takson Adı	Doku Tipi	Lokalite	Koordinatlar	Tarih
91	85	1441 / Erkek	<i>C. lupus</i>	Dil	Karakurt KARS		11.01.2012
92	86	1518 / Dişi	<i>C. lupus</i>		Nebioğlan köyü ARDAHAN	40° 58' N 42° 55' E	15.04.2013
93	90	1460 / Dişi	<i>C. lupus</i>	Kas	Abant civarı BOLU	40° 37' N 31° 17' E	15.03.2012

2.2. Üç Kanid Türüne Ait Dokulardan DNA izolasyonu

Türkiye'nin değişik lokalitelerinden toplanan üç kanid türüne ait 93 örnekten alınan ve etil alkolde saklanan kas, kuyruk, kulak gibi değişik dokulardan total DNA elde edilmiştir. Total DNA izolasyonu için QIAGEN adlı firma tarafından üretilen ve ticari olarak satılmakta olan QIAGEN DNeasy® Blood & Tissue Kit kullanılmıştır. Bu çalışmada total DNA izolasyonu sırasında kit ile birlikte gönderilen protokol takip edilmiştir.

2.3. Total DNA izolasyon işlemleri:

Tüm santrifüj aşamaları oda sıcaklığında (15 – 25 °C) gerçekleştirildi.

Vorteks işlemi 5 – 10 saniye arasında yapıldı.

Gerekli olması durumunda Buffer AL ve Buffer ATL 56 °C'ye ısıtılarak tekrar çözüldü.

Kitin ilk kullanımında Buffer AW1 ve AW2'ye % 99.9' luk Etanol eklendi.

İzolasyona başlamadan önce thermal block 56 °C'ye ayarlandı.

Steril 1,5 ml'lik ependorf tüpleri etiketlenerek hazırlandı.

Kitle birlikte gelen DNeasy Mini spin column ve koleksiyon tüpleri etiketlendi.

Etil alkolde saklanan dokulardan 25 mg'dan fazla olmayacak şekilde etiketlenmiş tüplere alındı.

Lizis aşamasının daha etkili olabilmesi için alınan doku parçaları daha küçük parçalara bölündü.

Üzerine 180 µl ATL Buffer eklendi ve tüpler karıştırıldı.

20 µl Proteinaz K eklendi ve karıştırıldı.

Bu ependorf tüpleri daha önce +56 °C'ye ayarlanmış thermal block'a alındı.

Dokular tamamen lizis oluncaya kadar burada bekletildi (yaklaşık 3 – 4 saat).

Bu süre boyunca ependorf tüpleri düzenli aralıklarla (25 – 30 dk) karıştırıldı.

Tamamen lizis olan örnekler thermal bloktan alındı ve yaklaşık 15 saniye karıştırıldı.

Üzerine 200 µl AL Buffer eklendi ve karıştırıldı.

200 µl % 96 – 100'lük etanol eklendi ve karıştırıldı.

Homojen bir solüsyon elde etmek için Buffer AL ve etanol mümkün olduğunca çabuk eklendi ve tüpler karıştırıldı.

Elde edilen karışım önceden hazırlanmış DNeasy Mini spin column'a aktarıldı ve spin columnlar 2 ml'lik koleksiyon tüpleri içerisine yerleştirildi.

DNeasy Mini spin columnlar 6.000 rcf'de 1 dakika santrifüj edildi.

Altta biriken sıvı ve koleksiyon tüpü atıldı.

DNeasy Mini spin column yeni bir 2 ml'lik koleksiyon tüpü içerisine yerleştirildi.

Üzerine 500 µl Buffer AW1 eklendi.

DNeasy Mini spin columnlar 6.000 rcf'de 1 dakika santrifüj edildi.

Altta biriken sıvı ve koleksiyon tüpü atıldı.

DNeasy Mini spin column yeni bir 2ml'lik koleksiyon tüpü içerisine yerleştirildi.

Üzerine 500 µl Buffer AW2 eklendi.

DNeasy Mini spin columnlar 20.000 rcf'de 3 dakika santrifüj edildi.

Spin column dikkatli bir şekilde sıvıya değmeden alındı.

Altta biriken sıvı ve koleksiyon tüpü atıldı.

DNeasy Mini spin column membranının kuru olması önemlidir. Buradan taşınacak olan etanol ileriki safhalar için olumsuz sonuç doğurabilir.

Etanolün membran ile teması halinde DNeasy Mini spin columnlar tekrar 6.000 rcf'de 1 dakika santrifüj edilir.

DNeasy Mini spin columnlar önceden etiketlenmiş 1,5 ml'lik ependorf tüpleri içerisine yerleştirildi.

Doğrudan membran üzerlerine 200 µl Buffer AE eklendi.

DNeasy Mini spin columnlar oda sıcaklığında 1 dakika inkübasyona bırakıldı.

6.000 rcf'de 1 dakika santrifüj edildi.

İstenilmesi durumunda bu basamak tekrarlanabilir.

DNeasy Mini spin column atılır ve ependorfta biriken sıvı +4 °C'de saklanır.

Uzun süreli saklamak için tüpler -20 °C'ye alındı.

Yapılan işlemler sonucu Total DNA'nın elde edilip edilmediğinin anlaşılması için agaroz jel elektroforezi yapıldı.

2.3.1. İncelenen Örneklerin Cinsiyet Tayini

Doku örnekleri toplanırken mümkün olduğu kadar cinsiyet tayini yapılmaya çalışıldı. Bununla beraber bazı örneklerin cinsiyet tayini mümkün olmadığından elde edilen total DNA'lar, PCR yöntemi ile cinsiyet tayini yapılırken kalıp DNA olarak kullanıldı.

Erkek bireylerin varlığını tespit etmek için;

Lgl 331 5'-CAA ATC ATG CAA GGA TAG AC-3'

Lgl 335 5'-AGA CCT GAT TCC AGA CAG TAC CA-3' [81] primerleri kullanıldı.

Cinsiyet tayininde kullanılan PCR bileşenleri ve miktarları:

Bileşenler	Kullanılan miktar	Son konsantrasyon
10X Taq Buffer	2.5 µl	1X
10 uM Lgl331 Primer	2.5 µl	1 µM
10 uM Yint2 335 Primer	2.5 µl	1 µM
10 mM dNTP mix	0.5 µl	200 µM
Taq DNA Polimeraz 5 u/µl	0.15 µl	2 u
25 mM MgCl ₂	1.5 µl	2 mM
DNA (1/5 oranında seyreltiliş)	2.5 µl	-----
Steril Distile Su (dH ₂ O)	12.85 µl	----
Total Hacim	25 µl	

Hedef bölgenin çoğaltılması için gradient özelliğine sahip thermocycler (SENSOQUEST) kullanıldı.

Cinsiyet tayini için PCR döngü şartları:

Basamak	Sıcaklık (°C)	Süre	Döngü Sayısı
Ön Denatürasyon	94 °C	5 dakika	1
Denatürasyon	94 °C	30 saniye	30
Bağlanma	55 °C	30 saniye	30
Uzama	72 °C	30 saniye	30
Sonlandırma	72 °C	10 dakika	1

2.3.2. Y kromozomal DNA'nın ZFY Gen Bölgesinin PCR ile Çoğaltılması

Çalışılan örneklerden elde edilen total DNA'lar, amplifiye edilmesi hedeflenen Y kromozomal DNA'nın Zfy gen bölgesi için kalıp DNA olarak kullanıldı.

Kullanılan primer çifti:

Lgl 331 5'-CAA ATC ATG CAA GGA TAG AC-3' [81]

Yint2 335 5'-GTC CAT TGG ATA ATT CTT TCC-3''dir [85].

Zfy gen bölgesini amplifiye etmek için kullanılan PCR bileşenleri ve miktarları:

Bileşenler	Kullanılan miktar	Son konsantrasyon
10X Taq Buffer	5 µl	1X
10 uM Lgl331 Primer	5 µl	1 µM
10 uM Yint2 335 Primer	5 µl	1 µM
10 mM dNTP mix	1 µl	200 µM
Taq DNA Polimeraz 5 u/µl	0.3 µl	2 u
25 mM MgCl ₂	3 µl	2 mM
DNA (1/5 oranında seyreltiliş)	5 µl	-----
Steril Distile Su (dH ₂ O)	25.7 µl	----
Total Hacim	50 µl	

İstenilen bölgenin çoğaltılması için gradient özelliğine sahip thermocycler (SENSOQUEST) kullanıldı.

Zfy gen bölgesini amplifiye etmek için gerekli olan PCR döngü şartları:

Basamak	Sıcaklık (°C)	Süre	Döngü Sayısı
Ön Denatürasyon	94 °C	5 dakika	1
Denatürasyon	94 °C	30 saniye	35
Bağlanma	52 °C	30 saniye	35
Uzama	72 °C	30 saniye	35
Sonlandırma	72 °C	10 dakika	1

2.3.3. PCR Ürünlerinin Agaroz Jelde Yürütülmesi ve Görüntülenmesi

PCR ürünü % 2'lik agaroz jelde yürütüldü.

Bunun için bir erlen içerisine 3 gram agaroz kondu ve üzerine 150 ml 0.5X TAE (Trisma Base, Glacial Asetic Asid, EDTA) çözeltisi eklenerek karıştırıldı.

Elde edilen karışım mikrodalgada agaroz tamamen çözünene kadar ısıtıldı.

Agaroz tamamen çözündükten sonra üzerine 10 mg/ml'lik Ethidium Bromide çözeltisinden 9 µl eklendi.

Manyetik karıştırıcıda karışım 50 – 55 °C'ye gelinceye kadar karıştırıldı.

Elektroforez tepsisine taraklar yerleştirildi ve karışım yavaşça döküldü.

Agaroz jel tamamen donuncaya kadar beklendi ve donduktan sonra taraklar dikkatlice jelden alındı.

Elektroforez tepsisi elektroforez tankına yerleştirildi ve üzerine jeli tamamen kaplayacak kadar 0,5X TAE çözeltisi eklendi.

Elde edilen total DNA'dan 10 µl alınıp temiz bir PCR tüpüne kondu ve üzerine 2 µl 6X Loading Dye eklendi, pipetle karıştırıldı.

Karışım jelde açılan kuyucuklara aktarıldı.

Boş bir kuyucuğa 6 µl 100 bp DNA Ladder konuldu.

Jele 80 volt doğrusal akım verilerek örneklerin jel üzerinde, elektriksel alanda 60 dakika yürümesi sağlandı.

Süre sonunda jel elektroforez tankından çıkarılıp görüntüleme cihazına yerleştirildi ve UV altında görüntülenip fotoğrafı çekildi.

2.3.4. PCR Ürünlerinin DNA Dizi Analizi

Üç kanid türüne ait her bir örnek için spesifik primer çiftleri kullanılarak elde edilen PCR ürünlerinin saflaştırılması ve DNA dizi analiz işlemleri, PCR aşamasındaki primer çifti kullanılarak hem ileri hem de geri yönde hizmet alımı ile yapıldı. RefGen (ODTÜ-Teknopark/Ankara) Gen Araştırmaları ve Biyoteknoloji Laboratuvarı'nda ABI 3100 Genetic Analyzer (Applied Biosystems) kullanılarak ham DNA dizi verileri elde edildi.

2.3.5. Y Kromozomal DNA'nın Zfy Gen Bölgesine Ait Dizilerin Okunması ve Düzenlenmesi

DNA dizi analizi ile elde edilen üç kanid türüne ait tüm ham DNA dizilerinin düzenlenmesi ve hizalanması BioEdit programı [86] ile her örnek için ayrı ayrı yapıldı. Üç kanid türünün her bir örneğe ait ileri ve geri yöndeki Y kromozom DNA Zfy gen bölgesi dizi verileri, alt alta gelecek şekilde birleştirildi. Bu işlemten sonra ileri ve geri primerler ile elde edilen DNA dizileri ve kromatogramları birlikte gözden geçirilerek ve

her bir tür için ilgili bölgenin ortak dizisi oluşturuldu. Aynı baz dizisi uzunluğa getirilen ve birleştirilen tüm diziler diğer programlar tarafından da okunabilmesi ve diğer dosya tiplerine dönüştürülebilmesi için FASTA ve NEXUS dosya formatlarında kaydedildi.

2.3.6. Y Kromozom DNA Zfy Gen Bölgesi Dizilerinin Genetik Analizi

Türkiye'de yayılış gösteren üç kanid türüne ait örneklerden elde edilen Y kromozom DNA Zfy gen bölgesine ait DNA dizileri, her bir takson için ayrı ayrı bir araya getirildi ve her bir tür için DNA veri seti oluşturuldu. Oluşturulan veri seti içerisindeki haplotip sayısını (farklı baz dizisine sahip diziler) ve her bir haplotipe sahip örnekleri tespit etmek için DnaSP v.5.00.04 [87] programı kullanıldı. Farklı baz dizisine sahip örnekler alınarak sadece haplotipleri içeren yeni bir veri seti oluşturuldu. Bu veri seti genetik analizlerde kullanıldı.

3 türe ait Gen Bankası'ndan (NCBI: National Center for Biotechnology Information) elde edilen Y kromozom DNA Zfy gen bölgesi dizileri (Tablo 2.2) ile bu çalışmada bulunan haplotipler, her bir tür için ayrı ayrı bir araya getirilerek hem karşılaştırma yapıldı hem de yeni DNA veri setleri elde edildi. Gen Bankası ve bu çalışmadan elde edilen dizilerin karşılaştırması ve veri seti oluşturmak için DnaSP v.5.00.04 [87] programı kullanıldı. Türkiye'den toplanan üç kanid türüne ait örneklerden elde edilen veri setindeki diziler arasındaki genetik uzaklık değerleri, Kimura 2-Parametre (K2P) [88] baz değişim modeli seçilerek hesaplandı. Ayrıca, 10.000 tekrarlı Neighbor Joining (Komşu birleştirme) analizi, MEGA5 [89] programında Kimura-2-Parametre baz değişim modeli kullanılarak yapıldı.

Tablo 2.2. Gen Bankası'ndan elde edilen Canidae familyasının üç türüne ait Y kromozom DNA Zfy gen bölgesi dizileri

Sıra	Erişim Numarası	Takson	Lokalite	Kaynak
1.	AB622140	<i>V. vulpes</i>	Japonya, Hokkaido	[34]
2.	AB622147	<i>C. lupus</i>	Asahiyama Hayvanat Bahçesi	[34]
3.	KF021270	<i>C. lupus</i>	Bilinmiyor	[Yayın yok]
4.	AB622145	<i>C. aureus</i>	Bulgaristan	[34]
5.	KF021269	<i>C. aureus</i>	Bilinmiyor	[Yayın yok]
6.	FN421125	<i>Martes martes</i>	Bilinmiyor	[90]

Dizilerin baz kromatogramı, Geneious version (R6.1.6) programıyla [91] elde edildi.

3. BÖLÜM

BULGULAR

3.1. Üç Kanid Türünün (*Vulpes vulpes*, *Canis lupus* ve *C. aureus*) Y Kromozom DNA Zfy Gen Bölgesinin Analizi

Bu çalışmada Türkiye karayollarında motorlu taşıtların çarpması sonucu yaşamını kaybetmiş Canidae Familyasının üç türüne (*Vulpes vulpes*, *Canis lupus* ve *C. aureus*) ait örnekler kullanıldı.

Vulpes vulpes (Linnaeus, 1758)

1758. *Canis vulpes* Linnaeus, Syst. Nat., 10th ed.,1:40.

Tip Yeri: Upsala, İsveç.

Canis lupus Linnaeus, 1758

1758. *Canis lupus* Linnaeus,

Tip Yeri: İsveç.

Canis aureus Linnaeus, 1758

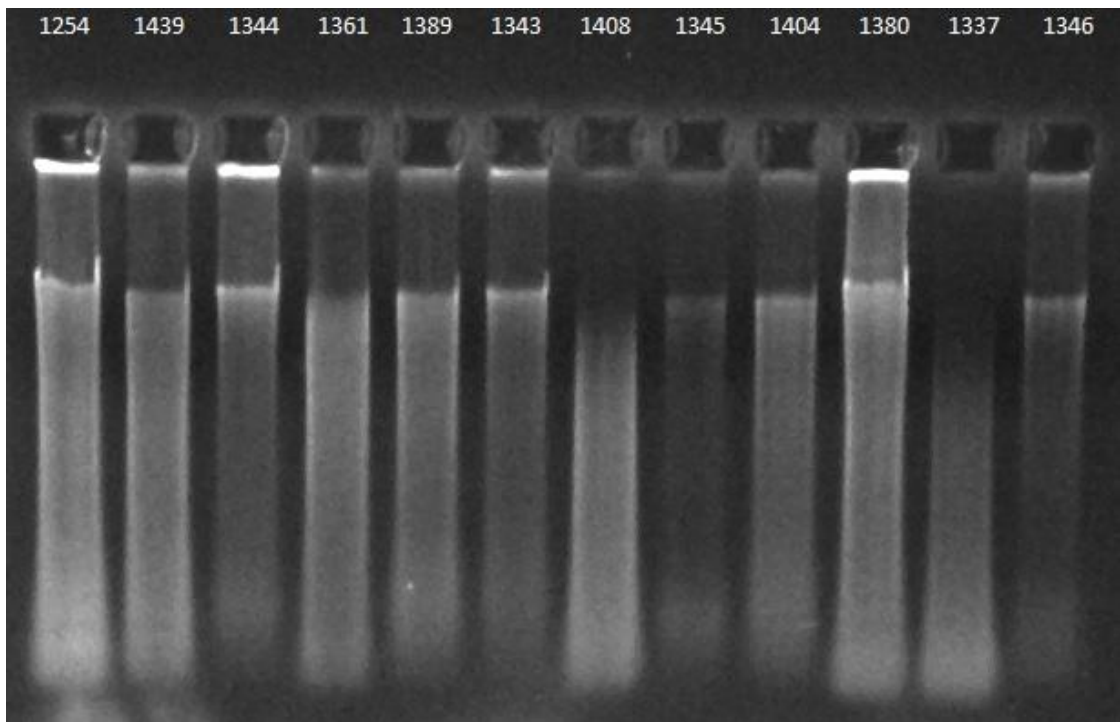
1758. *Canis aureus* Linnaeus,

Tip Yeri: Benna dağları, Laristan, İran.

Üç türe ait örneklerden alınan dokulardan önce, total DNA elde edildi. Total DNA elde edilmesi başarılı olan örneklerin cinsiyet tayini ve hedeflenen gen bölgesinin (Y kromozom DNA Zfy gen bölgesi) PCR ile çoğaltılması işlemi yapıldı.

3.1.1. İncelenen Üç Türe (*Vulpes vulpes*, *Canis lupus* ve *C. aureus*) Ait Örneklerden Total DNA İzolasyonu

Türkiye'nin değişik lokalitelerinden toplanan *Vulpes vulpes* (81), *Canis lupus* (8) ve *C. aureus* (4) türlerine ait toplam 93 örnekten alınan ve etil alkolde saklanan kas, kuyruk, kulak gibi değişik dokulardan total DNA elde edildi. Üç türe ait örneklerin değişik dokularından elde edilen total DNA'lar, % 1'lik agaroz jelde yürütüldü ve UV altında görüntülendi. Bu çalışmada sadece kızıl tilkilere ait jel görüntüsü verildi (Şekil 3.1).



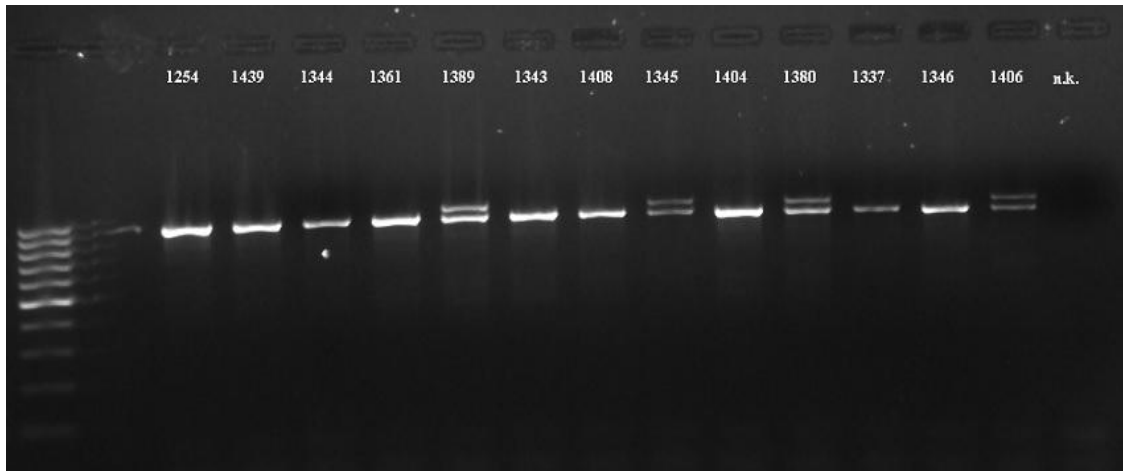
Şekil 3.1. Kızıl tilki (*Vulpes vulpes*) türüne ait total DNA'ların agaroz jel görüntüsü

3.1.2. İncelenen Üç Türe (*Vulpes vulpes*, *Canis lupus* ve *C. aureus*) Ait Örneklerin Cinsiyet Tayini

Total DNA eldesi başarılı olan 81 *V. vulpes*, 8 adet *C. lupus* ve 4 adet *C. aureus* örneğinden doku alınırken gözleme dayalı olarak bir kısmının cinsiyet tayini yapılmasına rağmen doku örnekleme farklı kişiler tarafından yapıldığı için Lgl-331 ve Lgl-335 primer çifti kullanılarak toplam 93 örneğin cinsiyet tayini yapıldı. Cinsiyet tayini sonucunda *V. vulpes* türüne ait 81 örnekten 67'sinin cinsiyeti belirlenebildi ve 32 örneğin erkek ve 35 örneğin dişi olduğu tespit edildi, *C. lupus* türüne ait cinsiyet tayini

yapılan 8 örnekten 4'ünün erkek ve 4'nünde dişi olduğu, *C. aureus* türüne ait cinsiyet tayini yapılan 4 örnekten 1'nin erkek ve 3'nün dişi olduğu tespit edildi.

Canidae familyasının Türkiye'de yayılış gösteren üç türüne ait örneklerin cinsiyet tayini için elde edilen PCR ürünleri, % 2'lik agaroz jelde yürütüldü ve UV altında görüntülendi. Bu çalışmada sadece kızıl tilkilere ait jel görüntüsü verildi (Şekil 3.2). Jel görüntüleri (Şekil 3.2) incelendiğinde çift bantlar erkek örnekleri, tek bantlar ise dişi örnekleri ifade etmektedir.



Şekil 3.2 Kızıl tilki (*Vulpes vulpes*) türüne ait örneklerin cinsiyet tayini için Lgl 331 ve Lgl 335 primerleri kullanılarak elde edilen PCR ürünlerinin agaroz jel elektroforez görüntüsü.

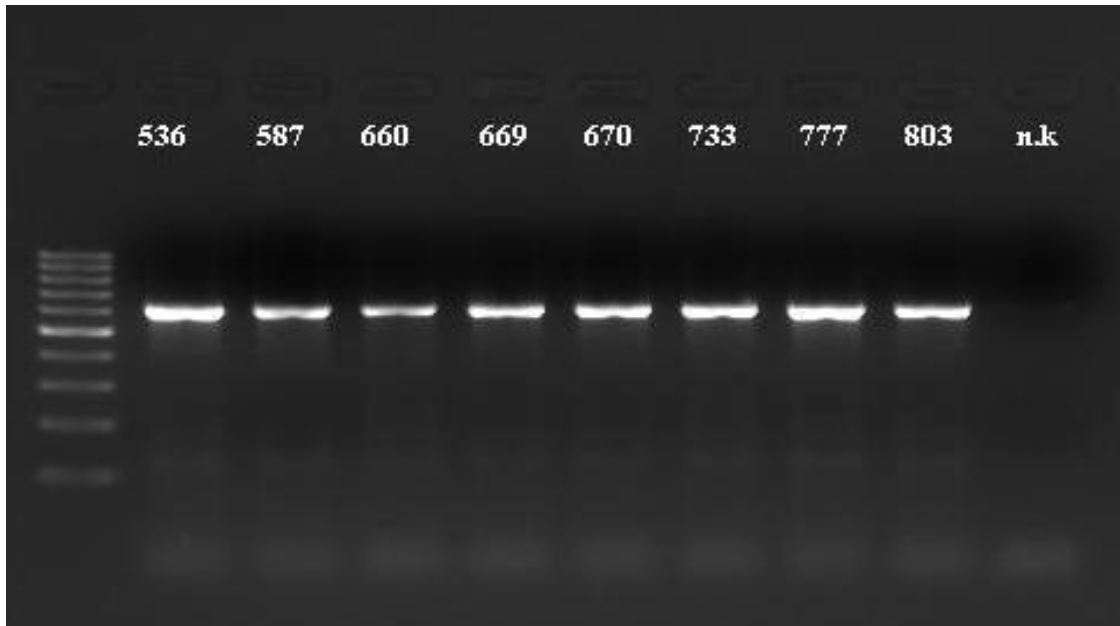
Cinsiyet tayininden sonra üç türe ait örneklerin erkek/ dişi oranı hesaplandı ve oranlar Tablo 3.1'de verildi.

Tablo 3.1. Türkiye'de yayılış gösteren üç kanid türüne (*Vulpes vulpes*, *Canis lupus* ve *C. aureus*) ait cinsiyet oranı.

TÜR	Toplam örnek sayısı	Tespit edilen Erkek sayısı	Tespit edilen Dişi sayısı	Erkek / dişi oranı
<i>Vulpes vulpes</i>	81	32	35	0,91
<i>Canis lupus</i>	8	4	4	1
<i>Canis aureus</i>	4	1	3	0,33

3.1.3. İncelenen Üç Türe (*Vulpes vulpes*, *Canis lupus* ve *C. aureus*) Ait Örneklerin Y Krozomal DNA Zfy Gen Bölgesinin PCR ile Çoğaltılması

Cinsiyet tayini sonucunda erkek olduğu tespit edilen üç türe ait toplam 37 örneğin total DNA'ları, Lgl 331 ve Yint2 335 spesifik primer çifti ile Y kromozomal DNA Zfy gen bölgesinin çoğaltılması için kaynak olarak kullanıldı. Y kromozomal DNA Zfy gen bölgesinin yaklaşık 600 bp'lik kısmı spesifik primer çiftleri kullanılarak PCR ile çoğaltıldı. Çoğaltma işlemi sonucunda elde edilen PCR ürünlerinin kalitesi ve büyüklüğünü kontrol etmek amacıyla PCR ürünleri, % 2'lik agaroz jelde yürütüldü ve UV altında görüntülenip fotoğrafı alındı. Bu çalışmada sadece kızıl tilkilere ait jel görüntüsü verildi (Şekil 3.3).



Şekil 3.3. Kızıl tilki (*Vulpes vulpes*) türüne ait örneklerin Y kromozom DNA Zfy gen bölgesi için Lgl 331 ve Yint2 335 primerleri kullanılarak elde edilen PCR ürünlerinin agaroz jel elektroforez görüntüsü.

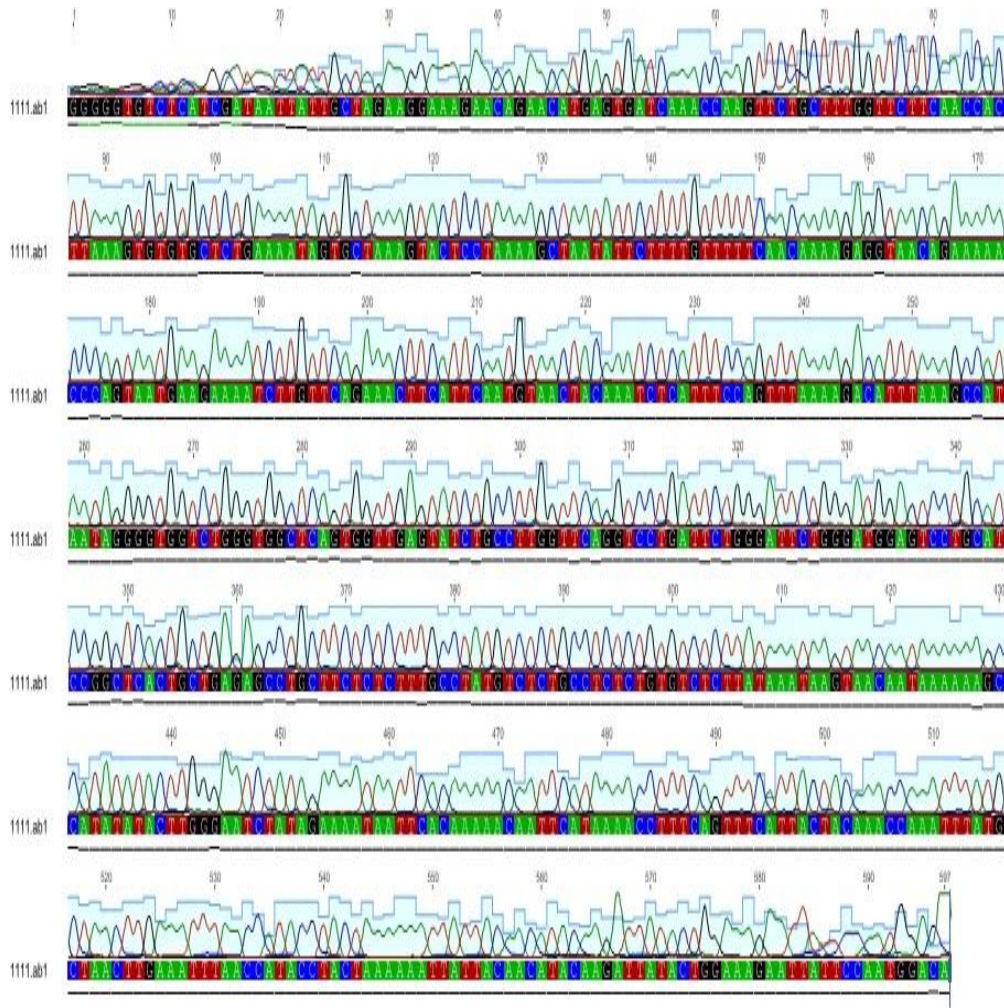
3.2. İncelenen Üç Türe (*Vulpes vulpes*, *Canis lupus* ve *C. aureus*) Ait Örneklerin Y Kromozomal DNA Zfy Gen Bölgesi Dizilerinin Genetik Analizi

Kızıl tilki (*Vulpes vulpes*) türüne ait erkek olduğu belirlenen 32 örnekten 31'inin, gri kurt (*C. lupus*) türüne ait erkek olduğu belirlenen 4'ünün ve altın çakal (*C. aureus*) türüne ait erkek olduğu belirlenen 1 örneğin Y kromozomal DNA Zfy gen bölgesinin yaklaşık olarak 539-562 bp'lik dizileri, DNA dizi analizi sonucunda elde edildi.

3.2.1. Kızıl Tilki (*Vulpes vulpes*) Türüne Ait Örneklerden Elde Edilen Y Kromozom DNA Zfy Gen Bölgesi Dizilerinin Genetik Analizi

Kızıl tilki (*Vulpes vulpes*) türüne ait 31 erkek örneğin DNA dizi analizi sonucunda elde edilen Y kromozomal DNA'nın Zfy gen bölgesi dizileri, BioEdit programıyla hizalandı [86] ve hizalama sonucunda 31 örneğe ait 539 bp uzunluğundaki diziler tespit edildi. Zfy gen bölgesi dizilerinin BioEdit programına aktarılmasıyla program üzerinden Gen Bankası veri tabanında her bir dizinin BLAST analizi yapıldı. BLAST analizi sonucunda 31 erkek örneğin Zfy gen bölgesi dizisinin (539 bp) *V. vulpes* türüne ait olduğu belirlendi.

Türkiye'nin değişik bölgelerinden toplanmış ve *V. vulpes* türüne ait olduğu tespit edilen 31 Zfy gen bölgesi dizisinin (539 bp) DnaSP v.5.00.04 programı [87] ile yapılan analiz sonucunda bir haplotipi temsil ettiği ve Türkiye'de yayılış gösteren kızıl tilki (*V. vulpes*) türünün analizi yapılan gen bölgesinin genetik varyasyon göstermediği tespit edildi (Tablo 3.2, Şekil 3.4).



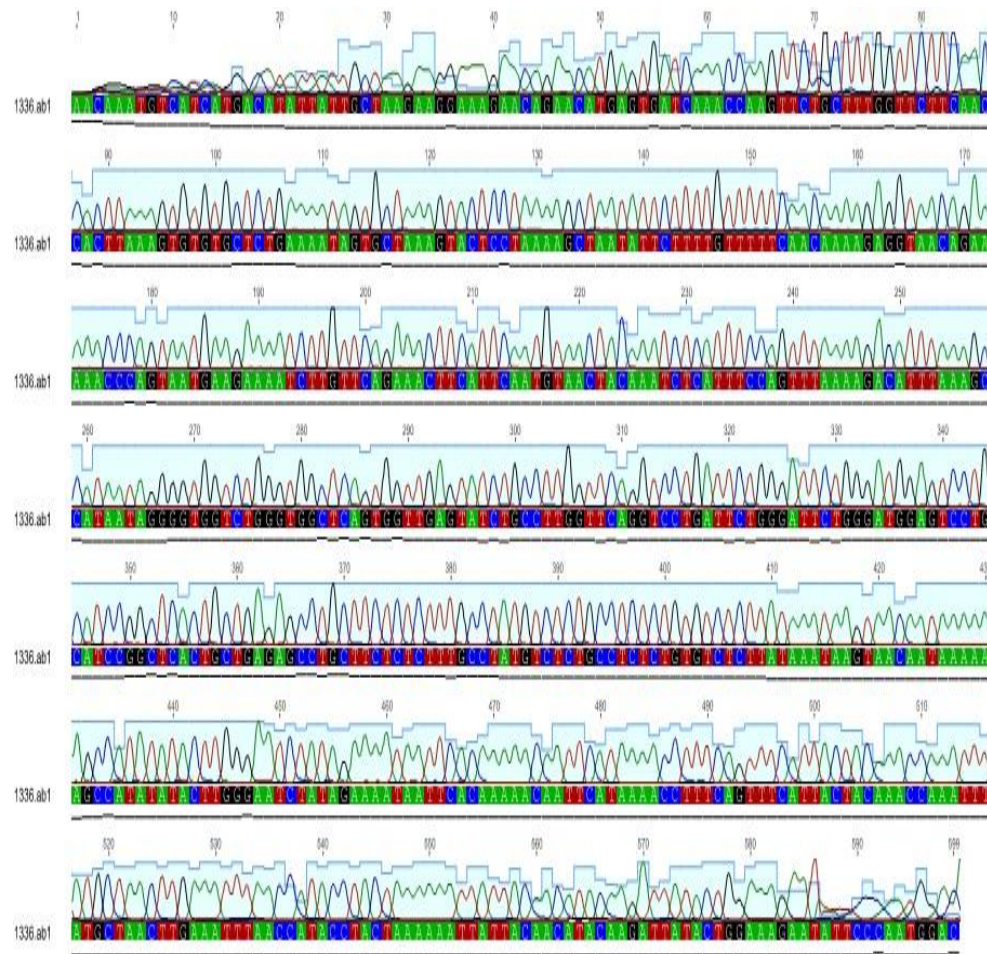
Şekil 3.4. *Vulpes vulpes*'in baz kromatogramı.

3.2.2. Gri Kurt (*Canis lupus*) Türüne Ait Örneklerden Elde Edilen Y Kromozom DNA Zfy Gen Bölgesi Dizilerinin Genetik Analizi

Gri kurt (*Canis lupus*) türüne ait 4 erkek örneğin DNA dizi analizi sonucunda elde edilen Y kromozomal DNA'nın Zfy gen bölgesi dizileri, BioEdit [86] programıyla hizalandı ve hizalama sonucunda 4 örneğe ait 562 bç uzunluğunda diziler tespit edildi. Zfy gen bölgesi dizilerinin BioEdit [86] programına aktarılmasıyla program üzerinden Gen Bankası veri tabanında her bir dizinin BLAST analizi yapıldı. BLAST analizi sonucunda 4 erkek bireyin Zfy gen bölgesi dizisinin (562 bç) *Canis lupus* türüne ait olduğu belirlendi.

Türkiye'nin değişik bölgelerinden toplanmış ve *C. lupus* türüne ait olduğu belirlenen 4 Zfy gen bölgesi dizisinin (562 bç) DnaSP programı [87] ile yapılan analiz sonucunda bir haplotipi temsil ettiği ve Türkiye'de yayılış gösteren gri kurt (*C. lupus*)

türünün analizi yapılan gen bölgesinin genetik varyasyon göstermediği tespit edildi (Tablo 3.2, Şekil 3.5).

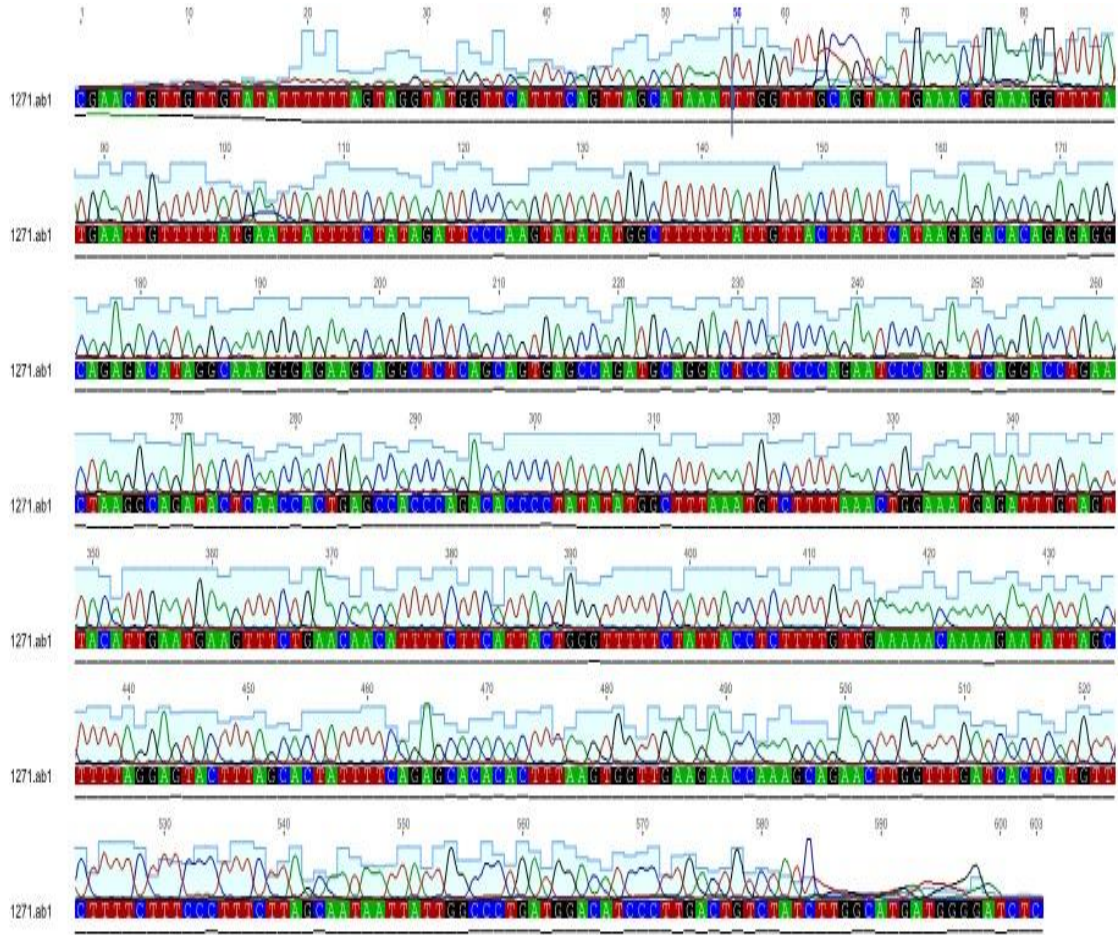


Şekil 3.5. *Canis lupus*'un dizi kromatogramı.

3.2.3. Altın Çakal (*Canis aureus*) Türüne Ait Örneklerden Elde Edilen Y Kromozom DNA Zfy Gen Bölgesi Dizilerinin Genetik Analizi

Altın çakal (*Canis aureus*) türüne ait bir örneğin DNA dizi analizi sonucunda elde edilen Y kromozomal DNA'nın Zfy gen bölgesi dizileri, BioEdit programıyla hizalandı [86] ve hizalama sonucunda bir örneğe ait 546 bç uzunluğunda diziler tespit edildi. Zfy gen bölgesi dizilerinin BioEdit programına aktarılmasıyla program üzerinden Gen Bankası veri tabanında her bir dizinin BLAST analizi yapıldı. BLAST analizi sonucunda dört erkek bireyin Zfy gen bölgesi dizisinin (562 bç) *C. aureus* türüne ait olduğu belirlendi.

Türkiye’den *C. aureus* türüne ait 1 Zfy gen bölgesi dizisinin (546 bç) DnaSP [87] programı ile yapılan analiz sonucunda bir haplotipi temsil ettiği tespit edildi (Tablo 3.2, Şekil 3.6).



Şekil 3.6. *Canis aureus*’un dizi kromatogramı.

Tablo 3.2. Türkiye’de yayılış gösteren üç kanid türünün baz kompozisyonu

Tür	T	C	A	G	Total
<i>Vulpes vulpes</i>	30,42	18,92	34,32	16,32	539
<i>Canis lupus</i>	31,31	18,68	32,91	17,08	562
<i>Canis aureus</i>	30,58	18,31	34,24	16,84	546

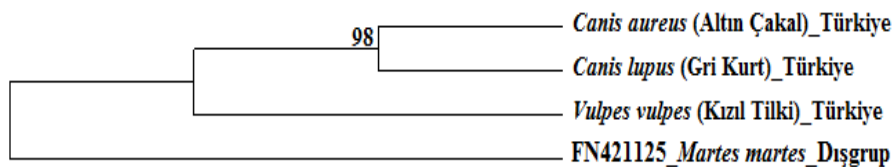
3.2.4. Üç Kanid Türüne (*Vulpes vulpes*, *Canis lupus* ve *C. aureus*) Ait Örneklerin Y Kromozomal DNA Zfy Gen Bölgesi Dizileri Arasındaki Genetik Uzaklık Değerlerinin Hesaplanması ve Neighbor-Joining Analizi

Türkiye’den üç kanid türüne ait haplotipler arasındaki genetik uzaklık değerleri, MEGA5 [89] programı ve K2P baz değişim modeli [88] kullanılarak elde edildi (Tablo 3.3). Tablo 3.3’e göre, en büyük genetik uzaklık değeri (0,0250), *C. lupus* ile *V. vulpes* arasında tespit edildi. *V. vulpes* ile *C. aureus* arasındaki genetik uzaklık değeri ise 0,0211’dir. *C. lupus* ile *C. aureus* arasındaki değer ise en küçük genetik uzaklık değeridir (0,0038).

Tablo 3.3. Kimura 2-Parametre baz değişim modeli kullanılarak hesaplanmış üç kanid türüne ait Türkiye haplotipleri arasındaki genetik uzaklık değerleri

	1	2	3
1. <i>Canis aureus</i>	0,0000		
2. <i>Canis lupus</i>	0,0038	0,0000	
3. <i>Vulpes vulpes</i>	0,0211	0,0250	0,0000

Üç kanid türüne ait haplotipler arasındaki filogenetik ilişkileri göstermek için, MEGA5 [89] programı ile K2P baz değişim modeli [88] ve dış grup olarak *Martes martes* haplotipi kullanılarak 10.000 tekrarlı NJ ağacı (Şekil 3.7) elde edildi. NJ ağacı (Şekil 3.7) incelendiğinde iki *Canis* türünün haplotipleri % 98 bootstrap değeriyle desteklenerek birlikte kümelendiği görülmektedir.



Şekil 3.7. Türkiye’de yayılış gösteren üç kanid türüne ait örneklerden tespit edilen haplotipler arasındaki ilişkiyi gösteren 10.000 tekrarlı NJ ağacı

3.3. Türkiye'de Yayılış Gösteren Üç Kanid Türüne (*Vulpes vulpes*, *Canis lupus* ve *C. aureus*) Ait Diziler ile Gen Bankasından Elde Edilen Y Kromozom DNA Zfy Gen Bölgesi Dizilerinin Birlikte Genetik Analizi

Kızıl tilki (*Vulpes vulpes*) türü için Gen Bankası'nda yapılan tarama sonucunda ait bir adet Zfy gen bölgesi dizisi tespit edildi. Japonya'nın Hokkaido bölgesinden kızıl tilki türüne ait AB622140 erişim numaralı bu dizi (932 bç) [34] ile Türkiye'den tespit edilen 532 bç lik dizinin karşılaştırılması sonucunda her iki dizinin aynı olduğu ve herhangi bir genetik varyasyonun olmadığı belirlendi.

Gri kurt (*Canis lupus*) türü için Gen Bankası'nda yapılan tarama sonucunda iki dizi tespit edildi. AB622147 (Asahiyama Hayvanat Bahçesi, Japan) [34] erişim numaralı 953 bç lik bir adet Zfy gen bölgesi dizisi tespit edildi. Yapılan karşılaştırma sonucunda Türkiye'den tespit edilen 562 bç uzunluğundaki dizi ile Gen Bankası'ndan elde edilen dizinin aynı olduğu gözlemlendi. KF021270 [yayınlanmamış çalışma] erişim numaralı dizi ise 594 bç uzunluğunda olup Türkiye'den tespit edilen dizinin 549 bç'lik kısmıyla karşılaştırıldığında aynı olduğu ve genetik varyasyon göstermediği belirlendi.

Altın çakal (*Canis aureus*) türü için Gen Bankası'nda yapılan tarama sonucunda iki dizi tespit edildi. AB622145 erişim numaralı [34] (Bulgaristan) dizinin 1146 bç'lik kısmı ile Türkiye'den tespit edilen dizinin 546 bç'lik kısmı aynı olduğu, KF021269 [yayınlanmamış çalışma] erişim numaralı 566 bç uzunluktaki dizi ile Türkiye'den tespit edilen dizinin 521 bç uzunluğundaki kısmının aynı olduğu ve genetik varyasyon göstermediği belirlendi.

4. BÖLÜM

TARTIŞMA VE SONUÇ

4.1. Tartışma

Bu çalışma, Y kromozomal DNA'nın Zfy final intron dizilerini kullanarak Türkiye'de yayılış gösteren Canidae familyasına ait üç türdeki genetik varyasyonu tespit etmek ve Gen Bankası'ndan elde edilen Zfy final intron dizileri ile birlikte Türkiye'de yayılış gösteren kızıl tilki, gri kurt ve altın çakala ait Zfy gen bölgesindeki dizilerin karşılaştırılması için yapıldı. Bu çalışma, Türkiye'de yayılış gösteren Canidae familyasının üç türünün (*Vulpes vulpes*, *Canis aureus* ve *Canis lupus*) bir moleküler belirteç olan paternal Y kromozom DNA'yı kullanarak yapılan ilk çalışmadır.

Son yirmi yıl içerisinde Canidae familyasının üç türü ile ilgili olarak Dünya'nın değişik bölgelerinden elde edilen örneklerle dayanılarak yapılan çok sayıda çalışmada moleküler belirteçler kullanılmış böylece bu türlerin genetik çeşitliliği ve filogenetik ilişkileri araştırılmıştır [5-35, 50, 51, 53, 57, 59-62].

Canidae familyasının üç türünden biri olan kızıl tilkileri kapsayan moleküler temelli çalışmalardan Frati ve ark. [5], Akdeniz havzasından elde ettiği kızıl tilki örneklerinin hem allozim hem de mitokondriyal DNA sitokrom *b* bölgesini kullanarak kızıl tilki türünün genetik yapısını ve kuvarterner dönemi yayılmasını ortaya çıkarmaya çalıştılar. Simonsen ve ark. [14], izozimleri kullanarak kızıl tilkideki genetik farklılaşmayı tespit etmeye çalıştılar. Inoue ve ark. [17], Kuzey Japonya'da yayılış gösteren kızıl tilki türünün mitokondriyal DNA filocoğrafyasını ortaya çıkarmak için mitokondriyal kontrol bölgesi (d-loop) ve sitokrom *b* dizilerini kullandılar ve Japonya'dan iki ayrı haplogrup rapor ettiler. Kirschning ve ark. [18] ise, sadece mitokondriyal DNA kontrol bölgesini (d-loop) kullanarak Sırbistan'daki kızıl tilkilerin popülasyon genetiği analizini yaptılar. Perrine ve ark. [19], mitokondriyal sitokrom *b* bölgesini kullanarak Kaliforniya'daki kritik seviyede tehlikede olan Sierra Nevada kızıl

tilkisinin gen akışını ve popülasyon yapısını araştırdılar. Aubry ve ark. [20] ise mitokondriyal belirteçler olan d-loop (kontrol bölgesi) ve sitokrom *b*'yi kullanarak Avrasya'dan örnekler ile birlikte Kuzey Amerika'daki kızıl tilkilerin filocoğrafyasını ortaya koydular. Sacks ve ark. [223], Kuzey Amerika dağlık alanda yer alan Sacramento vadisindeki kızıl tilkilerin kökenini, popülasyon parçalanmasını ve yayılmasını, genetik yapısını ve filocoğrafyasını hem mitokondriyal sitokrom *b* ve kontrol bölgesi dizilerini hem de mikrosatellit analizi yaparak araştırırken Sacks ve ark. [24] ise Kuzey Amerika'ya özgü kızıl tilkilerle sonradan sokulmuş tilkiler arasında hibrid zon olup olmadığını hem maternal kökenli mitokondriyal sitokrom *b* hem de nükleer mikrosatellitleri ve SNP'leri (Single Nucleotide Polymorphism) kullanarak araştırmıştır.

Son zamanlarda yapılmış çalışmalardan biri Teacher ve ark. [26] Avrupa'daki modern ve eski kızıl tilkilerin mitokondriyal DNA'larını (sitokrom *b* ve kontrol bölgesi) kullanarak son ve tarihsel filocoğrafik deseni açıklamaya çalışmışlardır. Edwards ve ark. [27] tarafından yapılan çalışmada mitokondriyal kontrol bölgesi (d-loop) ve sitokrom *b* Avrupa ve Britanya Adaları boyunca kızıl tilkinin zamansal olarak genetik varyasyonunu araştırılmıştır. Statham ve ark. [29] Kuzey Amerika'ya en son yerleşmiş kızıl tilkilerin kökenini mitokondriyal belirteçler (sitokrom *b* ve d-loop) kullanarak tespit etemeye çalıştılar. Yu ve ark. [30] ise mitokondriyal sitokrom *b* dizi varyasyonlarına dayanarak Kore kızıl tilkilerinin filogenetik analizini yaparak yeni görüşler ortaya koydular. Kutschera ve ark. [32], daha önce yayınlanmış mitokondriyal kontrol bölgesi (d-loop) dizileriyle birlikte birkaç Avrupa popülasyonu ile Sibirya'dan yeni elde ettikleri dizileri kullanarak kızıl tilkilerdeki filocoğrafik olaylar için zaman skalası ve sınırı geniş bir sentez yapmışlardır. Diğer bir kanid türü olan gri kurt (*Canis lupus*) ile ilgili olarak Randi ve ark. [10], İtalya'da gri kurtlardaki allozim değişkenliğini araştırmışlar ve elektroforez analizlerine göre son yüzyılda nükleer gen lokuslarındaki genetik değişkenlikte azalma olmadığını bulmuşlardır. Lorenzini ve Fico [11], İtalya'da yayılış gösteren gri kurt ve köpek tarafından paylaşılmış olan enzim polimorfizmi ile ilgili bir genetik çalışma yapmışlar ve İtalya'daki kurtlar ile ilgili koruma önerilerinde bulunmuşlardır. Forbes ve Boyd [12], Amerika Birleşik Devletleri'ndeki yerli ve sonradan sokulmuş Kayalık Dağları kurt popülasyonunun genetik yapısını DNA mikrosatellit analizi ile belirlemeye çalıştılar. Gri kurdun popülasyon tarihi ve mitokondriyal DNA filocoğrafyası, Vila ve ark. [13] tarafından araştırılmıştır. Sharma

ve ark. [15], Hindistan'daki eski kurt soy hatlarını mitokondriyal belirteç kullanarak araştırmıştır. Aggarwal ve ark. [16], üç mitokondriyal belirtecini (16S rRNA, cytochrome b, D-loop) kullandılar ve Hindistan kurt popülasyonunun iki ayrı kurt türüne ait olduğunu önerdiler. Japon kurdunun mitokondriyal DNA analizini kontrol bölgesi dizilerini kullanarak yapan Ishiguro ve ark. [21], evcil köpek ile de karşılaştırma yaptılar.

Sırbistan'da altın çakallardaki kurucu etkisi, farklılaşma ve genetik değişkenlik Zachos ve ark, [22] tarafından mitokondriyal belirteç olan kontrol bölgesi ve mikrosatellitler kullanılarak araştırılmış ve kontrol bölgesinde varyasyon gözlenmediğini belirtilmiştir. Gomerčić ve ark. [8], mitokondriyal kontrol bölgesi (d-loop) kullanarak Hırvatistan'da yayılış gösteren gri kurdun popülasyon genetik analizini yaptılar ve bu bölgedeki gri kurdun çeşitliliği hakkında yeni görüşler ortaya koydular. Rueness ve ark. [25]'a göre *Canis aureus lupaster* altın çakal ve Mısır'a endemik değil bilakis kriptik bir Afrika kurdu olduğunu dört mitokondriyal belirteç (sitokrom b, d-loop, 16S ve 12S) kullanarak ileri sürmüşlerdir. Mitokondriyal belirteçleri (sitokrom b ve kontrol bölgesi) kullanan Gaubert ve ark. [28], gri kurtla ilgili olarak Kuzey-Doğu Afrika'da yeni bir mitokondriyal soy hattını keşfetmişler ve elde ettikleri sonuçlara göre kıta üzerinde kriptik bir kanid varlığını önermişlerdir. Mikrosatellit belirteçlerini kullanan Khosravi ve ark. [33], serbest dolaşan evcil köpekler ile İran yabani kurdu arasındaki hibritleşmeyi tespit etmeye çalışmışlardır. Kanid türlerinden altın çakalla ilgili olarak Cohen ve ark. [31], İsrail'deki kızıl tilki ile birlikte altın çakal popülasyonlarının genetik özelliklerini mikrosatellitlerle belirleyerek popülasyon genetiği analizi yapmışlardır.

Karnivor memelilerin Y kromozom DNA'sı ile ilgili çalışmalar da vardır. Bunlardan biri olan çalışmada Williams ve ark. [35], koyunlar için bir predatör olan *Canis latrans* bireylerinin koyunlara saldırdıktan sonra oluşan yaralar üzerinde bulaşan tükürük salgısından predatörü tanımlamak için kullandıkları metotta tür ve eşey tanımlaması için Zfy ve Zfx gen bölgelerini çoğaltmışlar, ancak bu araştırmacılar dizi analizi yapmamışlardır.

Shaw ve ark. [37], kanidlerin de içinde olduğu karasal ve deniz memelilerini kapsayan çok sayıda tür için eşey tespiti yapmada kullanılan PCR tabanlı bir metot geliştirdiler ve Zfx ile Zfy genleri içinde bir intronu amplifiye ettiler. Memeli hayvanlar

için karnivor türlerini de kapsayan cinsiyet tespiti için güvenilir bir metot geliştirmişlerdir. Bu araştırmacılar, Zfx ve Zfy intronları arasındaki büyüklük varyasyonu, erkek bireyler için Y spesifik bir bandın ortaya çıkmasıyla sonuçlandığını ve Zfy intronunun büyüklüğünün türden türe Zfx intronunkinden çok daha fazla çeşitlilik gösterdiğini tespit etmişlerdir. Ancak kanidlerin de içerisinde yer aldığı bu çalışmada dizi analizi yapılmamıştır.

Beş kanid türünde dışkı kullanarak eşey tanımlaması için bu türlerin örneklerinde Zfx ve Zfy gen bölgelerini çalışan Ortega ve ark. [55], erkek ve dişi örneklerin bant profillerini elde etmişler ancak dizi analizi yapmamışlardır.

Bir karnivor familyası olan Ursidae'nin filogenisini 14 genin dizilerini birleştirerek analiz eden Pagès ve ark. [59], bu familya üyelerinin filogenetik ilişkileri ile ilgili yeni yaklaşımlar elde etmişlerdir. Bu araştırmacılar ursid filogenisini ortaya çıkarmak için Zfy gen bölgesi dizilerini de kullanmışlardır.

Rutledge ve ark. [60] ise iki gri kurt (*Canis lupus* ve *C. lycaon*) ile kırmızı kurt (*Canis latrans*) arasındaki genetik farklılaşmayı araştırmak için Kanada'daki üç bölgeden elde edilen çok sayıda örneğe ait mitokondriyal ve otosomal mikrosatellit genetik verilerle Y kromozom verilerini kullanmış ve üç kanid türü için 16 Y kromozom haplotipi belirlemişlerdir. Dev panda türünde eşey tespiti için Xu ve ark. [58], bu türe ait bireylerin Zfx/Zfy allellerinin amplifikasyonunu kullanarak bir metot geliştirmişlerdir. Ancak bu araştırmacılar dizi analizi yapmamışlardır.

Tashima ve ark. [61] ise Carnivora takımı içerisinde yer alan Mustelidae familyasının *Meles* cinsine ait dört porsuk türünün (*Meles meles*, *M. anakuma*, *M. canescens* ve *M. leucurus*) Zfy geni final intronu'ndaki CAN-SINE'lerin moleküler varyasyonlarını ve tanımlamasını araştırmış ve porsuk türlerinin CAN-SINE'leri arasında, kıtasal haplotiplerdeki 12 bç'lik bölge (delesyon olmayan), 6 bç'lik direkt bir tekrar ve 6 bç'lik mikrosatellit benzeri dizilerden oluşurken, Japon haplotiplerinde spesifik 12 bç'lik bir delesyon bulmuşlardır. Kıtasal haplotipler üç soy hattına ayrılmış olup bu genetik farklılaşma, son zamanlarda önerilen *Meles* cinsinin dört türe ayrıldığı fikrini desteklemektedir. Statham ve ark. [57], beş mustelid türünün moleküler eşey tanımlamasını ve beş türün Zfx ve Zfy gen bölgelerindeki varyasyonu belirlerken, bu

çalışmada Zfx ve Zfy gen bölgelerine ait dizileri de kullanmış ve dizilerde değişkenlik gösteren yerleri de belirtmişlerdir.

İki sansar türünde (*Martes zibellina* ve *M. foina*) eşey tayini için metot deneyen ve Zfx ile Zfy gen bölgelerindeki dizi polimorfizmini araştıran Bo ve ark. [63], dizilerde değişkenlik gösteren yerleri de tespit etmişlerdir. Lucchini ve ark. [53], batı İtalya Alplerinde kolonize olan kurt sürülerinin genetik ve demografik verilerini elde etmek için kullandıkları metotlar ile hem eşey tayini yapmışlar hem de Zfx/Zfy genlerinin dizilerini elde etmişlerdir. Bazı memeli türlerinin kullanıldığı bir Neighbour-joining konsensus ağacı elde etmişler ancak Gen Bankası numarası vermemişlerdir.

Slattey ve ark. [51], karnivor memelilerdeki üç Y kromozom geninden izole ettikleri SINE elementleri arasındaki çeşitliliğin desenlerini belirlemişler ve karnivor türlerinden elde edilen SINE dizileriyle familya düzeyinde filogenetik bir ağaç oluşturmuşlardır. Köpeklerde Murakami ve ark. [52], eşey tayini için Zfx/Zfy sistemini kullanmışlardır. Diğer yandan pinniped bireylerinin eşeylerini tespit etmek için Curtis ve ark. [56], bir protokol geliştirmiş ve test etmişlerdir. Ayrıca Y kromozom DNA Zfy gen bölgesinin dizi analizini yaparak dizilerdeki varyasyonları belirlemişlerdir. Wilson ve ark. [62], ise, Kuzey doğu Amerika'da üç *Canis* türü arasındaki hibridasyonun geniş belirtilerinin Y kromozom DNA analizinden elde edilen kanıtla desteklendiğini tespit etmişlerdir. Ayrıca bu araştırmacılar, Doğu kurdunun (*Canis lycaon*) tarihsel yayılış sınırlarında birbirinden ayrılan Y kromozom haplotiplerinin tespit edilmesi daha önceki mitokondriyal bulgularla uyumlu olduğunu ve batı kurdundaki (*Canis latrans*) bu haplotiplerin olmamasının Kuzey Amerika'da evrimleşmiş olan doğu kurdunun (*Canis lycaon*) varlığını desteklediğini belirtmişlerdir.

Yukarıda bahsedilen çalışmalardan da görüleceği gibi, diğer karnivor türlerine ait Y kromozom DNA çalışmalarının çok sayıda olmasına rağmen Canidae familyasının üç türü (*Vulpes vulpes*, *Canis lupus* ve *Canis aureus*) ile ilgili paternal kökenli Y kromozom DNA kullanılarak yapılan çalışmaların sayısı nispeten azdır.

Erkek bireylerin Y kromozomu DNA analizlerinden elde edilen bilgi, genetik ve filocoğrafik çalışmalarda yaygın kullanıma sahip maternal kökenli mitokondriyal DNA'dan elde edilen bilgiye yakın bir değere sahip olmaktadır. Mitokondriyal DNA ve Y kromozom DNA'sının her ikisi haploittir. Euteryan memelilerde Y kromozomunun

rekombinasyon yapmayan (non-recombining region=NRV) bölgesinde yer alan ZFY geni, maternal ve paternal olarak kanıtlanan moleküler belirteçlerle kıyaslama yapılması için iyi bir adaydır [44-48]. Y kromozom DNA Zfy final intron bölgesine dayanarak yapılan çalışmalar, tür ve tür üstü kategorilerin filogenetik statülerinin belirlenmesinde faydalı olabilmektedir [49, 50].

Üç kanid türüyle (*Vulpes vulpes*, *Canis lupus* ve *Canis aureus*) ilgili paternal Y kromozom DNA'sı Zfy gen bölgesini kapsayan çalışmalarda ağırlıklı olarak *Canis* türleri çalışılmış [34, 35] olup *Vulpes* türleri ile ilgili olarak nispeten az çalışma bulunmaktadır [34, 35]. Tsubouchi ve ark. [34], karşılaştırmalı moleküler filogeniyi elde etmek ve evrimi araştırmak için Canidae familyasındaki 12 türün eşey kromozom DNA dizilerini kullanmışlardır. *Vulpes vulpes*, *Canis lupus* ve *Canis aureus* türlerine ait Y kromozom DNA (ZFY, 924–1146 bp) dizileri de bu çalışmada kullanılmıştır. Bu araştırmacılar, 12 tür arasında paternal ZFY dizileriyle yeniden inşa edilen filogenetik ilişkilerin daha önceki çalışmalardaki mitokondriyal DNA ve otosomal DNA ağaçlarıyla hemen hemen uyumlu olduğunu tespit etmişlerdir.

Türkiye'de yayılış gösteren üç kanid türünün genetik varyasyonlarını ve filogenetik analizini kapsayan moleküler belirteçlerin kullanıldığı kızıl tilki ile ilgili bir mtDNA'ya dayalı Yüksek Lisans çalışmasına rastlanılmıştır [64]. Buna karşılık diğer iki tür ile ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Buna ilave olarak Türkiye'de yayılış gösteren Canidae familyasının üç türünün eşey kromozom (X ve Y) DNA'larının genetik analizinin yapıldığı çalışmalara da rastlanılmamıştır. Bu çalışmada dizi analizi yapılan 31 erkek tilki örneğinin aynı Zfy gen bölgesi dizisine ve dört erkek gri kurt örneğinin de aynı Zfy gen bölgesi dizisine sahip oldukları tespit edildi. Gen Bankası'nda yapılan tarama sonucunda Tsubouchi ve ark. [34] ve Magda [yayınlanmamış çalışma]'nın rapor ettiği Zfy gen bölgesi dizileriyle bu çalışmada tespit edilen üç kanid türüne ait diziler arasında herhangi bir farklılık tespit edilmedi. Bu çalışmada *Vulpes vulpes* için 539 bp'lik, *Canis lupus* için 562 bp'lik ve *Canis aureus* için 546 bp'lik dizilerin Tsubouchi ve ark. [34] ile Magda [yayınlanmamış]'nın rapor ettiği Zfy dizileriyle aynı olduğu belirlendi.

4.2. Sonuç ve Öneriler

Bu Tez çalışmasında Canidae familyasının üç türüne (*Vulpes vulpes*, *Canis aureus* ve *Canis lupus*) ait Türkiye'deki değişik lokalitelerden elde edilen toplam 93 örneğin (81 *Vulpes vulpes*; 8 *Canis lupus* ve 4 *Canis aureus*) cinsiyet tayinleri yapıldı. Cinsiyet tayini sonucunda kızıl tilki için 31, gri kurt için 4 ve altın çakal için 1 örnek erkek olarak belirlendi. Y kromozom DNA ZFY geni final intron bölgesinin dizi analizi sonucunda *Vulpes vulpes* için 539 bç'lik bir haplotip, *Canis aureus* için 546 bç'lik bir haplotip ve *Canis lupus* için 562 bç'lik bir haplotip tespit edildi. Her bir türe ait örneklerin kendi içerisinde yapılan analizler sonucunda aynı diziye sahip oldukları ve herhangi bir genetik varyasyon göstermedikleri tespit edildi.

Gen Bankası'ndan elde edilen dizilerle yapılan karşılaştırma sonucunda Türkiye'den tespit edilen *Vulpes vulpes*'e ait dizi ile Gen Bankası'ndan elde edilen dizinin 539 bç'lik kısmının aynı olduğu, *Canis lupus*'a ait dizi ile Gen Bankası'ndan elde edilen dizinin 562 bç'lik kısmının aynı olduğu ve *Canis aureus*'a ait dizi ile Gen Bankası'ndan elde edilen dizinin 546 bç'lik kısmının aynı olduğu tespit edildi. Bu sonuç çalışılan Y kromozom DNA Zfy gen bölgesinin oldukça korunmuş olduğunu göstermektedir.

Bu çalışma ile üç kanid türünün Türkiye popülasyonlarının genetik yapısının belirlenmesi açısından önemli bulgular elde edilmiştir. Gelecekte yapılacak çalışmalarda Türkiye'den elde edilen örnek sayısı artırılarak hem mitokondriyal DNA'nın farklı belirteçlerinin hem de nükleer DNA dizilerinin analiz edilmesi bu çalışmadaki üç türün genetik yapısının daha iyi belirlenmesi açısından önemli katkılar sağlayacaktır.

KAYNAKLAR

1. Wilson, D.E., Reeder, D.M., 2005. Mammal Species of the World, Smithsonian Institution press, Washington, USA, 2000pp.
2. Macdonald, D.W., Sillero-Zubiri, C., 2004. The Biology and Conservation of Wild Canids, Wildlife Conservation Research Unit, University of Oxford, 450pp.
3. Hutchins, M., Kleiman, D.G., Geist, V., McDade, M.C., 2003. Grzimek's Animal Life Encyclopedia, Second Edition, V.14, Mammals III, Gale Group, 494pp.
4. Kryštufek, B., Vohralik, V., 2009. Mammals of Turkey and Cyprus, Introduction, Checklist, Insectivora, University of Primorska, Koper, Slovenia, 372pp.
5. Frati, F. et al., 1998. Quaternary radiation and genetic structure of the red fox *Vulpes vulpes* in the Mediterranean Basin, as revealed by allozymes and mitochondrial DNA. *Journal of Zoology*. 24, 43-51.
6. Wayne, R. K., O'Brien, S. J., 1987. Allozyme divergence within the Canidae. *Systematic Zoology*, 36, 339–355.
7. Barbara, A. et al., 2013. Pre-Columbian origins of native American dog breeds, with only limited replacement by European dogs, confirmed by mtDNA analysis, *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 2013 280.
8. Gomercic, T. et al., 2010. High genetic variability of the grey wolf (*Canis lupus* L.) population from Croatia as revealed by mitochondrial DNA control region Sequences *Zoological Studies* 49(6): 816-823.
9. Ardalan, A. et al., 2011. Comprehensive study of mtDNA among Southwest Asian dogs contradicts independent domestication of wolf, but implies dog–wolf hybridization, *Ecology and Evolution*, 1(3): 373–385.
10. Randi, E., Lucchini V., Francisci, F., 1993. Allozyme variability in the Italian wolf (*Canis lupus*) population *Heredity* 71 516—522.
11. Lorenzini, R., Fico, R., 1995. A genetic investigation of enzyme polymorphisms shared by wolf and dog: suggestions for conservation of the wolf in Italy *Acta Theriologica*, Suppl. 3. 101-110.

12. Forbes, T. H., Boyd D. K., 1997. Genetic structure and migration in native and reintroduced rocky mountain wolf populations, *Conservation Biology*, 11(5): 1226–1234.
13. Vilà, C. et al., 1999. Mitochondrial DNA phylogeography and population history of the grey wolf *Canis lupus*, *Molecular Ecology* 8, 2089–2103.
14. Simonsen, V. et al., 2003. Genetic differentiation of foxes (*Vulpes vulpes*) analysed by means of craniometry and isozymes, *Journal for Nature Conservation*, 11, 109-116.
15. Sharma, D. K. et al., 2004. Ancient wolf lineages in India, *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, (Suppl.) 271, S1–S4.
16. Aggarwal, R. K. et al., 2007. Mitochondrial DNA coding region sequences support the phylogenetic distinction of two Indian wolf species, *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*, 45(2), 163–172.
17. Inoue, T. et al., 2007. Mitochondrial DNA phylogeography of the red fox (*Vulpes vulpes*) in Northern, Japan. *Zoological Science*, 24, 1178-1186.
18. Kirschning, J. et al., 2007. Population genetic analysis of Serbian red foxes (*Vulpes vulpes*) by means of mitochondrial control region sequences, *Biochemical Genetics*, 45(5/6), 409-420.
19. Perrine, J.D. et al., 2007. Genetic evidence for the persistence of the critically endangered Sierra Nevada red fox in California, *Conservation Genetics*, 8, 1083-1095.
20. Aubry, K.B. et al., 2009. Vicariance red fox: vicariance in Pleistocene forest refugia, *Molecular Ecology*, 18, 2668-2686.
21. Ishiguro, N., Inoshima Y. and Shigehara N., 2009. Mitochondrial DNA Analysis of the Japanese Wolf (*Canis lupus hodophilax* Temminck, 1839) and Comparison with Representative Wolf and Domestic Dog Haplotypes, *Zoological Science* 26: 765–770.
22. Zachos, F.E., et al., 2009. Genetic variability, differentiation, and founder effect in golden jackals (*Canis aureus*) from Serbia as revealed by mitochondrial DNA and nuclear microsatellite loci, *Biochemical Genetics*, 47:241–250.
23. Sacks, B. N. et al., 2010. North American montane red foxes: expansion, fragmentation, and the origin of the Sacramento Valley red fox, *Conservation Genetics*, 11 (4), 1523-1539.

24. Sacks, B. N. et al., 2011. A restricted hybrid zone between native and introduced red fox (*Vulpes vulpes*) populations suggests reproductive barriers and competitive exclusion, *Molecular Ecology*, 20, 326–341.
25. Rueness, E. K. et al., 2011. The cryptic African wolf: *Canis aureus lupaster* is not a golden jackal and is not endemic to Egypt, *Plos One*, (6), 1, 1-5.
26. Teacher, A. G. F. , Thomas, J.A., Barnes, I., 2011. Modern and ancient red fox (*Vulpes vulpes*) in Europe show an unusual lack of geographical and temporal structuring, and differing responses within the carnivores to historical climatic change, *BMC Evolutionary Biology*, 11, 214-222.
27. Edwards, C.J. et al., 2012. Temporal genetic variation of the red fox, *Vulpes vulpes*, across western Europe and the British Isles, *Quaternary Science Reviews*, 57, 95-104.
28. Gaubert, P. et al., 2012. Reviving the African wolf *Canis lupus lupaster* in North and West Africa: a mitochondrial lineage ranging more than 6,000 km wide, *Plos One*, 7(8): 1-10.
29. Statham, M. J. et al., 2012. The origin of recently established red fox populations in the United States: translocations or natural range expansions, *Journal of Mammalogy*, 93(1), 52-65.
30. Yu, J. N. et al., 2012b. Insights into Korean red fox (*Vulpes vulpes*) based on mitochondrial cytochrome b sequence variation in East Asia, *Zoological Science*, 29, 753-760.
31. Cohen T. M. et al., 2013. Genetic characterization of populations of the golden jackal and the red fox in Israel, *Conservation Genetics*, 14:55–63.
32. Kutschera V. E. et al., 2013. A range-wide synthesis and timeline for phylogeographic events in the red fox (*Vulpes vulpes*), *BMC Evolutionary Biology*, 13,114.
33. Khosravi, R., Rezaei, H. R., Kaboli, M., 2013. Detecting hybridization between Iranian wild wolf (*Canis lupus pallipes*) and free-ranging domestic dog (*Canis familiaris*) by analysis of microsatellite markers, *Zoological Science* 30: 27–34, .
34. Tsubouchi, A. et al., 2012. Comparative molecular phylogeny and evolution of sex chromosome DNA sequences in the family Canidae (Mammalia: Carnivora), *Zoological Science*, 29(3):151-161.

35. Williams, L. et al., 2003. A coyote in sheep's clothing: predator identification from saliva, *Wildlife Society Bulletin*, 31 (4) :926-932.
36. Eggert, L. S., Eggert, J. A., Woodruff, D.F., 2003. Estimating population sizes for elusive animals: the forest elephants of Kakum National Park, Ghana. *Molecular Ecology*, 12, 1389–1402.
37. Shaw, C. N., Wilson, P. J., White, B.N., 2003. A reliable molecular method of gender determination for mammals. *Journal of Mammalogy*, 84, 123–128.
38. Zalewski, A., Jedrzejewski, W., Jedrzejewska B., 2004. Mobility and home range use by pine martens (*Martes martes*) in a Polish primeval forest, *Ecoscience*, 11: 113-122.
39. Page, D. C. et al., 1987. The sex-determining region of the human Y chromosome encodes a finger protein, *Cell* 51: 1091–1104.
40. Bull, J. J., Hillis, D. M., O'Steen, S., 1988. Mammalian ZFY sequences exist in reptiles regardless of sex-determining mechanism. *Science*, 242:567–569.
41. Sinclair, A. H. et al., 1988. Sequences homologous to ZFY, a candidate human sex-determining gene, are autosomal in marsupials. *Nature*, 336 :780–783.
42. Zimmerer, E. J., Threlkeld, L., 1995. A Zfy-like sequence in fish, with comments on the evolution of the ZFY family of genes in vertebrates, *Biochemical Genetics*, 33: 227–235.
43. Kumar, S., Hedges, S. B., 1998. A molecular timescale for vertebrate evolution. *Nature*, 392:917–920.
44. Shimmin, L. C., Chang B. H.-J., Li W.-H., 1993a. Male driven evolution of DNA sequences, *Nature*, 362:745-747.
45. Shimmin, L. C. et al., 1993b. Potential problems estimating the male-to-female mutation rate ratio from DNA sequence data, *Journal of Molecular Evolution*, 37:160-166.
46. Chang, B. H., Hewet-Emmett D., Li W. -H., 1996. Male to female rate in higher primates estimated from intron sequences. *Zoological Studies*, 35:36-48.
47. Huang, W. et al., 1997. Sex differences in mutation rate in higher primates estimated from AMG intron sequences, *Journal of Molecular Evolution*, 44:463-465.
48. Li, W-H., 1997. *Molecular evolution*. Sinauer Associates, Inc., Sunderland, Massachusetts, 432 pp.

49. Cavalli-Sforza, L.L., 1998. The DNA revolution in population genetics, *Trends in Genetics*, 14:60–65.
50. Slattery, J.P., O'Brien, S.J., 1998. Patterns of Y and X chromosome DNA sequence divergence during the Felidae radiation, *Genetics*, 148:1245–1255.
51. Slattery, J.P., Murphy J. W., O'Brien J. S., 2000a. Patterns of diversity among SINE elements isolated from three Y-chromosome genes in Carnivores, *Molecular Biology and Evolution*, 17: 825–829.
52. Murakami, M. et al., 2001. Reliable sex identification dogs by modified PCR/RFLP analysis, *Journal of Veterinary Medical Science*, 63(6):679-681.
53. Lucchini, V. et al., 2002. Noninvasive molecular tracking of colonizing wolf (*Canis lupus*) packs in the western Italian Alps. *Molecular Ecology* 11: 857-868.
54. Williams, L. et al., 2003. A coyote in sheep's clothing: predator identification from saliva, *Wildlife Society Bulletin*, 31 (4) :926-932.
55. Ortega, J. et all., 2004. a reliable, non-invasive method for sex determination in the endangered San Joaquin kit fox (*Vulpes macrotis mutica*) and other canids, *Conservation Genetics*, 5: 715–718.
56. Curtis, C., Stewart, B. S., Karl, A. A., 2007. Sexing Pinnipeds with ZFX and ZFY Loci, *Journal of Heredity*, 2007: 98(3):280–285.
57. Statham, M. J., Turner, P. D., O'Reilly C., 2007. Molecular sex identification of five mustelid species, *Zoological Studies*, 46(5): 600-608.
58. Xu, X. et al., 2007. A novel method for sex determination of giant panda, *Annales Zoologici Fennici*, 44: 401-404.
59. Pagès, M. et al., 2008. Combined analysis of fourteen nuclear genes refines the Ursidae phylogeny, *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 47 (2008) 73–83.
60. Rutledge, L. Y., Patterson, B. R., White, B. N., 2010a. Analysis of *Canis* mitochondrial DNA demonstrates high concordance between the control region and ATPase genes, *BMC Evolutionary Biology*, 10:215.
61. Tashima, S. Kaneko Y., Anazaki, Y., 2011. Identification and molecular variations of CAN-SINEs from the ZFY gene final intron of the Eurasian badgers (genus *Meles*), *Mammal Study*, 36: 41–48.
62. Wilson, P. J. et al., 2012. Y-chromosome evidence supports widespread signatures of three-species *Canis* hybridization in eastern North America, *Ecology and Evolution*, 2(9):2325-32.

63. Bo, L. et al., 2013. Molecular sex identification of sable and stone marten, Russian Journal of Ecology, 44(2): 137–141.
64. İbiş, O., 2009. Türkiye Kızıl Tilkilerinin (*Vulpes Vulpes* (L., 1758)) (Mammalia: Carnivora) Mitokondrial sitokrom – *b* sekansı Yardımıyla Genetik Analizi. Erciyes Üni. Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Kayseri, 64s.
65. Miller, S., Harley, J.P., 2001. Zoology, Fifth Edition, The McGraw–Hill Companies, Boston,
66. Stains, H., 1984, Carnivores. Pp. 491-521 in Anderson S, Jones J Jr., eds. Orders and Families of Recent Mammals of the World. New York: John Wiley J. et al., Mammalogy, 4th Edition. Toronto: Brooks Cole, 2000.
67. Macdonald, D.W., Reynolds, J.C., 2008. *Vulpes vulpes*. In: IUCN 2013. IUCN Red List of Threatened Species. Version 2013.1. <www.iucnredlist.org>. Downloaded on 22 October 2013).
68. Sillero-Zubiri, C., Hoffmann, M., Macdonald, D.W., 2004. Canids: Foxes, Wolves, Jackals and Dogs. Status Survey and Conservation Action Plan. IUCN/SSC Canid Specialist Group. Gland, Switzerland and Cambridge, UK. x + 430 pp.
69. Mech, L.D., Boitani, L., 2010. *Canis lupus*. In: IUCN 2013. IUCN red list of threatened species. Version 2013.1. <www.iucnredlist.org>. Downloaded on 22 October 2013.
70. Jhala, Y.V., Moehlman, P.D., 2008. *Canis aureus*. In: IUCN 2013. IUCN Red List of Threatened Species. Version 2013.1. <www.iucnredlist.org>. Downloaded on 22 October 2013).
71. Page, D.C. et al., 1987. The sex-determining region of the human Y chromosome encodes a finger protein, Cell. 51:1091–1104.
72. Ellis, N., Goodfellow, P. N., 1989. The mammalian pseudoautosomal region, Trends Genet. 5:406-4 10.
73. Nagamine, C. M., Chan, K., Kozak, C. A., Lau, Y.-F., 1989. Chromosome mapping and expression of a putative testis-determining gene in Mouse, Science 243:80-83, 1989.
74. Mardon, G., Page, D. C., 1989. The sex-determining region of the mouse Y chromosome encodes a protein with a highly acidic domain and 13 zinc fingers, Cell 56:765-770.

75. Ashworth, A., Skene, B., Swift, S., Lovell-Badge R., 1990. Zfa is an expressed retroposon derived from an alternative transcript of the Zfx gene, EMBO J. 9: 1529- 1534.
76. Lahn, B. T., Page, D. C., 1997. Functional coherence of the human Y chromosome, Science 278: 675-680.
77. Dorit, R. L., Akashi, H., Gilbert, W., 1996. Absence of polymorphism at the Zfy locus on the human Y chromosome, Science 268:1182-1185.
78. Tucker, P .K., Lundrigan, B. L., 1993. Rapid evolution of the sex-determining locus in old-world mice and rats, Nature 364: 715-717.
79. Jobling, M. A., Tyler-Smith, C., 2003. The human Y chromosome: an evolutionary marker comes of age, Nature Reviews Genetics 4:598-612.
80. Aasen, E., Medrano, J. F., 1990. Amplification, of the Zfy and Zfx genes for sex identification in humans, cattle, sheep and goats, Bio-Technology 8: 1279-1281.
81. Cathey, J. C., Bickham, J. W., Patton, J. C., 1998. Introgressive hybridization and nonconcordant evolutionary history of maternal and paternal lineages in North American deer, Evolution 52:1224-1229.
82. Chang, B. H., Hewet-Emmett D., Li W. -H., 1996. Male to female rate in higher primates estimated from intron sequences, Zool. Stud. 35:36-48.
83. Huang, W., Chang, B. H.-J., Gu, X., Hewet-Emmett D., Li, W.-H., 1997. Sex differences in mutation rate in higher primates estimated from AMG intron sequences, Journal of Molecular Evolution 44:463-465.
84. Skaletsky, H., et al., 2003. The male-specific region of the human Y chromosome is a mosaic of discrete sequence classes, Nature 423: 825-837.
85. Shami, K., 2002. Evaluating the change in distribution of the eastern timber wolf (*Canis lycaon*) using the Y-chromosome, M.Sc. Thesis, McMaster University, pp. 73.
86. 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.
87. Librado, P., Rozas, J., 2009. DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data, Bioinformatics 25, 1451-1452.

88. Kimura, M., 1981. Estimation of evolutionary distances between homologous nucleotide sequences, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 78 (1): 454 – 458.
89. Tamura, K. et al., 2011. MEGA5: Molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *molecular biology and evolution*. *Molecular Biology and Evolution*, 28: 2731 – 2739.
90. Mullins, J. et al., 2010. Remotely plucked hair genotyping: a reliable and non-invasive method for censusing pine marten (*Martes martes*, L. 1758) populations, *European Journal of Wildlife Research*, 56:443–453.
91. Geneious version (R6.1.6) created by Biomatters. Available from <http://www.geneious.com/>

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı, Soyadı: Ömer Fikret GÜRKAN

Uyruğu: Türkiye (T.C.)

Doğum Tarihi ve Yeri: 4 Mayıs 1986, KAYSERİ

Medeni Durumu: Bekâr

Tel: +90 (352) 339 27 61

e-posta: fikretgurkan38@gmail.com

Yazışma Adresi: Mevlana Mah. Mustafa Kemal Paşa Bul. Özyıldız Ap. A blok 89/7
Kocasinan/KAYSERİ

EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet Tarihi
Lisans	ERÜ, Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Kayseri	2010
Lise	Kayseri Sümer Lisesi, Kayseri	2003